

# Thành phần hoá học của keo ong từ loài ong không ngòi đốt *Trigona minor*

Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Trung Nhân

**Tóm tắt**—Keo ong là một sản phẩm từ tự nhiên được tạo ra từ loài ong, nó là hỗn hợp của nhựa cây trộn với các chất tiết ra từ tuyến nước bọt của loài ong. Keo ong có thành phần hóa học và hoạt tính sinh học phụ thuộc vào vùng địa lý, nguồn thức ăn và tùy vào loài ong. Ở Việt Nam, keo ong được sử dụng trong y học cổ truyền như là phương thuốc để cải thiện sức khỏe và ngăn ngừa bệnh tật. Từ cao ethanol của keo ong loài ong không ngòi đốt *Trigona minor* thuộc họ Ong mật (Apidae) đã phân lập được bốn hợp chất lignan. Cấu trúc các hợp chất này được xác định lần lượt là (+)-isolariciresinol (1), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (2) (+)-lyoniresinol (3) và 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo-[3.3.0]octan-2-one (4) bằng các phương pháp phổ nghiệm kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo. Trong đó, hợp chất 4 lần đầu tiên được tìm thấy từ tự nhiên và các hợp chất còn lại lần đầu tiên được phân lập từ keo ong của loài ong không ngòi đốt.

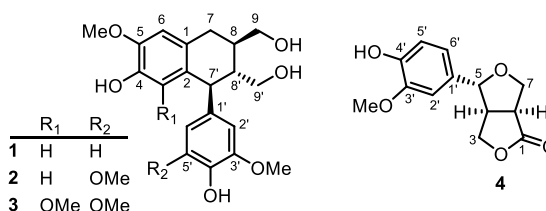
**Từ khóa**—*Trigona minor*, lignan, keo ong, loài ong không ngòi đốt

## 1. GIỚI THIỆU

Keo ong là hỗn hợp gồm nhựa cây trộn với các chất tiết ra từ tuyến nước bọt của ong mật [1]. Loài ong sử dụng keo ong để hàn kín tổ, giúp bảo quản mật ong, bảo vệ sự phát triển của ấu trùng và trứng khỏi sự tấn công của các sinh vật khác [2]. Keo ong có thành phần hóa học và hoạt tính sinh học rất đa dạng, nó phụ thuộc vào vùng địa lý, nguồn thực vật và tùy vào loài ong [1]. Trên thế giới đã có rất nhiều công trình nghiên cứu về keo ong của loài ong mật (*Apis mellifera*) thuộc tông Apini nhưng lại rất ít công trình công bố về keo ong của loài ong không ngòi

đốt (*Trigona minor*) thuộc tông Meliponini, cả hai tông này đều thuộc họ Ong mật (Apidae).

Loài ong không ngòi đốt hay ong mật không ngòi đốt còn được gọi là ong Dú ở một số địa phương của nước ta bởi vì ngòi đốt của chúng bị thoái hóa [3]. Giống như keo ong của loài ong mật, keo ong của loài ong không ngòi đốt ở Việt Nam hiện tại chưa có nghiên cứu hay ứng dụng nào công bố về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của chúng. Vì vậy, bài báo này công bố về việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của bốn hợp chất từ cao ethanol của keo ong loài ong không ngòi đốt có tên khoa học là *T. minor*. Các hợp chất này (Hình 1) được xác định là (+)-isolariciresinol (1), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (2), (+)-lyoniresinol (3) và 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-2-one (4) bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Trong đó, hợp chất 4 lần đầu tiên được tìm thấy từ tự nhiên và các hợp chất còn lại lần đầu tiên được phân lập từ keo ong của loài ong không ngòi đốt.



**Hình 1.** Cấu trúc hóa học của các hợp chất được phân lập từ keo ong loài ong không ngòi đốt *T. minor*

## 2. PHƯƠNG PHÁP

Mẫu keo ong của loài ong không ngòi đốt *T. minor* được lấy tại Xã Long Thới, Huyện Chợ Lách, Tỉnh Bến Tre vào tháng 07/2011 và được định danh bởi Tiến sĩ Lê Quang Trung, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Ong, Hà Nội.

Từ 2,0 kg mẫu trích siêu âm tại nhiệt độ phòng với dung môi ethanol thu được cao EtOH thô. Tiến hành chiết lỏng-lỏng cao thô này lần lượt

Ngày nhận bản thảo 09-10-2017; ngày chấp nhận đăng 07-04-2018; ngày đăng 20-11-2018

Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Trung Nhân – Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

\*Email: ntnhan@hcmus.edu.vn

với các dung môi *n*-hexane, CHCl<sub>3</sub> và EtOAc thu được các cao phân đoạn tương ứng. Thực hiện sắc ký cột cao EtOAc nhiều lần trên silica gel pha thường kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế pha thường với nhiều hệ dung môi giải ly có độ phân cực khác nhau đã phân lập được bốn hợp chất lignan. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của các hợp chất này được ghi trên máy Bruker 500 MHz với chất nội chuẩn TMS.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi methanol hay acetone. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất **1** cho thấy ở vùng từ trường thấp có sự xuất hiện tín hiệu của 3 proton thơm ghép cặp với nhau theo một hệ ABX [ $\delta_{\text{H}}$  6,68 (1H; *d*; *J* = 1,8 Hz; H-2'), [ $\delta_{\text{H}}$  6,75 (1H; *d*; *J* = 8,0 Hz; H-5'), [ $\delta_{\text{H}}$  6,62 (1H; *dd*; *J* = 8,0 và 2,0 Hz; H-6')]; 2 proton thơm ghép *para* với nhau [ $\delta_{\text{H}}$  6,19 (1H; *s*; H-3)], [ $\delta_{\text{H}}$  6,66 (1H; *s*; H-6)]. Ở vùng từ trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của 2 nhóm oxymethylene [ $\delta_{\text{H}}$  3,69 (2H; *m*; H-9)], [ $\delta_{\text{H}}$  3,40 (1H; *dd*; *J* = 11,2 và 4,5 Hz; H-9')], [ $\delta_{\text{H}}$  3,66 (1H; *m*; H-9')]; 1 nhóm methylene [ $\delta_{\text{H}}$  2,78 (2H; *d*; *J* = 7,6 Hz; H-7)]; 3 nhóm methine [ $\delta_{\text{H}}$  2,01 (1H; *m*;

H-8)], [ $\delta_{\text{H}}$  3,86 (1H; *d*; *J* = 9,6 Hz; H-7')], [ $\delta_{\text{H}}$  1,77 (1H; *m*; H-8')] cùng với 2 nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,77 (3H; *s*; 5-OCH<sub>3</sub>), [ $\delta_{\text{H}}$  3,80 (3H; *s*; 3'-OCH<sub>3</sub>)] (Bảng 1).

Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất **1** cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu của 20 carbon. Trong đó, vùng từ trường thấp xuất hiện tín hiệu của 4 carbon thơm tứ cấp nối oxygen [ $\delta_{\text{C}}$  145,3; C-4], [ $\delta_{\text{C}}$  147,2; C-5], [ $\delta_{\text{C}}$  149,0; C-3'], [ $\delta_{\text{C}}$  145,9; C-4']; 3 carbon thơm tứ cấp [ $\delta_{\text{C}}$  129,0; C-1], [ $\delta_{\text{C}}$  134,2; C-2], [ $\delta_{\text{C}}$  138,6; C-1']; 5 carbon thơm tam cấp [ $\delta_{\text{C}}$  117,4; C-3], [ $\delta_{\text{C}}$  112,4; C-6], [ $\delta_{\text{C}}$  113,8; C-2'], [ $\delta_{\text{C}}$  116,0; C-5'], [ $\delta_{\text{C}}$  123,2; C-6']. Ở vùng từ trường cao xuất hiện tín hiệu của 2 carbon oxymethylene [ $\delta_{\text{C}}$  66,0; C-9], [ $\delta_{\text{C}}$  62,3; C-9']; 1 carbon methylene [ $\delta_{\text{C}}$  33,6; C-7]; 3 carbon methine [ $\delta_{\text{C}}$  40,0; C-8], [ $\delta_{\text{C}}$  48,0; C-7'], [ $\delta_{\text{C}}$  48,1; C-8'] cùng với 2 carbon methoxyl [ $\delta_{\text{C}}$  56,4; 5-OCH<sub>3</sub>], [ $\delta_{\text{C}}$  56,8; 3'-OCH<sub>3</sub>] (Bảng 1). Phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **1** có cấu trúc của một 2,7'-cyclo lignan. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** với hợp chất (+)-isolaricresinol cho thấy có sự tương hợp [4]. Vậy hợp chất **1** là (+)-isolaricresinol.

**Bảng 1.** Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của các hợp chất **1** và **2** trong CD<sub>3</sub>OD, **3** trong dung môi CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>

Vị trí	Hợp chất 1		Hợp chất 2		Hợp chất 3	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	129,0		129,0		129,9	
2	134,2		134,0		126,5	
3	117,4	6,19 ( <i>s</i> )	117,3	6,21 ( <i>s</i> )	147,2	
4	145,3		145,3		138,6	
5	147,2		147,3		147,8	
6	112,4	6,66 ( <i>s</i> )	112,5	6,66 ( <i>s</i> )	107,2	6,56 ( <i>s</i> )
7	33,6	2,78 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 7,6 Hz)	33,6	2,78 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)	33,9	2,64 ( <i>m</i> )
8	40,0	2,01 ( <i>m</i> )	40,0	2,01 ( <i>m</i> )	41,3	1,64 ( <i>m</i> )
9	66,0	3,69 ( <i>m</i> )	65,9	3,70 ( <i>m</i> )	66,7	3,58 ( <i>m</i> )
1'	138,6		137,8		139,3	
2'	113,8	6,68 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 2,0 Hz)	109,0	6,43 ( <i>s</i> )	107,4	6,43 ( <i>s</i> )
3'	149,0		149,3		148,4	
4'	145,9		135,0		135,0	
5'	116,0	6,75 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	149,3		148,4	
6'	123,2	6,62 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 8,0, 2,0 Hz)	109,0	6,43 ( <i>s</i> )	107,4	6,43 ( <i>s</i> )
7'	48,0	3,86 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	48,6	3,84 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 9,9 Hz)	42,6	4,26 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 6,2 Hz)
8'	48,1	1,77 ( <i>m</i> )	47,9	1,79 ( <i>m</i> )	49,3	1,97 ( <i>m</i> )
9'	62,3	3,40 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 11,2, 4,5 Hz) 3,66 ( <i>m</i> )	62,3	3,41 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 11,2, 4,1 Hz) 3,67 ( <i>m</i> )	64,0	3,58 ( <i>m</i> )
3-OMe					59,5	3,36 ( <i>s</i> )
5-OMe	56,8	3,77 ( <i>s</i> )	56,4	3,81 ( <i>s</i> )	56,5	3,83 ( <i>s</i> )
3'-OMe	56,4	3,80 ( <i>s</i> )	56,8	3,79 ( <i>s</i> )	56,9	3,72 ( <i>s</i> )
5'-OMe			56,9	3,79 ( <i>s</i> )	56,9	3,72 ( <i>s</i> )

Hợp chất **2** thu được có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi methanol hay acetone. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **2** cho thấy tương tự như phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **1**, ngoại trừ có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của một nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,79 (3H; s; 5'-OCH<sub>3</sub>)] ở hợp chất **2** thay cho một proton thơm (H-5') ở hợp chất **1**. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **2** cho thấy có tín hiệu của 21 carbon, tương tự như phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **1** và cũng có sự xuất hiện của một carbon nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{C}}$  56,9; 5'-OCH<sub>3</sub>] (Bảng 1). Phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **2** cũng có cấu trúc tương tự như hợp chất **1**, ngoại trừ có sự xuất hiện thêm một nhóm methoxyl tại vị trí C-5'. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **2** với hợp chất 5-methoxy-isolariciresinol cho thấy có sự tương hợp [4]. Vì vậy, cấu trúc của hợp chất **2** được xác định là 5-methoxy-(+)-isolariciresinol.

Hợp chất **3** thu được có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi methanol hay acetone. Phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **3** cho thấy tương tự như hợp chất **2**, ngoại trừ có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của một nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,36 (3H; s) và  $\delta_{\text{C}}$  59,5; 3-OCH<sub>3</sub>] ở hợp chất **3** thay cho một proton thơm cô lập (H-3) ở hợp chất **2** (Bảng 1). Phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **3** cũng có cấu trúc của một 2,7'-cycloignan tương tự như hợp chất **1** và **2**, ngoại trừ có sự xuất hiện thêm một nhóm methoxyl tại vị trí C-3. Tra cứu tài liệu tham khảo cho thấy dữ liệu phổ của hợp chất **3** và hợp chất (+)-lyoniresinol có sự tương hợp [5]. Do đó, cấu trúc của hợp chất **3** được xác định là (+)-lyoniresinol.

**Bảng 2.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **4** trong dung môi CDCl<sub>3</sub>

Vị trí	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	Vị trí	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	178,3		1'	130,8	
3	70,0	4,19 ( <i>dd</i> ; $J = 9,5, 3,8$ Hz)	2'	108,6	6,89 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ Hz)
		4,33 ( <i>dd</i> ; $J = 9,5, 2,1$ Hz)	3'	147,1	
4	48,4	3,12 ( <i>m</i> )	4'	146,1	
5	86,3	4,62 ( <i>d</i> ; $J = 6,9$ Hz)	5'	144,6	6,91 ( <i>d</i> ; $J = 8,0$ Hz)
7	70,1	4,36 ( <i>dd</i> ; $J = 9,8, 9,0$ Hz)	6'	119,3	6,81 ( <i>dd</i> ; $J = 8,0, 2,0$ Hz)
		4,50 ( <i>dd</i> ; $J = 9,8, 6,8$ Hz)	3'-OMe	56,2	3,91 ( <i>s</i> )
8	46,2	3,45 ( <i>td</i> ; $J = 9,0, 3,8$ Hz)	4'-OH		5,66 ( <i>s</i> )

Hợp chất **4** có dạng gum màu vàng nhạt, tan tốt trong dung môi CHCl<sub>3</sub>. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **4** cho thấy ở vùng từ trường thấp xuất hiện tín hiệu của 3 proton thơm tương ứng với một hệ ABX [ $\delta_{\text{H}}$  6,89 (1H; *d*;  $J = 2,0$  Hz; H-2'), [ $\delta_{\text{H}}$  6,91 (1H; *d*;  $J = 8,0$  Hz; H-5'), [ $\delta_{\text{H}}$  6,81 (1H; *dd*;  $J = 8,0$  và  $2,0$  Hz; H-6')] cùng với 1 proton nhóm hydroxyl [ $\delta_{\text{H}}$  5,66 (1H; *s*; 4'-OH)]. Mặt khác, ở vùng từ trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của 2 nhóm oxymethylene [ $\delta_{\text{H}}$  4,19 (1H; *dd*;  $J = 9,5$  và  $3,8$  Hz; H-3)], [ $\delta_{\text{H}}$  4,33 (1H; *dd*;  $J = 9,5$  và  $2,1$  Hz; H-3)], [ $\delta_{\text{H}}$  4,36 (1H; *dd*;  $J = 9,8$  và  $9,0$  Hz; H-7)], [ $\delta_{\text{H}}$  4,50 (1H; *dd*;  $J = 9,8$  và  $6,8$  Hz; H-7)]; 1 nhóm oxymethine [ $\delta_{\text{H}}$  4,62 (1H; *d*;  $J = 6,9$  Hz; H-5)]; 2 nhóm methine [ $\delta_{\text{H}}$  3,12 (1H; *m*; H-4)], [ $\delta_{\text{H}}$  3,45 (1H; *td*;  $J = 9,0$  và  $3,8$  Hz; H-8)] cùng với 1 nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,91 (3H; *s*; 3'-OCH<sub>3</sub>)] (Bảng 2).

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **4** cho thấy có tín hiệu của 12 carbon. Trong đó có 1 carbon

carbonyl của nhóm ester [ $\delta_{\text{C}}$  178,3; C-1]; 2 carbon thơm tứ cấp nối với oxygen [ $\delta_{\text{C}}$  147,1; C-3'], [ $\delta_{\text{C}}$  146,1; C-4']; 1 carbon thơm tứ cấp [ $\delta_{\text{C}}$  130,8; C-1']; 3 carbon thơm tam cấp [ $\delta_{\text{C}}$  108,6; C-2'], [ $\delta_{\text{C}}$  144,6; C-5'], [ $\delta_{\text{C}}$  119,3; C-6']; 2 carbon oxymethylene [ $\delta_{\text{C}}$  70,0; C-3], [ $\delta_{\text{C}}$  70,1; C-7]; 1 carbon oxymethine [ $\delta_{\text{C}}$  86,3; C-5]; 2 carbon methylene [ $\delta_{\text{C}}$  48,4; C-4], [ $\delta_{\text{C}}$  46,2; C-8] cùng với 1 carbon methoxyl [ $\delta_{\text{C}}$  56,2; 3'-OCH<sub>3</sub>] (Bảng 2). Từ các dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **4** có cấu trúc của một furofuran lignan có 1 nhóm hydroxyl, 1 nhóm methoxyl và 1 nhóm ester. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **4** với hợp chất 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]-octan-2-one cho thấy có sự trùng khớp [6]. Vậy hợp chất **4** là 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]-octan-2-one.

## 4. KẾT LUẬN

Bằng kỹ thuật sắc ký cột trên silica gel pha thường kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế pha thường với các hệ dung môi giải ly khác nhau, chúng tôi đã phân lập được bốn hợp chất tinh khiết từ cao ethanol của keo ong loài ong không ngòi đốt *T. minor*. Trên cơ sở của phổ cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo, chúng tôi đã xác định được cấu trúc của các hợp chất này là (+)-isolariciresinol (**1**), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (**2**), (+)-lyoniresinol (**3**) và 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]-octan-2-one (**4**). Trong đó, hợp chất **4** lần đầu tiên được tìm thấy từ tự nhiên và các hợp chất còn lại lần đầu tiên được phân lập từ keo ong của loài ong không ngòi đốt.

*Lời cảm ơn:* Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ Đề tài mã số B2015-18-02.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.S. Bankova, S.L. Castro, M.C. Marcucci, "Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin", *Apidologie*, vol. 31, pp. 3–15, 2000.
- [2] E.L. Ghisalberti, "Propolis: A Review", *Bee World*, vol. 60, pp. 59–84, 1979.
- [3] N.D. Hoan, P.Đ. Hoàn, N.N. Thắng, Giáo trình Kỹ thuật Nuôi Ong mật, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, 2008.
- [4] A. Jutiviboonsuk, H. Zhang, G.T. Tan, C. Ma, N.V. Hung, N.M. Cuong, N. Bunyaphatsara, D.D. Soejarto, H.H.S. Fong, "Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*", *Phytochemistry*, vol. 66, pp. 2745–2751, 2005.
- [5] Z. Zhang, D. Guo, C. Li, J. Zheng, K. Koike, Z. Jia, T. Nikaido, "Gaultherins A and B, two lignans from *Gaultheria yunnanensis*", *Phytochemistry*, vol. 51, pp. 469–472, 1999.
- [6] S. Yamauchi, T. Ina, T. Kirikihira, T. Masuda, "Synthesis and antioxidant activity of oxygenated furofuran lignans", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 68, pp. 183–192, 2004.

# Chemical constituents of the propolis from the stingless bee *Trigona minor*

Nguyen Xuan Hai, Nguyen Thi Thanh Mai, Nguyen Trung Nhan

University of Science, VNU-HCM

Corresponding author: ntnhan@hcmus.edu.vn

Received 09-10-2017; Accepted 07-04-2018; Published 20-11-2018

**Abstract** – Propolis is a natural product produced by bees, and it is a mixture of resins and other bee excretions. The chemical composition of each type of propolis and its associated bioactivities also depend on the geographical regions, its food and the bee species. In Vietnam, propolis has been used in traditional medicine as the remedy to improve health and prevent diseases. From the ethanolic extract of the stingless bee propolis *Trigona minor* (Meliponini, Apidae), four lignan compounds were isolated. Their chemical structures were determined

as (+)-isolariciresinol (**1**), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol (**2**), (+)-lyoniresinol (**3**), and 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-2-one (**4**) by spectroscopic methods as well as comparing with data in the literature. Among them, compound **4** was the first isolated from natural sources, while others were isolated for the first time from this stingless bee propolis.

**Keywords** – *Trigona minor*, lignans, propolis, stingless bees