

**ĐIỀU CHẾ DẪN XUẤT SULFATE CỦA POLYSACCHARIDE
CHIẾT XUẤT TỪ LÁ MĂNG CẦU XIÊM (*ANNONA MURICATA*)
VÀ SỰ BIẾN ĐỔI HOẠT LỰC KHÁNG OXI HÓA**

Nguyễn Ngọc Hưng, Trần Thị Văn Thi*

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Huế

* Email: tranthivanthi@gmail.com

TÓM TẮT

Nhiều polysaccharide-sulfate (PS-sulfate) chiết xuất từ sinh vật hay tổng hợp trong phòng thí nghiệm đã được xác định có những hoạt tính sinh học quý giá, trong đó có khả năng kháng oxi hóa. Trong nghiên cứu này, dẫn xuất PS-sulfate được tổng hợp từ polysaccharide (PS) được chiết xuất từ lá măng cầu xiêm (*Annona muricata*) sử dụng tác nhân phức sulfur trioxide pyridine trong dung môi dimethyl sulfoxide. Khác với phổ FT-IR của PS ban đầu, phổ FT-IR của PS-sulfate xuất hiện thêm hai dải hấp thụ mới, một ở vùng 1230-1270 cm^{-1} , là tín hiệu dao động hóa trị không đối xứng của liên kết S=O và một tín hiệu khác ở vùng 800-870 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị đối xứng của liên kết C-O-S liên quan đến nhóm -C-O-SO₃⁻. Điều này chỉ ra rằng, phản ứng sulfate hóa PS đã thành công. Hàm lượng sulfate trong các dẫn xuất PS-sulfate được xác định bằng phương pháp barium chloride-gelatin của Dogson (1956) cho các giá trị lần lượt là 34,64; 39,87 và 41,36%. Lực kháng oxi hóa tổng của PS và PS-sulfate được xác định theo phương pháp phospho molybdenum của Prieto (1999), kết quả cho thấy dẫn xuất PS-sulfate có khả năng kháng oxi hóa tốt hơn so với PS ban đầu và phụ thuộc vào hàm lượng sulfate trong mẫu.

Từ khóa: Dẫn xuất polysaccharide-sulfate, hoạt tính kháng oxi hóa, phản ứng sulfate hóa.

1. MỞ ĐẦU

Măng cầu xiêm đã được sử dụng từ lâu để làm thực phẩm và là vị thuốc trong một số bài thuốc dân gian như trị cảm, sổ mũi, tiêu chảy, đái tháo đường, bệnh tim...[10]. Hóa được hiện đại cũng cho thấy măng cầu xiêm có khả năng kháng nấm, kháng khuẩn, kháng oxi hóa, ức chế các tế bào ung thư...[1]. Các hoạt chất tạo nên hoạt tính sinh học kỳ diệu đó của măng cầu xiêm được xác định là alkaloid, tannin, coumarin, flavonoid, terpenoid, PS, acid stearic, acid myristique, acid ellagic...[10]. Mặc dù đã có rất nhiều nghiên cứu về cây măng cầu xiêm được công bố nhưng lại gần như không tìm thấy nghiên cứu nào về nhóm hợp chất PS, đặc biệt trên bộ phận lá của loài cây này. Trong khi đó, PS là các polymer thiên nhiên có cấu trúc đa dạng, phức tạp và đã được nghiên cứu rộng rãi trong y học do các hoạt tính sinh học đa dạng của chúng [4]. Các hoạt tính của PS, đặc biệt là hoạt tính kháng oxi hóa có thể được tăng cường bằng những biến đổi hóa học trong cấu trúc của chúng [5], trong đó sulfate hóa PS là một trong

những phương pháp được sử dụng nhiều nhất. Dẫn xuất PS-sulfate được tạo ra theo phương pháp này là các polysaccharide mà trong cấu trúc của chúng có sự thay thế một phần các nhóm hydroxyl bằng các nhóm sulfate [3]. Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu về phương pháp tạo dẫn xuất PS-sulfate từ PS trong lá măng cầu xiêm (*Annona muricata*) và đánh giá sự biến đổi hoạt tính kháng oxi hóa của PS-sulfate so với PS ban đầu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Lá măng cầu xiêm (*Annona muricata*) được thu mua tại huyện Tân Đông Phú, tỉnh Tiền Giang, Việt Nam.

Phức sulfur trioxide pyridine (Py-SO₃) và gelatin từ Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), ammoni molybdate từ Reachim (Nga), dimethyl sulfoxide (DMSO) từ Daejung Chemicals & Metals (Hàn Quốc). Ethanol, natrium hydroxide, barium chloride, acid sulfuric, acid hydrochloric, *n*-butanol, natrium phosphate, phosphorus pentoxide, chloroform, potassium sulfate từ Trung Quốc.

2.2. Chiết xuất và tinh chế PS

Mẫu lá măng cầu xiêm (*Annona muricata*) được sấy khô ở 50°C, cắt nhỏ và chiết với ethanol 95⁰ trong hai tuần để loại bỏ các hợp chất không mong muốn. Sau khi loại bỏ các hợp chất hòa tan trong ethanol, mẫu lá tiếp tục được chiết bằng nước sôi trong 4 giờ. Quá trình chiết được lặp đi lặp lại cho đến khi dịch chiết cuối không màu thì ngừng chiết. Dịch chiết sau khi cô loại bớt dung môi được kết tủa với ethanol 95⁰ theo tỷ lệ 1:5 (v/v), để qua đêm ở 4°C rồi tiến hành ly tâm. Phần tủa sau ly tâm được hòa tan trở lại trong nước cất và lắc với thuốc thử Sevage (CHCl₃:BuOH = 4:1, v/v) trong 30 phút để loại protein tự do, quá trình này được lặp lại năm lần. Cuối cùng, dịch nước sau tinh chế cho kết tủa lại với ethanol 95⁰, ủ ở 4°C trong 24 giờ và ly tâm. Sau khi ly tâm, phần tủa lần lượt được rửa sạch với ethanol tuyệt đối và acetone trước khi sấy khô, thu được PS.

2.3. Tiến hành phản ứng sulfate hóa

Phản ứng sulfate hóa PS được thực hiện như sau: cho 1 g bột PS phân tán trong 50 mL dung môi DMSO và hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 30 phút, sau đó thêm vào 4 g Py-SO₃. Phản ứng được tiến hành 1 - 3 giờ. Sau đó, hỗn hợp sản phẩm phản ứng được làm lạnh về nhiệt độ phòng bằng một chậu nước đá, trung hòa bằng dung dịch NaOH 15% và thẩm tách trong nước cất trong 120 giờ. Phần dịch sau thẩm tách được cô đặc dưới áp suất thấp ở 45°C, sau đó kết tủa với ethanol 96⁰. Phần tủa sau ly tâm được làm khô trên phosphorus pentoxide. Ba dẫn xuất PS-sulfate lần lượt là PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 thu được sau khi tiến hành sulfate hóa PS một lần, hai lần và ba lần tương ứng [11].

2.4. Xác định hàm lượng sulfate trong các mẫu PS-sulfate

Cho 0,6 g gelatin hòa tan trong 200 mL nước nóng (60 - 70°C) và giữ qua đêm ở 4°C. Tiếp theo cho 2 g barium chloride hòa tan trong dịch keo gelatin đó và giữ ở nhiệt độ phòng trong 2 - 3 giờ cho đến khi muối barium chloride được hòa tan hết. Sau đó, thuốc thử barium chloride -gelatin được bảo quản ở 4°C.

Cho 3,8 mL acid clohydric 0,5 M và 1 mL dung dịch barium chloride -gelatin vào 0,2 mL mẫu dịch PS-sulfate. Sau khi trộn, toàn bộ dung dịch được giữ ở nhiệt độ phòng trong 10 - 20 phút. Mẫu trắng cũng được tiến hành tương tự như vậy (0,2 mL mẫu dịch PS-sulfate được thay bằng 0,2 mL nước cất). Potassium sulfate có nồng độ 1 mg / mL đã được sử dụng làm chất chuẩn và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 360 nm trên máy quét phổ tử ngoại - khả kiến mẫu lỏng (UV-Vis DR Jacos V630, Nhật Bản) [6].

2.5. Xác định lực kháng oxy hoá tổng (total antioxidant capacity) theo mô hình phospho molybdenum

Lực kháng oxi hoá tổng của các mẫu khảo sát PS, PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 được đánh giá theo phương pháp phospho molybdenum của Prieto [7]. Phương pháp này dựa trên sự khử Mo (VI) về Mo (V) bởi các hợp chất có khả năng kháng oxi hóa trong môi trường acid, tạo thành phức phosphate/Mo (V) có màu xanh lá cây. Lấy 0,3 mL dịch mẫu khảo sát, thêm vào 3 mL dung dịch thuốc thử (0.6 M acid sulfuric, 28 mM natrium phosphate và 4 mM ammoni molybdate), đậy kín và ủ ở 95°C trong 90 phút. Sau đó, mẫu được làm lạnh về nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 695 nm trên máy quét phổ tử ngoại - khả kiến cho mẫu dạng lỏng (UV-Vis DR Jacos V630, Nhật Bản). Trong mẫu trắng, dung dịch cần phân tích được thay bằng nước cất. Lực kháng oxi hoá tổng được biểu diễn theo độ hấp thụ của mẫu, độ hấp thụ càng lớn thì lực kháng oxi hóa tổng càng cao.

2.6. Phân tích phổ FT-IR

Phổ FT-IR của PS, PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 được xác định bằng máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Shimadzu, Nhật Bản). Các mẫu được trộn với bột KBr, ép thành dạng viên có kích thước 1 mm và đo trong vùng từ 400 đến 4.000 cm^{-1} .

2.7. Phân tích số liệu thống kê Anova hai nhân tố

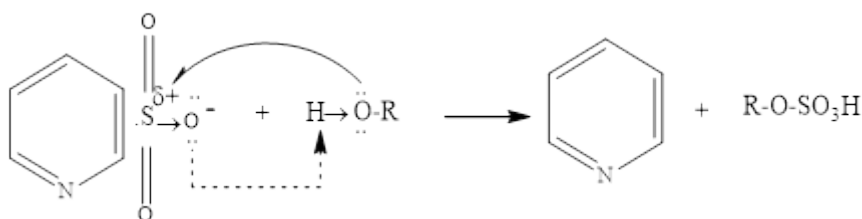
Sử dụng kỹ thuật thống kê Anova kết hợp với phần mềm Excel phân tích phương sai hai nhân tố không lặp và so sánh với chuẩn Fischer để xác định yếu tố có ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm, tức là các giá trị thực nghiệm thu được là khác nhau đáng tin cậy.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Vai trò của pH đối với sự sulfate hóa polysaccharide

Sơ đồ phản ứng được mô tả trên Hình 1.

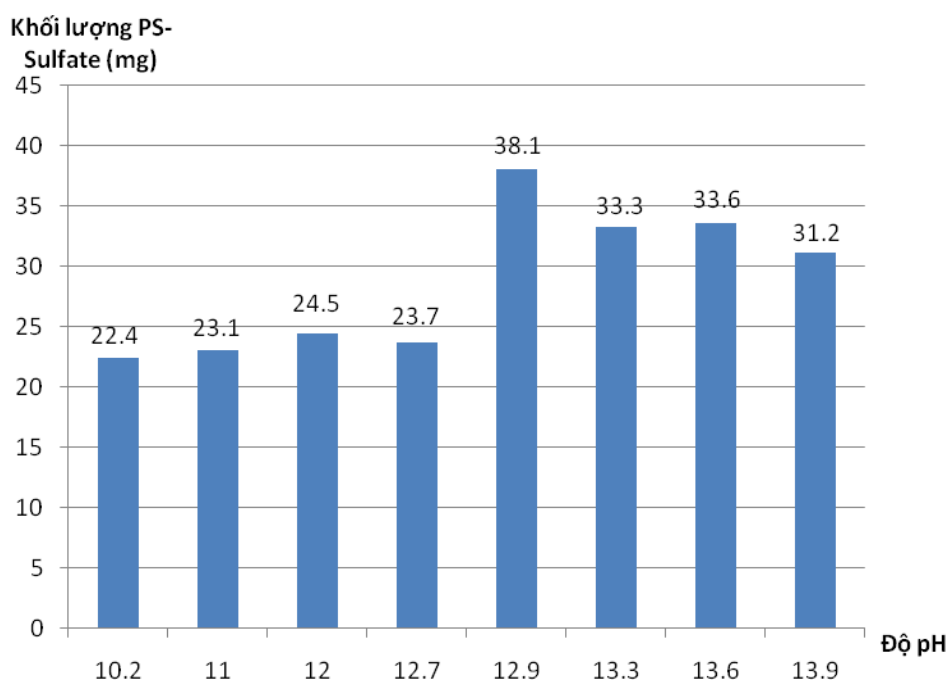
Điều chế dẫn xuất sulfate của polysaccharide chiết xuất từ lá măng cầu xiêm ...



Hình 1. Sơ đồ phản ứng giữa PS với phức Py-SO₃.

Theo [8], [9], phản ứng giữa phức Py-SO₃ và PS có thể bắt đầu với sự hình thành một liên kết hydro giữa SO₃ với nhóm -OH trên PS, điều này làm tăng tính electrophile của S và tính nucleophile của nhóm -OH.

Theo các tài liệu chúng tôi đã tham khảo về quá trình sulfate hóa PS, dịch PS-sulfate sau khi thẩm tách phải được trung hòa về pH = 7 bằng NaOH 15% trước khi đem tủa với ethanol 96^o [5], [11]. Trong thực tế, mẫu PS được tách chiết từ lá măng cầu xiêm lại không thể tủa được tại giá trị pH = 7 này. Khảo sát sự ảnh hưởng của pH đối với khối lượng PS-sulfate thu được, kết quả được thể hiện ở hình 2.

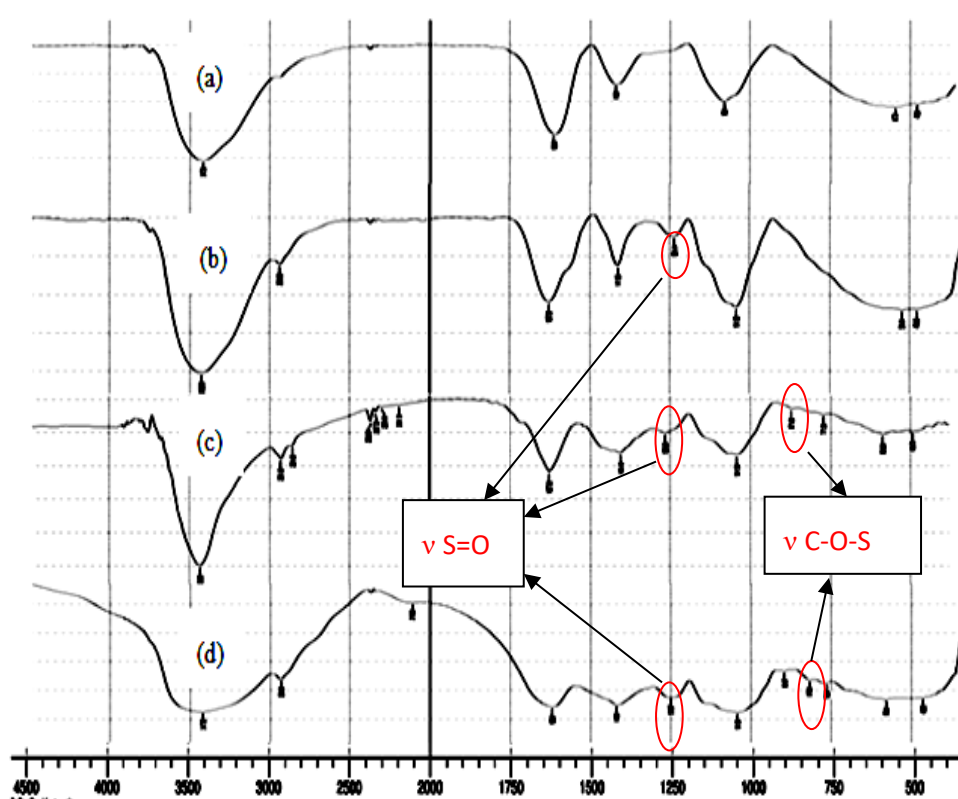


Hình 2. Vai trò của pH đối với sự sulfate hóa polysaccharide.

Từ kết quả thu được, dịch PS-sulfate được đưa về pH = 12,9 trước khi tủa bằng ethanol 96^o. Không quan sát thấy kết tủa khi pH < 10,2, điều này chứng tỏ sự kết tủa của PS-sulfate phụ thuộc nhiều vào pH. Trong môi trường base, ion OH⁻ làm cho sản phẩm PS-sulfate chuyển từ dạng ít phân cực (dạng acid) trở nên phân cực hơn (dạng muối), từ đó bị kết tủa trong ethanol 96^o.

3.2. Định tính sản phẩm bằng phổ FT-IR

Phổ FT-IR của PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 xuất hiện thêm hai peak hấp thụ đặc trưng, một tại 1.234 cm^{-1} (PS-sulfate1), 1.265 cm^{-1} (PS-sulfate2), 1.249 cm^{-1} (PS-sulfate3), đó là tín hiệu dao động hóa trị không đối xứng của liên kết S=O và một tín hiệu khác tại 871 cm^{-1} (PS-sulfate2), 817 cm^{-1} (PS-sulfate3) là tín hiệu của dao động hóa trị đối xứng C-O-S liên quan đến nhóm C-O-SO₃⁻. Trong khi đó, phổ FT-IR của PS ban đầu không có hai peak này (hình 3). Điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây đối với phổ FT-IR của các dẫn xuất sulfate một số PS khác [2, 15] và cho thấy sự tồn tại của nhóm sulfate trong các dẫn xuất.

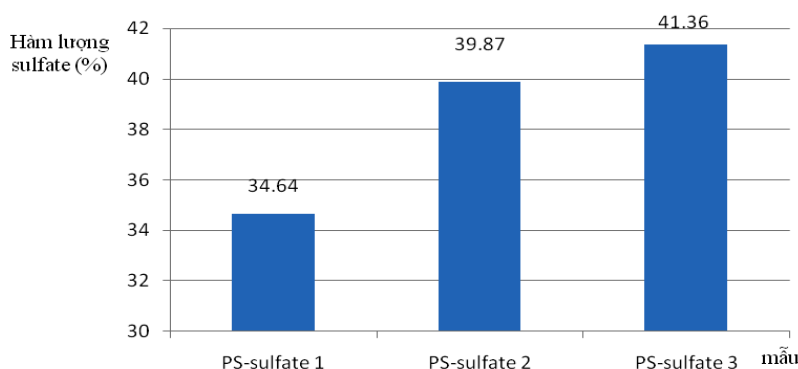


Hình 3. Phổ IR của: (a) PS; (b) PS-sulfate1; (c) PS-sulfate2 và (d) PS-sulfate3.

3.3. Hàm lượng sulfate trong PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng sulfate lần lượt trong các mẫu PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 là $34,64 \pm 0,86\%$, $39,87 \pm 0,85\%$ và $41,36 \pm 0,60\%$ ($P = 0,95$, $n = 3$) (hình 4). Các số liệu trên được xác định trên cơ sở đo độ hấp thụ quang các mẫu khảo sát và dựa vào phương trình đường chuẩn với chất chuẩn potassium sulfate xây dựng được là $y = 0,004x + 0,075$ với hệ số tương quan $R = 0,9969$ trong khoảng nồng độ từ $40 - 200\text{ }\mu\text{g/mL}$. Những kết quả thu được gần với hàm lượng sulfate có trong fucoidan ($36,3\%$) - một loại PS-sulfate nổi tiếng được cho là có hoạt tính chống ung thư chiết xuất từ rong nâu thiên nhiên [12].

Điều chế dẫn xuất sulfate của polysaccharide chiết xuất từ lá măng cầu xiêm ...



Hình 4. Hàm lượng sulfate trong các mẫu PS-sulfate thu được.

Từ kết quả phổ FT-IR của các mẫu PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 kết hợp với các kết quả về hàm lượng sulfate, chứng tỏ nhóm sulfate đã được gắn vào PS, như vậy phản ứng sulfate hóa PS đã thành công.

3.4. Lực kháng oxi hoá tổng theo mô hình phospho molybdenum

Kết quả xác định lực kháng oxi hoá tổng của các mẫu được thể hiện trong hình 5 và bảng 1.

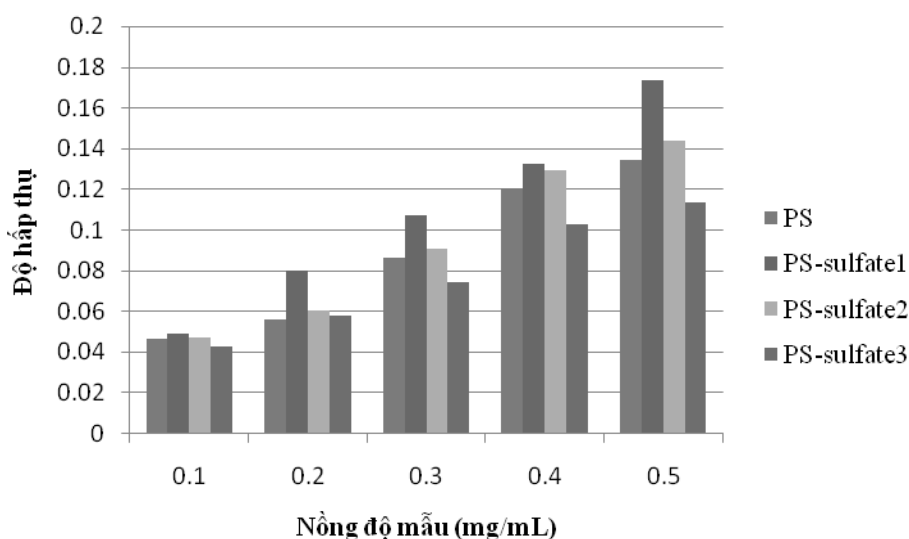
Bảng 1. Độ hấp thụ quang của các mẫu PS-5, PS-sulfate1, PS-sulfate2, PS-sulfate3 tại các nồng độ khác nhau

Nồng độ (mg/mL)	Độ hấp thụ của PS-5	Độ hấp thụ của PS-sulfate1	Độ hấp thụ của PS-sulfate 2	Độ hấp thụ của PS-sulfate 3
0,1	0,0468	0,0492	0,0472	0,0432
0,2	0,0559	0,0803	0,0603	0,0583
0,3	0,0865	0,1071	0,0907	0,0745
0,4	0,1205	0,1327	0,1296	0,1027
0,5	0,1343	0,1736	0,1436	0,1136

Theo kết quả phân tích Anova hai nhân tố: nồng độ mẫu và hàm lượng sulfate trong các mẫu, chúng tôi nhận thấy rằng, hai yếu tố đó đều ảnh hưởng đến độ hấp thụ quang của các mẫu và các kết quả đo được là khác nhau, cụ thể $F_{\text{Nồng độ}} = 74,74 > F(p = 0,95; 4, 12) = 3,26$ và $F_{\text{hàm lượng sulfate}} = 9,56 > F(p = 0,95; 3; 12) = 3,49$.

Các kết quả ở hình 5 và bảng 1 cho thấy rằng, hoạt tính kháng oxi hóa của PS được tăng cường khi gắn thêm các nhóm sulfate vào cấu trúc của PS, điều đó có thể quan sát được thông qua độ hấp thụ của PS-sulfate1 (34,64% sulfate), PS-sulfate2 (39,87% sulfate) cao hơn so với PS ban đầu. Điều đặc biệt là, mặc dù PS-sulfate1 ((34,64% sulfate) có hàm lượng sulfate thấp hơn PS-sulfate2 (39,87% sulfate) và PS-sulfate3 (41,36% sulfate), nhưng lại có hoạt tính kháng oxi hóa cao hơn tại tất cả các nồng độ đã khảo sát. Kết quả này khác với phát hiện của Wang trong [13] khi khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa theo mô hình hoạt động quét gốc tự do superoxide, hydroxyl, DPPH; mô hình lực chống oxy hóa bằng phương pháp khử sắt (reducing

power); mô hình tạo phức với ion Fe^{2+} hay nghiên cứu của Jung [14] khi khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa theo mô hình hoạt động quét gốc tự do DPPH, hai nghiên cứu này cho thấy hàm lượng sulfate càng cao thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao. Thế nhưng, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại phù hợp với nghiên cứu của Shao [16], bằng cách khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa theo mô hình hoạt động quét gốc tự do superoxide, hydroxyl, ABTS; mô hình lực chống oxy hóa bằng phương pháp khử sắt (reducing power), Shao cho rằng hàm lượng sulfate càng cao thì hoạt tính kháng oxy hóa càng thấp [16]. Vì vậy, sự biến đổi về khả năng kháng oxy hóa của các dẫn xuất PS-sulfate khác nhau (ở đây chính là khả năng cho nhận electron với Mo (VI) tại điều kiện nghiên cứu) có thể do sự khác biệt về hàm lượng sulfate trong các mẫu. Đối với các chất phản ứng đơn giản, khả năng này phụ thuộc vào nồng độ chất phản ứng và ít thay đổi khi đạt đến cân bằng chứ không giảm xuống. Tuy nhiên, việc xem xét khả năng phản ứng của một polymer hữu cơ thiên nhiên với cấu trúc chuỗi có thể mạch thẳng, có thể rẽ nhánh phức tạp như PS-sulfate, có khả năng tạo liên kết hydro hay tương tác giữa các chuỗi tạo cấu trúc bậc 2, cấu trúc bậc 3 thì không đơn giản như vậy. Hàm lượng sulfate thay đổi thì các liên kết hydro cũng như tương tác tĩnh điện giữa các nhóm OSO_3^- với các nhóm $-\text{OH}$ của các chuỗi polymer thay đổi, làm cho cấu trúc lập thể của PS-sulfate và khả năng cho nhận electron của các nhóm chức thay đổi là khả năng hoàn toàn có thể xảy ra. Chúng tôi sẽ tiếp tục khảo sát để làm rõ hiện tượng thú vị này.



Hình 5. Lực kháng oxy hóa tổng của PS, PS-sulfate1, PS-sulfate2 và PS-sulfate3 tại các nồng độ khác nhau.

Mặt khác, các chất kháng oxy hóa có cấu trúc hóa học và nhóm chức khác nhau, vì vậy chúng thường kháng oxy hóa theo nhiều chức năng và phương thức khác nhau. Việc đánh giá bằng một mô hình khảo sát chỉ mới mô tả một khía cạnh của khả năng kháng oxy hóa, vì vậy đây mới chỉ là kết quả bước đầu. Cần tiếp tục khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các mẫu nói trên bằng nhiều mô hình khác để có thể đánh giá toàn diện hơn.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, ba dẫn xuất PS-sulfate của PS chiết xuất từ lá măng cầu xiêm có hàm lượng sulfate khác nhau, cụ thể là PS-sulfate1 (34,64% sulfate), PS-sulfate2 (39,87% sulfate) và PS-sulfate3 (41,36% sulfate) đã được tổng hợp tại pH = 12,9. Hai dải hấp thụ đặc trưng mới xuất hiện trong phổ FT-IR của các dẫn xuất ở vùng 1.230 - 1.270 cm^{-1} và 810 - 870 cm^{-1} không có trong PS ban đầu cho thấy phản ứng sulfate hóa PS đã xảy ra. Cả PS và các dẫn xuất PS-sulfate đều thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa thông qua lực kháng oxi hóa tổng của chúng, trong đó sự sulfate hóa PS có thể giúp cải thiện hoạt tính kháng oxi hóa của PS ban đầu. Vì vậy, sulfate hóa PS và khống chế hàm lượng sulfate thích hợp có thể là một trong những phương pháp hiệu quả để tăng cường hoạt tính kháng oxi hóa của các PS có nguồn gốc thiên nhiên.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn Phòng thí nghiệm Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, trường Đại học Khoa học Huế đã tạo điều kiện thuận lợi về vật chất lẫn tinh thần để có được nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Ngueguim Tsofack Florence, Massa Zibi Benoit, Kouamouo Jonas, Tchuidjang Alexandra, Dzeufiet Djomeni Paul Désiré, Kamtchouing Pierre, Dimo Théophile (2014). Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.151, pp. 784–790.
- [2]. Xiaomei Wang, Zhongshan Zhang, Zhiyun Yao, Mingxing Zhao, Huimin Qi (2013). Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 58, pp. 225– 230.
- [3]. Mingliang Jin, Youming Wanga, Ming Huang, Zeqing Lu, Yizhen Wanga (2014). Sulphation can enhance the antioxidant activity of polysaccharides produced by *Enterobacter cloacae* Z0206, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 99, pp. 624-629.
- [4]. Chen, G. T., Ma, X. M., Liu, S. T., Liao, Y. L., & Zhao, G. Q (2012). Isolation, purification and antioxidant activities of polysaccharides from *Grifola frondosa*, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 89, pp. 61–66.
- [5]. Liu, Y. H., Liu, C. H., Tan, H. N., Zhao, T., Cao, J. C., & Wang, F. S. (2009). Sulfation of a polysaccharide obtained from *Phellinus ribis* and potential biological activities of the sulfated derivatives, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 77, pp. 370–375.

- [6]. Krishnaa, C., Kuppuraj, M., Satishkumar S., Seshagopal G.(2008). “ Extraction of sulfated polysaccharides from *cuttlefish* (*Sepia* sp.) bone”, Department of biotechnology school of bioengineering faculty of engineering and technology SPM university Kattankulathur.
- [7]. Prieto, P., Pineda, M., Anguilar, M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of Vitamin E. *Anal, Biochem.*, Vol. 269, pp. 337-341 .
- [8]. Doina Mihai, Georgeta Mocanu, Adrian Carpov (2001). Chemical reactions on polysaccharides I. Pullulan sulfation, *European Polymer Journal*, Vol. 37, pp. 541-546.
- [9]. Jing-Kun Yan , Wen-Qiang Wang , Hai-Le Ma and Jian-Yong Wu (2013). Sulfation and enhanced antioxidant capacity of an exopolysaccharide produced by the Medicinal Fungus *Cordyceps sinensis*, *Molecules*, Vol. 18, pp. 167-177.
- [10]. Leslie Taylor (2005). *Technical data report for Graviola (Annona muricata)*, Sage Press, Inc., Austin.
- [11]. Shiguo Chen, Jingfeng Wang, Changhu Xue, Hui Li, Beibei Sun, Yong Xue, Wengang Chai (2010). Sulfation of a *squid ink* Polysaccharide and its inhibitory effect on tumor cell metastasi, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 81, pp. 560–566.
- [12]. Trần Thị Thanh Vân, Thành Thị Thu Thủy, Võ Mai Như Hiếu, Bùi Minh Lý (2013). Xác định cấu trúc của Fucoidan chiết xuất từ rong nâu *Sargassum carpophyllum*, *Tạp chí Hóa học*, T.51 (6ABC), tr.95-98.
- [13]. Junlong Wang, Hongyun Guo, Ji Zhang, Xiaofang Wang, Baotang Zhao, Jian Yao, Yunpu Wang (2010). Sulfated modification, characterization and structure–antioxidant relationships of *Artemisia sphaerocephala* polysaccharides, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 81, pp. 897–905.
- [14]. Ho Young Jung, In Young Bae, Suyong Lee, Hyeon Gyu Lee (2011). Effect of the degree of sulfation on the physicochemical and biological properties of *Pleurotus eryngii* polysaccharide, *Food Hydrocolloids*, Vol. 25, pp. 1291-1295.
- [15]. Cinthia B.S. Telles, Diego A. Sabry, Jailma Almeida-Lima, Mariana S.S.P. Costa, Raniere F. Melo-Silveira, Edvaldo S. Trindade, Guilherme L. Sassaki, Elisabeth Wisbeck, Sandra A. Furlan, Edda L. Leite, Hugo A.O. Rocha (2011). Sulfation of the extracellular polysaccharide produced by the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* alters its antioxidant, anticoagulant and antiproliferative properties in vitro, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 85, pp. 514-521.
- [16]. Ping Shao, Meng Chen, Yaping Pei, Peilong Sun (2013). In vitro antioxidant activities of different sulfated polysaccharides from chlorophytan seaweeds *Ulva fasciata*, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 59, pp.295-300.

SULFATION OF POLYSACCHARIDES EXTRACTED FROM THE LEAVES OF *ANNONA MURICATA* AND THE CHANGING OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY

Nguyen Ngoc Hung, Tran Thi Van Thi*

Department of Chemistry, Hue University of Sciences

* Email: tranthivanthi@gmail.com

ABSTRACT

*Sulfated polysaccharides (PS-sulfate) which are extracted from organisms or synthesized are identified for their valuable biological activities, including antioxidant capacities. In this study, sulfated polysaccharide derivatives were synthesized from polysaccharide (PS) extracted from the leaves of *Annona muricata* and sulfur trioxide pyridine complex in the dimethyl sulfoxide solvent. FT-IR spectral results of PS-sulfates indicated two characteristic absorption bands, one in the region 1230-1270 cm^{-1} characterizes for an asymmetric S=O stretching vibration and the other signal in the region 800-870 cm^{-1} characterizes for a symmetric C-O-S stretching vibration associated with a C-O-SO₃ group. The contents of sulfate in obtained derivatives were determined to be 34.64, 39.87 and 41.36% by barium chloride gelatine method of Dogson (1956). It is showed that the sulfation reaction had succeeded. The antioxidant capacity of PS-sulfates was better than*