

## Coumarin và acridon alkaloid từ rễ cây Xáo tam phân (*Paramignya trimera*)

Trịnh Hoàng Dương<sup>1,2</sup>, Trần Thu Phương<sup>2</sup>, Hà Diệu Ly<sup>1</sup>, Nguyễn Thụy Vy<sup>3</sup>,  
Đặng Văn Sơn<sup>4</sup>, Nguyễn Diệu Liên Hoa<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHCM

<sup>3</sup>Khoa Sinh và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHCM

<sup>4</sup>Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Nhận ngày 07 tháng 7 năm 2016

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 8 năm 2016; Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 9 năm 2016

**Tóm tắt:** Bốn coumarin là ostruthin, 8-methoxyostruthin, 7-hydroxycoumarin và 7-methoxycoumarin cùng với bốn acridon alkaloid là oriciacridon, 5-hydroxynoracronycin, citrusicinin-I và glycocitrin-III, đã được phân lập từ rễ cây Xáo tam phân (*Paramignya trimera*). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng phổ 1D và 2D NMR. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan HepG2 sử dụng phương pháp sulforhodamin B cho thấy các hợp chất này có hoạt tính yếu với IC<sub>50</sub> từ 30,53 đến 62,90 µg/mL.

**Từ khóa:** Xáo tam phân (*Paramignya trimera*), phân lập, xác định cấu trúc, coumarin, acridon alkaloid, hoạt tính gây độc tế bào ung thư.

### 1. Tổng quan

Xáo tam phân có tên khoa học là *Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill, thuộc họ Cam quýt (Rutaceae). Cây dạng bụi trườn; gai dài, hơi cong xuống; cành không lông. Lá mọc cách, hình thuôn dài đến tròn dài hẹp, kích thước 10-18 × 1-2,5 cm, bì nguyên hơi uốn xuống, gân phụ 8-10 cặp; cuống ngắn, dài 2-3 mm. Cụm hoa mọc ở nách gai. Hoa màu trắng ngà; đài 3 răng; cánh hoa 3, dài 4 mm; tiểu nhụy 3, rời nhau. Quả hình cầu, đường kính 14-15 mm [1]. Theo kinh nghiệm dân gian thì Xáo tam phân

có tác dụng giải nhiệt, bồi bổ sức khỏe, mát gan và đặc biệt là có khả năng trị ung thư.

Trên thế giới chưa có công trình nghiên cứu nào công bố về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài cây này. Ở Việt Nam, đã có 8 nghiên cứu được công bố [2-9]. Năm 2013, Nguyễn Mạnh Cường và cộng sự phân lập được ba hợp chất là ostruthin, ninhvanin và 6-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran từ rễ cây thu hái tại Ninh Vân, Khánh Hòa [2]. Cũng năm này, Bùi Trọng Đạt và cộng sự công bố việc phân lập coumarin và dẫn xuất chromen từ rễ cây [3]. Về mặt dược tính, Nguyễn Minh Khôi và cộng sự công bố khảo sát độc tính cấp, tác dụng bảo vệ gan và tác dụng gây độc tế bào

\* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-8-38355270  
Email: ndlhoa@hcmus.edu.vn

ung thư trên 5 dòng tế bào ung thư là ung thư gan HepG2, ung thư đại tràng HTC116, ung thư vú MDA MB231, ung thư buồng trứng OVCAR-8 và ung thư cổ tử cung Hela của cao chiết methanol, phân đoạn chiết *n*-hexan và ostruthin. Kết quả cho thấy phân đoạn chiết *n*-hexan thể hiện hoạt tính ở mức độ trung bình (IC<sub>50</sub> 39,61 µg/mL) trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 [4]. Ngoài ra, Phạm Huy Bách và cộng sự cũng phân lập được ostruthin và đã đưa ra phương pháp định lượng hợp chất này trong mẫu dược liệu [5]. Qua năm sau, Trần Thị Thúy Quỳnh và cộng sự công bố kết quả phân lập ba coumarin là ostruthin, 8-methoxyostruthin và xanthyletin cùng với hai acridon alkaloid là oriciacridon và citrusinin-I từ rễ cây thu hái ở Khánh Hòa [6-7]. Đầu năm 2015, nghiên cứu của Đỗ Thị Thảo và cộng sự cho thấy cao methanol của rễ cây có tác dụng bảo vệ gan gần tương đương so với chất đối chứng dương sylimarin khi thử trên chuột [8]. Đến cuối năm này, Nguyễn Thị Ngọc Dung và cộng sự xây dựng được quy trình định lượng đồng thời ostruthin và 8-methoxyostruthin trong rễ cây bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao [9].

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Rễ cây xáo tam phân được thu hái tại tỉnh Phú Yên và được TS. Đặng Văn Sơn - Viện Sinh học Nhiệt đới thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định tên khoa học.

### 2.2. Hóa chất, thiết bị

Phổ NMR: máy Bruker Avance 500 [500 MHz (<sup>1</sup>H) và 125 MHz (<sup>13</sup>C)] với aceton-*d*<sub>6</sub> là dung môi, được hiệu chỉnh dựa trên độ dịch chuyển hóa học của dung môi sử dụng. Khối phổ phân giải cao (HRESIMS): máy

HPLC/MS-IT-TOF Shimadzu. Phổ UV: máy UV1700 Shimadzu (đo trong EtOH). Phổ IR: máy iS50 NIR Nicolet (ép trong KBr). Điểm nóng chảy (đnc.): máy M90 Mettler Toledo. SKC: silica gel hay RP-18 (Merck). SK lọc gel: Sephadex LH-20 (GE Healthcare). SKLM: bản silica gel hay RP-18 (Merck). Tất cả dung môi đều được chưng cất lại trước khi sử dụng.

### 2.3. Chiết xuất và phân lập

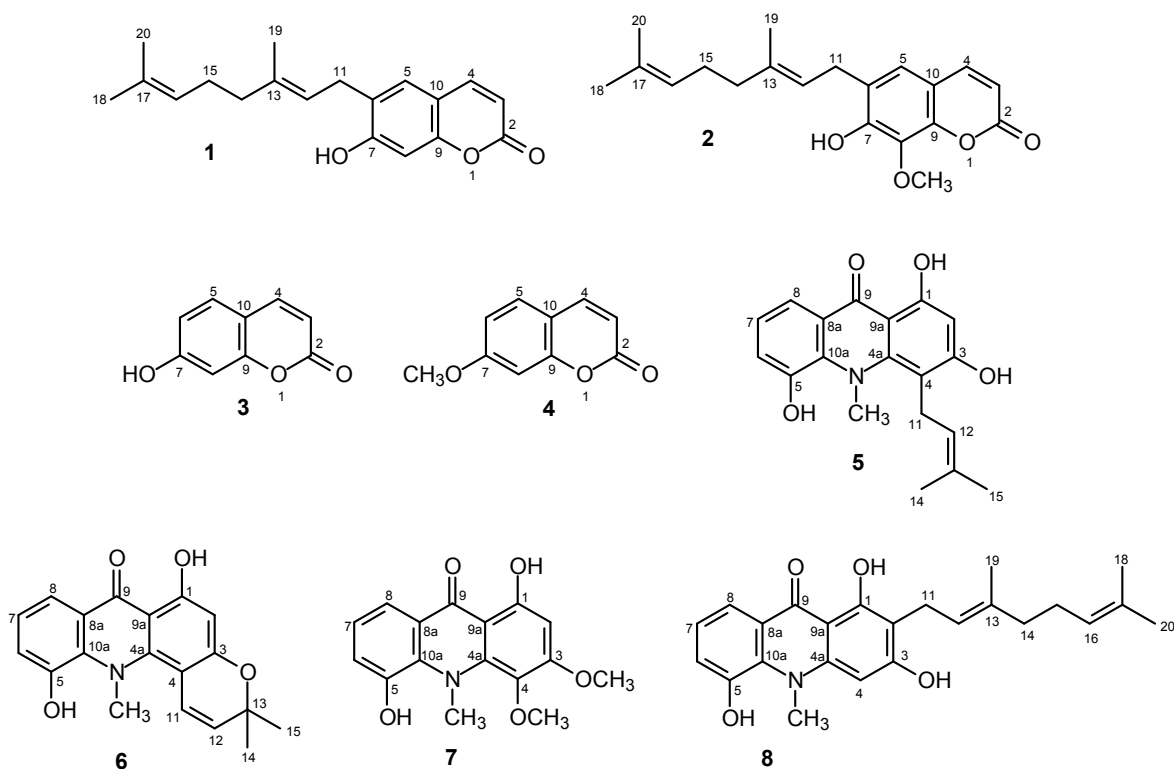
Mẫu rễ cây được phơi khô, xay nhỏ, trích (2,1 kg) với *n*-hexan rồi EtOAc bằng bộ chiết Soxhlet. Thu hồi dung môi thu được cao *n*-hexan (105 g) và cao EtOAc (65 g).

SKC cao *n*-hexan trên silica gel (hexan-EtOAc 0-100%) thu được năm phân đoạn (H1-5). SKC 3,1 g phân đoạn H2 trên silica gel (hexan-EtOAc 0-100%, rồi CHCl<sub>3</sub>-MeOH 0-5%) thu được ostruthin (**1**, 542 mg); 8-methoxy ostruthin (**2**, 54 mg); oriciacridon (**5**; 4,6 mg) và 5-hydroxynoracronycin (**6**; 5,2 mg). SKC 1,3 g phân đoạn H5 trên silica gel (hexan-aceton 0-100%), sau đó sắc ký lọc gel trên Sephadex LH-20 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 1:1) rồi tiếp tục SKC trên silica gel (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 0-10%) thu được citrusinin-I (**7**; 3,5 mg) và glycocitrin-III (**8**; 5,6 mg).

SKC cao EtOAc trên silica gel (hexan-EtOAc 0-100%) thu được ba phân đoạn (E1-3). SKC phân đoạn E3 (2 g) trên silica gel (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 0-10%) sau đó SK lọc gel trên Sephadex (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 50%) thu được 7-hydroxycoumarin (**3**, 15 mg) và 7-methoxycoumarin (**4**, 23 mg).

## 3. Kết quả và thảo luận

Từ rễ cây xáo tam phân, chúng tôi đã phân lập được tám hợp chất bao gồm bốn coumarin (**1-4**) và bốn alkaloid có khung acridon (**5-8**) (Hình 1).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của 1–8.

### 3.1. Xác định cấu trúc hóa học

**Hợp chất 1:** Dạng bột màu vàng nhạt, đnc. 118 °C;  $R_f = 0,55$  ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH 98:2); UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 330 nm. Phổ IR cho các mũi hấp thu đặc trưng ứng với dao động của nhóm O–H ( $3186 \text{ cm}^{-1}$ ), C=O liên hợp ( $1686 \text{ cm}^{-1}$ ), C=C hương phương ( $1570 \text{ cm}^{-1}$ ). Khối phổ phân giải cao (HRESIMS) cho mũi ion  $[\text{M}-\text{H}]^-$  ở  $m/z$  297,1476 ứng với CTPT  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3$  (trị số tính toán cho  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_3$  là 297,1491). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR (Bảng 1) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với 19 carbon bao gồm một vòng benzen có một carbon mang oxygen ( $\delta_{\text{C}} 158,7$  (s, C-7) và hai carbon mang proton [ $\delta_{\text{H}} 7,20$  (1H, s, H-5) và 6,95 (1H, s, H-8)];  $\delta_{\text{C}} 128,5$  (d, C-5) và 103,5 (d, C-5)], một nối đôi C=C mang hai proton ghép cặp *cis* [ $\delta_{\text{H}} 7,63$  (1H, d,  $J = 9,5$  Hz, H-4) và 6,23 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz, H-3)];  $\delta_{\text{C}} 144,3$  (d,

C-4) và 112,5 (d, C-3)], một carbon carbonyl đặc trưng của khung coumarin [ $\delta_{\text{C}} 162,3$  (s, C-2)]. Ngoài ra, còn có một dây nhánh geranyl bao gồm hai nối đôi C=C tam hoán [ $\delta_{\text{H}} 5,32$  (1H, t,  $J = 7,1$  Hz, H-12) và 5,08 (1H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-16)];  $\delta_{\text{C}} 139,1$  (s, C-13), 132,1 (s, C-17), 124,0 (d, C-16) và 121,0 (d, C-12)], một nhóm methylen benzyl [ $\delta_{\text{H}} 3,39$  (2H, d,  $J = 7,2$  Hz, H<sub>2</sub>-11)];  $\delta_{\text{C}} 28,7$  (t, C-11)], hai nhóm methylen mạch hở [ $\delta_{\text{H}} 2,12$  (4H, m, H<sub>2</sub>-14 và H<sub>2</sub>-15)];  $\delta_{\text{C}} 39,8$  (t, C-14) và 26,6 (t, C-15)] và ba nhóm methyl allyl [ $\delta_{\text{H}} 1,75$  (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 1,69 (3H, s, H<sub>3</sub>-18) và 1,60 (3H, s, H<sub>3</sub>-20)];  $\delta_{\text{C}} 25,9$  (q, C-18), 17,9 (q, C-20) và 16,4 (q, C-19)]. Vậy hợp chất này là một coumarin mang một nhóm thế geranyl và một nhóm thế hydroxyl. So sánh với tài liệu tham khảo [10] cho thấy đây là ostruthin (1), cũng đã được phân lập từ rễ của loài này [6].

**Hợp chất 2:** Dạng bột màu vàng nhạt, đnc. 98 °C;  $R_f = 0,52$  ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH 98,5:1,5); UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 257 và 328 nm; IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3386, 1719, 1577  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESIMS: cho mũi ion  $[\text{M-H}]^-$  ở  $m/z$  327,1582 ứng với CTPT  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$  (trị số tính toán cho  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_4$  là 327,1596). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR (Bảng 1) tương tự phổ của ostruthin (**1**).

Điểm khác biệt là một proton của nhân thơm được thay thế bằng một nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,95 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>);  $\delta_{\text{C}}$  61,7 (q, 8-OCH<sub>3</sub>)]. Điều này cho thấy hợp chất này là 8-methoxyostruthin (**2**), cũng đã được phân lập từ rễ của loài này [6].

Bảng 1. Số liệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của **1-4** trong aceton- $d_6$  (Trị số trong ngoặc là  $J$  tính bằng Hz).

Vị trí	<b>1</b>		<b>2</b>		<b>3</b>		<b>4</b>	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1								
2		162,3		160,6		162,0		163,9
3	6,23 d (9,5)	112,5	6,16 d (9,5)	126,5	6,16 d (9,5)	112,9	6,21 d (9,5)	113,1
4	7,62 d (9,5)	144,3	7,82 d (9,5)	145,3	7,86 d (9,5)	144,7	7,90 d (9,5)	144,6
5	7,20 s	128,5	7,13 s	112,8	7,51 d (8,5)	130,5	7,58 d (8,6)	130,2
6		125,7		125,1	6,84 dd (8,5 & 2,3)	113,8	6,92 dd (8,6 & 2,4)	113,7
7		158,7		152,1		161,0		160,9
8	6,95 s	103,5		134,8	6,75 d (2,2)	103,3	6,89 d (2,4)	101,5
9		154,3		156,3		157,0		157,0
10		112,6		113,0		113,0		113,5
11	3,39 d (7,2)	28,7	3,37 d (7,4)	27,4				
12	5,32 t (7,1)	121,0	5,37 t (7,4)	122,7				
13		139,1		137,3				
14	2,12 m	39,8	2,13 m	40,5				
15	2,12 m	26,6	2,11 m	28,5				
16	5,08 t (6,4)	124,0	5,12 t (7,0)	123,6				
17		132,1		131,8				
18	1,69 s	25,9	1,64 s	25,9				
19	1,75 s	16,4	1,73 s	16,2				
20	1,60 s	17,9	1,58 s	17,8				
7-OH			8,83 s					
7-OCH <sub>3</sub>							3,92 s	56,3
8-OCH <sub>3</sub>			3,95 s	61,7				

**Hợp chất 3:** Dạng tinh thể hình kim không màu, đnc. 230-231 °C;  $R_f = 0,41$  ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH 97,5:2,5); UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 254, 300 và 325 nm; IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3162, 1710, 1570  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESIMS: cho mũi ion  $[\text{M-H}]^-$  ở  $m/z$  161,0219 ứng với CTPT  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$  (trị số tính toán cho  $\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_3$  là 161,0239). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR (Bảng 1) cho thấy hợp chất có 9C bao gồm một vòng benzen 1,2,4- tam hoán [ $\delta_{\text{H}}$  7,51 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,84 (1H, dd,  $J = 8,5$  & 2,3 Hz, H-6) và 6,75

(1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-8);  $\delta_{\text{C}}$  130,5 (d, C-5), 113,8 (d, C-6) và 103,3 (d, C-8)], một nối đôi C=C mang hai proton ghép cặp *cis* [ $\delta_{\text{H}}$  7,86 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz, H-4) và 6,16 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz, H-3);  $\delta_{\text{C}}$  144,7 (d, C-4) và 112,9 (d, C-3)] và một carbon carbonyl của coumarin [ $\delta_{\text{C}}$  162,0 (s, C-2)]. Hợp chất này là 7-hydroxycoumarin (**3**), phù hợp với tài liệu tham khảo [11]. Hợp chất **3** đã được phân lập từ loài *Acacia nilotica*, thuộc họ Đậu (Fabaceae) [11].

**Hợp chất 4:** Dạng tinh thể hình kim không màu, 118 °C; Rf = 0,46 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 97,5:2,5); UV λ<sub>max</sub>: 252 và 323 nm; IR ν<sub>max</sub>: 1706, 1613 cm<sup>-1</sup>; HRESIMS: cho mũ ion [M+Na]<sup>+</sup> ở m/z 199,0352 ứng với CTPT C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> (trị số tính toán cho C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>Na là 199,0366). Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR (Bảng 1) cho thấy hợp chất này có 10C và phổ tương tự 7-

hydroxycoumarin (**3**) nhưng xuất hiện tín hiệu của một nhóm methoxyl [ $\delta_H$  3,92 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>);  $\delta_C$  56,3 (7-OCH<sub>3</sub>)]. Hợp chất này là 7-methoxycoumarin (**4**), phù hợp với tài liệu tham khảo [12]. Hợp chất này đã được phân lập từ loài *Matricaria chamomilla*, thuộc họ Cúc (Asteraceae) [12].

Bảng 2. Số liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR của **5-8** trong aceton-d<sub>6</sub> (Trị số trong ngoặc là J tính bằng Hz).

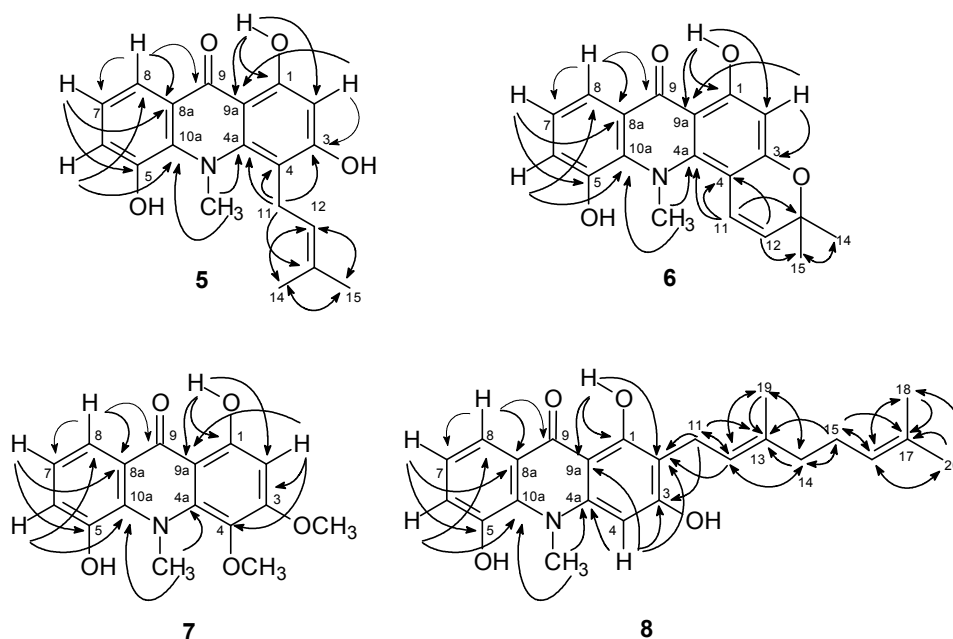
Vị trí	5		6		7		8	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1		163,6		162,2		161,0		163,2
2	6,29 s	97,9	6,12 s	98,2	6,41 s	94,6		109,5
3		164,5		165,6		161,3		163,7
4		108,7		103,3		131,2	6,48 s	91,4
4a		152,0		149,3		143,2		146,7
5		149,4		149,9		148,8		147,9
6	7,26 dd (7,7; 1,4)	120,5	7,32 dd (7,7; 1,3)	120,9	7,30 dd (7,7; 1,4)	120,7	7,26 dd (7,7; 1,5)	125,2
7	7,16 t (7,8)	123,7	7,22 t (7,9)	124,3	7,16 t (7,8)	123,5	7,12 t (7,9)	120,5
8	7,76 dd (7,9; 1,4)	117,2	7,81 dd (8,0; 1,4)	117,3	7,79 dd (8,0; 1,5)	117,3	7,91 dd (8,0; 1,6)	117,9
8a		124,9		125,9		125,5		124,6
9		183,7		182,9		183,2		181,6
9a		107,8		107,8		106,8		105,8
10a		139,1		138,1		138,3		134,8
11	3,54 d (6,1)	26,7	6,75 d (9,8)	121,7			3,39 d (7,2)	21,9
12	5,40 m	125,9	5,68 d (9,8)	124,9			5,34 m	123,7
13		131,8		72,5				134,8
14	1,77 s	18,1	1,51 s	27,3			2,07 m	27,4
15	1,69 s	25,8	1,51 s	27,3			1,96 m	40,5
16							5,08 m	125,3
17								131,7
18							1,60 s	17,7
19							1,81 s	16,3
20							1,55 s	25,8
1-OH	14,22 s		14,42 s		14,16 s		14,98 s	
3-OCH <sub>3</sub>					3,97 s	56,6		
4-OCH <sub>3</sub>					3,77 s	60,4		
N-CH <sub>3</sub>	3,69 s	48,4	3,85 s	49,1	3,83 s	46,9	4,02 s	41,1

**Hợp chất 5:** Dạng bột vô định hình màu vàng; Rf = 0,57 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 97:3). UV λ<sub>max</sub>: 269, 322, 363 và 407 nm; HRESIMS: cho mũ ion [M-H]<sup>-</sup> ở m/z 324,1211 ứng với CTPT C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>O<sub>4</sub>N (trị số tính toán cho C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>N là

324,1236). Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với 19C gồm một carbon carbonyl [ $\delta_C$  182,9 (C-9)], một nhóm -OH kiềm nổi [ $\delta_H$  14,22 (1H, s, 1-OH)], một vòng benzen 1,2,3-tam hoán [ $\delta_H$  7,81 (1H, d, J

= 7,9 & 1,4 Hz, H-8); 7,26 (1H, d,  $J = 7,7$  & 1,4 Hz, H-6) và 7,22 (1H, t,  $J = 7,8$  Hz, H-7)], một proton hương phương cô lập [ $\delta_{\text{H}}$  6,12 (1H, s, H-2)], một nhóm methyl gắn trên nguyên tử rút điện tử [ $\delta_{\text{H}}$  3,85 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>);  $\delta_{\text{C}}$  48,4 (q, C-13)]. Các số liệu trên chứng tỏ đây là một dẫn xuất của alkaloid có nhân acridon. Ngoài ra, dữ liệu phổ còn cho các tín hiệu cộng hưởng của một nhóm isoprenyl [ $\delta_{\text{H}}$  5,40 (1H, m, H-12); 3,54 (2H, d,  $J = 6,1$  Hz, H<sub>2</sub>-11); 1,77 (3H, s, H<sub>3</sub>-14) và 1,69 (3H, s, H<sub>3</sub>-15)];  $\delta_{\text{C}}$  131,8 (s, C-13); 125,9 (d, C-12), 26,7 (t, C-11), 25,8 (q, C-15) và 18,1 (q, C-14)]. Trong phổ HMBC (Hình 2), proton của nhóm -OH kiềm nổi ( $\delta_{\text{H}}$  14,22) cho tương quan với ba carbon hương phương gồm một carbon mang oxygen ( $\delta_{\text{C}}$  163,6), một carbon mang nhóm thế ( $\delta_{\text{C}}$  107,8) và một

carbon mang proton ( $\delta_{\text{C}}$  97,9). Vậy ba carbon này lần lượt là C-1, C-9a và C-2. Proton H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  6,29) cho tương quan với C-9a và một carbon mang oxygen ( $\delta_{\text{C}}$  164,5), là C-3 mang nhóm hydroxyl. Mặt khác proton methylen của nhóm isoprenyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,54 (H<sub>2</sub>-11)] tương quan với C-3, một carbon mang nhóm thế rút điện tử ( $\delta_{\text{C}}$  152,2) và một carbon mang nhóm thế ( $\delta_{\text{C}}$  108,7). Điều đó cho thấy hai carbon này lần lượt là C-4a và C-4, đồng thời xác nhận nhóm isoprenyl được gắn trên C-4. Từ các dữ liệu phân tích và so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy hợp chất này là 1,3,5-trihydroxy-4-( $\gamma,\gamma$ -dimethylallyl)-10-methylacridon hay oriciacridon (**5**), đã được phân lập từ rễ cây Xáo tam phân ở Khánh Hòa [7].



Hình 2. Các tương quan HMBC chính trong **5-8**.

**Hợp chất 6:** Dạng gum màu vàng;  $R_f = 0,53$  (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 97,5:2,5); UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 268, 285, 323, 346 và 418 nm; HRESIMS: cho mũi

ion  $[M-H]^-$  ở  $m/z$  322,1057 ứng với CTPT C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N (trị số tính toán cho C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N là 322,1079). Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR (Bảng 2) tương

tự phổ của **5**. Điểm khác biệt là có sự đóng vòng nhóm isoprenyl tại C-4 với nhóm -OH tại C-3 trong **5** tạo vòng 2,2-dimethylpyran trong **6**. Vòng này gồm 2 proton olefin ghép cặp *cis* [ $\delta_{\text{H}}$  6,75 (1H, d,  $J = 9,8$  Hz, H-6); 5,68 (1H, d,  $J = 9,8$  Hz, H-7), một carbon bậc bốn mang oxygen [ $\delta_{\text{C}}$  72,5 (C-13)] và hai nhóm methyl gắn vào carbon mang oxygen [ $\delta_{\text{H}}$  1,51 (6H, s, H<sub>3</sub>-14 và H<sub>3</sub>-15);  $\delta_{\text{C}}$  124,9 (d, C-12) và 121,7 (d, C-11)]. Phân tích số liệu phổ  $^1\text{H}$  &  $^{13}\text{C}$  NMR và tương quan HMBC (Hình 2) cho thấy đây là 5-hydroxynoracronycin (**6**), đã được phân lập từ loài *Balsamocitrus paniculata*, thuộc họ Cam quýt (Rutaceae) [13].

**Hợp chất 7:** Dạng gum màu vàng; Rf = 0,49 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 97,5:2,5). UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 268, 319 và 415 nm; HRESIMS: cho mũ ion [M-H]<sup>-</sup> ở  $m/z$  300,0853 ứng với CTPT C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>O<sub>5</sub>N (trị số tính toán cho C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>N là 300,0872). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR (Bảng 2) tương tự phổ của **5**. Điểm khác biệt là sự mất các tín hiệu của nhóm isoprenyl và thay bằng tín hiệu của hai nhóm methoxyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,96 (1H, s, 3-OCH<sub>3</sub>) và 3,76 (1H, s, 4-OCH<sub>3</sub>);  $\delta_{\text{C}}$  56,7 (q, 3-OCH<sub>3</sub>) và 60,3 (q, 4-OCH<sub>3</sub>)]. Phân tích số liệu phổ  $^1\text{H}$  &  $^{13}\text{C}$  NMR và tương quan HMBC (Hình 2) cho thấy hợp chất này là citrucinin-I (**7**), cũng được phân lập từ rễ Xáo tam phân thu hái ở Khánh Hòa [7].

**Hợp chất 8:** Dạng gum màu vàng; Rf = 0,53 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 97:3). UV  $\lambda_{\text{max}}$ : 267, 284, 308 và 401 nm; HRESIMS: cho mũ ion [M-H]<sup>-</sup> ở  $m/z$  392,1851 ứng với CTPT C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub>N (trị số tính toán cho C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>N là 392,1862). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu cộng hưởng tương tự **1**. Điểm khác biệt là dây nhánh isoprenyl trong **1** được thay thế bằng dây nhánh geranyl gồm hai nối đôi C=C tam hoán [ $\delta_{\text{H}}$  5,34 (1H, m, H-12) và 5,08 (1H, m, H-16);  $\delta_{\text{C}}$  134,8 (s, C-13); 131,7 (s, C-17); 125,3 (d, C-

**16)** và 123,7 (d, C-12)], một nhóm methylen benzyl [ $\delta_{\text{H}}$  3,39 (2H, d,  $J = 7,2$  Hz, H<sub>2</sub>-11);  $\delta_{\text{C}}$  21,9 (t, C-11)], hai nhóm methylen [ $\delta_{\text{H}}$  1,96 (2H, m, H<sub>2</sub>-14); 2,07 (2H, m, H<sub>2</sub>-15);  $\delta_{\text{C}}$  40,5 (t, C-14); 27,4 (t, C-15)] và ba nhóm methyl allyl [ $\delta_{\text{H}}$  1,81 (3H, s, H<sub>3</sub>-18); 1,60 (3H, s, H<sub>3</sub>-19); 1,55 (3H, s, H<sub>3</sub>-20);  $\delta_{\text{C}}$  25,8 (q, C-20); 17,7 (q, C-19); 16,3 (q, C-18)]. Phân tích các số liệu phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR và tương quan HMBC (Hình 2) cho thấy hợp chất này là glycocitrin-III (**8**), đã được phân lập từ loài *Glycosmis pentaphylla*, thuộc họ Cam quýt (Rutaceae) [14].

### 3.2. Thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất **1-8** đã được thử nghiệm trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 bằng phương pháp sulforhodamine B (SRB) theo quy trình của Skehan và cộng sự [15] với chứng dương là camptothecin, kết quả được ghi nhận ở Bảng 3. Bảng này cho thấy tất cả đều có hoạt tính yếu với IC<sub>50</sub> từ 30,53-62,90  $\mu\text{g/mL}$ , riêng 7-hydroxycoumarin (**3**) và 7-methoxycoumarin (**4**) không có hoạt tính.

Bảng 3. Kết quả thử độc tính trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 của **1-8**

Hợp chất	% Sàng lọc (nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ )	IC <sub>50</sub> $\pm$ DLC ( $\mu\text{g/mL}$ )*
<b>1</b>	98,18 $\pm$ 0,09	30,53 $\pm$ 0,61
<b>2</b>	82,66 $\pm$ 1,92	62,90 $\pm$ 2,58
<b>3</b>	20,97 $\pm$ 3,76	Không xác định
<b>4</b>	16,11 $\pm$ 4,79	Không xác định
<b>5</b>	93,29 $\pm$ 0,56	51,40 $\pm$ 1,19
<b>6</b>	76,03 $\pm$ 1,03	31,66 $\pm$ 0,46
<b>7</b>	71,78 $\pm$ 1,33	52,50 $\pm$ 5,25
<b>8</b>	98,76 $\pm$ 0,28	32,81 $\pm$ 0,87
Camptothecin (0,07 $\mu\text{g/mL}$ )	52,88 $\pm$ 3,84	0,051 $\pm$ 0,007

\* Độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại thí nghiệm

#### 4. Kết luận

Bốn coumarin là ostruthin (1), 8-methoxyostruthin (2), 7-hydroxycoumarin (3) và 7-methoxycoumarin (4) cùng với bốn acridon alkaloid là oriciacridon (5), 5-hydroxynoracronycin (6), citrusicinin-I (7) và glycocitrin-III (8) đã được phân lập từ rễ cây xáo tam phân (*Paramignya trimera*). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định dựa vào phổ 1D và 2D NMR. Đây là lần đầu tiên các hợp chất 3, 4, 6 và 8 được tìm thấy trong loài cây này. Kết quả thử hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 bằng phương pháp SRB cho thấy các hợp chất 1-2 và 5-8 có hoạt tính yếu.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Phạm Hoàng Hộ (1999), Cây cỏ Việt Nam, Quyển II, NXB Trẻ Tp. Hồ Chí Minh, trang 439.
- [2] Nguyễn Mạnh Cường, Hồ Việt Đức, Nguyễn Văn Tài, Phạm Ngọc Khanh, Vũ Thị Hà, Trần Thu Hương, Nguyễn Duy Nhất (2013), “Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học cây Xáo tam phân họ Rutaceae”, Tạp chí Hóa học 51, trang 292-296.
- [3] Bùi Trọng Đạt, Nguyễn Thanh Hồng, Lê Tiến Dũng, Nguyễn Hữu An, Mai Đình Trị (2013), “Một coumarin mới và chromene phân lập từ rễ cây Xáo tam phân *Paramignya trimera*”, Tạp chí Hóa học 51 (4AB), trang 362-365.
- [4] Nguyễn Minh Khởi, Phạm Thị Tuyết Hằng, Đỗ Thị Phương (2013), “Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng bảo vệ gan và tác dụng gây độc tế bào ung thư của xáo tam phân”, Tạp chí Dược liệu 18 (1), trang 14-20.
- [5] Phạm Huy Bách, Vũ Văn Tuấn, Nguyễn Thị Hà Ly, Nguyễn Minh Khởi, Phạm Thiên Thương (2013), “Phân lập và định lượng ostruthin trong dược liệu xáo tam phân thu hái tại Việt Nam”, Tạp chí Dược liệu 18 (3), trang 173-178.
- [6] Trần Thị Thúy Quỳnh, Lê Thị Kim Thoa, Phạm Đông Phương (2014), “Phân lập một số hợp chất coumarin trong rễ xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill)”, Tạp chí Dược học 457, trang 60-64.
- [7] Trần Thị Thúy Quỳnh, Nguyễn Trung Dũng, Phạm Đông Phương (2014), “Phân lập một vài hợp chất acridon alkaloid trong rễ xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill)”, Tạp chí Dược học 458, trang 61-64.
- [8] Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Thị Cúc, Trần Thu Hương, Phạm Ngọc Khanh, Ninh Thế Sơn, Nguyễn Mạnh Cường (2015), “Tác dụng bảo vệ gan của cao rễ cây Xáo tam phân (*Paramignya trimera*) trên mô hình chuột bị gây tổn thương gan bằng paracetamol”, Tạp chí Khoa học và Công Nghệ Việt Nam 1 (2), trang 60-64.
- [9] Nguyễn Thị Ngọc Dung, Trần Thị Thúy Quỳnh, Phạm Đông Phương, Vĩnh Định (2015), “Định lượng đồng thời ostruthin và 8-methoxyostruthin trong rễ xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao”, Tạp chí Dược học 476, trang 934-938.
- [10] Liu R., Sun Q., Shi Y., Kong L., (2016), “Isolation and purification of coumarin compounds from the root of *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim by high-speed counter-current chromatography”, Journal of Chromatography A 1076, trang 127-132.
- [11] Rajbir S., Bikram S., Sukhpreet S., Neeraj K., Subodh K. and Saroj A. (2010), “Umbelliferone – An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del.”, Food Chemistry 120, trang 825-830.
- [12] Ahmad A., Misra L. N. (1997), “Isolation of herniarin and other constituents from *Matricaria chamomilla* flowers”, International Journal of Pharmacognosy 35, trang 121-125.
- [13] Emmanuel N. H., Alain F. K. W., Jean D. W., Bonaventure T. N., Norbert S. (2011), “O-Prenylated acridone alkaloids from the stems of *Balsamocitrus paniculata* (Rutaceae)”, Planta Medica 77, trang 934-938.
- [14] Ito C., Kondo Y., Rao K. S., Toduka H., Nishino H., Furukawa H. (1999), “Chemical constituents of *Glycosmis pentaphylla*. Isolation of a novel naphthoquinone and a new acridone alkaloid”, Chemical and Pharmaceutical Bulletin 47, trang 1579-1581.
- [15] Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J. T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M. R. (1990), “New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening”, Journal of the National Cancer Institute 82, pp. 1107-1112.



## Coumarins and Acridone Alkaloids from the Roots of *Paramignya trimeria*

Trinh Hoang Duong<sup>1,2</sup>, Tran Thu Phuong<sup>2</sup>, Ha Dieu Ly<sup>1</sup>,  
Nguyen Thuy Vy<sup>3</sup>, Dang Van Son<sup>3</sup>, Nguyen Dieu Lien Hoa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Drug Quality Control in Ho Chi Minh City*

<sup>2</sup>*Faculty of Chemistry, VNUHCM-University of Science*

<sup>3</sup>*Faculty of Biology and Biotechnology, VNUHCM-University of Science*

<sup>4</sup>*Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology*

**Abstract:** Four coumarins, ostruthin, 8-methoxyostruthin, 7-hydroxycoumarin and 7-methoxycoumarin, together with four acridone alkaloids, oriciacridon, 5-hydroxynoracronycin, citruscinin-I and glycocitrin-III, were isolated from the roots of *Paramignya trimeria*. Their structures were elucidated using 1D and 2D NMR techniques. Cytotoxicity of the isolated compounds against human liver cancer cells HepG2 was tested using the SRB assay and the results showed that the compounds possessed weak activity.

*Keywords:* *Paramignya trimeria*, isolation, structure elucidation, coumarin, acridone alkaloid cytotoxicity.