

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA THÂN VÀ LÁ CÂY TRỨNG CUỐC (STIXIS LOUR) HỌ MÀN MÀN (CAPPARACEAE)

Đến tòa soạn 14-04-2023

Trần Thị Yến, Lê Đức Long, Ngô Quốc Anh*

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

* Email: ngoquanh@ich.vast.vn

SUMMARY

STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF STIXIS LOUR (CAPPARACEAE) STEM AND LEAVES

From stems and leaves of *Stixis scandens*, compounds were successfully isolated including: icaraside B1 (1), bergenin (2), icaraside B5 (3), benzyl alcohol β -D-glucopyranoside (4), adenosine (5), cis-syringin (6), ginsenoside Rg1 (7), lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside (8). The identification of the chemical structure of these compounds was established via analysis of their nuclear magnetic resonance (NMR) spectra alongside a comparative examination of published literature regarding such spectra. These compounds were first reported in *Stixis scandens*. The isolated compounds were evaluated for their inhibitory effects on nitric oxide production in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cells

Keywords: *Stixis scandens*, capparaceae, nitrogen-containing glycoside, nitric oxide production inhibitor

1. MỞ ĐẦU

Trứng cuốc là một loài thực vật có tên khoa học là *Stixis scandens* thuộc họ Màn màn (Capparaceae) [1]. Trên thế giới, chi này hiện có 7 loài, phân bố ở châu Á gồm Ấn Độ, Bhutan, Malaysia, Myanmar, Thái Lan, Trung Quốc [2]. Ở nước ta, cây trứng cuốc phân bố chủ yếu ở vùng đồi núi các tỉnh như Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Lạng Sơn, Quảng Trị. Trứng cuốc là dạng cây bụi có cành vươn dài, màu nâu. Lá mọc so le, hình mác, tù hai đầu, lõm ở mặt dưới. Hoa nhỏ màu trắng, mọc thành chùm ở nách lá, nụ hoa hai đầu. Cây trứng cuốc ra hoa vào tháng 3 đến tháng 5, có quả khoảng tháng 6 đến tháng 8. Thành phần hóa học của loài cùng chi *Stixis* có chứa các hợp chất thuộc khung phenolic và lignan [3-5]. Trong dân gian, thân và rễ cây Trứng cuốc được sử dụng chữa đau nhức gân, xương, thấp khớp. Ngoài ra, bộ phận lá còn được dùng để chữa bệnh về mắt [6, 7]. Theo các nghiên cứu đã công bố, các hợp chất tinh khiết hay cao chiết của loài thuộc chi *Stixis* này đã được

chứng minh có khả năng kháng vi rút [8], chống trầm cảm hay chống tiêu chảy [9].

Trong khuôn khổ bài báo này chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 8 hợp chất hóa học từ mẫu thân và lá khô của loài Trứng cuốc (*Stixis scandens*) thu hái ở tỉnh Phú Thọ.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thu thập mẫu

Mẫu thân và lá được thu hái ở xã Xuân Đại, huyện Xuân Sơn, tỉnh Phú Thọ vào tháng 8 năm 2020, và được định danh bởi tiến sĩ Nguyễn Thị Kim Thanh. Mẫu vật (HNU-024662) được lưu tại phòng tiêu bản, trường đại học Khoa học tự nhiên, đại học quốc gia Hà Nội.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Hóa chất: sử dụng các dung môi methanol, *n*-hexane, ethyl acetate. Tất cả các hóa chất có độ tinh khiết phân tích. Sắc ký bản mỏng: silicagel 60 F254, Merck; 0,25 mm. Sắc ký cột: silicagel cỡ

hạt 0,04-0,063 mm, sắc ký pha đảo RP-18 (30–50 μ m), sephadex LH-20, Diaion HP-20.

Thiết bị: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được đo trên máy Bruker Avance 600 MHz. Khối phổ MS được đo trên máy Sciex X500R QTOF. Các phân tích này được thực hiện tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế nitric oxide

2.3.1. Vật liệu

- Lipopolysaccharides (LPS) từ *Escherichia coli* của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) của Life Technologies, Inc., (Gaithersburg, MD, USA). Sodium nitrite, sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride và dimethyl sulphoxide (DMSO) của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Các hóa chất cần thiết khác của các hãng Sigma, GIBCO, Invitrogen, Promega v.v.

- Dòng tế bào: RAW 264.7 do GS. TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italia và GS.TS. Chi-Huang, Đại học quốc gia Yang-Ming, Đài Loan cung cấp.

2.3.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào in vitro

- Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO).

- Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂.

2.3.3. Phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7

Tế bào RAW 264.7 được đưa vào đĩa 96 giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO₂ trong 24h. Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h. Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 μ g/mL) trong 24h. Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm

được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

2.4. Phân lập các chất

Bột khô từ thân và lá Trứng cuốc (5kg) được chiết 3 lần bằng hỗn hợp methanol-nước (95:5, v/v) ở nhiệt độ phòng. Dung dịch chiết được lọc và cô quay để thu được cao chiết methanol (400 g). Phần cặn chiết được bổ sung nước và tiếp tục được chiết phân lớp với các dung môi *n*-hexane và dichloromethane. Dịch chiết pha nước được phân tách trên cột Diaion HP-20 và rửa giải bằng hệ dung môi MeOH-nước (25:1→100:0, v/v) để thu được 4 phân đoạn (PSS.W1–PSS.W4). Phân đoạn PSS.W2 (24,5 g) được đưa lên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂:MeOH (30:1→1:1, v/v) thu được 5 phân đoạn (W2A–W2E). Phân đoạn W2D (2,4 g) được làm sạch trên cột silica gel RP-18 với hệ dung môi MeOH-nước (1:2,5 v/v) thu được 5 phân đoạn (W2.D1–W2.D5). Phân đoạn W2D1+W2D2 (500 mg) được đưa lên cột silica gel với hệ dung môi CH₂Cl₂:MeOH (12:1 v/v), sau đó được làm sạch bằng hệ thống HPLC (J'sphere M-80, YMC, Kyoto, Japan; cột 150 mm $\times$ 20 mm, hệ dung môi rửa giải 14% acetonitrile in H₂O, tốc độ dòng 3 mL/min) thu được ba hợp chất **2** (8,3 mg), **3** (5 mg), **4** (5 mg), cùng với phân đoạn W2D1F. Phân đoạn W2D1F tiếp tục được làm sạch bằng hệ thống HPLC thu được 2 hợp chất **1** (5 mg), **6** (4 mg).

Với phân đoạn W2E (8g) được đưa lên cột RP-18 và rửa giải bằng hệ dung môi MeOH-nước (1:2 v/v) thu được 7 phân đoạn (W2E1–W2E10). Từ W2E4 làm sạch bằng cột sephadex và HPLC thu được hợp chất **8** (14 mg). Phân đoạn W2E6+W2E8 (1 g) cũng được làm sạch bằng cột sephadex và HPLC thu được hợp chất **5** (6,6 mg).

Phân đoạn PSS.W3 (8 g) được sắc ký trên cột RP-18 với hệ dung môi MeOH-nước (1:1,2 v/v) cho 4 phân đoạn nhỏ, W3A, W3B, W3D và W3F. Phân đoạn W3F được làm sạch bằng cột silica gel và HPLC thu được hợp chất **7** (20 mg).

Icariside B1 (1): ¹H-NMR (600 MHz, MeOD), δ_H (ppm): 4.37 (1H, m, H-3), 1.48 (1H, dd, *J* = 13.2, 10.2 Hz, H-4), 2.39 (1H, ddd, *J* = 13.2, 4.2, 1.8 Hz, H-4), 5.85 (1H, s, H-8), 2.21 (3H, s, H-10),

1.18 (3H, s, H-11), 1.41 (3H, s, H-12), 1.42 (3H, s, H-13), 4.46 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.46 (1H, dd, $J = 7.8, 9.0$ Hz, H-2'), 3.39 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.33 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 3.32 (1H, m, H-5'), 3.71 (1H, dd, $J = 12.0, 5.5$ Hz, H-6'a), 3.90 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'b). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD) δ_{C} (ppm): 37.1 (C-1), 48.1 (C-2), 72.6 (C-3), 46.6 (C-4), 72.4 (C-5), 120.1 (C-6), 211.5 (C-7), 101.2 (C-8), 200.8 (C-9), 26.5 (C-10), 32.3 (C-11), 29.4 (C-12), 30.8 (C-13), 102.7 (H-1'), 75.1 (H-2'), 78.1 (H-3'), 71.7 (H-4'), 77.9 (H-5'), 62.7 (H-6').

Bergenin (2): $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD), δ_{H} (ppm): 3.67 (1H, ddd, $J = 9.0, 5.0, 1.2$ Hz, H-2), 3.45 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, H-3), 3.83 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, H-4), 4.08 (1H, dd, $J = 10.2, 9.0$ Hz, H-4a), 7.11 (1H, s, H-7), 4.97 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-10b), 4.04 (1H, dd, $J = 9.0, 1.2$ Hz, H-11), 3.73 (1H, dd, $J = 9.0, 5.0$ Hz, H-11), 3.93 (3H, s, OMe). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): δ_{C} (ppm): 83.1 (C-2), 71.9 (C-3), 75.6 (C-4), 81.5 (C-4a), 165.8 (C-6), 119.4 (C-6a), 111.1 (C-7), 152.4 (C-8), 142.3 (C-9), 149.5 (C-10), 117.3 (C-10a), 74.3 (C-10b), 62.7 (C-11), 60.9 (OMe).

Icariside B5 (3): $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD), δ_{H} (ppm): 2.16 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-2), 2.68 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-2), 5.85 (1H, s, H-4), 1.87 (1H, dd, $J = 13.0, 3.5$ Hz, H-7), 2.15 (1H, dd, $J = 13.0, 5.0$ Hz, H-7), 1.52 (1H, m, H-8), 1.80 (1H, m, H-8), 3.80 (1H, m, H-9), 1.27 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-10), 1.04 (3H, s, H-11), 1.12 (3H, s, H-12), 2.06 (3H, s, H-13), 4.34 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.16 (1H, dd, $J = 7.5, 9.0$ Hz, H-2'), 3.27 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.28 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 3.35 (1H, m, H-5'), 3.68 (1H, dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz, H-6'), 3.87 (1H, dd, $J = 11.5, 2.0$ Hz, H-6'). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): δ_{C} (ppm): 43.1 (C-1), 51.1 (C-2), 201.0 (C-3), 126.7 (C-4), 171.7 (C-5), 79.4 (C-6), 34.7 (C-7), 33.0 (C-8), 78.3 (C-9), 22.1 (C-10), 24.4 (C-11), 24.0 (C-12), 22.0 (C-13), 104.3 (C-1'), 75.3 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.8 (C-6').

Benzyl alcohol β -D-glucopyranoside (4): $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD), δ_{H} (ppm): 7.44 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2; 6), 7.34 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3; 5), 7.27 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-4), 4.69 (1H, d, $J =$

12.0 Hz, H-7), 4.95 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-7), 4.38 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.36 (1H, dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, H-2'), 3.33 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.35 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 3.34 (1H, m, H-5'), 3.71 (1H, dd, $J = 11.5, 5.0$ Hz, H-6'), 3.91 (1H, dd, $J = 11.5, 2.0$ Hz, H-6'). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD), δ_{C} (ppm): 139.1 (C-1), 129.2 (C-2; 6), 129.3 (C-3; 5), 128.7 (C-4), 71.7 (C-7), 103.3 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.8 (C-6').

Adenosine (5): $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ_{H} (ppm): 8.13 (1H, s, H-2), 8.34 (1H, s, H-8), 5.87 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-1'), 4.61 (1H, dd, $J = 5.0, 9.5$ Hz, H-2'), 4.14 (1H, dd, $J = 3.5, 6.0$ Hz, H-3'), 3.96 (1H, dd, $J = 3.0, 5.5$ Hz, H-4'), 3.67 (1H, dd, $J = 3.6, 4.4$ Hz, H-5a'), 3.55 (1H, dd, $J = 3.7, 7.2$ Hz, H-5b'). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD), δ_{C} (ppm): 153.5 (C-2), 150.1 (C-4), 121.1 (C-5), 157.6 (C-6), 142.0 (C-8), 91.3 (C-1'), 75.5 (C-2'), 72.7 (C-3'), 88.2 (C-4'), 63.5 (C-5').

cis-Syringin (6): $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} (ppm): 4.37 (2H, dd, $J = 6.5, 1.5$ Hz, H-1), 5.84 (1H, td, $J = 12.0, 6.5$ Hz, H-2), 6.52 (1H, td, $J = 12.0$ Hz, H-3), 6.77 (1H, s, H-2'), 6.77 (1H, s, H-6'), 3.88 (3H, s, OMe-3'), 3.88 (3H, s, OMe-5'), 4.91 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.51 (1H, dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, H-2'), 3.43 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.42 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 3.24 (1H, m, H-5'), 3.68 (1H, dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, H-6'), 3.80 (1H, dd, $J = 12.5, 2.0$ Hz, H-6'). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} (ppm): 59.8 (C-1), 132.5 (C-2), 131.5 (C-3), 135.6 (C-1'), 108.1 (C-2'), 154.0 (C-3'), 134.7 (C-4'), 154.0 (C-5'), 134.7 (C-6'), 57.1 (C-OMe-3'), 57.1 (C-OMe-5'), 105.3 (C-1''), 75.7 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.6 (C-6'').

Ginsenoside Rg1 (7): $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD), δ_{H} (ppm): 1.08 (1H, m, H-1), 1.77 (1H, m, H-1), 1.52 (1H, m, H-2), 1.68 (1H, m, H-2), 3.12 (1H, m, H-3), 1.12 (m, H-5), 4.12 (1H, ddd, $J = 3.5, 10.5, 10.5$ Hz, H-6), 1.66 (1H, m, H-7), 2.05 (1H, m, H-7), 1.50 (1H, dd, $J = 2.0, 13.0$ Hz, H-9), 1.20 (1H, m, H-11), 1.87 (1H, m, H-11), 3.68 (1H, m, H-12), 1.76 (1H, m, H-13), 1.15 (1H, m, H-15), 1.62 (1H, m, H-15), 1.40 (1H, m, H-16), 1.94 (1H, m, H-16), 2.30 (1H, m, H-17), 1.12 (3H,

s, H-18), 1.01 (3H, s, H-19), 1.36 (3H, s, H-21), 1.65 (1H, m, H-22), 1.83 (1H, m, H-22), 2.10 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-23), 5.13 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-24), 1.71 (3H, s, H-26), 1.65 (3H, s, H-27), 1.34 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-29). 0.98 (s, H-30), 4.38 (1H, d, $J = 8$, H-1'), 3.23 (1H, dd, $J = 8.0, 9.0$ Hz, H-2'), 3.35 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.29 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 3.28 (1H, m, H-5'), 3.66 (1H, dd, $J = 5.0, 12.0$ Hz, H-6'), 3.80 (1H, dd, $J = 5.0, 12.0$ Hz, H-6'), 4.63 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.10 (1H, d, $J = 8.0, 9.0$ Hz, H-2''), 3.36 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3''), 3.33 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4''), 3.22 (1H, m, H-5''), 3.66 (1H, dd, $J = 5.0, 12.0$ Hz, H-6''), 3.83 (1H, dd, $J = 5.0, 12.0$ Hz, H-6''). ¹³C-NMR (125MHz, MeOD): δ_c (ppm): 40.4 (C-1), 27.6 (C-2), 79.9 (C-3), 40.5 (C-4), 80.9 (C-6), 45.3 (C-7), 41.9 (C-8), 50.6 (C-9), 40.2 (C-10), 31.40 (C-11), 71.9 (C-12), 49.2 (C-13), 52.4 (C-14), 31.6 (C-15), 27.2 (C-16), 53.1 (C-17), 17.7 (C-18), 17.8 (C-19), 84.9 (C-20), 22.8 (C-21), 36.6 (C-22), 24.2 (C-23), 125.8 (C-24), 132.3 (C-25), 25.8 (C-26), 17.9 (C-27), 31.4 (C-28), 16.1 (C-29), 17.1 (C-30), 105.6 (C-1'), 75.5 (C-2'), 79.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.9 (C-6'), 98.3 (C-1''), 75.4 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.2 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.5 (C-6'').

(+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside (8):

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H (ppm): 2.63 (1H, dd, $J = 11.5, 15.5$ Hz, H-1), 2.73 (1H, dd, $J = 4.5, 15.5$ Hz, H-1), 1.72 (1H, m, H-2), 3.11 (1H, m, H-3), 4.44 (1H, d, $J = 6.0$, H-4), 6.60 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, s, H-2', 6'), 3.56 (1H, dd, $J = 6.5, 11.5$ Hz, H-2 α), 3.66 (1H, dd, $J = 4.5, 11.5$, H-2 α), 3.48 (1H, dd, $J = 4.0, 10.5$, H-3 α), 3.91 (1H, dd, $J = 5.5, 11.5$, H-3 α), 3.36 (3H, s, OMe-5), 3.87 (3H, s, OMe-7), 3.76 (6H, s, OMe-3'; 5'), 4.30 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.26 (1H, dd, $J = 7.5, 9.0$ Hz, H-2''), 3.39 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3''), 3.39 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-4''), 3.27 (1H, m, H-5''), 3.68 (1H, dd, $J = 11.5, 5.0$ Hz, H-6''), 3.85 (1H, dd, $J = 11.5, 2.0$ Hz, H-6''). ¹³C-NMR (125MHz, CD₃OD), δ_c (ppm): 33.8 (C-1), 40.6 (C-2), 46.7 (C-3), 42.8 (C-4), 147.6 (C-5), 138.9 (C-6), 148.6 (C-7), 107.9 (C-8), 130.2 (C-9), 126.4 (C-10), 134.5 (C-1'), 106.9 (C-2'; 6'), 149.0 (C-3'; 5'), 139.3 (C-4'), 66.2 (C-2 α), 71.5 (C-3 α), 60.2 (OMe-5), 56.6 (OMe-7), 56.9 (OMe-3'; 5'), 104.8 (C-1''), 75.1 (C-

2''), 78.2 (C-3''), 71.6 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.8 (C-6'').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thành phần hóa học

Từ cao chiết bằng các kỹ thuật sắc ký cột khác nhau đã phân lập được 8 hợp chất tinh khiết. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ 1D và 2D-NMR, khối phổ phân giải cao ESI-HR-MS.

Hợp chất **(1)** là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 409,1841 [M+Na]⁺, tính toán cho [C₁₉H₃₀O₈Na]⁺ = 409.1833. Phổ ¹H-NMR cho thấy có 4 tín hiệu proton của nhóm methyl tại δ_H 1.41 (3H, s), 1.42 (3H, s), 1.18 (3H, s), và 2.21 (3H, s) trong đó tín hiệu ở 2.21 thuộc về nhóm methyl xeton. Phổ ¹³C-NMR cho thấy sự hiện diện của ba nhóm methyl δ (29.1, 31.9 và 31.0), hai nhóm methylen (47.0 và 48.0), một nhóm methin gắn với oxy (71.8) và một cacbon bậc 4 bị oxy hóa (71.2). Trên phổ HMBC, một tín hiệu proton olefin ở δ 5.85 (1H, s, H-8) tương quan với các tín hiệu δ_C 119.7 và 209.6, chỉ ra sự hiện diện của nhóm allenic trong phân tử. Sáu tín hiệu δ_C ở (62.7, 71.6, 75.4, 78.3, 78.6, và 103.0) và tín hiệu proton phức tạp trong vùng δ_H 3.18-3.90 và tín hiệu doublet ở δ_H 4.46 với hằng số ghép lớn ($J = 7.8$ Hz) cho thấy sự hiện diện của β -glucopyranosyl trong phân tử. Từ các dữ kiện đã phân tích trên, so sánh các dữ liệu phổ của **(1)** với icaraside B1 trong tài liệu tham khảo [10] thấy hoàn toàn phù hợp.

Hợp chất **(2)** là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 351.0696 [M+Na]⁺, tính toán cho [C₁₄H₁₆O₉Na]⁺ = 351.0687. Phổ ¹H-NMR cho thấy tín hiệu của một proton trong nhân thơm tại δ_H 7.11 (1H, s) và một tín hiệu proton của nhóm methoxy tại δ 3.93 (3H, s). Trên phổ ¹³C-NMR ta quan sát thấy 14 tín hiệu bao gồm một nhóm carbonyl tại δ_C (165.8), một nhóm methoxyl tại δ_C (60.9) và tín hiệu cacbon olefin tại δ_C (111.1, 119.4, 152.4, 142.3, 149.5 và 117.3). So sánh với các tài liệu tham khảo [11], xác nhận cấu trúc của hợp chất **(2)** là bergenin.

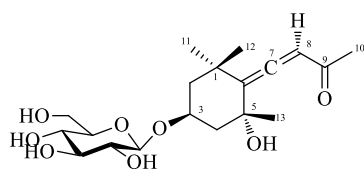
Hợp chất **(3)** là bột màu trắng. Phổ ¹H-NMR cho thấy tín hiệu singlet của proton nhóm methyl tại δ_H

1.04 (3H, s) và 1.11 (3H, s); một tín hiệu doublet tại δ H 1.27 (3H, d, $J = 6$ Hz), một tín hiệu proton nhóm vinyl methyl tại δ H 2.06 (3H, s), và một tín hiệu olefin proton tại δ H 5.85 (1H, s). Trên phổ đồ ^{13}C -NMR chỉ ra có 19 tín hiệu cacbon. Trong đó có 6 tín hiệu cacbon thuộc về nhóm glucopyranosyl. So sánh với các tài liệu tham khảo [12], xác nhận cấu trúc của hợp chất (3) là icariside B5.

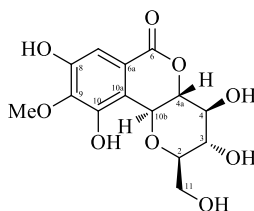
Hợp chất (4) là chất rắn màu trắng. Trên phổ ^1H -NMR có tín hiệu proton doublet tại δ H 4.69 ($J = 12$) cho thấy cấu hình β của glucopyranoside. Các tín hiệu proton từ δ 7.27 đến 7.44 cho thấy sự tồn tại của vòng benzene có 1 nhóm thế. Phổ ^{13}C -NMR chỉ ra 6 tín hiệu cacbon của nhóm glucose

từ δ C 62.8 đến 103.3, các tín hiệu của cacbon trong vòng thơm được quan sát thấy từ δ 128.7 đến 139.1, và một tín hiệu của nhóm benzylic methylene tại δ C 71.7. So sánh với các tài liệu tham khảo [13], xác nhận cấu trúc của hợp chất (4) là benzyl alcohol β -D-glucopyranoside.

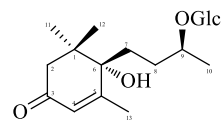
Hợp chất (5) là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 302.0670 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, tính toán cho $[\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4\text{Cl}]^- = 302.0662$. Trên phổ ^1H -NMR cho thấy 2 tín hiệu proton gần với nguyên tử Nitơ tại δ H 8.34 (1H, s) và 8.13 (1H, s). Trên phổ đồ ^{13}C -NMR cho thấy 5 tín hiệu của nhóm riboside. So sánh với các tài liệu tham khảo [14], xác nhận cấu trúc của hợp chất (5) là adenosine.



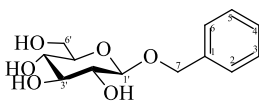
(1)



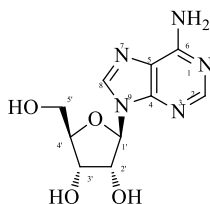
(2)



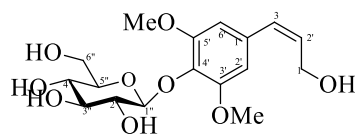
(3)



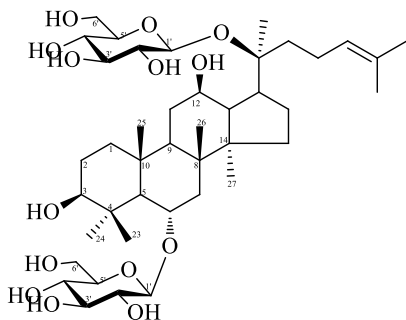
(4)



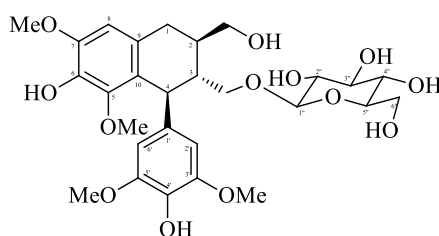
(5)



(6)



(7)



(8)

Hợp chất (6) là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 395.1316 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, tính toán cho $[\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{Na}]^+ =$

395.1313. Phổ ^1H -NMR chỉ ra sự hiện diện của nhóm glucose tại δ H 3.24 đến 3.80, một tín hiệu proton dị thường ở δ H 4.91 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), và

các tín hiệu của khung phenylpropanoit ở δ H 6.77 (1H, dt, J = 12 Hz), 6.52 (1H, d, J = 12), và 4.37 (2H, dd, J = 6.5 Hz). Hai nhóm methoxyl xuất hiện ở δ H 3.88 (6H, s). Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu cacbon dị thường ở δ C 105.3 và các tín hiệu bắt nguồn từ gốc glucose từ δ C 62.6 đến 78.3. Từ các tín hiệu ^1H -NMR và ^{13}C -NMR và so sánh với các tài liệu khác [15], cấu trúc của hợp chất **(6)** được xác nhận là cis-syringin.

Hợp chất **(7)** là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 779.4842 $[\text{M}-\text{H}]^-$, tính toán cho $[\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_{14}]^- = 779.4849$. Trên phổ ^1H -NMR có 2 tín hiệu đặc trưng của proton nằm trên nguyên tử cacbon thuộc nhóm glucose ở δ H 4.38 (1H, d, J = 8 Hz) và 4.63 (1H, d, J = 7.5 Hz). Kết hợp với các dữ kiện khác dựa trên tài liệu tham khảo [16], cấu trúc của hợp chất **(7)** được xác nhận là Ginsenoside Rg1.

Hợp chất **(8)** là chất rắn màu trắng. Phổ ESI-HR-MS tìm thấy mũi ion giả phân tử m/z 605.2218 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, tính toán cho $[\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{13}\text{Na}]^+ = 605.2205$. Phổ ^1H -NMR, hợp chất **(8)** có sự xuất hiện của tín hiệu proton tại δ H 6.45 (1H, s), 6.60 (1H, s), 1.72 (1H, m), 3.11 (1H, m), 2.63-2.73 (2H, m), 4.44 (1H, d, J = 6.0 Hz). Bên cạnh đó trên phổ ^{13}C -NMR có sự xuất hiện của 4 cacbon thuộc nhóm methoxy gắn với vòng benzen, và 12 tín hiệu cacbon của 2 vòng benzen. Đây là bằng chứng cho thấy hợp chất **(8)** có xuất hiện khung 4-aryltetralin lignan có nhóm glucopranoside. Dựa trên các tín hiệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR, HMBC, HSQC, [17] hợp chất **(8)** được xác định là (+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside.

3.2. Kết quả hoạt tính ức chế nitric oxide

Khả năng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 1. Kết quả hoạt tính ức chế nitric oxide

Hợp chất	IC ₅₀ (μM) ^{a)}
(1)	>100
(2)	94.47 $\pm$ 2.99
(3)	81.80 $\pm$ 2.85
(6)	43.17 $\pm$ 1.16
(7)	>100
(8)	>100

Đội chứng dương	
L-NMMA ^{b)}	8.10 $\pm$ 0.58

a) *Nồng độ ức chế 50% tế bào (IC₅₀)*

b) *L-NMA (N^G – Methyl-L-arginine-acetate) được sử dụng là đối chứng dương*

Từ kết quả bảng trên ta có thể thấy chất số **(6)** có khả năng ức chế sản sinh NO tốt nhất, hoạt tính này có được vì hợp chất **(6)** sẽ chuyển sang dạng sinapyl alcohol linh động hơn. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đó về khả năng ức chế NO của các hợp chất syringin [18].

4. KẾT LUẬN

Từ mẫu căn chiết cây Trứng cuốc (*Stixis scandens*) được thu hái tại tỉnh Phú Thọ. Chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 8 hợp chất: Icariside B1 **(1)**, bergenin **(2)**, icariside B5 **(3)**, benzyl alcohol β -D-glucopyranoside **(4)**, adenosine **(5)**, cis-syringin **(6)**, ginsenoside Rg1 **(7)**, lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside **(8)**. Cấu trúc hóa học của các hợp chất trên được xác định dựa trên quang phổ NMR và so sánh với các tài liệu tham khảo. Bên cạnh đó, bài báo này lần đầu tiên công bố sự xuất hiện của 8 hợp chất trên loài Trứng cuốc (*Stixis scandens*). Kết quả đánh giá hoạt tính cho thấy các hợp chất **(2)**, **(3)**, **(6)** đã thể hiện hoạt tính ức chế sinh NO với giá trị IC₅₀ từ 43,17 – 94,47 μM . Trong đó hợp chất số **(6)** thể hiện hoạt tính tốt nhất. Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

Lời cảm ơn:

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với mã số đề tài: ĐLTE00.07/21-22.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Shen J-Y, Landrein S, Wang W-G, Ma X-D, Shi J-P, (2020). *Stixis villiflora*, a new species of Resedaceae from Yunnan, China. *Taiwania*, **65**(1), 10-14.
- [2] Thường, S. D. Chi Trứng Cuốc-*Stixis* Lour.(Họ Mần Mần-Capparaceae) ở Việt Nam.
- [3] Anh, N. Q., Yen, T. T., Hang, N. T., Anh, D. H., Viet, P. H., Hoang, N. H., ... & Van Kiem, P., (2019). Lignan compounds from *Stixis*

suaveolens. *Vietnam Journal of Chemistry*, **57(3)**, 304-310.

[4] Anh, N. Q., Yen, T. T., Hang, N. T., Anh, D. H., Viet, P. H., Hoang, N. H., ... & Van Kiem, P., (2019). Phenolic and lignan compounds from *Stixis suaveolens*. *Vietnam Journal of Chemistry*, **57(3)**, 311-317.

[5] Ngo, Q. A., Tran, T. Y., Nguyen, T. H., Nguyen, V. T., Duong, H. A., & Pham, H. V., (2021). Stixilamides A and B, two new phenolic amides from the leaves of *Stixis suaveolens*. *Natural Product Research*, **35(8)**, 1384-1387.

[6] Ho PH, (1999). *Cay co Viet Nam: An illustrated flora of Vietnam: Vol.1 tu khuyetthucvat, loatu, hoa-can-h-roi den ho dau*. Nha Xuat Ban Tre;

[7] Do TL, (2004). *Nhung cay thuoc va vi thuoc Viet Nam. Vietnamese medicinal plants and herbs*, (Medical Publishing House).

[8] Trinh, T. B. N., Le, D. H., Nguyen, T. T. K., Nguyen, V. T., Nguyen, M. H., Muller, M., ... & Nguyen, T. K. N., (2021). In vitro antiviral activities of ethanol and aqueous extracts of Vietnamese traditional medicinal plants against Porcine Epidemic Diarrhea virus: a coronavirus family member. *VirusDisease*, **32(4)**, 797-803.

[9] Islam, M. M., Hossain, M. J., Zahan, M. S., Nur, F., Al Mansur, M. A., & Rashid, M. A., (2023). *Stixis suaveolens* (Roxb.) Fruit Extract Deciphered Antidepressant and Antidiarrheal Effects via In vivo Approach. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, **26(1)**, 28-35.

[10] Assaf, M. H., Kamel, M. S., & Bishay, D. W., (2003). Phenolic and aliphatic glucosides from *Cryptostegia grandiflora* and cardiogenic activity of cryptostigmin II. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut*, **26(1)**, 41-48.

[11] Saijo, R., Nonaka, G. I., & Nishioka, I. (1990). Gallic acid esters of bergenin and

norbergenin from *Mallotus japonicus*. *Phytochemistry*, **29(1)**, 267-270.

[12] Matsunami, K., Otsuka, H., Takeda, Y., & Miyase, T., (2010). Reinvestigation of the absolute stereochemistry of megastigmane glucoside, icariside B5. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **58(10)**, 1399-1402.

[13] Yano, M., Joki, Y., Mutoh, H., Kubota, K., & Kobayashi, A. (1991). Benzyl glucoside from tea leaves. *Agricultural and biological chemistry*, **55(4)**, 1205-1206.

[14] Ciuffreda, P., Casati, S., & Manzocchi, A. (2007). Complete ¹H and ¹³C NMR spectral assignment of α - and β -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **45(9)**, 781-784.

[15] Dübeler, A., Voltmer, G., Gora, V., Lunderstädt, J., & Zeeck, A., (1997). Phenols from *Fagus sylvatica* and their role in defence against *Cryptococcus fagisuga*. *Phytochemistry*, **45(1)**, 51-57.

[16] Iida, Y., Tanaka, O., & Shibata, S., (1968). Studies on saponins of ginseng: the structure of ginsenoside-Rg1. *Tetrahedron Letters*, **9(52)**, 5449-5453.

[17] Gun, L. D., Jun, J. H., & Eun-Rhan, W., (2005). Antimicrobial Property of (+)-lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside Isolated From the Root Bark of *Lycium chinense* Miller Against Human Pathogenic Microorganisms. *Archives of pharmacal research: a publication of the Pharmaceutical Society of Korea*, **28(9)**, 1031-1036.

[18] Choi, J., Shin, K. M., Park, H. J., Jung, H. J., Kim, H. J., Lee, Y. S., ... & Lee, K. T., (2004). Anti-inflammatory and antinociceptive effects of sinapyl alcohol and its glucoside syringin. *Planta medica*, **70(11)**, 1027-1032.