

TÁC DỤNG ỨC CHẾ XANTHINE OXIDASE VÀ NITRIC OXIDE CỦA CÁC STILBENE PHÂN LẬP TỪ CÂY GẮM (*GNETUM MONTANUM* MARKGR.)

XANTHINE OXIDASE AND NITRIC OXIDE INHIBITIVE EFFECT OF STILBENE ISOLATED FROM *GNETUM MONTANUM* MARKGR.

Ngô Văn Quang¹, Đặng Vũ Lương¹, Nguyễn Quang Tâm¹,
Đỗ Thị Thanh Xuân¹, Lê Thị Hồng Nhung², Thành Thị Thu Thủy^{1,*}

DOI: <http://doi.org/10.57001/huieh5804.2025.028>

TÓM TẮT

Cây Gắm (*Gnetum montanum* Markgr.) họ Gnetaceae, đã thu hút được sự chú ý nhờ các đặc tính chữa bệnh tiềm năng trong y học cổ truyền. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase (XO) và nitric oxide (NO) của 03 stilbene (isorhapotigenin, gnetifolin E và (+)-ampelopsin F) phân lập từ vỏ và lá của loài *G. montanum*, cây dược liệu dân gian dùng trị liệu bệnh gút. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên phổ NMR và ESI-MS. Thử nghiệm *in vitro* cho thấy 3 hợp chất đều có hoạt tính ức chế XO và NO, trong đó gnetifolin E có hoạt tính tốt với giá trị IC_{50} là $21,42 \pm 0,27$ và $24,38 \pm 1,11 \mu\text{g/mL}$, tương ứng. Đây là báo cáo về hoạt tính ức chế xanthine oxidase và nitric oxide đầu tiên của ba hợp chất này phân lập từ loài từ thực vật *G. montanum*.

Từ khóa: *Gnetum montanum* Markgr, stilbene, xanthine oxidase, nitric oxide.

ABSTRACT

Gnetum montanum Markgr, a member of the Gnetaceae family, has garnered attention for its potential therapeutic properties in traditional medicine. This study aimed to evaluate the xanthine oxidase (XO) and nitric oxide (NO) inhibitory activities of three stilbenes (isorhapotigenin, gnetifolin E, and (+)-ampelopsin F) isolated from the bark and leaves of *G. montanum*, a folk medicinal plant used to treat gout. The structures of the compounds were determined based on NMR and ESI-MS spectra. Bioactivity results showed that all three compounds have inhibitory activity against XO and NO, of which gnetifolin E has good activity with IC_{50} values of 21.42 ± 0.27 and $24.38 \pm 1.11 \mu\text{g/mL}$, respectively. This is the first report on the xanthine oxidase and nitric oxide inhibitory activity of the compounds from *G. montanum*.

Keywords: *Gnetum montanum* Markgr, stilbene, xanthine oxidase, nitric oxide.

¹Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

*Email: thuyttt@ich.vast.vn

Ngày nhận bài: 10/7/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 06/11/2024

Ngày chấp nhận đăng: 26/01/2025

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của tổ chức y tế thế giới (WHO) hiện nay có khoảng 41,2 triệu người mắc bệnh gút với 7,4 triệu trường hợp biến chứng mỗi năm và gần 1,3 triệu trường hợp hàng năm sống chung với tàn tật [1, 2]. Gút là tình trạng tăng acid uric máu, dẫn đến hình thành tinh thể urat ở khớp. Acid uric lắng đọng thông qua quá trình oxi hóa xanthine và hypoxanthine bởi enzyme xanthine oxidase. Cùng với đó, sự biểu hiện quá mức của oxide nitric (NO) gây kích thích các tinh thể urat lắng đọng trong khớp cũng đã được quan sát thấy trong trạng thái sinh lý của bệnh nhân gút. Ngoài ra, acid uric có thể phản ứng với peroxynitrite để tạo thành các dẫn xuất nitrat giải phóng NO và kích hoạt phản ứng viêm [3].

Thuốc điều trị bệnh gút có hai mục đích bao gồm giảm đau và viêm trong các đợt cấp tính, đồng thời kiểm soát nồng độ acid uric để ngăn chặn các đợt viêm cấp tính tiếp theo. Hiện nay, việc sử dụng thuốc tổng hợp để điều trị bệnh gút trong thời gian dài có một số tác dụng phụ không mong muốn như: buồn nôn, đau dạ dày, tiêu chảy hoặc buồn ngủ... [4]. Vì vậy, việc tìm kiếm

các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên vừa có hoạt tính ức chế hình thành oxide nitric, vừa có hoạt tính ức chế xanthine oxidase cần được nghiên cứu.

Cây Gắm *Gnetum montanum* Markgr. (*G. montanum*) thuộc họ Gnetaceae, bao gồm 30 - 40 loài, phân bố ở Nam Á, Đông Nam Á, châu Phi và Nam Mỹ. Y học cổ truyền Trung Quốc dùng cây Gắm điều trị các bệnh bệnh lý do phong thấp hoặc thống phong [5]. Ở Việt Nam, nó đã được sử dụng như một loại thuốc cổ truyền để điều trị các bệnh về đường hô hấp và bệnh gút [6]. Các nghiên cứu về hóa thực vật đã chỉ ra rằng chi *Gnetum* có đa dạng các lớp chất thứ cấp như polyphenol, alkanoids, terpene, saponin [7]. Các hợp chất phân lập từ các loài *Gnetum* có hoạt tính sinh học quý, trong đó các oligostilbenoid thể hiện hoạt tính gây độc tế bào, có tác dụng chống ung thư, chống viêm và chống oxy hóa [8, 9].

Trong nghiên cứu này, từ dịch chiết butanol của phần vỏ và lá cây Gắm, các hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase và ức chế sự hình thành nitric oxide được phân lập.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây Gắm (*G. Montanum*) được thu thập tại huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai, Việt Nam vào tháng 11 năm 2023 và được định danh bởi TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (VHH.2024.06) được lưu giữ tại Trung tâm phổ NMR, Viện Hóa học.

Xanthine, Xanthine oxidase và lipopolysaccharit (LPS) được mua từ Roche Co. Ltd. (Thượng Hải, Trung Quốc), các thuốc thử phân tích khác được mua từ Sigma-Aldrich. Dòng tế bào RAW 264,7 được cung cấp bởi GS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italy.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp sắc ký

Sắc ký cột (CC) được thực hiện trên silica gel 230 - 400 lưới (0,040 - 0,063mm, Merck) hoặc trên silica gel C-18 (30 - 50 μ m, YMC-Fujisilisa Chemical Ltd.). Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên các tấm DC-Alufolien ⁶⁰F254 (Merck 1.05715) hoặc RP-C18F254, (Merck). Các vết chất xuất hiện bằng cách phun dung dịch H₂SO₄ (10%), sau đó hơi nóng trong 3 phút đến khi hiện vết chất.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker Avance NEO (600MHz) (150MHz cho ¹³C-NMR và 600MHz cho ¹H-NMR), sử dụng TMS làm chuẩn nội, độ dịch chuyển hóa học (δ) được tính bằng ppm.

Phổ khối lượng (ESI-MS) được đo trên hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ LC/MS Ion-Trap Agilent 1100, sử dụng phương pháp ion hóa ở áp suất khí quyển với áp suất khí (N₂) 30psi, nhiệt độ buồng ion 325°C, điện áp nguồn ion 3,5kV; lưu lượng khí (N₂) phun mù (Nebulizer) 8 lít/phút.

Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS) được đo trên hệ thống Agilent 6200 TOF với Thế ion hóa (IS voltage): 5,5kV; với áp suất khí (N₂) 30psi; Nhiệt độ nguồn ion 500°C; Áp suất khí hỗ trợ 55psi; Khoảng phổ (Mass range): 50 - 1000Da.

2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính ức chế xanthine oxidase

Đánh giá tác dụng ức chế xanthine oxidase (XO) của các hợp chất phân lập được thực hiện theo phương pháp của Noro và cộng sự [10]. Hoạt tính ức chế XO được xác định thông qua lượng acid uric hình thành và đo ở bước sóng 295nm, 37°C, pH 7,5. Allopurinol được sử dụng như một chất đối chứng dương. Hỗn hợp phản ứng bao gồm 100 μ L dung dịch mẫu, 300 μ L dung dịch đệm PBS 50mM có độ pH 7,5 và 100 μ L dung dịch enzyme xanthine oxidase (0,2U/mL).

2.2.4. Phương pháp thử hoạt tính ức chế sự hình thành nitric oxide

Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 3 - 5 ngày trong tủ ấm ở 37°C, 5% CO₂ trên môi trường DMEM có 2mM L-glutamine, 10mM HEPES và 1,0mM natri pyruvate, 10% huyết thanh bào thai bò - FBS (GIBCO) [11]. Sau đó, tế bào được đặt vào đĩa 96 giếng với nồng độ 2×10^5 tế bào/giếng và tiếp tục phát triển trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO₂ trong 24 giờ trước khi xử lý bằng mẫu thử ở các nồng độ khác nhau trong 2h. Sau khi xử lý bằng mẫu thử, các tế bào được kích thích bằng LPS (10 μ g/mL) trong 24 giờ để tạo ra NO. NG-Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) đã được sử dụng làm đối chứng dương. Nitrite (NO₂⁻), chất chỉ thị cho sự tạo ra NO, được xác định ở bước sóng 540nm bằng đầu đọc vi đĩa (BioTek Elx800). Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu (IC) được tính theo công thức:

$$IC\% = 100\% - [OD_{mẫu}/OD_{LPS}] * 100 \quad (1)$$

Xử lý số liệu: Dữ liệu được phân tích thống kê bằng cách sử dụng t-test hoặc ANOVA. Sự khác biệt giữa các mẫu được coi là có ý nghĩa khi giá trị p < 0,05.

2.3. Thực nghiệm

Mẫu cây Gắm *G. montanum* (3,0kg) được rửa sạch, sấy khô và nghiền thành bột mịn sau đó được chiết bằng EtOH ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ (3 x 8L), sau đó loại dung môi thu được cao chiết thô (GM, 208g). Cao chiết

GM được hòa trong nước, sau đó được phân bố lại (chiết lỏng - lỏng) bằng các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần *n*-hexan, ethyl acetate và butanol. Cấu loại dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao chiết tương ứng. Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme XO của 03 phân đoạn cao chiết, kết quả cho thấy cao chiết BuOH cho hoạt tính tốt nhất (kết quả sàng lọc không hiển thị). Cao chiết BuOH (GMB, 46g) được sắc ký trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi cloroform - methanol (16: 1 → 6: 1, v/v) thu được 5 phân đoạn nhỏ GMB1 (4,2g), GMB2 (8,6g), GMB3 (11,5g), GMB4 (7,3g) và GMB5 (2,8g). Phân đoạn GMB5 được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi chloroform-

methanol (8:1, v/v) thu được **1** (36,7mg). Phân đoạn GMB4 được sắc ký trên cột RP-C18 với hệ dung môi acetone - nước (2,5: 1, v/v) thu được **2** (27,8mg). Phân đoạn GMB3 được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi chloroform-methanol (8:1, v/v) để thu được 3 phân đoạn nhỏ GMB2.1 (1,2g), GMB2.2 (1,15g) và GMB2.3 (1,0g). GMB2.2 được sắc ký trên cột RP-18 và rửa giải bằng hệ methanol-nước (2,0: 1, v/v) thu được **3** (17,0mg).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

Bảng 1. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của **1-3** so sánh với số liệu phổ trong tài liệu tham khảo

C	$^*\delta_c$	Hợp chất 1		$^B\delta_c$	Hợp chất 2		$^E\delta_c$	Hợp chất 3	
		δ_c^A	δ_H^A (mult, $J = \text{Hz}$)		δ_c^D	δ_H^D (mult, $J = \text{Hz}$)		δ_c^F	δ_H^F (mult, $J = \text{Hz}$)
1	129,1	131,1	-	133,2	134,1	-	139,1	136,7	-
2	109,6	110,5	7,12 (d; 1,8)	120,7	121,0	7,06 (d; 7,8)	130,1	129,3	7,1 (d; 8,4)
3	148,5	149,2	-	150,6	150,9	-	115,8	115,4	6,76 (d; 8,4)
4	147,1	147,6	-	147,7	147,7	-	156,1	154,7	-
5	115,9	116,3	6,80 (d; 7,8)	117,6	118,0	7,15 (d; 8,4)	115,8	115,4	6,76 (d; 8,4)
6	120,8	121,2	6,96 (brd; 7,8)	111,0	111,3	7,18 (d; 8,4)	130,1	129,3	7,1 (d; 8,4)
7	128,6	129,7	6,98 (d; 16,2)	128,8	129,1	7,02 (d; 16,2)	47,6	46,4	4,09 (d; 1,8)
8	126,4	127,3	6,86 (d; 16,2)	128,4	128,9	6,91 (d; 16,2)	59,3	57,4	3,30 (s)
9	140,6	141,3	-	140,7	140,9	-	147,5	146,6	-
10	105,1	105,8	6,48 (d; 1,8)	105,7	106,0	6,51 (d; 1,8)	128,7	127,3	-
11	159,1	159,6	-	159,5	159,7	-	153,2	151,7	-
12	102,1	102,7	6,19 (t; 2,4)	102,6	103,1	6,22 (t; 1,8)	102,0	101,5	6,11 (d; 2,4)
13	159,1	159,6	-	159,5	159,7	-	158,5	156,9	-
14	105,1	105,8	6,48 (d; 1,8)	105,7	106,0	6,51 (d; 1,8)	104,4	103,8	6,43 (d; 2,4)
OCH ₃	56,2	56,4	3,92 (s)	56,4	56,8	3,52 (s)			
1'				102,3	102,7	4,92 (d; 7,2)	136,1	134,9	-
2'				74,5	74,9	3,53 (m)	129,4	128,7	6,75 (d; 8,4)
3'				77,8	78,2	3,44 (m)	115,6	114,8	6,54 (d; 8,4)
4'				71,3	71,3	3,43 (m)	156,1	155,1	-
5'				77,6	77,8	3,49 (m)	115,6	114,8	6,54 (d; 8,4)
6'				62,5	62,5	3,90; 3,72 (m)	129,4	128,7	6,75 (d; 8,4)
7'							50,9	49,9	3,63 (s)
8'							49,9	48,6	4,08 (s)
9'							147,9	146,7	-
10'							114,2	113,1	-
11'							158,1	156,5	-
12'							102,0	101,3	6,01 (d; 2,4)
13'							157,2	155,8	-
14'							105,8	105,2	6,41 (d; 2,4)

$^*\delta_c$ của isorhapontigenin đo trong acetone- d_6 [12]; $^B\delta_c$ của gnetifolin E đo trong acetone- d_6 [13],

$^E\delta_c$ của (+)-ampelopsin F đo trong MeOD- d_4 [14]. $\delta^{a,d,f}$ đo trong MeOD- d_4 .

Cấu trúc hóa học của các hợp chất **(1)**, **(2)** và **(3)** được xác định dựa trên phân tích phổ NMR và MS kết hợp với so sánh kết quả trong bài báo đã công bố (bảng 1).

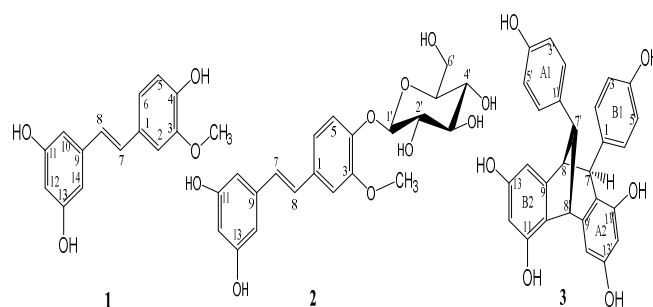
Hợp chất 1: phân lập dưới dạng bột vô định hình màu nâu, công thức phân tử được dự đoán là $C_{15}H_{14}O_4$ dựa trên phổ ESI-MS nhờ vào tín hiệu ion phân tử m/z 259,0 $[M + H]^+$ và m/z 256,9 $[M - H]^-$. Phổ 1H -NMR (đo trong CD_3OD , 600MHz) của **1** xuất hiện tín hiệu 6 proton vòng aryl/vinyl ở δ_H 7,12 (d; $J = 1,8Hz$); 6,80 (d; $J = 7,8Hz$); 6,96 (brd; $J = 7,8Hz$); 6,48 (d; $J = 1,8Hz$); 6,19 (t; $J = 2,4Hz$); và 6,48 (d; $J = 1,8Hz$). Ngoài ra, còn xuất hiện tín hiệu proton nhóm methoxy ở δ_H 3,92 (3H; s). Tín hiệu cặp proton olefin ở δ_H 6,98 (1H; d; $J = 16,2Hz$) và 6,86 (1H; d; $J = 16,2Hz$) có hằng số tương tác lớn ($J = 16,2Hz$) thể hiện cấu hình *E*. Phổ ^{13}C -NMR (đo trong CD_3OD 150MHz) của **1** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 15 carbon, bao gồm 2 tín hiệu của carbon bậc 4 ở δ_C 131,1 và 141,3; một tín hiệu của nhóm methoxy ở δ_C 56,4; hai tín hiệu của nhóm olefin ở δ_C 129,7; 127,3; 8 tín hiệu carbon vòng thơm ở δ_C 110,5; 149,2; 147,6; 116,3; 121,2; 105,8; 159,6; 102,7. Dữ liệu phổ liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **1** (bảng 1) tương tự như dữ liệu phổ của hợp chất isorhapontigenin, một hợp chất stilbene đã được Fernández-Marín và cộng sự phân lập từ cây nho [12].

Hợp chất 2: phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu nâu, công thức phân tử được dự đoán là $C_{21}H_{24}O_9$ dựa trên phổ ESI-MS với m/z là 421 $[M + H]^+$ và m/z 419 $[M - H]^-$. Các tín hiệu trên phổ NMR của hợp chất **2** tương tự như của hợp chất **1** ngoại trừ tín hiệu của một phân tử đường glucopyranoside. Phổ 1H -NMR (đo trong CD_3OD , 600 MHz) của **2** xuất hiện tín hiệu của 3 proton thơm thể *meta* tại δ_H 6,51 (2H; d; $J = 1,8Hz$) và 6,22 (1H; t; $J = 1,2Hz$) ba proton thơm thuộc hệ ABX tại δ_H 7,18 (1H; d; $J = 1,2Hz$), 7,15 (1H; d; $J = 7,8Hz$) và 7,06 (1H; dd; $J = 1,2; 7,8Hz$), hai proton olefin của liên kết đôi có cấu hình *E* tại δ_H 6,91 (1H; d; $J = 16,2Hz$) và 7,02 (1H; d; $J = 16,2Hz$), một proton anome tại δ_H 4,92 (1H; d; $J = 7,2Hz$) đặc trưng cho một phân tử đường và một nhóm methoxy tại δ_H 3,92 (3H; s). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **2** cho biết tín hiệu của 21 nguyên tử cacbon bao gồm 6 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro, 13 methine, 1 methylene và 1 carbon methoxy. Số liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của **2** (bảng 1) tương tự như số liệu phổ NMR của hợp chất genetifolin E, một hợp chất stilbene được Lin và cộng sự phân lập từ loài *G. pavifolium* [13]. Cấu trúc hóa học của **2** được xác định là genetifolin E.

Hợp chất 3: phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu nâu. Công thức phân tử của được dự đoán là

$C_{28}H_{22}O_6$ dựa trên phổ HR-ESI-MS với m/z 455,1493 $[M+H]^+$ (Calcd. for $C_{28}H_{23}O_6^{+1}$; 455,1489 với sai số 0,9ppm). Phổ ^{13}C -NMR (đo trong CD_3OD , 150MHz) của **3** xuất hiện tín hiệu 28 cacbon, bao gồm 12 methine cacbon vòng thơm, 6 cacbon bậc 4 liên kết với oxy. Phổ 1H -NMR của **3** xuất hiện hai cặp proton vòng thơm thể *para* (vòng A1 và B1) ở δ_H 6,75 (2H; d; $J = 8,4Hz$); 6,54 (2H; d; $J = 8,4Hz$); và δ_H 7,10 (2H; d; $J = 8,4Hz$), 6,76 (2H; d, $J = 8,4Hz$). Các tín hiệu này tương tác với tín hiệu ^{13}C -NMR ở δ_C 128,7 (C-2'; C-6'); 114,8 (C-3'; C-5'); và δ_C 129,3 (C-2; C-6); 115,4 (C-3; C-5) trên phổ HSQC. Ngoài ra, còn xuất hiện 4 tín hiệu proton vòng thơm ở δ_H 6,01 (1H; d; $J = 2,4Hz$); 6,41 (1H; d; $J = 2,4Hz$); 6,11 (1H; d; $J = 2,4Hz$); 6,43 (1H; d; $J = 2,4Hz$). Dữ liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của **3** (bảng 1) tương tự như dữ liệu phổ của hợp chất (+)-ampelopsin F, một hợp chất dimerstilbene đã được Indriani và cộng sự phân lập từ loài *D. oblongifolia* [14].

Cấu trúc của 3 stilbene **1**, **2** và **3** được đưa ra trong hình 1.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của 3 stilbene phân lập được

3.2. Hoạt tính ức chế xanthine oxidase

Ba hợp chất **(1)**, **(2)** và **(3)** được đánh giá hoạt tính ức chế XO. Kết quả (bảng 2) cho thấy chúng có khả năng ức chế XO với giá trị IC_{50} lần lượt là $38,90 \pm 0,41$; $21,42 \pm 0,27$ và $52,60 \pm 0,29 \mu g/mL$, đối chứng dương allopurinol có IC_{50} là $15,20 \pm 0,09 \mu g/mL$. Trong đó hợp chất **2** thể hiện hoạt tính ức chế XO mạnh nhất.

Bảng 2. Kết quả Tác dụng ức chế XO của các hợp chất isorhapontigenin, genetifolin E và (+)-ampelopsin F so với allopurinol

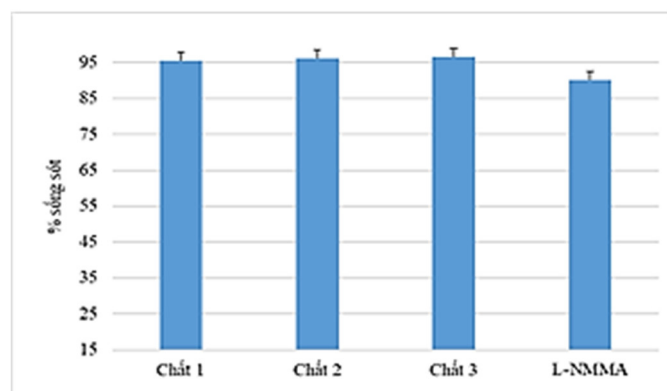
Nồng độ mẫu ($\mu g/mL$)	% Ức chế xanthine oxidase			Allopurinol
	Hợp chất 1	Hợp chất 2	Hợp chất 3	
100	$81,93 \pm 0,11$	$92,56 \pm 0,07$	$72,32 \pm 0,13$	$96,87 \pm 0,07$
20	$42,34 \pm 0,25$	$54,68 \pm 0,21$	$37,98 \pm 0,19$	$57,63 \pm 0,09$
4	$33,89 \pm 0,38$	$42,87 \pm 0,35$	$28,06 \pm 0,22$	$46,58 \pm 0,06$
0.8	$25,47 \pm 0,47$	$29,76 \pm 0,31$	$19,85 \pm 0,49$	$35,08 \pm 0,15$
IC_{50}	$38,90 \pm 0,41$	$21,42 \pm 0,27$	$52,60 \pm 0,29$	$15,20 \pm 0,09$

Các mẫu được ủ với XO (0,2 IU/mL). Cơ chất xanthine (750 μ M) đã được thêm vào (60 μ L). Dữ liệu được biểu thị bằng giá trị trung bình $\pm$ SD (n = 3), P < 0,05

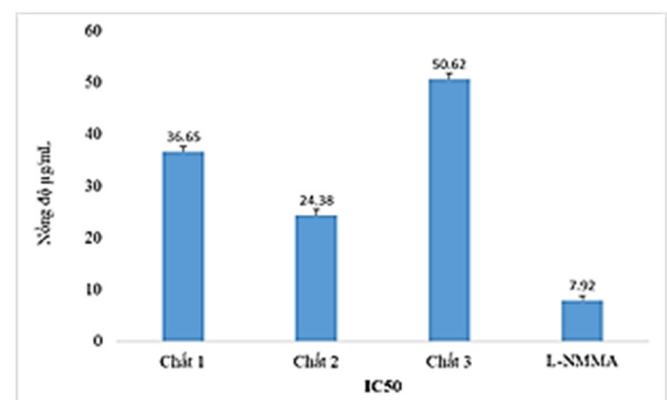
Cao chiết thô một số loài thuộc chi *Gnetum* đã được phát hiện có hoạt tính ức chế XO [15], nhưng không chỉ ra được hợp chất nào thể hiện hoạt tính. Gần đây, Nguyễn Thị Việt Thanh và cộng sự đã phân lập được 7 hợp chất từ loài *G. Montanum*, kết quả thử hoạt tính ức chế XO cho thấy hợp chất (*E*)-2'-methoxy-3,5,5'-trihydroxystilbene thể hiện hoạt tính ức chế XO tốt với IC₅₀ là 13,6 $\pm$ 1,5 μ M [16]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hoạt tính ức chế XO của hợp chất gnetifolin E là tốt nhất. Kết quả góp phần khẳng định tác dụng tiềm tàng của cây thuốc này đối với bệnh gút.

3.3. Hoạt tính ức chế sự hình thành nitric oxide

Ba hợp chất (1), (2) và (3) đã được thử nghiệm độc tính trước khi khảo sát khả năng ức chế sự hình thành NO. Dữ liệu trình bày trong hình 2 chỉ ra rằng các hợp chất không thể hiện độc tính đối với tế bào RAW 264,7 ở nồng độ 100 μ g/mL, cao hơn đáng kể so với nồng độ thử nghiệm sử dụng trong nghiên cứu này.



Hình 2. Khả năng sống sót của tế bào RAW 264.7 khi có mặt các hợp chất thử nghiệm (1-3). Dữ liệu được biểu thị dưới dạng trung bình $\pm$ SD (n = 3), p < 0,05



Hình 3. Tác dụng ức chế NO của các hợp chất isorhapotigenin, gnetifolin E và (+)-ampelopsin F so với đối chứng L-NMMA. Dữ liệu được biểu thị dưới dạng trung bình $\pm$ SD (n = 3), p < 0,05

Hoạt tính ức chế sự hình thành NO của 3 hợp chất đã được thử nghiệm trên dòng tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS. Kết quả cho thấy cả ba hợp chất đều thể hiện hoạt tính ức chế NO. Hợp chất 2 thể hiện hoạt tính ức chế NO mạnh nhất với giá trị IC₅₀ là 24,38 $\pm$ 1,11 μ g/mL (hình 3).

Hoạt tính ức chế NO của (1), (2) và (3) và tình trạng viêm gây ra bởi LPS trong tế bào RAW 264,7 đã được đánh giá (hình 3). Tất cả các hợp chất đều có khả năng ức chế NO với giá trị IC₅₀ từ 50,62 $\pm$ 1,14 đến 24,38 $\pm$ 1,11 μ g/mL, trong khi đối chứng dương (L-NMMA) cho giá trị IC₅₀ là 7,92 $\pm$ 0,79 μ g/mL. Tăng NO đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của cả viêm khớp dạng thấp và bệnh lupus ban đỏ [17, 18], do vậy, ức chế NO có thể là một phương pháp mới trong điều trị các bệnh tự miễn mãn tính

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, hoạt tính ức chế xanthine oxidase và nitric oxide của 03 stilbene phân lập từ cây Gấm *G. montanum*, bao gồm isorhapotigenin, gnetifolin E và (+)-ampelopsin F lần đầu tiên được nghiên cứu. Các hợp chất này có hoạt tính kép ức chế XO và NO, đây là những tác dụng mới đầy hứa hẹn cho trị liệu bệnh gút. Kết quả của chúng tôi đóng góp các thông tin khoa học trong việc sử dụng cây dược liệu *G. montanum* để điều trị bệnh gút và các bệnh viêm nhiễm liên quan đến bệnh gút.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam [đề tài mã số VHH.2024.06].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Chilappa CS, Aronow WS, Shapiro D, Sperber K, Patel U, Ash JY, "Gout and hyperuricemia," *Compr Ther*, 36, 3-13, 2010.
- [2]. Nguyễn Thị Ngọc Lan, *Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, 2015.
- [3]. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L, "Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease," *Physiol Rev*, 87, 315-424, 2007.
- [4]. Chen L, Hsieh MS, Ho HC, Liu YH, et al., "Stimulation of inducible nitric oxide synthase by monosodium urate crystals in macrophages and expression of iNOS in gouty arthritis," *Nitric Oxide*, 11, 228-236, 2004.
- [5]. Sam HV, Pieter B, Paul JAK, "Traditional medicinal plants in Ben En National Park, Vietnam," *Naturalis Biodiversity Center*, 53(3), 569-601, 2008.
- [6]. Singh P, Gupta A, Qayoom I, Singh S, Kumar A, "Orthobiologics with phytoactive cues: A paradigm in bone regeneration," *Biomed Pharmacother*, 130, 110754, 2020.

- [7]. Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà Xuất bản Y học, 2021.
- [8]. Ahmat N, Kamarozaman AS, Johari MSM, Abas F, Mohamad SAS, Yunoh SMM, "Screening of phytochemicals from the ethanolic extracts of *Gnetum gnemon*, *Gnetum latifolium* and *Cynometra malaccensis* of Kuala Keniam, Pahang," *Earth Environ. Sci.*, 1019, 012001, 2022.
- [9]. Kato E, Tokunaga Y, Sakan F, "Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2544-2549, 2009.
- [10]. Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S, "Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*," *Chem. Phar. Bull.*, 31(11), 3984-3987, 1983.
- [11]. Cheenpracha S, Park EJ, Rostama B, Pezzuto JM, Chang LC, "Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesterterpene peroxide, epimuqubilin A," *Mar. drugs.*, 8(3), 429-437, 2010.
- [12]. Fernández-Marín MI, et al., "Isorhapontigenin: A novel bioactive stilbene from wine grapes," *Food Chemistry*, 135, 1353-1359, 2012.
- [13]. Lin M, Li JB, Li SZ, Yu DQ, Liang XT, "A dimeric stilbene from *Gnetum parvifolium*," *Phytochemistry*, 31(2), 633-638, 1992.
- [14]. Indriani, Takaya Y, Puspaningsih NNT, Aminah NS, "(+)-ampelopsin f, dimerstilbene compound from *Dryobalanops oblongifolia* and antimalarial activity test," *Chem. of Nat. Comp*, 53(3), 559-561, 2017.
- [15]. Lê Thị Hồng Nhung, "Khảo sát hoạt tính kháng viêm và ức chế enzyme xanthine oxidase của một số loài thuộc chi dây gắm (*Gnetum*)," *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội*, 58(3), 141-143, 2022.
- [16]. Nguyen Thi Viet Thanh và cộng sự, "Stilbene derivatives from *Gnetum montanum* Markgr. with their xanthine oxidase inhibition activity," *Vietnam J. Chem*, 1-6, 2024. doi: 10.1002/vjch.202400069.
- [17]. Nagy G, Koncz A, Telarico T, Fernandez D, Érsek B, Buzás E, Perl A, "Central role of nitric oxide in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus," *Arthritis Research & Therapy*, 12, 210, 2010. Doi:10.1186/ar3045
- [18]. Chen L, Hsieh MS, Ho HC, Liu YH, Chou DT, Tsai SH, "Stimulation of inducible nitric oxide synthase by monosodium urate crystals in macrophages and expression of iNOS in gouty arthritis," *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 11(3), 228-236, 2004.

AUTHORS INFORMATION

**Ngo Van Quang¹, Dang Vu Luong¹, Nguyen Quang Tam¹,
Do Thi Thanh Xuan¹, Le Thi Hong Nhung², Thanh Thi Thu Thuy¹**

¹Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

²Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam