

**PHÂN LẬP HỢP CHẤT TỪ CAO PETROLEUM ETHER
ĐƯỢC CHIẾT TỪ VỎ CÂY BẰNG LĂNG NƯỚC
(*LAGERSTROEMIA SPECIOSA* (L.) PERS.)
THUỘC CHI TỬ VI (*LAGERSTROEMIA*)**

Nguyễn Duy Tuấn, Thái Thị Cẩm⁴

Tóm tắt: Mẫu vỏ cây Bằng lăng nước được thu hái tại Cần Thơ, Việt Nam. Sau khi thu vỏ cây Bằng lăng nước được rửa sạch, phơi khô tự nhiên và xay thành bột. Sau đó ngâm chiết với ethanol thu được cao ethanol, tiếp theo chiết lỏng lỏng cao ethanol với dung môi petroleum ether thu được cao PE. Phân lập hợp chất từ cao PE bằng phương pháp sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng thu được hai hợp chất Tetracosanoic acid và lupeol. Cấu trúc hóa học của các chất này được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm hiện đại: ¹H-NMR, ¹³C-NMR.

Từ khóa: *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers., components, tetracosanoic acid, lupeol

Abstract: Sample of *Lagerstroemia speciosa* bark was collected in Can Tho city, Viet Nam. After collection, *Lagerstroemia speciosa* bark was washed with water, dried at room temperature, and ground by a mixer. Then, it was isolated with ethanol to obtain an extract in ethanol. Next, the ethanol extract was separated with petroleum ether solvent to get an extract in petroleum ether. Finally, isolation of products from petroleum ether extract was conducted by a column chromatography and thin layer chromatography. As a result, two compounds of Tetracosanoic acid and lupeol was isolated in which their chemical structures were determined by modern spectroscopic methods of ¹H-NMR, ¹³C-NMR.

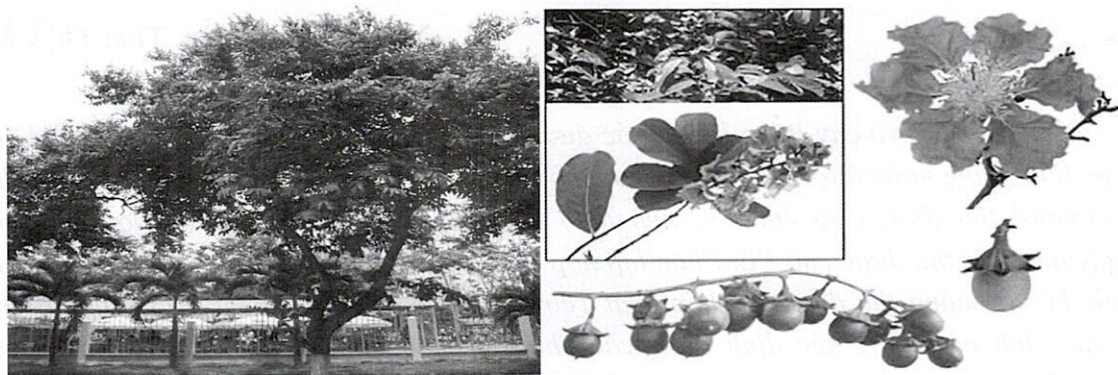
Keywords: *Lagerstroemia speciosa* (L.) pers., components, tetracosanoic acid, lupeol

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

- Cây Bằng lăng nước còn được gọi tắt là Bằng lăng, tên khoa học *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers., thuộc chi Tử vi (*Lagerstroemia*). Ở Việt Nam, Cây Bằng lăng nước vốn đã rất quen thuộc và phổ biến, Bằng lăng được trồng ở nhiều nơi trên đất nước như ở Bắc Trung Bộ, Đông Nam Bộ và Tây Nguyên. Cây có tán lá rộng, hoa đẹp với màu tím đặc trưng được nhiều người yêu thích nên Bằng lăng được trồng để tạo bóng mát và cảnh quan cho các đô thị và trường học. 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,

⁴ Thạc sĩ Trường Đại học Nam Cần Thơ

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 nhỏ. Quả nang, hình trứng, quả mọc thành chùm, kích thước 20×18 mm, nằm trong đài tồn tại, mở theo 6 mảnh, khi tươi quả màu xanh, lúc già màu xám, khi chín màu đen bung ra để phát tán hạt.



Hình 1: Cây, hoa, lá, quả của cây Bằng lăng nước

Bằng lăng nước có nguồn gốc từ Ấn Độ. Ngoài ra, chúng cũng phát triển mạnh ở những vùng khí hậu ôn đới nhưng độ ẩm tương đối thấp như miền nam Texas và California. Ở các nước vùng Nam và Đông Nam Á như: Mianma, Malaysia, Thái Lan, Lào, Campuchia, Philippines. Ở Nam Trung Quốc, Ấn Độ và Australia cũng gặp loài này.

Theo Phạm Hoàng Hộ (2000), trong y học người ta dùng lá Bằng lăng để trị bệnh tiểu đường, béo phì. Hoa chứa tinh dầu có mùi thơm dịu nên có thể dùng chế nước hoa. Vỏ trị sốt, đau và loét dạ dày, rễ trị sốt, trái đắp trị lở miệng, hạt trị mắt ngứa.

Các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính ở trong nước và trên thế giới chủ yếu tập trung trên lá cây. Rất ít công trình nghiên cứu trên vỏ, cho nên đây cũng chính là tính mới của đề tài.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Phương tiện nguyên cứu

Dụng cụ: Máy cô quay, bếp điện, tủ sấy, cân điện tử, đèn soi UV, cột sắc ký, bình tam giác, chai đựng dung dịch, lọ bi, cốc becher các loại 100 ml, 200 ml, 250 ml, bình chiết, đĩa thủy tinh, ống mao quản,...

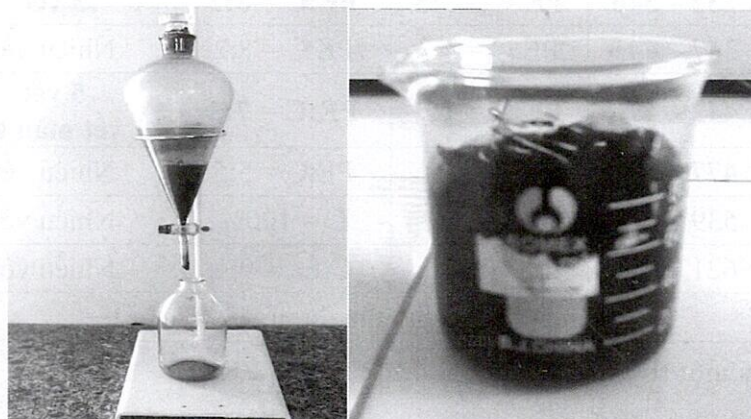
Hóa chất: Dung môi sử dụng trong đề tài là dung môi đóng chai xuất xứ Việt Nam (Chemsol). Silica gel 60 (Merck) dùng cho sắc ký cột, Sắc ký lớp mỏng (SKLM) dùng silica gel F254 (Merck).

Xác định cấu trúc của hợp chất đã cô lập được: Sử dụng các phương pháp phổ nghiệm: $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Vỏ cây được rửa sạch, phơi khô tự nhiên sau đó nghiền nhỏ thu 3.0 kg bột, ngâm với ethanol 96° trong một tuần. Sau đó lọc dưới máy áp suất giảm, tiếp tục thêm ethanol vào ngâm cho đến khi dịch chiết không còn mà, đem dịch chiết cô quay thu hồi dung môi ta thu được cao ethanol tổng. Khối lượng cao ethanol tổng là 56 gam (Hiệu suất đạt 1,87% so với bột cây).

Điều chế cao petroleum ether (PE): Từ cao ethanol tổng pha với nước cất lọc qua giấy lọc để loại cặn. Dịch cao ethanol tổng được chiết lỏng - lỏng với petroleum ether lấy phần trên (trích nhiều lần bằng bình chiết, cho tới lúc phần lớp trên trong thì ngưng). Lấy phần dung dịch lớp trên đem cô quay thu được cao petroleum ether, khối lượng cao là 25 gam (Hiệu suất đạt 44,64% so với cao tổng).



Hình 2: Chiết lỏng - lỏng thu cao PE, và cao PE đã đuổi dung môi

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát cao PE

Tiến hành sắc ký cột cao PE (25 gam), theo dõi đồng thời bằng sắc ký lớp mỏng, gom các lợ có vết giống nhau thành một phân đoạn. Cao PE trước khi nạp vào cột được tiền hấp phụ với khoảng 75 gam silica gel, dung môi giải ly đầu tiên là petroleum ether (PE). Kích thước cột sắc ký ($\Phi = 3$ cm, $l = 60$ cm). Cột sau khi nạp mẫu hứng mỗi lợ 50 ml, loại dung môi bằng phương pháp cô quay, chất thu được để ra lợ riêng. Dùng sắc ký lớp mỏng để theo dõi, những lợ nào có vết giống nhau thì gom lại thành phân đoạn. Chất trên sắc ký lớp mỏng được soi dưới đèn UV hoặc sử dụng thuốc thử hiện màu (H_2SO_4 đậm đặc trong methanol). Bản mỏng sau khi nhúng thuốc thử được hơ nóng trên bếp điện.

Các hệ dung môi đã sử dụng để giải ly cột là: PE 100%, PE:C = 9:1, PE:C = 8:2, PE:C = 7:3, PE:C = 5:5, PE:C = 3:7, PE:C = 1:9, C:Ea = 9:1, C:Ea = 8:2; Ea 100% (C: Chloroform; Ea: ethyl acetate).

Sắc ký cột cao PE thu được tổng cộng 10 phân đoạn, các phân đoạn có vết đặc trưng và rõ ràng được chúng tôi chọn khảo sát tiếp. Qua quá trình sắc ký cột cao PE chúng tôi chọn 2 phân đoạn sau để xử lý tiếp đó là: Phân đoạn BL5; Phân đoạn BL7.

Bảng 1: Kết quả sắc ký cột Cao PE

Phân đoạn	Lọ hứng	Dung môi giải ly cột	SKLM	Kết quả SKLM	Khối lượng (gam)
BL1	1 – 65	PE = 100%	PE:C = 98:2	Nhiều vết	3,35
BL2	66 – 142	PE:C = 9:1	PE:C = 95:5	Nhiều vết	2,25
BL3	143 – 184	PE:C = 8:2	PE:C = 9:1	Nhiều vết	2,15
BL4	185 – 231	PE:C = 7:3	PE:C = 9:1	Nhiều vết	1,02
BL5	232 – 346	PE:C = 5:5	PE:C = 8:2	3 vết	2,76
BL6	347 – 441	PE:C = 3:7	PE:C = 8:2	Nhiều vết	1,65
BL7	442 – 476	PE:C = 1:9	PE:C = 7:3	5 vết (1 vết màu tím)	2,20
BL8	477 – 538	C:Ea = 9:1	PE:C = 5:5	Nhiều vết	1,90
BL9	539 – 620	C:Ea = 8:1	C = 100%	Nhiều vết	1,86
BL10	621 – 750	Ea = 100%	C:Ea = 9:1	Nhiều vết	2,45
Tổng khối lượng thu được					21,59

3.2. Xử lý một số phân đoạn thu được từ cao PE

3.2.1. Phân đoạn BL5

Phân đoạn BL5 thu được từ sắc ký cột cao PE có dạng màu nâu đen, khối lượng 2,76 gam. Sắc ký lớp mỏng (SKLM) phân đoạn BL5 với hệ giải ly PE:C = 8:2 thấy có 3 vết. Phân đoạn được xử lý trên cột nhỏ ($\Phi = 2$ cm, $l = 50$ cm, lọ hứng 10 ml), khối lượng silica gel dùng là 25 gam. Giải ly cột đầu tiên bằng petroleum ether 100%.

Sau khi giải ly cột từ lọ 85 – 92, phân đoạn BL5.5 với hệ giải ly là PE:C = 7:3 thì thu được chất ở dạng vô định hình màu trắng (0,035 gam). Sắc ký lớp mỏng với ba hệ PE:C = 8:2 ($R_f = 0,15$), PE:Ea = 8:2 ($R_f = 0,58$), C:Ea = 95:5 ($R_f = 0,82$) cho một vết tròn. Tạm gọi là hợp chất **BLPE1**. Hợp chất **BLPE1** được đo phổ $^1\text{H-NMR}$ (500, CDCl_3) để xác định được cấu trúc.

3.2.2. Phân đoạn BL7

Phân đoạn BL7 thu được từ sắc ký cột cao PE có dạng màu nâu đen, khối lượng 2,2 gam. Sắc ký lớp mỏng phân đoạn BL7 với hệ giải ly PE:C = 7:3 thấy có 5 vết (trong đó có 1 vết màu tím). Phân đoạn được xử lý trên cột nhỏ ($\Phi = 2$ cm, $l = 50$ cm, lọ hứng 10 ml), khối lượng silica gel dùng là 25 gam. Giải ly cột đầu tiên bằng petroleum ether 100%.

Sau khi giải ly cột từ lọ 148 – 162, phân đoạn BL7.3 với hệ giải ly là PE:C = 2:8 thì thu được chất ở dạng tinh thể hình kim màu trắng (0,059 gam). Sắc ký lớp mỏng với ba hệ PE: C = 7:3 ($R_f = 0,18$), PE:C = 2:8 ($R_f = 0,52$), C:Ea = 9:1 ($R_f = 0,89$) cho một vết tròn màu tím. Tạm gọi là hợp chất **BLPE2**. Hợp chất **BLPE2** được chúng tôi đo phổ $^1\text{H-NMR}$ (500, CDCl_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) và phổ DEPT-NMR (125 MHz, CDCl_3) để xác định được cấu trúc.

3.3. Khảo sát cấu trúc của hợp chất cô lập được

3.3.1. Biện luận phổ hợp chất BLPE1

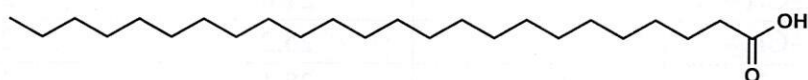
- Hợp chất **BLPE1** (35 mg) thu được từ phân đoạn BL5.5 có dạng chất bột vô định hình màu trắng, kết tinh trong CHCl_3 . Nhiệt độ nóng chảy 83 - 84°C.

- Dựa vào dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (500, CDCl_3), cho thấy ở δ ppm = 2,33 (**2H**, *t*, $J = 7,5$ Hz, H-2); ở vùng từ trường cao δ ppm = 1,61 (**2H**, *m*, H-3); 1,25 (**40H**, *br s*, -CH₂-4-23); 0,88 (**3H**, *t*, $J = 6,5$ Hz, H-24).

Bảng 2: Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **BLPE1** so sánh với tetracosanoic acid

Vị trí C	Loại carbon	Phổ $^1\text{H-NMR}$ hợp chất BLPE1 (500, CDCl_3)	Phổ $^1\text{H-NMR}$ tetracosanoic acid ⁽²⁴⁾ (400, CDCl_3)
2	-CH ₂ -	2,33 (2H, <i>t</i> , $J = 7,5$ Hz, H-2)	2,32 (2H, <i>t</i> , $J = 7,5$ Hz, H-2)
3	-CH ₂ -	1,61 (2H, <i>m</i> , H-3)	1,58 (2H, <i>m</i> , H-3)
4-23	-CH ₂ -	1,25 (40H, <i>br s</i> , -CH ₂ -4-23)	1,23 (40H, <i>br s</i> , -CH ₂ -4-23)
24	-CH ₃	0,88 (3H, <i>t</i> , $J = 6,5$ Hz, H-24)	0,85 (3H, <i>t</i> , $J = 6,6$ Hz, H-24)

- Từ những thông tin trên dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$, chúng tôi nhận danh **BLPE1** là một acid béo kết hợp với tài liệu tham khảo có nhiều điểm trùng khớp với hợp chất tetracosanoic acid, từ đó chúng tôi đề nghị **BLPE1** là tetracosanoic acid ($\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_2$) với công thức cấu tạo như sau:



Tetracosanoic acid (BLPE1)

3.3.2. Biện luận phổ hợp chất BLPE2

- Hợp chất **BLPE2** (59 mg) thu được từ phân đoạn BL7.3 có dạng tinh thể hình kim màu trắng đục kết tinh lại trong CHCl_3 (Choroform).

- Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) cho thấy tại: 4,69 (1H , d , $J = 2,0$ Hz, H-29) và 4,57 (1H , dd , $J = 1,0$ Hz và $J = 1,0$ Hz, H-29); 3,23 ppm (1H , m , $>\text{CH-OH}$) được quy kết cho proton ở carbon thứ 3 ứng với tín hiệu trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ δ_{C} ppm = 79,0 là C_3 .

- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) cho thấy có 30 carbon, trong đó có 7 carbon methyl ($-\text{CH}_3$); 11 carbon methylene ($-\text{CH}_2-$); 6 carbon methine ($>\text{CH}-$); 6 carbon tứ cấp ($>\text{C}<$). Phổ ^{13}C kết hợp DEPT-NMR (125 MHz, CDCl_3) cho thấy có 2 mũi tín hiệu của 1 cặp carbon olefin ở vùng từ trường thấp tại δ_{C} ppm 109,3 ($=\text{CH}_2$) và 151,0 ($>\text{C}=\text{C}$) tín hiệu được xác định ứng với C_{29} , C_{20} trong khung lupan tương ứng với tín hiệu của 2 proton methine olefin tại 4,69 ppm (1H , d , $J = 2,0$ Hz) và 4,57 (1H , dd , $J = 1,0$ và $1,0$ Hz). Vậy **BLPE2** là hợp chất triterpene thuộc khung lupan.

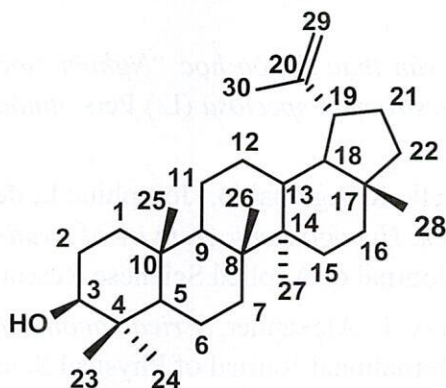
- Mặt khác, chúng tôi đã tiến hành so sánh số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **BLPE2** với các tài liệu đã công bố. Cụ thể với hợp chất lupeol thấy có sự trùng khớp (Bảng 3.3).

Bảng 3: Số liệu phổ NMR của hợp chất **BLPE2** so sánh với lupeol

Vị trí C	Loại carbon	Hợp chất BLPE2 (CDCl_3)		Chất đã công bố (CDCl_3) (Lupeol)
		δ_{H} (ppm) (J , Hz)	δ_{C} (ppm)	Lupeol δ_{C} (ppm)
1	$-\text{CH}_2-$		38,8	38,9
2	$-\text{CH}_2-$		27,5	27,7
3	$>\text{CH-OH}$	3,23 m	79,0	79,1
4	$>\text{C}<$		38,9	39,1
5	$>\text{CH}-$		55,6	55,5
6	$-\text{CH}_2-$		18,4	18,6
7	$-\text{CH}_2-$		34,8	34,5
8	$>\text{C}<$		40,5	41,1
9	$>\text{CH}-$		50,5	50,7
10	$>\text{C}<$		37,2	37,4
11	$-\text{CH}_2-$		21,0	21,2
12	$-\text{CH}_2-$		25,2	25,4
13	$>\text{CH}-$		38,1	38,3
14	$>\text{C}<$		42,9	43,1
15	$-\text{CH}_2-$		27,5	27,7
16	$-\text{CH}_2-$		35,6	35,8
17	$>\text{C}<$		43,0	43,2
18	$>\text{CH}-$		48,4	48,5
19	$>\text{CH}-$	2,38 m	48,0	48,2

20	>C=		151,0	151,2
21	-CH ₂ -		29,9	30,1
22	-CH ₂ -		39,8	40,2
23	-CH ₃	0,79 <i>s</i>	28,1	28,2
24	-CH ₃	0,83 <i>s</i>	15,6	15,6
25	-CH ₃	0,94 <i>s</i>	16,1	16,3
26	-CH ₃	0,97 <i>s</i>	16,0	16,2
27	-CH ₃	1,03 <i>s</i>	14,6	14,8
28	-CH ₃	0,76 <i>s</i>	18,4	18,2
29	CH ₂ =	4,69 <i>d</i> (2,0) 4,57 <i>dd</i> (1,0/1,0)	109,3	109,5
30	-CH ₃	1,68 <i>s</i>	19,3	19,5

- Từ những thông tin trên dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR, nhận danh **BLPE2** là một hợp chất triterpen so sánh với tài liệu tham khảo có nhiều điểm trùng khớp với hợp chất lupeol, từ đó chúng tôi đề nghị **BLPE2** là lupeol (C₃₀H₅₀O) với cấu trúc như sau:



Lupeol (BLPE2)

4. KẾT LUẬN

Từ nguyên liệu ban đầu là vỏ cây Bằng lăng nước, chúng tôi đã thực hiện các phương pháp chiết ngâm đậm với ethanol, sau đó chiết lỏng - lỏng để thu được Cao PE. Từ Cao PE sử dụng sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, các phương pháp lọc, kết tinh lại,... và đã thu được hai hợp chất từ Cao PE. Hai hợp chất này được định danh là: Tetracosanoic acid và lupeol. Điều này đã góp phần đóng góp thêm vào thành phần hóa học của cây Bằng lăng nước *Lagerstroemia speciosa* (L.).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam tập II*, Nhà xuất bản Trẻ năm 1972.
- [2]. Nguyễn Ngọc Hạnh. *Giáo trình cao học tách chiết và cô lập hợp chất tự nhiên*, 2002.
- [3]. TS. Tôn Nữ Liên Hương. *Giáo trình hóa học hợp chất thiên nhiên*. Khoa Khoa học Tự nhiên Trường Đại học Cần Thơ, 2017.
- [4]. Tôn Nữ Liên Hương, Nguyễn Duy Tuấn. *Thành phần hóa học của vỏ cây Bằng lăng nước (*Lagerstroemia speciosa* thuộc chi Tử Vi (*Lagerstroemia*))*. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 2012.
- [5]. Trần Hùng, Nguyễn Việt Kinh, Bùi Mỹ Linh, Võ Văn Lẹo, Ngô Thị Xuân Mai, Phạm Thanh Tâm, Huỳnh Ngọc Thụy, Võ Thị Bạch Tuyết, *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Đại học Y Dược TP.HCM, 2005.
- [6]. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học năm 2004
- [7]. Nguyễn Kim Phi Phụng. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2007.
- [8]. Nguyễn Kim Phi Phụng. *Phổ NMR sử dụng trong phân tích hữu cơ*. NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2007.
- [9]. Nguyễn Duy Tuấn. *Luận văn thạc sĩ hóa học “Nghiên cứu thành phần hóa học của vỏ cây Bằng lăng nước (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. thuộc chi Tử Vi (*Lagerstroemia*))”*. Đại học Cần Thơ, 2012.
- [10]. Custer C. Deocaris, Ranelle R. Aguinaldo, Josephine L. dela Ysla, Amelia S. Asencion and Elmer-Rico E. Mojica, *Hypoglycemic Activity of Irradiated Banaba (*Lagerstroemia speciosa* Linn.) Leaves*, Journal of Applied Science Research 1(1): 95-98, 2005.
- [11]. Igoli, O. John1 and Gray I. Alexander, *Friedelanone and other triterpenoids from *Hymenocardia acida**, International Journal of Physical Sciences Vol. 3 (6), pp. 156-158. 2008.
- [12]. Muhammad Safder, Naheed Riaz, Muhammad Imran, Haq Nawaz, Abdul Malik, Abdul Jabbar, *Phytochemical Studies on *Asphodelus tenuifolius**, J. Chem.Soc.Pak, Vol 31, No. 1, 2009.