

NGHIÊN CỨU MỐI QUAN HỆ GIỮA HOẠT TÍNH ỨNG CHẾ GỐC TỰ DO NO VỚI CẤU TRÚC CỦA CÁC HOẠT CHẤT CÔ LẬP TỪ CÚC HOA TRẮNG

Bùi Hữu Trung, Nguyễn Thị Thanh Mai

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 08 tháng 01 năm 2009, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 30 tháng 05 năm 2009)

TÓM TẮT: NO là một gốc tự do kém bền và có hoạt tính sinh học cao. Trong cơ thể, NO đóng vai trò quan trọng như là tác nhân góp phần điều hòa huyết áp, là yếu tố gây giãn mạch nội sinh; có vai trò dẫn truyền thần kinh, điều hòa cảm nhận đau, điều khiển quá trình tư duy và trí nhớ; có khả năng giết chết các mầm bệnh và tế bào ung thư. Tuy nhiên, khi lượng NO lớn sẽ gây ra nội độc tố đối với cơ thể và dẫn đến một số bệnh nghiêm trọng như: ung thư, tiểu đường, bệnh tim mạch,.... Theo y học cổ truyền Việt Nam, cúc hoa trắng (*Chrysanthemum sinense* Sabine.) được dùng điều trị các bệnh như thấp khớp và kháng viêm. Trong quá trình nghiên cứu tìm kiếm những cây thuốc Việt Nam có khả năng chống oxy hóa, chúng tôi đã phát hiện cao methanol từ cúc hoa trắng có hoạt tính ức chế gốc tự do NO với giá trị IC_{50} là 142.8 $\mu\text{g/mL}$. Từ cao methanol, chúng tôi đã cô lập được 28 hợp chất, bao gồm 15 flavonoid, 7 dẫn xuất của acid caffeoylquinic, và 6 dẫn xuất đơn giản của phenol. Tất cả các hợp chất cô lập được thử hoạt tính ức chế NO, trong đó có 9 chất có hoạt tính với IC_{50} trong khoảng từ 29.4 đến 100 μM . Nghiên cứu mối quan hệ giữa hoạt tính - cấu trúc các chất này cho thấy số lượng và vị trí của các nhóm OH trên vòng B của nhóm flavonoid đóng vai trò quan trọng, trong khi đó ester methyl của acid dicaffeoylquinic lại làm tăng hoạt tính ức chế NO của nhóm này.

1.ĐẶT VẤN ĐỀ

Như chúng ta đã biết, oxy rất cần thiết cho sự sống, tuy nhiên nó cũng được biết đến như một chất có hại. Oxi trở nên có hại khi nó tồn tại dưới dạng các gốc tự do (còn gọi là ROS: Reactive oxygen species). Các gốc tự do này có hoạt tính cao và kém bền, phân tử của chúng có chứa một electron tự do. Các gốc tự do có nguồn gốc từ oxi như: superoxid (O_2^-), hydroxyl (OH $\cdot$), hydroperoxid (HOO $\cdot$), peroxid (ROO $\cdot$), oxid nitric (NO $\cdot$), ion peroxynitrit (ONOO $\cdot$). Các gốc tự do được tạo ra trong cơ thể để chống lại các loại virút và vi khuẩn gây bệnh, tuy nhiên khi ở hàm lượng cao các gốc tự do này phản ứng với protein, lipid, ADN và gây ra một số bệnh nghiêm trọng như: ung thư, suy thận, bệnh tim mạch,...¹ Trong số các gốc tự do thì NO là một gốc tự do có hoạt tính sinh học cao. NO là tác nhân góp phần điều hòa huyết áp; là yếu tố gây giãn mạch nội sinh^{2,3}; có vai trò dẫn truyền thần kinh⁴; điều hòa cảm nhận đau, điều khiển quá trình tư duy và trí nhớ^{2,3}; có khả năng giết chết các mầm bệnh và tế bào ung thư^{2,5}; Lượng NO lớn sẽ gây ra nội độc tố đối với cơ thể, khi đó NO phản ứng với các ROS khác để tạo ra các gốc tự do gây hại cho cơ thể^{3,4},... Do đó việc nghiên cứu các hoạt chất có khả năng ức chế gốc tự do NO đang là vấn đề quan tâm. Theo một số công trình nghiên cứu được công bố, các flavonoid, diterpen, các dẫn xuất acid caffeoylquinic, các dẫn xuất acid caffeic có tác dụng ức chế NO rất hiệu quả^{6,7,8}. Các hợp chất này thường có mặt trong các loại trà cũng như các thảo dược gần gũi với đời sống.

Từ một thử nghiệm sàng lọc hoạt tính ức chế gốc tự do NO của một số cao chiết từ dược liệu, chúng tôi nhận thấy cao metanol của hoa cúc trắng, *Chrysanthemum sinense* Sabine. (Asteraceae), có khả năng ức chế gốc tự do NO ($IC_{50} = 142.8 \mu\text{g/mL}$). Chính vì vậy, đề tài này sẽ khảo sát tìm kiếm các hoạt chất có khả năng ức chế NO từ cúc hoa trắng, từ đó nghiên

cứu mối quan hệ giữa hoạt tính và cấu trúc của chúng để làm cơ sở cho việc tìm kiếm các loại thuốc đặc trị hữu hiệu những căn bệnh do gốc tự do NO gây ra.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất – dụng cụ

§ Dung dịch natri nitroprussid (Merk) 10 mM: pha trong đệm phosphat pH 7.4 (20 mM) trước khi tiến hành thí nghiệm và được bảo quản trong chai tối màu.

§ Thuốc thử Greiss (Merk): bao gồm hai dung dịch A và B: Dung dịch A: Sulfanilamid 2% trong acid phosphoric (H_3PO_4) 4%. Dung dịch B: N-(1-naphthyl)-ethylendiamin 0.2% trong nước cất. Hai dung dịch này được trộn với cùng tỉ lệ thể tích trước khi thí nghiệm.

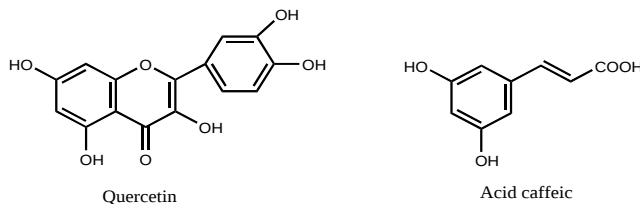
§ Quercetin (Merk) và các hợp chất thử nghiệm được cô lập từ cúc hoa trắng, độ tinh khiết của các chất này được xác định theo phương pháp HPLC.

§ Máy UV-Vis Shimadzu.

2.2. Cơ sở phương pháp^{1,9}

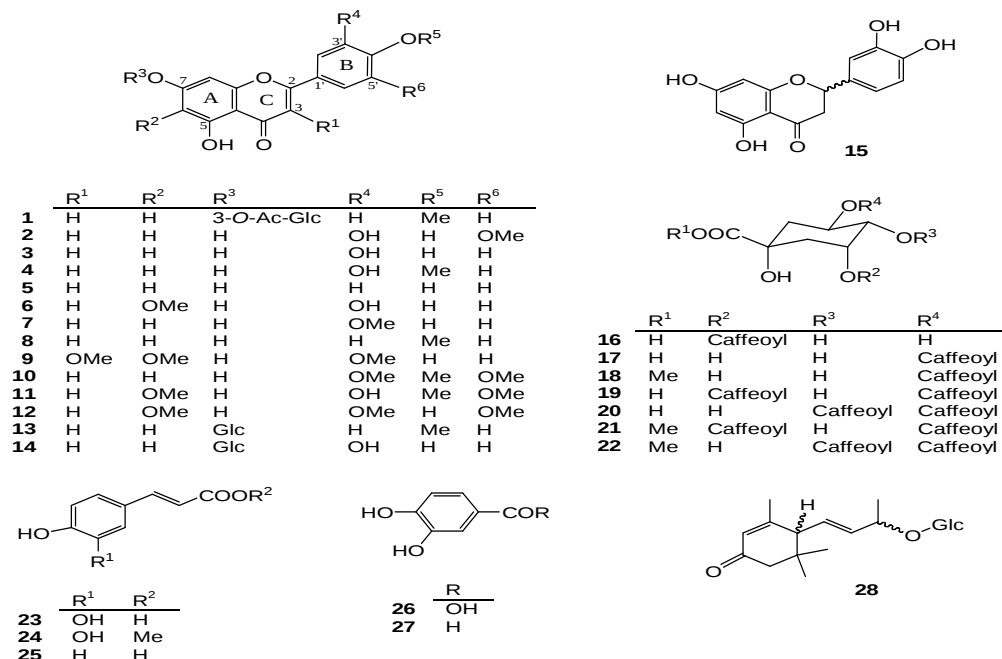
Natri nitroprussid bị phân hủy dưới ánh sáng sinh ra gốc tự do NO. Trong dung dịch nước, NO sinh ra sẽ phản ứng với oxi tạo thành sản phẩm bền vững là nitrit và nitrat. Khi mẫu có hoạt chất ức chế NO, thì hoạt chất sẽ phản ứng cạnh tranh với oxi, kết quả làm giảm nồng độ nitrit tạo thành trong dung dịch. Dựa trên sự giảm hàm lượng nitrit tạo thành của mẫu có hoạt chất ức chế NO so với mẫu không có hoạt chất ức chế NO (mẫu control), ta tính được khả năng ức chế gốc tự do NO của hoạt chất. Hàm lượng nitrit tạo thành được xác định dựa trên phản ứng lên màu với thuốc thử Greiss và đo màu ở 540 nm.

Khả năng ức chế gốc tự do NO được xác định dựa trên phần trăm ức chế I (%). Từ đó, ta tính được giá trị IC_{50} , đại lượng đánh giá khả năng ức chế mạnh hay yếu của các hoạt chất. IC_{50} (Inhibitory concentration) được định nghĩa là nồng độ của một mẫu mà tại đó nó có thể ức chế được 50% gốc tự do NO. Để có cơ sở đánh giá hoạt tính của những mẫu chất khảo sát, chúng tôi sử dụng quercetin và acid caffeic làm chất đối chứng để so sánh, vì đây là những chất có hoạt tính mạnh đối với gốc tự do NO được sử dụng làm chất đối chứng trong các tài liệu tham khảo.



2.3. Chuẩn bị mẫu

Hoa cúc trắng được thu hái tại thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 04 năm 2009. Hóa khô (2,3 kg) được trích hoàn lưu bằng methanol (MeOH) trong 3h. Sau khi cô quay, cao methanol (500 g) được chiết lần lượt với hexan (127 g), chloroform (21 g), etylacetat (44 g), butanol (88 g), và nước (200 g). Lấy 18 g cao $CHCl_3$ cao EtOAc chạy sắc ký cột pha thường với hệ dung môi MeOH- $CHCl_3$ và thu được 7 phân đoạn. Tiếp tục sử dụng sắc ký cột và sắc ký bản mỏng điều chế các phân đoạn này thu được 28 hợp chất tinh khiết, chia thành 3 nhóm chính là: nhóm flavonoid (1 – 15), nhóm dẫn xuất của acid caffeoylquinic (16 – 22) và nhóm các phenol đơn giản (23 – 28)⁹. Công thức của các hợp chất được trình bày như sau:



Mẫu cao và chất được hòa tan trong hỗn hợp dung dịch đệm phosphat pH 7.4 – etanol, nồng độ etanol cuối cùng khoảng 2%. Mỗi mẫu được thử ở 4 nồng độ khác nhau, trong đó:

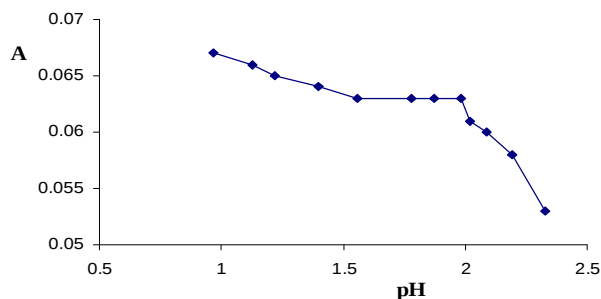
- Mẫu cao metanol: 200, 100, 50 và 25 $\mu\text{g/mL}$
- Mẫu chất: 100, 50, 25, 10 μM .

2.4. Khảo sát các điều kiện tối ưu

2.4.1. Khảo sát ảnh hưởng của pH lên cường độ màu của phức màu diazo

Mỗi chất màu có cường độ màu khác nhau tại các khoảng pH khác nhau. Do đó, ta cần khảo sát sự thay đổi màu theo pH để tìm khoảng pH tối ưu cho phản ứng.

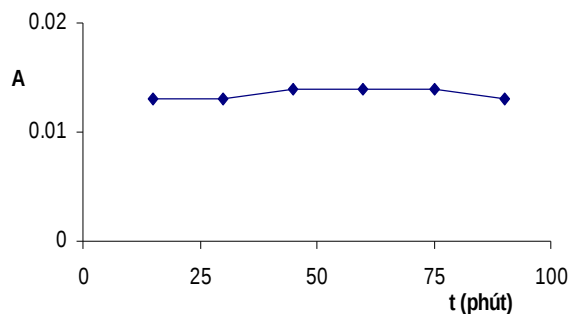
Nhận xét: Để phức màu hình thành hoàn toàn và ổn định thì pH của dung dịch phải ở trong khoảng 1,2 đến 2,0.



Đồ thị 1. Ảnh hưởng của pH lên cường độ màu của phức màu diazo.

2.4.2. Khảo sát sự phân hủy natri nitroprussid trong chai tối màu ở nhiệt độ khoảng 25°C

Natri nitroprussid bị phân hủy dưới ánh sáng tạo ra NO. Do đó, để có được kết quả phân tích chính xác, chúng tôi tiến hành khảo sát sự phân hủy của natri nitroprussid trong chai tối màu theo thời gian để có thể chuẩn bị và bảo quản dung dịch này một cách hợp lý trong quá trình thực nghiệm



Đồ thị 2. Sự phân hủy natri nitroprussid trong tối theo thời gian

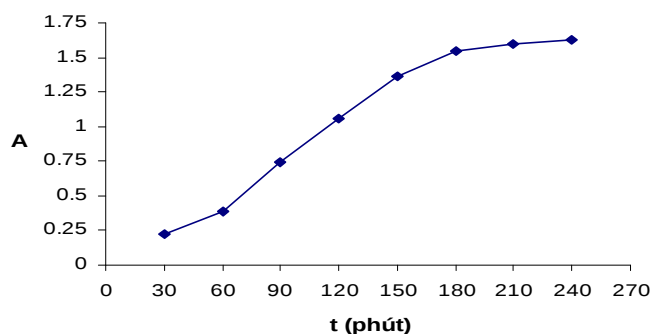
Kết quả cho thấy natri nitroprussid không phân hủy trong 90 phút sau khi chuẩn bị. Do đó, ta có thể tiến hành thí nghiệm với dung dịch natri nitroprussid trong khoảng thời gian trên mà không ảnh hưởng đến kết quả đo.

2.4.3. Khảo sát sự sinh ra NO theo thời gian

Natri nitroprussid rất nhạy với ánh sáng và bị ánh sáng phân hủy theo thời gian. Để có thể xác định lượng nitrit một cách chính xác nhất thì đòi hỏi lượng NO sinh ra phải ổn định. Do đó, việc đầu tiên là phải khảo sát được khoảng thời gian ổn định của nồng độ NO tạo thành.

Đồ thị cho thấy, sau khoảng 180 phút thì lượng NO sinh ra ổn định. Do đó, ta chọn thời gian là 180 phút mới thực hiện lên màu phản ứng.

Từ kết quả tối ưu các điều kiện thực nghiệm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu hoạt tính của các mẫu cao và mẫu chất.



Đồ thị 3. NO sinh ra từ natri nitroprussid theo thời gian

3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế NO của mẫu cao metanol của hoa cúc trắng

Hoa cúc trắng (*Chrysanthemum sinense* Sabin.) được phơi khô, trích hoàn lưu bằng methanol. Thử hoạt tính ức chế NO mẫu cao thu được ta có kết quả sau (bảng 1):

Bảng 1. Kết quả hoạt tính ức chế NO của cao MeOH – cúc hoa trắng.

Nồng độ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	200	100	50	25	IC ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
% ức chế	58.3	43.8	24.2	13.2	142.8

Như vậy, trong thành phần của hoa cúc hoa trắng có chứa các hợp chất có hoạt tính ức chế NO. Để tìm hiểu rõ hơn về hoạt tính ức chế NO của hoa cúc hoa trắng, chúng tôi tiếp tục khảo sát hoạt tính của 28 chất được cô lập từ hoa cúc hoa trắng bao gồm 15 flavonoid, 7 dẫn xuất của acid caffeoylquinic, và 6 dẫn xuất đơn giản của phenol.

3.2. Kết quả hoạt tính ức chế NO của nhóm flavonoid

Bảng 2. Kết quả hoạt tính ức chế gốc tự do NO của nhóm flavonoid.

Mẫu	% ức chế				IC ₅₀ (μM)
	100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
Acacetin-7-O-(3-O-acetyl- <i>b</i> -D-glucopyranoside) (1)	15.6 $\pm$ 1.1	7.7 $\pm$ 1.3	29.0 $\pm$ 1.2	–	>100
Diosmetin (4)	34.4 $\pm$ 0.7	18.5 $\pm$ 1.0	11.7 $\pm$ 1.7	6.4 $\pm$ 0.8	>100
Apigenin (5)	32.9 $\pm$ 0.7	24.9 $\pm$ 0.7	15.9 $\pm$ 0.4	8.5 $\pm$ 1.4	>100
Eupafolin (6)	68.8 $\pm$ 0.9	60.7 $\pm$ 2.1	40.3 $\pm$ 0.8	19.2 $\pm$ 2.5	37.0
Acacetin (8)	9.7 $\pm$ 5.5	7.9 $\pm$ 1.3	–	–	>100
Jaceidin (9)	54.7 $\pm$ 1.0	36.6 $\pm$ 0.8	24.6 $\pm$ 1.0	15.2 $\pm$ 1.1	87.0
Tricetin 3',4',5'-trimethyl ether (10)	10.9 $\pm$ 1.5	–	–	–	>100
5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavone (11)	47.8 $\pm$ 1.3	31.3 $\pm$ 0.7	14.8 $\pm$ 0.3	5.8 $\pm$ 0.5	>100
Apigenin 6,3',5'-trimethyl ether (12)	66.3 $\pm$ 0.1	54.9 $\pm$ 0.0	34.9 $\pm$ 0.7	13.5 $\pm$ 0.1	43.9
Acacetin-7-O- <i>b</i> -D-glucopyranoside (13)	6.9 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 2.1	2.4 $\pm$ 1.5	–	>100
Luteolin-7-O- β -D-glucosid (14)	39.2 $\pm$ 0.6	29.6 $\pm$ 0.2	15.8 $\pm$ 1.3	4.9 $\pm$ 1.6	>100
Eryodictyol (15)	39.9 $\pm$ 0.4	28.1 $\pm$ 0.3	14.2 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.6	>100
Quercetin (chất chuẩn 1)	59.2 $\pm$ 0.2	63.5 $\pm$ 0.7	61.7 $\pm$ 0.7	35.6 $\pm$ 0.2	18.3
Acid caffeic (chất chuẩn 2)	68.8 $\pm$ 0.7	61.9 $\pm$ 0.2	40.7 $\pm$ 0.2	23.4 $\pm$ 0.3	36.0

Trong số 12 chất khảo sát thì các chất **6**, **9**, **12** có hoạt tính ức chế NO. Trong đó, chất **6** có hoạt tính ức chế NO mạnh nhất với IC₅₀ = 37.0 μM (yếu hơn quercetin nhưng tương đương với acid caffeic). Hợp chất **12** có hoạt tính ức chế NO khá mạnh với IC₅₀ = 43.9 μM , trong khi hợp

chất **9** có hoạt tính ức chế NO khá yếu với $IC_{50} = 87.0 \mu M$. Các hợp chất **4**, **5**, **11**, **14**, **15** có hoạt tính ức chế NO rất yếu ($IC_{50} > 100 \mu M$).

Trong cấu trúc của nhóm flavonoid, nhóm OH nằm ở vị trí B-3' và B-4' cho hoạt tính ức chế cao hơn các vị trí còn lại (**4**, **5**, **9**, **11**, **12**) > (**1**, **8**, **10**), (**14** > **13**). Đối với các chất mà phân tử có nhóm đường thì hoạt tính ức chế giảm hẳn (**6** – **8** > (**14** – **13**)). Đặc biệt nhóm OH tại vị trí B-4' có hoạt tính lớn hơn hẳn so với B-3' (**12** > **11**). Khi nhóm OH hiện diện cả hai vị trí B-3', B-4' thì hoạt tính ức chế NO rất mạnh (**6** > **4**, **5**, **9**, **11**, **12**). Đặc biệt, khi so sánh với chất chuẩn quercetin, ta thấy nhóm OH nằm ở vị trí C-3 làm tăng hoạt tính ức chế NO rất mạnh với $IC_{50} = 18.3 \mu M$ (chuẩn **1** > **6**). Ngoài ra, nối đôi giữa C-2, C-3 cũng làm tăng hoạt tính (**6** » **15**). Trong khi đó thì nhóm metoxy ở các vị trí trên vòng B làm tăng hoạt tính của các hợp chất khảo sát (**12** > **9**). Ta thấy, nhóm OH trên vòng A hầu như có hoạt tính ức chế NO rất thấp, thể hiện ở các chất **1**, **8**, **10**, **13**.

Nhìn chung, khả năng ức chế gốc tự do của nhóm flavonoid là nhờ vào số lượng và vị trí nhóm OH trên vòng B quyết định. Đồng thời, nó còn chịu ảnh hưởng do cấu trúc cộng hưởng kéo dài của các vòng phenol.

3.3. Kết quả hoạt tính ức chế NO của các dẫn xuất acid caffeoylquinic

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính ức chế gốc tự do NO của các dẫn xuất caffeoylquinic acid.

Mẫu	% ức chế				IC_{50} (μM)
	100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
3-O-Caffeoylquinic acid (16)	49.0 $\pm$ 0.2	47.4 $\pm$ 0.1	29.8 $\pm$ 0.2	15.3 $\pm$ 0.2	100
5-O-Caffeoylquinic acid (17)	38.5 $\pm$ 0.8	46.4 $\pm$ 1.3	35.0 $\pm$ 1.7	12.3 $\pm$ 0.3	>100
3,5-O-dicaffeoylquinic acid (19)	50.4 $\pm$ 0.9	42.1 $\pm$ 1.2	35.3 $\pm$ 1.2	16.8 $\pm$ 0.7	97.6
3,5-O-Dicaffeoylquinicmethyl ester (21)	52.1 $\pm$ 3.0	44.4 $\pm$ 0.7	38.9 $\pm$ 0.2	21.6 $\pm$ 0.4	86.3
4,5-O-Dicaffeoylquinicmethyl ester (22)	57.7 $\pm$ 0.2	60.9 $\pm$ 0.4	47.7 $\pm$ 0.2	26.6 $\pm$ 0.4	29.4
Quercetin (chất chuẩn 1)	59.2 $\pm$ 0.2	63.5 $\pm$ 0.7	61.7 $\pm$ 0.7	35.6 $\pm$ 0.2	18.3
Acid caffeic (chất chuẩn 2)	68.8 $\pm$ 0.7	61.9 $\pm$ 0.2	40.7 $\pm$ 0.2	23.4 $\pm$ 0.3	36.0

Kết quả cho thấy, các hợp chất dẫn xuất của acid caffeoylquinic đều có hoạt tính ức chế NO, trừ chất **17**. Trong đó, hợp chất **22** có hoạt tính ức chế NO mạnh nhất với $IC_{50} = 29.4 \mu M$ (yếu hơn quercetin nhưng mạnh hơn acid caffeic). Các hợp chất **16**, **19**, **21** có hoạt tính ức chế NO yếu với IC_{50} lần lượt là 100, 97.6 và 86.3 μM .

Nhìn chung, trong cấu trúc của các dẫn xuất acid caffeoylquinic thì các di-caffeoyl có hoạt tính tương đối mạnh hơn so với mono-caffeoyl (**19**, **21**, **22**) > (**16**, **17**). Nhóm caffeoyl ở vị trí R² có hoạt tính mạnh hơn ở vị trí R⁴ (**16** > **17**). Đặc biệt, khi nhóm caffeoyl ở cả hai vị trí R³, R⁴ có hoạt tính mạnh hơn hẳn vị trí khi chỉ ở R² hoặc R⁴ (**22** > **21**). Ngoài ra nhóm methyl ở trên nhóm carboxyl của dicaffeoylquinic cũng làm tăng hoạt tính ức chế NO (**21** > **19**). Như vậy, khả năng ức chế gốc tự do NO của các dẫn xuất caffeoylquinic acid không chỉ do vị trí và số lượng gốc caffeoyl quyết định mà còn do nhóm methyl trên nhóm carboxyl quyết định.

3.4. Kết quả thử hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phenol đơn giản

Bảng 4. Kết quả thử hoạt tính ức chế của các hợp chất phenol đơn giản.

Mẫu	% Ức chế				IC ₅₀ (μ M)
	100 μ M	50 μ M	25 μ M	10 μ M	
Methylcafeate (24)	53.0 $\pm$ 0.3	44.7 $\pm$ 0.7	30.3 $\pm$ 6.6	8.0 $\pm$ 1.8	82.0
3,4-Hydroxybenzaldehyd (25)	30.8 $\pm$ 4.7	10.4 $\pm$ 0.6	4.1 $\pm$ 1.1	–	>100
3,4-Dihydroxybenzoic acid (26)	28.4 $\pm$ 1.3	23.0 $\pm$ 1.9	11.7 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 1.3	>100
Dearabinosylpneumonanthoside (27)	43.2 $\pm$ 1.0	26.9 $\pm$ 2.6	10.0 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.8	>100
Quercetin (chất chuẩn 1)	59.2 $\pm$ 0.2	63.5 $\pm$ 0.7	61.7 $\pm$ 0.7	35.6 $\pm$ 0.2	18.3
Acid caffeic (23) (chất chuẩn 2)	68.8 $\pm$ 0.7	61.9 $\pm$ 0.2	40.7 $\pm$ 0.2	23.4 $\pm$ 0.3	36.0

Đối với các hợp chất phenol đơn giản thì các dẫn xuất của acid caffeic là có hoạt tính ức chế tương đối cao. Trong đó, acid caffeic (23) có hoạt tính ức chế mạnh nhất với IC₅₀ = 36.0 μ M, kế đến là methylcafeate với IC₅₀ = 82.0 μ M. Các chất 25, 26, 27 có hoạt tính ức chế thấp (IC₅₀ > 100 μ M).

Khả năng ức chế NO của nhóm acid caffeic tăng theo số nhóm OH trên vòng phenol (23, 24 > 25). Tuy nhiên, nhóm methyl trên carboxyl lại làm giảm hoạt tính ức chế (23 > 24).

Hoạt tính của chất 26 > 27 cho thấy nhóm aldehyd có hoạt tính ức chế cao hơn là nhóm carboxylic. Ngoài ra, ta còn thấy rằng cấu trúc cộng hưởng kéo dài có tính quyết định đến hoạt tính ức chế của các hợp chất phenolic đơn giản (23 » 26, 27).

Như vậy, kết quả khảo sát cho thấy có 9 chất có hoạt tính ức chế NO là: eupafolin (6) (IC₅₀ = 37.0 μ M), jaceidin (9) (IC₅₀ = 87.0 μ M), apigenin 6,3',5'-trimethyl ether (12) (IC₅₀ = 43.9 μ M), 3-O-caffeoylquinic acid (16) (IC₅₀ = 100.0 μ M), 3,5-O-dicaffeoylquinic acid (19) (IC₅₀ = 97.6 μ M), 3,5-O-dicaffeoylquinicmetyl ester (21) (IC₅₀ = 86.3 μ M), 4,5-O-dicaffeoylquinicmetyl ester (22) (IC₅₀ = 29.4 μ M), methylcafeate (24) (IC₅₀ = 82 μ M), acid caffeic (23) (IC₅₀ = 36.0 μ M). Hoạt chất của các chất này tùy thuộc vào cấu trúc của chúng.

4.KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu của đề tài cho thấy, khả năng ức chế gốc tự do NO của cúc hoa trắng là do sự có mặt của các flavonoid, các dẫn xuất của acid caffeoylquinic, các dẫn xuất của acid caffeic và một số các hợp chất cấu trúc phenol đơn giản khác. Kết quả nghiên cứu này là một minh chứng khoa học cho việc sử dụng cúc hoa trắng trong y học cổ truyền điều trị các bệnh viêm nhiễm, thấp khớp, chống lão hóa... Kết quả này, có thể khẳng định hơn vai trò của các hợp chất thiên nhiên đối với cơ thể con người, và hy vọng trong tương lai sẽ có nhiều hơn các loại thuốc từ thiên nhiên đặc trị cho những căn bệnh do gốc tự do gây ra.

STUDY ON THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP OF ISOLATED COMPOUNDS FROM *CHRYSANTHEMUM SINENSE* SABINE. AND NITRIC OXIDE INHIBITORY ACTIVITY

Bui Huu Trung, Nguyen Thi Thanh Mai
University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT: It is known that nitric oxide (NO) radical is not only a physical mediator but, if excessive amounts, can be cytotoxic. An overproduction of NO is thought to contribute to the development of disease states such as cancer, diabetic, heart diseases.... The flower of *Chrysanthemum sinense* Sabine. (Asteraceae) has been used in Vietnamese traditional medicine for the treatment of rheumatism and inflammatory diseases. In the screening program for antioxidant activity of medicinal plants from Vietnam, the methanolic extract of the flower of *C. sinense* exhibited significant NO radical inhibitory activity with an IC_{50} value of 142.8 μ g/mL. Phytochemical analysis of the MeOH extract of *C. sinense* resulted in the isolation of 28 compounds including 15 flavonoids, 7 caffeoylquinic acid derivatives, and 6 simple phenolic compounds. All isolated compounds were tested on NO inhibitory activity, in which 9 compounds showed activities with IC_{50} values ranging from 29.4 to 100 μ M. The structure-activity relationship studies on active compound showed that the number and position of hydroxyl groups in the ring B of flavonoids plays a crucial role, while the methylation of the carboxyl group of dicaffeoylquinic acids promotes the NO inhibitory activity.

Key words: Nitric oxide, NO inhibitory activity, *Chrysanthemum sinense*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1].Mahakunakorn, P.; Tohda, M.; Murakami, Y.; Matsumoto, K.; Watanabe, H., *Study on the antioxidant and free radical – scavenging activities of a traditional Kampo medicine, Choto-san, and its related constituents*. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 27, 38 – 46, (2004).
- [2].Culotta, E.; Daniel, E.; Koshland, J., *NO news is good news*. Science, 258, 1862 – 1865, (1992).
- [3].Vallance, P.; Collier, J., *Fortnightly review biology and clinical relevance of nitric oxide*. British Medical Journal, 309, 453 – 457, (1994).
- [4].Macyk, W.; Franke, A.; Stochel, G., *Metal compounds and small molecules activation – case studies*. Coordination Chemistry Review, 249, 2437 – 2457, (2005).
- [5].Rodeberg, D. A.; Haet, M. S.; Bass, R. C.; Arkovitz, M. S; Garcia, V. F., *Nitric oxide: an overview*. The American Journal of Surgery, 170, 292 – 303, (1995).
- [6].Shahidul Islam, M.; Yoshimoto, M.; and Yamakawa, O., *Distribution and physiological functions of caffeoylquinic acid derivatives in leaves of sweetpotato genotypes*. Journal of Food Science, 68, (1), 111 – 116, (2003).
- [7].Saskia, A. B. E. A., Michel, N. J. L. T.; Guidio R. M. M. H.; Wim J. F. V.; Bast, A., *Flavonoid as scavengers of nitric oxide radical*. Biochemical and biophysical Research communications, 214, (3), 755 – 759, (1995).

- [8].Feng, X. U.; Sheng-hua, Z.; Rong-guang, S.; Yong-shu, Z., *Anticancer activities of sodium caffeate and its mechanism*. Acta Pharmacologica Sinica, Oct; 26 (10), 1248 – 1252, (2005).
- [9].Nguyen, M. T. T.; Awales, S.; Tezuka, Y.; Ueda, J.; Tran, Q. L.; Kadota, S., *Xanthine oxidase inhibitors from the flowers of Chrysanthemum sinense*. Planta Medica, 72, 46 – 51, (2006).