

Study on the preparation of growth promotion and phytoalexin stimulation AgNPs@SiO₂/OCTS material by irradiation method

Nguyen Xuan Tuan, Tran Duc Trong,
Nguyen Thanh Vu, Le Quang Luan

Abstract

The silver nano particles (AgNPs) dopped on silica microparticles and stabilized on oligochitosan (AgNPs@Si/OCTS) have been prepared by irradiating the mixture of 1 mM Ag⁺, 2% silica microparticles (size~ 40 μm) and 5% low molecular weight (Mw) chitosan. The structural characteristics of product such as particle size of AgNPs and Mw of chitosan were determined by ultraviolet - visible (Uv - vis), X-ray diffraction (XRD) spectra, scanning electron microscope (SEM) image and gel permeation chromatography (GPC). The results indicated that, AgNPs were formed in the AgNPs@Si/OCTS product with the particle size was about 6.67 nm and the molecular weight of the oligochitosan was about 19.5 kDa at the irradiation dose of 4 kGy. The results also showed that, the prepared product enhanced the soybean seed germination rate up to 96.33%, reduced germination time down to 26.67 hours as well as increased the fresh biomass up to 40.4 gram/100 seedlings at a concentration of 0.18% after 3 days germinating. Besides, the product also stimulated the chitinase enzyme activity up to 159% compared to control.

Keywords: AgNPs, growth promotion, irradiation method, oligochitosan, phytoalexin stimulation, silica microparticles

Ngày nhận bài: 05/3/2021

Ngày phản biện: 20/3/2021

Người phản biện: PGS. TSKH. Ngô Quốc Bưu

Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

PHÂN LẬP, NHẬN DẠNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 1B CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ CÂY XUN (*Anacolosa poilanei*)

Nguyễn Phi Hùng¹, Đỗ Thị Thúy¹, Trịnh Ngọc Thảo Vy²,
Ngô Thị Ngọc Yến², Ngũ Trường Nhân², Đỗ Văn Mãi³,
Nguyễn Thị Thu Trâm⁴, Giang Thị Kim Liên⁵

TÓM TẮT

Cây Xun (*Anacolosa poilanei* Gagnep.) thu hái tại Đồng Hới, Quảng Bình sau xử lý được chiết với metanol. Dịch chiết thu được được tách phân đoạn với EtOAc, sau khi quay khô dưới áp suất giảm thu được cao chiết EtOAc và nước tương ứng. Bằng các phương pháp sắc ký khác nhau, ba hợp chất bao gồm trichadonic acid (1), trichadenic acid A (2), và β-sitosterol (3) đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc bằng các phương pháp phổ. Cả ba hợp chất phân lập được được thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) *in vitro* với DMSO là đối chứng và ursolic acid (UA) được sử dụng là chất đối chứng dương. Hợp chất 1 và 2 thể hiện hoạt tính ức chế enzyme PTP1B mạnh với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 22,6 ± 0,9 (1) và 18,6 ± 0,7 (2), trong khi đó hợp chất 3 thể hiện tác dụng yếu với giá trị IC₅₀ là 49,7 ± 1,4 μM. Ở thử nghiệm này, UA biểu hiện tác dụng với giá trị IC₅₀ là 3,5 ± 0,2 μM. Đây là lần đầu tiên hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của cây Xun và các hoạt chất phân lập được từ cây này được nghiên cứu.

Từ khóa: Cây Xun (*Anacolosa poilanei* Gagnep.), PTP1B, Ursolic acid, Trichadonic acid, Trichadenic acid A, β-sitosterol

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Xun là loại đại mộc cao tới 15 m và có tên khoa học là *Anacolosa poilanei* Gagnep., thuộc họ Dương đầu (Olacaceae). Lá đơn nguyên cứng, mọc cách, không có lông. Hoa lưỡng tính, đều, quả dạng

hạch, hạt nằm trong đài đồng trường (Phạm Hoàng Hộ, 2003). Cây sống chủ yếu ở các vùng cận nhiệt đới Trung Quốc và Việt Nam. Ở Việt Nam, cây phân bố nhiều ở các tỉnh Nam Trung Bộ như Quảng Bình, Nha Trang, Khánh Hòa và Phú Yên (Phạm Hoàng Hộ,

¹ Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Trường Đại học Tây Nguyên; ³ Trường Đại học Tây Đô

⁴ Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

⁵ Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt - Anh, Đại học Đà Nẵng

2003). Nghiên cứu đã chỉ ra rằng triterpenoit, steroid và phenolic là các thành phần hóa học chính của loài này (Ai *et al.*, 2015). *Anacolosia poilanei* cũng đã được chứng minh có tác dụng gây độc tế bào ung thư KB (Ai *et al.*, 2015). Tuy nhiên, hiện chưa có bất kỳ nghiên cứu nào về thành phần hóa học liên quan đến hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của cây này được công bố cả ở Việt Nam và trên thế giới. Trong bài báo này, hai hợp chất khung triterpenoit và một hợp chất khung steroid được phân lập và nhận dạng cấu trúc bằng phương pháp phân tích phổ cũng như việc đánh giá hoạt tính sinh học của chúng được nghiên cứu thảo luận và công bố.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Phần thân cành của cây Xun (*Anacolosia poilanei* Gagnep.) thu hái tại Đồng Hới, Quảng Bình vào tháng 6 năm 2019. Mẫu thực vật được định danh bởi TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam. Tiêu bản mẫu (VN1124) được lưu trữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.1.2. Thiết bị nghiên cứu

Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D) bao gồm ¹H-NMR (500 MHz) và ¹³C-NMR (125 MHz) và hai chiều (HMBC) được đo trên máy quang phổ kế cộng hưởng từ hạt nhân hiệu Bruker AM500 FT-NMR, với chuẩn nội TMS sử dụng các dung môi CDCl₃. Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên các loại silica gel trắng trước 60 F254 (mã số 1.05554.0001, Merck) and RP-18 F254S (mã 1.15685.0001, Merck). Các loại sắc ký cột hở (Open CC) được thực hiện với loại hạt silica gel Kieselgel 60 (40-63 μm and 63-200 μm, Merck) cho pha thường. DTT (1,4-dithiothreitol), PMSF (phenyl methyl sulfonyl fluoride), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), cơ chất *p*-NPP (4-Nitrophenylphosphate di(tris) salt) của Sigma Aldrich. Protein tyrosine phosphatase 1B (human recombinant) của Biomol International LP, Plymouth Meeting, PA, USA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất, phân lập và tinh chế các hợp chất

Mẫu nguyên liệu tươi được phơi khô, sau đó chặt và nghiền nhỏ (đoạn 1 cm) và ngâm chiết với MeOH (1,5 kg, 6 L × 4 lần) có sử dụng siêu âm ở nhiệt độ

50°C trong vòng 01 tiếng/mê. Dịch chiết được lọc và cô quay dưới áp suất giảm, thu được cao chiết MeOH tổng (120 g). Cao chiết sau đó được tách phân lớp với EtOAc, cô quay dưới dung môi thu được cao EtOAc và H₂O tương ứng. Cao EtOAc (75 g) được tách phân đoạn bằng sắc ký cột silica gel hở với hệ dung môi *n*-Hexane/EtOAc (từ 0 đến 100% EtOAc) thu được 15 phân đoạn, kí hiệu E1-E15. Phân đoạn E6 (0,2 g) được tiếp tục tinh chế bằng sắc ký cột hở sử dụng silica gel pha thường (SiO₂), khai triển với hệ dung môi *n*-Hexane/acetone (20/1 đến 5/1) thu được hợp chất 3 (22 mg). Tương tự, phân đoạn E8 (0,8 g) cũng được tinh chế bằng sắc ký cột hở silica gel (SiO₂), khai triển với hệ dung môi *n*-Hexane/acetone (10/1 đến 3/1) thu được hợp chất 1 (18 mg) và 2 (12 mg). Trong quá trình phân lập, các phân đoạn được kiểm tra, so sánh trên TLC (loại silica gel trắng trước 60 F254) để chọn lọc và tiếp tục tinh chế cho đến khi thu được chất tinh khiết.

Acid trichadonic (1): Bột màu trắng; CTPT: C₃₀H₄₈O₃ (M = 456,7); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) và ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) (xem bảng 1).

Acid trichadenic A (2): Bột màu trắng; CTPT: C₃₀H₅₀O₃ (M = 458,7); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) và ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) (xem bảng 1).

β-sitosterol (3): Bột màu trắng; CTPT: C₂₉H₅₀O (M = 414,7); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H (ppm): 3,50 (1H, m, H-3); 5,35 (1H, d, J = 3,0 Hz, H-6); 0,68 (3H, s, H-18); 1,01 (3H, s, H-19); 0,92 (3H, d, J = 7,0 Hz, H-21); 0,82 (3H, d, J = 7,0 Hz, H-26); 0,83 (3H, d, J = 7,0 Hz, H-27); 0,85 (3H, t, J = 7,0 Hz, H-29); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C (ppm): 37,3 (C-1); 31,7 (C-2); 71,8 (C-3); 42,3 (C-4); 140,8 (C-5); 121,7 (C-6); 31,9 (C-7); 31,9 (C-8); 50,2 (C-9); 36,5 (C-10); 21,1 (C-11); 39,8 (C-12); 42,4 (C-13); 56,8 (C-14); 24,3 (C-15); 28,3 (C-16); 56,1 (C-17); 12,0 (C-18); 19,8 (C-19); 36,2 (C-20); 18,8 (C-21); 34,0 (C-22); 26,1 (C-23); 45,9 (C-24); 29,2 (C-25); 19,1 (C-26); 19,4 (C-27); 23,1 (C-28); 12,0 (C-29).

2.2.2. Thử nghiệm tác dụng ức chế enzyme PTP1B

Phương pháp thử tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B được thực hiện trên các phiến nuôi cấy tế bào 96 giếng theo phương pháp của Nguyen và cộng tác viên (2013) được mô tả như trong tài liệu. Cụ thể: Mỗi giếng (thể tích cuối cùng là 110 μL) được cho 2 mM *p*-NPP (*p*-nitrophenyl phosphate) và 1 lượng 0,05-0,1 μg enzyme PTP1B pha trong dung dịch đệm chứa 50 mM citrate (pH 6,0), 0,1 M NaCl, 1 mM EDTA, và 1 mM dithiothreitol (DTT), có

hoặc không có mẫu thử. Sau đó đem ủ ở 37°C trong 10 phút, rồi thêm 50 μ L *p*-NPP trong dung dịch đệm. Sau khi ủ ở 20°C trong 20 phút, phản ứng được dừng lại bằng cách bổ sung 10 M NaOH. Lượng *p*-nitrophenyl sinh ra bằng enzyme qua phản ứng khử photpho được tính bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm bằng máy đo quang phổ. Quá trình thủy phân không enzyme của cơ chất *p*-NPP được hiệu chỉnh bằng cách đo sự gia tăng hấp thụ ở 405 nm không có mặt của enzyme PTP1B.

Phần trăm ức chế (%) của các mẫu chất thử được tính bởi công thức $(Ac - As)/Ac \times 100\%$, trong đó Ac là độ hấp thụ của mẫu kiểm chứng và As là độ hấp thụ của mẫu thử.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

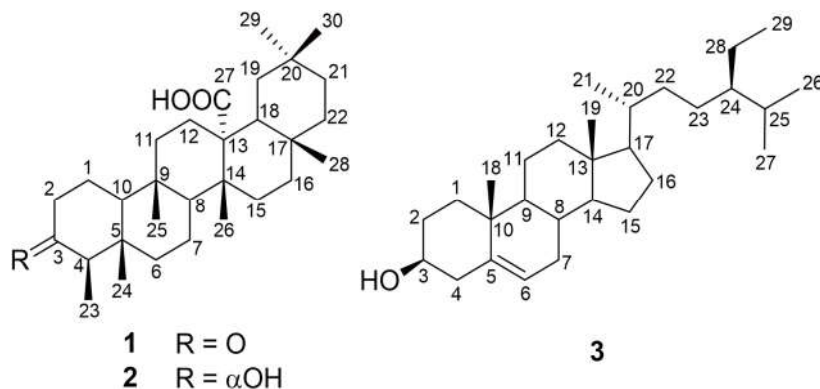
Nghiên cứu thực hiện từ tháng 8/2019 đến tháng 12/2020 tại Phòng thí nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

Hợp chất số 1 phân lập được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất 1 được xác định là $C_{30}H_{48}O_3$ với khối lượng phân tử là 456,7 g/mol. Phổ 1H NMR của hợp chất 1 cho thấy

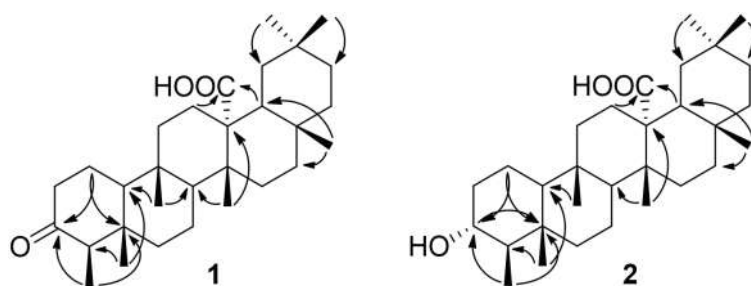
sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm methyl dưới dạng doublet ở δ_H 0,87 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-23), sáu nhóm methyl dưới dạng singlet ở δ_H 0,72 (3H, s, H-24); 0,91 (3H, s, H-25); 1,14 (3H, s, H-26); 1,22 (3H, s, H-28); 1,00 (3H, s, H-29) và 0,96 (3H, s, H-30), bốn nhóm metin (H-4/H-8/H-10 và H-18) và 11 nhóm metilen (Hình 1). Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 1 xuất hiện tín hiệu của 30 nguyên tử cacbon, bao gồm một tín hiệu nhóm keton (C-3), một nhóm cacbonyl (C-27), bảy nhóm methyl (C-23/C-24/C-25/C-26/C-28/C-29 và C-30), bốn nhóm metin (C-4/C-8/C-10 và C-18), 11 nhóm cacbon metilen và sáu cacbon bậc 4 (C-5/C-9/C-13/C-14/C-17 và C-20) (Hình 1). Phổ HMBC của hợp chất 1 xuất hiện các liên kết xa dị nguyên tử của các proton H-1 và H-23 với các nguyên tử cacbon C-3 và C-5; proton H-12 và H-18 với C-27, điều đó khẳng định rằng một nhóm keton nằm ở vị trí C-3 và một nhóm cacbonyl nằm ở vị trí C-13 (Hình 2). Ngoài ra, các liên kết xa dị nguyên tử giữa proton H-24 và C-4/C-10; proton H-25 và H-26 với C-8; proton H-26 với C-13; proton H-28 và C-16/C-18; proton H-29 và H-30 với C-19/C-21 cũng xuất hiện trên phổ HMBC càng khẳng định cấu trúc khung friedo-oleanan triterpen của hợp chất 1 (Hình 2). Từ kết quả phân tích dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất 1 là acid trichadonic (Giner-Pons *et al.*, 1992).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1 - 3

Hợp chất số 2 phân lập được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất 2 được xác định là $C_{30}H_{50}O_3$ với khối lượng phân tử là 458,7 g/mol. So sánh phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất 2 và 1 thấy chúng tương tự nhau, chỉ khác ở tín hiệu của một nhóm keton ở C-3 bị mất đi, thay vào đó là một nhóm oxymetin [δ_H 3,26 (1H, dd, $J = 5,0; 11,0$ Hz, H-3)/ δ_C 72,0 (C-3)] (Hình 1). Điều

này càng được khẳng định bởi sự xuất hiện trên phổ HMBC các liên kết xa dị nguyên tử giữa proton H-1 và H-23 và nguyên tử cacbon C-3 cũng như giữa proton H-3 và nguyên tử cacbon C-5 (Hình 2). Do đó, hợp chất số 2 được xác định là acid trichadenic A thông qua phân tích chi tiết phổ NMR và so sánh với các tài liệu công bố (Giner-Pons *et al.*, 1992; Reiko *et al.*, 1988).



Hình 2. Một số tương tác key HMBC của hợp chất 1 - 2

Bảng 1. Số liệu phổ NMR của hợp chất 1 - 2

C	Hợp chất 1			Hợp chất 2		
	$\delta_H^{a,b}$ mult. (J, Hz)	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_C^{a,d,\#}$	$\delta_H^{a,b}$ mult. (J, Hz)	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_C^{a,d,\#}$
1		22,7	22,3		19,5	17,8
2		41,3	41,4		35,6	35,0
3		213,0	213,0	3,26 dd (5,0; 11,0)	72,0	72,7
4		58,1	58,1		52,8	49,0
5		42,1	42,2		37,1	37,3
6		41,3	40,9		41,6	41,3
7		18,5	18,5		18,0	15,8
8		53,0	53,0		52,8	53,2
9		37,6	38,3		37,7	37,9
10		59,4	59,4		59,9	61,2
11		37,8	37,6		37,8	37,0
12		27,8	27,8		27,8	27,8
13		54,8	54,8		54,5	54,8
14		39,2	39,2		39,1	39,3
15		33,0	33,0		32,9	32,8
16		35,8	35,9		35,8	35,6
17		30,7	30,7		30,5	30,7
18		43,3	43,3		43,1	43,3
19		35,7	35,7		36,3	35,7
20		28,4	28,4		28,3	28,5
21		32,4	32,4		32,5	32,5
22		36,0	37,6		38,0	38,2
23	0,87 d (7,0)	6,8	6,8	0,83 d (9,0)	9,7	11,6
24	0,72 s	14,7	14,7	0,72 s	14,0	16,4
25	0,91 s	18,4	18,4	0,81 s	18,0	18,8
26	1,14 s	22,7	22,7	0,90 s	19,5	22,5
27		181,0	181,1		179,7	179,4
28	1,22 s	31,0	31,0	1,12 s	31,0	31,1
29	1,00 s	30,5	30,5	1,10 s	30,6	30,6
30	0,96 s	35,4	35,4	0,94 s	35,1	35,3

Ghi chú: ^aĐo trong CDCl₃; ^b500 MHz; ^c125 MHz; ^d 75 MHz; [#] δ_C của acid trichadonic và acid trichadenic A (Giner-Pons et al., 1992).

Hợp chất số 3 cũng thu được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất 3 được xác định là $C_{29}H_{50}O$ với khối lượng phân tử là 414,7 g/mol. Phổ 1H NMR của hợp chất 3 cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm oxymetin ở δ_H 3,50 (1H, m, H-3), một nhóm olefin dưới dạng doublet ở δ_H 5,35 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-6), và sáu nhóm methyl ở δ_H 0,68 (3H, s, H-18); 1,01 (3H, s, H-19); 0,92 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-21); 0,82 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 0,83 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27); 0,85 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, H-29) (Hình 1). Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 3 xuất hiện tín hiệu của 30 nguyên tử cacbon, bao gồm 6 nhóm methyl, 11 nhóm metilen, 8 nhóm metin, 02 nguyên tử cacbon bậc bốn và hai tín hiệu của một nhóm olefin (C-5 và C-6) gợi ý đây là cấu trúc của một sterol. Phân tích dữ liệu phổ NMR và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất 3 là β -sitosterol (Yamaguchi *et al.*, 1970).

3.2. Đánh giá hoạt tính ức chế PTP1B của các hợp chất phân lập

Hợp chất trichadonic acid (1), trichadenic acid A (2) và β -sitosterol (3) được thử nghiệm đánh giá khả năng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B *in vitro* dựa theo phương pháp của Nguyen và cộng tác viên (2013) với các thay đổi và hiệu chỉnh phù hợp với điều kiện của phòng thí nghiệm. Trong phương pháp thử nghiệm này, DMSO được sử dụng là đối chứng (control) và ursolic acid (UA) là chất đối chứng dương (positive control).

Bảng 2. Tác dụng ức chế enzyme PTP1B của các hợp chất 1 - 3 phân lập từ cây Xun

Hoạt chất	Tác dụng ức chế (IC_{50} , μM) ^a
Trichadonic acid (1)	22,6 ± 0,9
Trichadenic acid A (2)	18,6 ± 0,7
β -sitosterol (3)	49,7 ± 1,4
Ursolic acid ^b	3,5 ± 0,2

Ghi chú: a: Kết quả biểu thị giá trị IC_{50} (μM) với độ lệch chuẩn (SD) của ba thí nghiệm độc lập; b: Chất đối chứng dương.

Tất cả ba hợp chất thử nghiệm (1 - 3) đều thể hiện hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B (Bảng 2), trong đó hợp chất trichadenic acid A (2) thể hiện hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 18,6 ± 0,7 μM , tiếp đến là hợp chất trichadonic acid (1) với giá trị IC_{50} là 22,6 ± 0,9 μM . Riêng hợp chất số 3 (β -sitosterol), đây là một hợp chất dạng khung cấu trúc sterol điển hình có mặt nhiều và phổ biến trong rất nhiều các loài thực vật khác, thể hiện tác dụng yếu hơn

(IC_{50} là 49,7 ± 1,4 μM). Kết quả nghiên cứu trước đây về hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B *in vitro* của 1 số hợp chất được phân lập từ loài thực vật khác cho thấy các triterpene có hoạt tính mạnh với IC_{50} trong khoảng từ 15,11 ± 1,23 μM đến 38,9 ± 0,17 μM ; một số hợp chất khác có IC_{50} > 50 μM hoặc thậm chí trong khoảng từ 110 đến 183 μM có thể được coi là có hoạt tính. Chất đối chứng dương được sử dụng cũng là ursolic acid (Su *et al.*, 2016; Le *et al.*, 2020).

Trong phương pháp đánh giá này của chúng tôi, các hợp chất có tác dụng với các giá trị IC_{50} > 30 được coi là các hợp chất có tác dụng yếu, kết quả này cũng thể hiện được sự tin cậy của phương pháp thử nghiệm khi so sánh với kết quả đã được công bố trước đó về hợp chất này. Trong thử nghiệm này, UA thể hiện hoạt tính ức chế rất mạnh với giá trị IC_{50} là 3,5 ± 0,2 μM , giá trị này hoàn toàn phù hợp với kết quả công bố trong thí nghiệm của Nguyen và cộng tác viên (2013) trước đó, điều này khẳng định tính đúng đắn và độ tin cậy của phương pháp thử nghiệm trong nghiên cứu này. Ở hợp chất số 1 và 2 có sự khác nhau về cấu trúc, hợp chất số 1 (trichadonic acid) với một nhóm ketone (C=O) thế ở vị trí C-3, thể hiện hoạt tính yếu hơn (IC_{50} là 22,6 ± 0,9 μM) so với hợp chất số 2 (IC_{50} là 18,6 ± 0,7 μM) với nhóm thế hydroxyl (OH) tại C-3 trong cấu trúc (hình 1). Điều này gợi ý rằng có thể việc thế nhóm C=O tại vị trí C-3 của khung cấu trúc triterpene này làm giảm tác dụng ức chế đối với enzyme PTP1B, và hoặc thế α -OH tại vị trí này mang lại khả năng ức chế enzyme PTP1B mạnh hơn cho các nhóm chất triterpene này.

IV. KẾT LUẬN

Ba hợp chất bao gồm acid trichadonic (1), acid trichadonic A (2) và β -sitosterol (3) đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc hóa học từ phần thân cành cây Xun (*A. poilanei* Gagnep.) thu hái tại Đồng Hới, Quảng Bình. Cả ba hợp chất này được thử nghiệm đánh giá khả năng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B *in vitro*. Tất cả các hợp chất thử nghiệm đều biểu hiện hoạt tính ức chế với các giá trị IC_{50} thu được lần lượt là 22,6 ± 0,9; 18,6 ± 0,7; và 49,7 ± 1,4 μM . Đây cũng là lần đầu tiên hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của cây Xun (*A. poilanei* Gagnep.) và hai hợp chất trichadonic acid (1) và trichadenic acid A (2), phân lập từ cây này được nghiên cứu và công bố.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.01-2016.21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phạm Hoàng Hộ, 2003. *Cây cỏ Việt Nam* - NXB Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh, Quyển 2: 951 trang.
- Doan Thi Thuy Ai, Trinh Thi Thanh Van, Doan Thi Mai Huong, Marc Litaudon, Le Huyen Tram, Chau Van Minh, Pham Van Cuong, 2015. Constituents from stem barks of *Anacolosia poilanei* Gagnep (Olacaceae). *Vietnam Journal of Chemistry*, 53(2e): 124-126.
- Giner-Pons R.M., A.I. Gray, C. Lavaud, G. Massiot, S. Gibbons, P.G. Waterman, 1992. 30-norfriedelane triterpenes from the stem bark of *Caloncoba glauca*. *Phytochemistry*, Vol. 31: 223-225.
- Nguyen P.H., J.L. Yang, M.N. Uddin, S.L. Park, S.I. Lim, D.W. Jung, D.R. William, W.K. Oh, 2013. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors from *Morinda citrifolia* (Noni) and their insulin mimetic activity. *J. Nat. Prod.*, Vol. 76: 2080-2087.
- Reiko T., M. Shunyo, I.O. Toshimasa, 1988. Revised structure of trichadenic acid B, a stem bark constituent of *Phyllanthus flexuosus*. *Phytochem. Lett.*, Vol. 29: 4751-4754.
- Yamaguchi K., 1970. *Spectral data of natural products*. Elsevier Publishing Company, Vol. 1: 452.
- Su H.S., Anupom R., Hyun A.J., Hee J.J., Jae S.C., 2016. Protein tyrosine phosphatase 1B and α -glucosidase inhibitory activities of *Pueraria lobata* root and its constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, PII: S0378-8741(16)31132-1 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.007>
- Le D.D., Nguyen D.H. Ma E.S., Lee L.H., Min B.S., Choi J.S., Woo M.H., 2020. PTP1B Inhibitory and Anti-inflammatory properties of constituents from *Eclipta prostrata* L.. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Advance Publication, Dec 23, 2020, DOI: 10.1248/bpb.b20-00994.

Isolation, identification and characterization of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory compounds from *Anacolosia Poilanei*

Nguyen Phi Hung, Do Thi Thuy, Trinh Ngoc Thao Vy,
Ngo Thi Ngoc Yen, Ngu Truong Nhan, Do Van Mai,
Nguyen Thi Thu Tram, Giang Thi Kim Lien

Abstract

The plant samples of *Anacolosia poilanei* Gagnep., collected in Dong Hoi district, Quang Binh province, was cleaned and dried before extracting with methanol. The total methanol extract was then partitioned with EtOAc to give EtOAc and water fractions. By several chromatographic techniques, three compounds including trichadonic acid (1), trichadenic acid A (2), and β -sitosterol (3) were isolated and structurally identified using NMR spectroscopic data analysis. All compounds 1-3 were tested for their inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) enzyme using DMSO and urolic acid (UA) as control and positive control. Compounds 1 and 2 exhibited potential activity with IC_{50} values of 22.6 ± 0.9 and 18.6 ± 0.7 , respectively. Compound 3 showed weak activity with IC_{50} value of $49.7 \pm 1.4 \mu M$. UA showed an IC_{50} value of $3.5 \pm 0.2 \mu M$ in this assay. This is the first time that the PTP1B inhibitory activity of *A. poilanei* and its isolated compounds (1-3) have been examined.

Keywords: *Anacolosia poilanei* Gagnep., PTP1B, Ursolic acid, Trichadonic acid, Trichadenic acid A; β -sitosterol

Ngày nhận bài: 02/3/2021
Ngày phản biện: 18/3/2021

Người phản biện: TS. Vũ Hồng Sơn
Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

PHÂN TÍCH YẾU TỐ TRÌNH ĐỘ LAO ĐỘNG VÀ ĐÀO TẠO NGUỒN LỰC ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN NÔNG NGHIỆP ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ CAO TỈNH LÂM ĐỒNG

Trần Thị Minh Loan¹, Đào Thị Hiếu²,
Nguyễn Thị Tươi¹, Hồ Thị Thu Hòa¹, Lê Như Bích¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm phân tích đánh giá ảnh hưởng của yếu tố về trình độ lao động và đào tạo nguồn lực đến sự phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao của tỉnh Lâm Đồng giai đoạn 2004 - 2018 dựa trên các số liệu thứ cấp được thu thập từ các báo cáo, thống kê và số liệu sơ cấp được phỏng vấn trực tiếp 1.600 hộ sản xuất nông nghiệp

¹ Khoa Nông lâm - Trường Đại học Đà Lạt; ² Khoa Xã hội học và Công tác xã hội - Trường Đại học Đà Lạt