

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**ĐINH THỊ TÚ**

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, TINH CHẾ CURCUMIN VÀ BÁN  
TỔNG HỢP CÁC DẪN XUẤT CỦA NÓ THEO ĐỊNH HƯỚNG  
HOẠT TÍNH SINH HỌC *in vitro* VÀ *in silico* TỪ CÂY NGHỆ  
VÀNG *Curcuma longa* L. VIỆT NAM**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**  
**Hóa học các hợp chất thiên nhiên**  
**Mã số: 9.44.01.17**

**HÀ NỘI – 2026**

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. Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Phạm Minh Quân  
Viện Hóa học - Viện Hàn lâm KHCNVN
2. Người hướng dẫn 2: PGS. TS. Ngô Kim Chi  
Viện Hóa học - Viện Hàn lâm KHCNVN

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân, Viện Hóa học, Viện  
Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 2: PGS.TS. Phạm Thị Tâm, Trường Đại học Mở Hà Nội

Luận án 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 ..... giờ ....., ngày .....  
tháng ..... năm 2026.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Tu Thi Dinh**, Quan Minh Pham, Long Quoc Pham, Chi Kim Ngo, Van Thi Thuy Nguyen, Thuong Thi Le Hoang, Tu Ngoc Ly, Linh Ngoc Nguyen, Thao Thi Phuong Nguyen and Lam Tien Do (2026). Impact of *Scutellonema curcumae* sp. n. (Nematoda: Hoplolaimidae) on the Phytochemical Profile and Biological Activities of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Molecules*, 31(6), 920.
2. **Dinh Thi Tu**, Ngo Kim Chi, Le Thi Thuy Huong, Do Huu Nghi, Pham Minh Quan (2026). *In silico* and *in vitro* investigation of curcuminoid as potential TLR4/MD-2 complex inhibitors using molecular docking and molecular dynamic simulations. *Vietnam Journal of Science and Technology*. <https://doi.org/10.15625/2525-2518/24045>.
3. Dinh Hieu Truong, **Thi Tu Dinh**, Thi My Duyen Trinh, Thi Hong Minh Pham, Minh Quan Pham, Urszula Gawlik-Dziki and Duy Quang Dao (2025). HOO radical scavenging activity of curcumin I and III in physiological conditions: a theoretical investigation on the influence of acid-base equilibrium and tautomerism. *RSC Advances*, 15(8), 5649-5664.
4. Nguyễn Phi Hùng, Nguyễn Anh Tuấn, **Đinh Thị Tú**, Tô Đạo Cường, Hoàng Thị Phương, Đặng Ngọc Quang, Đỗ Thị Thúy, Vũ Thị Hà, Bùi Thị Thực, Trịnh Thị Thu Hà (2023). Phương pháp phân tích nhanh hàm lượng curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin từ củ nghệ bằng hệ thống HPLC 1260 Agilent. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ-Đại học Đà Nẵng*, 103-109, Vol. 21, No. 05.1260 agilent.

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Nghệ (*Curcuma longa* L.) là cây dược liệu quan trọng thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền và hiện đại. Hệ phức hợp curcuminoid trong thân rễ nghệ, bao gồm curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC), đã được chứng minh có phổ hoạt tính sinh học đa dạng: chống oxy hóa, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư và kháng vi sinh vật.

Tuy nhiên hiệu quả của từng thành phần CUR, DMC, BDMC riêng lẻ trên các đích phân tử cụ thể chưa được làm rõ; việc tổng hợp các dẫn xuất lai (hybrid) giữa curcumin với các khung hoạt chất khác (zerumbone, propargyl) nhằm cải thiện dược tính là hướng tiếp cận còn hạn chế; cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử cần được làm sáng tỏ bằng các công cụ tính toán hiện đại; và ảnh hưởng của tuyến trùng ký sinh lên chất lượng dược liệu chưa được đánh giá đầy đủ. Xuất phát từ những vấn đề trên, luận án được thực hiện với cách tiếp cận đa ngành, kết hợp hóa học tổng hợp, dược lý thực nghiệm, mô phỏng *in silico* và sinh học tuyến trùng để đánh giá toàn diện giá trị dược liệu của cây nghệ Việt Nam, luận án được thực hiện với đề tài: "**Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam**".

### 2. Mục tiêu nghiên cứu

Nghiên cứu thành phần hóa học, tổng hợp dẫn xuất mới, đánh giá hoạt tính sinh học và làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của các curcuminoid và dẫn xuất từ *C. longa*:

1. Phân lập và xác định cấu trúc ba thành phần curcuminoid chính (CUR, DMC, BDMC) từ thân rễ nghệ.

2. Bán tổng hợp và đánh giá hoạt tính sinh học các dẫn xuất lai curcumin-zerumbone và di-propargyl curcumin; xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại.

3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa (DPPH), kháng viêm (ức chế NO trên RAW 264.7), gây độc tế bào ung thư (MTT trên 5 dòng tế bào) và kháng vi sinh vật (MIC) của hệ curcuminoid.

4. Nghiên cứu *in silico* để dự đoán hoạt tính quét gốc HOO• bằng DFT, làm sáng tỏ cơ chế kháng viêm qua docking và động lực học phân tử (MD) với phức hợp TLR4/MD-2, và đánh giá chỉ số dược động học ADMET.

5. Mô tả loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên nghệ và đánh giá ảnh hưởng của chúng lên hàm lượng và hoạt tính curcuminoid.

### 3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là thân rễ cây nghệ *C. longa* L. thu hái tại Việt Nam; ba thành phần curcuminoid tinh khiết (CUR, DMC, BDMC); các dẫn xuất bán tổng hợp (curcumin-monozerumbone, curcumin-biszerumbone, di-propargyl curcumin); và tuyến trùng ký sinh vùng rễ. Nghiên cứu bao gồm phân lập hóa học, tổng hợp hữu cơ, đánh giá hoạt tính trên *in vitro*, mô phỏng *in silico* và phân loại sinh học tuyến trùng (hình thái và phân tử).

### 4. Những đóng góp mới của luận án

1. Lần đầu phát hiện loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. trên rễ nghệ vàng Việt Nam. Đã định lượng được: mẫu có mật độ nhiễm tuyến trùng thấp, xác định được mối tương quan giữa mật độ tuyến trùng và hàm lượng BDMC tăng 3,5 lần, hoạt tính sinh học BDMC (SC<sub>50</sub> giảm từ 43,62 xuống 13,85 µg/ml).

2. Bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone (4) giúp tăng tính thân dầu (ClogP từ 3,72 lên 6,51) và mang lại hoạt tính sinh học cải thiện như kháng viêm: Tăng gấp 3,8 lần so với curcumin; độc tế bào ung thư gan (Hep-G2): Tăng gấp 2,5 lần; kháng vi sinh vật: Phổ tác dụng mở rộng, ức chế 6/8 chủng (curcumin chỉ đạt 2/8).

3. Thông qua mô phỏng docking và MD, làm rõ cơ chế chống oxy hóa và kháng viêm ở cấp độ phân tử. Chứng minh được BDMC liên kết với phức hợp protein TLR4/MD-2 tạo phức hợp bền vững hơn curcumin (năng lượng liên kết -9,73 kcal/mol so với -9,29 kcal/mol), làm cơ sở gợi ý giải thích cho thực nghiệm *in vitro*.

### 5. Bố cục luận án

Luận án gồm 112 trang, được bố cục thành 3 chương chính (ngoài phần Mở đầu và Kết luận), với 19 bảng, 27 hình và 146 tài liệu tham khảo.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Chương này tổng hợp các kiến thức nền tảng về cây nghệ *C. longa*, bao gồm đặc điểm thực vật học, phân bố sinh thái, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các curcuminoid.

### 1.1. Tổng quan về các thực vật chi Nghệ (*Curcuma* L.)

Chi Nghệ thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), bao gồm khoảng 70-80 loài thảo mộc thân rễ sống lâu năm. Các loài này phân bố rộng rãi tại vùng nhiệt đới Đông Nam Á và Châu Á - Thái Bình Dương. Thân rễ từ xa xưa đã được sử dụng làm gia vị, chất bảo quản thực phẩm, thuốc nhuộm và dược liệu điều

trị bệnh. Y học hiện đại ghi nhận phổ hoạt tính rộng như chống oxy hóa, kháng virus, kháng khuẩn và kháng viêm. Thành phần hóa học chứa đa dạng các nhóm chất như phenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin và saponin. Đến nay, gần 720 hợp chất đã được xác định, trong đó nhóm sesquiterpenoid và diarylheptanoid là thành phần chính. Giá trị y học: Hệ curcuminoid (gồm curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin) được đánh giá là nhóm hợp chất có giá trị y học cao nhất.

## **1.2. Tổng quan về cây Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.)**

Nghệ vàng (còn gọi là khương hoàng, uất kim) có nguồn gốc từ Ấn Độ, hiện được trồng phổ biến tại các nước nhiệt đới, trong đó Việt Nam là một trong những vùng nguyên liệu quan trọng. Cây thân thảo lâu năm, cao khoảng 60 cm. Củ có bề mặt màu nâu, phần thịt bên trong màu cam hoặc vàng sáng, mùi thơm hắc, vị cay đắng. Trong Đông y, nghệ được dùng để hành khí, phá huyết, thông kinh, chữa đau dạ dày, kinh nguyệt không đều và giúp mau lành vết thương. Tại Ấn Độ và các nước Đông Nam Á, nghệ còn được dùng để lọc máu, trị cảm lạnh, giun sán và các bệnh ngoài da.

## **1.3. Cấu trúc và tính chất lý hóa của hệ curcuminoid**

Hệ curcuminoid chiếm khoảng 2-8% khối lượng thân rễ nghệ khô, bao gồm ba thành phần chính luôn tồn tại song hành. Cả ba dẫn xuất đều thuộc lớp diarylheptanoid với khung cơ bản gồm hai vòng thơm nối bởi chuỗi 7 cacbon. Sự khác biệt nằm ở nhóm thế methoxy (-OCH<sub>3</sub>) trên vòng thơm: Curcumin (CUR): 2 nhóm methoxy (chiếm 60-70%); Demethoxycurcumin (DMC): 1 nhóm methoxy (chiếm 20-27%); Bisdemethoxycurcumin (BDMC): Không có nhóm methoxy (chiếm 10-15%).

Mặc dù chiếm tỷ lệ thấp nhất, BDMC thể hiện các đặc tính vật lý và hóa học ổn định hơn hẳn CUR và DMC: Nhiệt độ nóng chảy của BDMC đạt 222°C, cao hơn rõ rệt so với CUR (184°C) và DMC (172°C), phản ánh mạng lưới tinh thể bền vững hơn. Trong điều kiện khắc nghiệt (kiềm, nhiệt, oxy hóa), thứ tự độ bền được xác lập là BDMC > DMC > CUR. Cấu trúc thiếu nhóm methoxy giúp BDMC ít bị ảnh hưởng bởi bức xạ UV-Vis so với hai dẫn xuất còn lại.

## **1.4. Hoạt tính sinh học và cơ chế phân tử đặc hiệu**

Nghiên cứu hiện đại đang có sự chuyển dịch tập trung vào các dẫn xuất phụ như BDMC do sở hữu những cơ chế dược lý giá trị như kháng viêm đặc hiệu: BDMC có khả năng ức chế enzyme iNOS (nguyên nhân gây viêm quá mức) tối ưu hơn Curcumin; Kháng ung thư: BDMC hoạt động như một chất ức chế thụ thể GPR161, ngăn chặn con đường tín hiệu mTOR và thúc đẩy tế bào ung thư (đặc biệt là ung thư vú ba âm tính) đi vào quá trình chết theo chương trình. Do ít bị phân hủy hơn, BDMC có khả năng duy trì

nồng độ trị liệu trong mô lâu dài hơn CUR, khắc phục nhược điểm đào thải nhanh của dẫn xuất chính.

### 1.5. Phương pháp nghiên cứu lý thuyết (*in silico*)

Luận án áp dụng các công cụ tính toán hiện đại để giải mã cơ chế ở cấp độ nguyên tử: Hóa học tính toán lượng tử (DFT): Sử dụng phần mềm Gaussian 16 và phiếm hàm M06-2X để nghiên cứu cơ chế chống oxy hóa thông qua các thông số nhiệt động (BDE, IP, PA). Mô phỏng phân tử (docking & MD) sử dụng AutoDock và GROMACS để đánh giá tương tác giữa curcuminoid với các đích protein như iNOS và TLR4/MD-2.

### 1.6. Tuyến trùng ký sinh và ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu

Tuyến trùng rễ (đặc biệt là chi *Scutellonema* và *Meloidogyne*) là dịch hại nguy hiểm, không chỉ làm giảm năng suất mà còn gây stress sinh học, làm rối loạn quá trình tích lũy hoạt chất curcuminoid. Việc kiểm soát tuyến trùng là yêu cầu bắt buộc để chuẩn hóa vùng nguyên liệu và đảm bảo hàm lượng và hoạt tính sinh học của curcuminoid.

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Tổng hợp dẫn xuất curcuminoid

#### 2.1.1. Dẫn xuất curcumin-zerumbone

Bán tổng hợp qua hai giai đoạn: (i) Brom hóa zerumbone bằng NBS trong CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (1:1), thu 3-bromozerumbone (hiệu suất > 95%); (ii) Phản ứng thế nucleophil của curcumin với 3-bromozerumbone, sử dụng base K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> trong DMF, ở nhiệt độ phòng, 24h. Tinh chế bằng sắc ký cột và HPLC bán điều chế, thu được curcumin-monozerumbone (hs 15%) và curcumin-biszerumbone (hs 11%). Cấu trúc được xác định bằng phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR và HR-MS.

#### 2.1.2. Dẫn xuất di-propargyl curcumin

Tổng hợp thông qua phản ứng ether hóa Williamson: curcumin phản ứng với propargyl bromide (2,5 đương lượng), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,0 đương lượng) trong DMF khan, nhiệt độ phòng, 24h. Sản phẩm di-propargyl curcumin (C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>, hs 21%) được xác định cấu trúc bằng phổ NMR và HR-MS.

### 2.2. Đánh giá hoạt tính sinh học *in vitro*

Bốn nhóm thử nghiệm được triển khai: (i) Chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH ( $\lambda = 517$  nm, đối chứng: acid ascorbic); (ii) Kháng viêm qua ức chế NO trên RAW 264.7 kích thích bằng LPS (thuốc thử Griess,  $\lambda = 540$  nm); (iii) Gây độc tế bào trên 5 dòng ung thư (Hep-G2, HeLa, MCF-7, A549, HGC-27) bằng phương pháp MTT (đối chứng: Paclitaxel); (iv) Kháng vi sinh vật bằng phương pháp vi pha loãng xác định MIC trên 4 chủng vi khuẩn và 4 chủng vi nấm.

### 2.3. Nghiên cứu *in silico*

Dự đoán hoạt tính quét gốc HOO• bằng DFT (M06-2X/6-311++G(3df,3pd)) trong hai môi trường nước và lipid (PEA), khảo sát ba cơ chế: HAT (Abs), RAF (Add) và SET. Cơ chế kháng viêm được làm sáng tỏ bằng docking phân tử (AutoDock 4.2.6, LGA) và mô phỏng động lực học phân tử (GROMACS, Amber99SB-iLDN/GAFF) với phức hợp TLR4/MD-2 (PDB: 2Z64, 3VQ2). Chỉ số ADMET được đánh giá qua Molinspiration, ProTox-II và admetSAR.

### 2.4. Nghiên cứu tuyến trùng

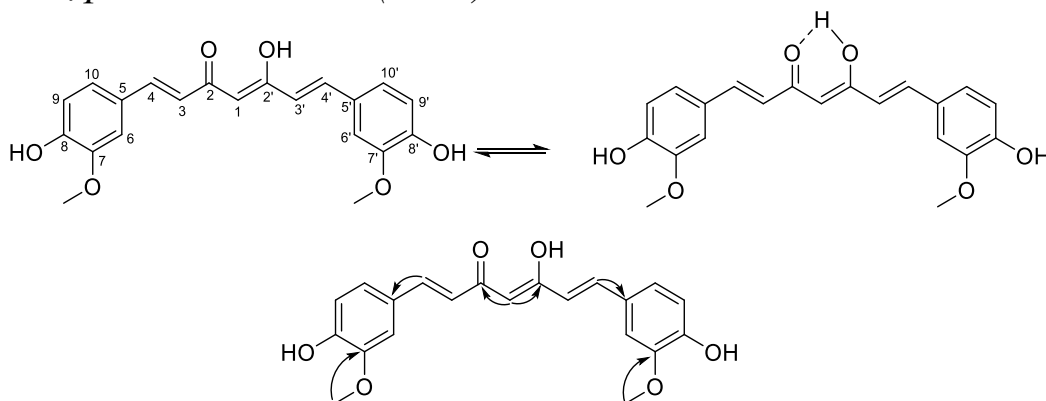
Tuyến trùng được phân lập bằng phương pháp khay Baermann cải tiến. Định danh dựa trên hình thái (kính hiển vi Olympus BX51) kết hợp sinh học phân tử (giải trình tự vùng D2-D3/28S rDNA, ITS và COI mtDNA; phân tích phát sinh loài bằng MrBayes). Ảnh hưởng của nhiễm tuyến trùng lên hàm lượng curcuminoid được định lượng bằng HPLC (Agilent 1260, cột Eclipse XDB-C18,  $\lambda = 428$  nm).

## CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Phân lập và xác định cấu trúc

Luận án đã thành công trong việc phân lập và xác định cấu trúc ba hợp chất curcuminoid chính từ củ nghệ vàng (*C. longa* L.) Việt Nam, bao gồm: curcumin (CUR) - hợp chất chính, có cấu trúc đối xứng với hai nhóm methoxy; demethoxycurcumin (DMC) - hợp chất trung gian, chỉ chứa một nhóm methoxy và bisdemethoxycurcumin (BDMC) - hợp chất không chứa nhóm methoxy, có cấu trúc đơn giản nhất. Các hợp chất này được phân lập với độ tinh khiết cao thông qua các phương pháp sắc ký hiện đại và được xác định cấu trúc bằng phổ phương pháp phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và so sánh với dữ liệu tài liệu. Kết quả này khẳng định nguồn nguyên liệu nghệ Việt Nam có tiềm năng lớn trong việc cung cấp các hoạt chất curcuminoid chất lượng cao, phục vụ nghiên cứu và phát triển sản phẩm.

#### 3.1.1. Hợp chất curcumin (CUR)



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất CUR phân lập từ củ nghệ

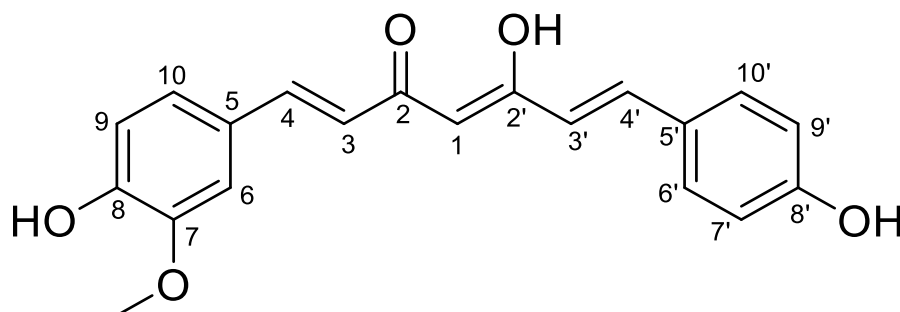
Bảng 3.1. Bảng dữ liệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của CUR

TT	CUR		[144]	
	$^a\delta_{\text{C}}$ ppm	$^a\delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$ ppm	$\# \delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)
1	101,1	5,80 (s)	100,9	5,98 (s)
2, 2'	183,3	-	183,4	16,41 (s)
3, 3'	121,8	6,49 (d; 15,6)	121,1	6,73 (d; 16,0)
4, 4'	140,6	7,60 (d; 15,6)	140,7	7,53 (d; 16,0)
5, 5'	127,7	-	126,4	-
6, 6'	109,7	7,04 (s)	111,4	7,32 (d; 2,0)
7, 7'	146,8	-	148,0	-
8, 8'	147,9	-	149,4	9,74 (s)
9, 9'	114,9	6,94 (d; 8,4)	115,7	6,85 (d; 8,1)
10, 10'	122,9	7,12 (d; 6,6)	123,2	7,16 (dd; 2,0; 8,1)
OCH <sub>3</sub>	56,0	3,94 (s)	55,7	3,84 (s)
-OH	-	5,89 (1H, br s)		

<sup>a</sup> Đo trong CDCl<sub>3</sub> tại 600 MHz ( $^1\text{H}$ -NMR) và 150 MHz ( $^{13}\text{C}$ -NMR)

<sup>#</sup> Đo trong DMSO-d<sub>6</sub> tại 500 MHz ( $^1\text{H}$ -NMR) và 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ -NMR)

### 3.1.2. Hợp chất demethoxycurcumin (DMC)



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất DMC phân lập từ củ nghệ

Bảng 3.2. Bảng dữ liệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của DMC

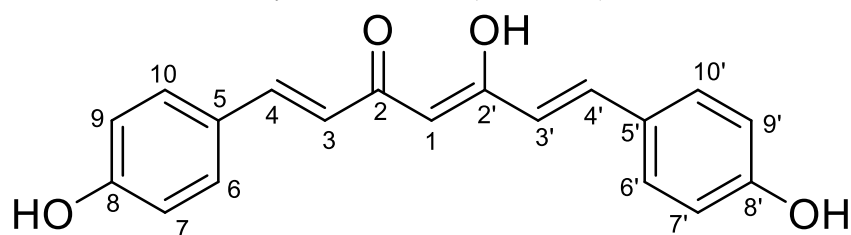
TT	DMC		[145]	
	$^a\delta_{\text{C}}$ ppm	$^a\delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$ ppm	$\# \delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)
1	100,9	5,82 (s)	102,0	5,98 (s)
2	183,3	-	184,8	-
3	121,1	6,53 (dd; 15,5; 3,0)	122,3	6,64 (d; 15,8)
4	140,7	7,63 (d; 15,5)	142,1	7,59 (d; 15,8)
5	126,4	-	128,6	-
6	111,2	7,09 (d; 2,0)	111,7	7,23 (d; 1,9)
7	148,0	-	149,4	-

8	149,3	-	150,5	-
9	115,7	6,97 (d, 8,5)	116,9	6,84 (d, 8,2)
10	125,9	7,16 (dd; 8,5; 2,0)	124,1	7,12 (dd; 8,2; 1,9)
2'	183,1	-	184,8	-
3'	123,2	6,53 (dd; 15,5; 3,0)	122,3	6,61 (d, 15,6)
4'	140,4	7,63 (d; 15,5)	142,1	7,59 (d, 15,8)
5'	127,9	-	128,0	-
6'	130,4	7,51 (d, 8,5)	131,5	7,51 (d, 8,7)
7'	116,0	6,89 (d, 8,5)	116,6	6,84 (d, 8,2)
8'	159,8	-	161,1	-
9'	116,0	6,89 (d; 8,5)	116,6	6,84 (d; 8,2)
10'	130,4	7,51 (d; 8,5)	131,5	7,51 (d; 8,7)
7-OCH <sub>3</sub>	56,4	3,95 (s)	56,5	3,93 (s)
-OH		5,89 (s)		

<sup>a</sup> Đo trong CDCl<sub>3</sub> tại 600 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) và 150 MHz (<sup>13</sup>C-NMR)

<sup>#</sup> Đo trong methanol-d<sub>4</sub> tại 500 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) 125 MHz (<sup>13</sup>C-NMR)

### 3.1.3. Hợp chất bisdemethoxycurcumin (BDMC)



Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của hợp chất BDMC phân lập từ củ nghệ

Bảng 3.3. Bảng dữ liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR của BDMC

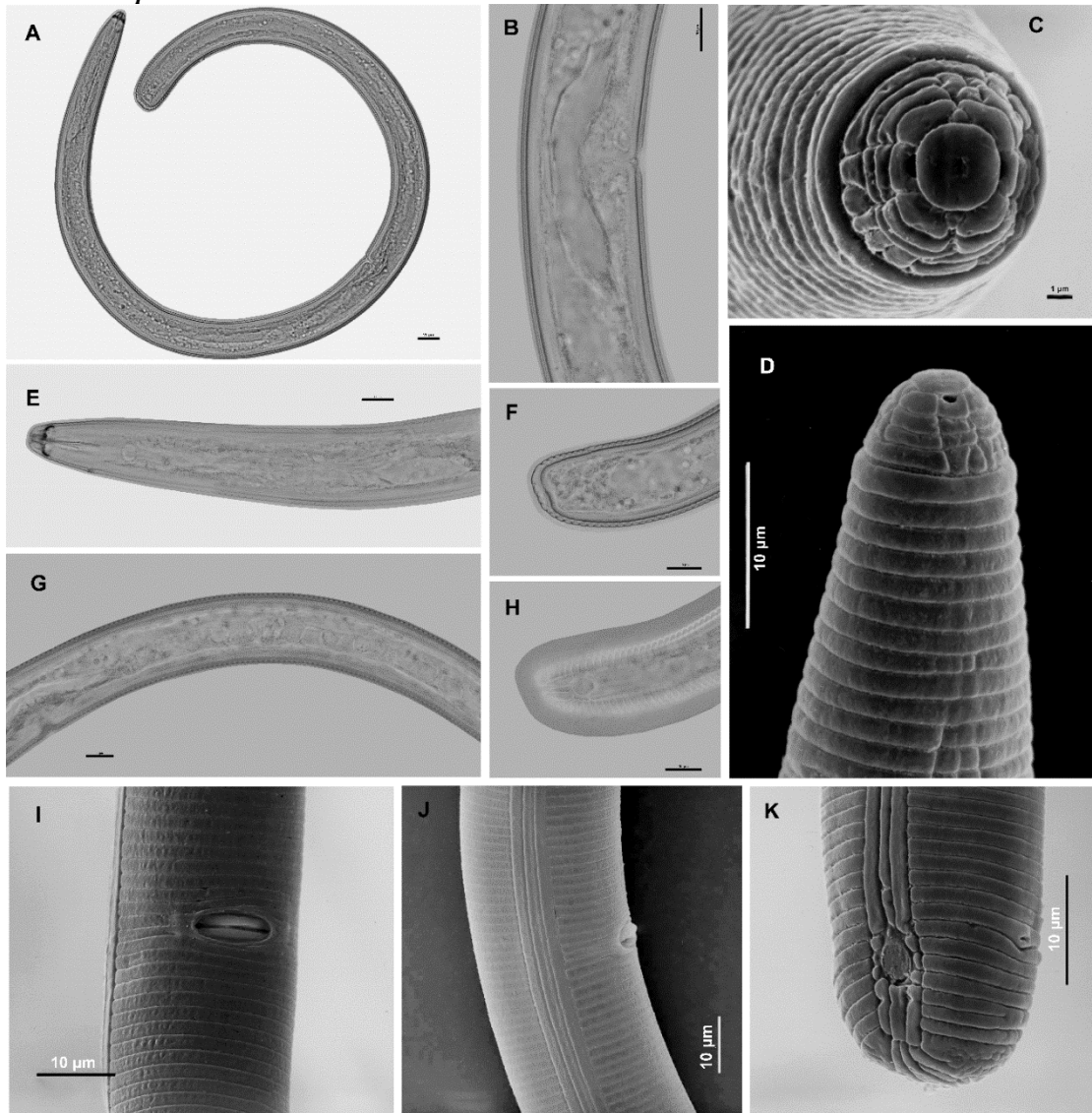
TT	BDMC		[145]	
	<sup>a</sup> δ <sub>C</sub> ppm	<sup>a</sup> δ <sub>H</sub> ppm (J; Hz)	#δ <sub>C</sub> ppm	#δ <sub>H</sub> ppm (J; Hz)
1	100,9	5,80 (1H, s)	101,9	5,94 (2H, s)
2, 2'	183,2	-	184,8	-
3, 3'	120,8	6,53 (2H; d; 15,5)	122,0	6,60 (2H; d; 15,8)
4, 4'	140,4	7,62 (2H; d; 15,5)	141,8	7,58 (2H; d; 15,8)
5, 5'	125,9	-	128,0	-
6, 6', 10, 10'	130,3	7,48 (4H; d, 8,5)	131,1	7,49 (4H; d, 8,6)
7, 7', 9, 9'	115,9	6,87 (4H; d; 8,5)	116,9	6,83 (4H; d; 8,6)
8, 8'	159,8	-	161,1	-

<sup>a</sup> Đo trong CDCl<sub>3</sub> tại 500 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) và 150 MHz (<sup>13</sup>C-NMR)

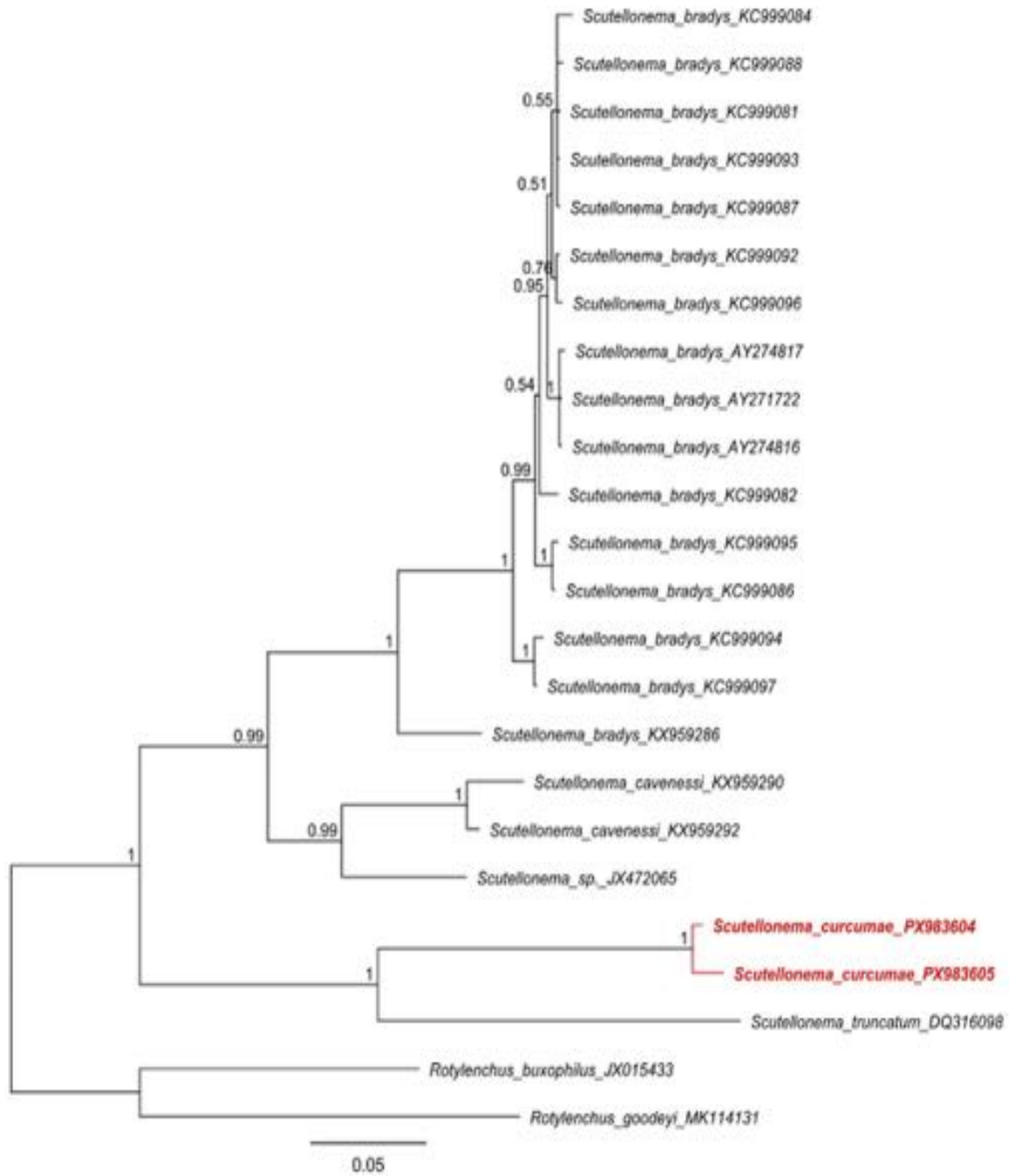
<sup>#</sup> Đo trong DMSO-d<sub>6</sub> tại 500 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) và 125 MHz (<sup>13</sup>C-NMR)

### 3.2. Tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. (Nematoda: Hoplolaimidae) và tác động của nó đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nghệ

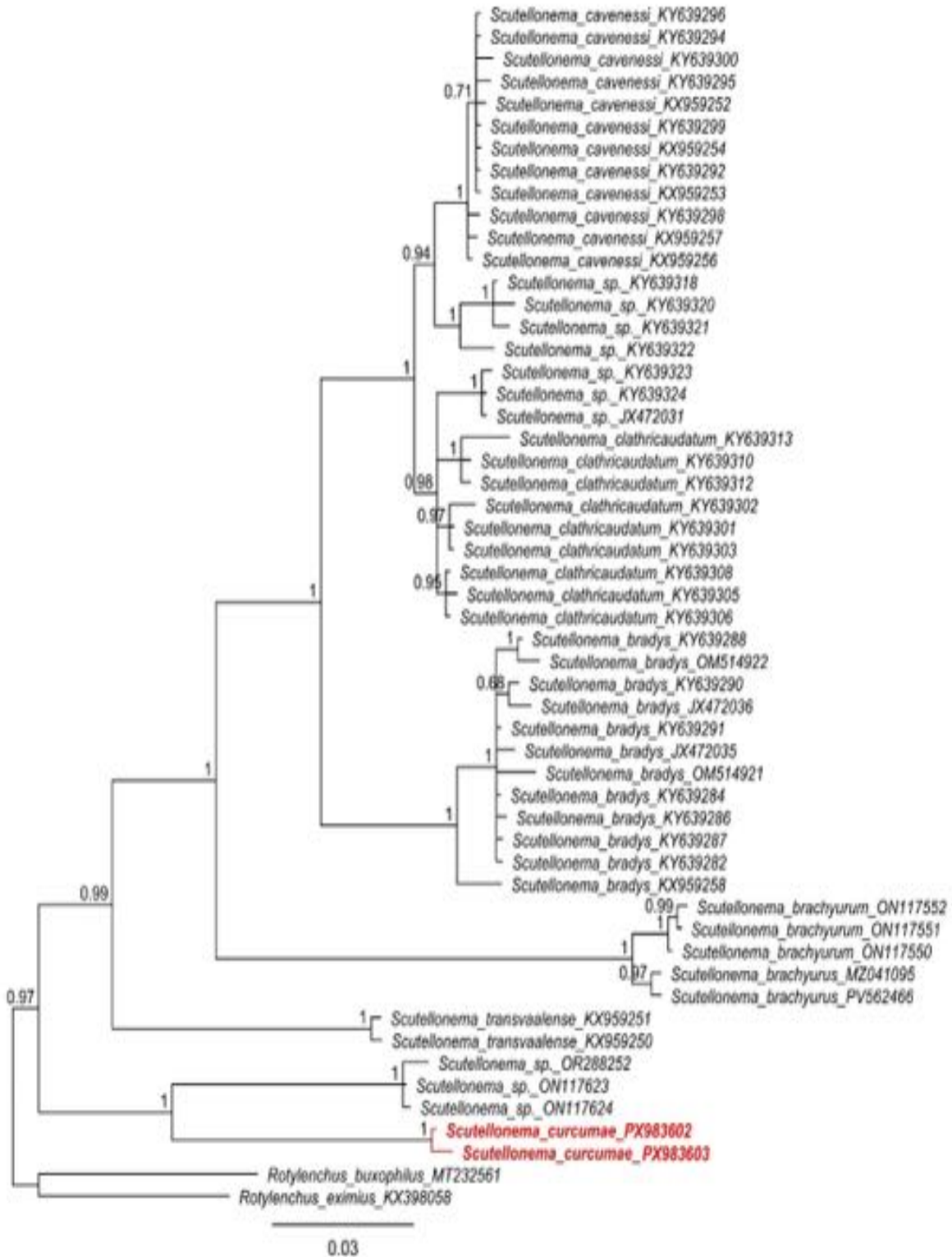
#### 3.2.1. Phân loại học, đặc điểm phân tử và sinh thái của loài *Scutellonema curcumae* sp. n



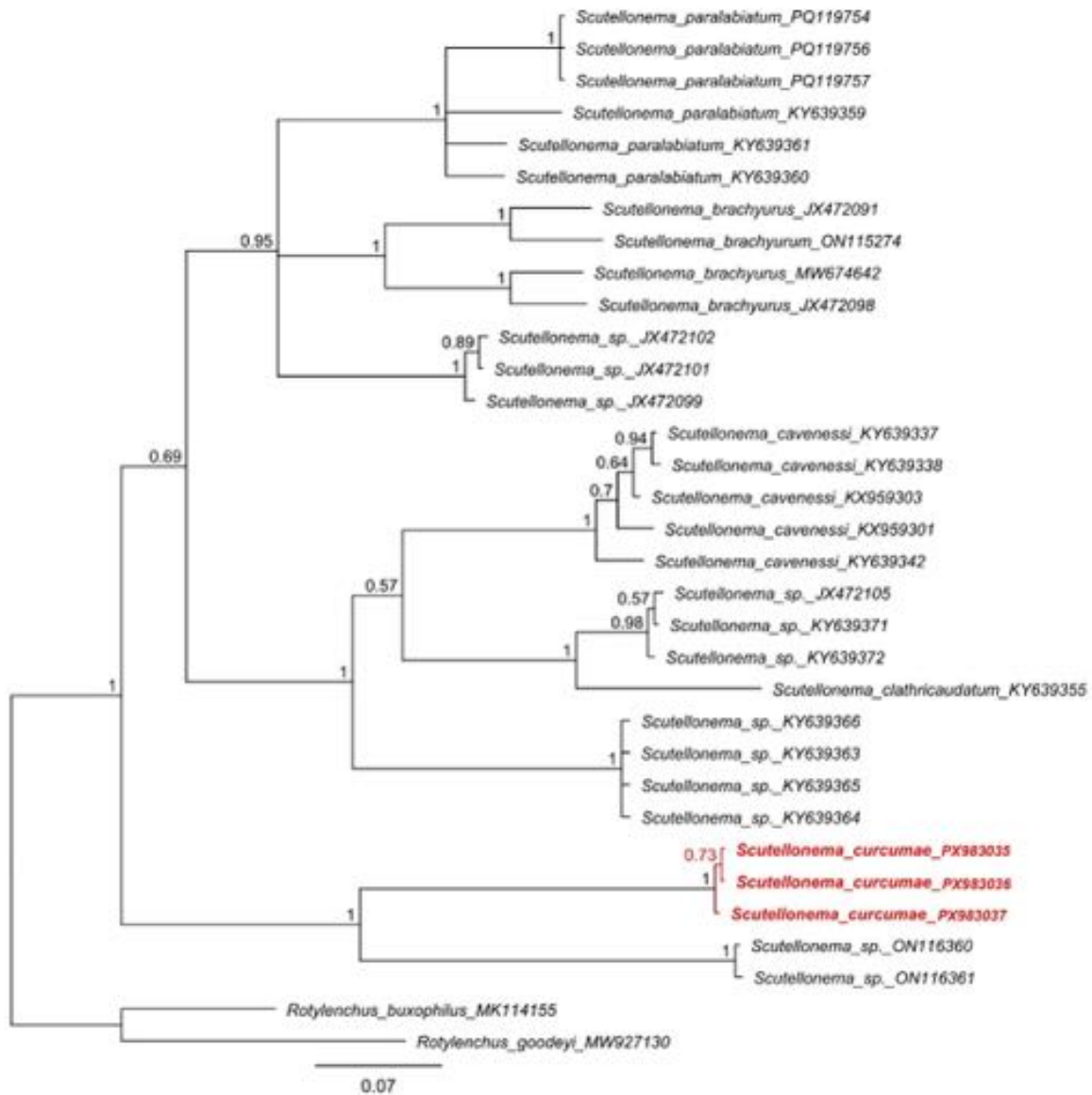
Hình 3.4. Các cá thể cái của loài *Scutellonema curcumae* sp. n. từ Việt Nam. A: Toàn bộ cơ thể; B, I, J: Vùng âm môn; C, D, E: Vùng trước; F: Vùng đuôi; H, K: Vùng đuôi cho thấy các cấu trúc hình khiên (scutella); G: Bùng trứng. (Thang đo: A: 20 µm; B, D-K: 10 µm; C: 1 µm).



Hình 3.5. Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự ITS của các loài *Scutellonema* theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài *Scutellonema curcumae* sp. n. được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ.



Hình 3.6. Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự D2-D3 của các loài *Scutellonema* theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài *Scutellonema curcumae* sp. n. được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ.



Hình 3.7. Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự COI của các loài *Scutellonema* theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài *Scutellonema curcumae* sp. n được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ.

Một đóng góp khoa học quan trọng của luận án là việc phát hiện và mô tả loài tuyến trùng ký sinh thực vật mới mang tên *Scutellonema curcumae* sp. n.. Qua quan sát hình thái dưới kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử quét, loài này đặc trưng bởi cơ thể dạng xoắn ốc khi nghỉ ngơi, kim hút (stylet) phát triển mạnh với chiều dài trung bình  $32 \mu\text{m}$  giúp chúng dễ dàng xuyên thủng các mô cứng của củ nghệ. Điểm nhận dạng then chốt là cơ quan cảm giác (scutellum) có kích thước rất lớn, nằm đối xứng hai bên thân ngang mức hậu môn. Kết quả định danh bằng chỉ thị sinh học phân tử (giải trình tự các vùng gen ITS, 28S và COI) đã củng cố thêm tính chính xác cho phát hiện này. Cây phát sinh loài được xây dựng theo phương pháp Bayes cho thấy *S. curcumae*

sp. n. hình thành một nhánh riêng biệt, có mối quan hệ tiến hóa gần gũi nhưng khác biệt rõ rệt so với loài *S. truncatum*.

### 3.2.2. Sự biến đổi hàm lượng curcuminoid do ảnh hưởng từ tuyến trùng

**Bảng 3.5.** Thành phần lý hoá và mật độ tuyến trùng trên nghệ và đất trồng

Mẫu	Đối tượng	pH	Độ ẩm đất (%)	Hàm lượng nitơ tổng số (%)	Tổng mật độ tuyến trùng trong đất (cá thể/100g đất khô)	Tổng mật độ <i>S. curcumae</i> sp. n. (cá thể/100g đất khô)
M1	Nghệ	-	-	-	59,7	19,6
	Đất	6,5	73,5	1,05	131,8	25,3
M2	Nghệ	-	-	-	17,7	7,5
	Đất	6,3	73,4	0,92	58,2	11,4
M3	Nghệ	-	-	-	88,4	10,7
	Đất	6,6	73,6	0,95	79,3	3,8
M4	Nghệ	-	-	-	78,4	12,5
	Đất	7,1	74,1	0,98	185,3	27,9
M5	Nghệ	-	-	-	58,4	16,5
	Đất	6,8	74,2	1,07	125,3	29,6
M6	Nghệ	-	-	-	66,8	12,3
	Đất	6,9	74,0	1,01	141,5	22,1
M7	Nghệ	-	-	-	33,9	8,2
	Đất	6,0	72,8	0,90	87,6	5,5
M8	Nghệ	-	-	-	47,9	3,1
	Đất	6,2	72,9	0,91	90,2	6,3
M9	Nghệ	-	-	-	23,3	1,6
	Đất	5,9	72,8	0,95	70,1	4,5
M10	Nghệ	-	-	-	11,3	0,8
	Đất	5,6	70,9	0,92	36,8	2,6

**Bảng 3.6.** Thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của củ nghệ

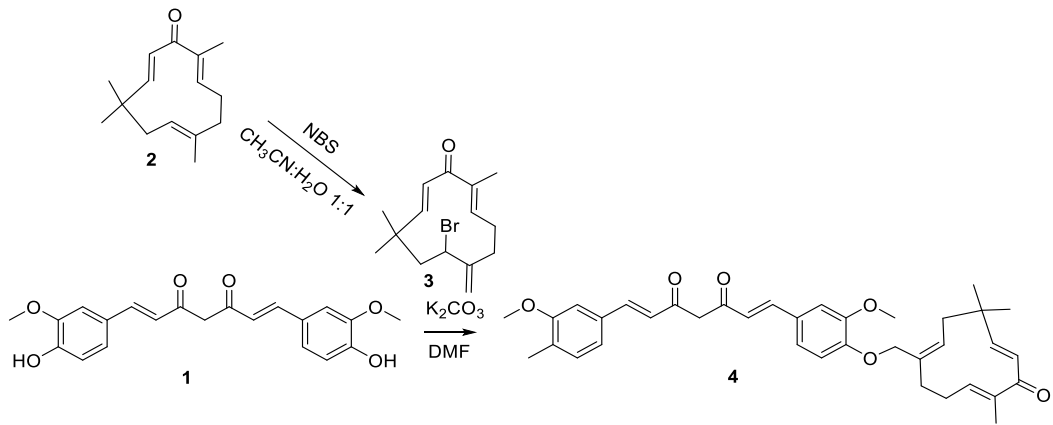
Mẫu	Hàm lượng curcuminoid (%)	Hàm lượng CUR (%)	Hàm lượng DMC (%)	Hàm lượng BDMC (%)	SC <sub>50</sub> (µg/ml)	IC <sub>50</sub> trên HepG2 (µg/ml)	IC <sub>50</sub> trên A549 (µg/ml)
	Ascorbic acid				6,81 ± 1,03		
	Paclitaxel					47,2 ± 1.26 nM	21,3 ± 1.03

<b>M1</b>	4,01 ± 0,05	3,19 ± 0,08	0,64 ± 0,04	0,16 ± 0,01	43,62 ± 3,08	44,23 ± 2,08	55,23 ± 3,34
<b>M2</b>	4,25 ± 0,03	3,07 ± 0,07	0,86 ± 0,02	0,32 ± 0,03	23,45 ± 2,19	43,67 ± 2,86	58,93 ± 2,99
<b>M3</b>	4,16 ± 0,04	3,06 ± 0,05	0,80 ± 0,03	0,31 ± 0,02	21,03 ± 2,56	45,37 ± 3,49	60,32 ± 3,05
<b>M4</b>	4,15 ± 0,02	3,18 ± 0,05	0,72 ± 0,02	0,23 ± 0,01	32,89 ± 3,55	38,82 ± 2,98	52,75 ± 2,45
<b>M5</b>	4,10 ± 0,04	3,19 ± 0,06	0,69 ± 0,04	0,21 ± 0,02	40,31 ± 3,86	37,85 ± 2,05	50,37 ± 2,97
<b>M6</b>	4,15 ± 0,05	3,21 ± 0,06	0,69 ± 0,01	0,23 ± 0,01	34,26 ± 3,82	38,63 ± 2,52	51,34 ± 3,14
<b>M7</b>	4,23 ± 0,03	3,16 ± 0,09	0,74 ± 0,02	0,31 ± 0,03	25,87 ± 2,44	39,38 ± 1,56	48,21 ± 3,82
<b>M8</b>	4,70 ± 0,06	3,38 ± 0,07	0,91 ± 0,03	0,41 ± 0,02	18,91 ± 1,73	35,76 ± 2,88	47,55 ± 2,43
<b>M9</b>	4,88 ± 0,07	3,45 ± 0,08	0,98 ± 0,04	0,46 ± 0,01	16,42 ± 1,89	29,04 ± 1,22	41,43 ± 3,02
<b>M10</b>	4,95 ± 0,02	3,45 ± 0,04	0,90 ± 0,02	0,56 ± 0,02	13,85 ± 1,31	29,35 ± 1,10	40,37 ± 3,31

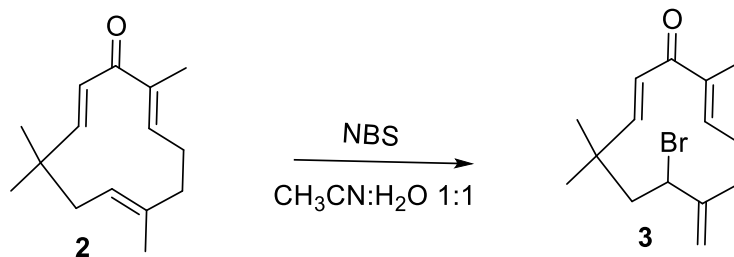
Sự thay đổi hàm lượng của curcuminoid ảnh hưởng đến hoạt tính của nghệ. Ở những mẫu ít chịu áp lực từ tuyến trùng, hàm lượng curcuminoid được tăng dẫn đến hoạt tính chống oxy hóa tăng lên mạnh (giá trị  $SC_{50}$  giảm từ 43,62  $\mu\text{g/ml}$  xuống 13,85  $\mu\text{g/ml}$ ) (Bảng 3.5). Tương tự, hoạt tính gây độc tế bào cũng được cải thiện rõ rệt, với giá trị  $IC_{50}$  giảm từ 44,23 xuống 29,35  $\mu\text{g/ml}$  đối với tế bào ung thư gan HepG2, và từ 55,23 xuống 40,37  $\mu\text{g/ml}$  đối với tế bào ung thư phổi A549. Nghiên cứu đã phát hiện và định danh thành công một loài tuyến trùng thực vật mới ký sinh trên rễ cây nghệ vàng tại Việt Nam (*Scutellonema curcumae* sp. n.). Các đặc điểm sinh học và phân tử đã được công bố trên tạp chí quốc tế, xác định rõ vị trí phân loại của loài này. Quan trọng hơn, thông qua phân tích định lượng hóa thực vật, kết quả đã minh chứng rõ ràng: sự gia tăng mật độ lây nhiễm của tuyến trùng *S. curcumae* có mối tương quan nghịch biến, gây sụt giảm nghiêm trọng hàm lượng các dạng curcuminoid (tỷ lệ BDMC). Stress sinh học do tuyến trùng gây ra làm rối loạn quá trình sinh tổng hợp, từ đó làm suy giảm trực tiếp các hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào của dược liệu. Điều này đặt ra yêu cầu cấp thiết về việc quản lý sâu bệnh hại để chuẩn hóa vùng nguyên liệu.

### 3.3. Bán tổng hợp các dẫn xuất curcumin phân lập từ củ nghệ

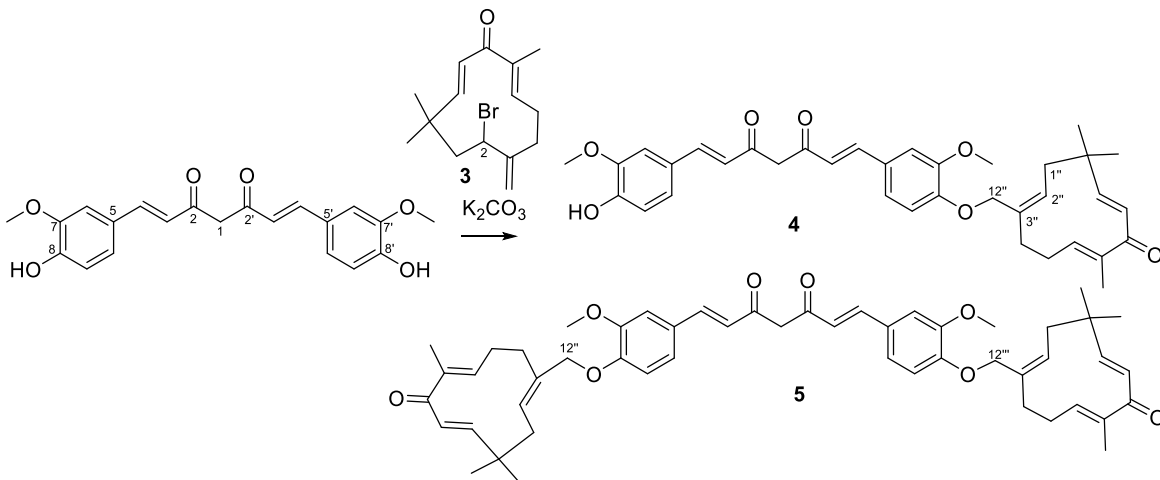
#### 3.3.1. Bán tổng hợp curcumin-zerumbone



Hình 3.8. Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone



Hình 3.9. Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone giai đoạn 1



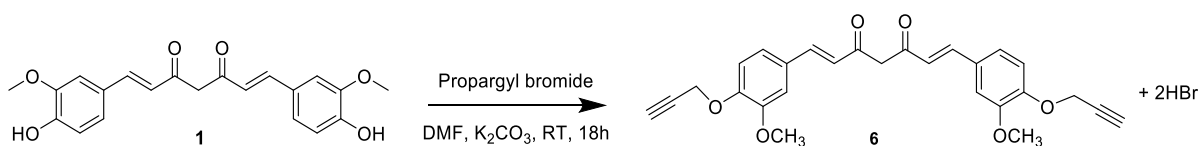
Hình 3.10. Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone giai đoạn 2

Hai dẫn xuất mới được tổng hợp thành công: curcumin-monozerumbone (mp: 118-120 °C, hs 15%), curcumin-biszerumbone (mp: 138-140 °C, hs 11%), và di-propargyl curcumin (mp: 128-129 °C, hs 21%). Cấu trúc được xác nhận bằng phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và HR-MS. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  xuất hiện của duy nhất một tín hiệu proton thuộc nhóm -OH phenol tại  $\delta_{\text{H}}$  9,64 (1H, s). Điều này chứng tỏ phản ứng thế (ether hóa) chỉ xảy ra tại một trong hai đầu của phân tử curcumin, phá vỡ tính đối xứng nguyên bản. Sự bất đối xứng này tiếp tục được minh chứng qua tín hiệu của hai nhóm methoxy (-OCH<sub>3</sub>) tách biệt thành hai mũi đơn tại  $\delta_{\text{H}}$  3,84 (3H, s) và 3,81

(3H, s) thay vì chập lại làm một. Sự hiện diện của gốc zerumbone được xác nhận thông qua các proton nhóm methyl đặc trưng tại  $\delta_H$  1,67 (3H, s), 1,22 (3H, s) và 1,05 (3H, s). Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR phù hợp với sự mất đối xứng không gian, hệ carbonyl trung tâm cho hai tín hiệu riêng biệt tại  $\delta_C$  183,7 và 182,6 ppm. Tín hiệu carbon tại vị trí liên kết mới (-O-CH) xuất hiện tại 65,6 ppm. Các carbon methyl của gốc zerumbone xuất hiện rõ nét tại 24,3; 23,7 và 11,7 ppm. Dữ liệu phổ này hoàn toàn tương thích và khẳng định sự hình thành của dẫn xuất bất đối xứng curcumin-monozerumbone.

Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột màu vàng với hiệu suất 11%. Trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR: Phân tử đã khôi phục lại tính đối xứng cao do cả hai nhóm -OH phenol đều đã tham gia phản ứng (tín hiệu -OH tại vùng  $> 9,0$  ppm hoàn toàn biến mất). Hai nhóm methoxy lúc này chập lại thành một tín hiệu duy nhất tại  $\delta_H$  3,84 với tích phân 6H. Các tín hiệu đặc trưng của gốc zerumbone đều có tích phân nhân đôi, minh chứng là 3 cụm methyl xuất hiện tại  $\delta_H$  1,67 (6H, s), 1,22 (6H, s) và 1,05 (6H, s). Tỷ lệ 6H này khẳng định có chính xác 2 gốc zerumbone được gắn vào khung curcumin. Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR nhờ tính đối xứng, hệ  $\beta$ -diketone chỉ cho một tín hiệu carbonyl chập duy nhất tại  $\delta_C$  183,0 ppm (đặc trưng cho cấu trúc dạng enol). Các carbon methyl tương ứng của hai gốc zerumbone được ghi nhận tại 24,2; 23,6 và 11,7 ppm. Kết quả biện luận khẳng định hợp chất là curcumin-biszerumbone.

### 3.3.2. Bán tổng hợp di-propargyl curcumin



Hình 3.11. Tổng hợp dẫn xuất di-propargyl curcumin

Hợp chất **6** thu được dưới dạng bột màu vàng với hiệu suất 21%. Trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR: Tính đối xứng của phân tử được thể hiện rõ ràng. Việc alkyl hóa thành công bằng gốc propargyl được minh chứng qua hai tín hiệu đặc trưng: nhóm methylene (-OCH<sub>2</sub>-) tại  $\delta_H$  4,89 với tích phân 4H (d,  $J= 2,4$  Hz) và proton alkyne đầu mạch (-C≡CH) tại  $\delta_H$  3,61 với tích phân 2H (t,  $J= 2,4$  Hz). Khung curcumin được bảo toàn cấu hình *trans* với hai proton alkene xuất hiện tại  $\delta_H$  7,66 và 7,07 (2H, d,  $J= 15,6$  Hz) cùng nhóm methoxy đối xứng tại 3,87 (6H, s). Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR xác nhận sự hiện diện của liên kết ba alkyne (-C≡C-) liên kết với oxy phenolic xuất hiện tại 65,9 ppm. Sự biến mất của tín hiệu hydroxyl và sự xuất hiện các tín hiệu alkyne có tính đối xứng nhân đôi đã khẳng định cấu trúc hợp chất là O,O-di-propargyl curcumin.

### 3.3.3. Đánh giá hoạt tính chống viêm của các dẫn xuất curcumin

Khả năng kháng viêm của CUR và các dẫn xuất bán tổng hợp (**4**, **5**, **6**) được đánh giá *in vitro* thông qua mức độ ức chế sản sinh gốc tự do NO trên mô hình đại thực bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS. Ở các phân tử lai hóa với zerumbone, dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với  $IC_{50}$  đạt  $32,15 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$ , mạnh hơn CUR tới 3,8 lần. Sự thể một lần (mono) có thể đã tạo ra một cấu hình không gian phù hợp, kết hợp được tính thấm tế bào mạnh hơn và khả năng ức chế đa đích từ cả hai khung cấu trúc (hệ Michael acceptor của curcuminoid và hệ liên hợp của zerumbone) lên tổ hợp protein NF-kB/iNOS nội bào.

Dẫn xuất curcumin-biszerumbone (**5**) cũng thể hiện hoạt tính khá tốt ( $IC_{50} = 68,20 \pm 1,50 \mu\text{g/ml}$ ), mạnh hơn CUR và dẫn xuất (**6**), nhưng lại có xu hướng kém hơn dẫn xuất mono (**4**). Sự chồng kèn quá mức ở hai đầu phân tử do hai gốc zerumbone có thể gây ra chướng ngại lập thể, làm giảm độ linh hoạt khi phân tử len lỏi và liên kết với các thụ thể đích bên trong tế bào.

**Bảng 3.7.** Hoạt tính ức chế sản sinh NO và tỷ lệ sống sót của tế bào RAW 264.7 khi xử lý với curcumin và các dẫn xuất

TT	Ký hiệu	Tên hợp chất	Giá trị $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)
1	CUR	Curcumin	$121,06 \pm 2,16$	$82,5 \pm 2,1$
2	<b>6</b>	Dipropargyl curcumin	$85,40 \pm 1,85$	$86,4 \pm 1,8$
3	<b>5</b>	Curcumin-biszerumbone	$68,20 \pm 1,50$	$88,2 \pm 2,4$
4	<b>4</b>	Curcumin-monozerumbone	$32,15 \pm 1,20$	$92,1 \pm 1,5$
5	Đôi chứng	Cardamonin	$0,61 \pm 0,24$	$95,0 \pm 1,2$

#### 3.3.4. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất curcumin

Thử hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của các dẫn xuất tổng hợp bao gồm curcumin-monozerumbone (**4**), curcumin-biszerumbone (**5**), dipropargyl curcumin (**6**) cùng với CUR, được tiến hành trên 5 dòng tế bào ung thư người: Hep-G2 (ung thư gan), HeLa (ung thư cổ tử cung), MCF-7 (ung thư vú), A549 (ung thư phổi) và HGC-27 (ung thư dạ dày) (Bảng 3.8). Kết quả cho thấy các dẫn xuất bán tổng hợp đều mang lại sự cải thiện đáng kể về mặt hoạt tính so với chất gốc curcumin ban đầu. Sự khác biệt về giá trị  $IC_{50}$  giữa các hợp chất đã bước đầu phản ánh rõ nét ảnh hưởng của các nhóm thế khác nhau khi đưa vào vị trí hydroxyl phenolic của bộ khung curcuminoid.

Bảng 3.8. Giá trị IC<sub>50</sub> (µg/ml) của curcumin và các dẫn xuất tổng hợp trên 5 dòng tế bào ung thư

TT	Ký hiệu	Dòng tế bào, Giá trị IC <sub>50</sub> (µg/ml)				
		Hep-G2	HeLa	MCF-7	A549	HGC-27
1	CUR	62,45 ± 2,15	58,15 ± 1,90	65,60 ± 2,35	72,20 ± 2,50	60,85 ± 2,05
2	4	25,35 ± 1,20	22,42 ± 1,15	28,05 ± 1,35	31,25 ± 1,50	26,60 ± 1,25
3	5	38,62 ± 1,55	35,30 ± 1,45	41,85 ± 1,70	45,45 ± 1,85	39,20 ± 1,60
4	6	48,15 ± 1,80	45,45 ± 1,65	52,60 ± 1,95	56,80 ± 2,10	49,35 ± 1,75
5	Paclitaxel	0,85 ± 0,05	0,68 ± 0,04	0,92 ± 0,05	1,15 ± 0,08	0,80 ± 0,05

### 3.3.5. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các dẫn xuất curcumin

Khi chuyển hóa thành dẫn xuất dipropargyl curcumin (**6**), phổ tác dụng đã được mở rộng lên 5 chủng. Hoạt tính trên vi khuẩn Gram dương tăng lên gấp đôi (MIC giảm còn 100 µg/ml), đồng thời hợp chất bắt đầu ghi nhận hoạt tính trên *E. coli* và 2 chủng nấm men ở nồng độ 200 µg/ml.

Dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện phổ hoạt tính rộng và mạnh nhất, có khả năng ức chế 6/8 chủng kiểm định. Hợp chất này nhạy cảm với vi khuẩn Gram dương và nấm men *C. albicans* (MIC = 100 µg/ml), ức chế tốt với nấm *S. cerevisiae*, *A. niger* và *E. coli* (MIC = 200 µg/ml).

Ngược lại, dù cũng chứa gốc zerumbone, dẫn xuất curcumin-biszerumbone (**5**) lại bị thu hẹp phổ hoạt tính (chỉ kháng 3 chủng) và hoàn toàn mất tác dụng trên vi nấm. Dẫn xuất mono (**4**) là minh chứng rõ nét nhất cho một thiết kế phân tử thành công, mở ra hướng ứng dụng làm tác nhân kháng sinh phổ rộng từ nguồn gốc thiên nhiên.

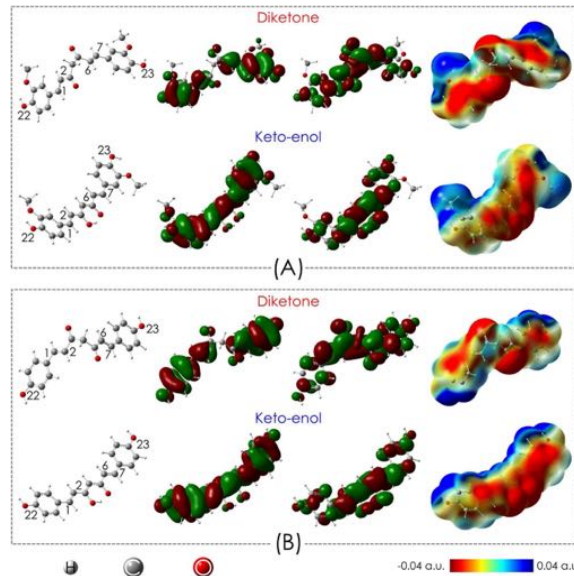
**Bảng 3.9.** Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của curcumin và các dẫn xuất, nồng độ mẫu

Ký hiệu mẫu	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: $\mu\text{g/ml}$ )							
	Vi khuẩn Gr (-)		Vi khuẩn Gr (+)		Nấm mốc		Nấm men	
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>
CUR	> 200	> 200	200	200	> 200	> 200	> 200	> 200
6	200	> 200	100	100	> 200	> 200	200	200
5	200	> 200	100	100	> 200	> 200	> 200	> 200
4	200	>200	100	100	200	> 200	200	100

Giá trị > 200  $\mu\text{g/ml}$  được xem là không có hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm

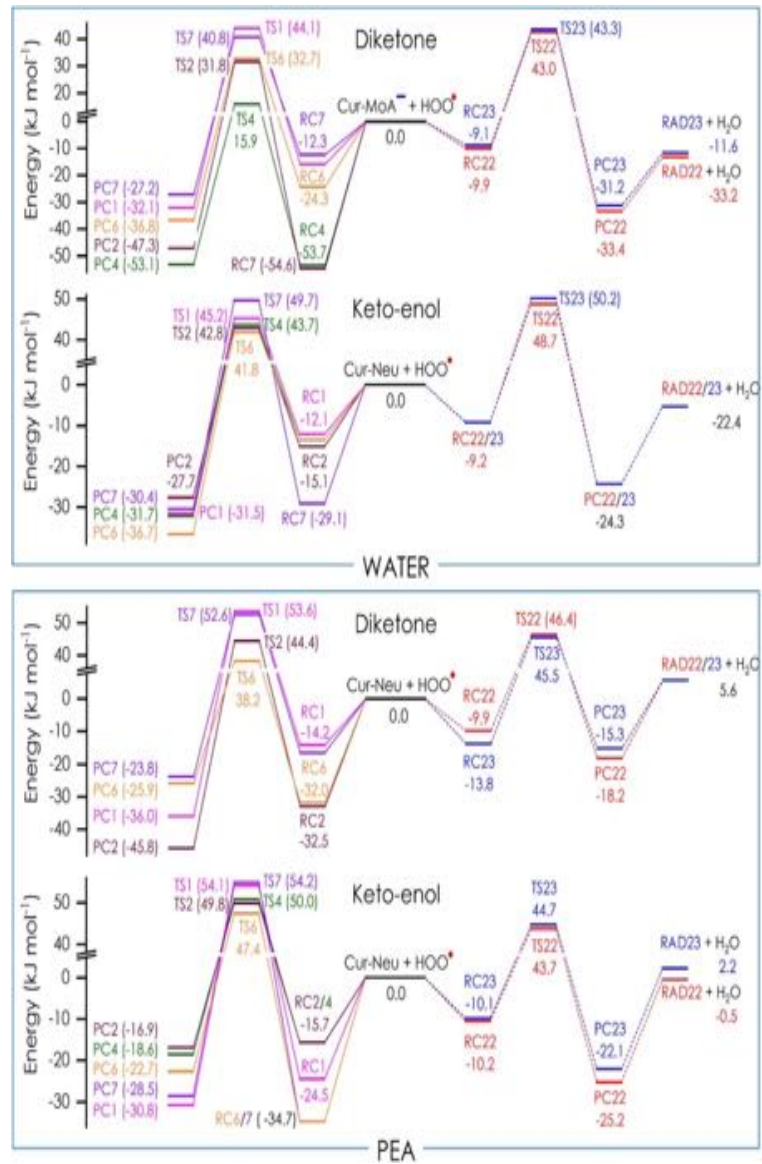
### 3.4. Kết quả mô phỏng *in silico*

Phần cuối của chương tập trung vào việc giải mã khả năng kháng viêm và cơ chế tác động của BDMC bằng cả thực nghiệm và lý thuyết. Trên mô hình tế bào RAW 264.7 bị kích thích bởi LPS, BDMC thể hiện khả năng ức chế sản sinh nitric Oxide (NO) vượt trội với  $IC_{50} = 91,22 \mu\text{M}$ , thấp hơn đáng kể so với CUR ( $121,06 \mu\text{M}$ ). Để giải thích điều này, mô phỏng gắn kết phân tử (Molecular Docking) đã chỉ ra rằng BDMC tạo ra năng lượng liên kết thấp hơn (-9,73 kcal/mol) và hình thành các tương tác hydro bền vững hơn với các acid amin trong khoang liên kết của thụ thể TLR4/MD-2, đích chặn quan trọng trong chuỗi phản ứng viêm.

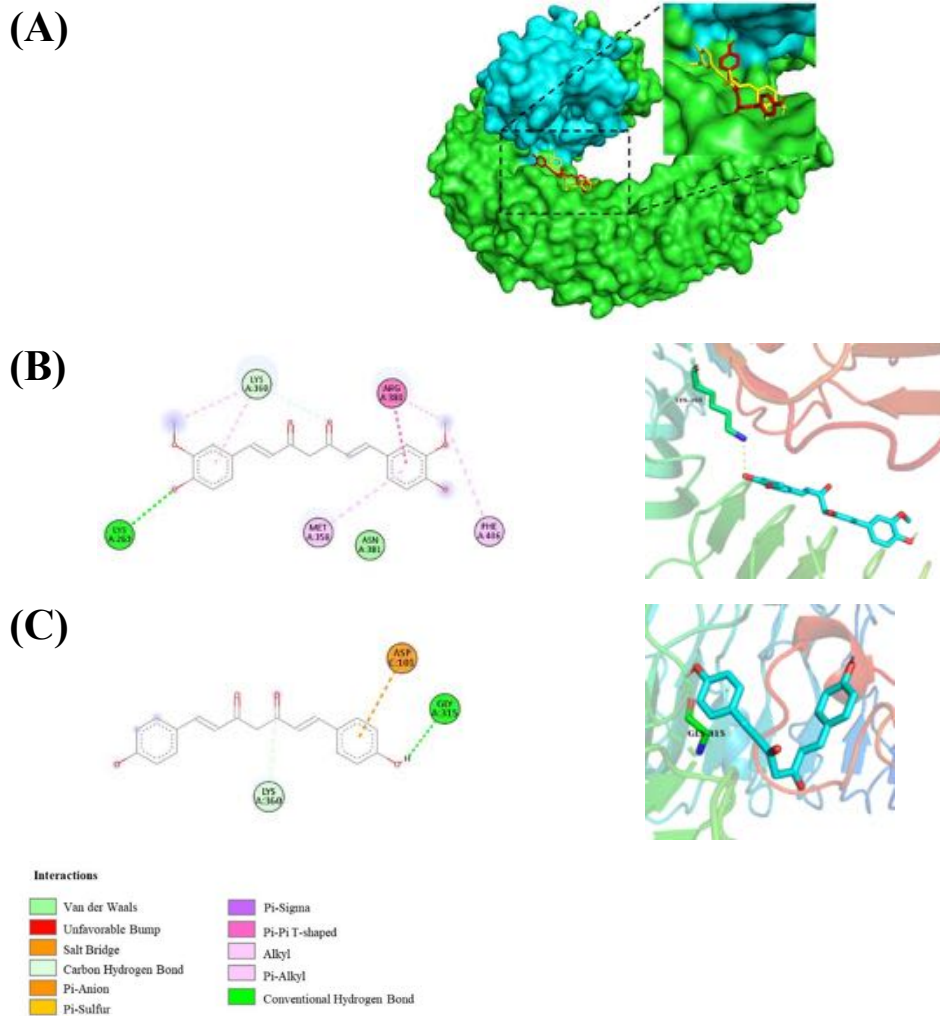


*Hình 3.12.* Cấu trúc hình học tối ưu, các bản đồ HOMO, LUMO và thể tích điện (ESP) của các dạng hồ biến diketone và keto-enol của CUR (A) và BDMC (B) trong nước.

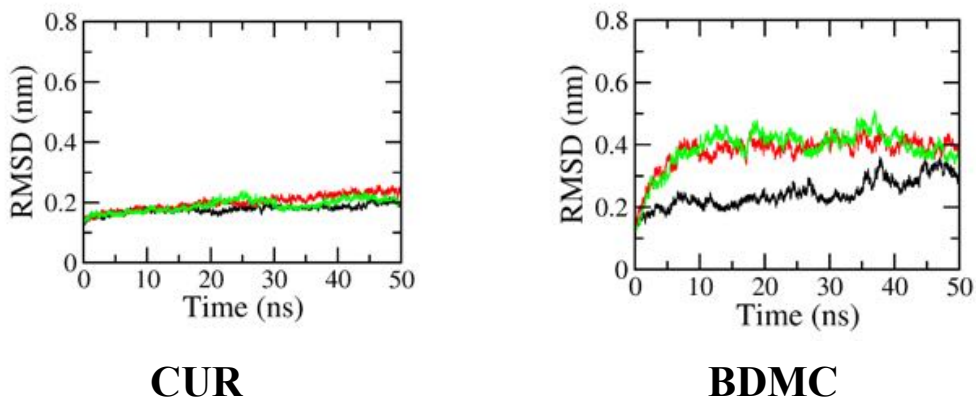
Đặc biệt, nghiên cứu động học lượng tử (DFT) đã làm sáng tỏ khả năng quét gốc tự do của BDMC trong môi trường lipid của màng tế bào. Nhờ cấu trúc phân tử linh hoạt và thiếu nhóm cản trở không gian (methoxy), BDMC có hằng số tốc độ phản ứng quét gốc tự do cao gấp 20 lần so với curcumin truyền thống. Các dự đoán ADMET cũng khẳng định BDMC có đặc tính dược động học tốt, độ độc tính thấp và khả năng hấp thu cao, chứng minh đây là một ứng viên tiềm năng để phát triển thành các chế phẩm bảo vệ sức khỏe chuyên biệt cho bệnh lý viêm loét dạ dày và xương khớp.



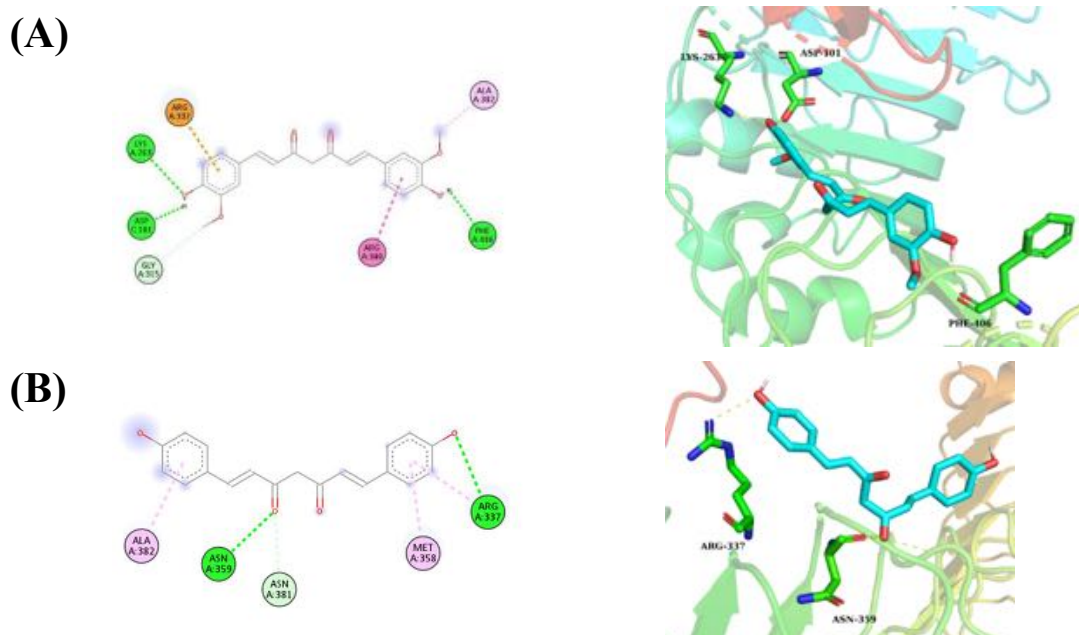
Hình 3.14. Giảm đồ enthalpy tương đối đã hiệu chỉnh năng lượng điểm không (ZPE) tại 0 K ( $\Delta H^0_K$ ) cho các phản ứng tách (bên phải) và phản ứng cộng (bên trái) được khơi mào bởi gốc tự do  $\text{HOO}\cdot$  của BDMC trong môi trường nước và PEA.



*Hình 3.15.* Tương tác giữa CUR và BDMC trong phức hợp với TLR4/MD-2 thu được từ gói phần mềm AutoDock4. (A) Các hợp chất nghiên cứu liên kết với một vùng trôn trên TLR4, liền kề với bề mặt tiếp xúc của nó với MD-2: CUR-màu đỏ, BDMC-màu vàng; (B) Tư thế ghép nối của CUR; (C) Tư thế ghép nối của BDMC.



*Hình 3.16.* RMSD toàn nguyên tử của TLR4/MD-2 với CUR (A) và BDMC (B) qua 3 lần mô phỏng MD độc lập 50ns.



Hình 3.17. Tư thế liên kết cấu trúc được tinh chỉnh bằng MD giữa CUR (A) và BDMC (B) với TLR4/MD-2, thu được bằng phương pháp phân cụm từ các ảnh chụp ở trạng thái cân bằng của phức hợp với ngưỡng cắt 0.2 nm.

Cả CUR và BDMC đều sở hữu các đặc tính hóa lý tối ưu cho hấp thu đường uống, tuân thủ hoàn toàn quy tắc Lipinski mà không có bất kỳ vi phạm nào. Sự nhất quán giữa các mô hình dược động học, kết quả mô phỏng MD và điểm số ái lực từ AutoDock4 khẳng định các dẫn xuất tự nhiên này là những chất ức chế TLR4/MD-2 tiềm năng với đặc tính dược học khả thi. Hơn nữa, việc được phân loại vào nhóm độc tính 4 và 5, đi kèm với các giá trị LD<sub>50</sub> dự đoán thuận lợi, cho thấy các hợp chất này có cửa sổ an toàn rộng, hỗ trợ triển khai các nghiên cứu phát triển thuốc giai đoạn tiếp theo.

Bảng 3.16. Chỉ số ADMET và dự đoán độc tính của các chất tiềm năng

Hợp chất	KLPT (MW)	HBD	HBA	LogP	MR (cm <sup>3</sup> /mol)	TPSA (Å <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Dự đoán độc tính <sup>b</sup>	HIA (%)
CUR	368	2	6	3,72	102,80	93,06	2000	4	93,30
BDMC	308	2	4	3,24	89,82	74,60	2560	5	94,20
4	486	1	5	6,51	165,56	85,00	2300	5	92,80

<sup>a</sup>Diện tích bề mặt phân cực toàn phần phân tử; <sup>b</sup>Phân loại dự đoán độc tính: 1 → 6 (Độc tính cao đến không độc).

Cả CUR, DMC và BDMC đều thể hiện hiệu năng ức chế rõ rệt đối với sự sản sinh NO trong đại thực bào và sự tăng sinh của các dòng tế bào ung thư. Trong đó, BDMC nổi bật như một ứng viên tiềm năng cao với khả năng kháng viêm mạnh thông qua cơ chế ức chế iNOS và tác động chọn lọc trên các dòng tế bào ung thư kháng thuốc.

Các nghiên cứu *in silico* (mô phỏng docking phân tử và mô phỏng động lực học phân tử) đã xác nhận và giải thích ưu thế cấu trúc của BDMC. Việc thiếu hụt các nhóm methoxy linh hoạt giúp BDMC tối ưu hóa các tương tác không gian và mạng lưới liên kết hydro, từ đó hình thành các phức hợp có độ ổn định nhiệt động cao hơn với các đích protein then chốt như iNOS và phức hợp TLR4/MD-2.

Phân tích ADMET chỉ ra rằng các curcuminoid, điển hình là BDMC, sở hữu hồ sơ dược động học thuận lợi và độ an toàn cao (thuộc nhóm độc tính 4 và 5), củng cố cơ sở cho việc phát triển thành các tác nhân trị liệu tiềm năng.

Cần triển khai các thử nghiệm *in vivo* trên mô hình động vật viêm hoặc ung thư để xác thực hiệu quả điều trị và độ an toàn hệ thống của BDMC. Đồng thời, sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử (Western blot, qPCR, ELISA) để làm sáng tỏ cơ chế điều hòa các con đường tín hiệu NF- $\kappa$ B, STAT3 và iNOS đã được dự đoán. Các dữ liệu docking và MD thu được sẽ là tiền đề quan trọng cho chiến lược thiết kế các dẫn xuất BDMC thế hệ mới nhằm tối ưu hóa ái lực liên kết, độ tan và sinh khả dụng.

Phương pháp mô phỏng tính toán *in silico* đã giải mã thành công cơ chế tác dụng ở mức độ phân tử, tương đồng cao với kết quả *in vitro*. Cụ thể, tính toán lượng tử (DFT) đã làm rõ cơ chế chống oxy hóa phụ thuộc dung môi: môi trường nước ưu tiên cơ chế chuyển điện tử đơn (SET) từ các anion, trong khi môi trường lipid ưu tiên cơ chế chuyển điện tử kết hợp proton (PCET). Đối với hoạt tính kháng viêm, mô phỏng docking và Động lực học phân tử (MD) đã minh chứng BDMC và các dẫn xuất thiếu nhóm methoxy có ái lực liên kết tĩnh điện và kỵ nước ổn định, bền vững hơn với phức hợp protein đích TLR4/MD-2 so với CUR.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận:

1. Đã phân lập thành công ba thành phần curcuminoid chính (CUR, DMC, BDMC) từ thân rễ *C. longa* Việt Nam và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại.

2. Đã tổng hợp được ba dẫn xuất lai mới: curcumin-monozerumbone (hs 15%), curcumin-biszerumbone (hs 11%) và di-propargyl curcumin (hs 21%). Cấu trúc được xác nhận bằng  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và HR-MS.

3. Đã đánh giá hoạt tính sinh học *in vitro* toàn diện: các curcuminoid và dẫn xuất thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư và kháng vi sinh vật ở các mức độ khác nhau

4. Tính toán DFT cho thấy hằng số quét góc tự do trong môi trường nước CUR > BDMC, và trong môi trường lipid BDMC gấp 20× CUR. Nhóm methoxy đóng vai trò thiết yếu trong việc tăng cường khả năng cho H của nhóm hydroxyl phenol.

5. Kết quả docking và MD cho thấy curcuminoid có khả năng liên kết với vùng hoạt động của phức hợp TLR4/MD-2, gợi ý cơ chế kháng viêm thông qua ức chế con đường nhận diện LPS, phù hợp với kết quả thực nghiệm ức chế NO.

6. Đã mô tả lần đầu tiên loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên cây nghệ tại Việt Nam, dựa trên bằng chứng hình thái và phân tử. Nhiễm tuyến trùng làm giảm đáng kể hàm lượng curcuminoid trong thân rễ.

### Kiến nghị:

1. Mở rộng phương án bán tổng hợp, tiếp tục thiết kế và tổng hợp các dẫn xuất curcuminoid theo các hướng can thiệp cấu trúc mới tại vị trí C4 của hệ  $\beta$ -diketone (ngưng tụ Knoevenagel) hoặc tạo phức kim loại chuyển tiếp ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) để tối ưu hóa độ hòa tan và dược tính.
2. Đẩy mạnh công cụ *in silico*, lấy dữ liệu mô phỏng động lực học phân tử (MD) và dược động học (ADMET/Lipinski) làm kim chỉ nam để định hướng trước cấu trúc cho quá trình bán tổng hợp.
3. Ứng dụng tạo chế phẩm, kết quả thử nghiệm của dạng BDMC tinh khiết và các dẫn xuất lai hóa là cơ sở khoa học vững chắc. Kiến nghị tiếp tục nghiên cứu và ứng dụng các dòng sản phẩm như dòng sản phẩm thực phẩm chức năng chuyên biệt cho khả năng chống oxy hóa mạnh (giàu BDMC) trong môi trường lipid; dòng sản phẩm thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị viêm (giàu BDMC), phát triển dẫn xuất bán tổng hợp hỗ trợ điều trị ung thư, phát triển chế phẩm sinh học kiểm soát tuyến trùng, ứng dụng trong dược mỹ phẩm.