

ACID BETULINIC – HỢP CHẤT CÓ NHIỀU TRIỂN VỌNG TRONG Y HỌC

Nguyễn Thị Hoài - Lê Thị Ni Na
Khoa Dược – Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Acid betulinic là hợp chất có nguồn gốc từ dược liệu đang thu hút sự chú ý của các nhà khoa học với nhiều hoạt tính sinh học quan trọng. Tổng hợp các công trình nghiên cứu cho thấy hợp chất này và một số dẫn chất của nó có tác dụng tốt trên nhiều thử nghiệm in vitro và in vivo trong điều trị ung thư, HIV, sốt rét và đái tháo đường typ II. Sự thay đổi cấu trúc dựa trên các triterpen tự nhiên cũng được chú ý với mong muốn tìm được những hợp chất có tác dụng mạnh hơn và an toàn hơn.

Abstract

BETULINIC ACID, A SUBSTANCE MUCH PROSPECTS IN MEDICINE

Nguyen Thi Hoai - Le Thi Ni Na

Betulinic acid compounds derived from medicinal plants are attracting the attention of scientists with many important biological activities. Summary of the study showed that this compound and some of its derivatives work well in various in vitro and in vivo in the treatment of cancer, HIV, malaria and diabetes type II. The structural changes based on natural triterpen also noted the desire to find compounds that have powerful effects and safety.

1. MỞ ĐẦU

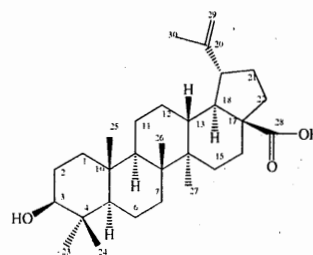
Các hợp chất triterpen năm vòng được chiết xuất phân lập từ dược liệu trong thời gian gần đây thu hút nhiều sự chú ý của các nhà khoa học bởi nhiều hoạt tính sinh học có giá trị [8]. Acid betulinic (acid (3 β)-3-hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic) là một trong những đại diện nổi bật của lớp các hợp chất tự nhiên này. Acid betulinic đã được biết có tác dụng chống viêm, chống loét dạ dày, chống sốt rét, bảo vệ gan, tăng cường miễn dịch, chống đái tháo đường,... và nay hợp chất này đã được chứng minh có tác dụng chống ung thư và HIV. Các nghiên cứu cho thấy acid betulinic có tác dụng chống ung thư một cách chọn lọc, nó kìm hãm sự phát triển của các dòng tế bào khối u mà không ảnh hưởng trên tế bào bình thường. Tác dụng chống HIV được giải thích theo cơ chế ức chế sự trưởng thành của virus. Hợp chất này phân bố trong một số loài thực vật với hàm lượng khá cao đã đưa đến hứa hẹn đây

sẽ là một tác nhân mới trong điều trị các bệnh hiểm nghèo như ung thư, HIV [8].

2. VÀI NÉT VỀ ACID BETULINIC

2.1. Công thức và tính chất hóa học

Acid betulinic là một triterpen 5 vòng thuộc nhóm lupan, danh pháp IUPAC: acid (3 β)-3-hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic; ở dạng bột màu trắng, công thức phân tử $C_{30}H_{48}O_3$, khối lượng phân tử 456,7, nhiệt độ nóng chảy 316-318 $^{\circ}$



Công thức acid betulinic.

2.2. Phân bố acid betulinic trong tự nhiên

Acid betulinic phân bố rộng rãi trong thực vật, ở một số loài có hàm lượng tương đối cao. Điển

hình là công bố của G. Pavanadasivam và một số tác giả khác [8], [14], [18] với 34 loài thuộc 26 họ có chứa acid betulinic, đồng thời đánh giá hàm lượng của hợp chất này ở các bộ phận khác nhau trong mỗi loài. Kết quả cho thấy có 11 loài có hàm lượng acid betulinic $> 1\%$, các loài còn lại có hàm lượng từ $0.006 - 0.8\%$.

3. TÁC DỤNG CHỐNG UNG THƯ

Ung thư vẫn là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu. Theo WHO, năm 2004, ung thư gây tử vong khoảng 7.4 triệu người trên thế giới, và khoảng 7.6 triệu người năm 2007. Theo dự báo đến năm 2030, số người chết vì ung thư hàng năm khoảng 12 triệu người [13]. Tỷ lệ chết do ung thư ở Việt Nam cũng rất cao. Sự gia tăng nhanh chóng căn bệnh ung thư đang là một cuộc khủng hoảng thực sự cho sức khỏe cộng đồng và hệ thống y tế trên toàn thế giới. Con người đã, đang tìm cách phòng và chữa trị nó. Tuy nhiên, sau nhiều thập kỷ nghiên cứu thuốc và phương pháp chữa trị mà vẫn chưa có nhiều kết quả, việc điều trị ung thư vẫn đang là một thách thức.

Có nhiều phương pháp để điều trị bệnh ung thư, gồm có phẫu thuật, vật lý trị liệu (xạ trị liệu), hóa trị liệu (dùng thuốc điều trị ung thư), tăng cường miễn dịch (miễn dịch trị liệu), vaccine ... Mặc dù hóa trị liệu điều trị ung thư gây ra tác dụng phụ và kháng thuốc, song vẫn được công nhận là sự lựa chọn đầu tiên để điều trị nhiều bệnh ung thư [13]. Hóa chất chống ung thư đều là những chất gây độc tế bào, điều trị hóa chất dựa trên sự đáp ứng khác biệt nhau giữa tế bào ung thư và tế bào lành [1].

Các nghiên cứu gần đây cho thấy thực vật là nguồn nguyên liệu tiềm năng có giá trị cho việc khám phá và phát triển các hợp chất mới điều trị ung thư. Một lớp các hợp chất tự nhiên hứa hẹn tác dụng này là các triterpen. Và hiện nay acid betulinic đang là một phát hiện nổi bật với rất nhiều nghiên cứu đã được tiến hành để đánh giá tác dụng chống ung thư và giải

thích cơ chế hoạt động của nó.

Năm 1995, Emily Pisha và cộng sự [5] là những người đầu tiên tìm ra tác dụng chống ung thư chọn lọc của acid betulinic trên các tế bào melanoma (tế bào u hắc tố) của người. Các nghiên cứu tiếp theo cho thấy betulinic còn tác động đối với tế bào neuroectodermal (tế bào thần kinh - ngoại bì) và tế bào khối u não, được biết liên quan đến apoptosis bằng con đường ty thể [7]. Hợp chất này trực tiếp gây ra tính thấm của màng ty thể và giải phóng cytochrome C độc lập với BAX/BAK [14]. Với cơ chế điều tiết các tín hiệu của apoptosis, acid betulinic được xem xét như một phương án thay thế đầy hứa hẹn nhằm tiêu diệt tế bào ung thư [6].

Năm 2001, trong nghiên cứu của Supino và Zuco [21], tác dụng của acid betulinic được khảo sát cả trong thử nghiệm invitro và invivo. Kết quả cho thấy acid betulinic có tác dụng tốt trong điều trị các dòng tế bào ung thư bao gồm tế bào u hắc tố melanoma; ung thư buồng trứng và ung thư cổ tử cung. Cũng trong nghiên cứu này, acid betulinic được so sánh với thuốc điều trị ung thư thông thường là Doxorubicin. Một điều thú vị là, trong khi Doxorubicin gây độc cho tế bào u ác tính và tế bào bình thường với cùng nồng độ thì acid betulinic chỉ có ảnh hưởng rất thấp hoặc không ảnh hưởng đến việc chống tăng sinh ở tế bào không có khối u, cụ thể ở tế bào PBL (nguyên bào lympho máu ngoại vi) với giá trị IC_{50} (đánh giá khả năng ức chế hóa sinh) của betulinic là $> 50\mu\text{g/ml}$, trong khi đó IC_{50} của Doxorubicin là $0.02 \pm 0.002\mu\text{g/ml}$, nghĩa là phải ở nồng độ rất lớn so với Doxorubicin, acid betulinic mới gây độc cho tế bào bình thường.

Ngoài ra, acid betulinic cũng được chứng minh có khả năng dung nạp tốt ở chuột đến liều 500mg/kg mà không gây độc tính [5], [14].

Các nhà khoa học trên thế giới đã và đang nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất acid betulinic có hoạt tính mạnh hơn với hy vọng có thể mang lại những ứng dụng mới trong y

học [16]. Những nghiên cứu trên cho thấy acid betulinic là hợp chất mang lại hy vọng mới trong phát triển thành thuốc điều trị ung thư trong tương lai.

4. TÁC DỤNG CHỐNG HIV

Sự gia tăng nhanh chóng về số người nhiễm HIV trên toàn thế giới với khoảng 2.7 triệu người nhiễm HIV và 2 triệu người chết vì AIDS mỗi năm. Ước tính vào cuối năm 2008 khoảng 33.2 triệu người đã bị nhiễm HIV và hàng ngàn ca nhiễm mới mỗi ngày, đây đang là mối hiểm họa đối với toàn nhân loại. Dịch bệnh làm gia tăng sự nghèo đói, tác động không nhỏ đến tình hình kinh tế, chính trị và xã hội đối với nhiều quốc gia trên thế giới trong đó có Việt Nam. Việc nghiên cứu thuốc và vaccin phòng chống HIV đang là vấn đề được cả thế giới quan tâm, tuy nhiên vẫn chưa nhận được các kết quả như mong đợi [15].

Nhiều nghiên cứu cho thấy các hợp chất chiết xuất từ thực vật dùng trong hóa trị liệu chống HIV đang được chú ý. Các thành phần được phân lập và đánh giá hoạt tính sinh học như: alcaloid, carbohydrat, coumarin, flavonoid, lignan, phenolic, protein, quinon, xanthon, tannin và terpen [3]. Các triterpen chống HIV được phân thành năm loại, nhiều loại trong đó đã được xác định cơ chế hoạt động như ức chế quá trình xâm nhập (bằng cách ngăn chặn xâm nhập của virus qua màng tế bào), ức chế men sao chép ngược, ức chế protease và ức chế sự trưởng thành của virus [9].

Thời gian gần đây đã có nhiều tiến bộ trong điều trị HIV, đặc biệt là liệu pháp HAART (liệu pháp chống virus hoạt tính cao) đã góp phần quan trọng trong điều trị HIV, nhưng những vấn đề như khả năng dung nạp, tương tác thuốc và kháng chéo giữa các thuốc trong cùng một nhóm vẫn là rào cản đáng kể để đạt được thành công trong điều trị lâu dài. Một nghiên cứu cho thấy 25% các bệnh nhân mới nhiễm HIV đề kháng

với ít nhất một ART (antiretroviral therapy) [15]. Do sự phát triển nhanh chóng của các chủng đề kháng thuốc, việc nghiên cứu các hoạt chất chống HIV theo cơ chế mới là cần thiết. Với số lượng rất lớn cũng như sự đa dạng trong cấu trúc của các thành phần có trong thực vật thì việc nghiên cứu khám phá các hợp chất kháng virus mới là thực sự cần thiết. Trong đó acid betulinic nổi bật là đại diện cho một trong những tác nhân chống HIV theo cơ chế mới.

Nghiên cứu của Andros Theo và Tracy Macsebe [19] đã chỉ ra rằng acid betulinic có tác dụng ức chế virus nhận diện coreceptor CCR5 và virus nhận diện coreceptor CXCR4. Như vậy đây là một chất ức chế tiềm năng chống lại các chủng virus HIV khác nhau với giá trị IC_{50} (CXCR4) là $0.04\mu\text{g/ml}$ và IC_{50} (CCR5) là $0.002\mu\text{g/ml}$. Cơ chế hoạt động của acid betulinic được giải thích như một chất ức chế sự trưởng thành của virus HIV. Điều này được làm rõ hơn qua nghiên cứu bevirimat (3-O-(39.39-dimethylsuccinyl) betulinic acid) một dẫn xuất của acid belutinic. Hiện nay, các thuốc chống HIV phân tử nhỏ (small molecule antiretroviral drug) ức chế sự nhân lên của virus hướng đến các enzyme là men sao chép ngược, protease, integrase hoặc các coreceptor của virus (CXCR4 và CCR5). Nhưng bevirimat không ức chế sự nhân lên của virus thông qua enzyme hay coreceptor mà theo Zhuo và cộng sự (2004) [20] bevirimat làm gián đoạn sự trưởng thành của virus HIV ở giai đoạn cuối, tác động vào protein GAG - một trong ba gen cấu trúc của sợi ARN trong cấu trúc lõi virus, làm ức chế sự nhân lên của virus HIV. Do đó hợp chất này đưa đến một liệu pháp hứa hẹn, giảm thiểu các tác dụng phụ về mặt tế bào. Đây được coi là đại diện đầu tiên trong các hợp chất chống HIV theo cơ chế ức chế sự trưởng thành của virus [12]. Và quan trọng là, bevirimat có khả năng chống lại các chủng virus khác nhau

đã đề kháng với các thuốc chống HIV đang dùng như AZT (NRTI), nevirapine (NNRTI) và indinavir (PI). Như vậy các nghiên cứu cho thấy acid betulinic và một số dẫn xuất của nó có thể được sử dụng như một liệu pháp trị liệu hứa hẹn đối với HIV.

5. CÁC TÁC DỤNG KHÁC

Acid betulinic không chỉ được quan tâm với các hoạt tính chống ung thư, kháng HIV mà còn được xem như một ứng cử viên cho việc phát triển thuốc điều trị sốt rét mới. Sốt rét là một trong những bệnh truyền nhiễm phổ biến nhất và là vấn đề rất nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng. Bệnh gây ra bởi các ký sinh trùng thuộc chi *Plasmodium*. Chi này có bốn loài, nguy hiểm hơn cả là *Plasmodium falciparum* và *Plasmodium vivax*. Hiện nay *Plasmodium falciparum* đã đề kháng với cả chloroquine – thuốc chống sốt rét rẻ tiền và thường được sử dụng nhiều nhất (WHO 2008). Một vấn đề khác trong liệu pháp điều trị căn bệnh này là xuất hiện kháng chéo giữa các thuốc trong cùng một nhóm. Vì hiện tượng kháng thuốc - kháng với nhiều loại thuốc kinh điển như quinin, chloroquin, primaquin và mefloquin mà việc điều trị sốt rét đã trở nên khó khăn và có lúc gần như bất lực ở nhiều vùng trên thế giới (Schlitzer 2007) [17]. Vì vậy, việc phát triển liệu pháp trị sốt rét mới là cần thiết. Cùng với các hoạt chất phân lập từ thực vật như alkaloid, flavonoid ... acid betulinic cũng dẫn xuất của nó cũng được Matheus Santos và cộng sự nghiên cứu hoạt tính chống sốt rét [4]. Kết quả cho thấy các hợp chất này có tác dụng hữu hiệu chống lại chủng *Plasmodium* đề kháng với chloroquine trong thử nghiệm invitro và acetat betulinic được ghi nhận có tác dụng mạnh nhất.

Tác dụng quan trọng khác của acid betulinic là chống viêm. Nhiều nghiên cứu

đã được tiến hành để chứng minh hoạt tính này và xác định cơ chế của nó. Acid betulinic có tác dụng ức chế lipopolysaccharide (LPS) tạo ra IL-6 thông qua việc điều hòa các yếu tố nhân NF- κ B trong tế bào đơn nhân máu ngoại vi. Qua đó, acid betulinic ức chế chọn lọc enzym COX-2 là men xúc tác quá trình tạo ra Prostaglandin E2 gây viêm. Hiệu quả của thuốc đã được khẳng định thông qua thử nghiệm in vivo, acid betulinic ức chế sản xuất Prostaglandin E2 và hoạt tính của enzyme myeloperoxidase trên động vật thí nghiệm [11].

Các kết quả nghiên cứu của Adesanwo và cộng sự [2] cũng đã chứng minh rằng acid betulinic phân lập từ *Tetracera potatoria* có tác dụng ức chế loét dạ dày trên chuột. Năm 2009, tác dụng này được khẳng định một lần nữa trong nghiên cứu của Seung-Jung Shin và Chan-El Park [18] khi acid betulinic có khả năng ức chế sự phát triển của *Helicobacter pylori*, một vi khuẩn thường gặp trong bệnh loét dạ dày tá tràng.

Nghiên cứu gần đây còn cho thấy acid betulinic có khả năng ức chế glycogen phosphorylases (GP). Với tác dụng này, acid betulinic đang được xem xét như một liệu pháp điều trị đái tháo đường type II và các biến chứng của nó [10].

6. KẾT LUẬN

Dựa trên những kết quả nghiên cứu đã đạt được về tác dụng sinh học của acid betulinic cho thấy hợp chất này có nhiều ý nghĩa thiết thực về mặt y học và hứa hẹn có thể trở thành nguồn nguyên liệu làm thuốc chữa nhiều căn bệnh nan y, mang tính thời đại như ung thư, HIV, tiểu đường... Các hợp chất thiên nhiên ngày càng đóng vai trò quan trọng trong hóa trị liệu, cần có những nghiên cứu sâu hơn nữa về lĩnh vực này để có thể mang lại những hợp chất mới có giá trị ứng dụng trong y học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Ung bướu (2008), Giáo trình ung thư học, Trường Đại học Y Dược Huế, tr. 10.
2. Adesanwo J.K., Ekunday O., Oluwole F.S., Olajide O.A., Van de Berge A.J.J., Findlay J.A. (2003), "The effect of *Tetracera potatoria* and its constituent betulinic acid on gastric acid secretion and experimentally-induced gastric ulceration", *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 18(1-2), pp. 21-26.
3. Cos P., Maes L., Vlietinck A., et al. (2008), "Plant-Derived Leading Compounds for Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection", *Planta medica*, 74(11), pp. 1323-1337.
4. De Sa M.S., Costa J.F.O., Krettli A.U., et al. (2009), "Antimalarial activity of betulinic acid and derivatives in vitro against *Plasmodium falciparum* and in vivo in P-berghei-infected mice", *Parasitology research*, 105(1), pp. 275-279.
5. E. Pisha, H. Chai, I.-S. Lee, T.E. Chagwedera, N.R. Farnworth, G.A. Cordell, C.W.W. Beecher, H.H.S. Fong, A.D. Kinghorn, D.M. Browh, M.C. Wani, M.E. Wall, T.J. Hieken, T.K.D. Gupta, J.M. Pezzuto (1995), "Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis", *Nat. Med.*, 1, pp. 1046-1051.
6. Fulda S. (2010), "Exploiting mitochondrial apoptosis for the treatment of cancer", *Mitochondrion*, 10(6), pp. 598-603.
7. Fulda S. (2010), "Modulation of Apoptosis by Natural Products for Cancer Therapy", *Planta medica*, 76(11), pp. 1075-1079.
8. G. Pavanadasivam, M.U.S., Sultakrawa G. (1974), "Betulinic acid in the Dilleniaceae and review of its natural distribution", *Phytochemistry*, 13, pp. 2002-2006.
9. Huang L., Chen C.H. (2002), "Molecular targets of anti-HIV-1 triterpenes", *Curr Drug Target Infect Disord*, 2, pp. 33-36.
10. Jia Hao, Pu Zhang, Xiaolan Wen, and Hongbin Sun (2008), "Efficient Access to 2-Isobetulinic Acid, 2-Isooleanolic Acid, and 2-Isoursolic Acid", *J. Org. Chem.*, 73, pp. 7405-7408.
11. Jucélia Pizzetti Benincá, Juliana Bastos Dalmarco, Moacir Geraldo Pizzolatti, Tânia Silvia Fröde (2011), "Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice", *Food Chemistry*, 124(2), pp. 468-475.
12. Li F., Goila-Gaur R., Salzwedel K., Kilgore N.R., Reddick M., Matallana C., Castillo A., Zoumplis D., Martin D.E., Orenstein J.M., Allaway G.P., Freed E.O., Wild C.T. (2003), "A potent HIV inhibitor that disrupts core condensation by targeting a late step in Gag processing", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, pp. 13555-13560.
13. Lv M., Xu H. (2009), "Overview of Naphthalimide Analogs as Anticancer Agents", *Current medical chemistry*, 16(36), pp. 4797-4813.
14. Mullauer F.B., Kessler J.H., Medema J.P. (2010), "Betulinic acid, a natural compound with potent anticancer effects", *Anti-cancer drugs*, 21(3), pp. 215-227.
15. Qian K.D., Kuo R.Y., Chen C.H. et al. (2010), "Anti-AIDS Agents 81. Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationship Study of Betulinic Acid and Moronic Acid Derivatives as Potent HIV Maturation Inhibitors", *Journal of medicinal*, 53(8), pp. 3133-3141.
16. Santos R.C., Salvador J.A.R., Marin S. et al. (2010), "Synthesis and structure-activity relationship study of novel cytotoxic carbamate and N-acylheterocyclic bearing derivatives of betulin and betulinic acid", *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(12), pp. 4385-4396.

17. Schlitzer M (2007), "Malaria chemotherapeutics part I: history of antimalarial drug development, currently used therapeutics and drugs in clinical development", *Chem Enab Drug Disc* 7, pp. 944-986.
18. Shin S.J., Park C.E., Baek N.I. et al. (2009), "Betulinic and oleanolic acids isolated from *Forsythia suspensa* Vahl inhibit urease activity of *Helicobacter pylori*", *Biotechnology and bioprocess engineering*, 14(2), pp. 140-145.
19. Theo A, Masebe T, Sijzuka Y, et al. (2009), "Peltophorum Africanum, a Traditional South African Medicinal Plant, Contains an Anti HIV-1 Constituent, Betulinic Acid", *Tohoku journal of experimental medicine*, 217(2), pp. 93-99.
20. Zhou J, Yuan X, Dismuke D, et al. (2004), "Small-molecule inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by specific targeting of the final step of virion maturation", *Journal of virology*, 78(2), pp. 922-929.
21. Zuco V., Supino R., Righetti SC. et al (2002), "Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not on normal cells", *Cancer letters*, 175(1), pp. 17-25.