

# Ba hợp chất flavone phân lập từ phân đoạn EA3 của loài *Scutellaria cochinchinensis* Briq. thu hái tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

○ ĐỖ THỊ MỸ LIÊN\*, NGUYỄN XUÂN DŨ, NGUYỄN THỊ NGỌC THẢO, HỒ KỶ QUANG MINH  
Viện Công nghệ Môi trường-Năng lượng, Đại học Sài Gòn, Thành phố Hồ Chí Minh

## Tóm tắt

*Loài Scutellaria cochinchinensis* Briq. được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam và được tiến hành khảo sát về thành phần hóa học. Từ phân đoạn EA3 của cao ethyl acetate, ba hợp chất flavone đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR là luteolin (1), chrysin (2) và negletein (3). Các hợp chất này cũng được thử nghiệm khả năng gây độc tế bào trên hai dòng tế bào ung thư cổ tử cung HeLa S-3 và ung thư biểu mô KB, kết quả cho thấy các hợp chất đều thể hiện khả năng ức chế hai dòng tế bào ung thư với  $IC_{50}$  15.3  $\mu$ M đến 44.3  $\mu$ M.

## Giới thiệu

Trong những năm gần đây, những nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như y dược học trên các loài đã được khảo sát của chi *Scutellaria* cho thấy nhiều kết quả vô cùng hấp dẫn. Giới khoa học ngày càng quan tâm đến mối quan hệ giữa tác dụng dược lý và cách sử dụng các phương thuốc truyền thống có dược liệu thuộc chi *Scutellaria*. Ngày càng có nhiều chiết xuất và các hợp chất phân lập từ các loài thuộc chi *Scutellaria* đã được sử dụng để điều trị ung thư, viêm gan, nhiễm HIV-1 và nhiễm trùng sinh mủ [1-3].

Chi *Scutellaria* thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae) có khoảng 360 loài thực vật và được phân bố ở các vùng khí hậu ôn đới, cận nhiệt đới hay nhiệt đới, chủ yếu là khu vực châu Âu, Bắc Mỹ, Đông Á.<sup>[1]</sup> Tại Việt Nam, đã tìm thấy 11 loài thuộc chi này, các loài mọc và phân bố từ Bắc vào Nam.<sup>[2]</sup>

Từ năm 1889, thành phần hóa học của chi *Scutellaria* bắt đầu được nghiên cứu; nhưng cho đến năm 1910, Goldschmiedt và Lerner mới cô lập được flavonoid đầu tiên (scutellarein) từ loài *Scutellaria altissima*.<sup>[3]</sup> Đến nay, có khoảng hơn 300 hợp chất flavonoid đã được cô lập từ 63 loài thuộc chi *Scutellaria*. Ngoài ra, các thành phần hóa học khác như các hợp chất khung phenylethanoid glycosides, iridoid glycoside, diterpene, triterpenoid, neo-clerodane diterpenoid alkaloid và alkaloid cũng được ghi nhận có trong chi *Scutellaria*.<sup>[3]</sup>

## Thực nghiệm

### Thiết bị và hóa chất

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trong dung môi  $CD_3OD$  và  $DMSO-d_6$  tại nhiệt độ phòng bằng máy Bruker Avance III (tần số 500 MHz đối với phổ  $^1H-NMR$  và 125 MHz với phổ  $^{13}C-NMR$ ). Khối phổ (ESI-MS) được ghi trên máy Bruker MicrOTOF-Q II. Kỹ thuật sắc ký lớp mỏng TLC sử dụng bảng mỏng silica gel F<sub>254</sub> (200  $\mu$ m, Merck), hiện hình bằng thuốc thử  $H_2SO_4$  10% trong ethanol hoặc 5% vaniline-sulfuric acid trong ethanol. Sắc ký cột được thực hiện với silica gel 60 (0.040–0.063 mm, Himedia).

### Nguyên liệu

Cây *Scutellaria cochinchinensis* Briq (Thuần Nam Bộ) được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam vào tháng sáu năm 2016 và được định danh bởi nhà thực vật học Võ Văn Chi.

### Chiết tách và phân lập

Bột cây *Scutellaria cochinchinensis* Briq khô (12.4 kg) được trích kiệt với ethanol, lọc bỏ bã; phần dịch chiết được cô loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cao thô EtOH (750.0 g). Tiến hành chiết lỏng - lỏng phần cao thô với các dung môi có độ phân cực tăng dần thu được các cao thành phần lần lượt là cao *n*-hexane (120.0 g), cao EtOAc (201.0 g), và phần dịch nước còn lại. Phần dịch nước được tiến hành cô loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cặn dạng rắn (270.5 g). Phần cặn này được ngâm

vào dung môi ethanol, phần không tan được lọc khỏi phần dung dịch, phần tan trong dung môi ethanol được cô quay loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cao ethanol (190.0 g). Tiến hành sắc ký cột trên cao EtOAc thu được 8 phân đoạn, ký hiệu từ EA-01 đến EA-08. Phân đoạn EA-03 được sắc ký cột bằng hệ dung môi giải ly *n*-hexane:ethyl acetate (8:2) cô lập được ba hợp chất, bao gồm 1 (11.0 mg), 2 (7.0 mg) và 3 (6.0 mg).

**Luteolin (1):** Dạng tinh thể vàng sáng. Khối phổ ESI-MS  $m/z$  287.03 [M+H]<sup>+</sup>, tương ứng với công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>.

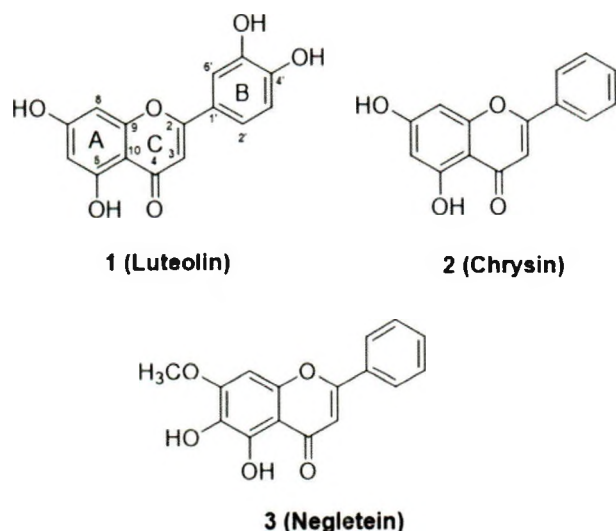
**Chrysin (2):** Dạng tinh thể vàng sáng. Khối phổ ESI-MS  $m/z$  253.24 [M-H]<sup>-</sup>, tương ứng với công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>.

**Negletein (3):** Dạng tinh thể vàng sáng. Khối phổ ESI-MS  $m/z$  307.28 [M+Na]<sup>+</sup>, tương ứng với công thức phân tử C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>.

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) của 1-3 được trình bày trong Bảng 1.

### Hoạt tính gây độc tế bào

Các hợp chất được thử nghiệm khả năng gây độc tế bào ung thư cổ tử cung HeLa S-3 và ung thư biểu mô KB ở người bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang.<sup>[5]</sup> Sử dụng Doxorubicin làm chất chứng dương.



### Kết quả và thảo luận

Từ phân đoạn EA-04 của cao EtOAc của loài *Scutellaria cochinchinensis* Briq ba hợp chất flavone (1-3) được cô lập bằng phương pháp sắc ký cột. Cấu trúc của các hợp chất cô lập được xác định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D, 2D, MS cũng như so sánh dữ liệu phổ NMR với tài liệu tham khảo, cấu trúc được xác định là luteolin (1), chrysin (2) và negletein (3).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) của (1) cho sáu tín hiệu cộng hưởng của bảy proton trong đó: Ba tín hiệu mũi đơn tại δ<sub>H</sub> 12.97 (1H, s, 5-OH), 6.19 (1H, s, H-6) và 6.44 (1H, s, H-8) của vòng A; hai tín hiệu của ba proton vòng B tam hoán ở δ<sub>H</sub> 7.40 (2H, *dd*, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 7.42 (2H, *dd*, *J* = 9.2 Hz, H-6') và 6.89 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-5'); một tín hiệu mũi đơn tại δ<sub>H</sub> 6.67 (1H, s, H-3) của vòng C.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) của (1) có 15 tín hiệu của 15 carbon: trong đó có một tín hiệu của một carbon carbonyl tiếp cách ở (δ<sub>C</sub> 181.6, δ<sub>C</sub>-4); 14 tín hiệu của 14 carbon hương phương bao gồm: Sáu carbon tứ cấp nối với oxygen ở δ<sub>C</sub> (164.1, C-7), (163.9, C-2), (161.5, C-5), (157.3, C-8a), (149.7, C-4') và (145.7, C-3'); hai carbon tứ cấp ở δ<sub>C</sub> (121.5, C-1') và (103.7, C-4a); ngoài ra còn có sáu nhóm methine ở δ<sub>C</sub> (119.0, C-6'), (116.0, C-5'), (113.4, C-2'), (102.9, C-3) (98.8, C-6), và (93.8, C-8).

So sánh dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất (1) với hợp chất luteolin (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>)<sup>[6]</sup> trong cùng dung môi DMSO-*d*<sub>6</sub> thấy có sự tương hợp, nên hợp chất (1) được đề nghị cấu trúc hóa học là Luteolin. Hợp chất này cũng được tìm thấy trong các cây như mùi tây, atiso, hương thảo,... là chất được nghiên cứu có tính chất chống oxy hóa, chống dị ứng, chống viêm, chống ung thư, điều hòa miễn dịch, giúp hạ đường huyết mạnh và cải thiện độ nhạy insulin.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất (2) cho thấy có 15 tín hiệu carbon, bao gồm một tín hiệu carbon carbonyl ở δ<sub>C</sub> 181.8 (C-4); bốn carbon hương phương tứ cấp mang oxygen tại δ<sub>C</sub> 163.1 (C-2), 161.4 (C-5), 164.4 (C-7) và 157.4 (C-9); hai carbon hương phương tứ cấp 130.7 (C-1') và 105.2 (C-10); tám tín hiệu carbon methine hương phương tại δ<sub>C</sub> 129.1 (C-3', C-5'), 132.0 (C-4'), 126.4 (C-2', C-6'), 103.9 (C-3) và 99.0 (C-6).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR của (2) cho các tín hiệu gồm: một tín hiệu đặc trưng của nhóm hydroxy kiềm nổi trên vòng A khung flavonoid tại δ<sub>H</sub> 12.81 (1H, s, 5-OH); một nhóm hydroxy tại δ<sub>H</sub> 10.90 (1H, s, 7-OH); hai tín hiệu mũi đôi của hai proton methine thơm tại δ<sub>H</sub> 6.22 (1H, *d*, 2.0, H-6), 6.52 (1H, *d*, 2.0, H-8) do đó hai proton này ở vị trí meta với nhau trên vòng A. Ba tín hiệu proton cộng hưởng tại δ<sub>H</sub> 8.06 (2H, *d*, 7.0, H-2', 6') và 7.55-7.62 (3H, *m*, H-3', 4', 5') cho thấy, cấu trúc vòng B của (2) không gắn nhóm thế.

So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất (2) với 5,7-dihydroxyflavone thấy có sự tương đồng, do đó đề nghị cấu trúc của hợp chất (2) là Chrysin.

Hợp chất (3) cô lập dưới dạng tinh thể vàng nhạt. Hợp chất (3) có dạng phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR tương tự như hợp chất (2), sự khác biệt nằm ở hai yếu tố là vòng A chỉ có sự xuất hiện tín hiệu mũi đơn của một nhóm methine hương phương, điều này cho thấy vòng A đã bị thế ở năm vị trí; thêm vào đó, ngoài sự xuất hiện của một nhóm hydroxy kiềm nối gắn với C-5, một nhóm hydroxy gắn trên nhân hương phương thì có thêm sự xuất hiện của một nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3.92 (1H, s) và  $\delta_{\text{C}}$  56.4, điều này chứng tỏ nhóm methoxy này phải gắn vào C-7. So sánh dữ liệu phổ NMR của 3 với 5,6-dihydroxy-7-methoxyflavone nhận thấy có sự tương đồng nên đề nghị cấu trúc hóa học của 3 là 5,6-dihydroxy-7-methoxyflavone và có tên thông thường là Negletein.

#### Khảo sát hoạt tính sinh học

Ba hợp chất flavone trên được thử nghiệm hoạt tính ức chế tế bào ung thư cổ tử cung HeLa S-3 và ung thư biểu mô KB theo phương pháp đo độ hấp phụ quang. Kết quả cho thấy các hợp chất đều thể hiện khả năng ức chế hai dòng tế bào ung thư ở mức độ khá với  $\text{IC}_{50}$  trong khoảng từ 15.3  $\mu\text{M}$  đến 44.3  $\mu\text{M}$  (Bảng 2).

#### Kết luận

Ba hợp chất flavonoid bao gồm Luteolin (1), Chrysin (2) và Negletein (3) lần đầu tiên được cô lập từ cây Thuần nam bộ *Scutellaria cochinchinensis* Briq. Ba hợp chất này được thử nghiệm khả năng ức chế tế bào ung thư cổ tử cung HeLa S-3 và ung thư biểu mô KB, kết quả cho thấy các hợp chất đều thể hiện khả năng ức chế hai dòng tế bào ung thư ở mức độ khá. Những kết quả nghiên cứu này sẽ đóng góp thêm những kiến thức mới về thành phần hóa học

**Bảng 1:** Dữ liệu phổ NMR của các hợp chất 1-3 đo trong dung môi DMSO- $d_6$ .

TT	1		2		3	
	$\delta_{\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	163.9	-	163.1	-	163.2
3	6.67 (1H, s)	102.9	6.95 (1H, s)	103.9	6.96 (1H, s)	104.7
4	-	181.6	-	181.8	-	182.4
5	-	161.5	-	161.4	-	154.7
6	6.19 (1H, s)	98.8	6.22 (1H, d, 2.0)	99.0	6.93 (1H, s)	130.9
7	-	164.1	-	164.4	-	149.8
8	6.43 (1H, s)	93.8	6.52 (1H, d, 2.0)	94.1	-	91.3
9	-	157.3	-	157.4	-	146.1
10	-	103.7	-	105.2	-	105.3
1'	-	121.5	-	130.7	-	130.1
2'	7.40 (1H, d, 2.2)	113.4	8.06 (1H, d, 7.0)	126.4	8.07 (1H, d, 7.0)	126.4
3'	-	145.7	7.55-7.62 (m)	129.1	7.60 m	129.4
4'	-	149.7	7.55-7.62 (m)	132.0	7.60 m	132.0
5'	6.89 (1H, d, 8.4)	116.0	7.55-7.62 (m)	129.1	7.60 m	129.2
6'	7.42 (1H, dd, 9.2, 2.0)	119.0	8.06 (1H, d, 7.0)	126.4	8.07 (1H, d, 7.0)	126.4
7-OMe	-	-	-	-	3.92 (1H, s)	56.4
5-OH	12.97 (1H, s)	-	12.81 (1H, s)	-	12.48 (1H, s)	-
6-OH	-	-	-	-	8.79 (1H, s)	-
7-OH	-	-	10.90 (1H, s)	-	-	-

**Bảng 2.** Hoạt tính gây độc tế bào của 1-3

Hợp chất	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	
	Ung thư cổ tử cung HeLa S-3	Ung thư biểu mô KB
1	44.3 $\pm$ 1.94	31.8 $\pm$ 1.32
2	27.5 $\pm$ 0.91	15.3 $\pm$ 0.84
3	26.3 $\pm$ 0.74	31.6 $\pm$ 0.89
Doxorubicin <sup>a</sup>	0.03 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.04

<sup>a</sup> Doxorubicin được sử dụng như là chất chứng dương

của các cây dược liệu trong kho tàng thực vật của Việt Nam, cũng như làm tăng giá trị sử dụng của loài này trong ứng dụng thực tiễn.

#### Tài liệu tham khảo

1. A. M. Karimov, E. Kh. Botirov, *Structural diversity and state of knowledge of flavonoids of the Scutellaria L. genus. Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, (2017), 43 (7), 691-711. Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ Việt Nam (quyển 2). Nhà Xuất Bản Trẻ, (2003), 872-874;
2. Xiaofei Shang, Xirui He, Xiaoying He, Maoxing Li, Ruxue Zhang, Pengcheng Fan, Quanlong Zhang, Zhengping Jia. *Journal of Ethnopharmacology*, (2010), 128, 279-313;
3. Prahlad Parajuli, Agnes M. Rimando, Sandeep Mittal, Anand K. Yadav, *In vitro* Antitumor

mechanisms of various *Scutellaria extracts and constituent flavonoids. Planta Med*, (2009), 75, 41-48;

4. Ren, W.; Qiao, Z.; Wang, H.; Zhu, L.; Zhang, L. *Med. Res. Rev.* 2013, 23, 519-534;

5. Caltagirone, S.; Rossi, C.; Poggi, A.; Ranelletti, F. O.; Giorgio, P. N.; Brunetti, M.; Aiello, F. B.; Piantelli, M. *Int. J. Cancer*, 2000, 87, 595-600;

6. Younghee Park, Byoung-Ho Moon, Eunjung Lee, Youngshim Lee, Youngdae Yoon, Joong-Hoon Ahn and Yoongho Lim. *Spectral assignments and reference data, Magnetic Resonance in chemistry*, (2007), 45, 674-679;

7. Narimane Segueni, Amar Zellagui, Fairouz Moussaoui, Mesbah Lahouel, Salah Rhouati, 2011, *Flavonoids from Algerian propolis*, 9, 425-428. ■