

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CAO ETYL AETAT CỦA VỎ CÂY ĐÀO TIÊN (CRESCENTIA CUJETE)

Đến tòa soạn 24 - 4 - 2015

Phạm Đức Nhuận, Nguyễn Thị Thảo Ly, Nguyễn Diệu Liên Hoa

Phòng thí nghiệm Hợp chất Tự nhiên và Hóa dược, Khoa Hóa,

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh

Nguyễn Mậu Vũ

Bộ môn Ngoại ngữ, Đại học Cảnh sát Nhân dân

SUMMARY

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE BARK OF CRESCENTIA CUJETE

Five compounds, oleanolic acid (1), 4-hydroxybenzoic acid (2), methyl 4-hydroxybenzoate (3), vanillic acid (4) and methyl vanillate (5), were isolated from an ethyl acetate extract of the bark of *Crescentia cujete* collected in Ho Chi Minh City. Their structures were determined using NMR techniques (^1H NMR, DEPT and ^{13}C NMR).

1. MỞ ĐẦU

Crescentia là một chi nhỏ thuộc họ Quao hay Núc nác (Bignoniaceae), chỉ có 7 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới Châu Mỹ, Châu Á và Malesia [1]. Có hai loài được nhập vào Đông Nam Á là *C. alata* và *C. cujete*. Ở Việt Nam, chi *Crescentia* chỉ có một đại diện là đào tiên (*C. cujete*) [2, 3], có tác dụng hạ sốt, trị ho, làm mát và trị ung thư [3, 4]. Theo các tài liệu thu thập được thì nhóm hợp chất đặc trưng của chi này là naphtoquinon và iridoid. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 5 hợp chất từ cao etyl acetat của vỏ cây đào tiên thu hái ở thành phố Hồ Chí Minh.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Vật liệu

Vỏ cây đào tiên được thu hái vào tháng 10/2010 ở huyện Củ Chi, Tp. Hồ Chí Minh và được ThS. Đặng Văn Sơn, Viện Sinh học Nhiệt đới Tp. Hồ Chí Minh, nhận danh. Phổ NMR ghi trên máy NMR Bruker Avance 500 [500 MHz (^1H) và 125 MHz (^{13}C)] với TMS là chất chuẩn nội ($\delta = 0,00$ ppm), CDCl_3 hoặc axeton- d_6 là dung môi. Độ bội trong phổ ^{13}C NMR được xác định bằng phổ DEPT. Sắc ký cột (SKC) được thực hiện trên silica gel 60 (40-63 μm , Merck). Sắc ký bản mỏng (SKBM) được thực hiện trên bản silica gel 60 F₂₅₄ (250

μm , Merck) hay RP-18 F₂₅₄S (250 μm , Merck). Sắc ký lọc gel được thực hiện trên Sephadex LH-20 (GE Healthcare). Các cấu tử trên bản mỏng được phát hiện bằng đèn tử ngoại hoặc cho vào bình đựng iod hay phun xịt với FeCl₃/EtOH (để phát hiện hợp chất phenol). Tất cả dung môi đều được chưng cất lại trước khi sử dụng.

1.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế cao và phân lập chất

Vỏ cây được phơi khô, xay nhỏ và trích kiệt (1,2 kg) bằng bộ chiết Soxhlet với EtOAc. Thu hồi dung môi bằng máy cô quay thu được cao EtOAc (50,2 g). SKC cao EtOAc trên silica gel bằng hệ dung môi hexan-EtOAc có độ phân cực tăng dần thu được 7 pđ (ĐT1-7). SKC pđ ĐT5 (17,8 g) trên silica gel (hexan-EtOAc 0-100%) thu được 9 pđ (ĐT5.1-9). SKC pđ ĐT5.6 (5,4 g) nhiều lần trên silica gel (hexan-EtOAc 0-50%) thu được **3** (5,0 mg) và **5** (5,2 mg). SKC pđ ĐT5.7 (5,44 g) lần lượt trên silica gel (hexan-EtOAc 0-50%), RP-18 (H₂O-MeOH 70-90%) thu được **2** (6,3 mg) và **4** (5,5 mg). SKC pđ ĐT5.8 (0,72 g) lần lượt trên silica gel (hexan-EtOAc 0-70%), Sephadex LH-20 (CHCl₃-MeOH 50%) rồi silica gel (CHCl₃-isopropanol 1-20%) thu được **1** (9,7 mg).

2.2.2. Xác định cấu trúc hóa học

Việc xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được thực hiện bằng phương pháp phổ NMR (¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT90 và DEPT135) và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo.

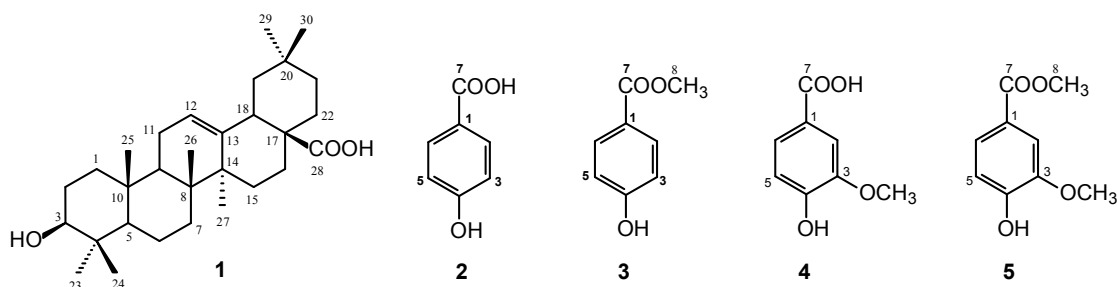
Aict oleanolic (**1**): Phổ ¹H NMR (CDCl₃) δ_{H} : 5,24 (1H, t, $J = 3,7$ Hz, H-12); 3,31 (1H, br s, 3-OH); 3,14 (1H, dd, $J = 10,9$ và

4,7 Hz, H-3); 2,88 (1H, dd, $J = 13,9$ và 4,3 Hz, H-18); 2,01 (2H, dd, $J = 13,5$ và 4,1 Hz, H-11); 1,89 (1H, dd, $J = 9,0$ và 3,6 Hz, H-5); 1,16 (3H, s, H₃-27); 0,99 (3H, s, H₃-23); 0,94 (3H, s, H₃-30); 0,93 (3H, s, H₃-25); 0,90 (3H, s, H₃-29) và 0,78 (6H, s, H₃-24 và H₃-26) và nhiều proton ở vùng từ trường cao (0,50-2,05 ppm). Phổ ¹³C NMR (CDCl₃) δ_{C} : 179,0 (C-28); 145,1 (C-13); 123,2 (C-12); 78,8 (C-3); 56,4 (C-5); 48,7 (C-17); 47,0 (C-19); 47,0 (C-9); 42,7 (C-14); 42,4 (C-18); 40,4 (C-8); 39,5 (C-1); 39,5 (C-4); 38,0 (C-10); 34,6 (C-21); 33,8 (C-7); 33,5 (C-29); 33,5 (C-22); 31,5 (C-20); 28,9 (C-23); 28,6 (C-15); 28,3 (C-2); 24,3 (C-11); 26,4 (C-27); 24,0 (C-16); 24,0 (C-30); 19,3 (C-6); 17,8 (C-26); 16,4 (C-24) và 15,9 (C-25).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Bằng phương pháp sắc ký cột cao etyl acetat của vỏ cây đào tiên trên silica gel, RP-18 và Sephadex LH-20, chúng tôi đã phân lập được 5 hợp chất (**1-5**, Hình 1).

Hợp chất 1: Tinh thể hình kim màu trắng. Phổ ¹H NMR kết hợp với phổ ¹³C NMR (xem mục 2.2.2) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với 30C gồm một carbon carbonyl của acid carboxylic, một nối đôi carbon-carbon tam hoán, một alcol bậc hai, bảy nhóm metyl bậc ba, 10 nhóm metylen, ba nhóm metin và sáu carbon bậc bốn. Từ các số liệu phổ có thể dự đoán **1** là một triterpen có công thức phân tử C₃₀H₄₈O₃ với độ bất bão hòa là 7. Trừ đi một nối đôi C=C và một nối đôi C=O, hợp chất này có năm vòng. So sánh với tài liệu tham khảo [5] cho thấy hợp chất này là acid oleanolic (**1**).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của 1-5

Bảng 1. Số liệu phổ ^1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz) của 2-5 (trị số trong ngoặc là hằng số ghép cặp J tính bằng Hz)

Vị trí	2 (trong acetone- d_6)		3 (trong CDCl_3)		4 (trong acetone- d_6)		5 (trong CDCl_3)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		122,7		122,6		122,9		122,5
2	7,92 dt (8,8; 2,4)	132,7	7,95 m	132,1	7,56 d (1,9)	113,5	7,55 d (1,9)	111,9
3	6,92 dt (8,8; 2,1)	116,0	6,87 m	115,4		148,1		146,3
4		162,6		160,4		152,1		150,2
5	6,92 dt (8,8; 2,1)	116,0	6,87 m	115,4	6,90 d (8,2)	115,5	6,94 d (8,4)	114,2
6	7,92 dt (8,8; 2,4)	132,7	7,95 m	132,1	7,59 dd (8,2; 1,9)	124,9	7,64 dd (8,4; 1,9)	124,4
7		167,7		167,5		167,5		167,0
8			3,89 s	52,2			3,89 s	52,1
4-OH			6,26 br s				6,01 br s	
3-OCH ₃					3,90 s	56,4	3,95 s	56,3

Hợp chất 2: Tinh thể màu trắng, cho phản ứng dương tính với thuốc thử $\text{FeCl}_3/\text{EtOH}$ chứng tỏ đây là một hợp chất phenol. Phổ ^1H và ^{13}C NMR (Bảng 1) cho các mũi cộng hưởng ứng với 7C gồm một carbon carbonyl của acid carboxylic và sáu carbon của một vòng benzen 1,4- nhị hoán gồm bốn carbon mang proton, một carbon mang oxygen và một carbon mang nhóm thế. Các số liệu phổ cho thấy hợp chất này

là acid 4-hydroxybenzoic (2), phù hợp với tài liệu tham khảo [6].

Hợp chất 3: Tinh thể màu trắng, cho phản ứng dương tính với thuốc thử $\text{FeCl}_3/\text{EtOH}$. Phổ ^1H và ^{13}C NMR (Bảng 1) tương tự phổ của 2, cho tín hiệu cộng hưởng ứng với 7C gồm một carbon của acid carboxylic hoặc ester và sáu carbon của một vòng benzen 1,4- nhị hoán. Ngoài ra, còn có tín hiệu của một nhóm metoxyl (δ_{H} 3,89 s; δ_{C} 52,2). Các số liệu phổ cho thấy hợp chất này là metyl

4-hydroxybenzoic (**3**), phù hợp với tài liệu tham khảo [6].

Hợp chất 4: Tinh thể màu trắng, cho phản ứng dương tính với thuốc thử $\text{FeCl}_3/\text{EtOH}$. Phổ ^1H và ^{13}C NMR (Bảng 1) cho thấy hợp chất này có 8C gồm một carbon của acid carboxylic hoặc ester, một nhóm metoxyl (δ_{H} 3,94 s; δ_{C} 56,4) và sáu carbon của một vòng benzen 1,2,4-tam hoán với ba carbon mang proton, hai carbon mang oxygen và một carbon mang nhóm thế. Từ các số liệu phổ trên có thể dự đoán **4** là acid 4-hydroxy-3-metoxibenzoic hay acid 3-hydroxy-4-metoxibenzoic. So sánh với tài liệu tham khảo [6, 7] cho thấy hợp chất này là acid 4-hydroxy-3-metoxibenzoic, thường gọi là acid vanillic (**4**).

Hợp chất 5: Tinh thể màu trắng, cho phản ứng dương tính với thuốc thử $\text{FeCl}_3/\text{EtOH}$. Phổ ^1H và ^{13}C NMR (Bảng 1) tương tự với phổ của **4**. Điểm khác biệt là **5** có thêm một nhóm metoxyl (δ_{H} 3,89 s; δ_{C} 52,1). Từ các số liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [6, 8] cho thấy hợp chất này là methyl vanillat (**5**).

4. KẾT LUẬN

Từ cao etyl acetat của vỏ cây đào tiên (*C. cujete*), chúng tôi đã phân lập được 5 hợp chất gồm acid oleanolic (**1**), acid 4-hydroxybenzoic (**2**), methyl 4-hydroxybenzoat (**3**), acid vanillic (**4**) và methyl vanillat (**5**). Việc xác định cấu trúc hóa học được thực hiện dựa vào phương pháp phổ NMR (^1H NMR, DEPT và ^{13}C NMR).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mabberley D. J., *The Plant Book: (2008) A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses*, Cambridge University Press, Cambridge, trang 227.
2. Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển 3, NXB Trẻ, Tp. Hồ Chí Minh, trang 85.
3. Phạm Hoàng Hộ (2006), *Cây có vị thuốc ở Việt Nam*, NXB Trẻ, Tp. Hồ Chí Minh, trang 341, 506.
4. Đỗ Huy Bích và các cộng sự, (2004) *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang 747-748.
5. Seebacher W., Simic N., Weis R., Saf R. K. O., (2003) Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanic acid, 18- α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo-derivatives, *Magn. Res. Chem.*, **41**, 636-638.
6. Scott K. N. (1972), Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 8564-8568.
7. Harrison L. J., Lee S. G., Yeow S. K., Tan H. T. W., Connolly J. D., Lavaud C., Gehayges M., (1995) A ferulic acid ester of sucrose and other constituents of *Bhesa paniculata*, *Phytochemistry*, **38**, 1497-1500.
8. An L. J., Guan S., Shi G. F., Bao Y. M., Duan Y. L., Jiang B. (2006), Protocatechuic acid from *Alpinia oxyphylla* against MPP⁺-induced neurotoxicity in PC12 cells, *Food Chem. Toxicol.*, **44**, 436-443.