



Original Article

Evaluation of the Inhibitory Effect on α -glucosidase and α -amylase Enzymes of Triterpenes Isolated from *Commelina diffusa* Burm.f.

Nguyen Xuan Tung^{1,2}, Vu Duc Loi^{1,3,*}, Nguyen Thi Van Anh²,
Le Hong Duong¹, Nguyen Thi Thao Vy¹, Nguyen Thi Quynh Trang¹

¹VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

³Vietnam University of Traditional Medicine, 2 Tran Phu, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

Received 8 May 2024

Revised 30 May 2024; Accepted 10 June 2024

Abstract: By using column chromatography and thin layer chromatography, three triterpene compounds were isolated from the *n*-hexane fraction of the methanol extract of *Commelina diffusa*, including corosolic acid (**1**), 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammarane-25-ol (**2**) and 11-oxo- α -amyirin acetate (**3**). The structures of the isolated compounds were determined by spectroscopic methods and compared with references. This is the first time compounds **2** and **3** have been isolated from the genus *Commelina*. For enzyme inhibition assays, among three tested compounds, compound **1** had the highest inhibitory effect on α -glucosidase enzyme with an IC₅₀ value of 93.68 ± 4.1 μ g/mL while compound **2** showed the strongest ability to inhibit α -amylase enzyme with an IC₅₀ value of 100.64 ± 3.6 μ g/mL. Meanwhile, the IC₅₀ values of positive control acarbose in these two assays were 135.73 ± 1.8 μ g/mL against α -glucosidase enzyme and 83.33 ± 2.0 μ g/mL against α -amylase enzyme, respectively.

Keywords: *Commelina diffusa* Burm.f., corosolic acid, 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammarane-25-ol, 11-oxo- α -amyirin acetate, α -glucosidase, α -amylase.

* Corresponding author.

E-mail address: loivuduc.umpvnu@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4610>

Đánh giá khả năng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất triterpene phân lập từ cây Thái lái trắng (*Commelina diffusa* Burm.f.)

Nguyễn Xuân Tùng^{1,2}, Vũ Đức Lợi^{1,3,*}, Nguyễn Thị Vân Anh²,
Lê Hồng Dương¹, Nguyễn Thị Thảo Vy¹, Nguyễn Thị Quỳnh Trang¹

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, 2 Trần Phú, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 8 tháng 5 năm 2024

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 5 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 6 năm 2024

Tóm tắt: Bằng phương pháp phân tách sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng, ba hợp chất triterpen đã được phân lập từ phân đoạn *n*-hexan của dịch chiết methanol cây Thái lái trắng, gồm axit corosolic (**1**), 3 α -acetyl-20*S*,24*S*-epoxydammaran-25-ol (**2**) và 11-oxo- α -amyirin acetat (**3**). Cấu trúc của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm và so sánh với các tài liệu tham khảo. Đây là lần đầu tiên hợp chất **2** và **3** được phân lập từ chi *Commelina*. Đối với các thử nghiệm ức chế enzym, trong ba hợp chất được khảo sát, hợp chất **1** có tác dụng ức chế enzym α -glucosidase cao nhất với giá trị IC₅₀ là 93,68 \pm 4,1 μ g/mL và hợp chất **2** thể hiện khả năng ức chế enzym α -amylase mạnh nhất với giá trị IC₅₀ là 100,64 \pm 3,6 μ g/mL. Trong khi đó, giá trị IC₅₀ thu được của chứng dương acarbose ở hai thử nghiệm này lần lượt là 135,73 \pm 1,8 μ g/mL đối với enzym α -glucosidase và 83,33 \pm 2,0 μ g/mL đối với enzym α -amylase.

Từ khóa: *Commelina diffusa* Burm.f., axit corosolic, 3 α -acetyl-20*S*,24*S*-epoxydammaran-25-ol, 11-oxo- α -amyirin acetat, α -glucosidase, α -amylase.

1. Mở đầu

Đái tháo đường là một trong những bệnh không lây nhiễm phổ biến nhất trên toàn cầu. Trong đó, đái tháo đường type 2, còn được gọi là đái tháo đường không phụ thuộc insulin, chịu trách nhiệm cho 90 – 95% tất cả các trường hợp đái tháo đường [1]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh tăng đường huyết sau ăn là một yếu tố góp phần quan trọng cho sự phát triển của bệnh đái tháo đường type 2. Do đó, kiểm soát tăng đường huyết sau ăn là một trong những phương pháp

chính để điều trị căn bệnh này [2]. α -Amylase và α -glucosidase là hai enzym chuyên hóa carbohydrate quan trọng liên quan đến tăng đường huyết sau ăn ở bệnh nhân mắc đái tháo đường type 2. α -Amylase có khả năng xúc tác sự phân cắt các liên kết α -1,4-glycosidic để chuyển hóa các polysaccharide thành các đoạn oligosaccharide nhỏ hơn, sau đó bị phân hủy bởi α -glucosidase. Trong khi đó, α -glucosidase chịu trách nhiệm thủy phân các gốc α -1,4-glycoside ở đầu tận cùng không khử của carbohydrate để giải phóng các monosaccharide có thể hấp thụ vào

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: loivuduc.umpvnu@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4610>

máu. Do đó, việc ức chế hai enzym này có thể làm giảm quá trình thủy phân carbohydrate và làm chậm sự thẩm thấu glucose vào máu [3, 4].

Thài lài trắng (*Commelina diffusa* Burm.f.) là một loài cỏ dại ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, xuất hiện chủ yếu ở các môi trường sống thoáng và ẩm. Ở nước ta, cây phân bố ở khắp các tỉnh thành và thường mọc ở những nơi ẩm ướt như ven sông, ven đường và các vùng đất canh tác [5]. Theo y học cổ truyền, Thài lài trắng có vị ngọt, tính hàn; quy vào các kinh tâm, can, tỳ, thận, đại tiểu trường; công năng thanh nhiệt, giải độc, lợi thủy, tiêu thũng. Loài này được sử dụng trong dân gian để chữa viêm nhiễm phần trên đường hô hấp, viêm họng, cảm cúm, viêm hạnh nhân cấp, phù thũng, viêm ruột, kiết lỵ, nhiễm khuẩn đường niệu – sinh dục, cao huyết áp, bệnh lậu và tăng đường huyết [6]. Thành phần hóa học của Thài lài trắng đã được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng và định lượng sơ bộ, bao gồm các nhóm chất chính như alcaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin, coumarin, saponin, glycosid tim, phenolic acid và anthraquinon [7]. Các nghiên cứu dược lý đã cho thấy Thài lài trắng thể hiện nổi bật tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm, chống oxy hóa, bảo vệ gan, lợi tiểu và ức chế hệ thần kinh trung ương [8]. Tuy nhiên, các bằng chứng khoa học về tác dụng hạ đường huyết của loài này còn hạn chế. Gần đây, nhóm nghiên cứu của Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội đã chứng minh phân đoạn *n*-hexan của cây Thài lài trắng thể hiện hoạt tính ức chế tốt đối với enzym α -glucosidase và α -amylase khi so sánh với chứng dương acarbose [9]. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập một số hợp chất từ phân đoạn *n*-hexan của cây Thài lài trắng và đánh giá khả năng ức chế hai enzym α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã tiến hành chiết xuất các phân đoạn, dịch chiết của cây Thài lài trắng [5]. Cụ thể, mẫu dược liệu

được thu hái và được định danh bởi nhà thực vật học. Mẫu vật có đầy đủ các bộ phận và đặc biệt là có hoa. Tiêu bản của mẫu thu hái được lưu trữ tại Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội (số hiệu tiêu bản: HNIP/18651/22). Sau khi định danh, dược liệu được rửa sạch, cắt nhỏ, phơi khô. Nguyên liệu Thài lài trắng sau khi sấy khô được nghiền nhỏ, ngâm chiết 3 lần trong dung môi methanol ở nhiệt độ phòng. Lọc loại bã dược liệu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết toàn phần methanol. Cao chiết này được phân tán vào nước cất với tỉ lệ 1:1 và chiết phân bố lần lượt với *n*-hexan và ethyl acetat (mỗi dung môi 3 lần). Các dịch chiết được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được các phân đoạn tương ứng.

2.2. Dung môi, hóa chất và thiết bị

Các dung môi, hóa chất dùng trong chiết xuất và phân lập gồm methanol (MeOH), *n*-hexan, dichloromethan (CH₂Cl₂), ethyl acetat (EtOAc) và nước cất (H₂O) đều đạt tiêu chuẩn công nghiệp. Sắc ký cột được tiến hành trên silica gel (Merck) cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm. Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng tráng sẵn trên đế nhôm, pha thường silica gel 60 F₂₅₄ (Merck), độ dày 0,2 mm; pha đảo silica gel 60 RP-18 F_{254s} (Merck), độ dày 0,25 mm; hoạt hóa ở 110 °C trong 1 giờ. Các hợp chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm và sử dụng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% hơi nóng để phát hiện vết chất.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz (Bruker) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Nhiệt độ nóng chảy được đo trên máy Stuart SMP10 tại Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá khả năng ức chế enzym bao gồm enzym α -glucosidase và α -amylase (Sigma-Aldrich, Mỹ); tinh bột, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG), kali photphat, natri clorid, natri carbonat, axit dinitrosalicylic, dimethyl sulfoxide (Merck, Đức); acarbose (Chemcruz, Mỹ). Các loại hóa chất khác đều đạt tiêu chuẩn dược dụng hoặc tinh khiết phân tích.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Cần *n*-hexan (65,0 g) được phân lập trên cột sắc ký với chất hấp phụ silicagel sử dụng hệ dung môi *n*-hexan:CH₂Cl₂ (15:1, v/v). Hứng dịch rửa giải vào các ống và kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng. Gộp các ống từ 2 – 16 thu được phân đoạn H1, gộp các ống từ 17 – 25 thu được phân đoạn H2 và gộp các ống từ 26 – 40 thu được phân đoạn H3.

Tiến hành sắc ký cột cần phân đoạn H1 với chất hấp phụ silicagel, hệ dung môi *n*-hexan:CH₂Cl₂ (10:1; v/v). Kiểm tra các ống hứng dịch rửa giải bằng sắc ký lớp mỏng, gộp các ống có cùng thành phần và bốc hơi dung môi thu được 4 phân đoạn nhỏ gồm: H1.1, H1.2, H1.3, H1.4. Phân đoạn H1.3 được phân lập trên cột silicagel với hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (7:3; v/v) thu được hợp chất **1** (21,3 mg). Từ phân đoạn H1.4, triển khai phương pháp sắc ký cột silicagel pha thường với hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (9:1; v/v) thu được hợp chất **2** (26,0 mg).

Tiến hành sắc ký cột cần phân đoạn H2 với chất hấp phụ silicagel, hệ dung môi rửa giải *n*-hexan:EtOAc (10:1, 5:1; v/v), thu được 2 phân đoạn nhỏ ký hiệu là H2.1 và H2.2. Phân đoạn H2.2 được phân tách bằng phương pháp sắc ký cột silicagel pha thường với hệ dung môi là *n*-hexan:EtOAc (20:1; v/v) thu được hợp chất **3** (27,5 mg).

Sử dụng phương pháp đo nhiệt độ nóng chảy, phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMBC, HSBC) và so sánh các số liệu thu được từ thực nghiệm với các số liệu đã công bố để xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được.

2.3.2. Đánh giá khả năng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase

Khả năng hạ đường huyết *in vitro* của các hợp chất triterpen phân lập được từ cây Thái lái trắng được đánh giá thông qua tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase. Các thử nghiệm ức chế enzym được thực hiện ba lần theo các phương pháp đã được mô tả trong nghiên cứu trước đây [9]. Các dung dịch mẫu thử được

chuẩn bị bằng cách hòa tan các hợp chất tinh khiết trong dimethyl sulfoxide (DMSO) và pha loãng thành dãy các nồng độ khác nhau. Phép đo hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase sử dụng dung dịch đệm photphat (kali photphat 100 mM; pH 6,8) và dung dịch cơ chất (*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside 5 mM). Đầu tiên, 50 μ L dung dịch mẫu thử được trộn với 50 μ L dung dịch enzyme (0,2 U/mL) và ủ trong đĩa 96 giếng trong 10 phút ở 37 °C. Sau đó, thêm 100 μ L dung dịch cơ chất vào hỗn hợp và ủ trong 20 phút ở 37 °C. Cuối cùng, 80 μ L dung dịch Na₂CO₃ 0,2 M được thêm vào để kết thúc phản ứng. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo ở bước sóng 405 nm bằng máy quang phổ Microplate (xMark, Bio-Rad). Đối với thử nghiệm α -amylase, dung dịch đệm natri photphat (NaCl 6,7 mM; pH 6,9) và dung dịch cơ chất (tinh bột 1% pha trong dung dịch đệm 20 mM) được sử dụng. Trong mỗi thí nghiệm, 10 μ L dung dịch mẫu thử được trộn với 10 μ L dung dịch enzym (50 U/mL) trong các ống nghiệm và ủ trong 10 phút ở 25 °C. Sau quá trình ủ sơ bộ, 10 μ L dung dịch cơ chất được thêm vào mỗi ống và hỗn hợp này được ủ tiếp trong 10 phút ở 25 °C. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 20 μ L dung dịch thuốc thử DNSA (dinitrosalicylic acid) và đun nóng trong nồi cách thủy ở 90 – 100 °C trong 10 phút. Cuối cùng, dung dịch phản ứng được làm nguội ở nhiệt độ phòng và được pha loãng với 300 μ L nước cất. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ UV-VIS. Acarbose được sử dụng làm chứng dương trong cả hai thử nghiệm. Hỗn hợp phản ứng không có enzyme được sử dụng làm đối chứng trắng (blank), trong khi hỗn hợp không có dung dịch thử được sử dụng làm đối chứng. Khả năng ức chế enzym của dung dịch thử được đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế và được tính theo công thức:

$$I (\%) = \left(1 - \frac{A_t}{A_c}\right) \times 100\%$$

Trong đó:

I (%): phần trăm ức chế;

A_t: độ hấp thụ quang của mẫu thử;

A_c: độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng.

Giá trị IC₅₀ tương ứng với nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzym của mẫu thử được tính dựa theo đồ thị tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa nồng độ (C) và phần trăm ức chế (I%); từ đó xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các dữ liệu nghiên cứu được biểu diễn ở dạng giá trị trung bình ± SD (SD: độ lệch chuẩn). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và SigmaPlot 12.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất

Hợp chất 1: Axit corosolic

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ_H ppm): 0,71 (3H, s, H-29); 0,75 (3H, s, H-30); 0,82 (3H, s, H-25); 0,88 (3H, s, H-24); 0,91 (3H, s, H-26); 0,92 (3H, s, H-27); 1,03 (3H, s, H-23); 2,11 (1H, d, *J* = 11,5 Hz, H-20); 2,75 (1H, dd, *J* = 4,0; 9,5 Hz, H-19); 3,42 (1H, t, *J* = 9,5 Hz, H-18); 4,24 (1H, d, *J* = 4,0 Hz, H-2); 4,35 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-3); 5,14 (1H, brs, H-12).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆, δ_C ppm): 16,5 (C-25); 16,9 (C-26); 17,1 (C-30); 17,2 (C-24); 18,0 (C-6); 21,1 (C-29); 22,9 (C-11); 23,3 (C-27); 23,8 (C-16); 27,6 (C-15); 28,8 (C-23); 30,2 (C-21); 32,5 (C-7); 36,3 (C-22); 37,6 (C-10); 38,4 (C-19); 38,5 (C-20); 39,0 (C-4); 39,3 (C-8); 41,7 (C-14); 46,9 (C-9); 47,0 (C-17); 47,1 (C-1); 52,2 (C-18); 54,6 (C-5); 67,2 (C-2); 82,1 (C-3); 124,5 (C-12); 138,3 (C-13); 178,2 (C-28).

Hợp chất 1 được phân lập dưới dạng bột màu trắng, có nhiệt độ nóng chảy ở 243-245 °C. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 1 cho thấy có tổng cộng 7 nhóm methyl với các tín hiệu singlet tại δ_H 0,71 (H-29); 0,75 (H-30); 0,82 (H-25); 0,88 (H-24); 0,91 (H-26); 0,92 (H-27); 1,03 (H-23). Ngoài ra, phổ ¹H-NMR cũng cho thấy tín hiệu của 2 nhóm hydroxy gắn với cacbon bậc 3 tại δ_H 4,24 (1H, d, *J* = 4,0 Hz, H-2) và 4,35 (1H, d, *J* = 9,0 Hz, H-3), cùng với 1 tín hiệu của nối đôi tại δ_H 5,14 (1H, brs, H-12). Đây là các tín hiệu đặc trưng của một

triterpen khung ursan. Phổ ¹³C-NMR và DEPT của hợp chất này cho thấy sự có mặt của 30 cacbon, bao gồm 7 nhóm methyl tại δ_C 16,5 (C-25), 16,9 (C-26), 17,1 (C-30), 17,2 (C-24), 21,1 (C-29), 23,3 (C-27), 28,8 (C-23); 8 nhóm methylen tại δ_C 18,0 (C-6), 22,9 (C-11), 23,8 (C-16), 27,6 (C-15), 30,2 (C-21), 32,5 (C-7), 36,3 (C-22), 47,1 (C-1); 8 nhóm methin tại δ_C 38,4 (C-19), 38,5 (C-20), 46,9 (C-9), 52,2 (C-18), 54,6 (C-5), 67,2 (C-2), 82,1 (C-3), 124,5 (C-12) và 7 nhóm carbon bậc 4 tại δ_C 37,6 (C-10), 39,0 (C-4), 39,3 (C-8), 41,7 (C-14), 47,0 (C-17), 138,3 (C-13), 178,2 (C-28). So sánh các số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất 1 với số liệu của axit corosolic trong tài liệu tham khảo [10] thấy hoàn toàn trùng khớp. Do vậy, có thể khẳng định hợp chất 1 chính là axit corosolic.

Hợp chất 2: 3α-acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol

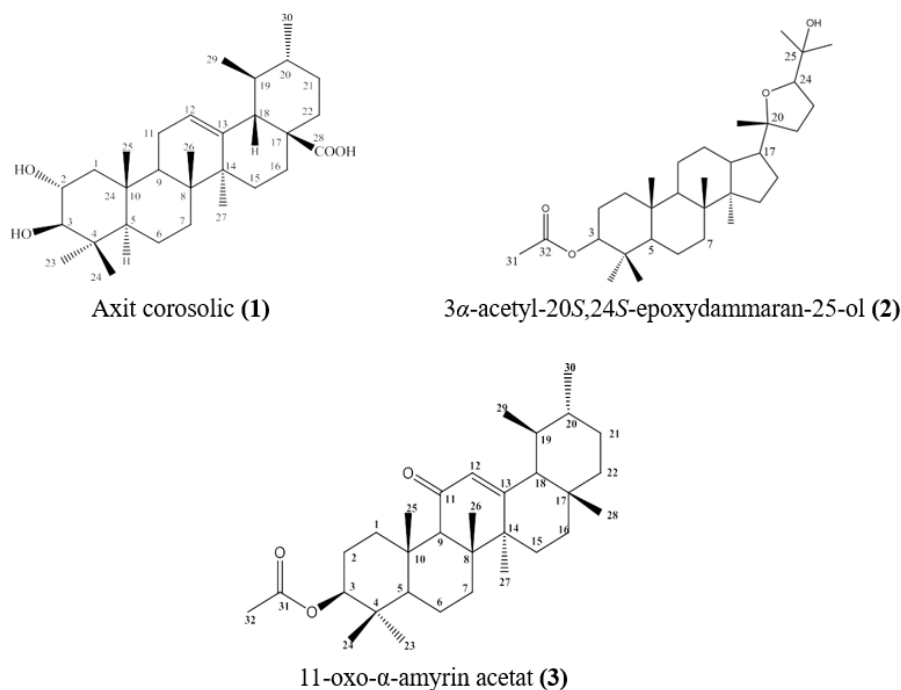
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ_H ppm): 0,85 (3H, s, H-28); 0,87 (3H, s, H-19); 0,88 (3H, s, H-29); 0,90 (3H, s, H-30); 0,96 (3H, s, H-18); 1,11 (3H, s, H-17); 1,13 (3H, s, H-21); 1,20 (3H, s, H-26); 2,07 (3H, s, Ac-Me); 3,72 (1H, t, *J* = 7,5; 14,5 Hz, H-24); 4,48 (1H, m, H-3).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ_C ppm): 15,5 (C-18); 16,2 (C-19); 16,6 (C-28); 18,2 (C-6); 21,3 (Ac-Me); 21,6 (C-11); 23,5 (C-30); 23,7 (C-2); 24,3 (C-27); 25,7 (C-16); 26,1 (C-23); 27,1 (C-21); 27,3 (C-12); 27,5 (C-26); 28,0 (C-29); 31,4 (C-15); 35,2 (C-1); 35,8 (C-22); 37,1 (C-7); 37,9 (C-4); 38,7 (C-10); 40,4 (C-8); 42,9 (C-13); 49,5 (C-17); 50,0 (C-14); 50,7 (C-9); 56,0 (C-5); 71,4 (C-25); 80,9 (C-3); 83,3 (C-24); 86,4 (C-20); 171,0 (C-32).

Hợp chất 2 được phân lập dưới dạng tinh thể hình kim, không màu, có nhiệt độ nóng chảy ở 148-150 °C. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 2 xuất hiện tín hiệu proton của hai nhóm methin gắn oxy tại δ_H 4,48 (1H, m, H-3) và 3,72 (1H, t, *J* = 7,5; 14,5 Hz, H-24). Trên phổ ¹H-NMR còn cho thấy tín hiệu proton của tám nhóm methyl tại δ_H 0,85 (3H, s, H-28); 0,87 (3H, s, H-19); 0,88 (3H, s, H-29); 0,90 (3H, s, H-30); 0,96 (3H, s, H-18); 1,11 (3H, s, H-17); 1,13 (3H, s, H-21); 1,20 (3H, s, H-26) và tín hiệu proton của nhóm methyl gắn nhóm rút điện tử tại δ_H 2,07 (3H, s, Ac-Me).

Ngoài ra, còn có sự hiện diện của các tín hiệu proton nhóm methylen và methin trong khoảng δ_H từ 1,2 đến 1,9 ppm. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu của 32 carbon, bao gồm 9 nhóm methyl, 10 nhóm methylen, 6 nhóm methin và 7 carbon không liên kết với hydro. Hai tín hiệu carbon methin liên kết với oxy tại δ_C 80,9 (C-3); 83,3 (C-24) và hai tín hiệu carbon bậc bốn liên kết với oxy tại δ_C 83,3 (C-24); 86,4 (C-20) cho phép khẳng định hợp chất **2** là triterpenoid có khung dammaran. Các tương tác trên phổ HMBC của δ_H 4,48 (1H, m, H-3) với δ_C 16,6 (C-28); 23,7 (C-2); 37,9 (C-4); 171,0 (C-

32) và của δ_H 2,07 (3H, s, Ac-Me) với δ_C 171,0 (C-32); 80,9 (C-3) chứng minh sự hiện diện của nhóm acetoxyl tại vị trí C-3. Ngoài ra, phổ HMBC còn cho thấy sự tương tác của δ_H 0,85 (3H, s, H-28) với δ_C 16,6 (C-28); 80,9 (C-3); 37,9 (C-4); 56,0 (C-5); của δ_H 1,11 (3H, s, H-17) với δ_C 86,4 (C-20); 49,5 (C-17); của δ_H 1,20 (3H, s, H-26) với δ_C 27,5 (C-26); 83,3 (C-24); 71,4 (C-25) và của δ_H 3,72 (1H, t, $J = 7,5$; 14,5 Hz, H-24) với δ_C 27,5 (C-26); 24,3 (C-27). Từ các số liệu phổ trên kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo [11], cấu trúc của **2** được xác định là 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **1** – **3**.

Hợp chất 3: 11-oxo- α -amyrin acetat

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ_H ppm): 0,81 (3H, d, $J = 2,0$ Hz, H-29); 0,82 (3H, s, H-28); 0,88 (3H, s, H-23); 0,89 (3H, s, H-24); 0,95 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-30); 1,17 (3H, s, H-26); 1,19 (3H, s, H-25); 1,29 (3H, s, H-27); 2,05 (3H, s, H-32); 2,35 (1H, brs, H-9); 4,52 (1H, dd, $J = 4,5$; 12,0 Hz, H-3); 5,54 (1H, s, H-12).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ_C ppm): 16,6 (C-26); 16,7 (C-24); 17,5 (C-29); 17,5 (C-6);

18,5 (C-25); 20,5 (C-30); 20,5 (C-27); 21,2 (COOCH₃); 23,6 (C-2); 27,2 (C-15); 27,5 (C-22); 28,1 (C-23); 28,8 (C-28); 30,9 (C-21); 32,8 (C-7); 33,9 (C-17); 36,8 (C-10); 38,0 (C-4); 38,9 (C-1); 39,2 (C-19); 39,3 (C-20); 40,9 (C-16); 43,7 (C-14); 45,1 (C-8); 55,0 (C-5); 59,0 (C-18); 61,5 (C-9); 80,8 (C-3); 130,4 (C-12); 165,0 (C-13); 171,0 (COOCH₃); 199,6 (C-11).

Hợp chất **3** thu được tồn tại ở dạng chất rắn vô định hình màu trắng, nóng chảy ở nhiệt độ

278-281 °C. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **3** mang đặc trưng của hợp chất triterpen khung ursan với sự hiện diện của 8 nhóm methyl tại δ_{H} 0,81 (3H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-29); 0,82 (3H, *s*, H-28); 0,88 (3H, *s*, H-23); 0,89 (3H, *s*, H-24); 0,95 (3H, *s*, H-30); 1,17 (3H, *s*, H-26); 1,19 (3H, *s*, H-25), 1,29 (3H, *s*, H-27), một nhóm acetoxy tại δ_{H} 2,05 (3H, *s*, H-32) và một olefinic proton tại δ_{H} 5,54 (1H, *s*, H-12). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất **3** cho thấy sự hiện diện của 32 carbon bao gồm chín nhóm methyl, tám nhóm methylen, năm nhóm methin, sáu nhóm carbon bậc bốn bão hòa, một nhóm acetoxy tại δ_{C} 21,2 (COOCH_3) và 171,0 (COOCH_3), một nhóm oxymethin tại δ_{C} 80,8 (C-3) và một nhóm carbonyl tại δ_{C} 199,6 (C-11). Trên phổ HMBC, tương tác giữa H-3 (δ_{H} 4,52) với C-23 (δ_{C} 28,1), C-24 (δ_{C} 16,7), C-31 (δ_{C} 171,0) và giữa H-32 (δ_{H} 2,05) với C-31 (δ_{C} 171,0) cho phép xác định vị trí của nhóm acetoxy tại C-3. Bên cạnh đó, vị trí của nhóm carbonyl tại C-11 được xác định dựa trên tương tác giữa H-9 (δ_{H} 2,35) với C-8 (δ_{C} 45,1), C-10 (δ_{C} 36,8), C-11 (δ_{C} 199,6), C-25 (δ_{C} 18,5) và C-26 (δ_{C} 16,6). Cấu hình α của nhóm acetoxy tại vị trí C-3 được xác định thông qua dạng phân tách của proton H-3 dưới dạng doublet doublet với một hằng số tương tác nhỏ ($J = 4,5$ Hz) và một hằng số tương tác lớn ($J = 12,0$ Hz). Trên cơ sở phân

tích các dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [12], cấu trúc của hợp chất **3** được xác định là 11-oxo- α -amyrin acetat.

3.2. Khả năng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất phân lập được

Tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất triterpen phân lập từ cây Thái lái trắng được thể hiện trong Bảng 1. Trong ba hợp chất triterpene phân lập được, hợp chất **1** thể hiện khả năng ức chế enzym α -glucosidase tốt nhất với giá trị IC_{50} là $93,68 \pm 4,1$ $\mu\text{g/mL}$ và tác dụng này mạnh hơn so với chứng dương acarbose ($\text{IC}_{50} = 135,73 \pm 1,8$ $\mu\text{g/mL}$). Tuy nhiên, đối với α -amylase, hợp chất **1** có khả năng ức chế kém nhất với giá trị IC_{50} thu được là cao nhất ($245,41 \pm 2,8$ $\mu\text{g/mL}$), gấp gần 3 lần so với mẫu chứng ($\text{IC}_{50} = 83,33 \pm 2,0$ $\mu\text{g/mL}$). Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cho thấy mặc dù có khả năng ức chế enzym α -glucosidase thấp nhất trong ba hợp chất thử nghiệm ($\text{IC}_{50} = 247,03 \pm 5,6$ $\mu\text{g/mL}$), hợp chất **2** có hoạt tính ức chế enzym α -amylase mạnh nhất với giá trị IC_{50} thu được là $100,64 \pm 3,6$ $\mu\text{g/mL}$. Trong cả hai thử nghiệm, hợp chất **3** thể hiện tác dụng ức chế trung bình với IC_{50} lần lượt là $193,55 \pm 2,5$ $\mu\text{g/mL}$ đối với enzym α -glucosidase và $242,35 \pm 4,3$ $\mu\text{g/mL}$ đối với enzym α -amylase.

Bảng 1. Tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất triterpene từ cây Thái lái trắng và chứng dương acarbose

Mẫu	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	α -glucosidase	α -amylase
Axit corosolic (1)	$93,68 \pm 4,1$	$245,41 \pm 2,8$
3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol (2)	$247,03 \pm 5,6$	$100,64 \pm 3,6$
11-oxo- α -amyrin acetat (3)	$193,55 \pm 2,5$	$242,35 \pm 4,3$
Acarbose	$135,73 \pm 1,8$	$83,33 \pm 2,0$

4. Bàn luận

Bằng phương pháp sắc ký cột, từ cần chiết phân đoạn *n*-hexan của dịch chiết methanol cây Thái lái trắng (*Commelina diffusa* Burm.f.) đã phân lập được ba hợp chất triterpen tinh khiết gồm axit corosolic (**1**), 3 α -acetyl-20S,24S-

epoxydammaran-25-ol (**2**) và 11-oxo- α -amyrin acetat (**3**). Trong đó, hợp chất **2** và **3** lần đầu tiên được phân lập từ chi *Commelina*. Axit corosolic là một hợp chất triterpen khung ursan được tìm thấy ở một số loài thực vật trong tự nhiên. Các nghiên cứu đã chứng minh hợp chất này sở hữu nhiều hoạt tính sinh học quý như hạ đường huyết,

chống béo phì, kháng viêm, giảm lipid máu và chống khối u. Axit corosolic cho thấy đặc tính hạ đường huyết đầy hứa hẹn với khả năng tăng cường sự hấp thu glucose, tăng độ nhạy insulin và ức chế các enzym liên quan đến sự hấp thu carbohydrat, chẳng hạn như α -glucosidase và α -amylase. Những cơ chế này góp phần cải thiện việc kiểm soát đường huyết và có ý nghĩa tiềm năng trong việc quản lý bệnh đái tháo đường và các biến chứng liên quan của nó [13]. Trong khi đó, 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol, còn được gọi là cabraleadiol monoacetate, là một hợp chất triterpen khung dammaran được phân lập từ cây gôi bốn cánh (*Aglaia lawii*) thu hái tại Việt Nam [14]. Tương tự như axit corosolic, 11-oxo- α -amyrin acetat là một hợp chất triterpen khung ursan. Hợp chất này đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn trên chủng vi khuẩn *S. typhi*, *P. mirabilis* và *E. coli* [15, 16].

Triterpen là nhóm các chất chuyển hóa thứ cấp phân bố rộng rãi trong giới thực vật, hiện diện ở dạng tự do hoặc glycosid. Cấu trúc hóa học của các triterpen có thể là mạch hở 3, 4 hoặc 5 vòng với 33 khung sườn carbon cơ bản chính [17]. Nhiều nghiên cứu được lý đã chứng minh các tác dụng sinh học nổi bật của triterpen bao gồm chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm, chống xơ vữa động mạch, kháng virus, kháng khuẩn và hạ đường huyết. Triterpen thể hiện hoạt tính hạ đường huyết bằng cách ức chế các enzym liên quan đến chuyển hóa glucose, ngăn ngừa sự phát triển của tình trạng kháng insulin và bình thường hóa lượng glucose và insulin trong huyết tương. Khác với các loại thuốc tổng hợp, các hợp chất tự nhiên này ngoài việc gây tác dụng hạ đường huyết, chúng còn có tác dụng hạ mỡ máu và chống béo phì. Triterpen cũng là tác nhân đầy tiềm năng để ứng dụng trong việc ngăn ngừa các biến chứng của bệnh tiểu đường. Cụ thể, chúng có hoạt tính chống oxy hóa mạnh và ức chế sự hình thành các sản phẩm cuối cùng của quá trình glycation, liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh thận, bệnh lý phổi và bệnh thần kinh do đái tháo đường [18]. Trong nghiên cứu này, tác dụng hạ đường huyết của các hợp chất triterpen phân lập từ cây Thái lái trắng được đánh giá thông qua khả năng ức chế *in vitro* enzym α -glucosidase và α -amylase. Kết quả

thực nghiệm cho thấy axit corosolic có tác dụng ức chế enzym α -glucosidase mạnh nhất nhưng thể hiện khả năng ức chế enzym α -amylase thấp nhất khi so sánh với chứng dương acarbose. Kết quả này tương đồng với các dữ liệu đã được báo cáo trong công bố trước đây của Zhang và cộng sự [19]. Trong khi đó, đây là nghiên cứu đầu tiên về tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol và 11-oxo- α -amyrin acetat. Mặc dù có tác dụng ức chế yếu đối với enzym α -glucosidase, 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol có khả năng ức chế mạnh enzym α -amylase với giá trị IC₅₀ thu được là thấp nhất trong ba hợp chất được khảo sát. Trong khi đó, 11-oxo- α -amyrin acetat thể hiện khả năng ức chế trung bình đối với cả hai enzym thử nghiệm.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được ba hợp chất triterpen từ phân đoạn *n*-hexan của dịch chiết methanol cây Thái lái trắng (*Commelina diffusa* Burm.f.), bao gồm axit corosolic (**1**), 3 α -acetyl-20S,24S-epoxydammaran-25-ol (**2**) và 11-oxo- α -amyrin acetat (**3**). Cấu trúc hóa học của các hợp chất đã được chứng minh bằng các phương pháp phổ nghiệm và kết hợp với các tài liệu tham khảo đã được công bố trước đó. Đây là nghiên cứu đầu tiên phân lập được hợp chất **2** và **3** từ loài Thái lái trắng nói riêng cũng như chi *Commelina* nói chung. Bên cạnh đó, hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase và α -amylase của 3 hợp chất này đã được khảo sát. Kết quả thử nghiệm cho thấy trong ba hợp chất khảo sát, hợp chất **1** có khả năng ức chế enzym α -glucosidase mạnh nhất với giá trị IC₅₀ là 93,68 ± 4,1 µg/mL và hợp chất **2** có tác dụng ức chế enzym α -amylase tốt nhất với IC₅₀ thu được là 100,64 ± 3,6 µg/mL.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, mã số đề tài CS.23.03.

Tài liệu tham khảo

- [1] S. Sen, R. Chakraborty, B. De, Diabetes Mellitus in 21st Century, Springer Singapore, Singapore, 2016, pp. 13-15.
- [2] X. Wu, H. Ding, X. Hu, J. Pan, Y. Liao, D. Gong, G. Zhang, Exploring Inhibitory Mechanism of Gallicocatechin Gallate on α -amylase and α -Glucosidase Relevant to Postprandial Hyperglycemia, Journal of Functional Foods, Vol. 48, 2018, pp. 200-209, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.022>.
- [3] A. S. Alqahtani, S. Hidayathulla, M. T. Rehman, A. A. ElGamal, S. A. Massarani, V. R. Naumovski, M. S. Alqahtani, R. A. E. Dib, M. F. AlAjmi, Alpha-amylase and Alpha-glucosidase Enzyme Inhibition and Antioxidant Potential of 3-Oxolupenal and Katonic Acid Isolated From *Nuxia Oppositifolia*, Biomolecules, Vol. 10, No.1, 2019, pp. 61, <https://doi.org/10.3390/biom10010061>.
- [4] S. Lordan, T. J. Smyth, A. S. Vila, C. Stanton, R. P. Ross, The α -amylase and α -glucosidase Inhibitory Effects of Irish Seaweed Extracts, Food Chemistry, Vol. 141, No. 3, 2013, pp. 2170-2176, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.123>.
- [5] N. X. Tung, V. D. Loi, L. H. Duong, N. T. V. Anh, Extraction and Isolation of Several Compounds From *Commelina Diffusa* Burm.f., Vietnam Journal of Traditional Medicine and Pharmacy, Vol. 49, No. 2, 2023, pp. 21-28 (in Vietnamese).
- [6] P. H. Ho, An Illustrated Flora of Vietnam, Youth Publishing House, Ho Chi Minh City, 2003 (in Vietnamese).
- [7] S. Kamble, Nutraceutical Investigations of *Commelina Diffusa* Burm. F. Leaves – A Popular Wild Vegetable, Plantae Scientia, Vol. 2, No. 3, 2019, pp. 34-39.
- [8] M. M. Rahman, M. A. Mannan, R. S. Nijhu, A. Khatun, Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Commelina Diffusa* Burm: An Updated Systematic Review, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, Vol. 10, No. 4, 2021, pp. 53-59.
- [9] D. L. Vu, T. V. A. Nguyen, T. D. Nguyen, V. H. Dang, H. D. Le, X. T. Nguyen, Anti-diabetic Effect of Major Compounds from *Commelina Diffusa*, Revista Brasileira De Farmacognosia, Vol. 33, No. 3, 2023, pp. 657-661, <https://doi.org/10.1007/s43450-023-00394-7>.
- [10] S. Xu, G. Wang, W. Peng, Y. Xu, Y. Zhang, Y. Ge, Y. Jing, Z. Gong, Corosolic Acid Isolated from *Eriobotrya Japonica* Leaves Reduces Glucose Level in Human Hepatocellular Carcinoma Cells, Zebrafish and Rats, Scientific Reports, Vol. 9, 2019, pp. 4388, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40934-7>.
- [11] M. M. Farimani, E. Nazarianpoor, A. Rustaie, M. Akhbari, Phytochemical Constituents and Biological Activities of *Cleome Iberica* DC, Natural Product Research, Vol. 31, No. 11, 2017, pp. 1329-1332, <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1239093>.
- [12] C. E. Fingolo, T. S. Santos, M. D. M. V. Filho, M. A. C. Kaplan, Triterpene Esters: Natural Products from *Dorstenia Arifolia* (Moraceae), Molecules, Vol. 18, 2013, pp. 4247-4256, <https://doi.org/10.3390/molecules18044247>.
- [13] R. Cannarella, V. Garofalo, A. E. Calogero, Anti-Dyslipidemic and Anti-Diabetic Properties of Corosolic Acid: A Narrative Review, Endocrines, Vol. 4, No. 3, 2023, pp. 616-629, <https://doi.org/10.3390/endocrines4030044>.
- [14] S. X. Qiu, N. V. Hung, L. T. Xuan, J. Q. Gu, E. Lobkovsky, T. C. Khanh, D. D. Soejarto, J. Clardy, J. M. Pezzuto, Y. Dong, M. V. Tri, L. M. Huang, H. H. S. Fong, A Pregnane Steroid from *Aglaia Lawii* and Structure Confirmation of Cabraleadiol Monoacetate By X-Ray Crystallography, *Phytochemistry*, Vol. 56, No. 7, 2001, pp. 775-780, [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00463-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00463-5).
- [15] M. S. Ali, A. Sultan, M. Lateef, A. Ashfaq, A New Flavone and Other Constituents from the Flowers and Fruits of *Alstonia Scholaris*, Chemistry of Natural Compounds, Vol. 58, 2022, pp. 233-236, <https://doi.org/10.1007/s10600-022-03648-3>.
- [16] L. R. P. Camargo, V. M. D. Carvalho, I. E. C. Diaz, M. L. B. Paciencia, S. A. Frana, R. N. Younes, A. D. Varella, L. F. L. Reis, I. B. Suffredini, Susceptibility of Virulent and Resistant *Escherichia Coli* Strains to Non-Polar and Polar Compounds Identified in *Microplumeria Anomala*, Veterinary World, Vol. 13, No. 7, 2020, pp. 1376-1387.
- [17] J. D. Connolly, R. A. Hill, Dictionary of Terpenoids, Chapman & Hall, London, Vol. 1, 1991.
- [18] J. Nazaruk, M. B. Kluczyk, The Role of Triterpenes in the Management of Diabetes Mellitus and Its Complications, Phytochemistry Reviews, Vol. 14, 2015, pp. 675-690, <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9369-x>.
- [19] B. Zhang, Y. Xing, C. Wen, X. Yu, W. Sun, Z. Xiu, Y. Dong, Pentacyclic Triterpenes as A-Glucosidase and A-Amylase Inhibitors: Structure-Activity Relationships and the Synergism with Acarbose, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 27, 2017, pp. 5065-5070, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.09.027>.