

MỘT SỐ HỢP CHẤT FLAVONOL TỪ CÂY GIAO (*Euphorbia tirucalli* L.) Ở TỈNH PHÚ THỌ

Nguyễn Đức Duy^{1*}, Nguyễn Thị Kim Thúy¹, Mai Thị Như Trang¹,
Ninh Khắc Bấy¹, Quách Thị Thanh Vân², Quãn Cẩm Thúy²

¹Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì, Phú Thọ

Ngày nhận bài: 21/10/2020; Ngày chỉnh sửa: 29/10/2020; Ngày duyệt đăng: 05/11/2020

Tóm tắt

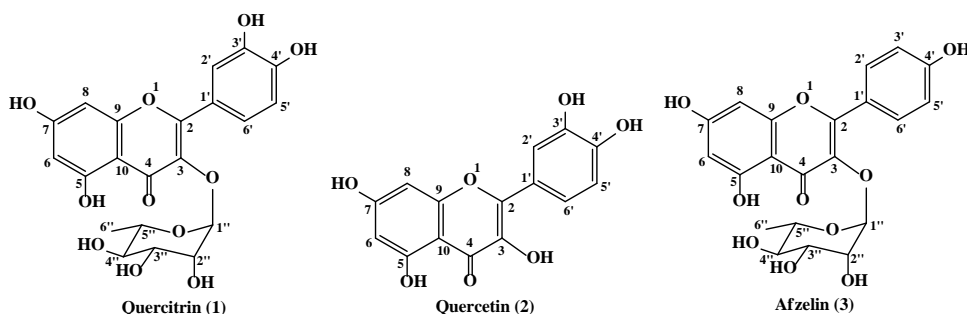
Bằng các phương pháp sắc ký, các phương pháp phổ hiện đại (¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR) và các số liệu phổ đã được công bố, ba hợp chất flavonol từ dịch chiết MeOH của cây Giao (*Euphorbia tirucalli* L.) đã được phân lập và xác định cấu trúc gồm: quercitrin (1), quercetin (2) và afzelin (3).

Từ khóa: *Euphorbia tirucalli* L., quercitrin, quercetin, afzelin.

1. Đặt vấn đề

Cây Giao (*Euphorbia tirucalli* L.) thuộc về họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) là một loài được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền. Trên thế giới, cây Giao được dùng làm thuốc thảo dược với nhiều tác dụng như chống bất lực tình dục, mụn cóc, động kinh, đau răng, trĩ, thấp khớp, ho... [1]. Ở Việt Nam, người

dân còn gọi cây Giao với tên khác như là cây xương khô, san hô xanh, cây bút chì và cây này được sử dụng làm thuốc để chữa một số bệnh như thuốc ngậm chữa đau răng, thuốc xông mũi chữa bệnh viêm xoang...[2] Tuy nhiên, hiện nay việc sử dụng cây Giao vẫn chỉ dựa vào kinh nghiệm dân gian, có rất ít tài liệu nghiên cứu về thành phần hóa học và



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-3

hoạt tính sinh học để làm sáng tỏ công dụng tác dụng làm thuốc của loài cây này. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập của ba hợp chất từ loài *Euphorbia tirucalli* L. và xác định cấu trúc hóa học của chúng.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu loài Giao (*Euphorbia tirucalli* L.) được thu hái ở thành phố Việt Trì, tỉnh Phú Thọ, tháng 2/2020 (Hình 2). Mẫu được giám định bởi TS. Bùi Văn Thanh, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2. Mẫu cây Giao

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sắc ký lớp mỏng: Thực hiện trên bản mỏng silicagel Merck 60 F₂₅₄ dày 0,2 mm; phát hiện chất bằng đèn tử ngoại (254 nm và 366 nm) và dùng thuốc thử H₂SO₄ 10%.

Sắc ký cột: Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel Merck (0,063 - 0,2 mm).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân: Phổ NMR đo trên máy Bruker Avance AM₅₀₀FT-NMR.

2.3. Chiết xuất và phân lập

Mẫu cây Giao (*Euphorbia tirucalli* L.) phần trên mặt đất gồm thân và cành (lá) được chặt nhỏ, phơi khô, nghiền nhỏ thu được 2,3 kg bột khô. Bột này được ngâm chiết với methanol (3 lần × 5 lít) trong thiết bị chiết siêu âm (ở 50°C, mỗi lần 3 giờ). Các dịch chiết được lọc qua giấy lọc, gom lại và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 185 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này được hòa tan vào 2 lít nước cất và tiến hành chiết phân bố lần lượt với n-hexane, chloroform và ethyl acetate, loại bỏ dung môi bằng máy cô quay dưới áp suất thấp thu được các phân đoạn n-hexane (H, 58 g), chloroform (C, 29,3 g), ethyl acetate (E, 21,6 g) và lớp nước.

Phân đoạn E (21,6 g) được tẩm khô với silica gel rồi được tiến hành sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel với hệ dung môi rửa giải n-hexane/ethyl acetate tỷ lệ thay đổi theo hướng tăng dần độ phân cực (10/0, ↑0/10) thu được 6 phân đoạn (ký hiệu từ E.1 đến E.6). Phân đoạn E.2 (1,8 g) được tiến hành sắc ký cột lần 2 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (19/1) thu được 4 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.2.1 đến E.2.4). Phân đoạn E.2.3 (133 mg) tiếp tục được tiến hành sắc ký cột lần 3 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (17/1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.2.3.1 đến E.2.3.3). Phân đoạn E.2.3.3 (34 mg) được kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất 1 (11,3 mg). Phân đoạn E.3 (2,5 g) được tiến hành sắc ký cột lần 2 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (9/1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.3.1 đến E.3.3). Phân đoạn E.3.3 (180 mg) tiếp tục được tiến hành sắc ký cột lần 3 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (9/1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.3.3.1 đến E.3.3.3). Phân đoạn E.3.3.3 (41 mg) được kết tinh lại trong MeOH

thu được hợp chất 2 (14 mg). Phân đoạn E.5 (2,1 g) thu được cặn có chứa vết màu vàng, tiếp tục tiến hành sắc ký cột lần 2 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (7/3) thu được 5 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.5.1 đến E.5.5). Phân đoạn E.5.1 (294 mg) tiếp tục được tiến hành sắc ký cột lần 3 với silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (7/3) thu được 3 phân đoạn nhỏ (ký hiệu từ E.5.1.1 đến E.5.1.3). Phân đoạn E.5.1.2 (67 mg) là chất bột màu

vàng, kết tinh lại trong MeOH và kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng thu được hợp chất 3 (24 mg).

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Hợp chất 1

Chất rắn dạng bột, màu vàng; công thức phân tử: $C_{21}H_{20}O_{11}$; khối phổ m/z: 448,09 [M-H]⁻.

Bảng 1. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 1 và Quercitrin

C	Hợp chất 1*			HMBC	Quercitrin** [3]	
	δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm	DEPT		δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm
2		156,4	C			156,9
3		134,2	C			134,6
4		177,7	C			178,2
5		161,3	C			161,8
6	6,20 (1H; d; J = 2,0 Hz)	98,8	CH	5, 7, 8, 10	6,15 (1H; d; J = 2,2 Hz)	99,2
7		164,6	C			164,7
8	6,37 (1H; d; J = 2,0 Hz)	93,7	CH	6, 7, 9, 10	6,36 (1H; d; J = 2,2 Hz)	94,1
9		157,2	C			157,8
10		103,8	C			104,6
1'		120,7	C			121,2
2'	7,31 (1H; d; J = 2,0 Hz)	115,8	CH	2, 3', 4', 6'	7,35 (1H; d; J = 2,2 Hz)	115,9
3'		145,3	C			145,7
4'		148,5	C			148,9
5'	6,86 (1H; d; J = 8,5 Hz)	115,5	CH	1', 3', 4', 6'	6,95 (1H; d; J = 8,2 Hz)	116,2
6'	7,25 (1H; dd; J = 8,5; 2,0 Hz)	121,1	CH	2, 2', 4'	7,25 (1H; dd; J = 8,2; 2,2 Hz)	121,6
1''	5,24 (1H; s)	101,8	CH	3, 3''	5,20 (1H; d; J = 1,5 Hz)	102,3
2''	3,96 (1H; d; J = 2 Hz)	69,9	CH		3,99 (1H; dd)	70,5
3''	3,49 - 3,51 (1H, m)	70,6	CH		3,53 (1H, dd)	71,1
4''	3,12 - 3,18 (1H, m)	71,1	CH		3,17 (1H, dd)	71,7
5''	3,20 - 3,24 (1H, m)	70,3	CH		3,23 (1H, dd)	70,9
6''	0,82 (3H; d; J = 6,0 Hz)	17,4	CH ₃		0,82 (3H; d; J = 6,0 Hz)	17,9
5-OH	12,64 (1H; s)				12,66 (1H; s)	

Ghi chú: (*) ghi phổ trong DMSO-d₆, 500/125 MHz; (**) ghi phổ trong DMSO-d₆, 500/500 MHz.

Phổ 1H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của 5 proton vòng thơm trong khoảng δ_H 6,20 - 7,31, trong đó có: 3 tín hiệu doublet tại δ_H 6,86 (1H; d; J = 8,5 Hz; C₅' - H), 7,25 (1H; dd; J = 8,5;

2,0 Hz; C₆' - H) và 7,31 (1H; d; J = 2,0 Hz; C₂' - H) chứng tỏ có tổ hợp 2 cặp proton tương ứng ghép với nhau ở một vị trí ortho (C₅' và C₆') và một vị trí meta (C₂' và C₆') trên cùng một nhân thơm; 2 tín hiệu doublet

tại dH 6,20 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; $C_6 - H$) và dH 6,37 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; $C_8 - H$) chứng tỏ có 2 cặp proton này ghép cặp với nhau ở vị trí meta trên cùng một nhân thơm; 1 tín hiệu proton hydroxyl tại dH 12,64 (1H; s; $C_5 - OH$). Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) kết hợp với phổ DEPT cho thấy hợp chất 1 có 15 tín hiệu của tổng số 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid gồm: 01 carbon carbonyl ở dC 177,7 ($C_4 = O$); 07 carbon bậc 4 của vòng thơm mang oxygen ở các dC 156,4 (C_2); 134,2 (C_3); 161,3 (C_5); 164,6 (C_7); 157,2 (C_9); 145,3 (C_3') và 148,5 (C_4'); 02 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen ở dC 103,8 (C_{10}); 120,7 (C_1');

05 carbon methine vòng thơm tại 93,7 (C_8); 98,9 (C_6); 115,8 (C_2'); 115,5 (C_5') và 121,1 (C_6'). Phổ HMBC cho đầy đủ thông tin tương quan phù hợp với việc gán số liệu phổ 1H -NMR vào khung, riêng đơn vị đường L-rhamnose được xác định gắn vào khung tại C-3 qua cầu nối oxygen bởi tương quan giữa proton anomer và C - 3. Từ các dữ liệu phổ đã phân tích ở Bảng 1, kết hợp so sánh với các dữ liệu phổ tài liệu [3]. Vì vậy, hợp chất 1 được xác định là Quercitrin (Hình 1).

3.2. Hợp chất 2

Chất rắn dạng bột, màu vàng; công thức phân tử: $C_{15}H_{10}O_7$; khối phổ m/z: 302,24 $[M+H]^+$.

Bảng 2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2 và Quercetin

C	Hợp chất 2*			HMBC	Quercetin* [4]	
	δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm	DEPT		δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm
2		148,2	C			147,9
3		136,9	C			135,9
4		176,8	C			176,0
5		162,4	C			160,9
6	6,22 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	99,2	CH	8, 10, 5, 7	6,17 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	98,4
7		165,3	C			164,1
8	6,47 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	94,4	CH	6, 10, 9, 7	6,39 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	93,5
9		157,9	C			156,3
10		104,3	C			103,2
1'		123,9	C			122,1
2'	7,78 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	115,8	CH	6', 3', 4', 2	7,66 (1H; d; $J = 2,0$ Hz)	115,2
3'		146,0	C			145,2
4'		147,2	C			147,0
5'	6,95 (1H; d; $J = 8,0$ Hz)	116,2	CH	1', 3', 4', 6'	6,87 (1H; d; $J = 8,5$ Hz)	115,8
6'	7,65 (1H; dd; $J = 8,0; 2,0$ Hz)	121,5	CH	2', 5', 4', 2	7,53 (1H; dd; $J = 8,5; 2,0$ Hz)	120,2
5-OH	12,42 (1H; s)				12,48 (1H; s)	

Ghi chú: (*) ghi phổ trong DMSO- d_6 , 500/125 MHz.

Phổ 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của 5 proton vòng thơm trong khoảng dH 6,22 - 7,78, trong đó có: 3 tín hiệu doublet tại dH 6,95 (1H; d; $J = 8,0$ Hz; $C_5' - H$), 7,65 (1H; dd; $J = 8,0; 2,0$ Hz; C_6'

- H) và 7,78 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; $C_2' - H$) chứng tỏ có tổ hợp 2 cặp proton tương ứng ghép với nhau ở một vị trí ortho (C_5' và C_6') và một vị trí meta (C_5' và C_6') trên cùng một nhân thơm; 2 tín hiệu doublet tại dH 6,22 (1H; d; $J = 2,0$

Hz; C₆ - H) và dH 6,47 (1H; d; J = 2,0 Hz; C₈ - H) chúng tỏ có 2 cặp proton này ghép cặp với nhau ở vị trí meta trên cùng một nhân thơm; 1 tín hiệu proton hydroxyl tại dH 12,42 (1H; s; C₅ - OH). Phổ ¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz) kết hợp với phổ DEPT cho thấy hợp chất 2 có 15 tín hiệu của tổng số 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid gồm: 1 carbon carbonyl ở dC 177,7 (C₄ = O); 7 carbon bậc 4 của vòng thơm mang oxygen ở các dC 148,2 (C₂); 136,9 (C₃); 162,4 (C₅); 165,3 (C₇); 157,9 (C₉); 146,0 (C₃') và 147,2 (C₄') ; 2 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen ở dC 104,3

(C₁₀); 123,9 (C₁') ; 5 carbon methine vòng thơm tại 94,4 (C₈); 99,2 (C₆); 115,8 (C₂') ; 116,2 (C₅') và 121,5 (C₆'). Phổ HMBC cho đầy đủ thông tin tương quan phù hợp với việc gán số liệu phổ ¹H-NMR vào khung. Từ các dữ liệu phổ đã phân tích ở Bảng 2, kết hợp so sánh với các dữ liệu phổ tài liệu [4]. Vì vậy, hợp chất 2 được xác định là Quercetin (Hình 1).

3.3. Hợp chất 3

Chất rắn dạng bột màu vàng; công thức phân tử: C₂₁H₂₀O₁₀; khối phổ m/z: 432,14 [M+H]⁺.

Bảng 3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 3 và Afzelin

C	Hợp chất 3*			HMBC	Afzelin** [¹³ C]	
	δ _H , ppm (J, Hz)	δ _C , ppm	DEPT		δ _H , ppm (J, Hz)	δ _C , ppm
2		156,5	C			157,0
3		134,2	C			134,7
4		177,7	C			178,2
5		161,2	C			161,8
6	6,22 (1H; d; J = 1,5 Hz)	98,8	CH	8, 10, 5, 7	6,21 (1H; d; J = 1,6 Hz)	99,2
7		164,4	C			164,7
8	6,41 (1H; d; J = 1,5 Hz)	93,6	CH	6, 10, 9, 7	6,42 (1H; d; J = 1,6 Hz)	94,21
9		157,2	C			157,7
10		104,1	C			104,6
1'		120,5	C			121,0
2'	7,74 (1H; d; J = 8,0 Hz)	130,6	CH	6', 2, 4'	7,77 (1H; dd; J = 8,6 Hz)	131,1
3'	6,91 (1H; d; J = 8,0 Hz)	115,4	CH	5', 1', 4'	6,93 (1H; dd; J = 8,6 Hz)	115,9
4'		160,0	C			160,5
5'	6,91 (1H; d; J = 8,0 Hz)	115,4	CH	3', 1', 4'	6,93 (1H; dd; J = 8,6 Hz)	115,9
6'	7,74 (1H; d; J = 8,0 Hz)	130,6	CH	2', 2, 4'	7,77 (1H; dd; J = 8,6 Hz)	131,1
1''	5,28 (1H; d; J = 1,8 Hz)	101,8	CH	3	5,31 (1H; dd; J = 1,8 Hz)	102,3
2''	3,97 (1H; s)	70,0	CH		3,99 (1H; dd)	70,6
3''	3,48 (1H; d, J = 7,5 Hz)	70,6	CH		3,48 (1H; dd)	71,1
4''	3,07-3,14 (1H; m)	71,1	CH		3,15 (1H; dd)	71,6
5''	3,17 (1H; d, J = 2,0 Hz)	70,4	CH		3,17 (1H; dd)	70,8
6''	0,80 (3H; d; J = 6,0 Hz)	17,4	CH ₃	4'', 5''	0,81 (3H; d; J = 6,1 Hz)	17,9
5-OH	12,62 (1H; s)			5, 6, 10	12,63 (1H; s)	

Ghi chú: (*) ghi phổ trong DMSO-d₆, 500/125 MHz; (**) ghi phổ trong DMSO-d₆, 500/500 MHz.

Phổ ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của 6 proton vòng thơm trong khoảng dH 6,22 - 7,74, trong đó có: 2 tín hiệu doublet tại dH 6,91 (1H; d; J = 8,0 Hz; C₃' - H và C₅' - H) và dH 7,74 (1H; d; J = 8,0 Hz; C₂' - H và C₆' - H) chúng tỏ có

2 cặp proton tương đương ghép cặp với nhau ở vị trí ortho trên cùng một nhân thơm; 2 tín hiệu doublet tại dH 6,22 (1H; d; J = 1,5 Hz; C₆ - H) và dH 6,41 (1H; d; J = 1,5 Hz; C₈ - H) chúng tỏ có 2 cặp proton này ghép cặp với nhau ở vị trí meta trên cùng một nhân thơm;

2 tín hiệu proton hydroxyl tại δ H 12,62 (1H; s; C₅ - OH). Phổ ¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz) kết hợp với phổ DEPT cho thấy hợp chất 3 có 15 tín hiệu của tổng số 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid gồm: 01 carbon carbonyl ở δ C 177,7 (C₄ = O); 06 carbon bậc 4 của vòng thơm mang oxygen ở các δ C 164,4 (C₇ - O); 161,3 (C₅ - O); 160,0 (C₄' - O); 157,2 (C₉ - O); 156,5 (C₂ - O) và 134,2 (C₃ - O); 02 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen ở δ C 104,1 (C₁₀ - O); 120,5 (C₁' - O); 06 carbon methine vòng thơm, trong đó có 2 cặp carbon tương đương ở δ C 98,8 (C₆); 93,6 (C₈); 130,6 (C₂', C₆') và 115,4 (C₃', C₅'). Ngoài ra còn có tín hiệu của 6 carbon vòng đường rhamnose, trong đó tín hiệu ở δ C 101,8 là carbon anomer. Phổ HMBC cho đầy đủ thông tin để xác định vị trí các proton và carbon trên khung. Riêng gốc đường α -L-rhamnopyranoside được xác định gắn vào khung tại C-3 qua cầu nối oxygen bởi tương quan giữa proton anomer và C - 3. Từ các dữ liệu phổ đã phân tích ở Bảng 3, kết hợp so sánh với các dữ liệu phổ tài liệu [3]. Vì vậy, hợp chất 3 được xác định là Afzelin (Hình 1).

4. Kết luận

Từ dịch chiết methanol của cây *Euphorbia tirucalli* L. được lấy mẫu tại thành phố Việt Trì,

thị trấn Phú Thọ, bằng các phương pháp sắc ký kết hợp đã phân lập được ba hợp chất flavonol dạng bột màu vàng, sử dụng các phương pháp phổ hiện đại (1H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR) kết hợp so sánh với các tài liệu đã xác định được cấu trúc hóa học của ba hợp chất đó là quercitrin (1), quercetin (2) và afzelin (3).

Tài liệu tham khảo

- [1] Julius Mwene & Patrick Van Damme (2011). *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae) - The miracle tree: Current status of available knowledge. Academic Journals Scientific Research and Essays, 6(23), 4905-4914.
- [2] Đỗ Huy Bích và cộng sự (2006). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam: Tập 2. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1145-1146.
- [3] Zhang Y., Wang D., Yang L., Zhou D. & Zhang J. (2014). Purification and Characterization of Flavonoids from the Leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and Correlation between Their Structure and Antioxidant Activity. PLoS ONE, 9(8), e105725.
- [4] Liu H., Mou Y., Zhao J., Wang J., Zhou L., Wang M., Wang D., Han J., Yu Z. & Yang F. (2010). Flavonoids from *Halostachys caspica* and Their Antimicrobial and Antioxidant Activities. Molecules, 15, 7933-7945.

FLAVONOLS FROM *Euphorbia tirucalli* L. IN PHU THO

Nguyen Duc Duy¹, Nguyen Thi Kim Thuy¹, Mai Thi Nhu Trang¹,
Ninh Khắc Bay¹, Quach Thi Thanh Van², Quan Cam Thuy²

¹Center For High Technology Development, Vietnam Academy of Science and Technology

²Viet Tri University of Industry, Phu Tho

Abstract

Phytochemical study on the methanol extract of *Euphorbia tirucalli* L. resulted in the isolation of three flavonol compounds: quercitrin (1), quercetin (2), and afzelin (3). Their structures were identified on the basis of physicochemical data and 1H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR spectral analysis in comparison with the published data.

Keywords: *Euphorbia tirucalli* L., quercitrin, quercetin, afzelin.