

HOẠT TÍNH BẢO VỆ GAN CỦA CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ CÂY AN XOA (*HELICTERES HIRSUTA*) THU HÁI Ở GIA LAI

Huỳnh Lê Nhật Tiến, Phan Huỳnh Xuân Win, Lương Văn Tri*

Trường THPT Lê Lợi, Gia Lai

*Email: luongvantri2014@gmail.com

Ngày nhận bài: 17/12/2020; ngày hoàn thành phản biện: 5/01/2020; ngày duyệt đăng: 15/4/2021

TÓM TẮT

Bằng cách sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký, năm hợp chất gồm, 4,5-dihydroblumenol A (1), kaempferol-3- β -D-(6-O-trans-p-coumaroyl)glucopyranoside (2), 3,4',7,8-tetrahydroxyflavone (3), 2-O- β -D-glucopyranosyl methyl salicylate (4), 3-O-methylquercetin (5) đã được phân lập từ phần trên mặt đất của cây an xoa (*Helicteres hirsuta*) thu hái tại tỉnh Gia Lai. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định dựa vào phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D-NMR và 2D-NMR) và so sánh với các tài liệu đã công bố. Cả năm hợp chất (1-5) được đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên dòng tế bào HepG2 được gây nhiễm độc bởi CCl₄. Hợp chất 3 có tác dụng mạnh nhất với giá trị nồng độ bảo vệ 50% tế bào, EC₅₀ = 90,20 μ g/mL.

Từ khóa: An xoa, *Helicteres hirsuta*, hoạt tính bảo vệ gan.

1. MỞ ĐẦU

Cây an xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) hay còn gọi là cây tổ kén cái, dó lông thuộc họ Trôm (Sterculiaceae). Trên thế giới, an xoa có mặt ở Campuchia, China, India, Indonesia, Laos, Malaysia, Mianma, Philippine và Thailand [1]. Ở Việt Nam, cây an xoa phân bố từ Bắc chí Nam. Theo Từ điển cây thuốc Việt Nam, an xoa được dùng làm thuốc chữa ung nhọt, kiết lỵ, đậu sởi, cảm cúm, đái dầm, ... [2]. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của cao chiết và các hợp chất phân lập từ loài an xoa cho thấy có nhiều hoạt tính đáng quan tâm như gây độc tế bào ung thư, chống oxi hóa, chống vi sinh vật, [3-9]... Tuy nhiên, đến nay có rất ít công trình công bố về tác dụng bảo vệ gan của loài an xoa ở Việt Nam. Để góp phần làm sáng tỏ tác dụng bảo vệ gan của loài dược liệu này, bài báo trình bày kết quả phân lập, xác định cấu trúc hóa học và tác dụng bảo vệ gan của các hợp chất phân lập được.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần trên mặt đất cây an xoa được thu hái ở xã Po Lang, huyện Mang Yang, tỉnh Gia Lai vào tháng 10 năm 2020. Mẫu được cán bộ của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học theo phương pháp hình thái [10]. Mẫu tiêu bản (AX-GL1) được lưu giữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, VAST.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Sử dụng sắc ký cột với chất hấp phụ pha thường (silica gel 240-430 mesh, Merck), pha đảo C-18 (150 μ m, Fujisilica Chemical Ltd). Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254RP-18 F254s (hãng Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Bruker AM500 của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc

Phương pháp phân lập: Quá trình chiết xuất lấy cao chiết toàn phần sử dụng phương pháp ngâm bột dược liệu với methanol với sự hỗ trợ của thiết bị siêu âm. Cao methanol được phân tán trong nước sau đó chiết phân bố với các dung môi có độ phân cực khác nhau để thu được các phân đoạn tương ứng. Các hợp chất được phân lập dựa vào các kỹ thuật sắc ký cột pha thường, pha đảo, sephadex, diaion.

Phương pháp xác định cấu trúc: Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa vào phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D-NMR), hai chiều (2D-NMR) kết hợp so sánh đối chiếu với các tài liệu đã công bố.

2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính bảo vệ gan

- Phương pháp nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào HepG2 được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO) và nuôi trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂. [11]

- Phương pháp xác định khả năng bảo vệ tế bào gan

Tế bào HepG2 được nuôi trong đĩa 96 giếng với nồng độ tế bào 3 x 10⁴ tế bào/giếng và ủ 24 h ở tủ ấm 37°C, 5% CO₂. Mẫu thí nghiệm hoặc đối chứng Trolox được đưa vào các giếng nuôi cấy ở các nồng độ khác nhau với sự có mặt của CCl₄ 40mM. Sau đó ủ đĩa thêm 2h. Khả năng sống sót của tế bào dưới tác động của CCl₄ được xác định

thông qua phép thử MTT. Sau khi loại bỏ môi trường nuôi cấy, thêm 50 μ l MTT (1 mg/ml) vào mỗi giếng. Ủ đĩa ở nhiệt độ 37°C trong 4 h. Màu formazan hình thành được hòa tan bằng DMSO. Đo giá trị OD ở bước sóng 540 nm. [9]

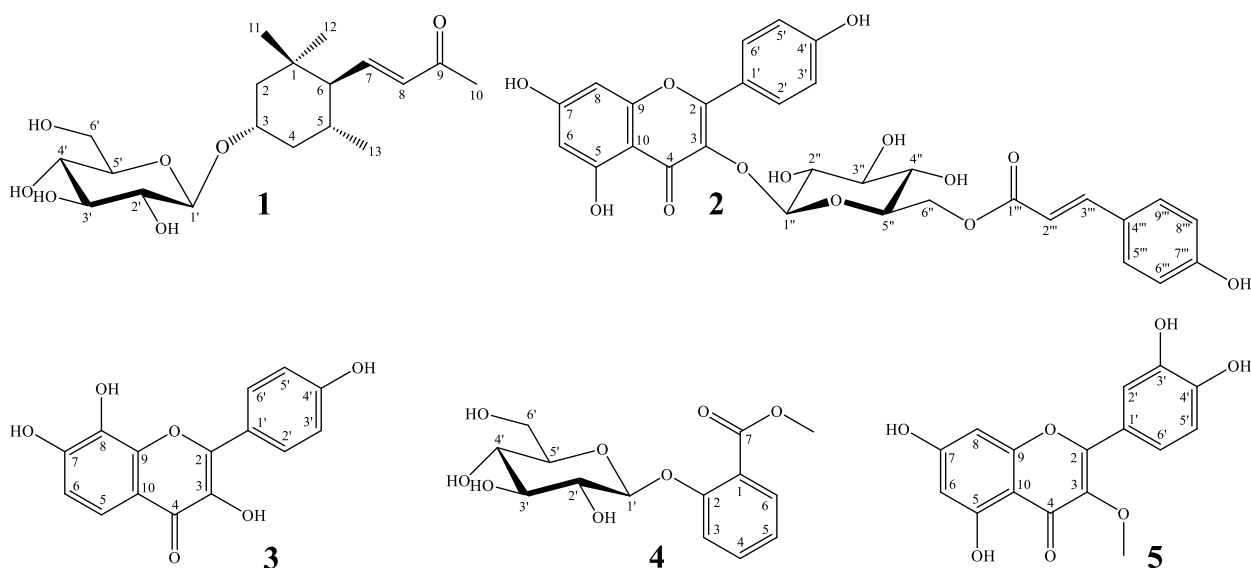
Tỉ lệ tế bào sống sót được tính theo công thức:

$$\% \text{ HQ bảo vệ} = \frac{[(\text{OD}_{\text{mẫu thử}+\text{CCl}_4} - \text{OD}_{+\text{CCl}_4}) / (\text{OD}_{-\text{CCl}_4} - \text{OD}_{+\text{CCl}_4})] \times 100}$$

Phép thử được lặp lại ba lần để đảm bảo tính chính xác. Các số liệu được xử lý trên Excel. Giá trị EC₅₀ (Effective concentration to protect 50%/ nồng độ bảo vệ được 50% tế bào) được xác định bằng phần mềm TableCurve2Dv4.

2.5. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Mẫu nguyên liệu khô (2,5 kg) được chiết với methanol (3 lần, 5 lít, 50°C) với sự hỗ trợ của thiết bị siêu âm gia nhiệt Ultrasona-HD Selecta 3000867 (40 kHz), cất loại dung môi thu được 180 gam cặn chiết methanol. Cặn này được phân bố vào 2 lít nước cất rồi đem chiết lần lượt với *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate (3 lần x 2 lít, mỗi loại dung môi). Sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn *n*-hexane (AXH, 68,0 g), cặn dichloromethane (AXD, 52,3 g), cặn ethyl acetate (AXE, 12,5 g) và lớp nước (AXW, 47,2 g). Cặn ethyl acetate (AXE, 12,5 g) được phân tách trên sắc ký cột pha thường silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/methanol (20/1, v/v) thu được bốn phân đoạn, (AXE1- AXE4). Tiếp tục phân tách phân đoạn AXE2 trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (1/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn (AXE2.1-AXE2.3). Hợp chất 1 (10 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn AXE2.1 trên sắc ký cột pha thường silica gel với hệ dung môi ethyl acetate/methanol/nước (20/1/0,1, v/v/v). Tiếp tục phân tách phân đoạn AXE2.3 trên sắc ký cột rây phân tử (sephadex, LH-20) sử dụng methanol/nước (1/1, v/v) làm dung môi rửa giải thu được hợp chất 2 (6 mg). Phân đoạn AXE4 được phân tách làm hai phân đoạn nhỏ hơn, (AXE4.1 và AXE4.2) trên cột sắc ký pha đảo RP-18 sử dụng hệ dung môi methanol/nước (1/1, v/v) làm pha động. Hợp chất 3 (5 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn AXE4.2 trên sắc ký cột pha thường silica gel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol/nước (10/1/0,01, v/v/v).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được

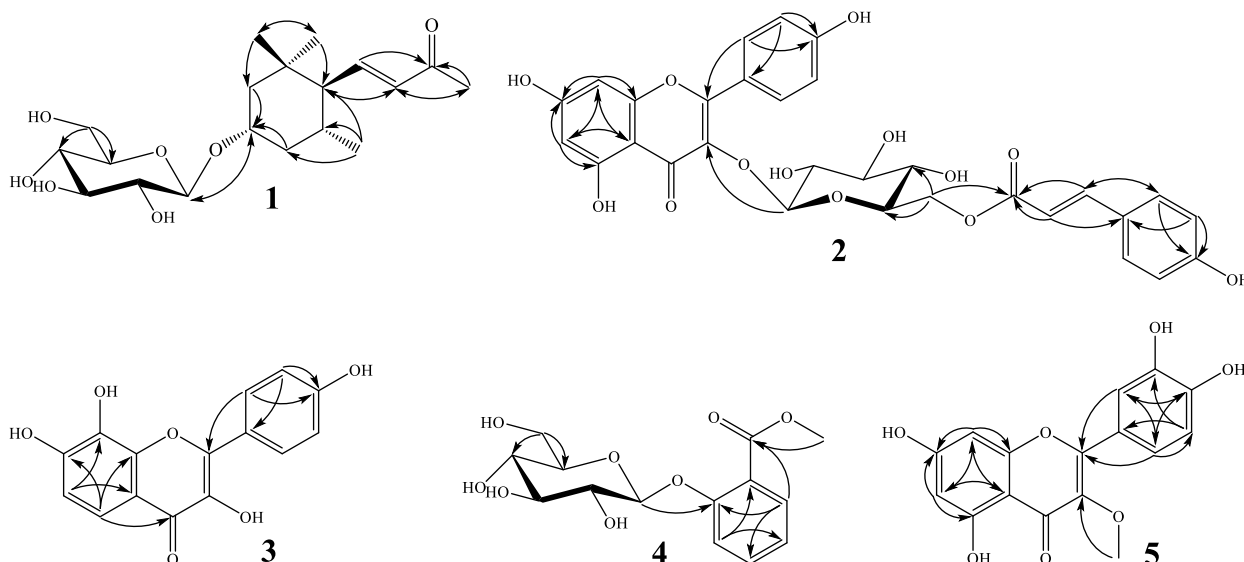
Lớp nước (AXW, 47,2 g) được đưa lên cột diaion HP-20, rồi dùng nước cất rửa giải để loại các đường đơn và muối khoáng. Tiếp đó, lần lượt sử dụng các hệ dung môi methanol/nước (25/75, 50/50, 75/25, 100% methanol) để rửa giải thu được bốn phân đoạn, AXW1-AXW4. Phân đoạn AXW2 tiếp tục được phân tách thành bốn phân đoạn nhỏ hơn, AXW2.1-AXW2.4 trên sắc ký cột pha thường silica gel sử dụng dichloromethane/methanol/nước (10/1/0,01, v/v/v) làm pha động. Sau đó, tiếp tục phân tách phân đoạn AXW2.2 trên sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (1/1,2, v/v) thu được ba phân đoạn, AXW2.2.1-AXW2.2.3. Hợp chất **4** (7 mg) thu được khi tiếp tục tinh chế phân đoạn AXW2.2.1 trên cột sắc ký pha thường silica gel sử dụng dichloromethane/methanol/nước (8/1/0,01, v/v/v). Tương tự, hợp chất **5** (4 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn AXW2.2.3 trên cột sắc ký pha thường silica gel sử dụng dichloromethane/methanol/nước (10/1/0,01, v/v/v).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Hợp chất **1** được tách ra dưới dạng chất bột, màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **1** cho tín hiệu đặc trưng của ba nhóm methyl singlet tại δ_{H} 0,91, 0,96, 2,28; một nhóm methyl doublet tại δ_{H} 0,86 ($J = 6,5$ Hz), hai olefinic proton của một liên kết đôi cấu hình trans tại δ_{H} 6,68 (dd, $J = 10,5, 16,0$ Hz, H-7), 6,10 (d, $J = 16,0$ Hz, H-8) và tín hiệu của các proton thuộc phần đường tại δ_{H} 3-4,5 ppm (bao gồm một anomeric proton tại δ_{H} 4,38 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1'). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất **1** cho tín hiệu 13 carbon đặc trưng của một megastigmane-aglycone tại gồm bốn nhóm methyl, hai nhóm methylene, năm nhóm methine, một nhóm carbonyl và một carbon bậc bốn (Bảng 1) và sáu carbon của

phần đường glucopyranosyl tại δ_c 102,7 (C-1'), 75,1 (C-2'), 78,1 (C-3'), 71,7 (C-4'), 77,8 (C-5'), 62,8 (C-6'). Các tương tác HMBC từ H-10 (δ_H 2,28) và H-7 (δ_H 6,68) đến C-9 (δ_c 200,7) xác định vị trí của nhóm carbonyl tại C-9. Bên cạnh đó, vị trí của phần đường tại C-3 được xác định dựa vào các tương tác HMBC từ H-2 (δ_H 1,21, 1,90), H-4 (δ_H 1,08, 2,18) và H-1' (δ_H 4,38) đến C-3 (δ_c 75,4). Từ các bằng chứng phổ trên, kết hợp đối chiếu với chất tham khảo ở tài liệu [12], hợp chất **1** được xác định là alangionoside L.



Hình 2. Tương tác HMBC chính của các hợp chất 1-5

Hợp chất **2** được tách ra dưới dạng chất bột, màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **2** cho tín hiệu đặc trưng của sáu aromatic proton tín hiệu doublet của hợp chất kaempferol tại δ_H 6,15 ($J = 2,0$ Hz, H-6), 6,31 ($J = 2,0$ Hz, H-8), 8,00 ($J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,84 ($J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'); hai olefinic proton và bốn aromatic proton tín hiệu doublet của phần *O-trans-p-coumaroyl* tại δ_H 6,95 ($J = 15,5$ Hz, H-2'''), 7,42 ($J = 15,5$ Hz, H-3'''), 7,33 ($J = 8,5$ Hz, H-5''', H-9'''), 6,81 ($J = 8,5$ Hz, H-6''', H-8'''); một anomeric proton, hai oxygenate methylene proton và bốn oxygenate methine của phần đường tại δ_H 5,24 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,34-3,50 (m, H-2''-H5''), 4,20 (dd, $J = 6,0, 12,0$ Hz, Ha-6''), 4,32 (dd, $J = 2,0, 12,0$ Hz, Hb-6''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất này cho tín hiệu của 30 carbon gồm một nhóm methylene, 17 nhóm methine, 12 carbon bậc bốn trong đó có hai nhóm carbonyl (δ_c 168,8, 179,3) (Bảng 2). Các dữ kiện phổ trên cùng với việc so sánh với hợp chất tham khảo ở tài liệu [13] của cho phép dự đoán hợp chất **2** là tiliroside (hay còn gọi là kaempferol-3- β -D-(6-*O-trans-p-coumaroyl*)glucopyranoside). Ngoài ra, các tương tác trên phổ HMBC từ H-6'' (δ_H 4,20, 4,32) đến C-1''' (δ_c 168,8), H-1'' (δ_H 5,24) đến C-3 (δ_c 135,1) cùng với các tương tác HMBC chính khác (Hình 2) khẳng định sự chính xác của dự đoán trên. Hợp chất **2** được xác định là tiliroside.

Hợp chất **3** được tách ra dưới dạng chất bột, màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **3** cho tín hiệu đặc trưng của sáu aromatic proton tín hiệu doublet của một hợp chất

flavone tại $\delta_{\text{H}} 7,56$ ($J = 8,5$ Hz, H-5), $6,96$ ($J = 8,5$ Hz, H-6), $8,25$ ($J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), $6,94$ ($J = 9,0$ Hz, H-3'', H-5''). Bên cạnh đó, phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất **3** cho tín hiệu của 15 carbon bao gồm sáu nhóm methine và chín carbon bậc bốn, trong đó có một nhóm carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 174,8$ (Bảng 2). Các tương tác HMBC từ H-5 ($\delta_{\text{H}} 7,56$) đến C-4 ($\delta_{\text{C}} 174,8$), C-7 ($\delta_{\text{C}} 156,8$) và H-6 ($\delta_{\text{H}} 6,96$) đến C-8 ($\delta_{\text{C}} 134,0$), C-10 ($\delta_{\text{C}} 116,3$) (Hình 2) xác định vị trí của các nhóm hydroxy tại C-7, C-8. Các dữ liệu phổ trên, kết hợp đối chiếu với chất tham khảo ở tài liệu [14], hợp chất **3** được xác định là 3,4',7,8-tetrahydroxyflavone.

Hợp chất **4** tách được dưới dạng chất bột, màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **4** cho tín hiệu của bốn aromatic proton đặc trưng của vòng benzen thế 1,2 tại $\delta_{\text{H}} 7,78$ (dd, $J = 7,5$ Hz, H-3), $7,15$ (t, $J = 7,5$ Hz, H-4), $7,56$ (dd, $J = 7,5, 8,5$ Hz, H-5), $7,42$ (d, $J = 8,5$ Hz, H-6); một nhóm methoxy tại $\delta_{\text{H}} 3,91$ (s); một anomeric proton và các proton đặc trưng của phần đường tại $\delta_{\text{H}} 4,91$ (d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), $3,35-3,54$ (m, H-2'-H-5'), $3,71$ (dd, $J = 6,0, 12,0$ Hz, Ha-6'), $3,95$ (dd, $J = 1,5, 12,0$ Hz, Hb-6'). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất **4** cho tín hiệu của 14 carbon, bao gồm: tín hiệu của sáu carbon thuộc vòng benzen thế 1,2 tại $\delta_{\text{C}} 119,0, 122,4, 123,6, 135,0, 132,0, 158,7$; tín hiệu của một nhóm carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 168,5$; tín hiệu một nhóm methoxy tại $\delta_{\text{C}} 52,7$ và tín hiệu của sáu carbon của phần đường tại $\delta_{\text{C}} 104,0, 75,0, 78,4, 71,2, 77,5, 62,5$. Các tương tác HMBC từ H-6 ($\delta_{\text{H}} 7,42$) đến C-7 ($\delta_{\text{C}} 168,5$) và H-1' ($\delta_{\text{H}} 4,91$) đến C-2 ($\delta_{\text{C}} 122,4$) lần lượt xác định vị trí của nhóm carbonyl và phần đường tại C-1 và C-2. Ngoài ra, vị trí kết nối của nhóm methoxy vào C-7 được xác định dựa vào tương tác HMBC từ các proton thuộc nhóm methoxy ($\delta_{\text{H}} 3,91$) đến C-7 ($\delta_{\text{C}} 168,5$) (Hình 2). Từ các bằng chứng phổ trên, kết hợp đối chiếu với chất tham khảo ở tài liệu [15], hợp chất **4** được xác định là 2-O- β -D-glucopyranosyl methyl salicylate.

Hợp chất **5** tách được dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **5** cho tín hiệu của năm aromatic proton đặc trưng của hợp chất flavone tại $\delta_{\text{H}} 6,40$ (d, $J = 1,5$ Hz, H-6), $6,21$ (d, $J = 1,5$ Hz, H-8), $7,64$ (d, $J = 2,5$ Hz, H-2'), $6,92$ (d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), $7,54$ (dd, $J = 2,5, 8,5$ Hz, H-6') và ba proton đặc trưng của nhóm methoxy tại $\delta_{\text{H}} 3,80$ (s). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của AX7 cho tín hiệu của 14 carbon, bao gồm năm nhóm methine tại $\delta_{\text{C}} 94,7$ (C-6), $99,7$ (C-8), $116,4$ (C-2', C-5'), $122,3$ (C-6') và chín carbon bậc bốn, trong đó có một nhóm carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 157,9$ (C-2), $139,5$ (C-3), $179,9$ (C-4), $163,0$ (C-5), $165,8$ (C-7), $158,4$ (C-9), $105,8$ (C-10), $122,9$ (C-1'), $146,4$ (C-3'), $149,9$ (C-4'); và một nhóm methoxy tại $\delta_{\text{C}} 60,5$. Vị trí của nhóm methoxy gắn vào khung chất tại C-3 được xác định dựa vào tương tác HMBC từ các proton của nhóm hydroxy ($\delta_{\text{H}} 3,80$) đến C-3 ($\delta_{\text{C}} 139,5$). Từ các bằng chứng phổ trên kết hợp đối chiếu với chất tham khảo ở tài liệu [16], hợp chất **5** được xác định là 3-O-methylquercetin.

Bảng 1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **1** và **4** [δ (ppm), J (Hz)]

Vị trí	Hợp chất 1		Vị trí	Hợp chất 4	
	$\delta_{\text{C}^{a,b}}$	$^{a,c}\delta_{\text{H}}$		$\delta_{\text{C}^{a,b}}$	$^{a,c}\delta_{\text{H}}$
1	36,3	-	1	158,7	-
2	47,6	1,21 m	2	122,4	-

		1,90 m			
3	75,4	3,94 m	3	132,0	7,78 dd (7,5)
4	43,4	1,08 m 2,18 m	4	123,6	7,15 t (7,5)
5	31,9	1,76 m	5	135,0	7,56 dd (7,5, 8,5)
6	59,1	1,60 t (10,5)	6	119,0	7,42 d (8,5)
7	151,7	6,68 dd (10,5, 16,0)	7	168,5	-
8	134,6	6,10 d (16,0)	1'	104,0	4,91 d (8,0)
9	200,7	-	2'	75,0	3,40 m
10	26,9	2,28 s	3'	78,4	3,54 m
11	21,7	0,96 s	4'	71,2	3,35 m
12	31,7	0,91 s	5'	77,5	3,42 m
13	21,5	0,86 d (6,5)	6'	62,5	3,71 dd (6,0, 12,0) 3,95 dd (1,5, 12,0)
1'	102,7	4,38 d (8,0)	OCH ₃	52,7	3,91 s
2'	75,1	3,15 m			
3'	78,1	3,37 m			
4'	71,7	3,29 m			
5'	77,8	3,31 m			
6'	62,8	3,68 dd (5,5, 11,5) 3,89 dd (2,0, 11,5)			

^ađo trong CDOD₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz.

Bảng 2. Số liệu phổ NMR của hợp chất 2, 3 và 5 [δ(ppm), J (Hz)]

Vị trí	Hợp chất 2		Hợp chất 3		Hợp chất 5	
	δ _{c,a,b}	^{a,c} δ _H	δ _{c,a,b}	^{a,c} δ _H	δ _{c,a,b}	^{a,c} δ _H
2	159,2	-	147,7	-	157,9	-
3	135,1	-	138,2	-	139,5	-
4	179,3	-	174,8	-	179,9	-
5	162,9	-	116,6	7,56 d (8,5)	163,0	-
6	100,2	6,15 d (2,0)	115,0	6,96 d (8,5)	94,7	6,40 d (1,5)
7	166,6	-	156,8	-	165,8	-
8	95,0	6,31 d (2,0)	134,0	-	99,7	6,21 d (1,5)
9	158,4	-	151,4	-	158,4	-
10	105,4	-	116,3	-	105,8	-
1'	122,7	-	124,2	-	122,9	-
2'	132,1	8,00 d (9,0)	131,0	8,25 d (9,0)	116,4	7,64 d (2,5)
3'	116,0	6,84 d (9,0)	116,2	6,94 d (9,0)	146,4	-
4'	161,5	-	160,4	-	149,9	-
5'	116,1	6,84 d (9,0)	116,2	6,94 d (9,0)	116,4	6,92 d (8,5)
6'	132,1	8,00 d (9,0)	131,0	8,25 d (9,0)	122,3	7,54 dd (2,5, 8,5)
OCH ₃					60,5	3,80 s
1''	104,0	5,24 d (7,5)				
2''	75,7	3,50 m				
3''	78,0	3,46 m				

Hoạt tính bảo vệ gan của các hợp chất phân lập từ cây an xoa (Helicteres Hirsuta) thu hái ở Gia Lai

4"	71,7	3,34 m				
5"	75,8	3,48 m				
6"	64,3	4,20 dd (6,0, 12,0) 4,32 dd (2,0, 12,0)				
1'''	168,8	-				
2'''	114,7	6,95 d (15,5)				
3'''	146,5	7,42 d (15,5)				
4'''	127,1	-				
5'''	131,1	7,33 d (8,5)				
6'''	116,0	6,81 d (8,5)				
7'''	161,1	-				
8'''	116,8	6,81 d (8,5)				
9'''	131,1	7,33 d (8,5)				

^ađo trong CDOD3, ^b125 MHz, ^c500 MHz.

3.2. Đánh giá hoạt tính bảo vệ gan của các hợp chất phân lập được

Cả năm hợp chất phân lập được (1-5) được đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan HepG2 được gây nhiễm độc bởi CCl₄. Kết quả sàng lọc cho thấy, ở nồng độ 100 µg/mL, hợp chất 2 và 3 có tác dụng bảo vệ đáng kể tế bào gan HepG2 với giá trị phần trăm tế bào sống sót lần lượt là 21,40 và 53,10%. Các hợp chất còn lại chưa thể hiện hoạt tính bảo vệ gan ở nồng độ nghiên cứu. Đánh giá khả năng bảo vệ tế bào gan theo nồng độ của các hợp chất phân lập được. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hợp chất 3 có tác dụng bảo vệ gan tốt nhất với giá trị nồng độ bảo vệ 50% tế bào (EC₅₀) là 90,20 µg/mL.

Bảng 3. Phần trăm tế bào sống dưới tác động bảo vệ của các hợp chất trên dòng tế bào HepG2

Nồng độ (µg/mL)	% Bảo vệ					
	Hợp chất 1	Hợp chất 2	Hợp chất 3	Hợp chất 4	Hợp chất 5	Quercetin*
100	7,36 ± 0,47	21,40 ± 3,47	53,10 ± 1,71	5,69 ± 0,63	2,15 ± 0,61	59,72 ± 3,24
20	2,68 ± 0,32	4,07 ± 0,08	21,26 ± 2,28	0,17 ± 0,24	0,08 ± 0,28	35,37 ± 0,32
4	2,56 ± 0,32	1,95 ± 0,08	12,10 ± 2,44	-2,07 ± 0,55	-1,08 ± 0,64	7,92 ± 0,51
0.8	-1,51 ± 0,24	1,56 ± 0,16	4,40 ± 1,97	-3,62 ± 0,24	-2,53 ± 0,13	2,11 ± 0,20
EC50	>100	>100	90,20 ± 7,38	>100	>100	59,57 ± 2,07

*Quercetin được sử dụng làm chất đối chứng dương.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập được năm hợp chất từ phần trên mặt đất của cây an xoa thu tại Gia Lai dựa vào các phương pháp sắc ký khác nhau. Cấu trúc hóa học của chúng được các định là 4,5-dihydroblumenol A (1), kaempferol-3-β-D-(6-O-trans-p-coumaroyl)glucopyranoside (2), 3,4',7,8-tetrahydroxyflavone (3), 2-O-β-D-glucopyranosyl methyl salicylate (4), 3-O-methylquercetin (5). Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của các hợp chất phân lập được cho thấy, hợp chất 2 và 3 có tác dụng

bảo vệ gan khá tốt. Trong đó, hợp chất 3 có tác dụng tốt nhất với giá trị $EC_{50} = 90,20$ $\mu\text{g/mL}$. Kết quả nghiên cứu cho thấy, phần trên mặt đất cây an xoa có khả năng ứng dụng làm thuốc bảo vệ gan. Tuy nhiên, các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính này cần được thực hiện trên mô hình động vật thử nghiệm để làm cho nhận định trên được vững chắc hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam (Bộ mới)*, x.b. 1, tập 2. NXB Y học, tr 459.
- [2] Viện Dược liệu (2016), *Danh lục cây thuốc Việt Nam*, x.b.1. NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr 893.
- [3] Nguyễn Hữu Duyên và Lê Thanh Phước (2016). Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào HepG2 của cây an xoa (*Helicteres hirsuta* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 47, 93-97.
- [4] Diem, T. T. D., Trinh, H. T., Le, T. K. L., Dao, V. T., Le, T. P. H. (2018). Second metabolites and antioxidant, antimicrobial, anticancer activities of *Helicteres hirsuta* root extract. *Academia Journal of Biology*, 40(3), 45-51.
- [5] Pham, H. D., Phong, T. T. H., Le, T. K. L., Dang, N. Q. (2018). Cytotoxic constituents from aerial parts of *Helicteres hirsuta* collected in Binh Phuoc province. *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 127(1A), 111-117.
- [6] Nguyen, T. T., Nguyen, T. T. H., Ba, T. C., Le, T. T. A., Nguyen, V. T., Phan, V. K. (2019). A new benzofuran derivative from the stems of *Helicteres hirsuta*. *Prod. Commun.*, <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1934578X19858814>.
- [7] Le, T. H., Le, L. S., Nguyen, M. N., Vo, T. T. V., Tran, T. V. T. (2018). Determination of methyl gallate and rutin from *Helicteres hirsuta* by HPLC and using methyl gallate content as a marker for the evaluation of antioxidant capacity. *Vietnam J. Chem.*, 56(6E1), 342-346.
- [8] Dang, N. Q., Pham, T. C., Le, T. K. L., Ta, N. Q., Dang, N. K., Pham, H. D. (2018). Cytotoxic constituents from *Helicteres hirsuta* collected in Vietnam. *Nat. Prod. Res.*, <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2018.1490907>.
- [9] Nguyen, T. T., Nadine, K., Eva-Maria, P. W., Olaf, K., Rudolf, B. (2019). Triterpenoidal and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Helicteres hirsuta* and their cytotoxicity on several cancer cell lines. *Prod. Commun.*, 14(1), 7-10.
- [10] Phạm Hoàng Hộ (1999). *Cây cỏ Việt Nam*, x.b.1, tập 3. NXB Trẻ, tr 189.
- [11] Özerkan, D., Özsoy, N., & Yilmaz, E. (2015). Vitamin D and melatonin protect the cell's viability and ameliorate the CCl_4 induced cytotoxicity in HepG2 and Hep3B hepatoma cell lines. *Cytotechnology*, 67(6), 995-1002.
- [12] Otsuka, H., Yao, M., Kamada, K., Takeda, Y. 1995. Alangionosides G-M: Glycosides of megastigmane derivatives from the leaves of *Alangium premnifolium*. *Chem. Pharm. Bull.*, 43, 754-759.
- [13] Sachiko, T., Kyoko, T., Maki, A., Hiroyuki, O., Hiroshi, H., Eiji, I., and Tomihisa, O. (2004). Isolation of cytochrome P450 inhibitors from strawberry fruit, *Fragaria ananassa*. *J. Nat. Prod.*,

- [14] María, A. P., María, J. B., José, M. S., Juan, A. O., Enrique, J. C., Alicia, M. G. 2009. Flavonoids, benzoic acids and cinnamic acids isolated from shoots and roots of Italian rye grass (*Lolium multiflorum* Lam.) with and without endophyte association and arbuscular mycorrhizal fungus. *Biochem. Syst. Ecol.* 37, 245–253.
- [15] Silvia, C., Domenico, M., Graziano, G., Urska, V., Fulvio, M. 2019. Methyl salicylate glycosides in some Italian varietal wines. *Molecules*, 24, 3260-2374.
- [16] Liya, L., Geneive, E. H., Navindra, P. S. 2009. Identification and bioactivities of resveratrol oligomers and flavonoids from *Carex folliculata* seeds. *J Agric Food Chem.* 57(16), 7282–7287.

HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES FROM *HELICTERES HIRSUTA* COLLECTED IN GIA LAI

Huynh Le Nhat Tien, Phan Huynh Xuan Win, Luong Van Tri*

Le Loi High school, Gia Lai province

*Email: luongvantri2014@gmail.com

ABSTRACT

By using various chromatographic methods, five compounds, 4,5-dihydroblumenol A (1), kaempferol-3- β -D-(6-O-trans-p-coumaroyl)glucopyranoside (2), 3,4',7,8-tetrahydroxyflavone (3), 2-O- β -D-glucopyranosyl methyl salicylate (4), 3-O-methylquercetin (5) were isolated from the methanol extract of the aerial parts of *Helicteres hirsuta* collected in Gia Lai. Their chemical structures were elucidated by using 1D, 2D-NMR and comparison with the published data. All isolated compounds (1-5) were evaluated for hepatoprotective potential against carbon tetrachloride (CCl₄) induced toxicity in HepG2 cell line. Compound 3 showed significantly hepatoprotective activity with EC₅₀ value of 92,20 μ g/mL.

Keywords: An xoa, *Helicteres hirsuta*, hepatoprotective activity.



Lương Văn Tri sinh ngày 10 tháng 09 năm 1981 tại Quảng Ngãi. Ông tốt nghiệp cử nhân Hóa học tại Trường Đại học Quy Nhơn năm 2004, nhận bằng thạc sĩ chuyên ngành Hóa lý thuyết và hóa lý tại trường Đại học Quy Nhơn năm 2017. Hiện nay ông giảng dạy tại trường THPT Lê Lợi, thành phố Pleiku, tỉnh Gia Lai..

Lĩnh vực nghiên cứu: Vật liệu nano, hóa sinh.