

Khảo sát hoạt tính kháng viêm của rễ Hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr., Apocynaceae) thu hái tại An Giang

Nguyễn Linh Tuyền^{1,*}, Phạm Phước Đây²

¹Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành; ²Trường Trung cấp Bách khoa Sài Gòn.

*nltuyen@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu phân tích thành phần hóa học và đánh giá tác dụng kháng viêm của rễ Hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr., Apocynaceae) thu hái tại An Giang. Từ 10 kg rễ khô, các phân đoạn chiết xuất *n*-hexan (111 g), chloroform (117 g), ethyl acetat (17 g), butanol (12 g) và nước (460 g) được thu bằng phương pháp chiết phân bố lỏng – lỏng. Phân đoạn chloroform thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh với IC₅₀ là (32,83 ± 0,26) µg/mL trên mô hình ức chế sản sinh nitric oxide (NO) ở tế bào RAW 264.7. Kết quả phân lập thu được ba hợp chất tinh khiết, cấu trúc xác định bằng phổ NMR và ESI-HRMS: lupeol acetat (SJ1, 50,2 mg), acovenosigenin A (SJ2, 15,3 mg) và periplocymarin (SJ3, 14,6 mg). Tuy nhiên, các hợp chất này cho thấy hoạt tính ức chế NO không đáng kể (< 50 %) ở nồng độ (30 và 100) µM. Kết quả làm rõ thành phần hóa học và tiềm năng kháng viêm của rễ Hà thủ ô trắng, cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng dược liệu trong y học cổ truyền.

© 2025 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 12/04/2025

Được duyệt 15/07/2025

Công bố 28/07/2025

Từ khóa

Hà thủ ô trắng,
Streptocaulon juvenas,
kháng viêm, lupeol acetat,
acovenosigenin A,
periplocymarin

1 Đặt vấn đề

Viêm là một phản ứng sinh học của cơ thể nhằm bảo vệ trước các tác nhân gây hại như vi khuẩn, virus hoặc chấn thương, nhưng viêm mạn tính hoặc quá mức có thể dẫn đến các bệnh lý nghiêm trọng như viêm khớp, bệnh tim mạch và ung thư [1]. Trong y học, các thuốc kháng viêm steroid (ví dụ: corticosteroid) và không steroid (NSAIDs) được sử dụng phổ biến, nhưng thường gây tác dụng phụ như loét dạ dày, tổn thương gan hoặc suy giảm miễn dịch [1]. Do đó, việc tìm kiếm các hợp chất kháng viêm từ nguồn gốc tự nhiên, an toàn và hiệu quả, đang trở thành xu hướng nghiên cứu. Hà thủ ô trắng – HTOT (*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr., họ Apocynaceae) là một dược liệu quý trong y học cổ truyền Việt Nam, được sử dụng để trị thiếu máu, sốt rét, thấp khớp, rối loạn kinh nguyệt và các bệnh

ngoài da [2, 3]. Các nghiên cứu trước đây đã xác định rễ HTOT chứa glycosid tim (cardenolid), steroid, triterpenoid và hợp chất phenol, với các hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống co giật, chống oxy hóa và kháng viêm [4-6]. Tuy nhiên, thông tin về thành phần hóa học và cơ chế kháng viêm của dược liệu này tại Việt Nam, đặc biệt từ vùng An Giang, vẫn còn hạn chế, đòi hỏi nghiên cứu chuyên sâu để làm rõ tiềm năng ứng dụng. Nghiên cứu này nhằm phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất hóa học từ rễ HTOT thu hái tại An Giang và đánh giá tác dụng kháng viêm thông qua mô hình ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên tế bào RAW 264.7, góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng dược liệu trong y học hiện đại.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu là rễ HTOT có kích thước đường kính 1 cm đến 3 cm được thu hái tại An Giang vào tháng 9 năm 2023. Các tiêu bản được lưu tại Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược - Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (SJ-0923-AG). Mẫu sau khi thu hái, được làm sạch, phơi khô, xay nhỏ thu được 10 kg bột khô.

2.2 Dung môi, hóa chất, trang thiết bị

- Dung môi, hóa chất: Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Gibco, USA); phosphate buffer saline (PBS, Gibco, USA); fetal bovine serum (FBS, Gibco, USA); 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT, DUCHEFA biochemie, Netherlands), lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA), sulfanilamide (BDH Chemical, UK); N-alpha-naphthyl-ethylenediamine (BDH Chemical, UK). Các hóa chất dùng chiết xuất và các dung môi thuốc thử khác đều đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng trong kiểm nghiệm dược liệu.

- Trang thiết bị: máy LC/MS X500R QTOF tại Trung tâm Nghiên cứu Thử nghiệm Hóa Dược – Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng (TP HCM), máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer của Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, máy đọc ELISA Bio-Rad (Laboratories, USA), máy cô quay chân không Buchii Rotavapor R - 300 kèm bộ sinh hàn tự động HAAKE K - 20 và các trang thiết bị, dụng cụ khác.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

- Xử lý mẫu và chiết xuất cao phân đoạn: 10 kg bột rễ được ngâm kiệt với ethanol 96 % ở nhiệt độ phòng (20-30) °C với tỷ lệ 1 dược liệu thu được 6 dịch chiết, tốc độ rút dịch chiết: 2 mL/phút, sau đó cô quay áp suất giảm thu được cao ethanol và tủa A. Cao ethanol được phân tán với 1 lít nước cất, sau đó chiết phân bố lỏng – lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần, cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thì thu được các cao *n*-hexan, chloroform, ethyl acetat, butanol và nước.

- Sàng lọc tác dụng kháng viêm các cao phân đoạn và các hợp chất phân lập được:

Chuẩn bị mẫu

Các mẫu các hợp chất này được pha thành dung dịch gốc với nồng độ 100 mg/mL (đối với cao chiết) hoặc 100

mM (đối với chất sạch) trong DMSO, sau đó pha loãng ở các nồng độ khác nhau.

- Phương pháp khảo sát độc tế bào (Phương pháp MTT)
Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM, bổ sung huyết thanh bào thai bê 10 %, penicillin 100 U/mL, streptomycin 100 µg/mL và ủ ở 37 °C, CO₂ 5 % đến khi đạt độ phủ bề mặt bình nuôi cấy (70-80) %, sau đó thu huyền phù tế bào, xác định mật độ và cấy chuyển vào đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ thích hợp ($2,5 \times 10^4$ tế bào/100 µL/giếng), ủ 24 giờ ở 37 °C, CO₂ 5 %. Sau 24 giờ, tế bào được xử lý với DMSO 1 % (mẫu chứng âm) hoặc các mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (mẫu thử được chuẩn bị trong DMSO tạo dung dịch mẹ nồng độ 10 mg/mL, sau đó pha loãng trong môi trường nuôi cấy để nồng độ DMSO cuối cùng trong môi trường nuôi cấy là 1 %) trong 24 giờ ở 37 °C, CO₂ 5 %. Sau thời gian xử lý, loại bỏ môi trường nuôi cấy, bổ sung môi trường chứa MTT 0,5 mg/mL, ủ ở 37 °C, CO₂ 5 % trong 4 giờ. Loại bỏ môi trường có MTT, hòa tan thể formazan trong isopropanol. Độ hấp thụ được đo ở 570 nm.

- Phương pháp thử tác dụng kháng viêm (ức chế phóng thích NO trên tế bào RAW 264.7)

Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM, bổ sung huyết thanh bào thai bê 10 %, penicillin 100 U/mL, streptomycin 100 µg/mL và ủ ở 37 °C, CO₂ 5 % đến khi đạt độ phủ bề mặt bình nuôi cấy (70-80) %, sau đó thu huyền phù tế bào, xác định mật độ và cấy chuyển vào đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ thích hợp ($2,5 \times 10^4$ tế bào/100 µL/giếng), ủ 24 giờ ở 37 °C, CO₂ 5 %. Tế bào được kích thích với 2 µL LPS (0,1mg/mL) trong 24 giờ với sự có mặt của các hợp chất thử ở nhiều nồng độ khác nhau, được pha sẵn trong DMSO. Dịch nổi của tế bào phản ứng với thuốc thử Griess. Natri nitrit ở các nồng độ khác nhau được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Độ hấp thụ được đo ở 540 nm. Cardamonin được sử dụng làm mẫu đối chứng [8, 9].

Tính kết quả

- Tính giá trị CS (%) (Cell Survival)

Giá trị CS: là khả năng sống sót của tế bào so với mẫu chứng.

Giá trị CS (%) được tính theo công thức:



$$CS (\%) = \left[\frac{OD_{Mẫu thử}}{OD_{Control}} \times 100 \right] \pm \sigma$$

Trong đó: OD: mật độ quang

σ : độ lệch tiêu chuẩn

σ được tính theo công thức:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(\sum x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Trong đó: x_i : giá trị OD tại giếng i

$\bar{x}$: giá trị OD trung bình

n: số giếng thử lặp lại

- Tính tỷ lệ (%) ức chế NO

$$I (\%) = \frac{[Xtb]_{LPS} - [Xtb]_{Mẫu thử}}{[Xtb]_{LPS} - [Xtb]_{Control}} \times 100$$

Trong đó: [Xtb]: nồng độ NO trung bình, được tính toán dựa vào đường chuẩn $NaNO_2$

- Tính giá trị IC_{50} : nồng độ ức chế 50 %, IC_{50} được xây dựng trên 5 nồng độ thử nghiệm. Giá trị IC_{50} được xác định theo phương pháp hồi quy tuyến tính trên phần mềm Graphpad Prism 5.0.

- Phân lập hợp chất tinh khiết từ phân đoạn có hoạt tính: phân đoạn có hoạt tính kháng viêm tốt được phân lập bằng các kỹ thuật sắc ký cột và được tinh chế bằng cách kết tinh lại hoặc sắc ký cột rây phân tử Sephadex LH-20 để thu nhận các hợp chất tinh khiết.

Phân đoạn C được phân tách thành các phân đoạn nhỏ hơn bằng kỹ thuật sắc ký cột quá tải với chất hấp phụ là silicagel chạy gradient với dung môi nền *n*-hexan, tăng dần tỷ lệ $CHCl_3$ đến 100 %. Sau đó thêm MeOH tăng dần tỷ lệ đến 20 %, xả cột bằng MeOH 100 %.

- Phân đoạn C3

Sau khi cô dưới áp suất giảm thành dịch đậm đặc, phân đoạn C3 được cho vào một ống nghiệm để bay hơi chậm thì thấy xuất hiện kết tinh hình kim. Lọc lấy phần kết tinh, rửa với MeOH lạnh, sau đó kết tinh lại trong MeOH. Kết tinh được lọc qua phễu thủy tinh xốp và rửa nhiều lần bằng MeOH lạnh để tinh chế.

- Phân đoạn C16

Phân đoạn C16 được phân tách qua cột silica gel kết hợp với pha động là hệ dung môi gradient có độ phân cực tăng dần $CHCl_3$ -EtOAc (100:0 $\rightarrow$ 50:50). Phân đoạn C16.7 xuất hiện kết tủa màu trắng khi cô áp suất

giảm. Tiến hành kết tinh lại kết tủa này trong methanol nhiều lần. Tinh chế phân đoạn C16.10 bằng sắc ký cột rây phân tử Sephadex LH-20 với pha động là $CHCl_3$ - MeOH (8:2).

- Xác định cấu trúc các chất phân lập được: cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phổ NMR (1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC) và ESI-HRMS.

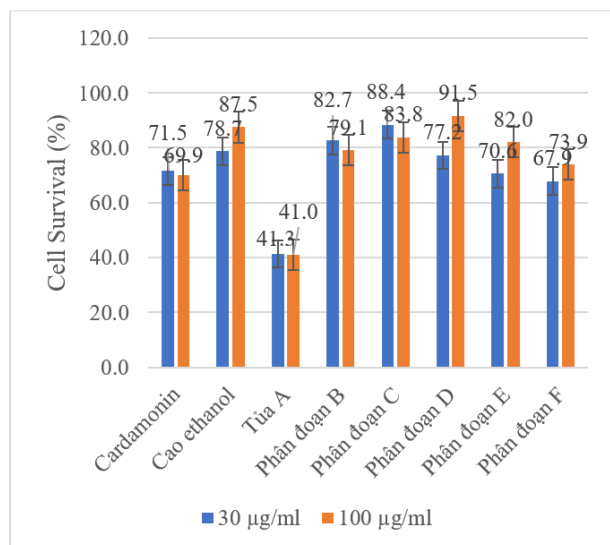
3 Kết quả và bàn luận

3.1 Xử lý mẫu và chiết xuất cao phân đoạn

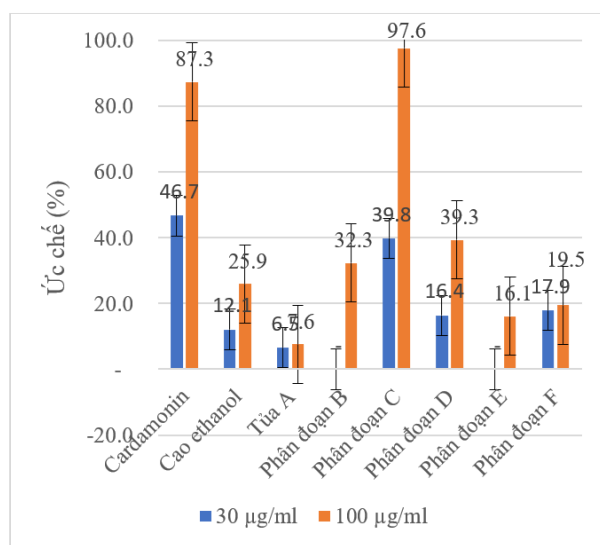
Dịch chiết rễ HTOT được cô quay áp suất giảm thu được 115 g tủa A màu trắng ngà (được hình thành khi loại dung môi ethanol) và 850 g cao ethanol. Các phân đoạn thu được có khối lượng như sau: cao *n*-hexan – phân đoạn B (111 g), cao chloroform – phân đoạn C (117 g), cao ethyl acetat – phân đoạn D (17 g), cao butanol – phân đoạn E (12 g) và cao nước – phân đoạn F (460 g).

3.2 Sàng lọc tác dụng kháng viêm các cao phân đoạn

Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các cao phân đoạn được sàng lọc trên hai nồng độ 100 $\mu g/mL$ (nồng độ cao) và 30 $\mu g/mL$ (nồng độ thấp) (Hình 1, Hình 2). Các cao có hoạt tính ức chế (tỷ lệ (%) ức chế) trên 50 % được xác định giá trị IC_{50} . Nồng độ NO đo được để đánh giá tác dụng kháng viêm của các cao chiết thử nghiệm chỉ có ý nghĩa khi cao chiết không ảnh hưởng đến mức độ sống chết của tế bào. Kết quả cho thấy, phân đoạn C có hiệu quả ức chế sản sinh NO ở cả hai nồng độ, không gây độc trên tế bào thử nghiệm và thể hiện hoạt tính kháng viêm. Trong khi đó, các mẫu còn lại không có hoạt tính hoặc có hoạt tính rất yếu ở hai nồng độ thử nghiệm (30 và 100) $\mu g/mL$, đặc biệt mẫu tủa A gây độc cho tế bào thử nghiệm. Kết quả được trình bày chi tiết trong Bảng 1. Từ các kết quả sàng lọc trên, hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của phân đoạn C đã tiến hành. Kết quả IC_{50} của phân đoạn C là $(32,83 \pm 0,26)$ $\mu g/mL$, so với chứng dương cardamonin là $(2,01 \pm 0,08)$ μM . Qua các thử nghiệm sinh học cho thấy các phân đoạn C có tác dụng kháng viêm tốt nhất được lựa chọn trước để tiến hành phân lập các chất tinh khiết.



Hình 1 Tỷ lệ tế bào sống sót của mẫu thử các phân đoạn và chứng dương



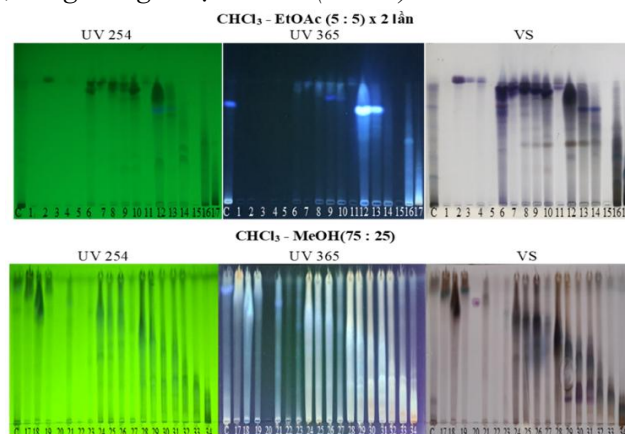
Hình 2 Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các phân đoạn

Bảng 1 Kết quả IC₅₀ hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của phân đoạn C

Tên mẫu	Nồng độ	Tỷ lệ ức chế (%)	Sai số	Tỷ lệ tế bào sống (%)	Sai số	Phương trình hồi quy tuyến tính và IC ₅₀
Control*		100,00	1,65	100,00	2,61	
Cardamonin (µM)	0,62	30,12	3,00	98,89	2,31	$y = 17,727\ln(x) + 37,418$ $R^2 = 0,9861$ $IC_{50} = 2,01 \pm 0,08$
	1,25	42,05	3,00	109,94	1,59	
	2,5	51,63	0,82	112,10	4,54	
	5	63,26	1,55	103,81	4,94	
	10	81,10	2,98	101,90	2,74	
Phân đoạn C (µg/mL)	12,5	24,92	5,20	92,84	7,52	$y = 33,845\ln(x) - 67,038$ $R^2 = 0,9564$ $IC_{50} = 32,83 \pm 0,26$
	25	34,09	0,61	93,44	7,78	
	50	62,04	1,89	105,61	4,60	
	75	77,94	1,89	100,21	7,93	
	100	94,63	1,65	91,13	4,69	

*Control là nghiệm thức tế bào RAW 264.7 không xử lý LPS, dùng làm giá trị NO nền (100 %).

3.3 Phân lập hợp chất tinh khiết từ phân đoạn có hoạt tính
 Từ 117,0 g phân đoạn C, qua sắc ký cột quá tải thu được 34 phân đoạn được ký hiệu từ C1 – C34, sắc ký đồ được trình bày trong Hình 3. Trong đó phân đoạn C3 xuất hiện tua và phân đoạn C16 có xuất hiện các vết chính so với cao phân đoạn C nên được chọn để phân lập tiếp theo. Phân đoạn C3 thu được 50,2 mg tinh thể hình kim màu trắng. Tinh thể này được đặt tên là SJ1. Phân đoạn C16 được phân tách thành 11 phân đoạn (C16.1 → C16.11). Phân đoạn C16.7 thu được kết tinh dạng bột vi tinh thể màu trắng, ký hiệu SJ2 (khối lượng 15,3 mg). Tinh thể phân đoạn C16.10 thu được chất SJ3 (14,6 mg).



Hình 3 Sắc ký đồ tổng kết các phân đoạn C1 – C34

3.4 Xác định cấu trúc các chất phân lập được.

- Hợp chất lupeol acetat (SJ1)

Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện ba mươi hai tín hiệu carbon, không có tín hiệu cao bất thường, trong đó hai tín hiệu carbon olefin (δ_{C} 151,0 ppm – carbon bậc IV và δ_{C} 109,4 ppm – carbon olefin methylen), bảy tín hiệu nhóm methyl ở δ_{C} từ (14,5; 16,0; 16,2; 16,5; 18,0; 19,3 và 28,0) ppm, một tín hiệu oxymethin ở δ_{C} 81,0 ppm. Những tín hiệu này gợi ý SJ1 là một triterpen nhóm lupan. Tín hiệu carbon carbinyl điển hình của triterpen bị dịch chuyển về vùng trường thấp hơn bình thường (δ_{C} 81,0 ppm), gợi ý rằng nhóm OH alcol tại C-3 đã được ester hóa. Ngoài ra, còn có một tín hiệu nhóm methyl ở δ_{C} 21,3 ppm và một tín hiệu carbonyl của ester ở δ_{C} 171,0 ppm, chứng tỏ đây là các tín hiệu của acetyl. Trên phổ ^1H -NMR xuất hiện hai tín hiệu proton olefinic ở δ_{H} 4,69 (1H, *d*, $J = 1,8$ Hz) và δ_{H} 4,57 (1H, *dd*, $J = 2,4$; 1,2 Hz) có hằng số ghép đặc trưng cho hai hydro ở vị trí geminal, đặc biệt tín hiệu ở δ_{H} 4,57 còn xuất hiện hằng số ghép xa allylic $J = 1,2$ Hz. Bên cạnh đó, một proton của nhóm oxymethin ở δ_{H} 4,47 (1H, *dd*) có hằng số ghép $J = 11,4$; 6 Hz đặc trưng cho hydro H-3 cấu hình α . Bảy tín hiệu mũi đơn có δ_{C} (0,79-1,68) ppm chỉ ra bảy nhóm methyl, ngoài ra còn tín hiệu mũi đơn ở δ_{H} 2,04 ppm phù hợp với tín hiệu của methyl từ nhóm acetyl. Các tín hiệu ^1H và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp phổ HSQC và HMBC.

Dữ liệu NMR của SJ1 được đối chiếu với những báo cáo trước đây, kết quả cho thấy dữ liệu của SJ1 phù hợp với lupeol acetat [10]. Vì vậy, SJ1 được đề nghị là lupeol acetat. Kết quả so sánh dữ liệu phổ của SJ1 và lupeol acetat được trình bày trong Hình 4.

- Hợp chất acovenosigenin A (SJ2)

Phổ ESI-HRMS (negative) của chất SJ2 xuất hiện tín hiệu m/z 435,2367 [$\text{M}+\text{HCOOH}-\text{H}$] $^-$ và 389,2321 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, khối lượng phân tử là 390,2385. Dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (sai lệch giữa giá trị đo và lý thuyết là 2,82 ppm < 5 ppm), độ bất bão hòa $\Omega = 7$.

Phổ ^1H -NMR của hợp chất SJ2 cho thấy sự hiện diện hai tín hiệu singlet nhóm methyl ở δ_{H} 0,91 (3H, *s*) và δ_{H} 1,11 (3H, *s*), hai proton carbinol cộng hưởng ở δ_{H} 4,15 (1H, *s*) và δ_{H} 3,78 (1H, *s*); proton methylen gần với nhóm rút điện tử ở δ_{H} 4,93 (1H, *dd*, $J = 18,6$; 1,8 Hz) và 5,05 (1H, *dd*, $J = 18,0$; 1,2 Hz);

proton olefin methin cộng hưởng ở δ_{H} 5,91 (1H, *dd*, $J = 1,8$; 1,2 Hz); proton methin cộng hưởng ở δ_{H} 2,84 (1H, *dd*, $J = 9,0$; 5,6 Hz).

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất SJ2 xuất hiện hai mươi hai tín hiệu carbon, có một tín hiệu cao bất thường ở δ_{C} 22,3 ppm, đồng thời kết hợp với phổ HSQC carbon có tín hiệu cộng hưởng ở δ_{C} 22,3 ppm tương tác với bốn proton ở δ_{H} 1,34 (1H, *m*), 1,49 (1H, *m*), 1,71 (1H, *m*) và 1,88 (1H, *m*). Do vậy có thể nhận định hợp chất SJ2 có hai mươi ba carbon. Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện hai tín hiệu carbon của nhóm methyl tại δ_{C} (16,4 và 19,3) ppm, hai carbon methin gần với nhóm rút điện tử tại δ_{C} (69,4 và 74,7) ppm, một carbon methin olefin tại δ_{C} 117,8 ppm, một carbon của nhóm carbonyl lacton tại δ_{C} 177,2 ppm; một carbon bậc bốn olefin liên hợp tại δ_{C} 178,4; một carbon bậc bốn gần với nhóm rút điện tử tại δ_{C} 86,2 ppm. Từ các dữ liệu của phổ NMR trên, hợp chất SJ2 dự đoán là steroid có khung sườn pregnan với một nhóm carbonyl liên hợp gần trong vòng lacton và ba nhóm hydroxyl.

Các tín hiệu ^1H và ^{13}C -NMR được quy kết cho các nguyên tử dựa vào sự phân tích phối hợp phổ HSQC và HMBC.

Dữ liệu NMR của SJ2 được đối chiếu với những báo cáo trước đây, kết quả cho thấy dữ liệu của SJ2 phù hợp với acovenosigenin A [11]. Vì vậy, SJ2 được đề nghị là acovenosigenin A. Kết quả so sánh dữ liệu phổ của SJ2 và acovenosigenin A, cấu trúc được trình bày trong Hình 4.

- Hợp chất periplocymarin (SJ3)

Phổ ESI-HRMS (negative) của chất SJ3 xuất hiện tín hiệu m/z 579,3146 [$\text{M}+\text{HCOOH}-\text{H}$] $^-$ và 533,3091 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, khối lượng phân tử là 534,3164. Dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$ (sai lệch giữa giá trị đo và lý thuyết là 5,42 ppm < 10 ppm), độ bất bão hòa $\Omega = 8$.

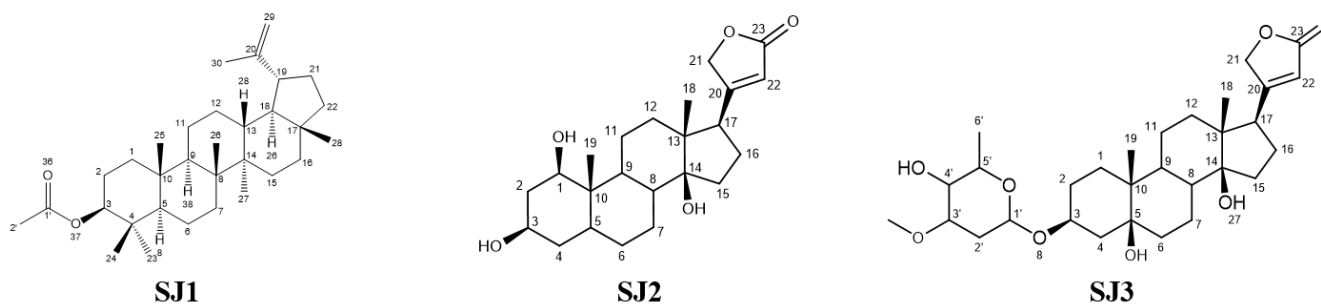
Phổ ^1H -NMR của SJ3 có tín hiệu cộng hưởng của ba nhóm methyl trong đó có hai tín hiệu singlet tại δ_{H} 0,91 (3H, *s*), 0,96 (3H, *s*) và một tín hiệu doublet tại δ_{H} 1,24 (3H, *d*, $J = 6,2$ Hz). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu proton của nhóm methoxy tại δ_{H} 3,46 (3H, *s*), proton carbinol ở δ_{H} 4,17 (1H, *t*, $J = 2,9$ Hz); một nhóm oxymethylen ở δ_{H} 5,05 (1H, *dd*, $J = 18,0$; 1,2 Hz) và 4,93 (1H, *dd*, $J = 18,0$; 1,2 Hz); một proton olefin ở δ_{H}

5,92 (1H, *d*, $J = 1,9$ Hz), một proton anomer ở δ_H 4,85 ppm, ba tín hiệu của nhóm oxymethin của phần đường ở δ_H 3,21 (1H, *dd*, $J = 9,5, 3,3$ Hz), 3,63 (1H, *q*, $J = 2,8$ Hz) và 3,74 (1H, *dq*, $J = 9,5; 6,2$ Hz).

Phổ ^{13}C -NMR của SJ3 cho thấy các tín hiệu cộng hưởng ứng với ba mươi carbon. Kết hợp so sánh dữ liệu phổ gợi ý SJ3 có cấu trúc gồm aglycon là periplogenin gắn với một đường. Các tín hiệu đặc trưng cho phần đường gồm một tín hiệu carbon anomer tại δ_C 98,2 ppm, một tín hiệu nhóm methyl tại δ_C 18,6 ppm, một tín hiệu nhóm methoxy tại δ_C 58,1 ppm, một tín hiệu nhóm methylen tại δ_C 35,9

ppm và sự xuất hiện tín hiệu của ba nhóm oxymethin tại δ_C (71,6; 74,4 và 79,1) ppm. Từ các dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR có thể xác định phần đường của SJ3 là D-cymarose.

Phổ 2D NMR (COSY, HSQC và HMBC) giúp xác định chính xác vị trí cộng hưởng của toàn bộ các tín hiệu proton và carbon của SJ3. Từ các số liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo, khẳng định cấu trúc hợp chất phân lập được là periplocymarin [12]. Kết quả so sánh dữ liệu phổ của SJ3 và periplocymarin, cấu trúc được trình bày trong Hình 4.



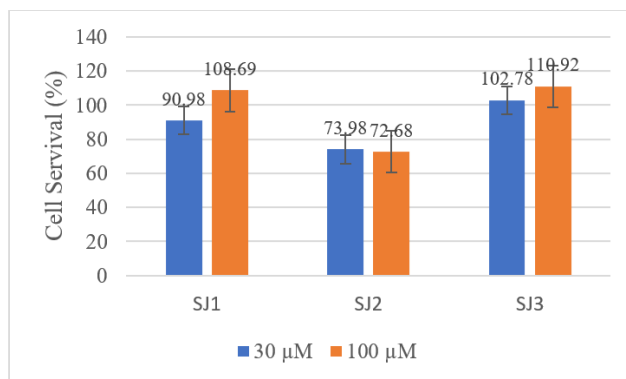
Hình 4 Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ cao phân đoạn C

3.5 Đánh giá hoạt tính kháng viêm các hợp chất phân lập được

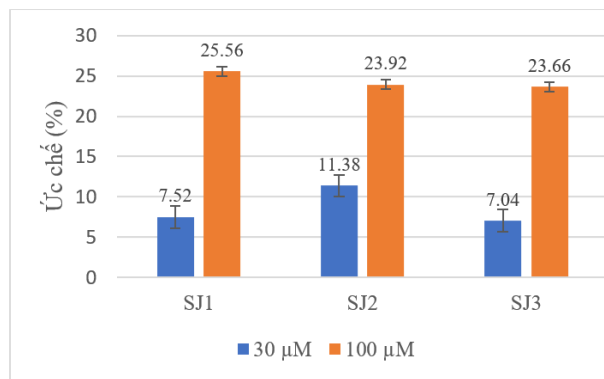
Tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm các chất phân lập được trên mô hình ức chế sự phóng thích NO của đại thực bào RAW 264.7 với chứng dương được sử dụng là cardamonin. Kết quả thử nghiệm được trình bày ở Bảng 5, Hình 5 và Hình 6.

Bảng 5 Kết quả hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên tế bào RAW 264.7 của cardamonin

Tên mẫu	Nồng độ	Tỷ lệ (%) ức chế	Sai số	Tỷ lệ (%) tế bào sống	Sai số
Cardamonin (μM)	2,5	24,68	1,60	88,28	1,33
	10	52,96	2,23	87,56	3,14



Hình 5 Tỷ lệ tế bào sống sót của mẫu thử các chất phân lập được



Hình 6 Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các chất phân lập được

Kết quả cho thấy các chất phân lập được ở nồng độ 30 μM và 100 μM ức chế phóng thích NO từ (7,52-25,56) % nên các chất này có hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 246.7 không đáng kể (< 50 %).

Lupeol acetat, một triterpenoid, đã được báo cáo với tiềm năng kháng viêm và chống ung thư trong các nghiên cứu trước [13, 14], nhưng trong nghiên cứu này, hoạt tính ức chế sản sinh NO của nó trên tế bào RAW 264.7 ở nồng độ (30 và 100) μM chỉ đạt (7,52-25,56) %, thấp hơn so với chứng dương cardamonin (52,96 % tại 10 μM). Tương tự, hai cardenolid (SJ2 và SJ3) cũng cho thấy hiệu quả kháng viêm không đáng kể, có thể do cơ chế tác động không liên quan trực tiếp đến con đường sản sinh NO hoặc do nồng độ thử nghiệm chưa tối ưu. Tuy nhiên, phân đoạn chloroform tổng thể lại thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh ($\text{IC}_{50} = (32,83 \pm 0,26) \mu\text{g/mL}$), gợi ý rằng có thể tồn tại các hợp chất khác hoặc hiệu ứng hiệp đồng giữa các thành phần trong phân đoạn này cần được nghiên cứu thêm. Kết quả củng cố giá trị của HTOT trong y học cổ truyền, đặc biệt trong điều trị áp xe và các bệnh viêm [3]. Nghiên cứu này bổ sung dữ liệu về thành phần hóa học

và hoạt tính sinh học của dược liệu tại vùng An Giang, góp phần làm rõ tiềm năng ứng dụng trong điều trị.

4 Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học về thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của rễ HTOT, khẳng định giá trị của dược liệu trong y học cổ truyền và tiềm năng phát triển các sản phẩm kháng viêm từ thiên nhiên. Mặc dù các hợp chất phân lập chưa cho thấy hiệu quả kháng viêm mạnh, hoạt tính cao của phân đoạn chloroform mở ra hướng nghiên cứu về các hợp chất khác hoặc cơ chế hiệp đồng. Nghiên cứu này có ý nghĩa trong việc định hướng sử dụng HTOT tại Việt Nam, đặc biệt từ vùng An Giang, làm nguồn nguyên liệu cho các sản phẩm dược. Khuyến nghị tiếp tục phân tích các phân đoạn chiết xuất khác, tối ưu hóa nồng độ thử nghiệm, và khám phá cơ chế kháng viêm trên các mô hình sinh học khác để phát triển ứng dụng lâm sàng hiệu quả hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số 2024.01.176/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. James M Ritter, Lionel D Lewis, Timothy Gk Mant et al. (2008). *A Textbook of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 5th Edition*. Hodder Arnold, 167-169.
2. Võ Văn Chi. (2000). *Cây thuốc trị bệnh thông dụng*. NXB Thanh Hóa, 144-146.
3. Đỗ Tất Lợi. (2011). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học, 836-837.
4. Ueda J. Y., Tezuka Y., Banskota A. H., et al. (2003). Antiproliferative activity of cardenolides isolated from *Streptocaulon juvenas*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26, 1431-1435.
5. Thái, N. T., & Trần, H. (2001). Phân lập và xác định cấu trúc của lupeol và lupeol acetat từ cây Hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas*). *Tạp chí Dược học*, 7(303), 14-17.
6. Liu, Z., Li, S., Han, N., et al. (2008). Studies on the chemical constituents of the vines of *Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 3.
7. Bùi, X. H., Nguyễn, T. H. Y., Nguyễn, M. Đ., & Trần, L. Q. (2009). Thành phần hóa học của rễ cây Hà thủ ô trắng. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 12(10), 72-77.
8. Dirsch, V. M., Stuppner, H., & Vollmar, A. M. (1998). The Griess assay: Suitable for a bio-guided fractionation of anti-inflammatory plant extracts. *Planta Medica*, 64(5), 423-426.

9. Hatzieremia, S., et al. (2006). The effects of cardamonin on lipopolysaccharide-induced inflammatory protein production and MAP kinase and NF- κ B signalling pathways in monocytes/macrophages. *British Journal of Pharmacology*, 149(2), 188-198.
10. El-shiekh, R. A., Al-Mahdy, D. A., Hifnawy, M. S., et al. (2017). Chemical and biological investigation of *Ochrosia elliptica* Labill. cultivated in Egypt. *Records of Natural Products*, 11(6), 552-557..
11. Zhang, X.-w., Wang, K.-w., & Wang, H. (2018). Chemical constituents of *Streptocaulon griffithii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 54(4), 803-805.
12. Ueda, J., Tezuka, Y., Banskota, A. H., Tran, Q. L., Tran, Q. K., Saiki, I., & Kadota, S. (2003). Constituents of the Vietnamese medicinal plant *Streptocaulon juvenas* and their antiproliferative activity against the human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Journal of Natural Products*, 66(11), 1427-1433.
13. Arrieta, J., Benitez, J., Flores, E., et al. (2003). Purification of gastroprotective triterpenoid from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*: Role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Medica*, 69, 905-909.
14. Chatterjee, I., Chakravarty, A. K., Gomes, A., Russell, D., & Kaouthia, N. (2006). Venom neutralization by lupeol acetate isolated from the root extract of Indian sarsaparilla *Hemidesmus indicus* R. Br. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 38-43.

Bioactivity-guided isolation of anti-inflammatory effect from roots of *Streptocaulon juvenas* collected in An Giang (*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr., Apocynaceae)

Nguyen Linh Tuyen^{1,*}, Pham Phuoc Day²

¹Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University, ²Sai Gon Polytechnic College

*nltuyen@ntt.edu.vn

Abstract Chemical composition analysis and anti-inflammatory activity evaluation of *Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr. (Apocynaceae) root harvested in An Giang. From 10 kg of dried roots, the extraction fractions of n-hexane (111 g), chloroform (117 g), ethyl acetate (17 g), butanol (12 g), and water (460 g) were obtained by liquid-liquid partitioning. The chloroform fraction exhibited strong anti-inflammatory activity with an IC₅₀ value of (32.83 $\pm$ 0.26) μ g/mL in the nitric oxide (NO) production inhibition assay using RAW 264.7 cells. Three pure compounds were isolated and structurally elucidated by NMR spectroscopy and ESI-HRMS: lupeol acetate (SJ1, 50.2 mg), acovenosigenin A (SJ2, 15.3 mg), and periplocymarin (SJ3, 14.6 mg). However, these compounds showed insignificant NO inhibitory activity (< 50 %) at concentrations of (30 and 100) μ M. The results clarify the chemical constituents and anti-inflammatory potential of *Streptocaulon juvenas* root, providing a scientific basis for its application in traditional medicine.

Keywords *Streptocaulon juvenas*, botanical characteristics, anti-inflammatory effect