

6. Vũ Duy Anh Nguyễn Thành Luân, Lê Hồng Phước, Nguyễn Hoàng Bắc, Vũ Trí Thanh. Thời gian chờ đợi và sự hài lòng người bệnh khám chữa bệnh ngoại trú tại một Bệnh viện Trường Đại học tại Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2017. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2018. 22, 37.
7. Phan Huy Tuấn Kiệt Nguyễn Thị Hồng Hoa. Sự hài lòng của người bệnh điều trị ngoại trú tại Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Bưu điện cơ sở 1 năm 2020 và một số yếu tố liên quan. *Tạp Chí Y học Việt Nam*. 2022. 512.
8. Laxmi T. W., Sidhartha S. Patient Satisfaction Scale for Hospitalized COVID-19 Patients: Development and Psychometric Properties. *Journal of Patient Experience*. 2022. 9.
9. Trần Quốc Thành. Chất lượng dịch vụ khám chữa bệnh ngoại trú tại bệnh viện Hoàn Mỹ Bình Dương 2021 và một số yếu tố ảnh hưởng. 2021.
10. Lê Thị Hạnh Trang. Chất lượng dịch vụ và một số yếu tố ảnh hưởng tại khoa Khám sản, Bệnh viện Quốc tế Hạnh Phúc tỉnh Bình Dương năm 2022. 2022.
11. Lê Ngọc Cửa, Nguyễn Văn Thắm. Chất lượng dịch vụ chăm sóc da tại Khoa khám, Bệnh viện Da liễu Cần Thơ và một số yếu tố ảnh hưởng trong năm 2018. 2018.
12. Liu L., Fang J. Study On Potential Factors of Patient Satisfaction: Based on Exploratory Factor Analysis. *Patient Prefer Adherence*. 2019. 13, 1983-1994.
13. Lê Tân Phùng. Báo cáo điều tra sự hài lòng của bệnh nhân tại 12 bệnh viện công lập tỉnh Khánh Hòa năm 2015. *Sở Y tế tỉnh Khánh Hòa*. 2015.

PHÂN LẬP HỢP CHẤT HƯỚNG TÁC DỤNG CHỐNG OXY HÓA CỦA SÂM CAU (*CURCULIGO ORCHIOIDES* GAERTN.) THU HÁI Ở YÊN BÁI

Nguyễn Trọng Hiếu^{1*}, Phạm Đông Phương²

1. Trường Cao đẳng Y tế Đồng Nai

2. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: tronghieu010383@gmail.com

Ngày nhận bài: 19/07/2023

Ngày phản biện: 16/8/2023

Ngày duyệt đăng: 15/9/2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, Sâm cau chủ yếu được thu hái ở Yên Bái và sử dụng cả nước nhưng chưa được nghiên cứu đầy đủ về thành phần cũng như tác dụng sinh học. Ở nước ngoài, đã có một vài công trình nghiên cứu về thành phần hóa học hay tác dụng dược lý của loài này. **Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu thành phần hóa học hướng tác dụng chống oxy hóa của thân rễ Sâm cau. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thân rễ Sâm cau thu hái tại Yên Bái vào tháng 5/2018 và được TS. Võ Văn Chi xác định loài. Chiết xuất bằng cồn 96%, tách phân đoạn và sàng lọc tác dụng chống oxy hóa của cao toàn phần, cao phân đoạn và chất phân lập bằng phương pháp DPPH. Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột nhanh, sắc ký cổ điển và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ học. **Kết quả:** Qua sàng lọc, cao phân đoạn ethyl acetat (từ cao cồn 96%) có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất, đã phân lập và xác định cấu trúc 4 hợp chất: orcinol, curculigosid, curculigosid

B và orcinol glucosid. Theo phương pháp DPPH, 4 chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa yếu. Kết luận: Từ cao ethyl acetat của dịch chiết cồn 96% đã phân lập và xác định được cấu trúc 4 chất tinh khiết. Orcinol lần đầu tiên được phân lập từ Sâm cau ở Việt Nam. Tất cả 4 chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa yếu theo phương pháp DPPH.

Từ khóa: *Curculigo orchioides, orcinol, curculigosid, curculigosid B, orcinol glucosid.*

ABSTRACT

BIOASSAY - GUIDED ISOLATION OF ANTIOXIDANT CONSTITUENTS OF *CURCULIGO ORCHIOIDES* GAERTN. COLLECTED IN YEN BAI PROVINCE

Nguyen Trong Hieu^{1}, Pham Dong Phuong²*

1. Dong Nai Medical College

2. University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

Background: *Curculigo orchioides* was used in folk medicine as a tonic to kidney... However, chemical composition and bioactivities of this species collected in Yen Bai were not studied. **Objectives:** Isolation of compounds of antioxidant fraction of *Curculigo orchioides*. **Materials and methods:** Rhizomes of *Curculigo orchioides* collected in Yen Bai province in May 2018 and identified by Dr. Vo Van Chi. In vitro screening of extracts, fractions and isolated compounds for the antioxidant activities by the DPPH method. Pure compounds were isolated by column chromatography. Their structures were elucidated by spectrometric methods (UV, MS, NMR). **Results:** The ethyl acetate extract shows the most potent antioxidant activity on the DPPH method and from this fraction, 4 pure substances were isolated and elucidated as orcinol, curculigoside, curculigoside B and orcinol glucoside. These compounds exhibit weak antioxidant activities. **Conclusions:** From the ethyl acetate of the 96% alcohol extract, isolated and identified the structure of 4 pure substances. It's the first time, orcinol was reported in Vietnam. These compounds exhibited weak antioxidant activities by the DPPH method.

Keywords: *Curculigo orchioides, orcinol, curculigoside, curculigoside B, orcinol glucoside.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm cau là vị thuốc sử dụng trong nền y học cổ truyền Ấn độ có tác dụng giảm đau, kháng viêm, cải thiện tình trạng tinh trùng yếu, tăng khả năng tình dục, tăng khả năng miễn dịch, chống oxy hóa, chống loãng xương, bảo vệ gan [1], [2]. Ở Việt Nam, Sâm cau phối hợp với các vị thuốc khác chữa rối loạn thần kinh chức năng, phong thấp, liệt dương, cao huyết áp [3]. Thành phần của thân rễ Sâm cau gồm: polysaccharid, hợp chất phenol, lignan, saponin, flavonoid và sesquiterpen [1]. Tuy nhiên, hiện nay chỉ có một vài công trình nghiên cứu trong nước về hóa học của Sâm cau thu hái ở Kon Tum và Quảng Ngãi [4], [5]. Do khai thác quá mức nên nguồn Sâm cau ở Tây Nguyên hầu như cạn kiệt nên trên thị trường hiện nay, Sâm cau chủ yếu được thu hái ở Yên Bái nhưng chưa có công trình nghiên cứu nào của cây này được báo cáo. Vì vậy, việc nghiên cứu thành phần hóa học hướng tác dụng sinh học của Sâm cau là rất cần thiết. Nghiên cứu “Phân lập hợp chất hướng tác dụng chống oxy hóa của Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) thu hái ở Yên Bái” được thực hiện với mục tiêu: Nghiên cứu thành phần hóa học hướng tác dụng chống oxy hóa của thân rễ Sâm cau.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân rễ Sâm cau được thu hái tại thôn Phiêng, xã Sơn Thịnh, huyện Văn Chấn, tỉnh Yên Bái vào tháng 8 năm 2018. Mẫu cây và thân rễ đã được trồng đến khi ra hoa và đã được TS. Võ Văn Chi định danh loài là *Curculigo orchioides* Gaertn. Thân rễ Sâm cau được rửa sạch, để ráo và phơi khô, xay cỡ bột thô để chiết xuất và phân lập.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Chiết xuất, phân lập:** Bột thân rễ Sâm cau được chiết ngâm kiệt với cồn 96%, cô và thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao lỏng và chiết phân bố lỏng – lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexan, cloroform, ethyl acetat và phần dịch nước còn lại), thu hồi dung môi, thu được các cao phân đoạn (PĐ) tương ứng. Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột nhanh (VLC), sắc ký cột (SKC) cố định... và tinh chế để thu được chất tinh khiết bằng cách kết tinh trong dung môi. Kiểm tra độ tinh khiết của chất phân lập bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

- **Xác định cấu trúc chất phân lập:** Cấu trúc chất phân lập được xác định bằng các phương pháp phổ (UV, MS, NMR một chiều và hai chiều) đồng thời so sánh với dữ liệu phổ các hợp chất tương ứng trong tài liệu tham khảo để khẳng định cấu trúc.

- **Sàng lọc tác dụng chống oxy hóa *in vitro* theo phương pháp DPPH [6]:** Dùng 2mL DPPH (nồng độ 0,2mM trong methanol) cho vào 2mL dung dịch mẫu thử có nồng độ khác nhau trong methanol. Hỗn hợp được lắc đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Đo OD sau 30 phút ở bước sóng 517nm. Mẫu chứng được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không sử dụng cao hoặc chất tinh khiết. Tiến hành 3 lần, lấy giá trị trung bình. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO): $HTCO (\%) = [(OD_{chứng} - OD_{thử}) / OD_{chứng}] \times 100$, trong đó: $OD_{chứng}$: độ hấp thụ của mẫu chứng, $OD_{thử}$: độ hấp thụ của mẫu thử. Thông qua phương trình hồi quy lập được, xác định EC_{50} (nồng độ có HTCO bằng 50%) của mẫu thử.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

- **Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao toàn phần và các phân đoạn bằng phương pháp DPPH:**

Kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa giảm dần theo thứ tự: cao ethyl acetat (23,58) > cao cloroform (26,99) > cao toàn phần (200,47) > cao nước (292,32) > cao *n*-hexan (500,21). Ghi chú: Phần trong ngoặc là giá trị EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$).

- **Phân lập chất tinh khiết từ cao ethyl acetat:**

Từ 10kg nguyên liệu, thu được 1,45kg cao lỏng và chiết phân bố lỏng-lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần thu được: cao *n*-hexan (55g), cao cloroform (42g), cao ethyl acetat (46g) và cao nước còn lại (1,1kg).

Tiến hành sắc ký cột nhanh cao EtOAc (30g) với hệ dung môi nền là dicloromethan-acid formic (10:0,1), tăng dần tỷ lệ EtOAc từ 0-100%, thu được 8 PĐ. PĐ EA3 (1,5g) sắc ký cột pha thuận với hệ dung môi cloroform-acid acetic (9:1) thu được 3 PĐ. PĐ EA3-2 tinh chế bằng sắc ký cột cố định với hệ dung môi *n*-hexan-EtOAc (8,5:1,5) thu được COE2 (33mg). PĐ EA4 (3,5g) sắc ký cột pha thuận với hệ dung môi dicloromethan-EtOAc, với tỷ lệ EtOAc tăng dần thu được 4 PĐ. PĐ EA4-3 tinh chế bằng kỹ thuật kết tinh lại trong MeOH thu được COE6 (93mg). PĐ EA5 (3,2g) sắc ký cột pha thuận với hệ dung môi dicloromethan-EtOAc, tỷ lệ EtOAc tăng dần thu được 5 PĐ. PĐ EA5-4 tinh chế bằng kỹ thuật kết tinh lại

trong MeOH thu được COE7 (22mg). PĐ EA6 (6,0g) sắc ký cột pha thuận với hệ dung môi dicloromethan-EtOAc, tỷ lệ EtOAc tăng dần thu được 4 PĐ. PĐ EA6-3 tinh chế bằng kỹ thuật kết tinh lại trong MeOH thu được COE8 (121mg). Kiểm tra độ tinh khiết của chất phân lập trên SKLM và HPLC.

- Xác định cấu trúc chất phân lập:

COE2: Dạng dầu màu nâu, tan trong ethyl acetat, tan tốt trong methanol, tắt quang dưới UV 254nm, không phát quang dưới UV 365nm, đỉnh hấp thu cực đại ở 248 và 276nm. Phổ (+) APCI-MS (m/z) = 125,06 $[M+H]^+$, tương ứng với $M = 124$. Phổ NMR của COE2 trình bày trong Bảng 1 và được so sánh với phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR của orcinol [7].

Bảng 1. Phổ NMR của COE2 và orcinol

C	COE2 (DMSO-d ₆ , 500 MHz)			Orcinol [7] (DMSO-d ₆ , 500 MHz)	
	^{13}C (δ_C ppm)	1H (δ_H ppm) (J, Hz)	HMBC	^{13}C (δ_C ppm)	1H (δ_H ppm) (J, Hz)
1	158,2	-		158,1	-
2	99,7	6,00 (1H; d; 2,0)	1, 2, 3, 4	99,7	5,99 (1H; d; 2,0)
3	158,2	-		158,1	-
4	107,1	6,02 (1H; d; 2,0)	2, 5, 6	106,9	6,01 (1H; d; 2,0)
5	139,1	-		138,9	-
6	107,1	6,01 (1H; d; 2,0)	1, 4, 6	106,9	6,01 (1H; d; 2,0)
-CH ₃	21,2	2,1 (3H, s)	4, 5, 6	21,1	2,43 (3H, s)
-OH		8,99 (1H, s)	1, 2, 6		8,97 (1H, s)
-OH		8,99 (1H, s)	2, 3, 4		8,97 (1H, s)

Nhận xét: Dữ liệu phổ NMR của COE2 phù hợp với phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR của orcinol [7]. Do đó, có thể khẳng định chắc chắn COE2 là orcinol. Cấu trúc và tương tác HMBC, COSY được trình bày trong Hình 1a.

COE6: Kết tinh hình kim không màu, ít tan trong cloroform, tan trong EtOAc, tan tốt trong methanol. Phổ UV: tắt quang dưới UV 254 nm, không phát quang dưới UV 365 nm, đỉnh hấp thu cực đại tại 204, 248 và 276 nm. Phổ (-) ESI-MS (m/z) = 451,12 $[M-H]^-$, tương ứng với phân tử khối 452 đvC. Phổ NMR của COE6 trình bày trong Bảng 2 và được so sánh với phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR của curculigosid B [8].

Bảng 2. Phổ NMR của COE6 và curculigosid B

C	DEPT	COE6 (DMSO-d ₆ , 500 MHz)				Curculigosid B [8] (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	
		(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
1	=C<	126,8	-			127,4	-
2	=C<	147,4	-			148,0	-
3	>CH-	117,2	6,99 (1H; d; 9,0)	1, 2, 5	4	117,8	6,98 (1H; d; 8,8)
4	>CH-	114,7	6,64 (1H; dd; 3,0; 9,0)	2, 5, 6	3	115,2	6,64 (1H; dd; 2,8; 8,8)
5	=C<	152,3	-			152,7	-
6	>CH-	114,4	6,85 (1H; d; 3,0)	2, 4, 5		114,9	6,85 (1H; d; 2,8)
7	>CH ₂	61,2	5,33 (1H; d; 18,5) 5,29 (1H; d; 18,0)	1, 2, 6, 7'		61,3	5,31 (2H, s)

C	DEPT	COE6 (DMSO-d ₆ , 500 MHz)				Curculigosid B [8] (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	
		(δ_c ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_c ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
1'	=C<	110,9	-			102,7	-
2'	=C<	155,6	-			156,1	-
3'	>CH-	102,1	6,53 (1H; d; 8,0)	1', 2', 3', 5', 7'	4'	111,4	6,53 (1H; d; 8,3)
4'	>CH-	131,1	7,20 (1H; t; 8,3)	2', 5', 6'	3', 5'	131,7	7,2 (1H; t; 8,3)
5'	>CH-	108,5	6,51 (1H; d; 8,0)	1', 3', 5', 6', 7'	4'	109,0	6,51 (1H; d; 8,3)
6'	=C<	157,3	-			157,9	-
7'	=C<	166,1	-			166,6	-
1''	>CH-	102,5	4,63 (1H; d; 7,5)	2	2''	103,1	4,62 (1H; d; 6,8)
2''	>CH-	73,3	3,24 (1H; dd; 2,0; 4,0)	1''	1''	73,8	3,23 (3H; m)
3''	>CH-	76,5	3,24 (1H; dd; 2,0; 4,0)	1''		77,4	
5''	>CH-	77,0	3,22 (1H; d; 2,5)	1''		76,9	
4''	>CH-	69,8	3,16 (1H; dd; 4,5; 8,5)	3'', 5''		70,3	3,16 (1H; m)
6''	>CH ₂	60,8	3,48 (1H; dd; 6,0; 12,0) 3,70 (1H; dd; 0,5; 1,0)	5''		61,7	3,46 (1H; dd; 5,5; 11,4) 3,70 (1H, overlap)
	-OMe	55,7	3,76 (3H, s)	2'		56,2	3,75 (3H, s)
	-OH		9,04				9,05
	-OH		9,99				10,01

Nhận xét: Dữ liệu phổ NMR của COE6 phù hợp với phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR của curculigosid B [8]. Do đó, có thể khẳng định chắc chắn COE6 là curculigosid B. Cấu trúc và tương tác HMBC, COSY được trình bày trong Hình 1b.

COE7: Bột vô định hình màu nâu, tan ít trong chloroform, tan trong ethyl acetat, tan tốt trong methanol. Phổ UV: tắt quang dưới UV 254nm, không phát quang dưới UV 365nm, cho hấp thu cực đại tại 261 và 284nm. Phổ (+) ESI-MS (m/z)=489,13 [M+Na]⁺, tương ứng với phân tử khối 466 đvC. Phổ NMR của COE7 trình bày trong Bảng 3 và được so sánh với phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR của curculigosid [8].

Bảng 3. Phổ NMR của COE7 và curculigosid

C	DEPT	COE7 (DMSO-d ₆ , 500 MHz)				Curculigosid [8] (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	
		(δ_c ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_c ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
1	=C<	126,7	-			127,7	-
2	=C<	147,4	-			147,9	-
3	>CH-	117,2	6,99 (1H; d; 8,5)	1, 2, 5	4	117,7	6,98 (1H; d; 8,8)
4	>CH-	114,8	6,66 (1H; dd; 3,0; 8,8)	2, 6	3	115,2	6,64 (1H; dd; 3,0; 8,8)

C	DEPT	COE7 (DMSO-d ₆ , 500 MHz)				Curculigosid [8] (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	
		(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
5	=C<	152,4	-			152,8	-
6	>CH-	114,3	6,83 (1H; d; 3,0)	2, 6		114,9	6,82 (1H; d; 3,0)
7	>CH ₂	61,3	5,32 (2H, s)	1, 2, 6, 7'		61,8	5,32 (2H, s)
1'	=C<	112,6	-			104,8	-
2'	=C<	156,6	-			157,1	-
3'	>CH-	104,2	6,74 (1H; d; 8,5)	1', 2', 3', 7'	4'	113,2	6,73 (1H; d; 8,5)
4'	>CH-	131,3	7,38 (1H; t; 8,5)	2', 6'	3', 5'	131,7	7,38 (1H; t; 8,5)
5'	>CH-	104,2	6,74 (1H; d; 8,5)	1', 5', 6', 7'	4'	113,2	6,73 (1H; d; 8,5)
6'	=C<	156,6	-			157,1	-
7'	=C<	165,4	-			165,9	-
1''	>CH-	102,6	4,61 (1H; d; 7,0)	2	2''	103,1	4,61 (1H; d; 7,4)
2''	>CH-	73,4	3,23 (1H; d; 2,5)	1'', 2'', 3''	1''	73,8	3,23 (3H, m)
3''	>CH-	76,5	3,25 (1H; d; 5,5)	1'', 2'', 3''		77,5	
5''	>CH-	77,0	3,25 (1H; d; 5,5)	1'', 2'', 3''		77,0	
4''	>CH-	69,8	3,16 (1H; d; 9,0)	3''		70,3	3,16 (1H, m)
6''	>CH ₂	60,8	3,48 (1H; dd; 5,8; 11,8) 3,69 (1H; dd; 1,8; 11,8)	5''		61,4	3,46 (1H; dd; 5,5; 11,4) 3,70 (1H, overlap)
	O-Me	55,8	3,78 (3H, s)	2'		56,3	
	O-Me	55,8	3,78 (3H, s)	6'		56,3	
	-OH		8,09 (1H, s)				9,06 (1H, s)

Nhận xét: Dữ liệu phổ NMR của COE7 phù hợp với phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR của curculigosid [8]. Do đó, có thể khẳng định chắc chắn COE7 là curculigosid. Cấu trúc và tương tác HMBC, COSY được trình bày trong Hình 1c.

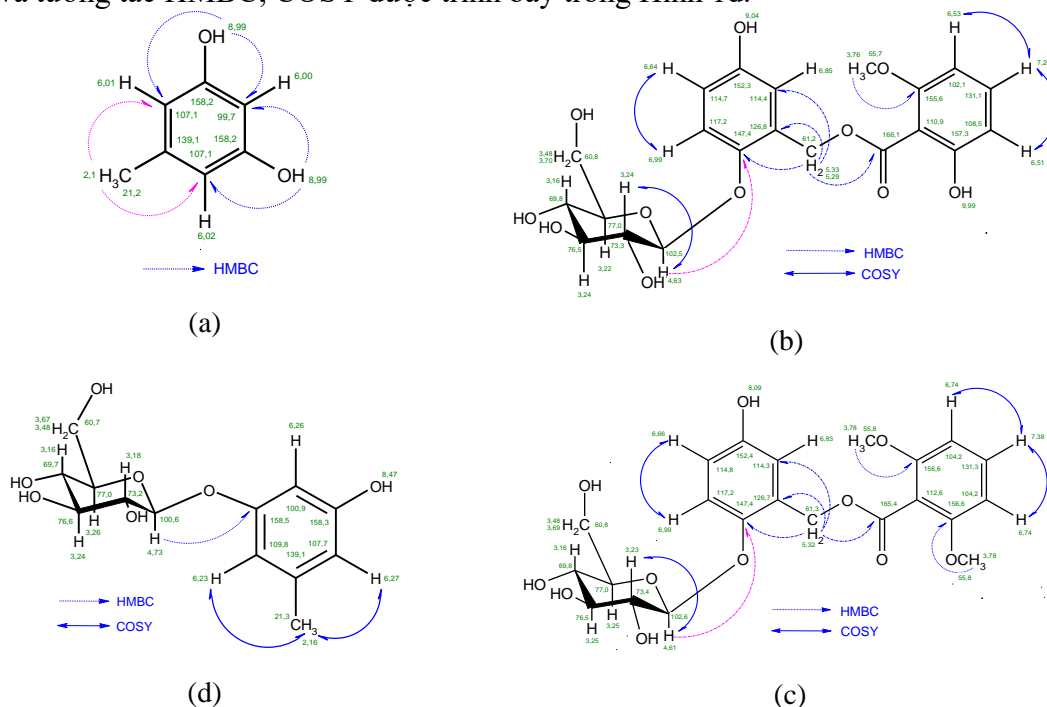
COE8: Bột vô định hình màu nâu, ít tan trong cloroform, tan trong ethyl acetat, tan tốt trong methanol, tắt quang dưới UV 254 nm, không phát quang dưới UV 365nm, cho hấp thụ cực đại tại 246 và 274nm. Phổ (+) ESI-MS (m/z) 309,09 [M+Na]⁺, tương ứng với phân tử khối 286 đvC. Phổ NMR của COE8 trình bày trong Bảng 4 và được so sánh với phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR của orcinol glucosid [9].

Bảng 4. Phổ NMR của COE8 và orcinol glucosid

C	DEPT	COE8 (DMSO-d ₆ , 125/500 MHz)				Orcinol glucosid [9] (CD ₃ OD, 100/400 MHz)	
		(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
1	=C<	158,5	-			158,7	-
2	>CH-	100,9	6,26 (1H, s)	1, 4, 6		100,8	6,31 (1H, s)
3	=C<	158,3	-			157,8	-

C	DEPT	COE8 (DMSO-d ₆ , 125/500 MHz)				Orcinol glucosid [9] (CD ₃ OD, 100/400 MHz)	
		(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm	HMBC	COSY	(δ_C ppm)	δ_H (số H, độ bội, J= Hz) ppm
4	>CH-	107,7	6,27 (1H, s)	2, 6, 7		108,4	6,27 (1H, s)
5	=C<	139,1	-			139,9	-
6	>CH-	109,8	6,23 (1H, s)	2, 4, 7		109,8	6,19 (1H, s)
1'	>CH-	100,6	4,73 (1H; d; 8,0)	1	2'	100,8	4,74 (1H; d; 7,6)
2'	>CH-	73,2	3,18 (1H; dd; 7,5; 16,0)	1', 3'	1'	73,5	3,20-3,36 (4H, m)
3'	>CH-	76,6	3,24 (1H; dd; 3,5; 7,0)	1', 2', 4'		76,7	3,20-3,36 (4H, m)
4'	>CH-	69,7	3,16 (1H; dd; 7,5; 17,0)	3', 6'		70,0	
5'	>CH-	77,0	3,26 (1H; dd; 8,8; 17,5)	1', 4'		76,6	
6'	>CH ₂	60,7	3,67 (1H; dd; 2,0; 12,0) 3,48 (1H; dd; 5,5; 11,5)	4' 5'		61,1	3,79 (1H; dd; 1,5; 12,0) 3,61 (1H; dd; 4,8; 12,0)
	-CH ₃	21,3	2,16 (3H, s)	4, 5, 6		20,3	2,11 (3H, s)
	OH		8,47 (1H, s)				10,09 (1H, s)

Nhận xét: Dữ liệu phổ NMR của COE8 phù hợp với phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR của orcinol glucosid [9]. Do đó, có thể khẳng định chắc chắn COE8 là orcinol glucosid. Cấu trúc và tương tác HMBC, COSY được trình bày trong Hình 1d.



Hình 1 Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY của các hợp chất phân lập
(a) COE2; (b) COE6; (c) COE7; (d) COE8

- **Thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa của chất phân lập:** Kết quả thử nghiệm DPPH trên 4 chất phân lập từ thân rễ Sâm cau với nồng độ 50mM cho thấy hoạt tính chống

oxy hóa giảm dần theo thứ tự orcinol > curculigosid B > curculigosid > orcinol glycosid với hoạt tính chống oxy hóa (%HTCO) lần lượt là: orcinol (21,98%); curculigosid B (8,44%); curculigosid (5,40%); và orcinol glycosid (0,18%).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu thành phần hóa học của Sâm cau đã được thực hiện trong nước nhưng chỉ tập trung vào việc phân lập hợp chất [4] hay thử tác dụng chống oxy hóa của các dịch chiết, cao chiết [5]. Ở nước ngoài, việc phân lập hợp chất được thực hiện nhưng không theo định hướng và sau đó mới thử tác dụng chống oxy hóa [10]. Trong bài báo này, cao toàn phần và các phân đoạn được sàng lọc để khẳng định phân đoạn ethyl acetat có tác dụng chống oxy hóa mạnh nhất và chỉ tập trung phân lập trong phân đoạn này và như vậy sẽ giảm chi phí cũng như giảm thời gian thực hiện. Kết quả nghiên cứu đã phân lập và xác định cấu trúc 4 hợp chất, trong đó là 2 chất được Hội đồng Dược điển VN đề nghị là chất chỉ điểm (marker) để định tính và định lượng Sâm cau. Với phương pháp phân lập đã được tiến hành sẽ là cơ sở để phân lập khối lượng lớn hơn để thiết lập chất chuẩn đối chiếu curculigosid và orcinol glucosid.

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của 4 chất phân lập bằng phương pháp DPPH cho thấy có tác dụng yếu hơn so với phương pháp FRAP [10] nên rất cần được đánh giá thêm bằng các phương pháp khác. Đồng thời, cũng cần phân lập các hợp chất còn lại trong phân đoạn EtOAc để có thể phát hiện các hợp chất có tác dụng chống oxy hóa tốt hơn.

Từ loài Sâm cau thu hái ở Yên Bái, hợp chất orcinol lần đầu tiên được phân lập và đánh giá khả năng chống oxy hóa. Kết quả nghiên cứu giúp bổ sung dữ liệu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của các loài Sâm cau ở Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

Qua sàng lọc, đã xác định phân đoạn ethyl acetat từ dịch chiết cồn của thân rễ Sâm cau có tác dụng chống oxy hóa *in vitro* mạnh nhất. Từ phân đoạn này, 4 hợp chất phân lập đã được xác định cấu trúc. Trong đó, curculigosid, curculigosid B và orcinol glucosid là những chất đã được phân lập từ Sâm cau, orcinol lần đầu được công bố trong loài ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nie Y., Dong X., He Y., Yuan T., Han T., et al. Medicinal plants of genus *Curculigo*: traditional uses and a phytochemical and ethnopharmacological review. *J Ethnopharmacol.* 2013. 147 (3), 547-563, DOI: 10.1016/j.jep.2013.03.066.
2. Bian Q., Yang H., Chan Chi-on, Jin D., Mok D. K.-W., Chen S. Fingerprint Analysis and Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Extracts of *Curculiginis Rhizoma* by HPLC-Diode Array Detector. *Chem. Pharm.* 2013. 61 (8), 802-808, DOI: 10.1248/cpb.c12-01058.
3. Đỗ Huy Bích. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật. 2006. 693-696, tập 2.
4. Nguyễn Bích Ngọc, Phương Thiện Thương, Vũ Văn Tuấn, Nguyễn Văn Khiêm, Vũ Duy Hồng. Ba hợp chất phenolic glycosid phân lập được từ thân rễ của cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) thu hái tại Tây Nguyên. *Tạp chí Dược học.* 2015. 471, 54-57.

5. Le Trung Hieu, Le Lam Son, Nguyen Thi Nguyet, Nguyen Minh Nhung, Ho Xuan Anh Vu et al. *In vitro* antioxidant activity and content of compounds from *curculigo orchioides* rhizomes. *Hue University Journal of Science: Natural Science*. 2020. 129 (1B), 71-77, DOI: 10.26459/hueuni-jns.v129i1B.5749.
6. Bondet V, Brand-Williams W, Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Food Science and Technology*. 1997. 30 (6), 609-615, DOI: 10.1006/fstl.1997.0240.
7. Oliveira C. M., Silva G. H., Regasini L. O., Zanardi L. M., Evangelista A. H., et al. Bioactive Metabolites Produced by *Penicillium* sp.1 and sp.2 Two Endophytes Associated with *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae). *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen*. 2009. 64(c), 824-830, DOI: 10.1515/znc-2009-11-1212.
8. Fu D. X., Lei G. Q., Cheng X. W., Chen J. K., Zhou T. S. Curculigoside C, a New Phenolic Glucoside from Rhizomes of *Curculigo orchioides*. *J Integr Plant Biol*. 2004. 46(5), 621-624.
9. Di L., Wang K. J., Zhu C. C., Li N. Chemical Constituents from Rhizomes of *Curculigo capitulata*. *Bull. Korean Chem. Soc*. 2010. 31 (10), 2999-3002, doi: 10.5012/bkcs.2010.31.10.2999.
10. Wu Q., Fu D. X., Hou A. J., Lei G. Q., Liu Z. J., et al. Anti oxidative Phenols and Phenolic Glycosides from *Curculigo orchioides*. *Chem. Pharm*. 2005. 52 (8), 1065-1067, doi: 10.1248/cpb.53.1065.