



CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ DỊCH CHIẾT METHANOL CÂY LẠC TIÊN (*PASSIFLORA FOETIDA* L.)

Nguyễn Chí Bảo^{1*}, Phạm Việt Tý²

¹Đại học Huế, 03 Lê Lợi, Tp. Huế

²Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế, 34 Lê Lợi, Tp. Huế

Tóm tắt: 4 hợp chất gồm luteolin, β -adenosine, methyl gallate và *myo*-inositol đã được phân lập từ dịch chiết methanol phần trên mặt đất của cây lạc tiên (*Passiflora foetida* L.) thu hái tại tỉnh Thừa Thiên Huế, Việt Nam. Cấu trúc của chúng được xác định bằng việc phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối (MS), phổ hồng ngoại (IR) và so sánh với số liệu phổ công bố trong các tài liệu tham khảo.

Từ khóa: *Passiflora foetida*, dịch chiết methanol, luteolin, β -adenosine, methyl gallate, *myo*-inositol

1 Mở đầu

Cây lạc tiên có tên khoa học là *Passiflora foetida* L., thuộc chi *Passiflora*, họ Lạc tiên (Passifloraceae). Lạc tiên là một loại cây dây leo, thân mềm, trên thân có nhiều lông mềm, phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới như Đông Nam Á và Hawaii. Ở Việt Nam, cây mọc hoang ở khắp mọi nơi, nhất là các tỉnh Hòa Bình, Thái Nguyên, Bắc Giang, Quảng Bình, Thừa Thiên Huế, Đà Nẵng và Quảng Nam. Lạc tiên được dùng làm thuốc an thần, chữa mất ngủ, suy nhược thần kinh. Ngọn non của cây thường được thu hái để luộc ăn vào buổi chiều hoặc trước khi đi ngủ vài giờ. Dạng thuốc thông thường là cao lỏng có đường [1], [2]. Trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây lạc tiên. Các kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học chủ yếu là các hợp chất flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, saponin, anthraquinone, phenol... [3] và thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như tác dụng giảm đau, kháng viêm [4], kháng oxy hóa [5], gây độc tế bào [6]. Với nhiều công dụng trong y học cổ truyền và có hoạt tính sinh học đáng quý như trên, nhưng cho đến nay ở Việt Nam, lạc tiên vẫn chưa thu hút được sự chú ý của các nhà khoa học; vẫn còn ít công trình công bố về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài cây này. Bài báo này đưa ra những kết quả nghiên cứu đầu tiên về việc phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ dịch chiết methanol cây lạc tiên thu hái tại tỉnh Thừa Thiên Huế.

* Liên hệ: baosphoa@gmail.com

2 Thực nghiệm

2.1 Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

Phổ IR được đo trên máy IR 8400 Prestige của hãng Shimadzu dưới dạng viên nén KBr tại Phòng Phân tích công cụ, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT (125 MHz) được đo trên máy Bruker Avance 500 MHz. Chất nội chuẩn TMS: $\delta = 0$ cho ^1H và tín hiệu dung môi CD_3OD : $\delta = 49,0$ và $\text{DMSO-}d_6$: $\delta = 39,5$ cho ^{13}C . Phổ khối ESI-MS được ghi trên máy Agilent 1100 LC-MSD Trap. Hai loại phổ này được đo tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng nhôm tráng sẵn silica gel Merck 60 F₂₅₄, thuốc hiện là vanillin trong acid sulfuric đặc. Sắc ký cột (CC) sử dụng silica gel pha thường hay pha đảo cỡ hạt 0,063–0,200 mm.

Các hóa chất dùng để chiết mẫu và triển khai sắc ký cột bao gồm nước cất (H_2O), methanol (MeOH), acetone (CH_3COCH_3), ethyl acetate (EtOAc), chloroform (CHCl_3), dichloromethane (CH_2Cl_2) và *n*-hexane của Trung Quốc và Merck.

2.2 Mẫu thực vật

Phần trên mặt đất mẫu cây lạc tiên (*Passiflora foetida* L.) được thu hái tại huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 1 năm 2016. Tên khoa học được nhà giáo ưu tú Đỗ Xuân Cẩm, nguyên giảng viên Phân loại học Thực vật, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế xác định.

2.3 Chiết mẫu thực vật và phân lập chất

Mẫu cây lạc tiên sau khi thu hái được loại bỏ các phần bị sâu bệnh, rửa sạch và để khô tự nhiên rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C và xay nhỏ. Ngâm chiết 1,6 kg mẫu lần lượt với các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần là *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate và methanol (mỗi dung môi chiết 5 lần, mỗi lần khoảng 4 lít) để tiến hành phân tách các nhóm chất có độ phân cực khác nhau khỏi bột cây. Phần dịch chiết với mỗi loại dung môi được gộp lại, lọc và đuổi dung môi bằng máy cô quay dưới áp suất giảm để thu được các cao chiết tương ứng.

Cao chiết MeOH (78 g) được triển khai sắc ký cột trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (100:0–2,5:1, v/v), $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1:0,1) và $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (1:0,1), thu được 8 phân đoạn (PFM1–PFM8).

Phân đoạn PFM4 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$) có khối lượng 2,42 g được tiếp tục phân tách trên cột silica gel pha đảo với hệ dung môi acetone: $\text{H}_2\text{O} = 2:1$, thu được hợp chất 1 (3 mg) dạng bột màu vàng, hợp chất 2 (7 mg) dạng bột màu trắng, hợp chất 3 (7 mg) tinh thể màu trắng.

Luteolin (1): $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz, δ_{ppm}): 7,41 (1H, dd, 7,0; 2,0 Hz, H-6'); 7,40 (1H, d, 2,0 Hz, H-2'); 6,93 (1H, d, 9,0 Hz, H-5'); 6,56 (1H, s, H-3); 6,46 (1H, d, 2,0 Hz, H-6); 6,23 (1H, d, 2,0 Hz, H-8).

β -Adenosine (2): $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3\&\text{CD}_3\text{OD}$, 500MHz, δ_{ppm}): 8,23 (1H, s, H-8); 8,12 (1H, s, H-2); 5,89 (1H, d, 6,5 Hz, H-1'); 4,77 (1H, dd, 6,5; 5,0 Hz, H-2'); 4,36 (1H, dd, 5,0; 2,0 Hz, H-3'); 4,26 (1H, m, H-4'); 3,95 (1H, dd, 12,5; 2,0 Hz, H-5'a); 3,76 (1H, dd, 12,5; 2,0 Hz, H-5'b).

Methyl gallate (3): IR (KBr) δ_{max} (cm^{-1}): 3449 (-OH), 2961 (C-H), 1728 (>C=O), 1638, 1462 (>C=C<). ESI-MS (m/z): 183 $[\text{M-H}]^-$ ($\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_5$) \rightarrow CTPT: $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz, δ_{ppm}): 7,07 (2H, s, H-2, H-6); 3,83 (3H, s, $-\text{OCH}_3$).

Phân đoạn PFM7 ($\text{CHCl}_3\text{:MeOH:H}_2\text{O} = 1\text{:}1\text{:}0,1$) có khối lượng 7,50 g khi để dung môi bay hơi tự nhiên thấy có chất rắn kết tinh hình kim màu trắng. Tách và rửa nhiều lần bằng MeOH thu được 10 mg hợp chất 4.

myo-Inositol (4): $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 500MHz, δ_{ppm}): 3,70 (1H, d, 3,0 Hz, H-2); 3,36 (2H, m, H-4, H-6); 3,12 (2H, m, H-1, H-3); 2,90 (1H, td, 4,5; 9,0 Hz, H-5); 4,50 (1H, d, 4,0 Hz, OH-2); 4,44 (2H, d, 4,5 Hz, OH-1, OH-3); 4,43 (1H, d, 3,0 Hz, OH-5); 4,30 (2H, d, 6,0 Hz, OH-4, OH-6). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 125MHz, δ_{ppm}): 75,2 (C-5); 72,7 (C-1, C-3); 72,6 (C-2); 71,8 (C-4, C-6).

3 Kết quả và thảo luận

Hợp chất 1: Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT cho thấy sự xuất hiện tín hiệu đặc trưng của hợp chất flavon bao gồm tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, trong đó có 9 nguyên tử carbon bậc 4 và 6 nguyên tử carbon nhóm methine, tín hiệu của các nguyên tử carbon này đều xuất hiện ở vùng trường thấp ($\delta > 95$ ppm). Tín hiệu của 7 nguyên tử carbon thơm có gắn dị tố oxy: 1 carbon nhóm carbonyl ở δ_{C} 183,9 (C-4), 6 nguyên tử carbon bậc 4 ở 166,4 (C-2), 166,2 (C-7), 163,2 (C-5), 159,5 (C-9), 151,0 (C-4'), 147,1 (C-3'); ngoài ra còn có hai nguyên tử carbon bậc 4 khác ở 123,7 (C-1') và 95,1 ppm (C-8). Tín hiệu của 6 nhóm methine còn lại ở 120,3 (C-6'), 116,8 (C-5'), 114,2 (C-2'), 105,3 (C-10), 103,9 (C-3), 100,2 ppm (C-6).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy sự xuất hiện của 6 proton vòng thơm phù hợp với phổ DEPT, thể hiện qua các tín hiệu đều xuất hiện ở vùng trường thấp bao gồm: hai tín hiệu doublet ở các độ dịch chuyển δ_{H} 6,23 (1H, d, 2 Hz, H-8), 6,46 (1H, d, 2 Hz, H-6) cho thấy vòng A có 2 proton ở vị trí *meta*. Tín hiệu singlet H-3 ở 6,56 (1H, s), các tín hiệu còn lại ở 6,93 (1H, d, 9 Hz, H-5'), 7,41 (1H, dd, 7, 2 Hz, H-6'), 7,40 (1H, d, 2 Hz, H-2') chứng tỏ vòng B có hai nhóm thế ở vị trí C-3' và C-4'. Các dữ liệu phổ trên, cùng với việc so sánh với chất tham khảo trong các tài liệu [7], [8] cho phép kết luận hợp chất 1 là luteolin. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và cấu trúc của hợp chất 1 được đưa ra ở Bảng 1 và Hình 1 tương ứng.

Hợp chất 2: Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ ở vùng trường thấp xuất hiện hai tín hiệu singlet của các proton thơm ở độ dịch chuyển δ_{H} 8,23 (1H, s, H-8), 8,12 (1H, s, H-2). Các tín hiệu còn lại của các

proton ở carbon có liên kết với dị tố oxy có độ dịch chuyển δ_H 3,75–5,90 ppm. Tín hiệu proton anomer ở 5,89 (1H, d, 6,5 Hz, H-1'), 3 proton của nhóm oxymethine ở 4,77 (1H, dd, 6,5, 5 Hz, H-2'), 4,36 (1H, dd, 5, 2 Hz, H-3'), multiplet ở 4,26 (1H, m, H-4'), 2 proton của nhóm oxymethylene ở 3,95 (1H, dd, 12,5, 2 Hz, H-5'a) và 3,76 (1H, dd, 12,5, 2 Hz, H-5'b). Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy sự xuất hiện của 10 nguyên tử carbon có độ dịch chuyển 62,4–155,8 ppm trong đó có 3 nguyên tử carbon bậc 4, 6 nhóm CH và 1 nhóm CH_2 . Ở vùng trường thấp xuất hiện tín hiệu của 5 nguyên tử carbon thơm: 3 nguyên tử carbon bậc 4 có δ_C 155,8 (C-6), 148,4 (C-4), 120,1 (C-5); 2 nhóm methine ở 151,8 (C-2), 140,8 (C-8). Ở vùng trường cao là tín hiệu của 5 nguyên tử carbon có liên kết với dị tố oxy: 4 nhóm methine có δ_C 90,6 (C-1'), 87,2 (C-4'), 74,1 (C-2'), 71,4 (C-3') và tín hiệu của nhóm methylene còn lại ở 62,4 (C-5'). Các phân tích trên đối chiếu với dữ kiện phổ [9], [10] cho thấy hợp chất 2 chứa glycoside là D-ribofuranoside với cấu hình β được suy ra từ hằng số tương tác và độ chuyển dịch hóa học của H-1', có tên gọi là β -adenosine. Bảng 1 đưa ra số liệu phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 2.

Bảng 1. Độ chuyển dịch hóa học ^{13}C -NMR của 1, 2 và luteolin, β -adenosine

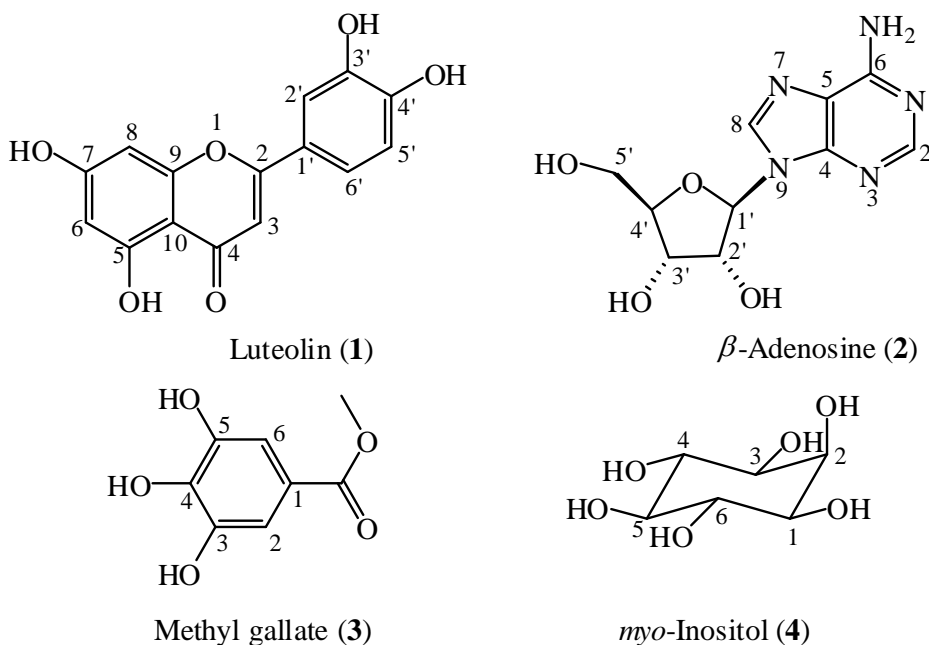
C	1 (CD_3OD)	<i>Luteolin</i> , (CD_3OD) [7]	2 (CDCl_3 & CD_3OD)	β -Adenosine ($\text{DMSO}-d_6$) [10]
1				
2	166,2	166,0	151,8	152,0
3	103,9	103,9		
4	183,9	183,9	148,4	149,0
5	166,4	166,3	120,1	119,3
6	100,2	100,1	155,8	155,8
7	163,2	163,2		
8	95,1	95,0	140,8	139,9
9	159,5	159,4		
10	105,3	105,3	90,6	87,8
1'	123,7	123,7	74,1	73,4
2'	114,2	114,2	71,4	70,6
3'	147,1	147,0	87,2	85,8
4'	151,0	150,9	62,4	61,6
5'	116,8	116,8	151,8	152,0
6'	120,3	120,3		

Hợp chất 3: Phổ IR cho các đỉnh hấp thụ đặc trưng của các nhóm -OH ở 3449 cm^{-1} , nhóm carbonyl ở 1728 cm^{-1} , hệ liên kết đôi $>\text{C}=\text{C}<$ vòng thơm ở $1638, 1462\text{ cm}^{-1}$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ cho hai cụm tín hiệu: tín hiệu singlet của hai proton thơm xuất hiện ở độ dịch chuyển $\delta_{\text{H}} 7,01$ (2H, s, H-2, H-6); tín hiệu singlet còn lại xuất hiện ở vùng trường cao hơn của ba proton trong nhóm methoxy ở $3,83$ (3H, s, $-\text{OCH}_3$).

Phổ ESI-MS ion âm cho đỉnh ion giả phân tử $[\text{M-H}]^-$ ở giá trị $m/z = 183$, kết hợp với dữ liệu phổ NMR có thể khẳng định công thức phân tử của hợp chất 3 là $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$. Các kết quả phân tích phổ trên hoàn toàn phù hợp với các số liệu của chất tham khảo đã công bố trong tài liệu [11], do đó hợp chất 3 được xác định là methyl gallate.

Hợp chất 4: Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện 6 tín hiệu cộng hưởng của các proton nhóm oxymethine với tỉ lệ cường độ 1:2:2:1. Tín hiệu doublet ở $\delta_{\text{H}} 3,70$ (1H, d, 3 Hz, H-2), multiplet 3,32-3,37 (2H, m, H-4, H-6), multiplet 3,10-3,14 (2H, m, H-1, H-3) và triplet doublet 2,90 (1H, d, 4,5, 9,0 Hz, H-5). Ngoài ra, trên phổ còn thấy xuất hiện tín hiệu của 6 proton của các nhóm -OH ở các độ dịch chuyển $\delta_{\text{H}} 4,50$ (1H, d, 4 Hz, OH-2), 4,44 (2H, d, 4,5 Hz, OH-1, OH-3), 4,43 (1H, d, 3 Hz, OH-5) và 4,30 (2H, d, 6,0 Hz, OH-4, OH-6).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT có 4 tín hiệu của các nguyên tử carbon nhóm oxymethine ở độ dịch chuyển $75,2\text{--}71,8\text{ ppm}$ (75,2; 72,3; 72,6; 71,8) với tỉ lệ cường độ khoảng 1:2:1:2, tương ứng với các nguyên tử carbon C5-C1-C3-C2-C4-C6. Các số liệu phổ này hoàn toàn phù hợp với các số liệu phổ công bố trong các tài liệu [10], [12] và cho phép khẳng định hợp chất 4 là *myo*-inositol.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập

4 Kết luận

Bằng cách sử dụng các phương pháp sắc ký với các hệ dung môi phù hợp và kết hợp các phương pháp phổ, chúng tôi đã phân lập và xác định được cấu trúc 4 hợp chất từ dịch chiết methanol của cây lạc tiên (*Passiflora foetida* L.) thu hái ở tỉnh Thừa Thiên Huế. Đó là luteolin, β -adenosine, methyl gallate và *myo*-inositol. Đây là lần đầu tiên cây lạc tiên ở tỉnh Thừa Thiên Huế được nghiên cứu về thành phần hóa học và theo tìm hiểu của chúng tôi, hợp chất **3** được phân lập lần đầu tiên từ loài này.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, Hà Nội, Tr. 782.
2. Đỗ Huy Bích (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nxb. Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội, Tr. 138–140.
3. Patil A. S. and Paikrao H. M. (2012), Bioassay guided phytometabolites extraction for screening of potent antimicrobials in *Passiflora foetida* L., *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(9), 137–142.
4. Sasikala V., Saravanan S., Parimelazhagan T. (2011), Analgesic and anti-inflammatory activities of *Passiflora foetida* L., *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(8), 600–603.
5. Sasikala V., Saravanan S., Parimelazhagan T. (2011), Evaluation of antioxidant potential of different parts of wild edible plant *Passiflora foetida* L., *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(4), 89–96.
6. Moongkarndi P. (2004), Antiproliferative activity of Thai medicinal plant extracts on human breast adenocarcinoma cell line, *Fitoterapia*, 75, 375–377.
7. Le Quoc Thang, Tran Dinh, Le Huynh Nguyen (2016), Chemical constituents of *Eclipta prostrata*, *Hue University Journal of Science*, 116(2), 67–72.
8. Owena R. W., Haubner R., Mierb W., Giacocas A., Hull W. E., Spiegelhalder B., Bartsch H. (2003), Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes, *Food and Chemical Toxicology*, 41, 703–717.
9. Ciuffreda P., Casati S. and Manzocchi A. (2007), Complete ^1H and ^{13}C -NMR spectral assignment of α - and β -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives, *Magn. Reson. Chem.*, 45, 781–784.
10. Nguyễn Tấn Phát, Phùng Văn Trung, Bùi Trọng Đạt, Phan Nhật Minh, Nguyễn Minh Sơn, Lê Thị Việt Hoa, Nguyễn Ngọc Hạnh (2014), Các hợp chất dị vòng từ cây lạc tiên, *Tạp chí dược liệu*, 19(6), 338–342.
11. Mohd Nazrul Hisham D., Mohd Lip J., Mohd Noh J., Normah A. and Nurul Nabilah M. F. (2011), Identification and isolation of methyl gallate as a polar chemical marker for *Labisia pumila* Benth., *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.*, 39(2), 279–284.
12. Raymond J. Abraham, Jonathan J. Byrne, Griffiths L. and Koniotou R. (2005), ^1H chemical shifts in NMR: Part 22 – Prediction of the ^1H chemical shifts of alcohols, diols and inositols in solution, a conformational and solvation investigation, *Magn. Reson. Chem.*, 43, 611–624.

COMPOUNDS ISOLATED FROM METHANOL EXTRACT OF LAC TIEN (*PASSIFLORA FOETIDA* L.)

Nguyen Chi Bao^{1*}, Pham Viet Ty²

¹Hue University, 03 Le Loi Street, Hue City

²University of Education, Hue University, 34 Le Loi Street, Hue City

Abstract: Four compounds including luteolin, β -adenosine, methyl gallate and *myo*-inositol were isolated from the methanol extract of aerial parts of *Passiflora foetida* L. collected in Thua Thien Hue province, Vietnam. Their structures were identified using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, mass spectrometry (MS), infrared spectroscopy (IR), and compared with spectroscopic data in the literature.

Keywords: *Passiflora foetida*, methanol extract, luteolin, β -adenosine, methyl gallate, *myo*-inositol