

FLAVONOID VÀ TRITERPENOID TỪ PHẦN TRÊN MẶT ĐẤT LOÀI BƯỚM BẠC SÀI GÒN *MUSSAENDA SAIGONENSIS*

Đến tòa soạn 11-01-2024

Phan Nhật Minh^{1,2}, Nguyễn Tấn Phát^{1,2}, Nguyễn Diệp Xuân Kỳ^{1,2}, Trần Huy Khiêm^{1,2},
Lê Văn Dũng^{1,2}, Đặng Chí Hiền^{1,2}, Trần Duy Khang³, Mai Đình Trí^{1,2*}

¹Viện Công nghệ Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Nam Cần Thơ

*Email: maidinhtri@gmail.com

SUMMARY

FLAVONOID AND TRITERPENOID COMPOUNDS FROM THE AERIAL PARTS OF *MUSSAENDA SAIGONENSIS*

Phytochemical investigation of the aerial parts of *Mussaenda saigonensis* led to the isolation of 6 compounds, including 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone (1), nobiletin (2), quercetin (3), β -amyrin (4), oleanolic acid (5) và maslinic acid (6). The chemical structures of the substances were determined by the analysis of spectroscopic data and by comparing them with existing literature. All the individual substances were documented for the first time from *Mussaenda saigonensis*, to the best of our understanding. The isolated compounds were assessed for their ability to prevent the formation of nitric oxide (NO). Compounds 3, 5 showed NO inhibition with the IC_{50} values ranging from 34.57, to 35.55 μ M while other compounds were weak or inactive compared to the positive control L-NMMA (IC_{50} 29.32 μ M).

Keywords: Anti-inflammatory, *Mussaenda saigonensis*, flavonoids, triterpenoids.

1. GIỚI THIỆU

Chi *Mussaenda* họ (Rubiaceae), có khoảng 160 loài trên thế giới và phân bố rộng khắp thế giới [1]. Ở Việt Nam có khoảng 27 loài [2], một số loài trong chi này được sử dụng trong dân gian điều trị một số bệnh tê thấp, hạ sốt, giảm đau, hen suyễn, các nghiên cứu trước cho thấy các loài thuộc chi *Mussaenda* có nhiều tác dụng sinh học như độc tế bào, bảo vệ gan, kháng khuẩn, chống oxy hóa, hạ đường huyết, kháng viêm [3-5]. Thành phần hóa học chi *Mussaenda* giàu nhóm hợp chất monoterpen, triterpen, saponin triterpen, flavonoid, iridoid, phenolic [6-8]. Bướm bạc Sài Gòn *Mussaenda saigonensis* là loài tiểu mộc cao 1-2 m, nhánh thông, đầy lông xám, nhánh già đen. Lá có

phiến thon ngược, dài 10-17 cm, có lông hai mặt, tụ tán có nhánh cao 1-2 cm, vành có ống dài 2,5 cm, tai 5-6 mm [2]. Cho đến nay, các nghiên cứu về hoạt tính sinh học và thành phần hóa học của loài Bướm bạc Sài Gòn chưa được công bố. Bài báo thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất flavonoid, triterpenoid cũng như hoạt tính ức chế NO phân trên mặt đất của loài *Mussaenda saigonensis*.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bướm bạc Sài Gòn (phần trên mặt đất) thu ở Tây Ninh tháng 10/2020. Tên khoa học được định danh bởi PGS.TS Đặng Văn Sơn, Viện Sinh Học Nhiệt Đới.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Phổ ^1H NMR (500, 600 MHz), ^{13}C NMR (125, 150 MHz) đo trên máy Bruker Avance. Phổ HR-ESI-MS (Sciex spectrometer). Sắc ký lớp mỏng TLC ($\text{GF}_{60}\text{F}_{254}$), sắc ký cột silica gel pha thường (240-430 mesh), EtOH, MeOH, *n*-hexane, dichloromethane, EtOAc, acetone chưng cất trước khi sử dụng. Hiện vết bằng đèn UV ở 254 và 365nm và dung dịch H_2SO_4 20% pha trong EtOH 70%.

2.3. Chiết xuất và phân lập

Mẫu nguyên liệu (8,0 kg), chiết với EtOH 96% (40 lít, 48 giờ, nhiệt độ phòng x 3 lần). Lọc dịch chiết cất quay thu cao EtOH (1,2 kg). Thêm nước, sau đó trích ly lỏng-lỏng sử dụng dung môi tăng dần độ phân cực thu được cao chiết tương ứng *n*-hexane (70 g), CH_2Cl_2 (300 g), EtOAc (410 g) và dịch còn lại H_2O (240 g).

Thực hiện sắc ký cột (SKC) silica gel pha thường cao CH_2Cl_2 (300 g) với *n*-hexane:EtOAc (50:1→0:1), các vết giống nhau trên TLC gồm 7 phân đoạn C1→C7. Phân đoạn C2 (18 g) SKC dung môi *n*-hexane:EtOAc (30:1→1:1) thu 5 phân đoạn (C2.1-5). Từ phân đoạn C2.2.2, SKC silica gel lặp lại hệ dung môi *n*-hexane:EtOAc (3:1) thu được **1** (8 mg), **2** (11 mg). Trong C.2.4 có kết tủa, kết tinh lại với acetone thu hợp chất **3** (32 mg). SKC phân đoạn C3 (35,0 g) với hệ dung môi *n*-hexane:EtOAc (20:1→1:1) gom thành 4 phân đoạn nhỏ (C3.1-4). Hợp chất **4** (12 mg), **5** (18 mg) thu được từ phân đoạn C3.2 sau khi SKC tỉ lệ dung môi *n*-hexane:acetone (10:1→5:1). Tương tự, phân đoạn C3.3, SKC silica gel với *n*-hexane:acetone (10:1→0:1) thu 3 phân đoạn C3.3.1→3, trong phân đoạn C3.3.2 SKC hệ dung môi *n*-hexane:acetone (3:1) thu hợp chất **6** (9 mg).

3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone (1): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , J, Hz): 7,81 (1H; d; 2,0; H-2'); 7,01 (1H; d; 9,0; H-5'); 7,84 (1H; dd; 9,0; 2,0; H-6'), 3,89 (3H; s; 3-OMe); 3,94 (3H; s; 5-OMe); 4,00 (3H; s; 6-OMe); 4,09 (3H; s; 7-OMe); 3,97 (9H; s; 8-OMe, 3'-OMe, 4'-OMe). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): 153,1 (C-2), 140,8 (C-3), 173,9 (C-4), 143,8 (C-5), 137,9 (C-6), 151,1 (C-7), 147,8 (C-8), 148,9 (C-9), 114,6 (C-10), 123,5 (C-1'), 111,0 (C-

2'), 148,8 (C-3'), 151,1 (C-4'), 111,1 (C-5'), 122,0 (C-6); 60,0 (3-OCH₃); 62,2 (5-OMe); 61,9 (6-OMe); 61,8 (7-OMe); 61,6 (8-OMe); 56,0 (3'-OMe); 55,9 (4'-OMe).

Nobiletin (2): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , J, Hz): 6,63 (1H; s; H-3); 7,42 (1H; d; 2,0; H-2'); 7,00 (1H; d; 8,5; H-5'); 7,58 (1H; dd; 8,5; 2,0; H-6'), 3,95 (3H; s; 5-OMe); 4,02 (3H; s; 6-OMe); 4,10 (3H; s; 7-OMe); 3,96 (3H; s; 8-OMe); 3,98 (1H; s; 3'-OMe); 3,95 (3H; s; 4'-OMe). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): 162,1 (C-2), 106,7 (C-3), 177,2 (C-4), 144,1 (C-5), 138,1 (C-6), 151,1 (C-7), 147,2 (C-8), 147,8 (C-9), 114,9 (C-10), 123,9 (C-1'), 108,6 (C-2'), 149,1 (C-3'), 151,6 (C-4'), 111,0 (C-5'), 119,4 (C-6); 62,3 (5-OMe); 62,1 (6-OMe); 61,9 (7-OMe); 61,8 (8-OMe); 56,2 (3'-OMe); 56,1 (4'-OMe).

Quercetin (3): ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, J, Hz): 6,18 (1H, d, 2,0; H-6); 6,40 (1H, d, 2,0; H-8); 7,67 (1H, d, 2,0; H-2'); 7,54 (1H, dd, 8,0; 2,0; H-6); 6,88 (1H, d, 8,0; H-5'); 6,41 (1H, d, 2,0; H-8), 12,4 (5-OH). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 146,7 (C-2), 135,6 (C-3), 175,7 (C-4), 160,6 (C-5), 98,1 (C-6), 163,8 (C-7), 93,3 (C-8), 156,0 (C-9), 102,9 (C-10), 121,9 (C-1'), 115,0 (C-2'), 145,0 (C-3'), 147,6 (C-4'), 115,5 (C-5'), 119,9 (C-6).

β -amyrin (4): ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , J, Hz): 0,79 (3H, s, H-23); 0,99 (3H, s, H-24); 0,75 (3H, s, H-25); 0,97 (3H, s, H-26); 1,12 (3H, s, H-27); 0,83 (3H, s, H-28); 0,88 (3H, s, H-29); 0,87 (3H, s, H-30), 3,24 (1H, dd; 11,4; 4,8; H-3), 5,19 (1H, t; 3,6; H-12). ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): 38,7 (C-1), 27,1 (C-2), 79,0 (C-3), 38,8 (C-4), 55,2 (C-5), 18,3 (C-6), 33,9 (C-7), 49,8 (C-8), 47,8 (C-9), 36,8 (C-10), 23,7 (C11), 121,6 (C12), 145,2 (C13), 41,7 (C-14), 26,1 (C-15), 26,9 (C16), 32,8 (C-17), 47,3 (C-18), 46,8 (C-19), 31,1 (C-20), 34,7 (C-21), 36,3 (C-22), 28,1 (C-23), 15,5 (C-24), 15,6 (C-25), 16,8 (C-26), 25,7 (C-27), 28,4 (C-28), 33,3 (C29), 23,7 (C30).

Oleanolic acid (5): ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , J, Hz): 0,99 (3H, s, H-23), 0,76 (3H, s, H-24), 0,92 (3H, s, H-25), 0,77 (3H, s, H-26), 1,16 (3H, s, H-27), 0,91 (3H, s, H-29), 0,94 (3H, s, H-30), 3,24 (1H, dd; 10,8; 4,2; H-3), 5,22 (1H, t; 3,6; H-12). ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): 38,5 (C-1), 27,6

(C-2), 79,0 (C-3), 38,9 (C-4), 55,7 (C-5), 18,6 (C-6), 33,2 (C-7), 40,2 (C-8), 47,5 (C-9), 37,2 (C-10), 23,4 (C-11), 122,8 (C-12), 143,7 (C-13), 41,3 (C-14), 27,7 (C-15), 23,3 (C-16), 46,1 (C-17), 41,7 (C-18), 45,4 (C-19), 30,4 (C-20), 32,7 (C-21), 32,4 (C-22), 28,2 (C-23), 15,4 (C-24), 15,2 (C-25), 17,2 (C-26), 25,9 (C-27), 181,5 (C-28), 33,1 (C-29), 23,5 (C-30).

Maslinic acid (6): ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , J, Hz): 1,01 (3H, s, H-23), 0,82 (3H, s, H-24), 0,99 (3H, s, H-25), 0,82 (3H, s, H-26), 1,16 (3H, s, H-27), 0,92 (3H, s; H-29); 0,96 (3H, d; H-30), 3,60 (1H, m, H-2); 2,92 (1H, d, 10,2, H-3), 5,25 (1H, t; 3,6; H-12), 2,88 (1H, dd, 13,8; 4,2, H-18). ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): 47,5 (C-1), 68,9 (C-2), 84,1 (C-3), 39,8 (C-4), 56,2 (C-5), 18,9 (C-6), 33,2 (C-7), 40,2 (C-8), 48,5 (C-9), 38,7 (C-10), 24,1 (C-11), 122,8 (C-12), 145,1 (C-13), 42,3 (C-14), 28,7 (C-15), 23,5 (C-16), 46,6 (C-17), 42,1 (C-18), 46,4 (C-19), 30,4 (C-20), 32,8 (C-21), 32,7 (C-22), 29,0 (C-23), 17,2 (C-24), 16,8 (C-25), 17,2 (C-26), 25,9 (C-27), 179,5 (C-28), 33,0 (C-29), 23,3 (C-30).

2.4. Xác định khả năng ức chế giải phóng NO của tế bào macrophage RAW 264.7

Tế bào RAW 274.7 được đặt vào đĩa 96 giếng với hàm lượng 2×10^5 tế bào/giếng và được ủ trong tủ ẩm 24 giờ ở nhiệt độ 37°C và hàm lượng CO_2 là 5%. Sau đó, mẫu tế bào nghiên cứu được ủ ở các nồng độ khảo sát trong 2 giờ trước khi kích thích giải phóng NO bằng LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) trong 24 giờ. Các giếng không ủ mẫu là đối chứng âm. Hỗn hợp N^G -Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) ở các giá trị nồng độ 0,8, 4, 10 và 100 $\mu\text{g/mL}$ được sử dụng làm đối chứng dương. Nitrite (NO_2^-), chỉ thị tạo NO, được xác định bằng bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, Mỹ). Môi trường ủ mẫu, nuôi tế bào (100 μL) được chuyển sang đĩa 96 mới và sau đó thêm 100 μL thuốc thử Griess. Thuốc thử được chuẩn bị bằng cách lấy 50 μL sulfanilamide có hàm lượng 1% (w/v) hoàn tan trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 μL 0,1% (w/v)

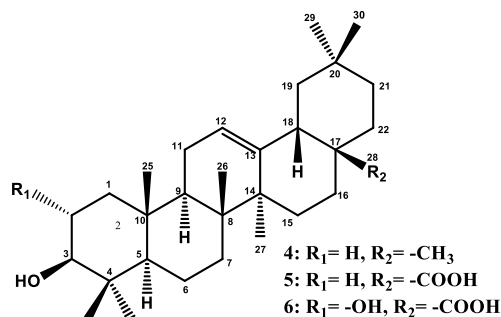
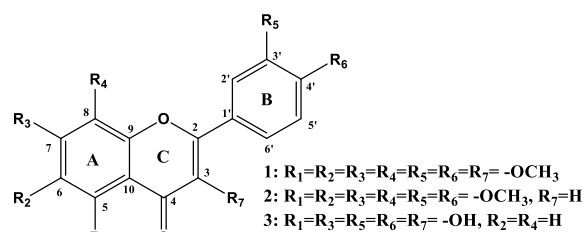
N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride trong dung môi nước. Hỗn hợp này được ủ trong 10 phút tiếp theo ở nhiệt độ phòng. Máy microplate reader được sử dụng để hàm lượng nitrite ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM

không chứa FBS được sử dụng làm mẫu trắng. Thành phần nitrite của từng mẫu được xác định bằng đồ thị đường chuẩn NaNO_2 và % so sánh với mẫu chứng âm (LPS). Ước chế giải phóng NO được xác định bởi công thức:

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - \left(\frac{\text{hàm lượng NO}_{\text{sample}}}{\text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}} \right) \times 100$$

Mỗi mẫu thử làm 3 lần. Phần mềm TableCurve 2Dv4 được sử dụng để xác định giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) [9].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN



Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất 1-6

Hợp chất 1: dạng bột màu vàng nhạt. Phổ ^1H NMR hợp chất 1 không có proton thơm ở vòng A và có sự methoxy hóa ở δ_{H} 3,94, 4,00, 4,09, 3,97 (12H, s, 5-OCH₃, 6-OCH₃, 7-OCH₃, 8-OCH₃) và δ_{H} 3,89 (3H, s, 3-OCH₃) của vòng C. Trên vòng B xuất hiện các tín hiệu proton hệ ABX gồm ba proton tại δ_{H} 7,81 (1H; 2,0; H-2'); 7,01 (1H; d; 9,0, H-5') và 7,84 (1H; dd; 9,0; 2,0; H-6') của vị trí meta và ortho kiểu flavonoid 3',4'-methoxy hóa và nhóm methoxy xuất hiện tại δ_{H} 3,97 (6H, s, 3'-OCH₃, 4'-OCH₃). Phổ ^{13}C NMR của 1 cho các tín hiệu 22 carbon, gồm 1 C=O tại δ_{C} 173,9 (C-4), chín carbon bậc 3 mang oxygen ở δ_{C} 153,1 (C-2), 140,8 (C-3), 143,9 (C-5), 137,9 (C-6), 151,3 (C-7), 147,9 (C-8),

148,9 (C-9), 148,8 (C-3') và 151,1 (C-4'); hai carbon tứ cấp ở δ_C 123,5 (C-1'), 114,6 (C-10), ba carbon olefin tại δ_C 111,0 (C-2'), 111,1 (C-5'), 122,0 (C-6'). Dữ liệu phổ 1D-NMR cho thấy **1** là dẫn xuất flavone với 7 nhóm thế. Phân tích phổ HMBC hợp chất **1** xác nhận proton của 7 nhóm methoxy ở 3-OCH₃, 5-OCH₃, 6-OCH₃, 7-OCH₃, 8-OCH₃, 3'-OCH₃ và 4'-OCH₃ tương quan với carbon bậc 3 thơm mang oxygen ở δ_C 140,8 (3-OCH₃), δ_C 143,8 (5-OCH₃), δ_C 137,9 (6-OCH₃), δ_C 151,3 (7-OCH₃), δ_C 147,8 (8-OCH₃), δ_C 148,8 (3'-OCH₃) và δ_C 151,1 (4'-OCH₃) khẳng định các nhóm methoxy này gắn vào C-3, C-5, C-6, C-7, C-8, C-3' và C-4'. So sánh với tài liệu [10] xác định hợp chất **1** là **3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone**.

Hợp chất 2: dạng bột màu vàng nhạt. Phổ NMR của **2** gần tương tự với **1**, tuy nhiên trong **2** xuất hiện tín hiệu nhóm methine tại δ_H 6,63 (1H; s; H-3)/ δ_C 106,7 (C-3) thay cho carbon bậc ba mang oxygen trong hợp chất **1**. Các nhóm methoxyl gắn lần lượt vào C-5, C-6, C-7, C-8, C-3', C-4' do có tương tác HMBC của các proton ở δ_H 3,95 (3H; s; 5-OMe); 4,02 (3H; s; 6-OMe); 4,10 (3H; s; 7-OMe); 3,96 (3H; s; 8-OMe); 3,98 (1H; s; 3'-OMe); 3,95 (3H; s; 4'-OMe) với các carbon tương ứng. Các dữ kiện phổ NMR của hợp chất **2** hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ của nobiletin [10]. Vậy hợp chất **2** là **nobiletin**.

Hợp chất 3: dạng bột màu vàng. Phổ ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) của **3** hoàn toàn chỉ xuất hiện 5 tín hiệu có độ dịch chuyển hoá học trong khoảng δ_H 6,18-7,67 ppm tương ứng với 5 proton của vòng thơm. Phân tích kỹ phổ ¹H NMR có thể thấy sự có mặt của hai proton tại δ_H 6,18 (d, 2,0, H-6) và δ_H 6,40 (d, 2,0, H-8) trên vòng A với hằng số tương tác J = 2.0 Hz, chứng tỏ rằng chúng nằm ở vị trí *meta* với nhau. Tương tác hệ ABX trên phổ này tương ứng với các proton ở δ_H 6,88 (1H, d, 8,0), 7,54 (1H, dd, 8,0, 2,0) và 7,67 (1H, d, 2,0) cho thấy vòng B đã có thêm 2 nhóm thế không đối xứng. Phổ ¹³C NMR của **3** xuất hiện 15 tín hiệu carbon của khung flavonol gồm 5 nhóm methine ở δ_C 93,3 (C-8), 98,1 (C-6), 115,0 (C-2'), 115,5 (C-5'), 119,9 (C-6'), 7 carbon tứ cấp mang oxygen ở δ_C 146,7 (C-2), 135,6 (C-3), 160,6 (C-5), 163,8 (C-7), 156,0 (C-9), 145,0 (C-2'), 147,6 (C-3'), hai

carbon bậc bốn xuất hiện ở 102,9 (C-10), 121,9 (C-1') và một nhóm carbonyl ở 175,7 (C-4). Từ dữ liệu phổ nghiệm và so sánh với tài liệu tham khảo [11] hợp chất **3** xác định là **quercetin**.

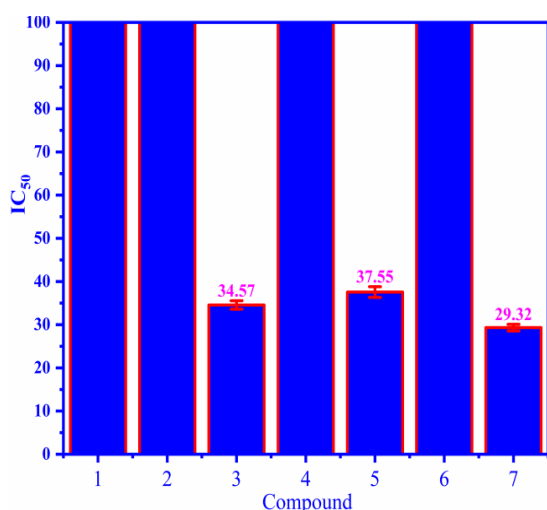
Hợp chất 4: dạng bột màu trắng. Phổ ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, δ ppm) của **4** cho các tín hiệu của 1 proton carbinol >CH-OH ở δ_H 3,23 (1H, dd, 11,4, 4,8, H-3), proton nối đôi ba lần thế =CH- tại δ_H 5,18 (1H, t, 3,6, H-12), 8 nhóm -CH₃ ở δ_H 0,79 (3H, s, H-23); 0,99 (3H, s, H-24); 0,75 (3H, s, H-25); 0,97 (3H, s, H-26); 1,12 (3H, s, H-27); 0,83 (3H, s, H-28); 0,88 (3H, s, H-29) và 0,87 (3H, s, H-30) ở vùng trường cao, 3 nhóm -CH và 10 nhóm -CH₂ ở δ_H 0,72-2,99 ppm. Phổ ¹³C NMR và HSQC của **4** có 30 carbon gồm 1 carbon >CH-OH ở δ_C 79,0 (C-3), 1 carbon =CH- δ_C 121,6 (C-12), 1 carbon =C< δ_C 145,2 (C-13), 8 carbon -CH₃ δ_C 28,1 (C-23); 15,5 (C-24); 15,6 (C-25); 16,8 (C-26); 25,7 (C-27); 28,4 (C-28), 33,3 (C-29) và 23,7 (C-30), ngoài ra còn các tín hiệu của 10 carbon methylene, 3 carbon methine và 6 carbon bậc bốn từ 18,3-55,2 ppm. Proton của methyl H-23 và H-24 cho tương quan với nhau (H-23 ở δ_H 0,79 với C-24 và H-24 ở δ_H 0,99 với C-23), và cùng tương tác với carbon bậc bốn có δ_C 38,9 (C-4), carbon methine ở δ_C 55,2 (C-5) và carbon carbinol tại δ_C 79,0 trên phổ HMBC khẳng định nhóm -OH gắn vào carbon C-3. Ngoài ra nhóm -CH₃ ở H-29 và H-30 cho tương quan với nhau, và tương tác với carbon bậc bốn (C-20), carbon methylene (C-19) và 34,7 (C-21) xác định được 2 nhóm methyl cùng nối vào carbon (C-20). Proton ở H-26 cho tương tác với carbon C-14, C-8, C-9 và C-7. Proton ở H-27 lại cho tương tác C-13, C-15, đồng thời proton olefin ở δ_H 5,18 cũng cho tương quan C-14, C-9 và carbon methine C-18 cho thấy nối đôi phải ở vị trí C-12/C-13 của hợp chất oleanane-12-en. Proton H-25 cho tương quan với C-10, C-9, C-5 và carbon methylene ở δ_C 38,7 (C-1) xác nhận nhóm methyl này gắn vào C-10. Nhóm methyl C-28 nối vào C-17 do tương tác của proton methyl H-28 với C-17, C-18, C-22. Từ các dữ liệu phổ NMR, hợp chất **4** là **β -amyrin** [12].

Hợp chất 5: dạng bột màu trắng. Số liệu phổ NMR của **5** gần giống **4**, tuy nhiên hợp chất **5** không xuất hiện tín hiệu nhóm -CH₃ ở δ_H 0,83 (3H, s, H-28)/ δ_C 28,4 (C-28) thay vào đó xuất hiện tín hiệu nhóm

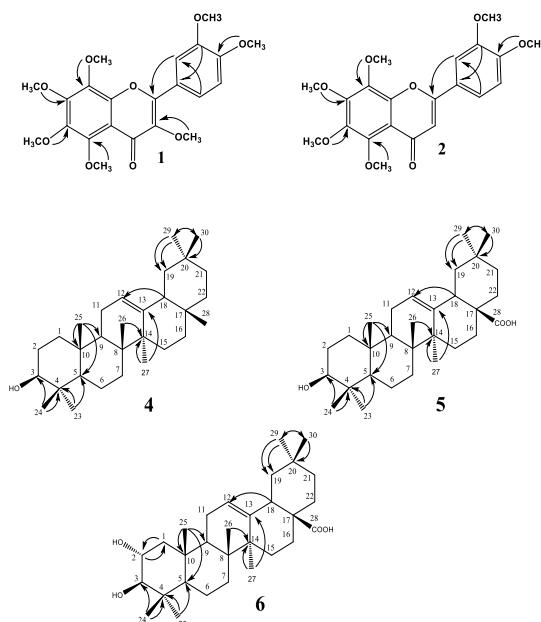
carboxylic acid tại δ_C 181,5 (C-28) thay cho nhóm methyl trong **4**. Tương tác HMBC cho thấy hai nhóm methyl C-23 và C-24 cho tương quan với nhau (H-23 với C-24 và H-24 với C-23), đồng thời cho tương quan với 3 carbon C-4, C-5 và carbon carbinol ở δ_C 79,0 (C-3) xác nhận nhóm -OH gắn vào carbon C-3. Tín hiệu δ_H 3,24 (H-3) có dạng dd ($J = 10,8, 4,2$ Hz) chứng tỏ H-3 phải ở vị trí axial, nhóm OH ở equatorial trong cấu dạng ghế của vòng cyclohexane. Vì vậy, H-3 có cấu hình α hoặc nhóm -OH ở vị trí C-3 có cấu hình β . Hợp chất **5** chính là **oleanolic acid** [13].

Hợp chất 6: dạng bột màu trắng. Các dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$, ^{13}C NMR của **6** gần giống với **5**, tuy nhiên trong hợp chất **6** xuất hiện nhóm -CH₂OH tại δ_H 3,60 (1H, m, H-2) và δ_C 84,1 thay cho nhóm methylene của **5**. Vị trí hai nhóm hydroxy ở C-2 và C-3 do có tương tác của nhóm methyl H-23 và H-24 với carbon carbinol ở δ_C 84,1, ngoài ra trên phổ HMBC còn cho thấy proton methylene tại δ_H 1,89 (m, H-1) cùng tương tác hai carbon oxymethine ở δ_C 68,9 và 84,1, do đó carbon ở δ_C 68,9 là C-2 và carbon tại δ_C 84,1 sẽ là C-3. Chi tiết tương tác xa HMBC trình bày cụ thể trong hình 2. Từ dữ liệu phổ NMR và so sánh tài liệu [14] xác định **6** là **maslinic acid**.

Sáu hợp chất phân lập tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7, kết quả trình bày hình 1



Hình 1. Khả năng ức chế giải phóng NO của các hợp chất phân lập



Hình 2. Tương tác HMBC chính của 1, 2, 4-6

7: L-NMMA (chứng dương)

4. KẾT LUẬN

Từ cao CH₂Cl₂ bước đầu 6 hợp chất: 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone (**1**), nobiletin (**2**), quercetin (**3**), β -amyrin (**4**), oleanolic acid (**5**) và maslinic acid (**6**) được xác định cấu trúc. Lần đầu công bố tất cả các hợp chất từ loài nghiên cứu. Hoạt tính kháng viêm được đánh giá, các hợp chất **3**, **5**, cho hoạt tính kháng viêm ức chế sản sinh NO với IC₅₀ 34,57, 35,55 μM tương ứng, tương đương chất đối chứng dương L-NMMA với IC₅₀ 29,32 μM .

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.01-2018.353.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Pranom C, (2015). A synopsis of *Mussaenda* L. (Rubiaceae) in Thailand. *Thai for. Bull. (Bot.)*, **43**, 51-65.
- [2] Phạm Hoàng Hộ, (2000). Cây cỏ Việt Nam, quyển III.
- [3] Gunasekaran, Shoba S, (2015). Mythili Sathiavelu and Sathiavelu Arunachalam, The genus *Mussaenda*: A phytopharmacological review. *J. Chem. Pharm. Res*, **7**(7), 1037-1042.

- [4] Vidyalakshmi K.S, Hannah R.V, Rajamanickam G.V, (2008). Phytochemistry and Pharmacology of *Mussaenda* Species (Rubiaceae). *Ethnobotanical Leaflets*, **12**, 469-475.
- [5] Chowdury M, Alam M, Chowdhury S, Biozid M, Faruk M, Mazumdar M, (2015). Evaluation of ex-vivo antiarthritic, anti-inflammatory, anticancerous and thrombolytic activities of *Mussaenda roxburghii* leaf. *Eur. J. Med, Plants*, **10**, 1-7.
- [6] Zhao W.M, Wolfender I.L, Hostettmann K, Cheng K, Xu R.S, Qin G.W, (1997). Triterpenes and triterpenoid saponins from *Mussaenda pubescens*. *Phytochemistry*, **45**, 1073-1078.
- [7] Kim N.C, Desjardins A.E, Wu C.D, Kinghorn A.D, (1999). Activity of Triterpenoid Glycosides from the Root Bark of *Mussaenda macrophylla* against Two Oral Pathogens. *J. Nat. Prod*, **62**, 1379-1384.
- [8] Zhao W.M, Xu J.P, Qin G.W, Xu R.S, (1995). Saponins from *Mussaenda pubescens*. *Phytochemistry*, **39**, 191-193.
- [9] Cheenpracha S, Park E.J, Rostama B, Pezzuto J.M, Chang L.C, (2010). Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesterterpene peroxide, epimuquibilin. *A. Marine Drugs*, **8(3)**, 429-437.
- [10] Jie C, Antonio M. Montanari, and Wilbur W. Widmer, (1997). Two New Polymethoxylated Flavones, a Class of Compounds with Potential Anticancer Activity, Isolated from Cold Pressed Dancy Tangerine Peel Oil Solids. *J. Agric. Food Chem*, **45**, 364-368.
- [11] Aderogba M.A, Ogundaini A. O, and Eloff J.N, (2006). Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurz) leaves and their antioxidative effects. *Afr. J. Trad. Cam*, **3(4)**, 59-65.
- [12] Tran Duc Viet, Tran Dang Xuan and La Hoang Anh, (2021). α -Amyrin and β -Amyrin Isolated from *Celastrus hindsii* Leaves and Their Antioxidant, Anti-Xanthine Oxidase, and Anti-Tyrosinase Potentials. *Molecules*, **26**, 7248.
- [13] Zuhail G, Hilal O, Ayse K, Cavit K, Demirezer L. O, (2009). Secondary metabolites from *Nepeta heliotropifolia*. *Turk. J. Chem*, **33**, 667-675.
- [14] Kyeong W.W, Ji Y.H, Sang U.C, Ki H.K, and Kang R.L, (2014). Triterpenes from *Perilla frutescens* var. *acuta* and Their Cytotoxic Activity. *Natural Product Sciences*, **20(2)**, 71-75.