

MỘT SỐ FLAVONOID PHÂN LẬP TỪ CÂY RÂU MÈO (*Orthosiphon stamineus* Benth.) Ở VIỆT NAM

FLAVONOIDS ISOLATED FROM VIETNAMESE CAT'S WHISKER PLANT *Orthosiphon stamineus* Benth.

Nguyễn Phi Hùng¹, Hoàng Đức Thuận², Nguyễn Thị Thảo³, Vũ Quốc Trung⁴, Phạm Quốc Long¹

¹Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam; nguyenvphihung1002@gmail.com

²Trường Bồi dưỡng Cán bộ Giáo dục Hà Nội; hoangducthuan@bdhn.edu.vn

³Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội; nguyenthithao6895@gmail.com

⁴Trường Đại học Sư phạm Hà Nội; trungvq@hnue.edu.vn

Tóm tắt - Từ phần trên mặt đất của cây Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) thu hái tại địa phận huyện Thanh Trì, thành phố Hà Nội, sử dụng các phương pháp chiết, tách phân đoạn, và các phương pháp sắc ký khác nhau bao gồm sắc ký bản mỏng (TLC), sắc ký cột hồ pha thường (SiO₂), pha đảo (RP_C18), và shephadex LH-20, đã phân lập và tinh chế được ba hợp chất có khung flavonoid. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được nhận dạng lần lượt bao gồm một flavonol, 3'-hydroxy-3,5,7,4'-tetramethoxyflavone (1) và hai flavone 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2) và 5,7,4'-trimethoxyflavone (3), dựa trên các phương pháp phân tích phổ (NMR, IR, UV, MS) và các phương pháp hóa lý. Đây là lần đầu tiên hai hợp chất flavone là 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2) và 5,7,4'-trimethoxyflavone (3) được phân lập và nhận dạng từ loài Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ở Việt Nam.

Từ khóa - cây Râu mèo; *Orthosiphon stamineus* Benth.; flavonols; flavone; sắc ký bản mỏng; sắc ký cột, shephadex LH-20.

1. Đặt vấn đề

Ở Việt Nam, cây Râu mèo còn có tên gọi khác là Râu mèo xoắn, cây Bông bạc. Tên khoa học của cây Râu mèo là *Orthosiphon stamineus* Benth.; tên đồng nghĩa bao gồm: *Orthosiphon aristatus*; *Orthosiphon spiralis* (Lour.) Merr.; là cây thuốc thuộc chi *Orthosiphon*, họ Bạc hà - Hoa môi (Lamiaceae), thuộc lớp hai lá mầm (Dicotyledone) [1]. Râu mèo là dạng cây thảo, sống lâu năm, cao khoảng 0,5 – 1 m. Thân vuông, thường có màu nâu tím. Lá mọc đối có cuống ngắn, chóp nhọn, mép khía răng cưa. Cụm hoa là chùm xim có ở ngọn thân và ở đầu cành. Hoa có màu trắng, sau ngả sang màu xanh tím. Nhị và nhụy mọc thò ra ngoài, nom như râu mèo. Bao phấn ở đầu nhụy màu tím. Quả bế từ [2, 3]. Cây chịu được ngập tốt, thường được trồng ở các vùng đồng bằng và vùng núi; trồng bằng hạt [6].

Ở Việt Nam, Râu mèo phân bố rải rác ở vùng đồng bằng và miền núi như: Lào Cai (Sa Pa), Cao Bằng, Thanh Hóa (Vĩnh Lộc), Hà Nội (Văn Điển, Ba Vi), Sơn La, Bắc Giang, Lâm Đồng (Đà Lạt), Phú Yên (Tuy Hòa), Ninh Thuận (Phan Rang), Kiên Giang (Phước Quốc) ... [2]. Theo Đông y, Râu mèo có vị ngọt nhạt, tính mát, không độc; có tác dụng lợi tiểu, thanh nhiệt, trừ thấp, dùng làm thuốc lợi tiểu mạnh, thông mật, dùng trong bệnh sỏi thận, sỏi túi mật, viêm túi mật, dùng trị viêm thận cấp tính và mạn tính; viêm bàng quang; sỏi tiết niệu [3]. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài Râu mèo, trong đó phải kể đến là các hoạt tính nội trợ như chống oxy hóa, kháng viêm, hạ huyết áp, ức chế sự phát triển của khối u, đặc biệt là tác dụng lợi tiểu sử dụng điều trị sỏi thận, sỏi tiết niệu, bàng

Abstract - From the aerial part of the Vietnamese medicinal plant *Orthosiphon stamineus* Benth. which was collected at Thanh Trì, Ha Noi, by using several extraction, fractionation, and isolation methods (including TLC, OP-CC with SiO₂, RP_C18, and sephadex LH-20...), three flavonoid-type compounds have been isolated and purified. The chemical structure of these isolated compounds are identified as 3'-hydroxy-3,5,7,4'-tetramethoxyflavone (1), 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2), and 5,7,4'-trimethoxyflavone (3) based on the analyses of the combined spectroscopic data (including NMR, MS, IR, UV) and physicochemical data interpretation. This is the first time that 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2) and 5,7,4'-trimethoxyflavone (3) have been isolated from the Vietnamese medicinal plant *Orthosiphon stamineus* Benth.

Key words - Cat's whiskers; *Orthosiphon stamineus* Benth.; flavonols; flavone; TLC; OP-CC, shephadex LH-20.

quang [4]. Về thành phần hóa học chủ yếu bao gồm các flavonoids và dẫn xuất của caffeic acid, đặc biệt là một số iso-pimarane diterpenes đã được tìm thấy là thành phần hóa học chính của loài [5]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Râu mèo ở Việt Nam cho đến nay còn rất ít, chưa thực sự được nghiên cứu sâu, mặt khác các tác dụng sinh học hiện đại hiện cũng chưa có nghiên cứu nào về loài Râu mèo của Việt Nam được công bố [6, 7]. Ở bài báo này, nhóm nghiên cứu công bố quá trình nghiên cứu tách chiết, phân lập và nhận dạng một số hợp chất flavonoids từ dịch chiết phần trên mặt đất của cây Râu mèo thu hái tại Hà Nội.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu và thiết bị nghiên cứu

Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H (500 MHz) và ¹³C (125 MHz) được đo trên máy quang phổ kế cộng hưởng từ hạt nhân hiệu Bruker AM500 FT-NMR, với chuẩn nội TMS sử dụng các dung môi CDCl₃, CD₃OD, và acetone-d₆. Các phổ khối ion-hóa electron được đo trên máy Agilent 1260 series single quadrupole LC/MS system. Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên các loại silica gel trắng trước 60 F₂₅₄ (mã số 1.05554.0001, Merck) and RP-18 F_{254S} (mã 1.15685.0001, Merck). Các loại sắc ký cột hồ (Open CC) được thực hiện với loại hạt silica gel Kieselgel 60, 40-63 μm and 63-200 μm, Merck) cho pha thường và YMC RP-18 silica gel (40-75 μm, Fuji Silysia Chemical Ltd., Japan) cho pha đảo.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây Râu mèo được thu hái vào tháng 01 năm 2017

tại Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc, Viện Dược liệu và được định danh bởi PGS.TS Phương Thiện Thương, Viện Dược liệu. Tiêu bản mẫu (OS201701HN) được lưu trữ tại Phòng Hóa phân tích, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Tách chiết, phân lập và tinh chế các hợp chất

Mẫu nguyên liệu tươi được phơi khô sau đó cắt nhỏ (đoạn 2 cm) và ngâm chiết với MeOH (2 kg, 10 L x 4 lần) có sử dụng siêu âm ở nhiệt độ 40°C trong vòng 5 tiếng 1 mẻ. Lọc dịch chiết và cô quay dưới áp suất giảm, thu được cao chiết MeOH tổng (196,4 g). Cao chiết sau đó được tách phân lớp lần lượt với các dung môi *n*-Hexane, EtOAc và BuOH, cô quay dưới áp suất giảm thu được các phân đoạn tương ứng. Phân đoạn EtOAc (25 g) được chạy sắc ký cột hở (10,0 x 60 cm) pha thường (SiO₂, cỡ hạt 63~230 µm), sử dụng hệ dung môi *n*-Hexane : Acetone (10:1 đến 1:2) thu được 10 phân đoạn ký hiệu từ OSE-1 đến OSE-10. Hợp chất số **1** (19,5 mg) được tinh chế từ phân đoạn OSE-3 bằng sắc ký cột hở pha thường với hệ dung môi *n*-Hexane : EtOAc, sau đó tiếp tục được tinh chế bằng cột shephadex LH-20, rửa giải bằng hệ dung môi CH₂Cl₂ : MeOH. Phân đoạn OSE-2 cũng được tiếp tục chạy sắc ký cột hở pha thường với hệ dung môi *n*-Hexane : Acetone, sau đó tinh chế bằng cột shephadex LH-20 sử dụng hệ dung môi rửa giải là CH₂Cl₂ : MeOH, thu được hợp chất **2** (13,5 mg) và hợp chất **3** (18,6 mg).

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

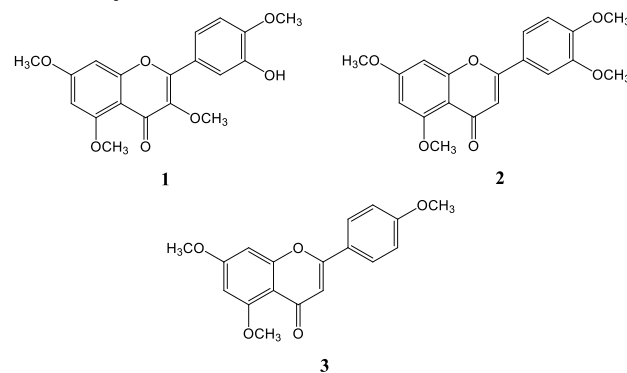
Hợp chất **1** phân lập được dưới dạng bột màu vàng, công thức phân tử của **1** xác định dựa trên pic ion phân tử tại *m/z* 359 [M + H]⁺ (tính toán cho C₁₉H₁₈O₇, M = 358) trên phổ EI-MS. Phổ UV thể hiện hai dải sóng hấp thụ tại vị trí 270 và 340 nm đặc trưng cho khung flavonol [8].

Phổ ¹H NMR của **1** cho thấy có hai pic proton đơn phổ rộng tại δ_H 7,14 (H-6) và 6,52 (H-8) thuộc vòng A, một hệ vòng thơm dạng ABX đặc trưng thuộc vòng B tại δ_H 7,52 (1H, dd, *J* = 2,0, 8,5 Hz, H-6'), 6,87 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5'), và 7,48 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'). Độ chuyển dịch hóa học của C-3' (δ_C 147,9) và C-4' (δ_C 153,3) trên phổ ¹³C NMR khẳng định sự liên kết với oxy nguyên tử tại hai vị trí carbon liên kề này. Ngoài ra, trên phổ ¹H và ¹³C NMR của **1** còn cho thấy có bốn nhóm methoxy lần lượt tại các vị trí δ_H 3,87 (3H, s, 3-OCH₃), 3,94 (3H, s, 5-OCH₃), 4,01 (3H, s, 7-OCH₃), và 3,82 (3H, s, 4'-OCH₃) tương ứng với các vị trí pic carbon là 56,8 (3-OCH₃), 61,5 (5-OCH₃), 62,4 (7-OCH₃) và 56,5 (4'-OCH₃). Việc xác định vị trí liên kết của các nhóm methoxy này được thực hiện dựa trên việc phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều HMBC của hợp chất **1**. Kết hợp so sánh chi tiết với tài liệu tham khảo, cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **1** là 3'-hydroxy-3,5,7,4'-tetramethoxyflavone [9].

Hợp chất số **2** phân lập được dưới dạng bột màu vàng nhạt, có độ tinh sạch trên 95% (đánh giá bằng HPLC). Công thức phân tử là C₁₈H₁₆O₅ được xác định bởi pic ion phân tử *m/z* 312,09 trên phổ MS. Trên phổ ¹H và ¹³C-NMR của hợp chất **2** cho thấy đây là một flavone với các pic đặc

trung tại vị trí C-2 (160,0), C-3 (111,2) và H-3 (6,58, 1H, s), và C-4 (177,9) [10]. Trên phổ ¹H NMR cho thấy có ba pic đặc trưng của hệ vòng thơm dạng ABX của vòng B tại các vị trí chuyển dịch hóa học lần lượt là δ_H 7,30 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-2'), 6,94 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-5'), và 7,49 (1H, dd, *J* = 1,5, 8,4 Hz, H-6'), một cặp proton của vòng A tại 6,54 (1H, d, *J* = 2,1 Hz, H-6) và 6,35 (1H, d, *J* = 2,1 Hz, H-8). Trên phổ ¹³C-NMR cho thấy có 19 pic carbon, trong đó 4 pic carbon của nhóm methoxy lần lượt tại các vị trí δ_C 56,0 (5-OCH₃), 56,3 (7-OCH₃), 56,3 (4'-OCH₃), và 56,7 (3'-OCH₃). 15 pic carbon còn lại thuộc về khung flavone, trong đó bao gồm 4 carbon bậc bốn gắn với nguyên tử oxy tại các vị trí C-2/5/7/9, 2 carbon bậc bốn gắn với nguyên tử oxy liên kề nhau tại 149,4 (C-3') và 151,9 (C-4'), một nhóm ketone (177,9, C-4), các pic còn lại phân bố đều cho hai vòng A và B. Từ các kết quả phân tích phổ trên cộng với so sánh chi tiết các kết quả phổ thu được với tài liệu tham khảo, cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **2** là 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone [11, 13].

Hợp chất số **3** cũng thu được dưới dạng bột màu vàng, có công thức phân tử là C₁₈H₁₆O₅, với khối lượng phân tử là 312,09 dựa vào phổ MS. So sánh phổ ¹H NMR của hợp chất **3** với **2** cho thấy sự giống nhau với một proton đơn pic tại δ_H 6,59 (1H, s) tương ứng với H-3, hai proton của vòng A xuất hiện tại δ_H 6,54 (1H, d, *J* = 2,1 Hz, H-6) và 6,35 (1H, d, *J* = 2,1 Hz, H-8). Sự khác nhau trên phổ của hợp chất **3** so với **2** ở chỗ các pic proton của vòng B có dạng AA'BB' (δ_H 7,81 và 6,98 (2H, d, *J* = 9,0 Hz)), điều này chứng tỏ sự thế 1,4-para của vòng B. Ngoài ra trên phổ ¹H NMR của **3** chỉ thể hiện ba pic đơn của nhóm methoxy tại các vị trí lần lượt là δ_H 3,86 (3H, s, 4'-OCH₃), 3,89 (3H, s, 5-OCH₃) và 3,94 (3H, s, 7-OCH₃). Từ kết quả phân tích phổ này cho phép kết luận hợp chất **3** là 5,7,4'-trimethoxyflavone [12, 13].



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất (**1**–**3**) phân lập từ cây Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (**1**): Bột màu vàng; UV (*c* 0,02, MeOH) λ_{max} nm: 270, 340; EI-MS *m/z* 359 [M+H]⁺ (C₁₉H₁₈O₇, M = 358); IR ν_{max} (MeOH): 3383, 2946, 2836, 1659, 1431, 1280, 1055, 799 cm⁻¹; ¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ_H ppm: 7,14 (1H, br, s, H-6), 6,52 (1H, br, s, H-8), 7,48 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'), 7,12 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5'), 7,52 (1H, dd, *J* = 2,0, 8,5 Hz, H-2'), 3,87 (3H, s, 3-OCH₃), 3,94 (3H, s, 5-OCH₃), 4,01 (3H, s, 7-OCH₃), và 3,82 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ_C ppm: 151,3 (C-2), 141,4 (C-3), 176,6 (C-4), 158,9 (C-5), 107,4 (C-6), 161,7 (C-7), 97,8 (C-8), 155,4 (C-9),

113,6 (C-10), 125,3 (C-1'), 113,4 (C-2'), 147,9 (C-3'), 153,3 (C-4'), 112,5 (C-5'), 119,2 (C-6'), 56,8(3-OCH₃), 61,5 (5-OCH₃), 62,4 (7-OCH₃) và 56,5 (4'-OCH₃).

5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2): Bột màu vàng; CTPT: C₁₉H₁₈O₆; EI-MSm/z = 342,11; IR ν_{max} (MeOH): 3383, 2946, 2836, 1659, 1431, 1280, 1055, 799 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H ppm: 6,58 (1H, s, H-3), 6,54 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-6), 6,35 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-8), 7,30 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-2'), 6,94 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-5'), 7,49 (1H, dd, J = 1,5, 8,4 Hz, H-6'); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C ppm: 160,0 (C-2), 111,2 (C-3), 177,9 (C-4), 161,0 (C-5), 96,3 (C-6), 164,2 (C-7), 93,0 (C-8), 160,9 (C-9), 109,4 (C-10), 124,2 (C-1'), 108,7 (C-2'), 149,4 (C-3'), 151,9 (C-4'), 108,1 (C-5'), 119,7 (C-6'), 56,0 (5-OCH₃), 56,3 (3'/4'-OCH₃), 56,7 (7-OCH₃).

5,7,4'-trimethoxyflavone (3): Bột màu vàng; CTPT: C₁₈H₁₆O₅; EI-MS m/z = 312,09; IR ν_{max} (MeOH): 3497, 3320, 2959, 1685, 1635, 1603, 1527, 1280, 1182, 1112, 853, 810cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H ppm: 6,59 (1H, s, H-3), 6,54 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-6), 6,35 (1H, d, J = 2,1 Hz, H-8), 7,81(2H, d, J = 9,0 Hz, H-2'/H-6'), 6,98 (2H, d, J = 9,0 Hz, H-3'/H-5'), 3,86 (3H, s, 4'-OCH₃), 3,89 (3H, s, 5-OCH₃), 3,94 (3H, s, 7-OCH₃).

4. Kết luận

Từ dịch chiết methanol tổng của phần trên mặt đất của cây Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) thu hái ở Hà Nội, đã phân lập và tinh chế được ba hợp chất có dạng khung flavonoid. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định lần lượt là: một flavonol 3'-hydroxy-3,5,7,4'-tetramethoxyflavone (1), hai flavone 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2) và 5,7,4'-trimethoxyflavone (3), dựa trên các phương pháp phân tích phổ (NMR, IR, UV, MS) và các phương pháp hóa lý. Đây là lần đầu tiên hai hợp chất flavone 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone (2) và 5,7,4'-trimethoxyflavone (3) được phân lập từ loài Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) ở Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới Chương trình Hỗ trợ cán bộ trẻ cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Mã số đề tài:

VAST.ĐLT.06/17-18) đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này. Ngoài ra nhóm tác giả cũng gửi lời cảm ơn tới Trung tâm Phổ ứng dụng, Viện Hóa học (VAST) đã hỗ trợ trong việc đo các phổ cộng hưởng từ hạt nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, NXB Trẻ, Quyển 2, Thành phố Hồ Chí Minh, 2000.
- [2] Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Tập 2, Hà Nội, 2012.
- [3] Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Hồng Đức, Hà Nội, Tái bản lần thứ 19, 2015, tr. 219–220.
- [4] O. Z. Ameer, I. M. Salman, M. Z. Asmawi, Z. O. Ibraheem, M. F. Yam, "Orthosiphon stamineus: Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology", Vol. 15, No. 8, 2012, pp. 678–960.
- [5] C. L. Hsu, B. H. Hong, Y. S. Yu, G. C. Yen, "Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Orthosiphon aristatus and Its Bioactive Compounds", *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 58, 2010, pp. 2150–2156.
- [6] Y. Tezuka, P. Stampoulis, A. H. Banskota, S. Awale, K. Q. Tran, I. Saiki, S. Kadota, "Constituents of the Vietnamese Medicinal Plant Orthosiphon stamineus", *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 48, No. 11, 2000, pp. 1711–1719.
- [7] Đặng Uy Nhân, *Khảo sát thành phần hóa học lá cây râu mèo Orthosiphon Stamineus Benth., họ hoa môi Lamiaceae được trồng ở miền Trung Việt Nam*, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG gia TP. HCM, 2010.
- [8] B. L. Guo, W. K. Li, J. G. Yu, P. G. Xiao, "Brevicornin, a flavonol from Epimedium brevicornum", *Phytochemistry*, Vol.41, 1996, pp. 991–992.
- [9] K. Likhitwitayawuid, C. Klongsiriwet, V. Jongbunprasert, B. Sritularak, S. Wongseripipatana, "Flavones with Free Radical Scavenging Activity from Goniothalamus tenuifolius", *Arch. Pharm. Res.*, Vol. 29, 2006, pp. 199–202.
- [10] K. R. Markha, "¹³C NMR of flavonoids-II. Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones", *Tetrahedron*, Vol. 32, 1976, pp. 2607–2612.
- [11] C. C. Chen, Y. P. Chen, H. Y. Hsu, Y. L. Chen, "New Flavones from Bauhinia championii Benth.", *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 32, No. 1, 1984, pp. 166–169.
- [12] T. Jaipetch, V. Reutrakul, P. Tuntiwachwuttikul, T. Santisuk, "Flavonoids in the black rhizomes of Boesenbergia pandurata", *Phytochemistry*, Vol. 22, No. 2, 1983, pp. 625–626.
- [13] K. Sutthanut, B. Sripanidkulchai, C. Yenjai, M. Jay, "Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in Kaempferia parviflora by gas chromatography", *Journal of Chromatography A*, Vol. 1143, 2007, pp. 227–233.

(BBT nhận bài: 13/04/2017, hoàn tất thủ tục phản biện: 15/05/2017)