

MỘT SỐ HỢP CHẤT FLAVONOID GLYCOSIDE PHÂN LẬP TỪ LÁ CÂY KEO TAI TƯỢNG (ACACIA MANGIUM)

Đến tòa soạn 16-02-2024

Nguyễn Văn Phương^{1,2}, Nguyễn Thu Uyên¹, Đỗ Hoàng Giang¹,
Nguyễn Thị Thu Minh¹, Hoàng Thùy Dương¹, Bùi Thị Nhật Lệ¹, Lưu Hải Nhi¹,
Lê Thị Phương Quỳnh^{1,3}, Nguyễn Tiến Đạt^{1,2*}

1. Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
2. Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
3. Viện Hóa học hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

*Email: ngtiend@gmail.com

SUMMARY

FLAVONOID GLYCOSIDES FROM LEAVES OF ACACIA MANGIUM

In this research, for the first time were six flavonoid glycosides isolated from the methanol extract of *Acacia mangium* leaves by chromatography methods. Based on the data of MS and NMR spectral analysis combined with the comparison with reported spectral data, structures of these compounds were elucidated and they were respectively kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside, afzelin, quercitrin, astragalin and isoquercetin.

Keywords: *Acacia mangium*, flavonoid glycoside, kaempferol, quercetin.

1. GIỚI THIỆU

Cây keo tai tượng có tên khoa học là *Acacia mangium* (hay *A. mangium*) thuộc chi *Acacia*, là một cây thân gỗ quan trọng phân bố ở nhiều nơi trên thế giới như: châu Á, châu Phi và một số nước châu Âu [1]. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất được phân lập từ các loài thuộc chi *Acacia* nhận được nhiều sự quan tâm từ các nhà nghiên cứu trên thế giới. Các hợp chất phân lập từ chi *Acacia* đa dạng về nhóm chất (flavonoid, terpenoid, tannin, alkaloid...) và hoạt tính được thử nghiệm (kháng khuẩn, kháng nấm, giảm đau, chống sốt rét...) [2-3]. Trong đó, các hợp chất flavonoid phân lập từ chi *Acacia* thể hiện một số hoạt tính đã chú ý như chống oxi hóa, chống ung thư, kháng

khẩn, kháng viêm và gây độc tế bào [3]... Kết quả của nghiên cứu trước đây cũng cho thấy cao chiết ethanol của lá keo tai tượng chứa hàm lượng flavonoid tổng số lớn hơn [4] đồng thời cũng thể hiện các hoạt tính chống oxi hóa, kháng nấm và gây đột biến đáng kể [5] khi so sánh với các loại khác thuộc chi này. Mặc dù vậy, thành phần hóa học của lá keo tai tượng chưa được nghiên cứu rộng rãi, đồng thời chưa có bất kì nghiên cứu nào tập trung vào các hợp chất flavonoid glycoside phân lập từ lá của loài này.

Vì vậy trong nghiên cứu này, sáu hợp chất flavonoid glycoside lần đầu được phân lập từ lá keo tai tượng (*A. mangium*) và cấu trúc của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu lá cây keo tai tượng (*Acacia mangium* hay *A. mangium*) được thu hái tại Hòa Lạc, Thạch Thất vào tháng 06 năm 2020, được định danh bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (TN2020A06) được lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu về nông dược, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, VAST.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Sắc kí lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn (60 F254, Merck). Phát hiện chất dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm hoặc 368 nm và phun thuốc thử sulfuric acid 10%, vanillin 10% và ceri sulfate, sấy bản mỏng ở 105° C đến khi các vết hiện rõ. Pha tĩnh dùng trong sắc kí cột (CC) gồm silicagel pha thường (230-400 mesh ASTM, Merck), silicagel pha đảo (YMC Gel ODS-A), RP-18.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được phân tích trên hệ thống Bruker AvanceNEO 600 MHz (chất chuẩn nội là TMS - Tetramethyl Sillane) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Khối phổ phun mù điện (ESI-MS) được đo trên hệ thống Thermo LCQ Fleet (Thermo Scientific, Hoa Kỳ).

2.3. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

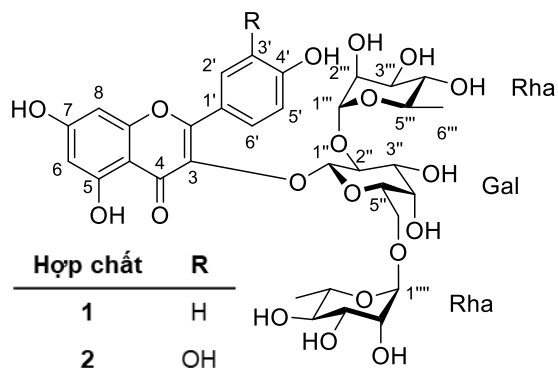
Lá keo tai tượng (kí hiệu: AMa) được rửa sạch và phơi khô thu được 2,5 kg mẫu khô. Toàn bộ mẫu được nghiền nhỏ rồi được ngâm chiết với dung môi methanol (6 lít × 3 lần) thu được 254,8 g cao methanol thô. Cao chiết methanol trên được hòa tan trong nước rồi chiết phân lớp với lần lượt các dung môi hữu cơ (*n*-hexane và ethyl acetate) thu được cao chiết *n*-hexane (8,7 g), cao chiết ethyl acetate (25,8 g) và dịch nước.

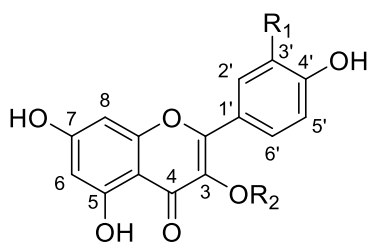
Phần dịch nước được phân tách trên cột sắc kí Diaion HP-20 rửa giải lần lượt với nước, methanol 25% và methanol 100% thu được 3 phân đoạn tương ứng là M0, M25 và M100. Tiếp tục tiến hành

sắc kí cột với pha tĩnh là silica gel và pha động là hỗn hợp dichloromethane/methanol/nước (30/1/0,05 – 1/1/0,05, v/v/v) với phân đoạn M100 thì thu được 11 phân đoạn được kí hiệu lần lượt từ M100.1 đến M100.11. Phân đoạn M100.1 được phân tách trên cột sắc kí RP-C18 và rửa giải với hệ dung môi gồm methanol và nước (1/1, v/v) thu được chất sạch **1** (4,0 mg). Phân đoạn M100.5 được phân tách trên cột sắc kí với pha tĩnh là silica gel và pha động là dichloromethane/acetone (2/1, v/v) sau đó tinh chế lại trên cột sắc kí RP- 18 rửa giải bằng hệ dung môi methanol/nước (1/1, v/v) thì thu được chất sạch **2** (5,5 mg).

Tiến hành phân tách cao chiết ethyl acetate trên cột sắc kí silicagel với gradient dung môi *n*-hexane/acetone (50/1– 1/1, v/v) thu được 9 phân đoạn ký hiệu lần lượt từ E1 – E9. Phân đoạn E2 được phân tích trên cột sắc kí silicagel rửa giải với gradient dung môi ethyl acetate/methanol (10/1 – 1/1, v/v) phân lập được 2 chất sạch là **3** (5,8 mg) và **4** (6,8 mg). Từ phân đoạn E4, hợp chất **5** (7.2 mg) được phân lập bằng cách phân tách trên cột sắc kí silicagel và rửa giải bằng hệ dung môi gồm dichloromethane/ methanol/nước (8/1/0,05, v/v). Hợp chất **6** (7,4 mg) được phân tách từ phân đoạn E5 trên cột sắc kí với pha tĩnh là silica gel và rửa giải bằng pha động gồm dichloromethane và ethyl acetate (2/1, v/v).

Từ cao chiết methanol của lá keo tai tượng, sáu hợp chất đã phân lập (kí hiệu lần lượt từ **1** đến **6**) (Hình 1) và cấu trúc của chúng được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều tương ứng.





Hợp chất	R ₁	R ₂
3	H	Rha
4	OH	Rha
5	H	Glc
6	OH	Glc

Hình 1. Cấu trúc hóa học của 6 flavonoid glycoside phân lập từ lá keo tai tượng

2.4. Thông số vật lý của các hợp chất

Kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (1): Chất rắn dạng bột vô định hình màu trắng, ESI-MS m/z 741,22 $[M + H]^+$, CTPT C₃₃H₄₀O₁₉

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 6,20 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-6), 6,39 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-8), 8,08 (2H, d, J = 9,0 Hz, H-2' và 6'), 6,92 (2H, d, J = 9,0 Hz, H-3' và 5'), 5,62 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-1"), 3,95 (1H, dd, J = 9,6; 7,8 Hz, H-2"), 3,73 (1H, m, H-3"), 3,52 (1H, dd, J = 7,8; 3,5 Hz, H-4"), 3,66 (1H, t, J = 6,0 Hz, H-5"), 3,47 (1H, dd, J = 10,2; 7,2 Hz, H-6a"), 3,79 (1H, d, J = 3,0 Hz, H-6b"), 5,24 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-1""), 4,02 (1H, dd, J = 3,6; 1,8 Hz, H-2""), 3,82 (1H, dd, J = 9,6; 3,0 Hz, H-3""), 3,36 (1H, t, J = 10,2 Hz, H-4""), 4,10 (1H, dq, J = 9,6; 6,0 Hz, H-5""), 1,01 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-6""), 4,55 (1H, d, J = 1,2 Hz, H-1""), 3,60 (1H, dd, J = 3,6; 1,8 Hz, H-2""), 3,53 (1H, m, H-3""), 3,29 (1H, t, J = 9,6 Hz, H-4""), 3,56 (1H, m, H-5""), 1,20 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-6"").

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ 158,4 (C-2), 134,4 (C-3), 179,4 (C-4), 161,3 (C-5), 101,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 158,7 (C-9), 105,8 (C-10), 123,1 (C-1'), 132,2 (C-2'), 116,2 (C-3'), 161,3 (C-4'), 116,2 (C-5'), 132,2 (C-6'), 102,6 (C-1"), 77,6 (C-2"), 75,7 (C-3"), 70,7 (C-4"), 75,7 (C-5"), 67,1 (C-6"), 100,8 (C-1""), 72,3 (C-2""), 72,4 (C-3""), 73,9 (C-4""), 69,8 (C-5""), 17,9 (C-6""), 101,8 (C-1""), 72,1 (C-2""), 72,3 (C-3""), 73,8 (C-4""), 69,7

(C-5""), 17,5 (C-6"").

Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (2): Tinh thể trong suốt hình kim, ESI-MS m/z 757,21 $[M + H]^+$, CTPT C₃₃H₄₀O₂₀

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 6,21 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-6), 6,40 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-8), 7,72 (2H, d, J = 9,0 Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, J = 9,6 Hz, H-5'), 7,59 (1H, dd, J = 9,6; 1,8 Hz, H-6'), 5,68 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-1"), 3,97 (1H, dd, J = 9,6; 7,8 Hz, H-2"), 3,73 (1H, d, J = 3,6 Hz, H-3"), 3,52 (1H, d, J = 3,0 Hz, H-4"), 3,69 (1H, t, J = 6,0 Hz, H-5"), 3,50 (1H, dd, J = 10,2; 6,6 Hz, H-6a"), 3,79 (1H, dd, J = 6,0; 4,8 Hz, H-6b"), 5,23 (1H, s, H-1""), 4,02 (1H, dd, J = 3,0; 1,8 Hz, H-2""), 3,80 (1H, d, J = 3,6 Hz, H-3""), 3,36 (1H, d, J = 9,0 Hz, H-4""), 4,07 (1H, m, H-5""), 0,98 (1H, d, J = 6,6 Hz, H-6""), 4,57 (1H, d, J = 1,2 Hz, H-1""), 3,60 (1H, dd, J = 3,6; 1,8 Hz, H-2""), 3,53 (1H, m, H-3""), 3,29 (1H, t, J = 9,0 Hz, H-4""), 3,56 (1H, m, H-5""), 1,20 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-6"").

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ 158,4 (C-2), 134,6 (C-3), 179,4 (C-4), 163,2 (C-5), 99,7 (C-6), 165,6 (C-7), 94,6 (C-8), 158,5 (C-9), 105,9 (C-10), 123,1 (C-1'), 116,2 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,6 (C-4'), 116,2 (C-5'), 123,1 (C-6'), 102,6 (C-1"), 77,5 (C-2"), 75,7 (C-3"), 70,9 (C-4"), 75,3 (C-5"), 67,1 (C-6"), 101,1 (C-1""), 72,3 (C-2""), 72,4 (C-3""), 73,9 (C-4""), 69,9 (C-5""), 18,0 (C-6""), 101,9 (C-1""), 72,1 (C-2""), 72,3 (C-3""), 73,9 (C-4""), 69,7 (C-5""), 17,4 (C-6"").

Afzelin (3): Chất rắn dạng bột vô định hình màu vàng, ESI-MS m/z 433,11 $[M + H]^+$, CTPT C₂₁H₂₀O₁₀

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 6,23 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-6), 6,40 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-8), 7,79 (2H, d, J = 10,8 Hz, H-2', 6'), 6,96 (2H, d, J = 10,8 Hz, H-3', 5'), 5,40 (1H, d, J = 1,2 Hz, H-1"), 4,24 (1H, dd, J = 4,2; 1,8 Hz, H-2"), 3,78 (H, dd, J = 9,6; 3,6 Hz, H-3"), 3,36 (1H, m, H-4"), 3,36 (H, m, H-5"), 0,95 (3H, d, J = 6,6 Hz, H-6").

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ 158,7 (C-2), 136,2 (C-3), 179,4 (C-4), 163,4 (C-5), 100,1 (C-6), 166,7 (C-7), 94,9 (C-8), 159,2 (C-9), 105,7 (C-10), 122,6 (C-1'), 131,9 (C-2', C-6'), 116,5 (C-3', C-5'),

161,6 (C-4'), 103,5 (C-1''), (C-2''), 72,0 (C-3''), 73,2 (C-4''), 72,1 71,9 (C-5''), 17,7 (C-6'').

Quercitrin (4): Chất rắn dạng bột vô định hình màu vàng, ESI-MS m/z 449,10 $[M + H]^+$, CTPT: $C_{21}H_{20}O_{11}$

1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,21 (1H, brs, H-6), 6,38 (1H, brs, H-8), 7,36 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2'), 7,32 (1H, dd, $J = 8,4; 1,8$ Hz, H-5'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), 5,37 (1H, brs, H-1''), 3,78 (1H, dd, $J = 9,6; 4,2$ Hz, H-2''), 3,44 (1H, m, H-3''), 3,37 (1H, m, H-4''), 3,32 (1H, m, H-5''), 0,96 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'').

^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 158,5 (C-2), 136,2 (C-3), 179,6 (C-4), 163,2 (C-5), 99,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 159,3 (C-9), 105,9 (C-10), 123,0 (C-1'), 116,4 (C-2'), 146,3 (C-3'), 149,7 (C-4'), 117,0 (C-5'), 122,9 (C-6'), 103,5 (C-1''), 72,0 (C-2''), 72,1 (C-3''), 73,3 (C-4''), 71,9 (C-5''), 17,6 (C-6'').

Astragalin (5): Chất rắn dạng bột vô định hình, màu vàng, ESI-MS m/z 449,10 $[M + H]^+$, CTPT $C_{21}H_{20}O_{11}$

1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,60 (1H, brs, H-6), 6,50 (1H, brs, H-8), 7,85 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2', 6'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3', 5'), 5,23 (1H, brs, H-1''), 3,78 (1H, dd, $J = 8,4; 3,6$ Hz, H-2''), 3,61 (1H, m, H-3''), 3,86 (1H, m, H-4''), 3,57 (1H, m, H-5''), 3,88 (1H, m, H-6''a), 3,73 (1H, m, H-6''b).

^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 157,5 (C-2), 136,3 (C-3), 179,6 (C-4), 163,7 (C-5), 102,4 (C-6), 165,0 (C-7), 94,2 (C-8), 157,3 (C-9), 103,9 (C-10), 117,3 (C-1'), 127,9 (C-2' và 6'), 115,7 (C-3' và 5'), 161,4 (C-4'), 101,5 (C-1''), 74,5 (C-2''), 77,0 (C-3''), 70,7 (C-4''), 79,9 (C-5''), 61,6 (C-6'').

Isoquercetin (6): Chất rắn dạng bột vô định hình màu trắng, ESI-MS m/z 465,10 $[M+H]^+$, CTPT $C_{21}H_{20}O_{12}$

1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,21 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8), 7,73 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,58 (1H, dd, $J = 8,4; 2,4$ Hz, H-5'), 6,84 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), 5,46 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 3,28 (1H, m, H-2''), 3,21 (1H, m, H-3''), 3,08 (1H, m, H-4''), 3,00 (1H, m, H-5''),

3,31 (1H, br d, $J = 11,4$ Hz, H-6''a), 3,58 (1H, br d, $J = 11,4$ Hz, H-6''b).

^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 156,2 (C-2), 133,2 (C-3), 177,6 (C-4), 161,5 (C-5), 98,8 (C-6), 164,8 (C-7), 93,7 (C-8), 156,3 (C-9), 103,9 (C-10), 121,0 (C-1'), 116,4 (C-2'), 144,3 (C-3'), 148,7 (C-4'), 121,4 (C-5'), 115,2 (C-6'), 100,5 (C-1''), 74,0 (C-2''), 76,5 (C-3''), 69,9 (C-4''), 77,9 (C-5''), 61,0 (C-6'').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phổ ESI-MS của hợp chất **1** cho tín hiệu m/z 741,22 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **1** $C_{33}H_{40}O_{19}$. Cấu trúc của hợp chất **1** được xác định dựa trên dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều của hợp chất. Dữ liệu phổ 1D NMR của **1** đã gợi ý cho cấu trúc của một flavonoid glycoside với hai vùng tín hiệu riêng biệt của sáu proton thơm của hợp phần flavonoid aglycol (với δ_H trong khoảng từ 6,2 đến 8,1) và các tín hiệu đặc trưng của proton thuộc hợp phần glycol (với δ_H trong khoảng từ 1,0 đến 5,3). Sáu tín hiệu proton của hai hệ vòng thơm bao gồm hai proton thơm ở vị trí *meta* có δ_H tại 6,20 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6) và 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8) và tín hiệu của bốn proton đặc trưng của hệ vòng thơm hệ A_2B_2 có δ_H tại 8,08 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và 6') và 6,92 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và 5') đã gợi ý cho sự có mặt kaempferol là hợp phần aglycol trong cấu trúc của hợp chất **1**. Độ chuyển dịch của các nguyên tử carbon trên phổ ^{13}C -NMR cũng cho thấy sự tương đồng lớn với các tín hiệu của kaempferol [6] với δ_C tại 158,4 (C-2), 134,4 (C-3), 179,4 (C-4), 161,3 (C-5), 101,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 158,7 (C-9), 105,8 (C-10), 123,1 (C-1'), 132,2 (C-2'), 116,2 (C-3'), 161,3 (C-4'), 116,2 (C-5'), 132,2 (C-6'), trừ độ chuyển dịch của nguyên tử carbon ở vị trí C-2 và C-3. Tín hiệu của hai nguyên tử carbon ở vị trí này tương tự với các nghiên cứu trước đây [7] khi nhóm 3-hydroxy bị glycosyl hóa. Tín hiệu của 3 proton anome cũng dễ dàng được phát hiện trên dữ liệu phổ NMR của hợp chất với δ_H tại 5,62 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 5,24 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-1''') và 4,55 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''') và tín hiệu của các nguyên tử carbon tương ứng được xác định nhờ dữ liệu phổ HSQC với δ_C lần lượt tại 102,6 (C-1''), 100,8 (C-1''') và

101,8 (C-1'''). Thêm vào đó, tương tác của proton và carbon trên phổ HMBC cho phép xác định vị trí liên kết giữa đơn vị triglycoside với hợp phần aglycone và liên kết giữa các đơn vị glycoside: tương tác giữa proton anome của galactose (H-1'') với C-3 của kaempferol, tương tác giữa proton anome của nhóm rhamnose (H-1''') với C-2'' của galactose, proton anome của rhamnose (H-1''''') với C-6'' của galactose. Dựa trên các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** kết hợp với dữ liệu phổ đã công bố của kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl (1-2)]-O- β -D-galactopyranoside [8], ta thấy sự tương đồng lớn giữa hai hợp chất này. Từ đó, hợp chất **1** được xác định là kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside.

Công thức phân tử của hợp chất **3** là $C_{21}H_{20}O_{10}$ được xác định dựa trên tín hiệu m/z 433,11 $[M + H]^+$ kết hợp với phổ 1D NMR của hợp chất. Phổ 1H -NMR của **3** cũng xuất hiện 6 tín hiệu proton thơm đặc trưng của hợp chất kaempferol tại δ_H 6,23 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8), 7,79 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-2', 6'), 6,96 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-3', 5') tương tự như hợp chất **1** và các tín hiệu proton của ở vùng tín hiệu của hợp phần glycol với δ_H tại 5,40 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''), 4,24 (1H, dd, $J = 4,2; 1,8$ Hz, H-2''), 3,78 (H, dd, $J = 9,6; 3,6$ Hz, H-3''), 3,36 (1H, m, H-4''), 3,36 (H, m, H-5''), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-6''). Tín hiệu của các nguyên tử carbon thuộc hợp phần aglycol được xác định dựa trên tương tác trên phổ HSQC của hợp chất, bao gồm δ_C tại 158,7 (C-2), 136,2 (C-3), 179,4 (C-4), 163,4 (C-5), 100,1 (C-6), 166,7 (C-7), 94,9 (C-8), 159,2 (C-9), 105,7 (C-10), 122,6 (C-1'), 131,9 (C-2', C-6'), 116,5 (C-3', C-5'), 161,6 (C-4'). Tuy nhiên dữ liệu phổ của hợp chất **3** chỉ có một tín hiệu proton anomer xuất hiện tại δ_H 5,40 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1'') thay vì ba proton anomer như hợp chất **1**. Do đó hợp chất **3** được xác định là dẫn xuất monoglycoside của kaempferol. Ngoài ra, tín hiệu của sáu nguyên tử carbon thuộc hợp phần rhamnopyranose được quy kết trên phổ ^{13}C -NMR trong đó δ_C tại 103,5 (C-1'') được quy kết là tín hiệu của carbon anomer và các tín hiệu của 5 nguyên tử carbon còn lại gồm (C-2''), 72,0 (C-3''), 73,2 (C-4''), 72,1 71,9 (C-5''), 17,7 (C-

6''). Kết quả biện luận phổ trên đã giúp xác định hợp chất **3** bao gồm kaempferol là hợp phần flavonoid aglycol và hợp phần glycol là rhamnopyranose. Vị trí liên kết giữa gốc α -L-rhamnopyranoside và kaempferol được xác định ở vị trí C-3 dựa trên tương tác giữa proton anomer H-1'' với C-3 trên phổ HMBC của hợp chất **3**. So sánh với dữ liệu phổ đã công bố [9], hợp chất **3** được xác định là afzelin.

Phổ ESI-MS của hợp chất **5** cho tín hiệu m/z 449,10 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **5** $C_{21}H_{20}O_{11}$. Phổ 1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **5** cho phép xác định hợp chất này là một dẫn xuất kaempferol-O-monoglycoside với các tín hiệu proton và carbon đặc trưng của hợp phần aglycol tương ứng với δ_H tại 6,60 (1H, brs, H-6), 6,50 (1H, brs, H-8), 7,85 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2', 6'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3', 5') và δ_C tại 157,5 (C-2), 136,3 (C-3), 179,6 (C-4), 163,7 (C-5), 102,4 (C-6), 165,0 (C-7), 94,2 (C-8), 157,3 (C-9), 103,9 (C-10), 117,3 (C-1'), 127,9 (C-2' và 6'), 115,7 (C-3' và 5'), 161,4 (C-4') tương tự như hợp chất **3**. Ngoài ra, các tín hiệu trên phổ 1H và ^{13}C -NMR và tương tác giữa H-1'' với C-3 trên phổ HMBC của hợp chất **5** cùng với kết quả của việc so sánh các tín hiệu phổ với hợp chất **3** đã góp phần xác định hợp chất **5** cũng là một dẫn xuất kaempferol-3-O-glycosylate. Điểm khác biệt chính giữa hai hợp chất này là sự thay đổi tín hiệu ở proton methyl của hợp chất **3** ở vị trí C-6'' bằng sự xuất hiện tín hiệu của proton thuộc nhóm oxymethylene với δ_H tại 3,88 (1H, m, H-6''a) và 3,73 (1H, m, H-6''b). Điều này đã gợi ý cho sự thay thế của nhóm α -L-rhamnopyranoside bằng gốc β -glucopyranoside ở hợp phần glycol và khẳng định được rằng hợp chất **5** là astragalin dựa trên dữ liệu phổ đã công bố trước đây [10].

Phổ ESI-MS của hợp chất **2** cho tín hiệu m/z 757,21 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **2** $C_{33}H_{40}O_{20}$. Dữ liệu phổ 1D-NMR và 2D-NMR của hợp chất **2** cho thấy sự trùng hợp hầu hết các tín hiệu so với dữ liệu phổ của hợp chất **1**, đặc biệt là sự xuất hiện của ba proton anomer (với δ_H tại 5,68 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 5,23 (1H, s, H-1''') và 4,57 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1'''')) và tương tác của các proton này trên phổ HMBC (tương tác giữa H-1'' với C-3, H-

1''' với C-2'' và H-1''' với C-6''') cho thấy hợp chất 2 là dẫn xuất flavonoid triglycoside với hợp phần glycol gồm hai gốc rhamnose, một gốc galactose tương tự như hợp chất 1. Sự khác biệt chính của hợp chất 2 và 1 được thể hiện ở cụm tín hiệu cộng hưởng của proton hệ spin A_2B_2 của 1 được thay bằng tín hiệu cộng hưởng của hệ spin ABX trên vòng B tại δ_H 7,72 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, $J = 9,6$ Hz, H-5'), 7,59 (1H, dd, $J = 9,6$; 1,8 Hz, H-6'); cùng với đó là sự thay đổi tín hiệu của các nguyên tử carbon tại δ_C 123,1 (C-1'), 116,2 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,6 (C-4'), 116,2 (C-5'), 123,1 (C-6'). Sự khác biệt này cho thấy sự xuất hiện của nhóm thế OH ở vị trí H-3' so với hợp chất 1 và góp phần xác định hợp phần flavonoid aglycol của hợp chất 2 là quercetin. Từ kết quả biện luận phổ trên và so sánh với số liệu ở các vị trí tương ứng với tài liệu tham khảo [8], hợp chất 2 được xác định là quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside.

Phổ ESI-MS của hợp chất 4 cho tín hiệu m/z 449,10 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất 4 là $C_{21}H_{20}O_{11}$. Phổ 1H -NMR của hợp chất 4 xuất hiện hai vùng tín hiệu proton: tín hiệu proton của hợp phần flavonoid aglycol có δ_H trong khoảng 6,2 đến 7,4 và tín hiệu của proton của hợp phần glycol với δ_H trong khoảng 0,9 đến 5,5. Từ đó cho phép khẳng định hợp chất 4 là dẫn xuất flavonoid monoglycoside. Các tín hiệu proton của hợp phần aglycol có sự tương đồng rất lớn với hợp phần aglycol của hợp chất 2 (quercetin) với δ_H tại 6,21 (1H, brs, H-6), 6,38 (1H, brs, H-8), 7,36 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2'), 7,32 (1H, dd, $J = 8,4$; 1,8 Hz, H-5'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), trong khi các tín hiệu proton của hợp phần glycol lại tương đồng với hợp chất 3 (rhamnopyranoside). Ngoài ra, tương tác giữa H-1'' với C-3 trên phổ HMBC cho phép xác định vị trí liên kết glycoside giữa hợp phần aglycol và glycol của hợp chất 4. So sánh với tài liệu tham khảo [11] được hợp chất 4 được xác định là quercitrin.

Phổ ESI-MS của hợp chất 6 cho tín hiệu m/z 465,10 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất 6 $C_{21}H_{20}O_{12}$. Các tín hiệu trên phổ 1H và ^{13}C -NMR kết hợp với tương tác xuất hiện trên các phổ 2D NMR của hợp chất 6 cùng với kết quả của việc so sánh các tín

hiệu phổ với hợp chất 4 đã góp phần xác định hợp chất 6 cũng là một dẫn xuất quercetin-3-O-glycosylate với tương tác giữa H-1'' với C-3 trên phổ HMBC. Điểm khác biệt giữa hai hợp chất này là sự thay đổi hợp phần glycol: gốc β -glucopyranoside thay thế cho gốc α -L-rhamnopyranoside được xác định bằng sự xuất hiện tín hiệu của proton thuộc nhóm oxymethylene với δ_H tại 3,31 (1H, br d, $J = 11,4$ Hz, H-6''a) và 3,58 (1H, br d, $J = 11,4$ Hz, H-6''b) thay thế tín hiệu của proton methyl ở vị trí C-6'' tương tự như hợp chất 5. Từ kết quả biện luận phổ trên kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ đã công bố [12], hợp chất 6 được xác định là isoquercetin.

4. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên sáu hợp chất flavonoid glycoside được phân lập từ cao chiết methanol của lá keo tai tượng (*Acacia mangium*) bằng các phương pháp sắc kí. Dựa trên kết quả đo phổ MS, 1D và 2D NMR và so sánh với các tài liệu tham khảo, 6 hợp chất trên đã được xác định cấu trúc, trong đó có ba dẫn xuất kaempferol glycoside (kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (1), afzelin (3), astragalin (5)) và ba dẫn xuất quercetin glycoside (quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (2), quercitrin (4), isoquercetin (6)).

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ của đề tài 03/2020/TN của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hegde M. P. K., Yi J. S., (2013). *Acacia mangium* Willd. - A Fast Growing Tree for Tropical Plantation. *Journal of Forest and Environmental Science*, **29**(1), 1-14.
- [2] Subhan N., Burrows G. E., Kerr P. G., Obied H. K., (2018). Chapter 9 - Phytochemistry, Ethnomedicine, and Pharmacology of *Acacia*. *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta ur R.
- [3] Batiha G. E., Akhtar N., Alsayegh A. A., Abusudah W. F., Almohmadi N. H., Shaheen H. M., Singh T. G., De Waard M., (2022). Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and

Pharmacokinetics of Genus *Acacia*. *Molecules*, Ed., 7340-7361.

[4] Prayogo Y. H., Syafii W., Sari R. K., Batubara I., Danu, (2021). Pharmacological Activity and Phytochemical Profile of *Acacia* Heartwood Extracts. *Scientia Pharmaceutica*, Ed., 37-47.

[5] Pereira P. R. C., Dutra J. C. V., Costalonga S., Santos V. S. D., Trindade M. G. P., Batitucci M. D. C. P., (2022). *Acacia mangium* Willd (*Acácia*) Extract Antioxidant and Antiproliferative Activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **10(10)**, 1-10.

[6] Fukunaga T., Nishiya K., Kajikawa I., Watanabe Y., Suzuki N., Takeya K., Itokawa H., (1988). Chemical Studies on the Constituents of *Hyphear Tanakae* Hosokawa from Different Host Trees. *Chemical & Pharmaceutical Buletin*, **36(3)**, 1180-1184.

[7] Ward R. S., (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. *Magnetic Resonance in Chemistry*, Amsterdam, John Wiley & Sons, Ltd.

[8] Leite J. P. V., Rastrelli L., Romussi G., Oliveira A. B., Vilegas J. H. Y., Vilegas W., Pizza C., (2001). Isolation and HPLC Quantitative Analysis of Flavonoid Glycosides from Brazilian Beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*). *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry, **49(8)**, 3796-3801.

[9] Lee S. Y., So Y. J., Shin M. S., Cho J. Y., Lee J., (2014). Antibacterial effects of afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals. *Molecules*, **19(3)**, 3173-3180.

[10] De Oliveira Silva D., Conceição Santos M. F., De Jesus Nicácio K., Neto A. K., Ghilardi Lago J. H., Chagas-Paula D. A., Dias D. F., Soares M. G., (2023). Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Acacia polyphylla* and identification of a new apigenin-3-C-glycosylated type flavonoid. *Natural Product Research*, 1-6.

[11] Adeniyi O., Baptista R., Bhowmick S., Cookson A., Nash R. J., Winters A., Shen J., Mur L. A. J., (2022). Isolation and Characterisation of Quercitrin as a Potent Anti-Sickle Cell Anaemia Agent from *Alchornea cordifolia*. *Journal of Clinical Medicine*, **11(8)**, 2177-2192.

[12] Napolitano J. G., Lankin D. C., Chen S.-N., Pauli G. F., (2012). Complete ¹H NMR spectral analysis of ten chemical markers of *Ginkgo biloba*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **50(8)**, 569-575.