

9

2017

tạp chí

DƯỢC HỌC

SỐ 497 * NĂM THỨ 57 * THÁNG RA 1 KỲ * ISSN 0866 - 7861



CÂY CHẠC CHÌU

Tetracera scandens Merr.

Họ SỔ - Dilleniaceae



BỘ Y TẾ XUẤT BẢN

Địa chỉ Tòa soạn: 138A Giảng Võ - Quận Ba Đình - Hà Nội

Tel: 0243.8461430 - 0243.7368367

TẠP CHÍ DƯỢC HỌC
ISSN 0866 - 7861
9/2017 (Số 497 NĂM 57)
MỤC LỤC

NGHIÊN CỨU - KỸ THUẬT

- PHẠM THỊ THÚY VÂN, QUẦN THỊ THUY LINH, PHAN VIỆT SINH: Áp dụng bộ tiêu chuẩn Beers và STOPP trong sàng lọc các thuốc có khả năng không phù hợp trên đơn thuốc xuất viện của bệnh nhân cao tuổi tại một bệnh viện tuyến Trung ương 2
- ĐỖ HỒNG QUẢNG, ĐÀO THỊ MAI ANH: Ảnh hưởng của glycyl-funtumin lên mức độ phiên mã gen survivin trên dòng tế bào ung thư phổi A549 5
- PHẠM THỊ NGUYỆT HẰNG, LÊ VIỆT DŨNG, HÀ ĐỨC CƯỜNG: Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa của viên nang Liverbil trên thực nghiệm 7
- PHẠM THỊ THÚY VÂN, NGUYỄN THU CHINH: Đánh giá kỹ thuật sử dụng bút tiêm insulin và tác dụng không mong muốn của insulin trên bệnh nhân đái tháo đường type 2 tại một bệnh viện tuyến huyện 11
- BÙI THỊ THANH HÀ, ĐỖ HỒNG QUẢNG, BẾ HỒNG THU: Khảo sát tình trạng dinh dưỡng của bệnh nhân nằm viện tại Trung tâm Chống độc Bệnh viện Bạch Mai 14
- ĐÀO THỊ VUI, PHẠM ĐỨC VINH, NGUYỄN THU HẰNG, NGUYỄN THỊ THUY DƯƠNG: Nghiên cứu tác dụng của chế phẩm Lohha Trí Não trên mô hình gây sa sút trí nhớ thực nghiệm bằng scopolamine 17
- LÊ VIỆT DŨNG, LÊ THỊ KIM VÂN, HOÀNG THỊ THANH NGÀ: Nghiên cứu bào chế hệ vi nhũ tương tự nhũ hóa chứa andrographolide 20
- NGUYỄN THỊ BÌNH NGUYỄN, VƯƠNG TÔ UYÊN, HUỖNH NGỌC TRINH, TRẦN MẠNH HÙNG: Mô phỏng mô hình *ex vivo* hấp thu glucose qua ruột trên chuột nhắt trắng 25
- NGUYỄN THỊ HƯỜNG, VŨ ĐỨC LỢI: Chiết xuất, phân lập một số hợp chất từ thân cây chạch chiu (*Tetracera scandens* Merr.) 29
- TRẦN TRINH CÔNG, LÊ THỊ THU HƯƠNG: Nghiên cứu hệ vi nấm trên vị thuốc nhục đậu khấu (*Semen Myristicae*) đang lưu hành ở một số hiệu thuốc đông dược trên địa bàn Hà Nội 32
- HOÀNG THỊ THANH NGÀ, LÊ THỊ KIM VÂN, LÊ VIỆT DŨNG: Nghiên cứu ảnh hưởng của tá dược đến chất lượng bột cao khô đương quy di thực (*Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa) bào chế bằng phương pháp phun sấy 35
- BÙI THANH TÙNG, NGUYỄN THỊ KIM THU, NGUYỄN THANH HẢI: Đánh giá tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư của PEG-curcumin 39
- HÀ VĂN THÚY, NGUYỄN THỊ SONG HÀ, NGUYỄN THANH TÙNG: Phân tích kết quả thuốc trúng thầu tại Sở Y tế Nam Định năm 2015 42
- TRẦN PHI HOÀNG YẾN, TRẦN THÀNH ĐẠO: Bán tổng hợp, đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và ức chế cholinesterase *in vitro* của một số dẫn chất quercetin methyl hóa 44
- ĐỖ HỒNG QUẢNG, JEAN-MARIE BARD, GILLES BARNATHAN: Nghiên cứu tác dụng của sterol chiết từ bọt biển (*Ciocalypa* sp.) lên sự hấp thu cholesterol *in vitro* trên mô hình nuôi cấy tế bào Caco-2 48
- NGUYỄN MẠNH THẮNG, NGUYỄN CÔNG KHẮN, TRƯƠNG TUYẾT MAI, TRƯƠNG HOÀNG KIẾN, PHẠM THỊ NGUYỆT HẰNG: Nghiên cứu tác dụng chống đái tháo đường thực nghiệm và tính an toàn của cao chiết nước cỏ sữa lá lớn (*Euphorbia hirta* L.) 51
- PHẠM THANH MẠNH, NGUYỄN THỊ TRANG, NGUYỄN THUY LINH, NGUYỄN VĂN LIÊU, HOÀNG VIỆT DŨNG: Định lượng trans-resveratrol trong rễ cây lạc (*Arachis hypogaea* L., họ Đậu - Fabaceae) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao 54
- NGUYỄN THUY DƯƠNG, ĐỖ SƠN TÙNG, NGUYỄN HOÀNG ANH, LÊ NGUYỄN THÀNH, VŨ THỊ MỪNG, NGUYỄN QUỲNH CHI: Một số hợp chất từ dịch chiết ethyl acetat lá cây chổi mồi gân lõm (*Antidesma montanum* Blume) 56
- VŨ ĐỨC LỢI, NGUYỄN THỊ HƯỜNG: Chiết xuất, phân lập một số hợp chất từ lá cây dạ cẩm (*Hedyotis capitellata* Wall. ex G. Don) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên 59
- TRẦN THẾ HUÂN, TRẦN PHI HOÀNG YẾN: Bán tổng hợp và đánh giá tác động ức chế enzym lipase tụy *in vitro* của một số dẫn chất quercetin 62
- NGUYỄN THỊ TÚ OANH, NGUYỄN THỊ THANH MAI, NGUYỄN THỊ MINH HẰNG: Đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của cây lược vàng (*Callisia fragrans* (Lindl.) Woods.) 67
- PHẠM VĂN HIẾN, LÊ MINH HOÀNG, LÊ THỊ HUỖN TRANG, NGUYỄN DUY BẮC, NGÔ XUÂN TRINH, VŨ BÌNH DƯƠNG: Nghiên cứu bào chế bột cao khô đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris* L. ex Fr. Link) nuôi cấy tại Việt Nam bằng phương pháp phun sấy 70
- TRẦN VIỆT HÙNG, DƯƠNG MINH TÂN, NGUYỄN NGỌC VINH, PHẠM THỊ HIẾN, NGUYỄN THỊ NGÂN, ĐỖ THỊ HÀ, NGUYỄN THU HẰNG: Khảo sát hàm lượng acid ganoderic A trong một số mẫu nấm linh chi Việt Nam (*Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr.) Karst) bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao 73
- TRẦN TRỌNG BIẾN, NGÔ QUANG TRUNG, NGUYỄN VĂN HÂN: Xây dựng phương pháp định lượng acid shikimic trong đại hồi bằng sắc ký lớp mỏng kết hợp đo mật độ quang 77

PHARMACEUTICAL JOURNAL
ISSN 0866 - 7861
9/2017 (N° 497 Vol. 57)
CONTENTS

RESEARCH - TECHNIQUES

- PHẠM THỊ THÚY VÂN, QUẦN THỊ THUY LINH, PHAN VIỆT SINH: Applicability of Beers and STOPP criteria to detection of Potentially Inappropriate Medication in prescriptions for elderly patients on discharge from a central hospital of Vietnam 2
- ĐỖ HỒNG QUẢNG, ĐÀO THỊ MAI ANH: Influence of glycyl-funtumin on the survivin gene transcription in the A549 human lung adenocarcinoma cell line 5
- PHẠM THỊ NGUYỆT HẰNG, LÊ VIỆT DŨNG, HÀ ĐỨC CƯỜNG: Experimental antioxidant and hepatoprotective property of the Liverbil capsules 7
- PHẠM THỊ THÚY VÂN, NGUYỄN THU CHINH: Insulin pen skill of type 2 diabetes patients and adverse effects of insulin in a district hospital 11
- BÙI THỊ THANH HÀ, ĐỖ HỒNG QUẢNG, BẾ HỒNG THU: Nutritional condition of the inpatients at Vietnam Poison Control Center (Bach Mai Hospital) 14
- ĐÀO THỊ VUI, PHẠM ĐỨC VINH, NGUYỄN THU HẰNG, NGUYỄN THỊ THUY DƯƠNG: Experimental curative virtue of the Lohha Trí Não tablets on scopolamine-induced memory impairment in mice 17
- LÊ VIỆT DŨNG, LÊ THỊ KIM VÂN, HOÀNG THỊ THANH NGÀ: Formulation of a super-saturated self-microemulsifying drug delivery system for micropellets of andrographolide 20
- NGUYỄN THỊ BÌNH NGUYỄN, VƯƠNG TÔ UYÊN, HUỖNH NGỌC TRINH, TRẦN MẠNH HÙNG: Study on a bionic model for *ex vivo* estimation of intestinal glucose absorption using isolated sections of mouse intestine 25
- NGUYỄN THỊ HƯỜNG, VŨ ĐỨC LỢI: Isolation of some natural compounds from the plant *Tetracera scandens* Merr. 29
- TRẦN TRINH CÔNG, LÊ THỊ THU HƯƠNG: Fungal contamination of the herbal item *Semen Myristicae* in various traditional medicine drug stores of Hanoi 32
- HOÀNG THỊ THANH NGÀ, LÊ THỊ KIM VÂN, LÊ VIỆT DŨNG: Influence of spray-drying excipients on the quality of spray-dried extracts from the domesticated *Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa 35
- BÙI THANH TÙNG, NGUYỄN THỊ KIM THU, NGUYỄN THANH HẢI: Cytotoxicity of PEG-curcumin on some human cancer cell lines 39
- HÀ VĂN THÚY, NGUYỄN THỊ SONG HÀ, NGUYỄN THANH TÙNG: Analysis of drug bidding results of Nam Dinh Health Department in 2015 42
- TRẦN PHI HOÀNG YẾN, TRẦN THÀNH ĐẠO: Semi-synthesis, antioxidant and cholinesterase-inhibiting activity *in vitro* of some methylated derivatives of quercetin 44
- ĐỖ HỒNG QUẢNG, JEAN-MARIE BARD, GILLES BARNATHAN: Influence of the total sterols from the marine sponge *Ciocalypa* sp. on the cholesterol absorption *in vitro* by cultured Caco-2 cells 48
- NGUYỄN MẠNH THẮNG, NGUYỄN CÔNG KHẮN, TRƯƠNG TUYẾT MAI, TRƯƠNG HOÀNG KIẾN, PHẠM THỊ NGUYỆT HẰNG: Experimental antidiabetic property and safety of the solid aqueous extracts of *Euphorbia hirta* L. 51
- PHẠM THANH MẠNH, NGUYỄN THỊ TRANG, NGUYỄN THUY LINH, NGUYỄN VĂN LIÊU, HOÀNG VIỆT DŨNG: Quantitative determination of trans-resveratrol in the roots of *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae) by HPLC 54
- NGUYỄN THUY DƯƠNG, ĐỖ SƠN TÙNG, NGUYỄN HOÀNG ANH, LÊ NGUYỄN THÀNH, VŨ THỊ MỪNG, NGUYỄN QUỲNH CHI: Chemical constituents from the ethyl acetate extracts of the leaves of *Antidesma montanum* Blume 56
- VŨ ĐỨC LỢI, NGUYỄN THỊ HƯỜNG: Isolation of some phytochemical constituents of the leaves of *Hedyotis capitellata* Wall. ex G. Don grown in Thai Nguyen province 59
- TRẦN THẾ HUÂN, TRẦN PHI HOÀNG YẾN: Semi-synthesis and inhibitory activity *in vitro* on the pancreatic lipase enzymes of some quercetin derivatives 62
- NGUYỄN THỊ TÚ OANH, NGUYỄN THỊ THANH MAI, NGUYỄN THỊ MINH HẰNG: Inhibitive property of the plant *Callisia fragrans* (Lindl.) Woods. on α -glucosidase enzyme 67
- PHẠM VĂN HIẾN, LÊ MINH HOÀNG, LÊ THỊ HUỖN TRANG, NGUYỄN DUY BẮC, NGÔ XUÂN TRINH, VŨ BÌNH DƯƠNG: Study on preparation dried extract powders from the cultured *Cordyceps militaris* L. ex Fr. Link by spray drying 70
- TRẦN VIỆT HÙNG, DƯƠNG MINH TÂN, NGUYỄN NGỌC VINH, PHẠM THỊ HIẾN, NGUYỄN THỊ NGÂN, ĐỖ THỊ HÀ, NGUYỄN THU HẰNG: HPLC determination of ganoderic A acid in the Vietnamese *Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr.) 73
- TRẦN TRỌNG BIẾN, NGÔ QUANG TRUNG, NGUYỄN VĂN HÂN: Development of a TLC-scanning method for quantitative determination of shikimic acid in the star anise (*Illicium verum* Hook.f.) 77

Bán tổng hợp và đánh giá tác động ức chế enzym lipase tụy *in vitro* của một số dẫn chất quercetin

Trần Thế Huân^{1,2}, Trần Phi Hoàng Yến^{1*}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược – Đại học Huế

*E-mail: tranyen73@gmail.com

Summary

In trend of finding pancreatic lipase inhibitors from quercetin for treatment of obesity, 8 derivatives were semi-synthesized by esterification, etherification and aminoalkylation. Their pancreatic lipase inhibitory activity in vitro was determined by UV-VIS colourimetry (405 nm) using p-nitrophenyl palmitate as substrate. Of these 8 derivatives, 4 proved greater desired potential than quercetin, and compound (7), a ethoxy quercetin derivative, was found the most active with IC₅₀ of 37.90 μM.

Keywords: Quercetin, semi-synthetic, lipase, flavonoid.

Đặt vấn đề

Hiện nay, bệnh béo phì là vấn đề mang tính toàn cầu, là yếu tố nguy cơ liên quan đến rất nhiều bệnh khác bao gồm viêm xương khớp, bệnh tim mạch, rối loạn lipid máu, gan nhiễm mỡ, đái tháo đường type 2, đột quỵ, ung thư ...^[3].

Ức chế enzym lipase của tuyến tụy là một trong những hướng nghiên cứu xác định các tác nhân tiềm năng trong điều trị béo phì. Hiện tại, chỉ có orlistat được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ phê duyệt điều trị béo phì theo cơ chế ức chế enzym lipase tụy, khác với các thuốc điều trị khác tác động trên hệ thần kinh trung ương. Orlistat được khám phá bắt nguồn từ phân tử lipstatin có nguồn gốc tự nhiên^[7].

Quercetin là một flavonoid đã được nghiên cứu nhiều, rất có tiềm năng trong hướng nghiên cứu các chất ức chế enzym lipase. Đồng thời, vì có nguồn gốc tự nhiên, quercetin đã được chứng minh là khá an toàn khi sử dụng trên cơ thể người^[5]. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu bán tổng hợp các dẫn chất từ quercetin để tạo ra các dẫn chất mới với mục đích

cải thiện hoạt tính ức chế enzym lipase tụy.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

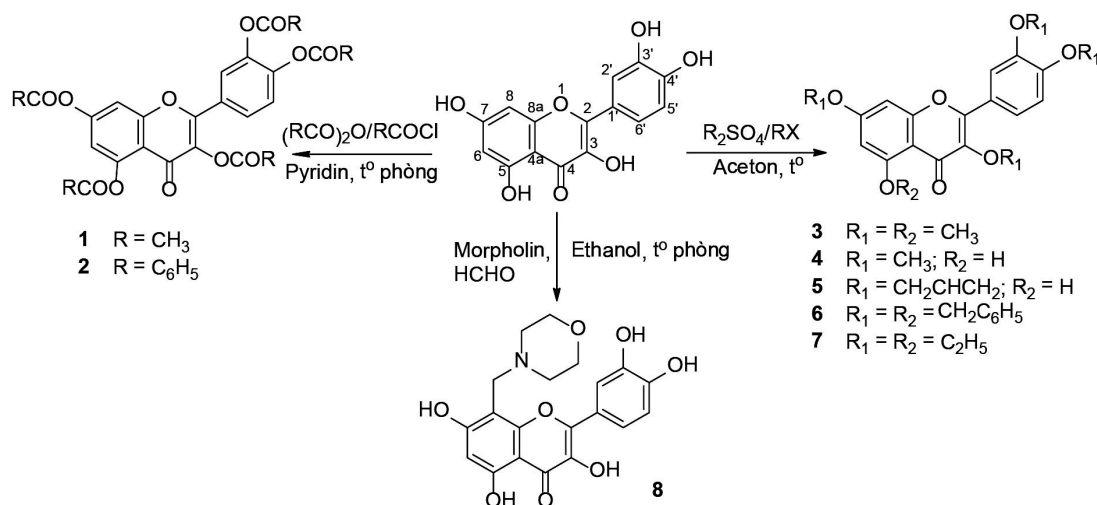
Nguyên liệu: Quercetin có nguồn gốc Trung Quốc, tinh chế lại bằng cách kết tinh trong methanol trước khi sử dụng. Hóa chất và dung môi sử dụng bán tổng hợp được cung cấp từ các công ty hóa chất Merck, Acros, Sigma-Aldrich, Trung Quốc và sử dụng không qua tinh chế.

Thiết bị: Bản mỏng tráng sẵn silicagel GF₂₅₄ của Merck; máy đo điểm chảy Gallenkamp; máy đo quang phổ tử ngoại UV-Vis LABOMED; máy đo khối phổ Shimadzu; máy đo phổ hồng ngoại FTIR-Equinox 55 de Bruker; máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker (phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR với tần số tương ứng 500 MHz - 125 MHz).

Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp

Từ nguyên liệu quercetin, thực hiện phản ứng bán tổng hợp là ester hóa, ether hóa và aminoalkyl hóa theo sơ đồ 1^[8]:



Sơ đồ 1. Sơ đồ tổng hợp các dẫn chất quercetin

Sản phẩm tổng hợp được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong dung môi thích hợp hoặc bằng sắc ký cột. Các dẫn chất được xác định các thông số vật lý và xác định cấu trúc bằng phổ MS, IR, ¹H-NMR và ¹³C-NMR.

Thử hoạt tính ức chế enzym lipase tụy

Hoạt tính ức chế enzym lipase tụy của các dẫn chất quercetin được xác định bằng phương pháp đo quang [1,2,4]. Thử nghiệm được thực hiện trên máy Elisa Multiskan Ascent 96 giếng, sử dụng enzym lipase tụy lợn (Sigma-Aldrich) với cơ chất *p*-nitrophenyl palmitat. Hỗn hợp phản ứng gồm: dung dịch đệm Tris-HCl 50 mM (pH 8,5), cơ chất *p*-nitrophenyl palmitat 3,33 mM, mẫu thử được pha trong methanol ở các nồng độ khác nhau, dung dịch enzym lipase 5 mg/ml (pha trong nước khử ion), mẫu trắng là mẫu thay dung dịch enzym bằng nước khử ion. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong 20 phút ở 37°C sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm. Mẫu chứng được thực hiện tương tự mẫu thử, thay dung dịch mẫu thử bằng methanol. Phần trăm ức chế enzym lipase tụy (I%) được tính theo công thức sau:

$$I\% = [(\Delta A_0 - \Delta A) / \Delta A_0] \times 100$$

Trong đó: ΔA_0 và ΔA lần lượt là độ giảm độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng và mẫu thử so với mẫu chứng

Xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa log nồng độ chất thử nghiệm (μM) và phần trăm ức chế enzym lipase tụy, từ đó tính được giá trị IC₅₀ của các dẫn chất.

Thử nghiệm hoạt tính sinh học được thực hiện tại Bộ môn Vi sinh, Khoa Dược, ĐH. Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Kết quả nghiên cứu

Tổng hợp

Thực hiện phản ứng bán tổng hợp theo sơ đồ được trình bày ở phương pháp nghiên cứu, thu được 8 dẫn chất (1-8).

(1) 3,3',4',5,7-pentaacetoxylavon

Cân 1 g quercetin cho vào bình cầu hai cổ, thêm 15 ml pyridin vào khuấy cho tan hoàn toàn. Nhỏ từ từ 1,9 ml anhydrid acetic vào bằng phễu nhỏ giọt. Tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi thích hợp. Khi phản ứng kết thúc, hòa loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước cất lạnh rồi cho ra cốc có mỡ, sản phẩm không tan sẽ lắng xuống, lọc qua phễu lọc chân không, sấy khô thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được kết tinh lại nhiều lần trong acetone thu được sản phẩm tinh. Hiệu suất: 74%. Bột kết tinh màu trắng. **Nhiệt độ nóng chảy:** 192 – 196 °C. **UV** ($\lambda_{\max}$ nm, MeOH): 256; 306,5. **MS** [M+Na]⁺: 535,0889 (M = 512,42). **IR** (v cm⁻¹, KBr) 3091 (v_{C-H nhân thơm}); 2935 (v_{CH₃}); 1776 (v_{C=O ester}); 1643 (v_{C=C nhân thơm}); 1501 (v_{C=C nhân thơm}); 1186 (v_{C-O ester}); 1017 (v_{C-O ester}). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 7,86 (d, J = 8,3 Hz, 2H, H₂ và H₆); 7,65 (d, J = 2 Hz, 1H, H₈); 7,53 (d, J = 8 Hz, 1H, H₅); 7,17 (d, J = 2 Hz, 1H, H₆); 2,34 – 2,32 (s, 15H, 5xCH₃). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 169,2 (C₄); 168,6 (C=O ester); 168,2 (C=O ester); 168,1 (C=O

ester); 167,9 (C=O ester); 167,6 (C=O ester); 156,3 (C₇); 154,3 (C_{8a}); 153,30 (C₂); 149,4 (C₅); 144,4 (C₄); 142,1 (C₃); 133,2 (C₃); 127,0 (C₁); 126,6 (C₆); 124,4 (C₅); 123,6 (C₂); 114,6 (C_{4a}); 114,0 (C₆); 109,9 (C₈); 20,8 (-CH₃); 20,0 (-CH₃); 20,3 (-CH₃); 20,3 (-CH₃); 20,1 (-CH₃).

(2) 3,3',4',5,7-pentabenzoyloxylavon

Thực hiện quy trình tổng hợp tương tự như dẫn chất 1, sử dụng 2,3 ml benzoyl clorid. Hiệu suất: 65%. Bột kết tinh màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy: 208 – 211 °C. **UV** ($\lambda_{\max}$ nm, MeOH): 235,5. **MS** [M-H]⁻: 820,8175 (M = 822,78). **IR** (v cm⁻¹, KBr) 3066 (v_{C-H nhân thơm}); 1746 (v_{C=O ester}); 1651 (v_{C=O}); 1500 (v_{C=C nhân thơm}); 1250 (v_{C-O ester}); 1054 (v_{C-O ester}). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 8,23 (d, J = 2 Hz, 1H, H₂); 8,13 – 7,45 (m, 25H, 5x-C₆H₅); 8,05 (dd, J₁ = 8,5 Hz, J₂ = 2 Hz, 1H, H₆); 7,99 (d, J = 2 Hz, 1H, H₈). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 169,1 (C₄); 164,2 (C=O ester); 163,6 (C=O ester); 163,3 (C=O ester); 163,1 (C=O ester); 162,9 (C=O ester); 156,4 (C₇); 154,5 (C_{8a}); 153,5 (C₂); 149,6 (C₅); 144,6 (C₄); 142,4 (C₃); 134,5 – 133,5 (5 C_{phenyl gần C=O}); 130,0 – 127,4 (C_{phenyl}); 127,4 (C₁); 126,9 (C₆); 124,5 (C₅); 123,8 (C₂); 115,2 (C_{4a}); 114,4 (C₆); 110,5 (C₈).

(3) 3,3',4',5,7-pentamethoxylavon

Cân 1,0 g quercetin cho vào bình cầu hai cổ, thêm khoảng 100 ml acetone khan vào và khuấy đến khi tan hoàn toàn. Cho tiếp 8 g xúc tác K₂CO₃ khuấy đều. Cho 1,9 ml dimethyl sulfat vào từ từ bằng phễu nhỏ giọt. Tiếp tục đun hồi lưu hỗn hợp phản ứng, theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng bằng hệ dung môi thích hợp. Khi phản ứng kết thúc, lọc bỏ phần rắn không tan thu được dung dịch, cô dung dịch dưới áp suất giảm thu được sản phẩm rắn thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kết tinh nhiều lần trong methanol, thu được sản phẩm tinh. Hiệu suất: 66%. Bột kết tinh màu trắng. **Nhiệt độ nóng chảy:** 152 – 155 °C. **UV** ($\lambda_{\max}$ nm, MeOH): 233. **MS** [M+H]⁺: 373,1257 (M = 372,37). **IR** (v cm⁻¹, KBr) 3085 (v_{C-H nhân thơm}); 2996 (v_{CH₃}); 1604 (v_{C=C nhân thơm}); 1513 (v_{C=C nhân thơm}); 1161 (v_{C-O ether}). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 7,64 (d, J₁ = 8,5 Hz, J₂ = 2 Hz, 1H, H₆); 7,61 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅); 7,10 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₂); 6,75 (d, J = 2 Hz, 1H, H₈); 6,34 (d, J = 2 Hz, 1H, H₆); 3,87 (s, 3H, -OCH₃); 3,85 (s, 3H, -OCH₃); 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 3,83 (s, 3H, -OCH₃); 3,75 (s, 3H, -OCH₃). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 172,0 (C₄); 163,5 (C₇); 160,2 (C₅); 158,0 (C_{8a}); 151,5 (C₂); 150,6 (C₄); 148,3 (C₃); 140,3 (C₃); 122,5 (C₁); 121,3 (C₆); 111,4 (C₅); 111,0 (C₂); 108,4 (C_{4a}); 95,7 (C₆); 92,9 (C₈); 59,1 (-OCH₃); 55,9 (-OCH₃); 55,9 (-OCH₃); 55,5 (-OCH₃); 55,5 (-OCH₃).

(4) 5-hydroxy-3,3',4',7-tetramethoxylavon

Thực hiện quy trình tổng hợp tương tự như dẫn chất 3, sử dụng 1,5 ml dimethyl sulfat, 5 g K₂CO₃. Hiệu suất: 55%. Bột kết tinh màu vàng nhạt. **Nhiệt độ nóng chảy:** 181 °C. **UV** ($\lambda_{\max}$ nm, MeOH): 254; 351,5. **MS** [M+H]⁺: 359,2944 (M = 358,35). **IR** (v cm⁻¹, KBr) 3685 (v_{O-H}); 3002 (v_{C-H nhân thơm}); 2956 (v_{CH₃}); 2908 (v_{CH₃}); 1597 (v_{C=C nhân thơm}); 1506 (v_{C=C nhân thơm}); 1379 (v_{CH₃}); 1159 (v_{C-O ether}); 820 (v_{C-H nhân thơm}). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 12,62 (s, 1H, -OH); 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H, H₆); 7,66 (s, 1H, H₅); 7,16 (d, J = 8,7 Hz, 1H, H₂); 6,78 (s, 1H,

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

H₈); 6,38 (s, 1H, H₆); 3,87 (s, 9H, 3-OCH₃); 3,83 (s, 3H, -OCH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 178,0 (C₄); 165,1 (C₇); 160,8 (C₅); 156,2 (C_{8a}); 155,3 (C₂); 151,2 (C₄); 148,4 (C₃); 138,2 (C₃); 122,0 (C₁); 121,9 (C₆); 111,5 (C₅); 111,2 (C₂); 105,1 (C_{4a}); 97,7 (C₆); 92,3 (C₈); 59,7 (-OCH₃); 56,0 (-OCH₃); 55,6 (2x-OCH₃).

(5) 5-hydroxy-3,3',4',7-tetraallyloxyflavon

Thực hiện quy trình tổng hợp tương tự như dẫn chất 3, sử dụng 1,7 ml allyl bromid, 5 g K₂CO₃, tinh chế bằng sắc ký cột với hệ dung môi n-henxan:cloroform (1-9). Hiệu suất: 42%. Bột màu vàng. **Nhiệt độ nóng chảy:** 68 – 69 °C. **UV** (λ_{max} nm, MeOH): 255,5; 351,5. **MS** [M+Na]⁺: 485,1513 (M = 462,5). **IR** (ν cm⁻¹, KBr) 3685 (ν_{O-H}); 3082 (ν_{C-H} nhân thơm); 2986 (ν_{CH₃}); 2923 (ν_{CH₃}); 1663 (ν_{C=C} alken); 1592 (ν_{C=C} nhân thơm); 1496 (ν_{C=C} nhân thơm); 1321 (ν_{CH₃}); 1160 (ν_{C-O} ether); 820 (ν_{C-H} nhân thơm). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 12,58 (s, 1H, -OH₅); 7,72 – 7,68 (m, 2H, H₅ và H₆); 7,14 (d, J = 9 Hz, 1H, H₂); 6,73 (d, J = 2 Hz, 1H, H₈); 6,37 (d, J = 2 Hz, 1H, H₆); 6,12 – 5,93 (m, 4H, 4x-CH=); 5,47 – 5,19 (m, 8H, 4x=CH₂); 4,67 (d, J = 5 Hz, 2x-CH₂-); 4,62 (d, J = 5,5 Hz, -CH₂-); 4,57 (d, J = 5,5 Hz, -CH₂-). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 178,0 (C₄); 163,9 (C₇); 160,8 (C₅); 156,1 (C_{8a}); 155,4 (C₂); 150,4 (C₄); 147,3 (C₃); 136,7 (C₃); 133,6 (-CH=); 133,5 (-CH=); 133,2 (-CH=); 132,7 (-CH=); 122,2 (C₁); 122,2 (C₆); 118,1 (=CH₂); 118,0 (=CH₂); 117,6 (=CH₂); 117,5 (=CH₂); 113,6 (C₅); 113,0 (C₂); 105,1 (C_{4a}); 98,1 (C₆); 93,0 (C₈); 72,4 (-CH₂-); 69,1 (-CH₂-); 68,9 (-CH₂-); 68,7 (-CH₂-).

(6) 3,3',4',5,7-pentabenzoyloxyflavon

Thực hiện quy trình tổng hợp tương tự như dẫn chất 3, sử dụng 2,4 ml benzyl bromid, 8 g K₂CO₃, tinh chế bằng cách kết tinh lại trong acetone. Hiệu suất: 56%. Bột màu trắng. **Nhiệt độ nóng chảy:** 162 – 163 °C. **UV** (λ_{max} nm, MeOH): 241,5; 340,5. **MS** [M+H]⁺: 753,2853 (M = 752,86). **IR** (ν cm⁻¹, KBr) 3059 (ν_{C-H} nhân thơm); 3029 (ν_{C-H} nhân thơm); 1603 (ν_{C=C} nhân thơm); 1506 (ν_{C=C} nhân thơm); 1020 (ν_{C-O} ether); 739 (ν_{C-H} nhân thơm). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 7,74 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H₂); 7,63 – 7,26 (m, 25H, 5x-C₆H₅); 7,18 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅); 6,90 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H₈); 6,70 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H₆); 5,25 (s, 2H, -CH₂-); 5,23 (s, 2H, -CH₂-); 5,20 (s, 2H, -CH₂-); 5,04 (s, 2H, -CH₂-); 4,93 (s, 2H, -CH₂-). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 172,3 (C₄); 162,5 (C₇); 159,1 (C₅); 158,0 (C_{8a}); 152,0 (C₂); 150,1 (C₄); 147,6 (C₃); 139,0 (C₃); 136,9 – 136,0 (C_{phenyl}); 128,4 – 126,8 (C_{phenyl}); 122,9 (C₁); 121,7 (C₆); 114,1 (C₅); 113,6 (C₂); 108,8 (C_{4a}); 97,7 (C₆); 94,1 (C₈); 72,8 (-CH₂-); 70,1 (-CH₂-); 70,0 (-CH₂-); 69,9 (-CH₂-); 69,8 (-CH₂-).

(7) 3,3',4',5',7-pentaethoxyflavon

Thực hiện quy trình tổng hợp tương tự như dẫn chất 3, sử dụng 2,6 ml diethyl sulfat, 10 g K₂CO₃. Hiệu suất: 41%. Bột kết tinh vàng nhạt. **Nhiệt độ nóng chảy:** 119 – 120 °C. **UV** (λ_{max} nm, MeOH): 250,5; 341,5. **MS** [M+H]⁺: 443,1956 (M = 442,5). **IR** (ν cm⁻¹, KBr) 2979 (ν_{CH₃}); 2930 (ν_{CH₃}); 2876 (ν_{CH₃}); 1603 (ν_{C=C} nhân thơm); 1513 (ν_{C=C} nhân thơm). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 7,68 (d, J = 2, 1H, H₂); 7,65 (d, J₁ = 8,5 Hz, J₂ = 2 Hz, 1H, H₆); 7,09 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅); 6,72 (d, J = 2 Hz, 1H, H₈); 6,40 (d, J = 2 Hz, 1H, H₆); 4,16 – 3,96 (m, 10H,

5x-CH₂-); 1,39 – 1,35 (m, 12H, 4x-CH₃); 1,24 (t, J = 7,0 Hz, 3H, -CH₃). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 172,1 (C₄); 162,7 (C₇); 159,5 (C₅); 158,0 (C_{8a}); 151,6 (C₂); 150,0 (C₄); 147,5 (C₃); 139,1 (C₃); 122,6 (C₁); 121,3 (C₆); 112,8 (C₅); 112,5 (C₂); 108,3 (C_{4a}); 96,7 (C₆); 93,2 (C₈); 67,0 (-CH₂-); 64,3 (-CH₂-); 63,9 (-CH₂-); 63,7 (-CH₂-); 15,3 (-CH₃); 14,6 (-CH₃); 14,5 (-CH₃); 14,3 (-CH₃); 14,3 (-CH₃).

(8) 3,3',4',5,7-pentahydroxy-8-(morpholin-1-ylmethyl)flavon

Cân 1 g quercetin cho vào cốc có mỏ, thêm khoảng 100 ml ethanol, khuấy đều đến khi nguyên liệu tan hết. Lọc dưới áp suất giảm để loại bỏ các tạp chất không tan. Dịch lọc được cho vào trong một bình cầu 2 cổ. Cho hỗn hợp gồm 1,7 ml HCHO 37% và 1,5 ml morpholin vào phễu nhỏ giọt (tỉ lệ mol 1:1), nhỏ từ từ vào bình phản ứng. Hỗn hợp được khuấy đều đến khi xuất hiện tủa. Sau khi phản ứng kết thúc, lọc lấy tủa dưới áp suất giảm, sấy khô thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách rửa nhiều lần với ethanol nóng, điều chỉnh pH thích hợp thu được sản phẩm tinh. Hiệu suất: 34%. Bột màu vàng. **Nhiệt độ nóng chảy:** 297 °C. **UV** (λ_{max} nm, MeOH): 258,5; 375. **MS** [M+H]⁺: 402,1163 (M = 401,37). **IR** (ν cm⁻¹, KBr) 3318 (ν_{O-H}); 2872 (ν_{C-H} sp³); 1615 (ν_{C=C} nhân thơm); 1513 (ν_{C=C} nhân thơm). **¹H-NMR** (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 12,53 (s, 1H, -OH₅); 7,73 (d, J = 2 Hz, 1H, H₂); 7,60 (dd, J₁ = 8,5, J₂ = 2, Hz, 1H, H₆); 6,90 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅); 6,22 (s, 1H, H₆); 3,82 (s, 2H, -CH₂-); 3,59 (s, 4H, 2x OCH₂-); 2,54 (s, 2H, NCH₂); 2,50 (s, 2H, NCH₂). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 175,9 (C₄); 163,4 (C₇); 159,5 (C₅); 153,9 (C_{8a}); 147,6 (C₂); 146,5 (C₄); 145,0 (C₃); 135,6 (C₃); 122,2 (C₁); 119,9 (C₆); 115,6 (C₅); 115,0 (C₂); 102,8 (C_{4a}); 100,1 (C₈); 97,9 (C₆); 66,0 (OCH₂-); 56,0 (OCH₂-); 52,7 (NCH₂-); 50,9 (NCH₂-); 18,5 (-CH₂-).

Hoạt tính ức chế enzym lipase tụy

Hoạt tính ức chế enzym lipase tụy được xác định bằng phương pháp đo quang. Mười dẫn chất bao gồm nguyên liệu, các dẫn chất tổng hợp cùng với chất đối chứng orlistat được thử nghiệm hoạt tính ức chế enzym lipase tụy. Giá trị IC₅₀ tương ứng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả IC₅₀ của dẫn chất quercetin đối với enzym lipase tụy

Stt	Dẫn chất	IC ₅₀ (μM)
1	Rutin	304,47
2	Quercetin	99,58
3	1	57,94
4	2	> 500
5	3	81,92
6	4	64,49
7	5	> 500
8	6	---
9	7	37,90
10	8	---
11	Orlistat	2,80

Ghi chú: ---: không có hoạt tính

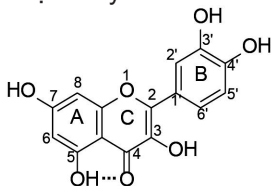
Bàn luận

Tổng hợp hóa học

Phản ứng ester hóa quercetin xảy ra theo cơ chế phản ứng thế ái nhân, thu được sản phẩm với hiệu suất cao. Tác nhân phản ứng ester hóa là anhydrid acetic và benzoyl clorid, với dung môi là pyridin. Đây là các tác nhân acyl hóa mạnh, dễ dàng ester hóa các nhóm –OH phenol. Pyridin là dung môi có khả năng hòa tan tốt nguyên liệu và sản phẩm tạo thành. Đồng thời, trong phản ứng này, pyridin cũng đóng vai trò là chất xúc tác.

Phản ứng ether hóa được thực hiện trong dung môi acetone, là dung môi hòa tan tốt quercetin. Các tác nhân ether hóa như dimethyl sulfat, diethyl sulfat rất dễ bị phân hủy khi có sự có mặt của nước. Chính vì vậy, dung môi acetone phải được làm khan trước khi thực hiện phản ứng. Acetone có thể được làm khan bằng cách chưng cất hoặc sử dụng các loại muối làm khan.

Trong cấu trúc của quercetin, nhóm –OH ở vị trí số 5 của vòng A tạo liên kết hydro nội phân tử với nhóm C=O ở vị trí số 4 của vòng C (hình 1). Vì vậy, khả năng phản ứng của nhóm –OH này yếu hơn rất nhiều so với các nhóm còn lại. Điều này có thể thấy trên thực nghiệm khi các phản ứng ether hóa tạo các dẫn chất **4**, **5** đều không thể vào vị trí này.



Hình 1. Liên kết hydro nội phân tử trong cấu trúc quercetin

Phản ứng ether hóa được thực hiện trong môi trường kiềm, khi đó các nhóm –OH phenol của quercetin chuyển thành dạng phenolat, dễ dàng thế ái nhân vào các dẫn chất halogen. Tuy nhiên, môi trường kiềm mạnh có thể gây phân hủy dẫn chất flavonoid, vì vậy K_2CO_3 là xúc tác phù hợp nhất trong các phản ứng này.

Đối với phản ứng ether hóa với tác nhân dimethyl sulfat, thực nghiệm cho thấy rằng khi tăng lượng xúc tác K_2CO_3 lên thì phản ứng xảy ra nhanh hơn và tạo thành sản phẩm thế ở cả 5 nhóm –OH (**3**). Đối với chất **4**, giảm lượng xúc tác đồng thời giảm lượng tác nhân phản ứng thì phản ứng xảy ra chậm hơn nhiều và không ether hóa được –OH ở vị trí số 5. Như vậy, không thể lượng xúc tác K_2CO_3 có thể tạo ra các sản phẩm thế mong muốn.

Phản ứng aminoalkyl hóa được thực hiện thông qua cơ chế phản ứng Mannich. Sản phẩm tạo thành là dẫn chất vừa có các nhóm –OH phenol ban đầu có tính acid, vừa gắn thêm nhóm nitơ bậc 3 có tính base. Do đó, dẫn chất này có tính lưỡng tính và phân cực mạnh. Chính vì vậy, sản phẩm thế tạo thành không tan trong dung môi phản ứng (ethanol) và tủa trong bình phản ứng. Tuy nhiên, vì bản chất lưỡng tính và phân cực mạnh, loại dẫn chất này rất khó triển khai trên SKLM.

Trên vòng A của quercetin, sản phẩm của phản ứng aminoalkyl hóa có thể thế vào hai vị trí 6, 8. Theo nghiên cứu của Shixuan Zhang và CS (2008), sản phẩm

thế aminoalkyl sẽ ưu tiên thế vào vị trí carbon số 8 của vòng thơm [6]. Điều này cũng phù hợp với các cấu trúc phổ đã xác định.

Hoạt tính ức chế enzyme lipase tụy

Tất cả 10 dẫn chất bao gồm cả nguyên liệu và các dẫn chất bán tổng hợp được tiến hành thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme lipase tụy lợn. So với chất đối chiếu orlistat ($IC_{50} = 2,80 \mu M$); quercetin và các dẫn chất tổng hợp có hoạt tính thấp hơn. Kết quả thử nghiệm cho thấy, hoạt tính ức chế enzyme lipase tụy của quercetin được cải thiện khi tạo thành các dẫn chất bán tổng hợp, trong đó có 4 dẫn chất (**1**, **3**, **4**, **7**) có hoạt tính tốt hơn với giá trị IC_{50} thấp hơn giá trị IC_{50} của quercetin ($99,58 \mu M$). Hợp chất **7** là hợp chất có hoạt tính tốt nhất với giá trị IC_{50} là $37,90 \mu M$.

Đối chiếu kết quả thử hoạt tính và cấu trúc các dẫn chất, có thể thấy rằng:

- So với dạng glycosid, dạng aglycon có hoạt tính tốt hơn.

- Các dẫn chất ether hóa cho hoạt tính cao hơn, đặc biệt là khi thế nhóm methoxy hay ethoxy.

Thử hoạt tính lipase được thực hiện bằng phương pháp đo quang ở bước sóng 405 nm, ở bước sóng này hầu hết các dẫn chất quercetin nghiên cứu đều không hấp thụ (thể hiện trên phổ UV). Do vậy, việc đo quang chất tạo màu *p*-nitrophenol ở bước sóng 405 nm cho kết quả đáng tin cậy.

Kết luận

Từ quercetin, đề tài đã tiến hành bán tổng hợp được 8 dẫn chất thông qua các phản ứng ester hóa, ether hóa và aminoalkyl hóa. Các dẫn chất tổng hợp được xác định các thông số lý hóa và chứng minh cấu trúc bằng các loại phổ MS, IR, 1H -NMR và ^{13}C -NMR. Toàn bộ các dẫn chất được thử hoạt tính ức chế enzyme lipase tụy *in vitro* bằng phương pháp đo quang, sử dụng enzyme lipase tụy lợn với cơ chất *p*-nitrophenyl palmitat. Kết quả cho thấy, mặc dù hoạt tính thấp hơn chất đối chiếu orlistat, các dẫn chất thu được có sự cải thiện về hoạt tính so với nguyên liệu quercetin ban đầu. Trong đó, dẫn chất **7** là dẫn chất ethoxy hóa, có hoạt tính tốt nhất với giá trị IC_{50} là $37,90 \mu M$. Kết quả nghiên cứu này giúp định hướng cho quá trình nghiên cứu tiếp theo, tập trung vào bán tổng hợp các dẫn chất theo hướng ether hóa.

Tài liệu tham khảo

1. Danielle Branta Lopes, Laura Priscila Fraga, Luciana Francisco Fleuri, Gabriela Alves Macedo (2011), "Lipase and esterase - to what extent can this classification be applied accurately?", *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(3), pp. 608-613.
2. Eun Mi Lee, Seung Sik Lee, Byung Yeoup Chung, Jae-Young Cho, In Chul Lee, So Ra Ahn, Soo Jeung Jang and Tae Hoon Kim (2010), "Pancreatic Lipase Inhibition by C-Glycosidic Flavones Isolated from *Eremochloa ophiuroides*", *Molecules*, 15, pp. 8251-8259.
3. Kang J. G., Park C. Y. (2012), "Anti-obesity drugs: A review about their effects and safety", *Diabetes & Metabolism Journal*, 36(1), pp. 13-25.

4. Liu Lewis D. R., D. J. (2012), "Direct measurement of lipase inhibition by orlistat using a dissolution linked *in vitro* assay", *Clin. Pharmacol. Biopharm.*, 1(3), pp. 1-3.

5. Nitin A. Lunagariya, Neeraj K. Patel, Sneha C. Jagtap, Kamlesh K. Bhutani (2014), "Inhibitors of pancreatic lipase: State of the art and clinical perspectives", *EXCLI Journal*, 13, pp. 897-912.

6. Zhang S., Ma J., Bao Y., Yang P., Zou L., Li K., Sun X.

(2008), "Nitrogen-containing flavonoid analogues as CDK1/cyclin B inhibitors: synthesis, SAR analysis, and biological activity", *Bioorg. Med. Chem.*, 16(15), pp. 7128-33.

7. WHO (2016); *Obesity and overweight*, truy cập ngày 14/07/2016, tại trang web <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

8. Trương Thế Kỳ và CS. (2006), *Hóa Hữu cơ*, tập 1, NXB Y học, tr. 149-270.

(Ngày nhận bài: 12/05/2017 - Ngày phản biện: 14/07/2017 - Ngày duyệt đăng: 28/08/2017)

Định lượng trans-resveratrol ... (Tiếp theo trang 55)

Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Bằng phương pháp pha loãng dần dung dịch chuẩn resveratrol, đã khảo sát và xác định được:

- Giới hạn phát hiện của phương pháp là ở nồng độ resveratrol khoảng 0,05 µg/ml. Tại nồng độ này, đáp ứng pic mẫu thử có diện tích gấp khoảng 3 lần diện tích đáp ứng của mẫu trắng.

- Giới hạn định lượng của phương pháp là ở nồng độ resveratrol khoảng 0,16 µg/ml. Tại nồng độ này

đáp ứng pic mẫu thử có diện tích gấp khoảng 10 lần diện tích đáp ứng của mẫu trắng.

Kết quả định lượng resveratrol trong một số mẫu rễ lạc

Ứng dụng phương pháp xây dựng được ở trên để xác định hàm lượng resveratrol trong 4 mẫu rễ lạc được thu hái vào tháng 6/2017 tại 4 tỉnh ở miền Bắc và miền Trung. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng resveratrol trong các mẫu rễ lạc

TT	Địa điểm thu hái các mẫu rễ lạc							
	Tam Đường - Lai Châu		Vụ Bản - Nam Định		Quỳnh Lưu - Nghệ An		Sơn Dương - Tuyên Quang	
	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng RES (µg/g)	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng RES (µg/g)	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng RES (µg/g)	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng RES (µg/g)
1	11,35	179,28	8,45	87,47	11,25	174,75	10,27	215,11
2	9,85	179,07	9,52	84,90	10,54	170,46	8,92	212,04
3	10,12	173,06	8,98	87,16	10,78	176,16	9,93	214,70
$\bar{x} \pm SD$	$10,44 \pm 0,80$	$177,14 \pm 3,53$	$8,98 \pm 0,54$	$86,51 \pm 1,41$	$10,86 \pm 0,36$	$173,79 \pm 2,97$	$9,71 \pm 0,71$	$213,95 \pm 1,67$

Kết quả bảng 4 cho thấy hàm lượng resveratrol trong các mẫu nghiên cứu có sự khác nhau khá lớn. Sự khác nhau này có thể do điều kiện thổ nhưỡng hoặc giống lạc khác nhau. Vì vậy, nếu muốn sử dụng rễ lạc làm nguyên liệu đầu vào cho sản xuất thì cần có những nghiên cứu đầy đủ để lựa chọn khu vực trồng hoặc giống trồng phù hợp nhằm nâng cao chất lượng nguyên liệu.

Kết luận

Đã xây dựng được phương pháp định lượng resveratrol trong rễ lạc bằng phương pháp HPLC với điều kiện sắc ký là: cột Sunfire RP-C18; bước sóng phân tích: 305 nm; tốc độ dòng: 1 ml/phút; nhiệt độ cột: 28°C; thể tích tiêm: 20 µl; rửa giải theo chương trình isocratic với pha động gồm hai dung môi là acetonitril và dung dịch acid formic 0,1%. Phương pháp định lượng được xây dựng có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ resveratrol trong khoảng nồng độ khảo sát với $R^2 = 0,9990$, có độ lặp lại (RSD = 1,67%) và độ đúng cao (từ 97,29-101,04%, RSD = 1,28%). Ứng dụng phương pháp xây dựng được, đã xác định hàm lượng resveratrol trong 4 mẫu rễ lạc thu hái ở 4 tỉnh có hàm lượng nằm trong khoảng từ 86,51-213,95 µg/g (tính theo dược liệu khô kiệt).

Tài liệu tham khảo

1. Trần Văn Phương (2012), "Khảo sát thành phần hóa học của rễ cây đậu phộng (*Arachis hypogaea* L., họ Đậu-

Fabaceae), định hướng tìm kiếm sự hiện diện của resveratrol", *Luận văn Thạc sỹ Hóa học, Trường ĐH Quốc gia TP. Hồ Chí Minh*.

2. Hoàng Văn Tân (2015), "Nghiên cứu bào chế bột cao khô từ rễ cây cốt khí củ (*Polygonum cuspidatum*) bằng phương pháp phun sấy", *Luận văn Thạc sỹ Dược học, Học viện Quân y*.

3. Aggarwal B. B., Bhardwaj A., Aggarwal R. S. (2004), "Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies", *Anticancer Res.*, 24 (5A), pp. 2783-2840.

4. Andre A. Souto, Manuel C. Carneiro, Marcus Seferin et al (2001), "Determination of resveratrol concentrations in Brazilian red wines by HPLC", *J. of Food Composition and Analysis*, Volume 14, issue 4, pp. 441-445.

5. Cecil R. Pace-Asciak, S. Hahn, E. P. Diamandis et al (1995), "The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease", *Clinica Chimica Acta.*, 235(2), pp. 207-219.

6. Joseph A. Baur và David A. Sinclair (2006), "Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence", *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), pp. 493-506.

7. Xia Tian, Y. Liu, G. Ren et al (2016), "Resveratrol limits diabetes-associated cognitive decline in rats by preventing oxidative stress and inflammation and modulating hippocampal structural synaptic plasticity", *Brain Research*, 1650, pp. 1-9.

(Ngày nhận bài: 06/07/2017 - Ngày phản biện: 15/07/2017 - Ngày duyệt đăng: 28/08/2017)