

# Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của cây thù kén cái (*Helicteres hirsuta* Lour) họ Cẩm quỳ (Malvaceae)

Nguyễn Thị Thảo Ly<sup>1,2</sup>, Trần Hoài Tú<sup>1,2</sup>, Trần Ngọc Mai<sup>1,2</sup>, Phạm Hoàng Quân<sup>1,2</sup>, Đặng Hoàng Phú<sup>1,2</sup>, Dương Thị Thanh Trúc<sup>3</sup>, Nguyễn Trung Nhân<sup>1,2,\*</sup>



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

<sup>1</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Khánh Hòa, Tp. Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

## Liên hệ

**Nguyễn Trung Nhân**, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: ntnhan@hcmus.edu.vn

## Lịch sử

- Ngày nhận: 08-6-2022
- Ngày chấp nhận: 26-8-2022
- Ngày đăng: 30-9-2022

DOI: 10.32508/stdjns.v6i3.1203



## 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.



## TÓM TẮT

Bài báo khảo sát thành phần hóa học của lá và thân cây Thù kén cái (*Helicteres hirsuta* Lour) họ Cẩm quỳ (Malvaceae) và đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được nhằm tìm kiếm các hợp chất tiềm năng mới có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase tốt để phát triển thành thuốc điều trị bệnh đái tháo đường cũng như tạo cơ sở khoa học chứng minh cho việc sử dụng lá và thân cây Thù kén cái chữa bệnh đái tháo đường trong y học dân gian. Bằng cách sử dụng kết hợp sắc ký cột và sắc ký bản mỏng với hệ dung môi giải ly có độ phân cực khác nhau, bốn hợp chất: (+)-pinoselinol (**1**), (3,4-dihydroxyphenyl)acetic acid ethyl ester (**2**), 7-O-methylisoscutearein (**3**) và ethyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)lactate (**4**) đã được phân lập từ cao chloroform của lá và thân cây Thù kén cái, được thu hái tại tỉnh An Giang. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D và 2D, kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo. Trong thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, cả 4 hợp chất đều thể hiện hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase mạnh và tốt hơn chất đối chứng dương acarbose, loại thuốc được sử dụng rộng rãi hiện nay để điều trị đái tháo đường, với giá trị IC<sub>50</sub> của 4 hợp chất lần lượt là 37,9; 69,1; 12,5 và 9,4  $\mu$ M so với IC<sub>50</sub> của acarbose 168,0  $\mu$ M.

**Từ khoá:** *Helicteres hirsuta* Lour, Malvaceae, ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase

## GIỚI THIỆU

Bệnh đái tháo đường là bệnh rối loạn chuyển hóa, trong đó hoạt động của insulin bị suy giảm hay sự thiếu hụt insulin tuyệt đối dẫn đến sự mất cân bằng chuyển hóa glucose và dẫn đến việc tăng đường huyết quá mức. Bệnh ngày càng phổ biến ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Đái tháo đường được chia thành 2 loại: tuýp I (phụ thuộc vào insulin) và tuýp II (không phụ thuộc vào insulin), trong đó đái tháo đường tuýp II phổ biến hơn, chiếm khoảng 90% trên tổng số người bệnh đái tháo đường<sup>1</sup>. Một trong những phương pháp điều trị bệnh đái tháo đường hiện nay là làm giảm lượng đường huyết sau khi ăn, cụ thể là ức chế các enzyme thủy phân carbohydrate như enzyme  $\alpha$ -glucosidase<sup>2</sup>.  $\alpha$ -Glucosidase (EC 3.2.1.20,  $\alpha$ -D-glucoside glucohydrolase) đóng vai trò quan trọng trong việc thủy phân các liên kết  $\alpha$ -1,4-glucose thành các phân tử đường đơn (glucose). Vì thế, việc làm chậm quá trình giải phóng glucose và kiểm soát sự gia tăng lượng đường huyết sau khi ăn bằng cách ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được áp dụng để điều trị bệnh đái tháo đường tuýp II<sup>2</sup>.

Cây Thù kén cái (*Helicteres hirsuta* Lour) là loài cây bụi thuộc họ Cẩm quỳ (Malvaceae), phân bố chủ yếu ở Trung Quốc, Myanmar, Campuchia, Lào, Việt Nam,

Philippin, và Thái Lan. Ở Việt Nam, cây được tìm thấy ở khu vực đồi núi như tỉnh Lâm Đồng, An Giang, Tây Ninh. Thêm vào đó, Thù kén cái được sử dụng như một loại thuốc dân gian để chữa trị các bệnh về gan, sốt rét, tiểu đường và bệnh sỏi<sup>3</sup>. Các nghiên cứu trước đó về thành phần hóa học của cây chỉ ra rằng các hợp chất triterpenoid, flavonoid, lignan, và phenol là các hợp chất chính trong cây<sup>4-6</sup>. Trên con đường nỗ lực khám phá các chất ức chế hiệu quả enzyme  $\alpha$ -glucosidase, chúng tôi phát hiện rằng thân và lá cây Thù kén cái được sử dụng như trà để điều trị bệnh đái tháo đường trong dân gian. Tuy nhiên, chưa có bằng chứng khoa học nào chứng minh tác dụng chữa trị của nó. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu là phân lập các hợp chất từ cao CHCl<sub>3</sub> của thân và lá cây Thù kén cái (Hình 1). Ngoài ra, hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất này cũng được báo cáo ở đây.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Hóa chất và thiết bị

Phổ NMR được đo bởi máy ghi phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance III 500 [500 MHz (<sup>1</sup>H) và 125 MHz (<sup>13</sup>C)], có chứa chất nội chuẩn tetramethylsilane (TMS) và độ dịch chuyển hóa học được biểu

**Trích dẫn bài báo này:** Ly N T T, Tú T H, Mai T N, Quân P H, Phú D H, Trúc D T T, Nhân N T. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cây thù kén cái (*Helicteres hirsuta* Lour) họ Cẩm quỳ (Malvaceae). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(3):2281-2286.

diễn bằng giá trị  $\delta$ . Máy Spectroline MODEL ENF-240C/FE (USA) hai bước sóng 254 nm và 365 nm. Sắc kí lớp mỏng trên bản nhôm tráng sẵn và sắc kí cột sử dụng silica gel Merck Kielselgel 60 F<sub>254</sub> (40-63  $\mu$ m) và silica gel Merck 60 RP<sub>18</sub> (40-63  $\mu$ m).

### Đối tượng nghiên cứu

Mẫu thân và lá của cây Thâu kén cái được thu hái tại huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang, Việt Nam vào tháng 5 năm 2018 và được định danh bởi TS. Đặng Lê Anh Tuấn, Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

### Chiết xuất và phân lập

Từ 10 kg bột khô thân và lá cây Thâu kén cái được đun hoàn lưu với EtOH (3 L, 3 h  $\times$  3). Dịch trích được thu hồi dung môi dưới áp suất kém, thu được cao thô EtOH (688,79 g). Cao thô EtOH được phân tán hoàn toàn vào nước và tiến hành chiết lỏng-lỏng cao thô EtOH lần lượt với các dung môi -hexane, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc thu các cao tương ứng: cao *n*-hexane (130,7 g); cao CHCl<sub>3</sub> (22,5 g); cao EtOAc (54,2 g) và cao nước (450,9 g).

Cao CHCl<sub>3</sub> (22,5 g) được tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi -hexane-EtOAc (0–100% EtOAc), thu được 9 phân đoạn (A–I). Phân đoạn B (3,0 g) được sắc ký cột silica gel pha thường bằng hệ dung môi -hexane-CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> với độ phân cực tăng dần từ 0–100% CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>, thu được 3 phân đoạn (B.1–B.3). Phân đoạn B.2 (1,0 g) tiếp tục tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường bằng hệ dung môi -hexane-CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> (0–100% CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>), thu được 7 phân đoạn (B.2.1–B.2.7). Phân đoạn B.2.6 (398,3 mg) được làm sạch bằng cách sử dụng sắc ký cột silica gel pha thường, thu được hợp chất 1 (3,4 mg) và 2 (9,0 mg). Phân đoạn C (3,7 g) được tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường bằng hệ dung môi -hexane-EtOAc (0–100% EtOAc), thu được 6 phân đoạn (C.1–C.6). Phân đoạn C.5 (1,0 g) tiếp tục phân tách bằng cách sử dụng sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi -hexane-CHCl<sub>3</sub> (0–100% CHCl<sub>3</sub>), thu được 4 phân đoạn (C.5.1–C.5.4). Phân đoạn C.5.3 (454,1 mg) được sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane-CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> (0–100% CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) và sắc ký bản mỏng điều chế với hệ dung môi *n*-hexane-CHCl<sub>3</sub>-EtOAc (3:5:2), thu được hợp chất 3 (6,0 mg). Tương tự, phân đoạn C.5.2 (242,6 mg) được thực hiện sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi -hexane-CHCl<sub>3</sub> (0–100% CHCl<sub>3</sub>), thu được hợp chất 4 (3,0 mg).

(+)-Pinoresinol (1): <sup>1</sup>H NMR (500 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_H$  3,03 (2H; m; H-8; H-8'); 3,72 (2H; dd; 9,1; 3,4;

H-9a; H-9'a); 3,76 (6H; s; 3-OCH<sub>3</sub>; 3'-OCH<sub>3</sub>); 4,12 (2H; m; H-9b; H-9'b); 4,61 (2H; d; 4,3; H-7; H-7'); 6,73 (2H; d; 8,1; H-5; H-5'); 6,75 (2H; dd; 8,1; 1,9; H-6; H-6'); 6,89 (2H; d; 1,9; H-2; H-2'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_C$  132,2 (C-1; C-1'); 110,4 (C-2; C-2'); 147,5 (C-3; C-3'); 145,9 (C-4; C-4'); 115,1 (C-5; C-5'); 118,6 (C-6; C-6'); 85,1 (C-7; C-7'); 53,4 (C-8; C-8'); 70,9 (C-9; C-9'); 55,6 (3-OCH<sub>3</sub>; 3'-OCH<sub>3</sub>).

(3,4-Dihydroxyphenyl)acetic acid ethyl ester (2): <sup>1</sup>H NMR (500 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_H$  1,16 (3H; t; 7,1; -CH<sub>3</sub>); 3,42 (2H; s; H-2); 4,16 (2H; q; 7,1; -OCH<sub>2</sub>-); 6,48 (1H; dd; 8,0; 2,0; H-6'); 6,65 (1H; d; 8,0; H-5'); 6,64 (1H; d; 2,0; H-2'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_C$  171,6 (C-1); 39,9 (C-2); 125,1 (C-1'); 115,5 (C-2'); 145,1 (C-3'); 144,2 (C-4'); 116,6 (C-5'); 120,0 (C-6'); 60,1 (-OCH<sub>2</sub>-); 14,1 (-CH<sub>3</sub>).

7-O-Methylisoscutellarein (3): <sup>1</sup>H NMR (500 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_H$  3,90 (3H; s; 7-OCH<sub>3</sub>); 6,54 (1H; s; H-6); 6,77 (1H; s; C-3); 6,94 (2H; d; 8,8; H-3'; H-5'); 8,00 (1H; d; 8,8; H-2'; H-6'); 8,84 (1H; s; 8-OH); 10,34 (1H; s; 4'-OH); 12,47 (1H; s; 5-OH). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta_C$  163,9 (C-2); 102,3 (C-3); 182,4 (C-4); 153,0 (C-5); 95,6 (C-6); 154,2 (C-7); 126,2 (C-8); 144,4 (C-9); 103,8 (C-10); 121,3 (C-1'); 128,7 (C-2'); 115,9 (C-3'); 161,2 (C-4'); 115,9 (C-5'); 128,7 (C-6'); 56,3 (7-OCH<sub>3</sub>).

Ethyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)lactate (4): <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta_H$  1,29 (3H; t; 7,1; -CH<sub>3</sub>); 2,85 (1H; dd; 14,1; 6,6; H-3a); 3,01 (1H; dd; 14,1; 4,3; H-3b); 4,22 (2H; dd; 7,1; 7,1; -OCH<sub>2</sub>-); 4,38 (1H; dd; 6,6; 4,3; H-2); 6,62 (1H; d; 7,9; H-6'); 6,76 (2H; m; H-2'; H-5'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta_C$  174,2 (C-1); 71,3 (C-2); 39,8 (C-3); 129,1 (C-1'); 115,3 (C-2'); 143,5 (C-3'); 142,7 (C-4'); 116,7 (C-5'); 121,9 (C-6'); 61,8 (-OCH<sub>2</sub>-); 14,2 (-CH<sub>3</sub>).

### Quy trình thử hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Quy trình thử hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được tiến hành dựa trên phương pháp của Kim *et al*<sup>7</sup>. Dung dịch mẫu (2,2 mL) được hòa tan trong dung dịch đệm phosphate 0,01 M; pH 7. Thêm 0,01 mL enzyme  $\alpha$ -glucosidase 20 U mL<sup>-1</sup> và 0,01 mL chất nền *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside 3 nM và ủ trong 30 phút tại 37 °C để phản ứng xảy ra. Sau khi ủ, thêm 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1 M để ngừng phản ứng. Dung dịch sau đó được đo quang tại bước sóng 405 nm. Theo phản ứng, lượng  $\alpha$ -glucosidase sinh ra sẽ tỉ lệ thuận với lượng *p*-nitrophenol (1,0  $\mu$ M) được giải phóng mỗi phút. Giá trị IC<sub>50</sub> được định nghĩa là nồng độ của mỗi mẫu thử mà tại đó nó có thể ức chế được 50% enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Quy trình sử dụng acarbose là chất đối chứng dương.

## KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

Hợp chất **1** được phân lập dưới dạng bột trắng. Phổ  $^1\text{H}$  NMR cho thấy 2 hệ thống ABX tương ứng với 2 vòng benzene 1,2,4 thế [ $\delta_{\text{H}}$  6,89 (d; 1,9; H-2; H-2'); 6,73 (d; 8,1; H-5; H-5'); 6,75 (dd; 8,1; 1,9; H-6; H-6')]. Đồng thời, còn có các tín hiệu proton của 2 nhóm oxymethin [ $\delta_{\text{H}}$  4,61 (d; 4,3; H-7; H-7')], 2 nhóm methine [ $\delta_{\text{H}}$  3,03 (m; H-8; H-8')], 2 nhóm oxymethylene [ $\delta_{\text{H}}$  4,12 (m); H-9b; H-9'b và 3,72 (dd; 9,1; 3,4); H-9a; H-9'a] và 2 nhóm methoxy [ $\delta_{\text{H}}$  3,76 (s)]. Hơn nữa, 2 nhóm methoxy có tín hiệu tại vùng trường thấp chứng tỏ chúng gắn trực tiếp vào 2 vòng hương phương. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất **1** hiện diện tín hiệu của 12 carbon hương phương ( $\delta_{\text{C}}$  110,4–147,5), 2 carbon methine ( $\delta_{\text{C}}$  2  $\times$  53,4), 2 carbon oxymethine ( $\delta_{\text{C}}$  2  $\times$  85,1), 2 carbon oxymethylene ( $\delta_{\text{C}}$  2  $\times$  70,9) và 2 carbon methoxy ( $\delta_{\text{C}}$  2  $\times$  55,6). Các hợp chất lignan đã được phân lập trong tự nhiên có khung 7,9':7',9'-diepoxylignan đều có hai proton H-8 và H-8' mang cấu hình *cis*<sup>8,9</sup>. Bên cạnh đó, cấu hình tương đối của proton H-7 so với H-8 và H-7' so với H-8' được xác định bởi hằng số ghép giữa  $J_{\text{H-7}/\text{H-8}}$  và  $J_{\text{H-7'}/\text{H-8'}}$ . Nếu  $J_{\text{H-7}/\text{H-8}} = J_{\text{H-7'}/\text{H-8'}} < 4,5$  Hz thì hai cặp proton này có cấu hình *cis*, ngược lại nếu  $J_{\text{H-7}/\text{H-8}} = J_{\text{H-7'}/\text{H-8'}} > 4,5$  Hz thì hai cặp proton này có cấu hình *trans*<sup>10</sup>. Hợp chất **1** có hằng số ghép  $J_{\text{H-7}/\text{H-8}} = J_{\text{H-7'}/\text{H-8'}} = 4,3$  nên 2 cặp proton H-7/H-8 và H-7'/H-8' có cấu hình *trans*. Từ các dữ liệu phổ 1D NMR kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo<sup>11</sup>, cấu trúc hợp chất **1** được xác định pinoresinol. Hơn nữa, hợp chất **1** có năng lực triển quang đo được là  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +90,0$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c$   $5 \times 10^{-3}$ ) phù hợp với tài liệu tham khảo, nên hợp chất **1** chính là (+)-pinoresinol<sup>11</sup>.

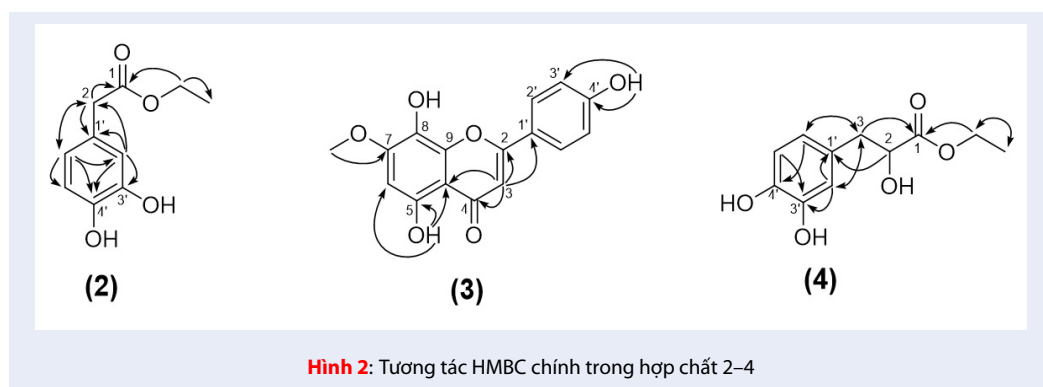
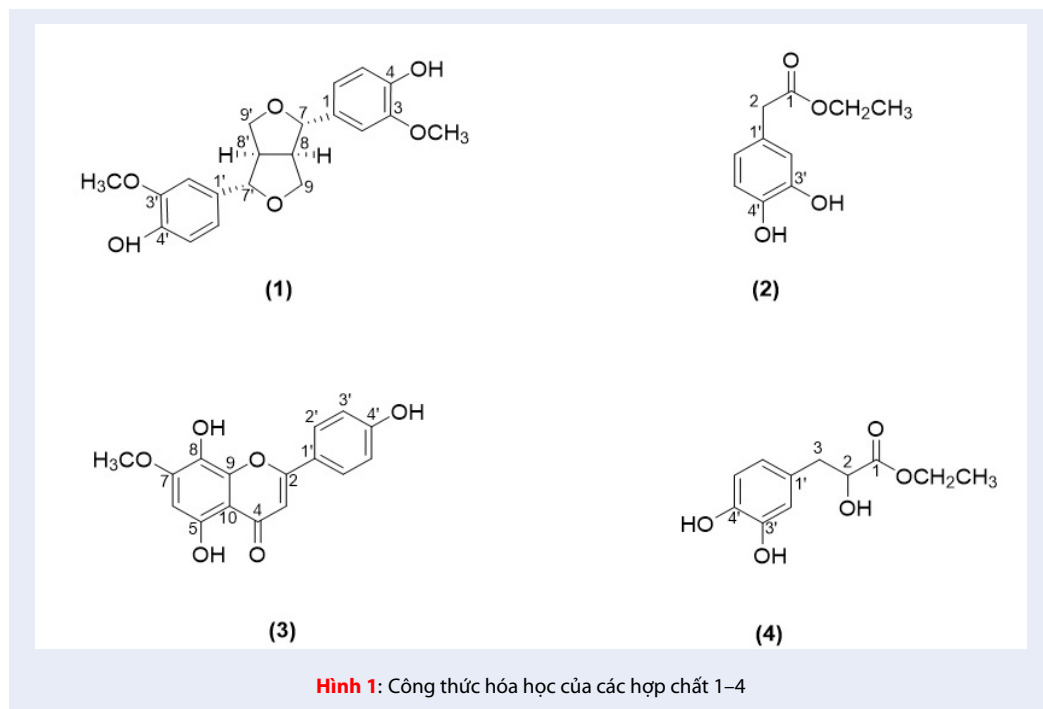
Hợp chất **2** được phân lập dưới dạng dầu. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của **2** cho thấy các tín hiệu của vòng benzene 1,2,4 thế [ $\delta_{\text{H}}$  6,48 (1H; dd 8,0; 2,0; H-6'); 6,64 (1H; d; 2,0; H-2') và 6,65 (1H; d; 8,0; H-5')] cùng với 2 proton methylene [ $\delta_{\text{H}}$  3,42 (2H; s; H-2)]. Mặt khác, dựa trên độ dịch chuyển hóa học và hình dạng mũi của proton oxymethylene [ $\delta_{\text{H}}$  4,04 (2H; q; 7,1; -OCH<sub>2</sub>-) và proton methyl [ $\delta_{\text{H}}$  1,16 (3H t 7,1; -CH<sub>3</sub>) đã chỉ ra rằng sự hiện diện của 1 nhóm ethoxy. Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của **2** có tín hiệu cộng hưởng của 10 carbon bao gồm 1 carbon carbonyl ester ( $\delta_{\text{C}}$  171,6), 6 carbon hương phương ( $\delta_{\text{C}}$  115,5–145,1), 1 carbon methylene ( $\delta_{\text{C}}$  39,9), 1 carbon oxymethylene ( $\delta_{\text{C}}$  60,1) và 1 carbon methyl ( $\delta_{\text{C}}$  14,1). Phân tích phổ HMBC cho phép xác định sự có mặt của nhóm 2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetyl thông qua tương quan HMBC giữa proton H-2 với carbon C-1', C-6' và C-1 (Hình 2). Nhóm 2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetyl này

liên kết với ethoxy thông qua cấu ester tại  $\delta_{\text{C}}$  171,6 (C-1). Do vậy, cấu trúc của hợp chất **2** được đề nghị là (3,4-dihydroxyphenyl)acetic acid ethyl ester bằng cách kết hợp các dữ liệu phổ 1D, 2D NMR và so sánh với tài liệu tham khảo<sup>12</sup>.

Hợp chất **3** được phân lập dưới dạng bột màu vàng. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của **3** cho thấy tín hiệu của nhóm hydroxy kiềm nổi trong các dẫn xuất flavon điển hình [ $\delta_{\text{H}}$  12,47 (1H; s; 5-OH)]. Bên cạnh đó, 2 tín hiệu proton hydroxy [ $\delta_{\text{H}}$  8,86 (1H; s; 8-OH) và  $\delta_{\text{H}}$  10,36 (1H; s; 4'-OH)], 1 tín hiệu proton olefin [ $\delta_{\text{H}}$  6,77 (1H; s; H-3)], 2 tín hiệu của 2 cặp proton hương phương ghép *ortho* trên vòng benzene mang 2 nhóm thế [ $\delta_{\text{H}}$  8,00 (2H; d; 8,8; H-2'; H-6') và  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (2H; d; 8,8; H-3'; H-5')], và 1 proton methoxy [ $\delta_{\text{H}}$  3,90 (1H; s; 7-OCH<sub>3</sub>)] được quan sát trên phổ  $^1\text{H}$  NMR. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR xuất hiện tín hiệu của 16 carbon bao gồm 1 carbon carbonyl ketone ( $\delta_{\text{C}}$  182,3), 2 carbon olefin ( $\delta_{\text{C}}$  163,9; 102,3), 1 carbon methoxy ( $\delta_{\text{C}}$  56,3) và các tín hiệu còn lại của carbon hương phương ( $\delta_{\text{C}}$  95,6–161,2). Hơn nữa, phổ HMBC biểu hiện sự tương quan giữa proton methoxy với carbon C-7 và sự tương quan giữa proton hydroxy với carbon C-4', C-3', điều này chứng tỏ vị trí của nhóm methoxy và hydroxy lần lượt tại carbon C-7 và C-4'. Từ các phân tích trên kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo<sup>4</sup>, hợp chất **3** được đề nghị là 7-O-methylisoscutearein.

Hợp chất **4** được phân lập dưới dạng chất rắn vô định hình. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của **4** tương tự dữ liệu phổ của **2** ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu proton oxymethine [ $\delta_{\text{H}}$  4,38 (1H; dd; 6,6; 4,3; H-2)]. Ngoài ra, phổ  $^{13}\text{C}$  NMR thể hiện tín hiệu của 11 carbon bao gồm sự hiện diện thêm của 1 carbon oxymethine ( $\delta_{\text{C}}$  71,2). Dựa trên sự tương quan HMBC giữa proton H-2 với carbon C-1', và proton H-3 với carbon C-2', C-6' cho thấy sự có mặt của nhóm 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-hydroxypropanoyl. Tương tự ở hợp chất **2**, nhóm này liên kết với nhóm ethoxy thông qua liên kết ester tại  $\delta_{\text{C}}$  174,2. Từ dữ liệu phổ 1D, 2D-NMR, kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo<sup>13</sup>, hợp chất **4** được đề nghị là ethyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)lactate.

Cao EtOH thô từ thân và lá cây Thâu kén cái thể hiện hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị IC<sub>50</sub> 78,9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Thêm vào đó, các hợp chất phân lập được cũng được tiến hành thử hoạt tính ức chế enzyme (Bảng 1). Thử nghiệm này được tiến hành tại các nồng độ khác nhau từ 1 đến 250  $\mu\text{M}$ . Tất cả các hợp chất phân lập được thể hiện hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị IC<sub>50</sub> trong khoảng từ 9,4 đến 69,1  $\mu\text{M}$ , và có khả năng ức chế tốt hơn chất đối chứng đường acarbose (IC<sub>50</sub>, 168,0  $\mu\text{M}$ ).



**Bảng 1:** Ước chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được

STT	Khả năng ức chế (%)					IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
	250 $\mu$ M	100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	25 $\mu$ M	10 $\mu$ M	
1	*	72,40 $\pm$ 0,31	57,0 $\pm$ 1,8	40,92 $\pm$ 0,31	17,2 $\pm$ 1,1	37,9
2		69,07 $\pm$ 0,97	38,2 $\pm$ 1,06	8,7 $\pm$ 2,5	–	69,1
3	*	*	97,22 $\pm$ 0,97	79,99 $\pm$ 0,44	44,02 $\pm$ 0,9	12,5
	Khả năng ức chế (%)					IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
	25 $\mu$ M	10 $\mu$ M	5 $\mu$ M	2,5 $\mu$ M	1 $\mu$ M	
4	*	53,69 $\pm$ 0,96	22,0 $\pm$ 1,0	7,3 $\pm$ 0,6	–	9,4
Acarbose <sup>a</sup>	64,5 $\pm$ 1,3	37,9 $\pm$ 1,2	15,5 $\pm$ 3,1	2,8 $\pm$ 1,7	–	168,0

–Không thể hiện hoạt tính ức chế.

\*Không thử do kết quả không cần thiết (giá trị IC<sub>50</sub> có thể xác định không cần các kết quả này).

<sup>a</sup>Chất đối chứng dương.

## KẾT LUẬN

Từ cao  $\text{CHCl}_3$  của thân và lá cây Thâu kén cái (*Helicteres hirsuta* Lour) họ Cẩm quỳ (Malvaceae), bốn hợp chất đã được phân lập có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase mạnh. Đây là báo cáo đầu tiên về khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của thân và lá cây Thâu kén cái. Kết quả này là cơ sở khoa học chứng minh cho việc sử dụng Thâu kén cái chữa bệnh đái tháo đường trong dân gian bởi hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trong thành phần hóa học của chúng.

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

1D NMR: One-dimensional nuclear magnetic resonance

2D NMR: Two-dimensional nuclear magnetic resonance

dd: Doublet

dd: Doublet of doublets

EtOAc: Ethyl acetate

HMBC: Heteronuclear multiple bond coherence

HSQC: Heteronuclear single quantum coherence

I%: Percentage of inhibition

IC<sub>50</sub>: Half maximal inhibitory concentration

m: Multiplet

MeOH: methanol

t: Triplet

TMS: Tetramethylsilane

s: Singlet

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ Đề tài mã số HH 2021-14.

## XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhiều tác giả cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong bài nghiên cứu này

## ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Nguyễn Thị Thảo Ly, Trần Hoài Tú, Dương Thị Thanh Trúc thu thập mẫu cây, thực hiện thí nghiệm, xử lý các dữ liệu phổ và viết bản thảo. Trần Ngọc Mai, Phạm Hoàng Quân hỗ trợ xử lý các dữ liệu phổ.

Đặng Hoàng Phú đóng vai trò định hướng, lên kế hoạch nghiên cứu.

Nguyễn Trung Nhân góp phần thảo luận các kết quả nghiên cứu và hoàn chỉnh bản thảo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ghani U. Re-exploring promising  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for potential development into oral anti-diabetic drugs: Finding needle in the haystack. *Eur J Med Chem.* 2015;103:133-62; PMID: 26344912. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.043>.
2. Benalla W, Bellahcen S, Bnouham M. Antidiabetic medicinal plants as a source of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Curr Diabetes Rev.* 2010;6(4):247-54; PMID: 20522017. Available from: <https://doi.org/10.2174/157339910791658826>.
3. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. NXB Trẻ. 1999:479.
4. Nguyen TT, Kretschmer N, Pferschy-Wenzig EM, Kunert O, Bauer R. Triterpenoidal and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Helicteres hirsuta* and their cytotoxicity on several cancer cell lines. *Nat Prod Commun.* 2019;14(1):7-10; Available from: <https://doi.org/10.1177/1934578X1901400103>.
5. Quang DN, Pham CT, Le LTK, Ta QN, Dang NK, Hoang NT. Cytotoxic constituents from *Helicteres hirsuta* collected in Vietnam. *Nat Prod Res.* 2020;34(4):585-9; PMID: 30445838. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1490907>.
6. Chin Y, Jones WP, Rachman I, Riswan S, Kardono LBS, Chai H, et al. Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia Young-Won. *Phytochemistry.* 2006;65:62-5; PMID: 16397845. Available from: <https://doi.org/10.1002/ptr.1806>.
7. Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. Potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry.* 2008;69(16):2820-5; PMID: 18951591. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.09.007>.
8. Hearon WM, MacGregor WS. The naturally occurring lignans, *Chemical Reviews.* 1955;55(5):957-1068; Available from: <https://doi.org/10.1021/cr50005a003>.
9. Teponno RB, Kusari S, Spitteller M. Recent advances in research on lignans and neolignans, *Natural Product Reports.* 2016;33(9):1044-92; PMID: 27157413. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6NP00021E>.
10. Kotaro T, Toshie N. Studies on constituents of medicinal plants. The stereochemistry of paulownin and isopaulownin. *Chem Pharm Bull.* 2002;120(43):2091.
11. Park JH, Yeon SW, Cho JG, Lee DY, Kim YS, Baek NI. Lignans from silkworm droppings and their promotional activities on heme oxygenase-1 (HO-1). *J Appl Biol Chem.* 2010;53(6):734-739; Available from: <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.111>.
12. Bozzini T, Botta G, Delfino M, Onofri S, Saladino R, Amatore D. Tyrosinase and Layer-by-Layer supported tyrosinases in the synthesis of lipophilic catechols with antiinfluenza activity. *Bioorganic Med Chem.* 2013;21(24):7699-708; PMID: 24216089. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.10.026>.
13. Fraga BM, González-Coloma A, Alegre-Gómez S, López-Rodríguez M, Amador LJ, Díaz CE. Bioactive constituents from transformed root cultures of *Nepeta teydea*. *Phytochemistry.* 2017;133:59-68; PMID: 28340896. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.10.008>.



# Chemical constituents of the aerial parts *Helicteres hirsuta* Lour (Malvaceae)

Nguyen Thi Thao Ly<sup>1,2</sup>, Tran Hoai Tu<sup>1,2</sup>, Tran Ngoc Mai<sup>1,2</sup>, Phạm Hoang Quan<sup>1,2</sup>, Dang Hoang Phu<sup>1,2</sup>, Dương Thi Thanh Truc<sup>3</sup>, Nguyen Trung Nhan<sup>1,2,\*</sup>



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

## ABSTRACT

This paper reported the isolation of chemical constituents from the chloroform extract of aerial parts of *Helicteres hirsuta* Lour (Malvaceae) and isolated compounds were evaluated for their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory. This work aimed to discover effective  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for scientific evidence in using medicinal plants for diabetic treatment in Vietnamese traditional medicines as well as developing drugs for diabetic treatment. From the  $\text{CHCl}_3$ -soluble fraction of the aerial parts of *Helicteres hirsuta* Lour, collected in An Giang province, four compounds, including (+)-pinosresinol (**1**), (3,4-dihydroxyphenyl)acetic acid ethyl ester (**2**), 7-O-methylisoscuteellarein (**3**) and ethyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)lactate (**4**) were isolated. Their chemical structures were elucidated based on the NMR spectroscopic analysis and comparison with data in the literature. All four isolated compounds (**1–4**) showed good  $\alpha$ -glucosidase inhibitory assay activity with the  $\text{IC}_{50}$  of 37.9, 69.1, 12.5, 9.4  $\mu\text{M}$ , respectively, better than that of the positive control acarbose ( $\text{IC}_{50}$  168.0).

**Key words:** *Helicteres hirsuta* Lour, Malvaceae,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity

<sup>1</sup>Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Faculty of Science and technology, Khanh Hoa University, Khanh Hoa province, Vietnam

## Correspondence

**Nguyen Trung Nhan**, Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: ntnhan@hcmus.edu.vn

## History

- Received: 08-6-2022
- Accepted: 26-8-2022
- Published: 30-9-2022

DOI : 10.32508/stdjns.v6i3.1203



## 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 :** Ly NTT, Tu TH, Mai TN, Quan PH, Phu DH, Truc DTT, Nhan NT. **Chemical constituents of the aerial parts *Helicteres hirsuta* Lour (Malvaceae).** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2022, 6(3):2281-2286.