

Nghiên cứu thành phần hóa học cao ethyl acetate của cây cúc chi thiên mêm (*Elephantopus mollis*)

Lê Nguyên Lộc, Đặng Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Ý Nhi*, Trần Lê Quan*

TÓM TẮT

Cúc chi thiên mêm (*Elephantopus mollis*) thuộc chi Chi Thiên (*Elephantopus*), họ Cúc (*Asteraceae*) là một loại cây thân thảo lâu năm với thành phần chính là các sesquiterpene lactone. Ở Việt Nam, cây Cúc chi thiên mêm phân bố chủ yếu ở vùng Tây Nguyên và được dân gian sử dụng để điều trị một số bệnh như trị mụn nhọt độc, trị bệnh ngoài da, viêm hạch cấp, viêm gan vàng da cấp, xơ gan cổ trướng... Kể từ khi được phát hiện cho đến nay, đã có nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học được thực hiện trên cây Cúc chi thiên mêm, trong đó hoạt tính được ghi nhận khả năng vượt trội là hoạt tính gây độc tế bào trên nhiều dòng tế bào ung thư như dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và T-47D, tế bào ung thư phổi A549 và NCI-H23, tế bào bệnh bạch cầu HL-60, tế bào ung thư hạch RAJI... Bài báo này trình bày việc phân lập sáu hợp chất từ cao ethyl acetate của cây Cúc chi thiên mêm bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel kết hợp với sắc ký lớp mỏng. Các hợp chất đã phân lập gồm hai sesquiterpene lactone đã biết là molephantinin (1), 2-deethoxy-2 β -methoxyphantomolin (2) và một phenol đơn giản là methyl 4-hydroxybenzoate (3), một triterpene là epifridelanol (4), một phytosterol, stigmasterol (5), và một biflavonoid là lophirone L (6), trong đó lophirone L là hợp chất lần đầu tìm thấy trong cây cúc chi thiên mêm. Việc xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất được thực hiện bằng phân tích phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC và HR-ESI-MS, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo.

Từ khoá: *Elephantopus mollis*, sesquiterpene lactone, molephantinin, triterpenoid, biflavone

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Nguyễn Thị Ý Nhi, Trường Đại học Khoa học
Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: ntynhi@hcmus.edu.vn

Liên hệ

Trần Lê Quan, Trường Đại học Khoa học Tự
nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: tlquan@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 25-11-2023
- Ngày chấp nhận: 06-12-2023
- Ngày đăng: 31-12-2023

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i4.1251>



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.



MỞ ĐẦU

Cúc chi thiên mêm là một loài cây họ Cúc có nguồn gốc từ Nam Mỹ, được trồng rộng rãi ở Úc, Đông Nam Á, Thái Bình Dương và vùng nhiệt đới Châu Phi. Theo y học dân gian, Cúc chi thiên mêm được dùng như một liệu thuốc để trị cúm, thiếu máu, kiết lỵ, viêm gan, viêm amidam, cảm và một số bệnh liên quan đến các gốc tự do như ung thư, đái tháo đường.¹⁻³ Ở Việt Nam, cây này phân bố chủ yếu ở vùng Tây Nguyên và được dân gian sử dụng lá cây trị mụn nhọt độc, trị bệnh ngoài da, viêm hạch cấp, viêm gan vàng da cấp, xơ gan cổ trướng...^{4,5}

Cây Cúc chi thiên mêm có thành phần hóa học cơ bản là triterpenoid,^{3,6,7} các steroid,^{3,6,8} các hợp chất flavonoid,⁸ các hợp chất phenol đơn giản.⁸ Thành phần chính của cây là các sesquiterpene lactone được sử dụng chủ yếu như một loài thảo để chống ung thư, kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, khả năng kháng kí sinh trùng *Leishmaniasis*...^{1,9,10} Trong các nghiên cứu gần đây, Cúc chi thiên mêm còn cho thấy khả năng chống ung thư, chống động vật nguyên sinh để điều trị nhiễm trùng, kích hoạt sắc tố da, tái tạo xương, khả năng bảo vệ gan.⁹ Kể từ khi được phát hiện cho đến nay, đã có

nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học được thực hiện trên cây Cúc chi thiên mêm, trong đó hoạt tính được ghi nhận khả năng vượt trội là hoạt tính gây độc tế bào trên nhiều dòng tế bào ung thư như dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và T-47D, tế bào ung thư phổi A549 và NCI-H23, tế bào bệnh bạch cầu HL-60, tế bào ung thư hạch RAJI...^{5,11-14} Các nghiên cứu về khả năng gây độc tế bào được thực hiện chủ yếu trên các cao chiết petroleum ether, ethyl acetate, methanol và nước.¹²⁻¹⁴

Qua các kết quả đã công bố cho đến nay trên cây Cúc chi thiên mêm của các nhóm nghiên cứu cho thấy loài thực vật này có tiềm năng ứng dụng cao trong lĩnh vực y học, từ đó nhóm nghiên cứu chúng tôi đề xuất khảo sát hoạt tính sinh học và thành phần hóa học của cây Cúc chi thiên mêm bằng các phương pháp khoa học hiện đại. Các kết quả đạt được không những góp phần vào việc tìm hiểu các kiến thức liên quan đến cây Cúc chi thiên mêm mà còn góp phần vào việc phát triển các nguồn dược liệu Việt Nam.

ĐỐI TƯỢNG-PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trích dẫn bài báo này: Lộc L N, Thảo D T P, Nhi N T Y, Quan T L. Nghiên cứu thành phần hóa học cao ethyl acetate của cây cúc chi thiên mêm (*Elephantopus mollis*). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2023; 7(4):2776-2784.

Nguyên liệu

Đối tượng khảo sát là toàn bộ các bộ phận của cây cúc chi thiên mêm, được thu hái tại vườn quốc gia Yokdon, tỉnh Đắk Lắk năm 2018. Nguyên liệu được kiểm tra loại bỏ phần bị hư, làm sạch, sấy khô và xay nhỏ thu được 5 kg bột mẫu khô. Mẫu cây được định danh bởi Nguyễn Xuân Minh Ái, Phòng thí nghiệm thực vật, Khoa Sinh học-Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

Hóa chất – Thiết bị

n-Hexane, chloroform, ethyl acetate, acetone, methanol, *n*-butanol, của hãng Chemsol (VN), formic acid của Sci-Tech Co.Ltd (Trung Quốc).

Bản mỏng Silica gel pha thường Merck Kielselgel 60 F254, 250 μ m. Dung dịch thuốc thử hiện vết sắc ký là dung dịch vanillin- sulfuric acid (VS) 10%.

Silica gel pha thường 230-400 Mesh, 37-63 μ m (HI-MEDIA - Ấn Độ), và Sephadex LH-20 (Merck) dùng cho sắc ký cột.

Máy ghi phổ cộng hưởng từ hạt nhân: Bruker Avance 500, ghi ở tần số 500 MHz đối với phổ $^1\text{H-NMR}$ và 125 MHz đối với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (phòng thí nghiệm phân tích trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh).

Máy đo khối phổ (HR-ESI-MS): Bruker microTOF-QII (phòng thí nghiệm phân tích trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh).

Phương pháp sắc ký

Thực hiện sắc ký lớp mỏng trên bản mỏng silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). Bản sắc ký được triển khai bằng hệ dung môi thích hợp, phát hiện vết sắc ký bằng đèn UV 254 nm, UV 365 nm, thuốc thử VS, thuốc thử H₂SO₄ 10%. Thực hiện sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel với kích thước hạt 37-63 μ m kết hợp sắc ký cột Sephadex LH-20, quá trình sắc ký được thực hiện với các hệ dung môi triển khai thích hợp để phân lập hợp chất.

Chiết xuất – Phân lập

ột khô (5 kg) cây Cúc chi thiên mêm được chiết với dung môi methanol bằng phương pháp đun hoàn lưu ở nhiệt độ 65 °C trong 4 tiếng, với tỷ lệ dung liệu: dung môi (1:6, kg/L), quá trình được thực hiện lặp lại bốn lần. Dịch chiết methanol được cô quay thu hồi dung môi để thu nhận cao chiết methanol thô (484.4 g). Cao chiết methanol được phân tán vào 100 mL methanol, sau đó được hòa vào 900 mL nước và chiết phân bố lỏng-lỏng lần lượt với các dung môi -hexane, ethyl acetate, *n*-butanol để phân tách các chất theo độ

phân cực khác nhau. Các dịch chiết thu được cô quay áp suất thấp, thu được các cao tương ứng -hexane (280.9 g), ethyl acetate (64.0 g), *n*-butanol (52.5 g) và phần cặn nước còn lại.

Cao ethyl acetate (64.0 g) được sắc ký cột silica gel với hệ dung môi triển khai là *n*-hexane: ethyl acetate (9.5:0.5 đến 100% ethyl acetate) và hệ ethyl acetate: methanol (10:0 đến 100% methanol), quá trình sắc ký cột được theo dõi bằng sắc ký bản mỏng. Kết quả thu được bảy phân đoạn (kí hiệu T1–T7).

Phân đoạn T1 (700 mg) được SKC silica gel pha thường với hệ dung môi giải ly -hexane: ethyl acetate (18:0.1 đến 0:10) thu được ba phân đoạn (T1.1–T1.3). Tiếp tục sắc ký cột nhiều lần phân đoạn T1.1 thu được hợp chất tinh sạch **4** (13.0 mg), từ phân đoạn T1.3 thu được **5** (14.0 mg).

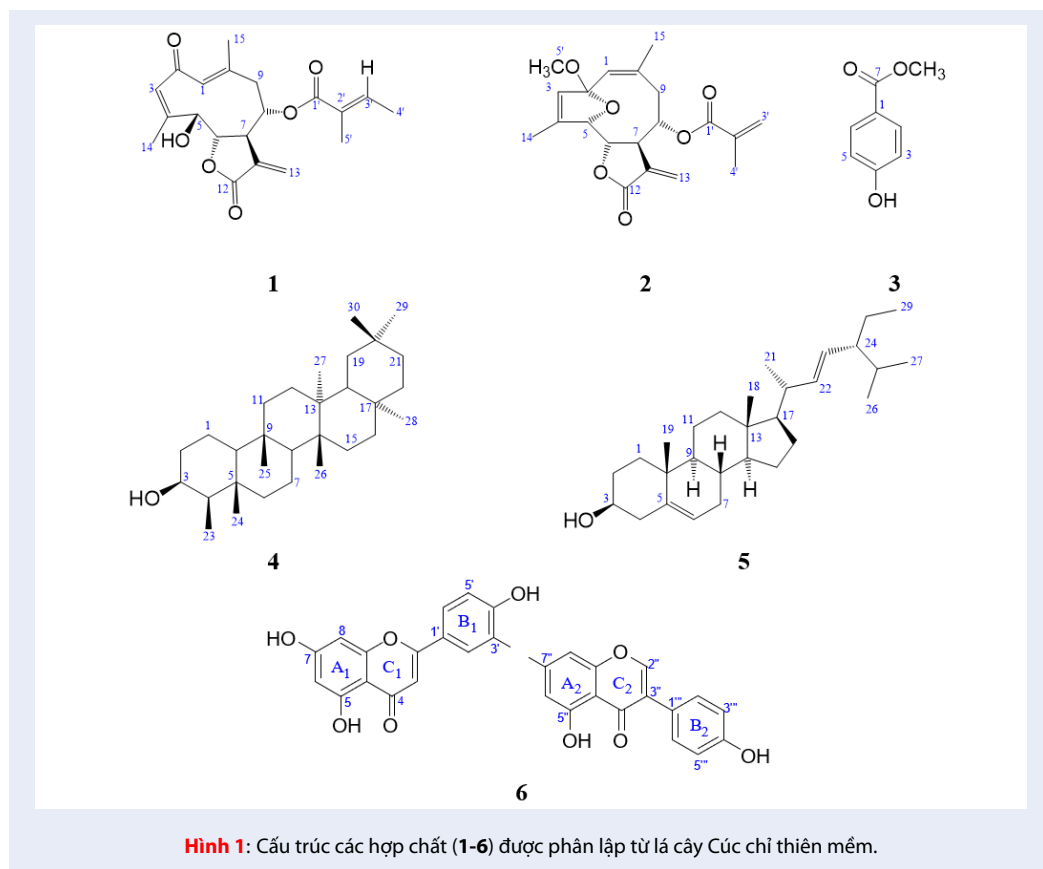
Phân đoạn T3 (2.5 g) được SKC silica gel pha thường với hệ dung môi giải ly chloroform: methanol: formic acid (10:0.3:0.1 đến 0:10:0.1) thu được bốn phân đoạn (T3.1–T3.4). SKC silica gel pha thường nhiều lần trên T3.2 với hệ dung môi -hexane: chloroform: acetone với độ phân cực khác nhau kết hợp với sắc ký cột Sephadex LH-20 với hệ dung môi sử dụng là chloroform: methanol (3:7) và chloroform: methanol (1:1) thu được **3** (1.6 mg).

Phân đoạn T4 (11.1 g) được SKC silica gel pha thường với hệ dung môi giải ly -hexane: chloroform: ethyl acetate (7:2:1 đến 100 % ethyl acetate) thu được bảy phân đoạn (T4.1–T4.7). Phân đoạn T4.3 được SKC Sephadex LH-20 với hệ dung môi chloroform: methanol (3:7), sau đó tiếp tục SKC silica gel pha thường phân đoạn T4.3.1 với hệ dung môi *n*-hexane: chloroform: ethyl acetate (10:2:2) thu được **2** (3.9 mg). Phân đoạn T4.5 được SKC silica gel pha thường nhiều lần với các hệ dung môi phù hợp thu được **1** (5.0 mg). SKC silica gel pha thường phân đoạn T5 (3.3 g) với hệ dung môi giải ly *n*-hexane: ethyl acetate (7:3 đến 100 % ethyl acetate), thu được bảy phân đoạn (T5.1–T5.7). Phân đoạn T5.3 được tiếp tục khảo sát bằng SKC silica gel nhiều lần với hệ dung môi phù hợp, thu được **6** (4.1 mg).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập

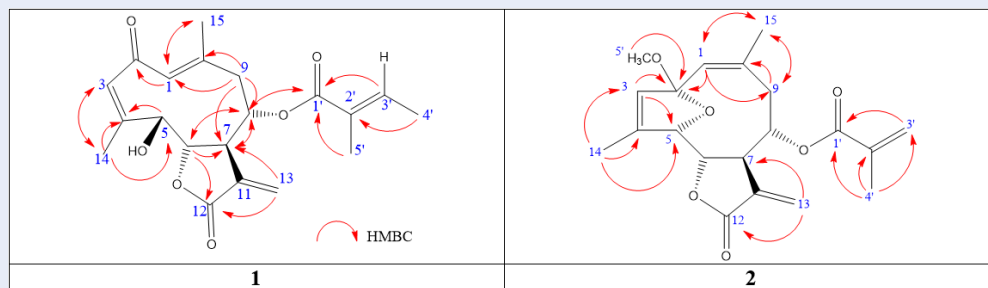
Hợp chất 1 có dạng tinh thể màu trắng. Khối phổ HR-ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 361.1642 $[\text{M} + \text{H}]^+$, theo tính toán lý thuyết của $[\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6 + \text{H}]^+$ là 361.1651, tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy tín hiệu của bốn nhóm methyl tại vùng từ trường cao tại δ_{H} 1.79 (3H, s, H-15), 1.84 (3H, *m*, H-4'), 1.84 (3H, *m*, H-5'),



2.01 (3H, *d*, $J = 1.5$ Hz, H-14), hai tín hiệu của proton methylene không tương đương tại d_H 2.48 (1H, *dd*, $J = 12.0, 12.0$ Hz, H-9a), 2.76 (1H, *dd*, $J = 12.0, 4.0$ Hz, H-9b), và một nhóm methine tại d_H 3.37 (1H, *m*, H-7). Trong vùng ở d_H 3.0–4.5, có ba tín hiệu của proton gần với dị nguyên tử tại d_H 4.24 (1H, *d*, $J = 4.0$ Hz, H-6), 5.25 (1H, *dt*, $J = 11.0, 4.0$ Hz, H-8), 5.45 (1H, *d*, $J = 11.0$ Hz, H-5), trong đó tín hiệu proton H-5 có dạng mũi đôi với hằng số ghép $J = 11.0$ Hz, được dự đoán do ghép cặp với proton nhóm hydroxy gắn trên C-5 ở d_H 2.34 (OH, *d*, $J = 12.0$ Hz). Ngoài ra, trong vùng từ trường từ 4.5–6.5 ppm, có ba tín hiệu nhóm vinyl tại d_H 6.02 (1H, *s*, H-3), 6.20 (1H, *s*, H-1), 6.92 (1H, *m*, H-3'), hai tín hiệu proton H-13 không tương đương tại d_H 6.36 (1H, *d*, $J = 2.5$ Hz), 5.82 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR cho thấy 20 tín hiệu carbon. Trong đó, tại vùng từ trường từ 10–55 ppm có sáu tín hiệu carbon bão hòa tại δ_C 12.2 (C-5'), 14.7 (C-4'), 19.0 (C-14), 20.1 (C-15), 45.7 (C-9), 49.8 (C-7). Trong vùng 60–90 ppm, có ba tín hiệu carbon gắn oxygen tại δ_C 72.3 (C8), 73.9 (C-5), 81.2 (C-6). Trong vùng 110–160 ppm có tám tín hiệu tại δ_C 128.2 (C-2'), 128.4 (C-13), 129.5 (C-3), 133.1 (C-11), 133.4 (C-1), 139.0 (C-3'), 137.3 (C-10), 158.6 (C-4). Bên cạnh đó còn có

hai tín hiệu của carbon carbonyl nhóm ester tại δ_C 166.3 (C-1'), 169.4 (C-12) và một tín hiệu của carbon ketone ở δ_C 195.1 (C-2). Từ tín hiệu của phổ proton và phổ carbon có thể kết luận hợp chất 1 là một sesquiterpenoid có sự hiện diện của bốn nối đôi, hai nhóm ester, một nhóm ketone và bốn nhóm methyl. Phổ HSQC của hợp chất 1 cho thấy sự tương quan giữa các proton và carbon tương ứng trong cấu trúc. Phổ HMBC (Hình 2) giúp xác nhận lại sự hiện diện của các nhóm chức trên khung sườn sesquiterpene của hợp chất 1. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 1 với molephantinin⁶ thấy có sự tương đồng, vì vậy hợp chất 1 được đề nghị là molephantinin (Hình 1).

Hợp chất 2 thu được ở dạng dầu trong suốt, tan tốt trong dung môi methanol. Khối phổ HR-ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 383.1471 $[M + Na]^+$, theo tính toán lý thuyết của $[M + Na]^+$ là 383.1471, tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ ($M = 360.1573$). Phổ ^1H -NMR (Bảng 1) cho thấy hợp chất có khung sesquiterpene với ba tín hiệu nhóm methyl 1.71 (3H, *s*, H-14), 1.78 (3H, *d*, $J = 1.5$ Hz, H-15), 1.97 (3H, *s*, H-4'), hai proton methylene không tương đương 2.20 (1H, *dd*, $J = 14.0, 4.0$ Hz, H-9b), 3.74 (1H, *d*, $J = 13.5$ Hz, H-9a), và một methine 3.15 (1H, *ddd*, $J = 9.0, 6.0,$



Hình 2: Tương quan HMBC của hợp chất 1 và 2

3.0 Hz, H-7). Trong vùng 3.0–4.5 ppm, có ba tín hiệu của proton gắn với carbon có chứa dị nguyên tố tại δ_H 4.80 (1H, *dd*, $J= 6.0, 4.0$ Hz, H-6), 5.29 (1H, *ddd*, $J= 11.0, 4.5, 2.5$ Hz, H-8), 5.23 (1H, *d*, $J= 3.5$ Hz, H-5), và tín hiệu của ba nhóm methoxy tại 3.18 (3H, *s*, H-5'). Ngoài ra, trong vùng 4.5–6.5 ppm, có ba tín hiệu nhóm vinyl tại δ_H 5.48 (1H, *s*, H-1), 5.68 (1H, *s*, H-3), 5.79 (2H, *d*, $J= 2.5$ Hz, H-13), hai tín hiệu proton H-3' không tương đương tại 6.16 (1H, *s*, H-3'a), 5.77 (1H, *s*, H-3'b). Phổ ^{13}C -NMR (Bảng 1) cho thấy có 20 tín hiệu carbon, trong đó, tại vùng 10–55 ppm có năm tín hiệu carbon bão hòa, tại δ_C 13.2 (C-14), 18.5 (C-4'), 28.9 (C-15), 33.5 (C-9), 40.3 (C-7). Trong vùng 60–90 ppm, có bốn tín hiệu carbon gắn oxygen tại δ_C 49.7 (C5'), 78.1 (C-8), 80.6 (C-6), 87.2 (C-5). Vùng 95–115 ppm có một tín hiệu carbon nhóm ketal tại δ_C 115.5 (C-2). Trong vùng từ trường từ 110–160 ppm có tám tín hiệu tại δ_C 127.1 (C-3'), 127.3 (C-13), 128.4 (C-1), 130.2 (C-3), 137.7 (C-10), 137.3 (C-2'), 134.8 (C-11), 140.6 (C-4). Bên cạnh đó còn có hai tín hiệu của carbon ester tại δ_C 167.1 (C-1'), 170.9 (C-12). Phổ HSQC của hợp chất 2 cho thấy sự tương quan giữa các proton và carbon tương ứng trong cấu trúc. Phổ HMBC (Hình 2) giúp xác nhận lại sự hiện diện của các nhóm chức các nhóm thế trên khung sườn sesquiterpene của hợp chất 2. Từ phân tích dữ liệu phổ hợp chất (2) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất này được đề xuất là 2-deethoxy-2 β -methoxyphantomolin¹⁵ (Hình 1).

Hợp chất 3 có dạng bột vô định hình màu trắng, tan tốt trong dung môi chloroform. Khối phổ HR-ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 151.0400 [$\text{M} - \text{H}$]⁻, theo tính toán lý thuyết của [$\text{M} - \text{H}$]⁻ là 151.0395, tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ ($\text{M} = 152.0473$). Phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR (Bảng 1) cho thấy tín hiệu của vòng benzene với hai nhóm thế ở vị trí *para* tại δ_H 6.85 (2H, *d*, $J= 8.5$ Hz, H-3, H-5) và 7.95 (2H, *d*, $J= 8.5$ Hz, H-2, H-6), ba nhóm methoxy

tại 3.89 (3H, *s*); và sáu carbon thơm δ_C 123.3 (C-1), 132.1 (C-2), 115.3 (C-3), 160.1 (C-4), 115.3 (C-5), 132.1 (C-6), một carbon ester tại δ_C 165.5 (C-7), và một carbon methoxy tại δ_C 50.7. Từ những tín hiệu phổ của hợp chất 3 kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, đề nghị hợp chất 3 là methyl 4-hydroxybenzoate¹⁶ (Hình 1).

Hợp chất 4 có dạng hình kim không màu, tan tốt trong dung môi chloroform. Phổ ^1H -NMR (Bảng 1) của hợp chất 4 cho thấy ở vùng trường cao có tám tín hiệu proton của methyl tại δ_H 0.86 (3H, *s*), 0.92 (3H, *s*), 0.94 (6H, *s*), 0.96 (3H, *s*), 0.99 (3H, *s*, H-24), 1.00 (3H, *d*, $J= 7.5$ Hz), 1.17 (3H, *s*). Ngoài ra còn có các tín hiệu như một proton oxymethine tại δ_H 3.73 (1H, *m*), các proton methine và methylene ở vùng 1.1–2.0 ppm. Phổ ^{13}C -NMR với 30 tín hiệu carbon trong đó có một oxymethine tại δ_C 72.7, tám nhóm methyl tại δ_C 11.6 (C-23), 16.4 (C-24), 18.2 (C-25), 18.6 (C-26), 20.1 (C-27), 31.8 (C-28), 35.0 (C-29), 32.1 (C-30). Tín hiệu của 11 carbon methylene ở vùng trường cao 15.0–40.0 ppm. Sáu tín hiệu carbon tứ cấp ở 20.0–40.0 ppm và bốn tín hiệu của carbon methine ở δ_C 49.2 (C-4), 53.2 (C-8), 61.4 (C-10), 42.8 (C-18). Khi so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 4 và epifridelanol nhận thấy có sự tương đồng nên hợp chất 4 được đề nghị là epifridelanol¹⁷ (Hình 1).

Hợp chất 5 thu được ở dạng bột vô định hình màu trắng, tan tốt trong dung môi methanol. Phổ ^1H -NMR (Bảng 2) cho thấy ở vùng từ trường cao có sáu tín hiệu methyl tại δ_H 0.70 (3H, *s*, H-18), 0.80 (3H, *d*, $J= 6.0$ Hz, H-27), 0.85 (3H, *d*, $J= 6.5$ Hz, H-26), 0.82 (3H, *m*, H-29), 1.01 (3H, *s*, H-19), 1.02 (3H, *d*, $J= 6.7$ Hz, H-21). Ở vùng từ trường thấp có ba tín hiệu proton olefin tại δ_H (ppm) 5.35 (1H, *m*, H-6), 5.16 (1H, *dd*, $J= 15.2$ Hz, $J= 8.5$ Hz, H-22), 5.02 (1H, *dd*, $J= 15.2$ Hz, $J= 8.5$ Hz, H-23), trong đó, proton H-22 và H-23 ghép *trans* với nhau với hằng số ghép $J= 15.2$ Hz. Ngoài ra còn có một tín hiệu của proton oxymethine ở δ_H 3.52 (1H, *m*, H-3). Các proton methine

Bảng 1: Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 1, 2 và 3

	Hợp chất 1 (CDCl ₃)		Hợp chất 2 (CD ₃ OD)		Hợp chất 3 (CDCl ₃)	
	δ_H , J (Hz)	δ_C	δ_H , J (Hz)	δ_C	δ_H , J (Hz)	δ_C
1	6.20 (1H, s)	133.4	5.48 (1H, s)	128.4	-	123.3
2	-	195.1	-	115.5	7.95 (1H, d, 8.5)	132.1
3	6.02 (1H, s)	129.5	5.68 (1H,)	130.2	6.85 (1H, d, 8.5)	115.3
4	-	158.6	-	140.6	-	160.1
5	5.45 (1H, d, 11.0)	73.9	5.23 (1H, d, 3.5)	87.2	6.85 (1H, d, 8.5)	115.3
6	4.24 (1H, d, 4.0)	81.2	4.80 (1H, dd, 6.0, 4.0)	80.6	7.95 (1H, d, 8.5)	132.1
7	3.37 (1H, m)	49.8	3.15 (1H, ddd, 9.0, 6.0, 3.0)	40.3	-	165.5
8	5.25 (1H, dt, 11.0, 4.0)	72.3	5.29 (1H, ddd, 11.0, 4.5, 2.5)	78.1	-	-
9	2.48 (1H, dd, 12.0, 12.0) 2.76 (1H, dd, 12.0, 4.0)	45.7	3.74 (1H, d, 13.5) 2.20 (1H, dd, 14.0, 4.0)	33.5	-	-
10	-	137.3	-	137.7	-	-
11	-	133.1	-	134.8	-	-
12	-	169.4	-	170.9	-	-
13	6.36 (1H, d, 2.5) 5.82 (1H, d, 2.0)	128.4	5.79 (2H, d, 2.5)	127.3	-	-
14	2.01 (3H, d, 1.5)	19.0	1.71 (3H, s)	13.2	-	-
15	1.79 (3H, s)	20.1	1.78 (3H, d, 1.5)	28.9	-	-
1'	-	166.3	-	167.1	-	-
2'	-	128.2	-	137.3	-	-
3'	6.92 (1H, m),	139.0	6.16 (1H, s) 5.77 (1H, s)	127.1	-	-
4'	1.84 (3H, m)	14.7	1.97 (3H, s)	18.5	-	-
5'	1.84 (3H, m)	12.2	3.18 (3H, s)	49.7	-	-
OCH ₃					3.89 (3H, s)	50.7
5-OH	2.34 (1H, d, 12.0)	-				

và methylene ở δ_H 1.04-2.30 ppm. Phổ ^{13}C -NMR (Bảng 2) có 29 tín hiệu carbon trong đó có bốn tín hiệu carbon olefin tại δ_C 140.8 (C-5), 138.3 (C-22), 129.3 (C-23), 121.7 (C-6). Sáu tín hiệu carbon methyl ở 12.0–22.0 ppm. Chín tín hiệu carbon methylene tại δ_C 24.0–40.0. Bảy tín hiệu carbon methine tại δ_C 56.9 (C-14), 56.0 (C-17), 51.5 (C-24), 50.2 (C-9), 40.5 (C-20), 31.9 (C-8), 31.9 (C-25). Phổ ^{13}C -NMR còn có hai tín hiệu carbon tứ cấp tại δ_C 36.5 (C-10), 42.2 (C-13) và một tín hiệu carbon oxymethine tại 71.8 ppm (C-3). So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 5 và stigmasterol, nhận thấy có sự tương đồng nên đề nghị nó là stigmasterol¹⁸ (Hình 1).

Hợp chất 6 là chất rắn màu vàng, tan tốt trong dung môi acetone. Khối phổ HR-ESI-MS cho mũi ion phân tử giả m/z 537.0827 $[\text{M} - \text{H}]^-$, theo tính toán lý thuyết của $[\text{M} - \text{H}]^-$ là 537.0822, tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ ($M = 538.0900$). Phổ ^{13}C -NMR (Bảng 2) cho thấy tín hiệu của 30 carbon lai hóa sp^2 , bao gồm hai carbon carbonyl ở δ_C 183.0 và 183.3; mười carbon tứ cấp gắn oxygen tại δ_C 156.1, 158.7, 160.9, 161.5, 162.4, 162.6, 163.1, 165.1, 165.4 và 167.7; năm carbon tứ cấp tại δ_C 104.2 (x2), 121.1, 122.9 và 123.3 và 13 carbon tam cấp tại 94.7, 103.7, 99.6, 99.9, 104.1, 117.7, 116.6 (x2), 128.6, 129.0 (x2), 132.5 và 130.3. Phổ ^1H -NMR (Bảng 2) cho thấy hệ thống vòng thơm đối xứng hai nhóm thế (vòng B2) [δ_H 6.83 (2H, d , $J = 8.8$ Hz, H-3", H-5") và δ_H 7.67 (2H, d , $J = 8.8$ Hz, H-2", H-6")]; và ba proton vòng thơm (vòng B1) [δ_H 7.23 (1H, d , $J = 8.7$ Hz, H-5'), δ_H 8.02 (1H, dd , $J = 8.7, 2.5$ Hz, H-6'), và δ_H 8.15 (1H, d , $J = 2.5$ Hz, H-2')]; cùng với hai vòng thơm bốn nhóm thế có hai cặp proton ghép *meta* gồm cặp δ_H 6.24 và 6.51 (1H, d , $J = 2.0$ Hz) (vòng A1) và cặp δ_H 6.43 và 6.65 (1H, d , $J = 2.0$ Hz) (vòng A2) (Hình 1). Hai tín hiệu mũi đơn tại δ_H 6.72 (1H) và 8.14 (1H) cho thấy độ dịch chuyển hóa học đặc trưng của H-3 khung flavone và H-2'' khung isoflavone. Phổ HSQC của hợp chất 6 cho thấy sự tương quan giữa các proton và carbon tương ứng trong cấu trúc (Hình 3). Phổ HMBC (Hình 3) cho thấy tương quan giữa H-3 (δ_H 6.72, δ_C 104.1) với carbon tứ cấp mang dị nguyên tố oxygen tại 165.1 ppm (C-2) và carbon carbonyl C-4 từ đó cho thấy phần I của hợp chất 6 có cấu trúc hóa học của flavone. Tương tự, tương quan giữa H-2'' (δ_H 8.14, δ_C -2'' 130.3) với carbon tứ cấp mang dị nguyên tố oxygen tại 165.4 ppm (C-9'') cho thấy phần II của 6 có cấu trúc hóa học của isoflavonoid. Từ các dữ liệu trên và so sánh với tài liệu tham khảo phổ của hợp chất lophirone L cho thấy có sự tương đồng, vậy hợp chất 6 được đề nghị là lophirone L¹⁹ (Hình 1).

KẾT LUẬN

Bài báo trình bày việc khảo sát thành phần hóa học cao ethyl acetate của cây Cúc chi thiên mem bằng các phương pháp sắc ký và phân lập được sáu hợp chất. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng phân tích các loại phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC, HMBC và HR-ESI-MS, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo. Các hợp chất gồm molephantinin (1) và 2-deethoxy-2 β -methoxyphantomolin (2) thuộc nhóm hợp chất sesquiterpene lactone, methyl 4-hydroxybenzoate (3) thuộc nhóm hợp chất phenol đơn giản, epifridelanol (4) thuộc nhóm triterpene, stigmasterol (5) thuộc nhóm hợp chất sterol thực vật và lophirone L (6) là flavonoid dạng dimer. Trong các hợp chất có lập, lophirone L (6) lần đầu tiên được biết đến trong cây Cúc chi thiên mem (*Elephantopus mollis*).

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

^1H -NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ^1H .
 ^{13}C -NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ^{13}C .
 s: Singlet
 d: Doublet
 t: Triplet
 dd: Doublet of doublets
 ddd: Doublet of doublet of doublets
 dt: Doublet of triplets
 m: Multiplet
 SKC: Sắc ký cột

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả đồng ý không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến các kết quả đã công bố.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

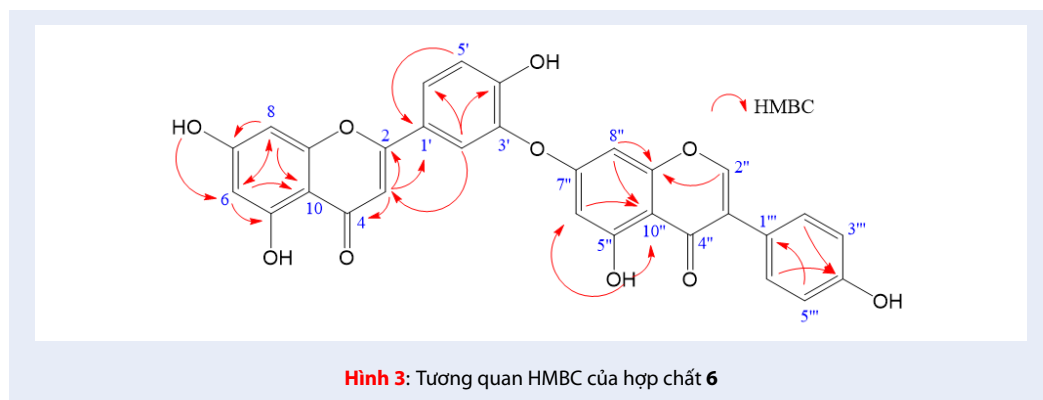
Lê Nguyễn Lộc phân lập các hợp chất. Lê Nguyễn Lộc và Nguyễn Thị Ý Nhi phân tích cấu trúc các hợp chất. Lê Nguyễn Lộc viết bản thảo bài báo. Nguyễn Thị Ý Nhi và Trần Lê Quan phân bố cục và chỉnh sửa bản thảo chi tiết. Tất cả các tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Kabiru A, Por Y L. Elephantopus species : traditional uses, pharmacological actions and chemical composition. *Advances in Life Science and Technology*. 2013; 15: 6-14.
- Hall I H, Lee K H, Starnes C O, Sumida Y, Wu R Y, Waddell T G, Cochran J W, Gerhart K G. Anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones and related compounds. *J. Pharm. Sci.* 1979; 68: 537-542; PMID: 311831. Available from: <https://doi.org/10.1002/jps.2600680505>.
- Ragasa C Y, Alimboyoguen A B, Shen C C. Antimicrobial terpenoids from *Elephantopus mollis*. *NRCP Research Journal*. 2009; 10: 33-38.
- Hộ, P. H. Cây cỏ Việt Nam III. 2003; 243;
- ; Available from: <http://ydvnet.net/contents/view/2164.cay-cuc-chi-thien-mem-elephantopus-mollis.html>.

Bảng 2: Dữ liệu phổ NMR của hợp chất 4, 5 và 6

	Hợp chất 4 (CDCl ₃)		Hợp chất 5 (CD ₃ OD)			Hợp chất 6 ((CD ₃) ₂ CO)	
	δ_H , J (Hz)	δ_C	δ_H , J (Hz)	δ_C	C	δ_H , J (Hz)	δ_C
1	1.42 (1H, m) 1.53 (1H, m)	15.8		37.3	1		
2	1.89 (1H, dt, 10.0, 2.5) 1.56 (1H, m)	35.2		31.7	2		165.1
3	3.73 (1H, m)	72.7	3.52 (1H, m)	71.8	3	6.72 (1H, s)	104.1
4	1.25 (1H, m)	49.2		42.3	4		183.3
5		37.1		140.8	5		163.1
6	1.73 (1H, dt, 13.0, 3.0) 0.91 (1H, m)	41.7	5.35 (1H, m)	121.7	6	6.24 (1H, d, 2.0)	99.6
7	1.38 (2H, m)	17.6		31.9	7		161.5
8	1.25 (1H, m)	53.2		31.9	8	6.51 (1H, d, 2.0)	94.7
9		38.4		50.2	9		158.7
10	0.88 (1H, m)	61.4		36.5	10		104.2
11	1.20 (1H, dd, 14.0, 6.0) 1.33 (1H, m)	35.3		21.2	1'		122.9
12	1.30 (2H, m)	30.6		39.7	2'	8.15 (1H, d, 2.5)	132.5
13		37.8		42.2	3'		156.1
14		38.7		56.9	4'		160.9
15	1.47 (1H, m) 1.27 (1H, m)	32.3		24.4	5'	7.23 (1H, d, 8.7)	117.7
16	1.33 (1H, m) 1.55 (1H, m)	36.1		28.9	6'	8.02 (1H, dd, 8.7, 2.5)	128.6
17		30.0		56.0	1''		
18	1.51 (1H, m)	42.8	0.70 (3H, s)	12.0	2''	8.14 (1H, s)	130.3
19	1.44 (1H, m) 1.12 (1H, m)	35.6	1.01 (3H, s)	19.4	3''		121.1
20		28.2		40.5	4''		183.0
21	1.48 (1H, m) 1.27 (1H, m)	32.8	1.02 (3H, d, 6.7)	21.1	5''		162.4
22	1.47 (2H, m)	39.3	5.16 (1H, dd, 15.2, 8.5)	138.3	6''	6.43 (1H, d, 2.0)	99.9
23	1.00 (3H, d, 7.5)	11.6	5.02 (1H, dd, 15.2, 8.5)	129.3	7''		167.7
24	0.92 (3H, s)	16.4		51.5	8''	6.65 (1H, d, 2.0)	103.7
25	0.86 (3H, s)	18.2		31.9	9''		165.4
26	0.99 (3H, s)	18.6	0.85 (3H, d, 6.5)	21.2	10''		104.2
27	0.94 (3H, s)	20.1	0.80 (3H, d, 6.0)	19.0	1'''		123.3
28	0.96 (3H, s)	31.8		31.8	2'''	7.67 (2H, d, 8.8)	129.0
29	0.94 (3H, s)	35.0	0.82 (3H, m)	12.2	3'''	6.83 (2H, d, 8.8)	116.6
30	1.17 (3H, s)	32.1			4'''		162.6
					5'''	6.83 (2H, d, 8.8)	116.6
					6'''	7.67 (2H, d, 8.8)	129.0



6. Lee K H, Ibuka T, Furukawa H, Kozuka M, Wu R Y, Hall I H, Huang H C. Antitumor agents XXXVIII: Isolation and structural elucidation of novel germacranolides and triterpenes from *Elephantopus mollis*. *J. Pharm. Sci.* 1980; 69: 1050-1056; PMID: 7411406. Available from: <https://doi.org/10.1002/jps.2600690917>.
7. Tabopda T K, Liu J, Ngadjui B T, Luu B. Cytotoxic triterpene and sesquiterpene lactones from *Elephantopus mollis* and induction of apoptosis in neuroblastoma cells. *Planta Med.* 2007; 73: 376-380; PMID: 17366372. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-2007-967132>.
8. Bitchagno G T M, Koffi J G, Simo I K, Kaho D U K, Ngouela A S, Lenta B N, Sewald N. Lc-tof-esi-ms patterns of hirsutinolide-like sesquiterpenoids present in the *Elephantopus mollis* kunth extract and chemophenetic significance of its chemical constituents. *Molecules.* 2021; 26(16): 4810; PMID: 34443397. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules26164810>.
9. Li H, Li M, Wang G, Shao F, Chen W, Xia C, Wang S, Li Y, Zhou G, Liu Z. EM23, a natural sesquiterpene lactone from *Elephantopus mollis*, induces apoptosis in human myeloid leukemia cells through thioredoxin- and reactive oxygen species-mediated signaling pathways. *Front. Pharmacol.* 2016; 7: 1-15; Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00077>.
10. Francisco F, Pereira G P, De Carvalho R I N, Negrelle R R B. Maturation, processing and seed storage of *Elephantopus Mollis* Kunth. *Acta Sci. Agron.* 2019; 41: 1-12; Available from: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v41i1.42628>.
11. Hasegawa K, Furuya R, Mizuno H, Umishio K, Suetsugu M, Sato K. Inhibitory effect of *Elephantopus mollis* H.B. and K. Extract on melanogenesis in B16 murine melanoma cells by downregulating microphthalmia-associated transcription factor expression. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010; 74: 1908-1912; PMID: 20834163. Available from: <https://doi.org/10.1271/bbb.100318>.
12. Bich Ngoc T T, Hoai Nga N T, My Trinh N T, Thuoc T L, Phuong Thao, D T. *Elephantopus mollis* Kunth extracts induce antiproliferation and apoptosis in human lung cancer and myeloid leukemia cells. *J. Ethnopharmacol.* 2020; 263: 113222; PMID: 32763415. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113222>.
13. Kuete V, Fokou F W, Karaosmanoğlu O, Beng V P, Sivas H. Cytotoxicity of the methanol extracts of *Elephantopus mollis*, *Kalanchoe crenata* and 4 other Cameroonian medicinal plants towards human carcinoma cells. *BMC Complement. Altern. Med.* 2017; 17:1-9; PMID: 28545532. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1793-1>.
14. Ooi K L, Tengku M T S, Lam L Y, Sulaiman S F. Cytotoxic and apoptotic effects of ethyl acetate extract of *Elephantopus mollis* Kunth. in human liver carcinoma HepG2 cells through caspase-3 activation. *Integr. Cancer Ther.* 2014; 13(3): NP1-9 ; PMID: 22336595. Available from: <https://doi.org/10.1177/15347354111433203>.
15. But P P H, Hon P, Cao H, Che C T. New sesquiterpene lactone from *Elephantopus mollis*. *Planta Medica.* 1996; 62: 474-476; PMID: 17252483. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-2006-957945>.
16. Yoshioka T, Inokuchi T, Fujioka S, Kimura Y. Phenolic compounds and flavonoids as plant growth regulators from fruit and leaf of *Vitex rotundifolia*. *Zeitschrift fur Naturforsch. Sect. C J. Biosci.* 2004; 59: 509-514; PMID: 15813370. Available from: <https://doi.org/10.1515/znc-2004-7-810>.
17. Kundu J K, Rouf A S S, Hossain N, Rashid M A U. Antitumor activity of epifriedelanol from *Vitis trifolia*. *Fitoterapia.* 2000; 71(5): 577-579; PMID: 11449513. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00191-X](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00191-X).
18. Kamboj A, Saluja A K. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2011; 3: 94-96;.
19. Anastasie E T, Raphael T G, Beibam L S, Christelle C, Bernard B. Minor biflavonoids from *Lophira alata* Leaves. *J. Nat. Prod.* 2006; 69: 1206-1208; PMID: 16933877. Available from: <https://doi.org/10.1021/np050169w>.

Study on chemical constituents of the ethyl acetate extract of *Elephantopus mollis*

Le Nguyen Loc, Dang Thi Phuong Thao, Nhi Y Thi Nguyen*, Quan Le Tran*

ABSTRACT

Elephantopus mollis, family Asteraceae, is a herbaceous perennial plant with the main component of sesquiterpene lactones. In the *Elephantopus mollis*, there are other chemical components such as triterpenoids, steroids, flavonoids, and simple phenolic compounds. Since this plant was discovered and studied until now, there have been many studies on the biological activity of *Elephantopus mollis*, in which the cytotoxic activity was noted to be superior to many cell lines such as breast cancer cell lines (MCF-7; T-47D), lung cancer cell lines (A549; NCI-H2), leukemia cell line (HL-60), lymphoma cell line (RAJL)... The cytotoxic studies were performed mainly on petroleum ether, ethyl acetate, methanol, and water extracts. In Vietnam, *Elephantopus mollis* distributed mainly in the central highlands and are used in the traditional medicine to treat toxic boils, skin diseases, acute lymphadenitis, acute jaundice... In this paper, six compounds were isolated from an ethyl acetate extract of the whole plant, including two known sesquiterpene lactones, molephantinin (**1**), 2-deethoxy-2 β -methoxyphantomolin (**2**) and four other compounds including a simple phenolic, methyl 4-hydroxybenzoate (**3**); a triterpene, epifridelanol (**4**), a phytosterol, stigmasterol (**5**), and a biflavonoid, lophirone L (**6**). Among them, compound **6** was found for the first time in *Elephantopus mollis* species. The chemical structure of the isolated compounds were elucidated by spectroscopic analysis ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC and HR-ESI-MS, combining with the comparison of their NMR data with those published in the literature.

Key words: *Elephantopus mollis*, sesquiterpene lactone, molephantinin, triterpenoid, biflavone

University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Nhi Y Thi Nguyen, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: ntynhi@hcmus.edu.vn

Correspondence

Quan Le Tran, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: tqquan@hcmus.edu.vn

History

- Received: 25-11-2023
- Accepted: 06-12-2023
- Published Online: 31-12-2023

DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i4.1251>



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 : Loc L N, Thao D T P, Nguyen N Y T, Tran Q L. **Study on chemical constituents of the ethyl acetate extract of *Elephantopus mollis***. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2023; 7(4):2776-2784.