

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN

1. GIỚI THIỆU

Tên tác giả: TRẦN THỊ THU HIỀN

Tên luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá tác dụng kháng ung thư của thân lá cây củ dòm (*Stephania dielsiana* Y. C. Wu).

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền

Mã số: 9720206

Họ và tên cán bộ hướng dẫn khoa học:

1. TS. Lê Thị Kim Vân
2. PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

2. NỘI DUNG TÓM TẮT

2.1. Mục tiêu của luận án

- Chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc của một số hợp chất từ thân lá cây củ dòm.
- Bước đầu xây dựng được phương pháp phân lập và phương pháp định lượng để theo dõi hàm lượng oxostephanin trong dược liệu theo thời gian thu hái.
- Đánh giá được tác dụng gây độc tế bào của một số hợp chất đã phân lập và bước đầu nghiên cứu được cơ chế kháng ung thư của oxostephanin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về hóa học

- + Chiết xuất dược liệu bằng phương pháp ngâm với dung môi methanol.
- + Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột với các chất nhồi cột khác nhau (silica gel, RP-C₁₈, Sephadex LH-20, Diaion HP-20) và các hệ dung môi rửa giải khác nhau, hoặc phương pháp kết tinh trong dung môi thích hợp; theo dõi phân đoạn bằng TLC kết hợp soi UV ở hai bước sóng 254 và 365 nm hoặc dùng thuốc thử (Dragendorff, dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH 96%); kiểm tra độ tinh khiết bằng TLC hoặc NMR.

- + Xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên các phương pháp phổ: phổ hồng ngoại (IR), phổ tử ngoại (UV), phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT) và hai chiều (COSY, HMBC, HMQC và ROESY).
- + Phân lập oxostephanin, xây dựng, thẩm định phương pháp định lượng và theo dõi sự thay đổi hàm lượng oxostephanin trong dược liệu theo thời gian thu hái bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

2.2.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học

- + Đánh giá tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư thực nghiệm của một số hợp chất phân lập được bằng phương pháp so sánh hình thái và thử nghiệm MTS.
- + Nghiên cứu cơ chế gây độc tế bào ung thư buồng trứng OVCAR-8 của oxostephanin bằng phương pháp theo dõi tế bào theo thời gian thực, phương pháp miễn dịch huỳnh quang, đánh giá quá trình chết theo chương trình (apoptosis), phân tích khối u đa bào và RT-PCR.
- + Nghiên cứu tác dụng của oxostephanin trên các dòng tế bào thường gồm hUVECs, UC-MSCs, hFBs bằng phương pháp nhuộm SRB, thử nghiệm hình thành khuẩn lạc, phân tích sự tiết các yếu tố tăng trưởng bằng thử nghiệm Luminex, thử nghiệm chữa lành vết thương và thử nghiệm hình thành mạch.

2.3. Kết quả chính và kết luận

2.3.1. Về hóa học

- Đã chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc hóa học 11 hợp chất từ thân lá cây củ dền *Stephania dielsiana* Y.C. Wu, bao gồm:
 - + 08 hợp chất alkaloid, trong đó có 2 hợp chất mới (stedieltin A và stedieltin B);
 - 01 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Stephania* Lour. (aristolactam, **SD6**);
 - 01 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ loài *S. dielsiana* (oxostephanosin, **SD4**);
 - 01 hợp chất alkaloid lần đầu tiên được phân lập từ phần thân lá của cây củ dền

- (đã phân lập được từ phần củ) là oxocrebanin (**SD5**) và 03 hợp chất alkaloid khác oxostephanin (**SD3**), crebanin (**SD7**) và dehydrocrebanin (**SD8**).
- + 03 hợp chất không phải alkaloid gồm 4-hydroxybenzaldehyd (**SD9**); benzyl β -D-glucopyranosid (**SD10**) và (6*R*,9*S*)-roseosid (**SD11**) đều là các hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài củ dòm.
 - Đã xây dựng phương pháp và phân lập được 4,0 g oxostephanin (độ tinh khiết 98,5% theo diện tích pic trên HPLC) từ 5 kg thân lá cây củ dòm dùng làm chất so sánh và làm nguyên liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.
 - Đã xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng oxostephanin trong thân lá cây củ dòm đáp ứng được các tiêu chí của AOAC và Hướng dẫn của ASEAN về thẩm định quy trình phân tích.
 - Đã đánh giá được sự thay đổi hàm lượng oxostephanin trong dược liệu thân lá củ dòm theo thời gian thu hái nằm trong khoảng 0,337 – 0,873%, trong đó thời điểm thu hái cho hàm lượng hoạt chất cao nhất là tháng 9 và tháng 10.

2.3.2. Về tác dụng sinh học

- Đã đánh giá tác dụng gây độc các dòng tế bào ung thư HeLa, HepG2, MCF7, N87 và OVCAR-8 của các hợp chất **SD1 - SD5** bằng phương pháp nhuộm MTS. Kết quả cho thấy, hợp chất **SD3** (oxostephanin) có tác dụng ức chế mạnh các dòng tế bào ung thư HepG2, MCF7 và OVCAR-8 với IC_{50} trong khoảng 3,1 - 3,4 μ M; các hợp chất **SD4** (oxostephanosin) và **SD5** (oxocrebanin) thể hiện tác dụng trung bình đến yếu; hợp chất **SD1** (stedieltin A) và **SD2** (stedieltin B) chưa có tác dụng gây độc trên cả 5 dòng tế bào thử nghiệm.
- Đã nghiên cứu cơ chế tác dụng gây độc tế bào của oxostephanin: oxostephanin là một chất ức chế Aurora kinase thông qua việc ngăn chặn sự phosphoryl hóa histon H3 ở serin 10, sự định vị sai của Aurora B và gây ra thể dị bội. Hơn nữa, oxostephanin gây độc tế bào có chọn lọc đối với tế bào nội mô tĩnh mạch rốn của con người (hUVECs), trong khi ít gây độc tế bào hơn đối với nguyên bào sợi của người và tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ dây rốn. Ngoài ra, oxostephanin làm giảm đáng kể khả năng di chuyển và hình thành mạch của hUVECs. Oxostephanin đóng vai trò kép trong việc

ức chế hoạt động của Aurora kinase và hình thành mạch. Do đó, nó có tiềm năng sử dụng như một loại thuốc trong điều trị ung thư.

Hà Nội, ngày 20 tháng 12 năm 2022

TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

TS. Lê Thị Kim Vân

ThS. Trần Thị Thu Hiền

PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy