

MỘT SỐ KẾT QUẢ TIÊU BIỂU VỀ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CHI *CLEISTANTHUS* VÀ *MACARANGA* HỌ EUPHORBIACEAE

CHEMICAL INVESTIGATION OF *CLEISTANTHUS* AND *MACARANGA* GENUS (EUPHORBIACEAE)

Châu Văn Minh¹, Nguyễn Văn Hùng¹, Phạm Văn Cường¹, Đoàn Thị Mai Hương¹, Nguyễn Thị Minh Hằng¹, Trịnh Thị Thanh Vân¹, Nguyễn Thuỳ Linh¹, Marc Litaudon², Đào Đình Cường¹

¹Viện Hóa sinh biển - Viện Khoa học & Công nghệ Việt Nam

²Viện Hóa học các hợp chất tự nhiên – CNRS, Gif-sur-Yvette, Paris, France

Email: dtmhuong@ich.vast.ac.vn; doanhuong7@yahoo.com

Tóm tắt:

Trong khuôn khổ hợp tác quốc tế Pháp – Việt giữa Viện KH&CN Việt Nam với Trung tâm Nghiên cứu Khoa học Quốc gia Pháp “Nghiên cứu hoá học thảm thực vật Việt Nam”, 3 cây thuộc họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*) đã được lựa chọn để nghiên cứu thành phần hóa học sau khi có kết quả thử hoạt tính sinh học sơ bộ. Từ cây Cách hoa đông dương (*Cleistanthus indochinensis* Merr. ex Croiz), Cây săng bû (*Macaranga kurzii* (Kuntze) Pax et Hoffm.) và cây Bạch đàn nam (*Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg), chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc được 57 hợp chất trong đó có 22 chất mới. Các hợp chất được thử hoạt tính sinh học, kết quả cho thấy một số hợp chất thể hiện hoạt tính chống ung thư, hoạt tính chống sốt rét và hoạt tính ức chế enzym Acetylcholinesterase rất tốt. Trong đó có hợp chất cleistantoxin chiếm hàm lượng tương đối cao được dùng để bán tổng hợp ra các dẫn xuất khác nhằm tìm kiếm các hợp chất có cấu trúc bền hơn và có hoạt tính cao hơn như là tiền chất để tạo ra các thuốc chống ung thư. Chúng tôi chuẩn bị gửi đăng 4 bài báo trên các tạp chí chuyên ngành quốc tế về các kết quả thu được.

Abstract:

In the framework of scientific cooperation between the VAST, Vietnam and the CNRS, France on phytochemical study of the Vietnamese flora, three plants, *Cleistanthus indochinensis* Merr. ex Croiz, *Macaranga kurzii* (Kuntze) Pax et Hoffm., and *Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg.) were selected for their biological activity. From these plants, 22 new structures and 35 known compounds were isolated. Their structures were elucidated by using IR, MS and NMR spectroscopic methods, including 2D NMR spectroscopy (COSY, HMQC, HMBC). Some compounds exhibited Acetylcholinesterase (ACHE) inhibitory activities, antiplasmodium activity against PFCB1 and cytotoxic activity against cancer human cell line.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ thầu dầu (*Euphorbiaceae*) là một trong những họ lớn và phức tạp nhất trong hệ thực vật Việt Nam cũng như trên thế giới. Theo hệ thống phân loại của nhiều tác giả, họ Thầu dầu thuộc lớp Ngọc lan, phân lớp Sô, liên bộ Thầu dầu, bộ Thầu dầu [1, 2]. Trên thế giới, họ Thầu dầu có khoảng 300 chi với 8.000 loài, còn ở Việt Nam họ Thầu dầu có 79 chi với 459 loài. Chi *Macaranga* và chi *Cleistanthus* là 2 chi thuộc họ thầu dầu thường phân bố ở các vùng nhiệt đới, cụ thể địa [1-4]. Một số công trình nghiên cứu trên thế giới cho thấy đây là hai chi chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học lý thú như hoạt tính chống ung thư, chống oxy hóa, kháng vi sinh vật kiểm định... [5-9].

Có nhiều phương pháp tiếp cận để thực hiện việc nghiên cứu hoá thực vật, như lựa chọn cây sử dụng trong y học cổ truyền, lựa chọn cây theo họ và chi, lựa chọn cây dựa theo việc sử dụng để trị bệnh của động vật và lựa chọn cây theo kết quả thử hoạt tính sinh học. Trong đó việc lựa chọn cây để phân lập các hoạt chất theo các phép thử sinh học dẫn đường là phương pháp nghiên cứu có tính định hướng cao và cho phép đạt được kết quả trong thời gian nhanh nhất. Trong khuôn khổ hợp tác quốc tế Pháp – Việt về “Nghiên cứu hoá thực vật thảm thực vật Việt Nam”, chúng tôi đã lựa chọn một số loài nghiên cứu dựa theo kết quả thử hoạt tính sinh học sơ bộ. Các phân đoạn chỉ ra có hoạt tính sẽ được tiếp tục tinh chế để thu được các chất sạch. Các chất sạch sẽ được kiểm tra hoạt tính sinh học để khẳng định lại hoạt tính đã thử trong các phân đoạn. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi công bố về một số kết quả tiêu biểu trong việc phân lập, xác định cấu trúc và thử hoạt tính sinh học của các chất có trong lá và quả *Cleistanthus indochinensis* Merr. ex Croiz, lá cây *Macaranga kurzii* (Kuntze) Pax et Hoffm., và quả cây *Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg.) dựa theo các phép thử sinh học dẫn đường.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Thu hái, chiết mẫu và thử hoạt tính sinh học sơ bộ

Mỗi một bộ phận của cây sau khi sấy khô, xay nhỏ (lá 150 g, thân 200 g, quả 50 g, hoa 30 g) được ngâm chiết siêu âm với EtOAc (30 phút x 3 lần). Dịch chiết được cất loại dung môi dưới áp suất giảm, sau đó hoà tan bằng hỗn hợp EtOAc-MeOH (50:50), lọc qua cột polyamit. Phương pháp này được thực hiện trong chân không với mục đích loại bỏ tanin và polyphenol do các hợp chất này thường cho kết quả dương tính giả khi khảo sát hoạt tính sinh học.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính sinh học dịch chiết EtOAc của 3 loài *C. indochinensis*, *M. kurzii* và *M. tanarius*

Dịch chiết EtOAc	Giá trị % ức chế sự phát triển của tế bào ung thư KB	Giá trị % ức chế enzym acetylcholinesterase	Giá trị % ức chế KST sốt rét <i>Plasmodium falciparum</i>
Lá cây <i>C. indochinensis</i>	30% (1 µg/ml)	6% (100 µg/ml)	-
Thân cây <i>C. indochinensis</i>	-	9% (100 µg/ml)	-

Quả cây <i>C. indochinensis</i>	94% (1 µg/ml)	29% (100 µg/ml)	3,5% (10 µg/ml)
Lá cây <i>M. kurzii</i>	21,6% (1 µg/ml)	38 % (10 µg/ml)	84,5%(10 µg/ml)
Thân cây <i>M. kurzii</i>	-	-	-
Hoa cây <i>M. kurzii</i>	21,1% (1 µg/ml)	-	39,8% (10 µg/ml)
Lá cây <i>M. tanarius</i>	-	6% (10 µg/ml)	-
Thân cây <i>M. tanarius</i>	21,5% (1 µg/ml)	-	-
Quả cây <i>M. tanarius</i>	62,7% (1 µg/ml)	65,5% (10 µg/ml)	-

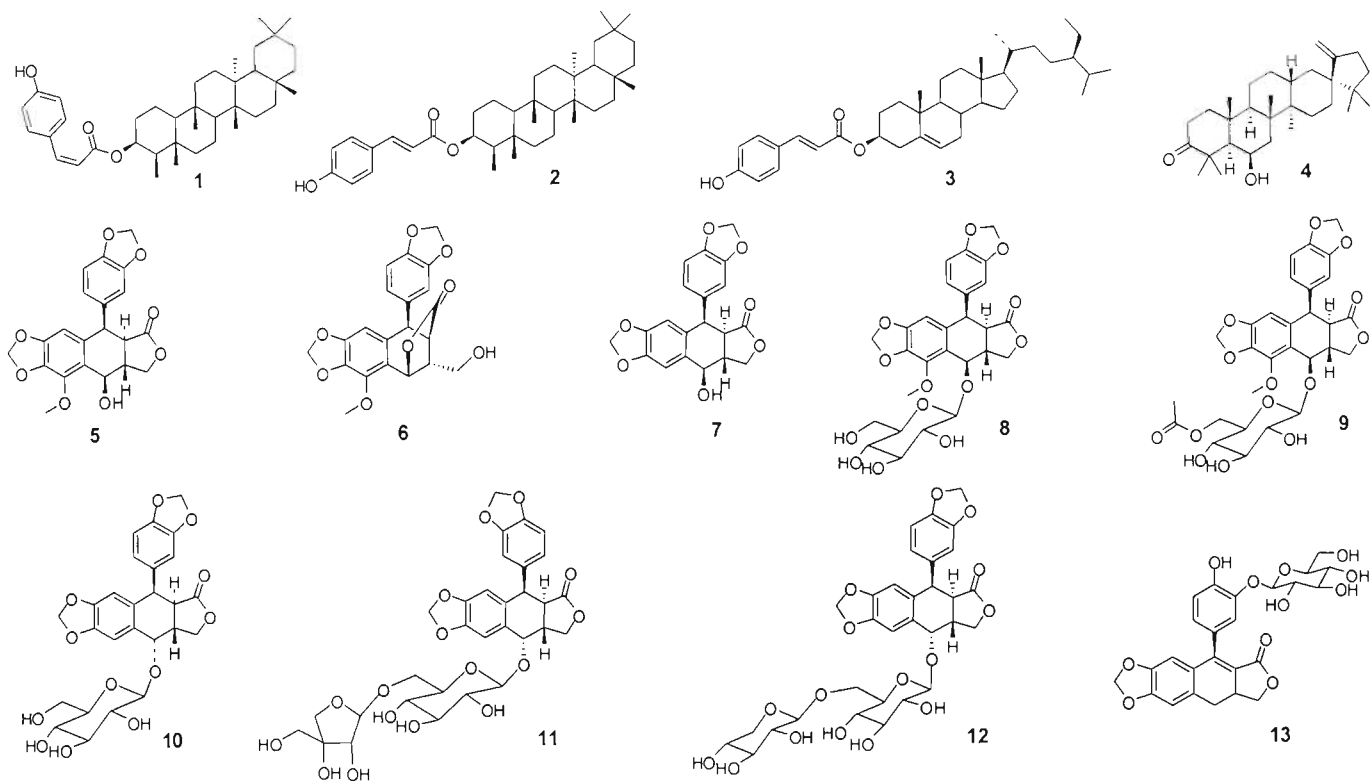
(-) : Không có hoạt tính

Kết quả thử hoạt tính sơ bộ dịch chiết EtOAc các bộ phận của 3 loài *C. indochinensis*, *M. kurzii* và *M. tanarius* cho thấy dịch chiết etyl axetat của lá *C. indochinensis*, quả cây *C. indochinensis* và quả cây *M. tanarius* thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển dòng tế bào ung thư biểu mô KB tốt nhất. Lá cây *M. kurzii* và quả cây *M. tanarius* có hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase với giá trị % ức chế lần lượt là 38 và 65,5% ở nồng độ 10 µg/ml. Còn đối với hoạt tính chống sốt rét trên ký sinh trùng *Plasmodium falciparum*, thì lá cây *M. kurzii* thể hiện hoạt tính cao hơn cả với giá trị % ức chế là 84,5 % ở nồng độ 10 µg/ml (xem bảng 1). Lá và quả *C. indochinensis*, lá cây *M. kurzii* và quả cây *M. tanarius* đã được nghiên cứu thành phần hóa học và thử nghiệm hoạt tính sinh học nhằm xác định các chất/lớp chất tạo ra hoạt tính sinh học của các mẫu thực vật này.

2. Kết quả phân lập, xác định cấu trúc và thử hoạt tính sinh học các hợp chất

* Cây Cách hoa đông dương (*C. indochinensis* Merr. ex Croiz)

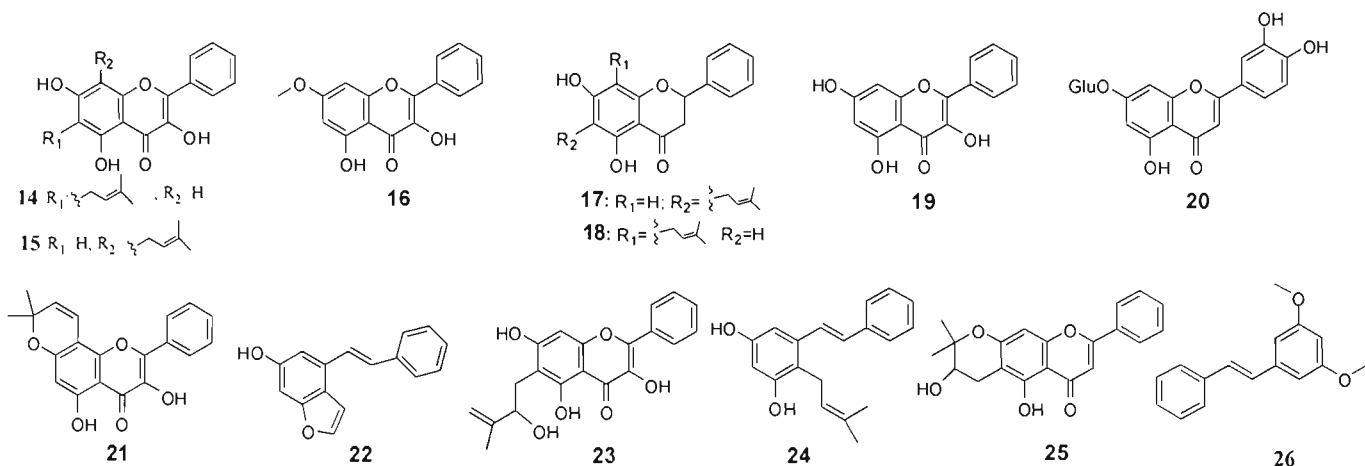
Cây Cách hoa đông dương là loại cây gỗ nhỏ, thu hái ở Quỳnh Châu – Nghệ An vào tháng 5 năm 2003. Từ lá của cây Cách hoa đông dương, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 16 hợp chất, trong đó có 4 hợp chất tecpenoit mới (1-4). Đặc biệt hợp chất 4 là một tritecpen có khung cấu trúc mới với hệ spiro giữa hai vòng D và E. Từ quả cây Cách hoa đông dương, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 11 hợp chất trong đó có 9 hợp chất lignan mới (5-13). Tất cả các hợp chất sạch được thử hoạt tính sinh học, kết quả cho thấy hợp chất lignan cleistantoxin (5) có hoạt tính tốt nhất, hợp chất này ức chế rất mạnh sự phát triển của các dòng tế bào ung thư khác nhau như dòng tế bào ung thư biểu mô KB, ung thư vú MCF7, ung thư đại tràng HT-29 với giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng 14-36 nM. Đặc biệt thú vị là chất này tỏ ra hiệu quả hơn trên dòng tế bào ung thư vú kháng thuốc (MCF7R: IC₅₀, 14 nM) so với dòng tế bào ung thư vú thường (MCF7: IC₅₀, 36 nM). Một điểm thú vị nữa là hợp chất cleistantoxin (5) được chúng tôi phân lập từ quả cây *Cleistanthus indochinensis* có hàm lượng tương đối cao chiếm 0,15-0,2% so với trọng lượng mẫu quả khô. Chính vì vậy, chúng tôi đang tiếp tục nghiên cứu bán tổng hợp các dẫn xuất mới của cleistantoxin nhằm tìm kiếm các hợp chất có cấu trúc bền hơn và có hoạt tính cao hơn như là tiền chất để tạo ra các thuốc chống ung thư.



Hình 1. Các hợp chất mới được phân lập từ cây *Cleistanthus indochinensis*

* Cây săng bù (*Macaranga kurzii* (Kuntze) Pax et Hoffm.)

M. kurzii có tên Việt Nam là cây săng bù hay còn gọi là Ba soi lá có đuôi, đây là loại cây gỗ nhỏ cao từ 3-8 m, có khi dạng cây bụi, lá đơn mọc so le, phiến lá hình trái xoan-tam giác, có lông hoặc không lông. Trong y học dân gian, cành và lá cây *M. kurzii* được dùng làm thuốc bôi trị lở loét [4]. Từ các phân đoạn có hoạt tính của lá loài *M. kurzii* thu hái tại Trạm Tàu, Yên Bái, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 19 hợp chất trong đó có 5 hợp chất mới (21-25). Kết quả thử sơ bộ hoạt tính sinh học các hợp chất phân lập được từ lá cây này rất thú vị, hợp chất 26, 17 18, và 24 thể hiện hoạt tính ức chế enzym acetylcholinesterase tốt. Hợp chất 14, 24 và 25 có hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào ung thư KB, đặc biệt là hợp chất 24 với giá trị % ức chế $\geq 98\%$ trong cả 3 lần thử ở nồng độ 10^{-5} M (xem bảng 2).



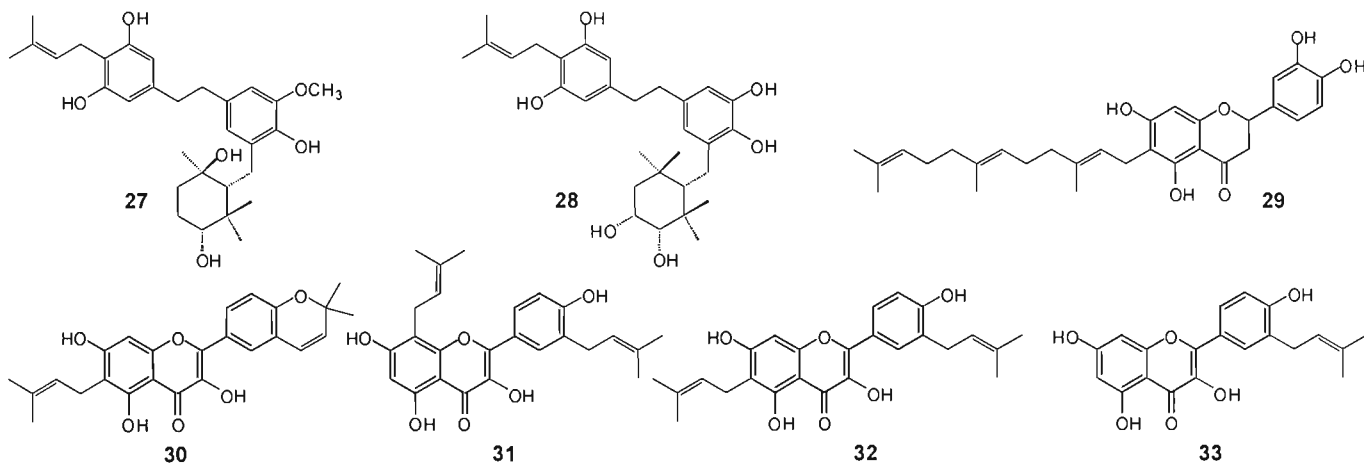
Hình 2. Một số hợp chất được phân lập từ lá cây săng bù

Bảng 2. Một số hợp chất có hoạt tính được phân lập từ lá cây *Macaranga kurzii*

Hợp chất	Giá trị % ức chế sự phát triển của tế bào ung thư KB ở nồng độ 10^{-5} M (3 lần thử)	Giá trị % ức chế enzym acetylcholinesterase (2 lần thử)
17	28/25/5	70/70
18	4/4/9	70/70
14	52/69/47	0/0
24	100/100/98	90/90
25	43/36/22	10/10
26	27/9/0	90/90

*** Cây Bạch đàn nam (*Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg.)**

Cây Bạch đàn nam được thu hái tại Á Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế. Trong y học cổ truyền, lá cây được sử dụng để chữa lỵ, sốt, rễ cây dùng để cầm máu và chữa bệnh ho ra máu, vỏ cây được dùng cho phụ nữ sau khi sinh. Ở Nam Xumatra, người ta cho quả cây này vào dầu cọ khi đang nấu để làm cho đường cọ được trắng hơn [4]. Từ quả của loài *M. tanarius*, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 11 hợp chất trong đó có 4 hợp chất mới có cấu trúc thú vị (27-30). Các chất này đã được gửi sang Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên – CNRS Cộng hoà Pháp để thử hoạt tính.


Hình 3. Một số hợp chất được phân lập từ quả cây *Macaranga tanarius*

III. KẾT LUẬN

Từ 3 loài thực vật thuộc họ thầu dầu của Việt Nam, bằng phương pháp thử hoạt tính sinh học dẫn đường, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của 57 hợp chất trong đó có 22 chất mới. Một số hợp chất phân lập được, thể hiện hoạt tính rất tốt, đây cũng là cơ sở cho việc bán tổng hợp các dẫn xuất mới nhằm tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính cao hơn, ưu việt hơn đồng thời các kết quả này cũng góp phần khẳng định các công dụng đã được sử dụng trong y học cổ truyền và có thể làm cơ sở cho việc bảo tồn và phát triển nguồn thực vật, được

liệu ở nước ta. Với các kết quả thu được trên đây, 4 bài báo đang được chuẩn bị gửi đăng trên các tạp chí chuyên ngành quốc tế.

Lời cảm ơn:

Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ của Dự án Pháp-Việt. Các tác giả xin chân thành cảm ơn ThS. Nguyễn Quốc Bình và TS. Trần Đình Đại trong việc thu hái mẫu và xác định tên cây.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn thực vật- trường ĐH Dược Hà Nội, *Thực vật học*, NXB Y học (2005).
2. Võ Văn Chi, Dương Đức Tiến, *Phân loại thực vật*, NXB ĐH và THCN, Hà Nội., (1978).
3. Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, quyển II, NXB Trẻ (2000).
4. Võ Văn Chi, *Từ điển thực vật thông dụng*, tập II, NXB KH và KT, 1635-1636 (2004).
5. Janga D. S., Cuendeta M., Pawlusa A. D., Kardonob L. B. S., Kawanishic K., Farnswortha N. R., Fonga H. H. S., Pezzutoa J. M., Kinghorna A. D., *Phytochemistry*, 65, 345–350 (2004).
6. Janga D. S., Cuendet M., Hawthorne M. E., Kardonoc L. B. S., Kawanishid K., Fonga H. H. S., Mehta R. G., Pezzuto J. M., Kinghorna A. D., *Phytochemistry*, 61, 867–872 (2002).
7. Sutthivaiyakit S., Unganont S., Sutthivaiyakit P., Suksamrarn A., *Tetrahedron*, 58, 3619-3622 (2002).
8. Lim T. Y., Lim Y. Y., Yule C. M., *Food Chem.*, 114, 594–599 (2009).
9. Sastry K.V., Venkata Rao E., Buchanan J.G. and Sturgeon R.J., *Phytochemistry*, 26, 1153-1154 (1987).