

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG CAO PETROLEUM ETHER CỦA RỄ CÂY MẮM (*AVICENNIA MARINA*)

Lê Thanh Phước và Từ Minh Tô¹

¹ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 14/09/2012

Ngày chấp nhận: 19/06/2013

Title:

Study on the chemical components in petroleum ether extract from *Avicennia marina* root

Từ khóa:

Rễ Mắm *Avicennia marina*, thành phần hóa học, taraxerone, betulin

Keywords:

Avicennia marina roots, chemical components, taraxerone, betulin

ABSTRACT

Phytochemical investigation on the pneumatophores (aerial roots) of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh., collected in Dong Hai district, Bac Lieu province, resulted in the isolation of two triterpenoids, taraxerone ($C_{30}H_{48}O$) and betulin ($C_{30}H_{50}O_2$). The structures of these compounds have been elucidated by modern spectroscopic methods: API-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT NMR.

TÓM TẮT

Nghiên cứu hóa thực vật trên rễ phôi của cây *Avicennia maria* (Forssk.) Vierh., được trồng tại huyện Đông Hải, tỉnh Bạc Liêu, kết quả phân lập được hai triterpenoid là taraxerone ($C_{30}H_{48}O$) và betulin ($C_{30}H_{50}O_2$). Cấu trúc hóa học của các chất này đã được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại: API-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT NMR.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Mắm có tên khoa học là *Avicennia marina*, thuộc họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) (Phạm Hoàng Hộ *et al.*, 2003). Đây là loài cây sinh trưởng với số lượng lớn được trồng khắp Việt Nam tập trung nhiều nhất ở các khu rừng ngập mặn ven biển với hệ thống rễ phát triển hết sức đa dạng. Gần đây nhiều nhà nghiên cứu đặc biệt đánh giá cao về cây Mắm và xem nó như là nguồn dược liệu đầy tiềm năng (Miles *et al.*, 1998). Trong dân gian vỏ cây Mắm được sử dụng phổ biến để chữa một số bệnh như: đau mùa, các bệnh về da, thấp khớp, lở loét (Fauvel *et al.*, 1993; Bandaranayake, 2002). Trong những năm trở lại đây đã có nhiều tác giả trên thế giới đã quan tâm đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của rễ Mắm. Ở Việt Nam, Phạm Thị Thùy Trang *et al.*, 2010, đã phân lập được bốn chất tinh khiết trong bộ phận rễ của cây Mắm thể hiện hoạt

tính kháng ung thư cao. Với mục đích góp phần tạo cơ sở khoa học cho các bài thuốc trong dân gian nêu trên đồng thời tiếp tục khảo sát thành phần hóa học của vỏ rễ Mắm trồng tại Bạc Liêu, trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và nhận danh cấu trúc hai hợp chất từ cao petroleum ether trên bộ phận rễ phôi của cây Mắm.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu: Rễ cây Mắm được thu hái (phần phía trên mặt đất) tại huyện Đông Hải, tỉnh Bạc Liêu sau đó rửa sạch, loại bỏ phần sâu, cắt nhỏ, phơi khô đến khối lượng không đổi và xay nhỏ trước khi sử dụng.

Phương pháp: Chiết hoạt chất: bột rễ Mắm được ngâm trong cồn 96°, phân dịch chiết này được loại dung môi dưới áp suất kém thu cao cồn. Sau đó lấy cao cồn chiết với dung môi

petroleum ether (PE), dịch chiết PE được loại dung môi dưới áp suất kém thu được cao PE.

Phân lập các hợp chất từ cao PE: thực hiện phương pháp sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, theo dõi quá trình sắc ký cột bằng sắc ký lớp mỏng (TLC). Giải ly cột bắt đầu với PE sau đó tăng dần độ phân cực bằng dung dịch PE và ethyl acetate (EtOAc) theo tỷ lệ thích hợp. Thuốc thử hiện vết sử dụng là: dung dịch sulfuric acid 10% trong methanol và dung dịch KMnO₄ trong NaOH 5%. Các phân đoạn thể hiện R_f giống nhau trên TLC được gộp lại. Tiếp tục tiến hành sắc ký cột các phân đoạn giống nhau để phân lập được chất sạch.

Xác định cấu trúc của các chất đã phân lập được: sử dụng các phương pháp phổ nghiệm: MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT NMR và các tài liệu liên quan để xác định cấu trúc các chất phân lập được. Phổ NMR được đo trên máy Bruker Advance 500 MHz (Viện Công nghệ, số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội).

Silica gel dùng cho sắc ký cột pha thường cỡ hạt 0.040-0.063 mm. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn silica gel KG 60 F₂₅₄. Các loại hóa chất tinh khiết khác có xuất xứ từ Trung Quốc.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả sắc ký cột

Từ 5.037 g cao petroleum ether tiến hành

sắc ký cột thường với hệ dung môi PE và dung dịch PE với EtOAc theo tỷ lệ thích hợp. Kết quả ở phân đoạn PE:EtOAc = 95:5 thu được một hợp chất tinh khiết (22.5 mg), có dạng tinh thể màu trắng hiện một vết tròn màu tím có R_f = 0.46 (PE:EtOAc = 70:30). Hợp chất này được ký hiệu là PHUOCTO-03. Ở phân đoạn PE 100% thu được một chất tinh khiết khác (9 mg), có dạng tinh thể màu trắng hình kim hiện vết màu cam sau đó chuyển sang màu tím có R_f = 0.49 (PE:CH₂Cl₂ = 50:50). Hợp chất này ký hiệu là PHUOCTO-04.

3.2 Kết quả dữ liệu phổ

Hợp chất PHUOCTO-03

Phổ API⁺-MS cho biết [M+H]⁺ = 443 amu tương ứng với công thức phân tử C₃₀H₅₀O₂.

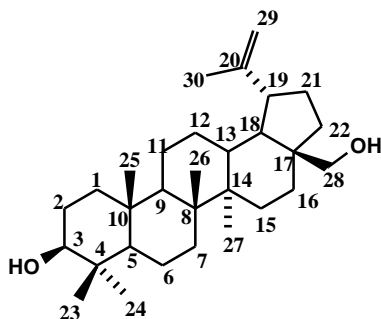
Phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0.76 (s, 3H, CH₃-24), 0.82 (s, 3H, CH₃-26), 0.97 (s, 3H, CH₃-23), 0.98 (s, 3H, CH₃-27), 1.02 (s, 3H, CH₃-25), 1.68 (s, 3H, CH₃-30), 3.19 (dd, 1H, J = 11.5, 5.0 Hz, H-3), 3.33 (d, 1H, J = 11.5 Hz, H-28), 3.80 (dd, 1H, J = 11.5, 3.5 Hz, H-28), 4.58 (t, 1H, J = 1.5 Hz, H-29), 4.68 (d, 1H, J = 1.5 Hz, H-29).

Phổ DEPT NMR kết hợp ¹³C NMR cho thấy có 12 nhóm >CH₂, 6 nhóm >CH-, 6 nhóm -CH₃, 6 C tứ cấp.

Bảng 1: Phổ NMR của PHUOCTO-03 so với tài liệu tham khảo Tian Minqing và cộng sự, δ ppm

STT	PHUOCTO-03		Betulin	STT	PHUOCTO-03		Betulin
	¹ H (J, Hz)	¹³ C			¹³ C	¹ H (J, Hz)	
1		38.7	38.7	16		29.2	29.3
2		27.4	27.5	17		29.7	47.9
3	3.19 (dd, 11.5, 5.0)	79.0	79.0	18		48.8	48.9
4		38.9	38.9	19		47.8	47.8
5		55.3	55.4	20		150.5	150.5
6		18.3	18.3	21		29.8	29.9
7		34.3	34.4	22		34.0	34.0
8		40.9	41.0	23	0.97 (s, 3H)	28.0	28.0
9		50.4	50.5	24	0.76 (s, 3H)	15.4	15.3
10		37.2	37.4	25	1.02 (s, 3H)	16.1	16.1
11		20.9	20.9	26	0.82 (s, 3H)	16.0	16.0
12		25.2	25.3	27	0.98 (s, 3H)	14.8	14.8
13		37.3	37.2	28	3.33 (d, 11.0)	60.6	60.6
14		42.7	42.8	29	3.80 (dd, 11.0, 1.5)	109.7	109.7
15		27.1	27.1	30	4.58 (t, 1.5) 4.68 (d, 1.5)	19.1	19.1
					1.68 (s, 3H)		

Từ các dữ liệu trên và so sánh với các kết quả đã được công bố (Seyed Abdolmajid Ayatollahi *et al.*, 2009) hợp chất **PHUOCTO-03** được nhận danh là betulin (Hình 1).



Hình 1: Công thức cấu tạo hóa học betulin

Betulin là một pentacyclic triterpen có nhiều trong vỏ thân, lá, rễ của nhiều loài thực vật đã được biết đến với khả năng kháng khối u, đặc biệt là chống khối u ác tính và ung thư da. Ngoài ra betulin còn có hoạt tính kháng vi

sinh vật *Streptococcus pyogenes* (Supaluk Prachayasittikul *et al.*, 2010). Những nghiên cứu gần đây cho thấy betulin đã được thử nghiệm thành công trong điều trị bệnh dày sừng quang hóa (Sebastian Jäger *et al.*, 2008).

Hợp chất PHUOCTO-04

Phổ API-MS cho biết $[M-H]^- = 423$ amu tương ứng với công thức $C_{30}H_{48}O$.

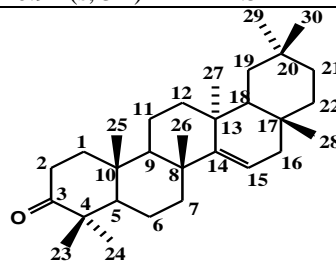
Phổ 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm), J (Hz): 0.83 (s, 3H, CH_3 -26), 0.91 (s, 3H, CH_3 -30), 0.92 (s, 3H, CH_3 -28), 0.96 (s, 3H, CH_3 -29), 1.03 (m, 1H, H-18), 1.07 (s, 3H, CH_3 -24), 1.08 (s, 3H, CH_3 -25), 1.09 (s, 3H, CH_3 -23), 1.14 (s, 3H, CH_3 -27), 5.56 (dd, 1H, J = 8.5, 3.5 Hz, H-15).

Phổ DEPT NMR kết hợp ^{13}C NMR cho thấy có 10 nhóm $>CH_2$, 4 nhóm $>CH-$, 8 nhóm $-CH_3$, 8 C tứ cấp.

Bảng 2: Phổ NMR của PHUOCTO-04 so với tài liệu tham khảo A. K. Jamal và cộng sự δ ppm

STT	PHUOCTO-04		Taraxerone		STT	PHUOCTO-04		Taraxerone	
	1H (J, Hz)	^{13}C	^{13}C			1H (J, Hz)	^{13}C	^{13}C	
1	1.40 (m, 1H)	38.4	38.5	16			36.7	36.9	
	1.87 (m, 1H)								
2	2.33 (m, 1H)	34.2	34.4	17			37.8	37.9	
	2.58 (m, 1H)								
3		217.5	217.0	18			48.8	49.0	
4		47.6	47.8	19			40.7	40.8	
5		55.8	56.0	20			28.8	29.0	
6		20.0	20.2	21			33.6	33.8	
7		35.1	35.3	22			33.1	33.3	
8		38.9	39.1	23	1.09 (s, 3H)		26.1	26.3	
9		48.7	48.9	24	1.07 (s, 3H)		21.4	21.7	
10		35.8	37.9	25	1.08 (s, 3H)		14.8	15.0	
11		17.5	17.7	26	0.83 (s, 3H)		29.9	30.1	
12		37.7	36.0	27	1.14 (s, 3H)		25.6	25.8	
13		37.6	37.8	28	0.92 (s, 3H)		29.9	30.2	
14		157.7	157.8	29	0.96 (s, 3H)		33.4	33.6	
15	5.56 (dd, 8.5, 3.5)	117.2	117.4	30	0.91 (s, 3H)		21.5	21.6	

Từ những dữ kiện trên và so sánh với các kết quả đã được công bố (A. K. Jamal *et al.*, 2009) hợp chất **PHUOCTO-04** được nhận danh là taraxerone (Hình 2).



Hình 2: Công thức cấu tạo của taraxerone

Taraxerone là một trong các triterpen phổ biến và tồn tại ở một số loài thực vật trong tự nhiên. Thử hoạt tính sinh học của chất này đã ghi nhận được nhiều kết quả hấp dẫn khi thử nghiệm thành công khả năng kháng nấm, kháng khuẩn như: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* (Muhammad Imran anjum *et al.*, 2007), kháng khối u và kháng *Leishmania* (Biswas Moulisha *et al.*, 2009).

4 KẾT LUẬN

Đã phân lập và nhận danh cấu trúc hai chất tinh khiết taraxerone và betulin từ cao petroleum ether của rễ Mắm. Kết quả trên góp phần mở rộng hơn nghiên cứu về thành phần hóa học của rễ Mắm tại tỉnh Bạc Liêu (Việt Nam) đã được công bố trong thời gian gần đây (Phạm Thị Thùy Trang *et al.*, 2010). Đây là hai hợp chất thuộc họ triterpenoid đã được nghiên cứu và những kết quả khảo sát cho thấy hoạt tính sinh học của chúng khá cao. Điều này làm cơ sở giải thích tại sao người ta thường sử dụng rễ Mắm như một loại dược liệu để chữa bệnh trong dân gian.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A.K. Jamal, W.A. Yaacob and Laily B. Din, 2009. *Triterpenes from the Root Bark of Phyllanthus Columnaris*, Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(2): 1428-1431.
2. Bandaranayake W.M, 2002. *Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants*. Wetlands Ecology and Management, 10: 421-452.
3. Biswas Moulisha, Mandal Nirup Bikash, Palit Partha, Ghosh Ashoke Kumar, Bannerjee Sukdeb and Haldar Pallab.Kanti, 2009. *In vitro Anti-Leishmanial and Anti-Tumor Activities of a Pentacyclic Triterpenoid Compound Isolated from the Fruits of Dregea volubilis Benth Asclepiadaceae*, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8(2): 127-131.
4. Fauvel, M.T., M. Bousquet, A. Moulis, C.J. Gleye and S.R. Jensen, 1993. *Iridoid glycosides from Avicennia germinans*. Phytochemistry, 38: 893-894.
5. Miles DH, Kokpol U, Chittawong V, Tip-Pyang S, Tunsuwan K&Nguyen C, 1998. *Mangrove forests-The importance of conservation as a bioresource for ecosystem diversity and utilization as a source of chemical constituents with potential medicinal and agricultural value*. 1999 IUPAC 70 (11): 1-9.
6. Muhammad Imran anjum, Ejaz Ahmed, Abdul Jabbar, Abdul Malik, Muhammad Ashraf, Muhammad Moazzam and Muhammad Azam Rasool, 2007. *Antimicrobial Constituents from Fagonia cretica*, Jour.Chem.Soc.Pak. Vol.29, No., 6, P 634-639.
7. Phạm Hoàng Hộ, 2003. Cây cỏ Việt Nam, Nxb Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh. T.II: tr. 845
8. Phạm Thị Thùy Trang và Lê Thanh Phước, 2010. *Khảo sát thành phần hóa học của rễ cây Mắm (Avicennia marina)*, Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ Số 15b, 9-14.
9. Supaluk Prachayasittikul, Puttirat Saraban, Rungrot Cherdtrakulkiat, Somsak Ruchirawat, Virapong Prachayasittikul, 2010. *New Bioactive Triterpenoids and Antimalarial Activity of Diospyros Rubralec*, EXCLI Journal, 9:1-10 ISSN 1611-2156.
10. Sebastian Jäger, Melanie N. Laszczyk and Armin Scheffler, 2008. *A Preliminary Pharmacokinetic Study of Betulin, the Main Pentacyclic Triterpene from Extract of Outer Bark of Birch (Betulae alba cortex)*, Molecules 2008, 13, 3224-3235.
11. Tian Mingqing, Dai Haofu, Li Xiaoming, Wang Bingui, 2009. *Chemical constituents of marine medicinal mangrove plant Sonneratia caseolaris*, Chinese Journal of Oceanology and Limnology Vol. 27 No. 2, P. 288-296.