

NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 1/2024 (Trang 11 - 16)

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT CỦA CÂY RAU MƯƠNG

Cao Lý Tấn Thông¹, Nguyễn Thành Triết¹, Nguyễn Diệp Xuân Kỳ²,
Hà Quang Thanh³, Nguyễn Thị Ngọc Đan⁴, Chung Thị Mỹ Duyên^{1,*}

¹Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;

²Viện Công nghệ Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

³Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh;

⁴Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

*Email:duyenchung.86@gmail.com

(Nhận bài ngày 14 tháng 3 năm 2023)

Tóm tắt

Tám hợp chất gồm β -sitosterol - stigmasterol trong một hỗn hợp (1), acid ursolic (2), acid oleanolic (3), lupeyl myristat (4), urs-12-en-2 α ,3 β ,7 β ,16 α -tetraol (5), daucosterol (6), luteolin (7) đã được phân lập từ các phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat của cây rau muống (*Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Ravens). Cấu trúc của các hợp chất được xác định bằng phổ khối lượng (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR). Bài báo lần đầu tiên công bố các hợp chất 4 và 5 được phân lập từ *L. octovalvis*.

Từ khóa: Rau muống, *Ludwigia octovalvis*, Acid ursolic, Acid oleanolic, Lupeyl myristat, Urs-12-en-2 α ,3 β ,7 β ,16 α -tetraol, Luteolin.

Summary

Isolation and Identification of some Compounds from *Ludwigia octovalvis*

Eight compounds were isolated from the *n*-hexane and ethyl acetate fractions of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Ravens including a mixture of β -sitosterol - stigmasterol (1), ursolic acid (2), oleanolic acid (3), lupeyl myristate (4), urs-12-en-2 α ,3 β ,7 β ,16 α -tetraol (5), daucosterol (6), and luteolin (7). The structures of these compounds were elucidated by mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Compounds 4 and 5 were isolated from *L. octovalvis* for the first time.

Keywords: *Ludwigia octovalvis*, Ursolic acid, Oleanolic acid, Lupeyl myristat, Urs-12-en-2 α ,3 β ,7 β ,16 α -tetraol, Luteolin.

1. Đặt vấn đề

Rau muống (*Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Ravens), họ Onagraceae, hay còn gọi là cây ớt ruộng, là loài cây thân thảo, có rất nhiều ở các vùng đất ẩm, cây mọc ở khắp nơi từ vùng đồng bằng tới trung du miền núi. Ở cả 3 miền Bắc, Trung và Nam đều có loài cây này. Theo kinh nghiệm dân gian, bộ phận dùng làm thuốc của cây rau muống là toàn cây gồm lá và thân cây. Toàn cây được dùng chữa tiêu chảy, kiết lỵ dưới dạng bột uống với sữa. Nước sắc rau muống chữa đầy hơi chướng bụng, giun đũa. Ở vùng Jashpur (Ấn Độ), nước sắc rễ rau muống được dùng chữa sốt. Ở Malaysia, rau muống có chất nhầy, giã nát đắp ngoài chữa đau đầu, sưng hạch ở cổ, viêm tinh hoàn. Ở Trung Quốc, rau muống được dùng chữa cảm sốt, ho, đau bụng, lở loét miệng, mụn nhọt. Ở Đài Loan, lá hoặc toàn cây rau muống giã nát dùng làm thuốc đắp chữa vết thương. Ở châu Phi, rau muống dùng chữa thấp khớp [1].

Yan J. và Yang X. W. đã phân lập được 13 hợp chất từ *L. octovalvis* bao gồm β -sitosterol, acid oleanolic, acid 2 α -hydroxy ursolic, acid tormentic, daucosterol, maltol, luteolin, quercetin, apigenin, methyl brevifolincarboxylat, acid gallic, 3,4,8,9,10-pentahydroxydibenzo[*b,d*]pyran-6-on, và acid ellagic [2]. Hiện nay, ở nước ta vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của rau muống. Với mong muốn tìm hiểu thành phần hóa học của loài thực vật này, đề tài đã thực hiện việc phân lập và xác định cấu trúc của một số hợp chất từ cây rau muống ở Việt Nam. Bài báo này công bố về kết quả phân lập 8 hợp chất trong cây rau muống.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Rau muống (*L. octovalvis*) được thu hái ở Vĩnh Long vào tháng 5/2021. Mẫu dược liệu được định danh bởi ThS. Ngô Thị Minh Huyền, Bộ môn Tài nguyên Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu tiêu

bản số TB-052021DL được lưu giữ tại Bộ môn Tài nguyên Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp sắc ký phân lập hợp chất

Phân lập các hợp chất bằng phương pháp sắc ký cột với chất hấp phụ là *silica gel* (0,040-0,063 mm, Merck). Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn *silica gel* G60 F₂₅₄ (Merck). Các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm, 366 nm và quan sát dưới ánh sáng thường sau khi phun thuốc thử vanillin-acid sulfuric.

Phương pháp phổ

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker Avance NEO 600 (Bruker, USA) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. TMS được sử dụng làm chất chuẩn nội. Phổ ESI-MS được đo trên hệ thống UPLC-MS (Acquity Qda - Waters).

2.3. Phân lập

Phần trên mặt đất của Rau mương (5,0 kg khô) được xay nhỏ qua rây kích thước 2 mm, chiết ngấm kiệt với dung môi EtOH 96%, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 553,3 g cao tổng EtOH 96%. Phân tán cao tổng trong nước nóng và chiết phân đoạn với các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-hexan, EtOAc. Cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các phân đoạn tương ứng: *n*-hexan (264,8 g), EtOAc (104,6 g) và cặn nước.

Phân đoạn *n*-hexan (22,5 g) được phân lập bằng sắc ký nhanh (cột khô) với pha tĩnh là *silica gel*, pha động là hệ dung môi gradient *n*-hexan-EtOAc (v/v 100:0, 70:30, 50:50, 25:75, 0:100) và hệ dung môi đẳng dòng EtOAc-MeOH (v/v 98:2), thu được mười phân đoạn (H-1 - H-10). Phân đoạn H-5 được cô cạn rồi kết tinh với methanol ở nhiệt độ phòng. Lọc, rửa thu được hợp chất **1** (135 mg). Phân đoạn H-6 được kết tinh với methanol ở nhiệt độ phòng, thu được 55 mg chất rắn dạng bột màu trắng. Tiến hành phân tách bột này bằng sắc ký cột, với pha tĩnh là Sephadex LH-20, pha động là hệ dung môi đẳng dòng CHCl₃-MeOH (v/v 20:80), thu được ba phân đoạn (H-6.1 - H-6.3). Kết tinh các phân đoạn H-6.2 và H-6.3 trong methanol ở nhiệt độ phòng thu được hợp chất **2** (22 mg) và hợp chất **3** (19 mg). Phân đoạn H-4 được kết tinh với methanol trong điều kiện nhiệt độ 4°C, thu được hợp chất **4** (18 mg). Phân đoạn H-9 được phân tách bằng sắc ký cột với pha tĩnh *silica gel*, pha động là hệ dung

môi gradient CHCl₃-MeOH (v/v 100:0 → 95:5) thu được năm phân đoạn (H-9.1 - H-9.5). Kết tinh phân đoạn H-9.2 ở nhiệt độ phòng thu được hợp chất **5** (33 mg). Phân đoạn H-10 được kết tinh với hỗn hợp dung môi EtOAc-MeOH (v/v 1:1) ở 4°C, thu được hợp chất **6** (96 mg).

Phân đoạn ethyl acetat (80,5 g) được phân tách bằng sắc ký cột, với pha tĩnh là *silica gel*, pha động là hệ dung môi gradient CHCl₃-MeOH (v/v 100:0, 99:1, 95:5, 90:10, 80:20, 50:50, 0:100) thu được mười phân đoạn (EA-1 - EA-10). Sắc ký cột pha đảo RP-18 phân đoạn EA-04 với hệ dung môi MeOH-H₂O (6:4 v/v) thu được hợp chất **7** (20 mg).

Dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được

Hỗn hợp β -sitosterol - stigmasterol (1): tinh thể hình kim, màu trắng. **β -Sitosterol (1a):** ¹H-NMR (cloroform-*d*, 600 MHz) δ_H 1,08 (1H, dd, *J* = 3,2; 5,4 Hz, H α -1), 1,86 (1H, m, H β -1), 1,49 (1H, dd, *J* = 3,3; 4,6 Hz, H α -2), 1,82 (1H, m, H β -2), 3,52 (1H, tt, *J* = 4,7; 11,2 Hz, H-3), 2,23 (1H, m, H α -4), 2,29 (1H, ddd, *J* = 2,3; 5,1; 13,1 Hz, H β -4), 5,35 (1H, dt, *J* = 4,0; 2,0 Hz, H-6), 2,00 (1H, t, *J* = 3,6 Hz, H α -7), 1,51 (1H, d, *J* = 3,2 Hz, H β -7), 1,47 (1H, dd, *J* = 2,2; 4,3 Hz, H-8), 0,97 (1H, m, H-9), 1,45 (1H, d, *J* = 4,7 Hz, H α -11), 1,49 (1H, dd, *J* = 4,6; 3,3 Hz, H β -11), 1,16 (1H, d, *J* = 3,5 Hz, H α -12), 1,96 (1H, td, *J* = 5,1; 2,6 Hz, H β -12), 1,02 (1H, d, *J* = 6,7 Hz, H-14), 1,05 (1H, dd, *J* = 1,2; 5,7 Hz, H α -15), 1,52 (1H, m, H β -15), 1,28 (2H, m, H α/β -16), 1,14 (1H, m, H-17), 0,68 (3H, s, CH₃-18), 1,01 (3H, s, CH₃-19), 1,36 (1H, m, H-20), 0,92 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, CH₃-21), 1,31 (2H, m, H $\alpha\beta$ -22), 1,18 (2H, q, *J* = 2,8 Hz, H $\alpha\beta$ -23), 0,93 (1H, m, H-24), 1,66 (1H, pd, *J* = 6,8; 4,7 Hz, H-25), 0,82 (3H, d, *J* = 6,9 Hz, CH₃-26), 0,85 (3H, d, *J* = 7,4 Hz, CH₃-27), 1,25 (2H, m, H α/β -28), 0,84 (3H, t, *J* = 6,8 Hz, CH₃-29). ¹³C-NMR (cloroform-*d*, 150 MHz) δ_C 37,3 (C-1), 31,7 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,9 (C-7), 31,9 (C-8), 50,1 (C-9), 36,5 (C-10), 21,1 (C-11), 39,8 (C-12), 42,3 (C-13), 56,8 (C-14), 24,3 (C-15), 28,2 (C-16), 56,1 (C-17), 12,0 (C-18), 19,4 (C-19), 36,1 (C-20), 18,8 (C-21), 34,0 (C-22), 26,1 (C-23), 45,9 (C-24), 29,2 (C-25), 19,0 (C-26), 19,8 (C-27), 23,1 (C-28), 11,8 (C-29). **Stigmasterol (1b):** ¹H-NMR (cloroform-*d*, 600 MHz) δ_H 1,08 (1H, dd, *J* = 3,2; 5,4 Hz, H α -1), 1,86 (1H, m, H β -1), 1,49 (1H, dd, *J* = 3,3; 4,6 Hz, H α -2), 1,82 (1H, m, H β -2), 3,52 (1H, tt, *J* = 4,7; 11,2 Hz, H-3), 2,23 (1H, m, H α -4), 2,29 (1H, ddd, *J* = 2,3; 5,1; 13,1 Hz, H β -4),

5,35 (1H, dt, $J = 4,0; 2,0$; Hz, H-6), 2,00 (1H, t, $J = 3,6$ Hz, H α -7), 1,51 (1H, d, $J = 3,2$ Hz, H β -7), 1,47 (1H, dd, $J = 2,2; 4,3$ Hz, H-8), 0,97 (1H, m, H-9), 1,45 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, H α -11), 1,49 (1H, dd, $J = 4,6; 3,3$ Hz, H β -11), 1,16 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H α -12), 1,96 (1H, td, $J = 5,1; 2,6$ Hz, H β -12), 1,02 (1H, d, $J = 6,7$ Hz, H-14), 1,05 (1H, dd, $J = 1,2; 5,7$ Hz, H α -15), 1,52 (1H, m, H β -15), 1,28 (2H, m, H α/β -16), 1,14 (1H, m, H-17), 0,68 (3H, s, CH₃-18), 1,01 (3H, s, CH₃-19), 2,02 (1H, dd, $J = 3,0; 4,1$ Hz, H-20), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-21), 5,16 (1H, dd, $J = 8,7; 15,2$ Hz, H-22), 5,02 (1H, dd, $J = 8,7; 15,2$ Hz, H-23), 1,53 (1H, m, H-24), 1,66 (1H, pd, $J = 6,8; 4,7$ Hz, H-25), 0,82 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CH₃-26), 0,85 (3H, d, $J = 7,4$ Hz, CH₃-27), 1,11 (2H, m, H α/β -28), 0,84 (3H, t, $J = 6,8$ Hz, CH₃-29). ¹³C-NMR (cloroform-*d*, 150 MHz) δ_C 37,3 (C-1), 31,7 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,9 (C-7), 31,9 (C-8), 50,1 (C-9), 36,5 (C-10), 21,1 (C-11), 39,8 (C-12), 42,3 (C-13), 56,9 (C-14), 24,3 (C-15), 28,9 (C-16), 56,0 (C-17), 12,0 (C-18), 19,4 (C-19), 40,4 (C-20), 21,2 (C-21), 138,3 (C-22), 129,3 (C-23), 51,2 (C-24), 31,3 (C-25), 21,2 (C-26), 19,0 (C-27), 25,4 (C-28), 12,2 (C-29). (Tỉ lệ cường độ tín hiệu trên phổ ¹H-NMR ở δ_H 5,35, 5,16 và 5,02 lần lượt là: 1,00: 0,165 : 0,165, nên tỉ lệ mol ước tính của **1a:1b** khoảng 7:1).

Acid ursolic (2): bột, màu trắng. ESI-MS (chế độ ion dương) m/z 434,0 ([M - C₃H₅* + H + H₂O]⁺, cường độ 100%), 415,1 ([M - C₃H₅*]⁺, cường độ 2,4%), 456,4 ([M]⁺, cường độ 2,3%). ¹H-NMR (cloroform-*d*, 600 MHz) δ_H 1,65 (1H, m, H α -1), 1,03 (1H, m, H β -1), 1,61 (1H, m, H α -2), 1,56 (1H, d, $J = 13,1$ Hz, H β -2), 3,22 (1H, dd, $J = 5,1; 11,0$ Hz, H-3), 0,75 (1H, d, $J = 12,6$ Hz, H-5), 1,36 (1H, d, $J = 3,9$ Hz, H α -6), 1,53 (1H, m, H β -6), 1,39 (1H, m, H α -7), 0,49 (1H, d, $J = 3,4$ Hz, H β -7), 1,94 (2H, dd, $J = 8,9; 3,7$ Hz, H-11), 5,28 (1H, t, $J = 3,7$ Hz, H-12), 1,13 (1H, d, $J = 5,1$ Hz, H α -15), 1,89 (1H, dd, $J = 4,7; 13,9$ Hz, H β -15), 2,04 (1H, dt, $J = 4,4; 13,4$ Hz, H β -16), 2,22 (1H, d, $J = 11,2$ Hz, H-18), 1,33 (1H, m, H-19), 0,96 (1H, m, H-20), 1,71 (1H, m, H α -21/H β -21), 1,51 (1H, m, H β -21/H α -21), 1,76 (1H, dt, $J = 3,7; 13,1$ Hz, H α -22), 1,68 (1H, m, H β -22), 1,01 (3H, s, CH₃-23), 0,80 (3H, s, CH₃-24), 0,95 (3H, s, CH₃-25), 0,83 (3H, s, CH₃-26), 1,11 (3H, s, CH₃-27), 0,88 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, CH₃-29), 0,96 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, CH₃-30). ¹³C-NMR (cloroform-*d*, 150 MHz) δ_C 38,7 (C-1), 27,2 (C-2), 78,9 (C-3), 38,7

(C-4), 55,3 (C-5), 18,2 (C-6), 33,0 (C-7), 39,5 (C-8), 47,6 (C-9), 37,0 (C-10), 23,2 (C-11), 125,9 (C-12), 137,9 (C-13), 42,0 (C-14), 28,0 (C-15), 24,2 (C-16), 47,9 (C-17), 52,8 (C-18), 39,0 (C-19), 38,8 (C-20), 30,5 (C-21), 36,6 (C-22), 28,0 (C-23), 15,4 (C-24), 15,3 (C-25), 17,0 (C-26), 23,4 (C-27), 179,9 (C-28), 16,8 (C-29), 20,9 (C-30).

Acid oleanolic (3): bột, màu trắng. ESI-MS (chế độ ion dương) m/z 439,0 ([M - 'OH]⁺, cường độ 3,6%), 415,0 ([M - C₃H₅*]⁺, cường độ 3,3%), 456,2 ([M]⁺, cường độ 3,1%), 495,1 ([M + K]⁺, cường độ 2,0%). ¹H-NMR (cloroform-*d*, 600 MHz) δ_H 1,60 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H α -1), 0,97 (1H, m, H β -1), 1,62 (1H, m, H α -2), 1,56 (1H, m, H β -2), 3,22 (1H, dd, $J = 4,3; 11,4$ Hz, H-3), 0,74 (1H, d, $J = 11,7$ Hz, H-5), 1,56 (1H, m, H α -6/H β -6), 1,36 (1H, m, H β -6/H α -6), 1,78 (1H, dd, $J = 4,4; 13,9$ Hz, H α -7), 1,44 (1H, m, H β -7), 1,54 (1H, m, H-9), 1,99 (1H, td, $J = 4,1; 13,6$ Hz, H α -11), 1,89 (1H, dd, $J = 4,1; 11,4$ Hz, H β -11), 5,28 (1H, t, $J = 3,8$ Hz, H-12), 1,72 (1H, m, H α -15), 1,08 (1H, dd, $J = 3,7; 13,8$ Hz, H β -15), 1,99 (1H, td, $J = 4,1; 13,6$ Hz, H α -16), 1,88 (1H, m, H β -16), 2,82 (1H, dd, $J = 4,6; 13,7$ Hz, H-18), 1,62 (1H, m, H α -19), 1,16 (1H, dd, $J = 2,1; 4,7$ Hz, H β -19), 1,40 (1H, m, H α -21), 1,21 (1H, d, $J = 13,5$ Hz, H β -21), 1,78 (1H, m, H α -22), 1,59 (1H, d, $J = 3,9$ Hz, H β -22), 0,99 (3H, s, CH₃-23), 0,76 (3H, s, CH₃-24), 0,90 (3H, s, CH₃-25), 0,78 (3H, s, CH₃-26), 1,14 (3H, s, CH₃-27), 0,91 (3H, s, CH₃-29), 0,93 (3H, s, CH₃-30). ¹³C-NMR (cloroform-*d*, 150 MHz) δ_C 38,4 (C-1), 27,2 (C-2), 79,0 (C-3), 38,7 (C-4), 55,2 (C-5), 18,3 (C-6), 32,6 (C-7), 39,3 (C-8), 47,6 (C-9), 37,1 (C-10), 23,4 (C-11), 122,6 (C-12), 143,6 (C-13), 41,6 (C-14), 27,7 (C-15), 23,0 (C-16), 46,5 (C-17), 41,0 (C-18), 45,9 (C-19), 30,6 (C-20), 33,8 (C-21), 32,4 (C-22), 28,1 (C-23), 15,5 (C-24), 15,3 (C-25), 17,1 (C-26), 25,9 (C-27), 182,2 (C-28), 33,0 (C-29), 23,6 (C-30).

Lupeyl myristat (4): bột, màu trắng. ESI-MS (chế độ ion dương) m/z 388,8 ([M - 'C₁₄H₂₈O₂ - C₃H₆ - H + Na]⁺, cường độ 100%), 430,3 ([M - 'C₁₄H₂₈O₂ + Na]⁺, cường độ 5%). ¹H NMR (cloroform-*d*, 600 MHz) δ_H 1,00 (1H, m, H α -1), 1,62 (1H, dd, $J = 2,7; 5,7$ Hz, H β -1), 1,26 (2H, m, H-2), 4,47 (1H, dd, $J = 5,3; 11,1$ Hz, H-3), 0,80 (1H, m, H-5), 1,50 (1H, m, H α -6), 1,47 (1H, dd, $J = 2,6; 4,6$ Hz, H β -6), 1,38 (2H, m, H α/β -7), 1,30 (1H, m, H-9), 1,08 (1H, td, $J = 12,9; 4,7$ Hz, H α -11), 1,30 (1H, m, H β -11), 1,67 (2H, m, H-12), 1,30 (1H, m, H-13), 1,92 (1H, dtd, $J = 8,3; 10,4;$

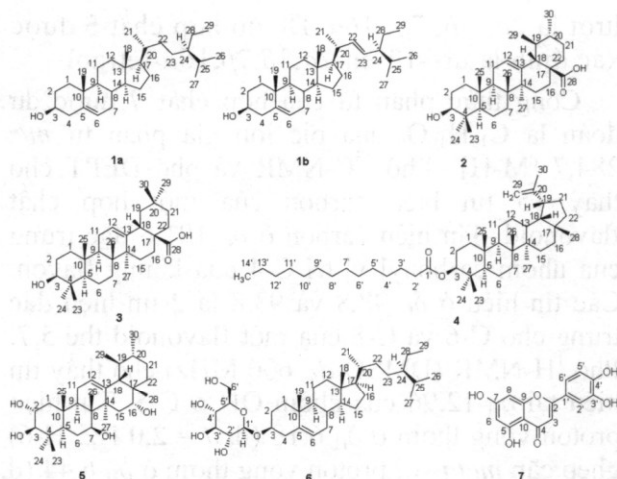
13,8 Hz, H α -15), 1,59 (1H, m, H β -15), 1,38 (2H, m, H α -16), 1,26 (1H, m, H-18), 2,37 (1H, td, J = 5,8; 11,1 Hz, H-19), 2,28 (2H, dd, J = 6,4; 7,9 Hz, H-21), 1,38 (1H, m, H α -22), 1,19 (1H, d, J = 11,4 Hz, H β -22), 1,03 (3H, s, CH₃-23), 0,86 (3H, s, CH₃-24), 0,84 (3H, s, CH₃-25), 0,84 (3H, s, CH₃-26), 0,94 (3H, s, CH₃-27), 0,79 (3H, s, CH₃-28), 4,57 (1H, dd, J = 1,4; 2,5 Hz, H α -29), 4,69 (1H, d, J = 2,5 Hz, H β -29), 1,68 (3H, s, CH₃-30), 1,25 (2H, d, J = 3,3 Hz, H-2'), 1,25 (2H, m, H-3'), 1,25 (2H, m, H-4'), 1,25 (2H, m, H-5'), 1,25 (2H, m, H-6'), 1,25 (2H, m, H-7'), 1,25 (2H, m, H-8'), 1,25 (2H, m, H-9'), 1,25 (2H, m, H-10'), 1,25 (2H, m, H-11'), 1,25 (2H, m, H-12'), 1,25 (2H, m, H-13'), 0,88 (3H, t, 7,0 Hz, CH₃-14'). ¹³C-NMR (chloroform-*d*, 150 MHz) δ_C 38,4 (C-1), 23,7 (C-2), 80,6 (C-3), 37,8 (C-4), 55,4 (C-5), 18,2 (C-6), 34,2 (C-7), 40,9 (C-8), 50,3 (C-9), 37,1 (C-10), 20,9 (C-11), 25,1 (C-12), 38,1 (C-13), 42,8 (C-14), 27,4 (C-15), 35,6 (C-16), 43,0 (C-17), 48,3 (C-18), 48,0 (C-19), 150,9 (C-20), 29,8 (C-21), 40,0 (C-22), 28,0 (C-23), 16,6 (C-24), 16,1 (C-25), 16,0 (C-26), 14,5 (C-27), 18,0 (C-28), 109,3 (C-29), 19,3 (C-30), 173,7 (C-1'), 34,8 (C-2'), 25,2 (C-3'), 29,6 (C-4'), 29,7 (C-5'), 29,7 (C-6'), 29,6 (C-7'), 29,6 (C-8'), 29,6 (C-9'), 29,2 (C-10'), 29,2 (C-11'), 31,9 (C-12'), 22,7 (C-13'), 14,1 (C-14').

Urs-12-en-2 α ,3 β ,7 β ,16 α -tetraol (5): tinh thể hình vảy, màu trắng. ESI-MS (chế độ ion dương) m/z 495,2 ([M - H₂O + K]⁺, cường độ 33%). ¹H-NMR (methanol-*d*₄, 600 MHz) δ_H 1,96 (1H, d, J = 10,1 Hz, H α -1), 1,00 (1H, m, H β -1), 3,65 (1H, m, H-2), 2,92 (1H, d, J = 9,1 Hz, H-3), 0,82 (1H, m, H-5), 1,61 (1H, m, H α -6/H β -6), 1,40 (1H, m, H β -6/H α -6), 3,53 (1H, dd, J = 11,2; 4,5 Hz, H-7), 1,46 (1H, m, H-9), 1,97 (2H, m, H α -11), 5,23 (1H, t, J = 3,7 Hz, H-12), 1,64 (1H, m, H α -15/H β -15), 1,35 (1H, m, H β -15/H α -15), 3,57 (1H, dd, J = 11,4; 4,4 Hz, H-16), 2,19 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-18), 1,44 (1H, m, H-19), 0,92 (1H, m, H-20), 1,52 (1H, m, H α -21/H β -21), 1,28 (1H, m, H β -21/H α -21), 1,61 (1H, m, H α -22/H β -22), 1,32 (1H, m, H β -22/H α -22), 1,02 (3H, s, CH₃-23), 0,81 (3H, s, CH₃-24), 1,01 (3H, s, CH₃-25), 1,11 (3H, s, CH₃-26), 1,91 (3H, s, CH₃-27), 1,14 (3H, s, CH₃-28), 0,86 (3H, d, J = 6,6 Hz, CH₃-29), 0,95 (1H, d, J = 6,2 Hz, CH₃-30). ¹³C-NMR (methanol-*d*₄, 150 MHz) δ_C 49,5 (C-1), 69,5 (C-2), 84,5 (C-3), 40,4 (C-4), 56,7 (C-5), 29,2 (C-6), 73,6 (C-7), 48,2 (C-8), 49,2 (C-9), 38,1 (C-10), 24,8 (C-11), 129,3 (C-12), 140,1 (C-13), 43,1 (C-14), 33,9 (C-15), 72,2 (C-16), 40,6 (C-17), 56,8

(C-18), 40,4 (C-19), 40,5 (C-20), 31,6 (C-21), 38,1 (C-22), 29,3 (C-23), 17,2 (C-24), 17,5 (C-25), 19,5 (C-26), 24,1 (C-27), 19,5 (C-28), 17,8 (C-29), 21,5 (C-30).

Daucosterol (6): bột, màu trắng. ESI-MS (chế độ ion dương) m/z 507,2 ([M - C₅H₉]⁺, cường độ 33%), 409,0 ([M - C₅H₁₂O₆ + H]⁺, cường độ 4%). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ_H 1,81 (1H, d, J = 4,6 Hz, H α -1), 1,01 (1H, m, H β -1/H α -1), 1,79 (1H, t, J = 3,7 Hz, H α -2), 1,49 (1H, m, H β -2), 3,47 (1H, tt, J = 4,6; 11,5 Hz, H-3), 2,38 (1H, m, H α -4/H β -4), 2,14 (1H, m, H β -4/H α -4), 5,33 (1H, dt, J = 2,0; 4,8 Hz, H-6), 1,54 (1H, m, H α -7), 1,93 (1H, ddt, J = 2,7; 5,1; 13,1 Hz, H β -7), 1,41 (1H, m, H-8), 0,88 (1H, m, H-9), 1,49 (1H, m, H α -11/H β -11), 1,41 (1H, m, H β -11/H α -11), 1,97 (1H, m, H α -12/H β -12), 1,41 (1H, m, H β -12/H α -12), 0,98 (1H, m, H-14), 1,64 (1H, pd, J = 4,8; 6,9 Hz, H α -15), 1,15 (1H, m, H β -15), 1,83 (1H, m, H α -16), 1,21 (1H, q, J = 7,0 Hz, H β -16), 1,17 (1H, d, J = 7,1 Hz, H-17), 0,66 (3H, s, CH₃-18), 0,97 (3H, s, CH₃-19), 1,35 (1H, m, H-20), 0,91 (3H, d, J = 6,6 Hz, CH₃-21), 1,26 (2H, m, H-22), 1,54 (2H, m, H-23), 0,77 (1H, m, H-25), 0,81 (3H, d, J = 6,9 Hz, CH₃-26), 0,82 (3H, d, J = 6,9 Hz, CH₃-27), 0,80 (2H, m, H-28), 0,84 (3H, t, J = 7,5 Hz, CH₃-29), 4,23 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-1'), 3,03 (1H, ddd, J = 5,1; 8,6; 9,7 Hz, H-2'), 3,65 (1H, ddd, J = 2,1; 5,7; 11,7 Hz, H-3'), 2,91 (1H, ddd, J = 4,8; 7,8; 9,0 Hz, H-4'), 3,08 (1H, ddd, J = 2,1; 5,9; 9,7 Hz, H-5'), 4,23 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-6'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ_C 37,2 (C-1), 29,7 (C-2), 77,3 (C-3), 38,7 (C-4), 140,9 (C-5), 121,6 (C-6), 31,8 (C-7), 31,8 (C-8), 50,0 (C-9), 36,9 (C-10), 21,0 (C-11), 40,5 (C-12), 42,3 (C-13), 56,6 (C-14), 24,3 (C-15), 28,2 (C-16), 55,8 (C-17), 12,1 (C-18), 19,5 (C-19), 36,6 (C-20), 19,0 (C-21), 33,8 (C-22), 25,9 (C-23), 45,6 (C-24), 29,1 (C-25), 20,1 (C-26), 19,3 (C-27), 23,0 (C-28), 12,2 (C-29), 101,2 (C-1'), 73,9 (C-2'), 77,2 (C-3'), 70,5 (C-4'), 77,1 (C-5'), 61,5 (C-6').

Luteolin (7): bột, màu vàng nhạt. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ_H 12,96 (1H, s, 5-OH), 6,66 (1H, s, H-3), 6,18 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6), 6,44 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-8), 7,42 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-2'), 6,89 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-5'), 7,40 (1H, dd, J = 2,4; 8,4 Hz, H-6'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ_C 163,9 (C-2), 102,9 (C-3), 181,6 (C-4), 161,5 (C-5), 98,8 (C-6), 164,1 (C-7), 93,8 (C-8), 156,9 (C-9), 104,7 (C-10), 121,5 (C-1'), 113,4 (C-2'), 145,7 (C-3'), 149,7 (C-4'), 116,0 (C-5'), 118,9 (C-6').



3. Kết quả và bàn luận

Công thức phân tử của hợp chất **2** được dự đoán là $C_{30}H_{48}O_3$ qua pic ion phân tử m/z 456,4 $[M]^+$ và pic phân mảnh m/z 415,0 $[M - \cdot CH_2=CH-CH_2]^+$ trên phổ khối lượng ESI-MS (chế độ ion dương). Độ bất bão hoà của công thức phân tử $C_{30}H_{48}O_3$ là 7. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT chứa các tín hiệu cộng hưởng gợi ý **2** là một hợp chất triterpen năm vòng có 30 carbon, trong đó có một carbon carboxyl (δ_C 179,9), hai carbon olefinic (δ_C 137,9 và 125,9), bảy carbon methyl (δ_C 15,3, 15,4, 16,8, 17,0, 20,9, 23,4, 28,0), chín carbon methylen, sáu carbon methin (trong đó có 1 nhóm carbinol ở δ_C 78,9) và năm carbon bậc 4. Các tín hiệu cộng hưởng này giả thiết cho một triterpen có khung ursen. Phổ 1H -NMR của **2** gồm các tín hiệu: bảy tín hiệu (năm mũi đơn và hai mũi đôi) thuộc về các proton methyl ở δ_H 0,80 (3H, s), 0,83 (3H, s), 0,95 (3H, s), 1,01 (3H, s), 1,11 (3H, s), 0,88 (3H, d, $J = 6,4$ Hz), 0,96 (3H, d, $J = 6,3$ Hz), một proton olefinic ở δ_H 5,28 (1H, t, $J = 3,7$ Hz), một proton carbinyl ở δ_H 3,22 (1H, dd, $J = 11,0$; 5,1 Hz) có hằng số ghép 3J đặc trưng cho H-3 α phù hợp với các công bố trước [3]. Các tín hiệu 1H - và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp các phổ HSQC, HMBC và COSY. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **2** phù hợp với của acid ursolic [3], do đó **2** được xác định là acid ursolic.

Công thức phân tử của hợp chất **3** được dự đoán là $C_{30}H_{48}O_3$ qua pic ion phân tử m/z 456,4 $[M]^+$ và pic ion giả phân tử m/z 495,1 $[M + K]^+$, và các pic phân mảnh ở m/z 439,0 $[M - OH]^+$, m/z 415,0 $[M - \cdot CH_2=CH-CH_2]^+$ trên phổ khối lượng ESI-MS (chế độ ion dương). Độ bất bão hoà của công thức $C_{30}H_{48}O_3$ là 7. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của **3** có các tín hiệu cộng hưởng gợi ý một hợp chất triterpen năm vòng có 30 nguyên tử

carbon: một carbon carboxyl (δ_C 182,2), hai carbon olefinic (δ_C 143,6 và δ_C 122,6), bảy carbon methyl (δ_C 15,3, 15,5, 17,1, 23,6, 25,9, 28,1, 33,0), mười carbon methylen, bốn carbon methin (trong đó có 1 nhóm carbinol ở δ_C 79,0) và sáu carbon bậc 4. Các tín hiệu cộng hưởng này giả thiết **3** là một hợp chất triterpen khung olean. Phổ 1H -NMR của **3** gồm các tín hiệu: bảy tín hiệu (tất cả đều là mũi đơn) thuộc về các nhóm methyl ở δ_H 0,76 (3H, s), 0,78 (3H, s), 0,90 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,93 (3H, s), 0,99 (3H, s), 1,14 (3H, s); một proton olefinic ở δ_H 5,28 (1H, t, $J = 3,8$ Hz), một proton carbinyl ở δ_H 3,22 (1H, dd, $J = 11,4$; 4,3 Hz) có hằng số ghép 3J đặc trưng cho H-3 α phù hợp với các công bố trước [3]. Các tín hiệu 1H - và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp các phổ HSQC, HMBC và COSY. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **3** phù hợp với của acid oleanolic [4], do đó **3** được xác định là acid oleanolic.

Công thức phân tử của hợp chất **4** được dự đoán là $C_{44}H_{76}O_2$ qua các pic ion giả phân tử m/z 388,8 $[M - \cdot C_{14}H_{28}O_2 - C_3H_6 - H + Na]^+$, m/z 430,3 $[M - \cdot C_{14}H_{28}O_2 + H + Na]^+$ trên phổ khối lượng ESI-MS (chế độ ion dương). Độ bất bão hoà của công thức $C_{44}H_{76}O_2$ là 7. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT cho các tín hiệu cộng hưởng của một ester của triterpen alcohol năm vòng với một acid béo no. Các tín hiệu thuộc về phần triterpen gồm: hai carbon olefinic (δ_C 150,9 và δ_C 109,3), bảy carbon methyl (δ_C 14,5, 16,0, 16,1, 16,6, 18,0, 19,3, 27,9), chín carbon methylen, sáu carbon methin (trong đó có một oxymethin ở δ_C 80,6), và năm carbon bậc 4. Các tín hiệu này phù hợp với một hợp chất triterpen có khung lupen. Tín hiệu carbon carbinyl điển hình của triterpen bị dịch chuyển về vùng trường thấp (δ_C 80,6), gợi ý rằng nhóm OH tại C-3 đã được ester hoá. Phổ 1H -NMR của phần triterpen gồm các tín hiệu của bảy proton methyl ở δ_H 0,79 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,86 (3H, s), 0,94 (3H, s), 1,03 (3H, s), 1,68 (3H, s); hai proton olefinic ở δ_H 4,69 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) và 4,57 (1H, dd, $J = 2,5$; 1,4 Hz) có hằng số ghép cặp đặc trưng cho hai proton geminal ($^2J = 2,5$ Hz), đặc biệt tín hiệu ở δ_H 4,57 còn xuất hiện hằng số ghép cặp xa allylic $^4J = 1,4$ Hz. Proton của nhóm oxymethin ở δ_H 4,47 (1H, dd) có hằng số ghép cặp $^3J = 11,1$; 5,3 Hz đặc trưng cho H-3 α [4]. Các tín hiệu còn lại trên phổ ^{13}C -NMR gợi ý cấu trúc của phần acid béo ester: một carbon nhóm ester ở δ_C 173,7, mười hai carbon methylen và một carbon methyl cuối mạch của acid myristic ($C_{14:0}$). Các tín hiệu trên phổ 1H -NMR của phần acid béo ở δ_H 1,25 (m) thuộc về các nhóm methylen và ở δ_H 0,88 (3H, t,

$J = 7,0$ Hz) thuộc về nhóm methyl cuối mạch. Các tín hiệu ^1H - và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp phổ HSQC và HMBC. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **4** phù hợp với của lupeyl myristat [5]; do đó, hợp chất **4** được xác định là lupeyl myristat.

Công thức phân tử của hợp chất **5** được dự đoán là $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$ qua các pic ion giả phân tử m/z 495,2 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{K}]^+$ trên phổ khối lượng ESI-MS (chế độ ion dương). Độ bất bão hòa của công thức dự đoán $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$ là 6. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của hợp chất **5** cho các tín hiệu cộng hưởng gợi ý **5** là một triterpen năm vòng (30 C) tương tự như **2**, nhưng có một số điểm khác biệt, cụ thể là **5** có hai carbon olefinic (δ_{C} 140,1 và 129,3), tám carbon methyl (δ_{C} 17,2, 17,5, 17,8, 19,5, 19,5, 21,5, 24,1, 29,3), sáu carbon methylen, chín carbon methin (trong đó có 4 nhóm carbinol ở δ_{C} 69,5, 72,2, 73,6, 84,5) và năm carbon bậc 4. Các tín hiệu cộng hưởng này đặc trưng cho một hợp chất triterpen ursen có 4 nhóm hydroxy. Phổ ^1H -NMR của **5** gồm các tín hiệu: tám tín hiệu (sáu mũi đơn và hai mũi đôi) thuộc về các proton methyl ở δ_{H} 0,81 (3H, s), 1,01 (3H, s), 1,02 (3H, s), 1,11 (3H, s), 1,91 (3H, s), 1,14 (3H, s), 0,86 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,95 (1H, d, $J = 6,2$ Hz), một proton olefinic ở δ_{H} 5,23 (1H, t, $J = 3,7$; 3,7 Hz), bốn proton carbiny ở δ_{H} 2,92 (1H, d, $J = 9,1$ Hz), 3,53 (1H, dd, $J = 11,2$; 4,5 Hz, H-7), 3,57 (1H, dd, $J = 11,4$; 4,4 Hz, H-16), 3,65 (1H, m). Các tín hiệu ^1H - và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp các phổ HSQC, HMBC và COSY. Dữ liệu phổ NMR của **5** phù hợp với dữ liệu phổ của urs-12-en-2,3,7,16-tetraol [6]. Cấu hình tương đối của H-2, H-3, H-7, H-16 được xác định thông qua so sánh hằng số ghép cặp 3J với của tài liệu tham khảo [6], cho thấy cấu hình các vị trí lần

lượt là 2α , 3β , 7β , 16α . Do đó hợp chất **5** được xác định là urs-12-en- $2\alpha,3\beta,7\beta,16\alpha$ -tetraol.

Công thức phân tử của hợp chất **7** được dự đoán là $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ qua pic ion giả phân tử m/z 284,7 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT cho thấy 15 tín hiệu carbon của một hợp chất flavonoid. Tín hiệu carbon ở δ_{C} 181,6 đặc trưng của nhóm carbonyl vị trí C-4 của khung flavon. Các tín hiệu ở δ_{C} 98,8 và 93,8 là 2 tín hiệu đặc trưng cho C-6 và C-8 của một flavonoid thể 5,7. Phổ ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) cho thấy tín hiệu tại δ_{H} 12,96 của nhóm OH ở C-5. Tín hiệu proton vòng thơm ở δ_{H} 6,18 (d, $J = 2,0$ Hz, H-6) ghép cặp *meta* với proton vòng thơm ở δ_{H} 6,44 (d, $J = 2,0$ Hz, H-8). Tín hiệu proton vòng thơm ở δ_{H} 7,40 (dd, $J = 8,4$ Hz và 2,4 Hz, H-6') ghép cặp *ortho* với proton vòng thơm ở δ_{H} 6,89 (d, $J = 8,4$ Hz, H-5') và ghép cặp *meta* với proton vòng thơm ở δ_{H} 7,42 (d, $J = 2,4$ Hz, H-2'). Một tín hiệu proton singlet đặc trưng của H-3 xuất hiện ở δ_{H} 6,66 (s). Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **7** phù hợp với của luteolin [8], do đó **7** được xác định là luteolin.

4. Kết luận

Từ phân đoạn *n*-hexan của cây rau mương (*Ludwigia octovalvis*) 7 hợp chất đã được phân lập. Ngoài ra, một hợp chất flavon là luteolin (**7**) đã được phân lập từ phân đoạn ethyl acetat. Phân tích dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo xác định được các hợp chất là hỗn hợp β -sitosterol - stigmasterol (tỉ lệ mol 7:1) (**1**), acid ursolic (**2**), acid oleanolic (**3**), lupeyl myristat (**4**), urs-12-en- $2\alpha,3\beta,7\beta,16\alpha$ -tetraol (**5**), daucosterol (**6**) và luteolin (**7**), trong số đó lupeyl myristat (**4**) và urs-12-en- $2\alpha,3\beta,7\beta,16\alpha$ -tetraol (**5**) lần đầu tiên được báo cáo có trong *Ludwigia octovalvis*. Kết quả phân lập này có thể làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng dược lý dựa trên các thành phần này.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 511-512.
2. Yan J. and Yang X. W. (2005), Studies on the chemical constituents in herb of *Ludwigia octovalvis*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 30, 1923-1926 (in Chinese)
3. Pierre L. L., Moses M. M. (2015). Isolation and characterisation of stigmasterol and β -sitosterol from *Odontonema strictum* (Acanthaceae). *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 2(1), 88-95.
4. Dais P., Plessel R., Williamson K., Hatzakis E (2017). Complete ^1H and ^{13}C NMR assignment and ^{31}P NMR determination of pentacyclic triterpenic acids. *Analytical Methods*, 9(6), 949-957.
5. Silva A. T. M., Magalhães C. G., Duarte L. P., Mussel W. da N., Ruiz A. L. T. G., Shiozawa L., Carvalho J. E., Trindade I. C., Vieira Filho. S. A. (2018). Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and *in vitro* evaluation of cancer cell growth. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(3), 1-10.
6. Tung N. H., Nakajima K., Uto T., Hai N. T., Long D. D., Ohta T., Oiso S., Karivazono H., Shovama Y. (2017). Bioactive triterpenes from the root of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Phytotherapy Research*, 31(9), 1457-1460.
7. Luo W., Zhao M., Yang B., Shen G., Rao G. (2009). Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry*, 114(2), 499-504.
8. Vonja S., Hartati R., Insanu M (2022). *In vitro* alpha-glucosidase inhibitory activity and the isolation of luteolin from the flower of *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip ex Walp., *Molecules*, 27, 2132.