

## PHÂN LẬP AXIT URSOLIC TỪ VỎ TÁO TÂY (*MALUS DOMESTICA*.) VÀ TỔNG HỢP DẪN XUẤT DẠNG ESTE CỦA AXIT URSOLIC

Đỗ Đăng Thuận\*, Võ Thị Quỳnh Trâm, Nguyễn Thị Bích Hạnh

Trường Đại học Lạc Hồng, Số 10 Huỳnh Văn Nghệ, Bàu Long, Biên Hòa, Đồng Nai, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ: dangthuan@lhu.edu.vn

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Received: 25/4/2023	Hiện nay, triterpenoid ngày càng được quan tâm về hoạt tính sinh học, chúng được phân bố rộng rãi trong giới thực vật, một số nghiên cứu đã cho thấy rằng chúng được sử dụng như một chất chống ung thư chống viêm. Axit ursolic (AU) là một axit triterpene pentacyclic phổ biến trong giới thực vật, nó được tìm thấy trong quả, lá, hoa, cây thuốc và cũng được biết đến với một loạt các hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, chống viêm, các hoạt tính kháng ung thư là chống lại tác nhân kích thích nội sinh và ngoại sinh học. Trong đề tài này, nhóm tác giả tiến hành phân lập AU từ vỏ táo khô. AU được chiết với chloroform, ethyl acetate. Hàm lượng AU thu được kết quả lần lượt là 0,8160g AU/50g vỏ táo khô trong dung môi chloroform và 0,8259g AU/50g vỏ táo khô trong dung môi ethyl acetate. Sau đó, tổng hợp dẫn xuất dạng ester tại vị trí C-28 của AU với iodoethane. Các sản phẩm được xác định đặc trưng cấu trúc bằng phổ <sup>1</sup> HNMR.
Revised: 16/6/2023	
Accepted: 26/6/2023	
Published: 25/9/2023	
<b>TỪ KHÓA</b>	
Triterpenoid;	
Ursolic acid;	
Vỏ táo;	
Chống viêm;	
Acid triterpene pentacyclic.	

## ISOLATION OF URSOLIC ACID FROM APPLE PEEL (*MALUS DOMESTICA*.) AND SYNTHETIC ESTE OF URSOLIC ACID

Do Dang Thuan\*, Vo Thi Quynh Tram, Nguyen Thi Bich Hanh

Lac Hong University, No. 10 Huynh Van Nghe, Buu Long Ward, Bien Hoa, Dong Nai, Vietnam

\* Corresponding Author: dangthuan@lhu.edu.vn

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: April 25 <sup>th</sup> , 2023	Currently, triterpenoids are of increasing interest for their biological activity, and they are widely distributed among-plants . Some studies have shown that they are used as an anti-inflammatory and anticancer agent. Ursolic acid (UA) is a common pentacyclic triterpene acid among plants and found in fruits, leaves, flowers, medicinal plants and is also known for a wide range of biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, The anticancer activities are against endogenous and exogenous stimuli. In this study, the authors isolated UA from dried apple peels. UA was extracted with chloroform, ethyl acetate and the yield of UA was 1.63%, 1.65%, respectively. Then, it was synthesized the ester derivative at the C-28 position of the UA with iodoethane. The products were structurally characterized by <sup>1</sup> HNMR spectroscopy.
Revised: Jun 16 <sup>th</sup> , 2023	
Accepted: Jun 26 <sup>th</sup> , 2023	
Published: Sep 25 <sup>th</sup> , 2023	
<b>KEYWORDS</b>	
Triterpenoid;	
Ursolic acid;	
Apple peel;	
Anti-inflammatory;	
Acid triterpene pentacyclic.	

Available online at: <https://js.lhu.edu.vn/index.php/lachong>

## 1. Giới thiệu

Axit ursolic (AU) là một axit triterpene pentacyclic phổ biến trong giới thực vật, nó được tìm thấy trong quả, lá, hoa, cây thuốc. Trong vỏ táo chứa một lượng lớn triterpenoid có khả năng chống ung thư, kháng viêm, chống ung nhọt, chống nhiễm trùng, chống oxy hóa... và ức chế sự phát triển của các khối u, tập trung ở lớp biểu bì sấp [1-6]. Chủ yếu là axit ursolic chiếm 44,7 đến 3522 $\mu$ g/g khối lượng táo tươi [5]. Triterpenoid đặc biệt là axit ursolic, axit oleanolic và axit betulinic tồn tại nhiều trong giới thực vật. Những triterpene và các dẫn xuất của chúng đã được báo cáo là có hoạt tính sinh học cao, chẳng hạn như chống virus HIV (human immuno-deficiency virus), ức chế Protease HIV và khả năng gây độc cho các dòng tế bào khối u.

Táo tây có tên khoa học là *Malus Domestica*, thuộc họ Rosaceae, còn gọi là bôm (phiên âm từ tiếng Pháp: pomme) có danh pháp hai phần là *Malus Domestica*. Vỏ táo có hoạt tính chống oxy hóa và kháng sinh cao hơn thịt táo [2,6]. Các dẫn xuất este hóa của AU cũng có khả năng gây độc tế bào ung thư, do có sự phóng thích electron trên nguyên tử nitơ và của vòng benzen, đây là yếu tố quan trọng gây nên hoạt tính sinh học này [1,7]. Đó là lý do để chúng tôi chọn vỏ táo tây để khảo sát điều kiện tách chiết.

Mục tiêu của nghiên cứu này là chiết axit ursolic từ vỏ táo bằng các dung môi khác nhau [3] để so sánh tính tan của Axit ursolic trong hai dung môi chloroform và ethyl acetate, sau đó tổng hợp dẫn xuất dạng ester của AU.

## 2. Nguyên liệu, phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Nguyên liệu

Quả táo tây nhập khẩu từ Mỹ, được thu mua từ các siêu thị ở tỉnh Đồng Nai.



Hình 1. Quả táo tây

Các hóa chất chính sử dụng trong nghiên cứu này: n-hexane, chloroform, ethyl acetate, tetrahydrofuran (THF), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>I, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, silicagel nhồi cột, silicagel bản mỏng, hydrazin, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, acetic anhydride, triethylamine,...

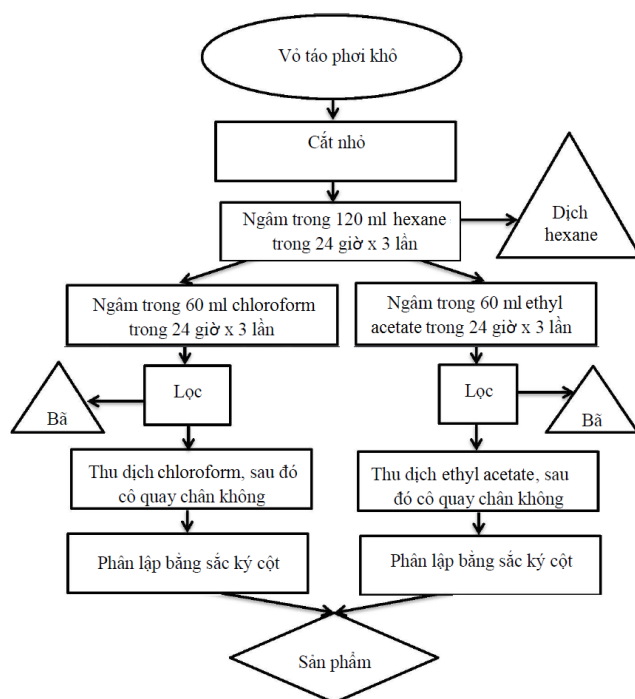
### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Tách axit ursolic từ vỏ quả táo

Từ nguyên liệu ban đầu là 200g vỏ quả táo phơi khô, độ ẩm là 14,8%, cắt nhỏ, ngâm trong 240ml dung môi hexane trong 24 giờ, thực hiện 3 lần để loại các chất kém phân cực. Sau đó, loại bỏ dịch chiết hexane, phần bã lọc đem chia thành hai phần bằng nhau, mỗi phần 100g vỏ táo.

Một phần vỏ táo (100g) ngâm trong 120ml dung môi chloroform, phần còn lại (100g) ngâm trong 120ml dung môi ethyl acetate. Hai phần đều ngâm trong 24 giờ x 3 lần. Sau đó loại bã, thu dịch chiết chloroform và ethyl acetate.

Đem hai phần dịch chiết cô quay chân không đuổi hết dung môi, tiến hành tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột để thu sản phẩm axit ursolic tinh khiết.



Hình 2. Quy trình tách axit ursolic từ vỏ quả táo

Phân tích đặc trưng cấu trúc của sản phẩm bằng phổ <sup>1</sup>HNMR tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh.

#### 2.2.2. Tổng hợp dẫn xuất của axit ursolic

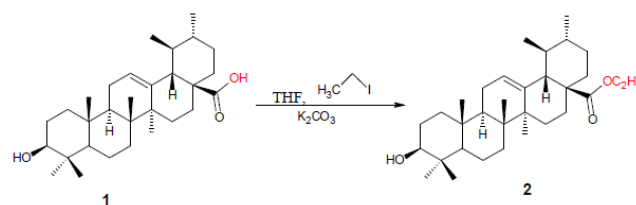
##### a) Nguyên tắc chung

Dẫn xuất của axit ursolic được tổng hợp tại vị trí C-28 của tiền chất là axit ursolic.

Axit ursolic (ở dạng bột trắng) được hòa tan trong dung môi thích hợp, cho vào thiết bị phản ứng với tác chất. Thực hiện với điều kiện khuấy, gia nhiệt hoặc làm lạnh, đồng thời khảo sát trên sắc ký bản mỏng với hệ dung môi thích hợp.

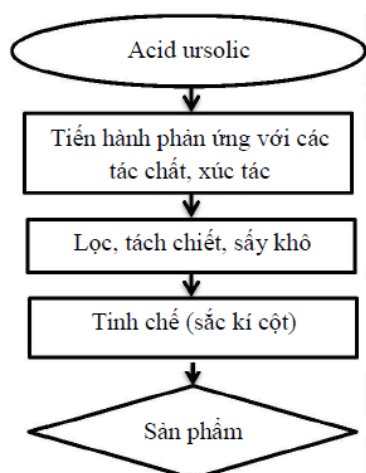
Phản ứng kết thúc, lọc, tách chiết nước, rửa bằng dung môi hữu cơ và làm khan bằng muối Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, cô quay tách loại dung môi, tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột.

##### b) Tổng hợp dẫn xuất dạng ester tại vị trí C-28 của AU với iodoethane



Hình 3. Phương trình tổng hợp ester tại vị trí C-28 của AU với iodoethane

Cho 0,44mmol axit ursolic (200mg) vào bình phản ứng, sử dụng 10ml dung môi là tetrahydrofuran (THF) để hòa tan. Sau đó cho thêm vào 1mmol K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (dạng bột mịn) và 0,2 mmol C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>I (dạng lỏng cho vào bình phản ứng). Toàn bộ khuấy ở nhiệt độ phòng cho đến khi kiểm tra sắc ký bản mỏng (TLC) thấy phản ứng xảy ra hoàn toàn (khoảng 24 giờ).



**Hình 4.** Quy trình tổng hợp dẫn xuất của axit ursolic

Đem hỗn hợp phản ứng chiết với 10ml nước và 20ml ethyl acetate 3 lần, lấy phần ethyl acetate ở lớp trên. Sau đó, làm khan bởi Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, đem cô quay chân không đuổi hết dung môi và tinh chế bằng sắc kí cột.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Sản phẩm axit ursolic từ dịch chiết chloroform

Sản phẩm axit ursolic từ dịch chiết chloroform đã được xác định đặc trưng cấu trúc bằng phổ <sup>1</sup>HNMR, kết quả thu được 0,8160g AU/50g vỏ táo khô trong dung môi chloroform.

#### 3.2. Sản phẩm axit ursolic từ dịch chiết ethyl acetate

Dẫn xuất axit ursolic được tổng hợp tại vị trí C-28 của tiền chất là axit ursolic cũng được xác định đặc trưng cấu trúc bằng phổ <sup>1</sup>HNMR. Kết quả thu được 0,8259g AU/ 50g vỏ táo khô trong dung môi ethyl acetate.

Từ kết quả trên cho thấy:

Cùng một lượng vỏ táo khô thì thu được lượng AU trong dung môi ethyl acetate nhiều hơn trong dung môi chloroform. Như vậy, AU tan tốt hơn trong dung môi ethyl acetate.

Công thức phân tử của axit ursolic: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>

Tên Latin: axit ursolic

Tên hóa học: axit 3β-3-hydroxyurs-12-en-18-oiic

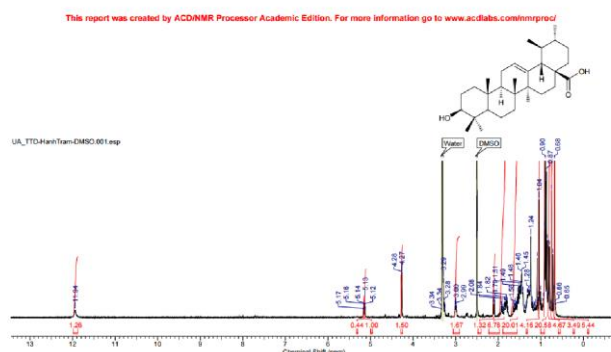
Khối lượng phân tử: 456,7 g/mol

Dạng tồn tại: Bột màu trắng

Nhiệt độ nóng chảy: 292°C

#### 3.3. Phân tích đặc trưng cấu trúc của axit ursolic

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân <sup>1</sup>HNMR của AU:



**Hình 5.** Phổ cộng hưởng từ hạt nhân <sup>1</sup>HNMR của axit ursolic

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO), δ(ppm):

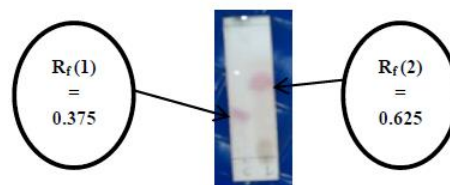
- 11,94 (brs, 1H, COOH),
- 5,13 (t, 1H, J = 3,5Hz, CH-21),
- 4,27 (d, 1H, J = 5,1Hz, OH-23),
- 3,00 (m, 1H, CH-1),
- 2,12 (d, 1H, J = 10,9Hz, CH-11a),
- 1,04 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-28),
- 0,84 – 0,91(m, 9H, CH<sub>3</sub>-26, CH<sub>3</sub>-27, CH<sub>3</sub>-32)
- 0,82 (d, 3H, J = 6.5Hz, CH<sub>3</sub>-31),
- 0,75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-25),
- 0,68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-24).

Phổ <sup>1</sup>HNMR cho mũi đặc trưng của nhóm cacboxyl (-COOH) tại δ(ppm) = 11,94 và mũi của nhóm hydroxyl tại δ(ppm) = 4,27, có một nối đôi tại vị trí CH-21 δ(ppm) = 5,13 và 7 nhóm methyl, bao gồm 5 nhóm methyl bậc ba thể hiện qua các tín hiệu singlet ở δ(ppm) = (1,04; 0,91; 0,90; 0,75; 0,68) và 2 nhóm methyl bậc 2 cho tín hiệu mũi doublet ở δ(ppm) = (0,85; 0,82).

#### 3.4. Dẫn xuất của axit ursolic

Tổng hợp dẫn xuất dạng ester tại vị trí C-28 của AU với iodoethane.

Tiến hành như mục 2.2.2. ta được kết quả:



**Hình 6.** Kết quả kiểm tra phản ứng bằng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi giải ly là ethyl acetate: Hexane = 3 : 7

Vì H của nhóm OH tại C-28 đã được thay thế bằng nhóm C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> làm cho phân tử trở nên kém phân cực nên R<sub>f</sub>(2) > R<sub>f</sub>(1). Giải ly trong hệ dung môi etyl acetat : hexane = 3 : 7.

Kết quả đặc tính của sản phẩm được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Các đặc tính của dẫn xuất AU dạng ester ở vị trí C-28

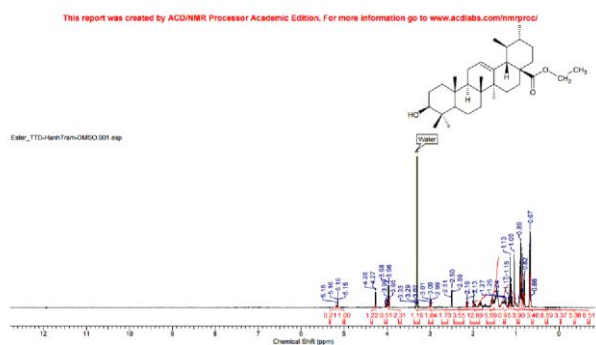
Đặc tính	Sản phẩm
Công thức phân tử	C <sub>32</sub> H <sub>52</sub> O <sub>3</sub>
Khối lượng mol phân tử	484,753 g/mol
Khả năng hòa tan	ethanol, methanol, Tetrahydrofuran...

Khối lượng sản phẩm dạng este thu được: 150mg

Khối lượng sản phẩm dạng este theo lý thuyết: 213,29mg

Hiệu suất phản ứng: (150/213,29)\*100% = 70,3%

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>HNMR dẫn xuất este ở vị trí C-28 của AU:



**Hình 7.** Phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H-NMR}$  của dẫn xuất este ở vị trí C-28

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO),  $\delta(\text{ppm})$ :

- 5,15 (t, 1H,  $J = 3,1\text{Hz}$ , CH-21),
- 4,28 (d, 1H,  $J = 5,1\text{Hz}$ , OH-23),
- 3,96 (qAUrt, 2H,  $J = 7,1\text{Hz}$ , CH-31),
- 3,00 (m, 1H, CH-1),
- 2,16 (d, 1H,  $J = 11,4\text{Hz}$ , CH-11a),
- 1,13 (t, 3H,  $J = 4,8\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-32),
- 1,05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-28),
- 0,85 - 0,93 (m, 9H, CH<sub>3</sub>-26, CH<sub>3</sub>-27, CH<sub>3</sub>-34),
- 0,82 (d, 3H,  $J = 6,5\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-33),
- 0,69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-25),
- 0,67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-24).

Trong dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  có xuất hiện một số mũi mới ở các vị trí: 31 (3,96 (quart, 2H,  $J = 7,1\text{Hz}$ , CH-31)), 32 (1,13 (t, 3H,  $J = 4,8\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-32)). Điều này chứng tỏ tại vị trí C-28 bị este hóa bởi nhóm ethyl (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

#### 4. Kết luận

Qua các thí nghiệm đã thực hiện, nhóm tác giả đã tách được axit ursolic từ vỏ quả táo sử dụng hai dung môi khác nhau là chloroform và ethyl acetate. Hàm lượng AU thu được 0,8259g AU/50g vỏ táo khô trong dung môi ethyl acetate. Và tổng hợp dẫn xuất dạng ester tại vị trí C-28 của AU với iodoethane, hiệu suất phản ứng là 70,3%. Các sản phẩm được xác định đặc trưng cấu trúc bằng phổ  $^1\text{H-NMR}$ .

#### 5. Cảm ơn

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành đến Thầy TS. Tổng Thanh Danh, giảng viên Khoa Kỹ thuật Hóa học - Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh đã nhiệt tình cố vấn và hướng dẫn. Cảm ơn chân thành đến Trường Đại học Lạc Hồng, Ban lãnh đạo Khoa Khoa học và Công nghệ Thực phẩm đã tạo điều kiện để chúng tôi thực hiện nghiên cứu và hoàn thiện bài báo này.

#### 6. Tài liệu tham khảo

- [1] Amanda Kornel, Matteo Nadile and Evangelia Tsiani, Evidence of the Beneficial Effects of Ursolic Acid against Lung Cancer, **2022**, *Molecules*, 27, 7466.
- [2] Aurita Butkeviciute, Vytautas Abukauskas, Valdimaras Janulis and Darius Kviklys, *Phenolic Content and Antioxidant Activity in Apples of the 'Galaval' Cultivar Grown on 17 Different Rootstocks*, **2022**, *Antioxidants*, 11, 266.
- [3] Haiyan Li, Yugang Liu, Shiyin Guo, Meng Shi, Si Qin and Chaoxi Zeng, "Extraction of Ursolic Acid from Apple Peel with Hydrophobic Deep Eutectic Solvents: Comparison between Response Surface Methodology and Artificial Neural Networks", Hunan Agricultural University, *Foods*, **2023**, 12, 310.
- [4] Javed Iqbal, Banzeer Ahsan Abbasi, Riaz Ahmad, Tariq Mahmood, Sobia Kanwl, Barkat Ali, Ali Talha Khalil, Sayd Afzal Shah, Muhammad Maqsood Alam, Hussain Badshah, "Ursolic acid a promising candidate in the therapeutics of breast cancer: Current status and future implications", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2018**, Volume 108, Pages 752-756.
- [5] Jiri Patocka, Kanchan Bhardwaj, Blanka Klimova, Eugenie Nepovimova, Qinghua Wu, Marco Landi, Kamil Kuca, Martin Valis and Wenda Wu, *A Review on Nutritional Features, Chemical Composition, Traditional and Medicinal Value*, **2020**, *Plants*, 9, 1408.
- [6] Qipeng Zhang, Wenying Chen, Boyang Zhang, Yiwen Zhang, Yuqing Xiao, Yichen An, Lingyn Han, Huiqiong Deng, Song Yao, Hongwei Wang, Xiao Li Shen, *Lonp1 and Sig-1R contribute to the counteraction of ursolic acid against ochratoxin A-induced mitochondrial apoptosis*, **2023**, *Food and Chemical Toxicology*, volume 172.
- [7] Yanqiu Meng, Yanling Song, Zhaokai Yan and Yan Xia, *Synthesis and in vitro Cytotoxicity of Novel Ursolic Acid Derivatives*, **2010**, *Molecules* v115, 4p033-4040.