

AXIT SHIKIMIC VÀ CÁC AXIT PHENOLIC PHÂN LẬP TỪ VỎ CÂY ĐÈ *FICUS RELIGIOSA* L. (MORACEAE)

Cầm Thị Ính¹, Trần Hồng Quang², Hoàng Thanh Hương¹, Châu Văn Minh², Phan Văn Kiệm²

¹*Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

²*Viện Hóa sinh biển, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

Đến Tòa soạn 18-3-2011

Abstract

The ethyl acetate extract of the barks of *Ficus religiosa* L. showed moderate antioxidant activity in DPPH radical scavenging assay with SC₅₀ value is 23.1 µg/ml. Five compounds including vanillic acid (1), 4-hydroxybenzoic acid (2), protocatechuic acid (3), gallic acid (4) and shikimic acid (5) were isolated from the barks of this plant. Their structures were identified by Mass and NMR spectra.

1. MỞ ĐẦU

Cây đề *Ficus religiosa* L. (họ Moraceae) là một trong những thực vật được sử dụng lâu đời nhất trong y học dân tộc Ấn độ và nhiều nước để trị các bệnh ngoài da (eczema, da liễu), tiêu hóa (dạ dày, lỵ), tiểu đường và một số bệnh liên quan đến hệ thần kinh trung ương [1 - 3].

Đến nay đã có một số công bố về tác dụng dược lý [4, 5] nhưng trước chúng tôi hầu như chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học của loài cây này.

Gần đây chúng tôi đã thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 11 hợp chất trong đó có hai hợp chất mới là (3S,5R,6R,7E,9R)-megastigman-7-en-3,5,6,9-terol-9-O-β-apiofuranosyl-(1"→2")-O-β-D gluco-pyranoside, (3S,5R,6R,7E,9R)-megastigman-7-en-3,5,6,9-terol-9-O-β-D gluco-pyranoside từ dịch chiết metanol lá cây [6 - 9]. Tiếp tục tìm hiểu về loài này chúng tôi đã nghiên cứu thành phần hóa học của vỏ cây. Bài báo này công bố kết quả phân lập, xác định cấu trúc hóa học của axit shikimic và các axit phenolic từ vỏ cây.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Phương pháp chung

Điểm chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage. Độ quay cực được đo trên máy Polatron D Schimidt + Haench. Phổ khối EI-MS (Electron Ionization-Mass Spectra) được đo trên máy Hewlett

Packard 5989B MS Engine. Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP₁₈ F_{254s} (Merck). Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ. Silica gel pha thường có cỡ hạt 240 - 430 mesh và Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30 - 50 µm, FujiSilisa Chemical Ltd.), Sephadex LH-20 (Pharmacia, Swenden).

2.2. Nguyên liệu

Vỏ cây *F. religiosa* được thu hái vào tháng 9 năm 2007 tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Tên khoa học được TS Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hoá học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Nguyên liệu được xử lý diệt men và sấy khô ở nhiệt độ 60°C.

2.3. Chiết xuất và phân lập

200 g bột vỏ khô *F. religiosa* L. được chiết siêu âm với metanol trong 12 giờ (3 lần), sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm, tiến hành chiết pha lỏng-lỏng với hai loại dung môi nước-etylaxetat (1:1). Phần dịch chiết etylaxetat được sắc ký trên cột silicagel với hệ dung môi gradien clorofoc-metanol (20:3) thu được 5 phân đoạn A, B, C, D và E. Từ phân đoạn B bằng sắc ký trên cột Sephadex LH-20 và tinh chế lại trên cột silicagel nhận được các hợp

chất **1** (7 mg) và **2** (13 mg). Sắc ký nhắc lại phân đoạn C cho hợp chất **3** (18 mg). Tách phân đoạn D trên cột pha đảo và tinh chế tiếp trên cột silicagel pha thuận cho các chất **4** (8 mg) và **5** (11 mg).

2.4. Hằng số vật lý và dữ liệu phổ

Hợp chất 1:

Tinh thể hình kim mảnh, điểm nóng chảy 208 - 209°C.

EI-MS m/z 168 [M^+].

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ (ppm): 7,65 (1H, dd, $J = 2,0, 8,5$ Hz, H-6), 7,56 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 3,93 (3H, s, 3-OCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ (ppm): 169,1 (C-7), 150,5 (C-4), 146,5 (C-3), 124,5 (C-6), 121,8 (C-1), 114,3 (C-5), 112,3 (C-2), 55,9 (3-OCH₃).

Hợp chất 2:

Dạng bột màu trắng. Điểm nóng chảy 213 - 214°C.

EI-MS m/z : 138 [M^+].

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ (ppm): 7,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2 và H-6), 6,84 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3 và H-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ (ppm): 169,01 (C-7), 161,43 (C-4), 131,68 (C-2, C-6), 121,31 (C-1), và 114,81 (C-3 và C-5).

Hợp chất 3:

Dạng tinh thể màu vàng. Điểm nóng chảy 196 - 198°C.

EI-MS m/z 154 [M^+].

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,51 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2), 7,49 (1H, dd, $J = 1,8, 8,5$ Hz, H-6), 6,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169,3 (C-7), 150,9 (C-4), 145,5 (C-3), 123,8 (C-6), 123,1 (C-1), 117,3 (C-2), và 115,5 (C-5).

Hợp chất 4:

Tinh thể hình kim, trắng đục. Điểm nóng chảy 235 - 237°C.

EI-MS m/z : 170 [M^+].

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7,08 (2H, s, H-2 và H-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 169,8 (C-7), 146,5 (C-3 và C-5), 137,8 (C-4), 121,4 (C-1), và 110,0 (C-2 và C-6).

Hợp chất 5:

Dạng tinh thể màu trắng [α]_D -176° (c = 1,0, H₂O).

Điểm nóng chảy 185 - 186°C.

EI-MS m/z : 174 [M^+].

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO) δ (ppm): 6,57 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 4,02 (1H, s, H-3), 3,84 (1H, dd, $J = 10,5, 4,5$ Hz, H-5), 3,54 (1H, dd, $J = 5,5, 4,0$ Hz, H-4), 2,42 (1H, ddt, $J = 18,0, 5,0, 1,5$ Hz, H-6 α), 2,01 (1H, ddt, $J = 18,0, 6,5, 1,5$ Hz, H-6 β).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO) δ (ppm): 168,07 (C=O), 138,86 (C-2), 128,45 (C-1), 70,43 (C-4), 66,91 (C-5), 65,58 (C-3), và 30,01 (C-6).

2.5. Hoạt tính chống oxi hóa

Hoạt tính chống oxi hóa thông qua phản ứng bao vây gốc tự do là phương pháp đánh giá khả năng thu dọn gốc tự do theo phương pháp của Shela G. và cộng sự [10]. Hoạt tính được đánh giá thông qua giá trị hấp thụ ánh sáng của dịch thí nghiệm so với đối chứng khi đọc ở máy Elisa ở bước sóng 515 nm.

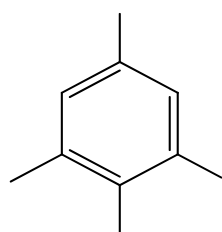
Mẫu căn chiết etylaxetat vỏ cây *F. religiosa* được pha theo 5 thang nồng độ. Giá trị SC₅₀ được xác định bằng chương trình table curve thông qua nồng độ chất thử và % hoạt động của chất thử mà ở đó 50% các gốc tự do tạo bởi DPPH được trung hòa bởi chất thử.

Kết quả SC₅₀ là 23,1 $\mu\text{g/ml}$.

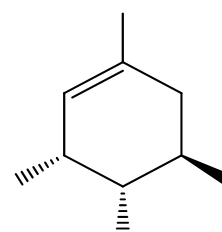
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dịch chiết etylaxetat vỏ cây *F. religiosa* L. có hoạt tính thu dọn gốc tự do khá mạnh với giá trị SC₅₀ là 23,1 $\mu\text{g/ml}$.

Từ căn chiết, bằng những phương pháp sắc ký thích hợp chúng tôi đã tách được năm hợp chất **1-5**. Cấu trúc hóa học của các chất được xác định bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng.



	R ¹	R ²
(1)	OCH ₃	H
(2)	H	H
(3)	OH	H
(4)	OH	OH



(5)

Các hợp chất **1 - 5** cho màu xanh đậm với dung dịch FeCl_3 đặc trưng cho nhóm phenolic. Dữ liệu phổ NMR (xem phần thực nghiệm) cho thấy các phổ ^{13}C -NMR đều có những tín hiệu của 7 cacbon lai hóa sp^2 , trong đó có một tín hiệu của cacbon cacboxyl liên hợp tại δ_{C} 169,1 - 169,8 ppm và một tín hiệu của cacbon bậc 4 aromatic tại δ_{C} 121,8 - 123,1 ppm. Điều này chứng tỏ bốn chất này là những axit phenolic dạng C_6 - C_1 . Sự khác biệt về số lượng và bản chất các nhóm thế chứa oxi ở vòng benzen dẫn đến sự khác biệt về sự chuyển dịch hóa học của cacbon ở vòng thơm (đặc biệt C-3, C-4 và C-5) cũng như sự khác biệt về số lượng proton và khối lượng phân tử của các chất.

Hai hợp chất **1** và **3** có các phổ NMR khá giống nhau, cùng có tín hiệu của 2 cacbon aromatic liên kết với oxy tại δ_{C} 146,5 và 150,5 ppm (ở chất **1**), δ_{C} 145,5 và 150,9 ppm (ở chất **2**). Điểm khác biệt duy nhất chỉ ở chỗ trên các phổ NMR của **1** còn có thêm tín hiệu của một nhóm metoxi tại δ_{C} tại 55,9 ppm và δ_{H} 3,91 (3H,s). Như vậy, hợp chất **1** chính là dẫn xuất metoxi của hợp chất **3**. Điều này cũng hoàn toàn phù hợp với sự khác biệt về khối lượng phân tử của chúng (khối lượng phân tử của chất **1** là 168 và của chất **3** là 154).

So sánh hằng số vật lý, dữ liệu phổ với tài liệu tham khảo [11, 12] đã xác định được hợp chất **1** là axit vanillic và hợp chất **3** là axit protocatechuic.

Hợp chất **2** có pic ion phân tử m/z 138. Kết hợp với dữ liệu phổ NMR (xem phần thực nghiệm) xác định được công thức phân tử là $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$. Sự xuất hiện tín hiệu của các cặp proton aromatic tại δ_{H} 7,91 (2H, d) và 6,84 ppm (2H, d) ứng với phân tử có đối xứng trục bậc 2 cùng với tín hiệu của 1 cacbon aromatic liên kết với nhóm hydroxy tại δ_{C} 161,43 ppm đã chứng minh hợp chất **2** là axit 4-hydroxybenzoic. Điều này được xác nhận qua sự so sánh hằng số vật lý và dữ liệu phổ của chất **2** với tài liệu tham khảo [13].

Hợp chất **4** có pic ion phân tử m/z 170 ứng với công thức phân tử $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$. Hằng số vật lý, các dữ liệu phổ cùng sự so sánh với tài liệu [13] và trực tiếp với chất chuẩn cho phép khẳng định hợp chất **4** là axit gallic.

Hợp chất **5** có pic ion phân tử m/z 174. Kết hợp với dữ liệu phổ NMR xác định được công thức phân tử là $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5$.

Trên phổ ^1H -NMR có tín hiệu của một proton metin ở 6,57 ppm (d, $J = 1,5$ Hz), hai proton metylen ở 2,42 ppm (ddt, $J = 1,5, 5,0, 18,0$ Hz) và 2,01 ppm (ddt, $J = 1,5, 6,5, 18,0$ Hz), có ba proton hydroxyl metin ở 4,02 ppm (s, H-3), 3,84 ppm (dd, $J = 4,5, 10,5$ Hz), và 3,54 ppm (dd, $J = 4,0, 5,5$ Hz).

Phổ ^{13}C -NMR cho biết trong phân tử có mặt 7 nguyên tử cacbon, kết hợp với phổ DEPT cho thấy có một cacbon cacboxyl ($\text{C}=\text{O}$) nằm ở vùng trường

thấp δ_{C} 168,07ppm, một cacbon bậc bốn với δ_{C} 128,45 ppm, một nhóm cacbon metinlen ở δ_{C} 30,01 ppm, một cacbon metin ở δ_{C} 138,86 ppm, và ba cacbon hydroxyl metin ở δ_{C} 70,43, 66,91 và 65,58 ppm. Từ kết quả phân tích phổ cũng như so sánh hằng số vật lý, dữ liệu phổ của hợp chất **5** với tài liệu tham khảo [14] và chất chuẩn, chúng tôi đã xác định hợp chất **5** là axit shikimic.

4. KẾT LUẬN

Dịch chiết etylaxetat của vỏ cây đề *F. religiosa* L. thể hiện hoạt tính chống oxi hóa tốt trên hệ DPPH với giá trị SC_{50} là 23,1 $\mu\text{g/ml}$. Từ vỏ cây đã phân lập và xác định cấu trúc 5 hợp chất là axit vanillic (**1**), axit 4-hydroxybenzoic (**2**), axit protocatechuic (**3**) axit galic (**4**) và axit shikimic (**5**). Đây là công bố đầu tiên về sự có mặt của các hợp chất này trong vỏ cây *F. religiosa* L.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài nghiên cứu cơ bản – NAFOSTED, mã số 104.01.31.09.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nxb. Y học, Hà Nội, 471 (1999).
2. Ji-Xian Guo et al. International Collation of Traditional and Folk Medicine. World Scientific Publishing Co., Pte., Ltd., Vol. 4, 5 - 6 (1997).
3. O. Mousa, P. Vuorela, J. Kiviranta, S. A. Wahab, R. Hiltunen, H. Vuorela. J. Ethnopharmacol., 41, 71 - 76 (1994).
4. D. Singh, R. K. Geel R. K. Journal Ethnopharmacol., 123, 330 - 334 (2009).
5. Jung H. W et al. Phytother. Res., 22, 1064 - 1069 (2008).
6. Chăm Thị Ính, Trần Hồng Quang, Hoàng Thanh Hương, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm. Tạp chí Hoá học, T. 47(1), 81 - 84 (2009).
7. Chăm Thị Ính, Trần Hồng Quang, Châu Văn Minh, Hoàng Thanh Hương, Phan Văn Kiệm. Tạp chí Dược học, 395, 40 - 43 (2009).
8. Hoàng Thanh Hương, Trần Hồng Quang, Chăm Thị Ính, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm. Tạp chí Hoá học, T. 47(6), 758 - 762 (2009).
9. Chăm Thị Ính, Trần Hồng Quang, Hoàng Thanh Hương, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, T. 48(4A), 50 - 56 (2010).
10. G. Shela, M. B. Olga, K. Elen, A. Lojek, M. Ciz, N. Grigelmo-Miguel, Y-S. Park, S-T. Jung, R. Haruenkit and S. Trakhtenberg. Journal of Nutritional Biochemistry, 14, 154 - 159 (2003).

11. Wu T. S. et al. *Phytochemistry*, 36(3), 785 - 788 (1994).
12. Gutzei D. et al. *Chromatography*, 65, 1 - 7 (2007).
13. Chapman & Hall, *Dictionary of natural products on DVD*, 1982-2005, CCR press.
14. Harry Adame, Neil A. Bailey, Roger Brettle, Richard Cross, Martyn Frederickson, Edwin Haslam, Fiona S. Macbeath and Gareth M. Davies. *Tetrahedron*, Vol. 52(25), 8565 - 8580 (1996).

Liên hệ: **Cầm Thị Ính**

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Email: camthiinh@yahoo.com