

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Tuấn Phương**

**NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ ĐÁNH  
GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT  
TÁCH ĐƯỢC TỪ CÂY SÀM NÚI (*Memecylon scutellatum* (Lour.))**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ: HÓA HỮU CƠ**

**Hà Nội - 2023**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Tuấn Phương

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ ĐÁNH  
GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT TÁCH  
ĐƯỢC TỪ CÂY SÀM NÚI (*Memecylon scutellatum* (Lour.))

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ  
Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC  
HƯỚNG DẪN 1

TS. Nguyễn Phượng Minh

HƯỚNG DẪN 2

PGS.TS. Nguyễn Hải Đăng

Hà Nội - 2023

## LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu tác dụng kháng viêm của hai loài Tiêu lốt (*Piper longum L.*) và Sầm núi (*Memecylon scutellatum*) trên mô hình tế bào đại thực bào chuột RAW 264.7”, mã số: THTEXS.05/22-25.

Để có thể hoàn thành tốt luận văn tốt nghiệp này, ngoài sự cố gắng, vượt khó của bản thân, tôi đã nhận được sự giúp đỡ, động viên, hỗ trợ rất nhiều của các cá nhân và tập thể.

Tôi xin chân thành cảm ơn, biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Phượng Minh - Viện Hóa học Môi trường quân sự/BTL Hóa học/BQP cùng PGS. TS. Nguyễn Hải Đăng - Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, nói riêng và các Cán bộ thuộc Trung tâm Nghiên cứu và phát triển thuốc, Viện Hoá sinh biển đã giúp đỡ, tạo điều kiện, hướng dẫn tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn. Tiếp đó, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban lãnh đạo, Phòng Đào tạo, các thầy cô giáo của Học viện Khoa học và Công nghệ trong quá trình đào tạo đã hỗ trợ và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập tại trường.

Tôi xin gửi những lời cảm ơn và sự biết ơn rất nhiều tới gia đình, cơ quan và bạn bè đã động viên và hỗ trợ tôi vượt qua mọi thử thách để hoàn thành luận văn này.

Học viên



Nguyễn Tuấn Phương

## LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu tác dụng kháng viêm của hai loài Tiêu lốt (*Piper longum L.*) và Sầm núi (*Memecylon scutellatum*) trên mô hình tế bào đại thực bào chuột RAW 264.7”, mã số: THTEXS.05/22-25.

Để có thể hoàn thành tốt luận văn tốt nghiệp này, ngoài sự cố gắng, vượt khó của bản thân, tôi đã nhận được sự giúp đỡ, động viên, hỗ trợ rất nhiều của các cá nhân và tập thể.

Tôi xin chân thành cảm ơn, biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Phượng Minh - Viện Hóa học Môi trường quân sự/BTL Hóa học/BQP cùng PGS. TS. Nguyễn Hải Đăng - Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, nói riêng và các Cán bộ thuộc Trung tâm Nghiên cứu và phát triển thuốc, Viện Hoá sinh biển đã giúp đỡ, tạo điều kiện, hướng dẫn tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn. Tiếp đó, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban lãnh đạo, Phòng Đào tạo, các thầy cô giáo của Học viện Khoa học và Công nghệ trong quá trình đào tạo đã hỗ trợ và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập tại trường.

Tôi xin gửi những lời cảm ơn và sự biết ơn rất nhiều tới gia đình, cơ quan và bạn bè đã động viên và hỗ trợ tôi vượt qua mọi thử thách để hoàn thành luận văn này.

Học viên



Nguyễn Tuấn Phương

## MỤC LỤC

<b>Danh mục chữ viết tắt.....</b>	<b>1</b>
<b>Danh mục CÁC HÌNH VẼ .....</b>	<b>2</b>
<b>Danh mục CÁC BẢNG.....</b>	<b>4</b>
<b>Mở Đầu.....</b>	<b>5</b>
<b>CHƯƠNG I: TỔNG QUAN .....</b>	<b>7</b>
1.1 Tổng quan về chi <i>Memecylon</i> L. .....	7
1.1.1 Giới thiệu chung chi <i>Memecylon</i> L. ....	7
1.1.2. Giới thiệu chung cây Sàm núi ( <i>Memecylon scutellatum</i> (Lour.)) .....	7
1.1.3. Nghiên cứu thành phần hóa học của chi <i>Memecylon</i> .....	8
1.1.4. Nghiên cứu hoạt tính sinh học của chi <i>Memecylon</i> .....	21
1.2. Tổng quan về viêm .....	23
1.3. Phương pháp điều trị viêm dùng thuốc .....	25
<b>CHƯƠNG II: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>29</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	29
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	29
2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất .....	29
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất .....	30
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm trên tế bào RAW264.7 .....	31
<b>CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>32</b>
3.1. Xử lý mẫu và quy trình phân lập các hợp chất.....	32
3.1.1. Xử lý mẫu nghiên cứu .....	32
3.1.2. Quy trình phân lập các hợp chất .....	33
3.2. Thông số vật lí của các hợp chất đã phân lập.....	36
3.2.1. Hợp chất MSC1: 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol.....	36
3.2.2. Hợp chất MSC2: (2R)-O-[4'-(3"-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol .....	36
3.2.3. Hợp chất MSC3: Schizandriside.....	36
3.2.4. Hợp chất MSC4: 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate .....	36
3.2.5. Hợp chất MSC5: Epicatechin .....	36
3.2.6. Hợp chất MSC6: Benzyl glucopyranoside.....	36
3.3. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất .....	37
3.3.1. Hợp chất MSC1: 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol.....	37

3.3.2. Hợp chất MSC2: (2R)-O-[4'-(3"-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol.....	41
3.3.3. HỢP CHẤT MSC3: Schizandriside .....	45
3.3.4. Hợp chất MSC4: 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate .....	49
3.3.5. Hợp chất MSC5: Epicatechin .....	53
3.3.6. Hợp chất MSC6: Benzyl glucopyranoside.....	55
3.4. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng viêm trên tế bào RAW 264.7 .....	58
<b>CHƯƠNG IV: KẾT QUẢ VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>63</b>
4.1. Các hợp chất đã được xác định từ cây sầm núi .....	63
4.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế sản sinh NO của các chất đã xác định được...63	
4.3. Kiến nghị hướng nghiên cứu tiếp theo .....	63
<b>Tài liệu tham khảo .....</b>	<b>64</b>

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
<sup>13</sup> C-NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
<sup>1</sup> H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CC	Column chromatography	Sắc kí cột
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
HMBC	Heteronuclear mutiple Bond Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

<i>Hình 1. 1. Hình ảnh cây Sầm núi .....</i>	8
<i>Hình 1. 2. Các dấu hiệu của viêm khi có dị vật xâm nhập cơ thể.....</i>	24
<i>Hình 2. 1. Lá cây sầm núi <i>Memecylon scutellatum</i> (Lour.) .....</i>	29
<i>Hình 3. 1. Sơ đồ tạo cặn chiết từ loài <i>Memecylon Scutellatum</i>.....</i>	33
<i>Hình 3. 2. Sơ đồ phân lập Mẫu cây Sầm núi (<i>Memecylon Scutellatum</i> (Loud.))</i>	38
<i>Hình 3. 3. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC chính của hợp chất MSC1 và hợp chất tham khảo .....</i>	37
<i>Hình 3. 4. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MSC1 .....</i>	39
<i>Hình 3. 5. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất MSC1 (giản).....</i>	40
<i>Hình 3. 6. Phổ HSQC của hợp chất MSC1 .....</i>	40
<i>Hình 3. 7. Phổ HMBC của hợp chất MSC1 .....</i>	41
<i>Hình 3. 8. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC2</i>	41
<i>Hình 3. 9. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MSC2 (giản).....</i>	43
<i>Hình 3. 10. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất MSC2 (giản) .....</i>	44
<i>Hình 3. 11. Phổ HSQC của hợp chất MSC2 .....</i>	44
<i>Hình 3. 12. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC3 .....</i>	45
<i>Hình 3. 13. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MSC3 .....</i>	47
<i>Hình 3. 14. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất MSC3 (giản) .....</i>	48
<i>Hình 3. 15. Phổ HSQC của hợp chất MSC3 .....</i>	48
<i>Hình 3. 16. Phổ HMBC của hợp chất MSC3 .....</i>	49
<i>Hình 3. 17. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC4 .....</i>	49
<i>Hình 3. 18. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MSC4 (giản).....</i>	51
<i>Hình 3. 19. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất MSC4 (giản) .....</i>	52
<i>Hình 3. 20. Phổ HSQC của hợp chất MSC4 .....</i>	52
<i>Hình 3. 21. Phổ HMBC của hợp chất MSC4 .....</i>	53

<i>Hình 3. 22. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC5</i>	53
<i>Hình 3. 23. Phổ <math>^1H</math>-NMR của hợp chất MSC5 (giản)</i>	55
<i>Hình 3. 24. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC6</i>	55
<i>Hình 3. 25. Phổ <math>^1H</math>-NMR của hợp chất MSC6 (giản)</i>	57
<i>Hình 3. 26. Cấu trúc hóa học của các hợp chất MSC1-6</i>	58

## DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 3. 1. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC1 và hợp chất tham khảo .....</i>	<i>38</i>
<i>Bảng 3. 2. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC2 và hợp chất tham khảo .....</i>	<i>42</i>
<i>Bảng 3. 3. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC3 và hợp chất tham khảo .....</i>	<i>46</i>
<i>Bảng 3. 4. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC4.....</i>	<i>50</i>
<i>Bảng 3. 5. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC5.....</i>	<i>54</i>
<i>Bảng 3. 6. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC6.....</i>	<i>56</i>
<i>Bảng 3. 7. Kết quả kiểm tra hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các mẫu cao chiết Sâm núi.....</i>	<i>58</i>
<i>Bảng 3. 8. Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất thu được từ cây Sâm núi .....</i>	<i>60</i>
<i>Bảng 3. 9. Kết quả xác định giá trị IC<sub>50</sub> trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất sạch thu được từ cây Sâm núi có khả năng ức chế sản sinh NO. ....</i>	<i>61</i>

## MỞ ĐẦU

Thực vật là một phần thiết yếu không thể thiếu trong môi trường sống trên Trái đất và cũng là nguồn tài nguyên quý giá và phong phú với những hợp chất từ thiên nhiên có hoạt tính hóa học, sinh học đa dạng. Ngành y học, được học của cả các nước phương Đông và phương Tây sử dụng một lượng rất lớn dược liệu hàng năm được chiết xuất từ thực vật. Theo thống kê ở các nước có nền công nghiệp phát triển, gần một phần tư đơn thuốc kê điều trị có chứa hoạt chất có nguồn gốc từ thực vật. Xu hướng tìm kiếm và nghiên cứu cách đa dạng các hợp chất từ tự nhiên có hoạt tính sinh học cao đến từ các loài thực vật nhằm mục đích chế tạo các dược phẩm có khả năng chữa bệnh, đang ngày càng thu hút được sự quan tâm của giới y học nói riêng và cộng đồng khoa học nói chung bởi những ưu điểm như độc tính thấp, dễ hấp thu và có chuyển hóa trong cơ thể sinh vật của chúng, so sánh với các dược phẩm tổng hợp.

Việt Nam là nước thuộc vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, sở hữu một hệ thực vật vô cùng đa dạng phân bố dọc theo chiều dài đất nước. Theo ước tính khảo sát, nước ta có khoảng 15000 loài thực vật bậc cao, trong đó hơn 5000 loài đã được ứng dụng làm thuốc. Việc tận dụng nguồn tài nguyên đó nhằm mục đích tăng cường khả năng phòng, trị bệnh và nâng cao sức khoẻ cho con người tại Việt Nam đã có cả một quá trình lịch sử dài hàng nghìn năm từ khi các vị thuốc Đông y được ứng dụng từ xa xưa và chúng ngày càng được quan tâm trong ngày nay với các đặc tính sinh học của mình.

Ngoài việc đa dạng cả về thành phần, chủng loại, nguồn dược liệu này tại Việt Nam còn có ứng dụng to lớn trong lĩnh vực y học và được sử dụng rộng rãi trong ngành y nhằm phòng, trị nhiều loại bệnh khác nhau. Các cây thuốc được sử dụng dưới hình thức độc vị hay phối hợp với nhau trong các phương thuốc Đông y tạo nên các bài thuốc hiệu quả từ xưa. Ngoài ra, hàng trăm giống cây thuốc tự nhiên đã được ngành khoa học, y - dược hiện đại chứng minh là có giá trị chữa bệnh của chúng nhờ khả năng tách, chiết các hợp chất thiên nhiên từ chúng.

Sâm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.)) là một loài thực vật có hoa thuộc chi Sâm (*Memecylon*), họ Mua (Melastomataceae) phân bố chủ yếu ở Trung Quốc, Myanmar, Malaysia, Bán đảo Đông Dương cũng như rải rác ở các

nước khác tại Đông Nam Á. Một số loài thuộc họ Sầm đã được dân gian sử dụng làm thuốc điều trị các bệnh khác nhau, chẳng hạn như, chống đái tháo đường, chống viêm, oxy hóa, bảo vệ gan, thận, giảm đau, chống giun sán, kháng khuẩn, chống ung thư. Các cặn chiết ethanol, methanol, cloroform từ lá của chúng cho khả năng chống viêm, kháng khuẩn và kháng nấm cực tốt.

Xuất phát từ nhu cầu thực tế trên, chúng tôi lựa chọn đề tài: **Nghiên cứu tách chiết, xác định cấu trúc và đánh giá hoạt tính kháng viêm của một số hợp chất tách được từ cây sầm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.))** với các nội dung sau:

- Phân lập được một số hợp chất từ cây sầm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.)),
- Xác định được cấu trúc hóa học của các hợp chất và đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng viêm của các chất.

## CHƯƠNG I: TỔNG QUAN

### 1.1 Tổng quan về chi *Memecylon* L.

#### 1.1.1 Giới thiệu chung chi *Memecylon* L.

Chi Sầm (*Memecylon* L.) hiện đã được biết trên thế giới là khoảng 300 loài, phân bố ở các vùng có khí hậu nhiệt đới tại châu Đại Dương, châu Á, châu Phi, Madagascar, quanh Thái Bình Dương và châu Mỹ. Trong nghiên cứu của J. F. Maxwell (1980) đã trình bày và khóa định loại được 28 loài, thuộc chi *Memecylon* L. ở Malaysia. Nhà khoa học Guillaumin (1908 - 1923) đã nghiên cứu và khóa định 15 loài ở Việt Nam. Giáo sư Chen Cheih (1984) đã nghiên cứu xây dựng và khóa định loại cũng như mô tả của 11 loài trong đó và 2 chi thứ. Tập thể nghiên cứu Jie Chen & Susanne S. Renner (2007) đã khóa định loại và mô tả, đi kèm hình vẽ minh họa, của 11 loài tại Trung Quốc. Tại Việt Nam, ông Phạm Hoàng Hộ (2000) đã xác định và đính kèm minh họa sơ bộ của 15 loài *Memecylon* L; ông Nguyễn Kim Đào (2003) đã lập danh mục cho 15 loài Sầm và 3 chi thứ ở Việt Nam.[1]

Chi Sầm (*Memecylon* L.) thường có đặc điểm hình thái chung là cây gỗ nhỏ, thân bám bụi và nhẵn. Thân cành có hình tròn, dạng 4 góc - có cạnh. Lá đơn, mọc đối; có 2 dạng: không cuồng và có cuồng; chất thân cây da, dai hoặc nhiều thịt; phiến hình cây có các loại là ô van, hình bầu dục, hình elip, hình trứng; cây ít thẳng, gân chính hiện rõ, mép nguyên, gân bên rõ hoặc không rõ. Cụm hoa của chi Sầm thường mọc ở nách lá hoặc đỉnh; có cuồng; cụm hoa kiểu sim dạng tán, đơn hoặc kép, đôi khi mọc thành bó; cuồng hoa nằm tại đốt gần phía trên, kèm 2 lá bắc nhỏ, gần màng rụng ở đốt khớp; nụ hoa có hình nón. Đài hoa dạng đầu, có màu, nằm trên 4 răng, không rõ ràng. Cánh hoa 4 thường rụng sớm, có màu. Nhị có 8 sợi ngắn; bao phấn của nó có 2 ngăn nhỏ, mở ra bằng rãnh; trung đới không kéo dài xuống dưới, có kích cỡ lớn hơn các ngăn của bao phấn, mũi đới diện với bao phấn, với một tuyến ở phía trên, hình guốc. Bầu hoa hạ, 1 ô, gồm 8 lá noãn, nhóm 2 và hình chữ thập; phần noãn 7 - 12, gắn với đáy; vòi nhụy có hình dùi, đốt ở đáy. Quả mọng, có dạng tròn cầu hoặc hình ô van, đôi lúc có vòng đài tồn tại ở đỉnh; hạt 1.[2]

#### 1.1.2. Giới thiệu chung cây Sầm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.))

Cây Sầm núi là loại cây thân bụi, nhỏ sống lâu năm, cao 3 - 6 m. Thân gỗ mọc thành bụi. Cành tiết diện tròn, thân nhẵn, thẳng. Lá mọc đơn, đối dạng

phiến thon ngược; phiến có hình bầu dục hoặc hình mác-trứng, cỡ 2 - 5 x 1 - 3 cm, 2 mặt lá đều sần sùi; đầu chóp tù, hơi lõm; gốc nhọn, nhăn nhúi lúc khô, không lông; cuống có độ dài 5 - 10 mm. Cụm hoa thường mọc ở nách lá, màu tím, có thể màu lam hay trắng, dài 1 cm, cao 1cm; cuống hoa dài 1 - 2 mm. Hoa có hình chén nông, đường kính 3-4 mm. Đài hoa 4 răng, nhị 8, bầu cỡ 1mm. Quả cây mọng hình cầu, có 8 cạnh, dài tồn tại 1 vòng, thắt hình vương miện, chứa 1 hạt. Mùa hoa vào tháng 3 đến 5, mùa quả là tháng 7 đến 10; thuộc loại cây ưa sáng. Lá của cây được dùng trong vị thuốc dân gian để trị mụn, nhọt, lở loét.

Loài Sầm núi phân bố rộng rãi ở phía Nam Trung Quốc, bán đảo Đông dương, Myanmar, Malaysia. Ở Việt Nam, cây mọc ở nơi rừng thưa nhiều nơi tại các tỉnh Hòa Bình, Nghệ An, Kon Tum, Kiên Giang...



*Hình 1. 1. Hình ảnh cây Sầm núi[2].*

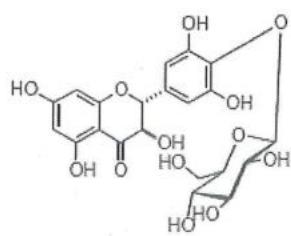
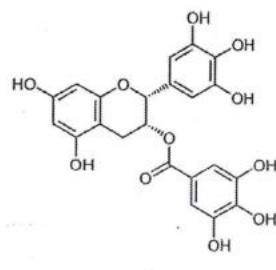
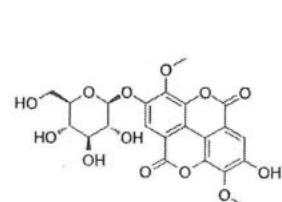
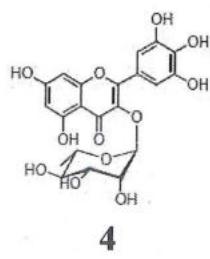
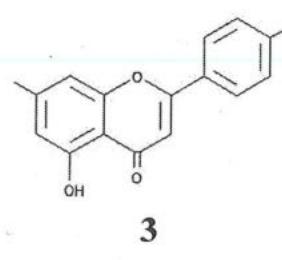
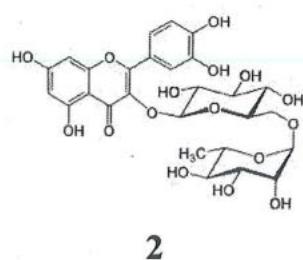
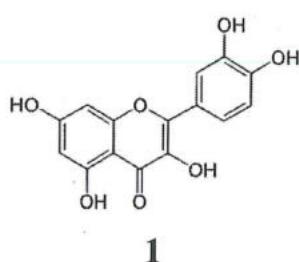
### 1.1.3. Nghiên cứu thành phần hóa học của chi *Memecylon*

Trên thế giới hiện đã có nhiều công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thuộc chi *Memecylon*. Các nhà khoa học đã phát hiện được 105 hợp chất từ chi *Memecylon*. Thành phần chủ yếu của chi này là các nhóm chất thuộc nhóm flavonoid, acid béo, phenol, terpenoid, terpene, alkane, enzyme, benzen, acetate, ester, alcol, dẫn xuất carbohydrate

và một số các hợp chất khác. Tuy nhiên, theo kết quả tìm kiếm của chúng tôi, hiện chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học của cây Sâm núi trên thế giới, mà chủ yếu các nghiên cứu về cây Sâm núi (*M. scutellatum*) là về hoạt tính sinh học của chúng.

#### 1.1.3.1. Flavonoid

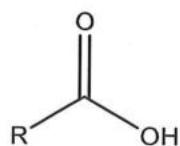
Các nhà khoa học tại Ấn độ đã phân lập được Quercetin, Rutin, Apigenin (1-3) từ rễ cây *M. umbellatum* (2009). Rutin (2) cũng được phân lập từ lá của cây *M. edule* Roxb (2015), (4-7) được phân lập từ cây *M. edule* (2017) được phát hiện là có thể phân lập từ 5 loại cây thuộc dòng *Memecylon* bao gồm *M. malabathricum*, *M. talbotianum*, *M. umbellatum*, *M. edule*, *M. wightii* (2018)[3,4,5,12]



#### 1.1.3.2 Acid béo

Các hợp chất octacosanoic acid, cerotic acid, ethyl palmitate, palmitic acid, butyric acid (**8-13**) được các tác giả tại học viện Garhwal tìm ra từ phần cành của cây *M. umbellatum* (2009); các nghiên cứu công bố về cây *M. umbellatum* tại các năm 2011 và 2013 đã công bố các chất (**9, 12, 17**), 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, oleic acid, 4,8,12,16-tetramethylheptadecan-4-oxide; 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene; hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester, 1-monooleoylglycerol trimethylsilyl ether (**19-24**) được tìm ra từ phần lá của cây *M. umbellatum* (2011); hydroxylamine, o-decyl-, (**25**) và **13** được tìm ra từ phần thân của cây *M. umbellatum* (2013).[6,7,8,11]

Cerotic acid (**10**), sulfurous acid, heptadecyl 2-pentyl ester, stearic acid, 2,3-bis[(1-oxotetradecyl)oxy]propyl ester, vinyl palmitate, 4-guanidinobutyric acid (**14-17**) được tìm thấy từ cây *M. malabathricum* (2018); tetradecanoic acid (**18**) cũng đã được tìm thấy từ thân cây này (2020).



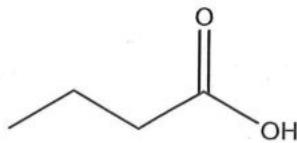
**9** R= CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>24</sub>

**10** R= CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>26</sub>

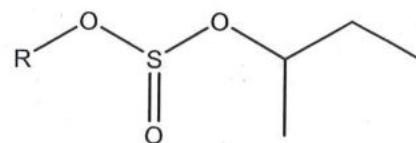
**11** R= CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>



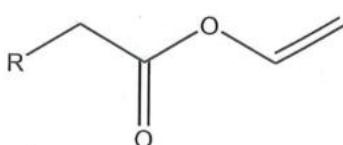
**8**



**12**

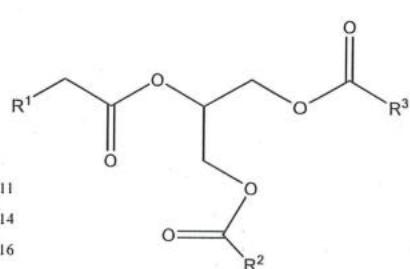


**14** R= CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>17</sub>



R = CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>

**16**

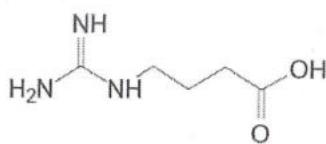


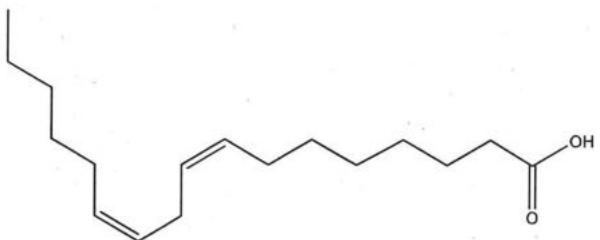
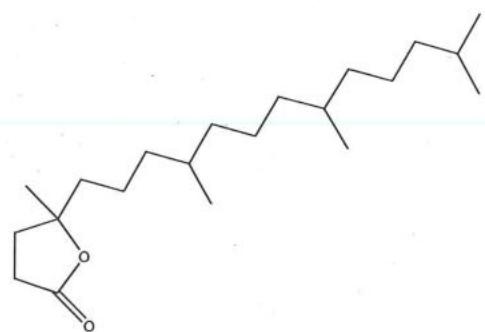
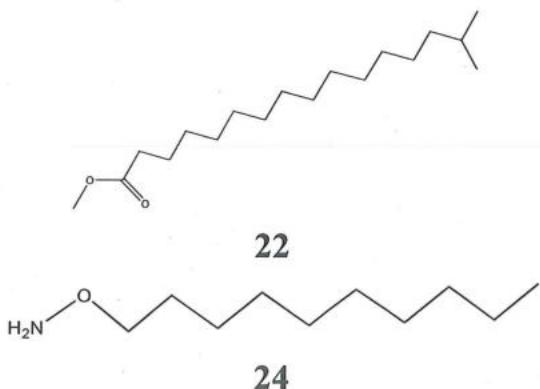
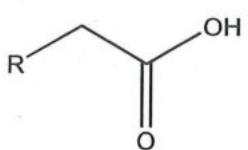
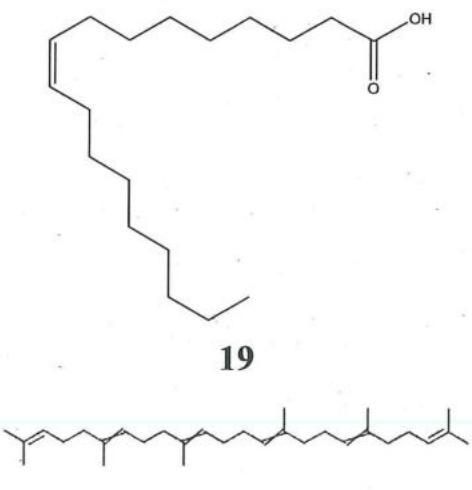
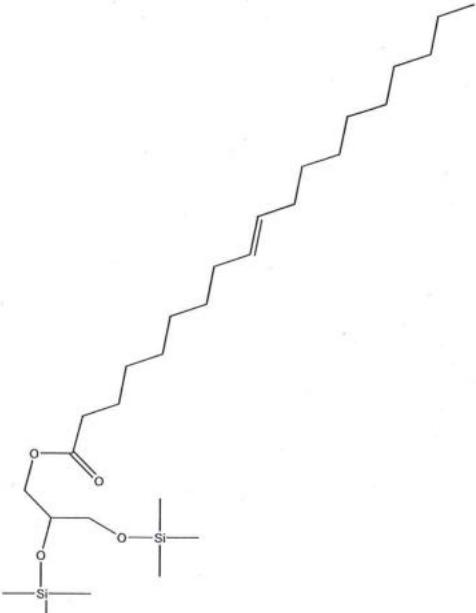
R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>

R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>

R<sup>3</sup> = CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>

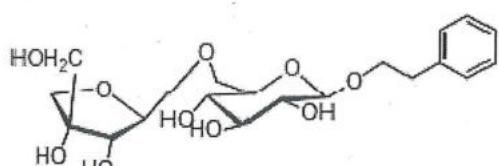
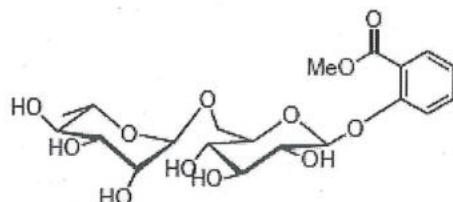
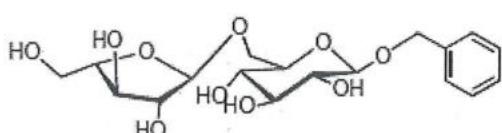
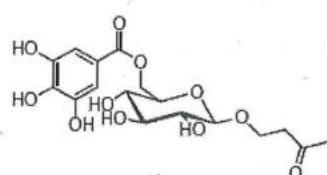
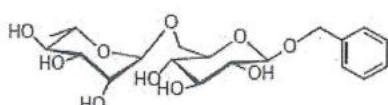
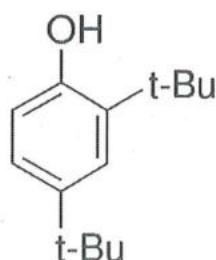
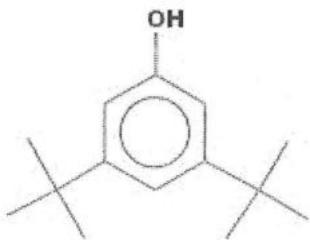
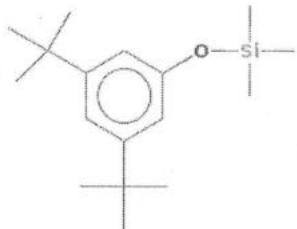
**15**

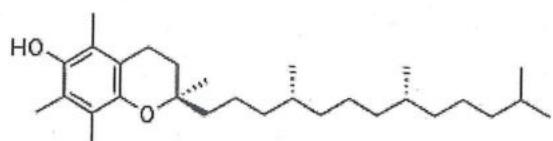


**17****18****20****22****24** $\mathbf{R} = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ **13****21****23**

### 1.1.3.3. Phenol

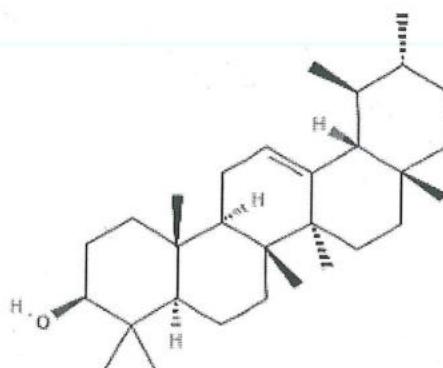
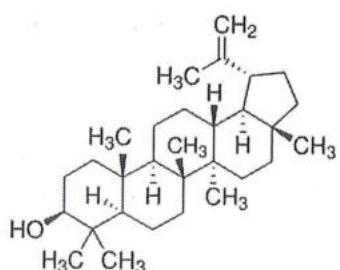
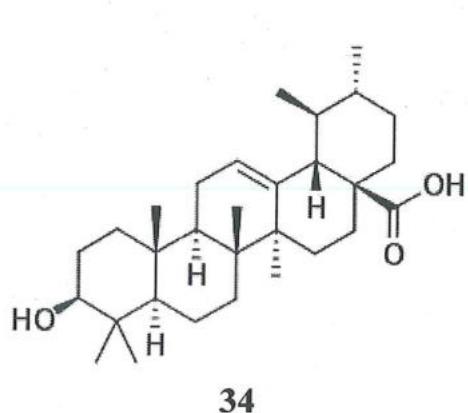
Hợp chất phenylethyl-(6-O- $\beta$ -d-apiofuranosyl)  $O$ - $\beta$ -d-glucopyranoside, methyl benzoate 2-(6-O- $\alpha$ -l-rhanmopyranosyl)  $O$ - $\beta$ -d-glucopyranoside, benzyl-(6-O- $\alpha$ -l-arabinofuranosyl)- $O$ - $\beta$ -d-glucopyranoside, butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate, benzyl-(6-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl)- $O$ - $\beta$ -d-glucopyranoside (**25-29**) cũng đã được tìm thấy từ cây *M. edule* Roxb (2009), trong khi đó từ cây *M. malabathricum*, các nhà khoa học Ấn Độ đã tìm ra các hợp chất phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-, 4-di-tert-butylphenol (**30-31**, năm 2020) phenol, 2,4-bis-(1,1-dimethylethyl) (**32**, năm 2011)  $\alpha$ -Tocopherol (**33**, 2011) [4,7,8].

**25****26****27****28****29****31****30****32**

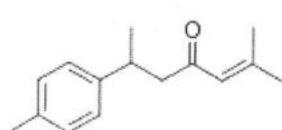


#### 1.1.3.4. Terpen

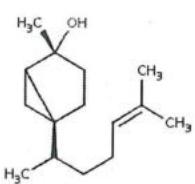
$3\beta$ -Hydroxyurs-12-en-28-oic acid (34) cũng đã được phân lập từ cây *M. edule Roxb* (2017). Neophytadiene, lupeol (35,36) được tìm thấy từ thân cây *M. malabathricum* (2020) và cây *M. umbellatum* (2011).  $\alpha$ -amyrin (37) cũng được tìm thấy từ thân cây *M. umbellatum* (2011)[8,9,10].



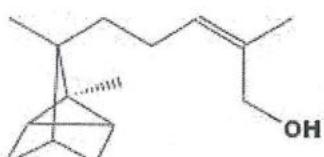
Ar-Turmerone (38) đã được phân lập từ lá cây *M. malabathricum* (2018), dodecane, 2,6,10-trimethyl- (39) cũng được phân lập từ thân của cây này (2020)[10].



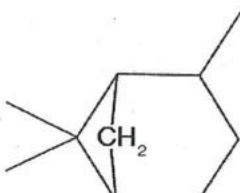
38



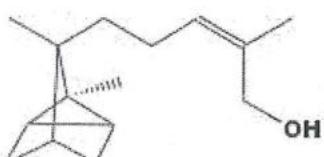
40



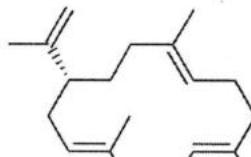
41



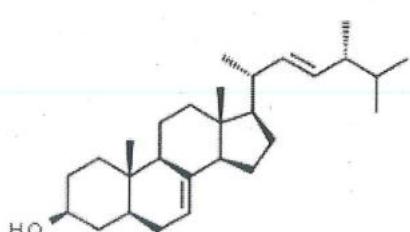
41



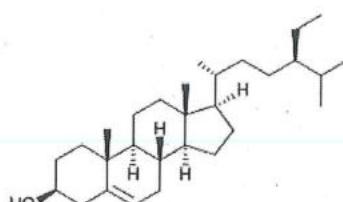
42



43



44



45

Cis-sesquisabinene hydrate, 2,6,6-trimethyl bicyclo[3.1.1]heptane (**40-41**) đã được phân lập từ lá cây *M. malabathricum* (2018); α-santalol, cembrene A, stellasterol, beta-sitosterol, (**42-45**) đã được phân lập từ thân cây *M. malabathricum* (2020); 1-nonadecene, 2(4H)-benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-, squalene, (**46-48**) được tìm ra từ phần lá của cây *M. umbellatum* (2011)

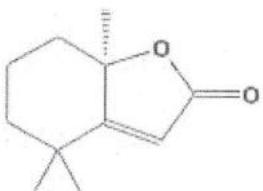
1,5-Heptadien-4-one, 3,3,6-trimethyl- (**49**) được tìm ra từ phần thân của cây *M. umbellatum* (2013); phytol (**50**) đều đã được tìm thấy từ cây *M. umbellatum* (2013) và *M. malabathricum* (2018).



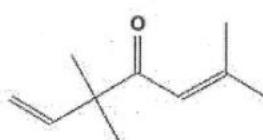
46



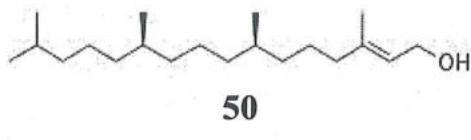
48



47



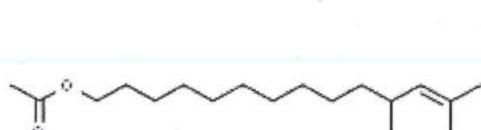
49



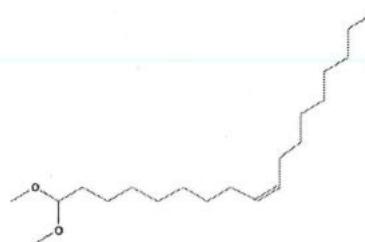
50

#### 1.1.3.5. Acetate

11,13-dimethyl-12-tetradecen-1-ol acetate, 9-octadecene, 1,1-dimethoxy- (**51-52**) đã được phân lập từ lá cây *M. malabathricum* (2018)[9,10]



51

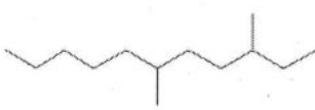


52

#### 1.1.3.6. Alkane

Undecane, 3,6-dimethyl-, heptadecane, octadecane, 3-methyl-, nonadecane, 4-methyl-, heptadecane, 4-propyl-, heptadecane, 2-methyl- (**54-59**) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2018);

Cyclopentane, 1-bromo-2-fluoro-, cis-, 5,5-diethylheptadecane (**60-61**) được tìm thấy từ lá cây của *M. malabathricum* (2020) trong khi undecane, 2-methyl-, nonadecane, octane, 3-ethyl-2,7-dimethyl-, decane, 2,4,6-trimethyl-, 3-oxabicyclo(3.3.1)nonane (**62-66**) được phân lập từ thân cây của *M. malabathricum* (2020); nonadecane, hexadecenoic acid, ethyl ester, 7-tetradecenal, (Z)-, hexadecane, 1-hexadecanol (**63, 67-70**) được phân lập từ lá cây của *M. umbellatum* (2011); undecane, uexadecane, 1-butene, 2,3,3-trimethyl-, 1-decene, tridecane, 9-nonadecene; 2,6,10-trimethyl-tetradecane, 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-; pentacosane, cyclooctane, methyl-, (**54, 69, 71-78**) được phân lập từ lá cây của *M. umbellatum* (2013)[5-10]



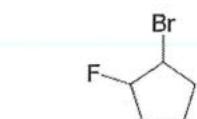
54



56



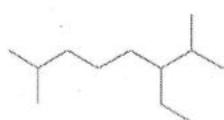
58



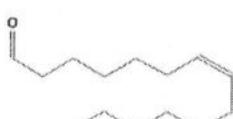
60



62



64



68



70



55



57



59



61



63



65



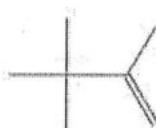
66



67



69



71



72

73



74



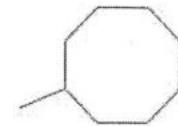
75



76



77



78

#### 1.1.3.7. Alcol

Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl- (79) được phân lập từ thân cây của *M. malabathricum* (2020); 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (80) được tìm ra từ phần lá của cây *M. umbellatum* (2011).

1-tridecanol, 1-heptatriacotanol, (3. $\beta$ .)-, 1-hexadecanol (80-82) được phân lập từ phần thân của cây *M. umbellatum* (2013)[10-12]



79



80

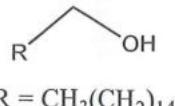


R =  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{35}$

81



80



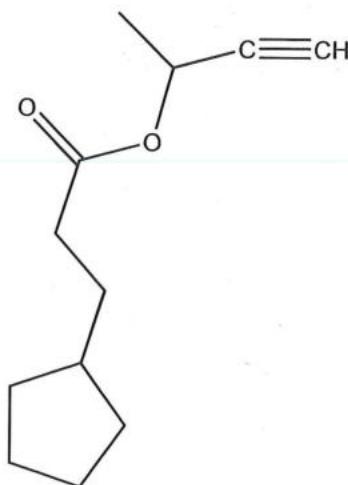
R =  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}$

82

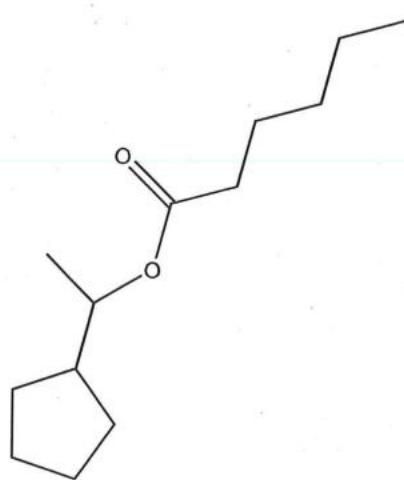
#### 1.1.3.8. Ester

Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediyl ester, 9-octadecenoic acid (*Z*)- (85,86) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2018); 3-cyclopentylpropionic acid, but-3-yn-2-yl ester; hexanoic acid, 1-cyclopentylethyl ester; 4-methyl itaconate, 9-octadecenoic acid, methyl ester, (83,84,87,88) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2020) còn sebacic acid, 3-phenylpropyl propyl ester (89) được phân lập từ thân cây của *M. malabathricum* (2020)

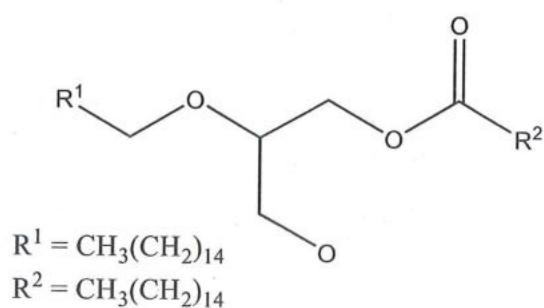
Carbonic acid, 2,2,2-trichloroethyl 2-ethylhexyl ester; dasycarpidan-1-methanol, acetate (90-91) được phân lập từ thân cây *M. umbellatum* (2013)[7-12]



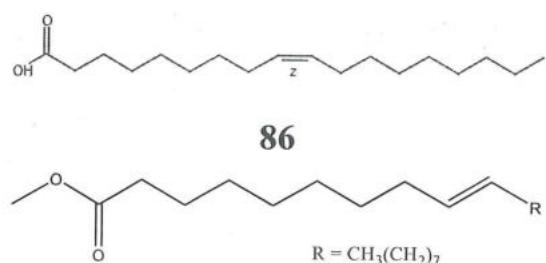
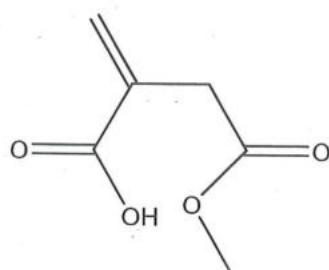
83



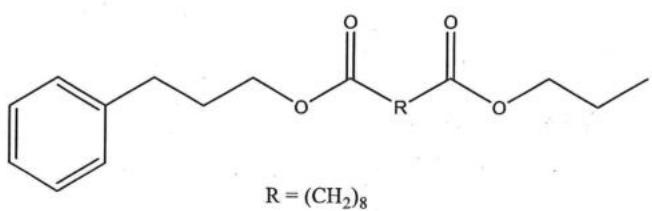
84



85

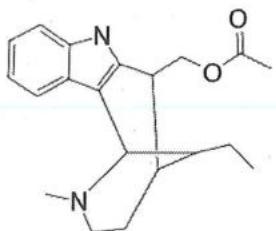
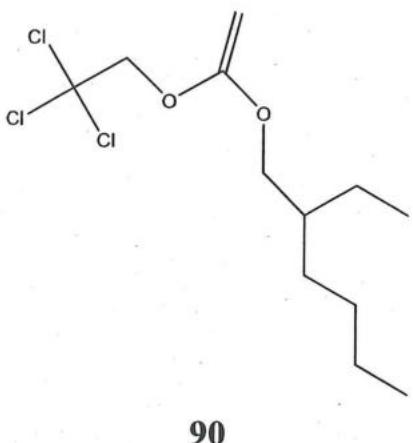


87



89

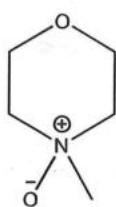
88



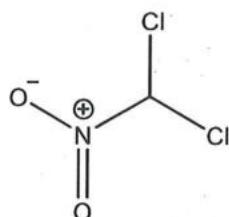
91

#### 1.1.3.9. Carbonhydro và các dẫn xuất

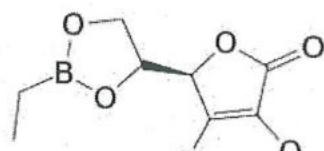
4-methyl-morpholine N-oxide; methane, dichloro nitro-;  $\beta$ -D-glucopyranose, 1,6-anhydro-; l-ascorbic acid, 5,6-O-ethylboranediyl-(92-95) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2020); piperidine, 2,2,6,6-tetramethyl-; 1,2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (96-97) được tìm ra từ phần lá của cây *M. umbellatum* (2011) trong khi methoxyacetic acid, 4-tetradecyl ester (98) được tìm ra từ phần thân của cây *M. umbellatum* (2013), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (97) cũng được tìm thấy từ cây *M. malabathricum* (2018)[5-9]



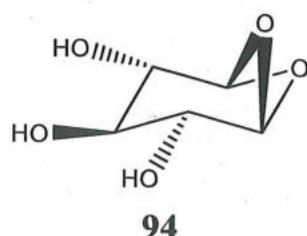
92



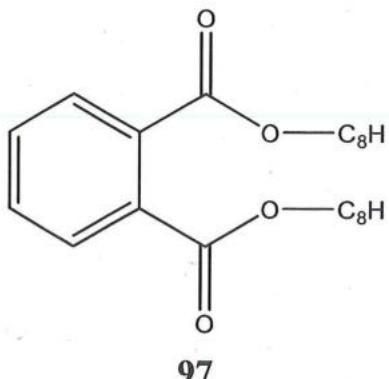
93



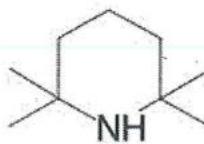
95



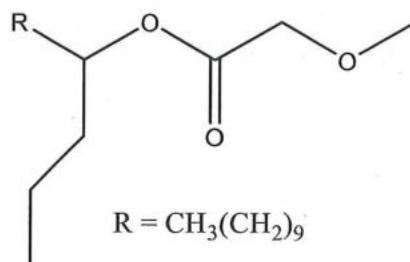
94



97



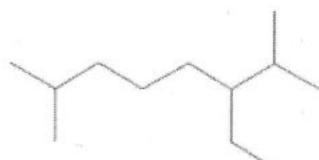
96



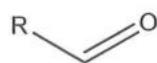
98

#### 1.1.3.10. Các hợp chất khác

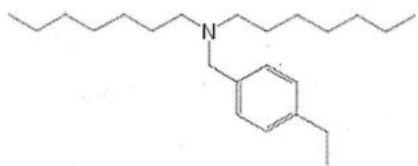
Ngoài các nhóm chất trên, Từ chi *Memecylon* ta còn thu được 1 số các chất thuộc nhóm Aldehyde, Amine, Glycoside, như 3-ethyl-2,7-dimethyl-, pentadecanal, 4-ethylbenzylamine, N,N-diheptyl-, (99-101) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2020)[4-12]



99

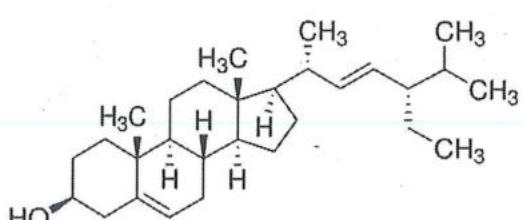
 $R = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}$ 

100

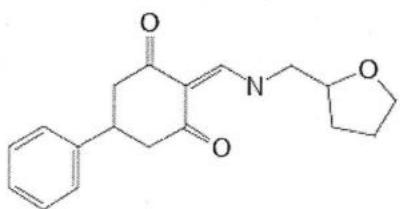
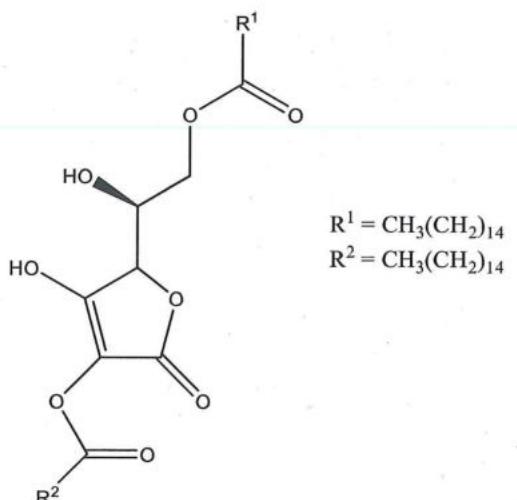


101

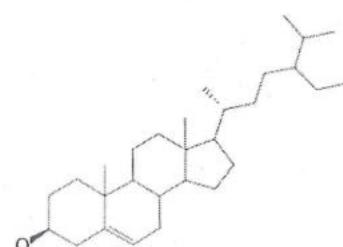
Stigmasterol (102) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2020); l-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate; 1,3-cycohexanedione, 2-(2-tetrahydrofurfuryl)aminomethylene-5-phenyl-; stigmast-5-en-3-ol, (103-105) được phân lập từ lá cây của *M. malabathricum* (2018)



102



104



105

#### 1.1.4. Nghiên cứu hoạt tính sinh học của chi *Memecylon*

Cao chiết ethanol của lá *M. umbellatum* cho đáp ứng đáng kể trong hai mô hình vết thương so với thuốc mỡ nitrofurazon 0,2 % (kl/kl) [13]. Cao

ethanol còn thể hiện tác dụng chống viêm rõ rệt ở hai mô hình chuột phù chân cấp tính bằng carrageenan và mô hình chuột u hạt bán cấp tính do vien bông [26]. Các cao chiết methanol và cloroform của lá *M. umbellatum* cho thấy khả năng chống oxy hóa tốt so với chất chuẩn Butylated hydroxyanisole (BHA). Cao chiết methanol còn cho tác dụng dọn gốc tự do rất tốt, tác dụng kháng khuẩn tốt và tác dụng kháng nấm trung bình in vitro. Một nghiên cứu khác còn cho thấy tác dụng hạ đường huyết, hạ triglycerid, giảm khối lượng cơ thể, và giảm bớt sự bất dung nạp insulin của dịch chiết methanol của lá *M. umbellatum* trên mô hình chuột béo phì bởi chế độ ăn giàu chất béo [14].

Hợp chất phenolic và flavonoid là những hợp chất góp phần tạo nên đặc tính chống oxy hóa tổng thể của các chất chiết xuất methanol.

Ngoài ra, flavonoid tự nhiên được tìm thấy từ cây *M. randerianum* đã được báo cáo là có hoạt tính hạ đường huyết mạnh. Dựa vào kết quả các hợp chất được xác định từ phân tích HR-LCMS-QTOF, Flavonoid chính thu được là cosmoiin (apigenin 7-*O*-glucoside hoặc apigetin). Với khả năng tương tự insulin, cosmoiin có hữu ích trong điều chế các chế phẩm thuốc điều trị bệnh tiểu đường thông qua việc thúc đẩy bài tiết adiponectin và phosphoryl tyrosine trong quá trình chuyển vị thụ thể insulin- $\beta$  và GLUT4. Tiềm năng chống đái tháo đường này cũng được thể hiện tại tất cả các hợp chất Flavonoid được phân lập từ chiết xuất của lá cây *M. randerianum* như cosmoiin, apigenin, rutin, isorhamnetin, quercetin và catechin. Một số flavonoid kể trên còn được báo cáo là có tác dụng ức chế tiêu hóa các enzyme như alpha-glucosidase đường ruột và alpha amylase tuyến tụy.

Cao chiết methanol của lá có hoạt tính kháng khuẩn cao đối với *Bacillus* sp và *Vibrio* sp. Với vùng ức chế lân lượt là 17, Phân tích hóa thực vật chiết xuất lá cây thu được bằng cách sử dụng một số dung môi cho thấy sự hiện diện của terpene, terpenoid, flavonoid, alkaloid, quinone, terpen và protein. Hàm lượng phenol trong chiết xuất methanol cao, chúng hoạt động như một chất chống gốc tự do mạnh và ức chế NO với IC<sub>50</sub> là 45,53 và 55,66 µg/ml. Điều này ngụ ý *M. umbellatum* có đặc tính kháng khuẩn và chống oxy hóa mạnh với hàm lượng phytochemical cao. Hợp chất phenol và flavonoid được biết là hợp chất chủ đạo chịu trách nhiệm chính cho các đặc tính này, chúng

có năng lượng liên kết tốt chống lại sự ức chế dị lập thể của đồng phân glutaminase ở thận cho thấy khả năng bảo vệ thận tốt.[15]

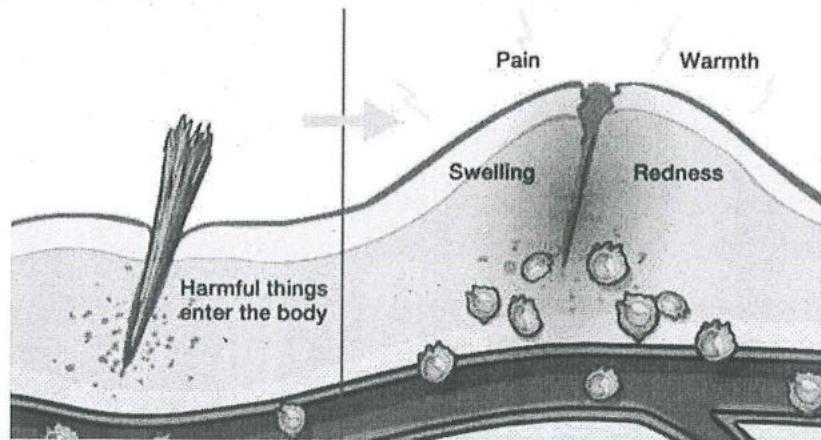
Ngoài ra, các cao chiết axeton của lá *M. candidum* có hoạt tính chống lại bốn loại vi khuẩn gây bệnh, chẳng hạn như *P. acne* ATCC (27853), *S. saprophyticus* ATCC (49907), *S. mutans* ATCC (35668), *C. freundii* ATCC 8090) với giới hạn ức chế  $5,70 \pm 0,17$  đến  $11,23 \pm 0,23$  với giá trị MIC 1250 - 2500  $\mu\text{g/mL}$  và MBC trong khoảng 1250 đến 5000  $\mu\text{g/mL}$ . Chiết xuất *M. candidum* axeton có hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào với giá trị IC<sub>50</sub> = 22,4761  $\mu\text{g/mL}$  và IC50 = 601,09  $\mu\text{g/mL}$  tương ứng.[16]

## 1.2. Tổng quan về viêm

Viêm là căn bệnh rất phổ biến trên thế giới. Viêm là một chuỗi phản ứng của cơ thể xảy ra tại mô liên kết khởi phát sau khi có sự tổn thương tế bào. Quá trình viêm thường đi kèm các triệu chứng như sưng, nóng, đỏ và đau do các mạch máu tại chỗ viêm bị giãn nở, dẫn đến máu được đưa nhiều đến nơi bị tổn thương. Các bạch cầu đi theo mạch máu xâm nhập vào mô, tiết các chất prostalandin, cytokine nhằm loại bỏ hoặc trung hòa tác nhân gây tổn thương tế bào. Viêm cấp tính không được chữa trị kịp thời, triệt để có thể diễn biến thành viêm mãn tính. Viêm là một quá trình bệnh lý, gặp ở nhiều trường hợp khác nhau. Viêm là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại tác nhân gây bệnh, cũng là phản ứng bệnh lý, khi phản ứng viêm không đúng hoặc có bị tăng cường quá mức, viêm sẽ trở thành có hại cho cơ thể ví dụ như gây ra tổn thương tại mô lành, làm rối loạn chức năng cơ quan cơ thể [17].

Các đại thực bào đóng vai trò chính trong việc mở đầu, duy trì và kết thúc tình trạng viêm [16]. Ví dụ, dưới sự xuất hiện của lipopolysaccharide (LPS), một thành phần phổ biến tại màng ngoài vi khuẩn Gram âm, các đại thực bào sẽ xuất ra các cytokine tiền viêm (interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), hoại tử khối u (TNF- $\alpha$ ) và các chất trung gian gây viêm (oxit nitric - NO, prostaglandin E2 - PGE2) sẽ được tổng hợp bởi NO synthase cảm ứng (iNOS) và cyclooxygenase-2 (COX-2) [17]. NO tác động lên tế bào tại vị trí viêm, làm tăng tính thấm tại thành mạch và đẩy nhanh quá trình xâm nhập của các chất trung gian gây viêm, hấp dẫn bạch cầu đơn nhân đến vị trí viêm. iNOS tạo ra NO từ L-arginine là chất trung gian chính của quá trình kích ứng miễn dịch và viêm. iNOS còn có thể kích hoạt COX-2, một

loại enzyme quan trọng trong viêm và cảm nhận đau, do LPS gây ra trên dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7 bằng cách tạo NO nội sinh [17]. Các kích ứng viêm kích hoạt COX-2 cũng kích hoạt iNOS, tạo ra NO. Do đó, mức độ quá mức của iNOS và COX-2 là một ứng pháp cần thiết để ngăn ngừa và điều trị viêm [18].



Hình 1. 2. Các dấu hiệu của viêm khi có dị vật xâm nhập cơ thể

Trong đó, bệnh viêm cấp tính có thể xảy ra do một trong các nguyên nhân sau:

- Tiếp xúc với một vật lạ, ví dụ: do ong đốt hoặc bụi cây đâm.
- Chấn thương.
- Nhiễm trùng.

Khi cơ thể tự phát hiện bị tổn thương, có mầm bệnh xâm nhập, hệ thống miễn dịch của cơ thể sẽ tự kích hoạt một số phản ứng sau:

- + Mô xuất hiện tích tụ các protein huyết tương, tiếp đến xảy ra tích tụ dịch rỉ gây ra viêm sưng, tấy.
- + Cơ thể chủ động giải phóng bạch cầu, chúng di chuyển về phía vùng đang chịu ảnh hưởng bởi viêm. Trong bạch cầu tồn tại các phân tử có thể giúp xử lý, chống lại các tác nhân gây bệnh.
- + Các mạch máu nhỏ liên tục mở rộng để tạo điều kiện cho bạch cầu và các protein huyết tương di chuyển, tiếp cận vùng bị tổn thương nhanh hơn.

Các dấu hiệu của viêm cấp tính có thể xuất hiện từ vài giờ đến vài ngày, tùy thuộc vào nguyên nhân gây viêm. Trong một số trường hợp, chúng biến chứng rất nhanh và nghiêm trọng. Việc khu vực viêm phát triển như thế nào và kéo dài trong thời gian bao lâu phụ thuộc vào các loại nguyên nhân

gây ra và bộ phận cơ thể mà chúng tác động cũng như các yếu tố cá nhân của cơ thể.

Một số tác nhân và yếu tố gây nhiễm trùng dẫn đến viêm cấp tính gồm:

- + Viêm ruột thừa, viêm phế quản cấp tính và một số bệnh khác bắt đầu bằng từ “viêm”

- + Đau họng do cúm hoặc cảm lạnh.

- + Chấn thương do hoạt động thể chất.

*Viêm mãn tính xảy ra trên cơ thể người trong các trường hợp sau:*

- + Độ nhạy cảm: Viêm xảy ra khi cơ thể phát hiện được dị vật lạ xâm nhập. Việc quá mẫn cảm với tác nhân bên ngoài dẫn đến dị ứng.

- + Sự tiếp xúc: Tiếp xúc với chất kích thích/ứng ở mức độ thấp, trong thời gian dài, chẳng hạn như hóa chất công nghiệp, có thể dẫn đến tình trạng viêm mãn tính.

- + Rối loạn tự miễn dịch: Hệ thống miễn dịch nhằm lẩn tránh công nhảm vào các mô khỏe mạnh đang hoạt động bình thường. Ví dụ như bệnh vẩy nến.

- + Các bệnh tự viêm: Do yếu tố di truyền có sẵn trong cơ thể ảnh hưởng đến khả năng hoạt động bình thường hệ thống miễn dịch, như bệnh Behcet.

Viêm cấp tính có thể biến chứng và diễn ra dai dẳng do cơ thể không thể hồi phục hoàn toàn sau khi bị viêm cấp tính. Đôi khi, điều này có thể dẫn đến xảy ra viêm mãn tính.

Các yếu tố có thể làm tăng nguy cơ xảy ra viêm mãn tính bao gồm: độ tuổi, chứng béo phì, chế độ ăn nhiều chất béo và đường, chất kích thích, hormone sinh dục thấp, căng thẳng....

Viêm đóng một vai trò quan trọng trong hồi phục tổn thương. Tuy nhiên, khi viêm không phù hợp hay gia tăng quá mức sẽ có hại cho cơ thể vì nó gây ra các phản ứng có hại như đau, tổn thương mô lành, rối loạn các chức năng. Bên cạnh đó viêm có thể lan rộng, ảnh hưởng đến nhiều cơ quan trong cơ thể dẫn đến hội chứng viêm hệ thống với các biểu hiện như giảm bạch cầu trầm trọng, tăng thân nhiệt, tim đập mạnh, xấu nhất là tử vong[19].

### 1.3. Phương pháp điều trị viêm dùng thuốc

Hiện nay thuốc kháng viêm chủ yếu là các loại thuốc được tổng hợp hóa học hoặc thuộc nhóm corticoid, có tiềm ẩn phản ứng phụ gây hại đến sức khỏe và giá thành cao.

Thuốc kháng viêm có nguồn gốc thực vật là một phương án khả thi có thể giải quyết vấn đề trên. Với các ưu điểm như tính an toàn, ít gây ra các phản ứng phụ, hiệu quả lâu dài và giá thành thấp, các thuốc có nguồn gốc thực vật đang mở ra những phương hướng mới trong điều trị.

Cơ chế kháng viêm của các hoạt chất chiết xuất từ thực vật gồm:

- Úc chế enzym 15-Lipoxygenase (LOX)

Nhóm enzym lipoxygenase (5, 8, 12, và 15 LOX) đóng vai trò quan trọng trong các sinh lý bệnh viêm. Enzyme đồng phân 15-LOX là enzyme chính tham gia vào quá trình tổng hợp leukotrienes từ axit arachidonic. Các leukotriene là các chất trung gian của phản ứng tiền viêm, do đó việc úc chế tổng hợp leukotrienes qua việc úc chế hoạt động của 15-LOX là một trong những phương án hiệu quả để điều trị và kiểm soát viêm [20].

Enzym LOX bị úc chế hoạt động qua cách chuyển enzym từ dạng có hoạt tính (dạng ferric) thành bất hoạt (dạng ferrous) hoặc tạo phức chelat với ion ở vị trí hoạt động của enzym [21].

- Úc chế enzym tổng hợp oxit nitric (NOS)

NOS là một enzym quan trọng có tác dụng điều trị viêm, chống trương lực mạch máu, dẫn truyền thần kinh và ung thư. NO là một gốc tự do độc hại có thể gây tổn thương mô ở nồng độ cao. NO tăng lên do iNOS tổng hợp tham gia vào quá trình kích thích viêm và hoạt động kết hợp với các chất trung gian gây viêm khác [21]. iNOS cũng kích hoạt COX-2 do LPS gây ra trong tế bào đại thực bào RAW 264.7 bằng cách tạo ra NO nội sinh [21]. Ngoài ra, các chất úc chế iNOS làm giảm sản sinh NO cũng làm giảm sản sinh prostaglandin (PG) trong tế bào [22]. Qua đó, NO được tạo ra từ quá trình kích hoạt iNOS trong quá trình viêm đóng vai trò quan trọng trong việc kích hoạt COX-2.

- Úc chế COX-2

Cơ chế hoạt động của các thuốc này là úc chế hoạt động của các enzyme cyclooxygenase (COX), xúc tác chuyển đổi axit arachidonic thành prostaglandin (PG) và thromboxan. Hai dạng COX đã được xác định là COX-1 ở hầu hết các mô, cơ quan, trong khi COX-2, chủ yếu trong các tế bào và mô viêm.

COX-1 đóng vai trò quan trọng trong duy trì trạng thái sinh lý bình thường của các mô, cơ quan, chủ yếu như phản ứng tự miễn dịch, bảo vệ niêm mạc đường tiêu hóa, cân bằng nội môi, kiểm soát lưu lượng máu thận, chức năng phổi và cả hệ thần kinh trung ương, các bệnh tim mạch. COX-2 tạo ra cảm ứng bởi các cytokine tham gia vào phản ứng viêm và xúc tác tạo ra các PG, yếu tố quyết định trong tác dụng kháng viêm của thuốc [23]. Do đó, việc ức chế enzym COX-2 sẽ kích thích các tín hiệu nội bào như NF- $\kappa$ B, p38 hoặc MAPKs, làm thay đổi sự tác động của các cytokine gây viêm như interleukin 1- beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), và yếu tố hoại tử khối u (TNF- $\alpha$ ) protein kết dính và chemokine, dẫn đến tăng cường tác động và hoạt hóa các tế bào miễn dịch. Phương án ức chế COX-2 là một phương án quan trọng trong việc điều chế các loại thuốc điều trị viêm [24].

#### - Ức chế các cytokine chống viêm

Các cytokine tiền viêm có trách nhiệm chính cho các phản ứng sớm là IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 và yếu tố gây hoại tử khối u  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Các chất trung gian gây viêm khác như yếu tố ức chế bệnh bạch cầu (LIF), oncostatin M (OSM), yếu tố tăng trưởng khói u-beta (TGF- $\beta$ ), yếu tố kích thích đại thực bào bạch cầu hạt (GM-CSF), IL-8, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18 và các chemokine khác gây viêm. Khả năng ức chế sự xuất hiện của các cytokine này chính là cơ chế tác động chống viêm của nhiều cây thuốc cũng như của các hợp chất thiên nhiên. Thuốc chống viêm steroid (SAID) như prednisolone và dexamethasone có thể làm giảm sản xuất các cytokine gây viêm này [25].

#### - Một số hợp chất tự nhiên có hoạt tính chống viêm

Một số hợp chất tự nhiên đã được chứng minh có hoạt tính chống viêm như curcumin, cucurbitacins, flavonoid [25].

+ Curcumin (*Curcuma longa*): Nghiên cứu lâm sàng cho biết curcumin có tác dụng kháng viêm. Phương thức chống viêm của curcumin nhờ khả năng ức chế chuyển hóa cyclooxygenase (COX) [20, 26], lipoxygenase (LOX) [21, 23], interleukin (IL), yếu tố gây hoại tử khối u  $\alpha$  (TNF - $\alpha$ ) [27, 28], axit arachidonic (AA) [28] và yếu tố nhân kappa B (NF- $\kappa$ B) [29].

#### + Cucurbitacin

Cucurbitacin được phân lập từ các loài thuộc họ Cucurbitaceae. Theo đặc điểm cấu trúc của chúng, cucurbitacin được chia thành nhiều loại [30].

Trong đó các hợp chất cucurbitacin B, D, E, I, dihydrocucurbitacin B, cucurbitacin R và dihydrocucurbitacin D có hoạt tính kháng viêm tốt [31, 32].

Peter và cộng sự (1999) công bố rằng khả năng chống viêm của cucurbitacin từ cây *Wilbrandia ebracteata* liên quan đến việc ức chế sản sinh prostaglandin E2 (PGE2) [33].

#### + Flavonoid

Pelzer và cộng sự (1998) đã nghiên cứu rằng hoạt tính chống viêm của 30 flavonoid được phân lập từ thuộc họ Compositae và cho biết tất cả các flavonoid được thử nghiệm đều có hoạt tính chống viêm tùy thuộc vào cấu trúc của chúng và phương pháp thử nghiệm [34]. Cơ chế để flavonoid chống viêm liên quan đến việc ức chế các tác động của COX và/hoặc LOX, sinh tổng hợp eicosanoid và phân hủy bạch cầu trung tính. Các flavonoid chọn lọc như quercetin ức chế hoạt động cả COX và LOX [35]. Wang và cộng sự (1999) công bố rằng anthocyanin và aglycone chiết xuất từ quả anh đào ức chế hoạt động của COX-1 và COX-2 [36]. Hou và cộng sự (2005) đã tìm ra anthocyanidins ức chế sự biểu hiện COX-2 do lipopolysaccharide gây ra, bằng cách kích hoạt các con đường kích hoạt protein kinase (MAPK) mitogen. Đây là cơ sở giải thích cho các đặc tính chống viêm của anthocyanidin [37].

## CHƯƠNG II: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu: Lá của cây Sầm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.)) được thu hái tại Mê Linh, Vĩnh Phúc tháng 5, năm 2022.



Hình 2. 1. Lá cây sầm núi *Memecylon scutellatum* (Lour.)[3]

Mẫu được nhận dạng bởi Tiến sĩ Nguyễn Thế Cường, Viện sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KHCNVN. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

- *Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC)*

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên các bản mỏng tráng sẵn làm từ DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck). Sau đó ta sử dụng đèn tử ngoại để kiểm tra với hai bước sóng là 254 nm và 365 nm; tiếp đó sử dụng thuốc thử là dung dịch  $H_2SO_4$  10%, nhúng đều bản mỏng vào dung dịch, sau đó sấy khô rồi hơ nóng từ từ bằng máy sấy gia nhiệt đến khi hiện màu để xác định chất.

- *Phương pháp sắc ký lớp mỏng điều chế*

Sắc ký lớp mỏng điều chế được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn silica gel 60G F254 (Merck 1,05875), sử dụng đèn tử ngoại ở hai bước sóng là 254 nm và 365 nm nhằm phát hiện vệt chất sau đó tiến hành cắt rìa bản mỏng để phun thuốc thử đều là dung dịch  $H_2SO_4$  10% đều lên bản mỏng, sấy nóng để phát hiện vệt chất; sau đó ghép lại bản mỏng như cũ để xác định vùng chất; tiếp theo, tiến hành cạo lớp silica gel có chất, tiến hành giải hấp phụ và tinh chế lại bằng phương pháp kết tinh trong dung môi thích hợp. Sau khi thu được các phân đoạn, ta sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) bằng máy AGILEN 1100 để phát hiện các chất.

- *Phương pháp sắc ký cột (CC)*

Phương pháp sắc ký cột được tiến hành bằng cách sử dụng chất hấp phụ silica gel pha thường và chất hấp phụ pha đảo. Silica gel pha thường có kích thước hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Chất hấp phụ pha đảo được sử dụng tại đây là octadecylsilyl (ODS) hoặc YMC (30-50  $\mu m$ , Fujisilisa Chemical Ltd.). Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

- *Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao*

Phương pháp này được thực hiện bằng thiết bị HPLC Agilent 1100 với các dung môi lần lượt là Acetonitrile, Metyl cyanide, Methanol và cột Jsphere ODS-H80. Thiết bị sử dụng kèm phần mềm ChemStation for LC 3D system để phát hiện các chất.

### **2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất**

Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất bằng cách kết hợp phương pháp xác định các thông số vật lý và các phương pháp đo phổ hiện đại bao gồm:

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân*

Phổ NMR đo trên các máy: Sử dụng các máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer của Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam để đo phổ NMR. Sử dụng chất nội chuẩn là TMS (Tetrametyl Silan).

- *Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm:*

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều:  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR và DEPT.

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC và HMBC.
- Sử dụng các dung môi bao gồm: CD<sub>3</sub>OD hoặc CDCl<sub>3</sub>.

### **2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm trên tế bào RAW264.7**

Trong nghiên cứu này tôi tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các mẫu được liệu thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 của chuột được thực hiện tại Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### **• Chuẩn bị mẫu thử nghiệm**

- Tế bào RAW 264.7 được cho vào đĩa 96 giếng ở nồng độ 2 x 10<sup>5</sup> tế bào/giếng và được nuôi trong tủ ấm ở môi trường 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong 24h. Sau đó, loại bỏ môi trường nuôi cấy, thay thế bằng môi trường DMEM không FBS trong 3h. Tế bào sau đó được ủ ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh NO bằng LPS (1 µg/mL) trong 24h. Một số giếng trong đó không ủ mẫu, chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu để làm đối chứng âm. Đối chứng dương được sử dụng là N<sup>G</sup>-Methyl- L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0,8µg/mL. Nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), là chỉ thị cho việc tạo NO, được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Phương pháp là sử dụng 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) chuyển qua đĩa 96 mới và thêm vào 100 µL Griess reagent: 50 µL of 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 µL 0.1% (w/v) N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha vào nước. Hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như mẫu trắng (blank). Hàm lượng nitrite của các mẫu được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO<sub>2</sub> và so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

- Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức:  

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - [(\text{hàm lượng } \text{NO}_{\text{sample}} / \text{hàm lượng } \text{NO}_{\text{LPS}}) \times 100]$$
- Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

### CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### **3.1. Xử lý mẫu và quy trình phân lập các hợp chất**

##### **3.1.1. Xử lý mẫu nghiên cứu**

Nguyên liệu: Mẫu Sầm núi được thu thập vào tháng 5 năm 2022 . Tại Mê Linh, Hà Nội.

###### **Bước 1: Xử lý mẫu và tạo cặn chiết methanol tổng**

- Mẫu nghiên cứu được được thái nhỏ, sấy khô trong tủ sấy mẫu ở nhiệt độ 50°C.
- Mẫu khô được nghiên nhở, thu được lượng mẫu 9,5 kg, bổ sung methanol (2 lần) mỗi lần 15 lít và chiết siêu âm ở 40°C trong vòng 2 h.
- Phần dịch methanol thu được sau khi lọc bằng giấy lọc được tiến hành cát loại dung môi bằng máy cô quay chân không ở 65°C, thu được cặn chiết methanol tổng.

###### **Bước 2: Tạo dịch chiết phân đoạn dichloromethane, n-hexane, ethyl acetate và nước**

- Cặn methanol tổng được phân bố vào 2 lít nước cất rồi được bổ sung 2 lít n-hexane (3 lần)
  - Hỗn hợp được lắc đều và để qua đêm tạo phân lớp.
  - Phân lớp n-hexane thu được qua 3 lần chiết được tiến hành cát loại dung môi hữu cơ bằng máy cát quay chân không thu được cặn n-hexane.
  - Phần nước còn lại sau khi chiết với n-hexane quay nhầm loại bỏ dung môi n-hexane còn lần và tiếp tục bổ sung 2 lít dichloromethane (3 lần).
  - Hỗn hợp được lắc đều và để qua đêm tạo phân lớp.
  - Phân lớp dichloromethane thu được sau 3 lần chiết được tiến hành cát loại dung môi hữu cơ bằng máy cô quay chân không thu được cặn dichloromethane.
  - Phần nước còn lại sau khi chiết với dichloromethane được cô quay loại bỏ dichloromethane còn lần và tiếp tục bổ sung 2 lít ethyl acetate (3 lần).
  - Hỗn hợp được lắc đều và để qua đêm tạo phân lớp.
  - Phân lớp ethyl acetate thu được sau 3 lần chiết được tiến hành cát loại dung môi hữu cơ bằng máy cô quay chân không thu được cặn ethyl acetate.

- Phần nước còn lại sau khi chiết với ethyl acetate được quay loại bỏ dung môi ethyl acetate còn lẩn và lọc qua giấy lọc rồi được chạy cột dianion loại muối vô cơ, rửa giải bằng methanol quay khô thu được cặn chiết phân đoạn nước.

Kết quả thu được được thể hiện ở hình sau

<b><i>Memecylon scutellatum</i> (Lour.)</b> (9,5 kg)		
<i>Chiết siêu âm bằng methanol 2 lần;</i> <i>Mỗi lần 2 h ở 45°C</i>		
<b>MS (950 g)</b>		
<i>n-hexane</i>  <b>MS1</b> (45,1 g)	<i>ethyl acetate</i>  <b>MS2</b> (66,6 g)	<i>lớp nước</i>  <b>MS3</b> (2,2 L)
<i>Phân bố đều trong nước, 2.0 L</i> <i>Chiết phân lớp lần lượt với</i> 1. <i>n-hexane,</i> 2. <i>ethyl acetate</i> <i>theo tỉ lệ thể tích 1 : 1 × 2 lần</i>		

Hình 3. 1. Sơ đồ tạo cặn chiết từ loài *Memecylon Scutellatum*

### 3.1.2. Quy trình phân lập các hợp chất

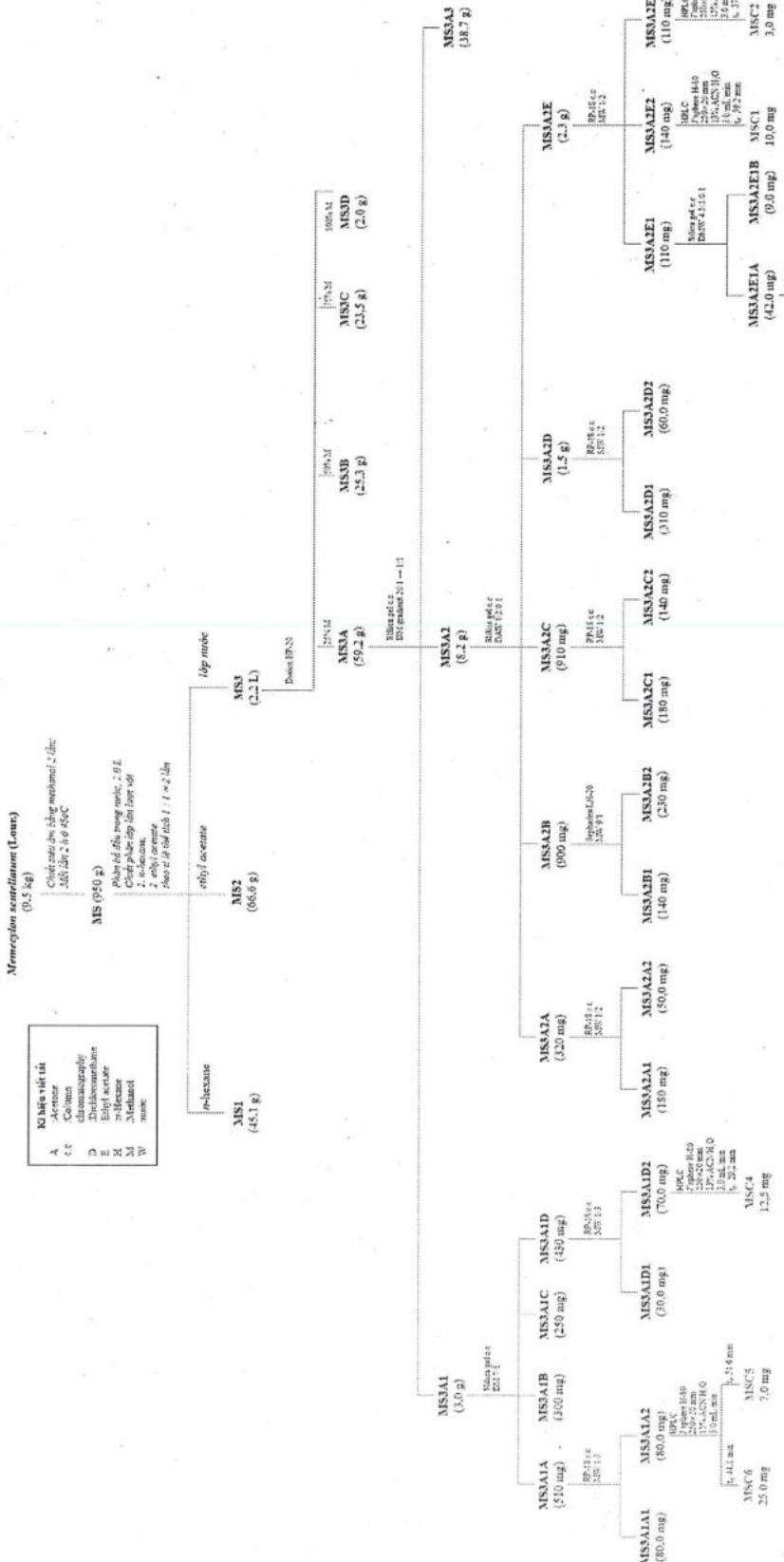
Bột khô xay của *M. scutellatum* (9,5 kg) được chiết siêu âm bằng methanol (MeOH) (2 lần, mỗi lần 15 lít, 2 giờ ở 45°C). Sau khi loại bỏ dung môi, cao chiết MeOH (950,0 g) được phân bố đều trong nước và được phân tách lần lượt với *n*-hexane (H) và ethyl acetate (EtOAc) thu được cặn *n*-hexane (MS1- 45,1 g), EtOAc (MS2- 66,6 g) và lớp nước (MS3-2,2 L).

Lớp nước (MS3) được đưa lên cột sắc ký diaion HP-20 (CC), rửa bằng nước, sau đó rửa giải bằng MeOH trong nước (25, 50, 75 và 100% MeOH, thể tích 1 L) thu được 4 phân đoạn, MS3A-MS3D. Phân đoạn MS3A phân tách trên cột silica gel rửa giải bằng gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20/1, 10/1, 5/1, 2.5/1, 1/1, v/v) thu được ba phân đoạn, MS3A1-MS3A3.

MS3A1 được phân tách trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (7/1, v/v) thu được bốn phân đoạn, MS3A1A-MS3A1D. MS3A1A được phân tách trên cột RP-18 sử dụng hệ dung môi MeOH/nước (1/3, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A1A1 và MS3A1A2. MS3A1A2 được phân tách bằng HPLC sử dụng hệ dung môi 15% ACN trong nước thu được

hai hợp chất **MSC6** (25,0 mg) và **MSC5** (7,0 mg). MS3A1D phân tách trên cột RP-18 rửa giải bằng MeOH/nước (1/3, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A3A1D1-MS3A1D2. MS3A1D2 phân tách bằng HPLC sử dụng pha động 13% ACN trong nước thu được hợp chất **MSC4** (12,5 mg).

Phân đoạn MS3A2 được phân tách trên cột silica gel rửa giải bằng hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}/\text{nước}$  (1/2/0,1, v/v/v) thu được năm phân đoạn, MS3A2A-MS3A2E. MS3A2A được phân tách trên cột RP-18 sử dụng dung môi MeOH/nước (1/2, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A2A1-MS3A2A2. MS3A2B được phân tách trên cột Sephadex LH-20 rửa giải bằng MeOH/nước (9/1, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A2B1-MS3A2B2. MS3A2C được phân tách trên cột RP-18 sử dụng dung môi MeOH/nước (1/2, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A2C1-MS3A2C2. MS3A2D được phân tách trên cột RP-18 sử dụng dung môi MeOH/nước (1/2, v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A2D1-MS3A2D2. MS3A2E được phân tách trên cột RP-18 sử dụng dung môi MeOH/nước (1/2, v/v) thu được ba phân đoạn, MS3A2E1-MS3A2E3. MS3A2E1 được phân tách trên cột silica gel rửa giải bằng  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{nước}$  (4,5/1/0,1, v/v/v) thu được hai phân đoạn, MS3A2E1A-MS3A2E1B. MS3A2E1A được phân tách bằng HPLC sử dụng hệ dung môi 15% ACN trong nước thu được hợp chất **MSC3** (5,2 mg). MS3A2E2 được phân tách bằng HPLC sử dụng hệ dung môi 13% ACN trong nước thu được hợp chất **MSC1** (10,0 mg). MS3A2E3 được phân tách bằng HPLC sử dụng hệ dung môi 15% ACN trong nước thu được hợp chất **MSC2** (3,0 mg).



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập Mẫu cây Sàm núi (*Memecylon scutellatum* (Loud.))

### 3.2. Thông số vật lí của các hợp chất đã phân lập

#### 3.2.1. Hợp chất MSC1: 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol.

- Chất dầu.
- ESI-MS  $m/z$ : 419 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>, 441 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.
- Công thức phân tử: C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>10</sub>. Khối lượng phân tử: 418
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

#### 3.2.2. Hợp chất MSC2: (2R)-O-[4'-(3"-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol.

- Chất bột có màu trắng, vô định hình.
- Độ quay cực  $\alpha_D^{20}$ : +10.0° ( $c = 0.1$ , MeOH).
- ESI-MS  $m/z$  449.2 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>, 471.1 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>, 487.1 [ $M + K$ ]<sup>+</sup>.
- Khối lượng phân tử: 449
- Công thức phân tử: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>11</sub>.
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

#### 3.2.3. Hợp chất MSC3: Schizandriside.

- Chất dầu.
- Công thức phân tử: C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>O<sub>13</sub>. Khối lượng phân tử: 583
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

#### 3.2.4. Hợp chất MSC4: 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate.

- Chất dầu màu nâu.
- ESI-MS  $m/z$ : 425.1 [ $M + Na$ ]<sup>+</sup>; HR-ESI MS  $m/z$ : 425.1067 (Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>Na, 425.1060).
- Công thức phân tử: C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>. Khối lượng phân tử: 402
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

#### 3.2.5. Hợp chất MSC5: Epicatechin.

- Chất bột màu nâu, vô định hình.
- Khối lượng phân tử: 290.
- Công thức phân tử: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>.
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

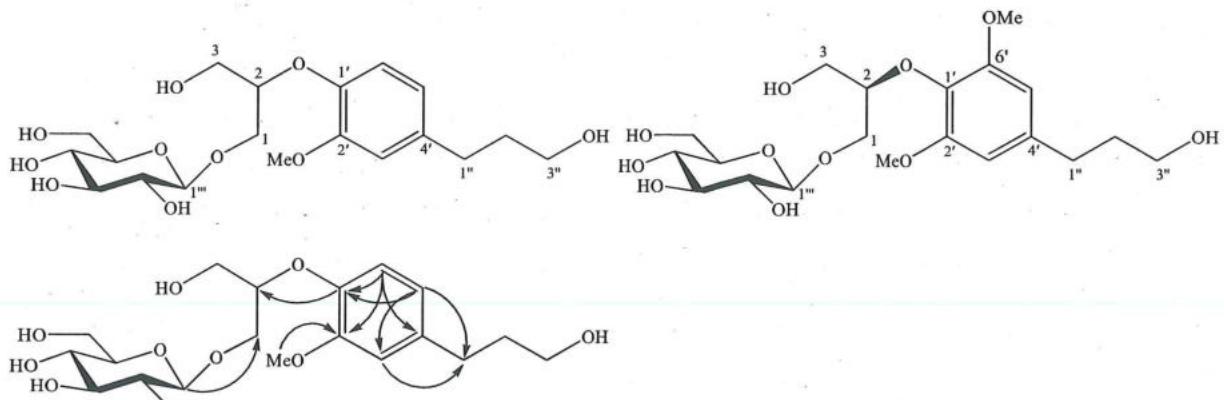
#### 3.2.6. Hợp chất MSC6: Benzyl glucopyranoside.

- Chất bột có màu trắng, vô định hình.

- Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ : ( $c = 0.1$ , MeOH).
- Công thức phân tử: C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>.
- Khối lượng phân tử: 270.
- $\delta_C$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>,  $\delta_H$  đo trong methanol-d<sub>4</sub>

### 3.3. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

#### 3.3.1. Hợp chất MSC1: 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol



Hình 3. 3. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC chính của hợp chất MSC1 và hợp chất tham khảo

Hợp chất MSC1 thu được dưới dạng chất dầu. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MSC1 xuất hiện tín hiệu của 1 proton anome tại  $\delta_H$  4,34 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz) và proton của nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3,68 (1H, dd,  $J = 5,4, 12,0$  Hz)/3,87\* (1H) đặc trưng cho 1 phân tử đường glucopyranose, 3 proton vòng thơm thê ở vị trí 1,3,4 tại  $\delta_H$  6,75 (1H, dd,  $J = 1,8, 8,4$  Hz), 6,87 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz), 7,03 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz), 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_H$  1,84 (2H, m), 2,65 (2H, t,  $J = 7,2$  Hz), 3 proton của nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3,58 (2H, t,  $J = 6,6$  Hz), 3,69 (2H, dd,  $J = 5,4, 12,0$  Hz), 3,85\* (1H)/4,08 (1H, dd,  $J = 4,2, 10,8$  Hz). Ngoài ra, còn có sự xuất hiện của proton của nhóm oximethine tại  $\delta_H$  4,36 (1H, m) và proton nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,86 (3H, s). Kết hợp phân tích phổ <sup>13</sup>C và HSQC cho thấy sự có mặt của 19 nguyên tử cacbon, trong đó có 6 cacbon vòng thơm tại  $\delta_C$  114,1 (C-3'), 119,4 (C-6'), 121,8 (C-5'), 138,4 (C-4'), 146,5 (C-1') và 151,9 (C-2'), 6 cacbon đặc trưng cho một phân tử đường glucopyranose tại  $\delta_C$  104,8 (C-1''), 78,0 (C-3''), 77,9 (C-5''), 75,1 (C-2''), 71,6 (C-4''), 62,7 (C-6''), 2 cacbon methylene tại  $\delta_C$  32,7 (C-1''), 35,5 (C-2''), 3 cacbon oxymethylene tại  $\delta_C$  62,1 (C-3''), 62,2 (C-

3), 68,9 (C-1), 1 cacbon oximethine tại  $\delta_C$  81,3 (C-2) và 1 cacbon methoxy tại  $\delta_C$  56,5 (-OMe).

Phân tích phổ HMBC cho thấy sự tương tác giữa proton anome H-1''' ( $\delta_H$  4.34) và cacbon C-1 ( $\delta_C$  68,9) chứng minh sự liên kết của nhóm glycosyl với C-1. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa proton của nhóm methoxy ( $\delta_H$  3.86) với C-2' ( $\delta_C$  151,9), giữa proton nhóm oximethine ( $\delta_H$  4,36) với C-1' ( $\delta_C$  146,5), giữa proton của nhóm methylene ( $\delta_H$  2,65) với C-4' ( $\delta_C$  138,4) chứng minh sự có mặt của các nhóm thế tại vị trí 1,3,4 của vòng thơm. Các dữ liệu phổ còn lại được xác định thông qua phổ HSQC và HMBC. Kết hợp với so sánh, tìm hiểu tài liệu tham khảo, hợp chất MSC1 được xác định là 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol.

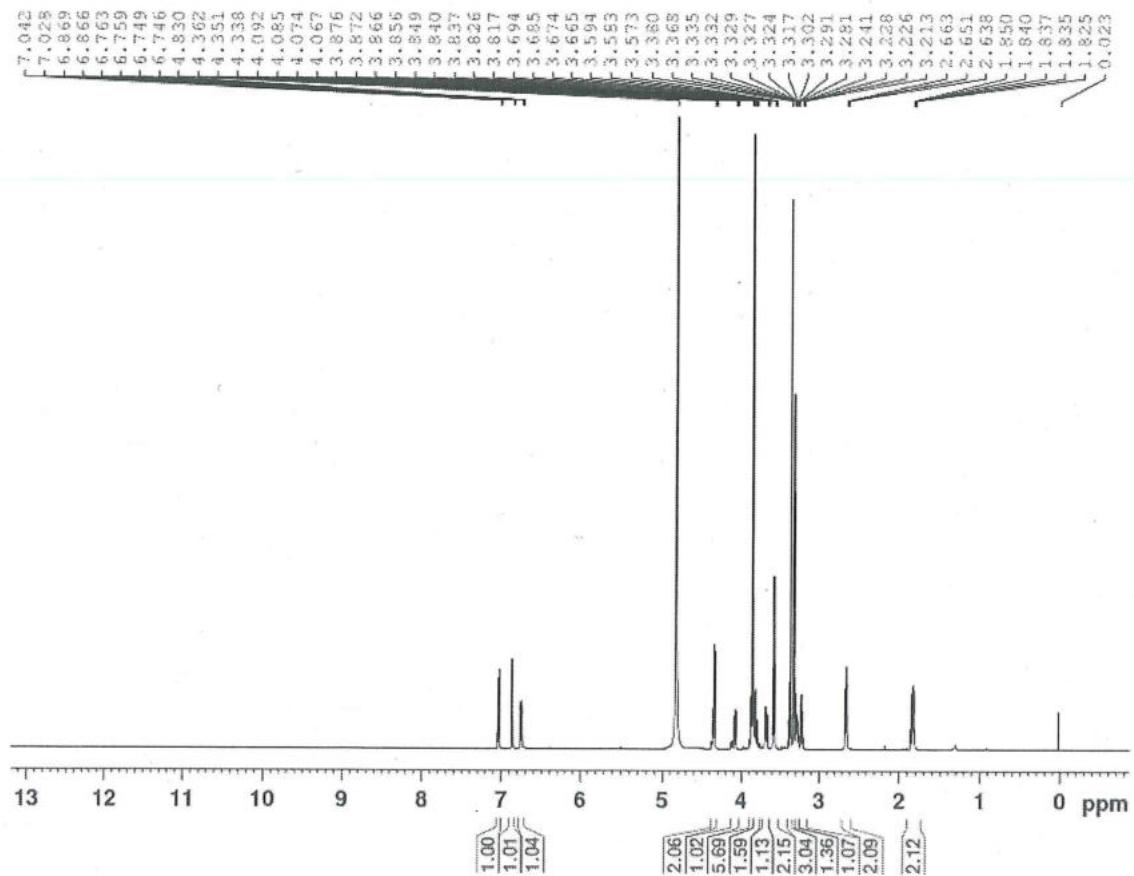
Hợp chất này đã được phát hiện trong rượu vang Riesling bằng phép đo khối phổ FAB và sau đó được phân lập và xác định bằng các phương pháp quang phổ và hóa học. Hợp chất này là một chất chuyển hóa axit shikimic mới của rượu vang.[38]

Bảng 3. 1. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC1 và hợp chất tham khảo

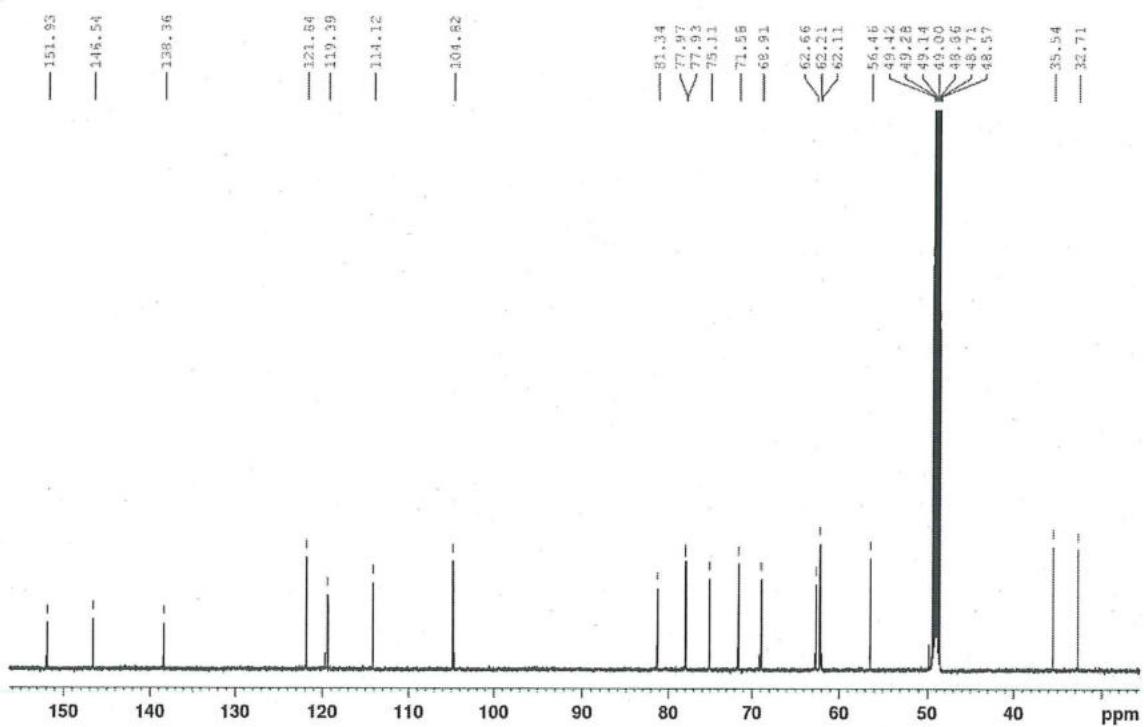
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J = Hz)
1	60.3	68.9	3.85* 4.08 (dd, 4.2, 10.8)
2	81.4	81.3	4.36 (m)
3	67.5	62.2	3.69 (dd, 5.4, 12.0)
1'	133.5	146.5	-
2'	152.6	151.9	-
3'	105.5	114.1	6.87 (d, 1.8)
4'	137.9	138.4	-
5'	105.5	121.8	6.75 (dd, 1.8, 8.4)
6'	152.6	119.4	7.03 (d, 8.4)
1''	32.1	32.7	2.65 (t, 7.2)
2''	34.3	35.5	1.84 (m)
3''	60.2	62.1	3.58 (t, 6.6)
1-O-Glc			
1'''	103.1	104.8	4.34 (d, 7.8)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
2'''	73.5	75.1	3.21
3'''	76.6	78.0	3.36
4'''	70.1	71.6	3.30
5'''	76.9	77.9	3.29
6'''	61.1	62.7	3.68 (dd, 5.4, 12.0) 3.87*
2',6'-OMe	55.9	56.5	3.88 (s)

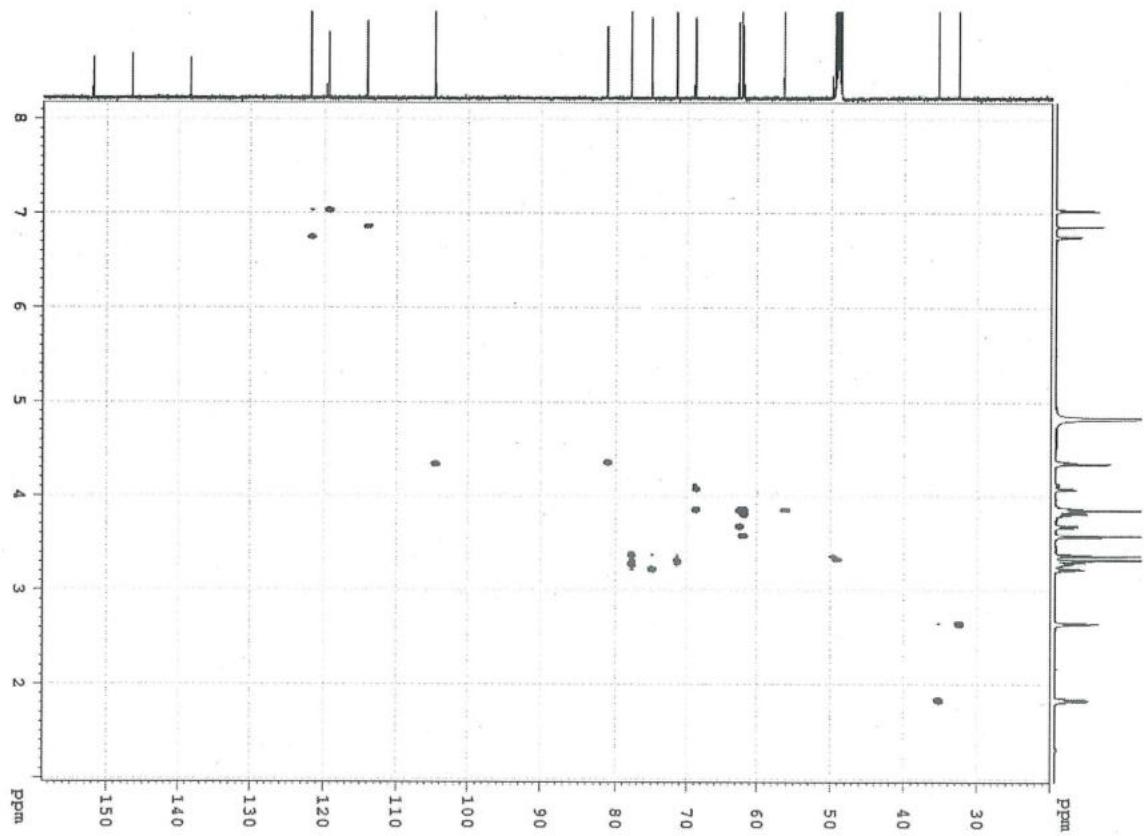
<sup>a</sup>Đo trong methanol-d<sub>4</sub>, <sup>b</sup>150 MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta_C$  đo trong DMSO-d<sub>6</sub>



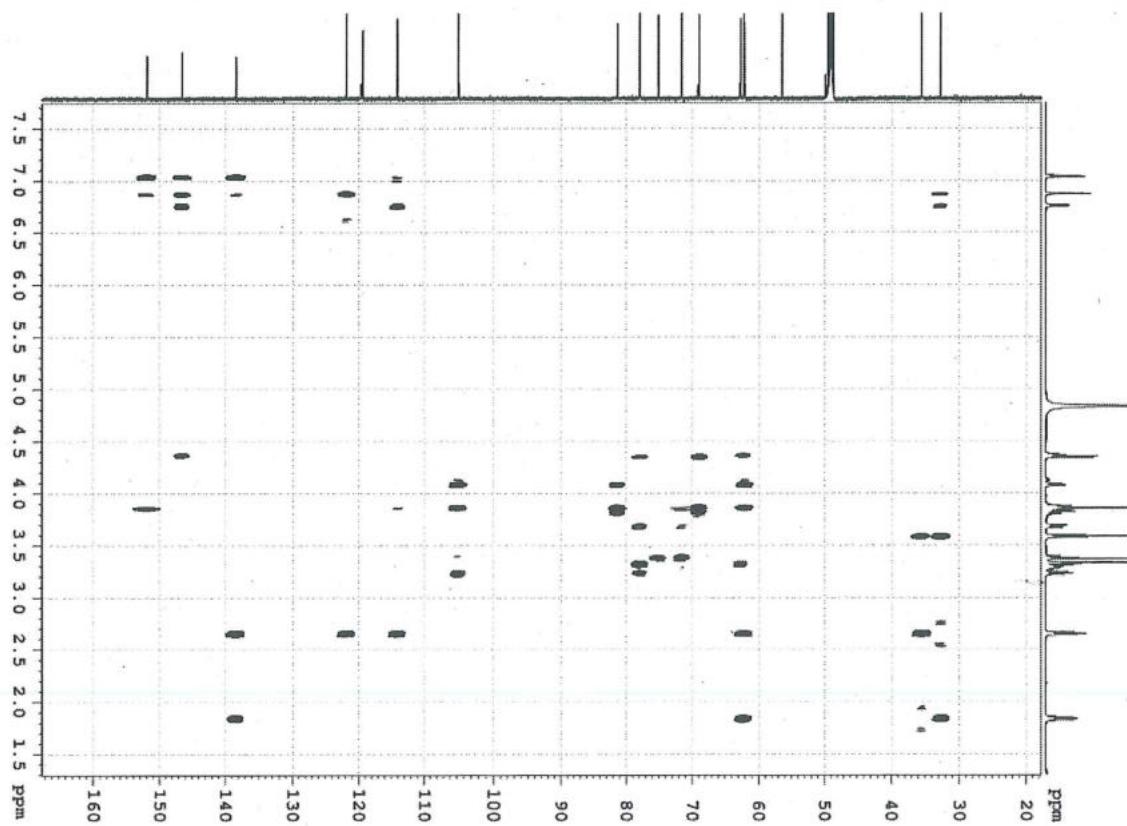
Hình 3. 4. Phô 1H-NMR của hợp chất MSC1



Hình 3. 5. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MSC1 (giản)

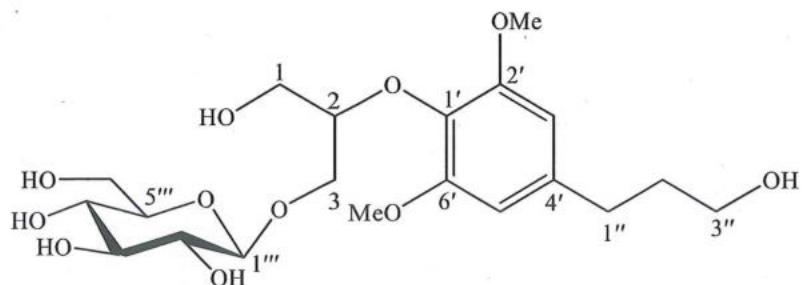


Hình 3. 6. Phổ HSQC của hợp chất MSC1



Hình 3. 7. Phổ HMBC của hợp chất MSC1

### 3.3.2. Hợp chất MSC2: (2R)-O-[4'-(3''-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol



Hình 3. 8. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC2

Hợp chất MSC2 thu được dưới dạng chất bột vô định hình, có màu trắng. Trên phổ  $^1\text{H}$  của hợp chất MSC2 xuất hiện tín hiệu của 2 proton vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  6,56 (2H, s), 1 proton anome tại  $\delta_{\text{H}}$  4,34 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz) và 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  3,69 (1H, dd,  $J = 5,4, 11,4$  Hz)/3,89\* (1H) đặc trưng cho phân tử đường glucose, 6 proton của 2 nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3,85 (6H, s). Ngoài ra, còn có sự xuất hiện tín hiệu proton của 2 nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  1,85 (2H, m), 2,67 (2H, t,  $J = 7,2$  Hz), proton của 3 nhóm oxymethylene

tại  $\delta_H$  3,60 (2H, t,  $J=6,6$  Hz), 3,78 (1H, dd,  $J = 4,2, 11,4$  Hz)/3,84\*, 3,89\* (1H)/4,12\* (1H), proton của 1 nhóm oximethine tại  $\delta_H$  4,11\* (1H). Kết hợp phổ  $^{13}C$  và phổ HSQC cho biết sự có mặt của 20 nguyên tử cacbon, trong đó có 6 cacbon vòng thơm tại  $\delta_C$  106,8 (C-3', C-5'), 135,0 (C-1'), 140,1 (C-4'), 154,4 (C-2', C-6'), 6 cacbon đặc trưng cho phân tử đường glucose tại  $\delta_C$  104,9 (C-1''), 78,0 (C-5''), 77,9 (C-3''), 75,1 (C-2''), 71,6 (C-4''), 62,7 (C-6''), 2 cacbon methoxy tại  $\delta_C$  56,6 (-OMe), 3 cacbon oxymethylene tại  $\delta_C$  62,0 (C-1), 62,1 (C-3''), 69,1 (C-3), 2 cacbon methylene tại  $\delta_C$  33,4 (C-1''), 35,5 (C-2'') và 1 cacbon oximethine tại  $\delta_C$  83,4 (C-2). So sánh số liệu phổ của hợp chất 2 với hợp chất (2R)-O-[4'-(3''-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol thấy có sự tương đương về mặt số liệu, hợp chất MSC2 được xác định là (2R)-O-[4'-(3''-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol.

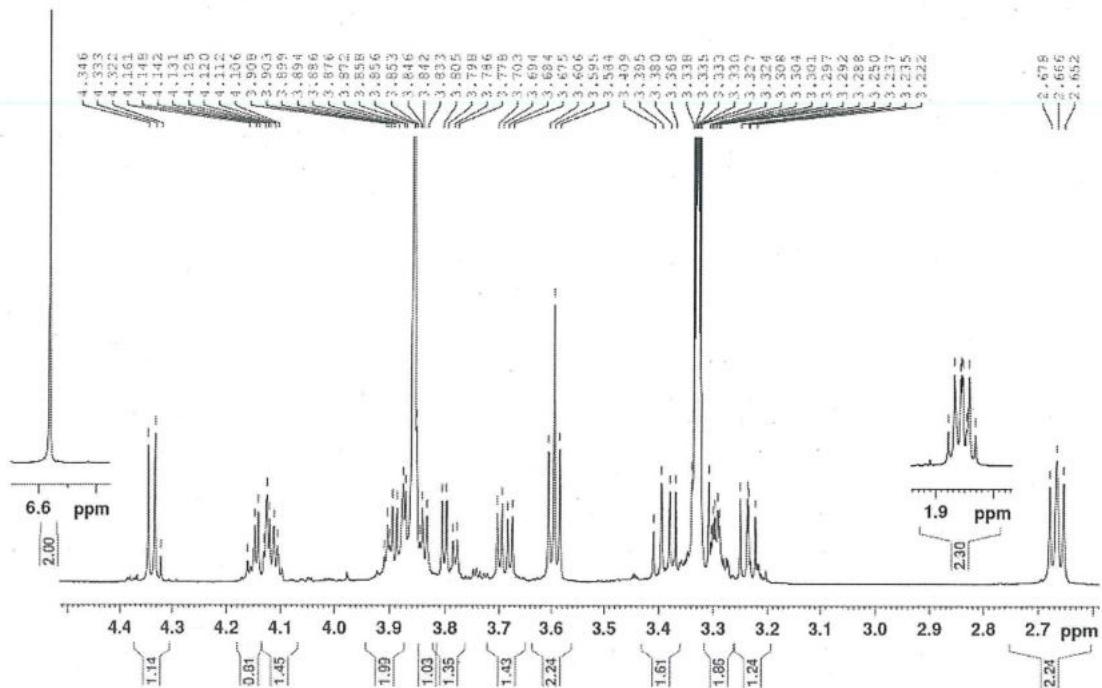
Hợp chất này đã được trình bày tại công bố Fitorerapia, 119, 100-107, 2017 [39], nó đã từng được phân lập từ các bộ phận của cây Kinh giới (*P. cavaleriei* subsp) bằng phương pháp sắc ký lặp lại.

*Bảng 3. 2. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC2 và hợp chất tham khảo*

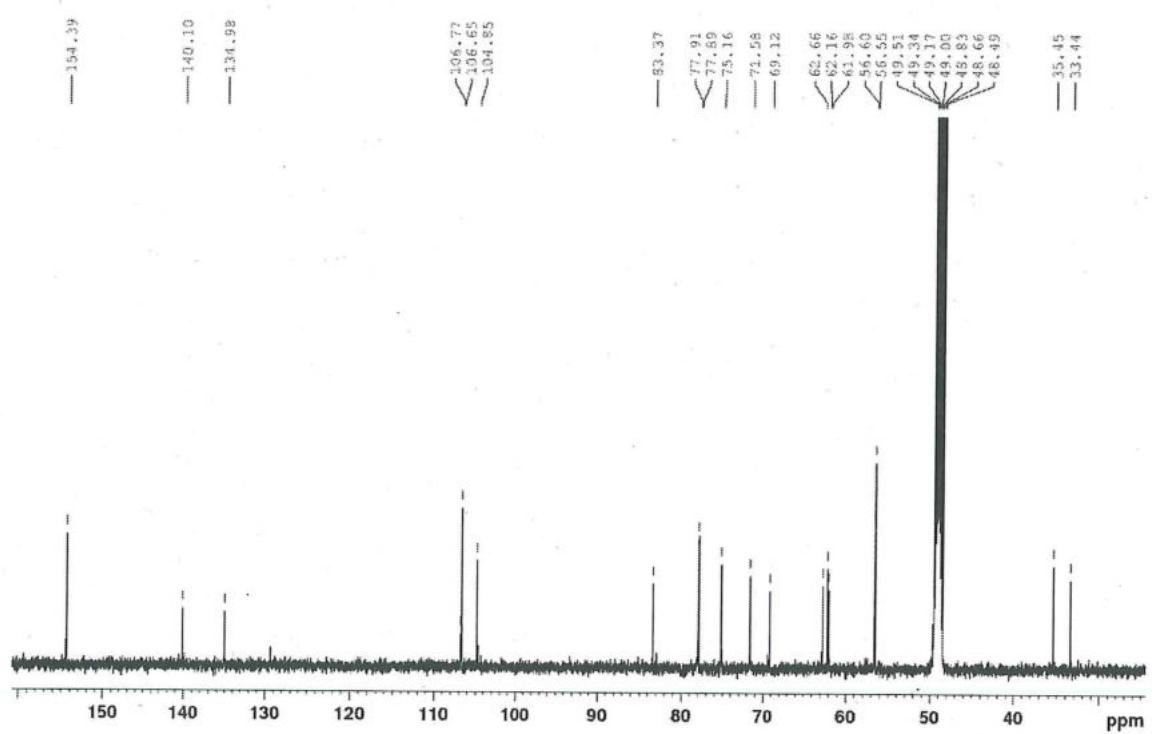
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	60.3	62.0	3.78 (dd, 4.2, 11.4) 3.84*
2	81.4	83.4	4.11*
3	67.5	69.1	3.89* 4.12*
1'	133.5	135.0	-
2',6'	152.6	154.4	-
3',5'	105.5	106.8	6.56 (s)
4'	137.9	140.1	-
2',6'-OMe	55.9	56.6	3.85 (s)
1''	32.1	33.4	2.67 (t, 7.2)
2''	34.3	35.5	1.85 (m)
3''	60.2	62.1	3.60 (t, 6.6)
3-OGlc			

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (mult., J = Hz)
1'''	103.1	104.9	4.34 (d, 7.8)
2'''	73.5	75.1	3.24 (dd, 7.8, 9.0)
3'''	76.6	77.9	3.39 (dd, 8.4, 17.4)
4'''	70.1	71.6	3.30*
5'''	76.9	78.0	3.30*
6'''	61.1	62.7	3.69 (dd, 5.4, 11.4) 3.89*

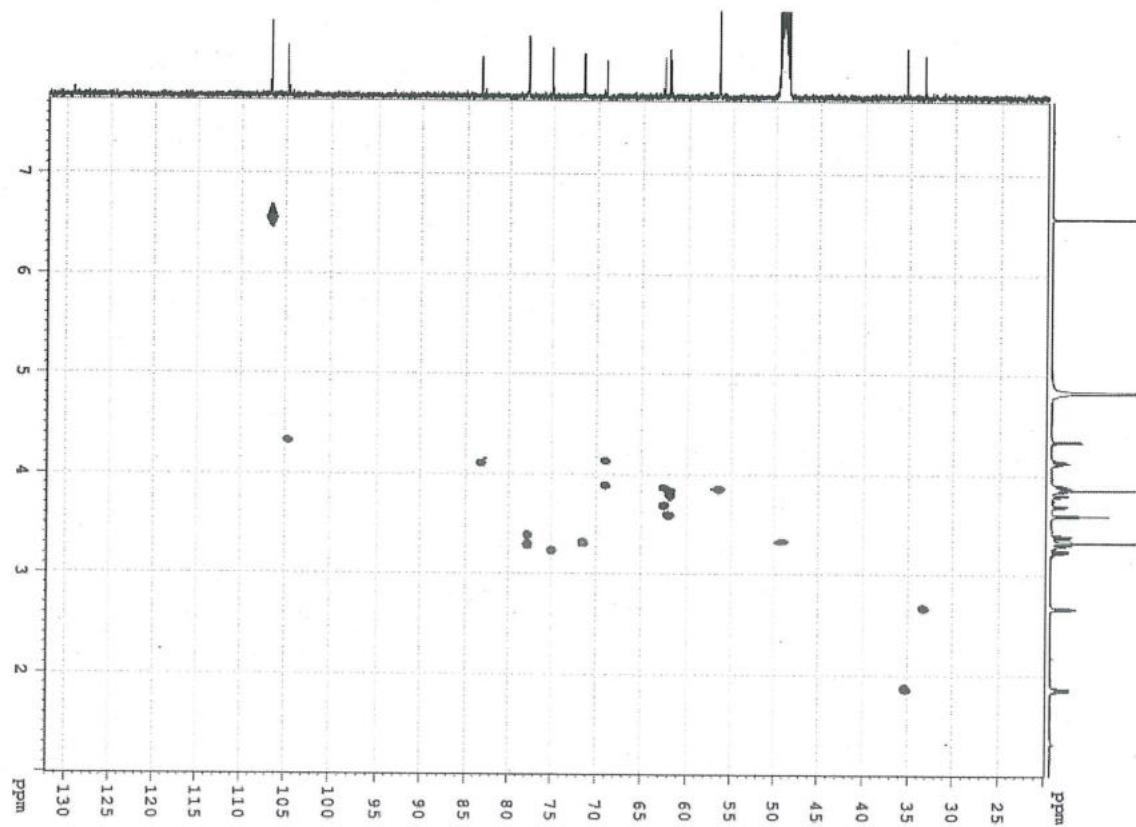
<sup>a</sup>Đo trong methanol-*d*<sub>4</sub>, <sup>b</sup>150 MHz, <sup>c</sup>600MHz, \*tín hiệu chập, <sup>#</sup>đc đo trong DMSO-*d*<sub>6</sub>



Hình 3. 9. Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất MSC2 (giản)

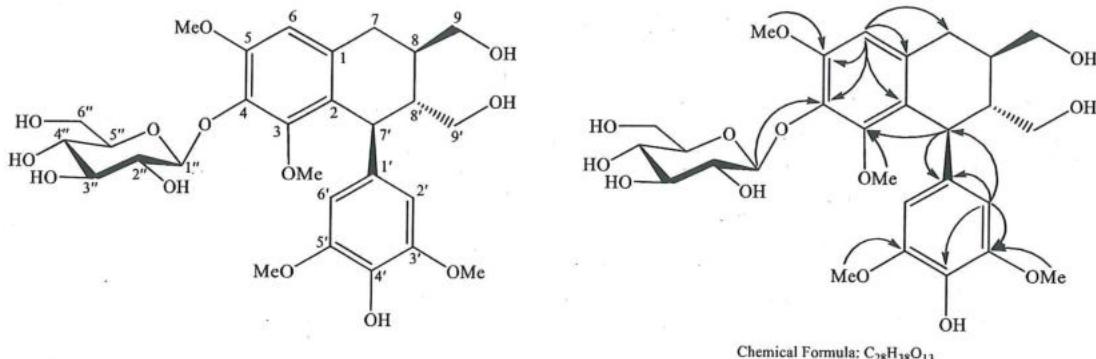


Hình 3. 10. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MSC2 (giản)



Hình 3. 11. Phổ HSQC của hợp chất MSC2

### 3.3.3. HỢP CHẤT MSC3: Schizandriside



*Hình 3. 12. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC3*

Hợp chất MSC3 thu được trong dạng chất dầu. Trên phô <sup>1</sup>H của hợp chất MSC3 xuất hiện tín hiệu của 3 proton vòng thơm tại  $\delta_H$  6,38 (2H, s), 6,70 (1H, s), 1 proton anome tại  $\delta_H$  4,89 (1H, d,  $J = 7,2$  Hz) và 2 proton của nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3,65\*/3,75\* đặc trưng cho một phân tử đường glucopyranose, 12 proton của nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,44 (3H, s), 3,76 (6H, s), 3,88 (3H, s). Ngoài ra, còn có sự có mặt của 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_H$  2,69 (1H, dd,  $J = 11,4, 15,0$  Hz)/2,78 (1H, dd,  $J = 4,2, 15,0$  Hz), 2 proton của nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3,58\* (2H), 3,58\* (1H)/3,68\* (1H), 3 proton của nhóm methine tại  $\delta_H$  1,70 (1H, m), 1,95 (1H, m), 4,28 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz). Kết hợp phô <sup>13</sup>C và phô HSQC cho biết sự có mặt của 28 nguyên tử cacbon, trong đó có 12 nguyên tử cacbon vòng thơm tại  $\delta_C$  106,8 (C-2', C-6'), 109,1 (C-6), 127,0 (C-2), 134,7 (C-4'), 139,4 (C-1'), 149,0 (C-3', C-5'), 153,2 (C-3), 152,6 (C-5), 6 cacbon đặc trưng cho phân tử đường glucopyranose tại  $\delta_C$  105,2 (C-1''), 78,3 (C-5''), 77,8 (C-3''), 75,9 (C-2''), 71,3 (C-4''), 62,5 (C-6''), 3 cacbon methine tại  $\delta_C$  40,2 (C-8), 42,8 (C-7'), 48,6\* (C-8'), 1 cacbon methylene tại  $\delta_C$  34,0 (C-7), 2 cacbon oxymethylene tại  $\delta_C$  63,2 (C-9'), 66,2 (C-9), 4 cacbon methoxy tại  $\delta_C$  56,7 (5-OMe), 56,8 (3'-OMe, 5'-OMe), 61,3 (3-OMe).

Trên phô HMBC chỉ ra tương tác giữa proton anome H-1'' ( $\delta_H$  4,89) với cacbon C-4 ( $\delta_C$  138,7) cho thấy nhóm glycosyl liên kết với vòng thơm tại vị trí C-4. Ngoài ra, có sự tương tác giữa proton nhóm methoxy với C-3, với C-5, với C-3', với C-5' chứng minh sự xuất hiện của 4 nhóm thê methoxy tại các vị trí 3,5,3', 5' của hai vòng thơm. Các dữ liệu phô còn lại được xác định dựa trên phô HSQC và HMBC. Kết hợp và đối chiếu dữ liệu phô của hợp chất

MSC3 với dữ liệu phổ của Schizandriside, có sự tương đương về mặt số liệu đã chứng minh rằng hợp chất MSC3 là Schizandriside.

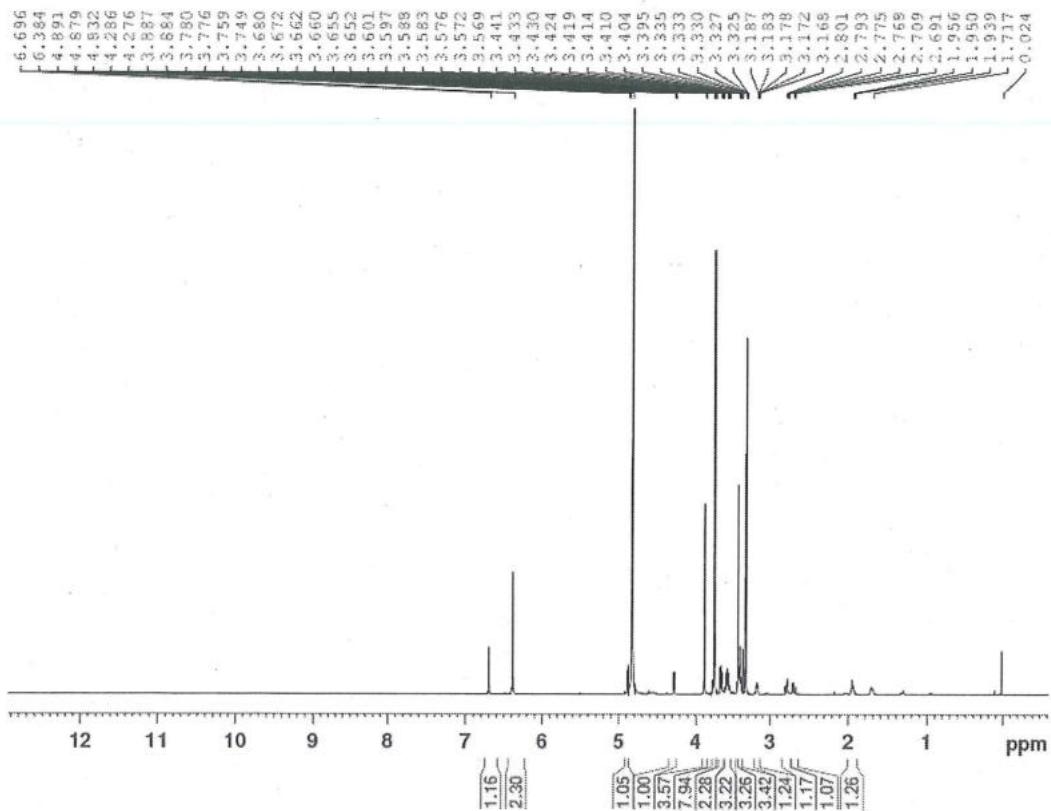
Lignans này được phát hiện rộng rãi trong thực vật và thể hiện tác dụng được lý quan trọng, bao gồm khả năng chống u và chống oxy hóa. Schizandriside đã phân lập được từ Cây Vô ưu (*Saraca asoca*) được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, bằng cách sử dụng xét nghiệm thu dọn gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Hợp chất schizandriside cho thấy khả năng chống oxy hóa với  $IC_{50} = 34,4\mu M$ . [40]

*Bảng 3. 3. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC3 và hợp chất tham khảo*

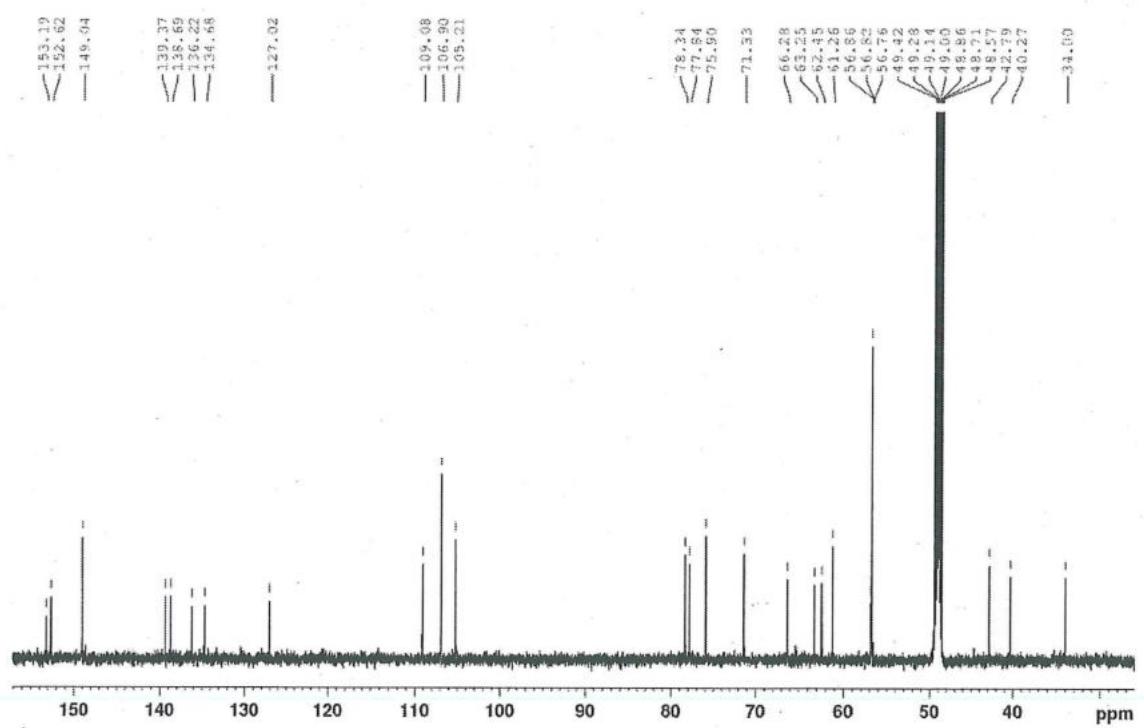
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J = Hz)
1	136.4	136.2	-
2	126.8	127.0	-
3	153.1	152.6	-
4	138.6	138.7	-
5	153.1	153.2	-
6	109.3	109.1	6.70 (s)
7	33.7	34.0	2.69 (dd, 11.4, 15.0) 2.78 (dd, 4.2, 15.0)
8	40.6	40.3	1.70
9	66.6	66.3	3.58* 3.68*
1'	138.8	139.4	-
2',6'	106.8	106.8	6.38 (s)
3',5'	149.1	149.0	-
4'	134.7	134.7	-
7'	42.1	42.8	4.28 (d, 6.0)
8'	48.8	48.6*	1.95
9'	64.1	63.2	3.58*
4-O-Glc			
1''	104.9	105.2	4.89 (d, 7.2)
2''	75.7	75.9	3.41
3''	77.8	77.8	3.40

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
4''	71.3	71.3	3.39
5''	78.2	78.3	3.18 (m)
6''	62.4	62.5	3.65*
			3.75*
3-OMe	61.6	61.3	3.44 (s)
5-OMe	56.9	56.7	3.88 (s)
3',5'-OMe	56.8	56.8	3.76 (s)

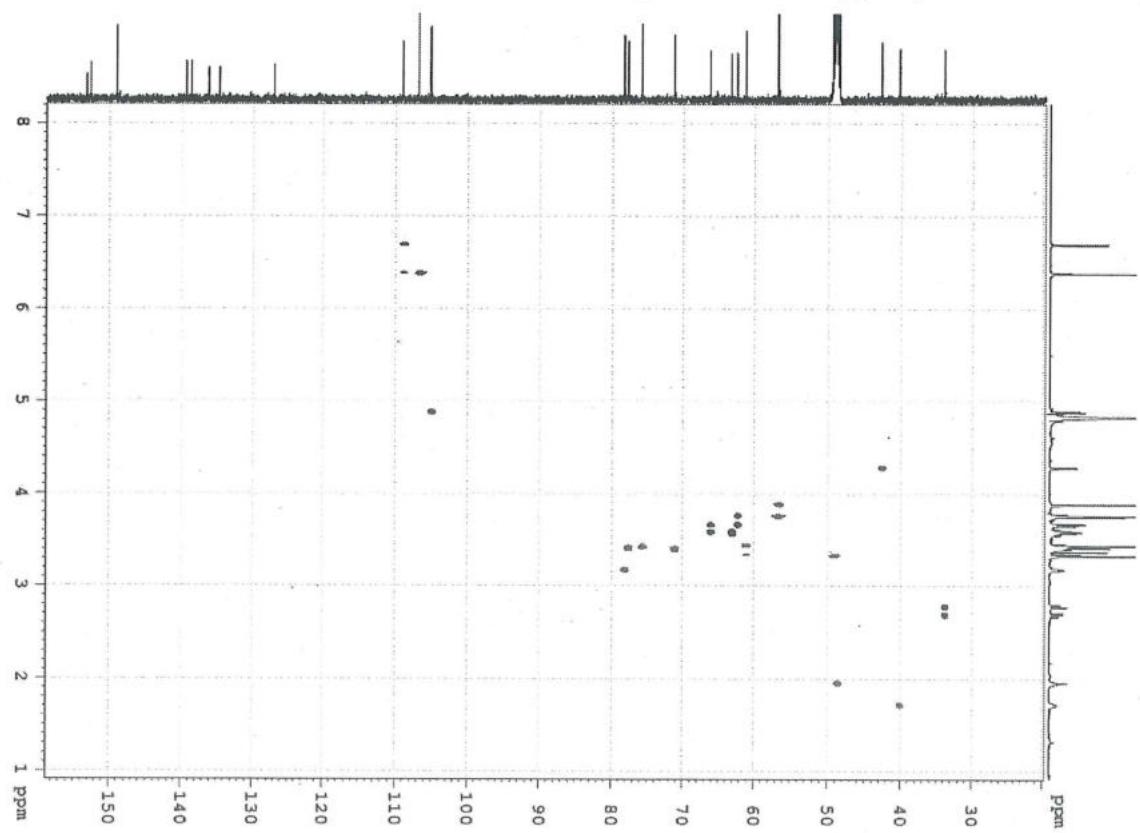
<sup>a</sup>Đo trong methanol-*d*<sub>4</sub>, <sup>b</sup>150 MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>\*</sup>tín hiệu chập, <sup>#</sup> $\delta_C$  của Schizandriside đo trong methanol-*d*<sub>4</sub>



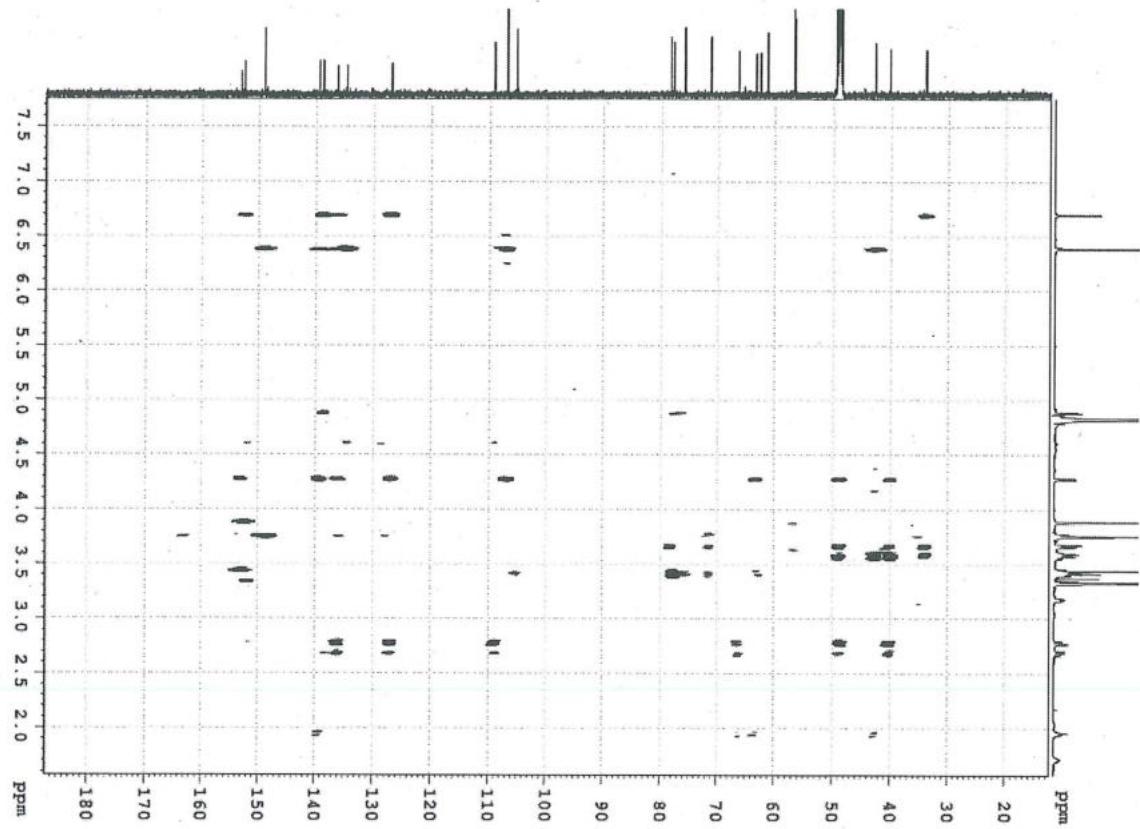
Hình 3. 13. Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất MSC3



Hình 3. 14. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MSC3 (giản)

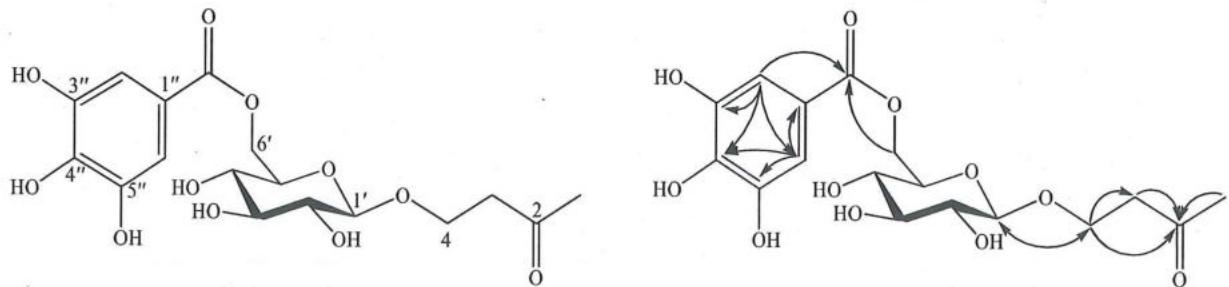


Hình 3. 15. Phổ HSQC của hợp chất MSC3



Hình 3. 16. Phổ HMBC của hợp chất MSC3

### 3.3.4. Hợp chất MSC4: 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate



Hình 3. 17. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC4

Hợp chất MSC4 thu được trong dạng chất dầu màu nâu. Trên phổ  $^1\text{H}$  của hợp chất MSC4 xuất hiện tín hiệu của 2 proton của vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  7,11 (2H, s), 1 proton anome tại  $\delta_{\text{H}}$  4,33 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz) và 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  4,42 (1H, dd,  $J = 6,0, 12,0$  Hz)/4,56 (1H, dd,  $J = 1,8, 12,0$  Hz) đặc trưng cho phân tử đường glucose. Ngoài ra, còn xuất hiện tín hiệu proton của 1 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  2,14 (3H, s), proton của 2 nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  2,73 (1H, m)/2,80 (1H, m), 3,90 (1H, m)/4,04 (1H, m). Kết hợp phổ  $^{13}\text{C}$  và phổ HSQC cho biết sự có mặt của 17 nguyên tử cacbon, trong đó có 2

cacbon carbonyl tại  $\delta_C$  168,3 (C-7''), 210,4 (C-2), 6 cacbon vòng thơm tại  $\delta_C$  110,2 (C-2'', C-6''), 121,4 (C-1''), 146,5 (C-3'', C-5''), 6 cacbon đặc trưng cho phân tử đường glucose tại  $\delta_C$  104,8 (C-1'), 77,9 (C-3'), 75,5 (C-5'), 75,0 (C-2'), 71,7 (C-4'), 64,7 (C-6'), 2 cacbon methylene tại  $\delta_C$  44,6 (C-3), 66,2 (C-4) và 1 cacbon methyl tại  $\delta_C$  30,1 (C-1).

Trên phô HMBC quan sát có tương tác giữa proton của vòng thơm (H-2'', H-6'',  $\delta_H$  7,10) với cacbon carbonyl C-7'' ( $\delta_C$  168,3) cho biết tại vị trí C-1'' có một nhóm thế carbonyl. Ngoài ra, còn có tương tác giữa proton anome với C-4, giữa proton của nhóm methylene C-6' với cacbon carbonyl C-7'', giữa proton của nhóm methyl với cacbon carbonyl C-2 chứng minh rằng hợp chất MSC4 có khung cacbon như hình 40. Các liên kết còn lại được nghiệm chứng thông qua phô HMBC và HSQC. Kết hợp với đối chiếu tài liệu tham khảo, số liệu phô của hợp chất MSC4 có sự tương đồng với dữ liệu phô của 2-butanone-4-glucopyranoside 6'-O-gallate. Do đó, hợp chất MS31B1 được xác định là 2-butanone-4-glucopyranoside 6'-O-gallate.

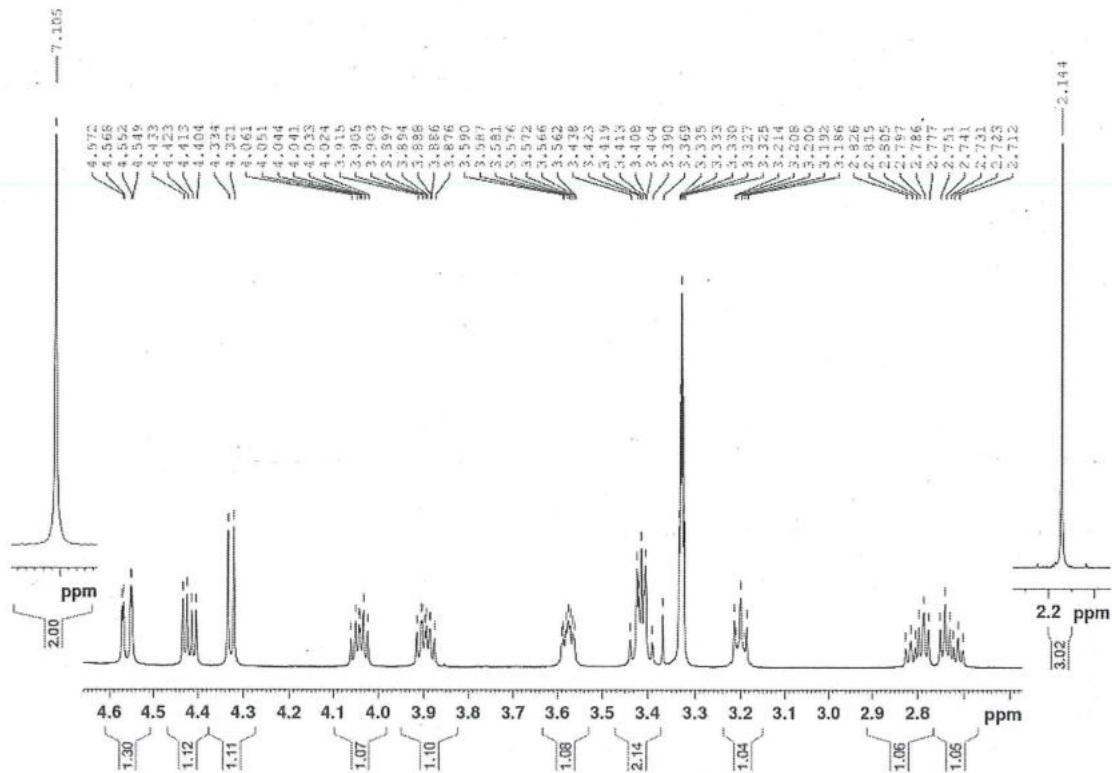
Hợp chất này cũng đã được tìm thấy từ chiết xuất của cây *M. edule* (2017)[41].

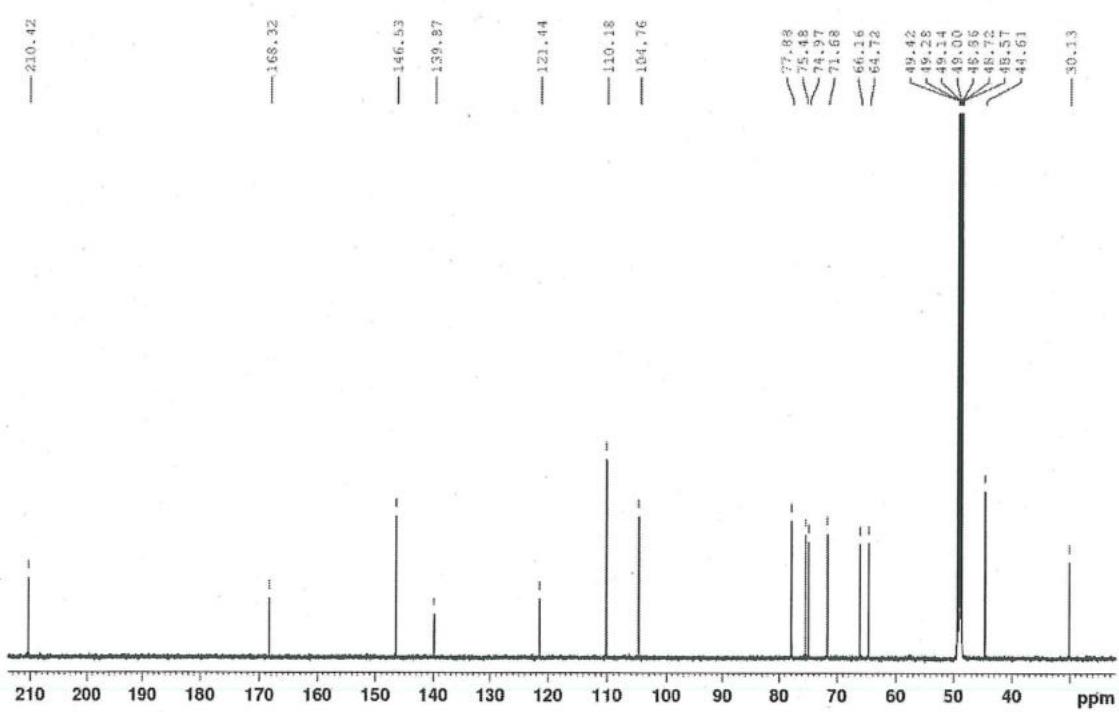
Bảng 3. 4. Số liệu phô NMR của hợp chất MSC4

Pos.	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J = Hz)
1	30.0	30.1	2.14 (s)
2	207.6	210.4	-
3	43.5	44.6	2.73 (m) 2.80 (m)
4	64.6	66.2	3.90 (m) 4.04 (m)
4-OGlc			
1'	103.3	104.8	4.33 (d, 7.8)
2'	73.5	75.0	3.20 (t, 6.0)
3'	76.6	77.9	3.42
4'	70.2	71.7	3.42
5'	73.9	75.5	3.58 (m)
6'	63.7	64.7	4.42 (dd, 6.0, 12.0)

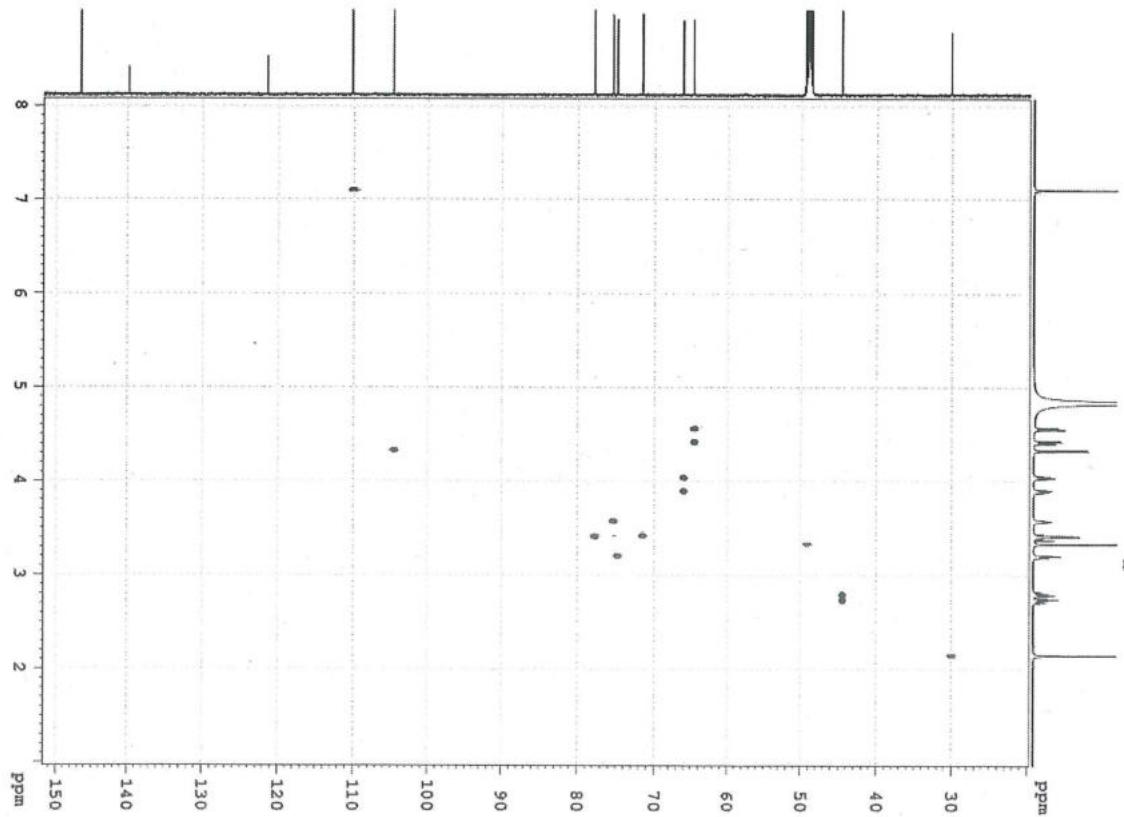
Pos.	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
			4.56 (dd, 1.8, 12.0)
1"	119.7	121.4	-
2",6"	108.9	110.2	7.11 (s)
3",5"	145.7	146.5	-
4"	138.7	139.9	-
7"	166.1	168.3	-

<sup>a</sup>Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>150MHz, <sup>c</sup>600MHz, Glc: Glucopyranose, <sup>#</sup> $\delta_C$  đo trong DMSO-d<sub>6</sub>

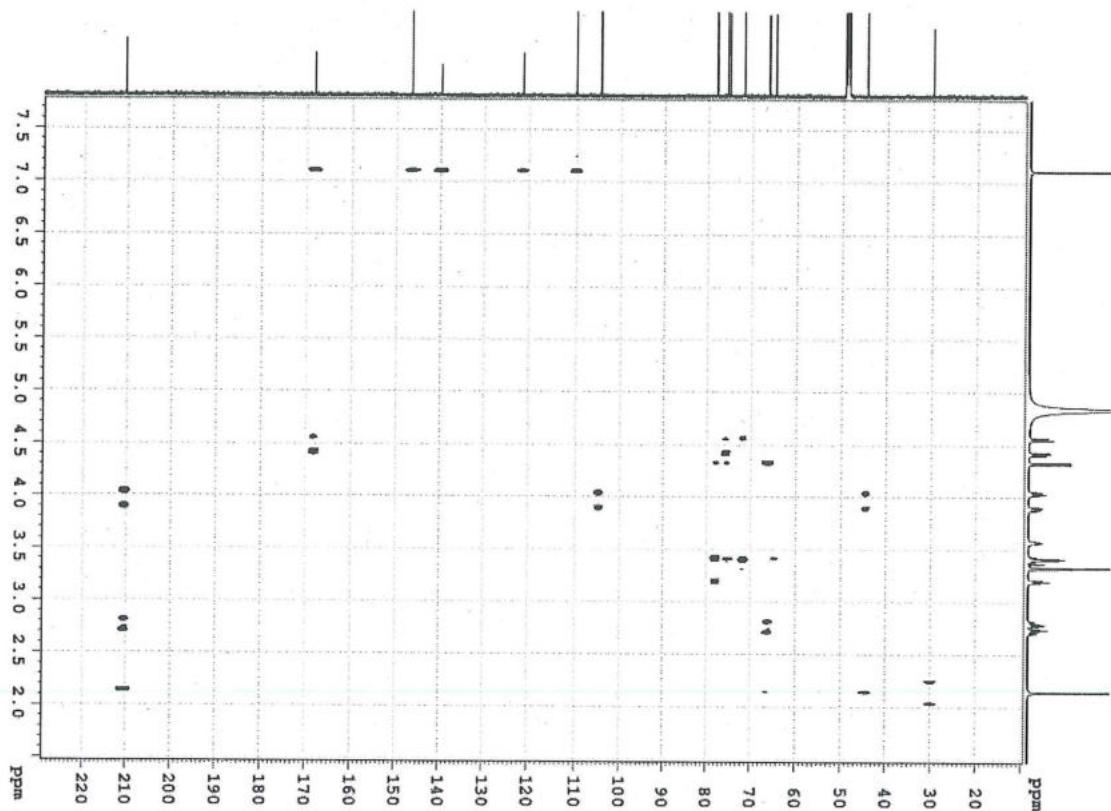




Hình 3. 19. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MSC4 (giản)

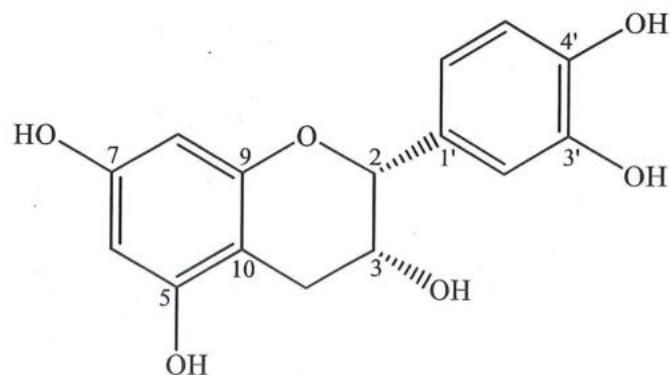


Hình 3. 20. Phổ HSQC của hợp chất MSC4



Hình 3. 21. Phổ HMBC của hợp chất MSC4

### 3.3.5. Hợp chất MSC5: Epicatechin



Hình 3. 22. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC5

Hợp chất **MSC5** thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu nâu. Trên phổ <sup>1</sup>H của hợp chất **MSC5** xuất hiện tín hiệu của 5 proton vòng thơm tại  $\delta_H$  5,94 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz), 5,97 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz), 6,78 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz), 6,82 (1H, dd,  $J = 1,8, 7,8$  Hz), 7,00 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz), 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_H$  2,76 (1H, dd,  $J = 3,0, 16,8$  Hz)/2,88 (1H, dd,  $J = 4,8, 16,8$  Hz), 1 proton của nhóm hydroxymethylene tại 4,20 (1H, m), 1 proton của nhóm

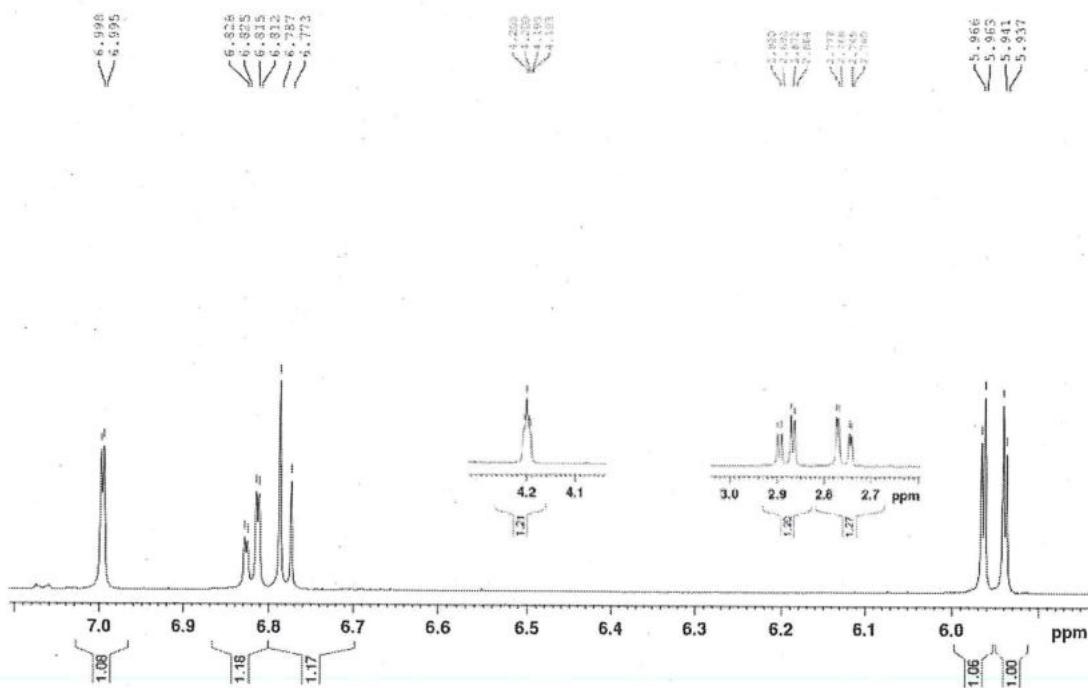
methine tại  $\delta_H$  4,84\* (1H). Kết hợp với đối chiếu tài liệu tham khảo, hợp chất **MSC5** được xác định là Epicatechin.

Epicatechin đã được phân lập từ Cây *Myristica dactyloides*, một loài thực vật dân tộc đặc hữu từ Sri Lanka. Chất này đã được chứng minh là có khả năng chống oxy hóa qua nhiều công bố nghiên cứu khoa học và được tìm thấy ở rất nhiều cây khác như *Tetraclinis articulata* (Vahl), Nho (*Vitis vinifera L.*), *Pterocarpus marsupium* v.v... [42]

Bảng 3. 5. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MSC5**

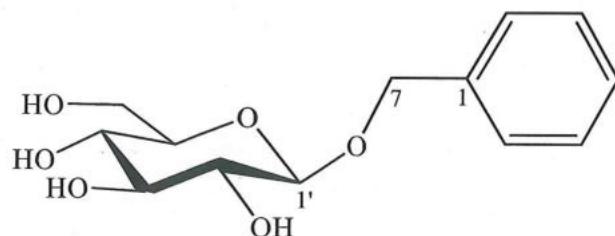
C	$\delta_H^{a,b}$ (mult., J = Hz)
2	4.84*
3	4.20 (m)
4	2.76 (dd, 3.0, 16.8) 2.88 (dd, 4.8, 16.8)
5	-
6	5.94 (d, 1.8)
7	-
8	5.97 (d, 1.8)
9	-
10	-
1'	-
2'	7.00 (d, 1.8)
3'	-
4'	-
5'	6.78 (d, 7.8)
6'	6.82 (dd, 1.8, 7.8)

<sup>a</sup>Đo trong methanol-*d*<sub>4</sub>, <sup>b</sup>600MHz, \*tín hiệu chập



Hình 3. 23. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất MSC5 (giản)

### 3.3.6. Hợp chất MSC6: Benzyl glucopyranoside



Hình 3. 24. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MSC6

Hợp chất **MSC6** thu được dưới dạng chất bột vô định hình, có màu trắng. Trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất **MSC6** xuất hiện tín hiệu của 5 proton vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  7,26 (1H, t,  $J = 7,8$  Hz), 7,31 (2H, t,  $J = 7,8$  Hz), 7,41 (2H, d,  $J = 7,8$  Hz), 1 proton anome tại  $\delta_{\text{H}}$  4,35 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz) và 2 proton của nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  3.69 (1H, dd,  $J = 6.0, 12.0$  Hz)/3.89 (1H, dd,  $J = 2.4, 12.0$  Hz) đặc trưng cho phân tử đường glucose. Ngoài ra, còn có sự xuất hiện tín hiệu của proton nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  4,66 (1H, d,  $J = 11,4$  Hz)/4,92 (1H, d,  $J = 11,4$  Hz). Kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo, hợp chất **MSC6** được xác định là Benzyl glucopyranoside.

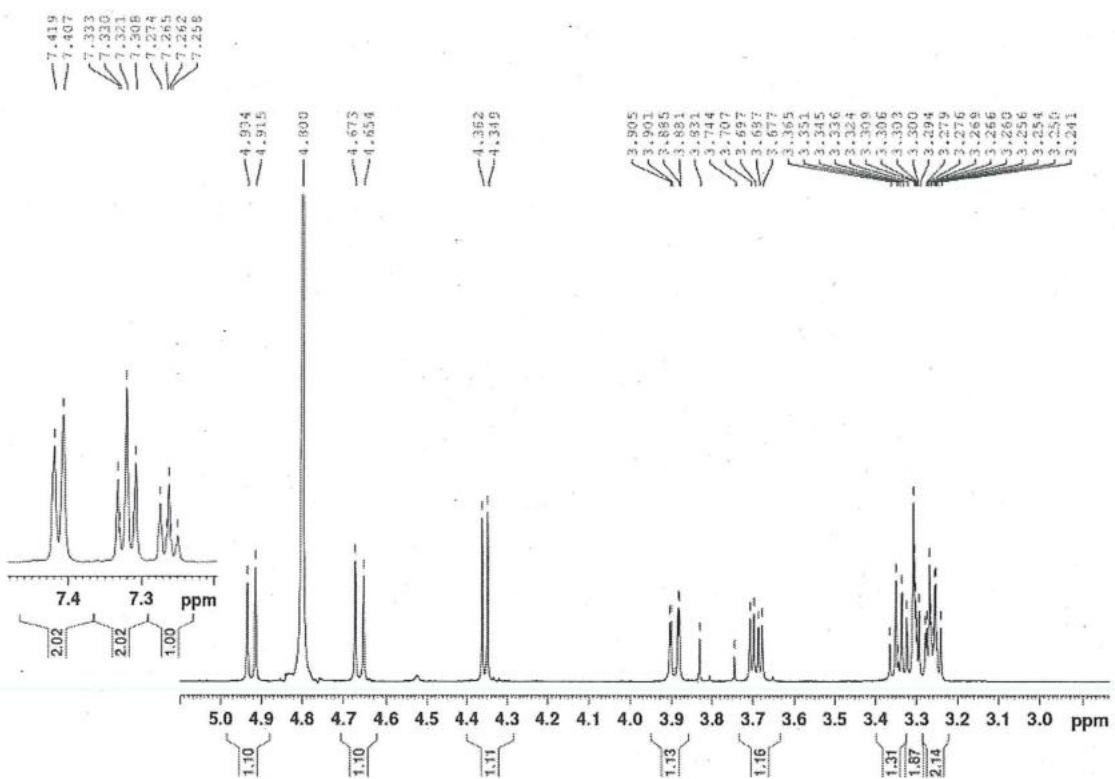
Hợp chất **MSC4**, **MSC6** được phân lập từ lá và thân của cây Sầm ngọt *M. edule*. Các hợp chất hóa học được tinh chế bằng phương pháp sắc ký và cầu

trúc của chúng được thiết lập trên cơ sở phân tích quang phổ (UV, NMR và MS).[43]

Bảng 3. 6. Số liệu phổ NMR của hợp chất MSC6

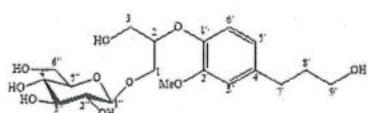
C	$\delta_H^{a,b}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	-
2,6	7.41 (d, 7.8)
3,5	7.31 (t, 7.8)
4	7.26 (t, 7.8)
7	4.66 (d, 11.4) 4.92 (d, 11.4)
7-OGlc	
1'	4.35 (d, 7.8)
2'	3.26*
3'	3.34
4'	3.26*
5'	3.30
6'	3.69 (dd, 6.0, 12.0) 3.89 (dd, 2.4, 12.0)

<sup>a</sup>Đo trong methanol- $d_4$ , <sup>b</sup>150 MHz, <sup>c</sup>600MHz

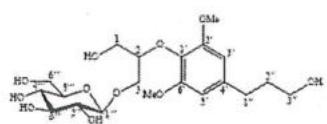


Hình 3. 25. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MSC6 (giản)

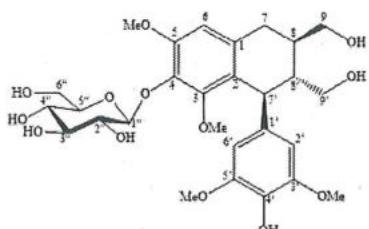
Bằng các phương pháp phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các chất, ta thu được 6 hợp chất phân lập dưới đây (Bảng 3.26)



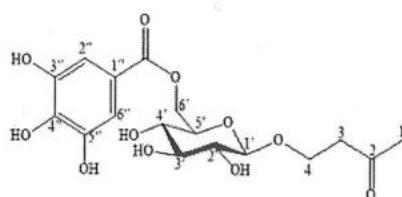
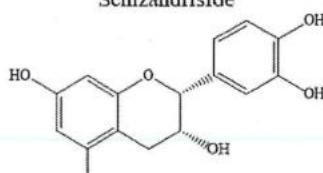
**MSC1**  
1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol



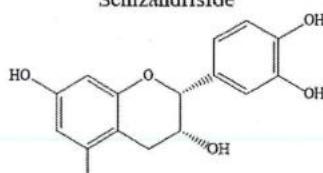
**MSC2**  
(2R)-O-[4'-(3"-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol



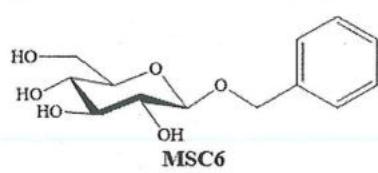
**MSC3**  
Schizandriside



**MSC4**  
2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate  
C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>



**MSC5**  
Epicatechin



**MSC6**  
Benzyl glucopyranoside

*Hình 3. 26. Cấu trúc hóa học của các hợp chất MSC1-6*

#### 3.4. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng viêm trên tế bào RAW 264.7

Tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết MeOH, các phân đoạn chính và 6 hợp chất thu được từ cây Sầm núi thông qua phương pháp úc chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 theo phương pháp được nêu tại mục 2.2.3

*Bảng 3. 7. Kết quả kiểm tra hoạt tính úc chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các mẫu cao chiết Sầm núi*

Tên mẫu	Nồng độ	% úc chế	Sai số	% tế bào sống	Sai số
Control		100,00	1,44	100,00	7,93
LPS		0,00	2,44	83,16	4,26
Cardamonin	2.5 $\mu$ M	30,27	0,72	81,88	1,72
	10 $\mu$ M	63,49	2,58	97,31	3,52
MS	25 $\mu$ g/mL	-1,47	3,55	72,34	1,09
	100 $\mu$ g/mL	34,20	4,18	97,24	3,53
MS1	25 $\mu$ g/mL	9,88	1,69	85,92	1,91

Tên mẫu	Nồng độ	% úc ché	Sai số	% tế bào sống	Sai số
	100 µg/mL	64,02	1,97	104,57	2,05
MS2	25 µg/mL	9,30	6,91	74,09	6,39
	100 µg/mL	84,75	1,82	32,23	2,50
MS3	25 µg/mL	25,53	2,01	91,88	2,61
	100 µg/mL	44,75	3,85	88,55	4,03

Trong đó: MS là cao chiết MeOH thu được sau khi chiết siêu âm bằng MeOH và loại bỏ dung môi

MS1: lớp cặn n-hexane

MS2: Lớp cặn EtOAc

MS3: Lớp nước

\* Cardamonin: được sử dụng làm chất chuẩn dương

Từ bảng kết quả kiểm tra hoạt tính úc ché sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7, ta có thể thấy: Mẫu MS1 có tác dụng úc ché sản sinh NO ở nồng độ cao. Mẫu MS2 có thể hiện tác dụng, tuy nhiên lại gây chết tế bào tại nồng độ cao. Mẫu MS3 ít có tác dụng kháng viêm.

*Bảng 3. 8. Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất thu được từ cây Sâm mui*

	Nồng độ ( $\mu\text{M}$ )	% NO inhibition		MTT	
		% Úc chế	SD	%tb sống	SD
<b>Control</b>	0	100.00	0.11	100.00	0.75
<b>LPS</b>	0	0.00	0.29	84.50	0.11
<b>Cardamonin</b>	0.3	15.36	0.19	91.84	0.50
	3	52.08	0.51	80.03	0.17
<b>Hợp chất MSC1</b>	30	20.83	1.53	88.57	1.62
	100	44.79	0.56	76.78	1.17
<b>Hợp chất MSC 2</b>	30	16.15	0.69	88.61	1.58
	100	38.02	0.19	66.44	0.74
<b>Hợp chất MSC 3</b>	30	<b>7.81</b>	<b>0.97</b>	<b>80.59</b>	1.11
	100	55.21	0.19	60.18	0.88
<b>Hợp chất MSC 4</b>	30	<b>55.99</b>	<b>0.19</b>	<b>73.62</b>	0.89
	100	95.05	0.38	57.50	1.60
<b>Hợp chất MSC 5</b>	30	15.36	1.02	92.67	1.17
	100	37.24	0.67	76.87	1.45
<b>Hợp chất MSC 6</b>	30	15.63	0.68	84.77	1.62
	100	33.85	0.95	78.59	1.88

Từ bảng 3.9 trên ta có thể thấy các hợp chất MSC3 (Schizandirisize) và MSC4 (2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate) có hoạt tính kháng viêm khi thử nghiệm trên tế bào RAW 264.7.

Trong đó Schizandirisize chỉ có khả năng ức chế sản sinh NO ở nồng độ cao (100  $\mu\text{M}$ ).

Ngoài ra, nồng độ các hợp chất càng cao thì khả năng gây độc tế bào càng tăng;

Trong nghiên cứu phân lập một số hợp chất từ cây *Memecylon edule* Roxb (2017), hợp chất MSC4 (2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate)

đã được phân lập và kiểm tra hoạt tính kháng viêm bằng cách phương pháp đánh giá khả năng ức chế TNF- $\alpha$ , tuy nhiên phương pháp này lại ko cho thấy khả năng kháng viêm của 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate.[44]

Trong một nghiên cứu khác về khả năng kháng viêm, chống oxy hóa của Schizandirisize[44], dưới sự tác động gây viêm của các cytokine tiền viêm và chống viêm do sự có mặt của các nhân tố gây viêm như iNOS và cyclooxygenase-2 (COX-2). Schizandirisize có khả năng điều hòa quá trình phiền mĩ của iNOS và COX-2 phụ thuộc vào liều lượng của nó. Ngoài ra, khi tăng lượng cytokine gây viêm như IL-1 $\beta$ , IL-6 và TNF-  $\alpha$ , Schizandirisize vẫn có khả năng chống viêm khi tăng liều lượng lên tương ứng.[44]

*Bảng 3. 9. Kết quả xác định giá trị IC<sub>50</sub> trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất sạch thu được từ cây Sâm núi có khả năng ức chế sản sinh NO.*

		% NO inhibition		MTT		IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
		Nồng độ ( $\mu$ M)	%UC	SD	%tb sống	
<b>Control</b>		100.00	0.19	100.00	0.19	
<b>LPS</b>		0.00	0.77	84.13	0.98	
<b>Card</b>	0.1	5.09	0.22	99.05	0.74	1.17 ± 0.15
	0.3	16.47	0.19	95.36	0.38	
	1	46.41	0.22	93.65	0.55	
	3	62.57	0.48	83.20	0.33	
<b>MSC3</b>	10	26.65	0.96	85.54	0.08	88.92 ± 1.42
	25	28.44	0.29	80.76	0.72	
	30	7.81	0.97	80.59	1.11	
	50	34.13	0.72	77.91	0.57	
	100	55.09	0.57	61.34	0.31	
<b>MSC4</b>	1	22.75	0.33	86.62	0.51	21.83 ± 1.74
	3	25.75	0.61	83.95	1.02	
	10	40.42	0.40	78.66	0.47	
	30	52.69	0.67	72.46	0.96	

Bảng 3.10 cho ta thấy khả năng ức chế sản sinh NO của các hợp chất sạch thu được từ cây Sâm núi so với đối chứng Cardamonin. Hợp chất **MSC3** và **MSC4** với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $88.92 \pm 1.42 \mu\text{M}$  và  $21.83 \pm 1.74 \mu\text{M}$  đều thể hiện hoạt tính yếu so với chất đối chứng Cardamonin ( $IC_{50} = 1.17 \pm 0.15 \mu\text{M}$ ). Trong đó **MSC3** có hoạt tính tương đối yếu (với  $IC_{50}$  xấp xỉ  $100 \mu\text{M}$  trong khi tương ứng với nồng độ cao so với chất đối chứng). Hợp chất **MSC3** cũng cho thấy độc tính gây chết tế bào thử nghiệm cao hơn so với chất đối chứng và **MSC4**. Từ đây ta thấy **MSC4** là hợp chất có tiềm năng kháng viêm tốt hơn so với **MSC3**. Kết quả này cũng mở ra một hướng nghiên cứu mới về hoạt tính kháng viêm của **MSC4** về đánh giá tiềm năng kháng viêm qua hướng nghiên cứu khả năng của hợp chất trong việc ức chế PGE2, COX-2. Trong một nghiên cứu khác [43], **MSC4** đã được đánh giá là ít có tác động chống viêm so với các hợp chất khác thu được từ cây *M. edule* bằng phương pháp xác định TNF- $\alpha$ .

## CHƯƠNG IV: KẾT QUẢ VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. Các hợp chất đã được xác định từ cây sầm núi

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, 6 hợp chất đã được phân lập từ cặn chiết methanol của cây Sầm núi (*Memecylon scutellatum* (Lour.)). Đó là các hợp chất:

- Hợp chất MSC1: 1-*O*-( $\beta$ -d-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol
- Hợp chất MSC2: (2R)-*O*-[4'-(3"-hydroxypropyl)-2',6'dimethoxyphenyl]-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-sn-glycerol
- Hợp chất MSC 3: Schizandriside
- Hợp chất MSC 4: 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-*O*-gallate
- Hợp chất MSC 5: Epicatechin
- Hợp chất MSC 6: Benzyl glucopyranoside

Trong đó, có hợp chất MSC1, MSC2, MSC3, MSC5 lần đầu được phân lập từ chi *Memecylon*.

### 4.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế sản sinh NO của các chất đã xác định được.

Đã tiến hành thử hoạt tính hành đánh giá khả năng kháng viêm *in vitro* của các mẫu thu được trên dòng tế bào RAW264.7. Kết quả cho thấy hợp chất **MSC4** có hoạt tính ức chế sản sinh NO khá mạnh khi thử nghiệm trên tế bào RAW 264.7 với giá trị IC<sub>50</sub> là 21.83 ± 1.74  $\mu$ M.

### 4.3. Kiến nghị hướng nghiên cứu tiếp theo

Hợp chất **MSC4** có hoạt tính ức chế NO tương đối tốt và cần được đánh giá sâu hơn (ví dụ khả năng ức chế PGE2, COX-2, v.v..) để khẳng định hoạt tính kháng viêm tiềm năng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nghiên cứu phân loại các chi sâm (Memecylon l.) ở việt nam, Nguyễn Thị Bích Hường, Doãn Hoàng Sơn; Báo cáo khoa học về nghiên cứu và giảng dạy sinh học ở việt nam - hội nghị khoa học quốc gia lần thứ 4
2. Yadav, v., a. krishnan, and d. vohora, a systematic review on piper longum l.: bridging traditional knowledge and pharmacological evidence for future translational research. journal of ethnopharmacology, 2020. 247: p. 112255.
3. Flavonoids of Memecylon umbellatum (Burm.) Himanshu Joshi; Joshi, A. B.; Gururaj, M. P.; Hemlata Sati; Asian Journal of Chemistry 2009 Vol.21 No.2 pp.1639-1641 ref.7
4. The medicinal value of Memecylon umbellatum leaf extract; Ravindra Puttaswamy, Rajeshwara N. Achur; Department of Biochemistry, Kuvempu University, Shankaraghatta, Shimoga, Karnataka 577451, India; Journal of Pharmacy Research 6(4):447–451, 9 May 2013.
5. Estimation of phenolic and flavonoid content and in vitro antioxidant and antibacterial activity of Memecylon umbellatum Burm; MV Tamilvannan, S Ravikumar, A Rajalakshmi and T Murugan; Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, Vol. 8, Issue 2 (2019).
6. Isolation of a new compound, 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate and other 8 compounds from the anti-inflammatory leave extracts of Memecylon edule Roxb; Suchitra Thongpraditchote, Yuwadee Wongkrajang, Kaoru Umehara & Hiroshi Noguchi; Natural Product Research Formerly Natural Product Letters, Volume 31, 2017 - Issue 12, Pages 1370-1378 | Received 30 Apr 2016, Accepted 30 Sep 2016, Published online: 07 Nov 2016.
7. Evaluation of phytochemical constituents from the leaves of Memecylon umbellatum Bur ; S. Murugesan, R. Vijayakumar, A. Panneerselvam; October 2011Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences 2(4):1145-1152.
8. Evaluation of Phytochemical Constituents from Stems of Memecylon umbellatum Brum. F. by GC-MS Analysism.f; S. Murugesan, A.

Panneerselvam; Published 2013, Medicine, Chemistry, Environmental Science Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences.

9. Antimicrobial potential of *Memecylon L.* species from Western Ghats against clinical isolates of pathogenic bacteria; T. Bharathi, M. C. Madhusudhan, P. Kumar, S. Nayaka, H. Prakash; January 2015Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences 6(4):1280-1287.

10. Phytochemical, antioxidant, and anti-diabetic analysis of leaf and stem extracts of *Memecylon malabathricum* (C.B.Clarke); B. S. Sumalatha, D.H. Tejavathi; January 2021International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research.

11. Fatty Acids from *Memecylon umbellatum* (Burm.); H. Joshi, A. Joshi, Hemlata Sati, M. P. Gururaja, P. R. Shetty, E. Subrahmanyam, D. Satyanaryana; Published 28 June 2009 Chemistry Asian Journal of Research in Chemistry.

12. Alpha Tocopherol - A New Report from *Memecylon* Species; T. Bharathi, H. N. Shankara, H. Prakash; Published 2017 Medicine, Chemistry Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.

13. Polyanthumin, a novel cyclobutane chalcone trimmer from *Memecylon polyanthum*; Guan Chen 1, Cheng-Bin Cui, Ai-Di Qi, Chang-Wei Li, Zun-Wei Tao, Rong Ren; December 2014Journal of Asian Natural Products Research 17(2):1-8.

14. Phytochemical, antibacterial, antioxidant and anticancer activity study of *m. candidum* leaf acetone extract; T. Juwitaningsih, I. Jahro, Ida Dumariris, Elvira Hermawati, Y. Rukayadi; Published in RASAYAN Journal of Chemistry 2020 Medicine, Chemistry, Environmental Science.

15. Bioactive molecules and the antidiabetic efficacy of *Memecylon randerianum* an ethnomedicinal plant from the Western Ghats. MV Lakshmi & TS Swapna; Department of Botany, University of Kerala, Thiruvananthapuram, Kerala, India; 02 August 2021

16. Comparative Seed Morphology, Pharmacognostic, Phytochemical, and Antioxidant Potential of *Memecylon L.* Fruits; P. Sree, J. Thoppil; Published in Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences 18(2)13 July 2020 Medicine, Environmental Science, Biology, Chemistry.

17. C. S. Nworu and P. A. Akah (2015), "Anti-inflammatory medicinal plants and the molecular mechanisms underlying their activities", African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines. 12, p. 52-61.
18. K. Tsujimoto, A. Hayashi, T. J. Ha, and I. Kubo (2007), "Anacardic Acids and Ferric Ion Chelation", Journal of biosciences. 62(9-10), p. 710-716.
19. S. O. Otimenyin (2018), "Chapter 15 - Antiinflammatory Medicinal Plants: A Remedy for Most Disease Conditions", Natural Products and Drug Discovery II Antiinflamatory Medicinal Plants. p. 411-431.
20. H. P. Ammon, H. Safayhi, T. Mack, and J. Sabieraj (1993), "Mechanism of antinflammatory actions of curcumine and boswellic acids", Journal of Ethnopharmacology. 38(2), p. 113-119.
21. E. Skrzypczak-Jankun, N. P. McCabe, S. H. Selman, and J. Jankun (2000), "Curcumin inhibits lipoxygenase by binding to its central cavity: Theoretical and X-ray evidence", International journal of molecular medicine. 6 (5), p. 521-526.
22. K. Seibert, Y. Zhang, K. Leahy, S. Hauser, J. Masferrer, W. Perkins, L. Lee, and P. Isakson (1994), "Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain", Proceedings of the National Academy of Sciences the United States of America. 91(25), p. 12013-12017.
23. C. S. Williams, M. Mann, and R. N. DuBois (1999), "The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development", Oncogene. 18 (5), p. 7908-7916.
24. G. Yuan, M. L. Wahlgqvist, G. He, M. Yang, and D. Li (2006), "Natural products and anti-inflammatory activity", Asia Pacific Journal Clinical Nutrition. 15(2), p. 143-152.
25. K. C. Srivastava, A. Bordia, and S. K. Verma (1995), "Curcumin, a major component of food spice turmeric (*Curcuma longa*) inhibits aggregation and alters eicosanoid metabolism in human blood platelets", Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 52(4), p. 223-227.
26. H. Jiang, C. S. Deng, M. Zhang, and J. Xia (2006), "Curcumin-attenuated trinitrobenzene sulphonic acid induces chronic colitis by inhibiting

expression of cyclooxygenase-2", World Journal of Gastroenterology. 12(24): p. 3848-3853.

27. T. Kobayashi, S. Hashimoto, and T. Horie (1997), "Curcumin inhibition of Dermatophagoides farinea-induced interleukin-5 (IL-5) and granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) production by lymphocytes from bronchial asthmatics", Biochemical Pharmacology. 54(7), p. 819-824.

28. B. Y. Kang, S. W. Chung, W. Chung, S. Im, S. Y. Hwang, and T. S. Kim (1999), "Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated macrophages by curcumin", European Journal of Pharmacology. 384(2), p. 191-195.

29. P. Bremner and M. Heinrich (2005), "Natural Products and their Role as Inhibitors of the Pro-Inflammatory Transcription Factor NF-κB", Phytochemistry Reviews. 4 (1), p. 27-37.

30. P. Rungeler, V. Castro, G. Mora, N. Goren, W. Vichnewski, H. L. Pahl, I. Merfort, and T. J. Schmidt (1999), "Inhibition of transcription factor NF-kappaB by sesquiterpene lactones: a proposed molecular mechanism of action", Bioorganic & Medicinal Chemistry. 7 (11), p. 2343-2352

31. M. C. Recio, M. Prieto, M. Bonucelli, C. Orsi, S. Máñez, R. M. Giner, M. Cerdá-Nicolás, and J. L. Ríos (2004), "Anti-inflammatory Activity of Two Cucurbitacins Isolated from Cayaponia tayuya roots", Planta medica. 70 (5), p. 414-420.

32. C. S. Park, H. Lim, K. J. Han, S. H. Baek, H. O. Sohn, D. W. Lee, Y. G. Kim, H. Y. Yun, K. J. Baek, and N. S. Kwon (2004), "Inhibition of nitric oxide generation by 23,24-dihydrocucurbitacin D in mouse peritoneal macrophages", Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics. 309(2), p. 705-710.

33. R. R. Peters, T. F. Saleh, M. Lora, C. Patry, A. J. Brum-Fernandes, M. R. Farias, and R. M. Ribeiro-do-Valle (1999), "Anti-inflammatory effects of the products from Wilbrandia ebracteata on carrageenan-induced pleurisy in mice", Life Sciences. 64

34. L. E. Pelzer, T. Guardia, A. O. Juarez, and E. Guerreiro (1998), "Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids", *Farmaco.* 53(6): p. 421-424.
35. S. P. Hehner, T. G. Hofmann, W. Droege, and M. L. Schmitz (1999), "The antiinflammatory sesquiterpene lactone parthenolide inhibits NF- $\kappa$ B by targeting the I $\kappa$ B kinase complex", *Journal of immunology.* 163 (10), p. 5617-5623.
36. H. Wang, M. G. Nair, G. M. Strasburg, Y. C. Chang, A. M. Booren, J. I. Gray, and D. L. DeWitt (1999), "Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Anthocyanins and Their Aglycon, Cyanidin, from Tart Cherries", *Journal of Natural Products.* 62(2), p. 294-296.
37. D.X. Hou, T. Yanagita, T. Uto, S. Masuzaki, and M. Fujii (2005), "Anthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-evoked macrophages: Structure-activity relationship and molecular mechanisms involved", *Biochemical pharmacology.* 70(3), p. 417-25. (26), p. 2429-2431.
38. Lignan and phenylpropanoid glycerol glucosides in wine; Vassilios A. Marinos; Max E. Tate; Patrick J. Williams; *Phytochemistry*, Vol31, Issue 12, 1992.
39. Chemical constituents from the whole plants of *Pilea cavaleriei* Lev. subsp. *Cavaleriei*; Yong Zhou, Ling-Yu Li, Heng-Chun Ren, Ri-Dong Qin, Qin Li, Peng-Fei Tu, Gui-Fang Dou, Qing-Ying Zhang, Hong Liang; *Fitorerapia*, 119, 100-107, June 2017,
40. The constituents of the roots of *Ampelopsis japonica*; Ik Hwi Kim, Michiyo Umezawa, Nobuo Kawahara & Yukihiro Goda; *Journal of Natural Medicines* 61, pages224–225 (2007).
41. Comparative Seed Morphology, Pharmacognostic, Phytochemical, and Antioxidant Potential of *Memecylon* L. Fruits; P. Sree, J. Thoppil Published in *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 18(2), 13 July 2020 Medicine, Environmental Science, Biology, Chemistry.
42. Phytochemicals from *Myristica dactyloides* Gaertn; S. Sathasivampillai, P. Rajamanoharan, Sujarajini Varatharasan; Published 9 November 2020, *Science Heritage Journal* 4(2):74 - 7

43. Isolation of a new compound, 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate and other 8 compounds from the anti-inflammatory leave extracts of Memecylon edule Roxb; Somsak Nualkaew, Suchitra Thongpraditchote, Yuwadee Wongkrajang, Kaoru Umehara, Hiroshi Noguchi; November 2016Natural Product Research 31(12):1-9.

44. Schizandrin A protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing inflammation and oxidative stress and regulating the AMPK/Nrf2 pathway regulation; F. Zhou, Maode Wang, Jing Ju, Y. Wang, Zhibin Liu, Xiao-ping Zhao, Yongmei Yan, Shu-guang Yan, X. Luo, Yongjun Fang; Published in January 2019, American Journal of Translational Research 11(1):199-209.