

Khảo sát thành phần hóa học phân đoạn EtOAc từ quả cây Cà đại hoa trắng (*Solanum torvum* Sw.)

Phan Thiên Vy*, Nguyễn Linh Tuyền, Lư Bích Ngọc Giàu, Võ Thanh Thảo

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*ptvy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Ngâm kiệt 7,02 kg bột quả *Solanum torvum* Sw. với 70 lít cồn 96 %; cô quay giảm áp thu được 656,88 g cao EtOH 96 %; chiết phân bố thu được 318,60 g cao CHCl₃ và 15,75 g cao EtOAc. Phân lập 14 g cao EtOAc bằng sắc kí cột nhanh qua 5 phân đoạn (I ÷ V). Phân đoạn IV kết tủa tinh thể màu trắng, rửa nhiều lần với CHCl₃, EtOAc, MeOH lạnh trên phễu thủy tinh xốp, kết hợp với dung môi MeOH thu được tinh thể hình kim màu trắng S-1 (596,71 mg). Phần dịch màu vàng còn lại tiến hành phân lập bằng kĩ thuật sắc kí cột Sephadex LH-20 thu được S-3 (18,46 mg). Phân lập phân đoạn III bằng kĩ thuật sắc kí cột cổ điển thu được S-2 (119,54 mg). Dựa vào số liệu phổ khối (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D-NMR, 2D-NMR) và so sánh với các tài liệu tham khảo đã xác định được S-1 là neochlorogenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid, S-2 là (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid, S-3 là Solanolactosid A.

Nhận 08.12.2020
Được duyệt 27.03.2021
Công bố 09.04.2021

Từ khóa
Solanum torvum,
Cà nút áo, Saponin,
EtOAc, phân lập

© 2021 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Chi *Solanum* được biết đến với khoảng 1 200 loài, được phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới, trong đó *Solanum torvum* Sw. là loài được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian các nước Nam và Đông Nam Á [1]. *Solanum torvum* Sw. có các tác dụng dược lí giá trị tác dụng hạ đường huyết, khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, giải độc tế bào và bảo vệ tim mạch [2-5]. Ở Việt Nam, *Solanum torvum* Sw. mọc hoang khắp nơi, nhưng chưa được tận dụng; thành phần hóa học và tác dụng dược lí của loài cây này cũng chưa được quan tâm nghiên cứu.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Quả *Solanum torvum* Sw. tươi thu mua vào tháng 11 năm 2019 tại Tây Ninh, được sấy ở 60 °C và xay thành bột.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

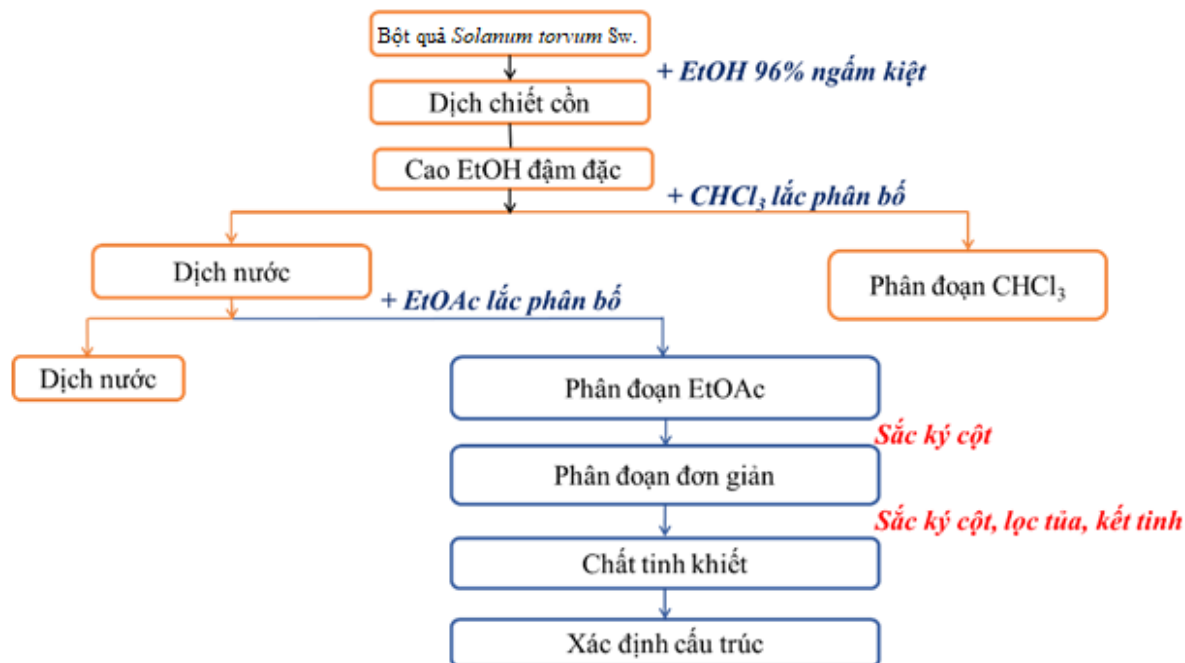
2.2.1 Chiết xuất phân lập (Hình 1)

Chiết xuất

Bột *Solanum torvum* Sw. được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với EtOH 96 % tốc độ dòng (1 ÷ 2) mL/min. Cô đậm đặc dịch chiết thu được rồi phân tán vào MeOH 20 % và tiến hành chiết lỏng – lỏng lần lượt với CHCl₃, EtOAc và cô thu hồi dưới áp suất giảm để thu được các cao phân đoạn.

Phân lập và tinh chế

Sử dụng các kĩ thuật sắc kí cột (cổ điển, Sephadex, ...) và kết tinh phân đoạn bằng dung môi thích hợp (EtOAc, MeOH lạnh, ...) để thu được chất tinh khiết.



Hình 1 Sơ đồ chiết xuất và phân lập *Solanum torvum* Sw.

2.2.2 Xác định cấu trúc

Dựa vào dữ liệu phổ MS được đo ở chế độ ESI, TOF tại Phân Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Tp. HCM và dữ liệu phổ NMR được đo với các kỹ thuật 1-D, 2-D (^1H -, ^{13}C -, DEPT, HSQC, HMBC, COSY). Mẫu được hòa tan trong dung môi thích hợp $\text{DMSO-}d_6$, $\text{Pyridin-}d_5$ với chất chuẩn nội TMS trên máy ADVANCE 500 (Bruker) tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Độ dời hóa học tính theo thang δ (ppm) với $\delta\text{TMS} = 0,00$, các hằng số ghép (J) tính bằng Hertz (Hz).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật

Bảng 1 Kết quả khảo sát thành phần hóa học *Solanum torvum* Sw.

Nhóm hợp chất	Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn 96 %	Dịch chiết nước
Saponin	-	+++	+++
Alkaloid	+	++	++
Triterpen	-	++	-
Flavonoid	+	++	++
Coumarin	-	+	-
Tanin	-	-	-
Acid hữu cơ	-	++	++

Kết quả khảo sát sơ bộ hóa thực vật cho thấy quả *Solanum torvum* Sw. có chứa dầu béo, saponin (+++). Ngoài ra còn có các thành phần như alkaloid, acid hữu cơ (++) , triterpen (++) , flavonoid (++) , chất khử (+), các thành phần coumarin và tanin được trình bày trong Bảng 1.

3.1 Chiết xuất

Từ 7,02 kg bột quả *Solanum torvum* Sw. thông qua kỹ thuật ngâm kiệt với dung môi EtOH 96 % thu được 656,88 g cao EtOH 96 % tương ứng hàm lượng chất chiết được là 8,30 %, cao này tiếp tục được lắc phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần thu được các phân đoạn có độ phân cực khác nhau. Kết quả thu được 318,60 g cao CHCl_3 và 15,75 g cao EtOAc.

3.2 Phân lập

Phân đoạn EtOAc

Phân đoạn EtOAc được phân tách thành những phân đoạn đơn giản bằng sắc ký cột nhanh với các thông số sau

- Cột sắc ký cột thủy tinh trung tính, thành dày, kích thước 4 x 80 cm, rửa sạch, sấy khô.

- Pha tĩnh 140 g silica gel, cỡ hạt trung bình ($40 \div 63$) μm .

- Mẫu 14,00 g cao phân đoạn EtOAc đã được hoạt hóa với silica gel.

- Pha động khai triển cột bằng hệ dung môi CHCl₃ – MeOH với độ phân cực tăng dần từ (100:0) → (90:10).

- Thể tích hứng phân đoạn 250 mL.

Kết quả Từ 14,00 g cao phân đoạn EtOAc, với phương pháp sắc kí cột nhanh thu được 5 phân đoạn khác nhau. Trong đó có 2 phân đoạn có tủa kết tinh màu trắng. Các phân đoạn có tủa (III, IV) được tiếp tục tinh chế để thu được chất tinh khiết.

Phân lập chất từ phân đoạn IV

Từ 1 279,24 mg tủa tinh thể màu trắng phân đoạn IV, sau khi được rửa nhiều lần với CHCl₃, EtOAc, MeOH lạnh trên phễu thủy tinh xốp, kết hợp kết tinh phân đoạn với dung môi MeOH sạch thu được 596,71 mg tinh thể hình kim màu trắng chỉ cho một vết màu vàng nâu với thuốc thử Vanillin Sulfuric (VS) trên 3 hệ dung môi khác nhau, đặt tên là S-1.

Phần dịch màu vàng còn lại ở phân đoạn IV tiến hành thực hiện bằng phương pháp sắc kí cột Sephadex LH-20 với các điều kiện sắc kí như sau

- Cột sắc kí cột thủy tinh (2,5 x 70) cm (đường kính x chiều dài), rửa sạch, sấy khô.

- Pha tĩnh 50 g sephadex LH-20 (Pharmacia.).

- Pha động MeOH 100 %.

- Mẫu 100 mg.

Kết quả Từ phần dịch màu vàng tiến hành sắc kí cột Sephadex LH-20 thu được 2 phân đoạn IV.1, IV.2 có khối lượng lần lượt là 254,71 mg và 79,16 mg. Từ 79,16 mg phân đoạn IV.2 thực hiện kết tinh trong MeOH, lọc và rửa tủa với EtOAc, MeOH lạnh trên phễu thủy tinh xốp thu được 18,46 mg tinh thể màu trắng chỉ cho một vết màu xanh với thuốc thử VS trên 3 hệ dung môi khác nhau, được đặt tên là S-3.

Phân lập chất từ phân đoạn III

Từ 875,68 mg tủa phân đoạn III, sau khi rửa và kết tinh phân đoạn, tiến hành phân tách bằng phương pháp sắc kí cột cổ điển với những thông số sau

- Cột sắc kí cột thủy tinh trung tính, thành dày, kích thước (2 x 50) cm, rửa sạch, sấy khô.

- Pha tĩnh 40 g silica gel, cỡ hạt mịn (15 ÷ 45) μm.

- Mẫu tủa tinh thể trắng 500 mg phân đoạn III – EtOAc đã hoạt hóa với silica gel.

- Pha động khai triển cột bằng hệ dung môi EtOAc – MeOH với độ phân cực tăng dần từ (100:0) → (9:73).

- Thể tích hứng phân đoạn hứng bằng ống nghiệm (18 x 180) mm.

Kết quả Từ 875,68 mg phân đoạn III tiến hành sắc kí cột cổ điển thu được 2 phân đoạn III.1 và III.2 có khối lượng lần lượt là 56,87 mg, 238,77 mg. Từ 238,77 mg III.2 thu được từ sắc kí cột cổ điển kết hợp với phương pháp kết tinh trong một lượng MeOH tối thiểu, lọc và rửa với EtOAc, MeOH lạnh trên phễu thủy tinh xốp, thu được 119,54 mg tinh thể màu trắng chỉ xuất hiện một vết màu vàng với thuốc thử VS trên 3 hệ dung môi khác nhau, được đặt tên là S-2.

3.3 Xác định cấu trúc phân lập được

Cấu trúc hợp chất S-1

S-1 được phân lập từ cao EtOAc của quả *Solanum torvum* Sw. S-1 thu được ở dạng tinh thể hình kim màu trắng, không tắt quang trong UV 254 nm và không phát quang trong UV 365 nm và có màu vàng nâu với thuốc thử VS.

Phổ ESI⁺, TOF MS của S-1 cho phân mảnh chính [M+H]⁺ (m/z) = 725,4511 Da, tương ứng với phân tử khối 724,4431 đvC. Kết hợp với dữ liệu phổ NMR, xác định được công thức phân tử của S-1 C₃₉H₆₄O₁₂ (Ω = 8).

Trên phổ ¹³C-NMR của S-1 có tổng cộng 39 tín hiệu bao gồm 27 tín hiệu của khung aglycon và 12 tín hiệu của 2 đường, thông qua dữ liệu khai thác từ phổ DEPT, có thể thấy S-1 được cấu tạo từ

- 3 carbon bậc IV (35,9 ppm; 40,1 ppm; 108,8 ppm)

- 20 nhóm CH (69,3 ppm; 50,1 ppm; 78,4 ppm; 33,4 ppm; 53 ppm; 55,4 ppm; 80,2 ppm; 61,7 ppm; 41,5 ppm; 26,4 ppm; 103,8 ppm; 74,6 ppm; 81,5 ppm; 73,8 ppm; 72,0 ppm; 100,8 ppm; 70,5 ppm; 70,4 ppm; 71,2 ppm; 68,1 ppm)

- 10 nhóm -CH₂- (36,9 ppm; 31,5 ppm; 31,4 ppm; 40,4 ppm; 20,5 ppm; 39,0 ppm; 31,3 ppm; 25,5 ppm; 25,4 ppm; 64,2 ppm)

- 6 nhóm -CH₃ (13,2 ppm; 16,1 ppm; 14,4 ppm; 15,9 ppm; 18,0 ppm; 17,8 ppm)

Trong đó, có 08 tín hiệu carbon có độ dịch chuyển hóa học trong vùng (60,0 ÷ 80,0) ppm, 2 tín hiệu -CH₃ ở vùng trường cao ứng với δ_C 17,8 và 18,0 có tương tác HMBC với nhau, chia thành 2 nhóm. Do vậy có thể nhận định S-1 là một glycosid, với phần đường được cấu tạo từ 2 đường deoxy. Cấu trúc của O-glycosid được xác định thông qua 2 C-anomer (O-CH-O) với độ dời hóa học nằm ở khoảng 100 ppm lần lượt là C-1' (103,8 ppm) và C-1'' (100,8 ppm). Trong đó, dựa vào tương tác quan sát thấy trên phổ HMBC

+ Proton anomer H-1' δ_H 4,14 *d* (1H, 8 Hz) \rightarrow C-6 δ_C 78,4

+ Proton anomer H-1'' δ_H 4,99 *s* \rightarrow C-3' δ_C 81,5

Có thể nhận định S-1 là *O*-glycosid với phần glycon được cấu tạo từ 2 đường desoxy theo cấu trúc khung 27 + 6 + 6. Khung aglycon của S-1 gồm 27 carbon, với 4 nhóm thế $-\text{CH}_3$ nên S-1 có khung steroid 27 carbon 6 vòng no với 4 nhóm thế $-\text{CH}_3$, trong đó có 2 vòng tạo kiểu *spiros*. Điều này được xác nhận thông qua sự hiện diện của tín hiệu carbon bậc IV có độ dịch chuyển hóa học 108,8 *ppm*, đặc trưng cho cấu trúc O-C-O. Từ đó có thể suy ra S-1 có phần aglycon là spirostan.

Trên phổ ^{13}C -NMR của S-1, trừ các tín hiệu của 2

Bảng 2 Bảng dữ liệu phổ NMR hợp chất S-1

C	DEPT	^{13}C (δppm)	^1H + HSQC (δppm ; nH; J)	HMBC (H \rightarrow C _n)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$
1	> CH ₂	36,9	1,55 <i>s</i> (1H); 0,90 <i>s</i> (1H)	3	-
2	> CH ₂	31,5	2,31 <i>d</i> (1H; 7,0 Hz); 1,21 <i>s</i> (1H)	-	-
3	CH	69,3	3,25 <i>s</i> (1H)	-	4'
4	> CH ₂	31,4	0,97 <i>s</i> (1H); 1,14 <i>m</i> (1H)	2; 5	-
5	> CH-	50,1	1,05 <i>s</i> (1H)	-	-
6	> CH-	78,4	3,19 <i>m</i> (1H)	1'; 3	5
7	> CH ₂	40,4	2,07 <i>d</i> (1H; 11,5 Hz); 0,83 <i>s</i> (1H)	-	-
8	> CH-	33,4	1,54 <i>t</i> (1H)	-	9; 11; 14
9	> CH-	53,0	0,60 <i>d</i> (1H; 13,0 Hz)	-	-
10	C _{IV}	35,9	-	-	-
11	> CH ₂	20,5	1,45 <i>d</i> (1H; 11,5 Hz); 1,18 <i>s</i> (1H)	8	9
12	> CH ₂	39,0	1,65 <i>s</i> (1H); 1,12 <i>s</i> (1H)	-	14
13	C _{IV}	40,1	-	-	-
14	> CH-	55,4	1,12 <i>s</i> (1H)	-	-
15	> CH ₂	31,3	1,87 <i>s</i> (1H); 1,58 <i>s</i> (1H)	13; 17	-
16	> CH-	80,2	4,27 <i>m</i> (1H)	12; 13	15; 17
17	> CH-	61,7	1,67 <i>s</i> (1H)	19	-
18	- CH ₃	13,2	0,76 <i>s</i> (3H)	1; 10; 9	-
19	- CH ₃	16,1	0,71 <i>s</i> (1H)	13; 14; 17	-
20	> CH-	41,5	1,75 <i>t</i> (1H)	21	23
21	- CH ₃	14,4	0,93 <i>d</i> (3H; 2,0 Hz)	20; 17, 22	-
22	C _{IV}	108,8	-	-	-
23	> CH ₂	25,5	1,29 <i>s</i> (1H); 1,81 <i>dd</i> (1H; 4,0 Hz, 13,5 Hz)	-	-
24	> CH ₂	25,4	1,87 <i>s</i> ; 1,34 <i>d</i> (1H; 11,0 Hz)	-	25
25	> CH-	26,4	1,64 <i>s</i> (1H)	-	-
26	> CH ₂	64,2	3,78 <i>d</i> (1H; 9,0 Hz); 3,19 <i>m</i> (1H)	27; 24	-
27	-CH ₃	15,9	1,01 <i>d</i> (3H; 7,0 Hz)	24; 26, 25	-
Qui-1'	-O-CHO-	103,8	4,14 <i>d</i> (1H; 8,0 Hz)	6	2'
2'	-O-CH-	74,6	3,05 <i>q</i> (1H)	1', 3'	1'; 4'; 3'

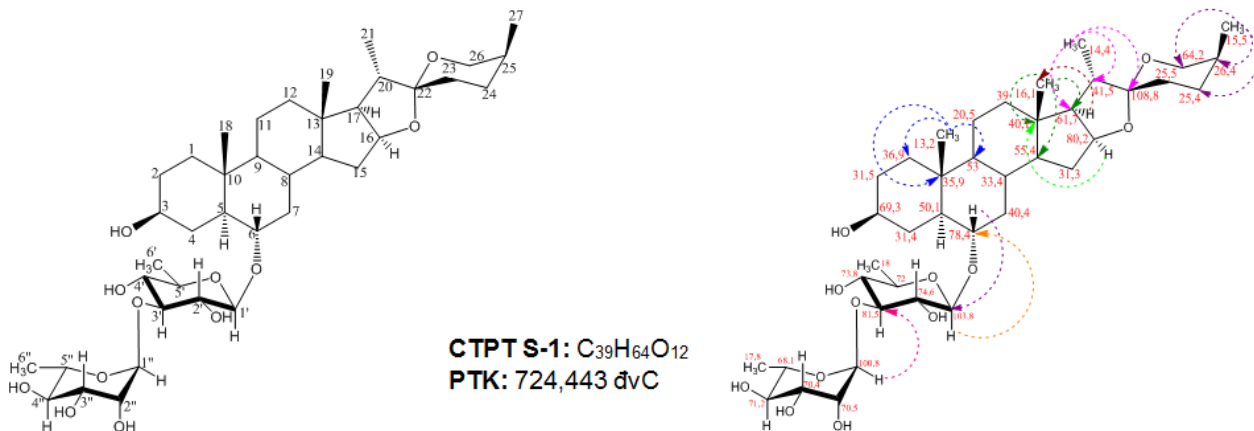
đường hexose, vẫn còn 4 tín hiệu carbon liên kết với nguyên tố có độ âm điện cao, có thể là Oxi, nằm trong vùng trường thấp (60,0 ÷ 80,0) *ppm*. Loại trừ 2 tín hiệu C-16 (80,2 *ppm*) và C-26 (64,2 *ppm*) thuộc dãy vòng *spirostan*, 2 giá trị còn lại được gán cho 2 vị trí thường gặp là C-3 và C-6. Khi đó, dựa vào tương tác quan sát thấy được trên phổ HMBC của proton H-6 δ_H 3,19 *m* \rightarrow C-1' (103,8 *ppm*), vị trí gắn đường trên khung aglycon được xác nhận là C-6. Qua những biện giải từ dữ liệu phổ MS và NMR, cấu trúc của S-1 được giả định là neochlorogenin 6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid.

Bảng 2

C	DEPT	¹³ C (δppm)	¹ H + HSQC (δppm; nH; J)	HMBC (H → C _n)	COSY ¹ H → ¹ H
3'	-O-CH-	81,5	3,27 s (1H)	1'', 4'	4'; 2'
4'	-O-CH-	73,8	2,83 q (1H)	6'	-
5'	-O-CH-	72,0	3,14 m (1H)	-	-
6'	CH ₃	18,0	1,14 d (3H; 6,0 Hz)	5'', 4', 5''	-
Rha-1''	-O-CHO-	100,8	4,99 s (1H)	3'; 4''; 5''	-
2''	-O-CH-	70,5	3,69 s (1H)	3''	1''; 3''
3''	-O-CH-	70,4	3,47 m (1H)	-	-
4''	-O-CH-	71,2	3,16 m (1H)	-	-
5''	-O-CH-	68,1	3,88 m (1H)	5''; 3''	3''; 4''; 6''
6''	CH ₃	17,8	1,08 d (3H; 6,0 Hz)	5''; 4''	-

Cấu trúc này được khẳng định khi so sánh với phổ ¹³C NMR và ¹H NMR của neochlorogenin 6-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→3)-β-D-quinovopyranosid được

công bố trước đây 6. Như vậy, cấu trúc S-1 được xác định là neochlorogenin 6-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→3)-β-D-quinovopyranosid Hình 2.



Hình 2 Cấu trúc và những tương tác trong cấu trúc hóa học hợp chất S-1

Cấu trúc hợp chất S-2
S-2 được phân lập từ cao EtOAc của quả *Solanum torvum* Sw. S-2 thu được ở dạng tinh thể màu trắng,

không tắt quang trong UV 254 nm và không phát quang trong UV 365 nm, có màu vàng với thuốc thử vanilin – sulfuric

Bảng 3 Dữ liệu phổ NMR hợp chất S-2

C	DEPT	¹³ C (δ_{ppm})	¹ H + HSQC (δ_{ppm} ; nH; J)	HMBC (H \rightarrow C _n)	COSY ¹ H \rightarrow ¹ H
1	> CH ₂	38,6	1,15 <i>m</i> (1H); 1,77 <i>m</i> (1H)	3	-
2	> CH ₂	38,1	2,26 <i>m</i> (1H); 2,38 <i>m</i> (1H)	-	-
3	C _{IV}	210,7	-	-	-
4	> CH ₂	39,9	3,28 <i>m</i> (1H); 3,49 <i>d</i> (1H; 14,5 Hz)	2; 5	-
5	> CH-	52,4	1,60 <i>t</i> (1H)	-	-
6	> CH-	80,0	3,65 <i>m</i> (1H)	1'	5; 21
7	> CH ₂	41,0	2,49 <i>m</i> (1H); 1,13 <i>m</i> (1H)	-	-
8	> CH-	34,0	1,65 <i>m</i> (1H)	-	9; 11
9	> CH-	53,2	0,59 <i>m</i> (1H)	-	-
10	C _{IV}	36,6	-	-	-
11	> CH ₂	21,3	1,27 <i>m</i> (1H); 1,41 <i>m</i> (1H)	8	-
12	> CH ₂	39,9	1,03 <i>m</i> (1H); 1,64 <i>m</i> (1H)	-	-
13	C _{IV}	40,7	-	-	-
14	> CH-	56,1	1,06 <i>m</i> (1H)	-	-
15	> CH ₂	32,1	1,43 <i>m</i> (1H); 2,03 <i>m</i> (1H)	13; 17	-
16	> CH-	81,0	4,46 <i>m</i> (1H)	13	15; 17; 23
17	> CH-	62,8	1,76 <i>m</i> (1H)	19	-
18	- CH ₃	12,5	0,96 <i>s</i> (3H)	10; 9; 1	-
19	- CH ₃	16,3	0,82 <i>s</i> (3H)	13; 14; 17	-
20	> CH-	42,5	1,88 <i>m</i> (1H)	21	23
21	- CH ₃	14,8	1,12 <i>m</i> (3H)	22; 20; 17	-
22	C _{IV}	109,7	-	-	-
23	> CH ₂	26,4	1,42 <i>m</i> (1H); 1,89 <i>m</i> (1H)	-	-
24	> CH ₂	26,2	1,37 <i>m</i> (1H); 2,12 <i>m</i> (1H)	-	25
25	> CH-	27,5	1,59 <i>m</i> (1H)	-	-
26	> CH ₂	65,1	4,02 <i>dd</i> (1H, 2,5 Hz; 8,5 Hz) 3,34 <i>d</i> (1H; 11,0 Hz)	22, 27	-
27	-CH ₃	16,6	1,06 <i>d</i> (3H; 7,0 Hz)	24; 25; 26	-
Qui-1'	-O-CHO-	105,6	4,66 <i>d</i> (1H; 8,0 Hz)	6	2'
2'	-O-CH-	75,8	3,96 <i>m</i> (1H)	1'	4'
3'	-O-CH-	83,7	4,20 <i>t</i> (1H)	1''	-
4'	-O-CH-	75,1	3,60 <i>t</i> (1H)	-	-
5'	-O-CH-	72,7	3,71 <i>m</i> (1H)	-	2; 4
6'	CH ₃	18,8	1,61 <i>d</i> (3H; 6,0 Hz)	5', 4'	-
Rha-1''	-O-CHO-	103,2	6,20 <i>s</i> (1H)	3'; 2''	-
2''	-O-CH-	72,4	4,80 <i>m</i> (1H)	3''	3''
3''	-O-CH-	72,5	4,58 <i>dd</i> (1H, 3,5 Hz; 5,5 Hz)	-	-
4''	-O-CH-	74,0	4,32 <i>t</i> (1H)	-	-
5''	-O-CH-	70,0	4,96 <i>m</i> (1H)	5''; 3''	3''; 4''; 6''
6''	CH ₃	18,6	1,68 <i>d</i> (3H; 6,5 Hz)	4''	-

Trên phổ ¹³C-NMR của S-2 có tổng cộng 39 tín hiệu bao gồm 27 tín hiệu của khung aglycon và 12 tín hiệu

của 2 đường, thông qua dữ liệu khai thác từ phổ DEPT, có thể thấy S-2 được cấu tạo từ

- 4 carbon bậc IV (36,6 ppm; 40,7 ppm, 109,7 ppm) và một >C=O (δ_c 210,7)
- 19 nhóm CH (52,4 ppm; 80,0 ppm; 34,0 ppm; 53,2 ppm; 56,1 ppm; 81,0 ppm; 62,8 ppm; 42,5 ppm; 27,5 ppm; 105,6 ppm; 75,8 ppm; 83,7 ppm; 75,1 ppm; 72,7 ppm; 103,2 ppm; 72,4 ppm; 72,5 ppm; 74,0 ppm; 70,0 ppm)
- 10 nhóm -CH₂- (38,6 ppm; 38,1 ppm; 39,9 ppm; 41 ppm; 21,3 ppm; 39,9 ppm; 32,1 ppm; 26,4 ppm; 26,2 ppm; 65,1 ppm)
- 6 nhóm -CH₃ (12,5 ppm; 16,3 ppm; 14,8 ppm; 16,6 ppm; 18,8 ppm; 18,6 ppm)

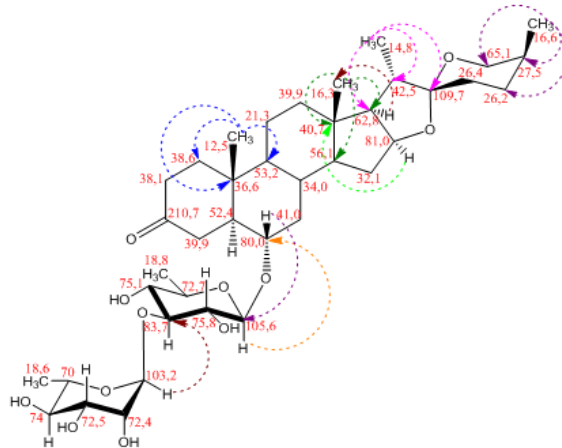
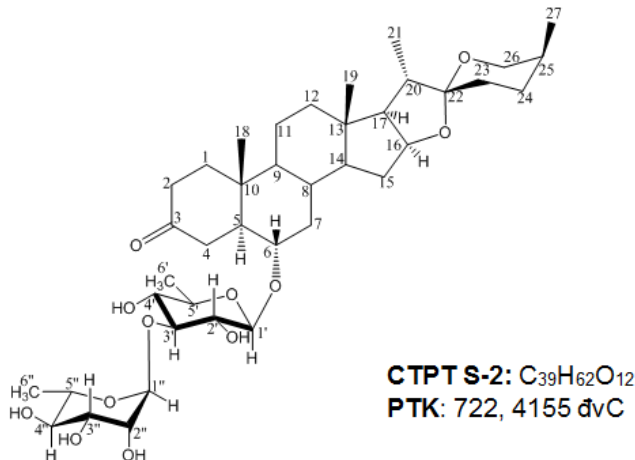
Tương tự như S-1, S-2 cũng là một saponin steroid với phần aglycon là khung spirostan và phần glycon gồm 2 đường hexose desoxy.

Điểm khác biệt đáng chú ý ở S-2 so với S-1, là sự mất đi 1/4 tín hiệu vùng trường thấp (60,0 ÷ 80,0) ppm

ứng với 1 carbon gắn với nguyên tố có độ âm điện cao; thay vào đó là sự xuất hiện của tín hiệu của nhóm carbonyl có độ dời hóa học 210,7 ppm. Điều này gợi ý cho sự thay thế từ nhóm thế -OH thành =O thường thấy tại vị trí C-3 ở các hợp chất steroid. Do vậy, có thể giả định S-2 là (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid. Bảng 3

Điều này được xác nhận một lần nữa thông qua đối chiếu với các tài liệu tham khảo được công bố trước đây [7].

Như vậy, cấu trúc S-2 được xác định là (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid Hình 3.



Hình 3 Cấu trúc và những tương tác trong cấu trúc hóa học hợp chất S-2

Cấu trúc hợp chất S-3 thu được ở dạng tinh thể hình kim màu trắng, tắt quang trong UV 254 nm và không phát quang trong UV 365 nm và có màu vàng xanh với thuốc thử VS.

Phổ (+) ESI, +TOF MS của S-3 cho phân mảnh m/z = 655,3756 Da ứng với phân tử khối 654,3756 đvC. Kết hợp với dữ liệu phổ NMR, xác định (Ω = 8).

Bảng 4 Dữ liệu phổ ¹³C-NMR và ¹H-NMR của S-3

C	DEPT	¹³ C (δ_{ppm})	¹ H + HSQC (δ_{ppm} ; nH; J)	HMBC (H \rightarrow C _n)	COSY ¹ H \rightarrow ¹ H
1	> CH ₂	37,3	1,72 m (1H); 0,96 m (1H)	19	-
2	> CH ₂	31,3	1,61 m (1H); 0,98 m (1H)	-	-
3	> CH-	69,3	3,22 m (1H)	-	-
4	> CH ₂	31,5	2,32 d (1H; 11,0 Hz); 1,25 m (1H)	-	5
5	> CH-	50,1	1,02 m (1H)	-	4
6	> CH-	78,1	3,20 m (1H)	1'	-
7	> CH ₂	40,5	2,09 m (1H); 0,88 m (1H)	-	-

C	DEPT	¹³ C (δ_{ppm})	¹ H + HSQC (δ_{ppm} ; nH; J)	HMBC (H \rightarrow C _n)	COSY ¹ H \rightarrow ¹ H
8	> CH-	33,1	1,50 <i>m</i> (1H)	-	9
9	> CH-	53,1	0,64 <i>m</i> (1H)	19	8
10	C _{IV}	35,9	-	-	-
11	> CH ₂	20,0	1,20 <i>m</i> (1H); 1,48 <i>m</i> (1H)	-	12
12	> CH ₂	36,9	0,94 <i>m</i> (1H); 1,57 <i>m</i> (1H)	-	11
13	C _{IV}	41,2	-	-	-
14	> CH-	53,5	1,08 <i>m</i> (1H)	-	-
15	> CH ₂	32,4	1,33 <i>m</i> (1H); 2,17 <i>m</i> (1H)	13	-
16	> CH-	81,5	3,25 <i>m</i> (1H)	-	-
17	> CH-	57,8	1,88 <i>d</i> (1H; 7,5 Hz)	18; 20; 21; 22	-
18	-CH ₃	13,2	0,64 <i>s</i> (3H)	12; 13; 14; 17	-
19	-CH ₃	13,1	0,76 <i>s</i> (3H)	1; 5; 9; 10; 22	-
20	>CH-	35,3	2,57 <i>d</i> (1H; 7,5 Hz)	13; 16; 21	21
21	-CH ₃	17,4	1,19 <i>d</i> (3H; 7,5 Hz)	22, 17, 20	20
22	C _{IV}	180,7	-	-	-
Qui-1'	-O-CHO-	103,7	4,14 <i>d</i> (1H; 7,5 Hz)	6	2'
2'	-O-CH-	74,6	3,06 <i>m</i> (1H)	3'	-
3'	-O-CH-	82,0	4,96 <i>m</i> (1H)	1''	-
4'	-O-CH-	73,8	2,83 <i>m</i> (1H)	-	5'
5'	-O-CH-	72,0	3,17 <i>m</i> (1H)	-	4'
6'	CH ₃	18,0	1,15 <i>d</i> (3H; 6,5 Hz)	4'; 5'	-
Rha-1''	-O-CHO-	100,8	4,99 <i>d</i> (1H; 1,0 Hz)	3'; 5''	2''
2''	-O-CH-	70,5	3,70 <i>m</i> (1H)	-	3''
3''	-O-CH-	70,6	3,48 <i>d</i> (1H; 9,0 Hz)	-	2''; 4''
4''	-O-CH-	71,2	3,17 <i>m</i> (1H)	-	-
5''	-O-CH-	68,1	3,88 <i>m</i> (1H)	-	-
6''	CH ₃	17,8	1,08 <i>d</i> (3H; 6,6 Hz)	5''	-

Trên phổ ¹³C-NMR của S-3 có tổng cộng 34 tín hiệu bao gồm 22 tín hiệu của khung aglycon và 12 tín hiệu của 2 đường, thông qua dữ liệu khai thác từ phổ DEPT, có thể thấy S-3 được cấu tạo từ

- 3 carbon bậc IV (35,9 ppm; 41,2 ppm; 180,7 ppm)
- 19 nhóm CH (69,3 ppm; 50,1 ppm; 78,1 ppm; 33,1 ppm; 53,1 ppm; 53,5 ppm; 81,5 ppm; 57,8 ppm; 35,3 ppm; 103,7 ppm; 74,6 ppm; 82,0 ppm; 73,8 ppm; 72,0 ppm; 100,8 ppm; 70,5 ppm; 70,6 ppm; 71,2 ppm; 68,1 ppm)
- 7 nhóm -CH₂- (37,3 ppm; 31,3 ppm; 31,5 ppm; 40,5 ppm; 20,0 ppm; 36,9 ppm; 32,4 ppm)
- 5 nhóm -CH₃ (13,2 ppm; 13,1 ppm; 17,4 ppm; 18,0 ppm; 17,8 ppm)

Tương tự như S-1 và S-2, S-3 gồm các tín hiệu đặc

trung của 2 đường desoxy, bao gồm

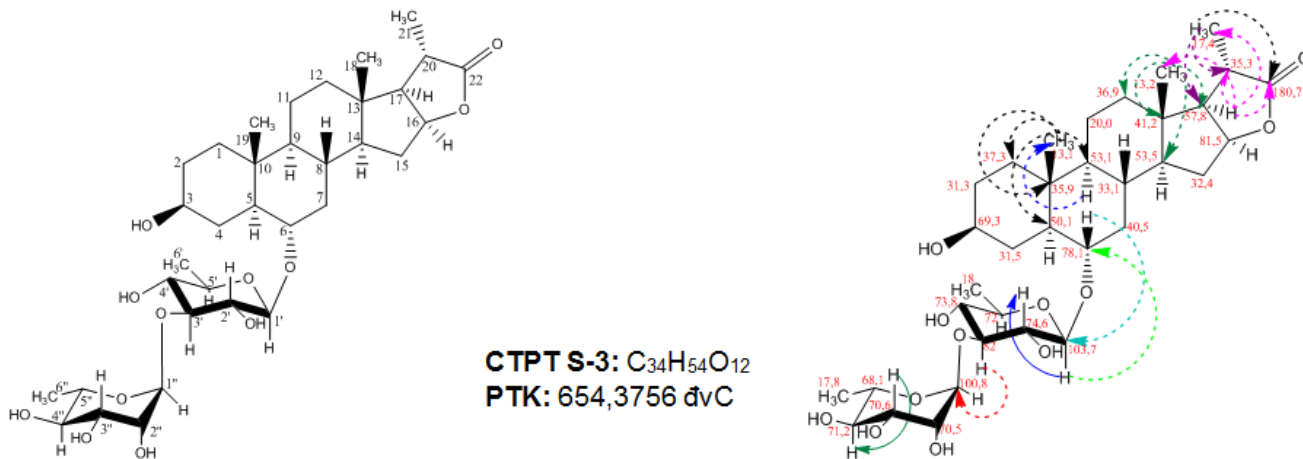
- 08 tín hiệu carbon vùng (60,0 ÷ 80,0) ppm.
- 2 tín hiệu -CH₃ có proton tương tác HMBC với các carbon này (C-6' δ_C 18,0 và C-6'' δ_C 17,8).
- 2 tín hiệu C-anomer (C-1' δ_C 103,7; C-1'' δ_C 100,8).

Do vậy, phần aglycon của S-3 gồm 22 carbon với 3 nhóm thế -CH₃. Phần aglycon của S-3 có thể là khung Steran với 2 carbon có độ dịch chuyển hóa học vùng trường thấp được gán cho C-3 (69,3 ppm) và C-6 (78,1 ppm), vốn là 2 vị trí thường xuất hiện các nhóm thế có nguyên tử độ âm điện cao đối với các cấu trúc steroid. Như vậy với tổng số 22 carbon (19 + 3), S-3 còn một dị vòng E với cấu trúc vòng lacton no. Điều này được xác thực thông qua tương tác HMBC của 2 cặp proton H-16 (δ_H 3,25 *m*) và H-17 (δ_H 1,88 *d*; 7,5



Hz) với các carbon còn lại, trong đó có 1 carbon carbonyl δ_C 180,7. Trong cấu trúc lacton này, có sự góp mặt của 1 nhóm thế $-CH_3$ còn lại tại vị trí C-20 thông qua tương tác quan sát thấy trên phổ HMBC của proton nhóm methyl H-21 (δ_H 1,19 d; 7,5 Hz) \rightarrow C-20 (δ_C 35,3) Bảng 4.

Cấu trúc của S-3 được mô tả khá phù hợp với Solanolactosid A, vốn đã được phân lập từ loài cây này ở các nghiên cứu trước đây [8]. Như vậy cấu trúc S-3 được xác định là Solanolactosid A Hình 4



Hình 4 Cấu trúc và những tương tác trong cấu trúc hóa học hợp chất S-3

4 Kết luận và kiến nghị

4.1 Kết luận

Sơ bộ hóa thực vật cho thấy quả *Solanum torvum* Sw. có chứa dầu béo, saponin (+++). Ngoài ra còn có các thành phần như alkaloid, acid hữu cơ (++) , triterpen (++) , flavonoid (++) , chất khử (+) , các thành phần coumarin và tanin.

Chiết xuất và thu lấy phân đoạn ethyl acetat từ cao cồn *Solanum torvum* Sw. Từ 14 g cao EtOAc phân lập được 3 chất tinh khiết là S-1 (596,71 mg), S-2 (119,54 mg) và S-3 (18,46 mg).

Xác định được cấu trúc 3 saponin S-1 là neochlorogenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid, S-2 là (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid và S-3 là Solanolactosid A.

Theo các nghiên cứu được công bố gần đây, S1 đã được chứng minh có hoạt tính kháng virus, hoạt tính độc tế bào chống lại dòng tế bào u ác tính A375 ở

người; S2 thể hiện hoạt tính kháng virus herpes simplex type 1; S3 có khả năng kháng khuẩn và độc tế bào hiệu quả.

4.2 Kiến nghị

Kết quả đề tài nghiên cứu cho thấy, ngoài các hợp chất phân lập được, vẫn còn có nhiều khả năng phân lập thêm những hợp chất khác trong phân đoạn EtOAc từ quả *Solanum torvum* Sw. Để đề tài được tiếp tục, có thể tiến hành nghiên cứu những nội dung sau

- Tiếp tục phân lập và tinh khiết hóa các hợp chất trong các phân đoạn còn lại từ sắc kí cột nhanh phân đoạn EtOAc.

- Tiến hành thử hoạt tính sinh học của các chất phân lập được S-1, S-2, S-3 như khả năng kháng khuẩn, kháng virus.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công Nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, đề tài mã số 2020.01.070

Tài liệu tham khảo

1. Wiart, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., ... & Sulaiman, M. (2004). Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*, 75(1), pp. 68-73.
2. Kumar, R. S., et al (2016), "Anti-oxidant, anti-diabetic, antimicrobial and hemolytic activity of *Solanum torvum* and *Solanum trilobatum*". *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(8), p. 725.
3. Kamble S, Mohan M, Kasture S. (2009), "Protective Effect of *Solanum torvum* on Doxorubicin- Induced Cardiotoxicity in Rats", *Pharmacologyonline*, 2, pp. 1192-1204.
4. Helilusiatiningsih12, N., Yunianta, H., & Wijanarko, S. B. (2020). Cytotoxic Activity and Selectivity Index of *Solanum torvum* Fruit on T47D Breast. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 11(1), pp. 1364-1369.
5. Lalitha V, Raveesha K, Kiran B (2010), "Antimicrobial Activity of *Solanum torvum* Swart. Against Important Seed Borne Pathogens of Paddy", *IJEE*, 1(2), pp.160-164.
6. Yuan-Yuan L., Jian-Guang L., Ling-Yi K. J. C. J. o. n. m. (2011), "Chemical constituents from *Solanum torvum*", *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(1), pp. 30-32.
7. Arthan D., Svasti J., Kittakoop P., Pittayakhachonwut D., Tanticharoen M., Thebtaranonth Y. J. P. (2002), "Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum*", *Phytochemistry*, 59(4), pp.459-463.
- Lu Y., Luo J., Huang X., Kong L. J. S. (2009), "Four new steroidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities", *Steroids*, 74(1), pp. 95-101.

Study on the chemical compounds of EtOAc fraction from the fruits of *Solanum torvum* Sw.

Phan Thien Vy*, Nguyen Linh Tuyen, Lu Bich Ngoc Giau, Vo Thanh Thao

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*ptvy@ntt.edu.vn

Abstract By thorough percolation 7.02 kg powder of *Solanum torvum* Sw. with 70 L of EtOH 96 % and then spinning condensate with pressure drop, we got 656.88 g of EtOH 96 % extract. From which, in fractional extraction, we revived 318.60 grams of chloroform extract and 15.75 g of EtOAc extract. And then 14 g EtOAc was isolated by rapid column chromatography in 5 fractions (I – V). At the IV fraction, a white crystals precipitated, which was determined by cleaning several times with cold CHCl_3 , EtOAc, MeOH on the porous glass funnels respectively and dissolved with MeOH to obtain white needle-shaped crystals of S-1 (596.71 mg). The remaining yellow extract was isolated by Sephadex LH-20 column chromatography to obtain S-3 (18.46 mg). At the III fraction, S-2 (119.54 mg) was determined by classical column chromatography. Based on mass spectrometry (MS) data, nuclear magnetic resonance spectroscopy (1D-NMR, 2D-NMR) and the comparison with reference materials, was identified S-1 is neochlorogenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside, S-2 is (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside, S-3 is Solanolactoside A.

Keywords *Solanum torvum*, saponin, EtOAc, isolate, sephadex

