

# PHÂN LẬP MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ CÂY SÂM NAM (*MILLETTIA SPECIOSA* CHAMP) Ở VƯỜN QUỐC GIA BẾN EN, TỈNH THANH HÓA

Nguyễn Thị Hương<sup>1</sup>, Vũ Hồng Nam<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Sâm Nam thuộc chi *Millettia*, họ Đậu (*Fabaceae*). Trong dân gian, Sâm Nam có nhiều giá trị sử dụng như làm thuốc tăng cường sức khỏe, chữa bệnh thiếu máu, bảo vệ gan, giảm ho, cảm sốt, thuốc xương khớp. Trong phạm vi nghiên cứu này, từ củ của cây Sâm Nam (*Millettia speciosa*) thu hái ở vườn Quốc Gia Bến En, Thanh Hóa, chúng tôi đã phân lập được một hợp chất steroid: stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol (**1**); hai hợp chất flavonoid: quercetin-3-O-rutinoside (**2**), 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**3**). Cấu trúc của các hợp chất trên được xác định bằng các phương pháp phổ phổ hiện đại.

**Từ khóa:** Cây Sâm Nam, stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol; quercetin-3-O-rutinoside; 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Nam là một loại cây thân gỗ, có tốc độ phát triển nhanh, đặc biệt vùng có độ ẩm cao và nhiều ánh nắng [1]. Ở Việt Nam, cây Sâm Nam phân bố nhiều ở Lạng Sơn, Phú Thọ, Thái Nguyên, Bắc Ninh, Nghệ An, Thanh Hóa [2]. Loài này được tìm thấy ở nhiều nước châu Á, châu Phi, Bắc Úc, đặc biệt ở Trung Quốc, Nhật Bản, Indonesia, Thái Lan [3]. Trong nhiều nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng, loài Sâm Nam có chứa flavonoid, alkaloid, terpenoid, phenolic, saccharide. Trong số đó có những hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào [4], bảo vệ gan, chống hen suyễn, chống ho, tăng khả năng miễn dịch [4-6], chống oxi hóa, chống huyết khối, kháng viêm [7][8]. Hiện nay tại Thanh Hóa chưa có nghiên cứu nào về loài này, vì thế việc nghiên cứu thành phần hóa học cây Sâm Nam ở vườn Quốc gia Bến En, Thanh Hóa có ý nghĩa lớn, góp phần bảo tồn và phát triển cho nguồn dược liệu thiên nhiên Việt Nam.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Mẫu củ Sâm Nam được lấy tại vườn Quốc gia Bến En, Thanh Hóa, vào tháng 02 năm 2023 và được định danh bởi PGS. TS. Đậu Bá Thìn, Trường Đại học Hồng Đức. Tiêu bản (RM-2023) được bảo quản và lưu giữ tại Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức.

<sup>1</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức; Email: nguyenthihuongtn@hdu.edu.vn

## 2.2. Thiết bị

Phổ khối lượng phun mù electron (ESI-MS) được đo trên máy Bruker Dailtonics APEX II 30eV spectrometer; phổ  $^1\text{H-NMR}$  được đo trên máy Bruker 500MHz, phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT, HMBC, HSQC, COSY và NOESY được đo trên máy Bruker 125 MHz (sử dụng chất nội chuẩn là TMS) - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Sắc kí cột được thực hiện bởi silical gel (Merck, 230 - 400 mesh). Sắc kí lớp mỏng, bản mỏng được tráng sẵn kieselgel 60, độ dày 0,2 mm - thiết bị phòng thí nghiệm khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức.

## 2.3. Phân lập

Dem 5,0 kg mẫu củ Sâm Nam (sau khi làm sạch, sấy khô) xay nhỏ, ngâm với methanol, thời gian 10 ngày, sau đó lọc. Dịch lọc được quay cất chân không thu được cao methanol (412g). Sau khi phân bố cao tổng trong nước, chiết lần lượt với các dung môi *n*-hexane và butanol, quay cất chân không thu được 52 g cao hexane và 87 g cao butanol.

Cao hexane (52 g) được phân tách trên cột silica gel, với hệ dung môi giải hấp là hexane : acetone (100/0, 20/1, 10/1, 5/1, 2/1, /1/1), thu được 7 phân đoạn (H1 ÷ H7), phân đoạn H3 đem kết tinh thu được hợp chất **1** (38,1 mg).

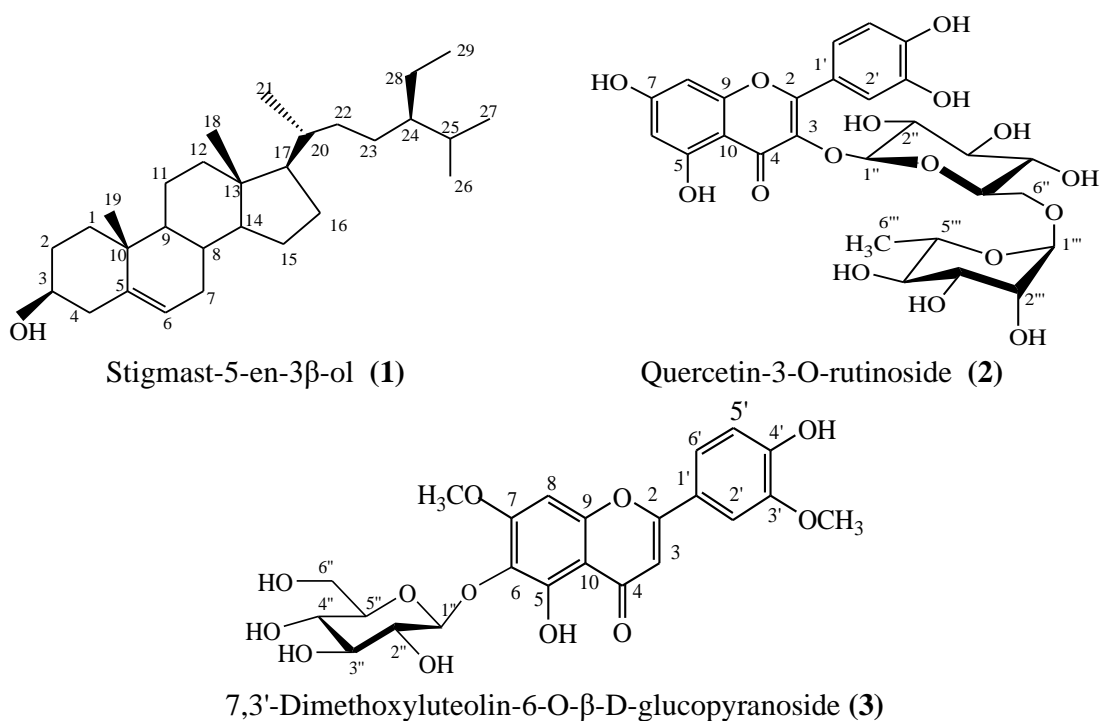
Cao butanol (87 g) được phân tách trên cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải là chloroform/methanol (100/0, 20/1, 10/1, 5/1, 2/1, /1/1), thu được 8 phân đoạn (B1 ÷ B8). Bằng sắc ký cột với hệ dung môi chloroform/methanol (6/1, v/v), phân đoạn B4 được phân tách và thu được hợp chất **2** (21 mg). Bằng thiết bị sắc ký lỏng điều chế với cột pha đảo C-18, hệ rửa giải methanol/nước (4/6, v/v), phân đoạn B5 được tách và thu được hợp chất **3** (17,2 mg).

## 2.4. Dữ kiện về phổ của các chất hữu cơ đã phân lập

*Hợp chất 1*: Chất bột màu trắng, đ.n.c.  $135 \div 137^\circ\text{C}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 415  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 5,37 (1H, *m*); 3,52(1H, *m*); 1,02 (3H, *s*); 0,93 (3H, *d*,  $J = 6,5$  Hz); 0,84 (3H, *d*,  $J = 7,0$  Hz); 0,83 (3H, *t*,  $J = 7,5$  Hz); 0,81 (3H, *d*,  $J = 6,5$  Hz); 0,67 (3H, *s*).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 140,8; 121,7; 71,8; 56,8; 56,1; 50,2; 45,9; 42,3; 42,3; 42,3; 39,8); 36,5; 37,3; 36,2; 34,0; 31,7; 32,0; 29,2; 28,3; 24,3; 26,1; 23,1; 21,1; 19,4; 19, 8; 19,1; 12,0; 18,8; 11,9.

*Hợp chất 2*: Chất bột màu vàng, đ.n.c.  $190 \div 195^\circ\text{C}$ ; ESI-MS  $m/z$ : 612  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7,53 (1H, *dd*,  $J = 8,0; 2,0$  Hz); 7,52 (1H, *s*); 6,83 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz); 6,38 (1H, *d*,  $J = 2,0$  Hz); 6,18 (1H, *d*,  $J = 2,0$  Hz); 5,16 (1H, *d*,  $J = 7,2$  Hz); 4,57 (1H, *d*,  $J = 1,6$  Hz); 3,83–3,35 (10H, *m*); 0,99 (3H, *d*,  $J = 6,2$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 178,2; 164,3; 161,5; 157,1; 156,7; 148,7; 145,6; 135,3; 121,9; 122,0; 116,5; 116,1; 104,2; 101,4; 101,0; 98,9; 93,9; 76,7; 76,7; 74,9; 72,7; 71,4; 71,2; 70,8; 68,2; 67,0; 17,9.

*Hợp chất 3*: Chất bột màu vàng nhạt đ.n.c.  $275 \div 278^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 13,07 (1H, *s*); 7,60 (2H, *s*); 6,95 (3H, *s*); 5,06 (1H, *d*,  $J = 6,5$ ); 3,91 (6H, *s*,  $J = 7$ ); 3,60 (1H, *d*,  $J = 11,0$ ); 3,40 (1H, *d*,  $J = 6,5$ ); 3,26 (1H, *m*); 3,23 (1H, *m*); 3,16 (1H, *m*); 3,08 (1H, *m*).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 182,2; 163,9; 158,5; 152,6; 151,6; 150,9; 148,0; 128,1; 121,4; 120,4; 115,8; 110,3; 104,9; 103,0; 102,0; 91,7; 77,3; 76,5; 74,1; 69,9; 60,9; 56,6; 56,0.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của 3 hợp chất đã phân lập

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Xác định cấu trúc của hợp chất 1 (Stigmast-5-en-3β-ol)

Hợp chất 1 là tinh thể hình kim không màu, nóng chảy ở  $135 \div 137^\circ\text{C}$ . Trên phổ ESI-MS có pic  $m/z$  415  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , phù hợp với công thức phân tử  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất 1 cho thấy hợp chất có khung sterol, bởi các tín hiệu của 1 nhóm  $-\text{CH}_3$  gắn với carbon bậc 1 tại  $\delta_{\text{H}}$  0,81 ( $d$ ;  $J = 6,5$  Hz); 3 nhóm  $-\text{CH}_3$  gắn với carbon bậc 2 tại  $\delta_{\text{H}}$  0,93 ( $d$ ;  $J = 6,5$  Hz);  $\delta_{\text{H}}$  0,84 ( $d$ ;  $J = 7,0$  Hz);  $\delta_{\text{H}}$  0,83 ( $t$ ;  $J = 7,5$  Hz) và 2 nhóm  $-\text{CH}_3$  gắn với carbon bậc 3 tại  $\delta_{\text{H}}$  0,67 ( $s$ );  $\delta_{\text{H}}$  1,02 ( $s$ ). Ngoài ra còn có 1 proton gắn với  $\text{C}_{\text{sp}2}$  tại  $\delta_{\text{H}}$  5,37 ( $m$ ) (C-5/C-6).

Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT của hợp chất 1 chỉ ra 29 tín hiệu ứng với 29 nguyên tử carbon: 9 carbon của 9 nhóm  $-\text{CH}$ , 6 carbon của 6 nhóm  $-\text{CH}_3$ , 11 carbon của 11 nhóm  $-\text{CH}_2$  và 3 carbon bậc 4.

Các số liệu về phổ EI-MS và NMR đều phù hợp với Stigmast-5-en-3β-ol [9].

#### 3.2. Xác định cấu trúc của hợp chất 2 (Quercetin-3-O-rutinoside)

Hợp chất 2 phân lập được dạng bột màu vàng, có điểm nóng chảy ở  $190 \div 195^\circ\text{C}$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho 5 tín hiệu proton thơm đặc trưng của khung quercetin, cụ thể H-2' ở  $\delta_{\text{H}}$  7,52 (1H;  $s$ ), H-5' ở  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (1H;  $d$ ; 8,0 Hz) với H-6' ở  $\delta_{\text{H}}$  7,53 (1H;  $dd$ ; 8,0; 2,0 Hz) và H-6 ở  $\delta_{\text{H}}$  6,18 (1H;  $d$ ; 2,0 Hz) với H-8 ở  $\delta_{\text{H}}$  6,38 (1H;  $d$ ; 2,0 Hz).

Tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  4,57 (1H;  $d$ ; 1,6 Hz) là của proton anomeric thuộc gốc rhamnose, tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  5,34 (1H;  $d$ ; 7,5 Hz) là của proton anomeric thuộc gốc glucose. Các proton còn lại nằm trong vùng  $\delta_{\text{H}}$  3,81 đến  $\delta_{\text{H}}$  3,32 ppm. Tín hiệu nhóm  $-\text{CH}_3$  của gốc rhamnose tại  $\delta_{\text{H}}$  0,99 (3H;  $d$ ; 6,0 Hz).

Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  có 27 tín hiệu ứng với 27 carbon: 15 carbon của khung flavonoid và 6 carbon thuộc gốc đường glucose, 6 tín hiệu carbon thuộc gốc đường rhamnose, 1 gốc đường của quercetin-3-O-rutinoside. Proton anomeric H-1''' ( $\delta_{\text{H}}$  4,57) tương tác với carbon C-6'' của ( $\delta_{\text{C}}$  67,0); proton anomeric H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  5,16) tương tác với carbon C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  133,3) của khung flavonoid được ghi nhận trên phổ HMBC, cho thấy có một gốc rutinosyl trong cấu trúc của hợp chất **2**.

Các số liệu về phổ của hợp chất **2** đều phù hợp với Quercetin-3-O-rutinoside [10-11].

### 3.3. Xác định cấu trúc của hợp chất **3** (7,3'-Dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)

Hợp chất **3** được tách ra dưới dạng chất bột màu vàng nhạt, có điểm nóng chảy ở  $275^{\circ}\text{C} \div 278^{\circ}\text{C}$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **3** cho thấy tín hiệu ở  $\delta_{\text{H}}$  13,07 (1H, *s*), đây là tín hiệu của nhóm -OH. Các tín hiệu proton nhóm -CH ( $\text{C sp}^2$ ) thuộc khung flavonoid xuất hiện ở vùng trường thấp:  $\delta_{\text{H}}$  7,60 (2H, *s*, H-2'/6') và  $\delta_{\text{H}}$  6,95 (3H; *s*; H-3/8/5'). Tín hiệu của 2 nhóm -OCH<sub>3</sub> cũng được chỉ ra ở  $\delta_{\text{H}}$  3,91 (6H; *s*; 7/3'-OCH<sub>3</sub>).

Từ tín hiệu proton anomeric H-1'' tại  $\delta_{\text{H}}$  5,06 (1H; *d*; 6,5) nhận thấy sự có mặt của gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranoside. Trên phổ COSY và HMBC xác định được các proton khác của gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranoside, như là: H-2'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,26; 1H; *m*), H-3'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,23; 1H; *m*), H-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,16; 1H; *m*); H-5'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,08; 1H; *m*); H-6a'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,60; 1H; *d*; 11,0) và H-6b'' ( $\delta_{\text{H}}$  3,40; 1H; *d*; 6,5).

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **3** có 23 tín hiệu ứng với 23 nguyên tử carbon, trong đó 2 carbon thuộc 2 nhóm -OCH<sub>3</sub>, 15 carbon thuộc khung flavonoid, 6 carbon thuộc gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranoside. Trên phổ HMBC có thể xác định ở vị trí C-6 của khung flavonoid gắn gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranoside nhờ tương tác giữa H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  5,05) với C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  128,1). Tín hiệu các tương tác giữa H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,95) với C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  158,5) và C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  152,6); tương tác giữa proton của 7-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3,91) với C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  158,5); tương tác giữa H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  7,59) và H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,95) với C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  148,0); tương tác giữa proton của 3'-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3,91) với C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  148,0), kết luận được 2 nhóm -OCH<sub>3</sub> gắn vào khung flavonoid ở vị trí C-7 và C-3'.

So sánh với các tài liệu tham khảo [12][13] xác định được hợp chất **3** là 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.

## 4. KẾT LUẬN

Từ dịch chiết hexane và butanol của củ cây Sâm Nam chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất Stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol (**1**), quercetin-3-O-rutinoside (**2**) và 7,3'-Dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**3**). Đây là nghiên cứu thành phần hóa học đầu tiên của củ Sâm Nam tại vườn Quốc gia Bến En, Thanh Hóa.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích (chủ biên) (2013), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [2] Đỗ Tất Lợi (2004), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nxb. Y học, Hà Nội.
- [3] W. D. L and Kai (2000), in Flora of China, Science Press, Beijing, p.333.
- [4] R. Jena, D. Rath, S. S. Rout, and D. M. Kar (2020), A review on genus *Millettia*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological activities, Saudi Pharm. J., 28(12) 1686-1703.

- [5] Duan Z. (2011), *The Study on Biological Characteristics and Cultivation Management Measures of Millettia speciosa Champ*, Trop. For., vol. 39, p.22-25.
- [6] B. Huang, L. Xu, and Z. Li (2008), *The reasearch of stem tissue culture from Millttia Speciosa*, J. Anhui Agric. Sci., 32(2) 993-994.
- [7] X. Chen, Z. Wang (2013), *Protective effect of Millettiae speciosae Radix on hemopoietic system of 60Coy-ray irradiated mice*, Chinese Tradit. Pat. Med., vol. 35, p.1852-1856.
- [8] Yao S, Bai L. (2012), *Study on Seed Germination Characteristic of Millettia speciosa Champ*, Seed, vol. 31, p.36-38.
- [9] Y. H. Kuo, M. H. Yeh (1997), *Chemical Constituents of Heartwood of Bauhinia purpurea*, J. Chinese Chem. Soc., 44(4), 379-383.
- [10] J. Y. Lallemand, M. Duteil (1977), *13C n.m.r. spectra of quercetin and rutin*, Org. Magn. Reson., 9(3) 179-180.
- [11] J. F. O. Couto et al. (2021), *HSCCC separations of rutin esters obtained by enzymatic reaction catalyzed by lipase*, J. Braz. Chem. Soc., 32(3) 523-533.
- [12] D. T. X. Nguyen, H. Tran, S. Schwaiger, H. Stuppner, S. Marzocco (2021), *Effect of Non-Volatile Constituents of Elsholtzia ciliata (Thunb.) Hyl. from Southern Vietnam on Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide Release in Macrophages*, Chem. Biodivers., 18(1).
- [13] S. Mathuray, Koziparambil, K. Pljrushothaman, Ayyappath (1976), *A new flavone 6-glucoside from citharexylum subserratum subramanian*, Phytochemistry, vol.15, p.838.

## ISOLATION OF SOME COMPOUND FROM *MILLETTIA SPECIOSA* (CHAMP) IN THANH HOA PROVINCE

Nguyen Thi Huong, Vu Hong Nam

### ABSTRACT

*Millettia speciosa Champ* belongs to the genus *Millettia*, in the *Fabaceae* family. According to traditional medicine, the species *Millettia speciosa* possesses various biological abilities such as promoting health, protecting the liver, treating anemia, reducing joint pain, cough, and fever. In this study, three compounds were isolated from the roots of *Millettia speciosa* collected in Ben En National Park, Thanh Hoa province, including one steroid: stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol (1) and two flavonoids: quercetin-3-O-rutinoside (2) and 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3). The structures of these compounds were determined using modern spectroscopic methods

**Keywords:** *Millettia speciosa* champ, stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol, quercetin-3-O-rutinoside, 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.

\* Ngày nộp bài: 11/8/2023; Ngày gửi phản biện: 25/8/2023; Ngày duyệt đăng: 10/12/2023

\* Bài báo là kết quả nghiên cứu từ đề tài NCKH cấp cơ sở (mã số ĐT-2022-01) của Trường Đại học Hồng Đức.