

# Năm hợp chất triterpenoid từ thân cây xú hương Bidoup *Lasianthus bidoupensis* V.S. Dang & Naiki (Rubiaceae)

Nguyễn Thị Quỳnh Trang<sup>1</sup>, Đoàn Tuân<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Diễm Hương<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Hoài Thu<sup>3</sup>, Phạm Nguyễn Kim Tuyến<sup>1,\*</sup>



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

## TÓM TẮT

Xú hương Bidoup (*Lasianthus bidoupensis*), thuộc họ Cà phê (Rubiaceae), là loài thực vật mới được tìm thấy gần đây và chưa được công bố về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học, trong khi các loài cùng chi đã được biết đến có nhiều công dụng trong Y học cổ truyền và có hoạt tính sinh học đa dạng. Bài báo trình bày việc cô lập và nhận danh các hợp chất hữu cơ từ cao *n*-hexane, thân cây Xú hương Bidoup, nhằm cung cấp thêm các hiểu biết về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài thực vật này. Từ bột khô thân cây Xú hương Bidoup điều chế cao thô bằng phương pháp ngâm trong ethanol tại nhiệt độ phòng. Thực hiện trích lỏng–lỏng cao thô với các dung môi có độ phân cực tăng dần để thu được các cao phân đoạn. Cao *n*-hexane thể hiện hoạt tính gây độc tế bào MCF-7 mạnh nhất nên được tiến hành cô lập hợp chất bằng sắc ký cột silica gel. Kết quả năm hợp chất được cô lập là lupeol (**1**), 3-*epi*-betulinic acid (**2**), 3-*epi*-3-*O*-acetyl betulinic acid (**3**), 3-*epi*-oleanolic acid (**4**) và vergatic acid (**5**). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên dữ liệu phổ MS và NMR cũng như so sánh với tài liệu tham khảo. Trong đó, bốn hợp chất **2**–**5** lần đầu tiên được báo cáo có trong chi *Lasianthus* và hợp chất **3** cho hoạt tính gây độc tế bào MCF-7 mạnh nhất với IC<sub>50</sub> là 13.88±0.11 mg/mL.

**Từ khoá:** Xú hương Bidoup (*Lasianthus bidoupensis*), triterpenoid, lupane, oleanane

<sup>1</sup>Khoa Môi trường, Trường Đại học Sài Gòn, Việt Nam

<sup>2</sup>Trung học Phổ thông Ngô Gia Tự, Quận 8, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

## Liên hệ

Phạm Nguyễn Kim Tuyến, Khoa Môi trường, Trường Đại học Sài Gòn, Việt Nam

Email: phngkhtuyen@sgu.edu.vn

## Lịch sử

- Ngày nhận: 13-3-2023
- Ngày chấp nhận: 29-5-2023
- Ngày đăng: 30-6-2023

## DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i2.1271>



## 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.



## GIỚI THIỆU

Xú hương Bidoup, *Lasianthus bidoupensis* V.S. Dang & Naik, thuộc họ Cà phê (Rubiaceae), phân bố ở độ cao 1400–1500 m ở Vườn quốc gia Bidoup, Núi Bà, tỉnh Lâm Đồng, được công bố khoa học lần đầu tiên vào tháng 1 năm 2019.<sup>1</sup> Các cây cùng chi *Lasianthus* đã được sử dụng trong Y học cổ truyền điều trị bệnh ù tai, viêm khớp, dùng để hạ sốt, an thần, cầm máu, dùng làm thuốc giải độc gan, lợi tiểu.<sup>2,3</sup> Các nghiên cứu cũng cho thấy chi *Lasianthus* có hoạt tính chống oxi hóa, chống khối u, chống viêm, chống ung thư buồng trứng.<sup>4–6</sup> Các hợp chất thuộc khung anthraquinone, iridoid, terpenoid, steroid, phenolic cũng đã được tìm thấy có trong chi *Lasianthus*.<sup>2,4–7</sup> Tuy nhiên, cho đến nay chưa có công bố nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài này. Vì vậy, bài báo trình bày việc cô lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ thân cây Xú hương Bidoup thu hái tại tỉnh Lâm Đồng.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Hóa chất và thiết bị

Phổ NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân BRUKER AC 500 [500 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) và 125 MHz (<sup>13</sup>C-NMR)]. Khối phổ phân giải cao HR-ESI-MS

được đo bởi máy MicroTOF-QII Bruker. Khối phổ ESI-MS được ghi bởi máy MSQ-Plus-DAD. Sắc ký lớp mỏng trên bản nhôm tráng sẵn và sắc ký cột sử dụng silica gel (Kieselgel 60, 230–400 mesh, Merck và Kieselgel 60, RP<sub>18</sub>, 230–400 mesh, Merck).

### Đối tượng nghiên cứu

Thân cây Xú hương Bidoup (*Lasianthus bidoupensis* V.S. Dang & Naiki) (họ Cà Phê, Rubiaceae) được thu hoạch tại Vườn quốc gia Bidoup, Núi Bà, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 12 năm 2020. Cây được định danh khoa học bởi TS. Đặng Văn Sơn, Viện Sinh học nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu cây (Số SGU-001LB) được lưu tại phòng thí nghiệm Khoa Môi trường, Trường Đại học Sài Gòn.

### Chiết xuất và cô lập các hợp chất

Thân cây tươi (49,0 kg) sau khi thu hoạch được làm sạch, phơi khô ở nhiệt độ phòng, băm nhỏ và xay nhuyễn (11,5 kg). Bột cây khô (11,5 kg) được trích bằng ethanol theo phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng trong 48 h (7 lít x 12 lần). Cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất thấp, thu được cao ethanol thô (480,3 g). Thực hiện chiết lỏng–lỏng cao ethanol thô lần lượt với các dung môi *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate. Đuổi dung môi phần dịch chiết, thu được các

**Trích dẫn bài báo này:** Trang N T Q, Tuân D, Hương N T D, Thu N T H, Tuyến P N K. Năm hợp chất triterpenoid từ thân cây xú hương Bidoup *Lasianthus bidoupensis* V.S. Dang & Naiki (Rubiaceae). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2023, 7(2):2648-2654.

phân đoạn cao tương ứng là cao *n*-hexane (53,7 g), cao chloroform (34,2 g), cao ethyl acetate (42,8 g) và dịch chiết còn lại.

Cao *n*-hexane (53,7 g) được sắc ký cột silica gel pha thường cùng với hệ dung môi giải ly lần lượt là *n*-hexane: ethyl acetate (98:2, 9:1, 8:2,7:3, 1:1, 1:0, v/v) thu được 4 phân đoạn là A (12,6 g), B (10,5 g), C (14,9 g), D (10,1 g). Rửa nhiều lần phân đoạn A bằng dung môi *n*-hexane sau đó tiếp tục sắc ký cột silica gel phần tủa, giải ly bằng hệ dung môi *n*-hexane:chloroform (95:5) thu được hợp chất **1** (121,3 mg) và hợp chất **3** (50,2 mg). Rửa nhiều lần phân đoạn B bằng dung môi *n*-hexane sau đó tiếp tục tiến hành sắc ký cột silica gel nhiều lần trên phần tủa, giải ly bằng hệ dung môi *n*-hexane : chloroform (98:2, 95:5, 9:1, v/v) thu được **2** (74,6 mg), **4** (53,3 mg) và **5** (10,6 mg).

**Lupeol (1):** Dạng bột màu trắng. ESI-MS:  $m/z$  409,387  $[C_{30}H_{50}O-H_2O+H]^+$ .  $^1H$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_H$  ppm, *J* bằng Hz): 3,19 (1H, *dd*, 11,5; 5,0, H-3), 2,37 (1H, *td*, 11,0; 5,5, H-19), 0,76 (3H, *s*, H-23), 0,97 (3H, *s*, H-24), 0,83 (3H, *s*, H-25), 1,03 (3H, *s*, H-26), 0,95 (3H, *s*, H-27), 0,79 (3H, *s*, H-28), 4,69 (1H, *d*, 2,5, H-29a), 4,57 (1H, *brs*, H-29b), 1,68 (3H, *s*, H-30).  $^{13}C$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_C$  ppm): được trình bày trong Bảng 1.

**3-*epi*-Betulinic acid (2):** Dạng bột màu trắng. ESI-MS:  $m/z$  455,35  $[C_{30}H_{48}O_3-H]^-$ .  $^1H$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_H$  ppm, *J* bằng Hz): 3,39 (1H, *t*, 2,8, H-3), 3,00 (1H, *td*, 10,5; 4,5, H-19), 0,82 (3H, *s*, H-23), 0,93 (3H, *s*, H-24), 0,84 (3H, *s*, H-25), 0,94 (3H, *s*, H-26), 1,00 (3H, *s*, H-27), 4,74 (1H, *brs*, H-29a), 4,61 (1H, *brs*, H-29b), 1,69 (3H, *s*, H-30).  $^{13}C$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_C$  ppm): được trình bày trong Bảng 1.

**3-*epi*-3-*O*-Acetylbetulinic acid (3):** Dạng bột màu trắng. ESI-MS:  $m/z$  497,36  $[C_{32}H_{50}O_4-H]^-$ .  $^1H$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_H$  ppm, *J* bằng Hz): 4,61 (1H, *dd*, 3,5; 2,0, H-3), 3,01 (1H, *td*, 10,5; 5,0, H-19), 0,86 (3H, *s*, H-23), 0,83 (3H, *s*, H-24), 0,85 (3H, *s*, H-25), 0,96 (3H, *s*, H-26), 1,03 (3H, *s*, H-27), 4,74 (1H, *d*, 2,0, H-29a), 4,61 (1H, *dd*, 3,5; 2,0, H-29b), 1,71 (3H, *s*, H-30), 2,07 (3H, *s*, H-31).  $^{13}C$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_C$  ppm): được trình bày trong Bảng 1.

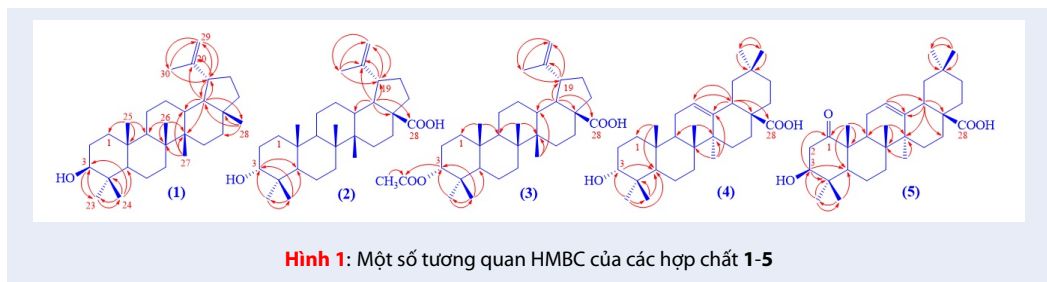
**3-*epi*-Oleanolic acid (4):** Dạng bột màu trắng. ESI-MS:  $m/z$  455,35  $[C_{30}H_{48}O_3-H]^-$ .  $^1H$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_H$  ppm, *J* bằng Hz): 3,41 (1H, *brs*, H-3), 5,28 (1H, *t*, 3,5, H-12), 2,81 (1H, *dd*, 13,5; 4,0, H-18), 0,95 (3H, *s*, H-23), 0,83 (3H, *s*, H-24), 0,93 (3H, *s*, H-25), 0,75 (3H, *s*, H-26), 1,14 (3H, *s*, H-27), 0,90 (3H, *s*, H-29), 0,93 (3H, *s*, H-30).  $^{13}C$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_C$  ppm): được trình bày trong Bảng 1.

**Vergatic acid (5):** Dạng bột màu trắng. HR-ESI-MS:  $m/z$  469,3309  $[C_{30}H_{46}O_4-H]^-$ .  $^1H$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_H$  ppm, *J* bằng Hz): 3,03 (1H, *t*, 12,5, H-2a), 2,37 (1H, *m*, H-2b), 3,49 (1H, *dd*, 12,0; 4,5, H-3), 5,29 (1H, *t*, 3,0, H-12), 2,82 (1H, *dd*, 14,0; 4,0, H-18), 1,05 (3H, *s*, H-23), 1,01 (3H, *s*, H-24), 1,29 (3H, *s*, H-25), 0,82 (3H, *s*, H-26), 1,17 (3H, *s*, H-27), 0,91 (3H, *s*, H-29), 0,92 (3H, *s*, H-30).  $^{13}C$ -NMR (chloroform-*d*,  $\delta_C$  ppm): được trình bày trong Bảng 1.

**Quy trình thử hoạt tính gây độc tế bào:** Các cao chiết và hợp chất được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 bằng phương pháp MTT. Dòng tế bào MCF-7 có nguồn gốc từ Bảo tàng giống chuẩn Hoa Kỳ (ATCC), được lưu giữ trong nitrogen lỏng, hoạt hóa và duy trì trong các môi trường dinh dưỡng như DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle salt) có bổ sung 7–10% FBS (Fetal Bovine Serum) và một số thành phần thiết yếu khác. Tế bào được nuôi trong các điều kiện tiêu chuẩn (5% CO<sub>2</sub>, độ ẩm 98%, nhiệt độ 37 °C, vô trùng tuyệt đối). Mẫu thử và chất chứng dương ellipticine được hòa tan bằng dung môi DMSO. Cho vào mỗi giếng 10  $\mu$ L hợp chất thử đã chuẩn bị ở trên và 190  $\mu$ L dung dịch tế bào (mật độ 10<sup>4</sup> tế bào/mL). Đối chứng dương của thí nghiệm là môi trường có chứa tế bào, đối chứng âm chỉ có môi trường nuôi cấy. Đĩa thí nghiệm được ủ ở điều kiện tiêu chuẩn. Sau 72 giờ mỗi giếng thí nghiệm được tiếp tục ủ với 10  $\mu$ L MTT (5 mg/mL) trong 4 giờ. Sau khi loại bỏ môi trường, tinh thể formaran được hòa tan bằng 100  $\mu$ L DMSO 100%. Kết quả thí nghiệm được xác định bằng giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm trên máy quang phổ Biotek. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được ở dạng bột màu trắng. Phổ  $^{13}C$ -NMR cho thấy có sự hiện diện của 30 tín hiệu carbon, trong đó hầu hết các tín hiệu cộng hưởng ở vùng từ trường cao từ  $\delta_C$  18 đến 56 ppm. Một tín hiệu carbon carbinol tại  $\delta_C$  79,0 ppm là của C-3 như thường lệ. Hai tín hiệu carbon tại  $\delta_C$  151,0 (>C=) và 109,3 (-CH=) đặc trưng cho carbon C-20 và C-29 của nối đôi trong khung lupane. Điều này phù hợp với sự hiện diện của hai tín hiệu proton olefine dạng exo với hằng số ghép nhỏ tại  $\delta_H$  4,69 (1H, *d*, 2,5 Hz, H-29a), 4,57 (1H, *brs*, H-29b) trên phổ proton. Hai tín hiệu proton này cho tín hiệu tương quan HMBC với carbon methine ( $\delta_C$  48,0, >CH-19), carbon olefin tứ cấp ( $\delta_C$  151,0, C-20) và carbon methyl ( $\delta_C$  19,3, CH<sub>3</sub>-30) (Hình 1). Những dữ kiện này góp phần chứng minh cho sự hiện diện của nhóm isopropenyl trong



khung lupane. Sáu tín hiệu proton methyl mũi đơn còn lại cộng hưởng trong vùng từ 0,76 đến 1,03 ppm là của các proton H-23 đến H-28. Tín hiệu proton methine tại  $\delta_H$  3,19 (1H, *dd*, 11,5; 5,0, H-3), cho thấy có sự ghép cặp giữa H-3 với H-2 với hằng số ghép lớn 11,5 Hz, chứng tỏ H-3 ở vị trí trục, hay vị trí  $3\alpha$ -H trong khung lupane. Phổ HSQC và HMBC cho các tín hiệu tương quan góp phần giúp xác định được độ dịch chuyển hóa học của các proton và carbon trong khung lupane. Phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả tại  $m/z$  409,387 [ $C_{30}H_{50}O-H_2O+H$ ]<sup>+</sup>. Từ những phân tích trên, kết hợp so sánh dữ liệu NMR của hợp chất 1 với lupeol<sup>7</sup> cho thấy có sự tương hợp, vì vậy hợp chất 1 được đề nghị là lupeol. Lupeol đã được cô lập từ phần trên mặt đất của cây cùng chi *Lasianthus* là *Lasianthus gardneri*<sup>7</sup> nhưng đây là lần đầu tiên hợp chất này được cô lập từ thân cây Xú hương Bidoup, *Lasianthus bidoupensis*. Lupeol hiện diện nhiều ở các loại trái cây, rau quả và trong nhiều cây thuốc, và có một số hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, chống đột biến, kháng viêm và viêm khớp.<sup>8</sup>

Hợp chất 2 có dạng bột màu trắng. So sánh dữ liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất 2 và hợp chất 1 cho thấy hợp chất 2 cũng có các tín hiệu đặc trưng của khung lupane, bao gồm các tín hiệu của nhóm isopropenyl [ $\delta_H$  4,74 (1H, *brs*, H-29a), 4,61 (1H, *brs*, H-29b), 1,69 (3H, *s*, H-30)], tín hiệu proton methine gắn oxygen [ $\delta_H$  3,39 (1H, *t*, 2,8, H-3)]. Tuy nhiên, hợp chất 2 có ít hơn hợp chất 1 một nhóm methyl ở vùng từ trường cao. Điều này phù hợp với phổ <sup>13</sup>C và HSQC của hợp chất 2 cho thấy có thêm một nhóm carbon carboxyl tại  $\delta_C$  181,5 (C-28) và ít hơn một nhóm methyl ở vùng từ trường cao so với hợp chất 1. Phổ HMBC giúp xác định vị trí của nhóm -OH tại C-3, vị trí của năm nhóm methyl tại C-23 đến C-27 và vị trí của nhóm -COOH tại C-28 như thường lệ. Khác với hợp chất 1, tín hiệu proton H-3 của hợp chất 2 xuất hiện ở dạng mũi ba với hằng số ghép nhỏ tại  $\delta_H$  3,39 (1H, *t*, 2,75 Hz, H-3), từ đó đề nghị H-3 ở vị trí xích đạo, hay nhóm 3-OH nằm vị trí trục. Thêm vào đó, phổ ESI-MS của hợp chất 2 cho mũi ion phân tử giả tại  $m/z$  455,35 [ $C_{30}H_{48}O_3-H$ ]<sup>-</sup>, cũng như có sự

tương hợp cao khi so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2 với 3-*epi*-betulinic acid,<sup>9</sup> vậy 2 được đề nghị là 3-*epi*-betulinic acid. 3-*epi*-Betulinic acid được biết có hoạt tính chống lại một số khối u ác tính, chống HIV, chống sốt rét cũng như có khả năng gây độc đối với một số dòng tế bào ung thư.<sup>10</sup>

Phân tích phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất 3 cho thấy các tín hiệu của khung 3-*epi*-betulinic acid tương tự như hợp chất 2, bao gồm các tín hiệu của nhóm isopropenyl [ $\delta_H$  4,61 (1H, *dd*, 3,5; 2,0 Hz, H-29b), 1,71 (3H, *s*, H-30)], một nhóm methine carbinol [ $\delta_H$  4,61 (1H, *dd*, 3,5; 2,0 Hz, H-3)], năm nhóm methyl cộng hưởng từ  $\delta_H$  0,83 đến 1,03 ppm. Ngoài ra, phổ proton của hợp chất 3 còn có thêm tín hiệu proton methyl mũi đơn cộng hưởng ở  $\delta_H$  2,07 ppm. Kết hợp với phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất 3 có 32 tín hiệu carbon gồm 30 tín hiệu của khung 3-*epi*-betulinic acid và có thêm 2 tín hiệu tại [ $\delta_C$  170,9 (-COO-, C-31) và 21,4 (-CH<sub>3</sub>, C-32)], từ đó dự đoán hợp chất 3 có nhiều hơn hợp chất 2 một nhóm acetyl. Phổ HMBC cho tương quan của proton methine carbinol H-3 với carbon ester (C-31) giúp xác định vị trí nhóm CH<sub>3</sub>COO- gắn vào khung 3-*epi*-betulinic acid tại C-3. Các tương quan HMBC còn lại cũng như mũi ion phân tử giả tại  $m/z$  497,36 [ $C_{32}H_{50}O_4-H$ ]<sup>-</sup> trên phổ ESI-MS phù hợp với cấu trúc đề nghị. Kết hợp với sự tương hợp khi so sánh dữ liệu phổ NMR của 3 với các công bố trước đó,<sup>9,11</sup> nên nó được xác định là 3-*epi*-3-*O*-acetyl betulinic acid. 3-*epi*-3-*O*-Acetylbetulinic acid đã được biết có hoạt tính mạnh trong việc gây độc dòng tế bào ung thư biểu mô phổi ở người dòng A549.<sup>9</sup>

Hợp chất 4 có dạng bột màu trắng. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của 4 cho các tín hiệu của một triterpene bao gồm bảy tín hiệu proton methyl mũi đơn [ $\delta_H$  1,14 (3H, *s*, H-27), 0,95 (3H, *s*, H-23), 0,93 (6H, *s*, H-30/H-25), 0,90 (3H, *s*, H-29), 0,83 (3H, *s*, H-24), 0,75 (3H, *s*, H-26)], một tín hiệu proton olefine tại  $\delta_H$  5,28 (1H, *t*, 3,5 Hz, H-12), một tín hiệu proton của nhóm methine tại  $\delta_H$  2,81 (1H, *dd*, 13,5; 4,5 Hz, H-18) và proton methine carbinol (>CH-OH) tại  $\delta_H$  3,41 (1H, *brs*, H-3). Phổ <sup>13</sup>C-NMR của 4 cho thấy có sự hiện diện của 30 tín

**Bảng 1:** Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của các hợp chất 1– 5 trong chloroform-*d*

N <sup>o</sup>	1	2	3	4	5
1	38,7	37,1	37,2	37,2	212,4
2	25,2	25,4	22,9	25,2	45,5
3	79,0	76,3	78,4	76,2	78,7
4	38,9	37,4	36,7	37,3	39,3
5	55,3	49,3	50,3	49,0	54,1
6	18,3	18,3	18,1	18,2	22,9
7	34,3	34,2	34,1	32,5	32,4
8	40,9	40,9	40,9	39,5	41,8
9	50,5	50,3	50,3	47,4	39,2
10	37,2	37,6	38,4	37,2	53,8
11	21,0	20,7	20,7	23,3	27,7
12	27,4	25,5	25,5	122,7	123,3
13	38,1	38,4	37,1	143,6	142,4
14	43,0	42,5	42,6	41,7	44,1
15	27,5	29,7	29,7	27,6	28,5
16	35,6	30,6	30,6	22,9	23,1
17	42,9	56,4	56,4	46,5	52,5
18	48,3	49,1	49,3	40,9	41,2
19	48,0	47,0	46,9	45,9	46,7
20	151,0	150,5	150,4	30,7	30,7
21	29,9	32,2	33,9	33,8	33,9
22	40,0	33,3	32,2	32,9	32,5
23	15,4	22,1	21,7	28,3	29,3
24	28,0	28,3	27,8	22,3	16,0
25	16,1	15,9	15,9	15,1	14,9
26	16,0	16,1	16,1	17,2	17,7
27	14,6	14,8	14,9	26,1	25,7
28	18,0	181,5	181,2	183,9	183,4
29	109,3	109,7	109,6	33,1	33,1
30	19,3	19,4	19,4	23,6	23,5
31			170,9		
32			21,4		

hiệu carbon, bao gồm một tín hiệu của carbon carboxyl tại  $\delta_C$  183,9 (C-28), một tín hiệu carbon methine hydroxyl ( $>CH-OH$ ) tại  $\delta_C$  76,2 (C-3), 2 tín hiệu carbon olefin tại  $\delta_C$  122,7 (C-12) và 143,6 (C-13) đặc trưng của khung oleanane-12-ene-3-ol-28-oic. Phổ HSQC và HMBC cho các tương quan giúp quy kết độ dịch chuyển hóa học của các proton và carbon của hợp chất **4**. Tín hiệu proton methine carbinol H-3 có dạng mũi đơn-rộng do ghép cặp *ee* và *ea* với H-2a và H-2b với hằng số ghép nhỏ, giúp xác định nhóm hydroxyl ở vị trí trục, hướng xuống so với mặt phẳng trung bình của vòng. Bên cạnh đó, phổ ESI-MS cho mũi ion phân tử giả tại  $m/z$  455,35  $[C_{30}H_{48}O_3-H]^-$  cũng như sự tương hợp giữa dữ liệu phổ NMR của **4** với tài liệu tham khảo, <sup>12</sup> từ đó **4** được xác định là 3-*epi*-oleanolic acid. Hợp chất 3-*epi*-oleanolic acid đã được biết có khả năng ức chế tốt sự phát triển tế bào ung thư da và tế bào ung thư biểu mô phổi dòng A-549. <sup>13</sup>

Hợp chất **5** có dạng bột màu trắng và có công thức phân tử  $C_{30}H_{46}O_4$  dựa trên khối phổ phân giải cao HR-ESI-MS với mũi ion phân tử giả  $[M-H]^-$  với  $m/z$  469,3309 (theo tính toán lý thuyết,  $C_{30}H_{46}O_4-H$ : 469,3318). So sánh phổ NMR của **5** và **4** cho thấy **5** cũng có các tín hiệu của khung oleanane-12-ene-3-ol-28-oic bao gồm tín hiệu của bảy nhóm methyl mũi đơn, cộng hưởng từ 0,82 đến 1,17 ppm, một nhóm methine tại  $\delta_H$  2,82 (1H, *dd*, 14,0; 4,0 Hz, H-18), một nhóm methine carbinol tại  $\delta_H$  3,49 (1H, *dd*, 12,0; 4,5 Hz, H-3) và một proton olefine tại  $\delta_H$  5,29 (1H, *t*, 3,0 Hz, H-12) trên phổ proton. Điều này phù hợp với sự hiện diện của 30 tín hiệu carbon, bao gồm một tín hiệu carbon carboxyl tại  $\delta_C$  183,4 (C-28), một tín hiệu carbon nhóm oxymethine  $>CH-OH$  ở vùng từ trường thấp tại  $\delta_C$  78,7 (C-3) và cặp tín hiệu carbon olefine đặc trưng cho khung sườn oleanane tại  $\delta_C$  123,3 (C-12) và 142,4 (C-13). Điểm khác biệt là tín hiệu proton H-3 của hợp chất **5** xuất hiện ở dạng mũi đôi-đôi, với một hằng số ghép lớn 12,0 Hz và một hằng số ghép nhỏ 4,5 Hz, cho thấy hợp chất **5** có nhóm 3-OH ở vị trí xích đạo, thay vì ở vị trí trục như trong hợp chất **4**. Thêm vào đó, phổ  $^{13}C$ -NMR của **5** có thêm một tín hiệu carbon ketone tại  $\delta_C$  212,4 (C-1), nhưng ít hơn một nhóm carbon methylene so với **4**. Từ đây dự đoán **5** là dẫn xuất ketone của oleanolic acid. Phổ HMBC cho tương quan của cả proton carbinol H-3 và proton methyl H-25 tại 1,29 (3H, *s*) với carbon ketone tại  $\delta_C$  212,4. Kết hợp với tín hiệu H-3 ở dạng mũi đôi do ghép cặp với 2 proton bên cạnh H-2a và H-2b vì vậy giúp xác định carbon ketone là C-1. Các tương quan HSQC và HMBC còn lại phù hợp với cấu trúc hóa học của **5**. Thêm vào đó, so sánh dữ liệu phổ NMR của **5** với các công bố trước đó <sup>14</sup> cho thấy có sự

tương hợp. Vì vậy, **5** được xác định là 1-oxooleanolic acid hay vergatic acid. Vergatic acid đã được biết có hoạt tính ức chế đáng kể tế bào HSC-T16 tăng sinh, được coi là một điều trị hiệu quả để trì hoãn quá trình xơ hóa trong gan. <sup>15</sup>

Các cao chiết từ thân cây Xú hương Bidoup được thử nghiệm hoạt tính hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7, sử dụng chứng dương là ellipticine. Kết quả cho thấy cao *n*-hexane cho hoạt tính mạnh nhất với giá trị  $IC_{50}$  là  $69,98 \pm 1,50$  mg/mL, trong khi đó các cao chiết còn lại gồm cao chloroform, cao ethyl acetate, phần cao nước còn lại cho hoạt yếu, với  $IC_{50}$  lớn hơn 128 mg/mL. Từ cao chiết có hoạt tính mạnh nhất là *n*-hexane đã cô lập được năm triterpene, trong đó ba hợp chất triterpene khung là lupane **1**, **2** và **3** được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào MCF-7 và kết quả  $IC_{50}$  lần lượt là  $66,92 \pm 1,12$ ,  $42,36 \pm 1,65$  và  $13,88 \pm 0,11$  mg/mL, so với chất chứng dương ellipticine là  $IC_{50}$   $0,43 \pm 0,03$  mg/mL.

## KẾT LUẬN

Từ cao chiết cao *n*-hexane có hoạt tính gây độc tế bào MCF-7 mạnh nhất ( $IC_{50}$   $69,98 \pm 1,50$  mg/mL) của thân cây Xú hương Bidoup, năm hợp chất đã được cô lập bao gồm ba triterpene khung lupane [lupeol (**1**), 3-*epi*-betulinic acid (**2**) và 3-*epi*-3-*O*-acetyl betulinic acid (**3**)] và hai triterpen khung oleanane [3-*epi*-oleanolic acid (**4**) và vergatic acid (**5**)]. Ba hợp chất **1**, **2** và **3** được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào MCF-7 trong đó hợp chất **3** cho hoạt tính mạnh nhất với  $IC_{50}$  là  $13,88 \pm 0,11$  mg/mL. Ngoài trừ **1**, lần đầu tiên được biết có trong loài Xú hương Bidoup, bốn hợp chất còn lại lần đầu tiên được biết có hiện diện trong chi *Lasianthus*.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Sài Gòn trong khuôn khổ đề tài mã số CSB2022-44.

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

HR-ESI-MS: High resolution-Electrospray ionization-Mass spectrometry  
 ESI-MS: Electrospray ionization-Mass spectrometry  
 $^1H$  NMR: Proton nuclear magnetic resonance  
 $^{13}C$  NMR: Carbon-13 nuclear magnetic resonance  
 HSQC: Heteronuclear single quantum coherence  
 HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation  
*s*: singlet  
*brs*: broad-singlet  
*d*: doublet  
*dd*: doublet of doublets  
*t*: triplet  
*td*: triplet of doublets



## XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

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

## ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Đoàn Tuấn thu thập mẫu cây, tiến hành thí nghiệm. Nguyễn Thị Diễm Hương, Nguyễn Thị Hoài Thu hỗ trợ xử lý các dữ liệu phổ. Phạm Nguyễn Kim Tuyến đóng vai trò định hướng, lên kế hoạch nghiên cứu, thảo luận các kết quả nghiên cứu và hoàn chỉnh bản thảo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dang VS, Shuichiro T, Hoang NS, Toyama H, Naiki A. *Lasianthus bidouensis* (Rubiaceae), a new species from southern Vietnam. *Ann Bot Fennici*. 2019; 56:191-195; Available from: <https://doi.org/10.5735/085.056.0123>.
2. Al-Hamoud GA, Orfali RS, Perveen S, Mizuno K, Takeda Y, Nehira T, Masuda K, Sugimoto S, Yamano Y, Otsuka H, Matsunami K. Lasianosides A-E: New iridoid glucosides from the leaves of *Lasianthus verticillatus* (Lour.) Merr. and their antioxidant activity. *Molecules*. 2019; 24:3995; PMID: 31694179. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24213995>.
3. Arshed MJC, Valdez Jr MB, Alejandro GJD. Evaluating the feasibility of five candidate DNA barcoding loci for Philippine *Lasianthus* Jack (Lasiantheae: Bubiaceae). *Pharmacogn Mag*. 2017; 13:553-558; PMID: 29200712. Available from: [https://doi.org/10.4103/pm.pm\\_1\\_17](https://doi.org/10.4103/pm.pm_1_17).
4. Li B, Zhang DM, Luo YM, Chen XG. Three new antitumor anthraquinone glycosides from *Lasianthus acuminatissimus* Merr. *Chem Pharm Bull*. 2006; 54(3):297-300; PMID: 16508180. Available from: <https://doi.org/10.1248/cpb.54.297>.
5. Liu X, Li T, Liu Y, Liu H, Chen X, Ming J, Lai X, Li B. Six new anthraquinone glycosides from *Lasianthus acuminatissimus* Merr. *Nat Prod Res*. 2019; PMID: 31698945. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1686366>.
6. Huang T, Ming J, Zhong J, Zhong Y, Wu H, Liu H, Li B. Three new anthraquinones, one new benzochromene and one new furfural glycoside from *Lasianthus acuminatissimus*. *Nat Prod Res*. 2019; 33(13):1916-1923; PMID: 29852789. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1480617>.
7. Dallavalle S, Jayasinghe L, Kumarihamy BMM, Merlini L, Musso L, Scaglioni L. A new 3,4-seco-lupane derivative from *Lasianthus gardeneri*. *J Nat Prod*. 2004; 67:911-913; PMID: 15165165. Available from: <https://doi.org/10.1021/np030374g>.
8. Gallo M, Sarachine M. Biological activities of lupeol. *Int J Res Pharm and Biomed Sci*. 2009; special issue 1:46-66.
9. Ahmad FBH, Moghaddam MG, Basri M, Rahman MBA. Anti-cancer activity of 3-O-acylated betulinic acid derivatives obtained by enzymatic synthesis. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2010; 74(5):1025-1029; PMID: 20460723. Available from: <https://doi.org/10.1271/bbb.90917>.
10. Wolfgang W, Grimmel C, Wagenknecht B, Dichgans J, Weller M. Betulinic acid-induced apoptosis in glioma cells: A sequential requirement for new protein synthesis, formation of reactive oxygen species, and caspase processing. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999; 289(3):1306-1312.
11. Kim DSHL, Chen Z, Nguyen VT, Pezzuto JM, Qiu S, Lu ZZ. A concise semi-synthetic approach to betulinic acid from betulin. *Synth Commun*. 2006; 27(9):1607-1612; Available from: <https://doi.org/10.1080/00397919708006099>.
12. Jung MJ, Yoo YC, Lee KB, Kim JB, Song KS. Isolation of epi-oleanolic acid from Korean mistletoe and its apoptosis-inducing activity. *Arch Pharm Res*. 2004; 27(8):840-844; PMID: 15460445. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02980176>.
13. Norrizah JS, Yaseer SM, Rohaya A, Nik RNAR. Ursolic acid and oleanolic acid productions in elicited cell suspension cultures of *Hedyotis corymbosa*. *Biotechnology*. 2012; 11(4):238-242; Available from: <https://doi.org/10.3923/biotech.2012.238.242>.
14. Okada Y, Omae A, Okuyama T. A new triterpenoid isolated from *Lagerstronemia speciosa* (L.) Pers. *Chem Pharm Bull*. 2003; 51(4):452-454; PMID: 12673005. Available from: <https://doi.org/10.1248/cpb.51.452>.
15. Yang H, Jeong EJ, Kim J, Sung SH, Kim YC. Antiproliferative triterpenes from the leaves and twigs of *Juglans sinensis* on HSC-T6 Cell. *J Nat Prod*. 2011; 74:751-756; PMID: 21309591. Available from: <https://doi.org/10.1021/np1008202>.

# Five triterpenoids from the stems of *Lasianthus bidouensis* V.S. Dang & Naiki (Rubiaceae)

Nguyen Thi Quynh Trang<sup>1</sup>, Doan Tuan<sup>1</sup>, Nguyen Thi Diem Huong<sup>2</sup>, Nguyen Thi Hoai Thu<sup>3</sup>,  
Pham Nguyen Kim Tuyen<sup>1,\*</sup>



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

## ABSTRACT

*Lasianthus bidouensis*, belonging to Rubiaceae, has been recently found and has not been studied on chemical constituents and biological activities whereas species of the same genus have been used in traditional medicine and possessed diverse bioactivities. This paper reported the isolation and structural elucidation of organic compounds from the *n*-hexane extract of *L. bidouensis* stems in order to give more chemical and biological information on this species. From the dried powder of *L. bidouensis* stems, the crude extract was obtained by maceration of material in ethanol. This extract was separated into different polar ones by the method of liquid–liquid extraction. The *n*-hexane extract, exhibited the strongest cytotoxic activity against MCF-7 cell line, was thus chosen to isolate the organic compounds by silica gel column chromatography. Five compounds were isolated as lupeol (**1**), 3-*epi*-betulinic acid (**2**), 3-*epi*-3-*O*-acetyl betulinic acid (**3**), 3-*epi*-oleanolic acid (**4**), and vergatic acid (**5**). The chemical structures of the isolated compounds were elucidated based on MS and NMR spectral data as well as a comparison of their NMR data with the published ones. Among them, compounds **2**–**5** were reported in the genus *Lasianthus* for the first time and compound **3** showed the strongest MCF-7 cytotoxic activity with IC<sub>50</sub> of 13.88±0.11 mg/mL.

**Key words:** *Lasianthus bidouensis*, triterpenoid, lupane, oleanane

<sup>1</sup>Faculty of Environmental Science, Sai Gon University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Ngo Gia Tu High School, District 8, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

## Correspondence

Pham Nguyen Kim Tuyen, Faculty of Environmental Science, Sai Gon University, Ho Chi Minh City, Vietnam  
Email: phngktuyen@sgu.edu.vn

## History

- Received: 13-3-2023
- Accepted: 29-5-2023
- Published: 30-6-2023

DOI : <https://doi.org/10.32508/stdjns.v7i2.1271>



## Copyright

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



Cite this article : Trang N T Q, Tuan D, Huong N T D, Thu N T H, Tuyen P N K. Five triterpenoids from the stems of *Lasianthus bidouensis* V.S. Dang & Naiki (Rubiaceae). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2023, 7(2):2648-2654.