

Hoạt tính ức chế gốc tự do nitric oxide của các hợp chất được phân lập từ cây Mã đề (*Plantago major*)

Lê Hữu Thọ^{1,2,*}, Trình Phượng Vi¹, Vũ Nguyễn Phương Anh¹, Nguyễn Xuân Hải^{1,2}, Đỗ Văn Nhật Trường^{1,2}, Lê Minh Khang³, Tôn Thất Quang¹, Nguyễn Thị Thanh Mai^{1,2}



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

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

²Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

³Phòng thí nghiệm phân tích trung tâm, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Lê Hữu Thọ, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: lhtho@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 12-9-2024
- Ngày sửa đổi: 27-10-2025
- Ngày chấp nhận: 18-3-2026
- Ngày đăng: 27-03-2026

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v10i1.1409>



Bản quyền

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

TÓM TẮT

Cây Mã đề (*Plantago major*) là loài cây thân thảo sống lâu năm, có thân ngắn, cao khoảng 15-45 cm và rễ mọc thành chùm và được tìm thấy nhiều tỉnh thành Việt Nam. Mã đề xuất hiện trong nhiều bài thuốc dân gian để điều trị các bệnh ho, lao phổi, bông, sốt xuất huyết, tiểu đường, viêm gan, tiêu chảy, cao huyết áp, ngoài ra nó được dùng như một vị thuốc lợi tiểu. Nghiên cứu hoạt tính ức chế gốc tự do nitric oxide (NO) một số dược liệu Việt Nam cho thấy cao chiết methanol của Mã đề có khả năng ức chế với giá trị $IC_{50} = 75,8 \mu\text{g/mL}$. Sử dụng phương pháp sắc ký cột kết hợp với sắc ký bản mỏng điều chế trên pha thường và pha đảo các phân đoạn PMA và PMC của loài này dẫn đến phân lập được tám hợp chất. Chúng bao gồm hai hợp chất iridoid là 3β -methoxyartselawnin C (**1**), iridolactone (**2**), 3 hợp chất alkaloid là uridine (**3**), caffein (**4**), paraxanthine (**5**) và 3 hợp chất phenolic là acid 4-hydroxybenzoic (**6**), vanillin (**7**) và 3,5-dihydroxyfuran-2(5H)-one (**8**). Cấu trúc của chúng được định danh bằng cách phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D- và 2D-NMR), phổ khối lượng (HRMS) kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo. Hợp chất **1-5** và **8** được báo cáo lần đầu tiên trong loài này. Thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế gốc tự do NO cho thấy tất cả các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy các hợp chất **2, 3** và **7** có giá trị IC_{50} lần lượt là 99,6, 77,9 và $34,2 \mu\text{M}$ trong khi các hợp chất còn lại có hoạt tính sinh học yếu.

Từ khoá: Mã đề, NO, *Plantago major*, kháng oxy hóa

MỞ ĐẦU

Cây Mã đề, có tên khoa học là *Plantago major*, được biết đến là một loài cây xuất hiện phổ biến trên thế giới. Đây là loài cây thân thảo sống lâu năm, có thân ngắn, cao khoảng 15-45 cm và rễ mọc thành chùm. Ở Việt Nam, Mã đề mọc hoang dại ở vùng núi và được trồng tại nhiều nơi ở các tỉnh Hà Giang, Thanh Hóa, Quảng Ninh, Đắk Lắk và An Giang^{1,2}. Trong y học cổ truyền ở nhiều quốc gia, cây Mã đề có nhiều tác dụng dược lý và được dùng để chữa một số bệnh như ho, tiêu chảy, các bệnh ngoài da như bông, mụn, ngoài ra cây còn được xem là một loại thuốc lợi tiểu¹. Đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy cây Mã đề có thành phần hóa học đa dạng như iridoid glycoside, flavonoid, alkaloid, terpenoid và các hợp chất polyphenol³⁻¹¹. Tinh dầu, cao chiết và một số hoạt chất từ loài này có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm, ức chế enzyme xanthine oxidase¹²⁻¹⁴. Ở Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài cây này. Viêm là một phần trong hệ thống phản ứng sinh học của các mô với những kích thích có hại do tác động vật lý, nhiệt độ khắc nghiệt, chất kích thích và chủ yếu là mầm bệnh truyền nhiễm. Tình trạng viêm không

điều hòa và kéo dài có thể dẫn đến nhiều tình trạng bệnh khác nhau bao gồm viêm dạ dày, viêm thực quản, viêm gan, xơ vữa động mạch và ung thư¹⁵. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng các đại thực bào có liên quan đến tình trạng viêm mãn tính bằng cách sản xuất ra nhiều quá mức các chất trung gian gây viêm khác nhau, điển hình là các gốc tự do NO. Sự xuất hiện nhiều các gốc tự do này phản ánh mức độ của quá trình viêm, làm tiền đề để đánh giá tác động của các đối tượng nghiên cứu¹⁵. Vì vậy, việc tìm ra các hoạt chất có khả năng ức chế sản xuất gốc tự do là định hướng nghiên cứu cần thiết trong việc hỗ trợ điều trị các hội chứng liên quan đến viêm. Nghiên cứu sàng lọc một số dược liệu Việt Nam của chúng tôi đã cho thấy cao chiết methanol của Mã đề có khả năng ức chế gốc tự do NO với giá trị $IC_{50} = 75,8 \mu\text{g/mL}$. Nghiên cứu này tập trung báo cáo về quy trình phân lập, xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Mã đề và đánh giá hoạt tính ức chế gốc tự do của chúng.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trích dẫn bài báo này: Hữu Thọ L, Phượng Vi T, Phương Anh V N, Xuân Hải N, Nhật Trường D V, Minh Khang L, Thất Quang T, Thanh Mai N T. **Hoạt tính ức chế gốc tự do nitric oxide của các hợp chất được phân lập từ cây Mã đề (*Plantago major*)**. VNUHCM J. Adv. Res. Nat. Sci. 2026, 10(1):3556-3563.

Hóa chất và thiết bị

Các dung môi *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate và methanol với độ tinh khiết > 99%, silica gel pha thường 60 0,06 – 0,2 mm từ Scharlau (Tây Ban Nha), silica gel pha đảo LiChroprep RP-18, 40-63 μm từ Merck (Đức). Bản mỏng silica gel pha thường Kieselgel 60F₂₅₄ và silica gel pha đảo LiChroprep RP-18, 40-63 μm từ Merck (Đức). Máy ghi phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker-500 MHz từ Bruker (Thái Lan) với dung môi CDCl₃, CD₃COCD₃, CD₃OD và CD₃SOCD₃ chứa chất nội chuẩn TMS. Máy khối phổ HRESI-MS Bruker micrOTOF-QII từ Bruker (Singapore) và HRESI-MS Xevo G2-XS QToF từ Waters, USA. Sodium nitroprusside dihydrate từ Merck (Đức), sulfanilamide từ Acros organics (Mỹ) và N-(1-naphthyl)ethylenediamine từ Sigma-Aldrich (Mỹ), quercetin từ Sigma-Aldrich, acid metaphosphoric, disodium hydrogen phosphate dodecahydrate và sodium dihydrogen phosphate dihydrate từ Xilong (Trung Quốc).

Đối tượng nghiên cứu

Cây Mã đề tươi có khối lượng 20 kg được lấy từ xã Eatyh, huyện Earkar, tỉnh Đắk Lắk vào tháng 12/2021. Mẫu cây được định danh bởi ThS. Hoàng Việt, khoa Sinh học – Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM và được lưu giữ tại Bộ môn Hóa Dược, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM (MDC-9010). Toàn bộ mẫu cây tươi được rửa sạch, phơi khô và xay nhỏ với kích thước trung bình đạt 5 mm. Mẫu dược liệu sau xử lý thu được 5,0 kg, có độ ẩm đạt 10,7% và được bảo quản nơi khô ráo, thoáng khí.

Ly trích, điều chế mẫu cao và phân lập hợp chất

Từ 5,0 kg mẫu Mã đề khô, tiến hành xay nhỏ và chiết Soxhlet lượng mẫu này với dung môi methanol thu được cao MeOH toàn phần (487,5 g). Thực hiện phân tán hoàn toàn cao MeOH toàn phần vào nước và chiết lỏng - lỏng với dung môi *n*-hexane và sau đó EtOAc đã thu được dịch chiết tương ứng. Tất cả các dịch trích thu được đem cô quay áp suất kém thu hồi dung môi, thu được cao *n*-hexane (65,0 g) và cao EtOAc (144,0 g). Cao EtOAc được sắc ký cột silica gel pha thường (NP-CC) với hệ dung môi giải ly CHCl₃-MeOH theo tỉ lệ MeOH tăng dần (0, 5, 10, 20, 50 và 100%). Dung dịch ra khỏi cột sắc ký được hứng bằng erlen 500 mL và cô quay áp suất thấp thu hồi dung môi. Các mẫu ra khỏi cột được tiến hành sắc ký lớp mỏng, hiện vết hấp thụ tại vùng UV 254 nm và hiện màu bằng thuốc thử H₂SO₄ 20 %, nhiệt độ 80-100°C thu được 9 cao phân đoạn ký hiệu lần lượt là

PMA – PMI. Phân đoạn **PMA** (2,1g) được tiến hành NP-CC và giải ly với hệ dung môi *n*-hexane-acetone với tỷ lệ acetone tăng dần từ 5 – 100% thu được 12 phân đoạn **PMA1** (63,7 mg), **PMA2** (29,8 mg), **PMA3** (431,2 mg), **PMA4** (89,8 mg), **PMA5** (85,8 mg), **PMA6** (82,3 mg), **PMA7** (44,3 mg), **PMA8** (52,3 mg), **PMA9** (212,7 mg), **PMA10** (129,3 mg), **PMA11** (106,7 mg) và **PMA12** (820,5 mg). Phân đoạn **PMA12** được tiến hành NP-CC, giải ly với hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc với tỷ lệ EtOAc tăng dần (10, 20, 30, 50 và 100 %) thu được hợp chất **4** (350,5 mg). Phân đoạn **PMC** (3,4 g) được tiến hành NP-CC và giải ly với hệ dung môi CHCl₃-acetone với tỷ lệ acetone tăng dần từ 5 – 100% thu được 16 phân đoạn gồm **PMC1** (38,8 mg), **PMC2** (165,4 mg), **PMC3** (139,9 mg), **PMC4** (134,4 mg), **PMC5** (35,5 mg), **PMC6** (66,7 mg), **PMC7** (85,1 mg), **PMC8** (71,0 mg), **PMC9** (35,6 mg), **PMC10** (218,1 mg), **PMC11** (196,0 mg), **PMC12** (96,0 mg), **PMC13** (179,1 mg), **PMC14** (172,9 mg), **PMC15** (137,8 mg) và **PMC16** (196,3 mg). Phân đoạn **PMC6** được tiến hành sắc ký cột silica gel pha đảo (RP-CC) với hệ dung môi acetone-H₂O với tỷ lệ acetone tăng dần (10, 20, 30, 50 và 100 %) thu được hợp chất **6** (2,7 mg) và hợp chất **7** (4,2 mg). Phân đoạn **PMC7** được tiến hành lọc rửa tinh thể với *n*-hexane thu được hợp chất **5** (11,4 mg). Tiến hành RP-CC phân đoạn **PMC11** với hệ dung môi MeOH-H₂O với tỷ lệ MeOH tăng dần (10, 20, 30, 50 và 100 %), kết hợp lọc, rửa tinh thể bằng *n*-hexane thu được hợp chất **8** (5,1 mg). Phân đoạn **PMC13** được tiến hành NP-CC, giải ly với CHCl₃-MeOH với tỷ lệ MeOH tăng dần (10, 20, 30, 50 và 100 %) thu được hai phân đoạn **PMC13.1** (18,2 mg) và **PMC13.2** (22,0 mg). Thực hiện sắc ký điều chế silica gel pha thường (NP-PTLC) phân đoạn **PMC13.1** với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (90:10) thu được hợp chất hợp chất **1** (7,5 mg). Tương tự, NP-PTLC phân đoạn **PMC13.2** với hệ dung môi CHCl₃-Isopropanol (95:5) thu được hợp chất **2** (6,3 mg). Phân đoạn **PMC16** được tiến hành NP-CC, giải ly với hệ dung môi CHCl₃-MeOH với tỷ lệ MeOH tăng dần (10, 20, 30, 50 và 100 %); sau đó thực hiện NP-PTLC với hệ dung môi giải ly CHCl₃-MeOH-H₂O (87:10:3) thu được hợp chất **3** (6,1 mg).

Quy trình thử hoạt tính kháng oxy hóa

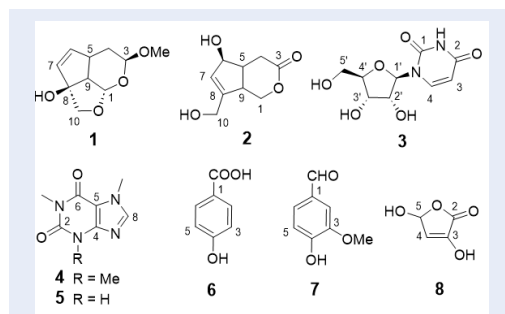
Thử nghiệm hoạt tính ức chế gốc tự do NO được thực hiện như sau: các mẫu hợp chất được hòa tan trong dung dịch đệm phosphate pH = 7,4 (nồng độ 0,01M, chứa 3% DMSO) và được sử dụng tại các nồng độ kiểm tra 10, 25, 50 và 100 μM . 100 μL Natri nitroprusside (100 mM) được thêm vào 3 mL dung dịch mẫu

thử để bắt đầu phản ứng. Mỗi phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ phòng và ánh sáng ổn định trong 180 phút. Sau đó, cho 750 μ L hỗn hợp thuốc thử Griess (100 mM) vào hỗn hợp phản ứng và ủ thêm 15 phút. Hoạt tính kháng oxy hóa được định lượng bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 557 nm. Chất kháng oxy hóa quercetin được biết đến rộng rãi trên thị trường được chọn như chất đối chứng dương để kiểm soát quy trình nghiên cứu này¹⁶. Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần và hoàn toàn ngẫu nhiên. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel 365. Sử dụng phương pháp phân tích phương sai một chiều (ANOVA), kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn ($p < 0,05$) cho thấy ý nghĩa thống kê.

Khả năng ức chế của mẫu khảo sát được tính dựa trên phần trăm ức chế I (%) theo công thức: $I (\%) = \frac{A_{đi\ chng}}{A_{muth}} \times 100 \%$. Trong đó, $A_{đi\ chng}$ là giá trị mật độ quang của dung dịch không chứa mẫu khảo sát và A_{muth} là giá trị mật độ quang của dung dịch chứa mẫu khảo sát. Dựa vào giá trị phần trăm ức chế (I; %) tại các nồng độ thử nghiệm sẽ tìm được giá trị nồng độ ức chế được 50 % NO trong thí nghiệm này, gọi là giá trị IC₅₀.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

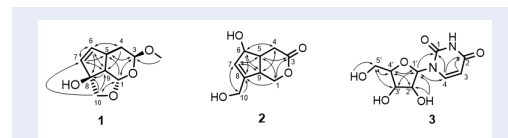
Thực hiện sắc ký cột kết hợp sắc ký bản mỏng điều chế pha thường và pha đảo phân đoạn PMA và PMC của cao ethyl acetate của cây Mã đề đã phân lập được tám hợp chất. Cấu trúc các hợp chất này được tiến hành phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ khối lượng kết hợp so sánh tài liệu tham khảo. Cấu trúc của chúng được xác nhận là 3 β -methoxyartselawnin C (1)¹⁷, iridolactone (2)¹⁸, uridine (3)^{19,20}, caffeine (4)²¹, paraxanthine (5)²², acid 4-hydroxybenzoic (6)²³, vanillin (7)²³ và 3,5-dihydroxyfuran-2(5H)-one(8)²⁴ (Hình 1).



Hình 1: Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ cây Mã đề (*Plantago major*). [Nguồn: Nhóm tác giả]

Hợp chất 1 có dạng bột, màu trắng, tan tốt trong dung môi methanol. Phổ ¹H-NMR trong dung môi

CD₃OD của hợp chất 1 ở vùng trường thấp cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của hai proton olefin ghép *cis* [δ_H 5,82 (1H, *d d*, $J = 5,5$ và $2,5$ Hz, H-6) và 5,72 (1H, *dd*, $J = 5,5$ và $2,5$ Hz, H-7)] và hai proton acetal [δ_H 5,50 (1H, *d*, $J = 5,9$ Hz, H-1) và 4,66 (1H, *dd*, $J = 7,8$ và $3,7$ Hz, H-3)]. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methine [δ_H 3,28 (1H, *m*, H-5) và 2,51 (1H, *dd*, $J = 8,8$ và $5,9$ Hz, H-9)], hai nhóm methylene [δ_H 3,90 (1H, *d*, $J = 9,3$ Hz, H-10a), 3,70 (1H, *d*, $J = 9,3$ Hz, H-10b) và 1,89 (1H, *ddd*, $J = 13,9$, $4,5$ và $3,7$ Hz, H-4a), 1,71 (1H, *ddd*, $J = 13,9$, $7,8$ và $6,2$ Hz, H-4b)] và một nhóm methoxyl [δ_H 3,38 (3H, *s*, 3-OMe)]. Phổ ¹³C-NMR trong dung môi CD₃OD của hợp chất 1 cho thấy sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 10 carbon. Trong đó, ở vùng trường thấp có sự xuất hiện tín hiệu của hai carbon olefine methine [δ_C 139,3 (C-6) và 135,4 (C-7)] và hai carbon acetal [δ_C 102,0 (C-1) và 98,0 (C-3)]. Ở vùng trường cao có tín hiệu của một carbon tứ cấp gắn oxygen [δ_C 94,1 (C-8)], hai carbon methine [δ_C 40,3 (C-5) và 51,0 (C-9)], hai carbon methylene [δ_C 31,3 (C-4) và 75,9 (C-10)] và một carbon nhóm methoxyl [δ_C 55,7 (3-OMe)]. Từ dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất 1 cho thấy cấu trúc của hợp chất iridoid. Phân tích phổ HSQC và HMBC cho thấy có một đơn vị iridoid với nối đôi tại vị trí C-6 và C-7, một nhóm methoxyl tại vị trí C-3. Ngoài ra, tương quan từ H-1 đến C-10 và từ H-10 đến C-1 cho phép đề nghị cầu nối ether giữa C-1 và C-10, hình thành vòng tetrahydrofuran. Nhóm hydroxyl được đề nghị tại vị trí C-8 thông qua độ dịch chuyển hóa học của carbon tứ cấp gắn oxygen C-8 (δ_C 94,1 ppm) (Hình 2). Kết quả năng lực triển quang của hợp chất 1 là $\alpha_D^{25} = +96,8$ (0,50g/100mL, MeOH), tương đồng với dữ liệu đã công bố trước đây ($\alpha_D^{30} = +139,99$ (c 0,12, MeOH)¹⁷. Từ các biện luận trên, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, cho phép xác định hợp chất 1 là 3 β -methoxyartselawnin C¹⁷. Đây là hợp chất được báo cáo lần đầu tiên trong loài này.



Hình 2: Tương quan HMBC (mũi tên) của các hợp chất 1-3. [Nguồn: Nhóm tác giả]

Hợp chất 2 có dạng gel trong suốt, tan tốt trong dung môi methanol. Phân tích dữ liệu phổ HRMS-ESI cho thấy tín hiệu của mũi ion phân tử giả $[M+Na]^+$ có m/z là 207,0639, lệch 0,6 mMass so với lý thuyết có m/z là

207,0633. Từ đó cho phép xác định công thức phân tử là $C_9H_{12}O_4$. Phổ 1H -NMR trong dung môi CD_3OD có sự xuất hiện tín hiệu của một proton olefin [δ_H 5,77 (1H, *d*, $J = 5,9$ Hz, H-7)], một proton oxymethine [δ_H 4,44 (1H, *dd*, $J = 5,9$ và $2,2$ Hz, H-6)], hai nhóm oxymethylene [δ_H 4,42 (1H, *dd*, $J = 11,8$ và $4,2$ Hz, H-1a), 4,32 (1H, *dd*, $J = 11,7$ và $4,0$ Hz, H-1b), 4,22 (1H, *dd*, $J = 14,6$ và $1,2$ Hz, H-10a) và 4,16 (1H, *dd*, $J = 14,6$ và $1,4$ Hz, H-10b)], hai proton methine [δ_H 3,36 (1H, *m*, H-9) và 2,70 (1H, *m*, H-5)] và một nhóm methylene [δ_H 2,91 (1H, *dd*, $J = 15,0$ và $7,6$ Hz, H-4a) và 2,56 (1H, *dd*, $J = 15,0$ và $4,2$ Hz, H-4b)]. Phổ ^{13}C -NMR trong dung môi CD_3OD cho thấy sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của chín carbon. Trong đó có một carbon carbonyl nhóm ester [δ_C 175,8 (C-3)], một carbon olefin methine [δ_C 130,3 (C-7)], một carbon olefin tứ cấp [δ_C 147,6 (C-8)], một carbon oxymethine [δ_C 83,4 (C-6)], hai carbon oxymethylene [δ_C 68,3 (C-1) và 60,3 (C-10)], hai carbon methine [δ_C 45,0 (C-5) và 44,7 (C-9)] và một carbon methylene [δ_C 34,4 (C-4)]. Từ dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR cho thấy hợp chất 2 có khung 4-noriridoid. Phân tích phổ HSQC và HMBC xác định được nối đôi tại C-7 và C-8 thông qua tương quan HMBC của H-7 đến C-5/C-6/C-8/C-9 (Hình 2). Từ các biện luận này, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo¹⁸ cho phép xác định hợp chất 2 là iridolactone và đây là lần đầu tiên hợp chất này được tìm thấy trong cây Mã đề (*P. major*).

Hợp chất 3 có dạng gel trong suốt, tan tốt trong dung môi DMSO. Phân tích dữ liệu phổ HRMS-ESI cho thấy tín hiệu của mui ion phân tử giả $[M+Na]^+$ có m/z là 267,0609, lệch 1,6 mMass so với lý thuyết có m/z là 267,0593. Từ đó cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất 3 là $C_9H_{12}N_2O_6$. Phổ 1H -NMR trong dung môi CD_3SOCD_3 cho tín hiệu của hai proton olefin ghép *cis* [δ_H 5,64 (1H, *d*, $J = 8,0$ Hz, H-3) và 7,88 (1H, *d*, $J = 8,1$ Hz, H-4)]. Ngoài ra còn có sự xuất hiện tín hiệu của một proton anomer [δ_H 5,78 (1H, *d*, $J = 5,4$ Hz, H-1')], ba nhóm oxymethine [δ_H 4,02 (1H, *d*, $J = 4,7$ Hz, H-2'), 3,97 (1H, *d*, $J = 4,7$ Hz, H-3') và 3,83 (1H, *d*, $J = 3,6$ và $3,0$ Hz, H-4')], một nhóm oxymethylene [δ_H 3,60 (2H, *m*, H-5')] và hai nhóm hydroxyl [δ_H 5,36 (1H, *d*, $J = 5,1$ Hz, H-2'-OH) và 5,07 (1H, *d*, $J = 5,0$ Hz, H-5'-OH)] cho phép xác nhận có một đơn vị đường ribofuranosyl. Phổ ^{13}C -NMR trong dung môi CD_3SOCD_3 cho thấy sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của chín carbon. Trong đó có hai carbon carbonyl nhóm amide [δ_C 150,7 (C-1) và 163,1 (C-2)], hai carbon olefin methine [101,7 (C-3) và 140,7 (C-4)]. Ngoài ra có sự xuất hiện tín hiệu của một carbon anomer [δ_C 87,7 (C-1')], ba carbon oxymethine [δ_C 84,2 (C-4'), 73,5 (C-2') và 69,9 (C-3')] và một carbon oxymethylene tại [δ_C 60,9 (C-5')].

Từ dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR cho thấy hợp chất 3 được hình thành từ một đơn vị đường ribofuranosyl gắn với một đơn vị uracil. Phân tích phổ HSQC và HMBC cho thấy đơn vị uracil gắn với đơn vị đường ribofuranosyl tại vị trí C-1' thông qua tương quan HMBC của H-1' đến C-1/C-4. Xác định cấu trúc -ribofuranosyl trong hợp chất 3 dựa vào phân tích độ dịch chuyển hóa học và hằng số ghép của proton anomer H-1' (δ_H 5,78, $J = 5,4$ Hz) (Hình 2). Từ các biện luận này, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo^{19,20} cho phép xác định hợp chất 3 là uridine. Đây là hợp chất được tìm thấy lần đầu tiên trong loài này.

Hợp chất 4 có dạng vảy, màu trắng, tan tốt trong dung môi chloroform. Phổ 1H -NMR trong dung môi $CDCl_3$ ở vùng trường thấp cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một proton olefin cô lập [δ_H 7,49 (1H, *s*, H-8)]. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của ba nhóm methyl [δ_H 3,96 (3H, *s*, 7-Me), 3,55 (3H, *s*, 3-Me) và 3,37 (3H, *s*, 1-Me)]. Phổ ^{13}C -NMR trong dung môi $CDCl_3$ của hợp chất 4 cho thấy sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của tám carbon. Trong đó, ở vùng trường thấp có tín hiệu của hai carbon carbonyl nhóm amide [δ_C 155,5 (C-6) và 151,8 (C-2)], ba carbon olefin [δ_C 148,8 (C-4), 141,5 (C-8) và 107,7 (C-5)]. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của ba carbon methyl [δ_C 33,7 (7-Me), 29,8 (3-Me) và 28,0 (1-Me)]. Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất 4 cho thấy cấu trúc của hợp chất xanthine. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 4 với hợp chất caffeine²¹ cho thấy có sự trùng khớp. Đây là hợp chất lần đầu tiên tìm thấy trong loài này.

Hợp chất 5 có dạng bột, màu trắng, tan tốt trong dung môi DMSO. Phổ 1H -NMR trong dung môi CD_3SOCD_3 ở vùng trường thấp cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một proton olefin cô lập [δ_H 7,97 (1H, *s*, H-8)]. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methyl [δ_H 3,84 (3H, *s*, 7-Me) và 3,33 (3H, *s*, 1-Me)]. Phổ ^{13}C -NMR trong dung môi CD_3SOCD_3 của hợp chất 5 cho thấy sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của bảy carbon. Trong đó, ở vùng trường thấp có tín hiệu của hai carbon carbonyl nhóm amide [δ_C 155,0 (C-6) và 151,0 (C-2)], ba carbon olefin [δ_C 149,8 (C-4), 142,8 (C-8) và 107,1 (C-5)]. Ở vùng trường cao có sự xuất hiện tín hiệu của hai carbon methyl [δ_C 33,7 (7-Me) và 28,4 (1-Me)]. Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất 5 cho thấy cấu trúc của hợp chất xanthine. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 5 với hợp chất paraxanthine²² cho thấy có sự trùng khớp. Đây là hợp chất được báo cáo lần đầu tiên trong loài này.

Hợp chất 6 có dạng bột, màu trắng, tan tốt trong dung môi DMSO. Phổ 1H -NMR trong dung môi

CD₃SOCD₃ xuất hiện tín hiệu của bốn proton thơm tại [δ_H 7,91 (2H, *d*, *J* = 7,8 Hz, H-2 và H-6) và 6,91 (2H, *d*, *J* = 7,8 Hz, H-3 và H-5) tương ứng một vòng benzene hai nhóm thế tại vị trí *para*. Phổ ¹³C-NMR trong dung môi CD₃SOCD₃ của hợp chất **6** xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của bảy carbon gồm một tín hiệu carbon carbonyl nhóm acid [δ_C 167,7 (1-COOH)], một carbon thơm gắn oxygen [δ_C 162,6 (C-4)], một carbon thơm gắn nhóm thế [δ_C 122,7 (C-1)] và bốn carbon thơm methine [δ_C 132,7 (C-2 và C-6) và 116,0 (C-3 và C-5)]. Tiến hành tra cứu và so sánh với tài liệu tham khảo²³ cho phép xác định hợp chất **6** là acid 4-hydroxybenzoic.

Hợp chất **7** có dạng tinh thể màu trắng, tan tốt trong dung môi chloroform. Phổ ¹H-NMR trong dung môi CDCl₃ của hợp chất **7** ở vùng trường thấp có sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm aldehyde [δ_H 9,83 (1H, *s*)] và ba proton thơm ghép hệ ABX với nhau [δ_H 7,42 (1H, *dd*, *J* = 8,5 và 1,5 Hz, H-2), 7,04 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-5) và 7,43 (1H, *d*, *J* = 1,5 Hz, H-6)] tương ứng với một vòng benzene ba nhóm thế ở vị trí 1,3,4. Ở vùng trường cao xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của một nhóm methoxyl [δ_H 3,97 (3H, *s*, 3-OCH₃)]. Phổ ¹³C-NMR trong dung môi CDCl₃ xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của tám carbon. Ở vùng trường thấp xuất hiện của một carbon carbonyl nhóm andehyde [δ_C 190,8 (1-CHO)], hai carbon thơm gắn oxygen [δ_C 147,4 (C-3) và 151,9 (C-4)], một carbon thơm tứ cấp [δ_C 130,2 (C-1)], ba carbon thơm methine [δ_C 109,1 (C-2), 114,6 (C-5) và 127,6 (C-6)]. Ở vùng trường cao có xuất hiện tín hiệu của một carbon nhóm methoxyl [δ_C 56,3 (3-OCH₃)]. Tiến hành tra cứu và so sánh với tài liệu tham khảo²³ cho phép xác định hợp chất **7** là vanillin.

Hợp chất **8** có dạng tinh thể màu trắng, tan tốt trong dung môi DMSO. Phổ ¹H-NMR trong dung môi CD₃SOCD₃ cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một proton olefin [δ_H 7,38 (1H, *d*, *J* = 7,6 Hz, H-4)] và một nhóm oxymethine [δ_H 5,44 (1H, *d*, *J* = 7,6 Hz, H-5)]. Phổ ¹³C-NMR trong dung môi CD₃SOCD₃ xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của bốn carbon gồm một carbon carbonyl nhóm ester [δ_C 164,4 (C-2)], hai carbon olefin [δ_C 151,5 (C-3) và 143,2 (C-4)] và một carbon oxymethine [δ_C 100,2 (C-5)]. Dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR cho thấy hợp chất **8** có cấu trúc vòng γ -butyrolactone và tương hợp với tài liệu tham khảo²⁴. Kết quả này cho phép đề nghị cấu trúc hợp chất này là 3,5-dihydroxyfuran-2(5H)-one và đây là hợp chất được tìm thấy lần đầu tiên trong loài này. Tất cả các hợp chất phân lập được tiến hành thử nghiệm hoạt tính ức chế gốc tự do NO ở các nồng độ thử nghiệm 100, 50, 25 và 10 μ M. Kết quả thử nghiệm cho thấy các hợp chất đều có khả năng ức chế 1,09 – 61,95 % tại nồng độ thử nghiệm 100 μ M. Trong đó,

hợp chất **2**, **3** và **7** cho thấy hiệu quả ức chế với giá trị IC₅₀ lần lượt là 99,6, 77,9 và 34,2 μ M trong khi các hợp chất còn lại thể hiện khả năng ức chế yếu (Bảng 1).

KẾT LUẬN

Bằng cách thực hiện sắc ký cột kết hợp sắc ký lớp mỏng điều chế silica gel pha thường và pha đảo, tám hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn PMA và PMC của cao EtOAc cây Mã đề. Phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, phổ khối HRESIMS kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo cho phép đề nghị các hợp chất này là 3 β -methoxyartselawnin C (**1**), iridolactone (**2**), uridine (**3**), caffein (**4**), paraxanthine (**5**), acid 4-hydroxybenzoic (**6**), vanillin (**7**) và 3,5-dihydroxyfuran-2(5H)-one (**8**). Đây là công bố mới nhất sự xuất hiện các hợp chất **1-5** và **8** trong loài này. Thử nghiệm hoạt tính sinh học cho thấy hợp chất **2**, **3** và **7** thể hiện hoạt tính ức gốc tự do NO với giá trị IC₅₀ lần lượt là 99,6, 77,9 và 34,2 μ M trong khi các hợp chất còn lại thể hiện khả năng ức chế yếu.

DANH MỤC VIẾT TẮT

TMS: Chất nội chuẩn tetramethylsilane.

¹H-NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ¹H.

¹³C-NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ¹³C.

HMBC: Phổ tương quan hạt nhân giữa ¹³C và ¹H thông qua 2, 3 liên kết.

s: Mũi đơn (singlet)

d: Mũi đôi (doublet)

m: Mũi đa (multiple)

dd: Mũi đôi-đôi (doublet of doublets)

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam (MOST) trong khuôn khổ Chương trình mã số ĐTĐL.CN-118/21.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

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

ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Lê Hữu Thọ thiết kế thí nghiệm, giải cấu trúc các hợp chất, xử lý số liệu và viết bản thảo. Trinh Phương Vi và Vũ Nguyễn Phương Anh thực hiện phân lập các hợp chất tinh khiết và giải cấu trúc các hợp chất. Nguyễn Xuân Hải thiết kế thí nghiệm và thu thập nguyên vật liệu nghiên cứu. Đỗ Văn Nhật Trường điều chế các cao chiết. Lê Minh Khang thử nghiệm hoạt tính sinh học. Tôn Thất Quang và Nguyễn Thị Thanh Mai phân bố cục và chỉnh sửa bản thảo chi tiết. Tất cả các tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng.

Bảng 1: Kết quả thử nghiệm ức chế gốc tự do NO của các hợp chất phân lập được từ cây Mã đề (*P. major*)

Hợp chất	Phần trăm ức chế (I, %)				IC ₅₀ (μM)
	100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
1	16,64 ± 1,39	3,51 ± 1,36	–	–	>100
2	52,19 ± 0,8	21,31 ± 2,05	11,33 ± 2,57	8,71 ± 0,72	99,6
3	61,09 ± 0,82	36,58 ± 0,49	22,22 ± 1,96	6,41 ± 1,63	77,9
4	10,81 ± 2,66	4,14 ± 0,27	–	–	>100
5	1,09 ± 0,54	–	–	–	>100
6	35,63 ± 0,16	25,29 ± 0,16	15,19 ± 3,06	4,11 ± 1,13	>100
7	61,95 ± 1,52	55,51 ± 1,28	48,96 ± 1,91	32,48 ± 0,72	34,2
8	21,15 ± 0,60	12,69 ± 3,62	–	–	>100
Quercetin ^a	96,18 ± 1,15	84,71 ± 2,31	60,65 ± 0,53	44,82 ± 2,34	14,5

Kết quả I (%) được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn n = 3 cho thấy sự khác biệt các giá trị phần trăm ức chế giữa các nồng độ trong một mẫu thử nghiệm ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

– Không thể hiện hoạt tính ức chế.

^aChất đối chứng dương.

[Nguồn: Nhóm tác giả].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ TL. Những Cây Thuốc và vị Thuốc Việt Nam. Hà Nội: NXB Y Học; 2004.
- Nguyễn TB. Danh lục các loài thực vật Việt Nam. Hà Nội: NXB Nông Nghiệp; 2005.
- Taskova R, Handjieva N, Evstatieva L, Popov S. Iridoid glucosides from plantago cornuti, plantago major and veronica cymbalaria. *Phytochemistry*. 1999;52(8):1443–5. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00182-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00182-X).
- Bianco A, Guiso M, Passacantilli P, Francesconi A. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from new sources. *Journal of Natural Products*. 1984;47(5):901–2. Available from: <https://doi.org/10.1021/np50035a033>.
- Kawashty SA, el din EG, Abdalla MF, Saleh NA. Gamal-el-din E, Abdalla MF, Saleh NAM. Flavonoids of Plantago species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1994;22(7):729–33. Available from: [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(94\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0305-1978(94)90058-2).
- Guil JL, Rodríguez-García I, Torija E. Nutritional and toxic factors in selected wild edible plants. *Plant Foods for Human Nutrition*. 1997;51(2):99–107. Available from: <https://doi.org/10.1023/A:1007988815888>.
- Ringbom T, Segura L, Noreen Y, Perera P, Bohlin L. Ursolic acid from Plantago major, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *Journal of Natural Products*. 1998;61(10):1212–5. Available from: <https://doi.org/10.1021/np980088i>.
- Maksyutina N. Hydroxycinnamic acids of plantago major and Pl. Lanceolata. *Chemistry of Natural Compounds*. 1971;7(6):795–795. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00567943>.
- Bakker MI, Baas WJ, Sijm DT, Kollöffel C. Leaf wax of Lactuca sativa and plantago major. *Phytochemistry*. 1998;47(8):1489–93. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)01084-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)01084-4).
- Chatterton NJ, Harrison PA, Thornley WR, Bennett JH. Sucrosyloligosaccharides and cool temperature growth in 14 forb species. *Plant Physiology and Biochemistry* : PPB. 1990;28(2):167–72.
- Zennie TM, Ogzewalla D. Ascorbic acid and vitamin A content of edible wild plants of Ohio and Kentucky. *Economic Botany*. 1977;31(1):76–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02860657>.
- Başaran AA, Ceritoğlu II, Ündeğer Ü, Başaran N. Ceritoğlu İ, Ündeğer Ü, Başaran N. Immunomodulatory activities of some Turkish medicinal plants. *Phytotherapy Research* : PTR. 1997;11(8):609–11. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199712\)11:8<609:AID-PTR165>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199712)11:8<609:AID-PTR165>3.0.CO;2-0).
- Farzaei MH, Rahimi R, Abbasabadi Z, Abdollahi M. An evidence-based review on medicinal plants used for the treatment of peptic ulcer in traditional Iranian medicine. *International Journal of Pharmacology*. 2013;9(2):108–24. Available from: <https://doi.org/10.3923/ijp.2013.108.124>.
- Çoban T, Çitoğlu GS, Sever B, Işcan M. Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharmaceutical Biology*. 2003;41(8):608–13. Available from: <https://doi.org/10.1080/13880200390501974>.
- Farhana A. Biochemistry, lipopolysaccharide [Internet]. U.S. National Library of Medicine; 2023 [cited 2024 Jun 13]; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554414/>.
- Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2019;24(6):1123. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>.
- Ding YX, Li Q, Zhang H, Kim YH, Dou DQ. Iridoid constituents from the male flower of *Eucommia ulmoides* and their promotion proliferation on ESF-1. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2015;17(9):867–75. Available from: <https://doi.org/10.1080/10286020.2015.1039999>.
- Akdemir Z, Caliş I, Junior P. Iridoids and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis nordmanniana*. *Planta Medica*. 1991;57(6):584–5. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-2006-960215>.
- Mantsch HH, Smith IC. A study of solvent effects on the 13C nuclear magnetic resonance spectra of cholesterol, pyridine, and uridine. *Canadian Journal of Chemistry*. 1973;51(9):1384–91. Available from: <https://doi.org/10.1139/v73-207>.
- Deslauriers R, Smith IC. A comparison of the conformations of uridine, β-pseudouridine, and dihydrouridine in dimethyl sulfoxide and water. A 1H nuclear magnetic resonance study. *Canadian Journal of Chemistry*. 1973;51(6):833–8. Available from: <https://doi.org/10.1139/v73-125>.

21. Sitkowski J, Stefaniak L, Nicol L, Martin ML, Martin GJ, Webb GA. Complete assignments of the ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR spectra of Caffeine. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 1995;51(5):839–41. Available from: [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(94\)00192-E](https://doi.org/10.1016/0584-8539(94)00192-E).
22. Osterman RM, McKittrick BA, Chan TM. Regiochemical assignment of methylated purines and pyrimidines by selective inept. *Tetrahedron Letters*. 1992;33(34):4867–70. Available from: [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(94\)00192-E](https://doi.org/10.1016/0584-8539(94)00192-E).
23. Ralph S, Landucci L, Ralph J. NMR Database of lignin and cell wall model compounds. US Forest Products Laboratory; 2001. p. 60–76.
24. Dixit P, Khan MP, Swarnkar G, Chattopadhyay N, Maurya R. Osteogenic constituents from *Pterospermum acerifolium* Willd. flowers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011;21(15):4617–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.05.087>.

Nitric oxide radical scavenging activity of compounds isolated from *Plantago major*

Tho Huu Le^{1,2,3,*}, Vi Phuong Trinh^{1,2}, Anh Phuong Nguyen Vu^{1,2}, Hai Xuan Nguyen^{1,2,3},
Truong Nhat Van Do^{1,2,3}, Khang Minh Le^{2,4}, Quang That Ton^{1,2}, Mai Thanh Thi Nguyen^{1,2,3}



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

¹Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Central Laboratory for Analysis, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Tho Huu Le, Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: lhtho@hcmus.edu.vn

History

- Received: 12-9-2024
- Revised: 27-10-2025
- Accepted: 18-3-2026
- Published Online: 27-03-2026

DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v10i1.1409>



Copyright

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

ABSTRACT

Plantago major, a perennial herbaceous plant found across various provinces in Vietnam, is known for its short stem, growing 15–45 cm tall, with fibrous roots forming clusters. This plant is traditionally used in folk medicine to treat conditions such as cough, pulmonary tuberculosis, burns, dengue fever, diabetes, hepatitis, diarrhea, and hypertension, and is also used as a diuretic. A study investigating the nitric oxide (NO) radical scavenging activity of several Vietnamese medicinal plants revealed that the methanol extract of *P. major* exhibited significant inhibitory activity with an IC₅₀ value of 75,8 μg/mL. Utilizing column chromatography combined with preparative thin-layer chromatography on both normal and reverse phases, fractions PMA and PMC of this species led to the isolation of eight compounds. These include two iridoids: 3β-methoxyartselawnin C (**1**) and iridolactone (**2**); three alkaloids: uridine (**3**), caffeine (**4**), and paraxanthine (**5**); and three phenolics: 4-hydroxybenzoic acid (**6**), vanillin (**7**), and 3,5-dihydroxyfuran-2(5H)-one (**8**). Their structures were identified by analyzing nuclear magnetic resonance (1D- and 2D-NMR) data, high-resolution mass spectrometry (HRMS) data, and comparing them with literature references. Compounds **1–5** and **8** are reported for the first time in this species. NO radical scavenging activity assays indicated that compounds **2**, **3**, and **7** displayed IC₅₀ values of 99,6, 77,9, and 34,2 μM, respectively, while the remaining compounds exhibited weak biological activity.

Key words: *Plantago major*, antioxidant, NO, nitric oxide

Cite this article : Le T H, Trinh V P, Nguyen Vu A P, Nguyen H X, Van Do T N, Le K M, Ton Q T, Thi Nguyen M T. Nitric oxide radical scavenging activity of compounds isolated from *Plantago major*. VNUHCM J. Adv. Res. Nat. Sci. 2026, 10(1):3556-3563.