

## HOẠT TÍNH ĐỘC TẾ BÀO CỦA CÂY XẠ ĐEN VÀ CÂY BÔNG ỒI CYTOTOXICITY OF *Celastrus hindsii* Benth et Hook AND *Lantana camara* L.

*Lê thị Huyền, Phạm Huyền Trang, Nguyễn Đình Chung, Nguyễn Văn Đậu*  
*Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội*

### ABSTRACT

Three compounds from *Celastrus hindsii* Benth et Hook: 5 $\alpha$ -olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -Amyrin) (1);  $\beta$ -Amyrin-3-O-succinate (2), 6-methoxy-2,2-dimethyl-5-nitrogen-2H-chromen-7-ol (3) and three compounds isolated from *Lantana camara* L.: Lantaden B (4), Icterogenin (5) and 3-oxo-25-methylhydroxy-22 $\beta$ -[(Z)-2'-butenoyloxy]-olean-12-en-28-oic acid (6) have been examined for anti-liver (the cellular line Hep-2) and anti-lung (the cellular line Lu) cancerous activities. It was found that all of 6 tested samples did not exhibit the anti-lung cancer whereas the three isolates from *Lantana camara* L. showed the anti-liver cancer with moderate activity (IC50: ca 3.58-4.74  $\mu$ g/ml).

### I. GIỚI THIỆU

Các oleanan là một trong số các cấu trúc triterpen có tác dụng sinh học quan trọng nhất. Chúng có mặt trong nhiều cây thuốc ở dạng aglycon hoặc ở dạng saponin, như ở trong cam thảo (*Glycyrrhiza glabra*), nhân sâm (*Panax ginseng*), ngư tử (Achyranthes bidentata),... Các triterpenoit có nhiều hoạt tính sinh học độc đáo và tiềm năng như ức chế sự phát triển khối u và hoạt tính của NO; có tác dụng kháng viêm, chống ung thư, viêm loét, bảo vệ gan-tim mạch, giảm mỡ máu, kháng khuẩn và HIV....

Tuy nhiên, nhược điểm của việc sử dụng các triterpenic là độc tính liên quan đến sự phân huyết và tê liệt tế bào. Do vậy, bên cạnh sự phân lập từ nguyên liệu thiên nhiên, việc điều chế các dẫn xuất có độc tính thấp hơn và tiềm năng điều trị cao hơn cũng được tiến hành song song [1].

Cây xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook ?) và cây bông ổi (cây hoa cứt lợn, *Lantana camara* L.) là hai cây thuốc chứa các triterpenoit. Cây xạ đen là thành phần chủ yếu trong bài thuốc chữa bệnh ung thư của các lương y tỉnh Hòa Bình trong nhiều năm nay [2]. Từ cây *Celastrus hindsii* các nhà khoa học Đài Loan đã phân lập được các triterpenoit, các Celasdin có hoạt tính độc tế bào kháng với hepatoma (HEPA-2B), nasopharynx carcinoma (KB) và ức chế hoạt tính sao bản ở tế bào bạch huyết H9 [3]. Cây bông ổi là một cây thuốc sử dụng trong phạm vi dân gian. Lá được dùng đắp lên vết thương, vết loét, nơi rấn cắn do có tính sát trùng; và để nấu nước xông cảm mạo [4]. Từ cây này một số triterpenoit đã được phân lập, trong số đó các Lantaden thường gây ngộ độc cừu do chúng ăn lá bông ổi.

Theo hướng nghiên cứu mối quan hệ giữa công dụng (tác dụng dược học) của thực vật và các hoạt chất chứa trong đó, báo cáo này đưa ra một số kết quả thử hoạt tính của các chất phân lập từ cây xạ đen và cây bông ổi đối với các dòng tế bào ung thư gan và ung thư phổi. Đây là hai loại ung thư có tỉ lệ cao nhất ở Việt Nam hiện nay.

## II. PHƯƠNG PHÁP VÀ NGUYÊN LIỆU NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên liệu thực vật

Cây xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook) được mua tại Hòa Bình, tháng 5 năm 2006. Cây bông ổi (*Lantana camara* L.) được lấy tại Tiên Kiên, Phú Thọ, tháng 3 năm 2007. Các tiêu bản đã được chụp ảnh và lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Khoa Hóa học, trường ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội.

### 2.2 Phân lập và điều chế hoạt chất

Nguyên liệu thực vật được xử lí và chiết theo qui trình chung. Các hoạt chất được phân lập nhờ phương pháp sắc ký cột-SiO<sub>2</sub>. Ngoài ra, dẫn xuất  $\beta$ -Amyrin-3-O-succinat đã được điều chế từ  $\beta$ -Amyrin-một thành phần chính của cây xạ đen. Cấu trúc của các chất thử đã được xác định nhờ các phương pháp phổ [5,6,7].

Các chất thử hoạt tính.  $5\alpha$ -olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -Amyrin);  $\beta$ -Amyrin-3-O-succinat, 6-metoxi-2,2-dimetyl-5-nitro-2H-chromen-7-ol, Lantaden B, Icterogenin và axit 3-oxo-25-methylhydroxy-22 $\beta$ -[(Z)-2'-butenoyloxy]-olean-12-en-28-oic.

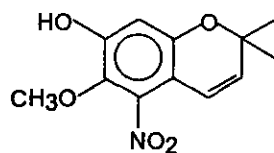
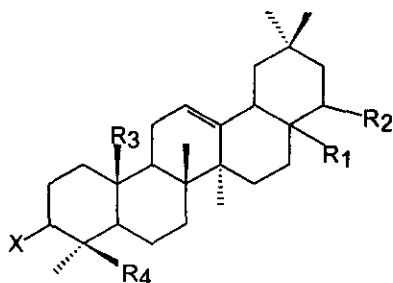
### 2.3 Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào

Các dòng tế bào ung thư gan (Hep-2) và ung thư phổi (Lu) đã được dùng để đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các chất phân lập.

Qui trình chung. Dòng tế bào được bảo quản trong nitơ lỏng, đánh thức và duy trì trong môi trường dinh dưỡng MEME hoặc DEME có bổ sung huyết thanh bê tươi. Khi phát triển đến phase log tế bào sẽ được dùng để khảo sát với mẫu thử gồm 4-10 thang nồng độ khác nhau, trên một phiến vi lượng 96 giếng (lỗ). Phiến thử nghiệm gồm tế bào ung thư, môi trường nuôi cấy và mẫu thử được ủ ở 37<sup>0</sup>C dưới bầu khí CO<sub>2</sub> từ 48-72 giờ để tế bào tiếp tục phát triển. Tiếp theo, lấy phiến ra, cố định tế bào, rửa, nhuộm, loại thuốc nhuộm thừa và hòa lại trong dung dịch chuẩn. Qui trình thử được lặp lại ba lần. Kết quả được ghi lại trên máy đọc Elisa ở bước sóng 495-515 nm. Nồng độ bán ức chế (IC50) được tính theo chương trình Table curve.

## III. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

Khảo sát hóa học cây xạ đen và cây bông ổi cho thấy hầu hết các chất phân lập đều là các  $\Delta$ 12 oleanen triterpenoit. Axit oleanolic và các triterpenoit có cấu trúc gần gũi đã được chứng minh là những chất có hoạt tính bảo vệ gan và chống HIV tiềm năng [8]. Từ lá cây xạ đen đã phân lập và nhận dạng được  $5\alpha$ -olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -Amyrin) (1) và 6-metoxi-2,2-dimetyl-5-nitro-2H-chromen-7-ol (3). Thực hiện phản ứng este hóa  $\beta$ -amyrin với anhidrit succinic, có mặt của dimethylaminopyridin (DMAP) đã thu được  $\beta$ -amyrin-3-O-succinat (2) (hs. ca 52%). Từ lá cây bông ổi đã nhận được Lantaden B (4), Icterogenin (5) và axit 3-oxo-25-methylhydroxy-22 $\beta$ -[(Z)-2'-butenoyloxy]-olean-12-en-28-oic (6).



(3)

- (1): X = OH    R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>2</sub> = H    R<sub>3</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>  
 (2): X = Suc.    R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>2</sub> = H    R<sub>3</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>    Suc = O<sup>o</sup>C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-COOH  
 (4): X = O    R<sub>1</sub> = COOH    R<sub>2</sub> = Sen.    R<sub>3</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>    Sen = O<sup>o</sup>C-CH=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
 (5): X = O    R<sub>1</sub> = COOH    R<sub>2</sub> = Ang.    R<sub>3</sub> = CH<sub>3</sub>    R<sub>4</sub> = CH<sub>2</sub>OH    Ang = O<sup>o</sup>C-C(CH<sub>3</sub>)=CH-CH<sub>3</sub>  
 (6): X = O    R<sub>1</sub> = COOH    R<sub>2</sub> = Ang.    R<sub>3</sub> = CH<sub>2</sub>OH    R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>

Nghiên cứu này nhằm tìm hiểu hoạt tính của các chất phân lập, có hàm lượng khá trong 2 cây quan tâm, đồng thời qua đó đánh giá khả năng ứng dụng của hai cây thuốc này. Hoạt tính gây độc các dòng tế bào ung thư gan và ung thư phổi đã được khảo sát theo phương pháp của Viện nghiên cứu Ung thư Quốc gia Mỹ (NCI) và đã được thực hiện tại Phòng thử nghiệm hoạt tính sinh học, Viện Hóa học Các hợp chất Thiên nhiên.

Theo tiêu chuẩn đánh giá, một chất được coi là có khả năng kháng ung thư nếu tỉ lệ tế bào còn sống sót phải nhỏ hơn 50%. Như vậy, kết quả thử nghiệm (xem bảng) cho thấy:

(1)- cả 6 chất đều không có hoạt tính đối với dòng u thư phổi.

(2)- cả ba chất phân lập từ cây bông ổi, Lantaden B (4), Icterogenin (5) và axit 3-oxo-25-methylhydroxy-22β-[(Z)-2'-butenoyloxy]-olean-12-en-28-oic (6) đều thể hiện hoạt tính kháng ung thư gan người (Hep-2).

Số thứ tự	Ký hiệu mẫu thử	Dòng tế bào & % sống sót	
		Hep-2	Lu
1	DMSO	100,0 ± 0,0	100,00 ± 0,0
2	Chất đối chứng	2,0 ± 0,0	4,5 ± 0,02
3	Chất 1	66,99 ± 0,5	99,6 ± 1,99
4	Chất 2	78,87 ± 1,04	99,8,0 ± 0,09
5	Chất 3	73,68 ± 1,06	100,0 ± 0,0
6	Chất 4	41,9 ± 0,7	88,1 ± 0,4
7	Chất 5	48,8 ± 0,3	69,3 ± 0,19
8	Chất 6	38,4 ± 1,4	76,4 ± 0,5

Các chất (1-3) đã được khảo sát tiếp để tìm giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (IC<sub>50</sub>). Kết quả cho thấy các chất này đều có hoạt tính kháng dòng ung thư người ở mức vừa phải (xem bảng dưới đây).

Số thứ tự	Ký hiệu mẫu thử	Dòng tế bào & giá trị IC <sub>50</sub> (μg/ml)	
		Hep-2	Lu
4	Chất 6	3,58 ± 0,0	> 5
1	Chất đối chứng	0,3 ± 0,0	0,002
2	Chất 4	4,17 ± 0,0	> 5
3	Chất 5	4,74 ± 0,0	> 5

Kết quả thử nghiệm có thể gợi ý rằng sự có mặt của nhóm cacboxy (-COOH) ở vị trí 17 có một mối liên quan nào đó đối với hoạt tính gây độc tế bào, trong khi đó nhóm hidroxy (-OH) ở vị trí 3 lại ít có ảnh hưởng hơn.

Lời cảm ơn. Công trình này được thực hiện theo đề tài nghiên cứu đặc biệt của Đại học Quốc gia Hà Nội, QG-06-07. Các tác giả cảm ơn Ban Khoa học và Công nghệ, ĐHQG đã ủng hộ và cung cấp kinh phí.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. P.Dzubak, M. Hajdich, D. Vydra, A. Hustova, M. Kvasnica, D. Biedermann, L.
2. Markova, M. Urban and J. Sarek. Nat. Prod. Rep., 2006, 23, 394-41
3. Đỗ Huy Bích (Chủ biên), Cây thuốc và động vật làm thuốc Việt Nam, NXB Khoa học Kỹ thuật 2004, T.1, 657
4. Yao-Haur Kuo and Li-Ming Kuo, PhytøChemisstry 1997, Vol. 44(7), 1275-1281.
5. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Y học 2004, 542.
6. Phạm Huyền Trang, Đóng góp vào việc nghiên cứu thành phần hóa học thân cây xạ đen. Khóa luận Tốt nghiệp đại học 2007, trường ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội.
7. Nguyễn Đình Chung, Nghiên cứu thành phần hóa học của cây xạ đen. Luận văn Thạc sĩ Hóa học (2007), trường ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội.
8. Lê thị Huyền, Góp phần nghiên cứu hóa thực vật cây bông ổi. Khóa luận Tốt nghiệp đại học (2007), trường ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội.
9. Yoshiki Kashiwada và những người khác, J. Nat. Prod. 1998, 61, 1090-1095.