



## PHÂN LẬP VÀ NHẬN DANH HAI HỢP CHẤT TỪ DỊCH CHIẾT ETHYL ACETATE CỦA TRÁI Ô MÔI-*CASSIA GRANDIS* L.F

Ngô Quốc Luân<sup>1</sup>, Lê Đỗ Huy<sup>1</sup>, Đỗ Hoàng Vinh<sup>1</sup>, Ngô Khắc Không Minh<sup>1</sup> và Nguyễn Ngọc Hạnh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Công nghệ Hóa học – Thành phố Hồ Chí Minh

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 21/12/2012

Ngày chấp nhận: 19/06/2013

### Title:

Isolation and identification of two compounds from ethyl acetate extracts of *Cassia grandis* L.f fruit

### Từ khóa:

Trái Ô môi, *Luteolin*

### Keywords:

*Fruit of Cassia grandis* L.f,

*Luteolin*

### ABSTRACT

From the ethyl acetate extracts of the fruit of *Cassia grandis* L.f from An Giang province, two compounds (*luteolin* and *beta-sitosterol-3-O-beta-D-glucopyranoside*) were isolated. Their structures were interpreted by spectra including <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC, MS and based on published data.

### TÓM TẮT

Từ dịch chiết ethyl acetate của trái Ô môi ở Tỉnh An Giang, chúng tôi đã cô lập và nhận danh được hai hợp chất là *luteolin* và *beta-sitosterol-3-O-beta-D-glucopyranoside*. Cấu trúc các chất này được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại như <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC, MS và so sánh với tài liệu đã công bố.

## 1 GIỚI THIỆU

Cây Ô môi có tên khoa học là *Cassia Grandis* L.f họ Vang Caesalpiniaceae; cây còn có nhiều tên địa phương khác như Bò cạp đỏ; Cốt khí; Canh-ki-na Việt Nam [Đỗ Tất Lợi (2004)], Carao, Chacara, Sandal, Coral Shower, Pink Shower, Horse Shower... Cây có nguồn gốc từ các nước Nam Mỹ, được trồng lấy bóng mát, làm cảnh vì có hoa đẹp, lấy trái ăn hoặc làm thuốc ở nhiều nước trên thế giới. Ở Việt Nam, Ô môi được trồng chủ yếu ở các tỉnh phía Nam, nhất là đồng bằng sông Cửu Long (Hình 1).

Theo y học cổ truyền dân gian trái Ô môi có tác dụng như: quả dùng sống chữa táo bón, com trái Ô môi chín được ngâm rượu dùng làm thuốc bổ, giúp ăn ngon miệng, tiêu hóa tốt, chữa đau lưng, đau xương, nhức

mỏi, rất tốt đối với người lớn tuổi và phụ nữ sau sinh.



Hình 1: Trái cây Ô môi

Trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và đã cô lập được khoảng 20 hợp chất có trong cây Ô môi

[Srivastava YS (1981), Wandee Gritsanapan (1984), Ibadur Rahman Siddiqui (1993), R. P. Verma (1994), Valencia E (1995), A. G. González (1996), Meenarani (1998), Harsha Joshi (2003), LI Xiao-Liang (2007)]. Tại Việt Nam, trước năm 2011 chưa có công trình nào nghiên cứu chi tiết về thành phần hóa học của loài cây này. Nhóm nghiên cứu chúng tôi bắt đầu nghiên cứu từ năm 2011 và đã công bố phát hiện được 7 hợp chất trong lá Ô môi [Lê Tiến Dũng (2011,2012), Ngô Quốc Luân (2012)]. Trong bài báo này, chúng tôi tiếp tục công bố thêm 2 hợp chất nữa mới phát hiện trong trái Ô môi.

## 2 THỰC NGHIỆM

### 2.1 Nguyên liệu

Trái Ô Môi chín được thu hái vào tháng 10-2011 tại huyện Phú Tân, Tỉnh An Giang. Sau khi chọn lọc loại bỏ phần sâu mọt, sấy khô ở 50°C, tách lấy hạt để riêng, phần còn lại xay thành bột làm nguyên liệu.

### 2.2 Phương pháp chiết xuất, cô lập

Nguyên liệu khô (3,1 kg) được tận trích với cồn 96°, lọc bỏ bã, sau đó cô đặc đến còn 270 g dịch chiết sệt. Dịch này được lắc chiết kiệt với n-hexane và cô loại dung môi dưới áp suất kém thu được 5,4 g cao n-hexane. Phần không tan tiếp tục được lắc chiết kiệt với ethyl acetate (EtOAc) và cô loại dung môi dưới áp suất kém thu được 8,5 g cao EtOAc (CGFE).

Từ cao CGFE, tiến hành tách trên máy sắc ký cột trung áp (MPLC-Hình 2) với các thông số như sau:

- 180 g silica gel 0,04 - 0,06 mm
- Kích thước cột 40 x 300 (mm x mm)
- Khối lượng mẫu 5 g
- Tốc độ dòng 40 ml/phút

Hệ dung môi giải ly: n-hexane - ethyl acetate (H:E) với các tỉ lệ thay đổi theo hướng tăng dần độ phân cực (0% - 100% EtOAc).

Theo dõi quá trình sắc ký cột bằng sắc ký bản mỏng (TLC), hiện vết bằng cách phun xịt dung dịch sulfuric acid 10% trong EtOH và

làm nóng trên bếp điện. Các phân đoạn giống nhau trên TLC được gom chung lại thành 10 phân đoạn (Từ FE01 đến FE10).



Hình 2: Máy sắc ký cột trung áp (MPLC)

Tại phân đoạn FE05 (hệ giải ly H:E = 8:2) chấm TLC nhận thấy có 1 vết chính màu vàng. Tiếp tục tiến hành sắc ký cột phân đoạn FE05 với máy sắc ký cột MPLC với các thông số như sau:

- 130g silica gel 0,04 - 0,06 mm
- Kích thước cột 40 x 200 (mm x mm)
- Khối lượng mẫu 0,887 g
- Tốc độ dòng 5 ml/phút
- Hệ dung môi giải ly: CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH (C:M = 93:7)

Kết quả thu gom được 5 phân đoạn con (Từ FE05-1 đến FE05-5). Tại phân đoạn FE05-3, làm sạch bằng cách kết tinh lại thu được chất rắn dạng bột màu vàng (0,016 g), đặt tên là CGFE01.

Tại phân đoạn FE08 (hệ giải ly H:E = 5:5), chấm TLC thấy có 1 vết chính màu tím. Cô loại dung môi và kết tinh lại nhiều lần trong CH<sub>3</sub>OH thu được 0,026g chất sạch dạng bột mịn màu trắng, đặt tên là CGFE02.

### 2.3 Phương pháp nhận dạng cấu trúc

Điểm tan chảy được đo trên máy Electrothermal 9100 (U.K), dùng mao quản không hiệu chỉnh. Các phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz, độ dịch chuyển hóa

học ( $\delta$ ) được tính theo ppm, hằng số tương tác ( $J$ ) tính bằng Hz. Phổ khối lượng được đo trên máy 1100 series LC/MS Trap Agilent, sắc ký lớp mỏng sử dụng bản nhôm silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck) tráng sẵn độ dày 0,2 mm.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Nhận danh cấu trúc hợp chất CGFE01

CGFE01 kết tinh trong CH<sub>3</sub>OH, là chất rắn dạng bột, màu vàng có điểm nóng chảy mp = 318 °C. Sắc ký bản mỏng trong hệ dung môi C:M = 85:15 hiện vết bằng 275 - 277 °C, có  $R_f = 0,39$  (C:M = 9:1), cho một vết màu tím khi phun dung dịch.

Phổ khối lượng cho pic ion phân tử  $m/z$   $[M+H]^+ = 287$  tương ứng với công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub> = 286.

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (DMSO,  $\delta_H$  ppm, 500 MHz) cho thấy có tín hiệu của proton nhân thơm thuộc khung flavonoid, qui nạp các trị số của  $\delta_H$  vào khung này thấy phù hợp:

– Có hai mũi đôi tại  $\delta_H$  6,19 (1H, *d*,  $J=2$ Hz, H-6) và ở  $\delta_H$  6,44 (1H, *d*,  $J=2$ Hz, H-8) tương tác với nhau ở vị trí *meta* trên cùng một nhân thơm.

– Một mũi đơn tại  $\delta_H$  6,66 (1H, *s*, H-3) chứng tỏ proton này không có tương tác với proton kề bên nó.

– Một mũi đôi tại  $\delta_H$  6,89 (1H, *d*,  $J=8,5$ Hz, H-5') chứng tỏ proton này tương tác với 1 proton khác ở vị trí *ortho* trên một nhân thơm.

– Hai proton H-2' và H-6' bị xen phủ ở  $\delta_H$  7,40.

– Một mũi đơn tại  $\delta_H$  12,97 cho thấy CGFE01 có nhóm –OH kiềm nổi.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (DMSO,  $\delta_C$  ppm, 125 MHz) kết hợp với phổ DEPT cho thấy CGFE01 có 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid, trong đó có 9 carbon tứ cấp.

– Một carbon carbonyl (>C=O) ở  $\delta_C$  181,6.

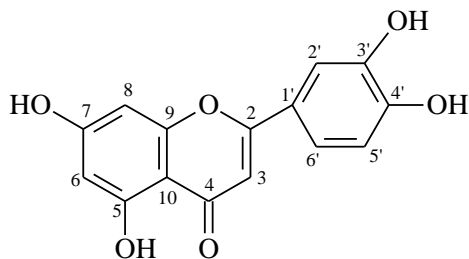
– Sáu carbon tứ cấp của vòng thơm mang oxy (=C–O–C=) ở các  $\delta_C$  164,1; 163,9; 161,4; 157,3; 149,7 và 145,7.

– Hai carbon tứ cấp kề nối đôi (>C=) ở  $\delta_C$  121,5 và  $\delta_C$  103,7.

– Sáu carbon methin kề nối đôi –CH= ở các  $\delta_C$  118,9; 116,0; 113,3; 102,8; 98,8 và 93,8.

Qui nạp các trị số  $\delta_C$  của phổ <sup>13</sup>C-NMR vào khung flavonoid và kiểm tra lại bằng phổ HMBC thấy có sự phù hợp với các tín hiệu tương tác H<sub>3</sub>→C<sub>1'</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>10</sub>; H<sub>6</sub>→C<sub>7</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>; H<sub>8</sub>→C<sub>7</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>; H<sub>2'</sub>→C<sub>6'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>4'</sub>, C<sub>2</sub>; H<sub>5'</sub>→C<sub>1'</sub>, C<sub>4'</sub>, C<sub>6'</sub>; H<sub>6'</sub>→C<sub>2</sub>, C<sub>2'</sub>, C<sub>4'</sub>; 5-OH→C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>10</sub>.

Từ các dữ liệu phổ trình bày trên đây kết hợp với tài liệu tham khảo [LI Xiao-Liang (2007)] có thể đề nghị cấu trúc của CGFE01 như Hình 3.



Hình 3: Cấu trúc của CGFE01

Cấu trúc của CGFE01 trùng với cấu trúc của Luteolin (5, 7, 3', 4'-tetrahydroxyflavon).

#### 3.2 Chất CGFE02

CGFE02 có dạng bột trắng mịn, kết tinh trong methanol, điểm tan chảy mp = 275-277 °C, có  $R_f = 0,39$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 9:1), cho một vết màu tím khi phun dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong ethanol và hơi nóng.

Phổ khối lượng cho pic ion phân tử  $m/z$   $[M+H]^+ = 577$  tương ứng với công thức phân tử C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub> = 576.

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (DMSO,  $\delta_H$  ppm, 500 MHz) cho:

– 6 tín hiệu proton methyl đặc trưng của hợp chất sterol trong khoảng  $\delta_H$  0,89-0,96 ppm

– 1 tín hiệu proton nối đôi (H-6) ở  $\delta_H$  5,29 ppm.

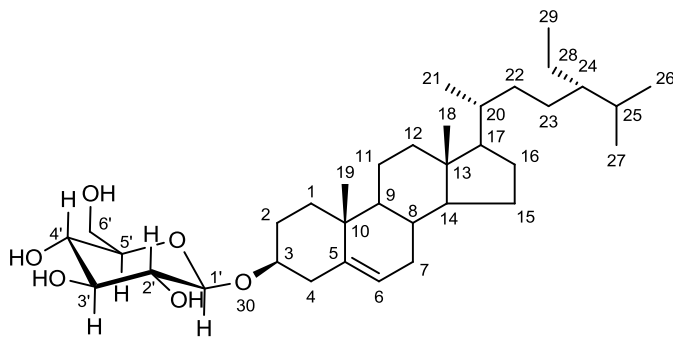
– 1 tín hiệu mũ đôi ở 4,33 ppm ( $J = 8\text{Hz}$ ), kết hợp với phổ HSQC cho biết proton này gắn với C-1' của đường, chứng tỏ phần đường này có liên kết  $\beta$  với khung aglycon, các tín hiệu proton methin kề oxygen của phần đường được tìm thấy trong khoảng  $\delta_{\text{H}}$  từ 3,1 - 3,4 ppm. Phổ HMBC cho thấy có tương tác giữa H-1'  $\rightarrow$  C-3 chứng tỏ phần đường nối vào C-3 trên khung aglycon.

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO,  $\delta_{\text{C}}$  ppm, 125 MHz) có 1 tín hiệu ở  $\delta_{\text{C}}$  100,9 ppm đặc trưng cho liên kết -O-C-O- (acetal) ở vị trí 1' của phần đường chứng tỏ trong CGFE02 có 1 đơn vị đường; tín hiệu ở  $\delta_{\text{C}}$  140,1 và 122,0 ppm chứng tỏ trong CGFE02 có 1 nối đôi (ở vị trí 5, 6). Kết hợp

với kỹ thuật DEPT cho thấy trong CGFE02 có 35 carbon, trong đó có 3 carbon bậc 4, 14 carbon bậc 3, 12 carbon bậc 2 và 6 carbon bậc 1 (trong đó có 1 nối đôi tại vị trí 5, 6). Trong 14 carbon bậc 3 có 7 tín hiệu dạng hydroxy methin, 1 carbon kề oxygen (C-3) và các carbon kề oxygen khác C-1' của phần đường được tìm thấy 5 tín hiệu ở các trị số  $\delta_{\text{C}}$  ppm = 61,7(C-6'); 76,2(C-5'); 70,0(C-4'); 75,6(C-3') và 73,4(C-2') chứng tỏ đây là đường glucose.

Từ các dữ liệu phổ trình bày trên đây kết hợp so sánh với tài liệu [Tôn Nữ Liên Hương (2011)] chúng tôi nhận định CGFE02 là beta-sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (Hình 4).

Hình 4: Cấu trúc của CGFE02



#### 4 KẾT LUẬN

Các kết quả nghiên cứu trên đây cho thấy từ trái Ô Môi ở Tỉnh An Giang đã cô lập được hai hợp chất là luteolin và beta-sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside. Các chất này lần đầu tiên được cô lập trong trái của loài cây này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. G. González, J. Bermejo, E. Valencia (1996), *A new C6-C3 compound from Cassia grandis L.*, *Planta Medica* (1996) Volume: 62, Issue: 2, pp: 176-177.
2. Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, trang 591.
3. Harsha Joshi và Virendra P. Kapoor (2003), *Cassia grandis Linn. F. seed galactomannan: structural and crystallographical studies*, *Carbohydrate Research* (2003) Volume: 338, Issue: 18, pp. 1907-1912.
4. Ibadur Rahman Siddiqui, Mithiles Singh, Dipti Gupta và Jagdamba (1993), *Anthraquinone-O- $\beta$ -D-Glucosides from Cassia grandis*, *Natural Product Letters*, Volume 2, Issue 2, 1993, Pages 83-90.
5. Lê Tiên Dũng và cộng sự (2011), *Khảo sát thành phần hóa học phân đoạn phân cực của lá cây Ô môi-cassia grandis L.*, *Tạp chí Hóa học* T.49(6A2011), trang 403-407.
6. Lê Tiên Dũng và cộng sự (2012), *Hợp chất flavonoid và antraquinon từ lá cây Ô môi*, *Tạp chí Hóa học* T.50(5A2012), trang 200-202.
7. LI Xiao-Liang, LU Ge, WANG Hao, YE Wen-Cai, ZHANG Xiao-Qi, ZHAO Shou-Xun (2007), “*Studies on the Chemical Constituents of Desmodium styracifolium (Osbeck) Merr.*”, *Journal of Chinese Medicinal Materials*, Volume 30(7), pp. 802-805.
8. Meenarani; Kalidhar SB (1998), *Chemical Examination of The Stems of Cassia Grandis L.* *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1998 Jan-Feb, 60(1), p. 59.
9. Ngô Quốc Luân và ctv (2012), *Hợp chất flavonoid từ lá Ô môi Cassia grandis L.*, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Tập 50, Số 3A, 2012, trang 296-301.

10. Tôn Nữ Liên Hương và cộng sự (2011), *Nghiên cứu thành phần hóa học của thân cây cỏ xước (Achyranthes aspera L.) ở Trà Vinh*, Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Số 19b-2011, trang 56-61.
11. R. P. Verma, K. S. Sinha (1994), *An Anthraquinone from Cassia grandis* Linn. Natural Product Letters, Volume 5, Issue 2, pp.105-110.
12. Srivastava YS, Gupta PC (1981), *A new flavonol glycoside from seeds of Cassia grandis L.*, Planta Med. 1981 Apr; 41(4), pp. 400-402
13. Valencia E, Madinaveita A, Bermejo J, Gonzalez A, Gupta MP (1995), *Alkaloids from Cassia grandis*. Fitoterapia 1994; Vol 66, No.5; pp. 476-477.
14. Wandee Gritsanapan, Bamrung Tantisewie and Vichiara Jirawongse (1984), *Chemical Constituents of Cassia Timorensis and Cassia Grandis*, J. Sci. Soc. Thailand, 10 (1984), pp. 189-190.