

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC DỊCH CHIẾT ETHYL ACETAT CỦA THÂN RỄ NGẢI BÚN (*Rhizoma Boesenbergiae panduratae*)

Hoàng Đức Thuận^{1,a}, Nguyễn Thị Như Quỳnh^{1,b}

¹Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng, Biên Hòa, Đồng Nai, Việt Nam

^ahoangthuand08@gmail.com, ^bds.nhuquynhnguyen@gmail.com

Received: 04th June 2020; Accepted: 27th July 2020

TÓM TẮT. Ngải bún là loài thuộc họ Gừng, phân bố nhiều ở các tỉnh miền tây Việt Nam, được sử dụng phổ biến trong các bài thuốc dân gian để điều trị bệnh. Thân rễ Ngải bún chứa nhiều hợp chất flavonoid có nhiều hoạt tính sinh học như ngăn ngừa ung thư tụy, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus, chống oxy hóa. Đề tài tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học dịch chiết thân rễ của Ngải Bún thu hái tại tỉnh Long An, Việt Nam. Đề tài sử dụng phương pháp chiết phân bố lỏng-lỏng để thu được dịch ethyl acetat, sau đó sử dụng sắc ký cột để phân lập các hợp chất và cấu trúc các hợp chất được xác định bằng phương pháp UV-Vis, MS, NMR kết hợp dữ liệu phổ từ tài liệu tham khảo. Kết quả từ dịch chiết ethyl acetat của thân rễ Ngải bún phân lập được 2 flavonoid là isopanduratin A và pinocembrin.

Từ khóa: Ngải bún, *Boesenbergia pandurata*, pinocembrin, isopanduratin A.

ABSTRACT. *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr. (Zingiberaceae) is widely used in traditional medicine in Southeast Asia. The main constituents of *Rhizoma Boesenbergiae panduratae* are flavonoid that showed various pharmacological activities, such as anti-pancreatitis, anti-inflammatory, antibacteria, antiviral, antioxidant effects. The study aimed to analyze the phytochemical constituents of the ethyl acetate extract of *Rhizoma Boesenbergiae panduratae*. The ethyl acetate extract was fractionated by using liquid-liquid extraction, the pure compounds were isolated by column chromatography and their structure were identified by MS, NMR spectroscopic methods, in comparison with literature data. Two flavonoids isolated from the ethyl acetate extract of *Rhizoma Boesenbergiae panduratae* were identified as isopanduratin A and pinocembrin.

Keywords: *Boesenbergia pandurata*, pinocembrin, isopanduratin A.

1. GIỚI THIỆU

Ngải bún là một loài thuộc họ Gừng (Zingiberaceae) phân bố nhiều ở các nước Đông Nam Á như Việt Nam, Thái lan, Myanmar, Indonexia, Malaysia. Ở Việt Nam, loài này được biết đến với tên gọi khác như Bông nga truat, được trồng ở các tỉnh miền Tây như Trà Vinh, Sóc Trăng, Long An, An Giang. Trước đây, loài này có nhiều tên khoa học như *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr., *Boesenbergia cochinchinensis* (Gagnep.) Loes., *Kaempferia pandurata* Roxb., *Kaempferia cochinchinensis* Gagnep., *Kaempferia ovata* Roscove, *Curcuma rotunda* L., *Gastrochilus rotunda* (L.) Alston,... nhưng hiện nay tên được chấp nhận là *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. với tên đồng nghĩa là *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr. Thân rễ Ngải bún từ lâu đã được người dân miền Tây Nam Bộ sử dụng để chế biến các món ăn như bún cá, bún mắm. Trong các bài thuốc dân gian ở nước Đông Nam Á, thân rễ Ngải bún được dùng với Cau để trị ho khan, hoặc được sử dụng trị đau dạ dày và lợi tiểu cho trẻ em [1]. Các nghiên cứu đã xác định thành phần hóa học Ngải bún chứa nhiều hợp chất flavonoid, đặc biệt là các flavonoid có nhóm thế prenyl với nhiều hoạt tính sinh học đã được chứng minh như tác dụng ngăn ngừa ung thư tụy [2], tác dụng kháng viêm [3], kháng khuẩn, kháng virus [4], chống oxy hóa [5]. Hiện nay, trong nước đã có các nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của Ngải bún. Năm 2018, nhóm nghiên cứu của Nguyễn Nhân Trung đã phân lập được các hợp chất flavonoid như nicolaioidesin A, panduratin A, isopanduratin A, hydroxypanduratin A, nicolaioidesin B, nicolaioidesin C,... trong đó có nhiều hợp chất mới từ thân rễ Ngải bún. Đồng thời nghiên cứu đã chỉ ra rằng dịch methanol thân rễ Ngải bún có hoạt tính trên dòng tế bào gây ung thư tuyến tụy PANC-1 [5]. Ngoài ra còn có các nghiên cứu khác trong nước chứng minh các

thành phần hóa học và tác dụng dược lý của Ngải bún [7-11].

Để tiếp tục làm rõ thành phần hóa học của cây Ngải bún ở Việt Nam, đồng thời làm cơ sở để tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về mặt dược lý của dược liệu Ngải bún, đề tài tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học dịch chiết ethyl acetat của thân rễ Ngải bún thu hái ở Long An, Việt Nam.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu

Thân rễ của cây Ngải bún (*Rhizoma Boesenbergiae panduratae*) được thu hái tại Long An vào tháng 7 năm 2017. Nguyên liệu được định danh bởi PGS.TS. Bùi Mỹ Linh (Khoa Dược – ĐH Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh) và mẫu được lưu tại Bộ môn Dược liệu – Đại học Lạc Hồng (Kí hiệu mẫu DLH-0017)

Hóa chất và dung môi

Dung môi sử dụng trong nghiên cứu là các dung môi đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng trong phân tích bao gồm ethanol, methanol, *n*-hexan, cloroform và ethyl acetat của hãng Xilong (Trung Quốc) sản xuất. Sắc ký cột dùng silica gel cỡ hạt 15 – 40 và 40 – 63 μm ; sắc ký lớp mỏng sử dụng silica gel F₂₅₄ tráng sẵn trên nền nhôm; đều của hãng Merck (Đức) sản xuất.

Trang thiết bị

Phổ khối (ESI-MS) được đo trên máy Aligent 1100 MC-LSD Trap; phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC) được đo trong dung môi DMSO-*d*₆ trên máy Bruker AM 500 FT-NMR Spectrometer tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất

Thân rễ Ngải bún (5 kg) được ngâm kiệt với ethanol 70% (50 lít). Dịch chiết còn được cô giảm áp, thu được 1 kg cao cồn. Cao cồn này được hòa với một lượng nước cất vừa đủ sau đó lắc tuần tự với *n*-hexan, ethyl acetat. Cô thu hồi dung môi thu được 3 cao phân đoạn gồm cao *n*-hexan (90,8 g), cao ethyl acetat (300,4 g) và cao nước (520,5 g).

2.2.2. Phân lập

100g cao ethyl acetat được sắc ký cột nhanh với 500 g silica gel (40-63 μ m); khai triển bằng dung môi *n*-hexan – clorofrom với tỷ lệ clorofrom tăng dần (0-50%) thu được 6 phân đoạn (PĐ 1-6).

PĐ-3 được cô giảm áp để thu hồi dung môi, thu được 1,5 g cặn. Sau khi loại tạp, cặn này được kết tinh lại nhiều lần (trong methanol) để thu được hợp chất **1** (237 mg).

PĐ-4 được cô giảm áp để thu hồi dung môi, thu được 3,9 g cặn. Sau khi loại tạp, cặn này được kết tinh lại nhiều lần (trong methanol) để thu được hợp chất **2** (200 mg).

2.2.3. Xác định cấu trúc hợp chất

Sử dụng các phương pháp phổ học (MS, NMR), phân tích trực tiếp và kết hợp so sánh với các dữ liệu phổ tương ứng trong các tài liệu tham khảo để xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được.

2. KẾT QUẢ

Hợp chất 1: dạng bột vô định hình không màu, kém tan trong *n*-hexan, tan được trong cloroform, dễ tan trong methanol, cho màu vàng nâu với thuốc thử vanillin sulfuric và màu nâu với thuốc thử FeCl₃.

Phổ *ESI-MS* [M-H]⁻ *m/z* = 407,18 tương ứng với công thức phân tử C₂₆H₃₀O₄ = 406.

Phổ ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ ppm 105,3 (C-1); 162,6 (C-2); 91,5 (C-3); 164,5 (C-4); 95,9 (C-5); 166,6 (C-6); 205,4 (C-7); 55,9 (C-8); 53,5 (C-1'); 42,1 (C-2'); 136,6 (C-3'); 120,8 (C-4'); 35,6 (C-5'); 36,5 (C-6'); 22,7 (C-7'); 28,4 (C-1''); 124,1 (C-2''); 130,7 (C-3''); 17,6 (C-4''); 25,4 (C-5''); 147,0 (C-1'''); 126,9 (C-2'''); 128,1 (C-3'''); 125,1 (C-4''').

Phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ ppm 5,98 *d* (2,0 Hz, H-3); 5,78 *d* (2,0 Hz, H-5); 3,86 *s* (3H, H-8); 4,43 *dd* (11,5; 4,5 Hz, H-1'); 2,43 *q* (4,5 Hz, H-2'); 5,39 *s* (H-4'); 2,3 *m* (H-5'a); 1,9 *m* (H-5'b); 3,3 *q* (11,5 Hz, H-6'); 2,15 *m* (H-1''a); 2,01 *m* (H-1''b); 4,83 *m* (H-2'''); 1,45 *s* (3H, H-4''); 1,47 *s* (3H, H-5'''); 1,76 *s* (3H, H-7'); 7,12 *m* (2H, H-2''/6''); 7,18 *m* (2H, H-3''/5''); 7,07 *m* (H-4''), 10,55 *m* (4-OH).

Phổ ¹³C-NMR của hợp chất **1** cho 24 tín hiệu carbon, trong đó có 2 tín hiệu methin ở δ _C 128,1 và 126,9; trên phổ HSQC mỗi tín hiệu carbon này lại tương tác với 2 proton cho thấy có sự đối xứng trong cấu trúc phân tử, do đó hợp chất **1** có 26 carbon. Như vậy phổ ¹³C-NMR hợp chất **1** gồm 8 carbon bậc 4, 12 carbon methin, 2 carbon methylen, và 4 carbon methyl. 12 carbon thơm ứng với 10 tín hiệu trong vùng δ _C 92,2 – 168,6; 1 tín hiệu carbonyl (>C=O) ở δ _C 205,4 và 1 tín hiệu oxymethin (Ph-OCH₃) duy nhất với δ _C 55,9. Hai tín hiệu methin ở δ _C 128,1 và 126,9 là tín hiệu của 2 cặp carbon đối xứng, đồng thời dựa trên dữ liệu phổ DEPT và HSQC, tín hiệu δ _C 120,8 tương ứng carbon C-4'

là một carbon methin, như vậy đây là các tín hiệu của một vòng thơm không nhóm thế.

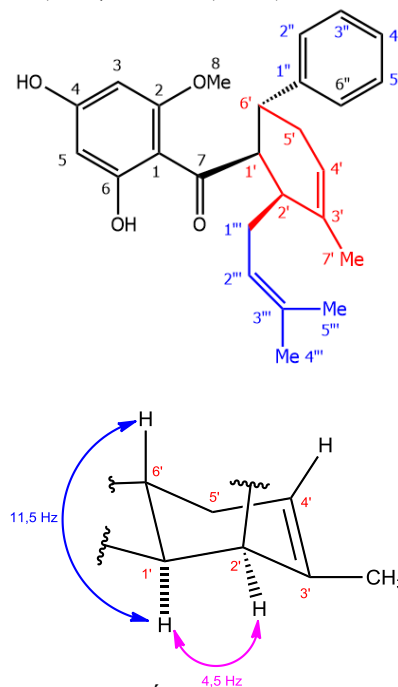
Phổ ¹H-NMR và phổ HSQC cho thấy có 5 tín hiệu của 7 proton thuộc 2 vòng thơm. Tín hiệu tại δ _H 5,78 *d* (*J* = 2 Hz) ghép *meta* với proton tại δ _H 5,98 *d* (*J* = 2 Hz). Mỗi tương quan cấu hình các carbon bất đối (1', 2', 6') được xác định qua các trị số hằng số ghép. Trị số *J* = 11,5 Hz giữa H-1' và H-6' lớn chỉ ra rằng giữa 2 proton định hướng *trans*, trị số *J* = 4,5 Hz giữa H-1' và H-2' chỉ ra rằng giữa 2 proton định hướng *cis*. Kết hợp các dữ liệu phổ HMBC và so sánh với tài liệu tham khảo [6], [12], hợp chất **1** được xác định là isopanduratin A.

Hợp chất 2: dạng bột vô định hình không màu, kém tan trong *n*-hexan, tan được trong cloroform, ethyl acetat, dễ tan trong methanol, cho màu hồng đậm với thuốc thử vanillin sulfuric, màu vàng nâu với thuốc thử FeCl₃.

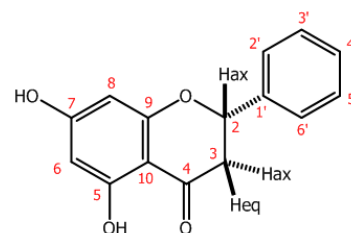
Phổ *ES-MS*: [M-H]⁻ *m/z* = 255,32; tương ứng với công thức phân tử C₁₅H₁₂O₄ = 256.

Phổ ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz); δ ppm 78,4 (C-2); 42,1 (C-3); 195,9 (C-4); 163,5 (C-5); 95,9 (C-6); 166,7 (C-7); 95,1 (C-8); 162,7 (C-9); 101,8 (C-10); 138,7 (C-1'); 126,6 (C-2', C-6'); 128,5 (C-3', C-4', C-5').

Phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz); δ ppm 5,58 *dd* (12,5; 3,0 Hz, H-2ax); 3,25 *dd* (17,5; 12,5 Hz, H-3ax); 2,77 *dd* (17,5; 3,0 Hz, H-3eq); 5,91 *d* (2,0 Hz, H-6); 5,93 *d* (2,5 Hz, H-8); 7,51 *d* (1,5 Hz, 2H, H-2'/6'); 7,43 *m* (2H, H-3'/5'); 7,39 *m* (H-4'); 12,13 *s* (5-OH).



Hình 1. Cấu trúc hóa học hợp chất 1

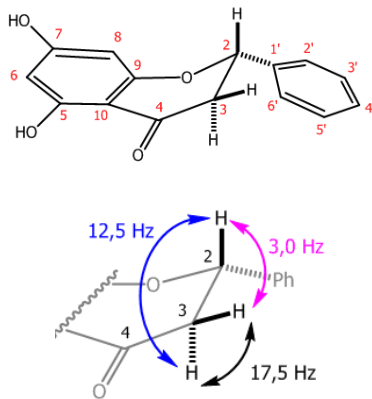


Phổ ¹³C-NMR có 12 tín hiệu, trong đó tín hiệu methin ở δ _C 126,6 trên phổ HSQC tương tác với 2 proton, đây là tín

hiệu của cặp carbon đối xứng; tín hiệu methin ở δ_C 128,5 trên phổ HSQC tương tác với 3 proton, đây là tín hiệu của 3 carbon methin. Như vậy, dựa trên dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và HSQC, hợp chất **2** có 15 carbon gồm 6 carbon bậc 4, 8 carbon methin và 1 carbon methylen. Với tín hiệu của 12 carbon thơm trong vùng δ_C 95,1–167,1; 1 nhóm carbonyl (δ_C 195,9), 1 nhóm methylen sp^3 (δ_C 42,1) cùng 1 nhóm methin sp^3 (δ_C 78,4) cho phép dự đoán hợp chất **2** có khung flavanon. Phổ 1H -NMR có 1 tín hiệu δ_H 12,13 s đặc trưng cho proton 5-OH. Trên phổ 1H -NMR và phổ HSQC còn có sự hiện diện của 7 proton thuộc 2 vòng thơm. Hai tín hiệu proton tại δ_H 5,93 d ($J = 2$ Hz) và δ_H 5,91 d ($J = 2$ Hz) điển hình cho proton vị trí C-6 và C-8 của vòng A.

Ngoài ra, tín hiệu proton của carbon C-3 [δ_C 42,1; δ_H 3,25 dd (17,5; 12,5) và 2,77 dd (17,5; 3,0)] có tương tác proton của carbon C-2 [δ_C 78,4; δ_H 5,58 dd (12,5; 3,0)]. Trị số $J = 12,5$ Hz này lớn (hằng số ghép kiểu *axial-axial*) cho phép kết luận proton methin của carbon C-2 phải có định hướng *axial* (hướng β) và như vậy, vòng B phải có định hướng *equatorial* (hướng α).

Từ các phân tích trên, có thể sơ bộ kết luận rằng hợp chất **2** là pinocembrin. So sánh với các dữ liệu phổ NMR tương ứng trong tài liệu tham khảo [13], có thể khẳng định rằng hợp chất **2** chính là pinocembrin.



Hình 2. Cấu trúc hóa học hợp chất 2

Bàn luận

Isopanduratin A và pinocembrin là hai flavonoid trước đây đã từng được phân lập từ thân rễ Ngải bún và từ nhiều loài khác thuộc họ Zingiberaceae.

Isopanduratin A là một dẫn chất thuộc nhóm dihydrochalcon. Hiện nay, có khá nhiều nghiên cứu về tính chất hóa học cũng như hoạt tính dược lý của hợp chất này. Các nghiên cứu đã cho thấy isopanduratin A có khả năng ức chế tổng hợp melanin, từ đó có thể phòng ngừa hoặc điều trị chứng rối loạn thần kinh [14]. Ngoài ra isopanduratin A còn có tính kháng khuẩn mạnh nhưng lại ít tác dụng phụ, được sử dụng trong các chế phẩm chăm sóc răng miệng [15].

Pinocembrin là một dẫn chất thuộc nhóm flavanon. Pinocembrin có khả năng ức chế sự tăng sinh của các tế bào khối u ác tính cho thấy tiềm năng trong điều trị khối u ác tính [16], điều trị biến chứng não do tiểu đường [17], giảm viêm đường hô hấp do dị ứng [18], điều trị rối loạn mạch

máu não cũng như thiếu máu não cục bộ và đang được thử nghiệm lâm sàng ở giai đoạn II [19], [20].

3. KẾT LUẬN

Từ phân đoạn ethyl acetat của thân rễ cây Ngải bún thu hái tại Long An, đề tài đã phân lập được 2 hợp chất đã biết là isopanduratin A và pinocembrin.

4. LỜI CẢM ƠN

Trân trọng cảm ơn Trường Đại học Lạc Hồng đã hỗ trợ kinh phí và tạo điều kiện về cơ sở vật chất, cảm ơn sự giúp đỡ của quý thầy cô bộ môn Dược liệu giúp chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A Chahyadi, R Hartati, KR Wirasutisna, *Boesenbergia pandurata* Roxb., An Indonesian Medicinal Plant: Phytochemistry, Biological Activity, Plant Biotechnology. *Procedia Chemistry*. **2014**, 13, 13-37.
- [2]. Listyawati S, Sisindari, Mubarika S, Murti YB .., Ikawati, Anti-proliferative activity and apoptosis induction of an ethanolic extract of *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht. against HeLa and Vero cell lines. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. **2016**, 17 (1), 183-187.
- [3]. Patoomratana Tuchindaa, Vichai Reutrakula , Per Claesona, Ubonwan Pongprayoonb, Tuanta Sematongb, Thawatchai Santisukc, Walter C. Taylor., Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry*, **2002**, 59 (2), 169-173.
- [4]. Cheenpracha, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., Subhadhirasakul, S., Tewtrakul, Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, **2006**, 14 (6), 1710-1714.
- [5]. Shindo, K., Kato, M., Kinoshita, A., Kobayashi, A., Koike, Analysis of antioxidant activities contained in the *Boesenbergia pandurata* Schult. Rhizome. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. **2006**, 70 (9), 2281-2284.
- [6]. Nhan Trung Nguyen, Mai Thanh Thi Nguyen, Hai Xuan Nguyen, Phu Hoang Dang, Suresh Awale, Dya Fita Dibwe, Hiroyasu Esumi, Constituents of the rhizomes of *Boesenbergia pandurata* and their antiausterity activities against the PANC-1 human pancreatic cancer line. *Journal of Natural Products*, **2017**, 80(1), 141-148.
- [7]. Nguyen, H. X.; Nguyen, M. T. T.; Nguyen, T. A.; Nguyen, N. Y. T.; Phan, D. A. T.; Thi, P. H.; Nguyen, T. H. P.; Dang, P. H.; Nguyen, N. T.; Ueda, J.-Y.; Awale, Cleistanthane diterpenes from the seed of *Caesalpinia sappan* and their antiausterity activity against PANC-1 human pancreatic cancer cell line. *Fitoterapia*. **2013**, 91, 148–153.
- [8]. Nguyen, H. X.; Nguyen, N. T.; Dang, P. H.; Thi Ho, P.; Nguyen, M. T. T.; Van Can, M.; Dibwe, D. F.; Ueda, J.-Y.; Awale, Cassane diterpenes from the seed kernels of *Caesalpinia sappan*. *Phytochemistry*, **2016**, 122, 286–293.
- [9]. Nguyen, M. T. T.; Nguyen, N. T.; Nguyen, K. D. H.; Dau, H. T. T.; Nguyen, H. X.; Dang, P. H.; Le, T. M.; Nguyen Phan, T. H.; Tran, A. H.; Nguyen, B. D.; Ueda, J.-Y.; Awale, Geranyl dihydrochalcones from

- Artocarpus altilis* and their antiausteric activity. *Planta Medica*, **2014**, 80, 193–200.
- [10]. Nguyễn Xuân Hải, Lê Quang Phong, Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Trung Nhân. Một số hợp chất flavanone từ củ Ngải bún (*Boesenbergia pandurata*). *Tạp chí phát triển khoa học và công nghệ*, **2018**, tập 2, số 4, 62-67.
- [11]. Phạm Bền Chí, Nguyễn Đình Nga. Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hoạt chất kháng vi sinh vật có trong cao chiết thân rễ và rễ Ngải bún (*Boesenbergia pandurata* (roxb.) Schltr zingiberaceae). *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, **2018**, Phụ bản tập 22, số 1, 469-474.
- [12]. Pandji, C., Grimm, C., Wray, V., Witte, L., & Proksch, P., Insecticidal constituents from four species of the Zingiberaceae. *Phytochemistry*, **1993**, 34 (2), 415-419.
- [13]. Diaz Napal, G. N., Carpinella, M. C., Palacios, S. M., Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia oolepis* and isolation of pinocembrin as its active principle compound. *Bioresource technology*, **2009**, 100 (14), 3669-3673.
- [14]. Yoon, J.-H., Shim, J.S., Cho, Y., Baek, N.-I., Lee, C.-W., Kim, H.-S., Hwang, J.-K., Depigmentation of melanocytes by isopanduratin A and 4-hydroxypanuratin A isolated from *Kaempferia pandurata* Roxb. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2007**, 30 (11), 2141-2145.
- [15]. Hwang, J.-K., Chung, J.-Y., Baek, N.-I., & Park, J.-H., Isopanduratin A from *Kaempferia pandurata* as an active antibacterial agent against cariogenic *Streptococcus mutans*. *International journal of antimicrobial agents*, **2004**, 23 (4), 377-381.
- [16]. Zheng, Y., Wang, K., Wu, Y., Chen, Y., Chen, X., Hu, C. W., Hu, F., Pinocembrin induces ER stress mediated apoptosis and suppresses autophagy in melanoma cells. *Cancer Letters*, **2018**, 431, 31-42.
- [17]. Bing Pei , Jian Sun, Pinocembrin alleviates cognition deficits by inhibiting inflammation in diabetic mice. *Journal of neuroimmunology*, **2018**, 314, 42-49.
- [18]. Xiaoyan Gua, Qian Zhang , Qiang Duc , Hong Shenc , Zhenghua Zhu., Pinocembrin attenuates allergic airway inflammation via inhibition of NF-κB pathway in mice. *International immunopharmacology*, **2017**, 53, 90-95.
- [19]. Xi Lan, Xiaoning Han, Qian Li, Qiang Li, Yufeng Gao, Tian Cheng, Jieru Wan, Wei Zhu, Jian Wang, Pinocembrin protects hemorrhagic brain primarily by inhibiting toll-like receptor 4 and reducing M1 phenotype microglia. *Brain, behavior, and immunity*, **2017**, 61, 326-339.
- [20]. Meng, F., Liu, R., Gao, M., Wang, Y., Yu, X., Xuan, Z. Du, G., Pinocembrin attenuates blood–brain barrier injury induced by global cerebral ischemia–reperfusion in rats. *Brain research*, **2011**, 1391, 93-101.