

# Chemical structures of flavonoids from *Hypericum hookerianum* Wight & Arn

Vu Duy Hong<sup>1,2</sup>, Vu Van Tuan<sup>3</sup>, Phuong Thien Thuong<sup>4</sup>,  
Nguyen Minh Khoi<sup>2</sup>, Nguyen Manh Tuyen<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> National Institute of Hematology and Blood Transfusion

<sup>2</sup> National Institute of Medicinal Materials

<sup>3</sup> Faculty of Pharmacy, Phenikaa University

<sup>4</sup> Vietnam - Korea Institute of Science and Technology

<sup>5</sup> Faculty of Pharmacognosy and Traditional Medicine, Hanoi University of Pharmacy

\*Corresponding author: 0973229194, tuyenm@hup.edu.vn

## ABSTRACT

**Background:** *Hypericum hookerianum* is widely distributed in Asian countries. In Vietnam, this species is found abundantly in the northern mountains (Sapa district, Lao Cai province). The leaves of *H. hookerianum* have been applied in Vietnamese Traditional Medicine to treat eye pain for cattle. To date, there have not been reported study on flavonoids of *H. hookerianum*.

**Aim:** The aim of this study was to isolate and determine the chemical structures of flavonoids from *H. hookerianum*.

**Method:** The compounds were isolated and purified by column chromatography. The chemical structures of flavonoids were elucidated by the analyses of Mass spectrometry (MS) and Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and comparison with those reported in the literature.

**Results:** Eight flavonoids (**1–8**) was isolated from the methanol extract of the aerial parts of *Hypericum hookerianum* collected in Sa Pa (Lao Cai, Vietnam). These isolates were identified as kaempferol (**1**), hyperoside (**2**), astilbin (**3**), engeletin (**4**), isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**5**), rutin (**6**), nicotiflorin (**7**) and 3,8''-biapigenin (**8**). All flavonoids have been firstly isolated from *H. hookerianum*. This is the first report on the occurrence of isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**5**) in the genus *Hypericum*.

**Conclusions:** The results provide new information on the phytochemical profile of genus *Hypericum* generally and of species *H. hookerianum* particularly.

**Keywords:** *Hypericum hookerianum*, flavonoids, isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.



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

Vũ Duy Hồng<sup>1,2</sup>, Vũ Văn Tuấn<sup>3</sup>, Phương Thiện Thương<sup>4</sup>,  
Nguyễn Minh Khởi<sup>2</sup>, Nguyễn Mạnh Tuyển<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> Viện huyết học và truyền máu Trung ương,

<sup>2</sup> Viện Dược liệu,

<sup>3</sup> Khoa Dược, Đại học Phenikaa,

<sup>4</sup> Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc

<sup>5</sup> Khoa Dược liệu – Dược học cổ truyền, Đại học Dược Hà Nội

\* Tác giả liên hệ: 0973229194, tuyennm@hup.edu.vn

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

## TÓM TẮT

**Dẫn nhập:** Cây ban Hooker (*H. hookerianum*) được tìm thấy ở nhiều quốc gia Châu Á. Ở Việt Nam, ban Hooker mọc hoang nhiều ở vùng núi Sa Pa, tỉnh Lào Cai. Lá cây ban hooker được người dân sử dụng để chữa đau mắt cho gia súc. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào về thành phần flavonoid trong loài *H. hookerianum* được báo cáo.

**Mục tiêu nghiên cứu:** Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất flavonoid từ cây ban Hooker.

**Phương pháp:** Phân lập các hợp chất bằng phương pháp sắc ký cột. 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 (NMR) và so sánh với các tài liệu tham khảo.

**Kết quả:** Tám hợp chất flavonoid (**1–8**) đã được phân lập từ cao chiết methanol phần trên mặt loài ban Hooker thu hái tại Sa Pa (Lào Cai). Các hợp chất này lần lượt được xác định là kaempferol (**1**), hyperoside (**2**), astilbin (**3**), engeletin (**4**), isorhamnetin-3-O- $\beta$ -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- $\beta$ -D-glucopyranosid (**5**) lần đầu tiên được tìm thấy trong chi *Hypericum*.

**Kết luận:** Các kết quả nghiên cứu góp phần làm phong phú thêm tri thức về hóa thực vật học của chi *Hypericum* nói chung và loài ban Hooker nói riêng.

**Từ khóa:** loài Ban Hooker, flavonoid, phân lập, hợp chất isorhamnetin-3-O- $\beta$ -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 Pả, 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 F<sub>254</sub> (Merck), pha đảo RP<sub>18</sub> F<sub>254s</sub>, 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<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), methanol (MeOH), nước cất (H<sub>2</sub>O).

#### **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 (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>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. Phần 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 (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>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 lắc, chiết phân đoạn lần lượt với dicloromethan (0,5 lít × 3 lần), ethyl acetat (0,5 lít × 3 lần), *n*-butanol (0,5 lít × 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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/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<sub>2</sub>O (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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/aceton (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<sub>2</sub>O (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<sub>2</sub>O (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<sub>2</sub>O (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<sub>2</sub>O (1/2) thu được **6** (23 mg) và **7** (14 mg).

**Chất số 1:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (*m/z*) 287 [M+H]<sup>+</sup>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 500 MHz): δ<sub>H</sub> 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 <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 2:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (*m/z*) 465 [M+H]<sup>+</sup>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 500 MHz): δ<sub>H</sub> 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 <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 3:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (*m/z*) 449 [M-H]<sup>-</sup>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 500 MHz): δ<sub>H</sub> 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 <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 4:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS (*m/z*) 433 [M-H]<sup>-</sup>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD; 500 MHz): δ<sub>H</sub> 5,15 (1H, d, *J*=10,5 Hz, H-2); 4,62 (1H, d,

Bảng 1. Số liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) của các chất **1-7** (δ<sub>C</sub> ppm)

Vị trí	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>b</sup>	7 <sup>a</sup>
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 <sub>3</sub>					56,8		

<sup>a</sup> Đo trong CD<sub>3</sub>OD; <sup>b</sup> Đo trong DMSO-d<sub>6</sub>



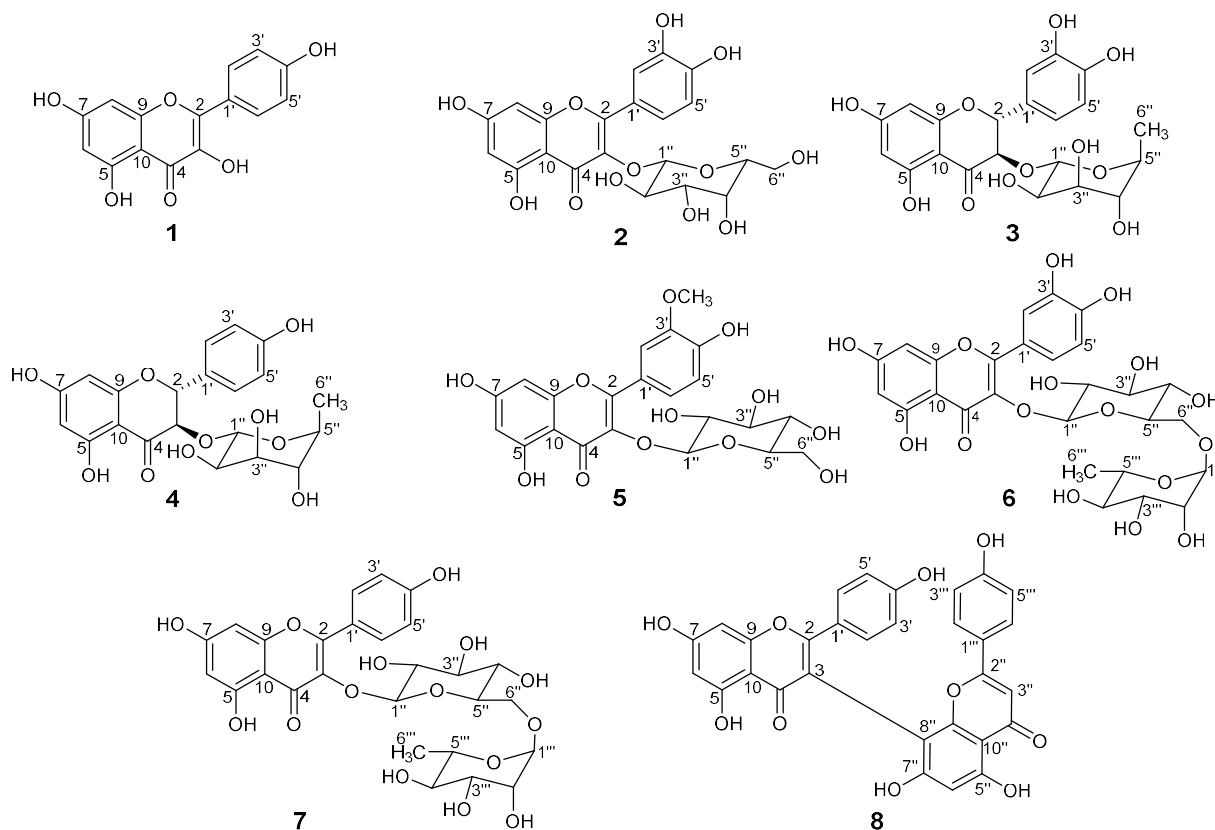
$J=10,5$  Hz, H-3); 5,92 (1H, d,  $J=2,0$  Hz, H-6); 5,94 (1H, d,  $J=2,0$  Hz, H-8); 7,37 (2H, d,  $J=7,5$  Hz, H-2'; H-6'); 6,86 (2H, d,  $J=7,5$  Hz, H-3'; H-5'); 4,04 (1H, br s, H-1''); 1,20 (3H, d,  $J=6,0$  Hz, H-6''). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 5:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS ( $m/z$ ) 477  $[\text{M-H}]^-$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  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'-OCH<sub>3</sub>). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 6:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS ( $m/z$ ) 633  $[\text{M+Na}]^+$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ; 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  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  $[\text{M-H}]^-$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  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  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 125 MHz): xem bảng 1.

**Chất số 8:** Bột màu vàng. Phổ ESI-MS ( $m/z$ ) 537  $[\text{M-H}]^-$ . Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{acetone-}d_6$ ; 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  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):  $\delta_{\text{C}}$  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



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



(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''').

#### Kết quả và bàn luận

Hợp chất **1** thu được dưới dạng bột màu vàng. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **1** xuất hiện tất cả 13 tín hiệu cacbon, trong đó có một tín hiệu keton carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  177,3 và 12 tín hiệu ở trường thấp đặc trưng cho carbon của vòng thơm hay của liên kết đôi C=C ( $\delta_{\text{C}}$  94,5-165,5). Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho các tín hiệu của sáu proton vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  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  $\delta_{\text{H}}$  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  $^{13}\text{C-NMR}$  của **1** chỉ xuất hiện tín hiệu của 13 carbon tương ứng với 15 cacbon như khung cơ bản C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> của một flavonoid. Hai tín hiệu proton ghép cặp *meta*  $\delta_{\text{H}}$  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]<sup>+</sup> (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.

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' ( $\delta_{\text{H}}$  7,85 d,  $J = 2,0$  Hz), H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,89, d,  $J = 8,0$  Hz), H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,61, dd,  $J = 2,0; 8,0$  Hz) vòng B của một flavonoid. Hai proton ghép cặp *meta* ở  $\delta_{\text{H}}$  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  $\delta_{\text{H}}$  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  $\delta_{\text{C}}$  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 [M+H]<sup>+</sup>, kết hợp với các dữ liệu NMR gợi ý công thức phân tử của **2** là C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>. 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- $\beta$ -D-galactopyranosid, hay biết đến với tên thường gọi là hyperoside.

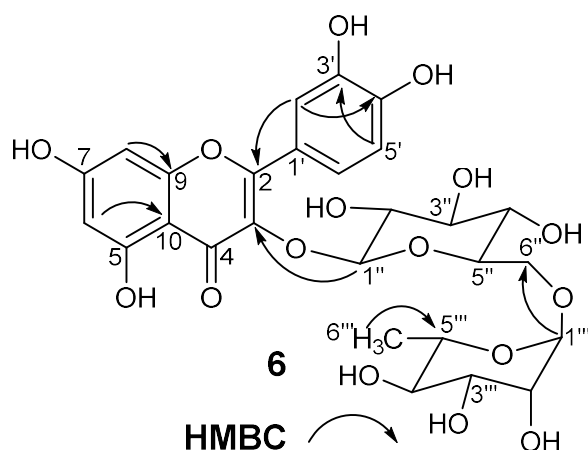
Hai hợp chất **3** và **4** cũng được xác định là các flavonoid-O-glycosid với một gốc đường trong cấu trúc. Các tín hiệu phổ NMR của **3** và **4** (Bảng 1) cho biết hai hợp chất này có cùng gốc đường  $\alpha$ -L-rhamnopyranose [8]. Phần aglycon của **3** và **4** được xác định là các flavanonol với các tín hiệu của nhóm keton C-4 ở  $\delta_{\text{C}}$  196,0 và 02 oxymethin cacbon C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  83,9 đối với **3** và  $\delta_{\text{C}}$  83,8 đối với **4**) và C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  78,6 đối với **3** và  $\delta_{\text{C}}$  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 [ $\delta_{\text{H}}$  3,96;  $\delta_{\text{C}}$  56,8]. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  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' ( $\delta_{\text{H}}$  7,69, d,  $J = 2,0$  Hz), H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,93, d,  $J = 8,0$  Hz), H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,61, dd,  $J = 2,0; 8,0$  Hz) vòng B của một flavonoid. Hai proton ghép cặp *meta* ở  $\delta_{\text{H}}$  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  $\beta$  từ hằng số ghép cặp  $J = 7,5$  Hz của proton anome và số lượng carbon trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ . 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 <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR (Bảng 1). Khác với các hợp chất **2–5**, chất số **6** có hai gốc đường trong cấu trúc do trên phổ <sup>13</sup>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→6)-β-D-glucopyranosyl do trên phổ HMBC xuất hiện tương tác H-1'' (δ<sub>H</sub> 4,39) và C-6'' (δ<sub>C</sub> 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<sub>H</sub> 5,34, d, J=7,5 Hz) và C-3 (δ<sub>C</sub> 133,3) (Hình 2). Từ những phân tích ở trên, dự đoán **6** là hợp chất quercetin-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosid (tên gọi rutin) [7]. Phổ ESI-MS có đỉnh ion tại m/z 633 [M+Na]<sup>+</sup>, cho biết công thức phân tử của **6** là C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub> (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→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 <sup>1</sup>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→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 <sup>1</sup>H-NMR của **8** xuất hiện tín hiệu của hai nhóm proton thơm ghép cặp dưới dạng AA'BB' ở δ<sub>H</sub> 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<sub>H</sub> 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<sub>H</sub> 6,60 và 6,34 ppm. Phổ <sup>13</sup>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 <sup>1</sup>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 <sup>1</sup>H-NMR dự đoán **8** là một hợp chất biflavonoid [13], [14]. Phổ ESI-MS có pic ion tại (m/z)=537 [M-H]<sup>-</sup>, kết hợp với dữ liệu phổ NMR cho biết công thức phân tử của **8** là C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub> (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 C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub>.

### 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- $\beta$ -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- $\kappa$ 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, I18-Biapiogenin, *Planta Medica*, 53(2), 216-217.
14. Tatsis EC, Boeren S, Exarchou V, Troganis AN, Vervoort J, Gerotheranassis IP (2007), Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS, *Phytochemistry*, 68(3), 383-393.