

# NGHIÊN CỨU HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ CÂY BÒN BỌT (*GLOCHIDION ERIOCARPUM* CHAMP., EUPHORBIACEAE) CỦA VIỆT NAM

(Study on bioactive constituents from *Glochidion eriocarpum* Champ.,  
Euphorbiaceae, of Vietnam).

**Phan Tống Sơn, Lê Kiều Nhi, Nguyễn Văn Đậu, Phan Minh Giang**  
**Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội**

## SUMMARY

From *Glochidion eriocarpum* Champ., Euphorbiaceae, growing in Vietnam gallic acid, ethyl gallate, a mixture of two flavonol rhamnosides and a triterpene glucoside were isolated.

The ethanol extract from *Glochidion eriocarpum* and the chloroform- and ethyl acetate- soluble fractions of this extract as well as the isolated gallic acid exhibited a remarkable inhibition effect on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

The above mentioned extract and fractions and especially the isolated compounds gallic acid and ethyl gallate also proved to possess a clear antioxidative activity.

## PHẦN MỞ ĐẦU

Các loài thuộc chi *Glochidion*, họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), mọc phổ biến ở các vùng nhiệt đới (Châu Á, Australia,...), trong số đó có 16 loài đã ít nhiều được nghiên cứu về mặt hoá học [1-16]. Theo một số tác giả thì đặc trưng cho chi này là các triterpenoit thuộc nhóm dẫn xuất lupen, tuy nhiên điều này đã không thật đúng, vì gần đây người ta cũng đã tìm thấy khung triterpen khác (oleanan) ở chi *Glochidion*. Về mặt hoá học của cây bòn bọt (*Glochidion eriocarpum* Champ.), cho đến nay mới chỉ có một công trình nghiên cứu [17]. Các hợp chất tìm thấy trong cây này là một số dẫn xuất lupen và sitosterol.

Ở Việt Nam, cây bòn bọt mọc phổ biến ở các vùng trung du Bắc bộ. Theo [18] thì cây bòn bọt được nhân dân dùng làm thuốc chữa rắn cắn, điều trị tiêu chảy, chữa lỵ. Bệnh viện Quân y 108 và bệnh viện Bắc Giang đã dùng bòn bọt thử nghiệm để chữa một số trường hợp phù thận do thiếu dinh dưỡng và phù suy tim. Viện Bông Quốc gia và bệnh viện Vĩnh Yên đã dùng cao bòn bọt để chữa vết bỏng nông cho kết quả tốt.

Trong công trình này chúng tôi quan tâm đến các hợp chất polyphenol và tecpenoit cao hơn có hoạt tính kháng vi sinh vật và chống oxi hoá từ cây bòn bọt (*Glochidion eriocarpum* Champ.) mọc ở Việt Nam.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### Thiết bị và hoá chất

**Sắc ký cột (CC và FC):** Chất hấp phụ: silica gel (Merck); cỡ hạt 0,040-0,063 mm, 0,063-0,100 mm cho sắc ký cột thường (CC), 0,015-0,040 mm, 0,040-0,063 mm cho sắc ký cột nhanh (FC). Dung môi: clorofoc, metanol (MeOH), toluen, axeton, etyl axetat (EtOAc), axit fomic.

**Sắc ký lỏng trung áp (MPLC):** thiết bị BAECKSTROEM SEPARO AB, sử dụng một bơm định lượng trung áp QD-O-SSY để nén dung môi đi qua cột tách (tốc độ dòng 0~100ml/phút, áp suất nén 0,5-6,9 bar). Cột tách cao 250 mm, đường kính trong 25mm, được nhồi silica gel (Merck, 0,15-0,040 mm) và nén bằng một thiết bị chuyên dùng. Dung môi: xem CC và FC.

**Phổ khối lượng (MS và HR-MS):** Varian MAT 44S (70 eV, EI).

**Phổ hồng ngoại (IR):** IMPACT 410-NICOLET FT-IR.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR):  $^1\text{H}$  NMR: Bruker AM 400;  $^{13}\text{C}$  NMR (với chương trình DEPT): Bruker AM 400. Dung môi: DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  (ppm).

### Chiết nguyên liệu thực vật và phân lập các hoạt chất

Cây bòn bọt được thu hái ở Bắc Thái vào tháng 11 năm 1997. Lá được sấy khô và xay thành bột mịn. Bột mịn lá của cây bòn bọt được chiết bằng cách đun hồi lưu cách thủy với etanol 96% và được phân bố lần lượt trong clorofoc, etyl axetat và n-butanol. Cát loại dung môi, thu các phần chiết: clorofoc (E1): 1,73% so với khối lượng nguyên liệu khô; etyl axetat (E2): 1,33% và n-butanol (E3): 4,36%.

Các phần chiết E1 và E2 được phân tách nhiều lần bằng MPLC, CC và FC trên cột silica gel (Merck). Phần chiết E3 trước tiên được phân tách bằng MPLC trên cột silica gel. Việc phân tách tiếp được thực hiện bằng CC trên cột polyamit (6S Riedel de Haen, rửa giải với  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ ).

Kết quả, đã phân lập được từ phần chiết E1 một chất, ký hiệu là B4; từ phần chiết E2 hai chất, ký hiệu là B1 và B2, từ phần chiết E3 một nhóm chất, ký hiệu là B3.

Dựa trên các kết quả khảo sát phổ (MS và HR-MS, UV, IR,  $^1\text{H}$  NMR và  $^{13}\text{C}$  NMR) đã chứng minh được B1 là etyl galat (etyl 3,4,5-trihydroxi-benzoat), B2 là axit galic (axit 3,4,5-trihydroxi-benzoic). B3 là một hỗn hợp gồm hai flavonol glycozit mà phần đường là rhamnozơ (về chi tiết, xem [19]). Cấu trúc của B4 là một dẫn xuất oleanan mới cũng đã được xác định dựa trên các khảo sát phổ MS, 1D NMR và 2D NMR [20].

### Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các mẫu thử được xác định bằng kỹ thuật khuếch tán trên môi trường đặc theo Bauer và Kirby [21]. Phần chiết etanol (E0) từ cây bòn bọt và các phần đoạn tan trong clorofoc (E1), EtOAc (E2), n-butanol (E3) của phần chiết này và các hợp chất tinh khiết B2, B4 được thử ở nồng độ 5 mg/ml (hàm lượng trung bình 450  $\mu\text{g}$  chất/khoanh giấy).

Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các phần chiết và một số chất tinh khiết từ cây bòn bọt được thử với 11 chủng vi sinh vật, gồm 5 chủng vi khuẩn gram (+): *Bacillus pumilus* NCTC 8241, *Bacillus cereus* ATCC 9946, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 12228; 5 chủng vi khuẩn gram (-): *Salmonella typhi* DT 220, *Shigella flexneri* DT 112, *Pseudomonas aeruginosa* VM 201, *Proteus mirabilis* BV 108, *Escherichia coli* DT 119 B 14, và chủng vi nấm *Candida albicans* ATCC 10231. Kết quả được nêu ở bảng 1.

Qua kết quả này ta nhận thấy một số phần chiết và hợp chất phân lập được từ cây bòn bọt (*Glochidion eriocarpum* Champ.) có tác dụng khá rõ đối với các chủng vi khuẩn *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* và đặc biệt là đối với *Pseudomonas aeruginosa* - trực khuẩn mủ xanh. Theo [22] thì *Pseudomonas aeruginosa* là một trong những căn nguyên gây nhiễm khuẩn huyết bỏng và tỷ lệ nhiễm khuẩn huyết bỏng do *Pseudomonas aeruginosa* gây ra là 66,7%. Ngày nay việc sử dụng các thuốc kháng sinh rộng rãi, không hợp lý và sự nhiễm trùng bệnh viện đã làm tăng các chủng kháng thuốc. Cho đến nay *Pseudomonas aeruginosa* đã kháng lại hầu hết các thuốc kháng sinh thường dùng (với tỷ lệ cao, 62-97%) cũng như kháng một số loại thuốc kháng sinh có hiệu lực cao mới được sử dụng. Tác dụng ức chế khá tốt đối với *Pseudomonas aeruginosa* của các phần chiết E0, E1, E2 và của chất B2 từ cây bòn bọt (xem bảng 1) có thể là một trong những nguyên nhân của tác dụng chữa bỏng có hiệu quả tốt của cây bòn bọt. Điều này cũng gợi mở một hướng sử dụng cây bòn bọt để chữa một số bệnh gây ra bởi vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, một chủng vi khuẩn kháng kháng sinh với tỷ lệ cao hiện nay.

Cũng qua kết quả này ta nhận thấy các phần chiết E0, E1, E2 và đặc biệt là B2 có tác dụng ức chế khá mạnh đối với nấm *Candida albicans*.

**Bảng 1- Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các phân chiết và hợp chất từ cây bòn bọt**

Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
	E0	E1	E2	E3	B2	B4
<i>Sta. aureus</i>	11,5	10,5	10,0	0	11,5	0
<i>Sar. lutea</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Bac. cereus</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Bac. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Bac. pumilus</i>	12,5	0	13,0	0	10,5	0
<i>Sh. flexneri</i>	14,5	0	15,2	11	11,5	0
<i>S. typhi</i>	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pr. mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. aeruginosa</i>	8,5	8,3	8,2	0	15,0	0
<i>Ca. albicans</i>	16,2	8,5	18,5	13	19,5	0

**Hoạt tính chống oxy hoá (HTCO)**

Để đánh giá HTCO của mẫu thử chúng tôi sử dụng phương pháp xác định lượng malonyl diandehyt hình thành trong quá trình peoxy hoá các axit béo chưa no có nhiều nối đôi theo phương pháp của C.G.Blogodarov và cộng sự [23]. HTCO của một chế phẩm (phần chiết, hợp chất tinh khiết) được đánh giá bằng tỷ lệ phần trăm malonyl diandehyt giảm đi ở mẫu thử có chứa chế phẩm khi so sánh với mẫu chứng không chứa chế phẩm.

Để đánh giá sơ bộ HTCO của các phân chiết và một số hợp chất phân lập được từ cây bòn bọt chúng tôi tiến hành thử HTCO của phần chiết etanol (tức E0) của cây bòn bọt theo 5 nồng độ khác nhau của phần chiết trong hỗn hợp ù. Từ thí nghiệm này chúng tôi nhận thấy ở giới hạn nồng độ thí nghiệm, khi tăng nồng độ mẫu thử trong hỗn hợp ù thì HTCO tăng lên. HTCO của phần chiết etanol của cây bòn bọt biểu hiện khá rõ khi nồng độ của chất thử trong hỗn hợp ù là 0,8 mg/ml. Chúng tôi chọn nồng độ này để thử HTCO của các phân chiết và của một số hợp chất được tách ra từ phần chiết này. Kết quả được nêu ở bảng 2.

**Bảng 2- HTCO của các phân chiết và hợp chất từ cây bòn bọt**

Mẫu	Mật độ quang (D)	HTCO(%)
<b>Chúng</b>	0,2389	0
<b>E1</b>	0,1747	27
<b>E2</b>	0,1266	47
<b>E3</b>	0,1684	30
<b>B1</b>	0,1171	51
<b>B2</b>	0,1068	55
<b>B4</b>	0,1624	32

Khi thử HTCO của các phân chiết (E1, E2, E3) và các hợp chất tách ra từ các phân chiết này (B1, B2 và B4) của cây bòn bọt ở nồng độ 0,8mg/ml hỗn hợp ù chúng tôi nhận thấy chúng đều có HTCO, đặc biệt B1 (etyl galat), B2 (axit galic) có HTCO rõ rệt hơn cả.

## KẾT LUẬN

Từ cây bòn bọt (*Glochidion eriocarpum* Champ., Euphorbiaceae) mọc ở Việt Nam đã phân lập được axit galic, etyl galat, một hỗn hợp hai flavonol rhamnozít và một tritecpen glucozít.

Phần chiết etanol từ cây bòn bọt và các phân đoạn tan trong clorofoc và etyl axetat của phần chiết này cũng như axit galic phân lập được đã thể hiện tác dụng ức chế đáng kể đối với *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans*.

Các phần chiết và phân đoạn nêu trên, và đặc biệt là các hợp chất axit galic và etyl galat phân lập được, cũng đã chứng tỏ là có hoạt tính chống oxi hoá rõ rệt.

Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ của Chương trình nghiên cứu cơ bản trong lĩnh vực khoa học tự nhiên.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Johns S.R. and Lamberton J.A. (1966), *Chemical Communications*, **10**, pp. 312-313.
2. Ganguly A.K., Govindachari T.R., Mohamed P.A., Rahimtulla A.D. and Viswanathan N. (1966), *Tetrahedron*, **22**(4), pp. 1513-1519; x. Chem. Abstr. (1966), **65**, 2307e.
3. Hui W.H. and Fung M.L. (1969), *J. Chem. Soc. (C)*, pp.1710-1712.
4. Hui W.H., Lee W.K., Ng K.K. and (in part) Chan C.K. (1970), *Phytochemistry*, **9**, pp. 1099-1102.
5. Hui W.H. and Lee W.K. (1971), *J. Chem. Soc. (C)*, pp. 1004-1006.
6. Ahmad S.A. and Zaman A. (1973), *Phytochemistry*, **12**, p. 1826.
7. Talapatra S.K., Bhattacharya S., Maiti B.C., Talapatra B. (1973), *Chem. Ind. (London)*, **21**, pp. 1033-1034; x. Chem. Abstr. (1974), **71**, 48188w.
8. Talapatra B., Dutta S., Maiti B.C., Pradhan D.K. and Talapatra S.K. (1974), *Aust. J. Chem.*, **27**, pp. 2711-2714.
9. Hui W.H. and Li M.M. (1978), *Phytochemistry*, **17**, pp. 156-157.
10. Lin C.H., Li K. (1978), *Chung-kuo I Yao Yen Chiu So Yen Chiu Pao Kao*, **1978**, pp. 93-95; x. Chem. Abstr. (1979), **91**, 2514y.
11. Carpenter R.C., Sotheeswaran S., Sultanbawa M.U.S. and Balasubramaniam S. (1980), *Phytochemistry*, **19**, pp. 1171-1174.
12. Lin J.H., Chou C.J., Liu K.C., Li K. (1980), *Chung-kuo I Yao Yen Chiu So Yen Chiu Pao Kao*, **1980**(July), pp. 118-121; x. Chem. Abstr. (1980), **93**, 201020a.
13. Srivastava R. and Kulshreshtha D.K. (1986), *Phytochemistry*, **25**(11), pp. 2672-2674.
14. Srivastava R. and Kulshreshtha D.K. (1988), *Phytochemistry*, **27**(11), pp. 3575- 3578.
15. Men Y.D., Lee S.Y., Li K. (1985), *Chung-kuo I Yao Yen Chiu So Yen Chiu Pao Kao*, **1985**(July), pp. 129-136; x. Chem. Abstr. (1987), **106**, 99433k.
16. Chen L.G., Yang L.L., Yen K.Y., Hatano T., Yoshida T. and Okuda T. (1995), *Chem. Pharm. Bull.*, **43**(12), pp. 2088-2090.
17. Hui W.H. and Li M.M. (1976), *Phytochemistry*, **15**, pp. 561-562.
18. Đỗ Tất Lợi (1995), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
19. Lê Kiều Nhi, Nguyễn Văn Đậu, Phan Tống Sơn (1999), *Tạp chí Dược học*, **284**, tr. 9-10.
20. Phan Tống Sơn, Lê Kiều Nhi, Phan Minh Giang, Walter C. Taylor, *Tạp chí Hoá học*, đang chờ in.
21. *Gradwohl's Laboratory methods and diagnosis A text book on laboratory procedures and their interpretation* (1970), Seventh Edition Vol. 2, The C.V. Mosby Company, p. 1409.

- 22. Nguyễn Quốc Định, Hoàng Ngọc Hiến, Lê Huy Chính, Nguyễn Văn Việt (1999), *Y học thực hành*, tr. 35-37.
- 23. Blogodarov C.G. (1987), *Khimiko-Pharmasevtichexki jurnal*, 3, pp. 292-294.

LÂM ĐÔNG, VIỆT NAM

Mai Văn Trĩ, Dương Anh Tuấn, Dương Ngọc Trĩ, Phan Tông Sơn  
 1-PTN Hòa Hân có và PTN Hòa Bảo vệ Thực vật, Viện Hô học, Trường  
 2-Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

CONTRIBUTION TO THE STUDY ON THE CHEMICAL  
 CONSTITUENTS OF TAXUS WALLICHIANA ZUCC. GROWING IN  
 LAM DONG, VIETNAM

Abstract: 10-Deacetylprocatechin III and 7,7',4'-tri-O-methylamentoflavone, a rare  
 flavonone, have been isolated from the leaves of *Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae)  
 growing in Lam Dong, Viet Nam, and identified by spectral data

THỰC NGHIỆM

Thực nghiệm về thành phần hóa học của cây  
*Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae) thuộc loài cây gỗ thường xanh, cao  
 10-20m, vỏ cây màu nâu sẫm, nứt nẻ thành vảy, cành giòn, có nhựa trắng  
 sữa. Hoa khác. Hoa đực có 2-3 nhị, xếp thành hai hàng. Hoa cái  
 có 2-3 noãn, xếp thành hai hàng. Quả hình cầu, màu đỏ, ăn trong  
 rừng. Hạt hình trứng dài, nằm trong

Thực nghiệm về thành phần hóa học của cây  
*Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae) thuộc loài cây gỗ thường xanh, cao  
 10-20m, vỏ cây màu nâu sẫm, nứt nẻ thành vảy, cành giòn, có nhựa trắng  
 sữa. Hoa khác. Hoa đực có 2-3 nhị, xếp thành hai hàng. Hoa cái  
 có 2-3 noãn, xếp thành hai hàng. Quả hình cầu, màu đỏ, ăn trong  
 rừng. Hạt hình trứng dài, nằm trong

THỰC NGHIỆM

Thực nghiệm về thành phần hóa học của cây  
*Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae) thuộc loài cây gỗ thường xanh, cao  
 10-20m, vỏ cây màu nâu sẫm, nứt nẻ thành vảy, cành giòn, có nhựa trắng  
 sữa. Hoa khác. Hoa đực có 2-3 nhị, xếp thành hai hàng. Hoa cái  
 có 2-3 noãn, xếp thành hai hàng. Quả hình cầu, màu đỏ, ăn trong  
 rừng. Hạt hình trứng dài, nằm trong