

NGHIÊN CỨU KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY BÌNH TINH CHẾT (*CURCUMA PIERREANA* GAGNEP.) Ở TỈNH QUẢNG BÌNH

LÝ THỊ THU HOÀI; NGUYỄN THỊ MINH LỢI

Trường Đại học Quảng Bình

1. Mở đầu

Cây bình tinh chết (*Curcuma pierreana* Gagnep.) là loài thực vật sống ở vùng khí hậu nhiệt đới, thường được trồng ở các tỉnh miền Trung Việt Nam, từ Quảng Bình đến Quảng Ngãi, là một trong những loài thuộc chi *Curcuma* - chi thực vật có nhiều tác dụng trong y dược, mỹ phẩm và thực phẩm. Bột bình tinh có vị mát, tác dụng thanh nhiệt rất tốt, được người dân dùng làm bánh thuẫn (bánh xoài) hoặc pha uống trực tiếp. Thành phần hóa học của tinh dầu từ hoa, lá và thân rễ loài cây bình tinh chết ở Huế đã được nghiên cứu và công bố bởi tác giả Nguyễn Thị Bích Tuyết và các cộng sự^[1,3]. Tác giả Đặng Thanh Nhân cũng đã phân lập được Germacron từ dịch chiết thân rễ cây bình tinh chết ở Quảng Trị^[2]... Trong bài viết này, chúng tôi nghiên cứu khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu, dịch chiết các bộ phận hoa, lá, thân rễ và rễ con của loài cây bình tinh chết được trồng ở tỉnh Quảng Bình.

2. Thực nghiệm

2.1. Tách chiết thành phần hóa học để bay hơi của hoa, lá, thân rễ và rễ con

Hoa, lá, thân rễ và rễ con của bình tinh chết được lấy từ một khu vườn ở Quảng Bình. Hoa được chia làm 3 phần riêng biệt: Cánh môi, lá bắc và cuống hoa; mỗi phần lại được cắt nhỏ và ngâm trong n-hexan ở nhiệt độ phòng trong khoảng một tuần. Sau đó, lọc, ép lấy dịch, cô đuổi dung môi dưới áp suất thấp ở 30-35°C thu được tinh dầu các bộ phận của hoa. Các bộ phận lá, thân rễ và rễ con sau khi thu hái được cắt nhỏ và thu tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

Thành phần hóa học của các mẫu sau khi đã tinh chế được xác định bằng phương pháp

GC/MS tại Trung tâm Đào tạo và Phát triển Sắc ký Tp. Hồ Chí Minh.

2.2. Chiết và phân lập thành phần hóa học từ dịch chiết thân rễ

Thân rễ cây bình tinh chết được thu hái tươi (5kg), rửa sạch, cắt nhỏ xay với dung dịch EtOH - H₂O, 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.

Cao n-hexan (10g) thực hiện sắc ký cột với 200g silicagel 60 (Merck, 0,040-0,063mm, 230-430 mesh ASTM), hệ dung môi rửa giải lần lượt là n-hexan - CHCl₃ (tỉ lệ 6:4 → 5:5 → 4:6 → 3:7 → 2:8 → 1:9) → CHCl₃ thu được 9 phân đoạn (BTC01 → BTC09).

Phân đoạn BTC08 (1,2g) tiếp tục sắc ký cột (25g silicagel) với hệ dung môi rửa giải n-hexan - CHCl₃ - EtOAc (tỉ lệ 60:40:2 → 60:40:3 → 60:40:4 → 60:40:5) thu được 4 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 tinh dầu hoa

Cánh môi, lá bắc và cuống hoa của bình tinh chết ở tỉnh Quảng Bình có hàm lượng tinh dầu tương ứng: 2,02%; 2,89%; 2,29% và đều chứa các cấu tử chính là 3 - (3,3-dimetylbutyl)

xyclohexanon, β -pinen, α -pinen và camphen. Ngoài ra, tinh dầu lá bắc và cuống hoa còn có thêm camphor (bảng 1).

là hợp chất đặc trưng nhất 3-(3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon chưa từng thấy xuất hiện trong thành phần tinh dầu các loài

Bảng 1: Thành phần hóa học tinh dầu cánh môi, lá bắc và cuống hoa của bình tinh chết ở tỉnh Quảng Bình

TT	Cấu tử	Cánh môi (%)	Lá bắc (%)	Cuống hoa (%)	Tổng (%)
1	α -pinen	4,17	6,77	10,42	21,36
2	Camphen	3,46	12,72	15,72	31,0
3	β -pinen	7,03	17,32	28,34	52,69
4	Camphor	-	5,82	6,01	11,83
5	3-(3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon	47,58	31,67	16,30	95,55
6	Các cấu tử khác	33,74	25,70	23,21	82,67

Hợp chất nổi trội nhất trong tinh dầu cánh môi và lá bắc là 3 - (3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon với hàm lượng tương ứng: 47,58% và 31,67%. β -pinen và camphen cũng chiếm tỷ lệ khá cao trong tinh dầu lá bắc (17,32% và 12,72%). Trong tinh dầu cuống hoa thì β -pinen lại là hợp chất có hàm lượng cao nhất (28,34%), như vậy có khác hơn so với tinh dầu cánh môi và lá bắc.

So sánh tinh dầu hoa của bình tinh chết ở Quảng Bình với tinh dầu hoa của bình tinh chết ở Huế ta thấy có sự khác biệt rất lớn, các cấu tử chính của mẫu hoa ở Huế bao gồm: isoborneol (25,1%), camphen (22,4%) và isobornyl acetate (8,3%) [1,2,3]. Trong khi đó, tổng của cả ba bộ phận thì 3-(3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon lại là hợp chất có hàm lượng lớn nhất trong mẫu tinh dầu hoa ở Quảng Bình. Hợp chất có hàm lượng cao thứ hai là β -pinen. Cả hai hợp chất này đều không thấy xuất hiện trong mẫu tinh dầu hoa ở Huế. Điều đáng chú ý

khác thuộc chi *Curcuma* đã công bố trước đây.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu lá

Tinh dầu lá của bình tinh chết ở tỉnh Quảng Bình, Việt Nam có hàm lượng là 0,1% và kết quả phân tích GC/MS cho biết có 12 cấu tử đã được nhận danh (chiếm 99,68%). Các cấu tử chính bao gồm: β -pinen (27,07%), camphen (21,72%), camphor (17,14%), α -pinen (10,63%) và borneol (10,48%) (bảng 2). Tất cả các hợp chất này đều có ứng dụng trong công nghiệp dược phẩm và mỹ phẩm.

Từ bảng 2 ta thấy, số cấu tử cũng như hàm lượng tương ứng của các cấu tử trong tinh dầu lá của bình tinh chết ở Quảng Bình khác rất nhiều so với mẫu ở Huế. Các thành phần đặc trưng của tinh dầu lá loài này ở Huế là camphor (13,0%) và isoborneol (12,8%) [1, 2, 3]. Camphor cũng được tìm thấy trong mẫu tinh dầu lá của cây ở Quảng Bình với hàm lượng cao hơn (17,14%), tuy nhiên nó vẫn chưa phải là hợp chất nổi trội nhất. Hai hợp chất chiếm tỉ

Bảng 2: Thành phần hóa học của tinh dầu lá bình tinh chết ở tỉnh Quảng Bình

TT	Cấu tử	Hàm lượng (%)	TT	Cấu tử	Hàm lượng (%)
1	α -pinen	10,63	8	Borneol	10,48
2	Camphen	21,72	9	Isoborneol	1,28
3	β -pinen	27,07	10	Bornyl acetat	0,16
4	p-cymen	0,52	11	Isobornyl acetat	1,09
5	D-limonen	0,88	12	Caryophyllene	3,47
6	Eucalyptol (1,8-Cineol)	0,09	13	Unknown	5,15
7	Camphor	17,14	14	Các cấu tử khác	0,32

lệ cao hơn là β -pinen và camphen (27,07% và 21,72%). Trong khi đó, isoborneol trong tinh dầu lá Quảng Bình lại có hàm lượng rất thấp (1,28%).

3.3. Thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ

Kết quả phân tích GC/MS đối với tinh dầu thân rễ tươi (hàm lượng: 0,03%) của bình tinh chết ở Quảng Bình cho biết 7 cấu tử đã được nhận danh (chiếm 94,87%), bao gồm: 1,8-cineol (28,13%), β -pinen (16,76%), longiverbenon (15,00%), borneol (13,46%), camphor (8,40%), α -pinen (6,84%) và camphen (6,28%) (bảng 3). 1,8-cineol xuất hiện với hàm lượng cao nhất, đây cũng là hợp chất được tìm thấy trong tinh dầu lá và thân rễ của nhiều loài khác thuộc chi *Curcuma*. Nó được sử dụng nhiều trong chất khử mùi, khử trùng, thuốc chữa long đờm, chất tẩy màu, thuốc xịt mũi và cổ họng,...

So sánh thành phần hóa học của mẫu tinh dầu thân rễ tươi của bình tinh chết ở Quảng Bình và ở Huế cho thấy cũng có sự khác biệt rất lớn. Các cấu tử chính của mẫu ở Huế là isoborneol (22,9%) và bornyl acetate (18,8%)^[1,2,3]. Tuy nhiên, cả hai hợp chất này đều không thấy xuất hiện trong mẫu ở Quảng Bình.

3.4. Thành phần hóa học của tinh dầu rễ con

Tinh dầu rễ con chỉ chứa 5 cấu tử, trong đó có 3 cấu tử đã được nhận danh, gồm: β -pinen (31,61%), D-limonen (21,17%), camphen (17,15%); hai cấu tử còn lại có hàm lượng tương ứng là 15,23% và 14,84%. Hàm lượng tinh dầu rễ con là 0,025%.

3.5. Cấu trúc chất rắn RBTC0804 phân lập từ dịch chiết n-hexan

- *Phổ Ft-IR*: Vân hấp thụ 3.435cm^{-1} (mạnh và mở rộng) chứng tỏ trong phân tử có chứa nhóm OH; $2.958, 2.868\text{cm}^{-1}$ (mạnh) thường là vân hấp thụ của các dạng liên kết C-O, CH_2 của xiclohexan và C=C, và $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$; vân 3.650cm^{-1} (yếu) là dao động của liên kết xiclic olefinic - $\text{HC}=\text{CH}-$; 1.462cm^{-1} (trung bình) là dao động của vòng cyclic $(\text{CH}_2)_n$ hoặc C-O; 1379cm^{-1} (trung bình) của các liên kết dạng C- CH_3 ; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$; 1.055cm^{-1} có thể là dao động biến dạng của xicloankan.

- *Phổ EI-MS*: Cho biết pic $[\text{M}-\text{H}]^+$ có $m/z = 413$, và pic có $m/z = 395$, do mất một phân tử nước từ $[\text{M}-\text{H}]^+$.

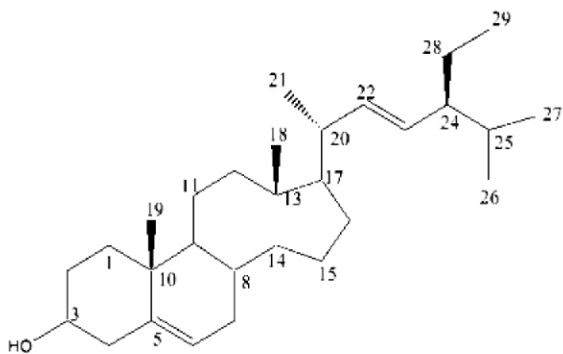
- *Phổ $^1\text{H-NMR}$* : Hầu hết các tín hiệu tập trung ở vùng 0,5-2ppm với độ phân giải thấp nên nhìn thấy rất phức tạp; các giá trị $\delta = 5,35\text{ppm}$ (1H); $5,15\text{ppm}$ (1H) và $5,03\text{ppm}$ (1H) cho thấy sự xuất hiện của 3 proton olefin ($\text{H}-\text{C}=\text{C}-$). Các thông tin 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 $^{13}\text{C-NMR}$* : Vùng chuyển dịch hóa học đặc trưng nằm trong khoảng 10-60ppm, đây là vùng phổ $^{13}\text{C-NMR}$ 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_2 ($37,29$; $31,70$; $42,35$; $31,94$; $21,10$; $39,73$;

Bảng 3: Các cấu tử chính trong tinh dầu thân rễ tươi của bình tinh chết ở tỉnh Quảng Bình

TT	Cấu tử	Hàm lượng (%)
1	α -pinen	6,84
2	Camphen	6,28
3	β -pinen	16,76
4	Eucalyptol (1,8-cineol)	28,13
5	Camphor	8,40
6	Borneol	13,46
7	Longiverbenon	15,00



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); 6 tín hiệu CH_3 (12,08; 19,41; 21,08; 21,23; 19,05; 12,075ppm).

Dựa trên các dữ liệu phổ của RBTC0804 ở trên nhận thấy cấu trúc chất rắn mà chúng tôi phân lập được là hợp chất *stigmasterol* ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$).

4. Kết luận

- Các thành phần chính trong tinh dầu hoa của bình tinh chết ở Quảng Bình bao gồm: 3-(3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon, β -pinen, α -pinen, camphen và camphor. Trong đó, hợp chất 3-(3,3-dimethylbutyl) xyclohexanon rất đặc trưng của loài này nhưng từ trước đến nay chưa thấy xuất hiện trong tinh dầu của các loài *Curcuma* khác.

- Các thành phần chính trong tinh dầu lá

bao gồm: β -pinen (27,07%), camphen (21,72%), camphor (17,14%), α -pinen (10,63%) và borneol (10,48%).

- Các thành phần chính trong tinh dầu thân rễ bao gồm: 1,8-cineol (28,13%), β -pinen (16,76%), longiverbenon (15,00%), borneol (13,46%).

- Tinh dầu rễ con chỉ chứa 5 cấu tử, trong đó mới nhận danh được 3 cấu tử là β -pinen (31,61%), D-limonen (21,17%), camphene (17,15%).

- 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 chết 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 D₃,...[5]. Gần đây, các nhà nghiên cứu còn tổng hợp được nhiều hợp chất có hoạt tính cao từ stigmasterol [6]. Vì vậy, đối với những loài thực vật có hàm lượng stigmasterol cao như loài bình tinh chết 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. Nguyen Xuan Dung, Nguyen Thi Bich Tuyet, V. K. Pham, A. Barthel and P.A Leclercq (1998), *Chemical composition of the flower oil of curcuma pierreana* Gagnep. from Viet Nam, J. Essent. Oil Res. Vol. 10, No. 5, p. 527-528 (1998).
2. Đặng Thanh Nhân (2012), *Nghiên cứu thành phần hóa học cây bình tinh chết (Curcuma pierreana Gagnep. Zingiberaceae) ở tỉnh Quảng Trị*.
3. Đỗ Đình Răng, Nguyễn Thị Bích Tuyết (2007), *Thành phần hóa học của tinh dầu hoa ở một số loài nghệ ở Việt Nam*, Tạp chí Hóa học và Ứng dụng, 3(63), p. 31-32.
4. Nguyen Thi Bich Tuyet, *Study of oil composition some plants in Curcuma genus and Kaempferia genus (Zingiberaceae family) in Viet Nam*, doctor's essay, Ha Noi university of pedagogy (2001).
5. Intaranongpai J. (2006), *Phytochemical investigation and biological activities of Melodorum siamensis stem and Anona squamosa seed extracts*, A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy (pharmaceutical chemistry and phytochemistry) faculty of graduate studies mahidol university.
6. Satkhira M. H. R. (2008), *Unusual sesquiterpenes: Gorgonenes and further bioactive econdary metabolites derived from Marine and terrestrial bacteria*, PhD Thesis, Bangladesh.