

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ HUỆ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ CỦA LOÀI CỜM KÌA
(*Elatostema tenuicaudatum*) Ở VIỆT NAM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2026

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ HUỆ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ CỦA LOÀI CORM KÌA
(*Elatostema tenuicaudatum*) Ở VIỆT NAM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

Hướng dẫn 1

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Tran Duc Dai'.

TS. Trần Đức Đại

Hướng dẫn 2

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Do Tien Lam'.

TS. Đỗ Tiến Lâm

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Tác giả luận văn**Nguyễn Thị Huệ**

LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Khoa Y Dược, Trường Đại học Tân Trào và Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Để hoàn thành luận văn tốt nghiệp này, bên cạnh sự cố gắng nỗ lực của bản thân, tôi đã nhận được sự động viên và giúp đỡ rất lớn của nhiều cá nhân và tập thể.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Trần Đức Đại – Trường Đại học Tân Trào, TS. Đỗ Tiến Lâm – Viện hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn. Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới các thầy cô thuộc Khoa Y Dược đã tạo điều kiện hướng dẫn và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian làm luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo và các thầy cô giáo tại Học viện Khoa học và Công nghệ đã giúp đỡ, tạo điều kiện và truyền đạt vốn kiến thức quý báu cho chúng tôi trong suốt thời gian tôi học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi xin trân trọng và biết ơn sâu sắc tới gia đình, bạn bè đã động viên, luôn giúp đỡ tôi vượt qua mọi khó khăn để hoàn thành luận văn này.

Tôi trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 19 tháng 06 năm 2026

Tác giả luận văn



Nguyễn Thị Huệ

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	vi
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	3
1.1. Giới thiệu về chi Tầm ma (<i>Elatostema</i>).....	3
1.2. Giới thiệu về loài Cơm kìa (<i>Elatostema tenuicaudatum</i>)	5
1.2.1 Đặc điểm thực vật	6
1.2.2. Tính vị và công dụng.....	6
1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các thực vật chi <i>Elatostema</i>	7
1.3.1. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	7
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	11
1.4. Tổng quan về tình hình bệnh ung thư	20
1.4.1. Định nghĩa và đặc điểm sinh học của tế bào ung thư	20
1.4.2. Nguyên nhân và các yếu tố nguy cơ gây ung thư	21
1.4.3. Tình hình ung thư trên thế giới và tại Việt Nam.....	22
1.4.4. Đặc điểm sinh học các dòng tế bào ung thư trong nghiên cứu <i>in vitro</i>	23
1.4.5. Tình hình nghiên cứu sử dụng thực vật và hoạt chất tự nhiên trong chống ung thư.....	24
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM.....	26
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	26
2.2. Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc hoá học các hợp chất	26
2.3. Chiết xuất và phân lập.....	30

2.4. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT	34
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	36
3.1. Về thành phần hóa học.....	36
3.1.1. Hợp chất mới: 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (1).....	36
3.1.2. Hợp chất 1-heptatriacontanol (2)	43
3.1.3. Hợp chất betulinic acid (3).....	46
3.1.4. Hợp chất α -amyrin acetate(4).....	48
3.1.5. Hợp chất bergenin (5).....	51
3.2. Về hoạt tính gây độc tế bào.....	53
KẾT LUẬN.....	58
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....	60

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tên Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C -NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance	Cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance	Cộng hưởng từ hạt nhân proton
CC	Column chromatography	Sắc kí cột
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
HMBC	Heteronuclear multiple Bond Connectivity	Tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
EC ₅₀	EC ₅₀	Nồng độ hiệu quả 50% đối tượng thử nghiệm
MTT	-	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
SD	Standard Deviation	Độ lệch chuẩn
δ_{H}	Proton chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton
δ_{C}	Carbon chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của carbon
ppm	Part per million	Phần triệu
TMS	Tetramethylsilane	Tetramethylsilane
RT	Retention Time (min)	Thời gian lưu (phút)
EtOAc	Ethyl acetate	
EtOH	Ethanol	
MeOH	Methanol	

DANH MỤC HÌNH ẢNH

<i>Hình 1.1.</i> Một số loài đặc hữu thuộc chi <i>Elatostema</i> ở Việt Nam.....	4
<i>Hình 1.2.</i> Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-20	10
<i>Hình 1.3.</i> Cấu trúc hóa học của các hợp chất 21-23	10
<i>Hình 1.4.</i> Cấu trúc hóa học của các hợp chất 24-29	11
<i>Hình 1.5.</i> Cấu trúc hóa học của các hợp chất 30-39	12
<i>Hình 1.6.</i> Cấu trúc hóa học của các hợp chất 40-45	13
<i>Hình 2.1.</i> Cây Cơm kìa (<i>E. tenuicaudatum</i>)	26
<i>Hình 2.2.</i> Sơ đồ chiết tạo cao chiết tổng và các phân đoạn của <i>E. tenuicaudatum</i>	31
<i>Hình 2.3.</i> Sơ đồ phân lập các hợp chất từ <i>E. tenuicaudatum</i>	34
<i>Hình 3.1.</i> Phổ HR-ESI-MS của hợp chất 1	37
<i>Hình 3.2.</i> Phổ ¹ H-NMR của hợp chất 1	38
<i>Hình 3.3.</i> Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất 1	38
<i>Hình 3.5.</i> Phổ HSQC của hợp chất 1	39
<i>Hình 3.6.</i> Phổ HMBC của hợp chất 1	40
<i>Hình 3.7.</i> Phổ COSY của hợp chất 1	41
<i>Hình 3.8.</i> Phổ NOESY của hợp chất 1	42
<i>Hình 3.9.</i> Cấu trúc hóa học, COSY và tương tác HMBC (H→C) chính của hợp chất 1	42
<i>Hình 3.10.</i> Cấu trúc hóa học của hợp chất 2	45
<i>Hình 3.11.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 3 ...	47
<i>Hình 3.12.</i> Cấu trúc hóa học của 4	50
<i>Hình 3.13.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 5 ...	52
<i>Hình 3.14.</i> Các hợp chất phân lập được từ Cơm kìa (<i>E. tenuicaudatum</i>)	53

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 1.1.</i> Các hợp chất được xác định từ <i>E. papillosum</i> bằng GC-MS ...	13
<i>Bảng 1.2.</i> Các hợp chất được xác định từ <i>E. sessile</i> bằng GC-MS	15
<i>Bảng 3.1.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất 1 trong CD_3OD ...	42
<i>Bảng 3.2.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất 2 trong CD_3OD ...	45
<i>Bảng 3.3.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của 3 và chất tham khảo	47
<i>Bảng 3.4.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của 4 và chất tham khảo	50
<i>Bảng 3.5.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của 5 và chất tham khảo	52
<i>Bảng 3.6.</i> Kết quả hoạt tính gây độc tế bào (IC_{50} , μM) của các chất 1-5 .	54

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Hiện nay, xu hướng sử dụng các hợp chất có nguồn gốc từ thảo mộc tự nhiên để hỗ trợ và điều trị bệnh đang trở thành mối quan tâm hàng đầu của ngành y dược không chỉ tại Việt Nam mà còn trên toàn thế giới [1]. Với hệ sinh thái phong phú, Việt Nam được ghi nhận có gần 12000 loài thực vật bậc cao, trong đó có khoảng 4700 loài đã được sử dụng làm thuốc [2]. Đây là kho tàng dược liệu vô giá cần được tiếp tục khai thác và làm sáng tỏ bằng các bằng chứng khoa học hiện đại.

Trong số các bệnh lý hiểm nghèo, ung thư hiện là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu, gây ra gánh nặng lớn về sức khỏe và chất lượng cuộc sống cho người bệnh [3]. Nhu cầu tìm kiếm các hợp chất mới có khả năng gây độc chọn lọc trên tế bào ung thư nhưng vẫn đảm bảo tính an toàn là rất cấp thiết.

Loài Cơm kìa (*Elatostema tenuicaudatum*), thuộc họ Gai (Urticaceae), là loại dược liệu quý được đồng bào vùng Tây Bắc Việt Nam sử dụng trong y học dân gian để điều trị các bệnh về gan, tiêu đường và hỗ trợ bệnh nhân ung thư [4]. Tuy nhiên, các dẫn liệu khoa học về thành phần hóa học cũng như cơ chế hoạt tính sinh học của loài này tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế và chưa có tính hệ thống. Việc nghiên cứu sâu về loài Cơm kìa không chỉ giúp kiểm chứng kinh nghiệm dân gian mà còn mở ra hướng đi mới trong việc phát triển các sản phẩm dược phẩm có giá trị cao từ nguồn nguyên liệu địa phương. Xuất phát từ thực tiễn đó, đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của loài Cơm kìa (*Elatostema tenuicaudatum*) ở Việt Nam” được thực hiện.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất sạch từ phần trên mặt đất của cây Cơm kìa (*Elatostema tenuicaudatum*) thu hái tại Việt Nam.

Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của các hợp chất phân lập được đối với một số dòng tế bào ung thư người phổ biến như ung thư vú (MCF-7), ung thư gan (Hep-G2), ung thư phổi (A549), ung thư cổ tử cung (HeLa) và ung thư tuyến tiền liệt (PC-3).

3. Nội dung nghiên cứu

Tổng quan các tài liệu liên quan đến chi *Elatostema* và loài *E. tenuicaudatum* trên thế giới và tại Việt Nam.

Xử lý mẫu nguyên liệu, tiến hành chiết xuất và phân lập các hợp chất bằng các phương pháp sắc ký hiện đại (sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, rây phân tử).

Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất bằng các phương pháp phổ hiện đại (^1D , ^2D -NMR, MS).

Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT và thảo luận về các kết quả thu được.

4. Những đóng góp mới của luận văn

Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc 01 hợp chất mới là 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene-6-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside], hợp chất **1**), cùng 04 hợp chất đã biết gồm 1-heptatriacontanol (**2**), betulinic acid (**3**), α -amyrin acetate (**4**) và bergenin (**5**) từ phần trên mặt đất loài Com kìa (*E. tenuicaudatum*) tại Việt Nam.

Đã cung cấp dữ liệu thực nghiệm chứng minh hợp chất mới (**1**) có hoạt tính gây độc tế bào ung thư tốt, đặc biệt trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 ($\text{IC}_{50} = 11,90 \mu\text{M}$) và gan Hep-G2 ($\text{IC}_{50} = 29,36 \mu\text{M}$).

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về chi Tầm ma (*Elatostema*)

Chi Tầm ma (*Elatostema*) họ Gai (Urticaceae), gồm khoảng 600 loài, chủ yếu là thân thảo, mọc nước, sinh trưởng dưới tán rừng. Chi này phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Phi, châu Á, châu Úc và châu Đại Dương. Khu vực núi đá vôi ở Đông và Đông Nam Á được xem xét là trung tâm đa dạng của chi này [5, 6]. Những nghiên cứu trước đó đã chỉ ra rằng phân loại của chi này vẫn còn nhiều quan điểm chưa được thống nhất, đặc biệt là giới hạn của chi *Elatostema*, với *Elatostematoides*, *Pellionia* và *Procris* [7].

Gagnepain (1930), là người đầu tiên ghi nhận 34 loài chi *Elatostema* cho hệ thực vật Việt Nam (bao gồm các loài *Pellionia*). Những nghiên cứu sau đó, Phạm Hoàng Hộ (2003) và Nguyễn Tiến Hiệp (2005) đã báo cáo có khoảng 32-35 loài của chi này ở Việt Nam. Những nghiên cứu gần đây, các tác giả đã ghi nhận bổ sung thêm 27 loài và chỉnh lý danh pháp cho một số loài của chi *Elatostema* cho khu hệ thực vật Việt Nam [8]. Tuy nhiên, chi này vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ và mang tính hệ thống ở Việt Nam.

Trong khi nghiên cứu hệ thống học và phân loại chi *Elatostema* ở khu vực Đông và Đông Nam Á, trên cơ sở hàng loạt các nghiên cứu ngoài thực địa ở Việt Nam (từ năm 2009-2018), nghiên cứu các mẫu tiêu bản, mẫu chuẩn (type) và bản mô tả gốc (protologue), các nhà khoa học của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam, Viện Thực vật Quảng Tây, Trung Quốc đã ghi nhận 77 taxa (75 loài và 2 dưới loài) của chi *Elatostema* ở Việt Nam, trong đó 23 taxa là thuộc chi *Pellionia*, 19 loài là ghi nhận mới cho Việt Nam: *E. attenuatoides*, *E. austrosinense*, *E. backeri*, *E. brunneinerve*, *E. crassiusculum*, *E. crenatum*, *E. fengshanense*, *E. glochidioides*, *E. malacotrichum*, *E. nanchuanense*, *E. oblongifolium*, *E. obtusum*, *E. oppositum*, *E. pergameneum*, *E. prunifolium*, *E. pseudolongipes*, *E. pycnodontum*, *E. salvinoides*, và *E. xichouense*. Chúng tôi cũng đề xuất *E. baviensis* là tên đồng nghĩa của *E. platyphyllum*, *E. colaniae* là tên đồng nghĩa

của *E. myrtillus*, *P. macroceras* là tên đồng nghĩa của *E. hookerianum*, và *P. tetramera* là tên đồng nghĩa của *E. dissectum*. 14 taxa (chiếm 18%) là đặc hữu của Việt Nam, đã khẳng định chi *Elatostema* là một trong những chi có tính đa dạng và tính đặc hữu cao trong khu hệ thực vật Việt Nam [7, 8].



Hình 1.1. Một số loài đặc hữu thuộc chi *Elatostema* ở Việt Nam (nguồn internet)
 (A), *E. caulialatum*; (B), *E. radicans*; (C), *E. tsoongii*; (D), *E. sinense*;
 (E), *E. brevifolium*; (F), *E. macintyreii*; (G), *E. balansae*; (H), *E. myrtillus*; (I) *E. platyphyllum*; (J) *E. petelotii*; (K) *E. longistipulum*; (L) *E. pseudolongipes*.

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, miền Bắc Việt Nam là trung tâm đa dạng và đặc hữu nhất của chi *Elatostema*, nơi khu hệ thực vật có tính tương đồng và quan hệ gần gũi với khu hệ thực vật phía Tây Nam của Trung Quốc [9]. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, chưa ghi nhận phân bố của chi này ở 33 tỉnh của

Việt Nam, chủ yếu là các tỉnh phía Nam [8, 10]. Do đó, cần có những nghiên cứu thêm ở khu vực Trung và Nam Bộ để ghi nhận sự phân bố của chi này ở các vùng địa lý khác nhau.

Nhìn chung, chi Tầm ma được sử dụng nhiều trong y học dân gian như điều trị bệnh thấp khớp, cảm cúm, bệnh về đường tiêu hóa và đường tiết niệu. Trong một số trường hợp, cây được dùng làm thuốc bổ. Lá và thân của loài này được dùng để đắp ngoài da để chữa đau cơ hoặc khớp. Ngoài các đặc tính chữa bệnh, chi Tầm ma còn được sử dụng làm thực phẩm, thức ăn chăn nuôi,...[6, 11]. Tại Việt Nam, loài Cơm kìa (*Elatostema tenuicaudatum*) chưa được nghiên cứu nhiều về đặc tính dược lý của nó.

1.2. Giới thiệu về loài Cơm kìa (*Elatostema tenuicaudatum*)

Bộ Elatostemataceae

Họ Uricaceae

Chi *Elatostema*

Loài *Elatostema tenuicaudatum*

Chi *Elatostema* là một trong số chi có sự đa dạng nhất trên các núi đá vôi (Karst) ở Đông Nam Á. Họ Elatostema JR Forst. & G Forst. (Urticaceae) bao gồm hàng trăm loài phân bố ở các khu rừng, hẻm núi, ven suối và hang động. Hiện nay có khoảng 626 loài được phát hiện và định danh trong chi *Elatostema* [12].

Chi các loài thuộc chi *Elatostema* có lá mọc so le, không đối, được sắp xếp theo kiểu kép, hoa có nhị nhỏ mọc thành chùm dày đặc với các bao hoa giống như đế hoa hoặc chùm hoa hình chùy và hoa nhụy nhỏ mọc thành chùm đầu dày đặc, tạo thành bao hoa giống như đế hoa. Giống như hầu hết các loài trong bộ Elatostemataceae, nhị hoa nở bung và hạt được đẩy ra ngoài nhờ các nhị lép đối xứng [13, 14].

Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng sự đa dạng về loài của chi *Elatostema* bị tác động bởi những điều kiện khắc nghiệt trong việc sinh tồn trên

nền của các núi đá vôi và những biến động nhiệt độ trong quá khứ cùng với khí hậu rừng nhiệt đới gió mùa Đông Á đã tăng tốc độ đa dạng hóa của loài [5, 15].

Cây Com kìa (khôm kìa, lá đấng ...) có tên khoa học là *Elatostema tenuicaudatum* thuộc chi *Elatostema*, thuộc họ Urticaceae thường là cây thân thảo, cây bụi nhỏ và hiếm khi là cây bụi. Loài *E. tenuicaudatum* được tác giả W.T.Wang phát hiện và định danh lần đầu tiên vào năm 1980 tại Trung Quốc. Loài *E. tenuicaudatum* có gân lá hình chân vịt ba nhánh rõ ràng và gân lá hình bán ba nhánh, đây chính là đặc điểm hình thái lá duy nhất được phát hiện trong toàn bộ họ [8].

1.2.1 Đặc điểm thực vật

Thân: là dạng cây thân thảo sống lâu năm, mọc thấp dưới mặt đất, cây thường chỉ cao khoảng 30cm, mọc dưới những tán cây, lùm ven đồi. Lá: lá cây com kìa là dạng cây lá kép hình lông chim với những cặp lá mọc so le nhau trên cuống lá. Mỗi lá kép là một cặp gồm 7 lá mọc so le nhau. Cuống lá vượt nhọn, mép lá có nhiều răng cưa lớn hiện rõ, gân lá nổi rõ trên cả mặt trên và mặt dưới. Rễ: dạng rễ chùm. Cây có mọc ở hầu hết các vùng đồi núi ở nước ta, nhiều nhất ở những khu vực ven suối nơi có nhiều đất ẩm. Là loại cây dại ăn được này được mô tả là loài cây mọc tự nhiên. Nó đã được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực bản địa. Cây dại ăn được sử dụng làm thực phẩm truyền thống ở Nhật Bản [8, 16].

1.2.2. Tính vị và công dụng

Trong y học dân gian, lá com kìa được sử dụng rộng rãi như một vị thuốc đa công dụng, nổi bật với khả năng làm mát gan và lợi mật. Việc thường xuyên bổ sung món canh com kìa vào bữa ăn không chỉ mang lại hương vị đậm đà mà còn giúp tăng cường chức năng gan mật, hỗ trợ quá trình tiêu hóa diễn ra thuận lợi hơn. Bên cạnh đó, thảo dược này còn có tác dụng giải độc bia rượu rất quý giá; người dùng có thể ăn canh trực tiếp trong các bữa tiệc hoặc pha trà từ lá khô để uống nhằm giải rượu hiệu quả. Nhờ đặc tính thanh nhiệt và giải độc gan triệt để, chức năng gan hoạt động tốt hơn nên lá com kìa còn phát huy công dụng

giảm mụn một cách an toàn và lâu dài. Không dừng lại ở đó, loại cây này còn được ứng dụng để điều trị các chứng bệnh về đường ruột như viêm đại tràng, tiêu hóa kém hay tình trạng ăn uống khó tiêu [5, 6].

Việc sử dụng canh cơm kia thường xuyên cũng mang lại tác dụng bổ mát, giúp người bệnh nhanh chóng giảm bớt mệt mỏi và cải thiện sức khỏe tổng thể một cách rõ rệt. Đặc biệt, theo một kinh nghiệm quý báu được lưu truyền trong dân gian, thảo dược này còn hỗ trợ tích cực cho quá trình điều trị bệnh tiêu đường, giúp người dùng nhận thấy hiệu quả hạ đường huyết vô cùng khả quan [6, 7, 13].

1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các thực vật chi *Elatostema*

1.3.1. Tình hình nghiên cứu trong nước

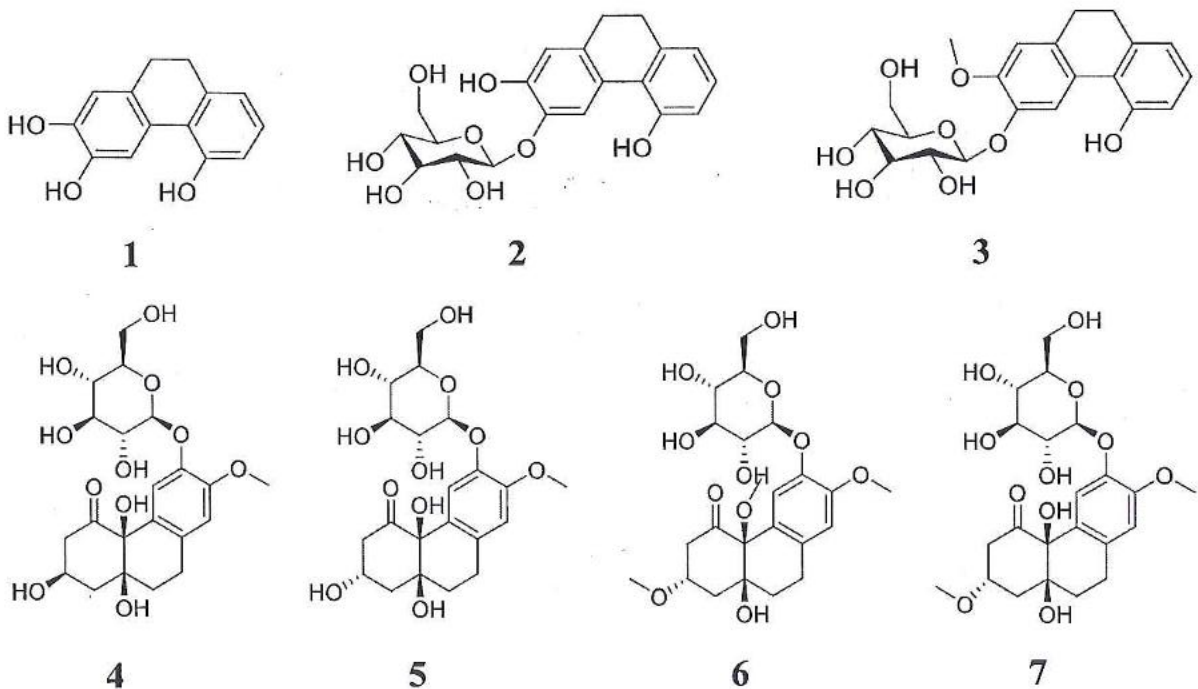
Tại Việt Nam chi *Elatostema* có khoảng 77 loài, trong số đó có 14 loài là loài đặc hữu. Chi *Elatostema* là một trong số các chi thực vật có sự đa dạng rất lớn về loài, chúng xuất hiện hầu hết các miền Bắc, Trung và miền Nam của Việt Nam trong đó tại các tỉnh Cao Bằng, Hà Giang, Lào Cai, Tuyên Quang ghi nhận nhiều loài nhất vùng ghi nhận ít loài nhất là các tỉnh phía Nam Việt Nam [8].

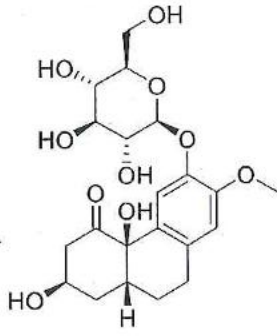
Theo nghiên cứu của nhóm tác giả Đào Đức Thiện và các cộng sự năm 2024, lần đầu tiên công bố 3 hợp chất mới thuộc nhóm dihydrophenanthren từ loài Cơm kia (*E. tenuicaudatum*), bao gồm: 2,3,5-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene (1), -methoxy- 5-hydroxy-9,10-dihydrophananthrene 3-O- β -D-glucopyranoside (2), 2,5-dihydroxy-9,10-dihydrophananthrene 3-O- β -D-glucopyranoside (3). Hợp chất 1 có khả năng ức chế mạnh đối với việc sản xuất NO trong tế bào RAW264.7, với giá trị IC_{50} là $15,8 \pm 1,2 \mu M$, trong khi các hợp chất 2 và 3 hoạt tính yếu [17].

Theo nghiên cứu của tác giả Trần Huỳnh Quốc Dũng và các cộng sự năm 2025 đã phân lập và xác định cấu trúc 17 glycoside phenanthrene hydro hóa (4-20), gồm 8 hexahydro-phenanthrenone glycoside: elatostemanoside A (4), elatostemanoside B (5), elatostemanoside C (6), elatostemanoside D (7),

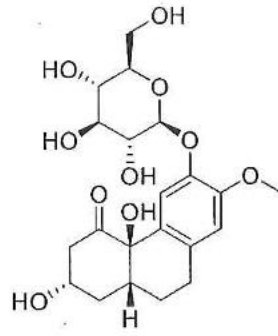
elatostemanoside E (8), elatostemanoside F (9), elatostemanoside G (10) và elatostemanoside H (11); 4 tetrahydro-phenanthrenone glycoside: Elatostemanoside I (12), elatostemanoside J (13), elatostemanoside K (14) và elatostemanoside L (15); 1 dihydro-phenanthrenol glycoside: Elatostemanoside M (16); 2 dimer: Elatostemanoside N (17), Elatostemanoside O (18); và 2 dihydrophenanthrene glycoside: Elatostemanoside P (19) và elatostemanoside Q (20) từ cây Com kìa (*E. tenuicaudatum*) tại vùng Tây Bắc Việt Nam [18].

Trong đó, các hợp chất 8, 9, 11 và 17, đã thể hiện hoạt tính ức chế dipeptidyl peptidase IV với giá trị IC_{50} lần lượt là $220,5 \pm 39,6 \mu\text{g/ml}$, $141,7 \pm 15,6$, $151,2 \pm 11,8$, $107,9 \pm 19,6$ và $71,9 \pm 8,9 \mu\text{M}$. Phân tích liên kết phân tử cho thấy hợp chất 17 có ái lực liên kết cao nhất với DPP-IV. Bên cạnh đó, các hợp chất 4, 12, 14 và 17 thể hiện tác dụng bảo vệ gan đáng kể trong tình trạng nhiễm độc gan do acetaminophen gây ra ở tế bào HepG2. Những phát hiện này cho thấy *E. tenuicaudatum* có thể là một loại rau có lợi cho những người có nguy cơ mắc bệnh tiểu đường và bệnh gan mãn tính [4, 18].

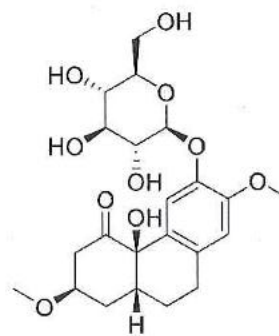




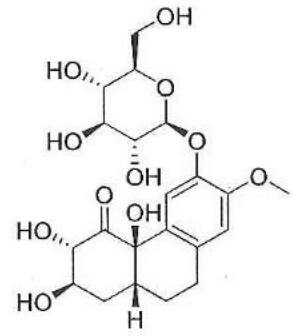
8



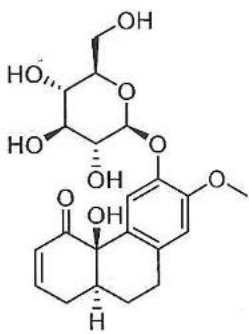
9



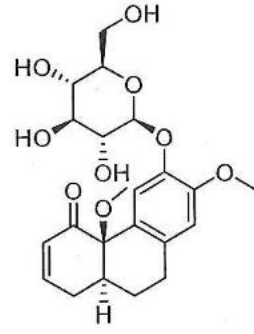
10



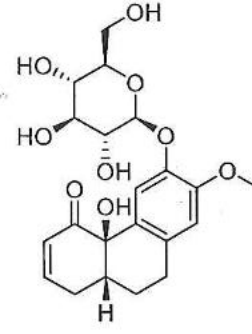
11



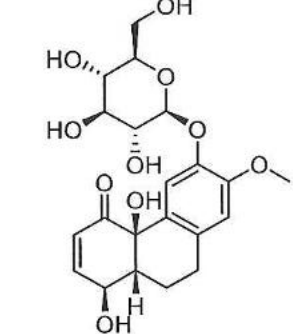
12



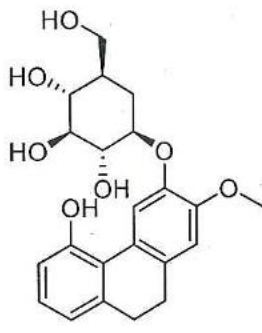
13



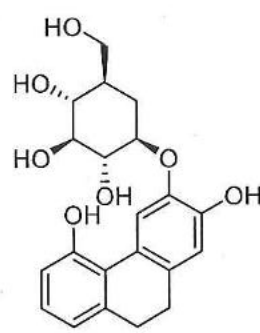
14



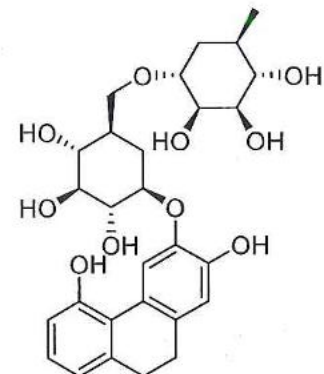
15



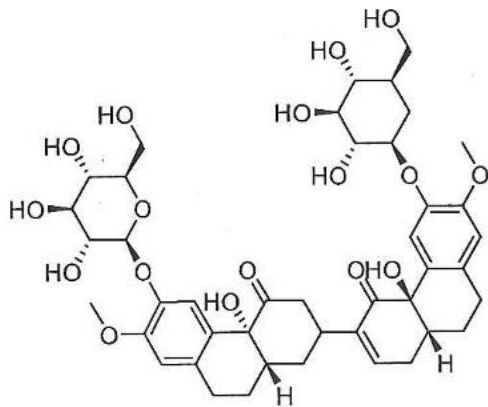
16



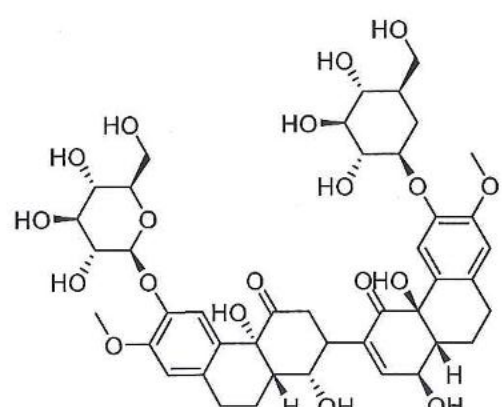
17



18



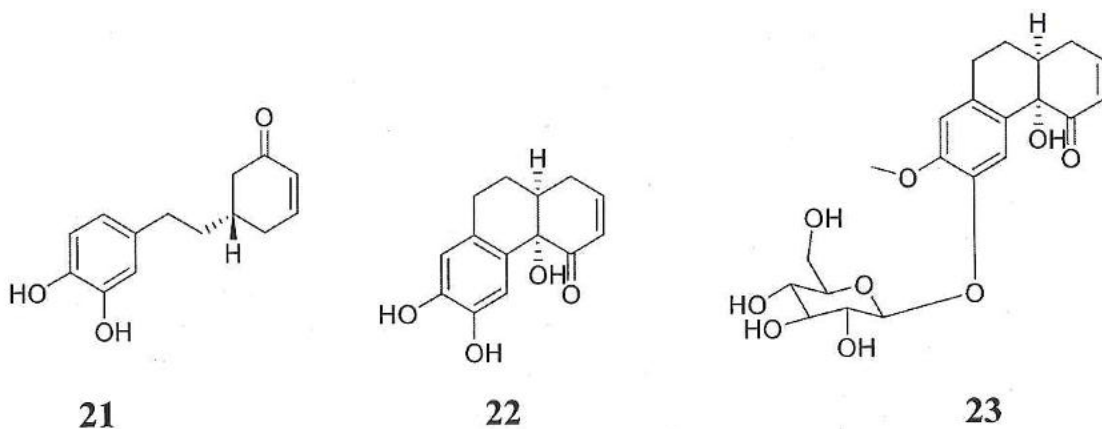
19



20

Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **1-20** phân lập từ *E. tenuicaudatum*

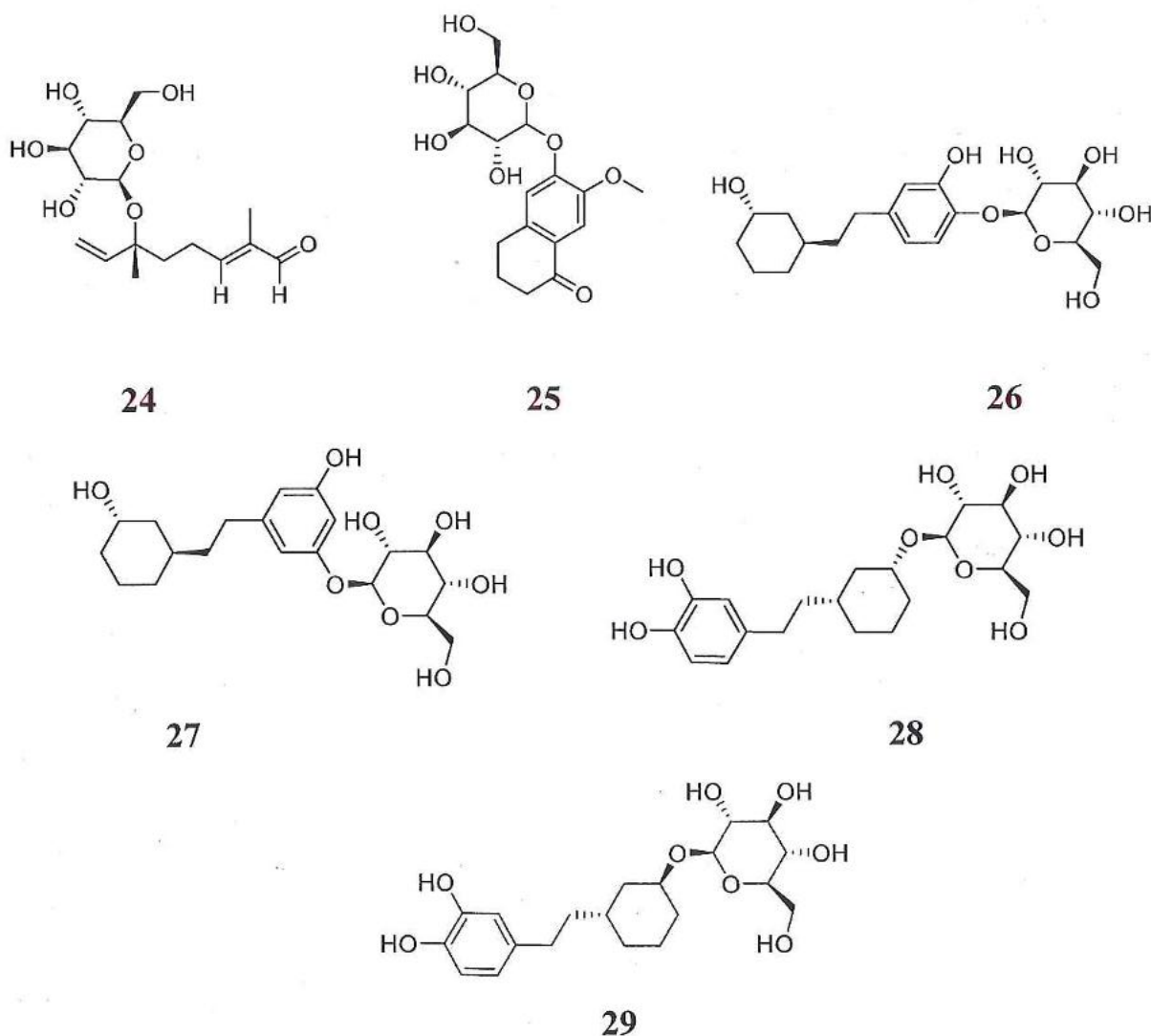
Cũng vào năm 2025 nhóm nghiên cứu của Đào Đức Thiện và cộng sự đã tìm thấy sự xuất hiện của một 5*S*-(3,4-dihydroxyphenethyl)cyclohex-2-en-1-one (**21**), cùng với hai phenanthrone mới, (4*aS*,10*aS*)-1,9,10,10*a*-tetrahydro-4*a*,6,7-trihydroxy-4(4*aH*)-phenanthrone (**22**) và (4*aS*,10*aS*)-4*a*-hydroxy-7-methoxy-1,9,10,10*a*-tetrahydro-4(4*aH*)-phenanthrone 6-*O*- β -Dglucopyranoside (**23**) từ phần trên mặt đất cây *E. tenuicaudatum*. Cấu trúc được xác định bằng các phương pháp quang phổ bao gồm NMR 1D, 2D và HR-ESI-MS. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất **21-23** được xác định bằng dữ liệu phổ ECD thực nghiệm và tính toán. Các chất phân lập được đánh giá hoạt tính ức chế sản xuất nitric oxide (NO) trong đại thực bào RAW 264.7 được hoạt hóa bằng lipopolysaccharide (LPS), và hợp chất **21** cho thấy hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $9,5 \pm 1,2 \mu\text{M}$ [19].



Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **21-23** phân lập từ *E. tenuicaudatum*

E. tenuicaudatum là một loại cây thuốc được sử dụng truyền thống trong y học cổ truyền, đã được nghiên cứu về đặc tính gây độc tế bào. Do đó vào cùng năm 2025 nhóm nghiên cứu của Trần Huỳnh Quốc Dũng và cộng sự đã nghiên cứu phân đoạn dựa trên thử nghiệm sinh học đã dẫn tới việc phát hiện ra 06 hợp chất mới, được đặt tên là elatostemanoside I–VI (**24-29**), với cấu trúc được làm sáng tỏ thông qua các phương pháp quang phổ tiên tiến và phân tích DP4+. Trong số này, các hợp chất **25**, **28** và **29** thể hiện độc tính tế bào vừa phải đối với

dòng tế bào ung thư gan người HepG2, với giá trị IC_{50} lần lượt là $18,2 \pm 2,1$; $32,1 \pm 0,4$ và $57,6 \pm 1,3 \mu\text{M}$. Đáng chú ý, hợp chất **29** cũng cho thấy hoạt tính đáng kể đối với dòng tế bào ung thư vú người HCC1806, với giá trị IC_{50} là $35,4 \pm 0,3 \mu\text{M}$. Các nghiên cứu về cơ chế cho thấy các hợp chất này gây ra hiện tượng apoptosis bằng cách điều chỉnh tỷ lệ Bax/Bcl-2. Hơn nữa, phân tích mối quan hệ cấu trúc-hoạt tính (SAR) đã nhấn mạnh tầm quan trọng của các nhóm chức năng cụ thể trong việc điều hòa các tác dụng gây độc tế bào [18, 20].



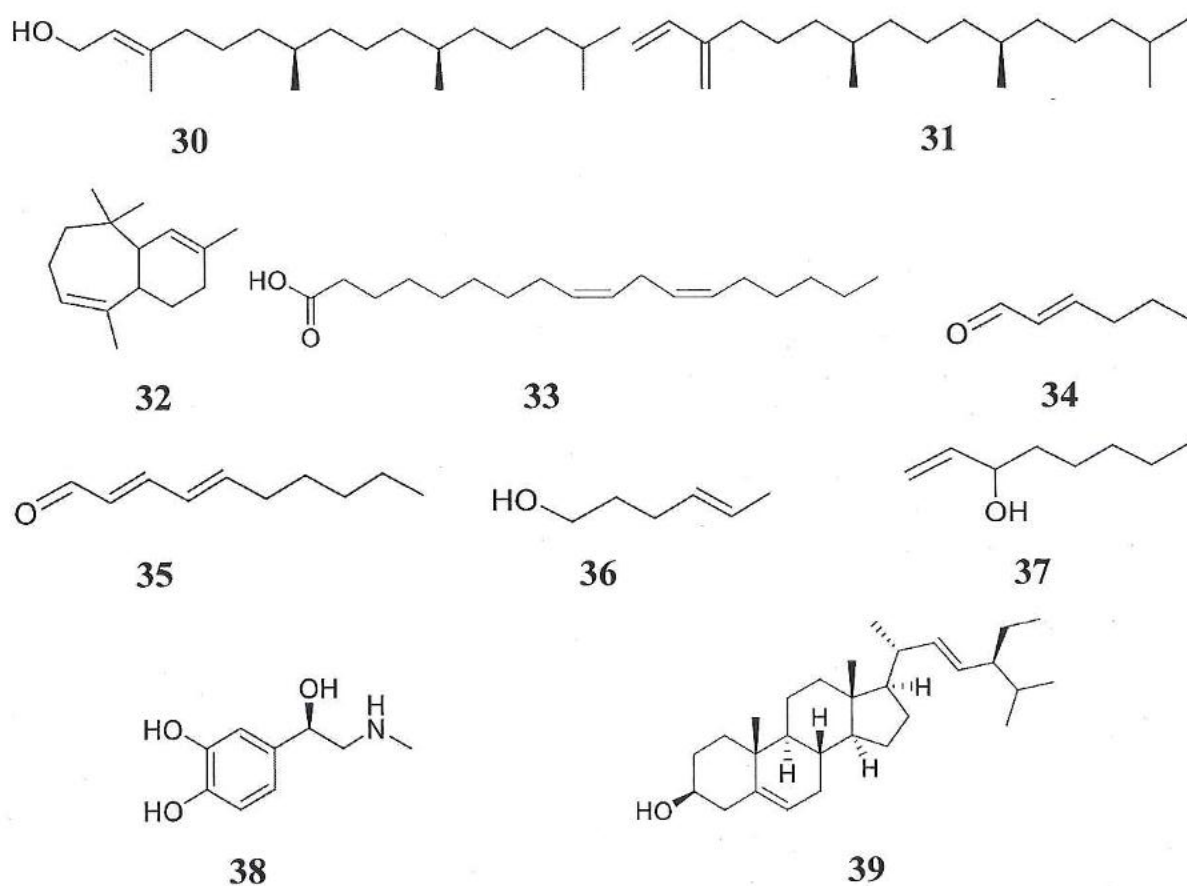
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 24-29

1.3.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

1.3.2.1. Nghiên cứu về thành phần hóa học

Năm 2009 bằng phương pháp GC-MS tác giả Mitsuo Miyazawa và các cộng sự đã xác định 79 cấu tử tinh dầu từ phần trên mặt đất của loài *Elatostema*

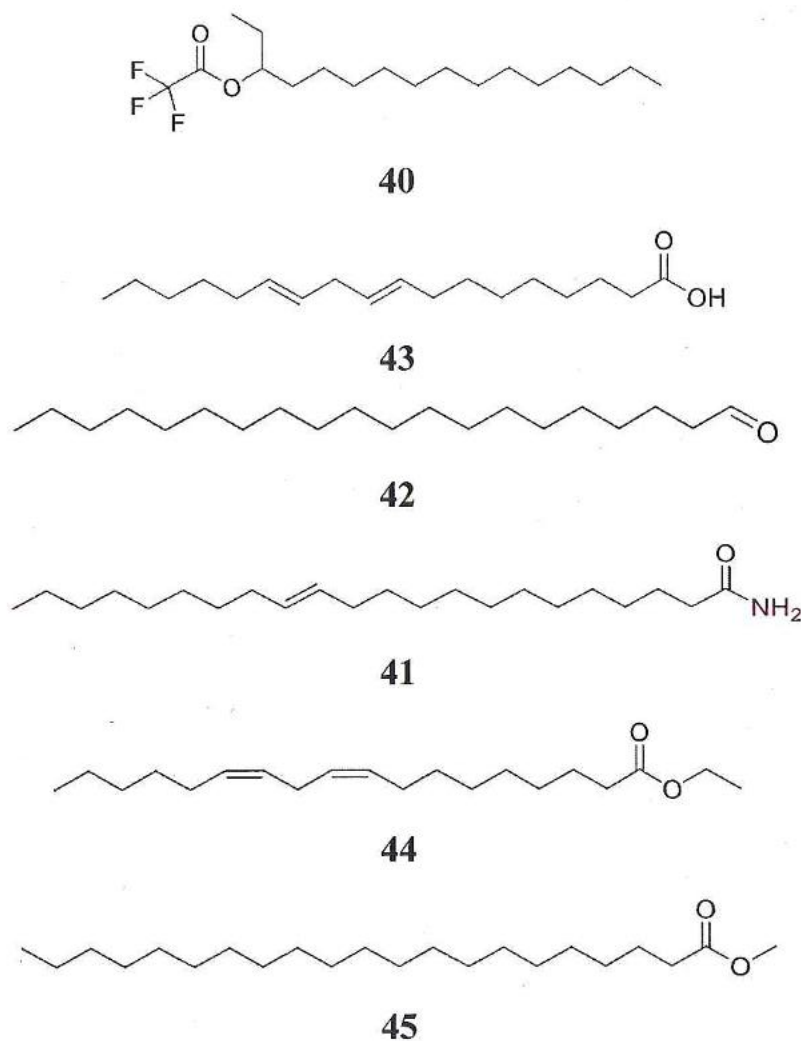
laetevirens với các thành phần chính là phytol (30), neophytadiene (31) và γ -himachalene (32); và 80 cấu tử từ phần trên mặt đất của loài *Elatostema umbellatum* với thành phần chính là phytol (20), linoleic acid hay Omega-6 (33). Trong đó, cấu tử (2E)-hexenal (34) và (2E, 4E)-nonadienal (35) là thành phần tạo mùi thơm nhất của tinh dầu *E. laetevirens* và các cấu tử (2E)-hexenal (35), (3Z)-hexenol (36) và 1-octen-3-ol (37) là thành phần tạo nên mùi thơm của tinh dầu *E. umbellatum* [21].



Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 30-39

Năm 2021 bằng phương pháp GC-MS tác giả Md. Zia Uddin và các cộng sự đã xác định được 24 hợp chất từ dịch chiết methanol của loài *E. papillosum* bao gồm nhóm các hợp chất: acid béo, ancol béo, este béo, các hợp chất terpenoid, alkaloid (epinephrine, 38), stigmasterol (39) từ loài *Elatostema papillosum*. Trong đó, 7 hợp chất, gồm 3-trifluoroacetylpentadecane (40), 13-docosenamide (41), eicosanal (42), linoelaidic acid (43), linoelaidic acid ethyl ester (44), tricosanoic acid methyl ester (45) và phytol (30) có hoạt tính tốt đã

được lựa chọn để phân tích gắn kết phân tử (molecular docking) và phân tích ADMET (hấp thu, phân bố, chuyển hóa, bài xuất/độc tính), nhằm xác định các hoạt chất có khả năng chịu trách nhiệm cho các hoạt tính chống oxy hóa, chống trầm cảm, giải lo âu, giảm đau và chống viêm của loài cây này [22, 23].



Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 40-45

Bảng 1.1. Các chất được xác định từ *E. papillosum* bằng phương pháp GC-MS

Tên hợp chất	RT (min)	m/z	CTPT	Nhóm chất
3-butynoic acid	6,24	40	C ₄ H ₄ O ₂	Monocarboxylic acid
Allene	7,655	40	C ₃ H ₄	Diene
Sebacic acid	11,722	40	C ₁₆ H ₃₄ O ₄ Si ₂	Fatty acid
9-octadecen-1-ol	12,355	40	C ₁₈ H ₃₆ O	Fatty alcohol

Phytol acetate	12,57	81	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	Diterpene
Hexadecanoic acid, methyl ester	13,499	74	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Fatty acid
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	13,499	74	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Fatty acid
Linoleic acid ethyl ester	15,387	44	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	Fatty acid
Linoelaidic acid	15,387	44	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Fatty acid
Phytol	15,387	44	C ₂₀ H ₄₀ O	Diterpene
Heptacosanoic acid, methyl ester	15,53	74	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	Fatty acid
Tricosanoic acid methyl ester	15,53	74	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	Fatty acid
3-trifluoroacetoxypentadecane	17,635	44	C ₁₇ H ₃₁ F ₃ O ₂	Ester
Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	20,199	44	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	Fatty acid glycerol ester
Epinephrine	21,777	44	C ₉ H ₁₃ NO ₃	Alkaloid
Cis-11-eicosenamide	24,584	59	C ₂₀ H ₃₉ NO	Amide
2-(16-acetoxy-11-hydroxy-4,8,10,14-tetramethyl-3-oxohexadecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene)-6-methyl-hept-5-enoic acid, methyl ester	24,655	207	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	Fatty acid
3-ethoxy-1,1,1,5,5,5-hexamethyl-3-(trimethylsiloxy)trisiloxane	25,46	207	C ₁₇ H ₅₀ O ₇ Si ₇	Silicate
1,2-bis(trimethylsilyl)benzene	29,405	207	C ₁₂ H ₂₂ Si ₂	Organic compound
Stigmasterol	30,575	207	C ₂₉ H ₄₈ O	Phytosterol
β-sitosterol	30,894	207	C ₂₉ H ₅₀ O	Phytosterol

Eicosanal	17,635	44	C ₂₀ H ₄₀ O	Aldehyde
13-docosenamide	24,584	59	C ₂₂ H ₄₃ NO	Amide
γ -sitosterol	30,894	207	C ₂₉ H ₅₀ O	Phytosterol

Vào năm 2025, tác giả Anindan Kumar Nath và các cộng sự đã sử dụng phương pháp sắc ký khối phổ GC-MS của chiết xuất methanol loài *E. sessile* đã xác định được bốn mươi hợp chất được thể hiện ở bảng dưới đây cung cấp đầy đủ công thức phân tử, khối lượng phân tử, thời gian lưu [11].

Bảng 1.2. Các chất được xác định từ *E. sessile* bằng phương pháp GC-MS

Tên hợp chất	Công thức phân tử	KLPT
2-(Trimethylsiloxy)acrylic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₄ Si ₃	396,7
2-Nonyn-1-ol	C ₉ H ₁₆ O	140,2
8-Hydroxylinalool	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170,2
Methyl anteisopentadecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,4
Methyl palmitate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270,5
Methyl heneicosanoate	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340,6
Methyl caprate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186,2
Methyl behenate	C ₂₃ H ₄₆ O	354,6
Methyl arachidate	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326,6
Methyl carbocerate	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424,7
Dodecanal	C ₁₂ H ₂₄ O	184,3
Undecanal	C ₁₁ H ₂₂ O	170,2
Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	296,5
<i>n</i> -Nonadecanol-1	C ₁₉ H ₄₀ O	284,5
Levomenthol	C ₁₀ H ₂₀ O	156,2
Racemic menthol	C ₁₀ H ₂₀ O	156,2
<i>Cis</i> -9-Tetradecen-1-ol	C ₁₄ H ₂₈ O	212,3

Methyl margarate	$C_{17}H_{34}O_2$	270,5
Methyl pentadecanoate	$C_{18}H_{36}O_2$	284,5
Methyl laurate	$C_{16}H_{32}O_2$	256,4
Methyl nonadecanoate	$C_{13}H_{26}O_2$	214,3
Nonadecanoic acid, methyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	312,5
Lilial	$C_{14}H_{20}O$	204,3
3 β -Hydroxy-5-cholen-24-oic acid	$C_{24}H_{38}O_3$	374,6
Stigmasteryl acetate	$C_{31}H_{50}O_2$	454,7
Apocholic acid	$C_{24}H_{38}O_4$	390,6
Retinoic acid	$C_{20}H_{28}O_2$	300,4
β -Carotene	$C_{40}H_{56}$	536,9
3 β ,5 α -Androstanediol	$C_{19}H_{32}O_2$	292,5
Boc-Ala-OH	$C_8H_{15}NO_4$	189,2
Methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5
Ethyl linoleate	$C_{20}H_{36}O_2$	308,5
Methyl (12 <i>E</i> ,15 <i>E</i>)-12,15-octadecadienoate	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5
(<i>Z</i>)-Methyl hexadec-7-enoate	$C_{17}H_{32}O_2$	268,4
Methyl petroselinat	$C_{19}H_{36}O_2$	296,5
Methyl elaidate	$C_{19}H_{36}O_2$	296,5
Methyl nervonate	$C_{25}H_{48}O_2$	380,6
Methyl oleate	$C_{19}H_{36}O_2$	296,5
Methyl vaccenate	$C_{19}H_{36}O_2$	296,5
Methyl dihydrosterculat	$C_{18}H_{34}O_2$	282,5

Elatostema stewardii Merr. là một loài đặc hữu của Trung Quốc, được đánh giá cao về công dụng chữa bệnh và làm thực phẩm. Nghiên cứu của Binsheng Luo và cộng sự vào năm 2026 đã đánh giá thành phần hóa phần hóa học bằng GC-MS và hoạt tính sinh học trong tinh dầu của loài *E. stewardii*.

Thành phần của tinh dầu từ ba bộ phận thực vật của *E. stewardii* lần đầu tiên được phát hiện bằng GC-MS, xác định tổng cộng 96 thành phần, chiếm từ 70,37% đến 86,83% tổng hàm lượng tinh dầu. 30 thành phần tinh dầu phong phú nhất đã được liệt kê trong bảng dưới đây, với bộ dữ liệu đầy đủ được cung cấp trong bảng. Những tinh dầu được chú thích này được phân loại thành 11 lớp, trong đó nổi bật nhất là axit béo (61,56%), diterpen (3,47-32,39%), ankan (7,79-16,32%), xeton (1,46-12,00%) và sesquiterpen (2,60-6,22%). Một số lớp hợp chất, bao gồm axit béo, ankan, xeton và sesquiterpen, cũng thường được tìm thấy trong nhiều loại cây thơm, chẳng hạn như *Ruta graveolens* [20]. Trong mẫu ES-R, axit béo là chất chuyển hóa dồi dào nhất với tỷ lệ tương đối là 61,56%, tiếp theo là ankan (7,79%), diterpen (3,47%), este (2,83%) và sesquiterpen (2,60%). Trong nhóm ES-S, axit béo (24,00%), diterpen (22,44%) và ankan (16,32%) chiếm ưu thế, cùng với hàm lượng đáng kể của ketone (6,44%) và sesquiterpen (4,34%). Ngược lại, mẫu ES-L chủ yếu bao gồm diterpen (32,39%), ketone (12,00%), ankan (11,55%) và sesquiterpen (6,22%). Phân tích các chất chuyển hóa riêng lẻ cho thấy cả sự tương đồng và khác biệt giữa ba cấu hình EO. Trong mẫu ES-R EO, các thành phần chiếm ưu thế là axit *n*-hexadecanoic (60,58%), 2-methyloctadecane (5,67%), squalene (4,44%), α -epi-7-epi-5-eudesmol (1,60%) và 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (1,39%). Trong mẫu ES-S, axit *n*-hexadecanoic (23,45%) và 2-methyloctadecane (12,31%) cũng chiếm ưu thế, tiếp theo là 3,5,11,15-tetramethyl-1-hexadecen-3-ol (9,40%), phytol (8,58%) và 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (6,40%). Các thành phần dồi dào trong mẫu ES-L bao gồm phytol (12,00%), neophytadiene (10,30%), 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (9,92%), isophytol (8,84%) và 2-methyloctadecane (4,63%) [24].

Mặc dù một số tinh dầu chủ yếu, chẳng hạn như neophytadiene, phytol và isophytol, cũng dồi dào trong tinh dầu của *E. laetevirens* và *E. umbellatum*, nhưng các thành phần chính như axit *n*-hexadecanoic và 2-methyloctadecane được đặc trưng trong nghiên cứu này lại không được phát hiện ở hai loài này,

cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các loài về thành phần tinh dầu trong các loài trong chi *Elatostema* [11,24].

1.3.2.2. Nghiên cứu hoạt tính sinh học

Hoạt tính chống trầm cảm, giảm lo âu

Các nghiên cứu trước đây cho biết cây *E. papillosum* nghiên cứu được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị chứng rối loạn phân ly. Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Md. Zoa Uddin và cộng sự đã nghiên cứu hoạt động chống trầm cảm, giảm đau và chống viêm *in vivo* cũng như hoạt động chống oxy hóa và kháng khuẩn *in vitro* của các phân đoạn khác nhau của chiết xuất methanol thô của *E. papillosum*. Chiết xuất methanol thô và phân đoạn hòa tan trong chloroform của nó cho thấy hoạt động chống trầm cảm, giảm đau và chống viêm đáng kể. Chiết xuất methanol cho thấy hoạt động kháng khuẩn. Tương tự, phân đoạn hòa tan trong ete dầu mỏ (PES) cho thấy hoạt động chống trầm cảm và chống viêm đáng kể [25, 26].

Vào năm 2021, nhóm nghiên cứu Md. Zoa Uddin và cộng sự đã tiếp tục nghiên cứu hoạt tính sinh học của cây *E. papillosum* đặc biệt là hoạt tính chống trầm cảm, chống lo âu và chống oxy hóa, với kết quả của phương pháp ghép nối phân tử có hỗ trợ tính toán, bao gồm ghép nối phân tử và ADMET (hấp thụ, phân bố, chuyển hóa, bài tiết) cung cấp thêm dẫn chứng cho các ứng dụng trị liệu truyền thống và mới của *E. papillosum*. Kết quả cho thấy các hợp chất terpen đã được xác định trong *E. papillosum* thể hiện ái lực liên kết dự đoán mạnh mẽ với thụ thể serotonin của con người. Hơn nữa, 3-trifluoroacetoxypentadecane cho thấy tác dụng đáng kể [22, 23].

Hoạt tính chống oxy hóa

Theo công bố của tác giả Anindan Kumar Nath và các cộng sự vào năm 2025 đã đánh giá toàn diện các hoạt tính sinh học của chiết xuất methanol (MES) cùng các phân đoạn của nó gồm ete dầu mỏ (PES), carbon tetrachloride (TES), chloroform (CES) và phân đoạn nước (AES) trên mô hình chuột bạch Thụy Sĩ. Kết quả cho thấy MES thể hiện hoạt tính chống oxy hóa nổi bật với giá

trị IC₅₀ đạt 24,95 µg/ml (so với 5,80 µg/ml của axit ascorbic) trong phép thử DPPH. Trong thử nghiệm gây độc tế bào trên tôm nước mặn, PES cho hiệu quả mạnh nhất với LC₅₀ là 6,10 µg/ml. Đồng thời, MES và PES thể hiện tác dụng giảm đau rõ rệt ($p < 0,001$) ở liều 400 mg/kg trong mô hình formalin, và các phân đoạn MES, PES, TES đều cho kết quả có ý nghĩa thống kê trong thử nghiệm nhúng đuôi. Đáng chú ý, PES và CES còn thể hiện hoạt tính an thần đáng kể qua thử nghiệm vượt lỗ. Phân tích GC-MS cùng nghiên cứu mô phỏng docking phân tử cho thấy các hợp chất trong chiết xuất có khả năng ức chế enzym cyclooxygenase-1 và -2, qua đó góp phần tạo nên tác dụng giảm đau. Tổng thể, *E. sessile* được đánh giá là nguồn dược liệu tiềm năng cho phát triển các liệu pháp mới trong điều trị ung thư, giảm đau và rối loạn giấc ngủ [11, 27].

Hoạt tính bảo vệ gan

Theo kinh nghiệm dân gian, Cơm kia hay còn gọi là rau đắng (cách gọi của trong ẩm thực Tây Bắc Việt Nam) có lợi cho tiêu hóa, hỗ trợ kiểm soát đường huyết và giải độc gan. Nhiều nghiên cứu cho thấy vị đắng của thực vật liên quan đến các thành phần phytochemical như alkaloid, terpene, phenolic và glucosinolate. Một số hợp chất đắng có hoạt tính sinh học rõ rệt, chẳng hạn như mướp đắng có tác dụng hạ đường huyết, quinine có tác dụng chống sốt rét và *Andrographis paniculata* có tác dụng hạ đường huyết và kháng viêm. Vì thế trong nghiên cứu của Trần Huỳnh Quốc Dũng và cộng sự năm 2025 đã khảo sát phytochemical và hoạt tính sinh học của *E. tenuicadatum*, tập trung vào khả năng ức chế DPP-IV và tác dụng bảo vệ gan. Kết quả cho thấy trong các hợp chất phân lập được thì elatostemanoside N cho thấy mức ức chế DPP-IV trung bình, trong khi elatostemanosides E, F và H cho tác dụng yếu. Cơ chế gắn với DPP-IV được khảo sát bằng molecular docking. Kết quả cho thấy tương quan tốt giữa dự đoán *in silico* và thực nghiệm, cả ở phân tích MN lẫn docking. Thử nghiệm khả năng sống tế bào xác nhận các hợp chất tinh khiết an toàn trên tế bào gan. Hơn nữa, ba hợp chất chính (elatostemanosides I, K và N) cùng một hợp chất phụ (elatostemanoside A) biểu hiện tác dụng bảo vệ gan rõ rệt trên mô

hình HepG2 gây độc bởi acetaminophen. Những phát hiện này gợi ý phần trên mặt đất của *E. tenuicaudatum* không chỉ an toàn khi dùng làm rau mà còn có thể có lợi cho người tăng đường huyết và bệnh gan mạn [18, 20].

Hoạt tính chống viêm

Vào đầu năm 2026, nhóm nghiên cứu của Binsheng Luo và cộng sự đã công bố kết quả phân tích tinh dầu thu được từ các bộ phận khác nhau của cây *Elatostema stewardii* Merr., (lá, thân và rễ) bằng phương pháp chuyển hóa học dựa trên sắc ký khối phổ GC-MS. Phân tích đa biến bằng phương pháp phân tích thành phần chính (PAC) và phân tích thành phần phân biệt bình phương tối thiểu từng phần (PLS-DA) cho thấy sự biến đổi hóa học đáng kể của tinh dầu trong các bộ phận của cây, xác định được 15 thành phần khác biệt chính như axit n-hexadecanoic, 3,5,11,15-tetramethyl-1-hexadecen-3-ol và axit linoleic. Các thử nghiệm hoạt tính sinh học đã chứng minh sự khác biệt đáng kể giữa các loại tinh dầu, trong đó tinh dầu chiết xuất từ lá thể hiện độc tính tế bào mạnh nhất (IC_{50} : 36,58-69,23 $\mu\text{g ml}^{-1}$), tác dụng chống viêm (IC_{50} : 47,03 $\mu\text{g mL}^{-1}$ đối với ức chế NO) và khả năng chống oxy hóa (IC_{50} : 0,08, 0,33 mg mL^{-1} đối với khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS và DPPH tương ứng; FRAP: 2,95 $\text{mmol Fe}^{2+}/\text{ml}$). Phân tích tương quan cho thấy các hợp chất như β -ionone-5,6-epoxide và neophytadiene có mối liên hệ tích cực với các hoạt tính sinh học này. Những phát hiện này làm nổi bật sự khác biệt đáng kể về hóa học và hoạt tính sinh học giữa các loại tinh dầu *E. stewardii*, xác định tinh dầu lá là một ứng cử viên được phẩm đầy triển vọng và chứng minh hiệu quả của phương pháp chuyển hóa học dựa trên GC-MS trong việc nghiên cứu các hợp chất dễ bay hơi từ *Elatostema* [11, 27].

1.4. Tổng quan về tình hình bệnh ung thư

1.4.1. Định nghĩa và đặc điểm sinh học của tế bào ung thư

Ung thư là một tập hợp các bệnh lý đặc trưng bởi sự phát triển bất thường của các tế bào phân chia không kiểm soát và có khả năng xâm nhập, phá hủy các mô cơ thể bình thường. Trong điều kiện sinh lý bình thường, các tế bào trong cơ

thể có chức năng cụ thể và tuổi thọ cố định. Quá trình sinh trưởng, phân chia và chết đi của tế bào (apoptosis) được điều hòa một cách nghiêm ngặt. Tuy nhiên, các tế bào ung thư thiếu đi các yếu tố hướng dẫn quá trình chết theo chương trình này. Việc liên tục phân chia dẫn đến sự tích tụ và hình thành khối u, đồng thời tiêu thụ một lượng lớn oxy và chất dinh dưỡng vốn dành để nuôi dưỡng các tế bào khỏe mạnh khác [28, 29].

Một đặc điểm sinh học quan trọng làm nên sự khác biệt của tế bào ung thư là chúng ít biệt hóa hơn so với các tế bào bình thường. Điều này có nghĩa là chúng không có chức năng chuyên biệt. Thêm vào đó, tế bào ung thư có khả năng phớt lờ các tín hiệu ức chế sự phát triển, trốn tránh hệ miễn dịch và có khả năng di căn thông qua hệ thống mạch máu hoặc hạch bạch huyết đến các cơ quan xa [30-32].

1.4.2. Nguyên nhân và các yếu tố nguy cơ gây ung thư

Cơ chế bệnh sinh của ung thư là một quá trình đa yếu tố, bắt nguồn từ sự kết hợp giữa các nguyên nhân nội sinh và ngoại sinh [29, 33-35]:

Đột biến DNA: Đây là nguyên nhân cốt lõi. DNA bên trong tế bào được đóng gói thành hàng ngàn gen, mỗi gen chứa một bộ mã hướng dẫn chức năng, sự phát triển và phân chia. Sự sai sót hoặc đột biến trong cấu trúc gen có thể vô hiệu hóa các gen ức chế khối u hoặc kích hoạt các gen sinh ung thư (oncogenes).

Yếu tố di truyền: Các đột biến gen có thể được di truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Mặc dù mang gen đột biến không đồng nghĩa với việc chắc chắn mắc ung thư, nhưng nó làm tăng đáng kể nguy cơ (ví dụ: đột biến gen BRCA1/BRCA2 trong ung thư vú). Các bệnh lý viêm mạn tính như viêm loét đại tràng cũng là bộ phận cho các biến đổi tế bào ác tính.

Lối sống và hành vi: Lối sống thiếu khoa học là yếu tố rủi ro có thể thay đổi được. Việc sử dụng thuốc lá (nguyên nhân của khoảng 30% các loại ung thư, đặc biệt là ung thư phổi), lạm dụng rượu bia, chế độ ăn nhiều mỡ động vật, ít chất xơ, tiêu thụ thực phẩm chứa chất bảo quản, nấm mốc (aflatoxin), cùng với

thói quen ít vận động, béo phì và quan hệ tình dục không an toàn đều đóng góp trực tiếp vào quá trình sinh ung thư.

Môi trường và nghề nghiệp: Tiếp xúc bức xạ tia cực tím, hóa chất độc hại trong môi trường làm việc (amiăng, benzen, kim loại nặng), hay khói bụi ô nhiễm môi trường và hút thuốc thụ động đều làm tăng tỷ lệ mắc bệnh.

1.4.3. Tình hình ung thư trên thế giới và tại Việt Nam

Trên thế giới: Ung thư vẫn là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu. Theo báo cáo mới nhất của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC) thông qua GLOBOCAN 2022, toàn thế giới ghi nhận gần 20 triệu ca mắc mới và 9,7 triệu ca tử vong do ung thư. Cứ 5 người thì có 1 người mắc ung thư trong suốt cuộc đời, và cứ 9 nam giới hoặc 12 nữ giới thì có 1 người tử vong vì căn bệnh này. Phổ biến nhất trên toàn cầu là ung thư phổi, vú, đại trực tràng và tuyến tiền liệt [36-39].

Tại Việt Nam: Tình hình ung thư đang có xu hướng gia tăng mạnh mẽ cả về số ca mắc và tỷ lệ tử vong. Theo GLOBOCAN 2022, Việt Nam ghi nhận 180.480 ca mắc mới và 120.184 ca tử vong do ung thư. Xét về tỷ suất mắc mới, Việt Nam đứng trong nhóm có tỷ lệ cao. Top 5 loại ung thư phổ biến nhất tại Việt Nam hiện nay bao gồm [40-42]:

Ung thư Vú: 24.563 ca mắc mới (chiếm 13,6%).

Ung thư Gan: 24.502 ca mắc mới (chiếm 13,6%).

Ung thư Phổi: 24.426 ca mắc mới (chiếm 13,5%).

Ung thư Đại trực tràng: 16.835 ca mắc mới (chiếm 9,3%).

Ung thư Dạ dày: 16.277 ca mắc mới (chiếm 9,0%).

Sự gia tăng gánh nặng ung thư tại Việt Nam được lý giải bởi nhiều nguyên nhân tổng hợp: (1) *Già hóa dân số*: Tuổi thọ trung bình của người Việt Nam tăng (đạt 73,6 tuổi), dẫn đến thời gian tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ kéo dài; (2) *Gia tăng dân số*: Dân số tiệm cận 100 triệu người làm tăng số lượng ca bệnh tuyệt đối; (3) *Thay đổi lối sống*: Gia tăng tiêu thụ rượu bia, thuốc lá, chế độ ăn kém lành mạnh, ít vận động; (4) *Môi trường ô nhiễm*: Khói bụi và hóa chất

nông nghiệp; (5) *Sự phát triển của y tế*: Nhận thức người dân tăng cao, hệ thống tầm soát và thiết bị chẩn đoán y khoa tiên bộ giúp phát hiện bệnh sớm và chính xác hơn, kết hợp với hệ thống ghi nhận ung thư quốc gia hoạt động hiệu quả hơn [43-45].

1.4.4. Đặc điểm sinh học các dòng tế bào ung thư trong nghiên cứu *in vitro*

Trong nghiên cứu sàng lọc thuốc và các hoạt chất có nguồn gốc từ thiên nhiên, việc sử dụng các dòng tế bào ung thư người chuẩn hóa đóng vai trò tiên quyết. Các dòng tế bào được đánh giá trong nghiên cứu này đại diện cho các loại ung thư phổ biến và nguy hiểm nhất:

Dòng tế bào MCF-7 (Ung thư biểu mô tuyến vú): Đây là dòng tế bào ung thư vú phụ thuộc hormone, có chứa thụ thể estrogen (ER+). Nó được sử dụng rộng rãi làm mô hình *in vitro* để nghiên cứu độc tính tế bào của các loại thuốc chống ung thư vú và cơ chế tác động lên chu kỳ tế bào [46].

Dòng tế bào HepG2 (Ung thư biểu mô tế bào gan): HepG2 duy trì nhiều chức năng sinh hóa chuyên biệt của tế bào gan bình thường. Do ung thư gan là nguyên nhân tử vong hàng đầu tại Việt Nam, dòng tế bào này là công cụ thiết yếu để tìm kiếm các hoạt chất có khả năng bảo vệ gan hoặc gây độc chọn lọc trên tế bào khối u gan [47].

Dòng tế bào A549 (Ung thư phổi không tế bào nhỏ - NSCLC): Ung thư phổi có tỷ lệ tử vong cao nhất toàn cầu. A549 là dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến của phổi, thường được sử dụng để đánh giá các hoạt chất tác động lên con đường truyền tín hiệu hô hấp và khả năng ức chế sự hình thành khối u phổi [48].

Dòng tế bào HeLa (Ung thư cổ tử cung): Là dòng tế bào người bất tử đầu tiên được nuôi cấy thành công, HeLa cực kỳ bền bỉ và phân chia nhanh, rất lý tưởng để sàng lọc phổ rộng độc tính của các hợp chất hóa học mới [49].

Dòng tế bào PC-3 (Ung thư tuyến tiền liệt): Là dòng tế bào không phụ thuộc androgen, có khả năng di căn cao. PC-3 được dùng để mô phỏng các giai đoạn ung thư tuyến tiền liệt tiến triển ở nam giới [50].

1.4.5. Tình hình nghiên cứu sử dụng thực vật và hoạt chất tự nhiên trong chống ung thư

Thiên nhiên, đặc biệt là thực vật, luôn là kho tàng dược liệu khổng lồ cung cấp các bộ khung cấu trúc hóa học phức tạp cho ngành công nghiệp dược phẩm. Nhiều loại thuốc hóa trị ung thư kinh điển được sử dụng trên lâm sàng hiện nay có nguồn gốc trực tiếp từ thực vật hoặc là các dẫn xuất bán tổng hợp. Nổi bật nhất phải kể đến:

Paclitaxel (Taxol): Chiết xuất từ vỏ cây Thông đỏ, cơ chế hoạt động là gắn vào các vi ống (microtubules), ngăn chặn quá trình phân bào [51].

Vinca alkaloid (Vincristine, Vinblastine): Chiết xuất từ cây Dừa cạn (*Catharanthus roseus*), có khả năng ức chế sự hình thành thoi vô sắc trong quá trình gián phân [52].

Podophyllotoxin (Etoposide): Phân lập từ rễ cây *Podophyllum peltatum*, là chất ức chế enzyme Topoisomerase II, làm đứt gãy DNA của tế bào ung thư [53].

Sự thành công của các hợp chất này đã thúc đẩy giới khoa học không ngừng tìm kiếm các hợp chất thứ cấp mới từ tự nhiên, có hiệu lực cao, giảm thiểu tác dụng phụ và có khả năng chống lại sự kháng thuốc của tế bào ung thư.

Nhóm hợp chất phenanthrene, dihydrophenanthrene và các dẫn xuất hydro hóa của nó (dihydrophenanthrene) là một nhóm hợp chất chuyển hóa thứ cấp ít phổ biến hơn flavonoid hay alkaloid, thường được tìm thấy chủ yếu trong họ Lan (Orchidaceae), họ Đan sâm và một số ít các họ thực vật khác. Các nghiên cứu dược lý hiện đại cho thấy khung cấu trúc phẳng của phenanthrene cho phép chúng xen kẽ (intercalate) vào giữa các cặp base của DNA, ức chế các enzyme tổng hợp DNA và kích hoạt con đường chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Nhóm hợp chất này đang thu hút sự chú ý đặc biệt trong hóa dược do mang lại hoạt tính chống khối u, chống viêm và chống oxy hóa mạnh mẽ [54].

Chi thực vật *Elatostema* (thuộc họ Tầm ma - Urticaceae) phân bố nhiều ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Á. Mặc dù trước đây các nghiên cứu về chi này còn hạn chế, nhưng những phát hiện gần đây đã cho thấy sự đa dạng phong phú về các hợp chất chuyển hóa thứ cấp, bao gồm flavonoid, acid phenolic và đặc biệt là nhóm phenanthrene/dihydrophenanthrene. Những kết quả này không chỉ đóng góp quan trọng vào cơ sở dữ liệu hóa học thực vật của chi *Elatostema*, mà còn khẳng định cấu trúc dihydrophenanthrene từ *E. tenuicaudatum* là một phân tử tiên phong (lead compound) vô cùng tiềm năng, mở đường cho các nghiên cứu và phát triển các loại thuốc kháng ung thư thế hệ mới trong tương lai.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần trên mặt đất loài Com kìa *E. tenuicaudatum* W.T. Wang được thu thập tại huyện Quang Bình, tỉnh Hà Giang (nay là xã Quang Bình, tỉnh Tuyên Quang) vào tháng 12 năm 2024. Việc giám định phân loại thực vật được thực hiện bởi Tiến sĩ Đỗ Hữu Thư thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (nay là Viện Sinh học), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam). Mẫu tiêu bản ET08112024HG đã được lưu trữ tại Trường Đại học Tân Trào (Tuyên Quang).



Hình 2.1. Cây Com kìa (*E. tenuicaudatum*)

2.2. Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

a. Vật liệu

Dữ liệu khối phổ (HR-ESI-MS) được thu thập trên thiết bị Sciex X500R QTOF (Sciex, Massachusetts, Hoa Kỳ). Tất cả các phổ NMR 1D và 2D được ghi trên máy quang phổ Bruker Avance III HD 600 MHz (Bruker, Đức), sử dụng TMS làm chất chuẩn nội. Để phân tách các hợp chất, sắc ký cột được thực hiện trên silica gel 60 (40–63 μm , Merck, Darmstadt, Đức), Sephadex LH-20

(25–100 μm , Merck) và octadecyl silica gel (RP-18, 12 nm, YMC, Kyoto, Nhật Bản). Quá trình theo dõi phân đoạn dựa vào sắc ký lớp mỏng phân tích (TLC) sử dụng bản mỏng tráng sẵn 0,25 mm (silica gel 60 F254 và RP-18 F254S từ hãng Merck). Sự phát hiện các chất chuyển hóa được thực hiện dưới đèn UV có hai bước sóng (254/365 nm), bổ sung bằng thuốc thử nhuộm vanillin-sulfuric acid, kích hoạt bằng cách hơi nóng trong 5 phút.

b. Phương pháp phân tích, phân tách và phân lập các hợp chất

Sắc ký lớp mỏng (TLC) :

Sắc ký lớp mỏng trên silica gel là phương pháp thích hợp cho phân tích các hợp chất hữu cơ. Vì sự phân tích TLC trên silica gel là một quá trình hấp phụ các hợp chất được phân tách theo độ phân cực theo cách tương tự như trong sự phân tách sắc ký cột. Sắc ký lớp mỏng là phương pháp phân tích để lựa chọn các hệ dung môi rửa giải cho sắc ký cột. Để định tính các hợp chất, các giá trị R_f và màu sắc của các vết chất được phát hiện trên bản mỏng TLC cần được mô tả. Dựa vào sắc ký đồ TLC có thể đánh giá định tính số lượng các hợp chất có trong hỗn hợp.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng silica gel tráng sẵn DC – Alufolien 60 F254 (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với chiều dày lớp silica gel là 0.2 mm.

Đưa mẫu phân tích lên bản mỏng: hòa tan mẫu thử trong dung môi thích hợp (1 mg/mL), sau đó dùng capilla đưa dung dịch mẫu thử lên bản mỏng (10 μL).

Dung môi triển khai: các dung môi dùng trong TLC đều được làm khan và chưng cất lại trước khi sử dụng. Các hệ dung môi được trộn theo tỷ lệ phù hợp với từng mẫu phân tích. Sau khi pha phải lắc kỹ cho các dung môi trong hệ trộn đều nhau rồi cho vào bình triển khai sắc ký đáy bằng, có nút nhám kín đến chiều cao 0.5 cm. Để yên đến khi bình được bão hòa dung môi mới tiến hành triển khai bản mỏng.

Triển khai bản mỏng: bản mỏng được cắt với kích thước phù hợp với tuyến xuất phát của dung môi, dung môi có chiều cao 1 cm. Dùng kẹp sắt đưa nhanh bản mỏng đã được tẩm mẫu vào bình triển khai sắc ký, đậy kín nắp, để yên và quan sát. Khi quan sát thấy dung môi đã chạy đến tuyến dung môi trên, dùng kẹp sắt lấy bản mỏng ra khỏi bình và tiến hành phát hiện vết chất trên bản mỏng.

Phát hiện vết chất trên bản mỏng: bản mỏng được phun H_2SO_4 1%, sau đó được hơ nóng $120^\circ C$, đánh dấu vết chất trên bản mỏng, tính giá trị R_f và ghi màu sắc của các vết chất. Khi chúng được rửa giải ra khỏi cột dựa trên trật tự về kích thước phân tử.

Sắc ký cột (CC):

Sắc ký cột thường được thực hiện dưới trọng lực của dung môi. Cột sắc ký được thiết kế với khóa dưới và nhám trên có đường kính trong và chiều cao tùy theo lượng mẫu cần phân tách. Chất hấp phụ dùng cho CC là silica gel (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với các cỡ hạt 63 – 200 μm và 40 – 63 μm .

Dung môi hữu cơ dùng cho sắc ký cột được làm khan, chưng cất lại và bảo quản trong bình kín trước khi sử dụng.

Nhồi cột sắc ký: phương pháp nhồi cột ướt: một lượng silica gel ứng với cột sắc ký có đường kính thích hợp, có chiều cao là 100 cm được khuấy đều thành bột nhão trong một lượng vừa đủ dung môi. Bột nhão này được nhồi vào cột sắc ký và được đuổi hết bọt khí. Có thể dùng bơm nén hoặc trọng lực dung môi đi qua cột nhiều lần cho đến khi lớp silica gel hoàn toàn ổn định.

Đưa mẫu lên cột sắc ký: phương pháp tẩm mẫu trên silica gel: mẫu được hòa tan trong một lượng vừa đủ dung môi dễ bay hơi thích hợp. Trộn dung dịch thu được với silica gel (cỡ hạt 40 – 63 μm) với tỷ lệ là 1 g chất/ 1.2 g đến 1.5 g silica 30 gel. Hỗn hợp này được làm bay hơi dung môi đến khi khô kiệt thì được bột mịn của mẫu chất hấp phụ trên silica gel. Bột này được đưa lên cột sắc ký phía trên lớp chất hấp phụ silica gel.

Triển khai sắc ký cột: mở khóa dưới cột sắc ký để cho dung môi chảy ra khỏi cột sắc ký, cho đến khi bề mặt dung môi cách bề mặt silica gel khoảng 2 mm. Cho từ từ mẫu tẩm trên silica gel lên cột. Khi đưa mẫu lên cột cần phải chú ý đảm bảo cho bề mặt của lớp chất phía trên cột sắc ký tạo thành mặt phẳng ngang. Rắc một lớp cát lên phía trên để tránh các chất bột bị hòa tan ngược.

Tiến hành rửa giải: rửa giải bằng hệ dung môi được xác định nhờ vào các khảo sát thăm dò TLC, tốc độ rửa giải 20 giọt/ phút, thu các phân đoạn theo thể tích 150 mL, 50 mL và 20 mL (CC, FC).

Khảo sát sắc ký các phân đoạn: tiến hành khảo sát các phân đoạn nhận được bằng TLC, gộp các phân đoạn cho sắc ký đồ TLC giống nhau lại, sau đó cất loại kiệt dung môi để thu được các nhóm phân đoạn.

Sắc kí cột Sephadex

Sắc ký cột sephadex (hay còn gọi là sắc ký lọc gel) là phương pháp phân tách sắc ký dùng để tách các phân tử dựa trên sự khác nhau về kích thước của các phân tử. Những phân tử không bị giữ lại bằng liên kết hóa học nên thành phần của dung môi pha động không ảnh hưởng trực tiếp đến độ rửa giải. Sắc ký lọc gel phù hợp với những phân tử sinh học nhạy cảm, nồng độ ion kim loại, môi trường khắc nghiệt. Quá trình phân tách bằng phương pháp sắc ký lọc gel khi gel được nhồi vào cột tạo thành đệm. Đệm là mạng lưới lỗ xốp hình thành từ hạt hình cầu có đặc tính bền vật lý, bền hóa học và trơ. Lớp gel cân bằng với dung dịch rửa giải. Dung dịch sẽ lấp đầy vào mạng lưới lỗ xốp và khoảng không gian giữa các hạt. Chất lỏng bên trong lỗ xốp được xem như là pha tĩnh và chất lỏng bên ngoài được xem là pha động. Kết quả của quá trình sắc ký lọc gel thường được theo dõi trên bản mỏng TLC cho kết quả khác nhau về nồng độ (liên quan đến mức độ hấp thụ tia UV ở vùng 280 nm) của các thành phần trong mẫu.

c. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

Hiện nay các phương pháp phổ là các phương pháp hiện đại thường dùng để xác định cấu trúc của các hợp chất hữu cơ.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$:

Cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance) là một phương pháp phổ dựa trên mức năng lượng của các spin hạt nhân trong các nguyên tử định hướng theo một từ trường của một nam châm vĩnh cửu. Do tương tác của các spin này với một điện từ trường bổ sung, các hạt nhân chuyển lên một mức năng lượng cao hơn. Tín hiệu sinh ra do sự thay đổi vị trí từ trạng thái có mức năng lượng cao xuống trạng thái có mức năng lượng thấp hơn được ghi lại và cường độ của tín hiệu tỷ lệ với mức chênh lệch năng lượng giữa các trạng thái.

Phổ DEPT

Phổ này cho ta các tín hiệu phân loại carbon khác nhau. Trên phổ DEPT, tín hiệu của các carbon không liên kết trực tiếp với hydro. Tín hiệu của CH và CH₃ nằm về một phía và của CH₂ về một phía trên phổ DEPT 135. Trên phổ DEPT 90 chỉ xuất hiện tín hiệu phổ của CH.

Phổ 2D-NMR:

Đây là các kỹ thuật phổ hai chiều, cho phép xác định các tương tác của các hạt nhân từ của phân tử trong không gian hai chiều. Một số kỹ thuật chủ yếu thường được sử dụng:

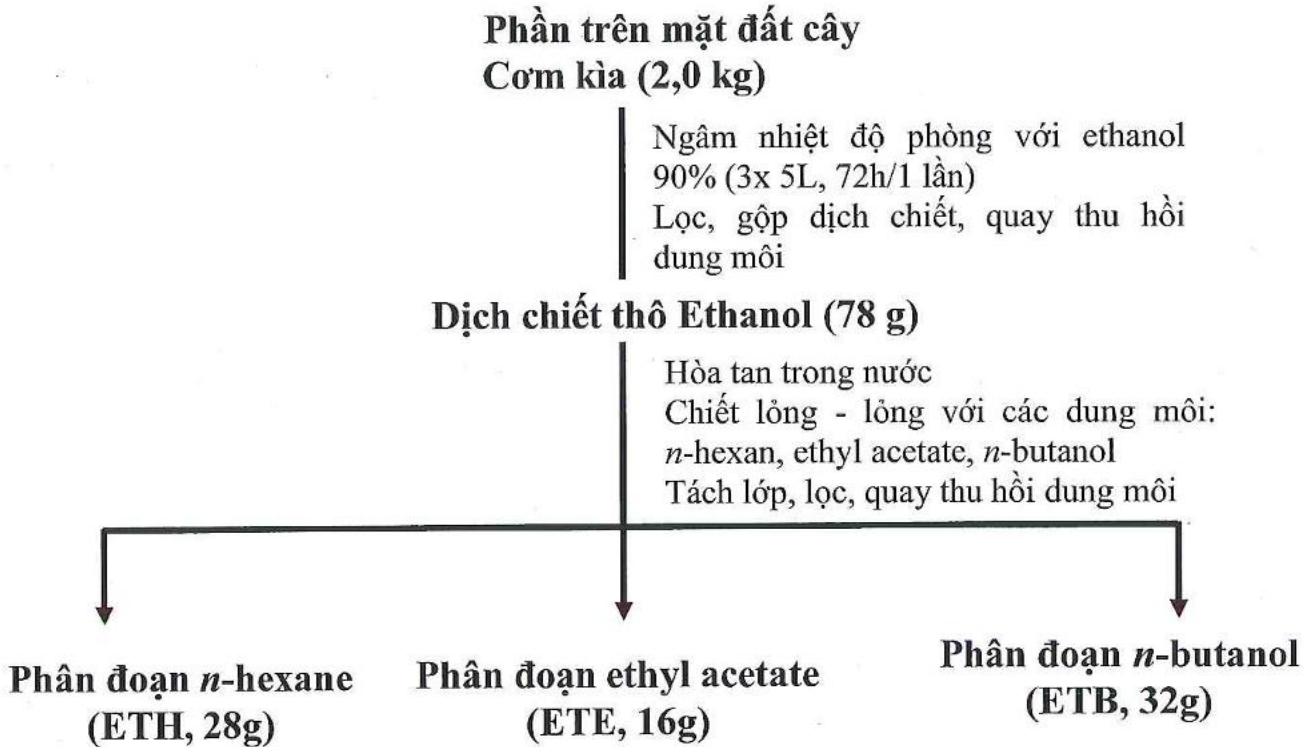
Phổ HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence): Các tương tác trực tiếp H – C được xác định nhờ vào các tương tác trên phổ này. Trên phổ, một trục là phổ $^1\text{H-NMR}$, trục còn lại là $^{13}\text{C-NMR}$. Các tương tác HSQC nằm trên đỉnh các ô vuông trên phổ.

Phổ HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity): Đây là phổ biểu diễn tương tác xa của H và C trong phân tử. Nhờ vào các tương tác trên phổ này mà từng phần của phân tử cũng như toàn bộ phân tử được xác định về cấu trúc.

2.3. Chiết xuất và phân lập

Lấy 2,0 kg phần trên mặt đất *E. tenuicaudatum* khô sau khi xay nhỏ, được ngâm chiết ở nhiệt độ phòng với ethanol 90% (3 x 5 L, 72h/1 lần). Các dịch chiết được gộp lại, cô khô dưới áp suất giảm (52°C) thu được cao chiết tổng ethanol. Cao chiết tổng thu được đem phân tán vào nước, sau đó chiết lỏng-lỏng

liên tiếp với các dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexane, ethyl acetate và *n*-butanol và loại bỏ dung môi thu được các cao chiết tương ứng: *n*-hexane (ETH, 28 g), ethyl acetate (ETE, 16g) và *n*-butanol (ETB, 32 g). Quy trình ngâm chiết của cây Com kìa được thể hiện bằng sơ đồ dưới đây.



Hình 2.2. Sơ đồ chiết tạo cao chiết tổng và các phân đoạn của *E. tenuicaudatum*

Phần cao chiết ETH (28 g) được đưa lên cột sắc ký silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate với độ phân cực tăng dần (từ 100:0 → 80:20, v/v) thu được 5 phân đoạn nhỏ (ETH1 → ETH5):

Phân đoạn ETH2 được tiếp tục chạy sắc ký qua cột silica gel, sau đó tinh chế lại bằng cột Sephadex LH-20 (dung môi methanol) và kết tinh lại thu được hợp chất 2 (9,6 mg) dưới dạng bột màu trắng.

Phân đoạn ETH3 được sắc ký trên cột silica gel và tinh chế qua cột sephadex LH-20 (dung môi methanol) , kết tinh trong dung môi acetone thu được hợp chất 4 (10,1 mg) dưới dạng bột màu trắng.

Phần cao chiết ETE (16 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dichloromethane/methanol theo gradient tăng dần độ phân cực để thu được 6

phân đoạn (ETE1 → ETE6). Phân đoạn ETE3 được phân tách lại trên cột silica gel, sau đó tinh chế bằng cột sephadex LH-20 (rửa giải bằng MeOH) và kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất **3** (10,2 mg) dưới dạng bột màu trắng.

Phần cao chiết **ETB** (32 g) chứa nhiều hợp chất phân cực và glycoside được sắc ký trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/methanol/nước theo gradient tăng dần từ tỷ lệ 10:1:0 → 2:1:0,1. Quá trình này thu được bảy phân đoạn gộp (ETB1 → ETB7).

Phân đoạn ETB4 được phân tách bằng cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi methanol/nước (từ 7:3 → 3:7) và tinh chế qua Sephadex LH-20 thu được hợp chất **5** (8,5 mg) dưới dạng bột màu trắng. Phân đoạn ETB6 tiếp tục được chạy sắc ký trên cột silica gel (hệ dung môi dichloromethane/methanol/nước, 7:1:0,1, v/v/v) tạo ra ba phân đoạn nhỏ ETB6.1 → ETB6.3. Phân đoạn ETB6.3 được tinh chế trên silica gel RP-18 (methanol:nước, 5:2, v/v) và sau đó trên cột sephadex LH-20 (MeOH) để thu được hợp chất **1** (10,5 mg) dưới dạng bột màu nâu. Đây là hợp chất mới.

Thủy phân hợp chất 1: Hợp chất **1** (9,0 mg) được đem thủy phân acid bằng cách hòa tan vào 3,0 ml dung dịch HCl 1N trong hệ dioxane/H₂O (1:1, v/v) và đun nóng ở 80°C trong 4 giờ bằng bể điều nhiệt. Sau khi trung hòa bằng dung dịch NaOH 5%, hỗn hợp được phân bố giữa ethyl acetate và nước. Pha nước được cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế qua sắc ký lớp mỏng điều chế trên bản silica gel 60 F254 sử dụng pha động là (CH₂Cl₂-MeOH-H₂O, 4:1:0,1, v/v/v), thu được D-glucose ($\alpha_D^{25} +48,1^\circ$, c 0,11, H₂O).

Hằng số vật lý và dữ liệu phổ của các chất phân lập được từ cây Cơm kìa (*E. tenuicaudatum*):

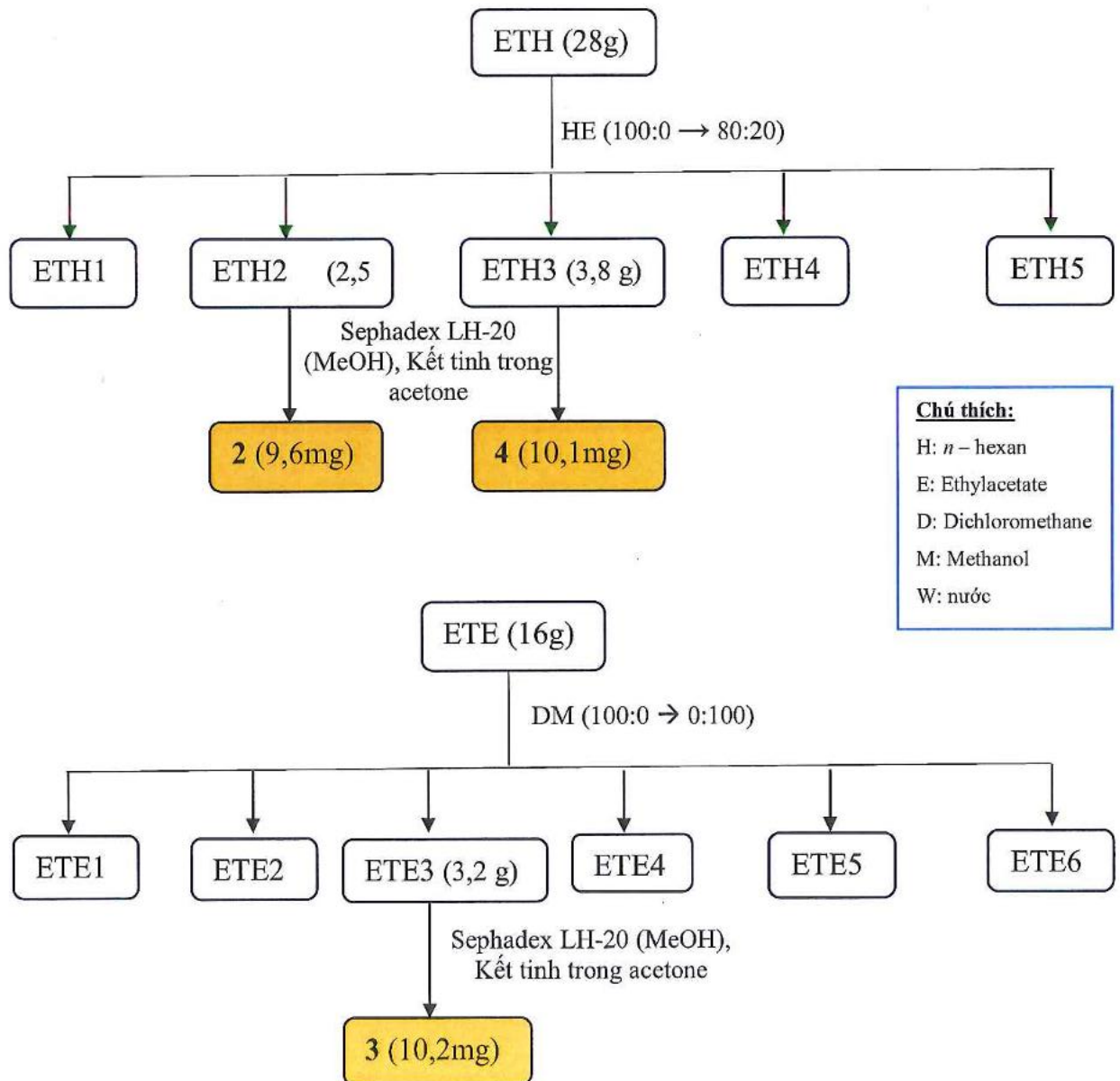
Hợp chất 1: 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O-[β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranoside] (10,5 mg), thu được dưới dạng bột màu nâu. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **1** xem mục 3.3.1.

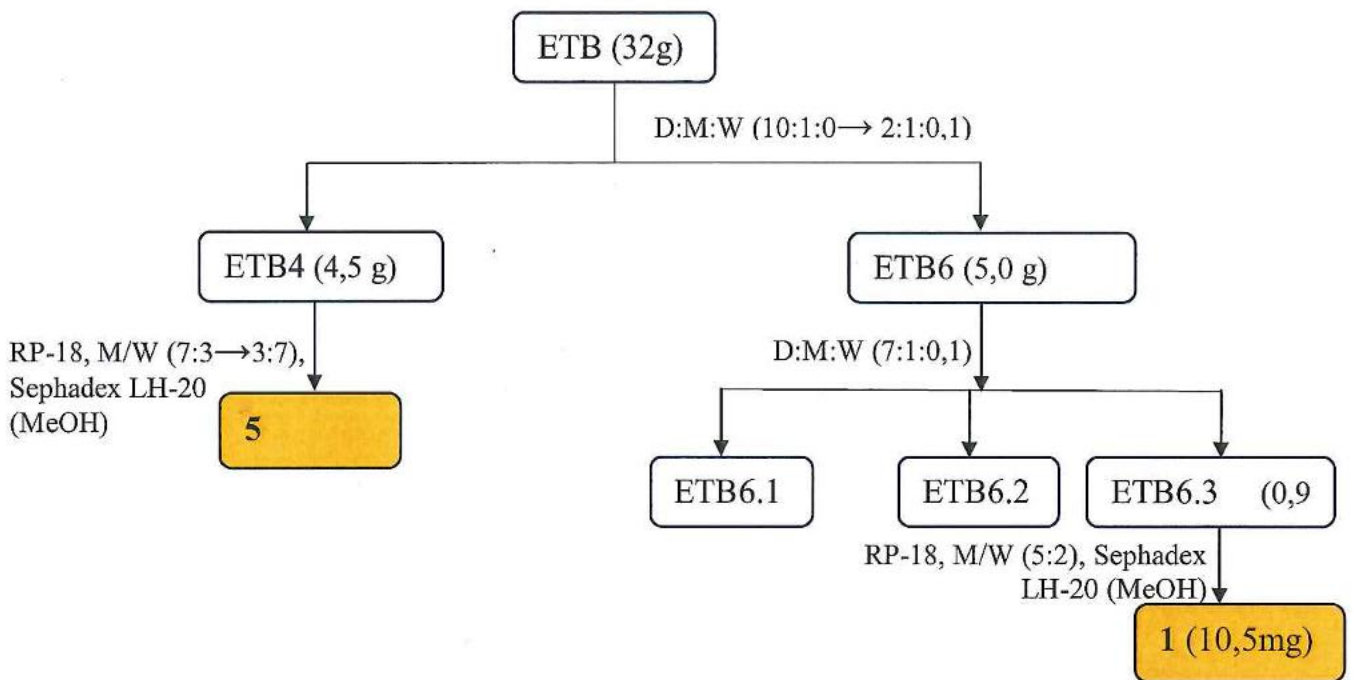
Hợp chất **2**: 1-heptatriacontanol (9,6 mg), thu được dưới dạng bột màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 94-96°C. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **2** xem mục 3.1.2.

Hợp chất **3**: Betulinic acid (10,2 mg), thu được dưới dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **3** xem mục 3.1.3.

Hợp chất **4**: α -amyrin acetate (10,1 mg), thu được dưới dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **4** xem mục 3.1.4.

Hợp chất **5**: Bergenin (8,5 mg), thu được dưới dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **5** xem mục 3.1.5





Hình 2.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ *E. tenuicaudatum*

2.4. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT

Thử nghiệm MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), được xác nhận bởi Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (U.S. NCI), đã được sử dụng để đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của Hợp chất 1 chống lại một loạt các dòng tế bào ung thư (MCF-7, Hep-G2, A549, HeLa và PC-3). Các tế bào được nuôi cấy trong môi trường DMEM/EMEM/RPMI-1640 với 10% FBS ở điều kiện 37°C/5% CO₂. Sau khi được cấy vào đĩa 96 giếng (1,5 x 10⁵ tế bào/giếng), các mẫu thử được kiểm tra ở nồng độ từ 100 - 6,25 μg/ml (đối với dịch chiết) hoặc 50 - 1 μM (đối với hợp chất tinh khiết), với ba giếng lặp lại cho mỗi nồng độ. Sau khi hoàn thành thời gian ủ 48 giờ, các tế bào được xử lý với 10 μl thuốc nhuộm MTT (5 mg/mL), tiếp theo là thêm 100 μl dung môi DMSO để hòa tan các tinh thể formazan được tạo ra. Các đĩa giếng sau đó được đọc kết quả ở bước sóng 540/720 nm trên máy quang phổ kế Tecan Infinite F50. Tỷ lệ ức chế tế bào (%) được tính toán, với các giá trị IC₅₀ được xác định thông qua phần mềm TableCurve 2D cho các mẫu cho thấy độ ức chế ≥50%. Paclitaxel ở nhiều nồng độ khác nhau (dao động từ 50 đến 0,05 μM) đóng vai trò làm đối

chứng dương, chứng minh tính hợp lệ của phép thử với độ lệch chuẩn (SD) <15% giữa các lần lặp lại.

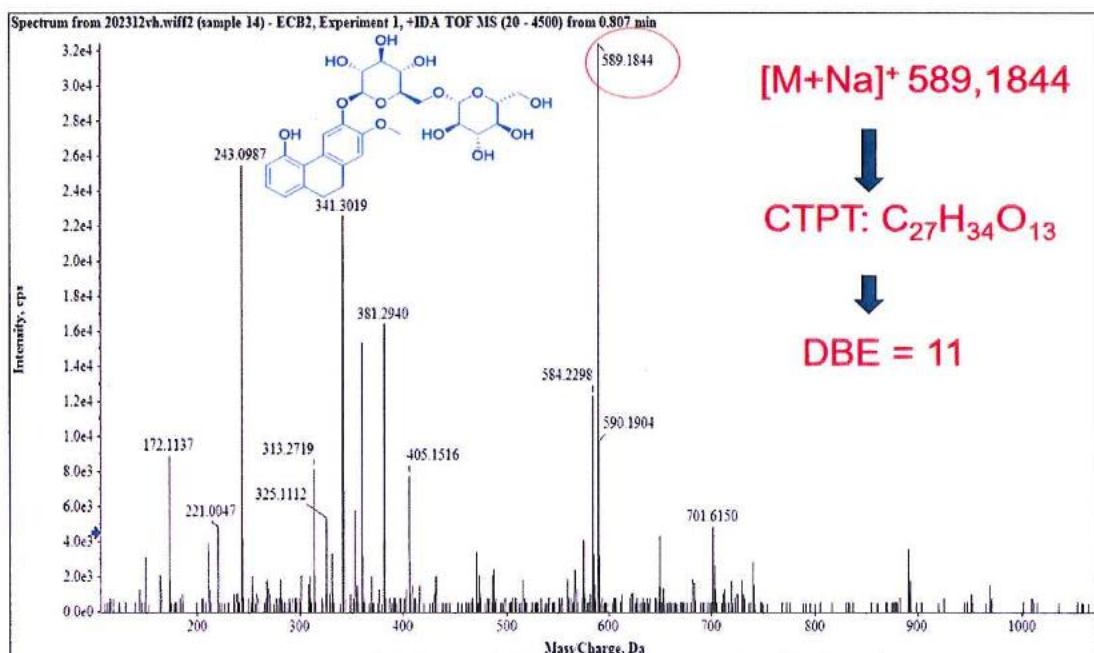
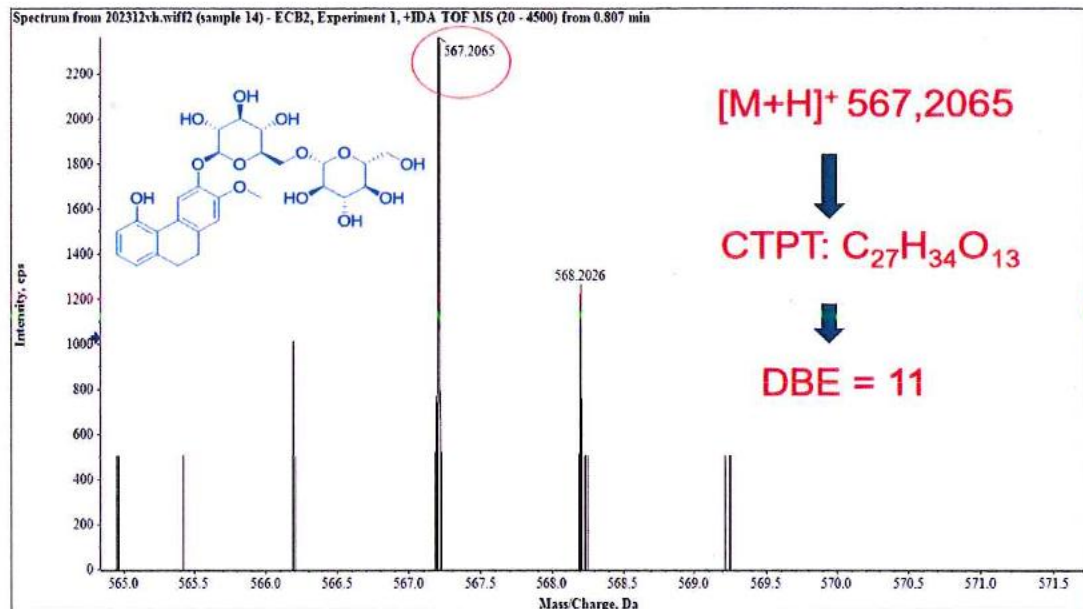
Mỗi thí nghiệm được tiến hành ba lần lặp lại độc lập. Dữ liệu thu được được trình bày dưới dạng Giá trị trung bình \pm Độ lệch chuẩn (SD). Để tính toán giá trị IC_{50} , phần mềm TableCurve 2D (Jandel Scientific, CA, Hoa Kỳ) đã được sử dụng.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Về thành phần hóa học

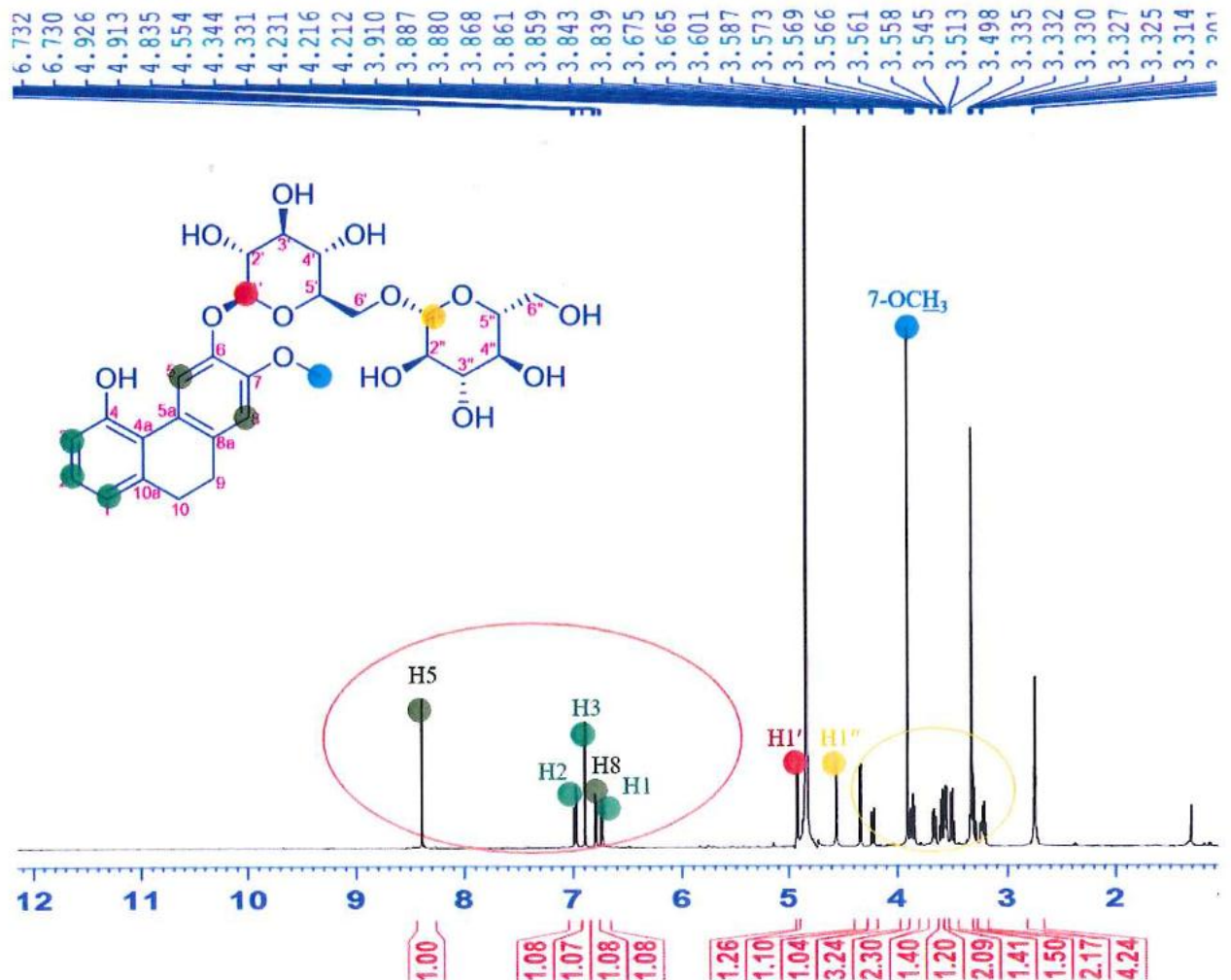
3.1.1. Hợp chất mới: 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (1)

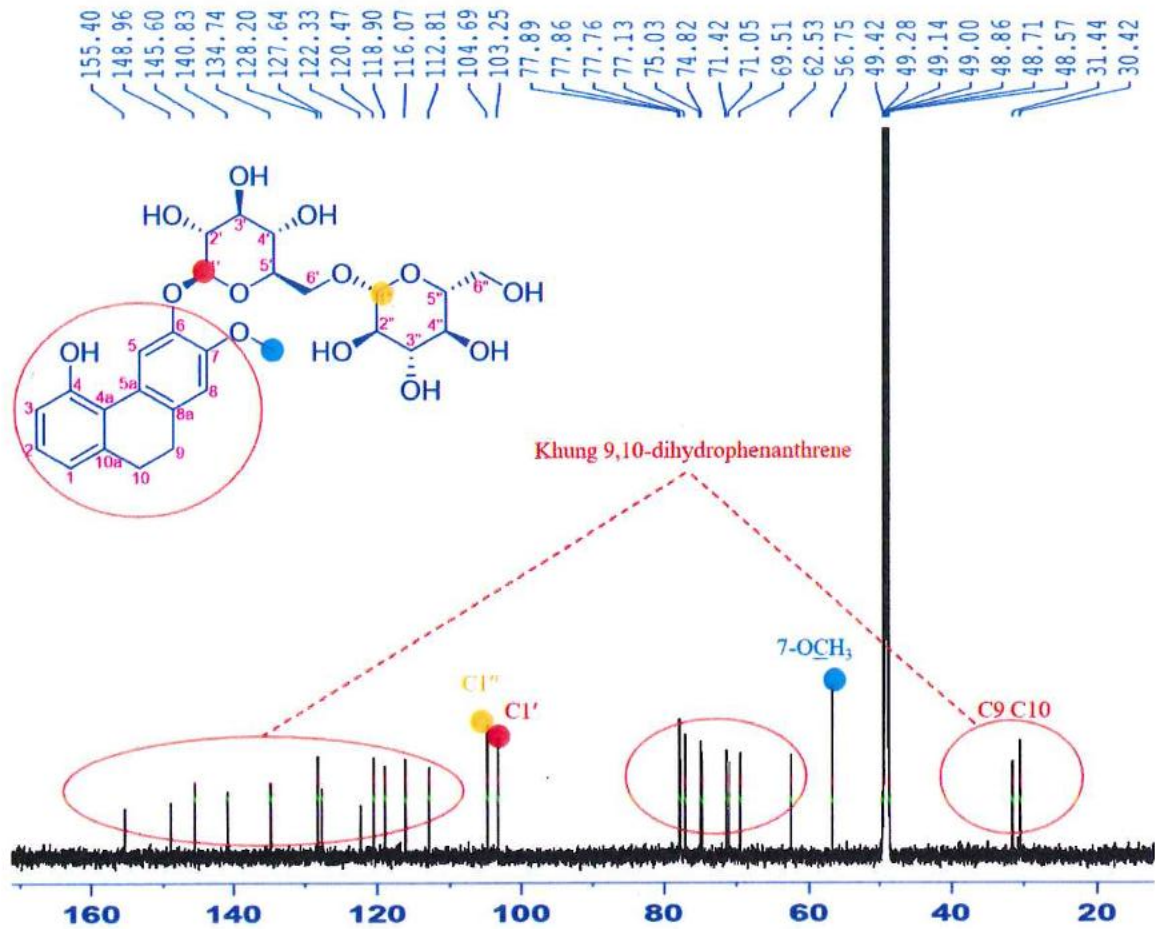
Hợp chất 1 được phân lập dưới dạng màu nâu. Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS) ở chế độ dương của hợp chất 1 cho hai pic ion giả phân tử m/z 567,2065 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{27}H_{34}O_{13}^+$, 567,20722) và 589,1844 $[M+Na]^+$ (tính toán cho $C_{27}H_{33}NaO_{13}^+$, 589,184426), gợi ý công thức phân tử là $C_{27}H_{34}O_{13}$.



Hình 3.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất 1

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** chứa các tín hiệu của một dẫn xuất dihydrophenanthrene, bao gồm một vòng benzene thế 1,2,3 tại δ_{H} 6,73 (dd, $J = 1,2$ và $7,2$ Hz, H-1), 6,99 (t, $J = 7,8$ Hz, H-2) và 6,80 (dd, $J = 1,2$ và $8,4$ Hz, H-3); một vòng benzene thế 1,2,4,5 tại δ_{H} 8,39 (1H, s, H-5) và 6,89 (1H, s, H-8); và bốn proton lai hóa sp^3 tại δ_{H} 2,76 (2H, m, H-9) và 2,74 (2H, m, H-10). Ngoài ra, cũng quan sát được các tín hiệu của hai phần tử glucopyranosyl với hai proton anomer tại δ_{H} 4,93 (d, $J = 7,8$ Hz, H-1') và 4,34 (d, $J = 7,8$ Hz, H-1''); bốn proton oxymethylene tại δ_{H} 4,24 (1H, dd, $J = 2,4$ và $11,4$ Hz, H-6'a), 3,86 (1H, m, H-6'b), 3,84 (1H, m, H-6''a) và 3,67 (1H, m, H-6''b), cùng với tám proton oxymethine tại δ_{H} 3,21 (H-2'), 3,23 (H-3'), 3,31 (H-4'), 3,24 (H-5'), 3,57 (H-2''), 3,51 (H-3''), 3,61 (H-4'') và 3,62 (H-5''); và một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,91 (3H, s, 7-OCH₃).

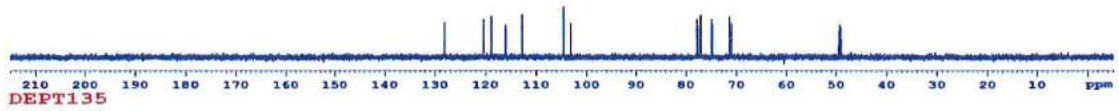


Hình 3.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 1Hình 3.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất 1

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất 1 xuất hiện 27 tín hiệu carbon, bao gồm 14 carbon của bộ khung 9,10-dihydrophenanthrene, một carbon methoxy và 12 carbon của hai phân tử glucose. Việc gán số liệu phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ được hoàn thành thông qua các phổ nghiệm HSQC, HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY và NOESY. Sự hiện diện của phân tử glucose-1 được thiết lập thông qua hệ thống spin liên tục từ H-1' đến H-6' quan sát được trong phổ $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY. Sự gắn kết của nó với phần aglycone tại vị trí C-6 được suy luận rõ ràng từ pic chéo HMBC kết nối proton anomer H-1' (δ_{H} 4,93) với C-6 (δ_{C} 145,6), tiếp tục được củng cố bằng tương tác NOE không gian giữa H-1' và H-5 (δ_{H} 8,39). Tương tự, các tương quan COSY từ H-1'' đến H-6'' đã xác minh phân tử glucose-2 ở vị trí cuối. Liên kết giữa các gốc đường được xác nhận bởi một tín hiệu HMBC quan trọng từ proton anomer H-1'' (δ_{H} 4,34) đến carbon gắn oxy C-6' (δ_{C} 69,5) của đơn vị đường đầu tiên. Hằng số ghép cặp lớn $J = 7,8$ Hz của các proton anomer gợi ý

kiểu liên kết β của hai phân tử glucopyranosyl. Việc thủy phân bằng acid hợp chất 1 thu được D-glucose, được xác nhận bởi độ quay cực dương của nó [5, 16].

DEPT90



DEPT135

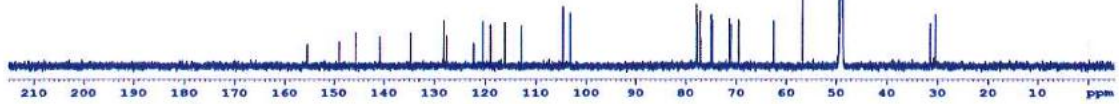
$$27C = 7C + 15CH + 4CH_2 + 1CH_3$$

CH&CH3

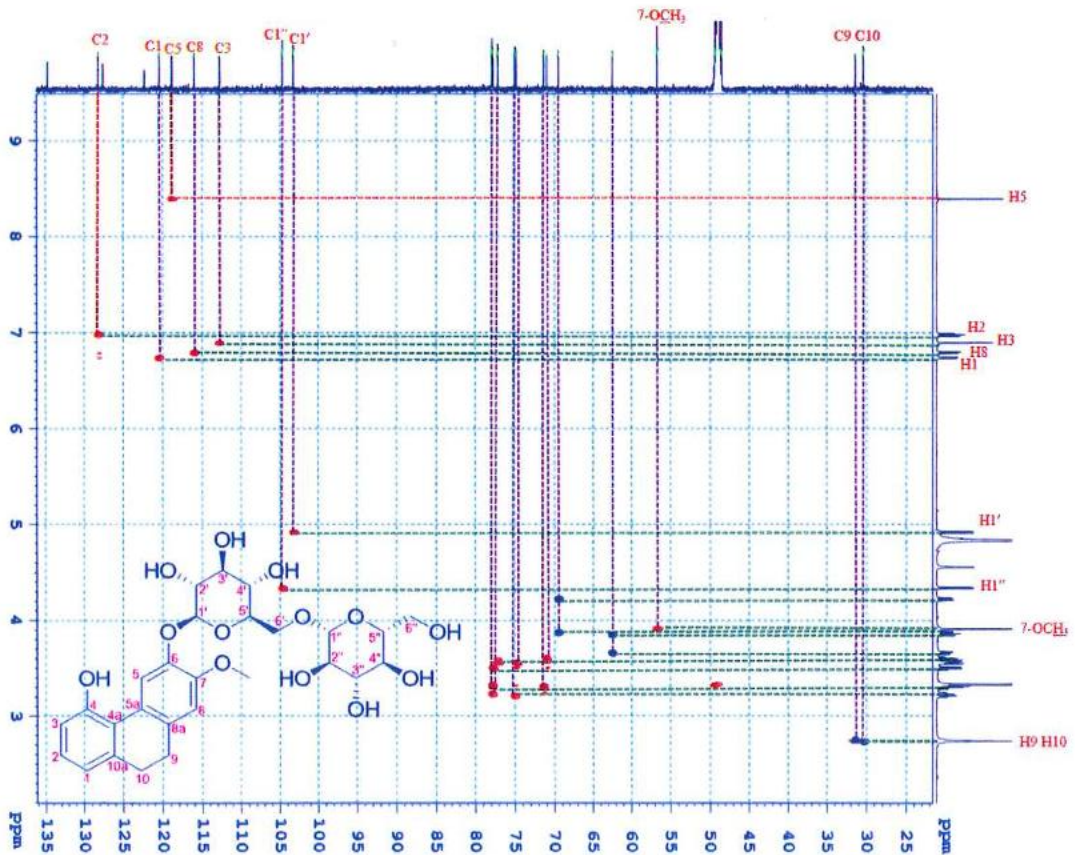
CH2



C13CPD

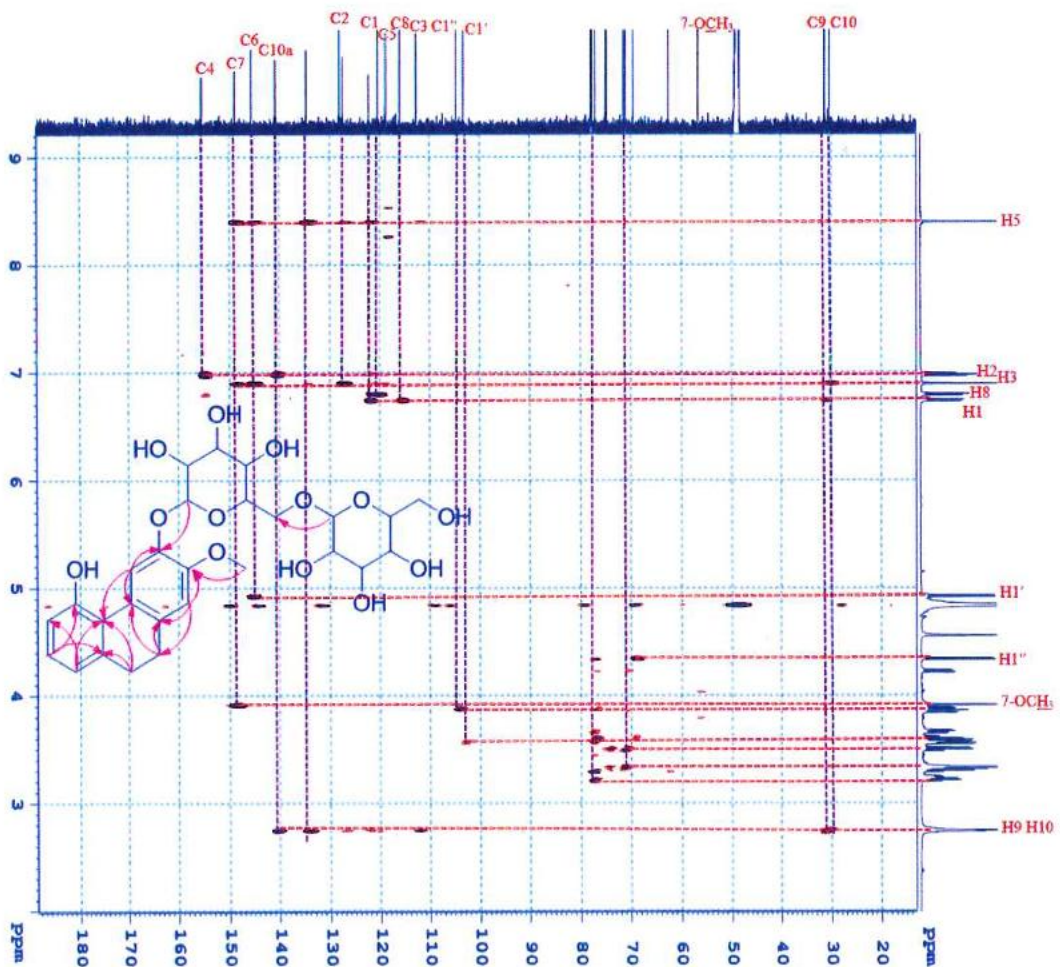


Hình 3.4. Phổ DEPT của hợp chất 1



Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất 1

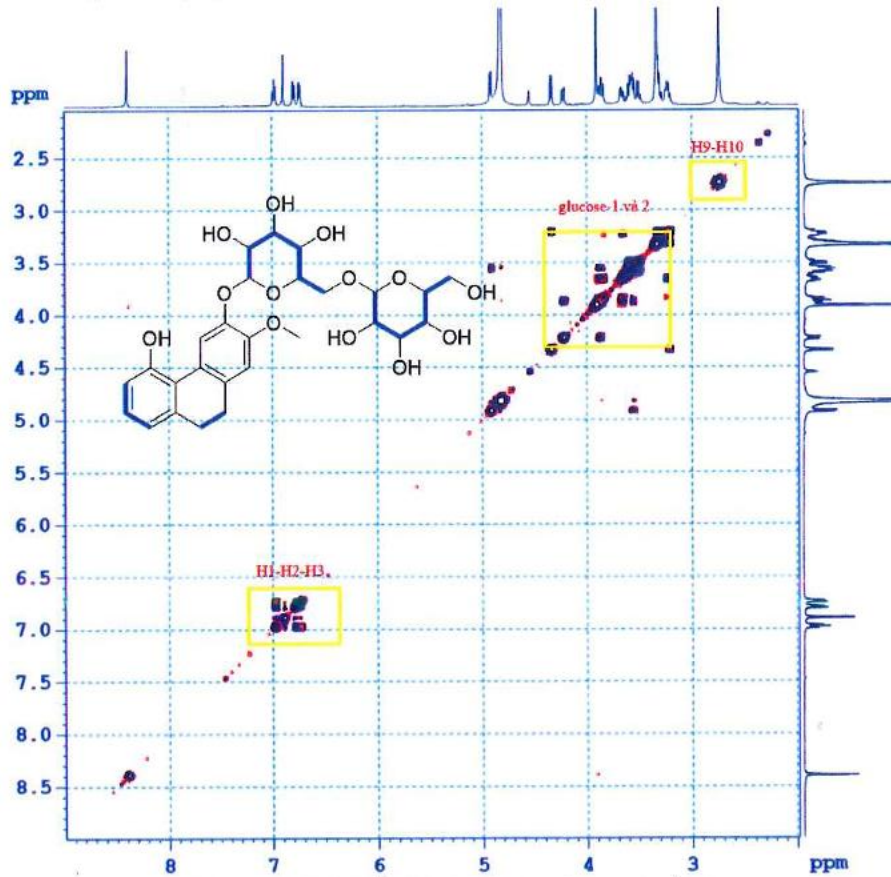
Các tương quan HMBC từ các proton methoxy (δ_H 3,91) đến C-7 (δ_C 149,0), từ H-8 (δ_H 6,89) đến C-7 (δ_C 149,0) và C-6 (δ_C 145,6) cũng như tương quan NOE của các proton methoxy (δ_H 3,91) và H-8 (δ_H 6,89) đã xác định vị trí của nhóm methoxy tại C-7. Thêm vào đó, phổ HMBC cũng cho thấy các tương quan từ H-2 (δ_H 6,99) đến C-4 (δ_C 155,4), C-10a (δ_C 140,8); từ H-1 (δ_H 6,73) đến C-4a (δ_C 122,3), C-10a (δ_C 140,8), chỉ ra vị trí của nhóm hydroxyl tại C-4. Do đó, cấu trúc của hợp chất 1 được xác định là 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside].



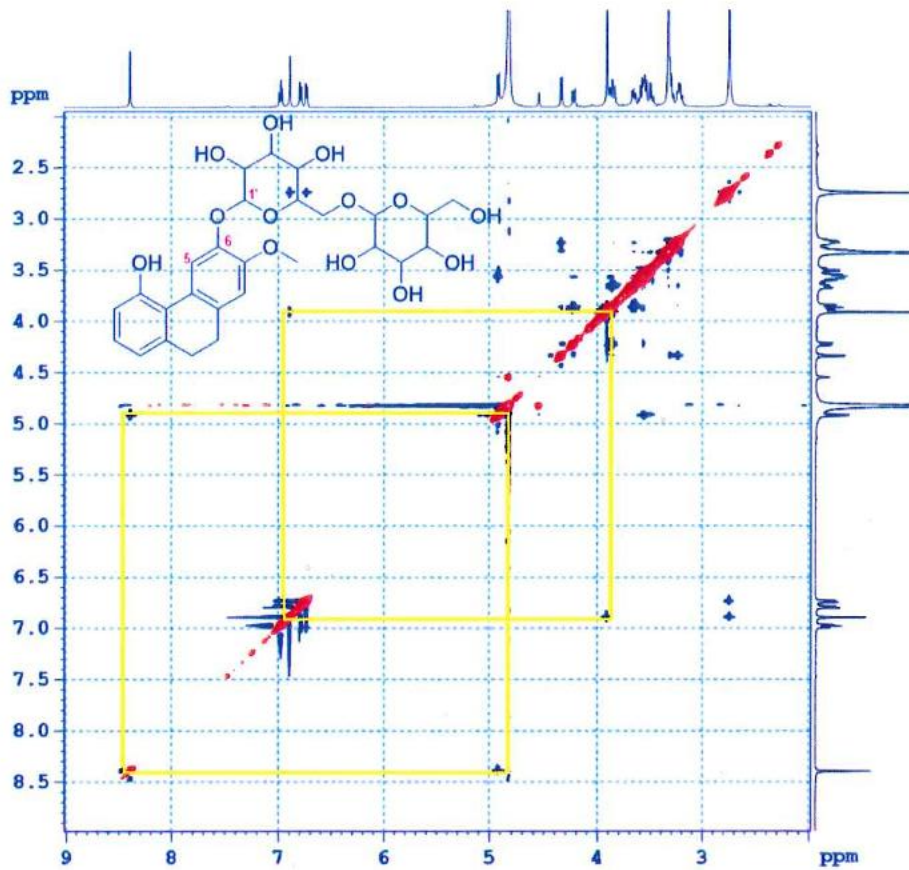
Hình 3.6. Phổ HMBC của hợp chất 1

Để xác thực tính mới của hợp chất 1, các tìm kiếm toàn diện về cấu trúc chính xác và cấu trúc phụ đã được thực hiện bằng cách sử dụng SciFinder-n (Chemical Abstracts Service). Đây là một ví dụ hiếm hoi về một dihydrophenanthrene được gắn hai gốc đường, vì các hợp chất này thường tồn tại dưới dạng aglycone trong tự nhiên. Các hợp chất dihydrophenanthrene được

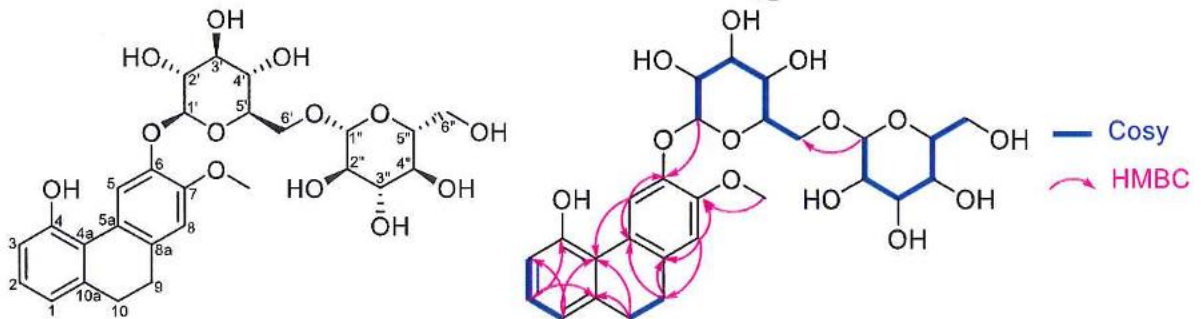
biết đến với nhiều hoạt tính sinh học đa dạng bao gồm tác dụng gây độc tế bào, chống viêm và chống oxy hóa, chủ yếu được báo cáo trong các họ Lan (Orchidaceae), họ Bấc (Juncaceae) và các họ thực vật có liên quan [17, 18]. Các kết quả gán phổ NMR hoàn chỉnh được trình bày trong bảng 3.1 và cấu trúc hóa học, COSY cùng tương quan HMBC chính được thể hiện trong hình 3.1.



Hình 3.7. Phổ COSY của hợp chất 1



Hình 3.8. Phổ NOESY của hợp chất 1



Hình 3.9. Cấu trúc hóa học, COSY và tương tác HMBC (H→C) chính của hợp chất 1

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất 1 trong dung môi CD_3OD

STT	Hợp chất 1 (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD)		[18]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}	# δ_{H} (mult., J Hz)
1	120,5	6,73 (dd, $J = 1,2$ và $7,2$)	120,1	6,87 (d, $J = 7,3$)
2	128,2	6,99 (t, $J = 7,8$)	128,0	7,12 (t, $J = 7,3$)
3	116,1	6,80 (dd, $J = 1,2$ và $8,4$)	116,5	7,23 overlap
4	155,4	-	156,4	-

4a	122,3	-	122,8	-
4b	134,7	-	133,9	-
5	118,9	8,39 (1H, s)	119,9	9,29 s
6	145,6	-	146,3	-
7	149,0	-	149,4	-
8	112,8	6,89 (1H, s)	112,9	6,89 s
8a	127,6	-	127,5	-
9	30,4	2,76 (2H, m)	30,2	2,70 m
10	31,4	2,74 (2H, m)	31,4	2,80 m
10a	140,8	-	140,5	-
Gluc-1				
1'	103,3	4,93 (d, $J = 7,8$)	104,3	5,70 (d, $J = 6,9$)
2'	75,0	3,21 (1H, m)	75,5	4,33 overlap
3'	77,89	3,23 (1H, m)	79,0	4,32 overlap
4'	71,4	3,31 (1H, m)	71,4	4,30 overlap
5'	77,86	3,24 (1H, m)	77,7	4,12 m
6'	69,5	4,24 (1H, dd, $J = 2,4$ và $11,4$) 3,86 (1H, m)	67,7	4,55 (brd, $J = 11,0$) 4,20 overlap
Gluc-2				
1''	104,6	4,34 (d, $J = 7,8$)	102,7	5,43 s
2''	74,8	3,57 (1H, m)	72,5	4,48 overlap
3''	77,76	3,51 (1H, m)	73,0	4,50 overlap
4''	71,1	3,61 (1H, m)	74,6	4,20 overlap
5''	77,1	3,62 (1H, m)	70,0	4,30 overlap
6''	62,5	3,84 (1H, m) 3,67 (1H, m)	19,0	1,53 (d, $J = 6,2$)
7-OCH ₃	56,8	3,91 (3H, s)	56,5	3,79 s

δ_C của elatostemanoside O (1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, $C_5D_5N_5$) [18]

3.1.2. Hợp chất 1-heptatriacontanol (2)

Phổ khối phun mù điện tử (ESI-MS) ở chế độ ion dương (positive ion) của 2 quan sát thấy peak của ion phân tử $[M+Na]^+$ tại m/z 559 cung cấp bằng chứng sơ bộ về trọng lượng phân tử. Dưới điều kiện ion hóa, các ancol béo

mạch hở có xu hướng bị phân mảnh đặc trưng là tách loại một phân tử nước ($\Delta m = 18$ Da), tạo ra mảnh ion $[M+H - H_2O]^+$ tại m/z 519. Dữ liệu MS và kết hợp phân tích sơ bộ dữ liệu phổ cho phép xác nhận phân tử 2 có 37 nguyên tử carbon và một nguyên tử oxy.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của 2 quan sát được các tín hiệu: Nhóm hydroxyl ($-\text{OH}$) chứa nguyên tử oxy có độ âm điện lớn, gây ra hiệu ứng cảm ứng rút điện tử ($-I$), làm giải che chắn từ tính mạnh đối với các proton của nhóm methylene lân cận ($-\text{CH}_2-\text{OH}$). Kết quả là, tín hiệu của hai proton này bị dịch chuyển hóa học về phía trường thấp, xuất hiện dưới dạng triplet tại δ_{H} 3,64 ppm. Ở đầu tận cùng kia của phân tử, nhóm methyl ($-\text{CH}_3$) thể hiện tín hiệu triplet tại δ_{H} 0,88 ppm, đây là đặc trưng động học từ tính của các proton thuộc nhóm alkyl đầu mạch. Phần lớn các proton còn lại thuộc về chuỗi polymethylene ($-(\text{CH}_2)_{35}-$). Do sự tương đồng tuyệt đối về môi trường vi mô hóa học (chemical microenvironment), tín hiệu của chúng cộng gộp thành dạng multiplet dải rộng tại δ_{H} 1,25 ppm, tích phân tương ứng khoảng 62 proton.

Các dữ liệu từ phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT củng cố thêm tính chính xác cho bộ khung carbon cấu tạo. Carbon sp^3 gắn trực tiếp với nguyên tử oxy (C-1) cộng hưởng ở vùng trường thấp tại δ_{C} 63,1 ppm, tín hiệu này có pha âm (quay xuống) trên phổ DEPT-135, khẳng định bản chất của nó là một nhóm CH_2 . Carbon của nhóm methyl tận cùng (C-37) được xác định tại δ_{C} 14,1 ppm, với pha dương (quay lên) trên phổ DEPT-135. Chuỗi xương sống polymethylene cho một loạt các tín hiệu cộng hưởng trong dải δ_{C} 22,7 – 32,8 ppm. Toàn bộ các tín hiệu này đều có pha âm trên DEPT-135, chứng minh sự hiện diện độc quyền của các nhóm methylene trong mạch. Cường độ tín hiệu cực đại tại δ_{C} 29,7 ppm phản ánh sự chồng chập (overlapping) của hàng chục nguyên tử carbon CH_2 ở phần lõi mạch. Đặc biệt, sự triệt tiêu hoàn toàn tín hiệu trên phổ DEPT-90 chứng minh sự vắng mặt của các carbon bậc ba (CH), qua đó loại trừ triệt để khả năng phân nhánh của mạch carbon.



Hình 3.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất 2

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất 2 trong dung môi CD_3OD

STT	Hợp chất 2 (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD)			
	δ_{C} (ppm)	# δ_{C} (ppm)	δ_{H} (mult., J Hz)	
1	63,1	63,1	3,64 (2H, t)	
2	32,8	32,9	1,57 (8H, m) 1,25 (62H, m)	
3	31,9	31,9		
4 - 32	29,7-29,6	29,7-29,6		
33	29,4	29,4		
34	29,4	29,4		
35	25,7	25,7		
36	22,7	22,7		
37	14,1	14,1		0,88 (3H, t)

δ_{C} của 1-heptatriacontanol (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) [55]

Tổng hợp các dữ liệu hóa lý từ ESI-MS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, kết hợp với so sánh trong tài liệu tham khảo [55] cấu trúc của hợp chất được khẳng định là một alkanol mạch thẳng bão hòa bậc một: $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{35}-\text{CH}_2\text{OH}$ (1-heptatriacontanol).

Về phương diện hóa sinh và dược lý, 1-heptatriacontanol được phân loại vào nhóm ancol béo mạch rất dài (VLCFA). Trong giới thực vật học, các VLCFA thường là sản phẩm của quá trình sinh tổng hợp chuyên hóa lipid thứ cấp, đóng vai trò là thành phần cấu tạo trọng yếu của lớp sáp biểu bì. Chức năng sinh lý của lớp sáp này là tạo màng kỵ nước, ngăn ngừa sự thất thoát nước qua biểu bì và hoạt động như một rào cản vật lý - hóa học bảo vệ mô thực vật trước các stress ngoại cảnh và tác nhân sinh học gây bệnh [56].

Các nghiên cứu hóa dược học đương đại chỉ ra rằng, các chiết xuất thực vật chứa alkanol mạch dài có khả năng can thiệp vào quá trình chuyển hóa lipid nội sinh. Chúng thể hiện tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol lipoprotein tỷ trọng thấp và điều hòa cholesterol huyết thanh, cơ chế này có nhiều nét tương đồng với hệ trị liệu sử dụng policosanol [57]. Hơn thế nữa, 1-heptatriacontanol còn thể hiện hoạt tính sinh học đa giá trị, bao gồm khả năng dọn dẹp gốc tự do phản ánh đặc tính chống oxy hóa *in-vitro*, đồng thời tham gia điều hòa các yếu tố tiền viêm, qua đó mang lại tiềm năng kháng viêm hệ thống [58].

Nhờ cấu trúc có tính ưa lipid (lipophilic) cực cao và độ an toàn sinh học tốt, hợp chất này còn thu hút sự chú ý trong các nghiên cứu về hệ thống dẫn thuốc và dược mỹ phẩm. Nó được ứng dụng nhằm củng cố và phục hồi lớp lipid kép của màng tế bào, hỗ trợ tái tạo hàng rào bảo vệ tự nhiên và tham gia vào quá trình làm lành các tổn thương mô bì [59].

3.1.3. Hợp chất *betulinic acid* (3)

Cấu trúc của hợp chất 3 được xác lập dựa trên việc phân tích hệ thống các đơn vị cấu trúc đặc trưng của một triterpenoid năm vòng. Trên phổ ^{13}C -NMR và DEPT, sự hiện diện của 30 tín hiệu carbon, bao gồm 6 nhóm methyl, 11 nhóm methylen, 6 nhóm methine và 7 carbon bậc bốn, cho phép định hướng đây là một dẫn xuất của khung lupane.

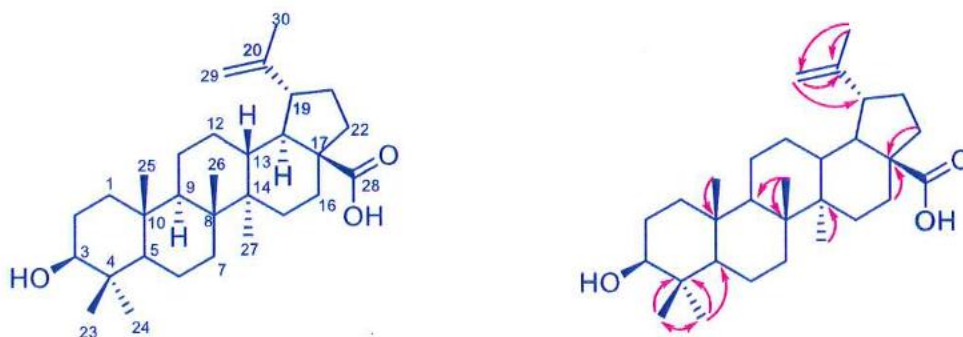
Dấu hiệu nhận biết quan trọng nhất cho khung lupane trong hợp chất 3 chính là sự hiện diện của nhóm isopropenyl tại vị trí C-19. Điều này được minh chứng bởi hệ thống nối đôi ngoài vòng với hai proton olefinic tại δ_{H} 4,74 và 4,61 ppm (H-29) tương ứng với carbon methylen δ_{C} 109,70 ppm, cùng với một nhóm methyl vinylic tại δ_{H} 1,69 ppm (H-30, δ_{C} 19,4 ppm). Tín hiệu carbon bậc bốn ở vùng trường thấp (δ_{C} 150,4 ppm) được gán cho C-20. Tương tác HMBC từ H-30 đến C-19 (δ_{C} 49,3) và C-20 (δ_{C} 150,4) đã khẳng định chắc chắn sự gắn kết của nhóm này vào bộ khung chính.

Sự biến đổi quan trọng so với khung lupeol thông thường nằm ở vị trí C-28. Tín hiệu tại δ_{C} 180,0 ppm thay vì một nhóm methyl trường cao đã khẳng định sự hiện diện của một nhóm carboxyl (-COOH). Vị trí của nhóm acid này

được xác lập tại C-28 nhờ các tương quan HMBC từ proton methine trường thấp tại δ_H 3,00 ppm (H-19) và các proton methylene tại vị trí C-16, C-22 đến carbon carboxyl này. Tín hiệu của C-17 xuất hiện tại δ_C 56,3 ppm là đặc trưng cho carbon bậc bốn mang nhóm thế rút điện tử mạnh.

Về cấu hình lập thể, trung tâm phản ứng tại C-3 được xác định mang nhóm hydroxyl (-OH). Tín hiệu proton oxymethine tại δ_H 3,19 ppm xuất hiện dưới dạng mũi đôi của đôi (dd) với các hằng số ghép $J = 11,4$ Hz (tương tác trực-trực với H-2a) và 4,8 Hz (tương tác trực-xích đạo với H-2e). Giá trị J_{ax-ax} lớn này chỉ ra rằng H-3 nằm ở vị trí trực (α), do đó nhóm 3-OH phải nằm ở vị trí xích đạo (β).

Hệ thống các nhóm methyl còn lại (C-23 đến C-27) cộng hưởng trong vùng δ_H 0,75 - 0,97 ppm dưới dạng các mũi đơn sắc nét, khớp hoàn toàn với cấu trúc của betulinic acid. Như vậy, bằng việc kết hợp các dữ liệu phổ 1D và 2D, và tài liệu tham khảo [60] hợp chất **3** được xác định là 3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid (Betulinic acid).



Hình 3.11. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H \rightarrow C) chính của **3**
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ 1H - và ^{13}C -NMR của **3** và chất tham khảo

STT	DEPT	3 (1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD ₃ OD)		[60]
		δ_C	δ_H (mult., J Hz)	# δ_C
1	CH ₂	38,8	0,91 m; 1,64 m	38,7
2	CH ₂	27,4	1,52 m; 1,61 m	27,4
3	CH	79,0	3,19 (dd, 11,4; 4,8)	79
4	C	38,9	-	38,8
5	CH	55,4	0,66 m	55,3
6	CH ₂	18,3	1,31 m; 1,50 m	18,3

7	CH ₂	34,4	1,35 m; 1,40 m	34,3
8	C	40,7	-	40,7
9	CH	50,6	1,25 m	50,5
10	C	38,4	-	38,4
11	CH ₂	20,9	1,38 m; 1,42 m	20,8
12	CH ₂	25,5	1,65 m	25,5
13	CH	37,2	2,21 m	37,2
14	C	42,5	-	42,4
15	CH ₂	29,7	1,41 m; 1,51 m	29,7
16	CH ₂	30,6	1,39 m; 1,97 m	30,5
17	C	56,3	-	56,3
18	CH	46,9	1,58 m	46,9
19	CH	49,3	3,00 m	49,3
20	C	150, 4	-	150,4
21	CH ₂	32,2	1,32 m; 1,93 m	32,1
22	CH ₂	37,1	1,40 m; 1,91 m	37,0
23	CH ₃	28,0	0,97 s	28,0
24	CH ₃	15,4	0,75 s	15,3
25	CH ₃	16,1	0,82 s	16,1
26	CH ₃	16,0	0,96 s	16,0
27	CH ₃	14,7	0,94 s	14,7
28	COOH	180, 0	-	180,6
29	CH ₂	109, 7	4,74 s; 4,61 s	109,3
30	CH ₃	19,4	1,69 s	19,3

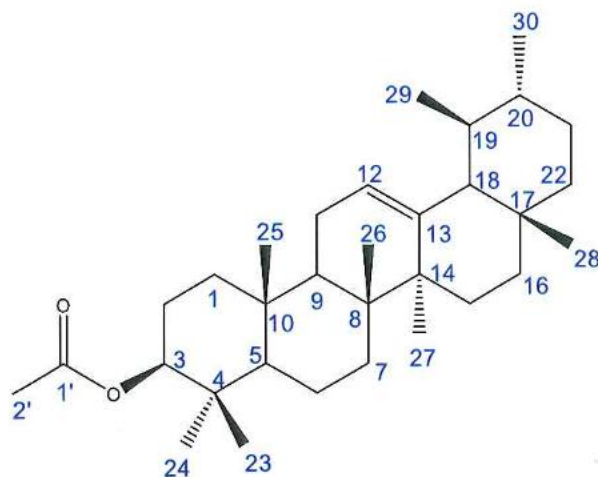
δ_C của *betulinic acid* (1H : 400 MHz, ^{13}C : 105 MHz, CD_3OD) [60]

3.1.4. Hợp chất α -amyrin acetate(4)

Cấu trúc hóa học của 4 được xác định thông qua các dữ liệu phổ như sau:

Đầu tiên, sự xuất hiện các tín hiệu đặc trưng trên cả phổ ^{13}C và 1H -NMR của nhóm chức acetate ($-OCOCH_3$). Cụ thể, trên phổ ^{13}C -NMR ghi nhận tín hiệu carbon carbonyl ($C=O$) xuất hiện tại δ_C 171,0 (C-1') và carbon methyl liên kết trực tiếp với nó tại δ_C 21,4 (C-2'), đồng thời trên phổ 1H -NMR xuất hiện tín hiệu

dưới dạng singlet tích phân 3 proton tại δ_H 2,05 tương ứng với nhóm methyl của acetate. Về vị trí gắn và cấu hình lập thể tại C-3, tín hiệu carbon oxymethine xuất hiện tại δ_C 81,0 (C-3) cùng với proton tương ứng (H-3) bị dịch chuyển đáng kể về phía trường thấp, cộng hưởng tại δ_H 4,51. Sự dịch chuyển này so với giá trị khoảng 3,2 ppm của amyryrin tự do đã khẳng định nhóm acetate gắn vào vị trí C-3 thông qua liên kết ester. Bên cạnh đó, tín hiệu H-3 xuất hiện dưới dạng doublet-doublet với các hằng số ghép $J = 10,0$ và $5,0$ Hz, giá trị hằng số ghép lớn ($J_{ax-ax} = 10,0$ Hz) cho thấy H-3 ở vị trí trục (axial – định hướng α), do đó nhóm acetate phải ở vị trí biên (equatorial – định hướng β). Tiếp theo, hệ thống liên kết đôi (Δ^{12}) được xác định thông qua tín hiệu của hai carbon olefin tại δ_C 124,3 (C-12) và 139,6 (C-13), xác nhận sự tồn tại của một liên kết đôi trong khung triterpene. Trên phổ 1H -NMR, proton olefin H-12 xuất hiện tại δ_H 5,13 dưới dạng triplet với hằng số ghép nhỏ $J = 3,6$ Hz, là đặc điểm điển hình của các triterpenoid có khung ursane hoặc oleanane với liên kết đôi tại vị trí 12(13). Cuối cùng, điểm quan trọng để khẳng định hợp chất **4** có bộ khung là ursane (α -amyryrin) thay vì oleanane (β -amyryrin) nằm ở các nhóm methyl tại vòng E, khi phổ NMR ghi nhận hai nhóm methyl thứ cấp (secondary methyl) xuất hiện dưới dạng doublet tại δ_H 0,80 ($J = 4,0$ Hz, H-29) và 0,92 ($J = 5,5$ Hz, H-30) đã chứng tỏ các nhóm methyl gắn trên hai carbon khác nhau (C-19 và C-20), một đặc trưng duy nhất của khung ursane, hoàn toàn khác biệt với khung oleanane (nơi hai nhóm methyl gắn cùng vào C-20 và thường sẽ cho hai tín hiệu dưới dạng singlet). Từ tất cả các lập luận trên kết hợp với dữ liệu trong tài liệu tham khảo [61], hợp chất **4** được xác định là α -amyryrin acetate.



Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của 4

Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của 4 và chất tham khảo

STT	4 (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3)		[61]
	δ_{C}	δ_{H} (mult, J Hz)	# δ_{C}
1	38,5	1,49 và 1,55 (2H, m)	38,6
2	23,6	1,61 (2H, m)	23,8
3	81,0	4,51 (1H, dd, $J = 10,0, 5,0$ Hz)	81,2
4	37,7	-	37,9
5	55,3	0,81 (1H, m)	55,5
6	18,3	1,51 và 1,34 (2H, m)	18,5
7	32,9	1,33 và 1,60 (2H, m)	33,1
8	40,1	-	40,2
9	47,7	1,54 (1H, m)	47,8
10	36,8	-	37,0
11	23,2	1,89 (2H, m)	23,6
12	124,3	5,13 (1H, t, $J = 3,6$ Hz)	124,5
13	139,6	-	139,8
14	42,1	-	42,4
15	28,1	1,12 và 1,58 (2H, m)	28,3
16	26,6	1,23 và 1,47 (2H, m)	26,8
17	33,8	-	34,0
18	59,1	1,29 (1H, m)	59,3
19	39,7	1,38 (1H, m)	39,8
20	39,6	1,98 (1H, m)	39,8
21	31,3	1,64 và 1,66 (2H, m)	31,5

22	41,6	162 và 1,69 (2H, m)	41,7
23	28,1	0,87 (3H, s)	28,3
24	16,7	0,87 (3H, s)	17,0
25	15,7	0,97 (3H, s)	16,0
26	16,9	1,01 (3H, s)	17,7
27	23,4	1,07 (3H, s)	23,4
28	28,8	0,87 (3H, s)	29,1
29	17,5	0,80 (3H, d, $J = 4,0$ Hz)	17,0
30	21,3	0,92 (3H, d, $J = 5,5$ Hz)	21,6
1'	171,0	-	171,5
2'	21,4	2,05 (3H, s, -OCOCH ₃)	21,5

δ_C của α -amyrin acetate (1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CD_3OD) [61]

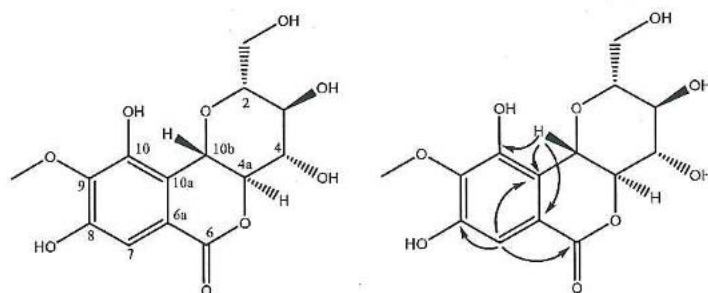
3.1.5. Hợp chất bergenin (5)

Hợp chất 5 thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ khối phun mù điện tử (ESI-MS) của hợp chất 5 hiển thị pic ion giả phân tử tại m/z 328,9 $[M+H]^+$, cho phép xác định khối lượng phân tử là 328 Da, ứng với công thức phân tử $C_{14}H_{16}O_9$.

Phân tích các dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân cho thấy sự hiện diện của một khung isocoumarin liên kết với một đơn vị đường theo kiểu C-glycoside. Cụ thể, phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm carbonyl ester tại δ_C 165,8 (C-6), trong khi phổ 1H -NMR ghi nhận một tín hiệu proton thơm singlet duy nhất tại δ_H 7,10 (H-7), tương ứng với carbon thơm tại δ_C 111,1 (C-7) trên phổ HSQC. Vòng thơm được xác định bị thế ở 5 vị trí với ba carbon gắn oxy tại trường thấp (δ_C 152,3; 149,4; 142,0) và một nhóm methoxy thơm tại δ_H 3,85 (s, 3H), δ_C 60,9. Độ dịch chuyển hóa học của carbon methoxy (khoảng 61 ppm) khẳng định nhóm này bị án ngữ bởi hai nhóm hydroxy kề bên, xác định vị trí tại C-9. Đối với phần đường, tín hiệu carbon anomeric tại δ_C 74,3 (C-10b) khẳng định liên kết C-C trực tiếp với aglycone. Proton anomeric H-10b xuất hiện tại δ_H 4,97 dưới dạng doublet với hằng số ghép cặp lớn ($J = 10,5$ Hz), minh chứng cho tương quan *trans-diaxial* đặc trưng của liên kết β -glucopyranosyl.

Các tương tác xa trên phổ HMBC giữa proton H-7 với carbon C-6, C-8,

C-10a và giữa H-10b với C-6a, C-10, C-10a đã củng cố chặt chẽ khung cấu trúc này. Kết hợp với việc đối chiếu các dữ liệu oximethine và oxymethylene của glucose đã đóng vòng tại C-4a (δ_C 81,4), hợp chất **5** được xác định là bergenin [62].



Hình 3.13. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H \rightarrow C) chính của **5**

Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **5** và chất tham khảo

STT	5 (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CD_3OD)		[62]
	δ_C	δ_H (mult., J Hz)	# δ_C
2	83,1	3,68 (1H, m)	82,1
3	71,9	3,33 (1H, t, $J = 9,0$ Hz)	71,1
4	75,6	3,72 (1H, dd, $J = 9,0, 10,0$ Hz)	74,1
4a	81,42	4,08 (1H, t, $J = 10,0$ Hz)	80,2
6	165,8		163,8
6a	119,4		118,4
7	111,1	7,10 (1H, s)	109,8
8	152,3		151,3
9	142,0		141,0
10	149,4		148,4
10a	117,3		116,3
10b	74,3	4,97 (1H, d, $J = 10,5$)	72,5
11	62,7	3,45 (1H, m) 3,82 (1H, m)	61,5
9-OCH ₃	60,9	3,85 (3H, s)	60,2

δ_C của bergenin (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CD_3OD) [62]

Tóm lại, từ loài Com kìa (*Elatostema tenuicaudatum*), quá trình phân lập và xác định cấu trúc đã thu được 05 hợp chất, bao gồm:

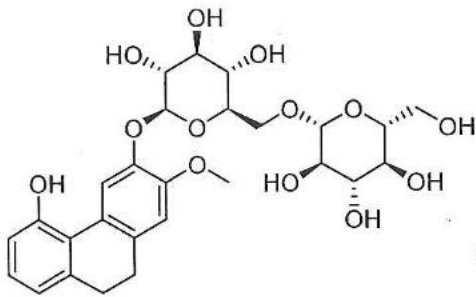
Hợp chất 1 (Hợp chất mới): 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside].

Hợp chất 2: 1-heptatriacontanol.

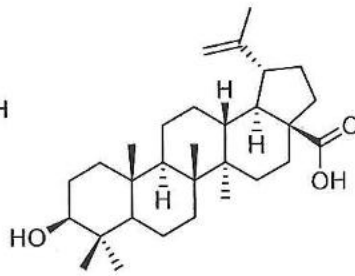
Hợp chất 3: Betulinic acid.

Hợp chất 4: α -amyrin acetate.

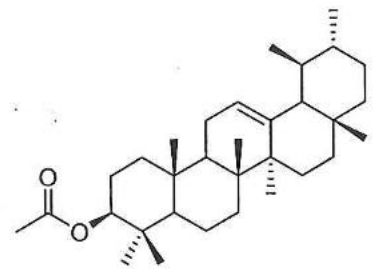
Hợp chất 5: Bergenin.



Hợp chất mới (1)



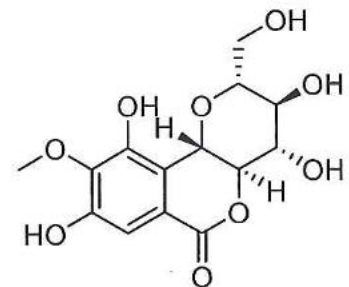
Betulinic acid (3)



α -amyrin acetate (4)



1-heptatriacontanol (2)



Bergenin (5)

Hình 3.14. Các hợp chất phân lập được từ Cơm kìa (*E. tenuicaudatum*)

Việc phân lập và làm sáng tỏ cấu trúc của các hợp chất này không chỉ làm phong phú thêm cơ sở dữ liệu hóa thực vật của loài Cơm kìa mà còn cung cấp tiền đề quan trọng cho các thử nghiệm dược lý tiếp theo. Để đánh giá thực tiễn tiềm năng ứng dụng của chúng, đặc biệt là khả năng kháng u, các thử nghiệm về hoạt tính gây độc tế bào sẽ được trình bày chi tiết tại mục 3.2.

3.2. Về hoạt tính gây độc tế bào

Kết quả thử nghiệm MTT trên 5 dòng tế bào ung thư người (MCF-7, Hep-G2, A549, HeLa, PC-3) đã góp phần làm rõ hơn về đặc tính dược lý đa dạng của các hợp chất phân lập được từ loài *E. tenuicaudatum*. Sự khác biệt về giá trị IC_{50} giữa các mẫu thử không chỉ phản ánh mức độ nhạy cảm của từng dòng tế bào, mà còn minh chứng cho ảnh hưởng của bộ khung cấu trúc hóa học lên hoạt tính sinh học.

Bảng 3.6. Kết quả hoạt tính gây độc tế bào (IC_{50} , μM) của các hợp chất 1-5

Hợp chất / Dòng tế bào	MCF-7	Hep-G2	A549	HeLa	PC-3
1	11,90 \pm 0,82	29,36 \pm 2,02	50,37 \pm 3,21	71,43 \pm 4,08	88,98 \pm 4,71
2	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
3	15,25 \pm 1,20	18,55 \pm 1,59	21,50 \pm 1,80	15,29 \pm 1,31	13,24 \pm 1,12
4	85,23 \pm 4,51	90,12 \pm 5,24	> 100	> 100	75,93 \pm 3,86
5	72,01 \pm 3,52	81,34 \pm 4,26	92,50 \pm 4,88	> 100	65,32 \pm 3,20
Paclitaxel	5,08 \pm 0,15	42,39 \pm 2,44	33,67 \pm 1,69	9,75 \pm 0,22	22,23 \pm 1,52

Trong số các hợp chất được thử nghiệm, hợp chất 1 (một dihydrophenanthrene glycoside mới) thể hiện hoạt lực tốt nhất trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 với IC_{50} đạt 11,90 μM , yếu hơn so với đối chứng dương paclitaxel (5,08 μM). Đáng chú ý, trên dòng tế bào ung thư biểu mô gan Hep-G2, hợp chất 1 ($IC_{50} = 29,36 \mu M$) lại cho thấy khả năng ức chế mạnh hơn so với paclitaxel ($IC_{50} = 42,39 \mu M$). Về mặt cấu trúc, hoạt tính ấn tượng này có thể do bộ khung phenanthrene giàu điện tử. Khung hydrocacbon thơm đa vòng này có cấu trúc phẳng, cho phép phân tử dễ dàng xen kẽ vào các rãnh của chuỗi xoắn kép DNA, từ đó cản trở quá trình sao chép và phiên mã của tế bào khối u [63]. Hơn thế nữa, sự hiện diện của hai gốc đường β -D-glucopyranosyl không chỉ giúp phân tử tăng cường độ hòa tan trong môi trường dịch thể sinh lý mà còn

đóng vai trò như một yếu tố dẫn đường, tương tác với các thụ thể bề mặt màng tế bào, giúp tối ưu hóa sinh khả dụng nội bào [64].

Bên cạnh hợp chất 1, betulinic acid (3) cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào rất mạnh và đồng đều trên cả 5 dòng ung thư (IC_{50} dao động từ 13,24 - 21,50 μM). Sự khác biệt về cơ chế tác dụng được thể hiện rõ qua cấu trúc hóa học: Betulinic acid sở hữu bộ khung triterpene 5 vòng cồng kềnh, có tính ưa lipid (lipophilic) cao, kết hợp với một nhóm carboxyl (-COOH) phân cực ở vị trí C-28. Cấu trúc lưỡng cực này có thể giúp betulinic acid dễ dàng xâm nhập qua lớp màng kép phospholipid của tế bào ung thư. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh nhóm carboxyl tại C-28 và liên kết đôi isopropenyl tại C-20 là hai dược nhóm (pharmacophores) thiết yếu, giúp chất này kích hoạt trực tiếp con đường chết tế bào theo chương trình (apoptosis) thông qua việc làm mất cực tính màng ty thể, đặc biệt hiệu quả trên các dòng tế bào như PC-3 và HeLa [65, 66].

Đối với hợp chất 4 (α -amyrin acetate), kết quả cho thấy hoạt tính ức chế của nó chỉ ở mức yếu (IC_{50} dao động từ 75,93 - 90,12 μM và $>100 \mu M$ trên A549, HeLa). Mặc dù cũng sở hữu khung triterpene 5 vòng (ursane) tương tự như betulinic acid, nhưng α -amyrin acetate lại thiếu vắng nhóm carboxyl (-COOH) phân cực tự do ở C-28, thay vào đó là một nhóm methyl. Hơn nữa, việc nhóm hydroxyl tại C-3 bị acetyl hóa thành dạng este (-OCOCH₃) đã làm giảm thiểu khả năng tạo liên kết hydro với các enzyme hoặc thụ thể mục tiêu. Sự gia tăng tính kỵ nước và thiếu hụt các trung tâm phản ứng phân cực quan trọng khiến α -amyrin acetate khó thể hiện được độc tính chọn lọc trên các mô hình tế bào ung thư [67, 68].

Tương tự, hợp chất 5 (Bergenin), một dẫn xuất isocoumarin C-glycoside, cũng chỉ mang lại hoạt tính gây độc tế bào từ mức trung bình đến yếu (IC_{50} từ 65,32 - 92,50 μM). Cấu trúc của bergenin chứa nhiều nhóm phenolic hydroxyl và một phần đường bám chặt vào khung, khiến phân tử có tính ưa nước (hydrophilic) cao. Mặc dù cấu trúc này được biết đến với khả năng bắt gốc tự do, bảo vệ gan và kháng viêm rất tốt, nhưng chính đặc tính quá phân cực có thể

làm ảnh hưởng đến khả năng khuếch tán thụ động của bergenin qua màng lipid kép kỵ nước của tế bào ung thư để phát huy độc tính trực tiếp [69].

Ngược lại hoàn toàn với sự phức tạp của các khung đa vòng, 1-heptatriacontanol (2) hoàn toàn không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ($IC_{50} > 100 \mu M$). Điều này hoàn toàn phù hợp với lý thuyết SAR. Cấu trúc của hợp chất 2 chỉ là một chuỗi cacbon aliphatic thẳng, bão hòa, hoàn toàn thiếu vắng các hệ thống nối đôi liên hợp, các vòng thơm, hay các nhóm chức có khả năng phản ứng với các đại phân tử sinh học (như protein, enzyme, DNA). Bản chất của 1-heptatriacontanol là một loại sáp bảo vệ biểu bì thực vật, tính trơ về mặt hóa học khiến nó không mang lại độc tính trên mô hình tế bào khối u *in vitro* [70].

Tóm lại, sự đa dạng về thành phần hóa học của *E. tenuicaudatum* đã mang lại một phổ tác dụng sinh học phong phú. Các hợp chất có cấu trúc vòng phức tạp, chứa hệ thống điện tử π và các trung tâm phân cực phù hợp (như phenanthrene glycoside và betulinic acid) đóng vai trò là những tác nhân gây độc tế bào chủ đạo. Ngược lại, các isocoumarin glycoside (bergenin), triterpene dạng este (α -amyrin acetate) và alkanol béo mạch dài tuy có hoạt tính kháng ung thư khiêm tốn, nhưng lại đóng góp vào tác dụng hiệp đồng tổng thể của dược liệu nhờ độ an toàn cao và các khả năng bảo vệ tế bào lành tính khác.

Phát hiện về hợp chất 1 là điểm nhấn quan trọng, mở ra một hướng đi mới trong việc thiết kế và bán tổng hợp các thuốc kháng ung thư nhắm đích từ bộ khung phenanthrene tự nhiên.

Để làm nổi bật ý nghĩa của các kết quả thu được, hợp chất 1 được so sánh với các dữ liệu đã được công bố trên thế giới về chi thực vật *Elatostema* cũng như nhóm hợp chất phenanthrene.

So sánh với các nghiên cứu các loài chi *Elatostema*: Cho đến nay, các nghiên cứu dược lý về chi *Elatostema* chủ yếu dừng lại ở việc đánh giá các dịch chiết thô. Ví dụ, công trình của Reza và cộng sự (2018) trên loài *E. papillosum* hay nghiên cứu mới nhất của Nath và cộng sự (2025) trên loài *E. sessile* tập trung chủ yếu vào khả năng chống oxy hóa, kháng viêm và ức chế cholinesterase

của dịch chiết tổng [11, 26]. Việc nghiên cứu này phân lập thành công một hợp chất tinh khiết (Hợp chất 1) và chứng minh được hoạt tính gây độc tế bào đích danh trên các dòng ung thư người (đặc biệt là MCF-7 với $IC_{50} = 11,90 \mu M$) là một bước tiến đáng kể. Nó chuyển hướng quan tâm từ các tác dụng bảo vệ thông thường sang tiềm năng hóa trị liệu của các loài *Elatostema*.

So sánh với sự phân bố và hoạt tính của khung phenanthrene trong tự nhiên: Trong tự nhiên, các dẫn xuất phenanthrene và dihydrophenanthrene được biết đến nhiều nhất như là các chất đánh dấu hóa phân loại của họ Lan (Orchidaceae), hiếm khi được tìm thấy với hàm lượng cao ở các họ thực vật khác. Các phenanthrene phân lập từ họ Orchidaceae thường thể hiện hoạt tính gây độc tế bào với giá trị IC_{50} dao động trong khoảng từ 10 - 50 μM . Kết quả IC_{50} của hợp chất 1 (11,90 - 29,36 μM trên MCF-7 và Hep-G2) hoàn toàn nằm trong ngưỡng hoạt lực mạnh này [54]. Điều này minh chứng rằng loài *E. tenuicaudatum* ở Việt Nam hoàn toàn có thể trở thành một nguồn nguyên liệu tự nhiên mới, có thể thay thế hoặc bổ sung cho họ Orchidaceae trong việc cung cấp các bộ khung phenanthrene quý hiếm.

Một công trình rất đáng chú ý gần đây của nhóm tác giả Huỳnh và cộng sự (2025) cũng trên chính loài *E. tenuicaudatum* đã báo cáo về hàng loạt các phenanthrene glycoside mới, nhưng hướng tới tác dụng bảo vệ gan và ức chế enzyme DPP-IV (điều trị tiểu đường) [18]. Trong nghiên cứu *in vitro* về kháng ung thư, thông thường việc gắn thêm các gốc đường (glycosyl hóa) sẽ làm tăng tính phân cực, khiến phân tử khó đi qua màng rào cản kỵ nước của tế bào khối u hơn so với dạng aglycone (dạng tự do không chứa đường), dẫn đến suy giảm hoạt tính. Tuy nhiên, sự xuất hiện của cấu trúc β -D-glucopyranosyl trong hợp chất 1 lại không làm mất đi hoạt tính này, mà còn giúp nó vượt trội hơn cả thuốc chuẩn Paclitaxel trên dòng tế bào gan Hep-G2. Điều này gợi ý một giả thuyết sinh học quan trọng: Hợp chất 1 có thể không đi vào tế bào ung thư gan thông qua khuếch tán thụ động, mà được vận chuyển chủ động thông qua các thụ thể nhận diện gốc đường (như thụ thể GLUT) vốn biểu hiện mạnh và bất thường

trên bề mặt các tế bào ung thư gan để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ năng lượng không lồ của khối u.

Những so sánh trên một lần nữa khẳng định, dihydrophenanthrene glycoside (Hợp chất 1) phân lập từ *E. tenuicaudatum* không chỉ là một phát hiện mới về mặt danh pháp hóa học, mà còn sở hữu một cấu hình được lý đặc biệt, kết hợp giữa tính đặc hiệu cấu trúc của khung phenanthrene và cơ chế hấp thu tiềm năng của các gốc đường, xứng đáng được đầu tư nghiên cứu sâu hơn trên các mô hình động vật (*in vivo*).

KẾT LUẬN

Đề tài đã hoàn thành các mục tiêu nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của phần trên mặt đất loài Com kìa (*Elatostema tenuicaudatum*):

1. Về hóa thực vật, nghiên cứu đã phân lập và xác định cấu trúc 05 hợp chất, trong đó ghi nhận 01 hợp chất mới thuộc nhóm dihydrophenanthrene glycoside có tên gọi là 7-methoxy-4-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 6-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (1), cùng 4 hợp chất đã biết gồm 1-heptatriacontanol (2), betulinic acid (3), α -amyrin acetate (4) và bergenin (5).

2. Về đánh giá hoạt tính gây độc trên 05 dòng tế bào ung thư người (MCF-7, Hep-G2, A549, HeLa, PC-3) cho thấy hợp chất 1 và 3 có tiềm năng kháng u tốt. Đặc biệt, hợp chất 1 ức chế mạnh dòng MCF-7 ($IC_{50} = 11,90 \mu M$) và vượt trội hơn paclitaxel trên dòng Hep-G2 ($IC_{50} = 29,36 \mu M$), yếu tố này được quyết định bởi cấu trúc khung phenanthrene phẳng kết hợp với gốc đường glycoside. Betulinic acid (3) cũng thể hiện độc tính tế bào cao và đồng đều trên cả 5 dòng, trong khi các hợp chất 2, 4 và 5 chỉ có hoạt tính yếu hoặc không có tác dụng. Những phát hiện này góp phần khẳng định giá trị của loài Com kìa như một nguồn cung cấp các phân tử tiền phong tiềm năng trong định hướng điều trị ung thư.

KIẾN NGHỊ

Từ kết quả đạt được, nghiên cứu kiến nghị tiếp tục mở rộng phân lập trên các phân đoạn dịch chiết còn lại để tìm kiếm thêm các dẫn xuất dihydrophenanthrene mới, hoàn thiện cơ sở dữ liệu hóa thực vật của loài. Bên cạnh đó, cần triển khai các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế phân tử và thử nghiệm *in vivo* trên mô hình động vật đối với hợp chất 1 và 3 để đánh giá toàn diện độ an toàn sinh học và hiệu quả trị liệu. Cuối cùng, việc khảo sát mở rộng các hoạt tính như kháng viêm, bảo vệ gan và hạ đường huyết sẽ giúp làm sáng tỏ cơ sở khoa học của kinh nghiệm dân gian, từ đó nâng cao giá trị ứng dụng thực tiễn của dược liệu này.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

1. Tran Duc Dai, **Nguyen Thi Hue**, Do Tien Lam. A New Dihydrophenanthrene from *Elatostema tenuicaudatum* with cytotoxic activity against Cancer Cell Lines. *Tropical Journal of Natural Product Research*, **2026**, 10(2), p. 7445. DOI: 10.26538/tjnpr/v10i2.54 (Scopus).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. David, B., J.-L. Wolfender, and D.A. Dias, *The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends*. *Phytochemistry Reviews*, 2015. **14**(2): p. 299-315.
2. Quoc, T.N. and V.T. Hoang, *VNPlant-200—A Public and Large-Scale Integrated Science in Digital Age 2020*, 2020: p. 406.
3. Đâu, V.V., P.T.T. Hiền, and P.T. Hòa, *Chất lượng cuộc sống và một số yếu tố liên quan của người bệnh ung thư phổi tại bệnh viện đa khoa tỉnh Lào Cai năm 2024*. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 2025. **547**(3).
4. Thiện, Đ.Đ., et al., *Các hợp chất thứ cấp từ cây com kìa (*Elatostema tenuicaudatum*)*. *TNU Journal of Science and Technology*, 2026. **231**(06): p. 342-348.
5. Tseng, Y.-H., A.K. Monro, and J.-M. Hu, *Biogeographic patterns and evolutionary history of *Elatostema* (*Urticaceae*)*. *Botanical Studies*, 2025. **66**(1): p. 10.
6. Upadhyay, A.K., R. Gogoi, and P.K. Mitra, *Ethnobotany of the genus *Elatostema* JR Forster & G. Forster*. *Ethnobotany Research and Applications*, 2021. **21**: p. 1-24.
7. Tseng, Y.-H., H.-C. Chien, and G.-X. Zhu, *Comparative plastome analyses and phylogenetic insights of *Elatostema**. *BMC Plant Biology*, 2025. **25**(1): p. 537.
8. Fu, L.-F., et al., *Checklist to the *Elatostema* (*Urticaceae*) of Vietnam including 19 new records, ten new combinations, two new names and four new synonyms*. *PeerJ*, 2019. **7**: p. e6188.
9. Lin, Q., et al., *Miscellaneous taxonomic notes on *Elatostema* (*Urticaceae*) from China and its adjacent area*. *Nordic Journal of Botany*, 2011. **29**(5): p. 590-597.
10. Bon, T.N., et al., *A new recorded species *Begonia wenshanensis* CM Hu ex CY Wu & TC Ku (*Begoniaceae*) for the flora of Vietnam*. *Acta Phytotax. Sin*, 1995. **33**(3): p. 262-263.
11. Nath, A.K., et al., *Evaluation of In vitro and In vivo Pharmacological Activity of *Elatostema sessile* With In silico Approaches*. *Food Science & Nutrition*, 2025. **13**(3): p. e70052.
12. Idami, Z., M.A. Hutasuhut, and I. Ramayati, *Inventarisasi Jenis dan Potensi Tumbuhan Marga *Elatostema*, *Pilea*, dan *Dendrocnide* di Hutan Primer Desa Bukum*. *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 2022. **6**(1): p. 13-18.

13. Hadiah, J. and B.J. Conn, *Usefulness of morphological characters for infrageneric classification of Elatostema (Urticaceae)*. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 2009. **54**(1-2): p. 181-191.
14. Tseng, Y.-H., et al., *Molecular phylogeny and morphology of Elatostema sl (Urticaceae): Implications for inter-and infrageneric classifications*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2019. **132**: p. 251-264.
15. Xin, Z.-B., et al., *An integrative approach to species delimitation sinks three Chinese limestone karst Elatostema (Urticaceae) species*. *PhytoKeys*, 2023. **236**: p. 83.
16. Wu, Z.-Y., et al., *Ancestral state reconstruction reveals rampant homoplasy of diagnostic morphological characters in Urticaceae, conflicting with current classification schemes*. *PloS one*, 2015. **10**(11): p. e0141821.
17. Thien, D.D., et al., *New dihydrophenanthrenes from Elatostema tenuicaudatum*. *Natural Product Research*, 2025. **39**(20): p. 5883-5889.
18. Huynh, Q.-D.T., et al., *Cytotoxicity-guided isolation of elatostemanosides I-VI from Elatostema tenuicaudatum WT Wang and their cytotoxic activities*. *RSC advances*, 2025. **15**(14): p. 10639-10652.
19. Thien, D.D., et al., *A new cyclohexenone and two new phenanthrones from Elatostema tenuicaudatum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2025: p. 1-8.
20. Tran Huynh, Q.-D., et al., *New hydrogenated phenanthrene glycosides from the edible vegetable Elatostema tenuicaudatum WT Wang with DPP-IV inhibitory and hepatoprotective activity*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2025. **73**(2): p. 1273-1292.
21. Miyazawa, M., Y. Utsumi, and J. Kawata, *Aroma-active compounds of Elatostema laetevirens and Elatostema umbellatum var. majus*. *Journal of Oleo Science*, 2009. **58**(4): p. 163-169.
22. Uddin, M.Z., et al., *Chemical profiles and pharmacological properties with in silico studies on elatostema papillosum wedd.* *Molecules*, 2021. **26**(4): p. 809.
23. Uddin, M.Z., et al., *Deciphering the Pharmacological Insights of Fractionated Elatostema Papillosum Wed. and Holigarna Longifolia Roxb. Through In vitro and In vivo Studies*. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2021. **9**(2): p. 189-199.

24. Lin, F., et al., *Variations in chemical constituents and bioactivities of essential oils within *Elatostema stewardii* Merr. revealed by GC-MS-based metabolomics*. Arabian Journal of Chemistry, 2026.
25. Ali Reza, A., et al., *In vitro antioxidant and cholinesterase inhibitory activities of *Elatostema papillosum* leaves and correlation with their phytochemical profiles: a study relevant to the treatment of Alzheimer's disease*. BMC complementary and alternative medicine, 2018. **18**(1): p. 123.
26. Reza, A.A., M.S. Nasrin, and A.K. Alam, *Phytochemicals, antioxidants, and cholinesterase inhibitory profiles of *Elatostema Papillosum* leaves: An alternative approach for management of Alzheimer's Disease*. Journal of Neurology & Neuromedicine, 2018. **3**(5).
27. Charlton, W., *The rotated-lamina syndrome. VIII. Lamina rotation and anisophylly in two species of *Elatostema* (Urticaceae), and early development of seedlings of *E. sessile**. Botany, 2008. **86**(12): p. 1474-1487.
28. Waks, A.G. and E.P. Winer, *Breast cancer treatment: a review*. Jama, 2019. **321**(3): p. 288-300.
29. Blackadar, C.B., *Historical review of the causes of cancer*. World journal of clinical oncology, 2016. **7**(1): p. 54.
30. Rath, O. and F. Kozielski, *Kinesins and cancer*. Nature reviews cancer, 2012. **12**(8): p. 527-539.
31. Perkins, R.B., et al., *Cervical cancer screening: a review*. Jama, 2023. **330**(6): p. 547-558.
32. Matulonis, U.A., et al., *Ovarian cancer*. Nature reviews Disease primers, 2016. **2**(1): p. 1-22.
33. Song, M. and E.L. Giovannucci, *Cancer risk: many factors contribute*. Science, 2015. **347**(6223): p. 728-729.
34. Wadgaonkar, P., *Environmental causes of cancer*, in *Cancer epigenetics and nanomedicine*. 2024, Elsevier. p. 69-92.
35. Løyland, B., et al., *Causes and risk factors of breast cancer, what do we know for sure? An evidence synthesis of systematic reviews and meta-analyses*. Cancers, 2024. **16**(8): p. 1583.
36. Diao, X., et al., *Cancer situation in China: an analysis based on the global epidemiological data released in 2024*. Cancer Communications, 2025. **45**(2): p. 178-197.

37. Martins, L.F.L., et al., *Epidemiological profile of cancer incidence in Brazil and regions: estimates for the 2026-2028 triennium*. Revista Brasileira de Cancerologia, 2026. **72**: p. e-025587.
38. El Ouahdani, K., O. CHAHED, and D. BOUSTA, *Cancer epidemiology: incidence, mortality and survival in Morocco and the world; 2005-2025*. Journal of Biology and Biomedical Research (ISSN: 3009-5522), 2025. **2**(2): p. 207-216.
39. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA: a cancer journal for clinicians, 2024. **74**(3): p. 229-263.
40. Fu, M., et al., *Current and future burden of breast cancer in Asia: A GLOBOCAN data analysis for 2022 and 2050*. The Breast, 2025. **79**: p. 103835.
41. Le, B.H., et al., *Burden and risk factors of cervical cancer in Vietnam from 1990 to 2021 and forecasting to 2050—a systematic analysis from global burden disease*. AJOG Global Reports, 2025. **5**(3): p. 100526.
42. Ha, L., et al., *Proportion and number of cancer cases and deaths attributable to behavioral risk factors in Vietnam*. International Journal of Cancer, 2023. **153**(3): p. 524-538.
43. Hiền, N.T. and N.T.N. Phương, *Mối liên hệ giữa chất lượng cuộc sống với gánh nặng chăm sóc và các yếu tố liên quan của người chăm sóc người bệnh ung thư*. Tạp chí Y học Việt Nam, 2023. **527**(1).
44. Nhung, N.T.H., et al., *Khảo sát gánh nặng chăm sóc của người chăm sóc người bệnh ung thư tại Trung tâm ung bướu-Bệnh viện Đại học Y Hà Nội*. Tạp chí Nghiên cứu Y học, 2024. **183**(10): p. 373-383.
45. Khải, V.P., et al., *Nhu cầu chăm sóc giảm nhẹ của bệnh nhân ung thư đang điều trị nội trú tại bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh*. Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 2024. **27**(4): p. 35-42.
46. Molani Gol, R. and S. Kheirouri, *The effects of quercetin on the apoptosis of human breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231: a systematic review*. Nutrition and cancer, 2022. **74**(2): p. 405-422.
47. Arzumanian, V.A., O.I. Kiseleva, and E.V. Poverennaya, *The curious case of the HepG2 cell line: 40 years of expertise*. International journal of molecular sciences, 2021. **22**(23): p. 13135.
48. Shahzadi, C., et al., *A549 as an In vitro Model to Evaluate the Impact of Microplastics in the Air*. Biology, 2023. **12**(9): p. 1243.

49. Fratoddi, I., et al., *The puzzle of toxicity of gold nanoparticles. The case-study of HeLa cells*. Toxicology Research, 2015. 4(4): p. 796-800.
50. Pisolato, R., et al., *Expression and regulation of the estrogen receptors in PC-3 human prostate cancer cells*. Steroids, 2016. 107: p. 74-86.
51. Weaver, B.A., *How Taxol/paclitaxel kills cancer cells*. Molecular biology of the cell, 2014. 25(18): p. 2677-2681.
52. Verma, V., et al., *Role of vinca alkaloids and their derivatives in cancer therapy*. World Journal of Advanced Research and Reviews, 2022. 16(3): p. 794-800.
53. Singh, N. and P. Agrawal, *A comprehensive review on the pharmacognostic and toxicological profile of Podophyllum peltatum (Bajiaolian)*. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine, 2024. 10: p. 100353.
54. Bisoli, E., et al., *Cytotoxic phenanthrene, dihydrophenanthrene, and dihydrostilbene derivatives and other aromatic compounds from Combretum laxum*. Molecules, 2020. 25(14): p. 3154.
55. Gohar, A.A., *Heptatriacontanol and phenolic compounds from Halochris hispida*. Journal of Biological Sciences, 2001. 1(9): p. 843-845.
56. Poulos, A., *Very long chain fatty acids in higher animals—a review*. Lipids, 1995. 30(1): p. 1-14.
57. Hannuksela, M.L., M.K. Liisanantti, and M.J. Savolainen, *Effect of alcohol on lipids and lipoproteins in relation to atherosclerosis*. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 2002. 39(3): p. 225-283.
58. Tang, Z.S., et al., *Characterization of aroma profile and characteristic aromas during lychee wine fermentation*. Journal of Food Processing and Preservation, 2019. 43(8): p. e14003.
59. Tabboon, P., et al., *Intestinal Permeation Characteristics via Non-Everted Gut Sac of Diterpene Lactones from Pure Andrographolide and Three Different Andrographis Extracts: An Investigation into Liqui-Mass with Different Solvents*. Pharmaceutics, 2026. 18(1): p. 90.
60. Noviany and H. Osman. *Structure elucidation of betulinic acid from Sesbania grandiflora root*. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2021. IOP Publishing.
61. Okoye, N.N., et al., *beta-Amyrin and alpha-amyrin acetate isolated from the stem bark of Alstonia boonei display profound anti-inflammatory activity*. Pharmaceutical biology, 2014. 52(11): p. 1478-1486.

62. Vân, N.T.H., et al., *Một số flavonoid và dẫn xuất bergenin phân lập từ lá cây com ngội đảo Ardisia insularis*. Vietnam Journal of Chemistry, 2015. **53**(3): p. 310-316.
63. Franceschin, M., *Polycyclic aromatic compounds able to induce and stabilize G-quadruplex DNA structures as new telomerase inhibitors: synthesis, physicochemical properties and biochemical studies*. 2005.
64. Wong, A. and I. Toth, *Lipid, sugar and liposaccharide based delivery systems*. Current medicinal chemistry, 2001. **8**(9): p. 1123-1136.
65. Yogeewari, P. and D. Sriram, *Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties*. Current medicinal chemistry, 2005. **12**(6): p. 657-666.
66. Mullauer, F.B., J.H. Kessler, and J.P. Medema, *Betulinic acid, a natural compound with potent anticancer effects*. Anti-cancer drugs, 2010. **21**(3): p. 215-227.
67. Kaushik, R., et al., *Acetylation/esterification of starch*, in *Starch*. 2024, CRC Press. p. 281-313.
68. Bednarczyk-Cwynar, B., et al., *Enhancing the pharmacological properties of triterpenes through acetylation: an anticancer and antioxidant perspective*. Molecules, 2025. **30**(12): p. 2661.
69. Zaman, W. and A. Amin, *Mechanistic Insight into Phenolic Compounds in Mitigating Diabetic Complications Induced by Advanced Glycation End Products*. Current Issues in Molecular Biology, 2025. **47**(10): p. 841.
70. Vallabhajosula, S., *Chemistry: Basic Principles*, in *Molecular Imaging and Targeted Therapy: Radiopharmaceuticals and Clinical Applications*. 2023, Springer. p. 87-116.

opportunities for selective anticancer drug development. These scientific findings validate the traditional applications of the plant in Vietnamese ethnomedicine for digestive support and liver detoxification while revealing novel therapeutic avenues. However, research gaps persist, including the need for *in vitro*, *in vivo* anticancer validation, and investigation of potential synergistic interactions among the complex phytochemical constituents. The combined evidence positions *E. tenuicaudatum* as a promising candidate for development of multifunctional therapeutic agents targeting metabolic disorders, oxidative stress-related conditions, and specific cancer types, warranting continued phytochemical and pharmacological exploration of the plant.^{12,13}

This study presents the isolation and structure elucidation of a novel dihydrophenanthrene compound from *E. tenuicaudatum*, along with *in vitro* evaluation of its cytotoxic activity against human cancer cell lines including breast adenocarcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (Hep-G2), lung adenocarcinoma (A549), cervical cancer (HeLa) and prostate carcinoma (PC-3).

Materials and Methods

Materials

Mass spectrometric data (HR-ESI-MS) were collected on a Sciex X500R QTOF apparatus (Sciex, Massachusetts, USA). All 1D and 2D NMR profiles were generated with a Bruker Avance III HD 600 MHz spectrometer (Bruker, Germany), utilizing TMS as the internal standard. For the separation of compounds, column chromatography was executed over silica gel 60 (40–63 μm , Merck, Darmstadt, Germany), Sephadex LH-20 (25–100 μm , Merck), and octadecyl silica gel (RP-18, 12 nm, YMC, Kyoto, Japan). Fractionation monitoring relied on analytical TLC using pre-coated 0.25 mm plates (silica gel 60 F254 and RP-18 F254S from Merck). Metabolite visualization was performed under dual-wavelength UV light (254/365 nm), supplemented by a vanillin-sulfuric acid staining reagent activated by a 5-minute heating step.

Plant collection and identification

The whole plant of *E. tenuicaudatum* was collected from Quang Binh district, Ha Giang province, Vietnam (22°22'24.4"N 104°44'40.2"E) in December 2024. Taxonomic authentication of the collected material was performed by Dr. Do Huu Thu from the Institute of Ecology and Biological Resources (Vietnam Academy of Science and Technology). Following identification, a reference voucher (accession No. ET08112024HG) was archived at Tan Trao University in Tuyen Quang, Vietnam.

Extraction and isolation

Following pulverization, 2 kg of dried *E. tenuicaudatum* whole plant was macerated at room temperature with 90% ethanol (3 x 5 L). The combined extracts were dried under reduced pressure (52 °C) and the resulting crude extract was dispersed in water. Successive liquid-liquid extractions of the aqueous mixture afforded three distinct sub-extracts: n-hexane (ETH, 28 g), ethyl acetate (ETE, 16 g), and n-butanol (ETB, 32 g).

The ETB (n-butanol) extract was selected for further fractionation based on its promising metabolite profile as indicated by preliminary TLC analysis, showing a higher concentration of polar and glycosylated compounds compared to the other fractions. This extract was chromatographed on a silica gel column and eluted with CH_2Cl_2 -MeOH-H₂O in a stepwise gradient from 10:1:0 to 2:1:0.1 to separate constituents based on increasing polarity. This process yielded seven pooled fractions (ETB1–ETB7), which were monitored by TLC and combined according to their chromatographic similarity. Fraction ETB6 was chromatographed on silica gel column (CH_2Cl_2 -MeOH-H₂O, 7:1:0.1, v/v/v) to give three sub-fraction ETB6.1–ETB6.3. The sub-fraction ETB6.3 was purified on silica gel RP-18 (MeOH-H₂O, 5:2, v/v) and then on Sephadex LH-20 column (MeOH) to give compound 1 (10.5 mg).

Acid hydrolysis of compound 1

Compound 1 (9.0 mg) was subjected to acid hydrolysis by dissolving in 3.0 mL of 1 N HCl in dioxane/H₂O (1:1, v/v) and heating at 80°C for 4 h in a water bath. After neutralization with 5% NaOH solution, the mixture was partitioned between ethyl acetate (EtOAc) and water (H₂O). The aqueous phase was concentrated under reduced pressure and purified via preparative TLC on silica gel 60 F254 plates using (CH_2Cl_2 -MeOH-H₂O, 4:1:0.1, v/v/v) as the mobile phase, yielding D-glucose ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} +48.1^\circ$, c 0.11, H₂O).

Evaluation of cytotoxic activity using the MTT assay

The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, validated by the U.S. NCI, was employed to evaluate the cytotoxic activity of compound 1 against a panel of cancer cell lines (MCF-7, Hep-G2, A549, HeLa, and PC-3). Cells were cultured in DMEM/EMEM/RPMI-1640 with 10% FBS at 37°C/5% CO₂. After seeding in 96-well plates (1.5 x 10⁵ cells/well), samples were tested at concentrations of 100 - 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (extract) or 50 - 1 μM (pure compound) with triplicate wells. Upon completion of the 24-h incubation, cells were treated with 10 μL of MTT dye (5 mg/mL), followed by the addition of 100 μL of DMSO to dissolve the generated formazan crystals. The plates were subsequently read at 540/720 nm on a Tecan Infinite F50 spectrophotometer. Cell inhibition (%) was calculated, with IC₅₀ values determined via TableCurve 2D software for samples showing $\geq 50\%$ inhibition. Paclitaxel at various concentrations (ranging from 50 to 0.05 μM) served as positive controls, demonstrating assay validity with SD <15% between replicates.^{14,15}

Statistical analysis

Each assay was conducted in three independent replicates. The resulting data are presented as the mean \pm standard deviation (SD). To calculate the IC₅₀ values, TableCurve 2D software (Jandel Scientific, CA, USA) was utilized.

Results and Discussion

Compound 1 was isolated as brown crystals. The positive HR-ESI-MS of 1 gave two molecular ion peaks m/z 568.2026 [M+H]⁺ (calcd. for C₂₇H₃₄O₁₃⁺, 567.20722) and 590.1904 [M+Na]⁺ (calcd. for C₂₇H₃₃NaO₁₃⁺, 589.1844), suggesting the molecular formula C₂₇H₃₄O₁₃. The ¹H-NMR spectrum of 1 contained signals of a dihydrophenanthrene derivative, including a 1,2,3-trisubstituted benzene ring at δ_{H} 6.73 (dd, $J = 1.2$ and 7.2 Hz, H-1), 6.99 (t, $J = 7.8$ Hz, H-2) and 6.80 (dd, $J = 1.2$ and 8.4 Hz, H-3); a 1,2,4,5-disubstituted benzene ring at δ_{H} 8.39 (1H, s, H-5) and 6.89 (1H, s, H-8); and four *sp*³ protons at δ_{H} 2.76 (2H, m, H-9) and 2.74 (2H, m, H-10). In addition, the signals of two glucopyranosyl moieties with two anomeric protons at δ_{H} 4.93 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1') and 4.34 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1''); four oxymethylene protons at δ_{H} 4.24 (1H, dd, $J = 2.4$ and 11.4 Hz, H-6'a), 3.86 (1H, m, H-6'b), 3.84 (1H, m, H-6''b), and 3.67 (1H, m, H-6''b), and eight oxymethylene protons at δ_{H} 3.21 (H-2'), 3.23 (H-3'), 3.31 (H-4'), 3.24 (H-5'), 3.57 (H-2''), 3.51 (H-3''), 3.61 (H-4'') and 3.62 (H-5''); and one methoxy group at δ_{H} 3.91 (3H, s, 7-OCH₃) were also observed. The ¹³C-NMR spectrum of 1 exhibited 27 carbon signals comprising 14 carbons of a 9,10-dihydrophenanthrene moiety, one methoxy carbon and twelve carbons of two glucose units. The ¹H- and ¹³C-NMR data assignments were accomplished by HSQC, HMBC, ¹H-¹H COSY, and NOESY experiments.

The presence of the glucose-1 moiety was established through a continuous spin system from H-1' to H-6' observed in the ¹H-¹H COSY spectrum. Its attachment to the aglycone at the C-6 position was unambiguously deduced from an HMBC cross-peak connecting the anomeric proton H-1' (δ_{H} 4.93) with C-6 (δ_{C} 145.6), further corroborated by a spatial NOE interaction between H-1' and H-5 (δ_{H} 8.39). Similarly, COSY correlations from H-1'' to H-6'' verified the terminal glucose-2 moiety. The interglycosidic linkage was confirmed by a crucial HMBC signal from the H-1'' anomeric proton (δ_{H} 4.34) to the oxygenated carbon C-6' (δ_{C} 69.5) of the first sugar unit. The large coupling constant of $J = 7.8$ Hz of the anomeric protons suggested the β -linkage of the two glucopyranosyl moieties. Acid hydrolysis of

compound **1** yielded D-glucose, as confirmed by its positive optical rotation.^{5,16}

The HMBC correlations from the methoxy protons (δ_{H} 3.91) to C-7 (δ_{C} 149.0), from H-8 (δ_{H} 6.89) to C-7 (δ_{C} 149.0) and C-6 (δ_{C} 145.6) as well as the NOE correlation of the methoxy protons (δ_{H} 3.91) and H-8 (δ_{H} 6.89) determined the methoxy group at C-7. In addition, the HMBC spectrum also showed the correlations from H-2 (δ_{H} 6.99) to C-4 (δ_{C} 155.4), C-10a (δ_{C} 140.8); from H-1 (δ_{H} 6.73) to C-4a (δ_{C} 122.3), C-10a (δ_{C} 140.8) indicating hydroxyl group at C-4. Therefore, the structure of compound **1** was determined to be 2-methoxy-5-hydroxy-9,10-dihydrophananthrene 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside].

To validate the novelty of compound **1**, comprehensive exact structure and substructure searches were conducted using the SciFinder-n (Chemical Abstracts Service). This represents a rare example of a diglycosylated dihydrophenanthrene, as these compounds typically occur as aglycones in nature. Dihydrophenanthrenes are known for their diverse bioactivities including cytotoxic, anti-inflammatory, and antioxidant effects, predominantly reported in Orchidaceae, Juncaceae, and related plant families.^{4,5,8} The complete NMR assignments are presented in Table 1 and chemical structures, COSY and key HMBC correlation are presented in Figure 1.

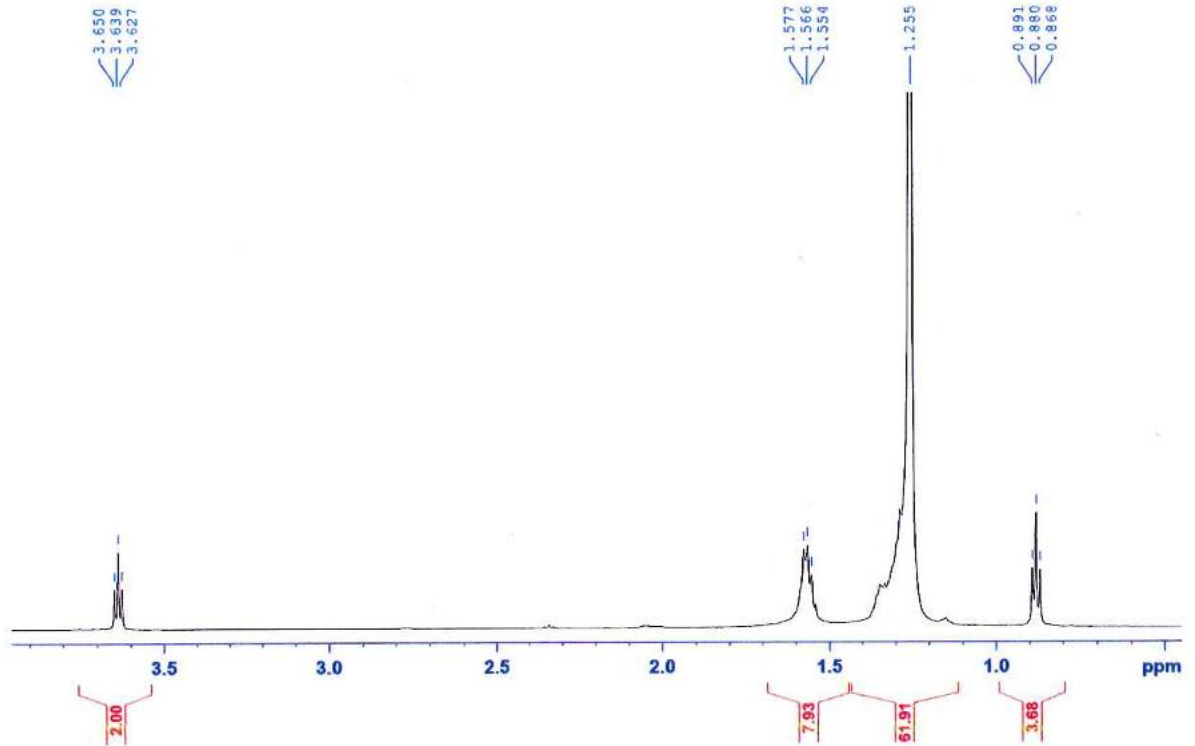
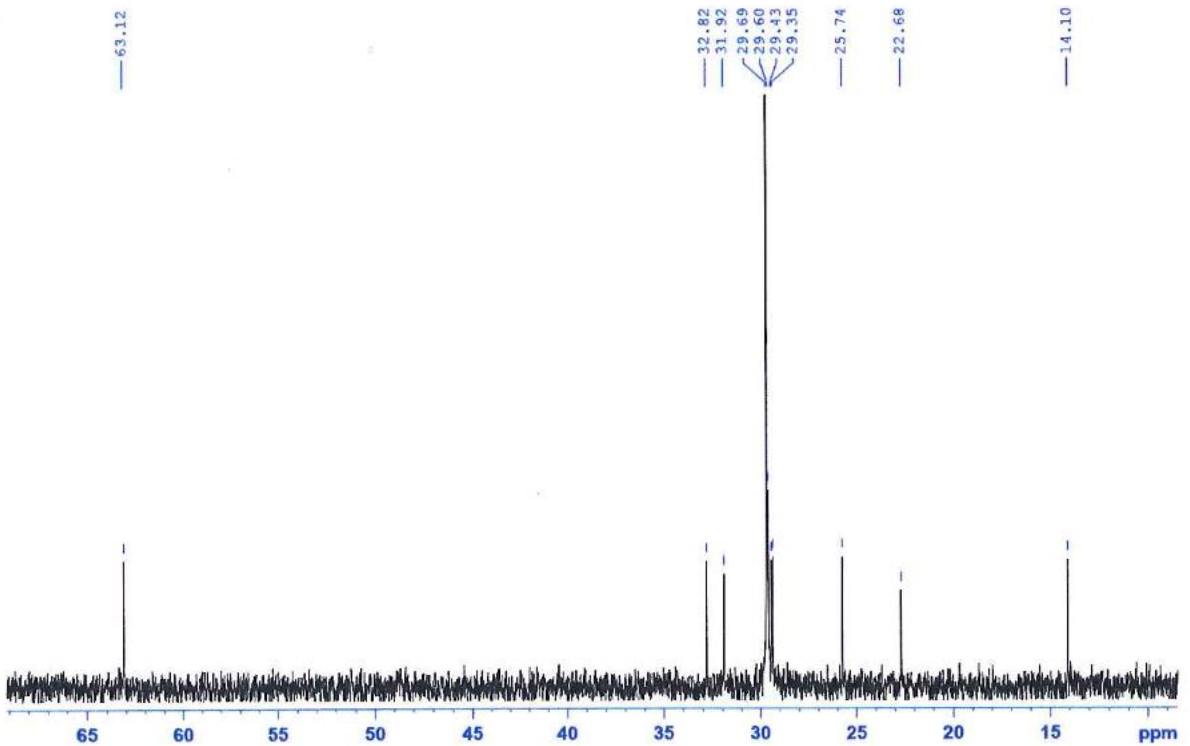
Table 1: The ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopic data for compound **1** in CD₃OD

No.	Compound 1		References. ⁸	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}	# δ_{H} (mult., J Hz)
1	120.5	6.73 (dd, J = 1.2 and 7.2 Hz)	120.1	6.87 (d, J = 7.3 Hz)
2	128.2	6.99 (t, J = 7.8 Hz)	128.0	7.12 (t, J = 7.3 Hz)
3	116.1	6.80 (dd, J = 1.2 and 8.4 Hz)	116.5	7.23 overlap
4	155.4	-	156.4	-
4a	122.3	-	122.8	-
4b	134.7	-	133.9	-
5	118.9	8.39 (1H, s)	119.9	9.29 s
6	145.6	-	146.3	-
7	149.0	-	149.4	-
8	112.8	6.89 (1H, s)	112.9	6.89 s
8a	127.6	-	127.5	-
9	30.4	2.76 (2H, m)	30.2	2.70 m
10	31.4	2.74 (2H, m)	31.4	2.80 m
10a	140.8	-	140.5	-
Gluc-1				
1'	103.3	4.93 (d, J = 7.8 Hz)	104.3	5.70 (d, J = 6.9 Hz)
2'	75.0	3.21 (1H, m)	75.5	4.33 overlap
3'	77.89	3.23 (1H, m)	79.0	4.32 overlap
4'	71.4	3.31 (1H, m)	71.4	4.30 overlap
5'	77.86	3.24 (1H, m)	77.7	4.12 m
6'	69.5	4.24 (1H, dd, J = 2.4 and 11.4 Hz)	67.7	4.55 (brd, J = 11.0 Hz)
		3.86 (1H, m)		4.20 overlap
Gluc-2				
1''	104.6	4.34 (d, J = 7.8 Hz)	102.7	5.43 s
2''	74.8	3.57 (1H, m)	72.5	4.48 overlap
3''	77.76	3.51 (1H, m)	73.0	4.50 overlap
4''	71.1	3.61 (1H, m)	74.6	4.20 overlap
5''	77.1	3.62 (1H, m)	70.0	4.30 overlap
6''	62.5	3.84 (1H, m)	19.0	1.53 (d, J = 6.2 Hz)
		3.67 (1H, m)		
7-OCH ₃	56.8	3.91 (3H, s)	56.5	3.79 s

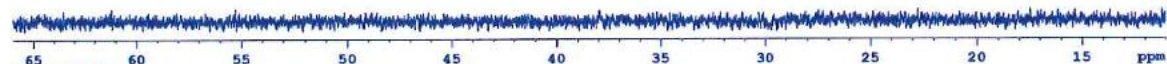
- TH, Hsi HY, Yeh TW, Lee CK. New Hydrogenated Phenanthrene Glycosides from the Edible Vegetable *Elatostema tenuicaudatum* W.T. Wang with DPP-IV Inhibitory and Hepatoprotective Activity. *J Agric Food Chem.* 2025; 73(2):1273-1292.
5. Thien DD, Dai TD, Sa NH, Tam NT. New Dihydrophenanthrenes from *Elatostema tenuicaudatum*. *Nat Prod Res.* 2024; 38(22):4124-4130.
 6. Tseng YH and Hu JM. A New Hybrid from Taiwan, *Elatostema hybrida* (*Urticaceae*), Is the First Confirmed Natural Hybrid for *Urticaceae*. *Phytotaxa.* 2014; 161(1):43-60.
 7. Wei YG, Monro AK, Wang WT. Additions to the Flora of China: Seven New Species of *Elatostema* (*Urticaceae*) from the Karst Landscapes of Guangxi and Yunnan. *Phytotaxa.* 2011; 29(1):1-27.
 8. Huynh QDT, Phan TTT, Liu TW, Duong TLT, Hsu SJ, Kuo CC, Chu MH, Wang YH, Nguyen TV, Shen YA, Fan YJ, Nguyen DK, Vo TH, Lee CK. Cytotoxicity-guided Isolation of Elatostemanosides I-VI from *Elatostema tenuicaudatum* W.T. Wang and Their Cytotoxic Activities. *RSC Adv.* 2025; 15(14):10639-10652.
 9. Fu LF, Monro A, Do TV, Nuraliev MS, Averyanov LV, Wen F, Xin ZB, Maisak TV, Kuznetsov AN, Kuznetsova SP, Nguyen KS, Wei YG. Checklist to the *Elatostema* (*Urticaceae*) of Vietnam Including 19 New Records, Ten New Combinations, Two New Names and Four New Synonyms. *PeerJ.* 2019; 7:e6188.
 10. Uddin MZ, Paul A, Rakib A, Sami SA, Mahmud S, Rana MS, Hossain S, Tareq AM, Dutta M, Emran TB, Simal-Gandara J. Chemical Profiles and Pharmacological Properties with in Silico Studies on *Elatostema papillosum* Wedd. *Molecules.* 2021; 26(4):809.
 11. Reza ASMA, Hossain MS, Akhter S, Rahman MR, Nasrin MS, Uddin MJ, Sadik G, Alam AHMK. In Vitro Antioxidant and Cholinesterase Inhibitory Activities of *Elatostema papillosum* Leaves and Correlation with Their Phytochemical Profiles: A Study Relevant to the Treatment of Alzheimer's Disease. *BMC Complement Altern Med.* 2018; 18:217.
 12. Thien DD, Dai TD, Sa NH, Tam, NT. New dihydrophenanthrenes from *Elatostema tenuicaudatum*. *Nat. Prod. Res.* 2025; 39(20):5883-5889.
 13. Nath AK, Alam SS, Ara J, Chowdhury MM, Nisat UT, Uddin MJ, Chowdhury MT, Khan S, Dutta M. Evaluation of in Vitro and in Vivo Pharmacological Activity of *Elatostema sessile* with in Silico Approaches. *Food Sci Nutr.* 2025; 13(3):e70052.
 14. Constante CK, Rodríguez J, Sonnenholzner S, Dominguez-Borbor C. Adaptation of the methyl thiazole tetrazolium (MTT) reduction assay to measure cell viability in *Vibrio* spp. *Aquaculture.* 2022; 560:738568.
 15. Kumar A, Rai Y, Bhatt AN. Anti-cancer drug-mediated increase in mitochondrial mass limits the application of metabolic viability-based MTT assay in cytotoxicity screening. *Cytotechnology.* 2024; 76(3):301-311.
 16. Chen H, Zhou YZ, Qiao L, Cao JQ, Yao Y, Hua HM, Pei YH. Androstane and Monoterpene Glucoside Sinapoyl Ester from *Cynanchum amplexicaule* Sieb. et Zucc. *Chem Pharm Bull.* 2007; 55(9):1416-1418.

PHỤ LỤC PHỔ

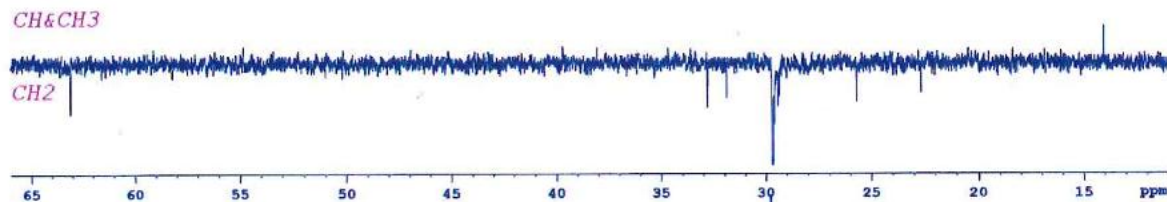
1. Hợp chất 1-heptatriacontanol (2)

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 2Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất 2

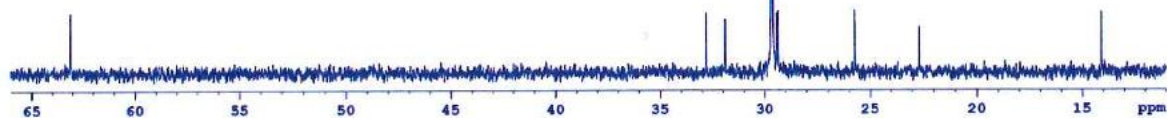
DEPT90



DEPT135

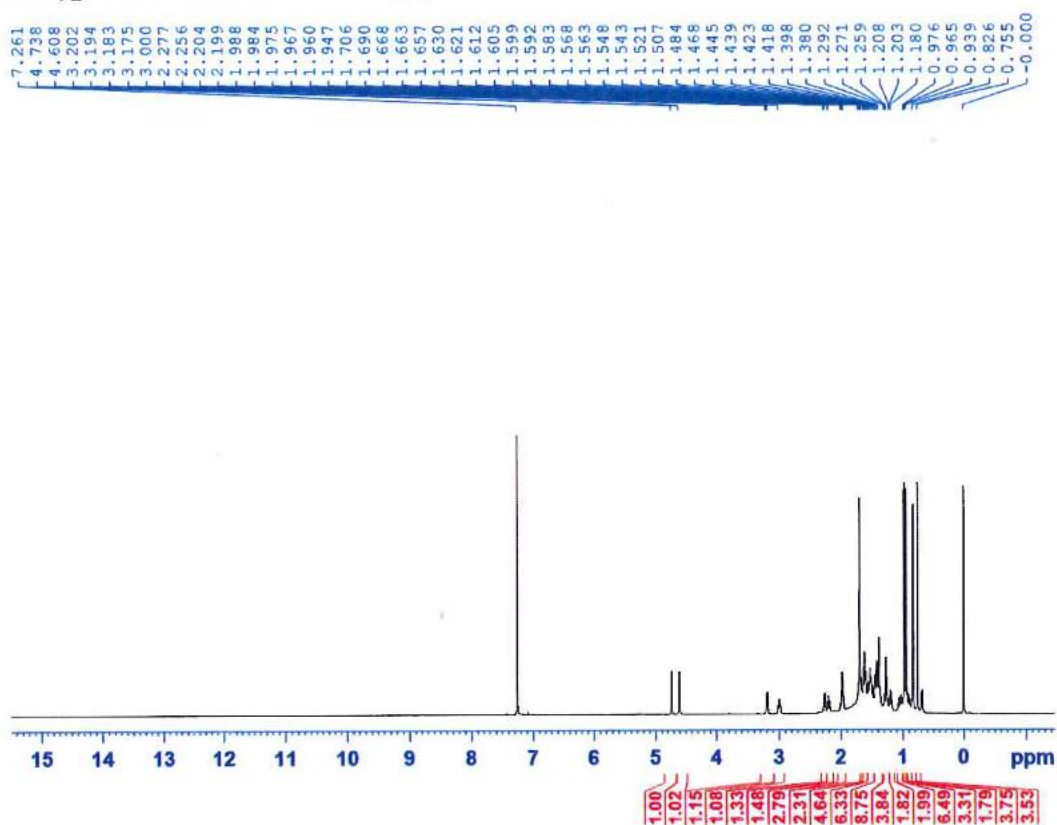
*CH&CH3**CH2*

C13CPD

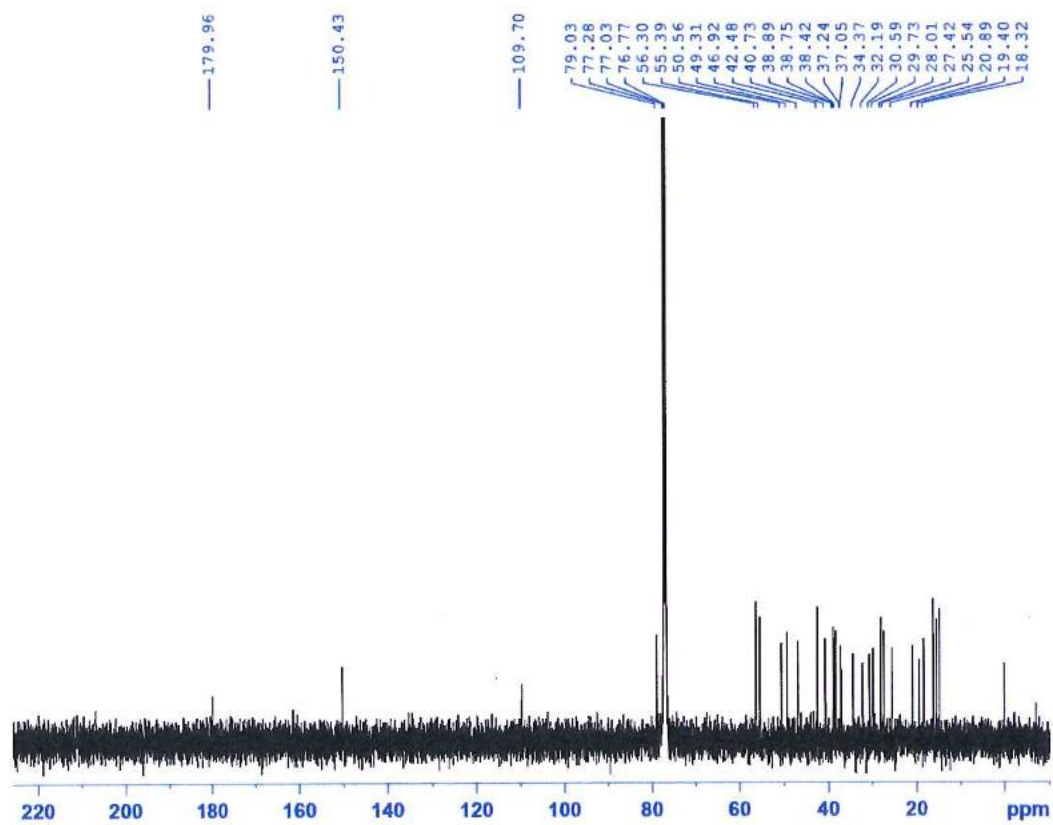


Phổ DEPT của hợp chất 2

2. Hợp chất betulinic acid (3)

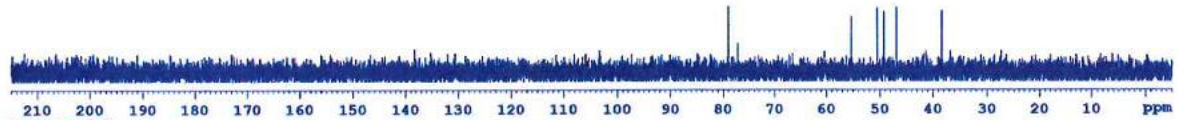


Phổ ^1H -NMR của hợp chất 3



Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 3

DEPT90

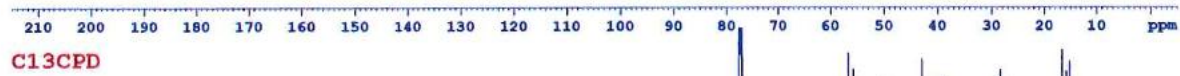


DEPT135

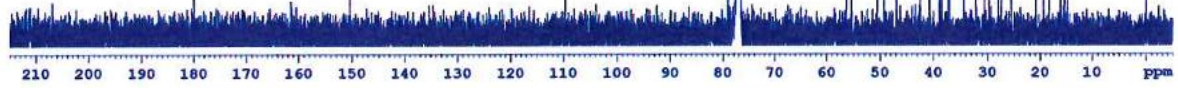


CH&CH3

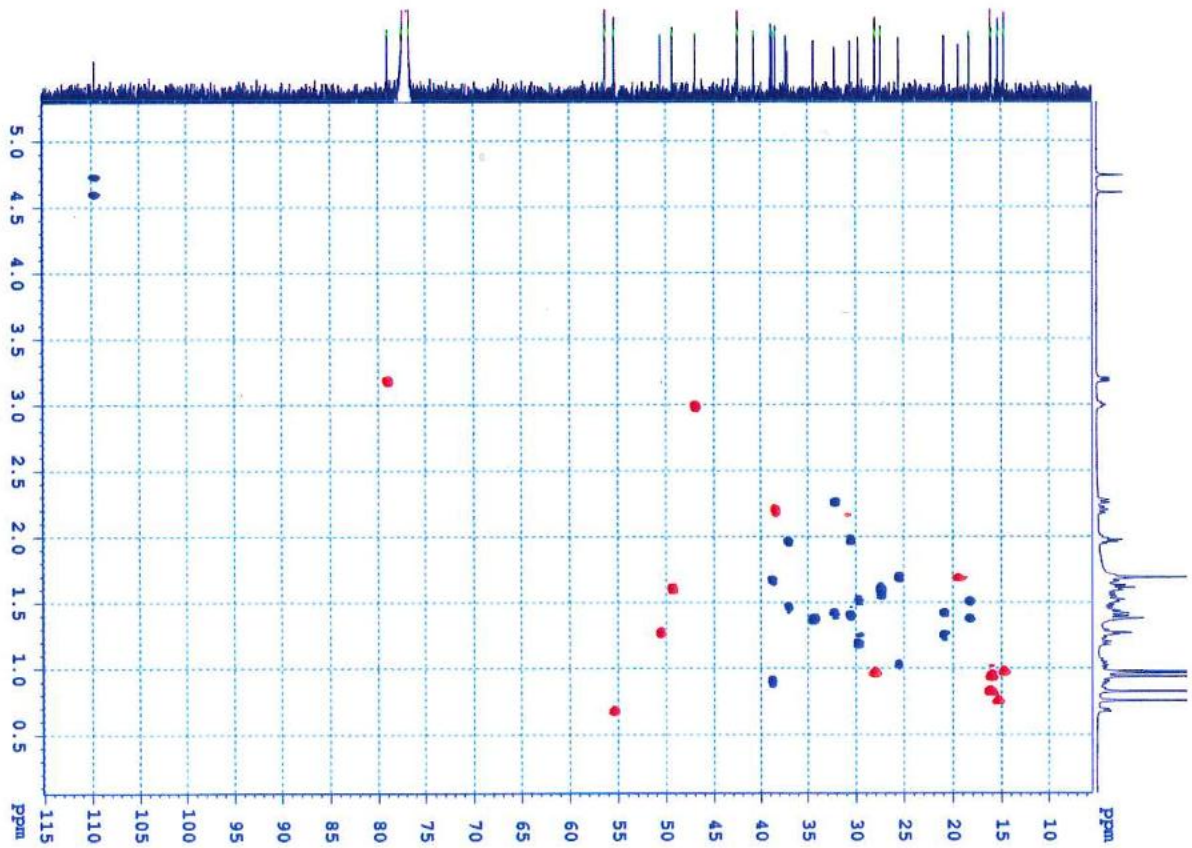
CH2



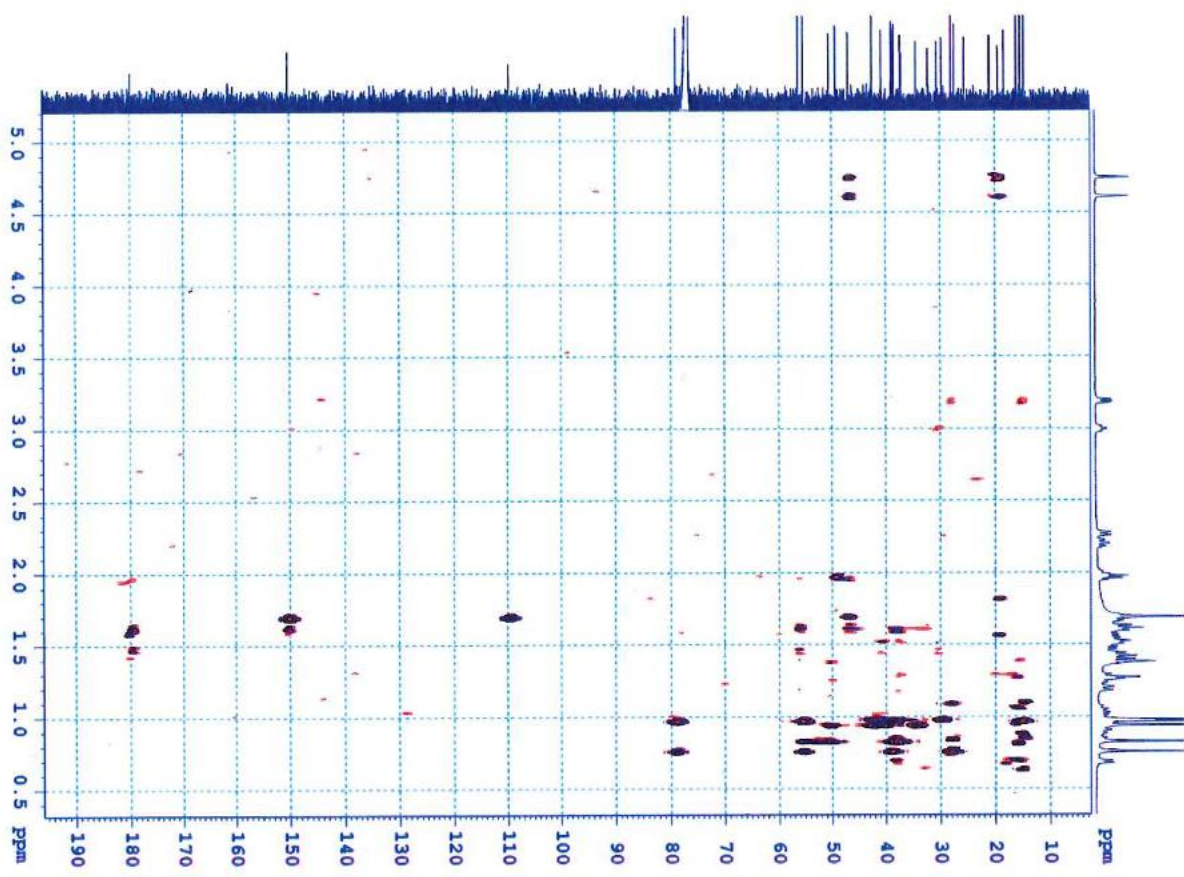
C13CPD



Phổ DEPT của hợp chất 3

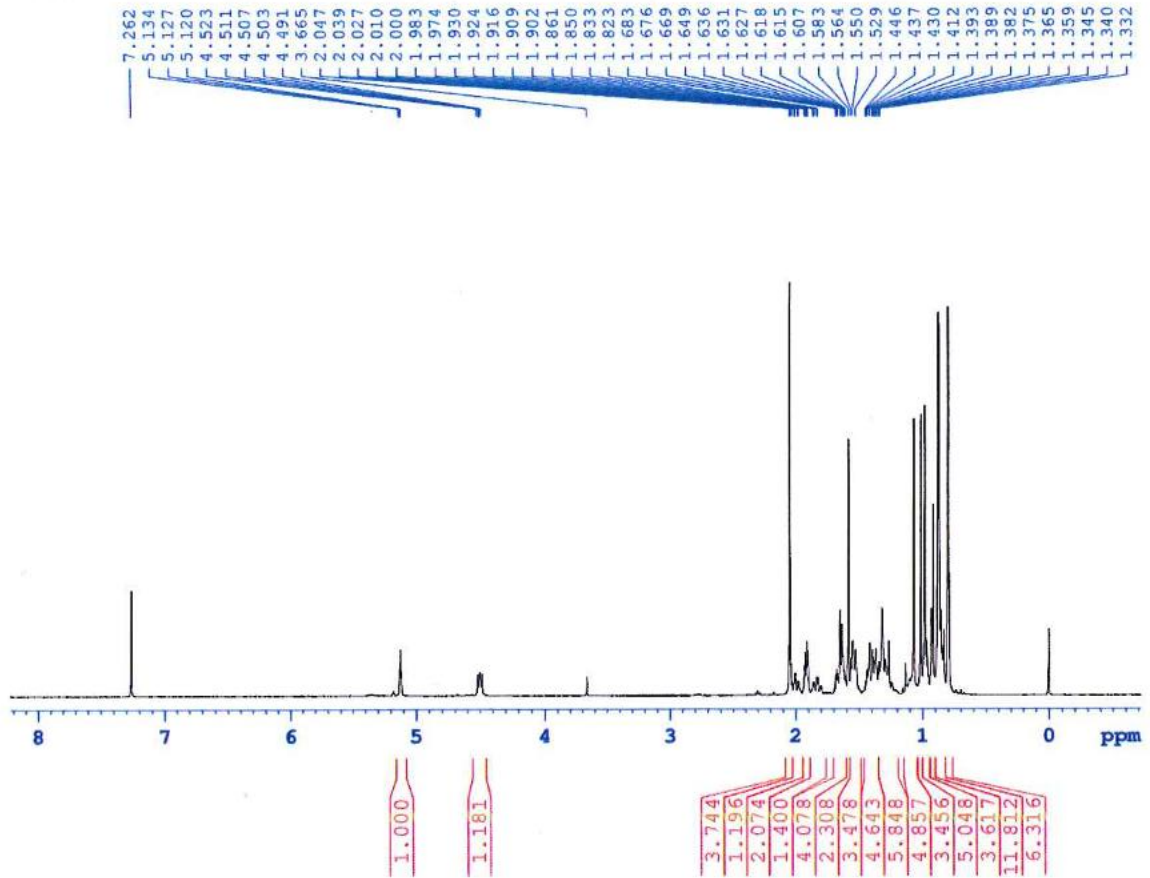


Phổ HSQC của hợp chất 3

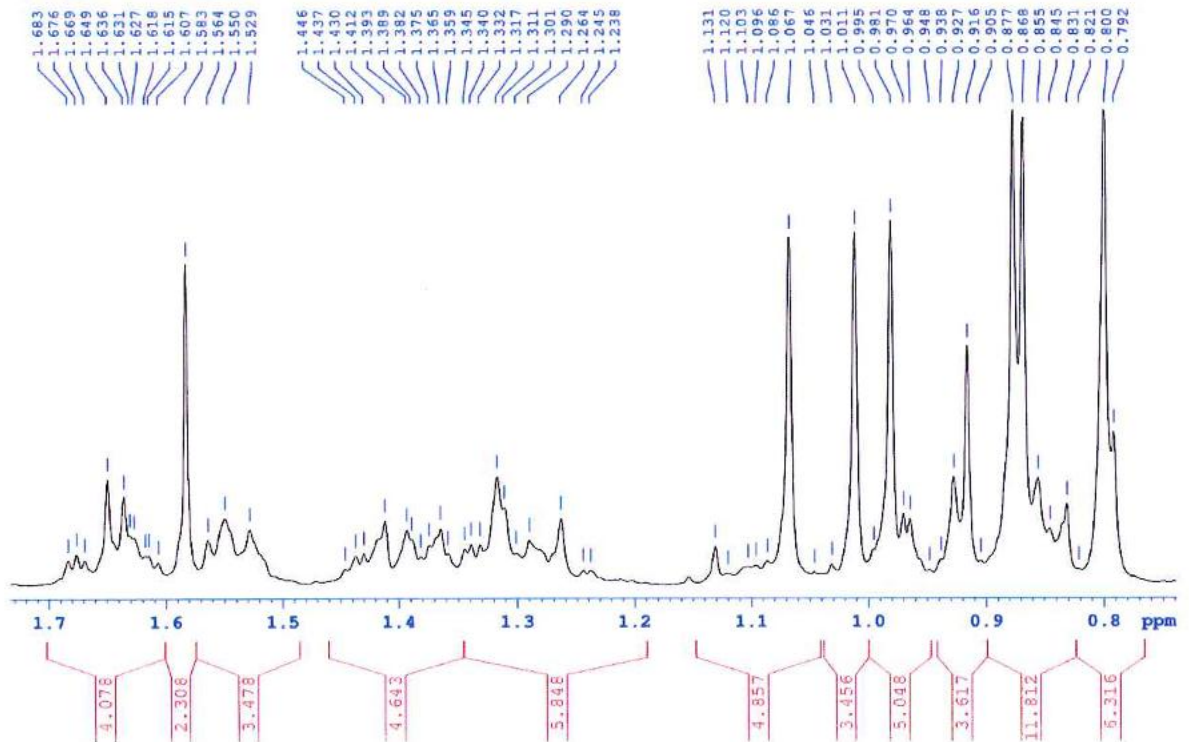


Phổ HMBC của hợp chất 3

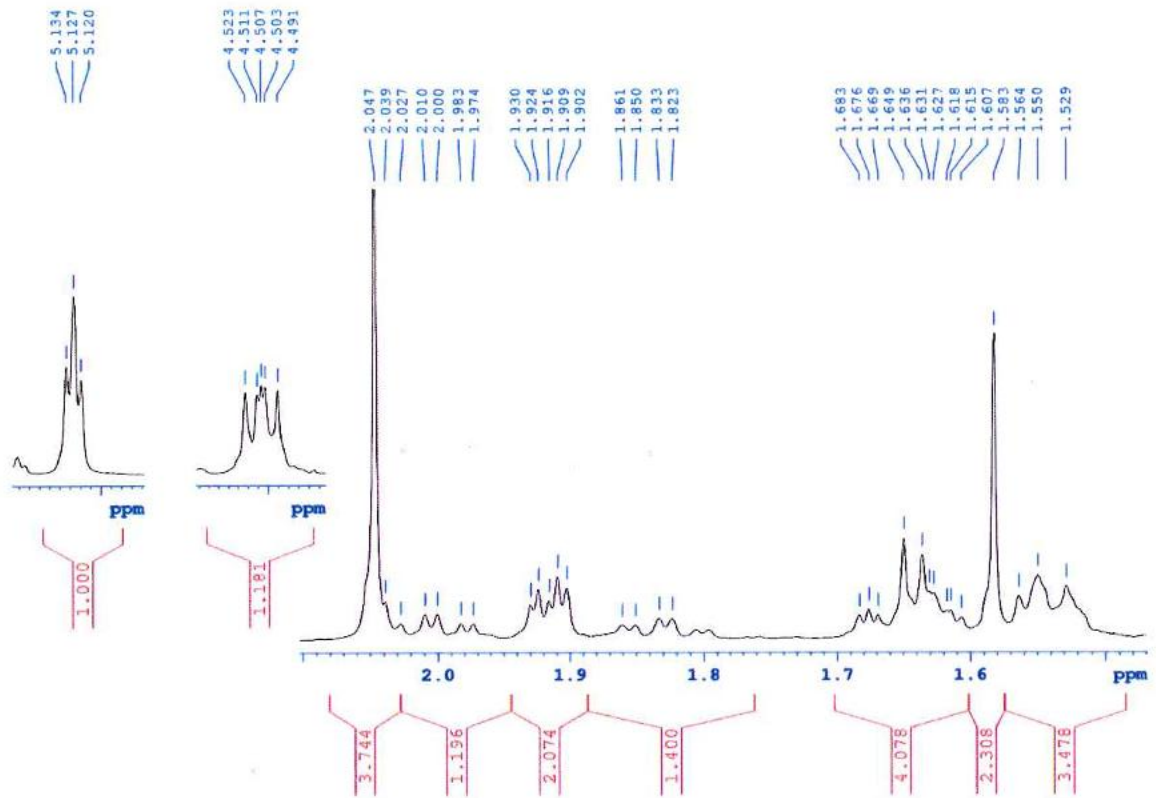
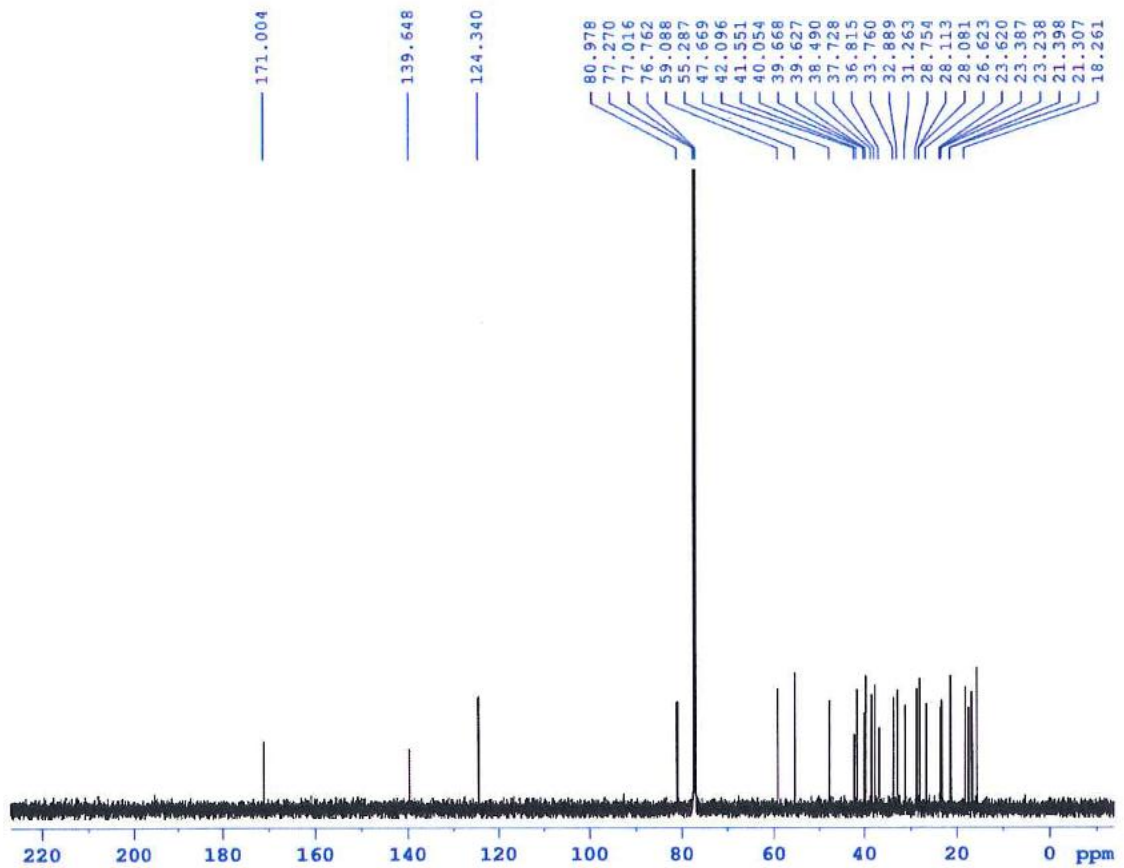
3. Hợp chất α -amyrin acetate(4)

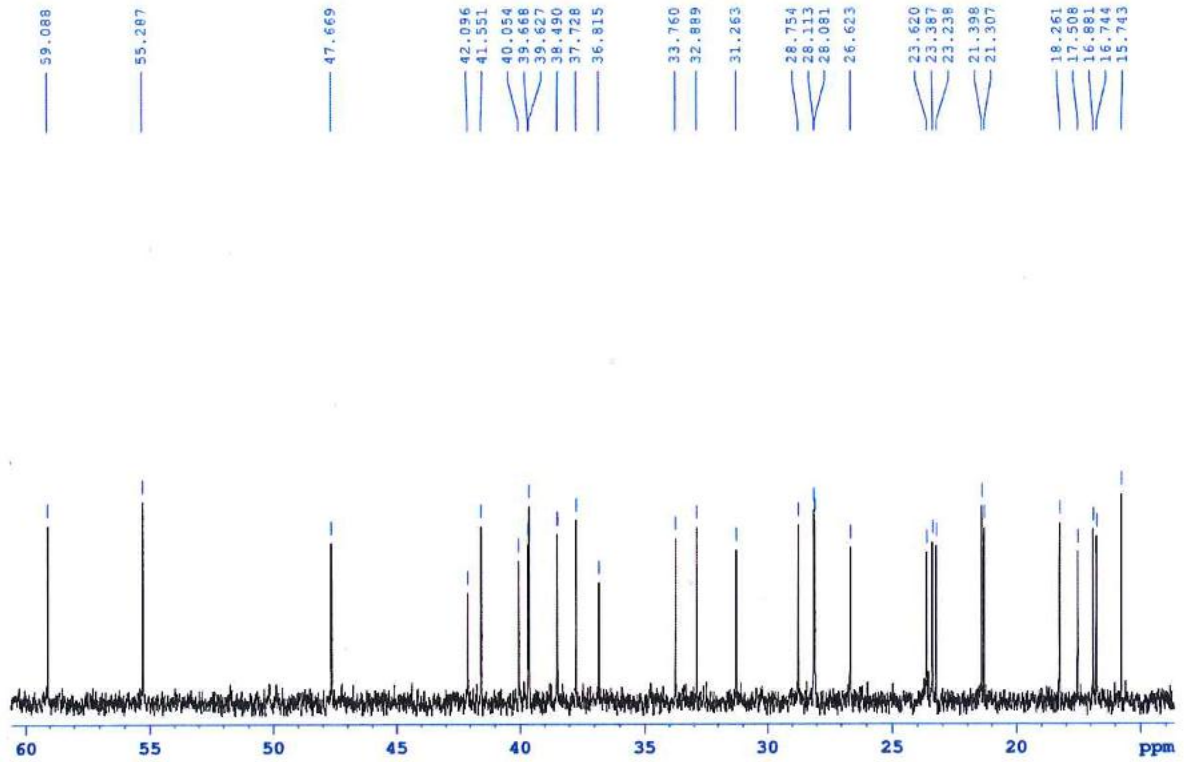


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của 4

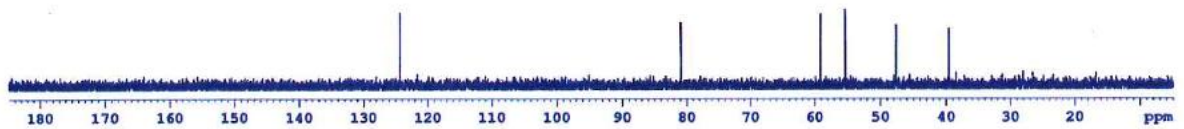


Phổ dẫn $^1\text{H-NMR}$ của 4

Phổ dẫn $^1\text{H-NMR}$ của 4Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của 4

Phổ ^{13}C -NMR dẫn của 4

DEPT90



DEPT135



CH&CH3

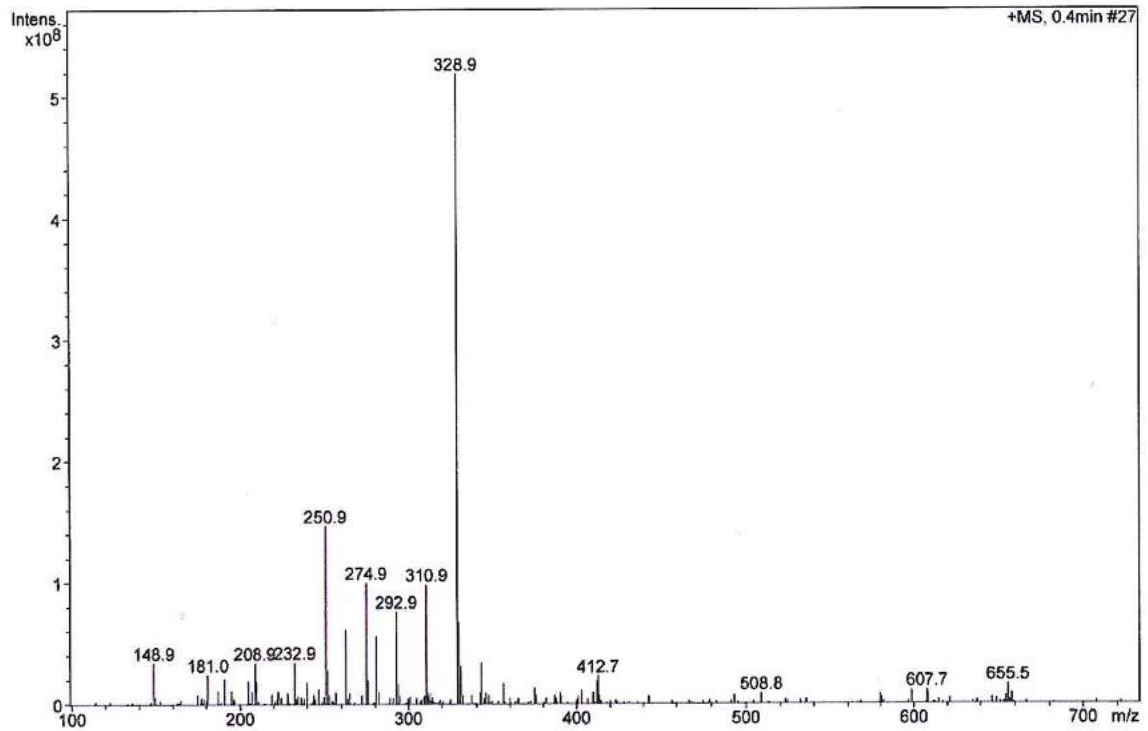
CH2



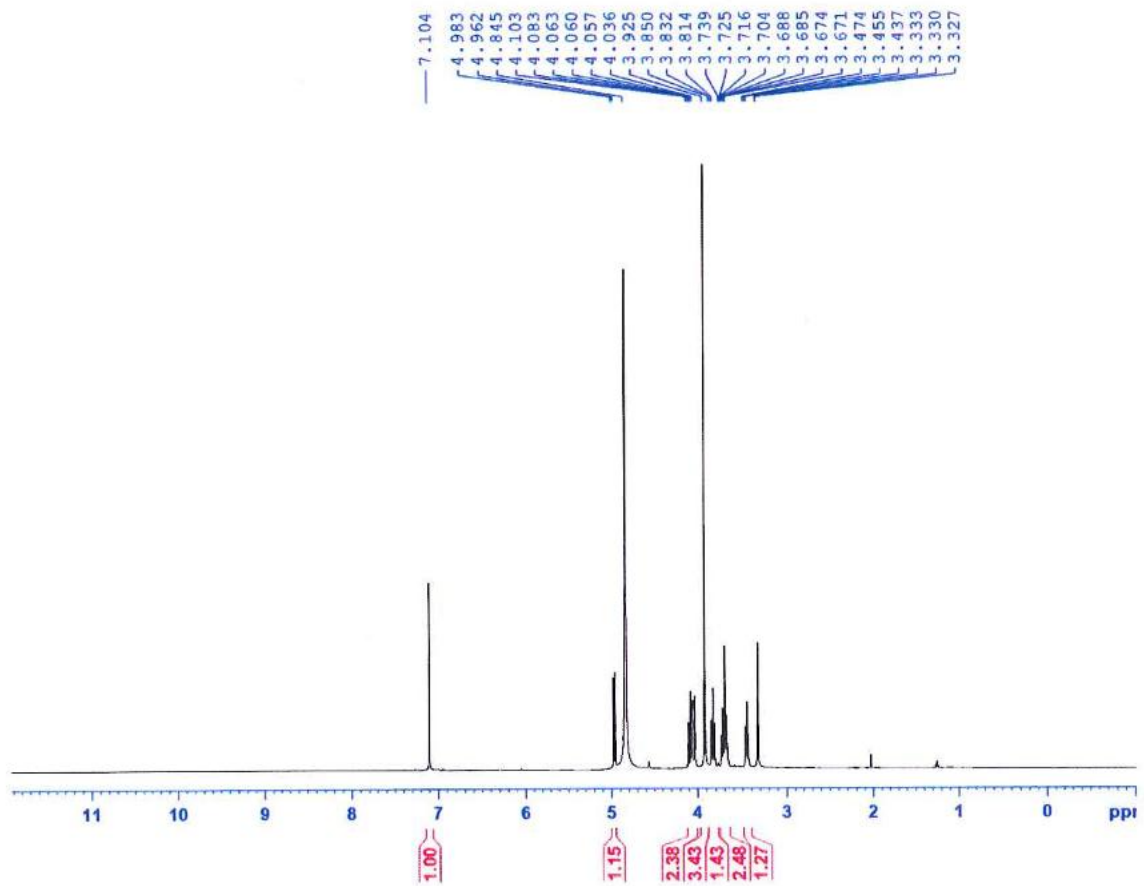
C13CPD

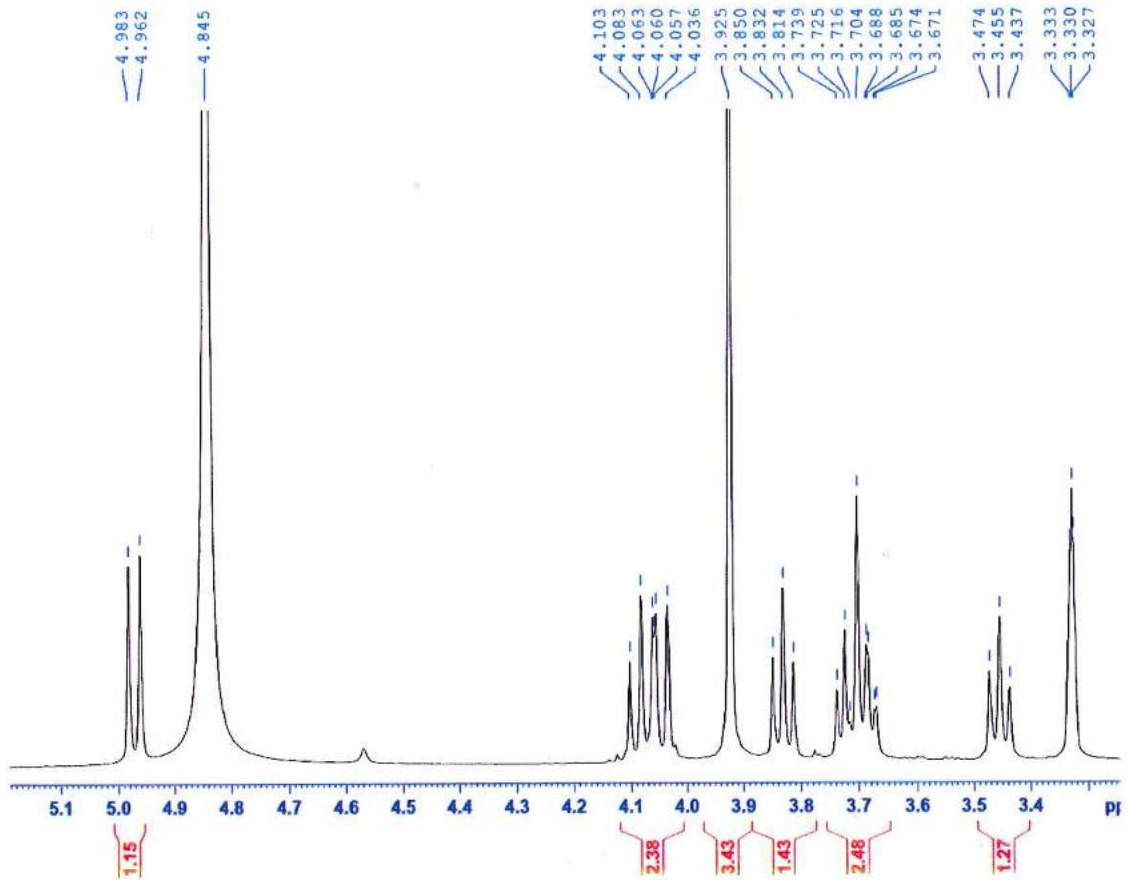
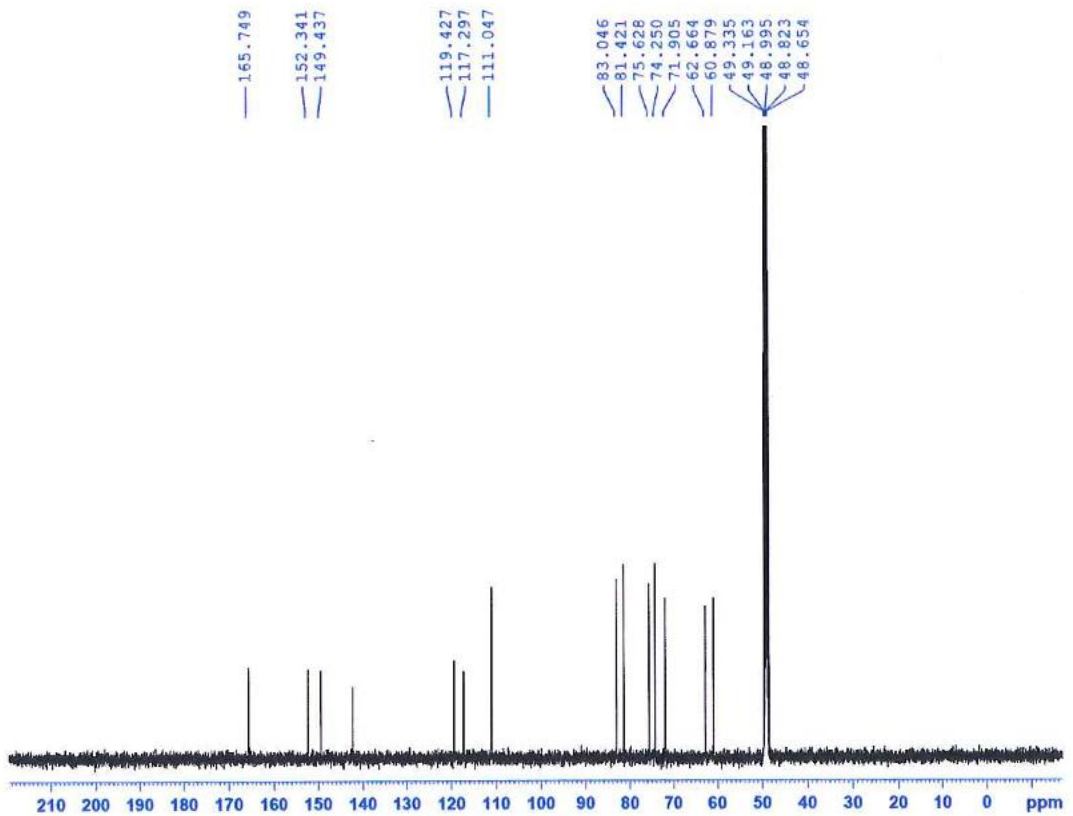
Phổ DEPT của 4

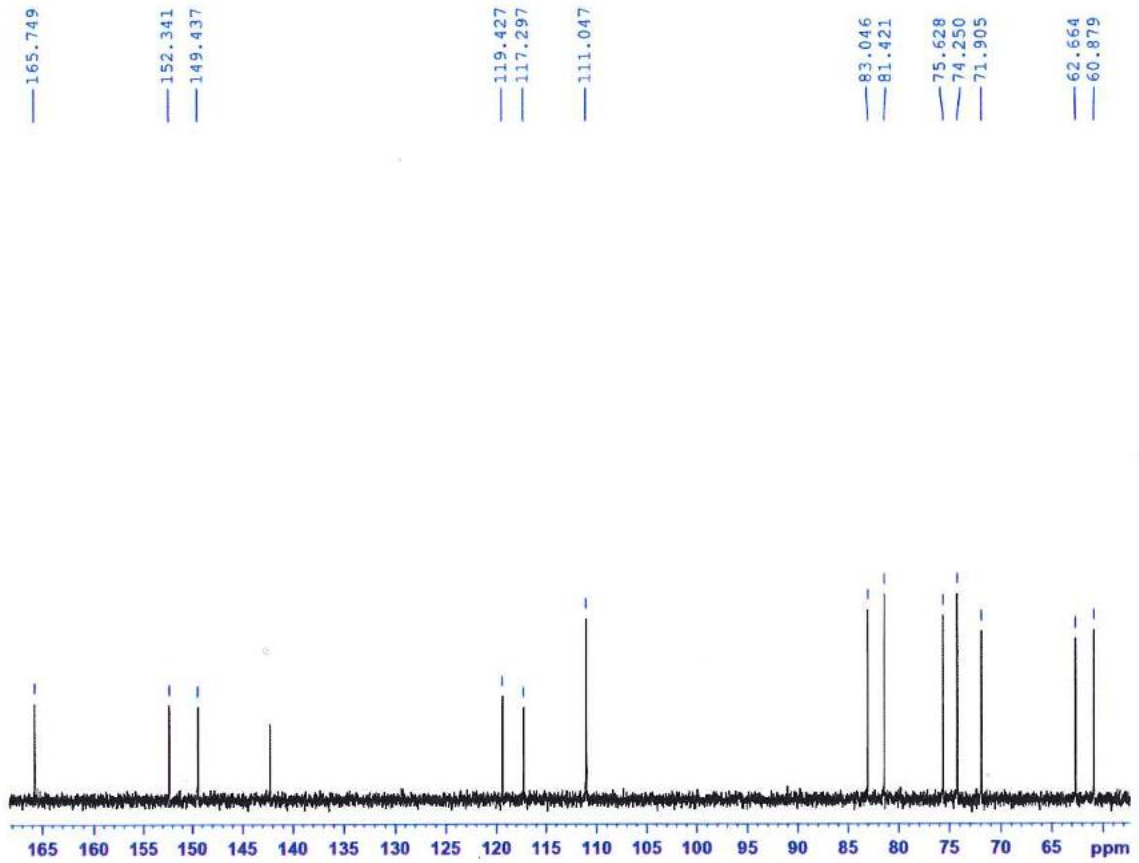
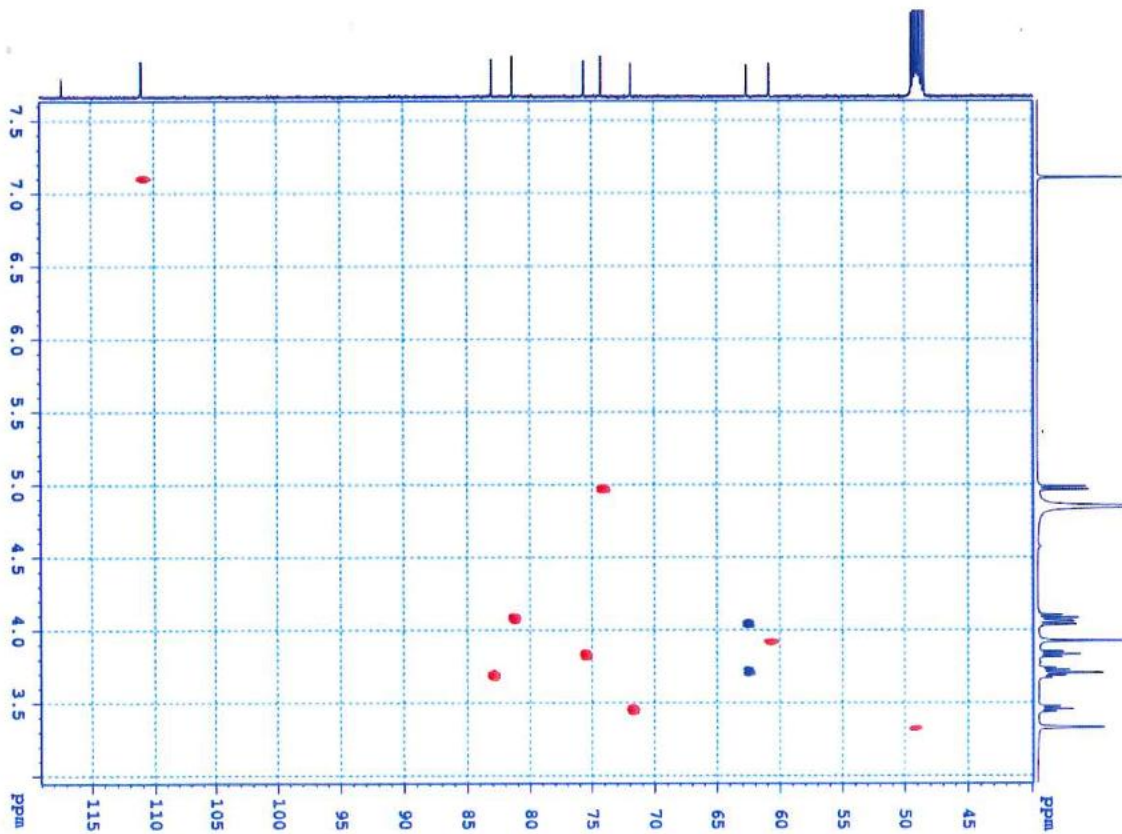
4. Hợp chất bergenin (5)



Phổ ESI-MS của 5

Phổ ¹H-NMR của 5

Phổ ^1H -NMR dẫn của **5**Phổ ^{13}C -NMR của **5**

Phổ ^{13}C -NMR dẫn của 5

Phổ HSQC của 5

A New Dihydrophenanthrene from *Elatostema tenuicaudatum* with cytotoxic activity against Cancer Cell LinesTran Duc Dai¹, Nguyen Thi Hue², Do Tien Lam^{2,3*}¹Faculty of Medicine and Pharmacy, Tan Trao University, Trung Mon 16, Minh Xuan Ward, Tuyen Quang Province, Vietnam²Faculty of Chemistry, Graduate University of Science and Technology, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Hanoi, Vietnam³Institute of Chemistry, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Hanoi, Vietnam

ARTICLE INFO

Article history:

Received 08 July 2025

Revised 16 February 2026

Accepted 18 February 2026

Published online 01 March 2026

ABSTRACT

Plants of the genus *Elatostema* have long been recognized for their diverse secondary metabolites, including phenanthrenes and flavonoids, many of which exhibit notable anticancer properties. Building upon this, the present study aimed to isolate and characterize phytoconstituents from *Elatostema tenuicaudatum* whole plant and determine their cytotoxic activity against cancer cells. The hydro-ethanol extract of *Elatostema tenuicaudatum* whole plant was subjected to successive chromatographic fractionations over silica gel, yielding compound 1. The cytotoxic activity of compound 1 was evaluated against a panel of cancer cell lines (MCF-7, Hep-G2, A549, HeLa, and PC-3) using the MTT assay. Chromatographic separation and purification of hydro-ethanol extract of *Elatostema tenuicaudatum* whole plant led to the isolation of a novel dihydrophenanthrene compound (1), identified as 2-methoxy-5-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranoside. The compound demonstrated substantial anti-proliferative effects across multiple human tumor lines, exhibiting particularly potent effects against MCF-7 breast cancer cells ($IC_{50} = 11.90 \pm 0.82 \mu M$), followed by HepG2 ($IC_{50} = 29.36 \pm 2.02 \mu M$), A549 ($IC_{50} = 50.37 \pm 3.21 \mu M$), HeLa ($IC_{50} = 71.43 \pm 4.08 \mu M$), and PC-3 cell lines ($IC_{50} = 88.98 \pm 4.71 \mu M$). These results not only expand the chemical database of *Elatostema* species but also identify a promising lead compound for further investigation in plant-derived anticancer drug development.

Keywords: *Elatostema tenuicaudatum*, Dihydrophenanthrene, Cytotoxic activity, Human cancer cell lines.

Copyright: © 2026 Dai *et al.* This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Introduction

The genus *Elatostema* comprises over 600 species widely distributed across tropical and subtropical regions of Asia, Australasia, and Africa.¹⁻³ Recent studies have reclassified *Elatostema* into three morphologically and genetically distinct genera: *Procris*, *Elatostematoides*, and *Elatostema*.^{2,3} In Vietnam, the genus *Elatostema* includes 77 species and subspecies (23 of which were formerly classified under *Pellionia*), with 14 endemic taxa.³⁻⁵ Among these, *E. tenuicaudatum* is a small shrub, 20 - 100 cm tall, typically found in evergreen broad-leaved forests, damp areas along streams, and valleys at elevations of 300 - 2,200 m.^{3,4} Southeast Asia, particularly limestone karst regions, exhibits the highest species diversity.^{2,3} Recent phytochemical investigations of *E. tenuicaudatum* have revealed a remarkable diversity of bioactive compounds, particularly specialized dihydrophenanthrenes that underscore its pharmacological potential.

*Corresponding author. E mail: dotienlam198@gmail.com
Tel: +84989856515

Citation: Dai TD, Hue NT, Lam DT. A New Dihydrophenanthrene from *Elatostema tenuicaudatum* with cytotoxic activity against Cancer Cell Lines. Trop J Nat Prod Res. 2026; 10(2): 7445 - 7449 <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v10i2.54>

Official Journal of Natural Product Research Group, Faculty of Pharmacy, University of Benin, Benin City, Nigeria

The species has yielded three novel 9,10-dihydrophenanthrenes initially identified from Vietnamese specimens, followed by the isolation of fifteen previously uncharacterized hydrogenated phenanthrene glycosides through advanced molecular networking approaches.^{4,6} These include eight hexahydrophenanthrenone glycosides, four tetrahydrophenanthrenone glycosides, one dihydrophenanthrenol glycoside, and two dimeric phenanthrenes, along with two known dihydrophenanthrene glycosides. The structural complexity of these compounds is enhanced by β -linked glucopyranosyl moieties, which significantly improve their solubility and bioavailability profiles.^{5,7,8} Preliminary analyses also indicate the presence of flavonoids and phenolic acids, though these secondary metabolites require further structural elucidation.

The biological activities of *E. tenuicaudatum* extracts and purified compounds demonstrate compelling therapeutic potential across multiple pharmacological domains. In cancer research, crude extracts exhibit dose-dependent cytotoxicity against HepG2 liver cancer cells ($IC_{50} = 12-45 \mu g/mL$) through mechanisms involving ROS generation and mitochondrial pathway activation, while showing selective antiproliferative effects against HCC1806 breast cancer cells with minimal toxicity to normal mammary epithelial cells.^{4,5,8} Hepatoprotective capabilities are evidenced by significant reductions in ALT/AST levels in CCl₄-induced liver injury models, comparable to the reference compound silymarin. Antidiabetic properties have been demonstrated through potent α -glucosidase inhibition ($IC_{50} = 28 \mu g/mL$) and PPAR- γ activation, suggesting dual mechanisms of action for glucose management. The antioxidant capacity, quantified via DPPH ($EC_{50} = 15-30 \mu g/mL$) and FRAP assays, correlates with observed phenolic glycoside content and provides a scientific basis for its traditional use in detoxification.⁹⁻¹¹ Structure-activity relationship studies reveal critical pharmacophores. The discovery of unique dimeric phenanthrenes presents new

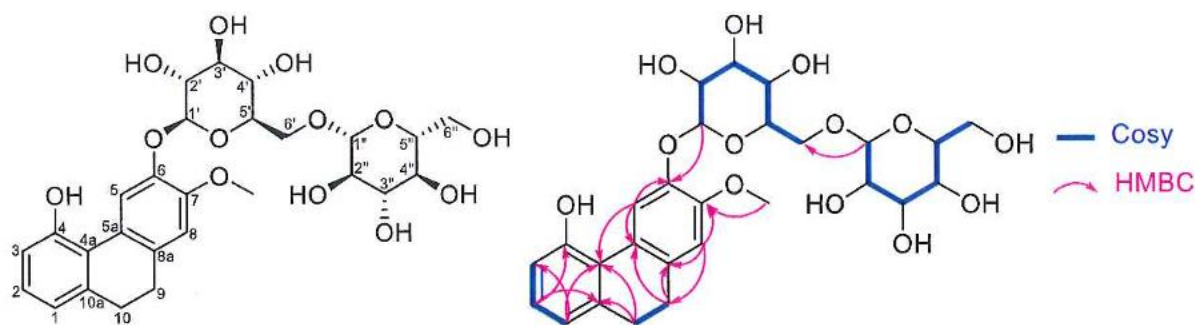


Figure 1: The chemical structure, COSY and key HMBC correlation of compound 1

The cytotoxic effects of compound 1 on a panel of human cancer cell lines including HepG2, MCF-7, A549, PC-3, and HeLa are presented in Figure 2. The results indicated that compound 1 exhibited its most potent activity against MCF-7 breast cancer cells, with an IC_{50} value of $11.90 \pm 0.82 \mu\text{M}$. Cytotoxicity decreased in the following order: HepG2 ($29.36 \pm 2.02 \mu\text{M}$), A549 ($50.37 \pm 3.21 \mu\text{M}$), HeLa ($71.43 \pm 4.08 \mu\text{M}$), and PC-3 ($88.98 \pm 4.71 \mu\text{M}$). For comparison, the positive control paclitaxel showed IC_{50} values of $5.08 \pm 0.15 \mu\text{M}$ (MCF-7), $42.39 \pm 2.44 \mu\text{M}$ (HepG2), $33.67 \pm 1.69 \mu\text{M}$ (A549), $9.75 \pm 0.22 \mu\text{M}$ (HeLa), and $22.23 \pm 1.52 \mu\text{M}$ (PC-3). Notably, the activity of compound 1 against MCF-7 cells was comparable in potency to paclitaxel, while it

demonstrated superior activity against HepG2 cells. This distinct cytotoxicity profile suggests that compound 1 may act through a mechanism different from that of paclitaxel, highlighting its potential as a selective anticancer lead compound for further development. Among structurally similar compounds from *Elatostema* species, compound 1 showed superior activity. It was 2.7 times more potent against MCF-7 cells and 2.2 times more active against HepG2 cells than another dihydrophenanthrene glycoside from the same plant.⁶ Compared to flavonoid derivatives, it demonstrated 4 times more greater cytotoxic activity emphasizing the pharmacological advantage of its phenanthrene glycoside structure.^{5,6}

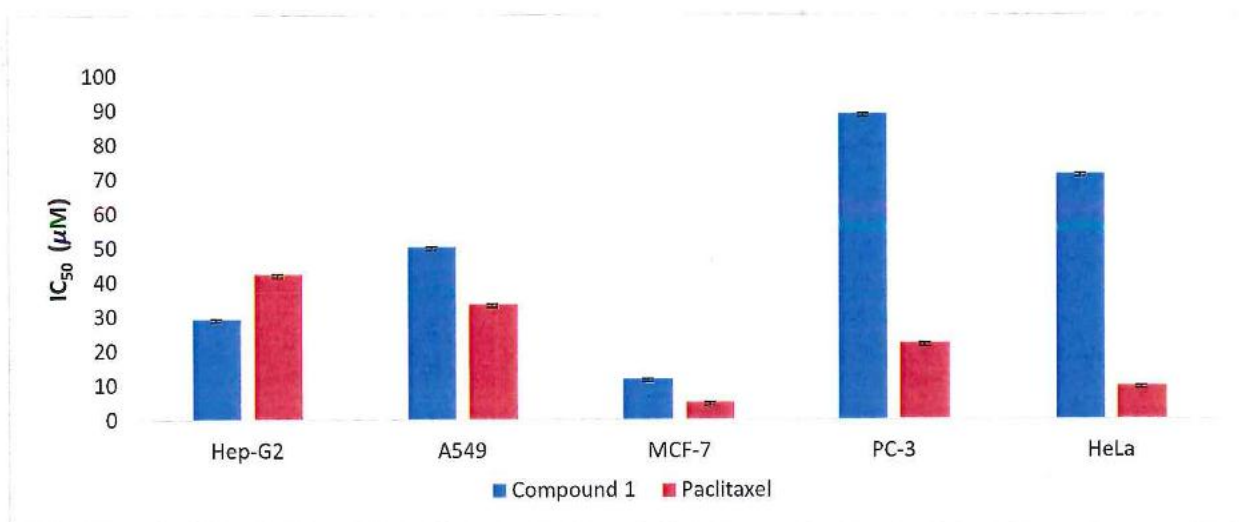


Figure 2: The IC_{50} values (μM) of compound 1 against five cancer cell lines using the MTT assay

Conclusion

The current study successfully isolated a bioactive compound 1 from *E. tenuicaudatum* through systematic extraction and chromatographic purification. Compound 1 demonstrated selective cytotoxicity against multiple human cancer cell lines, with the most potent activity observed against MCF-7 breast cancer cells (IC_{50} $11.9 \mu\text{M}$), followed by HepG2 ($29.36 \mu\text{M}$), A549 ($50.37 \mu\text{M}$), HeLa ($71.43 \mu\text{M}$), and PC-3 ($88.98 \mu\text{M}$). The significant inhibitory effects, particularly on hormone-resistant cancers (MCF-7, PC-3), highlight its potential as a lead compound for anticancer drug development.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Authors' Declaration

The authors hereby declare that the work presented in this article is original and that any liability for claims relating to the content of this article will be borne by them.

Acknowledgements

This research was funded by the Tan Trao University.

References

1. Tseng YH, Chien HC, Zhu GX. Comparative Plastome Analyses and Phylogenetic Insights of *Elatostema*. *BMC Plant Biol.* 2025; 25:537.
2. Tseng YH, Monro AK, Wei YG, Hu JM. Molecular Phylogeny and Morphology of *Elatostema* s.l. (*Urticaceae*): Implications for Inter- and Infrageneric Classifications. *Mol Phylogenet Evol.* 2019; 132:251-264.
3. Upadhyay AK, Gogoi R, Mitra PK. Ethnobotany of the Genus *Elatostema* JR Forster and G. Forster. *Ethnobotany Res Appl.* 2021; 21:1-24.
4. Huynh QDT, Hsu SJ, Duong TLT, Liu HK, Liu TW, Chu MH, Wang YH, Nguyen DK, Phan TTTT, Tran NKH, Vo