

# GÓP PHẦN KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA RỄ CAU (*ARECA CATECHU L.*)

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

## ABSTRACT

From the petroleum ether extracts of the roots of *Areca catechu L.*, collected in Phong Dien district, Can Tho city, we have isolated two compounds: lupeol ( $C_{30}H_{50}O$ ) and lupeol acetate ( $C_{32}H_{52}O_2$ ). The structures of these compounds have been elucidated by modern spectroscopic methods: MS,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HSQC, COSY and HMBC.

**Keywords:** *Areca catechu L.* root, chemical components, lupeol, lupeol acetate.

**Title:** Contribution to the study on the chemical components of *Areca catechu L.* root

## TÓM TẮT

Từ dịch chiết petroleum ether của rễ cây Cau trồng tại huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ, chúng tôi đã cô lập được hai hợp chất: lupeol ( $C_{30}H_{50}O$ ) và lupeol acetate ( $C_{32}H_{52}O_2$ ). Cấu trúc hóa học các hợp chất này đã được xác định bằng các phương pháp quang phổ hiện đại: MS,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR, HSQC, COSY và HMBC.

**Từ khóa:** Rễ Cau *Areca catechu L.*, thành phần hóa học, lupeol, lupeol acetate

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Cau có tên khoa học là *Areca catechu L.*, thuộc họ Cau (Arecaceae) (Đỗ Tất Lợi *et al.*, 1995). Theo kinh nghiệm dân gian và y học cổ truyền, hạt Cau là nguồn dược liệu quan trọng để chữa nhiều bệnh như: sán xơ mít, sán lá, chữa viêm ruột, bụng đầy trướng, bí tiểu tiện; rễ Cau nổi có tác dụng bổ dương (Đỗ Huy Bích *et al.*, 2004). Trên thế giới, hạt Cau đã được kết hợp với 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 (Wetwitayaklunga *et al.*, 2006).

Thành phần hóa học của hạt Cau đã được nhiều tác giả trong và ngoài nước nghiên cứu. Tuy nhiên, có rất ít bài báo công bố về thành phần hóa học của rễ cây Cau. Để xác định thành phần hóa học đồng thời làm cơ sở khoa học cho các bài thuốc dân gian có sử dụng rễ Cau, chúng tôi đã tiến hành phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất có trong rễ Cau (*Areca catechu L.*) trồng ở huyện Phong Điền, thành phố 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.

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

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

## 2.2 Phương pháp

- Chiết hoạt chất: bột rễ Cau (3500 g) được chiết ngấm kiệt với cồn ethylic 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 petroleum ether: thực hiện sắc ký cột, chất hấp phụ là silica gel, sử dụng những hệ dung môi giải ly gồm PE, EtOAc 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 petroleum ether:ethyl acetate, thuốc thử hiện vết là dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol và sấy bản mỏng ở 110°C. Các phân đoạn thể hiện 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: phổ khối lượng MS được đo trên máy MS 5989 B (Hewlett Pakard), <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, HSQC, HMBC. Phổ NMR (?) được đo trên máy Bruker Advance Model DRX500 (Viện Công Nghệ, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội).

- Điểm nóng chảy (melting point) được đo trên máy ELECTROTHERMAL Model 9100 của Anh, dùng mao quản không hiệu chỉnh.

- Silica gel dùng cho sắc ký cột pha thường cỡ hạt 0.040-0.063 mm. Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn silica gel KG 60 F<sub>254</sub>. 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 9.023g cao petroleum ether tiến hành sắc ký cột nhanh trên silica gel cho 9 phân đoạn. Kết quả sắc ký cột silica gel đối với cao chiết bằng petroleum ether được tóm tắt trong Bảng 1.

**Bảng 1: Kết quả sắc ký cột silica gel của cao petroleum ether**

Phân đoạn	Hệ dung môi giải ly	Tên mã hóa	Sắc ký bản mỏng	Ghi chú
1	PE 100%	PE1	Nhiều vết	
2	PE:EtOAc = 99:1	PE2	Nhiều vết có 1 vết chính	Khảo sát
3	PE:EtOAc = 98:2	PE3	3 vết, có 1 vết chính	Khảo sát
4	PE:EtOAc = 95:5	PE4	Nhiều vết	
5	PE:EtOAc = 9:1	PE5	Nhiều vết	
6	PE:EtOAc = 8:2	PE6	3 vết	
7	PE:EtOAc = 7:3	PE7	Nhiều vết	
8	PE:EtOAc = 1:1	PE8	Vết kéo dài	
9	EtOAc 100%	PE9	Vết kéo dài	

### 3.2 Cô lập các chất tinh khiết từ các phân đoạn sắc ký cột nhanh của cao petroleum ether

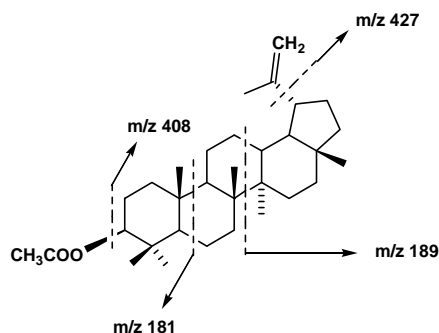
Từ các phân đoạn tương đối sạch của sắc ký cột nhanh cao petroleum ether, phân đoạn PE2, PE3 được tiếp tục tinh chế để thu được các chất tinh khiết.

#### 3.2.1 Phân đoạn PE2

Phân đoạn PE2 (400 mg), được tinh chế bằng cách sắc ký cột thường với hệ dung môi giải ly PE 100%, PE:EtOAc = 99:1; 98:2. Kết quả ở phân đoạn PE:EtOAc = 98:2 thu được tinh thể hình kim màu trắng đục, hiện vết màu tím có  $R_f = 0.78$  (PE:EtOAc = 75:25) trên TLC khi dùng thuốc thử là  $H_2SO_4$  10% trong MeOH. Hợp chất này có nhiệt độ nóng chảy 169-170°C và được ký hiệu là chất **PHUOC-HAO02** (55 mg).

#### Hợp chất PHUOC-HAO02

Phổ khối va chạm electron (EI-MS) cho pic phân tử  $m/z$  (%): 427 (M-41),  $m/z$  408 (M-AcOH),  $m/z$  249 (M-C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>),  $m/z$  189 {(249)-AcOH}.



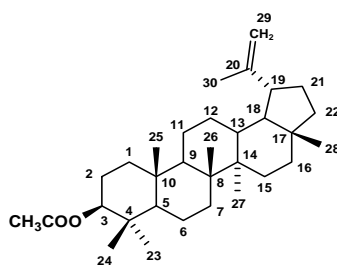
Hình 1: Cơ chế phân mảnh phổ EI-MS của PHUOC-HAO02

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), J (Hz): δ 0.76 (dd, 1H, J = 10.8, 5.8 Hz, H-5), 0.81 (s, 3H, H-28), 0.82 (s, 9H, H-23, H-24, H-25), 0.91 (s, 3H, H-27), 1.00 (s, 3H, H-26), 1.66 (s, 3H, H-30), 1.82-1.93 (m, 2H, H-21), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-), 2.33 (dt, 1H, J = 11.1, 5.6 Hz, H-19), 4.44 (dd, 1H, J = 10.8, 5.8 Hz, H-3), 4.54 (br s, 1H, H-29), 4.66 (br s, 1H, H-29).

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): δ 14.5 (C-27), 15.9 (C-24), 16.1 (C-25), 16.4 (C-26), 17.9 (C-28), 18.1 (C-6), 19.0 (C-30), 21.3 (CH<sub>3</sub>COO-), 20.9 (C-11), 23.7 (C-2), 25.0 (C-12), 27.4 (C-15), 28.2 (C-23), 29.8 (C-21), 34.2 (C-7), 35.5 (C-16), 37.0 (C-10), 37.7 (C-4), 38.0 (C-13), 38.3 (C-1), 39.9 (C-22), 40.8 (C-8), 42.8 (C-14), 42.9 (C-17), 48.0 (C-18), 48.2 (C-19), 50.3 (C-9), 55.3 (C-5), 80.9 (C-3), 109.3 (C-29), 150.9 (C-20), 171.0 (CH<sub>3</sub>COO-).

Kết hợp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều HSQC và HMBC cho thấy PHUOC-HAO02 thuộc nhóm terpenoid và có khung sườn fernan.

Từ các kết quả phân tích phổ ở trên chúng tôi kết luận chất PHUOC-HAO02 là **lupeol acetate**, có công thức phân tử là C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>. Kết quả này phù hợp với kết quả đã công bố của Arshad Kamal *et al.* 2001.



Hình 2: Công thức cấu tạo hóa học lupeol acetate

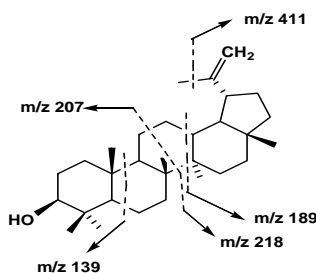
Lupeol acetate có tiềm năng ứng dụng trong y học, là một chất kháng viêm hiệu quả, có thể ngăn chặn sự di chuyển và sự phát triển của của tế bào ung thư (Arrieta *et al.*, 2003) trung hòa nọc độc của nhiều loài rắn cực độc như *Daboia russellii*, *Naja kaouthia* (Ipshita Chatterjee *et al.*, 2006).

### 3.2.2 Phân đoạn PE3

Phân đoạn PE3 (326 mg), được tinh chế bằng cách sắc ký cột thường với hệ dung môi giải ly PE:EtOAc = 99:1; 98:2. Kết quả ở phân đoạn PE:EtOAc = 98:2 thu được các tinh thể hình kim màu trắng đục, trên TLC xuất hiện vết màu tím có  $R_f = 0.43$  (PE:EtOAc = 75:25) khi dùng thuốc thử là  $H_2SO_4$  10% trong MeOH. Ký hiệu hợp chất này là **PHUOC-HAO03** (44 mg).

### Hợp chất PHUOC-HAO03

Phổ khối va chạm electron (EI-MS) cho pic phân tử  $m/z$  (%): 426 [ $M^+$ ] (49), ứng với công thức phân tử  $C_{30}H_{50}O$ . Các pic cơ bản: 411 (23%,  $M^+ - CH_3$ ), 218 (73%), 207 (28%), 203 (26%), 189 (27%), 175 (10%), 139 (27%), 95 (100%).



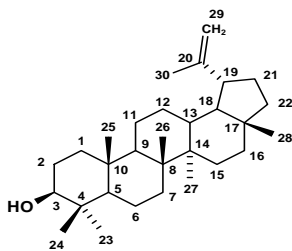
Hình 3: Cơ chế phân mảnh phổ EI-MS của PHUOC- HAO03

Phổ  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  (ppm), J (Hz):  $\delta$  0.66 (d, 1H, J = 9.1 Hz, H-5), 0.73 (s, 3H, H-24), 0.76 (s, 3H, H-28), 0.80 (s, 3H, H-25), 0.92 (s, 3H, H-27), 0.94 (s, 3H, H-23), 1.00 (s, 3H, H-26), 1.65 (s, 3H, H-30), 1.82–1.96 (m, H-21), 2.35 (dt, 1H, J = 10.9, 5.5 Hz, H-19), 3.16 (dd, 1H, J = 10.8, 5.1 Hz, H-3), 4.55 (br s, 1H, H-29), 4.65 (br s, 1H, H-29)

Phổ  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ),  $\delta$  (ppm):  $\delta$  14.5 (C-27), 15.3 (C-24), 15.9 (C-25), 16.1 (C-26), 18.0 (C-28), 18.3 (C-6), 19.3 (C-30), 20.9 (C-11), 25.1 (C-12), 27.4 (C-2, C-15), 28.0 (C-23), 29.7 (C-21), 34.3 (C-7), 35.6 (C-16), 37.1 (C-10), 38.0 (C-13), 38.7 (C-1), 38.8 (C-4), 40.0 (C-22), 40.8 (C-8), 42.8 (C-14), 43.0 (C-17), 48.0 (C-18), 48.3 (C-19), 50.4 (C-9), 55.3 (C-5), 79.0 (C-3), 109.3 (C-29), 150.9 (C-20)

Phổ DEPT NMR kết hợp  $^{13}C$  NMR cho thấy có 11 nhóm  $-CH_2$ , 6 nhóm  $-CH=$ , 7 nhóm  $-CH_3$ , 6C tứ cấp.

Từ những dữ kiện trên **PHUOC-HAO03** được nhận danh là lupeol. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của Ali *et al.*, 2007.



Hình 4: Công thức cấu tạo hóa học lupeol

Lupeol có thể ngăn chặn sự di chuyển và sự phát triển của của tế bào ung thư vùng đầu và cổ bao gồm ung thư mũi, khoang miệng, họng, thanh quản, tuyến giáp và tuyến nước bọt. Căn bệnh này thường tấn công người châu Á hơn so với người châu Âu do một số tập quán ăn uống như hút thuốc lá, uống rượu quá nhiều, ăn thực phẩm bảo quản lâu ngày như cá muối. Các bệnh ung thư này đều rất khó chữa bằng phẫu thuật (Mohammad Saleem *et al.*, 2009).

#### 4 KẾT LUẬN

Đã phân lập và xác định cấu trúc của: lupeol, lupeol acetate từ rễ Cau. Đây là những chất có hoạt tính sinh học khá tốt nên đã giải thích được lý do tại sao rễ Cau được dùng để chữa một số bệnh trong y học dân gian.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ali and S.Waseemuddin Ahmed Shehla Imam, Iqbal Azhar, M. Mohtasheemul Hasan, 2007. *Two triterpenes lupanone and lupeol isolated and identified from Tamarindus Indica Linn*, Pak. J. Pharm. Sci., Vol.20(2), 125-127.
- Arrieta J., Benitez J., Flores E. *et al.*, 2003. *Purification of gastroprotective triterpenoid from the stem bark of Amphipterygium adstringens; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons*. Planta Med 69:905–909.
- Arshad Kamal *et al.*, 2001. *Studies in the chemical constituents of Andrachne aspeara sprengs (euphorbiaceae)*, university of Karachi.
- 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.
- Ipshita Chatterjee, Chakravarty A.K. and Gomes A., 2006. *Daboia russellii and Naja kaouthia venom neutralization by lupeol acetate isolated from the root extract of Indian sarsaparilla Hemidesmus indicus R.Br.*, Journal of Ethnopharmacology, Vol 106, No 1, 38-43.
- Mohammad Saleem, Imtiyaz Murtaza, Rohinton S. Tarapore, Yewseok Suh, Vaqar Mustafa Adhami, Jeremy James Johnson, Imtiaz Ahmad Siddiqui, Naghma Khan, Mohammad Asim, Bilal Bin Hafeez, Mohammed Talha Shekhani, Benyi Li and Hasan Mukhtar, 2009. *Lupeol inhibits proliferation of human prostate cancer cells by targeting  $\beta$ -catenin signaling*, Carcinogenesis, 30(5):808-817.
- Wetwitayaklunga P., *et al.*, 2006. *The study of antioxidant capacity in various parts of Areca catechu L.*, Naresuan University Journal, 14(1), pp. 1-14.