

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



NGUYỄN THỊ THU

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT
TÍNH KHÁNG UNG THƯ *IN VITRO* CỦA LOÀI
NGHỆ ĐẮNG (*Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee),
HỌ GỪNG (*Zingiberaceae*)

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

MÃ SỐ: 9720206

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI, 2024

Công trình được hoàn thành tại:

- + Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu.
- + Khoa Hóa Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.
- + Trung tâm phổ Cộng hưởng từ hạt nhân, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).
- + Phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa Sinh biển, VAST.
- + Khoa Vi sinh học, Miễn dịch học và Glycobiology, Viện Xét nghiệm Y khoa, Đại học Lund, Thụy Điển.
- + Phòng Thử nghiệm Sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Đỗ Thị Hà

2. PGS.TS. Nguyễn Hoàng Tuấn

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Viện tổ chức tại Viện Dược liệu

Vào hồi giờ, ngày.... tháng.... năm...

Có thể tìm đọc luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Hà Nội
- Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, ung thư là một thách thức lớn với y học hiện đại, gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Năm 2022, có 20 triệu ca ung thư được chẩn đoán, với các loại phổ biến nhất là ung thư phổi, vú, đại trực tràng, tiền liệt tuyến và dạ dày. Ở Việt Nam, ung thư cũng là vấn đề nghiêm trọng với 180.480 ca mắc mới. Xu hướng tìm kiếm thuốc chống ung thư từ thảo dược đang phát triển, với khoảng 25% thuốc chống ung thư mới từ năm 1981 đến 2019 có nguồn gốc tự nhiên.

Nghệ đắng (*Curcuma zedoaroides*), được mô tả lần đầu tại Thái Lan năm 2008 và phát hiện tại Việt Nam năm 2017. Mặc dù chưa có nghiên cứu về hoạt tính kháng ung thư của loài này, nhưng các nghiên cứu về các loài khác thuộc chi *Curcuma* L. đã cho thấy tiềm năng kháng ung thư đáng kể. Do đó, để cung cấp cơ sở khoa học góp phần nâng cao giá trị của loài Nghệ đắng, luận án “**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của loài Nghệ đắng (*Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee), họ Gừng (*Zingiberaceae*)**” đã được thực hiện.

2. Mục tiêu và nội dung của luận án

2.1. Mục tiêu của luận án

- + Xác định được thành phần, hàm lượng của tinh dầu và một số thành phần trong cao chiết có hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của loài Nghệ đắng.
- + Sàng lọc được hoạt tính gây độc trên một số dòng tế bào ung thư *in vitro* của tinh dầu, cao chiết, chất phân lập để từ đó đánh giá ảnh hưởng của chất tiềm năng trên biểu hiện một số protein liên quan.

2.2. Nội dung của luận án

2.2.1. Nghiên cứu về thành phần hoá học

- + Chung cất tinh dầu và xác định thành phần hóa học của tinh dầu từ các bộ phận thân rễ, thân giả và lá cây Nghệ đắng.
- + Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ thân rễ và phần trên mặt đất cây Nghệ đắng.
- + Xác định một số thành phần bay hơi có trong cao *n*-hexan bằng phương pháp GC-MS.
- + Định lượng một số hợp chất chính và tiềm năng trong thân rễ và phần trên mặt đất cây Nghệ đắng.

2.2.2. Nghiên cứu về hoạt tính kháng ung thư

- + Đánh giá tác dụng gây độc tế bào *in vitro* trên một số dòng tế bào ung thư (A549, MCF-7, HepG2, HT-29, MB49, JB6-C141, K562, MDA-MB-231 và HL-60) của tinh dầu, cao chiết (cao toàn phần và cao phân đoạn) và một số hợp chất phân lập được từ Nghệ đắng.
- + Nghiên cứu trên một số đích phân tử (p53, p21, p38, pp38 và Bax) của các hợp chất tiềm năng.
- + Mô phỏng tương tác phân tử, nghiên cứu mối tương quan cấu trúc và hoạt tính kháng ung thư của hợp chất tiềm năng.

3. Những đóng góp mới của luận án

Các kết quả của luận án đều được công bố lần đầu tiên trong loài Nghệ đắng (*C. zedoaroides*).

3.1. Về thành phần hóa học

- + Đã xác định hàm lượng và các thành phần chính có trong tinh dầu của thân rễ (**EOR**), thân giả (**EOPS**) và lá (**EOL**) cây Nghệ đắng.
- + Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 14 hợp chất từ Nghệ đắng, bao gồm: Phaeocaulisin E (**R1**), (1*R*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoarondiol (**R2**), (1*S*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoarondiol (**R3**), isoprocurcumenol (**R4**), neoprocurcumenol (**R5**), procurcumenol (**R6**), 1-*epi*-procurcumenol (**R7**), aerugidiol (**R8**), curcumenol (**R9**), curcumenon (**R10**), curcuminol E (**R11**), zerumin A (**R12**), curdion (**AP1**) và β -sitosterol (**AP2**).
- + Đã xác định được các thành phần bay hơi trong cao *n*-hexan của thân rễ (**RH**) và phần trên mặt đất (**APH**) Nghệ đắng.
- + Hàm lượng (1*R*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoarondiol trong mẫu Nghệ đắng khảo sát dao động từ 0,017 – 0,071% và hàm lượng curdion đạt trong khoảng từ 0,322 – 0,502%.

3.2. Về hoạt tính kháng ung thư

- + Tinh dầu thân rễ (**EOR**, IC₅₀: 23,14 - 83,67 μ g/mL) và tinh dầu lá (**EOL**, IC₅₀: 43,88 - 81,32 μ g/mL) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* yếu.
- + Cao *n*-hexan thân rễ Nghệ đắng (**RH**, IC₅₀: 5,43 - 11,96 μ g/mL) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* mạnh nhất, trong khi, các cao EtOAc (**RE**, IC₅₀: 7,61 - 11,96 μ g/mL) và cao nước (**RW**, IC₅₀: 7,53 - 11,88 μ g/mL) thể hiện hoạt tính gần tương đương nhau. Ngược lại, cao *n*-hexan của phần trên mặt đất (**APH**, IC₅₀: 49,76 - 86,30 μ g/mL) có hoạt tính yếu hơn.

- + 10 hợp chất (**R1-R9**, **R11** và **R12**) đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* mạnh nhất trên dòng tế bào A549 (IC_{50} : 3,13 - 13,54 μ M). Ngoài ra, **R2** (IC_{50} : 3,64 - 11,91 μ M), **R8** (IC_{50} : 7,22 - 12,03 μ M) và **R11** (IC_{50} : 3,13 - 10,98 μ M) thể hiện hoạt tính mạnh hơn.
- + Hợp chất **R8** (aerugidiol, 0,3 - 1 μ M) làm tăng biểu hiện của các protein p53 và p21. Tác dụng trên p53 tăng theo nồng độ thử nghiệm. Ngoài ra, hợp chất này cũng thể hiện ái lực liên kết mạnh trên cả EGFR ($\Delta G = -7,209$ kcal/mol) và HER2 ($\Delta G = -8,613$ kcal/mol).

4. Ý nghĩa của luận án

- + Ý nghĩa khoa học: Các kết quả nghiên cứu của Luận án đã góp phần bổ sung thêm dữ liệu khoa học về thành phần hóa học và tác dụng kháng ung thư *in vitro* của cây Nghệ đắng, đồng thời làm cơ sở cho các nghiên cứu và ứng dụng của loài này trong tương lai.
- + Ý nghĩa thực tiễn: Làm cơ sở khoa học để phát triển nguồn nguyên liệu Nghệ đắng làm thuốc.

5. Bố cục của luận án

Luận án gồm 4 chương, 35 bảng, 48 hình, 277 tài liệu tham khảo, 8 phụ lục. Các phần chính trong luận án có 146 trang, gồm: Đặt vấn đề: 2 trang, Tổng quan: 41 trang, Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 20 trang; Kết quả nghiên cứu: 57 trang; Bàn luận: 24 trang; Kết luận và kiến nghị: 2 trang.

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Đã tổng hợp và trình bày có hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay về thực vật học, thành phần hóa học, tác dụng sinh học và công dụng của chi *Curcuma* L. và loài Nghệ đắng (*C. zedoaroides*) cũng như các thông tin sơ lược về ung thư (khái niệm, phân loại, cơ chế bệnh sinh, các protein liên quan đến ung thư và các mô hình nghiên cứu *in vitro*).

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu dùng trong nghiên cứu hóa học là thân rễ và phần trên mặt đất (lá và thân già) của cây Nghệ đắng được thu hái tại xã Minh Lập, huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên vào tháng 08 năm 2020. Mẫu nghiên cứu đã được ThS. Nguyễn Quỳnh Nga và ThS. Nguyễn Văn

Hiếu - Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu giám định tên khoa học là *Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee, họ Gừng (Zingiberaceae). Tiêu bản mẫu được lưu tại Phòng Tiêu bản - Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu (số hiệu mẫu DL-120820).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- + Tinh dầu trong dược liệu được định lượng bằng phương pháp cất kéo hơi nước theo Phụ lục 12.7 của Dược điển Việt Nam V.
- + Xác định thành phần của tinh dầu bằng GC-MS.
- + Chiết xuất cao toàn phần trong dược liệu bằng phương pháp chiết ngâm với ethanol 70% và chiết cao phân đoạn bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng.
- + Phân lập các chất bằng sắc ký cột, theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng. Phát hiện chất bằng cách phun dung dịch H₂SO₄ 10% trong ethanol 96% và hơ nóng, soi dưới đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm.
- + Xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên các phương pháp phổ: phổ khối lượng (ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và phổ CD, kết hợp so sánh tài liệu tham khảo.
- + Xác định các thành phần bay hơi trong cao *n*-hexan bằng GC-MS.
- + Định lượng một số hợp chất trong thân rễ và phần trên mặt đất bằng phương pháp HPLC-DAD.
- + Sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* bằng phương pháp MTT và SRB.
- + Nghiên cứu trên biểu hiện của một số đích phân tử của các chất tiềm năng bằng phương pháp Western blot.
- + Nghiên cứu mối tương quan giữa cấu trúc và hoạt tính kháng ung thư bằng phương pháp docking phân tử.
- + Số liệu định lượng được trình bày dưới dạng $M \pm SD$ (M: giá trị trung bình từng lô; SD: độ lệch chuẩn). Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 5 và TableCurve 2Dv4. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phân tích phương sai một chiều (one way ANOVA). Sự khác biệt giữa các lô đánh giá được coi là có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THU *IN VITRO* CỦA TINH DẦU

3.1.1. Kết quả xác định hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu

3.1.1.1. Kết quả xác định hàm lượng của tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu trong thân rễ, lá và thân giả lần lượt là $0,84 \pm 0,02$, $0,38 \pm 0,01$ và $0,10 \pm 0,00\%$.

3.1.1.2. Kết quả xác định thành phần hóa học của tinh dầu

Thành phần hóa học của tinh dầu từ các bộ phận của Nghệ đắng được trình bày trong **Bảng 3.2**:

Bảng 3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu từ các bộ phận của Nghệ đắng

STT	RT	Tên chất	CTPT	RI ^a	RI ^b	Hàm lượng (%)		
						EOR	EOL	EOPS
1	5,279	Tricyclen	C ₁₀ H ₁₆	927	925	-	0,11	-
2	5,547	α -Pinen	C ₁₀ H ₁₆	939	937	1,45	0,78	0,07
3	5,903	Camphen	C ₁₀ H ₁₆	955	952	0,97	2,87	0,30
4	6,509	Sabinen	C ₁₀ H ₁₆	978	974	-	0,17	-
5	6,612	β -Pinen	C ₁₀ H ₁₆	981	979	3,71	1,21	0,27
6	6,927	β -Myrcen	C ₁₀ H ₁₆	992	991	-	0,44	0,06
7	7,899	<i>p</i> -Cymenten	C ₁₀ H ₁₄	1028	1025	0,22	0,06	-
8	8,025	Limonen	C ₁₀ H ₁₆	1033	1030	0,34	1,30	0,16
9	8,106	1,8-Cineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1036	1032	0,32	8,88	0,77
10	9,834	Terpinolen	C ₁₀ H ₁₆	1091	1088	-	0,05	-
11	10,176	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	1100	1099	0,49	1,80	0,52
12	11,458	<i>trans</i> -Pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	1143	1139	0,43	-	-
13	11,653	Camphor	C₁₀H₁₆O	1149	1145	3,99	7,06	3,41
14	11,773	Camphen hydrat	C ₁₀ H ₁₈ O	1153	1148	0,31	0,51	0,27
15	12,048	Isoborneol	C₁₀H₁₈O	1161	1157	2,84	4,75	2,39
16	12,248	Pinocarvon	C ₁₀ H ₁₄ O	1167	1164	0,24	-	-
17	12,334	<i>endo</i> -Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	1170	1167	0,81	3,07	1,71
18	12,717	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	1180	1177	0,15	0,20	0,06
19	12,900	Myrtanal	C ₁₀ H ₁₆ O	1186	1188	0,10	-	-
20	13,152	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1192	1189	0,23	0,76	0,29
21	13,350	Myrtenal	C ₁₀ H ₁₄ O	1198	1193	0,95	-	-
22	17,976	δ -Elemen	C ₁₅ H ₂₄	1341	1338	-	0,36	0,92
23	19,504	β -Bourbonen	C ₁₅ H ₂₄	1388	1384	-	0,43	-
24	19,738	β-Elemen	C₁₅H₂₄	1394	1391	2,43	3,41	6,77
25	20,596	Caryophyllen	C ₁₅ H ₂₄	1423	1419	0,53	0,89	1,98

26	20,877	β -Copaen	C ₁₅ H ₂₄	1432	1432	-	0,10	0,22
27	21,014	γ -Elemen	C ₁₅ H ₂₄	1437	1433	0,51	2,22	3,55
28	21,077	<i>trans</i> - α -Bergamoten	C ₁₅ H ₂₄	1439	1435	-	-	1,56
29	21,323	Guaia-6,9-dien	C ₁₅ H ₂₄	1447	1443	0,83	-	-
30	21,649	Humulen	C₁₅H₂₄	1458	1454	3,47	2,47	6,37
31	21,873	Alloaromadendren	C ₁₅ H ₂₄	1465	1461	-	-	0,06
32	22,319	γ -Muurolen	C ₁₅ H ₂₄	1480	1477	0,42	0,10	0,19
33	22,479	Germacren D	C ₁₅ H ₂₄	1484	1481	-	0,64	1,95
34	22,645	β -Eudesmen	C ₁₅ H ₂₄	1489	1486	1,19	0,21	0,36
35	22,914- 22,971	Curzeren	C ₁₅ H ₂₀ O	1498	1498	1,29	5,20	11,72
36	23,051	α -Selinen	C ₁₅ H ₂₄	1502	1494	0,22	-	-
37	23,292	β -Bisabolen	C ₁₅ H ₂₄	1511	1509	-	-	0,98
38	23,504	Cubebol	C ₁₅ H ₂₆ O	1518	1515	0,16	0,29	0,40
39	23,743	δ -Cadinen	C ₁₅ H ₂₄	1527	1524	0,45	0,44	0,77
40	24,488	Elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	1553	1549	-	0,12	0,17
41	24,745	Germacren B	C ₁₅ H ₂₄	1561	1557	0,57	0,20	0,28
42	24,888	3,7,11-trimethyl-6,10-dodecadien-1-yn-3-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	1566	1562	-	-	0,08
43	25,506	Caryophyllen oxid	C ₁₅ H ₂₄ O	1587	1581	1,02	0,51	0,51
44	25,620	<i>epi</i> -Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	1591	1585	0,34	0,40	0,56
45	25,838	Viridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	1597	1591	0,66	-	0,46
46	25,979	<i>cis</i> - β -Elemenon	C ₁₅ H ₂₂ O	1603	1593	-	1,88	3,81
47	26,124	<i>trans</i>-β-Elemenon	C₁₅H₂₂O	1608	1606	5,47	6,65	10,64
48	26,256	Humulen epoxid II	C ₁₅ H ₂₄ O	1613	1608	-	1,06	1,65
49	26,273	Widdrol	C ₁₅ H ₂₆ O	1614	1610	8,03	-	-
50	26,485	(<i>E</i>)-Farnesen epoxid	C ₁₅ H ₂₄ O	1621	1624	-	6,44	6,71
51	26,810	13-nor-Eremophil-1(10)-en-11-on	C ₁₄ H ₂₂ O	1633	1629	3,73	1,38	1,99

52	26,908	Caryophylladienol II	C ₁₅ H ₂₄ O	1637	1637	1,60	-	-
53	27,120	τ-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	1645	1640	-	0,51	0,56
54	27,400- 27,401	β-Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	1655	1653	0,71	-	0,27
55	27,520	Pogostol	C ₁₅ H ₂₆ O	1659	1660	1,22	-	0,95
56	27,892	Epi-β-bisabolol	C ₁₅ H ₂₄ O	1672	1670	-	0,70	-
57	27,989	Isolongifolol, methyl ether	C ₁₆ H ₂₈ O	1676	1672	2,25	0,22	-
58	28,213	α-Santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	1683	1681	-	1,94	1,00
59	28,453	Nerolidyl acetat	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	1692	1687	-	0,34	-
60	28,653	Germacron	C ₁₅ H ₂₂ O	1697	1693	1,67	1,95	2,83
61	29,008	β-Nootkatol	C ₁₅ H ₂₄ O	1712	1712	0,58	-	0,28
62	29,317	Curdion	C₁₅H₂₄O₂	1724	1726	27,45	14,05	9,79
63	31,223	Furanodienon	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	1796	1793	-	1,97	1,75
64	31,405	Ambrial	C ₁₆ H ₂₆ O	1803	1809	4,75	-	-
65	32,412	Curcumenon	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1844	1844	0,35	0,22	-
66	32,739	Isolongifolol acetat	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	1856	1850	0,26	-	-
67	35,983	(E)-15,16-Dinorlabda-8(17),11-dien-13-on	C ₁₈ H ₂₈ O	1988	1994	1,05	-	-
Tổng						90,76	91,32	92,37
Monoterpen hydrocarbon						6,69	6,99	0,86
Monoterpen oxy hóa						10,86	27,03	9,42
Sesquiterpen hydrocarbon						10,62	11,47	25,96
Sesquiterpen oxy hóa						61,54	45,83	56,13
Norditerpenoid						1,05	-	-

Ghi chú: RT: Thời gian lưu (phút); CTPT: Công thức phân tử; R^a: Chỉ số lưu giữ thực nghiệm; R^b: Chỉ số lưu giữ theo tài liệu tham khảo (ngân hàng dữ liệu NIST17 và sách Adams) [193]; EOR: Tinh dầu thân rễ; EOL: Tinh dầu lá; EOPS: Tinh dầu thân giả; Các thành phần chính được in đậm.

3.1.2. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của tinh dầu

Bảng 3.3. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của tinh dầu Nghệ đắng

Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)						
	A549	MCF-7	HepG2	MDA-MB-231	HT-29	K562	HL-60
EOR	75,16 ± 2,79	77,08 ± 1,98	81,35 ± 1,55	73,35 ± 2,20	83,67 ± 2,26	23,14 ± 1,43	32,74 ± 1,95
EOL	81,32 ± 4,76	43,88 ± 1,14	76,65 ± 5,21	64,04 ± 1,54	60,90 ± 4,05	56,23 ± 3,71	59,79 ± 2,62
Ellipticin	0,32 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,36 ± 0,02	0,39 ± 0,04	0,32 ± 0,02	0,34 ± 0,02

Ghi chú: EOR: Tinh dầu thân rễ; EOL: Tinh dầu lá

3.2. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC THEO ĐỊNH HƯỚNG KHÁNG UNG THƯ *IN VITRO* CỦA CAO CHIẾT

3.2.1. Kết quả chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn của cao toàn phần

3.2.1.1. Kết quả chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn của cao toàn phần từ thân rễ

Bằng phương pháp chiết ngâm với EtOH 70%, từ 10,0 kg thân rễ khô Nghệ đắng thu được 1,7 kg cao toàn phần và bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng thu được 325,6 g cao *n*-hexan (RH), 500,6 g cao EtOAc (RE) và 709,6 g cồn nước (RW) từ cao toàn phần.

3.2.1.2. Kết quả chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn của cao toàn phần từ phần trên mặt đất

Áp dụng phương pháp tương tự như mục 3.2.1.1 đối với 4,0 kg dược liệu phần trên mặt đất khô của cây Nghệ đắng được thu được cao toàn phần EtOH 70% (APT, 360,0 g) và các cao phân đoạn của cao toàn phần, bao gồm cao *n*-hexan (APH, 80,6 g), EtOAc (APE, 100,1 g) và cao nước (APW, 150,0 g).

3.2.2. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của cao chiết

3.2.2.1. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết từ thân rễ

Bảng 3.4. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết từ thân rễ Nghệ đắng

Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)							
	A549	MCF-7	HepG2	MDA-MB-231	HT-29	K562	MB49	JB6-C141
RT	24,38 ± 2,19	19,08 ± 2,16	34,30 ± 1,95	25,78 ± 1,08	31,38 ± 3,18	20,32 ± 2,65	21,57 ± 1,93	26,86 ± 2,28
RH	7,00 ± 0,69	5,43 ± 0,67	8,88 ± 1,53	7,16 ± 1,26	8,18 ± 1,03	5,89 ± 0,68	6,07 ± 1,47	7,23 ± 1,38
RE	9,52 ± 1,56	7,61 ± 1,55	11,96 ± 2,39	9,81 ± 1,74	11,25 ± 1,51	8,16 ± 0,93	8,46 ± 2,34	10,05 ± 1,16
RW	9,44 ± 0,16	7,53 ± 0,87	11,88 ± 1,61	9,73 ± 1,19	11,16 ± 1,09	8,08 ± 1,26	8,38 ± 1,62	9,97 ± 1,05
Doxorubicin	0,0429 ± 0,0026	4,28 ± 1,03	0,13 ± 0,04	3,57 ± 0,96	7,51 ± 0,45	2,65 ± 0,51	0,57 ± 0,13	0,93 ± 0,19

Ghi chú: RT: Cao toàn phần EtOH 70% của thân rễ; RH: Cao n-hexan của thân rễ; RE: Cao EtOAc của thân rễ; RW: Cao nước của thân rễ.

3.2.2.2. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết từ phần trên mặt đất

Bảng 3.5. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết từ phần trên mặt đất Nghệ đắng

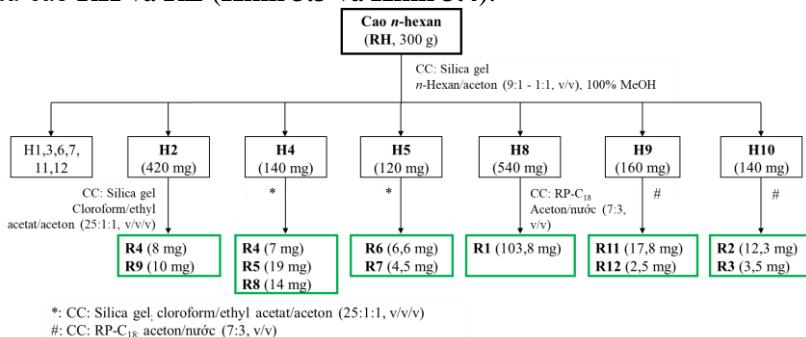
Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)						
	A549	MCF-7	HepG2	MDA-MB-231	HT-29	K562	HL-60
APT	> 100	68,41 ± 5,24	> 100	84,89 ± 4,57	79,02 ± 3,11	> 100	> 100
APH	86,30 ± 5,49	54,71 ± 4,45	65,09 ± 4,01	60,12 ± 5,21	49,76 ± 2,35	53,42 ± 2,28	65,14 ± 2,68
APE	> 100	> 100	78,94 ± 4,13	> 100	76,75 ± 4,95	> 100	> 100
APW	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
Ellipticin	0,37 ± 0,03	0,44 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,45 ± 0,02	0,40 ± 0,02	0,37 ± 0,02

Ghi chú: APH: Cao *n*-hexan của phần trên mặt đất; APE: Cao EtOAc của phần trên mặt đất; APW: Cao nước của phần trên mặt đất.

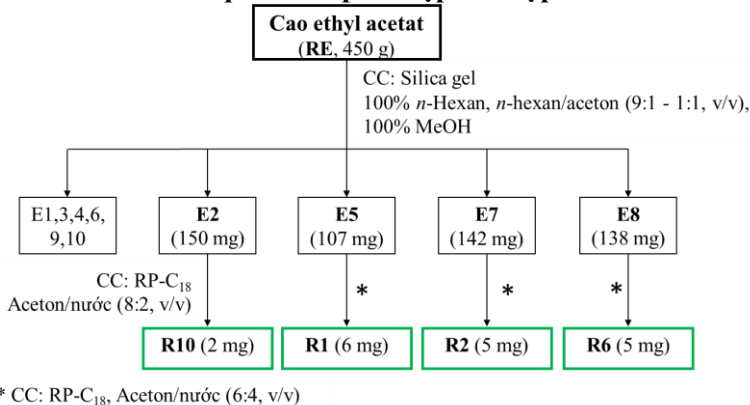
3.2.3. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất

3.2.3.1. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất từ thân rễ

Bằng các phương pháp sắc ký cột, đã phân lập được 12 hợp chất từ cao RH và RE (Hình 3.3 và Hình 3.4).



Hình 3.3. Tóm tắt quá trình phân lập các hợp chất từ cao RH



Hình 3.4. Tóm tắt quá trình phân lập các hợp chất từ cao RE

Hợp chất R1 (phaeocaulisin E): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_D^{20} +27$ (c 0,1, MeOH); CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 253 (+18,8) và 322 (-5,3) nm; ESI-MS: m/z 251,30 [M-H]⁻. Phổ ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H (ppm): 1,70 (1H, m, H-1), 1,82 (1H, m, H-2), 1,62 (1H, m, H-2), 1,75 (1H, m, H-3), 1,61 (1H, m, H-3), 1,58 (1H, m, H-5), 2,83 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-6), 1,98 (1H, m, H-6), 2,92 (1H, d, $J = 12,0$ Hz,

H-9), 2,50 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-9), 1,79 (3H, br s, H-12), 1,86 (3H, br s, H-13), 1,16 (3H, s, H-14), 1,26 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 54,5 (C-1), 21,2 (C-2), 39,8 (C-3), 80,1 (C-4), 50,1 (C-5), 27,8 (C-6), 135,6 (C-7), 205,0 (C-8), 57,1 (C-9), 71,1 (C-10), 139,4 (C-11), 21,8 (C-12), 22,6 (C-13), 21,9 (C-14), 29,9 (C-15).

Hợp chất R2 ((1R,4S,5S,10R)-zedoarondiol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -40 (c 0,5, MeOH); CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 325 (-11,2) nm; ESI-MS: m/z 251,35 $[\text{M-H}]^-$. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 1,97 (1H, m, H-1), 1,74 (1H, m, H-2), 1,67 (1H, m, H-2), 1,80 (1H, m, H-3), 1,67 (1H, m, H-3), 1,38 (1H, m, H-5), 2,82 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-6), 1,98 (1H, m, H-6), 2,95 (1H, d, $J = 12,6$ Hz, H-9), 2,59 (1H, d, $J = 12,6$ Hz, H-9), 1,83 (3H, br s, H-12), 1,93 (3H, s, H-13), 1,21 (3H, br s, H-14), 1,19 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 56,0 (C-1), 21,9 (C-2), 39,8 (C-3), 80,0 (C-4), 52,0 (C-5), 28,5 (C-6), 134,7 (C-7), 202,9 (C-8), 59,9 (C-9), 72,8 (C-10), 142,2 (C-11), 22,2 (C-12), 22,9 (C-13), 22,7 (C-14), 20,6 (C-15),

Hợp chất R3 ((1S,4S,5S,10R)-zedoarondiol): Chất rắn màu vàng nhạt; CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 255 (-21,9) và 315 (-8,8) nm; ESI-MS: m/z 251,35 $[\text{M-H}]^-$. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 2,84 (1H, m, H-1), 1,95 (1H, m, H-2), 1,55 (1H, m, H-2), 1,80 (3H, m, H-3, H-6), 1,95 (1H, m, H-5), 2,52 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-6), 3,22 (1H, d, $J = 16,2$ Hz, H-9), 2,42 (1H, d, $J = 16,2$ Hz, H-9), 1,87 (3H, s, H-12), 2,02 (3H, s, H-13), 1,43 (3H, s, H-14), 1,23 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 51,8 (C-1), 25,2 (C-2), 37,1 (C-3), 82,5 (C-4), 53,4 (C-5), 27,5 (C-6), 134,0 (C-7), 203,0 (C-8), 50,2 (C-9), 73,2 (C-10), 143,8 (C-11), 22,1 (C-12), 22,9 (C-13), 25,0 (C-14), 32,2 (C-15).

Hợp chất R4 (isoprocurementol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -60 (c 0,2, MeOH); ESI-MS: m/z 235,30 $[\text{M+H}]^+$, 233,30 $[\text{M-H}]^-$. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 2,19 (1H, m, H-1), 1,84 (3H, m, H-2, H-3), 1,70 (1H, m, H-2), 1,44 (1H, ddd, $J = 1,2; 12,6; 13,2$ Hz, H-5), 2,81 (1H, dd, $J = 1,2; 14,4$ Hz, H-6), 2,00 (1H, t, $J = 13,2$ Hz, H-6), 3,31 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-9), 3,23 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-9), 1,82 (3H, s, H-12), 1,92 (3H, s, H-13), 1,24 (3H, s, H-14), 4,91 (1H, s, H-15), 4,90 (1H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz,

CDCl_3) δ_{C} (ppm): 51,1 (C-1), 24,7 (C-2), 39,8 (C-3), 79,8 (C-4), 58,8 (C-5), 28,1 (C-6), 134,5 (C-7), 203,3 (C-8), 53,8 (C-9), 141,6 (C-10), 143,9 (C-11), 21,8 (C-12), 22,8 (C-13), 24,3 (C-14), 111,5 (C-15).

Hợp chất R5 (neoprocumencenol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +87$ (*c* 0,2, MeOH); CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 254 (+9,5) nm; ESI-MS: m/z 235,25 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 233,25 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 2,34 (1H, m, H-2), 2,24 (1H, m, H-2), 1,77 (1H, m, H-3), 1,68 (1H, m, H-3), 2,30 (1H, m, H-5), 2,76 (1H, d, $J = 14,4$, Hz, H-6), 2,24 (1H, m, H-6), 3,46 (1H, m, H-9), 2,93 (1H, d, $J = 15,0$ Hz, H-9), 1,81 (3H, s, H-12), 1,90 (3H, s, H-13), 1,14 (3H, s, H-14), 1,66 (3H, s, H-15). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 122,3 (C-1), 27,7 (C-2), 39,0 (C-3), 80,2 (C-4), 54,0 (C-5), 28,1 (C-6), 135,2 (C-7), 204,1 (C-8), 51,0 (C-9), 137,1 (C-10), 138,5 (C-11), 21,8 (C-12), 22,7 (C-13), 21,7 (C-14), 21,3 (C-15).

Hợp chất R6 (procumencenol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +60$ (*c* 0,2, MeOH); CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 221 (-22,0), 242 (-40,7), 280 (+24,4) và 335 (+15,6) nm; ESI-MS: m/z 235,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 2,37 (1H, m, H-1), 2,59 (1H, m, H-2), 2,18 (1H, m, H-2), 1,76 (2H, m, H-3), 1,91 (1H, m, H-5), 1,95 (1H, m, H-6), 1,65 (1H, m, H-6), 5,87 (1H, br s, H-9), 1,75 (3H, s, H-12), 1,77 (3H, s, H-13), 1,24 (3H, s, H-14), 1,88 (3H, s, H-15). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 50,5 (C-1), 28,6 (C-2), 39,9 (C-3), 80,3 (C-4), 53,9 (C-5), 26,9 (C-6), 136,3 (C-7), 199,1 (C-8), 129,2 (C-9), 155,0 (C-10), 136,7 (C-11), 21,2 (C-12), 22,4 (C-13), 24,3 (C-14), 23,3 (C-15).

Hợp chất R7 (1-*epi*-procumencenol): Dạng chất rắn màu vàng nhạt; ESI-MS: m/z 235,25 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 3,24 (1H, dd, $J = 7,2$; 15,0 Hz, H-1), 2,21 (1H, m, H-2), 1,70 (1H, m, H-2), 1,75 (2H, m, H-3), 2,02 (1H, dd, $J = 2,4$; 7,2 Hz, H-5), 2,60 (1H, dd, $J = 2,4$; 13,2 Hz, H-6), 1,95 (1H, m, H-6), 5,93 (1H, s, H-9), 1,84 (3H, s, H-12), 1,96 (3H, s, H-13), 1,38 (3H, s, H-14), 1,94 (3H, s, H-15). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 46,3 (C-1), 28,4 (C-2), 38,1 (C-3), 81,9 (C-4), 54,5 (C-5), 26,6 (C-6), 134,4 (C-7), 196,2 (C-8), 129,0 (C-9), 154,9 (C-10), 140,8 (C-11), 21,6 (C-12), 22,7 (C-13), 24,8 (C-14), 26,5 (C-15).

Hợp chất R8 (aerugidiol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -17,8$ (*c* 0,1, MeOH); ESI-MS: m/z 249,30 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz,

CDCl_3 δ_{H} (ppm): 2,66 (1H, d, $J = 14,4$ Hz, H-2), 1,95 (1H, m, H-2), 2,24 (1H, m, H-3), 2,16 (1H, m, H-3), 2,05 (1H, m, H-5), 2,00 (1H, m, H-6), 1,80 (1H, m, H-6), 5,87 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-9), 2,02 (3H, s, H-12), 1,88 (3H, s, H-13), 1,44 (3H, s, H-14), 2,01 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 87,0 (C-1), 27,7 (C-2), 37,9 (C-3), 83,7 (C-4), 61,7 (C-5), 37,6 (C-6), 133,3 (C-7), 194,4 (C-8), 128,7 (C-9), 151,5 (C-10), 143,5 (C-11), 23,1 (C-12), 22,4 (C-13), 24,7 (C-14), 22,5 (C-15).

Hợp chất R9 (curcumenol): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +360$ (c 0,1, MeOH); CD (MeOH) λ_{max} (mdeg) 217 (+155,5) và 264 (+9,1) nm; ESI-MS: m/z 235,25 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 233,35 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 1,97 (1H, m, H-1), 1,95 (1H, m, H-2), 1,55 (1H, m, H-2), 1,90 (2H, m, H-3, H-4), 1,65 (1H, m, H-3), 2,65 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-6), 2,10 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-6), 5,76 (1H, s, H-9), 1,81 (3H, s, H-12), 1,59 (3H, s, H-13), 1,02 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-14), 1,66 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 51,3 (C-1), 27,6 (C-2), 31,2 (C-3), 40,4 (C-4), 85,7 (C-5), 37,2 (C-6), 121,6 (C-7), 101,5 (C-8), 125,6 (C-9), 139,2 (C-10), 137,3 (C-11), 18,9 (C-12), 22,3 (C-13), 11,8 (C-14), 20,9 (C-5).

Hợp chất R10 (curcumenon): Dầu màu vàng nhạt. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 0,44 (1H, dt, $J = 4,8; 7,2$ Hz, H-1), 1,61 (2H, m, H-2), 2,47 (2H, t, $J = 7,8$ Hz, H-3), 0,67 (1H, q, $J = 4,8$ Hz, H-5), 2,81 (2H, br s, H-6), 2,55 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-9), 2,51 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-9), 2,09 (3H, s, H-12), 1,79 (3H, s, H-13), 2,13 (3H, s, H-14), 1,12 (3H, s, H-15). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 24,2 (C-1), 23,5 (C-2), 43,9 (C-3), 208,8 (C-4), 24,2 (C-5), 28,0 (C-6), 128,1 (C-7), 201,7 (C-8), 49,0 (C-9), 20,1 (C-10), 147,4 (C-11), 23,4 (C-12, C-13), 30,0 (C-14), 19,1 (C-15).

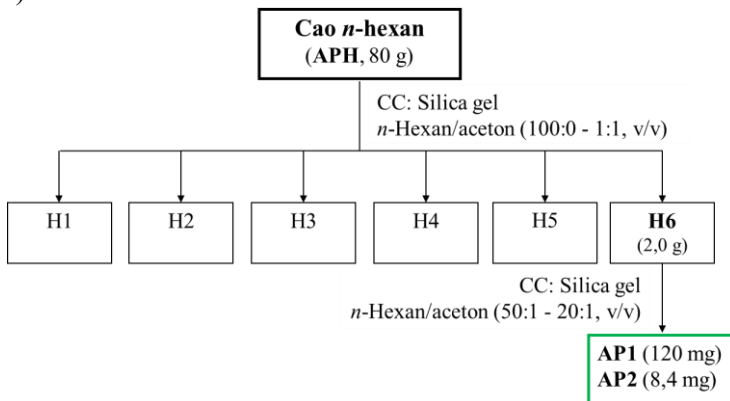
Hợp chất R11 (curcuminol E): Dạng dầu màu vàng nhạt; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18,4$ (c 0,1, MeOH); ESI-MS: m/z 289,30 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 1,72 (1H, m, H-1), 1,08 (1H, m, H-1), 1,56 (1H, m, H-2), 1,50 (1H, m, H-2), 1,40 (1H, m, H-3), 1,18 (1H, m, H-3), 1,10 (1H, m, H-5), 1,72 (1H, m, H-6), 1,33 (1H, m, H-6), 2,38 (1H, m, H-7), 1,98 (1H, m, H-7), 1,72 (1H, m, H-9), 2,22 (1H, m, H-11), 2,14 (1H, m, H-11), 4,77 (1H, t, $J = 5,4$ Hz, H-13), 4,15 (1H, t, $J = 12,6$ Hz, H-14), 3,67 (1H, d, $J = 5,4$ Hz, H-14), 5,48 (1H, s, H-15), 4,83 (1H, br s, H-16), 4,44 (1H, br s, H-16), 0,88 (3H, s, H-17), 0,81

(3H, s, H-18), 0,71 (3H, s, H-19). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 39,2 (C-1), 19,3 (C-2), 42,1 (C-3), 33,6 (C-4), 55,4 (C-5), 24,2 (C-6), 38,1 (C-7), 148,2 (C-8), 57,2 (C-9), 39,6 (C-10), 22,3 (C-11), 136,2 (C-12), 70,9 (C-13), 65,5 (C-14), 133,8 (C-15), 107,7 (C-16), 33,6 (C-17), 21,7 (C-18), 14,5 (C-19).

Hợp chất R12 (zerumin A): Dạng dầu màu vàng nhạt; ESI-MS: m/z 317,35 [M-H] $^-$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 1,72 (1H, m, H-1), 1,08 (1H, ddd, $J = 3,6; 12,6; 16,2$, Hz, H-1), 1,59 (1H, m, H-2), 1,51 (1H, m, H-2), 1,42 (1H, m, H-3), 1,19 (1H, ddd, $J = 4,2; 13,6; 17,4$ Hz, H-3), 1,14 (1H, dd, $J = 3,0; 12,6$ Hz, H-5), 1,75 (1H, m, H-6), 1,36 (1H, m, H-6), 2,41 (1H, m, H-7), 2,02 (1H, ddd, $J = 4,8; 13,2; 19,2$ Hz, H-7), 1,92 (1H, br d, $J = 10,8$ Hz, H-9), 2,58 (1H, m, H-11), 2,42 (1H, m, H-11), 6,67 (1H, t, $J = 6,6$ Hz, H-12), 3,33 (2H, d, $J = 16,2$ Hz, H-14), 9,35 (1H, s, H-16), 4,85 (1H, br s, H-17), 4,39 (1H, br s, H-17), 0,89 (3H, s, H-18), 0,83 (3H, s, H-19), 0,75 (3H, s, H-20). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 39,2 (C-1), 19,3 (C-2), 42,0 (C-3), 33,6 (C-4), 55,4 (C-5), 24,1 (C-6), 37,9 (C-7), 148,1 (C-8), 56,5 (C-9), 39,6 (C-10), 24,6 (C-11), 159,5 (C-12), 136,1 (C-13), 30,0 (C-14), 174,3 (C-15), 194,1 (C-16), 107,9 (C-17), 33,6 (C-18), 21,7 (C-19), 14,4 (C-20).

3.2.3.2. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất từ phần trên mặt đất

Bằng các phương pháp sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng đã phân lập được 2 hợp chất **AP1** (120 mg) và **AP2** (8,4 mg) từ cao **APH** (Hình 3.17).



Hình 3.17. Tóm tắt quá trình phân lập các hợp chất từ cao **APH**

Hợp chất AP1 (curdion): Chất rắn màu vàng nhạt; $[\alpha]_D^{20} +25,5$ (*c* 2,0, CHCl₃); CD (MeOH) λ_{\max} (mdeg) 225 (+53,8), 280 (-4,2) và 317 (+17,8) nm; ESI-MS: $m/z = 237,45$ [M+H]⁺. Phổ ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H (ppm): 5,10 (1H, br s, H-1), 2,08-2,16 (3H, m, H-2, H-3), 1,57 (1H, m, H-3), 2,34 (1H, m, H-4), 2,39 (1H, dd, $J = 2,4$; 16,8 Hz, H-6), 2,70 (1H, m, H-6), 2,85 (1H, ddd, $J = 1,8$; 9,0; 9,0 Hz, H-7), 2,93 (1H, d, $J = 10,8$ Hz, H-9), 3,06 (1H, d, $J = 10,8$ Hz, H-9), 1,88 (1H, m, H-11), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-12), 0,88 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-13), 0,98 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, H-14), 1,66 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C (ppm): 131,6 (C-1), 26,4 (C-2), 34,1 (C-3), 46,8 (C-4), 214,4 (C-5), 44,2 (C-6), 53,6 (C-7), 211,1 (C-8), 55,9 (C-9), 129,9 (C-10), 30,0 (C-11), 19,9 (C-12), 21,1 (C-13), 18,5 (C-14), 16,6 (C-15),

Hợp chất AP2 (sitosterol): Bột màu trắng; ESI-MS: m/z 413,0 [M-H]⁻. Phổ ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H (ppm): 3,52 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, m, H-6), 0,68 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-21), 0,81 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-26), 0,83 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-27), 0,85 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, H-29). Phổ ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C (ppm): 37,3 (C-1), 31,9 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,7 (C-7), 31,9 (C-8), 50,2 (C-9), 36,2 (C-10), 21,1 (C-11), 39,8 (C-12), 42,3 (C-13), 56,8 (C-14), 24,3 (C-15), 28,3 (C-16), 56,1 (C-17), 12,0 (C-18), 19,4 (C-19), 36,5 (C-20), 19,0 (C-21), 34,0 (C-22), 26,1 (C-23), 45,9 (C-24), 29,2 (C-25), 19,8 (C-26), 18,8 (C-27), 23,1 (C-28), 11,9 (C-29).

3.2.4. Kết quả xác định các thành phần dễ bay hơi trong cao chiết bằng GC-MS

Kết quả xác định các thành phần dễ bay hơi trong cao chiết RH và APH bằng GC-MS được chỉ ra ở Bảng 3.21:

Bảng 3.21. Các thành phần dễ bay hơi có trong cao cao chiết RH, RE và APH

STT	RT	Tên chất	CTPT	RI ^a	RI ^b	Hàm lượng (%)		Phương pháp
						RH	APH	
1	8,966-8,987	Isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	1164	1157	-	1,71	MS, RI
2	9,184	<i>endo</i> -Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	1172	1167	-	2,29	MS, RI
3	17,133	Humulen epoxid II	C ₁₅ H ₂₄ O	1614	1608	3,23	2,00	MS, RI
4	17,357	Không xác định	-	1630	-	-	14,59	-
5	17,493	Isospathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	1640	1638	-	2,67	MS, RI
6	17,900	Guai-1(10)-en-11-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	1668	1667	-	1,58	MS, RI
7	18,246	Không xác định	-	1691	-	-	1,79	-
8	18,369	Không xác định	-	1700	-	-	0,84	-
9	18,783- 18,796	Curdion	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	1731	1726	35,21	41,12	MS, RI
10	18,905	Curcumenol	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	1740	1735	3,41	-	MS, RI, Co
11	19,278	Neocurdion	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	1768	1762	-	1,13	MS, RI
12	19,727	Zedoarondiol	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	1801	-	2,46	-	MS, Co
13	19,937	Ambrial	C ₁₆ H ₂₆ O	1803	1809	6,65	-	MS, RI
14	20,052	Không xác định	-	1826	-	-	1,29	-
15	20,242	Neophytadien	C ₂₀ H ₃₈	1841	1837	-	1,91	MS, RI
16	20,358- 20,371	Curcumenon	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1851	1844	5,46	9,93	MS, RI
17	20,487	Không xác định	-	1860	-	-	10,09	-
18	20,636- 20,692	Isoprocurcumenol	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1872	-	1,67	2,89	MS, Co
19	21,872	Phaeocaulisin E	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	1971	-	1,93	-	MS, Co

20	22,109- 22,096	Procurcumenol	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1990	-	5,78	-	MS, Co
21	22,259	(E)-15,16-Dinorlabda-8(17),11-dien-13-on	C ₁₈ H ₂₈ O	1988	1994	4,42	-	MS, RI
22	22,354	1- <i>epi</i> -Procurcumenol	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	2011	-	2,62	-	MS, Co
23	22,795	Isozedoarondiol	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	2049	-	2,45	-	MS, Co
24	23,019	(13S)-Labda-8(20),14-dien-13-ol	C ₂₀ H ₃₄ O	2068	2056	1,17	-	MS, RI
25	23,413	Aerugidiol	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	2101	-	2,52	-	MS, Co
26	23,569	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	2115	2114	-	4,15	MS, RI
27	25,864	Methyl copalat	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	2319	2319	0,98	-	MS, RI
28	26,631- 26,637	(E)-Labda-8(17),12-dien-15,16-dial	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	2378	2383	6,33	-	MS, RI
		Tổng				86,29	99,98	

Ghi chú: RT: Thời gian lưu (phút); CTPT: Công thức phân tử; RI^a: Chỉ số lưu giữ thực nghiệm; RI^b: Chỉ số lưu giữ theo tài liệu tham khảo (ngân hàng dữ liệu NIST17 và sách Adams) [193]; MS: Phổ khối; Co: Tiềm đồng thời với các chất chuẩn; Các thành phần chính được in đậm; RH: Cao n-hexan của thân rễ; RE: Cao ethyl acetat của thân rễ; APH: Cao n-hexan của phần trên mặt đất.

3.3. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG UNG THƯ *IN VITRO* VÀ *IN SILICO* CỦA CÁC HỢP CHẤT

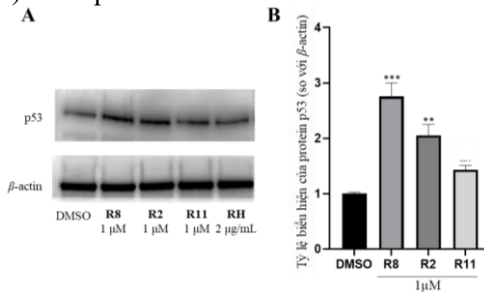
3.3.1. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các hợp chất

Bảng 3.22. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các hợp chất phân lập từ thân rễ Nghệ đắng

Hợp chất	IC ₅₀ (μM)				
	A549	MCF-7	HepG2	MDA-MB-231	HL-60
R1	4,79 ± 0,81	9,85 ± 1,02	18,35 ± 2,32	10,15 ± 1,43	9,55 ± 0,72
R2	3,64 ± 0,66	7,34 ± 0,94	11,91 ± 1,92	7,51 ± 1,35	7,35 ± 0,61
R3	4,21 ± 0,93	9,19 ± 0,79	14,76 ± 1,58	9,40 ± 1,21	9,20 ± 0,56
R4	3,81 ± 0,65	8,13 ± 0,93	13,74 ± 1,81	8,34 ± 1,14	8,15 ± 0,72
R5	7,29 ± 1,02	13,83 ± 2,23	20,68 ± 3,18	14,14 ± 1,46	13,96 ± 1,26
R6	5,82 ± 0,91	14,66 ± 2,43	26,46 ± 3,34	15,08 ± 1,58	14,70 ± 1,61
R7	13,54 ± 2,07	17,08 ± 0,93	30,10 ± 1,45	17,55 ± 2,46	17,14 ± 1,65
R8	8,99 ± 1,62	7,23 ± 1,01	12,03 ± 1,15	7,40 ± 0,93	7,22 ± 0,76
R9	5,57 ± 1,26	15,40 ± 3,13	27,97 ± 2,95	15,85 ± 2,59	15,45 ± 3,21
R11	3,13 ± 1,32	6,67 ± 3,54	10,98 ± 2,32	6,82 ± 1,56	6,66 ± 1,49
R12	6,54 ± 1,93	11,43 ± 3,21	17,57 ± 2,21	11,68 ± 1,58	11,49 ± 2,01
Doxorubicin	0,0831 ± 0,0091	8,02 ± 1,13	0,28 ± 0,06	6,93 ± 1,08	0,0776 ± 0,0082

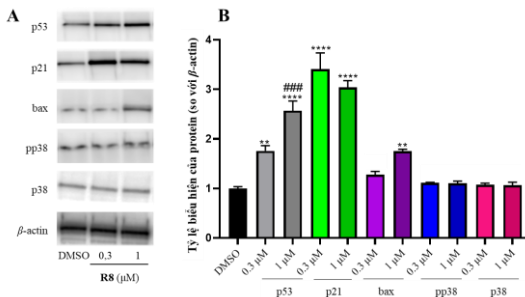
3.3.2. Kết quả nghiên cứu trên biểu hiện một số protein của các hợp chất tiềm năng

Kết quả **Hình 3.20A-B** cho thấy mức độ biểu hiện của β -actin không thay đổi và ở nồng độ thử nghiệm 1 μ M, hợp chất **R2** và **R8** làm tăng biểu hiện p53 đạt ý nghĩa thống kê (tương ứng là $p < 0,001$ và $p < 0,01$). Ngoài ra, tác dụng của **R8** có xu hướng mạnh hơn **R2**. Mặt khác, **R11** (1 μ M) cũng làm tăng biểu hiện của p53 tuy nhiên chưa đạt ý nghĩa thống kê. Do đó, hợp chất **R8** được lựa chọn để đánh giá trên biểu hiện của các protein (p53, p21, Bax, pp38 và p38) theo nồng độ (0,3 - 1 μ M). Kết quả chỉ ra ở **Hình 3.21**.



Hình 3.20. Ảnh hưởng của các hợp chất tinh khiết trên biểu hiện của protein p53 trong dòng tế bào A549

(A) Sự biểu hiện nồng độ p53 trong tế bào A549 khi xử lý với các hợp chất tinh khiết (1 μ M). Các chất tinh khiết phân lập từ Nghệ đắng được ủ với tế bào A549 trong 48 giờ. Tách chiết protein từ tế bào sau đó protein được điện di và tiến hành ủ với kháng thể kháng p53 và β -actin. (B) Cường độ dài của p53 và β -actin trong A được định lượng bằng phần mềm Image J. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ khi so sánh với DMSO.



Hình 3.21. Ảnh hưởng của hợp chất aeruginol (R8) trên biểu hiện của các protein trong dòng tế bào A549 theo nồng độ (0,3 - 1 μ M)

(A) Sự biểu hiện nồng độ p53, p21, Bax, pp38 và p38 trong tế bào A549 khi xử lý với hợp chất **R8** (0,3 và 1 μM). Hợp chất **R8** phân lập từ Nghệ đắng được ủ với tế bào A549 trong 48 giờ. Tách chiết protein từ tế bào sau đó protein được điện di và tiến hành ủ với kháng thể kháng p53, p21, Bax, pp38, p38 và β -actin. (B) Cường độ dài của p53, p21, Bax, pp38, p38 và β -actin trong A được định lượng bằng phần mềm Image J. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ và **** $p < 0,0001$ khi so sánh với mẫu trắng (DMSO); ### $p < 0,001$ khi so sánh với nồng độ 0,3 μM trên p53..

Kết quả **Hình 3.21A-B** cho thấy cho thấy **R8** ở cả hai nồng độ 0,3 μM ($p < 0,01$) và 1 μM ($p < 0,0001$) đều làm tăng biểu hiện của p53 và tác dụng ở nồng độ 1 μM mạnh hơn so với nồng độ 0,3 μM ($p < 0,001$). Bên cạnh đó, **R8** (0,3 - 1 μM) cũng làm tăng biểu hiện của p21 ($p < 0,0001$) tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nồng độ này. Ngoài ra, ở nồng độ 1 μM , **R8** cũng làm tăng biểu hiện của Bax đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Đối với các protein còn lại (p38 và pp38), **R8** ở cả 2 nồng độ (0,3 - 1 μM) đều chưa thể hiện tác dụng. Mức độ biểu hiện của β -actin không thay đổi.

3.3.3. Kết quả mô phỏng tương tác phân tử nghiên cứu mối tương quan cấu trúc và hoạt tính kháng ung thư của hợp chất tiềm năng

Bảng 3.23. Kết quả docking của aerugidiol (R8**) với thụ thể EGFR và HER2**

STT	Tên chất	Protein	Ái lực liên kết (kcal/mol)	Liên kết/tương tác	Acid amin
1	Aerugidiol (R8)	EGFR	-7,209	π -Alkyl và alkyl	Leu820, Leu694, Lys721, Val702
		HER2	-8,613	π -Alkyl và alkyl	Leu852, Met801, Leu800, Leu726, Lys753, Val734
2	Erlotinib	EGFR	-7,500	Hydro	Met769
				π -Alkyl và alkyl	Lys721, Val702, Ala719
3	03Q	HER2	-11,000	π - σ	Leu820 và Leu694
				Hydro	Met801, Asp863
				π -Alkyl và alkyl	Met774, Leu785, Lys753, Val734, Ala751, Met801, Leu796
				π - π T-shape	Leu864
				π - σ	Leu852, Leu726

Kết quả ở **Bảng 3.23** cho thấy **R8** (aerugidiol) thể hiện năng lượng liên kết với đích EGFR và HER2 với điểm docking lần lượt là -7,209 (gần với chứng dương erlotinib, $\Delta = -7,500$ kcal/mol) và -8,613 kcal/mol. Tương tác phối tử - acid amin giữa **R8** với thụ thể EGFR và

HER2 thông qua liên kết π -alkyl và alkyl. So sánh tương tác của **R8** và chứng dương erlotinib với đích EGFR có thể thấy liên kết giữa phối tử với acid amin của hợp chất này tương tự với chứng dương với các acid amin như Leu820, Leu694, Lys721 và Val702. Ngoài ra, **R8** cũng tương tác với acid amin (Leu852, Met801, Leu726, Lys753 và Val734) trên đích HER2 tương tự như chứng dương 03Q. Các dữ liệu này cho thấy **R8** thể hiện khả năng liên kết mạnh và tương tác phối tử - acid amin gần giống chứng dương trên các đích EGFR và HER2.

3.4. KẾT QUẢ ĐỊNH LƯỢNG CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT

Tiến hành định lượng (1*R*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoaronidiol và curdion trong mẫu Nghệ đắng. Kết quả cho thấy hàm lượng 11 trong mẫu trên mặt đất (0,017%) thấp hơn trong mẫu thân rễ (0,502%) và hàm lượng curdion trong mẫu trên mặt đất (0,502%) cao hơn so với mẫu thân rễ (0,322%).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

Luận án đã bàn luận về thành phần hóa học của tinh dầu và các cao chiết của thân rễ và phần trên mặt đất Nghệ đắng đồng thời tác dụng kháng ung thư *in vitro* của tinh dầu, cao chiết và các hợp chất phân lập từ Nghệ đắng cũng đã được thảo luận.

KẾT LUẬN

1. Về thành phần hóa học

- + Đã xác định hàm lượng và các thành phần chính có trong tinh dầu của thân rễ (**EOR**), thân giả (**EOPS**) và lá (**EOL**) cây Nghệ đắng:
 - Tinh dầu thân rễ (0,84%) có 46 thành phần trong đó sesquiterpen oxy hóa là nhóm chính. Các thành phần có hàm lượng > 4% bao gồm curdion, widdrol và *trans*- β -elemenon.
 - Tinh dầu lá (0,38%) chứa 48 thành phần trong đó chủ yếu là sesquiterpen oxy hóa. Các thành phần có hàm lượng > 4% bao gồm curdion, 1,8-cineol, camphor, *trans*- β -elemenon, (*E*)- β -farnesen epoxid và curzeren.
 - Tinh dầu thân giả (0,10%) có 47 thành phần, chủ yếu là sesquiterpen oxy hóa. Các thành phần > 5% gồm curzeren, *trans*- β -elemenon, curdion, β -elemen, (*E*)- β -farnesen epoxid và humulen.
- + Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 14 hợp chất từ Nghệ đắng, bao gồm: Phaenocaulisin E (**R1**), (1*R*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoaronidiol (**R2**), (1*S*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoaronidiol (**R3**),

isoprocurcumenol (**R4**), neoprocurcumenol (**R5**), procurcumenol (**R6**), 1-*epi*-procurcumenol (**R7**), aerugidiol (**R8**), curcumenol (**R9**), curcumenon (**R10**), curcuminol E (**R11**), zerumin A (**R12**), curdion (**AP1**) và β -sitosterol (**AP2**).

- + Đã xác định được các thành phần bay hơi trong cao *n*-hexan thân rễ (**RH**) và phần trên mặt đất (**APH**) của Nghệ đắng:
 - Đối với cao **RH**: Đã xác định 16 thành phần, trong đó, curdion, ambrial, curcumenon, procurcumenol và (*E*)-labda-8(17),12-dien-15,16-dial có hàm lượng cao.
 - Đối với cao **APH**: Đã xác định được 11 thành phần, trong đó curdion và curcumenon chiếm hàm lượng lớn.
- + Hàm lượng (1*R*,4*S*,5*S*,10*R*)-zedoaronidiol trong mẫu Nghệ đắng khảo sát dao động từ 0,017 – 0,071% và hàm lượng curdion đạt trong khoảng từ 0,322 – 0,502%.

2. Về hoạt tính kháng ung thư

- + Tinh dầu thân rễ (**EOR**, IC₅₀: 23,14 - 83,67 $\mu\text{g/mL}$) và tinh dầu lá (**EOL**, IC₅₀: 43,88 - 81,32 $\mu\text{g/mL}$) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* yếu.
- + Cao *n*-hexan thân rễ Nghệ đắng (**RH**, IC₅₀: 5,43 - 11,96 $\mu\text{g/mL}$) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* mạnh nhất, trong khi, các cao EtOAc (**RE**, IC₅₀: 7,61 - 11,96 $\mu\text{g/mL}$) và cao nước (**RW**, IC₅₀: 7,53 - 11,88 $\mu\text{g/mL}$) thể hiện hoạt tính gần tương đương nhau. Ngược lại, cao *n*-hexan của phần trên mặt đất (**APH**, IC₅₀: 49,76 - 86,30 $\mu\text{g/mL}$) có hoạt tính yếu hơn.
- + 10 hợp chất (**R1-R9**, **R11** và **R12**) đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* mạnh nhất trên dòng tế bào A549 (IC₅₀ 3,13 - 13,54 μM). Ngoài ra, **R2** (IC₅₀ 3,64 - 11,91 μM), **R8** (IC₅₀ 7,22 - 12,03 μM) và **R11** (IC₅₀ 3,13 - 10,98 μM) thể hiện hoạt tính mạnh hơn.
- + Hợp chất **R8** (aerugidiol, 0,3 - 1 μM) làm tăng biểu hiện của các protein p53 và p21. Tác dụng trên p53 tăng theo nồng độ thử nghiệm. Ngoài ra, hợp chất này cũng thể hiện ái lực liên kết mạnh trên cả EGFR ($\Delta G = -7,209$ kcal/mol) và HER2 ($\Delta G = -8,613$ kcal/mol).

KIẾN NGHỊ

- + Đánh giá ảnh hưởng của các mẫu thử (tinh dầu, cao chiết và chất tinh khiết) từ Nghệ đắng lên khả năng sống sót của một số dòng tế bào thường.

- + Nghiên cứu sâu về cơ chế chống ung thư (apoptosis) của các hợp chất tiềm năng (**R2** và **R8**).
- + Nghiên cứu tác dụng chống ung thư vú và phổi trên mô hình ung thư thực nghiệm của cao chiết tiềm năng (**RH**).

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Thu N. T.**, Hien T. T., Tuan N. H., Ha D. T. (2024), "Cytotoxic sesquiterpenes and diterpenes from the rhizomes of *Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee", *Biochemical Systematics and Ecology*, 112, 104781.
2. **Thu N. T.**, Tran-Trung H., Duc D. X., Ha N. X., Khanh P. N., Tung N. T., Van Hoa N., Tuan N. H., Ha D. T. (2024) "Rhizome essential oil of *Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee: Chemical composition, cytotoxic activities, and molecular docking approach", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 27(1), 188-197.
3. **Thu N. T.**, Tran-Trung H., Huong H. T. D., Manh D. H., Van Trung H., Tuan N. H., Ha D. T. (2024), "Chemical compositions and cytotoxicity effects of essential oils from the leaves and pseudo-stems of *Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee collected in Vietnam", *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 14(2), 161-170.
4. **Nguyen Thi Thu**, Hieu Tran Trung, Nguyen Manh Khoa, Hoang Thi Dieu Huong, Le Hong Van Anh, Hoang Van Trung, Nguyen Hoang Tuan, Do Thi Ha (2024), "Chemical constituents and cytotoxic activity of the *n*-hexane extract from the aerial parts of *Curcuma zedoaroides* Chaveer. & Tanee", *Journal of Medicinal Materials*, 29(2), 70-76.