

SAPONIN, FLAVONOID VÀ ACID PHENOLIC TỪ CÂY NGÂY HƯƠNG

Phạm Nguyễn Anh Thư¹, Nguyễn Thị Ái Nhung², Trần Thị Vân Anh^{1,*}

¹Khoa Dược, Đại Học Y Dược tp. Hồ Chí Minh, ²Khoa Hóa, Đại học Khoa học Huế

*Email: ttvananh@ump.edu.vn

(Nhận bài ngày 08 tháng 7 năm 2021)

Tóm tắt

Hai saponin (suavissimosid F1 (1) và niga-ichigosid F1 (2)) cùng một flavonoid (apigenin (3)) và hai acid phenolic (acid vanillic (4) và acid protocatechuic (5)) được phân lập từ cao ethanol của phần trên mặt đất cây ngây hương (*Rubus cochinchinensis* Tratt.) thu hái tại tỉnh Thừa Thiên Huế, Việt Nam. Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên phân tích phổ MS, phổ cộng từ hạt nhân 1D-NMR, 2D-NMR cũng như so sánh với dữ liệu NMR trong tài liệu tham khảo. Các hợp chất 2 - 5 lần đầu tiên được phân lập từ *Rubus cochinchinensis*.

Từ khóa: *Rubus cochinchinensis*, Saponin, Apigenin, Acid vanillic, Acid protocatechuic.

Summary

Saponins, Flavonoid and Phenolic Acids from the Aerial Parts of *Rubus cochinchinensis* Tratt.

Two saponins (suavissimoside F1(1) and niga-ichigoside F1 (2)) together with one flavonoid (apigenin (3)) and two phenolic acids (vanillic acid (4) and protocatechuic acid (5)) were isolated from the ethanol extract of aerial parts of *Rubus cochinchinensis* Tratt. collected from Thua Thien Hue province, Vietnam. The structures of these compounds were identified by MS, 1D-NMR and 2D-NMR spectra as well as by comparison with published NMR data in literatures. Compounds 2 - 5 were isolated from *R. cochinchinensis* for the first time.

Keywords: *Rubus cochinchinensis*, Saponin, Apigenin, Vanillic acid, Protocatechuic acid.

1. Đặt vấn đề

Ngây hương (*Rubus cochinchinensis* Tratt., thuộc họ Rosaceae) còn gọi là dùm hương, là một loại cây bụi, nhiều gai, mọc hoang nhiều ở vùng miền núi Việt Nam [1]. Ngây hương mọc phổ biến ở Việt Nam, ngoài ra còn mọc rải rác ở Lào, Campuchia và miền nam Trung Quốc, giáp biên giới Việt - Trung. Quả ngây hương ăn ngon, bổ dưỡng, cành lá sao thơm dùng cho người ăn uống tiêu hóa kém, ăn không tiêu, đầy bụng, phù thũng, viêm gan, vàng da [2]. Năm 1999, Trịnh Phương Liên và cs. đã phân lập được 4 saponin triterpenoid khung ursan từ cây ngây hương [3]. Cho đến nay, ngây hương được sử dụng làm thuốc ở phạm vi dân gian nhưng chưa có thêm một nghiên cứu nào về thành phần hóa học cũng như các tác dụng dược lý của cây. Nghiên cứu này báo cáo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của 5 hợp chất gồm 2 saponin, 1 flavonoid và 2 acidphenolic từ cây ngây hương thu hái tại tỉnh Thừa Thiên Huế.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Phần trên mặt đất của ngây hương thu hái tại khu vực vườn Quốc gia Bạch Mã, Thừa Thiên Huế tháng 3/2020. Mẫu được TS. Trần Thị Vân Anh định danh qua hình thái thực vật, so sánh với tài liệu tham khảo xác định tên khoa học là *Rubus cochinchinensis* Tratt. Mẫu lưu (số hiệu RuCo0320) được lưu giữ tại Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược - Đại học Y dược TP.HCM.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phổ cộng từ hạt nhân (NMR) được ghi bằng máy ASCEND™ 400 FT-NMR (BRUKER) tại Viện

Kiểm nghiệm tp. Hồ Chí Minh. Phổ khối lượng (ESI-MS) được đo trên hệ thống UPLC-MS (Aquity QDa-Water). Sắc kí lớp mỏng (TLC) thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck, Đức). Các vết được phát hiện bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 và 365 nm, dùng thuốc thử vanillin (1%/EtOH)-acid sulfuric (5%/EtOH) (tỉ lệ 1:1) phun đều trên bản mỏng, để khô rồi hơ nóng trên bếp điện cho đến khi hiện màu. Sắc kí cột (CC) được tiến hành với chất hấp phụ *silica gel* (cỡ hạt 40-63 µm, VWR, Thụy Sĩ). Sắc kí rây phân tử thực hiện với TOYOPEAL resin HW-40C (Tosoh, Nhật Bản) và Sephadex LH-20 (GE Healthcare).

4 kg bột dược liệu ngây hương được chiết ngâm kiệt với ethanol 50% (tỉ lệ dược liệu/dung môi - 1:20). Dịch chiết được cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu 2 lít dịch chiết đậm đặc. Hòa dịch chiết đậm đặc vào 2 lít nước cất và chiết phân bố lỏng-lỏng với dung môi có độ phân cực tăng dần: dicloromethan, ethyl acetat, *n*-butanol bão hòa nước thu được các phân đoạn dicloromethan (15,1 g), ethyl acetat (78,2 g), *n*-butanol (31,4 g) và phần nước còn lại cô đặc thành cao nước (231,3 g).

Phân đoạn ethyl acetat (60 g) phân tách bằng sắc kí cột *silica gel* khai triển với hệ dung môi gradient CHCl₃-EtOAc (100:0, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, v/v) thu 23 phân đoạn (B.1-B.23). Phân đoạn B.4 (950 mg) tiếp tục phân tách qua cột *silica gel* rửa giải với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (98:2) thu được 7 phân đoạn (B.4.1-B.4.7). Phân đoạn B.4.1 (165,3 mg) tinh chế qua sắc ký cột rây phân tử Sephadex LH-20 với pha động CHCl₃-MeOH (9:1) thu được chất 4 (14,4 mg). Phân đoạn

B.4.6 (71,3 mg) có kết tủa khi cô thu hồi dung môi, lọc và rửa tủa bằng methanol thu được chất 3 (18,9 mg). Phân đoạn B.8 (1802,1 mg) được tiếp tục phân tách bằng sắc kí cột với dung môi rửa giải CHCl₃-MeOH (98:2, 90:10, 75:25, 50:50) thu được 12 phân đoạn (B.8.1 - B.8.12). Phân đoạn B.8.8 (163,2 mg) tinh chế qua cột sắc kí rây phân tử, rửa giải với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (98:2) thu được chất 5 (45,7 mg). Phân đoạn B.20 có kết tủa khi cô thu hồi dung môi. Phân kết tủa (1732,2 mg) tiến hành phân tách bằng sắc kí cột *silica gel* với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (75:25, 70:30, 65:35, 60:40, v/v) thu được hai chất 1 (327,7 mg) và 2 (43,5 mg).

Hợp chất 1 (suavissimosid F1): Kết tinh hình kim, không màu. Phổ khối ESI-MS (ion dương): m/z 703,81 [M+Na]⁺, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ _H (ppm): 3,44 (1H, m, H-2), 3,48 (1H, m, H-3), 5,19 (1H, m, H-12), 0,96 (3H, s, H-24), 0,92 (3H, s, H-25), 0,65 (3H, s, H-26), 1,29 (3H, s, H-27), 1,10 (3H, s, H-29), 0,84 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-30); 5,16 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1'), 3,09 (1H, m, H-2'), 3,19 (1H, m, H-3'), 3,12 (2H, m, H-4', H-5'), 3,59 (1H, $J = 11,2$ Hz, H-6'a), 3,44 (1H, m, H-6'b). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ _C (ppm): 47,2 (C-1), 67,0 (C-2), 79,1 (C-3), 52,9 (C-4), 50,8 (C-5), 20,1 (C-6), 32,1 (C-7), 39,3 (C-8), 46,9 (C-9), 37,6 (C-10), 23,2 (C-11), 126,8 (C-12), 138,0 (C-13), 41,0 (C-14), 27,9 (C-15), 25,0 (C-16), 47,2 (C-17), 53,1 (C-18), 71,5 (C-19), 41,1 (C-20), 25,7 (C-21), 36,5 (C-22), 178,4 (C-23), 12,4 (C-24), 16,6 (C-25), 16,2 (C-26), 23,7 (C-27), 175,5 (C-28), 26,3 (C-29), 16,2 (C-30), 93,9 (C-1'), 72,2 (C-2'), 76,6 (C-3'), 69,39 (C-4'), 77,5 (C-5'), 60,6 (C-6').

Hợp chất 2 (niga-ichigosid F1): Bột trắng vô định hình. Phổ khối ESI-MS (ion dương): m/z 689,89 [M+Na]⁺, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ _H (ppm): 3,70 (1H, m, H-2), 3,35 (1H, m, H-3), 5,31 (1H, m, H-12), 0,70 (3H, s, H-24), 1,03 (3H, s, H-25), 0,78 (3H, s, H-26), 1,34 (3H, s, H-27), 1,20 (3H, s, H-29), 0,93 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-30), 5,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,31 (1H, m, H-2'), 3,35 (1H, m, H-3'), 3,36 (H, m, H-4'), 3,34 (H, m, H-5'), 3,68 (1H, dd, $J = 12,0$; 4,0 Hz, H-6'a), 3,80 (1H, dd, $J = 12,0$, 1,6 Hz, H-6'b). ¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ _C (ppm): 48,0 (C-1), 69,7 (C-2), 78,4 (C-3), 44,1 (C-4), 48,3 (C-5), 19,3 (C-6), 33,6 (C-7), 41,3 (C-8), 48,6 (C-9), 39,0 (C-10), 24,8 (C-11), 129,5 (C-12), 139,8 (C-13), 42,8 (C-14), 29,7 (C-15), 26,6 (C-16), 49,5 (C-17), 55,0 (C-18), 73,7 (C-19), 43,0 (C-20), 27,3 (C-21), 38,4 (C-22), 66,6 (C-23), 13,9 (C-24), 17,6 (C-25), 17,7 (C-26), 24,8 (C-27), 178,6 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,4 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,6 (C-5'), 62,5 (C-6').

Hợp chất 3 (apigenin): Bột vô định hình, màu vàng. Phổ khối ESI-MS (ion âm): m/z 269,03 [M-H]⁻. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ _H (ppm): 12,97 (1H, s, 5-OH), 6,78 (1H, s, H-3), 6,20 (1H, d, $J = 6,4$

Hz, H-6), 6,48 (1H, d, $J = 6,4$ Hz, H-8), 7,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2', H-6'), 6,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3', H-5'). ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ _C (ppm): 164,2 (C-2), 103,3 (C-3), 182,2 (C-4), 161,9 (C-5), 99,3 (C-6), 164,6 (C-7), 94,4 (C-8), 157,8 (C-9), 104,2 (C-10), 121,7 (C-1'), 128,9 (C-2', C-6'), 116,4 (C-3', C-5'), 161,6 (C-4').

Hợp chất 4 (acid vanillic): Bột vô định hình, không màu. Phổ khối ESI-MS (ion âm): m/z 167,02 [M-H]⁻. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,58 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,85 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5), 7,57 (1H, dd, $J = 8,5$; 2,0 Hz, H-6), 3,91 (3H, s, 3-OCH₃). ¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 123,5 (C-1), 113,8 (C-2), 148,6 (C-3), 152,5 (C-4), 115,8 (C-5), 125,2 (C-6), 56,3 (3-OCH₃), 170,3 (1-COOH).

Hợp chất 5 (acid protocatechuic): Tinh thể hình kim, không màu. Phổ khối ESI-MS (ion âm): m/z 153,23 [M-H]⁻. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,46 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 7,45 (1H, dd, $J = 8,0$; 2,0 Hz, H-6). ¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 123,3 (C-1), 117,7 (C-2), 146,0 (C-3), 151,5 (C-4), 115,7 (C-5), 123,9 (C-6), 170,3 (1-COOH).

3. Kết quả và bàn luận

Hợp chất 1 thu ở dạng kết tinh hình kim, không màu. Phổ ESI-MS cho pic ở m/z 703,81 [M+Na]⁺ và phổ cộng hưởng từ ¹³C-NMR cho 36 tín hiệu carbon cho phép dự đoán hợp chất 1 có công thức phân tử là C₃₆H₅₆O₁₂. Phổ ¹H-NMR chất 1 cho các tín hiệu đặc trưng của khung triterpen với 5 tín hiệu singlet của nhóm methyl tại δ _H 0,65, 0,92, 0,96, 1,10, 1,29 một tín hiệu doublet của nhóm methyl tại δ _H 0,84 (3H, d, $J = 6,4$ Hz), tín hiệu của proton nối đôi δ _H 5,19 (1H, m). Các tín hiệu proton của một đơn vị pyranose δ _H 3,09 - 5,32 với proton anomer tại δ _H 5,16 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1') và 2 proton oxymethylen 3,59 (1H, $J = 11,2$ Hz, H-6'a), 3,44 (1H, m, H-6'b). Phổ ¹³C-NMR có 36 tín hiệu trong đó có 2 tín hiệu của nhóm carboxyl tại δ _C 178,4 và 175,4; 6 tín hiệu của carbon nhóm methyl δ _C 12,4; 16,6; 16,2 x2; 23,7; 26,3 của một triterpen. Hai tín hiệu carbon nối đôi δ _C 126,8 và 138,0 đặc trưng cho nối đôi ở C12 - C13 khung ursan [4], 3 tín hiệu carbon nối với oxy δ _C 67,0; 79,1 và 71,6 cho thấy trên khung có gắn 3 nhóm -OH. Ngoài ra còn có 6 tín hiệu của gốc đường δ _C 93,9 - 60,6 với tín hiệu của carbon anomer là δ _C 93,9. Tương tác HMBC của của proton nhóm methyl δ _H 0,96 (3H, s) với carbon nhóm carbonyl δ _C 178,4 và carbon gắn hydroxy δ _C 79,1 cho thấy có nhóm COOH ở C-4 và nhóm OH ở C-3. Proton δ _H 3,48 của H-3 tương tác COSY với δ _H 3,48 là H-2 cho thấy ở vị trí C-2 cũng gắn nhóm OH. C-2 và C-3 có độ dịch chuyển hóa học là δ _C 67,0 và 79,1 phù hợp với cấu hình nhóm hydroxy ở vị trí 2 α và 3 β [4]. Proton methyl δ _H 1,10 (3H, s, H-29) tương tác HMBC với

δ_C 71,5 cho thấy vị trí C-19 cũng gắn 1 nhóm -OH ở vị trí α [4]. Tương tác HMBC của proton anomer δ_H 5,16 (1H, d, $J = 8,4$ Hz) với carbon carbonyl δ_C 175,5 cho thấy liên kết ester với gốc đường ở C-28. Gốc đường được xác định là β -D-glucopyranosid qua các giá trị carbon và proton tương ứng. Cấu trúc chất 1 qua so sánh với dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [3] được xác định là suavissimosid F1, một saponin đã được báo cáo từ *R. cochinchinensis*.

Hợp chất 2 thu ở dạng bột vô định hình, màu trắng. Phổ ESI-MS cho pic ở m/z 689,89 $[M+Na]^+$ và phổ cộng hưởng từ ^{13}C -NMR cho 36 tín hiệu carbon cho phép dự đoán hợp chất 1 có công thức phân tử là $C_{36}H_{58}O_{11}$. Phổ 1H -NMR của chất 2 có 5 tín hiệu singlet của 5 nhóm methyl δ_H 0,70, 0,78, 1,03, 1,20, 1,34 và 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl δ_H 0,93 (3H, d, $J = 6,4$ Hz), tín hiệu của proton nối đôi δ_H 5,31 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) đặc trưng cho H-12 và hai tín hiệu proton của nhóm oxymethylen δ_H 3,50 (1H, m) và 3,27 (1H, m). Các tín hiệu proton của gốc đường δ_H 3,31- 5,32 với proton anomer tại δ_H 5,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1') và 2 proton oxymethylen 3,68 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-6'a), 3,80 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-6'b) phù hợp với một gốc đường β -D-glucopyranosid. Phổ ^{13}C -NMR có 36 tín hiệu trong đó có 6 tín hiệu carbon nhóm methyl δ_C 13,9; 16,6; 17,1; 17,6; 17,7; 24,8 của khung triterpen tương đồng với chất 1, tuy nhiên chất 2 chỉ có 1 tín hiệu của nhóm carboxyl δ_C 178,6 và có thêm tín hiệu của carbon oxymethylen δ_C 66,5 cho thấy 2 nhóm methyl được thay bằng 1 nhóm hydroxymethyl và 1 nhóm carboxyl. Chất 2 cũng có các tín hiệu của một nối đôi δ_C 129,5 và 139,8 cùng ba tín hiệu của carbon nối oxy trên khung triterpen δ_C 69,7, 78,4 và 73,6 tương tự chất 1. Ngoài ra cũng có tín hiệu của 1 gốc đường glucopyranosid với carbon anomer là δ_C 95,8. Phân tích phổ 2D-NMR cho thấy cấu trúc chất 2 tương tự chất 1 ngoại trừ C-23 không phải là nhóm -COOH mà là nhóm -CH₂OH. Điều này khẳng định qua tương tác HMBC của proton nhóm methyl δ_H 0,70 (3H, s) với δ_C 66,5 và δ_H 3,52 (1H, m) và 3,27 (1H, m) của nhóm -CH₂-OH với δ_C 13,9 (C-24). Tương tác HMBC của proton anomer δ_H 5,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1') với δ_C 178,6 cho thấy gốc đường β -glucopyranosid nối qua liên kết ester với nhóm carboxylic acid ở C-28. Cấu trúc của chất 2 được xác định là niga-ichigosid F1 [5].

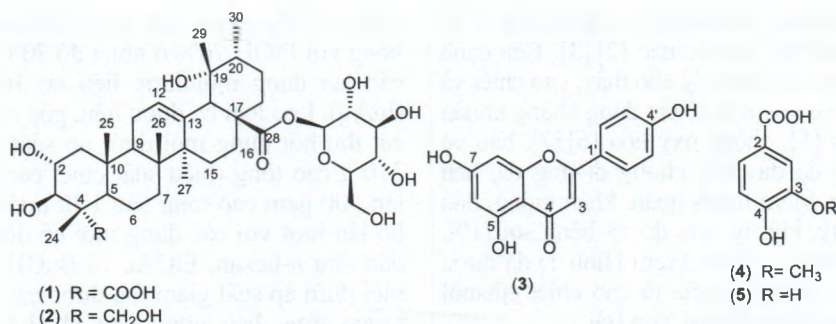
Hợp chất 3 thu ở dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ khối ESI-MS cho pic ở $m/z = 269,03$ $[M-H]^-$ và phổ cộng hưởng từ ^{13}C -NMR cho 15 tín hiệu carbon cho phép dự đoán hợp chất 1 có công thức phân tử là $C_{15}H_{16}O_5$ với khung cấu trúc của 1 flavonoid.

Phổ 1H -NMR chất 3 có một tín hiệu singlet tại δ_H 12,97 của proton nhóm hydroxy, hai tín hiệu của

proton trên vòng B thế 1,4 δ_H 7,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz) và 6,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz), 2 tín hiệu doublet ở δ_H 6,48 (1H, $J = 1,6$ Hz) và 6,20 (1H, $J = 1,6$ Hz) cho thấy vòng A có 2 nhóm thế ở vị trí C-5 và C-7 và 1 tín hiệu singlet δ_H 6,78 của proton H-3. Phổ ^{13}C -NMR có 13 tín hiệu carbon đặc trưng của khung flavon: tín hiệu bốn carbon của vòng B thế 1,4 δ_C 121,7 (C-1'), 161,7 (C-4'), 128,9 (C-2'/6') và 116,4 (C-3'/5'); một tín hiệu keton C-4 δ_C 182,2. Phân tích dữ liệu phổ 2D-NMR cho thấy proton δ_H 6,48 tương tác HMBC với các carbon 99,3; 104,1; 157,8 và 164,2, xác định proton δ_H 6,48 là H-8; proton δ_H 6,20 ở vị trí *meta* H-6 do cùng hằng số ghép $J = 1,6$ Hz. Vòng B của 3 có nhóm thế hydroxy ở vị trí C-4' được khẳng định qua các tương tác HMBC của H-3 δ_H 6,78 và 6,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz) với δ_C 121,1 là C-1' và 7,93 (2H, d, $J = 8,8$ Hz) với δ_C 161,7 là C-4'. Các kết quả phổ của hợp chất 3 dựa vào sự so sánh với dữ liệu phổ đã công bố trong tài liệu tham khảo [6] kết luận 3 là apigenin.

Hợp chất 4 ở dạng hình kim, màu trắng. Phổ ESI-MS cho pic ở m/z 167,02 $[M-H]^-$, và phổ cộng hưởng từ của ^{13}C -NMR cho 8 tín hiệu carbon cho phép dự đoán hợp chất 4 có công thức phân tử là $C_8H_8O_4$. Phổ 1H -NMR của chất 4 có ba tín hiệu proton nhân thơm δ_H 6,85 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), δ_H 7,57 (1H, dd, $J = 8,5; 2,0$ Hz) và δ_H 7,58 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) đặc trưng của hệ ABX và một tín hiệu nhóm methoxy δ_H 3,91 (3H, s). Phổ ^{13}C -NMR của chất 4 cho 8 tín hiệu trong đó có 1 tín hiệu nhóm carboxyl (δ_C 170,3), 1 tín hiệu của nhóm methoxy (δ_C 56,3) và 6 tín hiệu của carbon nhân thơm trong đó có 2 tín hiệu δ_C 148,6 và 152,5 của carbon nhân thơm nối với oxy. Cấu trúc của chất 4 được xác định là một acid benzoic thế với 2 nhóm thế methoxy và hydroxy. Phổ HMBC cho thấy tín hiệu proton δ_H 3,91 (3H, s, OCH₃) tương tác với carbon δ_C 148,6 như vậy nhóm methoxy gắn với carbon δ_C 148,6 (C-3) và tín hiệu δ_C 152,5 (C-4) gắn với nhóm hydroxy. Tín hiệu proton δ_H 6,85 có tương tác với carbon δ_C 123,5; carbon này không liên kết proton nên sẽ là carbon C-1 gắn nhóm carboxyl. Cấu trúc chất 4 được xác định là acid vanillic [6].

Chất 5 thu ở dạng tinh thể hình kim, không màu. Phổ 1H -NMR của chất 5 tương tự chất 4 có ba tín hiệu proton nhân thơm δ_H 6,85 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), δ_H 7,57 (1H, dd, $J = 8,5; 2,0$ Hz) và δ_H 7,58 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) đặc trưng của hệ ABX nhưng không có tín hiệu của nhóm methoxy. Phổ ^{13}C -NMR của 5 cũng có 1 tín hiệu của nhóm -COOH δ_C 170,3 và 6 tín hiệu của carbon nhân thơm và tương tự 4 nhưng không có tín hiệu carbon nhóm methoxy. Phân tích dữ liệu phổ xác định cấu trúc chất 5 cũng là một acid benzoic thế có 2 nhóm hydroxyl thế ở vị trí C-3 và C-4. Chất 5 được xác định là acid protocatechuic [7].



Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ cây ngải hương (1-5)

4. Kết luận

Từ cao phân đoạn ethyl acetat của phần trên mặt đất ngải hương *Rubus cochinchinensis* Tratt. đã phân và xác định cấu trúc 5 hợp chất suavisosid F1 (1), niga-ichigosid F1 (2), apigenin (3), acid vanillic (4) và acid

protocatechuic (5). Các hợp chất 2 - 5 lần đầu tiên phân lập từ *Rubus cochinchinensis*.

Lời cảm ơn: Xin cảm ơn Ban Giám đốc Vườn quốc gia Bạch mã đã hỗ trợ nhóm nghiên cứu trong việc thu thập mẫu nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Hoàng Hộ (1999), Cây cỏ Việt Nam, Quyển I, NXB Trẻ, Tp Hồ Chí Minh, 783-796.
2. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 375-376.
3. Trinh Phuong Lien, Christine Kamperdick, Tran Van Sung, Gunter Adam (1999), Triterpenes from *Rubus cochinchinensis*, *Phytochemistry*, 50(3), 463-465.
4. Mahato S.B, Kundu A. P (1994) ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids - A compilation and some salient features, *Phytochemistry*, 37(6), 1517-1575.
5. Nguelefack T. B., Mbakam F. H., Taponjou L. A., Watcho P., Nguelefack-Mbuyo E. P., Ponou B. K., Kamanyi A., Park H. J. (2011), A dimeric triterpenoid glycoside and flavonoid glycosides with free radical-scavenging activity isolated from *Rubus rigidus* var. *camerunensis*, *Archives of Pharmacal Research*, 34(4), 543-550.
6. Zhou X. J., Yan L. L., Yin P. P., Shi L. L., Zhang J. H., Liu Y. J., Ma C. (2014), Structural characterization and antioxidant activity evaluation of phenolic compounds from cold-pressed *Perilla frutescens* var. *arguta* seed flour, *Food Chemistry*, 164, 150-157.
7. Hur J. M., Park J. C., Hwang Y. H. (2001), Aromatic acid and flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum piperitum*, *Natural Product Sciences*, 7(1), 23-26.

Tạp chí Dược liệu, tập 26, số 4/2021 (Trang 225 - 229)

BAICALIN METHYL ESTER VÀ CÁC FLAVON KHÁC TỪ VỎ CÂY NÚC NÁC

Nguyễn Thị Duyên^{1*}, Trần Thị Tuyết², Phạm Thị Ngọc³, Nguyễn Minh Khởi¹

¹Viện Dược liệu; ²Đại học Đại Nam; ³Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội

*Email: nguyenduyen6784@gmail.com

(Nhận bài ngày 05 tháng 6 năm 2021)

Tóm tắt

5 flavon gồm: baicalein (1), negletein (2), baicalin methyl este (3), baicalin (4) và baicalein-7-O-glucosid (5) được phân lập từ cao ethanol 70% vỏ thân núc nác được thu hái tại Yên Bái. Cấu trúc các chất được xác định dựa trên các dữ liệu phổ (NMR và MS) cũng như so sánh với tài liệu tham khảo. Hợp chất 3 lần đầu tiên được công bố phân lập từ vỏ thân núc nác.

Từ khóa: Núc nác, Baicalein, Negletein, Baicalin methyl ester, Baicalin, Baicalein-7-O-glucosid.

Summary

Baicalin Methyl Ester and Other Flavones from *Oroxylum indicum* L.

Five flavones including baicalein (1), negletein (2), baicalin methyl ester (3), baicalin (4), and baicalein-7-O-glucoside (5) were isolated from 70% ethanol extract of stem bark of *Oroxylum indicum* L. collected in Yen Bai. Their structures were elucidated by spectral data (NMR and MS) as well as comparison with the reported literature. Compound 3 was the first isolated from the stem bark of *O. indicum*.

Keywords: *Oroxylum indicum*, Baicalein, Negletein, Baicalin methyl ester, Baicalin, baicalein-7-O-glucoside.

1. Đặt vấn đề

Núc nác có tên khoa học là *Oroxylum indicum* L. họ Núc nác (hay còn gọi họ Chùm ớt) (Bignoniaceae). Theo y học cổ truyền, 2 bộ phận thường được sử dụng là hạt và vỏ thân. Vỏ cây núc nác được gọi là hoàng bá nam được dùng để chữa đi

ngoài, ly, dị ứng bệnh ngoài da [1]. Mặt khác, theo điều tra của nhóm nghiên cứu vỏ cây núc nác được người dân tộc Thái ở Yên Bái sử dụng để rửa và làm lành vết thương hở bị bung mủ. Các nghiên cứu về thành phần hóa học vỏ thân chỉ ra có các flavon (baicalein, chrysin, oroxylin...) và các dạng glycosid

của chúng (baicalin, baicalein-7-*O*-glucosid...) là thành phần chính của vỏ núc nác [2],[3]. Bên cạnh đó, các nghiên cứu về dược lý cho thấy, cao chiết và các hợp chất từ vỏ núc nác có tác dụng kháng khuẩn [4], chống viêm [5], chống oxy hóa [6],[7], bảo vệ gan [8], bảo vệ dạ dày [9], chống dị ứng da, hen suyễn, đau họng, viêm thanh quản, khản giọng, đau dạ dày, tiêu chảy, kiết lỵ, ban đỏ và bệnh sởi [10]. Trong báo cáo này, 5 flavon (xem Hình 1) đã được phân lập và xác định cấu trúc từ cao chiết ethanol 70% vỏ cây núc nác thu hái tại Yên Bái.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Vỏ cây núc nác được thu hái tại xã Tân Thịnh và xã Văn Phú thành phố Yên Bái vào tháng 11/2020. Mẫu dược liệu được Ths. Nguyễn Văn Hiếu - Khoa Tài Nguyên, Viện Dược liệu xác định tên khoa học là *Oroxylum indicum* L. họ Chùm ớt (Bignoniaceae). Mẫu nghiên cứu được lưu tại Khoa Hóa Thực vật - Viện Dược liệu (số hiệu: IO01).

2.2. Hóa chất, dung môi

Sắc ký lớp mỏng (TLC) được tiến hành trên bản mỏng *silica gel* pha thường 60F₂₅₄ (Merck, 0,25 mm) và pha đảo RP-18F₂₅₄ (Merck, 0,25 mm). Sắc ký cột với chất nhồi cột là *silica gel* pha thường (Merck, 0,040 - 0,063 nm), *silica gel* pha đảo RP-C₁₈ (Fuji Silysia Chemical Ltd., 30 - 50 μm). Các dung môi công nghiệp dùng trong chiết xuất và phân lập bao gồm: ethanol (EtOH), *n*-hexan (H), ethyl acetat (EtOAc), *n*-butanol (BuOH) methanol (MeOH)... Thuốc thử hiện màu FeCl₃ 5%.

2.3. Thiết bị dụng cụ

Các loại cột sắc ký, đèn tử ngoại bước sóng 254 và 366 nm; bếp điện, máy xác định điểm nóng chảy Stuart SMP3 được sử dụng trong nghiên cứu. Phổ khối lượng ion phun mù điện tử ESI-MS được ghi trên máy HP 5989 B serie II. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz hoặc 600 MHz.

2.4. Chiết xuất và phân lập các chất

7,8 kg vỏ cây núc nác tươi được rửa sạch, thái nhỏ và sấy khô thu được 1,2 kg dược liệu. Lấy 1,0

kg dược liệu vỏ núc nác sau khi thái nhỏ được chiết nóng với EtOH 70% ở nhiệt độ 70°C, 3 lần với tỉ lệ các lần dung môi/dược liệu là: 10/1, 8/1 và 6/1 (lít/kg). Lọc loại bã dược liệu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 310 g cao tổng (hiệu suất chiết cao là 31%). Phân tán 300 gam cao tổng vào 1 lít nước và chiết phân bổ lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần như *n*-hexan, EtOAc và BuOH. Thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các cao phân đoạn tương ứng, bao gồm: cao H (1,5 g, HOI), cao EtOAc (56,3, EOI), cao BuOH (37,3, BOI) và cặn nước (214,9 g, WOI).

Kết quả khảo sát TLC cho thấy, sắc ký đồ của cao EtOAc không khác so với cao BuOH, nên gộp hai phân đoạn này (EBOI) để tiến hành phân lập các chất. Phân tách 90 g cao EBOI bằng sắc ký cột *silica gel* sử dụng hệ dung môi gradient H-EtOAc-MeOH (50/1/1-5/1/1, v/v/v, 100% MeOH) thu được 7 phân đoạn (A-G). Phân lập phân đoạn B (15 g) bằng sắc ký cột *silica gel* với hệ dung môi *n*-hexan-aceton (3/1, v/v) thu được 120 mg hợp chất 1 và ba phân đoạn ký hiệu là B.1-B.3. Tiếp tục phân tách phân đoạn B.3 (1,1 g) bằng sắc ký cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (4/1, v/v) thu được 2 hợp chất 1 (43 mg) và 2 (13 mg). Phân tách phân đoạn D (1,7 g) bằng sắc ký cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (1/1, v/v) thu được 3 phân đoạn (D1-D3). Tiếp tục tinh chế phân đoạn D1 (387 mg) bằng sắc ký cột pha đảo sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (2/1, v/v) thu được 2 hợp chất 3 (76 mg) và 4 (25 mg). Hợp chất 5 (11 mg) được tinh chế từ phân đoạn E (1,3 g) bằng sắc ký cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (2/1, v/v).

Hợp chất 1: Bột màu vàng nhạt. ESI-MS *m/z*: 271,05 [M+H]⁺, C₁₅H₁₀O₅. ¹H-NMR (500 MHz, aceton-*d*₆) δ_H (ppm): 12,73 (1H, s, 5-OH), 8,05 (2H, dd, *J* = 1,5; 8,0 Hz, H-2', H-6'), 7,56-7,61 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 6,76 (1H, s, H-3), 6,69 (1H, s, H-8). ¹³C-NMR (125 MHz, aceton-*d*₆) δ_C (ppm): xem Bảng 1.

Bảng 1. Dữ liệu phổ ¹³C-NMR của các hợp chất 1-5

Stt	1 ^{a,b}	Baicalein ^{a,c} [10]	2 ^{a,c}	Negletein ^{e,c} [12]	3 ^{a,c}	Baicalin methyl ester ^{d,e} [14]	4 ^{a,c}	Baicalin ^{e,c} [15]	5 ^{a,c}	Baicalein -7- <i>O</i> -glucosid ^{e,c} [13]
2	164,6	163,8	163,1	163,1	163,8	164,0	163,4	163,6	163,5	163,8
3	105,4	105,7	104,7	104,7	104,7	105,2	104,7	104,8	104,7	105,1
4	183,4	183,0	182,3	182,3	182,5	183,0	182,5	182,6	182,5	182,9
5	148,0	147,8	146,1	146,1	146,8	147,2	146,6	146,8	146,5	146,8
6	132,5	130,2	130,8	130,9	130,8	131,3	130,7	130,6	130,8	131,2
7	153,8	154,5	154,6	154,6	151,2	151,7	151,6	151,3	151,6	151,9
8	94,8	94,9	91,3	91,3	93,6	94,1	94,2	93,7	94,3	94,6
9	151,5	150,7	149,8	149,8	149,2	149,6	149,1	149,2	149,2	149,6
10	105,7	105,1	105,3	105,3	106,1	106,6	106,0	106,1	106,1	106,4

1'	132,5	131,8	130,1	130,1	130,6	131,0	130,8	130,9	130,6	130,9
2', 6'	127,1	127,2	126,3	126,3	126,4	126,8	126,3	126,4	126,4	126,7
3', 5'	129,9	130,0	129,1	129,1	129,1	129,6	129,1	129,2	129,1	129,5
4'	132,4	132,7	131,9	131,9	132,0	132,5	132,0	132,1	132,0	132,4
1''					99,8	100,2	100,6	99,9	100,9	101,2
2''					72,7	73,2	72,9	72,8	73,2	73,5
3''					75,2	75,7	75,3	75,3	77,3	77,7
4''					71,3	71,8	71,8	71,3	69,7	70,0
5''					75,0	75,5	75,7	75,5	75,9	76,2
6''					169,1	169,7	170,0	170,1	60,6	61,0
OCH ₃			56,3	56,3						
COOCH ₃					51,9	52,5				

^a 125MHz, ^e 100 MHz, ^d 75 MHz, ^b acetone-*d*₆, ^c DMSO-*d*₆.

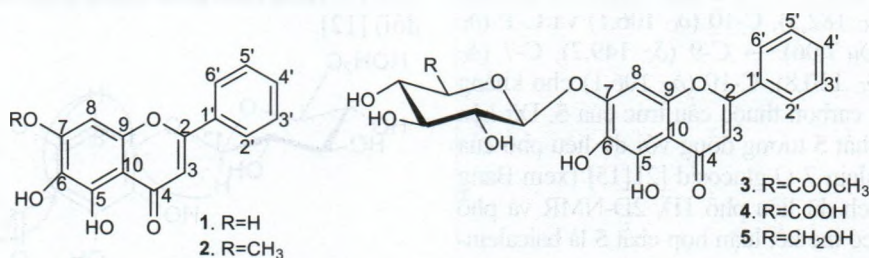
Hợp chất 2: Bột màu vàng, đ.n.c. 222-223°C. ESI-MS *m/z*: 285,2 [M+H]⁺, C₁₆H₁₂O₅. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H (ppm): 12,50 (1H, s, 5-OH), 8,11 (2H, dd, *J* = 1,8; 7,2 Hz, H-2', H-6'), 7,58-7,64 (3H, m, H-3', H-4' & H-5'), 7,01 (1H, s, H-8), 6,98 (1H, s, H-3), 3,93 (3H, s, 7-OCH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C (ppm): xem Bảng 1.

Hợp chất 3: Chất rắn màu vàng nâu. ESI-MS *m/z*: 461,25 [M+H]⁺, C₂₂H₂₀O₁₁. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H (ppm): 8,08 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-2', H-6'), 7,59-7,63 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7,06 (1H, s, H-8), 7,01 (1H, s, H-3), 5,29 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-1''), 3,67 (3H, s, COOCH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C (ppm): xem Bảng 1.

Hợp chất 4: Chất rắn màu vàng; mp. 203-205°C.

ESI-MS *m/z*: 447,25 [M+H]⁺, C₂₁H₁₈O₁₁. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H (ppm): 8,08 (2H, dd, *J* = 1,8; 8,4 Hz, H-2', H-6'), 7,58-7,62 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7,04 (1H, s, H-8), 7,01 (1H, s, H-3), 5,09 (1H, d, *J* = 7,6 Hz, H-1''). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C (ppm): xem Bảng 1.

Hợp chất 5: Bột màu vàng nâu. ESI-MS *m/z*: 433,20 [M+H]⁺, C₂₁H₂₀O₁₀. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H (ppm): 12,56 (1H, s, 5-OH), 8,07 (2H, dd, *J* = 1,8; 8,4 Hz, H-2', H-6'), 7,58-7,62 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7,06 (1H, s, H-8), 7,00 (1H, s, H-3), 5,09 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-1''), 3,76 (1H, m, H-6_a''), 3,48 (2H, m, H-3'', H-6_b''), 3,40 (2H, overlap, H-2'', H-5''), 3,21 (1H, t, *J* = 9,0 Hz, H-4''). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C (ppm): xem Bảng 1.



Hình 1. Cấu trúc các hợp chất (1→5) phân lập từ vỏ núc nác

3. Kết quả và thảo luận

Hợp chất 1 phân lập được dạng bột vàng nhạt. Phổ khối ESI-MS cho pic ion tại *m/z* 271,05 [M+H]⁺ phù hợp với công thức phân tử C₁₅H₁₀O₅ (M = 270,24).

Phổ ¹H-NMR cho tín hiệu 7 proton đặc trưng cấu trúc flavon tại δ_H 8,05 (2H, dd, *J* = 1,5 & 8,0 Hz, H-2' & H-6'), 7,56-7,61 (3H, m, H-3', H-4' & H-5'), 6,76 (1H, s, H-3) và 6,69 (1H, s, H-8). Phổ ¹³C-NMR cho tín hiệu 15 carbon, bao gồm 1 tín hiệu nhóm keton tại δ_C 183,0, 7 tín hiệu carbon khác tại δ_C 164,6 (C-2), 153,8 (C-7), 151,5 (C-9), 148,0 (C-5), 132,5 (C-1' & C-6), 105,7 (C-10). Từ các tương tác trực tiếp H→C trên phổ HSQC cho xác định các vị trí carbon khác tại δ_C 132,4 (C-4'), 129,9 (C-5' & C-3'), 127,1 (C-2'

& C-6'), 105,4 (C-3), 94,8 (C-8). Từ kết quả phân tích phổ NMR và phổ khối ESI-MS kết hợp với so sánh dữ liệu phổ của baicalein [11],[12] (xem Bảng 1) có sự tương đồng nên có thể kết luận hợp chất 1 chính là baicalein. Theo nghiên cứu của Hoàng Thị Tuyết và cs. [13] kết quả định lượng baicalein từ vỏ thân trong các mẫu thu thập tại 5 tỉnh Phú Thọ, Lạng Sơn, Nghệ An, Sapa và Hoà Bình có hàm lượng dao động từ 0,241 đến 0,950% (tính theo khối lượng dược liệu khô tuyệt đối).

Hợp chất 2 phân lập được dạng bột màu vàng có mp. 222 - 223°C. Phổ khối ESI-MS của hợp chất 2 cho pic ion tại *m/z* 285,20 [M+H]⁺ phù hợp với công thức phân tử C₁₆H₁₂O₅ (M = 284,30). Phổ 1D-NMR (¹H-, ¹³C-NMR) của hợp chất 2 (xem Bảng 1) tương

tự như hợp chất 1 chỉ khác có tín hiệu của nhóm methoxy tại δ_H 3,93 và δ_C 56,3. Kết hợp với so sánh dữ liệu phổ [14] (xem Bảng 1) có thể kết luận 2 là negletein.

Hợp chất 5 phân lập được có dạng bột màu vàng nâu. Phổ khối ESI-MS cho tín hiệu ion tại m/z : 433,20 $[M+H]^+$ cho gợi ý một công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_{10}$ ($M = 432,38$).

Phổ 1D-NMR (1H -, ^{13}C -NMR) cho tín hiệu đặc trưng của một flavon glucosid. Cụ thể là, trên phổ 1H -NMR cho tín hiệu của 7 proton thuộc cấu trúc flavon tại δ_H 8,07 (2H, dd, $J = 1,8$ & $8,4$ Hz, H-2' & H-6') và 7,58 - 7,62 (3H, m, H-3', H-4' & H-5'), 7,06 (1H, s, H-8), 7,00 (1H, s, H-3), và tín hiệu proton anome tại δ_H 5,09 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1"). Trên phổ ^{13}C -NMR cho 1 tín hiệu keton tại δ_C 182,5 (C-4); 7 tín hiệu carbon còn lại thuộc cấu trúc flavon tại δ_C 163,5 (C-2), 151,6 (C-7), 149,2 (C-9), 146,5 (C-5), 130,8 (C-6), 130,6 (C-1'), và 106,1 (C-10); 01 tín hiệu carbon anome tại δ_C 100,9 (C-1'") và các tín hiệu carbon thuộc cấu trúc glucose tại δ_C 77,3 (C-3''), 75,9 (C-5''), 73,2 (C-2''), 69,7 (C-4'') và 60,6 (C-6''). Các tín hiệu carbon khác được xác định dựa trên liên kết trực tiếp H \rightarrow C trên phổ HSQC (xem Bảng 1). Tương tác H \rightarrow C trên phổ HMBC giữa proton anome H-1" (δ_H 5,09) \rightarrow C-7 (δ_C 151,6), cho phép xác định vị trí liên kết glucose với phần flavon tại C-7. Các tương H \rightarrow C khác trên phổ HMBC thực nghiệm (xem Hình 3): H-3 (δ_H 7,00) \rightarrow C-2 (δ_C 163,5), C-4 (δ_C 182,5), C-10 (δ_C 106,1) và C-1' (δ_C 130,6); H-8 (δ_H 7,06) \rightarrow C-9 (δ_C 149,2), C-7 (δ_C 151,6), C-6 (δ_C 130,8), C-10 (δ_C 106,1) cho khẳng định các vị trí carbon thuộc cấu trúc của 5. Dữ liệu phổ của hợp chất 5 tương đồng với dữ liệu phổ của hợp chất baicalein-7-O-glucosid [2],[15] (xem Bảng 1). Từ phân tích dữ liệu phổ 1D, 2D-NMR và phổ khối ESI-MS có thể kết luận hợp chất 5 là baicalein-7-O-glucosid.

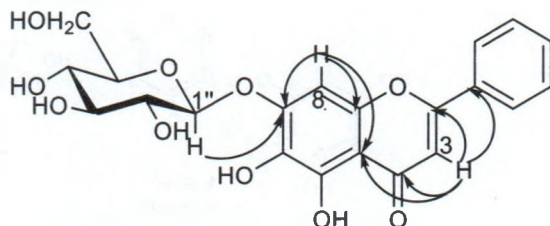
Hợp chất 3 khó tan trong các dung môi thông thường như DCM, EtOAc, MeOH... Phổ khối ESI-MS cho tín hiệu pic ion tại m/z : 461,25 $[M+H]^+$ cho gợi ý một công thức phân tử $C_{22}H_{20}O_{11}$ ($M = 460,39$).

Tín hiệu phổ 1D-NMR (1H -, ^{13}C -NMR) của 3 khá tương đồng với tín hiệu phổ của hợp chất 5 gồm: cấu trúc của 3 và 5 đều gồm 1 flavon và 1 gốc đường; và các tín hiệu tương ứng cho thấy phần đường liên kết với flavon tại vị trí C-7. Hợp chất 3 không có tín hiệu 6"-CH₂OH thay vào đó là tín hiệu của 1 nhóm methyl ester tại δ_C 169,1 và 51,9 trên phổ ^{13}C -NMR, tín hiệu singlet của nhóm methyl ở trường thấp tại δ_H 3,67 trên phổ 1H -NMR. Các vị trí carbon khác được xác định

thông qua phân tích dữ liệu phổ thực nghiệm và gán các vị trí theo dữ liệu của hợp chất baicalin methyl este [16] (xem Bảng 1). Như vậy, kết quả phân tích dữ liệu phổ NMR và phổ khối ESI-MS, kết hợp với so sánh dữ liệu phổ có thể kết luận hợp chất 3 chính là baicalin methyl ester. Theo tìm hiểu của nhóm tác giả, thì hợp chất này chưa có công bố phân lập từ loài núc nác mà đó chỉ là một chất trung gian trong quá trình bán tổng hợp các dẫn xuất của baicalein.

Hợp chất 4 phân lập được có mp. 203-205°C. Phổ khối ESI-MS cho tín hiệu ion tại m/z 447,25 $[M+H]^+$ gợi ý một công thức phân tử $C_{21}H_{18}O_{11}$ ($M = 446,36$).

Phổ 1D-NMR (1H -, ^{13}C -NMR) của hợp chất 4 (xem Bảng 1) cho tín hiệu tương tự như hợp chất 3 cũng có cấu tạo gồm 1 phân tử flavon và 1 gốc đường chứa nhóm acid. Chỉ khác là: phổ 1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất này không cho tín hiệu singlet của nhóm methyl ở trường cao như hợp chất 3. Khi so sánh dữ liệu phổ của 3 với baicalin cho tín hiệu tương tự [17]. Như vậy, từ phân tích phổ NMR và phổ khối ESI-MS, cùng với so sánh dữ liệu phổ có thể kết luận hợp chất 4 chính là baicalin. Hợp chất này, có trong hạt, vỏ thân và lá loài núc nác. Kết quả định lượng baicalin trong vỏ thân các mẫu thu tại Phú Thọ, Lạng Sơn, Nghệ An, Sapa và Hòa Bình từ 0,250 đến 2,251% (tính theo khối lượng dược liệu khô tuyệt đối) [12].



Hình 3. Các tương tác H \rightarrow C trên phổ HMBC của hợp chất 5

4. Kết luận

Bằng phương pháp sắc ký cột silica gel pha thường và pha đảo, 5 hợp chất (1-5) được phân lập từ vỏ cây núc nác thu hái ở Yên Bái. Dựa vào kết quả phân tích dữ liệu phổ và kết hợp với so sánh tài liệu, cấu trúc của 5 chất được xác định là baicalein (1), negletein (2), baicalin methyl ester (3), baicalin (4) và baicalein-7-O-glucosid (5).

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn Trung tâm NMR Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân và cảm ơn Ths. Nguyễn Văn Hiếu - Khoa Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu đã giúp nhóm định danh tên khoa học của mẫu nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Tất Lợi (1995), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB KH&KT, 726-728. 2. Bộ KH&CN (2016), Báo cáo kết quả đề tài: Sàng lọc các cây thuốc Việt Nam theo hướng diệt tế bào ung thư và phân lập các hoạt chất để nghiên cứu làm thuốc chữa bệnh. 3. Maungjunburee S., Mahabusarakam W. (2010). Flavonoids from the stem bark of *Oroxylum indicum* (L.) Benth. In *Proceedings of the In Proceedings of the 7th IMT-GT UNINET and the 3rd International PSU-UNS Conferences on Bioscience*. 136-140. 4. Isla M. K., Et I. Z., Chowdhur J. A. (2010). Phytochemical and antimicrobial analysis on the extract of *Oroxylum indicum* Linn. Stem-Bark. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 9(1), 25-30. 5. Lalrinzual K., Vabeiryureilai, M., Jagetia G. C. (2016). Investigation of the anti-inflammatory and analgesic activities of ethanol extract of stem bark of Sonapatha *Oroxylum indicum* in vivo. *International Journal of Inflammation*. 6. Mishra S. L., Sinhamahapatra P. K., Nayak A., Das R., Sannigrahi S. (2010). In vitro antioxidant potential of different parts of *Oroxylum indicum*: a comparative study. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2), 267. 7. Mishra S. L., Sinhamahapatra P. K., Nayak A., Das R., Sannigrahi S. (2010). In vitro antioxidant potential of different parts of *Oroxylum indicum*: a comparative study. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2), 267. 8. Tripathy B. N., Panda S. K., Sahoo S., Mishra S. K., Nayak L. (2011). Phytochemical analysis and hepatoprotective effect of stem bark of *Oroxylum indicum* (L) Vent. on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 2(6), 1714-1717. 9. Babu H., Pujar M. D., Ganji S., Hymavathi H. (2010), Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(1), 117-120. 10. Paranjpe Prakash (2005). *Indian Medicinal Plants*. Chaukhamba Sanskrit Pratishtan, Delhi. 248-9. 11. Phan Nguyễn Hữu Trọng, Đặng Hoàng Phủ, Trần Hoàng Lan, Nguyễn Trung Nhân (2012), Khảo sát thành phần hoá học của chloroform hạt cây núc nác *Oroxylum indicum* L. *Tạp chí Hoá học*, 50(4A), 270-272. 12. Pegg R. B., Amarowicz R., Oszmiański J. (2005). Confirming the chemical structure of antioxidative trihydroxyflavones from *Scutellaria baicalensis* using modern spectroscopic methods. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14, 43-50. 13. Hoàng Thị Tuyết, Nguyễn Thị Phương, Phương Thiện Thương, Nguyễn Văn Ri (2019). Định lượng đồng thời baicalin, baicalein và chrysin trong dược liệu hoàng bá nam bằng phương pháp hplc-uv. *Tạp chí Dược liệu*, 24(4), 211-216. 14. He G., Gao Y., Li C., Wu G., Li Y., Dong L., Huang C., Chen H. (2016). A convenient and efficient approach to synthesize neglectin from baicalin. *Tetrahedron Letters*, 57(18), 2001-2005. 15. Chen L. J., Games D. E., Jones J. (2003). Isolation and identification of four flavonoid constituents from the seeds of *Oroxylum indicum* by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 988(1), 95-105. 16. Hemantha, H. P., Ramanujam, R., Majeed, M., Nagabhushanam, K. (2019). An unambiguous and practical synthesis of Oroxylin A: A commonly misidentified flavone. *Natural Product Research*, 1-8. 17. Jakab G., Bogdán D., Mazák K., Deme R., Mucsi Z., Mándity I. M., Noszái B., Kállai-Szabó N., Antal I. (2019). Physicochemical profiling of baicalin along with the development and characterization of cyclodextrin inclusion complexes. *Aaps Pharmscitech*, 20(8), 1-12.

Tạp chí Dược liệu, tập 26, số 4/2021 (Trang 229 - 234)

ĐỊNH LƯỢNG VITEXIN TRONG CHẾ PHẨM CHỨA LẠC TIÊN BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Nguyễn Hoàng Lê¹, Đoàn Thị Tươi¹, Đặng Thị Ngọc Lan¹, Vũ Ngân Bình¹

Phí Văn Toàn², Phạm Thị Thanh Hà^{1,*}

¹Đại học Dược Hà Nội

²Viện vật lý kỹ thuật, Đại học Bách Khoa Hà Nội

*Email: thanhha.pham@hup.edu.vn

(Nhận bài ngày 26 tháng 7 năm 2021)

Tóm tắt

Lạc tiên (*Passiflora foetida* L.) thuộc họ Lạc tiên (Passifloraceae) là dược liệu được dùng trong các bài thuốc và chế phẩm từ dược liệu có tác dụng an thần, gây ngủ. Chuyên luận lạc tiên trong Dược điển Việt Nam V đã chọn vitexin làm chất đánh dấu định tính. Tuy nhiên, phương pháp định lượng sử dụng định lượng flavonoid tổng. Để kiểm soát tốt hơn chất lượng các chế phẩm chứa lạc tiên, một phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được xây dựng để định tính, định lượng vitexin trong chế phẩm. Mẫu thử được chiết siêu âm bằng ethanol 60% và phân tích bằng sắc ký lỏng pha đảo sử dụng cột C₁₈ với hệ dung môi pha động gồm đệm pH 2,5 (dung dịch H₃PO₄ 0,1% điều chỉnh pH bằng NaOH 1 M) và acetonitril (82,5:17,5). Phương pháp được thẩm định theo AOAC 2016 với độ đặc hiệu và độ chính xác cao, đã định lượng được vitexin trong chế phẩm chứa lạc tiên.

Từ khóa: Vitexin, lạc tiên, *Passiflora foetida*, HPLC, Định lượng, Chế phẩm.

Summary

Determination of Vitexin in Herbal Products Containing *Passiflora foetida* Using High Performance Liquid Chromatography

Passiflora foetida L. (Passifloraceae) commonly known as stinking passionflower, is a medicinal herb used in traditional remedy and in modern formulations that help relieve anxiety and insomnia. In the monograph for *Passiflora foetida* L. in the 5th Vietnamese Pharmacopoeia, vitexin was chosen as a chemical marker for identification. However, quantitation was performed on total flavonoid. For a better quality control of herbal products containing stinking passionflower, a high-performance liquid chromatographic (HPLC) method was established for identification and quantification of vitexin in herbal product containing *Passiflora foetida*. The matrix was extracted by ethanol 60%. The chromatographic separation was performed using C₁₈ stationary phase and a mixture of acetonitrile and phosphate buffer (pH 2.5). The method was validated according to AOAC 2016 with high specificity and precision.

Keywords: Vitexin, *Passiflora foetida*, HPLC, Determination, Herbal products.