

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY CỎ SỮA LÁ NHỎ

Đến tòa soạn 16 - 6 - 2015

Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Thị Thanh Mai

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-Tp. HCM

SUMMARY

CHEMICAL CONSTITUTENTS FROM EUPHORBIA THYMIFOLIA

From the ethyl acetate extract of Euphorbia thymifolia, seven phenolic compounds were isolated, including syringaresinol (1), umbelliferone (2), brevifolin methyl carboxylate (3), (6R)-dehydrovomifoliol (4), loliolide (5), vanillic acid (6), and gentisic acid (7). Their chemical structures were determined by extensive NMR spectroscopic analysis and compared with data in the literature. These compounds were isolated for the first time from this plant.

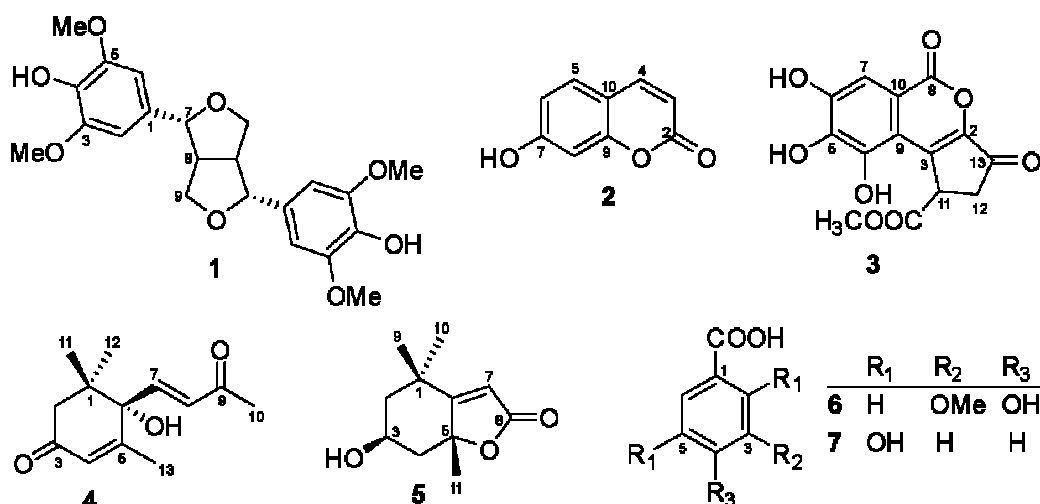
Keywords: *Euphorbia thymifolia*, ethyl acetate extract.

1. GIỚI THIỆU

Cỏ sữa lá nhỏ có tên khoa học là *Euphorbia thymifolia*, thuộc họ thầu dầu (Euphorbiaceae), dân gian thường gọi là sữa đất hay thiên căn thảo. Cây Cỏ sữa lá nhỏ mọc hoang khắp nơi ở Việt Nam và dân gian thường dùng để chữa lỵ, thông huyết, cầm máu, giảm đau, tiêu viêm, tiêu độc, lợi tiểu, kháng khuẩn, thông sữa, băng huyết, trẻ em đi ngoài phân xanh [1]. Tham khảo tài liệu cho thấy loài cây này có chứa các hợp chất thuộc họ flavonoid, lignan, coumarin, tannin và các polyphenol đơn giản như acid gallic cùng các dẫn xuất, ngoài ra còn có một số hợp chất terpenoid

[2-4]. Các nghiên cứu cũng cho thấy loài cây này có khả năng kháng oxy hóa, ức chế enzym α -glucosidase, enzym acetylcholinesterase,... [4-6].

Bài báo này công bố về việc phân lập và xác định cấu trúc của bảy hợp chất từ cây Cỏ sữa lá nhỏ là syringaresinol (1), umbelliferone (2), brevifolin methyl carboxylat (3), (6R)-dehydrovomifoliol (4), loliolide (5), acid vanillic (6) và acid gentisic (7) (hình 1.). Cấu trúc các hợp chất này được xác định bằng các phổ nghiệm kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo. Đây là các hợp chất lần đầu tiên được tìm thấy trong loài cây này.



Hình 1. Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ cây Cỏ sữa lá nhỏ

2. THỰC NGHIỆM

Mẫu cây Cỏ sữa lá nhỏ được thu hái tại vùng Bảy Núi, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang vào tháng 9/2011 và được định danh bởi Thạc sĩ Kiều Phương Nam thuộc Bộ môn Công nghệ Sinh học Thực vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên-ĐHQG Tp. HCM.

5,3 kg mẫu khô được xay nhỏ và chiết Soxhlet với dung môi metanol thu được cao metanol thô (750 g). Tiến hành chiết lỏng-lỏng cao thô lần lượt với các dung môi *n*-hexan và etyl acetat thu được các cao phân đoạn *n*-hexan (110 g), etyl acetat (100 g) và nước (540 g). Từ 100 g cao etyl acetat thực hiện sắc ký cột pha thường với các hệ dung môi giải ly lần lượt là acetone : hexan và metanol : CHCl₃ với độ phân cực tăng dần thu được 8 phân đoạn gồm: A, B, C, D, E, F, G, H. Thực hiện sắc ký cột các phân đoạn này nhiều lần trên silica gel pha thường với nhiều hệ dung môi có độ phân cực khác nhau, kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế pha thường đã phân lập được một hợp chất diepoxylignan (**1**), một hợp chất coumarin (**2**), một dẫn xuất của

isocoumarin (**3**), một hợp chất *nor*-isoprenoid (**4**), một hợp chất monoterpene (**5**), hai hợp chất polyphenol đơn giản (**6-7**). Cấu trúc các hợp chất này được xác định bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân với chất nội chuẩn TMS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ cao etyl acetat tiến hành sắc ký cột nhiều lần trên silica gel pha thường với nhiều hệ dung môi có độ phân cực khác nhau, kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế pha thường đã phân lập được bảy hợp chất là syringaresinol (**1**), umbelliferone (**2**), brevifolin methyl carboxylat (**3**), (6*R*)-dehydromifoliol (**4**), loliolide (**5**), acid vanillic (**6**) và acid gentisic (**7**). Sau đây là phân biện luận các hợp chất phân lập được. Hợp chất **1** có dạng gel không màu, tan tốt trong dung môi clorofrom. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **1** cho thấy có tín hiệu cộng hưởng của 2 proton thơm [δ_H 6,59; s] tương ứng với vòng benzen có 4 nhóm thế ở các vị trí 1,3,4,5; 1 nhóm oxymetin [δ_H 4,73; d; *J* = 4,3 Hz]; 1 nhóm oxymetylen [δ_H 4,28; m] và [δ_H 3,92; m]; 1 nhóm metin [δ_H 3,09; m] và 2 nhóm metoxyl [δ_H 3,90; s]. Phổ

^{13}C -NMR của hợp chất **1** có 11 carbon, bao gồm 2 carbon thơm tam cấp [δ_{C} 103,0], 3 carbon thơm tứ cấp nối với oxy [δ_{C} 147,4] và [δ_{C} 134,6], 1 carbon thơm tứ cấp không nối với oxy [δ_{C} 132,3], 1 carbon oxymetin [δ_{C} 86,2], 1 carbon oxymetylen [δ_{C} 72,0], 1

carbon metin [δ_{C} 54,5] và 2 carbon của nhóm metoxyl [δ_{C} 56,6] (bảng 1). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **1** có cấu trúc đối xứng của một diepoxylignan, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo [7] cho phép xác nhận hợp chất **1** là syringaresinol.

Bảng 1. Dữ liệu phổ của hợp chất 1 (CDCl_3), hợp chất 2 (CD_3COCD_3) và hợp chất 3 ($\text{DMSO}-d_6$)

Vị trí	1		2		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		132,3				
2	6,59 (s)	103,0		162,2		145,8
3		147,4	6,20 (d; 9,5)	113,8		138,4
4		134,6	7,83 (d; 9,5)	144,7		143,6
5		147,4	7,49 (d; 8,5)	130,4		149,7
6	6,59 (s)	103,0	6,83 (dd; 8,5 & 2,3)	113,8		140,4
7	4,73 (d; 4,3)	86,2		161,2	7,30 (s)	108,1
8	3,09 (m)	54,5	6,75 (d; 2,3)	103,5		160,1
9	4,28 (m) 3,92 (m)	72,0		157,0		115,0
10				112,9		113,0
11					4,42 (dd; 7,7 & 2,0)	40,6
12					2,97 (dd; 18,7 & 7,7)	37,0
					2,46 (dd; 18,7 & 2,0)	
13						193,0
-COO-						172,5
-OCH ₃	3,90 (s)	56,6			3,62 (s)	52,0

Hợp chất **2** có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **2** cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của 3 proton thơm tương ứng với một hệ *ABX* [δ_{H} 6,75; d; $J = 2,3$ Hz], [δ_{H} 6,83; dd; $J = 8,5$ & 2,3 Hz] và [δ_{H} 7,49; d; $J = 8,5$ Hz]; 2 tín hiệu cộng hưởng của 2 proton olefin ghép cặp *cis* với nhau [δ_{H} 6,20; d; $J = 9,5$ Hz] và [δ_{H} 7,83; d; $J = 9,5$ Hz]. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **2** có 9 carbon, trong đó có 1 carbon carbonyl của nhóm ester [δ_{C} 162,2]; 3 carbon thơm tam

cấp [δ_{C} 130,4], [δ_{C} 113,8] và [δ_{C} 103,5]; 2 carbon thơm tứ cấp nối với oxy [δ_{C} 161,2] và [δ_{C} 157,0]; 1 carbon thơm tứ cấp không nối với oxy [δ_{C} 112,9] cùng với 2 carbon olefin tam cấp [δ_{C} 113,8] và [δ_{C} 144,7] (bảng 1.). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **2** có cấu trúc của một coumarin, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo [8] cho phép xác nhận hợp chất **2** là umbelliferone.

Hợp chất **3** có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi DMSO. Phổ ^1H -NMR của

hợp chất **3** ở vùng trường thấp có sự xuất hiện 1 proton thơm [δ_H 7,30; s]; ở vùng trường cao có 1 tín hiệu cộng hưởng của nhóm metin [δ_H 4,42; dd; $J = 7,7$ & $2,0$ Hz], 1 nhóm metylen [δ_H 2,97; dd; $J = 18,7$ & $7,7$ Hz] và [δ_H 2,46; dd; $J = 18,7$ & $2,0$ Hz], 1 nhóm metoxyl [δ_H 3,62; s]. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **3** có 14 carbon, bao gồm 1 carbon carbonyl của nhóm ceton [δ_C 193,0]; 2 carbon carbonyl của nhóm ester [δ_C 160,1] và [δ_C 172,5]; 1 carbon thơm tam cấp [δ_C 108,1]; 3 carbon thơm tứ cấp nối với oxy [δ_C 143,6], [δ_C 149,7] và [δ_C 140,4]; 2 carbon thơm tứ cấp không nối với oxy [δ_C 115,0] và [δ_C 113,0]; 2 carbon olefin tứ cấp [δ_C 138,4] và [δ_C 145,8]; 1 carbon metin [δ_C 40,6]; 1 carbon metylen [δ_C 37,0]; 1 carbon metoxyl [δ_C 52,0] (bảng 1). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **3** có cấu trúc của một dẫn xuất của isocoumarin, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo [9] cho phép xác nhận hợp chất **3** là brevifolin metyl carboxylat.

Hợp chất **4** có dạng gel không màu, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **4** có 9 tín hiệu cộng hưởng, bao gồm 2 proton olefin ghép *trans* với nhau [δ_H 7,03; d; $J = 16,0$ Hz] và [δ_H 6,42; d; $J = 16,0$ Hz]; 1 proton olefin cô lập [δ_H 5,86; s]; 2 proton metylen [δ_H 2,22; d; $J = 17,0$ Hz] và [δ_H 2,59; d; $J = 17,0$ Hz]; 4 nhóm methyl [δ_H 2,28; s]; [δ_H 1,89; s] [δ_H 1,03; s] và [δ_H 1,08; s]. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **4** có 13 carbon, bao gồm 2 carbon carbonyl của nhóm ceton bất bão hòa [δ_C 198,0] và [δ_C 197,1]; 1 carbon olefin tứ cấp [δ_C 161,7]; 3 carbon olefin tam cấp [δ_C 128,0], [δ_C 131,7] và [δ_C 147,0]; 2 carbon sp^3 tứ cấp [δ_C 80,7] và [δ_C 40,1]; 1 carbon metylen [δ_C 50,3] cùng với 4 carbon methyl [δ_C 27,5], [δ_C 24,7], [δ_C 23,5] và [δ_C 18,9] (bảng 2). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **4** có cấu trúc của *nor*-isoprenoid, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo [10] cho phép xác nhận hợp chất **4** là (6*R*)-dehydrovomifoliol.

Bảng 2. Dữ liệu phổ của hợp chất **4** (CD_3COCD_3) và hợp chất **5** (CDCl_3)

Vị trí	4		5	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1		40,1		36,1
2	2,22 (d; 17,0)	50,3	1,53 (dd; 14,6 & 3,7)	45,8
	2,59 (d; 17,0)		1,97 (dd; 14,6 & 2,6)	
3		197,1	4,33 (m)	66,9
4	5,86 (s)	128,0	1,78 (dd; 14,0 & 3,8)	47,5
			2,46 (dd; 14,0 & 2,5)	
5		161,7		86,7
6		80,7		172,1
7	7,03 (d; 16,0)	147,0	5,69 (s)	113,0
8	6,42 (d; 16,0)	131,7		182,6
9		198,0	1,47 (s)	26,6
10	2,28 (s)	27,5	1,27 (s)	27,1

Vị trí	4		5	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
11	1,03 (s)	23,5	1,78 (s)	30,8
12	1,08 (s)	24,7		
13	1,89 (s)	18,9		

Hợp chất **5** có dạng gel không màu, tan tốt trong dung môi clorofrom. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **5** cho thấy có 9 tín hiệu cộng hưởng, bao gồm 1 proton olefin cô lập [δ_H 5,69; s]; 1 proton oxymetin [δ_H 4,33; m]; 4 proton metylen [δ_H 1,78; dd; $J = 14,0$ & $3,8$ Hz], [δ_H 2,46; dd; $J = 14,0$ & $2,5$ Hz], [δ_H 1,53; dd; $J = 14,6$ & $3,7$ Hz] và [δ_H 1,97; dd; $J = 14,6$ & $2,6$ Hz] cùng với 3 nhóm methyl [δ_H 1,47; s], [δ_H 1,27; s] và [δ_H 1,78; s]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **5** cho thấy có 11 carbon, bao gồm 1 carbon carbonyl của nhóm ester [δ_C 182,6]; 1 carbon olefin tứ cấp [δ_C 172,1]; 1 carbon olefin tam cấp [δ_C 113,0]; 2 carbon sp^3 tứ cấp [δ_C 86,7] và [δ_C 36,1]; 1 carbon oxymetin [δ_C 66,9]; 2 carbon metylen [δ_C 47,5] và [δ_C 45,8] cùng với 3 carbon methyl [δ_C 26,6], [δ_C 27,1] và [δ_C 30,8] (bảng 2). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **5** có cấu trúc của một monotерpen, kết hợp với tra cứu tài liệu

tham khảo [11] cho phép xác nhận hợp chất **5** là loliolide.

Hợp chất **6** có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **6** cho thấy có 3 tín hiệu cộng hưởng của 3 proton thơm [δ_H 7,56; dd; $J = 8,2$ & $1,9$ Hz], [δ_H 7,54; d; $J = 1,9$ Hz] và [δ_H 6,83; d; $J = 8,2$ Hz] tương ứng với 1 vòng benzen tam hoán cùng với 1 tín hiệu cộng hưởng của nhóm metoxyl [δ_H 3,90; s]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **6** cho thấy có 8 carbon, bao gồm 1 carbon carbonyl của nhóm acid [δ_C 167,5]; 2 carbon thơm tứ cấp nối oxy [δ_C 148,2] và [δ_C 152,1]; 1 carbon thơm tứ cấp không nối oxy [δ_C 123,1]; 3 carbon thơm tam cấp [δ_C 113,7], [δ_C 115,6] và [δ_C 124,9] cùng với 1 carbon của nhóm metoxyl [δ_C 56,5] (bảng 3). So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **6** với acid vanillic [12] thì thấy có sự trùng khớp. Vậy hợp chất **6** là acid vanillic.

Bảng 3. Dữ liệu phổ của hợp chất 6 (CD_3COCD_3) và hợp chất 7 (CD_3OD)

Vị trí	6		7	
	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)
1		123,1		116,6
2	7,54 (d; 1,9)	113,7		156,1
3		148,2	6,72 (d; 8,8)	118,4
4		152,1	6,89 (dd; 8,8 & 3,0)	123,4
5	6,83 (d; 8,2)	115,6		150,2
6	7,56 (dd; 8,2 & 1,9)	124,9	7,27 (d; 3,0)	118,2
-COOH		167,5		169,3
-OCH ₃	3,90 (s)	56,5		

Hợp chất 7 có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi metanol. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 7 cho thấy có 3 tín hiệu cộng hưởng của proton thơm [δ_{H} 7,27; d; $J = 3,0$ Hz], [δ_{H} 6,89; dd; $J = 8,8$ & $3,0$ Hz] và [δ_{H} 6,72; d; $J = 8,8$ Hz] tương ứng với 1 vòng benzen tam hoán. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất 7 cho thấy có 7 carbon, bao gồm 1 carbon carbonyl của nhóm acid [δ_{C} 169,3]; 2 carbon thơm tứ cấp nối với oxy [δ_{C} 156,1] và [δ_{C} 150,2]; 1 carbon thơm tứ cấp không nối oxy [δ_{C} 116,6]; 3 carbon thơm tam cấp [δ_{C} 118,2], [δ_{C} 118,4] và [δ_{C} 123,4] (bảng 3). So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất 7 với acid gentisic [13] thì thấy có sự trùng khớp. Vậy hợp chất 7 là acid gentisic.

4. KẾT TUẦN

Bằng kỹ thuật sắc ký cột trên silica gel pha thường kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế pha thường và pha đảo với các hệ dung môi giải ly khác nhau, chúng tôi đã phân lập được 7 hợp chất tinh khiết từ cao etyl acetat của cây Cỏ sữa lá nhỏ. Trên cơ sở của phổ cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp với so sánh phổ tài liệu tham khảo, chúng tôi đã xác định được cấu trúc của các hợp chất này là syringaresinol (1), umbelliferone (2), brevifolin methyl carboxylat (3), (6R)-dehydrovomifoliol (4), loliolide (5), acid vanillic (6) và acid gentisic (7). Đây là các hợp chất lần đầu tiên được tìm thấy trong loài cây này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Lợi Đ. T., (2005) Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà Xuất Bản Y Học, 199-200.

- [2]. Seung H. L., Takashi T., Gen I. N., Itsuo N., (1990) Hydrolysable tannins from *Euphorbia thymifolia*, *Faculty of Pharmaceutical Sciences*, 29, 3621-3625.
- [3]. Schmelzer G. H., Gurib A. F., (2008) Medicinal plant 1, *Plant Resources of Tropical Africa*, 11, 124-128.
- [4]. Thoa N. K., Phuong D. M. T., Hai N. X., Mai N. T. T., (2012) Nghiên cứu hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của cây Cỏ sữa lá nhỏ (*Euphorbia thymifolia*), *Tạp chí Hóa học*, 50, 82-86.
- [5]. Dao P. T. A., Hai N. X., Nhan N. T., Quan T. L., Mai N. T. T., (2012) Study on DPPH free radical scavenging and lipid peroxidation inhibitory activities of Vietnamese medicinal plants, *Natural Product Sciences*, 18, 1-7.
- [6]. Linh L. T. M., Hải N. X., Nhân N. T., Mai N. T. T., (2013) Nghiên cứu hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase của một số dược liệu Việt Nam, *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 18, 133-138.
- [7]. Wisit M., Siripit P., Narong N., Wilart P., (2011) (+)-Syringaresinol lignan from new species *Magnolia thailandica*, *American Journal of Applied Sciences*, 12, 1268-1271.
- [8]. Kutubi M. S., Hashimoto T., Kitamura T., (2011) Improved synthesis of coumarins by iron(III)-catalyzed cascade reaction of propiolic acids and phenols, *Synthesis*, 8, 1283-1289.
- [9]. Abelardo C. L., Gayosso-De-Lucio J. A., Torres-Valencia J. M., Muñoz-Sánchez J. L., Alarcón-Hernández E., López R., Barrón B. L., (2008) Antioxidant

constituents of *Geranium bellum* Rose, *Journal of the Mexican Chemical Society*, 52, 103-107.

[10]. Jayaveera K. N., Yoganandham R. K., Govindarajula Y., Kumanan R., (2010) Phytochemical screenings, antibacterial activity and physico chemical constants of ethanolic extract of *Euphorbia thymifolia* Linn, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 2, 81-82.

[11]. Zhizhou H., Anjiang Z., Lisheng D., Xinxiang L., Jianzhang S., Lixue Z., (2010)

Chemical composition of the green alga *Codium Divaricatum* Holmes, *Fitoterapia*, 81, 1125-1128.

[12]. Ralph S., Landucci L., Ralph J., (2001) NMR Database of lignin and cell wall model compounds, *US Forest Products Laboratory*, 60-76.

[13]. Stochmal A., Kowalska I., Janda B., Perrone A., Piacente S., Oleszek W., (2009) Gentisic acid conjugates of *Medicago truncatula* roots, *Phytochemistry*, 70, 1272-1276.

NGHIÊN CỨU PHÂN HỦY ĐỒNG THỜI NG, PETN.....(tiếp theo tr.323)

để xử lý nguồn nước nhiễm hợp chất có tính nổ thuộc nhóm estenitrat.

4. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu hiệu quả phân hủy đồng thời NG, PETN trong môi trường nước bằng tác nhân UV-Fenton ở bước sóng 254nm. Phản ứng phân hủy các hợp chất này trong hệ ENs/UV-Fenton có đặc trưng của phản ứng giả bậc nhất. Hiệu quả phân hủy ENs tăng theo dãy tác nhân: UV-H₂O₂ < Fenton < UV-Fenton. Tác nhân UV-Fenton hoàn toàn có thể áp dụng để xử lý nước thải nhiễm một số hợp chất có tính nổ nhóm estenitrat.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.04_2014.25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Đào Duy Hưng, Đỗ Ngọc Khuê, Đinh Ngọc Tấn, Hoàng Kim Huê. (2015) *Nghiên cứu đặc điểm phản ứng phân hủy TNT bằng tác nhân Fenton trong điều kiện không và có kết hợp bức xạ UV*. T-20, Tr.30-36.

[2]. Đỗ Ngọc Khuê, (2010) *Công nghệ xử lý các chất thải nguy hại phát sinh từ hoạt động quân sự*, NXB Quân đội nhân dân.

[3]. Đỗ Ngọc Khuê, Tô Văn Thiệp, Nguyễn Văn Hoàng, Đỗ Bình Minh. (2007) *Nghiên cứu đặc điểm đường đẳng nhiệt hấp phụ nitroglycerin từ pha lỏng bằng một số loại than hoạt tính*. Tạp chí Hóa học. T.45, Tr.619-623.

[4]. Thái Doãn Tĩnh. (2012) *Cơ chế và phản ứng hóa học hữu cơ*. NXB KH&KT 2012.