

Thành phần hoá học và hoạt tính gây độc tế bào của phân đoạn *n*-hexane của loài thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*)

Nguyễn Khánh Thuỳ Linh^{1,2*}, Nguyễn Thị Hoài¹, Trần Thị Vân Anh², Hồ Việt Đức¹

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Đặt vấn đề và mục tiêu: Chi Thiên niên kiện (*Homalomena*) là một chi lớn của họ Ráy (Araceae). Các chất chuyển hoá thứ cấp trong chi này thể hiện nhiều tác dụng sinh học. Nghiên cứu này đánh giá thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào từ phân đoạn *n*-hexane của cây Thiên niên kiện lá lớn. **Đối tượng và phương pháp:** Thân rễ Thiên niên kiện lá lớn được thu hái tại Lâm Đồng vào tháng 1 năm 2021. Chiết xuất bằng các phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng, chiết phân bố lỏng - lỏng, rắn - lỏng. Phân lập hợp chất tinh khiết bằng các phương pháp sắc ký. Xác định cấu trúc của hợp chất tinh khiết bằng các phương pháp phổ. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp của Skehan. **Kết quả:** 3 sesquiterpenoid (α -cadinol, homalomenol C, taiwaninone A) và 1 steroid (sitoindoside I) đã được phân lập. α -cadinol thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên chủng SK-LU-1 và HEK-293A với IC_{50} lần lượt là $97,75 \pm 4,38 \mu M$ và $92,52 \pm 2,80 \mu M$. Sitoindoside I ức chế SK-LU-1, MCF7, Hep G2, 8505c và HEK-293A với IC_{50} lần lượt là $44,05 \pm 1,91 \mu M$; $48,97 \pm 3,93 \mu M$; $60,64 \pm 2,18 \mu M$; $48,15 \pm 5,51 \mu M$ và $57,22 \pm 5,20 \mu M$. **Kết luận:** Đây là thông báo đầu tiên về hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập từ cây Thiên niên kiện lá lớn.

Từ khóa: *Homalomena pendula*, độc tế bào, α -cadinol, sitoindoside I.

Abstract

Chemical composition and cytotoxic activity from *n*-hexane extract of *Homalomena pendula*

Nguyen Khanh Thuuy Linh^{1,2*}, Nguyen Thi Hoai¹, Tran Thi Van Anh², Ho Viet Duc¹

(1) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

Background and objectives: The genus *Homalomena* belongs to the Araceae family. Secondary metabolites afforded from this genus show various bioactivities. This study aimed to determine the chemical composition and cytotoxic activities of compounds isolated from *n*-hexane extract of rhizomes of *Homalomena pendula*. **Materials and methods:** The rhizomes of *Homalomena pendula* were collected from Lam Dong, Vietnam in January 2021. Extraction methods included maceration, liquid-liquid and solid-liquid partition. Isolation of pure compounds was carried out by a combination of various chromatographic methods. Chemical structures were determined by extensive spectroscopic methods. Evaluation of cytotoxic activity was performed by Skehan's method. **Results:** 3 sesquiterpenoids (α -cadinol, homalomenol C, taiwaninone A) and 1 steroid (sitoindoside I) were isolated. α -cadinol inhibited SK-LU-1 and HEK-293A with IC_{50} of $97.75 \pm 4.38 \mu M$ and $92.52 \pm 2.80 \mu M$, respectively. Sitoindoside I inhibited SK-LU-1, MCF7, Hep G2, 8505c and HEK-293A with IC_{50} of $44.05 \pm 1.91 \mu M$; $48.97 \pm 3.93 \mu M$; $60.64 \pm 2.18 \mu M$; $48.15 \pm 5.51 \mu M$ and $57.22 \pm 5.20 \mu M$, respectively. **Conclusion:** This is the first report on the cytotoxic activity of compounds isolated from *Homalomena pendula*.

Keywords: *Homalomena pendula*, cytotoxic, α -cadinol, sitoindoside I.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Homalomena* thuộc họ Araceae bao gồm các loài thân thảo, chủ yếu ở khu vực Đông Nam Á, Nam Thái Bình Dương và Nam Mỹ [1], [2]. Hiện nay,

đã xác định được khoảng 265 tên các loài thuộc chi *Homalomena*, trong số này có 124 tên được chấp nhận [2]. Một số loài *Homalomena* đã được sử dụng trong Y học cổ truyền và Y học dân tộc của nhiều nước, đặc biệt là các nước châu Á để điều trị vết

thương, tiêu chảy, ho, đau bụng, rối loạn dạ dày, đau khớp, nhiễm trùng da [3], [4]. Các nghiên cứu được lý hiện đại đã cho thấy dịch chiết và một số hợp chất phân lập được từ các loài thuộc chi này sở hữu nhiều hoạt tính sinh học tốt như kháng viêm [5], kháng khuẩn [6], ức chế cholinesterase [7], gây độc tế bào ung thư [8]. Theo kinh nghiệm dân gian tại Việt Nam, cây Thiên niên kiện lá lớn được dùng theo để chữa một số bệnh như đau nhức xương khớp, đau đầu gối, tê bại ở người cao tuổi, thoái hóa xương khớp, đau dạ dày [9]. Bài báo này công bố các kết quả chiết xuất, phân lập, xác định cấu trúc các thành phần của phân đoạn *n*-hexane từ thân rễ của loài thiên niên kiện lá lớn, đồng thời hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất này cũng được mô tả.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Thiên niên kiện lá lớn được thu hái tại xã Gung Ré, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 01 năm 2021. Mẫu được xác định tên khoa học bởi PGS.TS. Vũ Tiến Chính - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất và phân lập

Cao toàn phần được chiết xuất bằng phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng với dung môi methanol (MeOH), thu được cao MeOH. Cao này được phân tán trong nước và tiến hành chiết phân bố với *n*-hexane, thu lấy dịch chiết *n*-hexane. Cất thu hồi dung môi để có cao *n*-hexane.

Phân lập hợp chất dựa vào các kỹ thuật sắc ký. Sắc ký cột (CC) được thực hiện trên chất hấp phụ pha thường (silica gel 240-430 mesh, Merck - Đức) hoặc pha đảo (ODS-60-14/63, Fujisilisa - Nhật). Sắc ký lọc gel được tiến hành trên sephadex LH-20 ((Dowex 50WX2-100, Sigma-Aldrich, Mỹ). Sắc ký bản mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ và RP₁₈ F₂₅₄ (Merck, Đức). Các chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại với bước sóng 254nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử H₂SO₄ 10% (pha trong ethanol) phun đều lên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao trong vài phút cho đến khi hiện màu.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa vào phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-, ¹³C-NMR và HSQC. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được ghi trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer (Bruker, Massachusetts, Mỹ) với TMS

là chất chuẩn nội.

Các dẫn xuất methyl ester (FAME) được nhận dạng bằng cách phân tích GC-MS (Shimadzu QP2010 Plus [Cột Equity[®]-5 (Supelco) (0,25 mm x 30 m)] cùng với đầu dò khối phổ MS QP2010 Plus), so sánh dữ liệu phổ EI-MS với giá trị tương ứng đã được liệt kê trong các thư viện NIST 11, WILEY 7 [10].

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào

Phép thử này được thực hiện theo phương pháp của Skekan và cộng sự (1990). Các dòng tế bào sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: ung thư phổi ở người (SK-LU-1), ung thư tế bào gan ở người (HepG2), ung thư vú ở người (MCF-7), ung thư tế bào biểu mô tuyến giáp không biệt hoá ở người (8505c), tế bào thận gốc phôi ở người (HEK-293A). Phép thử tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD – Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB), theo phương pháp của Skehan [11], [12], [13], [14], [15]. Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn.

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Ellipticine ở các nồng độ 10 µg/mL; 2 µg/mL; 0,4 µg/mL; 0,08 µg/mL được sử dụng như là chất đối chứng tham khảo.

DMSO 1% luôn được sử dụng như đối chứng âm (nồng độ cuối cùng trong giếng thử là 0,05%). Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chiết xuất và phân lập

Thân rễ Thiên niên kiện lá lớn được rửa sạch, phơi sấy khô và xay thành bột thô (2,0 kg) và được ngâm chiết bằng MeOH (3×10 lít), cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết toàn phần (kí hiệu M, 151 g). Cao chiết này được hoà tan vào 2 lít nước cất, sau đó chiết phân bố với *n*-hexane (3×2 lít). Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết *n*-hexane (kí hiệu H, 38,9 g).

Cao chiết *n*-hexane (H) được tách thô thành 4 phân đoạn, H1-H4 bằng cột silica gel pha thường, rửa giải gradient nồng độ *n*-hexane/acetone (100:0 – 0:100, v/v). Phân đoạn H3 (17,9 g) tiếp tục phân tách bằng cột silica gel pha thường, rửa giải gradient nồng độ *n*-hexane/acetone (40:1, 25:1, 20:1, 15:1, 10:1, v/v) thu được 9 phân đoạn, H3.1-H3.9. Phân đoạn H3.2 (1 g) phân tách trên cột sắc ký pha đảo,

rửa giải bằng hệ dung môi aceton/H₂O (2:1, v/v), sau đó tiếp tục tinh chế bằng cột pha đảo với hệ dung môi MeOH/H₂O (9:1, v/v) thu được hợp chất **1** (9,1 mg) và hợp chất **2** (10,2 mg). Phân đoạn H3.5 (450mg) được tinh chế qua cột pha đảo, rửa giải bằng hệ dung môi MeOH/H₂O (3:1, v/v) thu được hợp chất **3** (17,2 mg). Phân đoạn H3.9 (1,5 g) được tinh chế trên cột sephadex LH-20, rửa giải bằng MeOH thu được 5 phân đoạn, H3.9.1-H3.9.5. Phân đoạn H3.9.2 (72,8 mg) kết tinh trong acetone thu được hợp chất **4** (10 mg).

Methanol phân đối với hợp chất 4 và phân tích GC-MS đối với các dẫn xuất methyl ester: Hợp chất **4** (1 mg) được hòa tan trong 0,2 mL toluene, thêm lần lượt 1,5 mL MeOH, 0,3 mL HCl 8% (pha trong MeOH). Sau đó, hỗn hợp được ủ qua đêm ở 45°C. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ phòng, tiếp tục thêm 1 mL *n*-hexane và 1 mL nước để chiết lấy dẫn xuất methyl ester (FAME) tạo thành. Dẫn xuất FAME được phân tích trên máy Shimadzu QP2010 Plus. Chế độ ion hóa va đập điện tử (EI) được sử dụng với năng lượng 70 eV. Khí mang He tinh khiết 99,99999% với tốc độ dòng 1,5 mL/phút. Mẫu được bơm tự động với thể tích 1 µL. Nhiệt độ buồng tiêm, giao diện MS, buồng ion hóa lần lượt là 220, 280 và 230°C. Điện thế đầu dò 0,82 kV, dải quét 15÷350 amu. Chương trình nhiệt độ lò GC: nhiệt độ đầu 80°C (giữ đẳng nhiệt trong 2 phút), tăng 10°C/phút đến 180°C (giữ đẳng nhiệt trong 2 phút), tăng 2°C/phút đến 220°C (giữ đẳng nhiệt trong 5 phút), tăng 5°C/phút đến 240°C (giữ đẳng nhiệt trong 5 phút). Việc nhận dạng các hợp chất được thực hiện bằng cách so sánh dữ kiện phổ EI-MS của chúng với giá trị tương ứng đã được liệt kê trong các thư viện NIST 11, WILEY 7.

3.2. Xác định cấu trúc

Chất số **1** là chất bột, màu trắng, tan tốt trong CH₂Cl₂. Phổ ¹H NMR của **1** đo trong CDCl₃ chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin được ghi nhận tại [δH 5,50 (1H, brs)]; 2 nhóm CH₃ singlet tại δH 1,67 và 1,10; 2 nhóm CH₃ doublet tại δH 0,93 (3H, d, *J* = 7,2 Hz) và 0,76 (3H, d, *J* = 7,2 Hz). Các tín hiệu cộng hưởng của các nhóm Csp³-H và Csp³-H₂ khác phân bố trong khoảng 1,0 – 2,2 ppm.

Phổ ¹³C NMR kết hợp với HSQC cho biết hợp chất **1** có 15 carbon, các tín hiệu này được phân loại thành 4 nhóm CH₃ (δC 23,8; 21,5; 20,8; 15,1), 4 nhóm CH₂ (δC 42,2; 31,0; 22,7; 22,0), 5 nhóm CH (δC 122,4 (sp²); 50,1; 46,7; 39,9 và 26,0) và 2 carbon không mang hydro δC [135,0 (sp²); 72,5 (sp³-O)]. Tín hiệu của một liên kết đôi ba lần thể hiện tại δC/δH 135,0 (C); 122,4 5,50 (CH). Tín hiệu của Csp³ mang oxy tại δC 72,5. Tiếp tục đối chiếu với dữ liệu 1D-NMR của **1** và chất tham khảo [16] cho phép kết

luận **1** là α-cadinol.

Bảng 1. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** và hợp chất tham khảo [δ (ppm), *J* (Hz)]

C	δ _C ^a	δ _C ^{a, b}	δ _H ^{a, c} (<i>J</i> , Hz)
1	50,0	50,1	1,21 m
2	31,0	31,0	2,01 m/1,96 m
3	22,7	22,7	2,01 m/1,22m
4	134,9	135,0	-
5	122,3	122,4	5,50 s
6	39,9	39,9	1,71 m
7	46,8	46,7	1,04 m
8	22,0	22,0	1,61 m/1,12 m
9	42,2	42,2	1,80 dt (12,0; 3,6)/ 1,42 td (12,0; 4,2)
10	72,9	72,5	-
11	26,0	26,0	2,16 m
12	23,3	23,8	1,67 s
13	21,5	21,5	0,93 d (7,2)
14	20,8	20,8	1,10 s
15	15,2	15,1	0,76 d (7,2)

^a δ_C của α-cadinol [16], ^a đo trong CDCl₃, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz.

Chất số **2** là chất bột màu trắng, tan tốt trong CH₂Cl₂. Phổ ¹H-NMR cho thấy tín hiệu đặc trưng của 1 proton thuộc nhóm oxymethine tại δH 3,34 (1H, d, *J* = 2,0 Hz), 4 nhóm methyl lần lượt tại δH 1,43 (3H, s); 1,11 (3H, s); 0,98 (3H, d, *J* = 6,0 Hz) và 0,92 (3H, d, *J* = 6,0 Hz). Từ phổ ¹³C-NMR có thể suy ra **2** thuộc nhóm sesquiterpenoid với 15 carbon (chủ yếu tập trung ở vùng trường cao). Dữ kiện phổ HSQC cho phép nhóm các tín hiệu này thành 4 CH₃ (δC 26,7; 21,6; 21,4 và 19,9); 4 CH₂ (sp³) (δC 35,7; 33,0; 30,9 và 30,3); 4 CH (sp³) (δC 88,0; 57,6; 53,6 và 34,2) và 3 C (sp³) (δC 105,9; 69,9 và 54,4). Đặc biệt, tín hiệu C (sp³) tại δC 105,9 được suy đoán cho carbon mang 2 oxy (acetal/hemiacetal); tín hiệu δC 88,0 và 69,9 thuộc về các C (sp³) mang oxy. Các lập luận trên phối hợp với việc đối chiếu các dữ kiện phổ của chất tham khảo [17] cho phép xác định **2** là homalomenol C.

Chất số **3** được tách ở dạng bột, màu trắng, tan tốt trong CH₂Cl₂. Phổ ¹H NMR của hợp chất này chỉ ra các tín hiệu của 3 proton olefin được ghi nhận tại [δ_H 5,55 (1H, dt, *J* = 17,0; 10,5 Hz); 5,18 (1H, dd, *J* = 10,5; 2,5 Hz) và 5,15 (1H, dd, *J* = 17,0; 2,5 Hz)]. Ở vùng từ trường cao, xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 4 nhóm methyl gồm 2 nhóm methyl singlet [δ_H 2,08 và 1,14], 2 nhóm methyl doublet [δ_H 0,92 và 0,75 (d, *J* = 6,5

Hz)]. Căn cứ vào độ dịch chuyển hóa học có thể quy kết tín hiệu tại δ_H 2,08 là của acetylmethyl.

Phổ ^{13}C NMR kết hợp với HSQC cho biết hợp chất **3** thể hiện tín hiệu của 15 carbon, các tín hiệu này được phân loại thành 4 nhóm CH_3 (δ_C 30,6; 22,3; 21,9 và 15,3), 4 nhóm CH_2 (δ_C 119,7; 46,6; 39,6 và 21,2), 5 nhóm CH (δ_C 138,4; 60,6; 46,8; 35,7 và 27,7) và 2 carbon không mang hydro (207,9; 71,6). Dựa vào giá trị δ_C có thể gán tín hiệu δ_C 207,9 cho

nhóm cacbonyl; tín hiệu tại δ_C 71,6 cho C_{sp^3} mang oxy. Trong khi đó tín hiệu tại δ_C/δ_H 138,4/5,55; 119,7/5,18 và 5,15 đề nghị sự hiện diện của vinyl trong phân tử các giá trị J_{trans} (17,0 Hz); J_{cis} (10,5 Hz); J_{gem} (2,5 Hz) củng cố thêm lập luận trên các dữ liệu phổ 1D-NMR gợi ý **3** là một sesquiterpenoid chứa 1 nhóm acetyl; 1 nhóm vinyl và 1 carbon bậc 3 mang oxy. Tiếp tục đối chiếu với chất tham khảo [18] cho phép kết luận **3** là taiwaninone A.

Bảng 2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2, 3 và hợp chất tham khảo [δ (ppm), J (Hz)]

C	2			C	3		
	$\delta_C^{s,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)		$\delta_C^{s,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	54,4	54,4	-	1	60,6	60,6	1,88 m
2	105,9	105,9	-	2	138,3	138,4	5,55 td (17,0; 10,5)
3	30,8	30,9	1,87m/1,74 m	3	119,6	119,7	5,18 dd (10,5; 2,5)/ 5,15 dd (17,0; 2,5)
4	32,9	33,0	1,72m/1,65m	4	207,9	207,9	-
5	69,9	69,9	-	5	46,5	46,6	2,40 dd (13,0; 4,0)/ 2,35 d(5,5)
6	88,0	88,0	3,34 d (2,0)	6	35,6	35,7	1,99 dd (9,0; 4,0)
7	53,6	53,6	1,98 d (6,5)	7	46,7	46,8	1,12 m
8	57,5	57,6	1,53 m	8	21,1	21,2	1,61m/1,13 m
9	30,3	30,3	1,80m/1,29m	9	39,5	39,6	1,80m/1,43 m
10	35,6	35,7	1,74m/1,28m	10	71,5	71,6	-
11	19,9	19,9	1,11 s	11	27,7	27,7	1,69 m
12	26,6	26,7	1,43 s	12	15,3	15,3	0,75 d (6,5)
13	34,1	34,2	1,53 m	13	21,8	21,9	0,92 d (6,5)
14	21,4	21,4	0,92 d (6,0)	14	22,2	22,3	1,14 s
15	21,5	21,6	0,98 d (6,0)	15	30,6	30,6	2,08 s

δ_C^s của homalomenol C [17], δ_C^a của taiwaninone A [18], a đo trong CDCl_3 , b 125 MHz, c 500 MHz.

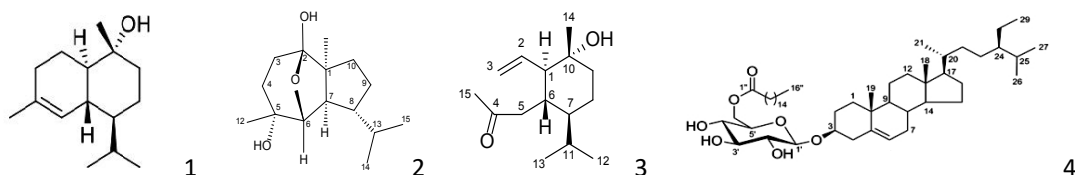
Hợp chất 4 được tách ra ở dạng dầu không màu. Phổ ^1H -NMR chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của khung steroid gồm 1 proton olefin [δ_H 5,37 (1H, m, H-6)], 2 nhóm methyl bậc ba [δ_H 0,68 (s, H_3 -18), 1,01 (s, H_3 -19)], 3 nhóm methyl bậc hai [δ_H 0,82 (d, J = 7,2 Hz, H_3 -27), 0,85 (d, J = 7,2 Hz, H_3 -26), 0,92 (d, J = 6,0 Hz, H_3 -21)] và 1 nhóm methyl bậc một [δ_H 0,85 (t, J = 7,2 Hz, H_3 -29)]. Ngoài ra, phổ ^1H -NMR còn cho thấy tín hiệu cộng hưởng của proton anomer của hợp phần β -monosaccharide tại δ_H 4,38 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-1') và các tín hiệu của hợp phần acid béo bão hòa [δ_H 2,35 (2H, t, J = 7,2 Hz), 1,25 (m) và 0,88 (3H, t, J = 6,6 Hz, H_3 -16'')]. Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu của 1 carbon carbonyl [δ_C 174,7 (C-1'')], 2 carbon olefin [δ_C 140,3 (C-5) và 122,2 (C-6)], 6 carbon của hợp phần β -glucopyranosyl [δ_C 101,2 (C-1'), 76,0

(C-3'), 74,0 (C-5'), 73,6 (C-2'), 70,1 (C-4'), 63,2 (C-6')], 1 carbon oxymethine [δ_C 79,6 (C-3)] và nhiều carbon sp^3 của khung steroid và acid béo (δ_C 11,9-56,8) (Bảng 2). Các kết quả phân tích trên cho phép dự đoán hợp chất 4 là một ester của acid béo với steroid glucoside. Đặc biệt, sự chuyển dịch mạnh về phía trường thấp của proton oxymethylene H-6' (δ_H 4,48, 4,27) so với proton anomer (δ_H 4,38) gợi ý rằng vị trí ester hóa xảy ra tại C-6'. Tiếp đó, hợp phần acid béo được xác định là palmitoyl với thời gian lưu của dẫn xuất methyl ester tương ứng là 21,1 phút trên sắc ký đồ GC-MS. Kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [19] cho phép khẳng định 4 là β -sitosteryl-3 β -glucopyranoside-6'-O-palmitate (còn gọi là sitoindoside I).

Bảng 3. Số liệu phổ NMR của hợp chất 4 (đo trong CDCl₃) và chất tham khảo [δ (ppm), J (Hz)]

C	$\delta_c^{\#}$	δ_c^a	δ_H^b	C	$\delta_c^{\#}$	δ_c^a	δ_H^b
1	37,3	37,3	1,85*, 1,05*	22	34,0	34,0	1,32*, 1,01*
2	29,2-29,7	29,2-29,7	1,93 m, 1,61*	23	26,1	26,2	1,18*
3	79,6	79,6	3,54 m	24	45,9	45,9	0,92*
4	38,9	38,9	2,36*, 2,27 m	25	29,2	29,2	1,65 m
5	140,3	140,3	—	26	19,0	19,0	0,85 d (7,2)
6	122,2	122,2	5,37 m	27	19,8	19,8	0,82 d (7,2)
7	31,9	31,9	1,97*, 1,93*	28	23,1	23,1	1,21*
8	31,9	32,0	1,43 m	29	12,0	12,0	0,85 t (7,2)
9	50,2	50,2	0,91*	1'	101,2	101,2	4,38 d (7,8)
10	36,7	36,8	—	2'	73,6	73,6	3,34 dd (9,0, 7,8)
11	21,1	21,1	1,48 m	3'	76,0	76,0	3,57 dd (9,0, 9,0)
12	39,8	39,8	2,0*, 1,16*	4'	70,1	70,1	3,36 dd (9,0, 9,0)
13	42,3	42,4	—	5'	74,0	74,0	3,45 m
14	56,8	56,8	0,98*	6'	63,2	63,2	4,48 m; 4,27 d (12,6)
15	24,3	24,3	1,57 m, 1,08*	1"	174,7	174,7	—
16	28,3	28,3	1,85*, 1,26*	2"	34,2	34,3	2,35 t (7,2)
17	56,1	56,1	1,10*	3"	25,0	25,0	1,62 m
18	11,9	11,9	0,68 s	4"-13"	29,2-29,7	29,2-29,7	1,25*
19	19,4	19,4	1,01 s	14"	31,9	32,0	1,25*
20	36,1	36,2	1,36*	15"	22,7	22,7	1,25*
21	18,8	18,8	0,92 d (6,0)	16"	14,1	14,1	0,88 t (6,6)

$\delta_c^{\#}$ của sitoindoside I [19], a 150MHz, b 600MHz, *tín hiệu chập



Hình 1. Cấu trúc hoá học của các hợp chất (1-4) từ cây Thiên niên kiện lá lớn

3.3. Đánh giá tác dụng gây độc tế bào:

Bốn hợp chất phân lập được đã được tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên năm dòng tế bào ung thư người, sử dụng chứng dương là Ellipticine. Trong 4 này, homalomenol C và taiwaninone A chưa thể hiện hoạt tính ở mô hình thí nghiệm. Hai chất α -cadinol và sitoindoside I thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư ở các mức độ khác nhau, kết quả được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Hoạt tính gây độc tế bào của các chất 1-4

Hợp chất	Độc tính gây độc tế bào <i>in vitro</i> IC ₅₀ (μ M)				
	SK-LU-1	MCF7	Hep G2	8505c	HEK-293A
1	97,75 \pm 4,38	-	-	-	92,52 \pm 2,80
4	44,05 \pm 1,91	48,97 \pm 3,93	60,64 \pm 2,18	48,15 \pm 5,51	57,22 \pm 5,20
Ellipticine	1,79 \pm 0,02	2,15 \pm 0,04	2,27 \pm 0,05	1,71 \pm 0,05	1,66 \pm 0,03

(-): không thể hiện hoạt tính.

Kết quả cho thấy, hợp chất số **1** thể hiện khả năng ức chế trên chủng SK-LU-1 và HEK-293A với giá trị IC_{50} lần lượt là $97,75 \pm 4,38 \mu M$ và $92,52 \pm 2,80 \mu M$. Trong khi đó, hợp chất **4** thể hiện hoạt tính trên cả 5 dòng nghiên cứu là SK-LU-1, MCF7, Hep G2, 8505c và HEK-293A với IC_{50} lần lượt là $44,05 \pm 1,91 \mu M$; $48,97 \pm 3,93 \mu M$; $60,64 \pm 2,18 \mu M$; $48,15 \pm 5,51 \mu M$ và $57,22 \pm 5,20 \mu M$. Chứng dương Ellipticine hoạt động ổn định trong điều kiện thí nghiệm.

Đây là công bố đầu tiên về hoạt tính chống ung thư của các hợp chất phân lập từ cây Thiên niên kiện lá lớn.

4. BÀN LUẬN

Từ dịch chiết phân đoạn *n*-hexane của cây Thiên niên kiện lá lớn đã phân lập được 4 hợp chất tinh khiết. Cấu trúc của các hợp chất này được thiết lập dựa vào việc phân tích dữ liệu phổ 1H -, ^{13}C -NMR và HSQC kết hợp so sánh với dữ kiện phổ của chất tham khảo.

Trong số 4 hợp chất được phân lập, 2 hợp chất α -cadinol và sitoindoside I thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư ở mức độ trung bình trên nhiều dòng khác nhau với IC_{50} trong khoảng $44,05 \mu M$ đến $97,75 \mu M$. Các hợp chất này đã được báo cáo một số hoạt tính sinh học khác trong các nghiên cứu trước đây.

Taiwaninone A là một sesquiterpenoid có cấu trúc khung 3,4-secocadinane, được phân lập lần đầu tiên từ loài *Taiwania cryptomerioides* [18]. Taiwaninone A đã được báo cáo có hoạt tính chống viêm trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi [20].

Hợp chất homalomenol C lần đầu tiên được phân lập và xác định cấu trúc ở loài *H. aromatica* [17]. Hợp chất này thể hiện hoạt tính kháng sốt rét mạnh mẽ thông qua kháng chủng *P. falciparum* kháng chloroquine với giá trị $IC_{50} = 4,7 \mu M$ và không gây độc tế bào dòng tế bào lưỡng bội phổi MRC-5 của người [21]. Bên cạnh đó, ở nồng độ $2,5 \times 10^{-4}$ mol/l homalomenol C có khả năng kích thích điển hình sự khoáng hóa, sự tăng sinh và biệt hóa của các nguyên bào xương nuôi cấy [22].

Theo nghiên cứu Jyoti Tripathi, α -cadinol có ái lực liên kết cao với vị trí hoạt động của enzym chuyển đổi angiotensin (ACE) trên mô hình *in silico* [23]. ACE liên quan đến sự hình thành angiotensin II từ angiotensin I, khiến các mạch máu bị nghẽn, dẫn đến tăng huyết áp. Do đó, mô hình nghiên cứu *in silico* này cho thấy α -cadinol có thể là một ứng viên

tiềm năng phát triển thuốc ức chế men chuyển, hỗ trợ điều trị bệnh tăng huyết áp. Ngoài ra, α -cadinol còn thể hiện khả năng bảo vệ gan mạnh mẽ, chống lại tổn thương gan do LPS/d-GalN gây ra ở chuột [24]. α -cadinol thể hiện tác dụng gây độc tế bào trên một số dòng như ung thư ruột kết (A-549), MCF-7 [25], ung thư miệng (OEC-M1), ung thư biểu mô tế bào gan (J5), khối u ác tính ở người (UACC-62), bệnh bạch cầu ở người (K562) [26]. Đặc biệt, α -cadinol có tác dụng ức chế chọn lọc đối với ung thư biểu mô tuyến đại tràng ở người (HT-29) với giá trị ED_{50} là $7,78 \cdot 10^{-1} \mu g/ml$ [25]. α -cadinol có tác dụng kháng một số vi khuẩn, vi nấm như *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Candida albicans* [26].

Sitoindoside I là một dẫn xuất của β -sitosterol có liên kết đường glucose và palmitat tại vị trí C3 và C1. Cấu trúc này có liên quan đến khả năng cải thiện tình trạng viêm, tổn thương do virus, loét, chống ung thư cũng như tăng cường hệ thống miễn dịch [27]. Tầm quan trọng của sitoindoside I trong điều hoà miễn dịch đã được chứng minh do có khả năng điều chỉnh hoạt động của tế bào T giúp đỡ [28]. Sitoindoside I có tác dụng chống viêm tốt hơn so với sitoindoside, có thể giải thích do glucose và acid palmitic đã tăng cường hoạt động chống viêm của sitoindoside I [29].

5. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 4 hợp chất gồm 1 steroid (sitoindoside I) và 3 sesquiterpenoid (α -cadinol, homalomenol C, taiwaninone A) từ thân rễ cây thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) thu hái tại Lâm Đồng. Đồng thời, hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được đã được báo cáo. Đây là thông báo đầu tiên về hoạt tính gây độc tế bào của các chất phân lập được cũng như là hoạt tính gây độc tế bào của loài thiên niên kiện lá lớn.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Đại học Huế (Mã số đề tài: DHH2022-04-165) và Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (Nguyễn Khánh Thuỳ Linh được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2022.TS163)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ye J, Yin P, Xiao MT. New aromatic compounds from the rhizomes of *Homalomena occulta*. *Phytochemistry Lett.* 2017; 21:57-60. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2017.05.021>
2. <http://www.theplantlist.org/browse/A/Araceae/Homalomena/> (truy cập ngày 21.03.2023)
3. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học Hà Nội. 2012:872-873.
4. Kar A. and Borthakur S. Wild vegetables of Karbi - Anglong district, Assam. *Indian J Nat Prod Resour.* 2008; 7(5), 448-460.
5. Jun-Li Yang, Trong Tuan Dao, Tran Thi Hien, Ya-Min Zhao, Yan-Ping Shi. Further sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena occulta* and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 2019; 29(10): 1162-1167. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.03.031>
6. Van HT, Le NT, Huynh NTA, Vo HS, Le TT, Chu VH, Truong HAV, Nguyen QH. Chemical composition and antibacterial activities of essential oils from rhizomes and aerial parts of *Homalomena cochinchinensis* (Araceae). *Natural Product Reports.* 2022; 36(12):1-4. doi: 10.1080/14786419.2021.1939333.
7. Wong KC, Hamid A, Eldeen IM, Asmawi MZ, Baharuddin S, Abdillahi HS, Van Staden J. A new sesquiterpenoid from the rhizomes of *Homalomena sagittifolia*. *Nat Prod Res.* 2012; 26(9):850-858. doi: 10.1080/14786419.2010.551770
8. Sánchez LA, Olmedo D, López-Pérez JL, Williams TD, Gupta MP. Two new alkylresorcinols from *Homalomena wendlandii* and their cytotoxic activity. *Nat Prod Commun.* 2012; 7(8):1043-1046. doi: 10.1177/1934578X1200700820
9. Viện Dược liệu. *Danh mục cây thuốc Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 2016.
10. Ken'ichi Ichihara, Yumeto Fukubayashi. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J Lipid Res.* 2010; 51(3):635-40. doi: 10.1194/jlr.D001065.
11. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, Boyd MR. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer research.* 1988; 48(3):589-601.
12. Hughes JP, Rees S, Kalindjian SB, Philpott KL. Principles of early drug discovery. *British journal of pharmacology.* 2011; 162(6):1239-1249. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x
13. Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, Hose C, Langley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Institute.* 1991; 83(11):757-766. <https://doi.org/10.1093/jnci/83.11.757>
14. Shoemaker RH, Scudiero DA, Melillo G, Currens MJ, Monks AP, Rabow AA, Covell DG, Sausville EA. Application of high-throughput, molecular-targeted screening to anticancer drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry.* 2002; 2(3):229-246. DOI: 10.2174/1568026023394317
15. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute.* 1990; 82(13):1107-1112. DOI: 10.1093/jnci/82.13.1107
16. Herz W, Watanabe K. Sesquiterpene alcohols and triterpenoids from *Liatris microcephala*. *Phytochemistry.* 1983;22(6):1457-1459. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84035-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84035-2)
17. Sung TV, Kutschabsky L, Porzel A, Steglich W, Adam G. Sesquiterpenes from the roots of *Homalomena aromatica*. *Phytochemistry.* 1992; 31(5):1659-1661. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83123-G](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83123-G)
18. Kuo YH, Chyu CF. Two novel sesquiterpenes from the roots of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Tetrahedron Lett.* 2003; 44(38):7221-7223. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(03\)01742-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(03)01742-8)
19. Pham TT, Nguyen AD, Tran HG, Vu TKO, Nguyen TMH, Tran TH, Le NT, Doan TMH, Pham VC. Preliminary study on the chemical constituents of the leaves of *Macaranga balansae* Gagnep. *Vietnam Journal of Chemistry.* 2018; 56(5):632-636. <https://doi.org/10.1002/vjch.201800061>.
20. Nguyen KTL, Hoang TNH, Do TT, Tran TVA, Nguyen TH, Ho VD. Sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena pendula* and their anti-inflammatory activities. *Natural Product Research.* 2022; 25:1-9. doi: 10.1080/14786419.2022.2056182.
21. Henchiri, H. et al. Sesquiterpenoids from *Teucrium ramosissimum*. *Phytochemistry.* 2009; 70(11-12):1435-1441. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.08.012
22. Hu, Y.M. et al. Sesquiterpenoids from *Homalomena occulta* affect osteoblast proliferation, differentiation and mineralization *in vitro*. *Phytochemistry.* 2008; 69(12):2367-2373. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.05.023
23. Tripathi J, Gupta S, Gautam S. Alpha-cadinol as a potential ACE-inhibitory volatile compound identified from *Phaseolus vulgaris* L. through *in vitro* and *in silico* analysis. *J Biomol Struct Dyn.* 2022:1-15. doi:10.1080/07

391102.2022.2057359

24. Tung YT, Huang CC, Ho ST, et al. Bioactive Phytochemicals of Leaf Essential Oils of *Cinnamomum osmophloeum* Prevent Lipopolysaccharide/d-Galactosamine (LPS/d-GalN)-Induced Acute Hepatitis in Mice. *J Agric Food Chem*. 2011; 59(15):8117-8123. doi:10.1021/jf2018935

25. He K, Zeng L, Shi G, Zhao GX, Kozlowski JF, McLaughlin JL. Bioactive compounds from *Taiwania cryptomerioides*. *J Nat Prod*. 1997; 60(1):38-40. doi:10.1021/np960513c

26. Su YC, Ho CL. Composition, *in-vitro* Anticancer, and Antimicrobial Activities of the Leaf Essential Oil of *Machilus mushaensis* from Taiwan. *Nat Prod Commun*. 2013; 8(2):1934578X1300800236. doi:10.1177/1934578X1300800236

27. Saeidnia S, Manayi A, Gohari A, Abdollahi M. The Story of Beta-sitosterol- A Review. *Eur J Med Plants*. 2014; 4:590-609. doi:10.9734/EJMP/2014/7764

28. Bouic PJD, Etsebeth S, Liebenberg RW, Albrecht CF, Pegel K, Van Jaarsveld PP. Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *Int J Immunopharmacol*. 1996; 18(12):693-700. doi:10.1016/S0192-0561(97)85551-8

29. Hernández-Valle E, Lucila M, Salgado G, et al. Anti-Inflammatory Effect of 3-O-[(6'-O-Palmitoyl)- β -D-glucopyranosyl Sitosterol] from *Agave angustifolia* on Ear Edema in Mice. *Mol Basel Switz*. 2014; 19:15624-15637. doi:10.3390/molecules191015624