

CÁC HỢP CHẤT STEROID ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ QUẢ CÂY TRÂU CỎ (*Ficus pumila* L., Moraceae)

Triệu Quý Hùng^{1*}, Nguyễn Thị Thùy Linh¹, Nguyễn Thị Bình Yên¹, Trần Quang Hưng²,
Hoàng Mai Thảo¹, Nguyễn Thị Nga³, Phạm Thị Thanh Huệ¹, Nguyễn Thị Thu Thảo¹

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

²Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội

³Học viện Phòng không - Không quân, Hà Nội

Ngày nhận bài: 25/7/2021; Ngày chỉnh sửa: 29/7/2021; Ngày duyệt đăng: 30/7/2021

Tóm tắt

Từ cặn chiết *n*-hexan quả cây Trâu cỏ (*Ficus pumila* L., Moraceae) hai hợp chất steroid β -sitosterol (1) and β -sitosterol acetat (2) đã được xác định. Cấu trúc của các hợp chất được phân lập này được xác định dựa vào các dữ liệu phổ bao gồm phổ khối lượng, hồng ngoại, cộng hưởng từ hạt nhân proton, cộng hưởng từ hạt nhân C-13, phổ DEPT và so sánh với tài liệu tham khảo.

Từ khóa: Trâu cỏ, β -sitosterol, β -sitosterol acetat, steroid.

1. Đặt vấn đề

Theo cuốn “Từ điển thực vật thông dụng” của tác giả Võ Văn Chi [1], chi Trâu cỏ (*Ficus*) thuộc họ Dâu tằm (Moraceae) gồm khoảng 800 loài, tập trung ở vùng nhiệt đới và nóng trên thế giới, chủ yếu ở vùng Ấn Độ - Mã Lai. Các loài này thường ở dạng cây gỗ lớn, cây nhỡ hay dây leo. Lá của loài này mọc so le hay mọc đối, nguyên, chia thùy hoặc có răng; lá kèm thường rụng sớm. Cụm hoa gồm nhiều hoa chứa trong một đế hoa kín gọi là “sung”, phía trên có một lỗ mở có vảy. Trong đế hoa sung có các hoa đực, cái hay trung tính, hoa đực ở phía trên, hoa cái ở phía dưới và hoa trung tính tiêu giảm thành đài hoặc hoa cái.

Ở Việt Nam, chi *Ficus* có 99 loài và nhiều loài đã được sử dụng trong y học cổ truyền điều trị rất hiệu quả một số bệnh như trị bệnh phong thấp, giảm đau, trị viêm khớp xương, cũng dùng để trị mụn nhọt, ngứa lở,... mở ra tiềm năng nghiên cứu hóa thực vật về các loài này [1]. Hiện nay một số công trình nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học các loài Trâu cỏ cho thấy chúng chứa các hợp chất phytosterol, tanin thuộc loại pyrocatechic,... [2]. Một số công trình nghiên cứu trên thế giới công bố trên 50 hợp chất khác nhau gồm terpenoid, alkaloid, flavonoid,... đã được phân lập từ các bộ phận khác nhau của cây Trâu cỏ [3, 4].



Hình 1. Cây Trâu cổ thu hái ở tỉnh Phú Thọ

Trong bài báo này chúng tôi thông báo về việc phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất steroid là b-sitosterol (1) và b-sitosterol acetat (2) từ dịch chiết *n*-hexan quả cây Trâu cổ.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Loài *Ficus pumila* L. được thu hái tại Trường Đại học Hùng Vương - thị xã Phú Thọ - tỉnh Phú Thọ. Mẫu tiêu bản cây ký hiệu QHT_01 được lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và tại Bộ môn Hóa học - Khoa Khoa học Tự nhiên - Trường Đại học Hùng Vương.

2.2. Phương pháp, thiết bị nghiên cứu

Các phương pháp được sử dụng bao gồm phương pháp ngâm chiết, phương pháp sắc ký silica gel, kết tinh để phân lập hợp chất thiên

nhiên; các phương pháp phổ: Cộng hưởng từ nhân proton ($^1\text{H-NMR}$), cộng hưởng từ nhân carbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$), DEPT, phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (MS) xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được [5-7].

Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên máy đo hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR Impact-410 bằng phương pháp nén viên KBr. Phổ khối phun mù electron (ESI-MS) được đo trên máy ghi phổ khối Agilent 1100. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS là chất chuẩn nội. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F₂₅₄. Sắc ký cột được tiến hành với silica gel cỡ hạt 40-63 μm của Merck.

Các dung môi sử dụng để ngâm chiết, chạy sắc ký gồm *n*-hexane, CH_2Cl_2 , EtOAc, acetone, MeOH là hóa chất kỹ thuật được chưng cất lại trước khi sử dụng.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Xử lý mẫu thực vật và phân lập các chất

Mẫu quả cây Trâu cổ sau khi thu hái được thái nhỏ, phơi khô, đem nghiền nhỏ (2,5 kg) được ngâm chiết với *n*-hexan ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ (5 lít × 5 lần). Gộp các dịch chiết đã lọc, cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được 137 gam cặn chiết *n*-hexan. Mẫu quả cây Trâu cổ được ngâm tiếp lần lượt với các dung môi EtOAc, MeOH và quay cất loại dung môi thu được các cặn chiết tương ứng.

Tiến hành sắc ký cột silica gel với hệ dung môi CH₂Cl₂/*n*-hexan gradient 0-100% phần cặn *n*-hexan chúng tôi thu được 5 phân đoạn chính ký hiệu F1÷F5. Tinh chế phân đoạn F3 (23 g) bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/*n*-hexan gradient 0-100% thu được 8 phân đoạn nhỏ (F3.1÷F3.8). Tiếp tục tiến hành sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/*n*-hexan gradient 20-100% phân đoạn F3.7 (4 g) được 8 phân đoạn nhỏ (F3.7.1÷F3.7.8). Kết tinh phân đoạn F3.7.5 bằng hệ dung môi CH₂Cl₂/*n*-hexan 50% thu được 32 mg hợp chất (1) dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng.

Phân đoạn F2 (7,3 g) được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/*n*-hexan gradient 0-65% thu được 6 phân đoạn nhỏ (F2.1÷F2.6). Tinh chế phân đoạn F2.5 (0,3 g) bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/*n*-hexan gradient 0-50% thu được 8 phân đoạn nhỏ (F2.5.1÷F2.5.8). Tiến hành sắc ký bản mỏng điều chế phân đoạn F2.5.1

(40 mg) với hệ dung môi CH₂Cl₂/*n*-hexan 25% thu được 20 mg hợp chất (2) dưới dạng chất bột rắn màu trắng.

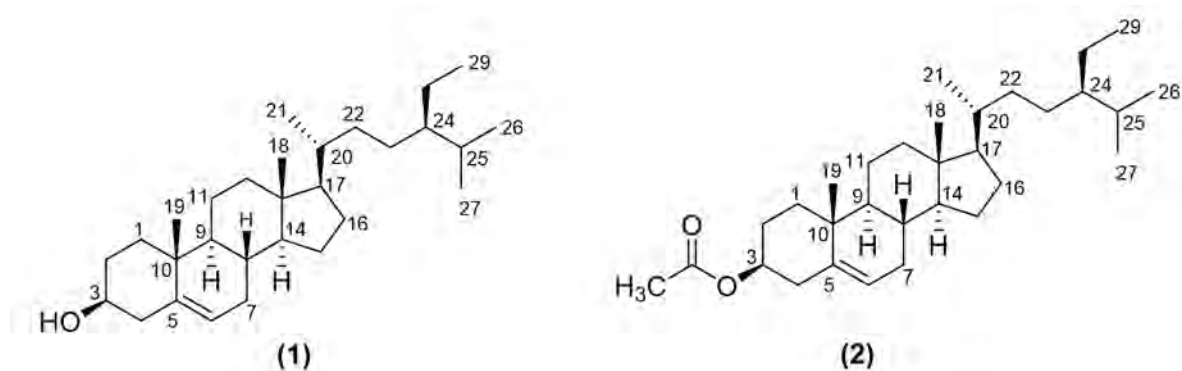
β-Sitosterol (1): Tinh thể hình kim màu trắng. $R_f = 0,41$ (CH₂Cl₂/*n*-hexan 80:20). FT-IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3287, 2936, 2868, 1595, 1466, 1379, 1134, 1059, 957, 802, 737, 420. ESI-MS: m/z 397 [M-H₂O+H]⁺ (C₂₉H₅₀O). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ_H (ppm) 5,35 ppm (1H, m, H-6); 3,52 ppm (1H, m, H-3); 1,01 (3H, s, H-19); 0,92 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-21); 0,85 (3H, t, $J=7,5$ Hz, H-29); 0,84 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-27); 0,82 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-26); 0,68 (3H, s, H-18). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm) 140,8 (C-5); 121,7 (C-6); 71,8 (C-3); 56,8 (C-14); 56,1 (C-17); 50,2 (C-9); 45,9 (C-24); 42,4 (C-13); 42,3 (C-4); 39,8 (C-12); 37,3 (C-1); 36,5 (C-20); 36,2 (C-10); 34,0 (C-22); 31,9 (C-2, C-8); 31,7 (C-7); 29,2 (C-25); 28,3 (C-16); 26,2 (C-23); 24,3 (C-15); 23,1 (C-28); 21,1 (C-11); 19,8 (C-26); 19,4 (C-19); 19,1 (C-21); 18,8 (C-27); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18).

β-Sitosterol acetat (2): Chất bột rắn màu trắng. $R_f = 0,50$ (CH₂Cl₂/*n*-hexan 40:60). FT-IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 2935, 2866, 1729, 1555, 1467, 1371, 1242, 1041, 1025, 978, 888, 800, 734, 654, 607, 552, 471, 421. ESI-MS: m/z 457 [M+H]⁺, 397 [M-CH₃COOH+H]⁺ (C₃₁H₅₂O₂). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ_H (ppm) 5,37 (1H, m, H-6); 4,60 (1H, m, H-3); 2,03 (3H, s, CH₃-CO); 1,02 (3H, s, H-19); 0,92 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-21); 0,85 (3H, t, $J=7,5$ Hz, H-29); 0,84 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-27); 0,82 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-26); 0,68 (3H, s, H-18). ¹³C-NMR

(125 MHz, CDCl_3): δ_C (ppm) 170,5 (CO); 139,7 (C-5); 122,7 (C-6); 74,0 (C-3); 56,7 (C-14); 56,1 (C-17); 50,1 (C-9); 45,9 (C-24); 42,4 (C-13); 39,7 (C-4); 38,1 (C-12); 37,0 (C-1); 36,6 (C-20); 36,2 (C-10); 34,0

(C-22); 31,9 (C-2, C-8); 29,2 (C-25); 28,3 (C-16); 27,8 (C-7); 26,1 (C-23); 24,3 (C-15); 23,1 (C-28); 21,4 ($\text{CH}_3\text{-CO}$); 21,0 (C-11); 19,8 (C-26); 19,3 (C-19); 19,1 (C-21); 18,8 (C-27); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18).

3.2. Xác định cấu trúc các chất phân lập được



Hình 2. Cấu trúc các hợp chất steroid phân lập được

Chất **1** được phân lập dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ hồng ngoại của **1** có đỉnh hấp thụ ở 3287 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm OH trong phân tử. Đỉnh hấp thụ của liên kết C=C được quan sát thấy ở 1595 cm^{-1} . Phổ khối lượng của **1** cho pic ion phân tử dehydrat hóa proton hóa $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+ = 397$ phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, $M=414$. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** có tín hiệu của proton olefinic ở δ_{H} 5,35 (1H, m, H-6), 1 proton của nhóm CH liên kết với oxygen ở δ_{H} 3,52 (1H, m, H-3). Tín hiệu 6 nhóm methyl được quan sát thấy trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** ở δ_{H} 0,68 (3H, s, 18- CH_3); 0,82 (3H, d, $J=6,5$ Hz, 26- CH_3); 0,84 (3H, d, $J=7,0$ Hz, 27- CH_3); 0,85 (3H, t, $J=8,0$ Hz, 29- CH_3); 0,92 (3H, d, $J=6,5$ Hz, 21- CH_3); 1,01 (3H, s, 19- CH_3). Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ DEPT cho thấy phân tử **1** chứa 1 CH

liên kết với oxy ở δ_C 71,8 (C-3), 1C- sp^2 bậc 4 ở δ_C 140,8 (C-5), 1 CH- sp^2 ở δ_C 121,7 (C-6); 6 nhóm $\text{CH}_3\text{-sp}^3$ ở δ_C 19,8 (C-26); 19,4 (C-19); 19,1 (C-21); 18,8 (C-27); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18). Kết hợp tài liệu tham khảo [8] cho phép khẳng định **1** là β -sitosterol. Đây là hợp chất steroid đã được phân lập từ nhiều loài thực vật khác nhau.

Chất **2** được phân lập dưới dạng bột rắn màu trắng. Phổ hồng ngoại của **2** có đỉnh hấp thụ ở 1729 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm C=O trong phân tử. Phổ khối phun mù điện tử ESI-MS cho pic ion giả phân tử $[\text{M}+\text{H}]^+ = 457$, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{COOH}+\text{H}]^+ = 397$ phù hợp với CTPT $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_2$, $M=456$. Phân tích dữ liệu phổ ^1H -, $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** cho thấy tương tự với dữ liệu phổ của **1**. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **2** cũng có tín hiệu của 1 proton olefinic ở δ_{H} 5,37 (1H, m, H-6), 1 proton của nhóm

CH liên kết với oxygen ở δ_H 4,60 (1H, m, H-3); tín hiệu 6 nhóm methyl liên kết với C-sp³ ở δ_H 0,68 (3H, s, 18-CH₃); 0,82 (3H, d, $J=7,0$ Hz, 26-CH₃); 0,84 (3H, d, $J=7,0$ Hz, 27-CH₃); 0,85 (3H, t, $J=7,5$ Hz, 29-CH₃); 0,92 (3H, d, $J=7,0$ Hz, 21-CH₃); 1,02 (3H, s, 19-CH₃). Điểm khác giữa chất **2** và chất **1** là trên phổ ¹H-NMR của **2** còn có tín hiệu của nhóm methyl liên kết với CO ở δ_H 2,03 (3H, s, CH₃-CO). Trên phổ ¹³C-NMR cho thấy phân tử **2** chứa 1 nhóm CO ở δ_C 170,5; 1CH liên kết với oxy ở δ_C 74,0 (C-3), 1C-sp² bậc 4 ở δ_C 139,7 (C-5), 1 CH-sp² ở δ_C 122,7 (C-6); 6 nhóm CH₃-sp³ ở δ_C 19,8 (C-26); 19,3 (C-19); 19,1 (C-21); 18,8 (C-27); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18), 1 nhóm CH₃ liên kết với CO ở δ_C 21,4 (CH₃-CO). Điều này cho thấy chất **2** chính là ester acetat của chất **1**. Kết hợp tài liệu tham khảo [9, 10] cho phép khẳng định **2** là β -sitosterol acetat. Đây là hợp chất steroid lần đầu tiên được phân lập từ chi *Ficus*.

4. Kết luận

Từ các căn chiết *n*-hexan của quả cây Trâu cổ, sau khi tiến hành sắc kí cột silica gel nhiều lần và sắc kí bản mỏng điều chế đã thu được hai hợp chất steroid là β -sitosterol (**1**) và β -sitosterol acetat (**2**). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng, phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT. Hợp chất β -sitosterol acetat (**2**) lần đầu tiên được phân lập từ chi *Ficus*.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin cảm ơn nhà Thực vật học Đỗ Văn Hải đã tiến hành định tên cây và Trường Đại học Hùng Vương đã cấp kinh phí thực hiện Đề tài NCKH cấp Cơ sở năm 2018.

Tài liệu tham khảo

- [1] Võ Văn Chi (2004). Từ điển thực vật thông dụng - Tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
- [2] Đỗ Tất Lợi (2011). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Thời đại, Hà Nội.
- [3] Chawla A., Kaur R. & Sharma A. K. (2012). *Ficus carica* Linn.: A Review on its Pharmacognostic, Phytochemical and Pharmacological Aspects. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, 1(4), 215-232.
- [4] Noronha N. M., Ribeiro G. E., Ribeiro I. S., Marques M. J., Coelho L. F. L. & Chavasco J. K. (2014). Phytochemical profile and antioxidant and antimicrobial activities of hydroethanolic extracts of *Ficus pumila*. African Journal of Microbiology Research, 8(28), 2665-2671.
- [5] Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, TP. Hồ Chí Minh.
- [6] Furniss B. S., Hannaford A. J., Smith P. W. G. & Tatchell A. R. (1989). Text book of practical organic chemistry. Longman Scientific Technical.
- [7] Đặng Như Tại & Ngô Thị Thuận (2010). Hóa học hữu cơ, Tập 1. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, Hà Nội.
- [8] Kiruthiga N. & Sathish Sekar D. (2014). Studies on Phytochemicals and Steroid Isolation from *n*-Hexane Extract of *Anisochilus carnosus*. International Journal of Advanced Biotechnology and Research(IJBR), 5(3), 337-345.
- [9] Hang J., Dussault P. (2010). A concise synthesis of β -sitosterol and other phytosterols. Steroids, 75(12), 879-883.
- [10] McCarthy F. O., Chopra J., Ford A., Hogan S. A., Kerry J. P., O'Brien N. M., Ryan E. & Maguire A.R. (2005). Synthesis, isolation and characterisation of β -sitosterol and β -sitosterol oxide derivatives. Organic and Biomolecular Chemistry, 3, 3059-3065.

STEROIDS ISOLATED FROM THE FRUITS OF *Ficus pumila* L. (MORACEAE)

**Trieu Quy Hung^{1*}, Nguyen Thi Thuy Linh¹, Nguyen Thi Binh Yen¹, Tran Quang Hung²,
Hoang Mai Thao¹, Nguyen Thi Nga³, Pham Thi Thanh Hue¹, Nguyen Thi Thu Thao¹**

¹*Faculty of Natural Sciences, Hung Vuong University, Phu Tho*

²*Institut of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi*

³*Air defence - Air force Academy, Hanoi*

Abstract

From the *n*-hexane extract of the fruits of *Ficus pumila* L. (Moraceae), two steroids as β -sitosterol (1) and β -sitosterol acetate (2) were characterized. The structures of isolated compounds were elucidated by using spectroscopic data including MS, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and DEPT, and in comparison with previously reported data.

Keywords: *Ficus pumila*, β -sitosterol, β -sitosterol acetate, steroid.