

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY BẰNG LĂNG NƯỚC (*LAGERSTROEMIA SPECIOSA*) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Quyết Tiến^{1*}, Phạm Thị Hồng Minh¹, Nguyễn Ngọc Tuấn¹,
Trương Thị Thanh Nga¹, Nguyễn Quảng An¹, Đoàn Văn Tuấn², Phạm Hữu Diện³

¹Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Đại học Sư phạm Thái Nguyên

³Đại học Sư phạm Hà Nội

Đến Tòa soạn 24-6-2011

Abstract

Lagerstroemia speciosa (L.) Pers. (Lythraceae) has been used in Vietnamese traditional medicine for the treatment of several diseases such as inflammation, obesity, and diabetes. Phytochemical investigation of the methanol extract of *Lagerstroemia speciosa* aerial parts led to the isolation of two derivatives of ellagic acid, 2,3,7-tri-O-methylellagic acid (3), 2,3,8-tri-O-methylellagic acid (4) and cyclitol (5) together with a two phytosterols β-sitosterol (1) and β-sitosterol-glucopyranoside (2). Their chemical structures were determined by spectroscopic methods including FT-ICR/MS and 1D and 2D NMR.

Keywords: *Lagerstroemia speciosa*, Lythraceae, derivatives of ellagic acid and cyclitol.

MỞ ĐẦU

Cây bằng lăng nước – *Lagerstroemia speciosa*, thuộc họ bằng lăng (LYTHRACEAE), bằng lăng nước (tiếng Philipin: Banaba, tiếng Campuchia: Bang-lang, tên Ấn Độ: Pride of India, Queen's flower) hay còn gọi là Bằng lăng tiên, tên khoa học là *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers họ bằng lăng (Lythraceae) [1, 2]. Ở Việt Nam, Bằng lăng nước có nhiều ở Hà Nội, Lâm Đồng, Đồng Nai, thành phố Hồ Chí Minh Chi Bằng lăng (*Lagerstroemia*) ở Việt Nam có khoảng 20 loài. Bằng lăng nước là loài bằng lăng hoa tím ở vùng nhiệt đới đã được dùng làm thuốc chữa bệnh ở Châu Mỹ, Ấn Độ, Philippin,... để trị tiểu đường và khá nhiều bệnh khác như trị ỉa chảy, chống oxi hóa, giảm mỡ máu, kháng khuẩn, Về thành phần hóa học của Bằng lăng nước đã có nhiều công trình nghiên cứu được công bố ở trong và ngoài nước. Các lớp chất chủ yếu trong bằng lăng nước gồm: phytosterol, axit béo, các triterpen, glycosid, tannin, amino axit, Đặc biệt, hợp chất axit urosolic (axit 2α-hydroxyursolic) với hàm lượng khá cao trong nó được cho là hoạt chất có tác dụng giảm glucozo huyết rất tốt [3-8]. Trong khuôn khổ bài báo này chúng tôi trình bày về một số thành phần hóa học bước đầu phân lập được từ cây này¹.

2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp tách chiết

- Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ và RP₁₈ F₂₅₄ (Merck-Đức). Các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao cho đến khi hiện màu.

- Sắc ký cột (CC) được tiến hành với chất lấp phụ pha thường (Silica gel 240-430 mesh, Merck).

- Điểm chày được do trên máy Electrothermal IA-9200 (Anh).

2.2. Các phương pháp phổ

Phổ IR được ghi trên máy IMPACT 410 sử dụng đĩa nén tinh thể KBr. Phổ ESI-MS do trên máy HP-1100 LS/MS Trap. của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR) được do trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

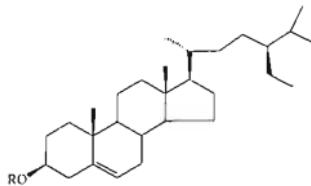
2.3. Mẫu thực vật

Mẫu lá, cành cây bằng lăng nước - *Lagerstroemia speciosa*, (1.0 kg nguyên liệu khô từ 8 kg nguyên liệu tươi) được thu hái ở Từ Liêm, Hà Nội tháng 12 năm 2010 và được TS. Đỗ Hữu Thư, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học là *Lagerstroemia speciosa*.

2.4. Phân lập các chất

Mẫu lá, cành khô Bằng lăng nước nghiên nhô (1kg) chiết với MeOH (5 lần) bằng siêu âm, ở nhiệt độ phòng, các loại dung môi bằng áp suất giảm thu được 169 g cặn chiết MeOH. Cặn này được hòa vào nước cất và tiến hành chiết phân bố với *n*-hexan, etyl axetat và sau đó cô khô chiết lại bằng metanol thu được các cặn chiết tương ứng là: cặn *n*-hexan ký hiệu là BLH (15 g), cặn etyl axetat ký hiệu là BLE (12 g) và cặn metanol BLM (20 g). Các cặn chiết được tiến hành phân tách thủ công bằng sáp cột silica gel pha thường với các hệ dung môi rửa giải gồm *n*-hexan, *n*-hexan-etyl axetat, CHCl₃-MeOH và MeOH thu được 5 phân đoạn là BLH1 (2.5 g), BLE2 (3.1 g), BLE4 (2.7 g), BLM1 (4.8 g) và BLM2 (1.9 g). Tiếp tục phân tách các phân đoạn trên bằng sắc ký cột silica gel pha thường với các hệ dung môi rửa giải tương ứng như trên đã phân lập được 5 chất sạch như sau: Từ phân đoạn BLH1, sau khi phân lập và kết tinh lại trong metanol thu được chất 1 (49 g); Tinh chế các phân đoạn đều bằng sắc ký cột silica gel pha thường từ BLE2 thu được hợp chất 2 (25 mg). Các hợp chất 3 (217 mg) thu được từ phân đoạn BLE4 còn 4 (156 mg) và 5 (372 mg) được tinh chế từ các phân đoạn tương ứng là BLM1 và BLM2.

β-Sitosterol (1): Tinh thể hình kim không màu



1. β-Sitosterol

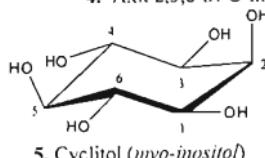
2. β-Sitosterol-glucopyranoside

R = H

R = Glu

3. Axit 2,3,7-tri-O-methylellagic R₁ = Me, R₂ = H

4. Axit 2,3,8-tri-O-methylellagic R₁ = H, R₂ = Me



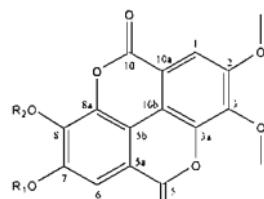
Hình 1 Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-5

(47 mg), diêm chè 138-140°C IR (ν_{max} , cm⁻¹) 3431.5 (đao động hóa trị OH), 2931.3 (đao động hóa trị CH); 1647.2 (C=C); EI-MS (m/z): 414[M]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, TMS, δ ppm): 3.51 (1H, m, H-3); 5.31 (1H, dd, J = 5 và 2 Hz, H-6); 1.01 (3H, s, H-18); 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21); 0.85 (3H, d, J = 7.1 Hz, H-26); 0.84 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-29); 0.81 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-28); 0.68 (3H, s, H-19). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, TMS, δ ppm): 37.3 (C-1); 31.7 (C-2); 71.8 (C-3); 42.3 (C-4); 140.8 (C-5); 121.7 (C-6); 31.9 (C-7); 31.9 (C-8); 50.2 (C-9); 36.5 (C-10); 21.1 (C-11); 39.8 (C-12); 42.3 (C-13); 56.8 (C-14); 24.3 (C-15); 28.3 (C-16); 56.1 (C-17); 11.9 (C-18); 19.4 (C-19); 36.2 (C-20). 18.8 (C-21); 33.9 (C-22); 26.1 (C-23); 45.9 (C-24); 29.2 (C-25); 19.1 (C-26); 19.4 (C-27); 23.1 (C-28); 11.9 (C-29).

β-sitosterol-glucopyranoside (2): Chất bột rắn trắng (52 mg). Phổ FT-IR ν_{max} (cm⁻¹): 3390 (rộng); 2934; 1644; 1461; 1373; 1073; 1026. Phổ EI-MS: m/z (%): 396 [M-C₆H₁₀O₆]⁺ (9); 273 (2); 255 (9); 185 (5); 161 (15); 145 (25), 133 (21); 105 (42). 91 (46); 81 (51); 69 (100).

Phổ ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.65 (3H, s, Me-18), 0.93 (3H, s, Me-19).

Phổ ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): phần aglycon: 36.3 (t, C-1); 27.9 (t, C-2), 76.8 (d, C-3); 38.4 (t, C-4); 140.6 (s, C-5); 121.3 (d, C-6); 31.7 (d, C-7); 31.5 (d, C-8); 50.7 (d, C-9). 35.6 (s, C-10); 21.0 (t, C-11); 36.9 (t, C-12); 45.2 (s, C-13); 56.3 (d, C-14); 23.9 (t, C-15); 29.4 (t, C-16); 55.5 (d, C-17); 11.9 (q, C-18); 19.8 (q, C-19); 33.4 (d, C-20); 19.6 (d, C-21); 31.5 (t, C-22); 28.8 (t, C-23); 49.7 (d, C-24); 25.5 (t, C-25); 19.0 (q, C-26); 20.7 (d, C-27); 22.7 (t, C-28); 12.2 (q, C-29); phần đường: 100.9 (d, C-1'); 77.1 (d, C-3'); 76.8 (d, C-5'); 73.6 (d, C-2'); 70.2 (d, C-4'); 61.2 (t, C-6').



Axit 2,3,7-tri-O-metylcellugic (3): Chất bột rắn trắng (217 mg), nhiệt độ nóng chảy: 289–290°C, HR-MS positive (m/z): 345.06273 [M+H]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS, δ ppm), xem bảng 1.

Axit 2,3,8-tri-O-metylcellugic (4): Chất bột rắn trắng (156 mg), nhiệt độ nóng chảy: 296–297°C, HR-MS positive (m/z): 345.06479 [M+H]⁺, ¹H-NMR (500 MHz, D₂O, TMS, δ ppm), xem bảng 1.

Cyclitol (5): Chất bột rắn trắng (129 mg), nhiệt độ nóng chảy: 212°C, Phô FT-IR ν_{max} (cm⁻¹): 3316 (rỗng), 2924, 1446, 1249, 1050; 1073; 1005; 897; 735. ESI-MS positive (m/z): 181 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, TMS, δ ppm), xem bảng 2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất 1 thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng từ cặn n-hexan và hợp chất 2 ở dạng bột màu trắng từ cặn etyl axetat. Trên cơ sở các số liệu phô (IR, ESI-MS và các phô 1D và 2D-NMR) của chúng so sánh với số liệu phô của β-sitosterol và 3β-O-β-sitosterol-glucopyranoside, tương ứng trong tài liệu [9] chất 1 được xác định là β-sitosterol, còn chất 2 được xác định là β-sitosterol-glucopyranoside.

Hợp chất 3 thu được từ dịch chiết metanol của cây Bằng lăng nước – *Lagerstroemia speciosa*, sau khi chạy qua cột và kết tinh lại trong metanol thu được chất bột rắn màu trắng (217 mg ~0.022%). Phô khối lượng ESI-HRMS của 3 cho thấy pic ion tại m/z: 345.06273 [M+H]⁺, tương ứng với công thức C₁₇H₂₈O₃ → M = 344 ứng với C₁₇H₂₈O₃. Trên phô ¹H-NMR xuất hiện các tín hiệu của ba nhóm methoxy (δ_H 3.759(s); 3.952(s) và 4.112(s)), và tín hiệu của 2 proton nội đôi ở các dò dịch chuyển hóa học δII 6.969 (s) và 7.683 (s).

Phô ¹¹I, ¹³C-NMR, DEPT và HSQC của 3 cho biết trong phân tử có tổng số 17 cacbon, gồm có 14 C thuộc các C liên kết đôi (δ_C nằm trong khoảng 107.54–158.48) và 2 C thuộc các liên kết carbonyl (C=O) ở δ_C về trường cao hơn bình thường 158.48 và 158.44 ppm. Điều này khẳng định các liên kết này thuộc loại liên kết liên hợp và chứa vòng lacton. Ba C còn lại cho biết các dò dịch chuyển hóa học của nó phù hợp với các tín hiệu của 3 C thuộc các nhóm methoxy (CH₃O) tại δ_C II 56.65/3.759; 61.68/3.952(s) và 62.24/4.112(s). Trên cơ sở số liệu phô NMR (1D và 2D) các dữ liệu phô NMR và các tương tác xa của 3 được tổng kết trong bảng 1.

Bảng 1: Số liệu phô NMR của các hợp chất 3–4
^aĐo trong D₂O. ^bĐo trong DMSO-d₆, ^c125 MHz, ^d500 MHz

C	3			4		
	δ _C ^{a,c}	δ _H ^{a,d} (dạng pic)	H → C (HIMBC)	δ _C ^{b,c}	δ _H ^{b,d} (dạng pic)	H → C (HIMBC)
1	107.54	6.969 (s)	2;3;3a;10;10a;10b	107.55	7.552 (s)	3, 3a, 10, 10a; 10b
2	153.93	-	-	153.85	-	-
3	140.72	-	-	140.33	-	-
3a	139.01	-	-	141.08	-	-
5	158.48	-	-	158.41	-	-
5a	114.79	-	-	111.92	-	-
5b	109.63	-	-	112.52	-	-
6	119.18	7.683 (s)	5;5a; 5b; 7; 8; 8a	111.20	7.484 (s)	5;5a; 5b; 7; 8; 8a
7	144.82	-	-	152.78	-	-
8	144.41	-	-	141.51	-	-
8a	139.32	-	-	140.83	-	-
10	158.44	-	-	158.59	-	-
10a	110.61	-	-	113.43	-	-
10b	111.10	-	-	111.79	-	-
8-OCH ₃	-	-	-	61.09	4,026 (s)	8
7-OCH ₃	62.24	4.112 (s)	7	-	-	-
3-OCH ₃	61.68	3.952 (s)	3	61.39	4,041 (s)	3
2-OCH ₃	56.65	3.759 (s)	2	56.80	3,970 (s)	2

Bảng 2: Số liệu phổ NMR của các hợp chất 5
Đo trong DMSO-d₆, 125 MHz, 500 MHz

TT	H (δ ppm)	C (δ ppm)	H → C HMBC	CH _n (DEPT)
1	3,34 (m)	72,74	2, 6	CH
2	3,69 (m)	72,62	1; 3	CH
3	3,34 (m)	72,74	2; 4	CH
4	3,11 (m)	71,86	3; 5	CH
5	2,90 (m)	75,23	4; 6	CH
6	3,11 (m)	71,86	1; 5	CH
2-OH	4,454/4,460 (1H; d, J = 3 Hz)	-	2	-
1-OH/ 3-OH	4,345/4,334 (2H; d, J = 5,5 Hz)	-	1 3	-
4-OH/ 6-OH	4,488/4,479 (2H; d, J = 4,5 Hz)		4 6	-
5-OH	4,545/4,537 (1H; d, J = 4 Hz)	-	5	-

Phổ hai chiều HSQC cho phép gán các giá trị độ dịch chuyển hóa học của các proton với nhóm carbon tương ứng. Phổ HMBC của 3 cho thấy các tương tác xa giữa proton H-6 (δ_H 7,683 (s)) với C-5b (δ_C 109,63)/C-8a (δ_C 139,32)/C-8 (δ_C 144,41)/C-7 (δ_C 144,82)/C-5a (δ_C 114,79)/ và với C-5 (δ_C 158,48). Tương tác giữa H-1 (δ_H 6,969 (s)) với C-10b (δ_C 111,10)/C-3a (δ_C 139,01)/C-3 (δ_C 140,72)/C-2 (δ_C 153,93)/C-10a (δ_C 110,61)/ và với C-10 (δ_C 158,44). Ngoài ra, còn quan sát thấy tương tác giữa các tín hiệu của các proton trong 3 nhóm metoxy (δ_H 3,759(s); 3,952(s) và 4,112(s) lần lượt với các bon tương ứng δ_C 153,93 (C-2), δ_C 140,72 (C-3), và δ_C 144,82 (C-7)). Phổ IR của 3 cho biết một số liên kết đặc trưng ở các tần số dao động (cm^{-1}) 3514,64 (tù, OH); 2965,04-1885,11 (CH); 1739,33-1665,11 (C=O); 1606,18 (C=C); 1046,01-1264,48 (C-O-C).

Qua việc phân tích các số liệu phổ NMR của chất 3 như trên, kết hợp với tài liệu [4] cho thấy hoàn toàn phù hợp với axit 2,3,7-tri-O-methylellagic thu được từ cây *Nasutitermes exitiosus*, cho phép khẳng định hợp chất 3 là axit 2,3,7-tri-O-methylellagic với cấu trúc hóa học của nó như hình 1.

Hợp chất 4 được phân lập dưới dạng bột rắn trắng. Phổ IR của 4 cũng cho các giá trị tần số dao động của các liên kết đặc trưng giống như của chất 3. Phổ khối lượng ESI-HRMS của 4 cho thấy pic ion tại m/z 345,06479 [$M+H^+$], tương ứng với công thức $C_{11}H_{11}O_8 \rightarrow M = 344$ ứng với $C_{11}H_{12}O_8$. Các tín hiệu trong phổ ^1H và ^{13}C NMR rất tương tự giống với tín hiệu phổ của 3, chứng tỏ 4 cũng là một hợp chất có khung cơ bản cũng là axit ellagic. Sự khác nhau rõ nét nhất giữa các phổ của hai hợp chất này là tín hiệu của cacbon liên kết với nhóm metoxy của 3 (δ_C 144,82 (C-7)) được thay thế bằng nhóm hidroxy (OH) trong 4 bằng tín hiệu độ dịch chuyển hóa học δ_C 152,78 với thay đổi độ dịch chuyển hóa học khoảng 8 ppm. Còn sự thay đổi nhóm metoxy thành hydroxyl tại C-8 làm thay đổi độ dịch chuyển hóa

học tại C-8 ($\Delta = 2,9$ ppm). Các giá trị độ dịch chuyển hóa học của 4 được xác định trước hết bằng sự so sánh các giá trị phổ tương ứng của 4 với 3 (bảng 1) và so sánh với các giá trị phổ đã công bố cho hợp chất axit 2,3,8-tri-O-methylellagic [10], một hợp chất cũng đã được biết đến từ loài *Irvingia gabonensis*. Tiếp đó, các dữ kiện phổ cũng như cấu trúc phân tử của 4 được kiểm tra bằng các phổ HSQC và HMBC. Sự phù hợp hoàn toàn về các giá trị phổ của 4 với số liệu đã công bố chứng tỏ đây là hợp chất axit 2,3,8-tri-O-methylellagic [10], xem hình 1.

Hợp chất 5 cũng được phân lập từ cành metanol của cây Bằng lăng dưới dạng bột rắn trắng, có điểm nóng chảy 212°C. Phổ IR cho biết có các dao động của các nhóm OH (cm^{-1} 3316), các dao động của các liên kết CH (cm^{-1} 2924). Phổ ESI-MS cho pic ion già phân lưu tại m/z 181,06 [$M+H^+$], tương ứng với công thức phân tử M là $C_6H_{11}O_6$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ và DEPT của 5 cho biết có 6 proton thuộc 6 cacbon cacbinol bậc 3 ở các độ dịch chuyển hóa học δ_H 2,90 (1H, m, H-5); 3,11 (2H, m, H-4 và H-6); 3,34 (2H, m, H-1 và H-3) và 3,69 (1H, m, H-2). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ chỉ ra sự có mặt của 6 cacbon carbonil bậc 3 ở các δ_C 72,74 (C-1 và C-3); 72,62 (C-2); 71,86 (C-4 và C-6) và 75,23 (C-5). Các số liệu phổ này khẳng định 5 là một dẫn xuất của ancol vòng 6 (cyclitol). Các số liệu phổ NMR và hằng số vật lý của 5 hoàn toàn phù hợp với cyclitol đã được đề cập trong tài liệu [11]. Do vậy, cấu trúc hóa học của 5 được xác định là *myo-inositol* hay cyclitol.

4. KẾT LUẬN

Từ dịch chiết metanol của cành lá cây Bằng lăng nước *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. (Lythraceae) bằng các phương pháp sắc ký, kết hợp với phương pháp tinh chế kết tinh lại trong dung môi thích hợp, năm hợp chất β -sitosterol (1), β -sitosterol-glucopyranoside (2), axit 2,7,8-tri-O-methylellagic

(3), axit 3,7,8-tri-O-metylellagic (4) và cyclitol (5) đã được phân lập. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phô hồng ngoại, phô khối lượng và phô cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều. Ba hợp chất 3, 4 và 5 được phát hiện lần đầu từ loài *Lagerstroemia speciosa*. Riêng hợp chất 5 có hoạt tính chống dài tháo đường khá tốt [11], phù hợp với khả năng chữa bệnh tiêu đường của cây này trong Y học dân gian Việt Nam.

Lời cảm ơn: Các kết quả nghiên cứu này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài Nghiên cứu Khoa học trọng điểm cấp Bộ, mã số B2010-17-2-57D

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chí *Tir điện cây thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, 76-77 (1997)
2. Danh mục các loài thực vật Việt Nam, tập 2, Nxb. Nông nghiệp, 870 (2003).
- 3 Phùng Thanh Hương, Nguyễn Thị Thu Hiền. *Tác dụng của dịch chiết lá bằng lỏng nước (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) trên chuột còng dài tháo đường nấp 2*. Tạp chí Dược học, (9), 19-22 (2009).
4. Chapman & Hall/CRC. DNP on CD-ROM. 1982-2009. Version 18.1
5. Klein Guy, Kim Jackyung, Himmeldirk Klaus, Cao

Liên hệ: Nguyễn Quyết Tiến

Viện Hóa học,

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.
Email: nqtienvhh@gmail.com

Yanyan; Chen Xiaozhuo. *Antidiabetes and Antisaturation Activity of *Lagerstroemia speciosa*. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 4(4), 401 (2007).

- 6 Naisheng Bai, Kan He, Marc Roller, Bolin Zheng, Xiaozhuo Chen, Zhongguang Shao, Tangsheng Peng and Qunyi Zheng. *Active Compounds from *Lagerstroemia speciosa*. Insulin-like Glucose Uptake-Stimulatory/Inhibitory and Adipocyte Differentiation-Inhibitory Activities in 3T3-L1 Cells*. J. Agric. Food Chem., 56(24), 11668-11674 (2008).
7. P. Anil, S. Manish, R. S. Garvendra, B. Vijay, K Tarachand. *In Vitro antioxidant studies of *Lagerstroemia speciosa* leaves*. Pharmacognosy Journal, 2(10), 357-360 (2010).
8. H. R. Ambujakshi, *Antibacterial activity of leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.*. Journal of Pharmacy Research, 2(6) (2009).
9. Goad, L. J., and Akihisa, T. "Analysis of sterols", Chapman & Hall, (1997) 324-333
- 10 George, I. Ndukwe and Yimin Zhao. *Pharmacological activity of 2,3,8-tri-O-methyl ellagic acid isolated from the stem bark of *Irvingia gabonensis**, African Journal of Biotechnology. 6(16), 1910-1912 (2007).
- 11.Sung Ok Lee, Sang Zin Choi, Jong Hwa Lee, Sung Hyun Chung 1, Sang Hyun Park 1, Hee Chol Kang 2, Eun Young Yang 2, Hi Jae Cho 2, and Kang Ro Lee *Antidiabetic Coumarin and Cyclitol Compounds from *Peucedanum japonicum**, Arch Pharm Res., 27(12), 1207-1210 (2004).