

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ CẶN CHIẾT ETHYL ACETATE CỦA LÁ ỔI (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) THU HÁI TẠI TỈNH HƯNG YÊN, VIỆT NAM

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COMPOUNDS ISOLATED FROM ETHYL ACETATE EXTRACTS OF LEAVES OF *PSIDIUM GUAJAVA* L. COLLECTED IN HUNG YEN PROVINCE, VIETNAM

Lê Xuân Duy¹, Nguyễn Thị Kim An², Lê Thị Thúy Loan³, Vũ Thị Thu Lê^{4,*}

DOI: <http://doi.org/10.57001/huieh5804.2025.190>

TÓM TẮT

Cây Ổi có tên khoa học là *Psidium guajava* L., đây là loài cây được trồng phổ biến ở Việt Nam với mục đích chính là cây ăn quả. Quả Ổi giàu dinh dưỡng và các chất chống oxy hoá với hàm lượng vitamin C khá cao. Gần đây, một số nghiên cứu được lý cho thấy cao chiết lá cây ổi có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hoá mạnh giúp điều trị bệnh tiêu chảy. Theo hướng nghiên cứu tìm kiếm các hợp chất có tác dụng kháng khuẩn từ lá Ổi. Nghiên cứu này đã phân lập và xác định cấu trúc của 6 hợp chất từ cặn chiết ethyl acetate của lá Ổi bao gồm myricetin (1), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (2), guaijaverin (3), cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4), apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) và ursolic acid (6). Trong đó hai hợp chất cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) và apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) lần đầu được phân lập từ lá Ổi. Tiến hành đánh giá tác dụng kháng khuẩn đối với 6 hợp chất phân lập được cho thấy ba hợp chất là guaijaverin (3), cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) và ursolic acid (6) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với ba chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* và *Pseudomonas aeruginosa* với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) dao động từ 50 - 100 μ g/mL. Kết quả nghiên cứu này một lần nữa khẳng định giá trị và tiềm năng của lá Ổi trong việc khai thác tạo sản phẩm giúp phòng và điều trị các bệnh về nhiễm khuẩn.

Từ khóa: Cây Ổi, cặn chiết lá Ổi, ethyl acetate, thành phần hóa học, hoạt tính kháng khuẩn.

ABSTRACT

Psidium guajava L. is a species commonly grown in our country mainly as a fruit tree. Guava fruit is rich in nutrients and antioxidants with a fairly high vitamin C content. Recently, some pharmacological studies have shown that guava leaf extract has strong antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant effects that help treat diarrhea. In the direction of research to find antibacterial compounds from guava leaves. This study isolated and determined the structure of six compounds from the ethyl acetate extract of guava leaves including myricetin (1), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (2), guaijaverin (3), cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4), apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) and ursolic acid (6). In which, two compounds, cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) and apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) were isolated for the first time from Guava leaves. Evaluation of antibacterial activity of six isolated compounds showed that three compounds including guaijaverin (3), cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) and ursolic acid (6) exhibited strong antibacterial activity against three strains of bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa* with minimum inhibitory concentration (MIC) values ranging from 50 - 100 μ g/mL. The results of this study once again confirm the value and potential of Guava leaves in exploiting products to help prevent and treat infectious diseases.

Keywords: *Psidium guajava* L., Guava leaf extract, ethyl acetate, chemical constituent, antibacterial activity.

¹Viện Dược liệu, Bộ Y tế

²Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

³Trường Đại học Tây Nguyên

⁴Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

*Email: Vuthithule@tuaf.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/02/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 17/5/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/5/2025

1. GIỚI THIỆU

Nước ta có thời tiết thuộc khu vực nhiệt đới nóng ẩm, đây chính là điều kiện thuận lợi cho nhiều loài vi khuẩn, vi nấm phát triển mạnh, các bệnh về đường tiêu hoá, da và niêm mạc do nấm và vi khuẩn gây ra ngày càng phổ biến và nghiêm trọng [1]. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), Việt Nam được xếp vào danh sách các nước có tỉ lệ kháng thuốc kháng sinh cao nhất thế giới [2]. Ở Châu Âu mỗi năm, số ca nhiễm và tử vong do vi khuẩn đa kháng thường gặp nhất thường là *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* [3]. Vì vậy, việc tìm ra nguồn thuốc mới thay thế cho các thuốc đang sử dụng trở nên cấp thiết, trong đó thảo dược là những nguồn đầy tiềm năng đang được quan tâm và là xu hướng được ưa chuộng do tính an toàn và là nguồn tài nguyên tái tạo được.

Cây Ổi có tên khoa học là *Psidium guajava* L., đây là loài cây được trồng phổ biến ở nước ta với mục đích chính là cây ăn quả. Quả Ổi rất giàu dinh dưỡng, chất xơ và các chất chống oxy hoá với hàm lượng vitamin C khá cao [4]. Gần đây ngoài việc sử dụng quả ổi, các nhà khoa học trên thế giới và trong nước đã quan tâm nghiên cứu đến tác dụng chữa bệnh của lá ổi. Trong một số nghiên cứu trên thế giới, lá ổi cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đối với vi khuẩn gây bệnh đáng kể như *Staphylococcus spp.*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium spp.*, *Pseudomonas spp.* [5]. Lá ổi được sử dụng để điều trị bệnh tiêu chảy và đau bụng. Ở Mỹ, lá ổi đã được sử dụng là kháng sinh ở dạng thuốc bôi hoặc thuốc sắc giúp điều trị vết thương, loét và đau răng [6]. Ở Việt Nam, một số nghiên cứu chỉ ra rằng lá ổi rất giàu các hợp chất polyphenol đặc biệt là các hợp chất flavonoid [4]. Bên cạnh đó, cao chiết lá ổi cũng được chứng minh có nhiều tác dụng sinh học quý như kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hoá mạnh [4, 7, 8]. Bên cạnh đó, cao chiết lá ổi còn được sử dụng để điều trị bệnh tiểu đường và máu nhiễm mỡ [9]. Hiện nay ở nước ta, các nghiên cứu về thành phần hoá học và tác dụng kháng khuẩn của các hợp chất trong lá ổi còn khá hạn chế. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập một số thành phần hoá học từ lá ổi và đánh giá tác dụng sinh học của các hợp chất phân lập được giúp làm sáng tỏ về tác dụng kháng khuẩn của cao chiết lá ổi cũng như bổ sung cơ sở dữ liệu về thành phần hoá học của lá ổi Việt Nam góp phần định hướng khai thác có hiệu quả nguồn dược liệu này.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu thực vật lá cây Ổi được thu hái tại Huyện Ân Thi, Tỉnh Hưng Yên vào tháng 02 năm 2025. Mẫu thực vật được GS. TS. Trần Thế Bách, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định chính xác tên khoa học là *Psidium guajava* L., họ Myrtaceae. Tiêu bản mẫu được lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Số hiệu tiêu bản LO.01. Mẫu thực vật sau khi thu hái được làm sạch, sấy khô đến hàm ẩm nhỏ hơn 12% ở nhiệt độ 60°C và bảo quản trong các túi hút chân không ở nhiệt độ 18 - 20 °C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc hoá học

- Phương pháp phân lập hợp chất
 - + Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC): Khảo sát định tính thành phần hoá học, sử dụng bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (0,25mm; Merck) và RP-18 F254S (0,25mm; Merck). Phát hiện hợp chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254nm và 365nm hoặc hiện màu bằng thuốc thử H₂SO₄ 5% trong methanol và hơi nóng bằng máy sấy.
 - + Phương pháp sắc ký cột (CC): Sử dụng cột sắc ký pha thường với silica gel cỡ hạt 230 - 400 mesh (Merck - Đức) và sắc ký cột pha đảo RP-18 cỡ hạt 30 - 50µm (YMC - Nhật Bản). Dung môi rửa giải sử dụng dung môi công nghiệp đã được chưng cất lại như *n*-hexane, ethylacetate, dichloromethane, methanol, nước.
- Phương pháp xác định cấu trúc hoá học
 - + Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Sử dụng phổ cộng hưởng hạt nhân 1 chiều (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều (HMBC, HSQC).
 - + Đo phổ NMR trên máy Bruker avance 500MHz và 600MHz (Chất chuẩn nội là TMS), tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
 - + Dung môi hoà tan các hợp chất trước khi đo phổ NMR là: CD₃OD, CDCl₃, DMSO-*d*₆...

2.2.2. Phương pháp đánh giá tác dụng kháng khuẩn

Tám chủng vi khuẩn được mua từ bộ sưu tập nuôi cấy của Mỹ (ATCC, Manassas, VA, Mỹ) đã được sử dụng để đánh giá hoạt động kháng khuẩn, bao gồm *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella Typhi* ATCC 19430,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 27212, *Staphylococcus aureus* ATCC 12222, *Aspergillus niger* ATCC 9763, *Fusarium oxysporum* ATCC 48112 và *Candida albicans* ATCC 10231. Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu được xác định bằng xét nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đối với các chủng vi khuẩn và chủng nấm nêu trên. Vi khuẩn gram dương và gram âm được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy đậu nành tryptic (TSB; Merck KGaA, Darmstadt, Đức), trong khi chủng nấm được nuôi cấy trong SDB (Merck, Đức) đến kích thước cấy cuối cùng khoảng 150×10^6 (CFU/mL) (hoặc 0,5 chuẩn McFarland ở $\lambda = 550\text{nm}$). Mẫu hoạt chất thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau từ 12,5 đến 200 $\mu\text{g/mL}$ được nạp vào các khay vi đĩa 96 giếng chứa các vi khuẩn mới, và các đĩa được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Các chất đối chứng được chuẩn bị giống với các hoạt chất thử nghiệm được thay thế bằng 5% DMSO [10]. Đối chứng dương bao gồm doxycycline đối với các vi khuẩn gram âm, gentamicin đối với các vi khuẩn gram dương và nystatin đối với các chủng nấm.

2.2.3. Chiết xuất và phân lập hợp chất hoá học từ lá ổi

Bột nguyên liệu lá ổi (3kg) được chiết siêu âm với ethanol 96% (v/v) ở nhiệt độ phòng, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (10/1, v/w), chiết 3 lần. Lọc và gom thu dịch chiết và cô đặc bằng máy cô quay áp suất giảm thu được 284 g cặn chiết tổng ethanol. Phân tán cặn ethanol vào 1000mL nước cất và chiết phân bố lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần là *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate với tỷ lệ chiết là 1/1, v/v; chiết phân bố 3 lần với mỗi loại dung môi. Tiến hành lọc, cô đặc các dịch chiết phân bố thu được các cặn chiết tương ứng là cặn *n*-hexane (14,9g); cặn dichloromethane (36,5g); cặn ethyl acetate (95,6g) và cặn nước còn lại (137g).

Cặn chiết ethyl acetate (95,6 g), được tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (100/0 $\rightarrow$ 0/100) chia thành 8 phân đoạn ký hiệu từ E1 đến E8.

Phân đoạn E3 (13,2g) được tiến hành sắc ký cột pha thường với dung môi rửa giải là hệ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (6/1/0,05). Sử dụng sắc ký lớp mỏng để gom các phân đoạn giống nhau sau đó tiến hành cô quay đuổi dung môi ta thu được 5 phân đoạn nhỏ ký hiệu là E3.1 đến E3.5. Phân đoạn E3.1 (2,1g) được tiến hành sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4/1) thu được 2 hợp chất sạch là hợp chất **1** (myricetin; 7,1mg) và hợp chất **2** (kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside; 10,5 mg).

Phân đoạn E3.5 (1,6g) được tiến hành sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (5/1) thu được 2 hợp chất sạch là hợp chất **3** (guaijaverin; 15,6mg) và hợp chất **4** (cis-*p*-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside; 9,8mg).

Phân đoạn E5 (7,4g) được tiến hành sắc ký cột pha thường với dung môi rửa giải là hệ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (9/1/0,1). Sử dụng sắc ký lớp mỏng để gom các phân đoạn giống nhau sau đó tiến hành cô quay đuổi dung môi ta thu được 3 phân đoạn nhỏ ký hiệu là E7.1 đến E7.3. Phân đoạn E7.3 (1,8g) được tiến hành sắc ký cột pha thường với hệ dung môi rửa giải là $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (6/1) thu được 2 phân đoạn E7.3a, E7.3b và 01 hợp chất sạch là hợp chất **6** (ursolic acid; 11,5mg). Phân đoạn nhỏ E7.3b được tiến hành sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải là $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1,5) thu được hợp 01 hợp chất sạch là hợp chất **5** (apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside; 8,1mg).

Hợp chất 1 (myricetin) [11]:

+ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 6,20 (1H, d, $J = 1,8\text{Hz}$, H-6); 6,40 (1H, d, $J = 1,8\text{Hz}$, H-8); 7,36 (2H, s, H-2'/H-6').

+ $^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 148,0 (C-2); 137,4 (C-3); 177,3 (C-4); 162,5 (C-5); 99,2 (C-6); 165,5 (C-7); 94,4 (C-8); 158,2 (C-9); 104,5 (C-10); 123,1 (C-1'); 108,5 (C-2'/C-6'); 146,7 (C-3'/C-5'); 137,4 (C-4').

Hợp chất 2 (kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside) [12]:

+ $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CD_3OD), δ_{H} (ppm): 6,15 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-6); 6,34 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-8); 7,99 (2H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-2', H-6'); 6,84 (2H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-3' & H-5'); 5,19 (1H, d, $J = 7,5\text{Hz}$, H-1"); 3,40 (1H, dd, $J = 7,5$; 9,0Hz, H-2"); 3,37 (1H, t, $J = 9,0\text{Hz}$, H-3"); 3,29 (1H, m, H-4"); 3,16 (1H, m, H-5"); 3,65 (1H, dd, $J = 2,5$; 12,5Hz, H-6"a); 3,49 (1H, dd, $J = 5,5$; 12,5Hz, H-6"b).

+ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD), δ_{C} (ppm): 158,5 (C-2); 135,5 (C-3); 179,5 (C-4); 163,0 (C-5); 99,9 (C-6); 165,9 (C-7); 94,8 (C-8); 159,1 (C-9); 105,7 (C-10); 122,1 (C-1'); 132,3 (C-2', C-6'); 116,1 (C-3', C-5'); 161,5 (C-4'); 104,2 (C-1"); 75,7 (C-2"); 78,0 (C-3"); 71,4 (C-4"); 78,4 (C-5"); 62,6 (C-6").

Hợp chất 3 (guaijaverin) [13]:

+ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 6,21 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$, H-6); 6,40 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$, H-8); 7,76 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$, H-2'); 6,88 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$, H-5'); 7,59 (1H, dd, $J = 2,4$; 8,4Hz, H-6'); 5,17 (1H, d, $J = 6,6\text{Hz}$, H-1"); 3,92 (1H, m, H-2"); 3,66 (1H, m, H-3"); 3,83 (1H, m, H-4"); 3,46 (1H, m, H-5a"); 3,83 (1H, m, H-5b").

+ ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 148,0 (C-2); 135,7 (C-3); 179,4 (C-4); 163,0 (C-5); 99,9 (C-6); 165,9 (C-7); 94,7 (C-8); 158,4 (C-9); 105,6 (C-10); 123,0 (C-1'); 117,5 (C-2'); 145,9 (C-3'); 149,9 (C-4'); 116,2 (C-5'); 122,9 (C-6'); 104,7 (C-1''); 72,9 (C-2''); 74,1 (C-3''); 69,1 (C-4''); 67,0 (C-5'').

Hợp chất 4 (cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside) [14]:

+ ^1H -NMR (500MHz, CD_3OD , δ_{H} (ppm): 7,42 (1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$, H-2); 6,94 (1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$, H-3); 6,94 (1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$, H-5); 7,42 (1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$, H-6); 6,49 (1H, d, $J = 12,7\text{Hz}$, H-7); 5,82 (1H, d, $J = 12,7\text{Hz}$, H-8); 4,87 (1H, d, $J = 7,3\text{Hz}$, H-1'); 3,18 - 3,81 (m, H-2'); 3,18 - 3,81 (m, H-3'); 3,18 - 3,81 (m, H-4'); 3,18 - 3,81 (m, H-5'); 3,91 (1H, d, $J = 12,0\text{Hz}$, H-6'a); 3,89 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-6'b).

+ ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD , δ_{C} (ppm): 132,1 (C-1); 132,3 (C-2); 117,7 (C-3); 159,1 (C-4); 117,7 (C-5); 132,3 (C-6); 136,7 (C-7); 124,2 (C-8); 102,3 (C-1'); 75,1 (C-2'); 78,3 (C-3'); 71,6 (C-4'); 78,0 (C-5'); 62,7 (C-6'); 173,5 (COOH).

Hợp chất 5 (apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside) [15]:

+ ^1H -NMR (500MHz, CD_3OD , δ_{H} (ppm): 6,65 (1H, s, H-3); 6,50 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-6); 6,82 (1H, s, H-8); 7,89 (1H, d, $J = 8,5\text{Hz}$, H-2'); 6,95 (1H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-3'); 6,95 (1H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-5'); 7,89 (1H, d, $J = 8,5\text{Hz}$, H-6'); 5,09 (1H, d, $J = 6,5\text{Hz}$, H-1''); 3,50 (1H, m, H-2''); 3,52 (1H, m, H-3''); 3,43 (1H, m, H-4''); 3,57 (1H, m, H-5''); 3,50 (1H, m, H-2''); 3,96 (1H, dd, $J = 2,0; 12,0\text{Hz}$, H-6a); 3,75 (1H, dd, $J = 6,0; 12,0\text{Hz}$, H-6b).

+ ^{13}C -NMR (125MHz, CD_3OD , δ_{C} (ppm): 166,8 (C-2); 104,2 (C-3); 184,1 (C-4); 162,9 (C-5); 101,2 (C-6); 164,8 (C-7); 96,1 (C-8); 158,9 (C-9); 107,1 (C-10); 123,1 (C-1'); 129,6 (C-2'); 117,1 (C-3'); 162,8 (C-4'); 117,1 (C-5'); 129,6 (C-6'); 101,6 (C-1''); 74,7 (C-2''); 77,8 (C-3''); 71,3 (C-4''); 78,4 (C-5''); 62,5 (C-6'').

Hợp chất 6 (ursolic acid) [16]:

+ ^1H -NMR (500MHz, $\text{CD}_3\text{OD}+\text{CDCl}_3$) δ_{H} (ppm): 1,62 (1H, m, H-1a); 1,41 (1H, m, H-1b); 1,60 (1H, m, H-2a); 1,80 (1H, m, H-2b); 3,16 (1H, m, H-3); 0,73 (1H, m, H-5); 1,59 (1H, m, H-6a); 1,68 (1H, m, H-6b); 1,36 (1H, m, H-7a); 1,60 (1H, m, H-7b); 1,51 (1H, m, H-9); 1,93 (1H, m, H-11a); 1,65 (1H, m, H-11b); 5,25 (1H, dd, $J = 5,5; 12,5\text{Hz}$, H-12); 1,30 (1H, m, H-15a); 1,70 (1H, m, H-15b); 1,35 (1H, m, H-16); 2,01 (1H, d, $J = 12,5\text{Hz}$, H-18); 1,92 (1H, m, H-19); 1,03 (1H, m, H-20); 1,48 (1H, m, H-21a); 1,99 (1H, m, H-21b); 1,48 (1H, m, H-22a); 1,99 (1H, m, H-22b); 0,98 (3H, s, H-23); 0,96 (3H, s, H-24); 0,78 (3H, s, H-25); 0,65 (3H, s, H-26); 1,11 (3H, s, H-27); 0,87 (3H, s, H-29); 0,94 (3H, s, H-30).

+ ^{13}C -NMR (125MHz, $\text{CD}_3\text{OD}+\text{CDCl}_3$) δ_{C} (ppm): 39,8 (C-1); 27,7 (C-2); 79,5 (C-3); 39,6 (C-4); 56,5 (C-5); 19,3 (C-6); 34,1 (C-7); 40,4 (C-8); 48,6 (C-9); 37,9 (C-10); 24,2 (C-11); 126,6 (C-12); 139,3 (C-13); 43,1 (C-14); 29,0 (C-15); 25,1 (C-16); 48,6 (C-17); 54,1 (C-18); 40,1 (C-19); 40,2 (C-20); 31,6 (C-21); 37,9 (C-22); 28,7 (C-23); 16,3 (C-24); 16,0 (C-25); 17,6 (C-26); 24,1 (C-27); 180,4 (C-28); 17,7 (C-29); 21,5 (C-30).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất

3.1.1. Hợp chất 1 (myricetin)

Hợp chất **1** thu được dưới dạng tinh thể màu nâu. Các tín hiệu cộng hưởng trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) gợi ý đây là một hợp chất flavonoid. Trên phổ ^1H -NMR của hợp chất **1** cũng xuất hiện các tín hiệu proton đặc trưng của bộ khung flavonoid. Các tín hiệu cộng hưởng δ_{H} (ppm) ở 6,21 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$); 6,40 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$) thuộc vào hai proton ở vị trí proton H-6 và H-8 ứng với cấu trúc 5,7-dihydroxy của vòng A. Trên vòng B thì thấy xuất hiện tín hiệu proton đơn lẻ ở δ_{H} 7,36 (2H, s, H-2'/H-6') chứng tỏ vòng B đã bị thế tại vị trí C-3', C-4' và C-5'.

Trên phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ DEPT cho thấy tín hiệu của 15 carbon thuộc bộ khung flavonoid. Trong đó có 4 carbon nhóm (-CH) có độ chuyển dịch hóa học tại δ_{C} (ppm) 99,2; 94,4; 108,5 (tín hiệu kép); 10 carbon không liên kết với hydro có δ_{C} (ppm) 148,0; 137,4; 162,5; 165,5; 158,2; 104,5; 123,1; 146,7 (tín hiệu kép); 137,4 và 1 tín hiệu cộng hưởng của carbon carbonyl ở δ_{C} 177,3ppm.

Từ các dữ liệu phổ kết hợp với số sánh tài liệu đã công bố, hợp chất **1** được xác định là myricetin [11].

3.1.2. Hợp chất 2 (kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside)

Hợp chất **2** thu được dưới dạng chất rắn màu vàng. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **2** cho các tín hiệu đặc trưng của dẫn xuất glycosid của flavonoid đặc trưng bởi cặp tín hiệu doublet δ_{H} 6,15 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-6); 6,34 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-8) thuộc vòng A và tín hiệu doublet của hai proton tại δ_{H} 7,99 (2H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-2' & H-6') và 6,84 (2H, d, $J = 9,0\text{Hz}$, H-3' & H-5') thuộc vòng B. Các tín hiệu proton vùng đường nằm ở δ_{H} 3,16-5,19 với proton anomeric tại δ_{H} 5,19 (1H, d, H-1''), hằng số $J = 7,5\text{Hz}$ điển hình cho liên kết O- β -glycosid, hai proton oxymethylen δ_{H} 3,65 (1H, dd, $J = 2,5; 12,5\text{Hz}$, H-6''a) và 3,49 (1H, dd, $J = 5,5; 12,5\text{Hz}$, H-6''b) với những giá trị hằng số tương tác khá đặc trưng; bốn proton còn lại δ_{H} 3,41 - 3,48 (2H, H-2'' & H-3''), 3,31 (1H, H-4''), 3,16 (1H, m, H-5'') phù hợp với gốc đường glucose.

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu của 21 nguyên tử carbon, trong đó ngoài 6 tín hiệu của một phân tử đường glucose tại δ_{C} 104,1 (C-1"), 75,7 (C-2"), 78,0 (C-3"), 71,4 (C-4"), 78,4 (C-5"), 62,7 (C-6"), 15 tín hiệu còn lại của 15 nguyên tử carbon δ_{C} 158,5 (C-2), 135,5 (C-3), 179,5 (C-4), 163,0 (C-5), 99,9 (C-6), 165,9 (C-7), 94,8 (C-8), 159,1 (C-9), 105,7 (C-10), 122,1 (C-1'), 132,3 (C-2', C-6'), 116,1 (C-3', C-5'), 161,5 (C-4') thuộc về khung flavonoid. Bên cạnh đó trên phổ HMBC cho thấy tương tác giữa proton anomeric (δ_{H} 5,19ppm) với C-3 (δ_{C} 135,5ppm) cho phép xác định phân tử đường glucose nối với C-3 của bộ khung flavonoid.

Từ việc phân tích các dữ kiện phổ và so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố cho phép khẳng định hợp chất **2** là kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosid [12].

3.1.3. Hợp chất 3 (guaijaverin)

Hợp chất **3** thu được dưới dạng tinh thể màu nâu nhạt. Các tín hiệu cộng hưởng trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) gợi ý đây là một hợp chất flavonoid. Trên phổ ^1H -NMR của hợp chất **1** xuất hiện tín hiệu của 11 proton trong đó 5 tín hiệu proton thuộc vòng thơm. Các tín hiệu cộng hưởng δ_{H} (ppm) ở 6,21 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$); 6,40 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$) thuộc vào hai proton ở vị trí proton H-6 và H-8 ứng với cấu trúc 5,7-dihydroxy của vòng A; Ba tín hiệu cộng hưởng khác ứng với hệ tương tác spin ABX ở δ_{H} (ppm) 7,76 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$) thuộc proton H-2'; 6,88 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$) và 7,59 (1H, dd, $J = 8,4; 2,4\text{Hz}$) thuộc về 2 proton H-5' và H-6' cho thấy vòng B bị thế ở các vị trí 1', 3' và 4'. Ngoài ra trên phổ ^1H -NMR còn xuất hiện tín hiệu của một proton anomeric tại δ_{H} (ppm) 5,17 (1H, d, $J = 6,6\text{Hz}$) gợi ý trong cấu trúc hợp chất **1** có một phân tử đường.

Trên phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ DEPT của hợp chất **3** cho thấy tín hiệu của 20 carbon trong đó 15 carbon thuộc bộ khung flavonoid và 5 carbon của một phân tử đường. 9 carbon nhóm (-CH) có độ chuyển dịch hóa học tại δ_{C} (ppm) 99,9; 94,7; 117,5; 116,2; 122,9; 104,7; 72,9; 74,1; 69,1; 9 carbon không liên kết với hydro có δ_{C} (ppm) 148,0; 135,7; 163,0; 165,9; 158,4; 105,6; 123,0; 145,9; 149,9. 1 nhóm $-\text{CH}_2$ có δ_{C} 67,0ppm và 1 tín hiệu cộng hưởng của carbon carbonyl ở δ_{C} 179,4ppm. Bên cạnh đó, phổ HMBC cho thấy tương tác của proton anomeric (δ_{H} 5,17ppm) với carbon C-3 (δ_{C} 135,7ppm) chứng tỏ phần glycon được liên kết với vị trí C-3 trên khung flavonoid.

Từ các dữ liệu phổ đo được kết hợp với so sánh tài liệu đã công bố, hợp chất **3** được xác định là guaijaverin [13].

3.1.4. Hợp chất 4 (cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside)

Hợp chất **4** phân lập được ở dạng chất bột màu trắng. Các dữ kiện phổ NMR gợi ý hợp chất **4** là một phenolic

glycoside. Trên phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 4 proton của vùng thơm, trong đó có 2 cặp proton tương đương xuất hiện tại độ chuyển dịch hóa học lần lượt tại δ_{H} (ppm) 7,6 (1H, d, $J = 8,5\text{Hz}$, H-2, H-6) và 7,05 (1H, d, $J = 8,5\text{Hz}$, H-3, H-5), chứng tỏ vòng thơm bị thế ở 2 vị trí C-1 và C-4. Bên cạnh đó, cũng trên phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 2 proton olefin tương tác với nhau có δ_{H} (ppm) 6,66 (1H, d, $J = 12,5\text{Hz}$) và 5,92 (1H, d, $J = 12,5\text{Hz}$), với hằng số tương tác $J = 12,5\text{Hz}$ thì hợp chất **4** có cấu hình dạng *cis*. Các proton của phân tử đường cho các tín hiệu nằm trong vùng δ_{H} (ppm) 3,39 - 3,89. Trên phổ HMBC có thấy xuất hiện tương tác của proton anomeric 4,94 (1H, d, $J = 7,5\text{Hz}$) với nguyên tử carbon δ_{C} (ppm) 159,2 (C-4). Chứng tỏ phần đường liên kết với phần aglycon tại vị trí C-4 và cấu tử đường ở dạng β -D-glucose.

Trên phổ ^{13}C -NMR cùng với phổ DEPT chỉ ra hợp chất **4** có tất cả 15 nguyên tử carbon. Trong đó có 6 carbon của vòng thơm độ chuyển dịch hóa học trong vùng δ_{C} (ppm) (117,1 - 159,2), 6 carbon của 1 cấu tử đường lần có độ chuyển dịch hóa học lần lượt là δ_{C} (ppm) 102,1; 74,9; 78,1; 71,3; 77,9 và 62,5. Các tín hiệu này gợi ý đây là các nguyên tử carbon của 1 phân tử đường glucose. Bên cạnh đó, trên phổ ^{13}C -NMR còn xuất hiện 1 tín hiệu carbon caboxyl đặc trưng có δ_{C} (ppm) 173,5 và 2 carbon olefin có độ chuyển dịch hóa học tương ứng là 137,8ppm và 122,5ppm.

Từ các dữ kiện phổ kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố, hợp chất **4** được xác định có tên là *cis*-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside [14].

3.1.5. Hợp chất 5 (apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside)

Hợp chất **5** phân lập được ở dạng chất bột màu vàng nhạt. Trên phổ ^1H -NMR của hợp chất **5** xuất hiện các tín hiệu của proton đặc trưng của bộ khung flavonoid glycoside với các tín hiệu cộng hưởng ở δ_{H} 6,50 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-6) và δ_{H} 6,82ppm (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H-8) thuộc H-6 và H-8 và hai proton này có tương tác *meta* với nhau (hằng số tương tác $J = 2,0\text{Hz}$) ứng với cấu trúc có các nhóm thế ở vị trí 5, 7 ở vòng A, tín hiệu của một proton ở vòng C của hợp chất flavonoid thể hiện ở δ_{H} 6,65 (1H, s, H-3), tín hiệu ở δ_{H} 7,89 (2H, d, $J = 8,5\text{Hz}$) và δ_{H} 6,95ppm (2H, d, $J = 9,0\text{Hz}$) gợi ý có 2 cặp proton ở vị trí đối xứng nhau (ở vòng B) là H-2' và H-6', H-3' và H-5', điều đó cho thấy vòng B có nhóm thế ở vị trí 1', 4'. Bên cạnh đó, trên phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của proton anomeric ở δ_{H} 5,09 (1H, d, $J = 6,5\text{Hz}$, H-1") ứng với có cấu hình beta của gốc đường, cùng 6 proton khác nằm trong vùng δ_{H} từ 3,43 - 3,96ppm một lần nữa cho phép dự đoán hợp chất **5** là một flavonoid glycoside.

Trên phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT thể hiện rõ hợp chất **5** có phần aglycon là flavonoid với sự xuất hiện của 15 carbon trong đó có tám carbon bậc bốn (không liên kết với hydro) và bảy nhóm methyl. Các tín hiệu của carbon trong phần aglycon gợi ý cấu trúc của hợp chất flavonoid với các nhóm thế ở vị trí 5, 7, 4' (5,7,4'-trihydroxyflavon). Điều đó được khẳng định bởi sự xuất hiện hai cặp carbon methyl đối xứng (ở vòng B) ở δ_{H} 7,89/ δ_{C} 129,36 và δ_{H} 6,95/ δ_{C} 117,05 ở trên phổ HSQC. Ngoài ra, trên phổ HMBC xuất hiện tương tác của proton anomeric và carbon C-7 (δ_{C} 164,8 ppm). Do đó, có thể khẳng định là gốc đường được liên kết với phần aglycon ở vị trí C-7 thông qua liên kết O-glycoside.

Từ việc phân tích các dữ kiện phổ và so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố cho phép khẳng định hợp chất **5** là apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside [15].

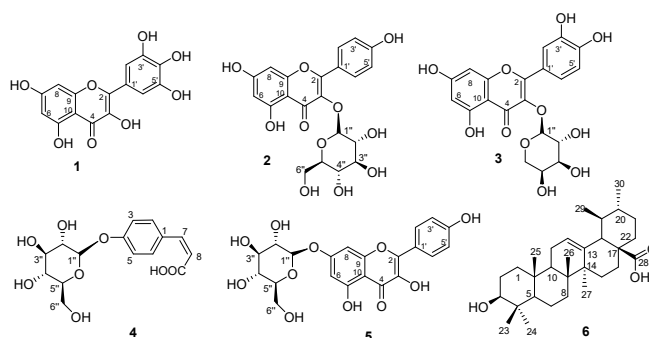
3.1.6. Hợp chất 6 (ursolic acid)

Hợp chất **6** phân lập được ở dạng chất bột màu trắng. Trên phổ ^1H -NMR của **6** xuất hiện 7 tín hiệu của nhóm ($-\text{CH}_3$) ở độ dịch chuyển δ_{H} 0,96 (3H, s, 24- CH_3); 0,65 (3H, s, 26- CH_3); 0,94 (3H, s, 30- CH_3); 0,78 (3H, s, 25- CH_3); 0,87 (3H, s, 29- CH_3); 0,98 (3H, s, 23- CH_3); 1,11 (3H, s, 27- CH_3). Ngoài ra, trên phổ ^1H -NMR cho thấy tín hiệu proton thuộc nhóm ($-\text{CH}$) tại độ dịch chuyển δ_{H} 2,01 (1H, d, $J = 12,5\text{Hz}$, H-18) có tương tác xa với nhóm ($-\text{CH}_3$) là đặc trưng cho các triterpen thuộc kiểu khung ursan. Tín hiệu cộng hưởng tại δ_{H} 5,25 (1H, dd, $J = 5,5; 12,5\text{Hz}$) là tín hiệu của proton H-12, thuộc nhóm ($=\text{CH}$) nối đôi với carbon tương ứng là δ_{C} 126,9 (C-12). Tất cả những dữ liệu trên cho phép kết luận hợp chất **6** là một triterpene thuộc kiểu khung ursan.

Dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho biết trong phân tử có 30 nguyên tử carbon, gồm 7 nhóm CH_3 , 9 nhóm CH_2 , 7 nhóm CH , và 7 carbon bậc 4. Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện 1 tín hiệu cộng hưởng đặc trưng cho carbon thuộc nhóm

carbonyl ($\text{C}=\text{O}$) của cacboxylic acid tại δ_{C} 180,4; một nối đôi ($>\text{C}=\text{CH}$) tại δ_{C} 139,3 (C-13) và 126,6 (C-12). Bên cạnh đó, trên phổ HMBC, các tương tác giữa H-24 (δ_{H} 0,96) với C-3 (δ_{C} 79,5); C4 (δ_{C} 39,6) và C-5 (δ_{C} 56,5) đã chứng minh nhóm hydroxy liên kết với C-3. Các tương tác giữa H-27 (δ_{H} 1,11) với C-8 (δ_{C} 40,4); C-13 (δ_{C} 139,3); C-14 (δ_{C} 43,1) và C-15 (δ_{C} 29,0); Giữa H-12 (δ_{H} 5,52) với C-9 (δ_{C} 48,6); C-14 (δ_{C} 43,1) và C-18 (δ_{C} 54,1) một lần nữa khẳng định có liên kết đôi giữ vị trí C-12 và C-13.

Kết hợp các dữ kiện phổ thu được và so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố cho phép xác định hợp chất **6** chính là ursolic acid [16].



Hình 1. Các hợp chất được phân lập từ lá ổi ở Hưng Yên, Việt Nam

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn

Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn của 6 hợp chất phân lập được thể hiện ở bảng 1 cho thấy ba hợp chất là guaijaverin (**3**), cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (**4**) và ursolic acid (**6**) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với ba chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* và *Pseudomonas aeruginosa* với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) dao động từ 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$. Đối với các chủng vi khuẩn và nấm còn lại thì ba hợp chất nêu trên thể hiện hoạt tính mức độ trung bình. Các hợp chất 1, hợp chất 2, hợp chất 5 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm ở mức độ trung bình đối

Bảng 1. Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn

Mẫu	MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. albicans</i>
Đối chứng dương*	6,2	9,8	9,4	8,7	17,8	6,5	3,7	2,9
Chất 1	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Chất 2	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Chất 3	50	100	100	>200	>200	>200	>200	>200
Chất 4	50	80	100	>200	>200	>200	>200	>200
Chất 5	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Chất 6	50	50	100	>200	>200	>200	100	>200

*Đối chứng dương: doxycycline cho vi khuẩn Gram (-), gentamicin cho vi khuẩn Gram (+), nystatin cho nấm

với tám chủng vi khuẩn và nấm được thử nghiệm với giá trị MIC > 200 μ g/mL. Kết quả nghiên cứu này là phù hợp với một số nghiên cứu đã công bố về tác dụng kháng khuẩn của cao chiết lá ổi [7, 8].

4. KẾT LUẬN

Từ phân đoạn cao chiết ethyl acetat của lá cây ổi thu tại Hưng Yên, Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc của 6 hợp chất trong đó có 4 hợp chất là flavonoid, 1 hợp chất là triterpenoid và 1 hợp chất là axit hữu cơ bao gồm: myricetin (1), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (2), guajaverin (3), cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4), apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) và ursolic acid (6). Trong đó hai hợp chất cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) và apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (5) lần đầu được phân lập từ lá cây ổi. Có thể thấy các hợp chất chính trong cao chiết lá ổi là các hợp chất polyphenol mà chủ yếu là các flavonoid. Tiến hành đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của 6 hợp chất phân lập được cho thấy ba hợp chất là guajaverin (3), cis-p-coumaric acid 4-O- β -D-glucopyranoside (4) và ursolic acid (6) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với ba chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* và *Pseudomonas aeruginosa* với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) dao động từ 50 - 100 μ g/mL. Ba hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở mức trung bình đối với tất cả các chủng vi khuẩn thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu này giúp bổ sung cơ sở dữ liệu về cả thành phần hoá học và tác dụng sinh học của cao chiết lá ổi cũng như là cơ sở cho việc định hướng khai thác và chế biến lá ổi tạo sản phẩm giúp chăm sóc sức khoẻ con người.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí của nhiệm vụ đề tài khoa học cấp Bộ, mã số: B2025-TNA -10

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Al-Alawi A., Ryan C. F., Flint J. D., Müller N. L., "Aspergillus-related lung disease," *Canadian respiratory journal*, 12(7), 377-387, 2005.
- [2]. World Health Organization, *WHO report on the global tobacco epidemic, 2013: enforcing bans on tobacco advertising, promotion and sponsorship*. World Health Organization, 2013.
- [3]. Incardona F., Doroudchi M. M., Ismail N., Carreno A., Griner E., Anna Lim M., "Registered report: Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization," *Elife*, 4, 85-89, 2015.
- [4]. Van Hieu N., Van Cong P., Duc N. V., Hien D. T. T., Nam D. T., Van Nhan L., Anh H. L. T., "Isolation, characterization, and nitric oxide production inhibitory activities of the metabolites from the *Psidium guajava* L. in Viet Nam," *Vietnam Journal of Science and Technology*, 62(2), 255-266, 2024.

- [5]. Abdelrahim S. I., Almagboul A. Z., Omer M. E. A., Elegami A., "Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L.," *Fitoterapia*, 73(7-8), 713-715, 2002.
- [6]. Sonawane R., "A review on the medicinal plant-*psidium Guajava* Linn.," *Int J Pharm Res Appl*, 6(6), 311-329, 2021.
- [7]. Thuyến N. T. B., Hạnh C. L. N., Thiện Đ. V. H., Mến T. T., "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết lá ổi *Psidium guajava* L.," *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 59, 129-133, 2023.
- [8]. Linh D. N., Phát N. T., Liêm N. Đ. T., Ni T. T. A., Duy N. T., Minh N. V., "Khảo sát tiềm năng kháng khuẩn từ cao chiết lá cây ổi (*Psidium guajava* L.)," *Tạp chí Khoa học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh - Kỹ thuật và Công nghệ*, 14(1), 84-94, 2019.
- [9]. Wang F., Chen Y. H., Zhang Y. J., Deng G. F., Zou Z. F., Li A. N., Li H. B., "Chemical components and bioactivities of *Psidium guajava*," *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 5(2), 98-114, 2014.
- [10]. Kowalska-Krochmal B., "The minimum inhibitory concentration of antibiotics: methods, interpretation, clinical relevance," *Pathogens*, 10(2), 165, 2021.
- [11]. Liu JunXi L. J., Di DuoLong D. D., Shi YanPing S. Y., "Diversity of chemical constituents from *Saxifraga montana* H.," *Journal of the Chinese Chemical Society*, 55, 4, 713-942, 2008.
- [12]. Guo J. W., Chen J. M., Lin L. J., Xu F., "Five chemical constituents of the ethyl acetate fraction from ethanol extract of *semen litchi*," *J Med Plants Res*, 6(1), 168-170, 2012.
- [13]. Schieber A., Hilt P., Conrad J., Beifuss U., Carle R., "Elution order of quercetin glycosides from apple pomace extracts on a new HPLC stationary phase with hydrophilic endcapping," *Journal of separation science*, 25(5-6), 361-364, 2002.
- [14]. Foo L. Y., Lu Y., Molan A. L., Woodfield D. R., McNabb W. C., "The phenols and prodelphinidins of white clover flowers," *Phytochemistry*, 54(5), 539-548, 2000.
- [15]. Chen Z., Ying X., Meng S., Zhu X., Jiang H., Cao Q., Meng F., "LC determination of luteolin-7-O- β -D-glucoside and apigenin-7-O- β -D-glucoside in rat plasma after administration of *Humulus scandens* extract and its application to pharmacokinetic studies," *Natural Product Research*, 26(6), 530-539, 2012.
- [16]. Seebacher W., Simic N., Weis R., Saf R., Kunert O., "Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18 α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives," *Magnetic Resonance in Chemistry*, 41(8), 636-638, 2003.

AUTHORS INFORMATION

Le Xuan Duy¹, Nguyen Thi Kim An², Le Thi Thuy Loan³, Vu Thi Thu Le⁴

¹ National Institute of Medicinal Materials, Minister of Health, Vietnam

² Hanoi University of Industry, Vietnam

³ Tay Nguyen University, Vietnam

⁴ Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam