

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA VỎ CÂY BẰNG LĂNG NƯỚC (*LAGERSTROEMIA SPECIOSA*) THUỘC CHI TỬ VI (*LAGERSTROEMIA*)

Tôn Nữ Liên Hương¹ và Nguyễn Duy Tuấn

ABSTRACT

Study on the chemical ingredients from the bark of Lagerstroemia speciosa, growing in Can Tho University, we have isolated and identified three compounds: stigmaterol (1), betulinic acid (2) and oleana-9(11),12-dien-3-ol (3) from the petroleum ether extract. The structures of these compounds have been elucidated by modern spectroscopic methods: ESI-MS, NMR-1D and 2D. The study has been continued.

Keywords: *Lagerstroemia speciosa, chemical components, stigmaterol, betulinic acid, oleana-9(11),12-dien-3-ol*

Title: *Chemical components of lagerstroemia speciosa bark of lagerstroemia*

TÓM TẮT

Khảo sát thành phần hoá học vỏ cây Bằng lăng nước trồng tại Trường Đại học Cần Thơ, chúng tôi đã cô lập và định danh được ba chất: stigmaterol, betulinic acid và hợp chất oleana-9(11),12-dien-3-ol, từ dịch chiết petroleum ether. Cấu trúc hóa học các chất này đã được làm sáng tỏ dựa vào những phương pháp phổ hiện đại: ESI-MS, NMR 1 chiều và 2 chiều. Nghiên cứu vẫn đang được tiếp tục thực hiện.

Từ khóa: *Lagerstroemia speciosa, chemical components, stigmaterol, betulinic acid, oleana-9(11),12-dien-3-ol*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Bằng lăng nước có tên khoa học là *Lagerstroemia speciosa* L., là một trong số 50 loài thuộc chi Tử vi (*Lagerstroemia*).

Bằng lăng nước là loại cây thân gỗ lớn cao khoảng 10 đến 20 m, phân cành cao, thẳng, tán dày. Lá màu xanh lục, hình bầu dục hay hình giáo dài, cứng, không lông, dài đến 20 cm, cuống to. Cụm hoa hình tháp ở ngọn các cành, màu tím hồng, mọc thẳng. Nụ hoa hình cầu, hoa lớn có 6 cánh, có móng ngắn, trên cánh có những ngắn nhẵn nhỏ.

Bằng lăng nước ra hoa vào giữa mùa hè, thường nở rộ vào khoảng tháng 6. Quả nang, hình trứng, mọc thành chùm, kích thước 20x18 mm, nằm trong đài tồn tại, mở theo 6 mảnh. Khi tươi quả có màu xanh nhạt, khi chín quả màu đen rồi bung ra để phát tán hạt.

Ở Việt Nam, cây được gọi đơn giản là Bằng lăng, mọc rất nhiều ở khu vực miền Bắc Trung Bộ, Đông Nam Bộ và Tây Nguyên. Trên thế giới phân bố ở các nước vùng Nam và Đông Nam Á như: Myanmar, Malaysia, Thái Lan, Lào, Campuchia, Philippines. Ở Nam Trung Quốc, Ấn Độ và Australia cũng gặp loài này.

¹ Khoa Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ

Theo Phạm Hoàng Hộ (2000), trong y học người ta sử dụng lá Bằng lăng nước để trị bệnh tiểu đường và béo phì, rễ trị sốt, vỏ cũng trị sốt, đau và loét dạ dày, trái đập trị lở miệng. Mặt khác cây Bằng lăng nước với hoa tím, bóng mát còn được trồng làm cây cảnh ở đường phố, công sở, trường học. Hàng năm, lượng cành được mé nhánh rất đáng kể, chưa được sử dụng.

Trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên lá Bằng lăng nước, chủ yếu tập trung vào nhóm hợp chất có tác dụng làm hạ đường huyết và nhóm hợp chất phân cực. Ở nước ta cho đến nay chỉ thấy nghiên cứu về hoạt tính và công dụng của lá mà chưa thấy nghiên cứu về thành phần hóa học của vỏ cây Bằng lăng nước. Cả trên thế giới cũng chưa thấy công bố về thành phần hóa học của vỏ cây Bằng lăng nước. Cho nên việc nghiên cứu về thành phần hóa học của vỏ cây Bằng lăng nước trong điều kiện hiện nay ở nước ta là cần thiết và có nhiều ý nghĩa đối với hóa học.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguyên liệu

Vỏ cây Bằng lăng nước được thu tại ký túc xá và khoa Khoa học Tự nhiên, trường Đại học Cần Thơ vào tháng 05/2011, trong đợt mé nhánh cây cảnh, chọn những cành to tách lấy vỏ ngoài, khối lượng mẫu tươi là 15 kg. Sau khi thu về mẫu được rửa sạch, loại bỏ phần hư, phơi khô và xay nhỏ, khối lượng bột khô là 6 kg.

Dung môi sử dụng trong đề tài là dung môi đóng chai xuất xứ Việt Nam (Chemsol). Silica gel 60 (Merck) dùng cho sắc ký cột. Sắc ký lớp mỏng (TLC) dùng silica gel F₂₅₄ (Merck).

2.2 Phương pháp

Chiết hoạt chất: ngâm mẫu bột vỏ cây Bằng lăng nước trong methanol, sau 12 giờ chiết và lọc, loại dung môi bằng máy cô quay (Rotavapor của Buchi) thu được cao methanol tổng (280 g). Sau đó, dùng 180 g cao tổng pha loãng với nước và chiết lần lượt với petroleum ether (PE), chloroform (C) và ethyl acetate (EA). Từ các dịch chiết, loại dung môi bằng máy cô quay được các cao phân cực khác nhau: cao PE (50 g), cao C (9 g) và cao EA (16 g).

Phân lập các chất từ cao PE: sử dụng 40 g cao thực hiện sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, dung môi giải ly cột là những hỗn hợp của petroleum ether và ethyl acetate và methanol (MeOH) có độ phân cực tăng dần. Theo dõi quá trình sắc ký cột bằng sắc ký lớp mỏng, với hệ dung môi giải ly là PE:EA, PE:C và C:EA, dùng thuốc thử hiện vết là dung dịch sulfuric acid 20% trong methanol và sấy bản mỏng ở 110°C. Các phân đoạn thể hiện giống nhau trên TLC được gom lại. Tiến hành sắc ký cột tiếp tục đối với các phân đoạn có vết đặc trưng và khối lượng đáng kể, sau đó tinh chế các chất đã cô lập thu được các chất sạch.

Xác định cấu trúc của các chất tinh khiết đã cô lập được: đo nhiệt độ nóng chảy và biện luận phổ nghiệm dựa vào các phổ: MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, COSY, HSQC, HMBC.

Phổ khối lượng (ESI-MS) được ghi trên máy MS 5989 B (Hewlett Pakard). Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): ¹H-NMR (500 MHz) và ¹³C-NMR (125 MHz),

COSY, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker AM500 FT-NMR của Viện Hóa học, Trung tâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Điểm nóng chảy được đo trên máy Electrothermal IA 9000 series, dùng mao quản không hiệu chỉnh.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả sắc ký cao PE từ vỏ bằng lắng nước

Kết quả sắc ký cột silica gel từ 40 g cao PE cho 15 phân đoạn được trình bày ở Bảng 1 sau đây.

Bảng1: Kết quả sắc ký cột silica gel của cao petroleum ether

Phân đoạn	Hệ dung môi giải ly	Trọng lượng cặn (g)	Sắc ký bản mỏng	Ghi chú
1	PE:EA = 9:1	2,481	Vết dầu	
2	PE:EA = 9:1	2,659	Nhiều vết, có 2 vết hiện rõ	
3	PE:EA = 9:1	1,706	Nhiều vết	
4	PE:EA = 9:1	1,996	Nhiều vết, có 5 vết hiện rõ	Khảo sát
5	PE:EA = 9:1	0,54	Nhiều vết	
6	PE:EA = 8:2	1,19	Có 7 vết hiện rõ	Khảo sát
7	PE:EA = 8:2	0,699	Nhiều vết	
8	PE:EA = 8:2	1,0	Nhiều vết, có 4 vết hiện rõ	Khảo sát
9	PE:EA = 8:2	2,472	Nhiều vết, có 5 vết hiện rõ	
10	PE:EA = 1:1	0,91	Nhiều vết, có 6 vết hiện rõ	
11	PE:EA = 1:1	0,813	Nhiều vết, có 3 vết hiện rõ	
12	EA = 100%	4,506	Nhiều vết, có 7 vết hiện rõ	
13	EA:MeOH = 8:2	4,416	Nhiều vết có 5 vết hiện rõ	
14	EA:MeOH = 1:1	2,730	Nhiều vết kéo vệt	
15	MeOH = 100%	6,932	Vết dài	

3.2 Cô lập và nhận danh các chất tinh khiết từ các phân đoạn tinh sạch của cao PE

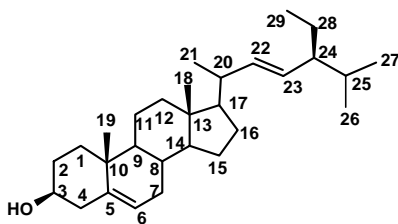
Phân đoạn 4: thấy có tinh thể hình kim, tinh chế bằng cách sắc ký cột thường với hệ dung môi giải ly PE:C = 1:1 thu được tinh thể hình kim màu trắng, hiện một vết tròn màu tím rồi chuyển sang màu xanh đen có $R_f = 0,42$ (PE:EA = 75:25) trên TLC khi dùng thuốc thử là H_2SO_4 20% trong MeOH. Ký hiệu hợp chất này là **(1)** (0,5 g).

Hợp chất **(1)** thu được ở dạng tinh thể hình kim màu trắng, tan nhiều trong chloroform. Điểm nóng chảy 169-170°C.

Phổ 1H -NMR (500, $CDCl_3$), δ (ppm): 5,36 (1H, d, $J = 5$ Hz, $-CH=$); 5,16 (1H, dd, $J = 8,5$ và 15,1 Hz; $-CH=$); 5,02 (1H, dd, $J = 8,5$ và 15,1 Hz; $-CH=$); 3,53 (1H, m, $>CH-O-$); 0,69-1,03 H của 6 nhóm $-CH_3$.

Phổ ^{13}C -NMR cho thấy có 4 tín hiệu 140,8; 121,7; 138,4 và 129,3 ppm lần lượt thuộc về liên kết đôi tại các vị trí C_5 ; C_6 ; C_{22} và C_{23} . Từ phổ DEPT cho thấy hợp chất có 29 C trong đó có: 6 C dạng $-CH_3$, 8 C dạng $-CH_2-$ và 10 C dạng $-CH$; 3 C tứ cấp (gồm 1 $>C=$ và 2 $>C<$). Dựa trên sự so sánh với tài liệu của John Goad và Tosh Hiro Akihisa (1997) thì NDT1 là stigmasterol **(I)**.

Stigmasterol là một phytosterol, được nghiên cứu sử dụng trong phòng ngừa ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú và ung thư kết tràng (Award & Fink, 2000).



Hình 1: Cấu trúc hóa học của stigmasterol (1)

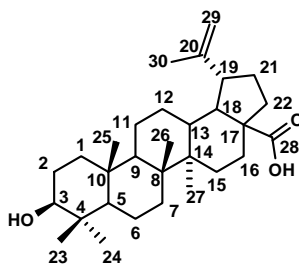
Phân đoạn 6: thấy có tinh thể hình kim, tinh chế bằng cách sắc ký cột (silica gel 60) nhiều lần với các hệ dung môi giải ly C = 100%, C:EA = 95:5, C:EA = 9:1 thu được tinh thể hình kim màu trắng, hiện một vết tròn màu vàng nhạt có $R_f = 0,49$ (C:EA = 9:1) trên bảng mỏng khi dùng thuốc thử là H_2SO_4 20% trong MeOH. Ký hiệu hợp chất này là chất (2) (45 mg).

Phổ 1H -NMR (500, $CDCl_3$), δ (ppm): 4,73 (1H, d, H-29); 4,6 (1H, s, H-29); 3,19 (1H, dd, $J = 11,3$ và $4,8$ Hz, H-3); 3,02 (1H, dd, $J = 11$ và $4,8$ Hz, H-19); 1,69 (3H, s, H₃-30); 0,76 (3H, s, H₃-24); 0,83 (3H, s, H₃-25); 0,94 (3H, s, H₃-23); 0,97 (3H, s, H₃-26); 0,98 (3H, s, H₃-27).

Phổ ^{13}C -NMR cho thấy sự hiện diện của 30 mũi tín hiệu ứng với 30 carbon, trong đó có các mũi chính ở 179,2; 150,9; 109,6; 78,9; 55,5 ppm lần lượt thuộc về carbon ở các vị trí C₂₈, C₂₀, C₂₉, C₃, C₅. Phổ DEPT90 và DEPT135 cho các mũi cộng hưởng ứng với 6 nhóm CH, 11 nhóm CH₂ và 6 CH₃.

Kết hợp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều HSQC và HMBC cho thấy chất (2) thuộc nhóm triterpenoid và có khung sườn lupan. Từ các kết quả phân tích phổ ở trên, và so sánh dữ liệu phổ của chất này với phổ của betulinic acid đã công bố trong tài liệu² thấy trùng khớp, chúng tôi kết luận chất (2) là betulinic acid (C₃₀H₄₈O₃).

Betulinic acid là một chất được tìm thấy phổ biến ở thực vật, có tính kháng khuẩn, kháng viêm, kháng sốt rét và kháng ung thư (Perumal Yogesswari *et al.*, 2005)



Hình 2: Cấu trúc hóa học của betulinic acid (2)

Phân đoạn 8: thấy có tinh thể hình kim, tinh chế bằng cách sắc ký cột thường nhiều lần với các hệ dung môi giải ly C = 100%, C:EA = 95:5, C:EA = 9:1, kết hợp với sắc ký điều chế thu được tinh thể hình kim màu trắng, hiện một vết tròn

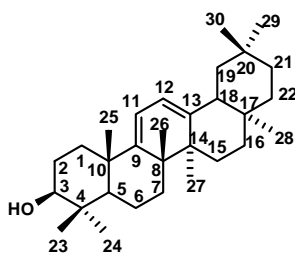
màu vàng đậm có $R_f = 0,525$ ($C = 100\%$) trên TLC khi dùng thuốc thử là H_2SO_4 20% trong MeOH. Ký hiệu hợp chất này là chất (3) (7 mg).

Phổ khối va chạm electron (ESI - MS) không cho pic ion phân tử, nhưng cho các pic cơ bản của khung triterpen m/z (%): 408 (28%), 407,33 (82 %) [$C_{30}H_{48} - H$]⁺, 282 (48%), 219 (48%), 156 (82%), 149 (50%), 120 (70%), 122 (100%).

Phổ ¹H-NMR (500, CDCl₃), δ (ppm): 5,58 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11); 5,51 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-12); 3,26 (1H, dd, $J = 5,0$ và 4,5 Hz, H-3); 0,81 (3H, s, H₃-24); 1,14 (3H, s, H₃-25); 0,87 (3H, s, H₃-23); 1,19 (3H, s, H₃-26); 1,03 (3H, s, H₃-27); 0,89 (3H, s, H₃-29); 0,90 (3H, s, H₃-30); 0,99 (3H, s, H₃-28).

Phổ ¹³C-NMR cho thấy sự hiện diện của 30 mũi tín hiệu ứng với 30 carbon. Phổ ¹³C-NMR và DEPT giúp xác định: 8 carbon tứ cấp (gồm 6 dạng >C<, 2 dạng >C=) 5 nhóm metin trong đó có 1 nhóm là hydroxymetin, 9 nhóm CH₂ và 8 CH₃. Các tín hiệu nói trên cho phép dự đoán (3) có khung sườn olean và có 2 liên kết đôi. Điều này kết hợp với việc TLC của chất (3) hiện vết dưới đèn UV (365 nm) giúp dự đoán cấu trúc khung oleandien liên hợp.

Kết hợp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều HSQC và HMBC cho phép qui chiếu tín hiệu của từng carbon, với các mũi chính ở 154,3; 147,1; 120,7; 115,7; 78,7; 51,2 ppm lần lượt thuộc về carbon ở các vị trí C₉, C₁₃, C₁₂, C₁₁, C₃, C₅ của khung olean. Phổ COSY cho thấy sự trùng khớp của các nhóm proton có tương tác nhau với công thức đề nghị. Từ các kết quả phân tích phổ ở trên và sự trùng khớp khi so sánh phổ của hợp chất (3) với phổ của hợp chất oleana-9(11),12-dien-3-ol đã công bố, (theo Shashi B. Mahato và cộng sự, 1994), chúng tôi kết luận hợp chất (3) là oleana-9(11),12-dien-3-ol (C₃₀H₄₈O).



Hình 3: Cấu trúc hóa học của oleana-9(11),12-dien-3-ol (chất 3)

4 KẾT LUẬN

Trong quá trình khảo sát hóa học vỏ cây bằng lãg nước (trồng tại kí túc xá và khoa Khoa học Tự nhiên trường Đại học Cần Thơ), bước đầu chúng tôi đã cô lập và định danh được ba chất: stigmasterol (C₂₉H₄₈O) (1), betulinic acid (C₃₀H₄₈O₃) (2) và hợp chất oleana-9(11),12-dien-3-ol (C₃₀H₄₈O) (3). Ngoài ra, còn có hỗn hợp triterpen đang xác định cấu trúc.

Công việc nghiên cứu các phân đoạn tiếp theo vẫn đang tiến hành.

Theo tài liệu trong và ngoài nước, từ Bằng lãg đã cô lập được nhiều hợp chất triterpen có khung sườn olean và ursan, nhưng chưa có hợp chất dạng olean-dien.

Trong số chất mới cô lập, hợp chất betulinic acid (**2**) và hợp chất oleana-9(11),12-dien-3-ol (**3**) lần đầu tiên được phát hiện có trong cây bằng lăng nước, đã góp phần hữu ích vào danh mục thành phần hóa học của cây Bằng lăng nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

<http://www.tropicaltraditions.com/banaba.htm>

John Goad and Tosh Hiro Akihisa, *Analysis of Steroid*, Springer Publisher, 1st edition, **1997**

Perumal Yogesswari and Dharmarajan Sriam (2005), "Betulinic Acid and Its Derivatives: A Review on their Biological Properties, *Current Medicinal Chemistry*, 12, pp. 657-666

Phạm Hoàng Hộ (2000), *Cây cỏ Việt Nam*, T.II: 28-33. Nxb Trẻ, Tp. Hồ Chí Minh.

Shashi B. Mahato and Asish P. Kundu (1994), "¹³C-NMR spectra of pentacyclic triterpenoids, a compilation and some salient features", *Phytochemistry*, Vol. 37, No. 6, pp. 1517-1575.

Wilart Pompimon, Sod Monkodkaew, Chatchanok Loetchutinat, Narong Nuntasaeen (2009), "Identification and antiproliferative activity evaluation of a series of triterpenoids isolated from *flueggea virosa*", *American Journal of Applied Sciences*, 6(10), pp. 1800-1806.