

Nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng kháng viêm của các chất phân lập từ phân đoạn chiết dùng CHCl_3 của cao rễ cây Dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth., Rubiaceae)

Bùi Hoàng Minh*, Bùi Nguyễn Biên Thùy, Nguyễn Linh Tuyền,
Võ Thị Trường Giang, Ngô Kim Nguyên

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
*bhminh@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Cây Dây khai phân bố đặc hữu ở Việt Nam, từ lâu đã được người Hrê sử dụng làm dược liệu điều trị giun sán, viêm khớp, chấn thương. Nghiên cứu này xác định thành phần hóa học của rễ cây Dây khai bằng chiết tách cao rễ Dây khai theo 3 phân đoạn tương ứng với các dung môi CHCl_3 , EtOAc và n-BuOH. Sản phẩm của phân đoạn chiết với CHCl_3 được tiến hành sắc kí cột với silica gel, kết hợp kĩ thuật tinh chế thu được 2 chất C_1 và C_2 . Trên cơ sở dữ liệu phổ khối (mass spectrum – MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance – NMR), cấu trúc của C_1 và C_2 được xác định là khung triterpen với tên gọi lần lượt là 3β -O- β -D-quinovopyranosid pyrocincholic acid và acid pyroquinovic. Hai chất này đều có khả năng kháng viêm trên mô hình ức chế NO trên tế bào RAW264.7. Ở nồng độ 30 μM , C_1 và C_2 cho khả năng ức chế lần lượt là $(52,38 \pm 0,79$ và $20,37 \pm 0,53)$ %. Đây là 2 dẫn chất triterpen mới được phân lập trong rễ cây Dây khai.

Nhận 01.08.2021
Được duyệt 07.09.2021
Công bố 10.11.2021

Từ khóa
coptosapelta flavescens,
 3β -(D-
quinovopyranosyl)-
olean-13-en-27-oic, 3β -
hydroxy-urs-13-en-27-
oic

© 2021 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth.) là một loài cây phân bố đặc hữu tại khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam. Đây là một cây thuốc quý của người Hrê chữa viêm nhiễm, giúp mau lành vết thương, đặc biệt rất tốt trong điều trị chấn thương, thấp khớp, đau nhức [1-3]. Ở các nước khác, Dây khai còn được sử dụng để chống kí sinh trùng [8-10] và giúp giãn mạch và kháng viêm [11, 12]. Năm 2010, từ phân đoạn EtOAc từ rễ cây Dây khai, tác giả Trần Thị Vân Anh và Trần Hùng [1] đã phân lập được 4 chất là 3-O- β -D-glucopyranosyl sitosterol; 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl]-quinovic; 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl]-quinovic acid, 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl]-

quinovic acid 28- β -D-glucopyranosyl ester. Đây là những chất có tính chất kháng viêm mạnh nhất trong phân đoạn này. Đáng chú ý là trong cuộc khảo sát điều tra của Lê Văn Minh [4] gần đây cho thấy loài này hiện đang phân bố với mật độ dồi dào tại tỉnh Ninh Thuận. Trước nguy cơ tuyệt chủng vì nạn phá rừng và khai thác nguồn tài nguyên quá mức, nhiều vị thuốc hay, thuốc quý trong dân gian cần được bảo tồn, khai thác và đầu tư nghiên cứu hợp lí. Bên cạnh đó, do sự phân bố đặc hữu mà còn khá ít nghiên cứu về loài cây này ở Việt Nam và trên thế giới.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Cao rễ Dây khai từ Hội Đông y tỉnh Ninh Thuận, được cung cấp bởi Phòng Khoa học Công nghệ, Đại học Nguyễn Tất Thành vào tháng 03/2020.



Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Sơ bộ hóa thực vật

Bằng các dụng cụ thường quy và các phản ứng định tính đơn giản để sơ bộ xác định sự có mặt của nhóm hợp chất có trong dược liệu ở các phân đoạn có độ phân cực tăng dần bằng phương pháp của Ciulei đã được cải tiến bởi Đại học Y Dược Tp. HCM [5].

2.2.1 Chiết xuất và phân lập và xác định cấu trúc

Chiết xuất

Caο rễ Dây khai được phân tán trong nước sau đó lắс phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần (CHCl₃, EtOAc, n-BuOH), cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các phân đoạn có độ phân cực khác nhau.

Phân lập

Sử dụng các kỹ thuật sắc ký cột (sắc ký cột nhanh, sắc ký cột cỡ điển,...) và kết tinh phân đoạn bằng dung môi thích hợp để thu được chất tinh khiết.

Xác định cấu trúc

Dựa vào dữ liệu phổ NMR được đo với các kỹ thuật 1-D, 2-D (1H-, 13C-, DEPT, HSQC, HMBC, COSY). Mẫu được hòa tan trong dung môi thích hợp như MeOD, DMSO-d₆ với chất chuẩn nội là TMS; thực hiện trên máy ADVANCE 500 (Bruker) tại phòng cấu trúc, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội. Độ chuyển dịch hóa học tính theo thang δ (ppm) với δTMS = 0,00.

2.2.3 Khảo sát tác dụng kháng viêm

Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường DMEM ở 37 °C, 5 % CO₂ với 10 % FBS, penicillin và streptomycin sulphate. Sau đó chúng được nuôi cấy trong giếng 96 lỗ với mật độ (2,5 x 10⁵) tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 2μL

LPS (0,1 mg/mL) trong 24 giờ với sự có mặt của các hợp chất thử ở nhiều nồng độ khác nhau, được pha sẵn trong DMSO. Dịch nổi của tế bào phản ứng với thuốc thử Griess. NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Độ hấp thụ được đo ở 570 nm. Cardamonin được sử dụng làm mẫu đối chứng [6].

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật

Kết quả khảo sát sơ bộ hóa thực vật (Bảng 1) cho thấy, caο rễ cây Dây khai (Coptosapelta flavescens Korth.) có nhiều saponin, triterpen, anthraquinon, polyphenol, chất nhầy và có thể có flavonoid.

Bảng 1 Kết quả khảo sát hóa thực vật rễ cây Dây khai

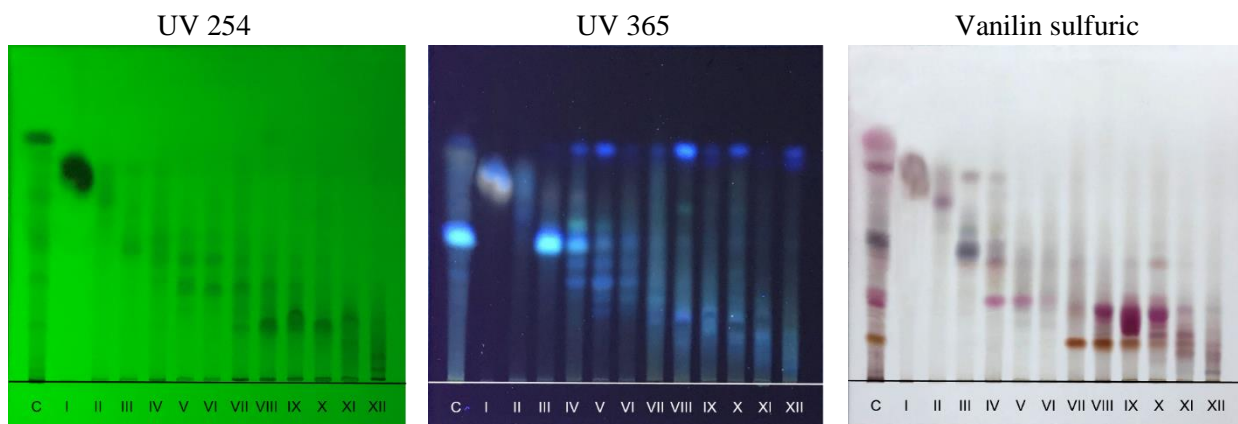
Nhóm hợp chất	Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn 96 %	Dịch chiết nước
Caroten	++		
Anthraquinon	++	+	-
Triterpen	++		
Polyphenol	-	+	-
Flavonoid	-	+/-	-
Saponin	-	++	++
Polyuronic			+

Ghi chú: (-) Âm tính, (+/-) Nghi ngờ, (+) Có ít, (++) Có nhiều, (+++) Có rất nhiều

Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc

3.2.1 Chiết xuất

Từ 560 g caο rễ Dây khai, qua quá trình lắс phân bố, đã thu được 20,45 g phân đoạn CHCl₃, 20 g phân đoạn EtOAc và 52,64 g phân đoạn n-BuOH. Vì đã có công trình nghiên cứu về phân đoạn EtOAc rễ cây Dây khai [1], nên phân đoạn CHCl₃ bước đầu được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1 Sắc ký đồ các phân đoạn từ sắc ký cột phân đoạn CHCl₃

Phân lập

- Phân đoạn CHCl_3

Từ 20,45 g phân đoạn CHCl_3 , qua sắc kí cột quá tải đã thu được 12 phân đoạn khác nhau (I - XII). Tiếp tục để bay hơi tự nhiên có 1 phân đoạn có kết tủa màu vàng nâu (X), 11 phân đoạn khác ở dạng dầu hoặc rắn. Các phân đoạn này tiếp tục được phân tách để thu được chất tinh khiết. Kết quả các phân đoạn từ cột quá tải phân đoạn CHCl_3 được trình bày ở Hình 1.

- Phân đoạn X

Từ 1,65 g phân đoạn X, sau khi hòa tan trong CHCl_3 rồi để bay hơi tự nhiên thấy xuất hiện kết tủa màu vàng nâu. Tủa này được lọc trên phễu thủy tinh xốp và rửa lại nhiều lần với MeOH lạnh thu được 550 mg tủa X.1 hình kim, màu trắng. X.1 được tinh chế trên cột Sephadex LH-20 thu được 52,1 mg tinh thể hình kim, đặt tên là C_1 .

- Phân đoạn III

Từ 4,11 g phân đoạn III, qua sắc kí cột cô điển đã thu

được 10 phân đoạn khác nhau. Tiếp tục để bay hơi tự nhiên có 2 phân đoạn có kết tủa, 8 phân đoạn khác ở dạng dầu hoặc rắn. Kết tủa thu từ phân đoạn III.3 được lọc trên phễu thủy tinh xốp, rửa nhiều lần với MeOH lạnh; kết hợp với kết tinh phân đoạn trong MeOH thu được 42,5 mg chất bột vô định hình, đặt tên là C_2 .

Xác định cấu trúc các chất phân lập được

3.3.1 Chất C_1

Chất C_1 (52,1 mg) thu được dưới dạng tinh thể hình kim, không màu; khó tan trong CHCl_3 , EtOAc, dễ tan trong MeOH. C_1 không cho vết tắt quang ở UV 254 nm và không cho vết phát quang ở UV 365 nm, cho màu hồng tím với thuốc thử vanilin sulfuric.

- Phổ MS

Trên phổ MS (HR-ESI+), C_1 cho phân mảnh $[\text{M}+\text{H}]^+$ với m/z 589,4178, tương ứng với khối lượng phân tử là 588,4178.

- Phổ NMR

Bảng 2 Dữ liệu phổ NMR của C_1 (500 MHz, pyridine- d_5)

C	CHn	^{13}C (δ ppm)	^1H (δ ppm, J)	HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{Cn}$)	COSY
1	- CH_2 -	39,5	1,82 m; 1,18 m	55,7	-
2	- CH_2 -	26,8	2,26 m; 1,91 m	88,9; 39,5	3,39 dd
3	> CH -	88,9	3.39 dd (4,0 Hz; 11,5 Hz)	16,7; 28,2; 39,5; 39,6; 106,7	1,91 m 2,26 m
4	C IV	39,6	-	-	-
5	> CH -	55,7	0,80 m	16,6; 16,7; 28,2; 37,9; 39,6	-
6	- CH_2 -	18,1	1,58 m; 1,45 m	-	-
7	- CH_2 -	38,4	1,69 m; 0,93 m	-	-
8	C IV	37,2	-	-	-
9	> CH -	56,4	1,06 m	16,6; 20,7	-
10	C IV	37,9	-	-	-
11	- CH_2 -	21,1	2,47 m; 2,18 m	130,7	-
12	- CH_2 -	32,1	2,37 m; 2,03 m	130,7; 56,4; 45,2; 39,8;	-
13	C IV	130,7	-	-	-
14	C IV	136,8	-	-	-
15	- CH_2 -	18,7	1,52 m, 1,31 m	-	-
16	- CH_2 -	24,1	2,05 m	180,2; 136,8; 39,8	-
17	C IV	45,2	-	-	-
18	> CH -	39,8	2,83 dd (3,5 Hz; 11,5 Hz)	180,2; 136,8; 130,7; 45,2; 41,7; 32,1; 24,4	1,68 m 1,24 m
19	- CH_2 -	41,7	1,68 m; 1,24 m	-	2,83 m
20	C IV	30,8	-	-	-
21	- CH_2 -	34,6	1,45 m; 1,23 m	-	2,13 m

22	- CH ₂ -	31,7	2,13 m; 1,75 m	180,2; 45,2; 34,6; 30,8;	1,23 m 1,45 m
23	- CH ₃	16,6	0,97 s	88,9; 55,7; 37,9; 28,2	-
24	- CH ₃	28,2	1,32 s	88,9; 55,7; 39,6; 16,6	-
25	- CH ₃	16,7	0,77 s	56,4; 37,9	-
26	- CH ₃	20,7	0,98 s	136,8; 56,4;	-
27	- COOH	180,2	-	-	-
28	- CH ₃	32,5	0,95 s	25,1; 31,7; 34,6; 41,7	-
29	- CH ₃	25,1	1,00 s	31,7; 41,7;	-
1'	O-C-O	106,7	4,85 d (1H; 7,5 Hz)	72,7; 75,9; 88,9	-
2'	> CH -	76,8	3,70 t	-	-
3'	> CH -	78,3	4,12 t	-	-
4'	> CH -	75,9	4,00 t	-	-
5'	> CH -	72,7	3,79 m	-	1,64 d
6'	- CH ₃	18,8	1,64 d (6,0 Hz)	72,7; 76,8	3,79 m

Trên dữ liệu phổ ¹³C-NMR của C₁ cho 35 tín hiệu tương ứng với 35 cacbon. Kết hợp với dữ liệu phổ MS, xác định CTPT của C₁ là C₃₅H₅₆O₇ (Ω = 8). Dựa vào dữ liệu phổ DEPT, nhận xét cấu trúc của C₁ gồm:

8 tín hiệu C IV

9 tín hiệu > CH -

11 tín hiệu - CH₂ -

7 tín hiệu - CH₃

Trong vùng cacbon có độ dịch chuyển (60 - 80) ppm, phổ ¹³C-NMR của C₁ cho 4 tín hiệu δ_C (78,3; 76,8; 75,9; 72,7) và 1 tín hiệu đặc trưng của cacbon thuộc cấu trúc O-glycosid có độ dịch chuyển tương ứng là 106,7 ppm. Bên cạnh đó, thông qua tương tác quan sát thấy trên HMBC của proton nhóm methyl δ_H 1,64d → δ_C 76,8 và δ_C 72,7 gợi ý cho cấu trúc đường 6-desoxy hexose. Thông qua việc đối chiếu với các dữ liệu phổ đã được công bố, phần đường được xác định là quinovose [7]

Như vậy, khung aglycon của C₁ gồm 29 cacbon với 6 nhóm methyl. Các proton của các nhóm methyl này đều cho đỉnh singlet, tức đều gắn với cacbon bậc IV. Đồng thời, có 2 cặp proton đều cho tương tác quan sát HMBC với cacbon của nhau và cùng cho tương tác với một cacbon bậc IV: δ_H 0,97s và δ_H 1,32s → δ_C 39,8; δ_H 0,95s và δ_H 1,00s → 45,2. Do vậy, C₁ có thể là một triterpen khung olean. Tuy nhiên trên phần aglycon của C₁ chỉ có 6/8 nhóm thế methyl. Điều này có thể lí giải thông qua sự hiện diện của cặp cacbon

olefin δ_C 130,7 và δ_C 136,8 được gán cho 2 vị trí C-13 và C-14; và một nhóm thế carboxyl có độ dịch chuyển 180,2 ppm tại vị trí C-17 (45,2 ppm). Vị trí C-3 được gán với độ dịch chuyển 88,9 ppm đặc trưng cho cacbon liên kết với nhóm thế có độ âm điện cao, thường là 3-OH với proton H-3 (δ_H 3.39dd (4,0 Hz; 11,5 Hz). Proton này cho tương tác HMBC với 2 nhóm methyl đặc trưng tại C-4 của các triterpen C-23 và C-24.

Vị trí gắn đường của C₁ được xác định thông qua tương tác quan sát thấy trên phổ HMBC của proton anomer H-1' (4,85d (1H; 7,5 Hz) với C-3 (88,9 ppm). Từ dữ liệu hằng số ghép của proton H-1', phần đường có thể là β-D-quinovose. Công thức của C₁ được giả định là 3β-O-β-D-quinovopyranosid pyrocincholic acid và đã được kiểm chứng thông qua so sánh dữ liệu phổ với tài liệu đã được công bố [0].

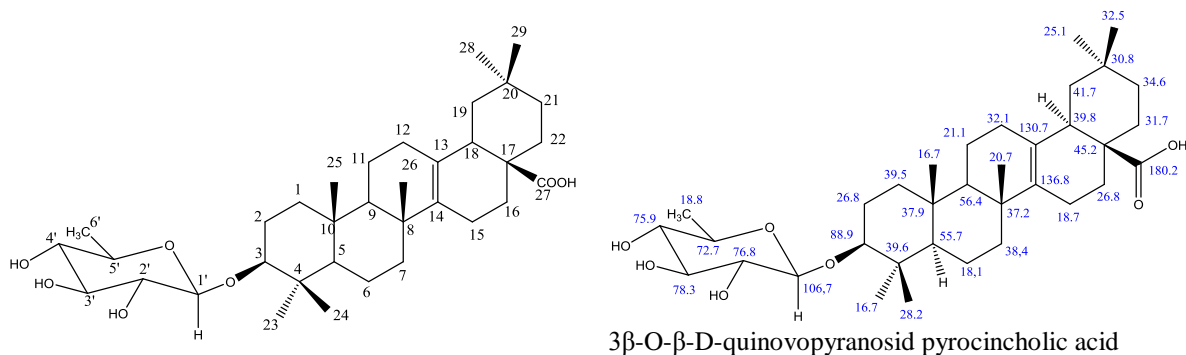
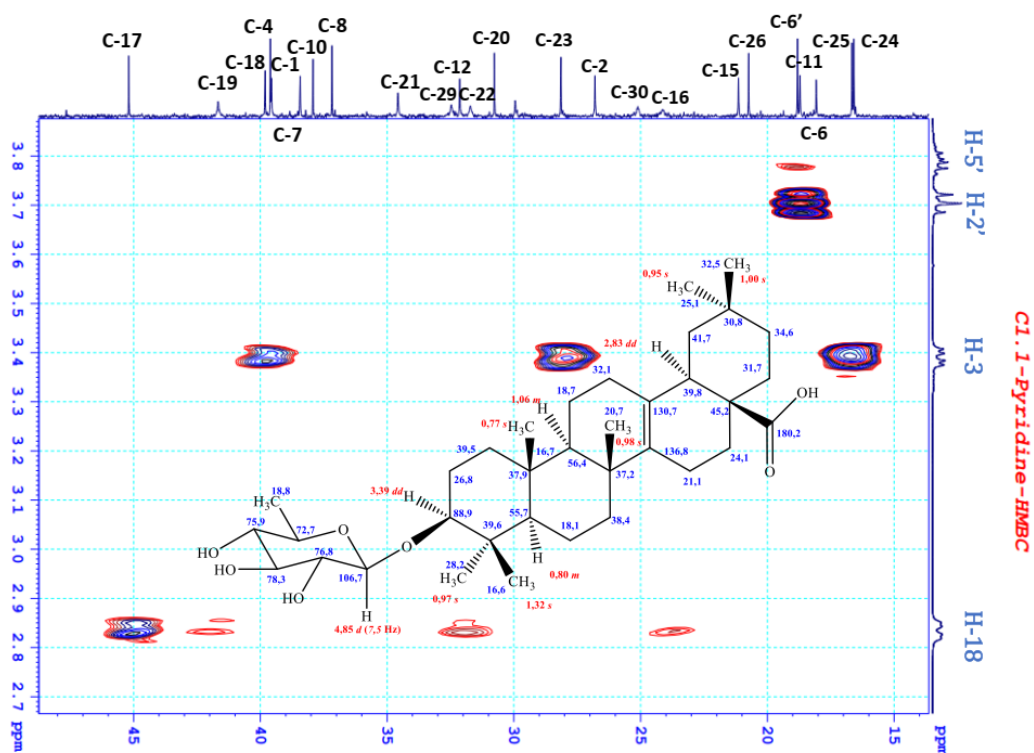
- Chất C₂

Chất C₂ (42,5 mg) thu được dưới dạng bột vô định hình, không màu; tan tốt trong CHCl₃, EtOAc, MeOH. C₂ không cho vết tắt quang ở UV 254 nm và không cho vết phát quang ở UV 365 nm, cho màu xanh tím với thuốc thử vanilin sulfuric.

- Phổ MS

Trên phổ MS (HR-ESI-), C₂ cho phân mảnh [M-H]⁻ với m/z 441,3375 (100 %), tương ứng với khối lượng phân tử là 442,3375.

- Phổ NMR



Hình 2 Trích dữ liệu phổ HMBC (δ_H 2,7-3,8) và cấu trúc hóa học của C₁

Bảng 3 Dữ liệu phổ NMR của C₂ (500 MHz, CDCl₃)

C	CHn	13C (δ ppm)	1H (δ ppm, J, Hz)	HMBC (H \rightarrow Cn)	COSY
1	-CH ₂ -	38,7	1,8 m; 1,16 m	55,3	-
2	-CH ₂ -	27,4	1,60 m	-	3,20 dd
3	>CH-	79,1	3,20 dd (11,5 Hz; 5 Hz)	15,3; 28,0	1,60 m
4	C IV	38,8	-	-	-
5	>CH-	55,3	0,76 m	38,8; 15,3; 28,0	-
6	-CH ₂ -	18,0	1,54 m; 1,38 m	-	-
7	-CH ₂ -	38,2	0,95 m; 1,74 m	-	-
8	C IV	39,7	-	-	-
9	>CH-	56,3	1,00 m	37,9; 18,9	-
10	C IV	37,2	-	-	-

11	- CH ₂ -	19,7	1,95 m; 2,20 m	-	
12	-CH ₂ -	35,2	1,95 m, 2,21 m	-	
13	C IV	130,9	-	-	-
14	C IV	139,5	-	-	-
15	- CH ₂ -	18,4	1,30 m; 1,54 m	-	1,95 m
16	- CH ₂ -	22,3	1,95 m, 1,85 m	-	1,30 m
17	C IV	47,5	-	-	-
18	> CH-	50,0	1,8 m	22,3; 35,2; 40,0; 47,5	-
19	> CH-	38,3	1,09 m	-	-
20	> CH-	40,0	1,05 m	-	-
21	- CH ₂ -	30,5	1,30 m; 1,52 m	-	-
22	- CH ₂ -	34,1	1,59 m; 1,74 m		-
23	- CH ₃	15,3	0,77 s	28,0; 38,8; 55,3; 79,1	-
24	- CH ₃	28,0	0,96 s	15,3; 38,8; 55,3; 79,1	-
25	- CH ₃	16,4	0,81 s	37,2; 38,7; 55,3	-
26	- CH ₃	18,9	0,86 s	37,9; 56,3; 139,5	-
27	- COOH	183,4	-	-	-
28	- CH ₃	17,7	0,88 d	50,0; 30,5; 38,3; 40,0	-
29	- CH ₃	20,1	0,90 d	30,5; 34,1; 38,3; 40,0	-

Trên dữ liệu phổ ¹³C-NMR của C₂ cho 29 tín hiệu tương ứng với 29 cacbon. Kết hợp với dữ liệu phổ MS, xác định CTPT của C₂ là C₂₉H₄₆O₃ (Ω = 7). Dựa vào dữ liệu từ phổ DEPT, nhận xét cấu trúc của C₂ gồm:

7 tín hiệu C IV

6 tín hiệu > CH -

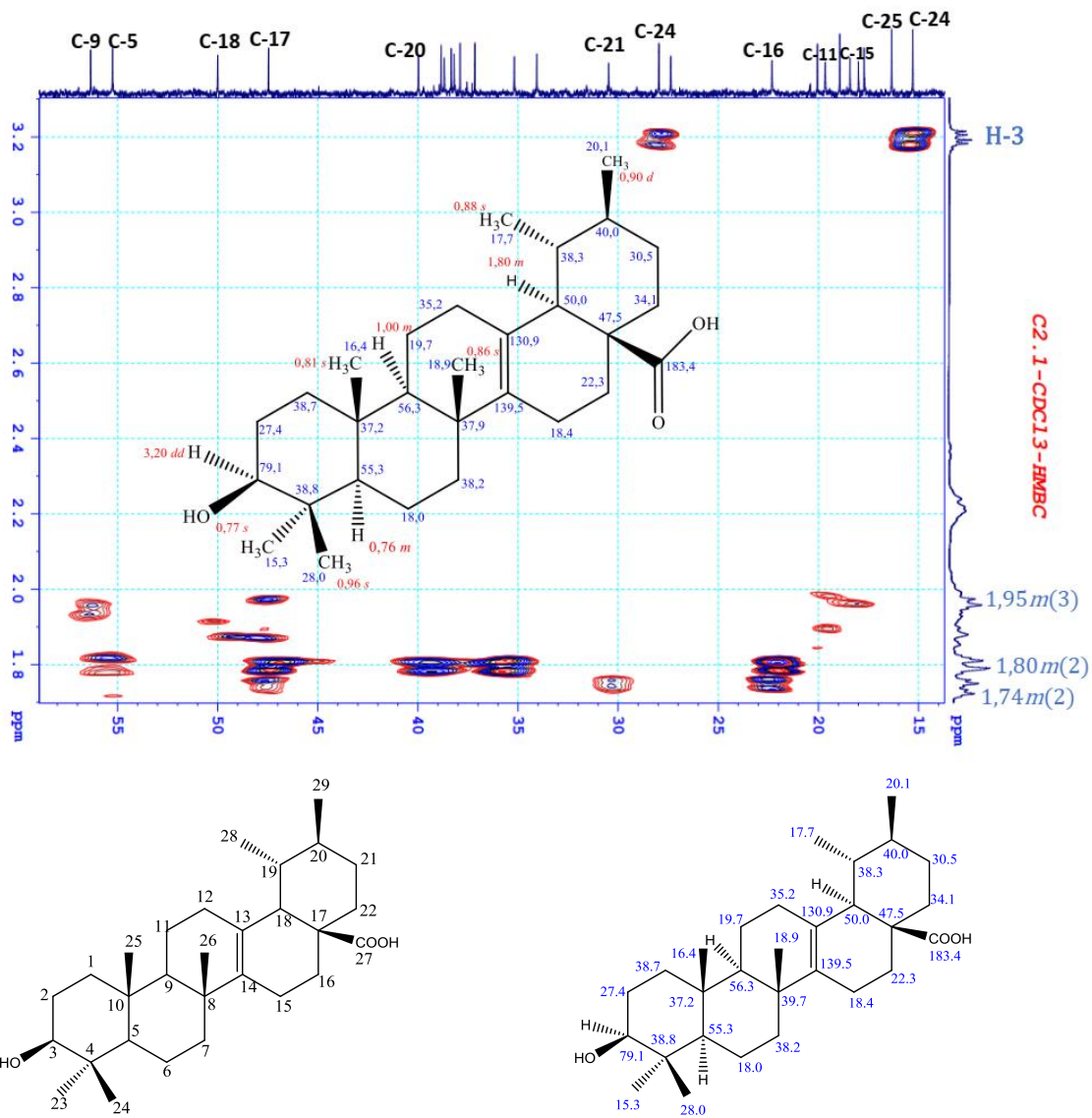
10 tín hiệu - CH₂ -

6 tín hiệu - CH₃

Như vậy, C₂ gồm 29 cacbon với 6 nhóm methyl, trong đó có 4 proton gắn với cacbon bậc 4 δ_H (0,77; 0,81; 0,86; 0,96) s và 2 proton gắn với cacbon bậc ba δ_H (0,89; 0,90) d. Do đó, giả thiết rằng C₂ có cấu trúc triterpen khung ursan – là khung cấu trúc đã được báo cáo trong rễ cây Dây khai ở các công bố trước đây. Theo đó, 2 nhóm thế methyl có độ dịch chuyển hóa học C-23 (15,3 ppm) và C-24 (28,0 ppm) được gắn vào vị trí C-4 thường gặp ở các dẫn xuất triterpen khi proton của chúng cùng cho tương tác quan sát thấy C-4 (38,8 ppm). Vị trí C-3 được gắn với độ dịch chuyển 79,1 ppm, đặc trưng cho cacbon gắn với nhóm thế -OH với δ_H 3,20dd (11,5 Hz; 5 Hz). Điều này một lần

nữa được chứng minh thông qua tương tác quan sát thấy lẫn nhau các cacbon của các proton H-3, H-23 và H-24. Cấu trúc khung ursan của C₂ được xác định với 2 nhóm thế methyl cho đỉnh doublet H-23 δ_H 0,88 d và H-24 δ_H 0,90 d tại C-20 (38,3 ppm), C-21 (40,0 ppm).

Ngoài ra trong cấu trúc của C₂ còn có nhóm thế methyl ở vị trí C-8 và C-10 thường thấy ở khung triterpen, được gắn cho C-25 δ_C 16,4; H-25 δ_H 0,81 s và C-26 δ_C 18,9; H-26 δ_H 0,86 s. Bên cạnh đó, C₂ còn có 2 cặp cacbon olefin bậc IV có độ dịch chuyển lần lượt là 130,9 ppm và 139,5 ppm được gắn cho 2 vị trí C-13 và C-14. Nhóm thế carboxyl 183,4 ppm được gắn với C bậc IV còn lại ở vị trí 17 (δ_C 47,5). Như vậy, C₂ có các đặc điểm cấu trúc gần như tương tự phần aglycon của C₁, chỉ khác ở vòng E. Từ các dữ liệu thu được, thông qua tương tác HMBC của các proton nhóm methyl, kết hợp với các công bố trước đây về cấu trúc của khung ursan, cấu trúc của C₂ được xác định là acid pyroquinoic và đã được kiểm chứng thông qua so sánh dữ liệu phổ với tài liệu đã được công bố [0]



Hình 3 Trích dữ liệu phổ HMBC (δ_H 2,7-3,8) và cấu trúc hóa học của C_2

3.4 Kết quả đánh giá tác dụng kháng viêm

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy C_1 và C_2 đều có khả năng kháng viêm, đặc biệt là C_1 . Ở nồng độ thử nghiệm 30 μM , C_1 cho khả năng ức chế NO gần như tương đương chứng dương là cardamonin (1 μM).

Bảng 4 Đánh giá khả năng ức chế NO trên RAW264.7

Chất	Nồng độ (μM)	% ức chế
C_1	30	52,38 \pm 0,79
	100	71,42 \pm 3,02
C_2	30	20,37 \pm 0,53
	100	33,33 \pm 0,84
Cardamonin	1	54,8 \pm 5,85

4 Kết luận

Kết quả sơ bộ hóa thực vật thành phần hóa học rễ Dây khai cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất: saponin, triterpen, anthraquinon, polyphenol, chất nhầy và có thể có flavonoid. Bên cạnh đó, bằng việc áp dụng các kỹ thuật chiết tách và phân lập, nghiên cứu này đã thu được 2 dẫn chất triterpen từ phân đoạn CHCl_3 của cao rễ Dây khai. Hai chất này đã được xác định cấu trúc thông qua biện giải các dữ liệu phổ MS và NMR (1D-, 2D-) với tên gọi lần lượt là $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-quinovopyranosid}$ pyrocincholic acid và acid pyroquinoic. Đây là 2 chất lần đầu tiên được phân lập từ rễ cây Dây khai và đã được chứng minh rằng có

khả năng kháng viêm in-vitro khi ức chế đáng kể sự hình thành NO từ tế bào RAW 264.7, đặc biệt là 3 β -O- β -D-quinovopyranosid pyrocincholic acid. Điều này giải thích được phần nào ứng dụng thực tế của cao rễ Dây khai trong điều trị các bệnh lí viêm nhiễm, viêm khớp.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2020.01.085/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Trần Hùng, Trần Thị Vân Anh (2010), “Nghiên cứu thành phần hóa học của Dây khai theo định hướng tác dụng kháng viêm”. NXB Y học Thành phố Hồ Chí Minh, tập 14(1), Phụ bản, tr.116-122.
2. Viện Dược liệu (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập I. NXB Khoa học Kỹ thuật, tr. 645
3. Võ Văn Minh, Phạm Thị Kim Thoa, Nguyễn Thị Kim Yến (2014), “Cây thuốc của người Hrê, và đề xuất một số giải pháp bảo tồn, phát triển tại huyện Ba Tơ, tỉnh Quảng Ngãi”. Tạp chí Khoa học Lâm Nghiệp, tr. 3210
4. Lê Văn Minh (2017), “Khảo sát, điều tra cây dược liệu trên địa bàn tỉnh Ninh Thuận năm 2017”, Báo cáo tổng kết nhiệm vụ khoa học công nghệ cấp tỉnh. Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Ninh Thuận, tr. 48
5. Trần Hùng, (2016), Phương pháp nghiên cứu Dược liệu. Đại học Y Dược, Tp. Hồ Chí Minh, tr. 26-41
6. Dirsch, V.M., H. Stuppner, and A.M. Vollmar (1998), “The Griess assay: suitable for a bio-guided fractionation of anti-inflammatory plant extracts”. *Planta Med*, 64(5): pp. 423-6.
7. Hwang, I. H., Kulkarni, R., Yang, M. H., Choo, S. J., Zhou, W., Lee, S. M., ... & Na, M. (2014), “Complete NMR assignments of undegraded asterosaponins from *Asterias amurensis*”. *Archives of Pharmacal Research*, 37(10), pp.1252-1263.
8. Hounkong, K., Sawangjaroen, N., Kongyen, W., Rukachaisirikul, V., and Wootipoom, N. (2015), “Mechanisms of 1-hydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone from *Coptosapelta flavescens* as an anti-giardial activity”. *Acta tropica*, 146, pp. 11-16.
9. Hounkong, K., Sawangjaroen, N., Kongyen, W., Rukachaisirikul, V., Voravuthikunchai, S. P., & Phongpaichit, S. (2014), “Anti-intestinal protozoan activities of 1-hydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone from *Coptosapelta flavescens*”. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(6), pp. 457-462.
10. Kongyen, W., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Sawangjaroen, N., Songsing, P., & Madardam, H. (2014), “Anthraquinone and naphthoquinone derivatives from the roots of *Coptosapelta flavescens*”. *Natural Product Communications*, 9(2), pp. 219-220.
11. Kosala, K., Ismail, S., Fikriah, I., & Magdalena, A. R. (2017), “In vitro Exploration of Vasodilation Activity of the Methanol Extract of the *Coptosapelta flavescens* Korth stem”. *JIMR-Journal of Islamic Medicine Research*, 1(2), pp. 10-14
12. Kosala, K., Widodo, M. A., Santoso, S., & Karyono, S. (2018), “In vitro and In vivo Anti-inflammatory Activities of *Coptosapelta flavescens* Korth Root's Methanol Extract”. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(09), pp. 42-48.
13. Rumero, A., Vazquez, P. & Bruix, M. (1996), “¹H and ¹³C NMR Assignments for a 27-Norolean-13-en-3-hydroxy-28-oic Acid Glycoside from *Isertiahaenkeana*”. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 34(2), pp. 151-155.
14. Rumero-Sanchez, A. & Vazquez, P. (1991), “A nor-triterpene glycoside from *Isertia haenkeana* and a ¹³C NMR study of cincholic acid”. *Phytochemistry*, 30(2), pp. 623-626

Isolation and anti-inflammatory activity of new compounds from chloroform fraction of *Coptosapelta flavescens* roots korth., rubiaceae

Bui Hoang Minh, Bui Nguyen Bien Thuy, Nguyen Linh Tuyen, Vo Thi Truong Giang, Ngo Kim Nguyen
Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
bhminh@ntt.edu.vn

Abstract *Coptosapelta flavescens* Korth. is traditionally used by Hre ethnic to treat intestinal worm, arthritis, and wound. The study aims to investigate the chemical characteristics of the roots of *Coptosapelta flavescens* Korth. Therefore, 3 fractions (CHCl₃, EtOAc và n-BuOH) were obtained from roots extract using liquid extraction. CHCl₃ fraction was chromatographed with silica gel, accompanied with recrystallization. As a result, two triterpenes, 3β-O-β-D-quinovopyranosid pyrocincholic acid and pyroquinovic acid, were isolated. Their structures were characterized on the basis of chemical and spectral evidence including two- dimensional NMR and mass spectrometric techniques. Both C₁ and C₂ could inhibit the NO production on RAW264.7. At 30 mM, C₁ showed good inhibitory activity at (52.38 ± 0.79) % while C₂ possessed weak anti-inflammatory activity at the same concentration (20.37 ± 0.53) %.

Keywords *Coptosapelta flavescens*, 3β-(D-quinovopyranosyl)-olean-13-en-27-oic, 3β-hydroxy-urs-13-en-27-oic