

Các hợp chất phenolic phân lập từ lá cây nhội *Bischofia javanica* (Blume)

Nguyễn Thị Mai

Đại học Giao thông Vận tải

Đến Tòa soạn ngày 20-5-2016; Chấp nhận đăng 6-02-2017

Abstract

Six phenolic compounds including vitexin 2-*O*- β -D-glucopyranoside (**1**), vitexin (**2**), quercetin 3-rutinoside (**3**), quercetin (**4**), caffeoylglycolic acid methyl ester (**5**), and caffeic acid methyl ester (**6**) were isolated from the methanol extract of *Bischofia javanica*. Their chemical structures were characterized by nuclear magnetic resonance spectra, and as well as in comparison with those reported in the literature.

Keywords. *Bischofia javanica*, phenolic, kaempferol, quercetin.

1. MỞ ĐẦU

Cây nhội (*B. javanica*) còn gọi là nhột hay quả cơm nguội, thuộc họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*). Lá có vị hơi cay, chát, tính mát, có tác dụng hành khí hoạt huyết, tiêu thũng giải độc, chứa vitamin C và tanin; vỏ chứa tanin [1]. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy thành phần hóa học chủ yếu của lá cây nhội là các tectenoit, steroid và các hợp chất phenolic [2-5]. Theo Rajbongshi, loài *B. javanica* được dùng để điều trị các bệnh như ung thư, viêm nhiễm, lao phổi, tiêu chảy, đau họng, bỏng và bệnh dị ứng khác nhau [6]. Cho đến nay ở Việt Nam mới chỉ có một nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thái An thông báo phân lập được 3 hợp chất là epi-friedelanol axetat, β -sitosterol, và gallic axit [7]. Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất phenolic từ dịch chiết metanol của lá cây nhội.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Lá cây nhội được thu hái vào tháng 6 năm 2012, tại Mê Linh, Vĩnh Phúc. Tên khoa học (*Bischofia javanica* Blume) được TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản (BJ1-2012) được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển.

2.2. Hóa chất thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản

mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP18 F_{254S} (Merck); phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10 % được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh) và silica gel pha đảo RP-18 (150 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Agilent 400-MR của Đại học Yonsei, Hàn Quốc.

2.3. Phân lập các hợp chất

Lá cây nhội được phơi khô, nghiền thành bột (2,0 kg), và chiết với metanol (3 lần \times 10 lít) với sự hỗ trợ của thiết bị chiết siêu âm (ở 50 $^{\circ}$ C, mỗi lần 1 giờ). Dịch chiết sau khi được lọc qua giấy lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 100 g cặn chiết metanol. Phân bố cặn chiết metanol vào 2 lít nước cất sau đó chiết lần lượt với diclometan (3 lần \times 1 lít) và etyl axetat (1 lần \times 3 lít) thu được cặn diclometan (30 g), cặn etyl axetat (12 g), và lớp nước. Lớp nước được cất loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp rồi cho chạy qua cột trao đổi ion (Diaion HP-20) rửa bằng nước cất, sau đó rửa giải với hệ dung môi tăng dần nồng độ metanol trong nước (25, 50, 75, và 100%; v/v) thu được 4 phân đoạn W1 (12 g), W2 (5 g), W3 (7 g), và W4 (10 g). Phân đoạn W2 tiếp tục được phân tách thành 5 phân đoạn W2.1-

W2.5 bằng sắc ký cột sử dụng silica gel pha thường với hệ dung môi diclometan/metanol/nước (4/1/0,1; v/v/v). Phân đoạn W2.3 được tinh chế trên cột sắc ký sử dụng silica gel pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/3; v/v) thu được hợp chất **1** (10 mg) và **3** (12 mg). Phân đoạn W2.4 được tinh chế trên cột sắc ký sử dụng silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải diclometan/metanol (10/1; v/v) kết hợp với sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải metanol/nước (1/1,5; v/v) thu được hợp chất **2** (8 mg) và **4** (10 mg). Phân đoạn W2.5 được phân tách thành 3 phân đoạn nhỏ W3A-W3C trên cột sắc ký sử dụng silica gel pha thường rửa giải bằng hệ dung môi diclometan/metanol/nước (5/1/0,1; v/v/v). Hợp chất **5** (9 mg) và **6** (12 mg) thu được sau khi tiến hành tinh chế phân đoạn W3B trên cột sắc ký sử dụng silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải diclometan/metanol (4/1; v/v).

2''-glucosylvitexin (1): Bột vô định hình, màu vàng. Công thức phân tử $C_{27}H_{30}O_{15}$ ($M = 594$).

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

Vitexin (2): Bột vô định hình, màu vàng. Công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_{10}$ ($M = 432$).

1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 13,1 (1H, s, 5-OH), 8,0 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,9 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3', H-5'), 6,8 (1H, s, H-3), 6,2 (1H, s, H-6), 4,7 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-1''), 3,8 (1H, t, $J = 10,0$ Hz, H-2''), 3,5 (1H, m, H-6''a), 3,7 (1H, d, $J = 11,6$ Hz, H-6''b), 3,2 (1H, m, H-4''), 3,2 (1H, m, H-3'') và 3,2 (1H, m, H-5'').

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ_C : 182,4 (C-4), 164,3 (C-2), 162,9 (C-7), 161,5 (C-4'), 160,7 (C-5), 156,3 (C-9), 129,3 (C-2', C-6'), 121,9 (C-1'), 116,1 (C-3', C-5'), 104,9 (C-8), 104,4 (C-10), 102,8 (C-3), 98,4 (C-6), 82,2 (C-5''), 79,0 (C-3''), 73,7 (C-1''), 71,1 (C-2''), 70,8 (C-4'') và 61,6 (C-6'').

Quercetin 3-rutinoside (3): Bột vô định hình, màu vàng. Công thức phân tử $C_{27}H_{30}O_{16}$ ($M = 610$).

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD): xem bảng 1.

Quercetin (4): Bột vô định hình, màu vàng. Công thức phân tử $C_{15}H_{10}O_7$ ($M = 302$).

1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 12,5 (1H, s, 5-OH) 7,6 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,5 (1H, dd, $J = 8,0, 2,0$ Hz, H-2'), 6,8 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 6,4 (1H, s, H-8) và 6,2 (1H, s, H-6).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ_C : 176,40 (C-4), 164,5 (C-7), 161,3 (C-5), 156,7 (C-9), 148,3 (C-4'), 147,3 (C-2), 145,6 (C-3'), 136,3 (C-3), 122,5 (C-1'), 120,6 (C-6'), 116,2 (C-5'), 115,6 (C-2'), 103,6 (C-1), 98,8 (C-6) và 93,9 (C-8).

Caffeoylglycolic axit metyl este (5): Bột vô định hình, màu nâu. Công thức phân tử $C_{12}H_{12}O_6$ ($M = 252$).

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

Caffeic axit metyl este (6): Chất lỏng không màu. Công thức phân tử $C_{10}H_{10}O_4$ ($M = 194$).

1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ_H : 7,5 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7), 7,0 (1H, s, H-2), 6,9 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6), 6,7 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,2 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8) và 3,7 (s, OMe).

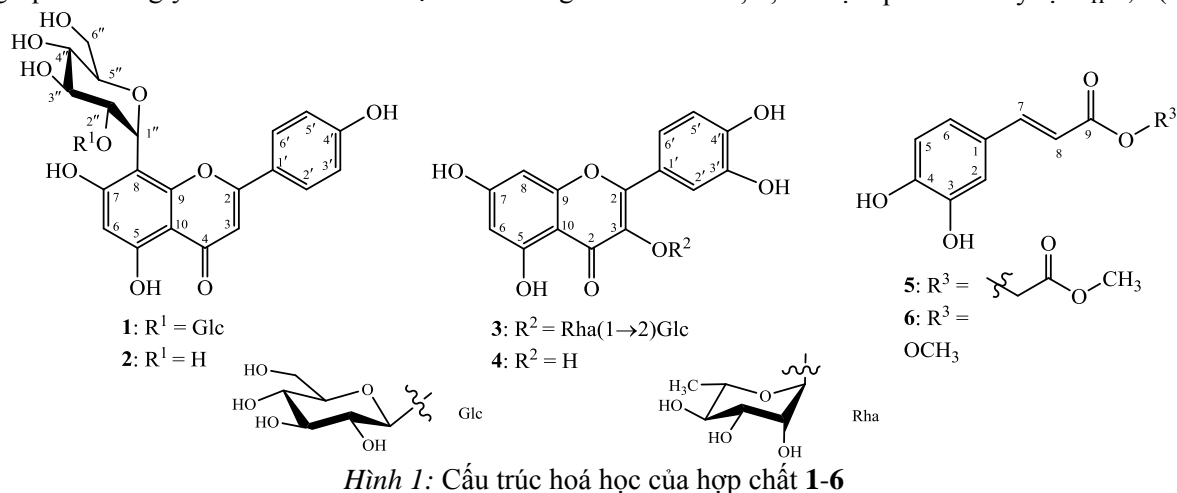
^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ_C : 169,8 (C-9), 149,6 (C-4), 147,0 (C-7), 146,8 (C-3), 127,6 (C-1), 122,9 (C-6), 116,5 (C-5), 115,1 (C-2), 114,8 (C-8) và 52,0 (OMe).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Trên phổ proton 1H -NMR của **1** xuất hiện 4 tín hiệu proton vòng thơm thế para tại δ_H 7,9 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và 6,9 (2H, d, $J = 8,5$ Hz); 2 tín hiệu proton olefin tại δ_H 6,6 (1H, s) và 6,2 (1H, s). Ngoài ra, trên phổ proton còn quan sát thấy tín hiệu của hai proton anome tại δ_H 5,0 (1H, d, $J = 10,0$ Hz) và 4,2 (1H, d, $J = 7,6$ Hz) gợi ý có hai phân tử đường glucose. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của **1** xuất hiện tín hiệu của 27 nguyên tử cacbon, trong đó có 9 nguyên tử cacbon không liên kết với hydro (C), 16 cacbon metin (CH) và 2 cacbon metylen (CH_2). Kết hợp với phổ proton cho thấy đây là một hợp chất dạng kaempferol glycoside. Sự xuất hiện 2 tín hiệu cacbon oximetilen tại 62,9 và 62,6 khẳng định thêm sự có mặt của 2 đường glucose. Giá trị hằng số tương tác khá lớn ($J = 10,0$ Hz) của proton anome tại δ_H 5,0 cùng với tín hiệu tương tác giữa proton anome tại δ_H 5,0 với tín hiệu cacbon tại δ_C 73,6 trên phổ HSQC khẳng định phân tử đường nối với aglycon trực tiếp qua nguyên tử cacbon (nói C-glycoside). So sánh số liệu phổ của hợp chất **1** thấy hoàn toàn phù hợp với số liệu phổ của hợp chất 2''-glucosylvitexin [8]. Cấu trúc hóa học cũng như các giá trị phổ NMR tương ứng của các vị trí trong phân tử của **1** được khẳng định dựa vào kết quả phân tích phổ HSQC và HMBC (bảng 1). Tương tác HMBC của proton tại δ_H 5,0 với cacbon δ_C 164,4 (C-7)/105,0 (C-8)/158,3 (C-9) cho phép khẳng định vị trí của liên kết C-glycoside tại cacbon C-8. Ngoài ra, tương tác HMBC của proton anome thứ hai tại δ_H 4,2 với cacbon 81,6 (C-2'') cho phép khẳng định đường này liên kết với đơn vị đường thứ nhất tại C-2''. Các bằng chứng phổ thu được cho phép khẳng định **1** là 2''-glucosylvitexin, một hợp chất có tác dụng bảo vệ gan [9].

Hợp chất **3** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng. Phân tích phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC và HMBC cho thấy hợp chất **3** có

dạng quercetin glycoside. Các tín hiệu của vòng thơm thế 1, 3, 4 được quan sát thấy tại δ_H 7,7 (1H, s,



Hình 1: Cấu trúc hoá học của hợp chất 1-6

Bảng 1: Dữ kiện phổ NMR của 1, 3 và 5 và các chất tham khảo

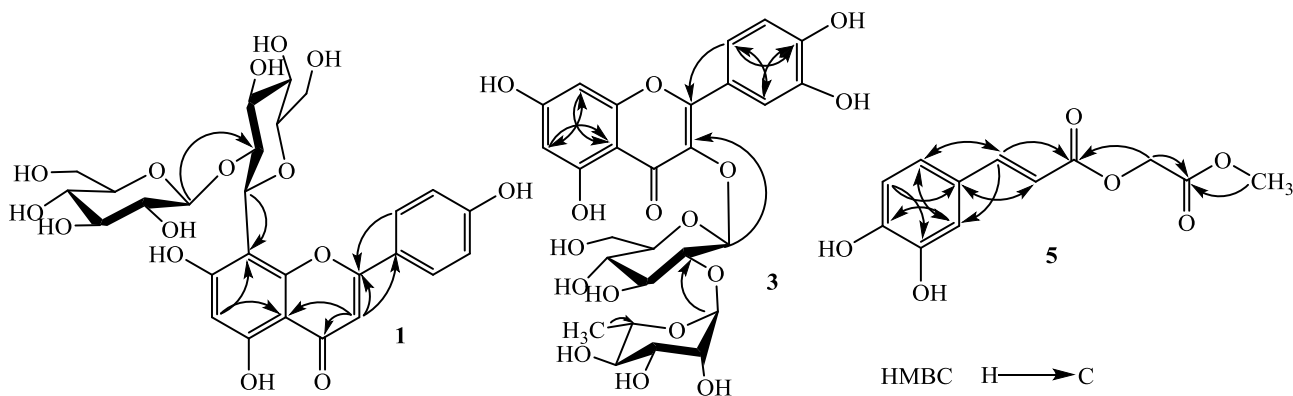
1				3			5			
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	$\delta_C^{\$}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	C	$^{\text{a}}\delta_C$	$^{\text{a,b}}\delta_C$	$^{\text{a,c}}\delta_H$ (J, Hz)
2	166,5	166,5	-	158,52	159,4	-	1	127,8	127,5	-
3	103,8	103,7	6,6 (s)	135,62	135,6	-	2	114,8	115,1	7,0 (d, 1,2)
4	184,3	184,1	-	179,44	179,3	-	3	147,5	146,8	-
5	162,8	162,8	-	162,98	162,8	-	4	149,5	149,8	-
6	99,5	99,4	6,2 (s)	99,94	100,0	6,2 (s)	5	115,7	116,5	6,7 (d, 8,0)
7	164,6	164,6	-	166,01	166,0	-	6	123,3	123,2	6,9 (dd, 1,2, 8,0)
8	105,1	105,0	-	94,87	94,9	6,4 (s)	7	146,8	148,1	7,6 (d, 16,0)
9	158,3	158,3	-	159,35	158,4	-	8	116,8	113,9	6,3 (d, 16,0)
10	105,6	105,5	-	105,63	105,5	-	9	167,3	168,3	-
1'	123,7	123,6	-	123,15	123,0	-	1'	61,4	61,6	4,7 (s)
2'	130,1	130,1	7,9 (d, 8,5)	117,69	116,0	7,67 (s)	2'	169,6	170,4	-
3'	117,0	117,0	6,9 (d, 8,5)	145,84	145,8	-	OMe	52,7	52,67	3,7 (s)
4'	162,7	162,6	-	149,81	149,8	-				
5'	117,0	117,0	6,9 (d, 8,5)	116,06	117,7	6,9 (d, 8,0)				
6'	130,1	130,1	7,9 (d, 8,5)	123,55	123,5	7,6 (d, 8,0)				
8-C-Glucosyl				3-O-Glucosyl						
1''	73,6	73,6	5,0 (d, 10,0)	104,69	104,7	5,1 (d, 7,6)				
2''	81,7	81,6	4,3 (dd, 10,0, 8,8)	75,74	75,6	3,5 (m)				
3''	80,2	80,2	3,7 (m)	78,20	78,1	3,4 (m)				
4''	72,1	72,0	3,6 (m)	71,42	71,3	3,3 (m)				
5''	82,9	82,9	3,4 (m)	77,25	77,1	3,3 (m)				
6''	62,9	62,9	3,9 (d, 11,6) 3,7 (m)	68,56	68,6	3,8 (d, 10,0) 3,3 (m)				
2''-O-Glucosyl				6''-O-Rhamnosyl						
1'''	105,8	105,8	4,2 (d, 7,6)	102,42	102,4	4,5 (s)				
2'''	75,8	75,8	2,9 (m)	72,12	72,0	3,3 (m)				
3'''	77,7	77,6	3,2 (m)	72,26	72,1	3,5 (m)				
4'''	71,1	71,0	3,1 (m)	73,94	73,9	3,6 (m)				
5'''	77,1	77,1	3,1 (m)	69,71	69,7	3,4 (m)				
6'''	62,3	62,2	3,3 (m) 3,2 (m)	17,87	17,9	1,1 (d, 6,0)				

^{a)}đo trong CD₃OD, ^{b)}125 MHz, ^{c)}500 MHz, [#] δ_C của 2''-glucosylvitexin [8], ^{\$} δ_C của quercetin 3-rutinoside [10], [@] δ_C của caffeoylglycolic axit methyl este [11].

H-2')/ δ_C 116,0 (C-2'), δ_H 6,7 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5')/ δ_C 117,7 (C-5') và δ_H 7,6 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6')/ δ_C 123,5 (C-6'); 2 tín hiệu proton olefin xuất hiện tại δ_H 6,2 (1H, s, H-6) và δ_H 6,4 (1H, s, H-8) của vòng A. Bên cạnh đó còn xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho sự có mặt của 2 phân tử đường tại δ_H 5,1 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1'')/ δ_C 104,7 (C-1'') và δ_H 4,5 (1H, s, H-1''')/ δ_C 102,4 (C-1'''). Hai đơn vị đường được xác định là đường rhamnoside với sự có mặt 1 nhóm methyl tại δ_H 1,0 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-6''')/ δ_C 17,9 (C-1''') và đường glucoside thể (1'' \rightarrow 6'') với sự chuyển dịch về phía vùng trường yếu của tín hiệu carbon oximetylen tại δ_C 68,6 (C-6''). So sánh số liệu phổ của hợp chất **3** thấy hoàn toàn phù hợp với số liệu phổ của hợp chất quercetin-3-rutinoside [10]. Cấu trúc hóa học của hợp chất **3** được khẳng định thêm bằng kết quả phân tích phổ HSQC và HMBC (bảng 1). Tương tác HMBC giữa tín hiệu proton δ_H 5,1 (H-1'') với tín hiệu carbon δ_C 135,6 (C-3) và tín hiệu proton δ_H 4,5 (H-1''') với tín hiệu carbon δ_C 68,6 (C-6'') cho phép khẳng định vị trí liên kết của đường glycoside tại carbon C-3 và đường rhamnoside tại carbon C-6''. Các bằng chứng phổ này cho phép khẳng định hợp chất **3** là quercetin-3-rutinoside, còn có tên là rutin, một hợp chất được biết đến với phổ tác dụng sinh học rộng lớn.

Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu nâu. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện 2 tín hiệu proton đặc trưng cho nối đôi có cấu hình *trans* tại δ_H 6,3 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) và δ_H 7,6 (1H, d, $J = 16,0$ Hz); 3 tín hiệu proton olefin của vòng thơm thế 1, 3, 4 tại δ_H 7,0 (1H, d, $J = 1,2$ Hz), 6,7 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) và δ_H 6,9 (1H, d, $J = 1,2, 8,0$ Hz). Bên cạnh đó còn quan sát thấy 1 tín hiệu proton nhóm oximetylen tại δ_H 4,7 (2H, s, H-1') và 1 tín hiệu nhóm metoxy tại δ_H 3,7 (3H, s, OMe). Kết quả phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và HSQC cho thấy sự có mặt của 12 tín hiệu carbon với 2 nhóm carbonyl, 3 tín hiệu carbon không liên kết với hydro khác, 5 tín hiệu carbon metin, 1 tín hiệu carbon oximetylen và 1 nhóm metoxy (bảng 1). Số liệu phổ của hợp chất **5** hoàn toàn phù hợp với số liệu phổ của hợp chất caffeoylglycolic axit methyl este [11]. Phân tích phổ HMBC thấy xuất hiện các tương tác giữa proton 7,6 (H-7) với carbon 168,3 (C-9); giữa proton 4,7 (H-1') với các tín hiệu carbon 168,3 (C-9)/170,4 (C-2') và giữa proton 3,7 (OMe) với tín hiệu carbon 170,4 (C-2') cho phép khẳng định cấu trúc hóa học của hợp chất **5**.

Các hợp chất **2**, **4** và **6** lần lượt được xác định là vitexin (**2**) [12], quercetin (**4**) [13] và caffeic axit methyl este (**6**) [14] bằng cách so sánh số liệu phổ với các hợp chất tương ứng đã được công bố trước đây. Các hợp chất **1-3**, **5** và **6** lần đầu tiên được phân lập từ loài *Bischofia javanica*.



Hình 2: Một số tương tác HMBC chính của hợp chất **1**, **3** và **5**

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. V. C. Võ. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, **2**, 364 (2012).
2. S. N. Bose H. N. Khastgir. *Terpenoids and related compounds. VI. Chemical investigations of Bischofia javanica*, J. Indian Chem. Soc., **46**, 757-8 (1969).
3. R. Chen, C. Chen, Z. Chen, S. Fang. *The chemical constituents of Chongyangmu (Bischofia javanica)*. Zhongcaoyao, **18**, 250-2 (1987).
4. R. Chen, S. Fang, C. Xu, K. Wei. *Triterpenes of Bischofia javanica. II*, Zhongcaoyao, **20**, 287, 249 (1989).
5. D. -S. Yang, Y. -P. Yang, Y. -H. Yang, X. -L. Li. *Chemical constituents of Bischofia javanica*, Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa, **25**, 1056-1059 (2013).

6. P. Rajbongshi, K. Zaman, S. Boruah, S. Das. *A review on traditional use and phytopharmacological potential of Bischofia javanica Blume*, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., **24**, 24-29 (2014).
7. T. A. Nguyen. *Isolation and identification of Epifriedelanol acetate, β -sitosterol and gallic acid from the leaves of Bischofia javanica (Blume)*, Tap chi Duoc hoc, **49**, 41-43, 40 (2009).
8. J. Isayenkova, V. Wray, M. Nimtz, D. Strack, T. Vogt. *Cloning and functional characterisation of two regioselective flavonoid glucosyltransferases from Beta vulgaris*, Phytochemistry, **67**, 1598-1612 (2006).
9. I. Kim, Y. -W. Chin, S. W. Lim, Y. C. Kim, J. Kim. *Norisoprenoids and hepatoprotective flavone glycosides from the aerial parts of Beta vulgaris var. cicla*, Archives of Pharmacal Research, **27**, 600-603 (2004).
10. K. Kazuma, N. Noda, M. Suzuki. *Malonylated flavonol glycosides from the petals of Clitoria ternatea*, Phytochemistry, **62**, 229-237 (2003).
11. M. Saleem, H. J. Kim, C. Jin, Y. S. Lee. *Antioxidant caffeic acid derivatives from leaves of parthenocissus tricuspidata*, Archives of Pharmacal Research, **27**, 300-304 (2004).
12. J. H. Kim, B. C. Lee, J. H. Kim, G. S. Sim, D. H. Lee, K. E. Lee, Y. P. Yun, H. B. Pyo. *The isolation and antioxidative effects of vitexin from Acer palmatum*, Archives of Pharmacal Research, **28**, 195-202 (2005).
13. C. -C. Shen, Y. -S. Chang, L. -K. Hott. *Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids*, Phytochemistry, **34**, 843-845 (1993).
14. W. C. K. Sang, Hyun Kim, Il Kyun Lee, Sang Un Choi, Shi Yong Ryu, Kang Ro Lee. *Phytochemical Constituents of Bistorta manshuriensis*, Natural Product Sciences, **15**, 234-240 (2009).

Liên hệ: **Nguyễn Thị Mai**

Đại học Giao thông vận tải

Số 3, Cầu Giấy, Láng Thượng, Quận Đống Đa, Hà Nội

E-mail: maidthgt@yahoo.com.vn; Điện thoại: 0989977674.