

Cấu trúc một số flavonoid phân lập từ loài Ban Hooker (*Hypericum hookerianum* Wight & Arn.)

Vũ Duy Hồng^{1,2}, Vũ Văn Tuấn³

Phương Thiện Thương⁴, Nguyễn Minh Khởi², Nguyễn Mạnh Tuyền^{5*}

¹Viện huyết học và truyền máu Trung Ương, ²Viện Dược liệu,

³Khoa Dược, Đại học Phenikaa,

⁴Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc

⁵Khoa Dược liệu – Dược học cổ truyền, Đại học Dược Hà Nội

*Tác giả liên hệ: tuyennm@hup.edu.vn

(Ngày gửi đăng: 14/10/2022 – Ngày duyệt đăng: 24/11/2022)

SUMMARY

Phytochemical investigation on the methanol extract of the aerial parts of Hypericum hookerianum Wight & Arn. collected in Sa Pa (Lao Cai, Vietnam) led to the isolation of eight flavonoids (1–8). These isolates were identified as kaempferol (1), hyperoside (2), astilbin (3), engeletin (4), isorhamnetin-3-O-β-D-glucopyranoside (5), rutin (6), nicotiflorin (7) and 3,8''-biapigenin (8) by spectroscopic analyses and comparison with those reported in the literature. All flavonoids have been firstly isolated from H. hookerianum. This is the first report on the occurrence of isorhamnetin-3-O-β-D-glucopyranoside (5) in the genus Hypericum.

Từ khóa: *Hypericum hookerianum*, flavonoid, isorhamnetin-3-O-β-D-glucopyranosid.

Đặt vấn đề

Cây Ban Hooker (*Hypericum hookerianum* Wight & Arn.) là một loài cây thân thảo thuộc họ Ban (Hypericaceae), được phân bố ở Trung Quốc, Nepal, Ấn Độ và một số quốc gia Đông Nam Á [1-2]. Ở Việt Nam cây Ban Hooker được phát hiện nhiều ở vùng núi Sa Pa, tỉnh Lào Cai [2-3]. Loài *H. hookerianum* được người dân ở Trung Quốc và Ấn Độ sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị viêm bàng quang, làm lành các vết thương, chống trầm cảm, kích thích thần kinh trung ương [1-2]. Tại Việt Nam, đồng bào miền núi thường dùng lá cây Ban Hooker chữa đau mắt cho gia súc [2]. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào báo cáo về thành phần flavonoid trong loài *H. hookerianum*. Bài báo này trình bày quy trình chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của 08 hợp chất flavonoid từ phần trên mặt đất của cây ban Hooker.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây ban Hooker thu hái tại xã Sa Pa, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai vào tháng 06/2016. Mẫu được xác định tên khoa học là *Hypericum hookerianum* Wight & Arn. bởi Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Khoa Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu (Mã số tiêu bản: HH20160619). Mẫu nghiên cứu hiện được lưu giữ tại Khoa Hóa Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

Hóa chất, dung môi

Hóa chất: bản mỏng tráng sẵn pha thường silica gel F₂₅₄ (Merck), pha đảo RP₁₈ F_{254s}, chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 63-200 μm), pha đảo RP-18 (30-50 μm) (Merck, Darmstadt, Germany), Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), acid

sulfuric 10 %/ethanol. Dung môi công nghiệp *n*-hexan, ethyl acetat, dicloromethan (CH_2Cl_2), methanol (MeOH), nước cất (H_2O).

Thiết bị, dụng cụ

Các loại cột sắc ký, đèn tử ngoại, máy đo phổ khối Agilent 1100 LC/MSD (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC) Bruker AM500 FT-NMR (Bruker, Billerica, MA USA).

Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Chiết xuất các hợp chất từ dược liệu bằng methanol theo phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng. Phân đoạn cao tổng bằng dung môi có độ phân cực tăng dần dicloromethan, ethyl acetat và *n*-butanol. Phân lập các chất bằng sắc ký cột với các chất hấp phụ silica gel pha thường, pha đảo RP-18, Sephadex LH-20. Sắc ký lớp mỏng dùng để theo dõi vết các chất từ dịch chiết phân đoạn và kiểm tra độ tinh khiết các chất phân lập.

Xác định cấu trúc các chất phân lập

Xác định cấu trúc của các chất phân lập được dựa trên phân tích kết quả phổ khối (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HMBC, HSQC) sử dụng chất nội chuẩn là TMS (tetramethyl silan) và so sánh các dữ liệu thu được từ thực nghiệm với các dữ liệu đã công bố.

Chiết xuất, phân lập và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập

Phần trên mặt đất cây ban Hooker đã phơi khô (5,0 kg) được cắt nhỏ, ngâm chiết với methanol ở nhiệt độ phòng (chiết 3 lần, mỗi lần 4 ngày). Dịch chiết được gộp lại và cất loại methanol dưới áp suất giảm thu được cặn chiết đã cô khô (487 g). Cặn chiết được phân tán vào nước cất (0,5 lít) thành hỗn dịch rồi lọc, chiết phân đoạn lần lượt với dicloromethan (0,5 lít \times 3 lần), ethyl acetat (0,5 lít \times 3 lần), *n*-butanol (0,5 lít \times 3 lần). Các dịch chiết dicloromethan, ethyl acetat và *n*-butanol được tách riêng, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được các phần cặn tương ứng: cặn phân đoạn dicloromethan (89 g), cặn phân đoạn ethyl acetat (78 g) và cặn phân đoạn *n*-butanol (86 g). Cặn phân đoạn EtOAc (75 g) được đưa qua cột sắc ký silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ với tỷ lệ methanol tăng dần từ 0 đến 100% thu được 09 phân đoạn PĐE1-PĐE9. Phân đoạn PĐE1 (4,8 g) tiếp tục được phân tách bằng cột silica gel pha đảo RP-18 rửa giải gradient với hệ dung môi MeOH/ H_2O (1/2; 1/1; 2/1) thu được 05 phân đoạn (PĐE1.1-PĐE1.5). Chất số **1** (15 mg) được tinh sạch từ phân đoạn PĐE1.4 sử dụng cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải *n*-hexan/ethyl acetat (2/1; 1/1). Phân đoạn PĐE1.2 được đưa lên cột silica gel pha thường rửa giải bằng pha động $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (5/1; v/v) thu được chất số **8** (48 mg). Phân đoạn PĐE4 (5,6 g) được phân tách trên cột silica gel pha đảo RP-18 với dung môi gradient MeOH/ H_2O (1/3; 1/2; 1/1; 2/1) thu được 06 phân đoạn (PĐE4.1-PĐE4.6). Phân đoạn PĐE4.5 được làm sạch trên cột silica gel pha đảo RP-18 sử dụng hệ dung môi MeOH/ H_2O (1/1; 2/1) thu được chất số **2** (22 mg). Các hợp chất **3** (11 mg), **4** (13 mg) và **5** (16 mg) thu được từ phân đoạn PĐE4.3 khi đưa lên cột silica gel pha đảo RP-18 với dung môi acetone/ H_2O (1/2; 1/1). Phân đoạn PĐ4.1 được tinh chế trên cột silica gel pha đảo RP-18 sử dụng dung môi MeOH/ H_2O (1/2) thu được **6** (23 mg) và **7** (14 mg).

Chất số **1**: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 287 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 6,20 (1H, br s, H-6); 6,40 (1H, br s, H-8); 8,08 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-2'; H-

6'); 6,92 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-3'; H-5'). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 2: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 465 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 6,22 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 6,42 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 7,85 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-2'); 6,89 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5'); 7,61 (1H, dd, $J=2,0; 8,0$ Hz, H-6'); 5,19 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-1''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 3: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 449 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 5,09 (1H, d, $J=10,5$ Hz, H-2); 4,59 (1H, d, $J=10,5$ Hz, H-3); 5,92 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 5,94 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 6,98 (1H, br s, H-2'); 6,86 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5'); 6,88 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-6'); 4,08 (1H, br s, H-1''); 1,20 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-6''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 4: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 433 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 5,15 (1H, d, $J=10,5$ Hz, H-2); 4,62 (1H, d, $J=10,5$ Hz, H-3); 5,92 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 5,94 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 7,37 (2H, d, $J=7,5$ Hz, H-2'; H-6'); 6,86 (2H, d, $J=7,5$ Hz, H-3'; H-5'); 4,04 (1H, br s, H-1''); 1,20 (3H, d, $J=6,0$ Hz, H-6''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 5: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 477 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 6,22 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 6,42 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 7,94 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-2'); 6,93 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5'); 7,61 (1H, dd, $J=2,0; 8,0$ Hz, H-6'); 5,41 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-1''); 3,96 (3H, s, 3'-OCH₃). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 6: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 633 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$; 500 MHz): δ_{H} 6,19 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 6,38 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 7,53 (1H, br s, H-2'); 6,84 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5'); 7,54 (1H, dd, $J=8,0$ Hz, H-6'); 5,34 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-1''); 3,29 (1H, m, H-6''a); 3,71 (1H, d, $J=10,5$ Hz, H-6''b); 4,39 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H-1'''); 0,99 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-6'''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 7: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 593 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD ; 500 MHz): δ_{H} 6,22 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H-6); 6,41 (1H, br s, H-8); 8,08 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-2'; H-6'); 6,91 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-3'; H-5'); 5,14 (1H, d, $J=7,0$ Hz, H-1''); 3,54 (1H, dd, $J=5,5; 11,5$ Hz, H-6''a); 3,83 (1H, dd, $J=1,5; 11,5$ Hz, H-6''b); 4,54 (1H, br s, H-1'''); 1,14 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-6'''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD ; 125 MHz): xem bảng 1.

Chất số 8: Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (m/z) 537 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{acetone}-d_6$; 500 MHz): δ_{H} 6,33 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 6,57 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 7,49 (2H, d, $J=9,0$ Hz, H-2'; H-6'); 6,77 (2H, d, $J=9,0$ Hz, H-3'; H-5'); 6,60 (1H, s, H-3''); 6,34 (1H, s, H-6''); 7,67 (2H, d, $J=9,0$ Hz, H-2''', H-6'''); 6,87 (2H, d, $J=9,0$ Hz, H-3''', H-5'''); 13,09 (1H, s, 5-OH); 12,96 (1H, s, 5''-OH). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{acetone}-d_6$; 125 MHz): δ_{C} 165,1 (C-2), 111,3 (C-3), 183,3 (C-4), 162,9 (C-5), 99,8 (C-6), 165,1 (C-7), 94,6 (C-8), 160,8 (C-9), 105,5 (C-10), 124,8 (C-1'), 130,9 (C-2'), 116,0 (C-3'), 163,4 (C-4'), 116,0 (C-5'), 130,9 (C-6'), 165,2 (C-2''), 103,9 (C-3''), 182,1 (C-4''), 161,9 (C-5''), 99,8 (C-6''), 165,1 (C-7''), 100,4 (C-8''), 156,4 (C-9''), 105,5 (C-10''), 123,2 (C-1'''), 129,0 (C-2'''), 116,8 (C-3'''), 163,1 (C-4'''), 116,8 (C-5'''), 129,0 (C-6''').

Bảng 1. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) của các chất 1–7 (δ_{C} ppm)

Vị trí	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^b	7 ^a
2	148,1	158,4	83,9	83,8	158,7	156,5	158,6
3	137,1	135,8	78,6	78,7	135,4	133,3	135,5

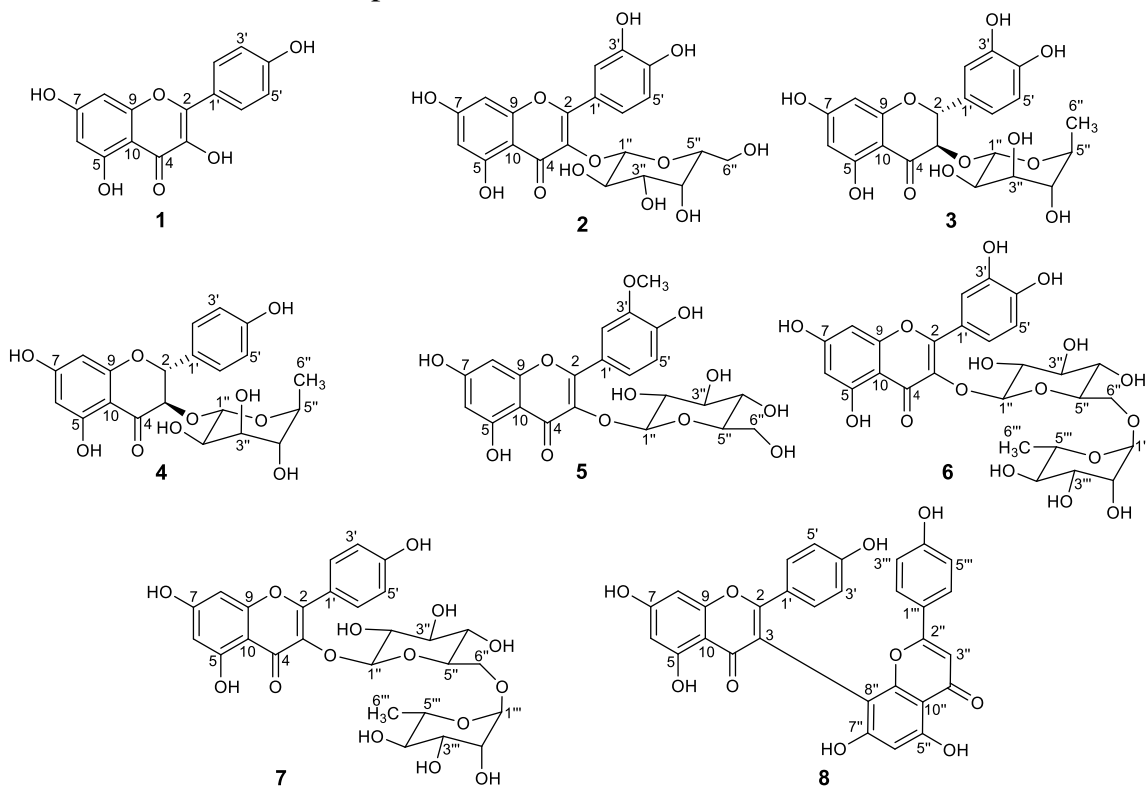
4	177,3	179,6	196,0	196,0	179,4	177,3	179,4
5	162,4	163,0	165,5	165,5	163,1	161,2	163,0
6	99,3	99,9	97,3	97,4	99,9	98,6	100,1
7	165,5	166,1	168,6	168,6	166,0	164,0	166,5
8	94,5	94,7	96,3	96,3	94,8	93,5	95,0
9	158,2	158,8	164,1	164,1	158,5	156,4	159,4
10	104,5	105,6	102,5	102,2	105,8	103,9	105,6
1'	123,7	122,9	129,2	128,6	123,1	121,5	122,8
2'	130,7	117,8	116,3	130,0	114,4	116,2	132,4
3'	116,3	145,8	146,5	116,4	148,4	144,7	116,1
4'	160,5	150,0	147,4	159,4	150,8	148,4	161,5
5'	116,3	116,1	115,5	116,4	116,0	115,2	116,1
6'	130,7	123,0	120,5	130,0	123,9	121,1	132,4
1''		105,6	102,1	102,5	103,7	101,2	104,7
2''		73,2	71,8	71,8	75,9	74,0	75,8
3''		75,1	72,2	72,2	78,5	76,4	78,2
4''		70,0	73,8	73,8	71,5	70,5	71,5
5''		77,2	70,5	70,5	78,1	75,9	77,2
6''		62,0	17,9	17,8	62,6	66,9	68,6
1'''						100,7	102,4
2'''						70,0	72,1
3'''						70,3	72,3
4'''						71,8	73,9
5'''						68,2	69,7
6'''						17,7	17,9
3'- OCH ₃					56,8		

^a Đo trong CD₃OD; ^b Đo trong DMSO-d₆

Kết quả và bàn luận

Hợp chất **1** thu được dưới dạng bột màu vàng. Phổ ¹³C-NMR của **1** xuất hiện tất cả 13 tín hiệu cacbon, trong đó có một tín hiệu keton carbon tại δ_C 177,3 và 12 tín hiệu ở trường thấp đặc trưng cho carbon của vòng thơm hay của liên kết đôi C=C (δ_C 94,5-165,5). Phổ ¹H-NMR cho các tín hiệu của sáu proton vòng thơm tại δ_H 6,20-8,08 ppm. Các dữ kiện phổ NMR ở trên kết hợp với những tài liệu đã công bố về thành phần hóa học của các loài thuộc chi *Hypericum* [4] cho biết **1** là một flavonoid (chỉ có các nhóm thế hydroxy trong cấu trúc). Hai tín hiệu doublet của bốn proton thơm lần lượt ở δ_H 8,08 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và 6,92 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) được xác định là các proton ở vị trí H-2', H-6' và H-3', H-5' vòng B của một flavonoid [5], [6]. Do cacbon ở vị trí C-2'/C-6' và C-3'/C-5' đối xứng với nhau từng đôi một nên trên phổ ¹³C-NMR của **1** chỉ xuất hiện tín hiệu của 13 carbon tương ứng với 15 cacbon như khung cơ bản C₆-C₃-C₆ của một flavonoid. Hai tín hiệu proton ghép cặp *meta* δ_H 6,20 (br s) và 6,41 (br s) còn lại được xác định lần lượt là hai proton ở vị trí H-6 và H-8 vòng A. Phổ khối ESI-MS có pic ion m/z 287 [M+H]⁺ (positive) cho biết khối lượng

phân tử của **1** là $M=286$. Phân tích các dữ kiện phổ, tham khảo tài liệu đã công bố [5], [6], xác định chất số **1** là kaempferol.



Hình 1. Công thức cấu tạo của các hợp chất 1-8

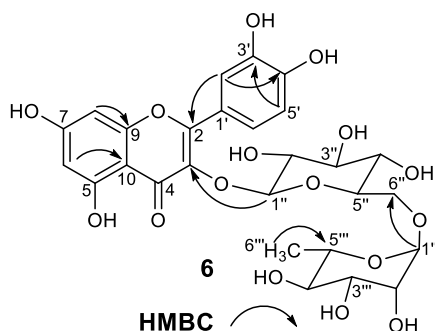
Các dữ kiện phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** gần giống với **1** cho biết **2** cũng là một flavonoid. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu của năm proton thơm thay vì sáu proton như trong hợp chất **1**. Trong năm proton thơm của **2**, có ba proton ghép cặp dưới dạng ABX được xác định là các proton ở vị trí H-2' (δ_{H} 7,85 d, $J = 2,0$ Hz), H-5' (δ_{H} 6,89, d, $J = 8,0$ Hz), H-6' (δ_{H} 7,61, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz) vòng B của một flavonoid. Hai proton ghép cặp *meta* ở δ_{H} 6,22 (d, $J = 2,0$ Hz) và 6,42 (d, $J = 2,0$ Hz) còn lại được xác định lần lượt là hai proton ở vị trí H-6 và H-8 vòng A. Bên cạnh các tín hiệu của các vòng thơm, phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện thêm các tín hiệu của một gốc đường với proton anome xuất hiện ở δ_{H} 5,19 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-1''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** cho biết sự có mặt của 21 carbon, trong đó tín hiệu của gốc đường ở δ_{C} 105,6; 77,2; 75,1; 73,2; 70,0; 62,0. Như vậy chất số **2** được xác định là một flavonoid-*O*-glycosid với phần aglycon là quercetin [7]. Phổ ESI-MS xuất hiện pic ion m/z 465 $[\text{M}+\text{H}]^+$, kết hợp với các dữ liệu NMR gợi ý công thức phân tử của **2** là $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$. Phân tích các dữ liệu phổ, so sánh với tài liệu tham khảo [8] xác định chất số **2** là hợp chất quercetin-3-*O*- β -D-galactopyranosid, hay biết đến với tên thường gọi là hyperoside.

Hai hợp chất **3** và **4** cũng được xác định là các flavonoid-*O*-glycosid với một gốc đường trong cấu trúc. Các tín hiệu phổ NMR của **3** và **4** (Bảng 1) cho biết hai hợp chất này có cùng gốc đường α -L-rhamnopyranose [8]. Phần aglycon của **3** và **4** được xác định là các flavanonol với các tín hiệu của nhóm keton C-4 ở δ_{C} 196,0 và 02 oxymethin carbon C-2 (δ_{C} 83,9 đối với **3** và δ_{C} 83,8 đối với **4**) và C-3 (δ_{C} 78,6 đối với **3** và δ_{C} 78,7 đối với **4**). Sự

khác biệt giữa hai chất **3** và **4** nằm ở vòng B của khung aglycon. Theo đó các proton vòng B của hợp chất **3** ghép cặp ABX, trong khi các proton vòng B của **4** ghép cặp dưới dạng AA'BB'. Tín hiệu của proton H-2 và H-3 trong các hợp chất **3** và **4** xuất hiện dưới dạng doublet với hằng số ghép cặp $J = 10,5$ Hz cho biết proton H-2 và H-3 ở vị trí *trans* [9]. Phân tích số liệu phổ thu được của **3** và **4**, tham khảo tài liệu đã công bố xác định các hợp chất đó lần lượt là astilbin và engeletin [10].

Hợp chất **5** được xác định là một flavonoid glycosid với phần aglycon có chứa một nhóm thế methoxy [δ_H 3,96; δ_C 56,8]. Phổ 1H -NMR của **5** xuất hiện tín hiệu của ba proton ghép cặp dưới dạng ABX được xác định là các proton ở vị trí H-2' (δ_H 7,69, d, $J = 2,0$ Hz), H-5' (δ_H 6,93, d, $J = 8,0$ Hz), H-6' (δ_H 7,61, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz) vòng B của một flavonoid. Hai proton ghép cặp *meta* ở δ_H 6,22 (d, $J = 2,0$ Hz) và 6,42 (br s) còn lại được xác định lần lượt là hai proton ở vị trí H-6 và H-8 vòng A. Gốc đường trong **5** được nhận định gồm sáu carbon và có cấu hình β từ hằng số ghép cặp $J = 7,5$ Hz của proton anome và số lượng carbon trên phổ ^{13}C -NMR. So sánh phổ của chất số **5** và phổ của isorhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranosid trong tài liệu [11], khẳng định **5** là hợp chất isorhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranosid.

Phần aglycon của hợp chất flavonoid **6** được dự đoán là quercetin dựa trên các tín hiệu phổ 1H và ^{13}C -NMR (Bảng 1). Khác với các hợp chất **2–5**, chất số **6** có hai gốc đường trong cấu trúc do trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện thêm 12 tín hiệu carbon cùng với 15 tín hiệu carbon của khung aglycon. Hai gốc đường của **6** được xác định bao gồm một đường α -L-rhamnopyranose và 01 đường β -D-glucopyranose dựa trên hằng số ghép cặp của các proton anome, độ chuyển dịch của các cacbon, và so sánh với tài liệu tham khảo [7], [12]. Hai gốc đường này liên kết với nhau tạo thành mảnh cấu trúc dạng α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl do trên phổ HMBC xuất hiện tương tác H-1''' (δ_H 4,39) và C-6'' (δ_C 66,9). Gốc đường β -D-glucopyranose được xác định gắn vào vị trí C-3 của khung aglycon do xuất hiện tương tác HMBC của H-1'' (δ_H 5,34, d, $J=7,5$ Hz,) và C-3 (δ_C 133,3) (Hình 2). Từ những phân tích ở trên, dự đoán **6** là hợp chất quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid (tên gọi rutin) [7]. Phổ ESI-MS có đỉnh ion tại m/z 633 $[M+Na]^+$, cho biết công thức phân tử của **6** là $C_{27}H_{30}O_{16}$ ($M=610$), phù hợp với công thức phân tử của hợp chất rutin. Do đó, chất số **6** được xác định là rutin.



Hình 2. Các tương tác HMBC chính của chất số **6**

Chất số **7** thu được cũng là một flavonoid diglycosid với hai gốc đường liên kết với nhau tạo thành mảnh α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl tương tự như hợp chất **6**. Điểm khác biệt chính giữa **6** và **7** là các tín hiệu của vòng B khung aglycon. Theo

đó, phổ $^1\text{H-NMR}$ vòng B của **7** xuất hiện bốn proton tương tác với nhau dạng AA'BB' thay vì tương tác dạng ABX như trong **6**. Do đó, **7** được dự đoán là hợp chất kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid, tên thường gọi nicotiflorin. So sánh phổ thực nghiệm với số liệu phổ của hợp chất nicotiflorin [12] thấy hoàn toàn trùng khớp, cho phép khẳng định chất số **7** là nicotiflorin.

Hợp chất **8** thu được dưới dạng bột màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **8** xuất hiện tín hiệu của hai nhóm proton thơm ghép cặp dưới dạng AA'BB' ở δ_{H} 7,67 (2H, d, $J = 8,5$ Hz); 6,87 (2H, d, $J = 9,0$ Hz); 7,49 (2H, d, $J = 9,0$ Hz); 6,77 (2H, d, $J = 8,5$ Hz), hai tín hiệu proton thơm ghép cặp dưới dạng *meta* ở δ_{H} 6,33 (d, $J = 2,0$ Hz); 6,57 (d, $J = 1,5$ Hz) và hai tín hiệu proton xuất hiện dưới dạng pic đơn ở δ_{H} 6,60 và 6,34 ppm. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **8** xuất hiện 26 tín hiệu trong đó có bốn tín hiệu cao gấp đôi so với các tín hiệu còn lại. Kết hợp với phổ $^1\text{H-NMR}$ xác định **8** có 30 nguyên tử carbon trong đó có tám carbon đối xứng với nhau từng đôi một. Với việc có 30 nguyên tử cacbon, bột màu vàng cùng với các tín hiệu trên phổ $^1\text{H-NMR}$ dự đoán **8** là một hợp chất biflavonoid [13], [14]. Phổ ESI-MS có pic ion tại (m/z)=537 [M-H] $^-$, kết hợp với dữ liệu phổ NMR cho biết công thức phân tử của **8** là $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ ($M=538$). So sánh những dữ liệu phổ thu được của **8** với hợp chất 3,8''-biapigenin đã công bố [13] cho thấy có sự trùng khớp. Như vậy, **8** được xác định là 3,8''-biapigenin, hợp chất có công thức phân tử $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$.

Kết luận

Từ cao phân đoạn ethyl acetat phần trên mặt đất của cây ban Hooker (*Hypericum hookerianum*) thu hái ở Sa Pa, bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của tám hợp chất flavonoid (**1–8**). Các hợp chất này lần lượt được xác định là kaempferol (**1**), hyperoside (**2**), astilbin (**3**), engeletin (**4**), isorhamnetin-3-O- β -D-glucopyranosid (**5**), rutin (**6**), nicotiflorin (**7**) và 3,8''-biapigenin (**8**). Tất cả các flavonoid đều lần đầu tiên được phân lập từ loài *H. hookerianum*, trong đó hợp chất isorhamnetin-3-O- β -D-glucopyranosid (**5**) lần đầu tiên được tìm thấy trong thành phần hóa học của một loài thuộc chi *Hypericum*. Đây là đóng góp mới của nghiên cứu góp phần làm phong phú thêm tri thức về hóa thực vật học của chi *Hypericum* nói chung và loài ban Hooker (*H. hookerianum*) nói riêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mukherjee PK, Suresh B (2000), The evaluation of wound-healing potential of *Hypericum hookerianum* leaf and stem extracts, *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 6(1), 61-69.
2. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Tập 1, 117-120.
3. Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, Tập 1, 463.
4. Zhao J, Liu W, Wang JC (2015), Recent advances regarding constituents and bioactivities of plants from the genus *Hypericum*, *Chemistry & Biodiversity*, 12(3), 309-349.
5. Juan-Badaturuge M, Habtemariam S, Thomas M (2011), Antioxidant compounds from a South Asian beverage and medicinal plant, *Cassia auriculata*, *Food Chemistry*, 125(1), 221-225.
6. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB (1970), *The systematic identification of flavonoids*, Springer-Verlag, New York, 2204.
7. Lima CS, Mottin M, de Assis LR, Mesquita N, Sousa B, Coimbra L, Santos K, Zorn K, Guido R, Ekins S, Marques R, Modena J, Oliva G, Andrade C, Regasini L (2021),

- Flavonoids from *Pterogyne nitens* as Zika virus NS2B-NS3 protease inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 109, 104719.
8. Vieira MN, Winterhalter P, Jerz G (2016), Flavonoids from the flowers of *Impatiens glandulifera* Royle isolated by high performance countercurrent chromatography, *Phytochemical Analysis*, 27(2), 116-125.
 9. Lucas-Filho MD, Silva GC, Cortes SF, Mares-Guia TR, Perpétua Ferraz V, Serra CP, Braga FC (2010), ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz, *Phytomedicine*, 17(5), 383-387.
 10. Huang H, Cheng Z, Shi H, Xin W, Wang TT, Yu LL (2011), Isolation and characterization of two flavonoids, engeletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4562-4569.
 11. He ZN, Lian WW, Liu JW, Zheng RS, Xu H, Du GH, Liu AL (2017), Isolation, structural characterization and neuraminidase inhibitory activities of polyphenolic constituents from *Flos caryophylli*, *Phytochemistry Letters*, 19, 160-167.
 12. Baraka SM, Saleh DO, Ghaly NS, Melek FR, Din A, Khalil W, Said MM, Medhat AM (2020), Flavonoids from *Barnebydendron riedelii* leaf extract mitigate thioacetamide-induced hepatic encephalopathy in rats: The interplay of NF- κ B/IL-6 and Nrf2/HO-1 signaling pathways, *Bioorganic Chemistry*, 105, 104444.
 13. Berghöfer R, Hölzl J (1987), Biflavonoids in *Hypericum perforatum*; Part 1. Isolation of I3, II8-Biapigenin, *Planta Medica*, 53(2), 216-217.
 14. Tatsis EC, Boeren S, Exarchou V, Troganis AN, Vervoort J, Gerothanassis IP (2007), Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS, *Phytochemistry*, 68(3), 383-393.