

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP HAI DẪN XUẤT ĐƠN VÒNG THƠM CỦA
ĐỊA Y *USNEA UNDULATA* STIRTON (PARMELIACEAE)

Hồ Thị Diễm Phương¹, Trương Tuấn Đạt¹, Nguyễn Thị Kim Ngân²,
Đỗ Thị Cẩm Hồng¹, Nguyễn Xuân Vinh¹, Nguyễn Thị Thu Trâm^{1*}

1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

2. Trường Đại học Cần Thơ

*Email: nttram@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tình hình đề kháng kháng sinh ngày càng tăng cao là một trong những mối đe dọa cho sức khỏe cộng đồng, việc tìm kiếm thuốc kháng sinh mới thay thế có nguồn gốc thiên nhiên đã và đang là vấn đề được nhiều nhà khoa học quan tâm. Các dẫn xuất đơn vòng thơm từ địa y đã được chứng minh có hoạt tính kháng vi sinh vật hiệu quả. Trong khuôn khổ tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn từ địa y Việt Nam, đề tài “Nghiên cứu phân lập một số dẫn xuất đơn vòng thơm từ địa y *Usnea Undulata*” được thực hiện. **Mục tiêu nghiên cứu:** Phân lập và xác định cấu trúc một số dẫn xuất đơn vòng thơm từ địa y *U. undulata*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Địa y *U. undulata* thu hái tại vườn quốc gia Bidoup Núi Bà, tỉnh Lâm Đồng. Cao chiết được điều chế bằng phương pháp ngâm dầm có hỗ trợ siêu âm. Sử dụng phương pháp sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, kết tinh lại để phân lập hợp chất tinh khiết. Cấu trúc các hợp chất được xác định bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR. **Kết quả:** Từ 100g địa y chiết được 6,12g cao acetone. Phân lập và xác định được cấu trúc của hai hợp chất là methyl β -orcinolcarboxylate (1) và orsellinic acid (2). **Kết luận:** Nghiên cứu đã phân lập và xác định được cấu trúc của hai hợp chất đơn vòng thơm là methyl β -orcinolcarboxylate và orsellinic acid, góp phần khảo sát thành phần hóa học của địa y *U. undulata* thu hái tại Việt Nam.

Từ khóa: Địa y, methyl β -orcinolcarboxylate, orsellinic acid, *Usnea*.

ABSTRACT

STUDY ON ISOLATION OF TWO AROMATIC
MONOCYCLIC DERIVATIVES FROM LICHEN
USNEA UNDULATA STIRTON (PARMELIACEAE)

Hồ Thị Diễm Phương¹, Trương Tuấn Đạt¹, Nguyễn Thị Kim Ngân²,
Đỗ Thị Cẩm Hồng¹, Nguyễn Xuân Vinh¹, Nguyễn Thị Thu Trâm^{1*}

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

2. Can Tho University

Background: Rate of increase of antibiotic resistance is one of the biggest threats to global health. Screening for new and alternative antibiotics of natural origin is an urgent demand. Lichen aromatic monocyclic derivatives have been exhibited significantly antimicrobial activity. As part of our studies on antibacterial activity of Vietnamese lichens, a project "Study on isolation of aromatic monocyclic derivatives from lichen *Usnea Undulata*" was performed. **Objectives:** To isolate and determine the structure of some aromatic monocyclic derivatives from lichen *U. undulata*. **Material and methods:** Lichen *U. undulata* was collected in Bidoup Nui Ba National Park, Lam Dong province. The extract was prepared by maceration with ultrasonic-assisted. Using column chromatography, thin-layer chromatography, and recrystallization to isolate the pure compounds. The structures of isolated compounds were determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). **Results:** From 100g of lichen, 6.12g of acetone extract was obtained. Isolation and determination of structures of two compounds as methyl β -orcinolcarboxylate (1) and orsellinic acid

(2). **Conclusions:** The study isolated and determined the structure of two compounds methyl β -orcinolcarboxylate and orsellinic acid, contributing to study on the chemical composition of lichens *U. undulata* collected in Viet Nam.

Keywords: Lichen, methyl β -orcinolcarboxylate, orsellinic acid, *Usnea*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Địa y và các chất chuyển hóa thứ cấp từ địa y, đặc biệt là các dẫn xuất đơn vòng thơm, từ lâu đã được chứng minh có hoạt tính kháng vi sinh vật hiệu quả. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của địa y vẫn còn hạn chế dù rằng Việt Nam có nguồn địa y phong phú với hơn 1.000 loài được phát hiện [5]. Từ nghiên cứu thực địa chúng tôi nhận thấy loài *U. undulata*—một địa y dạng sợi—phân bố rộng khắp trên các cánh rừng thông tại tỉnh Lâm Đồng với số lượng đủ lớn để có thể thu hái phục vụ nghiên cứu. Loài *U. undulata* từ lâu đã được sử dụng trong y học cổ truyền với tác dụng kháng khuẩn, giảm tổn thương, kháng nấm [2], [6]. Kết quả khảo sát thành phần hóa học cho thấy *U. undulata* chứa: Methyl orsellinate, 7-hydroxyl-5-methoxy-6-methylphtalide, acid usnic, acid salazinic [3]; atranorin, lecanorol, salazinic acid, 1 β -acetoxyhopan3 β , 22-diol [4]. Tiếp tục định hướng nghiên cứu tìm kiếm nguồn hợp chất thiên nhiên có hoạt tính kháng khuẩn trong địa y, góp phần nâng cao giá trị sử dụng của địa y Việt Nam, chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu: Phân lập và xác định cấu trúc của hai hợp chất đơn vòng thơm từ địa y *U. undulata*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Địa y *U. undulata* được thu hái tại vườn quốc gia Bidoup Núi Bà, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam vào tháng 3 năm 2021 và được định danh bởi tiến sĩ Kawinnat Buaruang (Ngành Thực vật học, khoa Sinh học, Đại học Ramkhamhaeng, Thái Lan). Mẫu ký hiệu No *Usnea*-1217 được lưu tại Bộ môn Hóa học, khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Chiết xuất cao:** Sử dụng phương pháp chiết ngâm dầm hỗ trợ siêu âm, cụ thể 100g bột địa y khô được ngâm với dung môi aceton (500mL x 3 lần) ở nhiệt độ phòng trong 24h. Siêu âm 30 phút x 3 lần. Lọc, gom các dịch chiết, cô quay dưới áp suất kém cho bay hết dung môi, thu được cao tương ứng.

- **Phân lập các hợp chất:** Sắc ký cột với silica gel pha thuận (40-63 μ m, Kieselgel 60, Merck, Darmstadt, Germany). Theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng (Kieselgel 60F₂₅₄ plates (Merck, Darmstadt, Germany). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở bước sóng 254nm và thuốc thử vanillin (bao gồm 1% vanillin trong ethanol tuyệt đối và dung dịch H₂SO₄ 5% trong ethanol tuyệt đối, v/v 1:1).

- **Xác định cấu trúc các hợp chất:** Cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các thông số vật lý, phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR [4] và so sánh dữ liệu phổ thu được với các dữ liệu phổ đã công bố. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy Bruker DMX 300MHz, tại Viện Hóa hợp chất thiên nhiên ICSN, Pháp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

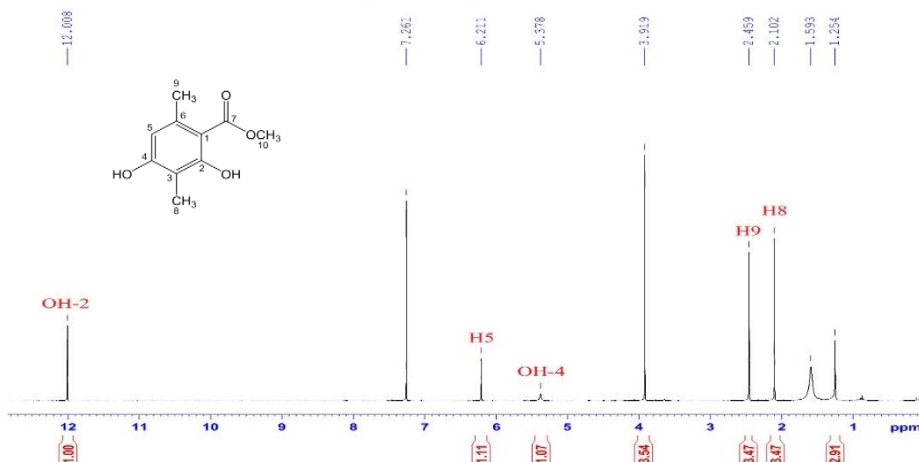
3.1. Chiết xuất cao

Từ 100g bột địa y chiết kiệt với dung môi aceton thu được 6,12g cao, hiệu suất đạt được 6,12%. Cao chiết này được tiến hành phân lập các hợp chất đơn vòng thơm.

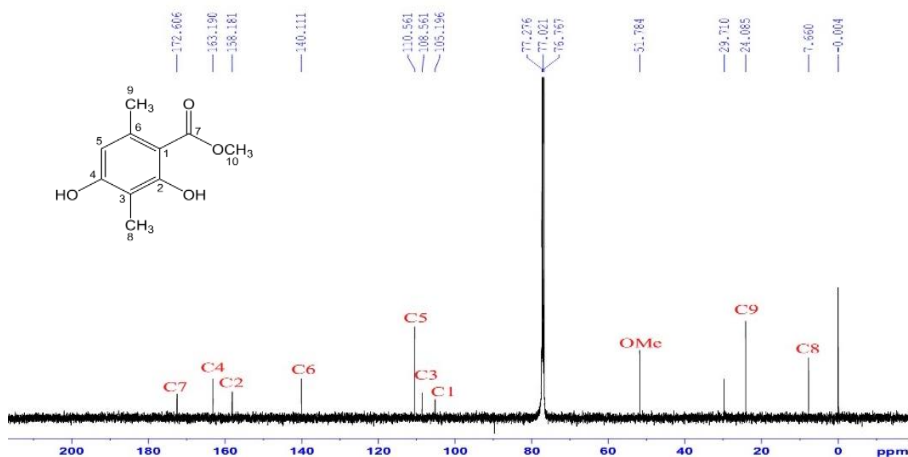
3.2. Phân lập các hợp chất

Tiến hành sắc ký cột với silica gel pha thuận trên 6,12g cao aceton. Theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng. Giải ly bằng hệ dung môi hexan:ethyl acetat với tỉ lệ ethyl acetat tăng dần thu được 3 phân đoạn UAB1, UAB2 và UAB3. Từ phân đoạn UAB1, tiếp tục sắc ký cột với hệ dung môi hexan:ethyl acetat (95:5) và thu được hợp chất (1) (24 mg). Từ phân đoạn UAB3, tiếp tục sắc ký cột với hệ dung môi hexan:ethyl acetat (90:10) thu được hợp chất (2) (96 mg).

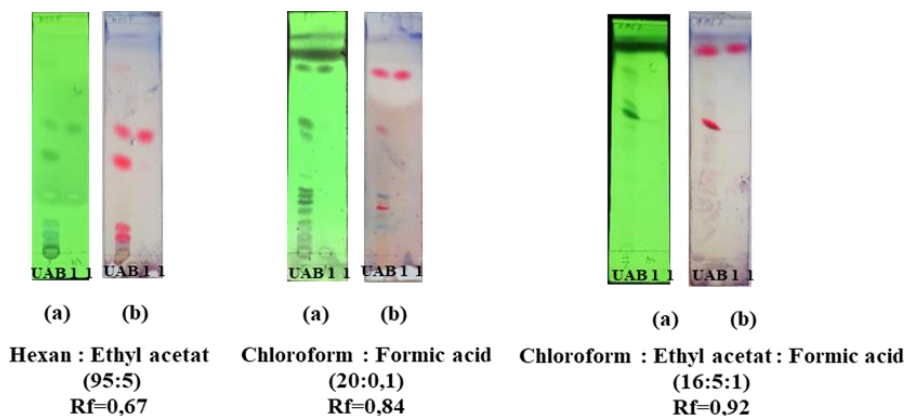
Hợp chất (1): Dạng bột màu trắng; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ_{H} ppm 6,20 (1H, s), 2,10 (3H, s), 2,46 (3H, s), 3,92 (3H, s), 12,01 (1H, s), 5,38 (1H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ_{C} ppm 105,2 (C-1), 158,2 (C-2), 108,6 (C-3), 163,2 (C-4), 110,6 (C-5), 140,1 (C-6), 172,6 (C-7), 7,7 (C-8), 24,1 (C-9), 51,8 (C-10).



Hình 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất (1)



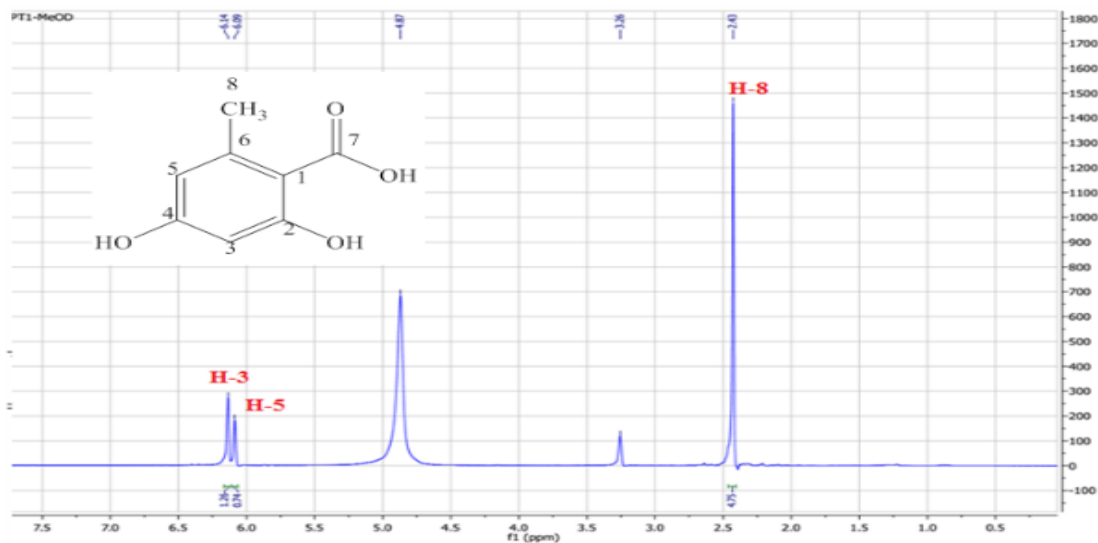
Hình 2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất (1)



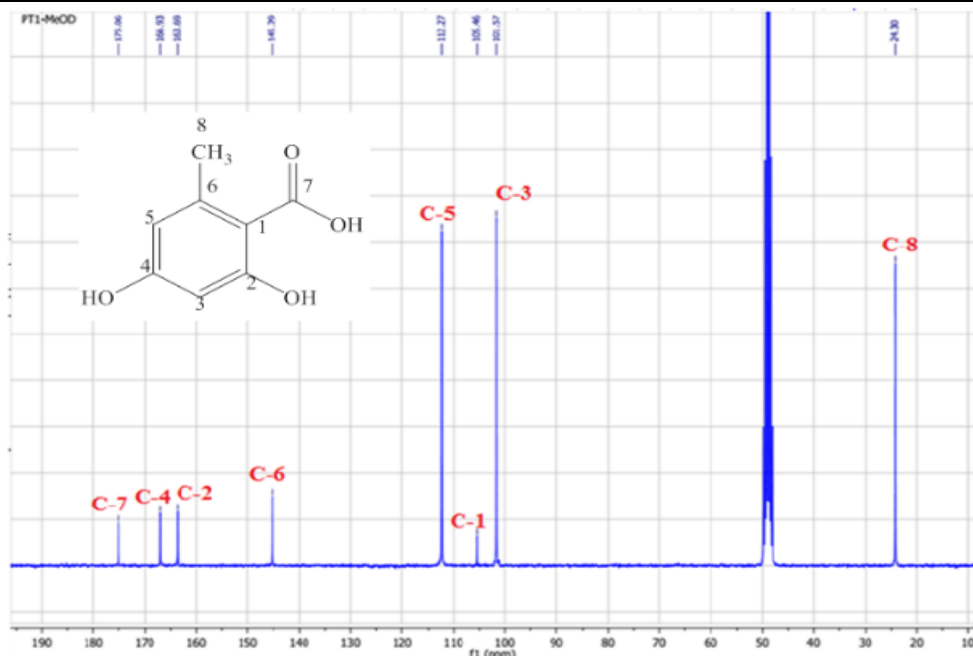
(a): UV 254nm; (b): thuốc thử vanillin

Hình 3. Kết quả sắc ký lớp mỏng của hợp chất (1)

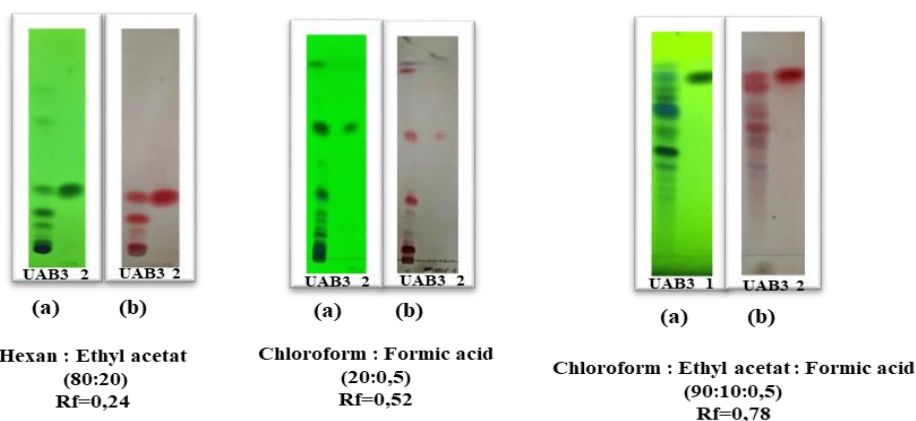
Hợp chất (2): Dạng bột màu trắng; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CD_3OD) δ_{H} ppm 6,14 (*brs*) 6,09 (*brs*) 2,43 (*s*); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ_{C} ppm 105,50 (C-1), 163,70 (C-2), 101,60 (C-3), 166,90 (C-4), 112,30 (C-5) 145,30 (C-6), 175,10 (C-7), 24,30 (C-8).



Hình 4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất (2)



Hình 5. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất (2)



(a): UV 254 nm; (b): thuốc thử vanillin
Hình 6. Kết quả sắc ký lớp mỏng của hợp chất (2)

IV. BÀN LUẬN

3.1. Chiết xuất cao

Có nhiều phương pháp chiết xuất cao từ nguyên liệu thô ban đầu như ngâm dầm, ngâm kiệt... Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng phương pháp ngâm dầm có hỗ trợ siêu âm. Đây là một trong những phương pháp chiết hiệu quả, tiết kiệm thời gian và dung môi.

3.2. Phân lập các hợp chất từ địa y

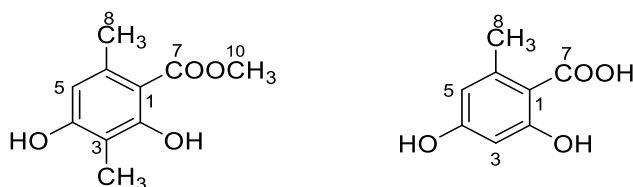
Từ kết quả sắc ký lớp mỏng cho thấy các hợp chất (1) và (2) chỉ hiện 1 vết duy nhất tắt quang dưới UV 254nm và 1 vết màu hồng với thuốc thử vanillin trong ba hệ dung môi

giải ly khác nhau, dự đoán sơ bộ độ tinh sạch của các hợp chất phân lập. Cấu trúc của các hợp chất này được giải đoán dựa vào phổ NMR.

Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập:

Hợp chất (1): Phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện hai tín hiệu của nhóm methyl tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 2,10 (3H, s) và 2,46 (3H, s), một nhóm methoxy tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 3,92 (3H, s), một proton methyl của nhân thơm tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 6,21 (1H, s), hai -OH phenol tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 5,38 (1H, s) và 12,01 (1H, s). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy tín hiệu của nhóm carbonyl ester ($\delta_{\text{C ppm}}$ 172,6) một nhóm methoxy ($\delta_{\text{C ppm}}$ 51,8), hai nhóm methyl ($\delta_{\text{C ppm}}$ 7,7 và 24,1), sáu carbon methyl vòng thơm ($\delta_{\text{C ppm}}$ 105,2, 108,6, 110,6, 140,1, 158,2 và 163,2). So sánh với dữ liệu phổ thu được với hợp chất methyl β -orcinolcarboxylat thấy có sự tương đồng nên đề nghị cấu trúc hợp chất (1) là methyl β -orcinolcarboxylat [8]. Hợp chất này đã được đánh giá có hoạt tính kháng khuẩn trên HCV [1].

Hợp chất (2): Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy tín hiệu của 2 proton nhân thơm tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 6,09 (1H, brs) và 6,14 (1H, brs). Ở vùng từ trường cao xuất hiện tín hiệu một mũi đơn tại $\delta_{\text{H ppm}}$ 2,43 (3H, s) tương ứng với 3 proton nhóm methyl gắn trên nhân thơm. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy sự xuất hiện của 1 carbon nhóm methyl tại $\delta_{\text{C ppm}}$ 24,3 (C-8), 1 carbon carbonyl tại $\delta_{\text{C ppm}}$ 175,1 (C-7), 6 carbon nhân thơm trong đó có 2 carbon liên kết với oxy tại $\delta_{\text{C ppm}}$ 166,9 (C-4) và 163,7 (C-2) cùng 4 carbon còn lại tại $\delta_{\text{C ppm}}$ là 145,3 (C-6), 112,3 (C-5), 105,5 (C-1) và 101,6 (C-3). So sánh dữ liệu phổ cho thấy hợp chất (2) hoàn toàn phù hợp với hợp chất orsellinic acid [8].



methyl β -orcinolcarboxylat (1)

orsellinic acid (2)

Hình 7. Cấu trúc của hợp chất (1) và (2)

Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của methyl β -orcinolcarboxylat và orsellinic acid [3], [7], [9], [10]. Định hướng phân lập hợp chất đơn vòng thơm có hoạt tính kháng khuẩn định hướng làm chất đối chiếu hóa học từ địa y *U. undulata* bước đầu đạt mục tiêu.

V. KẾT LUẬN

Từ 6,12g cao chiết aceton của địa y *U. undulata* bước đầu đã phân lập và xác định cấu trúc của hai hợp chất đơn vòng thơm là methyl β -orcinolcarboxylat (1,24 mg) và orsellinic acid (2,96 mg). Các nghiên cứu tối ưu hóa quy trình phân lập và định lượng hai hợp chất đơn vòng thơm này đang được tiếp tục thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Thu Trâm, Trương Hoài Phong, Tống Hồ Đạt, Vũ Thị Huyền, Lohézic-Le Dévéhat Françoise và Le Seyec Jacques (2020), “Khảo sát khả năng ức chế virus viêm gan C của các hợp chất cô lập từ loài địa y *Parmotrema tinctorum* (NYL.) HALE”, *Tạp chí khoa học trường Đại học Cần Thơ*, tập 56, Số 1A (2020), 69-74.

2. Nguyen Thi Thu Tram , Dinh Hoang Anh , Huynh Hoang Thuc , Nguyen Trong Tuan (2020), “Investigation of chemical constituents and cytotoxic activity of the lichen *Usnea undulata*” ,*Vietnam J. Chem*, 58(1), 63
3. Trung Do, Trang T.H. Nguyen, Thai N. Ha, Nguyen T.H. Nhu, Nguyen Van Lam, Nguyen T.T. Tram, and Yen Pham (2019), “Identification of Anti-*Helicobacter pylori* Compounds From *Usnea undulata*”, *Natural Product Communications*, pp.1-3.
4. Tram Thi Thu Nguyen, Trinh Thi Diem Vo, Yen Hoang Tran, Dat Tuan Truong, Duy Chi Phan, Phuoc Huu Le (2021), “Photoprotective Activity of Lichen Extracts and Isolated Compounds in *Parmotrema Tinctorum*”, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, Volume 11, Issue 5, 12653-12661.
5. Duong Thuc Huy (2015), “Study on chemical constituents and biological activities of four lichens growing in the South of Vietnam”, PhD thesis, Vietnam National University, Ho Chi Minh City, University of Science.
6. Prashith Kekuda TR, Mesta AR, Vinayaka KS, Darshini SM and Akarsh S, (2016), “Antimicrobial Activity of *Usnea ghattensis* G. Awasthi and *Usnea undulata* Stirt”, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(12), 83-88.
7. Thiago I.B.L., Roberta G.C, Nidia C.Y, et al. (2008), “Radical-scavenging activity of orsellinates”, *Chem. Pharm. Bull.* , 56, pp.1551-1554.
8. Huneck S. and Yoshimura I. (1996), *Identification of lichen substances*. Springer, 160-163.
9. Pathak, Ashutosh (2017), “Potencial of methyl- β -orcinolcarboxylate as antibiofilm agent: an in silico study”, *Pharma Science Monitor*, Vol. 8 Issue 3, 305-315.
10. Vinitha M. Thadhan and Veranja Karunaratne (2017), Potential of Lichen Compounds as Antidiabetic Agents with Antioxidative Properties: A Review, *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2017, Article ID 2079697, 1-11.

(Ngày nhận bài: 14/7/2022 – Ngày duyệt đăng: 15/9/2022)
