



KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO HEP-G2 CỦA CÂY AN XOA (*Helicteres hirsuta* L.)

Nguyễn Hữu Duyên và Lê Thanh Phước

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 24/05/2016

Ngày chấp nhận: 22/12/2016

Title:

Survey of chemical composition and toxicity activity in Hep-G2 cell of *Helicteres hirsuta* L.

Từ khóa:

Helicteres hirsuta L., lupeol, stigmaterol, apigenin và tiliroside

Keywords:

Helicteres hirsuta L., stigmaterol, lupeol, apigenin và tiliroside

ABSTRACT

The ethanol extract of *Helicteres hirsuta* L., collected in Hon Son village, Kien Hai district, Kien Giang province, was partitioned with solvents with increasing polarity to obtain petroleum ether (PE), dichloromethane (DC), ethyl acetate (EA) and methanol (MeOH) fractions. The cytotoxic activity of these fractions was assessed on Hep-G2 cells (a hepatocellular carcinoma cells). The PE and DC fractions exhibited cytotoxic activities. From the DC extracts, four compounds were isolated: stigmaterol, lupeol, apigenin and tiliroside. The structures of these compounds have been elucidated by spectroscopic methods: ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT.

TÓM TẮT

Từ cao chiết của cây An Xoa (*Helicteres hirsuta* L.) thu tại Hòn Sơn thuộc xã Lại Sơn, huyện Kiên Hải, tỉnh Kiên Giang, nghiên cứu đã khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào Hep-G2 (ung thư gan) đối với bốn phân đoạn cao khác nhau: petroleum ether (PE), dichloromethane (DC), ethyl acetate (EA), methanol (MeOH). Kết quả có hai cao có biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào Hep-G2 (ung thư gan) là cao PE và cao DC. Từ cao DC đã cô lập được 4 hợp chất: stigmaterol, lupeol, apigenin và tiliroside. Cấu trúc hóa học các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo đã công bố.

Trích dẫn: Nguyễn Hữu Duyên và Lê Thanh Phước, 2016. Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào Hep-G2 của cây An Xoa (*Helicteres hirsuta* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 47a: 93-97.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây An Xoa có tên khoa học là *Helicteres hirsuta* L.. Theo kinh nghiệm dân gian rễ và lá được sử dụng làm thuốc. Rễ chữa ly, sỏi, cảm mạo, đau đầu và làm thuốc tiêu độc. Lá dùng ngoài chữa mụn nhọt, sưng lở (Võ Văn Chi, 2004).

Theo một nghiên cứu ở Indonesia (Chin YW *et al.*, 2006) thì cây An Xoa có khả năng chống lại các tế bào ung thư, nhất là ung thư gan.

Ở Việt Nam, cây An Xoa còn gọi là tổ kén cái hay dó lông, cũng được sử dụng nhiều trong việc

chữa trị các chứng bệnh về gan. Tuy nhiên, việc sử dụng cây An Xoa chỉ dựa vào kinh nghiệm dân gian và có ít tài liệu nghiên cứu về thành phần hóa học có trong loài cây này. Do đó, nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây An Xoa nhằm góp phần giải thích công dụng chữa bệnh của loài thảo dược này.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu, hóa chất

Mẫu thực vật được dùng là thân, lá và hoa cây An Xoa (*Helicteres hirsuta* L.) được định danh bởi TS. Đặng Minh Quân, Khoa Sư phạm, Trường Đại

học Cần Thơ. Mẫu thực vật được rửa sạch, phơi khô và xay nhỏ làm nguyên liệu dùng trong nghiên cứu.

Dung môi: ethanol 96% (EtOH), methanol (MeOH), ethyl acetate (EA), dichloromethane (DC), petroleum ether (PE) (Chemsol Việt Nam).

Silica gel dùng cho sắc ký cột là silica gel loại 230-400 mesh (Ấn Độ), sắc ký lớp mỏng (TLC) trắng sẵn silica gel 60 F₂₅₄ Merck (Đức), thuốc thử hiện hình: vanilin trong dung dịch H₂SO₄ 10% và methanol.

2.2 Phương pháp và thực nghiệm

2.2.1 Chiết xuất

Bột khô của cây An Xoa được ngâm dầm trong ethanol trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, lọc và cô quay thu hồi ethanol thu được cao ethanol. Cao ethanol được chiết lần lượt với các dung môi PE, DC, EA, MeOH được bốn cao phân đoạn tương ứng là cao PE, cao DC, cao EA và cao MeOH.

2.2.2 Thử hoạt tính gây độc tế bào

Các cao chiết được gửi thử tại Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hoạt tính gây độc với dòng tế bào Hep-G2 (Human hepatocellular carcinoma - Ung thư gan) được thực hiện theo phương pháp của Skehan (1990) và Likhiwitayawuid (1993) hiện đang được áp dụng tại Viện Nghiên cứu Ung thư Quốc gia của Mỹ (NCI) và trường Đại học Dược, đại học Tổng hợp Illinois, Chicago, Mỹ.

2.2.3 Phân lập các hợp chất và xác định cấu trúc

Nghiên cứu thành phần hóa học tập trung vào cao DC do có biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào Hep-G2. Cao DC được tách bằng sắc ký cột pha thường nhiều lần với các hệ dung môi tỷ lệ thay đổi theo hướng tăng dần độ phân cực, kết hợp phương pháp kết tinh lại và kiểm tra độ sạch bằng sắc ký bản mỏng, cuối cùng thu được các hợp chất tinh khiết.

Từ 8 g cao dichloromethane tiến hành sắc ký cột với hệ dung môi có độ phân cực tăng dần được

16 phân đoạn kí hiệu từ DC1-15. Chọn những phân đoạn có vết tròn tách rõ tiếp tục sắc kí cột.

Phân đoạn DC2 (68 mg), được sắc ký cột với hệ dung môi PE:EA tăng dần độ phân cực. Kết quả ở phân đoạn PE:EA 15:1 thu được 11 mg chất sạch kết tinh hình kim màu trắng, kiểm tra lại bằng TLC giải ly bằng hệ dung môi PE:EA 9:1, kết quả được một vết tròn màu tím khi hiện vết bằng thuốc thử vanilin trong MeOH và H₂SO₄ 10% (R_f = 0,26). Hợp chất này được ký hiệu là **HD09**.

Phân đoạn DC3 (128 mg), được tinh chế bằng sắc ký cột với hệ dung môi PE:EA tăng dần độ phân cực. Kết quả ở phân đoạn PE:EA 7:1 thu được 7 mg chất sạch kết tinh hình kim màu trắng đục, kiểm tra lại bằng TLC hệ giải ly PE:EA 2:1 kết quả được một vết tròn màu tím khi hiện hình bằng thuốc thử vanilin-trong MeOH và H₂SO₄ 10% (R_f = 0,47). Hợp chất này được ký hiệu là **HD02**.

Phân đoạn DC5 (50 mg), được tiếp tục sắc ký cột với hệ dung môi PE:EA tăng dần độ phân cực. Kết quả ở phân đoạn PE:EA 4:1 thu được 3 mg chất sạch kết tinh dạng bột màu vàng, kiểm tra lại bằng TLC hệ giải ly PE:EA 1:1, kết quả được một vết tròn màu vàng khi hiện hình bằng thuốc thử vanilin trong MeOH và H₂SO₄ 10% (R_f = 0,38). Hợp chất này được ký hiệu là **HD08**.

Phân đoạn DC8 (86 mg), được tiếp tục sắc ký cột với hệ dung môi PE:EA tăng dần độ phân cực. Kết quả ở phân đoạn PE:EA 2:1 thu được 7 mg chất sạch kết tinh dạng bột màu vàng, kiểm tra lại bằng TLC hệ giải ly EA:Me 3:1, kết quả được một vết tròn màu vàng khi hiện hình bằng thuốc thử vanilin trong MeOH và H₂SO₄ 10% (R_f = 0,67). Hợp chất này được ký hiệu là **HD01**.

Các hợp chất này được xác định cấu trúc và nhận danh nhờ so sánh dữ liệu phổ: ¹H-NMR, ¹³C-NMR với các tài liệu tham khảo.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào được trình bày trong Bảng 1 (CS% là khả năng sống sót của tế bào ở nồng độ nào đó của cao thử tính theo % so với đối chứng).

Bảng 1: Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào dòng Hep-G2

TT	Ký hiệu mẫu cao	Nồng độ đầu (µg/mL)	Giá trị CS (%)	Nhận xét
	DMSO	-	100	
	Chứng (+)	5	2,55±1,5	
1	PHUOC-D1 (Cao PE)	40	0	Dương tính
2	PHUOC-D2 (Cao DC)	40	0	Dương tính
3	PHUOC-D3 (Cao EA)	40	93,42±2,0	Âm tính
4	PHUOC-D4 (Cao MeOH)	40	98,79±1,1	Âm tính

Chất chuẩn chứng dương tính: Dùng chất chuẩn có khả năng diệt tế bào ung thư gan: Ellipticine pha trong DMSO.

Từ kết quả trên cho thấy có hai cao chiết biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào Hep-G2 là cao PE và cao DC với giá trị CS% đều bé hơn 50%. Hai mẫu có biểu hiện hoạt tính được chọn tiếp tục thử nghiệm để tìm giá trị IC₅₀. Giá trị IC₅₀ của cao PE là 28,29 µg/mL và cao DC là 30,30 µg/mL. Kết quả này phù hợp với khả năng trị bệnh gan của cây An Xoa trong dân gian.

3.2 Xác định cấu trúc và nhận danh các hợp chất

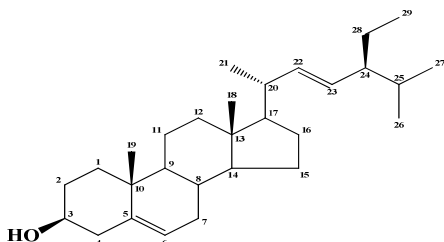
3.2.1 Hợp chất HD09

Phổ ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, δ_H ppm, J Hz): 0,68, 0,79, 0,82, 0,86, 0,93, 1,02 (3H, s, Me × 6), 3,52 (1H, m, H-3), 5,34 (1H, d, J = 5 Hz, H-6), 5,15 và 5,02 ppm. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz, δ_C ppm): 140,8 (C-5), 138,5 (C-22), 129,5 (C-23), 121,7 (C-6), 71,8 (C-3), 56,8 (C-14), 56,1 (C-17), 50,1 (C-9), 45,9 (C-20), 42,3 (C-13), 39,8 (C-12), 42,3 (C-4), 37,3 (C-18), 36,5 (C-1), 36,1 (C-10), 33,9 (C-8), 31,9 (C-7), 29,2 (C-16), 31,9 (C-2), 28,2 (C-25), 26,1 (C-21), 24,3 (C-15), 21,1 (C-11), 19,8 (C-27), 19,3 (C-26), 23,1 (C-19), 12,0 (C-29), 19,0 (C-28), 11,9 (C-24).

Phổ ¹H-NMR xuất hiện 6 tín hiệu proton methyl ở vùng trường cao, 3 tín hiệu proton methine mang nối đôi ở δ_H 5,34 (1H, d, 5,0 Hz); 5,15 và 5,02 ppm. Ngoài ra còn có tín hiệu của 1 proton methine kề oxygen ở δ_H 3,52 ppm (1H, m). Các tín hiệu này phù hợp với đặc trưng của hợp chất steroid.

Phổ ¹³C-NMR kết hợp với phổ DEPT cho thấy sự xuất hiện của 29 tín hiệu carbon, gồm có 3 carbon bậc bốn, 11 carbon methine, 9 carbon methylene và 6 carbon methyl đặc trưng của hợp chất sterol. Đặc biệt, tín hiệu của hai cặp olefin được xác nhận tại δ_C 140,8; 121,7; 138,5 và 129,5 ppm.

Từ những dữ kiện trên kết hợp so sánh với bài báo đã công bố của Venkata Sai Prakash Chaturvedula, Indra Prakash (2012) cho phép xác định hợp chất **HD09** là stigmasterol (Hình 1).



Hình 1: Cấu trúc hợp chất HD09 (stigmasterol)

Stigmasterol được sử dụng trong phòng ngừa khối u và kháng oxy hóa. Ngoài ra, stigmasterol còn có tiềm năng chữa viêm xương khớp (Tirtha Ghosh *et al.*, 2011).

3.2.2 Hợp chất HD02

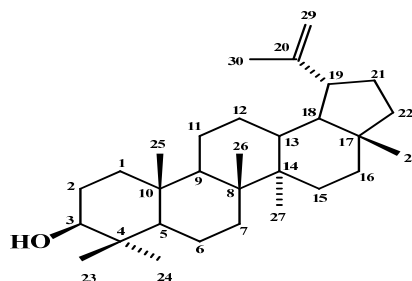
Phổ ¹H-NMR (CDCl₃&MeOD, 500 MHz, δ_H ppm, J Hz): 4,72 (1H, d, J = 1,5Hz, H-29a), 4,59 (1H, s, H-29b), 3,16 (1H, dd, J = 9,5, J = 7,0 Hz, H-3), 3,00 (1H, m, H-19), 0,75, 0,82, 0,94, 0,95, 0,97, 0,97, 1,69 (3H, s, Me × 7), 0,68 (1H, d, J = 10,0, H-5). Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃&MeOD, 125 MHz, δ_C ppm): 37,3 (C-1), 27,6 (C-2), 79,0 (C-3), 38,9 (C-4), 55,5 (C-5), 18,4 (C-6), 32,4 (C-7), 40,8 (C-8), 50,7 (C-9), 37,3 (C-10), 21,0 (C-11), 25,7 (C-12), 38,4 (C-13), 42,5 (C-14), 29,8 (C-15), 34,5 (C-16), 56,4 (C-17), 49,5 (C-18), 47,1 (C-19), 150,9 (C-20), 30,7 (C-21), 38,8 (C-22), 28,0 (C-23), 15,4 (C-24), 16,1 (C-25), 15,9 (C-26), 14,7 (C-27), 18,4 (C-28), 109,5 (C-29), 19,3 (C-30).

Phổ hồng ngoại (IR), (KBr, ν_{max} cm⁻¹) tín hiệu ở 3432,04 cm⁻¹ là dao động đặc trưng của liên kết O-H, tín hiệu 1642,64 cm⁻¹ là dao động của C=C, tín hiệu ở 1378,35 cm⁻¹ là dao động của CH₃, tín hiệu 1235,85 cm⁻¹ là dao động liên kết C-O.

Phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃&MeOD, δ_H ppm) xuất hiện 7 tín hiệu proton methyl ở vùng trường cao, 2 proton methylene mang nối đôi ở δ_H 4,72 và 4,59 ppm. Ngoài ra còn có tín hiệu proton methine kề oxy ở δ_H 3,16 ppm. Các tín hiệu này phù hợp với đặc trưng của hợp chất pentacyclic triterpenoid.

Phổ ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃&MeOD, δ ppm) kết hợp với phổ DEPT của hợp chất HD02 cho tín hiệu của 30 nguyên tử carbon, trong đó có 6 carbon bậc bốn, 6 carbon methine, 11 carbon methylene và 7 carbon methyl đặc trưng cho một hợp chất triterpene khung lupan. Sự có mặt của 1 liên kết đôi tại hai carbon δ_C 150,9 và 109,3 ppm. Tín hiệu của 1 carbon oxymethine tại δ_C 79,03 ppm cho phép xác định có 1 nhóm hydroxyl trong phân tử của hợp chất HD02.

Từ các kết quả phân tích trên và so sánh với công bố của Md. Enamul Haque *et al.* (2006) cho phép kết luận hợp chất **HD02** là lupeol (Hình 2).



Hình 2: Cấu trúc của hợp chất HD02 (lupeol)

Lupeol có thể tiêu diệt và ngăn chặn sự lan truyền của tế bào ung thư. Hợp chất lupeol có khả năng gây độc tế bào với dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2) (El Deel K.S. *et al.*, 2003).

3.2.3 Hợp chất HD08

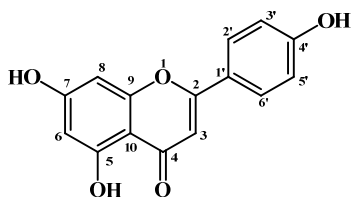
Phổ ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ_H ppm, *J* Hz): 12,90 (1H, *s*, 5-OH), 7,91 (2H, *d*, *J* = 9,0 Hz, H-2', H-6'), 6,90 (2H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-3', H-5'), 6,74 (1H, *s*, H-3), 6,44 (1H, *s*, H-8), 6,16 (1H, *s*, H-6). Phổ ¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz, δ_C ppm): 181,6 (C-4), 164,8 (C-7), 163,6 (C-2), 161,4 (C-4'), 161,2 (C-5), 157,4 (C-9), 128,4 (C-2', C-6'), 121,2 (C-1'), 115,9 (C-3', C-5') 103,4 (C-10), 102,7 (C-3), 99,0 (C-6), 94,0 (C-8).

Phổ hồng ngoại (IR), (KBr, ν_{max} cm⁻¹) tín hiệu ở 3417,86 cm⁻¹ là dao động đặc trưng của liên kết O-H, tín hiệu ở 1655,27 cm⁻¹ là dao động của C=O, tín hiệu 1608,64 cm⁻¹ là dao động của C=C, tín hiệu 1240,61 cm⁻¹ và 1174,05 là dao động liên kết C-O.

Phổ ¹H-NMR (500MHz, DMSO, δ_H ppm) xuất hiện 5 tín hiệu proton methine mang nối đôi gồm 3 tín hiệu mũi đơn và 2 tín hiệu của 2 cặp proton tương đương δ_H 7,91 ppm (2H, *d*, 9,0 Hz) và δ_H 6,92 ppm (2H, *d*, 8,5 Hz), chứng tỏ 4 proton này thuộc cùng một vòng thơm phù hợp với đặc điểm của flavone có vòng B đối xứng. Ngoài ra còn có 1 tín hiệu proton đặc trưng của nhóm hydroxyl kiềm nổi ở vùng từ trường thấp δ_H 12,90 ppm.

Phổ ¹³C-NMR (125MHz, DMSO, δ_C ppm) kết hợp với phổ DEPT cho thấy hợp chất HD08 có 15 carbon đặc trưng của khung flavone, gồm 1 carbon carbonyl δ_C 182,6; 5 carbon bậc 4 mang nối đôi và oxygen (δ_C 157,3-164,3 ppm) tương ứng với 1 carbon mang nhóm hydroxyl kiềm nổi, 2 carbon mang nhóm hydroxyl ở vị trí khác vì các carbon này nằm ở vùng từ trường thấp và không xuất hiện proton của nhóm thế khác trên phổ proton và 2 carbon kề oxygen của khung flavone, 2 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen (δ_C 103,60 và 121,1 ppm) và 7 carbon methine (δ_C 93,9-115,9 và 128,4 ppm) tương ứng với 7 proton methine trên phổ ¹H-NMR.

Từ các kết quả phân tích trên và so sánh với công bố của Dong Gu Lee *et al.*, 2012 cho phép kết luận hợp chất **HD08** là apigenin (Hình 3).



Hình 3: Cấu trúc của hợp chất HD08 (apigenin)

Apigenin có khả năng chống viêm, chống oxy hóa và ngăn ngừa ung thư (Deendayal Patel *et al.*, 2006).

3.2.4 Hợp chất HD01

Phổ ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ_H ppm, *J* Hz): 12,50 (1H, *s*, 5-OH), 7,98 (2H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-2', H-6'), 7,36 (2H, *d*, *J* = 9,0 Hz, H-5''', H-9'''), 7,34 (1H, *d*, *J* = 16,0 Hz, H-3'''), 6,85 (2H, *d*, *J* = 9,0 Hz, H-3', H-5'), 6,78 (2H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-6''', H-8'''), 6,37 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz, H-8), 6,13 (1H, *d*, *J* = 1,5 Hz, H-6), 6,10 (1H, *d*, *J* = 16,0 Hz, H-2'''), 5,43 (1H, *d*, *J* = 7,0 Hz, H-1'), 4,28 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, H-6''a), 4,03 (1H, *dd*, *J* = 12,0 Hz, 6,5 Hz, H-6''b), 3,10-3,30 (4H, *m*). Phổ ¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz, δ_C ppm): 177,3 (C-4), 166,1 (C-1'''), 164,7 (C-7), 164,7 (C-10), 161,1 (C-5), 159,9 (C-7'''), 159,7 (C-4'), 156,4 (C-9), 156,4 (C-2), 144,6 (C-3'''), 133,0 (C-3), 130,8 (C-2', C-6'), 130,1 (C-5''', C-9'''), 124,9 (C-4'''), 120,7 (C-1'), 115,8 (C-6''', C-8'''), 115,1 (C-3', C-5'), 113,6 (C-2'''), 103,8 (C-10), 101,0 (C-1''), 98,8 (C-6), 93,7 (C-8), 76,2 (C-3''), 74,2 (C-2''), 74,1 (C-5''), 69,9 (C-4''), 62,9 (C-6'').

Phổ IR (KBr, ν_{max} cm⁻¹) tín hiệu ở 3461,34 cm⁻¹ là dao động đặc trưng của liên kết O-H, tín hiệu ở 1683,48 cm⁻¹ là dao động của C=O, tín hiệu 1606,12 cm⁻¹ là dao động của C=C, tín hiệu 1297,69 cm⁻¹ và 1181,01 cm⁻¹ là dao động liên kết C-O.

Phổ ¹H-NMR (DMSO, δ_H ppm, 500MHz) cho thấy 1 tín hiệu proton nhóm hydroxyl kiềm nổi ở δ_H 12,50 Hz và 8 tín hiệu proton methine mang nối đôi, trong đó có 4 cặp tương đương thuộc 2 vòng benzene đối xứng.

Ngoài ra, ở vùng từ trường trung bình, δ_H ppm 3,0-5,5 là tín hiệu của các proton của phần đường, trong đó tín hiệu đặc trưng của proton anomer ở δ_H ppm 5,40 (1H, *d*, 7,0 Hz), 2 proton nhóm methylene ở δ_H ppm 4,28 (1H, *d*, 10,0 Hz) và δ_H ppm 4,03 (1H, *dd*, 6,5, 12,0 Hz).

Trong 4 tín hiệu proton methine đơn lẻ có 2 tín hiệu ghép *meta* có thể cùng thuộc 1 vòng thơm ở δ_H 6,37 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz); 6,13 (1H, *d*, *J* = 1,5 Hz) và 2 tín hiệu ghép *ortho* ở δ_H 7,34 (1H, *d*, 16,0 Hz); 6,10 (1H, *d*, 16,0 Hz) là tín hiệu của hai proton thuộc liên kết olefin không đồng vòng, vì hằng số tương tác lớn chứng tỏ liên kết C=C có cấu hình *trans*.

Phổ ¹³C-NMR (DMSO, δ_C ppm, 125MHz) cho thấy hợp chất HD01 có 30 carbon, trong đó:

- 10 Carbon bậc bốn ở δ_C 156,4, 133,1, 177,4, 161,1, 156,4, 103,8, 120,8, 159,9, 166,2, 124,9 ppm.

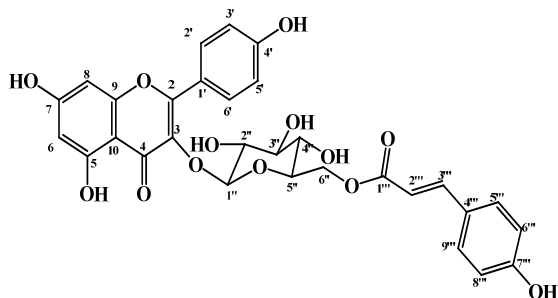
– 10 Carbon methine của vòng thơm ở δ_C ppm 98,2; 93,7; 130,8(2C); 115,1(2C); 115,8(2C); 130,1(2C) ppm. Bốn cặp carbon có tín hiệu trùng nhau cho thấy sự có mặt của 2 vòng benzene thế *para*.

– 6 Carbon vòng đường glucopyranoside: tín hiệu đặc trưng cho carbon anomer δ_C 101,0 ppm; tín hiệu đặc trưng cho carbon oxymethylene δ_C 62,9 ppm; còn lại là các tín hiệu của 4 carbon CHOH δ_C 69,9; 74,1; 74,2 và 76,2 ppm.

– 2 Carbon olefin δ_C 145,1; 115,8 ppm và 2 carbon carbonyl δ_C 177,3; 166,1 ppm.

Các tín hiệu carbon và proton trên phù hợp với đặc điểm của 1 khung flavone liên kết với 1 đơn vị glucoside và 1 đơn vị cinnamic acid.

Từ các kết quả phân tích trên và so sánh với báo cáo của Phan Minh Giang *et al.* (2004) có thể kết luận hợp chất **HD01** là tiliroside (Hình 4).



Hình 4: Cấu trúc của hợp chất HD01 (tiliroside)

Tiliroside là hợp chất tự nhiên có khả năng kháng oxy hóa và kháng viêm, đã được thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* cho kết quả tốt (Araceli Sala *et al.*, 2003).

4 KẾT LUẬN

Hai cao PE và DC chiết từ cây An Xoa được thử hoạt tính kháng tế bào ung thư gan dòng Hep-G2 cho kết quả dương tính với giá trị IC_{50} lần lượt là 28,29 ($\mu\text{g/mL}$) và 30,30 ($\mu\text{g/mL}$). Từ cao PE cũng đã phân lập và nhận danh được 4 hợp chất: lupeol, stigmasterol, apigenin và tiliroside.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Araceli Sala, M. Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador, Rosa M. Giner, Miguel

Cerda'-Nicola's, Jose'-Luis Rosi', 2003. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *European Journal of Pharmacology*. 461: 53-61.

Chin YW, Jones WP, Rachman I, Riswan S, Kardono LB, Chai HB, Farnsworth NR, Cordell GA, Swanson SM, Cassady JM, Kinghorn AD, 2006. Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia. *Phytotherapy Research*. 20(1): 62-65.

Dong Gu Lee, So-Youn Mok, Changsun Choi, Eun Ju Cho, Hyun Young Kim, Sanghyun Lee, 2012. Analysis of apigenin in *Blumea balsamifera* Linn DC. and its inhibitory activity against aldose reductase in rat lens. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*. 1(1): 28-33.

Deendayal Patel, Sanjeev Shukla, Sanjay Gupta, 2007. Apigenin and cancer chemoprevention: Progress, potential and promise (Review). *International Journal of Oncology*. 30(1): 233-245.

El Deed K.S., Al-Haidari R.A., Mossa J.S., Abdel Monem A.A., 2003. Phytochemical and pharmacological studies of *Maytenus forsskaoliana*. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 11(4): 184-191.

Md. Enamul Haque, Hussain Uddin Shekhar, Akim Uddin Mohamad, Hafizur Rahman, AKM Mydul Islam and M. Sabir Hossain, 2006. Triterpenoids from the Stem Bark of *Avicennia officinalis*. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 5(1-2): 53-57.

Phan Minh Giang, Jung Joon Lee, Phan Tong Son, 2004. Flavonoid glucosides from the leaves of *croton tonkinensis* gagnep., Euphorbiaceae. *Vietnam Journal of Chemistry*. 42(1): 125-128.

Tirtha Ghosh, Tapan Kumar Maity, Jagadish Singh, 2011. Evaluation of antitumor activity of stigmasterol, a constituent isolated from *Bacopa monnieri* Linn aerial parts against Ehrlich Ascites Carcinoma in mice. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 11:41-49.

Võ Văn Chi, 2004. Từ điển thực vật thông dụng, Tập II. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, trang 1350.

Venkata Sai Prakash Chaturvedula, Indra Prakash, 2012. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *International Current Pharmaceutical Journal*. 1(9): 239-242.