

Hợp chất aristolactame và aporphine alkaloid từ cao ethyl acetate của thân cây Dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* L.)

Nguyễn Thị Mỹ Hương^{1,2}, Đỗ Thị Mỹ Liên^{2,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Cây Dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* L.) thuộc chi *Melodorum*, họ Na (Annonaceae), là một loại cây bụi có hoa thơm, màu vàng; phân bố ở khu vực Đông Nam Á, chủ yếu là các quốc gia Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam. Trong các bài thuốc dân gian của Việt Nam, cây Dẻ trâu được sử dụng để hỗ trợ tiêu hóa, chữa chứng bụng trướng và thiếu máu ở phụ nữ sau sinh. Người Thái dùng cây làm thuốc bổ, thuốc kích thích tim nhẹ, thuốc hạ sốt và trị chứng chóng mặt. Tinh dầu của hoa *M. fruticosum* được sử dụng trong các bài thuốc dân gian và liệu pháp hương thơm. Hoa và vỏ của cây đã được báo cáo là có các hoạt tính kháng nấm, kháng oxy hóa và gây độc tế bào. Khảo sát phân đoạn EA.3 và EA.4 từ cao chiết ethyl acetate của thân cây *M. fruticosum*, năm hợp chất alkaloid bao gồm aristolactame All (1), goniopedalin (2), piperolactame C (3), 10-amino-3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid (4) và noraristolodione (5) đã được phân lập. Cấu trúc hóa học của năm hợp chất trên được xác định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D và 2D-NMR), khối phổ ESI-MS cũng như so sánh với tài liệu tham khảo. Tất cả các hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ loài *Melodorum fruticosum* thu hái ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam. Các alkaloid cô lập từ cây Dẻ trâu được khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư ở người, KB, Hep-G2 và MCF-7, trong đó hợp chất (2) có hoạt tính yếu trên cả ba dòng tế bào khảo sát.

Từ khoá: *Melodorum fruticosum*, alkaloid, aristolactame, aporphine

GIỚI THIỆU

Melodorum fruticosum thuộc chi *Melodorum*, họ Na (Anonaceae), là loại cây gỗ nhỏ mọc đứng hoặc leo, phân bố chủ yếu ở khu vực miền Trung và miền Nam Việt Nam. Ở Việt Nam, trong dân gian, lá cây Dẻ trâu (*Melodorum fruticosum*) được sử dụng để trị bệnh về đường tiêu hoá và sưng vú, rễ cây được sử dụng để chữa bụng trướng ở phụ nữ sau khi sinh, giúp bổ huyết.^{1,2} Theo Nguyễn Tiến Bàn, hoa Dẻ trâu có thể được sử dụng để chưng cất lấy tinh dầu, vỏ cây dùng ăn trâu, lá cây nấu nước uống giúp tiêu hóa.³ Ở Thái Lan, cây *M. fruticosum* được sử dụng làm thuốc bổ, thuốc kích thích tim nhẹ, hạ sốt và thuốc chóng mặt.⁴ Ngoài ra, tinh dầu hoa *M. fruticosum* thường được sử dụng làm dầu xoa bóp và trong các bài thuốc dân gian ở Thái Lan.⁵ Từ cao chiết vỏ cây *M. fruticosum*, Jung J. H. và cộng sự^{6,7} và Chaiyo Chaichantipyuth và cộng sự⁸ đã cô lập được các hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào ung thư người, từ trung bình đến mạnh. Năm 2016, từ cao chiết dichloromethane của hoa *M. fruticosum*, Rachsawan M. và cộng sự,⁴ đã cô lập hợp chất melodorinol có hoạt tính ức chế lên sự phát triển của hệ sợi nấm *Phytophthora parasitica* với giá trị IC₅₀ là 130 mg/mL. Bài báo này trình bày kết

quả phân lập, xác định cấu trúc hóa học của năm hợp chất alkaloid cô lập từ cao ethyl acetate thân cây Dẻ trâu và khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư ở người KB, Hep-G2 và MCF-7.

VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Thân cây Dẻ trâu được thu hái tại huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam vào tháng 7 năm 2017. Cây được định danh khoa học bởi Tiến sĩ Đặng Văn Sơn, Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tiêu bản thực vật với mã số US-A012, được lưu giữ tại Bộ môn Hoá hữu cơ, Khoa Hoá, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh. Sau khi thu hái, mẫu được rửa sạch, phơi khô, nghiền thành bột, ngâm chiết với ethanol 95% ở 30 °C.

Hóa chất và thiết bị

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trên máy Bruker Avance 500 III (500 MHz cho phổ ¹H-NMR và 125 MHz cho phổ ¹³C-NMR) và Bruker 600 Avance-NEO (600 MHz cho phổ ¹H-NMR và 150 MHz cho phổ ¹³C-NMR), đặt tại Viện Hàn lâm Khoa học và

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Sài Gòn, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Liên hệ

Đỗ Thị Mỹ Liên, Trường Đại học Sài Gòn, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: liendo.iet@sgu.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 05-6-2022
- Ngày chấp nhận: 28-6-2022
- Ngày đăng: 21-8-2022

DOI: 10.32508/stdjns.v6i3.1202



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Hương N T M, Liên D T M. Hợp chất aristolactame và aporphine alkaloid từ cao ethyl acetate của thân cây Dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* L.). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(3):2173-2180.

Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. Phổ ESIMS được đo trên máy Bruker microTOF Q-II, đặt tại Phòng Nghiên cứu và Phát triển Hóa dược, Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 01 đường Thanh Lộc 29, Quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh. Sắc kí cột (SKC) sử dụng silica gel 60 (0,040–0,063 mm, Merck), silica gel RP-18 (Merck) và Sephadex LH-20 (GE Healthcare). Sắc kí lớp mỏng sử dụng bản mỏng silica gel F₂₅₄, silica gel 60 RP-18 F₂₄₅ (Merck), thuốc thử hiện vết là dung dịch acid sulfuric 10%, gia nhiệt. Các hóa chất sử dụng cho quá trình chiết và sắc kí là ethanol (EtOH), methanol (MeOH), *n*-hexane, chloroform (CHCl₃), ethyl acetate (EtOAc) và acetone (được cung cấp bởi hãng Chemsol).

Chiết xuất và phân lập

Bột thân cây khô (45,0 kg) được trích bằng dung môi ethanol 95% ở nhiệt độ 30 °C. Thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao ethanol thô (1,3 kg). Từ cao thô ethanol, thực hiện việc chiết lỏng–lỏng lần lượt với các dung môi *n*-hexane, ethyl acetate, cuối cùng dung môi phần dịch chiết, thu được các cao thành phần tương ứng: cao *n*-hexane (45,0 g), cao ethyl acetate (161,0 g) và dịch chiết còn lại. Cao ethyl acetate (161,0 g) được sắc kí cột silica gel pha thường, với hệ dung môi giải ly là *n*-hexane: ethyl acetate (85:15; 80:20; 70:30; 50:50; 0:100, v/v), và hệ dung môi ethyl acetate: methanol (90:10; 70:30; 50:50; 0:100, v/v). Căn cứ vào kết quả sắc ký lớp mỏng, cao ethyl acetate được phân chia làm 13 phân đoạn (EA.1–EA.13).

Phân đoạn EA.3 (21,0 g) được thực hiện sắc ký cột và giải ly bằng *n*-hexane: ethyl acetate có độ phân cực tăng dần (85:15; 0:100, v/v), thu được bảy phân đoạn (EA.3.1–EA.3.7). Sắc kí cột silica gel pha thường trên phân đoạn EA.3.2 (2,2 g) với hệ dung môi giải ly là *n*-hexane: ethyl acetate (80:20, v/v), tiếp theo sắc ký gel Sephadex LH-20 giải ly với hệ CHCl₃: MeOH (1:4, v/v) phân lập được hai hợp chất **2** (7,0 mg) và **3** (6,2 mg). Hợp chất **1** (5,5 mg) được phân lập từ phân đoạn EA.3.4 (3,2 g) bằng sắc ký cột silica gel giải ly *n*-hexane: ethyl acetate (65:35, v/v).

Phân đoạn EA.4 (3,0 g) được thực hiện sắc ký cột giải ly với *n*-hexane: ethyl acetate (85:15; 0:100, v/v), thu được bốn phân đoạn (EA.4.1–EA.4.4). Trên phân đoạn EA.4.2 (0,8 g), áp dụng sắc ký cột silica gel pha thường với hệ giải ly CHCl₃: MeOH (95:5, v/v) tiếp theo sắc ký cột gel Sephadex LH-20 giải ly với hệ dung môi CHCl₃: MeOH (1:4, v/v) thu được hai hợp chất **4** (5,0 mg) và **5** (4,0 mg).

Aristolactam AII (1): bột vô định hình, màu vàng, tan trong dung môi acetone.

Goniopedalin (2): bột vô định hình, màu vàng, tan trong dung môi acetone.

Piperolactam C (3): bột vô định hình, màu vàng, tan trong dung môi methanol.

10-Amino-3,6-dihydroxy-2,4-

dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid (4): bột vô định hình, màu vàng, tan trong dung môi methanol.

Noraristolodione (5): bột vô định hình, màu vàng nâu, tan trong dung môi methanol.

Các dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR được trình bày trong Bảng 1 và Bảng 2.

Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào

Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa kỳ (NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kim hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*. Các dòng tế bào ung thư nghiên cứu được nuôi cấy trong các môi trường nuôi cấy phù hợp có bổ sung thêm 10% huyết thanh phôi bò (FBS) và các thành phần cần thiết khác ở điều kiện tiêu chuẩn (5% CO₂; 37 °C; độ ẩm 98%; vô trùng tuyệt đối). Tùy thuộc vào đặc tính của từng dòng tế bào khác nhau, thời gian cấy chuyển cũng khác nhau. Tế bào phát triển ở pha log sẽ được sử dụng để thử độc tính.

Thử độc tế bào: 200 mL dung dịch tế bào ở pha log nồng độ 3 x 10⁴ tế bào/mL vào mỗi giếng (đĩa 96 giếng) trong môi trường DMEM cho các dòng tế bào Hep-G2, MCF-7, KB. Mẫu thử được pha loãng sao cho đạt đến nồng độ cuối cùng là 256 mg/mL và các nồng độ pha loãng thấp hơn. Ủ 37 °C, 5% CO₂ trong 3 ngày.

Đối chứng dương gồm 200 mL dung dịch tế bào 3x10⁴ tế bào/mL. Đối chứng âm gồm 200 mL môi trường nuôi cấy. Ellipticine (Sigma) được sử dụng làm hợp chất đối chứng dương. Sau 3 ngày nuôi cấy; ủ tiếp với MTT 0,2mg/mL ở 37 °C trong 4 giờ; loại bỏ môi trường, thêm 100 mL DMSO lắc đều đọc kết quả ở bước sóng 540 nm trên máy spectrophotometer Genios TECAN.

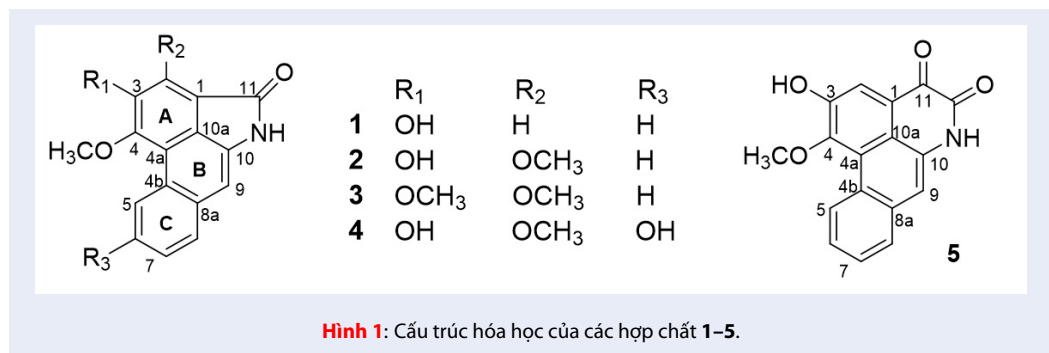
Phần trăm kim hãm sự phát triển của tế bào (Growth inhibition) được tính toán dựa trên số liệu đo mật độ quang học OD trên máy quang phổ TECAN theo công thức sau:

$$IC(\%) = 100 \times \frac{a - b(+)}{a(-) - b(+)}$$

a: OD mẫu thử

b: OD control

Giá trị IC₅₀ được tính dựa trên kết quả số liệu phần trăm kim hãm sự phát triển của tế bào bằng phần mềm máy tính Table curve.^{9,10}



KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Năm hợp chất alkaloid từ cao ethyl acetate của thân cây Dừ dẻ trâu đã được cô lập và xác định cấu trúc hóa học dựa vào các phương pháp hóa lý hiện đại (Hình 1).

Hợp chất 1

Aristolactam AII (**1**) thu được có dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả với m/z 264,25 $[M-H]^-$ tương ứng với công thức phân tử $C_{16}H_{10}NO_3$ (giá trị tính toán lý thuyết là 264,07). Phổ 1H -NMR (Bảng 1) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với một proton -NH [δ_H 10,78 (s)], một nhóm hydroxyl liên kết với vòng thơm [δ_H 10,29 (s, OH-3)], một nhóm methoxy [δ_H 4,02 (s, 4-OCH₃)] và sáu proton thơm, trong đó, có hai proton thơm cho hai tín hiệu mũi đơn [δ_H 7,09 (s, H-9) và 7,62 (s, H-2)], bốn proton thơm còn lại ghép spin với nhau của vòng benzene 1,2 nhị hoán [δ_H 9,11 (dd; 7,8; 1,2 Hz; H-5); 7,94 (dd; 7,8; 1,2 Hz; H-8); 7,55 (m, H-6/H-7)]. Phổ ^{13}C -NMR (Bảng 2) và phổ HSQC cho thấy sự hiện diện của 16 carbon gồm một tín hiệu carbon carbonyl lactame tại δ_C 168,4; một tín hiệu của carbon nhóm methoxy tại δ_C 59,5; sáu carbon methine thơm [δ_C 113,4 (C-2); 126,8 (C-5); 127,3 (C-6); 125,3 (C-7); 128,9 (C-8); 103,9 (C-9)], hai carbon thơm tứ cấp gắn oxygen [δ_C 152,2 (C-3); 148,8 (C-4)] và sáu carbon thơm tứ cấp [δ_C 121,8 (C-1); 120,3 (C-4a); 126,0 (C-4b); 135,3 (C-8a); 134,8 (C-10); 122,3 (C-10a)]. Phổ HMBC cho thấy tương quan giữa proton H-2 với C-1, C-3, C-4, C-10a, C-11, giữa N-H với C-1, C-10, C-10a, C-11; giữa H-9 với C-4b, C-8, C-8a, C-10, C-10a và giữa H-5 với C-4a, C-4b, C-6, C-8a giúp xác định hợp chất **1** là một aristolactame mang nhóm thế -OH tại C-3 và -OCH₃ tại C-4. So sánh với dữ liệu phổ NMR và MS với tài liệu tham khảo¹¹, hợp chất **1** được xác định là aristolactam AII.

Hợp chất 2

Goniopedalin (**2**) là hợp chất dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 318,11 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho $C_{17}H_{13}NO_4Na$, 318,07). IR (ATR) ν_{max} 3460; 3167; 2977; 1688; 1652; 1457; 1348; 1257; 1060 cm^{-1} . So sánh dữ liệu phổ NMR (Bảng 1 và Bảng 2) của hợp chất **2** với **1** cho thấy có sự tương đồng. Các tín hiệu cộng hưởng trên phổ 1D và 2D-NMR cho thấy sự hiện diện của một nhóm -NH, bốn proton methine thơm của một vòng benzene 1,2 nhị hoán, vòng C, trên khung sườn aristolactame (H-5, H-6, H-7, H-8); một tín hiệu mũi đơn của proton H-9. Ngoài các điểm tương đồng nêu trên, phổ NMR của hợp chất **2** còn có thêm hai tín hiệu mũi đơn của nhóm hai nhóm methoxy [δ_H 4,03 (s, 4-OCH₃) và 4,36 (s, 2-OCH₃)], một tín hiệu mũi đơn của nhóm hydroxyl [δ_H 9,50 (s, 3-OH)]. Phổ HMBC cho thấy tương quan giữa proton nhóm hydroxyl với C-2, C-3, C-4 giúp xác định hợp chất **2** là một aristolactame mang nhóm thế -OH tại C-3 và hai nhóm methoxy gắn với C-2 và C-4. So sánh với dữ liệu phổ NMR và MS với tài liệu tham khảo¹² hợp chất **2** được xác định là goniopedalin. Hợp chất này được nhóm tác giả Sunil K. Talapatra báo cáo có trong cây *Goniotalamus sesquipedalis*¹².

Hợp chất 3

Piperolactam C (**3**) là hợp chất dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 310,11 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho $C_{18}H_{16}NO_4$, 310,11). IR (ATR) ν_{max} 3357, 2929; 2853; 1684; 1650; 1453; 1374; 1265; 1069 cm^{-1} . Dữ liệu phổ NMR của **3** có sự tương đồng với **1** và **2** như phổ 1H -NMR (Bảng 1) cũng cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với một nhóm -NH, bốn proton methine thơm thuộc vòng C trên khung sườn aristolactame (H-5, H-6, H-7, H-8), một tín hiệu mũi đơn của proton H-9. Khi so sánh với **2**, hợp chất **3** có ba nhóm methoxy trên vòng A của khung aristolactame [δ_H 4,12 (s, 4-OCH₃), 3,92 (s, 3-OCH₃), và 4,39 (s, 2-OCH₃). Từ

những dữ liệu trên, hợp chất 3 được xác định là piperolactame C¹³.

Hợp chất 4

10-Amino-3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid (4) có dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 312,10 [M+H]⁺ (tính toán lý thuyết cho C₁₇H₁₄NO₅, 312,09). IR (ATR) ν_{max} 3364; 2977; 2885; 1726; 1647; 1606; 1468; 1377; 1226; 1068 cm⁻¹. So sánh dữ liệu phổ NMR (Bảng 1 và Bảng 2) với hợp chất 2 và 4 cho các tín hiệu cộng hưởng tương đồng, gồm một tín hiệu mũi đơn, ứng với proton -NH [δ_H 10,70 (s)], hai tín hiệu mũi đơn của hai nhóm methoxy [δ_H 4,00 (s, 4-OCH₃) và 4,32 (s, 2-OCH₃)], một mũi đơn của nhóm hydroxyl [δ_H 9,42 (s, 3-OH)]. Ngoài ra, ba tín hiệu cộng hưởng theo hệ thống ghép spin ABX được đề nghị cho ba proton thuộc vòng C của khung aristolactame tại [δ_H 8,51 (d; 2,4 Hz; H-5), 7,04 (dd; 8,4; 2,4 Hz; H-7), 7,74 (d; 9,0 Hz; H-8)], một tín hiệu mũi đơn của proton cô lập [δ_H 7,06 (s, H-9)]. Phổ ¹³C-NMR (Bảng 2) và phổ HSQC cho thấy sự hiện diện của 17 carbon gồm hai tín hiệu của carbon methoxy [δ_C 59,7 (4-OCH₃); 62,4 (2-OCH₃)], một tín hiệu carbon carbonyl lactame tại δ_C 166,6; năm carbon methine thơm [δ_C 110,7 (C-5); 116,5 (C-7); 129,9 (C-8); 104,3 (C-9)], bốn carbon thơm tứ cấp gắn oxygen [δ_C 148,5 (C-2); 143,5 (C-3); 149,8 (C-4) và 155,1 (C-6)] và sáu carbon thơm tứ cấp [δ_C 109,5 (C-1); 115,4 (C-4a); 126,7 (C-4b); 127,2 (C-8a); 132,0 (C-10); 121,8 (C-10a)]. Các tương quan HMBC (Hình 2) giúp xác định hợp chất 4 là một aristolactame mang nhóm thế -OCH₃ tại C-2 và C-4. So sánh dữ liệu phổ với tài liệu tham khảo¹⁴ hợp chất 4 được xác định là 10-amino-3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid.

Hợp chất 5

Norariolodione (5) có dạng bột vô định hình, màu vàng nâu. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 294,09 [M+H]⁺ (tính toán lý thuyết cho C₁₇H₁₄NO₄, 294,08). IR (ATR) ν_{max} 3389; 2975; 2852; 1719; 1644; 1455; 1378; 1217; 1050 cm⁻¹. So sánh phổ ¹H-NMR (Bảng 1) của 5 với chất 1 nhận thấy có một số điểm tương đồng, gồm có các tín hiệu cộng hưởng ứng với một proton -NH [δ_H 12,0 (s)], một nhóm methoxy [δ_H 4,04 (s, 4-OCH₃)] và sáu proton thơm, trong đó, có hai proton thơm cô lập cho hai tín hiệu mũi đơn [δ_H 7,50 (s, H-9) và 8,08 (s, H-2)], bốn proton thơm liền kề, theo hệ thống spin ABCX [δ_H 9,40 (m, H-5); 7,91 (m, H-8); 7,64 (m, H-6/H-7)]. Phổ ¹³C-NMR (Bảng 2) và phổ HSQC cho

thấy sự hiện diện của 17 carbon gồm hai tín hiệu carbon carbonyl liền kề [δ_C 177,4 (C-11); 156,2 (C-12)], một tín hiệu của carbon methoxy [δ_C 60,1], sáu carbon methine thơm [δ_C 117,5 (C-2); 127,6 (C-5); 128,4 (C-6); 127,3 (C-7); 128,8 (C-8); 112,7 (C-9)], hai carbon thơm tứ cấp gắn oxygen [δ_C 151,6 (C-3); 153,4 (C-4)] và sáu carbon thơm tứ cấp [δ_C 124,4 (C-1); 125,0 (C-4a); 126,4 (C-4b); 132,8 (C-8a); 130,4 (C-10); 117,6 (C-10a)]. Tương quan HMBC giữa H-2 với C-3, C-4, C-10a, C-11 giúp xác định hợp chất 5 là một dioxoaporphine mang nhóm thế -OH tại C-3 và -OCH₃ tại C-4. So sánh dữ liệu phổ ¹H-NMR¹⁵ và ¹³C-NMR¹³, hợp chất 5 được đề nghị là norariolodione.

Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư ở người

Năm hợp chất alkaloid cô lập từ cao ethyl acetate của thân cây Dù dẻ trâu được khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư ở người, bao gồm tế bào ung thư biểu mô (KB), ung thư gan (Hep-G2) và ung thư vú (MCF-7) bằng phương pháp MTT (Bảng 3). Trong đó, bốn hợp chất thuộc khung aristolactame đều cho hoạt tính trung bình trên dòng tế bào KB và Hep-G2, riêng hợp chất 5 không có hoạt tính. Đối với dòng tế bào MCF-7, hợp chất 2 và hợp chất 5 đều cho giá trị IC₅₀ trong khoảng 80 mg/mL. Như vậy, trong năm alkaloid, hợp chất 2 cho hoạt tính trên cả ba dòng tế bào thử nghiệm.

KẾT LUẬN

Từ cao chiết ethyl acetate của thân cây Dù dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* L.), năm hợp chất alkaloid đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học, bao gồm aristolactam AII (1), goniopedalin (2), piperolactame C (3); 10-amino-3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid (4) và norariolodione (5). Hoạt tính gây độc tế bào của năm hợp chất này cho kết quả từ yếu đến trung bình với giá trị IC₅₀ 42,11 ± 1,9 – 112,84 ± 4,5 μg/mL, riêng hợp chất 2 có hoạt tính trung bình trên cả ba dòng tế bào khảo sát.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.01-2018.324.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

ESI-MS: Electrospray ionization-Mass spectrometry
¹H-NMR: Proton nuclear magnetic resonance
¹³C-NMR: Carbon-13 nuclear magnetic resonance

Bảng 1: Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của các hợp chất 1– 5 đo trong dung môi $\text{DMSO-}d_6$.

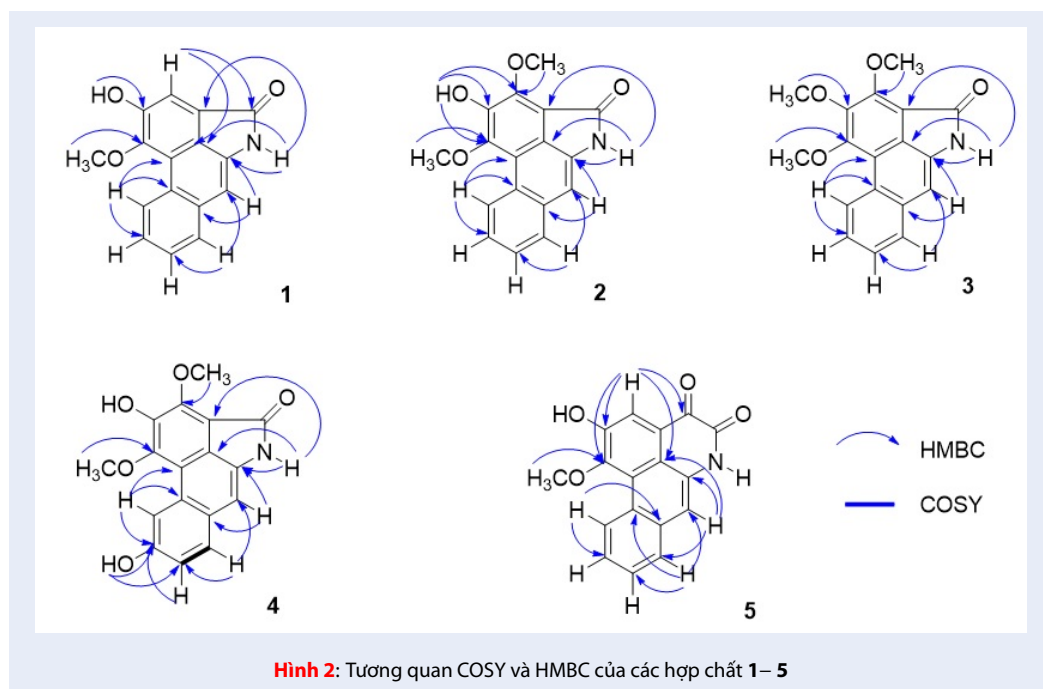
Vị trí	δ_H (J, Hz)				
	1 (600 MHz)	2 (500 MHz)	3 (500 MHz)	4 (600 MHz)	5 (600 MHz)
2	7,62 (s)	-	-	-	8,08 (s)
5	9,11 (dd 7,8 1,2)	9,09 (m)	9,09 (m)	8,51 (d 2,4)	9,40 (m)
6	7,55 (m)	7,52 (m)	7,55 (m)	-	7,64 (m)
7	7,55(m)	7,52 (m)	7,55(m)	7,04 (dd 8,4 2,4)	7,64 (m)
8	7,94 (dd 7,8 1,2)	7,92 (m)	7,96 (m)	7,74 (d 9,0)	7,91 (m)
9	7,09 (s)	7,16 (s)	7,25 (s)	7,06 (s)	7,50 (s)
NH	10,78 (s)	10,87 (s)	10,96 (s)	10,70 (s)	12,0 (s)
2-OCH ₃	-	4,36 (s)	4,39 (s)	4,32 (s)	-
3-OCH ₃	-	-	3,92 (s)	-	-
4-OCH ₃	4,02 (s)	4,03 (s)	4,12 (s)	4,00 (s)	4,04 (s)
3-OH	10,29 (s)	9,50 (s)	-	9,42 (s)	-
6-OH	-	-	-	9,69 (s)	-

Bảng 2: Dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các hợp chất 1– 5 đo trong dung môi $\text{DMSO-}d_6$.

Vị trí	δ_C				
	1 (150 MHz)	2 (125 MHz)	3 (125 MHz)	4 (150 MHz)	5 (150 MHz)
1	121,8	109,2	109,6	109,5	124,4
2	113,4	148,5	153,3	148,5	117,5
3	152,2	143,9	146,0	143,5	151,6
4	148,8	149,6	156,1	149,8	153,4
4a	120,3	115,7	115,4	115,4	125,0
4b	126,0	125,7	125,6	126,7	126,4
5	126,8	125,9	125,9	110,7	127,6
6	127,3	126,3	126,5	155,1	128,4
7	125,3	125,0	125,3	116,5	127,3
8	128,9	128,7	128,7	129,9	128,8
8a	135,3	133,6	133,4	127,2	132,8
9	103,9	103,8	105,2	104,3	112,7
10	134,8	134,7	134,4	132,0	130,4
10a	122,3	121,4	125,1	121,8	117,6
11	168,4	166,6	166,2	166,6	177,4
12	-	-	-	-	156,2
2-OCH ₃	-	62,3	62,5	62,4	-
3-OCH ₃	-	-	61,4	-	-
4-OCH ₃	59,5	59,5	60,7	59,7	60,1

Bảng 3: Giá trị IC₅₀ (mg/mL) của hoạt tính gây độc tế bào

Hợp chất	Hoạt tính gây độc tế bào		
	KB	Hep-G2	MCF-7
1	75,45 ± 3,5	78,15 ± 3,7	>128
2	64,73 ± 3,0	68,00 ± 2,5	80,94 ± 7,4
3	59,00 ± 2,5	80,00 ± 3,0	> 128
4	112,84 ± 4,5	42,11 ± 1,9	> 128
5	> 128	>128	80,0 ± 6,1
Ellipticine	0,31 ± 0,05	0,33 ± 0,05	0,40 ± 0,05



COSY: Homonuclear correlation spectroscopy

HSQC: Heteronuclear single quantum coherence

HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation

s: singlet

brs: broad singlet

d: doublet

dd: doublet of doublets

m: multiplet

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả tuyên bố không có xung đột lợi ích.

ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Tác giả Nguyễn Thị Mỹ Hương tổng hợp tài liệu, chiết tách và phân lập các hợp chất, tác giả Đỗ Thị Mỹ Liên xác định cấu trúc hoá học, viết và hoàn thiện bản thảo. Tất cả các tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối

cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. ;Available from: <http://www.botanyvn.com/cnt.asp?param=news&newsid=1454>.
2. ;Available from: <http://tracuudooclieu.vn/melodorum-fruticosum-lour.html>.
3. Bàn NT. Thực vật chí Việt Nam (Quyển 1). Nhà Xuất Bản Khoa Học Kỹ Thuật. 2000;36;.
4. Rachsawan M, Jittra P, Warinthorn C. Chemical constituents from *Melodorum fruticosum* Lour. Flowers against plant pathogenic fungi. *Agric Nat Resour*. 2016;50:270-5;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.03.001>.
5. Pripdeevech P, Chuksatiro E. Chemical compositions, antifungal and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Melodorum fruticosum* L. flowers. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(10):2754-8;PMID: 20621150. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.002>.
6. Jung JH, Pummangura S, Chaichantipyuth C, Patarapanich C, Mclaughlin JL. Bioactive constituents of *Melodorum fruticosum*. *Phytochemistry*. 1990;29(5):1667-70;Available from: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80142-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80142-4).

7. Jung JH, Chang C-J, Smith DL, McLaughlin JL, Pummangura S, Chaichantipyuth C et al. Additional bioactive heptenes from *Melodorum fruticosum*. *J Nat Prod*. 1991;54(2):500-5; PMID: 1919592. Available from: <https://doi.org/10.1021/np50074a023>.
8. Chaichantipyuth C, Tiaworanan S, Mekaroonreung S, Ngamrojanavanich N, Roengsumran S, Puthong S et al. Oxidized heptenes from flowers of *Melodorum fruticosum*. *Phytochemistry*. 2001;58(8):1311-5; PMID: 11738427. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00215-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00215-1).
9. Fresney RI. Culture of animal Cells. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons Inc. A manual of basis techniques; 1993;.
10. Scudiero DA, Shoemaker RH, Kenneth DP, Monks A, Tierney S, Nofziger TH et al. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res*. 1988;48:4827-33;.
11. Iqbal E, Lim LBL, Salim KA, Faizi S, Ahmed A, Mohamed AJ. Isolation and characterization of aristolactam alkaloids from the stem bark of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) and their biological activities. *J King Saud Univ Sci*. 2018;30(1):41-8; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.12.008>.
12. Talapatra SK, Basu D, Chattopadhyay P, Talapatra Bani. Aristolactams of *Goniothalamus sesquipedalis* wall. Revised structures of the 2-oxygenated aristolactams. *Phytochemistry*. 1988;27(3):903-6; Available from: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)84116-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)84116-5).
13. Nascimento JC, de Paula VF. Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from Piper (Piperaceae). *Quim Nova*. 2012;35(11):S1-S12; Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001100037>.
14. Xiao-Lei Z, Jiu-Hong W, Jiao B, Xiao-Lan H, En-Zhen L, Ning S et al. A new aristolactam alkaloid from the stems of *Dasymaschalon trichophorum*. *Chin J Nat Med*. 2013;11(1):0081-3; Available from: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1009.2013.00081>.
15. Urzúa A, Freyer AJ, Shamma M. Aristolodione, a 4,5-dioxoaporphine from *Aristolochia chilensis*. *J Nat Prod*. 1987;50(2):305-6; Available from: <https://doi.org/10.1021/np50050a043>.

Aristolactame and aporphine alkaloid from the ethyl acetate extract of stems *Melodorum fruticosum* L.

Nguyen Thi My Huong^{1,2}, Do Thi My Lien^{2,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Melodorum fruticosum (Annonaceae), a shrub with fragrant yellow flowers, distributed in South East Asia, more specifically indigenous to Thailand, Laos, Cambodia, and Vietnam. In Vietnam, *M. fruticosum* has been used as folk medicine remedies for the treatment of digestive diseases, abdominal dyspepsia in women after giving birth. This plant has been used as a tonic, a mild cardiac stimulant, antipyretics and as a hematinic to resolve dizziness by Thai people. The essential oil of *M. fruticosum* flowers is used in aromatherapy and as traditional medicines in Thailand. Its flowers and barks have been reported to have antifungal, antioxidant, and cytotoxic activities. Phytochemical investigation on the fractions EA.3 and EA.4 from the ethyl acetate extract of stem of [A1] *M. fruticosum* led to the isolation of five alkaloids including aristolactame All (**1**), goniopedalin (**2**), piperolactame C (**3**), 10-amino-3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid (**4**) and noraristolodione (**5**). Their chemical structures were elucidated by 1D and 2D-NMR, ESI-MS as well as compared with data in the literatures. All these compounds were isolated for the first time from the *M. fruticosum* collected at Di Linh district, Lam Dong province, Vietnam. All isolated were evaluated for their cytotoxicity against KB, Hep-G2, and MCF-7 cell lines. Among them, compound (**2**) showed weak cytotoxicity against the tested cell lines.

Key words: *Melodorum fruticosum*, alkaloid, aristolactame, aporphine

¹University of Science, Vietnam National University-Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam.

²Sai Gon University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Do Thi My Lien, Sai Gon University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: liendo.ieet@sgu.edu.vn

History

- Received: 05-6-2022
- Accepted: 28-6-2022
- Published: 21-8-2022

DOI : 10.32508/stdjns.v6i3.1202



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Huong N T M, Lien D T M. Aristolactame and aporphine alkaloid from the ethyl acetate extract of stems *Melodorum fruticosum* L.. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2022, 6(3):2173-2180.