



Thành phần sterol, glycerol ester và thiophen trong cành cây cúc tần (*Pluchea indica* L.) của Việt Nam

Phan Minh Giang*, Văn Thị Thanh Huyền, Đỗ Thị Việt Hương

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 19 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 21 tháng 5 năm 2018

Chỉnh sửa ngày 13 tháng 6 năm 2018; Chấp nhận đăng ngày 14 tháng 6 năm 2018

Tóm tắt: Nghiên cứu lần đầu tiên thành phần hóa học của cành cây cúc tần (*Pluchea indica* L.) của Việt Nam đã phân lập được stigmasterol, 1-eicosanoyl glycerol, alcohol no mạch dài, 2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-diynyl)-thiophen, stigmasterol 3-O- β -D-glucopyranosid và β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranosid. Cấu trúc của các hợp chất được xác định bằng các phổ MS và NMR.

Từ khóa: *Pluchea indica*, Asteraceae, sterol, glycerol ester, thiophen.

1. Mở đầu

Cây cúc tần (*Pluchea indica* L.) thuộc chi *Pluchea* của họ Cúc-Asteraceae được dùng ở Việt Nam làm thuốc chữa cảm sốt, giúp tiêu hóa, chữa lỵ [1]. Các dịch chiết *P. indica* thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như kháng các vi khuẩn Gram dương và Gram âm [2], chống viêm qua ức chế sự sản sinh NO [3], chống oxy hóa và ức chế enzym acetylcholine esterase [4], ức chế sự tăng sinh [5] hoặc gây sự chết theo chương trình của tế bào ung thư người [6]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy cây *P. indica* tích lũy các hợp chất sesquiterpen [7], flavonoid [8], lignan glycoside [7], acid caffeoyl quinic [9], dẫn xuất thiophen [2] và các sterol [10]; các hợp chất này cũng được thử nghiệm một số hoạt tính để tìm hiểu sự tương

quan với tác dụng của các dịch chiết [8, 11]. Mặc dù lá và cành non đều được dùng trong các dạng thuốc thảo dược, các nghiên cứu về cây cúc tần mọc ở Việt Nam chủ yếu tập trung vào phần lá hoặc phần trên mặt đất, chưa có các nghiên cứu riêng về thành phần hóa học có trong cành cây. Để có thể tìm hiểu kỹ hơn về đóng góp của các bộ phận của cây vào công dụng y dược của cây cúc tần, nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm tìm hiểu về sự tích lũy của các hợp chất thứ cấp có trong cành cây.

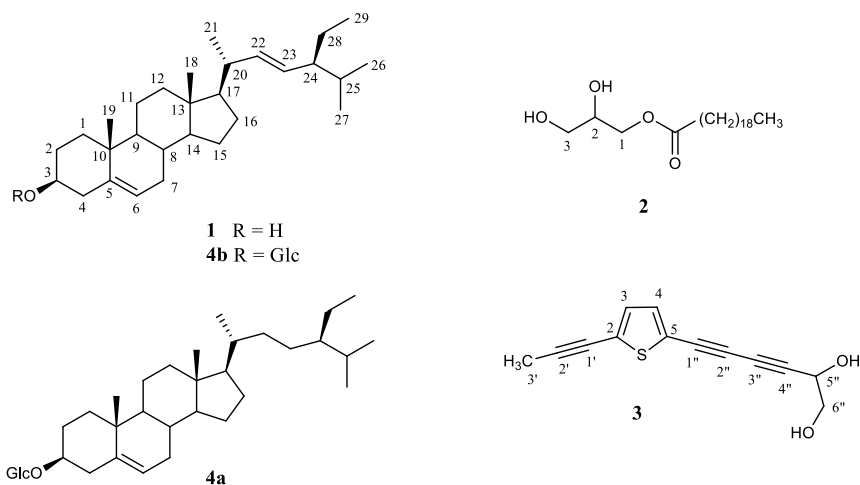
2. Kết quả và thảo luận

Cành cây Cúc tần được ngâm chiết với MeOH, sau đó phần chiết MeOH được tách bỏ các hợp chất ít phân cực bằng cách chiết hai pha lỏng với *n*-hexan, CH₂Cl₂ và EtOAc. Các phần chiết này được phân tách sắc ký cột trên silica gel cho các hợp chất 1-4 (Hình 1).

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-986651971.

Email: phanminhgiang@yahoo.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4749>



Hình 1. Cấu trúc của các hợp chất 1-4

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) của **1** cho thấy sự có mặt của 2 nhóm methyl góc bậc ba [δ_{H} 0,69 (3H, s), 1,01 (3H, s)], 1 nhóm methyl bậc hai [δ_{H} 1,02 (3H, d, $J = 6,5$ Hz)], 1 nhóm methyl bậc một [δ_{H} 0,81 (3H, t, $J = 7,0$ Hz)], 3 proton olefinic của một nối đôi thế hai lần [δ_{H} 5,34 (1H, br d, $J = 5,0$ Hz)] và một nối đôi thế một lần [δ_{H} 5,02 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz); 5,15 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz)], 1 nhóm isopropyl [δ_{H} 0,79 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)] và 0,85 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)]. Dựa trên cơ sở so sánh dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ với của các mẫu chuẩn sterol và tài liệu tham khảo, **1** đã được xác định là stigmasterol [9].

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) của **2** cho thấy sự có mặt của 1 nhóm methyl đầu mạch của acid béo no [δ_{H} 0,88 (3H, t, $J = 6,5$ Hz)]. Các nhóm methylen của mạch hydrocarbon acid béo xuất hiện ở δ_{H} 1,26 (32H, s br), 1,63 (2H, quintet, $J = 7,0$ Hz). Nhóm methylen liền kề với nhóm carbonyl cộng hưởng ở δ_{H} 2,35 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 1 nhóm oxymethylen của glycerol ester với acid béo [δ_{H} 4,14 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 6,0 Hz) và 4,19 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, 5,0 Hz)], 1 nhóm oxymethin của glycerol [δ_{H} 3,93 (1H, quintet, $J = 5,5$ Hz)] và 1 nhóm oxymethylen của glycerol [δ_{H} 3,60 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 6,0 Hz) và 3,69 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz)]. Các

dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy **2** có cấu trúc glycerol monoester. Tính toán cường độ tương đối của các tín hiệu cộng hưởng proton cho thấy acid béo là acid eicosanoic ($\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$). Do đó **2** đã được xác định là 1-icosanoyl glycerol [12].

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) của **3** cho thấy sự có mặt của 1 nhóm methyl liên kết với nối ba [δ_{H} 2,04 (3H, s)], 1 nhóm hydroxymethin [δ_{H} 4,68 (1H, s)] và 1 nhóm hydroxymethylen [δ_{H} 3,77 (1H, m) và 3,81 (1H, m)], 2 proton olefinic của các nối đôi vòng thiophen [δ_{H} 7,04 (1H, d, $J = 4,0$ Hz) và 7,10 (1H, d, $J = 4,0$ Hz)]. Dựa trên sự so sánh dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ với của tài liệu tham khảo [10], **3** đã được xác định là 2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-dienyl)-thiophen.

Phân tích cường độ các tín hiệu phổ $^1\text{H-NMR}$ đã xác định **4** là một hỗn hợp của 2 chất β -sitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranosid (**4a**) và stigmasterol 3-*O*- β -D-glucopyranosid (**4b**) với tỷ lệ 3:7. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) của **4** cho thấy sự có mặt của 2 nhóm methyl bậc ba ở C-18 [δ_{H} 0,65 (**4a**) và 0,67 (**4b**)] và 2 nhóm methyl bậc ba ở C-19 [δ_{H} 0,96 (**4a/4b**)] dưới dạng các singlet, 2 nhóm methyl bậc hai ở C-21 [δ_{H} 0,90 (d, $J = 6,5$ Hz) (**4a/4b**)] dưới dạng doublet, 2 nhóm methyl bậc một ở C-29 [δ_{H} 0,83 (t, $J = 7,0$ Hz) (**4a/4b**)] dưới dạng triplet, 2 nhóm isopropyl ở C-24 [δ_{H} 0,77 (3H, d, $J = 6,5$

Hz) và 0,82 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) (**4a**) và 0,78 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) và 0,82 (3H, d, $J = 7,0$ Hz) (**4b**), các proton olefinic của 2 nối đôi thế ba lần: δ_{H} 5,33 (1H, br s) (**4a/4b**) và 1 nối đôi thế hai lần có dạng hình học *trans* ($J = 15,0$ Hz) ở mạch nhánh của **4b** [δ_{H} 5,03 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz) và 5,15 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz)]; 2 nhóm oxymethin [δ_{H} 3,65 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-3) (**4a/4b**)]. Proton anomer của gốc glucopyranosyl [δ_{H} 4,21 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1')] và các proton của các nhóm oxymethin và oxymethylen [δ_{H} 3,01-3,46 (**4a/4b**)]. Các dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và TLC so sánh hoàn toàn phù hợp với của mẫu chuẩn và tài liệu tham khảo [13].

3. Phân thực nghiệm

3.1. Phương pháp và thiết bị

Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên thiết bị Impact-410-Nicolet FT-IR spectrophotometer. Phổ khối lượng ESI-MS được ghi trên các hệ thiết bị LC-MS 6310 Agilen Ion Trap. Các phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) được ghi trên thiết bị Bruker Avance 500 NMR spectrometer. Silica gel Merck 60 cỡ hạt 40-63 và 15-40 μm được sử dụng cho sắc ký cột (CC và Mini-C). Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn Merck DC Alufolien 60 F₂₅₄.

3.2. Nguyên liệu thực vật

Mẫu thực vật là cành cây cúc tần (*Pluchea indica* L.) được thu hái vào tháng 9 năm 2015 tại Gia Lâm, Hà Nội. Mẫu thực vật được TS. Nguyễn Thị Kim Thanh, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN giám định.

3.3. Chiết và phân lập các chất 1-4

Cành cây *P. indica* được tách bỏ lá, phơi trong bóng râm đến gần khô rồi sấy ở nhiệt độ 45°C đến khô và được cắt thành các đoạn nhỏ 5 cm. Cành cây (1,8 kg) được ngâm chiết trong MeOH ở nhiệt độ phòng (7 ngày, 2 lần). Dịch

chiết MeOH được chiết lần lượt với *n*-hexan, CH_2Cl_2 và EtOAc. Phần chiết *n*-hexan (10,67 g) được phân tách CC (*n*-hexan-aceton 49:1, 29:1, 19:1, 9:1, 4:1, 2:1, 1:1) cho 7 phân đoạn. Phân đoạn 2 được rửa nhiều lần bằng *n*-hexan cho **1** (207 mg). Phân đoạn 3 được chạy 3 lần sắc ký Mini-C trên silica gel (*n*-hexan-EtOAc 19:1, 9:1, 6:1, 4:1, 2:1; CH_2Cl_2 -EtOAc 19:1, 9:1, 4:1) cho **2** (9,1 mg). Phân đoạn 4 được chạy 3 lần sắc ký Mini-C trên silica gel (*n*-hexan-EtOAc 7:1, 4:1, 2:1, 1:1; CH_2Cl_2 -EtOAc 29:1, 19:1, 9:1, 4:1, 2:1; CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1, 2:1, 1:1) cho **2**. Các phân đoạn còn lại được tiếp tục tinh chế nhiều lần Mini-C trên silica gel (CH_2Cl_2 -EtOAc 4:1, 2:1, 1:1; CH_2Cl_2 -aceton 4:1, 2:1; CH_2Cl_2 -aceton 49:1, 29:1, 19:1, 9:1, 4:1; CH_2Cl_2 -EtOAc 2:1 và CH_2Cl_2 -aceton 3:1, 1:1; và CH_2Cl_2 -aceton 19:1, 4:1 2:1 1:1) cho một alcohol no mạch alkyl (8,0 mg) [$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ_{H} 0,88 (3H, s br), 1,26 (n CH_2 , s br), 3,71 (2H, t, $J = 6,5$ Hz)]. Phân đoạn 5 được chạy 3 lần sắc ký Mini-C trên silica gel (*n*-hexan-EtOAc 7:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2; *n*-hexan-EtOAc 4:1, 3:1, 2:1; CH_2Cl_2 -EtOAc 19:1, 9:1, 4:1, 2:1) cho **3** (12,6 mg). Phân đoạn 7 được chạy 2 lần sắc ký Mini-C trên silica gel (*n*-hexan-EtOAc 29:1, 19:1, 9:1, 4:1, 2:1, 1:1; *n*-hexan-aceton 1:1) cho **4** (10,3 mg). Phần chiết CH_2Cl_2 (2,57 g) được phân tách CC (CH_2Cl_2 -EtOAc 9:1, 4:1, 2:1, 1:1) cho 5 phân đoạn. Phân đoạn 2 được chạy sắc ký Mini-C trên silica gel (CH_2Cl_2 -EtOAc 19:1, 9:1, 4:1, 2:1) cho **3** (4,1 mg). Phân đoạn 4 được chạy Mini-C 2 lần trên silica gel (CH_2Cl_2 -aceton 9:1,6:1, 4:1, 2:1, 1:1; CH_2Cl_2 -aceton 19:1, 9:1, 4:1, 2:1) cho **4** (9,9 mg). Phần chiết EtOAc (8,5 g) được phân tách CC (CH_2Cl_2 -aceton 70:1, 49:1, 29:1, 19:1, 9:1, 4:1, 2:1, 1:1) cho 3 phân đoạn. Phân đoạn 2 được chạy sắc ký Mini-C 2 lần trên silica gel (CH_2Cl_2 -MeOH 19:1, 9:1, 4:1; CH_2Cl_2 -MeOH 19:1, 12:1, 9:1) cho **4** (7,1 mg).

Chất 1 (Stigmasterol): tinh thể hình kim màu trắng. R_f 0,41 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 4:1, v/v). ESI-MS (ion dương): 413,41 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) 0,69 (3H, s, CH_3 -19), 0,79 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, CH_3 -26), 0,81 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, CH_3 -29),

0,85 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, CH₃-27), 1,01 (3H, s, CH₃-18), 1,02 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-21), 5,02 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz, H-23), 5,15 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz, H-22), 5,34 (1H, br d, $J = 5,0$ Hz, H-6).

Chất 2 (*1-Eicosanoyl glycerol*): bột vô định hình màu trắng. R_f 0,47 (TLC, silica gel, CH₂Cl₂-EtOAc 4:1, v/v). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0,88 (3H, t, $J = 6,5$ Hz, CH₃-20'), 1,26 (32H, s br), 1,63 (2H, quintet, $J = 7,0$ Hz), 2,35 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) (CH₂-2' → CH₂-19'), 3,60 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 6,0 Hz, H-3a), 3,69 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-3b), 3,93 (1H, quintet, $J = 5,5$ Hz, H-2), 4,14 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 6,0 Hz, H-1a), 4,19 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 5,0 Hz, H-1b).

Chất 3 (*2-(Prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-diynyl)-thiophen*): bột vô định hình màu trắng. R_f 0,33 (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 3:2, v/v). ESI-MS (ion dương): 253,22 ([M+ Na]⁺ (C₁₃H₁₀O₂SNa). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 2,04 (3H, s, H-3'), 2,25 (1H, s br, -OH), 2,6 (1H, s br, -OH), 3,77 (1H, m, H-6''a), 3,81 (1H, m, H-6''b), 4,68 (1H, s, H-5''), 7,04 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-3), 7,1 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-4).

Chất 4 (β -Sitosterol 3-*O*- β -*D*-glucopyranosid + Stigmasterol 3-*O*- β -*D*-glucopyranosid): bột vô định hình màu trắng. R_f 0,69 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 5:2, v/v). β -Sitosterol 3-*O*- β -*D*-glucopyranosid (**4a**): ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0,65 (3H, s, CH₃-18), 0,77 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-26), 0,82 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-27), 0,83 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, CH₃-29), 0,90 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-21), 0,96 (3H, s, CH₃-19), 3,01-3,46 (6H, H-2', H-3', H-4', H-5', 2H-6'), 3,65 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-3), 4,21 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 5,33 (1H, br d, $J = 5,0$ Hz, H-6). Stigmasterol 3-*O*- β -*D*-glucopyranosid (**4b**): ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0,67 (3H, s, CH₃-18), 0,78 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-26), 0,82 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-27), 0,83 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, CH₃-29), 0,90 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-21), 0,96 (3H, s, CH₃-19), 3,01-3,46 (6H, H-2', H-3', H-4', H-5', 2H-6'), 3,65 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-3), 4,21 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 5,03 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5

Hz, H-23), 5,15 (1H, dd, $J = 15,0$ Hz, 8,5 Hz, H-22), 5,33 (1H, br d, $J = 5,0$ Hz, H-6).

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được 4 hợp chất từ cành cây cúc tần (*P. indica*) của Việt Nam. Nghiên cứu xác định được sự tích lũy của các sterol, sterol glycoside, alcohol và glycerol monoester trong cành cây. Stigmasterol thường được phát hiện đi cùng với β -sitosterol trong nhiều thực vật, hàm lượng cao stigmasterol trong cành cây cúc tần cho cơ sở chiết tách riêng hoạt chất này. Là tiền chất cho nhiều quá trình sinh tổng hợp, stigmasterol được xác định có các tác dụng hạ đường huyết, chống ung thư, chống viêm và giảm đau [14]. Sự có mặt của hợp chất thiophen (2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-diynyl)-thiophen) cũng đáng chú ý vì hợp chất này đã được xác định là có tác dụng chống tăng sinh một số tế bào ung thư người [10].

Tài liệu tham khảo

- [1] Đỗ Tất Lợi (2014), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Hồng Đức, Hà Nội.
- [2] Qiu Y. Q., Qi S. H., Zhang S., Tian X. P., Xiao Z. H., Li M. Y., Li Q. X. (2008). *Heterocycles*, 75, 1757-1764.
- [3] Buapool D., Mongkol N., Chantimal J., Roytrakul S., Srisook E., Srisook K. (2013). *J. Ethnopharmacol.*, 146, 495-504.
- [4] Noridayu A. R., Hii Y. F., Faridah A., Khozirah S., Lajis N. (2011). *Int. Food Res. J.*, 18, 925-929.
- [5] Cho J. J., Cho C. L., Kao C. L., Chen C. M., Tseng C. N., Lee Y. Z., Liao L. J., Hong Y. R. (2012). *BMC Complement. Altern. Med.*, 12, 265.
- [6] Kao C. L., Cho J., Lee Y. Z., Cheng Y. B., Chien C. Y., Hwang C. F., Hong Y. R., Tseng C. N., Cho C. L. (2015). *Molecules*, 20, 11508-11523.
- [7] Uchiyama T., Miyase T., Ueno A., Usmanhani K. (1991). *Phytochemistry*, 30, 655-657.
- [8] Hussain H., Al-Harrasi A., Abbas G., Rehman N. U., Mabood F., Ahmed I., Saleem M., van Ree T., Green I. R., Anwar S., Badshah A., Shah A., Ali I. (2013). *Chem. Biodivers.*, 10, 1944-1971.

- [9] Ohtsuki T., Yokosawa E., Koyano T., Preeprame S., Kowithayakorn T., Sakai S., Toida T., Ishibashi M. (2008). *Phytother. Res.*, 22, 264-266.
- [10] Gomes A., Saha A., Chatterjee I., Chakravarty A. K. (2007). *Phytomedicine*, 14, 637-643.
- [11] Biswas R., Dutta P. K., Achari B., Bandyopadhyay D., Mishra M., Pramanik K. C., Chatterjee T. K. (2007). *Phytomedicine*, 14, 534-537.
- [12] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>.
- [13] Biswas R., Dasgupta A., Mitra A., Roy S. K., Dutta P. K., Achari B., Dastidar S. G., Chatterjee T. K. (2005). *Eur. Bull. Drug Res.* 13, 63-70.
- [14] Kaur N., Chaudhary J., Jain A., Kishore L. (2011). *IJPSR*, 2, 2259-2265.

Sterol, Glycerol Ester, and Thiophene Constituents from the Twigs of *Pluchea indica* L. of Vietnam

Phan Minh Giang, Van Thi Thanh Huyen, Do Thi Viet Huong

Faculty of Chemistry, VNU University of Science, 19 Le Thanh Tong, Hanoi, Vietnam

Abstract: The first study of the twigs of *Pluchea indica* L. in Vietnam isolated stigmasterol, 1-eicosanoyl glycerol, a long-chain saturated alcohol, 2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-diyanyl)-thiophene, stigmasterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, and β -sitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside. Their structures were determined on the basis of MS and NMR spectroscopic data.

Keywords: *Pluchea indica*, Asteraceae, sterol, glycerol ester, thiophene.