

Thành phần hóa học của cao ethyl acetate từ lá cây Kiến cò (*Rhinacanthus nasutus*)

Huỳnh Thanh Nam, Đỗ Văn Nhật Trường, Trần Lê Quan, Nguyễn Thị Ý Nhi*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Cây Kiến cò có tên khoa học là *Rhinacanthus nasutus*, thuộc Họ Ô rô (Acanthaceae). Trong dân gian cây Kiến cò được dùng điều trị các bệnh như eczema, herpes, bệnh lao phổi, viêm gan, đái tháo đường và tăng huyết áp. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Kiến cò cho thấy có các hợp chất naphthoquinone, anthraquinone, lignan, flavonoid, phenol, triterpenoid và sterol. Các nghiên cứu cũng cho thấy cây Kiến cò có hoạt tính kháng ung thư, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng tiểu cầu. Ở Việt Nam, do các nghiên cứu về cây Kiến cò còn rất ít và hạn chế, vì vậy việc tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên loài cây này sẽ giúp định hướng cho các nghiên cứu ứng dụng sâu hơn và có thể sử dụng loài dược liệu này hiệu quả hơn. Từ 3 kg lá cây Kiến cò khô, thu hái ở tỉnh Lâm Đồng, đã điều chế được 3 cao n-hexane, cao ethyl acetate (EtOAc) và cao butanol (n-BuOH). Bằng phương pháp sắc ký cột kết hợp với sắc ký lớp mỏng nhiều lần đã phân lập được 7 hợp chất từ cao ethyl acetate của lá cây Kiến cò là umbelliferone (1), kimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5), rutin (6) và daucosterol (7). Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định dựa vào phổ NMR kết hợp so sánh tài liệu tham khảo. Kết quả nghiên cứu cho thấy các hợp chất kimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5) thuộc khung flavonoid và coumarin lần đầu tiên được tìm thấy trong loài này.

Từ khoá: Kiến cò, *Rhinacanthus nasutus*, Họ Ô rô, coumarin, flavonoid

MỞ ĐẦU

Cây Kiến cò có tên khoa học là *Rhinacanthus nasutus* là một cây thuộc Họ Ô rô (Acanthaceae). Các bộ phận khác nhau của cây đã được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh như eczema, bệnh lao phổi, herpes, viêm gan, đái tháo đường, tăng huyết áp và một số bệnh về da.^{1,2} Trong một số thử nghiệm hoạt tính sinh học trên các dịch chiết của cây cho thấy cây Kiến cò có tác dụng tiềm năng để điều trị một số bệnh như điều trị ung thư, rối loạn chức năng của gan, bệnh ngoài da, loét dạ dày tá tràng, giun sán, bệnh ghê, viêm và béo phì.³ Các nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Kiến cò cho thấy trong cây có các hợp chất naphthoquinone, anthraquinone, lignan, flavonoid, phenol, triterpenoid và sterol...⁴⁻¹⁵ các nghiên cứu cũng cho thấy cây Kiến cò có hoạt tính kháng ung thư, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng tiểu cầu...^{8,13,15,16}

Ở Việt Nam, cho đến nay chỉ mới tìm thấy một nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Kiến cò⁴ và hầu như chưa có nghiên cứu nào về hoạt tính sinh học. Do các nghiên cứu về cây Kiến cò còn rất ít và hạn chế, vì vậy việc tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên loài cây này sẽ giúp định hướng cho các nghiên cứu ứng dụng sâu hơn và có

thể sử dụng loài dược liệu này hiệu quả hơn. Bằng các phương pháp sắc ký cột pha thường kết hợp với các phương pháp phổ nghiệm hiện đại, chúng tôi đã phân lập được 7 hợp chất từ cao EtOAc của cây Kiến cò là umbelliferone (1), kimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5), rutin (6) và daucosterol (7).

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Mẫu lá cây Kiến cò có khối lượng khô là 3 kg được thu thập tại tỉnh Lâm Đồng vào tháng 10 năm 2017. Mẫu cây được định danh bởi TS. Đặng Lê Anh Tuấn, Khoa Sinh học-Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

Hóa chất và thiết bị

Máy ghi phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker-500 MHz với dung môi CDCl₃, CD₃COCD₃, CD₃SOCD₃, và CD₃OD đo tại Phòng Phân tích trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM; silica gel pha thường 230-400 mesh (Merck), bản mỏng silica gel 60 F254 (Merck) và các dung môi n-hexane, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH, và MeOH (Schalau, độ tinh khiết > 99%).

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Liên hệ

Nguyễn Thị Ý Nhi, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Email: ntynhi@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 31-08-2022
- Ngày chấp nhận: 06-3-2023
- Ngày đăng: 15-5-2023

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i1.1230>



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Nam H T, Trường D V N, Quan T L, Nhi N T Y. Thành phần hóa học của cao ethyl acetate từ lá cây Kiến cò (*Rhinacanthus nasutus*). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2023, 7(1):2577-2585.

Chiết xuất và phân lập

Xay nhỏ 3 kg mẫu lá cây Kiến cò, sau đó tiến hành đun hoàn lưu với dung môi MeOH, thu hồi dung môi bằng hệ thống cô quay chân không thu được cao thô MeOH (300,0 g). Cao MeOH được phân tán vào nước và chiết phân bố lỏng - lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần gồm *n*-hexane, EtOAc và *n*-BuOH. Tiến hành cô quay chân không các dịch chiết xuất thu được các cao tương ứng là cao *n*-hexane (50 g), cao EtOAc (50 g) và cao *n*-BuOH (92 g).

Tiến hành sắc ký lớp mỏng với các cao thô, kết hợp với khả năng hấp thu tia tử ngoại và hiện vết bằng thuốc thử H₂SO₄ 20% cho thấy cao EtOAc tách tốt nhất nên được chọn để tiếp tục tiến hành điều chế cao phân đoạn. Cao EtOAc (50 g) được tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi giải ly là *n*-hexane:EtOAc từ 0-100% EtOAc, sau đó tiếp đến hệ EtOAc:MeOH (1:1). Dung dịch từ cột sắc ký được hứng bằng erlen 1000 mL, cô quay chân không và tiến hành sắc ký lớp mỏng. Dựa trên kết quả sắc ký lớp mỏng gom thành tám cao phân đoạn ký hiệu lần lượt là **A** (3,5 g), **B** (2,4 g), **C** (3,8 g), **D** (2,9 g), **E** (3,3 g), **F** (2,5 g), **G** (2,5 g), **H** (3,9 g). Từ các phân đoạn A, B, G, H tiến hành sắc ký cột, kết hợp sắc ký lớp mỏng điều chế pha thường nhiều lần với các hệ dung môi có độ phân cực khác nhau thu được bảy hợp chất là umbelliferone (**1**), kimmin (**2**), sinensetin (**3**), kaempferol (**4**), quercetin (**5**), rutin (**6**) và daucosterol (**7**) (Hình 1).

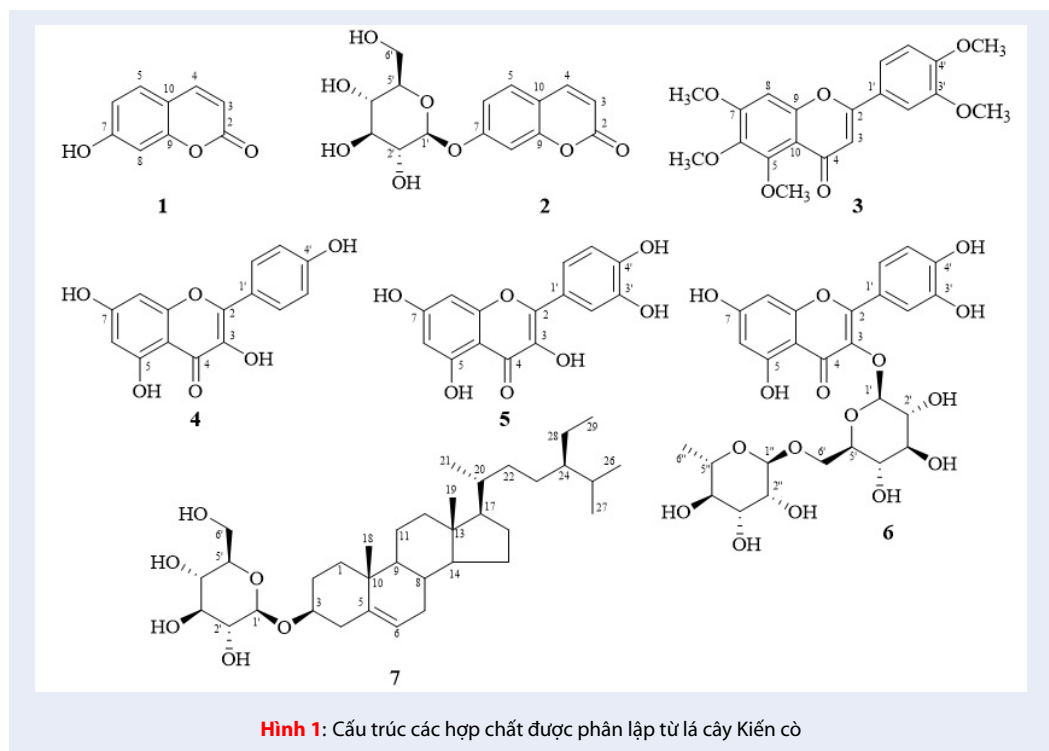
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** có dạng bột màu vàng trắng, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **1** cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của ba proton thơm ghép hệ ABX (δ_H 6,75; d; J = 2,3 Hz; H-8), (δ_H 6,84; dd; J = 8,5 và 2,3 Hz; H-6) và (δ_H 7,50; d; J = 8,5 Hz; H-5); hai proton olefin ghép *cis* với nhau (δ_H 6,16; d; J = 9,5 Hz; H-3) và (δ_H 7,85; d; J = 9,5 Hz; H-4). Phổ ¹³C-NMR của hợp chất **1** có chín carbon, trong đó có một carbon carbonyl của nhóm ester (δ_C 162,1; C-2); hai carbon thơm tứ cấp gắn với oxy [δ_C 161,1; C-7] và [δ_C 157,0; C-9]; một carbon thơm tứ cấp mang nhóm thế (δ_C 112,9; C-10); ba carbon methine thơm (δ_C 130,5; C-5), (δ_C 113,8; C-6) và (δ_C 103,5; C-8); cùng với hai carbon olefin tam cấp (δ_C 113,8; C-3) và (δ_C 144,7; C-4) (Bảng 1). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **1** có cấu trúc của một coumarin, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo¹⁷ cho phép xác nhận hợp chất **1** là umbelliferone.

Hợp chất **2** có dạng bột màu trắng, tan tốt trong dung môi MeOH. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **2** cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của một coumarin tương

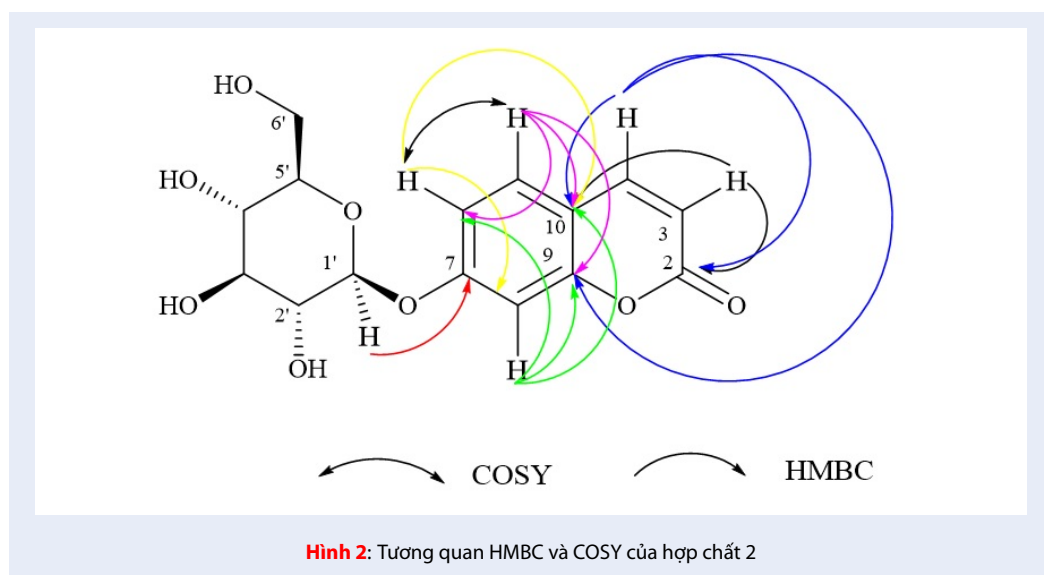
tự như umbelliferone (**1**), ngoài trừ có sự xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của một đơn vị đường glucose (δ_H 5,06; d; 7.6; H-1'), (δ_H 3,93 dd; 12,1 và 2,3 Hz; H-6'a), (δ_H 3,73 dd; 12,1 và 5,8 Hz; H-6'b), (δ_H 3,50 – 3,56 m; H-2'; H-3'; H-5') và (δ_H 3,42; m; H-4'). Tương tự, phổ ¹³C-NMR của hợp chất **3** cũng xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng của umbelliferone (**1**) và có sự xuất hiện thêm các tín hiệu của một đơn vị đường glucose (δ_C 100,5; C-1'), (δ_C 77,0; C-2'), (δ_C 76,5; C-3'), (δ_C 73,4; C-5'), (δ_C 69,9; C-4') và (δ_C 61,0; C-6') (Bảng 1). Mặt khác, phổ HMBC của hợp chất **2** cho thấy sự tương quan giữa proton H-1' với C-7, chứng tỏ đơn vị đường glucose sẽ gắn vào khung umbelliferone tại vị trí C-7. Ngoài ra, phổ HMBC cũng cho thấy sự tương quan của các proton H-3; H-4; H-5; H-6; H-8 đến C-10, tương quan của H-4; H-5; H-6; H-8 đến C-9, tương quan của H-3; H-4 đến C-2, tương quan của H-5 và H-8 đến C-7 giúp khẳng định các vị trí proton và carbon trên phần anlycon. Phổ COSY và HSQC của hợp chất **2** cũng cho thấy sự tương quan của các proton kề cận và giữ các proton và carbon tương ứng (Hình 2). Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất **2** có cấu trúc của umbelliferone (**1**) gắn với một đơn vị đường glucose, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo¹⁸ cho phép xác nhận hợp chất **2** là skimmin.

Hợp chất **3** có dạng bột màu vàng, tan tốt trong dung môi CHCl₃. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **3** cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của của ba proton thơm ghép hệ ABX (δ_H 7,51; 1H; dd; J = 8,5 và 2,0 Hz; H-6'), (δ_H 6,97 (d, J = 8,5 Hz, H-5'), (δ_H 7,33 d; J = 2,0 Hz; H-2'), một proton thơm cô lập (δ_H 6,80; 1H; s; H-8) và một proton olefin cô lập (δ_H 6,60; 1H; s; H-3). Cùng với năm tín hiệu cộng hưởng của năm nhóm methoxyl (δ_H 3,99; s; 5-OCH₃), (δ_H 3,92; s; 6-OCH₃), (δ_H 3,98; s; 7-OCH₃), (δ_H 3,99; s; 3'-OCH₃), (δ_H 3,96; s; 4'-OCH₃). Phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất **3** có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 20 carbon, trong đó có một carbon carbonyl nhóm ketone (δ_C 177,3; C-4); sáu carbon thơm gắn oxy (δ_C 157,8; C-7), (δ_C 154,6; C-5), (δ_C 152,7; C-9), (δ_C 152,0; C-4'), (δ_C 149,5; C-3') và (δ_C 140,5; C-6); một carbon olefin gắn oxy (δ_C 161,3; C-2); hai carbon thơm mang nhóm thế ở (δ_C 124,3; C-1') và (δ_C 113,0; C-10); bốn carbon methin thơm ở (δ_C 119,7; C-6'), (δ_C 111,3; C-5'), (δ_C 108,9; C-2'), và (δ_C 96,4; C-8); một carbon methine olefin (δ_C 107,6; C-3). Cùng với năm carbon methoxyl (δ_C 62,3; 5-OCH₃), (δ_C 61,7; 6-OCH₃), (δ_C 56,5; 7-OCH₃), (δ_C 56,3; 3'-OCH₃) và (δ_C 56,2; 4'-OCH₃) (Bảng 2). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **3** và tài liệu tham khảo của hợp chất sinensetin¹⁹ cho thấy có sự tương đồng. Vậy hợp chất **3** được đề nghị là sinensetin.



Bảng 1: Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 1 và 2

Hợp chất 1 (CD ₃ COCD ₃)			Hợp chất 2 (CD ₃ OD)					
Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C
2		162,1	2		161,7	1'	5,06 dd (5,4; 2,1)	100,5
3	6,31 d (9,5)	113,0	3	6,31 d (9,5)	112,9	2'	3,50 - 3,56 m	77,0
4	7,85 d (9,5)	144,7	4	7,92 d (9,5)	144,2	3'		76,5
5	7,50 d (8,5)	130,5	5	7,58 dd (6,9; 2,0)	129,0	4'	3,42 m	69,9
6	6,84 dd (8,5; 2,3)	113,8	6	7,12 dd (7,0; 1,9)	113,8	5'	3,50 - 3,56 m	73,4
7		161,1	7		160,8	6'	3,93 dd (12,1; 2,3)	61,0
8	6,75 d (2,3)	103,5	8	7,10 d (1,9)	103,6		3,73 dd (12,1; 5,8)	
9		157,0	9		155,3			
10		112,9	10		113,9			



Bảng 2: Số liệu NMR của hợp chất 3 trong dung môi CDCl₃

Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C
2		162,2	2'	7,33 d (2,0)	108,9
3	6,60 s	113,8	3'		149,5
4		144,7	4'		152,0
5		130,5	5'	6,97 d (8,5)	111,3
6		113,8	6'	7,51 dd (8,5; 2,0)	119,8
7		161,2	5-OCH ₃	3,99 s	62,3
8	6,80 s	103,5	6-OCH ₃	3,92 s	61,7
9		157,0	7-OCH ₃	3,98 s	56,5
10		112,9	3'-OCH ₃	3,99 s	56,3
1'		124,3	4'-OCH ₃	3,96 s	56,2

Hợp chất 4 có dạng bột màu vàng, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 4 cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của của hai proton ghép *meta* (δ_H 6,26; *d*, *J*=1,8 Hz, H-6) và (δ_H 6,53 *d*, *J*=1,8 Hz, H-8); hai cặp proton thơm ghép *ortho* (δ_H 8,14; *d*, *J*=8,7 Hz, H-2',6') và 7,01 (2H, *d*, *J*=8,7 Hz, H-3',5'); cùng với tín hiệu của một nhóm hydroxyl kiềm nổi (δ_H 12,16; 5-OH). Phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất 3 có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 15 carbon, trong đó có 1 carbon carbonyl nhóm ketone (δ_C 176,8; C-4); bốn carbon thơm gắn oxy (δ_C 165,1; C-7), (δ_C 162,4; C-5), (δ_C 157,9; C-9), (δ_C 147,2; C-4'); hai carbon olefin gắn oxy (δ_C 160,2; C-2) và (δ_C 136,7; C-3); hai carbon thơm mang nhóm thế ở (δ_C 123,4; C-1') và (δ_C 104,3; C-10); sáu carbon methine thơm ở (δ_C 130,6; C-2',6'), (δ_C 116,4; C-3',5'), (δ_C 99,3; C-6),

và (δ_C 94,6; C-8) (Bảng 3). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 4 và tài liệu tham khảo của hợp chất kaempferol²⁰ thấy có sự tương đồng. Vậy hợp chất 4 được đề nghị là kaempferol.

Hợp chất 5 có dạng bột màu vàng, tan tốt trong dung môi acetone. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 5 cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của của hai proton ghép *meta* (δ_H 6,22; *d*, *J*=2,0 Hz, H-6) và (δ_H 6,48 *d*, *J*=2,0 Hz, H-8); ba proton thơm ghép hệ ABX (δ_H 6,96; *d*, *J*=8,0 Hz, H-5') và (δ_H 7,66 *d*, *J*=8,0 và 2,0 Hz, H-5'), (δ_H 7,79 *d*, *J*=2,0 Hz, H-2'); cùng với tín hiệu của một nhóm hydroxyl kiềm nổi (δ_H 12,15; 5-OH). Phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất 3 có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 15 carbon, trong đó có một carbon carbonyl nhóm ketone (δ_C 176,4; C-4); năm carbon thơm gắn oxy (δ_C 164,9; C-7), (δ_C 162,0; C-5),

Bảng 3: Số liệu NMR của hợp chất 4 và 5 trong dung môi CD₃COCD₃

Vị trí	Hợp chất 4		Hợp chất 5	
	δ_H (J/Hz)	δ_C	δ_H (J/Hz)	δ_C
2		160,3		146,8
3		136,7		136,6
4		176,8		176,4
5		162,4		162,0
6	6,26 d (1,8)	99,3	6,22 d (2,0)	98,9
7		165,1		164,9
8	6,53 d (1,8)	94,6	6,48 d (2,0)	94,4
9		157,9		157,7
10		104,3		104,0
1'		123,4		123,5
2'	8,15 d (8,7)	130,6	7,79 d (2,0)	115,6
3'	7,01 d (8,7)	116,4		145,7
4'		147,2		148,2
5'	7,01 d (8,7)	116,4	6,96 d (8,0)	116,1
6'	8,15 d (8,7)	130,6	7,66 dd (8,0; 2,0)	121,4
5-OH	12,16 s		12,15 s	

(δ_C 157,7; C-9), (δ_C 148,2; C-4'), (δ_C 145,7; C-3'); hai carbon olefin gắn oxy (δ_C 146,8; C-2) và (δ_C 136,6; C-3); hai carbon thơm mang nhóm thế ở (δ_C 123,5; C-1') và (δ_C 104,0; C-10); năm carbon methine thơm ở (δ_C 121,4; C-6'), (δ_C 115,6; C-2'), (δ_C 116,1; C-5'), (δ_C 98,9; C-6), và (δ_C 94,4; C-8) (Bảng 3). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 5 với kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo của quercetin²⁰ thấy có sự tương đồng. Vậy hợp chất 5 được đề nghị là quercetin. Hợp chất 6 có dạng bột màu vàng, tan tốt trong dung môi DMSO. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 6 cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của một flavonoid tương tự như quercetin (5), ngoài trừ có sự xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của hai đơn vị đường 5,32 (*d*, 7,35 Hz, H-1'') 4,36 (*brs*, H-1''') 3,85 (*dd*, 11,8 2,2 Hz, H-6''a) 3,63 (*dd*, 11,9 6,2 Hz, H-6''b) 3,33 – 3,69 (*overlap*, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-2''', H-3''', H-4''', H-5''') 0,97 (*d*, 6,2 Hz, H-6'''). Hai proton tại 5,32 (*d*, 7,35 Hz, H-1'') và 4,36 (*brs*, H-1''') lần lượt xác nhận là proton anomer của đơn vị đường β -glycosyl và α -rhamnosyl. Tương tự, phổ ¹³C-NMR của hợp chất 6 cũng xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng của quercetin (5) và có sự xuất hiện thêm các tín hiệu của hai đơn vị đường 101,6 (C-1'') 101,2 (C-1''') 76,9 (C-3'') 76,4 (C-5'') 74,5 (C-2'') 72,3 (C-4''') 71,0 (C-3''') 70,8 (C-

2''') 70,5 (C-4'') 68,7 (C-5''') 67,4 (C-6'') và 18,1 (C-6''') (Bảng 4). Phổ HMBC cho thấy có sự tương quan từ proton ở 4,36 (*brs*, H-1''') đến C-6'' và từ proton anomer của đường glucose đến carbon tứ cấp tại δ_C 133,3 ppm giúp xác nhận phần đường gắn vào vị trí C-3. Từ các dữ liệu phổ này cho thấy hợp chất 6 có cấu trúc của quercetin (5) gắn với một đơn vị đường glucose và một đơn vị đường rhamnose, kết hợp với tra cứu tài liệu tham khảo²¹ cho phép xác nhận hợp chất 6 là rutin.

Hợp chất 7 có dạng bột, màu trắng, tan tốt trong hỗn hợp dung môi chloroform và methanol. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 7 cho thấy ở vùng trường thấp có sự xuất hiện tín hiệu của một proton olefin [δ_H 5,31 (1H; *s*; H-6)] và một proton anomer của glucoside [δ_H 4,35 (1H; *d*; *J* = 9,4 Hz; H-1')]. Ở vùng trường cao cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu của năm nhóm oxymethine [δ_H 3,54 (1H; *m*; H-3)], [δ_H 3,23 (1H; *s*; H-2'')], [δ_H 3,38 (1H; *m*; H-3')], [δ_H 3,39 (1H; *m*; H-4')], [δ_H 3,30 (1H; *s*; H-5')]; một nhóm oxymethylene [δ_H 3,68 (1H; *d*; *J* = 10,3 Hz; H-6')], [δ_H 3,70 (1H; *d*; *J* = 10,3 Hz; H-6')], sáu nhóm methyl [δ_H 0,75 (3H; *s*; H-18)], [δ_H 0,80 (3H; *s*; H-19)], [δ_H 0,96 (3H; *d*; *J* = 1,7 Hz; H-21)], [δ_H 0,87 (3H; *d*; *J* = 6,6 Hz; H-26)], [δ_H 0,80 (3H; *s*; H-27)], [δ_H 0,87 (3H; *d*; *J* =

Bảng 4: Số liệu NMR của hợp chất 6 trong dung môi CD₃SOCD₃

Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C
2		156,4	1''	5,32 d (7,4)	101,6
3		133,3	2''	3,33 – 3,69 m	74,5
4		177,4	3''		71,0
5		161,2	4''		70,5
6	6,17 d (2,0)	98,7	5''		76,4
7		164,1	6''	3,85 dd (11,8 2,2)	67,4
8	6,37 d (2,0)	94,1		3,63 dd (11,9; 6,2)	
9		156,9	1'''	4,36 brs	101,2
10		104,4	2'''	3,33 – 3,69 m	70,8
1'		121,6	3'''		76,9
2'	7,52 dd (9,5 2,1)	115,7	4'''		72,3
3'		145,2	5'''		68,7
4'		148,9	6'''	0,97 d (6,2)	18,1
5'	6,84 (d, 8,2	116,7	5-OH	12,68 s	
6'	7,52 dd (9,5 2,1)	122,1			

Bảng 5: Bảng dữ liệu phổ NMR của hợp chất 7 trong hỗn hợp dung môi CDCl₃-CD₃OD

Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C	Vị trí	δ_H (J/Hz)	δ_C
1	1,07 m 1,83 m	37,2	13		42,3	25	1,68 m	29,2
2	1,62 m 1,91 m	29,5	14	1,05 m	56,7	26	0,87 d (6,6)	19,6
3	3,54 m	79,1	15	1,11 m 1,59 m	24,2	27	0,80 s	18,9
4	2,21 t (11,7) 2,35 d (13,0)	38,6	16	1,23 m 1,80 m	28,1	28	1,21 m	23,0
5		140,3	17	1,16 m	56,0	29	0,87 d (6,6)	11,8
6	5,31 m	122,0	18	0,75 (3H; s)	11,7	1'	4,35 d (9,4)	101,1
7	1,45 m	31,8	19	0,80 s	19,1	2'	3,23 m	73,5
8	1,95 m	31,8	20	1,39 m	36,1	3'	3,38 m	76,4
9	0,96 m	50,2	21	0,96 d (1,7)	18,6	4'	3,39 m	70,2
10		36,6	22	1,11 m 1,40 m	33,9	5'	3,30 m	75,7
11	1,02 m 1,42 m	21,0	23	1,18 m	26,1	6'	3,68 d (10,3) 3,70 d (10,3)	61,8
12	1,17 m 1,98 m	39,7	24	0,88 m	45,9			

6,6 Hz; H-29)]. Ngoài ra ở vùng trường cao còn có sự xuất hiện của nhiều nhóm methine và methylene nằm trong vùng có độ dịch chuyển hóa học từ 1,00 ppm đến 2,00 ppm. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy hợp chất 7 có xuất hiện tín hiệu của 35 carbon. Trong đó, ở vùng từ trường thấp có sự xuất hiện của một carbon olefin tứ cấp [δ_{C} 140,3; C-5]; một carbon olefin tam cấp [δ_{C} 122,0; C-6]; một carbon nhóm anomer của glucoside [δ_{C} 101,1; C-1']; năm carbon nhóm oxymethine [δ_{C} 79,1; C-3], [δ_{C} 73,5; C-2'], [δ_{C} 76,4; C-3'], [δ_{C} 70,2; C-4'], [δ_{C} 75,7; C-5']; một carbon nhóm oxymethylene [δ_{C} 61,8; C-6']. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của hai carbon sp^3 tứ cấp [δ_{C} 36,6; C-10], [δ_{C} 42,3; C-13]; bảy carbon nhóm methine [δ_{C} 31,8; C-8], [δ_{C} 50,2; C-9], [δ_{C} 56,7; C-14], [δ_{C} 56,0; C-17], [δ_{C} 36,1; C-20], [δ_{C} 45,9; C-24], [δ_{C} 29,2; C-25]; 11 carbon nhóm methylene [δ_{C} 37,2; C-1], [δ_{C} 29,5; C-2], [δ_{C} 38,6; C-4], [δ_{C} 31,8; C-7], [δ_{C} 21,0; C-11], [δ_{C} 39,7; C-12], [δ_{C} 24,2; C-15], [δ_{C} 28,1; C-16], [δ_{C} 33,9; C-22], [δ_{C} 26,1; C-23], [δ_{C} 23,0; C-28]; sáu carbon nhóm methyl [δ_{C} 11,7; C-18], [δ_{C} 19,1; C-19], [δ_{C} 18,6; C-21], [δ_{C} 19,6; C-26], [δ_{C} 18,9; C-27], [δ_{C} 11,8; C-29] (Bảng 5). Từ dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất 7 có cấu trúc của một steroid khung stigmastane gắn với một đơn vị đường glucose. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 7 với hợp chất daucosterol²² cho thấy sự tương đồng. Vậy hợp chất 7 là daucosterol.

KẾT LUẬN

Từ 3,0 kg bột lá cây Kiến cò đã điều chế được các cao thô cao *n*-hexane (50,0 g), cao EtOAc (50 g) và cao *n*-BuOH (92,0 g). Bằng phương pháp sắc ký cột kết hợp với sắc ký lớp mỏng nhiều lần đã phân lập được bảy hợp chất từ cao EtOAc của lá cây Kiến cò là umbelliferone (1), kimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5), rutin (6) và daucosterol (7). Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định dựa vào phổ NMR kết hợp so sánh tài liệu tham khảo. Kết quả nghiên cứu cho thấy các hợp chất kimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5) thuộc khung flavonoid và coumarin lần đầu tiên được tìm thấy trong loài này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ Đề tài mã số HH 2021-16.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

^1H -NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ^1H .
 ^{13}C -NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ^{13}C .
 EtOAc: Ethyl acetate

MeOH: Methanol
n-BuOH: Butanol
 s: Mũi đơn (singlet)
 d: Mũi đôi (doublet)
 m: Mũi đa (multilet)
 brs: Mũi đơn bầu rộng (broad singlet)

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong bài nghiên cứu này.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Huỳnh Thanh Nam phân lập các hợp chất. Huỳnh Thanh Nam và Nguyễn Thị Ý Nhi phân tích cấu trúc các hợp chất. Huỳnh Thanh Nam và Đỗ Văn Nhật Trường viết bản thảo bài báo. Nguyễn Thị Ý Nhi và Trần Lê Quan phân bố cục và chỉnh sửa bản thảo chi tiết. Tất cả các tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Võ VC. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. 2012;.
- Siripong P, Yahuafai J, Shimizu K, Ichikawa K, Yonezawa S, Asai T, et al, "Antitumor activity of liposomal naphthoquinone esters isolated from Thai medicinal plant: *Rhinacanthus nasutus* Kurz", *Biol Pharm Bull*, 29(11): 2279-83, 2006;PMID: 17077529. Available from: <https://doi.org/10.1248/bpb.29.2279>.
- Suja SR, Lath PG, Pushpangadan P, Rajasekharan S., "Evaluation of hepatoprotective effects of *Rhinacanthus nasutus* root extracts", *Ethnomedicine and Ethnopharmacology Division, Trop. Bot. Garden and Res. Doc.*, 4: 151-157, 2003;.
- Tran MN, Nguyen TTP, Nguyen MK, SeonJu P, Hee JK, Nguyen XN, Bui TTT, Bui HT, Jae-Hyoung S, Hyun-Jeong K, Seung Hyun K. A new naphthoquinone analogue and antiviral constituents from the root of *Rhinacanthus nasutus*, *Natural Product research*. 33(3):360-366 2018;PMID: 29561167. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1452004>.
- Tian-Shung W, Hsien-Ju T, Mou-Yung Y, Kou-Hsiung L, Isolation and cytotoxicity of rhinacanthin-A and -B, two naphthoquinones, from *Rhinacanthus nasutus*, *Phytochemistry*, 27 (12): 3787-3788, 1988;Available from: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)83017-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)83017-6).
- Osamu K., Hiroaki I. and Tadm A., Isolation and Identification of an Antifungal Naphthopyran Derivative from *Rhinacanthus nasutus*, *Journal of Natural Products*, 56 (2), 292-294, 1993;PMID: 8463799. Available from: <https://doi.org/10.1021/np50092a018>.
- Shigefumi K., Akira N. and Akira H., Synthesis of an Antifungal Naphthopyran Derivative Isolated from *Rhinacanthus nasutus* (Acanthaceae), *Agricultural and Biological Chemistry*, 55 (11), 2909-2911, 1991;Available from: <https://doi.org/10.1271/bbb1961.55.2909>.
- Sendl A, et al. Two new naphthoquinones with antiviral activity from *Rhinacanthus nasutus*, *Journal of Natural Products*, 59, 808-811, 1996;PMID: 8792629. Available from: <https://doi.org/10.1021/np9601871>.
- Tian-Shung W, Hua-Chun H, Pei-Lin W, Yann-Lii L, Yu-Yi Ch, Ching-Yuh C, Mou-Yung Y and Hsien-Ju T., Naphthoquinone Esters from the Root of *Rhinacanthus nasutus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46 (3), 413-418, 1998;.
- Tian-Shung W., Hua-Chun H., Pei-Lin W., Che-Ming T. and Yang-Chang W., *Rhinacanthin-Q*, -A Naphthoquinone from *Rhinacanthus nasutus* and its biological activity, *Phytochemistry*, 49, 2001-2003, 1998;PMID: 9883591. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00425-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00425-7).

11. Wilmar M, Hiroyuki Y, Delfly B A, Ohgi T, Ryota K and Michio N. A New Pyrononaphtoquinone Derivative, 4-Oxo-rhinacanthin A, from Roots of Indonesian Rhinacanthus nasutus, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 65, 586-588, 2017;PMID: 28566651. Available from: <https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00074>.
12. Boonyaketguson S, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S, Trisuwan K. Naphthoquinones from the leaves of Rhinacanthus nasutus having acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic activities. Fitoterapia. 2018;124:206-10;PMID: 29154868. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.11.011>.
13. Kiernan C, Alborz A, Mason H, Swarbrick R, Mason L, Reeves D et al.. Report 4. Experience and views of parents caring for people with learning disabilities living in the family home. Manchester: Hester Adrian Research Centre, University of Manchester; 1997;.
14. Tian-Shung W, Chien-Chin Y, Pei-Lin W, Ling-Kang L. A quinol and steroids from the leaves and stems of Rhinacanthus nasutus. Phytochemistry. 1995;40(4):1247-9;Available from: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00427-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00427-9).
15. Thongchuai B, Tragoolpua Y, Sangthong P, Trisuwan K. Antiviral carboxylic acids and naphthoquinones from the stems of Rhinacanthus nasutus. Tetrahedron Lett. 2015;56(37):5161-3;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.07.082>.
16. Masayuki N, Mami H, Morio Y, Yoshiaki A, Hiroshi N. Identification of sinensetin and nobiletin as major antitrypanosomal factors in a citrus cultivar. Exp Parasitol. 2019;.
17. Kutubi MS, Hashimoto T, Kitamura T. Improved synthesis of coumarins by iron(III)-catalyzed cascade reaction of propiolic acids and phenols. Synthesis. 2011;2011(8):1283-9;Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258473>.
18. Li XJ, Liu ZZ, Kim KW, Wang X, Li Z, Kim Y-C et al. Chemical Constituents from Leaves of Pileostegia viburnoides Hook.f.et Thoms. Nat Prod Sci. 2016;22(3):154-61;Available from: <https://doi.org/10.20307/nps.2016.22.3.154>.
19. Okuno Y, Miyazawa M. Biotransformation of Sinesetin by the Larvae of the Common Cutworm (Spodoptera litura). Biol Pharm Bull. 2004;27(8):1289-92;PMID: 15305039. Available from: <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1289>.
20. Huang W, Wan Chunpeng, Zhou Shouran. Quercetin - A Flavonoid Compound from Sarcopyramis bodinieri var delicate with Potential apoptotic Activity in Hep G2 Liver Cancer Cells. Trop J Pharm Res. 2013;12(4):529;Available from: <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i4.13>.
21. Zor M, Aydin S, Güner ND, Başaran N, Başaran AA. Antigenotoxic properties of Paliurus spina-christi Mill fruits and their active compounds. BMC Complement Altern Med. 2017;17(1):229;PMID: 28446228. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1732-1>.
22. Jangwan JS, Aquino RP, Mencherini T, Singh R. Chemical investigation and in vitro cytotoxic activity of Randia dumetorum Lamk. Bark. Int J Chem Sci. 2012;10(3):1374-82;.

Chemical constituents of ethyl acetate from the leaves of *Rhinacanthus nasutus*

Nam Thanh Huynh, Truong Nhat Van Do, Quan Le Tran, Nhi Y Thi Nguyen*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Rhinacanthus nasutus, called "Kiến cò" in Vietnam, belonged to the family of Acanthaceae. All parts of *R. nasutus* are used in traditional medicine to cure eczema, herpes, tuberculosis, hepatitis, diabetes, and hypertension... Phytochemical studies on its chemical constituents have led to the identification of many types of secondary metabolites, including naphthoquinones, anthraquinones, lignans, flavonoids, phenolics, triterpenoids, and sterols, which have been found to have cytotoxic, antibacterial, antifungal, and antiplatelet activities. In Vietnam, studies on the *R. nasutus* were very few and limited, chemical constituents and biological activity studies on this plant will help guide further applied studies and can use this plant more effectively. Dried *R. nasutus* leaves, collected at Lam Dong Province - Vietnam, was extracted in methanol, and the obtained extract was successively partitioned into *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), butanol (*n*-BuOH). By column chromatography method together with thin layer normal-phase chromatography on the ethyl acetate extract of its leaves, seven compounds were isolated, including umbelliferone (1), skimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), quercetin (5), rutin (6) and daucosterol (7). Their chemical structures were elucidated by extensive NMR spectroscopic analysis and comparison with the literature data. Among them, skimmin (2), sinensetin (3), kaempferol (4), and quercetin (5) have been obtained in this plant for the first time.

Key words: Kiến cò, *Rhinacanthus nasutus*, Acanthaceae, coumarin, flavonoid

Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University Ho Ch Minh City, Vietnam

Correspondence

Nhi Y Thi Nguyen, Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University Ho Ch Minh City, Vietnam

Email: ntynhi@hcmus.edu.vn

History

- Received: 31-08-2022
- Accepted: 06-3-2023
- Published: 15-5-2023

DOI : <https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i1.1230>



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Huynh N T, Do T N V, Tran Q L, Nguyen N Y T. **Chemical constituents of ethyl acetate from the leaves of *Rhinacanthus nasutus***. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2023, 7(1):2577-2585.