

# NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG CAO ETHYL ACETATE CỦA RỄ CAU (*ARECA CATECHU L.*)

Lê Thanh Phước và Bành Nguyễn Anh Hòa<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*This paper presents the results on separating, identifying the chemical composition in Areca catechu L. roots in Phong Dien district, Can Tho city. The results showed that two compounds: lamotrigine (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>) and α,α-trehalose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) were isolated from the ethyl acetate extracts. The structures of these compounds have been elucidated by modern spectroscopic methods: ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, COSY and HMBC.*

**Keywords:** *Areca catechu L., components, lamotrigine, α,α-trehalose, root*

**Title:** *Study on the chemical components in ethyl acetate extract from Areca catechu L. root*

## TÓM TẮT

*Bài báo trình bày các kết quả nghiên cứu về chiết, tách, định danh thành phần hóa học trong rễ Cau trồng tại huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Kết quả: hai hợp chất: lamotrigine (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>) và α,α-trehalose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) được cô lập từ cao ethyl acetate. Cấu trúc hóa học của các chất này đã được xác định bằng các loại phổ ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, COSY và HMBC.*

**Từ khóa:** *Areca catechu L., lamotrigine (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>) và α,α-trehalose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>).*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, Cau là cây trồng lâu đời rất quen thuộc ở khắp nơi, nhất là ở vùng trung du và đồng bằng. Cây Cau có tên khoa học là *Areca catechu L.*, thuộc họ Cau (Arecaceae) (Đỗ Tất Lợi, 1995). Các bộ phận của cây Cau được dùng nhiều trong y học cổ truyền để chữa nhiều bệnh như: hạt Cau dùng chữa bệnh sán xơ mít, sán lá, chữa viêm ruột, ... vỏ quả Cau dùng trị thủy thũng, bụng đầy trướng, bí tiểu tiện; rễ Cau nổi có tác dụng bổ dương, chữa đái nhắt (Đỗ Huy Bích, 2004). Trên thế giới, Cau đã được kết hợp một số nguyên liệu thiên nhiên khác tạo chất kháng oxi hóa dùng làm mỹ phẩm, làm thuốc chống bệnh trầm cảm, bệnh cao huyết áp (P. Wetwitayaklunga *et al.*, 2006).

Thành phần hóa học trong các phần khác nhau của cây Cau: thân, lá, trái, ... đã được nhiều tác giả trong và ngoài nước nghiên cứu. Tuy nhiên, việc nghiên cứu thành phần hóa học của rễ cây Cau có rất ít bài báo được công bố (Đào Hùng Cường, 2010). Trong các nghiên cứu trước đây chúng tôi đã cô lập và định danh được hai hợp chất: lupeol và lupeol acetate có trong dịch chiết petroleum ether (Lê Thanh Phước *et al.*, 2011). Để tiếp tục góp phần nghiên cứu thành phần hóa học của rễ Cau và làm sáng tỏ thêm cơ sở khoa học cho các bài thuốc dân gian, chúng tôi phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cao ethyl acetate của rễ Cau (*Areca catechu L.*) ở huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ.

<sup>1</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Nguyên liệu

Rễ Cau non thu hái tại huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Rễ Cau được rửa sạch, loại bỏ phần sâu, sấy khô ở nhiệt độ 55°C đến khối lượng không đổi và xay nhỏ trước khi sử dụng. Độ ẩm trung bình của mẫu rễ Cau là 8.8%.

Rễ Cau được định danh khoa học là rễ của *Areca catechu* L. bởi Ths. Ngô Thanh Phong, Bộ Môn Sinh, Khoa Khoa học Tự Nhiên, Đại Học Cần Thơ.

### 2.2 Phương pháp

Chiết hoạt chất: bột rễ Cau (3500 g) được chiết ngâm kiệt với ethanol 96° (EtOH) trong 7 ngày, tách lấy phần lỏng đem cô quay dưới áp suất kém thu cao EtOH thô (305 g). Cho phần cao thô hòa tan trong một lượng nước cất nhất định, sau đó chiết lỏng lỏng lần lượt với các dung môi petroleum ether (PE), ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (BuOH). Thu gom các dịch trích và sau khi loại dung môi dưới áp suất kém thu được các cao PE (59 g), cao EtOAc (49 g) và cao BuOH (56.5 g), tương ứng.

Phân lập các chất từ cao ethyl acetate: thực hiện sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, sử dụng những hệ dung môi giải ly gồm PE, EtOAc và methanol (MeOH) có độ phân cực tăng dần. Theo dõi quá trình sắc ký cột bằng sắc ký bản mỏng với hệ dung môi giải ly là chloroform:methanol (CHCl<sub>3</sub>:MeOH), thuốc thử hiện vết là dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol hoặc dung dịch KMnO<sub>4</sub>. Các phân đoạn thể hiện R<sub>f</sub> giống nhau trên sắc ký bản mỏng được gộp lại. Tiến hành sắc ký cột lần 2 với các phân đoạn giống nhau để cô lập được chất sạch.

Xác định cấu trúc của các chất đã cô lập được bằng cách sử dụng các phương pháp phổ nghiệm: MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, HMBC. Phổ NMR được đo trên máy Bruker Advance 500 MHz (Viện Công Nghệ, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội).

Silica gel 60 F<sub>254</sub> (0.04-0.05 mm), bản mỏng TLC của hãng Merck, Đức. Các 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 cao EtOAc (9.023 g), tiến hành sắc ký cột thường với hệ dung môi giải ly PE:EtOAc và EtOAc:MeOH có độ phân cực tăng dần. Kiểm tra các phân đoạn bằng TLC. Các phân đoạn có R<sub>f</sub> giống nhau được gom chung. Kết quả ở phân đoạn EtOAc:MeOH = 95:5 thu được 50 mg chất sạch dưới dạng tinh thể màu trắng, TLC giải ly bằng hệ CHCl<sub>3</sub>:MeOH:NH<sub>4</sub>OH = 85:10:5 hiện hình bằng thuốc thử KMnO<sub>4</sub> cho vết tròn màu trắng có R<sub>f</sub> = 0.63 ký hiệu tinh thể này là **Phuoc-Hao4H**.

Ở phân đoạn EtOAc:MeOH = 1:2 thu được 25 mg chất sạch dưới dạng tinh thể màu trắng, TLC giải ly bằng hệ CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 4:6 hiện hình bằng thuốc thử

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong EtOH cho vết tròn màu đỏ có R<sub>f</sub> = 0.48 ký hiệu tinh thể này là **Phuoc-Hao6**.

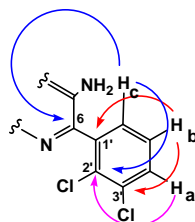
### 3.2 Kết quả dữ liệu phổ

#### Hợp chất Phuoc-Hao4H

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (500 MZ, DMSO, δ ppm, J = Hz): trong phân tử Phuoc-Hao4H có 7 tín hiệu proton, trong đó có 3 tín hiệu của các proton gắn trên vòng benzen ở các vị trí 7.71 (*dd*, J = 8; 1.5, H<sub>a</sub>), 7.44 (*t*, J = 8; 7.5, H<sub>b</sub>), 7.36 (*dd*, J = 7.5; 1.5, H<sub>c</sub>). Tín hiệu cộng hưởng ở 7.44 ppm dạng triplet nhưng lại có hai giá trị J=8 và 7.5 Hz là vì hai proton H<sub>a</sub> và H<sub>c</sub> không tương đương về mặt hóa học. Từ hằng số ghép cặp J, ta thấy H<sub>a</sub> và H<sub>b</sub> ở vị trí *ortho* với nhau, H<sub>b</sub> và H<sub>c</sub> ở vị trí *ortho* với nhau, H<sub>a</sub> và H<sub>c</sub> ở vị trí *meta* với nhau. Bốn tín hiệu proton ở 6.90 (2H, *br s*, -NH<sub>2</sub>), 6.42 (2H, *br s*, -NH<sub>2</sub>).

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (125.8 MHz, DMSO, δ ppm) kết hợp DEPT cho thấy trong phân tử Phuoc-Hao4H có 9 carbon trong đó có 6 carbon tứ cấp.

Phổ HMBC cho thấy sự tương quan giữa proton H<sub>a</sub> với tín hiệu δ<sub>C</sub> 131.58, proton H<sub>b</sub> với tín hiệu δ<sub>C</sub> 136.76, 131.99, proton H<sub>c</sub> với tín hiệu δ<sub>C</sub> 138.29, 131.58.

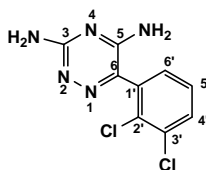


Hình 1: Tương quan HMBC của hợp chất Phuoc-Hao4H

Phổ ESI-MS: cho biết [M+H]<sup>+</sup> = 257.1 amu tương ứng với phân tử có khối lượng phân tử là 256.1 (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>).

Từ những dữ kiện trên Phuoc-Hao4H được nhận danh là lamotrigine hay còn gọi là 6-(2,3-dichlorophenyl)-1,2,4-triazine-3,5-diamine. Kết quả này phù hợp với kết quả của Guntoori *et al.* 2003. Kết quả đo GC-MS dịch chiết alkaloid từ rễ Cau của PGS.TS. Đào Hùng Cường, Đại Học Đà Nẵng (2010) cũng cho thấy trong rễ Cau có lamotrigine.

Lamotrigine có tác dụng trị động kinh, bệnh parkinson và tác dụng lên kênh sodium (Na<sup>+</sup>) (N. R. Mirza *et al.*, 2005).



Hình 2: Công thức cấu tạo hóa học của lamotrigine

### Hợp chất Phuoc-Hao6

Phổ ESI-MS: cho biết  $[M+H]^+ = 361.3$  amu tương ứng với phân tử có khối lượng phân tử là 360.3 ( $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ ).

Phổ  $^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm,  $J = Hz$ ): xuất hiện tín hiệu proton anomer ở 4.87 (1H,  $d$ ,  $J = 3.5$ ,  $H_1$  và  $H_{1'}$ ), và 5 tín hiệu proton gắn trên vòng đường ở 3.23 (1H,  $m$ ,  $H_2$  và  $H_{2'}$ ), 3.54 (1H,  $m$ ,  $H_3$  và  $H_{3'}$ ), 3.13 (1H,  $m$ ,  $H_4$  và  $H_{4'}$ ), 3.64 (1H,  $m$ ,  $H_5$  và  $H_{5'}$ ), 3.46 (1H,  $m$ ,  $H_{6a}$  và  $H_{6a'}$ ), 3.54 (1H,  $m$ ,  $H_{6b}$  và  $H_{6b'}$ ).

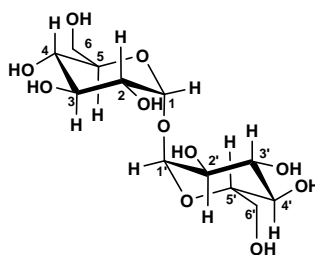
Phổ  $^{13}C$ -NMR (125.8 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) kết hợp với phổ DEPT: cho 1 tín hiệu carbon acetal 93.08 ( $C_1$  và  $C_{1'}$ ), bốn mũi tín hiệu carbon methin kê O ở các vị trí 70.12 ( $C_4$  và  $C_{4'}$ ), 71.6 ( $C_2$  và  $C_{2'}$ ), 72.44 ( $C_5$  và  $C_{5'}$ ), 72.87 ( $C_3$  và  $C_{3'}$ ) và một carbon metylen kê O ( $-CH_2-O$ ) ở 60.76 ( $C_6$  và  $C_{6'}$ ).

Phổ HSQC cho thấy carbon  $-CH_2-$  tại  $\delta_C = 60.76$  ( $C_6$  và  $C_{6'}$ ) tương quan với hai proton tại  $\delta_H = 3.46$  và  $\delta_H = 3.54$  ppm. Chứng tỏ hai proton này lần lượt là  $H_{6a}$  và  $H_{6b}$ . Dựa vào phổ HSQC, lần lượt xác định được độ dịch chuyển hóa học  $H_3$ ,  $H_4$ ,  $H_5$ .

Phổ hai chiều HMBC (DMSO,  $\delta$  ppm): cho thấy proton tại 3.13 (1H,  $m$ ,  $H_4$ ) tương tác với carbon tại  $\delta_C = 72.44$  ( $C_5$ ),  $\delta_C = 72.87$  ( $C_3$ ),  $\delta_C = 60.76$  ( $C_6$ ); proton tại 3.23 (1H,  $m$ ,  $H_2$ ) tương tác với carbon tại  $\delta_C = 72.44$  ( $C_5$ ); proton tại 4.87 (1H,  $d$ ,  $J = 3.5$ ,  $H_1$ ) tương tác với carbon tại  $\delta_C = 72.44$  ( $C_5$ ),  $\delta_C = 72.87$  ( $C_3$ ).

Tín hiệu  $\delta_H = 4.87$  ppm (1H,  $d$ ,  $J = 3.5$ ,  $H_1$  và  $H_{1'}$ ) trên phổ  $^1H$ -NMR và  $\delta_C = 93.08$  ppm trên phổ  $^{13}C$ -NMR khẳng định hợp chất Phuoc-Hao6 có cấu hình  $\alpha$ -pyranoside. Proton ghép cặp trực -xích đạo với  $H_1$  phải là  $H_2$   $\delta_H = 3.23$  (1H,  $m$ ,  $H_2$ ).

Từ dữ liệu phổ trên kết hợp với tài liệu tham khảo (Ivanka Jeri *et al.*, 2006), chúng tôi xác định Phuoc-Hao6 là  $[\alpha$ -D-glucose-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glucose] hay  $\alpha, \alpha$ -D-trehalose.  $\alpha, \alpha$ -D-Trehalose có tác dụng ức chế men  $\alpha$ -glucosidase nên được ứng dụng rộng trong điều trị bệnh đái tháo đường (Ivanova *et al.*, 2009).



Hình 3: Công thức cấu tạo Phuoc-Hao6

### 4 KẾT LUẬN

Đã phân lập và xác định cấu trúc của hai hợp chất: lamotrigine ( $C_9H_7N_5Cl_2$ ) và  $\alpha, \alpha$ -trehalose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) từ rễ Cau. Đây là những chất đều có hoạt tính sinh học

nên đã giải thích được lý do tại sao rễ Cau được dùng chữa một số bệnh trong y học dân gian.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đào Hùng Cường, Bùi Ngọc Phương Châu, 2010. *Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hợp chất hóa học trong hạt và rễ cây Cau*, Tuyển tập báo cáo hội nghị Sinh viên nghiên cứu khoa học lần thứ 7, trang 464-468.
- Đỗ Huy Bích, 2004. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà nội, (I), tr. 350-353.
- Đỗ Tất Lợi, 1995. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 172-174.
- Guntoori *et al.*, 2003. *Efficient process for the preparation of lamotrigine and related 3,5-diamino-6-substituted-1,2,4-triazines*, United States Patent, US 6586593B1.
- Ivanka Jeric *et al.*, 2006. *Synthesis of Trehalose-centered Dipeptide Esters*, Croatica Chemica Acta, 79 (2) 261-272.
- Ivanova *et al.*, 2009. *Isolation and identification of alpha,alpha-trehalose and glycerol from an arctic psychrotolerant Streptomyces sp. SB9 and their possible role in the strain's survival*, Prep Biochem Biotechnol 39(1):46-56.
- Lê Thanh Phước, Bành Nguyễn Anh Hào, 2011. *Góp phần khảo sát thành phần hóa học của rễ Cau (Areca catechu L.)*. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 19b, 80-84.
- N. R. Mirza *et al.*, 2005. *Lamotrigine has an anxiolytic like profile in the rat conditioned emotional response test of anxiety: a potential role for sodium channels*, Psychopharmacology 180: 159–168.