

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Thu Hiền

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
ỨC CHẾ ENZYME α – GLUCOSIDASE, XANTHINE
OXIDASE CỦA CÂY RAU ĐẮNG ĐẤT [*Glinus oppositifolius*
(L.) A. DC.], HỌ RAU ĐẮNG ĐẤT (Molluginaceae)**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9440114

Thành phố Hồ Chí Minh - 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS.TS. Lê Tiến Dũng, Viện Công nghệ Tiên tiến

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Nguyễn Trọng Tuấn, Trường Đại học Cần Thơ

Phản biện 1: ...

Phản biện 2: ...

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN (nếu có)

1. Nguyen Thi Thu Hien, Huynh Tran Quoc Dung, Bui Hoang Minh, Tran Van Chen, Nguyen Trong Tuan, Le Tien Dung, 2023, A New Flavonoid Derivative and Inhibitory Effects on Xanthine Oxidase and α -glucosidase from *Glinus oppositifolius*, Current Organic Chemistry, 27(5), pp. 1371-1379.
2. Nguyen Thi Thu Hien, Dung Huynh Tran Quoc, Phuong Vu Luu, Tuan Nguyen Trong, Dung Le Tien, 2025, Acylamino Acid from Aerial Parts of *Glinus oppositifolius* Aug. DC. and Its Xanthine Oxidase, α -glucosidase Inhibitory Activities, Natural product research, 15(9), pp. 1-14
3. Nguyen Thi Thu Hien, Dung Huynh Tran Quoc, Chen Tran Van, Tran Le Viet Ha, Tuan Nguyen Trong, Dung Le Tien, Characterization of a Novel Triterpenoid Saponin from *Glinus oppositifolius* Aerial Parts with Enzyme Inhibitory Potential, Current Organic Chemistry, 27(7), pp. 624-629

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Xanthine oxidase (XO) là enzyme xúc tác quá trình oxy hóa hypoxanthine thành xanthine và xanthine thành acid uric trong quá trình phân hủy purin. Do đó, ức chế XO được xem là hướng điều trị tiềm năng cho tăng acid uric máu và các bệnh liên quan đến stress oxy hóa (ROS). Nhiều nghiên cứu dịch tễ học cho thấy bệnh Gout làm tăng nguy cơ mắc Đái tháo đường, và cả hai đều là yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch. Đái tháo đường là rối loạn mạn tính do thiếu hoặc giảm hiệu quả của insulin, ảnh hưởng đến gần 12% dân số toàn cầu, làm gia tăng nhu cầu về liệu pháp điều trị mới. Gần đây, các sản phẩm tự nhiên được chú ý nhờ hiệu quả đa dạng và ít tác dụng phụ.

Rau đắng đất – dược liệu phổ biến ở miền Nam Việt Nam – được ghi nhận có nhiều hoạt tính sinh học như điều hòa miễn dịch, bảo vệ gan, kháng khuẩn, hạ lipid, hạ glucose và chống oxy hóa. Tuy nhiên, dữ liệu về tác dụng ức chế XO và α -glucosidase của cây này còn hạn chế. Trong bối cảnh đó, dược lý mạng nổi lên như hướng nghiên cứu mới giúp giải thích cơ chế đa mục tiêu và cải thiện hiệu quả điều trị, song đến nay hoạt chất và cơ chế tác dụng của Rau đắng đất trên bệnh Đái tháo đường và Gout vẫn chưa được khảo sát theo hướng này.

Vì vậy, với mong muốn tìm kiếm các hoạt chất mới ứng dụng trị bệnh trong Y Dược từ nguồn nguyên liệu thiên nhiên và dự đoán cơ chế tác dụng nhằm nâng cao giá trị sử dụng cũng như góp phần vào kho tàng cây thuốc của Việt Nam, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme α – glucosidase, xanthine oxidase của cây Rau đắng đất

[*Glinus oppositifolius* (L.) A. DC.], họ Rau đắng đất (Molluginaceae)”

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Đánh giá được tác động ức chế enzym α -glucosidase và enzym xanthine oxidase của các cao phân đoạn
- Phân lập, tinh chế và xác định được cấu trúc một số hợp chất có hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase và enzym xanthine oxidase từ cây Rau đắng đất
- Đánh giá được tác động ức chế enzym α -glucosidase và enzym xanthine oxidase của các chất phân lập được
- Phân tích, dự đoán cơ chế tác dụng của Rau đắng đất trong điều trị bệnh Đái tháo đường týp 2 và Gout sử dụng phương được lý mạng và docking.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Chiết xuất và điều chế cao tổng và các cao phân đoạn
- Khảo sát hoạt tính ứng chế enzym α -glucosidase và xanthine oxidase của cao phân đoạn
- Phân lập và tinh chế các hợp chất từ phân đoạn có hoạt tính
- Xác định cấu trúc các chất tinh khiết phân lập được
- Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase và xanthine oxidase của các chất tinh khiết phân lập được
- Phân tích được lý mạng cơ chế tác dụng của Rau đắng đất trong điều trị bệnh Đái tháo đường týp 2 và Gout. Docking phân tử giữa hoạt chất quan trọng và đích tác động tiềm năng.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan về Đái tháo đường

Đái tháo đường là bệnh chuyển hóa không đồng nhất, đặc trưng bởi tình trạng tăng đường huyết do khiếm khuyết về tiết insulin,

về tác động của insulin hoặc cả hai. Tăng đường huyết mãn tính kéo dài có thể gây rối loạn chuyển hóa glucid, lipid, protid và gây tổn thương cho nhiều cơ quan khác nhau, đặc biệt là tim và mạch máu, mắt và hệ thần kinh, thận

1.2. Tổng quan về bệnh Gout

Bệnh Gout, hay còn gọi là thống phong, được định nghĩa là sự rối loạn chuyển hóa purin, dẫn đến tình trạng tăng nồng độ acid uric trong máu. Sự tích tụ các tinh thể natri urat xảy ra trong nhiều loại mô, bao gồm màng hoạt dịch khớp, sụn xương, gân, cũng như tổ chức dưới da. Bệnh đặc trưng bởi những đợt viêm khớp cấp tính tái phát, thường gây ra những cơn đau dữ dội và có khả năng diễn biến thành viêm khớp mạn tính

1.3. Tổng quan về cây Rau đắng đất

1.3.1. Sơ lược về cây Rau đắng đất

Thân thảo sống hàng năm. Thân và cành mảnh, mọc tỏa sát mặt đất, có lông, tiết diện tròn, thân non màu xanh, thân già cứng, màu nâu đỏ, mấu phình to và màu nâu đỏ. Cây có vị rất đắng. Lá đơn, mọc vòng. Cụm hoa: chụm 3-6 hoa ở nách lá. Hoa lưỡng tính, mẫu 5, vô cánh. Nhị 5, đều, đính xen kẽ lá đài, chỉ nhị dạng sợi, màu trắng. Bao phấn 2 ô, rời, xếp song song cạnh nhau, hướng trong, đính đáy. Hạt phần rời, màu trắng, hình bầu dục hay hình tròn. Quả nang, 3 ô. Hạt nhỏ, nhiều, hình thận, màu nâu đỏ, vách có u lõm, có phụ bộ ở rễ.

1.3.2. Thành phần hóa học

Nhiều kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học trong cây Rau đắng đất thuộc nhiều nhóm khác nhau như: flavonoid, saponin triterpenoid, các hợp chất thơm, steroid, dẫn chất acid acylamin, nucleosid và một vài hợp chất khác. Trong đó

flavonoid và saponin triterpenoid là hai thành phần chủ yếu và có nhiều tác dụng dược lý đã được chứng minh trên nhiều mô hình thử nghiệm.

1.3.3. Tác dụng dược lý

Nhiều nghiên cứu cho thấy cây Rau đắng đất có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan, kháng khuẩn, giảm đau, kháng viêm, kháng nấm, kháng ký sinh trùng sốt rét, chống ung thư, hạ đường huyết, hạ lipid huyết, an thần, giải lo âu...

1.4. Tổng quan về dược lý mạng (Network pharmacology) và docking phân tử

Dược lý mạng dựa trên sự tích hợp của các nguyên tắc chuyên ngành khác nhau như sinh học phân tử, sinh học sinh hóa và tin sinh học. Dược lý mạng ngày càng phổ biến do tỷ lệ thành công cao trong các thử nghiệm lâm sàng, tác dụng phụ thấp hoặc giá cả phải chăng, hiệu quả thuốc được cải thiện, điều chỉnh con đường truyền tín hiệu với nhiều kênh và tương tác của nhiều gen và protein có thể dễ dàng nhắm mục tiêu để gây bệnh.

Docking phân tử là nghiên cứu về cách hai hoặc nhiều cấu trúc phân tử (thuốc, enzym, protein) phù hợp với nhau. Docking là một kỹ thuật mô hình hóa phân tử được sử dụng để dự đoán cách một protein (enzym) tương tác với các phân tử nhỏ.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần trên mặt đất của cây Rau đắng đất được thu hái tại tỉnh Tây Ninh (tháng 4/2022) và được xác định tên khoa học bởi Tiến sĩ Nguyễn Thụy Vy, Khoa Sinh học – công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất và phân tách các phân đoạn

Rau đắng đất tươi (31 kg) được sấy khô và xay thành bột thô (8,0 kg). Bột khô được ngâm kiệt ở nhiệt độ phòng với cồn 70% (30 lít x 4 lần) thu được dịch chiết cồn, thu hồi dung môi ở áp suất giảm thu được cao lỏng (9 lít). Chiết phân bố cao lỏng thu được với EtOAc (9 lít x 5 lần), lớp EtOAc được cô giảm áp thu được cao EtOAc (78 g). Lớp dịch nước còn lại sẽ tiếp tục được chiết phân bố với n-BuOHbhn (9 lít x 7 lần), cô giảm áp thu được cao n-BuOH (117 g).

2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất

Cao EtOAc (60 g) được tách bằng sắc ký cột silica gel và rửa giải bằng hỗn hợp gradient $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (100:0 $\rightarrow$ 60:40, v/v) thu được 9 phân đoạn (E1 – E9). Phân đoạn E1 (15,9 g) tiếp tục được sắc ký trên cột silicagel rửa giải bằng $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ (80:20 $\rightarrow$ 50:50, v/v) thu được 7 phân đoạn (E1.1-E1.7). Phân đoạn E1.2 (210 mg) được phân tách tiếp trên cột silica gel rửa giải bằng $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10 $\rightarrow$ 50:50, v/v), sau đó kết tinh trong MeOH thu được **G-20** (10 mg). Phân đoạn E1.4 (128 mg), E1.5 (100 mg) được tinh chế và kết tinh trong MeOH thu được lần lượt **G-13** (18 mg), **G-14** (13 mg). Phân đoạn E2 (0,96 g) tiến hành tách tiếp trên cột sephadex LH – 20 với dung môi methanol thu được **G-8** (13 mg) và **G-16** (20 mg). Phân đoạn E3 (1,65 g) tiến hành tách tiếp trên cột sephadex LH – 20 với dung môi MeOH thu được **G-2** (52 mg) và **G-18** (16 mg). Phân đoạn E4 (17,01 g) tiếp tục được phân lập trên cột pha đảo C-18 bằng hệ dung môi $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (0:100 $\rightarrow$ 22:78, v/v) thu được 5 phân đoạn (E4.1-E4.5). Phân đoạn E4.1 (234 mg) tiến hành tách

tiếp trên cột sephadex LH – 20 với dung môi MeOH thu được **G-19** (20 mg). Phân đoạn E4.2 (160 mg), E4.4 (85 mg), E4.5 (74 mg) được hòa trong một lượng tối thiểu MeOH, lọc và để lạnh cho kết tinh, lọc và rửa bằng MeOH lạnh, thu được lần lượt **G-3** (50 mg), **G-4** (15 mg), **G-5** (19 mg). Phân đoạn E5 (8,42 g) được phân tách tiếp trên cột sephadex LH – 20 với dung môi MeOH thu được ba phân đoạn (E5.1- E5.3). Phân đoạn E5.2 (45 mg) được tiếp tục tiến hành tinh chế bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế với pha động là MeOH/H₂O (60:40, v/v) thu được **G-7** (12 mg). Phân đoạn E5.1 (55 mg) được tinh chế và kết tinh trong methanol thu được **G-9** (15 mg). Phân đoạn E5.3 (42 mg) được tinh chế và kết tinh trong methanol thu được **G-10** (20 mg). Cao n-BuOH (90 g) được phân tách trên cột silica gel, rửa giải với hệ dung môi có độ phân cực tăng dần CHCl₃/MeOH (95:5 → 40:60, v/v) thu được 8 phân đoạn (B1-B8). Phân đoạn B3 (7 g) được phân lập bằng cột silica gel với dung môi CHCl₃/EtOAc (90:10 → 50:50, v/v) thu được 6 phân đoạn (B3.1-B3.6). Phân đoạn B3.4 (2 g) được phân tách tiếp trên cột pha đảo C-18 khai triển bằng hệ dung môi MeOH/H₂O (15:85 → 23:77, v/v) thu được 5 phân đoạn (B3.4.1 – B3.4.5). Phân đoạn B3.4.2 (220 mg) được tinh chế tiếp bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế với pha động là ACN/H₂O (20:80, v/v) thu được **G-12** (12 mg). Phân đoạn B3.4.4 (80 mg) được sử dụng để phân lập trên cột Sephadex LH-20 với dung môi MeOH thu được **G-15** (16 mg) và **G-11** (13 mg). Phân đoạn B5 (1,8 g) được phân tách tiếp trên cột pha đảo C-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (10:90 → 100:0, v/v) thu được 4 phân đoạn (B5.1 – B5.4). Phân đoạn B5.1 (130 mg) được hoà trong lượng methanol tối thiểu,

lọc và để lạnh cho kết tinh, lọc và rửa bằng MeOH lạnh, thu được **G-6** (25 mg). Phân đoạn B6 (2,1 g) được phân lập bằng cột pha đảo C-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (10:90→80:20) thu được 8 phân đoạn (B6.1-B6.8). Phân đoạn B6.1 (35 mg) được tinh chế tiếp bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế pha động là ACN/H₂O (15:85 (v/v), dung môi pha mẫu acetonitril – nước (15:85, v/v) thu được **G-17** (19 mg). Phân đoạn B6.2 (150 mg) được sử dụng để phân lập trên cột sephadex LH-20 với dung môi là methanol thu được **G-1** (97 mg).

2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất:

Sử dụng các phương pháp phổ bao gồm: Phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ hồng ngoại (IR) và phổ UV.

2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase

Hỗn hợp phản ứng trong dung dịch đệm phosphat 0,1 M (pH 6,8), bao gồm 50 μ L dịch chiết ở các nồng độ khảo sát (cao chiết được hòa tan trong DMSO (Merck), sau đó pha loãng thành dãy nồng độ sao cho nồng độ DMSO không quá 2,5%) và 50 μ L dung dịch đệm có chứa α -glucosidase (*Saccharomyces cerevisiae*, G5003, Sigma) 0,2 U/mL. Hỗn hợp này được ủ ở 37 °C trong 10 phút, sau đó thêm 50 μ L dung dịch *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (*p*NPG, Sigma). Hỗn hợp phản ứng tiếp tục được ủ ở 37 °C trong 20 phút, sau đó độ hấp thụ quang của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 405 nm bằng máy đọc đĩa Elisa đa năng (Biotek, USA) và so sánh với một mẫu chứng chứa 50 μ L dung môi pha mẫu thay cho mẫu thử. Acarbose

(Sigma, $\geq 95\%$ HPLC) được sử dụng làm chứng dương. Mỗi phép đo được lặp lại 3 lần.

2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase

Hỗn hợp phản ứng ban đầu chứa 200 μl mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (mẫu thử được hòa tan trong DMSO (Merck) tuyệt đối, sau đó pha loãng thành dãy nồng độ cần khảo sát sao cho nồng độ DMSO không quá 2,5%), 50 μl XO (X4376, Sigma) 0,2 U/ml và 950 μl dung dịch đệm natri phosphat (50 mM, pH 7,5), hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ phòng (25 °C) trong 15 phút. Sau đó, phản ứng được bổ sung 400 μl xanthine (Sigma) 1,5 mM, ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng sau đó được đo mật độ quang bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 295 nm. Phép đo được lặp lại ba lần. Allopurinol (Sigma) được sử dụng làm chứng dương.

2.2.6. Phương pháp phân tích được lý mạng

Các bước tiến hành bao gồm: sàng lọc các thành phần hoạt chất của cây Rau đắng đất và các protein đích liên quan; xây dựng mạng lưới hoạt chất – đích tác động; xây dựng mạng lưới tương tác protein -protein (PPI) của các đích tác dụng tiềm năng; Phân tích GO và con đường KEGG

2.2.7. Phương pháp docking phân tử

Docking phân tử được thực hiện bằng phần mềm Autodock Vina 1.1.2. Cấu trúc 3D của protein đích tác động tiềm năng ở dạng phức hợp được tìm kiếm trên ngân hàng dữ liệu RSCB PDB database (<http://www.rcsb.org/>). Protein và ligand đồng kết tinh được tách riêng sử dụng Discovery Studio 2024 (file pdb), sau đó được loại nước, thêm liên kết hydro phân cực, gắn

trường lực Kollman bằng Autodock tool 1.5.7 (file pdbqt). Ligand được tải từ Pubchem hoặc vẽ, tối thiểu hóa năng lượng bằng phần mềm Chem3D 19.0 và chuyển thành tập .pdb bằng PyMOL 3.0.4. Dùng AutodockTool 1.5.7 để chuyển thành tập .pdbqt. Kết quả đánh giá dựa trên năng lượng gắn kết (kcal/mol).

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thử hoạt tính sinh học của các cao phân đoạn

3.1.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các cao phân đoạn

Bảng 3.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của các cao phân đoạn của cây Rau đắng đất

Mẫu thử	IC ₅₀ (μ g/mL)
Cao cồn 70%	448,55 $\pm$ 1,86
Cao EtOAc	105,10 $\pm$ 1,56
Cao BuOH	484,99 $\pm$ 4,47
Acarbose	659,46 $\pm$ 6,97

3.1.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase

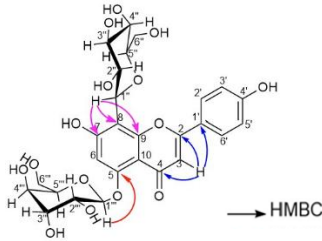
Bảng 3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase của các cao phân đoạn của cây Rau đắng đất

Mẫu thử	IC ₅₀ (μ g/mL)
Cao cồn 70%	130,56 $\pm$ 3,79
Cao EtOAc	29,67 $\pm$ 1,02
Cao BuOH	83,16 $\pm$ 0,27
Allopurinol	0,52 $\pm$ 0,02

Cao cồn 70%, và các cao phân đoạn của cây đều có tác động ức chế α -glucosidase và xanthine oxidase. Trong đó cao EtOAC có hoạt tính mạnh nhất. Do đó, các phân đoạn có hoạt tính được tiếp tục phân lập và xác định hoạt tính sinh học.

3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập

3.2.1. Hợp chất **G-6**: Apigenin-5-*O*- β -D-glucopyranosyl-8-*C*- β -D- glucopyranosid (hợp chất mới)



Hình 3.8. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **G-6**

Hợp chất **G-6** được phân lập ở dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ UV của **G-6** trong dung môi methanol xuất hiện các cực đại hấp thụ ở 268 nm, 338 nm. Trên phổ hồng ngoại xuất hiện các đỉnh đặc trưng: 3421 (-OH), 1658 (C=O), 1575 (Ar), 1075 (C-O-C). Công thức phân tử của **G-6** được xác định là $C_{27}H_{30}O_{15}$ ($\Omega=13$) bằng phương pháp phổ khối phân giải cao (-)-HR-ESI-MS dựa vào peak ion phân tử giả tại m/z 593,1502 $[M-H]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{29}O_{15}]^-$: 593,1512 ; $\Delta = -1,69$ ppm). Trên phổ ^{13}C -NMR của **G-6** xuất hiện 27 tín hiệu C, trong đó có 15 tín hiệu có độ dịch chuyển vùng C thơm (6-3-6) gợi ý đây là 1 flavonoid. Đồng thời trong vùng 60-80 ppm có 11 tín hiệu kèm 1 tín hiệu δ_C 101,2 gợi ý cấu trúc glycosid với 2 đường hexose. Cấu trúc Flavon được xác định thông qua dịch chuyển hóa học của carbon carbonyl vùng trường thấp với δ_C 182,3 và sự hiện diện của carbon =CH – được gán cho C_3 với δ_C 102,5 và δ_H 6,86. Trong cấu trúc này, vòng B được xác định là đối xứng 1 nhóm thế tại vị trí C_4' khi trên phổ ^{13}C -NMR cho 2 tín hiệu cường độ cao ở δ_C 129,2;

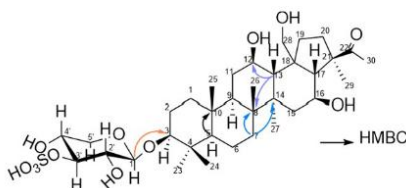
115,9 và hai cặp đôi 2H được gán cho H-2',6' và H-3',5' (δ_H 8,06 và 6,90). Hợp chất **G-6** cho thấy các đặc tính của một glycosid flavonoid có khung aglycon là apigenin [13]. Các tín hiệu proton anomer ở δ_H 4,88 (*d*, 10,0 Hz) và 4,95 (*d*, 7,5 Hz) xuất hiện trên phổ $^1\text{H-NMR}$ chứng tỏ sự tồn tại hai cấu hình β của mỗi đơn vị đường trong cấu trúc của hợp chất **G-6**. Trong phổ HSQC, tín hiệu proton anomer cho liên kết với hai tín hiệu carbon ở δ_C 73,3 và 101,2 được gán cho các carbon anomer. Dựa trên sự dịch chuyển hóa học của hai nguyên tử carbon này, đã có sự hiện diện của cấu trúc *C*-glycosid và *O*-glycosid trong hợp chất **G-6**. Vị trí của các gốc đường trong cấu trúc được xác định thông qua phân tích tương quan HMBC. Mỗi tương quan HMBC giữa δ_H 4,95 với δ_C 160,8 cho thấy đơn vị glucose đầu tiên được liên kết với nhóm hydroxy của aglycone ở C-5; Phổ HMBC cũng cho thấy tương tác giữa một proton anomer khác (δ_H 4,88) với δ_C 107,2, 155,0 và 161,2 trong khung flavon chứng tỏ phân tử glucose thứ hai liên kết với vị trí C-8.

Bảng 3.8. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **G-6**

G-6 (DMSO-<i>d</i>₆, 500 MHz)					
C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)	C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)
2	164,6	-	Glc-1''	73,3	4,88 <i>d</i> (10,0)
3	102,5	6,86 <i>s</i>	2''	71,7	3,72 <i>m</i>
4	182,3	-	3''	78,5	3,36 <i>m</i>
5	160,8	-	4''	70,7	3,38 <i>m</i>
6	98,5	6,61 <i>s</i>	5''	81,9	3,28 <i>m</i>
7	161,2	-	6''	61,3	3,78 <i>m</i> ; 3,54 <i>m</i>
8	107,2	-	Glc-1'''	101,2	4,95 <i>d</i> (7,5)
9	155,0	-	2'''	73,4	3,35 <i>m</i>
10	105,7	-	3'''	75,9	3,31 <i>m</i>
1'	121,1	-	4'''	69,5	3,21 <i>m</i>

2'	129,2	8,06 <i>d</i> (9,0)	5'''	77,1	3,41 <i>m</i>
3'	115,9	6,90 <i>d</i> (9,0)	6'''	60,6	3,70 <i>m</i> ; 3,50 <i>m</i>
4'	161,7	-			
5'	116,2	6,96 <i>d</i> (9,0)			
6'	128,6	7,92 <i>d</i> (9,0)			

3.2.2. Hợp chất G-11: Spergulin C (Hợp chất mới)



Hình 3.13. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **G-11**

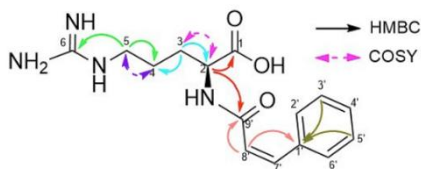
Hợp chất **G-11** được phân lập từ ở dạng bột vô định hình, màu trắng. Phổ UV của **G-11** trong dung môi methanol xuất hiện cực đại hấp thụ ở 203 nm. Trên phổ hồng ngoại xuất hiện các đỉnh đặc trưng: 3480 ($-\text{OH}$), 1700 ($>\text{C}=\text{O}$). Công thức phân tử của **G-11** được xác định là $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_{12}\text{S}$ ($\Omega = 7$) bằng phương pháp phổ khối phân giải cao ($-$)-HR-ESI-MS dựa vào peak ion phân tử giả tại m/z 701,3567 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{35}\text{H}_{57}\text{O}_{12}\text{S}]^-$: 701,3576 ; $\Delta = -1,28$ ppm). Tương tự **G-9**, phổ ^{13}C -NMR và DEPT của **G-11** cũng xuất hiện 35 tín hiệu carbon, trong đó có 30 tín hiệu của khung aglycon triterpen và 5 tín hiệu của đường pentose. Trong đó xuất hiện các tín hiệu của 6 nhóm carbon bậc 4 với một $>\text{C}=\text{O}$ (δ_{C} 214,4), 8 nhóm $>\text{CH}_2$ và 7 nhóm $>\text{CH}-$. Từ tương tác giữa H29, H17, H20 với C22 cũng như giữa H30 với C21 trên phổ HMBC cho biết nhóm methylketon gắn vào C21. Tín hiệu H3 (δ_{H} 3,26 *m*), H12 (δ_{H} 4,22 *m*) và H16 (δ_{H} 4,15 *m*) ở vùng trường thấp cũng như các tín hiệu carbon tương ứng cho thấy xuất hiện nhóm $-\text{OH}$ ở

C3 (δ_c 88,1), C12 (δ_c 69,7) và C16 (δ_c 64,4). C21 (δ_c 52,8) gắn với nhóm methyl C29 (δ_c 21,1) và điều này được chứng minh thông qua tương tác trên phổ HMBC. Như vậy có thể nhận định rằng phần aglycon thuộc khung hopan với nhóm acetyl gắn vào C21, nhóm methyl C29 gắn vào C21, ba nhóm hydroxy gắn tại C3, C12 và C16. Các tín hiệu trên phổ ^{13}C -NMR cho thấy 7 tín hiệu nhóm methyl ($-\text{CH}_3$) nằm ở vùng trường cao lần lượt là δ_c 28,0; 16,5; 15,9; 16,5; 17,1; 19,4; 21,1; 26,0 (tương ứng lần lượt với các tín hiệu dưới dạng peak đơn trên phổ ^1H -NMR tại δ_H 1,22 s; 0,94 s; 0,77 s; 1,00 s; 1,39 s; 1,69 s, 2,36 s). So sánh với **G-9**, phổ NMR của **G-11** thiếu 1 tín hiệu methyl ở vùng trường cao tương ứng với 1 tín hiệu singlet trên phổ ^1H -NMR nhưng xuất hiện thêm một tín hiệu δ_c 61,4 ; δ_H 4,36 (1H, *d*, 10,8) được gán cho C-28 dựa trên tương tác HMBC với H17 (2,52 *d* (11,5)). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của carbon anomer và 4 nhóm oxymethine (δ_c 106,3; 73,6; 83,1; 70,6; 66,1), dựa vào dữ liệu phổ tham khảo xác định đây là đường D-xylose với vị trí C3' gắn nhóm $-\text{HSO}_3$ thay cho $-\text{OH}$ dẫn đến độ dịch chuyển của C3' bị dịch chuyển về phía từ trường thấp hơn so với tín hiệu C3' của đường xylose bình thường. Carbon anomer của đường có δ_c 105,8 cho thấy đây là một *O*-glycosid. Kết hợp với phổ HMBC, H1' tương tác với C3 của aglycon cho thấy đường D-xylose gắn vào C3 của khung aglycon và H1' có δ_H 4,92 (*d*; 7,0 Hz) cho biết cấu hình β -D-xylose (H1' và H2' đều hướng axial với mặt phẳng vòng). Các tương tác của các proton kề cận ghi nhận được từ dữ liệu phổ COSY của hợp chất **G-11** cho phép gán các vị trí của các proton này trong cấu trúc.

Bảng 3.13. Dữ liệu phổ NMR của G-11

G-11 (Pyridine- <i>d</i> ₅ ,500MHz)					
C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)	C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)
1	38,5	0,84 <i>m</i>	19	46,1	1,9 <i>m</i>
2	26,5	1,8 <i>m</i>	20	37,8	1,83 <i>m</i> 2,09 <i>m</i>
3	88,1	3,26 <i>m</i>	21	52,8	-
4	39,3	-	22	214,4	-
5	55,3	0,68 <i>d</i> (10,7)	23	28,0	1,22 <i>s</i>
6	18,4	1,28 <i>m</i>	24	16,5	0,94 <i>s</i>
7	33,5	1,19 <i>m</i> 1,23 <i>m</i>	25	15,9	0,77 <i>s</i>
8	45,7	-	26	17,1	1,00 <i>s</i>
9	49,2	1,41 <i>m</i>	27	19,4	1,39 <i>s</i>
10	36,7	-	28	61,4	4,36 <i>d</i> (10,8)
11	31,5	2,07 <i>m</i>	29	21,1	1,69 <i>s</i>
12	69,7	4,22 <i>m</i>	30	26,0	2,36 <i>s</i>
13	56,6	1,87 <i>d</i> (11,0)	Xyl-1'	106,3	4,92 <i>d</i> (7,0)
14	41,9	-	2'	73,6	4,02 <i>m</i>
15	45,5	1,74 <i>m</i>	3'	83,1	5,40 <i>m</i>
16	64,4	4,15 <i>m</i>	4'	70,6	4,7 <i>m</i>
17	63,2	2,52 <i>d</i> (11,5)	5'	66,1	4,23 <i>m</i>
18	52,6	-			

3.2.3. Hợp chất G-17: L-(-)-(N-*cis*-cinnamoyl)-arginin (hợp chất mới)



Bảng 3.19. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **G-17**

Hợp chất **G-17** được phân lập ở dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ UV của **G-17** trong dung môi methanol xuất hiện cực đại hấp thụ ở 256 nm. Trên phổ hồng ngoại xuất hiện các đỉnh đặc trưng: 3348, 3119 cm^{-1} (N-H); 1681 cm^{-1} (C=O); 1608,

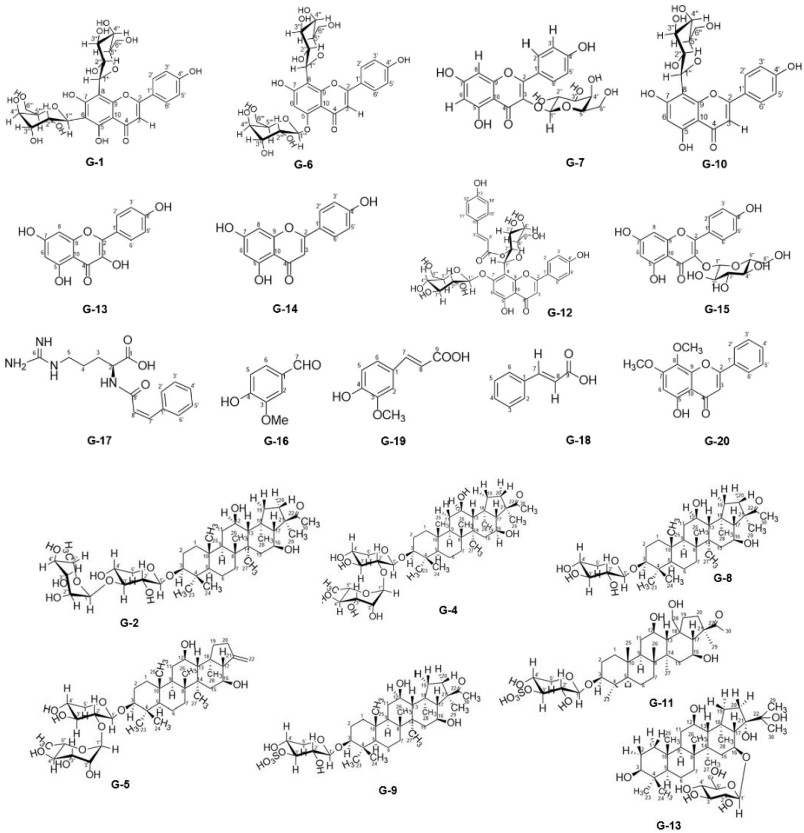
1503, 1493 và 1450 cm^{-1} ($\text{C}=\text{N}$, phenyl $\text{C}=\text{C}$). Công thức phân tử của **G-17** được xác định là $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$ ($\Omega = 8$) bằng phương pháp phổ khối phân giải cao (-)-HR-ESI-MS dựa vào peak ion phân tử giả tại m/z 303,1442 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_3]^-$: 303,1457 ; $\Delta = -4,9$ ppm) và m/z 305,1597 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3]^+$: 305,1608 ; $\Delta = -3,6$ ppm). Phổ ^1H -NMR xuất hiện một bộ năm proton tương ứng với một vòng thơm ở δ_{H} 7,27 (2H), 7,30 (1H) và 7,47 (2H), ngoài ra còn có hai proton olefin ở δ_{H} 6,77 *d* và 6,08 *d* đặc trưng cho cấu trúc cinnamoyl. Cấu hình *cis* của nối đôi được xác định từ hằng số ghép với $J = 12,5$ Hz. Sự hiện diện của nhóm *cis*-cinnamoyl được xác nhận thêm bằng tương quan ^1H - ^1H COSY của H-7'/H-8', cùng với các tương quan HMBC từ H-7'/H-8' đến C-9' (δ_{C} 169,1), từ H-8' đến C-1' (δ_{C} 136,8), từ H-7' đến C-2'/C-6' (δ_{C} 130,2), từ H-2'/H-6' đến C-7' (δ_{C} 138,0) và các tương quan khác của vòng benzen. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy 13 tín hiệu carbon, trong đó 9 tín hiệu thuộc khung *cis*-cinnamoyl. Các tín hiệu carbon còn lại thuộc về ba methylen (δ_{C} 26,1; 30,9; 42,1), một methin (δ_{C} 55,3) và hai carbon bậc bốn (δ_{C} 158,6, 178,1) phù hợp với các tín hiệu của acid amin arginin. Cấu trúc arginine được làm sáng tỏ bằng các tương quan của H-2/H-3/H-4/H-5 trong phổ COSY ^1H - ^1H và các tương quan HMBC từ H-2 đến C-1/C-3/C-4, từ H-3 đến C-2/C-4, và từ H-5 đến C-4. Do đó, hợp chất này được dự đoán là dẫn xuất *cis*-cinnamoyl của arginin. Trên phổ HMBC, mỗi tương quan được quan sát giữa δ_{H} 4,29 (H-2) và δ_{C} 169,1 (C-9'), cho thấy rằng một trong các nguyên tử hydro của nhóm α -amino đã được thay thế bằng cinnamoyl. Độ quay cực

của **G-17** $[\alpha]_D^{27} - 16.7^\circ$ nên cấu hình tuyệt đối ở vị trí C-2 được kết luận là (S). Khi so sánh phổ NMR của **G-17** với hợp chất L-(-)-(N-*trans*-cinnamoyl)-arginin [14] cho thấy sự khác biệt ở cấu hình đồng phân cis (C7'=C8'), kết hợp với dữ liệu phổ MS cho phép xác định **G-17** là L-(-)-(N-*cis*-cinnamoyl)-arginin.

Bảng 3.19. Dữ liệu phổ NMR của **G-17**

G-17 (CH₃OH-d₆, 500 MHz)					
C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)	C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) <i>J</i> (Hz)
Amino acid			cinnamoyl		
1	178,1		1'	136,8	-
2	55,3	4,31 t (6,5)	2', 6'	130,2	7,49 d (9,0)
3	30,9	1,83 m 1,71 m	3', 5'	129,3	7,29 m
4	26,1	1,52 m	4'	129,5	7,29 m
5	42,1	3,15 m	7'	138,0	6,79 d (12,5)
6	158,6	-	8'	125,1	6,09 d (12,5)
2-NH			9'	169,1	-

Bằng việc phân tích kết hợp các dữ liệu phổ HR-MS, phổ NMR đã xác định cấu trúc 20 hợp chất (**G-1**→**G-20**), bao gồm 3 hợp chất mới trong tự nhiên **G-6** (Apigenin-5-*O*- β -D-glucopyranosyl-8-*C*- β -D-glucopyranoside), **G-11** (), **G-17** (L-(-)-(N-*cis*-cinnamoyl)-arginin); 1 hợp chất mới trong cây **G-20** (7-*O*-methylwogonin) và 16 hợp chất đã biết **G-1** (vicenin 2), **G-2** (spergulacin), **G-3** (glinosid C), **G-4** (spergulacin A), **G-5** (spergulin B), **G-7** (trifolin), **G-8** (3-*O*- β -D-xylopyranosyl-spergulagenin A), **G-9** (spergulin A), **G-10** (vitexin), **G-12** (2''-*p*-coumaroylvitexin 7-glucosid), **G-13** (kaempferol), **G-14** (apigenin), **G-15** (astragalin), **G-16** (vanilin), **G-18** (acid cinnamic), **G-19** (acid *trans*-ferulic).



Hình 3.39. Cấu trúc hóa học các hợp chất G-1→G-20

3.3. Kết quả thử hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được

3.3.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của các hợp chất phân lập được

Bảng 3.23. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ cây Rau đắng đất

Mẫu thử	IC ₅₀ (μM)	Mẫu thử	IC ₅₀ (μM)
G-1	1247,21 ± 2,15	G-12	222,22 ± 3,71

G-2	310,51 ± 1,38	G-13	9,52 ± 0,19
G-3	ND	G-14	10,28 ± 0,05
G-4	ND	G-15	80,27 ± 1,50
G-5	ND	G-16	ND
G-6	257,90 ± 1,00	G-17	ND
G-7	380,71 ± 5,43	G-18	ND
G-8	13,99 ± 0,33	G-19	ND
G-9	ND	G-20	94,92 ± 1,85
G-10	193,60 ± 2,47	Acarbose	1021,47 ± 10,79
G-11	31,23 ± 0,45		

ND: không xác định hoạt tính

Trong số 20 hợp chất phân lập được, các hợp chất **G-8**, **G-11**, **G-13**, **G-14**, **G-15**, **G-20** cho hoạt tính ức chế mạnh enzym α -glucosidase với $IC_{50} = 9,52 \sim 94,92 \mu M$. Trong đó, hợp chất **G-13** ($IC_{50} = 9,52 \pm 0,19 \mu M$) thể hiện hoạt tính mạnh nhất. Các hợp chất **G-10**, **G-2**, **G-6**, **G-7** cho hoạt tính ức chế yếu hơn với $IC_{50} = 193,60 \sim 380,71 \mu M$. Hợp chất **G-1** có hoạt tính ức chế yếu nhất với $IC_{50} = 1247,21 \pm 2,15 \mu M$. Các hợp chất còn lại không cho hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase.

3.3.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được

Bảng 3.24. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ cây Rau đắng đất

Mẫu thử	$IC_{50} (\mu M)$	Mẫu thử	$IC_{50} (\mu M)$
G-1	56,82 ± 1,95	G-12	127,51 ± 2,33
G-2	288,68 ± 1,94	G-13	26,18 ± 0,78
G-3	ND	G-14	10,26 ± 0,55
G-4	ND	G-15	144,65 ± 0,17
G-5	ND	G-16	5,37 ± 0,33
G-6	ND	G-17	178,02 ± 1,65
G-7	ND	G-18	106,69 ± 3,55

G-8	ND	G-19	$87,40 \pm 1,96$
G-9	$394,42 \pm 1,35$	G-20	ND
G-10	$927,49 \pm 4,48$	Allopurinol	$3,84 \pm 0,11$
G-11	ND		

ND: không xác định hoạt tính

Trong số 20 hợp chất phân lập được, các hợp chất **G-1**, **G-13**, **G-14**, **G-16**, **G-19** cho hoạt tính ức chế mạnh enzym xanthine oxidase với $IC_{50}=5,37\sim 87,40\ \mu\text{M}$. Trong đó, hợp chất **G-16** ($5,37 \pm 0,33\ \mu\text{M}$) thể hiện hoạt tính mạnh nhất. Các hợp chất **G-2**, **G-9**, **G-10**, **G-12**, **G-15**, **G-17**, **G-18** cho hoạt tính ức chế yếu hơn với $IC_{50} = 106,69\sim 394,42\ \mu\text{M}$. Hợp chất **G-10** thể hiện hoạt tính ức chế yếu nhất với IC_{50} là $927,49 \pm 4,48\ \mu\text{M}$. Các hợp chất còn lại không cho hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase.

3.4. Dự đoán cơ chế tác dụng và hoạt chất quan trọng của Rau đắng đất trong điều trị bệnh Đái tháo đường týp 2

3.4.1. Sàng lọc hợp chất và xây dựng mạng lưới hoạt chất – đích tác động (Compound–Target Network)

Thông qua phân tích UPLC-HRMS và thực nghiệm, đã xác định được tổng cộng 43 hợp chất có trong cây Rau đắng đất. Sau khi áp dụng tiêu chí sàng lọc theo quy tắc Lipinski, 34 hợp chất được chọn là các hợp chất có tiềm năng dược lý. Dựa trên nền tảng SwissTargetPrediction, từ 34 hợp chất này, 831 đích tác động tiềm năng được dự đoán. Khi đối chiếu với 2446 đích liên quan đến bệnh Đái tháo đường týp 2 (thu thập từ GeneCards và OMIM), 326 đích trùng khớp được xác định là các đích tác động tiềm năng. Mạng lưới hoạt chất – đích tác động được xây dựng bao gồm: 360 nút, 1545 cạnh thể hiện mối tương tác giữa hợp chất và đích tác động. Ba hợp chất có độ

trung tâm cao nhất trong mạng là: acid 3-oxo-olean-12-ene-28,30-dioic; 6,8-dimethyl-5,7,4'-trihydroxyflavone; 7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavone

3.4.2. Xây dựng mạng lưới Tương tác Protein – Protein (PPI)

Từ 326 đích tác động tiềm năng, mạng PPI được xây dựng sử dụng cơ sở dữ liệu STRING-db với độ tin cậy cao. Kết quả ban đầu thu được mạng gồm: 326 nút (đại diện cho protein), 7297 cạnh (tương tác giữa các protein). Mạng này sau đó được phân tích bằng Cytoscape 3.10.2 và plugin CytoNCA. Dựa trên các chỉ số độ trung tâm ($DC > 100$, $BC > 0.0049$, $CC > 0.59$), 28 protein trung tâm được chọn để xây dựng mạng PPI rút gọn với 374 cạnh. Các protein trung tâm nổi bật gồm: AKT1, TNF, IL6, ALB, TP53, SRC, EGFR, STAT3, PPARG. Đây là các đích quan trọng trong cơ chế tác động của hợp chất từ Rau đắng đất.

3.4.3. Phân tích chức năng GO Gene Ontology (GO)

Phân tích GO được thực hiện trên 326 đích tiềm năng, chia thành ba nhóm: **BP (Biological Process)**: phản ứng với hóa chất, phản ứng với hợp chất chứa oxy, đáp ứng với kích thích; **CC (Cellular Component)**: màng vi miền, phức hợp thụ thể; **MF (Molecular Function)**: hoạt động của thụ thể protein tyrosine kinase, hoạt động thụ thể nhân.

3.4.4. Phân tích con đường sinh hóa KEGG

Phân tích KEGG xác định 239 con đường sinh hóa có liên quan ($FDR < 0,05$). 5 con đường nổi bật nhất gồm: EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance (hsa01521); Prostate cancer; AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications; Endocrine resistance; HIF-1 signaling pathway. Các con đường này liên

quan đến đề kháng insulin, viêm và stress oxy hóa – là những cơ chế bệnh sinh chính của bệnh Đái tháo đường týp 2.

3.4.5. Phân tích docking phân tử

Docking phân tử được tiến hành giữa 3 hợp chất chính với 9 protein đích trung tâm nhằm xác nhận ái lực liên kết. Quy trình docking được đánh giá là đáng tin cậy với RMSD từ 0,835–1,244 Å (< 2 Å).

Kết quả docking cho thấy các tổ hợp có năng lượng liên kết mạnh nhất là: Acid 3-oxo-olean-12-ene-28,30-dioic – ALB: -10.1 kcal/mol; 7-Hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavone–TNF: -9.9 kcal/mol; Acid 3-oxo-olean-12-ene-28,30-dioic – SRC: -9.4 kcal/mol. Điều này củng cố kết quả được lý mạng và xác định độ tin cậy của các đích tác động tiềm năng.

3.5. Dự đoán cơ chế tác dụng và hoạt chất quan trọng của Rau đắng đất trong điều trị bệnh Gout

3.5.1. Sàng lọc hợp chất và xây dựng mạng lưới hoạt chất – đích tác động (Compound–Target Network)

Khi đối chiếu với 1260 đích liên quan đến bệnh Gout (thu thập từ GeneCards và OMIM), 149 đích trùng khớp được xác định là các đích tác động tiềm năng. Mạng lưới hoạt chất – đích tác động được xây dựng bao gồm: 183 nút, 751 cạnh thể hiện mối tương tác giữa hợp chất và đích tác động. Ba hợp chất có độ trung tâm cao nhất trong mạng là: Acid *trans*-ferulic; 7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavone; Lutein

3.5.2. Xây dựng mạng lưới PPI

Từ 149 đích tác động tiềm năng, mạng PPI được xây dựng sử dụng cơ sở dữ liệu STRING-db. Sau khi loại bỏ 3 đích không có tương tác, mạng ban đầu thu được: 146 nút, 1808 cạnh. Sau

lọc các đích trung tâm ($DC > 40$, $BC > 0.0029$, $CC > 0.5513$), mạng PPI rút gọn gồm: 22 nút và 218 cạnh. Các đích trung tâm nổi bật: IL6, ALB, TNF, TP53, SRC.

3.5.3. Phân tích chức năng Gene Ontology (GO)

Phân tích GO được thực hiện trên 146 đích tiềm năng, chia thành ba nhóm: **BP**: phản ứng với hợp chất chứa oxy, phản ứng của tế bào với kích thích hóa học, phản ứng với chất hữu cơ; **CC**: phức hợp thụ thể, màng sinh chất, mặt bên của màng; **MF**: liên kết phân tử nhỏ, hoạt động protein tyrosine kinase.

3.5.4. Phân tích con đường sinh hóa KEGG

Phân tích KEGG xác định 200 con đường sinh hóa có liên quan ($FDR < 0,05$). 3 con đường nổi bật nhất gồm: Pathways in cancer (hsa05200); Lipid and atherosclerosis (hsa05417); PI3K-Akt signaling pathway (hsa04151). Các con đường này liên quan đến viêm mạn tính, rối loạn lipid máu, và chuyển hóa acid uric – là các yếu tố bệnh sinh chính của Gout.

3.5.5. Phân tích docking phân tử

Docking phân tử được thực hiện giữa 3 hợp chất chính với 5 protein đích trung tâm. Các tổ hợp có năng lượng liên kết mạnh nhất: 7-Hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavone–TNF:-9.9 kcal/mol; 7-Hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavone–SRC:-9.3 kcal/mol; Lutein – SRC: -8.5 kcal/mol. Điều này củng cố kết quả được lý mạng và xác nhận độ tin cậy của các đích tác động được dự đoán.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Sau quá trình nghiên cứu, đề tài đã thu được kết quả như sau:

- Từ phần trên mặt đất của loài *Glinus oppositifolius* đã phân lập và xác định cấu trúc 20 hợp chất (**G-1→G-20**), bao gồm 9

hợp chất thuộc nhóm flavonoid, 7 hợp chất thuộc nhóm saponin và 4 hợp chất khác

- Cao EtOAc có hoạt tính ức chế α -glucosidase và xanthine oxidase mạnh nhất. Trong số 20 hợp chất phân lập được, các hợp chất **G-1, G-13, G-14, G-16, G-19** cho hoạt tính ức chế mạnh enzym xanthine oxidase với $IC_{50}=5,37\sim 87,40\ \mu M$.

- Từ phân tích dược lý mạng và docking phân tử cho thấy cây Rau đắng đất có tác dụng trên bệnh Đái tháo đường típ 2 với cơ chế giảm đề kháng insulin, giảm biến chứng đái tháo đường, kháng viêm – chống oxy hóa.

- Từ phân tích dược lý mạng và docking phân tử cho thấy cây Rau đắng đất có thể tham gia hỗ trợ điều trị bệnh Gout thông qua cơ chế giảm viêm mạn tính, chống oxy hóa – giảm acid uric, giảm rối loạn lipid máu và nguy cơ biến chứng tim mạch.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Đây là nghiên cứu đầu tiên về hoạt tính ức chế xanthine oxidase của cây Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius*).

- Đã phân lập, xác định được 3 hợp chất mới từ phần trên mặt đất của loài *Glinus oppositifolius* là: apigenin-5-O- β -D-glucopyranosyl-8-C- β -D-glucopyranoside, spergulin C, L-(-)-(N-cis-cinnamoyl)-arginin và thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất này

- Lần đầu tiên phân lập được hợp chất 7-O-methylwogonin từ phần trên mặt đất của loài *Glinus oppositifolius*. Đồng thời đây cũng là nghiên cứu đầu tiên thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase và xanthine oxidase của hợp chất 7-O-methylwogonin.

- Đây là nghiên cứu đầu tiên ứng dụng dược lý mạng để tìm hiểu hợp chất tiềm năng và cơ chế tác dụng định hướng điều trị bệnh Đái tháo đường týp 2 và Gout của cây Rau đắng đất.