Tạp chí Hóa học, T. 48 (4), Tr. 507 - 510, 2010

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY CHAY (*ARTOCARPUS LAKOOCHA* ROXB.)

I - CÁC HỢP CHẤT TRITECPEN KHUNG LUPAN

Đến Tòa soạn 6-4-2010

NGUYỄN CHÍ BẢO, NGUYỄN THỊ HOÀNG ANH, TRẦN VĂN SUNG

Viện Hóa học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

Four triterpenes were isolated from the n-hexane and ethyl acetate extracts of Artocarpus lakoocha collected in Son La province. Their structures were elucidated by analysis of MS, NMR spectra and comparison with the published data. They are lup-20(29)-ene-3b-ol, lup-20(29)-ene-3b-acetate, lup-20(29)-ene-3-one and betulinic acid.

I - MỞ ĐẦU

Chi *Artocarpus* (họ Dâu tằm, Moraceae) ở Việt Nam, có 15 loài, trong đó có loài là cây ăn quả như Mít dai (*A. heterophyllus*), Mít tố nữ (*A. integer*). Ngoài giá trị làm thực phẩm thì các loài Mít còn được sử dụng trong y học dân gian để chữa các bệnh như thấp khớp, cao huyết áp, tiểu đường, điều hòa miễn dịch...[1]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Artocarpus* có ở Việt Nam và trên thế giới còn rất ít, nhiều loài chưa được nghiên cứu. Gần đây hai hợp chất auronol glucosid mới có hoạt tính ức chế miễn dịch được phát hiện từ cây Chay Bắc bộ (*Artocarpus tonkinensis*) [2]. Các kết quả đó đã thúc đẩy chúng tôi tiếp tục nghiên cứu, tìm kiếm các chất có cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học từ các loài *Artocarpus* ở Việt nam. *A. lakoocha* là cây đại mộc cao 10 m, phân bố ở ấn độ, Myanma, Thái Lan, Việt Nam và Trung quốc. ở nước ta, *A. lakoocha* có ở Lào Cai, Thanh Hóa, thảo cầm viên Sài Gòn [1]. Hạt *A. lakoocha* được dùng làm thuốc xổ, vỏ cây dùng tán bột đắp vết thương để rút mủ, hoặc pha thuốc đắp mụn nhọt và các vết nứt nẻ ở da trong y học dân gian của ấn Độ. ở Thái Lan, gỗ, quả sắc nước dùng trị giun như giun kim, giun đũa và dùng ngoài để trị ghẻ [3]. Bài báo này công bố việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 4 chất tritecpen khung lupan từ dịch chiết n-hexan và etyl axetat của cành cây Chay *A. lakoocha*. Cấu trúc của chúng được xác định bằng các số liệu phổ hồng ngoại (IR) và cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) kết hợp so sánh với tài liệu đã công bố. Các chất đó là lup-20(29)-en-3b-ol (**1**), lup-20(29)-en-3b-acetat (**2**), lup-20(29)-en-3-on (**3**) và betulinic axit (**4**).

II - THỰC NGHIỆM

1. Phương pháp nghiên cứu

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất nội chuẩn cho ^{1}H và tín hiệu dung môi làm chuẩn cho ^{13}C-NMR. Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F_{254}, thuốc hiện là vanillin trong axit sunfuric đặc. Sắc ký cột sử dụng silical gel cỡ hạt 0,04 - 0,063 và 0,063 - 0,200 mm.

2. Mẫu thực vật

Mẫu được thu hái tại Sơn La vào tháng 10

năm 2008 và được TS. Ngô Văn Trại, Viện Dược liệu, Bộ Y tế xác định tên khoa học là *Artocarpus lakoocha* Roxb.

3. Chiết mẫu thực vật và phân lập các chất

Cành cây *A. lakoocha* sau khi thu hái về được rửa sạch, phơi khô tự nhiên rồi sấy trong tủ sấy ở 40^0C và nghiền nhỏ. Mẫu (740 g) được ngâm chiết lần lượt với các dung môi *n*-hexan, etyl axetat và metanol. Sau khi cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao chiết tương ứng là 2,58, 11,15 và 13,57 g.

Cao chiết *n*-hexan (2,58 g) được phân tách bằng sắc ký cột trên chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi rửa giải là n-hexan/etyl axetat với lượng etyl axetat tăng dần (0-100%), thu được 12 phân đoạn, ký hiệu là ALCH1-ALCH12.

Phân đoạn ALCH3 (370 mg) tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột với hệ dung môi n-hexan/etyl axetat (99:1) thu được hai phân đoạn (ALCH3.1, ALCH3.2). Tinh chế phân đoạn ALCH3.2 bằng sắc ký cột, dung môi *n*-hexan thu được chất **2** (22,8 mg) dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. IR (KBr) n_{max} (cm^{-1}): 3443,2, 2936,5, 1732,5, 1246,9.

Phân đoạn ALCH4 (166,7 mg) được đưa lên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là n-hexan/etyl axetat (99:1) thu được 3 phân đoạn (ALCH4.1-ALCH4.3). Chất **3** (28,6 mg) *(kí hiệu ALCH4.2a)* thu được ở dạng kết tinh hình vảy, màu trắng khi tinh chế phân đoạn ALCH4.2 bằng cột silica gel, dung môi *n*-hexan/etyl axetat (98:2). IR (KBr) n_{max} (cm^{-1}): 2946,2, 2867,9, 1708,1, 1458,0, 1382,4.

Chất **1** (18 mg) là tinh thể hình kim màu trắng thu được từ phân đoạn ALCH6 sau khi tiến hành sắc ký cột với *n*-hexan/etyl axetat (90:10). IR (KBr) n_{max} (cm^{-1}): 3380,5, 2939,1, 2860,8, 1456,0, 1383,6.

Ngoài ra, từ ALCH8 (46,5 mg) cũng thu được β-sitosterol dựa trên kết quả sắc ký bản mỏng so sánh với chất chuẩn.

Cao chiết etyl axetat (11.15 g) được cho qua cột silica gel, hệ dung môi rửa giải là n-hexan/etyl axetat với lượng etyl axetat tăng dần (0-100%) và etyl axetat/metanol (90:10; 50:50), thu được 19 phân đoạn ALCE1-ALCE19.

Phân đoạn ALCE8 sau khi đuổi bớt dung môi thấy có chất rắn màu trắng kết tinh, tiến hành kết tinh lại nhiều lần bằng etyl axetat thu được chất **4** (14,5 mg). IR (KBr) n_{max} (cm^{-1}): 3474,4, 2941,7, 2877,8, 1684,2, 1457,3, 1376,8, 1233,2.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

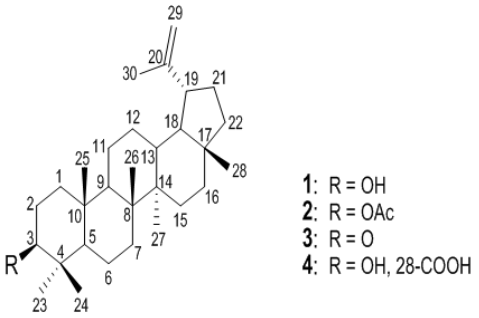
Phổ ^{1}H-NMR của chất **1** cho thấy 2 tín hiệu doublet của nhóm >C=CH_2 ở d_H 4,58 (1H, J = 2,0) và 4,56 (1H, J = 2,0), tín hiệu của nhóm oxi methin ở d_H 3,19 (1H, dd, J = 5,0 và 11,4) và 7 tín hiệu metyl bậc 4 ở d_H 0,79, 0,94, 0,97, 1,03, 1,07, 1,08 và 1,68. Tín hiệu của hai proton olefinic và nhóm metyl ở d_H 1,68 chứng tỏ sự có mặt của nhóm propenyl trong phân tử. Phổ ^{13}C-NMR cho biết phân tử chất **1** chứa 30 nguyên tử cacbon, bao gồm 7 nhóm metyl, 11 nhóm metylen, 6 nhóm methin và 6 cacbon bậc bốn. Các số liệu phổ trên cho phép dự đoán chất **1** là tritecpen khung lupan với một nhóm hydroxy ở vị trí C-3. Cấu trúc của **1** được khẳng định là lup-20(29)-en-3b-ol (lupeol) khi so sánh với các số liệu phổ trong tài liệu [4]. Lupeol là một trong các pentacyclic triterpen phổ biến nhất trong hệ thực vật, nó được phân lập lần đầu tiên vào năm 1889 từ loài *Lupinus luteus* [5].

Chất **2** có phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR tương tự như của chất **1**, cũng là triterpen khung lupan, nhưng chỉ khác là nhóm hydroxy ở chất **1** đã được thay thế bằng nhóm axetoxy. Điều này được thể hiện qua sự dịch chuyển về phía trường thấp hơn của tín hiệu oxygen methin trong chất **2** (d_H = 4,47, dd, J = 5,6, 10,7) và sự xuất hiện tín hiệu của nhóm axetyl: d_H = 2,03 (3H, s), d_C = 21,29, 171,02. Do vậy, cấu trúc của chất **2** được xác định là lup-20(29)-en-3b-acetat (lupeol-3b-acetat) nhờ so sánh phổ của **2** với số liệu trong tài liệu [6].

Khi so sánh phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR của **3** với chất **1** và **2** cho thấy rằng nó cũng có khung lupan, thể hiện qua các tín hiệu của nhóm propenyl và tín hiệu của 7 nhóm methyl bậc 4. Phổ ^{1}H-NMR của chất **3** không cho tín hiệu của nhóm oxygen methin, nhưng trong phổ ^{13}C-NMR lại xuất hiện tín hiện nhóm cacbonyl ở d_C = 218,04. Như vậy là nhóm hydroxy ở C-3 trong

chất **1** đã được thay thế bằng nhóm xeton ở chất **3**. Kết luận này được khẳng định khi so sánh số liệu phổ của chất **3** với chất lup-20(29)-en-3-on [7]. Vậy cấu trúc của chất **3** là lup-20(29)-en-3-on, chất này đã được tìm thấy trước đây từ loài *Salacia beddomei* [7].

Chất **4** là một triterpen khung lupan khi phân tích phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR của nó, thể hiện qua sự có mặt các tín hiệu của nhóm propenyl, 7 nhóm metyl bậc 4 như của các chất **1**, **2**, **3**. Ngoài ra trên phổ còn cho thấy tín hiệu của nhóm oxygen methin ở d_H = 3,18 dd, J = 5,4, 10,8 và nhóm cacboxyl ở d_C = 179,31. Số liệu phổ của chất **4** hoàn toàn đồng nhất với phổ của betulinic acid trong tài liệu [4]. Betulinic axit được phân lập từ rất nhiều loài thực vật như *Cornus florida*, *Zizyphus vulgaris*, *Arbutus menziesii*, ...Gần đây người ta đã phát hiện ra nhiều hoạt tính sinh học lý thú của nó như hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, kháng sốt rét,....[5]. Theo các tài liệu mà chúng tôi tra cứu được thì đây là các triterpen khung lupan lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. lakoocha* cũng như chi *Artocarpus*. Số liệu phổ ^{13}C-NMR của các chất **1-4** cũng như là các số liệu trong tài liệu được đưa trong bảng 1.



Bảng 1: Số liệu phổ ^{13}C-NMR của các chất **1-4** (125MHz) và các chất lupeol, lupeol acetat, lupeon, betulinic axit trích dẫn từ tài liệu

C	1 ($CDCl_3$)	Lupeol [4]	2 ($CDCl_3$)	Lupeol axetat [6]	3 ($CDCl_3$)	Lupeon [7]	4 ($CDCl_3$ + CD_3OD)	Betulinic axit [4]
1	38,87 t	38,7	38,44 t	38,3	39,64 t	39,6	38,8 t	38,7
2	27,48 t	27,4	23,74 t	23,6	34,15 t	34,1	27,1 t	27,4
3	79,03 d	78,9	81,04 d	80,7	218,04 s	217,9	78,9 d	78,9
4	38,79	38,8	37,83 s	37,7	47,33 s	47,3	38,7 s	38,8
5	55,35 d	55,3	55,44 d	55,3	54,98 d	54,9	55,3 d	55,3
6	18,34 t	18,3	18,24 t	18,2	19,71 t	19,7	18,3 t	18,3
7	34,30 t	34,2	34,27 t	34,1	33,61 t	33,6	34,3 t	34,3
8	40,87 s	40,8	40,90 s	40,7	40,82 s	40,8	40,7 s	40,7
9	50,48 d	50,4	50,40 d	50,2	49,83 d	49,8	50,5 d	50,5
10	37,20 s	37,1	37,13 s	37,0	36,91 s	36,9	37,1 s	37,2
11	20,96 t	20,9	20,99 t	20,9	21,51 t	21,5	20,9 t	20,8
12	25,19 t	25,1	25,17 t	25,0	25,21 t	25,1	25,5 t	25,5
13	38,10 d	38,0	38,10 d	37,9	38,22	37,4	38,3 d	38,4
14	42,86 s	42,8	42,87 s	42,7	42,93 s	42,8	42,4 s	42,4
15	27,44 t	27,4	27,48 t	27,4	27,47 t	27,4	30,6 t	30,5
16	35,61 t	35,5	35,61 t	35,5	35,55 t	35,6	32,2 t	32,1
17	43,01 s	43,0	43,02 s	42,9	43,01 s	43,0	56,2 s	56,3
18	48,35 d	48,2	48,35 d	48,2	48,29 d	48,3	46,9 d	46,9
19	48,00 d	47,9	48,03 d	47,9	47,97 d	47,9	49,5 d	49,2
20	150,96 s	150,9	150,95 s	150,5	150,84 s	150,8	150,6 s	150,3

C	1 ($CDCl_3$)	Lupeol [4]	2 ($CDCl_3$)	Lupeol axetat [6]	3 ($CDCl_3$)	Lupeon [7]	4 ($CDCl_3$ + CD_3OD)	Betulinic axit [4]
21	29,89 t	29,8	29,89 t	29,8	29,87 t	29,8	29,6 t	29,7
22	40,02 t	40,0	40,03 t	39,9	40,0 t	40,0	37,2 t	37,0
23	28,00 q	28,0	27,97 q	27,9	26,68 q	26,6	27,9 q	27,9
24	15,36 q	15,4	16,50 q	16,5	21,04 q	21,0	15,3 q	15,3
25	16,11 q	16,1	16,19 q	16,1	15,96 q	15,9	15,9 q	15,9
26	16,00 q	15,9	16,01 q	15,9	15,81 q	15,8	16,0 q	16,0
27	14,56 q	14,5	14,54 q	14,4	14,50 q	14,5	14,6 q	14,7
28	18,01 q	18,0	18,02 q	18,0	18,03 q	18,0	179,3 s	180,5
29	109,31 t	109,3	109,35 t	109,2	109,39 t	109,4	109,4 t	109,6
30	19,33 q	19,3	19,31 q	19,2	19,33 q	19,3	19,3 q	19,4
$OCOCH_3$			171,02 s	170,4				
$OCOCH_3$			21,29 q	21,0				

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2000). Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản trẻ. Quyển II, p. 549.
2. T. T. Thuy, C. Kamperdick, P. T. Ninh, T. P. Lien, T. T. P. Thao, T. V. Sung. Die Pharmazie, 59, pp. 297 - 300 (2004).
3. http://en.wikipedia.org/wiki/Artocarpus.
4. Shashi B. Mahato, Asish P. Kundu. Phytochemistry, 37 (6), 1517 - 1575 (1994).
5. CD-Rom of Dictionary of Natural Products.
6. E. Wenkert, G. Vernon Baddeley, I. R. Burfitt. L. N. Moreno. Organic Magnetic Resonance, 11 (7), 337 - 343 (1978).
7. A. Hisham, G. Jaya Kumar, Y. Fujimoto, N. Hara. Phytochemistry, 40(4), 1227 - 1231 (1995).

Liên hệ: **Nguyễn Thị Hoàng Anh**
Viện Hóa học
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Email: hoanganhvhh@gmail.com