

# KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC PHẦN PHÂN ĐOẠN DICHLOROMETHANE LOÀI LONG ĐORM (*GENTIANA SCABRA* BUNGE)

INVESTIGATE THE CHEMICAL COMPOSITION OF DICHLOROMETHANE FRACTION  
OF *GENTIANA SCABRA* BUNGE

Bùi Thị Thu Trang<sup>1,\*</sup>

DOI: <http://doi.org/10.57001/huic5804.2024.223>

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hai hợp chất hóa học đã được phân lập từ phân đoạn dichloromethane của loài Long đorm (*Gentiana scabra* Bunge). Bằng phân tích phổ NMR một và hai chiều, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất 1 đã được xác định là gentioxepin, một hợp chất vòng benzene; và hợp chất 2 được xác định là  $\delta$ -tocopherol, một dẫn xuất của vitamin E. Cho đến nay, chưa có công bố nào về việc phân lập hợp chất gentioxepin từ loài *Gentiana scabra*. Nghiên cứu này đã góp phần làm sáng tỏ thành phần hóa học của loài Long đorm tại Việt Nam.

**Từ khóa:** Long đorm, *Gentiana scabra*, gentioxepin,  $\delta$ -tocopherol.

## ABSTRACT

In this study, two compounds were isolated from the dichloromethane fraction of *Gentiana scabra* Bunge. By analyzing 1D and 2D NMR spectra, combined to the comparison to literatures, compound 1 was determined to be gentioxepin, a benzene ring compound; and compound 2 was agreed with the structure of  $\delta$ -tocopherol, a derivative of vitamin E. Until now, there was no any report of isolation of gentioxepin from *Gentiana scabra*. This research contributed to clarify the chemical compositions of this species in Vietnam.

**Keywords:** Longdan, *Gentiana scabra*, gentioxepin,  $\delta$ -tocopherol.

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

\*Email: [trangbtt@hau.edu.vn](mailto:trangbtt@hau.edu.vn)

Ngày nhận bài: 04/3/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 25/5/2024

Ngày chấp nhận đăng: 25/6/2024

## 1. GIỚI THIỆU

Long đorm có tên khoa học là *Gentiana scabra* Bunge (*G. scabra*), là một loài thực vật thuộc chi *Gentiana* - một chi thực vật lớn thuộc họ Long đorm (Gentianaceae) với hơn 400 loài trên thế giới [1], phân bố chủ yếu ở vùng núi cao của một số nước như Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, ... Ở Việt Nam, long đorm được tìm thấy ở nhiều tỉnh phía bắc như Lạng Sơn, Cao Bằng. Cho đến nay, có 12 loài thuộc họ Long đorm được biết đến ở nước ta, đa số được dùng trong

các bài thuốc dân gian và y học cổ truyền chữa các bệnh về an thần, cao huyết áp, lợi tiểu, đau họng, sốt cao, ... [2-4]. Nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này cho thấy đây là loài thực vật có các lớp chất khá đa dạng, chủ yếu là các hợp chất iridoid, xanthone, flavonoid, triterpenoid, và một số hợp chất khác [1, 5]. Các thành phần này mang đến cho loài những tác dụng sinh học đáng quý như bảo vệ gan [6, 7], bảo vệ tim mạch [8], bảo vệ da ức chế sự hình thành hắc tố ở chuột [9], bảo vệ phổi, chống oxy hóa, kháng vi sinh vật, nấm, ... [1, 10, 11]. Được sử dụng trong y học cổ truyền và được sự quan tâm của các nhà khoa học trên thế giới nhưng tại Việt Nam, rất ít các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này được công bố. Nhằm góp phần làm sáng tỏ thành phần hợp chất của long đorm, nghiên cứu này đã tiến hành phân lập phân đoạn dichloromethane của rễ *G. scabra*. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần xây dựng dữ liệu về thành phần hóa học của loài, giúp định hướng cho các nghiên cứu chuyên sâu về hoạt tính sinh học của loài này ở Việt Nam.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Thiết bị và hóa chất

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được tiến hành trên máy Bruker AVANCE NEO 600MHz. Sắc ký cột được tiến hành trên các cột pha tĩnh silica gel (Kiesegel 60, 70 - 230 mesh và 230 - 400 mesh, Merck), cột sắc ký pha tĩnh RP-18 (75 $\mu$ m, YMC Fuji Silysia Chemical Ltd., Kasugai, Nhật). Các hóa chất chuẩn được mua từ Sigma - Aldrich.

### 2.2. Mẫu thực vật

Phần rễ long đorm *G. scabra* được mua tại Công ty cổ phần đông y Trường Xuân. Mẫu tiêu bản ký hiệu LDTX2020 được lưu giữ tại Phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu khô sau đó được nghiền nhỏ, bảo quản trong túi nilon đến khi nghiên cứu.

### 2.3. Chiết xuất và phân lập

Rễ loài long đorm đã sấy khô được nghiền nhỏ và được ngâm chiết 3 lần với methanol ở nhiệt độ phòng với sự hỗ

trợ của siêu âm. Mỗi lần sử dụng 5L methanol và chiết siêu âm trong 60 phút. Sau khi lọc, các dịch chiết methanol được gom lại và cất loại dung môi dưới áp suất giảm, thu được 170g cặn chiết methanol. Toàn bộ lượng cặn chiết methanol này đem trộn đều trong 2L nước và chiết lần lượt với dichloromethane và ethyl acetate. Mỗi loại dung môi được chiết 3 lần, mỗi lần 2L thu được các phân đoạn dichloromethane, ethyl acetate và phần nước còn lại.

Phân đoạn chiết dichloromethane (34g) được tẩm với silica gel và chạy sắc ký cột với hệ dung môi n-hexane/acetone tăng dần thể tích acetone (1/0, 40/1, 20/1, 10/1, 5/1, 2,5/1, 1/1, 0/1) thu được 8 phân đoạn ký hiệu D1-D8. Phân đoạn D3 (1,8g) tiếp tục được phân tách trên cột sắc ký sử dụng silica gel và hệ dung môi dichloromethane/ethyl acetate (3/1) thu được 2 phân đoạn ký hiệu D3A và D3B. Phân đoạn D3A tiếp tục được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi acetone/methanol/nước (9/1/2) thu được hợp chất **2** (14mg). Phân đoạn D5 (4,2g) được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi n-hexane/ethyl acetate (2/1) thu được 3 phân đoạn D5A-D5C. Tinh chế phân đoạn D5C trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi dichloromethane/acetone (5/1) thu được hợp chất **1** (27mg).

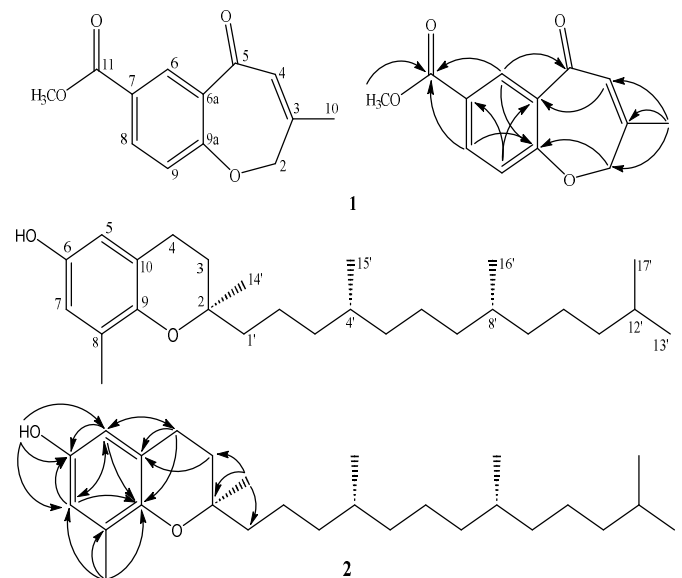
**Gentioxepine (1):** dạng dầu, không màu; công thức phân tử:  $C_{13}H_{12}O_4$ ; dữ liệu phổ  $^1H$  NMR (600MHz, DMSO- $d_6$ ) và  $^{13}C$  NMR (150MHz, DMSO- $d_6$ ) được thể hiện trong bảng 1.

**$\delta$ -tocopherol (2):** dạng dầu, không màu; công thức phân tử:  $C_{27}H_{46}O_2$ ; dữ liệu phổ  $^1H$  NMR (600MHz,  $CDCl_3$ ) và  $^{13}C$  NMR (150MHz,  $CDCl_3$ ) được thể hiện trong bảng 1.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** phân lập được dưới dạng dầu không màu. Trên phổ  $^1H$ -NMR và HMQC của hợp chất **1** nhận thấy các tín hiệu bao gồm 3 tín hiệu proton olefine thuộc hệ tương tác ABX tại  $\delta_H$  8,98 (1H, d,  $J = 1,8$ Hz) 8,19 (1H, dd,  $J = 1,8; 8,4$ Hz), 7,19 (1H, d,  $J = 8,4$ Hz); 1 tín hiệu proton olefine khác tại  $\delta_H$  6,43 (3H, s), một nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  4,69 (3H, s), một nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,82 (3H, s), và một nhóm methyl  $\delta_H$  1,85 (3H, s). Trên phổ  $^{13}C$ -NMR, HMQC và DEPT135 của hợp chất **1** nhận thấy tín hiệu của 12 carbon bao gồm hai tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_C$  187,7 và 166,4; 4 tín hiệu nhóm =CH tại  $\delta_C$  135,9; 134,1; 131,7 và 122,5; 4 tín hiệu carbon olefin khác không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_C$  163,4; 154,7; 129,5; và 126,5; một nhóm oxymethylene tại  $\delta_C$  73,6, một nhóm methoxy tại  $\delta_C$  52,6 và một nhóm methyl tại  $\delta_C$  22,9. Phân tích phổ HMBC nhận thấy: tương tác HMBC giữa H-6 ( $\delta_H$  8,98)/ H-8 ( $\delta_H$  8,19) và C-11 ( $\delta_C$  166,4)/ C-9a ( $\delta_C$  163,4) và giá trị độ chuyển dịch hóa học của C-11 ( $\delta_C$  166,4), C-9 ( $\delta_C$  163,4) cho thấy nhóm carbonyl C-11 và C-9a liên kết với oxy. Tiếp đó, tương tác giữa proton methoxy  $\delta_H$  3,82, và C-11 ( $\delta_C$  166,4) cho thấy đây là nhóm methocarboxy. Tương tác HMBC giữa H-6 ( $\delta_H$  8,98) và C-5 ( $\delta_C$  187,7) cho thấy nhóm carbonyl khác liên kết tại C-6a. Tương tác HMBC giữa proton H<sub>3</sub>-10 ( $\delta_H$  1,85) và C-2 ( $\delta_C$  73,6)/ C-3 ( $\delta_C$  154,7)/ C-4 ( $\delta_C$  131,7)

cho phép quy kết các số liệu phổ tại C-2, C-3, C-4, C-10; liên kết đôi giữa C-3 và C-4. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa H-9 ( $\delta_H$  7,19) và C-7 ( $\delta_C$  126,5)/ C-6a ( $\delta_C$  129,5), giữa H-4 ( $\delta_H$  6,43) và C-6a ( $\delta_C$  129,5) cho phép quy kết số liệu phổ tại C-7 và C-6a, và mạch liên kết C-4/C-5/C-6a. Tiếp đó tương tác HMBC giữa H-2 ( $\delta_H$  4,69) và C-9a ( $\delta_C$  163,4) khẳng định liên kết giữa C-2 và C-9a thông qua cầu oxy. Bằng các phân tích phổ trên cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **1** như hình 1. Hợp chất này đã được các nhà khoa học Trung Quốc công bố phân lập từ loài *Gentiana triflora* và được đặt tên là gentioxepine [12]. Cho đến nay, mới chỉ có duy nhất một công bố trên về phân lập và xác định cấu trúc hợp chất gentioxepine. Công bố cũng cho thấy hợp chất này thể hiện tốt tác dụng ức chế sản sinh NO do liposaccharide gây ra.



Hình 1. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của hợp chất **1** và **2**

Hợp chất **2** phân lập được dưới dạng dầu không màu. Trên phổ  $^1H$ -NMR và HMQC của **2** nhận thấy các tín hiệu bao gồm: 1 tín hiệu proton của nhóm OH liên kết với vòng thơm tại  $\delta_H$  10,67 (1H, br s), 2 tín hiệu proton thơm thuộc hệ tương tác meta tại  $\delta_H$  6,87 (1H, d,  $J = 2,4$ Hz) và  $\delta_H$  7,00 (1H, d,  $J = 2,4$ Hz), 6 nhóm methyl với hai nhóm dạng singlet tại  $\delta_H$  2,35 (3H, s) và  $\delta_H$  1,31 (3H, s) cùng với 4 nhóm dạng doublet tại  $\delta_H$  0,90 (3H, d,  $J = 7,2$ Hz),  $\delta_H$  0,93 (3H, d,  $J = 7,2$ Hz),  $\delta_H$  0,94 (3H, d,  $J = 7,2$ Hz), và các proton còn lại thuộc vùng trường cao  $\delta_H$  1,31~2,73ppm. Phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR và HMQC của hợp chất **2** nhận thấy tín hiệu của 27 carbon trong đó có 6 tín hiệu carbon thơm tại  $\delta_C$  151,8; 145,9; 127,5; 122,1; 117,4; 114,3; một carbon bậc 3 liên kết với oxy tại  $\delta_C$  76,0, 20 carbon còn lại có độ chuyển dịch hóa học ở vùng trường cao  $\delta_C$  17,0~40,7ppm. Cấu trúc của hợp chất **2** tiếp đó được làm rõ dựa trên phân tích phổ HMBC. Tương tác HMBC giữa proton 8-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  2,35) và C-7 ( $\delta_C$  117,4)/ C-8 ( $\delta_C$  127,5)/ C-9 ( $\delta_C$  145,9) cho phép xác định vị trí nhóm methyl tại C-8, đồng thời độ chuyển dịch hóa học của C-9 tại  $\delta_C$  145,9 cho thấy carbon này liên kết với oxy. Tương tác HMBC của proton hydroxyl ( $\delta_H$  10,67) với

C-7 ( $\delta_c$  117,4)/ C-6 ( $\delta_c$  151,8) / C-5 ( $\delta_c$  114,3) cho phép xác định nhóm hydroxyl tại C-6 và quy kết hai tín hiệu proton thơm có tương tác meta chính là H-5 ( $\delta_H$  6,87) và H-7 ( $\delta_H$  7,00). Tiếp đó tương tác HMBC từ H<sub>2</sub>-4 ( $\delta_H$  2,73) với C-5 ( $\delta_c$  114,3)/ C-9 ( $\delta_c$  145,9)/ C-10 ( $\delta_c$  122,1) và tương tác HMBC từ H<sub>2</sub>-3 ( $\delta_H$  1,77 và 1,67) tới C-10 ( $\delta_c$  122,1) cho phép xác định C-10 liên kết với mảnh cấu trúc dimethylene C-3/C-4. Tương tác HMBC giữa H<sub>3</sub>-14' ( $\delta_H$  1,31) và C-3 ( $\delta_c$  32,2)/ C-2 ( $\delta_c$  76,0)/ C-1' ( $\delta_c$  40,7) cho phép xác định nhóm methyl tại C-2 đồng thời độ chuyển dịch hóa học của C-2 tại 76,0 cho thấy carbon này liên kết với oxy. Bởi vì C-2 và C-9 đều không mang hydro nên liên kết giữa C-2 và C-9 thông qua nguyên tử oxy không khẳng định được trên phổ HMBC. Tuy vậy giá trị độ chuyển dịch hóa học của C-2 ( $\delta_c$  76,0), C-9 ( $\delta_c$  145,9), cũng như chỉ có 1 tín hiệu nhóm hydroxyl trên phổ proton là minh chứng cho sự đóng vòng giữa C-2 và C-9 thông qua liên kết ete. Các tín hiệu của 15 carbon còn lại ở vùng trường cao trong đó có 4 nhóm methyl dạng doublet gợi ý cho cấu trúc của 3 đơn vị isoprene bão hòa. Với các phân tích trên cho phép xác định hợp chất **2** là  $\delta$ -tocopherol một dạng dẫn xuất của vitamin E. Đây là một hợp chất rất phổ biến và có hoạt tính chống oxy hóa. Số liệu phổ của **2** cũng hoàn toàn phù hợp với số liệu đã công bố của  $\delta$ -tocopherol [13].

Bảng 1. Dữ liệu phổ NMR của các hợp chất **1, 2** và tài liệu tham khảo tương ứng

Số thứ tự C	1			2			
	$x, \# \delta_c$	$a, y \delta_c$	$b, y \delta_H$ (độ bội, J = Hz)	Số thứ tự C	$x, \# \delta_c$	$a, z \delta_c$	$b, z \delta_H$ (độ bội, J = Hz)
2	72,8	73,6	4,69 (s)	2	75,6	76,0	-
3	155,7	154,7	-	3	31,4	32,2	1,77 (m)/ 1,67 (m)
4	130,0	131,7	6,43 (s)	4	22,5	23,2	2,73 (t, 7,2)
5	186,8	187,7	-	5	112,6	114,3	6,87 (d, 2,4)
6	132,4	134,1	8,98 (d, 1,8)	6	147,7	151,8	-
6a	128,2	129,5	-	7	115,5	117,4	7,00 (d, 2,4)
7	124,9	126,5	-	8	127,3	127,5	-
8	135,0	135,9	8,19 (dd, 1,8; 8,4)	9	146,1	145,9	-
9	122,0	122,5	7,19 (d, 8,4)	10	121,3	122,1	-
9a	162,3	163,4	-	1'	40,0	40,7	1,67 (m)/ 1,61 (m)
10	22,5	22,9	1,85 (s)	2'	21,0	21,8	1,60 (m)/ 1,41 (m)
11	165,2	166,4	-	3'	37,5	38,2	1,36 (m)
OCH <sub>3</sub>	52,3	52,6	3,82 (s)	4'	32,7	32,4	1,47 (m)
				5'	37,5	38,2	1,36 (m)
				6'	24,5	25,2	1,31 (m)

				7'	37,3	38,0	1,18 (m)
				8'	32,8	32,5	1,47 (m)
				9'	37,5	38,2	1,36 (m)
				10'	24,8	25,6	1,31 (m)
				11'	39,4	40,0	1,19 (m)
				12'	28,0	28,7	1,55 (m)
				13'	22,6	23,3	0,90 (d, 7,2)
				14'	24,1	24,7	1,31 (s)
				15'	19,7	20,3	0,93 (d, 7,2)
				16'	19,8	20,4	0,94 (d, 7,2)
				17'	22,7	23,3	0,90 (d, 7,2)
				8-CH <sub>3</sub>	16,0	17,0	2,35 (s)
				6-OH	-	-	10,67 (brs)

Đo trong <sup>x</sup>Pyridine-d<sub>5</sub>, <sup>o</sup>150MHz, <sup>b</sup>600MHz, <sup>v</sup>DMSO-d<sub>6</sub>, <sup>z</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>#</sup> Tài liệu tham khảo cho  $\delta_c$  của **gentioxepin** [14]; <sup>##</sup> Tài liệu tham khảo cho  $\delta_c$  của  **$\delta$ -tocopherol** [13]

#### 4. KẾT LUẬN

Từ nghiên cứu ban đầu về thành phần hóa học phân đoạn dichloromethane của loài *G. scabra* Bunge, hai hợp chất - gentioxepine và  $\delta$ -tocopherol - đã được phân lập và xác định cấu trúc thông qua phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo. Cho đến nay, chưa có công bố về phân lập hợp chất gentioxepine từ loài *G. scabra*; trong khi  $\delta$ -tocopherol là một dạng dẫn xuất của vitamin E được tìm thấy trong nhiều loài thực vật, có tác dụng chống oxy hóa, có thể được sử dụng trong dược phẩm hoặc làm chất bảo quản tự nhiên trong công nghiệp thực phẩm để hạn chế quá trình oxy hóa. Nghiên cứu này đã góp phần làm sáng tỏ thành phần hóa học của loài long đởm *G. scabra* ở Việt Nam, từ đó góp phần xây dựng cơ sở khoa học để định hướng các nghiên cứu về hoạt tính sinh học hay ứng dụng của loài này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. M. Jiang, B. W. Cui, Y. L. Wu, J. X. Nan, L. H. Lian, "Genus Gentiana: A review on phytochemistry, pharmacology and molecular mechanism," *J Ethnopharmacol*, 264, 113391, 2021.
- [2]. P. H. Ho, *Cay co Viet Nam*. Tre Publishing House, Ho Chi Minh City, 1999.
- [3]. D. T. Loi, *Nhung cay thuoc va vi thuoc Viet Nam*. Medical Publishing House, Hanoi, 2004.
- [4]. D. H. Bich, *Cay thuoc va dong vat lam thuoc o Viet Nam*. Science and Technics Publishing House, Hanoi, 2004.
- [5]. W. Li, W. Zhou, S. H. Shim, Y. H. Kim, "Chemical constituents of the rhizomes and roots of *Gentiana scabra* (Gentianaceae)," *Biochem. Systematics and Ecology*, 61, 169-174, 2015.
- [6]. S. B. Liu, R. Zhao, X. S. Li, H. J. Guo, Z. Tian, N. Zhang, G. D. Gao, M. G. Zhao, "Attenuation of reserpine-induced pain/depression dyad by gentiopicoside

through downregulation of GluN2B receptors in the amygdala of mice," *Neuromolecular Med*, 16 (2), 350-359, 2014.

[7]. Y. Kondo, F. Takano, H. Hojo, "Suppression of chemically and immunologically induced hepatic injuries by gentiopicoside in mice," *Planta Med*, 60 (5), 414-416, 1994.

[8]. S. H. Huang, D. C. Agrawal, F. S. Wu, H. S. Tsay, "In vitro propagation of *Gentiana scabra* Bunge - an important medicinal plant in the Chinese system of medicines," *Bot Stud*, 55 (1), 56, 2014.

[9]. B. Yang, S. Kim, J. H. Kim, C. Lim, H. Kim, S. Cho, "Gentiana scabra Bunge roots alleviates skin lesions of contact dermatitis in mice," *J Ethnopharmacol*, 233, 141-147, 2019.

[10]. J. L. Yang, L. L. Liu, Y. P. Shi, "Phytochemicals and biological activities of *Gentiana* species," *Nat Prod Commun*, 5 (4), 649-664, 2010.

[11]. Y. K. Chuang, S. Chen, Y. M. Lo, I. C. Yang, Y. F. Cheng, C. Y. Wang, C. Y. Tsai, R. M. Hsieh, K. H. Wang, C. C. Lai, W. C. Chen, "Quantification of bioactive gentiopicoside in the medicinal plant *Gentiana scabra* Bunge using near infrared spectroscopy," *J. of Food and Drug Anal.*, 21 (3), 317-324, 2013.

[12]. S. Wang, Y. Xu, W. Jiang, Y. Zhang, "Isolation and identification of constituents with activity of inhibiting nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages from *Gentiana triflora*," *Planta Med*, 79 (8), 680-686, 2013.

[13]. J. K. Baker, C. W. Myers, "One-dimensional and two-dimensional <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of vitamin E raw materials or analytical reference standards," *Pharm Res*, 8 (6), 763-770, 1991.

[14]. J. S. Kim, M. H. Yean, E. J. Lee, S. S. Kang, "Phytochemical studies on *Astragalus* root (1) - saponins," *Nat. Prod. Sci.*, 14 (1), 37-46, 2008.

---

#### AUTHOR INFORMATION

##### **Bui Thi Thu Trang**

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam