

## PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *TARAXACUM OFFICINALE* F. H. WIGG. ASTERACEAE

Nguyen Viet Dung<sup>1\*</sup>, Pham Thi Phuong<sup>1</sup>, Thai Quoc Hung<sup>1</sup>, Huynh Loi<sup>2</sup>, Huynh Ngoc Thuy<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Buon Ma Thuot Medical University, <sup>2</sup>Pharmaceutical Education and Research Institute - Binh Duong University

<sup>3</sup>University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

| ARTICLE INFO                | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Received: 29/10/2023        | Dandelion is employed as a vegetable and in functional food products such as teas, extracts, and capsules. In Vietnam, this plant's chemical composition and biological effects have no report. This study aims to isolate and elucidate the compounds and evaluate the antioxidant activity using the DPPH assay. The whole plant of dandelion was macerated with 70% EtOH and subsequent fractionation. Screening for antioxidant activity was evaluated through the DPPH assay. Four compounds were isolated from the ethyl acetate extract and their antioxidant activity was determined using the DPPH assay: luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid ( $IC_{50}$ = 13,63 $\mu$ g/mL), acid caffeic ( $IC_{50}$ = 3,73 $\mu$ g/mL), quercetin ( $IC_{50}$ = 3,50 $\mu$ g/mL), acid gallic ( $IC_{50}$ = 1,44 $\mu$ g/mL). Among them, gallic acid was isolated for the first time from <i>Taraxacum officinale</i> . Additionally, caffeic acid, quercetin, and gallic acid were first isolated from this species cultivated in Vietnam. This research on the topic contributes to the addition of the database, enhances practical utility, and provides direction for further studies on this species in Vietnam. |
| Revised: 29/11/2023         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Published: 05/01/2024       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| KEYWORDS                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <i>Taraxacum officinale</i> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Dandelion                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Chemical constituents       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| DPPH                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Antioxidant activity        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

## NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CÂY BÒ CÔNG ANH LÙN (*TARAXACUM OFFICINALE* F. H. WIGG. ASTERACEAE)

Nguyễn Việt Dũng<sup>1\*</sup>, Phạm Thị Phương<sup>1</sup>, Thái Quốc Hưng<sup>1</sup>, Huỳnh Lôi<sup>2</sup>, Huỳnh Ngọc Thụy<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột, <sup>2</sup>Viện Đào tạo và Nghiên cứu Dược học - ĐHBinh Dương

<sup>3</sup>Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

| THÔNG TIN BÀI BÁO           | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ngày nhận bài: 29/10/2023   | Bồ công anh lùn hiện nay được sử dụng như các loại rau hoặc sản xuất các loại thực phẩm chức năng dưới dạng trà, cao chiết, viên nang. Ở Việt Nam hiện có rất ít công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài này. Mục tiêu nghiên cứu là phân lập một số hợp chất theo hướng tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH. Toàn cây Bồ công anh lùn được chiết ngấm kiệt với cồn 70% và tách phân đoạn. Tiến hành sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa các cao phân đoạn bằng phương pháp DPPH. Từ cao ethyl acetat đã phân lập, xác định cấu trúc 4 hợp chất và thử hoạt tính chống oxy hóa trên mô hình DPPH: luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid ( $IC_{50}$ = 13,63 $\mu$ g/mL), acid caffeic ( $IC_{50}$ = 3,73 $\mu$ g/mL), quercetin ( $IC_{50}$ = 3,50 $\mu$ g/mL), acid gallic ( $IC_{50}$ = 1,44 $\mu$ g/mL). Trong đó, acid gallic lần đầu tiên được phân lập từ loài <i>Taraxacum officinale</i> ; acid caffeic, quercetin, acid gallic lần đầu tiên được công bố về thành phần hóa học của loài này trồng ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu trên đã bổ sung thêm thông tin, góp phần nâng cao giá trị sử dụng và định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo trên loài này ở Việt Nam. |
| Ngày hoàn thiện: 29/11/2023 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Ngày đăng: 05/01/2024       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| TỪ KHÓA                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Taraxacum officinale</i> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Bồ công anh lùn             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Thành phần hóa học          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| DPPH                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Hoạt tính chống oxy hóa     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9089>

\* Corresponding author. Email: [nvdung@bmtuvietnam.com](mailto:nvdung@bmtuvietnam.com)

## 1. Giới thiệu

Những năm gần đây, xu hướng phát triển các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đang được quan tâm và đẩy mạnh phát triển vì những ưu điểm so với thuốc tân dược [1]. Theo thống kê của WHO, ước tính 80% người dân trên thế giới sử dụng thuốc từ thảo dược để chăm sóc sức khỏe bản thân và có khoảng 21.000 loài thực vật có tiềm năng để sử dụng làm cây thuốc. Tại Hoa Kỳ, ước tính thuốc từ dược liệu chiếm hơn 25% tổng lượng thuốc, trong khi ở các quốc gia đang phát triển như Ấn Độ và Trung Quốc tỷ lệ này lên đến 80% [2], [3]. Do đó, ngày nay với sự phát triển của khoa học kỹ thuật thì không chỉ riêng Việt Nam mà trên thế giới đã có rất nhiều những nghiên cứu về hóa học, sinh học và dược lý nhằm làm sáng tỏ những tác dụng, công dụng điều trị bệnh của các loại dược liệu.

Cây Bồ công anh lùn (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.) có nguồn gốc từ đại lục Á - Âu [4], ngày nay được trồng khắp Châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Đông Nam Á, Việt Nam (Đà Lạt và Sa Pa), Bắc Mỹ... Tại Châu Âu, Bồ công anh lùn được sử dụng như các loại rau ăn hằng ngày, có thể chế biến thành salad, món luộc, xào [5], [6]. Ngoài ra có rất nhiều dạng thực phẩm chức năng có nguồn gốc từ loài này như: trà, sirô, viên nang chứa cao chiết khô... được sử dụng với nhiều mục đích khác nhau, trong đó chủ yếu liên quan đến khả năng hỗ trợ kháng viêm, mát gan, hỗ trợ thải độc gan [4], [7]. Tại Trung Quốc, cây Bồ công anh lùn được người dân dùng với tác dụng giải độc, thanh nhiệt, lương huyết tán kết, cải thiện chức năng gan, dùng giải độc, tán sung, tiêu ung trong các bệnh sưng vú, mụn nhọt, tiểu tiện khó khăn, ít sữa [5], [8].

Hiện nay ở Việt Nam, cây Bồ công anh lùn được trồng nhiều ở các tỉnh miền núi phía Bắc và thành phố Đà Lạt (tỉnh Lâm Đồng). Nguyên liệu sau khi thu hái được sử dụng để sản xuất các loại thực phẩm chức năng với vai trò bổ sung chất chống oxy hóa, hỗ trợ giảm cholesterol, hỗ trợ điều hòa lượng đường trong máu, hỗ trợ giảm viêm, mát gan, giải độc dưới dạng trà, cao chiết, viên nang [8]. Ở Việt Nam, hiện có rất ít công trình nghiên cứu về thành phần hóa học [9] và chưa có công bố liên quan đến tác dụng sinh học của cây này. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu chiết xuất, phân lập hướng tác dụng chống oxy hóa và xác định cấu trúc của một số hợp chất từ cây Bồ công anh lùn thu hái tại thành phố Đà Lạt.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu là toàn cây Bồ công anh lùn (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.) được thu hái tại thành phố Đà Lạt (tỉnh Lâm Đồng) vào tháng 02/2023. Mẫu được định danh bằng phương pháp so sánh và đối chiếu đặc điểm hình thái với khóa phân loại chi và loài trong Thực vật chí Việt Nam [5]. Mẫu được sấy khô, bảo quản trong bao bì kín và lưu tại Bộ môn Dược liệu - Dược cổ truyền – Thực vật, Khoa Dược, trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phân tích định tính thành phần hóa thực vật

Dược liệu được sấy khô và xay thành bột thô khối lượng khoảng 20 g, sau đó bột dược liệu được chiết với lần lượt các dung môi có độ phân cực tăng dần (ether ethylic, cồn 95% và nước) thu được dịch chiết. Xác định các nhóm hợp chất dựa vào các phản ứng đặc trưng theo phương pháp Ciulei cải tiến [10].

#### 2.2.2. Chiết xuất và phân lập

Bột dược liệu sau khi được xay nhỏ đến kích thước thích hợp được chiết ngâm kiệt với cồn 70%. Thu hồi dung môi đến cao đặc và hòa loãng lại với nước cất, sau đó được tiến hành lắc phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-hexan, dichloromethan, ethyl acetat. Xác định hoạt tính chống oxy hóa của các cao phân đoạn với thuốc thử (TT) DPPH. Chọn phân đoạn có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất để tiến hành phân lập các hợp chất tinh khiết. Sử dụng các

kỹ thuật sắc ký cột: sephadex LH-20, cột cổ điển để tách thành các phân đoạn đơn giản hơn. Thăm dò dung môi để tinh khiết hóa các hợp chất. Kiểm tra độ tinh khiết trên sắc ký lớp mỏng (SKLM) và phổ  $^1\text{H-NMR}$ .

### 2.2.3. Xác định cấu trúc các chất

Phổ NMR ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ), biện giải kết quả và so sánh với tài liệu tham khảo. Thực hiện trên máy AVANCE 600 (Bruker) tại phòng NMR, Viện hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.2.4. Sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa trên mô hình DPPH

**Trên SKLM:** Các mẫu cao phân đoạn được hòa tan với MeOH đến nồng độ 2 mg/mL. Chấm đồng lượng dịch chiết trên bản mỏng. Khai triển SKLM với hệ dung môi thích hợp [ $\text{CHCl}_3$  – EtOAc - HCOOH (4:6:0,75)], để khô dung môi ở nhiệt độ phòng, nhúng thuốc thử DPPH 0,2 mM, để trong tối 5 phút và ghi nhận kết quả. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) đánh giá dựa trên mức độ màu vàng trên nền tím do chất chống oxy hóa làm mất màu tím của thuốc thử DPPH. Màu vàng càng rõ thì HTCO càng mạnh.

**Phương pháp đo quang:** Chuẩn bị mẫu đo: Mẫu trắng (4 mL MeOH), mẫu chứng (2 mL DPPH + 2 mL MeOH), mẫu thử (2 mL dung dịch thử + 2 mL DPPH). Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 phút để phản ứng xảy ra hoàn toàn. Các phản ứng phải được thực hiện ở chỗ tối. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Mỗi thử nghiệm tiến hành lặp lại 3 lần khác nhau. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa tính theo công thức:

$$\text{HTCO (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{chứng}} - \text{Abs}_{\text{thử}}) / \text{Abs}_{\text{chứng}}] \times 100$$

(Abs: độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm) [11].

#### Xác định $\text{IC}_{50}$

**Vitamin C:** Pha dung dịch đối chiếu vitamin C thành giai mẫu có nồng độ 0,39; 0,78; 1,56; 3,125 và 6,25  $\mu\text{g/mL}$  trong MeOH.

**Mẫu thử:** Pha một giai mẫu có ít nhất 5-7 nồng độ tùy vào bản chất của mẫu đo (400, 200, 100, 50, 10  $\mu\text{g/mL}$ ), trong đó phải bao hàm nồng độ cho HTCO 50%.

Các mẫu được chuẩn bị và tiến hành đo quang ở bước sóng 517 nm. Sau đó vẽ đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của HTCO (%) theo nồng độ chất khảo sát bằng phần mềm Excel. Từ đồ thị, nội suy ra giá trị nồng độ có HTCO 50% tức là  $\text{IC}_{50}$ , từ phương trình hồi quy tuyến tính có dạng  $y = ax + b$  thế  $y = 50$  vào để suy ra  $\text{IC}_{50}$ . Đánh giá kết quả và so sánh  $\text{IC}_{50}$  của các chất tinh khiết với  $\text{IC}_{50}$  của vitamin C.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Phân tích định tính thành phần hóa học của cây Bồ công anh

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học cho thấy, Bồ công anh lùn chứa các hợp chất như triterpenoid, flavonoid và một số hợp chất khác như saponin, tannin, chất béo, acid hữu cơ và chất khủ. Trong đó, triterpenoid và flavonoid là thành phần chính của loài. So sánh kết quả với nhóm nghiên cứu của Sasikala P. [12] và Fali H. Y. [13] cho kết quả khá tương đồng. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này không có sự hiện diện của alkaloid, còn trong nghiên cứu của Sasikala (năm 2019) (mẫu thu hái tại Ấn Độ) kết quả định tính có sự xuất hiện của nhóm alkaloid và không có saponin, terpenoid. Kết quả được trình bày chi tiết trong bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả phân tích định tính thành phần hóa học thực vật Bồ công anh lùn

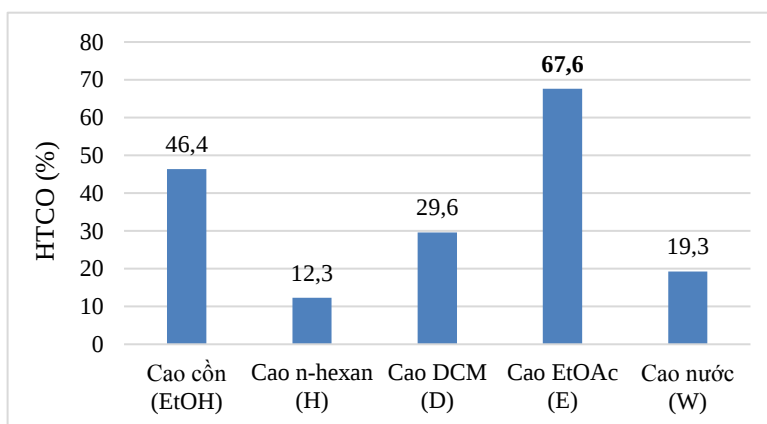
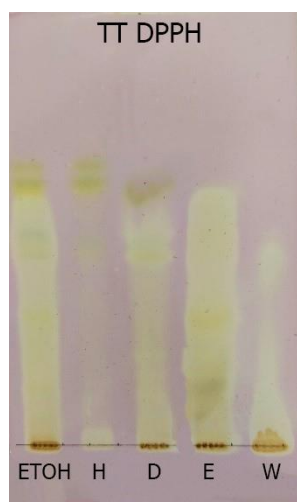
| Nhóm hợp chất     | Thuốc thử/ cách thực hiện                             | Kết quả |
|-------------------|-------------------------------------------------------|---------|
| <b>Chất béo</b>   | Vết trong mờ trên giấy                                | +       |
| <b>Tinh dầu</b>   | Mùi thơm của dịch chiết cô tới cạn                    | +       |
| <b>Carotenoid</b> | TT Carr - Price<br>$\text{H}_2\text{SO}_{4\text{dd}}$ | +       |

| Nhóm hợp chất | Thuốc thử/ cách thực hiện                  | Kết quả |
|---------------|--------------------------------------------|---------|
| Anthraquinon  | KOH 10%                                    | +       |
| Anthocyanosid | Hóa đỏ trong HCl                           | +       |
|               | Hóa xanh trong KOH                         |         |
| Glycosid tim  | TT vòng lacton                             | +       |
|               | TT đường xanthidrol                        |         |
| Tannin        | FeCl <sub>3</sub> , dung dịch gelatin muối | +       |
| Saponin       | TT Liebermann-Burchard, thử nghiệm tạo bọt | ++      |
|               |                                            |         |
| Triterpenoid  | TT Liebermann-Burchard                     | +++     |
| Flavonoid     | Mg/HCl <sub>dd</sub>                       | ++      |
| Acid hữu cơ   | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>            | ++      |
| Các chất khử  | TT Fehling                                 | ++      |

Chú thích: (+++) có nhiều; (++) có; (+) có ít.

### 3.2. Sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa các cao phân đoạn bằng phương pháp DPPH

#### 3.2.1. Trên SKLM



EtOH: cao cồn toàn phần, H: cao *n*-hexan, D: cao dicloromethan, E: cao ethyl acetat, W: cao nước

**Hình 1.** Sắc ký đồ với TT DPPH và biểu đồ thể hiện HTCO của các cao phân đoạn

Trên SKLM, sơ bộ nhận định các cao phân đoạn đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, trong đó cao ethyl acetat (cao E) thể hiện hoạt tính mạnh nhất.

#### 3.2.2. Phương pháp đo quang

Các cao phân đoạn được tiến hành xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp đo quang ở nồng độ mẫu đo là 50 µg/mL. Kết quả đo được trình bày trong bảng 2.

**Bảng 2.** Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của các cao phân đoạn

| Mẫu      | Cao cồn (EtOH) | Cao <i>n</i> -hexan (H) | Cao DCM (D) | Cao EtOAc (E) | Cao nước (W) |
|----------|----------------|-------------------------|-------------|---------------|--------------|
| HTCO (%) | 46,4           | 12,3                    | 29,6        | 67,6          | 19,3         |

Kết quả đánh giá HTCO bằng phương pháp đo quang tương tự đối với kết quả trên SKLM (Hình 1). Hoạt tính chống oxy hóa giảm dần theo thứ tự: cao EtOAc (67,6%) > cao cồn (46,4%) > cao dicloromethan (29,6%) > cao nước (19,3%) > cao *n*-hexan (12,3%). Kết quả trên khá tương tự với nghiên cứu của Kenny O. [14] đã công bố trước đó. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Kenny O. [14] hoạt tính chống oxy hóa của cao *n*-hexan và DCM thể hiện yếu trên cả 2 mô hình

DPPH và FRAP với giá trị lần lượt là:  $0,122 \pm 0,010$ ;  $4,743 \pm 0,423$  mg TE (tương đương trolox)/ 1 g cao chiết (mô hình DPPH) và  $0,040 \pm 0,001$ ;  $16,007 \pm 0,367$  mg TE (tương đương trolox)/ 1 g cao chiết (mô hình FRAP).

### 3.3. Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Từ 3,5 kg bột dược liệu thô xay mịn tới kích thước phù hợp, sau đó chiết ngấm kiệt với 40 L cồn 70%, cô thu hồi dung môi thu được 407,58 g cặn dạng cao đặc. Phân tán cặn với 1 L nước cất. Sau đó chiết phân bố lỏng - lỏng với dung môi có độ phân cực tăng dần và loại dung môi thu được các cao phân đoạn với khối lượng lần lượt là: cao *n*-hexan (63,37 g), cao dichloromethan (27,21 g), cao ethyl acetat (12,35 g) và cao nước (275,29 g). Cao ethyl acetat (12,35 g) được tiến hành sắc ký cột cổ điển thu được 9 phân đoạn (E1-E9). Từ phân đoạn E6 thu hồi dung môi đến cạn, hòa tan trở lại trong MeOH, để bay hơi tự nhiên, xuất hiện kết tinh. Lọc, rửa bằng MeOH, thu được hợp chất **1** kết tinh màu vàng. Phân đoạn E4 tiến hành sắc ký cột sephadex LH-20 thu được 2 phân đoạn (S1-S2). Từ S2 thu hồi dung môi đến cạn xuất hiện tủa trắng ngà. Hòa tan tủa trong EtOAc, để bay hơi tự nhiên, xuất hiện kết tinh. Lọc, rửa bằng EtOAc, thu được hợp chất **2** kết tinh màu trắng ngà. Từ phân đoạn E3 thu hồi dung môi dưới áp suất giảm xuất hiện tủa, lọc qua phễu thủy tinh xốp và rửa nhiều lần với cloroform thu được hợp chất **3** có màu vàng. Phân đoạn E5 thu hồi dung môi đến cạn, sau đó hòa tan với một lượng tối thiểu ethyl acetat, lọc qua bông thu dịch lọc, cho từ từ *n*-hexan vào xuất hiện tủa bông trắng; lọc qua phễu thủy tinh xốp, thu được hợp chất **4**.

### 3.4. Xác định cấu trúc

**Hợp chất 1:** Bột vô định hình màu vàng, kém tan trong methanol, không tan trong *n*-hexan, dichloromethan; tắt quang dưới UV 254 nm, phát quang màu tím nhạt dưới UV 365 nm, hiện màu vàng với thuốc thử  $H_2SO_4$ .

**Phổ  $^{13}C$ -NMR:** Có 21 tín hiệu cộng hưởng, trong đó có 5 tín hiệu cộng hưởng của phần đường ở vùng 60-70 ppm và 1 tín hiệu C-1 anomer tại vị trí  $\delta_C \sim 100$  ppm. Tín hiệu downfield nhất tại vị trí 181,9 ppm. Trong 15 C của vòng thơm có 2 C có vị trí độ dời ở 94,8 và 99,6 ppm lần lượt là C-8, C-6 trên khung. 7 C downfield ( $\delta > 130$  ppm) có gần với oxy, 6 C ( $\delta > 99$  ppm) là  $Csp^2$  trong vòng thơm. Dự đoán hợp chất **1** là 1 flavon glycosid với phần đường 6C.

**Phổ  $^1H$ -NMR:** Có 1 tín hiệu singlet, đỉnh nhọn với  $\delta_H$  12,98 ppm, đây là tín hiệu cộng hưởng của proton -OH phenol tại C-5; 3 tín hiệu proton thuộc hệ tương tác ABX  $\delta_H$  7,43 (1H, *d*,  $J = 1,8$  Hz), 7,45 (1H, *dd*,  $J = 8,4; 1,8$  Hz), 6,91 (1H, *d*,  $J = 8,4$  Hz). Ngoài ra còn 1 cặp proton tương tác ở vị trí meta trên vòng thơm tại  $\delta_H$  6,45 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz); 6,79 (1H, *d*,  $J = 1,8$  Hz) và 1 tín hiệu proton đỉnh singlet nhọn tại  $\delta_H$  6,75 ppm. Do đó, dự đoán cấu trúc hợp chất **1** có 2 proton tương tác meta, 1 proton tại vị trí C-3 trên vòng A và 3 proton tương tác ABX trên vòng B. Tín hiệu phần đường hợp chất **1** có 1 tín hiệu H-1 anomer cộng hưởng tại  $\delta_H$  5,08 ppm với  $J_{a-a'} = 7,8$  Hz, do đó dự đoán phần đường của hợp chất **1** là đường  $\beta$ -D-glucopyranose. Dựa vào các tính chất lý hóa, phổ  $^{13}C$ -NMR,  $^1H$ -NMR và tài liệu tham khảo [15], xác định hợp chất **1** là **luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid**. Dữ liệu phổ được trình bày trong bảng 3.

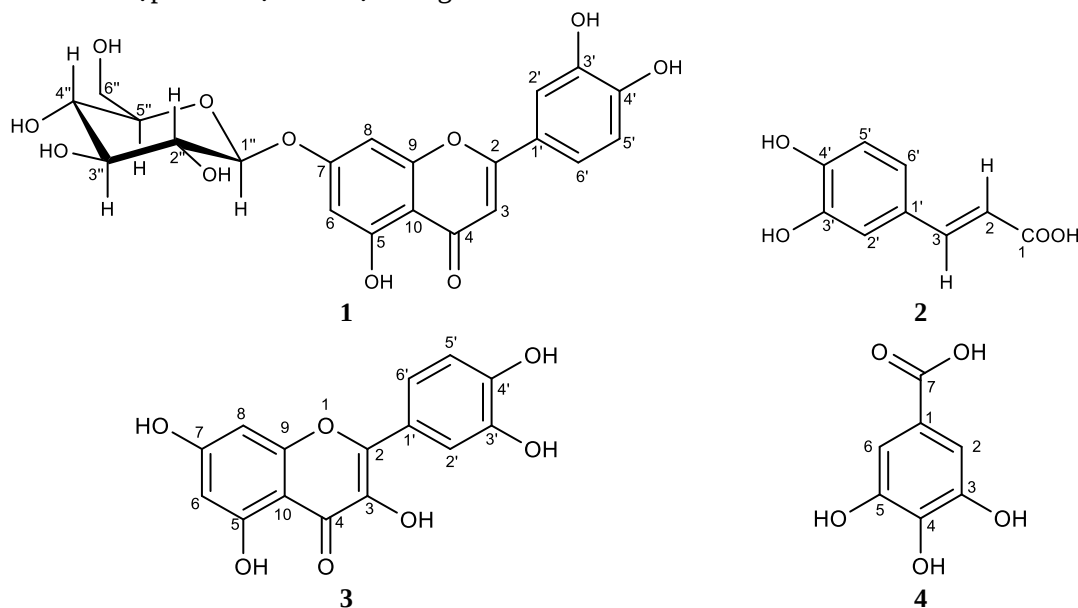
**Hợp chất 2:** Bột vô định hình màu trắng ngà, tan trong methanol, không tan trong *n*-hexan, dichloromethan; tắt quang dưới UV 254 nm, phát quang xanh dương dưới UV 365 nm, hiện màu xám với thuốc thử  $H_2SO_4$ .

**Phổ  $^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 125MHz):**  $\delta_{ppm}$  167,9 (COOH); 114,6 (C-2); 148,1 (C-3); 125,7 (C-1'); 115,1 (C-2'); 145,6 (C-3'); 144,6 (C-4'); 115,7 (C-5'); 121,2 (C-6'). **Phổ  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 600MHz):**  $\delta_{ppm}$  12,10 s (H-1, COOH); 6,16 *d* (15,6 Hz, H-2); 7,40 *d* (15,6 Hz, H-3); 7,01 *d* (1,8 Hz, H-2'); 6,74 *d* (7,8 Hz, H-5'); 6,94 *dd* (7,8 Hz; 1,8 Hz, H-6'); 9,50 s (4'-OH); 9,13 s (3'-OH).

**Phổ  $^{13}C$ -NMR:** Có 9 tín hiệu cộng hưởng, trong đó có 1 tín hiệu của nhóm -COOH tại vị trí  $\delta_C$  167,9 ppm, 5 tín hiệu  $Csp^2$  của vòng thơm và trong hệ liên hợp  $\Pi$ - $\sigma$ - $\Pi$ ; 1 tín hiệu C bậc IV và

2 tín hiệu C bậc IV gắn oxy. Dự đoán cấu trúc hợp chất 2 có cấu trúc vòng thơm 6 cạnh và nhóm chức carboxylic.

**Phổ  $^1\text{H-NMR}$ :** Có 1 tín hiệu singlet, đỉnh nhọn với  $\delta_{\text{H}}$  12,10 ppm, đây là tín hiệu proton của nhóm  $-\text{COOH}$ ; 2 tín hiệu singlet của 2 proton  $-\text{OH}$  phenol lần lượt tại  $\delta_{\text{H}}$  9,13 và 9,50 ppm; có 3 tín hiệu proton trong hệ tương tác ABX có độ dời lần lượt là  $\delta_{\text{H}}$  6,74; 6,94; 7,01 ppm. Ngoài ra còn có 2 proton olefin cộng hưởng tại vị trí  $\delta$  6,16 và 6,75 ppm với đỉnh đôi và hằng số ghép  $J = 15,6$  Hz. Do đó 2 proton này ở khác phía so với mặt phẳng  $\Pi$  (cấu hình trans, E). Dựa vào các tính chất lý hóa, phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-NMR}$  và tài liệu tham khảo [16], xác định hợp chất 2 là **acid caffeic**. Cấu trúc của các hợp chất được thể hiện trong hình 2.



Hình 2. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-4

**Hợp chất 3:** Bột vô định hình màu vàng, tan trong ethyl acetat, methanol, không tan trong *n*-hexan, cloroform; tắt quang dưới UV 254 nm, phát quang màu tím sẫm màu dưới UV 365 nm, hiện màu vàng với thuốc thử VS và xanh đen với thuốc thử  $\text{FeCl}_3$  1%.

**Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ :** Có 15 tín hiệu cộng hưởng, trong đó có 1 tín hiệu downfield nhất  $\delta_{\text{C}}$  176,3 ppm; có 5 tín hiệu  $\text{Csp}^2$  thuộc vòng thơm có  $\delta_{\text{C}}$  từ 94,4 đến 124,1 ppm; trong đó có 2 C có vị trí độ dời ở 94,4 và 99,2 ppm lần lượt là C-8, C-6 trên khung. 8 C bậc IV downfield ( $\delta > 130$  ppm) có gắn với oxy trên nhân thơm. Do đó, sơ bộ nhận định hợp chất 3 có khung flavonol.

**Phổ  $^1\text{H-NMR}$ :** Có 3 tín hiệu proton thuộc hệ tương tác ABX  $\delta_{\text{H}}$  7,75 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz), 7,65 (1H, *dd*,  $J = 8,4$ ; 2,4 Hz), 6,90 (1H, *d*,  $J = 8,4$  Hz) thuộc vòng B và có 2 nhóm thế; 2 proton còn lại có tương tác ở vị trí meta trên vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  6,20 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz) và 6,41 (1H, *d*,  $J = 2,4$  Hz) nên 2 proton này ở vòng A. Dựa vào các tính chất lý hóa, phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-NMR}$  và tài liệu tham khảo [17], xác định hợp chất 3 là **quercetin**. Dữ liệu phổ được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 1 và 3

| C | $\text{CH}_n$ | Hợp chất 1 (DMSO- $d_6$ , 125/600 MHz) |                                                  | Hợp chất 3 (MeOD, 125/600 MHz) |                                                  |
|---|---------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------|
|   |               | $\delta_{\text{C}}$ ppm                | $\delta_{\text{H}}$ ppm, mult., ( <i>J</i> , Hz) | $\delta_{\text{C}}$ ppm        | $\delta_{\text{H}}$ ppm, mult., ( <i>J</i> , Hz) |
| 2 | C             | 164,5                                  | -                                                | 148,0                          | -                                                |
| 3 | C(H)          | 103,2                                  | 6,75 s                                           | 137,2                          | -                                                |
| 4 | C             | 181,9                                  | -                                                | 177,3                          | -                                                |
| 5 | C             | 161,1                                  | -                                                | 162,5                          | -                                                |
| 6 | CH            | 99,6                                   | 6,45 <i>d</i> (2,4)                              | 99,2                           | 6,20 <i>d</i> (2,4)                              |
| 7 | C             | 162,9                                  | -                                                | 165,6                          | -                                                |

| C   | CH <sub>n</sub> | Hợp chất 1 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125/600 MHz) |                                | Hợp chất 3 (MeOD, 125/600 MHz) |                                |
|-----|-----------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|     |                 | $\delta_C$ ppm                                         | $\delta_H$ ppm, mult., (J, Hz) | $\delta_C$ ppm                 | $\delta_H$ ppm, mult., (J, Hz) |
| 8   | CH              | 94,8                                                   | 6,79 <i>d</i> (1,8)            | 94,4                           | 6,41 <i>d</i> (2,4)            |
| 9   | C               | 156,9                                                  | -                              | 158,2                          | -                              |
| 10  | C               | 105,4                                                  | -                              | 104,5                          | -                              |
| 1'  | C               | 121,4                                                  | -                              | 124,1                          | -                              |
| 2'  | CH              | 113,6                                                  | 7,43 <i>d</i> (1,8)            | 116,0                          | 7,75 <i>d</i> (2,4)            |
| 3'  | C               | 145,8                                                  | -                              | 146,2                          | -                              |
| 4'  | C               | 149,9                                                  | -                              | 148,8                          | -                              |
| 5'  | CH              | 116,0                                                  | 6,91 <i>d</i> (8,4)            | 116,2                          | 6,90 <i>d</i> (8,4)            |
| 6'  | CH              | 119,2                                                  | 7,45 <i>dd</i> (8,4; 1,8)      | 121,7                          | 7,65 <i>dd</i> (8,4; 2,4)      |
| 1'' | CH              | 99,9                                                   | 5,08 <i>d</i> (7,8)            | -                              | -                              |
| 2'' | CH              | 73,1                                                   | 3,19-3,50 <i>m</i>             | -                              | -                              |
| 3'' | CH              | 76,4                                                   | 3,19-3,50 <i>m</i>             | -                              | -                              |
| 4'' | CH              | 69,6                                                   | 3,19-3,50 <i>m</i>             | -                              | -                              |
| 5'' | CH              | 77,2                                                   | 3,19-3,50 <i>m</i>             | -                              | -                              |
| 6'' | CH <sub>2</sub> | 60,6                                                   | 3,72 <i>m</i>                  | -                              | -                              |
|     | 5-OH            | -                                                      | 12,98 <i>s</i>                 | -                              | -                              |

**Hợp chất 4:** Bột mịn màu trắng ngà, tan tốt trong ethyl acetat, methanol, không tan trong *n*-hexan, chloroform; tắt quang dưới UV 254 nm, phát quang màu tím sẫm dưới UV 365 nm, hiện màu xám nhạt với thuốc thử VS và xanh đen đậm với thuốc thử FeCl<sub>3</sub> 1%.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (MeOD, 125MHz):  $\delta_{ppm}$  122,0 (C-1); 110,3 (C-2, C-6); 146,4 (C-3, C-5); 139,6 (C-4); 170,4 (C-7). Phổ <sup>1</sup>H-NMR (MeOD, 600MHz):  $\delta_{ppm}$  7,01 s (2H, H-2, H-6).

**Phổ <sup>13</sup>C-NMR:** Có 5 tín hiệu cộng hưởng với  $\delta_C > 100$  ppm. Trong đó, có 1 tín hiệu  $\delta_C$  170,4 ppm; sơ bộ nhận định cấu trúc hợp chất 4 có nhân thơm và 1 nhóm chức -COOH; Có 2 cặp tín hiệu ở vị trí  $\delta_C$  110,3 và 146,3 ppm (C bậc IV gần oxy) có cường độ cao bất thường, do đó cấu trúc hợp chất 4 có thể đối xứng.

**Phổ <sup>1</sup>H-NMR:** Xuất hiện 1 tín hiệu singlet đỉnh nhọn cộng hưởng với  $\delta_H$  7,01 ppm, đây là tín hiệu của H trên vòng thơm. Dựa vào các tính chất lý hóa, phổ <sup>13</sup>C-NMR, <sup>1</sup>H-NMR và tài liệu tham khảo [18], xác định hợp chất 4 là **acid gallic**.

Trước đó ở Việt Nam, năm 2008, nghiên cứu về thành phần hóa học *Taraxacum officinale* của tác giả Phạm Công Đoàn và cộng sự [9] chỉ mới phân lập được 1 hợp chất: luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid và chưa có công bố về hoạt tính chống oxy hóa của loài này. Trong nghiên cứu này từ cao ethyl acetat đã phân lập được 4 hợp chất. Trong đó acid gallic lần đầu tiên được phân lập từ loài *Taraxacum officinale*. Acid caffeic, quercetin, acid gallic và acid succinic lần đầu tiên được công bố về thành phần hóa học của loài này ở Việt Nam. Những hợp chất này đều có cấu trúc -OH phenol thuộc nhóm acid phenol hoặc flavonoid.

### 3.5. Xác định IC<sub>50</sub>

Khả năng chống oxy hóa của luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid, acid caffeic, quercetin, acid gallic được đánh giá thông qua giá trị IC<sub>50</sub> được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả IC<sub>50</sub> của một số hợp chất

| Hợp chất                                | Phương trình hồi quy                     | Giá trị IC <sub>50</sub>            |
|-----------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------|
| Luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid | $y = 3,335x + 4,5308$<br>$R^2 = 0,9885$  | IC <sub>50</sub> = 13,63 $\mu$ g/mL |
| Acid caffeic                            | $y = 14,118x - 2,7024$<br>$R^2 = 0,9906$ | IC <sub>50</sub> = 3,73 $\mu$ g/mL  |
| Quercetin                               | $y = 12,799x + 5,2238$<br>$R^2 = 0,9924$ | IC <sub>50</sub> = 3,50 $\mu$ g/mL  |
| Acid gallic                             | $y = 36,096x - 1,937$                    | IC <sub>50</sub> = 1,44 $\mu$ g/mL  |

| Hợp chất              | Phương trình hồi quy                                       | Giá trị IC <sub>50</sub>      |
|-----------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Vitamin C (mẫu chuẩn) | $R^2 = 0,9912$<br>$y = 12,931x + 0,0148$<br>$R^2 = 0,9966$ | IC <sub>50</sub> = 3,87 µg/mL |

Từ kết quả trên cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất giảm dần như sau: *acid gallic* > *quercetin* > *acid caffeic* > *vitamin C* > *luteolin-7-O-β-D-glucopyranosid*. Kết quả đánh giá hoạt tính tác dụng chống oxy hóa dựa trên khả năng bắt gốc tự do DPPH cho thấy *acid caffeic* (IC<sub>50</sub> = 3,73 µg/mL), *quercetin* (IC<sub>50</sub> = 3,50 µg/mL), *acid gallic* (IC<sub>50</sub> = 1,44 µg/mL) đều có hoạt tính mạnh hơn so với *vitamin C* (IC<sub>50</sub> = 3,87 µg/mL). Trong đó *acid gallic* có hoạt tính mạnh hơn khoảng 2,5 lần *vitamin C*. Kết quả trên tương đồng với nghiên cứu trước đó của Rivero-Cruz J. F. [19]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Rivero-Cruz J. F. [19], *acid gallic* (IC<sub>50</sub> = 2,24 ± 0,02 µg/mL) có hoạt tính chống oxy hóa yếu hơn *quercetin* (IC<sub>50</sub> = 1,19 ± 0,04 µg/mL) và *acid caffeic* (IC<sub>50</sub> = 1,27 ± 0,02 µg/mL) trên cùng mô hình DPPH. Một nghiên cứu của Hajimehdipoor và cộng sự đã chỉ ra sự kết hợp của *acid gallic*, *acid caffeic* và *quercetin* làm tăng sự hiệp đồng tác dụng chống oxy hóa 55,2% [20]. Do đó, Bò công anh lùn là nguồn nguyên liệu tiềm năng để phát triển các sản phẩm phòng ngừa, hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan đến gốc tự do và tăng cường bảo vệ sức khỏe con người.

#### 4. Kết luận

Phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất ở nồng độ 50 µg/mL. Bốn hợp chất được xác định cấu trúc với giá trị IC<sub>50</sub> trên mô hình DPPH lần lượt là: *luteolin-7-O-β-D-glucopyranosid* (IC<sub>50</sub> = 13,63 µg/mL), *acid caffeic* (IC<sub>50</sub> = 3,73 µg/mL), *quercetin* (IC<sub>50</sub> = 3,50 µg/mL), *acid gallic* (IC<sub>50</sub> = 1,44 µg/mL). Kết quả nghiên cứu trên đã bổ sung thêm thông tin, góp phần nâng cao giá trị sử dụng và là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo thực hiện trên loài này ở Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. M. Abdel-Aziz, A. Aeron, and T. A. Kahl, "Health benefits and possible risks of herbal medicine," in *Microbes in food and health*, N. Garg, S. A. Aziz, A. Aeron, Eds. Switzerland: Springer International Publishing, 2016, pp. 97-116.
- [2] P. Yadav, T. Pandiaraj, V. Yadav *et al.*, "Traditional values of medicinal plants, herbs and their curable benefits," *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 9, no. 1, pp. 2104-2106, 2020.
- [3] M. Ekor, "The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety," *Frontiers in pharmacology*, vol. 4, p. 177, 2014.
- [4] I. Qadir, S. Nazir, M. S. Sheikh *et al.*, "*Taraxacum officinale*: The Esculent Dandelion as Herbal Medicine," in *Edible Plants in Health and Diseases*, vol. II: Phytochemical and Pharmacological Properties. Springer, New York, 2022, pp. 299-326.
- [5] K. B. Le, *Flora of Vietnam, Family (Asteraceae)*. Science and Technics Publishing House, 2007.
- [6] N. L. Escudero, M. L. De Arellano, S. Fernández *et al.*, "*Taraxacum officinale* as a food source," *Plant foods for human nutrition*, vol. 58, pp. 1-10, 2003.
- [7] B. Lis and B. Olas, "Pro-health activity of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) and its food products—history and present," *Journal of Functional Foods*, vol. 59, pp. 40-48, 2019.
- [8] T. L. Do, *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Hong Duc Publishing House, 2019.
- [9] C. D. Pham, N. H. Nguyen, V. T. Phung *et al.*, "Initial result of the study on chemical compositions of Dandelion (*Taraxacum officinale* WIGG)," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 9, pp. 227-231, 2008.
- [10] Department of Pharmacognosy, *Research Methods in Herbal Medicine*, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City (in Vietnamese), 2017.
- [11] V. Bondet, W. Brand-William, and C. L. W. T. Berset, "Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 30, no. 6, pp. 609-615, 1997.

- 
- [12] P. Sasikala, S. Ganesan, T. Jayaseelan *et al.*, "Phytochemicals and GC–MS analysis of bioactive compounds present in ethanolic leaves extract of *Taraxacum officinale* (L)," *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, vol. 9, no. 1, pp. 90-94, 2019.
- [13] H. Y. Falih Hayder, S. Y. Abed, S. Adnan Abbas *et al.*, "Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Iraqi *Taraxacum Officinale* L," *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, vol. 14, no. 2, pp. 1105-1109, 2020.
- [14] O. Kenny, T. J. Smyth, C. M. Hewage *et al.*, "Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS/MS analysis of phenolic compounds in dandelion (*Taraxacum officinale*) root extracts," *Free Radicals and Antioxidants*, vol. 4, no. 1, pp. 55-61, 2014.
- [15] Y. J. Seo, H. W. Kil, T. Rho *et al.*, "A New Coumestan Glucoside from *Eclipta prostrata*," *Natural Product Sciences*, vol. 26, no. 4, pp. 289-294, 2020.
- [16] Z. Lin, Y. Fang, A. Huang *et al.*, "Chemical constituents from *Sedum aizoon* and their hemostatic activity," *Pharmaceutical Biology*, vol. 52, no. 11, pp. 1429-1434, 2014.
- [17] T. H. Nguyen and T. T. T. Dang, "Several compounds isolated from *Centella asiatica*," *Journal of Medicine and Pharmacy*, vol. 1, no. 4, p. 92, 2011.
- [18] T. T. V. Do, V. V. Pham, T. T. P. Le *et al.*, "Study on isolation and determination structure some compounds of the chloroform extract of male *Carica papaya* flowers from Quang Nam-Da Nang," *Journal of Science and Technology - The University of DaNang*, vol. 18, no. 1, pp. 64-67, 2020.
- [19] J. F. Rivero-Cruz, J. Granados-Pineda, J. Pedraza-Chaverri *et al.*, "Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of Mexican brown propolis," *Antioxidants*, vol. 9, no. 1, p. 70, 2020.
- [20] H. Hajimehdipoor, R. Shahrestani, and M. Shekarchi, "Investigating the synergistic antioxidant effects of some flavonoid and phenolic compounds," *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, vol. 1, no. 3, pp. 35-40, 2014.