

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Bá Thị Châm

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
CHỐNG UNG THƯ CỦA HAI LOÀI XƯƠNG QUẠT (*Dianella
ensifolia*) VÀ CÔM HẢI NAM (*Elaeocarpus hainanensis*)

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: 9 44 01 14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội – 2023

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ
- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Vu Dinh Hoang

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS. TS. Trinh Thi Thuy

Phản biện 1: PGS. TS. Phạm Hữu Điền

Phản biện 2: PGS. TS. Phan Văn Kiệt

Phản biện 3: PGS. TS. Trần Thị Minh

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp
Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm
Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 09 giờ 00, ngày 26 tháng
10 năm 2023

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Việt Nam có thảm thực vật vô cùng phong phú và đa dạng về loài do đặc điểm khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm thiên nhiên ưu đãi. Các hợp chất thứ cấp cũng đa dạng về cấu trúc hóa học, đa dạng về hoạt tính sinh học và cơ chế tác dụng.

Thảo dược đã được sử dụng để điều trị nhiều loại bệnh khác nhau từ thời cổ đại. Trong số các loại thuốc chống ung thư thì có đến 50% các hợp chất được phân lập hoặc bán tổng hợp từ thiên nhiên ví dụ như: Taxol, vinca alkaloid, camptothecin, podophyllotoxins, và các dẫn xuất bán tổng hợp của chúng đều là các loại thuốc chống ung thư quan trọng được sử dụng trong điều trị ung thư.

Chi *Dianella* có 30 loài được xác định tính đến hiện tại, nhưng mới chỉ có 9 loài *Dianella* được nghiên cứu về thành phần hóa học, trong đó loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*) được tập trung nghiên cứu nhiều nhất. Dịch chiết và một số chất sạch của loài đã được chứng minh có nhiều hoạt tính quan trọng như kháng viêm, kháng vi rút, kháng khuẩn, chống ung thư, chống oxy hóa và ức chế enzym tyrosinase/melanogenesis.

Loài Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*) thuộc chi Côm (*Elaeocarpus*), họ Côm (*Elaeocarpaceae*) đã được nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học. Theo các tài liệu, đến năm 2022, đã tìm thấy 16 chất đều thuộc nhóm terpenoid, trong đó chủ yếu là các triterpen cucurbitan. Đáng chú ý các hợp chất triterpen cucurbitan được tập trung nghiên cứu nhiều về tác dụng sinh học do có hoạt tính chống ung thư khá thú vị cả về khả năng ức chế và cơ chế tác dụng. Với mục tiêu tìm kiếm các hợp chất có tác dụng chống ung thư đa

tác dụng và đa cơ chế từ nguồn thực vật Việt Nam, tác giả lựa chọn đề tài luận án “**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính chống ung thư của hai loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*) và Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*)**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Xác định được thành phần hóa học của hai loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*) và Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*).
- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào, chống ung thư của các hợp chất phân lập được từ hai loài nghiên cứu; Chất có hoạt tính tốt và có tiềm năng được tiếp tục nghiên cứu tác dụng ở mức độ phân tử.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Phân lập các hợp chất từ loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*) và Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*) bằng các phương pháp sắc ký;
- Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp phổ;
- Thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư (cytotoxic) của các hợp chất phân lập được. Chất có hoạt tính tốt được nghiên cứu tác động chống ung thư ở mức độ phân tử. Từ đó tạo cơ sở khoa học và kiến nghị cho việc nghiên cứu ứng dụng các loài lựa chọn được trong phòng và điều trị bệnh ung thư.

Từ đó tạo cơ sở khoa học và kiến nghị cho việc nghiên cứu ứng dụng các loài lựa chọn trong phòng và điều trị bệnh ung thư.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Luận án đã nêu tổng quan và thông tin tóm tắt: Đặc điểm thực vật, Công dụng trong y học cổ truyền; Thành phần hóa học

của chi và loài nghiên cứu, như: chi *Dianella*, loài *Dianella ensifolia*; và chi Côm (*Elaeocarpus*), loài *Elaeocarpus hainanensis*.

Về hoạt tính của các chất từ các loài trên, luận án đã cập nhật hoạt tính của các hợp chất cucurbitan triterpen là nhóm chất có hoạt tính ức chế tế bào ung thư mạnh, gây cảm ứng *apoptosis* tế bào ung thư, tác dụng hiệp đồng với một số tác nhân hóa trị liệu, tăng hiệu quả điều trị ung thư.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Xương quạt, Cây Côm hải nam, thu tại Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất:

Bằng sắc ký cột (CC) kết hợp sắc ký lớp mỏng điều chế hoặc HPLC trong trường hợp cần thiết.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học

- Độ quay cực ($[\alpha]_D$)
- Phương pháp thủy phân đường
- Phổ khối lượng (MS)
- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

2.2.3. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính sinh học

2.2.3.1 Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào

2.2.3.2. Phương pháp phân tích số lượng tế bào, chu trình tế bào, xác định cảm ứng tế bào chết theo chương trình *apoptosis*.

2.2.3.3. Phương pháp xác định biểu hiện một số gen liên quan đến ung thư bằng phương pháp RT-PCR

2.3. Thử nghiệm

2.3.1. Loài Xương quạt (*D. ensifolia*)

2.3.2. Côm hải nam (*E. hainanensis*)

2.3.3. Thử hoạt tính chống ung thư

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học

3.1.1. Xác định cấu trúc hóa học của các chất loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*)

Phân lập và xác định cấu trúc 10 hợp chất, bao gồm bốn phenolic mới: 4*R*-7-acetyl-4*R*,8-dihydroxy-6-methyl-1-tetralone (**DN1**); (2*S*)-2',4'-dihydroxy-7-methoxyflavan (**DN2**); diaensi-biflavan (5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-(6,6''-metylen)-biflavan) (**DN4**); diaensi-biflavan A (5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-6,6''-metylen-(5,4'-dihydroxy-7-methoxy) (**DN5**); chất lần đầu tách từ thiên nhiên (2*S*)-7,4'-dimethoxy flavan (**DN3**) và 5 chất đã biết (**DN6–DN10**): methyl β -orcinolcarboxylate (**DN6**), dianellose (**DN7**), amentoflavone (**DN8**), sitosterone (**DN9**) và β -sitosterol (**DN10**).

❖ *Hợp chất diaensi-biflavan (5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-(6,6''-metylen)-biflavan) (DN4)*

DN4 dạng bột màu trắng, $[\alpha]_D^{25} = +29$ (CHCl₃, *c* = 0,1), pic giả ion phân tử ở *m/z* 585,2477 [M + H]⁺ (calcd. C₃₅H₃₇O₈, 585,2488) trong phổ HR-ESI-MS, phù hợp với công thức phân tử C₃₅H₃₆O₈.

Phổ ¹H- và ¹³C-NMR cho thấy các tín hiệu điển hình của khung flavan (C₁₇H₁₈O₄), và tín hiệu của một nhóm methylene ở δ_H 3,80 và δ_C 16,2. Từ dữ liệu phổ MS và NMR cho thấy chất **DN4** bao gồm hai đơn vị flavan giống hệt nhau được kết nối với nhau thông qua một nhóm methylene. Trên phổ ¹³C-NMR của mỗi đơn vị, các tín hiệu carbon thơm của 2 vòng thơm A và B xuất hiện ở δ_C 92,0

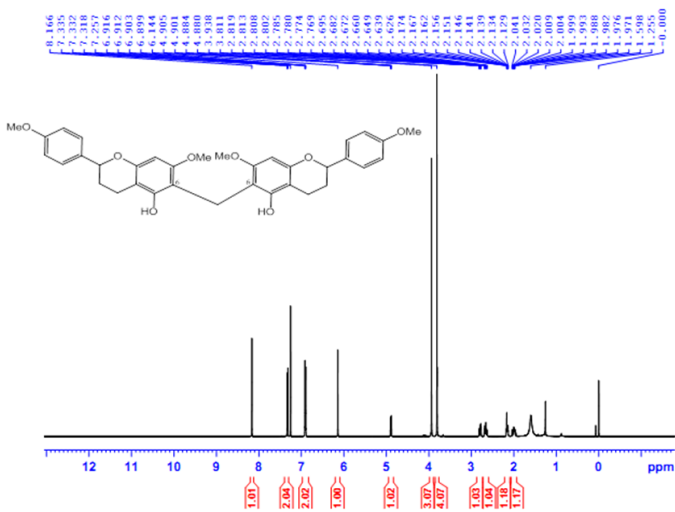
đến 159,3. Vòng C của mỗi đơn vị có một tín hiệu oxymethine ở δ_H 4,89 (H-2, dd, 2,0, 10,0; δ_C 77,7) và 2 nhóm methylene ở δ_H 2,15 và 1,99 (H₂-3, m; δ_C 29,5), và ở δ_H 2,79 và 2,66 (H₂-4, m; δ_C 19,8). Hai cặp doublet ở δ_H 7,33 (H-2'/H-6', dd, 2,0; 8,0) và 6,91 (H-3'/H-5', dd, 2,0; 8,0) đặc trưng cho nhân benzen có nhóm thế ở C-1' và C-4'. Sự hiện diện của nhóm hydroxy (δ_H 8,17) và hai nhóm methoxy của mỗi đơn vị được khẳng định bằng các tín hiệu ở δ_H 3,81 (δ_C 56,1) và δ_H 3,94 (δ_C 55,3).

Cấu trúc của mỗi đơn vị được xác định là 5-hydroxy-7,4'-dimethoxy flavan dựa trên các liên kết giữa proton H-8 (δ_H 6,14) và C-6 (δ_C 106,0), C-7 (δ_C 155,1), C-9 (δ_C 154,5), C-10 (δ_C 104,2); giữa proton OH-8 (δ_H 8,17) và C-5 (δ_C 154,1), C-6 (δ_C 106,0), C-10 (δ_C 104,2); giữa H-4 (δ_H 2,66) và C-3 (δ_C 29,5), C-5 (δ_C 154,1), C-10 (δ_C 104,2); và giữa H-2 (δ_H 4,89) và C-4 (δ_C 19,8), C-10 (δ_C 133,8), C-2', C-6' (δ_C 127,4) trong phổ HMBC. Vị trí kết nối của hai đơn vị flavan ở C-6 thông qua một nhóm methylene được xác định dựa trên tương tác của CH₂ (δ_H 3,80) với C-5 (δ_C 154,1), C-6 (δ_C 106,0) và C-7 (δ_C 155,1) trong phổ HMBC. Từ việc phân tích phổ trên, cấu trúc của chất **DN4** được xác định là 5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-(6,6"-metylen)-biflavan, một chất mới có tên diaensi-biflavan.

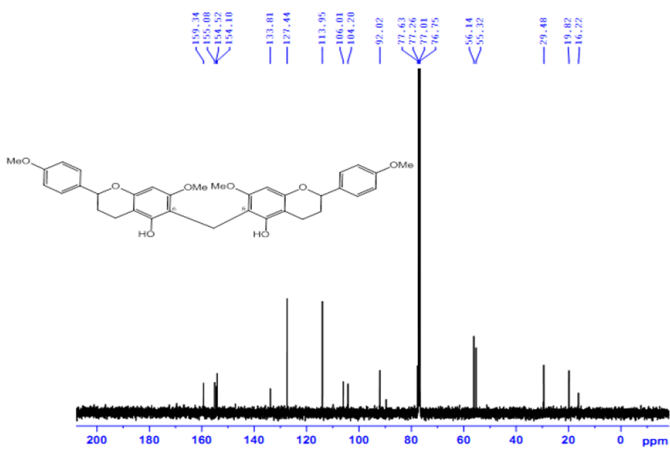
Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **DN4**

C	δ_C^a	δ_H^b
2	77,6 CH	4,89, dd (2,0, 10,0) 1H
3	29,5 CH ₂	2,15, m, 1H; 1,99, m, 1H
4	19,8 CH ₂	2,79, m, 1H; 2,66, m, 1H
5	154,1 C	-
6	106,0 C	-

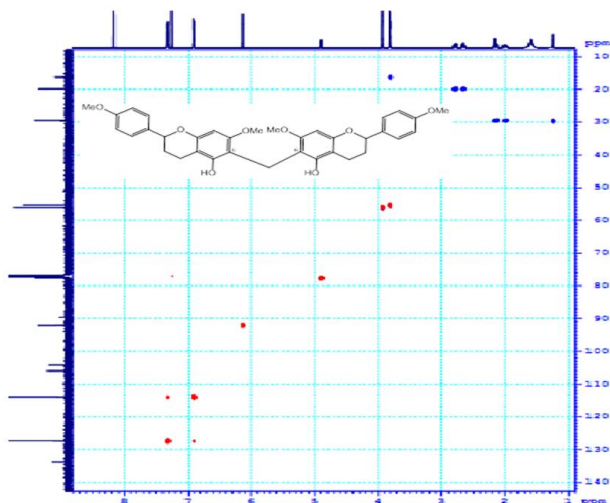
7	155,1 C	-
8	92,0 CH	6,14, s, 1H
9	154,5 C	-
10	104,2 C	-
1'	133,8 C	-
2'	127,4 CH (x2)	7,33, dd (2,0, 8,0) 2H
3'	113,9 CH (x2)	6,91, dd (2,0, 8,0) 2H
4'	159,3 C	-
5'	113,9 CH (x2)	6,91, dd (2,0, 8,0) 2H
6'	127,4 CH (x2)	7,33, dd (2,0, 8,0) 2H
5-OH	-	8,17, s, 1H
7-OMe	55,3 CH ₃	3,94, s, 3H
4'-OMe	56,1 CH ₃	3,81, s, 3H
CH ₂	16,2 CH ₂	3,80, s, 2H



Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) của chất DN4



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) của chất DN4



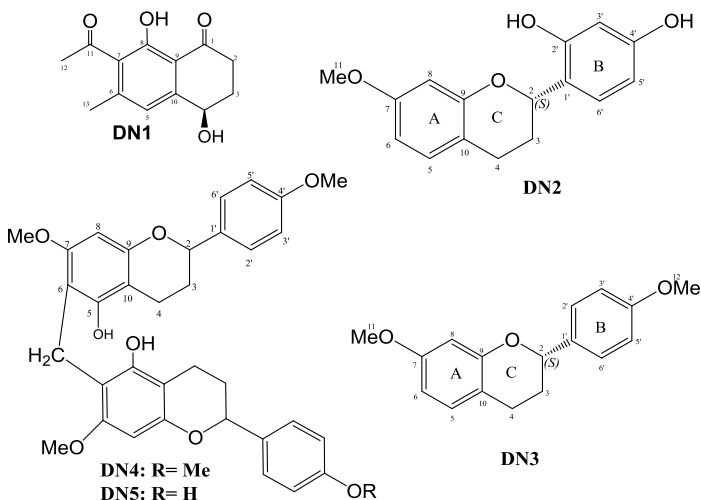
Phổ HSQC của hợp chất **DN4**

Bằng phương pháp phân tích phổ, đã xác định được cấu trúc của các chất ở bảng sau:

Tổng hợp các chất phân lập từ loài Xương quạt

STT	Ký hiệu chất	Tên chất	Ghi chú
1	DN1	4 <i>R</i> -7-Acetyl-, 8-dihydroxy-6-methyl-1-tetralone	Chất mới
2	DN2	(2 <i>S</i>)-2',4'-Dihydroxy-7-methoxyflavan	Chất mới
3	DN3	(2 <i>S</i>)-7,4'-Dimethoxy flavan	Lần đầu tiên tìm thấy trong tự nhiên
4	DN4	Diaensi-biflavan (5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-(6,6''-metylen)-biflavan)	Chất mới
5	DN5	Diaensi-biflavan A (5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-6,6''-metylen-(5,4'-dihydroxy-7-methoxy)	Chất mới
6	DN6	Methyl β -orcinolcarboxylate	

7	DN7	Dianellose	
8	DN8	Amentoflavone	Lần đầu tiên tìm thấy trong chi
9	DN9	Sitosterone	
10	DN10	β -sitosterol	



Cấu trúc hóa học của 5 hợp chất mới từ loài Xương quạt
3.1.2. Xác định cấu trúc hóa học các chất từ loài Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis* Oliv.)

Phân lập và xác định được cấu trúc 15 hợp chất: 13 triterpen, trong đó 8 hợp chất có khung cucurbitacin (**EH1-EH8**) và 5 oleanen (**EH9-EH13**); 2 terpenoid là 1 furfural (**EH14**) và 1 megastigman (**EH15**). Trong đó, ba chất **EH8**, **EH9** và **EH13** là các chất mới.

❖ *Hợp chất Elaehainensin A (chất mới EH8)*

EH8 dạng chất rắn màu trắng. Công thức phân tử của **EH8** là $C_{30}H_{46}O_6$ được xác định qua pic ion giả phân tử ở m/z 503,3358 $[M + H]^+$ (tính toán $C_{30}H_{47}O_6$, 503.3367) và 537,2989 $[M + Cl]^-$ (tính toán

$C_{30}H_{46}O_6Cl$, 537,2988) ở phổ HR-ESI-MS.

Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của chất **EH8** cho thấy tín hiệu của 30 carbon (8x Cq , 8x CH , 7x CH_2 , 7x CH_3), trong đó có năm carbon carbinol, một carbon olefin gắn ba nhóm thế, một carbon olefin cuối mạch và một nhóm carbonyl (δ_C 216,6). Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR cũng cho thấy sự hiện diện của bảy nhóm methyl trong khoảng δ_H 0,93-1,75; một methine olefin ở δ_H 5,66 (H-6, brd, 6,0)/ δ_C 120,4; và bốn oxymethine ở δ_H 3,45 (H-3, brs)/ δ_C = 76,9; δ_H 4,32 (H-16, ddd, 10,5, 10,5, 3,5)/ δ_C = 78,0, 3,92 (H-23, m)/ δ_C = 76,2 và 4,22 (H-24, d, 7,5)/ δ_C 93,2. Đáng chú ý, các tín hiệu điển hình của một gốc isopropylidene ở δ_H 5,02 (H-26a, d, 4,5) và 5,00 (H-26b, d, 4,5)/ δ_C 116,2, 1,75 (CH_3 -27, s)/ δ_C 18,0 và 143,7 ppm (C-25). Vì vậy, **EH8** được dự đoán là một triterpene 4 vòng (tetracyclic) có một nhóm carbonyl, một liên kết đôi trong vòng và một liên kết đôi cuối mạch nhánh, đặc trưng cho nhóm cucurbitacin (một liên kết đôi ở vị trí -C5=C6-).

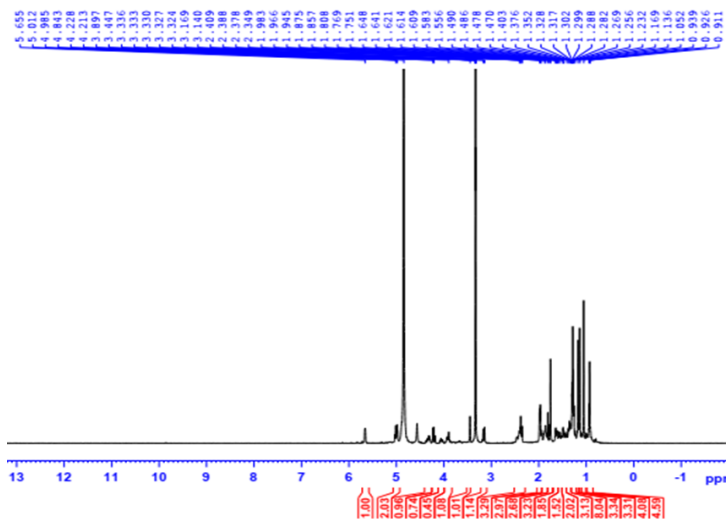
Ngoài ra, so sánh dữ liệu phổ NMR đặc trưng của chất **EH8** với dữ liệu phổ của chất **EH6** cho thấy nhiều sự tương đồng, ngoại trừ các tín hiệu của mạch nhánh, với sự dịch chuyển sang trường mạnh hơn ở C-24 từ δ_C 126,5 sang 93,2 ppm. Hơn nữa, dữ liệu ^{13}C -NMR của **EH8** phù hợp với dữ liệu của elaeocarpucin A và B [53], ngoại trừ có sự khác biệt của carbinol C-24 dịch chuyển xuống trường thấp hơn ở δ_C 93,2 ppm ($\Delta\delta_C > 25$ ppm). Sự dịch chuyển xuống trường thấp hơn này cho thấy phân tử có nhóm hydroperoxide. Dự đoán trên cũng được xác nhận bởi sự xuất hiện của pic ion do mất hai nguyên tử oxy (O_2) đặc trưng cho sự hiện diện của một nhóm hydroperoxide trong hợp chất ban đầu tại m/z 471,3479 [$M + H - O_2$] $^+$ (calcd. $C_{30}H_{47}O_4^+$, 471,3469) trong phổ HR-

ESI-MS. Các tương tác chính trên phổ HMBC của H-24 (δ_H 4,22) và H-27 (δ_H 1,75) với C-26 (δ_C 116,2), cũng như proton methylene olefin cuối mạch của H-26 với C-24 (δ_C 93,2), C-25 (δ_C 143,7) và C-27 (δ_C 18,0) khẳng định thêm cấu trúc phân tử của mạch nhánh. Do đó, cấu hình tương đối ở tất cả các nguyên tử cacbon không đối xứng của **EH8**, ngoại trừ C-24, được xác định là 16 α ,23 α -epoxy-3 β ,20 β -dihydroxy-10 α H,23 β H. Những dữ liệu phân tích trên, cấu trúc của **EH8** được xác định là 16 α ,23 α -epoxy-3 β ,20 β -dihydroxy-10 α H,23 β H-cucurbit-5,25-dien-11-one, một cucurbitacin tự nhiên mới, và được đặt tên là elaeohainensin A.

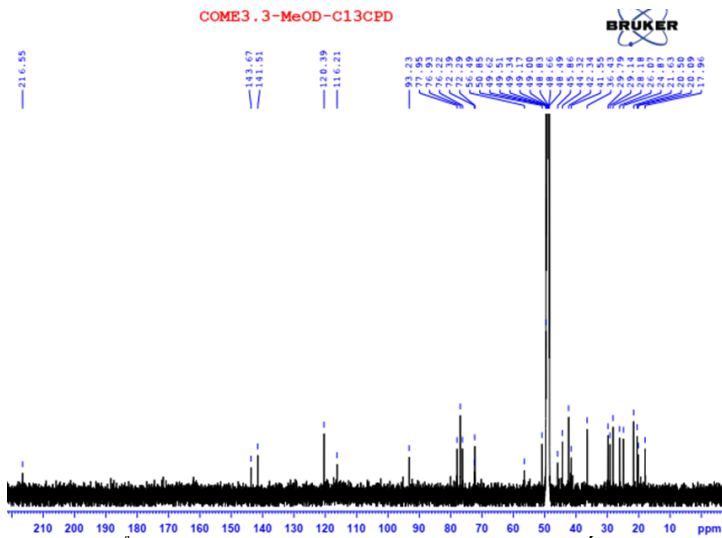
Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **EH8**

C	δ_C^a	δ_H^b	Tương tác HMBC (H→C)
1	21,6	α : 1,62, dd (8,5, 7,5) β : 1,33, m	-
2	29,8	α : 1,88, m β : 1,61, dd (8,5, 7,5)	C-4, C-1
3	76,9	3,45, br s	C-5, C-1
4	42,3	-	
5	141,5	-	
6	120,4	5,66, br d (6,0)	C-8, C-4, C-10
7	24,9	α : 1,92, m β : 2,46, m	-
8	44,3	1,94, m	-
9	49,0 ^b	-	-
10	36,4	2,37, br d (9,5)	-
11	216,6	-	-
12	49,6 ^b	α : 3,15, d (14,5) β : 2,36, d (14,5)	C-11, C-13, C-18
13	49,2 ^b	-	-
14	50,9	-	-
15	41,6	α : 1,48, m	-

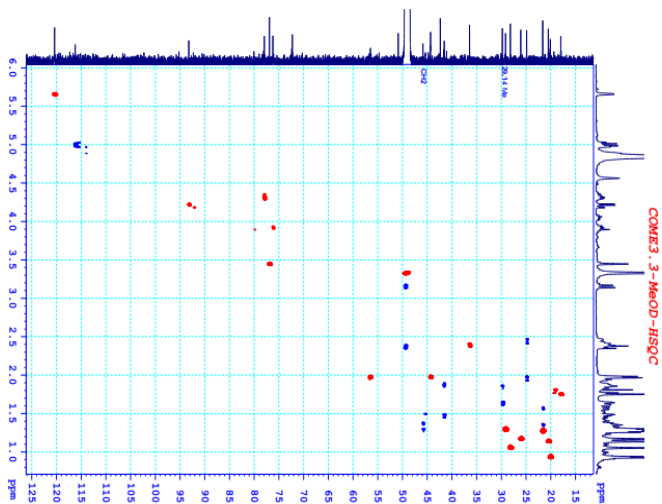
		β : 1,86, m	
16	78,0	4,32, ddd (3,5, 10,5, 10,5)	-
17	56,5	1,97, br d (8,5)	C-14, C-16
18	20,1	0,93, s	C-14
19	20,5	1,14, s	-
20	72,4	-	-
21	29,1	1,30, s	C-20, C-17, C-13
22	45,9	α : 1,34, m β : 1,36, m	C-20
23	76,2	3,92, m	-
24	93,2	4,22, d (7,5)	C-26, C-23, C-27
25	143,7	-	-
26	116,2	5,02, d (5,2) 5,00, d (5,2)	C-24, C-27
27	18,0	1,75, s	C-24, C-25, C-26
28	28,2	1,17, s	C-3, C-4, C-29
29	26,1	1,05, s	C-3, C-4, C-28
30	26,1	1,27, s	C-14, C-15



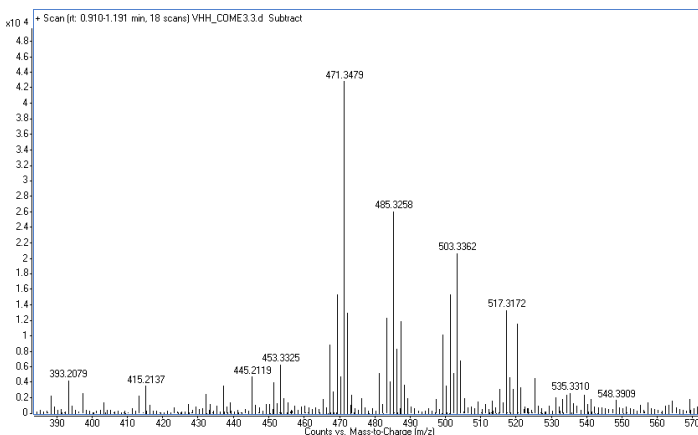
Phổ ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) của chất **EH8**



Phổ ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) của chất **EH8**



Phổ HSQC của chất **EH8**

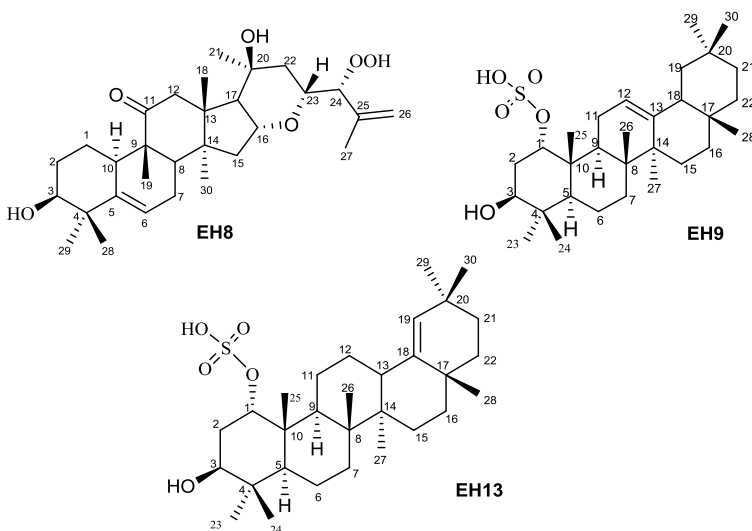


Phổ HR-ESI-MS (positive) của chất **EH8**

Bảng tổng kết các hợp chất được phân lập từ loài Côm hải nam

STT	Ký hiệu chất	Tên chất	Ghi chú
1	EH1	Cucurbitacin D	
2	EH2	Cucurbitacin I	
3	EH3	3- <i>epi</i> -isocucurbitacin D	
4	EH4	Cucurbitacin F	
5	EH5	Cucurbitacin H	
6	EH6	16 α , 23 α -Epoxy-3 β , 20R-dihydroxy-10 α H, 23 β H-cucurbit-5,24-dien-11-one	
7	EH7	16 α , 23 α -Epoxy-cucurbit-3 β , 20 β -dihydroxy-10 α H, 23 β H-5,24-dien-11-one 3-O- β -D-glucopyranoside	
8	EH8	Elaeohainensin A	Chất mới
9	EH9	1 α ,3 β -Dihydroxy-olean-12-ene 1- sulphate	Chất mới
10	EH10	1 α -Hydroxy-olean-12-en-3 β -O- α -L-arabinopyranoside	
11	EH11	1 α -Hydroxy-olean-11-oxo-	

		12-en-3-O- α -L-arabinopyranoside	
12	EH12	1 α -Hydroxy-olean-12-en-3-O- β -D-xylopyranoside	
13	EH13	1 α ,3 β -Dihydroxy-olean-18-ene 1- sulphate	Chất mới
14	EH14	5-(Hydroxymethyl)-2-furancarboxaldehyde	
15	EH15	Blumenol A	



Cấu trúc hóa học các hợp chất mới từ loài *Côm hải nam*

3.2. Kết quả nghiên cứu hoạt tính chống ung thư

3.2.1. Hoạt tính chống ung thư của các hợp chất phân lập từ loài *Xương quạt*.

DN1, DN2, DN3, DN4 được phân lập từ loài này được tiến hành nghiên cứu hoạt tính chống ung thư bằng phương pháp nghiên cứu khả năng ức chế tăng sinh của các chất lên bốn dòng tế bào ung thư đó là ung thư phổi ở người (A549), ung thư gan người (Hep3B),

ung thư tử cung ở người (Hela) và ung thư vú người phụ thuộc estrogen (MCF-7).

Chất **DN2**, **DN3**, **DN4** đều có hoạt tính ức chế cả bốn dòng tế bào thử nghiệm ở nồng độ 100 μM , còn **DN1** hầu như không ức chế các dòng tế bào ung thư thử nghiệm.

3.2.2. Hoạt tính chống ung thư của các hợp chất phân lập từ cây *Côm hải nam*.

❖ Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Kết quả thử độc tế bào các chất phân lập từ loài *Côm hải nam*

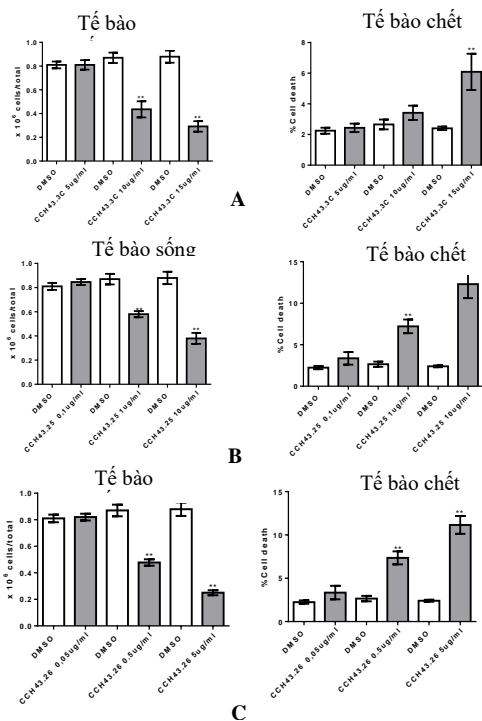
Tên chất thử	Nồng độ ức chế 50% dòng tế bào ung thư (IC_{50} μM)				
	A549	T24	Huh-7	8505	SNU-1
EH6	83,49 \pm 4,11	104,49 \pm 4,40	56,19 \pm 3,34	80,19 \pm 6,17	75,96 \pm 3,57
EH7	108,53 \pm 3,72	116,22 \pm 4,22	111,17 \pm 8,23	101,68 \pm 3,80	95,06 \pm 8,62
EH8	100,60 \pm 3,13	101,71 \pm 5,28	63,82 \pm 5,46	114,12 \pm 7,55	98,92 \pm 4,54
Ellipticine	1,87 \pm 0,20	2,11 \pm 0,16	1,58 \pm 0,16	1,54 \pm 0,12	1,58 \pm 0,12

* **EH6**: 16 α ,23 α -epoxy-3 β ,20R-dihydroxy-10 α H,23 β H-cucurbit-5,24-dien-11-one ; **EH7**: 16 α ,23 α -epoxy- 3 β ,20 β -dihydroxy-10 α H,23 β H- cucurbit-5,24-dien-11-one-3-O- β -D-glucopyranoside; **EH8**: 16 α ,23 α -epoxycucurbitacin-24-hydroperoxy

Kết quả ở bảng trên cho thấy, các chất thử đều có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư ở các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy các chất đều có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư ở mức trung bình với giá trị IC_{50} từ 56,19 đến 116,22 μM . So với các cucurbitacin thì các hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào ung thư yếu hơn, điều này cũng phù hợp với các kết quả đã nghiên cứu trước đây.

❖ Hoạt tính gây độc tế bào ung thư OCI-AML3

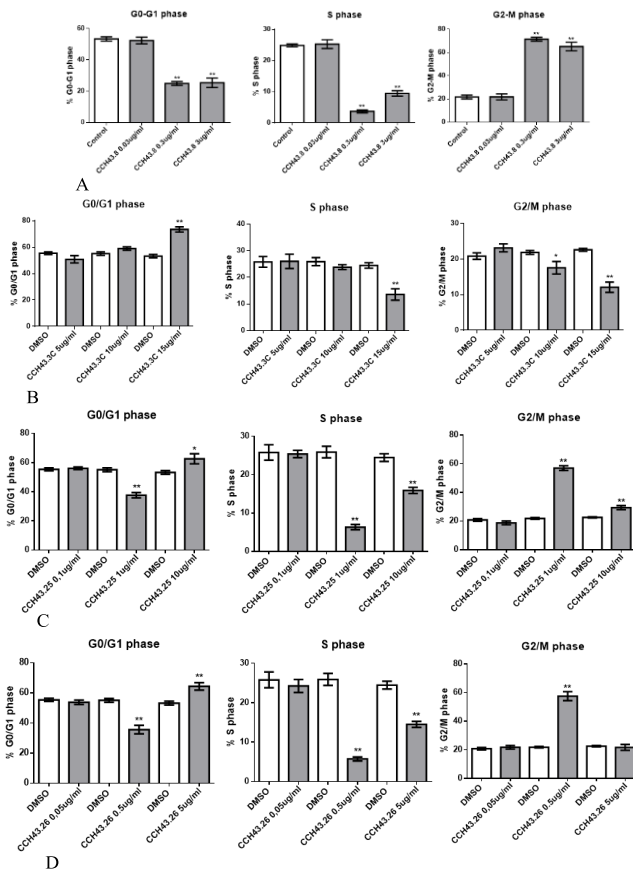
Kết quả được mô tả ở hình cho thấy chất **EH10** có khả năng gây độc tế bào OCI-AML3 ở nồng độ 15 $\mu\text{g/mL}$, **EH2a (Hỗn hợp EH1 và EH2)** gây độc ở nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$, còn **EH3** gây độc ở nồng độ 0,5 $\mu\text{g/mL}$. So với các hợp chất triterpenoid khung olean của loài Côm hải nam, cucurbitacin có hoạt tính gây độc tế bào dòng OCI-AML3 mạnh hơn nhiều.



A: **EH10** (5; 10; 15 $\mu\text{g/mL}$), B: **EH2a** (0,1; 1; 10 $\mu\text{g/mL}$), C: **EH3** (0,05; 0,5; 5 $\mu\text{g/mL}$)

Kết quả hoạt tính gây độc tế bào OCI-AML3 của một số hợp chất từ loài Côm hải nam

❖ Phân tích ảnh hưởng của các hợp chất đến chu trình tế bào ung thư dòng OCI-AML.



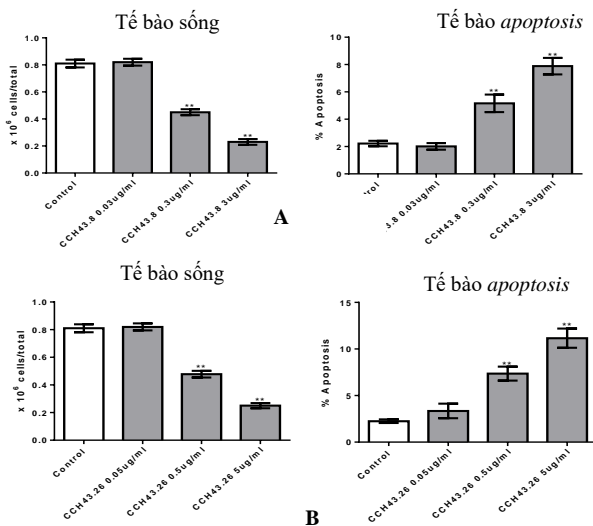
A: **EH1** (0,03; 0,3; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), B: **EH10** (5; 10; 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$), C: **EH2a** (0,1; 1; 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), D: **EH3** (0,05; 0,5; 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

Kết quả phân tích chu trình tế bào dòng OCI-AML3 của **EH1**, **EH10**, **EH2a**, **EH3**

Kết quả ở hình cho thấy các hợp chất triterpenoid từ cây Côm hải nam **EH10** (1 α -hydroxy-olean-12-en-3-O- β -L arabinopyranoside), **EH1** (cucurbitacin D), **EH2a** (cucurbitacin D và cucurbitacin I (**EH2**)), **EH3** (3-*epi*-isocucurbitacin D) đều có hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào ung thư tủy xương cấp (OCI-AML3) theo cơ chế tác động vào các pha G0/G1 và G2/M của chu trình tế bào, **EH2a**, **EH3** có hoạt tính rất

tốt.

❖ *Hoạt tính gây cảm ứng apoptosis*



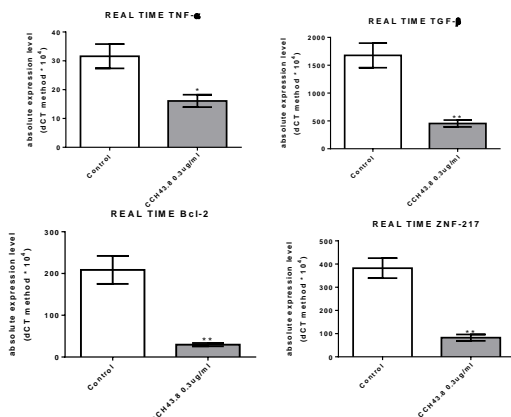
A: *EH1* (0,03; 0,3; 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) B: *EH3* (0,05; 0,5; 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

Hoạt tính cảm ứng *apoptosis* OCI-AML3 của **EH1** và **EH3**

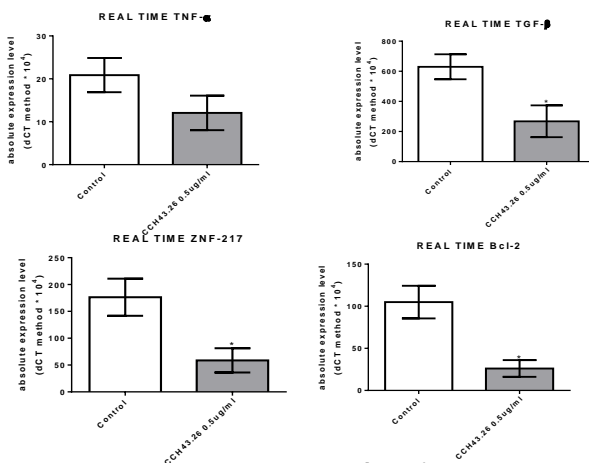
Từ kết quả ở hình cho thấy cả hai hợp chất **EH1** và **EH3** đều gây cảm ứng *apoptosis* đối với dòng tế bào OCI-AML3 ở nồng độ thấp < 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

❖ *Nghiên cứu biểu hiện một số gen liên quan đến ung thư của các cucurbitacine*

Hợp chất **EH1** được thử nghiệm ở nồng độ 0,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ và **EH3** được thử nghiệm ở nồng độ 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Kết quả được mô tả dưới dạng biểu đồ ở hình dưới, ở nồng độ thử các chất **EH1** và **EH3** đều có hoạt tính điều khiển giảm đáng kể biểu hiện gen $\text{TNF-}\alpha$, Bcl-2 , $\text{TGF-}\beta$, ZNF-217 , các gen này hoạt động quá ngưỡng đều gây ung thư, tiến triển xâm lấn và di căn.



Tác động của **EH1** (0,3 μg/mL) đến biểu hiện gen TNF- α , Bcl-2, TGF- β , ZNF-217 lên dòng tế bào OCI-AML3



Tác động của **EH3** (0,5 μg/mL) đến biểu hiện gen TNF- α , Bcl-2, TGF- β , ZNF-217 dòng tế bào OCI-AML

KẾT LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu về hóa học

❖ Từ loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*) đã phân lập và xác định được cấu trúc 10 hợp chất. Trong đó có:

4 hợp chất mới là các phenolic: 4*R*-7-acetyl-,8-dihydroxy-6-methyl-1-tetralone (**DN1**), (2*S*)-2',4'-dihydroxy-7-methoxyflavan (**DN2**), diaensi-biflavan (**DN4**) và diaensi-biflavan A (**DN5**).

1 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên là (2*S*)-7,4'-dimethoxyflavan (**DN3**).

6 hợp chất đã biết là methyl β -orcinolcarboxylate (**DN6**), dianellose (**DN7**), amentoflavone (**DN8**), sitosterone (**DN9**) và β -sitosterol (**DN10**).

❖ Từ loài Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*) đã phân lập và xác định được cấu trúc của 15 hợp chất, chủ yếu thuộc các nhóm chất cucurbitacin và oleanane triterpene. Trong đó có:

3 hợp chất mới gồm 1 hợp chất cucurbitacin là elaeohainencin A (**EH8**), và hai hợp chất oleanane triterpen là 1 α ,3 β -dihydroxy-olean-12-ene 1- sulphate (**EH9**) và 1 α ,3 β -dihydroxy-olean-18-ene 1- sulphate (**EH13**).

12 hợp chất đã biết cấu trúc gồm 7 cucurbitacin: cucurbitacin D (**EH1**), cucurbitacin I (**EH2**), 3-*epi*-isocucurbitacin D (**EH3**), cucurbitacin F (**EH4**), cucurbitacin H (**EH5**), 16 α ,23 α -epoxy-3 β ,20*R*-dihydroxy-10 α H,23 β H-cucurbit-5,24-dien-11-one (**EH6**), 16 α ,23 α -epoxy- 3 β ,20 β -dihydroxy-10 α H,23 β H- cucurbit-5,24-dien-11-one-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (**EH7**); và 3 oleanane triterpene là: 1 α -hydroxy-olean-12-en-3-*O*- α -L-arabinopyranoside (**EH10**), 1 α -hydroxy-olean-11-oxo-12-en-3-*O*- α -L-arabinopyranoside (**EH11**),

1 α -hydroxy-olean-12-en-3-O- β -D-xylopyranoside (**EH12**), 1 hợp chất furfuran 5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxaldehyde (**EH14**), và 1 hợp chất megastigman là blumenol A (**EH15**).

2. Kết quả nghiên cứu về hoạt tính chống ung thư

❖ Hoạt tính chống ung thư của các hợp chất từ loài Xương quạt.

Lần đầu tiên bốn hợp chất mới phân lập từ loài Xương quạt **DN1**, **DN2**, **DN3**, **DN4** được thử nghiệm hoạt tính ức chế tế bào ung thư trên bốn dòng ung ở người: A549, Hep3B, Hela và MCF7. Ba hợp chất thuộc nhóm flavan (**DN2**, **DN3**, và **DN4**) thể hiện hoạt tính ức chế 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm ở mức yếu, trong khi chất **DN1** không thể hiện hoạt tính.

❖ Hoạt tính chống ung thư của các hợp chất từ loài Côm hải nam

➤ Các dẫn xuất của cucurbitacin **EH6**, **EH7** và **EH8** lần đầu tiên được thử nghiệm hoạt tính gây độc 5 dòng tế bào ung thư ở người: A549, T24, Huh, 8505, SNU-1. Kết quả cho thấy chúng đều có khả năng ức chế cả 5 dòng tế bào trên ở mức trung bình với giá trị IC₅₀ khoảng từ 56,19 đến 116,22 μ M.

➤ Các hợp chất **EH10**, **EH2a** (hỗn hợp cucurbitacin D và cucurbitacin I (**EH2**)) và **EH3** đều có hoạt tính gây độc tế bào ung thư OCI-AML3 ở các nồng độ lần lượt là 15 μ g/mL, 10 μ g/mL và 5 μ g/mL. Đây lần đầu tiên **EH2a**, **EH3** và **EH10** được thử nghiệm gây độc tế bào dòng OCI-AML3.

➤ Thử nghiệm tác động đến pha phân bào dòng OCI-AML3 của các chất **EH1**, **EH2a**, **EH3**, **EH10** cho thấy ở nồng độ cao (15, 10, 5 μ g/mL) có tác động đến các pha phân bào làm tăng đáng kể tỷ lệ tế bào OCI-AML3 ở pha G0/G1, còn ở nồng độ thấp **EH2a**, **EH3**

(1,0, 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, tương ứng) làm tăng tỷ lệ tế bào OCI-AML3 ở pha G2/M.

➤ Hai hợp chất **EH1** và **EH3** thể hiện hoạt tính gây cảm ứng *apoptosis* đối với dòng tế bào ung thư OCI-AML3 ở nồng độ thấp < 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

➤ Kết quả đánh giá tác động của **EH1** và **EH3** đến biểu hiện gen liên quan đến ung thư cho thấy **EH1** (0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và **EH3** (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) có tác dụng điều khiển giảm biểu hiện các gen TNF- α , Bcl-2, TGF- β , ZNF-217 của dòng tế bào OCI-AML3.

KIẾN NGHỊ

Từ các nghiên cứu cho thấy các hợp chất cucurbitacin D (**EH1**) và 3-*epi*-isocucurbitacin D (**EH3**) có hoạt tính gây độc tế bào, kích thích quá trình cảm ứng *apoptosis*, và có tác động biểu hiện gen đối với dòng tế bào ung thư tủy xương cấp (OCI-AML3) tốt. Các chất này cucurbitacin được dự đoán rất có tiềm năng và cần có các nghiên cứu sâu thêm về dược lý nhằm nghiên cứu phát triển nguyên liệu tạo ra sản phẩm chống ung thư phục vụ cộng đồng.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Lần đầu tiên loài Xương quạ ở Việt nam được nghiên cứu về thành phần hóa học. Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 4 hợp chất mới là 4*R*-7-acetyl,8-dihydroxy-6-methyl-1-tetralone (**DN1**), (2*S*)-2',4'-dihydroxy-7-methoxyflavan (**DN2**), diaensi-biflavan (**DN4**), diaensi-biflavan A (**DN5**). Chất (2*S*)-7,4'-dimethoxyflavan (**DN3**) lần đầu được phân lập từ thiên nhiên.
2. Chất mới là elaeohainencin A (**EH8**) là đại diện đầu tiên của cucurbitacin có nhóm hydroperoxide, và hai oleanane triterpen mới có chứa nhóm sulfate 1 α ,3 β -dihydroxy-olean-12-ene 1- sulfate (**EH9**) và 1 α ,3 β -dihydroxy-olean-18-ene 1- sulfate (**EH13**) được phân lập và xác định từ loài Côm hải nam.
3. Lần đầu tiên hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cucurbitacin I (**EH2**), 3-*epi*-isocucurbitacin D (**EH3**) và cucurbitacin D được thử nghiệm và có tác dụng mạnh trên dòng OCI-AML3.
4. Lần đầu các chất triterpenoid **EH1**, **EH2a**, **EH3**, **EH10** được đánh giá tác động vào các pha phân bào và tác động gây cảm ứng *apoptosis* của **EH1** (cucurbitacin D) và **EH3** (3-*epi*-isocucurbitacin D) đối với dòng tế bào ung thư OCI-AML3.
5. Đây cũng là lần đầu tiên **EH1** và **EH3** được đánh giá tác động đến biểu hiện gen liên quan đến ung thư dòng OCI-AML3. Cả hai hợp chất đều có tác động điều khiển giảm biểu hiện các gen (TNF- α , Bcl-2, TGF- β , ZNF-217).

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Cytotoxic activity of new phenolic from *Dianella ensifolia* (L.) DC., Journal of Science and Technology (Đại học Công nghiệp HN), 2021, 57, 123-125.
2. New phenolics from *Dianella ensifolia*, Natural Product Research, 2021, 35(18), 3063–3070, doi.org/10.1080/14786419.2019.1689499.
3. Noncytotoxic 16,23-epoxycucurbitacin-type triterpenoids from *Elaeocarpus hainanensis*, Natural Product Research, online 10/2022, doi.org/10.1080/14786419.2022.2137507.
4. Nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất aromatic và flavan từ loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*), Tạp chí Khoa học Công nghệ (Đại học Đà Nẵng), 2023, 21 (3), 93-96.
5. Oleanane-type triterpenoid sulfates, two new α -glucosidase inhibitors from *Elaeocarpus hainanensis*. Natural Product Research, online 24/8/2023, doi.org/10.1080/14786419.2023.2250900