

Một số hợp chất flavonoid phân lập từ lá cây dâu (*Morus alba* L.) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên

Vũ Đức Lợi^{1,*}, Đỗ Thị Nghĩa Tình¹, Bùi Thị Xuân¹,
Vũ Kiều Oanh², Trịnh Nam Trung², Nguyễn Tiến Vững³

¹Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện Quân y, số 160 Phùng Hưng, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Pháp y Quốc gia, số 41 Nguyễn Đình Chiểu, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 3 tháng 4 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 21 tháng 4 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 14 tháng 6 năm 2017

Tóm tắt: Từ lá của cây dâu (*Morus alba* L.) thu hái ở tỉnh Thái Nguyên, trên cơ sở sử dụng các phương pháp sắc kí đã phân lập được hai hợp chất flavonoid. Cấu trúc hóa học của hai hợp chất này được xác định là Kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosid (**1**) và Quercetin -*O*- α -L-rhamnopyranosid (**2**) dựa trên các dữ liệu phổ khối lượng và cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp so sánh với dữ liệu phổ được công bố trong tài liệu tham khảo. Đây là 2 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ lá cây dâu thu hái tại Việt Nam.

Từ khóa: Lá dâu, *Morus alba*, Kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosid, Quercetin -*O*- α -L-rhamnopyranosid.

1. Đặt vấn đề

Cây dâu tằm (*Morus alba* L.) trong sách cổ của Trung Quốc được coi là loài cây quý, bởi nó có rất nhiều công dụng quý đối với con người, vừa có thể làm thuốc trị bệnh, vừa có thể làm thực phẩm bồi bổ cơ thể. Trong đó, lá dâu tằm không chỉ được dùng để chữa các bệnh như tiểu đường, huyết áp cao, rối loạn lipid máu, viêm đường hô hấp, nhức đầu, mờ mắt.... mà còn được dùng với công dụng làm đẹp da, trắng da [1, 2]. Ngày nay, cùng với sự phát triển của xã hội, nhu cầu làm đẹp của con người tăng lên, đồng thời con người ngày càng có xu hướng tìm về với tự nhiên để tìm kiếm giải pháp làm đẹp an toàn, hiệu quả. Lá dâu được coi là một trong những nguồn nguyên liệu tự nhiên quý trong

việc làm đẹp da, loại bỏ vết thâm nám, tàn nhang trên da. Cho đến nay, các công trình nghiên cứu đã công bố về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của lá cây dâu ở Việt Nam còn rất ít. Để góp phần cung cấp những cơ sở tiền đề cho việc ứng dụng nguyên liệu lá dâu trong chăm sóc sức khỏe, bài báo công bố một số thành phần hóa học được nghiên cứu phân lập được từ lá dâu.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây dâu tằm được thu hái vào tháng 6 năm 2016 tại huyện Phổ Yên, tỉnh Thái Nguyên. Mẫu thực vật đã được Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định tên khoa học là: *Morus alba* L., họ dâu tằm Moraceae, mẫu được lưu giữ tại Khoa Y Dược, ĐHQGHN.

* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-989313325.

Email: ducloi82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4050>

2.2. Dung môi, hóa chất

Các dung môi dùng trong chiết xuất, phân lập như methanol (MeOH), n-hexan, ethyl acetat (EtOAc), và dicloromethan (DCM)... đều đạt tiêu chuẩn công nghiệp và được chưng cất lại trước khi dùng. Dung môi phân tích gồm MeOH, n-hexan, EtOAc, H₂O dùng để phân tích sắc ký đều đạt tiêu chuẩn phân tích. Pha tĩnh dùng trong sắc ký cột là silicagel pha thường (0,040 - 0,063 mm, Nicalai Tesque Inc., Nhật Bản), YMC ODS-A (50 μ m, YMC Co. Ltd., Nhật Bản). Bản mỏng tráng sẵn trên đế nhôm loại pha thường Kieselgel 60 F₂₅₄ và pha đảo TLC Silica gel 60 RP-18 F_{254S} (Merck, Darmstadt, Đức). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10 % hơi nóng để phát hiện vết chất.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- *Sắc ký cột*: sắc ký cột sử dụng silicagel cỡ hạt 0,063-0,200 mm (Merck) và cỡ hạt 0,040-0,063 mm (Merck) với các loại cột sắc ký có kích cỡ khác nhau.

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân*: NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500MHz tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- *Phổ khối ESI-MS*: đo trên máy AGILENT 1260 Series LC-MS ion Trap (Agilent Technologies, Hoa Kỳ)

- *Nhiệt độ nóng chảy*: đo trên máy SMP10 BioCote, Khoa Y Dược, ĐHQGHN.

- *Góc quay cực riêng*: đo trên máy PLR-4, MRC scientific instruments, Khoa Y Dược, ĐHQGHN.

2.4. Chiết tách và phân lập các hợp chất

Lá dâu được thu hái, rửa sạch, phơi và sấy khô ở 50°C, nghiền nhỏ thu được bột thô. Lấy 6,0 kg bột khô (đã trừ độ ẩm) đem ngâm chiết với 9,0 lít methanol/lần x 4 lần ở nhiệt độ phòng, mỗi lần 48 giờ. Các dịch chiết được gom lại, lọc qua giấy lọc và cất loại dung môi

dưới áp suất giảm thu được 520 g cặn chiết methanol. Cặn chiết được phân bố vào nước cất vừa đủ và tiến hành chiết lần lượt với n-hexan, ethylacetat. Các dịch chiết n-hexan, ethylacetat và phần nước còn lại được cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các cặn n-hexan (A, 60 g), cặn ethylacetat (B, 75 g) và cặn nước (C, 42 g).

Cặn ethylacetat (B, 50 g) được hòa tan trong lượng dung môi vừa đủ và trộn với silicagel (150 g), sau đó cất loại dung môi để được dạng bột tơi, tiến hành sắc ký cột với chất hấp phụ silica gel, kích thước cột 60 cm x 10 cm (chiều dài x đường kính cột), dung môi rửa giải dicloromethan: methanol với độ phân cực của dung môi tăng dần (từ 20:1 đến 0:1) thu được 4 phân đoạn **B1** (6,0 g), **B2** (7,5 g), **B3** (12,0 g) và **B4** (10,0 g). Phân tách phân đoạn **B3** trên sắc ký cột với chất hấp phụ pha đảo (ODS) sử dụng YMC-gel, kích thước cột 80 cm x 3 cm (chiều dài chất nhồi 70 cm) và kích thước cột 80 cm x 1,5 cm (chiều dài chất nhồi 70 cm), sử dụng hệ dung môi rửa giải acetone: nước (2:5, v:v) thu được 4 phân đoạn nhỏ là B3.1 (2,1 g), B3.2 (3,1 g), B3.3 (1,9 g), B3.4 (3,6 g).

Phân đoạn B3.1 được tinh chế bằng CC pha đảo với hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (2:1) thu được chất rắn màu vàng ký hiệu là hợp chất **2** (41mg). Phân đoạn B3.2 được phân tách bằng sắc ký cột silicagel pha thường rửa giải bằng hệ dung môi chloroform/methanol (5/2, v/v) thu được hợp chất **1** (48 mg).

3. Kết quả và bàn luận

Hợp chất 1: Kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosid

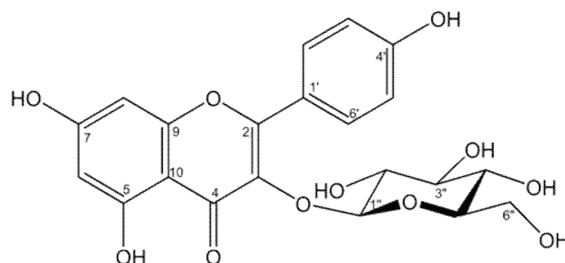
Chất tinh thể hình kim, màu vàng. Nhiệt độ nóng chảy 178-179°C.

Độ quay cực: $[\alpha]_D^{25} = +16,9$ ($c = 0,65$, MeOH). ESI-MS: m/z 447 [M-H]⁻ và 471 [M+Na]⁺ CTPT: C₂₁H₂₀O₁₁; KLPT M = 448; Số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** và chất so sánh M

Vị trí C	DEPT	δ_C (M) ppm	δ_C (1) ppm	δ_H (1) ppm, J: Hz	δ_H (M) ppm, J: Hz	HMBC (1) (H→C)
2	C	156,7	156,7	-	-	
3	C	133,5	133,4	-	-	
4	C	177,6	177,7	-	-	
5	C	160,8	161,4	-	-	
6	CH	99,3	98,9	6,24 (d, 2,0)	6,22 (d, 2,0)	7, 5, 10, 8
7	C	162,2	164,4	-	-	
8	CH	94,5	94,0	6,43 (d, 2,0)	6,41 (d, 2,0)	7, 9, 10, 6
9	C	156,0	156,6	-	-	
10	C	105,5	104,3	-	-	
1'	C	120,7	121,2	-	-	
2',6'	CH	130,9	131,2	8,05 (dd, 1,5, 7,0)	8,06 (dd, 1,5, 7,0)	4', 2, 2', 6'
3',5'	CH	115,1	115,4	6,87 (dd, 1,5, 7,0)	6,85 (dd, 1,5, 7,0)	4', 1', 3', 5'
4'	C	160,2	160,1	-	-	
1''	CH	100,8	101,1	5,44 (d, 7,5)	5,46 (d, 7,5)	3
2''	CH	74,2	74,4	3,18 (m)	3,16 (m)	1'', 3''
3''	CH	77,5	77,6	3,08 (m)	3,09 (m)	4''
4''	CH	69,9	70,1	3,09 (m)	3,06 (m)	5'', 3''
5''	CH	76,4	76,6	3,25 (m)	3,26 (m)	
6''	CH ₂	60,8	61,1	3,33 (m)	3,35 (m)	
				3,56 (dd, 5,5, 11,0)	3,53 (dd, 5,5, 11,0)	

δ_C (M), δ_H (M) của kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside [3, 4].

Hình 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **1**.

Hợp chất **1** thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu vàng. Phổ khối lượng ESI-MS của **1** xuất hiện tín hiệu tại m/z 447 $[M-H]^-$ và 471 $[M+Na]^+$ ứng với khối lượng phân tử là 448, công thức phân tử của hợp chất này có thể là $C_{21}H_{20}O_{11}$. Trên phổ 1H -NMR của **1** xuất hiện: Tín hiệu proton anome tại δ_H 5,44 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) gợi ý trong **1** có mặt 1 phân đường; cặp tín hiệu doublet tại 6,24 (d, $J = 2,0$ Hz) và 6,43 (d, $J = 2,0$ Hz) điển hình cho hai proton ở vị trí C-6 và C-8 của vòng A của hợp

chất flavonol; cặp hai tín hiệu doublet khác tại δ_H 6,87 (dd, $J = 1,5, 7,0$ Hz) và 8,05 (dd, $J = 1,5, 7,0$ Hz) đặc trưng cho vòng thơm B thể *para*. Phổ ^{13}C -NMR của **1** xuất hiện tín hiệu của 21 nguyên tử cacbon, trong đó có 6 tín hiệu tại δ_C 101,1 (C-1''), 74,4 (C-2''), 77,6 (C-3''), 70,1 (C-4''), 76,6 (C-5''), 61,1 (C-6'') khẳng định sự có mặt của phân đường glucose và tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon thuộc vào khung flavonol có vòng B thể *para*. So sánh các dữ liệu phổ NMR của **1** với hợp chất kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside thấy sự

trùng hợp [3, 4]. Tương tác HMBC giữa H-1" (δ_C 5,44) và C-3 (δ_C 133,4) gợi ý phần *O*- β -D-glucopyranosyl tại C-3 của flavonol. Như vậy, có thể khẳng định hợp chất **1** là **kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside**. Hợp chất này có mặt trong nhiều loài thực vật và có hoạt tính chống ôxi hóa mạnh.

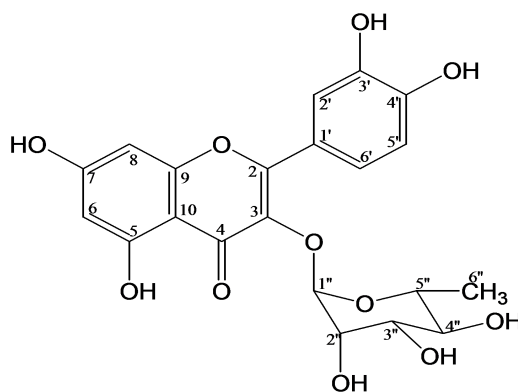
Hợp chất 2: *Quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosid*

Tinh thể màu vàng nhạt, $M=448$, $M_p=182-183^\circ\text{C}$; $R_f=0,45$ ($\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$, 85:15); *ESI-MS* m/z : 447,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz) đo trong CD_3OD và phổ DEPT của chất 2 được trình bày ở bảng 2:

Bảng 2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2 và chất so sánh K

Vị trí C	DEPT	$\delta_{\text{H}}(\text{K})$ ppm, <i>J</i> : Hz	$\delta_{\text{H}}(2)$ ppm, <i>J</i> : Hz	$\delta_{\text{C}}(\text{K})$ ppm	$\delta_{\text{C}}(2)$ ppm
2	C	-	-	158,1	158,5
3	C	-	-	136,0	136,2
4	C	-	-	179,3	179,7
5	C	-	-	159,1	159,3
6	CH	6,10 <i>d</i> (1,8)	6,22 <i>d</i> (2,0)	99,5	99,9
7	C	-	-	165,8	165,9
8	CH	6,29 <i>d</i> (1,8)	6,39 <i>d</i> (2,0)	94,3	94,7
9	C	-	-	163,0	158,5
10	C	-	-	105,5	105,9
1'	C	-	-	122,5	123,0
2'	CH	7,57 <i>d</i> (1,9)	7,36 <i>d</i> (2,5)	116,2	116,4
3'	C	-	-	146,2	146,4
4'	C	-	-	149,5	149,8
5'	CH	6,77 <i>d</i> (8,2)	6,93 <i>d</i> (8,0)	116,7	117,0
6'	CH	7,53 <i>dd</i> (1,9; 8,2)	7,33 <i>dd</i> (2,0; 8,5)	122,7	122,9
1''	CH	5,01 <i>d</i> (2,0)	5,37 <i>d</i> (1,5)	103,4	103,5
2''	CH	-	4,25 <i>dd</i> (1,7; 3,3)	71,8	72,0
3''	CH	4,22-3,14	3,77 <i>dd</i> (3,5; 9,5)	72,0	72,1
4''	CH	-	3,36 <i>dd</i> (2,3; 9,58)	73,1	73,3
5''	CH	-	3,44 <i>dd</i> (6,0; 9,5)	71,7	71,9
6''	CH ₃	1,02 <i>d</i> (6,0)	0,96 <i>d</i> (6,5)	17,5	17,6

Ghi chú: $\delta_{\text{H}}(\text{K})$ đo trong CD_3OD ở 400 MHz, $\delta_{\text{C}}(\text{K})$ đo trong CD_3OD ở 100 MHz của chất quercitrin [5, 6].



Hình 2. Cấu trúc của hợp chất 2.

Hợp chất 2 nhận được dưới dạng chất bột có màu vàng đặc trưng cho nhóm chất flavonoid. Phổ ESI-MS của hợp chất 2 xuất hiện pic ion tại $m/z:447$ [M-H]⁻, tương ứng với khối lượng phân tử $M = 448$, phù hợp với công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_{11}$.

Phổ ¹H-NMR của hợp chất 2 xuất hiện hai vùng phổ đặc trưng, một vùng ở trường khá thấp với hai tín hiệu của hai proton nằm ở vị trí meta với nhau thuộc vòng A tại 6,22 và 6,39 (d, $J = 2,0$ Hz) và ba tín hiệu cộng hưởng với tương tác spin coupling dạng ABX của vòng B thể ở các vị trí 1,3,4 tại 7,36 (1H, d, $J = 2,5$, H-2'), 6,93 (1H, d, $J = 8,0$, H-5'); 7,33 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,5; H-6'); Vùng trường cao hơn là các tín hiệu của một phân tử đường. Tín hiệu của proton anome tại 5,37 (1H, d, $J = 1,5$; H-1"), tín hiệu điển hình của nhóm methyl bậc một dưới dạng doublet tại 0,96 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-6") và bốn proton của các nhóm oxymethin tại 3,77 (1H, dd, $J = 3,5$; 9,5; H-3"); 4,25 (1H, dd, $J = 1,7$; 3,3; H-2"); 3,36 (1H, dd, $J = 2,3$, 9,58; H-4"); 3,44 (1H, dd, $J = 6,0$; 9,5; H-5") cho thấy cấu trúc của 2 có một phân tử đường rhamnose.

Phổ ¹³C-NMR của 2 xuất hiện tín hiệu của 21 nguyên tử carbon, trong đó có 15 tín hiệu của khung flavon và 6 tín hiệu của một phân tử đường rhamnose. Các tín hiệu của vòng B lần lượt tại 123,0 (C, C-1'); 116,4 (CH, C-2'); 146,4 (C, C-3'); 149,8 (C, C-4'); 117,0 (CH, C-5'); 122,9 (CH, C-6'). Nhóm carbonyl xuất hiện tại 179,7 (C-4), hai tín hiệu CH điển hình tương ứng với các vị trí C-6 và C-8 của vòng A tại 99,9 (C-6) và 94,7 (C-8); tín hiệu của carbon anome tại 103,5 (C-1"), nhóm methyl tại 17,6 (C-6") và bốn tín hiệu CH nối với oxi của phân tử đường rhamnose tại 72,0 (C-2"); 72,1 (C-3"); 73,3 (C-4"); 71,9 (C-5"). Từ các kết quả nêu trên, đối chiếu với dữ liệu đã công bố [5, 6] hợp chất 2 được xác định là **quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosid**.

4. Kết luận

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp với các phương pháp phân tích phổ hiện đại (MS, NMR), từ phân đoạn dịch chiết ethylacetat của

lá cây dâu đã phân lập, xác định cấu trúc phân tử 2 hợp chất nhóm flavonoid là kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (1) và quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosid (2). Các kết quả trên cũng mở ra những hướng nghiên cứu sâu hơn nhằm hướng tới mục tiêu tìm ra hoạt chất chính có khả năng ứng dụng làm chất chuẩn trong kiểm nghiệm. Đồng thời cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu bổ sung về hàm lượng và tác dụng sinh học của các hợp chất phân lập được, nhằm minh chứng cho công dụng và góp phần định hướng sử dụng cây dâu hiệu quả hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Khoa học Công nghệ Đại học Quốc Gia Hà Nội, đề tài “Phát triển sản phẩm thực phẩm chức năng và mỹ phẩm làm sáng da, chống nám từ nguyên liệu thiên nhiên Việt Nam”, mã số: QG.16.86

Tài liệu tham khảo

- [1] Đỗ Tất Lợi (2001). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Y học, tr. 628-629.
- [2] Viện Dược liệu (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 462-468.
- [3] Ayse Kuruzum-uz, Zühal Guvenalp, Cavit Kazaz (2013), Phenolic compounds from the roots of *Anchusa azurea* var. *azurea*, Turk J Pharm Sci, 10 (2), 177-184.
- [4] Choi J, Kang HJ, Kim SZ, Kwon TO, Jeong SI, Jang SI. (2013), Antioxidant effect of astragaloside isolated from the leaves of *Morus alba* L. against free radical-induced oxidative hemolysis of human red blood cells. Arch Pharm Res, 36(7), pp. 912-7.
- [5] Lee E. H., Song D.-G., Lee J. Y., et al. (2009), "Flavonoids from the leaves of *Thuja orientalis* inhibit the aldose reductase and the formation of advanced glycation endproducts", Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 52(5), pp. 448-455.
- [6] Wang K.J., Yang C.R., and Zhang Y.J. (2007), "Phenolic antioxidants from Chinese toon (fresh young leaves and shoots of *Toona sinensis*)", Food Chemistry, 101(1), pp. 365-371.

Flavonoids Isolated from the Leaf of *Morus alba* L. Collected in Thai Nguyen Province

Vu Duc Loi¹, Do Thi Nghia Tinh¹, Bui Thi Xuan¹,
Vu Kieu Oanh², Trinh Nam Trung², Nguyen Tien Vung³

¹VNU School of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

³National Institute of Forensic Medicine, 41 Nguyen Dinh Chieu, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Abstract: From the leaf of *Morus alba* L. collected in Thai Nguyen province, using chromatography methods resulted in the isolation of two flavonoids. Their structures were identified as kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**1**), quercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**2**) on the basis of spectroscopic data including mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectra together with comparison with those reported in the literature. This is the first report of flavonoid components from the leaf of *Morus alba* L. collected in Vietnam.

Keywords: *Morus alba*, kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, quercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside.