

# CÁC CHẤT ỨC CHẾ ENZYME PTP1B PHÂN LẬP TỪ CÂY DÂY LỚP BÓP (*GYMNOSPORIA STYLOSA* PIERRE.)

PTP1B INHIBITORY CONSTITUENTS FROM *GYMNOSPORIA STYLOSA* PIERRE.

Nguyễn Phi Hùng<sup>1\*</sup>, Đỗ Thị Thúy<sup>1</sup>, Đặng Ngọc Quang<sup>2</sup>, Nguyễn Anh Tuấn<sup>3</sup>, Trịnh Ngọc Thảo Vy<sup>4</sup>,  
Ngô Thị Ngọc Yến<sup>4</sup>, Giang Thị Kim Liên<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

<sup>3</sup>Trường THCS&THPT Lê Quý Đôn, Hà Nội

<sup>4</sup>Trường Đại học Tây Nguyên

<sup>5</sup>Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt-Anh - Đại học Đà Nẵng

\*Tác giả liên hệ: nguylyphihung1002@gmail.com

(Nhận bài: 19/01/2021; Chấp nhận đăng: 05/3/2021)

**Tóm tắt** - Dịch chiết methanol tổng của phần thân cành cây Dây lớp bóp (*Gymnosporia stylosa* Pierre.) thu hái tại Phú Lộc, Thừa Thiên - Huế được tách phân đoạn với pha EtOAc và nước. Sử dụng phương pháp hoạt tính dẫn đường, hai hợp chất bao gồm eryvarin H (**1**) và eryvarin M (**2**) đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc bằng các phương pháp phổ. Cả hai hợp chất phân lập được được thử hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) in vitro, với ursolic acid 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 IC<sub>50</sub> lần lượt là 8,1 ± 0,2 và 19,3 ± 0,6 μM. Ở thử nghiệm này, ursolic acid được sử dụng là chất đối chứng dương thể hiện giá trị IC<sub>50</sub> = 3,5 ± 0,2 μM. Đây là lần đầu tiên hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của cây Dây lớp bóp được nghiên cứu và hoạt chất **1** và **2** lần đầu tiên được phân lập từ cây này.

**Từ khóa** - PTP1B; hoạt tính ức chế enzyme; *Gymnosporia stylosa* Pierre.; Ursolic acid; Eryvarin

## 1. Đặt vấn đề

Cây Dây lớp bóp là một loài thực vật có hoa, có tên khoa học là *Gymnosporia stylosa* Pierre., thuộc họ Dây gối (Celastraceae). Cây được mô tả thực vật đầu tiên vào năm 1894 bởi Pierre [1]. Các loài thuộc chi *Gymnosporia* phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới [2]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, triterpenoid, flavonoid và phenolic là các thành phần hóa học chính của chi [3]. Một số loài *Gymnosporia* cũng đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan, kháng nấm và kháng viêm [4-6].

Ở Việt Nam, cây phân bố chủ yếu ở khu vực miền trung từ Quảng Bình tới Thừa Thiên Huế. Mẫu nghiên cứu được tìm thấy và thu hái chủ yếu tại khu vực Phú Lộc, Thừa Thiên Huế vào mùa hạ. Cho tới nay mới chỉ có hai công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Dây lớp bóp được công bố, trong đó có tám hợp chất đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc hóa học, ngoài ra hoạt tính ức chế một số dòng tế bào ung thư của chúng đã được thử nghiệm đánh giá [3, 7]. Có nhiều nghiên cứu về khả năng ức chế enzyme PTP1B của dịch chiết và

**Abstract** - The total methanolic extract of the stem bark of *Gymnosporia stylosa* Pierre. collected at Phu Loc, Thua Thien – Hue was partitioned in to EtOAc and water layer. By using assay-guided isolation, two compounds including eryvarin H (**1**) and eryvarin M (**2**) have been isolated and structurally identified using NMR spectroscopic data analysis. Compounds **1** and **2** exhibited inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) enzyme with IC<sub>50</sub> values of 8.1 ± 0.2 and 19.3 ± 0.6 μM, respectively. Ursolic acid was used as a positive control and showed an IC<sub>50</sub> value of 3.5 ± 0.2 μM. This is the first time that the biological activity of *G. stylosa* was investigated against PTP1B and that compounds **1** and **2** have been identified from *G. stylosa* for the first time.

**Key words** - PTP1B; enzyme inhibitory effects; *Gymnosporia stylosa* Pierre.; Ursolic acid; Eryvarin

các hợp chất phân lập từ thảo dược, 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. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) nằm trong họ protein tyrosine phosphatases (PTPs) cùng với các protein tyrosine kinase tham gia vào việc điều chỉnh hàng loạt các chức năng tế bào, bao gồm cả sự tăng sinh, biệt hóa, và sự chết theo chu trình. PTP1B khử quá trình phospho hóa dư lượng tyrosine của các protein và được coi là các tác nhân điều chỉnh tiêu cực (hiệu chỉnh ngược) của tín hiệu insulin, do đó nó đóng một vai trò quan trọng trong sự điều chỉnh trọng lượng cơ thể cũng như nội cân bằng lượng đường bằng cách hoạt động như một bộ phận điều chỉnh ngược con đường dẫn truyền tín hiệu của insulin và leptin. Cho nên, PTP1B đã thực sự thu hút được sự quan tâm, chú ý đáng kể của các nhà khoa học như một đích đến tiềm năng trong nghiên cứu điều trị căn bệnh tiểu đường và rối loạn chuyển hóa [8]. Sự biểu hiện quá mức của enzyme này trong tế bào dẫn tới sự ức chế quá trình dẫn truyền tín hiệu của các thụ thể insulin và tăng sự biểu hiện protein PTP1B này sẽ dẫn đến tình

<sup>1</sup> Vietnam Academy of Science and Technology (Nguyen Phi Hung, Do Thi Thuy)

<sup>2</sup> Hanoi National University of Education (Dang Ngọc Quang)

<sup>3</sup> Le Quy Don Junior High School and High School, Hanoi (Nguyen Anh Tuan)

<sup>4</sup> Tay Nguyen University (Trinh Ngọc Thảo Vy, Ngô Thị Ngọc Yến)

<sup>5</sup> The University of Danang - VN-UK Institute for Research and Executive Education (Giang Lien)

trạng kháng insulin [9]. Trong khi đó, ở mô hình thí nghiệm trên chuột đã được ức chế hoạt động của PTP1B cho thấy sự tăng độ nhạy của insulin và tăng cường quá trình kháng lại sự béo phì [10]. Điều này chỉ ra rằng, các hoạt chất có khả năng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B không những có tiềm năng lớn trong việc nghiên cứu tìm ra các thuốc điều trị bệnh tiểu đường tuýp 2 mà còn là các tác nhân hữu hiệu trong điều trị bệnh béo phì [11, 12].

Trong bài báo này, hai hợp chất khung flavonoid 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 sẽ được thảo luận và công bố.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên vật liệu và thiết bị nghiên cứu

Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$  (300 và 500 MHz) và  $^{13}\text{C}$  (75 và 125 MHz) được đo trên máy quang phổ kế cộng hưởng từ hạt nhân hiệu Bruker AM300 FT-NMR, với chuẩn nội TMS sử dụng các dung môi metanol- $d_4$ , hay aceton- $d_6$ . Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên các loại silica gel tráng trước 60 F<sub>254</sub> (mã số 1.05554.0001, Merck) and RP-18 F<sub>254S</sub> (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  $\mu\text{m}$  và 63-200  $\mu\text{m}$ , Merck) cho pha thường và YMC RP-18 silica gel (40-75  $\mu\text{m}$ , Fuji Silysia Chemical Ltd., Japan) cho pha đảo. 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. Đối tượng nghiên cứu

Phần thân cành của cây Dây lóp bóp (*Gymnosporia stylosa* Pierre.) thu hái tại Phú Lộc, Thừa Thiên - Huế vào tháng 06 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 (VN1844) được lưu trữ tại phòng Phân tích hóa học, Viện Hóa học công nghệ Việt Nam.

### 2.3. Tách chiết, phân lập và tinh chế các hợp chất

Mẫu nguyên liệu tươi sau khi thu hái được phơi khô tự nhiên trong bóng râm, sau đó cắt thành những miếng nhỏ kích thước 2-3 cm bằng máy và ngâm chiết với MeOH (10 kg, 10 L x 3 lần) có sử dụng siêu âm ở nhiệt độ 40°C trong vòng 3 giờ/mê. Các dịch chiết sau đó được lọc bằng giấy lọc, gộp lại và cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao chiết MeOH tổng (1,4 kg). Cao chiết tổng (1,0 kg) được hòa tan vào nước, sau đó được tách phân lớp lần lượt với các dung môi *n*-Hexane, EtOAc và BuOH, cô quay đuổi dung môi, thu được các phân đoạn tương ứng. Phân đoạn EtOAc (120 g) được chạy sắc ký cột hở (5,0 x 60 cm) với hệ silica gel pha thường (SiO<sub>2</sub>, cỡ hạt 63-200  $\mu\text{m}$ ), sử dụng hệ dung môi rửa giải là CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (từ 10:1 đến 0:1) thu được 15 phân đoạn nhỏ ký hiệu là GS-1 đến GS-15. Phân đoạn GS-10 được tiếp tục chạy sắc ký cột hở với pha tĩnh sử dụng silica gel

pha đảo RP\_C18 (kích thước 75  $\mu\text{m}$ ), sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH:H<sub>2</sub>O (từ 1:5 đến 1:0), thu được 10 phân đoạn nhỏ (GS-10.1 - GS-10.10). Hai hợp chất **1** (12 mg) và hợp chất **2** (15,8 mg) được tinh chế từ phân đoạn GS-10.3 bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hãng Agilent 1260 series, sử dụng cột optima\_Pak C18 (10 x 250 mm I.D; kích thước hạt 10  $\mu\text{m}$ ), với hệ dung môi đẳng dòng MeOH:H<sub>2</sub>O = 45:55, trong thời gian 60 phút. Hợp chất số **1** đặt tên là Eryvarin H thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt; Hợp chất số **2** đặt tên là Eryvarin M thu được dưới dạng bột màu vàng đậm [13].

### 2.4. Thử nghiệm tác dụng ức chế enzyme PTP1B

Phương pháp thử tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B được thực hiện trên các phiên nuôi cấy tế bào 96 giếng theo phương pháp của Nguyen et al. được mô tả như trong tài liệu [14]. Cụ thể: Mỗi giếng (thể tích cuối cùng là 110  $\mu\text{L}$ ) được cho 2 mM *p*-NPP (*p*-nitrophenyl phosphate) và 1 lượng 0,05-0,1  $\mu\text{g}$  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  $\mu\text{L}$  *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 phot phot 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.

Đánh giá khả năng ức chế (% inhibition) của các chất thử được tính bởi công thức  $(\text{Ac} - \text{As})/\text{Ac} \times 100\%$ , trong đó Ac là độ hấp thụ của chất kiểm chứng và As, độ hấp thụ của mẫu thử. Trong phép thử này, ursolic acid được sử dụng làm chất đối chứng dương.

## 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

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

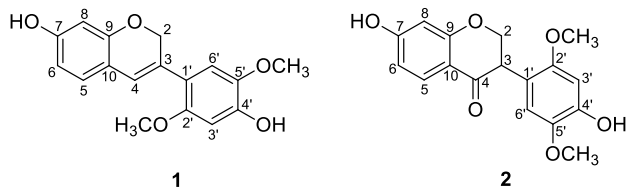
Kết quả đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$ -NMR và  $^{13}\text{C}$ -NMR của các chất (1) và (2) như sau:

\* *Eryvarin H* (1):  $^1\text{H}$  NMR (Metanol- $d_4$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  ppm: 4,87 (2H, s, H-2), 6,47 (1H, s, H-4), 6,88 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-5), 6,34 (1H, dd,  $J = 2,0; 8,0$  Hz, H-6), 6,26 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-8), 6,85 (1H, s, H-6'), 6,50 (1H, s, H-3'), 3,81 (3H, s, 5'-OCH<sub>3</sub>), 3,72 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (Metanol- $d_4$ , 125 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  ppm: 69,6 (C-2), 130,3 (C-3), 122,0 (C-4), 128,7 (C-5), 109,7 (C-6), 159,3 (C-7), 103,7 (C-8), 156,2 (C-9), 117,7 (C-10), 120,0 (C-1'), 153,6 (C-2'), 101,8 (C-3'), 148,6 (C-4'), 143,1 (C-5'), 114,0 (C-6'), 57,5 (5'-OCH<sub>3</sub>), 56,6 (2'-OCH<sub>3</sub>).

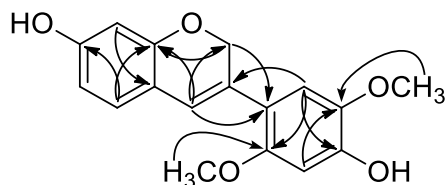
\* *Eryvarin M* (2):  $^1\text{H}$  NMR (Aceton- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  ppm: 4,56 (1H, dd,  $J = 10,8; 12,0$  Hz, H-2a), 4,17 (1H, dd,  $J = 5,4; 12,0$  Hz, H-2b), 4,42 (1H, dd,  $J = 5,4; 10,8$  Hz, H-3), 7,75 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5), 6,54 (1H, dd,  $J = 2,1; 8,4$  Hz, H-6), 6,40 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-8), 6,56 (1H, s, H-3'), 6,78 (1H, s, H-6'), 3,70 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>), 3,72 (3H, s, 5'-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (Aceton- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  ppm: 71,7 (C-2), 48,2 (C-3), 191,7 (C-4), 129,9 (C-5), 111,0 (C-6), 162,6 (C-7), 103,3 (C-8), 163,8 (C-9), 116,1 (C-10), 114,7

(C-1'), 153,1 (C-2'), 101,2 (C-3'), 147,2 (C-4'), 142,3 (C-5'), 115,6 (C-6'), 56,4 (2'-OCH<sub>3</sub>), 57,1 (5'-OCH<sub>3</sub>).

Hợp chất số **1** thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt. Công thức phân tử của hợp chất **1** được xác định là C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> với khối lượng phân tử là 300,3 g/mol. Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR của hợp chất **1** cho thấy, sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm oxymetilen [ $\delta_{\text{H}}$  4,87 (2H, s, H-2)/ $\delta_{\text{C}}$  69,6 (C-2)] và một nhóm olefin [ $\delta_{\text{H}}$  6,47 (1H, s, H-4)/ $\delta_{\text{C}}$  122,0 (C-4), và 130,3 (C-3)], điều đó khẳng định rằng hợp chất **1** là một isoflav-3-ene [14]. Phổ <sup>1</sup>H NMR của hợp chất **1** còn xuất hiện ba pic đặc trưng của hệ vòng thơm ABX [ $\delta_{\text{H}}$  6,88 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-5), 6,34 (1H, dd,  $J = 2,0; 8,0$  Hz, H-6), và 6,26 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-8)] và hai tín hiệu dưới dạng singlet của một vòng thơm khác có độ dịch chuyển hóa học lần lượt là 6,85 (1H, s, H-6'), và 6,50 (1H, s, H-3'). Ngoài ra, tín hiệu dưới dạng singlet của 02 nhóm metoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3,81 (3H, s, 5'-OCH<sub>3</sub>), và 3,72 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>) cũng xuất hiện trên phổ <sup>1</sup>H NMR của hợp chất **1** (Hình 1). Phổ <sup>13</sup>C NMR của hợp chất **1** xuất hiện tín hiệu của 17 nguyên tử cacbon, bao gồm 12 tín hiệu cacbon thuộc về hai vòng thơm có độ dịch chuyển hóa học trong khoảng  $\delta_{\text{C}}$  101,8 – 159,3 ppm, và 2 tín hiệu cacbon của hai nhóm metoxy tại  $\delta_{\text{C}}$  57,5 (5'-OCH<sub>3</sub>), 56,6 (2'-OCH<sub>3</sub>) (Hình 1). Phổ HMBC của hợp chất **1** xuất hiện các liên kết xa dị nguyên tử của các proton H-2 với các nguyên tử cacbon C-9, và C-1'; proton H-4 với C-2, C-9, và C-1'; và proton H-6' với C-3. Hơn nữa, các liên kết từ proton H-6' đến các nguyên tử cacbon C-2' và C-4'; Proton của nhóm metoxy 2'-OCH<sub>3</sub> với C-2'; Proton H-3' và proton của nhóm metoxy 5'-OCH<sub>3</sub> với C-5' cũng xuất hiện trên phổ HMBC, điều đó khẳng định rằng, một nhóm hydroxyl nằm ở vị trí C-4' và hai nhóm metoxy nằm ở vị trí C-2' và C-5' (Hình 2). Nhóm hydroxyl cuối cùng được xác định tại C-7 bởi các liên kết HMBC giữa proton H-5 với các nguyên tử cacbon C-7, và C-9 (Hình 2). Từ các dữ liệu trên kết hợp với tài liệu công bố, hợp chất **1** được xác định là 7,4'-dihydroxy-2',5'-dimethoxyisoflav-3-ene và có tên gọi eryvarin H [15].



Hình 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **1** và **2**



Hình 2. Phổ HMBC của hợp chất **1**

Hợp chất **2** thu được dưới dạng bột màu vàng đậm. Công thức phân tử của hợp chất **2** được xác định là C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub> với khối lượng phân tử là 316,3 g/mol. Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR của hợp chất **2** cũng cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm oxymetilen [ $\delta_{\text{H}}$  4,56 (1H, dd,  $J = 10,8;$

12,0 Hz, H-2a), 4,17 (1H, dd,  $J = 5,4; 12,0$  Hz, H-2b)/ $\delta_{\text{C}}$  71,7 (C-2)], một nhóm metin [ $\delta_{\text{H}}$  4,42 (1H, dd,  $J = 5,4; 10,8$  Hz H-3)/ $\delta_{\text{C}}$  48,2 (C-3)], và 1 nhóm keton có độ dịch chuyển hóa học là  $\delta_{\text{C}}$  191,7 (C-4)], điều đó khẳng định rằng hợp chất **2** là một isoflavanon [15]. Phổ <sup>1</sup>H NMR của hợp chất **2** cũng xuất hiện ba pic đặc trưng của hệ vòng thơm ABX [ $\delta_{\text{H}}$  7,75 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5), 6,54 (1H, dd,  $J = 2,1; 8,4$  Hz, H-6), và 6,40 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-8)] và hai tín hiệu dưới dạng singlet của một vòng thơm khác với độ dịch chuyển hóa học lần lượt là  $\delta_{\text{H}}$  6,56 (1H, s, H-3'), 6,78 (1H, s, H-6'). Ngoài ra, tín hiệu dưới dạng singlet của hai nhóm metoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3,70 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>), và 3,72 (3H, s, 5'-OCH<sub>3</sub>) cũng xuất hiện trên phổ <sup>1</sup>H NMR của hợp chất **2** (Hình 1). Phổ <sup>13</sup>C NMR của hợp chất **2** cũng xuất hiện tín hiệu của 17 nguyên tử cacbon, bao gồm 12 tín hiệu cacbon thuộc về hai vòng thơm có độ dịch chuyển hóa học trong khoảng  $\delta_{\text{C}}$  101,2 – 163,8 ppm, và 2 tín hiệu cacbon của hai nhóm metoxy tại  $\delta_{\text{C}}$  56,4 (2'-OCH<sub>3</sub>), 57,1 (5'-OCH<sub>3</sub>). (Hình 1). Từ các dữ liệu trên kết hợp với tài liệu công bố, hợp chất **2** được xác định là 2,3-dihydro-7-hydroxy-3-(4-hydroxy-2,5-dimethoxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one và có tên gọi eryvarin M [16].

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

Thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B được thực hiện theo phương pháp của chính tác giả đã công bố [14]. Trong đó, các chất thử nghiệm được ủ cùng với enzyme, cơ chất trong vòng 20 phút, phản ứng được dừng lại bằng cách bổ sung 10 M NaOH. Trong phương pháp thử nghiệm này, ursolic acid được sử dụng làm chất đối chứng dương, các hợp chất thử được pha trong DMSO với các tỉ lệ nồng độ thích hợp trước khi sử dụng. Hai hợp chất phân lập được là eryvarin H (**1**) và eryvarin M (**2**) thể hiện khả năng ức chế mạnh với các giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 8,1 ± 0,2 và 19,3 ± 0,6 μM. Ursolic acid ở lần thử nghiệm này thể hiện giá trị ức chế IC<sub>50</sub> là 3,5 ± 0,2 μM. Ở hợp chất số **1** và **2** có sự khác nhau về cấu trúc với một nhóm ketone (C=O) thể ở vị trí C-4 (**2**) thể hiện hoạt tính yếu hơn (IC<sub>50</sub> = 19,3 μM) so với hợp chất số **1** là một olefin (=CH-) thể hiện hoạt tính mạnh (IC<sub>50</sub> = 8,1 μM), điều này gợi ý rằng khung isoflavanon (eryvarin M) với nhóm thể C=O có thể có tác dụng ức chế hoạt lực PTP1B yếu hơn so với eryvarin H (**1**) với cấu trúc khung isoflav-3-ene.

Các kết quả trong các công trình [3] và [7] trước đây đã công bố về tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư của dịch chiết và một số hợp chất phân cực thấp (chiết xuất từ EtOAc) từ loài *G. stylosa*. Ở bài báo này, nhóm tác giả đi sâu phân lập một số hoạt chất phân cực hơn (chiết xuất từ cao methanol tổng) và theo tra cứu tài liệu đến thời điểm này thì đây là lần đầu tiên công bố đánh giá hoạt tính ức chế PTP1B của loài cây này.

### 4. Kết luận

Từ phần thân cành cây Dây lóp bóp (*Gymnosporia stylosa* Pierre.) thu hái tại Thừa Thiên Huế, bằng các kỹ thuật sắc ký khác nhau đã phân lập và tinh chế được hai hợp chất sạch. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được

nhận dạng bằng phương pháp phân tích các giá trị phổ kết hợp so sánh với tài liệu công bố gồm eryvarin H (1) và eryvarin M (2). Cả hai hợp chất đều thể hiện tác dụng ức chế mạnh hoạt lực enzyme PTP1B với các giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 8,1 ± 0,2 và 19,3 ± 0,6 μM, trong khi đó ursolic acid thể hiện giá trị IC<sub>50</sub> là 3,5 ± 0,2 μM. So sánh cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học nhận thấy rằng eryvarin H (1) với cấu trúc khung isoflavene có thể có tác dụng ức chế hoạt lực PTP1B mạnh hơn so với khung isoflavanone của eryvarin M với nhóm thế C=O tại vị trí C-4. Đây là lần đầu tiên hai hợp chất eryvarin H (1) và eryvarin M (2) được tinh chế và nhận dạng từ chi này. Đây cũng là lần đầu tiên hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của loài *Gymnosporia stylosa* Pierre. 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

- [1] <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2836240> (accessed on Jan. 15<sup>th</sup> 2021).
- [2] D. Bhavita, B. Lakshmi và Z. Maitreyi, “An overview on ethanomedicinal plant *Gymnosporia montana* of Celastraceae family”, *J. Med. Plants Stud*, Vol 5, 2017, pp. 86-89.
- [3] N. T. T. Ha, T. B. Ngan, P. V. Cuong, D. T. M. Huong, N. V. Hung and M. Litaudon, “Chemical constituents from the stems of *Gymnosporia stylosa* (Celastraceae)”, *Vietnam J. Chem*, Vol. 52, 2014, pp. 2014-2018.
- [4] D. Bhavita, B. Lakshmi và Z. Maitreyi, “Cytotoxicity activity of *Gymnosporia montana* on Hepatocellular Carcinoma cell line (HEP G2)”, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci. Rev. Res*, Vol. 49, 2018, pp. 111-113.
- [5] K. Aloka, N. Devashan, B. Ponnusamy, D. Karel, N. Jaroslav and V. S. Johannes, “Phenolic and flavonoid production and antimicrobial activity of *Gymnosporia buxifolia* (L.) Szyszyl cell Cultures”, *Plant Growth Regul*. Vol. 86, 2018, pp. 333-338.
- [6] C. O. Ochieng, S. A. Opiyo, E. W. Mureka and I. O. Ishola, “Cyclooxygenase inhibitory compounds from *Gymnosporia heterophylla* aerial parts”, *Fitoterapia* Vol. 119, 2017, pp. 168-174.
- [7] Nguyễn Thị Thu Hà, Đỗ Thị Thảo, Trương Bích Ngân, Đoàn Thị Mai Hương, Nguyễn Văn Hùng, Marc Litaudon, Châu Văn Minh, Phạm Văn Cường, “Hoạt tính gây độc tế bào của loài nuôt lá cò ke (*Casearia grewiifolia* Vent.), rum thom (*Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr.) và dây lóp bóp (*Gymnosporia stylosa* Pierre) ở Việt Nam”, *Tạp chí Dược học*, số 461, 2014, tr. 30-34.
- [8] T. O. Johnson, J. Ermolieff, M. R. Jirousek, “Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for diabetes”, *Nat. Rev. Drug Disc.*, Vol. 1, 2002, pp. 696-709.
- [9] F. Ahmad, J. J. Azevedo, R. Cortright, G. Dohm, B. Goldstein, “Alterations in skeletal muscle protein-tyrosine phosphatase activity and expression in insulin-resistant human obesity and diabetes”, *J. Clin. Invest.*, Vol. 100, 1997, pp. 449-458.
- [10] M. Elchebly, P. Payette, E. Michaliszyn, W. Cromlish, S. Collins, A. L. Loy, D. Normandin, A. Cheng, J. Himms-Hagen, C C Chan, C Ramachandran, M J Gresser, M L Tremblay, B P Kennedy, “Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene”, *National Library of Medicine*, Vol. 283, 1999, pp. 1544-1548.
- [11] E. Asante-Appiah, B. P. Kennedy, “Protein Tyrosine Phosphatases: The quest for negative regulators of insulin action”, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Vol. 284, 2003, pp. E663-670.
- [12] R. Croteau, R. E. Ketchum, R. M. Long, R. Kaspera, M. Wildung, “Taxol biosynthesis and molecular genetics”, *Phytochem. Rev.*, Vol. 5, 2006, pp. 75-97.
- [13] Nguyễn Thị Kim Phụng (2007), *Các phương pháp cô lập hợp chất tự nhiên*, NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
- [14] P. H. Nguyen, J. L. Yang, M. N. Uddin, S. L. Park, S. I. Lim, D. W. Jung, D. R. William, W. K. Oh, “Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors from *Morinda citrifolia* (Noni) and their insulin mimetic activity”, *J. Nat. Prod.*, Vol. 76, 2013, pp. 2080-2087.
- [15] A. Yenesew, S. Derese, B. Irungu, J. O Midiwo, N. C. Waters, P. Liyala, H. Akala, M. Heydenreich, M. G. Peters, “Flavonoids and Isoflavonoids with antiplasmodial activities from the root bark of *Erythrina abyssinica*”, *Planta Med.*, Vol. 69, 2003, pp. 658-661.
- [16] H. Tanaka, M. Hirata, H. Etoh, M. Sako, M. Sato, J. Murata, H. Murata, D. Damaedi, and T. Fukai, “Six new nonstituents from the roots of *Erythrina variegata*”, *Chem. Biodivers.*, Vol. 1, 2004, pp. 1101-1108.