

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY GẮM (GNETUM MONTANUM MARKGR)

Vũ Thị Lan Phương

Viện Sinh - Nông

Email: phuongvtl@dhhp.edu.vn

Ngày nhận bài: 09/01/2019

Ngày PB đánh giá: 18/02/2019

Ngày duyệt đăng: 21/02/2019

TÓM TẮT:

Cây Gắm (*Gnetum montanum* Markgr) phân bố ở miền núi phía bắc Việt Nam. Thân cây gắm được sử dụng làm thảo dược để điều trị bệnh về viêm khớp, căng cơ, sốt rét. Các nghiên cứu về hóa thực vật trước đây về dây Gắm cho thấy sự xuất hiện của các hợp chất flavonoid và stilbenoid. Ở Việt Nam, có rất ít nghiên cứu về thành phần hóa học của dây Gắm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo phân lập và xác định cấu trúc của 3 hợp chất trans-Resveratrol (1), Resveratrolside (2) và Isorhapontigenin-13-glucoside (3) từ dây Gắm thu hái tại Tuyên Quang, Việt Nam. Cấu trúc hóa học được xác định bằng các phương pháp phổ và so sánh với tài liệu tham khảo.

Từ khóa: Dây Gắm, *Gnetum montanum* Markgr, trans-Resveratrol, Resveratrolside, Isorhapontigenin-13-glucoside

A STUDY ON THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF *GNETUM MONTANUM* MARKGR

ABSTRACT

Gnetum montanum Markgr is distributed in the northern mountainous parts of Vietnam and is used as a Vietnamese herbal medicine for the treatment of rheumatoid arthritis, muscular strain and malaria. Previous phytochemical investigations on *Gnetum* plants have revealed an abundance of flavonoids and stilbenoids. In Vietnam, there are not many researches on the chemical composition of the *Gnetum montanum* Markgr. In this study, we reported the isolation and structural determination of 3 compounds including trans-resveratrol (1), resveratrolside (2) and isorhapontigenin-13-glucoside (3) from *Gnetum montanum* Markgr collected in Tuyenquang province, Vietnam. Their chemical structures were determined by spectroscopic methods and comparison with reported literatures.

Keywords: *Gnetum montanum* Markgr, trans-resveratrol, resveratrolside and isorhapontigenin -13-glucoside.

1. MỞ ĐẦU

Cây gắm còn gọi là dây sót, dây mầu, dây gắm lót, vương tôn, có tên khoa học là *Gnetum montanum* Markgr, thuộc họ dây gắm Gnetaceae. Cây gắm mọc hoang tại các vùng rừng núi phía bắc nước ta. Người ta dùng quả để ăn, thân gắm hay còn gọi là dây gắm để làm thuốc. Trong nhân dân thường dùng thân cây gắm sắc uống làm thuốc giải các chất độc, ngoài ra còn làm thuốc chữa thấp khớp, sốt rét, đau nhức xương [1].

Thành phần hóa học của dây Gắm và các cây thuộc chi *Gnetum* cho thấy sự xuất hiện của các hợp chất stilbenoids, alkaloids và flavonoids [2-3]. Tuy nhiên các nghiên cứu về thành phần hóa học có trong dây Gắm ở Việt Nam còn rất hạn chế. Trong bài báo này chúng tôi nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc của 3 hợp chất là *trans*-Resveratrol (1), Resveratrolside (2) và Isorhapontigenin-13-glucoside (3) từ cặn chiết ethyl acetate của thân cây Gắm thu hái tại Tuyên Quang.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân cây Gắm (*Gnetum montanum* Markgr) được thu tại Tuyên Quang vào tháng 9/ 2017 và được xác định tên khoa học bởi PGS.TS. Trần Thế Bách, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp sắc ký

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn (Merck 60 F₂₅₄). Phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm hay hiện màu thuốc thử H₂SO₄ 10%. Sắc ký cột được thực hiện trên chất hấp phụ silica gel (Merck) cỡ hạt 40-63 µm hay Sephadex LH-20.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

Cấu trúc các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR và phổ khối MS. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS là chất chuẩn nội. Phổ khối lượng (ESI-MS) được đo trên hệ thống sắc kí lỏng ghép khối phổ LC/MS Agilent 1260, sử dụng phương pháp phun mù điện tử.

2.3 Thực nghiệm

Thân cây Gắm (*Gnetum montanum* Markgr) được rửa sạch, chặt nhỏ, phơi khô, xay thành bột. Bột dây Gắm xay nhỏ (2 kg) được ngâm chiết với MeOH (10 L x 3 lần) ở 25°C trong 24 giờ. Gộp các dịch chiết và cất loại dung môi MeOH dưới áp suất giảm thu được cao chiết tổng. Tiếp đó, thêm 1L nước vào cao chiết MeOH và chiết lần lượt với dung môi *n*-hexane, ethyl acetate (1 L x 3 lần). Dịch chiết *n*-hexane, EtOAc được cô cất chân không thu được cặn chiết *n*-hexane (6g) và EtOAc tương ứng (50g).

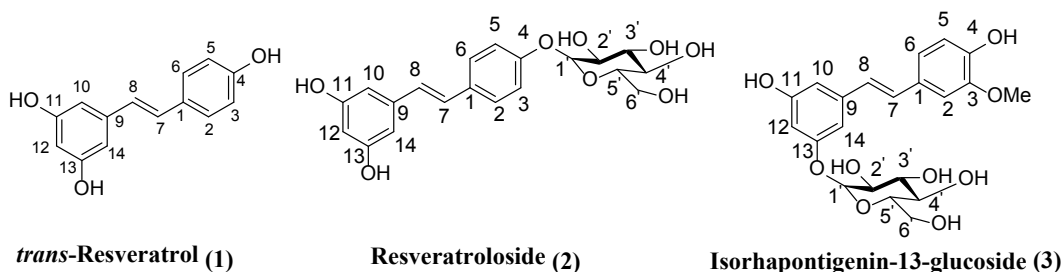
Cặn EtOAc (50g) được phân tách bằng sắc ký cột trên silica gel, rửa giải

gradient với *n*-hexan-ethyl axetat từ 0-100%, các phân đoạn được phân tách được gộp lại dựa trên sắc ký lớp mỏng và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được 10 phân đoạn ký hiệu từ GE1 đến GE10.

Phân đoạn GE6 (1,3g) được tinh chế qua cột Sephadex với hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (2/8) thu được 2 phân đoạn GE6.1 và GE6.2. Phân đoạn GE6.2 (85 mg) được tiếp tục tinh chế qua cột Sephadex với

hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ thu được chất sạch **1** (6 mg).

Phân đoạn GE9 (1 g) được tinh chế qua cột Sephadex với hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (2/8) thu được 3 phân đoạn GE9.1 đến GE9.3. Phân đoạn GE9.3 (30 mg) tinh chế qua sắc ký lớp mỏng điều chế với hệ dung môi rửa giải EtOAc/MeOH (19/1) thu được chất sạch **2** (7 mg) và **3** (9 mg).



***trans*-Resveratrol (1):** Chất rắn màu nâu nhạt, điểm nóng chảy: 254–256°C, ESI-MS: m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): Bảng 1:

Resveratrol (2): Chất rắn màu nâu nhạt, điểm nóng chảy: 235 - 238 °C, ESI-MS: m/z 389 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): Bảng 2:

Isorhapontigenin-13-glucoside (3), Chất rắn màu nâu nhạt, điểm nóng chảy: 144–146 °C, ESI-MS: m/z 421 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): Bảng 2.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Hợp chất 1 thu được dưới dạng chất rắn màu nâu. Phổ khối ESI-MS cho pic

ion giả phân tử m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gợi ý cho CTPT của **1** là $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$ ($M = 228$).

Phổ ^1H -NMR của hợp chất 1 xuất hiện tín hiệu đặc trưng cho hợp chất *trans*-stilbene với tín hiệu 2 olefinic proton tại δ_{H} 6.97 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-7), 6.82 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-8), tín hiệu vòng thơm hệ A_2B_2 tại δ_{H} 7.37 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2,6); 6.78 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3,5), 3 proton thuộc vòng thế 1,3,5-benzene ở δ_{H} 6.47 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-10, H-14), 6.18 (1H, t, $J = 2.5$ Hz, H-12).

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 1 có 10 tín hiệu carbon thuộc vùng thơm, trong đó có 4 tín hiệu là tín hiệu kép tại các vị trí δ_{C} 159.6 (C-11, C-13), 105.8 (C-10, C-14), 128.7 (C-2, C-6), 116.5 (C-3, C-5).

Phân tích dữ liệu phổ kết hợp so sánh tài liệu tham khảo cho phép xác định

hợp chất này là hợp chất stilben *trans*-Resveratrol [4]. Đây là 1 hợp chất đã được báo cáo phân lập từ cây Gấm. *trans*-Resveratrol là hợp chất với nhiều hoạt tính

sinh học đáng quan tâm như chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư [5-6], được sử dụng trong nhiều thực phẩm chức năng.

Bảng 1. Số liệu phổ NMR của hợp chất 1 và *trans*-Resveratrol [4]

Vị trí	[*] δ _C	^a δ _C	^a δ _H	[*] δ _H
			(mult., <i>J</i> = Hz)	(mult., <i>J</i> = Hz)
1	130.6	130.4	-	-
2	129.0	128.7	7.37 (d, 8.5)	7.35 (d, 8.5)
3	116.0	116.5	6.78 (d, 8.5)	6.77 (d, 8.5)
4	158.5	158.3	-	-
5	116.0	116.5	6.78 (d, 8.5)	6.77 (d, 8.5)
6	129.0	128.7	7.37 (d, 8.5)	7.35 (d, 8.5)
7	127.1	127.0	6.97 (d, 16)	6.94 (d, 16.5)
8	129.6	129.4	6.82 (d, 16)	6.80 (d, 16.5)
9	141.5	141.3	-	-
10	105.9	105.8	6.47 (d, 2.0)	6.46 (d, 2.5)
11	159.8	159.6	-	-
12	102.8	102.6	6.18 (t, 2.5)	6.17 (t, 2.5)
13	159.8	159.6	-	-
14	105.9	105.8	6.47 (d, 2.0)	6.46 (d, 2.5)

^aδ_H, ^aδ_C: Hợp chất 1, ^{*}δ_C, ^{*}δ_H: *trans*-Resveratrol [4]

Hợp chất 2 thu được từ dịch chiết ethyl acetate dưới dạng chất rắn màu nâu. Phổ khối ESI-MS cho pic ion giả phân tử *m/z* 389 [M-H]⁻, gợi ý cho CTPT của hợp chất 2 là C₂₀H₂₂O₈ (M = 390). Trên phổ ¹H-NMR của 2 xuất hiện tín hiệu đặc trưng cho hợp chất stilbene glucoside với tín hiệu 2 olefinic proton nối đôi dạng *trans* tại δ_H 7.04 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-7), 6.89 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-8), tín hiệu hệ A₂B₂ tại δ_H 7.47 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2,6), 7.10 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3,5), 3 proton thuộc vòng thế 1,3,5-benzene đối xứng ở δ_H 6.48 (2H, d, *J* = 2.0 Hz, H-10, H-14), 6.20 (1H, t, *J* = 2.5 Hz, H-12). Tín hiệu của anome proton tại

4.92 (2H, d, H-1'), tín hiệu của các proton của đường tại δ_H 3.93-3.40 (6H, m).

Phổ ¹³C-NMR của hợp chất 2 có 10 tín hiệu carbon thuộc vùng thơm, trong đó có 4 tín hiệu là tín hiệu kép. Tín hiệu carbon anome tại 102.2 (C-1'), tín hiệu của 5 carbon khác thuộc phân tử đường là 78.0 (C-5'), 78.2 (C-3'), 74.9 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.5 (C-6').

Các số liệu phổ của hợp chất 2 tương tự như hợp chất 1 ngoại trừ có thêm các tín hiệu của 1 phân tử đường. Hợp chất 2 được xác định là Resveratrololide từ việc phân tích dữ liệu phổ kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [7].

Hợp chất 3 thu được dưới dạng chất rắn màu nâu. Phổ khối ESI-MS cho pic ion giả phân tử m/z 421 $[M+H]^+$, gợi ý cho CTPT của hợp chất 3 là $C_{21}H_{24}O_9$ ($M = 420$).

Phổ 1H -NMR của hợp chất 3 xuất hiện tín hiệu đặc trưng cho hợp chất *trans*-stilbene glucoside với tín hiệu 2 olefinic proton nối đôi dạng *trans* tại δ_H 7.06 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H-7), 6.89 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H-8), tín hiệu hệ ABX tại δ_H 7.14 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 6.99 (1H, d, H-6), 6.79 (1H, dd, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3 proton không đối xứng thuộc vòng thế 1,3,5-benzene ở δ_H 6.82 (1H, br s, H-14), 6.65 (1H, br s, H-10)

và 6.50 (1H, br s, H-12), 1 nhóm methoxy tại 3.91 (s, OMe), tín hiệu của anomer proton tại 4.94 (2H, d, H-1'), tín hiệu của đường tại 3.93-3.40 (6H, m).

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 3 có 14 tín hiệu carbon thuộc vùng thơm, tín hiệu carbon anome tại 102.2 (C-1'), tín hiệu của 5 carbon khác thuộc phân tử đường, 1 nhóm OMe tại 56.4 (OMe).

Từ số liệu phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR của **3** kết hợp so sánh tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất này là Isorhapontigenin-13-glucoside [3].

Bảng 2: Số liệu phổ NMR của 2, 3 và tài liệu tham khảo

Vị trí	2 và tài liệu công bố [7]				3 và tài liệu công bố [3]			
	$^a\delta_C$	$^a\delta_C$	$^a\delta_H$ (mult., $J=Hz$)	$^a\delta_H$ (mult., $J=Hz$)	$^b\delta_C$	$^b\delta_C$	$^b\delta_H$ (mult., $J=Hz$)	$^b\delta_H$ (mult., $J=Hz$)
1	133.4	133.4	-	-	130.9	130.9	-	-
2	128.9	128.8	7.47 (d, 8.5)	7.46 (d, 8.6)	121.4	121.4	7.14 (d, 1.5)	7.11 (br s)
3	118.2	117.9	7.10 (d, 8.5)	7.09 (d, 8.6)	149.2	149.2	-	-
4	159.0	158.7	-	-	147.7	147.8	-	-
5	118.2	117.9	7.10 (d, 8.5)	7.09 (d, 8.6)	116.3	116.3	6.79 (d, 8.5)	6.78 (d, 8.3)
6	129.2	128.8	7.47 (d, 8.5)	7.46 (d, 8.6)	110.5	110.5	6.99 (d, 8.5)	6.97 (d, 8.3)
7	128.9	128.5	7.04 (d, 16)	7.03 (d, 16)	130.3	130.2	7.06 (d, 16.5)	7.04 (d, 16.1)
8	128.8	128.5	6.89 (d, 16)	6.89 (d, 16)	126.9	126.9	6.89 (d, 16.5)	6.89 (d, 16.1)
9	141.0	141.0	-	-	141.4	141.3	-	-
10	106.2	105.9	6.48 (d, 2.0)	6.49 (br s)	108.4	108.4	6.65 (br s)	6.63 (br s)
11	160.1	159.7	-	-	159.6	159.6	-	-
12	103.3	102.9	6.20 (t, 2.5)	6.20 (br s)	104.1	104.2	6.50 (br s)	6.46 (br s)
13	160.1	159.7	-	-	160.4	160.4	-	-
14	106.2	105.9	6.48 (d, 2.0)	6.49 (br s)	107.0	107.0	6.82 (br s)	6.79 (br s)
1'	102.5	102.2	4.92 (d, 7.0)	4.90 (d, 7.6)	102.3	102.2	4.94 (d, 7.5)	4.91 (d, 7.6)
2'	75.2	74.9	3.40-3.49 (m)	3.40-3.56 (m)	74.9	74.9	3.40-3.49 (m)	-
3'	78.5	78.2	3.40-3.49 (m)	3.40-3.56 (m)	78.0	78.2	3.40-3.49 (m)	-
4'	71.7	71.5	3.40-3.49 (m)	3.40-3.56 (m)	71.4	71.4	3.40-3.49 (m)	-
5'	78.3	78.0	3.40-3.49 (m)	3.40-3.56 (m)	77.8	77.8	3.40-3.49 (m)	-
6'a	62.8	62.5	3.92 (dd, 11.5, 2.0)	3.92 (dd, 12.0, 1.6)	62.6	62.6	3.92 (dd, 11.5, 2.0)	-
6'b			3.73 (dd, 12.0, 5.5)	3.70 (dd, 12.0, 5.6)			3.73 (dd, 12.0, 5.5)	-
OMe	-	-	-	-	56.4	56.4	3.91 (s)	3.89 (s)

$^a\delta_H$ $^a\delta_C$: Hợp chất 2, $^b\delta_C$ $^b\delta_H$: resveratrolside [7]. $^b\delta_H$ $^b\delta_C$: Hợp chất 3, $^b\delta_C$ $^b\delta_H$: Isorhapontigenin-13-glucoside [3].

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Từ cặn chiết etyl acetate của thân cây
Gấm (*Gnetum montanum* Markgr). thu hái

tại Tuyên Quang đã phân lập và xác định
cấu trúc của 3 hợp chất nhóm stilben là
trans-resveratrol (**1**), resveratrolside (**2**) và
isorhapontigenin-13-glucoside (**3**).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, 662.
2. Tian, L. W., et al. (2017), 'A new dimeric stilbene from the lianas of *Gnetum parvifolium*', *Natural Product Research*, 31 (13), 1495-1500.
3. Wang, L. Q., Zhao, Y. X., Hu, J. M., Jia, A. Q., and Zhou, J. (2008), 'Stilbene derivatives from *Gnetum montanum* Markgr. f. *egalocarpum* Markgr', *Helvetica Chimica Acta*, 91(1), 159-164.
4. Lu, C. L., et al. (2015), Inhibitory effects of chemical compounds isolated from the rhizome of *Smilax glabra* on nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in lipopolysaccharide-induced RAW264. 7 cell, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
5. Subbaramaiah, K., et al (1998), 'Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells', *Journal of Biological Chemistry*, 273(34), 21875-21882.
6. Suh, J., Kim, D. H., and Surh, Y. J. (2018), 'Resveratrol suppresses migration, invasion and stemness of human breast cancer cells by interfering with tumor-stromal crosstalk', *Archives of biochemistry and biophysics*, 643, 62-71.
7. Vastano, B. C., Chen, Y., Zhu, N., Ho, C. T., Zhou, Z., & Rosen, R. T. (2000), 'Isolation and Identification of Stilbenes in Two Varieties of *Polygonum cuspidatum*', *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(2), 253-256.