

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT CHẤT SINH HỌC CỦA CÂY NGÁI (*FICUS HISPIDA* L.) VIỆT NAM

Vân Ngọc Hương, Vũ Minh Trang

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

ABSTRACT

The chemical constituents of the leaves and the fruits of Ficus hispida L. in Vietnam were investigated. The compounds hispidin (I); 3,6,7-trimethoxy-14-axetoxypheanthroindolizidine (II), betulinic acid (III) and β -axetoxylean-12-en (IV) were isolated and identified. The cytotoxicity of compounds (I) and (II) toward for human line cell Hep-2 and RD invitro was examined and it was to confirm that they are strong cytotoxic agents for cancer cells.

1. MỞ ĐẦU

Cây ngái (*Ficus hispida* L.) là cây thuốc dân tộc, nó được dùng với tần suất cao trong các bài thuốc gia truyền chống ung thư của dân tộc Thái ở huyện Con cuông (Nghệ An) [1]. Ở Ấn Độ ngái cũng là cây thuốc trong y học gia truyền để chữa các bệnh thiếu máu, vàng da, bệnh hủi ... [2]. Ngái có tác dụng tốt như vậy nhưng nghiên cứu hoá dược về cây ngái còn rất ít, vào những năm cuối thế kỷ trước Venkatachalam SR và cộng sự [3] đã phân lập được 3 ancaloit từ lá cây ngái của ấn Độ: 3,6,7-trimethoxyphenanthroindolizidin(I), 3,6,7-trimethoxy-14- hydroxyphenanthroindolizidin (II) và hispidin (III). Về sau, vào năm 2002 Sergio R. peraza Sanchez và cộng sự cũng phân lập được ancaloit (III) từ lá ngái của Thái Lan và khẳng định nó là chất gây độc tế bào ung thư người mạnh như ung thư ruột già (col-2), ung thư phổi (Lu-1) và ung thư tiền liệt tuyến LNCap [4]. Cây ngái Việt Nam chưa ai nghiên cứu, mặc dù nó là cây dễ trồng dễ mọc, nguyên liệu dồi dào, nhất là các tỉnh miền Bắc nước ta. đó là lý do nghiên cứu của chúng tôi.

2. NGUYÊN LIỆU THỰC VẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu cành lá và quả cây *Ficus hispida* L. thu mua tại Thanh Chương - Nghệ An. Mẫu được GS.TSKH Nguyễn Nghĩa Thìn, chuyên gia về điều tra và phân loại thực vật của trường Đại học KHTN - ĐHQG Hà Nội giám định. Hiện nay tiêu bản của mẫu *Ficus hispida* L. được lưu trữ tại trung tâm bảo tàng thực vật trường Đại học KHTN - ĐHQG Hà Nội.

Dựa vào kết quả thử hoạt tính sinh học (Bioassay guided method) để tìm kiếm các hoạt chất sinh học trong mẫu. Chiết phân lớp hay chiết chọn lọc các hoạt chất sinh học trong mẫu rồi phân lập chúng bằng các phương pháp sắc ký cột, sắc ký điều chế và xác định cấu trúc phân tử của chúng bằng các phương pháp vật lý hiện đại.

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định (VSVKD) của hoạt chất tiến hành theo 2 bước: Bước một xác định chất có hoạt tính (+) hay không có hoạt tính (-) bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Bước hai, xác định cường độ ức chế phát triển VSVKD bằng cách

do nồng độ ức chế tối thiểu theo phương Vanden Bergher và Vlietlink. Khả năng gây độc tế bào (Cytotoxicity) của hoạt chất được thử theo phương pháp đang được tiến hành ở Viện nghiên cứu ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCI) với các dòng ung thư người : ung thư gan (Hep - 2), màng tử cung (FI) và màng tim (RD).

3. KẾT CỦA NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu lá cây ngái

Sau khi khảo sát chiết tổng ancaloit trong lá cây ngái (*Ficus hispida* L.) với các axit có cường độ khác nhau: axit axetic, citric, tactic ở nồng độ 2% trong 2 dung môi nước và etanol 96%, chúng tôi thấy dung dịch axit tactic 2% trong etanol 96% là tốt hơn cả. Ngâm dung dịch này với bột lá cây ngái 3 ngày, dịch lọc được trung hoà bằng NH_4OH đến pH = 10, chiết bằng CHCl_3 thu tổng ancaloit lên đến 0,56%, áp dụng quy trình này cho cành, thu tổng ancaloit là 0,48% và quả là 0,04%. Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng kết hợp với thuốc thử Dragendofit và SCAP chúng tôi phát hiện 6 ancaloit khác nhau trong lá, 4 ancaloit trong cành và không có ancaloit trong quả *Ficus hispida* L. [5] tất cả chúng được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Số ancaloit trong lá, cành của cây ngái và sắc phổ của chúng với các thuốc thử

TT	Rf	Ancaloit trong lá			Ancaloit trong cành		
		Số ancaloit	Màu với Dragendofit	Màu với SCAP	Số ancaloit	Màu với Dragendofit	Màu với SCAP
1	0.10	x	Vàng	Xanh	x	Vàng	Xanh
2	0.19	x	Vàng	Tím	x	Vàng	Tím
3	0.27	x	Vàng	Tím nhạt	x	Vàng	Tím nhạt
4	0.36	x	Vàng	Hồng phớt	0	0	0
5	0.52	x	Vàng	Xám	x	Vàng	Xám
6	0.70	x	Vàng	Hồng	0	0	0
		6			4		

Lá cây ngái sau khi chiết ancaloit được chiết ngâm với MeOH ở nhiệt độ phòng. Loại MeOH, hòa tan cạn trong EtOH/nước 60% và chiết phân lớp lần lượt với n-hexan, EtOAc và BuOH, loại dung môi thu các cạn phi ancaloit tương ứng 1,3%, 2,4%; 1,5%.

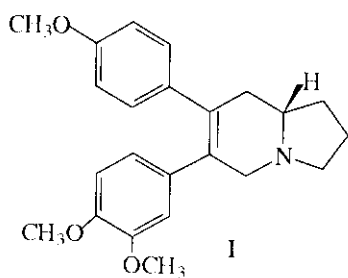
Kết quả thử độc tính đối với tế bào ung thư người chỉ ra trong bảng 2 của các cạn tổng ancaloit và phi ancaloit EtOAc trong lá ngái định hướng cho sự phân lập các chất chống ung thư trong lá cây này [5].

Bảng 2. Cường độ độc với tế bào ung thư của cạn tổng hợp ancaloit và phi ancaloit của lá cây ngái

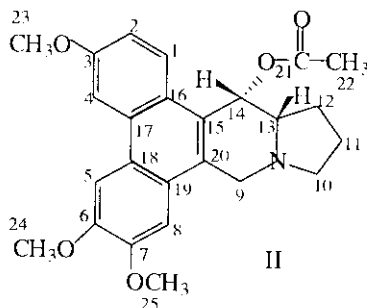
TT	Ký hiệu mẫu	IC ₅₀ µg/ml			Kết luận
		Hep-2	FI	RD	
1	Cạn ancaloit	0.70	0.95	0.97	Dương cả 3 dòng
2	Cạn EtOAc	13.60	10.70	10.90	Dương cả 3 dòng

Kết quả này cho thấy các cạn tổng ancaloit và phi ancaloit trong cạn EtOAc của lá cây ngái đều có hoạt tính độc mạnh đối với các dòng ung thư người đã thử mà đặc biệt mạnh là cạn tổng các ancaloit.

Từ căn này, bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi phân lập và xác định cấu trúc phân tử hai ancaloit I và II như đã chỉ ra trên hình 1 và 2.

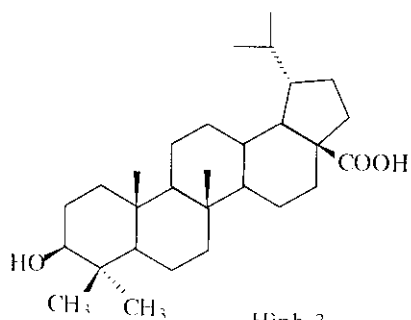


Hình 1



Hình 2

Hợp chất I có các hằng số vật lý và cấu tạo phân tử trùng với hợp chất có tên là hispidin đã được Venkatachalam SR và cộng sự phân lập từ lá cây ngái của Ấn Độ năm 1982 [3] nhưng ở đây chưa có các số liệu quang phổ ^1H và ^{13}C -NMR, 1D và 2D cũng như hoạt tính gây độc tế bào ung thư của nó. Khi khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan người dòng Hep-2 và ung thư màng tim người dòng RD. Chúng tôi thấy I là chất có hoạt tính gây độc mạnh IC_{50} đối với Hep-2 là $0,0012 \mu\text{g/ml}$ và IC_{50} đối RD là $0,0230 \mu\text{g/ml}$.



Hình 3

Ancaloit II có tên là 3,6,7-trimethoxy-14-axetoxypheanthroindolizidin, một ancaloit mới lần đầu tiên được chúng tôi phân lập từ lá cây ngái (*Ficus hispida* L.) Việt Nam, xác định cấu trúc phân tử của nó bằng các phương pháp phổ IR, MS, UV ^1H và ^{13}C -NMR, 1D và 2D và khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư của nó. Kết quả cho thấy hợp chất II có hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan người dòng Hep-2 cực mạnh $\text{IC}_{50} = 0,0005 \mu\text{g/ml}$ và tế bào ung thư màng tim người dòng RD cũng rất mạnh $\text{IC}_{50} = 0,0013 \mu\text{g/ml}$ [6].

Từ căn EtOAc (phi ancaloit) của lá cây ngái chúng tôi phân lập và xác định cấu trúc phân tử axit betulinic (hình 3) [5]. Đây là một axit tritepenoic, nó có nhiều hoạt tính sinh học quý như chống ung thư, chống viêm và cả HIV nữa [7] nên được y tế thế giới (WHO) khuyến cáo nghiên cứu đánh giá tiền lâm sàng [8] để sớm đưa vào sử dụng trong thực tế. Nó có trong nhiều loại cây khác nhau nhưng lần đầu tiên chúng tôi phân lập và nhận biết nó trong lá cây ngái Việt Nam.

3.2. Nghiên cứu quả cây ngái

Ngái là cây sai quả, một năm có hai vụ, vụ tháng 6 tháng 7 là vụ chính có nhiều quả nhất. Trong y học dân tộc Ấn Độ quả ngái có tác dụng tăng lực, an thần, tăng sữa và cầm máu [9]. Trong dân gian Việt Nam quả ngái được dùng để ăn với rau sống, lòi cá, gần đây có người cho rằng quả ngái chữa được bệnh đái đường, nhưng chưa ai minh chứng cho điều này. Trong các tạp chí trong và ngoài nước chưa có công trình nghiên cứu về quả ngái. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy quả chín của cây ngái là loại quả giàu chất dinh dưỡng, chất lỏng chiết được từ quả chín chứa hàm lượng axit béo cao: axit oleic

48.96% palmitic 9.2%, Stearic 6,24%. Không những thế chất lỏng này còn kháng mạnh với vi khuẩn (Gr+) gây bệnh tiêu chảy E.coli, MIC = 50 μ g/ml, vi khuẩn gây viêm nhiễm B.subtillis. MIC = 50 μ g/ml [10].

Cặn chiết EtOAc của quả xanh không những ức chế mạnh vi khuẩn Gr-: MIC (E.coli) = 100 μ g/ml, vi khuẩn Gr+: MIC (B.subtillis) = 50 μ g/ml mà còn gây độc mạnh đối với tế bào ung thư gan người dòng Hep-2 (IC₅₀ = 6,8 μ g/ml) và ung thư màng tim người dòng RD (IC₅₀ = 14,72 μ g/ml). Từ cặn này chúng tôi phân lập và nhận biết được 3 β -axetoxy olean - 12-en (hình 4).

Đây là một tritecpen có khung 3 β -hydroxyolean-12-en lần đầu tiên được phát hiện phân lập từ quả cây ngái và xác định cấu trúc phân tử bằng các phương pháp quang phổ hiện đại. Các dẫn xuất của khung này không những có hoạt tính chống ung thư, chống viêm và cả HIV, axit oleanolic là một ví dụ điển hình [7].

4. KẾT LUẬN

Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy cây ngái (*Ficus hispida* L.) là một cây thuốc dân tộc quý, cành, lá và quả đều chứa các hoạt chất sinh học, đặc biệt là hoạt chất chống ung thư. Do đó việc sử dụng cây này trong các bài thuốc gia truyền chống ung thư của dân tộc Thái Con công (Nghệ An) với tần suất cao cũng có lý của nó. Tất nhiên để đi đến kết luận chính xác và ứng dụng vào thực tế y học của cây này, cần tiếp tục nghiên cứu nhiều hơn nữa nhất là in vivo và tiền lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Nghĩa, Nguyễn Thị Hạnh, Ngô Trục Nhã, *Thực vật học dân tộc, cây thuốc của đồng bào Thái con công - Nghệ An*. NXB Nông nghiệp 2001 trang 131 - 132.
2. Nadkarni A.K; Chopra RN. *Indian materia Medica* Vol 1, Popular book Dept, Bom Bay 1954, p.544 - 550.
3. Venkatachalam SR.et al. *Naturwissenschaften* 69, 287- 288 (1982).
4. Sergio R. Peraza Sanchez et al. *Planta Med*, 68, 183 - 186 (2002).
5. Văn Ngọc Hương, Vũ Minh Trang, *Tạp chí Hoá học* T43, 3; 312 - 316 (2005).
6. Văn Ngọc Hương, Vũ Minh Trang, *Tạp chí hoá học* (đã gửi đăng)
7. Gerg Takeoka et al. *J.Agric. Food Chem* 48, 3437 - 3439 (2000).
8. Trần Tiên Đạt, Trần Văn Thanh, *Tạp chí dược học số 2; 7-8* (1999).
9. Mandal S.C. et al. *Fitoterapia*,73, 663 - 667 (2002).
10. Văn Ngọc Hương, Vũ Minh Trang, *Tạp chí Khoa học ĐHQG Hà Nội, KHTN & CN*. TXX, N^o. 1AP, 287 - 290 (2004).