



ISSN 1859 - 4735

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

SỐ 1 - 2015

TẬP 20

Journal of Medicinal Materials-Hanoi

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
3	Thành phần hóa học của củ mài thu tại Mê Linh, Vĩnh Phúc - Nguyễn Thị Hiền, Chu Thị Thu Hà, Hà Thị Vân Anh, Trần Minh Hợi, Nguyễn Phương Hạnh, Đỗ Thị Minh, Trần Thanh An, Nguyễn Đức Thịnh, Trần Huy Thái, Phạm Thanh Bình, Hà Mạnh Tuấn, Nguyễn Tiến Đạt	3	Chemical Constituents of the <i>Dioscorea persimilis</i> Tuber Collected from Me Linh, Vinh Phuc, Vietnam - Nguyen Thi Hien, Chu Thi Thu Ha, Ha Thi Van Anh, Tran Minh Hoi, Nguyen Phuong Hanh, Do Thi Minh, Tran Thanh An, Nguyen Duc Thinh, Tran Huy Thai, Pham Thanh Binh, Ha Manh Tuan, Nguyen Tien Dat
7	Khảo sát thành phần hóa học của cây hể mọ - Trần Phi Hùng, Nguyễn Tiến Đạt, Đỗ Thị Hà, Lê Thị Ngọc Hân, Lê Việt Dũng	7	Chemical Investigation of <i>Psychotria prainii</i> H. Lév. - Tran Phi Hung, Nguyen Tien Dat, Do Thi Ha, Le Thi Ngoc Han, Le Viet Dung
12	Oleanane saponins from the Leaves of <i>Aralia armata</i> (Wall.) Seem - Đỗ Thị Trang, Nguyễn Xuân Nhiệm, Đỗ Thị Hà, Trần Thị Thu, Hoàng Lê Tuấn Anh, Phạm Hải Yến, Phạm Thị Trang Thơ, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm	12	Oleanane Saponins from the Leaves of <i>Aralia armata</i> (Wall.) Seem - Do Thi Trang, Nguyen Xuan Nhiem, Do Thi Ha, Tran Thi Thu, Hoang Le Tuan Anh, Pham Hai Yen, Pham Thi Trang Tho, Chau Van Minh, Phan Van Kiem
17	Điều chế và thiết lập chất chuẩn resveratrol từ rễ cốt khí củ - Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thị Duyên, Nguyễn Văn Diên, Trần Thanh Hà, Lê Thị Loan, Trịnh Văn Lầu, Nguyễn Thị Hồng Yến	17	Preparation and Establishment of Resveratrol as a Reference Standard from the Roots of <i>Reynoutria japonica</i> Houtt. - Do Thi Ha, Nguyen Thi Duyen, Nguyen Van Dien, Tran Thanh Ha, Le Thi Loan, Trinh Van Lau, Nguyen Thi Hong Yen
25	Xác định thành phần acid béo và carotenoid trong màng và hạt gấc - Vũ Văn Tuấn, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Phạm Hồng Minh, Nguyễn Minh Khôi, Phương Thiện Thương	25	Determination of Fatty Acid and Carotenoid Composition in Aril and Seed of Gac (<i>Momordica cochinchinensis</i> Spreng.) - Vu Van Tuan, Nguyen Thi Ngoc Lan, Pham Hong Minh, Nguyen Minh Khoi, Phuong Thien Thuong
33	Tác dụng độc tế bào ung thư của các triterpenoid phân lập từ cây chặc chiu - Nguyễn Trang Thủy, Phí Thị Xuyến, Nguyễn Thị Hoài, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Minh Khôi, Phương Thiện Thương	33	Cytotoxic Activity of Triterpenoids Isolated from the Plant <i>Tetracera scandens</i> Against Cancer Cell Lines - Nguyen Trang Thuy, Phi Thi Xuyen, Nguyen Thi Hoai, Pham Thi Nguyet Hang, Nguyen Minh Khoi, Phuong Thien Thuong
38	Lanostan triterpen của nấm linh chi thu hái tại Quảng Nam - Nguyễn Minh Khôi, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Duyên, Đỗ Thị Hà	38	Lanostane Triterpens from <i>Ganoderma lucidum</i> Collected in Quangnam - Nguyen Minh Khoi, Nguyen Thi Thu, Nguyen Thi Duyen, Do Thi Ha
44	Nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> dây thìa canh bằng nuôi cấy chồi đỉnh - Vũ Hoài Sâm, Nguyễn Quang Hải, Dương Thị Phúc Hậu, Nguyễn Văn Khiêm	44	<i>In vitro</i> Propagation of <i>Gymnema sylvestre</i> (Retz.) R. Br. ex Schult. via Apical Bud Culture - Vu Hoai Sam, Nguyen Quang Hai, Duong Thi Phuc Hau, Nguyen Van Kiem
50	Cloning of Vietnam Dang Sam (<i>Codonopsis javanica</i> (Blume) Hook. f. et Thoms.) <i>in vitro</i> - Đoàn Trọng Đức, Trần Văn Minh	50	Cloning of Vietnam Dang Sam (<i>Codonopsis javanica</i> (Blume) Hook. f. et Thoms.) <i>in vitro</i> - Doan Trong Duc, Tran Van Minh
57	Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật xây dựng quy trình trồng cây xuyên tâm liên tại Hà Nội - Trần Danh Việt, Đào Văn Núi, Nguyễn Văn Hùng	57	Study on some Technique Measures to Establish the Planting Method of <i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f.) Nees in Hanoi, Vietnam - Tran Danh Viet, Dao Van Nui, Nguyen Van Hung

TÁC DỤNG ĐỘC ĐỐI VỚI DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ CỦA CÁC TRITERPENOID PHÂN LẬP TỪ CÂY CHẠC CHIU

*Nguyễn Trang Thúy¹, Phí Thị Xuyên¹, Nguyễn Thị Hoà², Phạm Thị Nguyệt Hằng¹,
Nguyễn Minh Khởi¹, Phương Thiện Thương^{1,*}*

¹Viện Dược liệu; ²Trường Đại học Y Dược Huế, Đại học Huế

**Email: phuongthienthuong@yahoo.com*

(Nhận bài ngày 30 tháng 12 năm 2014)

Tóm tắt

Bốn triterpenoid gồm lupeol, acid betulinic, acid ursolic và acid oleanolic được phân lập từ cao chiết MeOH của phần trên mặt đất của cây chạc chiu (*Tetracera scandens*). Các acid ursolic và oleanolic được tìm thấy lần đầu tiên trong loài *T. scandens*. Thử độc tế bào của bốn triterpenoid trên mười dòng tế bào ung thư bằng phương pháp SRB cho thấy chỉ có acid ursolic có tác dụng tốt đối với 6 dòng tế bào với các giá trị IC₅₀ từ 11,8 đến 16,7 μM.

Từ khóa: *Tetracera scandens*, Triterpenoid, Acid ursolic, Cytotoxic activity.

Summary

Cytotoxic Activity of Triterpenoids Isolated from the Plant *Tetracera scandens* Against Cancer Cell Lines

Four triterpenoids, including lupeol, betulinic acid, ursolic acid, and oleanolic acid, were isolated from the MeOH extract of aerial parts of the medicinal plant *Tetracera scandens*. This is the first report of the existence of ursolic acid and oleanolic acid from the plant *T. scandens*. The isolated compounds were tested for their cytotoxic activity against human cancer cell lines by SRB method. Only ursolic acid displayed considerable cytotoxic effect on six cell cancer lines with IC₅₀ values range from 11.8 to 16.7 μM.

Keywords: *Tetracera scandens*, Triterpenoid, Ursolic acid, Cytotoxic activity.

1. Đặt vấn đề

Cây chạc chiu (còn gọi là dây chiều, từ giác leo) có tên khoa học là *Tetracera scandens* (L.) Merr., thuộc họ Sô (Dilleniaceae), phân bố khắp nước ta, còn gặp ở miền Nam Trung Quốc, Lào, Campuchia và Malaysia [1], [2]. Nhân dân Việt Nam và các nước này dùng thân chạc chiu làm thuốc chữa tê thấp, gân xương đau nhức, ứ huyết, phù thũng, đau bụng [1], [2]. Các nghiên cứu trước đây cho biết tác dụng sinh học của chạc chiu, gồm có chống oxy hóa [3], [4], chống viêm [3-6] và hạ đường huyết [7], [8]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho biết trong *T. scandens* có chứa các flavonoid [8], [9]. Trong một nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã phân lập và xác định được 3 triterpenoid thuộc nhóm lupan từ dược liệu này [10]. Bài báo này trình bày kết quả phân

lập thêm hai triterpenoid và độc tính của các triterpenoid phân lập từ chạc chiu đối với 10 dòng tế bào ung thư.

2. Nguyên liệu và Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Dược liệu dùng cho nghiên cứu là phần trên mặt đất (thân, lá, hoa, quả) của cây chạc chiu được thu hái tại xã Thủy Bằng, huyện Hương Thủy, tỉnh Thừa Thiên Huế tháng 10 năm 2009. Mẫu nghiên cứu đã được xác định tên khoa học là *Tetracera scandens* (L.) Merr., thuộc họ Sô (Dilleniaceae) bởi TS. Dương Đức Huyền, Phòng Thực vật, Viện Sinh thái Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam [7]. Mẫu dược liệu (ký hiệu VDL-10/2009-01) hiện đang được lưu giữ tại Khoa Hóa Phân tích – Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

Các dung môi, hóa chất dùng cho nghiên cứu hóa học đạt tiêu chuẩn công nghiệp, các dung môi đo phổ NMR (CDCl_3) được mua của hãng Sigma-Aldrich. Các chất đối chiếu acid ursolic (95%) và acid oleanolic (97%) được lấy từ ngân hàng chất đối chiếu, Viện Dược liệu.

2.2. Phương tiện, máy móc nghiên cứu

Sắc ký lớp mỏng được triển khai trên bản mỏng *silica gel* F₂₅₄ hoặc RP-18 F₂₅₄ tráng sẵn của Merck, hiện màu bằng phun H_2SO_4 10% trong ethanol và hơ nóng trên bếp điện đến khi hiện màu. Phân lập các chất trong dịch chiết được liệu bằng sắc ký cột (*silica gel* cỡ hạt 0,063-0,2 mm, RP-18 cỡ hạt 20-50 μm , và sephadex LH-20). Nhiệt độ nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage. Phổ IR được đo trên máy Impack 410, Nicolet (Đức). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H -NMR (500 MHz) và ^{13}C -NMR (125 MHz) được đo trên máy BRUKER- DRX500 tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với chất chuẩn nội là TMS. Phổ khối lượng được đo trên máy Agilent 6310 LC-MSD Trap ở dạng phun mù điện từ (ESI-MS). Buồng nuôi cấy, máy đo ELISA (Microplate Reader Model 680, BioRad) và các trang thiết bị kèm theo cho nuôi cấy tế bào và thử tác dụng độc tế bào.

2.3. Chiết xuất và phân lập các hoạt chất

Phần trên mặt đất đã phơi khô, cắt nhỏ của chắt chiu (5 kg) được ngâm chiết với methanol (MeOH , 50 L) ở nhiệt độ phòng trong 1 tuần và lặp lại 2 lần như vậy. Dịch chiết được gộp lại, thu hồi dung môi ở áp suất giảm thu được 360 g cặn (cao MeOH). Hòa cặn thu được dưới dạng nhũ dịch trong nước (2 L) rồi lắc phân đoạn với lần lượt *n*-hexan (2 L $\times$ 3 lần), cloroform (2 L $\times$ 3 lần), ethyl acetat (2 L $\times$ 3 lần), và *n*-butanol (1 L $\times$ 2 lần). Các dung môi hữu cơ được thu hồi để được lần lượt các phân đoạn *n*-hexan (Hx, 35 g),

cloroform (CHCl_3 , 44 g), ethyl acetat (EtOAc , 65 g), và *n*-butanol (BuOH , 138 g).

Các chất lupeol (1) và acid betulinic (2) được phân lập và đã được xác định công thức từ trước [10]. Phân đoạn EtOAc (65 g) được chạy sắc ký cột với chất mang là *silica gel* (8,5 $\times$ 20 cm), dung môi rửa giải là CHCl_3 - MeOH - H_2O (50:15:1) thu được 9 phân đoạn nhỏ, ký hiệu là TE1-TE9. Phân đoạn TE2 được chạy qua cột sephadex LH20, rửa giải bằng MeOH 80% thu được bốn phân đoạn TE2.1-TE2.4. Tiếp tục cho phân đoạn TE2.2 chạy qua cột *silica gel* (4 $\times$ 20 cm), rửa giải bằng dung môi CHCl_3 - EtOAc -Aceton (20:0,5:0,5) rồi tinh chế phân đoạn giàu hoạt chất bằng phương pháp kết tinh trong MeOH thu được chất số 2 (98 mg). Phân đoạn TE5 được chạy qua cột *silica gel* (4 $\times$ 20 cm), rửa giải bằng dung môi CHCl_3 - EtOAc (10:1) thu được phân đoạn có chứa nhiều triterpenoid. Tiếp tục cho phân đoạn này qua cột pha đảo C18 (2 $\times$ 40 cm), rửa giải bằng hệ dung môi MeOH - H_2O (15:1, 10:1, và 5:1) thu được các chất số 3 (22 mg) và số 4 (17 mg).

2.4. Tính chất lý hóa và dữ liệu phổ của các chất phân lập 3 và 4

Chất số 3: bột vô định hình, màu trắng; nhiệt độ nóng chảy: 257-260 $^\circ\text{C}$; MS m/z 457 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} (ppm): 5.24 (1H, t, $J = 4,0$ Hz, H-12); 3.22 (1H, dd, $J = 5,0$ và 10.0 Hz, H-3), 2.22 (1H, d, $J = 10,5$ Hz, H-18), 1.57 (3H, s, H-27), 1.07 (3H, s, H-23), 0.99 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-29), 0.85 (3H, t, $J = 6,5$ Hz, H-30), 0.78 (3H, s, H-24), 0.74 (3H, s, H-25). So sánh bằng TLC thấy chất số 3 có R_f trùng với chất đối chiếu acid ursolic (hệ dung môi *n*-hexan – ethylacetat 3:1, $R_f = 0,3$).

Chất số 4: bột vô định hình, màu trắng; nhiệt độ nóng chảy 307-309 $^\circ\text{C}$; MS m/z 457 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} (ppm): 5.29 (1H,

bs, H-12); 3.23 (1H, dd, $J = 4.0$ và 11.0 Hz, H-3), 2.83 (1H, dd, $J = 3.5$ và 14.0 Hz, H-18), 1.15 (3H, s, H-27), 1.00 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-26), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-24), 0.91 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-30), 0.79 (3H, s, H-29), 0.77 (3H, s, H-25). So sánh bằng TLC thấy chất số 4 có R_f trùng với chất đối chiếu acid oleanolic (hệ dung môi *n*-hexan – ethyl acetat 3:1, $R_f = 0.35$).

2.5. Tế bào và nuôi cấy tế bào

Các dòng tế bào ung thư được sử dụng là A549 (dòng tế bào ung thư phổi), Hela (dòng tế bào ung thư cổ tử cung), HepG2 (dòng tế bào ung thư gan), HCT116 (dòng tế bào ung thư đại tràng), MDA-MB231 (dòng tế bào ung thư vú), MCF-7 (dòng tế bào ung thư vú), MCF-7/ADR (dòng tế bào ung thư vú đã kháng Adriamycin), MCF-7/TAM (dòng tế bào ung thư vú đã kháng Tamoxifen), NCI-N87 (dòng tế bào ung thư dạ dày), OVCAR-8 (dòng tế bào ung thư buồng trứng). Các dòng tế bào được nhận từ Ngân hàng tế bào của Viện Công nghệ Sinh học Hàn Quốc (Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology).

Tế bào được nuôi cấy bằng môi trường DMEM hoặc RPMI (tùy theo loại tế bào) có bổ sung 10% FBS (Fetal bovine serum), L-glutamin (0.2mM/ml), penicilin/streptomycin (50 unit/ml). Điều kiện nuôi cấy trong tủ nuôi cấy có điều kiện 37°C và $5\% \text{CO}_2$.

2.6. Thử tác dụng gây độc tế bào ung thư

Các mẫu chất được thử hoạt tính độc tế bào đều có độ tinh khiết $> 93\%$, tính theo diện tích pic của mỗi chất khi thử độ tinh khiết bằng HPLC. Độ tinh của các triterpenoid đối với các dòng tế bào ung thư được thử theo phương pháp SRB [11]. Cụ thể, tế bào được nuôi cấy ổn định trong tủ nuôi cấy có điều kiện 37°C và $5\% \text{CO}_2$. Khi đủ lượng tế bào cần cho thí nghiệm tiếp theo thì thu gom các tế bào lại, hòa đều trong môi

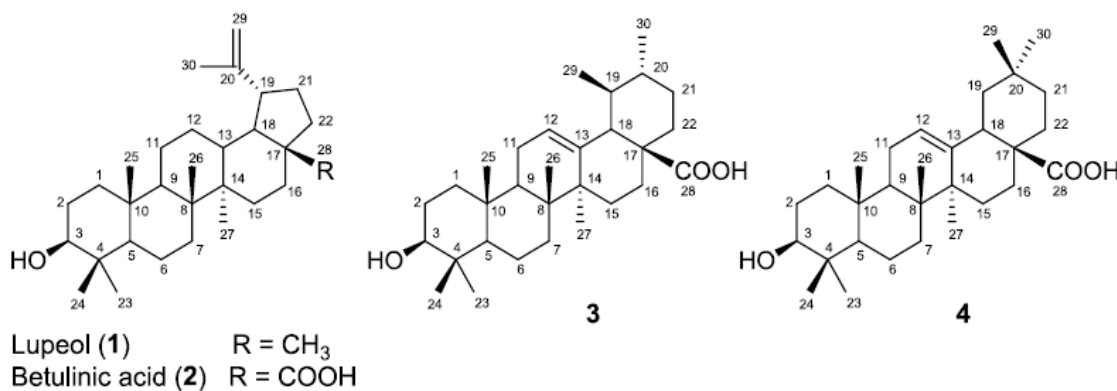
trường nuôi cấy ở mật độ 4×10^4 tế bào/ml rồi chuyển vào đĩa 96 giếng, cho vào mỗi giếng cho $100\text{ }\mu\text{l}$ môi trường. Sau 24 h ổn định trong tủ, thay môi trường nuôi cấy bằng môi trường có chứa các mẫu thuốc thử được pha ở các nồng độ khác nhau rồi tiếp tục ủ tế bào trong 48 h, mỗi nồng độ được lặp lại 4 giếng/lần thử. Trong thời gian ủ, quan sát dưới kính hiển vi để ghi nhận những sự thay đổi của tế bào. Sau khi ủ với chất thử 48 giờ, cố định tế bào bằng acid trichloroacetic (TCA, $50\% \text{ w/v}$) rồi nhuộm màu với thuốc nhuộm sulforhodamin B ($0.4\% \text{ w/v}$ trong dung dịch acid acetic 1%) trong 30 phút. Sau đó rửa 4 lần với dung dịch acid acetic 1% , đĩa nuôi cấy được làm khô ở nhiệt độ phòng và hòa tan chất màu với $100\text{ }\mu\text{l}$ dung dịch Tris-base 10 mM ($\text{pH} \sim 10.5$). Đo độ hấp thụ (OD) của dung dịch này ở 540 nm bằng máy ELISA. Các mẫu thử (mẫu thử chất nghiên cứu) được thực hiện song song với mẫu trắng (không thử thuốc) và mẫu đối chứng dương (Adriamycin). Độ hấp thụ (OD) của dung dịch tỷ lệ thuận với số tế bào sống sót [11]. Độ tinh của các chất được đánh giá thông qua tác dụng ức chế sự tăng trưởng của các tế bào và được biểu hiện bằng giá trị IC_{50} . Tác dụng ức chế sự tăng trưởng của các dòng tế bào được tính theo công thức $100 \times \text{OD}_{\text{mt}} / \text{OD}_{\text{tr}} (\%)$, trong đó OD_{mt} là độ hấp thụ quang của mẫu thử thuốc; OD_{tr} là độ hấp thụ quang của mẫu không thử thuốc (trắng) có số tế bào sống là 100%). Giá trị IC_{50} được hiểu là nồng độ mà chất đó ức chế được 50% sự phát triển của tế bào ung thư so với mẫu trắng (mẫu không thử thuốc) và được tính toán theo tài liệu [11]. Trong bài báo này, một chất được coi là có tác dụng khi giá trị $\text{IC}_{50} < 20\text{ }\mu\text{M}$ (khoảng $10\text{ }\mu\text{g/ml}$).

3. Kết quả

Các chất số 1-2 đã được phân lập và xác định

công thức trong một nghiên cứu trước đây [10]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục phân lập được 2 chất, bao gồm chất số 3 (acid ursolic) và số 4 (acid oleanolic). Các chất này được xác định thông qua việc phân tích so sánh phổ IR, ¹H-NMR, và MS với các dữ liệu phổ đã được công

bố trước đây [12], đồng thời so sánh nhiệt độ nóng chảy và các thông tin (giá trị R_f và màu sắc của vết chất trước và sau khi phun thuốc thử) trên sắc ký lớp mỏng khi so sánh với các chất đối chiếu. Công thức của các triterpenoid 1-4 được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Các triterpenoid 1-4 phân lập được từ chắt chiu

Các triterpenoid 1-4 được thử hoạt tính độc tế bào trên mười dòng tế bào ung thư theo phương pháp SRB [11], tác dụng của các chất được biểu diễn bằng giá trị IC₅₀ (μM). Kết quả được trình bày ở Bảng 1 cho thấy hai chất lupeol (1) và acid oleanolic (4) thể hiện tác dụng kém đối với tất cả các dòng tế bào ung thư được

thử. Acid betulinic chỉ cho tác dụng tốt trên 2 dòng tế bào ung thư HCT116 và NIC-N187; còn acid ursolic cho tác dụng tốt trên 6 dòng tế bào ung thư, gồm có HCT116, MCF7, MCF7/Adr, MCF7/Tam, MDA-MB231 và NIC-N187, với các giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng từ 11,8 đến 16,7 μM.

Bảng 1. Hoạt tính độc đối với các dòng tế bào ung thư của các triterpenoid 1-4

Chất thử	Giá trị IC ₅₀ (μM)									
	A549	Hela	HepG2	HTC116	MCF7	MCF7 /Adr	MCF7 /Tam	MDA-MB231	NIC-N187	OVCAR-8
1	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20
2	>20	>20	>20	11,1	>20	>20	>20	>20	18,7	>20
3	>20	>20	>20	12,2	13,1	16,7	12,1	12,4	11,8	>20
4	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Adr	1,36	0,20	1,03	0,34	1,16	39,89	0,99	2,16	1,97	1,12

Adr: adriamycin được dùng làm chất đối chứng

4. Bàn luận

Các nghiên cứu trước đây cho thấy các triterpenoid thuộc nhóm lupan được tìm thấy trong loài *T. scandens* (L.) Merr., trong nghiên cứu này các triterpenoid nhóm ursan (acid ursolic,

3) và olean (acid oleanolic, 4) cũng được phân lập và xác định cấu trúc. Đây là lần đầu tiên hai chất này được tìm thấy trong loài *T. scandens* và trong chi *Tetracera*, chứng tỏ rằng ngoài nhóm lupan các loài *Tetracera* có thể có triterpenoid

thuộc các nhóm ursan và olean.

Lupeol và acid betulinic và các dẫn xuất đã được chứng minh có nhiều tác dụng sinh học [13], trong đó đáng chú ý nhất là tác dụng kháng virus HIV [14], [15] và chống ung thư [14-16]. Acid betulinic được xem là một chất rất có triển vọng để phát triển thuốc có tác dụng chống ung thư và kháng HIV, được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm [13-16]. Việc xác định được acid betulinic là một trong những thành phần hóa học chính của loài *T. scandens* thu hái tại Việt Nam góp phần định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về việc sử dụng tài nguyên dược liệu này. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này cho thấy hoạt tính độc tế bào của acid betulinic đối với đa số các tế bào ung thư là tương đối thấp khi so sánh với tác dụng của acid ursolic. Nếu một chất tinh khiết có tác dụng đáng quan tâm khi giá trị $IC_{50} < 20 \mu M$ thì acid betulinic chỉ có tác dụng đối với 2 dòng tế bào HTC116 và NCI-N187. Trong khi đó, acid ursolic có tác dụng tương tự acid betulinic trên dòng HTC116, mạnh hơn trên dòng NCI-N187, và có tác dụng trên 4 dòng tế bào khác là MCF-7, MCF-7/Adr, MCF-7/Tam và MDA-MB231. Như vậy, bằng phương pháp nhuộm SRB cho thấy acid ursolic có tác dụng ức chế các dòng tế bào ung thư tốt hơn acid betulinic. Tuy nhiên, đây chỉ là kết quả thử bằng một mô hình *in vitro*, có thể acid betulinic sẽ có tác dụng chống ung thư theo cơ chế khác.

Acid oleanolic và ursolic cũng có nhiều tác

dụng sinh học đáng chú ý [17]. Xét mối liên quan giữa cấu trúc và tác dụng, acid ursolic tác dụng mạnh hơn acid oleanolic trên tất cả các dòng tế bào. Có thể thấy vị trí nhóm 29-CH₃ gắn với vị trí 19 (của acid ursolic) nếu chuyển tới vị trí số 20 (acid oleanolic) làm giảm rất mạnh độc tính của triterpen này đối với tất cả các dòng tế bào ung thư. Điều này gợi ý cho các nhà tổng hợp hóa được chú ý tới tác dụng của vị trí nhóm methyl số 29 nói riêng và của triterpenoid nhóm ursan nói chung [18].

5. Kết luận

Các hợp chất triterpen thuộc nhóm lupan (lupeol, betulinic acid), nhóm ursan (acid ursolic) và nhóm olean (acid oleanolic) đã được phân lập từ dịch chiết MeOH của phần trên mặt đất của cây chẹo chiu (*Tetracera scandens*) thu hái tại Thừa Thiên Huế, Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho biết ngoài triterpenoid thuộc nhóm lupan là một trong những thành phần hóa học đặc trưng của chi *Tetracera*, họ Dilleniaceae, thì các triterpenoid thuộc nhóm ursan và olean cũng được tìm thấy trong loài *T. scandens*. Acid ursolic có tác dụng ức chế sự phát triển đối với một số dòng tế bào ung thư người khi thử bằng mô hình nhuộm SRB.

Lời cảm ơn: Các tác giả chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí thực hiện công trình này (Nhiệm vụ Nghị định thư về Hợp tác nghiên cứu và phát triển Khoa học Công nghệ giữa Việt Nam và Nhật Bản; Hợp đồng số 37/2010/HĐ-NĐT).

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi (1997), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học, tr. 370.
2. Viện Dược liệu (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập I. NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 634-636.
3. Nguyen T.T.M., Awale S., Tezuka Y., Tran Q.L., Watanabe H., Kadota S. (2004), Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27, 1414-1421.
4. Thuong P.T., Na M., Dang N.H., Hung T.M., Ky P. T., Thanh T.V., Nam N.H., Thuan N.D., Sok D., Bae K. (2006), Antioxidant activities of Vietnamese medicinal plants. *Natural Product Sciences*, 12, 29-37.
5. Nguyễn Trang Thúy, Nguyễn Thị Hoài, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2013), Đánh giá tác dụng của chẹo chiu trên mô hình chống viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm, *Tạp chí Dược liệu*, 18(2), 71-76.
- 6.

Nguyễn Trang Thúy, Trần Thị Phương, Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2012), Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau của cây thuốc dân gian chạch chiu (*Tetracera scandens*), *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 50(3D), 915-925. 7. Umar A. Ahmed Q.U., Muhammad B.Y., Dogarai B.B., Soad S.Z. (2010), Anti-hyperglycemic activity of the leaves of *Tetracera scandens* Linn. Merr. (Dilleniaceae) in alloxan-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 140-145. 8. Lee M.S., Kim C.H., Hoang D.M., Kim B.Y., Sohn C.B., Kim M.R., Ahn J.S. (2009), Genistein-derivatives from *Tetracera scandens* stimulate glucose-uptake in L6 myotubes, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32, 504-508. 9. Nguyễn Trang Thúy, Nguyễn Thị Hoài, Ngô Thị Quỳnh Mai, Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2010), Các flavonoid phân lập được từ cây chạch chiu, *Tạp chí Dược liệu* 15 (5), 290-294. 10. Nguyễn Thị Hoài, Nguyễn Trang Thúy, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2011), Triterpenoid nhóm lupan phân lập từ cây chạch chiu, *Tạp chí Dược liệu* 16(6), 379-383. 11. Nguyễn Thị Chinh Hoàng, Thị Mỹ Nhung, Nguyễn Thị Quý, Phí Thị Xuyến, Nguyễn Minh Khởi (2011), Độ tinh của các lignin phân lập từ hạt nhục đậu khấu trên một số dòng tế bào ung thư, *Tạp chí Dược liệu*, 16(5), 303-306. 12. Seebacher W., Simic N., Weis R., Saf R., Kunert O. (2003), Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 41(8), 636-638. 13. Yogeeswari P., Sriram D. (2005), Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties, *Current Medicinal Chemistry*, 12, 657-666. 14. Lee K.H. (2010), Discovery and development of natural product-derived chemotherapeutic agents based on a medicinal chemistry approach, *Journal of Natural Products*, 73, 500-516. 15. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. (2004), Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection, *Medicinal Research Review*, 24, 90-114. 16. Mullauer F.B. et al. (2010), Betulinic acid, a natural compound with potent anticancer effects, *Anticancer Drugs*, 21, 215-227. 17. Liu J. (1995), Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid, *Journal of Ethnopharmacology*, 49(2), 57-68. 18. Salvador R.A.R., Leal A.S., Alho D.P.S., Gonçalves B.M.F., Valdeira A.S., Mendes V.I.S., Jing Y. (2014), Highlights of pentacyclic triterpenoids in the cancer settings (Chapter 2): In *Studies on Natural Products Chemistry*, 41, 33-73.

Tạp chí Dược liệu, tập 20, số 1/2015 (Trang 38 - 44)

LANOSTAN TRITERPEN CỦA NẤM LINH CHI THU HÁI TẠI QUẢNG NAM

Nguyễn Minh Khởi, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Duyên, Đỗ Thị Hà*

Viện Dược liệu

*E-mail: hado.nimms@gmail.com

(Nhận bài ngày 16 tháng 12 năm 2014)

Tóm tắt

Từ phân đoạn dicloromethan của nấm linh chi, 4 hợp chất lanostan đã được phân lập bao gồm: methyl lucidenat A (1), acid ganolucidic A (2), acid ganoderic A (3) và acid lucidenic E₂ (4). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định dựa trên các đặc tính lý hóa và các dữ liệu phổ (MS, NMR) kết hợp so sánh với dữ liệu đã công bố trong các tài liệu tham khảo.

Từ khóa: Nấm linh chi, Methyl lucidenat A, Acid ganolucidic A, Acid ganoderic A, Acid lucidenic E₂.

Summary

Lanostane Triterpens from *Ganoderma lucidum* Collected in Quangnam

From the dicloromethane fraction of *Ganoderma lucidum*, four lanostane compounds were isolated including methyl lucidenate A (1), ganolucidic acid A (2), ganoderic acid A (3), and lucidenic acid E₂ (4). The chemical structures of compounds 1 – 3 were determined by comparing their physicochemical and spectroscopic data to published values.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, Methyl lucidenate A, Ganolucidic acid A, Ganoderic acid A, Lucidenic E₂ acid.

1. Đặt vấn đề

Nấm linh chi có tên khoa học là *Ganoderma*