

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC LOÀI BỔ BÉO BỐN NHỊ (*GOMPHANDRA TETRANDRA* (WALL.) SLEUM.) TẠI HUYỆN MINH HÓA, TỈNH QUẢNG BÌNH

ĐINH GIA TUYẾT; CAO TIẾN CHINH

Ủy ban Nhân dân huyện Minh Hóa

TS. TRẦN THẾ HÙNG

Trường Đại học Quảng Bình

1. Đặt vấn đề

Minh Hóa là huyện miền núi vùng cao nằm về phía tây bắc tỉnh Quảng Bình. Minh Hóa có dân tộc Kinh chiếm đa số và các dân tộc ít người Bru - Vân Kiều, Chứt với gần 7.000 người, tập trung ở các xã biên giới. Minh Hóa là huyện có nhiều tiềm năng và thế mạnh về tài nguyên rừng. Có địa thế vùng núi cao cùng với khí hậu, thổ nhưỡng đặc trưng, thiên nhiên ban tặng cho Minh Hóa những sản vật thiên nhiên quý giá mà những nơi khác khó có được. Đáng kể nhất là những loài cây lâm sản và cây dược liệu quý giá.

Cây bổ béo bốn nhị tại Minh Hóa (tên địa phương: sâm béo, củ dớn) là loài cây được người dân địa phương vẫn thường xuyên sử dụng từ lâu để sắc nước uống cho các bà mẹ mới sinh, cho người gầy cằn tăng cân, người đau ốm, suy nhược cơ thể hay dùng để ngâm rượu uống và có tác dụng kích thích ăn ngon, lợi sữa, nhuận tràng, lợi tiểu, sinh tân dịch. Mặc dù vậy, cho tới nay chưa có bất kỳ công trình nào nghiên cứu về loài bổ béo bốn nhị mọc tự nhiên tại huyện Minh Hóa. Do đó, nghiên cứu này đã xác định được hàm lượng các thành phần chính, một số hợp chất có giá trị dược liệu và các hoạt tính sinh học quan trọng để đánh giá giá trị dược học cũng như hướng đến phương án bảo tồn và phát triển cây dược liệu quý này tại huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình.

Nhiệm vụ được thực hiện xã Hóa Sơn và Xuân Hóa, huyện Minh Hóa từ tháng 2/2020 đến tháng 6/2020. Trong quá trình triển khai, nhóm nghiên cứu đã sử dụng nhiều phương pháp từ kế thừa tài liệu, điều tra thu thập mẫu đến các phương pháp thực hiện tại phòng thí nghiệm gồm: phương pháp xác định hàm lượng protein, phương pháp xác định 18 acid amin, phương pháp xác định polysaccharid tan trong nước, phương pháp định lượng saponin tổng số, phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học 2-3 hợp chất chính, phát triển phương pháp định lượng một chất chính bằng phương pháp HPLC và áp dụng để phân tích chất lượng, phương pháp đánh giá tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm và phương pháp đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư của cao chiết.

2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

2.1. Kết quả xác định hàm lượng các hợp chất chính

2.1.1. Kết quả xác định hàm lượng protein

Hàm lượng protein trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Kết quả từ bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein trong rễ cây bổ béo bốn nhị thu hái ở các địa điểm chân núi, sườn núi và đỉnh núi lần lượt là 6,97g/100g, 6,43g/100g và 6,49g/100g. Hàm lượng protein có tỷ lệ khá cao trong rễ bổ béo bốn nhị.

Bảng 1: Hàm lượng protein trong rễ bồ bèo bốn nhị

Mẫu	Hàm lượng protein (g/100g)
BB1	6,49
BB2	6,43
BB3	6,97

2.1.2. Kết quả xác định hàm lượng 18 acid amin

Kết quả xác định hàm lượng 18 acid amin trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Kết quả xác định 18 acid amin trong rễ bồ bèo bốn nhị

STT	Acid amin	Đơn vị	Hàm lượng		
			Mẫu BB1	Mẫu BB2	Mẫu BB3
1	Cystein	mg/100g	< LOQ (LOQ: 1,32)	< LOQ (LOQ: 1,32)	< LOQ (LOQ: 1,32)
2	Histidin	mg/100g	< LOQ (LOQ: 7,43)	< LOQ (LOQ: 7,43)	< LOQ (LOQ: 7,43)
3	Acid aspartic	mg/g	11,3	9,40	10,7
4	Acid glutamic	mg/g	5,79	5,22	5,99
5	Alanin	mg/g	2,96	2,49	2,66
6	Arginin	mg/g	1,32	1,08	1,11
7	Glycin	mg/g	7,27	5,76	6,64
8	Isoleucin	mg/g	2,89	2,44	2,67
9	Leucin	mg/g	4,38	3,82	3,97
10	Lysin	mg/g	2,24	1,64	1,49
11	Methionin	mg/g	2,08	1,64	1,35
12	Phenylalanin	mg/g	2,87	2,51	2,74
13	Prolin	mg/g	3,10	2,89	3,09
14	Serin	mg/g	3,38	2,64	3,14
15	Threonin	mg/g	2,89	2,52	2,65
16	Tyrosin	mg/g	1,48	1,26	1,27
17	Valin	mg/g	3,57	3,38	3,55
18	Tryptophan	mg/g	0,74	0,85	0,74
	Tổng		58,26	49,54	53,76

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, tổng hàm lượng của 18 acid amin trong rễ cây bồ bèo bốn nhị thu hái ở các địa điểm chân núi, sườn núi và đỉnh núi lần lượt là 53,76mg/g, 49,54mg/g và 58,26mg/g. Như vậy, trong rễ cây bồ bèo bốn nhị đều có mặt 18 axit amin, trong đó có 9 axit amin thiết yếu.

2.1.3. Kết quả xác định lượng polysaccharid tan trong nước

Polysaccharid là một trong những chất bổ sung quan trọng nhất để đảm bảo sức khỏe, không có tác dụng phụ ngay cả ở liều cao. Kết quả xác định hàm lượng polysaccharid trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: Hàm lượng polysaccharid tổng số trong rễ bồ bèo bốn nhị

Mẫu	Hàm lượng polysaccharid tổng số (%)
BB1	0,023 ± 0,001
BB2	0,021 ± 0,001
BB3	0,019 ± 0,001

Kết quả từ bảng 3 cho thấy, hàm lượng polysaccharid tan trong nước của rễ cây bồ bèo bốn nhị thu hái ở các địa điểm chân núi, sườn núi và đỉnh núi lần lượt là 0,019%, 0,021% và 0,023%.

2.1.4. Kết quả định lượng saponin tổng số

Kết quả xác định hàm lượng saponin tổng số các mẫu nghiên cứu như trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Kết quả định lượng các nhóm chất chính bằng phương pháp cân

Mẫu	Hàm lượng saponin tổng số (%)
BB1	0,034 ± 0,002
BB2	0,032 ± 0,001
BB3	0,029 ± 0,001

Kết quả từ bảng 4 cho thấy, hàm lượng saponin tổng số trong các mẫu rễ cây bồ bèo bốn nhị là 0,029%, 0,032% và 0,034% tương ứng với các vị trí thu hái khác nhau là chân núi, sườn núi và đỉnh núi.

Như vậy, qua nghiên cứu hàm lượng 4 nhóm hợp chất quan trọng cho thấy trong rễ cây bồ bèo bốn nhị đều chứa những hợp chất này và hàm lượng cao nhất thu được 3 nhóm hợp chất là ở đỉnh núi, còn hàm lượng protein cao nhất thu được ở chân núi.

2.2. Kết quả xác định các hợp chất quan trọng

Kết quả nghiên cứu đã phân lập và xác định được cấu trúc của 2 hợp chất chính là swerosid, loganin. Đây đều là các hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Gomphandra*. Các hợp chất swerosid và loganin đã được phân lập từ nhiều loài và đã được chứng minh là có nhiều tác dụng sinh học đáng chú ý.

2.2.1. Hợp chất swerosid

Hợp chất swerosid thu được dưới dạng chất rắn màu vàng. Hợp chất swerosid đã được phân lập từ một số loài như *Alstonia scholaris*, *Swertia franchetiana* và được quan tâm nhiều bởi tác dụng chống loãng xương, chống viêm, bảo vệ gan và chống ung thư. Swerosid có tác dụng chống loãng xương thông qua thúc đẩy sự tăng sinh và biệt hóa tế bào MG-63 ở người và tế bào xương chuột *in vitro*. Swerosid còn có tác dụng chống viêm do LPS gây ra ở các tế bào RAW264.7, thể hiện qua khả năng ức chế tăng sinh tế bào do làm gián đoạn chu kỳ tế bào ở pha Go/G1; ức chế các cytokin tiền viêm; thúc đẩy các cytokin chống viêm. Swerosid cũng có tác dụng bảo vệ gan. Hợp chất này làm giảm tổn thương gan ứ mật do α -naphthylisothiocyanate gây ra ở chuột thông qua

khôi phục tổng hợp và vận chuyển acid mật về mức bình thường và ngăn chặn các phản ứng viêm. Swerosid cũng thể hiện tác dụng cải thiện xơ gan do CCl_4 gây ra thông qua con đường truyền tín hiệu FXR-miR-29a. Swerosid ngăn ngừa viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH) thông qua ức chế sự kích hoạt NLRP3 inflammasome, do đó làm giảm nồng độ IL-1 β và caspase-1. Bên cạnh đó, swerosid còn thể hiện tác dụng độc tế bào ung thư. Hợp chất này ức chế sự phát triển của dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm ở người U251 với giá trị IC_{50} là 10 μM . Swerosid cũng thể hiện tác dụng ngăn ngừa sự phát triển của bệnh bạch cầu tủy cấp tính. *In vivo*, swerosid ngăn ngừa sự phát triển của khối u mang tế bào HL-60. Ngoài ra, swerosid còn có một số tác dụng khác như điều chỉnh sự biểu hiện của MAP kinase và các enzym melanogenic, do đó có thể có tác dụng làm trắng da và ngăn ngừa độc tính trên tim của aconitin.

2.2.2. Hợp chất loganin

Hợp chất GT-2 thu được dưới dạng chất rắn màu vàng. Hợp chất loganin được tìm thấy trong một số loài như *Gentiana pedicellata*, *Cornus officinalis*,... và được chứng minh là có tác dụng cải thiện khả năng học tập và suy giảm trí nhớ do scopolamin gây ra ở chuột. Hợp chất này còn có tác dụng bảo vệ chống lại độc tính tế bào thần kinh do hydro peroxid (H_2O_2) gây ra trong các tế bào SH-SY5Y; chống viêm tụy, chống viêm, chống viêm xương khớp, an thần, bảo vệ thần kinh trung ương, chống đái tháo đường,...

2.3. Kết quả đánh giá một số hoạt tính sinh học quan trọng

2.3.1. Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của cao chiết

Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn của cao chiết thể hiện qua bảng 5.

Bảng 5: Kết quả đánh giá tác dụng kháng khuẩn của cao chiết

Vi khuẩn		MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
		Cao ethanol 80%	Streptomycin
Gram +	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC299212	64	256
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	256	256
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC13245	256	128
Gram -	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	32
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	256
	<i>Salmonella enterica</i> ATCC13076	-	128

Kết quả từ bảng 5 cho thấy, giá trị MIC của cao ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị đối với các chủng vi khuẩn *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* lần lượt là 64 $\mu\text{g/ml}$, 256 $\mu\text{g/ml}$ và 256 $\mu\text{g/ml}$. Trong khi đó, MIC của chất chứng dương streptomycin đối với các chủng vi khuẩn này tương ứng là 256 $\mu\text{g/ml}$, 256 $\mu\text{g/ml}$ và 128 $\mu\text{g/ml}$. Trên các chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Salmonella enterica* cao chiết này chưa thể hiện hoạt tính. Như vậy, cao ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị có tác dụng ức chế các chủng vi khuẩn Gram (+) tốt hơn so với các chủng vi khuẩn Gram (-).

Kết quả đánh giá tác dụng kháng nấm của cao chiết thể hiện qua bảng 6.

Bảng 6: Kết quả đánh giá tác dụng kháng nấm của cao chiết

Nấm men	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	Cao ethanol 80%	Cyclohexamid
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	-	32

Kết quả từ bảng 6 cho thấy, cao ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị chưa thể hiện tác dụng ức chế đối với chủng nấm men *Candida albicans*.

2.3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cao chiết

Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cao chiết thể hiện qua bảng 7.

Bảng 7: Kết quả sàng lọc tác dụng gây độc tế bào ung thư của cao chiết

Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	% ức chế			
	Cao ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị			
	MCF-7	A549	Hela	HepG2
100	13,74	10,72	26,48	18,84
20	4,56	6,51	11,21	10,03
4	1,55	6,02	4,48	6,49
0,8	-1,13	4,29	2,58	-0,21
IC50	>100	>100	>100	>100
Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Ellipticin			
	MCF-7	A549	Hela	HepG2
	MCF-7	A549	Hela	HepG2
10	92,61	95,30	95,47	108,40
2	79,58	78,02	78,22	77,50
0,4	48,52	49,66	49,61	51,29
0,08	25,97	24,31	23,18	27,40
IC50	$0,39 \pm 0,05$	$0,36 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,02$

Kết quả từ bảng 7 cho thấy, cao chiết còn 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị có giá trị IC50 đối với các dòng tế bào ung thư MCF-7, A549, Hela và HepG2 đều $>100\mu\text{g/ml}$. Như vậy, cao chiết còn 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị thể hiện tác dụng ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư thử nghiệm yếu.

3. Kết luận

Nhiệm vụ đã xác định được hàm lượng protein trong các mẫu rễ bồ bèo bốn nhị là 6,97g/100g, 6,43g/100g và 6,49g/100g tương ứng với các mẫu thu hái ở các địa điểm chân núi, sườn núi và đỉnh núi.

Xác định được 18 acid amin trong các mẫu rễ bồ bèo bốn nhị. Tổng hàm lượng của 18 acid amin trong các mẫu thu hái ở các địa điểm chân núi, sườn núi và đỉnh núi lần lượt là 53,76mg/g, 49,54mg/g và 58,26mg/g.

Xác định hàm lượng polysaccharid tổng số trong các mẫu rễ bồ bèo bốn nhị thu tại chân núi, sườn núi và đỉnh núi, kết quả lần lượt là 0,019%, 0,021% và 0,023% tính theo dược liệu khô tuyệt đối.

Xác định hàm lượng saponin tổng số trong các mẫu rễ bồ bèo bốn nhị, kết quả lần lượt là 0,029%, 0,032% và 0,034% tính theo dược liệu khô tuyệt đối, tương ứng với các mẫu thu ở chân núi, sườn núi và đỉnh núi.

Đã chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của 2 hợp chất từ rễ bồ bèo bốn nhị là swerosid, loganin. Các hợp chất này đều được công bố lần đầu tiên từ chi *Gomphandra*. Các hợp chất swerosid và loganin đã được chứng minh là những hợp chất có giá trị dược liệu, có nhiều tác dụng sinh học đáng chú ý.

Hợp chất loganin có tác dụng cải thiện khả năng học tập và suy giảm trí nhớ, bảo vệ chống lại độc tính tế bào thần kinh, chống viêm tụy, chống viêm, chống viêm xương khớp, an thần, bảo vệ thần kinh trung ương, chống đái tháo đường...

Hợp chất swerosid có tác dụng chống loãng xương, chống viêm, bảo vệ gan và chống ung thư, làm trắng da và ngăn ngừa độc tính trên tim...

Đã đánh giá tác dụng kháng khuẩn của cao chiết ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị có tác dụng ức chế các chủng vi khuẩn Gram (+) tốt hơn so với các chủng vi khuẩn Gram (-).

Đã đánh giá tác dụng kháng nấm của cao chiết ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị trên chủng nấm men *Candida albicans* ATCC10231. Cao chiết này chưa thể hiện hoạt tính đối với chủng nấm men thực nghiệm.

Đã sàng lọc độc tính của cao chiết ethanol 80% từ rễ bồ bèo bốn nhị trên các dòng tế bào ung thư MCF-7, A549, HepG2 và Hela, giá trị IC₅₀ đối với cả 4 dòng tế bào ung thư đều thể hiện hoạt tính yếu > 100µg/ml.

Như vậy, đây là loài dược liệu có giá trị, cần thực hiện các nghiên cứu tiếp theo nhằm hướng đến bảo tồn và phát triển loài cây này tại huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình ■

Tài liệu tham khảo:

1. Bộ môn Dược liệu (2010), *Thực tập dược liệu*, Trường Đại học Dược Hà Nội.
2. Bộ Y tế (2011), *Dược liệu học*, tập 1 và 2, Nxb Y học, Hà Nội.
3. Võ Văn Chi (1999), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nxb Y học, 118.
4. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, tập 1, Nxb Y học, tr. 229-230.
5. Han X. L. *et al* (2017), "Sweroside eradicated leukemia cells and attenuated pathogenic processes in mice by inducing apoptosis", *Biomed Pharmacother.* 95, pp. 477-486.
6. Jeong Y. T. *et al* (2015), "Modulation effects of sweroside isolated from the *Lonicera japonica* on melanin synthesis", *Chem Biol Interact.* 238, pp. 33-9.
7. Ma L. Q. *et al* (2018), "Sweroside Alleviated Aconitine-Induced Cardiac Toxicity in H9c2 Cardiomyoblast Cell Line", *Front Pharmacol.* 9, pp. 1138.
8. Ouyang Z. and G. Xu (2019), "Antitumor effects of Sweroside in human glioblastoma: its effects on mitochondrial mediated apoptosis, activation of different caspases, G0/G1 cell cycle arrest and targeting JNK/p38 MAPK signal pathways", *Jbuon.* 24(5), pp. 2141-2146.
9. Rajabi M. *et al* (2018), "Impact of loganin on pro-inflammatory cytokines and depression- and anxiety-like behaviors in male diabetic rats", *Physiol Int.* 105(2), pp. 116-126.
10. Shi R. *et al* (2019), "Loganin Exerts Sedative and Hypnotic Effects via Modulation of the Serotonergic System and GABAergic Neurons", *Front Pharmacol.* 10, pp. 409.
11. Sun H. *et al* (2013), "Protective effects of sweroside on human MG-63 cells and rat osteoblasts", *Fitoterapia.* 84, pp. 174-9.
12. Yang Y. *et al* (2019), "Loganin Attenuates Osteoarthritis in Rats by Inhibiting IL-1 β -Induced Catabolism and Apoptosis in Chondrocytes Via Regulation of Phosphatidylinositol 3-Kinases (PI3K)/Akt", *Med Sci Monit.* 25, pp. 4159-4168.
13. Zhang R. *et al* (2019), "Protective Effects of Sweroside on IL-1 β -Induced Inflammation in Rat Articular Chondrocytes Through Suppression of NF- κ B and mTORC1 Signaling Pathway" *Inflammation.* 42(2), pp. 496-505.
14. Agrawal P. K. (1992), "NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides", *Phytochemistry.* 31(10), pp. 3307-3330.
15. Tseng Yu - Ting *et al* (2019), "The novel protective effects of loganin against 1 - methyl - 4 - phenylpyridinium - induced neurotoxicity: Enhancement of neurotrophic signaling, activation of IGF - 1R/GLP - 1R, and inhibition of RhoA/ROCK pathway", *Phytotherapy Research.* 33(3), pp. 690-701.