

NHỮNG HỢP CHẤT FLAVONOIT TỪ HOA CỦA CÂY BẠC HÀ ĐỒNG VĂN (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) Ở VIỆT NAM

Đến tòa soạn ngày 09/03/2021

Phạm Thị Ngọc Mai

Khoa Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm,
Đại học Thái Nguyên; Học viện Khoa học và Công nghệ, VAST

Trần Đình Thắng, Nguyễn Thị Ngàn

Viện Công nghệ Sinh học & Thực phẩm, Đại học Công nghiệp Tp Hồ Chí Minh

Nguyễn Tân Thành

Viện Công nghệ Hóa, Sinh và Môi trường, Đại học Vinh

Cầm Thị Ính

Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, VAST

SUMMARY

FLAVONOIT COMPOUNDS FROM DONG VAN MINT FLOWER (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) IN VIETNAM

Four flavonoids, including: quercetine (1), rutin (2), hesperidin (3), (+) - catechin (4) were isolated from the methanol extract of Dong Van mint flower (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) collected from Dong Van rocky plateau, Ha Giang province by chromatographic methods such as thin layer chromatography, column chromatography and their structure is elucidated on the basis of nuclear magnetic resonance methods (NMR) one-way and two-dimensional, mass spectrometry (MS). This is the first report on the chemical composition of mint flower in Dong Van, Vietnam.

Keywords: *Elsholtzia winitiana*, quercetin, rutin, hesperidin, (+)-catechin.

1. MỞ ĐẦU

Elsholtzia là một chi có ít nhất 33 loài trong họ Lamiaceae. Chúng được phân bố và ứng dụng rộng rãi ở Đông Á, Châu Phi, Bắc Mỹ và các nước Châu Âu trong nhiều thế kỷ [1]. Trong y học dân gian, các công dụng phổ biến nhất của loài trong chi *Elsholtzia* là điều trị cảm, sốt, tiêu chảy, kiết lỵ, rối loạn tiêu hóa, say nắng, giải độc [1,2]. Trong các nghiên cứu trước đây của các nhà khoa học trên thế giới cho thấy lớp chất chính được tìm thấy từ các loài trong chi *Elsholtzia* là flavonoid, ngoài ra các nhà khoa học còn tìm thấy nhiều hợp chất phenylpropanoids, terpenoit, phytosterol và glycoside cyanogenic [3,4,5,6]. Những hợp chất tinh khiết của các lớp chất trên hay chiết

chúng đã khảo sát và chứng minh chúng có khả năng chống vi rút, kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa và bảo vệ chứng thiếu máu cục bộ cơ tim, cũng như các hoạt động khác [7,8]. Bạc hà Đồng Văn (*Elsholtzia winitiana* var. *Dongvanensis* Phuong) là loài ít thấy của chi *Elsholtzia* và cũng ít thấy ở Việt Nam, chỉ được tìm thấy chủ yếu ở vùng cao nguyên đá Đồng Văn, tỉnh Hà Giang. Tinh dầu của loài này ở Việt Nam mới được nghiên cứu và thành phần có chứa aldehyde, các hợp chất thơm xeton, monoterpenoit và secquiterpenoit [9]. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tìm thấy 4 hợp chất flavonoid từ hoa của cây bạc hà Đồng Văn. Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học của hoa cây bạc hà Đồng Văn.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị

Điểm nóng chảy của hợp chất được đo trên máy Yanagimoto MP-S3. Phổ ^1H - và ^{13}C -NMR, COSY, NOESY, HMQC, và HMBC đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker AV-III 500 với tetramethylsilane (TMS) với độ dịch chuyển được sử dụng đơn vị chuẩn δ (ppm). Phổ khối lượng (ESI) được đo trên máy Agilent 1200 LC-MSD. Sắc ký cột với silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh and 230-400 mesh, Merck), Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chem. Sweden). Sắc ký bản mỏng (TLC) Kieselgel 60 F254 (Merck) và những hợp chất trên bản mỏng được hiện màu bằng đèn UV hai bước sóng, hơi tinh thể iot.

2.2. Nguyên liệu

Hoa của cây bạc hà Đồng Văn được thu hái tại cao nguyên đá Đồng Văn (Hà Giang) vào tháng 8/2018, được TS. Nguyễn Quốc Bình (Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) định danh, tiêu bản được lưu giữ tại khoa Sinh học, trường Đại học Vinh.

2.3. Phân lập các hợp chất

Mẫu hoa của cây bạc hà Đồng Văn được làm sạch, phơi khô có khối lượng 1,0 kg chiết với sự hỗ trợ bởi sóng siêu âm với metanol (10 L x 3 x 2 h) ở 60°C , cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cao màu nâu (254 g). Dịch chiết metanol được chiết lần lượt với hexan, etyl acetate, và butanol, thu được các cao hexan (11g), etyl axetat (161g), butanol (33g), và phần tan trong nước (40g).

Cao etylacetat được tiến hành sắc ký cột silica gel (8x80 cm) với dung môi rửa giải cloroform:metanol ($\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$) (50:1, 30:1, 10:1, 5:1) thu được 10 phân đoạn chính. Phân đoạn 2 được sắc ký cột trên silica gel (3x80 cm) với hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ (20:1) thu được chất 1 và 2. Phân đoạn 3 (2,9 g) được phân tách bằng sắc ký cột silica gel (5x80 cm) với hệ dung môi rửa giải $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}$ (15:1) và sau đó làm sạch bằng Sephadex LH-20 thu được chất 3, 4.

Hợp chất 1 (Quercetin): Chất rắn màu vàng, đ.n.c. $314\text{--}315^\circ\text{C}$; ESI-MS m/z 303 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (ppm): 12.48 (1H, s, OH-5), 10.76 (1H, s, OH-7), 9.56 (1H, s, OH-3), 9.33 (1H, s, OH-3'), 9.33 (1H, s, OH-4'), 7.66 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.53 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6),

6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (ppm): 176.0 (C-4), 164.1 (C-7), 160.9 (C-5), 156.3 (C-9), 147.9 (C-2), 147.0 (C-4'), 145.2 (C-3'), 135.9 (C-3), 122.1 (C-1'), 120.2 (C-6'), 115.8 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.2 (C-10), 98.4 (C-6), 93.5 (C-8).

Hợp chất 2 (Rutin): Chất rắn màu vàng, đ.n.c. 190°C ; ESI-MS m/z 611 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (ppm): 7.59 (1H, dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, H-6'), 7.54 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.32 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.39 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1'''), 3.83–3.35 (10H, m, H-2''-6ab'' và 2'''-5'''), 0.99 (3H, d, $J = 6.2$). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (ppm): 178.2 (C-4), 164.3 (C-7), 161.5 (C-5), 157.1 (C-9), 156.7 (C-2), 148.7 (C-4'), 145.6 (C-3'), 134.1 (C-3), 121.9 (C-1'), 122.0 (C-6'), 116.5 (C-5'), 116.1 (C-2'), 104.2 (C-10), 101.4 (C-1''), 101.0 (C-1'''), 98.9 (C-6), 93.9 (C-8), 76.7 (C-3''), 76.7 (C-5''), 74.9 (C-2''), 72.7 (C-4''), 71.4 (C-4'''), 71.2 (C-3'''), 70.8 (C-2'''), 68.5 (C-5'''), 67.3 (C-6''), 18.0 (C-6''').

Hợp chất 3 (Hesperidin): Chất rắn màu trắng; ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (ppm): 12.01 (1H, s, 5-OH), 9.12 (1H, s, 3'-OH), 6.91 (3H, m, H-2',5',6'), 6.14 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.12 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.50 (1H, dd, $J = 12.1, 3.3$ Hz, H-2), 4.97 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 4.53 (1H, s, H-1'''), 3.77 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.25 (1H, m, H-3b), 2.78 (1H, dd, $J = 17.1, 3.3$ Hz, H-3a), 1.08 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'''); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (ppm): 197.3 (C-4), 165.4 (C-7), 163.4 (C-5), 162.8 (C-9), 148.2 (C-4'), 146.7 (C-3'), 131.4 (C-1'), 118.2 (C-6'), 114.5 (C-2'), 112.3 (C-5'), 103.6 (C-10), 100.9 (C-1'''), 99.65 (C-1''), 96.62 (C-6), 95.79 (C-8), 78.12 (C-2), 75.74 (C-3''), 75.30 (C-5''), 72.98 (C-2''), 71.83 (C-4'''), 70.25 (C-4''), 69.95 (C-2'''), 69.32 (C-3'''), 68.11 (C-5'''), 65.69 (C-6''), 55.91 (OCH₃), 42.02 (C-3), 18.11 (C-6''').

Hợp chất 4 ((+)-catechin): Chất rắn màu trắng, ESI-MS (m/z): 291 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H -NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 6.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 5.89 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 5.82 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 4.53 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2), 3.94 (1H, ddd, $J = 8.0, 7.2, 5.6$ Hz, H-3), 2.80 (1H, dd, $J = 16.4, 5.6$ Hz, H-4a), 2.46 (1H, ddd, $J = 16.4, 8.0, 2.0$ Hz, H-4b). ^{13}C -NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ

(ppm): 157.6 (C-7), 157.1 (C-5), 156.7 (C-8a), 145.7 (C-4'), 145.6 (C-3'), 132.3 (C-1'), 120.1 (C-6''), 115.7 (C-5'), 115.3 (C-2'), 100.7 (C-4a), 96.2 (C-6), 95.5 (C-8), 82.8 (C-2), 68.4 (C-3), 28.8 (C-4).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ cao metanol của hoa cây bạc hà Đồng Văn (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) bằng các phương pháp chiết, sắc ký, chúng tôi đã phân lập được 4 hợp chất flavonoid, cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ.

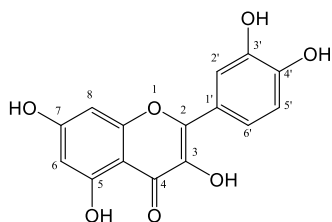
Hợp chất 1 là chất rắn màu vàng, đ.n.c 314-315°C. Phổ khối lượng ESI-MS cho tín hiệu của ion $[M+H]^+$ tại m/z 303 tương ứng với công thức phân tử là $C_{15}H_{10}O_7$. Phổ 1H -NMR cho hai tín hiệu doublet tại δ_H 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) và 6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) đây là hai proton H-6, H-8 của vòng benzen (A) và tín hiệu của hợp chất flavonoid, tín hiệu của 3 proton tại δ_H 7.66 (d, $J = 2.0$ Hz), 7.53 (1H, dd, $J=2.0, 8.0$ Hz) và 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz) tương ứng với H-2', H-6' và H-5', đây thể hiện liên kết theo kiểu ABX của vòng (B), là những tín hiệu proton của hợp chất quercetin. Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon trong khoảng δ 93.4-175.9 ppm, đây là tín hiệu đặc trưng của kiểu khung flavonoid và tín hiệu của nhóm C=O ở δ 176.0 (C-4). Kết hợp các số liệu phổ và so sánh với tài liệu [10] hợp chất **1** được chứng minh là quercetin.

Hợp chất 2 là chất rắn màu vàng, đ.n.c 190°C. Phổ ESI-MS cho tín hiệu của pic ion $[M+H]^+$ tại m/z 611 tương ứng với công thức phân tử $C_{27}H_{30}O_{16}$. Phổ 1H -NMR của hợp chất **2** cũng cho hai tín hiệu doublet với độ dịch chuyển tương tự như chất **1** (δ_H 6.20, d, $J = 2.0$ Hz và 6.40, d, $J = 2.0$ Hz) tương ứng với H-6 và H-8 của vòng A và kiểu cấu trúc ABX (vòng B) cũng được thể hiện ở δ_H 7.54 (d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.59 (dd, $J = 2.1, 9.0$ Hz, H-6') và 6.85 (d, $J = 9.0$ Hz, H-5') tương tự hợp chất **1**, từ đó cho thấy hợp chất **2** cũng có kiểu khung flavonoid. Ngoài ra, phổ còn cho tín hiệu của những proton của các gốc đường (δ_H 3.83–3.35 ppm) cùng với 2 proton aromatic ở δ_H 5.32 (1H, d, $J = 7.2$ Hz) và 4.39 (1H, d, $J = 1.6$ Hz) tương ứng với hai vị trí H-1', H-1'' của hai gốc đường β -glucose và α -rhamnose và tín hiệu ở δ_H 0.99 (-CH₃ của gốc đường α -rhamnose). Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **2** cho tín hiệu của 27 nguyên tử cacbon, trong đó có

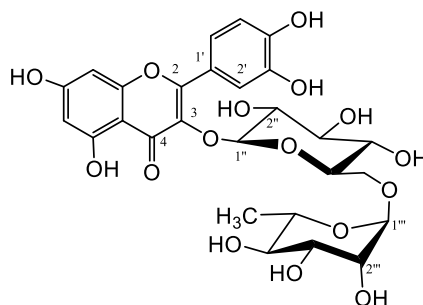
tín hiệu của nhóm C=O tại δ 178.2 ppm (C-4), nhóm methyl của gốc đường rhamnose (δ 18.0, C-6'''), tín hiệu của hai vòng A, B (δ 116.1-164.3 ppm) và cacbon của hai gốc đường (δ 67.3-101.4 ppm). Kết hợp tín hiệu các loại phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [11], hợp chất **2** là rutin.

Hợp chất 3 được phân lập ở dạng chất rắn màu trắng. Phổ 1H -NMR, tương tự như hợp chất **2**, hợp chất **3** cũng cho các tín hiệu của kiểu cấu trúc quercetin tại độ dịch chuyển δ_H 6.14 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.12 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6) ở vòng A, δ_H 6.91 (3H, m, H-2',5',6 của vòng B (ABX), ngoài ra còn có hai tín hiệu của nhóm methoxy 3.77 (3H, s, 4'-OCH₃), hai proton aromatic của gốc đường glucose và rhamnose tại δ_H 4.97 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'') và 4.53 (1H, s, H-1'''), một nhóm methyl ở δ_H 1.08 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-6''') của gốc đường rhamnose. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu của 28 nguyên tử C, trong đó tín hiệu của hai vòng A và B trong khoảng 112.3 -165.5 ppm, tín hiệu của hai gốc đường trong khoảng dịch chuyển 68.11-100.9 ppm, tín hiệu của nhóm methyl tại 18.11 (C-6'''). Kết hợp tín hiệu các loại phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [12], hợp chất **2** được chứng minh là hợp chất hesperidin.

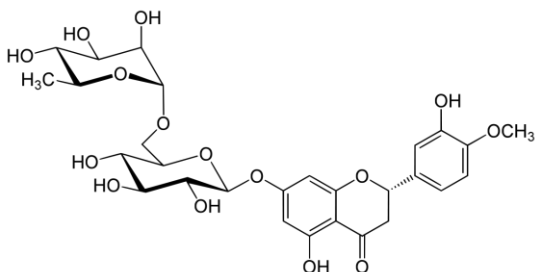
Hợp chất 4 là chất rắn màu trắng. Phổ khối lượng ESI-MS cho tín hiệu của pic ion $[M+H]^+$ tại m/z 291 tương ứng với công thức phân tử $C_{15}H_{14}O_6$. Tương tự như ba hợp chất trên, phổ 1H -NMR cho tín hiệu của hai nguyên tử proton H-6, H-8 (δ_H 5.82 và 5.89, d, $J=2.4$ Hz) của vòng A và tín hiệu tại δ_H 6.79 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6') của vòng B (ABX) thuộc cấu trúc flavonoid, dưới sự tương tác của H-3 (δ 3.94 ppm), tín hiệu khác nhau giữa hợp chất **4** và ba hợp chất trên là sự xuất hiện của hai proton H-4 tách ra và có độ dịch chuyển khác nhau (2.80 (1H, dd, H-4a) và 2.46 (1H, ddd, H-4b) dưới sự tương tác của H-3 chứng tỏ hợp chất **4** có kiểu khung flavan. Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon, trong đó có 2 tín hiệu của cacbon liên kết với oxi tại δ 82.8 và 68.4 ppm, một tín hiệu của nhóm -CH₂- tại δ 28.8 ppm. Kết hợp tín hiệu các loại phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [13], hợp chất **4** được chứng minh là hợp chất (+)-catechin.



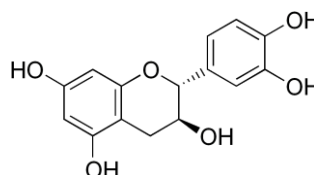
Quercetin



Rutin



Hesperidin



(+)-Catechin

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu về thành phần hóa học của hoa cây bạc hà Đồng Văn được thu hái ở cao nguyên đá Đồng Văn, Hà Giang, chúng tôi đã phân lập được 4 hợp chất flavonoid quercetin (1), rutin (2), hesperidin (3) and (+)-catechin (4). Đây là công bố đầu tiên về thành phần hóa học của hoa cây bạc hà Đồng Văn ở Việt Nam.

CẢM ƠN

Các tác giả trân trọng cảm ơn đề tài Bộ giáo dục đào tạo đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài này (B2019- TNA-06).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Z. Y. Wu, X. W. Li, S. R. Huang, *Flora reipublicae popularis sinicae*, Beijing Science press 66, 304–348, (1977).
2. Flora of China,? flora_id = 2&taxon_id=111493 (Online), (1994).
3. H. B. Hu, X. D. Zheng, H. S. Hu, Y. Q. Zhang, *Studies on chemical constituents from Elsholtzia bodinieri vaniot in Ganzu, China*, J. Baoji Univ Arts Sci 26, 196-199, (2006).
4. S. Marsden. Blois, *Antioxydant determinations by the use of a stable free radical*, Nature 181, 1199-1200, (1958).
5. T. G. hui, *Chemical constituents in essential oils from Elsholtzia ciliata and their antimicrobial activities*, Chinesse herbal medicines 5(2), 104-108, (2013).
6. Zh. Guo, Z. Liu, X. Wang, W. Liu, R. Jiang, R. Cheng, G. She, *Elsholtzia: Phytochemistry*

and biological activities, Chemistry central journal 6, (2012).

7. Đ. T. Lợi, *Những cây thuốc vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, (1999).
8. A. L. Liu, M. Y. Simon, Lee, Y. T. Wang, G. H. Du, *Elsholtzia: review of tradutiubak uses, chemistry and pharnacology*, Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences 2, 73-78, (2007).
9. Ph. T. Ng. Mai, Ng. Th. Hong Van, Ch. Q. Truyen, Tr. D. Thang, Tr. Ng. Toan, Ph. Q. Long, C. T. Linh, D. T. Phat, Tr. T. Hien and Tr. T. K. Ngan, *Compositional Comparison of Essential Oils Extracted from Flowers and Aerial Parts of Elsholtzia winitiana var. dongvanensis Phuon Harvested in Ha Giang Province, Vietnam*, Asian Journal of Chemistry 32 (10), 2438-2442, (2020).
10. Ch. Wan, Y. Yu, Sh. Zhou, Sh. Tian, Sh. Cao, *Isolation and identification of phenolic compounds from Gynura divaricata leaves*, Pharmacognosy 7, 101-109, (2011).
11. D. S. Helena, *Flavonoids from Polygonum lapathifolium ssp.tomentosum*, Pharmaceutical Biology 40, 390–394, (2002).
12. N. Lahmer, N. Belboukhari, A. Cheriti and K. Sekkoum, *Hesperidin and hesperitin preparation and purification from Citrus sinensis Peels*, Der Pharma Chemica 7(2), 1-4, (2015).
13. K. Michael, P. Menelaos, G. Rudolf, (-)-Catechin in Cocoa and Chocolate: Occurrence and Analysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer, Molecules 12, 1274-1288, (2007).