

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Bùi Thị Nhật Lệ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ
HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA RỄ LOÀI HOÀNG LIÊN CHÂN GÀ
(*Coptis chinensis* Franch.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2026

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Bùi Thị Nhật Lệ



**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ
HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA RỄ LOÀI HOÀNG LIÊN CHÂN GÀ
(*Coptis chinensis* Franch.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Nghành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Hoàng Đức Mạnh 
2. PGS.TS. Nguyễn Tiên Đạt 

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan rằng đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình do chính tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Hoàng Đức Mạnh và PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt. Toàn bộ số liệu và kết quả trình bày trong luận văn đều đảm bảo tính trung thực. Các tài liệu tham khảo được sử dụng đều được trích dẫn và ghi nguồn đầy đủ, đúng quy định. Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật nếu có bất kỳ sai sót hoặc gian lận nào liên quan đến các số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn.

Hà Nội, ngày 15 tháng 6 năm 2026

Tác giả



Bùi Thị Nhật Lệ

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc đến hai người thầy hướng dẫn TS. Hoàng Đức Mạnh – Bộ Khoa học và Công nghệ, PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt – Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao đã tận tình chỉ bảo, hướng dẫn và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành tốt luận văn của mình.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Lãnh đạo, Phòng Đào tạo, Khoa Hóa học của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo điều kiện tốt nhất trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu luận văn.

Trong quá trình thực hiện luận văn, tôi nhận được rất nhiều sự giúp đỡ từ các anh/chị/em của Trung tâm Hóa học và Sinh học ứng dụng. Mọi người đã tạo mọi điều kiện tốt nhất về cơ sở vật chất, các dụng cụ phòng thí nghiệm cho tôi có thể hoàn thành tốt đề tài nghiên cứu của mình.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đặc biệt và ý nghĩa nhất tới gia đình đã luôn đồng hành, động viên khích lệ, chia sẻ, sát cánh bên tôi để tôi vượt qua những khó khăn trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn nhiệm vụ Hợp tác quốc tế “*Nghiên cứu hóa thực vật về các cây thuốc Việt Nam có chứa alkaloid isoquinoline*” mã số nhiệm vụ QTBG01.03/26-27, đã hỗ trợ để tôi thực hiện thành công luận văn.

Xin trân trọng cảm ơn.

Hà Nội, ngày 15 tháng 6 năm 2026

Học viên



Bùi Thị Nhật Lệ

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	iii
DANH MỤC CÁC BẢNG	iv
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	v
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN VỀ HOÀNG LIÊN CHÂN GÀ (<i>COPTIS CHINENSIS</i> FRANCH.)	3
1.1. Đặc điểm thực vật	3
1.1. Phân bố	4
1.2. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi <i>Coptis</i> và loài <i>Coptis chinensis</i> Franch.	4
1.2.1. Các hợp chất alkaloid.....	5
1.2.2. Các hợp chất lignan.....	6
1.2.3. Các hợp chất flavonoid	8
1.2.4. Các hợp chất khác	9
1.3. Hoạt tính sinh học của Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	10
1.4.1. Nghiên cứu về hoạt tính chống viêm	10
1.4.2. Các nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa.....	11
1.4.3. Nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn	12
1.4.4. Nghiên cứu về tác dụng điều hòa chuyển hóa	13
1.4.5. Nghiên cứu về tác dụng trên hệ tim mạch	13
1.4.6. Nghiên cứu về hoạt tính chống ung thư.....	13
1.4.7. Nghiên cứu về hoạt tính bảo vệ thần kinh	14
1.4.8. Hoạt tính sinh học khác.....	14
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	16
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	16
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	16
2.2.1. Hóa chất và thiết bị	16
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	18
2.3. THỰC NGHIỆM.....	23
2.3.1. Phân lập các hợp chất từ Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	23

2.3.2. Thông số vật lý và các dữ liệu phổ các hợp chất phân lập được	26
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	27
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất từ rễ loài Hoàng liên chân gà	27
3.1.1. Hợp chất CC1 : Noroxyhydrastine	27
3.1.2. Hợp chất CC2 : Berberine	32
3.1.3. Hợp chất CC3 : Oxyberberine	37
3.1.4. Hợp chất CC4 : Jatrorrhizine.....	42
3.1.5. Bàn luận về kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của mẫu Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	47
3.2. Hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được.....	48
3.2.1. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH	48
3.2.2. Kết quả hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7	49
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	53
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....	54
TÀI LIỆU THAM KHẢO	55
PHỤ LỤC	62

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13
^1H NMR	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CC	Column chromatography	Sắc ký cột
CD_3OD	Methanol- d_4 (Tetradeuteromethanol)	Methanol đã deuteri hóa
CDCl_3	Chloroform-d (Deuteriochloroform)	Chloroform đã deuteri hóa
CH_2Cl_2	Dichloromethane	Dicloromethan
$\text{DMSO}-d_6$	Deuterated dimethyl sulfoxide	DMSO đã deuteri hóa
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	Gốc tự do bền dùng đánh giá hoạt tính chống oxy hóa
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer	Phổ DEPT
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry.	Phổ khối ion hóa phun điện
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetat
IC_{50}	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50%
$\text{IL-1}\beta$	Interleukin-1 beta	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6	Interleukin-6
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
NO	Nitric Oxide (NO)	Hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide
MeOH	Methanol	Methanol (rượu metylic)
MTT	MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)	Phương pháp đánh giá khả năng sống và hoạt động chuyển hóa của tế bào
MIC	Minimal Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
RAW 264.7	Macrophage cell line	Dòng tế bào đại thực bào
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
$\text{TNF-}\alpha$	Tumor Necrosis Factor-alpha	Yếu tố hoại tử khối u alpha

s: singlet; d: doublet; dd: doublet doublet; t: triplet; dt: doublet triplet;
q: quartet; qui: quintet; m: multiplet; br: broad

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3. 1: Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất CC1 và chất tham khảo	31
Bảng 3. 2: Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất CC2 và chất tham khảo	36
Bảng 3. 3: Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất CC3 và chất tham khảo	41
Bảng 3. 4: Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất CC4 và chất tham khảo	46
Bảng 3. 5: Kết quả hoạt tính quét gốc tự do DPPH của một số hợp chất từ rễ Hoàng liên chân gà	48
Bảng 3. 6: Kết quả hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 của một số hợp chất từ rễ loài Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	51

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1: Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	3
Hình 1.2: Cấu trúc hóa học một số hợp chất alkaloid từ chi <i>Coptis</i>	6
Hình 1.3: Cấu trúc hóa học của các hợp chất nhóm lignan từ <i>C. chinensis</i>	7
Hình 1.6: Cấu trúc hóa học của các hợp chất nhóm flavonoid	9
Hình 1.7: Các hợp chất khác của <i>C. chinensis</i>	9
Hình 2.1: Mẫu rễ loài Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	16
Hình 2.2: Sơ đồ phân lập các hợp chất từ rễ loài Hoàng Liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.)	25
Hình 3. 1: Cấu trúc hợp chất CC1	27
Hình 3. 2: Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC1	27
Hình 3. 3: Phổ ^1H NMR của hợp chất CC1	28
Hình 3. 4: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CC1	29
Hình 3. 5: Phổ DEPT của hợp chất CC1	30
Hình 3. 6: Cấu trúc hóa học của hợp chất CC2	32
Hình 3. 7: Phổ khối lượng ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC2	32
Hình 3. 8: Phổ ^1H NMR của hợp chất CC2	33
Hình 3. 9: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CC2	34
Hình 3. 10: Phổ DEPT của hợp chất CC2	35
Hình 3. 11: Cấu trúc hóa học của hợp chất CC3	37
Hình 3. 12: Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC3	37
Hình 3. 13: Phổ ^1H NMR của hợp chất CC3	38
Hình 3. 14: Phổ DEPT của hợp chất CC3	40
Hình 3. 15: Cấu trúc hợp chất CC4	42
Hình 3. 16: Phổ khối lượng ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC4	42
Hình 3. 17: Phổ ^1H NMR của hợp chất CC4	43
Hình 3. 18: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CC4	45
Hình 3. 19: Các hợp chất đã phân lập từ Hoàng liên chân gà	47
Hình 3. 20: Kết quả biểu đồ đánh giá khả năng sống của tế bào khi xử lý với một số hợp chất phân lập từ rễ loài Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.) được xác định bằng phép thử MTT	50

MỞ ĐẦU

Trong bối cảnh xu hướng quay trở lại sử dụng dược liệu có nguồn gốc tự nhiên ngày càng gia tăng, việc nghiên cứu một cách có hệ thống các cây thuốc truyền thống nhằm làm rõ cơ sở khoa học cho hiệu quả điều trị và khả năng ứng dụng hiện đại đang nhận được sự quan tâm lớn. Nhiều loài dược liệu quen thuộc trong y học cổ truyền đã và đang trở thành đối tượng nghiên cứu chuyên sâu. Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.), thuộc họ Mao lương (Ranunculaceae) là một trong những dược liệu quan trọng được sử dụng lâu đời trong y học cổ truyền phương Đông. Theo y học cổ truyền, Hoàng liên chân gà có vị đắng, tính hàn, được dùng phổ biến trong điều trị các chứng viêm nhiễm, rối loạn tiêu hóa và ho gà. Các nghiên cứu hiện đại đã bước đầu chứng minh cơ sở khoa học cho những công dụng này thông qua việc phân lập và xác định nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học.

Trên thế giới, các nghiên cứu về Hoàng liên chân gà chủ yếu được tiến hành nghiên cứu tập trung vào việc phân lập hợp chất, đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, chống ung thư và điều hòa chuyển hóa. Tuy nhiên, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của dược liệu có thể chịu ảnh hưởng đáng kể bởi điều kiện sinh thái, thổ nhưỡng, khí hậu cũng như phương pháp thu hái và chế biến. Do đó, dữ liệu thu được từ các nguồn dược liệu ngoại nhập chưa thể phản ánh đầy đủ đặc điểm của Hoàng liên chân gà phân bố và sử dụng tại Việt Nam. Do đó, việc triển khai nghiên cứu Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) nguồn gốc Việt Nam không chỉ có ý nghĩa khoa học trong việc bổ sung và hoàn thiện cơ sở dữ liệu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài dược liệu này, mà còn mang ý nghĩa thực tiễn trong việc khai thác, bảo tồn và phát triển nguồn tài nguyên dược liệu trong nước.

Vì vậy, tôi lựa chọn thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của rễ loài hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)”**

Mục tiêu của luận văn:

- Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ rễ loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.).
- Đánh giá một số hoạt tính sinh học của các hợp chất được phân lập.

Nội dung luận văn bao gồm:

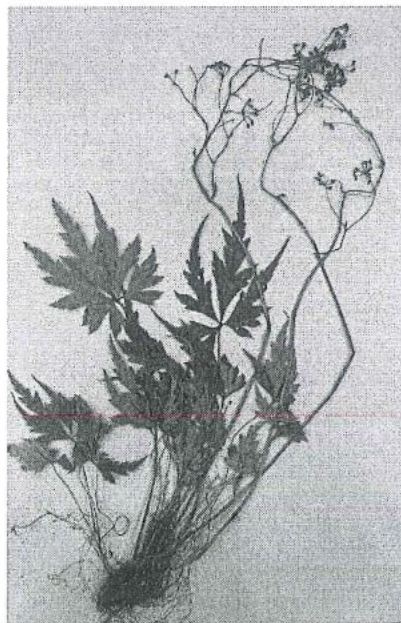
1. Tạo cao chiết tổng số và cao chiết phân đoạn cho các mẫu nghiên cứu từ rễ của loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)
2. Phân lập các hợp chất từ cao chiết phân đoạn alkaloid của loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)
3. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp phổ hiện đại như ESI-MS và NMR.
4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH và hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 của các hợp chất phân lập được từ rễ của loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN VỀ HOÀNG LIÊN CHÂN GÀ (*Coptis chinensis* Franch.)

1.1. Đặc điểm thực vật

Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) thuộc họ Mao lương (Ranunculaceae), là loài dược liệu quan trọng trong y học cổ truyền phương Đông. Loài này còn được biết đến với nhiều tên gọi khác như Xuyên liên, Phàng linh (H'Mông), *Rhizoma Coptidis*, *Coptis savoyard* và Gia liên. Bên cạnh *Coptis chinensis* Franch., một số loài khác thuộc chi *Coptis* cũng được nghiên cứu và sử dụng rộng rãi như *Coptis teeta* Wall., *Coptis deltoidea* C.Y. Cheng et Hsiao và *Coptis quinquesecta* [1].

Về đặc điểm hình thái, Hoàng liên chân gà là cây thân thảo lâu năm, cao khoảng 10–25 cm, với thân rễ màu vàng đặc trưng, phân nhánh mạnh. Lá mọc tập trung ở gốc, có cuống dài; phiến lá mảnh, chia thành ba thùy chính. Mép lá có răng cưa không đều. Bề mặt lá nhẵn, màu xanh lục. Cụm hoa mọc trên một cuống chung dài, mang từ 3 đến 5 hoa nhỏ màu vàng. Hoa gồm 5 lá đài hình mác, 5 cánh hoa dạng thon dài và khoảng 20 nhị; các lá noãn rời, số lượng từ 8–12. Cây ra hoa vào khoảng tháng 10 đến tháng 12. Quả dạng đại, kích thước nhỏ (khoảng 6–7 mm), có màu đen khi chín và xuất hiện từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau. Vào mùa xuân cây con, chồi có thể tái sinh từ thân rễ [2, 3].



Hình 1.1: Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)

1.1. Phân bố

Hoàng liên chân gà (*C. chinensis*) là loài thực vật dược liệu đặc hữu của khu vực Đông Á, có phạm vi phân bố tương đối hẹp và gắn liền với các điều kiện sinh thái núi cao, khí hậu mát ẩm. Tại Trung Quốc Hoàng liên là cây thuốc quý tập trung ở các tỉnh miền núi phía Tây như vùng Tứ Xuyên, Kiến Bình, Hồ Nam, Hồ Bắc, Triết Giang [4]. Ngoài ra, loài *Coptis japonica* phân bố tại Nhật Bản với thành phần hóa học tương tự *C. chinensis* [5]. Ở Việt Nam, Hoàng liên chân gà là loại cây thuốc hiếm thường mọc hoang ở vùng núi có độ cao từ 1500 – 2000 m trong các khu rừng có nhiều cây cổ thụ rậm rạp, ở nơi nửa sáng, nửa tối thường mọc thành đám nhỏ, trên đất mùn núi đọng lại trong các hốc đá hay gốc cây. Hoàng liên chân gà chủ yếu phân bố ở khu vực dãy Hoàng Liên Sơn bao gồm các xã Tả Van, San Sả Hồ, và Lao Chải thuộc thị xã Sa Pa Lào Cai, Đồng Văn, Quản Bạ (Tuyên Quang), Thăng Bình, Quảng Nam [2]. Hiện nay, Lào Cai là địa phương trọng điểm trong hoạt động gây trồng và phát triển nguồn dược liệu Hoàng liên chân gà.

1.2. Công dụng trong y học cổ truyền

Hoàng liên chân gà là một vị thuốc quan trọng trong y học cổ truyền Trung Quốc và Nhật Bản, được sử dụng từ lâu trong điều trị nhiều bệnh lý khác nhau nhờ đặc tính chống viêm và kháng khuẩn mạnh. Trong y học cổ truyền, dược liệu này thường được dùng để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn như lý trực khuẩn, thương hàn, lao, viêm màng não tủy dịch, viêm phổi, viêm phế quản, ho gà và một số bệnh lý khác [6].

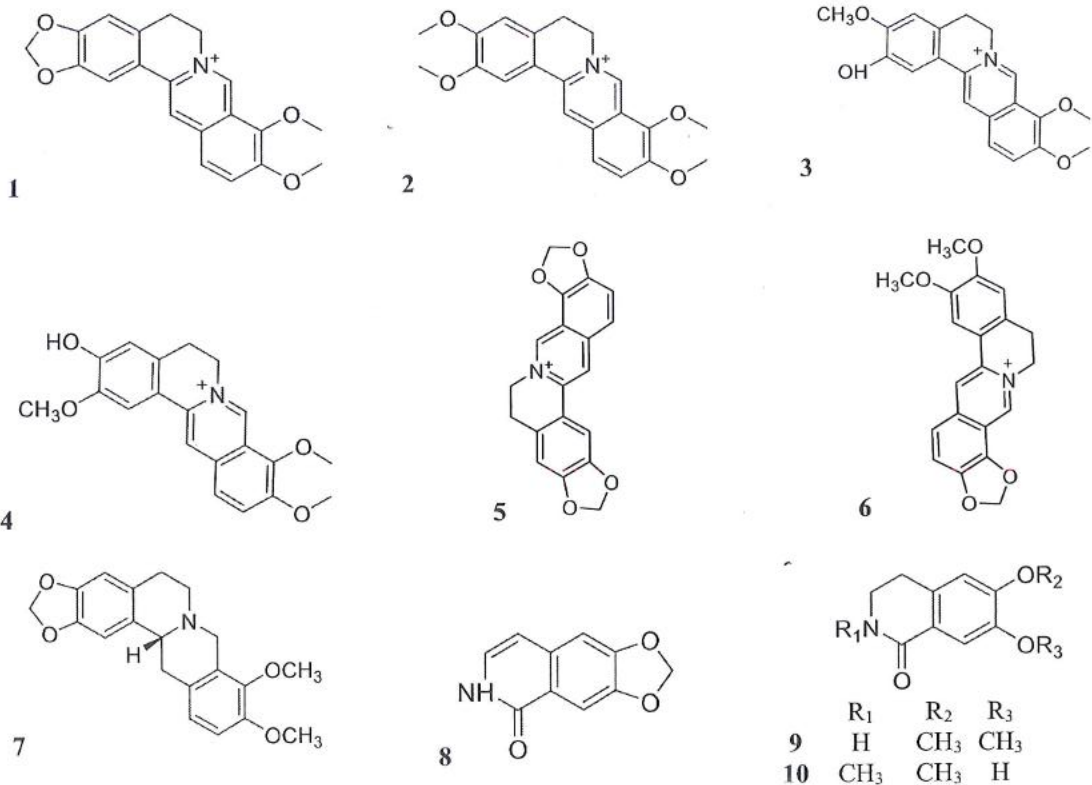
Trong y học cổ truyền Việt Nam, Hoàng liên chân gà được dùng để điều trị các chứng sốt cao, mất ngủ, mệt mỏi, nóng trong ngực, sỏi mới phát và một số chứng bệnh do nhiệt độc gây ra. Các nghiên cứu dược lý hiện đại cho thấy Hoàng liên chân gà chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, đặc biệt là nhóm alkaloid, có khả năng tạo ra nhiều tác dụng dược lý như kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa, chống khối u, chống đái tháo đường, hạ lipid máu và bảo vệ thần kinh. Những kết quả này đã góp phần làm sáng tỏ cơ sở khoa học cho việc sử dụng Hoàng liên chân gà trong y học cổ truyền cũng như mở rộng tiềm năng ứng dụng của dược liệu này trong chăm sóc sức khỏe hiện đại [7].

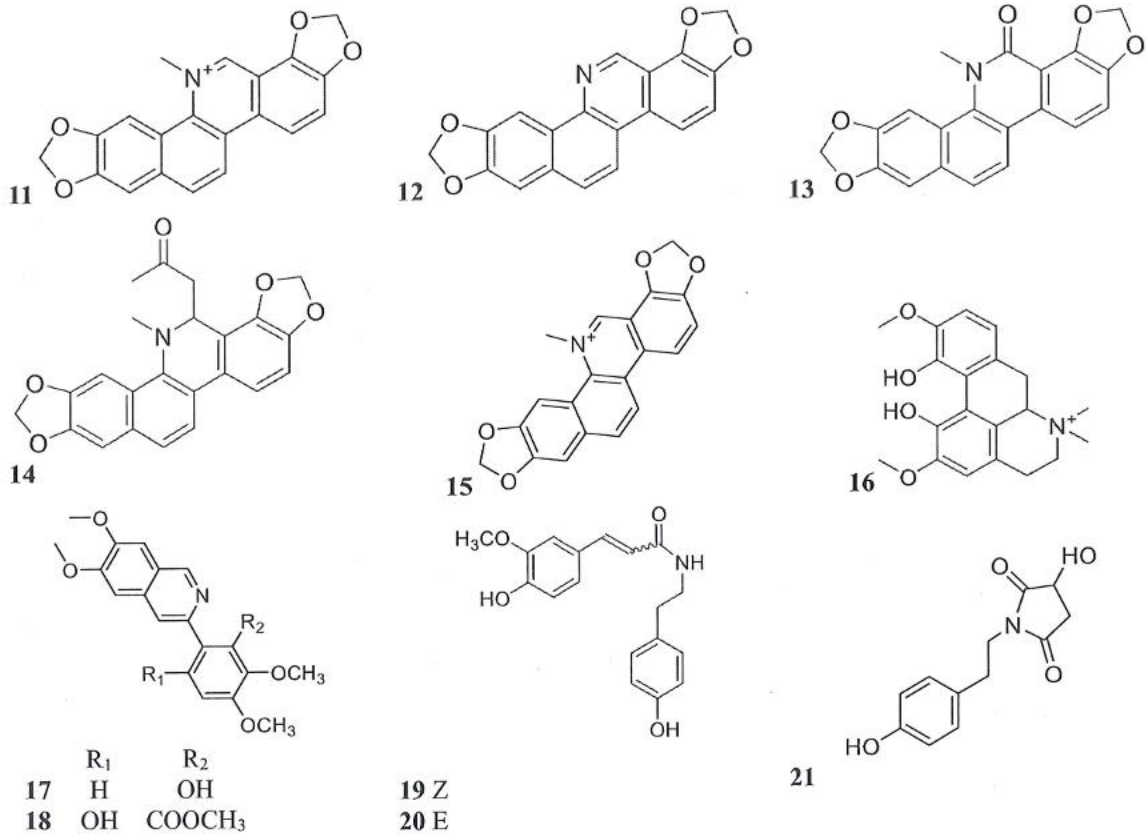
1.3. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Coptis* và loài *Coptis chinensis* Franch.

1.3.1. Các hợp chất alkaloid

Các alkaloid thuộc nhóm isoquinoline, đặc biệt là nhóm protoberberine, đã được xác định là thành phần hóa học chính. Các hợp chất bao gồm như berberine (1), palmatine (2), columbamine (3), jatrorrhizine (4), coptisine (5) và epiberberine (6-10). Nhóm alkaloid này thường chiếm hàm lượng cao trong dược liệu và được xem là các thành phần đặc trưng. [8].

Bên cạnh các alkaloid nhóm protoberberine, nhiều nhóm alkaloid khác cũng đã được phát hiện trong các loài thuộc chi *Coptis* như benzophenanthridines (11-15), aporphine (16), benzyloisoquinolines (17-18), phenethylamine (19-21) cũng là thành phần alkaloid chính của nhiều loài thuộc chi *Coptis*. Ngoài các alkaloid chính, nhiều dẫn chất khác của khung isoquinoline cũng đã được phát hiện trong chi *Coptis*, chủ yếu là các hợp chất methoxy hóa hoặc hydroxyl hóa của nhóm protoberberine và benzyloisoquinoline. Sự đa dạng về kiểu khung carbon và nhóm thế cho thấy thành phần alkaloid trong chi *Coptis* khá phong phú, trong đó các alkaloid isoquinoline vẫn chiếm ưu thế cả về số lượng lẫn hàm lượng trong cây [9].



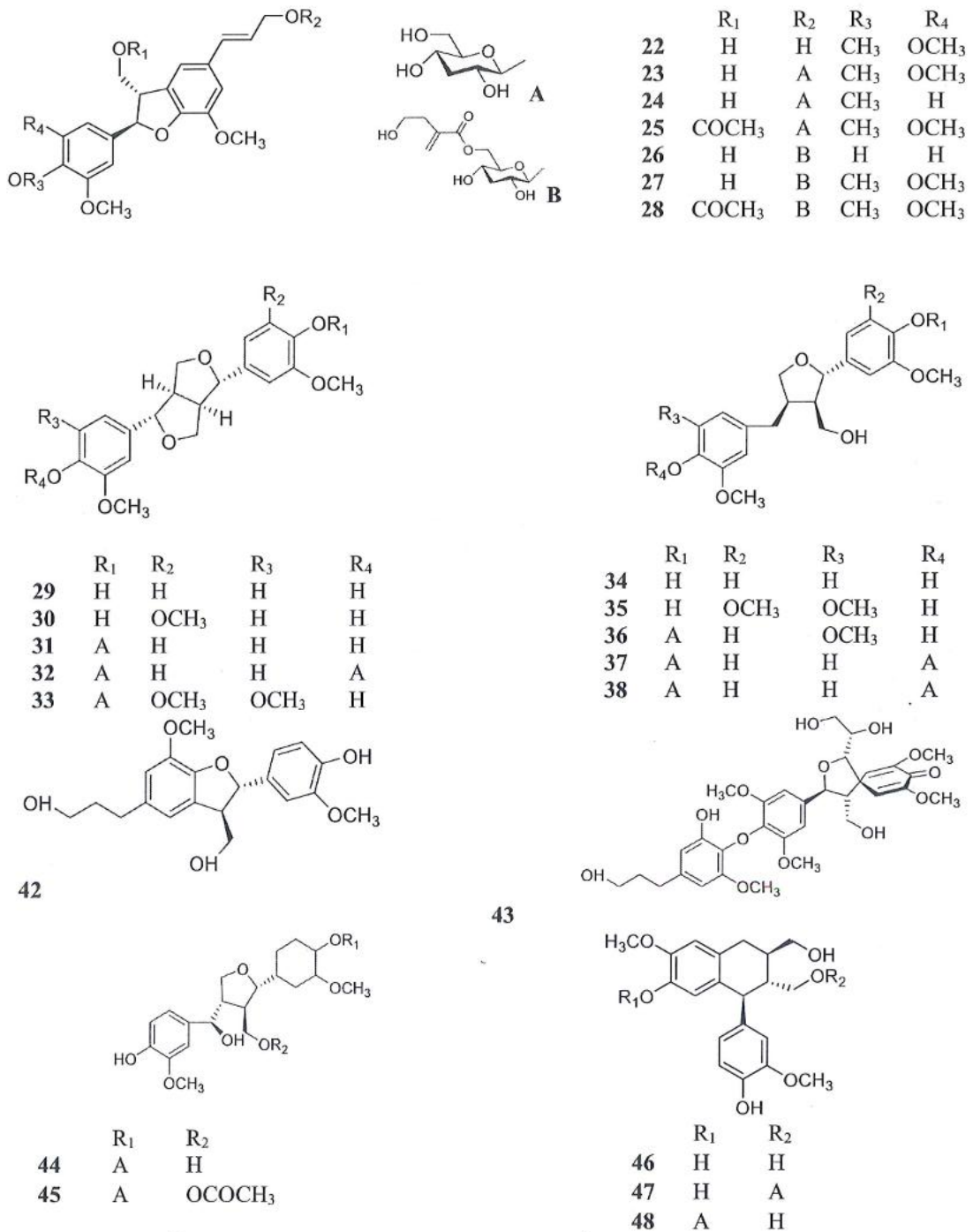


Hình 1.2: Cấu trúc hóa học một số hợp chất alkaloid từ chi *Coptis*

Ngoài những nghiên cứu trọng tâm về việc phân lập các các hợp chất alkaloid thì nghiên cứu của Nguyễn Thị Hoài và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu sử dụng các dung môi xanh, dung môi eutectic sâu (deep eutectic solvent) và kỹ thuật chiết siêu âm để chiết xuất alkaloid (berberine, palmatine, coptisine) từ rễ *C. chinensis* [10]. Năm 2026 Lê Trọng Nhân và cộng sự đã đề xuất phương pháp chiết alkaloid xanh dựa trên hệ hydrotrope trong nước từ Hoàng liên chân gà. Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi các alkaloid chính như berberine, palmatine và coptisine cao hơn so với dung môi hữu cơ truyền thống [11].

1.3.2. Các hợp chất lignan

Các lignan được phân lập chủ yếu có khung dibenzylbutan và aryl-naphthalene, trong đó một số đại diện đã được xác định như benzofurans (22–28), furofurans (29–33), tetrahydrofurans (34–38), aryl-naphthalenes (39–41) và các nhóm hợp chất khác (42–43) [12].



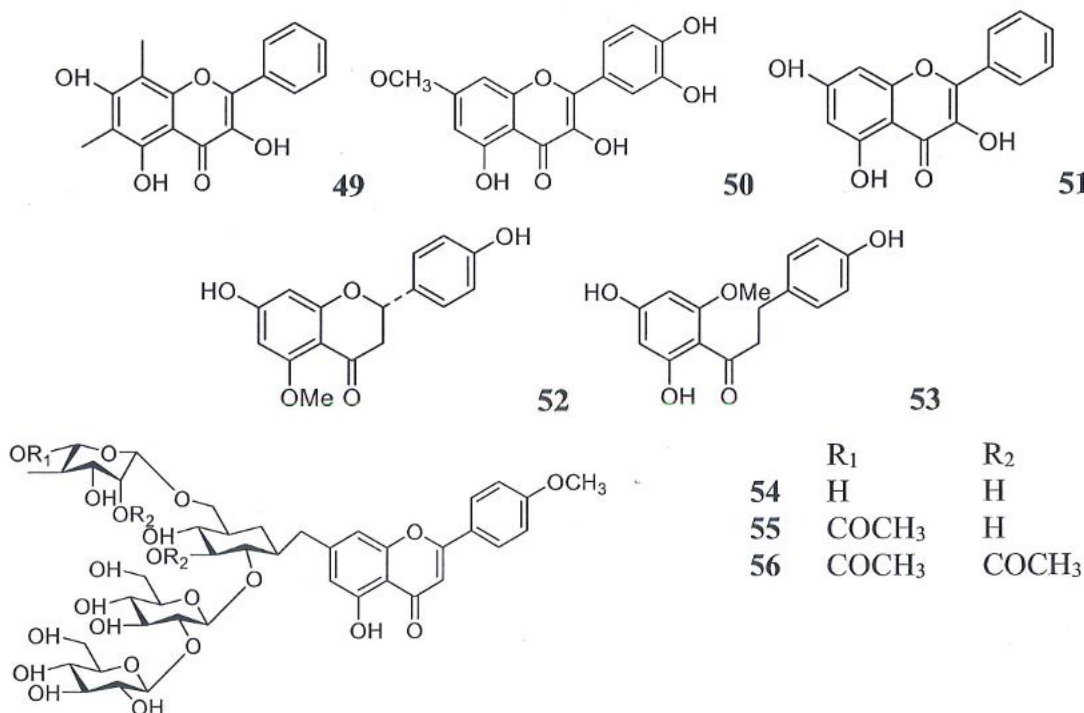
Hình 1.3: Cấu trúc hóa học của các hợp chất nhóm lignan từ *C. chinensis*

Nghiên cứu của Guochao Chen và cộng sự (2016) đã phân lập được 5 hợp chất lignan, gồm lanicepside A (44), 9-acetyl lanicepside B (45), woorenogenin, (+)-isolariciresinol và (+)-lariciresinol glucoside từ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) [13]. Các hợp chất lignan khác phân lập từ

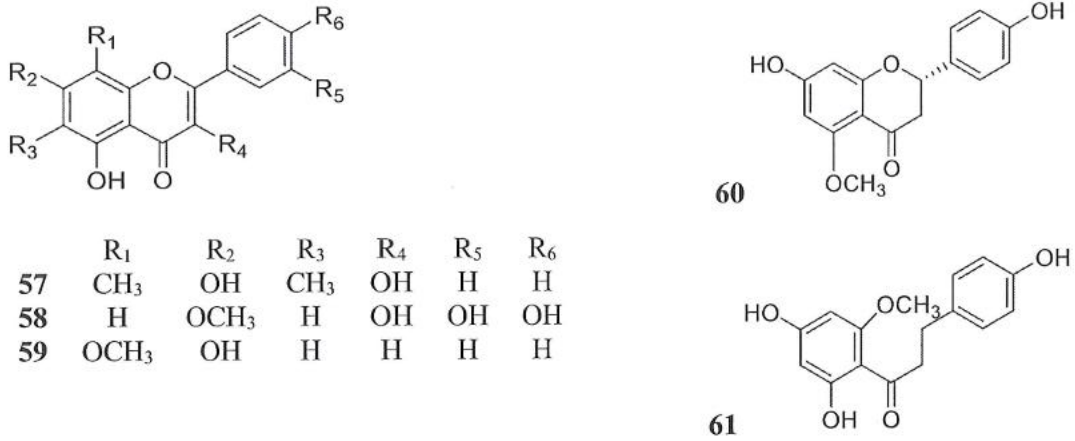
Coptis Rhizoma như (+)-isolariciresinol (46), isolariciresinol-9-*O*- β -D-glucopyranoside (47), woorenoside XI (48) [14].

1.3.3. Các hợp chất flavonoid

Ngoài thành phần alkaloid đặc trưng, các loài thuộc chi *Coptis* còn chứa các hợp chất flavonoid, chủ yếu là flavone, flavonol và các dẫn chất glycoside. Năm 2013 Meng và cộng sự đã báo cáo một flavonol thay thế 6,8-dimethyl (49) được phân lập từ thân rễ của *C. teeta* [15]. Chen và cộng sự đã tinh chế một flavone (50) và một flavonol (51) từ thân rễ của *C. chinensis* [12]. Trong các nghiên cứu hóa học trước đó, một flavanone (52) và một dihydrochalcone (53) đã được chiết xuất từ hạt của *C. japonica*, và ba glycoside flavonoid (54–56) đã được phân lập từ lá của *C. japonica* và thân rễ của *C. japonica* var. *dissecta* [16].



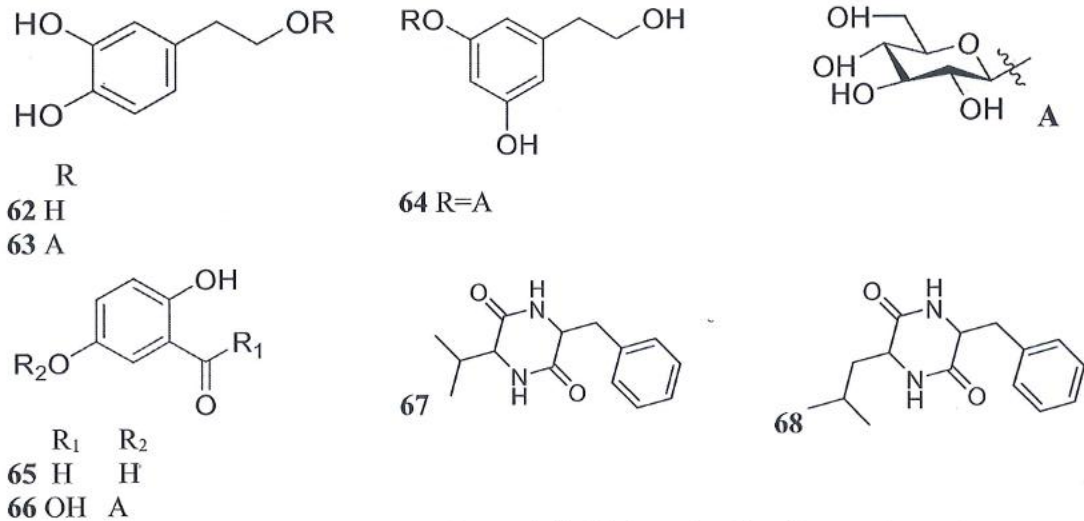
Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng *Coptidis Rhizoma* cũng chứa một số flavonoid, chủ yếu bao gồm 6,8-dimethyl-3,5,7-trihydroxyflavone (57), rhamnetin (58), wogonin (59), 7,4'-dihydroxy-5-methoxyflavanone (60), 2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxydihydrochalcone (61). Những đặc điểm này cho thấy flavonoid tuy là nhóm hợp chất thứ yếu về hàm lượng nhưng lại đóng vai trò hỗ trợ quan trọng trong giá trị dược lý toàn diện của *C. chinensis* [12].



Hình 1.6: Cấu trúc hóa học của các hợp chất nhóm flavonoid

1.3.4. Các hợp chất khác

Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) còn chứa nhiều nhóm hợp chất khác như các dẫn xuất phenethyl alcohol, glycoside (62–64), hợp chất phenolic, acid hữu cơ (65–66) và dipeptide (67–68) trong *C. chinensis* [12].

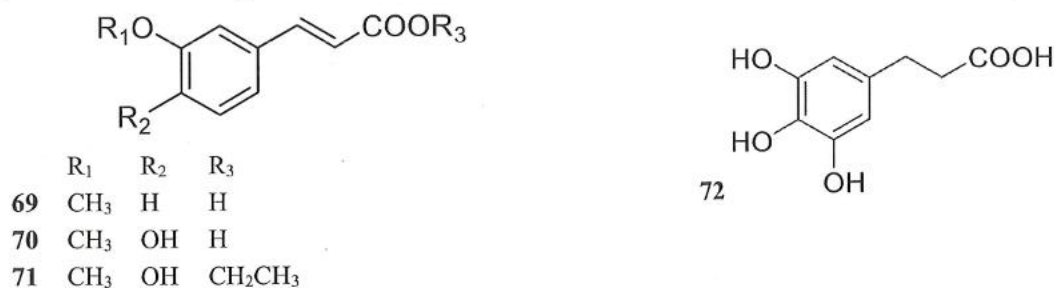


Hình 1.7: Các hợp chất khác của *C. chinensis*

Năm 2018, Li và cộng sự đã thực hiện phân tích định lượng hàm lượng acid hữu cơ trong ba loài *Coptis chinensis*, *Coptis teeta* và *Coptis deltoidea*. Kết quả cho thấy *C. teeta* có tổng hàm lượng acid hữu cơ cao nhất, đạt khoảng 45 mg/g, cao gấp gần ba lần so với hai loài còn lại. Đáng chú ý, *C. teeta* chứa hàm lượng acid quinic (27,83 mg/g), acid malic và acid succinic (15,25 mg/g) vượt trội [17].

Ngoài ra, *C. chinensis* còn chứa một số hợp chất phenylpropanoid đơn

giàn, chủ yếu là các *E*-3-methoxycinnamic acid (69), ferulic acid (70), ethyl ferulate (71) và axit 3-(2,3,4-trihydroxyphenyl) propanoic (72). Mặc dù hàm lượng không cao, sự hiện diện của nhóm hợp chất này góp phần làm phong phú thêm thành phần hóa học của loài [18].



Qua đó khẳng định chi *Coptis* là một trong những nguồn dược liệu quý với thành phần hóa học đa dạng tạo cơ sở cho nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học và giá trị ứng dụng của các loài thuộc chi này.

1.4. Hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Coptis*

1.4.1. Nghiên cứu về hoạt tính chống viêm

Hoạt tính chống viêm là một trong những chủ đề được quan tâm hàng đầu trong các nghiên cứu về *C. chinensis*. Trong đó, berberin được xem là hoạt chất chủ lực với cơ chế tác dụng đã được chứng minh trên nhiều mô hình nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* [19, 20].

Dịch chiết từ *Coptis teeta* có khả năng điều hòa đáp ứng viêm thông qua ức chế chọn lọc biểu hiện mRNA của IL-6 trong mô hình tế bào kích thích bằng LPS, trong khi không ảnh hưởng đáng kể đến TNF- α , IL-1 β và COX-2. Kết quả này cho thấy tác dụng kháng viêm mang tính đặc hiệu, chủ yếu thông qua trục IL-6 [21].

Bên cạnh đó berberine không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống của tế bào biểu mô dạ dày kích thích bằng LPS, nhưng làm giảm rõ rệt sự biểu hiện và sản sinh các cytokine tiền viêm (TNF- α , IL-1 β , IL-6) theo cơ chế phụ thuộc liều. Cơ chế này liên quan đến việc ức chế trực tiếp tín hiệu TLR4/MyD88 và con đường NF- κ B/MAPK, bao gồm giảm phosphoryl hóa NF- κ B, I κ B α , p38 và JNK, đồng thời ngăn cản sự chuyển vị nhân của p65. Kết quả cho thấy BBR có tiềm năng chống viêm trong các bệnh lý viêm dạ dày. [22].

Ngoài berberine, cao chiết từ *Coptis chinensis* Franch. còn được chứng minh có khả năng điều hòa miễn dịch thông qua tác động lên tế bào lympho T. Nghiên cứu của Kim và cộng sự trên dòng tế bào MOLT-4 cho thấy cao chiết không gây độc tính tế bào ở các nồng độ khảo sát nhưng làm tăng biểu hiện

các cytokine đặc trưng của đáp ứng Th1 như IFN- γ và IL-2, từ đó góp phần điều hòa đáp ứng viêm [23].

Một alkaloid isoquinoline khác là coptisine cũng thể hiện hoạt tính chống viêm đáng chú ý trên dòng đại thực bào RAW 264.7 kích thích bằng LPS làm giảm đáng kể sự sản sinh nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂) cùng các cytokine tiền viêm như TNF- α , IL-1 β và IL-6, đồng thời ức chế biểu hiện của các enzyme liên quan đến viêm gồm iNOS và COX-2 [24]. Năm 2024 Xuemei Wang đã ghi nhận vai trò của polysaccharides *C. chinensis* trong có thể điều hòa hệ vi sinh đường ruột và kích hoạt các đường dẫn tín hiệu như AhR/IL-22, góp phần hỗ trợ cải thiện viêm ruột mạn tính [19, 25].

Gần đây nhất, Ran Xu và cộng sự (2026) đã đánh giá vai trò của chiết xuất ethanol từ *C. chinensis* trong mô hình viêm nấm hầu họng (*Oropharyngeal candidiasis*) do *Candida albicans* gây ra. Kết quả cho thấy chiết xuất có khả năng điều hòa đáng kể trục tín hiệu HIF-1 α /IL-17 dưới điều kiện thiếu oxy, thể hiện qua sự giảm biểu hiện HIF-1 α và cytokine IL-17 tại mô tổn thương, đồng thời cải thiện mức độ viêm và tổn thương niêm mạc. [26].

Tại Việt Nam, một số nghiên cứu cũng đã bước đầu ghi nhận tiềm năng ứng dụng của berberine trong điều trị viêm và hỗ trợ tái tạo mô. Báo cáo từ Bệnh viện Bông Quốc gia – Học viện Quân Y cho thấy berberine có khả năng làm giảm tiết dịch và giảm viêm bờ mép vết thương [27]. Nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm như tại Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh đã thử nghiệm kết hợp berberine với nano curcumin hoặc polyme sinh học nhằm tăng sinh khả dụng, mặc dù kết quả mới ở giai đoạn thử nghiệm ban đầu [28]. Nghiên cứu của Trần Văn Vui và cộng sự (2022) cho thấy nano berberine có ảnh hưởng tích cực đến nguyên bào sợi người trong điều kiện *in vitro*. Kết quả thu được cho thấy nano berberine có tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ tái tạo mô và điều trị các bệnh lý nha chu [28].

1.4.2. Các nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa

Các hợp chất phenolic và alkaloid từ *C. chinensis* đã được chứng minh có khả năng trung hòa các gốc tự do (ROS), giảm stress oxy hóa và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương. Berberine làm tăng hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa nội sinh như superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione

peroxidase (GPx) và giảm sự hình thành sản phẩm oxy hóa lipid (MDA) [29] [30].

Năm 2007 Tan và cộng sự đã đánh giá tác dụng chống oxy hóa của berberine phân lập từ *Coptis teeta*. Kết quả cho thấy H₂O₂ làm giảm đáng kể khả năng sống của tế bào, đồng thời làm suy giảm sự sản sinh nitric oxide (NO) và hoạt tính của enzym superoxide dismutase (SOD), kèm theo sự gia tăng các chỉ dấu tổn thương tế bào và peroxy hóa lipid như lactate dehydrogenase (LDH) và malondialdehyde (MDA) [31].

Dịch chiết acetone từ *Coptis teeta* có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất trong phép thử DPPH (IC₅₀= 7,37 µg/mL), trong khi n-hexane yếu nhất (IC₅₀= 76,11 µg/mL). Ở phép thử ABTS, dịch chiết nước và acetone thể hiện hiệu quả vượt trội, với IC₅₀ thấp hơn acid ascorbic. Trong thử nghiệm FRAP, dịch chiết methanol cho khả năng khử sắt cao nhất, tiếp theo là acetone. [32].

1.4.3. Nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của Hoàng liên chân gà đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu thực nghiệm, chủ yếu nhờ hàm lượng cao các alkaloid isoquinoline [33]. Dược liệu này thể hiện phổ tác dụng rộng trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm, đặc biệt hiệu quả đối với *Staphylococcus aureus* (bao gồm cả các chủng kháng methicillin), *Escherichia coli* và *Helicobacter pylori*. Cơ chế kháng khuẩn được cho là liên quan đến việc làm tăng tính thấm và phá vỡ cấu trúc màng tế bào vi khuẩn, ức chế tổng hợp DNA và protein, đồng thời cản trở sự hình thành màng sinh học và hoạt động của các bơm đẩy thuốc [34].

Nghiên cứu Ching Ching Hui và cộng sự 2025 đã đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất *C. chinensis* đối với các chủng vi khuẩn Enterobacterales sản xuất β-lactamase phổ rộng (ESBL-PE) những tác nhân kháng nhiều kháng sinh β-lactam hiện nay. Trong 20 loại thảo dược Trung Quốc được khảo sát với 14 chủng vi khuẩn khác nhau, *C. chinensis* cho thấy hoạt tính mạnh nhất trong việc ức chế sự phát triển của nhiều dòng ESBL-PE, bao gồm *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii* và *Proteus hauseri*. Chiết xuất thu được bằng phương pháp siêu âm hỗ trợ (UAE) có hiệu quả kháng khuẩn vượt trội [35].

Tại Việt Nam, ứng dụng berberine trong ngành dược phẩm cũng khá phổ biến tại các công ty như Dược phẩm Nam Hà và Dược phẩm OPC đã sản xuất viên nén berberine 5–10 mg để điều trị tiêu chảy do vi khuẩn, viêm ruột hoặc rối loạn tiêu hóa.

1.4.4. Nghiên cứu về tác dụng điều hòa chuyển hóa

Hoàng liên chân gà là dược liệu được nghiên cứu rộng rãi trong điều hòa chuyển hóa năng lượng, đặc biệt trong kiểm soát đái tháo đường type 2 và rối loạn lipid máu [10, 36].

Theo nghiên cứu được công bố trên tạp chí Nature Medicine (2004), Y. Zhang và cộng sự đã chứng minh rằng berberine có khả năng làm giảm glucose máu và cải thiện tình trạng kháng insulin ở mô hình động vật đái tháo đường [37]. Ngoài ra, sự phối hợp giữa ginsenoside Rb1 và berberine mang lại tác dụng hiệp đồng trong cải thiện đái tháo đường type 2. Kết quả cho thấy sự kết hợp này giúp cải thiện đường huyết, tăng độ nhạy insulin và phục hồi chức năng gan [38].

Ngoài alkaloid, các polysaccharide chiết xuất từ *C. chinensis* cũng được chứng minh có tác dụng điều hòa đường huyết thông qua cải thiện hoạt tính của enzyme liên quan đến chuyển hóa carbohydrate và lipid, đồng thời giảm stress oxy hóa và bảo vệ tế bào β tụy [39].

1.4.5. Nghiên cứu về tác dụng trên hệ tim mạch

Hoạt tính bảo vệ tim mạch của Hoàng liên chân gà đã được chứng minh thông qua nhiều nghiên cứu dược lý hiện đại, cho thấy hợp chất này có khả năng giãn mạch, hạ huyết áp, chống kết tập tiểu cầu và cải thiện chức năng nội mô [40].

Năm 2016 Hui-Li Tan và cộng sự cho thấy loài cây dược liệu thuộc Mao lương (Ranunculaceae), như *Coptis chinensis*, *Coptis deltoidea* và *Coptis teeta* có tiềm năng bảo vệ tim mạch đáng kể. Các loài này thể hiện nhiều tác dụng có lợi trên các yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch như chống xơ vữa động mạch, hạ lipid máu, chống béo phì và giảm gan nhiễm mỡ, đồng thời bảo vệ cơ tim trước tổn thương thiếu máu – tái tưới máu. Các tác dụng này chủ yếu liên quan đến các alkaloid hoạt tính như berberine, coptisine, palmatine và jatrorrhizine, thông qua nhiều cơ chế tác động khác nhau [41].

1.4.6. Nghiên cứu về hoạt tính chống ung thư

Trong nhiều năm qua, tác dụng chống ung thư của Hoàng liên chân gà đã trở thành một hướng nghiên cứu tiềm năng trên thế giới. Nhiều nghiên cứu *in*

vitro và *in vivo* cho thấy khả năng cảm ứng quá trình apoptosis, ngăn chặn chu kỳ tế bào tại pha G0/G1 hoặc G2/M, và ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan, phổi, đại tràng và vú [42].

Nghiên cứu của Tan và cộng sự (2011) đã chỉ ra rằng berberine có thể làm giảm sự biểu hiện của yếu tố phiên mã STAT3 ức chế sự di căn và hình thành mạch máu khối u, mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư kết hợp.

Bên cạnh đó, coptisine, palmatine, jatrorrhizine cho thấy khả năng ức chế đáng kể đối với khả năng sống và sự tăng sinh của các dòng tế bào ung thư dạ dày ACC-201 và NCI-N87 [43].

1.4.7. Nghiên cứu về hoạt tính bảo vệ thần kinh

Nghiên cứu khác về hoạt tính bảo vệ thần kinh của tác giả Nguyễn Bích Hạnh và cộng sự đã đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên chân gà. Kết quả cho thấy tất cả các phân đoạn dịch chiết đều thể hiện hoạt tính ức chế AChE, trong đó phân đoạn n-butanol có tác dụng ức chế mạnh nhất với giá trị $IC_{50} = 10,44 \mu\text{g/mL}$ [44].

Năm 2018 tác giả Ngô Thị Quỳnh Mai đã phân lập từ dịch chiết nước của *C. chinensis* được hai alkaloid protoberberine bậc bốn mới, một hợp chất amide vòng ba mới cùng với năm hợp chất đã biết, bao gồm berberine chloride, 13-alkylberberine, 8-oxocoptisine, dehydroevodiamine và noroxyhydrastinine. Đáng chú ý, dehydroevodiamine lần đầu tiên được phát hiện từ loài này. Các hợp chất thể hiện khả năng ức chế mạnh enzym acetylcholinesterase (AChE) với giá trị IC_{50} lần lượt là 1,1; 5,6, 12,9, 11,5 và 27,8 μM gợi ý tiềm năng ứng dụng trong điều trị các bệnh thoái hóa thần kinh [45].

Nghiên cứu của Ningjing Wang và cộng sự (2025) cho thấy palmatine có khả năng bảo vệ tổn thương não thiếu máu cục bộ thông qua điều hòa phân cực vi tế bào thần kinh đệm (microglia) và chuyển hóa sphingolipid. Cụ thể, hợp chất này thúc đẩy chuyển đổi microglia theo hướng chống viêm, đồng thời điều hòa chuyển hóa lipid màng, qua đó góp phần giảm viêm thần kinh và hạn chế tổn thương mô não [46]

1.4.8. Hoạt tính sinh học khác

Nghiên cứu của Đồng Quang Huy đã nghiên cứu sử dụng dịch chiết *C. chinensis* trong công thức kem trị bỏng, cho tác dụng điều trị bỏng độ II trong mô hình thử *in vivo* trên chuột [47]. Berberine được đánh giá có tác dụng ngăn ngừa huyết khối thông qua việc thúc đẩy quá trình phân hủy

phenylacetic acid và giảm sản sinh PAG, nhờ đó làm thay đổi sản phẩm chuyển hóa của hệ vi sinh đường ruột [48].

Bên cạnh đó, nghiên cứu về 06 alkaloid gồm berberine, palmatine, jatrorrhizine, epiberberine, columbamine và coptisine phân lập từ rễ *C. chinensis* có khả năng ức chế tốt enzyme neuraminidase (NA) của *Clostridium perfringens*, chủng cúm A/H1N1/1918 và neuraminidase tái tổ hợp NA-1 [49].

Qin Mao và cộng sự (2025) phân lập hợp chất 13-methylpalmatine từ chi *Coptis* đánh giá hoạt tính chống xơ phổi. Kết quả cho thấy 13-methylpalmatine có khả năng ức chế đáng kể quá trình xơ hóa phổi thông qua việc điều hòa trực tiếp tín hiệu ITGA5/TGF- β /Smad, qua đó làm giảm tích tụ collagen, ức chế EMT và sự hoạt hóa nguyên bào sợi [50].

Các polysaccharide phân lập từ *C. chinensis* có khả năng ức chế giải phóng histamine và giảm sản sinh các cytokine tiền viêm như IL-4, IL-6 và TNF- α tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị các bệnh lý dị ứng [51].

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

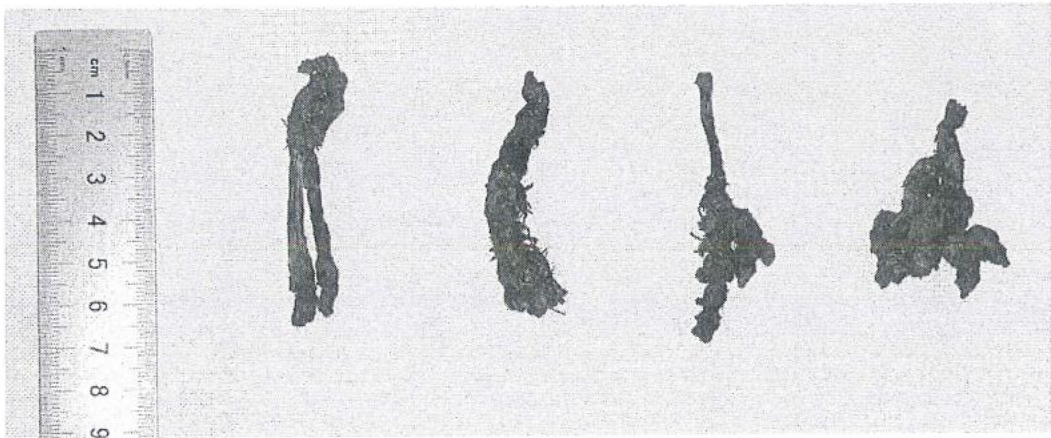
Rễ loài Hoàng liên chân gà

Tên thường gọi Hoàng liên bắc, Hoàng liên chân gà, Xuyên liên

Tên Khoa học *Coptis chinensis* Franch.

Họ Mao lương (Ranunculaceae)

Phần rễ của loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) được thu hái tháng 12 năm 2023 tại Thăng Bình, Quảng Nam. Mẫu cây được định danh bởi TS. Nguyễn Thế Cường – Viện sinh học (VAST). Mẫu tiêu bản được lưu tại Trung tâm Hóa học và Sinh học ứng dụng thuộc Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1: Mẫu rễ loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Hóa chất và thiết bị

2.2.1.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất.

Các hóa chất đã sử dụng gồm:

- Dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol kỹ thuật (Malaysia), methanol, nước dùng cho HPLC (Merck), Trifluoroacetic acid (TFA) (Merck), acetic acid (Merck), Hydrochloric acid (37%), NaOH khan.

- Bản mỏng pha thường/ pha đảo: bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck), RP18 F_{254S} (Merck).

- Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (Merck)/pha đảo RP-C18 cỡ hạt 150 µm (YMC Co., Ltd., Japan).

- Thuốc thử Dragendorff, thuốc thử cerin sulphate, thuốc thử vanillin, thuốc thử H₂SO₄ 10%.

- Dung môi DMSO-*d*₆, CDCl₃

Các thiết bị và dụng cụ đã sử dụng bao gồm:

- Bể rung siêu âm (Daihan Scientific)

- Hệ thống cất quay chân không (Buchi R300)

- Hệ thống hứng mẫu tự động (EYELA fraction collector DC-1200)

- Đèn tử ngoại hai bước sóng 254 nm và 365 nm

- Cột sắc ký: thủy tinh (Duran)

- Hệ thống HPLC – DAD (Thermo Scientific Ultimate 3000)

- Cột sắc ký HPLC C18 Hypersil Gold (Thermo Scientific) (250×4,6 mm, 5 µm)

- Cột sắc ký bán điều chế OptimPak C18 OP C18-51002510 (250×10 mm, 5 µm) và cột điều chế YMC-ODS-A (250 × 20mm ×5 µm).

- Một số dụng cụ thủy tinh khác: bình nón, ống nghiệm, cốc đong, ...

- Thiết bị đo phổ NMR: Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy Bruker Avance 600 MHz (chất chuẩn nội là Tetramethylsilane - TMS) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.1.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong đánh giá hoạt tính sinh học

- Micropipettes, pipettes đa kênh, đầu tip pipette, pasteur pipets (Isolab, Đức)

- Máy đọc khay đa năng Synergy (BioTex, USA)

- Máy đọc khay microplate (INNO, LTEK, China)

- Cân phân tích, máy đo pH

- Nồi hấp khử trùng, tủ sấy

- Bể ổn nhiệt, thiết lập ở 37°C

- Micropipet loại 10 µL, 20 µL, 200 µL, 1000 µL (Isolab, Germany)

– Đầu côn 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L; ống ly tâm 1,5mL, 2 mL; ống trữ lạnh tiệt trùng cryotubes 2mL

– Phiến 96 giếng (Corning, Sigma-Aldrich, German)

Các hóa chất đã sử dụng gồm:

- Lipopolysaccharides (LPS) từ *Escherichia coli* của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).
- Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM),
- Fetal bovine serum (FBS) Life Technologies, Inc., (Gaithersburg, MD, USA).
- *N*-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride và dimethyl sulphoxide (DMSO) của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).
- NaCl, KCl, Na₂HPO₄.12H₂O, KH₂PO₄ (Sigma-Aldrich, Germany)
- isopropanol, HCl, methanol, nước cất (Merck, Germany)
- Phosphate buffered saline (PBS)
- Sodium nitrite, sulfanilamide (H₂NC₆H₄SO₂NH₂) (Sigma, USA)
- 1,1- Diphenyl 1-2 picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma, Mỹ)
- Ascorbic acid (Sigma, Mỹ)
- Dòng tế bào RAW 264.7: được cung cấp bởi Viện Sinh học, VAST.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.2.1 Phương pháp tạo cao chiết tổng số và cao chiết phân đoạn

Mẫu thực vật sau khi được thu thập, làm sạch phơi khô, nghiền nhỏ và ngâm chiết với dung môi thích hợp. Kỹ thuật chiết acid-base được sử dụng để phân tách các hoạt chất alkaloid với các nhóm chất khác. Dịch chiết tổng được hòa trong dung dịch acid HCl 2N với tỉ lệ 1:10, sau đó dịch acid được chiết phân lớp tỉ lệ 1:1 (v/v) với ethyl acetate 3 lần, thu dịch ethyl acetate, cô quay thu được cao phân đoạn không alkaloid. Phần dịch acid được trung hòa bằng NaOH 2N đến pH \approx 10, tiếp tục chiết phân lớp 3 lần với ethyl acetate (tỉ lệ 1:1 v/v), thu được phân đoạn giàu alkaloid.

2.2.2.2 Các phương pháp phân lập các hợp chất tự nhiên

Các phương pháp được sử dụng trong quá trình phân lập các hợp chất bao gồm:

- *Sắc ký lớp mỏng (TLC).*

Phương pháp sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn

DC – Afufolien Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck-Đức). Các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 366 nm với thuốc thử phát hiện các vết chất như Dragendorff, dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ cho đến khi hiện màu.

- *Sắc ký cột (CC)*

Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường, pha đảo RP-C18. Pha thường Silica gel 60 có cỡ hạt là 0,040-0,063mm (240-430 mesh, Merck - Đức). Pha đảo RP-18 (150 μm, YMC, Nhật Bản). Nhựa trao đổi ion diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Ind. Co., Ltd) và Sephadex LH-20. Cùng với các loại cột có kích thước phù hợp với chất đưa vào sắc ký.

- *Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)*

Sắc ký lỏng hiệu năng cao bán điều chế (HPLC) được thực hiện trên máy Agilent 1100 Trung tâm Hóa học và Sinh học ứng dụng - HTIC. Chất được điều chế trên cột sắc ký HPLC và dung môi tinh khiết HPLC với tốc độ dòng 3ml/phút, sử dụng 4 bước sóng 210, 254, 280 và 360 nm để phát hiện chất.

2.2.2.3. Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất là sự kết hợp xác định giữa các thông số vật lý với các phương pháp phổ hiện đại bao gồm:

Điểm nóng chảy (mp.)

Điểm nóng chảy được xác định bằng máy Mel-Temp 3.0 (Thermo Scientific của Viện Hóa học – VAST).

Phổ khối MS

Phổ khối sử dụng nguồn ion hóa phun điện (ESI-MS) được ghi nhận trên hệ Agilent 1260 Infinity LC-MS Single Quadrupole system (Viện Hóa học, VAST), ở chế độ ion dương, dải quét m/z 110–2000.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR

Phổ NMR được đo trên máy: Bruker 600 MHz VANCENEO của Viện Hóa học, VAST. Chất nội chuẩn là TMS (Tetramethylsilane).

Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm:

+ Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D NMR): ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT.

Dung môi được sử dụng bao gồm các dung môi: Acetone-*d*₆, methanol-*d*₄, DMSO-*d*₆... Việc lựa chọn dung môi đo phụ thuộc vào bản chất của từng

mẫu, trên nguyên tắc là dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu đo và không che khuất các tín hiệu phân tích.

2.2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

❖ Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH

1,1-Diphenyl 1-2 picrylhydrazyl (DPPH) là một gốc tự do bền, có màu tím và có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 517nm. Khi có mặt chất chống oxy hóa, nó sẽ bị khử thành 2,2-Diphenyl-1-1picrylhydrazine (DPPH-H) có màu vàng. Đo độ giảm hấp thụ ở bước sóng 517 nm để xác định khả năng khử gốc DPPH của chất chống oxy hóa.

Mẫu thử được pha trong DMSO. DPPH được pha loãng trong dung môi methanol với nồng độ thích hợp. Đánh giá hoạt tính quét gốc tự do DPPH của các chất sạch phân lập được thử ở các nồng độ 10, 50, 100 và 200 μ M; chất đối chứng dương ascorbic acid được thử ở dải nồng độ 10, 25, 50 và 100 μ M. 10 μ L mẫu thử được ủ với 190 μ L dung dịch DPPH, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 20 phút và đo trên máy ELISA ở bước sóng 517 nm. Chất đối chứng Ascorbic acid được dùng để kiểm soát độ ổn định và đánh giá hoạt tính ức chế tương đương. Phép thử được lặp lại 3 lần [52].

$$\% \text{ IC} = 100\% - [(OD_s) / (OD_c) \times 100]$$

Trong đó: - IC: Khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH

- OD_s: Mật độ quang trung bình của mẫu thử

- OD_c: Mật độ quang trung bình của mẫu đối chứng (không có mẫu thử, chỉ có DPPH, coi như giá trị ức chế 0%)

❖ Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7

Hoạt tính ức chế sản sinh NO định hướng kháng viêm được đánh giá trên dòng tế bào RAW264.7. Hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua tác dụng ức chế các hợp chất phân lập được đối với sự sản sinh NO trong những tế bào RAW264.7 được kích thích với Lipopolysaccharides (LPS). Nồng độ NO trong môi trường thực nghiệm được xác định thông qua phản ứng Griess. Phản ứng dựa trên sự tạo phức màu của NO trong thí nghiệm ở dạng nitrit với thuốc thử Griess (Sulfanilamide và N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride trong môi trường acid). Sau thời gian ủ phản ứng, mật độ quang của mẫu được ghi nhận tại bước sóng 540 nm

bằng máy quang phổ hấp thụ UV-Vis nhằm xác định khả năng khử gốc tự do của mẫu thử. Hoạt tính kháng viêm được tiến hành sau khi kiểm tra độc tính đối với tế bào bằng phương pháp so màu MTT.

Các bước thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* của các chất như sau:

Nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào RAW 264.7 được cung cấp từ Viện Sinh học, VAST. Các tế bào được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 10% fetal bovine serum (FBS, fetal bovine serum - huyết thanh phôi bò), 2mM L-glutamine, 10mM HEPES và 1mM sodium pyruvate.

Đánh giá khả năng sống sót của tế bào bằng MTT

Khả năng sống sót của các tế bào RAW 264.7 được đánh giá bằng phương pháp MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl tetrazolium bromide). Phương pháp này là một phương pháp so màu, đo độ suy giảm màu để đánh giá khả năng sống sót của tế bào. Ở các tế bào sống, hệ enzym oxidoreductase hoạt động mạnh, những enzyme này có khả năng phân giải MTT thành dạng formazan không hoà tan, màu tím đậm. Do vậy, tỉ lệ tế bào sống sót được suy ra từ lượng formazan tạo thành từ MTT. Lượng formazan tạo thành được hoà tan bởi dung môi hữu cơ (DMSO, propanol) và đo độ hấp thụ ở bước sóng 540 nm. Khả năng gây độc tế bào của các mẫu thử nghiệm được suy ra từ việc đánh giá khả năng sống sót của tế bào [53]. Cụ thể như sau:

- Các tế bào RAW 264.7 được cấy chuyển vào đĩa 96 giếng (2×10^5 tế bào/ giếng) và được ủ ở 37 °C trong môi trường ẩm (5% CO₂ và 95% không khí) trong 24 giờ.

- Chất thử ở các nồng độ thí nghiệm (100; 20; 4 và 0,8 μM) được đưa vào đĩa 96 giếng. Một số giếng có dung môi pha mẫu DMSO 1% làm chất đối chứng.

- Đĩa nuôi cấy vào trong tủ ẩm CO₂ ở điều kiện 37 °C, 5% CO₂, nuôi trong thời gian 24 giờ.

- Sau 24 giờ, MTT (5mg/mL) được cho vào mỗi giếng.

- Sau 4 giờ, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50 μL (DMSO) 100% và giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ.

- Lượng tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$CS\% = \left[\frac{OD(\text{mẫu thử}) - OD(\text{đối chứng})}{OD(\text{DMSO}) - OD(\text{đối chứng})} \right]$$

Trong đó: - CS (Cell Survival): Khả năng sống sót của tế bào ở nồng độ ban đầu của mẫu thử

- OD: Mật độ quang

Ba thí nghiệm sinh học độc lập đã được lặp lại, và các dữ liệu định lượng được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Phần mềm Prism phiên bản 9.0.0 (GraphPad Software, San Diego, Hoa Kỳ) được sử dụng để phân tích dữ liệu. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Đánh giá khả năng kháng viêm thông qua khả năng ức chế sản sinh NO

- Các tế bào RAW264.7 được cấy chuyển vào đĩa 96 giếng (2×10^5 tế bào/ giếng) và được ủ ở 37 °C trong môi trường ẩm (5% CO₂ và 95% không khí) trong 24 giờ.

- Sau đó, môi trường nuôi cấy được thay thế bằng DMEM không có FBS và ủ liên tục trong 3 giờ.

- Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2 giờ trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) trong 24 giờ.

- Chất đối chứng âm là một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu còn chất đối chứng dương Cardamonin được thử nghiệm trên các nồng độ 1, 3, 10 và 30 μM . Nitrite (NO₂), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO. Nitrite được phát hiện và phân tích bằng cách hình thành một màu hồng đỏ khi mẫu thử có chứa NO₂⁻ với thuốc thử Griess. Khi thêm axit sulphanilic, nitrite tạo thành muối diazonium, sau đó các thuốc nhuộm azo (N-alpha-naphthyl-ethylenediamine) được thêm vào để tạo thành màu hồng. Cụ thể là, 100 μL môi trường nuôi cấy tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 giếng mới và được thêm vào 100 μL thuốc thử Griess: 50 μL của 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 μL 0,1% (w/v) N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha trong nước.

- Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy máy đọc vi phổ ở bước sóng 540 nm. Môi trường không có DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (mẫu đối chứng).

- Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO_2 và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

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

$$\% \text{IC} = 100\% - [\text{hàm lượng NO}_{\text{mẫu thử}} / \text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}] \times 100$$

- Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4 [54].

2.3. THỰC NGHIỆM

2.3.1. Phân lập các hợp chất từ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)

Phần rễ khô của loài Hoàng liên chân gà được sơ chế cắt nghiền nhỏ thành bột (1,5 kg), sau đó ngâm chiết với 15L methanol (theo tỉ lệ 1:10) chiết nóng trong vòng 30 phút với nhiệt độ 55-60 °C (lặp lại 3 lần). Sau đó, phần dịch được lọc và tách ra, còn phần bã được chiết thêm ba lần theo cùng phương pháp. Toàn bộ dịch chiết được gom lại, cất quay chân không loại hoàn toàn dung môi thu được cặn chiết tổng (105 g).

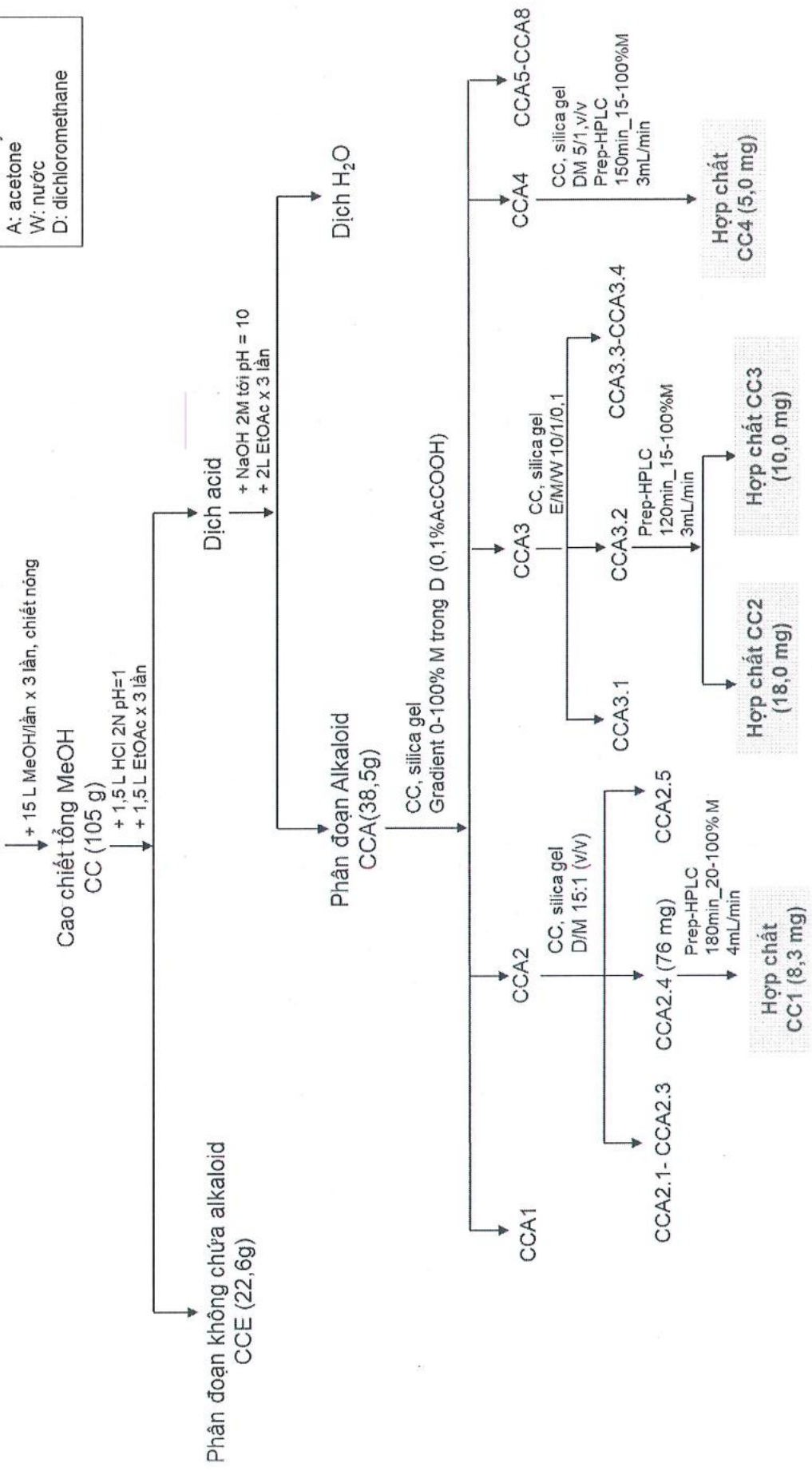
Cặn chiết methanol tổng CC được hòa trong dung dịch HCl 2N với tỉ lệ 1:10 (w/v) tạo dịch acid với pH ≈ 1 , sau đó được chiết phân lớp với ethylacetate ba lần với tỉ lệ 1:1 (v/v), thu được cao chiết non-alkaloid CCE (22,6 g). Tiếp theo, phần dịch nước acid còn lại được kiềm hóa bằng NaOH 2N đến pH ≈ 10 , rồi tiếp tục chiết phân lớp ba lần với dung môi ethyl acetate tỉ lệ 1:1 (v/v), thu được cao chiết alkaloid tổng CCA (38,5 g).

Tiến hành sắc ký phân đoạn CCA trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải gradient từ 0% đến 100% dichloromethane/methanol (có bổ sung 0,1% acetic acid) thu được 08 phân đoạn từ CCA1 đến CCA8. Từ phân đoạn CCA2 (652 mg) được sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol (15:1 v/v) thu được năm phân đoạn CCA2.1 đến CCA2.5.

Phân đoạn CCA2.4 (76 mg) được kết tinh lại trong methanol, sau đó tiếp tục tinh chế tiếp bằng phương pháp sắc ký lỏng bán điều chế (prep-HPLC). Điều kiện sắc ký: sử dụng cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A (250 × 20 mm, kích thước hạt 5 µm) theo chương trình gradient với hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) từ 20% - 100% Methanol trong 180 phút, tốc độ dòng được duy trì 4 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 µL. Trước và sau mỗi lần chạy cột được rửa bằng 100% methanol trong 15 phút và ổn định với 20% methanol trong 15 phút. Sau khi phân tách trên hệ thống prep-HPLC thu được **hợp chất CC1** (8,3 mg). Tiếp tục tiến hành sắc ký cột phân đoạn CCA3 (525 mg) trên cột silica gel với hệ dung môi ethyl acetate/methanol/nước theo (10:1:0,1 v/v/v) thu được bốn phân đoạn CCA3.1 đến CCA3.4. Phân đoạn CCA3.2 (226 mg) được xử lý tiếp trên hệ thống sắc ký bán điều chế (prep-HPLC) với điều kiện sắc ký: cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A (250 × 20 mm, kích thước hạt 5 µm), với hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) gradient từ 15% đến 100% methanol trong 180 phút, tốc độ dòng duy trì 3 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 µL. Kết quả, từ phân đoạn CCA3.2 đã thu được **hợp chất CC2** (18 mg) và **hợp chất CC3** (10 mg) bằng phương pháp sắc ký bán điều chế. Phân đoạn CCA4 thu được **Hợp chất CC4** (5 mg) phân lập bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol 5:1 (v/v) và tinh chế trên hệ thống sắc ký bán điều chế (prep-HPLC) với điều kiện gradient hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) từ 15% đến 80% methanol trong 150 phút, tốc độ dòng 3 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 µL, cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A (250 × 20 mm, kích thước hạt 5 µm).

Bột rễ Hoàng liên chân gà
Coptis chinensis Franch.

MeOH: methanol
EtOAc: ethyl acetate
A: acetone
W: nước
D: dichloromethane



Hình 2.2: Sơ đồ phân lập các hợp chất từ rễ loài Hoàng Liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)

2.3.2. Thông số vật lý và các dữ liệu phổ các hợp chất phân lập được

a) Hợp chất CC1: Noroxyhydrastine

Chất bột màu trắng

Điểm nóng chảy: mp. 177-178 °C;

Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS: m/z 192,16 $[M + H]^+$ (Tính toán theo lý thuyết cho biết hợp chất có công thức $C_{10}H_9NO_3$);

Số liệu 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) và ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6): Xem tại bảng 3.1

b) Hợp chất CC2: Berberine

Chất bột màu vàng

Điểm nóng chảy: mp. 206-208 °C

Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS: m/z 336,12 $[M]^+$ (Tính toán theo lý thuyết cho biết hợp chất có công thức $C_{20}H_{18}NO_4^+$)

Số liệu 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) và ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6): Xem tại bảng 3.2

c) Hợp chất CC3: Oxyberberine

Chất bột màu nâu đỏ

Điểm độ nóng chảy: mp. 240–241 °C;

Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS: m/z 352,36 $[M+H]^+$ (Tính toán theo lý thuyết cho biết hợp chất có công thức $C_{20}H_{17}NO_5$);

Số liệu 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$): Xem tại bảng 3.3

d) Hợp chất CC4: Jatrorrhizine

Chất bột màu vàng

Điểm nóng chảy 281-283 °C

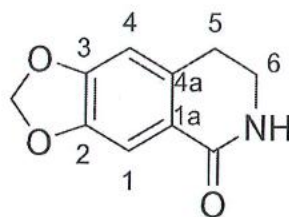
Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS: m/z 338,14 $[M]^+$ (Tính toán theo lý thuyết cho biết hợp chất có công thức $C_{20}H_{20}NO_4^+$)

Số liệu 1H -NMR (600 MHz, MeOH- d_4) và ^{13}C -NMR (150 MHz, MeOH- d_4): xem tại bảng 3.4

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

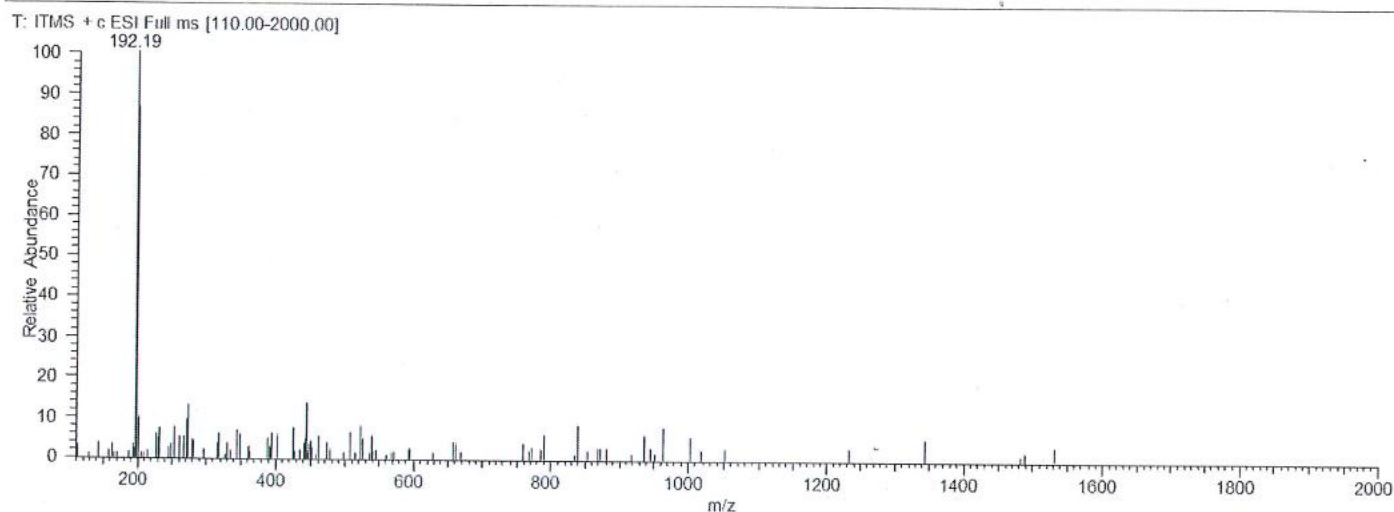
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất từ rễ loài Hoàng liên chân gà

3.1.1. Hợp chất CC1: Noroxyhydrastine



Hình 3. 1: Cấu trúc hợp chất CC1

Hợp chất CC1 được phân lập và thu nhận dưới dạng chất bột màu trắng. Trên Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS (hình 3.2) ghi nhận tín hiệu ion phân tử tại m/z 192,19 $[M+H]^+$ cho phép xác định khối lượng phân tử của hợp chất là 191 Da và gợi ý công thức phân tử của hợp chất CC1 là $C_{10}H_9NO_3$.

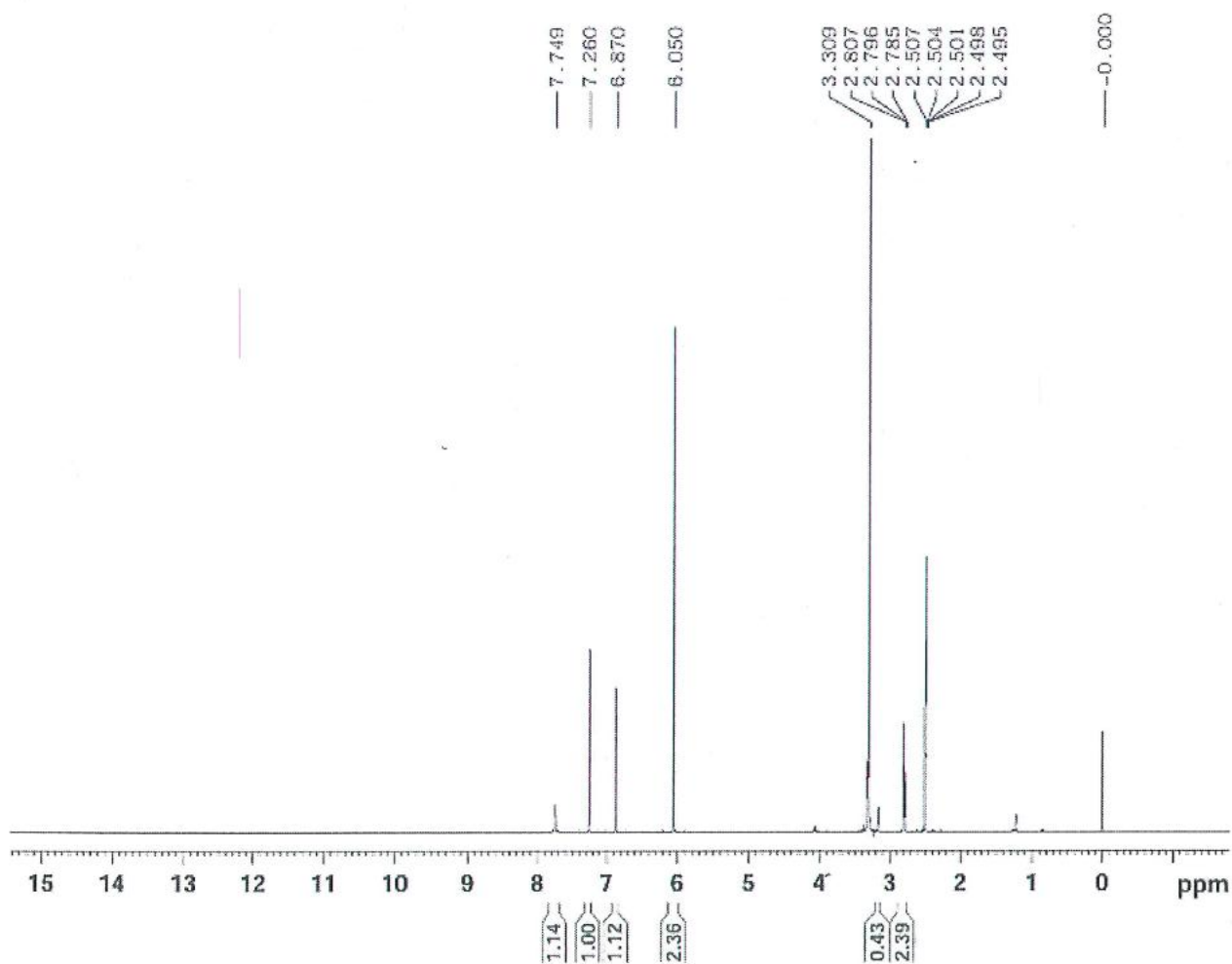


Hình 3. 2: Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC1

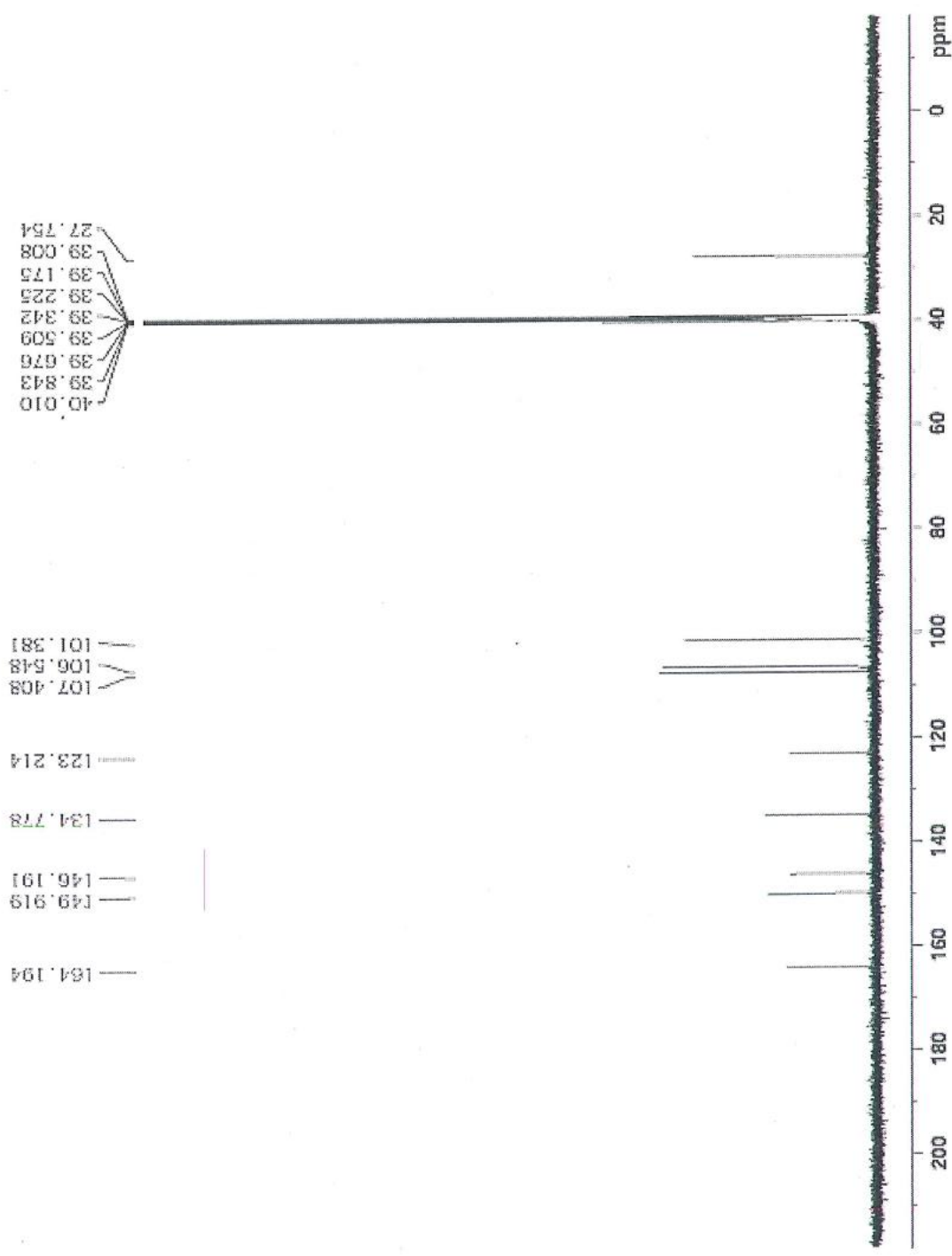
Xét trên dữ liệu phổ 1H NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) của hợp chất CC1 (Hình 3.3) xuất hiện hai tín hiệu singlet của proton vòng thơm tại δ_H 6,87 (1H, s, H-4) và 7,26 (1H, s, H-1). Sự xuất hiện của hai proton thơm dạng singlet cho thấy vòng thơm bị thế ở nhiều vị trí. Ngoài ra, trên phổ còn ghi nhận hai tín hiệu của các nhóm methylene thuộc dị vòng chứa N tại δ_H 2,80 (2H, t, $J=6,6$ Hz, H-5), δ_H 3,30 (2H, m, H-6) và tín hiệu của một proton amide ($-NH-$) tại δ_H 7,75 (1H, brs, H-7) cho thấy sự hiện diện của nhóm amide trong cấu trúc của

hợp chất. Đặc biệt, tín hiệu singlet tại δ_H 6,05 (2H, s) là tín hiệu đặc trưng của nhóm methylenedioxy (OCH_2O).

Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT cho thấy hợp chất **CC1** có 10 nhóm nguyên tử carbon, bao gồm hai nhóm methylene tại δ_C 27,8 (C-5) và δ_C 40,0 (C-6). Trong đó, tín hiệu tại δ_C 40,0 ppm là methylene gắn với nitrogen trong dị vòng tetrahydroisoquinoline. Bên cạnh đó, xuất hiện hai nhóm methine vòng thơm tại δ_C 106,5 (C-4) và δ_C 107,4 (C-1); bốn carbon không liên kết hydro tại δ_C 134,8 (C-1a); 149,9 (C-2); 146,9 (C-3) và 123,2 (C-4a); một nhóm carbon carbonyl tại δ_C 164,2 ppm đặc trưng của hệ lactam liên hợp với vòng thơm. Ngoài ra xuất hiện một tín hiệu đặc trưng của nhóm methylenedioxy tại δ_C 101,4 ppm (hình 3.4 và 3.5).

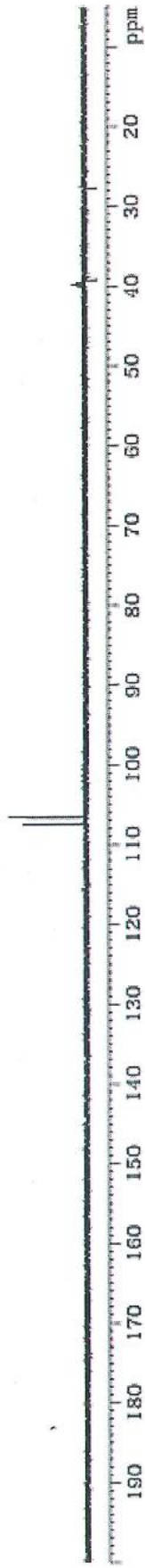


Hình 3. 3: Phổ 1H NMR của hợp chất **CCI**



Hình 3. 4: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CCl_4

DEPT90



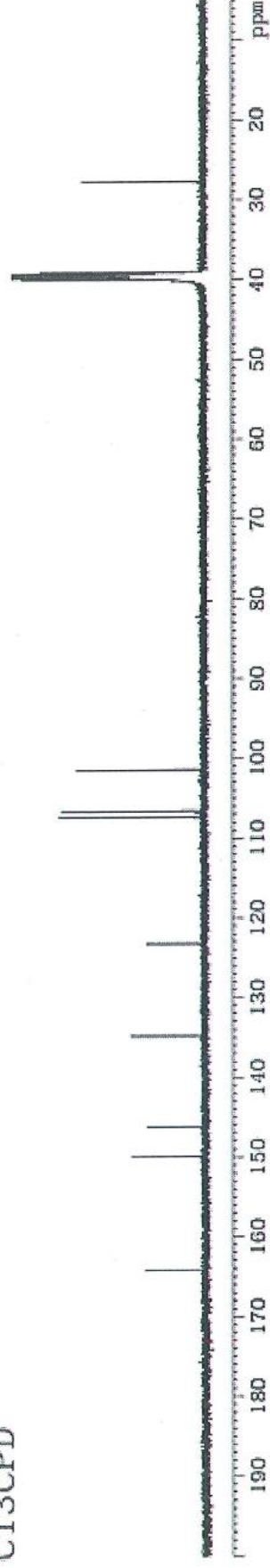
DEPT135

CH&CH3



CH2

C13CPD



Hình 3. 5: Phổ DEPT của hợp chất CCl

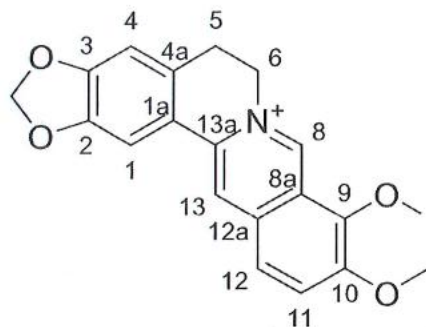
Dựa trên kết quả phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân hợp chất CC1 được dự đoán mang khung cấu trúc tetrahydroisoquinoline và so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố, hợp chất CC1 được xác định là noroxyhydrastine [55, 56].

Bảng 3. 1: Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất CC1 và chất tham khảo

Vị trí	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{*c,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{*c,d}}$
1	7,26 (1H, s)	107,4	7,33 (1H, s)	108,4
1a	-	134,8	-	136,8
2	-	149,9	-	148,4
3	-	146,9	-	152,6
4	6,87 (1H, s)	106,5	6,76 (1H, s)	108,0
4a	-	123,2	-	123,6
5	2,80 (2H, t, 6,6)	27,8	2,88 (2H, t, 6,0)	29,1
6	3,30 (2H, t, 5,4)	40,0	3,44 (2H, t, 6,0)	40,9
-NH-	7,75 (1H, br s)	-	-	-
-CO-NH-	-	164,2	-	168,0
-O-CH ₂ -O-	6,05 (2H, s)	101,4	6,0 (2H, s)	103,1

^aDMSO-d₆, ^b600 MHz, ^cCD₃OD, ^d150 MHz *tham khảo chất Noroxyhydrastinine [55]

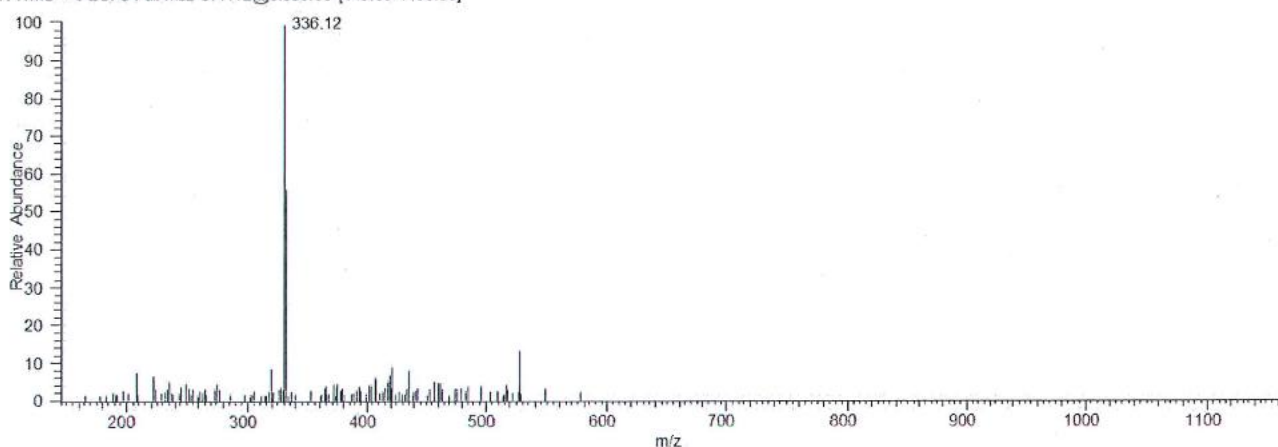
3.1.2. Hợp chất CC2: Berberine



Hình 3. 6: Cấu trúc hóa học của hợp chất CC2

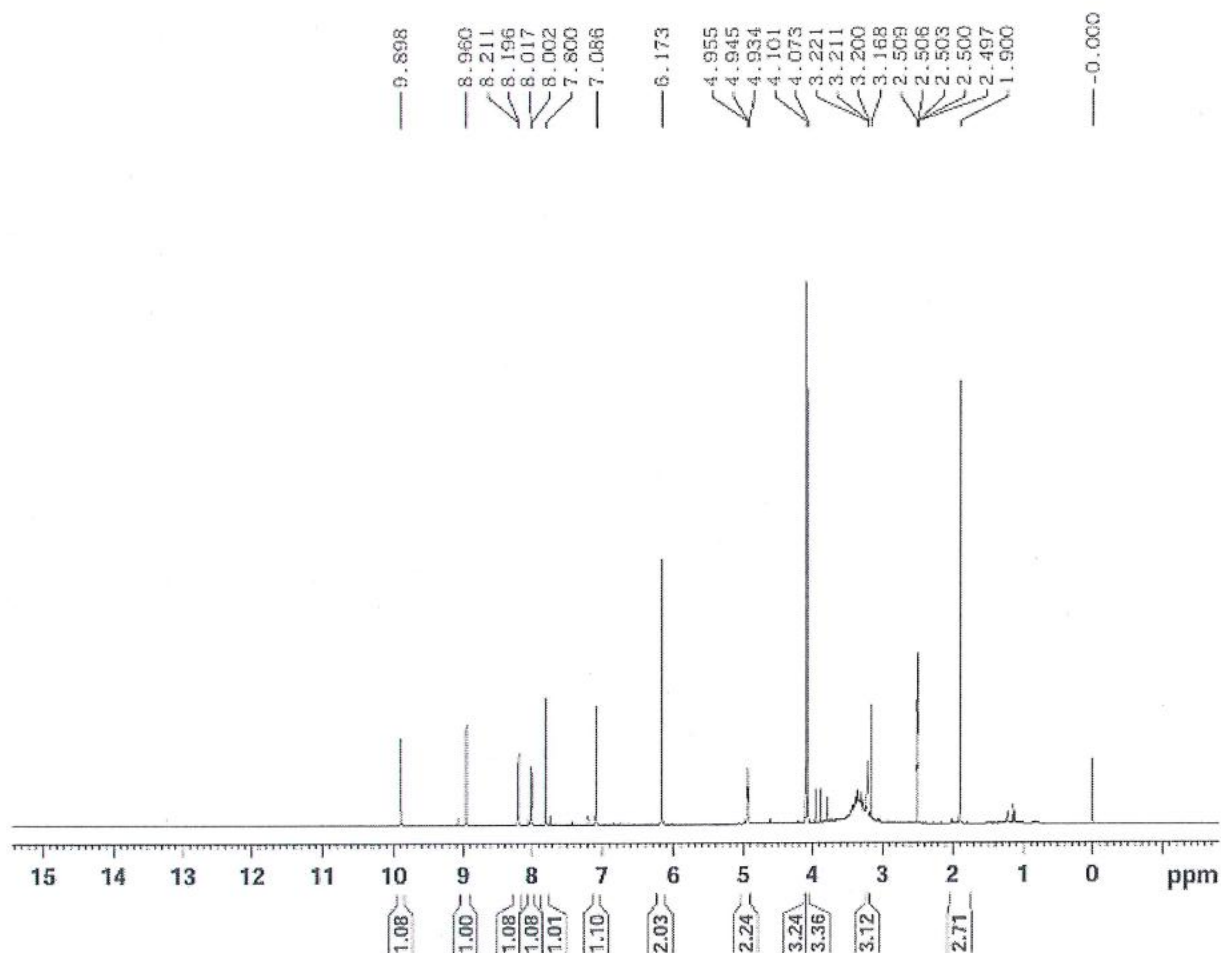
Hợp chất CC2 thu được dưới dạng chất rắn màu vàng. Trên phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS (Hình 3.7) ghi nhận tín hiệu ion phân tử m/z 336,12 $[M]^+$ và gợi ý công thức phân tử của hợp chất CC2 là $C_{20}H_{18}NO_4^+$

T: ITMS + e ESI d Full ms2 577.12@cid35.00 [145.00-1165.00]



Hình 3. 7: Phổ khối lượng ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC2

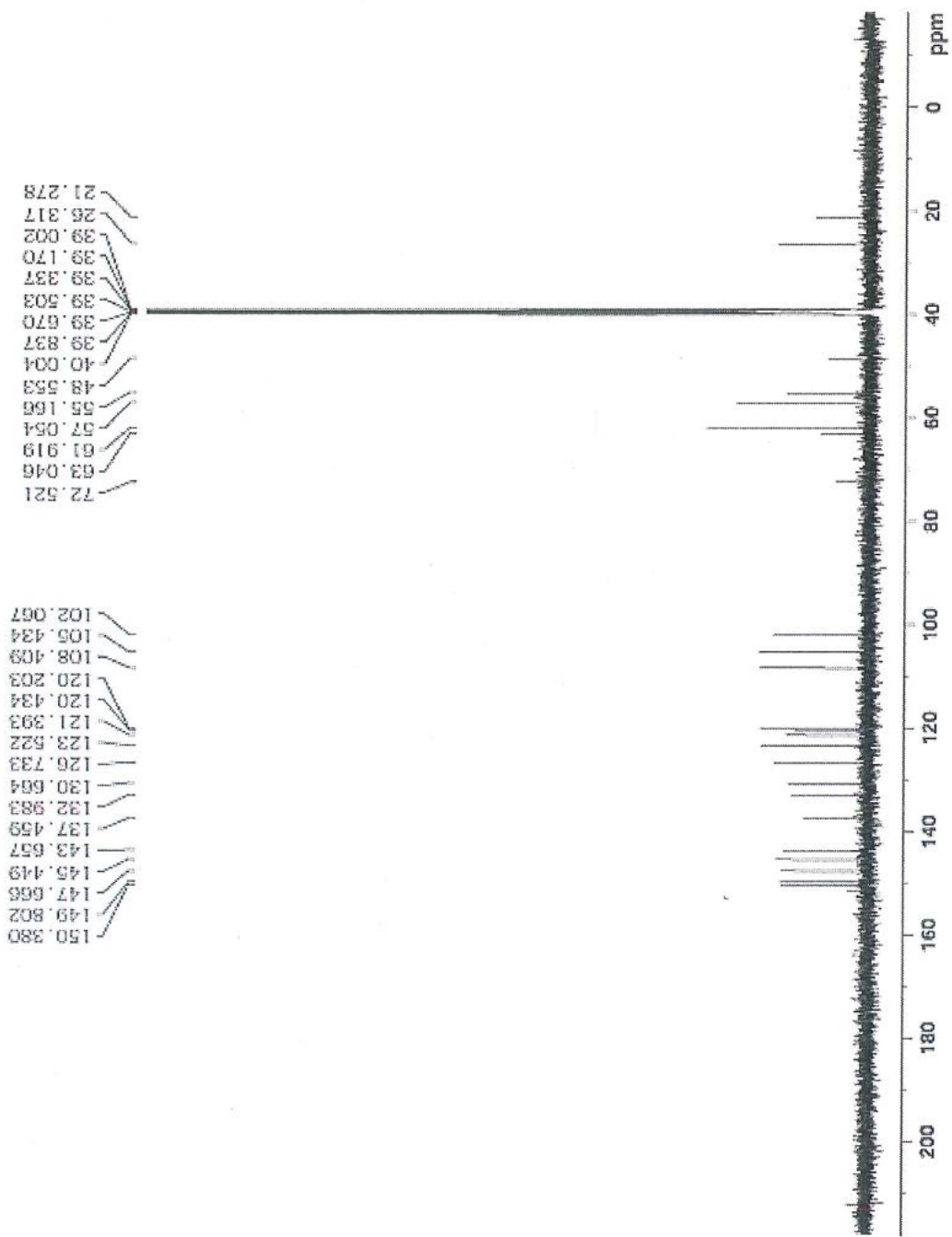
Trên phổ 1H -NMR (hình 3.8) xuất hiện tín hiệu của các proton thơm đặc trưng cho khung protoberberine bao gồm hai proton singlet của vòng thơm tại δ_H 7,80 (1H, s, H-4) và 7,09 (1H, s, H-1); tín hiệu hai proton dạng doublet methine tại δ_H 8,21 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-11) và δ_H 8,02 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-12); tín hiệu singlet của hai proton thuộc dị vòng cation hóa tại δ_H 8,96 (1H, s, H-13) và 9,90 (1H, s, H-8). Ngoài ra, còn quan sát thấy một tín hiệu dạng singlet tại δ_H 6,17 (2H, s, OCH_2O) đặc trưng của nhóm methylenedioxy; tín hiệu hai nhóm methoxy tại δ_H 4,07 (3H, s, 10- OCH_3) và 4,10 (3H, s, 9- OCH_3); tín hiệu triplet của proton methylene sp^3 thuộc dị vòng N tại δ_H 3,21 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5) và 4,95 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-6).



Hình 3. 8: Phổ ^1H NMR của hợp chất CC2

Phân tích phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của hợp chất CC2 cho thấy tín hiệu của 20 nguyên tử carbon bao gồm bốn tín hiệu các carbon liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 147,7 (C-3); 149,8 (C-2); 143,7 (C-9) và 150,4 (C-10); năm tín hiệu carbon không liên kết hydro là cầu nối trong hệ thống vòng benzyloisoquinoline tại δ_{C} 121,4 (C-1a); 130,7 (C-4a); 120,4 (C-8a); 133,0 (C-12a) và 137,5 (C-13a). Ngoài ra, tín hiệu tại δ_{C} 145,4 (C-8) của carbon liên kết trực tiếp với dị tố N. Năm tín hiệu của carbon methine tại δ_{C} 105,4 (C-1); 108,4 (C-4); 123,5 (C-11); 126,7 (C-12) và 120,2 (C-13). Bên cạnh đó xuất hiện một tín hiệu carbon nhóm methylenedioxy tại δ_{C} 102,1; hai tín hiệu methylene sp^3 thuộc dị vòng chứa N tại δ_{C} 26,3 (C-5) và 55,2 (C-6) và hai tín hiệu nhóm methoxy tại δ_{C} 57,1 (10-OCH₃) và 61,9 (9-OCH₃) (hình 3.9 và 3.10).

Với những phân tích dữ liệu phổ trên và kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố xác định hợp chất CC2 là Berberin [57, 58].



Hình 3. 9: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CC2

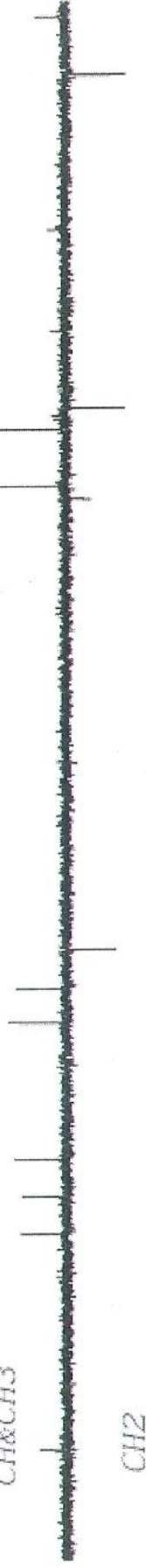
DEPT90



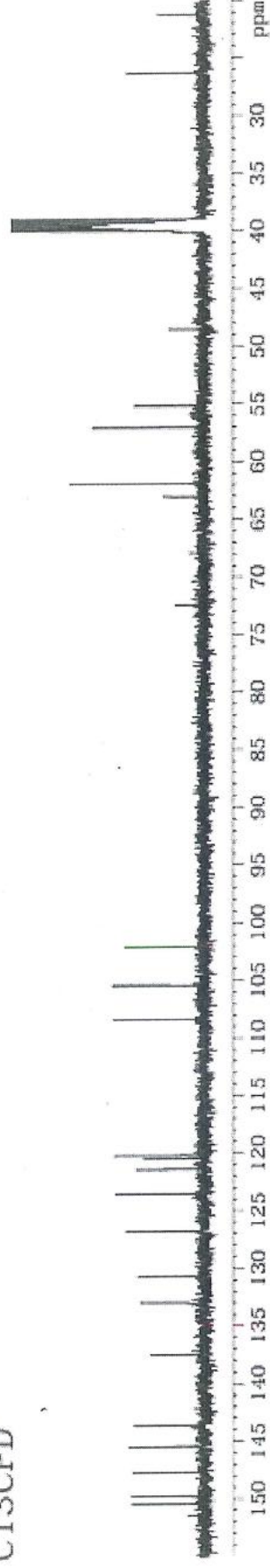
DEPT135

CH&CH3

CH2



C13CPD



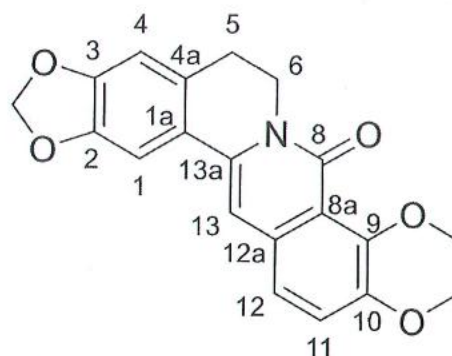
Hình 3. 10: Phổ DEPT của hợp chất CC2

Bảng 3. 2: Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất CC2 và chất tham khảo

Vị trí	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{*\text{a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{*\text{a,c}}$
1	7,80 (1H, s)	105,4	7,79 (1H, s)	105,5
1a	-	121,4	-	120,5
2	-	147,7	-	147,7
3	-	149,8	-	149,9
4	7,09 (1H, s)	108,4	7,08 (1H, s)	108,5
4a	-	130,7	-	130,8
5	3,21 (2H, t, 6,0)	26,3	3,20 (2H, t, 6,5)	26,4
6	4,95 (2H, t, 6,0)	55,2	4,92 (2H, t, 6,5)	55,2
8	9,90 (1H, s)	145,5	9,88 (1H, s)	145,5
8a	-	120,4	-	121,5
9	-	143,7	-	143,7
10	-	150,4	-	150,5
11	8,21 (1H, d, 9,0)	126,7	8,19 (1H, d, 9,0)	126,8
12	8,02 (1H, d, 9,0)	123,5	8,01 (1H, d, 9,0)	123,6
12a	-	133,0	-	133,0
13	8,96 (1H, s)	120,2	8,94 (1H, s)	120,3
13a	-	137,5	-	137,5
O-CH ₂ -O	6,17 (2H, s)	102,1	6,17 (2H, s)	102,1
9-OMe	4,10 (3H, s)	61,9	4,09 (3H, s)	61,9
10-OMe	4,07 (3H, s)	57,1	4,06 (3H, s)	57,1

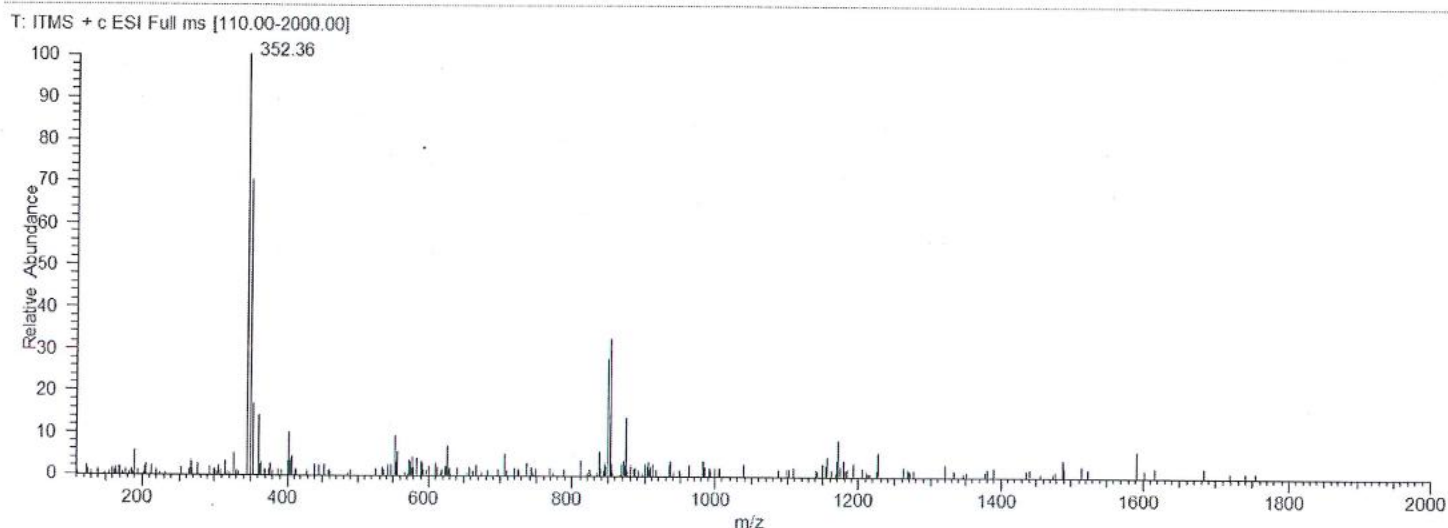
^a DMSO-d₆, ^b 600 MHz, ^c 150 MHz * tham khảo chất berberine [58]

3.1.3. Hợp chất CC3: Oxyberberine



Hình 3. 11: Cấu trúc hóa học của hợp chất CC3

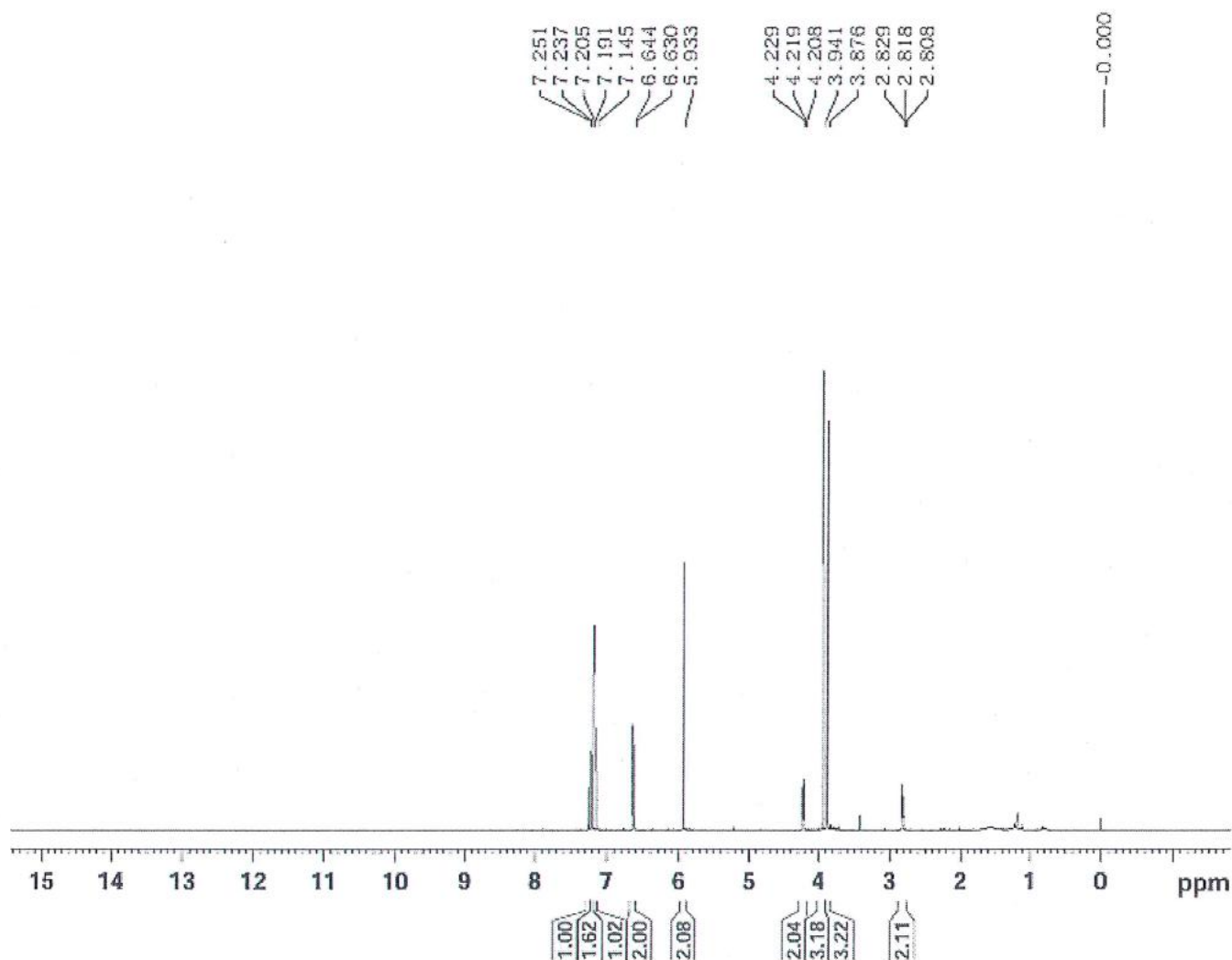
Hợp chất CC3 được phân lập và thu nhận dưới dạng chất rắn màu nâu đỏ. Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS (Hình 3.12) ghi nhận tín hiệu ion phân tử tại m/z 352,36 $[M+H]^+$ cho phép xác định khối lượng phân tử của hợp chất là 351 Da và gợi ý công thức phân tử của hợp chất CC3 là $C_{20}H_{17}NO_5$.



Hình 3. 12: Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC3

Dữ liệu phổ 1H NMR (hình 3.13) xuất hiện 2 tín hiệu proton thơm dạng singlet tại δ_H 6,63 (1H, s, H-1), 6,64 (1H, s, H-4) thuộc vòng A; hai tín hiệu của nhóm methylene của dị vòng chứa N tại δ_H 2,82 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5), 4,22 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-6), ba tín hiệu proton hệ isoquinoline tại δ_H 7,25 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-11), 7,21 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-12) và 7,15 (1H, s, H-13), hai tín hiệu nhóm methoxy δ_H 3,94 (3H, s, 9-OMe), 3,88 (3H, s, 10-OMe) và một tín hiệu singlet tại δ_H 5,93 (2H; s) đặc trưng của nhóm methylenedioxy. So sánh

với dữ liệu phổ của hợp chất **CC2** thì hợp chất **CC3** không xuất hiện tín hiệu singlet đặc trưng của proton H-8 ở vùng $\delta_H \sim 9,0 - 10,0$ ppm.

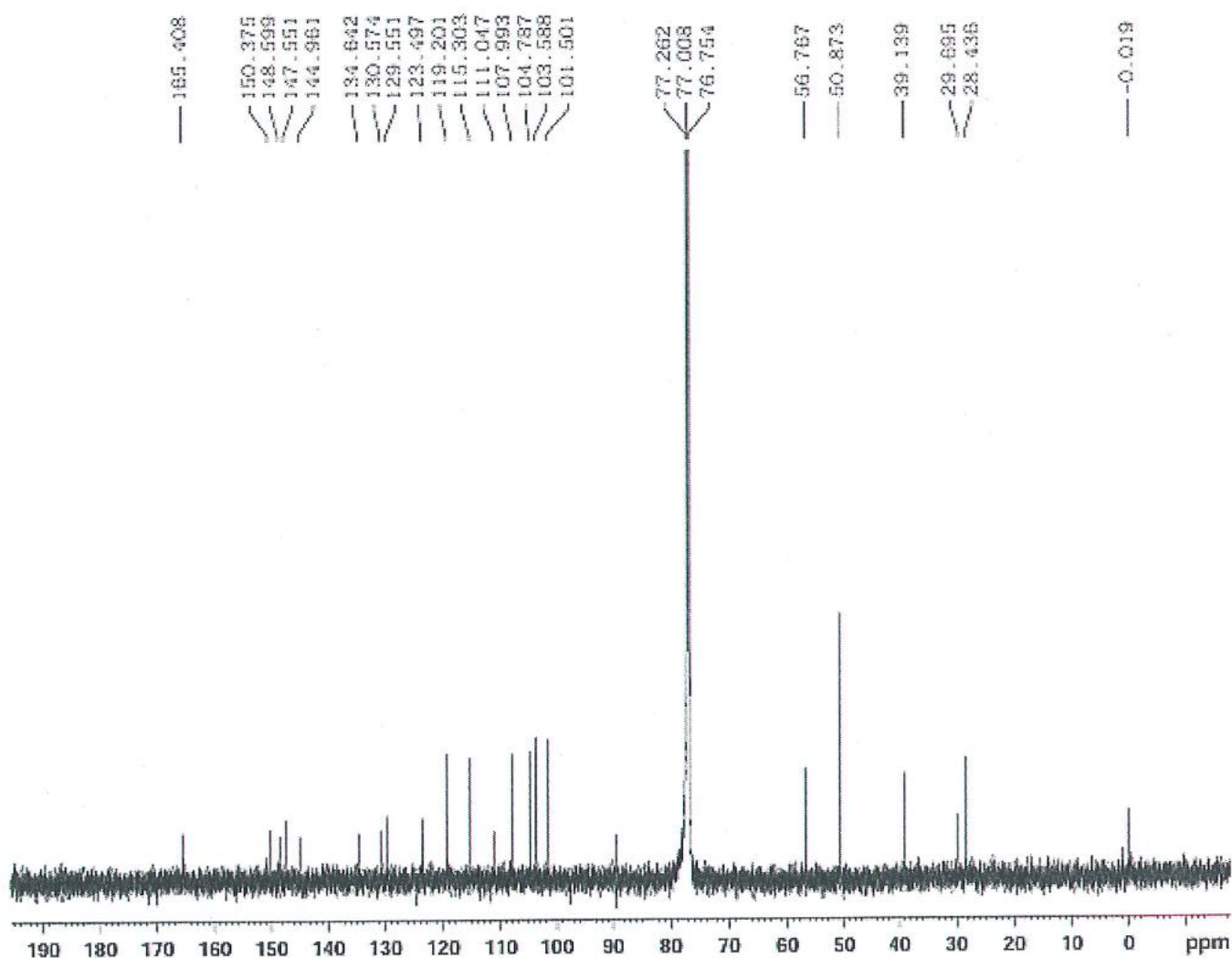


Hình 3. 13: Phổ ^1H NMR của hợp chất **CC3**

Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT (hình 3.14 và 3.15) cho biết hợp chất **CC3** chứa 20 nguyên tử carbon bao gồm 10 nguyên tử carbon không liên kết hydro tại δ_C 123,5 (C-1a); 147,6 (C-2); 148,6 (C-3); 108,0 (C-4); 129,6 (C-4a); 130,6 (C-8a); 134,6 (C-12a); 103,6 (C-13a); (C-1a); 145,0 (C-9); 150,4 (C-10) và 165,4 (C-8). Ngoài ra, 2 tín hiệu đặc trưng của nhóm methoxy xuất hiện tại δ_C 50,9 (9-OCH₃) và 56,8 (10-OCH₃). Năm tín hiệu nhóm methine tại δ_C 104,8 (C-1); 108,0 (C-4); 119,2 (C-11); 115,2 (C-12) và 103,6 (C-13) phù hợp với khung alkaloid protoberberine. Hai tín hiệu methylene tại δ_C 28,4 (C-5); 39,1 (C-6). Ngoài ra, xuất hiện tín hiệu tại δ_C 101,5 đặc trưng của nhóm methylenedioxy.

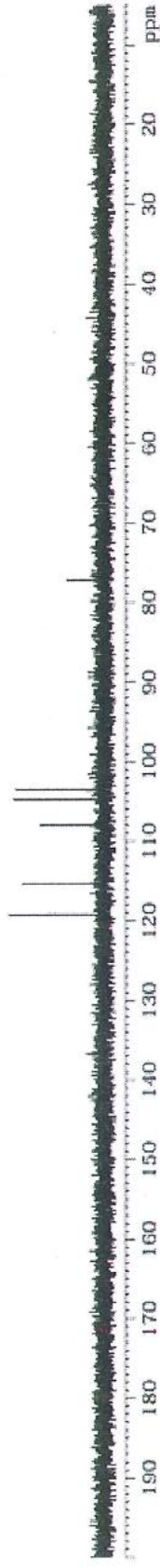
So dữ liệu phổ của hợp chất **CC3** với hợp chất **CC2** tại vị trí C-8 không có tín hiệu proton H-8 ở vùng δ_H 9,0–10,0 ppm như trên phổ 1H NMR. Đồng thời, trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm carboxyl amide có δ_C 165,4 (C-8). Việc không còn tín hiệu carbon mang proton tương ứng trên phổ DEPT có thể nhận định rằng C-8 đã chuyển từ dạng methine ($-CH=$) sang dạng carboxyl ($C=O$).

Từ các phân tích trên, có thể kết luận rằng hợp chất **CC3** chính là sản phẩm oxy hóa của **CC2** tại vị trí C-8 và đối chiếu với tài liệu tham khảo đã công bố xác định hợp chất **CC3** là Oxyberberine [59].



Hình 3. 14: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CC3**

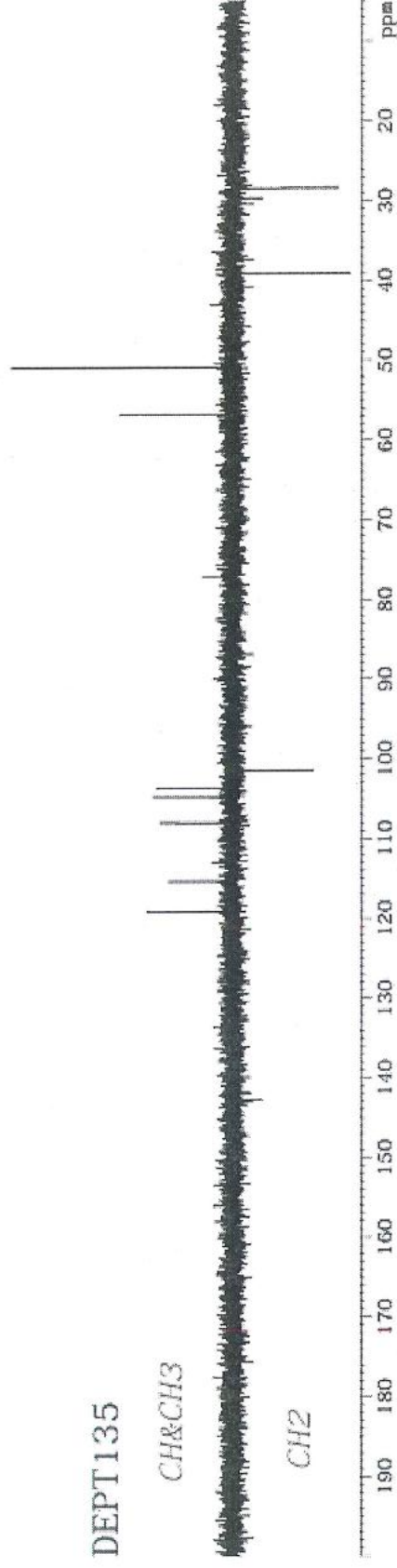
DEPT90



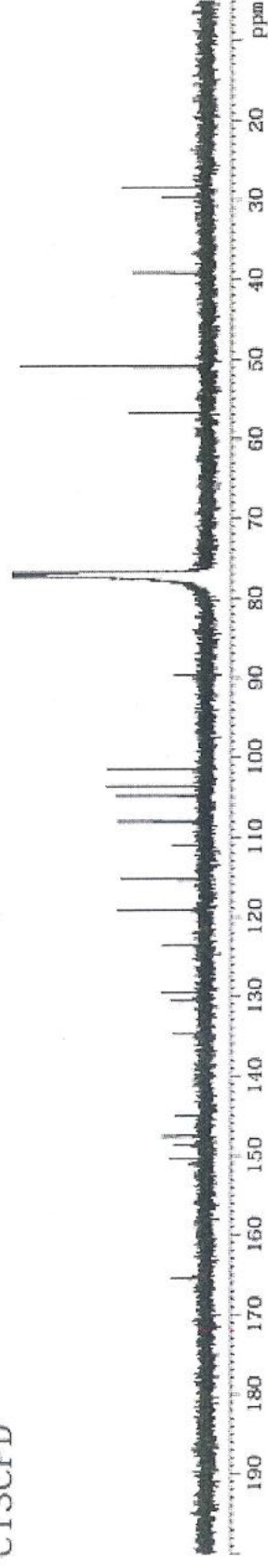
DEPT135

CH&CH3

CH2



C13CPD



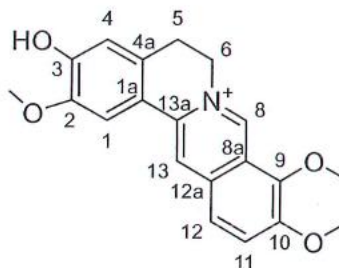
Hình 3. 14: Phổ DEPT của hợp chất CC3

Bảng 3. 3: Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất CC3 và chất tham khảo

Vị trí	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{*a,c}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{*a,e}}$
1	6,63 (1H, s)	104,8	6,73 (1H, s)	104,94
1a	-	123,5	-	135,90
2	-	147,6	-	148,69
3	-	148,6	-	147,60
4	6,64 (1H, s)	108,0	6,71 (1H, s)	108,15
4a	-	129,6	-	130,29
5	2,82 (2H, t, 6,0)	28,4	2,90 (2H, t, 6,2)	28,96
6	4,22 (2H, t, 6,0)	39,1	4,31 (2H, t, 6,2)	39,61
8	-	165,4	-	160,34
8a	-	130,6	-	124,02
9	-	150,4	-	151,68
10	-	145,0	-	149,86
11	7,25 (1H, d, 8,4)	119,2	7,32 (1H, d, 8,7)	119,35
12	7,21 (1H, d, 8,4)	115,2	7,28 (1H, d, 8,7)	122,50
12a	-	134,6	-	132,64
13	7,15 (1H, s)	103,6	7,23 (1H, s)	101,53
13a	-	111,0	-	119,65
9-OMe	3,94 (3H; s)	56,8	4,03 (3H, s)	61,85
10-OMe	3,88 (3H; s)	50,9	3,96 (3H, s)	57,16
OCH ₂ O	5,93 (2H; s)	101,5	6,02 (2H, s)	101,65

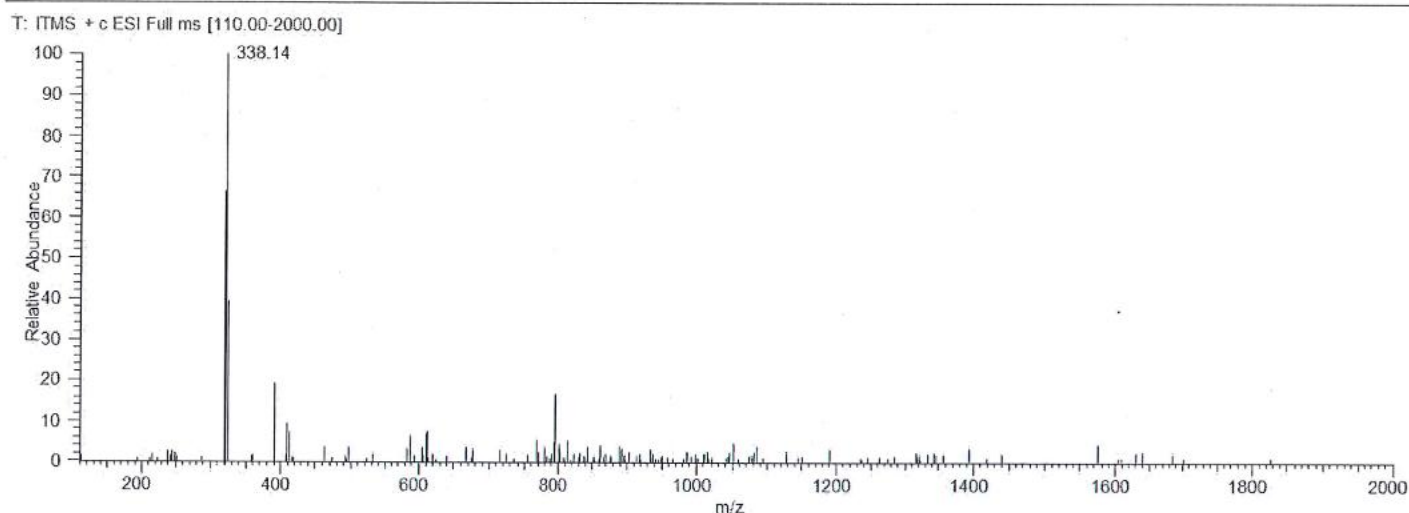
^a CDCl₃, ^b 600 MHz, ^c 500 MHz, ^d 150 MHz, ^e 125 MHz * tham khảo chất Oxyberberine [59]

3.1.4. Hợp chất CC4: Jatrorrhizine



Hình 3. 15: Cấu trúc hợp chất CC4

Hợp chất **CC4** được phân lập và thu nhận dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. Phổ khối ion hóa phun điện ESI-MS (Hình 3.17) ghi nhận tín hiệu ion phân tử tại m/z 338,14 $[M]^+$ gợi ý công thức phân tử của hợp chất **CC4** là $C_{20}H_{20}NO_4^+$.

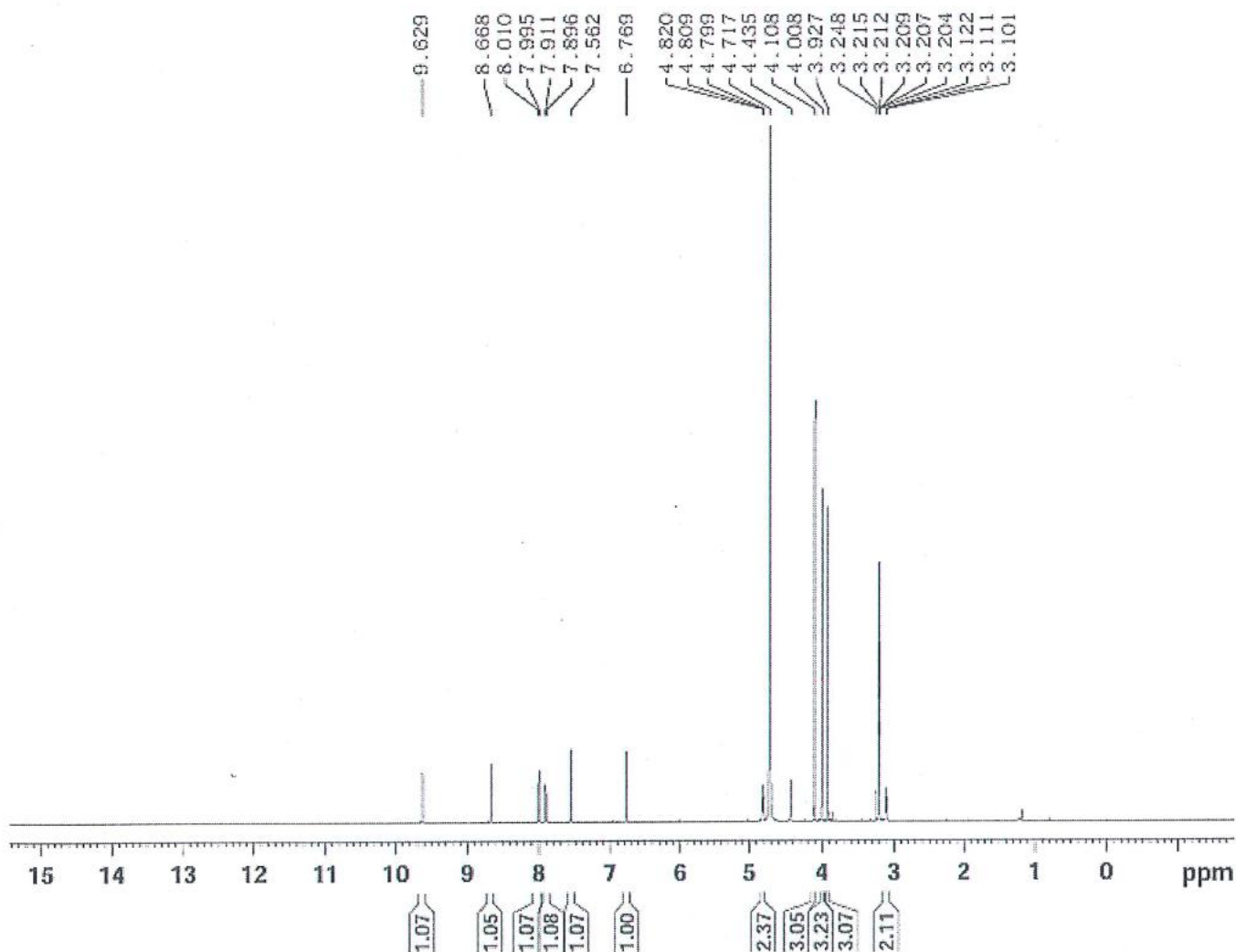


Hình 3. 16: Phổ khối lượng ion hóa phun điện ESI-MS của hợp chất CC4

Phổ 1H NMR (hình 3.18) của hợp chất **CC4** xuất hiện tín hiệu của các proton bao gồm hai proton thơm tại δ_H 6,77 (1H, s, H-4) và 7,56 (1H, s, H-1). Bên cạnh đó xuất hiện tín hiệu hai proton hệ vòng isoquinoline t tại δ_H 7,91 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-12) và 8,01 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-11); tín hiệu singlet của hai proton thuộc dị vòng cation hóa tại δ_H 8,67 (1H, s, H-13) và 9,63 (1H, s, H-8) và tín hiệu triplet của proton methylene sp^3 thuộc dị vòng N tại δ_H 3,11 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5), 4,81 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-6).

Việc so sánh dữ liệu phổ 1H NMR của hợp chất **CC4** với hợp chất **CC2** cho thấy cấu trúc có nhiều điểm tương đồng với hợp chất **CC2**. Cụ thể, các tín hiệu proton của hệ isoquinoline (H-11, H-12), dị vòng cation hóa (H-8, H-13), vòng thơm (H-1, H-4) cùng hai nhóm methylene (H-5, H-6) có vị trí hóa học và hằng số

ghép cặp rất tương đồng. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai hợp chất nằm ở các nhóm thế trên vòng thơm. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **CC4** không xuất hiện tín hiệu của proton nhóm methylenedioxy tại δ_{H} 6,17 như hợp chất **CC2**, thay vào đó là sự xuất hiện của tín hiệu proton của nhóm methoxy tại δ_{H} 4,11 (3H, s, 2-OCH₃) cùng với hai tín hiệu methoxy khác tại δ_{H} 4,01 (3H, s, 9-OCH₃) và δ_{H} 3,93 (3H, s, 10-OCH₃).



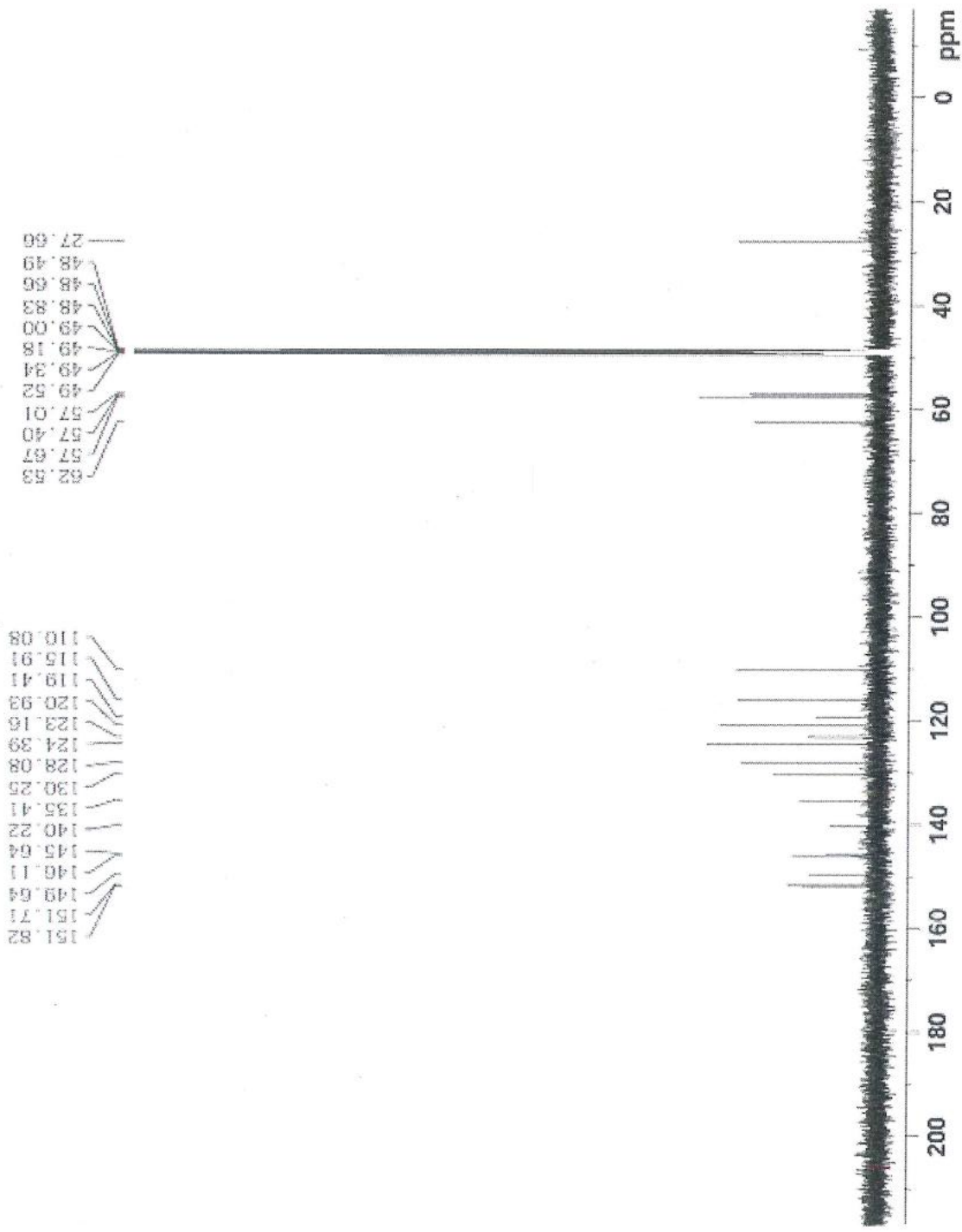
Hình 3. 17: Phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất **CC4**

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (hình 3.19) của hợp chất **CC4** cho thấy tín hiệu của 20 nguyên tử carbon bao gồm tín hiệu các carbon liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 149,6 (C-2); 146,1 (C-3); 151,8 (C-9) và 151,7 (C-10) và tín hiệu tại δ_{C} 145,6 (C-8) của carbon liên kết trực tiếp với dị tố N. Năm tín hiệu của carbon nhóm methine tại δ_{C} 110,1 (C-1); 115,9 (C-4); 128,1 (C-11); 124,4 (C-12) và 119,4 (C-13); bốn tín hiệu carbon không liên kết hydro là cầu nối trong hệ thống vòng benzylisoquinoline tại δ_{C} 120,9 (C-1a); 130,3 (C-4a); 123,2 (C-8a); 135,4 (C-12a)

và 140,2 (C-13a); hai tín hiệu methylene sp^3 thuộc dị vòng chứa N tại δ_C 27,7 (C-5) và 57,0 (C-6).

So sánh dữ liệu phổ hợp chất **CC4** và hợp chất **CC2** ta thấy không xuất hiện tín hiệu của nhóm methylenedioxy tại δ_C 102,1 ppm như hợp chất **CC2**. Thay vào đó hợp chất **CC4** xuất hiện tín hiệu carbon của ba nhóm methoxy lần lượt tại δ_C 57,4 (C-2); 57,7 (C-9) và 62,5 (C-10). Do đó từ các dữ liệu phân tích trên cho thấy hợp chất **CC4** cũng mang khung protoberberine tương tự như hợp chất **CC2**.

Dựa vào phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CC4** và so sánh đối chiếu với tài liệu tham khảo đã công bố cho phép xác định hợp chất **CC4** này là jatrorrhizine [60].



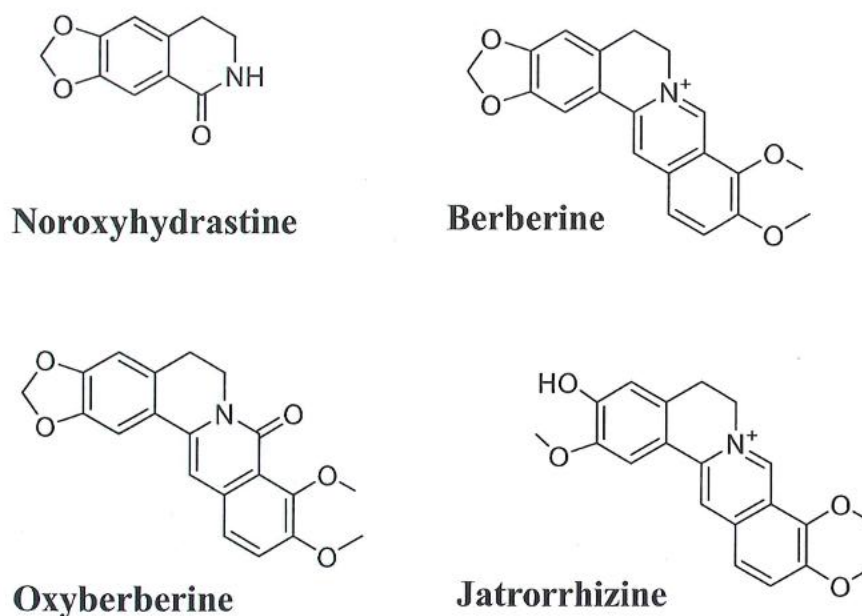
Hình 3. 18: Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CC_4

Bảng 3. 4: Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất CC4 và chất tham khảo

Vị trí	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{*a,b}}$ (dạng pic, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{*a,c}}$
1	7,56 (1H, s)	110,1	7,61(1H, s)	114,6
1a	-	120,9	-	118,0
2	-	149,6	-	148,3
3	-	146,1	-	150,3
4	6,77 (1H, s)	115,9	6,82 (1H, s)	108,8
4a	-	130,3	-	128,9
5	3,11 (2H, t, 6,0)	27,7	3.19 (2H, t, 6,3)	26,3
6	4,81 (2H, t, 6,0)	57,0	4,89 (2H, d, 6,3)	56,0
8	9,63 (1H, s)	145,6	9,68 (1H, s)	144,7
8a	-	123,2	-	134,1
9	-	151,8	-	150,5
10	-	151,7	-	144,3
11	8,01 (1H, d, 9,0)	124,4	8,05 (1H, d, 9,1)	123,0
12	7,91 (1H, d, 9,0)	128,1	7,97 (1H, d, 9,1)	126,8
12a	-	135,4	-	121,8
13	8,67 (1H, s)	119,4	8,72 (1H, s)	119,5
13a	-	140,2	-	138,9
2-OMe	3,93 (3H, s)	57,4	3,99 (3H, s)	55,7
9-OMe	4,11(3H, s)	62,5	4,17 (3H, s)	61,2
10-OMe	4,01 (3H, s)	57,7	4,06 (3H, s)	56,3

^a MeOD, ^b 600 MHz, ^c 150 MHz, * tham khảo chất Jatrorrhizine [60]

3.1.5. Bàn luận về kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của mẫu Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.)



Hình 3. 19: Các hợp chất đã phân lập từ Hoàng liên chân gà

Kết quả nghiên cứu đã phân lập và xác định được 04 hợp chất gồm noroxyhydrastine, berberine, oxyberberine và jatrorrhizine từ rễ loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.). Các hợp chất này đều thuộc nhóm đều là các alkaloid khung isoquinoline, đặc trưng cho chi *Coptis* nói riêng và họ Ranunculaceae nói chung [61]. Sự hiện diện đồng thời của các alkaloid protoberberine trong mẫu nghiên cứu phù hợp với đặc điểm hóa học đã được ghi nhận ở các loài thuộc chi *Coptis*. Trong đó, berberine chiếm hàm lượng cao và được xem là hợp chất chỉ thị của Hoàng liên chân gà. Hợp chất noroxyhydrastine, mặc dù không phải là alkaloid chiếm ưu thế, nhưng sự hiện diện của hợp chất này cho thấy thành phần alkaloid của Hoàng liên chân gà không chỉ giới hạn ở nhóm protoberberine mà còn bao gồm các dẫn xuất isoquinoline khác. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về chi *Coptis* [62], qua đó chứng tỏ quy trình chiết xuất và phân lập được xây dựng trong nghiên cứu là phù hợp, đặc biệt trong việc lựa chọn dung môi, hệ dung môi sắc ký và điều kiện phân lập tối ưu.

Tóm lại, kết quả phân lập bốn alkaloid khung isoquinoline từ rễ loài Hoàng liên chân gà không những phù hợp với đặc điểm hóa học đặc trưng của loài mà còn góp phần bổ sung dữ liệu về thành phần alkaloid của nguồn dược liệu thu

thập tại Việt Nam. Những kết quả này tạo nền tảng quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính sinh học.

3.2. Hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được

3.2.1. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH

Hoạt tính kháng oxy hóa của các hợp chất đã phân lập được đánh giá thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), một phương pháp phổ biến nhằm xác định tiềm năng chống oxy hóa *in vitro*. Gốc tự do DPPH có màu tím đặc trưng và khi bị khử bởi các chất có khả năng cho proton hoặc electron, cường độ màu sẽ giảm, từ đó cho phép định lượng mức độ kháng oxy hóa của mẫu thử thông qua giá trị IC_{50} . Trong nghiên cứu này, các hợp chất được khảo sát ở nhiều nồng độ khác nhau và hoạt tính chống oxy hóa được xác định dựa trên giá trị IC_{50} , tương ứng với nồng độ cần thiết để ức chế 50% gốc tự do DPPH. Kết quả thu được cho thấy các hợp chất thử nghiệm đều thể hiện khả năng bắt gốc DPPH ở các mức độ khác nhau được thể hiện tại Bảng 3.5.

Bảng 3. 5: Kết quả hoạt tính quét gốc tự do DPPH của một số hợp chất từ rễ Hoàng liên chân gà

Chất	IC_{50} (μM)
Noroxyhydrastine (CC1)	> 200
Berberin (CC2)	$106,4 \pm 3,7$
Oxyberberine (CC3)	$195,6 \pm 2,2$
Jatrorrhizine (CC4)	$182,3 \pm 3,8$
Ascorbic acid (Đối chứng dương)	$87,3 \pm 2,2$

Bảng số liệu IC_{50} hoạt tính quét gốc tự do DPPH của 04 hợp chất đã phân lập cho thấy tất cả các chất khảo sát đều có giá trị IC_{50} lớn hơn so với chất đối chứng ascorbic acid $IC_{50}=87,3 \mu M$. Trong bốn alkaloid khảo sát thì berberin (CC2) với giá trị IC_{50} là $106,4 \pm 3,7 \mu M$ thể hiện hoạt tính tốt, chỉ kém đối chứng. Ngoài ra, jatrorrhizine (CC4), oxyberberine (CC3) có giá trị IC_{50} lần lượt là $182,3 \pm 3,8 \mu M$, $195,6 \pm 2,2 \mu M$ cho thấy hoạt tính chống oxy hóa trung bình – yếu so với các chất khảo sát. Noroxyhydrastine (CC1) không thể hiện hoạt tính trong khoảng nồng độ khảo sát ($IC_{50} > 200 \mu M$). Nhìn chung, các hợp chất phân lập chỉ

thể hiện khả năng quét gốc tự do DPPH ở mức trung bình hoặc yếu. Trong đó, berberine là hợp chất có tiềm năng chống oxy hóa nổi bật nhất, trong khi sự hiện diện của nhóm methoxy và đặc điểm cấu trúc khung protoberberine có thể đóng vai trò quan trọng đối với hoạt tính chống oxy hóa của các alkaloid này. Tuy nhiên, do giá trị IC_{50} của các hợp chất vẫn cao hơn so với ascorbic acid nên khả năng chống oxy hóa của chúng được đánh giá là chưa thực sự mạnh theo phương pháp DPPH. Nhiều công bố khoa học đã chứng minh các alkaloid chính của *Coptis chinensis* như berberine, coptisine, palmatine và jatrorrhizine có khả năng bắt gốc tự do và ức chế stress oxy hóa thông qua cơ chế trực tiếp (ROS) và gián tiếp (điều hòa hệ enzyme chống oxy hóa nội sinh). Các nghiên cứu cũng cho thấy berberine và coptisine thường có hoạt tính nổi bật hơn, liên quan đến cấu trúc isoquinoline có hệ liên hợp π và khả năng ổn định gốc tự do sau phản ứng.

Kết quả thu được trong nghiên cứu này phù hợp với xu hướng chung trong các báo cáo trước, qua đó củng cố vai trò của nhóm alkaloid isoquinoline như thành phần chính đóng góp vào hoạt tính chống oxy hóa của Hoàng liên chân gà.

3.2.2. Kết quả hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7

❖ Độc tính tế bào

Độc tính tế bào được hiểu là khả năng của một chất hoặc tác nhân gây tổn thương hoặc dẫn đến sự chết của tế bào sống, qua đó phản ánh một thông số có ý nghĩa quan trọng trong lĩnh vực dược lý học [63]. Các hợp chất tự nhiên có hoạt tính gây độc tế bào có thể làm gián đoạn sự bám dính giữa các tế bào, gây ra những biến đổi hình thái đặc trưng, ức chế tiến trình chu kỳ tế bào cũng như quá trình sao chép DNA, từ đó làm suy giảm đáng kể khả năng sống sót của tế bào. Do đó, các phép thử đánh giá độc tính ở mức độ tế bào không chỉ góp phần nhận diện các nguy cơ tiềm ẩn liên quan đến chiết xuất thảo dược mà còn hỗ trợ việc sàng lọc, xác định, phân tích và đánh giá hoạt tính sinh học của nhiều hợp chất tự nhiên khác nhau [64]. Trong nghiên cứu này, bốn hợp chất noroxyhydrastine (CC1), berberine (CC2), oxyberberine (CC3) và jatrorrhizine (CC4) và được tiến hành đánh giá độc tính tế bào trên dòng tế bào đại thực bào chuột RAW 264.7 nhằm xác định mức độ an toàn trước khi triển khai các thí nghiệm chuyên sâu tiếp

phụ thuộc vào hoạt động của hệ enzym nitric oxide synthase (NOS), trong đó enzym nitric oxide synthase cảm ứng (inducible nitric oxide synthase, iNOS) đóng vai trò then chốt. Trong điều kiện sinh lý bình thường, iNOS hầu như không được biểu hiện ở các tế bào không bị kích thích. Ngược lại, dưới các điều kiện bệnh lý, iNOS được cảm ứng mạnh mẽ và xúc tác tạo ra lượng lớn NO để đáp ứng với các tín hiệu viêm, chẳng hạn như cytokine, yếu tố hoại tử α (TNF- α) và lipopolysaccharide (LPS) [65]. Tác dụng ức chế sản sinh NO được thực hiện trong 24 giờ theo phương pháp sử dụng thuốc thử Griess đã trình bày ở phần phương pháp và thực nghiệm.

Bảng 3. 6: Kết quả hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 của một số hợp chất từ rễ loài Hoàng liên chân gà (Coptis chinensis Franch.)

Chất	IC ₅₀ (μ M)
Noroxyhydrastine (CC1)	42,84 \pm 2,32
Berberin (CC2)	18,52 \pm 1,67
Oxyberberine (CC3)	20,67 \pm 2,89
Jatrorrhizine (CC4)	25,43 \pm 3,14
Cardamonin	2,59 \pm 0,18

Bảng 3.6 trình bày giá trị IC₅₀ đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7 của các hợp chất phân lập từ rễ loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) với chất đối chứng dương là Cardamonin

Khảo sát hoạt tính ức chế sản sinh NO trên 04 hợp chất đã phân lập được (CC1 đến CC4). Kết quả thử nghiệm cho thấy berberine thể hiện hoạt tính tốt nhất với giá trị IC₅₀ đạt 18,52 \pm 1,67 μ M. Oxyberberine và jatrorrhizine có giá trị IC₅₀ lần lượt là 20,67 \pm 2,89 μ M và 25,43 \pm 3,14 μ M, thấp hơn so với berberine nhưng vẫn nằm trong khoảng có ý nghĩa sinh học. Trong khi đó, noroxyhydrastine thể hiện hoạt tính yếu hơn với giá trị IC₅₀ là 42,84 \pm 2,32 μ M. So với chất đối chứng dương cardamonin (IC₅₀ = 2,59 μ M), các hợp chất khảo sát có hoạt tính thấp hơn đáng kể. Tuy nhiên, kết quả này cho thấy các alkaloid khung isoquinoline vẫn sở hữu tiềm năng hoạt tính sinh học đáng chú ý.

Bên cạnh đó, kết quả tại Bảng 3.6 này cũng phù hợp với các công bố trước đây về tác dụng kháng viêm của loài Hoàng liên chân gà. Từ nghiên cứu của Zhang và cộng sự (2010) báo cáo rằng berberine và chiết xuất *Coptis chinensis* làm giảm đáng kể các cytokine viêm ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$) và nitric oxide, đồng thời ức chế con đường $\text{TLR4/NF-}\kappa\text{B}$ và tăng hoạt tính enzyme chống oxy hóa (SOD, GSH-Px), qua đó giúp hạn chế tổn thương ruột do lipopolysaccharide gây ra [66]. Hoạt tính kháng viêm mạnh của loài Hoàng Liên chân gà trên mô hình đại thực bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS có khả năng ức chế đáng kể sản sinh nitric oxide (NO) thông qua việc giảm biểu hiện iNOS, đồng thời làm giảm các cytokine tiền viêm như $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 và $\text{IL-1}\beta$. Cơ chế tác dụng chủ yếu liên quan đến việc ức chế con đường tín hiệu $\text{NF-}\kappa\text{B}$ và điều hòa các pathway MAPK và AMPK, từ đó góp phần làm giảm đáp ứng viêm ở mức tế bào [67].

Điều này gợi ý rằng các hợp chất alkaloid có khả năng tương tác hiệu quả với các cơ chế điều hòa quá trình sản sinh NO và cho thấy tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu và phát triển các tác nhân kháng viêm có nguồn gốc tự nhiên từ rễ loài Hoàng liên chân gà.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

❖ Về thành phần hóa học

Từ phần rễ của loài Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) đã phân lập và xác định cấu trúc của bốn hợp chất: noroxyhydrastine, berberin, oxyberberine và jatrorrhizine.

❖ Về hoạt tính sinh học

Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ rễ Hoàng liên chân gà cho thấy sự khác biệt rõ rệt. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH và hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên dòng tế bào RAW 264.7.

✓ *Hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH*

Đối với hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH, tất cả các hợp chất khảo sát đều có giá trị IC_{50} cao hơn ascorbic acid – chất đối chứng dương, cho thấy khả năng chống oxy hóa ở mức yếu đến trung bình.

✓ *Hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7*

Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO cho thấy các hợp chất alkaloid thể hiện tiềm năng kháng viêm rõ rệt. Berberin cho giá trị $IC_{50} = 18,52 \mu\text{M}$ thể hiện hoạt tính tốt nhất trong 4 hợp chất phân lập được. Trong khi oxyberberine, jatrorrhizine và noroxyhydrastine với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 20,67- 42,84 μM cũng cho thấy hiệu quả ức chế NO ở mức trung bình.

KIẾN NGHỊ

Việc phân lập được một số các hợp chất alkaloid đặc trưng của chi *Coptis*, trong đó có berberin và các dẫn xuất protoberberine đã được ghi nhận là nhóm hợp chất chính góp phần tạo nên nhiều tác dụng dược lý quan trọng của dược liệu. Tuy nhiên, thành phần hóa học của Hoàng liên chân gà vẫn còn tiềm năng chưa được khai thác đầy đủ. Do đó, cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu nhằm phân lập thêm các nhóm hợp chất khác đồng thời so sánh sự khác biệt về thành phần hóa học giữa các bộ phận của cây.

Bên cạnh đó, các chất chưa có nhiều phép thử hoạt tính sinh học cần có những nghiên cứu để thử thêm các hoạt tính khác như hoạt tính gây độc tế bào ung thư, hoạt tính kháng khuẩn để nghiên cứu về hoạt tính được phong phú hơn.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Bùi Thị Nhật Lệ, Nguyễn Thị Thu Minh, Đỗ Hoàng Giang, Nguyễn Thị Luyên, Nguyễn Thu Uyên, Hoàng Thùy Dương, Lưu Hải Nhi, Trương Ngọc Minh, Vũ Đức Nam, Tsvetelina Doncheva, Cao Thanh Hải, Ngô Thị Thúy Ngân, Nguyễn Tiến Đạt (2025), Phân lập một số hợp chất từ rễ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis*), *TNU Journal of Science and Technology*, 230(10), 434–440.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Wang Y., Sun J., Qiao P., Wang J., Wang M., Du Y., Guo L., 2022, Evolutionary history of genus *Coptis* and its dynamic changes in the potential suitable distribution area. *Front Plant Sci* 13, pp 1003368.
- [2] Phạm Hoàng Hộ, (2003). Cây cỏ Việt Nam. Hà Nội, NXB Trẻ. tr 329; Lợi Đ. T. (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Y học. tr 276.
- [3] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Trần Toàn, (2006). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật. tr 700.
- [4] Zheng Y., Zhang M., Wu X., Tan R. and Jiang H., 2024, *Coptis Chinensis* Franch: Substance Basis, Mechanism of Action and Quality Control Standard Revealed Based on the Q-marker Concept and New Strategy of Systemic Pharmacology and Biosynthesis Research. *Curr Top Med Chem* 24(23), pp 2013-2032.
- [5] Huang Z., Hou Z., Liu F., Zhang M., Hu W. and Xu S., 2021, Scientometric Analysis of Medicinal and Edible Plant *Coptis*. *Frontiers Pharmacology* 12, pp 725162.
- [6] Bensky D., Clavey S., Stöger E. and Gamble A. (2004). *Chinese herbal medicine: materia medica*. pp 1311
- [7] Phùng Tuấn Giang, 2018, Hoàng liên chân gà- dược liệu quý đa tác dụng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam* 56.
- [8] Commission C. P. (2010). Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing, China Medical Science Press. tr; Chen J., Wang F., Liu J., Lee F. S.-C., Wang X. and Yang H., 2008, Analysis of alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by accelerated solvent extraction combined with ultra performance liquid chromatographic analysis with photodiode array and tandem mass spectrometry detections. *Analytica Chimica Acta* 613(2), pp 184-195.
- [9] Jiang W., Zhang W., Jing C., Zhou H., Zhang Z.-J., Wang R. and Liu Y.-Q., 2026, Plant protoberberine alkaloids: structural diversity, biosynthesis, synthesis, biological activity, structure-activity relationships and clinical applications of berberine. *Phytochemistry* 242, pp 114690.
- [10] Nguyen Kim Van, Le Nhat Truong, Dang Vu Thu Thao, Oleh Koshovyi, Ain Raal và Nguyen Hoai Thu, 2025, Alkaloid Extraction from *Coptis chinensis* Franch. Using Ultrasound-Assisted Aqueous Solutions of Surfactants, Organic Acids, Deep Eutectic Solvents, and Supramolecular Deep Eutectic Solvents. *Molecules* 30(7), pp art.ID.1418.
- [11] Le Nhat Truong, Tran Thi Huong, Nguyen Van Kim Thu, Mai Thi Cam Chi và Nguyen Hoai Thu, 2026, Aqueous hydrotrope-based green extraction of

- alkaloids: insights into mechanism and experimentation with *Coptis chinensis*. *Separation and Purification Technology* 392, pp 137195.
- [12] Meng F.-C., Wu Z.-F., Yin Z.-Q., Lin L.-G., Wang R. and Zhang Q.-W., 2018, *Coptidis rhizoma* and its main bioactive components: recent advances in chemical investigation, quality evaluation and pharmacological activity. *Chin Med* 13(1), pp 13.
- [13] CHEN G., LI X. and CHEN G., 2016, Isolation and identification of lignans chemical constituents from *Coptis chinensis* and their inhibitory activity to protein tyrosine phosphatase-1B. *China Pharmacy*, pp 2197-2199, 2200.
- [14] Chen L., Wang L., Zhang Q., Zhang S. and Ye W., 2012, Non-alkaloid chemical constituents from *Coptis chinensis*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 37(9), pp 1241-1244.
- [15] FanCheng M., Lei W., Jian Z., ZhiQi Y., QingWen Z. and WenCai Y., 2013, Non-alkaloid chemical constituents from the rhizome of *Coptis teeta*. *Journal of China Pharmaceutical University*, 44(4), pp. 307–310.
- [16] Yoshikawa K., Kinoshita H. and Arihara S., 1997, Non-Basic Components of *Coptis Rhizoma* (2) Four New Hemiterpenoid Glucosides, Two New Phenylpropanoid Glucosides and a New Flavonoid Glycoside from *Coptis japonica* var *dissecta*. *Natural medicines* 51(3), pp 244-248;
- [17] Li D., Zhou L., Wang Q. and He Y., 2018, Determination of organic acids for quality evaluation in *Coptis* herbs by ion chromatography. *3 Biotech* 8(6), pp 285.
- [18] Wang J., Wang L., Lou G. H., Zeng H. R., Hu J., Huang Q. W., Yang X. B., 2019, *Coptidis Rhizoma*: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Pharm Biol* 57(1), pp 193-225.
- [19] Wang X., Liang F., Dai Z., Feng X. and Qiu F., 2024, Combination of *Coptis chinensis* polysaccharides and berberine ameliorates ulcerative colitis by regulating gut microbiota and activating AhR/IL-22 pathway. *Journal of Ethnopharmacology* 318, pp 117050.
- [20] Wei L., Mi S., Wei L., Pu D., Zhu M., Lu Q., Zu Y., 2023, Integrated extraction-purification and anti-inflammatory activity of berberine-rich extracts from *Coptis chinensis* Franch. *Industrial Crops and Products* 202, pp 117029.
- [21] Sarma L., Sharma M., Majumder M., Borah P. K., Mukhopadhyay R. and Duary R. K., 2025, Modulation of pro-inflammatory mRNA expression by *Sesamum indicum* and *Coptis teeta*. *Pharmacological Research - Natural Products* 8, pp 100289.

- [22] Zhao C., Wang Y., Yuan X., Sun G., Shen B., Xu F., Liu G., 2019, Berberine inhibits lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory cytokines by suppressing TLR4-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways in rumen epithelial cells of Holstein calves. *Journal of Dairy Research* 86(2), pp 171-176.
- [23] Kim E., Ahn S., Rhee H.-i. and Lee D.-c., 2016, Coptis chinensis Franch. extract up-regulate type I helper T-cell cytokine through MAPK activation in MOLT-4 T cell. *Journal of Ethnopharmacology* 189, pp 126-131.
- [24] Wu J., Zhang H., Hu B., Yang L., Wang P., Wang F. and Meng X., 2016, Coptisine from Coptis chinensis inhibits production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells. *Eur J Pharmacol* 780, pp 106-114.
- [25] Wang J., An G., Peng X., Zhong F., Zhao K., Qi L. and Ma Y., 2024, Effects of three Huanglian-derived polysaccharides on the gut microbiome and fecal metabolome of high-fat diet/streptozocin-induced type 2 diabetes mice. *International Journal of Biological Macromolecules* 273, pp 133060.
- [26] Xu R., Chen Y., Yang Y., Wang C., Wu D. and Wang T., 2026, Targeting hypoxia: the role of ethanolic extract of Coptis chinensis Franch. in modulating HIF-1 α /IL-17 axis in oropharyngeal candidiasis. *Journal of Ethnopharmacology*, pp 121413.
- [27] Nguyễn T. D. and Nguyễn T. V. A., 2023, NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ CỦA KEM BERBERIN 1% TẠI CHỖ VẾT THƯƠNG MẠN TÍNH. *Tạp chí Y học Việt Nam* 532(2).
- [28] Tran V. V. and Nguyen Q. T., 2022, Evaluation the in vitro effect of nano berberine on some biological properties of human gingival fibroblasts. *Cantho Journal of Medicine and Pharmacy*(51), pp 63-68.
- [29] García-Muñoz A. M., Victoria-Montesinos D., Ballester P., Cerdá B. and Zafrilla P., 2024, A Descriptive Review of the Antioxidant Effects and Mechanisms of Action of Berberine and Silymarin. *Molecules* 29(19), pp 4576.
- [30] Ma B., Zhu L., Zang X., Chen Y., Li D. and Wang Y., 2013, Coptis chinensis inflorescence and its main alkaloids protect against ultraviolet-B-induced oxidative damage. *Journal of Functional Foods* 5(4), pp 1665-1672.
- [31] Tan Y., Tang Q., Hu B. R. and Xiang J. Z., 2007, Antioxidant properties of berberine on cultured rabbit corpus cavernosum smooth muscle cells injured by hydrogen peroxide. *Acta Pharmacol Sin* 28(12), pp 1914-1918.
- [32] Himashree B., Madhu K., Sidharth C. and Pradeep K., 2022, Evaluation of Phytochemical Components, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Coptis teeta* Walls. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences* 11(4), pp 140-150.

- [33] Li M., Tian F., Guo J., Li X., Ma L., Jiang M. and Zhao J., 2023, Therapeutic potential of *Coptis chinensis* for arthritis with underlying mechanisms. *Frontiers Pharmacology* 14, pp 1243820.
- [34] Imenshahidi M. and Hosseinzadeh H., 2016, Berberis Vulgaris and Berberine: An Update Review. *Phytotherapy Research* 30(11), pp 1745-1764; Fu S., Yi X., Li Y., Li Y., Qu X., Miao P. and Xu Y., 2024, Berberine and chlorogenic acid-assembled nanoparticles for highly efficient inhibition of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hazardous Materials* 473, pp 134680.
- [35] Hui C. C., Lee F. W. F., Lung W. C. H., Fan K. C., Wong I. T. F., Siu G. K. H., Tam E. W. T., 2025, Ultrasound-Assisted Extraction: Unlocking the Antibacterial Potential of *Coptis chinensis* Franch. Against ESBL-Producing Enterobacterales. *Molecules* 30(22), pp.
- [36] Yokozawa T., Ishida A., Cho E. J. and Nakagawa T., 2003, The effects of *Coptidis Rhizoma* extract on a hypercholesterolemic animal model. *Phytomedicine* 10(1), pp 17-22.
- [37] Kong W., Wei J., Abidi P., Lin M., Inaba S., Li C., Jiang J. D., 2004, Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med* 10(12), pp 1344-1351.
- [38] Guo R., Zhang S., Li A., Zhang P., Peng X., Lu X. and Fan X., 2025, Ginsenoside Rb1 and berberine synergistically protect against type 2 diabetes mellitus via GDF15/HAMP pathway throughout the liver lobules: Insights from spatial transcriptomics analysis. *Pharmacology Research* 215, pp 107711.
- [39] Jiang S., Wang Y., Ren D., Li J., Yuan G., An L., Ma J. J. P. b., 2015, Antidiabetic mechanism of *Coptis chinensis* polysaccharide through its antioxidant property involving the JNK pathway. 53(7), pp 1022-1029; Yang Y., Li Y., Yin D., Chen S. and Gao X., 2016, *Coptis chinensis* Polysaccharides Inhibit Advanced Glycation End Product Formation. *J Med Food* 19(6), pp 593-600.
- [40] Lau C. W., Yao X. Q., Chen Z. Y., Ko W. H. and Huang Y., 2001, Cardiovascular actions of berberine. *Cardiovasc Drug Rev* 19(3), pp 234-244; Feng X., Sureda A., Jafari S., Memariani Z., Tewari D., Annunziata G., Shen A. Z., 2019, Berberine in Cardiovascular and Metabolic Diseases: From Mechanisms to Therapeutics. *Theranostics* 9(7), pp 1923-1951; Ko W. H., Yao X. Q., Lau C. W., Law W. I., Chen Z. Y., Kwok W., Huang Y., 2000, Vasorelaxant and antiproliferative effects of berberine. *Eur J Pharmacol* 399(2-3), pp 187-196.

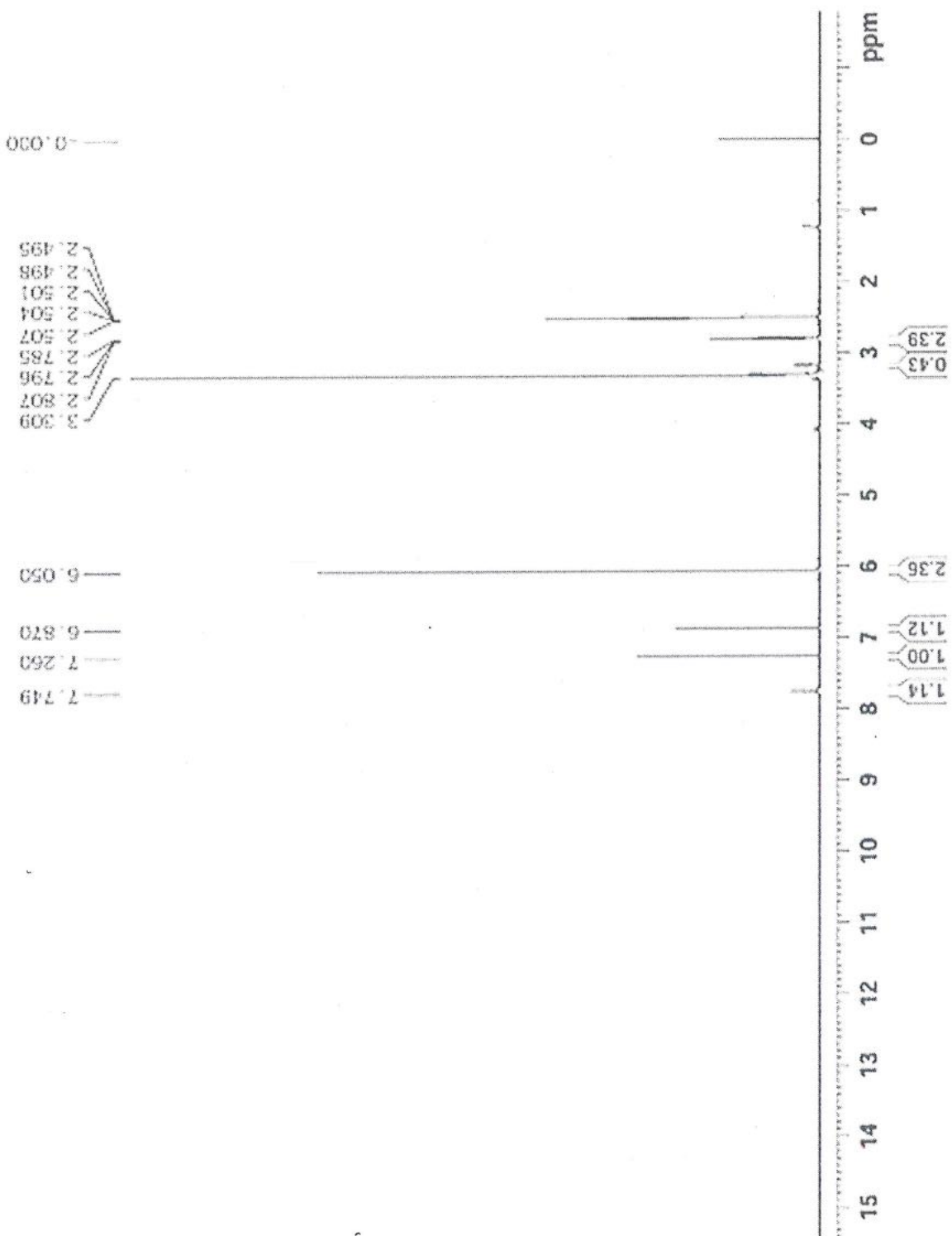
- [41] Tan H. L., Chan K. G., Pusparajah P., Duangjai A., Saokaew S., Mehmood Khan T., Goh B. H., 2016, Rhizoma Coptidis: A Potential Cardiovascular Protective Agent. *Frontiers Pharmacology* 7, pp 362.
- [42] Yuan R., Tan Y., Sun P.-H., Qin B. and Liang Z., 2023, Emerging trends and research foci of berberine on tumor from 2002 to 2021: A bibliometric article of the literature from WoSCC. *Front Pharmacol* Volume 14 - 2023, pp. Art. 1122890.
- [43] Nakonieczna S., Grabarska A., Gawel K., Wróblewska-Łuczka P., Czerwonka A., Stepulak A. and Kukula-Koch W., 2022, Isoquinoline alkaloids from *Coptis chinensis* Franch: Focus on coptisine as a potential therapeutic candidate against gastric cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences* 23(18), pp 10330.
- [44] Nguyễn B. H., T.T. B. and T. N. T. K., 2017, Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase *in vitro* của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch, họ Ranunculaceae). *Tạp chí Y Dược học* 57(8), pp 23-25.
- [45] Cao T. Q., Ngo Q. T., Seong S. H., Youn U. J., Kim J. A., Kim J., Min B. S., 2018, Cholinesterase inhibitory alkaloids from the rhizomes of *Coptis chinensis*. *Bioorg Chem* 77, pp 625-632.
- [46] Wang N., Wei X., Zhou P., Wu W., Liu J., Zhu H., Zhang Q., 2025, Palmatine mitigates ischemic brain injury by regulating microglial polarization and sphingolipid metabolism. *Int Immunopharmacol* 165, pp 115444.
- [47] Dong Q.H. N. Q. T., Nguyen N. M., Le T. H., 2020, Study on formulation and evaluation of burn removal cream from *Aloe vera* L., *Centella asiatica* URB., *Coptis chinensis* Frach. *TNU Journal of Science and Technology* 225(8), pp 161-167.
- [48] Zhang H.-J., Fu J., Yu H., Xu H., Hu J.-C., Lu J.-Y., Wang Y., 2024, Berberine promotes the degradation of phenylacetic acid to prevent thrombosis by modulating gut microbiota. *Phytomedicine* 128, pp 155517.
- [49] Le K., Tran D., Nguyen A. and Le L., 2020, A Screening of Neuraminidase Inhibition Activities of Isoquinolone Alkaloids in *Coptis chinensis* Using Molecular Docking and Pharmacophore Analysis. *ACS Omega* 5(46), pp 30315-30322.
- [50] Mao Q., Liu J., Yan Y., Wang G., Zhang M., Wang Z., Yang B., 2025, 13-Methylpalmatine alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by suppressing the ITGA5/TGF- β /Smad signaling pathway. *Phytomedicine* 140, pp 156545.
- [51] Yin D., Cao X., Li S., Zhang Y., Gao C., Zhu M. and Li D., 2025, Antiallergic activities of polysaccharides derived from *Coptis chinensis*. *International Journal of Biological Macromolecules* 315(Pt 2), pp 144681.

- [52] Shahat A. A., Cos P., Hermans N., Apers S., Bruyne T. D., Pieters L., Vlietinck A. J., 2003, Anticomplement and Antioxidant Activities of New Acetylated Flavonoid Glycosides from *Centaureum spicatum*. *Planta Medica* 69(12), pp 1153-1156; Okawa M., Kinjo J., Nohara T. and Ono M., 2001, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 24(10), pp 1202-1205.
- [53] Dirsch V. M., Stuppner H. and Vollmar A. M., 1998, The Griess assay: suitable for a bio-guided fractionation of anti-inflammatory plant extracts. *Planta Medica* 64(05), pp 423-426.
- [54] Nathan C., 1992, Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb j* 6(12), pp 3051-3064.
- [55] Nan Z. D., Zhu Y. D., Deng C. F., Jiang G. D., Wang Z. Z., Li C. L., Jiang Z. B., 2025, Nitrogenous chemical constituents and their antitumor activities evaluation *in vitro* from the aerial parts of *Corydalis impatiens* (pall.) Fisch. *Nat Prod Res* 39(5), pp 1027-1038.
- [56] Krane B. D. and Shamma M., 1982, The isoquinolone alkaloids. *Journal of Natural Products* 45(4), pp 377-384.
- [57] Danoun S., Balayssac S., Gilard V., Martino R. and Malet-Martino M., 2023, Quality evaluation of berberine food supplements with high-field and compact 1H NMR spectrometers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 223, pp 115161; Wang L., Zhang S.-Y., Chen L., Huang X.-J., Zhang Q.-W., Jiang R.-W., Ye W.-C., 2014, New enantiomeric isoquinoline alkaloids from *Coptis chinensis*. *Phytochemistry Letters* 7, pp 89-92.
- [58] Sami F. J. and Nur S. J. J. K. I., 2024, Cytotoxic Effect, Antibacterial Activity, and *in Silico* Evaluation of Berberine Compound from Methanolic Extract of *Arcangelisia flava* Merr Stems. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, pp 39-50.
- [59] Min Y. D., Yang M. C., Lee K. H., Kim K. R., Choi S. U. and Lee K. R., 2006, Protoberberine alkaloids and their reversal activity of P-gp expressed multidrug resistance (MDR) from the rhizome of *Coptis japonica* Makino. *Arch Pharm Res* 29(9), pp 757-761.
- [60] Deng Y., Zhang M., Luo H. J. I. c. and products, 2012, Identification and antimicrobial activity of two alkaloids from traditional Chinese medicinal plant *Tinospora capillipes*. *Industrial Crops and Products* 37(1), pp 298-302.
- [61] Yang X., Bu T., Ma Y., Yu X., Gong Z., Wang J., Shang X., 2025, An updated review of isoquinoline alkaloids: Biological activity and mode of action,

- structural modifications, and agricultural applications. *Industrial Crops and Products* 234, pp 121591.
- [62] Wang J., Wang L., Lou G. H., Zeng H. R., Hu J., Huang Q. W., Yang X. B., 2019, Coptidis Rhizoma: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Pharm Biol* 57(1), pp 193-225.
- [63] Bhuia M. S., Aktar M. A., Chowdhury R., Ferdous J., Rahman M. A., Hasan M. S. A. and Islam M. T., 2023, Therapeutic potentials of ononin with mechanistic insights: A comprehensive review. *Food Bioscience* 56, pp 103302.
- [64] Gavanji S., Bakhtari A., Famurewa A. C. and Othman E. M., 2023, Cytotoxic Activity of Herbal Medicines as Assessed in Vitro: A Review. *Chemistry Biodiversity* 20(2), pp e202201098.
- [65] Papi S., Ahmadizar F. and Hasanvand A., 2019, The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. *Immunopathologia Persa* 5(1), pp e08-e08.
- [66] Zhang Q., Piao X. L., Piao X. S., Lu T., Wang D. and Kim S. W., 2011, Preventive effect of Coptis chinensis and berberine on intestinal injury in rats challenged with lipopolysaccharides. *Food Chem Toxicol* 49(1), pp 61-69.
- [67] Wu J., Zhang H., Hu B., Yang L., Wang P., Wang F. and Meng X., 2016, Coptisine from Coptis chinensis inhibits production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells. *Eur J Pharmacol* 780, pp 106-114.

PHỤ LỤC

CCl₄-DMSO-1H



CCl₄-DMSO-1H



2.507
2.504
2.501
2.498
2.495

2.807
2.796
2.785

3.175
3.166

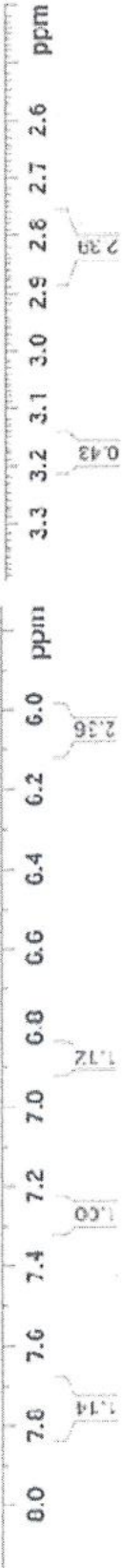
3.309

6.050

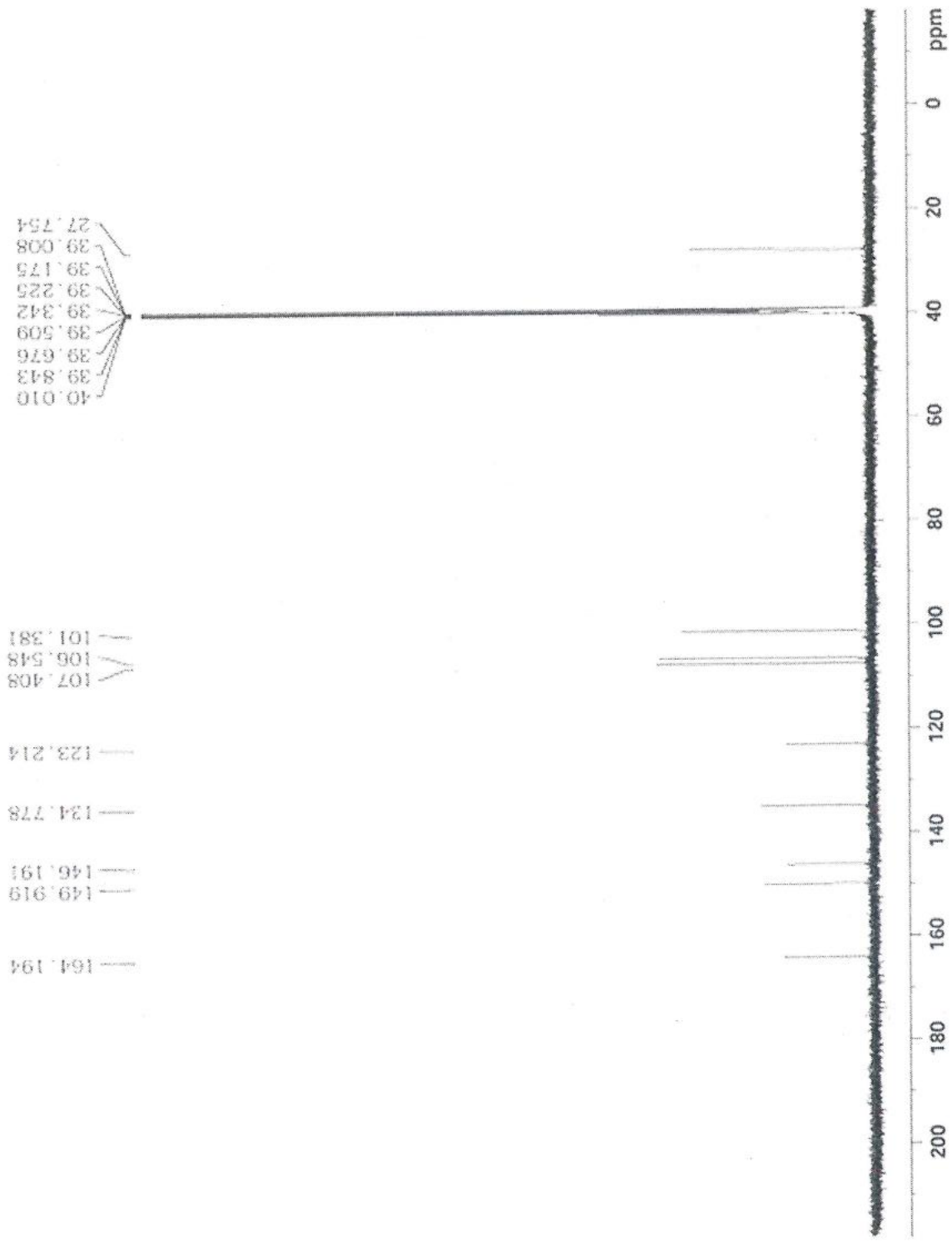
6.870

7.260

7.749



CC1 - DMSO - C13CPD



CCl - DMSO - C13CPD



40.010
39.843
39.676
39.509
39.342
39.225
39.175
39.008
27.754

101.381
107.408
106.548

123.214

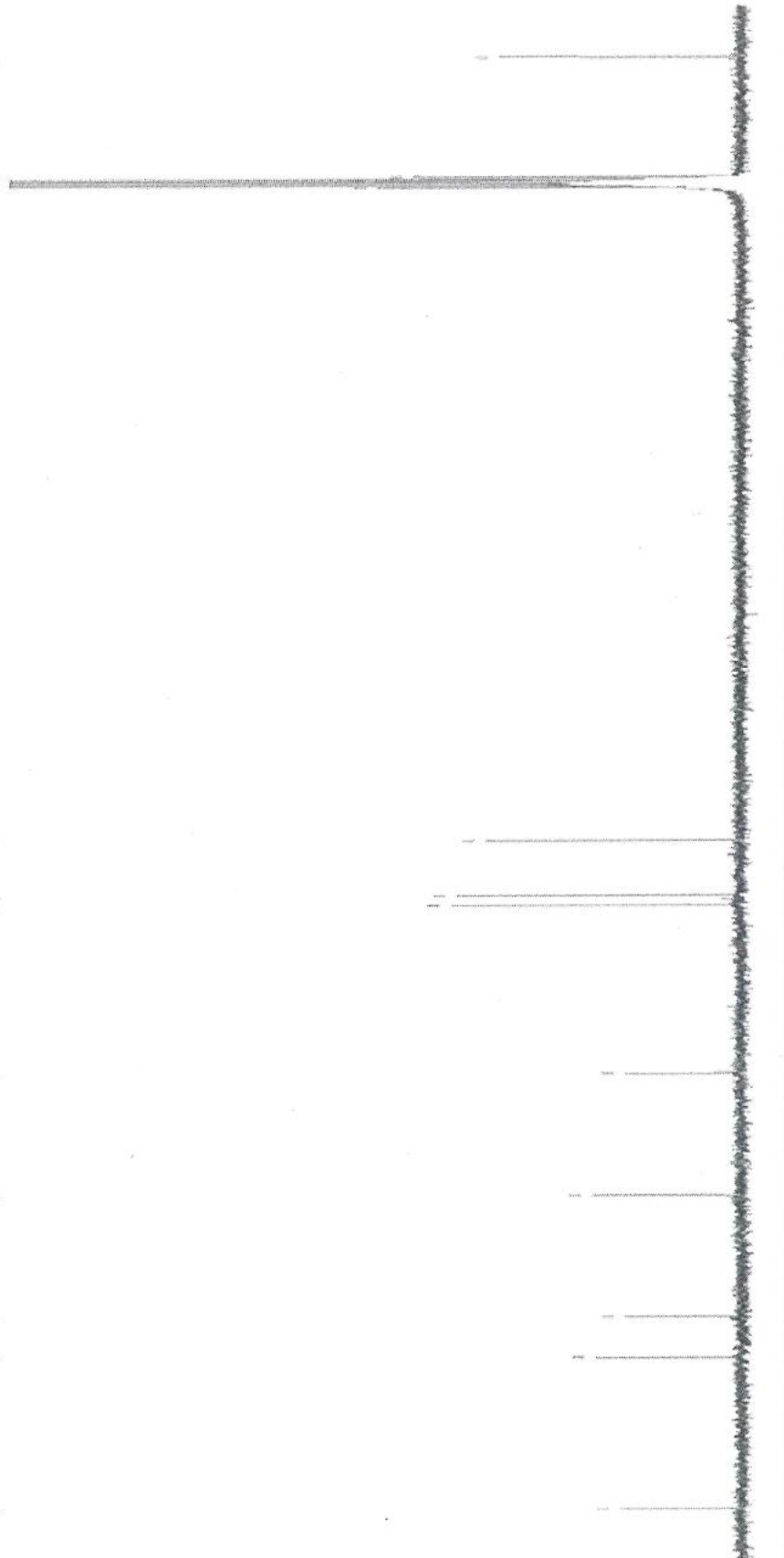
134.778

146.191

149.919

164.194

165 160 155 150 145 140 135 130 125 120 115 110 105 100 95 90 85 80 75 70 65 60 55 50 45 40 35 30 ppm

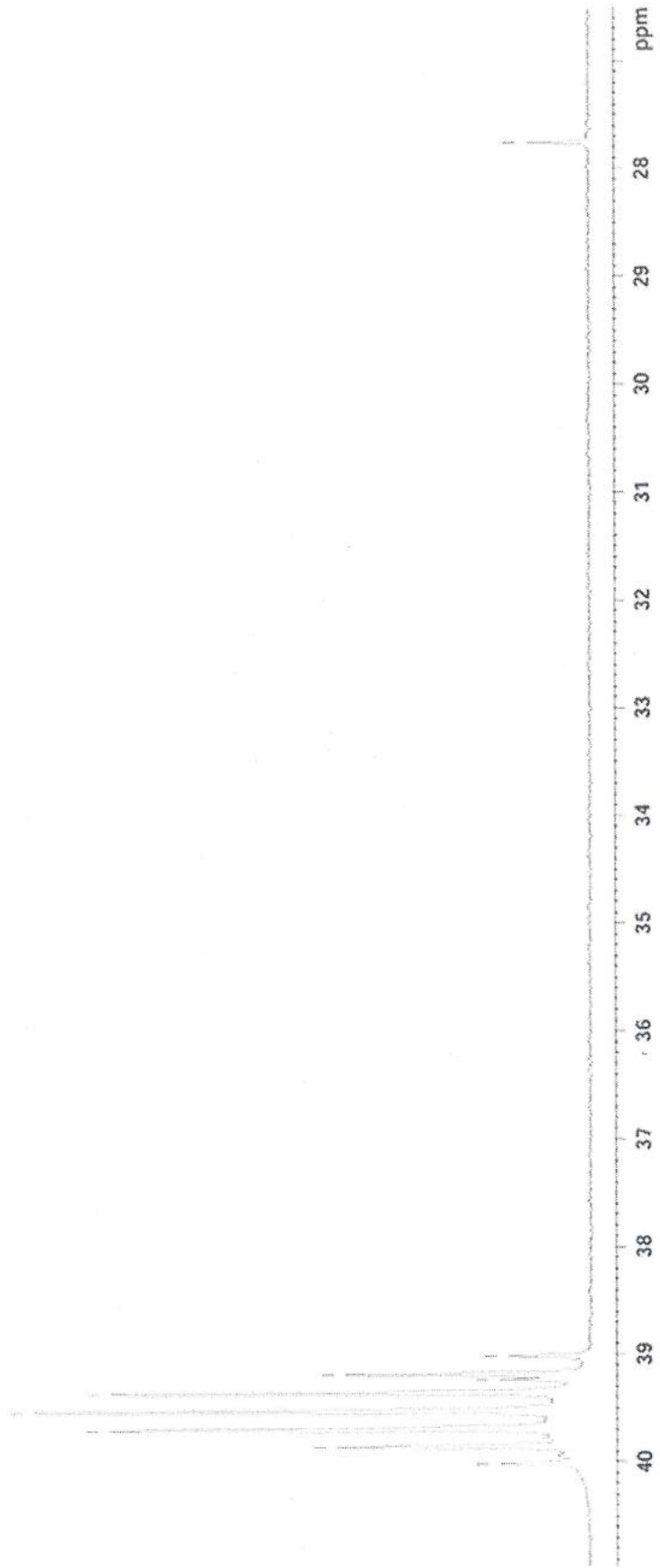




CCI-DMSO-C13CPD

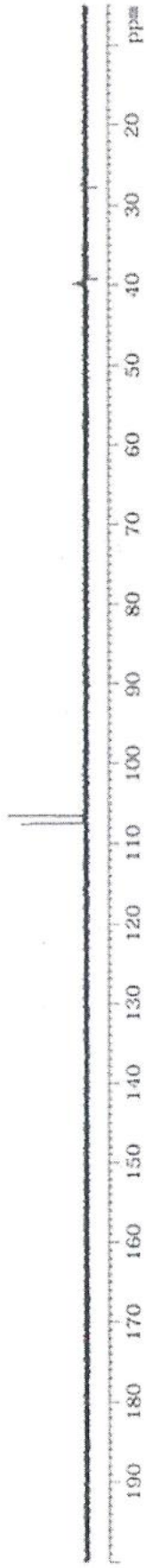
27.754

40.010
39.843
39.676
39.509
39.342
39.225
39.175
39.008



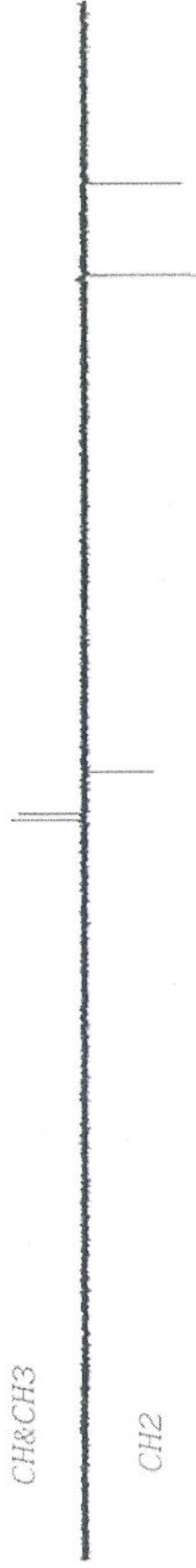
CC1-DMSO-C13CPD&DEPT

DEPT90



DEPT135

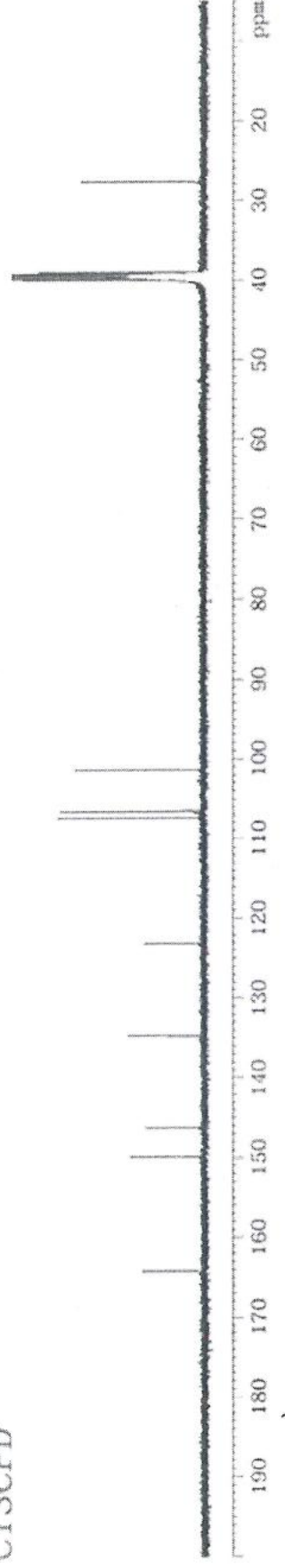
CH&CH3



CH2

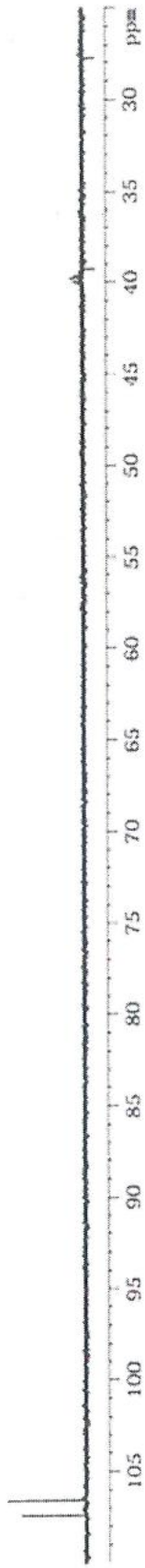


C13CPD

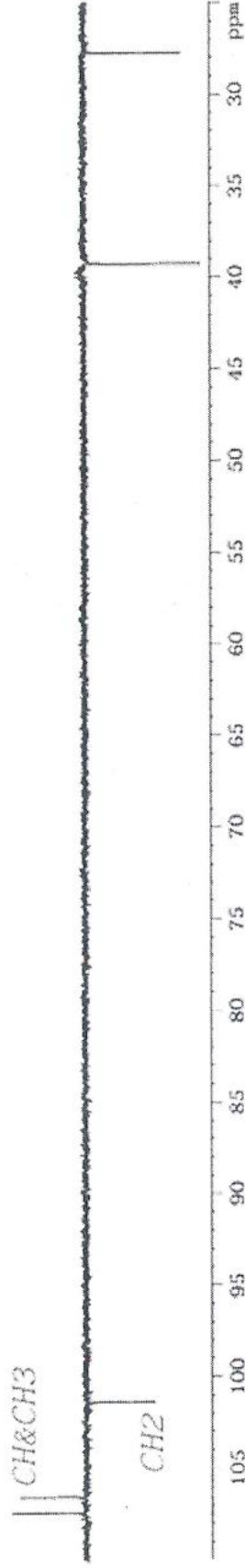


CCl - DMSO - C13CPD&DEPT

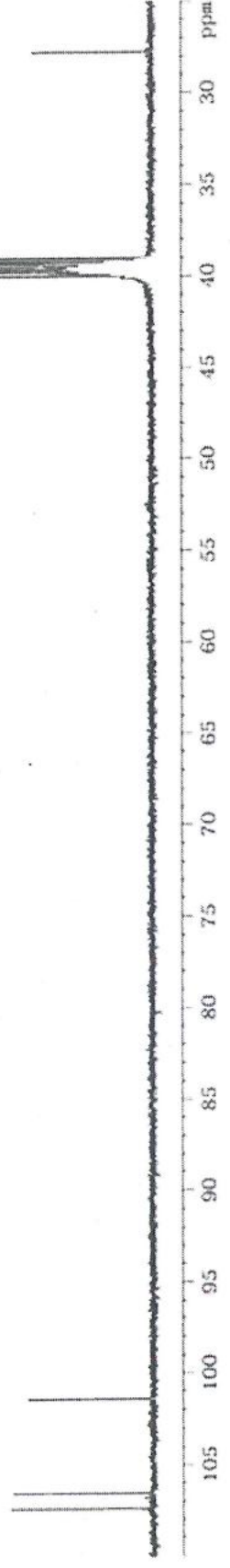
DEPT90



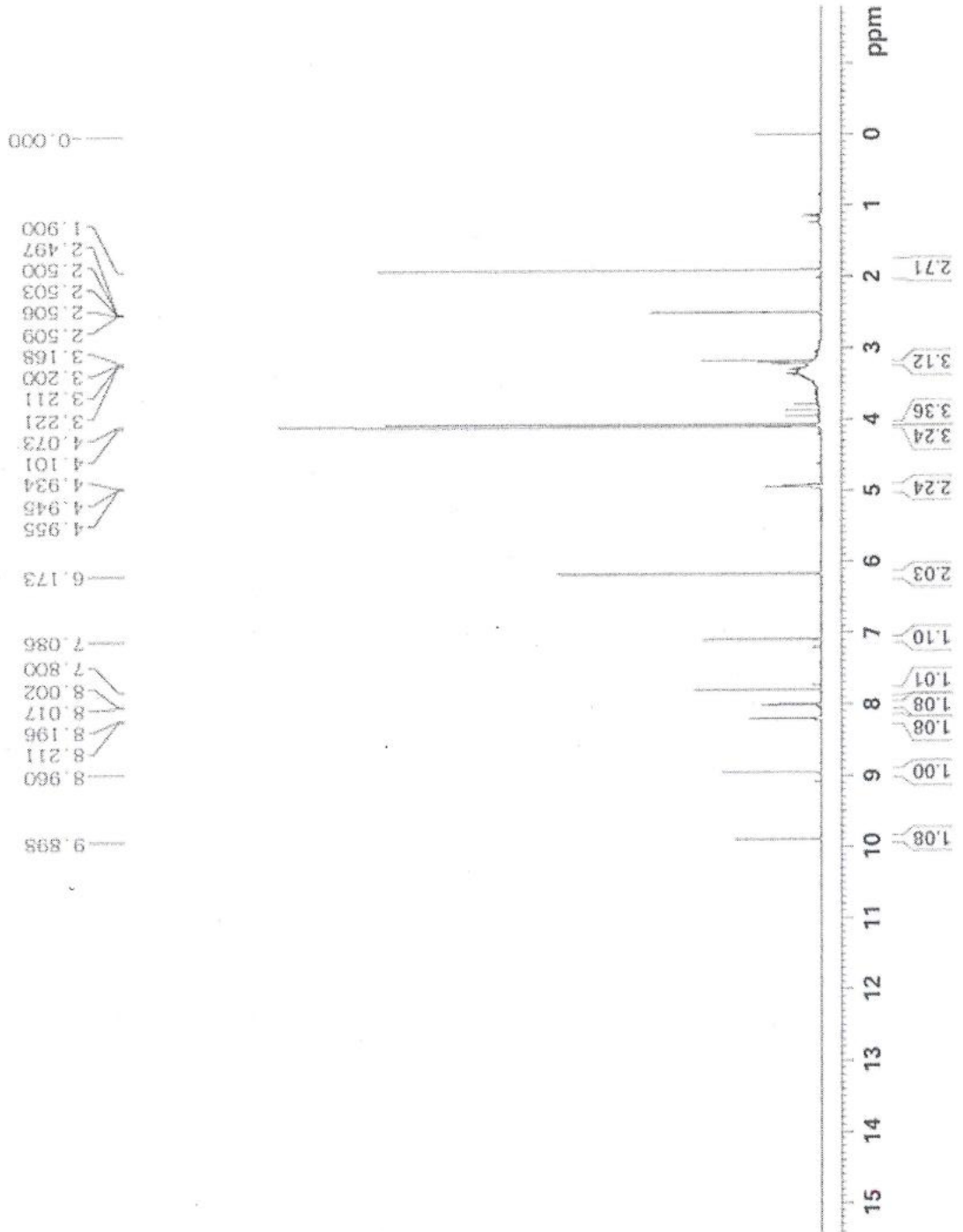
DEPT135



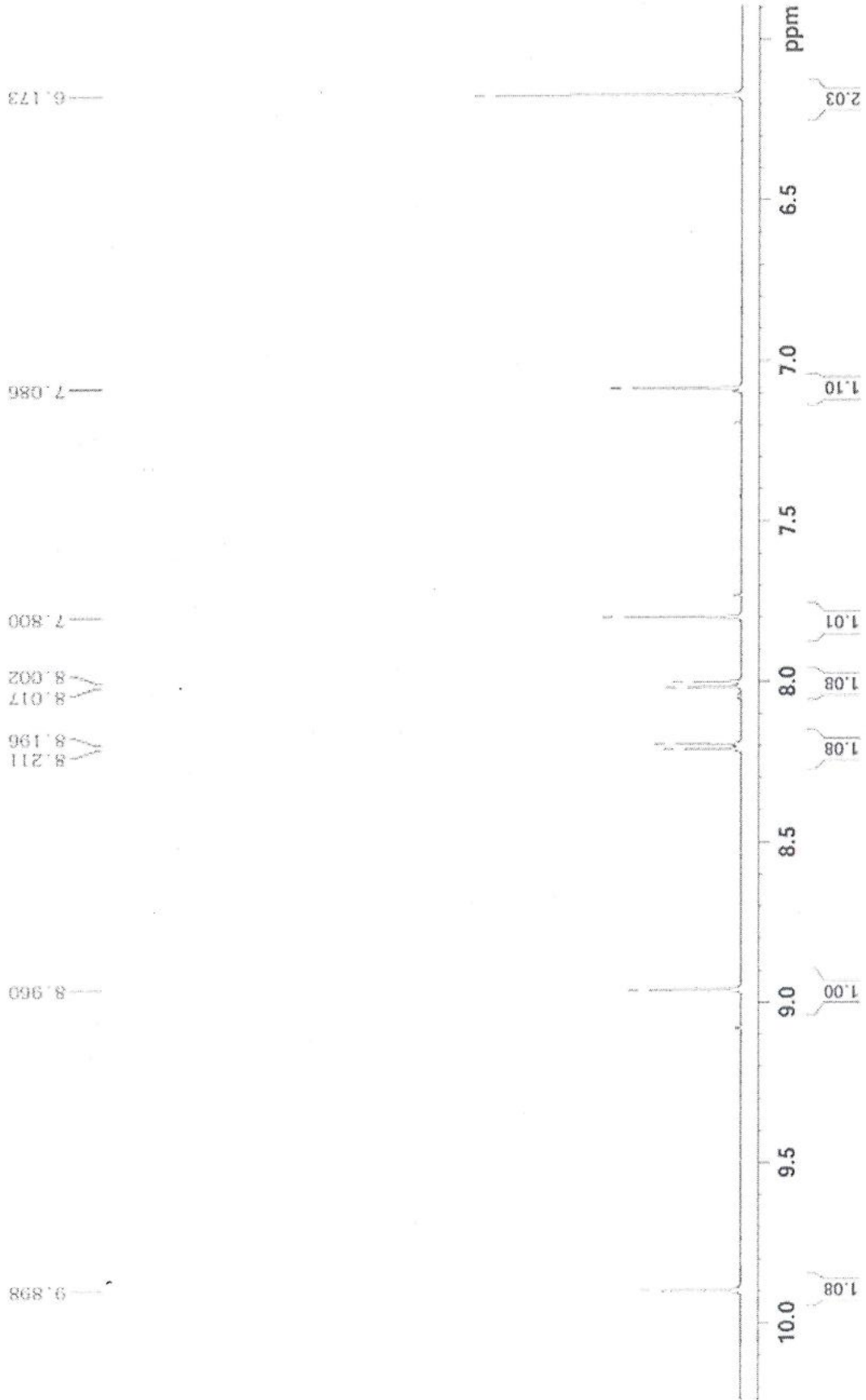
C13CPD



CC2-DMSO-1H



CC2-DMSO-1H



CC2-DMSO-1H



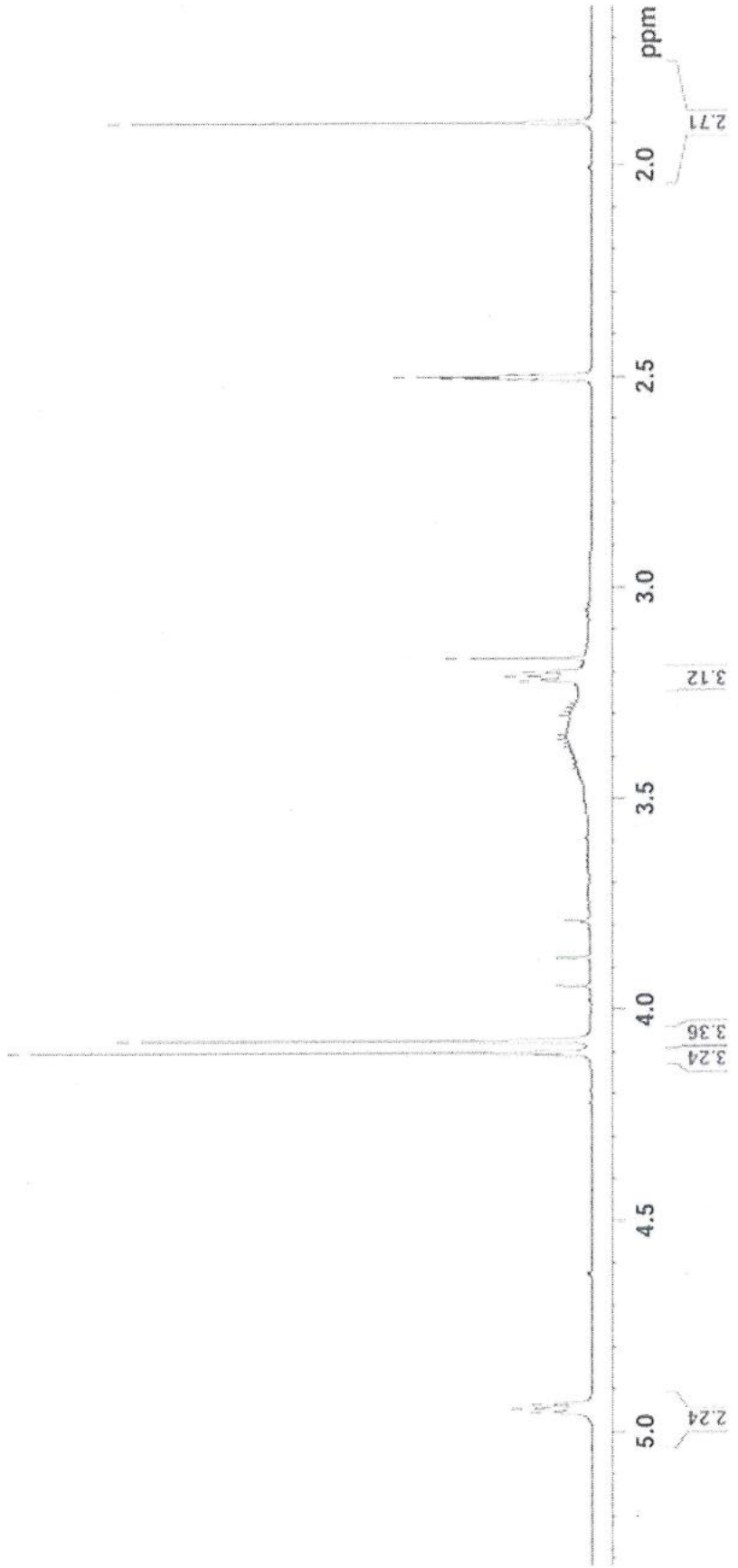
1.900

2.509
2.506
2.503
2.500
2.497

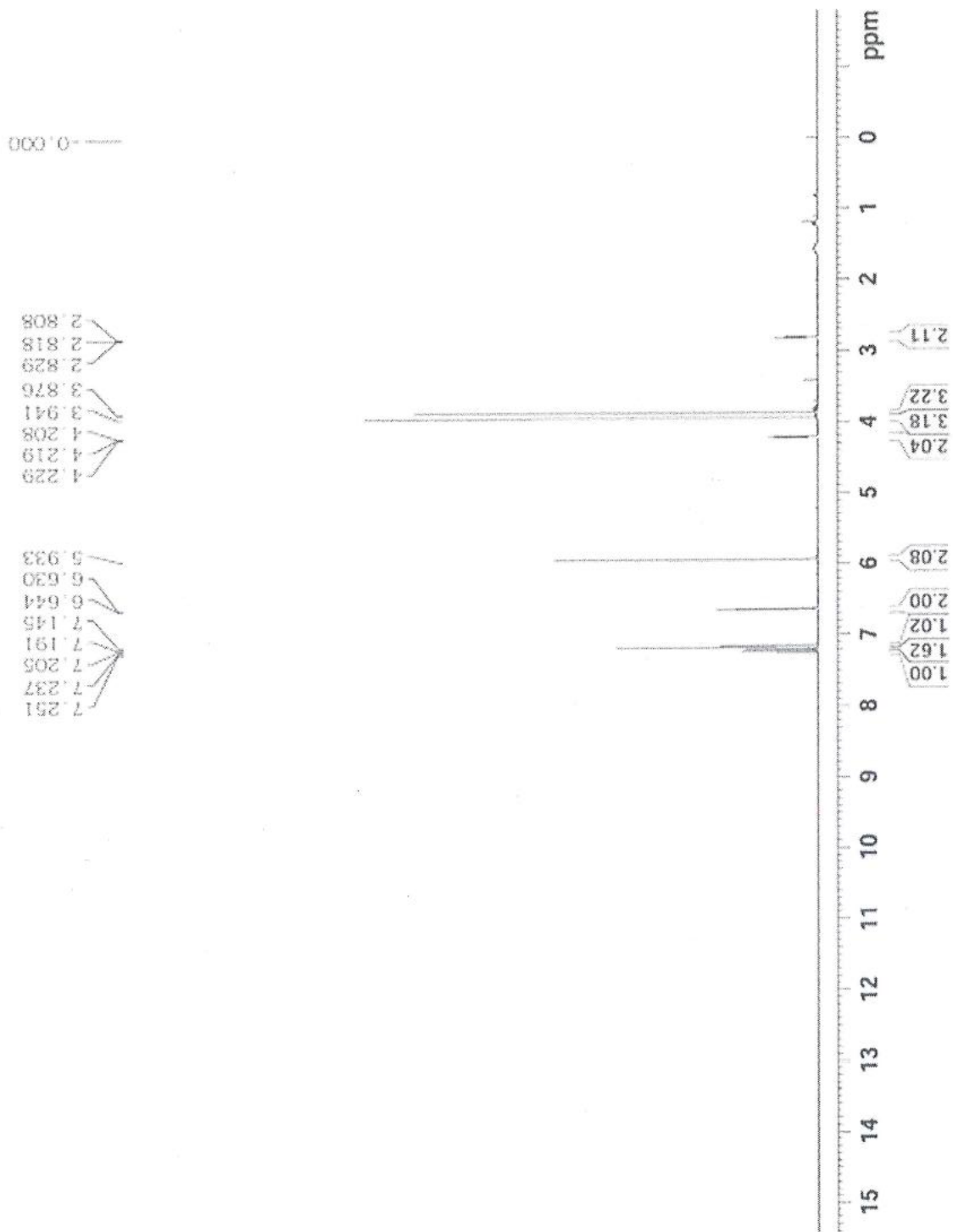
3.221
3.211
3.200
3.168

4.101
4.073

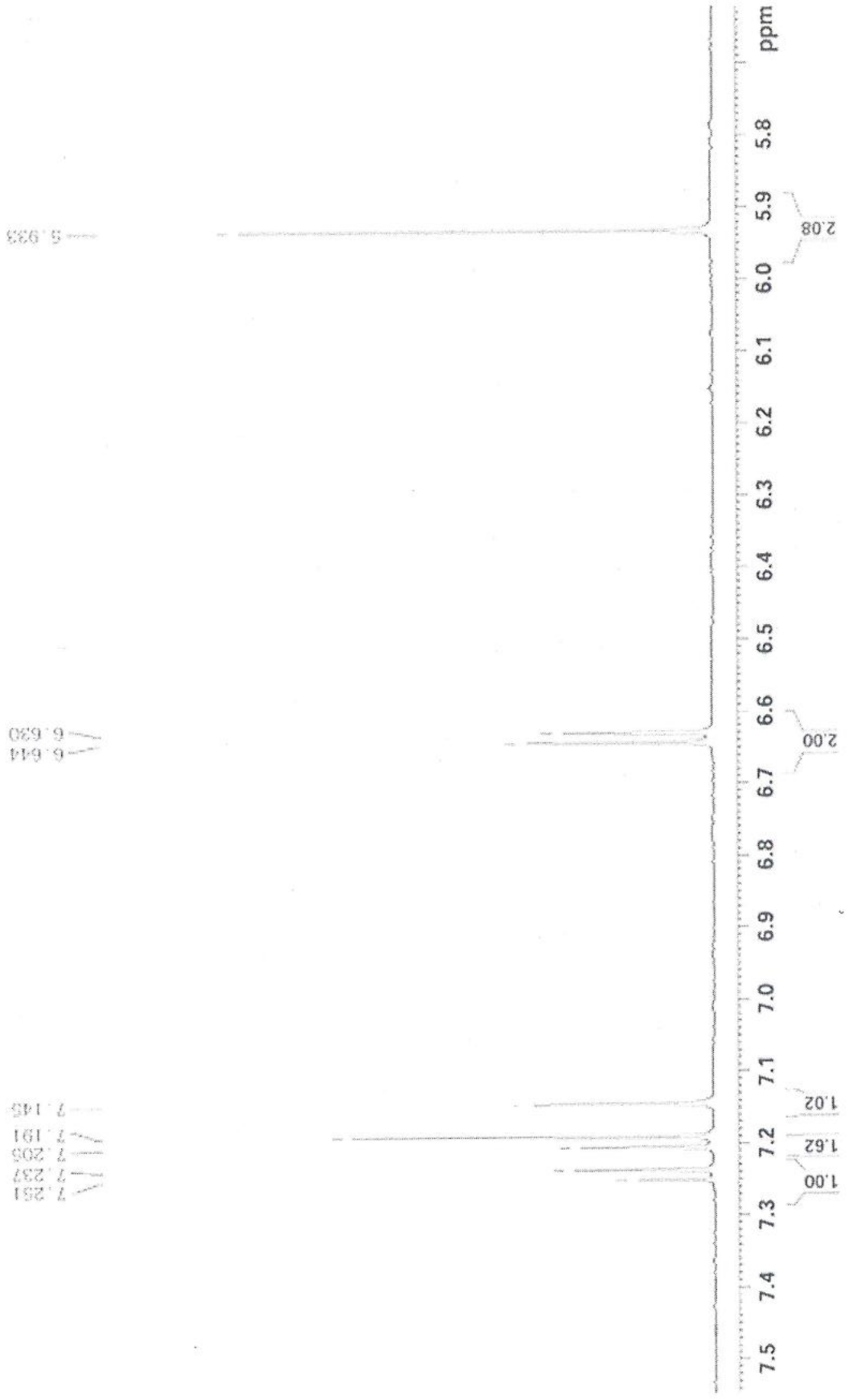
4.955
4.945
4.934



CC3-CDC13-1H



CC3-CDC13-1H

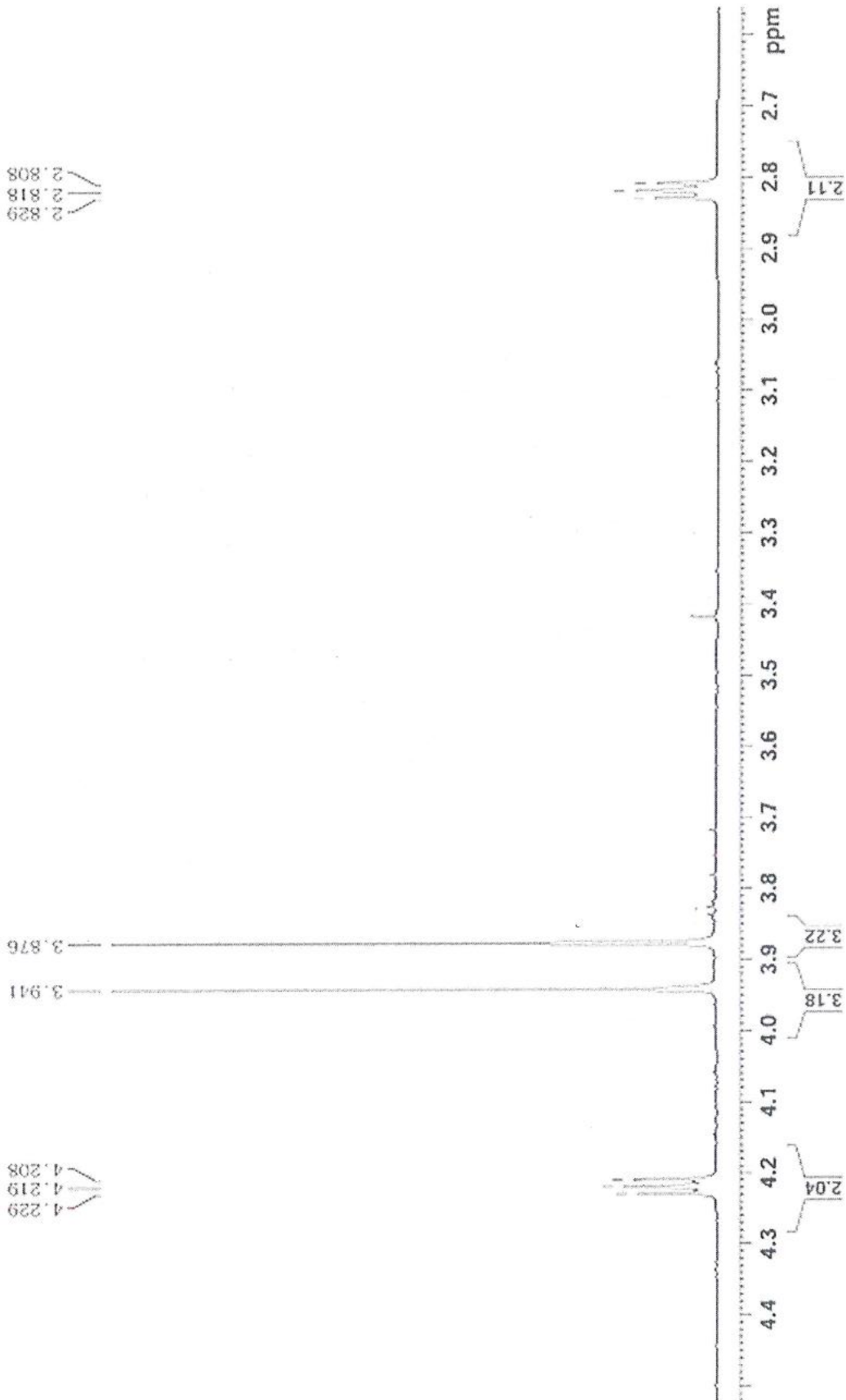


CC3-CDC13-1H

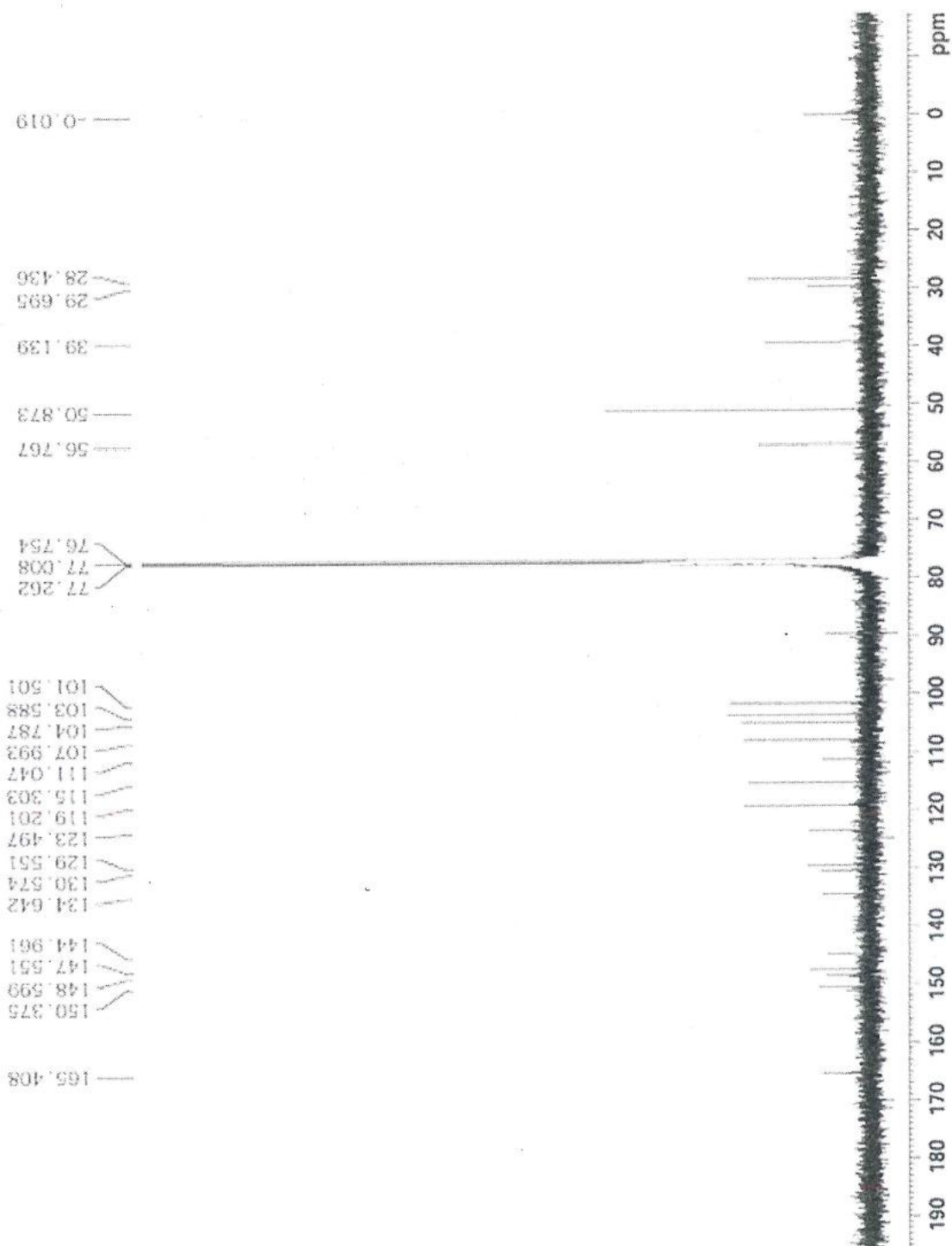


2.829
2.818
2.808

4.229
4.219
4.208

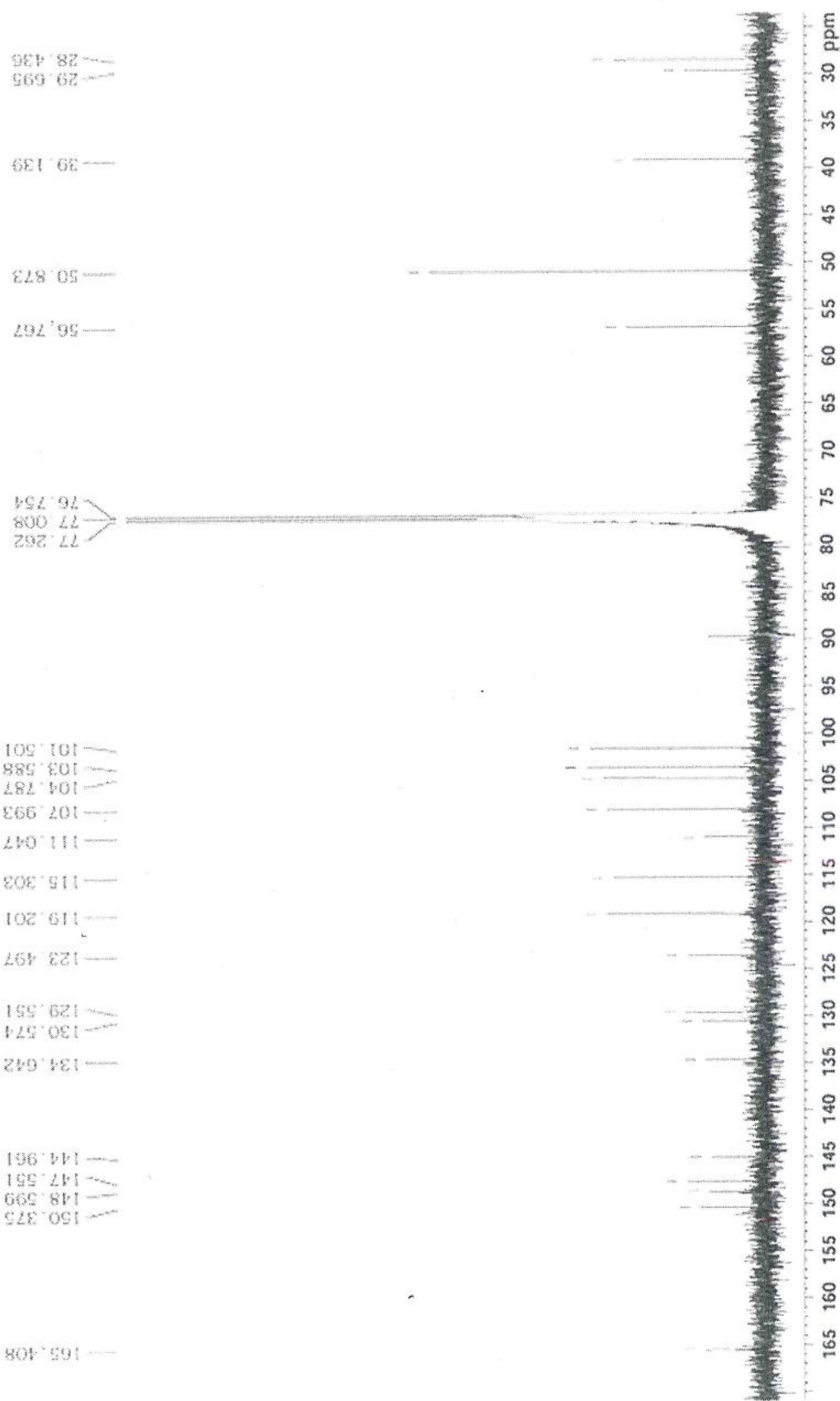


CC3 - CDC13-C13CPD



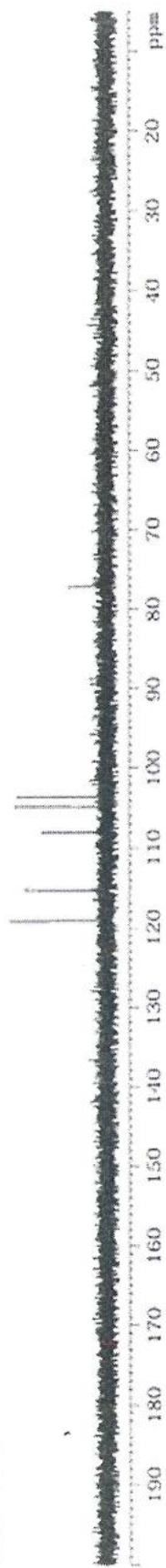


CC3 - CDCl3 - C13CPD



CC3 - CDCI3 - C13CPD&DEPT

DEPT90



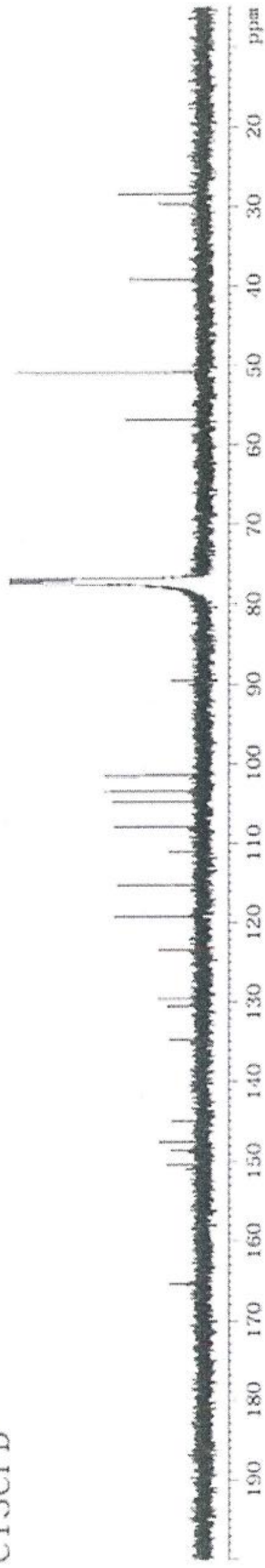
DEPT135

CH&CH3

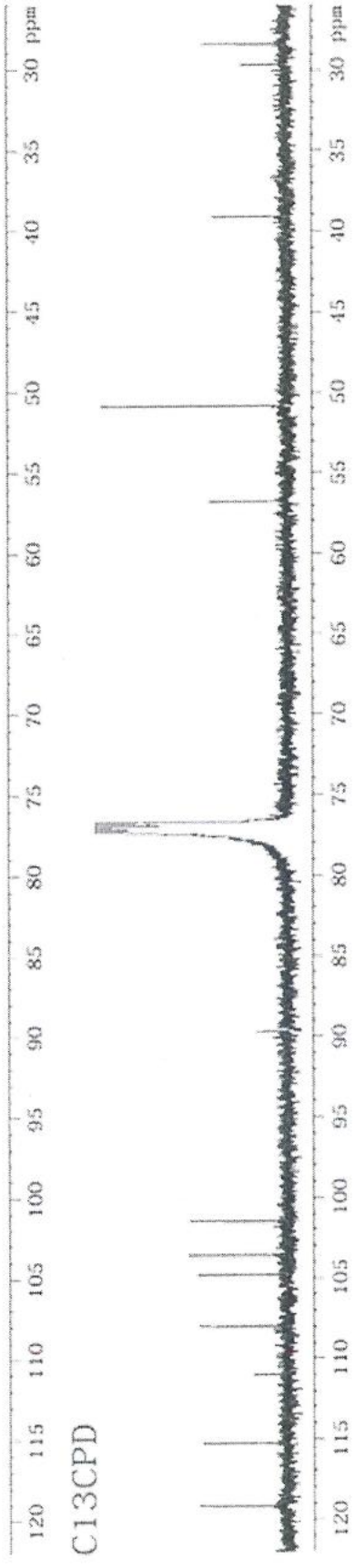
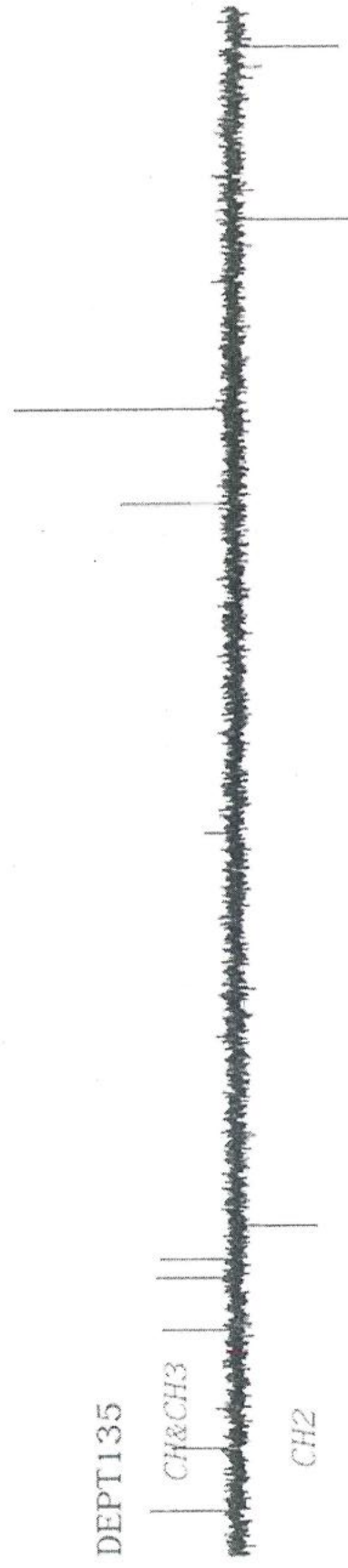
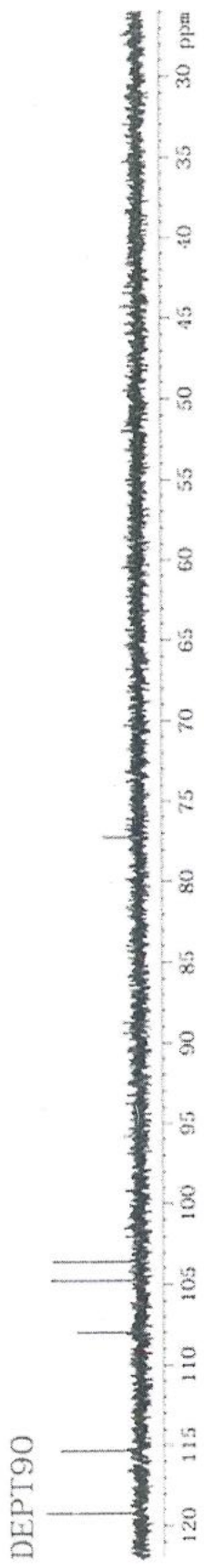
CH2



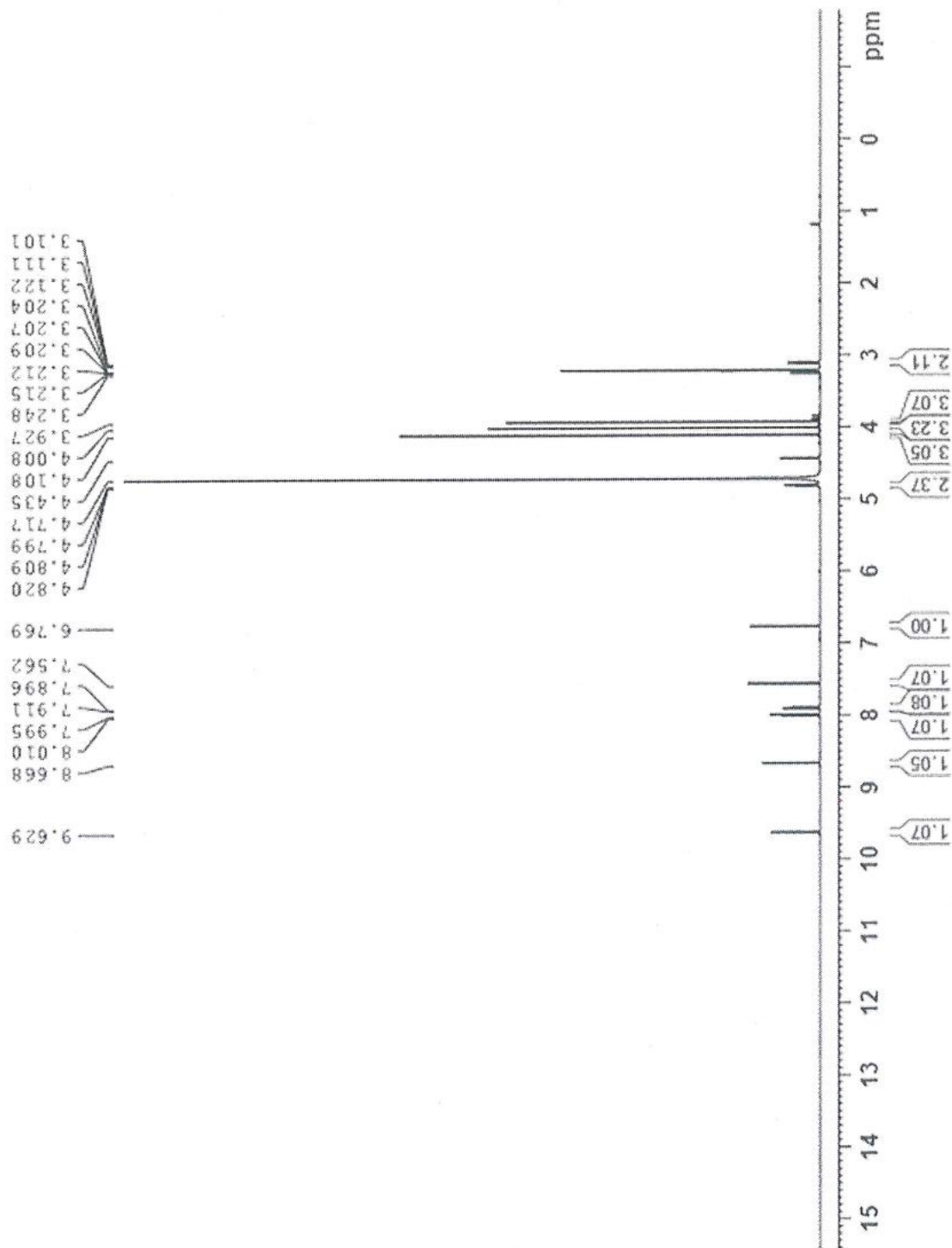
C13CPD



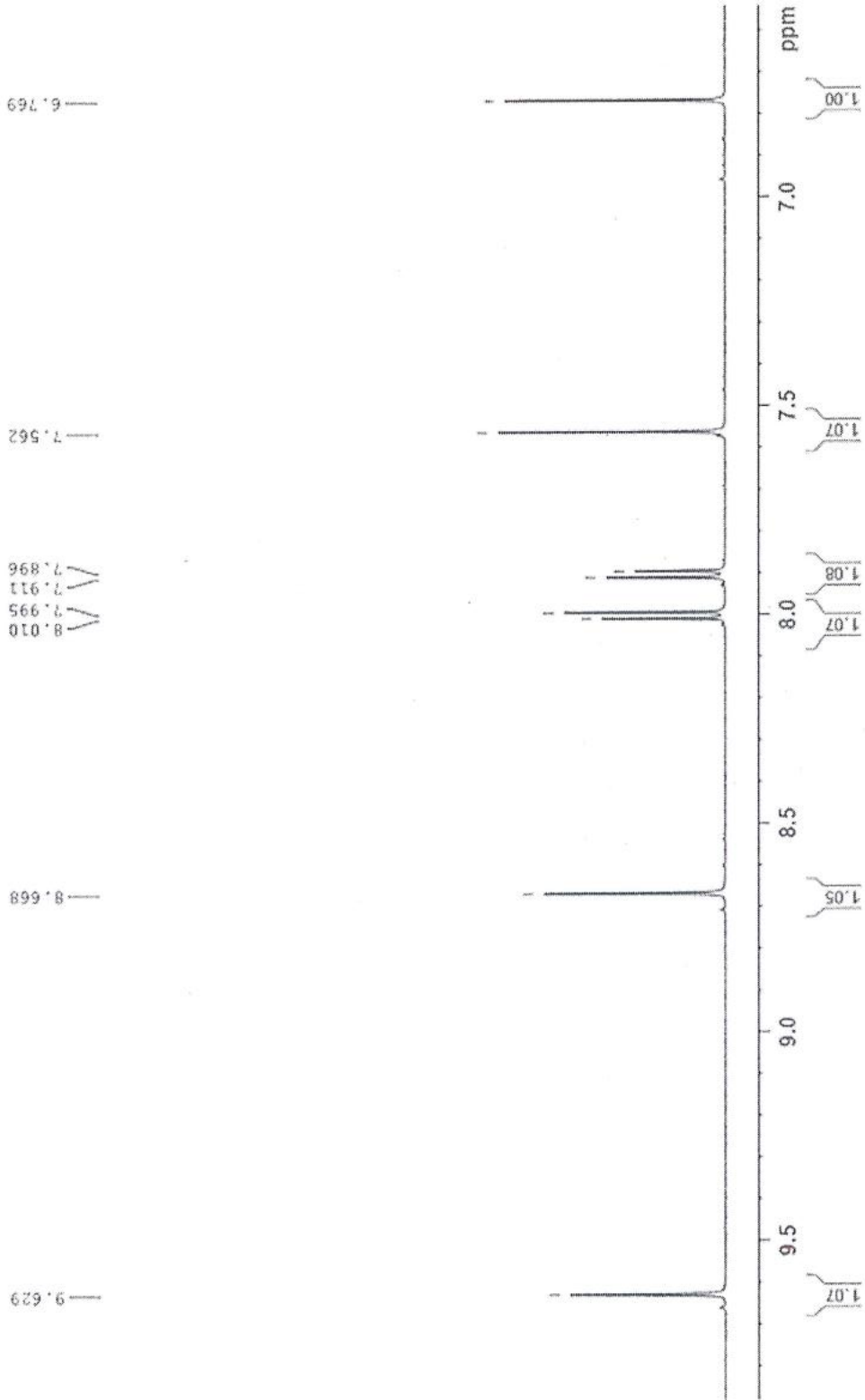
CC3 - CDC13 - C13CPD&DEPT



CC4-MeOD-1H



CC4-MeOD-1H



CC4-MeOD-1H



3.248
3.215
3.212
3.209
3.207
3.204
3.122
3.111
3.101

3.927

4.008

4.108

4.435

4.717

4.820
4.809
4.799

5.0
4.9
4.8
4.7
4.6
4.5
4.4
4.3
4.2
4.1
4.0
3.9
3.8
3.7
3.6
3.5
3.4
3.3
3.2
3.1
ppm

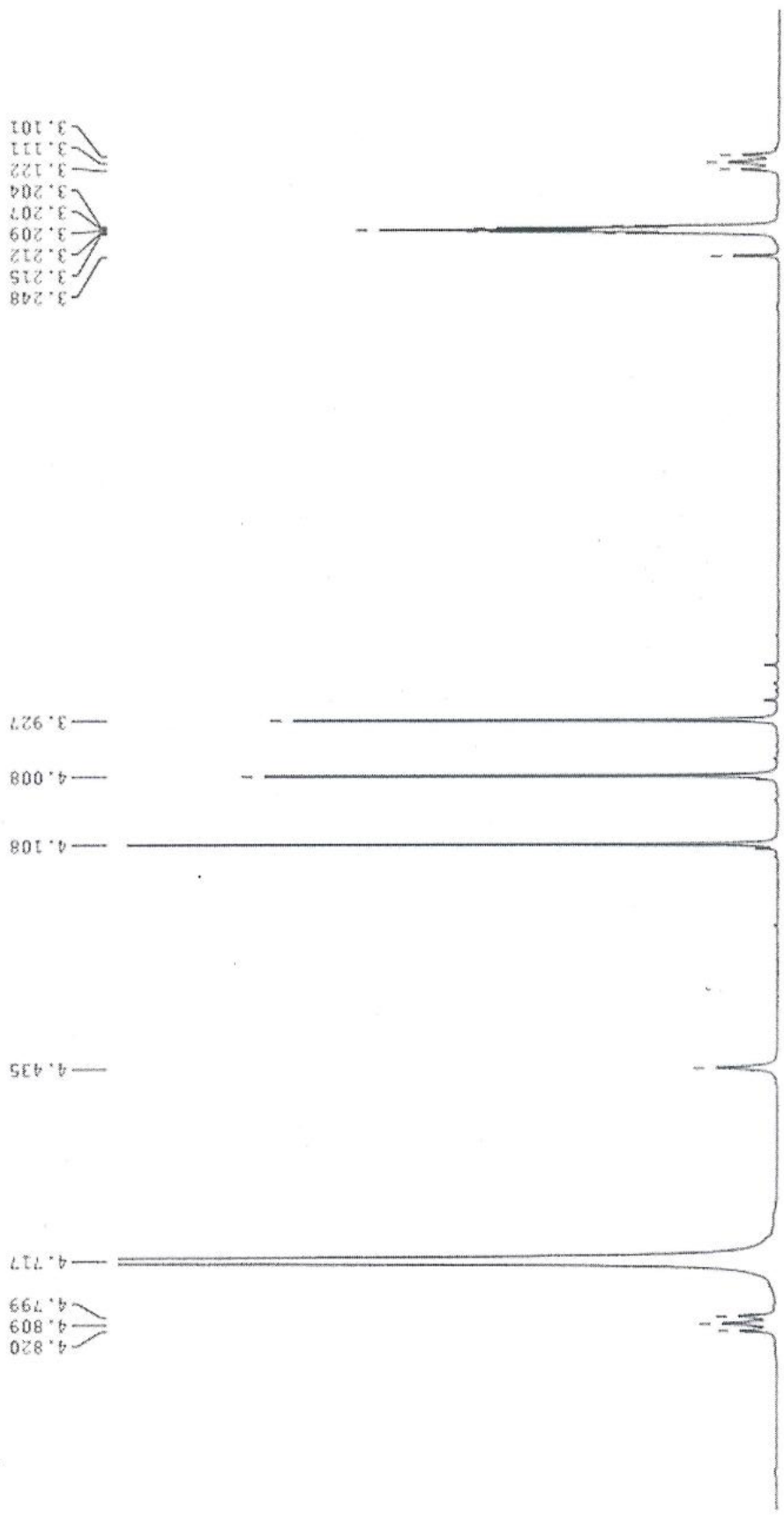
2.11

3.07

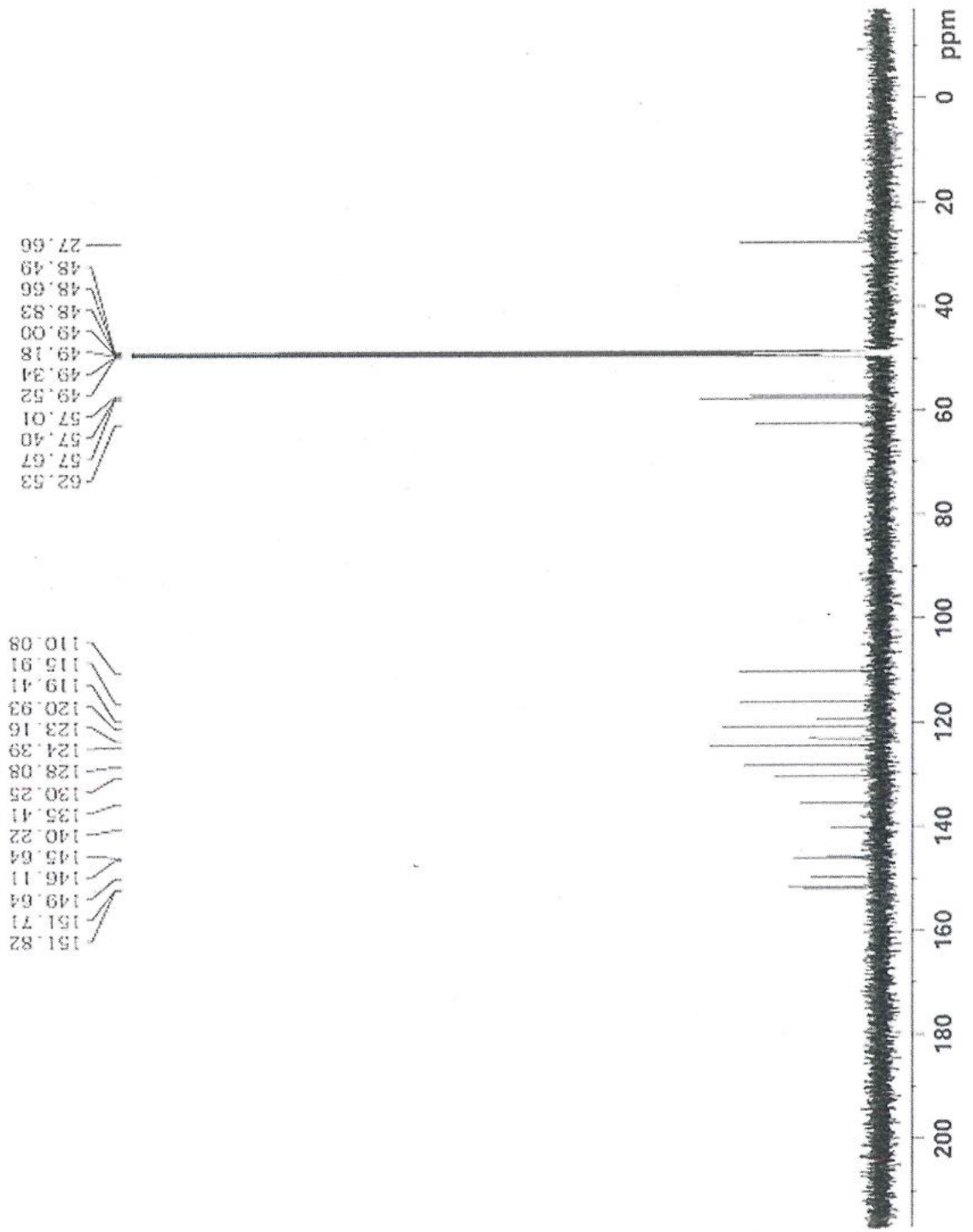
3.23

3.05

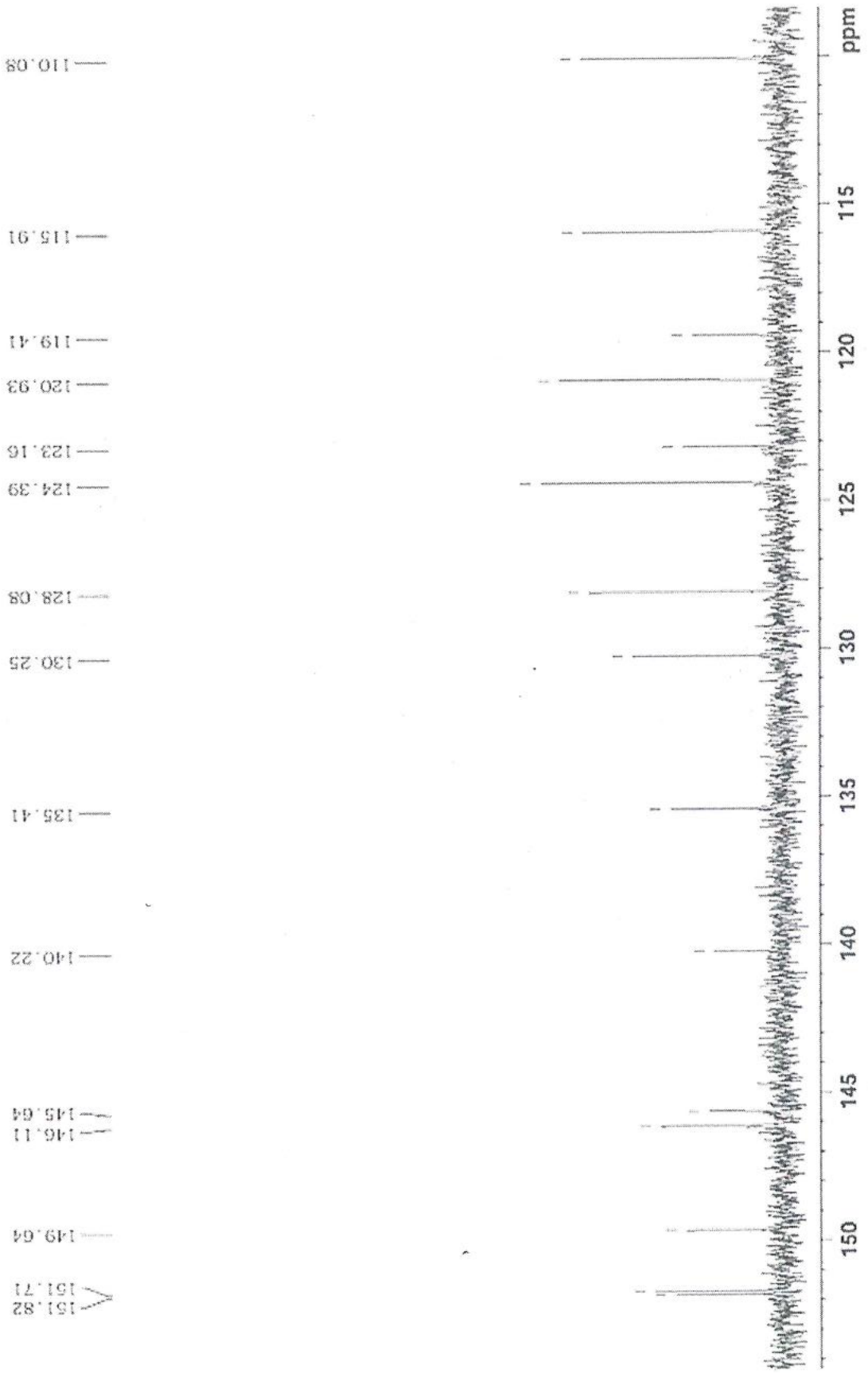
2.37



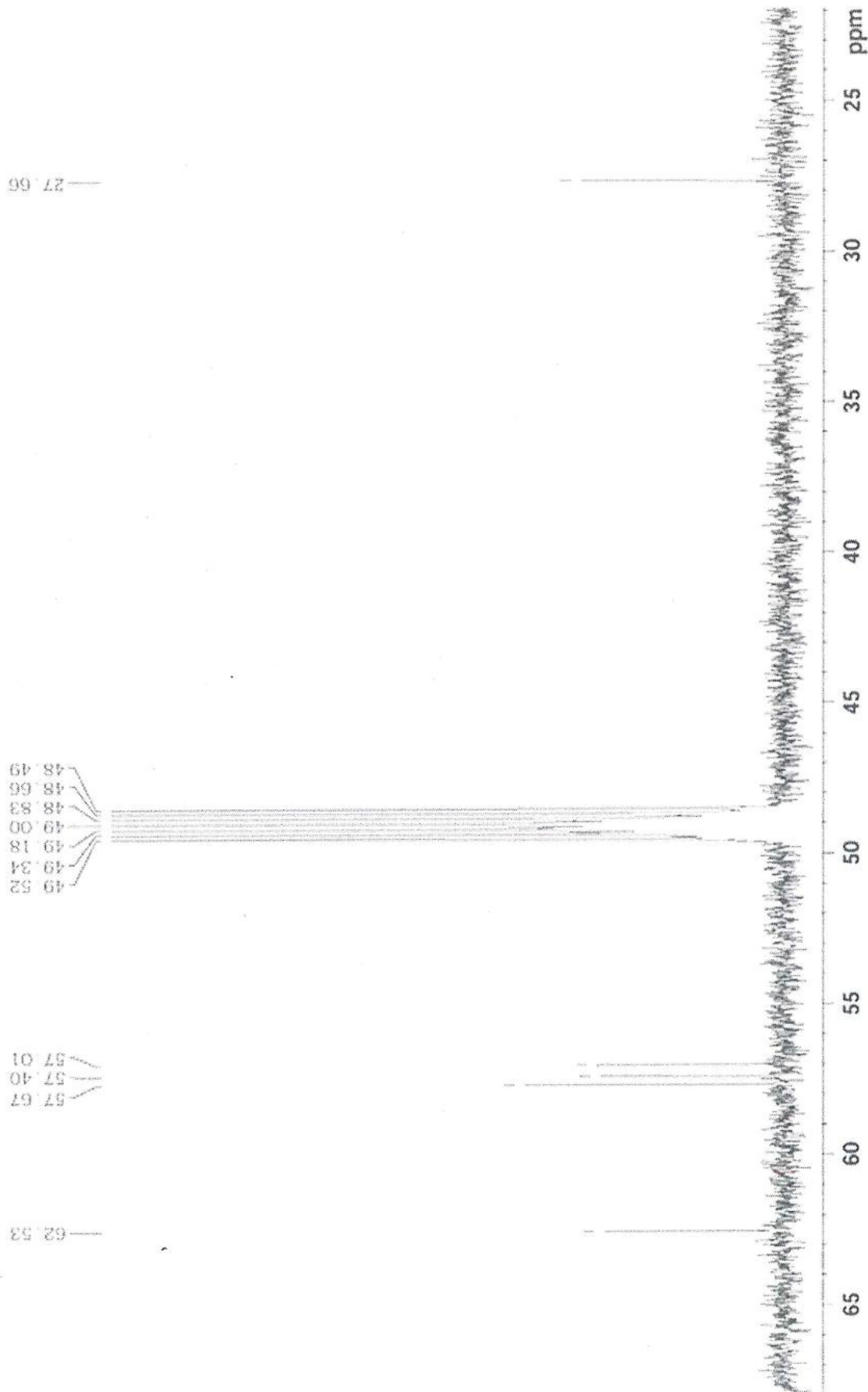
CC4 - MeOD - C13CPD



CC4-MeOD-C13CPD



CC4-MeOD-C13CPD



ISOLATION OF COMPOUNDS FROM *COPTIS CHINENSIS* ROOTS

Bui Thi Nhat Le^{1,2}, Nguyen Thi Thu Minh¹, Do Hoang Giang¹, Nguyen Thi Luyen¹,
 Nguyen Thu Uyen¹, Hoang Thuy Duong¹, Luu Hai Nhi¹, Truong Ngoc Minh¹, Vu Duc Nam¹,
 Tsvetelina Doncheva³, Cao Thanh Hai⁴, Ngo Thi Thuy Ngan⁵, Nguyen Tien Dat^{1*}

¹Center for High Technology Research and Development - Vietnam Academy of Science and Technology

²Graduate University of Science and Technology - Vietnam Academy of Science and Technology

³Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry - Bulgarian Academy of Sciences

⁴TNU - University of Sciences, ⁵TNU - University of Medicine and Pharmacy

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 17/4/2025	<p><i>Coptis chinensis</i> Franch., a species belonging to the genus <i>Coptis</i> in the family Ranunculaceae, is a rare medicinal plant renowned for its high pharmaceutical value. It is particularly rich in alkaloids, which are recognized as its principal bioactive constituents. These compounds exhibit a wide range of pharmacological activities, including anti-inflammatory, antitumor, antibacterial, antifungal, antidiabetic, and anti-Alzheimer's activities. In this study, compounds were isolated and characterized from the rhizome of <i>C. chinensis</i> using column chromatography, thin-layer chromatography, semi-preparative high-performance liquid chromatography, and nuclear magnetic resonance spectroscopy. As a result, five compounds were successfully isolated, including three alkaloids - noroxyhydrastine (1), berberine (2), and jatrorrhizine (3); and two non-alkaloid compounds - <i>p</i>-coumaric acid (4), a phenolic acid, and vomifoliol (5), an apocarotenoid. These findings contribute to the phytochemical profile of <i>C. chinensis</i> and enhance the current understanding of alkaloid-rich plant species in Vietnam, particularly within the <i>Coptis</i> genus.</p>
Revised: 04/8/2025	
Published: 04/8/2025	
KEYWORDS	
<i>Coptis chinensis</i> Franch.	
Alkaloid	
Isoquinoline alkaloid	
Non-alkaloid	
Bioactive constituents	

PHÂN LẬP MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ RỄ HOÀNG LIÊN CHÂN GÀ (*COPTIS CHINENSIS*)

Bùi Thị Nhật Lệ^{1,2}, Nguyễn Thị Thu Minh¹, Đỗ Hoàng Giang¹, Nguyễn Thị Luyên¹,
 Nguyễn Thu Uyên¹, Hoàng Thùy Dương¹, Lưu Hải Nhi¹, Trương Ngọc Minh¹, Vũ Đức Nam¹,
 Tsvetelina Doncheva³, Cao Thanh Hải⁴, Ngô Thị Thúy Ngan⁵, Nguyễn Tiên Đạt^{1*}

¹Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Hóa học hữu cơ và Trung tâm Hóa thực vật - Viện Hàn lâm Khoa học Bulgaria

⁴Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên, ⁵Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 17/4/2025	<p>Hoàng liên chân gà (<i>Coptis chinensis</i> Franch.) thuộc chi Hoàng liên (<i>Coptis</i>), họ Mao lương (Ranunculaceae), là loài dược liệu quý hiếm, nổi bật với giá trị dược tính cao. Loài cây đặc trưng giàu alkaloid, nhóm hợp chất này đóng vai trò là thành phần hoạt tính sinh học chính. Các hợp chất này thể hiện nhiều tác dụng dược lý đa dạng như chống viêm, chống ung thư, kháng khuẩn, kháng nấm, chống tiêu đường và chống bệnh Alzheimer. Nghiên cứu này tập trung vào phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ rễ của loài <i>Coptis chinensis</i> thông qua các phương pháp sắc ký cột, sắc ký bản mỏng, phương pháp sắc ký bán điều chế và phương pháp xác định cấu trúc phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được năm hợp chất từ loài này, bao gồm ba hợp chất alkaloid: noroxyhydrastine (1), berberin (2), jatrorrhizine (3); và hai hợp chất non-alkaloid là <i>p</i>-coumaric acid (4) (thuộc nhóm phenolic acid) và một apocarotenoid là vomifoliol (5). Kết quả nghiên cứu này đóng góp thêm dữ liệu hóa thực vật cho loài <i>C. chinensis</i>, đồng thời mở rộng thêm dữ liệu về thành phần hóa học của những loài thực vật giàu alkaloid tại Việt Nam, tiêu biểu là chi Hoàng liên.</p>
Ngày hoàn thiện: 04/8/2025	
Ngày đăng: 04/8/2025	
TỪ KHÓA	
<i>Coptis chinensis</i> Franch.	
Alkaloid	
Isoquinoline alkaloid	
Non-alkaloid	
Hoạt chất sinh học	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12611>

* Corresponding author. Email: ntdat@chtd.vast.vn

1. Giới thiệu

Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) còn được gọi là xuyên liên, Hoàng liên bắc, là một dược liệu quý hiếm được sử dụng bộ phận thân, rễ và một số bộ phận khác trong các bài thuốc điều trị nhiễm khuẩn đường tiêu hóa (tiêu chảy, kiết lỵ, viêm ruột, viêm dạ dày), bệnh về gan, chữa đau mắt đỏ và mụn nhọt [1]. Isoquinoline alkaloid là nhóm hoạt chất chính của *C. chinensis* bao gồm berberine (chiếm 5-7%), epiberberin, coptisine, magnoflorine, palmatine, jatrorrhizine, berberrubine, columbamine [2] - [4]. Ngoài ra, còn có các dạng alkaloid khác như protoberberines, tetrahydroprotoberberines, aporphines [2], [5] - [7]. Các thành phần non-alkaloid đã được phát hiện từ *Coptis chinensis* bao gồm các nhóm hợp chất phenylpropanoids, lignans, phenolic acid, flavonoids, glucosides [5], [6], các feruloylquinic acid [7]; acid hữu cơ (quinic acid, malic acid) [8], tricyclic amide [9], polysaccharides [10], [11]. Hoàng liên chân gà đã được biết đến với nhiều tác dụng dược lý và hoạt tính sinh học đáng chú ý. Cụ thể, loài dược liệu này thể hiện hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng đối với một số chủng vi khuẩn Gram dương và Gram âm [1]; giảm triệu chứng hội chứng ruột kích thích [1]; ức chế sự phát triển của tế bào ung thư dạ dày [4]; điều hòa miễn dịch và chống oxy hóa [11]. Ngoài ra, hoàng liên chân gà còn cho thấy tiềm năng trong điều trị viêm loét đại tràng [10], ức chế enzym acetylcholinesterase [9], [12] và butyrylcholinesterase, góp phần hỗ trợ điều trị bệnh Alzheimer [12]. Một số nghiên cứu khác cũng ghi nhận hiệu quả của loài này trong hỗ trợ điều trị gan ứ mật thông qua cơ chế kháng viêm, giảm lipid máu và chống oxy hóa [13]; cùng với đó là các tác dụng như chống viêm, kháng virus, hạ huyết áp [14]; kháng nấm [15]; cải thiện chuyển hóa glucose và hỗ trợ điều trị tiểu đường tuýp II [16]; cũng như tiềm năng điều trị viêm khớp [17]. Ngoài ra, dịch chiết *C. chinensis* còn được sử dụng trong công thức kem trị bỏng, cho tác dụng điều trị bỏng độ II trong mô hình thử *in vivo* trên chuột [18].

Hoàng liên chân gà tại Việt Nam là một dược liệu quý, các nghiên cứu trước đây tập trung nhiều về đánh giá hình thái, đa dạng di truyền cũng như nghiên cứu kỹ thuật nhân giống loài cây này. Ngoài một số nghiên cứu đánh giá về hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và ức chế enzym acetylcholinesterase *in vitro* đã được thực hiện trên dịch chiết Hoàng liên chân gà thì các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài Hoàng liên chân gà ở nước ta chưa nhiều. Trong nghiên cứu này, chúng tôi công bố về việc phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất alkaloid là noroxyhydrastine (1), berberin (2), jatrorrhizine (3); và hai hợp chất non-alkaloid là *p*-coumaric acid (4) và vomifoliol (5).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Mẫu nghiên cứu

Mẫu rễ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.) được thu hái tháng 12 năm 2023 tại Thăng Bình, Quảng Nam. Mẫu cây được TS. Nguyễn Thế Cường, Viện sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam định danh. Mẫu tiêu bản (mã số HN0111223523) được lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Thiết bị, hóa chất

Thiết bị: máy đo cộng hưởng từ hạt nhân (Bruker AM600 FT-NMR SpectroOCH3ter), máy đo điểm nóng chảy MEL-TEM 3.0, hệ thống sắc kí lỏng hiệu năng cao HPLC – DAD (Thermo Scientific Ultimate 3000), cột sắc ký bán điều chế YMC- Pack ODS – A (250 x 20 mm, 5 μ m), cột HPLC C₁₈ Hypersil Gold – Thermo (250 x 4,6 mm; 5 μ m), bộ cất chân không (Buchi V-300 Pro).

Vật tư – hóa chất: methanol, ethylacetate, dichloromethane, *n*-hexane, acetone kỹ thuật, sulfuric acid 10%, hydrochloric acid (HCl) 37%, sodium hydroxide (NaOH) khan, acetic acid, trifluoroacetic acid (TFA). Nước, methanol dùng cho HPLC. Silica gel 230-400 mesh (Merck),

bột sắc ký pha đảo (RP-18), diaion HP-20, sephadex LH-20, bản mỏng trắng sẵn silica gel DC-Alufolien 60 F₂₅₄, bản mỏng pha đảo RP-18 F₂₅₄.

2.3. Phương pháp chiết xuất và phân lập các hợp chất

2.3.1. Chiết xuất tạo cao chiết tổng

Rễ Hoàng liên chân gà (1,5 kg) được rửa sạch, sấy khô, nghiền nhỏ, sau đó ngâm chiết siêu âm với dung môi methanol theo tỉ lệ 1:10 (w/v) 3 lần. Phần dịch chiết được lọc, cô quay chân trong để thu được cao chiết tổng CC (105 g).

2.3.2. Phân lập các hợp chất

Cao chiết methanol tổng CC được hòa trong dung dịch HCl 2N với tỉ lệ 1/10 (w/v). Dịch acid được chiết phân lớp tỉ lệ 1:1 (v/v) với ethylacetate ba lần, thu được cao chiết non-alkaloid CCE (22,6 g). Tiếp theo, phần dịch acid được trung hòa bằng NaOH 2N đến pH = 10, chiết phân lớp ba lần với dung môi ethyl acetate tỉ lệ 1:1 (v/v), thu được cao chiết alkaloid tổng CCA (38,5 g). Phân đoạn giàu alkaloid CCA được tiến hành sắc ký cột trên cột silica gel, rửa giải với hệ dung môi gradient từ 0% đến 100% methanol trong dichloromethane (có bổ sung 0,1% acetic acid) thu được tám phân đoạn từ CCA1 đến CCA8. Phân tách phân đoạn CCA2 (652 mg) trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol 15:1 (v/v) thu được năm phân đoạn CCA2.1 đến CCA2.5. Phân đoạn CCA2.4 (76 mg) kết tinh methanol, được tinh chế tiếp bằng phương pháp sắc ký bán điều chế với điều kiện sắc ký: cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A 250 x 20 mm, 5 μ m với điều kiện chương trình gradient hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) từ 20% đến 100% methanol trong 180 phút, tốc độ dòng 4 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 μ L. Cột được rửa bằng 100% methanol trong 15 phút và ổn định bằng 20% methanol trong 15 phút trước và sau khi chạy sắc ký điều chế. Sau khi phân tách trên hệ thống prep-HPLC thu được hợp chất 1 (8 mg). Tiến hành sắc ký cột phân đoạn CCA3 (525 mg) trên cột silica gel với hệ dung môi ethyl acetate/methanol/nước theo tỉ lệ 10:1:0,1 (v/v/v) thu được bốn phân đoạn CCA3.1 đến CCA3.4. Phân đoạn CCA3.2 (226 mg) được xử lý tiếp trên hệ thống sắc ký bán điều chế với điều kiện sắc ký: cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A 250 x 20 mm, 5 μ m, chương trình hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) gradient từ 15% đến 100% methanol trong 180 phút, tốc độ dòng 3 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 μ L. Từ phân đoạn CCA3.2 đã thu được hợp chất 2 (18 mg) và hợp chất 3 (10 mg) bằng phương pháp sắc ký bán điều chế.

Phân đoạn non-alkaloid CCE được phân tách trên cột sắc ký silica gel và rửa giải với hệ dung môi dichloromethane/methanol gradient từ 20:1 (v/v) đến 100% methanol thu được sáu phân đoạn (CCE1 đến CCE6). Hợp chất 4 (5 mg) và hợp chất 5 (3 mg) được phân lập từ phân đoạn CCE3 lần lượt bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol 5:1 (v/v) và tinh chế trên hệ thống sắc ký bán điều chế với điều kiện gradient hệ dung môi methanol - nước (0,1% TFA) từ 15% đến 80% methanol trong 150 phút, tốc độ dòng 3 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 500 μ L, cột sắc ký điều chế YMC- Pack ODS – A 250 x 20 mm, 5 μ m.

Noroxyhydrastine (1): Chất bột màu trắng; C₁₀H₉NO₃; điểm nóng chảy 177-178 °C; ESI-MS: *m/z* 192 [M+H]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ _H (ppm) 7,26 (1H, s, H-1); 6,87 (1H, s, H-4); 2,79 (2H, t, *J* = 6,6 Hz, H-5); 3,30 (2H, m, H-6); 7,76 (1H, brs, H-7); 6,05 (2H, s, -O-CH₂-O-). ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ _C (ppm) 107,4 (C-1); 134,8 (C-1a); 149,9 (C-2); 146,9 (C-3); 106,5 (C-4); 123,2 (C-4a); 27,8 (C-5); 40,0 (C-6); 164,2 (-CO-NH); 101,4 (-O-CH₂-O-).

Berberine (2): Chất bột màu vàng; C₂₀H₁₈NO₄⁺; điểm nóng chảy 206-208 °C; ESI-MS: *m/z* 336 [M]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ _H (ppm) 7,79 (1H, s, H-1); 7,08 (1H, s, H-4); 3,21 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-5); 4,95 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-6); 9,90 (1H, s, H-8); 8,20 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-11); 8,01 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-12); 8,96 (1H, s, H-13); 6,17 (2H, s, O-CH₂-O); 4,10 (3H, s, 9-OCH₃); 4,07 (3H, s, 10-OCH₃). ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ _C (ppm) 105,4 (C-1); 121,4 (C-1a); 149,8 (C-2); 147,7 (C-3); 108,4 (C-4); 130,7 (C-4a); 26,3 (C-5); 55,2 (C-6); 145,5 (C-8); 120,4 (C-

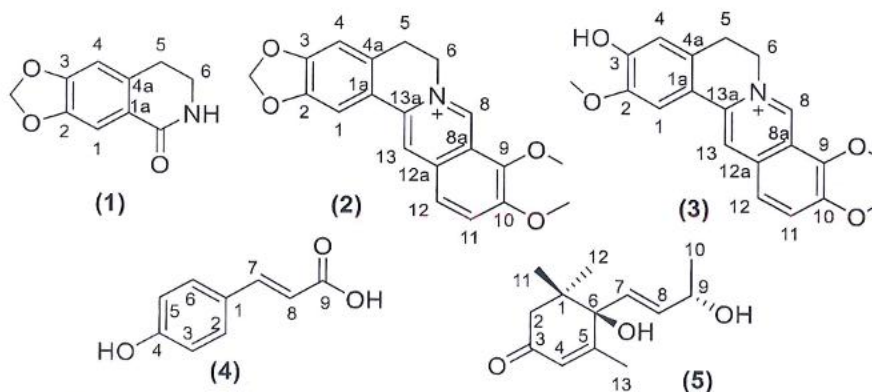
8a); 143,7 (C-9); 150,4 (C-10); 123,5 (C-11); 126,7 (C-12); 133,0 (C-12a); 120,2 (C-13); 137,5 (C-13a); 102,1 (O-CH₂-O); 61,9 (9-OCH₃); 57,1 (10-OCH₃).

Jatrorrhizine (3): Chất bột màu vàng; C₂₀H₂₀NO₄⁺; điểm nóng chảy 281-283 °C; ESI-MS: *m/z* 338 [M]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ_H (ppm) 7,66 (1H, s, H-1); 6,87 (1H, s, H-4); 3,23 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-5); 4,93 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-6); 9,74 (1H, s, H-8); 8,11 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-11); 8,01 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-12); 8,78 (1H, s, H-13); 4,11 (3H, s, 2-OCH₃); 4,22 (3H, s, 9-OCH₃); 4,04 (3H, s, 10-OCH₃). ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ_C (ppm) 110,1 (C-1); 120,9 (C-1a); 149,6 (C-2); 146,1 (C-3); 115,9 (C-4); 130,3 (C-4a); 27,3 (C-5); 57,0 (C-6); 145,6 (C-8); 123,2 (C-8a); 151,8 (C-9); 151,2 (C-10); 128,1 (C-11); 124,4 (C-12); 135,4 (C-12a); 119,4 (C-13); 140,2 (C-13a); 57,4 (2-OCH₃); 57,7 (9-OCH₃); 62,5 (10-OCH₃).

***p*-Coumaric acid (4):** Chất rắn vô định hình màu trắng; C₉H₈O₃; ESI-MS: *m/z* 165 [M+H]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H (ppm) 7,46 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-2, H-6); 6,82 (2H, dd, *J* = 9,0 Hz, H-3, H-5); 7,61 (1H, d, *J* = 16,2 Hz, H-7); 6,29 (1H, d, *J* = 15,6 Hz, H-8). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C (ppm) 127,3 (C-1); 131,1 (C-2, C-6); 116,8 (C-3, C-5); 161,1 (C-4); 146,6 (C-7); 115,6 (C-8), 171,0 (-COOH, C-9)

Vomifoliol (5): Chất rắn vô định hình màu trắng; C₁₃H₂₀O₃; ESI-MS: *m/z* 225 [M+H]⁺. ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H (ppm) 2,70 (1H, d, *J* = 16,8 Hz, H-2a); 2,55 (1H, d, *J* = 16,8 Hz, H-2b); 5,89 (1H, brs, H-4); 5,77 (1H, dd, *J* = 15,0; 9,0 Hz, H-7); 6,01 (1H, dd, *J* = 15,0; 6,6 Hz, H-8); 4,57 (1H, m, H-9); 1,32 (3H, t, *J* = 7,2 Hz, H-10); 1,06 (3H, s, H-11); 1,04 (3H, brs, H-12); 1,96 (3H, brs, H-13). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C (ppm) 40,9 (C-1); 49,4 (C-2); 197,4 (C=O, C-3); 125,5 (C-4); 164,4 (C-5); 77,8 (C-6); 127,9 (C-7); 135,9 (C-8); 75,1 (C-9); 23,0 (C-10); 23,9 (C-11); 24,0 (C-12); 19,0 (C-13).

3. Kết quả và bàn luận



Hình 1. Các hợp chất phân lập từ rễ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis*)

Hợp chất 1 được phân lập dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ ESI-MS xuất hiện mảnh ion phân tử proton hóa ở *m/z* 192 [M+H]⁺. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 1 cho thấy hai tín hiệu singlet của proton vòng thơm tại δ_H 6,87 (1H, s, H-4) và 7,26 (1H, s, H-1) cho thấy hệ vòng bị thế ở nhiều vị trí; tín hiệu của proton hai nhóm methylene thuộc dị vòng chứa N tại δ_H 2,79 (2H, t, *J* = 6,6 Hz, H-5) và δ_H 3,30 (2H, m, H-6); tín hiệu singlet của cầu methylenedioxy tại δ_H 6,05 (2H, s) và tín hiệu của một proton amide tại δ_H 7,76 (1H, brs, H-7). Phổ ¹³C-NMR kết hợp với phổ DEPT cho thấy tín hiệu của hai methylene tại δ_C 27,8 (C-5) và δ_C 40,0 (C-6); hai methine vòng thơm tại δ_C 106,5 (C-4) và δ_C 107,4 (C-1); bốn carbon bậc bốn vòng thơm tại δ_C 134,8 (C-1a); 149,9 (C-2); 146,9 (C-3) và 123,2 (C-4a); một nhóm carbonyl amide tại δ_C 164,2 ppm và một nhóm methylenedioxy tại δ_C 101,4 ppm. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 1 cho phép dự đoán khung tetrahydroisoquinoline cho hợp chất này, so sánh với dữ liệu tài liệu tham khảo có thể xác định hợp chất 1 là noroxyhydrastine [19].

Hợp chất 2 được phân lập dưới dạng bột màu vàng. Phổ ESI-MS xuất hiện mảnh ion phân tử proton hóa ở m/z 336 $[M]^+$. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu các proton thơm bao gồm hai proton vòng thơm hệ isoquinoline tại δ_{H} 7,08 (1H, s, H-4) và 7,79 (1H, s, H-1); tín hiệu hai proton trên vòng thơm thể ortho tại δ_{H} 8,01 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-12) và 8,20 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-11); tín hiệu singlet của hai proton thuộc dị vòng cation hóa tại δ_{H} 8,96 (1H, s, H-13) và 9,90 (1H, s, H-8). Ngoài ra, một tín hiệu dạng singlet được quan sát thấy tại δ_{H} 6,17 đặc trưng của nhóm methylenedioxy và xuất hiện tín hiệu của các proton thuộc hai nhóm methoxy tại δ_{H} 4,07 (3H, s, 10-OCH₃) và 4,10 (3H, s, 9-OCH₃); và tín hiệu triplet của proton methylene sp^3 thuộc dị vòng N tại δ_{H} 3,21 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5) và 4,95 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, H-6). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT của hợp chất 2 cho thấy tín hiệu của 20 nguyên tử carbon. Trong đó, các tín hiệu đặc trưng của carbon thơm liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 143,7 (C-9); 147,7 (C-3); 149,8 (C-2) và 150,4 (C-10). Tín hiệu tại δ_{C} 145,4 (C-8) cho thấy sự hiện diện của carbon thơm liên kết trực tiếp với dị tố N^+ . Năm tín hiệu của carbon methine thuộc hệ vòng thơm tại δ_{C} 105,4 (C-1); 108,4 (C-4); 120,2 (C-13); 123,5 (C-11) và 126,7 (C-12). Các carbon bậc bốn cấu nối trong hệ thống vòng benzyloquinoline được xác nhận qua các tín hiệu tại δ_{C} 120,4 (C-8a); 121,4 (C-1a); 130,7 (C-4a); 133,0 (C-12a) và 137,5 (C-13a). Ngoài ra, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ còn xuất hiện một tín hiệu carbon nhóm methylenedioxy tại δ_{C} 102,1; hai tín hiệu methylene sp^3 thuộc dị vòng chứa N tại δ_{C} 26,3 (C-5) và 55,2 (C-6); và hai tín hiệu nhóm methoxy tại δ_{C} 57,1 (10-OCH₃) và 61,9 (9-OCH₃). Dựa vào dữ liệu phổ của hợp chất 2 kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất 2 là berberin [20].

Hợp chất 3 được phân lập dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ ESI-MS xuất hiện mảnh ion phân tử proton hóa ở m/z 338 $[M]^+$. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 3 cho thấy cấu trúc tương tự như hợp chất 2, nhưng có sự khác biệt trong nhóm thể methoxy. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ không xuất hiện tín hiệu của proton nhóm methylenedioxy tại δ_{H} 6,17 như hợp chất 2, thay vào đó xuất hiện thêm tín hiệu proton của nhóm methoxy tại vị trí carbon C-2 với δ_{H} 4,11 (3H, s, 2-OCH₃) (cùng tín hiệu proton nhóm methoxy thể tại vị trí C-9 và C-10). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$, thay vì tín hiệu của carbon nhóm methylenedioxy tại δ_{C} 102,1 ppm như hợp chất 2 thì hợp chất 3 xuất hiện tín hiệu carbon của ba nhóm methoxy lần lượt tại δ_{C} 57,4 (C-2); 57,7 (C-9) và 62,5 (C-10). So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất 3 với dữ liệu phổ tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất này là jatrorrhizine [20].

Hợp chất 4 phân lập được dưới dạng chất rắn vô định hình màu trắng. Phổ ESI-MS của hợp chất 4 cho pic ion phân tử proton hóa ở m/z 165 $[M+H]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 4 cho thấy tín hiệu của proton vòng benzen hệ A_2B_2 tại δ_{H} 7,46 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2, H-6) và 6,82 (2H, dd, $J = 9,0$ Hz, H-3, H-5). Ngoài ra trên phổ $^1\text{H-NMR}$ còn xuất hiện tín hiệu của 2 proton olefin ở vị trí trans với δ_{H} 7,61 (1H, d, $J = 16,2$ Hz, H-7) và 6,29 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-8). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp phổ DEPT quan sát tín hiệu của carbon vòng thơm tại δ_{C} 127,3 (C-1); 131,1 (C-2, C-6); 116,8 (C-3, C-5) và 161,1 (C-4); tín hiệu của carbon olefin tại δ_{C} 146,6 (C-7) và δ_{C} 115,5 (C-8) và tín hiệu nhóm carboxyl tại δ_{C} 171,0 (C-9). Kết hợp dữ liệu phổ của hợp chất 4 với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất này là *p*-coumaric acid [21].

Hợp chất 5 phân lập được dưới dạng chất rắn vô định hình màu trắng. Phổ ESI-MS của hợp chất 5 cho pic ion phân tử proton hóa ở m/z 225 $[M+H]^+$. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 5, xuất hiện tín hiệu đặc trưng của proton hệ nối đôi liên hợp dạng trans tại δ_{H} 5,77 (1H, dd, $J = 15,0$; 9,0 Hz, H-7) và 6,01 (1H, dd, $J = 15,0$; 6,6 Hz, H-8). Tín hiệu của proton ba nhóm methyl được quan sát tại δ_{H} 1,04 (3H, brs, H-12); δ_{H} 1,06 (3H, s, H-11) và δ_{H} 1,96 (3H, brs, H-13). Tín hiệu triplet của proton nhóm methyl gắn với một carbon olefin xuất hiện tại δ_{H} 1,32 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, H-10). Tín hiệu của proton olefin được ghi nhận tại δ_{H} 5,89 (1H, brs, H-4). Tín hiệu của một proton nhóm oxymethine xuất hiện tại δ_{H} 4,57 (1H, m, H-9). Ngoài ra, trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu hai proton nhóm methylene ở gần nhóm carbonyl được quan sát tại δ_{H} 2,55 (1H, d, $J = 16,8$ Hz, H-2b) và 2,70 (1H, d, $J = 16,8$ Hz, H-2a). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ DEPT của hợp chất

5 cho thấy sự hiện diện của 13 nguyên tử carbon. Trong đó, một carbon thuộc nhóm carbonyl được ghi nhận tại δ_C 197,4 (C-3). Bốn carbon olefin thể hiện qua các tín hiệu tại δ_C 125,5 (C-4); 164,4 (C-5); 127,9 (C-7) và 135,9 (C-8). Hai carbon sp^3 liên kết oxy được quan sát tại δ_C 75,1 (C-9) và 77,8 (C-6). Bốn carbon nhóm methyl xuất hiện tại δ_C 23,0 (C-10); 23,9 (C-11); 24,0 (C-12) và 19,0 (C-13). Ngoài ra, trên phổ ghi nhận tín hiệu một carbon methylene sp^3 gần nhóm carbonyl tại δ_C 49,4 (C-2), cùng với một carbon bậc bốn tại δ_C 40,9 (C-1). Dữ liệu phổ của hợp chất gợi ý đây là một dẫn xuất cyclohexenone, so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất 5 là vomifoliol [22].

Ba hợp chất alkaloid noroxyhydrastine (1), berberin (2) và jatrorrhizine (3) được phân lập từ rễ Hoàng liên chân gà (*Coptis chinensis* Franch.). Trong đó berberin và jatrorrhizine là hợp chất đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính sinh học và tác dụng dược lý của loài này như khả năng kháng viêm, kháng khuẩn, chống ung thư, chống tiểu đường [4].

4. Kết luận

Bằng các phương pháp sắc ký và phương pháp xác định cấu trúc, nghiên cứu đã phân lập và xác định được năm hợp chất từ rễ loài *Coptis chinensis* Franch., bao gồm ba hợp chất noroxyhydrastine (1), berberin (2), jatrorrhizine (3) thuộc nhóm alkaloid; và hai hợp chất thuộc nhóm hợp chất khác là *p*-coumaric acid (4) và vomifoliol (5). Hai hợp chất *p*-coumaric acid và vomifoliol hiện chưa được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đó về loài này. Kết quả nghiên cứu này góp phần làm phong phú thêm hiểu biết về thành phần hóa học của loài thực vật này và tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính sinh học cũng như tiềm năng ứng dụng của các hợp chất đã được phân lập.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Nhiệm vụ Hợp tác quốc tế về Khoa học công nghệ cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam năm 2023-2024, mã số nhiệm vụ: QTBG01.01/23-24.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] H. B. Do, Q. C. Dang, X. C. Bui, T. D. Nguyen, T. D. Do, V. H. Pham, N. L. Vu, D. M. Pham, K. M. Pham, T. N. Doan, T. Nguyen, and T. Tran, *Medicinal Plants and Animals Used in Vietnam*, (in Vietnamese), vol. 1, Hanoi: Science and Technology Publishing House, 2006, pp. 950-954.
- [2] F. He, Y.-F. Huang, W. Dai, X.-Y. Qu, J.-G. Lu, C.-C. Lao, W.-H. Luo, D.-M. Sun, M. Wei, and S.-Y. Xiao, "The localization of the alkaloids in *Coptis chinensis* rhizome by time-of-flight secondary ion mass spectrometry," *Frontiers in Plant Science*, vol. 13, 2022, Art. no. 1092643.
- [3] X. Min, T. Zhu, X. Hu, C. Hou, J. He, and X. Liu, "Transcriptome and Metabolome Analysis of Isoquinoline Alkaloid Biosynthesis of *Coptis chinensis* in Different Years," *Genes (Basel)*, vol. 14, no. 12, 2023, Art. no. 2232.
- [4] S. Nakonieczna, A. Grabarska, K. Gawel, P. Wróblewska-Luczka, A. Czerwonka, A. Stepulak, and W. Kukula-Koch, "Isoquinoline Alkaloids from *Coptis chinensis* Franch: Focus on Coptisine as a Potential Therapeutic Candidate against Gastric Cancer Cells," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 18, 2022, Art. no. 10330.
- [5] L. Chen, L. Wang, Q. Zhang, S. Zhang, and W. Ye, "Non-alkaloid chemical constituents from *Coptis chinensis*," *China Journal of Chinese Materia Medica*, vol. 37, no. 9, pp.1241-1244, 2012.
- [6] Y. Sun and B. Su, "Chemical Constituents of *Coptis chinensis*," *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 58, no. 6, pp. 1131-1133, 2022.
- [7] P.-P. Tian, X.-X. Zhang, H.-P. Wang, P.-L. Li, Y.-X. Liu, and S.-J. Li, "Rapid analysis of components in *Coptis chinensis* Franch. by ultra-performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry," *Pharmacognosy Magazine*, vol. 13, no. 49, 2017, Art. no. 175.
- [8] Y. Zheng, M. Zhang, X. Wu, R. Tan, and H. Jiang, "*Coptis Chinensis* Franch: Substance Basis, Mechanism of Action and Quality Control Standard Revealed Based on the Q-marker Concept and New Strategy of Systemic Pharmacology and Biosynthesis Research," *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 24, no. 23, pp. 2013-2032, 2024.

- [9] T. Q. Cao, Q.-M. T. Ngo, S. H. Seong, U. J. Youn, J. A. Kim, J. Kim, J.-C. Kim, M. H. Woo, J. S. Choi, and B. S. Min, "Cholinesterase inhibitory alkaloids from the rhizomes of *Coptis chinensis*," *Bioorganic Chemistry*, vol. 77, pp. 625-632, 2018.
- [10] X. Wang, F. Liang, Z. Dai, X. Feng, and F. Qiu, "Combination of *Coptis chinensis* polysaccharides and berberine ameliorates ulcerative colitis by regulating gut microbiota and activating AhR/IL-22 pathway," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 318, 2024, Art. no. 117050.
- [11] F. Yan, Y. Xu, X. Long, and Q. Chen, "Ultrasound-enzyme-assisted aqueous two-phase extraction, structural characterization and bioactivities of *Coptis chinensis* polysaccharides," *LWT*, vol. 215, 2025, Art. no. 117254.
- [12] Y. Lin, H. C. Guo, Y. Kuang, Z. P. Shang, B. Li, K. Chen, L. L. Xu, X. Qiao, H. Liang, and M. Ye, "AChE inhibitory alkaloids from *Coptis chinensis*," *Fitoterapia*, vol. 141, 2020, Art. no. 104464.
- [13] J. Han, P. Wu, Z. Xu, C. Liu, Q. Chen, F. Zhang, H. Tao, D. Luo, L. Zhou, B. Wang, Z. Gao, T. Shen, Y. Wen, and H. Yu, "The anti-cholestatic effects of *Coptis chinensis* Franch. alone and combined with *Tetradium ruticarpum* (A. Jussieu) T. G. Hartley: dual effects on fecal metabolism and microbial diversity," *Front Pharmacol*, vol. 15, 2024, Art. no. 1372527.
- [14] J. Wang, L. Wang, G. H. Lou, H. R. Zeng, J. Hu, Q. W. Huang, W. Peng, and X. B. Yang, "*Coptidis* Rhizoma: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology," *Pharmaceutical biology*, vol. 57, no. 1, pp. 193-225, 2019.
- [15] X.-J. Zhong, S.-R. Liu, C.-W. Zhang, Y.-S. Zhao, A. Sayed, M. S. R. Rajoka, Z.-D. He, and X. Song, "Natural alkaloid coptisine, isolated from *Coptis chinensis*, inhibits fungal growth by disrupting membranes and triggering apoptosis," *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, vol. 10, 2024, Art. no. 100383.
- [16] Z. Zhen, B. Chang, M. Li, F.-M. Lian, L. Chen, L. Dong, J. Wang, B. Yu, W.-K. Liu, X.-Y. Li, P.-J. Qin, J.-H. Zhang, and X.-L. Tong, "Anti-Diabetic Effects of a *Coptis chinensis* Containing New Traditional Chinese Medicine Formula in Type 2 Diabetic Rats," *The American journal of Chinese medicine*, vol. 39, no. 01, pp. 53-63, 2011.
- [17] M. Li, F. Tian, J. Guo, X. Li, L. Ma, M. Jiang, and J. Zhao, "Therapeutic potential of *Coptis chinensis* for arthritis with underlying mechanisms," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 14, 2023, Art. no. 1243820.
- [18] Q. T. Nguyen, Q. H. Dong, N. M. Nguyen, and T. H. Le, "Study on formulation and evaluation of burn removal cream from *Aloe vera* L., *Centella asiatica* URB., *Coptis chinensis* Frach," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 225, no. 8, pp. 161-167, 2020.
- [19] B. D. Krane and M. Shamma, "The isoquinolone alkaloids," *Journal of Natural Products*, vol. 45, no. 4, pp. 377-384, 1982.
- [20] L. Grycová, J. Dostál, and R. Marek, "Quaternary protoberberine alkaloids," *Phytochemistry*, vol. 68, no. 2, pp. 150-175, 2007.
- [21] N. T. Dinh, T. M. Do, X. L. Ngo, H. T. Trinh, H. T. Nguyen, H. M. T. Vu, N. M. T. Nguyen, and K. O. T. Vu, "Chemical constituents from ethyl acetate extract of the leaves of *Rourea harmandiana* Pierre," *Vietnam Journal of Science, Technology Engineering*, vol. 62, no. 2, pp. 30-33, 2020.
- [22] S. Hammami, H. B. Jannet, A. Bergaoui, L. Ciavatta, G. Cimino, and Z. Mighri, "Isolation and structure elucidation of a flavanone, a flavanone glycoside and vomifoliol from *Echiochilon fruticosum* growing in Tunisia," *Molecules*, vol. 9, no. 7, pp. 602-608, 2004.
- [23] P. Michel, A. Wajs-Bonikowska, A. Magiera, A. Wosiak, E. Balcerzak, M. E. Czerwińska, and M. A. Olszewska, "Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of (6 S, 9 R)-Vomifoliol from *Gaultheria procumbens* L.: In Vitro and Ex Vivo Study in Human Immune Cell Models," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 26, no. 4, 2025, Art. no. 1571.