

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

II - CÁC HỢP CHẤT TRITERPEN, STEROIT VÀ MONOGLYXERIT

Đến Tòa soạn 29-4-2010

NGUYỄN CHÍ BẢO¹, NGUYỄN THỊ HOÀNG ANH², TRẦN VĂN SUNG²

¹Khoa Hóa học, Đại học Sư phạm - Đại học Huế

²Viện Hóa học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

Three compounds were isolated from the *n*-hexane and ethyl acetate extracts of *Artocarpus lakoocha* collected in Son La province. Their structures were elucidated as friedelane-3-one, stigmast-4-ene-3-one and 1-tricosanoyl-glycerol by analysis of MS, NMR spectra and comparison with the published data.

I - MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, chi *Artocarpus* là chi lớn thuộc họ Dâu tằm (Moraceae), có 15 loài được phân bố ở nhiều vùng trong cả nước [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. Cây Chay (*Artocarpus 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 cây này sắc nước dùng trị giun như giun kim, giun đũa và dùng ngoài để trị ghẻ [2]. Theo tra cứu trên đĩa CD Từ điển các hợp chất thiên nhiên năm 2007 thì mới chỉ có 4 chất được phân lập từ rễ cây *A. lakoocha*, trong đó có 2 hợp chất mới là dẫn xuất của stilben, đó là lakoochin A và B có hoạt tính kháng vi nấm (mycobacterial). Trước đây

chúng tôi đã công bố việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 4 chất triterpen khung lupan từ dịch chiết *n*-hexan và etyl axetat của cành cây Chay *A. lakoocha* [3]. Bài báo này thông báo việc phân lập và xác định cấu trúc của 3 chất, đó là friedelan-3-on (1), stigmast-4-en-3-on (2) và 1-tricosanoyl-glyxerin (3).

II - THỰC NGHIỆM

1. Thiết bị và hóa chất

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất nội chuẩn cho ¹H và tín hiệu dung môi làm chuẩn cho ¹³C-NMR. Phổ khối ESI-MS được đo trên máy Agilent LC-MSD-Trap SL. Phổ hồng ngoại IR (KBr) được ghi trên máy IMPACT-410 của hãng Nicolet. Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F₂₅₄, 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 Trai, Viện Dược liệu, Bộ Y tế xác định tên khoa học là *Artocarpus lakoocha* Roxb. Tiêu bản số ALSLa-08-VHH hiện được lưu tại Phòng Tổng hợp hữu cơ, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

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°C và nghiền nhỏ. 740 g bột cành 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.

Cạn 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 ALCH4 (166,7 mg) được đưa lên cột silica gel, giải hấp bằng hỗn hợp *n*-hexan/etyl axetat (99:1) thu được 3 phân đoạn. Kết tinh phân đoạn 3 trong hỗn hợp *n*-hexan:etyl axetat = 95:5 thu được 5,5 mg chất **1** (0,00074% so với mẫu khô) dưới dạng kết tinh hình kim, màu trắng ($R_f = 0,49$; *n*-hexan:etyl axetat = 95:5). IR (KBr) n_{\max}^* (cm⁻¹): 2926,7, 2869,4, 1712,2, 1459,4 và 1387,6.

Phân đoạn ALCH7 (90,2 mg) được tinh chế tiếp trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexan/etyl axetat (90:10). Phân giàu chất **2** được làm sạch bằng cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexan/etyl axetat (85:15) thu được 5,7 mg chất **2** (0,00077% so với mẫu khô) dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng ($R_f = 0,57$; *n*-hexan:etyl axetat = 85:15). IR (KBr) n_{\max}^* (cm⁻¹): 2945,5, 2873,8, 1676,0, 1619,2, 1463,2 và 1375,2.

Cạn chiết etyl axetat (11,15 g) được cho qua cột silica gel, giải hấp bằng hệ dung môi *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 ALCE11 được tiếp tục phân tách trên cột silica gel bằng hệ dung môi CH₂Cl₂:MeOH (98:2). Phân đoạn giàu chất **3** được kết tinh lại nhiều lần trong *n*-hexan thu

được 35 mg (0,0047% so với mẫu khô) chất rắn màu trắng kết tinh dạng bông ($R_f = 0,40$; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). IR (KBr) n_{\max}^* (cm⁻¹): 3320,2, 3255,8, 2915,0, 2855,1, 1731,1, 1469,4, 1393,8 và 1178,6.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $d_H = 4,13$ dd (6,3, 11,4 Hz, H-1a), 4,11 dd (4,9, 11,4 Hz, H-1b), 3,87 m (H-2), 3,63 dd (4,1, 11,4 Hz, H-3a), 3,55 dd (6,2, 11,4 Hz, H-3b), 0,88 t (6,8Hz, CH₃-23').

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $d_C = 64,96$ t (C-1), 69,81 d (C-2), 63,05 t (C-3), 33,96 t (C-2'), 31,71 t (C-3'), 29,47 - 22,46 (C-4' - C-22'), 13,80 q (CH₃-23').

Ngoài ra, từ phân đoạn ALCE18 cũng thu được β -sitosterol glucosit dựa trên kết quả sắc ký bản mỏng so sánh với chất chuẩn.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

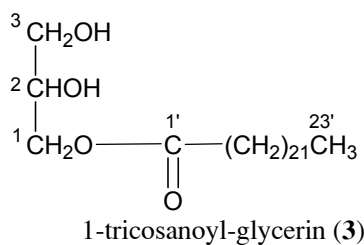
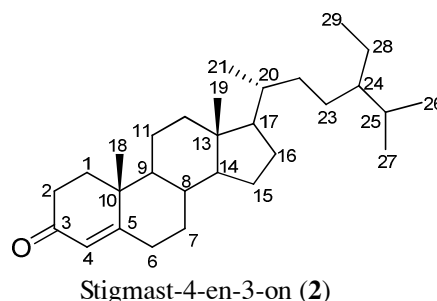
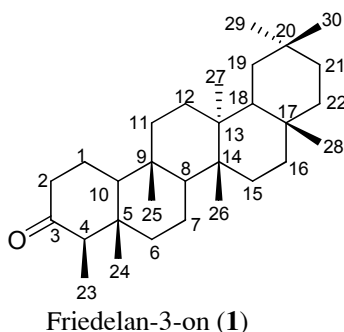
Phổ IR của chất **1** cho đỉnh hấp thụ đặc trưng của nhóm xeton ở 1721 cm⁻¹. Phổ ¹H- và ¹³C-NMR cho biết đây là một tritecpen khung friedelan, thể hiện qua sự có mặt của 30 nguyên tử cacbon, trong đó có 8 nhóm methyl bao gồm 7 tín hiệu singlet ở d_H 0,73, 0,87, 0,96, 1,00, 1,01, 1,05, 1,18 cùng với 1 tín hiệu doublet ở d_H 0,88 d (6,4 Hz) (CH₃-23) và một nhóm cacbonyl ở $d_C = 213,1$. Từ các số liệu phổ phân tích trên kết hợp so sánh với số liệu trong tài liệu [4] cho phép kết luận chất **1** là friedelin (friedelan-3-on).

Chất **2** cho đỉnh hấp thụ đặc trưng của nhóm xeton trong phổ FT-IR tại 1676 cm⁻¹. Phổ ¹H-NMR chỉ ra sự có mặt của 6 nhóm methyl trong phân tử, gồm có 2 nhóm bậc 3 ($d_H = 0,71$ s và 1,18 s), 3 nhóm bậc 2 [d_H 0,81 (d, 6,8 Hz); 0,83 (d, 6,8 Hz); 0,92 (d, 6,5 Hz)] và 1 nhóm bậc 1 ở d_H 0,85 (t, 7,5 Hz). Ngoài ra còn có tín hiệu singlet của olefin proton ở $d_H = 5,72$. Phổ ¹³C-NMR cho tín hiệu của 29 cacbon, bao gồm 1 nhóm cacbonyl, một nối đôi dạng -CH=C<, 6 nhóm methyl, 11 nhóm metylen và 4 cacbon bậc 4. Số liệu phổ của chất **2** hoàn toàn đồng nhất với số liệu của stigmat-4-en-3-on trong tài liệu [5]. Số liệu phổ ¹³C-NMR của chất **1** và **2** được đưa trong bảng 1. Năm 1995, F. Jamaluddin đã phát hiện stigmat-4-en-3-on phân lập từ cây

Parkia sp. có tác dụng hạ đường huyết rõ rệt đối với chuột cống được gây đái tháo đường bằng alloxan. Vì vậy chất này được xem như một tác nhân hạ đường huyết thiên nhiên qua đường uống có trong thực phẩm [6].

Chất **3** cho đỉnh hấp thụ của các nhóm hydroxy tại 3320 và 3255 cm^{-1} và nhóm carbonyl tại 1731 cm^{-1} trong phổ hồng ngoại. Phổ ^1H và ^{13}C -NMR cho thấy chất **3** là este của glycerin và một axit béo no mạch thẳng. Điều này được thể hiện qua các tín hiệu: nhóm este cacbonyl ($d_{\text{C}} = 174,4$), 2 nhóm oxi metylen ở $d_{\text{H}} = 4,13, 4,11, 3,63, 3,55$; $d_{\text{C}} = 64,96$ và 63,05, một nhóm oxi metin ở $d_{\text{H}} = 3,87$ m, $d_{\text{C}} = 69,8$, một nhóm metyl đầu mạch ($d_{\text{H}} = 0,88$ t, $J = 6,8$; $d_{\text{C}} = 13,8$) và nhiều tín hiệu metylen ở trong khoảng từ 22,46 - 33,96 ppm. Chiều dài mạch của acid béo no được xác định là $\text{C}_{22}\text{H}_{45}$ - qua số liệu mảnh ion tại $m/z = 397$ $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$, đặc trưng cho các hợp chất monoglycerit [7] trong

phổ khối ESI-MS ion âm. Như vậy, khối lượng phân tử của chất **3** là 428, tương ứng với công thức phân tử là $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_4$, được rút ra từ số liệu phổ khối và phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Từ việc phân tích phổ trên đây kết hợp so sánh với số liệu của chất tương tự là các hợp chất 1-acyl glycerol có các mạch nhánh béo như 1-(17-metyloctadecanoyl)-glycerin [8] cho phép xác định cấu trúc của chất **3** là 1-(tricosanoyl)-glycerin. Các hợp chất monoglycerit: 1-(16-metylheptadecanoyl)-glycerin, 1-(18-metylnonadecanoyl)-glycerin, 1-(17-metyloctadecanoyl)-glycerin, 1-(16-metyloctadecanoyl)-glycerin phân lập được từ *Streptomyces* sp. OCU-42815 đã được chứng minh là có hoạt tính kháng sinh (antibiotic), trong khi các monoglycerit có axit béo là các axit mạch thẳng C_{17} - C_{20} không có hoạt tính kháng vi khuẩn tại nồng độ 100 mg/ml [8]. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của chất **3** được đưa ở phần thực nghiệm.



Đây là lần đầu tiên các hợp chất **1-3** được phân lập từ loài *Artocarpus lakoocha*. Theo tra cứu tài liệu của chúng tôi thì trước đây chất **3** (1-tricosanoyl-glycerin) chưa được công bố trong tài liệu.

Bảng 1: Số liệu phổ ^{13}C -NMR của các chất **1**, **2** (125MHz) và các số liệu trích dẫn từ tài liệu

C	1 (CDCl_3)	Friedelin [4]	2	Stigmast-4-en-3- on [5]
1	22,3 t	22,3	35,72 t	35,7
2	41,5 t	41,5	33,99 t	34,0
3	213,1 s	213,2	199,57 s	198,9
4	58,3 d	58,2	123,75 d	123,8
5	42,1 s	42,1	171,61 s	171,1
6	41,3 t	41,3	32,96 t	33,0
7	18,3 t	18,2	32,08 t	32,1
8	53,1 d	53,1	35,66 d	35,7
9	37,5 s	37,4	53,85 d	53,9
10	59,5 d	59,4	38,62 s	38,7
11	35,7 t	35,6	21,05 t	21,1
12	30,5 t	30,5	39,66 t	39,7
13	39,7 s	39,7	42,42 s	42,4
14	38,3 s	38,3	56,06 d	56,0
15	32,5 t	32,4	24,19 t	24,2
16	36,0 t	36,0	28,19 t	28,2
17	30,0 s	30,0	55,91 d	56,1
18	42,9 d	42,8	11,98 q	12,0 q
19	35,4 t	35,3	17,40 q	17,4
20	28,2 s	28,1	36,12 d	36,2
21	32,8 t	32,7	18,71 q	18,7
22	39,3 t	39,2	33,92 t	34,0
23	6,8 q	6,8	26,16 t	26,2
24	14,7 q	14,6	45,88 d	45,9
25	17,9 q	17,9	29,21 d	29,3
26	20,3 q	20,2	19,80 q	20,2
27	18,7 q	18,6	19,04 q	18,8
28	32,1 q	32,1	23,11 t	23,1
29	35,0 q	35,0	11,96 q	12,0
30	31,8 q	31,8	-	-
OCOCH_3				
OCOCH_3				

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Nxb. Trẻ. Quyển II, p. 549 (2000).
2. <http://en.wikipedia.org/wiki/Artocarpus>.
3. Nguyễn Chí Bảo, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Trần Văn Sung. Tạp chí Hóa học 2010 (đã nhận đăng).
4. Shashi B. Mahato, Aish P. Kundu. Phytochemistry, 37 (6), 1517 - 1575 (1994).
5. Elvira M. M. Gaspar, Higuinaldo J. C. Das Neves. Phytochemistry, 34 (2), 523 - 527 (1993).
6. F. Jamaluddin, S. Mohamed, Md. Nordin Lajis. Food Chemistry 54, 9 - 13 (1995).
7. C. B. Johnson, R. T. Holman. Lipids, 1, 371 - 380 (1966).
8. Yukihiro Akeda, Kozo Shibata, Xu Ping, Toshio Tanaka, Makoto Taniguchi. The Journal of Antibiotics, 48 (5) 363 - 368 (1995).

Nghiên cứu thành phần hóa học cây Chay (*Artocarpus lakoocha* Roxb.)

II. Các hợp chất triterpen, steroid và monoglycerid

Study on chemical constituents of *Artocarpus lakoocha* Roxb.

II. Triterpene, steroide and monoglyceride

Nguyễn Chí Bảo^a, Nguyễn Thị Hoàng Anh^b, Trần Văn Sung^b