

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF BOEHMERIA NIVEA IN THAI NGUYEN

Lanh Thi Ngoc¹, Le Quang Ung¹, Tran Thi Thanh Van^{2*}

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam

²Tan Trao University, Vietnam

Email address: thanhvancdsp@gmail.com

<https://doi.org/10.51453/2354-1431/2023/1013>

Article info

Received: 4/5/2023

Revised: 15/6/2023

Accepted: 8/8/2023

Keywords

Boehmeria nivea,
Boehmeria, anti-
inflammatory and
antimicrobial

Abstract

Using column chromatography, thin layer chromatography, and extraction methods with ethyl acetate solvents has isolated compound **1**. The anti-inflammatory effect and inhibition of nitric oxide production of the extract of crude ethanol (**BN**), *n*-hexane (**BNH**), ethyl acetate (**BNE**), and water (**BNW**) and compound **1** of *Boehmeria nivea* were tested. The results showed that the **BN** extract showed good anti-inflammatory activity with an IC_{50} value of 23.9 $\mu\text{g/ml}$. The **BNE** fraction exhibited the best anti-inflammatory activity with an IC_{50} value of 17.8 $\mu\text{g/ml}$. The remaining fractions and compound **1** exhibited moderate activity and no activity.



THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CÂY LÁ GAI (BOEHMERIA NIVEA) Ở THÁI NGUYÊN

Lành Thị Ngọc¹, Lê Quang Ứng¹, Trần Thị Thanh Vân^{2*}

¹Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Tân Trào, Việt Nam

Địa chỉ email: thanhvancdsp@gmail.com

<https://doi.org/10.51453/2354-1431/2023/1013>

Thông tin bài viết	Tóm tắt
Ngày nhận bài: 4/5/2023	Bằng các phương pháp như sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, tử cận chiết etyl acetat (BNE) đã phân lập được hợp chất 1 . Hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO của cận chiết tổng (BN) và các cận chiết phân đoạn <i>n</i> -hexane (BNH), ethyl acetate (BNE) và nước (BNW) của loài <i>Boehmeria nivea</i> được thử nghiệm. Kết quả cho biết, cận chiết BN thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt với giá trị IC ₅₀ 23.9 µg/ml. Phân đoạn BNE biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC ₅₀ 17.8 µg/ml. Các phân đoạn còn lại và hợp chất 1 thể hiện hoạt tính ở mức trung bình và không thể hiện hoạt tính.
Ngày sửa bài: 15/6/2023	
Ngày duyệt đăng: 8/8/2023	
Từ khóa	
<i>Boehmeria nivea</i> , <i>Boehmeria</i> , kháng viêm và kháng vi sinh vật kiểm định	

1. Mở đầu

Cây lá gai (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) thuộc họ Urticaceae phổ biến ở các nước Đông Á. Tại Việt Nam, cây mọc rải rác khắp nơi từ miền Bắc đến miền Trung và Trung Nam bộ [1, 2].

Thành phần hóa học của lá Gai gồm các hợp chất phenolic (chlorogenic acid, caffeic acid, 4-coumaric acid, ferulic acid, benzoic acid,...), flavonoid (epicatechin, rutin, isoquercetin, hyperoside,...), carbohydrate (sucrose, glucose, fructose, galactose, mannitol,...) amino acid (threonine, glutamic acid, proline, methionine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine,...), acid béo (palmitic acid, margaric acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, arachidic

acid, behenic acid, tricosylic acid, lignoceric acid,...), vitamin (vitamin A, vitamin E, vitamin C,...), khoáng chất (Ca, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Na,...) [3, 4, 5].

Lá Gai có tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm và gây độc đối với dòng tế bào ung thư phổi và gan [5]. Các hợp chất phenolic từ lá Gai có khả năng ức chế men chuyển angiotensin; các hợp chất polyphenolic hay flavonoid là epicatechin, epicatechin gallate và rutin, acid chlorogenic được biết đến với các đặc tính chống oxy hóa, chống viêm, chống khối u, chống vi khuẩn, chống vi rút và chống dị ứng [6, 7].

Trong y học cổ truyền ở Congo, toàn bộ cây được sử dụng điều trị bệnh thấp khớp, bệnh phong, bệnh ngoài da và vết thương, chống viêm mũi, và điều trị tiêu chảy

và giun sán. Ở Malaysia, lá gai được sử dụng để đắp mụn nhọt và chống đầy hơi; rễ và lá trị kiết lỵ và chống viêm. Ở Ấn Độ, rễ và lá làm mát, lợi tiểu. Ở Trung Quốc được sử dụng lợi tiểu, hạ sốt và bảo vệ gan [8].

Dịch chiết bằng cồn từ cây gai trên ống nghiệm có tác dụng thúc đẩy quá trình đông máu, trên thí nghiệm cắt đuôi chuột nhất để xác định thời gian chảy máu, thuốc có tác dụng cầm máu. Trong thí nghiệm lấy máu từ tĩnh mạch sau hố mắt trên chuột nhất trắng, dạng thuốc trên với liều 0.3 ml bằng đường tiêm phúc mạc hoặc với liều 0.5 ml bằng đường uống có tác dụng rút ngắn thời gian đông máu. Trên những chó thí nghiệm gây xuất huyết dưới da bằng cách dùng chất cobalt để chiếu xạ thì dạng chế phẩm trên của gai có tác dụng làm giảm hiện tượng xuất huyết một cách rõ rệt. Acid chlorogenic có trong dược liệu là một chất ít độc, có tác dụng tăng cường hiệu lực của adrenalin, thông tiểu tiện, kích thích sự bài tiết mật và có khả năng ức chế tác dụng của pepsin và trypsin. Acid chlorogenic còn có tác dụng diệt nấm và kháng khuẩn. Muối ammonium của acid cafeic được phân giải từ acid chlorogenic, trên thử thí nghiệm tĩnh mạch với liều lượng 7 mg/kg có tác dụng rút ngắn thời gian đông máu 58%, rút ngắn thời gian chảy máu 52%. Trên chuột nhất trắng đã dùng cobalt để chiếu xạ, dùng acid cafeic tiêm xoang bụng với liều lượng 14 mg/kg, tiêm liên tục trong 2 tuần lễ thì số lượng bạch cầu tăng 76.4% và số lượng tiểu cầu tăng 45.6%. Với nồng độ pha loãng 1:128 trên ống nghiệm, thuốc có tác dụng ức chế tụ cầu khuẩn vàng [9].

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Rễ củ cây lá gai (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) được thu hái tại huyện Phú Bình, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam vào tháng 05 năm 2021, được định danh bởi TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam – VAST định danh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp xử lý và chiết mẫu

Mẫu sau khi thu hái được thái nhỏ, phơi trong bóng mát, sấy khô ở nhiệt độ 60 °C đến khối lượng không

đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu được ngâm chiết 3 lần methanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50 °C thu được cặn cô methanol dùng làm nguyên liệu để phân lập và tinh chế các hoạt chất.

2.2.2 Phương pháp phân lập các hợp chất

Việc phân tích, phân tách các phần dịch chiết được thực hiện bằng các phương pháp sắc ký khác nhau như sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký cột thường (CC) với pha tĩnh là silica gel (Merck), sắc ký cột pha đảo với pha tĩnh là YMC RP 18 (Merck) và sắc ký ray phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20 (Merck).

Sắc ký lớp mỏng (TLC): bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoalien 60 F254 (0.25 mm; Merck) và RP-18 F254S (0.25 mm; Merck).

Sắc ký cột (CC): Sắc ký cột thường với pha tĩnh là silica gel 60, cỡ hạt 0.040 - 0.063 mm (230-400 mesh) của Merck. Sắc ký sephadex LH-20. Sắc ký cột pha đảo dùng loại YMC RP-18 có cỡ hạt là 30-50 µm (Fujisilica Chemical Ltd.).

2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc

Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được sử dụng các thiết bị hiện đại. Các thiết bị và phương pháp sử dụng gồm: Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): đo trên máy Bruker Avance 500 MHz (Chất chuẩn nội là TMS), tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

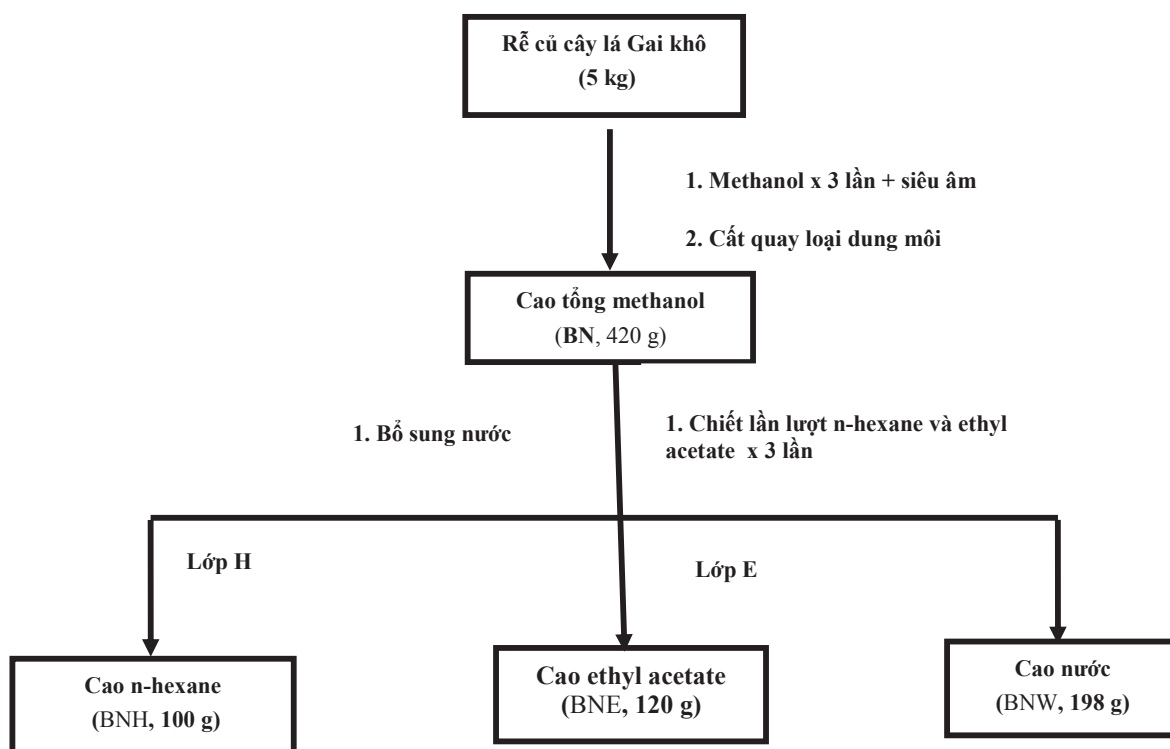
2.3. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính kháng viêm *in vitro*

Hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7 của cây lá gai (*Boehmeria nivea*) được thực hiện tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - VAST.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tạo cao chiết

Quy trình tạo các phần cao chiết từ dược thể hiện như hình 1.



Hình 1. Sơ đồ tạo cao chiết rễ củ cây lá gai (Boehmeria nivea)

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm của cao chiết và hợp chất 1

STT	Tên mẫu	Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%)	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)	Giá trị IC ₅₀
	Đối chứng (-)	100.0 ± 0.70	102.45 ± 0.28	-
	Đối chứng (+) [Cardamonin]	85.12 ± 1.46	70.85 ± 0.51	10.5 μM
	LPS	0.0 ± 0.50	100.0 ± 0.13	
1	BN	61.23 ± 1.34	63.11 ± 1.89	23.9 μg/ml
2	BNH	54.88 ± 1.29	43.45 ± 1.32	55.7 μg/ml
3	BNE	71.34 ± 0.85	66.54 ± 1.32	17.8 μg/ml
4	BNW	32.35 ± 1.21	65.23 ± 1.46	-
5	1	16.20 ± 1.42	82.34 ± 1.10	-

3.2. Phân lập hợp chất (+)-isolariciresinol (1)

Cao chiết ethyl acetate (BNE, 60g) tiến hành sắc ký cột silicagel, với dung môi rửa giải là CH₂Cl₂/MeOH (50/1 → 1/1) thu được 7 phân đoạn (BNE1-BNE7). Phân đoạn BNE2 tiếp tục tiến hành sắc ký cột pha đảo RP18, với dung môi rửa giải là gradient MeOH/H₂O (3/7 → 7/3) thu được 3 phân đoạn nhỏ (BNE2.1-BNE2.3). Phân đoạn BNE2.1 được kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất 1, màu trắng, dạng tinh thể hình kim, nhiệt độ nóng chảy 158-160°C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃-CD₃OD) δ_{ppm}: 6.60 (br s, H-2), 6.81 (d, J=8.0 Hz, H-5), 6.63 (br d, J=8.0 Hz, H-6), 3.70 (H-7), 1.82 (m, H-8), 3.50/3.77 (H-9), 6.57 (s, H-2'), 6.26 (s, H-5'), 2.76 (H-7'), 2.00 (H-8'), 3.73/3.85 (H-9'), 3.81 (s, H-3-OCH₃), 3.85 (s, H-3-OCH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃-CD₃OD): 137.02 (C-1), 111.69 (C-2), 146.78 (C-3), 144.12 (C-4), 114.30 (C-5), 122.29 (C-6), 48.08 (C-7), 47.94 (C-8), 62.74 (C-9), 127.49 (C-1'), 110.49 (C-2'), 144.94 (C-3'), 143.53 (C-4'), 115.61 (C-5'), 132.83 (C-6'), 33.25 (C-

7'), 40.22 (C-8'), 66.16 (C-9'), 55.97 (O-Me), 55.88 (O-Me).

Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cho biết có tín hiệu của 05 proton thơm ở độ dịch chuyển hóa học tại các δ_{H} 6.63 (1H, dd, $J=8.0, 1.0$ Hz, H-6), 6.81 (1H, dd, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.60 (1H, d, $J=1.0$ Hz, H-2), 6.26 (1H, s, H-5') và 6.57 (1H, s, H-2'). Điều này chứng tỏ trong phân tử của hợp chất **1** có 2 vòng thơm. Ngoài ra, trên phổ còn cho biết sự có mặt của 2 tín hiệu thuộc nhóm methoxy ở độ dịch chuyển hóa học tại δ_{H} 3.81 s (3H, s, 3-O-Me) và 3.85 (3H, s, 3'-O-Me).

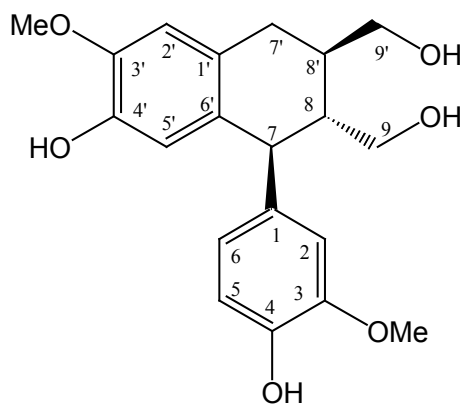
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **1** cho biết trong phân tử của **1** có tổng số 20 nguyên tử cacbon bao gồm: 07 nguyên tử cacbon bậc 4, 08 cacbon metin (CH), 03 nhóm metylen (CH_2), và 02 nhóm methyl (CH_3).

Kết hợp phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **1** cho biết một số tín hiệu đặc trưng, tín hiệu của 2 cacbon methyl thuộc nhóm methoxy tại δ_{C} 55.97 và 55.88 ứng với proton tại δ_{H} 3.81 và 3.85 ppm, tín hiệu của 5 cacbon metin thuộc 2 vòng thơm tại δ_{C} 122.29, 114.30, 111.69, 115.61 và 115.61 ppm với proton thơm tương ứng tại δ_{H} 6.63, 6.81, 6.60, 6.26 và 6.57 ppm. Đặc biệt, trên phổ còn cho biết có tín hiệu của 2 cacbon metylen liên

kết với nhóm hydroxyl tại δ_{C} 62.14 và 66.16 ppm với proton tương ứng tại δ_{H} 3.50/3.77 và 3.73/3.85, ngoài ra còn có tín hiệu của 4 cacbon bậc 4 liên kết với nhóm thế có chứa nguyên tử oxy tại δ_{C} 146.78 (C-3), 144.72 (C-4), 144.94 (C-3'), và 143.53 ppm (C-4').

Trên phổ HMBC, quan sát thấy có tương tác giữa proton của nhóm methoxy 3-O-Me (δ_{H} 3.81 ppm) với C-3 tại δ_{C} 146.78 ppm, proton của nhóm methoxy 3'-O-Me (δ_{H} 3.85 ppm) với C-3' tại δ_{C} 144.94 ppm. Tương tác giữa proton H-7 tại δ_{H} 3.70 ppm với các cacbon tại C-1, C-2, C-6, C-8, C-6. Tương tự như vậy, tương tác giữa H-5' (δ_{H}) với C-7, C-1', C-3' chứng tỏ vị trí liên kết của của hai vòng benzen thế và các nhóm methoxy.

Phân tích các phổ 1 chiều và 2 chiều của hợp chất **1** và kết hợp so sánh với các dữ kiện phổ NMR của hợp chất burselignan [1] nhận thấy độ dịch chuyển hóa học các tín hiệu hầu hết tương đương, tuy nhiên có sự khác biệt chênh lệch về độ dịch chuyển hóa học của proton tại vị trí C-7. Trong khi đó, so sánh các dữ kiện phổ của **1** với hợp chất (+)-isolariciresinol đều cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do vậy, có thể xác nhận **1** là (+)-isolariciresinol [10].



Hình 2. Cấu trúc hóa học của **1**

3.3. Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết và hợp chất **1**

Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết và hợp chất **1** từ cây lá gai được thể hiện ở Bảng 1. Kết quả ở cho thấy, các cận chiết và hợp chất **1** của cây Gai đều thể hiện hoạt tính ức chế đại thực bào RAW 264.7 sản sinh NO với các mức độ khác nhau ở các khoảng nồng độ khảo sát ($p < 0.05$) với LPS đối chứng (-), đối chứng (+) là cardamonin. Nhìn chung của cận tổng ethanol (**BN**) thể hiện hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế NO mạnh và tốt với giá trị IC_{50} 23.9 $\mu\text{g/ml}$, cận chiết phân đoạn cận chiết

ethyl acetate (**BNE**) thể hiện hoạt tính ở mức tốt nhất với giá trị IC_{50} 17.8 $\mu\text{g/ml}$, sau đó đến cận *n*-hexane (**BNH**) với giá trị IC_{50} 55.7 $\mu\text{g/ml}$, cận chiết nước (**BNW**) và hợp chất **1** đều không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm [10].

4. Kết luận

Từ rễ củ của loài lá gai (*Boehmeria nivea*) đã tiến hành xử lý và chiết mẫu khô (5 kg) thu nhận được các cận chiết, trong đó cận chiết tổng ethanol (**BN**: 420 g), *n*-hexane (**BNH**: 100 g), ethyl acetate (**BNE**: 120 g) và nước (**BNW**: 198 g).

Kết quả tác dụng sinh học của các mẫu thử nghiệm cho biết cặn chiết tổng cặn chiết ethyl acetate (**BNE**) thể hiện hoạt tính ở mức tốt nhất với giá trị IC_{50} 17.8 $\mu\text{g/ml}$, sau đó đến cặn tổng ethanol (**BN**) thể hiện hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế NO mạnh và tốt với giá trị IC_{50} 23.9 $\mu\text{g/ml}$. Và đã phân lập được một hợp chất từ cặn chiết ethyl acetate (**BNE**) là (+)-isolariciresinol.

REFERENCES

- [1] Ministry of Health. (2017). *Vietnam Pharmacopoeia*. Medical Publishing House. 786
- [2] Bich, D.H. and colleagues (2006). *Medicinal Plants and Animals Used in Traditional Medicine in Vietnam*. Publishing House for Natural Sciences and Technology. 1. p555-556.
- [3] Ah-Ra Kim, Hyun-Joo Lee, Hae-Ok Jung et al. (2014). *Physicochemical Composition of Ramie Leaf According to Drying Methods*. J Korean Soc Food Sci Nutr. 43(1), p. 118-127.
- [4] Mi-Ran Park, Jae-Joon Lee, Ah Ra Kim et al. (2010). *Physicochemical Composition of Ramie Leaves (Boehmeria nivea L.)*. Korean j. Food Preserv. 17(6), p. 853-860.
- [5] Zhen Zhang, Furong Tao & Hairui Ji. (2023). *Valorization of Boehmeria nivea stalk towards multipurpose fractionation: furfural, pulp, and phenolic monomers*. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts. P. 587-590.
- [6] Yongsheng Chen, Gaoyan Wang, Hong Wang et al. (2014). *Phytochemical Profiles and Antioxidant Activities in Six Species of Ramie Leaves*. Plos one, 9(9).
- [7] Sunghun Cho, Dong Gu Lee, Yong-Su Jung et al. (2016). *Phytochemical Identification from Boehmeria nivea Leaves and Analysis of (-)-Loliolide by HPLC*, Natural Product Sciences. 22(2). p. 134-139.
- [8] Dong Gu Lee, Sunghun Cho, Jaemin Lee et al. (2015). *Quantitative Analysis of the Flavonoid Content in the Leaves of Boehmeria nivea and Related Commercial Products*, Natural Product Sciences. 21(1). p. 66-70.
- [9] Zhijian Tan, Chaoyun Wang, Yongjian Yi et al. (2014). *Extraction and purification of chlorogenic acid from ramie (Boehmeria nivea L. Gaud) leaf using an ethanol/salt aqueous two-phase system*. Separation and Purification Technology. 132, p. 396-400.
- [10] Qian zhu, Qilong huang, Chunlei zhang, Zhengyu cao. (2019). *Chemical constituents of Uvaria grandiflora*. Journal of China Pharmaceutical University. 6. 666-671.
- [11] Xingyue Chen, Bin Wu, Daoyong Gong, Dezhao Fu, Hongting Qin, Biao Li. (2023). *An analysis of main secondary metabolites of Dendrobium nobile revealed three new sesquiterpenoid*. Phytochemistry Letters. 53. 226-230