

# NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC DỊCH CHIẾT THÂN RỄ CÂY BÌNH TINH CHẾT (*CURCUMA PIERREANA* GAGNEP.) Ở TỈNH QUẢNG BÌNH TRONG DUNG MÔI n-HEXAN

Lý Thị Thu Hoài

**Tóm tắt.** Bằng phương pháp sắc ký cột kết hợp với các phương pháp phổ GC/MS, NMR, MS, ... chúng tôi đã phân lập được este diisooctylphthalat, stigmasterol và một số cấu tử khác từ dịch chiết thân rễ cây Bình tinh chết (*Curcuma pierreana* Gagnep.) trong dung môi n-hexan và etyl axetat. Kết quả thử hoạt tính sinh học cho thấy cao EtOAc có khả năng ức chế đối với các chủng vi khuẩn nhóm Gram. Trong bài báo này, chúng tôi chỉ đề cập đến các thành phần hóa học thân phân lập được từ dịch chiết trong dung môi n-hexan.

**Từ khóa:** *Curcuma pierreana*, bình tinh chết, stigmasterol

## 1. MỞ ĐẦU

Bình tinh chết (*Curcuma pierreana* Gagnep.) là một trong những cây thuộc chi *Curcuma* - chi thực vật có nhiều tác dụng trong y dược, mỹ phẩm và thực phẩm [2]. Cây này phân bố chủ yếu ở các tỉnh miền trung nước ta như Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, thường được người dân trồng để lấy tinh bột từ củ rễ [1]. Bột bình tinh dùng làm bánh thuẩn (bánh xoài) hoặc pha uống trực tiếp, vị mát, do đó có tác dụng thanh nhiệt rất tốt.

Cây bình tinh chết (*Curcuma pierreana* Gagnep.) ở Huế đã được tác giả Nguyễn Thị Bích Tuyết nghiên cứu về TPHH của tinh dầu thân rễ, tinh dầu hoa và lá. Tinh dầu thân rễ chứa các hợp chất: isoborneol (22,9%), isobornyl axetat (18,80%), camphor (7,20%), oxo- $\alpha$ -Flagen (4,70%), 1,8-cineol (4,60%), caryophyllen oxit (3,50%), viridiflorol (2,50%), terpinen-4-ol (1,30%),...[3] Chưa thấy có tài liệu nào nghiên cứu về dịch chiết thân rễ trong dung môi n-hexan.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Thu và xử lý mẫu

Mẫu thực vật (cây bình tinh chết) thu thập tại huyện Lệ Thủy, tỉnh Quảng Bình có đầy đủ các bộ phận thân rễ, rễ, củ rễ, hoa, lá và được giám định tên khoa học bởi NGUYỄN ĐỖ XUÂN CẨM, nguyên giảng viên Phân loại học thực vật, Đại học Nông Lâm Huế.

Mẫu thân rễ nghiên cứu dịch chiết được cắt bỏ các bộ phận rễ và củ rễ, rửa sạch, để ráo nước (5,0kg), sau đó cắt nhỏ và đem xay với dung dịch EtOH - H<sub>2</sub>O.

### 2.2. Kỹ thuật và dụng cụ

#### 2.2.1. Sắc ký bản mỏng và sắc ký cột

Sắc ký bản mỏng (SKBM) loại trắng trên bản nhôm, chất hấp thu là silicagel 60 F254 (Merck, 0,040 - 0,063mm, 230 - 430 mesh ASTM), độ dày bản mỏng 0,2mm, chiều dài 5cm.

Hiện hình các vết sau khi giải ly: ánh sáng UV ở bước sóng  $\lambda = 254\text{nm}$  và phun xịt thuốc thử vanilin - axit sunfuric.

Cột sắc ký (SKC) Silicagel 60, Merck, 0,063 - 0,040mm, 230 - 430 mesh ASTM. Kích thước cột:  $\Phi = 3\text{cm}$ ,  $d = 50\text{cm}$  và  $\Phi = 1\text{cm}$ ,  $d = 40\text{cm}$ . Silicagel 60, kích thước hạt 0,063 - 0,040mm (Merck), 230 - 430 mesh ASTM.

### 2.2.2. Các phương pháp vật lý

Phổ hồng ngoại (FT-IR) được đo trên máy FT-IR-PRESTIGE-21 với viên nén KBr, phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) thực hiện trên máy BRUCKER-Avance 500MHz, phổ khối (MS) đo trên máy Agilent 6310 Ion Trap.

## 2.3. Chiết và phân lập

### 2.3.1. Chiết

Thân rễ tươi (5,0kg) cây bình tinh chét (*Curcuma pierreana* Gagnep.) rửa sạch, cắt nhỏ xay với dung dịch EtOH - H<sub>2</sub>O, sau đó lọc qua rây. Phần dịch nước đặc sánh tiếp tục lọc hút chân không để loại bột, sau đó chiết với dung môi n-hexan. Phần bã trên rây tiếp tục ngâm với EtOH (3lít x 3 lần, mỗi lần ngâm 24 giờ). Dịch các lần ngâm cô đuổi dung môi ở áp suất thấp thu được cao EtOH. Cao EtOH thêm vào 500ml nước và chiết với n-hexan.

Gộp dịch chiết n-hexan ở hai phần, cô đuổi dung môi để thu cao n-hexan. Lấy mẫu nhỏ cao n-hexan hòa lại trong 30ml n-hexan, để lắng ở nhiệt độ lạnh một thời gian. Trích mẫu dịch n-hexan phân tích TPHH bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS) và chạy SKBM lựa chọn hệ dung môi SKC để phân lập các cấu tử.

### 2.3.2. Phân lập

Cao n-hexan (10,0g) thực hiện SKC với 200g silicagel 60 (Merck, 0,040 - 0,063mm, 230 - 430 mesh ASTM), hệ dung môi rửa giải lần lượt là n-hexan - CHCl<sub>3</sub> (tỉ lệ 6 :4 → 5:5 → 4:6 → 3:7 → 2:8 → 1:9) → CHCl<sub>3</sub> thu được 09 phân đoạn (BTC01→BTC09).

Phân đoạn BTC08 (1,2g) tiếp tục SKC (25g silicagel) với hệ dung môi rửa giải n-hexan - CHCl<sub>3</sub> - EtOAc (tỉ lệ 60:40:2 → 60:40:3 → 60:40:4 → 60:40:5) thu được 04 phân đoạn (BTC0801 → BTC0804). Phân đoạn H0804 (109mg) kết tinh lại bằng dung môi n-hexan hoặc axeton đều thu được tinh thể hình kim không màu (65mg, ký hiệu RBTC0804).

Mẫu RBTC0804 được gửi đo các phổ Ft-IR, EI-MS, 1H-NMR, 13C-NMR và DEPT.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thành phần hóa học của dịch chiết n-hexan

Bằng phương pháp GC/MS, chúng tôi đã xác định được TPHH của dịch chiết n-hexan gồm 33 cấu tử, trong đó, cấu tử chính là este diisooctylphthalat (este diisooctyl 1,2-benzendicacboxylat) C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(COOC<sub>8</sub>H<sub>17</sub>)<sub>2</sub> chiếm đến 93,46%. Cụ thể:

TT	Cấu tử	Hàm lượng (%)
1	α-Thujen	0,01
2	β-Pinen	0,05
3	D-Limonen	0,08
4	Camphor	0,03
5	Isoborneol	0,18
6	Borneol	0,03
7	5-propyl-2-đihidrofuranon	0,03
8	p-Menta-1(7),2-đien-8-ol	0,02
9	1-cyclohexyletanon	0,02
10	2-etylhexylmercatoaxetat	0,09
11	Este metyl 3-metylmeta-2,6-dienat	0,02
12	1-etoxy-4-etylbenzen	0,21
13	1-(1,5-đimetyl-4-hexenyl)-4-metyl-benzen	0,02
14	2,3-đimetylnonan	0,03
15	3-(1,5-đimetyl-4-hexenyl)-6-metylcyclohexen	0,03
16	Guaiol	0,02
17	Aromadendren oxit	0,05
18	2-(1-metyl-2-nitroetyl)cyclohexanon	0,03
19	Ar-turmeron	0,10
20	1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-đimetyl-7-(1-metyletenyl)Azulen	0,43
21	11-hexadecyn-1-ol	0,08
22	4-(2,2-đimetyl-6-metylcyclohexyliden)-3-metylbutan-2-on	0,45
23	6-(p-Tolyl)-2-metyl-2-heptenol	0,16
24	Este 2-etylhexylbenzoat	0,25
25	Este metyl 3-metylen-2,2-đimetyl-5-[(E)-1-propenyl]cyclopentanat	1,27
26	2-metyl-2-(3-metyl-2-oxobutyl)cyclohexanon	0,54
27	2,6-bis(2-metylpropyliden)cyclohexanon	0,13
28	Cedrol	0,22
29	4,7,7-Trimetylbicyclo[4.1.0]heptan-2-ol	0,14
30	Ledol	0,22
31	7(11)-Selinen-4α-ol	1,48
32	Bis(2-etylhexyl)phthalat	0,12
33	<b>Điisootyl phatalat</b>	<b>93,46</b>

Điisooctylphthalat (DIOP) là chất hóa dẻo có nhiều ứng dụng trong công nghiệp, đặc biệt là công nghệ polime. Nó được sử dụng để làm tăng độ mềm dẻo, khả năng kết dính và độ bền

của các polime như PVC, PVA, cao su, chất dẻo xenlulozơ và polyuretan. DIOP cũng được sử dụng nhiều trong công nghệ dược phẩm và mỹ phẩm. Ngoài ra, DIOP còn có hoạt tính ức chế tế bào ung thư hạch bạch huyết của chuột.

### 3.2. Cấu trúc chất rắn RBTC0804

Phổ Ft-IR: Vân hấp thụ  $3435\text{cm}^{-1}$  (mạnh, và mở rộng) chứng tỏ trong phân tử có chứa nhóm OH;  $2958, 2868\text{cm}^{-1}$  (mạnh) thường là vân hấp thụ của các dạng liên kết C-O, CH<sub>2</sub> của xiclohexan và C=C, và  $R_2C=CHR$ ; vân  $3650\text{m}^{-1}$  (yếu) là dao động của liên kết xiclic olefinlic -HC=CH-;  $1462\text{cm}^{-1}$  (trung bình) là dao động của vòng cyclic (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> hoặc C-O;  $1379\text{cm}^{-1}$  (trung bình) của các liên kết dạng C-CH<sub>3</sub>; C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;  $1055\text{cm}^{-1}$  có thể là dao động biến dạng của xicloankan.

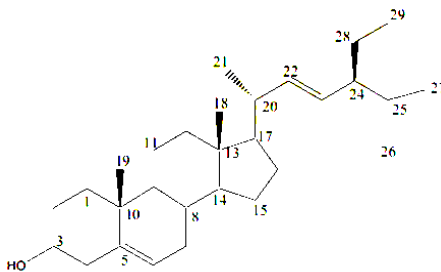
Phổ EI-MS: cho biết pic [M-H]<sup>+</sup> có m/z = 413, và pic có m/z = 395, do mất một phân tử nước từ [M-H]<sup>+</sup>.

Phổ <sup>1</sup>H-NMR: Hầu hết các tín hiệu tập trung ở vùng 0,5 - 2ppm với độ phân giải thấp nên nhìn thấy rất phức tạp; các giá trị  $\delta = 5,35\text{ppm}$  (1H);  $5,15\text{ppm}$  (1H) và  $5,03\text{ppm}$  (1H) cho thấy sự xuất hiện của 3 proton olefin (H-C=C-). Các thông tin này thường đặc trưng cho hợp chất có khung steroid. Mặt khác, tín hiệu bội (multiplet) ở  $\delta = 3,50\text{ppm}$  đặc trưng cho các steroid có nhóm hiđroxi ở vị trí cacbon số 3.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR: Vùng chuyển dịch hóa học đặc trưng nằm trong khoảng 10 - 60ppm, đây là vùng phổ <sup>13</sup>C-NMR đặc trưng của hợp chất steroid. Ngoài ra, chúng ta cũng dễ dàng nhận thấy 4 tín hiệu nằm trong vùng liên kết C=C với  $\delta = 140,75; 138,52; 129,53; 121,01\text{ppm}$ ; tín hiệu ở  $\delta = 71,83\text{ppm}$  ứng với cacbon liên kết với oxi dạng C-O.

Phổ DEPT: Xuất hiện 9 tín hiệu của CH<sub>2</sub> (37,29; 31,70; 42,35; 31,94; 21,10; 39,73; 24,39; 28,92; 25,41ppm); 3 tín hiệu cacbon bậc 4 ( $\delta = 140,75; 36,55; 42,26\text{ppm}$ ); 11 tín hiệu của nhóm CH (71,83; 121,02; 31,9; 50,21; 56,91; 56,01; 40,48; 138,52; 129,53; 51,56; 31,90ppm); và 6 tín hiệu CH<sub>3</sub> (12,08; 19,41; 21,08; 21,23; 19,05; 12,075ppm).

Dựa trên các dữ liệu phổ của RBTC0804 ở trên, chúng tôi nhận thấy cấu trúc chất rắn mà chúng tôi phân lập được là hợp chất stigmasterol (C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O).



Stigmasterol đã được tìm thấy trong nhiều loài thực vật như hoa Ambroma, Strychnos potatorum, Dalber volubilis, lá Micromelum minutum, Phyllanthas reticulatus, thân rễ Curcuma

zedoaria, *Curcuma oligantha*,... nhưng đây là lần đầu tiên được phân lập từ thân rễ cây bình tinh chét (*Curcuma pierreana* Gagnep.) ở Quảng Bình, Việt Nam, với hàm lượng (0,00361%) tương đối cao so với các loài khác.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Stigmasterol đã được tìm thấy trong nhiều loài thực vật nhưng đây là lần đầu tiên được phân lập từ thân rễ cây bình tinh chét (*Curcuma pierreana* Gagnep.) ở tỉnh Quảng Bình với hàm lượng tương đối cao so với các loài khác ( $0,015 \times 10^{-3}\%$  trên khối lượng thân rễ tươi). Stigmasterol là một sterol thực vật có nhiều giá trị trong y học. Nó có nhiều hoạt tính sinh học như khả năng oxi hoá, ức chế nhiều loại tế bào như ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt,... Nó còn là tiền chất để tổng hợp progesteron, estrogen, vitamin D<sub>3</sub>,...[4]. Gần đây, các nhà nghiên cứu còn tổng hợp được nhiều hợp chất có hoạt tính cao từ stigmasterol [5]. Vì vậy, đối với những loài thực vật có hàm lượng stigmasterol cao như loài bình tinh chét ở Quảng Bình chúng ta nên tiếp tục nghiên cứu, khảo sát thời điểm trong cây có hàm lượng stigmasterol cao nhất, kết hợp với hiệu quả tinh bột để trồng và khai thác hiệu quả các giá trị của nó.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Xuân Cẩm (2004), *Cẩm nang tra cứu tên cây nông nghiệp thường gặp ở Việt Nam*, NXB Nông nghiệp Hà Nội.
- [2] Võ Văn Chi (2003), *Từ điển thực vật thông dụng, tập 1*, NXB Khoa học & Kỹ thuật.
- [3] Nguyễn Thị Bích Tuyết (2001), *Nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu các loài cây thuộc chi curcuma và chi Kaempferia họ gừng (Zingiberaceae) ở Việt Nam*, Luận án Tiến sĩ, Hà Nội.
- [4] Intaranongpai J. (2006), *Phytochemical investigation and biological activities of Melodorum siamensis stem and Anona squamosa seed extracts*. Bangkok: Mahidol university.
- [5] Satkhira M. H. R. (2008), *Unusual sesquiterpenes: Gorgonenes and further bioactive econdary metabolites derived from Marine and terrestrial bacteria*, PhD Thesis, Gottingen university, Bangladesh.