



Tổng Biên tập:

PGS. TS.

Nguyễn Phương Sinh

Ngày nhận bài:

05/06/2025

Ngày chấp nhận đăng bài:

25/11/2025

Ngày xuất bản:

31/12/2025

DOI: 10.66517/jstmp.2025.4.2**Bản quyền:**

@ 2025 Thuộc Tạp chí Khoa học và Công nghệ Y Dược

Xung đột quyền tác giả:

Tác giả tuyên bố không có bất kỳ xung đột nào về quyền tác giả

Địa chỉ liên hệ:

Số 284, đường Lương Ngọc Quyến, phường Phan Đình Phùng, tỉnh Thái Nguyên

Email: tapchi@tnmc.edu.vn

PHÂN LẬP MỘT SỐ HỢP CHẤT VÀ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA LOÀI HỒNG ĐẠM SA PA (*Adinandra megaphylla* Hu) THU TẠI TỈNH LÀO CAI, VIỆT NAM

Phó Thị Thúy Hằng^{1*}, Nguyễn Hữu Quân², Ngô Thị Thúy Ngân¹

1 Trường Đại học Y Dược - Đại học Thái Nguyên

2 Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

* Tác giả liên hệ: phohang2011@gmail.com

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*) đều là những cây hoang dại, những nghiên cứu sâu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học mới chỉ được thực hiện ở một số loài: *A. hainanensis*, *A. lienii*, và *A. poilanei* trong tổng số 17 loài thuộc chi Dương đồng được phát hiện ở Việt Nam. Hồng đạm Sa Pa (*A. megaphylla* Hu) là một loài quý hiếm, có nguy cơ tuyệt chủng nhưng chưa có nghiên cứu nào phân lập hợp chất và xác định hoạt tính sinh học của các hợp chất ở loài này. **Mục tiêu:** Nghiên cứu nhằm phân lập, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của một số hợp chất thu được từ lá loài Hồng đạm Sa Pa. **Phương pháp:** Sắc ký bản mỏng, sắc ký cột và đo phổ. **Kết quả:** Nghiên cứu đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 03 hợp chất từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa là: ursolic acid, 24-hydroxytormentonic acid và scopolin. Trong đó, 24-hydroxytormentonic acid và scopolin là những hợp chất lần đầu tiên phân lập được ở chi Dương đồng. Trong phạm vi nghiên cứu, bước đầu xác định hợp chất ursolic acid có hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất với vi khuẩn *P. aeruginosa*

và *S. milleri*. Hợp chất scopolin có khả năng gây độc dòng tế bào ung thư gan HepG2 và MCF-7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 32,00 và 43,63 $\mu\text{g/mL}$. Hợp chất ursolic acid và 24-hydroxytormentonic acid có khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,52; 18,38 $\mu\text{g/mL}$.

Từ khóa: Hồng đạm Sa Pa; Phân lập hợp chất; Hoạt tính sinh học; Chi Dương đồng; Kháng khuẩn

**ISOLATION OF SOME COMPOUNDS AND
DETERMINATION OF THE BIOLOGICAL
ACTIVITY OF THE “HỒNG ĐẠM SA PA” SPECIES
(*Adinandra megaphylla* Hu) COLLECTED IN
LAO CAI PROVINCE, VIETNAM**

Pho Thi Thuy Hang^{1*}, Nguyen Huu Quan², Ngo Thi Thuy Ngan¹

1 TNU - University of Medicine and Pharmacy

2 TNU - University of Education

* Author contact: phohang2011@gmail.com

ABSTRACT

Background: Species of the genus *Adinandra* are wild plants, and in-depth studies on their chemical constituents and biological activities have been conducted for only a few species, namely *A. hainanensis*, *A. lienii*, and *A. poilanei*, among the 17 *Adinandra* species recorded in Vietnam. *Adinandra megaphylla* Hu (Hong dam Sa Pa) is a rare and endangered species; however, to date, no studies have reported the isolation of compounds or the evaluation of their biological activities from this species. **Objective:** The objective of this study was to isolate compounds from the leaves of *Adinandra*

megaphylla Hu and to determine their chemical structures and biological activities. **Methods:** Using thin-layer chromatography, column chromatography, and spectroscopic methods. **Results:** Three compounds were isolated and structurally identified from the leaves of *A. megaphylla* Hu: ursolic acid, 24-hydroxytormentonic acid, and scopoline. Among these, 24-hydroxytormentonic acid and scopoline were isolated for the first time from the genus *Adinandra*. Within the scope of this study, ursolic acid exhibited the strongest antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus milleri*. Scopoline showed cytotoxic activity against HepG2 and MCF-7 cancer cell lines, with IC₅₀ values of 32.00 and 43.63 µg/mL, respectively. Ursolic acid and 24-hydroxytormentonic acid demonstrated inhibitory activity against α-glucosidase, with IC₅₀ values of 27.52 and 18.38 µg/mL, respectively.

Keywords: *Adinandra megaphylla* Hu; Compound isolation; Biological activity; *Adinandra* genus; Antibacterial activity

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Dương đồng (*Adinandra*, thuộc họ Pentaphylacaceae) hiện nay có khoảng 85 loài trên thế giới và 17 loài được ghi nhận tại Việt Nam [1]. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy, dịch chiết của một số loài trong chi này có hoạt tính chống ung thư, kháng khuẩn và chống oxy hóa [1-4], tuy nhiên các công trình phân lập hợp chất và đánh giá hoạt tính mới chỉ được tiến hành trên một vài loài như *A. hainanensis*, *A. lienii* và *A. poilanei* [1-4]. Trong khi đó, Hồng đạm Sa Pa (*A. megaphylla*) là loài quý hiếm, đang bị đe dọa tuyệt chủng nhưng hầu như chưa có nghiên cứu

nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học [5]. Khoảng trống thông tin này đặt ra câu hỏi: Loài Hồng đạm Sa Pa có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học giá trị không? Và nếu có thì những hợp chất nào đóng vai trò tạo nên các hoạt tính đó? Xuất phát từ lý do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập các hợp chất từ lá Hồng đạm Sa Pa và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, gây độc tế bào và ức chế α -glucosidase của chúng, từ đó cung cấp bằng chứng khoa học về tiềm năng hoạt tính sinh học của loài cây quý hiếm này.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Lá của loài Hồng đạm Sa Pa được thu hái tại xã Liêm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai ở độ cao 1200 - 1800 m, tọa độ 21°59'15"N; 104°19'28"E. Lá được sử dụng để tạo cao chiết, phân lập các hợp chất và thử hoạt tính sinh học của các hợp chất thu được.

Địa điểm nghiên cứu: Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 12/2024 đến tháng 9/2025.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập hợp chất

Phương pháp tạo cao chiết tổng và cặn chiết: Lá của loài Hồng đạm Sa Pa được thu hái từ các cây khỏe mạnh, chọn ưu tiên lá trưởng thành, không sâu bệnh. Lá được rửa sạch dưới vòi nước để loại bỏ tạp chất, để ráo, sau đó thái nhỏ và làm khô bằng cách phơi trong bóng râm hoặc sấy khô ở nhiệt độ khoảng 50°C cho đến khi đạt độ ẩm ổn định. Mẫu khô được nghiền mịn và bảo quản trong lọ kín để phục vụ các phân

tích tiếp theo. Bột lá khô (3,5 kg) được ngâm chiết 24 giờ với methanol 4 lần ở nhiệt độ phòng (khối lượng mẫu/thể tích methanol (w/v):1/6. Dịch chiết methanol được gộp lại, cất cô quay loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết tổng (A g). Cao chiết tổng được hòa tan trong nước cất (1 lít) và được chiết phân lớp lần lượt bằng các dung môi n-hexane và ethyl acetate (mỗi dung môi chiết 4 lần, mỗi lần 1 lít), thu được các dịch chiết n-hexane và dịch chiết ethyl acetate (EtOAc). Cất cô quay các dịch chiết để loại bỏ dung môi thu được cặn chiết n-hexane (B g), cặn chiết EtOAc (C g) và dịch chiết nước (D lít). Các cặn chiết được sử dụng để phân lập các hợp chất [6].

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Sắc ký lớp mỏng (pha thường và pha đảo) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (0,25 mm, Merck), RP-18 F_{254s} (0,25 mm, Merck). Dung môi sử dụng cho sắc ký lớp mỏng là hỗn hợp các dung môi thông dụng như n-hexane, dichloromethane, metanol, acetone, ethyl acetate, H₂O... Các chất được phát hiện bằng đèn UV ở hai bước sóng 254 và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu [6].
Sắc ký cột (CC): Pha tĩnh là các chất hấp phụ: silica gel pha thường cỡ hạt 40-63 µm (230 - 400 mesh), silica gel pha đảo sử dụng loại RP-18 (150 µm, Fuji Silysia Chemical Ltd.), Sephadex LH-20. Pha động là các dung môi thông dụng như n-hexane, dichloromethane, methanol, acetone, ethyl acetate, H₂O... và các hỗn hợp của chúng [6].

Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của hợp chất
Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định trên cơ sở sử dụng các phép xác định thông số vật lý và

các phương pháp đo phổ bằng các thiết bị hiện đại đồng thời kết hợp với phân tích và tra cứu tài liệu tham khảo. Các phương pháp đo phổ được sử dụng gồm phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): ^1H -NMR, và ^{13}C -NMR. Phổ NMR được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR tại Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các phương pháp xác định hoạt tính sinh học

Hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch theo Mahesh và Satish (2008) [7]. Các chủng vi khuẩn kiểm định được hoạt hóa trong môi trường LB lỏng (28°C , 200 vòng/phút, 4 - 8 giờ), sau đó 70 μL dịch khuẩn được trải đều lên môi trường LB đặc và khoan năm giếng thạch (đường kính 1 cm). Mỗi giếng được bổ sung 100 μL mẫu hợp chất (100, 200 và 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ trong DMSO 1%), penicillin 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (đối chứng dương) hoặc DMSO 1% (đối chứng âm). Các đĩa được giữ ở 4°C trong 1 - 2 giờ, ủ ở 28°C trong 18 - 24 giờ rồi đo đường kính vòng ức chế; mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần. Đường kính vùng ức chế (H, mm) được tính theo công thức $H = D - d$, trong đó D là đường kính vòng kháng khuẩn và d là đường kính giếng thạch.

Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* được đánh giá bằng phương pháp SRB theo Skehan và cs. (1990) [8]. Hợp chất nghiên cứu được thử ở các nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ellipticine (10, 2, 0,4 và 0,08 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và DMSO 1% lần lượt được sử dụng làm đối chứng dương và âm. Tế bào sau khi trypsin hóa và điều chỉnh mật độ được xử lý trong đĩa 96 giếng; giếng đối chứng ngày 0 được cố định bằng TCA 20% sau 1 giờ. Sau 72 giờ ủ, tế bào được cố định, nhuộm

SRB và đo mật độ quang ở 540 nm để xác định hàm lượng protein. Phần trăm ức chế tăng trưởng tế bào được tính từ giá trị OD và IC_{50} được xác định bằng phần mềm TableCurve 2D v4; mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần.

Hoạt tính ức chế α -glucosidase được đánh giá dựa trên sự thủy phân cơ chất p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG), giải phóng p-nitrophenol hấp thụ tại 405 nm [9]. Trong mỗi giếng đĩa 96 giếng, 10 μ L dung dịch mẫu (trong DMSO) được trộn với 40 μ L đệm phosphate 0,1 M (pH 6,9) và 100 μ L α -glucosidase (1 U/mL), sau đó ủ ở 30°C trong 10 phút. Phản ứng được khởi động bằng cách bổ sung 50 μ L pNPG 5 mM và tiếp tục ủ ở 30°C trong 5 phút. Độ hấp thụ được đo ở 405 nm trước và sau khi ủ cơ chất để xác định ΔOD . Acarbose và đệm phản ứng lần lượt được sử dụng làm đối chứng dương và âm; giá trị IC_{50} được xác định bằng phần mềm TableCurve.

Phương pháp xử lý và phân tích kết quả: Sử dụng toán thống kê trên phần mềm excel để xác định giá trị trung bình và độ lệch chuẩn, IC_{50} .

KẾT QUẢ

Kết quả phân lập các hợp chất có trong lá của loài **Hồng đạm Sa Pa**

Bằng phương pháp tạo cao chiết tổng và cặn chiết đã thu được 480 g cao chiết tổng, 30 g cặn chiết n-hexane, 156 g cặn chiết EtOAc và 1,5 lít dịch chiết nước.

Cặn chiết EtOAc được phân tách trên cột silica gel pha thường (silica gel c, c) và rửa giải bằng hệ dung môi n-hexane/ethyl acetate với độ phân cực tăng dần (tỷ lệ 100/0 - 0/100) thu được 10 phân đoạn (ký hiệu từ E1 - E10).

Trên cơ sở kết quả khảo sát các phân đoạn bằng phương pháp sắc ký bản mỏng đã tiến hành phân lập các hợp chất từ các phân đoạn E5, E6 và E9.

Phân đoạn E5 (7,3 g) được phân tách trên cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải n-hexane/acetone (tỷ lệ 9:1) thu được bốn phân đoạn ký hiệu E5.1 - E5.4. Hợp chất **HD1** (45 mg) thu được từ phân đoạn E5.2 (160 mg) bằng cách kết tinh trong acetone. Phân đoạn E6 (5,2 g) được đưa lên cột silica gel pha thường, rửa giải bằng hệ dung môi n-hexane/acetone (tỷ lệ 9:1) thu được 7 phân đoạn ký hiệu từ E6.1-F6.7. Phân đoạn E6.7 (2,1 g) được tách trên cột Sephadex LH-20 (Sephadex LH-20 c, c) với hệ dung môi methanol/dichloromethane (9:1) thu được 2 phân đoạn E6.7.1 - F6.7.2. Phân đoạn E6.7.2 (418 mg) được tinh chế trên cột silica gel pha thường, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/acetone (tỷ lệ 9:1) thu được hợp chất **HD2** (3,1 mg).

Phân đoạn E9 (4,1 g) được phân tách trên cột Sephadex LH-20, rửa giải bằng dung môi methanol thu được 4 phân đoạn ký hiệu E9.1 - E9.4. Phân đoạn E9.2 (400 mg) được tách trên cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải methanol/dichloromethane (tỷ lệ 9:1) thu được hai phân đoạn ký hiệu E9.2.1 và E9.2.2. Phân đoạn E9.2.1 (160 mg) được tinh chế trên cột silica gel pha đảo (RP-18), rửa giải bằng hệ dung môi methanol/nước (tỷ lệ 1:4) thu được hợp chất **HD3** (5,1 mg).

Kết quả xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được

Các hợp chất **HD1**, **HD2** và **HD3** được đo phổ, phân tích phổ và xác định cấu trúc hóa học tại phòng Công nghệ Hóa dược, Viện Hóa sinh biển thuộc Viện Hàn

lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Cấu trúc hóa học của ba hợp chất được mô tả trong Hình 1.

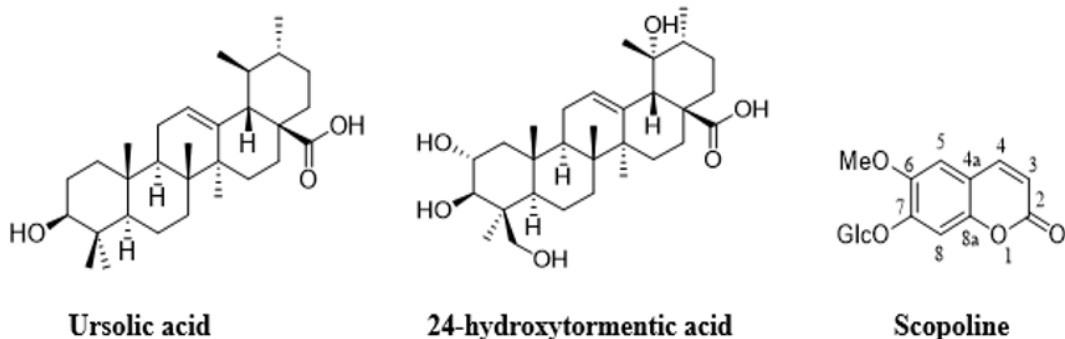
Hợp chất **HD1**: Dữ liệu phổ ^1H (500 MHz) và ^{13}C -NMR (125 MHz) của hợp chất **HD1** trong CDCl_3 + CD_3OD được trình bày trong Bảng phụ 1 và Hình phụ 1a,1b,1c. Hợp chất **HD1** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ^1H -NMR có các tín hiệu đặc trưng của hợp chất triterpen khung ursan với tín hiệu 7 nhóm thế methyl trong đó có 5 singlet và 2 doublet tại δ_{H} 1.01 (3H, s, H-27), 0.90 (3H, s, H-23), 0.80 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.85 (3H, s, H-24), 0.74 (3H, s, H-26), 0.70 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-30). Bên cạnh đó còn có tín hiệu nhóm CHOH ở vị trí δ_{H} 3.12 (1H, m, H-3) và tín hiệu olefinic proton ở vị trí δ_{H} 5.17 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-12). Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho tín hiệu của 30 carbon trong đó nhóm carboxylic acid tại δ_{C} 180.6 (C-28), và 7 nhóm methyl. Các dữ kiện phổ NMR và ESI-MS gợi ý hợp chất này là ursolic acid. So sánh dữ liệu phổ với tài liệu tham khảo thấy phù hợp [10]. Hợp chất **HD1** được xác định là **ursolic acid**, công thức phân tử $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ ($M = 456$).

Hợp chất **HD2**: Dữ liệu phổ ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) và phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) của hợp chất **HD2** được trình bày trong Bảng phụ 2 và Hình phụ 2a,b,c,d. Hợp chất **HD2** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ^1H -NMR cho các tín hiệu đặc trưng của hợp chất triterpen khung ursan với tín hiệu 6 nhóm thế methyl trong đó có 5 singlet và 1 doublet tại δ_{H} 1.35 (3H, s, H-27); 1.21 (3H, s, H-29), 0.94 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 1.00 (3H, s, H-26), 0.79 (3H, s, H-25); 1.24 (3H, s, H-23). Ngoài ra còn có tín hiệu nhóm oxymethylene tại 4.05 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-24) và

3.40 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-24), 2 nhóm oxymethine ở vị trí δ_{H} 3.81 (1H, m, H-2) và 3.07 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3) và tín hiệu olefinic proton ở vị trí δ_{H} 5.31 (1H, t, $J = 3,5$ Hz, H-12). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho tín hiệu của 30 carbon trong đó nhóm carboxylic acid tại δC 182.3 (C-28), 2 olefinic carbon tại 140.1 (C-13); 129.1 (C-12); 3 tín hiệu carbon liên kết với oxy và 7 nhóm methyl. Các dữ kiện phổ NMR gợi ý hợp chất này là 24-hydroxytormentic acid. So sánh dữ liệu phổ với tài liệu tham khảo thấy phù hợp [11, 12]. Hợp chất **HD2** được xác định là **24-hydroxytormentic acid**, công thức phân tử là $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$ ($M = 504$).

Hợp chất **HD3**: Dữ liệu phổ ^1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125 MHz) của hợp chất **HD3** được trình bày trong Bảng phụ 3 và Hình phụ 3a,3b. Hợp chất **HD3** được phân lập dưới dạng chất rắn. Trên phổ NMR cho tín hiệu hợp chất coumarin với tín hiệu 2 olefinic proton dạng cis tại δ_{H} 7.91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-4) và 6.32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3), 2 proton vùng thơm singlet ở δ_{H} 7.12 (1H, s, H-5); 6.79 (1H, s, H-8), tín hiệu nhóm methoxy tại δ_{H} 3.93 (3H, s, OCH₃). Ngoài ra còn có tín hiệu 1 phân tử đường với anomer proton tại 5.08 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-1') và các tín hiệu khác tại 3.92 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz, 2Hz, H-6'a), 3.72 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz, 5Hz, H-6'b), 3.59 - 3.42 (4H, m, H-2', H-3', H-4', H-5'). Trên phổ ^{13}C -NMR cho 16 tín hiệu carbon trong đó có 10 carbon thuộc khung hợp chất coumarin gồm nhóm carbonyl tại δC 163.5 (C-2), 6 tín hiệu vòng thơm và 2 tín hiệu olefinic carbon, và nhóm methoxy tại δC 57.1 (OMe). Tín hiệu của phân tử đường gồm anomer carbon tại 102.0 (C-1') và 78.3 (C-3'), 77.8 (C-5'), 74.7 (C-2'), 71.2 (C-4'), 62.3 (C-6'). So sánh dữ liệu

phổ NMR với các tài liệu đã được công bố cho phép xác định hợp chất **HD3** là **scopoline** [13].



Hình 1. Cấu trúc hóa học của ba hợp chất phân lập được từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa

Kết quả xác định hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa

Hoạt tính kháng khuẩn của các hợp chất phân lập được

Ba hợp chất được thử hoạt tính kháng khuẩn ở các nồng độ 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ trên 5 chủng vi khuẩn kiểm định bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Sử dụng kháng sinh penicillin 200 $\mu\text{g/mL}$ làm đối chứng dương và DMSO 1% làm đối chứng âm. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn được trình bày trong bảng 1 và hình 2.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của các hợp chất phân lập từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa

Tên hợp chất	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Chủng vi khuẩn và đường kính vùng ức chế (H, mm)				
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. milleri</i>	<i>E. coli</i>
Ursolic acid	100	4,21 \pm 0,05	0	0	0	0
	200	20,22 \pm 0,98	0	0	15,12 \pm 0,89	0
	400	23,02 \pm 1,05	0	0	20,13 \pm 1,21	10,55 \pm 0,73
24-hydroxytormentonic acid	100	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0
	400	0	0	9,21 \pm 1,03	0	10,21 \pm 0,82

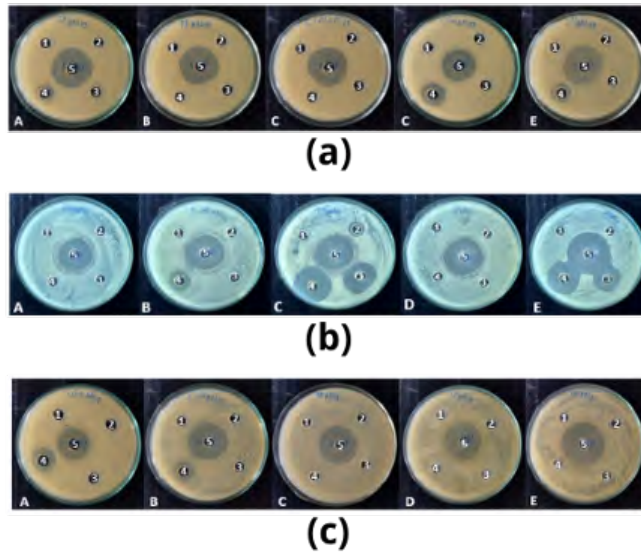
Scopoline	100	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0
	400	0	4,12±0,67	11,12±2,03	9,34±0,75	0
DMSO	1%	0	0	0	0	0
Penicillin	200	22,85±0,67	23,01±1,65	18,14±0,21	26,57±1,02	23,00±0,86

Các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn với các mức độ khác nhau tùy thuộc vào nồng độ hợp chất và chủng vi khuẩn thử nghiệm. Ngoại trừ ursolic acid thì hai hợp chất còn lại không có khả năng ức chế sự phát triển của bất kỳ một chủng vi khuẩn nào ở nồng độ 100 µg/mL và 200 µg/mL. Với mỗi chủng vi khuẩn nhất định thì khả năng kháng khuẩn của mỗi hợp chất tỷ lệ thuận với nồng độ thử nghiệm, các hợp chất có hoạt tính mạnh nhất ở nồng độ 400 µg/mL (Bảng 1).

Các hợp chất 24-hydroxytormentonic acid và scopoline chỉ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở nồng độ 400 µg/mL. Trong đó, hợp chất 24-hydroxytormentonic acid có khả năng ức chế yếu sự phát triển của 2/5 chủng vi khuẩn là *C. freundii*, *E. coli* với đường kính vùng ức chế lần lượt 9,21 mm và 10,21 mm. Các chủng vi khuẩn *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *S. milleri* không bị ức chế bởi hợp chất 24-hydroxytormentonic acid ở bất kỳ nồng độ nào (H = 0). Hợp chất scopoline chỉ có hoạt tính kháng khuẩn yếu với chủng vi khuẩn *C. freundii*, *S. milleri*; ức chế không đáng kể với vi khuẩn *S. aureus* (H = 4,12 mm) và không có hoạt tính kháng khuẩn đối với *P. aeruginosa*, *E. coli* (Bảng 1, Hình 2b, Hình 2c).

Hợp chất ursolic acid không có khả năng kháng khuẩn đối với chủng *C. freundii*, *S. aureus* ở bất kỳ nồng độ nào. Ursolic acid có khả năng ức chế rất yếu sự phát triển của chủng *P. aeruginosa* từ nồng độ 100 µg/mL

với kích thước vùng ức chế là 4,21 mm. Ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$, ursolic acid có hoạt tính kháng khuẩn mạnh với chủng *P. aeruginosa*, có hoạt tính trung bình với chủng *S. milleri*. Khi nồng độ tăng lên 400 $\mu\text{g/mL}$, ursolic acid có hoạt tính kháng khuẩn mạnh với cả hai chủng *P. aeruginosa*, *S. milleri* với đường kính vùng ức chế lần lượt 23,02 mm; 20,13 mm và ức chế yếu với chủng *E. coli* (H = 10,55 mm) (Hình 2a). Như vậy, ursolic acid thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với chủng *P. aeruginosa* từ nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$, thậm chí cao hơn kháng sinh penicillin 200 $\mu\text{g/mL}$ khi ở nồng độ 400 $\mu\text{g/mL}$. Đối với chủng *S. milleri*, ursolic acid thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh ở nồng độ 400 $\mu\text{g/mL}$, gần bằng kháng sinh penicillin 200 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 1).



Hình 2. Hình ảnh thí nghiệm thử hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất ursolic acid (a); 24-hydroxytormentonic acid (b) và scopolamine (c)*

* **A:** *C. freundii*; **B:** *E. coli*; **C:** *P. aeruginosa*; **D:** *S. aureus*; **E:** *S. milleri*; **1.** DMSO 1%; **2.** Nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$; **3.** Nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$; **4.** Nồng độ 400 $\mu\text{g/mL}$; **5.** Penicillin 200 $\mu\text{g/mL}$

Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được

Ba hợp chất được thử hoạt tính gây độc tế bào với nồng độ thử tối đa 200 $\mu\text{g/mL}$ trên bốn dòng tế bào ung thư ở người gồm: ung thư biểu mô phổi (SK-LU-1), ung thư biểu mô dạ dày (MKN-7), ung thư biểu mô tế bào gan (HepG2), ung thư vú (MCF-7) và tế bào thận phôi người (HEK-293A) được sử dụng làm đối chứng. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được

TT	Tên hợp chất	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)				
		SK-LU-1	MKN-7	HEK-293A	HepG2	MCF-7
1	Ursolic acid	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
2	24-hydroxy tormentic acid	181,89 \pm 3,11	189,03 \pm 3,02	191,87 \pm 2,94	179,37 \pm 2,86	185,05 \pm 1,72
3	Scopoline	> 200	> 200	> 200	32,00 \pm 0,75	43,63 \pm 1,34
(+)*	Ellipticine	0,34 \pm 0,05	0,42 \pm 0,05	0,32 \pm 0,03	0,47 \pm 0,06	0,43 \pm 0,02
(-)**	DMSO	Không có khả năng gây độc bất kỳ dòng tế bào nào				

* (+): Đối chứng dương (Ellipticine được thử nghiệm ở các nồng độ 10; 2; 0,4 và 0,08 $\mu\text{g/mL}$); ** (-): Đối chứng âm (DMSO được thử nghiệm ở nồng độ 1%)

Bảng 2 cho thấy, hợp chất 24-hydroxytormentic acid có biểu hiện gây độc rất yếu với tất cả các dòng tế bào thử nghiệm với giá trị IC₅₀ dao động từ 179,37 - 191,87 $\mu\text{g/mL}$ (trong đó gây độc với cả tế bào thận phôi người bình thường HEK-293A). Hợp chất ursolic acid không có khả năng gây độc với bất kỳ dòng tế bào thử nghiệm nào (IC₅₀ > 200 $\mu\text{g/mL}$). Hợp chất scopoline chỉ có khả năng gây độc mức trung bình với hai dòng tế bào HepG2 và MCF-7 với giá trị IC₅₀ lần lượt là 32,00 và 43,63 $\mu\text{g/mL}$, không có khả

năng gây độc với các dòng tế bào ung thư SK-LU-1, MKN-7 và đối chứng (HEK-293A).

Như vậy, trong ba hợp chất phân lập được chỉ có scopoline bước đầu cho thấy có tiềm năng chống tế bào ung thư biểu mô gan (HepG2) và ung thư vú (MCF-7); tuy nhiên, hoạt tính gây độc tế bào ung thư còn thấp hơn khá nhiều so với đối chứng dương (ellipticine). Do đó, cần tiếp tục nghiên cứu tìm kiếm các hợp chất ở các phân đoạn khác có hoạt tính gây độc tế bào ung thư cao hơn.

Hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất phân lập được

Kiểm soát bệnh đái tháo đường type II bằng việc ức chế α -glucosidase là một trong những liệu pháp đang được sử dụng góp phần ổn định đường huyết sau bữa ăn. Ba hợp chất phân lập được từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa được thử hoạt tính ức chế α -glucosidase với các nồng độ 0,5; 2; 8; 32; 128 $\mu\text{g/mL}$. Acarbose được sử dụng làm đối chứng dương (Bảng 3).

Bảng 3. Hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất phân lập được

TT	Tên hợp chất	IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
1	Ursolic acid	27,52 \pm 0,51
2	24-hydroxytormentenic acid	18,38 \pm 0,41
3	Scopoline	> 128
Đối chứng	Acarbose	147,86 \pm 4,69

Kết quả Bảng 3 cho thấy, các hợp chất ursolic acid và 24-hydroxytormentenic acid có khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC₅₀ lần lượt là 27,52; 18,38 $\mu\text{g/mL}$; cả hai hợp chất đều có hiệu quả ức chế mạnh hơn acarbose (IC₅₀ = 147,86 $\mu\text{g/mL}$) lần lượt khoảng 5 lần và 8 lần. Trong khi đó, hợp chất scopoline không thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase (IC₅₀ > 128 $\mu\text{g/}$

mL). Do đó, kết quả nghiên cứu bước đầu mở ra cơ hội có thể sử dụng hợp chất 24-hydroxytormentonic acid và ursolic acid trong điều trị bệnh tiểu đường type II.

BÀN LUẬN

Từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa bước đầu đã phân lập được ba hợp chất là ursolic acid, 24-hydroxytormentonic acid và scopoline. Các hợp chất này đều là những hợp chất đã từng được phân lập từ các loài thực vật khác [10,11,12, 13]. Tuy nhiên, ngoại trừ ursolic acid đã được tìm thấy trong lá của loài *A. poilanei*, *A. hainanensis* và *A. lienii* thì hai hợp chất còn lại lần đầu tiên được tìm thấy ở chi Dương đồng [2,14,15].

Trong những công bố trước, các hợp chất thuộc nhóm flavonoid (camellianin A, camellianin B, apigenin) và nhóm phenolic từ các loài thuộc chi Dương đồng ở Trung Quốc gồm: *A. nitida*, *A. glischroloma* var. *jubata*, *A. millettii* và *A. latifolia* có hoạt tính gây độc một số dòng tế bào ung thư [16,17]. Ngoài ra, những nghiên cứu khác trên một số loài thuộc chi Dương đồng ở Việt Nam cho thấy, các hợp chất betulinic acid, pomolic acid thuộc nhóm triterpenoid được phân lập từ loài *A. hainanensis* và *A. poilanei* cũng có khả năng gây độc một số dòng tế bào ung thư biểu mô (KB), ung thư gan (HepG2), ung thư phổi (LU) và ung thư vú (MCF-7) [2,15,18,19]. Kết quả của nghiên cứu này còn cho thấy, hợp chất scopoline thuộc nhóm alkaloid cũng có khả năng gây độc tế bào ung thư gan (HepG2) và tế bào ung thư vú (MCF-7).

Vu và cs (2019, 2021, 2022) cũng đã chứng minh khả năng ức chế mạnh α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ loài *A. hainanensis* và *A. poilanei*. Cụ thể, các hợp chất betulinic acid, triterpene lupan-3 β ,

20-dihydroxy-28 carbaldehyde (phân lập từ lá và thân của loài *A. hainanensis*); các hợp chất massagenic acid I, oleanderolide, platanic acid, pomolic acid (phân lập từ lá của loài *A. poilanei*) có khả năng ức chế mạnh α -glucosidase với các giá trị IC_{50} lần lượt nằm trong các khoảng từ 2,27-12,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ và từ 1,29-3,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [2,15,19]. Như vậy, các loài thuộc chi Dương đồng đã được chứng minh có chứa khá nhiều hợp chất có khả năng ức chế α -glucosidase, nay tiếp tục được bổ sung thêm hợp chất 24-hydroxytormentic acid và ursolic acid từ kết quả của nghiên cứu này. Do đó, kết quả nghiên cứu có thể mở ra hướng nghiên cứu sử dụng cây Hồng đạm Sa Pa trong điều trị bệnh tiểu đường type II.

KẾT LUẬN

Phân lập và xác định được cấu trúc hóa học 3 hợp chất từ lá của loài Hồng đạm Sa Pa là ursolic acid, 24-hydroxytormentic acid và scopoline. Trong đó, 24-hydroxytormentic acid và scopoline là những hợp chất lần đầu tiên phân lập được ở chi Dương đồng.

Trong phạm vi nghiên cứu, bước đầu xác định hợp chất ursolic acid có hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất với vi khuẩn *P. aeruginosa* và *S. milleri*. Hợp chất scopoline có khả năng gây độc dòng tế bào ung thư gan HepG2 và MCF-7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 32,00 và 43,63 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hợp chất ursolic acid và 24-hydroxytormentic acid có khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,52; 18,38 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

KHUYẾN NGHỊ

Tiếp tục phân lập, xác định cấu trúc hóa học các hợp chất có trong các phân đoạn còn lại từ lá của loài

Hồng đạm Sa Pa và thử hoạt tính sinh học nhằm tìm kiếm các hợp chất có tiềm năng ứng dụng chữa bệnh trong y học.

Thực hiện các nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo về tác dụng kháng khuẩn của ursolic acid; gây độc tế bào ung thư HepG2 và MCF-7 của hợp chất scopoline và ức chế α -glucosidase của các hợp chất ursolic acid và 24-hydroxytormentic.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam*. Hồ Chí Minh: Nxb. Trẻ thành phố Hồ Chí Minh; 2000.
2. Vũ Thị Kim Oanh, et al . Hợp chất triterpen và tác dụng sinh học từ lá cây Sum hải nam (*Adinandra hainanensis* Hayata). *Tạp chí Dược học*. 2019;523:65 - 68.
3. Nguyễn Hữu Quân, et al. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bóc (*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 2022;64(12):34-38. [https://doi.org/10.31276/VJS.T.64\(12\).34-38](https://doi.org/10.31276/VJS.T.64(12).34-38).
4. Nguyen QH, Than KPT, Chu MH. Study on chemical composition and antibacterial activity of total extracts from the leaves of *Adinandra lienii* species. In: Proceedings of the National Biotechnology conference. 2019. p.178-182.
5. Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Sách đỏ Việt Nam, phần II. Thực vật. Hà Nội: Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ. 2007. p.342-343.
6. Nguyễn Kim Phi Phụng. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. TP. Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh; 2007.

7. Mahesh B, Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plants against plant and human pathogens. *World journal of Agricultural sciences*. 2008;4:839-843.
8. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *Journal of the National cancer institute*. 1990;82(13):1107–1112. <https://doi.org/10.1093/jnci/82.13.1107>.
9. Tran THH, et al. Inhibitors of α -glucosidase and α -amylase from *Cyperus rotundus*. *Pharmaceutical Biology*. 2014;52(1):74-77. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.814692>.
10. Acebey-Castellon IL, et al. Triterpenoid saponins from *Symplocos lancifolia*. *Journal of Natural products*. 2011;74(2):163-168. <https://doi.org/10.1021/np100502y>.
11. Houghton PJ, Lian LM. Triterpenoids from *Desfontainia spinosa*. *Phytochemistry*. 1986;25(8):1939-1944. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81179-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81179-6).
12. Li XH, Shen DD, Li N, Yu SS. Bioactive triterpenoids from *Symplocos chinensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2003;5(1):49-56. <https://doi.org/10.1080/1028602031000080469>.
13. Hoàng Lê Tuấn Anh. Nghiên cứu thành phần hóa học cây Lu lu đực (*Solanum nigrum* L.) tại tỉnh Thái Bình. In: *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ VI*. 2015. p.1025-1031.
14. Đỗ Văn Hiệu, et al. Một số hợp chất phân lập từ lá loài Sum liên (*Adinandra lienii* Hien &

- Yakovlev). *Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*. 2021;12(2):36-41.
15. Vu TKO. et al. New triterpene and nor-diterpene derivatives from the leaves of *Adinandra poilanei*. *Phytochemistry Letters*. 2021;46:110-113. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.10.003>.
 16. Chen Y, Chen G, Fu X, Liu RH. Phytochemical profiles and antioxidant activity of different varieties of *Adinandra* tea (*Adinandra* Jack). *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 2015;63 (1):169-176. doi: 10.1021/jf503700v.
 17. Yuan E, Liu B, Ning Z, Chen C. Preparative separation of flavonoids in *Adinandra nitida* leaves by high-speed counter-current chromatography and their effects on human epidermal carcinoma cancer cells. *Food Chemistry*. 2009;115(3):1158-1163 . <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.009>.
 18. Vu TKO, Nguyen TTO, Tran HG, Bui TH, Dinh NT, Nguyen TMH, Le NT. Triterpenes from the stems of *Adinandra hainanensis* Hayata. *Vietnam journal of Chemistry*. 2019;57(4e3, 4), 333-336 (2019).
 19. Vu TKO, Tran HG, Bui TH, Diep TLP, Nguyen TVA, Le NT. Chemical constituents and biological activity of the stems of *Adinandra hainanensis* Hayata. *Records of natural products*. 2022;16(4):346-352. <http://doi.org/10.25135/rnp.282.2108.2158>.