

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



ĐINH THỊ TÚ

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

LUẬN ÁN TIẾN 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

ĐINH THỊ TÚ

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

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Xác nhận của Học viện

Khoa học và Công nghệ



Người hướng dẫn 1

(Ký, ghi rõ họ tên)

Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 2

(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Phạm Minh Quân PGS.TS. Ngô Kim Chi

HÀ NỘI - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 16 tháng 07 năm 2026

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)



Đinh Thị Tú

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên (nay là Viện Hóa học), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được sự giúp đỡ quý báu của các Thầy cô, những nhà khoa học trong và ngoài nước cũng như các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc và kính trọng nhất tới PGS.TS. Phạm Minh Quân và PGS.TS. Ngô Kim Chi là những người Thầy đã hướng dẫn tận tình, chu đáo và tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong thời gian thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn GS.TS. Phạm Quốc Long đã luôn hỗ trợ tôi trong quá trình thực nghiệm cũng như đóng góp quý báu, giúp đỡ trong quá trình thực hiện và hoàn thiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo mọi điều kiện trong thời gian tôi thực hiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo cùng tập thể cán bộ Viện hóa học các Hợp chất thiên nhiên (nay là Viện Hóa học) đã nhiệt tình giúp đỡ và tạo mọi điều kiện cho tôi trong quá trình làm thực nghiệm và hoàn thành luận án.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới gia đình, bạn bè và người thân đã luôn quan tâm, động viên, khích lệ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)



Đinh Thị Tú

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC BẢNG

DANH MỤC HÌNH

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	5
1.1. Tổng quan về các thực vật chi Nghệ (<i>Curcuma</i> L.).....	5
1.1.1. Đa dạng sinh học và vị trí trong y học cổ truyền.....	5
1.1.2. Giá trị dinh dưỡng và dược thực phẩm	5
1.1.3. Ứng dụng dược lý đặc hiệu của các loài đại diện	6
1.1.4. Tầm quan trọng kinh tế và văn hóa trên toàn cầu	7
1.1.5. Cơ sở hóa học của các hoạt tính sinh học	7
1.2. Tổng quan về cây nghệ vàng	8
1.2.1. Đặc điểm thực vật và công dụng.....	8
1.2.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	11
1.2.3. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam	14
1.2.4. Tuyển trùng ký sinh trên cây dược liệu và cây nghệ vàng	15
1.2.5. Thành phần hóa học của thân rễ nghệ vàng.....	18
1.2.6. Hoạt tính sinh học	24
1.3. Cấu trúc hóa học và tính chất lý hóa của hệ curcuminoid.....	27
1.3.1. Đặc điểm cấu trúc phân tử và hiệu ứng nhóm thế	27
1.3.2. Cân bằng hồ biến và tính chất điện tử.....	29
1.3.3. Nhiệt động học và độ bền cấu trúc.....	30
1.4. Bán tổng hợp dẫn xuất curcuminoid.....	31
1.4.1. Tổng hợp toàn phần để chủ động nguồn nguyên liệu.....	32
1.4.2. Chiến lược bán tổng hợp và biến đổi cấu trúc	32
1.4.3. Cấu trúc, hoạt tính của zerumbone, tiềm năng lai hóa với curcumin.....	35
1.5. Tổng quan lĩnh vực mô phỏng <i>in silico</i> trong nghiên cứu.....	39
1.5.1. Ứng dụng hóa học tính toán lượng tử giải mã cơ chế chống oxy hóa	39
1.5.2. Mô phỏng lắp ghép phân tử phân tích tương tác protein - phối tử ...	41
1.5.3. Mô phỏng động lực học phân tử (MD simulation)	42

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	45
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	45
2.2. Phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học curcuminoid	45
2.2.1. Phương pháp xử lý và chiết mẫu.....	45
2.2.2. Phương pháp phân tích, phân lập các hợp chất.....	46
2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học	46
2.2.4. Phân lập các hợp chất curcuminoid từ thân rễ nghệ	47
2.3. Phương pháp bán tổng hợp tạo các dẫn xuất curcumin	48
2.3.1. Tạo các dẫn xuất curcumin-zerumbone	48
2.3.2. Tạo các dẫn xuất di-propargyl curcumin	50
2.4. Các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học <i>in vitro</i>.....	51
2.4.1. Thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa	51
2.4.2. Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i>	52
2.4.3. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào <i>in vitro</i>	52
2.4.4. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm <i>in vitro</i>	53
2.5. Phương pháp phân lập và định danh tuyến trùng.....	54
2.5.1. Phương pháp phân lập.....	54
2.5.2. Đặc điểm hình thái	54
2.5.3. Đặc điểm sinh học phân tử.....	55
2.5.4. Phân tích thành phần của nghệ liên quan đến nhiễm tuyến trùng	56
2.6. Phương pháp nghiên cứu mô phỏng <i>in silico</i>	57
2.6.1. Mô phỏng dự đoán hoạt tính dọn dẹp gốc tự do HOO•	57
2.6.2. Mô phỏng dự đoán cơ chế hoạt tính chống viêm	58
2.7. Phương pháp xử lý số liệu và phân tích thống kê	61
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	62
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất curcuminoid	62
3.1.1. Hợp chất curcumin (CUR)	62
3.1.2. Hợp chất demethoxycurcumin (DMC)	63
3.1.3. Hợp chất bisdemethoxycurcumin (BDMC)	64

3.2. Tác động của loài tuyến trùng mới <i>Scutellonema curcumae</i> sp. n. đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của thân rễ nghệ vàng	66
3.2.1. Phân loại học, đặc điểm phân tử và sinh thái của loài <i>S. curcumae</i> .	66
3.2.2. Sự biến đổi hàm lượng curcuminoid do ảnh hưởng từ tuyến trùng..	71
3.3. Bán tổng hợp các dẫn xuất curcumin phân lập từ thân rễ nghệ.....	76
3.3.1. Bán tổng hợp curcumin-zerumbone.....	76
3.3.2. Bán tổng hợp di-propargyl curcumin.....	79
3.3.3. Đánh giá hoạt tính chống viêm của các dẫn xuất curcumin	81
3.3.4. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất curcumin.....	83
3.3.5. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, nấm của các dẫn xuất curcumin...	86
3.4. Mô phỏng dự đoán hoạt tính quét gốc tự do HOO• của curcuminoid	88
3.5. Dự đoán cơ chế ức chế tiềm năng đối với phức hệ protein TLR4/MD-2 của curcuminoid kết hợp mô phỏng và thực nghiệm	101
3.5.1. Mô phỏng lắp ghép phân tử	101
3.5.2. Mô phỏng động lực học phân tử	104
3.5.3. Đánh giá theo quy tắc Lipinski và ADMET	106
3.5.4. Hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i>	107
KẾT LUẬN	110
KIẾN NGHỊ.....	111
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	112
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	113

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
Các phương pháp sắc ký		
CC	Column Chromatography	Sắc ký cột thường
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký bản mỏng
Các phương pháp phổ		
$^1\text{H-NMR}$	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
APCI-MS	Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển
CD	Circular Dichroism Spectroscopy	Phổ nhị sắc tròn
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ tương tác hai chiều $^1\text{H-}^1\text{H}$
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
ESI-MS	Electron Spray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối ion hóa phun mù điện tử
HR-ESI-MS	High Resolution - Electron Spray Ionization - Mass Spectrometry	Phổ khối phân giải cao ion hóa phun mù điện tử
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ NOESY
J (Hz)	Interactive constant in Hz	Hằng số tương tác tính bằng Hz
δ (ppm)	(ppm = part per million)	Độ dịch chuyển hóa học tính bằng phần triệu
Các dòng tế bào		
HeLa	Cervical cancer cells	Ung thư cổ tử cung

Hep-G2	Human hepatoma	Ung thư gan
HGC-27	Human Stomach carcinoma cell	Ung thư dạ dày
MCF-7	Human breast adenocarcinoma cells	Ung thư vú
RAW 264.7	Murine macrophage cells	Đại thực bào chuột
A549	Human lung adenocarcinoma cells	Ung thư phổi
Các curcuminoid		
CUR	(hoặc curcumin I)	Curcumin
DMC	(hoặc curcumin II)	Demethoxycurcumin
BDMC	(hoặc curcumin III)	Bisdemethoxycurcumin
Các ký hiệu khác		
CDK	Cyclin dependent kinase	Nhóm protein kinase serine/threonine
DFT	Density Functional Theory	Hóa học tính toán lượng tử
ED ₅₀	Effective Dose at 50%	Liều hiệu quả 50%
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50%	Nồng độ ức chế 50%
LD ₅₀	Lethal Dose 50	Liều độc cấp tính
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MD	Molecular Dynamics	Mô phỏng động lực học phân tử
NCE	New Chemical Entities	Thực thể hóa học mới
NCI	National Cancer Institute	Viện Ung thư Quốc gia Hoa kỳ
TMS	Tetramethyl Silane	Chất chuẩn nội
MD-2	Myeloid Differentiation factor 2	Yếu tố biệt hóa dòng tủy 2
PEA	Pentyl Ethanoate	Pentyl ethanoat (mô phỏng môi trường lipid)
SET	Single Electron Transfer	Cơ chế chuyển electron đơn
TLR4	Toll-like Receptor 4	Thụ thể Toll-like 4
SI	Selectivity Index	Độ chọn lọc, được tính bằng tỉ số IC ₅₀ /MIC

Ghi chú: Tên các hợp chất, lớp chất, nhóm thế, chức hóa học được viết theo nguyên bản Tiếng Anh để đảm bảo tính thống nhất và chính xác.

DANH MỤC BẢNG

<i>Bảng 1.1.</i> Các hợp chất phân lập được từ <i>C. longa</i>	20
<i>Bảng 1.2.</i> Các hợp chất khác phân lập được từ <i>C. longa</i>	23
<i>Bảng 3.1.</i> Bảng dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của CUR	63
<i>Bảng 3.2.</i> Bảng dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của DMC	64
<i>Bảng 3.3.</i> Bảng dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của BDMC	65
<i>Bảng 3.4.</i> Tính chất lý hóa của đất ^a và mật độ quần thể tuyến trùng tại các khu vực trồng nghệ (<i>C. longa</i>) ở Kon Tum, Việt Nam	71
<i>Bảng 3.5.</i> Thành phần hóa thực vật và hoạt tính sinh học của thân rễ nghệ liên quan đến nhiễm tuyến trùng.....	72
<i>Bảng 3.6.</i> Phân tích hồi quy tuyến tính ảnh hưởng của mật độ <i>S. curcumae</i> (trong thân rễ và đất) đến thành phần hóa học, hoạt tính sinh học.	74
<i>Bảng 3.7.</i> Hoạt tính ức chế sản sinh NO và tỷ lệ sống sót của tế bào RAW 264.7 khi xử lý với curcumin và các dẫn xuất.....	82
<i>Bảng 3.8.</i> Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) của curcumin và các dẫn xuất tổng hợp trên 5 dòng tế bào ung thư.....	83
<i>Bảng 3.9.</i> Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của curcumin và các dẫn xuất, nồng độ mẫu.....	86
<i>Bảng 3.10.</i> Các thông số nhiệt hóa nội tại (BDE, PA và IP) của các tautomer diketone và keto-enol thuộc CUR và BDMC trong môi trường nước và PEA (đơn vị: kJ mol^{-1})	93
<i>Bảng 3.11.</i> Thông số động học và nhiệt động học của phản ứng giữa gốc $\text{HOO}\cdot$ và các dạng tồn tại của tautomer keto-enol CUR trong môi trường nước và PEA tại 298 K	96
<i>Bảng 3.12.</i> Thông số động học và nhiệt động học của phản ứng giữa gốc $\text{HOO}\cdot$ và các dạng tồn tại của tautomer keto-enol BDMC trong môi trường nước và PEA tại 298 K	98
<i>Bảng 3.13.</i> Hằng số tốc độ biểu kiến (k_{app}), hằng số tốc độ hiệu chỉnh phân số mol (k_{Mf}) và tỷ lệ phân nhánh (Γ) tổng thể của CUR và BDMC trong môi trường nước và PEA tại 298 K	100

<i>Bảng 3.14.</i> Phân tích cấu hình electron tự nhiên (NEC) của nguyên tử hydrogen (H), trung tâm cho (DH) và trung tâm nhận (AH) tại trạng thái chuyển tiếp của các phản ứng tách hydrogen ưu thế trong nước	101
<i>Bảng 3.15.</i> Năng lượng liên kết tự do và các amino acid của phức hợp TLR4/MD-2 tham gia liên kết với curcuminoid.....	102
<i>Bảng 3.16.</i> Chỉ số ADMET và dự đoán độc tính của các chất tiềm năng	107
<i>Bảng 3.17.</i> Khả năng ức chế sản xuất NO của các curcuminoid	108

DANH MỤC HÌNH

<i>Hình 1.1.</i> Cây nghệ vàng (<i>C. longa</i>).....	9
<i>Hình 1.2.</i> Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ <i>C. longa</i>	20
<i>Hình 1.3.</i> Cấu trúc hóa học các hợp chất khác phân lập được từ <i>C. longa</i>	23
<i>Hình 1.4.</i> Cấu trúc khung 1,7-diarylheptanoid và hệ liên hợp mang màu đặc trung	28
<i>Hình 1.5.</i> So sánh cấu trúc hóa học và sự phân bố nhóm thế methoxy của ba dẫn xuất chính: CUR, DMC và BDMC	29
<i>Hình 1.6.</i> Cân bằng hồ biến keto-enol và cơ chế bền hóa dạng enol thông qua liên kết hydro nội phân tử	30
<i>Hình 1.7.</i> Cấu trúc hóa học của zerumbone	36
<i>Hình 2.1.</i> Mẫu thân rễ nghệ (<i>C. longa</i> L.).....	45
<i>Hình 2.2.</i> Sơ đồ thu nhận các dịch chiết từ thân rễ nghệ	48
<i>Hình 3.1.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của CUR.....	62
<i>Hình 3.2.</i> Cấu trúc hóa học của DMC.....	63
<i>Hình 3.3.</i> Cấu trúc hóa học của BDMC	65
<i>Hình 3.4.</i> Các cá thể cái của loài <i>S. curcumae</i> từ Việt Nam.	67
<i>Hình 3.5.</i> Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự ITS của các loài <i>Scutellonema</i> theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài <i>S. curcumae</i> được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ	68
<i>Hình 3.6.</i> Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự D2-D3 của các loài <i>Scutellonema</i> theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài <i>S. curcumae</i> được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ.	69
<i>Hình 3.7.</i> Cây phát sinh chủng loại Bayes được xây dựng sử dụng các trình tự COI của các loài <i>Scutellonema</i> theo mô hình GTR+G+I. Trình tự của loài <i>S. curcumae</i> được biểu thị bằng chữ in đậm và màu đỏ.	70
<i>Hình 3.8.</i> Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone.....	77
<i>Hình 3.9.</i> Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone giai đoạn 1	78
<i>Hình 3.10.</i> Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone giai đoạn 2.....	78
<i>Hình 3.11.</i> Tổng hợp dẫn xuất di-propargyl curcumin	80

<i>Hình 3.12.</i> Cấu trúc hình học tối ưu, orbital biên (HOMO, LUMO) và bản đồ thế điện tĩnh (ESP) của các tautomer diketone và keto-enol thuộc CUR (A) và BDMC (B) trong môi trường nước.	92
<i>Hình 3.13.</i> Giảm đồ enthalpy tương đối hiệu chỉnh năng lượng điểm không (ZPE) tại 0 K (ΔH_{0K}) của các quá trình tách hydrogen (Abs) và cộng gốc (Add) giữa CUR và gốc tự do $\text{HOO}\cdot$ trong môi trường nước và PEA.....	94
<i>Hình 3.14.</i> Giảm đồ enthalpy tương đối hiệu chỉnh năng lượng điểm không (ZPE) tại 0 K (ΔH_{0K}) của các quá trình tách hydrogen (Abs) và cộng gốc (Add) giữa BDMC và gốc tự do $\text{HOO}\cdot$ trong môi trường nước và PEA.....	95
<i>Hình 3.15.</i> Diễn biến mật độ spin, điện tích NPA của trung tâm cho (DH), hydrogen chuyển dịch (H), trung tâm nhận (AH) dọc theo tọa độ phản ứng nội tại (IRC) và hình ảnh orbital SOMO tại trạng thái chuyển tiếp (TS) của các phản ứng PCET ưu thế trong pha nước.....	100
<i>Hình 3.16.</i> Cấu hình liên kết giữa CUR và BDMC với phức hợp protein TLR4/MD-2 dự đoán bởi AutoDock4. (A) Hình ảnh liên kết của các hợp chất nghiên cứu với bề mặt protein TLR4, liền kề với bề mặt tiếp xúc của chúng với protein MD-2: CUR-màu đỏ, BDMC-màu vàng; (B) Cấu hình liên kết của CUR; (C) Cấu hình liên kết của BDMC.	103
<i>Hình 3.17.</i> Biến thiên RMSD theo thời gian tính cho toàn bộ nguyên tử của TLR4/MD-2 với CUR (A) và BDMC (B) qua 3 lần mô phỏng MD độc lập trong thời gian 50 ns.	105
<i>Hình 3.18.</i> Cấu hình liên kết được tinh chỉnh bằng MD giữa CUR (A) và BDMC (B) với phức hợp TLR4/MD-2 thu được bằng phương pháp phân cụm từ các ảnh chụp ở trạng thái cân bằng của phức hệ với ngưỡng cắt 0,2 nm.	106

MỞ ĐẦU

Mặc dù đã là đối tượng của hàng nghìn công bố khoa học trong ba thập kỷ qua, curcumin, hoạt chất polyphenol chính từ thân rễ cây nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) vẫn chưa thể trở thành một dược chất lâm sàng thực thụ. Nghịch lý này bắt nguồn từ sinh khả dụng đường uống cực thấp của hợp chất, một hạn chế đã được xác nhận qua nhiều thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I-II [1, 2]. Đồng thời, trong khi curcumin (CUR) nhận được sự quan tâm áp đảo, thì hệ curcuminoid trong tự nhiên thực chất là một phức hợp gồm ba hợp chất có cấu trúc liên quan: CUR, demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC) trong đó vai trò sinh học riêng biệt của từng thành phần, vẫn chưa được làm rõ [3, 4].

Nghệ vàng là một trong những dược liệu được sử dụng phổ biến nhất tại Việt Nam, với bề dày ứng dụng trong y học cổ truyền cho các mục đích kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, bảo vệ gan và hỗ trợ tiêu hóa [5, 6]. Trong bối cảnh xu hướng nghiên cứu và phát triển các hoạt chất sinh học từ dược liệu truyền thống đang được thúc đẩy mạnh mẽ trên toàn cầu [7], việc khai thác khoa học nguồn curcuminoid Việt Nam đòi hỏi một cách tiếp cận hệ thống hơn, không chỉ dừng ở CUR mà cần mở rộng sang toàn bộ hệ phức hợp, điển hình là BDMC thành phần có hàm lượng thấp nhất nhưng đang bộc lộ những đặc tính sinh học đáng chú ý.

Phần lớn các nghiên cứu trước đây và các chế phẩm thương mại hiện hành đều tập trung khai thác CUR hoặc sử dụng hỗn hợp curcuminoid chưa phân tách, dẫn đến việc chưa có đánh giá so sánh có hệ thống về hoạt tính sinh học của từng thành phần riêng biệt trên cùng một bộ thử nghiệm [1, 2]. BDMC, mặc dù chỉ chiếm khoảng 2-5% tổng curcuminoid [3, 4], gần đây đã thu hút chú ý khi các dữ liệu mới cho thấy hợp chất này sở hữu ưu thế riêng: BDMC thể hiện khả năng cảm ứng apoptosis chọn lọc trên các dòng tế bào ung thư thông qua con đường Smad và Akt, đồng thời được đánh giá là có tiềm năng hỗ trợ kháng u đáng chú ý trên nhiều mô hình thực nghiệm [8, 9]. Kết quả mô phỏng phân tử kết hợp thực nghiệm đã chỉ ra BDMC có tiềm năng ức chế enzyme iNOS và tương tác với phức hợp tín hiệu TLR4/MD-2 với ái lực cao hơn so với CUR và DMC [10]. Tuy nhiên, các dữ liệu này còn rời rạc và chưa được xác nhận trên một hệ thống đánh giá đầy đủ.

Song song với vấn đề đánh giá chưa đầy đủ các thành phần, bản thân CUR, hợp chất được nghiên cứu nhiều nhất, cũng đối mặt với những hạn chế trên con đường phát triển thành dược chất. Sinh khả dụng đường uống cực thấp của CUR bắt nguồn từ hai vùng cấu trúc yếu điểm trên phân tử: (i) hệ liên hợp

β -diketone ở trung tâm dễ bị cắt mạch theo cơ chế retro-aldol ở pH kiềm và bị khử bởi enzyme chuyển hóa pha I (tạo dihydro-, tetrahydro-, hexahydrocurcumin); (ii) các nhóm hydroxyl (-OH) phenolic trên vòng thơm là đích tấn công của enzyme chuyển hóa pha II (glucuronid hóa, sulfat hóa), khiến thuốc bị đào thải nhanh chóng [11, 12]. Thực trạng này là động lực chính thúc đẩy các nghiên cứu bán tổng hợp nhằm biến đổi cấu trúc curcumin theo hướng khắc phục yếu điểm dược động học.

Một khía cạnh thực tiễn không thể tách rời trong nghiên cứu về curcuminoid là vấn đề chất lượng nguồn nguyên liệu. Trong quá trình khảo sát các vùng trồng nghệ tại Việt Nam nhằm lựa chọn nguồn nguyên liệu cho nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy tình trạng nhiễm tuyến trùng ký sinh thân rễ (plant-parasitic nematodes) phổ biến trên các ruộng nghệ. Tại Việt Nam, thành phần loài tuyến trùng ký sinh trên thân rễ nghệ vàng chưa được điều tra có hệ thống và mối quan hệ giữa mức độ nhiễm tuyến trùng với hàm lượng từng thành phần curcuminoid riêng biệt (CUR, DMC, BDMC) chưa được khảo sát. Đây là nghiên cứu mang tính liên ngành giữa bảo vệ thực vật và hóa học dược liệu, nhưng có ý nghĩa trực tiếp đối với việc kiểm soát chất lượng nguồn nguyên liệu phục vụ chiết xuất và bán tổng hợp.

Để đánh giá toàn diện hoạt tính sinh học của các curcuminoid tinh khiết và các dẫn xuất bán tổng hợp, luận án kết hợp hai phương pháp tiếp cận bổ sung cho nhau: thử nghiệm *in vitro* và mô phỏng *in silico*. Các thử nghiệm *in vitro* cung cấp dữ liệu thực nghiệm về hiệu lực sinh học (chống oxy hóa, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư, kháng vi sinh vật), trong khi mô phỏng docking phân tử và động lực học phân tử (molecular dynamics, MD) cho phép khảo sát cơ chế tương tác ở cấp độ nguyên tử giữa các hợp chất với đích phân tử cụ thể. Sự kết hợp này tạo nên bộ dữ liệu đa chiều cho phép phân tích quan hệ cấu trúc - hoạt tính (SAR) một cách có hệ thống.

Xuất phát từ các mục tiêu nghiên cứu trên, luận án được thực hiện với đề tài: “Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam”.

Mục tiêu nghiên cứu

Khai thác và nâng cao giá trị dược lý của hệ curcuminoid từ cây nghệ vàng (*C. longa*) Việt Nam thông qua việc phân lập các hoạt chất tinh khiết, đánh giá tác động của yếu tố sinh thái (tuyến trùng ký sinh) đến chất lượng nguyên liệu, và bán tổng hợp các dẫn xuất mới. Đồng thời, kết hợp các thử

thực nghiệm sinh học *in vitro* và công cụ mô phỏng tính toán *in silico* để đánh giá hoạt tính và làm sáng tỏ cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử, tạo cơ sở khoa học cho việc phát triển các chế phẩm dược liệu mới.

Nội dung nghiên cứu

Luận án tập trung nghiên cứu đi sâu đánh giá các hoạt tính cấp độ phân tử: chống oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư, kháng vi sinh vật, tuyến trùng... của các dạng cụ thể curcuminoid qua 4 nội dung chính sau:

1. Xây dựng quy trình phân lập, tách chiết riêng biệt các dạng curcuminoid (CUR, DMC và BDMC) từ nguyên liệu thân rễ nghệ vàng ở Việt Nam.
2. Đánh giá mối tương quan giữa mật độ tuyến trùng với hàm lượng và hoạt tính sinh học curcuminoid.
3. Bán tổng hợp và xác nhận cấu trúc các dẫn xuất mới: dẫn xuất lai hóa curcumin-zerumbone (curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone) và dẫn xuất di-propargyl curcumin và tìm hiểu hoạt tính sinh học của chúng.
4. Sàng lọc nghiên cứu cơ chế tác dụng các hoạt tính sinh học chính của ba curcuminoid tinh khiết (CUR, DMC và BDMC) thông qua mô phỏng *in silico* kết hợp thử nghiệm *in vitro* trong đó có hoạt tính chống oxy hóa (thông qua thử nghiệm DPPH).

Cơ sở khoa học và thực tiễn của đề tài

Cơ sở và ý nghĩa khoa học:

Luận án cung cấp cơ sở khoa học vững chắc về tác động của áp lực sinh học (biotic stress) lên quá trình sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp ở thực vật. Đây là công trình đầu tiên tại Việt Nam công bố phát hiện loài tuyến trùng mới (*Scutellonema curcumae*) và làm rõ cơ chế làm suy giảm hàm lượng bisdemethoxycurcumin (BDMC), từ đó chứng minh mối tương quan nghịch biến giữa mật độ tuyến trùng và chất lượng dược lý của thân rễ nghệ.

Dựa trên nguyên lý lai hóa phân tử (molecular hybridization), luận án đã xây dựng được cơ sở khoa học cho việc biến đổi cấu trúc curcumin nhằm khắc phục các nhược điểm về độ ổn định và sinh khả dụng. Việc kết hợp phương pháp mô phỏng tính toán (*in silico*) và thực nghiệm sinh học (*in vitro*) đã làm sáng tỏ mối liên quan giữa cấu trúc và tác dụng sinh học (SAR), giải thích rõ cơ chế tương tác ở cấp độ phân tử của các dẫn xuất mới so với chất gốc

Ý nghĩa thực tiễn:

Kết quả của luận án thay đổi quan điểm trong canh tác cây dược liệu: việc quản lý tuyển trùng không chỉ đơn thuần để bảo vệ năng suất mà còn là chiến lược can thiệp thiết yếu nhằm tối ưu hóa và bảo đảm hàm lượng hoạt chất curcuminoid (đặc biệt là BDMC) đạt chuẩn cho nguyên liệu y dược.

Các dẫn xuất lai hóa bán tổng hợp (điển hình như dẫn xuất curcumin-monozerumbone) thể hiện hoạt tính kháng viêm và gây độc tế bào (trên dòng Hep-G2 và A549) tốt hơn so với curcumin. Đây là nguồn dữ liệu thực nghiệm quan trọng, cung cấp các chất dẫn đường tiềm năng cho các nghiên cứu tiền lâm sàng nhằm phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị ung thư và kháng viêm thế hệ mới.

Những đóng góp mới của luận án

1. Lần đầu tiên phát hiện và định danh loài tuyển trùng mới *Scutellonema curcumae* ký sinh trên thân rễ nghệ vàng tại Việt Nam. Thông qua mô hình đánh giá thống kê, luận án chứng minh được mối tương quan: gia tăng mật độ lây nhiễm tuyển trùng làm giảm hàm lượng curcuminoid trong dược liệu. Đồng thời, nhóm mẫu có mật độ nhiễm tuyển trùng thấp thể hiện cải thiện tốt hơn về hoạt tính chống oxy hóa (giá trị SC_{50} giảm từ 43,62 xuống còn 13,85 $\mu\text{g/ml}$ so với nhóm nhiễm nặng nhất).

2. Bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa mới curcumin-monozerumbone (**4**), giúp cải thiện rõ rệt tính thân dầu (giá trị logP tăng từ 3,72 lên 6,51) so với curcumin tự nhiên. Thiết kế phân tử này mang lại sự tối ưu hóa về mặt hoạt tính sinh học: thể hiện hiệu lực kháng viêm và khả năng gây độc tế bào ung thư gan (Hep-G2) tốt hơn so với chất đối chứng curcumin, đồng thời mở rộng phổ kháng vi sinh vật (ức chế 6/8 chủng kiểm định, trong khi curcumin chỉ đạt 2/8 chủng).

3. Lần đầu tiên áp dụng phương pháp tiếp cận liên ngành *in silico* (tính toán lượng tử DFT, mô phỏng docking phân tử và động lực học phân tử MD) để làm sáng tỏ cơ sở cấu trúc - tác dụng của hệ curcuminoid. Kết quả tính toán khẳng định bisdemethoxycurcumin có hằng số tốc độ quét gốc tự do $\text{HOO}\bullet$ trong môi trường lipid cao hơn đáng kể so với curcumin (chủ yếu qua cơ chế chuyển nguyên tử hydro). Đồng thời, mô phỏng MD chứng minh cấu trúc của bisdemethoxycurcumin tạo phức hệ liên kết bền vững hơn với protein đích TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết -9,73 kcal/mol so với -9,29 kcal/mol của curcumin), giải thích được kết quả ức chế nitric oxide (NO) trên thực nghiệm.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

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

1.1.1. Đa dạng sinh học và vị trí trong y học cổ truyền

Chi Nghệ (*Curcuma* L.) là một trong những chi lớn và quan trọng nhất thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), gồm khoảng 80-100 loài thực vật thân thảo lâu năm có hệ thống thân rễ phát triển mạnh. Các loài thuộc chi *Curcuma* phân bố rộng khắp các vùng sinh thái nhiệt đới và cận nhiệt đới, trải dài từ Ấn Độ, Đông Nam Á đến khu vực Châu Á - Thái Bình Dương. Tại đây, chúng không chỉ sinh trưởng dưới dạng hoang dã mà còn được thuần hóa và canh tác quy mô lớn để phục vụ đời sống con người [13, 14].

Trong lịch sử y dược học, chi *Curcuma* giữ vị trí trung tâm trong các hệ thống y học cổ truyền lâu đời như Ayurveda (Ấn Độ), y học cổ truyền Trung Hoa và các nền y học bản địa Đông Nam Á. Thân rễ từ xa xưa đã được khai thác đa mục đích, vừa là chất chỉ thị màu tự nhiên, gia vị, chất bảo quản thực phẩm thiết yếu, vừa là dược liệu quý để điều trị đa dạng các bệnh lý như rối loạn tiêu hóa, bệnh gan mật, hô hấp và các tổn thương ngoài da [14].

Dưới góc nhìn của khoa học hiện đại, các nghiên cứu hóa thực vật đã xác định thân rễ *Curcuma* là nguồn cung cấp đa dạng các chất chuyển hóa thứ cấp có giá trị, điển hình là nhóm diarylheptanoid (curcuminoid) và các hợp chất sesquiterpenoid trong tinh dầu. Những thành phần này đã được chứng minh qua thực nghiệm là sở hữu phổ hoạt tính sinh học rộng, bao gồm khả năng chống oxy hóa mạnh, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus và tiềm năng hỗ trợ ức chế tế bào ung thư. Sự kết hợp giữa kinh nghiệm dân gian và nghiên cứu khoa học thực nghiệm đã thúc đẩy quan tâm sâu sắc đối với việc phát triển các chế phẩm dược liệu từ chi thực vật này [13, 14].

1.1.2. Giá trị dinh dưỡng và dược thực phẩm

Bên cạnh vai trò là cây thuốc, các loài *Curcuma* còn được xem là nguồn thực phẩm chức năng tự nhiên giàu giá trị. Phân tích thành phần dinh dưỡng cho thấy thân rễ, và trong một số trường hợp là thân rễ và cụm hoa, là nguồn cung cấp đáng kể carbohydrate, protein, tinh bột, chất béo, cùng các vi chất

thiết yếu như khoáng chất và vitamin. Chính sự kết hợp độc đáo giữa giá trị dinh dưỡng và dược tính đã cho phép sử dụng các loài này như một liệu pháp thực trị (dùng thực phẩm để trị bệnh), hỗ trợ hiệu quả trong việc thanh lọc máu, cải thiện sức khỏe làn da, và kiểm soát các bệnh lý mãn tính như tiểu đường, loét dạ dày, gan mật và viêm khớp [15]. Thân rễ của các loài như *Curcuma angustifolia*, *Curcuma leucorrhiza* và *Curcuma caulina* chứa hàm lượng tinh bột nghệ cao, được sử dụng, chế biến thành bột nghệ thực phẩm [16, 17].

1.1.3. Ứng dụng dược lý đặc hiệu của các loài đại diện

Đa dạng về thành phần hóa học giữa các loài đã tạo nên những ứng dụng điều trị chuyên biệt trong y học dân gian các nước:

Nhóm điều trị tiêu hóa và da liễu: Các loài như *C. aeruginosa*, *Curcuma caesia*, *Curcuma mangga* và *Curcuma zedoaria* được sử dụng phổ biến như các phương thuốc đầu tay cho các rối loạn tiêu hóa phức tạp (kiết lý, khó tiêu, loét dạ dày), các bệnh lý gan mật (gan và lá lách to), cũng như các tổn thương ngoài da (mụn nhọt, ghẻ lở, nhiễm trùng và bầm tím) [16].

Gừng xoài (*Curcuma amada*): loài này được ứng dụng như một chất hạ sốt, thuốc bổ kích thích tiêu hóa (carminative), lợi tiểu và nhuận tràng. Hơn nữa, *C. amada* còn chứng tỏ hiệu quả trong việc kiểm soát các bệnh lý hô hấp (hen suyễn, viêm phế quản) và các tình trạng viêm do chấn thương [18].

Nghệ lá hẹp (*Curcuma angustifolia*): ngoài giá trị dinh dưỡng, loài này sở hữu đặc tính làm mát và phục hồi mô. Trong y học bản địa, bột thân rễ *C. angustifolia* được dùng đắp ngoài để thúc đẩy quá trình liền xương gãy và giảm sưng tấy, đồng thời dùng đường uống để trị các bệnh đường tiết niệu như tiểu khó và lậu [19, 20].

Nghệ rừng (*Curcuma aromatica*): Được biết đến rộng rãi trong y học cổ truyền Thái Lan và Trung Quốc, loài này được đánh giá cao về khả năng hoạt huyết (điều trị tắc máu), giải độc (trị nọc rắn) và thúc đẩy lành vết thương. Các nghiên cứu hiện đại còn phát hiện tiềm năng của *C. aromatica* trong việc ức

chế phát triển tế bào ung thư, điều hòa huyết áp và đường huyết, cũng như tác dụng diệt côn trùng [21, 22].

1.1.4. Tầm quan trọng kinh tế và văn hóa trên toàn cầu

Chi *Curcuma* đã vượt ra khỏi biên giới thực vật học để trở thành một phần không thể thiếu trong văn hóa và kinh tế toàn cầu. Tại Nam Á (Ấn Độ, Sri Lanka, Nepal), nghệ là được sử dụng chính trong các món ăn và y học Ayurveda [23]. Tại Đông Nam Á, vai trò của chúng biến đổi đa dạng: là thành phần cốt lõi trong mỹ phẩm tự nhiên tại Thái Lan [24], chất sát trùng tại Malaysia [25] và nguyên liệu cho đồ uống giải khát tại Hàn Quốc và Nhật Bản [26, 27]. Ở Trung Quốc và nhiều quốc gia khác, thân rễ nghệ còn đóng vai trò là cây nhuộm màu tự nhiên và chất bảo quản thực phẩm an toàn, thay thế cho các phụ gia tổng hợp. Các chiết xuất từ thân rễ nghệ hiện đang được khai thác rộng rãi bởi ngành công nghiệp mỹ phẩm toàn cầu nhờ đặc tính dưỡng da và chống lão hóa [28, 29].

1.1.5. Cơ sở hóa học của các hoạt tính sinh học

Hiệu quả trị liệu của chi *Curcuma* được củng cố vững chắc bởi nền tảng hóa thực vật phong phú. Các nghiên cứu sàng lọc trên khoảng 32 loài đã định danh được gần 720 hợp chất, tạo nên một thành phần hóa học đa dạng [30]. Trong đó, hai nhóm hợp chất chính đóng vai trò quyết định đến hoạt tính sinh học bao gồm:

Curcuminoid (diarylheptanoid) là nhóm hợp chất polyphenol đặc trưng của chi *Curcuma*, bao gồm curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC). Mặc dù chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ trong tổng khối lượng thân rễ (khoảng 2-5% khối lượng khô), nhóm curcuminoid chịu trách nhiệm chính cho các hoạt tính dược lý nổi bật nhất như chống oxy hóa, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư, kháng khuẩn và kháng nấm [31]. Curcuminoid tập trung với hàm lượng cao nhất ở loài *C. longa*, đối tượng nghiên cứu chính của luận án này.

Sesquiterpenoid và tinh dầu sở hữu hơn 500 hợp chất terpenoid đã được xác định (bao gồm monoterpene, sesquiterpene và diterpene), nhóm này tạo nên mùi hương đặc trưng và đóng góp quan trọng vào hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, diệt côn trùng và chống viêm [14, 28]. Đáng chú ý, zerumbone là một sesquiterpene đơn vòng phân lập chủ yếu từ *Zingiber zerumbet* nhưng cũng hiện diện trong một số loài *Curcuma* được thảo luận chi tiết trong mục 1.4 với tư cách là đối tác lai hóa phân tử với curcumin.

Bên cạnh đó, sự hiện diện của 102 diphenylalkaloid, flavonoid, tannin, saponin và các polysaccharide đã tạo nên tác dụng cộng hưởng, giúp dịch chiết toàn phần của các loài *Curcuma* thường có phổ tác dụng rộng và hiệu quả điều trị bền vững [14]. Sự đa dạng về thành phần hóa học giữa các loài dẫn đến khác biệt về hoạt tính, trong khi *C. longa* nổi bật nhờ hàm lượng curcuminoid cao, thì các loài như *C. aromatica*, *C. zedoaria*, *C. aeruginosa* lại được đánh giá cao về thành phần tinh dầu và sesquiterpene [29]. Sự phân hóa này là cơ sở để lựa chọn *C. longa* làm đối tượng nghiên cứu curcuminoid trong luận án.

1.2. Tổng quan về cây nghệ vàng

1.2.1. Đặc điểm thực vật và công dụng

1.2.1.1. Đặc điểm thực vật và phân bố sinh thái

Nghệ vàng là một loài thực vật thân thảo lưu niên thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*), có tên khoa học là *Curcuma longa* L. (Hình 1.1). Trong nền y học cổ truyền bản địa Việt Nam, loài cây này còn được biết đến với nhiều tên gọi khác nhau tùy theo vùng miền và dân tộc, như khương hoàng, uất kim, hay các tên gọi của đồng bào dân tộc như co hem, co khăn mìn (tiếng Thái) và khinh lương (tiếng Tày) [30, 31].

Về nguồn gốc địa lý sinh học, *C. longa* xuất phát từ vùng nhiệt đới Tamil Nadu thuộc phía đông nam Ấn Độ. Nhờ khả năng thích nghi tốt, ngày nay nghệ vàng đã được di thực và canh tác rộng rãi tại nhiều quốc gia châu Á (Ấn Độ, Thái Lan, Việt Nam, Malaysia, Philippines, Hàn Quốc, Nhật Bản), các đảo thuộc Nam Thái Bình Dương, cũng như khu vực Đông và Tây Phi. Trong đó,

Ấn Độ vẫn là quốc gia sản xuất và xuất khẩu nghệ vàng chủ lực trên thế giới [32, 33]. Tại Việt Nam, nghệ vàng được trồng phổ biến ở nhiều tỉnh trên cả ba miền trong đó tập trung bao gồm vùng núi phía bắc và khu vực tây nguyên. Cây ưa đất tơi xốp, giàu mùn, thoát nước tốt, thu hoạch thân rễ sau 8-10 tháng trồng.

Về hình thái học, *C. longa* là cây thân thảo, cao trung bình khoảng 60 cm tính từ gốc. Hệ thống lá phát triển từ gốc, bẹ lá ốp vào nhau tạo thành thân giả, phiến lá màu xanh đậm với bề mặt bóng mượt. Cụm hoa mọc từ giữa túm lá, tạo thành chùy với màu sắc biến thiên từ trắng đến vàng nhạt. Đặc điểm quan trọng nhất của loài là hệ thống thân rễ phát triển mạnh thành thân rễ, ngắn và dày. Thân rễ nghệ có lớp vỏ ngoài màu nâu, bao bọc phần thịt bên trong có màu cam hoặc vàng sáng đặc trưng. Kích thước thân rễ thường dài từ 5-8 cm, đường kính khoảng 2,5 cm, có hình dạng thuôn dần hoặc nhọn về phía cuối [31, 34].



Hình 1.1. Cây nghệ vàng (*C. longa*)

1.2.1.2. Công dụng trong y học cổ truyền

Trong nền y học cổ truyền Việt Nam, các bộ phận của cây nghệ được phân biệt thành hai vị thuốc riêng biệt với tính năng dược lý khác nhau:

Khương hoàng (thân rễ chính) thường có vị cay đắng, mùi thơm hắc, tính ấm. Vị thuốc này chuyên dùng để hành khí, phá huyết, thông kinh, chỉ thống (giảm đau) và kích thích lên da non (tiêu mủ). Khương hoàng được chỉ định trong điều trị kinh nguyệt không đều, bế kinh, huyết ứ, các chứng đau tức vùng

ngực bụng, khó thở, chấn thương tụ máu, viêm loét dạ dày, mụn nhọt và phong thấp [34].

Uất kim (thân rễ) có vị cay đắng pha chút ngọt, tính mát. Công năng chính là hành khí, giải uất, lương huyết và phá ú [31].

Trên bình diện quốc tế, nghệ vàng đóng vai trò trung tâm trong nhiều nền y học bản địa:

Tại Ấn Độ, *C. longa* đóng vai trò là trung tâm trong nền dược liệu y học Ayurveda như thuốc bổ, lọc máu, hỗ trợ tiêu hóa, hạ sốt và trị cảm lạnh (khi phối hợp với sữa nóng). Dịch ép nghệ tươi được dùng kháng ký sinh trùng ngoài da, trong khi dạng bột nhào đắp ngoài giúp trị loét, đau khớp và viêm tấy có mủ. Cao nước thân rễ còn được ứng dụng đặc hiệu cho các bệnh lý về mật [23].

Tại Trung Quốc, *C. longa* được xem là thuốc kích thích, giảm đau và cầm máu hiệu quả, được chỉ định trong các phác đồ điều trị loét dạ dày, xuất huyết tiêu hóa, huyết niệu. Dạng bột dùng ngoài giúp chữa trĩ, nấm tóc và các vết thương nhiễm trùng [35].

Tại Nepal và Đông Nam Á, dược liệu này được dùng rộng rãi để làm thuốc trung tiện, lọc máu, trị bong gân, giun sán và chống dị ứng. Tại các nước Đông Nam Á, nghệ được coi là dược liệu có giá trị, giúp bổ dạ dày, trị vàng da, bệnh gan, rối loạn kinh nguyệt và làm tan cục máu đông. Ngoài ra, tính kháng khuẩn và kháng nấm của nghệ còn được ứng dụng để trị các bệnh nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm lợi, lao phổi và các bệnh ngoài da như ghẻ lở, phát ban [36, 37].

Tại Papua New Guinea, *C. longa* được dùng đơn giản nhưng hiệu quả để trị các chứng đau ngoài da, vết thâm tím và cảm sốt [38].

Điểm chung trong tất cả các nền y học cổ truyền là nghệ được sử dụng chủ yếu cho ba nhóm bệnh lý: rối loạn tiêu hóa và gan mật; viêm nhiễm và đau;

tổn thương ngoài da, tương ứng với các hoạt tính kháng viêm, chống oxy hóa và kháng khuẩn mà khoa học hiện đại đã xác nhận.

1.2.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

1.2.2.1. Lược sử nghiên cứu

Lịch sử nghiên cứu khoa học về *C. longa* trên thế giới bắt đầu từ thế kỷ 19 khi Vogel và Pelletier năm 1815 lần đầu tiên phân lập được phân đoạn vàng từ thân rễ nghệ và đặt tên là curcumin [39]. Hơn một thế kỷ sau, cấu trúc hóa học của curcumin (diferuloylmethane) mới được xác định chính xác, đặt nền tảng cho nghiên cứu hiện đại [40]. Năm 1985, Kuttan và cộng sự công bố nghiên cứu tiên phong về hoạt tính kháng ung thư của curcumin, mở đầu cho làn sóng các nghiên cứu dược lý kéo dài đến ngày nay [32, 33].

Các nghiên cứu hóa học thế kỷ 20 đã xác nhận rằng hoạt tính của nghệ không đến từ một đơn chất, mà là đóng góp của hệ phức hợp curcuminoid gồm ba dẫn xuất diarylheptanoid chính là CUR chiếm tỷ lệ chủ đạo (khoảng 77%), DMC chiếm khoảng 17%, thiếu một nhóm methoxy, BDMC chiếm khoảng 3-6%, thiếu cả hai nhóm methoxy cùng hệ tinh dầu hỗ trợ [41]. Tuy nhiên, phần lớn các công trình công bố từ trước đến nay chủ yếu tập trung đánh giá CUR. Trong khi đó, hai thành phần đồng hành là DMC và BDMC lại ít được khảo sát độc lập về cả hoạt tính sinh học lẫn tiềm năng làm nguyên liệu bán tổng hợp. Thiếu hụt dữ liệu chuyên sâu về DMC và BDMC chính là một khoảng trống khoa học quan trọng, qua đó định hình nên mục tiêu trọng tâm của luận án này.

1.2.2.2. Hoạt tính sinh học

Các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* trên thế giới đã xây dựng nên một bức tranh toàn diện về dược lý curcuminoid. Dưới đây tổng hợp các nhóm hoạt tính chính có liên quan trực tiếp đến nội dung nghiên cứu của luận án:

Hoạt tính kháng ung thư: curcuminoid thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư tự nhiên mạnh trên nhiều dòng tế bào (gan, đại trực tràng, vú, tụy, bàng quang) thông qua cơ chế đa đích gồm kích hoạt apoptosis (qua con đường caspase và Smad/Akt), ức chế tăng sinh tế bào (ức chế NF- κ B, cyclin D1), ức

chế tạo mạch máu mới (angiogenesis) và hỗ trợ ngăn chặn xâm lấn/di căn. Các thử nghiệm lâm sàng tại Mỹ và Đài Loan trên ung thư tụy, đại trực tràng và bàng quang đã cho thấy kết quả khả quan về độ an toàn và hiệu quả kìm hãm khối u [42]. Một xu hướng nổi bật trong những năm gần đây là việc tách biệt và so sánh hoạt tính của ba dẫn xuất này. Trong khi CUR thường xuyên bị hạn chế bởi độ ổn định kém, thì BDMC lại đang ghi nhận tiềm năng nhờ cấu trúc bền vững hơn và khả năng tương tác đặc thù với một số đích tác dụng mà CUR không có. Đáng chú ý, BDMC gần đây được ghi nhận có khả năng cảm ứng apoptosis chọn lọc trên một số dòng tế bào ung thư gan với hiệu lực tương đương hoặc cao hơn CUR [43, 44].

Hoạt tính kháng viêm qua con đường TLR4/MD-2: curcuminoid hỗ trợ ức chế phản ứng viêm thông qua nhiều cơ chế, trong đó được chú ý nhất là khả năng can thiệp vào con đường tín hiệu TLR4/MD-2 (Toll-like receptor 4/Myeloid differentiation factor 2). Bằng cách cạnh tranh vị trí gắn kết của lipopolysaccharide (LPS) trên phức hệ TLR4/MD-2, curcuminoid ngăn chặn việc kích hoạt dòng thác tín hiệu NF- κ B ngay từ đầu nguồn, dẫn đến giảm biểu hiện các cytokine tiền viêm (TNF- α , IL-1 β , IL-6) và enzyme gây viêm (iNOS, COX-2) [45]. Cơ chế này có ý nghĩa đặc biệt trong bối cảnh các bệnh viêm mãn tính và được khảo sát bằng mô phỏng docking phân tử.

Hoạt tính chống oxy hóa: với cấu trúc chứa hệ liên hợp β -diketone và nhóm -OH phenolic, curcuminoid hoạt động như chất quét gốc tự do hiệu quả (đặc biệt với gốc peroxy $\text{ROO}\cdot$ và hydroxyl $\text{HO}\cdot$) thông qua cơ chế chuyển nguyên tử hydrogen (HAT) [46, 47]. Hoạt tính chống oxy hóa phụ thuộc đáng kể vào cấu trúc, sự hiện diện hay vắng mặt của nhóm methoxy ảnh hưởng đến khả năng ổn định gốc phenoxyl sau khi nhường H, do đó CUR, DMC và BDMC có thể thể hiện hoạt tính chống oxy hóa khác nhau sẽ đánh giá qua thử nghiệm DPPH.

Hoạt tính kháng vi sinh vật: curcuminoid đã được chứng minh có phổ kháng khuẩn rộng trên nhiều chủng vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*, *B.*

subtilis) và Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*), cùng hoạt tính kháng nấm trên các chủng *Candida* và *Aspergillus* [29]. Ngoài ra, tiềm năng kháng virus (bao gồm HIV, HSV, influenza) cũng đã được ghi nhận trong một số nghiên cứu *in vitro*, mặc dù cơ chế chưa được làm rõ hoàn toàn và chưa có ứng dụng lâm sàng [47]. Cần lưu ý rằng phần lớn dữ liệu kháng vi sinh vật hiện có là từ CUR hoặc hỗn hợp curcuminoid; dữ liệu riêng biệt cho DMC và BDMC còn rất hạn chế.

1.2.2.3. Tổng hợp hóa học và bán tổng hợp

Bên cạnh chiết xuất từ nguồn tự nhiên, tổng hợp hóa học curcuminoid là hướng nghiên cứu quan trọng, đảm bảo nguồn nguyên liệu tinh khiết và ổn định cho các nghiên cứu dược lý và phát triển thuốc.

Tổng hợp toàn phần sử dụng phương pháp ngưng tụ aldol sử dụng phức chất Boron (do Pabon đề xuất năm 1964) hiện được coi là quy trình chuẩn mực nhất [48, 49]. Phức Boron giúp bảo vệ nhóm β -diketone, ngăn chặn các phản ứng phụ tại vị trí C-3, cho phép tổng hợp định hướng thành công cả 3 dẫn xuất CUR, DMC và BDMC với độ tinh khiết cao (>98%) [50]. Phương pháp này vẫn được coi là quy trình chuẩn trong các phòng thí nghiệm trên thế giới.

Bán tổng hợp và biến đổi cấu trúc nhằm khắc phục nhược điểm kém bền và khó tan của curcumin tự nhiên, các nhà hóa dược thế giới đã phát triển nhiều chiến lược biến đổi cấu trúc. Các hướng đi chính bao gồm: thay thế nhóm β -diketone kém bền bằng các dị vòng (pyrazole, isoxazole); tạo phức với ion kim loại chuyển tiếp (kẽm, đồng, ruthenium) hoặc ester hóa nhóm phenolic [51]. Các dẫn xuất bán tổng hợp này đã chứng minh hoạt tính hỗ trợ kháng ung thư và kháng viêm cao hơn đáng kể so với chất gốc [52, 53].

1.2.2.4 Ứng dụng công cụ tính toán

Sự phát triển của hóa tính toán đã mở ra hướng tiếp cận mới trong nghiên cứu curcuminoid. Các phương pháp mô phỏng docking phân tử cho phép dự đoán ái lực liên kết giữa curcuminoid với các đích phân tử (như TLR4/MD-2, COX-2, tubulin), trong khi mô phỏng động lực học phân tử (MD simulation)

đánh giá độ bền của phức hệ thuốc-protein đích theo thời gian [10]. Phương pháp tính toán cũng được ứng dụng để sàng lọc ứng viên trước khi tiến hành thực nghiệm tốn kém, và để giải thích cơ sở phân tử cho khác biệt hoạt tính giữa CUR, DMC và BDMC [10]. Phương pháp luận *in silico* được trình bày chi tiết trong mục sau.

Song song với giá trị dược lý, vấn đề bảo vệ nguồn gen *C. longa* cũng được quan tâm lớn. Tại các vùng trồng nghệ lớn (Ấn Độ, Thái Lan), tuyến trùng ký sinh thực vật (thuộc giống *Meloidogyne*, *Pratylenchus*) được xác định là tác nhân chính gây sần sùi, thối thân rễ và làm thay đổi nghiêm trọng thành phần hóa học thân rễ cây [54, 55]. Tuy nhiên, đa dạng loài tuyến trùng trên cây nghệ vẫn chưa được khám phá đầy đủ, đặt ra yêu cầu cần thiết về việc định danh và kiểm soát các loài dịch hại mới nổi này.

1.2.3. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam

Tại Việt Nam, nghệ vàng là một trong những dược liệu có truyền thống sử dụng lâu đời, được ghi nhận trong các tài liệu y học cổ truyền kết hợp hiện đại.

Kế thừa tri thức của Tuệ Tĩnh và Hải Thượng Lãn Ông, nhân dân ta đã sử dụng nghệ (Khương hoàng, Uất kim) nhuận nhuyển để trị đau dạ dày, làm lành vết thương và phục hồi sức khỏe phụ nữ sau sinh [31, 34].

Trong hai thập kỷ gần đây, nghiên cứu về curcuminoid tại Việt Nam đã đạt được những kết quả đáng ghi nhận. Về công nghệ bào chế, các nhóm nghiên cứu trong nước đã làm chủ quy trình chiết xuất curcuminoid quy mô công nghiệp và phát triển thành công các dạng bào chế công nghệ cao như nano curcumin, phytosome, giúp gia tăng giá trị ứng dụng của cây nghệ Việt và giải quyết bài toán về độ tan của hoạt chất [56]. Về phân tích hóa học, phương pháp định lượng đồng thời ba curcuminoid bằng HPLC đã được xây dựng và áp dụng cho kiểm nghiệm chất lượng nguyên liệu [11]. Về đánh giá hoạt tính, curcumin và dịch chiết nghệ Việt Nam đã được khảo sát trên một số mô hình *in vitro*, bao gồm hoạt tính kháng khuẩn và hoạt tính chống oxy hóa [5, 6].

Mặc dù đã đạt được nhiều tiến bộ, nhưng các nghiên cứu về curcuminoid tại Việt Nam hiện nay vẫn còn tồn tại một số hạn chế nhất định. Cụ thể, các công trình chủ yếu dừng lại ở quy mô chiết xuất thô hoặc tập trung vào CUR, trong khi việc ứng dụng kết hợp công cụ mô phỏng *in silico* để định hướng thiết kế dẫn xuất mới, cũng như đánh giá ảnh hưởng các yếu tố sinh học (như tuyến trùng) đến chất lượng nguồn gen nghệ vàng, vẫn chưa được quan tâm và giải quyết triệt để. Phần lớn các nghiên cứu sử dụng hỗn hợp curcuminoid hoặc CUR thương mại; chưa có công trình phân lập riêng biệt cả ba curcuminoid (CUR, DMC, BDMC) từ nghệ Việt Nam để đánh giá, so sánh hoạt tính trên cùng bộ thử nghiệm, chưa có nghiên cứu bán tổng hợp dẫn xuất curcumin nào được thực hiện trên nguồn nguyên liệu Việt Nam, đặc biệt là dẫn xuất lai hóa curcumin-zerumbone, chưa có dữ liệu kết hợp *in vitro* và *in silico* cho hệ curcuminoid Việt Nam và thành phần loài tuyến trùng ký sinh thân rễ nghệ vàng tại Việt Nam và đánh giá ảnh hưởng chúng đến chất lượng nguyên liệu cũng chưa được khảo sát.

1.2.4. Tuyến trùng ký sinh trên cây dược liệu và cây nghệ vàng

1.2.4.1. Tác hại của tuyến trùng ký sinh thực vật đối với cây dược liệu

Tuyến trùng ký sinh thực vật (Plant-parasitic nematodes) là một trong những nhóm dịch hại nguy hiểm nhất trong sản xuất nông nghiệp toàn cầu. Đối với nhóm cây dược liệu, tác động của tuyến trùng không chỉ dừng lại ở việc làm giảm năng suất sinh học (sinh khối) mà quan trọng hơn là làm suy giảm chất lượng dược liệu (hàm lượng hoạt chất) [57]. Đặc điểm chung của các nhóm tuyến trùng gây hại trên cây dược liệu bao gồm [58]:

Ký sinh bắt buộc, chúng sống trong đất hoặc trong mô thực vật, sử dụng kim hút (stylet) để chích hút dinh dưỡng từ tế bào thân rễ, làm cạn kiệt nguồn dự trữ của cây. Các chi phổ biến thường gặp bao gồm *Meloidogyne* (tuyến trùng sưng thân rễ), *Pratylenchus* (tuyến trùng tổn thương), *Rotylenchulus* (tuyến trùng thận) và *Scutellonema* (tuyến trùng xoắn). Chúng phát triển mạnh trong

điều kiện khí hậu nhiệt đới, đất tơi xốp và độ ẩm cao, những điều kiện trùng khớp với vùng sinh thái trồng trọt của nhiều loại cây thuốc quý, trong đó có nghệ.

1.2.4.2. Đa dạng thành phần loài và đặc điểm gây hại của tuyến trùng trên cây nghệ vàng

Cây nghệ vàng có bộ phận dùng chính là thân rễ nằm dưới mặt đất. Đặc điểm hình thái này khiến nghệ trở thành ký chủ rất nhạy cảm với các loài dịch hại thân rễ, điển hình là tuyến trùng. Các nhóm tuyến trùng chính gây hại trên nghệ được phân loại theo kiểu ký sinh như sau [54, 59]:

Nhóm nội ký sinh cố định (*Sedentary endoparasites*) với điển hình là chi *Meloidogyne*. Ấu trùng xâm nhập vào thân rễ, kích thích tế bào thân rễ phân chia bất thường tạo thành các u sưng (galls), làm tắc nghẽn hệ thống mạch dẫn, cản trở sự vận chuyển nước và muối khoáng.

Nhóm nội ký sinh di chuyển (*Migratory endoparasites*) điển hình là chi *Pratylenchus* và *Radopholus*. Chúng di chuyển tự do trong mô vỏ thân rễ và thân ngầm, phá hủy tế bào, tạo ra các vết thương hoại tử màu nâu đen, dẫn đến thối thân rễ.

Nhóm ngoại ký sinh (*Ectoparasites*) gồm các chi như *Scutellonema* và *Helicotylenchus*. Chúng không chui sâu vào trong thân rễ mà dùng kim hút tấn công từ bên ngoài lớp biểu bì, gây tổn thương đầu thân rễ, làm thân rễ kém phát triển, còi cọc.

1.2.4.3. Ảnh hưởng của tuyến trùng đến sinh lý và tích lũy hoạt chất

Tác hại của tuyến trùng đối với cây nghệ không chỉ là những tổn thương cơ học nhìn thấy bằng mắt thường, mà là những rối loạn sâu sắc trong quá trình trao đổi chất và tích lũy các chất chuyển hóa thứ cấp, cụ thể ở đây là hệ curcuminoid [60].

Rối loạn hấp thu dinh dưỡng và quang hợp hệ thân rễ bị tuyến trùng tấn công sẽ mất khả năng hấp thu nước và dinh dưỡng thiết yếu. Sự thiếu hụt

dẫn đến ức chế quá trình quang hợp, làm giảm nguồn carbon cần thiết để tổng hợp các hợp chất hữu cơ, từ đó làm giảm tổng lượng sinh khối và năng suất thân rễ [61].

Các vết thương do tuyến trùng (các loài có kim hút lớn như *Scutellonema* hay *Meloidogyne*) tạo ra những cửa ngõ mở, tạo điều kiện thuận lợi cho các nấm đất gây bệnh (như *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*) xâm nhập. Sự kết hợp giữa tuyến trùng và nấm bệnh thường gây ra hiện tượng thối thân rễ phức hợp, làm sụt giảm chất lượng nguyên liệu nhanh chóng và nghiêm trọng hơn nhiều so với khi cây chỉ nhiễm một loại dịch hại [62].

Về mặt sinh lý thực vật, tấn công của tuyến trùng gây ra stress sinh học (Biotic stress) [63]. Ở mức độ nhiễm nhẹ, cây có thể phản ứng bằng cách tăng nhẹ hàm lượng các chất phenolic (như một cơ chế tự vệ). Tuy nhiên, khi mật độ tuyến trùng cao (vượt ngưỡng gây hại), hệ thống phòng thủ của cây bị quá tải. Năng lượng và tài nguyên của cây bị chuyển hướng sang việc sửa chữa các mô bị tổn thương thay vì tổng hợp hoạt chất. Hậu quả là quá trình sinh tổng hợp các hợp chất curcuminoid bị ức chế, dẫn đến nguyên liệu thu hoạch có hàm lượng hoạt chất thấp, không đạt tiêu chuẩn để chiết xuất các curcuminoid [64].

Tóm lại, việc nghiên cứu tổng quan về tuyến trùng trên cây nghệ cho thấy đây là một yếu tố giới hạn quan trọng trong canh tác dược liệu. Kiểm soát tuyến trùng không chỉ là biện pháp bảo vệ năng suất nông học mà là yêu cầu bắt buộc để chuẩn hóa vùng nguyên liệu, đảm bảo thu được thân rễ nghệ có hàm lượng hoạt chất cao và ổn định, phục vụ cho các nghiên cứu hóa thực vật và bào chế sau này. Nghiên cứu tập trung vào cây nghệ vàng, khẳng định giá trị dược lý cốt lõi nằm ở hệ phức hợp curcuminoid với ba dẫn xuất song hành là CUR, DMC và BDMC. Phân tích cấu trúc hóa học chỉ ra dù CUR chiếm hàm lượng cao nhất, nhưng chính BDMC (không chứa nhóm methoxy) mới sở hữu độ bền nhiệt động và khả năng kháng thủy phân mạnh hơn, mở ra hướng tái

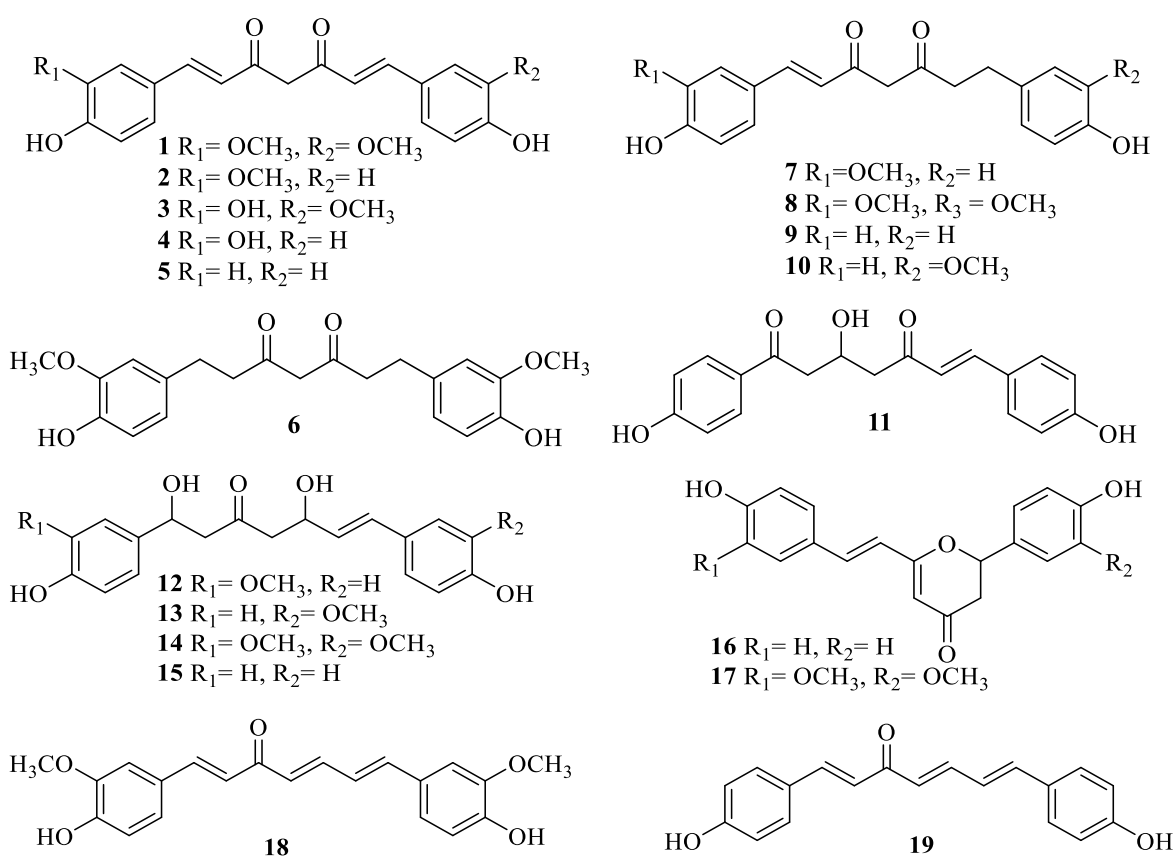
định vị vai trò của dẫn xuất này. Để khắc phục hạn chế về sinh khả dụng và tính đa đích, xu hướng nghiên cứu hiện đại chuyển dịch sang bán tổng hợp các dẫn xuất lai hóa (như kết hợp với zerumbone) và ứng dụng công cụ tính toán *in silico* (DFT, docking, MD) để dự báo cơ chế chống oxy hóa và kháng viêm ở cấp độ phân tử trước khi thực nghiệm.

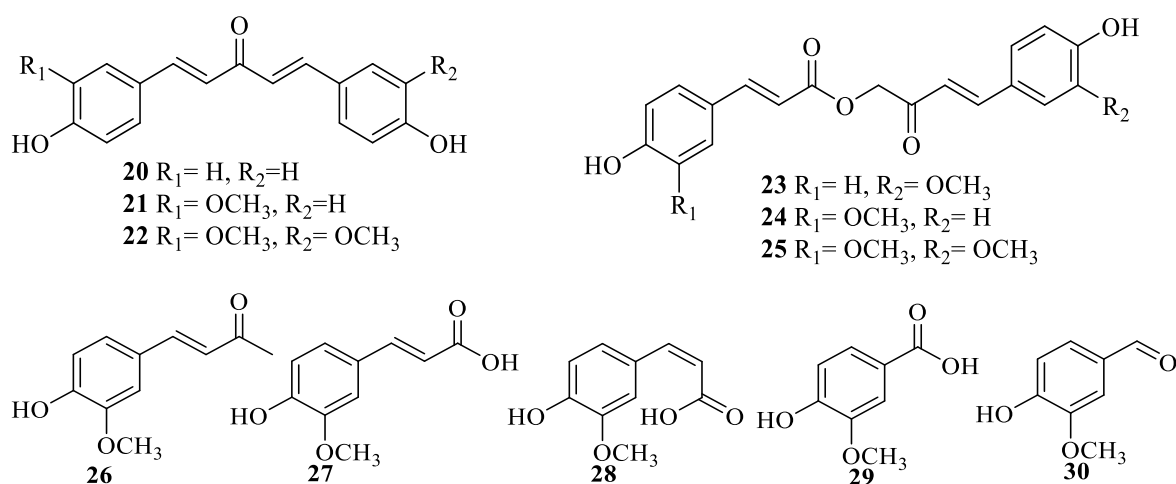
Tổng quan xác định tuyến trùng ký sinh là yếu tố sinh thái gây stress sinh học, làm suy giảm nghiêm trọng hàm lượng và chất lượng curcuminoid trong nguyên liệu. Đây chính là cơ sở thực tiễn để đề tài triển khai nghiên cứu toàn diện từ kiểm soát dịch hại, phân lập, bán tổng hợp đến giải mã cơ chế tác dụng nhằm phát triển sản phẩm chuyên biệt. Tổng quan tài liệu cho thấy giá trị dược lý của nghệ vàng nằm ở hệ phức hợp curcuminoid (CUR, DMC và BDMC). Trong đó, BDMC sở hữu độ bền nhiệt động, cấu trúc tinh thể chặt chẽ và khả năng kháng thủy phân mạnh hơn do cấu trúc không chứa nhóm thế methoxy. Để khắc phục hạn chế về sinh khả dụng của curcumin tự nhiên, chiến lược bán tổng hợp (lai hóa với zerumbone, ether hóa bằng gốc propargyl) kết hợp mô phỏng *in silico* (DFT, docking, MD) là hướng tiếp cận hiệu quả trong thiết kế phân tử thuốc. Đồng thời, các bằng chứng sinh thái cảnh báo đe dọa từ tuyến trùng ký sinh là tác nhân trực tiếp làm sụt giảm hàm lượng curcuminoid trên đồng ruộng. Những cơ sở lý luận này là tiền đề để luận án triển khai nghiên cứu toàn diện từ kiểm soát dịch hại, phân lập hoạt chất, bán tổng hợp dẫn xuất mới, đến giải mã cơ chế phân tử để phát triển và ứng dụng sau này.

1.2.5. Thành phần hóa học của thân rễ nghệ vàng

Trong số 110 loài thuộc chi Nghệ (*Curcuma* L.), mới chỉ có khoảng 20 loài được nghiên cứu về mặt hóa thực vật. *C. longa* là loài được nghiên cứu nhiều nhất về mặt hóa học trong chi *Curcuma*. Cho đến nay, hơn 235 hợp chất, chủ yếu là các hợp chất phenolic và terpenoid, đã được xác định, bao gồm các diarylheptanoid (trong đó có các chất thường được gọi là curcuminoid), diarylpentanoid, monoterpene, sesquiterpene, diterpene, triterpenoid, alkaloid, sterol, ...[65]. Tiêu biểu các hợp chất được thể hiện như Hình 1.2 và Bảng 1.1.

Diarylheptanoid và diarylpentanoid: Hơn 300 diarylheptanoid đã được báo cáo trong họ Gừng (Zingiberaceae) và một số họ không có quan hệ họ hàng gần. Các curcuminoid thuộc nhóm diarylheptanoid (hoặc diphenylheptanoid) có bộ khung aryl-C7-aryl (hợp chất **1** đến **19**). Những sắc tố màu vàng này thường được sử dụng làm chất tạo màu thực phẩm và chúng là các hợp chất có hoạt tính chính trong nghệ. Thành phần hóa học quan trọng nhất trong thân rễ nghệ là nhóm curcuminoid, chiếm hàm lượng khoảng 3-6% trọng lượng khô. Đây là hệ hợp chất polyphenolic bao gồm ba dẫn xuất chính tồn tại song hành: curcumin (**1**), demethoxycurcumin (**2**) và bisdemethoxycurcumin (**3**) [66]. Có ba diarylpentanoid (hoặc diphenylpentanoid) với chuỗi năm carbon nằm giữa hai nhóm phenyl (**20-22**). Phenylpropene và các hợp chất phenolic khác với sáu phenylpropene đơn phân (**23-28**), acid vanillic (**29**) và vanillin (**30**) đã được xác định trong *C. longa* [67, 68].





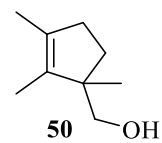
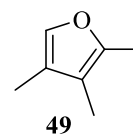
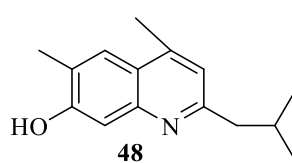
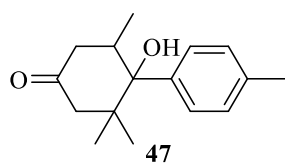
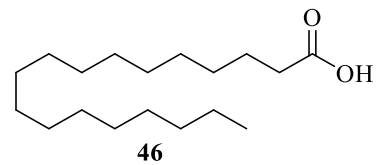
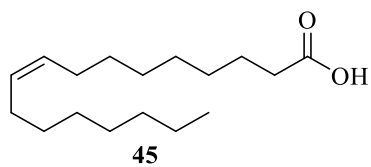
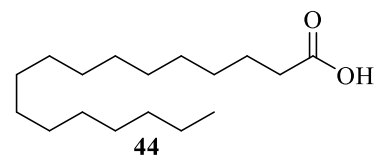
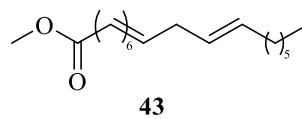
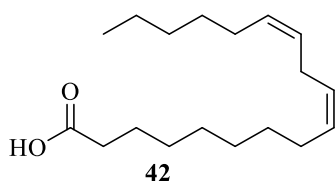
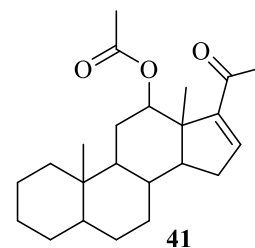
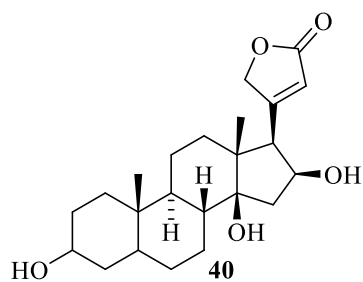
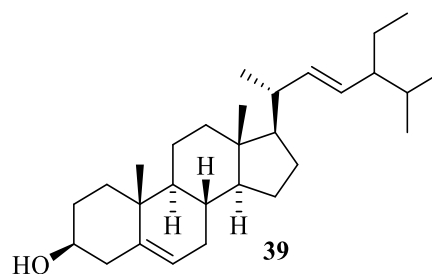
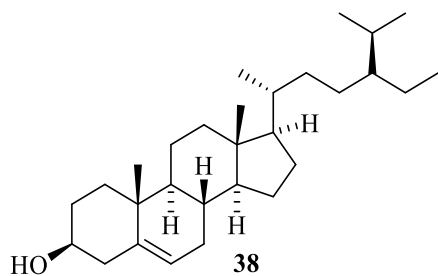
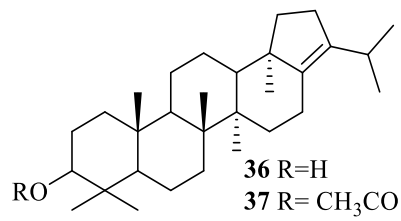
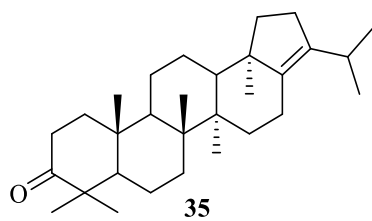
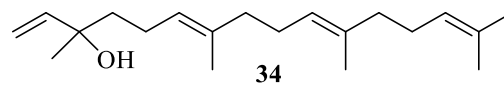
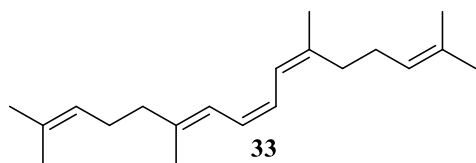
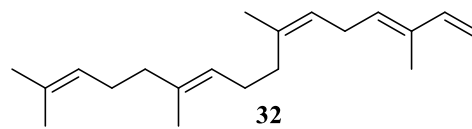
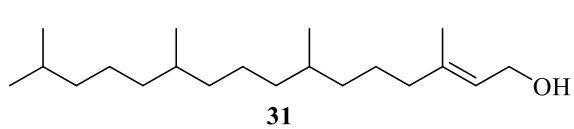
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ *C. longa*

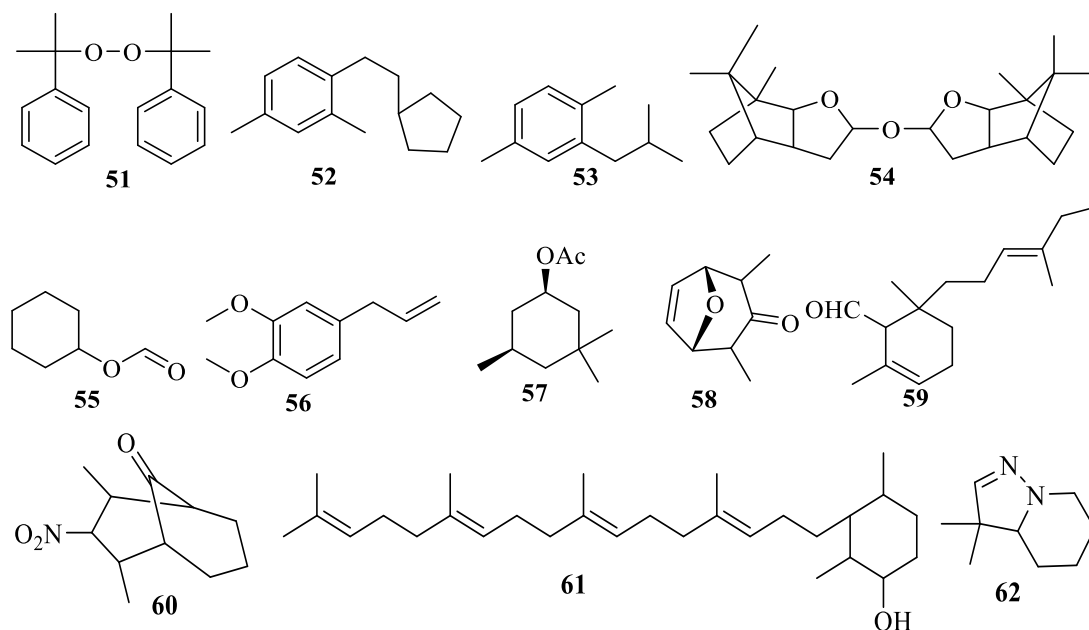
Bảng 1.1. Các hợp chất phân lập được từ *C. longa*

TT	Tên hợp chất	Nhóm chất
1	curcumin (CUR)	Diarylheptanoid
2	demethoxycurcumin (DMC)	Diarylheptanoid
3	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(3, 4-dihydroxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3, 5-dione	Diarylheptanoid
4	1-(4-hydroxyphenyl)-7-(3, 4-dihydroxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3, 5-dione	Diarylheptanoid
5	bisdemethoxycurcumin (BDMC)	Diarylheptanoid
6	tetrahydroxycurcumin	Diarylheptanoid
7	5-hydroxyl-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
8	5-hydroxyl-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
9	1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-1-heptene-3,5-dione	Diarylheptanoid
10	5-hydroxyl-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
11	3-hydroxy-1,7-bis-(4-hydroxyphenyl)-6-heptene-1,5-dione	Diarylheptanoid
12	1,5-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
13	1,5-dihydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid

14	1,5-dihydroxy-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
15	1,5-dihydroxy-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-4,6-heptadiene-3-one	Diarylheptanoid
16	1,5-epoxy-3-carbonyl-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)-4,6-heptadiene	Diarylheptanoid
17	cyclocurcumin	Diarylheptanoid
18	1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,4,6-heptatrien-3-one	Diarylheptanoid
19	1,7-bis-(4-hydroxyphenyl)-1,4,6-heptatrien-3-one	Diarylheptanoid
20	1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-penta-(1E,4E)-1,4-dien-3-one	Diarylheptanoid
21	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(4-hydroxyphenyl)-1,4-pentadiene-3-one	Diarylheptanoid
22	1,5-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-penta-(1E,4E)-1,4-dien-3-one	Diarylheptanoid
23	4-(4'-hydroxyphenyl)-2-oxo-3-butenyl-3-(4'-hydroxyphenyl-3'-methoxy)-propenoate	Phenylpropene
24	4-(4'-hydroxyphenyl-3-methoxy)-2-oxo-3-butenyl-3-(4'-hydroxyphenyl)-propenoate	Phenylpropene
25	calebin-A	Phenylpropene
26	(E)-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)but-3-en-2-one	Phenylpropene
27	(E)-ferulic acid	Phenylpropene
28	(Z)-ferulic acid	Phenylpropene
29	vanillic acid	Phenolic
30	vanillin	Phenolic

Cho đến nay, ít nhất 185 hợp chất terpene đã được phân lập hoặc phát hiện từ lá, hoa, rễ và thân rễ của *C. longa*, bao gồm gần 70 monoterpene, 110 sesquiterpene, 09 diterpene và 06 triterpenoid. Ngoài ra, 04 steroid 05 acid béo mạch dài và 16 hợp chất khác đã được xác định từ *C. longa* [65]. Các hợp chất khác được thể hiện như Hình 1.3 và Bảng 1.2.





Hình 1.3. Cấu trúc hóa học các hợp chất khác phân lập được từ *C. longa*

Bảng 1.2. Các hợp chất khác phân lập được từ *C. longa*

TT	Tên hợp chất
31	phytol
32	(E,E,E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-1,3,6,10,14-pentaene
33	2,6,11,15-tetramethyl-hexadeca-2,6,8,10,14-pentaene
34	1,6,10,14-hexadecatetraen-3-ol,3,7,11,15-tetramethyl-, (E,E)-
35	hopenone I
36	hop-17(21)-en-3-ol
37	hop-17(21)-en-3-yl acetate
38	β -sitosterol
39	stigmasterol
40	gitoxygenin
41	20-oxopregn-16-en-12-yl acetate
42	linoleic acid
43	8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester
44	palmitic acid (n-hexadecanoic acid)
45	oleic acid
46	stearic acid
47	curcuma-J
48	2-(2'-methyl-1'-propenyl)-4, 6-dimethyl-7-hydroxyquinoline
49	2,3,5-trimethylfuran

50	(1,2,3-trimethyl-cyclopent-2-enyl)-methanol
51	dicumyl peroxide
52	1-(3-cyclopentylpropyl)-2,4-dimethyl-benzene
53	1,4-dimethyl-2-(2-methylpropyl)-benzene
54	2,2'-oxybis[octahydro-7,8,8-trimethyl-4,7-methanobenzofuran]
55	cyclohexyl formate
56	methyleugenol
57	3,3,5-trimethyl-cyclohexanol acetate
58	2,4-dimethyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one
59	2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-2-cyclohexene-1-carboxaldehyde
60	bicyclo[3.3.1]nonan-9-one, 2,4-dimethyl-3-nitro- (exo)-
61	2,2,4-trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol
62	pyrazolo[1,5-a]pyridine, 3,3a,4,7-tetrahydro-3,3-dimethyl-, (3aS)

1.2.6. Hoạt tính sinh học

Hệ phức hợp curcuminoid trong *C. longa* được xem là một nhóm các hợp chất đa đích, có khả năng điều hòa hàng loạt con đường tín hiệu tế bào. Các nghiên cứu hiện đại đã hệ thống hóa các kinh nghiệm sử dụng trong dân gian thành các bằng chứng khoa học, trong đó nổi bật nhất là trực tác dụng gồm chống oxy hóa - kháng viêm - bảo vệ tế bào.

1.2.6.1. Hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm

Đây là hai hoạt tính sinh học cốt lõi, chi phối hầu hết các tác dụng dược lý khác của nghệ và là tiền đề cho các nghiên cứu mô phỏng phân tử (*in silico*) trong luận án này.

Curcuminoid thể hiện khả năng ức chế mạnh mẽ các chất trung gian gây viêm. Ở cấp độ phân tử, các dẫn xuất của nghệ (CUR, DMC và BDMC) hoạt động bằng cách ngăn chặn sự kích hoạt của yếu tố nhân NF- κ B, một yếu tố phiên mã đóng vai trò công tắc khởi động yếu tố phiên mã trung tâm trong việc khởi phát đáp ứng viêm [69]. Quá trình này giúp làm giảm biểu hiện của các enzyme gây viêm như COX-2, LOX và các cytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6) [70].

Các nghiên cứu gần đây còn gợi ý khả năng tương tác của curcuminoid với thụ thể TLR4, mở ra hướng tiếp cận mới trong việc kiểm soát các bệnh lý viêm mãn tính ngay từ giai đoạn khởi phát tín hiệu [71].

Với hệ liên hợp β -diketon và nhóm phenol hydroxyl là yếu tố quyết định khả năng quét gốc tự do, curcuminoid đóng vai trò là chất quét gốc tự do (ROS scavenging) hiệu quả, các gốc nguy hiểm như peroxy và hydroxyl [72]. Bên cạnh việc trung hòa trực tiếp, hoạt chất này còn kích thích hệ thống enzyme bảo vệ nội sinh (như superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), giúp bảo vệ cấu trúc DNA và màng tế bào khỏi tổn thương do stress oxy hóa [73].

1.2.6.2. Tác dụng trên hệ tiêu hóa và gan mật

Kế thừa tri thức y học cổ truyền, các nghiên cứu dược lý hiện đại đã xác nhận vai trò bảo vệ của nghệ đối với hệ tiêu hóa và gan mật.

Curcumin có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày thông qua việc tăng bài tiết chất nhầy (mucin) và bicarbonate, đồng thời ức chế sự bám dính của vi khuẩn *Helicobacter pylori* [74]. Đối với các bệnh lý viêm ruột (IBD) và hội chứng ruột kích thích (IBS), hoạt chất giúp cải thiện đáng kể các triệu chứng đau, đầy hơi và điều hòa nhu động ruột nhờ cơ chế chống co thắt và kháng viêm tại chỗ [75].

Curcuminoid thể hiện khả năng giải độc và bảo vệ tế bào gan trước các tác nhân gây hoại tử như paracetamol, hóa chất độc hại và aflatoxin [76]. Tác dụng lợi mật giúp tăng bài tiết muối mật, giảm nồng độ cholesterol, hỗ trợ ngăn ngừa sỏi mật và cải thiện chức năng gan trong các trường hợp gan nhiễm mỡ hay xơ gan [77].

1.2.6.3. Tác dụng trên hệ chuyển hóa và tim mạch

Trong bối cảnh các bệnh rối loạn chuyển hóa ngày càng gia tăng, curcuminoid nổi lên như một tác nhân điều hòa đa năng. Hoạt chất giúp cải thiện độ nhạy của insulin và ức chế enzyme α -amylase tụy, từ đó kiểm soát hiệu quả mức đường huyết sau ăn [78, 79].

Thông qua việc cải thiện các chỉ số lipid máu (giảm LDL, tăng HDL) và ngăn chặn peroxid hóa lipid, curcuminoid giúp giảm thiểu nguy cơ xơ vữa động mạch. Ngoài ra, khả năng ức chế ngưng tập tiểu cầu góp phần quan trọng trong việc phòng ngừa huyết khối và các biến cố tim mạch [80].

1.2.6.4. Hoạt tính kháng vi sinh vật và cơ chế phòng vệ

Bên cạnh tác dụng trên cơ thể người, *C. longa* còn sở hữu một hàng rào hóa học mạnh để chống lại các tác nhân gây bệnh từ môi trường. Dịch chiết nghệ thể hiện phổ ức chế rộng trên nhiều chủng vi khuẩn Gram dương, Gram âm và các chủng nấm gây bệnh da liễu (*Trichophyton*, *Microsporum*) [81, 82].

Một đặc tính quý của curcumin là khả năng ức chế bơm P-glycoprotein, giúp tái lập độ nhạy cảm của các tế bào vi khuẩn hoặc ung thư đã kháng thuốc, nâng cao hiệu quả của các liệu pháp điều trị phối hợp [83]. Sự đa dạng các đặc tính này gợi ý vai trò của hoạt chất thứ cấp trong cơ chế phòng vệ hóa học của cây nghệ vàng đối với tác nhân gây hại sinh học.

1.2.6.5. Các tác dụng khác và tính an toàn

Ngoài các nhóm tác dụng chính nêu trên, curcuminoid còn cho thấy tiềm năng trong việc bảo vệ hệ thần kinh (chống trầm cảm, ngăn ngừa thoái hóa thần kinh), hỗ trợ điều trị các bệnh lý hô hấp (hen suyễn, COPD) và an toàn khi sử dụng lâu dài [84, 85]. Nhiều nghiên cứu tiền lâm sàng cho thấy *C. longa* có độ an toàn cao, ít có nguy cơ gây độc tính di truyền, tạo cơ sở thuận lợi cho việc phát triển các chế phẩm bảo vệ sức khỏe [86, 87].

1.2.6.6. So sánh hoạt tính giữa ba dạng curcuminoid và định hướng nghiên cứu

Mặc dù hỗn hợp curcuminoid tự nhiên đã được ứng dụng rộng rãi nhờ phổ tác dụng dược lý đa dạng, các nghiên cứu *in vitro* chuyên sâu trên thế giới hiện nay nhấn mạnh tầm quan trọng của việc đánh giá độc lập hoạt tính từng thành phần CUR, DMC và BDMC. Sự hiện diện hay vắng mặt của các nhóm methoxy (-OCH₃) trên vòng aryl ảnh hưởng quyết định đến hoạt lực sinh học của từng hợp chất. Đa số các công bố *in vitro* chỉ ra rằng, trong các thử nghiệm quét gốc tự do (chống oxy hóa), CUR thường thể hiện hoạt tính

mạnh nhất. Điều này được giải thích là do hiệu ứng đẩy electron (+I, +M) của nhóm methoxy ở vị trí ortho so với nhóm hydroxyl phenol, làm tăng mật độ electron trên nguyên tử oxy và qua đó tăng cường khả năng cho nguyên tử hydro [85-87].

Tuy nhiên, đối với hoạt tính kháng viêm và gây độc tế bào ung thư (cytotoxic), hiệu quả của ba dạng curcuminoid biến thiên đáng kể và không đồng nhất, phụ thuộc vào từng dòng tế bào đích. Một số nghiên cứu *in vitro* cho thấy BDMC, dù có khả năng chống oxy hóa kém hơn CUR, lại thể hiện sự ổn định hóa học cao hơn trong môi trường sinh lý và đôi khi cho tác dụng ức chế biểu hiện các enzyme viêm (như COX-2, iNOS) hoặc ức chế sự tăng sinh của một số dòng tế bào ung thư vượt trội hơn so với CUR [70, 71]. Khác biệt về phổ hoạt tính *in vitro* này đặt ra yêu cầu cấp thiết phải phân lập, tinh chế riêng biệt ba dạng curcuminoid để làm sáng tỏ cơ chế tác dụng ở cấp phân tử, từ đó cung cấp tiền đề vững chắc cho việc lựa chọn bộ khung cấu trúc phù hợp nhất trong định hướng bán tổng hợp các dẫn xuất mới có dược tính mạnh hơn.

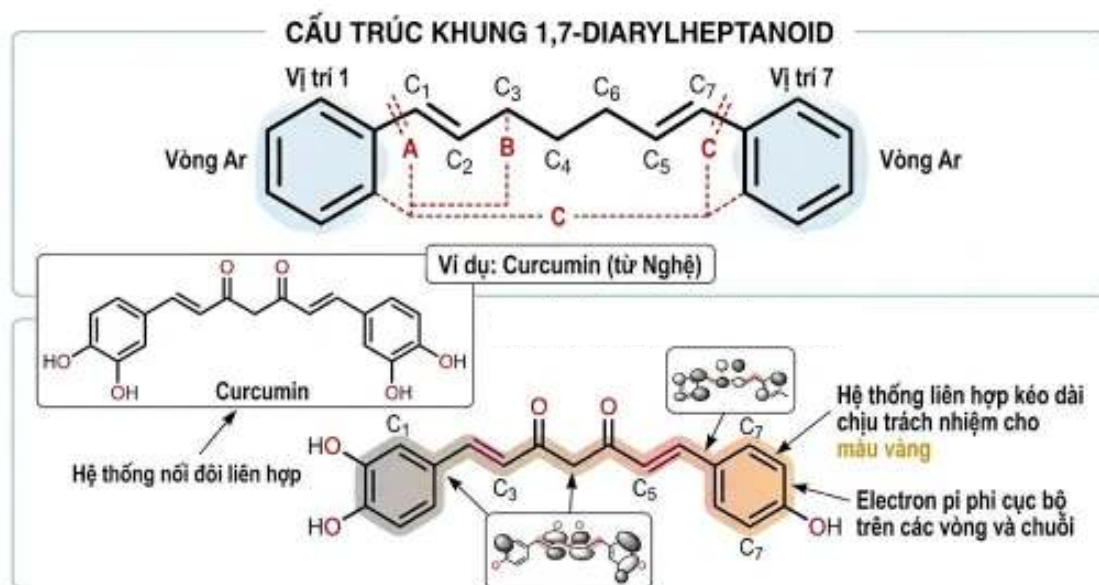
1.3. Cấu trúc hóa học và tính chất lý hóa của hệ curcuminoid

Khác với các nghiên cứu định lượng thông thường tập trung vào tỷ lệ phân bố, việc nghiên cứu sâu bản chất hóa học và các đặc trưng lý hóa của hệ curcuminoid đóng vai trò tiên quyết trong việc giải thích cơ chế dược lý và độ bền của chúng. Hệ curcuminoid không đơn thuần là một hỗn hợp các chất màu, mà là một tập hợp các dẫn xuất diarylheptanoid có cấu trúc tương đồng nhưng sở hữu những khác biệt tinh tế về mặt điện tử và không gian, quyết định trực tiếp đến khả năng phản ứng và ái lực sinh học của từng thành phần.

1.3.1. Đặc điểm cấu trúc phân tử và hiệu ứng nhóm thế

Về mặt cấu trúc nền tảng, cả ba dẫn xuất chính (CUR, DMC và BDMC) đều được xây dựng trên khung 1,7-diarylheptanoid. Cấu trúc này bao gồm hai vòng thơm (aryl) ở hai đầu, được kết nối bởi một chuỗi mạch thẳng 7 carbon (heptane). Điểm đặc trưng của chuỗi mạch này là sự hiện diện của hệ liên hợp α,β -diketone không bão hòa (hệ heptadiene-3,5-dione). Đây chính là trung tâm

phản ứng chịu trách nhiệm cho các tính chất quang học (màu vàng) và khả năng bắt gốc tự do của phân tử (Hình 1.4).



Hình 1.4. Cấu trúc khung 1,7-diarylheptanoid và hệ liên hợp mang màu đặc trưng

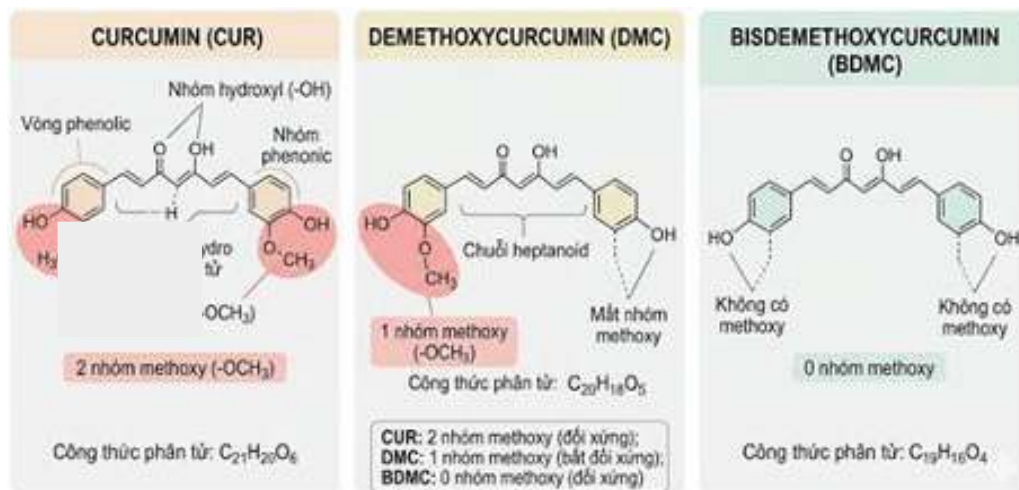
Tuy nhiên, sự phân hóa về tính chất lý hóa giữa ba dẫn xuất này từ sự có mặt các nhóm thế trên vòng thơm, cụ thể là nhóm methoxy ($-\text{OCH}_3$) tại vị trí *ortho* so với nhóm hydroxyl ($-\text{OH}$) phenolic (Hình 1.5).

CUR sở hữu cấu trúc đối xứng tâm với hai nhóm methoxy trên cả hai vòng thơm. Nhóm methoxy là nhóm đẩy electron mạnh (+I, +M), làm tăng mật độ điện tử vòng benzene và nguyên tử oxy của nhóm hydroxyl phenolic. Về mặt lý thuyết, điều này làm giảm năng lượng phân ly liên kết O-H, thuận lợi cho cơ chế tách hydro trong phản ứng chống oxy hóa, nhưng đồng thời cũng làm tăng độ công kênh không gian và tính kỵ nước của phân tử.

DMC là dạng cấu trúc bất đối xứng, lai giữa tính chất của CUR và BDMC khi chỉ còn giữ lại một nhóm methoxy trên một vòng thơm. Sự mất đối xứng này tạo ra sự phân bố điện tích không đồng đều trên hai đầu phân tử, ảnh hưởng đến moment lưỡng cực và khả năng tương tác với các thụ thể sinh học.

BDMC là dẫn xuất có cấu trúc tinh giản nhất, hoàn toàn không chứa nhóm methoxy trên cả hai vòng thơm. Sự vắng mặt của nhóm thế đẩy electron này dẫn đến hai hệ quả quan trọng: Thứ nhất, mật độ điện tử trên vòng thơm thấp hơn so với CUR, làm thay đổi ái lực phản ứng với các tác

nhân oxy hóa. Thứ hai, và quan trọng hơn, cấu trúc trở nên gọn gàng hơn, giảm thiểu các tương tác đẩy không gian, cho phép các phân tử BDMC xếp chồng chặt chẽ hơn trong trạng thái rắn.



Hình 1.5. So sánh cấu trúc hóa học và sự phân bố nhóm thế methoxy của ba dẫn xuất chính: CUR, DMC và BDMC

Trong nhiều tài liệu nghiên cứu quốc tế, ba thành phần chính của hệ curcuminoid thường được ký hiệu lần lượt là Curcumin I, Curcumin II và Curcumin III. Tuy nhiên, để đảm bảo tính thống nhất, chính xác về danh pháp hóa học và giúp người đọc dễ theo dõi, trong toàn bộ luận án này, tác giả thống nhất sử dụng hệ thống ký hiệu viết tắt tương đương là CUR (Curcumin, tương đương Curcumin I), DMC (Demethoxycurcumin, tương đương Curcumin II) và BDMC (Bisdemethoxycurcumin, tương đương Curcumin III).

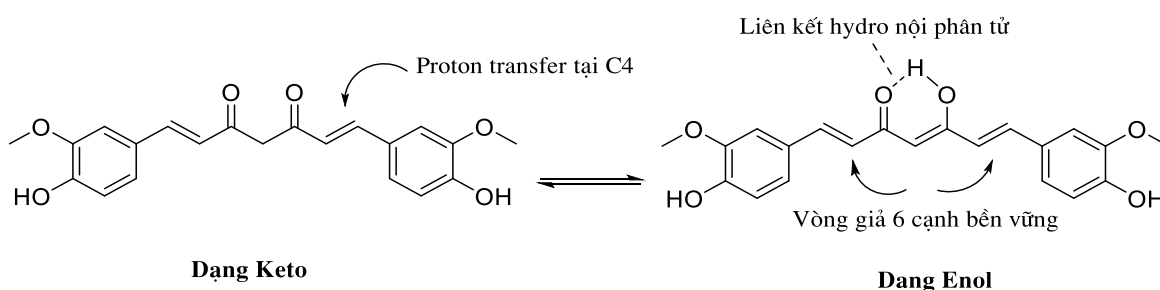
1.3.2. Cân bằng hồ biến và tính chất điện tử

Một đặc tính hóa lý trung tâm chi phối khả năng phản ứng của hệ curcuminoid là sự tồn tại của cân bằng hồ biến (tautomerism) giữa dạng keto và dạng enol (Hình 1.6). Do hiện diện của nhóm methylene (-CH₂-) linh động nằm giữa hai nhóm carbonyl, proton tại vị trí C4 có thể dễ dàng di chuyển để tạo thành hệ liên hợp mới [88, 89].

Các nghiên cứu tinh thể học và phổ học đã chỉ ra rằng, trong pha rắn và trong dung dịch dung môi hữu cơ không phân cực, các curcuminoid tồn tại chủ yếu ở dạng enol. Nguyên nhân là do dạng enol được bền hóa bởi một liên kết

hydro nội phân tử vững chắc giữa nhóm -OH enolic và nguyên tử oxy của nhóm carbonyl còn lại, tạo thành một vòng giả 6 cạnh bền vững. Cấu trúc này tạo nên một hệ electron π liên hợp phẳng trải dài toàn bộ phân tử, là cơ sở cho các đỉnh hấp thụ UV-Vis đặc trưng [90, 91].

Tuy nhiên, sự hiện diện của nhóm methoxy ảnh hưởng đáng kể đến hằng số cân bằng của quá trình này. Ở BDMC, do thiếu hiệu ứng đẩy electron từ nhóm methoxy vào hệ liên hợp, khả năng bền hóa dạng enol bị suy giảm so với CUR. Hệ quả là BDMC có xu hướng duy trì cấu trúc dạng keto hoặc có tỷ lệ dạng enol thấp hơn trong một số môi trường dung môi nhất định. Điều này mang ý nghĩa được lý quan trọng vì dạng keto thường trơ hơn về mặt hóa học đối với các phản ứng oxy hóa cắt mạch, góp phần giải thích cho tính ổn định mạnh hơn của dẫn xuất này [92, 93].



Hình 1.6. Cân bằng hồ biến keto-enol và cơ chế bền hóa dạng enol thông qua liên kết hydro nội phân tử

1.3.3. Nhiệt động học và độ bền cấu trúc

Phân tích các thông số nhiệt động học cung cấp bằng chứng thuyết phục về sự khác biệt trong độ bền cấu trúc giữa các dẫn xuất, đặc biệt là sự bền hơn của BDMC.

Năng lượng mạng lưới tinh thể và nhiệt độ nóng chảy: một chỉ số vật lý phản ánh độ bền của liên kết giữa các phân tử là nhiệt độ nóng chảy. Dữ liệu thực nghiệm cho thấy một sự nhảy vọt về giá trị này: trong khi CUR và DMC có điểm nóng chảy lần lượt là 184 °C và 172 °C, thì BDMC đạt mức cao mạnh hơn lên tới 222 °C [94, 95]. Chênh lệch nhiệt độ lớn này (khoảng 40-50 °C) không phải là ngẫu nhiên, mà phản ánh năng lượng mạng lưới tinh

thể lớn hơn của BDMC. Cấu trúc không có nhóm methoxy giúp BDMC giảm thiểu cản trở lập thể, cho phép các phân tử đóng gói chặt chẽ hơn, tạo ra nhiều tương tác Van der Waals và liên kết hydro liên phân tử hơn, từ đó tạo nên một trạng thái rắn cực kỳ bền vững.

Độ bền hóa học và kháng thủy phân, hệ khung β -diketone của curcuminoid vốn rất nhạy cảm với môi trường kiềm và các tác nhân oxy hóa. Dưới tác dụng của pH kiềm ($\text{pH} > 7,0$), proton tại vị trí C4 (có tính acid yếu) dễ dàng bị tách ra, dẫn đến sự phân hủy phân tử thông qua phản ứng cắt mạch retro-aldol, tạo thành các sản phẩm như ferulic acid, vanillin và feruloylmethane, làm mất màu và mất hoạt tính dược lý [96, 97]. Tuy nhiên, các nghiên cứu so sánh độ bền đã xác lập một trật tự độ bền như sau: BDMC > DMC > CUR [98].

Trong môi trường kiềm mạnh hoặc tác nhân oxy hóa mạnh, sắc ký đồ của CUR thường xuất hiện dày đặc các đỉnh phụ của sản phẩm phân hủy [99]. Ngược lại, BDMC thể hiện sức đề kháng hóa học tốt hơn, bảo toàn được peak sắc ký chính với diện tích lớn hơn và ít tạp chất hơn [100]. Về độ bền quang hóa, BDMC cũng ít nhạy cảm hơn với bức xạ UV, hạn chế được quá trình quang oxy hóa tạo thành các gốc tự do phá hủy cấu trúc thuốc [101].

Tóm lại, mặc dù CUR là thành phần chính và có hoạt tính mạnh, nhưng chính sự phức tạp của các nhóm thế methoxy làm giảm độ bền của CUR. Ngược lại, BDMC với cấu trúc tối giản lại sở hữu những đặc tính lý hóa ưu việt, năng lượng liên kết cao, cấu trúc tinh thể bền vững và khả năng kháng lại các phản ứng phân hủy, biến BDMC trở thành hoạt chất tiềm năng cho việc phát triển các chế phẩm dược liệu đòi hỏi độ ổn định cao và thời gian bảo quản dài hạn.

1.4. Bán tổng hợp dẫn xuất curcuminoid

Bán tổng hợp (semi-synthesis) là chiến lược sử dụng curcumin tự nhiên, thành phần chiếm 70-80% tổng curcuminoid, dễ phân lập với giá thành thấp làm nguyên liệu đầu, thực hiện các biến đổi hóa học có chọn lọc nhằm khắc

phục các yếu điểm cấu trúc đã phân tích trong mục 1.3. Hai vùng mục tiêu chính trên phân tử curcumin bao gồm hệ β -diketone trung tâm (kém bền hóa học, bị cắt mạch retro-aldol và bị khử bởi enzyme pha I) và nhóm -OH phenolic trên vòng thơm (bị liên hợp nhanh bởi enzyme pha II) [52, 102]. Dưới đây tổng quan các chiến lược chính đã được công bố trong tài liệu.

1.4.1. Tổng hợp toàn phần để chủ động nguồn nguyên liệu

Trong nghiên cứu dược liệu, việc phân lập các đơn chất tinh khiết (gồm cả BDMC) thường tốn kém và hiệu suất thấp. Tổng hợp toàn phần đóng vai trò then chốt trong việc cung cấp nguồn nguyên liệu chuẩn và cho phép tiếp cận các dẫn xuất curcuminoid không đối xứng mà tự nhiên hiếm khi tổng hợp được [103, 104].

Phương pháp ngưng tụ Aldol của Pabon sử dụng boron trioxide (B_2O_3) để tạo phức với acetylacetone. Việc tạo phức này đóng vai trò bảo vệ vị trí carbon trung tâm (C4), giúp phản ứng ngưng tụ chỉ xảy ra tại hai nhóm methyl ở đầu mạch, từ đó tạo ra khung curcuminoid với độ tinh khiết cao (>98%) [105]. Đây là cơ sở quan trọng để các nhà nghiên cứu so sánh hoạt tính đối chứng giữa chất tự nhiên và chất tổng hợp.

1.4.2. Chiến lược bán tổng hợp và biến đổi cấu trúc

Bán tổng hợp tận dụng nguồn curcumin tự nhiên sẵn có, chi phí thấp để thực hiện các biến đổi hóa học nhắm vào hai vùng cấu trúc yếu điểm của phân tử.

a) Chiến lược bền hóa hệ β -diketone bằng dị vòng hóa

Hệ liên hợp 1,3- β -diketone ở trung tâm phân tử là vùng kém bền nhất (dễ bị cắt mạch retro-aldol ở pH kiềm) và đồng thời là vị trí chuyển hóa chính (bị khử thành tetrahydro- hoặc hexahydrocurcumin). Một hướng đi phổ biến là chuyển hóa nhóm này thành các dị vòng bền vững hơn như pyrazole hoặc isoxazole. Phản ứng của curcumin với hydrazine (hoặc các dẫn xuất thế arylhydrazine) tạo dị vòng pyrazole hoặc isoxazole bền nhiệt động, hoàn toàn kháng lại retro-aldol và khử hóa enzyme. Các dẫn xuất curcumin-pyrazole hoặc curcumin-isoxazole đã được chứng minh duy trì hoặc tăng cường ái lực với vi

ống tubulin, bền với retro-aldol, kháng lại khử hóa enzyme, và trong nhiều trường hợp duy trì hoặc tăng cường ái lực với các đích sinh học như tubulin và COX-2. Các dẫn xuất dị vòng này (ví dụ: curcumin-pyrazole) được chứng minh đã tổng hợp các dẫn xuất indole lấy cảm hứng từ curcumin và chứng minh hoạt tính ức chế sự trùng hợp tubulin trên nhiều dòng tế bào ung thư [52, 102].

Phức hợp difluoroboron được tạo phức hệ β -diketone với BF_2 cho các phức chất có tính chất quang học đặc biệt (huỳnh quang mạnh) và độ ổn định tăng. Alsalam và cộng sự (2026) đã tổng hợp và đánh giá *in silico* các phức difluoroboron curcumin analogue, thể hiện tiềm năng ức chế dòng tế bào leukemia K562 [96, 97].

Hạn chế chung của chiến lược biến đổi β -diketone là loại bỏ hoàn toàn hệ keto-enol, đồng nghĩa mất khả năng chelate ion kim loại và một số tương tác liên kết hydrogen nội phân tử, các đặc tính có vai trò trong cơ chế chống oxy hóa của curcumin [41]. Do đó, các dẫn xuất thu được thực chất là các pharmacophore mới cần đánh giá hoạt tính riêng biệt.

b) Biến đổi nhóm -OH phenolic

Hai nhóm -OH phenolic là đích tấn công chính của enzyme chuyển hóa pha II (glucuronid hóa, sulfat hóa) tại thành ruột và gan, gây đào thải nhanh curcumin [1, 2]. Chiến lược che chắn các nhóm -OH vừa bảo vệ phân tử khỏi liên hợp pha II, vừa bảo tồn nguyên vẹn hệ β -diketone. Tùy thuộc vào bản chất liên kết hóa học, chiến lược này chia thành hai nhánh có bản chất được động học khác nhau.

Ester hóa - Chiến lược tiền thuốc (prodrug): phản ứng ester hóa tạo liên kết ester ($\text{C}-\text{O}-\text{C}=\text{O}$) giữa nhóm -OH phenolic với acid hữu cơ. Liên kết ester bị thủy phân bởi esterase nội sinh (carboxylesterase, paraoxonase), giải phóng curcumin tự do, đây là nguyên lý cốt lõi của chiến lược prodrug [106, 107]. Srivastava và cộng sự (2016) đã tổng hợp dẫn xuất ester curcumin-NSAID (liên hợp với ibuprofen, naproxen) và xác nhận cấu trúc bằng phổ nghiệm kết hợp phân tích DFT [106, 107]. Parvathy (2009) phát

triển hướng ester hóa với acid amin (glycine, alanine), tạo dẫn xuất có độ tan trong nước cải thiện nhờ nhóm amin có thể proton hóa ở pH acid [96]. Ưu điểm của chiến lược ester hóa là khả năng giải phóng đúng hoạt chất gốc (curcumin). Hạn chế chính là liên kết ester có thể bị thủy phân sớm tại dạ dày hoặc huyết tương trước khi đến mô đích [106, 107].

Ether hóa - Tạo thực thể hóa học mới: phản ứng ether hóa (thường qua phản ứng Williamson với alkyl halide trong điều kiện bazơ) tạo liên kết ether (C-O-C). Khác biệt căn bản với ester hóa, liên kết ether rất bền trong điều kiện sinh lý và không bị thủy phân bởi enzyme nội sinh phổ biến. Do đó, các dẫn xuất ether curcumin không phải là tiền thuốc (prodrug), không giải phóng curcumin tự do *in vivo* mà là các thực thể hóa học mới (new chemical entities, NCE) với hoạt tính sinh học riêng biệt cần được đánh giá độc lập [106, 107]. Ưu điểm của ether hóa bao gồm: che chắn hoàn toàn nhóm -OH khỏi enzyme pha II; tăng tính thân dầu (lipophilicity); độ ổn định hóa học cao [106, 107]. Trong số các nhóm alkyl được nghiên cứu (methyl, benzyl, allyl, propargyl...), gốc propargyl ($-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$) nhận được sự chú ý nhờ chứa liên kết ba alkyne đầu mạch (terminal alkyne), tiền chất cho phản ứng click chemistry (azide-alkyne cycloaddition, CuAAC), một công cụ ghép nối hiệu quả trong hóa sinh hiện đại. Phản ứng đưa gốc propargyl vào curcumin được thực hiện thuận lợi qua phản ứng ether hóa Williamson với propargyl bromide, sử dụng K_2CO_3 trong dung môi phân cực phi proton.

Sự phân biệt giữa ester hóa (prodrug, thủy phân giải phóng CUR) và ether hóa (NCE, không giải phóng CUR) có ý nghĩa quan trọng trong diễn giải kết quả thực nghiệm: với dẫn xuất ester, hoạt tính *in vitro* phản ánh hiệu quả của curcumin được giải phóng; trong khi với dẫn xuất ether, hoạt tính phản ánh khả năng tương tác riêng biệt của toàn bộ phân tử dẫn xuất với đích sinh học.

1.4.3. Cấu trúc, hoạt tính của zerumbone và tiềm năng lai hóa với curcumin

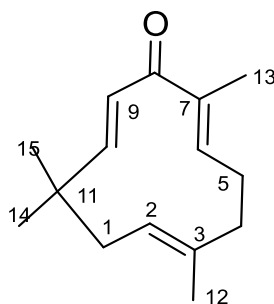
1.4.3.1. Nguyên lý lai hóa phân tử

Lai hóa phân tử (molecular hybridization) là chiến lược trong đó hai khung dược chất (pharmacophores) có hoạt tính sinh học khác nhau được ghép nối cộng hóa trị vào một cấu trúc duy nhất, tạo hợp chất lai có khả năng tương tác đồng thời với nhiều đích phân tử. So với liệu pháp phối hợp (dùng hai thuốc riêng biệt), hợp chất lai có ưu thế về dược động học (một phân tử, một profil ADME) và giảm nguy cơ tương tác thuốc-thuốc [51]. Trong lĩnh vực curcuminoid, chiến lược lai hóa đã được đề xuất với nhiều đối tác (coumarin, chalcone, thiazolidinedione, ferrocene...) nhưng việc lai hóa với một hoạt chất thiên nhiên cùng họ thực vật còn ít được khai thác [41].

1.4.3.2. Cấu trúc hóa học của zerumbone

Zerumbone ((2*E*,6*E*,9*E*)-3,7,11-tetramethylcycloundeca-2,6,9-trien-8-one, C₁₅H₂₂O, KLPT 218,33 g/mol) là một sesquiterpene đơn vòng (monocyclic sesquiterpene) phân lập chủ yếu từ thân rễ cây Gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.), một loài thuộc họ Zingiberaceae phân bố rộng rãi ở vùng nhiệt đới Đông Nam Á, có cấu trúc hóa học như Hình 1.7 [108].

Về mặt cấu trúc, zerumbone sở hữu vòng carbocyclic 11 cạnh (khung humulane) chứa ba liên kết đôi và một nhóm carbonyl. Đặc điểm cấu trúc then chốt nhất là hệ α,β -enone liên hợp (liên kết đôi C=C liên hợp với nhóm carbonyl C=O). Hệ α,β -enone này hoạt động như một chất nhận Michael (Michael acceptor), có khả năng phản ứng cộng hợp 1,4 (Michael addition) với các nhóm nucleophilic mạnh trong tế bào, đặc biệt là nhóm thiol (-SH) trên cysteine của các protein đích. Đây là cơ chế tác dụng phân tử đặc trưng nhất phân biệt zerumbone với curcumin, hợp chất chủ yếu tương tác với đích sinh học thông qua các liên kết không cộng hóa trị [108].



Hình 1.7. Cấu trúc hóa học của zerumbone

1.4.3.3. Hoạt tính sinh học

Zerumbone đã được nghiên cứu rộng rãi về hoạt tính sinh học. Dưới đây là các nhóm hoạt tính chính có liên quan đến nội dung luận án:

Về hoạt tính kháng viêm, zerumbone ức chế phản ứng viêm thông qua nhiều con đường tín hiệu, trong đó nổi bật nhất là ức chế hoạt hóa NF- κ B. Theo tổng quan của Haque và cộng sự (2017), zerumbone ngăn chặn phosphoryl hóa và phân hủy I κ B α , dẫn đến ức chế sự chuyển vị NF- κ B vào nhân và giảm biểu hiện các gen tiền viêm bao gồm iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1 β và IL-6 [108]. Nghiên cứu chứng minh trực tiếp trên mô hình tổn thương gan cấp ở chuột rằng zerumbone phát huy tác dụng bảo vệ thông qua ức chế con đường TLR4/NF- κ B/COX-2, đồng thời giảm nồng độ TNF- α và IL-6 trong huyết thanh [109]. Phát hiện này có ý nghĩa đặc biệt trong bối cảnh luận án sử dụng mô phỏng docking phân tử trên phức hệ TLR4/MD-2 để khảo sát tương tác phân tử của curcuminoid.

Về hoạt tính gây độc tế bào ung thư, zerumbone thể hiện hoạt tính ức chế tăng sinh trên nhiều dòng tế bào ung thư (vú, cổ tử cung, gan, tụy, u thần kinh đệm) thông qua cơ chế đa đích: cảm ứng apoptosis qua con đường mitochondria (tăng Bax, giảm Bcl-2, hoạt hóa caspase-3 và PARP); ức chế chu kỳ tế bào; ức chế xâm lấn và di căn. Đặc điểm nổi bật là tính chọn lọc, hoạt tính trên tế bào ung thư cao hơn so với tế bào bình thường [110]. Tính chọn lọc này liên quan đến sự khác biệt về thế oxy hóa - khử giữa tế bào ung thư và tế bào bình thường [108].

Về hoạt tính kháng vi sinh vật, zerumbone là tác nhân kháng khuẩn tiềm năng đối với *Streptococcus mutans*, vi khuẩn gây sâu răng chính [111, 112]. Tuy nhiên, phổ kháng vi sinh vật của zerumbone nhìn chung hẹp hơn so với curcumin và cần được nghiên cứu thêm [108].

Về hoạt tính chống oxy hóa của zerumbone trên *in vivo*, thể hiện qua việc phục hồi hoạt tính enzyme SOD và GSH-Px, đồng thời giảm mức MDA (sản phẩm peroxy hóa lipid) trên mô hình chuột [109]. Zerumbone có khả năng hoạt hóa con đường Nrf2/ARE, dẫn đến tăng cường biểu hiện các enzyme chống oxy hóa nội sinh như HO-1 [108].

1.4.3.4. So sánh curcumin và zerumbone - cơ sở cho chiến lược lai hóa

Curcumin và zerumbone, mặc dù thuộc hai lớp hợp chất khác nhau (diarylheptanoid vs. sesquiterpene), chia sẻ một số đích phân tử chung, đặc biệt là NF- κ B nhưng tác động thông qua cơ chế phân tử khác nhau [108]:

Curcumin chủ yếu tương tác với đích sinh học chủ yếu qua *liên kết không cộng hóa trị* (liên kết hydrogen, tương tác kỵ nước, tương tác Van der Waals). Hệ β -diketone và nhóm -OH phenolic đóng vai trò chính trong các tương tác này.

Zerumbone chủ yếu tương tác qua *liên kết cộng hóa trị*, phản ứng Michael addition giữa hệ α,β -enone với nhóm thiol trên cysteine của protein đích (như I κ B kinase). Đây là tương tác không thuận nghịch hoặc chậm thuận nghịch [108].

Sự bổ trợ về cơ chế tác dụng (non-covalent vs. covalent) trên cùng con đường tín hiệu là tiền đề lý thuyết cho giả thuyết: một dẫn xuất lai chứa đồng thời cả hai pharmacophore có thể tương tác với đích sinh học theo cách thức mới, kết hợp hai loại tương tác. Đặc biệt, zerumbone cũng đã được chứng minh ức chế con đường TLR4/NF- κ B/COX-2 [109], cùng con đường mà curcuminoid tương tác qua phức hợp TLR4/MD-2 tạo thêm cơ sở cho giả thuyết bổ trợ.

1.4.3.5. Bằng chứng thực nghiệm về phối hợp curcumin-zerumbone

Nghiên cứu tác dụng phối hợp curcumin và zerumbone dưới dạng *hỗn hợp* (combination, chưa phải dẫn xuất lai cộng hóa trị) trên mô hình ung thư đại trực tràng *in vivo* và *in vitro*. Kết quả cho thấy hỗn hợp curcumin và

zerumbone cải thiện khả năng ức chế yếu tố tăng sinh mạch máu VEGF-A và giảm tăng sinh tế bào ung thư so với khi sử dụng từng chất đơn lẻ [111, 112].

Phối hợp dạng hỗn hợp (combination) khi hai chất riêng biệt được dùng đồng thời; mỗi chất có profil dược động học riêng, tương tác độc lập với đích.

Dẫn xuất lai cộng hóa trị (molecular hybrid) khi hai pharmacophore được ghép nối thành một phân tử duy nhất; chia sẻ cùng profil ADME và có thể ảnh hưởng lẫn nhau về mặt lập thể và điện tử.

Hiệu ứng quan sát được trên hỗn hợp không thể suy luận trực tiếp cho dẫn xuất lai, và ngược lại. Đây là điểm cần được kiểm chứng bằng thực nghiệm riêng.

1.4.3.6. Thách thức còn tồn tại

Bên cạnh tiềm năng, một số thách thức cần được nhận diện khi đánh giá hướng lai hóa curcumin-zerumbone:

- Tính thân dầu cao, curcumin có $\log P \approx 3,0$ và zerumbone có $\log P \approx 3,9$. Dẫn xuất lai sẽ có $\log P$ dự kiến vượt 5 - ngưỡng trên của quy tắc Lipinski cho sinh khả dụng đường uống. Tuy nhiên, quy tắc Lipinski là hướng dẫn chứ không phải giới hạn tuyệt đối, và $\log P$ cao có thể là lợi thế nếu phát triển theo đường tiêm hoặc kết hợp với hệ phân phối nano.

- Hiệu ứng lập thể, vòng 11 cạnh của zerumbone có kích thước lớn và cấu hình không linh động. Khi gắn vào vị trí -OH phenolic trên curcumin, hiệu ứng cản trở lập thể có thể ảnh hưởng đến tốc độ và hiệu suất phản ứng ghép nối, cũng như khả năng tiếp cận đích sinh học của dẫn xuất lai.

- Bảo tồn hoạt tính hai pharmacophore, việc ghép nối cộng hóa trị có thể ảnh hưởng đến hình học phân tử, hạn chế khả năng tương tác của từng pharmacophore với đích riêng. Liệu hệ β -diketone của curcumin và hệ α,β -enone của zerumbone có còn duy trì ái lực với đích sinh học sau khi ghép nối hay không là câu hỏi cần thực nghiệm trả lời.

- Khoảng trống tài liệu, cho đến thời điểm thực hiện tổng quan này, chưa có công trình nào trong tài liệu công bố dẫn xuất lai curcumin-zerumbone được tổng hợp qua liên kết cộng hóa trị. Tất cả dữ liệu hiện có về phối hợp curcumin-zerumbone đều ở dạng hỗn hợp [111, 112].

Tóm lại, zerumbone được đánh giá là ứng viên lai hóa phù hợp với curcumin do cùng họ thực vật Zingiberaceae; cùng sở hữu hoạt tính kháng viêm, kháng ung thư và chống oxy hóa đã được xác nhận trên nhiều mô hình [108-110]; cơ chế tác dụng hỗ trợ với curcumin [108]; bằng chứng sơ bộ về tác dụng phối hợp trên mô hình ung thư [111, 112] và cùng can thiệp vào con đường TLR4/NF- κ B [109]. Chiến lược lai hóa cụ thể, vị trí ghép nối và quy trình tổng hợp được trình bày trong Chương 2.

1.5. Tổng quan lĩnh vực mô phỏng *in silico* trong nghiên cứu

Trong nghiên cứu phát triển thuốc hiện đại, các phương pháp tính toán *in silico* đóng vai trò ngày càng quan trọng, cho phép dự đoán tính chất phân tử, sàng lọc ứng viên và giải thích cơ chế tác dụng ở cấp độ nguyên tử trước khi tiến hành thực nghiệm [113]. Đối với hệ curcuminoid, các hợp chất đa đích với cơ chế hoạt động phức tạp, công cụ tính toán đã cung cấp những hiểu biết có giá trị mà thực nghiệm đơn thuần khó đạt được. Mục này tổng quan ba nhóm phương pháp *in silico* chính đã được ứng dụng trong nghiên cứu curcuminoid gồm hóa học tính toán lượng tử, mô phỏng lắp ghép phân tử, và mô phỏng động lực học phân tử.

1.5.1. Ứng dụng hóa học tính toán lượng tử trong giải mã cơ chế chống oxy hóa

Lý thuyết phiếm hàm mật độ (Density Functional Theory, DFT) là phương pháp cơ học lượng tử được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu cấu trúc điện tử, độ bền nhiệt động và cơ chế phản ứng hóa học của các hợp chất hữu cơ [113]. Trong lĩnh vực curcuminoid, DFT đã được áp dụng để giải quyết hai vấn đề chính là cân bằng keto-enol và cơ chế chống oxy hóa.

1.5.1.1. Cân bằng keto-enol của curcuminoid

Curcuminoid tồn tại ở dạng cân bằng giữa hai đồng phân hỗ biến (tautomer) là dạng keto (1,3-diketone) và dạng enol (β -hydroxy- α,β -unsaturated ketone). Sử dụng phương pháp DFT/B3LYP để nghiên cứu cấu trúc điện tử của curcumin, xác nhận rằng dạng enol bền vững hơn dạng keto nhờ hệ liên kết hydrogen nội phân tử (O-H...O) và hệ electron π liên hợp mở

rộng [88, 89]. Kết quả phân tích HOMO-LUMO cho thấy dạng enol có khoảng cách năng lượng HOMO-LUMO nhỏ hơn, tương ứng với khả năng phản ứng cao hơn [88, 89]. Khi tính đến hiệu ứng phân tán (dispersion), sự chênh lệch năng lượng giữa dạng enol và keto của curcumin còn rõ hơn so với tính toán không bao gồm phân tán, nhấn mạnh tầm quan trọng của việc lựa chọn phương pháp tính toán phù hợp [90, 91].

1.5.1.2. So sánh cơ chế chống oxy hóa giữa các curcuminoid

Hoạt tính chống oxy hóa của curcuminoid được đánh giá thông qua khả năng quét gốc tự do, với ba cơ chế chính được đề xuất [114]:

Chuyển nguyên tử hydrogen (HAT - Hydrogen Atom Transfer): phân tử chống oxy hóa nhường trực tiếp nguyên tử H (gồm cả proton và electron) cho gốc tự do. Thông số đánh giá: năng lượng phân ly liên kết (BDE).

Chuyển electron đơn lẻ - chuyển proton (SET-PT - Single Electron Transfer followed by Proton Transfer): phân tử nhường electron trước, tạo cation radical, sau đó mất proton. Thông số gồm thế ion hóa (IP) và năng lượng phân ly proton (PDE).

Mất proton liên tiếp - chuyển electron (SPLET - Sequential Proton Loss Electron Transfer): Phân tử mất proton trước (tạo anion), sau đó anion nhường electron. Thông số gồm ái lực proton (PA) và enthalpy chuyển electron (ETE).

Hoạt tính chống oxy hóa của curcuminoid không chỉ phụ thuộc vào số lượng nhóm hydroxyl (-OH) mà còn bị chi phối bởi cấu trúc điện tử và môi trường dung môi. Các nghiên cứu DFT (Lý thuyết phiếm hàm mật độ) trên thế giới [115] đã đưa ra những kết luận quan trọng:

- Các tính toán năng lượng đã khẳng định dạng enol bền vững hơn dạng keto khoảng 5-10 kcal/mol nhờ hệ liên kết hydro nội phân tử và hệ electron π liên hợp. Đây là dạng có vai trò chính trong hoạt tính dọn gốc tự do [114].

- Các mô phỏng DFT đã làm sáng tỏ sự cạnh tranh giữa ba cơ chế chính là chuyển nguyên tử hydro (HAT), chuyển electron-proton đơn lẻ (SET-PT) và mất proton liên tiếp chuyển electron (SPLET) [114].

- Trong môi trường không phân cực (như lipid), cơ chế HAT chiếm ưu thế, với nhóm -OH phenolic là vị trí phản ứng chính. Trong môi trường phân cực (như nước, huyết tương), cơ chế SPLET trở nên thuận lợi hơn về mặt nhiệt động học [116].

- Các nghiên cứu so sánh giữa CUR và BDMC đã chỉ ra vai trò của nhóm methoxy (-OCH₃). Trong khi nhóm này giúp ổn định gốc tự do phenoxy của CUR thông qua hiệu ứng cộng hưởng, thì sự vắng mặt của nhóm methoxy ở BDMC lại làm giảm cản trở lập thể, cho phép tiếp cận tốt hơn với một số loại gốc tự do kích thước nhỏ. Tuy nhiên, các dữ liệu về động học phản ứng (kinetics) của BDMC vẫn còn ít được công bố so với CUR [116, 117].

1.5.2. Mô phỏng lắp ghép phân tử phân tích tương tác protein - phối tử

Mô phỏng lắp ghép phân tử (molecular docking) là phương pháp tính toán dự đoán cấu hình liên kết (dock pose) và ái lực liên kết (binding affinity) của một phối tử (ligand) với protein đích (receptor). Phương pháp này cho phép sàng lọc nhanh nhiều hợp chất trên cùng một đích, dự đoán năng lượng liên kết tự do (ΔG), và xác định các amino acid tham gia tương tác (liên kết hydrogen, tương tác kỵ nước, tương tác π - π ...) [113]. Trong nghiên cứu curcuminoid, mô phỏng docking phân tử đã được ứng dụng trên nhiều protein đích sinh học khác nhau:

1.5.2.1. Docking curcumin với phức hệ TLR4/MD-2

Phức hệ Toll-like receptor 4/Myeloid differentiation factor 2 (TLR4/MD-2) đóng vai trò trung tâm trong nhận diện lipopolysaccharide (LPS) và khởi phát dòng thác tín hiệu viêm. Nghiên cứu kết hợp docking phân tử, mô phỏng động lực học phân tử và thực nghiệm để làm rõ cơ chế tương tác giữa curcumin với protein MD-2 [63]. Kết quả docking cho thấy curcumin gắn vào túi kỵ nước (hydrophobic pocket) của MD-2 cùng vị trí gắn kết của LPS - thông qua các tương tác kỵ nước với các amino acid lót trong túi và liên kết hydrogen với chuỗi bên. Đặc biệt, nghiên cứu xác nhận curcumin tương tác với Cys133 trên MD-2, và thực nghiệm đột biến

(mutagenesis) xác nhận vai trò thiết yếu của Cys133 trong liên kết curcumin - MD-2 [118]. Sự gắn kết của curcumin vào MD-2 ngăn cản quá trình nhị hợp hóa (dimerization) TLR4/MD-2/LPS, từ đó ức chế kích hoạt NF- κ B và giảm biểu hiện cytokine tiền viêm.

Đây là nghiên cứu *in silico* quan trọng nhất về tương tác curcumin-TLR4/MD-2 trong tài liệu, và kết quả đã được xác nhận bằng thực nghiệm (surface plasmon resonance, mutagenesis). Tuy nhiên, nghiên cứu chỉ thực hiện trên CUR - dữ liệu docking và MD cho DMC và BDMC trên cùng đích TLR4/MD-2 chưa được công bố, tạo nên khoảng trống mà luận án hướng đến.

1.5.2.2. Docking curcumin với các đích kháng ung thư và kháng tiểu đường

Ngoài TLR4/MD-2, curcumin và các curcuminoid đã được docking với nhiều đích phân tử khác. Docking curcumin với cyclin dependent kinase (CDK) - protein quan trọng trong điều hòa chu kỳ tế bào - cho thấy curcumin có ái lực liên kết với active site của CDK, gợi ý cơ chế ức chế tăng sinh tế bào ung thư ở cấp độ phân tử [119]. Sử dụng docking để đánh giá tương tác curcumin với các đích liên quan đến tiểu đường type 2 (α -glucosidase, α -amylase), xác nhận tiềm năng ức chế enzyme của curcumin trên các đích chuyển hóa carbohydrate [56].

Các nghiên cứu docking trên cho thấy tính đa đích (multi-target) của curcumin, khả năng tương tác với nhiều protein thuộc các con đường tín hiệu khác nhau. Tuy nhiên, một hạn chế phổ biến là phần lớn dữ liệu docking chỉ thực hiện trên CUR; dữ liệu so sánh đối chứng giữa CUR, DMC và BDMC trên cùng đích phân tử còn thiếu.

1.5.3. Mô phỏng động lực học phân tử (MD simulation)

Docking phân tử cung cấp bức tranh tĩnh về tương tác thuốc đích tại một thời điểm, nhưng không phản ánh được tính linh động của phức hợp trong điều kiện sinh lý. Mô phỏng động lực học phân tử (Molecular Dynamics, MD) khắc phục hạn chế này bằng cách mô phỏng chuyển động của toàn bộ hệ thống (protein + ligand + dung môi + ion) theo thời gian

(thường 10-100 ns), dựa trên các phương trình cơ học Newton [113]. Kết quả MD cung cấp các thông số đánh giá độ bền phức hệ theo thời gian: RMSD (Root Mean Square Deviation, đánh giá sự ổn định cấu trúc tổng thể), RMSF (Root Mean Square Fluctuation, đánh giá tính linh động từng amino acid), số lượng liên kết hydrogen trung bình, và năng lượng liên kết tự do (qua phương pháp MM-PBSA hoặc MM-GBSA).

Các nghiên cứu thực hiện mô phỏng MD thời gian 20 ns trên phức hệ curcumin-MD-2, xác nhận rằng phức hệ duy trì ổn định trong suốt quá trình mô phỏng, với curcumin nằm gọn trong túi kỵ nước của MD-2 [118]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu MD trên các đích khác nhận thấy phức hệ curcumin-protein đôi khi kém bền do cấu trúc phân tử curcumin có nhiều liên kết có thể quay tự do (rotatable bonds) trong chuỗi heptanoid, dẫn đến sự dao động lớn về cấu hình liên kết [113]. Quan sát này đặt ra câu hỏi liệu các dẫn xuất bán tổng hợp, đặc biệt dẫn xuất lai có kích thước lớn hơn và cấu trúc cứng hơn (như dẫn xuất zerumbone với vòng 11 cạnh), có thể cải thiện độ bền phức hợp với protein đích hay không.

Bên cạnh nghiên cứu cơ sở phân tử của các tác dụng chống oxy hóa và kháng viêm, các công cụ *in silico* hiện nay còn đóng vai trò quan trọng trong việc khắc phục nhược điểm của curcumin là độ hòa tan kém và sinh khả dụng thấp. Thông qua các mô hình dự đoán dược động học ADMET (hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính), các phân tích *in silico* cho phép đánh giá nhanh các thông số hóa lý (như quy tắc Lipinski, diện tích bề mặt phân cực) của các hợp chất. Nhờ đó, các nhà nghiên cứu có thể định hướng thiết kế, can thiệp vào các nhóm chức (như ether hóa, lai hóa) nhằm tối ưu hóa tính thân nước mà không làm mất đi hoạt tính sinh học chính. Đồng thời, trong lĩnh vực kháng ung thư, phương pháp docking phân tử (molecular docking) đang được ứng dụng mạnh mẽ để mô phỏng tương tác của curcumin và các dẫn xuất bán tổng hợp với các đích protein quan trọng của chu kỳ tế bào (như EGFR, VEGFR, hay các protein kinase). Kết quả từ *in silico* làm rõ cơ chế ức chế khối

u ở cấp độ phân tử và giúp sàng lọc, dự đoán chính xác các cấu trúc dẫn xuất tiềm năng trước khi tiến hành thực nghiệm *in vitro*, tiết kiệm đáng kể thời gian và chi phí nghiên cứu.

Từ tổng quan tài liệu trên, có thể nhận diện các khoảng trống trong lĩnh vực mô phỏng *in silico* curcuminoid phần lớn các nghiên cứu DFT và docking chỉ thực hiện trên CUR hoặc trên một curcuminoid riêng lẻ. Dữ liệu so sánh đối chứng có hệ thống giữa ba curcuminoid (CUR, DMC, BDMC) trên cùng đích phân tử (đặc biệt TLR4/MD-2) bằng cả docking và mô phỏng MD còn thiếu [118]. Nghiên cứu DFT so sánh cơ chế chống oxy hóa giữa các curcuminoid mới bắt đầu được thực hiện, đối chiếu với thực nghiệm DPPH còn hạn chế. Dữ liệu docking và MD cho các dẫn xuất bán tổng hợp mới (dẫn xuất ether, dẫn xuất lai curcumin-zerumbone) trên đích TLR4/MD-2 hoàn toàn chưa có trong tài liệu.

Sử dụng docking phân tử để dự đoán ái lực liên kết của cả ba curcuminoid tinh khiết và các dẫn xuất bán tổng hợp trên cùng đích TLR4/MD-2; sau đó sử dụng mô phỏng MD để đánh giá độ bền phức hệ thuốc-protein đích theo thời gian; đối chiếu kết quả *in silico* với dữ liệu thực nghiệm *in vitro* (kháng viêm, chống oxy hóa) nhằm đề xuất cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử. Phương pháp tính toán cụ thể (phần mềm, force field, thời gian mô phỏng, phương pháp phân tích) được trình bày trong Chương 2.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu đất và thân rễ nghệ (*C. longa* L.) đã được thu thập ngẫu nhiên tại Tu Mơ Rông, Kon Tum, vào tháng 10 năm 2024 và ở Ba Bể, Bắc Kạn vào tháng 10 năm 2024. Mẫu nghệ được TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học, mẫu được lưu giữ tại Phòng Hóa sinh Nông nghiệp và Tinh dầu, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong phạm vi luận án này, bộ phận được tập trung thu mẫu, phân tích hóa thực vật và chiết xuất là phần dưới mặt đất (củ/thân rễ) của cây nghệ vàng, nơi tích lũy hàm lượng curcuminoid cao nhất.



Hình 2.1. Mẫu thân rễ nghệ vàng (*C. longa* L.)

2.2. Phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học curcuminoid [120-122]

2.2.1. Phương pháp xử lý và chiết mẫu

Mẫu sau khi thu hái được thái nhỏ, phơi trong bóng mát, sấy khô ở nhiệt độ 60 °C đến khối lượng không đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu được ngâm chiết 3 lần ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50 °C thu được cặn ethanol. Cặn ethanol được thêm nước và chiết với dung môi ethyl acetate. Sau khi cất loại dung môi thu được cao ethyl acetate và nước tương ứng.

2.2.2. Phương pháp phân tích, phân lập các hợp chất

Các loại dung môi để ngâm chiết mẫu sử dụng loại công nghiệp hoặc kỹ thuật, dung môi để phân tích và phân lập các hợp chất đều dùng loại tinh khiết (pure), khi dùng cho các loại sắc ký cột, sắc ký bản mỏng, sắc ký lớp mỏng điều chế phải sử dụng loại tinh khiết phân tích (PA).

Việc phân tích, phân tách các phân dịch chiết cây được thực hiện bằng các phương pháp sắc ký khác nhau: sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký lớp mỏng điều chế (PTLC), sắc ký cột thường (CC) với pha tĩnh là silica gel (Merck), sắc ký cột pha đảo với pha tĩnh là YMC RP 18 (Merck) và sắc ký rây phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20 (Merck).

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Sắc ký lớp mỏng dùng để khảo sát thành phần được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (0,25 mm; Merck) và RP-18 F254S (0,25 mm; Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch vanillin - H_2SO_4 5% trong methanol.

Sắc ký cột thường (CC): Sắc ký cột thường, với pha tĩnh là silica gel 60, cỡ hạt 0,040 - 0,063 mm (230-400 mesh) của Merck, dung môi rửa giải chủ yếu là loại phân tích, công nghiệp. Sắc ký cột rây phân tử với pha tĩnh là sephadex LH-20. Sắc ký cột pha đảo sử dụng loại YMC RP-18 có cỡ hạt là 30-50 μm .

2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học

Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được xác định dựa vào việc nghiên cứu các đặc trưng hóa lý (R_f trên bản mỏng, trạng thái, màu sắc, điểm nóng chảy) kết hợp với phân tích phổ NMR, MS của các chất và so sánh với dữ liệu trong tài liệu tham khảo. Các thiết bị hiện đại và phương pháp sử dụng để xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được sử dụng:

Điểm nóng chảy (mp): Điểm nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage của Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ khối lượng (MS): Phổ khối (phun mù điện tử) LC-ESI-MS được đo trên máy Agilent 1200 TRAP. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS đo trên máy FT-ICR-Mass spectrophotometer tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): Phổ NMR đo trên máy Bruker Avance 500 và 600 MHz (Chất chuẩn nội là TMS), tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các kỹ thuật được sử dụng: cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D: ^1H -NMR, ^{13}C -NMR và DEPT); cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (2D: HSQC, HMBC, COSY và NOESY). Các loại dung môi được sử dụng: DMSO- d_6 , CD_3OD và CDCl_3 theo nguyên tắc dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu đo.

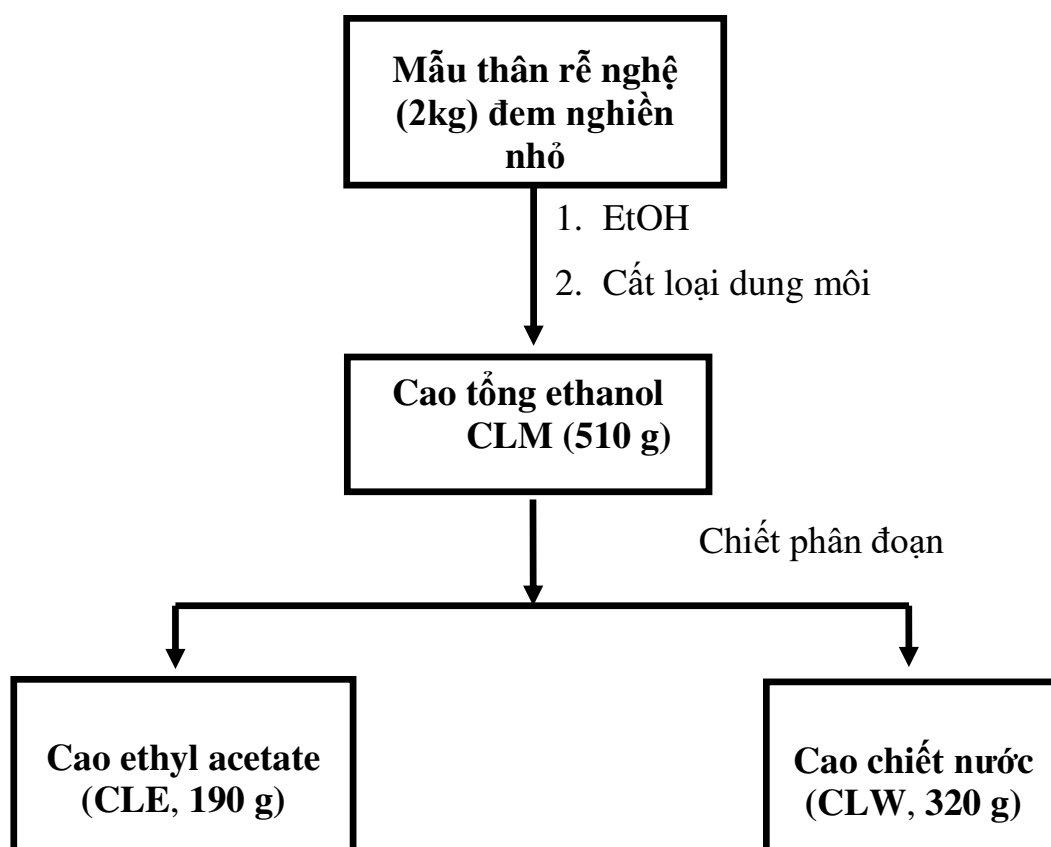
2.2.4. Phân lập các hợp chất curcuminoid từ thân rễ nghệ

Mẫu thân rễ *C. longa* khô (2,0 kg) đem nghiền nhỏ và ngâm chiết 3 lần với ethanol (EtOH) trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ $< 50\text{ }^\circ\text{C}$ thu được cao cô EtOH (510g). Cặn cô EtOH được thêm nước và chiết với dung môi ethyl acetate (EtOAc) sau đó cất kiệt dung môi thu được các cao tương ứng: EtOAc (**CLE**: 190 g) và nước (**CLW**: 320 g). Việc thu nhận các dịch chiết từ thân rễ nghệ được tóm tắt trong Hình 2.2.

Cao chiết ethyl acetate (**CLE**, 190g) được tiến hành tách thô trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải HE 0 $\rightarrow$ 100% (tỷ lệ ethyl acetate tăng từ 0 $\rightarrow$ 100%) thu được 5 phân đoạn (**CLE1** $\rightarrow$ **CLE5**).

Phân đoạn **CLE2** (5,0 g) phân tách trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc (50:1 $\rightarrow$ 10:1), phân đoạn thu được tiếp tục tách lại trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc (30:1 $\rightarrow$ 10:1), sau đó kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất curcumin (**CUR**: 30,8 mg).

Phân đoạn **CLE3** (4,0 g) được phân tách trên sắc ký cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi methanol-nước (3:7), thu được 3 phân đoạn nhỏ (**CLE3.1**→**CLE3.3**). Phân đoạn **CLE3.2** được tinh chế qua cột sephadex-LH20 với dung môi rửa giải methanol, sau đó kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất demethoxycurcumin (**DMC**: 19,6 mg).



Hình 2.2. Sơ đồ thu nhận các dịch chiết từ thân rễ nghệ

Phân đoạn **CLE4** (3,6 g) phân tách trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99:1→10:1). Phân đoạn **CLH4.3** được tinh chế qua cột sephadex-LH20 với dung môi rửa giải methanol, sau đó kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất bisdemethoxycurcumin (**BDMC**: 8,0 mg).

2.3. Phương pháp bán tổng hợp tạo các dẫn xuất curcumin

2.3.1. Tạo các dẫn xuất curcumin-zerumbone

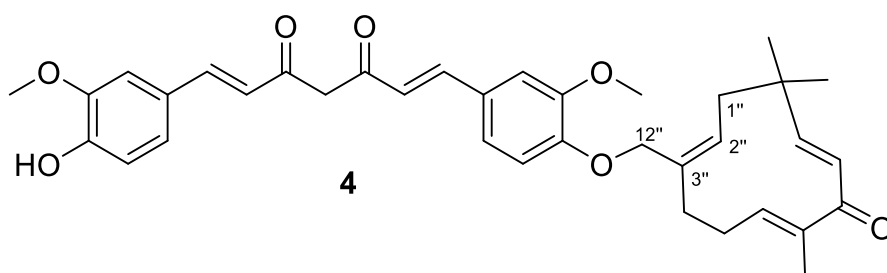
Bán tổng hợp các curcumin-zerumbone được thể hiện qua 2 giai đoạn như sau: Giai đoạn 1 (Brom hóa): Zerumbone (**2**) được phản ứng với N-bromosuccinimide (NBS) trong hệ dung môi hỗn hợp acetonitrile: nước (1:1).

Quá trình này thu được kết tủa trắng là dẫn xuất 3-bromozerumbone (**3**) với hiệu suất gần định lượng (>95%). Giai đoạn 2 (Phản ứng thế): Curcumin (**1**) được phản ứng với 3-bromozerumbone (sản phẩm của giai đoạn 1) với sự tham gia của xúc tác base K_2CO_3 trong dung môi DMF, khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Tinh chế: Hỗn hợp sau phản ứng được chiết bằng EtOAc, sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (hệ dung môi *n*-hexane: acetone 1,5:1) và cuối cùng được làm sạch bằng HPLC để thu được sản phẩm curcumin-monozerumbone (**4**) với hiệu suất 15% và curcumin-biszerumbone (**5**) với hiệu suất 11% [123, 124].

Dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**): Dạng bột màu vàng, hiệu suất 15%, nhiệt độ nóng chảy (mp): 118-120 °C.

Phổ 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm): 9,64 (1H, s, -OH phenol); 7,57 (2H, d, $J = 7,2$ Hz); 7,34 (2H, d, $J = 18,0$ Hz); 7,25 (1H, s); 7,15 - 7,10 (2H, m); 6,83 - 6,75 (3H, m); 6,12 - 5,94 (4H, m); 5,57 - 5,54 (1H, m); 4,69 (1H, m); 4,37 (1H, m); 3,84 (3H, s, -OCH₃); 3,81 (3H, s, -OCH₃); 2,61 - 2,59 (1H, m); 2,29 (2H, m); 1,99 - 1,97 (1H, m); 1,67 (3H, s, -CH₃); 1,22 (3H, s, -CH₃); 1,05 (3H, s, -CH₃).

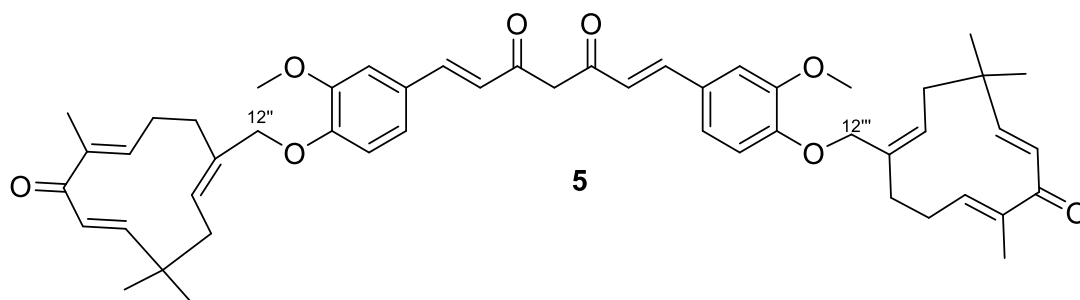
Phổ ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm): 183,7 (C=O); 182,6 (C=O); 159,9; 150,1; 149,4; 148,7; 148,0; 140,9; 140,1; 137,8; 135,1; 130,4; 127,9; 126,8; 126,3; 123,1; 122,6; 122,1; 121,1; 115,7; 113,3; 111,4; 110,6; 100,8; 65,6 (-O-CH₂-/hoặc C mạch hở); 55,7 (-OCH₃); 55,5 (-OCH₃); 41,6; 37,0; 35,0; 28,9; 24,3; 23,7 (-CH₃); 11,7 (-CH₃).



Dẫn xuất curcumin-biszerumbone (**5**): Dạng bột màu vàng, hiệu suất 11%, nhiệt độ nóng chảy (mp): 138-140 °C.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6); δ (ppm): 7,55 (2H, d, $J = 15,5$ Hz, H-alken); 7,35 (2H, d, H-Ar); 7,15 (2H, dd, H-Ar); 7,10 (2H, d, H-Ar); 6,80 (2H, d, $J = 15,0$ -16,0 Hz, H-alken); 6,15-5,90 (8H, m, H-alken vòng zerumbone); 5,55 (2H, m, H-vòng); 4,69 (2H, m, -O-CH-); 4,37 (2H, m, H-vòng); 3,84 (6H, s, 2 x -OCH₃); 2,60 (2H, m); 2,29 (4H, m); 1,98 (2H, m); 1,67 (6H, s, 2 x -CH₃); 1,22 (6H, s, 2 x -CH₃); 1,05 (6H, s, 2 x -CH₃).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6); δ (ppm): 183,0 (C=O, 2C do đối xứng); 159,9; 150,0; 149,3; 140,8; 140,0; 137,8; 135,0; 130,4; 127,8; 126,7; 126,2; 123,0; 122,6; 122,1; 121,0; 115,6; 111,4; 100,8; 65,6 (-O-CH-); 55,6 (2 x -OCH₃); 41,5; 36,9; 34,9; 28,8; 24,2 (2 x -CH₃); 23,6 (2 x -CH₃); 11,7 (2 x -CH₃).

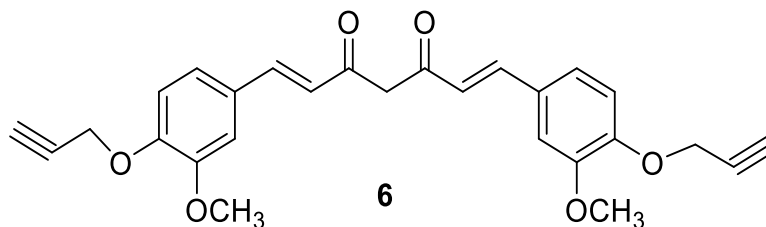


2.3.2. Tạo các dẫn xuất di-propargyl curcumin

Bán tổng hợp dẫn xuất di-propargyl curcumin được thực hiện thông qua phản ứng ether hóa Williamson [125, 126]. Hòa tan curcumin (1,00 g; 2,71 mmol) trong 15 ml dung môi phân cực khan DMF, thêm K₂CO₃ khan (1,12 g; 8,13 mmol, 3,0 đương lượng) và khuấy ở nhiệt độ phòng 30 phút. Nhỏ giọt từ từ propargyl bromide (0,80 g; 6,77 mmol, 2,5 đương lượng) vào hỗn hợp, tiếp tục khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Kết thúc phản ứng, pha loãng hỗn hợp với nước cất, chiết bằng ethyl acetate, rửa pha hữu cơ bằng brine, làm khan với Na₂SO₄ khan và cô quay chân không. Cặn thô được tinh chế qua sắc ký cột silica gel, rửa giải gradient bằng hệ *n*-hexane/ethyl acetate (từ 20/1 đến 5/1), thu được dẫn xuất *O,O'*-di-propargyl curcumin, sau đây gọi là di-propargyl curcumin (**6**) (hiệu suất 21%).

Dẫn xuất di-propargyl curcumin (**6**): Dạng bột màu vàng, hiệu suất 21%, nhiệt độ nóng chảy (mp): 128-129 °C.

Phổ ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm): 7,66 (2H, d, $J = 15,6$ Hz, H-alken); 7,44 (2H, d, $J = 1,8$ Hz, H-Ar); 7,35 (2H, dd, $J = 8,4$ và $2,4$ Hz, H-Ar); 7,09 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-Ar); 7,07 (2H, d, $J = 15,6$ Hz, H-alken); 4,89 (4H, d, $J = 2,4$ Hz, $-\text{OCH}_2\text{-propargyl}$); 3,87 (6H, s, $-\text{OCH}_3$); 3,61 (2H, t, $J = 2,4$ Hz, $-\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,20 (4H, m); 2,96 (2H, m). Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm): 193,1 (C=O); 149,3 (C-Ar); 149,2 (C-Ar); 144,5 (C-alken); 127,5 (C-alken); 123,6 (C-Ar); 119,2 (C-Ar); 113,5 (C-Ar); 111,5 (C-Ar); 79,6 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$); 78,8 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$); 78,5 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$); 74,4 ($-\text{C}\equiv\text{CH}$); 65,9 ($-\text{OCH}_2-$); 56,0 ($-\text{OCH}_3$); 55,8 ($-\text{OCH}_3$); 30,6; 20,7.



2.4. Các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học *in vitro*

2.4.1. Thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa (Phương pháp DPPH)

Khả năng quét gốc tự do được đánh giá thông qua thử nghiệm với thuốc thử 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) theo phương pháp của Brand-Williams và cộng sự [127].

Chuẩn bị dung dịch: Các mẫu thử được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO) 100% để tạo dung dịch gốc. Dung dịch DPPH được pha trong ethanol 96% ở nồng độ 0,2 mM (OD điều chỉnh về khoảng $1,0 \pm 0,02$ tại bước sóng 517 nm).

Tiến hành: Trên đĩa vi phiến 96 giếng, 100 μl mẫu thử được pha loãng theo dãy nồng độ giảm dần (200; 100; 50; 25; 12,5 $\mu\text{g/ml}$). Bổ sung 100 μl dung dịch DPPH vào từng giếng, lắc nhẹ và ủ hỗn hợp phản ứng trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Mật độ quang học (OD) được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy đọc vi phiến (Infinite F50, Tecan). Mỗi nồng độ được thực hiện lặp lại 3 lần.

Tính toán: Phần trăm quét gốc tự do (%SC) được tính theo công thức: $\%SC = [(OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{mẫu}}) / OD_{\text{đối chứng}}] \times 100$. Giá trị SC_{50} (nồng độ quét 50% gốc tự do, tương đương IC_{50}) được xác định từ đường cong đáp ứng liều bằng phần mềm TableCurve. Acid ascorbic (vitamin C) được sử dụng làm chất đối chứng dương.

2.4.2. Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm *in vitro* (Ức chế sản sinh NO)

Khả năng kháng viêm được đánh giá thông qua việc đo lường mức độ ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên dòng tế bào đại thực bào chuột RAW 264.7 theo phương pháp của Griess [128].

Nuôi cấy tế bào: Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM bổ sung 10% huyết thanh bò bào thai (FBS) và 1% penicillin/streptomycin, duy trì ở điều kiện 37 °C, 5% CO₂. Tế bào được cấy lên đĩa 96 giếng với mật độ 2×10^5 tế bào/giếng và ủ tiền 24 giờ để tế bào bám đáy.

Tiến hành: Tế bào được kích thích phản ứng viêm bằng lipopolysaccharide (LPS) nồng độ 1 $\mu\text{g/ml}$. Đồng thời, tế bào được xử lý với các nồng độ mẫu thử khác nhau và ủ trong 24 giờ. Lượng NO giải phóng ra môi trường nuôi cấy được định lượng gián tiếp thông qua nồng độ nitrit (NO₂⁻) bằng thuốc thử Griess (1% sulfanilamide và 0,1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine trong 5% H₃PO₄). Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 540 nm. Cardamonin được sử dụng làm chất đối chứng dương. Giá trị IC_{50} được xác định thông qua phương trình hồi quy tuyến tính.

Kiểm soát độc tính: Độc tính của mẫu thử trên tế bào RAW 264.7 được kiểm tra song song bằng phương pháp MTT để đảm bảo sự giảm NO là do tác dụng kháng viêm chứ không phải do gây chết tế bào.

2.4.3. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* (Phương pháp MTT)

Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá trên năm dòng tế bào ung thư người: ung thư gan (Hep-G2), ung thư cổ tử cung (HeLa), ung thư vú (MCF-

7), ung thư phổi (A549) và ung thư dạ dày (HGC-27), dựa trên nguyên lý chuyển hóa muối MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) thành tinh thể formazan màu tím bởi enzyme succinate dehydrogenase của ty thể trong tế bào sống [129].

Nuôi cấy: Các dòng tế bào được nuôi cấy trong môi trường thích hợp (DMEM cho Hep-G2, HeLa, HGC-27; EMEM cho MCF-7; RPMI 1640 cho A549) bổ sung 10% FBS và 1% penicillin/streptomycin. Tế bào được cấy vào đĩa 96 giếng với mật độ 1×10^4 tế bào/giếng và ủ tiên 24 giờ để tế bào bám đáy.

Tiến hành: Tế bào được xử lý với mẫu thử ở dải nồng độ từ 1 đến 100 $\mu\text{g/ml}$ và ủ trong 48 giờ ở điều kiện 37 °C, 5% CO₂. Sau thời gian ủ, thêm 10 μl dung dịch MTT (5 mg/ml trong PBS) vào mỗi giếng và ủ tiếp 4 giờ. Loại bỏ dịch nổi, hòa tan tinh thể formazan bằng 100 μl DMSO. Mật độ quang (OD) được đo ở bước sóng 540 nm với bước sóng tham chiếu 720 nm. Paclitaxel (Taxol) được sử dụng làm chất đối chứng dương. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự sống sót của tế bào) được tính toán từ đồ thị biểu diễn tỷ lệ % tế bào sống sót theo nồng độ.

2.4.4. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm *in vitro* (Xác định MIC)

Hoạt tính kháng vi sinh vật được xác định bằng phương pháp pha loãng trên đĩa 96 giếng (broth microdilution method) theo hướng dẫn của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [130], nhằm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).

Các chủng vi sinh vật thử nghiệm: 4 chủng vi khuẩn (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), cùng 4 chủng vi nấm (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*).

Tiến hành: Các mẫu thử được pha loãng bậc 2 trong môi trường canh thang Mueller - Hinton (cho vi khuẩn) hoặc Sabouraud Dextrose (cho vi nấm), dải nồng độ từ 256 đến 1 $\mu\text{g/ml}$. Hỗn dịch vi sinh vật được chuẩn hóa độ đục

theo thang McFarland 0,5 (tương đương khoảng $1-2 \times 10^8$ CFU/ml) và cấy vào các giếng đã chứa mẫu thử.

Điều kiện ủ: Đĩa được ủ ở 37 °C trong 18-24 giờ đối với vi khuẩn và 28-30 °C trong 48-72 giờ đối với vi nấm. Giá trị MIC được xác định là nồng độ mẫu thử thấp nhất mà tại đó không quan sát thấy sự sinh trưởng của vi sinh vật bằng mắt thường (giếng hoàn toàn trong suốt), được xác nhận bằng máy đọc OD ở bước sóng 630 nm. Streptomycin và nystatin được sử dụng làm kháng sinh đối chứng cho vi khuẩn và vi nấm, tương ứng.

2.5. Phương pháp phân lập và định danh tuyến trùng

2.5.1. Phương pháp phân lập

Tại mỗi điểm thu mẫu, 1 kg đất và 100 g thân rễ được lấy từ vùng thân rễ (rhizosphere) ở độ sâu 10-25 cm. Mẫu được bảo quản trong túi nylon kín, vận chuyển về phòng thí nghiệm và xử lý trong vòng 48 giờ. Tuyến trùng được tách ra từ đất bằng phương pháp khay Baermann cải tiến (modified Baermann tray method). Các mẫu thân rễ được rửa sạch kỹ dưới vòi nước máy, cắt thành các đoạn nhỏ 0,5 cm và đặt trên phễu Baermann cải tiến trong 48 giờ để thu hồi các tuyến trùng nội ký sinh. Các cá thể tuyến trùng sau khi tách được chọn lọc thủ công (hand-picking) dưới kính hiển vi soi nổi để phục vụ cho các phân tích hình thái và sinh học phân tử tiếp theo [131].

Xác định mật độ tuyến trùng: tuyến trùng được đếm bằng đĩa đếm (counting dish) dưới kính hiển vi soi nổi. Kết quả được biểu thị dưới dạng số cá thể trên 100 g đất hoặc 5 g thân rễ.

2.5.2. Đặc điểm hình thái

Tuyến trùng tươi được diệt bằng nhiệt ở 60-70 °C trong 30 giây và chuyển ngay vào dung dịch cố định TAF (8 ml formalin 40%, 2 ml triethanolamine, 90 ml nước cất) theo phương pháp của Courtney, Polley. Các mẫu vật cố định được xử lý chuyển sang glycerin khan bằng phương pháp khử nước chậm của Seinhorst [132]. Các tiêu bản cố định (lam kính) được chuẩn bị và dán kín bằng parafin. Các phép đo hình thái được thực hiện

bằng Kính hiển vi Olympus BX51 (vật kính $\times 40$ và $\times 100$ ngâm dầu) được trang bị camera kỹ thuật số và ống vẽ. Các bức ảnh vi thể và bản vẽ được chuẩn bị để mô tả phân loại.

2.5.3. Đặc điểm sinh học phân tử

Tách chiết riêng DNA, tuyến trùng sống được tách riêng và rửa ba lần trong nước cất vô trùng. Từng cá thể được chuyển vào ống PCR 0,2 ml và cắt thành các mảnh nhỏ trong 20 μ l đệm ly giải (worm lysis buffer: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8,3; 2,5 mM $MgCl_2$, 0,45% NP-40; 0,45% Tween-20). Các mẫu được ủ ở $-20^\circ C$ trong ít nhất 10 phút, sau đó thêm 1 μ l proteinase K (1,2 mg/ml). Quá trình ly giải được thực hiện ở $65^\circ C$ trong 1 giờ, sau đó bất hoạt enzyme ở $95^\circ C$ trong 10 phút [133, 134].

Khuếch đại vùng D2-D3 của 28S rRNA sử dụng các mồi D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3') và D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3') [133, 134]. Phản ứng PCR (tổng thể tích 25 μ l) gồm: 12,5 μ l PCR Master Mix 2x, 1 μ l mỗi mồi (10 μ M), 2 μ l DNA khuôn mẫu, và nước vô trùng vừa đủ. Chu trình nhiệt: biến tính khởi đầu $94^\circ C/4$ phút; 5 chu kỳ ($94^\circ C/30$ s, $45^\circ C/30$ s, $72^\circ C/2$ phút); 35 chu kỳ ($94^\circ C/30$ s, $54^\circ C/30$ s, $72^\circ C/1$ phút); kéo dài cuối $72^\circ C/10$ phút; giữ ở $12^\circ C$.

Khuếch đại vùng ITS rDNA sử dụng Mồi Vrain2F (5'-CTTTGTACACACCGCCCGTCG-3') và Vrain2R (5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3'). Chu trình nhiệt: biến tính khởi đầu $94^\circ C/4$ phút; 40 chu kỳ ($94^\circ C/30$ s, $54^\circ C/30$ s, $72^\circ C/2$ phút); kéo dài cuối $72^\circ C/10$ phút; giữ ở $12^\circ C$.

Khuếch đại gen COI mtDNA: Mồi JB3 (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') và JB4 (5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3') được sử dụng. Chu trình nhiệt tương tự vùng 28S với nhiệt độ bắt cặp mồi (annealing) là $45^\circ C$ [133, 134].

Giải trình tự và phân tích, tất cả sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5% nhuộm bằng ethidium bromide (hoặc SYBR Safe).

Các mẫu khuếch đại thành công được tinh sạch và giải trình tự thương mại bởi Macrogen Inc. (Châu Âu). Các sắc ký đồ thô (chromatograms) được lắp ráp và chỉnh sửa trong phần mềm Geneious R11 (Biomatters Ltd.). Tìm kiếm BLAST được sử dụng để đánh giá độ tương đồng với các trình tự hiện có trong GenBank. Các trình tự được giống hàng bằng MUSCLE v5.3, và phân tích phát sinh loài được thực hiện trong MrBayes v3.2.6. Các mô hình thay thế nucleotide phù hợp nhất được chọn bằng MEGA7 dựa trên Tiêu chuẩn Thông tin Akaike (AIC) [134, 135].

2.5.4. Phân tích thành phần của nghệ liên quan đến nhiễm tuyến trùng

Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của tuyến trùng *S. curcumae* lên một số thông số chính gồm đặc điểm tổng thể của đất (pH, độ ẩm và nitrogen tổng số), các chỉ số của cây nghệ, hàm lượng curcuminoid, và cụ thể là nồng độ của CUR, DMC và BDMC.

Đo pH đất được thực hiện theo tiêu chuẩn TCVN 5979:2021 (ISO 10390:2021) [136].

Xác định nitrogen tổng số (phương pháp Kjeldahl) được thực hiện theo tiêu chuẩn TCVN 6498:1999 [137].

Định lượng curcuminoid bằng HPLC sử dụng thân rễ nghệ khô (210 ngày tuổi) được nghiền thành bột mịn, cân chính xác và chiết bằng dung môi. Dịch chiết được lọc qua màng 0,45 μm trước khi bơm vào hệ thống HPLC [138].

Điều kiện HPLC: Hệ thống Agilent 1260 với đầu dò UV-Vis. Cột phân tích: Eclipse XDB-C18 (150 $\times$ 4,6 mm, 5 μm) kèm tiền cột cùng loại (Agilent). Pha động đẳng dòng (isocratic): kênh A, nước chứa 0,1% acid formic (formic acid, FA); kênh B, acetonitrile (ACN); kênh C, methanol (MeOH); tỷ lệ A:B:C = 40:25:35 (v/v/v). Tốc độ dòng: 0,5 ml/phút; thể tích tiêm: 5 μl ; nhiệt độ cột: 30 $^{\circ}\text{C}$; bước sóng phát hiện: 428 nm; tổng thời gian phân tích: 30 phút [139].

2.6. Phương pháp nghiên cứu mô phỏng *in silico*

2.6.1. Mô phỏng dự đoán hoạt tính dọn dẹp gốc tự do $\text{HOO}\cdot$ [140, 141]

Sử dụng phần mềm Gaussian 16 Revision C.01 cho tất cả các tính toán lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT). Cấu trúc hình học và điện tử, nhiệt động học và động học của các dạng trung hòa và dạng ion được khảo sát bằng cách sử dụng phiếm hàm M06-2X, kết hợp với bộ hàm cơ sở 6-31+G (d,p). Độ chính xác của các mức năng lượng thu được đã được cải thiện bằng cách sử dụng bộ cơ sở Pople cao hơn là 6-311++G(3df,3pd). Các phương pháp tính toán này đã được áp dụng thành công cho các hệ phân tử khác nhau trong các nghiên cứu gần đây.

Hệ số tỷ lệ (scaling factor) là 0,952 đã được áp dụng cho các tính toán tần số dao động. Các cấu trúc trạng thái chuyển tiếp được xác nhận bằng sự hiện diện của đúng một tần số ảo duy nhất (one imaginary frequency) tương ứng với chuyển động dọc theo tọa độ phản ứng. Tính toán tọa độ phản ứng nội tại (IRC), sử dụng bộ tích hợp dự báo, hiệu chỉnh dựa trên Hessian (HPC), được thực hiện để xác nhận rằng trạng thái chuyển tiếp kết nối đúng chất phản ứng và sản phẩm.

Ảnh hưởng của dung môi, bao gồm nước ($\epsilon = 78,3553$) và pentyl ethanoate (PEA, $\epsilon = 4,7297$), được mô hình hóa bằng cách sử dụng mô hình Solvent hóa dựa trên mật độ (SMD) - mô hình tương tác của điện tích cơ học lượng tử của phân tử chất tan với mô tả liên tục của dung môi. Sự phân bố cấu hình của các hợp chất nghiên cứu được dự đoán bằng MSTor.

Ảnh hưởng của cân bằng acid-base đến hoạt động dọn gốc $\text{HOO}\cdot$ trong các dung môi cũng đã được xem xét. Trong môi trường lipid (giả lập bởi dung môi PEA), tất cả các hợp chất nghiên cứu được giả định tồn tại ở dạng trung hòa. Ngược lại, trong môi trường phân cực (tức là nước), ba vị trí khử proton (deprotonation) khác nhau có thể tồn tại trong các nhóm hydroxyl hoặc methylene.

Các hằng số phân ly acid (pK_a) được tính toán bằng các mô hình bán thực nghiệm do Rebollar-Zepeda và cộng sự đề xuất cho các dẫn xuất phenolic. Cơ chế chống oxy hóa và động học của dạng trung hòa cùng ba dạng anion sau đó được dự đoán thông qua ba quá trình tiêu chuẩn: Tách hydro (Abs), Cộng gốc (Add), và Chuyển electron đơn (SET).

Sơ đồ các phức chất tiền phản ứng do Singleton và Cvetanovic đề xuất được sử dụng cho các tính toán động học của phản ứng Abs và Add. Các tính toán tọa độ phản ứng nội tại (IRC), sử dụng bộ tích hợp dự báo-hiệu chỉnh dựa trên Hessian (HPC), đã được thực hiện để xác nhận xem tần số mô phỏng có tương ứng với chuyển động thích hợp dọc theo tọa độ phản ứng hay không.

Công cụ Gaussian Post Processor (GPOP) được sử dụng để tính toán hằng số tốc độ của tất cả các phản ứng. Năng lượng tự do Gibbs hoạt hóa của phản ứng SET được tính toán dựa trên lý thuyết Marcus. Hằng số tốc độ biểu kiến đã hiệu chỉnh khuếch tán trong dung môi được tính toán bằng lý thuyết Collins-Kimball và hằng số tốc độ Smoluchowski ở trạng thái ổn định.

Cuối cùng, các hằng số tốc độ tổng thể (k_{overall}) được tính bằng tổng của hằng số tốc độ cho các phản ứng Abs (k_{Abs}), Add (k_{Add}), và SET (k_{SET}), có tính đến phần mol của từng dạng acid-base và dạng hổ biến (tautomeric) tương ứng thông qua phương trình sau (phương trình (1)):

$$k_{\text{overall}} = F_{\text{diketone}} \times \sum (X_{\text{fi}} \times k_{\text{tot}}^i) + F_{\text{keto-enol}} \times \sum (X_{\text{fi}} \times k_{\text{tot}}^i) \quad (1)$$

Trong đó: i biểu thị các dạng trung hòa, monoanion, dianion và trianion của CUR và BDMC. k_{tot}^i đại diện cho tổng hằng số tốc độ cho ba cơ chế được nghiên cứu (tức là Abs, Add và SET), với $k_{\text{tot}} = k_{\text{Abs}} + k_{\text{Add}} + k_{\text{SET}}$. F_{diketone} và $F_{\text{keto-enol}}$ lần lượt là phần mol của các dạng diketone và keto-enol của CUR.

2.6.2. Mô phỏng dự đoán cơ chế hoạt tính chống viêm [141, 142]

2.6.2.1. Chuẩn bị phối tử và protein

Các curcuminoid được xây dựng cấu trúc không gian hai chiều và ba chiều bằng phần mềm MarvinSketch (v19.27.0) và PyMOL (v1.3.r1). Các cấu

trúc được cực tiểu hóa năng lượng bằng phần mềm Gabedit (v2.5.0). Để tương ứng với nghiên cứu thực nghiệm sử dụng dòng tế bào RAW 264.7, các mô phỏng lắp ghép phân tử (docking phân tử) tập trung vào phức hợp protein TLR4/MD-2 của chuột. Cấu trúc tinh thể tia X của TLR4/MD-2 được truy xuất từ Ngân hàng Dữ liệu Protein RCSB (RCSB PDB) với các mã định danh 2Z64 và 3VQ2. Cả hai mô hình đều nằm trong phạm vi độ phân giải chất lượng cao từ 1,5-3,0 Å. Ban đầu, dạng đơn phân (monomeric), không chứa LPS (2Z64) được sử dụng để xác định vị trí liên kết giả định ở trạng thái bất hoạt. Sau đó, cấu hình hoạt động dạng nhị phân (dimeric) (3VQ2), đặc trưng bởi sự hiện diện của LPS, được sử dụng để xác nhận các cấu hình liên kết và dự đoán tiềm năng ức chế của các hợp chất được nghiên cứu.

2.6.2.2. *Docking phân tử sử dụng AutoDock*

Việc chuẩn bị tham số đầu vào cho protein và phối tử được thực hiện bằng phần mềm AutoDock4 Tools v1.5.6rc3 (ADT). Protein được loại bỏ các phân tử nước kết tinh, sau đó, bổ sung các nguyên tử hydro phân cực, tham số solvat hóa và điện tích riêng phần Kollman. Để xác định không gian mô phỏng liên kết, một hộp lưới (grid box) được thiết lập với kích thước đủ để bao gồm các amino acid tham gia cấu thành nên vùng hoạt động của protein. Quá trình docking phân tử được thực hiện bằng thuật toán di truyền Lamarckian (LGA) trong AutoDock 4.2.6. Sau mô phỏng, cấu hình có năng lượng tự do liên kết thấp nhất từ cụm (cluster) có mật độ cao nhất được chọn để phân tích dữ liệu. Độ tin cậy của quy trình docking được kiểm chứng bằng cách re-docking phối tử đồng kết tinh (co-crystallized ligand) vào vị trí liên kết ban đầu của protein. Giá trị RMSD (Root Mean Square Deviation) giữa cấu hình liên kết dự đoán bởi docking và cấu hình liên kết thực nghiệm được tính toán; $\text{RMSD} < 2,0 \text{ Å}$ được xem là quy trình mô phỏng đáp ứng khả năng lặp lại thực nghiệm. Cấu hình liên kết giữa phối tử và protein được thể hiện bằng phần mềm PyMOL và Discovery Studio Visualizer 14.2.2.

2.6.2.3. Mô phỏng động lực học phân tử

Cấu hình tương tác thu được từ docking phân tử được dùng làm dữ liệu đầu vào để tiến hành các mô phỏng MD bằng phần mềm GROMACS nhằm tinh chỉnh liên kết của TLR4/MD-2 với các chất ức chế tiềm năng. Thiết lập mô phỏng sử dụng kết hợp Amber99SB-iLDN, TIP3P và GAFF lần lượt cho protein, dung môi và các chất ức chế tiềm năng. Đối với các phối tử, dữ liệu cấu trúc được tinh chỉnh bằng các tính toán DFT (B3LYP/6-31G (d,p)), và các điện tích được suy ra bằng phương pháp RESP trong dung môi với $\epsilon = 78,4$. Phức hệ được solvat hóa trong một hộp mười hai mặt (dodecahedron) có kích thước 6,3 x 6,3 x 6,3 nm, tổng kích thước hệ mô phỏng bao gồm khoảng 28.000 nguyên tử. Các bước thời gian trong mô phỏng MD được đặt là 2 fs. Sự tương tác tĩnh điện được bắt chước thông qua phương pháp Smooth Particle-Mesh Ewald. Tương tác van der Waals (vdW) giữa các hạt có hiệu quả trong phạm vi 0,9 nm. Hệ hòa tan được cực tiểu hóa bằng phương pháp steepest descent. Hệ đã cực tiểu năng lượng được hồi phục trong 100 ps mô phỏng NVT (constant number (N), volume (V), temperature (T)) và 2 ns mô phỏng NPT (constant number (N), pressure (P), temperature (T)) ở nhiệt độ 310K bằng thermostat V-rescale, $\tau = 0,1$ ps); (ii) 2 ns mô phỏng NPT (ổn định áp suất tại 1 bar bằng barostat Parrinello-Rahman, $\tau = 2,0$ ps). Trong quá trình mô phỏng NVT và NPT, các nguyên tử C α của protein đích được giữ cố định lại một cách nhẹ nhàng bằng một lực điều hòa nhỏ. Các tọa độ của các phức hệ hòa tan được ghi nhận sau mỗi 10 ps. Toàn bộ quy trình mô phỏng được lặp lại ba lần để đảm bảo ý nghĩa thống kê.

2.6.2.4. Phân tích chỉ số dược động học ADMET

Chỉ số dược động học và chỉ số an toàn dược lý của các hợp chất nghiên cứu được đánh giá thông qua các webserver Molinspiration và ProTox-II gồm các thông số về đặc tính giống thuốc và mức độ độc tính cấp tính. Các chỉ số ADMET bao gồm hấp thụ, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính được tính toán trên hệ thống admetSAR.

2.6.2.5. Công cụ phân tích

Các kết quả docking thu được từ AutoDock được phân tích bằng các phần mềm PyMOL và Discovery Studio Visualizer. PyMOL được sử dụng để đo độ dài liên kết hydro bằng cách tính khoảng cách giữa các nguyên tử hydro và các nguyên tử tương tác với chúng. Một liên kết hydro (HB) được xác định khi góc giữa acceptor (A) - hydrogen (H) - donor (D) lớn hơn 135° và khoảng cách A-D nhỏ hơn 0,35 nm. Các trạng thái proton hóa của các phối tử được xác định bằng webserver Chemicalize (ChemAxon). Ngoài ra, độ ổn định cấu trúc được đánh giá bằng cách tính toán độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) của các tọa độ nguyên tử bằng mô-đun gmx rms được tích hợp trong GROMACS.

2.7. Phương pháp xử lý số liệu và phân tích thống kê

Các số liệu thực nghiệm được thu thập, xử lý thống kê cơ bản (tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn - Mean $\pm$ SD), và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

Đối với các thử nghiệm hoạt tính sinh học *in vitro* (kháng oxy hóa DPPH và gây độc tế bào MTT), các thông số IC_{50} và SC_{50} được xác định thông qua phần mềm TableCurve v5.0 AISN (Jandel Scientific, Mỹ) dựa trên phần trăm ức chế và khoảng nồng độ thử nghiệm.

Mối tương quan giữa mật độ tuyến trùng ký sinh và các chỉ tiêu sinh hóa của mẫu thực vật (hàm lượng curcuminoid, hoạt tính sinh học) được đánh giá bằng phương pháp phân tích hồi quy tuyến tính (Linear regression analysis). Các khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

Đối với dữ liệu sinh học phân tử, mô hình thay thế nucleotide tối ưu được lựa chọn bằng phần mềm MEGA7 v7.0 dựa trên Tiêu chuẩn thông tin Akaike (AIC). Phân tích cây phát sinh chủng loại (Phylogenetic tree) được thực hiện bằng phương pháp suy luận Bayes trên phần mềm MrBayes v3.2.6.

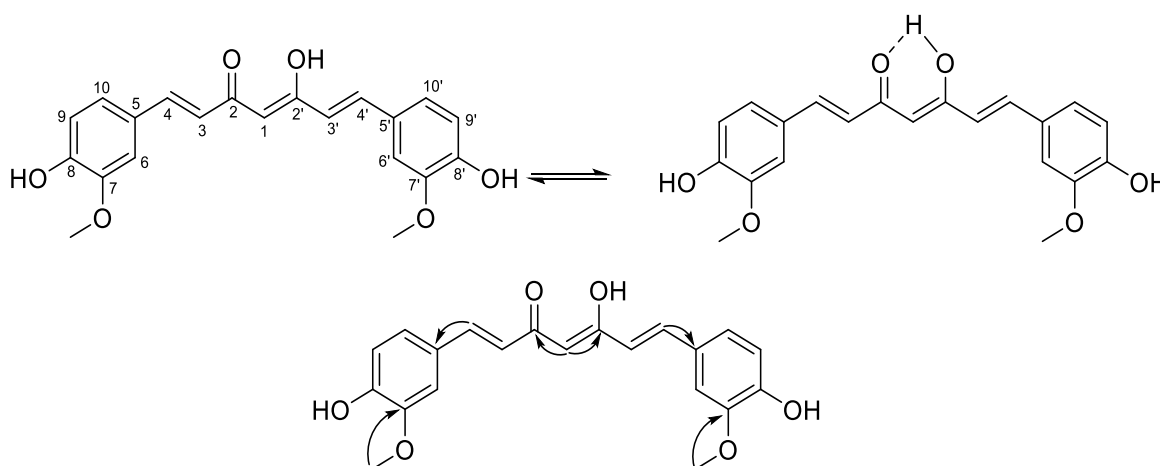
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất curcuminoid

Cấu trúc của 3 hợp chất phân lập được (CUR, DMC, BDMC) được xác định dựa trên phân tích phổ khối lượng (ESI-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^1H - và ^{13}C -NMR). Nhìn chung, cả 3 hợp chất đều mang bộ khung cơ bản diarylheptanoid với hệ thống β -diketone chủ yếu tồn tại ở dạng enol (đặc trưng bởi tín hiệu proton tại δ_{H} khoảng 16,0 ppm và proton olefin tại δ_{H} khoảng 5,8-6,0 ppm). Điểm mấu chốt để phân biệt và biện luận cấu trúc 3 hợp chất này nằm ở tính đối xứng phân tử và sự hiện diện của các nhóm methoxy ($-\text{OCH}_3$) trên vòng thơm.

3.1.1. Hợp chất curcumin (CUR)

Phổ ESI-MS cho peak ion giả phân tử tại m/z 369 $[\text{M}+\text{H}]^+$, phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$. Phổ NMR cho thấy CUR là một phân tử đối xứng, số lượng tín hiệu carbon quan sát được trên phổ ^{13}C -NMR chỉ bằng một nửa số lượng carbon thực tế. Điểm đặc trưng nhất là sự xuất hiện của tín hiệu singlet cường độ mạnh tại δ_{H} 3,94 (6H, s, 7,7'- OCH_3) trên phổ ^1H -NMR và tín hiệu carbon tại δ_{C} 56,0 (7,7'- OCH_3), khẳng định sự có mặt của hai nhóm methoxy ở vị trí ortho của hai vòng benzene. Kết hợp với các tài liệu tham khảo [119], hợp chất được xác định là curcumin.



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) của CUR

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

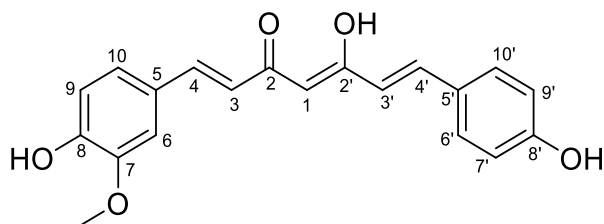
TT	CUR		[144]	
	$^a\delta_{\text{C}}$ ppm	$^a\delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$ ppm	$\# \delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)
1	101,1	5,80 (s)	100,9	5,98 (s)
2, 2'	183,3	-	183,4	16,41 (s)
3, 3'	121,8	6,49 (d; 15,6)	121,1	6,73 (d; 16,0)
4, 4'	140,6	7,60 (d; 15,6)	140,7	7,53 (d; 16,0)
5, 5'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

^a Đo trong CDCl₃ tại 600 MHz (^1H -NMR) và 150 MHz (^{13}C -NMR)

[#] Đo trong DMSO-d₆ tại 500 MHz (^1H -NMR) và 125 MHz (^{13}C -NMR)

3.1.2. Hợp chất demethoxycurcumin (DMC)

Phổ ESI-MS cho peak ion giả phân tử tại m/z 339 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tương ứng công thức C₂₀H₁₈O₅ (kém CUR 30 đvC, tương đương 1 nhóm -OCH₃). Khác với CUR, DMC là một phân tử không đối xứng, do đó phổ NMR hiển thị đầy đủ các tín hiệu carbon và proton của toàn bộ khung phân tử mà không có sự trùng lặp. Tín hiệu của nhóm methoxy trên phổ ^1H -NMR tại δ_{H} 3,93 ppm chỉ có tích phân là 3H, chứng tỏ phân tử chỉ chứa một nhóm methoxy duy nhất ở một bên vòng. Dữ liệu phổ hoàn toàn phù hợp với cấu trúc demethoxycurcumin [143].



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của DMC

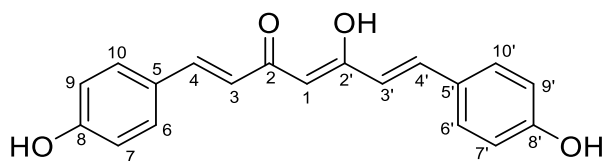
Bảng 3.2. Bảng dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của DMC

TT	DMC		[145]	
	$^a\delta_{\text{C}}$ ppm	$^a\delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$ ppm	$\# \delta_{\text{H}}$ ppm (J; Hz)
1	100,9	5,82 (s)	102,0	5,98 (s)
2	183,3	-	184,8	-
3	121,1	6,53 (dd; 15,5; 3,0)	122,3	6,64 (d; 15,8)
4	140,7	7,63 (d; 15,5)	142,1	7,59 (d; 15,8)
5	126,4	-	128,6	-
6	111,2	7,09 (d; 2,0)	111,7	7,23 (d; 1,9)
7	148,0	-	149,4	-
8	149,3	-	150,5	-
9	115,7	6,97 (d, 8,5)	116,9	6,84 (d, 8,2)
10	125,9	7,16 (dd; 8,5; 2,0)	124,1	7,12 (dd; 8,2; 1,9)
2'	183,1	-	184,8	-
3'	123,2	6,53 (dd; 15,5; 3,0)	122,3	6,61 (d, 15,6)
4'	140,4	7,63 (d; 15,5)	142,1	7,59 (d, 15,8)
5'	127,9	-	128,0	-
6'	130,4	7,51 (d, 8,5)	131,5	7,51 (d, 8,7)
7'	116,0	6,89 (d, 8,5)	116,6	6,84 (d, 8,2)
8'	159,8	-	161,1	-
9'	116,0	6,89 (d; 8,5)	116,6	6,84 (d; 8,2)
10'	130,4	7,51 (d; 8,5)	131,5	7,51 (d; 8,7)
7-OCH ₃	56,4	3,95 (s)	56,5	3,93 (s)
-OH		5,89 (s)		

^a Đo trong CDCl₃ tại 600 MHz (^1H -NMR) và 150 MHz (^{13}C -NMR)[#] Đo trong methanol-d₄ tại 500 MHz (^1H -NMR) 125 MHz (^{13}C -NMR)**3.1.3. Hợp chất bisdemethoxycurcumin (BDMC)**

Hợp chất cho peak ion giả phân tử tại m/z 309 [M+H]⁺ trên phổ ESI-MS, phù hợp với công thức C₁₉H₁₆O₄. Tương tự CUR, BDMC lại là một phân tử đối xứng nên số lượng tín hiệu trên phổ NMR giảm đi một nửa. Tuy nhiên, dấu hiệu quan trọng nhất là sự vắng mặt hoàn toàn của các tín hiệu thuộc nhóm methoxy (vùng δ_{H} 3,8-3,9 ppm trên ^1H -NMR và vùng δ_{C} khoảng 56 ppm trên

^{13}C -NMR). Sự đối xứng và không có nhóm thế methoxy nào khẳng định hợp chất này là bisdemethoxycurcumin [119].



Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của BDMC

Bảng 3.3. Bảng dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của BDMC

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

^a Đo trong CDCl_3 tại 500 MHz (^1H -NMR) và 150 MHz (^{13}C -NMR)

[#] Đo trong $\text{DMSO}-d_6$ tại 500 MHz (^1H -NMR) và 125 MHz (^{13}C -NMR)

Từ nguyên liệu thân rễ nghệ vàng thu hái tại Việt Nam, nghiên cứu đã chiết xuất, phân lập và tinh chế thành công 3 dạng riêng biệt của hệ curcuminoid bao gồm: CUR, DMC và BDMC. Cấu trúc hóa học của 3 hợp chất này đã được minh chứng và được xác nhận thông qua các dữ liệu phổ thực nghiệm (MS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR), hoàn toàn phù hợp với tài liệu tham khảo (đây là các hợp chất đã biết). Việc sử dụng phương pháp sắc ký cột kết hợp tối ưu hóa hệ dung môi rửa giải trong nghiên cứu này đã cho thấy ưu điểm về khả năng phân tách tốt từng dạng với độ tinh khiết cao so với các phương pháp truyền thống (như ngâm ngấm kiệt hay chiết Soxhlet) vốn chỉ thu được hỗn hợp curcuminoid thô, khó tách riêng do sự tương đồng lớn về độ phân cực. Kết quả này cung cấp nguồn nguyên liệu, là tiền đề bắt buộc

để đánh giá hoạt tính sinh học riêng rẽ của từng dạng, cũng như lựa chọn hợp chất nền tảng tối ưu nhất cho các nghiên cứu ở giai đoạn tiếp theo.

Trong tự nhiên, hệ curcuminoid chiết xuất từ thân rễ nghệ vàng luôn tồn tại dưới dạng hỗn hợp với tỷ lệ phân bố mang tính đặc trưng của sinh học: curcumin (CUR) thường chiếm ưu thế từ 70-80%, demethoxycurcumin (DMC) chiếm 15-20% và bisdemethoxycurcumin (BDMC) chiếm 2-5%. Sự hiện diện đồng thời của cả ba dạng cấu trúc với tỷ lệ ổn định này được xem như dấu vân tay hóa thực vật (phytochemical fingerprint) để phân biệt hệ curcuminoid tự nhiên với curcumin tổng hợp nhân tạo (quá trình tổng hợp hóa học thường chỉ tạo ra một dạng đơn chất CUR tinh khiết hoặc hỗn hợp không tuân theo tỷ lệ sinh học này). Hơn nữa, việc xác định chính xác tỷ lệ của 3 dạng này còn có ý nghĩa quan trọng trong việc đánh giá chất lượng dược liệu đầu vào, bởi tỷ lệ này không hoàn toàn cố định mà có thể bị suy giảm nghiêm trọng dưới các tác động của stress sinh thái, điển hình như sự lây nhiễm của tuyến trùng thực vật.

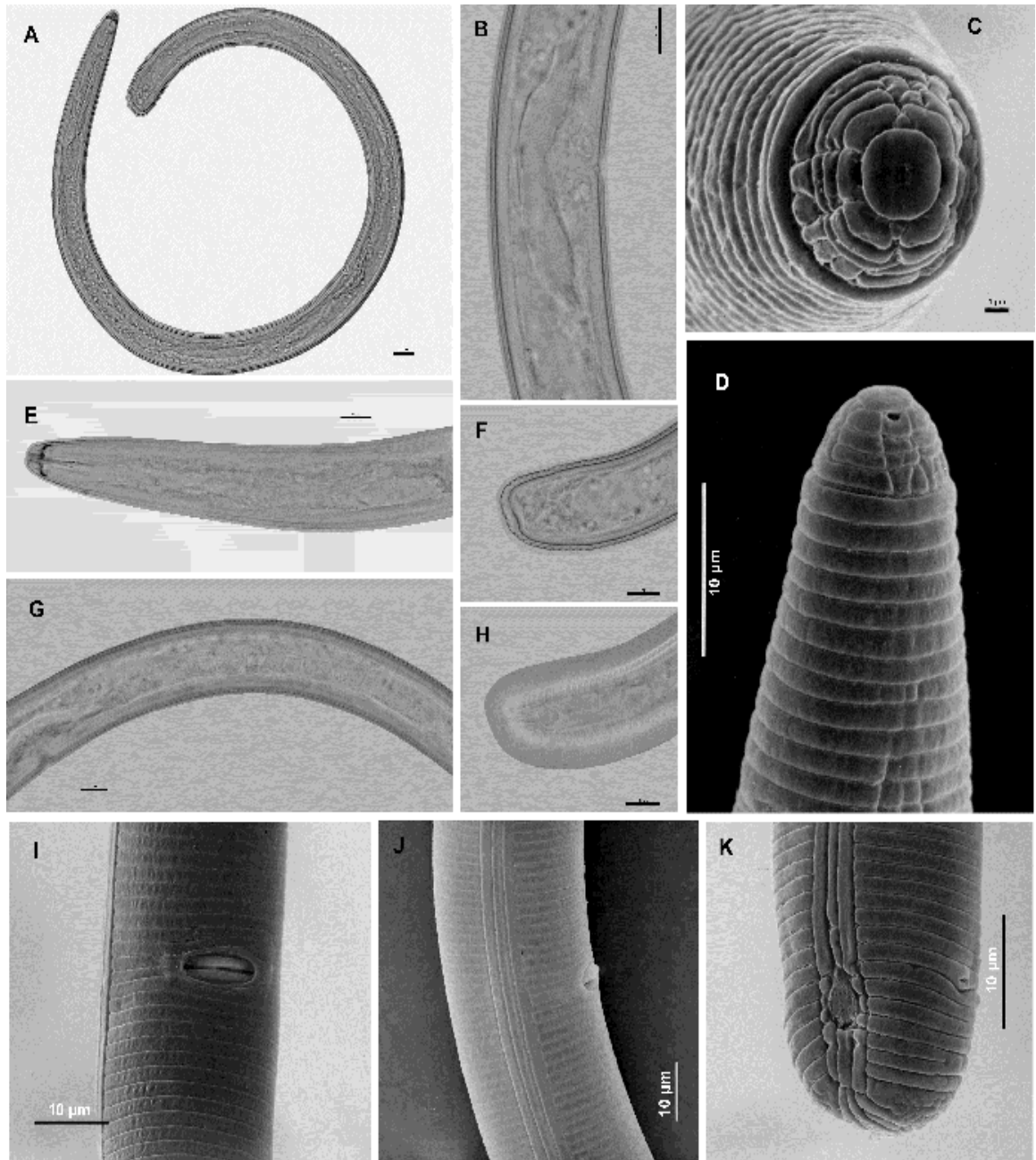
3.2. Tác động của loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của thân rễ nghệ vàng

Nghiên cứu này đã tích hợp thành công dữ liệu phân loại học tuyến trùng và phân tích hóa thực vật, qua đó không chỉ phát hiện một loài tuyến trùng mới mà còn làm rõ tác động sinh thái học của chúng đối với chất lượng dược liệu của cây nghệ vàng.

3.2.1. Phân loại học, đặc điểm phân tử và sinh thái của loài *S. curcumae*

Về mặt hình thái, quần thể tuyến trùng phân lập từ vùng thân rễ cây nghệ ở Tây Nguyên mang những đặc trưng của một loài mới, được định danh là *Scutellonema curcumae* sp. n. Chiều dài cơ thể đạt từ 802-1062 μm , có dạng cuộn xoắn ốc khi làm giãn bằng nhiệt (Hình 3.4A), vùng môi hình bán cầu với 4 vòng ngắn không phân tách khỏi đường viền cơ thể (Hình 3.4D, E), và kim chích mập mập dài 30-34 μm (Hình 3.4E). Loài này có phần cuối đuôi tròn mang một cấu trúc hình khiên (scutellum) nổi bật (Hình 3.4K), túi chứa tinh

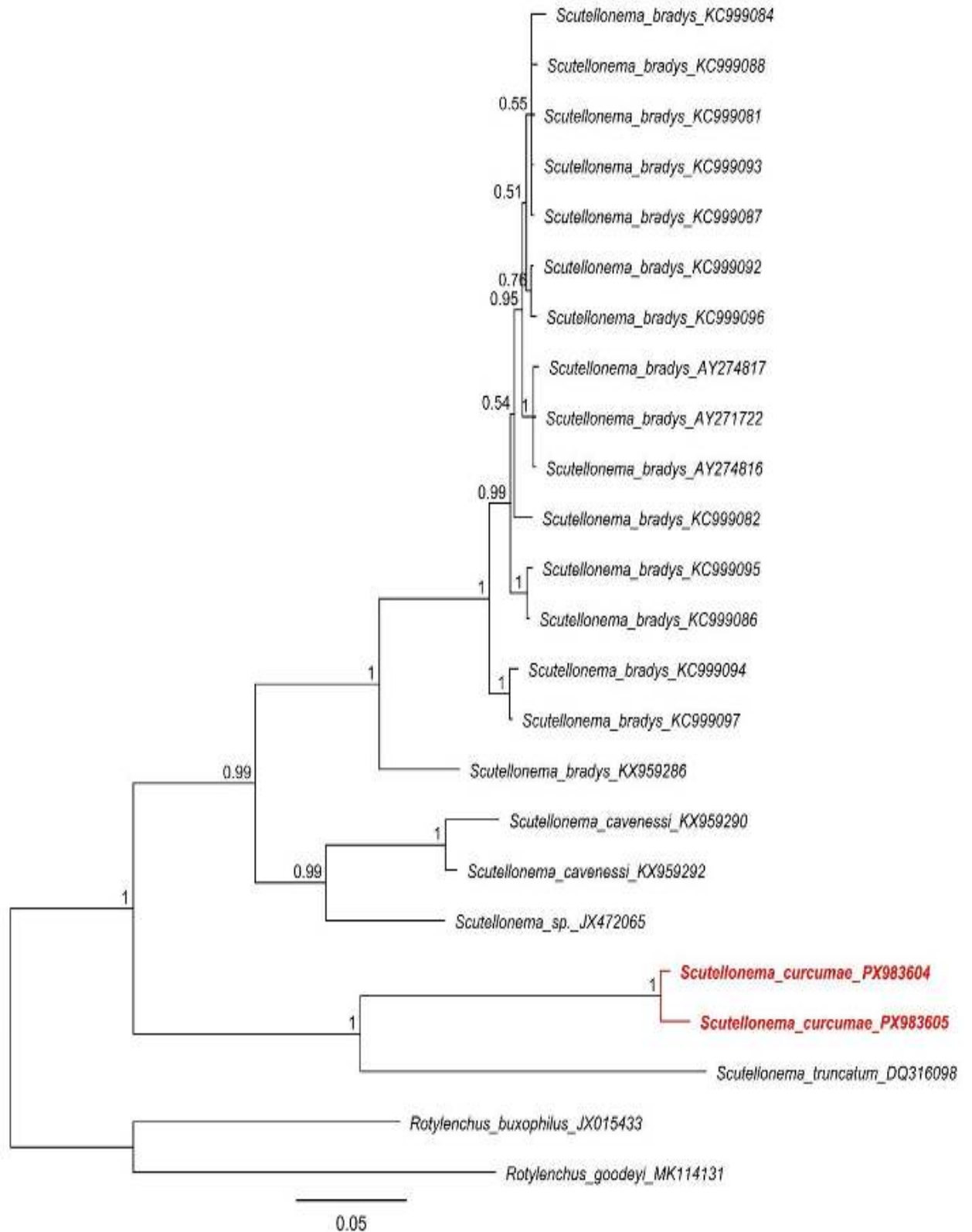
không hoạt động và cực kỳ hiếm/vắng bóng con đực. Những đặc điểm này xếp *S. curcumae*. vào phức hợp loài *S. bradys*, nhưng hoàn toàn phân biệt được với các loài họ hàng gần nhất (như *S. magniphasma*, *S. ussuriensis*, *S. megascutatum* và *S. tanlamense*) nhờ sự kết hợp giữa chiều dài kim chích, kích thước hình khiên và vị trí cấu trúc bán hoàn (hemizonid).



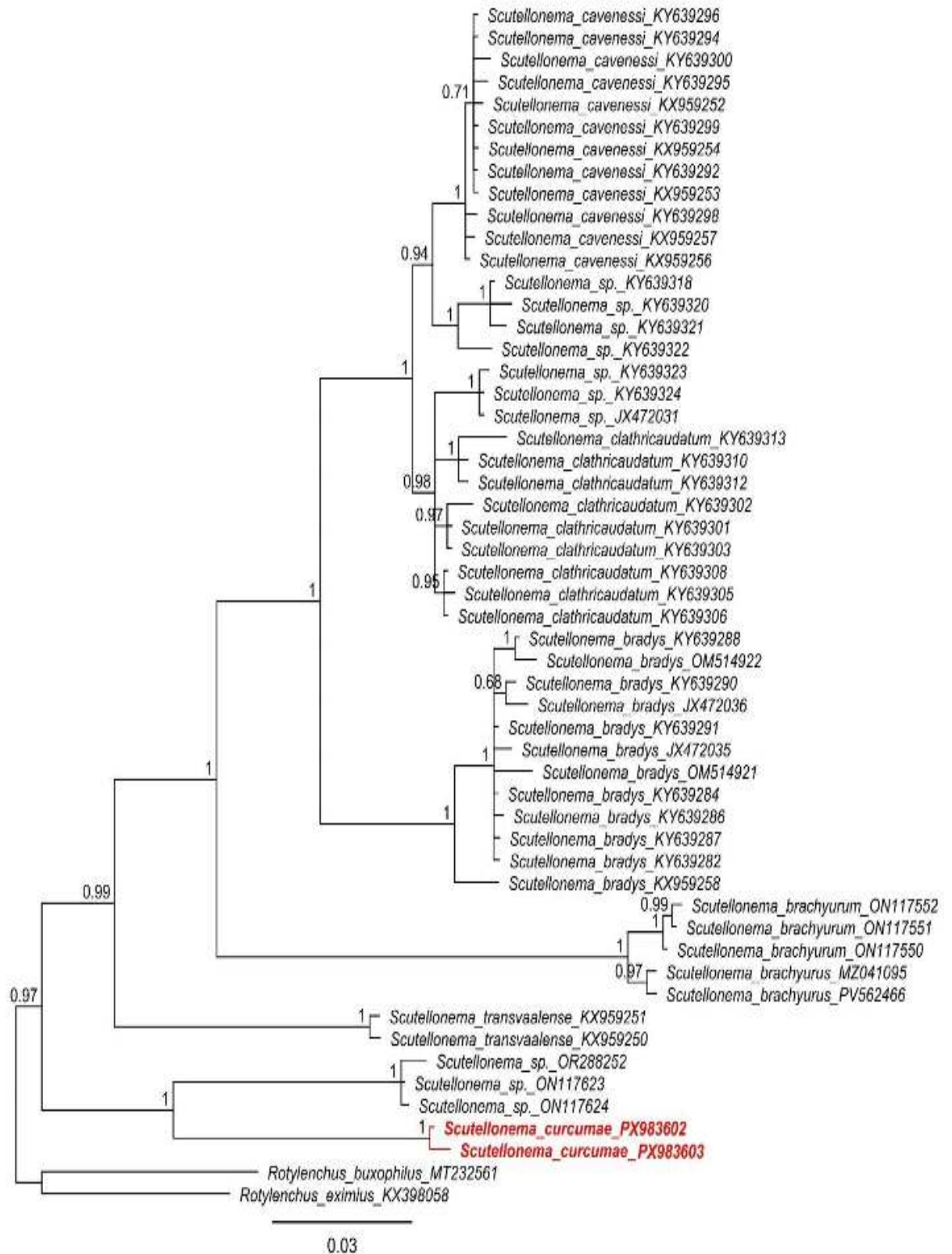
Hình 3.4. Các cá thể cái của loài *S. curcumae* từ Việt Nam.

A: Toàn bộ cơ thể; B, I, J: Vùng âm môn; C, D, E: Vùng trước; F: Vùng đuôi; H, K: Vùng đuôi cho thấy các cấu trúc hình khiên (scutella); G: Buồng trứng.

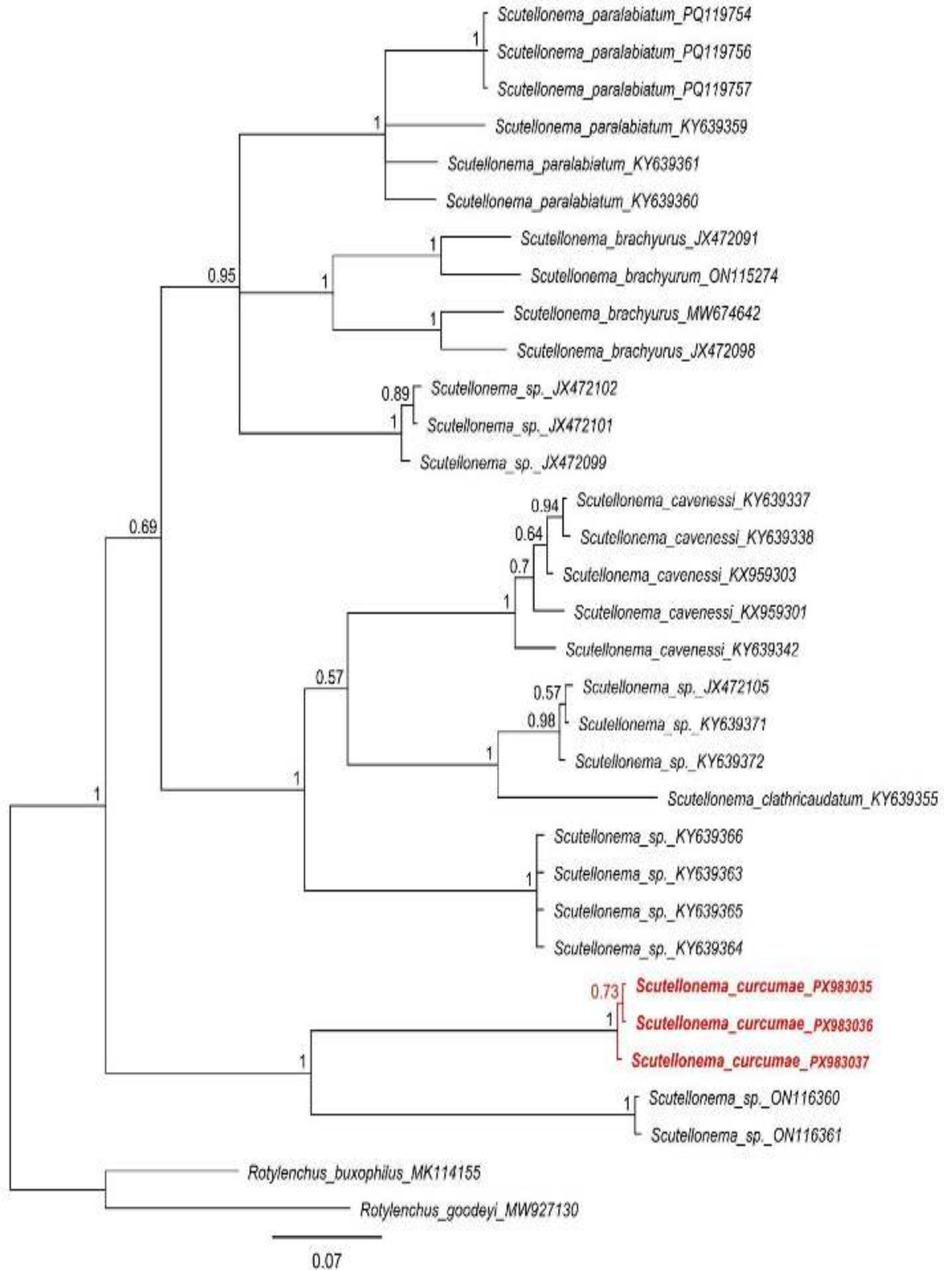
(Thang đo: A: 200 μm ; B, D-K: 10 μm ; C: 1 μm).



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



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



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

Sự khác biệt hình thái này được củng cố bởi dữ liệu phân tử đa locus. Mức độ tương đồng trình tự giữa *S. curcumae* và các loài *Scutellonema* khác trên GenBank là rất thấp: chỉ đạt 69-70% ở vùng ITS, 89,4-90,5% ở vùng 28S D2-D3 và 79,4-79,9% ở vùng COI. Cây phát sinh chủng loại Bayes cho thấy loài mới này tạo thành một nhánh tiến hóa (lineage) tách biệt và được hỗ trợ tối đa (PP = 1,0) trên cả ba marker phân tử (Hình 3.5, 3.6 và 3.7). Việc chỉ phát hiện *S. curcumae* trên cây nghệ không chỉ là báo cáo đầu tiên về chi này trên *C. longa* tại Việt Nam mà còn gợi ý sự thích nghi sinh thái đặc thù đối với thực vật có thân rễ.

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

Nghiên cứu cung cấp bằng chứng định lượng tốt về tương tác giữa thực vật, tuyến trùng và hóa học. Kết quả cho thấy có một mối tương quan nghịch phụ thuộc mật độ giữa quần thể *S. curcumae* và chất lượng hóa thực vật của thân rễ. Khi mật độ lây nhiễm giảm từ 19,6 xuống 0,8 cá thể/100g đất, tổng hàm lượng curcuminoid đã tăng lên đáng kể từ 4,01% đến 4,95% (Bảng 3.4 và 3.5).

Bảng 3.4. Tính chất lý hóa của đất^a và mật độ quần thể tuyến trùng tại các khu vực trồng nghệ (*C. longa*) ở Kon Tum, Việt Nam

Mẫu	pH	Độ ẩm (%)	Tổng nitrogen (%)	Tổng nematodes (đất) ^b	Tổng nematodes (thân rễ) ^b	<i>S. curcumae</i> (đất) ^b	<i>S. curcumae</i> (thân rễ) ^b
M1	6,5	73,5	1,05	131,8	59,7	25,3	19,6
M2	6,3	73,4	0,92	58,2	17,7	11,4	7,5
M3	6,6	73,6	0,95	79,3	88,4	3,8	10,7
M4	7,1	74,1	0,98	185,3	78,4	27,9	12,5
M5	6,8	74,2	1,07	125,3	58,4	29,6	16,5
M6	6,9	74,0	1,01	141,5	66,8	22,1	12,3
M7	6,0	72,8	0,90	87,6	33,9	5,5	8,2
M8	6,2	72,9	0,91	90,2	47,9	6,3	3,1
M9	5,9	72,8	0,95	70,1	23,3	4,5	1,6

Mẫu	pH	Độ ẩm (%)	Tổng nitrogen (%)	Tổng nematodes (đất) ^b	Tổng nematodes (thân rễ) ^b	<i>S. curcumae</i> (đất) ^b	<i>S. curcumae</i> (thân rễ) ^b
M10	5,6	70,9	0,92	36,8	11,3	2,6	0,8

^a Đất tại các khu vực khảo sát thuộc loại đất nâu đỏ trên đá bazan (thành phần cơ giới: thịt pha sét). ^b Số cá thể trên 100g đất/thân rễ.

Phân tích hồi quy chỉ ra rằng, quần thể tuyến trùng nội ký sinh trong rễ có thể là một trong những tác nhân quan trọng đóng góp vào sự suy thoái này, với tác động tiêu cực và có ý nghĩa thống kê hơn nhiều so với tuyến trùng sống tự do trong đất (Bảng 3.6). Đáng chú ý, sự biến đổi chất chuyển hóa này không diễn ra đồng đều. Khi mật độ lây nhiễm tuyến trùng giảm, tỷ lệ của ba curcuminoid chính thay đổi rõ rệt: trong khi curcumin chỉ biến động nhẹ (~8%), demethoxycurcumin tăng ~40%, thì bisdemethoxycurcumin lại có sự gia tăng đột biến lên tới 250% (từ 0,16% lên 0,56%) (Bảng 3.5). Sự biến đổi có chọn lọc này ngụ ý rằng tuyến trùng có thể đang can thiệp vào các bước enzyme cụ thể (như quá trình *O*-methyl hóa) trong con đường sinh tổng hợp phenylpropanoid.

Bảng 3.5. Thành phần hóa thực vật và hoạt tính sinh học của thân rễ nghệ liên quan đến nhiễm tuyến trùng

Mẫu	Tổng curcuminoid (%)	CUR (%)	DMC (%)	BDMC (%)	SC ₅₀ (μg/ml)	IC ₅₀ Hep-G2 (μg/ml)	IC ₅₀ A549 (μg/ml)
M1	4,01 ± 0,05	3,19 ± 0,08	0,64 ± 0,04	0,16 ± 0,01	43,62 ± 3,08	44,23 ± 2,08	55,23 ± 3,34
M2	4,25 ± 0,03	3,07 ± 0,07	0,86 ± 0,02	0,32 ± 0,03	23,45 ± 2,19	43,67 ± 2,86	58,93 ± 2,99
M3	4,16 ± 0,04	3,06 ± 0,05	0,80 ± 0,03	0,31 ± 0,02	21,03 ± 2,56	45,37 ± 3,49	60,32 ± 3,05

Mẫu	Tổng curcuminoid (%)	CUR (%)	DMC (%)	BDMC (%)	SC₅₀ (μg/ml)	IC₅₀ Hep- G2 (μg/ml)	IC₅₀ A549 (μg/ml)
M4	4,15 $\pm$ 0,02	3,18 $\pm$ 0,05	0,72 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,01	32,89 $\pm$ 3,55	38,82 $\pm$ 2,98	52,75 $\pm$ 2,45
M5	4,10 $\pm$ 0,04	3,19 $\pm$ 0,06	0,69 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,02	40,31 $\pm$ 3,86	37,85 $\pm$ 2,05	50,37 $\pm$ 2,97
M6	4,15 $\pm$ 0,05	3,21 $\pm$ 0,06	0,69 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,01	34,26 $\pm$ 3,82	38,63 $\pm$ 2,52	51,34 $\pm$ 3,14
M7	4,23 $\pm$ 0,03	3,16 $\pm$ 0,09	0,74 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,03	25,87 $\pm$ 2,44	39,38 $\pm$ 1,56	48,21 $\pm$ 3,82
M8	4,70 $\pm$ 0,06	3,38 $\pm$ 0,07	0,91 $\pm$ 0,03	0,41 $\pm$ 0,02	18,91 $\pm$ 1,73	35,76 $\pm$ 2,88	47,55 $\pm$ 2,43
M9	4,88 $\pm$ 0,07	3,45 $\pm$ 0,08	0,98 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,01	16,42 $\pm$ 1,89	29,04 $\pm$ 1,22	41,43 $\pm$ 3,02
M10	4,95 $\pm$ 0,02	3,45 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,02	13,85 $\pm$ 1,31	29,35 $\pm$ 1,10	40,37 $\pm$ 3,31
Ascorbic acid		-	-	-	6,81 $\pm$ 1,03	-	-
Paclitaxel		-	-	-	-	47,2 $\pm$ 1,38 nM	21,3 $\pm$ 1,02 nM

Bảng 3.6. Phân tích hồi quy tuyến tính ảnh hưởng của mật độ *S. curcumae* (trong thân rễ và đất) đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học

Chỉ tiêu phân tích	Tác động của quần thể trong thân rễ (% thay đổi/đơn vị)	Tác động của quần thể trong đất (% thay đổi/đơn vị)	Tác động kết hợp
Thành phần hóa học			
Tổng curcuminoid	-1,04	-0,46	-0,35
Curcumin	-0,44	NS	NS
Demethoxycurcumin	-1,78	-0,89	-0,64
Bisdemethoxycurcumin	-3,81	-2,05	-1,41
Hoạt tính sinh học			
Chống oxy hóa (SC ₅₀)	+12,33	+5,5	+4,51
Gây độc tế bào Hep-G2 (IC ₅₀)	+1,94	NS	NS
Gây độc tế bào A549 (IC ₅₀)	+1,47	NS	NS

NS = Không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Giá trị dương của SC₅₀/IC₅₀ biểu thị sự suy giảm hoạt tính.

Sự thay đổi hàm lượng của curcuminoid ảnh hưởng đến hoạt tính của nghệ. Ở những mẫu ít chịu áp lực từ tuyến trùng, hàm lượng curcuminoid được tăng dẫn đến hoạt tính chống oxy hóa tăng lên mạnh (giá trị SC₅₀ giảm từ 43,62 $\mu\text{g/ml}$ xuống 13,85 $\mu\text{g/ml}$) (Bảng 3.5). Tương tự, hoạt tính gây độc tế bào cũng được cải thiện, với giá trị IC₅₀ giảm từ 44,23 xuống 29,35 $\mu\text{g/ml}$ đối với tế bào ung thư gan Hep-G2, và từ 55,23 xuống 40,37 $\mu\text{g/ml}$ đối với tế bào ung thư phổi A549 (Bảng 3.5, Bảng 3.6). Kết quả này ủng hộ quan điểm cho rằng, việc quản lý bệnh hại do tuyến trùng đóng vai trò rất quan trọng trong việc bảo đảm chất lượng dược tính của nguyên liệu.

Nghiên cứu cũng ghi nhận các mẫu nghệ đạt chất lượng cao nhất (mật độ tuyến trùng thấp, curcuminoid cao) đều xuất hiện ở điều kiện đất có độ pH hơi acid (5,6-5,9) (Bảng 3.4). Sự tương quan này đặt ra giả thuyết rằng môi trường acid có khả năng ức chế sự phát triển của *S. curcumae* hoặc

đóng vai trò như một yếu tố kích thích quá trình sinh tổng hợp curcuminoid ở cây nghệ. Dù dữ liệu thực địa cung cấp bằng chứng mạnh mẽ, nghiên cứu vẫn cần tiến hành các thử nghiệm lâm nghiệm có kiểm soát trong tương lai để xác nhận quan hệ nhân quả rõ ràng, cũng như ứng dụng hệ phiên mã/hệ chuyển hóa để làm sáng tỏ cơ chế phân tử đằng sau hiện tượng này. Nhìn chung, kết quả của nghiên cứu này đã tạo ra bước chuyển dịch mô hình trong canh tác cây dược liệu, chuyển từ mục tiêu bảo vệ năng suất đơn thuần sang chiến lược quản lý bệnh hại như một công cụ thiết yếu để tối ưu hóa và đảm bảo chất lượng hóa thực vật.

Nghiên cứu đã phát hiện và định danh thành công một loài tuyến trùng thực vật mới ký sinh trên thân rễ cây nghệ vàng (*S. curcumae*) tại Việt Nam. Các đặc điểm sinh học và phân tử đã được công bố trên tạp chí quốc tế, xác định rõ vị trí phân loại của loài này. Quan trọng hơn, thông qua phân tích định lượng hóa thực vật, kết quả đã minh chứng rõ ràng: sự gia tăng mật độ lây nhiễm của tuyến trùng *S. curcumae* có mối tương quan nghịch biến, gây sụt giảm nghiêm trọng hàm lượng các dạng curcuminoid (rõ nhất ở tỷ lệ BDMC). Stress sinh học do tuyến trùng gây ra làm rối loạn quá trình sinh tổng hợp, từ đó làm suy giảm trực tiếp các hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào của dược liệu. Điều này đặt ra yêu cầu cấp thiết về việc quản lý sâu bệnh hại để chuẩn hóa vùng nguyên liệu chất lượng cao.

Đánh giá hoạt tính sinh học *in vitro* đã làm rõ ảnh hưởng của cấu trúc hóa học đến tác dụng dược lý của 3 dạng curcuminoid riêng biệt cũng như các dẫn xuất bán tổng hợp. Về hoạt tính chống oxy hóa, sự hiện diện của hai nhóm methoxy (-OCH₃) giúp CUR thể hiện khả năng dọn gốc tự do mạnh mẽ nhất, mạnh hơn so với DMC và BDMC. Ngược lại, đối với hoạt tính kháng viêm (ức chế sản sinh NO) và gây độc tế bào ung thư, các phân tử thiếu vắng nhóm methoxy (như BDMC) hoặc các dẫn xuất lai hóa mới (curcumin-monozerumbone) lại cho thấy hiệu quả ức chế mạnh và ổn định hơn. Kết quả này khẳng định việc sử dụng riêng rẽ từng dạng hoặc thiết kế dẫn xuất là hoàn

toàn cần thiết: CUR phù hợp cho định hướng hỗ trợ chống oxy hóa, trong khi BDMC và các dẫn xuất lai hóa mở ra tiềm năng lớn cho các đích tác dụng hỗ trợ kháng viêm và kháng ung thư.

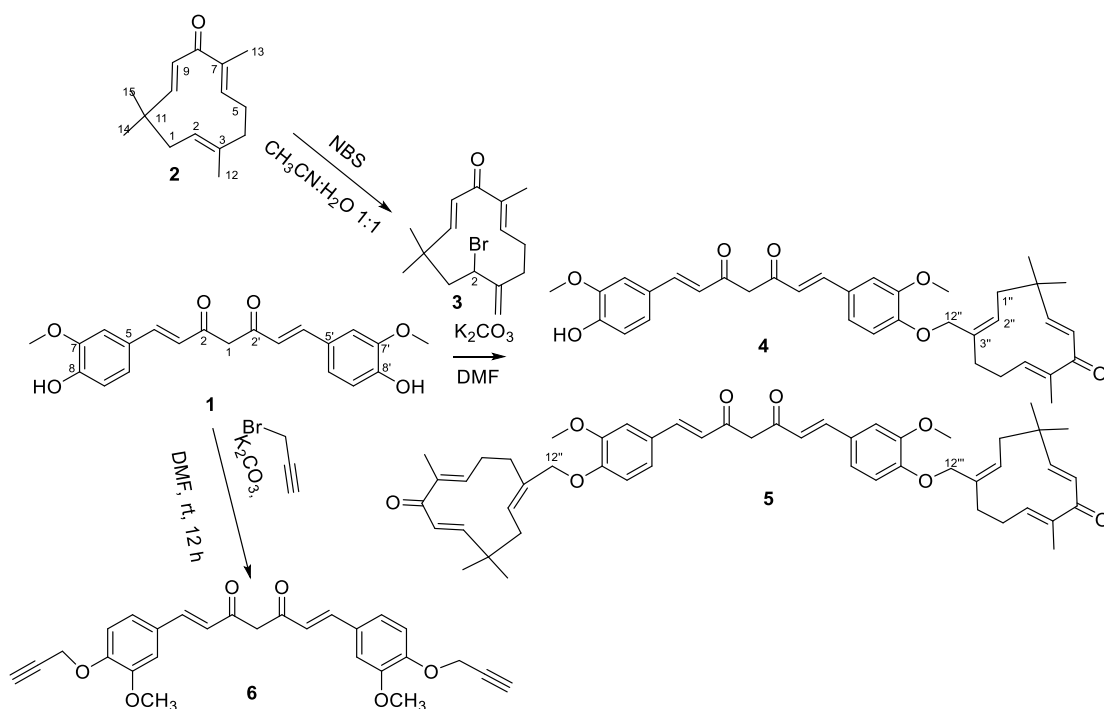
3.3. Bán tổng hợp các dẫn xuất curcumin phân lập từ thân rễ nghệ

Trong nghiên cứu này, CUR được lựa chọn làm nguyên liệu đầu cho quá trình bán tổng hợp thay vì DMC hay BDMC do hàm lượng cao và lợi thế cấu trúc (hai nhóm $-OCH_3$ làm tăng hoạt tính nucleophile của nhóm $-OH$ phenol). Chiến lược tập trung vào việc che chắn nhóm $-OH$, đồng thời bảo tồn nguyên vẹn hệ β -diketone cốt lõi. Luận án hướng tới tổng hợp dẫn xuất lai curcumin-zerumbone nhằm kết hợp và phát huy tiềm năng hiệp đồng hỗ trợ kháng ung thư, kháng viêm và kháng vi sinh vật kiểm định của cả các hợp chất tự nhiên. Ngoài ra, dẫn xuất di-propargyl curcumin cũng được tổng hợp thêm để đóng vai trò làm chất đối chiếu cấu trúc, phục vụ việc đánh giá và so sánh mức độ hoạt tính. Hướng tiếp cận này không chỉ giúp cải thiện sinh khả dụng, tận dụng đặc thù vi môi trường khối u để giải phóng thuốc chọn lọc, mà còn tạo ra bộ dữ liệu lý tưởng cho các đánh giá *in silico* (molecular docking) và *in vitro*, giúp làm sáng tỏ toàn diện mối quan hệ cấu trúc - tác dụng (SAR).

3.3.1. Bán tổng hợp curcumin-zerumbone

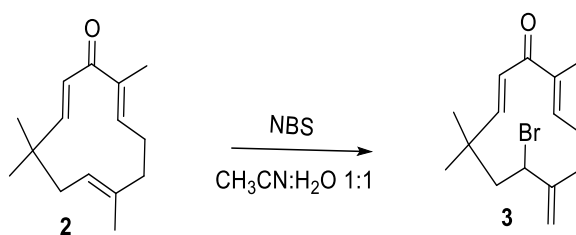
Sơ đồ tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone như Hình 3.8.

Giai đoạn 1: Hòa tan 1 g (4,6 mmol) zerumbone (**2**) trong 15 ml hỗn hợp dung môi acetonitrile: H_2O 1:1 (v:v) khuấy cho đến khi thu được huyền phù đồng nhất, tiếp theo vừa khuấy mạnh vừa thêm nhanh 0,9 g (5,0 mmol) *N*-bromosuccinimide (NBS) vào. Kết tủa hình thành ngay lập tức, tiến hành lọc tủa, rửa với nước, sấy khô trong chân không ở 50 °C thu được chất rắn **3** màu trắng với hiệu suất 97% (1,32 g), sản phẩm này dùng ngay cho giai đoạn sau (Hình 3.9).

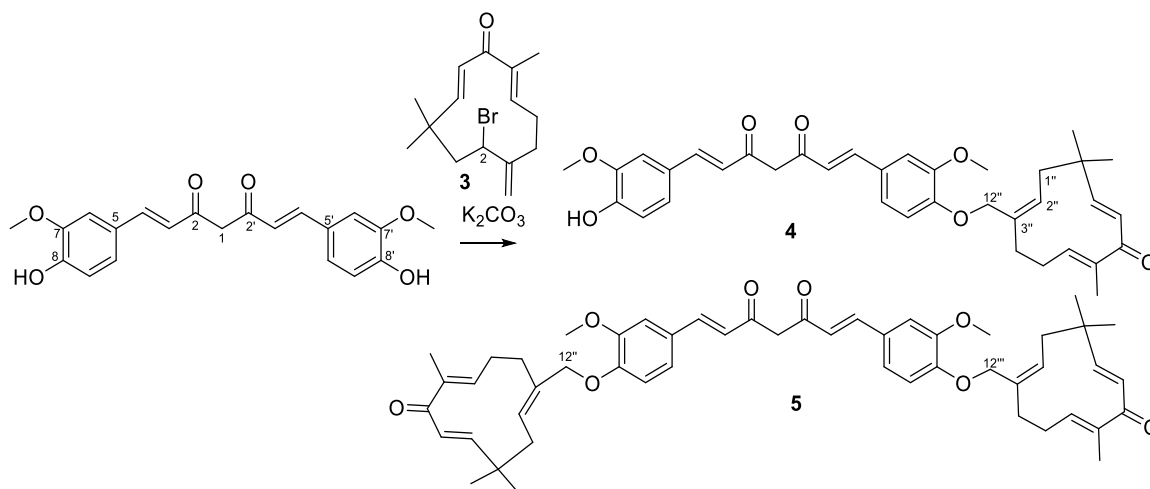


Hình 3.8. Tổng hợp các dẫn xuất curcumin-zerumbone

Giai đoạn 2: Một hỗn hợp của 184 mg (0,5 mmol) curcumin và 304 mg (2,2 mmol) K_2CO_3 được hòa bằng 3 ml DMF. Tiếp theo, vừa khuấy vừa thêm 148 mg (0,5 mmol) 3-bromozerumbone. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng 12 giờ, tiến trình phản ứng được kiểm soát bằng TLC (*n*-hexane: acetone 1,5:1). Kết thúc phản ứng (12 giờ) hỗn hợp được hòa vào nước đá đập nhỏ và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng ethyl acetate (3 x 15 ml). Gộp các dịch chiết ethyl acetate và rửa 1 lần với nước muối bão hòa, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, loại dung môi thu sản phẩm thô. Sản phẩm thô được chạy sắc ký cột/silica gel, rửa giải với hệ dung môi *n*-hexane: acetone 1,5:1 để thu phân đoạn chính chứa sản phẩm **4** và **5**. Phân đoạn này tiếp tục được chạy HPLC (Sử dụng cột Eclipse XDB C18 (kích thước 150 × 4,6 mm, kích thước hạt 5 μ m), hệ dung môi gồm kênh A (H_2O + 0,1% FA), kênh B (ACN) và kênh C (MeOH). Hệ thống được thiết lập để chạy đẳng dòng với tỉ lệ 40-25-35 trong 30 phút, tốc độ dòng 0,5 ml/phút) để thu được curcumin-monozerumbone (**4**, hiệu suất 15%) và curcumin-biszerumbone (**5**, hiệu suất 11%) sạch (Hình 3.10).



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



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

Hợp chất **4** thu được dưới dạng bột màu vàng với hiệu suất 15%. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện của duy nhất một tín hiệu proton thuộc nhóm $-\text{OH}$ phenol tại δ_{H} 9,64 (1H, s). Điều này chứng tỏ phản ứng thế (ether hóa) chỉ xảy ra tại một trong hai đầu của phân tử curcumin, phá vỡ tính đối xứng nguyên bản. Sự bất đối xứng này tiếp tục được minh chứng qua tín hiệu của hai nhóm methoxy ($-\text{OCH}_3$) tách biệt thành hai mũi đơn tại δ_{H} 3,84 (3H, s) và 3,81 (3H, s) thay vì chập lại làm một. Sự hiện diện của gốc zerumbone được xác nhận thông qua các proton nhóm methyl đặc trưng tại δ_{H} 1,67 (3H, s), 1,22 (3H, s) và 1,05 (3H, s). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ phù hợp với sự mất đối xứng không gian, hệ carbonyl trung tâm cho hai tín hiệu riêng biệt tại δ_{C} 183,7 và 182,6 ppm. Tín hiệu carbon tại vị trí liên kết mới ($-\text{O-CH-}$) xuất hiện tại 65,6 ppm. Các carbon methyl của gốc zerumbone xuất hiện tại 24,3; 23,7 và 11,7 ppm. Dữ liệu phổ này hoàn toàn tương thích và khẳng định sự hình thành của dẫn xuất bất đối xứng curcumin-monozerumbone.

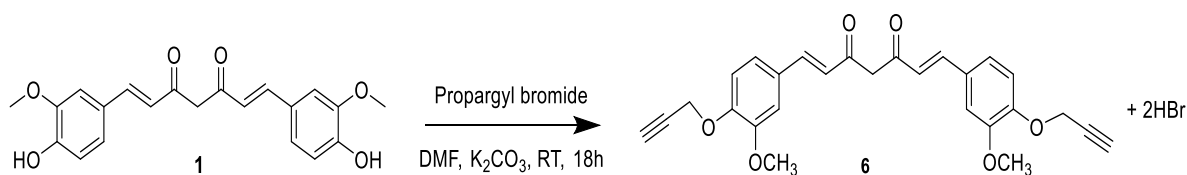
Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột màu vàng với hiệu suất 11%. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$: Phân tử đã khôi phục lại tính đối xứng cao do cả hai nhóm -OH phenol đều đã tham gia phản ứng (tín hiệu -OH tại vùng $> 9,0$ ppm hoàn toàn biến mất). Hai nhóm methoxy lúc này chập lại thành một tín hiệu duy nhất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

3.3.2. *Bán tổng hợp di-propargyl curcumin*

Quá trình bán tổng hợp dẫn xuất di-propargyl curcumin được tiến hành theo cơ chế phản ứng ether hóa Williamson (Hình 3.11). Hòa tan 1,00 g (2,71 mmol) curcumin trong bình cầu chứa 15 ml dung môi phân cực khan. Bật máy khuấy từ, sau đó bổ sung 1,12 g (8,13 mmol) base K_2CO_3 khan nhằm hoạt hóa triệt để hai nhóm hydroxyl phenolic. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút. Tiếp theo, nhỏ giọt từ từ 0,80 g (6,77 mmol) tác nhân alkyl hóa propargyl bromide vào bình phản ứng. Việc sử dụng lượng dư propargyl bromide và base so với số mol của curcumin là điều kiện thiết yếu để định hướng thế hoàn toàn tạo sản phẩm di-propargyl.

Hỗn hợp phản ứng được khuấy liên tục và giữ ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Tiến trình phản ứng được theo dõi chặt chẽ bằng sắc ký lớp mỏng (TLC). Khi curcumin ban đầu được tiêu thụ hoàn toàn, hỗn hợp được làm nguội, pha loãng với khoảng 30 ml nước cất và chiết bằng dung môi ethyl acetate (3 x 20 ml). Các pha hữu cơ được gộp chung, rửa lại bằng dung dịch nước muối bão hòa (brine) (2 x 20 ml), làm khan bằng Na_2SO_4 khan, lọc và cất quay chân không ở nhiệt độ thấp để thu được cặn sản phẩm thô.

Cặn thô sau đó được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột pha thường với chất mang silica gel. Quá trình rửa giải được thực hiện bằng hệ dung môi gradient *n*-hexane/ethyl acetate với tỷ lệ phân cực tăng dần từ 20/1 đến 5/1. Các phân đoạn chứa sản phẩm đích được thu thập, kiểm tra bằng TLC, gộp lại và cô quay chân không để thu được dẫn xuất di-propargyl curcumin (**6**, hiệu suất 21%) sạch (Hình 3.11).



Hình 3.11. Tổng hợp dẫn xuất di-propargyl curcumin

Hợp chất **6** thu được dưới dạng bột màu vàng với hiệu suất 21%. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$: Tính đối xứng của phân tử được thể hiện rõ ràng. Việc alkyl hóa thành công bằng gốc propargyl được minh chứng qua hai tín hiệu đặc trưng: nhóm methylene ($-\text{OCH}_2-$) tại δ_{H} 4,89 với tích phân 4H (d, $J = 2,4$ Hz) và proton alkyne đầu mạch ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) tại δ_{H} 3,61 với tích phân 2H (t, $J = 2,4$ Hz). Khung curcumin được bảo toàn cấu hình *trans* với hai proton alkene xuất hiện tại δ_{H} 7,66 và 7,07 (2H, d, $J = 15,6$ Hz) cùng nhóm methoxy đối xứng tại 3,87 (6H, s). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xác nhận sự hiện diện của liên kết ba alkyne ($-\text{C}\equiv\text{C}-$) tại các vị trí 79,6; 78,8; 78,5 và 74,4 ppm, cùng với tín hiệu của nhóm methylene ($-\text{OCH}_2-$) liên kết với oxy phenolic xuất hiện tại 65,9 ppm. Sự biến mất của tín hiệu hydroxyl và sự xuất hiện các tín hiệu alkyne có tính đối xứng nhân đôi đã khẳng định cấu trúc hợp chất là di-propargyl curcumin.

Bám sát định hướng can thiệp cấu trúc nhằm tăng cường hoạt tính sinh học, nghiên cứu đã thực hiện thành công việc bán tổng hợp các dẫn xuất mới từ khung curcuminoid. Việc can thiệp vào nhóm chức hydroxyl phenol thông qua phản ứng ether hóa đã tạo ra dẫn xuất di-propargyl curcumin; ghép nối thành công hoạt chất zerumbone tạo ra các dẫn xuất lai hóa (curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone) nhằm tận dụng tác dụng hiệp

đồng. Cấu trúc của các dẫn xuất này đã được biện luận và xác nhận chính xác qua dữ liệu phổ lý hóa ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC).

Bên cạnh các dẫn xuất đã tổng hợp, dựa trên đặc điểm cấu trúc chứa hệ β -diketone và các nối đôi liên hợp, một số phương án bán tổng hợp tiềm năng khác hoàn toàn có thể được mở rộng trong tương lai như: tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp (Zn^{2+} , Cu^{2+}) để tăng độ bền, hoặc thực hiện phản ứng ngưng tụ Knoevenagel tại vị trí carbon trung tâm (C4) để đưa thêm các nhóm thế hút/đẩy electron, từ đó tạo ra các dẫn xuất có được tính đích mạnh mẽ hơn.

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

Khả năng kháng viêm của CUR và các dẫn xuất bán tổng hợp (**4**, **5**, **6**) được đánh giá *in vitro* thông qua mức độ ức chế sản sinh gốc tự do NO trên mô hình đại thực bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS. Đồng thời, thử nghiệm đo lường tỷ lệ tế bào sống sót bằng phương pháp MTT cũng được tiến hành nhằm loại trừ khả năng sự sụt giảm NO là hệ quả của độc tính gây chết tế bào. Kết quả được thể hiện như bảng 3.7.

Trước hết, về tính an toàn, kết quả thử nghiệm MTT tại nồng độ 128 $\mu\text{g/ml}$ cho thấy tất cả các hợp chất đều duy trì tỷ lệ sống sót của tế bào RAW 264.7 ở mức an toàn (trên 80%). Đáng chú ý, các dẫn xuất bán tổng hợp (**4**, **5**, **6**) đều cho tỷ lệ tế bào sống sót (86,4-92,1%) cao hơn so với CUR (82,5%). Điều này khẳng định việc biến đổi cấu trúc đã làm giảm độc tính không đặc hiệu lên đại thực bào. Do đó, các giá trị IC_{50} ức chế NO ghi nhận được hoàn toàn xuất phát từ cơ chế can thiệp dược lý chuyên biệt vào quá trình viêm, chứ không phải do tiêu diệt tế bào.

Về hiệu lực kháng viêm, sự biến đổi cấu trúc đã mang lại sự cải thiện tốt hơn. CUR thể hiện hoạt tính ức chế NO yếu nhất trong nhóm với IC_{50} khá cao, đạt $121,06 \pm 2,16 \mu\text{g/ml}$. Hạn chế này chủ yếu do 2 nhóm -OH tự do dễ bị liên hợp và hệ β -diketone dễ bị thoái biến trong môi trường nuôi cấy làm giảm nồng độ hoạt chất thực tế tác động lên tế bào. Khi khóa nhóm -OH bằng gốc propargyl để tạo ra dẫn xuất (**6**), hoạt tính đã tăng lên đáng kể (IC_{50} giảm xuống

còn $85,40 \pm 1,85 \mu\text{g/ml}$). Sự gia tăng tính thân dầu đã giúp phân tử **(6)** thâm nhập nội bào tốt hơn và bảo vệ hệ β -diketone.

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

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

Ở các phân tử lai hóa với zerumbone, dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với IC_{50} đạt $32,15 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$, mạnh hơn CUR rõ rệt. Sự thể một lần (mono) có thể đã tạo ra một cấu hình không gian phù hợp, kết hợp được tính thâm tế bào mạnh hơn và khả năng ức chế đa đích từ cả hai khung cấu trúc (hệ β -diketone liên hợp của curcuminoid và hệ Michael acceptor của zerumbone) lên tổ hợp protein NF- κ B /iNOS nội bào.

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

Như vậy, dãy hoạt tính CUR < (**6**) < (**5**) < (**4**) có thể được lý giải bởi sự chi phối đồng thời của hai yếu tố. Thứ nhất, việc che chắn nhóm -OH phenolic ở cả ba dẫn xuất hạn chế quá trình liên hợp pha II và ổn định hóa hệ β -diketone, qua đó duy trì nồng độ hoạt chất khả dụng trong môi trường nuôi cấy. Thứ hai, việc đưa khung zerumbone vào phân tử bổ sung một hệ Michael acceptor có khả năng tương tác ái điện tử với các đích phân tử mà bản thân curcumin không

sở hữu. Dẫn xuất (6), vốn chỉ chịu tác động của yếu tố thứ nhất, cho mức cải thiện vừa phải; trong khi các dẫn xuất zerumbone hóa, chịu tác động của cả hai yếu tố, thể hiện hiệu lực tốt hơn. Tuy nhiên, sự vượt trội của dẫn xuất mono (4) so với dẫn xuất bis (5) cho thấy đóng góp của khung zerumbone không mang tính cộng gộp: tồn tại một ngưỡng thể tối ưu, vượt qua ngưỡng này thì bất lợi về chương ngại lập thể và tính thân dầu quá mức lẫn át phần hoạt tính thu thêm được. Cần lưu ý rằng các lý giải nêu trên được rút ra từ tương quan cấu trúc - hoạt tính trên một dãy dẫn xuất còn hạn chế về số lượng; việc xác nhận cơ sở phân tử của chúng đòi hỏi các bằng chứng ở cấp độ tương tác phối tử - thụ thể, sẽ được đề cập tại mục 3.5.

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

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

Bảng 3.8. Giá trị IC_{50} ($\mu g/ml$) của curcumin và các dẫn xuất tổng hợp trên 5 dòng tế bào ung thư

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

Trước hết, khi thay thế nguyên tử hydro ở nhóm -OH bằng gốc propargyl để tạo thành dẫn xuất di-propargyl curcumin (**6**), hoạt tính ức chế tế bào ung thư đã tăng lên ở mức độ vừa phải. Mặc dù bản thân nhóm propargyl không mang được tính kháng khối u đặc hiệu, nhưng sự hiện diện của nhóm này có thể đóng vai trò che chắn, giúp phân tử bền vững hơn trước các enzyme chuyển hóa và giảm thiểu sự thoái biến nhanh trong môi trường sinh lý. Dẫn xuất (**6**) hoạt động như một thực thể hóa học mới (NCE) ổn định, trong đó gốc propargyl đóng vai trò che chắn nhóm hydroxyl, giúp bảo vệ hệ β -diketone và kéo dài thời gian phát huy tác dụng của cấu trúc lõi.

Sự chuyển biến về hoạt tính trở nên rõ ràng và tích cực nhất khi đưa gốc zerumbone vào cấu trúc. Dẫn xuất lai thể một lần curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện hiệu lực ức chế tốt nhất trong toàn bộ các chất khảo sát. Sự gia tăng hoạt tính này gợi ý về một hiệu ứng hiệp đồng khá hiệu quả giữa hai nhóm mang được tính (pharmacophore) từ curcumin và zerumbone. Việc tích hợp một gốc zerumbone dường như tạo ra sự cân bằng lý tưởng: cấu trúc mới vừa được tăng cường tính thân dầu (lipophilicity) giúp phân tử dễ dàng thâm thấu qua màng tế bào, vừa bổ sung thêm cơ chế tác động đa đích từ bản thân khung zerumbone.

Tuy nhiên, khi tiếp tục gắn thêm gốc zerumbone thứ hai để tạo thành dẫn xuất curcumin-biszerumbone (**5**), hoạt tính lại có xu hướng giảm nhẹ so với dẫn xuất mono (**4**), mặc dù hiệu lực vẫn duy trì ở mức cao hơn so với hợp chất (**6**) và curcumin gốc. Hiện tượng này có thể được lý giải thông qua yếu tố chướng ngại không gian (steric hindrance). Sự hiện diện của hai gốc zerumbone khá cồng kềnh ở cả hai đầu phân tử đã làm tăng đáng kể kích thước và làm giảm tính linh hoạt của cấu dạng. Điều này phần nào gây ra những cản trở nhất định khi phân tử di chuyển, len lỏi và gắn kết (docking) vào các khe xúc tác hẹp trên các receptor hoặc enzyme đích bên trong tế bào ung thư.

Nhìn chung, việc biến đổi cấu trúc tại vị trí -OH phenol đã mang lại những tác động tích cực đến hiệu quả hỗ trợ kháng ung thư. Kết quả đối chiếu

cho thấy, việc kết hợp các nhóm thế vừa có khả năng bảo vệ cấu trúc, vừa mang thêm dược tính (như zerumbone), đồng thời kiểm soát tốt yếu tố cản trở không gian sẽ là một hướng tiếp cận tiềm năng để tối ưu hóa và phát triển các thể hệ dẫn xuất curcumin mới trong tương lai.

Từ những kết quả khả quan trên, có thể kết luận rằng việc lai tạo cấu trúc curcumin với zerumbone, là dẫn xuất thể một lần (mono), là một chiến lược thiết kế phân tử tối ưu giúp nâng cao đáng kể hoạt lực kháng ung thư. Kết quả này không chỉ khẳng định tiềm năng của hợp chất curcumin-monozerumbone (**4**) như một chất dẫn đường (lead compound) có tiềm năng, mà còn vạch ra định hướng rõ ràng cho các bước nghiên cứu tiếp theo. Cụ thể, để làm sáng tỏ cơ chế tác dụng ở mức độ phân tử, nghiên cứu được định hướng tiếp tục triển khai các mô hình tính toán mô phỏng *in silico* nhằm đánh giá ái lực và vị trí liên kết của các dẫn xuất này với các protein đích tiềm năng (ví dụ như các thụ thể liên quan đến con đường tăng sinh hay hình thành mạch máu khối u). Đồng thời, đây cũng là cơ sở dữ liệu nền tảng quan trọng để tiến tới các thử nghiệm sinh học chuyên sâu hơn (như đánh giá khả năng cảm ứng tế bào tự chết apoptosis) và các thử nghiệm *in vivo* trên mô hình động vật, qua đó hoàn thiện bức tranh về giá trị dược lý và tiềm năng ứng dụng của hệ dẫn xuất mới.

Để làm rõ hơn giá trị và tiềm năng của định hướng lai hóa phân tử, luận án đã tiến hành đối chiếu hoạt tính sinh học của dẫn xuất tốt nhất (curcumin-monozerumbone, **4**) do đề tài tổng hợp với một số dẫn xuất lai hóa của curcumin đã được các nhóm nghiên cứu trong và ngoài nước công bố gần đây.

Cụ thể, đối với hoạt tính kháng viêm (ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW 264.7), dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**) đạt giá trị IC_{50} là $32,15 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$. Kết quả này cho thấy hiệu lực ức chế mạnh hơn so với nhiều dẫn xuất lai hóa phổ biến khác, điển hình như các dẫn xuất curcumin-pyrazole hay curcumin-chalcone thường có IC_{50} dao động trong khoảng 45,00-55,00 $\mu\text{g/ml}$ [144, 145].

Tương tự, đối với hoạt tính gây độc tế bào trên dòng ung thư gan Hep-G2, curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện giá trị IC_{50} đạt $25,35 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$. Mức ức chế này tương đương, thậm chí nhỉnh hơn so với các dẫn xuất curcumin-isoxazole (thường có IC_{50} khoảng $30,00\text{-}40,00 \mu\text{g/ml}$) [146].

Kết quả này góp phần khẳng định việc lựa chọn zerumbone, một sesquiterpene có cấu trúc vòng lớn mang hệ α,β -enone dễ lai hóa với khung curcumin là một chiến lược thiết kế phân tử rất thành công. Sự kết hợp này không chỉ bảo tồn được đặc tính đa đích của hệ curcuminoid mà còn tạo ra tác dụng hiệp đồng, mang lại hiệu quả dược lý tốt so với việc lai hóa bằng các dị vòng nhỏ thông thường.

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

Hoạt tính kháng vi sinh vật của curcumin (**CUR**) và các dẫn xuất bán tổng hợp (**4**, **5**, **6**) được đánh giá trên 8 chủng vi sinh vật kiểm định bao gồm vi khuẩn (Gram âm, Gram dương) và vi nấm (nấm mốc, nấm men). Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) tại bảng 3.9 cho thấy việc biến đổi cấu trúc đã làm thay đổi đáng kể phổ kháng khuẩn và kháng nấm của các hợp chất.

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

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

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

CUR nguyên bản thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật rất yếu. Tại nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$, CUR chỉ thể hiện sự ức chế nhẹ trên 2 chủng vi khuẩn Gram dương (*B. subtilis* và *S. aureus*) và hoàn toàn không có tác dụng trên vi khuẩn Gram âm cũng như các chủng nấm (> 200 $\mu\text{g/ml}$). Sự hiện diện của hai nhóm -OH phenol làm tăng tính phân cực, khiến CUR khó xuyên qua lớp màng lipid kép của vi khuẩn và nấm để phát huy tác dụng nội bào.

Khi chuyển hóa thành dẫn xuất di-propargyl curcumin (**6**), phổ tác dụng đã được mở rộng lên 5 chủng. Hoạt tính trên vi khuẩn Gram dương được cải thiện (MIC giảm còn 100 $\mu\text{g/ml}$), đồng thời hợp chất bắt đầu ghi nhận hoạt tính trên *E. coli* và 2 chủng nấm men ở nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$. Việc ether hóa nhóm -OH bằng gốc propargyl giúp tăng tính thân dầu (lipophilicity), tạo điều kiện cho phân tử chui qua rào cản peptidoglycan và màng tế bào của vi sinh vật dễ dàng hơn.

Sự khác biệt lớn nhất nằm ở các dẫn xuất lai hóa với zerumbone. Dẫn xuất curcumin-monozerumbone (**4**) thể hiện phổ hoạt tính rộng và mạnh nhất, có khả năng ức chế 6/8 chủng kiểm định. Hợp chất này nhạy cảm với vi khuẩn Gram dương và nấm men *C. albicans* (MIC = 100 $\mu\text{g/ml}$), đồng thời ức chế tốt với nấm *S. cerevisiae*, *A. niger* và *E. coli* (MIC = 200 $\mu\text{g/ml}$). Sự kết hợp thể một lần (mono) này mang lại hiệu ứng hiệp đồng. Cấu hình bất đối xứng của chất (**4**) duy trì được tính linh hoạt không gian và hệ số phân bố dầu-nước (LogP) tối ưu để thẩm thấu qua các loại màng sinh học.

Ngược lại, dù cũng chứa gốc zerumbone, dẫn xuất curcumin-biszerumbone (**5**) lại bị thu hẹp phổ hoạt tính (chỉ kháng 3 chủng) và không thể hiện hoạt tính ức chế ở nồng độ thử nghiệm trên vi nấm. Việc gắn hai gốc zerumbone công kênh ở hai đầu phân tử có thể đã tạo ra hiệu ứng chướng ngại lập thể (steric hindrance). Kích thước phân tử quá lớn (oversized) khiến dẫn xuất (**5**) không thể lọt qua các kênh porin trên màng ngoài của vi khuẩn Gram âm hay vách tế bào vững chắc của nấm men và nấm mốc.

Dữ liệu kháng vi sinh vật kiểm định đồng thuận chặt chẽ với các kết quả độc tính tế bào và kháng viêm. Việc che chắn nhóm -OH là cần thiết để tăng tính thấm qua màng, nhưng sự kiểm soát kích thước phân tử mới là chìa khóa quyết định. Dẫn xuất mono (**4**) là minh chứng tốt nhất cho một thiết kế phân tử thành công, mở ra tiềm năng ứng dụng làm tác nhân kháng vi sinh vật từ nguồn gốc thiên nhiên.

Nghiên cứu đã thực hiện thành công việc can thiệp cấu trúc hóa học trên bộ khung của curcuminoid, định hướng tập trung vào các nhóm chức (như hydroxyl phenol) nhằm tăng cường hoạt tính. Cụ thể, các dẫn xuất mới đã được tổng hợp thành công bao gồm dẫn xuất ether hóa (di-propargyl...) và các dẫn xuất lai hóa giữa curcuminoid với gốc zerumbone. Dữ liệu phổ hóa lý (MS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR) đã xác nhận chính xác cấu trúc của các dẫn xuất tạo thành. Bên cạnh hướng đi hiện tại, dựa trên đặc điểm cấu trúc chứa hệ β -diketone và các nối đôi liên hợp, một số phương án bán tổng hợp khác hoàn toàn có thể được mở rộng trong tương lai như: tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp (Zn^{2+} , Cu^{2+}), hoặc thực hiện phản ứng ngưng tụ Knoevenagel tại vị trí carbon trung tâm (C4) để đưa thêm các nhóm thế hút/đẩy electron. Các định hướng này sẽ tạo ra thư viện các dẫn xuất nhiều hơn, phục vụ cho việc thiết kế các hoạt chất được dụng mới với phổ tác dụng mạnh và trúng đích hơn.

3.4. Mô phỏng dự đoán hoạt tính quét gốc tự do $\text{HOO}\cdot$ của curcuminoid

Nghiên cứu đã tiến hành phân tích cấu trúc và đặc tính điện tử của hai dẫn xuất curcumin (CUR và BDMC) trong hai môi trường dung môi mô phỏng khác nhau: nước (môi trường phân cực) và pentyl ethanoate (PEA - dung môi không phân cực, giả lập môi trường lipid). Hình 3.12 trình bày cấu trúc hình học tối ưu, các orbital biên (HOMO/LUMO) và bản đồ thế tĩnh điện (ESP) của các dạng hổ biến (tautomer) diketone và keto-enol của CUR và BDMC trong môi trường nước. Kết quả tính toán khẳng định dạng keto-enol, với hệ π liên hợp mở rộng và cấu hình phẳng, là dạng ưu thế về mặt nhiệt động lực học với phân số mol đạt trên 99% ở cả hai hợp chất, nhất quán với các công bố trước đây. Sự phân bố mật độ

điện tử của HOMO và LUMO chủ yếu tập trung tại các liên kết đôi mạch nhánh và vòng thơm, xác định đây là các trung tâm phản ứng tiềm năng cho cơ chế cộng gốc tự do (RAF). Trong khi đó, bản đồ ESP hiển thị các vùng mật độ electron cao (vùng âm) tập trung tại nhóm carbonyl và vòng phenyl, trong khi các vùng thiếu hụt electron (vùng dương) xuất hiện tại nhóm hydroxyl, gợi ý về khả năng cho proton H^+ của phân tử.

Việc đánh giá các thông số mô tả nhiệt hóa nội tại của các tautomer diketone và keto-enol thuộc CUR và BDMC trong môi trường nước và PEA (Bảng 3.10), bao gồm enthalpy phân ly liên kết (BDE), thế ion hóa (IP) và ái lực proton (PA), cung cấp cái nhìn tổng quan về tiềm năng kháng oxy hóa của các hợp chất. Một xu hướng nhiệt động học nổi bật là giá trị PA trong môi trường nước thấp hơn đáng kể so với BDE và IP (ví dụ: PA ~ 124-135 kJ/mol so với BDE ~351-389 kJ/mol và IP > 518 kJ/mol đối với CUR). Điều này chỉ ra rằng trong môi trường phân cực như nước, quá trình khử proton diễn ra rất thuận lợi, tạo điều kiện cho các cơ chế kháng oxy hóa liên quan đến loài anion, điển hình là cơ chế chuyển electron đơn lẻ (SET) hoặc cơ chế chuyển electron mất proton tuần tự (SPLET). Sự khác biệt giữa các thông số này trở nên ít rõ rệt hơn trong môi trường PEA, nơi các giá trị nhiệt hóa đều tăng cao do hằng số điện môi thấp của dung môi.

Yếu tố quan trọng chi phối hoạt tính trong pha nước chính là cân bằng acid-base. Các giá trị pK_a tính toán cho ba bước phân ly proton cho thấy các hằng số này nằm trong khoảng pH sinh lý (7-9), phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Tại pH 7,4, cả CUR và BDMC tồn tại dưới dạng hỗn hợp của bốn dạng hóa học: dạng trung hòa (Neu), monoanion (MoA), dianion (DiA) và trianion (TriA). Đáng chú ý, mặc dù phân số mol của các dạng đa anion (DiA và TriA) thường rất nhỏ (dưới 2%), nhưng đóng góp của chúng vào hoạt tính kháng oxy hóa tổng thể - thông qua cơ chế SET - lại mang tính quyết định nhờ hằng số tốc độ phản ứng cực lớn, vượt xa các dạng còn lại.

Để làm rõ cơ chế phản ứng, bề mặt năng lượng tiềm tàng (PES) cho tương tác với gốc $\text{HOO}\cdot$ đã được thiết lập. Hình 3.12 và Hình 3.13 mô tả biểu đồ enthalpy tương đối tại 0 K (ΔH_{0K}) cho các con đường tách hydrogen (Abs) và cộng gốc (Add) của CUR và BDMC. Trong môi trường nước, đối với monoanion dạng diketone (dạng hỗn hợp ưu thế của diketone), phản ứng Add tại nguyên tử C4 trung tâm có rào năng lượng hoạt hóa thấp nhất ($\Delta H^\ddagger \sim 15\text{-}19 \text{ kJ/mol}$), thuận lợi hơn so với phản ứng Abs tại nhóm phenolic O-H ($\Delta H^\ddagger \sim 29\text{-}44 \text{ kJ/mol}$). Tuy nhiên, đối với dạng trung hòa keto-enol (dạng ưu thế của keto-enol), con đường Abs lại có xu hướng thuận lợi hơn một chút so với Add. Trong môi trường PEA, nơi chỉ tồn tại dạng trung hòa, rào năng lượng hoạt hóa cho cả hai cơ chế đều tăng đáng kể (khoảng $\sim 10\text{-}15 \text{ kJ/mol}$) so với trong nước, cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa bị suy giảm mạnh trong môi trường lipid. Phân tích động học chi tiết (Bảng 3.11 và Bảng 3.12) cho thấy một bức tranh phức tạp hơn so với các dự đoán thuần túy từ nhiệt động học.

Đối với các dạng Neu và MoA của CUR và BDMC, cơ chế Abs tại các nhóm phenolic O22H và O23H đóng góp chính với hằng số tốc độ đạt mức $10^3 - 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

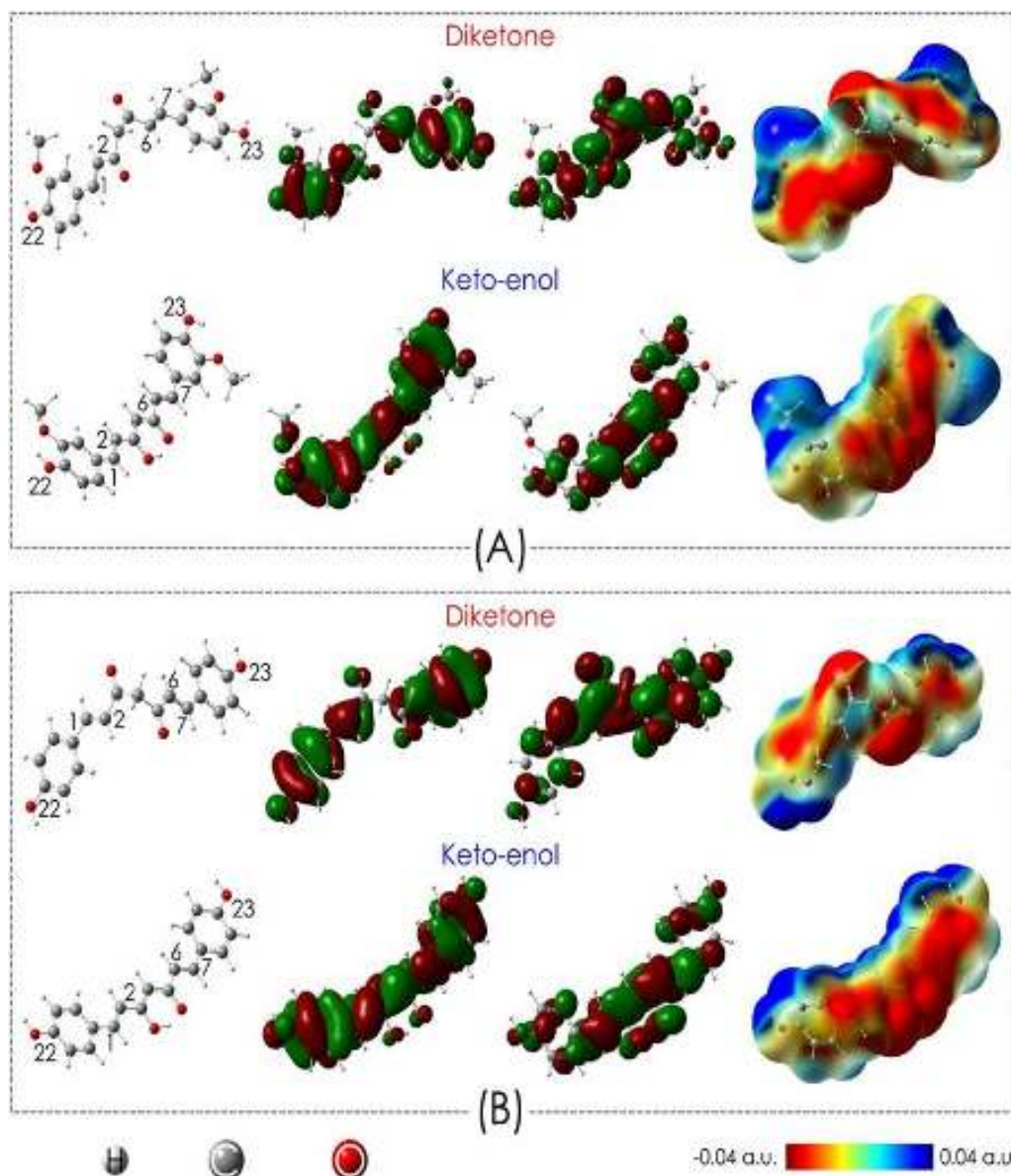
Tuy nhiên, đối với các dạng DiA và TriA, cơ chế SET hoàn toàn chiếm ưu thế. Mặc dù phân số mol hiện diện cực thấp (ví dụ ở CUR: DiA chiếm 1,09%, TriA chiếm 0,03%), hằng số tốc độ SET của chúng lại đạt mức tiệm cận giới hạn khuếch tán (ví dụ: $9,10 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ cho DiA keto-enol CUR). Khi xét hằng số tốc độ biểu kiến (tích của hằng số tốc độ và phân số mol), đóng góp của các dạng anion đa điện tích vào tốc độ phản ứng tổng (Bảng 3.13) là cực kỳ quan trọng, chiếm trên 97% tỷ lệ phân nhánh (Γ). Kết quả này nhấn mạnh vai trò cốt lõi của các dạng anion trong việc khử gốc tự do trong môi trường nước.

Trong môi trường PEA, đặc tính động học thay đổi hoàn toàn. Do chỉ tồn tại dạng trung hòa, phản ứng tách Abs trở thành con đường phản ứng gần như duy nhất với hằng số tốc độ thấp hơn nhiều (CUR: $\sim 4 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$;

BDMC: $\sim 8 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Các phản ứng Add và SET trong môi trường này gần như không đáng kể.

So sánh hiệu suất tổng thể giữa CUR và BDMC cho thấy sự đảo ngược hoạt tính tùy thuộc vào môi trường phản ứng. Trong nước, hằng số tốc độ tổng của CUR ($9,36 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) cao hơn BDMC ($2,60 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) khoảng 3,6 lần. Sự mạnh hơn này được giải thích bởi hiệu ứng đẩy electron của hai nhóm methoxy ($-\text{OCH}_3$) tại vị trí ortho trong cấu trúc CUR, làm tăng mật độ electron và thúc đẩy khả năng cho electron của dạng DiA trong cơ chế SET. Ngược lại, trong môi trường PEA, BDMC ($8,16 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) lại phản ứng nhanh hơn CUR ($4,02 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Nguyên nhân do ở dạng trung hòa, các nhóm $-\text{OH}$ trong BDMC ở trạng thái tự do, trong khi ở CUR, nhóm $-\text{OH}$ tạo liên kết hydrogen nội phân tử với nhóm $-\text{OCH}_3$ lân cận, làm bền hóa cấu trúc và gây khó khăn cho quá trình tách nguyên tử hydrogen.

Cuối cùng, nghiên cứu tập trung phân tích bản chất hóa học của quá trình chuyển dịch hydrogen. Thông qua phân tích orbital phân tử chiếm giữ đơn lẻ (SOMO) tại trạng thái chuyển tiếp (TS), diễn biến mật độ spin và điện tích dọc theo tọa độ phản ứng nội tại (IRC), cùng với cấu hình electron tự nhiên (NEC) được trình bày tại Hình 3.15 và Bảng 3.14, có thể kết luận rằng phản ứng tách Abs tại các nhóm phenolic $-\text{OH}$ không tuân theo cơ chế chuyển nguyên tử hydrogen (HAT) thông thường, mà là quá trình chuyển electron kết hợp proton (PCET). Trong PCET, proton và electron được chuyển dịch độc lập từ các trung tâm khác nhau của chất cho sang chất nhận, thay vì chuyển dịch đồng thời như một nguyên tử hydro trung hòa. Các bằng chứng ủng hộ bao gồm: orbital SOMO tại trạng thái chuyển tiếp TS không định hướng dọc theo trục chuyển dịch H; điện tích của nguyên tử H đang chuyển dịch luôn mang giá trị dương ($\sim +0,55e$); mật độ spin trên H xấp xỉ bằng 0; và phân tích NEC cho thấy cấu hình electron $1s^0$ - tất cả đều minh chứng đây là một proton chứ không phải nguyên tử hydrogen trung hòa.



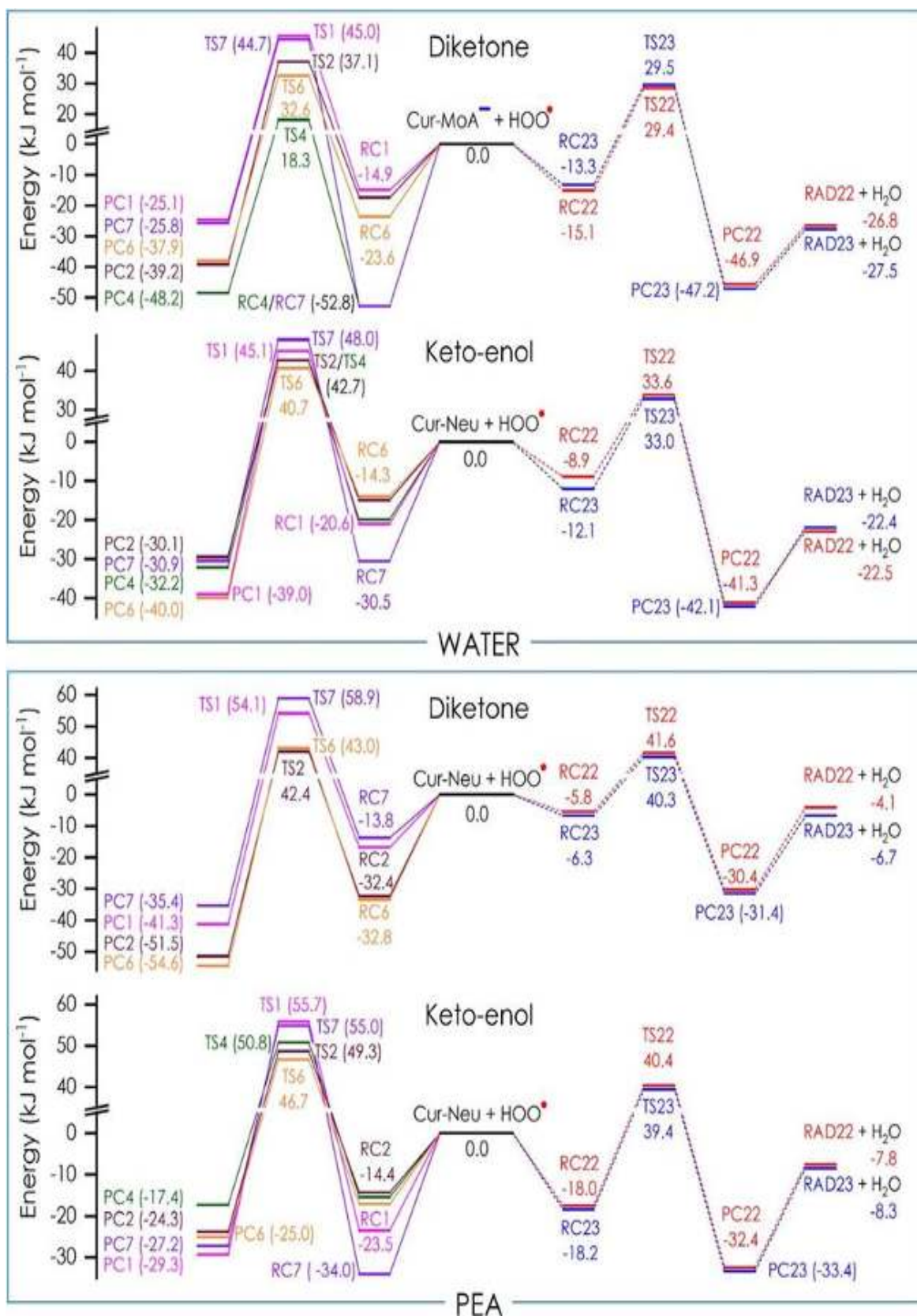
Hình 3.12. Cấu trúc hình học tối ưu, orbital biên (HOMO, LUMO) và bản đồ thế điện tĩnh (ESP) của các tautomer diketone và keto-enol thuộc CUR (A) và BDMC (B) trong môi trường nước.

Tóm lại, nghiên cứu tính toán này cung cấp một cái nhìn toàn diện về cơ chế thu dọn gốc $\text{HOO}\cdot$ của curcuminoid, nhấn mạnh sự phụ thuộc mật thiết vào môi trường phản ứng thông qua ảnh hưởng của cân bằng acid-base và hỗ biến. Trong môi trường nước sinh lý, hiệu quả kháng oxy hóa được quyết định bởi khả năng chuyển electron cực nhanh của các dạng anion (điển hình là dianion) qua cơ chế SET. Trong khi đó, tại môi trường lipid, cơ chế tách hydrogen (Abs) của dạng trung hòa chiếm ưu thế nhưng hiệu suất thấp hơn đáng kể. Việc xác

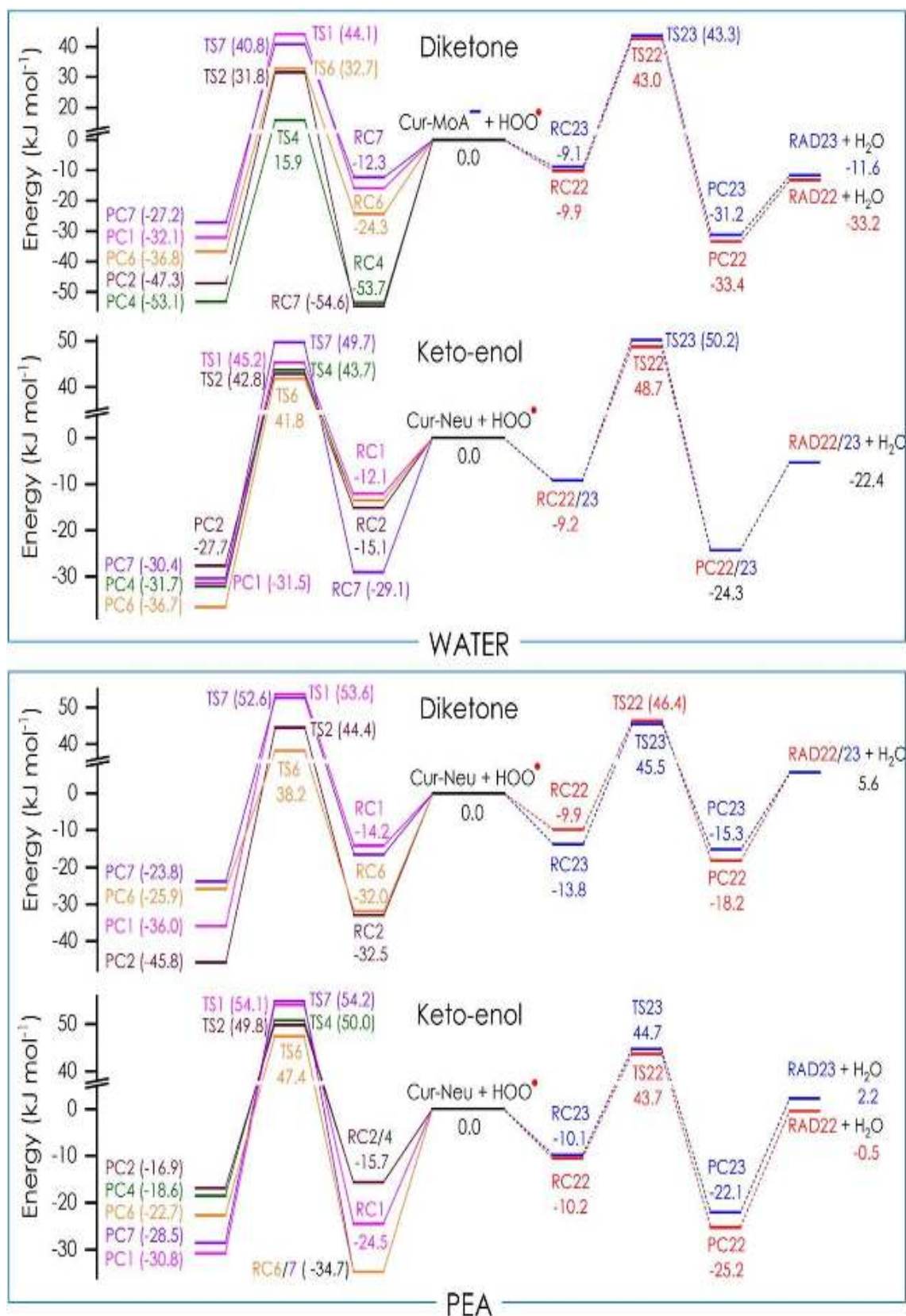
định cơ chế PCET cũng làm sáng tỏ bản chất tinh vi trong phản ứng kháng oxy hóa của các hợp chất phenolic như CUR.

Bảng 3.10. Các thông số nhiệt hóa nội tại (BDE, PA và IP) của các tautomer diketone và keto-enol thuộc CUR và BDMC trong môi trường nước và PEA (đơn vị: kJ mol⁻¹)

	CUR						BDMC					
	Diketone			Keto-enol			Diketone			Keto-enol		
Vị trí	BDE	PA	IP	BDE	PA	IP	BDE	PA	IP	BDE	PA	IP
Nước												
—			527,4			518,5			543,6			528,9
O22H	357,3	128,0		351,5	131,4		374,9	129,1		368,3	133,0	
O23H	354,8	129,5		351,3	132,2		374,9	129,1		371,8	132,6	
O20H	—	—		464,5	135,2		—	—		463,0	137,1	
C1H	—	292,6		—	—		—	307,0		—	—	
C2H	—	234,5		—	—		—	223,7		—	—	
C4H	389,3	124,1		464,9	293,1		388,5	124,4		495,5	293,6	
C6H	—	212,6		—	—		—	223,7		—	—	
C7H	—	302,2		—	—		—	307,2		—	—	
C24H	421,1	—		421,4	—		—	—		—	—	
C25H	419,0	—		421,0	—		—	—		—	—	
PEA												
—			536,6			550,8			579,8			560,4
O22H	356,1	250,7		352,3	250,3		365,7	239,9		362,6	240,4	
O23H	353,5	251,9		351,7	252,9		365,7	239,9		360,0	239,7	
O20H	—	—		463,3	283,4		—	—		462,2	283,1	
C1H	—	411,4		—	—		—	420,3		—	—	
C2H	—	367,4		—	—		—	366,7		—	—	
C4H	384,0	248,1		490,1	418,3		384,1	247,8		490,0	418,0	
C6H	—	354,2		—	—		—	366,7		—	—	
C7H	—	412,6		—	—		—	420,3		—	—	
C24H	415,6	—		415,7	—		—	—		—	—	
C25H	416,2	—		416,0	—		—	—		—	—	



Hình 3.13. Biểu đồ enthalpy tương đối hiệu chỉnh năng lượng điểm không (ZPE) tại 0 K (ΔH_{0K}) của các quá trình tách hydrogen (Abs) và cộng gốc (Add) giữa CUR và gốc tự do $\text{HOO}^\bullet$ trong môi trường nước và PEA.



Hình 3.14. Giảm đồ enthalpy tương đối hiệu chỉnh năng lượng điểm không (ZPE) tại 0 K (ΔH_{0K}) của các quá trình tách hydrogen (Abs) và cộng gốc (Add) giữa BDMC và gốc tự do $\text{HOO}^\bullet$ trong môi trường nước và PEA.

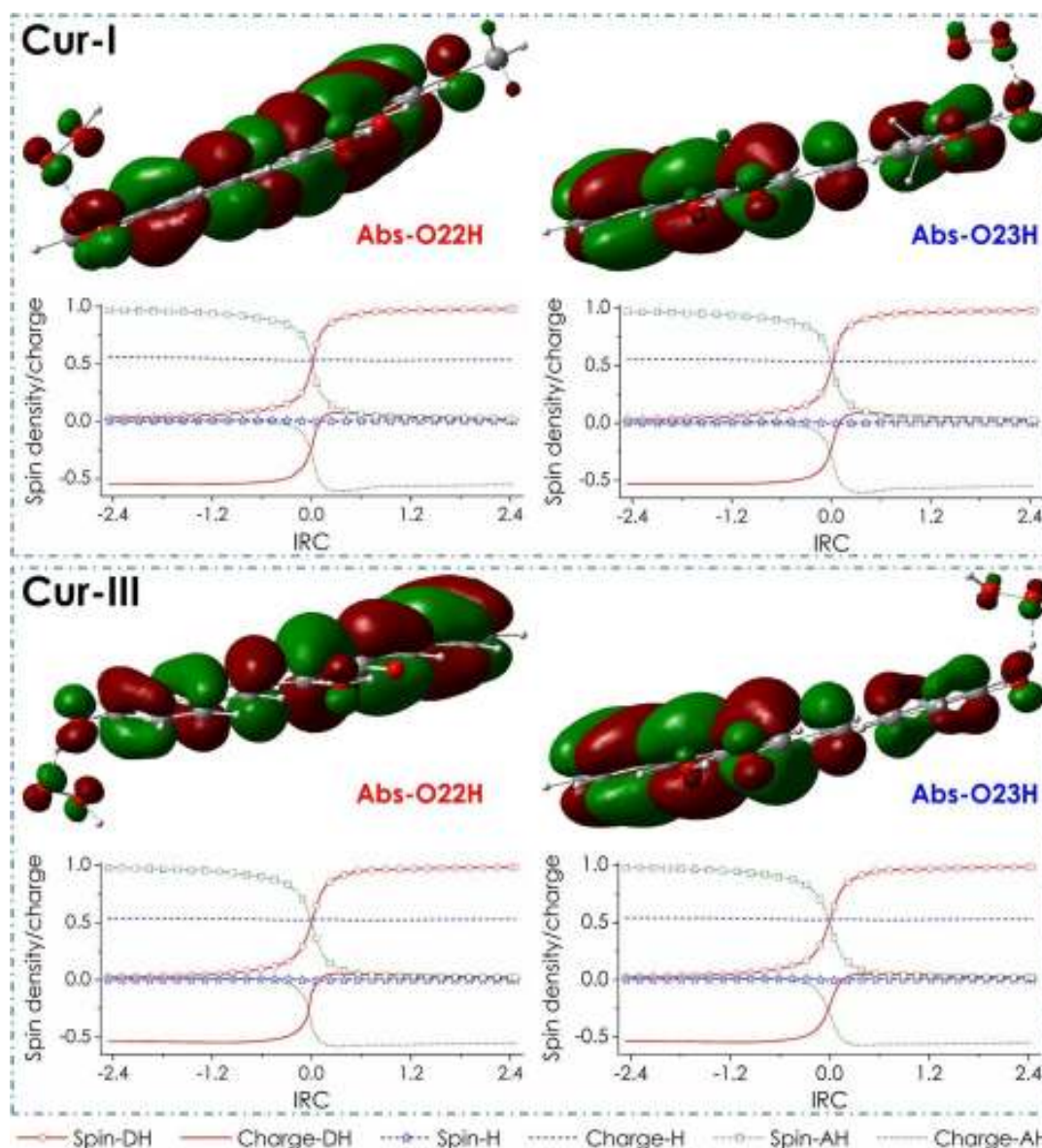
Dạng	Vị trí	DG [‡]	D _r G ⁰	k _T	k _D	k _{app}	k ^{Mf} _{app}	G
Trong nước Phản ứng tách								
Trung hòa (f _i = 75,10%)								
O22H		-25,5	80,1	4,01 × 10 ³	2,42 × 10 ⁹	4,01 × 10 ³	3,01 × 10 ³	0,00
O23H		-23,0	78,8	5,14 × 10 ³	2,42 × 10 ⁹	5,14 × 10 ³	3,86 × 10 ³	0,00
Phản ứng cộng								
C1		8,9	88,6	7,83 × 10 ⁻²	2,00 × 10 ⁹	7,83 × 10 ⁻²	5,88 × 10 ⁻²	0,00
C2		16,5	90,3	3,66 × 10 ⁻²	2,01 × 10 ⁹	3,66 × 10 ⁻²	2,52 × 10 ⁻²	0,00
C4		11,9	89,0	5,12 × 10 ⁻²	1,97 × 10 ⁹	5,12 × 10 ⁻²	3,85 × 10 ⁻²	0,00
C6		9,2	86,0	1,89 × 10 ⁻¹	2,01 × 10 ⁹	1,89 × 10 ⁻¹	1,42 × 10 ⁻¹	0,00
C7		17,2	91,9	2,16 × 10 ⁻²	1,97 × 10 ⁹	2,16 × 10 ⁻²	1,62 × 10 ⁻²	0,00
Chuyển electron (SET)								
142,6			174,3	4,46 × 10 ⁻¹⁷	8,45 × 10 ⁹	4,46 × 10 ⁻¹⁷	3,44 × 10 ⁻¹⁷	0,00
MonoAnion (f _i = 23,78%) Phản ứng tách								
O22H		-29,5	74,4	1,57 × 10 ⁴	2,42 × 10 ⁹	1,57 × 10 ⁴	3,72 × 10 ³	0,00
O23H		-29,7	72,8	2,06 × 10 ⁴	2,42 × 10 ⁹	2,06 × 10 ⁴	4,90 × 10 ³	0,01
Phản ứng cộng								
C1		21,5	88,4	7,85 × 10 ⁻²	2,01 × 10 ⁹	7,85 × 10 ⁻²	1,87 × 10 ⁻²	0,00
C2		4,1	78,3	3,85 × 10 ⁰	2,03 × 10 ⁹	3,85 × 10 ⁰	9,14 × 10 ⁻¹	0,00
C4		-4,2	66,9	3,17 × 10 ²	1,92 × 10 ⁹	3,17 × 10 ²	7,54 × 10 ¹	0,00
C6		-2,6	79,0	3,23 × 10 ⁰	2,04 × 10 ⁹	3,23 × 10 ⁰	7,68 × 10 ⁻¹	0,00
C7		8,8	88,7	7,03 × 10 ⁻²	2,08 × 10 ⁹	7,03 × 10 ⁻²	1,67 × 10 ⁻²	0,00
Chuyển electron (SET)								
66,7			66,7	2,91 × 10 ²	8,48 × 10 ⁹	2,91 × 10 ²	6,91 × 10 ¹	0,00
DiAnion (f _i = 1,09%) Phản ứng tách								

O23H	11,8	75,5	$1,78 \times 10^4$	$2,39 \times 10^9$	$1,78 \times 10^4$	$1,95 \times 10^2$	0,00
Phản ứng cộng							
C1	20,4	86,9	$1,48 \times 10^{-1}$	$2,03 \times 10^9$	$1,48 \times 10^{-1}$	$1,62 \times 10^{-3}$	0,00
C2	-8,1	55,6	$4,95 \times 10^4$	$2,25 \times 10^9$	$4,95 \times 10^4$	$5,42 \times 10^2$	0,00
C4	-12,0	62,8	$1,67 \times 10^3$	$1,90 \times 10^9$	$1,67 \times 10^3$	$1,83 \times 10^1$	0,00
C6	7,0	78,8	$3,18 \times 10^0$	$2,00 \times 10^9$	$3,18 \times 10^0$	$3,48 \times 10^{-2}$	0,00
C7	14,8	88,3	$8,30 \times 10^{-2}$	$1,98 \times 10^9$	$8,30 \times 10^{-2}$	$9,08 \times 10^{-4}$	0,00
Chuyển electron (SET)							
	3,2	16,0	$2,35 \times 10^{11}$	$8,62 \times 10^9$	$8,31 \times 10^9$	$9,10 \times 10^7$	97,60
TriAnion ($f_i = 0,03\%$) Phản ứng cộng							
C1	20,4	87,2	$1,23 \times 10^{-1}$	$2,05 \times 10^9$	$1,23 \times 10^{-1}$	$3,24 \times 10^{-5}$	0,00
C2	-7,4	55,0	$6,75 \times 10^4$	$2,26 \times 10^9$	$6,75 \times 10^4$	$1,77 \times 10^1$	0,00
C4	2,7	61,9	$2,41 \times 10^3$	$1,89 \times 10^9$	$2,41 \times 10^3$	$6,32 \times 10^{-1}$	0,00
C6	-1,3	54,0	$5,87 \times 10^4$	$2,24 \times 10^9$	$5,87 \times 10^4$	$1,54 \times 10^1$	0,00
C7	21,4	85,3	$2,51 \times 10^{-1}$	$2,01 \times 10^9$	$2,51 \times 10^{-1}$	$6,59 \times 10^{-5}$	0,00
Pentyl ethanoate ($f_i = 100,00\%$) Phản ứng tách							
O22H	-6,32	89,55	$1,91 \times 10^1$	$2,63 \times 10^9$	$1,91 \times 10^1$	$1,91 \times 10^1$	47,54
O23H	-6,30	88,88	$2,11 \times 10^1$	$2,66 \times 10^9$	$2,11 \times 10^1$	$2,11 \times 10^1$	52,45
Phản ứng cộng							
C1	18,31	102,37	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,17 \times 10^9$	$2,95 \times 10^{-4}$	$2,95 \times 10^{-4}$	0,00
C2	28,01	98,46	$1,33 \times 10^{-3}$	$2,18 \times 10^9$	$1,33 \times 10^{-3}$	$1,33 \times 10^{-3}$	0,00
C4	33,44	98,48	$1,19 \times 10^{-3}$	$2,14 \times 10^9$	$1,19 \times 10^{-3}$	$1,19 \times 10^{-3}$	0,00
C6	20,40	96,43	$2,88 \times 10^{-3}$	$2,16 \times 10^9$	$2,88 \times 10^{-3}$	$2,88 \times 10^{-3}$	0,00
C7	27,10	107,52	$4,20 \times 10^{-5}$	$2,16 \times 10^9$	$4,20 \times 10^{-5}$	$4,20 \times 10^{-5}$	0,00
Tổng						$4,02 \times 10^1$	100,00

Bảng 3.12. Thông số động học và nhiệt động học của phản ứng giữa gốc HOO• và các dạng tồn tại của tautomer keto-enol BDMC trong môi trường nước và PEA tại 298 K

Dạng	Vị trí	$DG^\ddagger$	D_rG^0	k_T	k_D	k_{app}	k_{app}^{Mf}	G
Trong nước Trung hòa ($f_i = 77,56\%$)		Phản ứng tách						
O23H		-6,1	88,4	$8,31 \times 10^2$	$2,43 \times 10^9$	$8,31 \times 10^2$	$6,44 \times 10^2$	0,00
O22H		-6,1	88,1	$9,73 \times 10^2$	$2,42 \times 10^9$	$9,73 \times 10^2$	$7,54 \times 10^2$	0,00
Phản ứng cộng								
C1		14,0	89,4	$5,84 \times 10^{-2}$	$2,05 \times 10^9$	$5,84 \times 10^{-2}$	$4,53 \times 10^{-2}$	0,00
C2		18,9	89,8	$4,18 \times 10^{-2}$	$2,05 \times 10^9$	$4,18 \times 10^{-2}$	$3,24 \times 10^{-2}$	0,00
C4		11,8	87,4	$9,74 \times 10^{-2}$	$2,01 \times 10^9$	$9,74 \times 10^{-2}$	$7,55 \times 10^{-2}$	0,00
C6		11,2	87,3	$1,13 \times 10^{-1}$	$2,05 \times 10^9$	$1,13 \times 10^{-1}$	$8,76 \times 10^{-2}$	0,00
C7		16,5	97,2	$2,59 \times 10^{-3}$	$2,01 \times 10^9$	$2,59 \times 10^{-3}$	$2,01 \times 10^{-2}$	0,00
Chuyển electron (SET)								
127,7			135,9	$2,36 \times 10^{-10}$	$8,28 \times 10^9$	$2,36 \times 10^{-10}$	$1,83 \times 10^{-10}$	0,00
MonoAnion ($f_i = 21,92\%$)		Phản ứng tách						
O23H		-11,2	77,1	$2,23 \times 10^4$	$2,14 \times 10^9$	$2,23 \times 10^4$	$4,89 \times 10^3$	0,02
O22H		-11,2	77,0	$2,30 \times 10^4$	$2,14 \times 10^9$	$2,30 \times 10^4$	$5,39 \times 10^3$	0,02
Phản ứng cộng								
C1		15,6	90,4	$3,52 \times 10^{-2}$	$2,03 \times 10^9$	$3,52 \times 10^{-2}$	$7,73 \times 10^{-3}$	0,00
C2		9,9	81,1	$1,26 \times 10^0$	$2,06 \times 10^9$	$1,26 \times 10^0$	$2,27 \times 10^{-1}$	0,00
C4		-4,3	68,2	$1,93 \times 10^2$	$1,94 \times 10^9$	$1,93 \times 10^2$	$4,23 \times 10^1$	0,00
C6		9,9	81,1	$1,23 \times 10^0$	$2,06 \times 10^9$	$1,23 \times 10^0$	$2,70 \times 10^{-1}$	0,00
C7		17,4	91,1	$3,04 \times 10^{-2}$	$2,06 \times 10^9$	$3,04 \times 10^{-2}$	$6,66 \times 10^{-3}$	0,00
Chuyển electron (SET)								
69,5			69,6	$9,56 \times 10^1$	$8,33 \times 10^9$	$9,56 \times 10^1$	$2,10 \times 10^1$	0,00
DiAnion ($f_i = 0,51\%$)		Phản ứng tách						
O23H		-14,4	81,1	$3,41 \times 10^4$	$2,04 \times 10^9$	$3,41 \times 10^4$	$1,73 \times 10^2$	0,00
Phản ứng cộng								
C1		20,4	86,9	$1,48 \times 10^{-1}$	$2,03 \times 10^9$	$1,48 \times 10^{-1}$	$1,62 \times 10^{-3}$	0,00

C2	-8,1	55,6	$4,95 \times 10^4$	$2,25 \times 10^9$	$4,95 \times 10^4$	$5,42 \times 10^2$	0,00
C4	-12,0	62,8	$1,67 \times 10^3$	$1,90 \times 10^9$	$1,67 \times 10^3$	$1,83 \times 10^1$	0,00
C6	7,0	78,8	$3,18 \times 10^0$	$2,00 \times 10^9$	$3,18 \times 10^0$	$3,48 \times 10^{-2}$	0,00
C7	14,8	88,3	$8,30 \times 10^{-2}$	$1,98 \times 10^9$	$8,30 \times 10^{-2}$	$9,08 \times 10^{-4}$	0,00
Chuyển electron (SET)							
	16,1	23,2	$1,30 \times 10^{10}$	$8,33 \times 10^9$	$5,08 \times 10^9$	$2,57 \times 10^7$	98,70
TriAnion ($f_i = 0,01\%$) Phản ứng cộng							
C1	21,8	76,6	$8,16 \times 10^0$	$2,05 \times 10^9$	$8,16 \times 10^0$	$8,20 \times 10^{-4}$	0,00
C2	1,2	57,6	$1,32 \times 10^4$	$2,19 \times 10^9$	$1,32 \times 10^4$	$1,30 \times 10^0$	0,00
C4	-1,1	61,4	$2,95 \times 10^3$	$1,92 \times 10^9$	$2,95 \times 10^3$	$2,90 \times 10^{-1}$	0,00
C6	1,5	60,8	$3,58 \times 10^3$	$2,15 \times 10^9$	$3,58 \times 10^3$	$3,51 \times 10^{-1}$	0,00
C7	16,1	80,7	$1,71 \times 10^0$	$2,09 \times 10^9$	$1,71 \times 10^0$	$1,68 \times 10^{-4}$	0,00
Chuyển electron (SET)							
	11,8	25,3	$1,71 \times 10^9$	$8,40 \times 10^9$	$3,33 \times 10^9$	$3,27 \times 10^5$	1,26
Tổng						$2,61 \times 10^7$	100,00
Pentyl ethanoate ($f_i = 100,00\%$) Phản ứng tách							
O22H	-3,7	85,7	$4,61 \times 10^2$	$2,68 \times 10^9$	$4,61 \times 10^2$	$4,61 \times 10^2$	56,52
O23H	-0,8	86,4	$3,55 \times 10^2$	$2,68 \times 10^9$	$3,55 \times 10^2$	$3,55 \times 10^2$	43,48
Phản ứng cộng							
C1	14,3	98,1	$1,66 \times 10^{-3}$	$2,23 \times 10^9$	$1,66 \times 10^{-3}$	$1,66 \times 10^{-3}$	0,00
C2	27,3	95,3	$4,54 \times 10^{-3}$	$2,21 \times 10^9$	$4,54 \times 10^{-3}$	$4,54 \times 10^{-3}$	0,00
C4	24,8	92,9	$1,13 \times 10^{-2}$	$2,20 \times 10^9$	$1,13 \times 10^{-2}$	$1,13 \times 10^{-2}$	0,00
C6	21,4	93,6	$9,07 \times 10^{-3}$	$2,22 \times 10^9$	$9,07 \times 10^{-3}$	$9,07 \times 10^{-3}$	0,00
C7	20,1	102,4	$3,25 \times 10^{-4}$	$2,21 \times 10^9$	$3,25 \times 10^{-4}$	$3,25 \times 10^{-4}$	0,00
Tổng						$8,16 \times 10^2$	100,00



Hình 3.15. Diễn biến mật độ spin, điện tích NPA của trung tâm cho (DH), hydrogen chuyển dịch (H), trung tâm nhận (AH) dọc theo tọa độ phản ứng nội tại (IRC) và hình ảnh orbital SOMO tại trạng thái chuyển tiếp (TS) của các phản ứng PCET ưu thế trong pha nước.

Bảng 3.13. Hằng số tốc độ biểu kiến (k_{app}), hằng số tốc độ hiệu chỉnh phân số mol (k_{Mf}) và tỷ lệ phân nhánh (Γ) tổng thể của CUR và BDMC trong môi trường nước và PEA tại 298 K

	Nước				PEA			
Tautomers	k_{app}	Mf	k_{Mf}	G	k_{app}	Mf	k_{Mf}	G
CUR	$1,62 \times 10^8$	0,59	$9,53 \times 10^5$	1,02	$5,36 \times 10^1$	0,01	$7,14 \times 10^{-3}$	0,02
Diketone								
Keto-enol	$9,32 \times 10^7$	99,41	$9,26 \times 10^7$	98,98	$4,02 \times 10^1$	99,99	$4,02 \times 10^1$	99,98

Overall			$9,36 \times 10^7$	100,00			$4,02 \times 10^1$	100,00
BDMC Diketone	$1,96 \times 10^6$	0,14	$2,81 \times 10^3$	0,01	$1,12 \times 10^3$	0,20	$2,26 \times 10^0$	0,28
Keto-enol	$2,61 \times 10^7$	99,86	$2,60 \times 10^7$	99,99	$8,15 \times 10^2$	99,80	$8,14 \times 10^2$	99,72
Overall			$2,60 \times 10^7$	100,00			$8,16 \times 10^2$	100,00

Bảng 3.14. Phân tích cấu hình electron tự nhiên (NEC) của nguyên tử hydrogen (H), trung tâm cho (DH) và trung tâm nhận (AH) tại trạng thái chuyển tiếp của các phản ứng tách hydrogen ưu thế trong nước

CUR-O22H	H	$1S^0$
	O-DH	$[Core]2S^{1.65}2p^{5.06}$
	O-AH	$[Core]2S^{1.82}2p^{4.58}$
CUR-O23H	H	$1S^0$
	O-DH	$[Core]2S^{0.83}2p^{2.47}$
	O-AH	$[Core]2S^{0.91}2p^{2.12}$
BDMC-O22H	H	$1S^0$
	O-DH	$[Core]2S^{0.83}2p^{2.42}$
	O-AH	$[Core]2S^{0.90}2p^{2.24}$
BDMC-O23H	H	$1S^0$
	O-DH	$[Core]2S^{0.83}2p^{2.42}$
	O-AH	$[Core]2S^{0.90}2p^{2.20}$

3.5. Dự đoán cơ chế ức chế tiềm năng đối với phức hệ protein TLR4/MD-2 của curcuminoid kết hợp mô phỏng và thực nghiệm

3.5.1. Mô phỏng lắp ghép phân tử

Do các thử nghiệm *in vitro* trong nghiên cứu này được thực hiện trên đại thực bào RAW 264.7, các nghiên cứu mô phỏng được tiến hành với phức hệ protein TLR4/MD-2 để tìm hiểu cơ chế hoạt động của curcuminoid. AutoDock4 là một phần mềm lắp ghép phân tử mã nguồn mở phổ biến được sử dụng rộng rãi, cho phép dự đoán ái lực liên kết và cấu hình tương tác của các

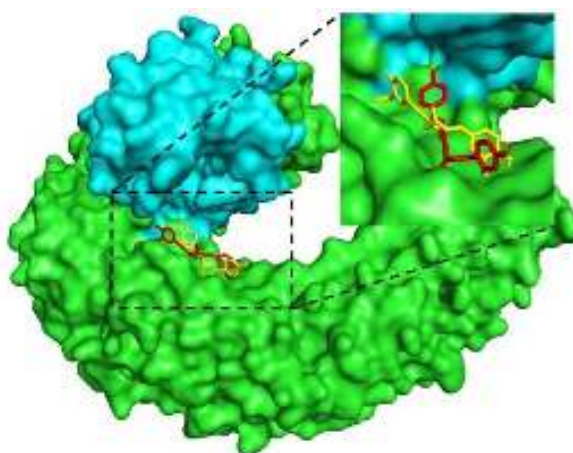
phối tử đối với một đích protein cụ thể. Trong nghiên cứu này, AutoDock4 được sử dụng để dự đoán cấu hình liên kết của các curcuminoid với protein nghiên cứu và năng lượng liên kết tự do (ái lực liên kết) tương ứng của chúng. Kết quả mô phỏng được trình bày tại Bảng 3.15.

Bảng 3.15. Năng lượng liên kết tự do và các amino acid của phức hợp TLR4/MD-2 tham gia liên kết với curcuminoid

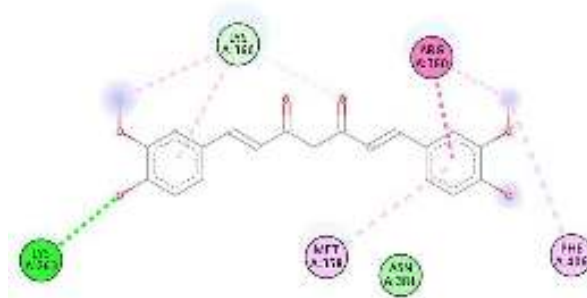
Hợp chất	Năng lượng liên kết tự do (kcal/mol)	Các amino acid tham gia vào liên kết hydro (trước MD)	Các amino acid tham gia vào liên kết kỵ nước (sau tinh chỉnh MD)
CUR	-9,29	Lys263	Asp101, Lys263, Phe406
DMC	-7,53	Arg337, Arg380, Ala382	—
BDMC	-9,73	Gly315	Arg337, Asn359

Theo tiêu chí xếp hạng của AutoDock4, giá trị năng lượng liên kết tự do càng thấp (càng âm) thì ái lực liên kết của phối tử với thụ thể mục tiêu càng lớn. Phân tích kết quả docking cho thấy CUR và BDMC thể hiện ái lực liên kết cao với protein nghiên cứu với năng lượng liên kết tự do lần lượt là -9,29 và -9,73 kcal/mol. Cấu hình liên kết của các phối tử này trong vùng hoạt động được minh họa trong Hình 3.16.

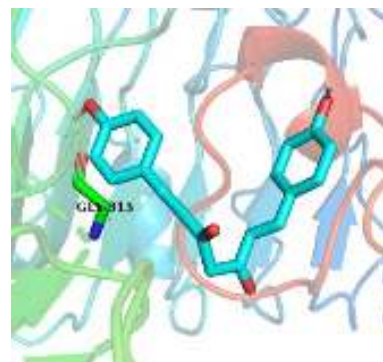
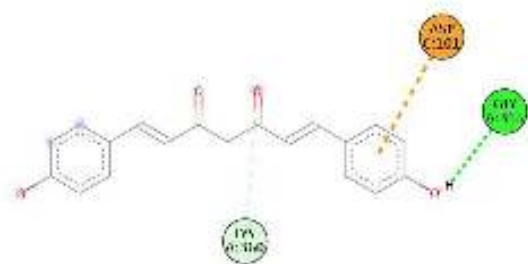
(A)



(B)



(C)



Interactions

Van der Waals	Pi-Sigma
Unfavorable Bump	Pi-Pi T-shaped
Salt Bridge	Alkyl
Carbon Hydrogen Bond	Pi-Alkyl
Pi-Anion	Conventional Hydrogen Bond
Pi-Sulfur	

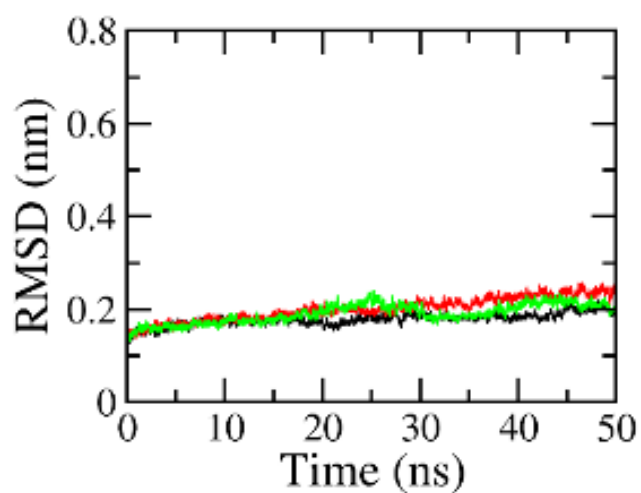
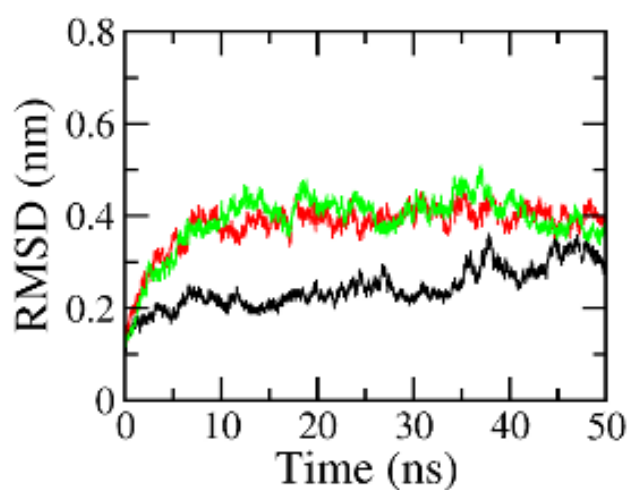
Hình 3.16. Cấu hình liên kết giữa CUR và BDMC với phức hệ protein TLR4/MD-2 dự đoán bởi AutoDock4. (A) Hình ảnh liên kết của các hợp chất nghiên cứu với bề mặt protein TLR4, liên kết với bề mặt tiếp xúc của chúng với protein MD-2: CUR-màu đỏ, BDMC-màu vàng; (B) Cấu hình liên kết của CUR; (C) Cấu hình liên kết của BDMC.

Kết quả thu được chỉ ra rằng CUR tương tác với TLR4/MD-2 thông qua một liên kết hydro với Lys263, các liên kết kỵ nước khác hình thành với các amino acid Met358, Lys360, Arg380, Asn381, Phe406. Mặt khác, BDMC được quan sát thấy tạo thành một liên kết hydro với Gly315 và liên kết này củng cố thêm bởi các tương tác yếu giữa phối tử với Asp101 và Lys360.

Theo các nghiên cứu docking phân tử trên cùng đích TLR4/MD-2 (PDB ID: 2Z64/3VQ2), chất ức chế đối kháng đặc hiệu eritoran (một loại thuốc thử nghiệm lâm sàng điều trị nhiễm trùng huyết) thường cho năng lượng liên kết trong khoảng từ -8,50 đến -9,50 kcal/mol; trong khi các hợp chất flavonoid tự nhiên khác (như quercetin hay resveratrol) thường dao động ở mức -7,00 đến -8,50 kcal/mol [147]. Việc BDMC đạt mức năng lượng -9,73 kcal/mol không chỉ vượt qua CUR (-9,29 kcal/mol) mà còn tiệm cận, thậm chí nhỉnh hơn một số chất ức chế tổng hợp chuẩn. Sự so sánh này một lần nữa làm nổi bật ưu thế của cấu trúc không chứa nhóm methoxy: sự tinh giản về mặt cản trở lập thể (steric hindrance) đã giúp BDMC thâm nhập sâu hơn vào túi kỵ nước của MD-2, thiết lập một mạng lưới liên kết hydro và tương tác tĩnh điện tối ưu hơn, từ đó khóa chặt phức hệ này và ngăn chặn quá trình hoạt hóa con đường tín hiệu viêm hiệu quả hơn các dạng curcuminoid khác.

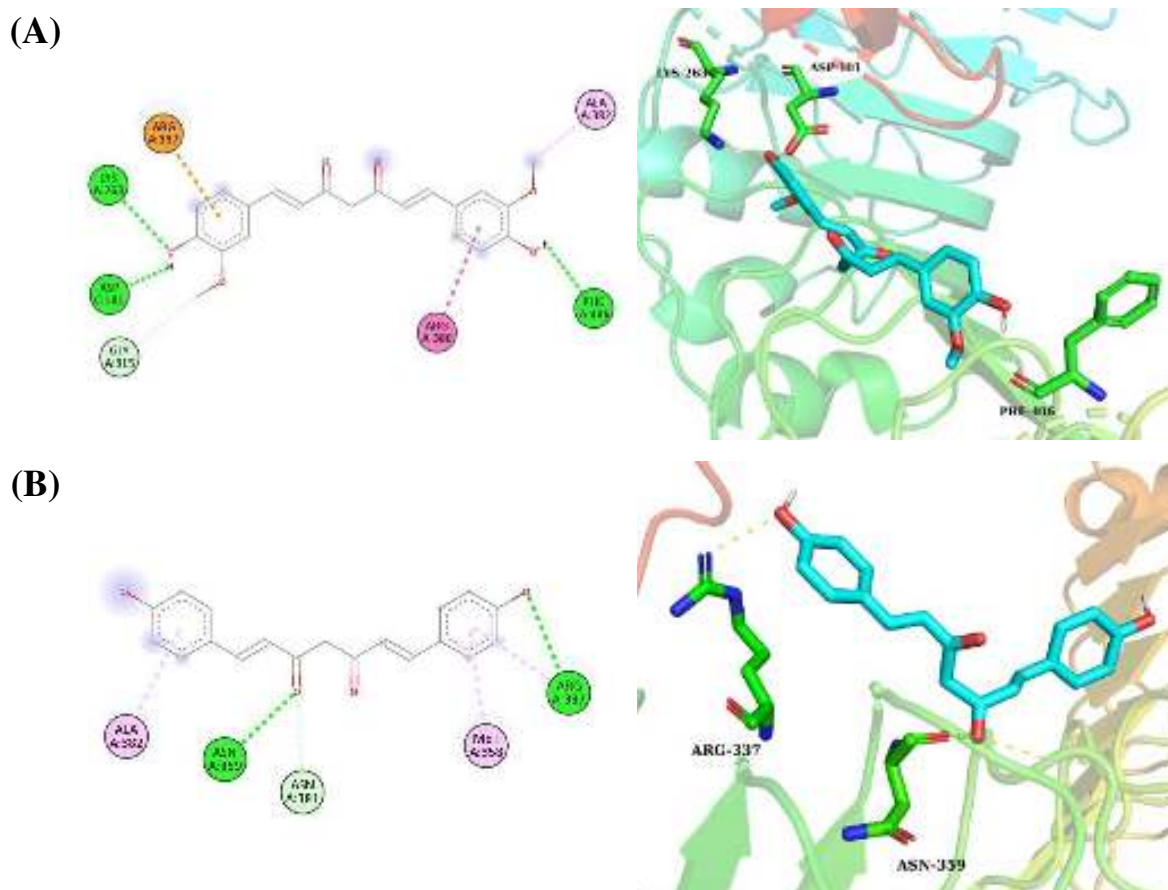
3.5.2. Mô phỏng động lực học phân tử

Mặc dù docking phân tử là một công cụ hiệu quả trong sàng lọc ảo, phương pháp này thường bị giới hạn bởi việc sử dụng cấu trúc thụ thể tĩnh (rigid receptor) và mô hình dung môi ẩn (implicit solvent). Để khắc phục các rào cản sự thiếu hụt tính linh hoạt cấu hình (conformational flexibility) và đặc tính động học của protein - mô phỏng động lực học phân tử đã triển khai nhằm tinh chỉnh và đánh giá độ ổn định của các phức hợp docking. Mỗi hệ thống enzyme-chất ức chế được thực hiện mô phỏng trong thời gian 50 ns, sử dụng dữ liệu đầu vào là cấu hình liên kết thu được từ docking, nhằm mục đích hồi phục cấu trúc (structural relaxation) trong môi trường dung môi nước. Như thể hiện tại Hình 3.17, phân tích quỹ đạo (trajectory analysis) xác nhận tất cả các hệ thống đều đạt trạng thái cân bằng nhiệt động trong vòng 10 ns đầu tiên. Độ ổn định của các phức hệ được minh chứng qua giá trị sai lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) thấp, duy trì ổn định quanh ngưỡng 0,2 nm trong suốt thời gian khảo sát.

**CUR****BDMC**

Hình 3.17. Biến thiên RMSD theo thời gian tính cho toàn bộ nguyên tử của TLR4/MD-2 với CUR (A) và BDMC (B) qua 3 lần mô phỏng MD độc lập trong thời gian 50 ns.

Sự ổn định giá trị RMSD quan sát cho thấy tương tác liên kết của phối tử không gây ra nhiễu đáng kể về cấu hình, từ đó bảo toàn tính toàn vẹn cấu trúc của phức hệ TLR4/MD-2 trong suốt quá trình mô phỏng. Các cấu hình liên kết đại diện của CUR và BDMC trong vùng hoạt động của TLR4/MD-2 được trình bày tại Hình 3.18.



Hình 3.18. Cấu hình liên kết được tinh chỉnh bằng MD giữa CUR (A) và BDMC (B) với phức hợp TLR4/MD-2 thu được bằng phương pháp phân cụm từ các ảnh chụp ở trạng thái cân bằng của phức hệ với ngưỡng cắt 0,2 nm.

Phân tích tương tác cho thấy CUR thiết lập ba liên kết hydro với các amino acid Asp101, Lys263 và Phe406. Bên cạnh đó, các tương tác kỵ nước hình thành với Gly315, Arg337, Arg380 và Ala382 đóng vai trò quan trọng trong việc ổn định phối tử trong vùng hoạt động của protein. Đối với BDMC, phân tích cấu hình liên kết chỉ ra các liên kết hydro hình thành yếu với Arg337 và Asn359, trong khi các tương tác kỵ nước được tạo với các amino acid Asn381, Ala382 và Met358.

3.5.3. Đánh giá theo quy tắc Lipinski và ADMET

Đặc tính giống thuốc (drug-likeness) của hai ứng viên đánh giá dựa trên Quy tắc năm tiêu chí của Lipinski (Ro5), đây là bộ quy tắc phổ biến để dự đoán sinh khả dụng đường uống của hợp chất. Tiếp theo, hồ sơ dược động học và tiềm năng độc tính của hai curcuminoid được phân tích *in silico* thông qua các

webserver Molinspiration và ProTox 3.0, kết quả chi tiết tổng hợp tại Bảng 3.16.

Cả CUR và BDMC đều sở hữu các đặc tính hóa lý tối ưu cho hấp thu đường uống, tuân thủ hoàn toàn quy tắc Lipinski mà không có bất kỳ vi phạm nào. Sự nhất quán giữa các mô hình dược động học, kết quả mô phỏng MD và điểm số ái lực từ AutoDock4 khẳng định các dẫn xuất tự nhiên này là những chất ức chế TLR4/MD-2 tiềm năng với đặc tính dược học khả thi. Hơn nữa, việc được phân loại vào nhóm độc tính 4 và 5, đi kèm với các giá trị LD₅₀ dự đoán thuận lợi, cho thấy các hợp chất này có cửa sổ an toàn rộng, hỗ trợ triển khai các nghiên cứu phát triển thuốc giai đoạn tiếp theo.

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

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

^aDiện tích bề mặt phân cực toàn phần phân tử; ^bPhân loại dự đoán độc tính: 1 → 6 (Độc tính cao đến không độc).

3.5.4. Hoạt tính kháng viêm *in vitro*

Các curcuminoid được sàng lọc hoạt tính kháng viêm bằng cách sử dụng mô hình đại thực bào RAW 264.7 cảm ứng LPS để theo dõi sự ức chế sản xuất NO. Các kết quả *in vitro* tương ứng ghi nhận trong Bảng 3.17.

Dữ liệu giá trị IC₅₀ của các hợp chất trong Bảng 3.17 cho thấy CUR và BDMC thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh so với thuốc đối chứng dương cardamonin (IC₅₀ = 0,61 µg/ml) với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 121,06 ± 2,16 và 91,22 ± 1,58 µg/ml. Những kết quả này cho thấy mối tương quan cao với dữ liệu thu được từ các nghiên cứu *in silico*.

Bảng 3.17. Khả năng ức chế sản xuất NO của các curcuminoid

TT	Tên hợp chất	IC ₅₀ (μg/ml)
1	CUR	121,06 ± 2,16
2	DMC	> 200
3	BDMC	91,22 ± 1,58
	Cardamonin	0,61 ± 0,24

Tóm lại, nghiên cứu đã hoàn thiện đánh giá về hoạt tính sinh học của các curcuminoid thông qua các nghiên cứu *in vitro* và mô phỏng *in silico*:

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

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

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

Cần triển khai các thử nghiệm *in vivo* trên mô hình động vật viêm hoặc ung thư để xác thực hiệu quả điều trị và độ an toàn hệ thống của BDMC. Đồng thời, sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử (Western blot, qPCR, ELISA) để làm sáng tỏ thêm cơ chế điều hòa các con đường tín hiệu NF-κB, STAT3 và iNOS đã được dự đoán. Các dữ liệu docking và MD thu được sẽ là tiền đề quan

trọng cho chiến lược thiết kế các dẫn xuất BDMC thế hệ mới nhằm tối ưu hóa ái lực liên kết, độ tan và sinh khả dụng.

Phân tích phiếm hàm mật độ (DFT) đã chứng minh bản chất của hoạt tính chống oxy hóa phụ thuộc vào khả năng cho hydro (HAT) hoặc chuyển electron (SET) tại các nhóm hydroxyl phenol, đồng thời giải thích vì sao CUR hoạt động chống oxy hóa mạnh hơn BDMC. Trong khi đó, mô hình docking và mô phỏng động lực học phân tử (MD) đã phác họa chi tiết ái lực liên kết bền vững của curcumin và các dẫn xuất lai hóa lên các đích protein liên quan đến phản ứng viêm (như TLR4/MD-2, COX-2) hoặc sự tăng sinh tế bào ung thư. Từ các kết quả *in silico* này, luận án đưa ra định hướng ứng dụng rõ ràng: sử dụng mô phỏng tính toán như một công cụ sàng lọc hiệu quả (virtual Screening) để dự đoán trước sinh khả dụng (ADMET) và ái lực liên kết của các dẫn xuất. Điều này sẽ định hướng trực tiếp cho các nghiên cứu hóa tổng hợp tiếp theo, tập trung vào việc thiết kế các cấu trúc thuốc mới có độ hòa tan tốt hơn và tính chọn lọc đích cao hơn, rút ngắn thời gian phát triển các chế phẩm bảo vệ sức khỏe từ cây nghệ vàng.

Phương pháp mô phỏng tính toán *in silico* đã góp phần dự đoán cơ chế tác dụng ở mức độ phân tử, tương đồng cao với kết quả *in vitro*. Cụ thể, tính toán lượng tử (DFT) đã làm rõ cơ chế chống oxy hóa phụ thuộc dung môi: môi trường nước ưu tiên cơ chế chuyển điện tử đơn (SET) từ các anion, trong khi môi trường lipid ưu tiên cơ chế chuyển điện tử kết hợp proton (PCET). Đối với hoạt tính kháng viêm, mô phỏng docking và động lực học phân tử (MD) đã minh chứng BDMC và các dẫn xuất thiếu nhóm methoxy có ái lực liên kết tĩnh điện và kỵ nước ổn định, bền vững hơn với phức hệ protein đích TLR4/MD-2 so với CUR. Các dữ liệu giải mã cơ chế *in silico* này, kết hợp với các thông số dự đoán dược động học (ADMET), chính là cơ sở khoa học để định hướng trực tiếp cho việc ứng dụng và phát triển các dòng sản phẩm (dược mỹ phẩm, chế phẩm sinh học, thực phẩm chức năng) từ các dạng curcuminoid đặc hiệu trong giai đoạn tiếp theo.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu của đề tài “Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam”, luận án đã rút ra các kết luận chính như sau:

1. Đã chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc thành công 03 hợp chất curcuminoid tinh khiết gồm curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC) từ thân rễ cây nghệ vàng (*C. longa*) thu thập tại Việt Nam.
2. Lần đầu tiên phát hiện và định danh phân tử loài tuyến trùng ký sinh mới *Scutellonema curcumae* trên rễ nghệ vàng. Đã xác lập mối tương quan nghịch biến: gia tăng mật độ lây nhiễm tuyến trùng làm giảm hàm lượng curcuminoid, dẫn đến giảm hoạt tính chống oxy hóa và khả năng gây độc tế bào của dược liệu.
3. Đã bán tổng hợp thành công và xác định cấu trúc 03 dẫn xuất mới từ curcumin bằng phương pháp biến đổi tại nhóm hydroxyl phenol, bao gồm: dẫn xuất thế di-propargyl (*O,O'*-di-propargyl curcumin) và các dẫn xuất lai hóa với gốc zerumbone (curcumin-monozerumbone, curcumin-biszerumbone).
4. Về hoạt tính sinh học *in vitro*, đã chứng minh mối quan hệ cấu trúc - tác dụng: (i) BDMC thể hiện hoạt tính kháng viêm vượt trội so với CUR (IC₅₀ ức chế NO là 91,22 $\mu\text{g/ml}$ so với 121,06 $\mu\text{g/ml}$); (ii) Dẫn xuất lai hóa thế một lần curcumin-monozerumbone cho hiệu lực tốt nhất, giúp cải thiện đáng kể hoạt tính kháng viêm, thể hiện hiệu lực ức chế tốt hơn so với CUR trên tế bào ung thư gan Hep-G2 và mở rộng phổ kháng vi sinh vật.
5. Về đánh giá *in silico*, đã giải mã thành công cơ sở phân tử của các hoạt tính sinh học: (i) Tính toán DFT khẳng định cơ chế chuyển electron (SET) và chuyển electron kết hợp proton (PCET) đóng vai trò chủ đạo trong hoạt tính quét gốc tự do; (ii) Mô phỏng docking và động lực học phân tử (MD) chứng minh cấu trúc không chứa nhóm methoxy của BDMC giúp tối ưu hóa tương tác không gian, tạo phức hệ liên kết tĩnh điện và kỵ nước bền vững nhất với protein đích TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết -9,73 kcal/mol), giải thích hiệu quả kháng viêm tốt của BDMC trên thực nghiệm.

KIẾN NGHỊ

Từ những kết quả đạt được, luận án đề xuất 03 hướng nghiên cứu tiếp nối như sau:

1. Tiếp tục nghiên cứu mô phỏng tính toán *in silico* (Molecular Docking và MD simulation) đối với các dẫn xuất lai hóa mới (curcumin-monozerumbone, curcumin-biszerumbone) trên các protein đích khác nhau nhằm góp phần giải mã sâu hơn cơ sở phân tử và định hướng thiết kế các cấu trúc thuốc tối ưu.

2. Triển khai các thử nghiệm lây nhiễm nhân tạo (cấy truyền theo nguyên tắc Koch) trong điều kiện nhà lưới (greenhouse) để đánh giá chuyên sâu cơ chế bệnh sinh của loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* trên cây nghệ vàng, cũng như thử nghiệm *in vivo* đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được.

3. Ứng dụng các kết quả đánh giá sinh thái học của đề tài làm cơ sở khoa học để các nghiên cứu thuộc lĩnh vực Nông học, Bảo vệ thực vật tiếp tục phát triển các chế phẩm sinh học kiểm soát tuyến trùng, hoặc điều chỉnh kỹ thuật canh tác (như kiểm soát pH đất), hướng tới việc bảo đảm và nâng cao chất lượng nguồn dược liệu nghệ vàng tại Việt Nam.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Tu Thi Dinh**, Quan Minh Pham, Long Quoc Pham, Chi Kim Ngo, Van Thi Thuy Nguyen, Thuong Thi Le Hoang, Tu Ngoc Ly, Linh Ngoc Nguyen, Thao Thi Phuong Nguyen and Lam Tien Do, 2026, Impact of *Scutellonema curcumae* sp. n. (Nematoda: Hoplolaimidae) on the Phytochemical Profile and Biological Activities of Turmeric (*Curcuma longa* L.), *Molecules*, **31**(6), pp. 920.
2. **Dinh Thi Tu**, Ngo Kim Chi, Le Thi Thuy Huong, Do Huu Nghi, Pham Minh Quan, 2026, *In silico* and *in vitro* investigation of curcuminoid as potential TLR4/MD-2 complex inhibitors using molecular docking and molecular dynamic simulations, *Vietnam Journal of Science and Technology*, <https://doi.org/10.15625/2525-2518/24045>.
3. Dinh Hieu Truong, **Thi Tu Dinh**, Thi My Duyen Trinh, Thi Hong Minh Pham, Minh Quan Pham, Urszula Gawlik-Dziki and Duy Quang Dao, 2025, HOO radical scavenging activity of curcumin I and III in physiological conditions: a theoretical investigation on the influence of acid-base equilibrium and tautomerism, *RSC advances*, **15**(8), pp. 5649-5664.
4. Nguyễn Phi Hùng, Nguyễn Anh Tuấn, **Dinh Thị Tú**, Tô Đạo Cường, Hoàng Thị Phương, Đặng Ngọc Quang, Đỗ Thị Thúy, Vũ Thị Hà, Bùi Thị Thực, Trịnh Thị Thu Hà, 2023, Phương pháp phân tích nhanh hàm lượng curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin từ thân rễ nghệ bằng hệ thống HPLC 1260 agilent, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*, **21**(5), pp. 103-109.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Beganovic S., Wittmann C., 2024, Medical properties, market potential, and microbial production of golden polyketide curcumin for food, biomedical, and cosmetic applications, *Current Opinion in Biotechnology*, 87, pp. 103112.
2. Ashaolu T.J., et al., 2025, Recent advancements in curcumin extraction, chemical/bio-synthesis, purification, and food applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(14), pp. 2714-2730.
3. Do T.C.V., et al., 2025, Evaluation of Antioxidant, Antibacterial, Antifungal, and Anticancer Properties of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica*, and *Curcuma caesia* Oil, *Industrial Biotechnology*, 21(6), pp. 374-385.
4. Nguyen A.-T., et al., 2025, Identification of natural curcumins as potential dual inhibitors of PTP1B and α -glucosidase through experimental and computational study, *Kuwait Journal of Science*, 52(1), pp. 100312.
5. Vo T.S., et al., 2021, Turmeric (*Curcuma longa* L.): Chemical components and their effective clinical applications, *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 8(3), pp. 883-898.
6. Nguyen H.T., et al., 2023, Effects of roasting conditions on antibacterial properties of Vietnamese turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes, *Molecules*, 28(21), pp. 7242.
7. Latif R., Nawaz T., 2025, Medicinal plants and human health: A comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications, *Phytochemistry Reviews*, pp. 1-44.
8. Huang C., et al., 2020, Curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin induced caspase-dependent and-independent apoptosis via Smad or Akt signaling pathways in HOS cells, *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), pp. 68.
9. Van Hung P., Vo T.N.D., 2017, Structure, physicochemical characteristics, and functional properties of starches isolated from yellow (*Curcuma longa*) and black (*Curcuma caesia*) turmeric rhizomes, *Starch-Stärke*, 69(5-6), pp. 1600285.
10. Shoaib M., et al., 2025, Search of novel immunomodulatory drugs, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 14(4), pp. 837-843.
11. Chát P., Hiền N.T.N., Xuân H.V.T.T., 2024, Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời ba curcuminoid trong bã nghệ, *Tạp chí Kiểm nghiệm Dược và Mỹ phẩm*, 22(1), tr. 21-28.

12. Võ T.T.V., 2021, *Khảo sát quy trình sản xuất và yếu tố ảnh hưởng đến sản phẩm tinh bột nghệ tại vườn ươm công nghệ công nghiệp Việt Nam-Hàn Quốc*, Trường Đại học Nam Cần Thơ.
13. Kaliyadasa E., Samarasinghe B.A., 2019, A review on golden species of Zingiberaceae family around the world: Genus *Curcuma*, *Afr. J. Agric. Res*, 14(9), pp. 519-531.
14. Elhawary E.A., Moussa A.Y., Singab A.N.B., 2024, Genus *Curcuma*: Chemical and ethnopharmacological role in aging process, *BMC complementary medicine and therapies*, 24(1), pp. 31.
15. Anyaoku I.C., Igwilo I.O., Ezekwesili C.N., 2023, Nutritional Profile and Health Promoting Properties of *Curcuma longa* (Linn)(Turmeric), *International Journal of Research Publication and Reviews*, 4(11), pp. 2731-2740.
16. Hossain F., et al., 2025, The Pharmacological Prospects of *Curcuma*: A Review of Its Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Properties, *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(2), pp. 231-249.
17. Ibrahim N.N.A., et al., 2023, A Comprehensive Review with Future Prospects on the Medicinal Properties and Biological Activities of *Curcuma caesia* Roxb, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023(1), pp. 7006565.
18. Sahoo S., et al., 2023, Review on Phytopharmacological Activity of *Curcuma amada* Roxb.(Mango ginger), *Defence Life Science Journal*, 8(4), pp. 351-362.
19. Paul A., et al., 2024, Exploring the chemical characterization and insecticidal activities of *Curcuma angustifolia* roxb. leaf essential oils against three major stored product insects, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(6), pp. 103986.
20. Brindhadevi K., et al., 2023, Extraction, antioxidant, and anticancer activity of saponins extracted from *Curcuma angustifolia*, *Applied Nanoscience*, 13(3), pp. 2063-2071.
21. Akbar S., 2020, *Curcuma aromatica* Salisb.(Zingiberaceae) (Syn.: *C. wenyujin* YH Chen & C. Ling), *Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications*, Springer, pp. 773-780.
22. Albaqami J.J., et al., 2022, Chemical composition and biological activities of the leaf essential oils of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica* and *Curcuma angustifolia*, *Antibiotics*, 11(11), pp. 1547.

23. Jyotirmayee B., Mahalik G., 2022, Traditional uses and variation in curcumin content in varieties of curcuma—the saffron of India, *Ambient Science*, 9(1), pp. 06-12.
24. Jotisalikorn C., 2012, *Thai spa book: The natural Asian way to health and beauty*, Tuttle Publishing.
25. Idowu-Adebayo F., 2022, *Adoption of turmeric in street-vended beverages: a case to improve nutritional status and livelihoods in Nigeria*, Wageningen University and Research.
26. Kwon Y., 2014, Estimation of curcumin intake in Korea based on the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2008-2012), *Nutrition research and practice*, 8(5), pp. 589-594.
27. Shaik M.I., et al., 2026, Physicochemical and phytochemical properties of botanical drinks with different turmeric (*Curcuma longa*) concentrations, *CyTA-Journal of Food*, 24(1), pp. 2622142.
28. Karpuz Ağören B., Akkol E.K., 2024, Secondary Metabolites of Turmeric Extract and Essential Oils, *Curcumin and Neurodegenerative Diseases: From Traditional to Translational Medicines*, Springer, pp. 81-99.
29. Zorofchian Moghadamtousi S., et al., 2014, A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin, *BioMed research international*, 2014(1), pp. 186864.
30. Huỳnh N.T.T., et al., 2024, Analysis of the morphological characteristics, microstructural anatomy, and powdered herb *Curcuma aromatica* Salisb, *VNUHCM Journal of Natural Sciences*, 8(3), pp. 3023-3033.
31. Chi V.V., 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam, tập 1, 2*, Nxb Y học.
32. Kuttan R., et al., 1985, Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*), *Cancer letters*, 29(2), pp. 197-202.
33. Velayudhan K., Dikshit N., Nizar M.A., 2012, Ethnobotany of turmeric (*Curcuma longa* L.), *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 11(4), pp. 607-614.
34. Bân N.T., 2003, *Danh lục các loài thực vật Việt Nam, tập 2*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
35. Qiang Y., et al., 2021, Spatial variation of volatile organic compounds and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) essential oils harvested from four provinces of China, *Current Research in Food Science*, 4, pp. 882.
36. Poudel D.K., et al., 2022, Analysis of Volatile Constituents in *Curcuma* Species, viz. *C. aeruginosa*, *C. zedoaria*, and *C. longa*, from Nepal, *Plants*, 11(15), pp. 1932.

37. Verma R.K., et al., 2018, Medicinal properties of turmeric (*Curcuma longa* L.): A review, *Int. J. Chem. Stud*, 6(4), pp. 1354-1357.
38. Nuari D.A., Sadino A., Ainaya S.H., 2023, The safety evaluation of some plants of the Zingiberaceae family, *Buletin Farmatera*, 8(1), pp. 43-63.
39. Cooksey C., 2017, Turmeric: old spice, new spice, *Biotechnic & Histochemistry*, 92(5), pp. 309-314.
40. Oliveira A.S., et al., 2015, Curcumin: a natural lead for potential new drug candidates, *Current medicinal chemistry*, 22(36), pp. 4196-4232.
41. Kuzminska J., et al., 2024, Curcumin derivatives in medicinal chemistry: potential applications in cancer treatment, *Molecules*, 29(22), pp. 5321.
42. Jahanbakhshi F., et al., 2021, Curcumin anti-tumor effects on endometrial cancer with focus on its molecular targets, *Cancer Cell International*, 21(1), pp. 120.
43. Huang T.Y., et al., 2020, Combinational treatment of all-trans retinoic acid (ATRA) and bisdemethoxycurcumin (BDMC)-induced apoptosis in liver cancer Hep3B cells, *Journal of Food Biochemistry*, 44(2), pp. e13122.
44. Ramezani M., Hatamipour M., Sahebkar A., 2018, Promising anti-tumor properties of bisdemethoxycurcumin: A naturally occurring curcumin analogue, *Journal of cellular physiology*, 233(2), pp. 880-887.
45. Liu H., et al., 2016, Atractylenolide I modulates ovarian cancer cell-mediated immunosuppression by blocking MD-2/TLR4 complex-mediated MyD88/NF- κ B signaling *in vitro*, *Journal of Translational Medicine*, 14(1), pp. 104.
46. Igwe K., et al., 2015, Identification of the phytocomponents in *Loranthus micranthus* methanolic extract by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *International Journal of Research Science and Management*, 2(12), pp. 53-56.
47. Rahban M., et al., 2020, Anti-viral potential and modulation of Nrf2 by curcumin: pharmacological implications, *Antioxidants*, 9(12), pp. 1228.
48. Martichonok V.V., et al., 2014, On regioselectivity of aldol condensation of aromatic aldehydes with borate complex of acetylacetone, *Synthetic Communications*, 44(9), pp. 1245-1250.
49. Ferreira J.R., et al., 2023, Curcumin-based molecular probes for fluorescence imaging of fungi, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 21(7), pp. 1531-1536.
50. Alsalm T.A., et al., 2025, Design, synthesis, and integrated *in silico* analysis of novel difluoroboron curcumin analogues as potent inhibitors of the

- K562 leukemia cell line, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 40(1), pp. 28.
51. Bérubé G., 2016, An overview of molecular hybrids in drug discovery, *Expert opinion on drug discovery*, 11(3), pp. 281-305.
 52. Dai H., et al., 2024, Advances in β -Diketocyclisation of Curcumin Derivatives and their Antitumor Activity, *Chemistry & Biodiversity*, 21(2), pp. e202301556.
 53. Mohammed A.-A.A., 2021, *Synthesis and Evaluation of a Novel Series of β -Diketones and Related Compounds as Anticancer Agents*, University of Salford (United Kingdom).
 54. Sellaperumal C., et al., 2023, Plant-parasitic nematodes, a looming threat to turmeric cultivation in India: results of recent surveys, *Nematology*, 26(1), pp. 15-23.
 55. Haroun H.M., Aydınli G., Mennan S., 2022, Screening of the nematocidal potential of some spice extracts against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (Tylenchida: Meloidogynidae), *Turkish Journal of Entomology*, 46(3), pp. 275-288.
 56. Kim Anh L.T., et al., 2022, Biosynthesis of silver nanoparticles using nanocurcumin extracted from fresh turmeric of Vietnam, *International Journal of Materials Research*, 113(9), pp. 776-784.
 57. Mandal H.R., et al., 2021, Plant parasitic nematodes and their management in crop production: a review, *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 4(2), pp. 327-338.
 58. Pandey R., et al., 2024, Nematode Problems in Medicinal Plants, *Diseases of Ornamental, Aromatic and Medicinal Plants*, Bentham Science Publishers, pp. 308-334.
 59. Mohanta S., et al., 2015, Morphological and molecular screening of turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivars for resistance against parasitic nematode, *Meloidogyne incognita*, *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 6(5), pp. 1.
 60. Ohri P., Pannu S.K., 2010, Effect of phenolic compounds on nematodes- A review, *Journal of Applied and Natural Science*, 2(2), pp. 344.
 61. Ulfa M., Himawan T., Tarno H., 2021, Nematicidal activity of turmeric extract against nematodes *Meloidogyne* spp, *Research Journal of Life Science*, 8(1), pp. 48-56.

62. Kumar S., Chand G., 2020, Diseases of Ginger and Turmeric and Their Management, *Diseases of Fruits and Vegetable Crops: Recent Management Approaches*.
63. Jalaluddin S.M., 2024, Management of Nematode Disease Complex in Turmeric with Bio Control Agents, *Medicon Agriculture & Environmental Sciences*, 7, pp. 24-32.
64. Mohanta S., Patra C., Mangaraj A., 2025, Physiological and morphological response of turmeric (*Curcuma longa* L.) to root-knot nematode infestation: Estimation of avoidable yield loss, *International Journal*, 9(1S), pp. 509-513.
65. Li S., et al., 2011, Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.), *Pharmaceutical Crops*, 5(1), pp. 28-54.
66. Mošovská S., et al., 2016, Antioxidant properties of curcuminoids isolated from *Curcuma longa* L., *Acta Chimica Slovaca*, 9(2), pp. 130-135.
67. Sharma V., Sharma H.D., 2022, Bioactive Compounds in Turmeric, *Spice Bioactive Compounds*, CRC Press, pp. 71-92.
68. Singh Y.D., Ningthoujam R., 2025, Phytochemical Constituents and Therapeutic Applications of Spices: A Consolidated Review, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, pp. 1-21.
69. Wang Y., et al., 2018, Curcumin as a therapeutic agent for blocking NF- κ B activation in ulcerative colitis, *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 40(6), pp. 476-482.
70. Vasanthkumar T., Hanumanthappa M., Lakshminarayana R., 2019, Curcumin and capsaicin modulates LPS induced expression of COX-2, IL-6 and TGF- β in human peripheral blood mononuclear cells, *Cytotechnology*, 71(5), pp. 963-976.
71. Zhou Y., et al., 2015, Curcumin modulates macrophage polarization through the inhibition of the toll-like receptor 4 expression and its signaling pathways, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(2), pp. 631-641.
72. Fujisawa S., et al., 2004, Cytotoxicity, ROS-generation activity and radical-scavenging activity of curcumin and related compounds, *Anticancer research*, 24(2B), pp. 563-570.
73. Emami A.-M., Homae H.M., Azarbayjani M.A., 2016, Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on glutathione peroxidase (GPX) activity and malondialdehyde (MDA) concentration of the liver in STZ

induced diabetic rats, *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*, 8(3), pp. 129-134.

74. Zahid R., et al., 2020, *Phytotherapeutic modalities for the management of Helicobacter pylori associated peptic ulcer*, SAGE Publications Sage UK: London, England, pp. 2058739220968308.

75. Atefi M., et al., 2021, A systematic review of the clinical use of curcumin for the management of gastrointestinal diseases, *Studies on biomarkers and new targets in aging research in iran: focus on turmeric and curcumin*, pp. 295-326.

76. Girish C., et al., 2009, Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice, *Fundamental & clinical pharmacology*, 23(6), pp. 735-745.

77. Wang Y., et al., 2016, Choleretic activity of turmeric and its active ingredients, *Journal of food science*, 81(7), pp. H1800-H1806.

78. Ramkumar S., Thulasiram H., RaviKumar A., 2021, Improvement in serum amylase and glucose levels in diabetic rats on oral administration of bisdemethoxycurcumin from *Curcuma longa* and limonoids from *Azadirachta indica*, *Journal of Food Biochemistry*, 45(4), pp. e13674.

79. Roney M., et al., 2025, Curcumin, a bioactive compound of Turmeric (*Curcuma longa*) and its derivatives as α -amylase and α -glucosidase inhibitors, *Cell Biochemistry and Biophysics*, 83(1), pp. 53-71.

80. Sahebkar A., et al., 2015, Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Journal of functional foods*, 18, pp. 898-909.

81. Shakib P., et al., 2021, Anti-trichophyton effects of curcumin: a systematic review, *Anti-Infective Agents*, 19(4), pp. 29-34.

82. Rahman A.N., et al., 2025, Antidermatophytic activity of *Curcuma longa* against *Trichophyton* spp.: compound identification and molecular docking to lanosterol 14 α -demethylase, *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 25(1), pp. 321.

83. Lopes-Rodrigues V., Sousa E., Vasconcelos M.H., 2016, Curcumin as a modulator of P-glycoprotein in cancer: challenges and perspectives, *Pharmaceuticals*, 9(4), pp. 71.

84. Tizabi Y., et al., 2014, Relevance of the anti-inflammatory properties of curcumin in neurodegenerative diseases and depression, *Molecules*, 19(12), pp. 20864-20879.

85. Benameur T., et al., 2023, The effects of curcumin on inflammasome: Latest update, *Molecules*, 28(2), pp. 742.
86. Kumar H., et al., 2025, Advances in the concept of functional foods and feeds: applications of cinnamon and turmeric as functional enrichment ingredients, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(6), pp. 1144-1162.
87. Rahman A.U., Panichayupakaranant P., 2024, Antioxidants in Cancer Prevention, *Antioxidants: Nature's Defense Against Disease*, pp. 21.
88. Rege S.A., Arya M., Momin S.A., 2019, Structure activity relationship of tautomers of curcumin: A review, *Ukrainian food journal*, 8(1), pp. 45-60.
89. Manimaran S., et al., 2018, Medicinal plant using ground state stabilization of natural antioxidant curcumin by keto-enol tautomerisation, *Natural Products and Bioprospecting*, 8(5), pp. 369-390.
90. Rege S., Arya M., Momin S., 2019, Mini review on keto-enol ratio of curcuminoid, *Ukrainian journal of food science*, 7(1), pp. 27-32.
91. Madinah R., et al., 2023, First-principles study of the dispersion effects in the structures and keto–enol tautomerization of curcumin, *ACS omega*, 8(37), pp. 34022-34033.
92. Rodríguez Cid L., 2021, *Synthesis and characterization of curcuminoids and their derived polymeric systems*. Universitat Autònoma de Barcelona.
93. Wünsche S., et al., 2021, A contribution to the solid state forms of bis (demethoxy) curcumin: Co-crystal screening and characterization, *Molecules*, 26(3), pp. 720.
94. Shahrajabian M.H., Sun W., 2024, The golden spice for life: turmeric with the pharmacological benefits of curcuminoids components, including curcumin, bisdemethoxycurcumin, and demethoxycurcumins, *Current organic synthesis*, 21(5), pp. 665-683.
95. Jagannathan R., Abraham P.M., Poddar P., 2012, Temperature-dependent spectroscopic evidences of curcumin in aqueous medium: a mechanistic study of its solubility and stability, *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(50), pp. 14533-14540.
96. Parvathy K., 2009, *Chemical approaches toward preparation of water-soluble curcumin derivatives*, University of Mysore.
97. Di Martino R.M.C., 2016, *Naturally Inspired Privileged Structures in Drug Discovery: Multifunctional Compounds for Alzheimer's Disease Treatment*, Alma Mater Studiorum Università di Bologna.

98. Peram M.R., et al., 2017, Stability studies of pure and mixture form of curcuminoids by reverse phase-HPLC method under various experimental stress conditions, *Food science and biotechnology*, 26(3), pp. 591-602.
99. Schneider C., et al., 2015, Degradation of curcumin: from mechanism to biological implications, *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(35), pp. 7606-7614.
100. Kumar K.V., et al., 2022, TOF-SIMS analysis of curcuminoids and curcumin crystals crystallized from their pure and impure solutions, *CrystEngComm*, 24(13), pp. 2485-2504.
101. Gordon O.N., et al., 2015, Oxidative transformation of demethoxy- and bisdemethoxycurcumin: products, mechanism of formation, and poisoning of human topoisomerase II α , *Chemical research in toxicology*, 28(5), pp. 989-996.
102. Ramya P.S., et al., 2017, Synthesis and biological evaluation of curcumin inspired indole analogues as tubulin polymerization inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 127, pp. 100-114.
103. Tran T.B., et al., 2022, Herbal Extracts: Importance, Classification, Quality Characteristics, and Control, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, 38(2).
104. Lan Đ.T.N., et al., 2024, Nghiên cứu phân lập, tinh chế eurycomalacton từ dược liệu Mật nhân (*Radix Eurycomae longifoliae*) làm nguyên liệu thiết lập chuẩn, *Tạp chí Kiểm nghiệm Dược và Mỹ phẩm*, 22(2), tr. 7-13.
105. Zhu J., Islas-Gonzalez G., Bois-Choussy M., 2000, Recent progress in isolation, bioactivity evaluation and total synthesis of diarylheptanoids, *Organic Preparations and Procedures International*, 32(6), pp. 505-546.
106. Kulyal H., Tiwari A., Tiwari V., 2026, Synthesis of Polyphenol Conjugate and Prodrugs, *Exploring the Synthesis, Ethnopharmacology, and Therapeutic Applications of Bioactive Polyphenols*, CRC Press, pp. 86-100.
107. Srivastava S., et al., 2016, One pot synthesis of Curcumin-NSAIDs prodrug, spectroscopic characterization, conformational analysis, chemical reactivity, intramolecular interactions and first order hyperpolarizability by DFT method, *Journal of Molecular Structure*, 1117, pp. 173-180.
108. Haque M.A., et al., 2017, Exploring the immunomodulatory and anticancer properties of zerumbone, *Food & function*, 8(10), pp. 3410-3431.
109. Wang M., et al., 2019, Zerumbone protects against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in mice via inhibiting oxidative stress and the

inflammatory response: Involving the TLR4/NF- κ B/COX-2 pathway, *Molecules*, 24(10), pp. 1964.

110. Girisa S., et al., 2019, Potential of zerumbone as an anti-cancer agent, *Molecules*, 24(4), pp. 734.

111. Moreira da Silva T., et al., 2018, Zerumbone from *Zingiber zerumbet* (L.) smith: a potential prophylactic and therapeutic agent against the cariogenic bacterium *Streptococcus mutans*, *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), pp. 301.

112. Nobari S., et al., 2023, Combination of curcumin and zerumbone improves vegf-a inhibition in colorectal cancer *in vivo* and *in vitro* model, *Proceedings of the national academy of sciences, india section B: biological sciences*, 93(4), pp. 883-894.

113. Brogi S., et al., 2020, *In silico methods for drug design and discovery*, Frontiers Media SA, pp. 612.

114. Ullah Z., et al., 2015, Density functional theory and phytochemical study of 8-hydroxyisodiospyrin, *Journal of Molecular Structure*, 1095, pp. 69-78.

115. Gabidia Torres O.L., et al., 2024, Computational Study of the Kinetics and Mechanisms of Gas-Phase Decomposition of N-Diacetamides Using Density Functional Theory, *Molecules*, 29(16), pp. 3833.

116. Panda S., et al., 2025, Reactivity of a heterobinuclear heme–peroxo–Cu complex with para-substituted catechols shows a K^a-dependent change in mechanism, *Chemical Science*, 16(5), pp. 2402-2412.

117. Tamafo Fouegue A.D., et al., 2021, DFT insights into the structure, reactivity and radical scavenging activity of cycloartocarpesin, *Journal of Physical Organic Chemistry*, 34(9), pp. e4245.

118. Wang Z., et al., 2015, Insights into the binding mode of curcumin to MD-2: studies from molecular docking, molecular dynamics simulations and experimental assessments, *Molecular BioSystems*, 11(7), pp. 1933-1938.

119. Ahmed M., et al., 2017, Curcumin: Synthesis optimization and *in silico* interaction with cyclin dependent kinase, *Acta Pharmaceutica*, 67(3), pp. 385-395.

120. Rasul M.G., 2018, Extraction, isolation and characterization of natural products from medicinal plants, *Int. J. Basic Sci. Appl. Comput*, 2(6), pp. F0076122618.

121. Zhang M., et al., 2023, Extraction and analysis of chemical compositions of natural products and plants, *Separations*, 10(12), pp. 598.

122. Feng W., et al., 2020, Analytical Methods of Isolation, *Phytochemicals in human health*, pp. 45.
123. Sabale P.M., Kamble M.A., Sabale V.P., 2025, Chemical Derivatization of Phytoconstituents to Enhance Therapeutic Potential, *Bharati Vidyapeeth Medical Journal*, 5(1), pp. 7-14.
124. Ilkar Erdagi S., Uyanik C., 2020, Biological evaluation of bioavailable amphiphilic polymeric conjugate based-on natural products: Diosgenin and curcumin, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 69(2), pp. 73-84.
125. Iobbi V., et al., 2023, Metabolite profiling of "Eretto Liguria", an Italian local ecotype of *Salvia rosmarinus*, and antimicrobial activity against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Planta Medica*, 89(14), pp. 1409-1409.
126. Paquin A., Reyes-Moreno C., Bérubé G., 2021, Recent advances in the use of the dimerization strategy as a means to increase the biological potential of natural or synthetic molecules, *Molecules*, 26(8), pp. 2340.
127. Tatarczak-Michalewska M., Flieger J., 2022, Application of high-performance liquid chromatography with diode array detection to simultaneous analysis of reference antioxidants and 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) in free radical scavenging test, *International journal of environmental research and public health*, 19(14), pp. 8288.
128. Vu D.H., et al., 2025, Design, synthesis, anti-inflammatory evaluation, and molecular docking studies of novel quinazoline-4 (3 H)-one-2-carbothioamide derivatives, *RSC advances*, 15(4), pp. 2850-2861.
129. Chelliah R., Oh D.-H., 2022, Screening for anticancer activity: 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium (MTT) assay, *Methods in Actinobacteriology*, Springer, pp. 423-425.
130. Pham T.T.T., et al., 2020, Synthesis and transformation of novel dibenzothipodand derivatives, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 36(4).
131. Tintori S.C., Sloat S.A., Rockman M.V., 2022, Rapid isolation of wild nematodes by Baermann funnel, *Journal of visualized experiments: JoVE*, (179), e63287, pp. 1-10.
132. de Villalobos L.C., Camino N.B., 1997, *Limnomermis subtropicalis* n. sp.(Nematoda: Mermithidae) a parasite of larvae of *Simulium orbitale* Lutz (Diptera: Simuliidae) in Argentina, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(3), pp. 339-341.

133. Nguyen H.T., et al., 2022, Remarks on phylogeny and molecular variations of criconematid species (Nematoda: Criconematidae) with case studies from Vietnam, *Scientific Reports*, 12(1), pp. 14832.
134. Trinh Q.P., et al., 2022, Integrative taxonomy of the aggressive pest *Meloidogyne enterolobii* and molecular phylogeny of *Meloidogyne* spp. based on five gene regions, *Australasian Plant Pathology*, 51(3), pp. 345-358.
135. Trinh Q.P., et al., 2024, Morphological and molecular characterizations of *Neodolichodorus bachlongviensis* sp. n. (Nematoda: Dolichodoridae), a new plant-parasitic nematode species from Bach Long Vy island in Vietnam, *Australasian Plant Pathology*, 53(2), pp. 141-150.
136. Pham T.H.N., Tran T.M.L., 2025, Bioavailability and Bioaccumulation of Heavy Metals in Soil-crop System (*Brassica rapa* var. *parachinensis* and *Brassica rapa* subsp. *chinensis*) and Health Risk Assessment, *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, 42(1), pp. 1-11.
137. Nguyen N.T.N., et al., 2017, Use of local inoculants to produce organic fertilizer from the brewing industry, *Journal of Science and Technology Development*, 20(K3), pp. 25-30.
138. Vượng T.T.T., et al., 2022, Định lượng đồng thời 1-[(2-chlorophenyl) methyl]imino methyl] cyclopentanol hydroclorid và 2-Hydroxy-2-(o-chloro phenyl) cyclohexanon, hai tiền chất của ketamin, trong nước thải bằng LC-MS/MS, *Vietnam Journal of Food Control*, 5(2), tr. 451.
139. Thành Đ.N., 2023, Xác định hàm lượng rutin trong một số cao dược liệu hoa hòe được sử dụng làm nguyên liệu trong các chế phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp HPLC-UV, *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm*, 2(3), tr. 51-55.
140. To D.C., et al., 2025, Inflammation and diabetic inhibitors from *Amanita abrupta* and *Amanita pantherina*: experimental and computational results, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, pp. 130438.
141. Van N.T.H., et al., 2025, Chemical Composition and Pesticidal Activities Against Three Vector Mosquito Species of *Zanthoxylum armatum* DC. Essential Oils, *Chemistry & Biodiversity*, pp. e202500648.
142. Nguyen A.H., et al., 2025, Searching for potential xanthine oxidase inhibitors from Vietnamese herb plants via computational studies, *Computational Biology and Chemistry*, pp. 108763.
143. Araya-Sibaja A.M., et al., 2024, Characterization, antioxidant and cytotoxic evaluation of demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin from *Curcuma longa* cultivated in costa rica, *Separations*, 11(1), pp. 23.

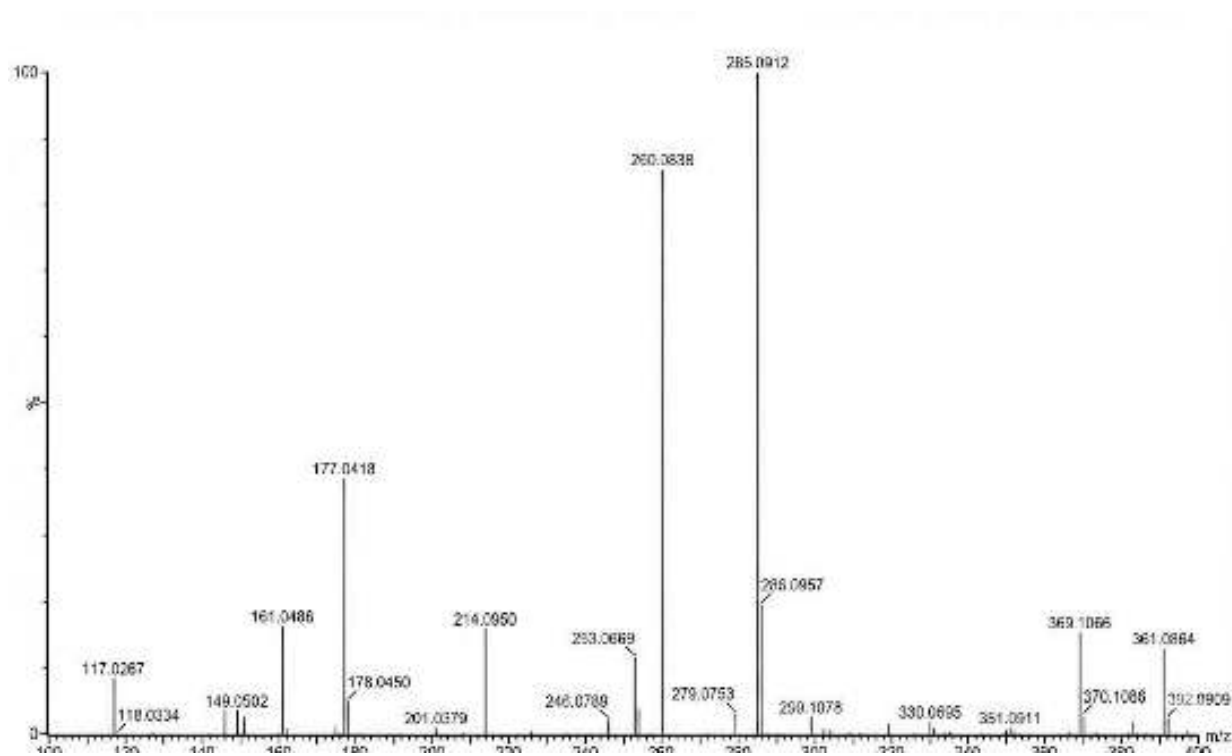
144. Mishra S., Patel S., Halpani C.G., 2019, Recent updates in curcumin pyrazole and isoxazole derivatives: synthesis and biological application, *Chemistry & biodiversity*, 16(2), pp. e1800366.
145. Swathi V., et al., 2026, Therapeutic Potential of Curcumin and Dimethyl Chalcone in Chronic Constriction Injury-Induced Neuropathic Pain: Behavioural and Histological Insights, *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, pp. 100839.
146. Ahmed M., et al., 2018, Screening of curcumin-derived isoxazole, pyrazoles, and pyrimidines for their anti-inflammatory, antinociceptive, and cyclooxygenase-2 inhibition, *Chemical Biology & Drug Design*, 91(1), pp. 338-343.
147. Heine H., Zamyatina A., 2022, Therapeutic targeting of TLR4 for inflammation, infection, and cancer: a perspective for disaccharide lipid A mimetics, *Pharmaceuticals*, 16(1), pp. 23.

PHỤ LỤC

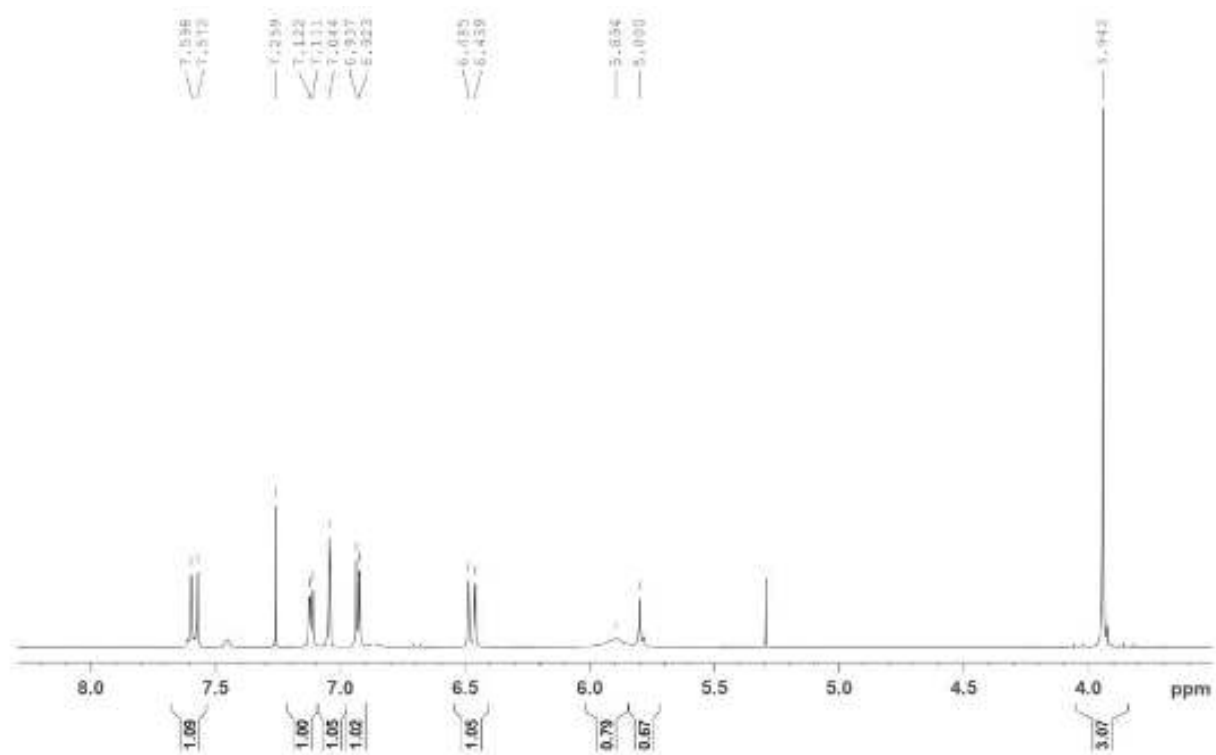
<i>Phụ lục 1. Các phổ của curcumin (CUR).....</i>	<i>PL1</i>
<i>Phụ lục 2. Các phổ của demethoxycurcumin (DMC).....</i>	<i>PL4</i>
<i>Phụ lục 3. Các phổ của bisdemethoxycurcumin (BDMC).....</i>	<i>PL5</i>
<i>Phụ lục 4. Các phổ của curcumin-zerumbone.....</i>	<i>PL7</i>
<i>Phụ lục 5. Các phổ của di-propargyl curcumin.....</i>	<i>PL9</i>

PHỤ LỤC

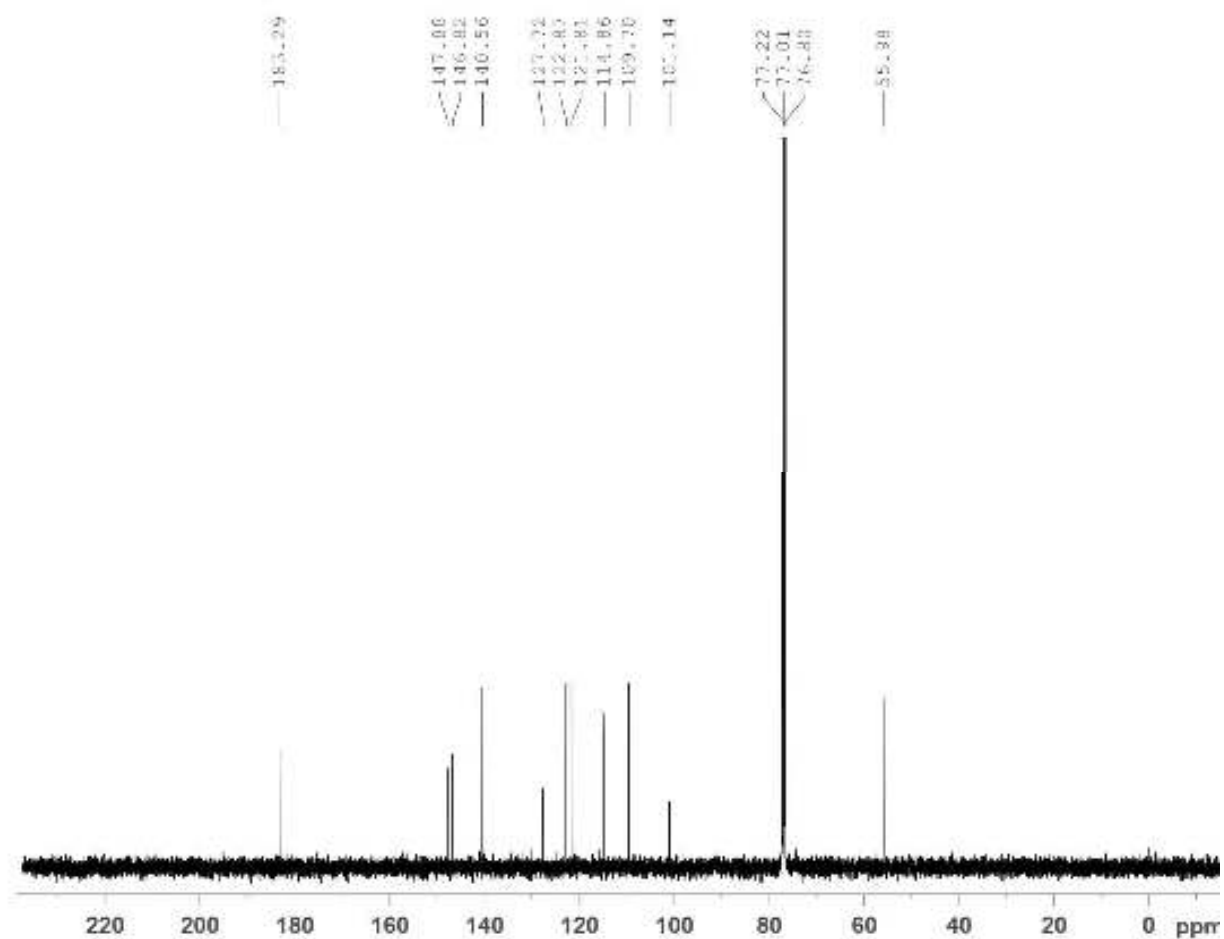
Phụ lục 1. Các phổ của curcumin (CUR)



Phổ LC-MS/MS của CUR

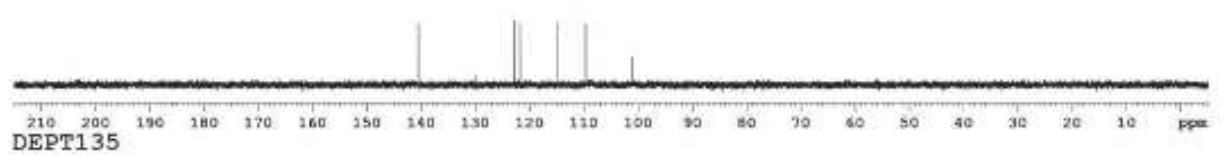


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CUR



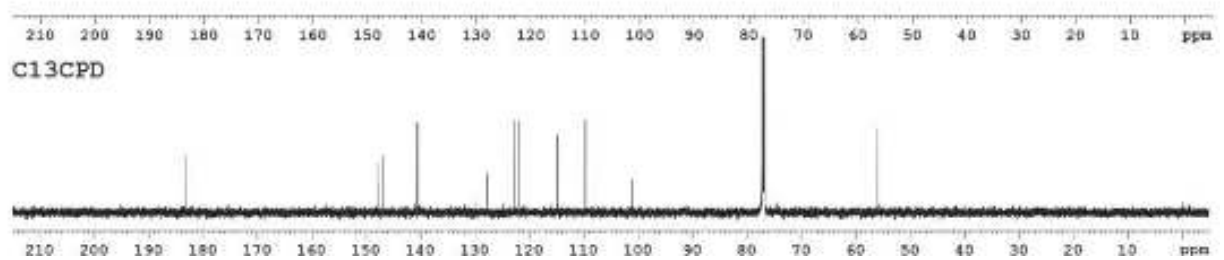
Phổ ^{13}C -NMR của CUR

DEPT90

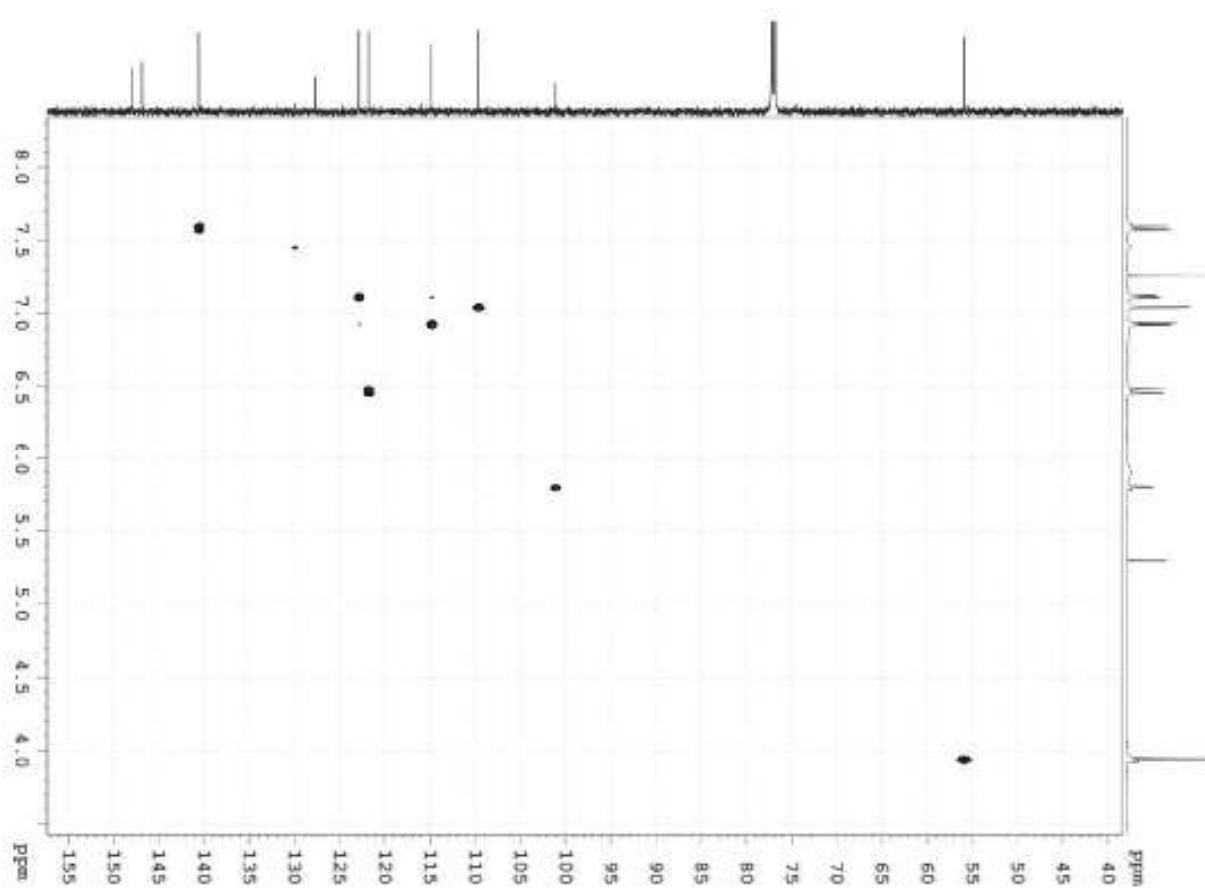


CH&CH3

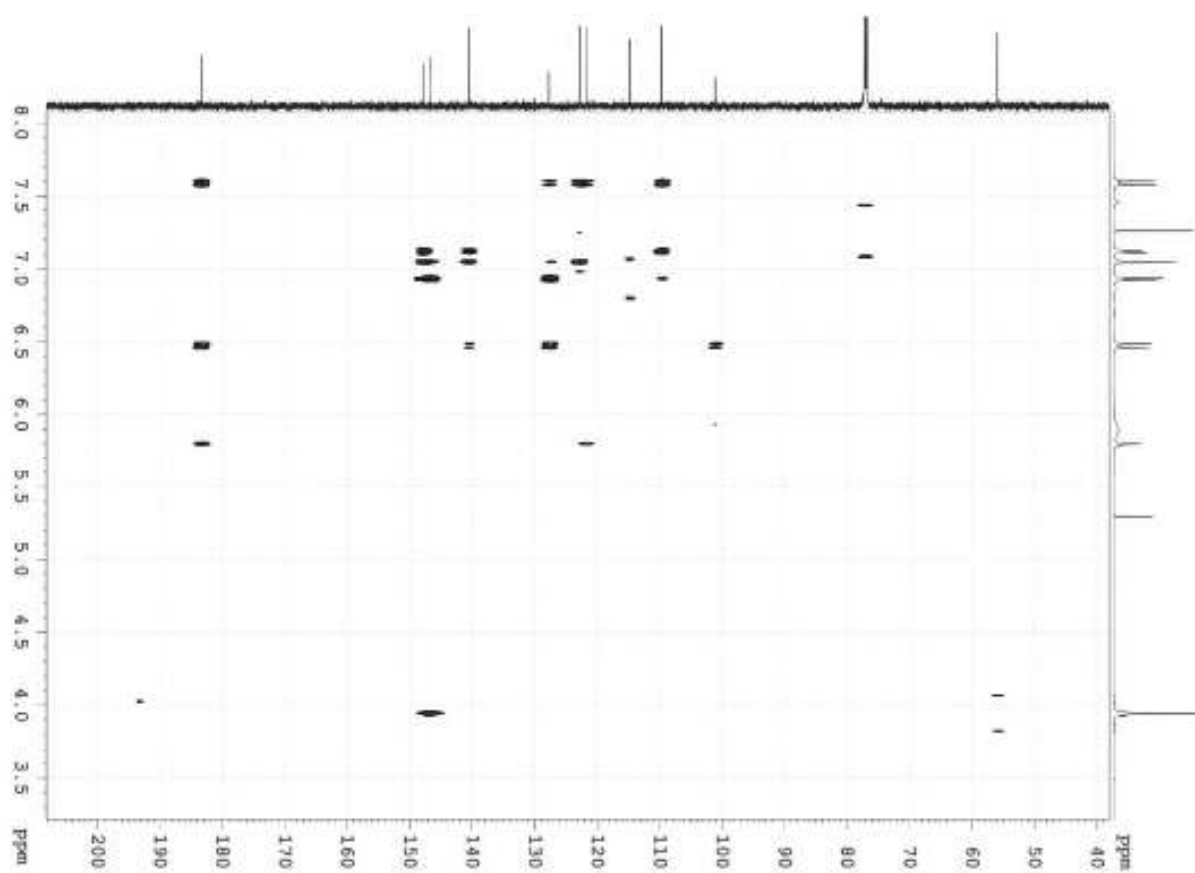
CH2



Phổ DEPT của CUR

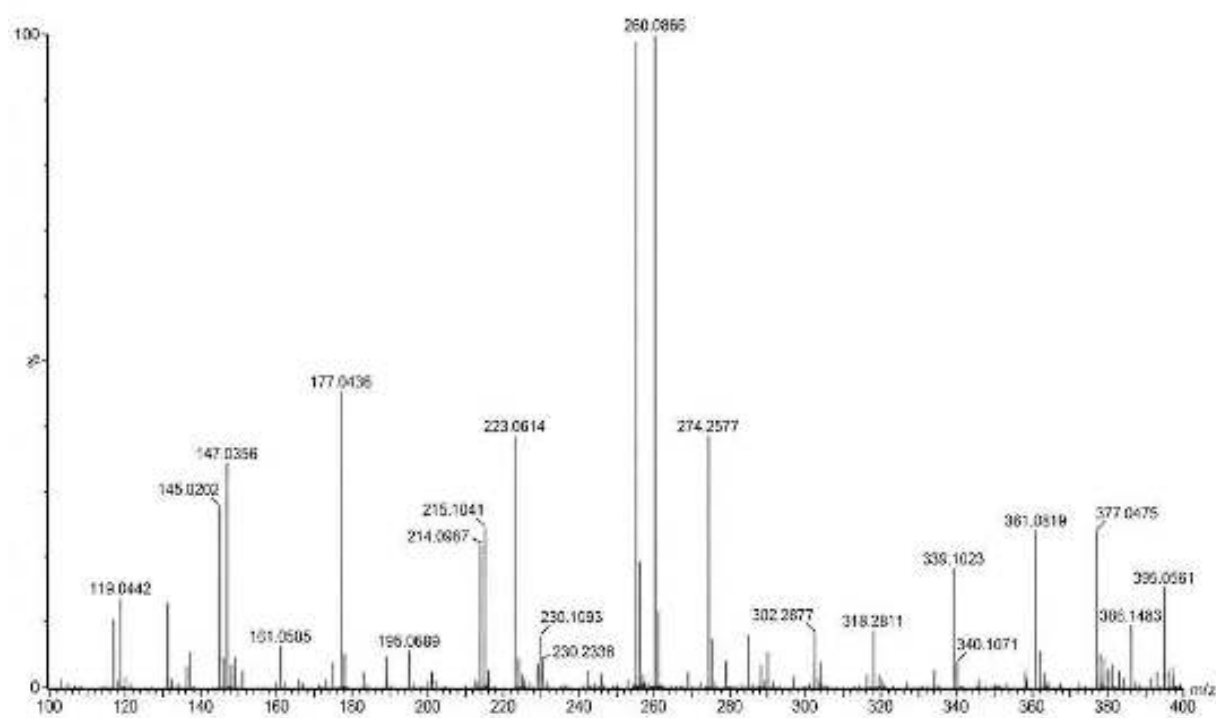


Phổ HSQC của **CUR**

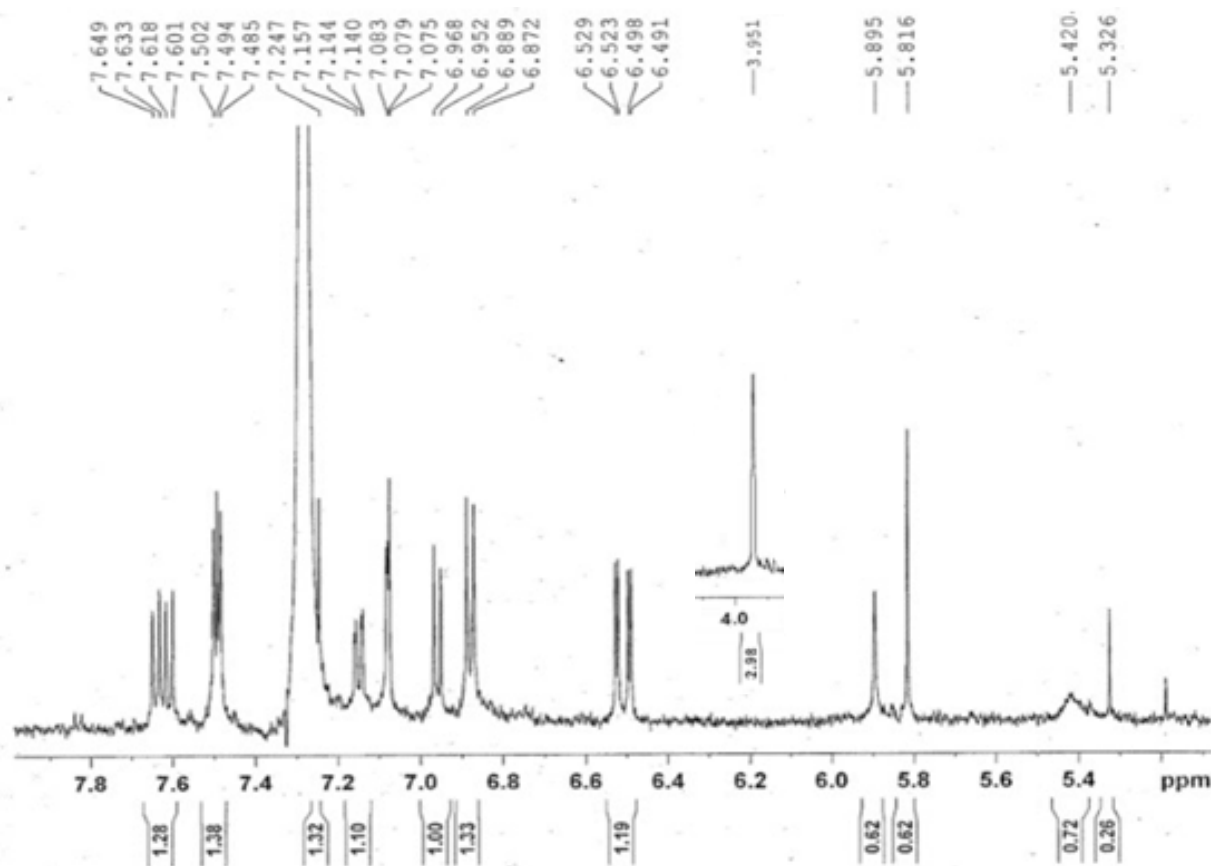


Phổ HMBC của **CUR**

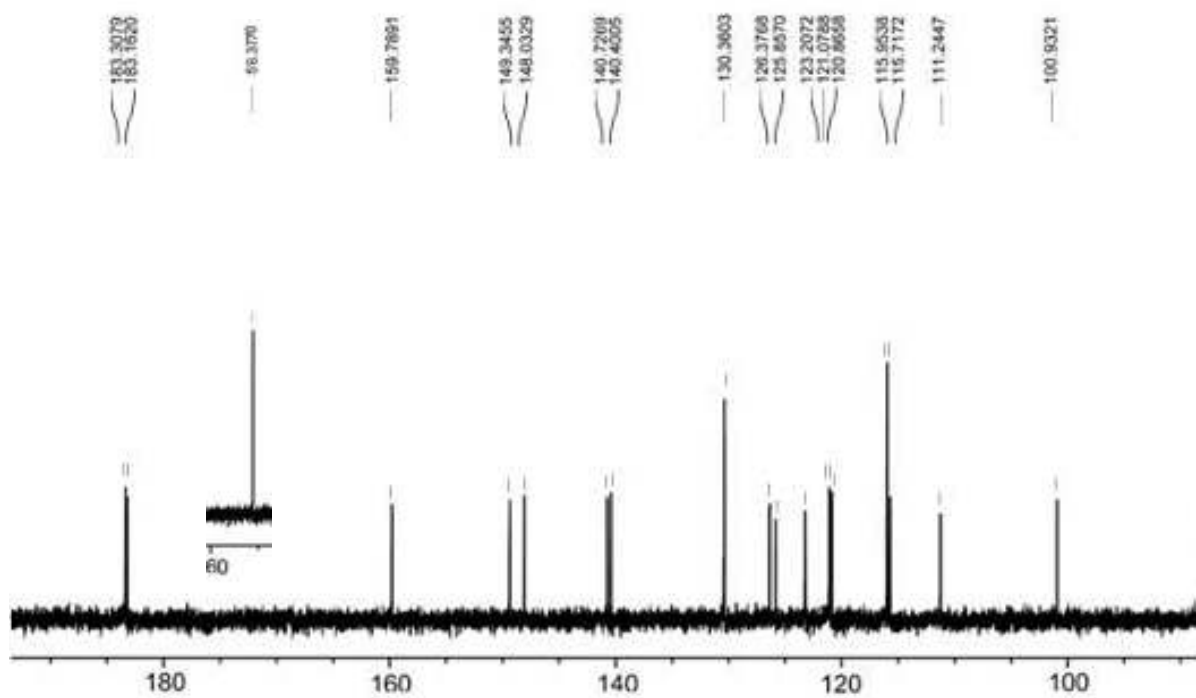
Phụ lục 2. Các phổ của demethoxycurcumin (DMC)



Phổ LC-MS của DMC

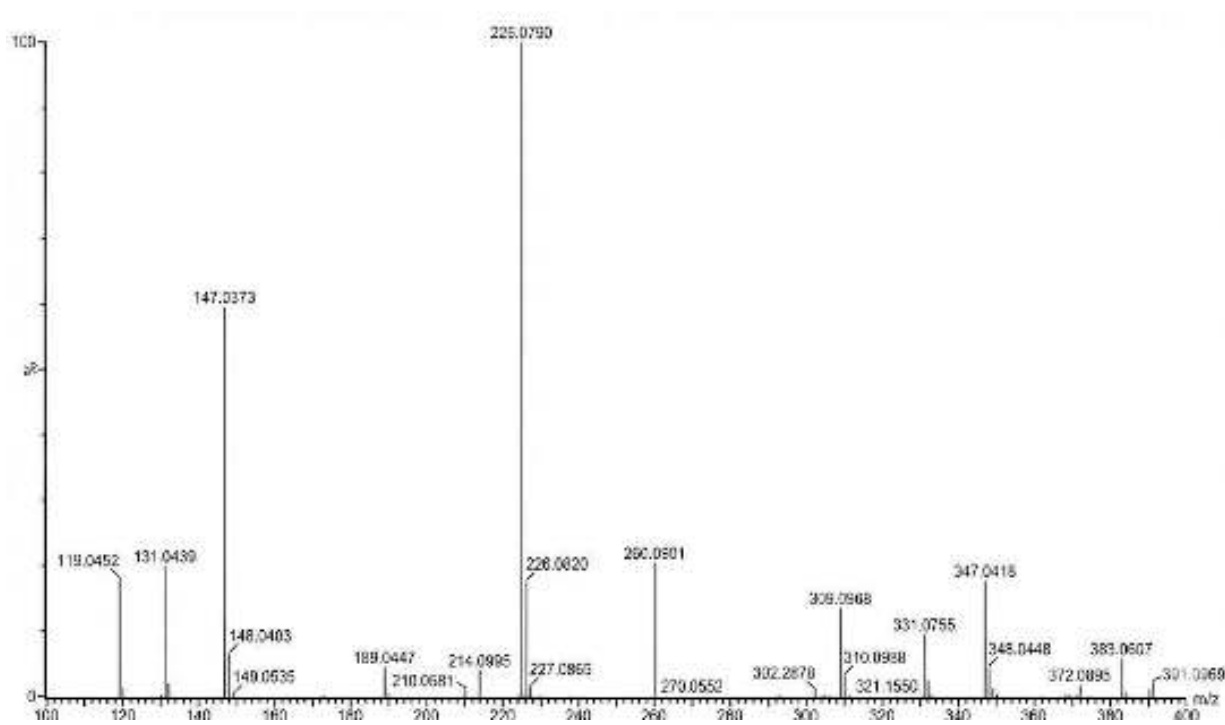


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của DMC

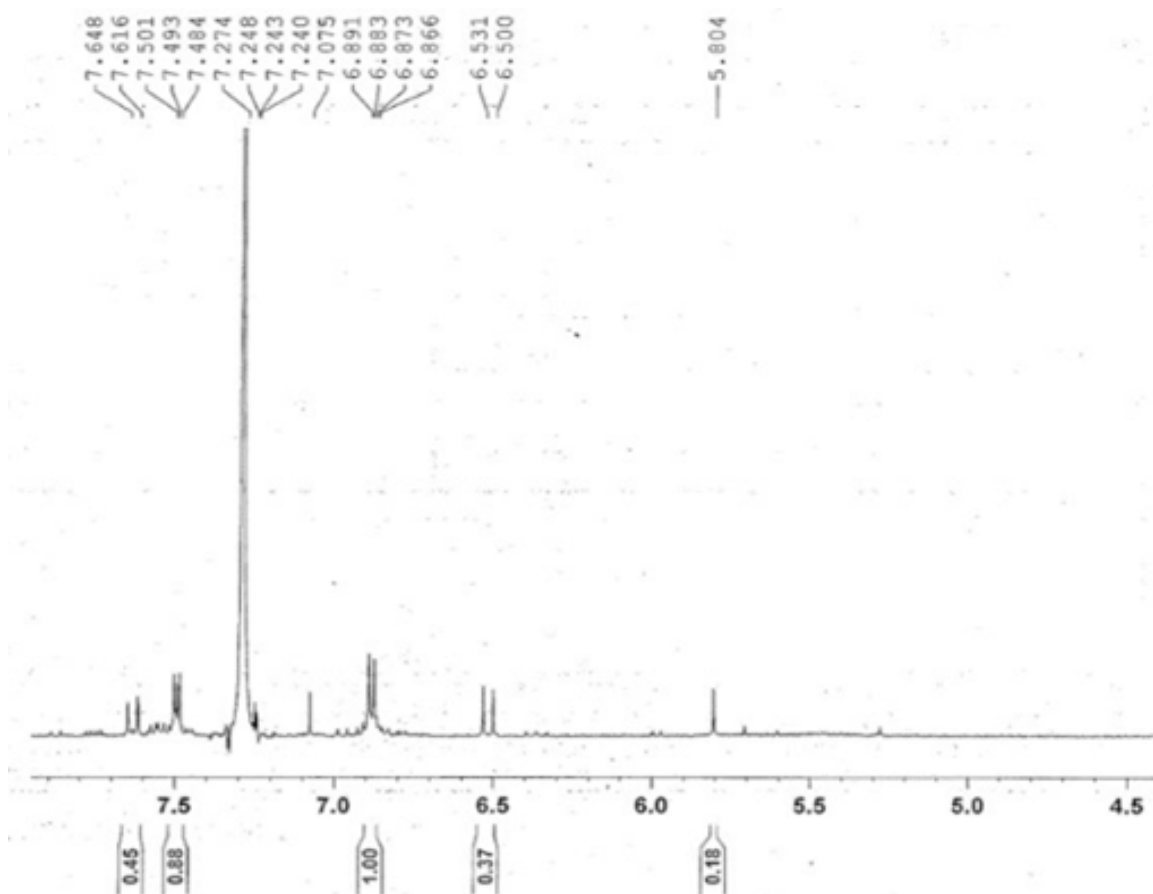


Phổ ^{13}C -NMR của **DMC**

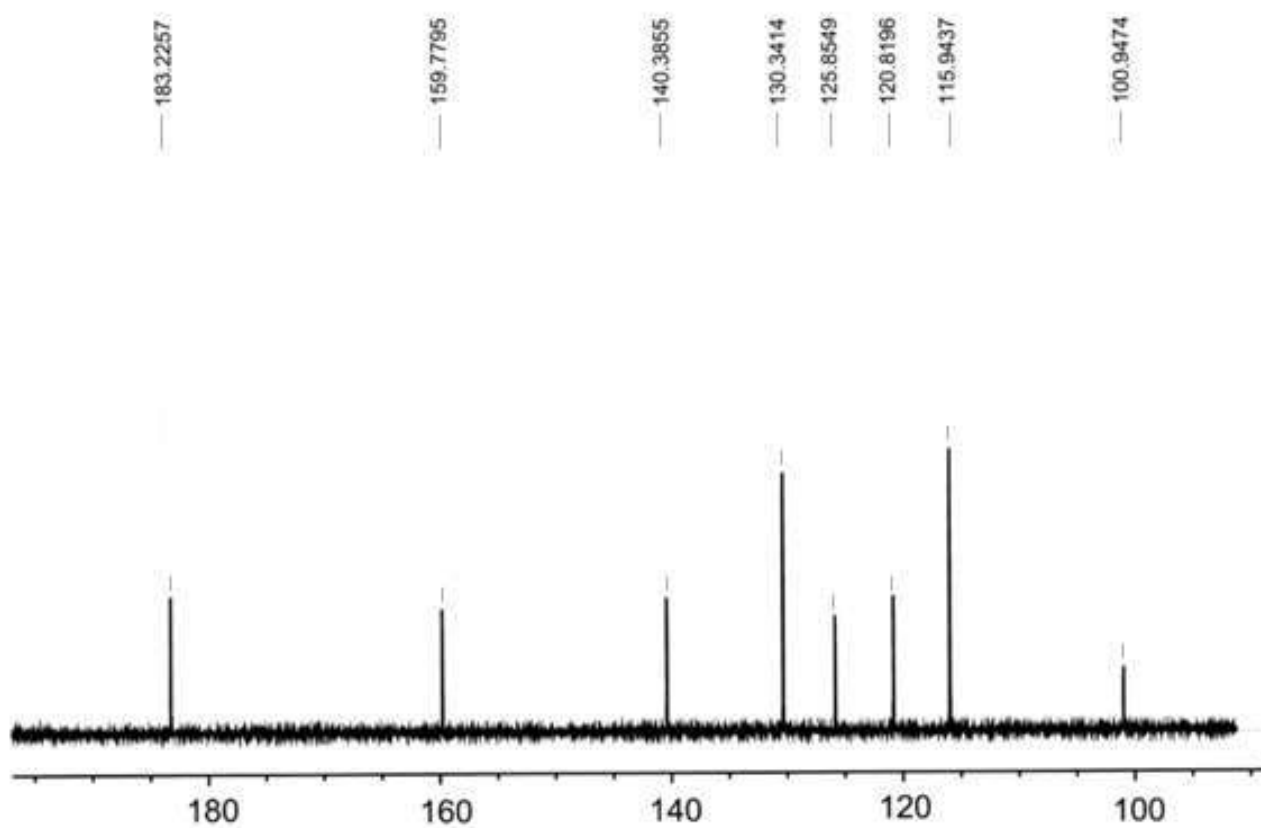
*Phụ lục 3. Các phổ của bisdemethoxycurcumin (**BDMC**)*



Phổ LC-MS của **BDMC**

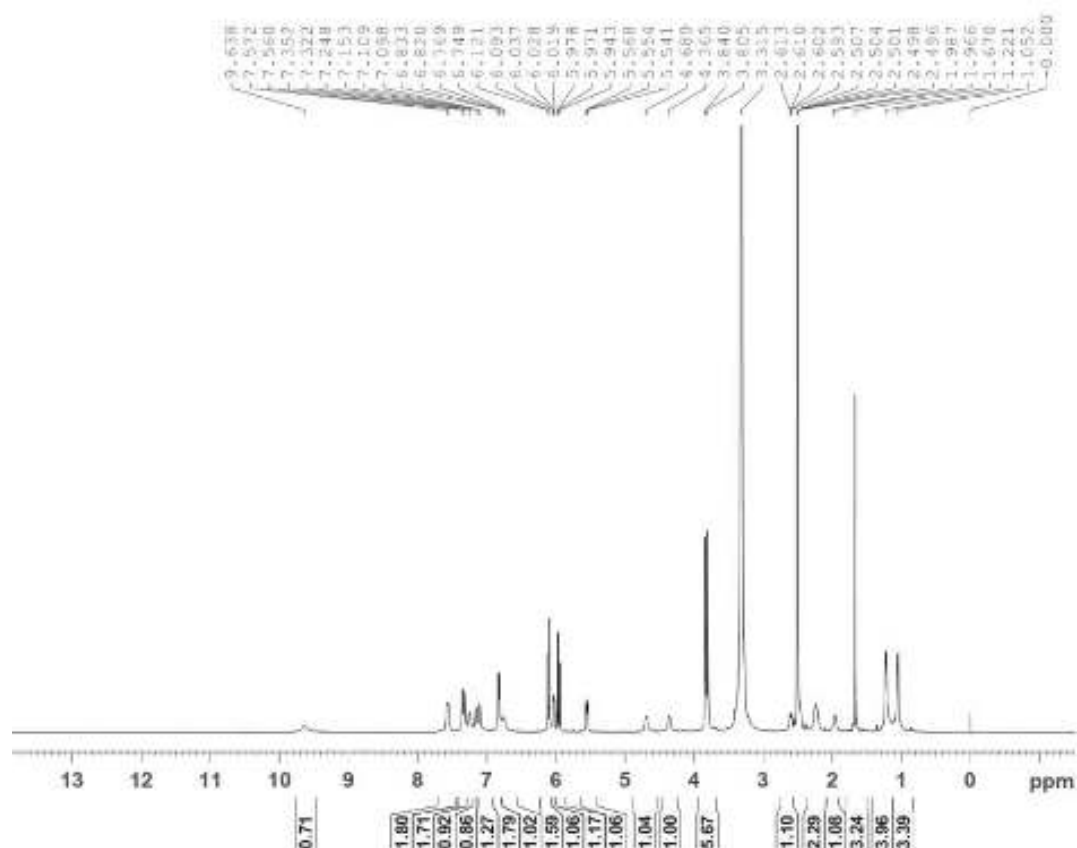


Phổ ¹H-NMR của **BDMC**

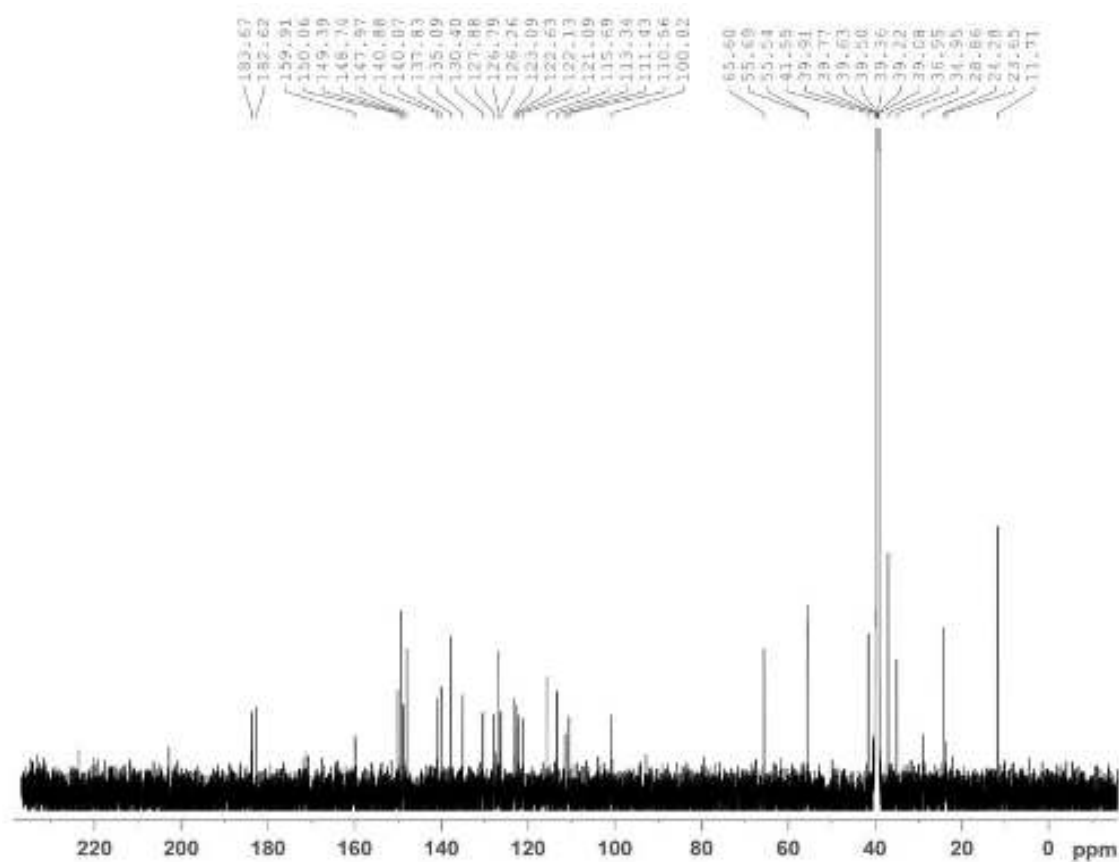


Phổ ¹³C-NMR của **BDMC**

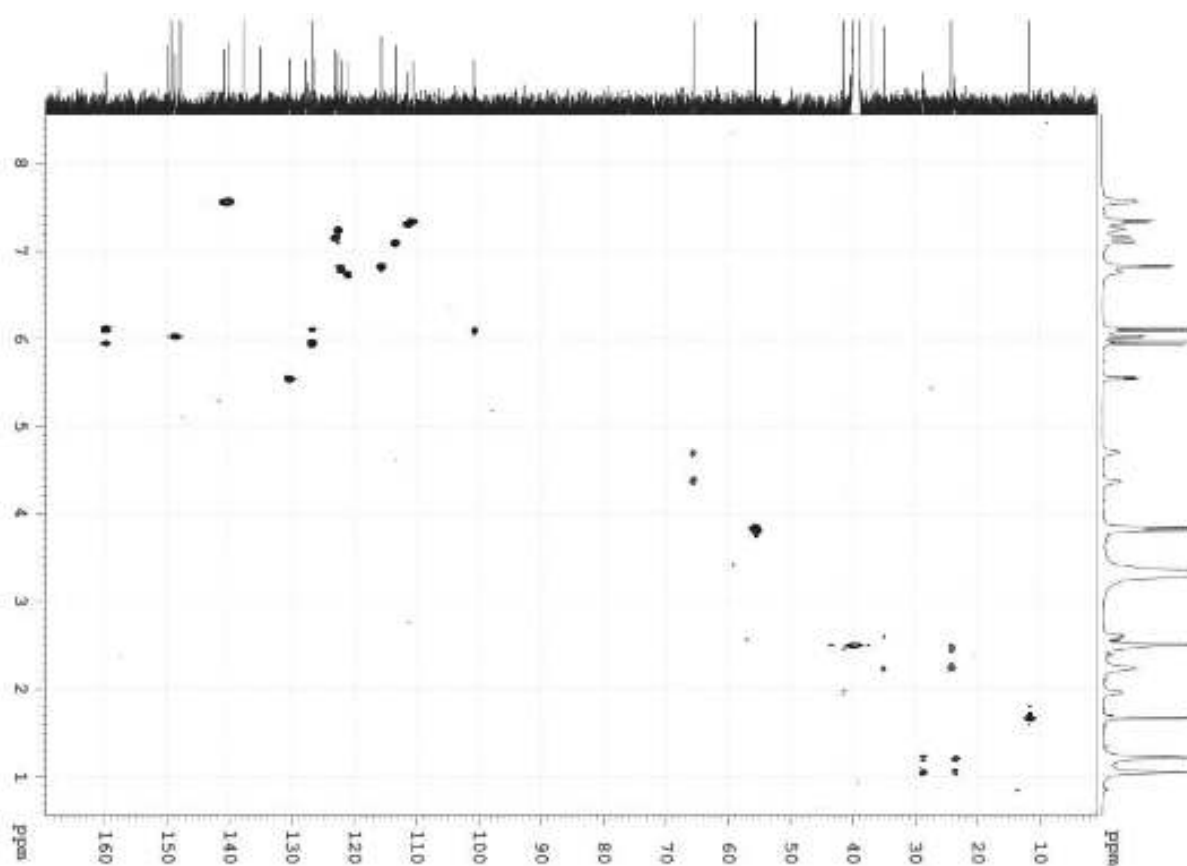
Phụ lục 4. Các phổ của curcumin-zerumbone



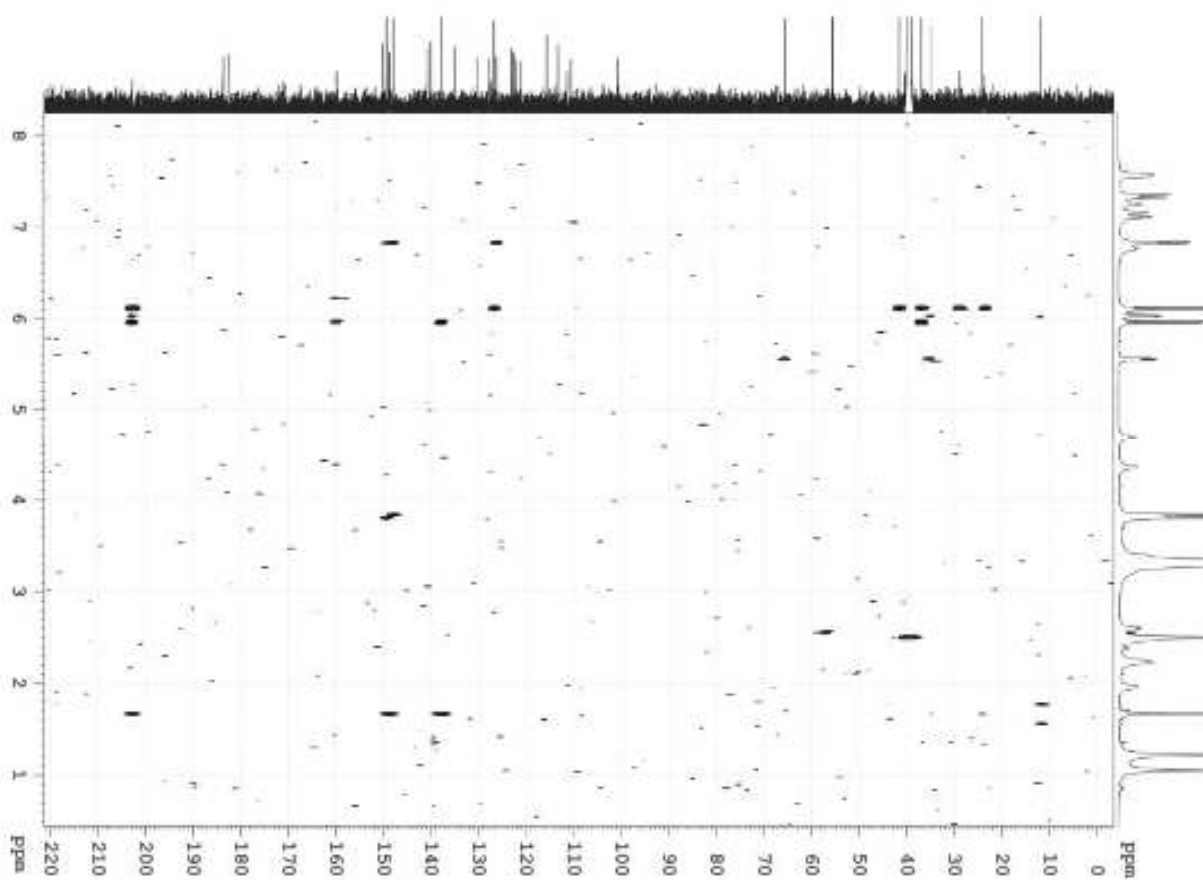
Phổ ^1H -NMR của curcumin-zerumbone



Phổ ^{13}C -NMR của curcumin-zerumbone

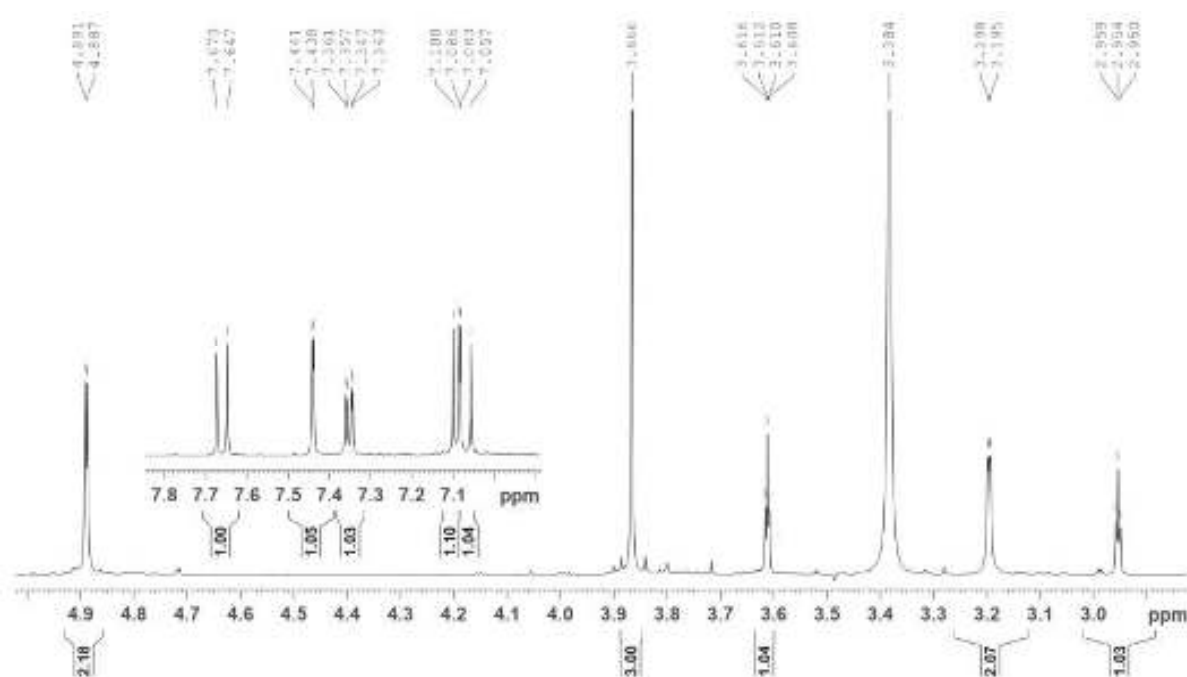


Phổ HSQC của curcumin-zerumbone

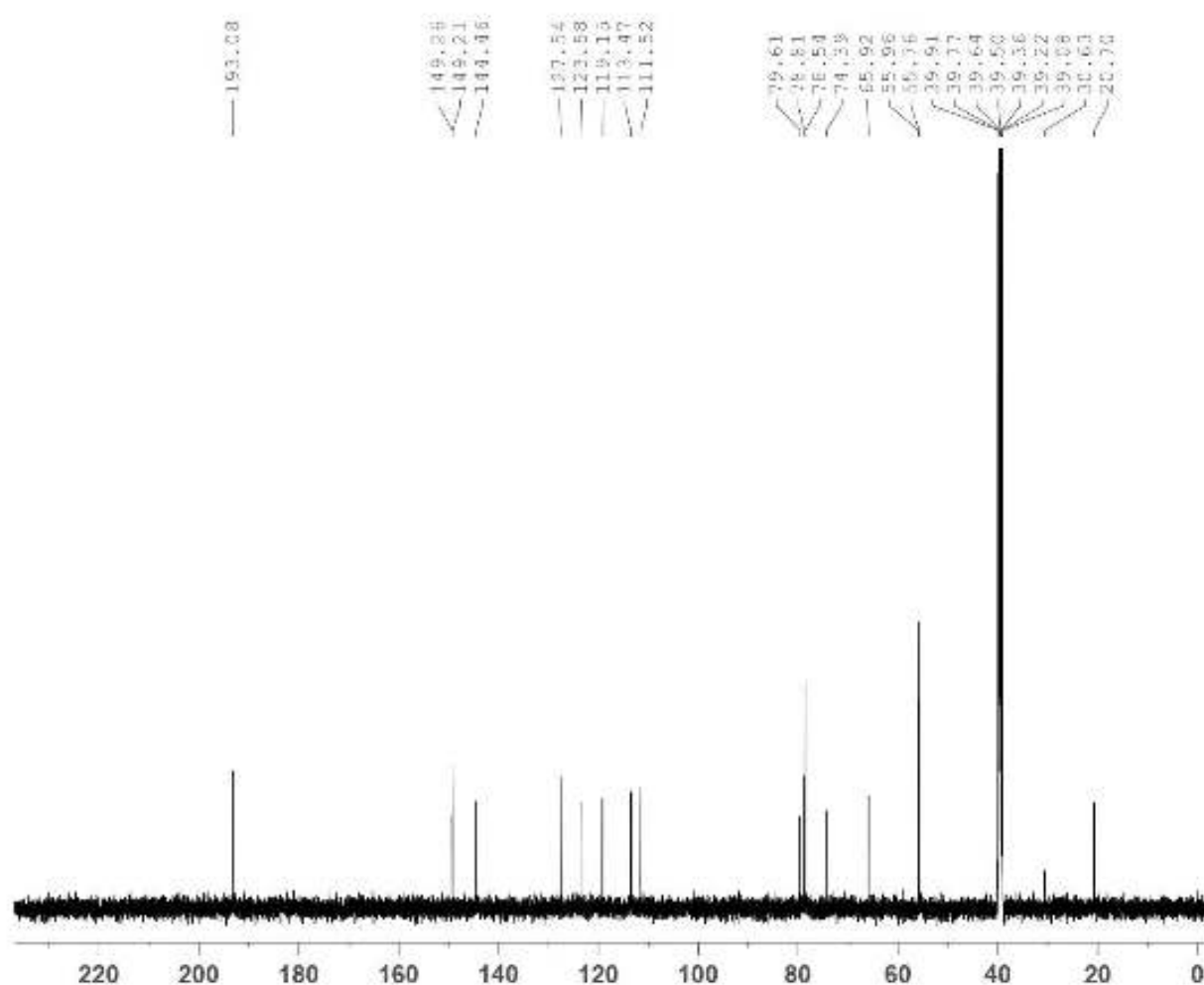


Phổ HMBC của curcumin-zerumbone

Phụ lục 5. Các phổ của di-propargyl curcumin

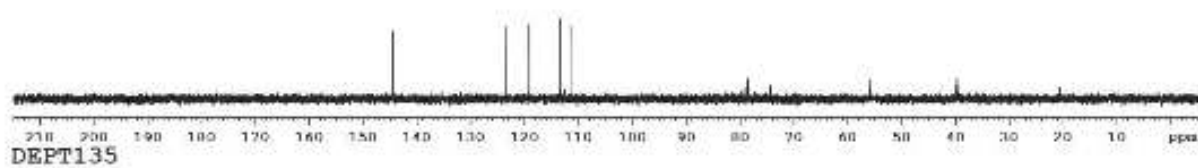


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của di-propargyl curcumin



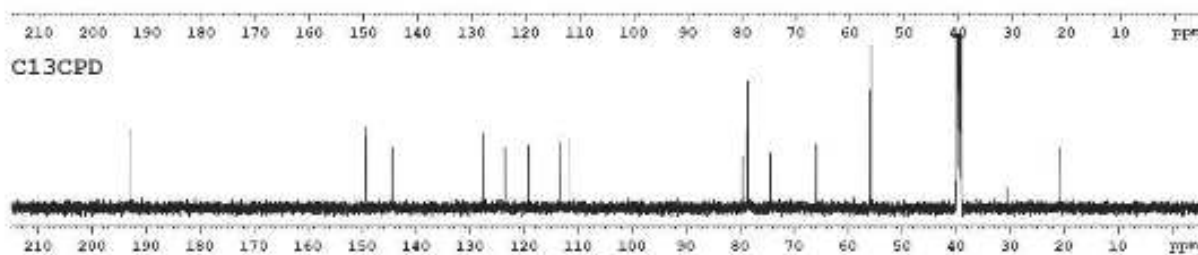
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của di-propargyl curcumin

DEPT90

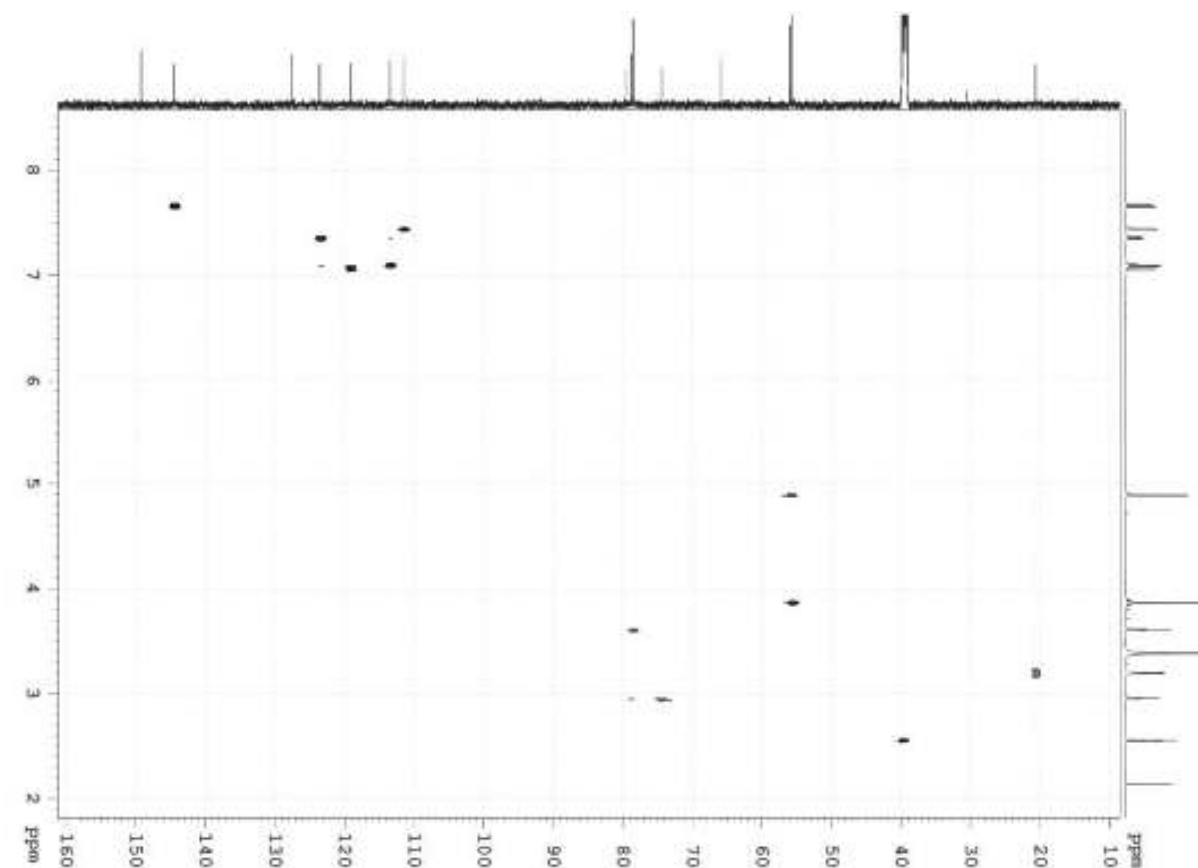


CH₂CH₃

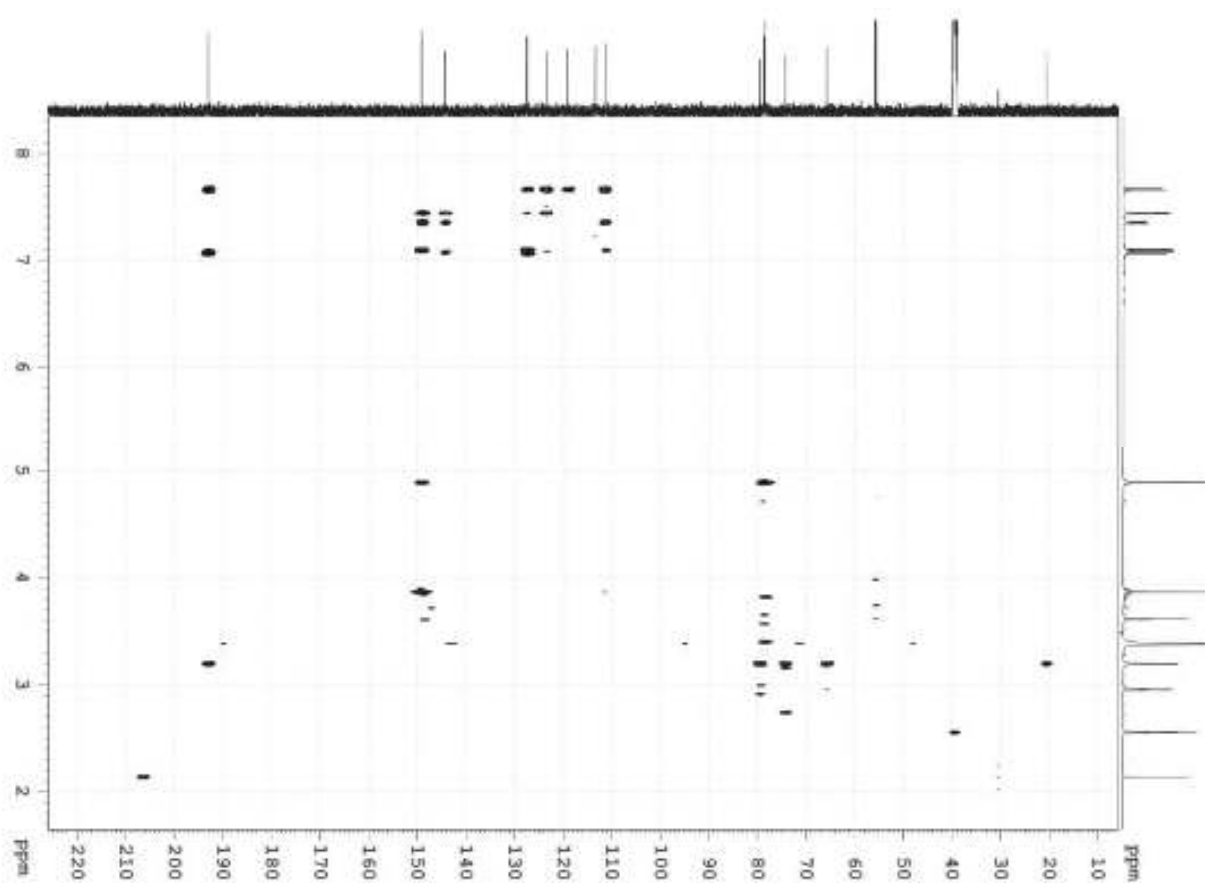
CH₂



Phổ DEPT của di-propargyl curcumin



Phổ HSQC của di-propargyl curcumin



Phổ HMBC của di-propargyl curcumin

Số 340 - QĐ/HVKHCN

Hà Nội, ngày 27 tháng 5 năm 2026

QUYẾT ĐỊNH
thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

-
- Căn cứ Quyết định số 175-QĐ/VHLKHCNVN ngày 28/04/2026 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;
 - Căn cứ Thông tư số 18/2021/TT-BGDĐT ngày 28/6/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế tuyển sinh và đào tạo trình độ tiến sĩ;
 - Căn cứ Quyết định số 1968/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế tuyển sinh và đào tạo trình độ tiến sĩ;
 - Căn cứ Quyết định số 937/QĐ-HVKHCN ngày 25/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh trúng tuyển đợt 1 năm 2022, Chương trình chất lượng quốc tế;
 - Căn cứ Quyết định số 191-QĐ/HVKHCN ngày 08/5/2026 của Giám đốc Học viện về việc gia hạn thời gian học tập lần 1: 03 tháng từ 25/5/2026-25/8/2026 cho NCS. Đinh Thị Tú;
 - Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

GIÁM ĐỐC HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
QUYẾT ĐỊNH

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đinh Thị Tú với đề tài:

Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực kể từ ngày ký đến trước ngày 25/8/2026. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận:

- Như Điều 3,
- Lưu hồ sơ NCS,
- Lưu VT,ĐT,TN.12.



PGS.TS. Hoàng Anh Sơn



DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

(Kèm theo Quyết định số 340 - QĐ/HVKHCN ngày 27/5/2026
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Về đề tài: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên Mã số: 9 44 01 17

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Phạm Minh Quân - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Ngô Kim Chi - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Thái Hoàng	Hóa hữu cơ	Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân	Hóa học các HCTN	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3	PGS.TS. Phạm Thị Tâm	Vi sinh vật	Trường Đại học Mở Hà Nội	Phản biện 2
4	TS. Trịnh Thị Thu Hương	Hóa học các HCTN	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5	PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Tú	Công nghệ thực phẩm	Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Ủy viên
6	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
7	PGS.TS. Trần Thu Hương	Hóa hữu cơ	Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Ủy viên

(Hội đồng gồm 07 thành viên)./.

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét luận án: GS. TS. Thái Hoàng

Học hàm, học vị: Giáo sư, Tiến sĩ

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện Khoa học vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Tên nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Thầy hướng dẫn:

1. PGS. TS. Phạm Minh Quân

2. PGS. TS. Ngô Kim Chi

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên Mã số: 9.44.01.17

Nội dung nhận xét

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài

Hiện nay, nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) đang được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu khoa học và trong đời sống. Hệ phức hợp curcuminoid trong thân rễ nghệ, bao gồm curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC) có hoạt tính sinh học đa dạng như chống oxy hóa, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư, kháng vi sinh vật... Tuy nhiên, hiệu quả của CUR, DMC, BDMC riêng lẻ trên các đích phân tử cụ thể chưa được làm rõ. Nghiên cứu tổng hợp dẫn xuất lai, kết hợp giữa curcumin với các khung hoạt chất khác (zerumbone, propargyl) nhằm nâng cao dược tính, sinh khả dụng, cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử cần được làm sáng tỏ bằng các công cụ tính toán hiện đại và ảnh hưởng của tuyến trùng ký sinh đến chất lượng dược liệu còn hạn chế; chưa được đánh giá đầy đủ, ít được công bố. Vì vậy, tiến hành đề tài luận án với cách tiếp cận đa ngành có sử dụng mô phỏng *in silico* và sinh học tuyến trùng để đánh giá toàn diện giá trị dược liệu của cây nghệ Việt Nam của NCS Đinh Thị Tú là rất cần thiết, có tính thời sự, có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

2. Sự trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước, tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Các nội dung, kết quả nghiên cứu, công bố từ đề tài luận án này không trùng lặp với các nghiên cứu công bố trong các công trình, luận văn, luận án ở trong nước. NCS đã sử dụng 146 tài liệu tham khảo (TLTK); đã trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ các TLTK để viết tổng quan và luận án.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Tên đề tài phù hợp với nội dung của luận án, nội dung của luận án phù hợp với chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên, mã số: 9.44.01.17.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Trong quá trình tiến hành đề tài, NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu phù hợp, chuyên sâu trên các thiết bị hiện đại, tiên tiến để xác định cấu trúc như các loại phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HR-MS; xác định hoạt tính sinh học *in vitro* với 4 nhóm thử nghiệm được triển khai: Chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH; Kháng viêm qua ức chế NO trên RAW 264.7 kích thích bằng LPS; gây độc tế bào trên 5 dòng ung thư (Hep-G2, HeLa, MCF-7, A549, HGC-27) bằng phương pháp MTT (đối chứng: Paclitaxel); kháng vi sinh vật bằng phương pháp vi pha loãng xác định MIC. Nghiên cứu *in silico*: xác định hoạt tính quét gốc $\text{HOO}^\bullet$ bằng DFT trong 2 môi trường nước và lipid (PEA), đề xuất cơ chế kháng viêm căn cứ vào docking phân tử (AutoDock 4.2.6, LGA) và mô phỏng động lực học phân tử (GROMACS, Amber99SB-iLDN/GAFF) với phức hợp TLR4/MD-2 (PDB: 2Z64, 3VQ2)... Khảo sát tuyển trùng: phân lập bằng phương pháp khay Baermann cải tiến, định danh dựa trên hình thái (sử dụng kính hiển vi quang học) kết hợp sinh học phân tử (giải trình tự vùng D2-D3/28S rDNA, ITS và COI mtDNA; phân tích phát sinh loài bằng MrBayes). Ảnh hưởng của nhiễm tuyển trùng lên hàm lượng curcuminoid định lượng bằng HPLC.

Do đó, các số liệu thu được có độ tin cậy cao, góp phần đánh giá, giải thích các kết quả thu được một cách hợp lý và có cơ sở khoa học.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới cho phục vụ sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó

- Lần đầu tiên, mô tả loài tuyển trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ nghệ vàng tại Kon Tum, dựa trên bằng chứng hình thái và phân tử (ITS, 28S rDNA, COI mtDNA). Xác lập mối tương quan nghịch giữa mật độ tuyển trùng và hàm lượng bisdemethoxycurcumin trong thân rễ: mẫu có mật độ nhiễm thấp cho hàm lượng bisdemethoxycurcumin tăng 3,5 lần so với mẫu nhiễm mật độ tuyển trùng cao nhất và hoạt tính chống oxy hóa được cải thiện (SC_{50} giảm từ 43,62 xuống 13,85 $\mu\text{g/ml}$).

- Đã bán tổng hợp thành công và đánh giá hoạt tính sinh học của các dẫn xuất mới biến đổi tại nhóm hydroxyl phenol, bao gồm dẫn xuất *O,O*-di-propargyl curcumin và các dẫn xuất lai hóa ghép gốc zerumbone (curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone).

- Trong hệ curcuminoid gốc, BDMC (không chứa nhóm methoxy) thể hiện hoạt tính kháng viêm vượt trội hơn CUR ($\text{IC}_{50} = 91,22$ so với 121,06 $\mu\text{g/ml}$). Dẫn xuất lai hóa

curcumin-monozerumbone (4) cho hoạt tính cải thiện toàn diện so với curcumin: kháng viêm tăng 3,8 lần ($IC_{50} = 32,15 \mu\text{g/ml}$), gây độc tế bào ung thư gan Hep-G2 tăng 2,5 lần ($IC_{50} = 25,35 \mu\text{g/ml}$) và mở rộng phổ kháng vi sinh vật lên 6/8 chủng thử nghiệm (CUR chỉ đạt 2/8). Lai hóa curcumin-zerumbone thể một lần (mono) giúp tăng đồng thời tính thân dầu (ClogP từ 3,72 lên 6,51) và hoạt tính sinh học.

- Sử dụng phương pháp hóa học tính toán *in silico* để làm sáng tỏ cơ sở phân tử cho xác định các hoạt tính sinh học của BDMC. Về hoạt tính chống oxy hóa, tính toán DFT chỉ ra cơ chế chuyển điện tử (SET/PCET) đóng vai trò chủ đạo trong môi trường nước. Về hoạt tính kháng viêm, kết quả mô phỏng docking phân tử và mô phỏng động lực học phân tử chứng minh sự vắng mặt của nhóm methoxy ở BDMC giúp tối ưu hóa tương tác không gian, tạo ra mạng lưới liên kết tĩnh điện và kỵ nước bền vững với phức hệ thụ thể TLR4/MD-2. Năng lượng liên kết của BDMC đạt -9,73 kcal/mol, có xu hướng bền vững hơn so với curcumin (-9,29 kcal/mol).

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- Ưu điểm của luận án: NCS đã thực hiện khối lượng thực nghiệm lớn. Hầu hết các kết quả được giải thích hợp lý, có cơ sở khoa học. Bản luận án có kết cấu phù hợp, trình bày rõ ràng với nhiều trang in màu đẹp, ít lỗi.

- Thiếu sót của luận án, những điểm cần bổ sung và sửa chữa: cần bổ sung mục tiêu của luận án. Trong chương 1. Tổng quan, cần đề cập/chỉ ra các hình còn thiếu trong phần trình bày/text ở các tiểu mục tương ứng (các Hình 1.1, 1.4-1.7). Ở chương 3. Kết quả và thảo luận, cần so sánh hoạt tính sinh học của các sản phẩm bán tổng hợp (curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone) do đề tài tổng hợp với các sản phẩm tương tự của các nhóm tác giả ở trong và ngoài nước. Ngoài ra, cần so sánh hoạt tính kháng viêm bởi mô phỏng docking phân tử và động lực học phân tử của BDMC của đề tài với các sản phẩm tương tự của các nhóm tác giả ở trong và ngoài nước. Trong thời gian tới, NCS sẽ tiến hành thử nghiệm *in vivo* sử dụng dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC trên mô hình bệnh mạn tính nào?

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học và giá trị khoa học của các công trình đã công bố

Tác giả đã công bố được 4 bài báo khoa học, trong đó có 2 bài báo đăng trên các tạp chí quốc tế SCIE (*Molecules*, *RSC advances*), 1 bài trên tạp chí Scopus, 1 bài báo đăng trên tạp chí quốc gia uy tín (*Tạp chí Khoa học và Công nghệ-Đại học Đà Nẵng*). Các bài báo và báo cáo khoa học đã phản ánh những nội dung chủ yếu và kết quả mới của luận án, đáp ứng yêu cầu về số lượng, chất lượng của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

8. Kết luận chung

Đây là một công trình nghiên cứu có tính hệ thống, có giá trị khoa học cao, có triển vọng ứng dụng thực tế tốt.

- Bản luận án đã đáp ứng được đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức của một luận án Tiến sỹ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên.
- Bản tóm tắt luận án đã phản ánh đúng các nội dung chủ yếu và kết quả mới của luận án.
- Vì vậy, tôi đề nghị Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện cho phép NCS Đinh Thị Tú được tiến hành bảo vệ luận án trước Hội đồng để nhận học vị Tiến sỹ Hóa học.

NCS cần bổ sung, sửa chữa, hoàn chỉnh luận án theo một số góp ý ở mục 6 cũng như góp ý của các thành viên Hội đồng trước khi nộp lưu trữ theo quy định.

Hà Nội, ngày 19/06/2026

Người nhận xét



GS.TS. Thái Hoàng

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét phản biện luận án: Nguyễn Thị Hồng Vân

Học hàm, học vị: PGS. TS.

Cơ quan công tác: Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Người hướng dẫn: 1. PGS.TS. Phạm Minh Quân

2. PGS.TS. Ngô Kim Chi

Tên đề tài luận án: "*Nghiên cứu phân lập, tính chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học in vitro và in silico từ cây Nghệ vàng Curcuma longa L. Việt Nam*".

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9.44.01.17

NỘI DUNG BẢN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Từ lâu, cây Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) đã được sử dụng trong dân gian làm gia vị và thuốc chữa bệnh, rất thân quen với người dân Việt Nam. Hoạt chất chủ yếu được biết đến trong cây Nghệ vàng là các hợp chất curcuminoid, bao gồm ba thành phần chính là curcumin (Cur), demethoxycurcumin (DMC) và bisdemethoxycurcumin (BDMC). Các chế phẩm hiện đại từ cây Nghệ vàng chủ yếu vẫn sử dụng hỗn hợp cả ba hoạt chất này, chưa đi sâu đánh giá về tính sinh khả dụng, độ ổn định, tính đặc hiệu trong cơ chế tác dụng của từng hoạt chất riêng rẽ. Đề tài luận án: "*Nghiên cứu phân lập, tính chế curcumin và các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm tạo chế phẩm bảo vệ sức khỏe từ cây Nghệ vàng Curcuma longa L. Việt Nam*" đã sử dụng kết hợp nhiều phương pháp nghiên cứu hiện đại để đánh giá một cách tổng thể từ việc tách chiết phân lập các dạng curcuminoid riêng biệt (CUR, DMC và BDMC) từ củ nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam; thăm dò bán tổng hợp các dẫn xuất của curcumin (dẫn xuất lai hóa với zerumbone và dẫn xuất di-propargyl) và tìm hiểu hoạt tính sinh học mới của chúng; sàng lọc và làm sáng tỏ cơ chế tác dụng các hoạt tính sinh học chính thông qua mô hình phân tử *in silico* kết hợp thử nghiệm *in vitro* (bao gồm hoạt tính chống oxi hóa thông qua thử nghiệm DPPH và ABTS; hoạt tính kháng viêm và ức chế enzyme NOX (NADPH-oxidase)); đánh giá thành phần hóa học của curcuminoid (CUR, DMC và BDMC) và hoạt tính sinh học của chúng liên quan đến nhiệm vụ tuyển trù trên cây Nghệ vàng. Do đó, đề tài luận án rất có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn, đáp ứng nhu cầu rất lớn của thực tiễn là tìm kiếm các hoạt chất có nguồn gốc thiên nhiên để phát triển thành thuốc.

Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề rõ ràng, khoa học. Mục tiêu nghiên cứu rõ ràng, các nội dung nghiên cứu và các kết quả nghiên cứu phù hợp với mục tiêu nghiên cứu ban đầu.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Mặc dù cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. cũng như các hoạt chất curcuminoid phân lập từ cây này nhận được nhiều sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học trong

nước và trên thế giới, đã có rất nhiều công bố về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của loài cây này, nhưng các kết quả của luận án có những đặc thù riêng, có những đóng góp mới như đã phát hiện và mô tả loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ cây Nghệ vàng có ảnh hưởng đến hàm lượng hoạt chất trong cây, đã thực hiện bán tổng hợp dẫn xuất mới lai hoá giữa curcumin với zerumbone và tổng hợp dẫn xuất dipropargyl curcumin; đồng thời cũng đã làm sáng tỏ cơ chế tác dụng ở mức độ phân tử (*in silico* kết hợp *in vitro*) để giải mã toàn diện cơ chế chống oxy hóa và kháng viêm của các curcuminoid riêng lẻ, làm nổi bật ưu thế đặc tính của BDMC. Như vậy, qua tìm hiểu của người viết nhận xét, đề tài và nội dung của luận án không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố ở trong và ngoài nước.

Luận án đã trích dẫn 146 tài liệu tham khảo khác nhau ở trong nước và ở nước ngoài, cập nhật đến năm 2025. Các thông tin được trích dẫn trung thực và cập nhật.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Nội dung của luận án hoàn toàn phù hợp với tên đề tài và phù hợp với chuyên ngành đào tạo Hoá học các hợp chất thiên nhiên, mã số 9.44.01.17.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án đã sử dụng các phương pháp, kỹ thuật nghiên cứu hóa học và sinh học hiện đại, cập nhật và phù hợp với nội dung nghiên cứu. Các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật chính đã được sử dụng như: các phương pháp chiết thông thường để xử lý và chiết mẫu được liệu; phương pháp sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột để phân lập các hợp chất; các phương pháp bán tổng hợp tạo các dẫn xuất curcumin với zerumbone và với propargyl bromide; các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT), hai chiều (HSQC, HMBC), phổ khối lượng (HR-ESI-MS) để xác định cấu trúc hóa học các hợp chất; phương pháp đánh giá hoạt tính kháng nấm kháng khuẩn, chống oxy hoá, kháng viêm *in vitro* và *in silico*.

Các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu, là các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật hiện đại, tin cậy.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó

Luận án đã thu được nhiều kết quả phong phú, bao gồm cả các kết quả nghiên cứu về thành phần hoá học và các kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học, trong đó có những đóng góp mới có giá trị như sau:

- Đã phát hiện và mô tả loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ cây Nghệ vàng tại Việt Nam, dựa trên bằng chứng hình thái và phân tử (ITS, 28S rDNA, COI mtDNA). Xác lập mối tương quan nghịch giữa mật độ tuyến trùng và hàm lượng hoạt chất bisdemethoxycurcumin trong thân rễ: mẫu có mật độ nhiễm tuyến trùng thấp cho hàm lượng bisdemethoxycurcumin cao hơn gấp 3,5 lần so với mẫu có mật độ nhiễm tuyến trùng cao, đồng thời hoạt tính chống oxy hóa cũng được cải thiện (SC_{50} giảm từ 43,62 xuống 13,85 $\mu\text{g/mL}$).

- Đã bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone, trong đó việc gắn khung terpenoid làm tăng tính thân dầu (ClogP từ 3,72 lên 6,51) và cải thiện hoạt tính sinh học so với curcumin: kháng viêm tăng 3,8 lần ($\text{IC}_{50} = 32,15$ so với 121,06

$\mu\text{g/mL}$); gây độc tế bào ung thư gan Hep-G2 tăng 2,5 lần ($\text{IC}_{50} = 25,35$ so với 62,45 $\mu\text{g/mL}$); phổ kháng vi sinh vật mở rộng từ 2/8 lên 6/8 chủng thử nghiệm.

- Đã kết hợp tính toán lượng tử với mô phỏng lắp ghép phân tử và động lực học phân tử để góp phần làm rõ cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử. Tính toán lượng tử chỉ ra bisdemethoxycurcumin có hằng số tốc độ quét gốc $\text{HOO}\cdot$ trong môi trường lipid cao gấp 20 lần so với curcumin, chủ yếu qua cơ chế chuyển nguyên tử hydro. Mô phỏng động lực học phân tử khẳng định bisdemethoxycurcumin tạo phức hợp bền vững hơn với protein TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết -9,73 so với -9,29 kcal/mol), phù hợp với kết quả ức chế nitric oxide thực nghiệm.

Những kết quả của luận án không chỉ làm sáng tỏ các đặc tính lý hóa, dược lý ưu việt của từng thành phần curcuminoid riêng lẻ mà còn cung cấp nền tảng khoa học vững chắc trong việc bán tổng hợp các tác nhân trị liệu đa đích từ nguồn tài nguyên thiên nhiên cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. ở Việt Nam, định hướng tạo các dòng sản phẩm phù hợp đưa vào ứng dụng trong cuộc sống. Ngoài ra, các thông tin từ loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ cây Nghệ vàng có ảnh hưởng đến hàm lượng hoạt chất trong cây cũng là những thông tin rất hữu ích cho việc canh tác một cách có hiệu quả loài cây dược liệu này.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- Ưu điểm của luận án:

- + Đề tài luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, có đóng góp mới.
- + Kết quả rất nhiều, phong phú.
- + Quyền luận án được trình bày đẹp, bố cục hợp lý, văn phong khoa học và sáng sủa, rõ ràng.

- Một số điểm cần bổ sung, sửa chữa:

+ Hình 1.1. Cây nghệ vàng (*C. longa*) (trang 10): Nên sử dụng ảnh chụp mẫu cây/tiêu bản cây Nghệ vàng của chính tác giả, không nên dùng ảnh vẽ hoặc ảnh copy trên mạng internet.

+ Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: in nghiêng tên khoa học của chi/loài thực vật, vi sinh vật; không in nghiêng tên khoa học của họ thực vật.

+ Thống nhất sử dụng thuật ngữ hoá học: hoặc viết theo tiếng Việt, hoặc viết theo tiếng Anh.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Kết quả của luận án đã được công bố trong 02 bài báo khoa học đăng trên tạp chí khoa học chuyên ngành quốc tế SCIE Q1 (*Molecules*, *RSC Advances*), 01 bài trên tạp chí quốc gia nằm trong danh mục Scopus (*Vietnam Journal of Science and Technology*) và 01 bài trên tạp chí khoa học trong nước (*Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*). Đây đều là các tạp chí có uy tín và chất lượng tốt, được phản biện chặt chẽ và đòi hỏi kết quả phải có ý nghĩa khoa học và có tính mới.

8. Kết luận chung

Luận án của NCS. Đinh Thị Tú đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hoá học các hợp chất thiên nhiên.

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
Đồng ý đề NCS trình luận án ra bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học
viện đề nhận bằng Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 22 tháng 6 năm 2026

Người nhận xét

(Ký và ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Phạm Thị Tâm

Học hàm, học vị: PGS. TS

Cơ quan công tác: Trường Đại học Mỏ Hà Nội

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Thầy hướng dẫn: PGS. TS Phạm Minh Quân và PGS. TS Ngô Kim Chi

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9.44.01.17

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài “Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam” có tính cần thiết và thời sự cao trong bối cảnh ngày càng gia tăng về nhu cầu khai thác, phát triển các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học phục vụ chăm sóc sức khỏe và hỗ trợ điều trị bệnh, đặc biệt là ung thư. Đề tài không chỉ góp phần làm sáng tỏ thành phần hóa học và các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu nghệ vàng tại Việt Nam mà còn phát hiện và mô tả lần đầu tiên loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ nghệ vàng, cung cấp dẫn liệu mới về sinh vật gây hại trên cây dược liệu.

Đặc biệt, việc xác lập mối tương quan giữa mức độ nhiễm tuyến trùng với hàm lượng curcuminoid và các hoạt tính chống oxy hóa, gây độc tế bào của hoạt chất đã làm rõ tác động của sinh vật gây hại đến chất lượng dược liệu, qua đó cung cấp cơ sở khoa học cho việc kiểm soát dịch hại, quản lý và phát triển bền vững vùng nguyên liệu nghệ vàng. Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa trong việc xây dựng chiến lược phát triển vùng trồng dược liệu chất lượng cao, kiểm soát chất lượng nguyên liệu đầu vào và nâng cao giá trị gia tăng của các sản phẩm từ nghệ vàng.

Bên cạnh đó, việc bán tổng hợp thành công các dẫn xuất của curcumin và kết hợp các phương pháp tính toán *in silico* hiện đại để làm rõ cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử đã đóng góp những tri thức mới cho lĩnh vực hóa học các hợp chất thiên nhiên, hóa dược và công nghệ sinh học, đồng thời mở ra triển vọng phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học cao phục vụ chăm sóc sức khỏe và công nghiệp dược phẩm.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Qua đối chiếu với các công trình nghiên cứu, luận văn và luận án đã công bố trong và ngoài nước, có thể nhận thấy đề tài không trùng lặp về mục tiêu, nội dung và cách tiếp cận nghiên cứu. Các kết quả đạt được thể hiện tính mới, tính sáng tạo và có những đóng góp riêng của tác giả, qua đó khẳng định sự khác biệt của luận án so với các công trình đã được công bố trước đây.

Các tài liệu tham khảo được tác giả thu thập, lựa chọn và sử dụng tương đối đầy đủ, phù hợp với nội dung nghiên cứu. Việc trích dẫn tài liệu được thực hiện rõ ràng, bảo đảm tính trung thực và tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu khoa học.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu đã thực hiện. Các nội dung của luận án tập trung vào phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc các hợp chất curcuminoid từ cây nghệ vàng (*Curcuma longa* L.); bán tổng hợp các dẫn xuất của curcumin; đánh giá hoạt tính sinh học bằng các phương pháp *in vitro* và nghiên cứu cơ chế tác dụng bằng các phương pháp *in silico*. Những nội dung này thuộc lĩnh vực Hóa học các hợp chất thiên nhiên, phù hợp với ngành. Thêm vào đó, kết quả phát hiện loài tuyến trùng mới ký sinh trên rễ nghệ và đánh giá ảnh hưởng của chúng đến hàm lượng và hoạt tính của các hợp chất curcuminoid trong củ nghệ đã bổ sung cơ sở khoa học cho việc kiểm soát và phát triển vùng nguyên liệu nghệ chất lượng cao, phục vụ nghiên cứu các hợp chất tự nhiên để phát triển và sản xuất các sản phẩm dược liệu từ nghệ vàng.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án đã kết hợp sử dụng các phương pháp tách chiết, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất curcuminoid; bán tổng hợp các dẫn xuất của curcumin; đánh giá hoạt tính sinh học bằng các phương pháp *in vitro* như chống oxy hóa (DPPH), kháng

viêm thông qua ức chế sản sinh NO, gây độc tế bào (MTT), kháng khuẩn và kháng nấm (MIC). Bên cạnh đó, tác giả đã sử dụng các phương pháp hình thái học kết hợp với sinh học phân tử để phân lập và định danh tuyến trùng, đồng thời ứng dụng các phương pháp mô phỏng *in silico* hiện đại nhằm dự đoán hoạt tính dọn dẹp gốc tự do $\text{HOO}^\bullet$ và làm rõ cơ chế kháng viêm tiềm năng của các hợp chất nghiên cứu. Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong luận án có độ tin cậy và tính hiện đại, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu và đáp ứng yêu cầu của chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó

Luận án đã đạt được một số kết quả nghiên cứu mới, có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn. Trước hết, tác giả đã phát hiện và mô tả lần đầu tiên loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ nghệ vàng tại Việt Nam trên cơ sở kết hợp các đặc điểm hình thái và dữ liệu sinh học phân tử, đồng thời xác lập mối tương quan giữa mật độ tuyến trùng với hàm lượng curcuminoid và hoạt tính chống oxy hóa, gây độc tế bào. Kết quả này góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc kiểm soát sinh vật gây hại và phát triển nguồn nguyên liệu nghệ chất lượng cao phục vụ nghiên cứu và sản xuất dược liệu.

Luận án cũng đã bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone có hoạt tính sinh học được cải thiện rõ rệt so với curcumin ban đầu, mở rộng tiềm năng ứng dụng của các hợp chất curcuminoid trong lĩnh vực dược phẩm và chăm sóc sức khỏe. Bên cạnh đó, việc kết hợp tính toán lượng tử với mô phỏng lắp ghép phân tử và động lực học phân tử đã góp phần làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của các hợp chất nghiên cứu, tạo cơ sở khoa học cho việc định hướng thiết kế và phát triển các dẫn xuất curcumin có hoạt tính sinh học cao.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

Về nội dung, luận án được thực hiện công phu, có cách tiếp cận liên ngành, kết hợp giữa hóa học các hợp chất thiên nhiên, sinh học phân tử và các phương pháp mô phỏng tính toán hiện đại. Các kết quả nghiên cứu có giá trị khoa học và thực tiễn, bám sát mục tiêu nghiên cứu đã đề ra.

Về kết cấu và hình thức, luận án được trình bày tương đối khoa học, các bảng biểu, hình vẽ và tài liệu tham khảo được trình bày rõ ràng.

Bên cạnh những ưu điểm nêu trên, luận án vẫn còn một số hạn chế về cách diễn đạt và trình bày, cụ thể như sau:

- Về thuật ngữ khoa học, văn phong: cần nhất quán trong việc trình bày tên Latin của cây nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), trình bày tên của các dẫn xuất bán tổng hợp; rà soát và chú giải đầy đủ các từ viết tắt trong toàn bộ luận án, các từ viết tắt cần được trình bày đầy đủ khi xuất hiện lần đầu tiên trong văn bản. Chỉnh sửa các lỗi văn phong (văn nói, câu khó hiểu, câu chưa thuần Việt), ví dụ: Tuyến trùng mới... và tác động của “nó” đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nghệ/củ nghệ (trang 68)?; cơ sở hoạt tính từ thành phần hóa thực vật (tr.8);

- Về logic trình bày

Tổng quan tình hình nghiên cứu không nên trình bày theo hướng tách biệt tình hình nghiên cứu trong nước và quốc tế, vì cách tiếp cận này thường dẫn đến việc liệt kê các công trình nghiên cứu, thiếu sự tổng hợp, so sánh, đối chiếu và làm rõ khoảng trống nghiên cứu. Thay vào đó, nên tổ chức nội dung theo từng nhóm vấn đề nghiên cứu, trên cơ sở phân tích, tổng hợp các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước nhằm làm rõ những kết quả đã đạt được, những vấn đề còn tồn tại và khoảng trống mà luận án tập trung giải quyết.

Đối với luận án này, phần tổng quan nên được bố cục theo các nhóm nội dung chính liên quan đến: (i) cây nghệ vàng, bao gồm đặc điểm sinh học, phân bố, giá trị sử dụng trong y học, các thành phần có hoạt tính sinh học và các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu; trong đó cần đánh sự quan tâm thích đáng đến các yếu tố bệnh hại và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng nguyên liệu, hàm lượng và hoạt tính của curcuminoid để tạo sự kết nối với kết quả nghiên cứu về tuyến trùng và ảnh hưởng của các đặc tính đất đến chất lượng củ nghệ; (ii) curcuminoid và các hoạt tính sinh học của nhóm hợp chất này; (iii) các nghiên cứu về tổng hợp, bán tổng hợp dẫn xuất curcumin, các định hướng cải thiện hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của các dẫn xuất; (iv) các nghiên cứu *in silico* trong dự đoán hoạt tính sinh học và làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của các hợp chất tự nhiên. Cách bố cục này sẽ giúp tăng tính logic, làm rõ hơn cơ sở khoa học của các nội dung nghiên cứu và sự liên kết giữa các kết quả của luận án.

- Kết quả phát hiện loài tuyến trùng mới gây bệnh cho cây nghệ là một kết quả mới và có ý nghĩa, có thể liên quan trực tiếp đến chất lượng nguồn nguyên liệu phục vụ nghiên cứu. Tuy nhiên, nội dung này hiện được lồng ghép vào luận án còn khá khiên cưỡng, chưa tạo được sự kết nối logic và thiếu tính liên kết với các nội dung nghiên cứu khác cũng như

các phần tổng quan, kết quả nghiên cứu và biện luận. Bên cạnh đó, đề tài thực hiện lấy mẫu ở 2 vùng nguyên liệu khác nhau (Tu Mơ Rông, Kon Tum và Ba Bể, Bắc Kạn), tuy nhiên chưa làm rõ nguyên liệu sử dụng cho nghiên cứu được lựa chọn từ vùng nào, lý do vì sao lựa chọn, chưa thấy có kết quả, phân tích về hàm lượng và chất lượng của hoạt chất. Vì vậy, xem xét điều chỉnh bố cục của kết quả nghiên cứu, bổ sung và đưa lên đầu tiên là nội dung đánh giá chất lượng củ nghệ làm nguyên liệu phục vụ nghiên cứu (trong đó có nội dung liên quan đến tuyển trùng), từ đó lựa chọn củ nghệ được thu thập từ vùng nào để tiếp tục các nội dung phân lập, tách chiết ba dạng curcuminoid, bán tổng hợp dẫn xuất và hoạt tính của 2 dạng dẫn xuất, nghiên cứu tác dụng của ba dạng curcuminoid bằng các phương pháp *in vitro* và *in silico*.

- Ở nội dung 3.4 (nghiên cứu mô phỏng dự đoán hoạt tính quét gốc tự do HOO[•]) và nội dung 3.5 (nghiên cứu dự đoán cơ chế ức chế tiềm năng đối với phức hệ protein TLR4/MD-2) cần có sự luận giải vì sao lựa chọn 3 dạng curcuminoid (CUR, MDC, BMDC) mà không sử dụng các dẫn xuất bán tổng hợp đã được chứng minh có hiệu quả hơn về hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và gây độc tế bào so với các dạng curcuminoid tinh chế từ củ nghệ?

- Về tính khách quan, chính xác của các thông tin, dữ liệu

Rà soát và điều chỉnh một số nhận định chưa thật sự khách quan hoặc chưa có đủ căn cứ khoa học. Ví dụ, nhận định “đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm gợi mở tiềm năng của cây nghệ trong việc đối phó với các loài ký sinh trùng thực vật” (trang 26) cần được cân nhắc về mức độ suy luận. Tương tự, mục 1.2.6.5 về các tác dụng khác và tính an toàn còn trình bày sơ sài; cần xem xét lại nhận định “các nghiên cứu độc tính học đã khẳng định *C. longa* không gây quái thai hay đột biến gen, đảm bảo tính an toàn cho việc phát triển các chế phẩm bảo vệ sức khỏe” (trang 27).

Đối với kết quả ở Bảng 3.4, chưa có đủ căn cứ để kết luận mức độ lây nhiễm tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ảnh hưởng đến hàm lượng curcuminoid tổng số và các curcuminoid thành phần (CUR, DMC, BDMC) trong củ nghệ. Cần làm rõ liệu sự suy giảm hàm lượng các hợp chất này có phải do tác động của loài tuyến trùng mới được phát hiện, do các loài tuyến trùng khác chưa được xác định trong quần thể tuyến trùng, hay do tác động tổng hợp của tất cả các loài hiện diện trong mẫu. Bên cạnh đó, việc phân loại các mẫu “nhiễm bệnh ít” (trang 73) chưa được làm rõ về căn cứ đánh giá “do chưa có thang phân loại mức độ nhiễm bệnh. Đồng thời, cần xem xét lại cách trình bày số liệu mật độ tuyến

trùng trong Bảng 3.4 ở dạng số thập phân, trong khi chưa thể hiện kết quả xử lý thống kê từ các lần lặp.

Rà soát, chỉnh xác lại một số nhận định thiếu khách quan, ví dụ: đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm gợi mở tiềm năng của cây nghệ trong việc đối phó với các loài ký sinh trùng thực vật (trang 26); mục 1.2.6.5 trình bày về các tác dụng khác và tính an toàn còn khá sơ sài, cần nhắc nhận định "các nghiên cứu độc tính học đã khẳng định *C. longa* không gây quái thai hay đột biến gen, đảm bảo tính an toàn cho việc phát triển các chế phẩm bảo vệ sức khỏe" (trang 27); kết quả trong Bảng 3.4 chưa đủ căn cứ để kết luận mức độ lây nhiễm tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. gây ảnh hưởng đến hàm lượng curcuminoid tổng số và 3 curcuminoid CUR, DMC, BDMC trong củ nghệ, bởi câu hỏi đặt ra là, liệu có phải sự giảm hàm lượng hợp chất và các chất thành phần là do ảnh hưởng của loài tuyến trùng mới phát hiện không, hay do loài khác chưa được xác định trong thành phần tổng số, hay do tác động của tất cả các loài trong tổng số? Bên cạnh đó, việc xác định các mẫu "nhiễm bệnh ít" cũng chưa làm rõ căn cứ, bởi chưa có thang xếp loại mức độ nhiễm bệnh. Xem xét số liệu trong Bảng 3.4 về mật độ tuyến trùng được trình bày ở dạng thập phân số lẻ trong khi không có kết quả xử lý thống kê các lần lặp.

- Xem xét bổ sung phần biện luận kết quả nghiên cứu nhằm làm rõ hơn tính mới, ý nghĩa khoa học và mức độ phù hợp của các kết quả đạt được so với mục tiêu nghiên cứu. Đối với các kiến nghị về phát triển chế phẩm sinh học kiểm soát tuyến trùng và kiểm soát pH đất canh tác cây nghệ, cần cần nhắc mức độ phù hợp với phạm vi và kết quả nghiên cứu của luận án, do các nội dung này chưa được nghiên cứu trực tiếp và chưa có đủ căn cứ để đưa ra các khuyến nghị cụ thể.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCIE, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phân biệt, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Kết quả của nghiên cứu đã được công bố trên các tạp chí khoa học, cụ thể:

- 01 bài đăng trên tạp chí Molecules, xếp hạng Scimago Q1 (nghiên cứu sinh là tác giả số 1);
- 01 bài đăng trên tạp chí RSC advances, xếp hạng Scimago Q1;
- 01 bài đăng trên tạp chí Vietnam Journal of Science and Technology, xếp hạng Scimago Q4 (nghiên cứu sinh là tác giả số 1);

- 01 bài đăng trên tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng, Tạp chí thuộc Danh mục tạp chí được Hội đồng Giáo sư nhà nước tính điểm cho ngành Hóa học và công nghệ thực phẩm (0-1 điểm)¹ và Danh mục tạp chí đạt tiêu chuẩn khoa học Việt Nam năm 2026².

Các kết quả công bố cho thấy đề tài luận án đã đạt hiệu quả tốt về mặt khoa học, góp phần sáng tạo tri thức mới. Nghiên cứu sinh là tác giả thứ nhất của 02 công bố khoa học quốc tế uy tín cho thấy sự tham gia tích cực và vai trò chủ đạo trong quá trình nghiên cứu, bảo đảm yêu cầu về công bố khoa học đối với nghiên cứu sinh.

8. Kết luận chung cần khẳng định

Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, các kết quả nghiên cứu có độ tin cậy và đã được công bố trên các tạp chí khoa học uy tín.

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực, đầy đủ những nội dung cơ bản của luận án, bao quát được mục tiêu, phương pháp nghiên cứu, các kết quả đạt được và những đóng góp mới của luận án.

Luận án đủ điều kiện để đưa ra bảo vệ ở cấp Học viện theo quy định hiện hành và nghiên cứu sinh xứng đáng được xem xét cấp bằng Tiến sĩ Hóa học các hợp chất thiên nhiên sau khi hoàn thành các thủ tục và yêu cầu theo quy định.

Hà Nội, ngày 22 tháng 6 năm 2026

Người nhận xét



PGS.TS. Phạm Thị Tâm

¹ Quyết định số 26/QĐ-HDGSNN ngày 11 tháng 7 năm 2025 của Hội đồng Giáo sư nhà nước phê duyệt Danh mục tạp chí khoa học được tính điểm năm 2025

² Quyết định số 2244/QĐ-BKHCN của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ về Danh mục tạp chí đạt tiêu chuẩn khoa học Việt Nam năm 2026.

1870

1871

1872

1873

1874

BẢN NHẬN XÉT TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Đề tài luận án: “Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam”

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Nghiên cứu sinh: **Đinh Thị Tú**

Người nhận xét: **TS. Trịnh Thị Thu Hương**

Cơ quan công tác: Viện Hóa học

Nội dung nhận xét:

Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Luận án “Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam” có tính cần thiết và thời sự cao trong bối cảnh nhu cầu tìm kiếm các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên phục vụ phát triển dược phẩm và thực phẩm chức năng ngày càng gia tăng. Đề tài không chỉ nghiên cứu các curcuminoid tự nhiên mà còn định hướng tạo ra các dẫn xuất mới nhằm cải thiện hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của curcumin. Luận án có ý nghĩa khoa học rõ rệt khi kết hợp nghiên cứu hóa học, sinh học thực nghiệm, hóa tin học và sinh học phân tử để làm sáng tỏ mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính và cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử. Về thực tiễn, kết quả nghiên cứu góp phần khai thác hiệu quả nguồn dược liệu nghệ vàng Việt Nam, tạo tiền đề cho phát triển các sản phẩm có giá trị gia tăng và cung cấp cơ sở khoa học cho quản lý dịch hại trên cây nghệ.

Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước, tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài luận án không trùng lặp với các công trình nghiên cứu và kết quả nghiên cứu đã được công bố. Đây là một công trình nghiên cứu khoa học hoàn toàn mới.

Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Tên đề tài luận án phù hợp với nội dung nghiên cứu. Nội dung của luận án phù hợp với chuyên ngành đã đăng ký.

Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong luận án có độ tin cậy cao, được lựa chọn phù hợp với mục tiêu nghiên cứu và có tính liên ngành. Quy trình phân lập,

bán tổng hợp và xác định cấu trúc hợp chất sử dụng các kỹ thuật hiện đại, phổ biến trong nghiên cứu hóa học các hợp chất thiên nhiên như sắc ký cột, HPLC bán điều chế, phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và HR-MS, bảo đảm độ chính xác trong xác định cấu trúc.

Các phương pháp nghiên cứu hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học được sử dụng theo các phương pháp chuẩn, hiện đại đã được công bố trên các tạp chí quốc tế uy tín, do đó, có độ tin cậy cao.

Nghiên cứu *in silico* áp dụng đồng thời tính toán DFT, docking và mô phỏng động lực học phân tử giúp tăng độ tin cậy trong việc giải thích cơ chế tác dụng. Đặc biệt, việc kết hợp dữ liệu hóa học, sinh học thực nghiệm và sinh học phân tử trong nghiên cứu tuyển trùng đã tạo nên hệ thống bằng chứng đa chiều, nâng cao tính khách quan và độ tin cậy của các kết luận khoa học.

Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy các kết quả đó.

Các đóng góp mới của Luận án:

- Lần đầu phát hiện, định lượng và xác định được mối tương quan giữa mật độ tuyển trùng và hàm lượng BDMC của loài tuyển trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. trên rễ nghệ vàng Việt Nam.

- Bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa có tác dụng giúp tăng tính thân dầu và hoạt tính cải thiện kháng viêm từ curcumin-monozerumbone.

- Mô phỏng docking và MD, làm rõ cơ chế chống oxy hóa và kháng viêm ở cấp độ phân tử. Chứng minh được BDMC liên kết với phức hợp protein TLR4/MD-2 tạo phức hợp bền vững hơn curcumin, làm cơ sở gợi ý giải thích cho thực nghiệm *in vitro*.

Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu luận án. Chỉ ra các vấn đề cần phải điều chỉnh, làm rõ.

Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ quy định tại Điều 20 Quy chế; luận án có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Tiến sĩ hay không

- Bản tóm tắt Luận án ngắn gọn, đầy đủ thông tin. Các kết quả đạt được của Luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, đáp ứng các yêu cầu với một luận án Tiến sĩ hóa học.

- Đồng ý cho NCS Đinh Thị Tú đưa luận án ra bảo vệ tại hội đồng cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 21 tháng 6 năm 2026

NGƯỜI VIẾT NHẬN XÉT



TS. Trịnh Thị Thu Hương

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Nguyễn Thị Minh Tú

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: Đại học Bách Khoa Hà Nội

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Thầy hướng dẫn: PGS.TS Phạm Minh Quân

PGS.TS Ngô Kim Chi

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học trên *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt nam

Ngành: Hoá học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9.44.01.17

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài có tính cấp thiết, nghiên cứu khai thác tối đa giá trị nguồn dược liệu quý bổ sung nghiên cứu về các hợp chất ít được khảo sát độc lập như DMC và BDMC trong thành phần hoạt chất của nghệ nói chung và nghệ vàng nói riêng. Nghiên cứu đã làm rõ cơ chế kháng viêm ở cấp độ phân tử thông qua việc xác định đích tác dụng cụ thể của các curcuminoid trên phức hợp thụ thể TLR4/MD-2. Luận án cũng cung cấp những thông số về nhiệt động học, động học của phản ứng oxy hóa và bổ sung dữ liệu hóa học quan trọng của nghệ vàng Việt Nam vào bản đồ dược liệu thế giới. Một đóng góp khoa học mới khác là việc phát hiện, định danh loài tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae*, giúp làm rõ tác động tiêu cực của sinh vật ngoại lai đến hàm lượng hoạt chất. Bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone đã tạo ra hợp chất mới có tính thân dầu và hoạt tính sinh học vượt trội so với curcumin. Ngoài ra quy trình phân tích HPLC được xây dựng giúp các doanh nghiệp được phẩm kiểm soát hàm lượng hoạt chất nhanh chóng và chính xác. Các kết quả nghiên cứu còn cung cấp gợi ý cho người nông dân trong việc canh tác và kiểm soát dịch hại để nâng cao chất lượng dược liệu.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Các kết quả trong luận án không trùng lặp với các công bố khoa học trên đối tượng nghiên cứu (Curcumin). Nghiên cứu sử dụng chiến lược kết hợp *in silico* và *in vitro* trên các đích protein cụ thể, đồng thời đánh giá tác động của sinh vật ngoại lai lên thành phần hóa học. Đây là những tiếp cận hiện đại, chưa được thực hiện đầy đủ trong các nghiên cứu trước đây. Kết quả luận án tạo nên một hệ thống luận cứ chặt chẽ về đặc tính hóa học, cơ chế tác dụng và chất lượng dược liệu của cây nghệ Việt Nam.

Các tài liệu được trích dẫn phù hợp với mục tiêu, nội dung và luận điểm nghiên cứu. Danh mục tài liệu bao gồm các nguồn đáng tin cậy ví dụ các tạp chí chuyên ngành quốc tế (Journal of Photochemistry, RSC Advances, Journal of Computational Chemistry, v.v.), các hướng dẫn sử dụng phần mềm chuẩn (như AutoDock4, PyMOL), và các nghiên cứu nền tảng về phương pháp phân tích.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Đề tài luận án "Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học trên *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam" phù hợp và đáp ứng các yêu cầu của chuyên ngành Tiến sĩ Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Nội dung nghiên cứu mang tính toàn diện và chuyên sâu về Hóa học các hợp chất thiên nhiên, kết hợp nhiều lĩnh vực khác nhau hoá học, hóa phân tích đến hóa lý thuyết, hóa tính toán (*in silico*) và hóa dược. Ngoài ra, việc sử dụng mô phỏng động lực học phân tử và docking phân tử để nghiên cứu tương tác giữa curcuminoid với phức hệ protein (TLR4/MD-2) là những nội dung cao cấp trong hóa tin học và hóa dược. Nghiên cứu không chỉ dừng lại ở cấu trúc mà còn nghiên cứu tuyển trùng mới với tác động đến thành phần hoá học và hoạt tính sinh học - khả năng ức chế sản sinh NO, hoạt tính chống oxy hóa và độc tính tế bào trên các dòng tế bào ung thư (HepG2, A549), đây là hướng đi điển hình của hóa sinh hiện đại.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng chiến lược tiếp cận đa ngành, kết hợp giữa thực nghiệm *in vitro* và các phương pháp mô phỏng *in silico* tiên tiến. Các kỹ thuật tính toán lượng tử (DFT), Docking và động lực học phân tử (MD) đã được ứng dụng để làm rõ cơ chế tác dụng của các curcuminoid ở cấp độ phân tử. Trong lĩnh vực sinh học, việc định danh loài tuyển trùng mới bằng sự kết hợp giữa hình thái và các chỉ thị phân tử (ITS, 28S rDNA, COI mtDNA) minh chứng cho tính cập nhật của phương pháp nghiên cứu.

Độ tin cậy của các kết quả thể hiện trong việc sử dụng những phương pháp HPLC-DAD cùng các phần mềm chuyên dụng. Độ tin cậy cũng thể hiện qua 04 bài báo công bố trên các tạp chí uy tín thuộc danh mục SCIE và Scopus xếp hạng Q1, Q2.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Phát hiện và định danh loài tuyến trùng mới: Lần đầu tiên định danh được loài tuyến trùng mới có tên là *Scutellonema curcumae* sp.n. ký sinh trên cây Nghệ vàng tại Việt Nam, kết quả chỉ ra rằng quần thể tuyến trùng này làm suy giảm chất lượng dược liệu; cụ thể, khi mật độ tuyến trùng tăng thì hàm lượng BDMC và hoạt tính chống oxy hóa giảm mạnh

Luận án làm sáng tỏ cơ sở phân tử của hoạt tính kháng viêm của BDMC: Thông qua các phương pháp tính toán in silico (mô phỏng lắp ghép phân tử và động lực học phân tử - MD), luận án đã phát hiện ra rằng sự vắng mặt của các nhóm methoxy ở BDMC giúp tối ưu hóa hoạt tính. Điều này tạo ra mạng lưới liên kết tĩnh điện và kỵ nước bền vững hơn với phức hệ thụ thể TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết của BDMC đạt -9,73 kcal/mol, bền hơn so với curcumin là -9,29 kcal/mol). Đây là luận cứ khoa học quan trọng giải thích cho hiệu quả ức chế con đường tín hiệu viêm của BDMC vượt trội hơn so với curcumin trên thực nghiệm

Đã xác định cơ chế hoạt tính chống oxy hóa: Sử dụng hàm mật độ (DFT) để chỉ ra rằng cơ chế chuyển điện tử (SET/PCET) đóng vai trò chủ đạo trong hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất trong môi trường nước

Đã đánh giá hoạt tính sinh học mới của BDMC: BDMC có khả năng kháng viêm ức chế NO mạnh gấp 3,8 lần curcumin và ức chế dòng tế bào ung thư gan Hep-G2 mạnh gấp 2,5 lần curcumin, đồng thời mở rộng phổ kháng khuẩn lên 6/8 chủng thử nghiệm

Đã tổng hợp các dẫn xuất mới: Thiết kế và tổng hợp thành công các dẫn xuất mới can thiệp vào nhóm hydroxyl phenol và các dẫn xuất lai hóa giữa curcumin với zerumbone (như curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone) để đánh giá hoạt tính sinh học.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Đối tượng nghiên cứu cần làm rõ khái niệm nghệ vàng.

Trong phương pháp nghiên cứu bổ sung phương pháp lấy mẫu đất, phương pháp phân tích tính chất lý hoá của đất và mật độ quần thể tuyến trùng.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phân biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Luận án công bố 4 bài báo:

01 bài đăng trên Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng, là Tạp chí uy tín trong nước, có phân biện, được tính điểm bởi Hội đồng Giáo sư Nhà nước.

01 bài đăng trên Tạp chí Vietnam Journal of Science and Technology (VAST), thuộc danh mục thuộc danh mục Scopus và ESCI (WoS); xếp hạng Q4 Scimago.

01 bài đăng trên Tạp chí RSC Advances (Royal Society of Chemistry, UK), thuộc danh mục SCIE (WoS) và Scopus; xếp hạng Q1/Q2 Scimago.

01 bài đăng trên Tạp chí Molecules (MDPI) thuộc danh mục SCIE (WoS) và Scopus; xếp hạng Q1 Scimago.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- *Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành:* Nội dung luận án phù hợp và đáp ứng các yêu cầu về chất lượng, khối lượng cũng như nội dung chuyên sâu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên

- *Bản tóm tắt luận án có phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án không:* Các nội dung cơ bản và những đóng góp mới về mặt khoa học đã được hệ thống hóa đầy đủ, phản ánh trung thực kết quả nghiên cứu trong bản tóm tắt luận án.

- *Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ được hay không:* Sau khi hoàn thành việc chỉnh sửa theo các góp ý chuyên môn, đề nghị Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt nam cho phép luận án được đưa ra bảo vệ chính thức trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học viện.

Hà Nội, Ngày 22 tháng 06 năm 2026

Người nhận xét



Nguyễn Thị Minh Tú

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài luận án: **Nghiên cứu phân lập, tinh chế Curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam**

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9.44.01.17

Nghiên cứu sinh: Đinh Thị Tú

Người hướng dẫn: 1. PGS. TS. Phạm Minh Quân

2. PGS. TS. Ngô Kim Chi

Người nhận xét: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Cơ quan công tác: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Curcumin là thành phần chính của loài nghệ vàng *Curcuma longa* L. Curcumin được nhiều nghiên cứu trên thế giới về tác dụng sinh học, đặc biệt là hoạt tính gây độc tế bào và ung thư. Tuy nhiên tính sinh khả dụng của curcumin thấp vì kém tan trong nước. Vì thế đề tài có ý nghĩa khoa học. Các hợp chất tổng hợp được đánh giá các hoạt tính sinh học và tính toán sàng lọc các hợp chất có tác dụng sinh học tốt. Đề tài có ý nghĩa thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước, tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài tập trung vào tinh chế, phân lập các curcumin từ loài nghệ vàng. Ngoài ra đề tài phân tách được tuyến trùng mới *Scutellonema curcumae* và đánh giá tác dụng của tuyến trùng này lên thành phần hóa học.

Tiếp theo đề tài bán tổng hợp các dẫn xuất Curcumin phân lập từ củ nghệ, và đánh giá tác dụng kháng viêm, gây độc tế bào ung thư, hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các hợp chất tổng hợp được. Các mô phỏng tính toán và dự đoán cơ chế cũng được nghiên cứu. Đề tài không trùng lặp với nghiên cứu trong và ngoài nước.

Luận án bao gồm 146 tài liệu tham khảo, được trích dẫn đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Tên đề tài phản ánh phù hợp nội dung nghiên cứu của luận án. Các nội dung chính của luận án tập trung vào: tinh chế, bán tổng hợp, các curcumin và đánh giá hoạt tính

sinh học. Các nội dung này phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu sử dụng trong luận án bao gồm:

Phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học curcuminoid.

Phương pháp bán tổng hợp các dẫn xuất *Curcumin*.

Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học *in vitro*.

Phương pháp phân lập và định danh tuyến trùng.

Phương pháp mô phỏng phân tử *in silico*.

Đây đều là phương pháp thường quy và hiện đại, được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu. Do đó các kết quả số liệu thu được là hợp lý, có độ tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy các kết quả đó.

Kết quả mới của luận án bao gồm:

+ Phát hiện và mô tả lần đầu tiên loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ nghệ vàng tại Việt Nam, dựa trên bằng chứng hình thái và phân tử (ITS, 28S rDNA, COI mtDNA). Xác lập mối tương quan nghịch giữa mật độ tuyến trùng và hàm lượng bisdemethoxycurcumin trong thân rễ: mẫu có mật độ nhiễm thấp cho hàm lượng bisdemethoxycurcumin tăng 3,5 lần so với mẫu nhiễm mật độ tuyến trùng cao nhất và hoạt tính chống oxy hóa được cải thiện (SC_{50} giảm từ 43,62 xuống 13,85 $\mu\text{g/ml}$).

+ Bán tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone, trong đó việc gắn khung terpenoid làm tăng tính thân dầu (ClogP từ 3,72 lên 6,51) và cải thiện hoạt tính sinh học so với curcumin: kháng viêm tăng 3,8 lần ($IC_{50} = 32,15$ so với 121,06 $\mu\text{g/ml}$); gây độc tế bào ung thư gan Hep-G2 tăng 2,5 lần ($IC_{50} = 25,35$ so với 62,45 $\mu\text{g/ml}$); phổ kháng vi sinh vật mở rộng từ 2/8 lên 6/8 chủng thử nghiệm.

+ Kết hợp tính toán lượng tử với mô phỏng lắp ghép phân tử và động lực học phân tử để góp phần làm rõ cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử. Tính toán lượng tử chỉ ra bisdemethoxycurcumin có hằng số tốc độ quét gốc $\text{HOO}\cdot$ trong môi trường lipid cao gấp 20 lần so với curcumin, chủ yếu qua cơ chế chuyển nguyên tử hydro. Mô phỏng động lực học phân tử khẳng định bisdemethoxycurcumin tạo phức hợp bền vững hơn với protein TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết -9,73 so với -9,29 kcal/mol), phù hợp với kết quả ức chế nitric oxide thực nghiệm.

Các kết quả trên có ý nghĩa khoa học trong lĩnh vực hóa học các hợp chất thiên nhiên. Đồng thời, kết quả có ý nghĩa thực tiễn trong nâng cao tính sinh khả dụng của các hợp chất bán tổng hợp được.

6. Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức luận án. Chỉ ra các vấn đề cần phải điều chỉnh, làm rõ.

- Luận án được trình bày đẹp, rõ ràng. Thiết kế luận án logic.

Về nhược điểm, một số nội dung của luận án cần được rà soát thêm về lỗi chính tả, ký hiệu hóa học và viết hóa thuật ngữ tiếng Anh

- Một số lỗi in ấn cần được rà soát lại.

- NCS nên thống nhất viết tên đầy đủ tạp chí hoặc viết tắt.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình công bố

NCS đã công bố được 4 bài báo quốc tế:

1) Molecules (Q1) Tác giả chính

2) RSC Advance (Q1) Đồng tác giả

3) Vietnam Journal of Science and Technology (Q4) Tác giả chính

4) Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng Đồng tác giả.

Các công trình trên phản ánh đúng kết quả nghiên cứu và khẳng định được tính mới, độ tin cậy của các kết quả nghiên cứu của luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ quy định tại Điều 20 Quy chế; luận án có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Tiến sĩ hay không

Luận án của NCS Đinh Thị Tú là công trình nghiên cứu công phu, có định hướng rõ ràng, có tính khoa học và thực tiễn. Luận án đã giải quyết được các mục tiêu đề ra.

Luận án của NCS. Đinh Thị Tú đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ hoá hữu cơ.

Tôi đề nghị cho NCS. Đinh Thị Tú được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Hà Nội, ngày 02 tháng 6 năm 2026

NGƯỜI NHẬN XÉT



PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Về đề tài : “Nghiên cứu phân lập, tính chất curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam”

Thuộc chuyên ngành : Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên

Mã số : 9 44 01 17

NCS : Đinh Thị Tú

Người nhận xét : PGS.TS Trần Thu Hương

Cơ quan công tác : Trường Hóa và Khoa học Sự sống- Đại Học Bách khoa Hà Nội

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính thời sự, tính cấp thiết, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:

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

Hệ curcuminoid chiếm khoảng 2-8% khối lượng thân rễ nghệ khô, bao gồm ba thành phần chính luôn tồn tại song hành. Cả ba dẫn xuất đều thuộc lớp diarylheptanoid với khung cơ bản gồm hai vòng thơm nối bởi chuỗi 7 cacbon. Sự khác biệt nằm ở nhóm thế methoxy ($-OCH_3$) trên vòng thơm: Curcumin (CUR): 2 nhóm methoxy (chiếm 70-80%); Demethoxycurcumin (DMC): 1 nhóm methoxy (chiếm 15-20%); Bisdemethoxycurcumin (BDMC): Không có nhóm methoxy (chiếm 5-10%).

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

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

Hiệu quả của từng thành phần CUR, DMC, BDMC riêng lẻ trên các đích phân tử cụ thể chưa được nghiên cứu nhiều.

Việc tổng hợp các dẫn xuất lai (hybrid) giữa curcumin với các khung hoạt chất khác (zerumbone, propargyl) nhằm cải thiện dược tính, cũng như nghiên cứu cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử bằng các công cụ tính toán hiện đại; Và việc nghiên cứu ảnh hưởng của tuyển trùng ký sinh lên chất lượng dược liệu là những mục đích của luận án.

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

Mục tiêu nghiên cứu của luận án

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

1. Phân lập và xác định cấu trúc ba thành phần curcuminoid chính (CUR, DMC, BDMC) từ thân rễ nghệ.
2. Bán tổng hợp và đánh giá hoạt tính sinh học các dẫn xuất lai curcumin-zerumbone và di-propargyl curcumin; xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại.
3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa (DPPH), kháng viêm (ức chế NO trên RAW 264.7), gây độc tế bào ung thư (MTT trên 5 dòng tế bào) và kháng vi sinh vật (MIC) của hệ curcuminoid.
4. Nghiên cứu *in silico* để dự đoán hoạt tính quét gốc HOO• bằng DFT, làm sáng tỏ cơ chế kháng viêm qua docking và động lực học phân tử (MD) với phức hợp TLR4/MD-2, và đánh giá chỉ số được động học ADMET.
5. Mô tả loài tuyển trùng mới *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên nghệ và đánh giá ảnh hưởng của chúng lên hàm lượng và hoạt tính curcuminoid.

Luận án có giá trị về khoa học và thực tiễn.

2. **Đề tài và nội dung của luận án không bị trùng lặp với các công trình của tác giả khác đã công bố.**

3. **Sự phù hợp giữa đề tài và nội dung, giữa nội dung và chuyên ngành:**

Tên đề tài luận án phù hợp với nội dung, mã số của chuyên ngành

Tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung luận án.

4. **Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu:**

Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu:

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

Luận án gồm 124 trang, được bố cục thành 3 chương chính (ngoài phần Mở đầu và Kết luận), với 19 bảng, 27 hình và 146 tài liệu tham khảo.

Các số liệu đưa ra là đáng tin cậy. Những kết quả đạt được đã giải quyết được mục đích đề ra của luận án tiến sĩ với đầy đủ tính khoa học và thực tiễn.

5. Các kết quả mới của luận án; Độ tin cậy của các kết quả đó:

Luận án của NCS đã có những nghiên cứu mới thể hiện ở một số kết quả sau:

1. Đã phát hiện và mô tả được lần đầu tiên loài tuyến trùng *Scutellonema curcumae* sp. n. ký sinh trên rễ nghệ vàng tại Việt Nam, dựa trên bằng chứng hình thái và phân tử (ITS, 28S rDNA, COI mtDNA).

- Đã xác lập mối tương quan nghịch giữa mật độ tuyến trùng và hàm lượng bisdemethoxycurcumin trong thân rễ: mẫu có mật độ nhiễm thấp cho hàm lượng bisdemethoxycurcumin tăng 3,5 lần so với mẫu nhiễm mật độ tuyến trùng cao nhất và hoạt tính chống oxy hóa được cải thiện (SC_{50} giảm từ 43,62 xuống 13,85 $\mu\text{g/ml}$).

2. Bản tổng hợp thành công dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone, trong đó việc gắn khung terpenoid làm tăng tính thân dầu (ClogP từ 3,72 lên 6,51) và cải thiện hoạt tính sinh học so với curcumin: kháng viêm tăng 3,8 lần ($IC_{50} = 32,15$ so với 121,06 $\mu\text{g/ml}$); gây độc tế bào ung thư gan Hep-G2 tăng 2,5 lần ($IC_{50} = 25,35$ so với 62,45 $\mu\text{g/ml}$); phổ kháng vi sinh vật mở rộng từ 2/8 lên 6/8 chủng thử nghiệm.

3. Kết hợp tính toán lượng tử với mô phỏng lắp ghép phân tử và động lực học phân tử để góp phần làm rõ cơ chế tác dụng ở cấp độ phân tử. Tính toán lượng tử chỉ ra bisdemethoxycurcumin có hằng số tốc độ quét gốc $\text{HOO}\cdot$ trong môi trường lipid cao gấp 20 lần so với curcumin, chủ yếu qua cơ chế chuyển nguyên tử hydro. Mô phỏng động lực học phân tử khẳng định bisdemethoxycurcumin tạo phức hợp bền vững hơn với protein TLR4/MD-2 (năng lượng liên kết -9,73 so với -9,29 kcal/mol), phù hợp với kết quả ức chế nitric oxide thực nghiệm.

Các kết quả của luận án đã làm rõ những mục tiêu đề ra.

Tóm tắt luận án thể hiện trung thực các nội dung của luận án.

6. Giá trị khoa học của các công trình khoa học của tác giả đã công bố liên quan đến luận án:

Các kết quả nghiên cứu được thể hiện trong 04 bài báo khoa học trên các tạp chí chuyên ngành, trong đó có 03 bài SCIE, Scopus

Nội dung các bài báo có tính khoa học, đã phản ánh các nội dung của luận án.

7. Một số góp ý:

- Chính sửa lỗi in ấn, thống nhất một số thuật ngữ hóa học theo quy định (trong luận án cũng như tóm tắt luận án).

8. Kết luận:

Luận án của NCS Đinh Thị Tú đã đáp ứng được yêu cầu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành.

Bản tóm tắt luận án đã phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 01 tháng 6 năm 2026

Người nhận xét



PGS.TS Trần Thu Hương

Hà Nội, ngày 02 tháng 07 năm 2026

**QUYẾT NGHỊ CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Căn cứ quyết định số 340/QĐ-HVKHCN ngày 27 tháng 05 năm 2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, Hội đồng đã họp vào hồi 14 giờ 30 ngày 02 tháng 07 năm 2026 tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 đường Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội để đánh giá luận án tiến sĩ.

Nghiên cứu sinh: **Đinh Thị Tú**

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Phạm Minh Quân

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Ngô Kim Chi

**HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN CỦA
NCS ĐINH THỊ TÚ KẾT LUẬN**

1. Tính phù hợp của tên đề tài và sự không trùng lặp về nội dung luận án

- Tên đề tài, nội dung và kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với ngành đào tạo Hóa học các hợp chất thiên nhiên, mã số 9 44 01 17.

- Nội dung của luận án không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ và các kết

quả nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước.

2. Kết quả, ý nghĩa khoa học, thực tiễn của đề tài

Luận án Nghiên cứu phân lập curcumin từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam và bán tổng hợp các dẫn xuất theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico*, kết quả thu được có nghĩa khoa học và thực tiễn, cụ thể:

- Đã cung cấp cơ sở khoa học mới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các curcuminoid từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam, đồng thời làm sáng tỏ mối liên hệ giữa hàm lượng bisdemethoxycurcumin (BDMC) với sự xuất hiện của loài tuyến trùng mới (*Scutellonema curcumae*) trên rễ cây nghệ.
- Đã bán tổng hợp thành công các dẫn xuất mới và kết hợp nghiên cứu *in silico* (mô phỏng docking, động lực học phân tử) với thực nghiệm *in vitro* đã góp phần làm rõ cơ chế chống oxy hóa, kháng viêm ở cấp độ phân tử, làm cơ sở khoa học cho thiết kế và phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học cao hơn.
- Kết quả nghiên cứu góp phần nâng cao giá trị sử dụng của cây Nghệ vàng, định hướng phát triển các dẫn xuất curcumin có tiềm năng ứng dụng trong dược phẩm, thực phẩm chức năng, cung cấp cơ sở khoa học cho kiểm soát tuyến trùng gây hại.

3. Những thiếu sót của luận án, vấn đề cần bổ sung, sửa chữa

NCS cần tiếp thu, rà soát, chỉnh sửa, bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp trong bản nhận xét của các thành viên Hội đồng và Biên bản của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam.

4. Mức độ đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ về cả nội dung và hình thức theo các quy chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo

Luận án của NCS Đinh Thị Tú đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ ngành “Hóa học các hợp chất thiên nhiên”, mã số 9 44 01 17 về nội dung và hình thức theo các quy chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo và của Học viện Khoa học và Công nghệ.

NG SÁN
QC VI
HOA H
ÔNG N
HOC VÀ C

Kết luận:

Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng: 07/07 thành viên tán thành.

Hội đồng kết luận thông qua luận án, đề nghị Học viện Khoa học và Công nghệ công nhận kết quả bảo vệ và cấp bằng tiến sĩ cho NCS Đinh Thị Tú.

Quyết nghị này được 07/07 thành viên Hội đồng biểu quyết công khai thông qua.

THƯ KÝ



TS. Trịnh Thị Thu Hương

CHỦ TỊCH



GS.TS. Thái Hoàng

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung



Hà Nội, ngày 02 tháng 07 năm 2026

**BIÊN BẢN CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Căn cứ quyết định số 340 - QĐ/HVKHCN ngày 27 tháng 05 năm 2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, Hội đồng đã họp vào hồi 14h30 ngày 02 tháng 07 năm 2026 tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 đường Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội để đánh giá luận án tiến sĩ.

Nghiên cứu sinh: **Đinh Thị Tú**

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Phạm Minh Quân

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Ngô Kim Chi

THAM DỰ BUỔI BẢO VỆ GỒM CÓ

- Đại diện cơ sở đào tạo:
 - 1. PGS.TS. Hoàng Thanh Sơn – Giám đốc Học viện KHCN
- Đại diện Viện Hóa học:
 - 1. PGS.TS. Đỗ Hữu Nghị
- Đại diện Cơ quan chủ quản của NCS:
 - 1. GS.TS. Phạm Quốc Long
- Thành viên Hội đồng có mặt: 7/7 thành viên
 - 1. GS.TS. Thái Hoàng, Chủ tịch Hội đồng



2. PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân, Phản biện 1
 3. PGS.TS. Phạm Thị Tâm, Phản biện 2
 4. TS. Trịnh Thị Thu Hương, Thư ký Hội đồng
 5. PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Tú, Ủy viên
 6. PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm, Ủy viên
 7. PGS.TS. Trần Thu Hương, Ủy viên
- Thành viên Hội đồng vắng mặt:
 - Đại diện tập thể cán bộ hướng dẫn: PGS.TS. Phạm Minh Quân, PGS.TS. Ngô Kim Chi.
 - Cùng tham dự buổi bảo vệ còn có nhiều cán bộ nghiên cứu khoa học trong và ngoài Học viện.

TIẾN TRÌNH BUỔI BẢO VỆ

1. *Đại diện cơ sở đào tạo, CV. Nguyễn Thị Thanh Ngân*, tuyên bố lý do, giới thiệu đại biểu và đọc quyết định số 340-QĐ/HVKHCN ngày 27 tháng 05 năm 2026 của Giám đốc HVKHCN về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho NCS Đinh Thị Tú và đề nghị Chủ tịch Hội đồng điều khiển phiên họp.
 2. *Chủ tịch Hội đồng, GS.TS. Thái Hoàng*, công bố danh sách thành viên có mặt là 07, thông qua chương trình buổi bảo vệ, đề nghị Thư ký thông báo các điều kiện chuẩn bị cho buổi bảo vệ
 3. *Thư ký Hội đồng, TS. Trịnh Thị Thu Hương* thông báo các điều kiện cho buổi bảo vệ
 - Đã nhận đủ 07 nhận xét của các phản biện và các thành viên HĐ.
 - Lịch bảo vệ của NCS đã được đăng trên Cổng thông tin điện tử Học viện Khoa học và Công nghệ ngày 16/06/2026.
 - Các giấy tờ cần thiết khác.
- NCS Đinh Thị Tú có đủ các điều kiện về thủ tục để bảo vệ luận án trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện.
4. Các thành viên hội đồng và những người tham dự thông qua về lý lịch khoa học và quá trình đào tạo của nghiên cứu sinh.
 5. Nghiên cứu sinh Đinh Thị Tú trình bày nội dung luận án trong 30 phút trước Hội đồng. Báo cáo của NCS bao gồm các nội dung chính như sau:
 - Mở đầu: Nêu tính cấp thiết của đề tài - Curcumin - tiềm năng và hạn chế
 - Tổng quan về chi nghệ, tình hình nghiên cứu ở Việt Nam và trên thế giới về cây nghệ vàng *Curcua longa*.

- Mục tiêu và Nội dung nghiên cứu
 - Đối tượng và phương pháp nghiên cứu
 - Kết quả nghiên cứu chính:
 - Đề xuất: + Mở rộng phương án bán tổng hợp, tiếp tục thiết kế và tổng hợp các dẫn xuất curcuminoid theo các hướng can thiệp cấu trúc mới tại vị trí C4 của hệ β -diketone (ngưng tụ Knoevenagel) hoặc tạo phức kim loại chuyển tiếp (Zn^{2+} , Cu^{2+}) để tối ưu hóa độ hòa tan và dược tính.
+ Đẩy mạnh công cụ *in silico*, lấy dữ liệu mô phỏng động lực học phân tử (MD) và dược động học (ADMET/Lipinski) làm kim chỉ nam để định hướng trước cấu trúc cho quá trình bán tổng hợp.
 - Kết luận
 - Danh mục các công bố.
6. Các phản biện đọc bản nhận xét và đặt câu hỏi đánh giá luận án của NCS Đinh Thị Tú

1) **PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Phản biện 1:** đọc nhận xét đánh giá luận án và kết luận (có văn bản kèm theo).

- **Ưu điểm:** Luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao, đóng góp mới trong việc cung cấp cơ sở khoa học về thành phần và hoạt tính của curcuminoid từ nghệ vàng Việt Nam. Kết quả nghiên cứu phong phú, tích hợp đa ngành (hóa học, sinh học, tin sinh học). Khối lượng công bố rất xuất sắc với 02 bài báo quốc tế Q1, 01 bài Scopus và 01 bài tạp chí chuyên ngành trong nước. Luận án đã bán tổng hợp thành công các dẫn xuất lai hóa mới có hoạt tính sinh học vượt trội so với curcumin ban đầu.
- **Góp ý:**
 - Hình 1.1. Cây nghệ vàng (*C. longa*) (trang 10): Nên sử dụng ảnh chụp mẫu cây/tiêu bản cây Nghệ vàng của chính tác giả, không nên dùng ảnh vẽ hoặc ảnh copy trên mạng internet.
 - Thống nhất sử dụng thuật ngữ "củ" hay là "thân rễ", "rễ" của cây Nghệ vàng.
 - Trang 28 (Hình 1.4): Xem lại cách viết "vị trí nhóm mang màu đặc trưng".
 - Trang 30 (Hình 1.5): Bỏ các chú thích không cần thiết; cho hình vẽ cấu trúc hóa học to hơn, vẽ lại liên kết hydro nội phân tử cho chính xác.
 - Trang 36 và 37: Xem lại và chỉnh sửa thống nhất về đánh số thứ tự carbon của zerumbone ở phần diễn giải trang 36 và phần hình vẽ trang 37.
 - Phần biện luận phổ xác định cấu trúc hoá học của ba hợp chất curcuminoid phân lập được từ củ Nghệ vàng (CUR - trang 63, DMC - trang 64, BDMC - trang 66): Thông số phổ khối lượng ghi chính xác theo đúng số liệu nhận được từ phổ LC-HRMS (có 4 số sau dấu phẩy). Sửa "mũi ion phân tử giả ở

m/z? ("mũi ion phân tử ở m/z"/" mũi ion tại m/z" thành "peak ion giả phân tử tại m/z...")

- Các bảng kết quả đánh giá hoạt tính *in vitro* của ba dẫn xuất tổng hợp được (4), (5) và (6) ở các trang 83, 84, 87: Thống nhất ghi kết quả theo trình tự các dẫn xuất (4), (5) và (6) cho dễ theo dõi.
- Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: in nghiêng tên khoa học của chi/loài thực vật/vi sinh vật; không in nghiêng tên khoa học của họ thực vật.
- Thống nhất sử dụng thuật ngữ hóa học: hoặc viết theo tiếng Việt, hoặc viết theo tiếng anh (vd: etanol/ethanol)
- Phần Kết luận nên biên tập lại cho rõ ràng hơn.
- Ở phần "Những đóng góp mới của luận án" trong quyền Tóm tắt luận án: Cần viết lại rõ ràng và chính xác hơn.

• **Câu hỏi:**

Câu hỏi 1: Làm rõ nguyên tắc và phương pháp thu thập 10 mẫu đất và rễ nghệ (M1-M10) tại vùng nguyên liệu?

Câu hỏi 2: Tại sao dẫn xuất số 4 có hoạt tính *in vitro* tốt nhất nhưng NCS lại không thực hiện mô phỏng *in silico* cho hợp chất này mà lại tập trung vào các curcuminoid tự nhiên?

Câu hỏi 3: Tại sao màu vàng của nghệ khi tiếp xúc với xà phòng (môi trường kiềm) lại chuyển sang màu đỏ? Nhóm mang màu nào quyết định hiện tượng này?

2) **PGS.TS. Phạm Thị Tâm - Phản biện 2:** đọc nhận xét đánh giá luận án và kết luận (có văn bản kèm theo).

- **Ưu điểm:** Luận án được thực hiện công phu, có cách tiếp cận liên ngành, kết hợp giữa hóa học các hợp chất thiên nhiên, sinh học phân tử và các phương pháp mô phỏng tính toán hiện đại. Các kết quả nghiên cứu có giá trị khoa học và thực tiễn, bám sát mục tiêu nghiên cứu đã đề ra. Các số liệu nghiên cứu phong phú; luận án được trình bày tương đối khoa học, các bảng biểu, hình vẽ và tài liệu tham khảo được trình bày rõ ràng. Công bố quốc tế chất lượng cao (Q1) khẳng định luận án đạt hiệu quả tốt về mặt khoa học.
- **Góp ý:** Luận án cần chuẩn hóa thuật ngữ khoa học, tên Latin, từ viết tắt và văn phong để bảo đảm tính thống nhất. Cần trình bày phần tổng quan, kết quả và biện luận theo hướng logic, tăng tính liên kết giữa các nội dung, làm rõ cơ sở lựa chọn nguyên liệu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu. Một số nhận định, kết luận cần bổ sung căn cứ khoa học, làm rõ mối liên hệ giữa tuyến

trùng và hàm lượng curcuminoid, bổ sung xử lý thống kê và tiêu chí đánh giá. Đồng thời, cần tăng cường phần biện luận và điều chỉnh các kiến nghị phù hợp với phạm vi, kết quả nghiên cứu.

- **Câu hỏi:** Trong nghiên cứu *in silico* (mục 3.4 & 3.5), tại sao NCS lựa chọn 3 dạng curcuminoid tự nhiên để mô phỏng mà không sử dụng các dẫn xuất bán tổng hợp đã được chứng minh có hoạt tính tốt hơn?

7. Các thành viên khác trong Hội đồng đưa ra ý kiến nhận xét; Hội đồng và những người tham dự đặt câu hỏi

PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Tú - Ủy viên

- Đề tài mang tính liên ngành rõ nét, hướng nghiên cứu hiện đại khi kết hợp hóa học hợp chất thiên nhiên với tin sinh học. Khối lượng công bố quốc tế rất xuất sắc (2 bài Q1, 1 Scopus), khẳng định uy tín khoa học của NCS.
- Đối tượng nghiên cứu cần làm rõ khái niệm nghệ vàng. Trong phương pháp nghiên cứu bổ sung phương pháp lấy mẫu đất, phương pháp phân tích tính chất lý hóa của đất và mật độ quần thể tuyến trùng.
- **Câu hỏi:** Tại sao NCS chỉ sử dụng Curcumin tinh khiết để tạo dẫn xuất mà không sử dụng những thành phần khác như: DMC, BDMC?

PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm - Ủy viên

- Kết quả nghiên cứu rất tốt, phản ánh trung thực quá trình làm việc nghiêm túc của NCS. Việc phát hiện loài tuyến trùng mới là một đóng góp có giá trị về mặt sinh học cho ngành được liệu.
- Không nên dùng các từ so sánh định lượng như "mạnh gấp bao nhiêu lần" đối với các thử nghiệm sinh học vì sai số cho phép thường khá lớn. Phần kiến nghị hiện đang quá dài, cần cô đọng lại. Tên loài tuyến trùng cần chuẩn hóa lại theo danh pháp thực vật (bỏ chữ "sp. n." sau khi đã công danh).
- **Câu hỏi:** Cách tính hàm lượng Curcuminoid tổng từ các mẫu M1-M10 được thực hiện như thế nào? Loài tuyến trùng mới phát hiện có tính đại diện và đặc trưng cho cây nghệ vàng tại Việt Nam hay không?

PGS.TS. Trần Thu Hương - Ủy viên

- Đánh giá cao NCS và tập thể hướng dẫn khi chọn đối tượng nghệ vàng – một đối tượng đã được nghiên cứu rất nhiều – nhưng vẫn tìm ra hướng đi mới là lai hóa dẫn xuất và nghiên cứu ảnh hưởng của sinh vật gây hại (tuyến trùng). Kết quả nghiên cứu rất phong phú và có giá trị.

- Còn một số lỗi hình thức, lỗi hóa trị của cacbon trong các công thức cấu trúc (ví dụ trang 80). Chỉnh sửa lỗi in ấn, thống nhất một số thuật ngữ hóa học theo quy định (trong luận án cũng như tóm tắt luận án).
- **Câu hỏi:** NCS khẳng định các dẫn xuất mới có tính "thân dầu". Vậy tính thân dầu là gì? Giải thích tại sao hai dẫn xuất mới có tính thân dầu?

TS. Trịnh Thị Thu Hương - Thư ký Hội đồng

- Đề tài luận án có tính cần thiết, tính thời sự, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn; Luận án không trùng lặp với các công trình đã công bố ở trong và ngoài nước; Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và với mã số chuyên ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên; Các phương pháp sử dụng để thực hiện luận án là phù hợp, hiện đại. Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Đánh giá cao các kết quả đạt được của luận án và đề nghị Hội đồng cho phép NCS Đinh Thị Tú bảo vệ luận án tại Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.
- Tài liệu tham khảo cần trình bày theo đúng qui định; Sửa các lỗi in ấn, chề bản.

GS.TS. Thái Hoàng - Chủ tịch Hội đồng

- Khối lượng thực nghiệm lớn, các kết quả được giải thích hợp lý, có cơ sở khoa học. Bản luận án có kết cấu phù hợp, trình bày rõ ràng, hình vẽ in màu đẹp. Tác giả sử dụng thành thạo các công cụ mô phỏng hiện đại (*in silico*) giúp rút ngắn thời gian nghiên cứu.
- Luận án còn thiếu mục tiêu cụ thể ở phần đầu. Trong Chương 1, cần chỉ rõ các hình vẽ tương ứng với phần nội dung trình bày. Cần bổ sung phần so sánh hoạt tính sinh học của các dẫn xuất bán tổng hợp với các công trình của các nhóm tác giả khác trong và ngoài nước để làm nổi bật thế mạnh của đề tài.
- **Câu hỏi:** Nếu có điều kiện về kinh phí và dự án, NCS dự định sẽ tiến hành thử nghiệm *in vivo* sử dụng dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC trên mô hình bệnh mãn tính cụ thể nào?

8. Thư ký đọc nhận xét của 02 chuyên gia phản biện độc lập.
9. NCS Đinh Thị Tú tiếp thu ý kiến nhận xét của các thành viên của Hội đồng. NCS trả lời các câu hỏi của các thành viên Hội đồng và trình bày giải trình nhận xét của 02 chuyên gia phản biện độc lập. (*Phụ lục kèm theo*)
10. Đại diện tập thể hướng dẫn phát biểu ý kiến bằng văn bản.
11. Hội đồng tiến hành họp riêng để bầu ban kiểm phiếu, bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua quyết nghị của Hội đồng.

1) Bầu ban kiểm phiếu gồm:

- Trưởng ban: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm
- Ủy viên: PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân
- Ủy viên: TS. Trịnh Thị Thu Hương

2) Bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua Quyết nghị của Hội đồng.

- Trưởng ban kiểm phiếu, PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm công bố kết quả kiểm phiếu (có biên bản kiểm phiếu).
- Chủ tịch Hội đồng, GS.TS. Thái Hoàng, thông qua Quyết nghị (có văn bản kèm theo).

3) Tóm tắt nghị quyết của Hội đồng

3.1. Tính phù hợp của tên đề tài và sự không trùng lặp về nội dung luận án

- Tên đề tài, nội dung và kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với Ngành đào tạo “Hóa học các hợp chất thiên nhiên”, mã số “9 44 01 17”.
- Nội dung của luận án không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ và các kết quả nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước.
- Các tài liệu tham khảo của luận án có nội dung phù hợp và đã được trích dẫn trong luận án.

3.2. Các kết quả chính của luận án

- Đã cung cấp cơ sở khoa học mới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các curcuminoid từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam, đồng thời làm sáng tỏ mối liên hệ giữa hàm lượng bisdemethoxycurcumin (BDMC) với sự xuất hiện của loài tuyến trùng mới (*Scutellonema curcumae*) trên rễ cây nghệ.
- Đã bán tổng hợp thành công các dẫn xuất mới và kết hợp nghiên cứu *in silico* (mô phỏng docking, động lực học phân tử) với thực nghiệm *in vitro* góp phần làm rõ cơ chế chống oxy hóa, kháng viêm ở cấp độ phân tử, làm cơ sở khoa học cho thiết kế và phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học cao hơn.
- Kết quả nghiên cứu góp phần nâng cao giá trị sử dụng của cây Nghệ vàng, định hướng phát triển các dẫn xuất curcumin có tiềm năng ứng dụng trong dược phẩm, thực phẩm chức năng, cung cấp cơ sở khoa học cho kiểm soát tuyến trùng gây hại.

3.3. Các điểm cần bổ sung chỉnh sửa trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam

NCS cần tiếp thu, rà soát, chỉnh sửa, bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp trong bản nhận xét của các thành viên Hội đồng và Biên bản của Hội

đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam.

3.4. Mức độ đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ về cả nội dung và hình thức

- Luận án của NCS. Đinh Thị Tú đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ ngành “Hóa học các hợp chất thiên nhiên”, mã số “9 44 01 17” về nội dung và hình thức theo các qui chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo, của Học viện Khoa học và Công nghệ.

- Đề nghị Học viện Khoa học và Công nghệ công nhận kết quả bảo vệ và cấp bằng tiến sĩ cho NCS Đinh Thị Tú sau khi chỉnh sửa, bổ sung luận án theo các góp ý của Hội đồng.

12. Tổng kết

- Trưởng ban kiểm phiếu, PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm, công bố kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án.
- Chủ tịch Hội đồng, GS.TS. Thái Hoàng, đọc Quyết nghị của Hội đồng.
- Chủ tịch Hội đồng tuyên bố Hội đồng đã hoàn thành nhiệm vụ và trao lại quyền điều khiển cho Cơ sở đào tạo.
- Các đại biểu và NCS phát biểu ý kiến.
- Đại diện cơ sở đào tạo tuyên bố kết thúc buổi bảo vệ luận án tiến sĩ.

Biên bản họp Hội đồng này được 7/7 ủy viên Hội đồng biểu quyết công khai thông qua.

Buổi họp Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện kết thúc vào lúc 17 giờ 30 phút, ngày 02 tháng 07 năm 2026.

Thư ký Hội đồng



TS. Trịnh Thị Thu Hương

Chủ tịch Hội đồng



GS.TS. Thái Hoàng

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**

Nguyễn Thị Trung

PHỤ LỤC

NCS TRẢ LỜI CÂU HỎI CỦA HỘI ĐỒNG

NCS trả lời câu hỏi của 2 phản biện:

Câu hỏi 1: Làm rõ nguyên tắc và phương pháp thu thập 10 mẫu đất và rễ nghệ (M1-M10) tại vùng nguyên liệu?

Trả lời: Về phương pháp lấy mẫu: 10 mẫu (ký hiệu M1-M10) được thu theo phương pháp lấy mẫu đại diện tại các điểm khác nhau trong vùng trồng, phản ánh sự đa dạng về điều kiện sinh thái (địa hình, độ che phủ, tình trạng sinh trưởng của cây). Tại mỗi điểm, mẫu đất vùng rễ và mẫu rễ được thu ở tầng canh tác và trộn đều tạo mẫu tổ hợp đại diện; mỗi mẫu được phân tích song song về tính chất lý hóa của đất, mật độ quần thể tuyến trùng và hàm lượng curcuminoid, làm cơ sở cho phân tích tương quan.

Câu hỏi 2: Tại sao dẫn xuất số 4 có hoạt tính *in vitro* tốt nhất nhưng NCS lại không thực hiện mô phỏng *in silico* cho hợp chất này mà lại tập trung vào các curcuminoid tự nhiên?

Trả lời: Đây cũng là câu hỏi của PGS.TS Phạm Thị Tâm hỏi, em xin được trả lời: Nghiên cứu tập trung ba curcuminoid tự nhiên (CUR, DMC, BDMC) để góp phần giải thích hệ thống và đầy đủ hơn về mối quan hệ giữa thành phần hàm lượng và cấu trúc, hoạt tính của curcuminoid tự nhiên, định hướng tạo sản phẩm từ thiên nhiên (nghiên cứu đầy đủ *in silico* và *in vitro*). Bên cạnh đó, luận án phát triển tổng hợp được thêm các dẫn xuất mới có hoạt tính tốt, đặc biệt hợp chất 4 trong thử nghiệm *in vitro*, đây là tín hiệu rất tốt. Thầy trò đã và đang định hướng tiếp tục nghiên cứu sàng lọc *in silico* của các hợp chất bán tổng hợp này trên các đích như BDMC và các đích khác, tuy nhiên do thời gian và giới hạn của khuôn khổ không cho phép nên mới chỉ tập trung vào các curcuminoid tự nhiên.

Câu hỏi 3: Tại sao màu vàng của nghệ khi tiếp xúc với xà phòng (môi trường kiềm) lại chuyển sang màu đỏ? Nhóm mang màu nào quyết định hiện tượng này?

Trả lời: Màu của curcumin do hệ liên hợp π kéo dài trên toàn phân tử quyết định, mà trung tâm là hệ β -diketone cùng hai nhóm hydroxyl phenol. Curcumin tồn tại chủ yếu ở dạng cân bằng keto-enol; Dạng cân bằng keto-enol có bản chất thuận nghịch theo pH. Trong môi trường xà phòng có tính kiềm, các proton này bị tách, tạo anion curcuminat. Quá trình có bản chất thuận nghịch theo pH: khi acid hóa trở lại, phân tử được proton hóa và màu

vàng phục hồi -đây cũng là cơ sở để curcumin được dùng làm chất chỉ thị pH tự nhiên.

NCS trả lời câu hỏi của các thành viên Hội đồng:

PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Tú (Ủy viên)

- **Câu hỏi:** Tại sao NCS chỉ sử dụng Curcumin tinh khiết để tạo dẫn xuất mà không sử dụng những thành phần khác như: DMC, BDMC?
- **NCS trả lời:** Lựa chọn curcumin tinh khiết làm nguyên liệu đầu vì ba lý do. Thứ nhất, về nguồn liệu: CUR chiếm 70-80% tổng curcuminoid, dồi dào và dễ thu hồi tinh khiết ở lượng lớn, trong khi DMC và BDMC chỉ 15-20% và 5-10%, không đủ khả thi để tổng hợp lượng lớn dẫn xuất. Thứ hai, và quan trọng nhất, về cấu trúc: phản ứng ghép nối của chúng tôi xảy ra tại nhóm -OH phenol. Hai nhóm methoxy của CUR đẩy electron, làm tăng tính ái nhân của oxy phenol, nên phản ứng ether hóa thuận lợi hơn; đồng thời tạo tính đối xứng cho phân tử, giúp sản phẩm sạch và dễ khẳng định cấu trúc.

PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm (Ủy viên)

- **Câu hỏi:** Cách tính hàm lượng Curcuminoid tổng từ các mẫu M1-M10 được thực hiện như thế nào? Loài tuyến trùng mới phát hiện có tính đại diện và đặc trưng cho cây nghệ vàng tại Việt Nam hay không?
- **NCS trả lời:** Tương quan giữa mật độ tuyến trùng và hàm lượng curcuminoid nếu để biết chính xác thì thực hiện nghiên cứu trồng nuôi cấy và theo dõi ảnh hưởng trực tiếp của tuyến trùng trên cây nghệ (là thí nghiệm lây nhiễm có kiểm soát). Tuy nhiên, luận án theo hướng lấy mẫu và theo dõi ngẫu nhiên trong tự nhiên để thấy mức độ ảnh hưởng tự nhiên. Thực tế phân tích mẫu nhận thấy danh sách các loại tuyến trùng khác, chúng em đã làm rõ trong bản thảo sửa đổi rằng Tổng số tuyến trùng (trong Bảng 2) bao gồm một tỷ lệ lớn tuyến trùng sống tự do, chiếm khoảng 70% quần thể trong đất và là các chỉ thị không gây bệnh cho sức khỏe của đất. Đối với các tuyến trùng ký sinh thực vật khác, các chi như *Helicotylenchus* spp. và *Discocriconemella* spp. có xuất hiện nhưng chỉ ở mật độ không đáng kể (dưới 5 cá thể/100g đất) so với *S. curcumae* sp. n. Điều này xác nhận rằng *S. curcumae* là tác nhân gây stress sinh học chiếm ưu thế trong các mẫu nghiên cứu.

PGS.TS. Trần Thu Hương (Ủy viên)

- **Câu hỏi:** NCS khẳng định các dẫn xuất mới có tính "thân dầu". Vậy tính thân dầu là gì? Giải thích tại sao hai dẫn xuất mới có tính thân dầu?

- **NCS trả lời:** Tính thân dầu là đặc tính mô tả khả năng phân tử hòa tan trong môi trường kém phân cực (lipid, dầu, dung môi hữu cơ không phân cực) và ít tan trong nước. Đại lượng đặc trưng là hệ số phân bố octanol-nước, biểu thị qua LogP (hoặc ClogP khi tính toán bằng phần mềm); giá trị càng lớn thì tính thân dầu càng cao.

GS.TS. Thái Hoàng (Chủ tịch Hội đồng)

- **Câu hỏi:** Nếu có điều kiện về kinh phí và dự án, NCS dự định sẽ tiến hành thử nghiệm *in vivo* sử dụng dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC trên mô hình bệnh mãn tính cụ thể nào?
- **NCS trả lời:** Dựa trên kết quả nghiên cứu của luận án, BDMC cho thấy khả năng ức chế sản sinh NO tốt ($IC_{50} = 91,22 \mu g/ml$) và có ái lực bền vững với phức hệ TLR4/MD-2 trong mô phỏng MD. Đây là con đường tín hiệu khởi phát phản ứng viêm. Do đó, trong thời gian tới, NCS dự kiến sẽ phát triển dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC và tiến hành thử nghiệm *in vivo* trên mô hình chuột bị viêm loét đại tràng (gây ra bởi dextran sulfate sodium - DSS) hoặc mô hình viêm khớp dạng thấp mạn tính. Cấu trúc tinh giản và độ bền hóa học cao của BDMC rất phù hợp để vượt qua các rào cản chuyển hóa tại hệ tiêu hóa, mang lại tác dụng kháng viêm tại chỗ và toàn thân tốt hơn cho các bệnh lý này.

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 02 tháng 7 năm 2026, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đinh Thị Tú theo Quyết định số 340 - QĐ/HVKHCN ngày 27 tháng 05 năm 2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ.

Đề tài: Nghiên cứu phân lập, tinh chế curcumin và bán tổng hợp các dẫn xuất của nó theo định hướng hoạt tính sinh học *in vitro* và *in silico* từ cây Nghệ vàng *Curcuma longa* L. Việt Nam.

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên Mã số: 9 44 01 17

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. Phạm Minh Quân
2. PGS.TS. Ngô Kim Chi

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	Góp ý chung của Hội đồng	
	NCS cần tiếp thu, rà soát, chỉnh sửa, bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp trong bản nhận xét của các thành viên Hội đồng và Biên bản của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam.	NCS xin chân thành cảm ơn, đã tiếp thu, chỉnh sửa và bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp của Hội đồng.

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung

2	Góp ý của GS.TS. Thái Hoàng – Chủ tịch Hội đồng	
2.1	Cần bổ sung mục tiêu của luận án.	NCS xin cảm ơn, đã tiếp thu và bổ sung mục tiêu cụ thể của luận án vào phần Mở đầu để làm nổi bật định hướng nghiên cứu (Trang 2).
2.2	Trong Chương 1. Tổng quan, cần đề cập/chỉ ra các hình còn thiếu trong phần trình bày/text ở các tiểu mục tương ứng (các Hình 1.1, 1.4-1.7).	NCS đã rà soát toàn bộ Chương 1, bổ sung câu dẫn và trích dẫn các Hình 1.1, 1.4 - 1.7 vào đúng các tiểu mục tương ứng trong văn bản theo góp ý của Chủ tịch Hội đồng.
2.3	Ở Chương 3. Kết quả và thảo luận, cần so sánh hoạt tính sinh học của các sản phẩm bán tổng hợp (curcumin-monozerumbone và curcumin-biszerumbone) do đề tài tổng hợp với các sản phẩm tương tự của các nhóm tác giả ở trong và ngoài nước. Cần so sánh hoạt tính kháng viêm bởi mô phỏng docking phân tử và động lực học phân tử của BDMC của đề tài với các sản phẩm tương tự của các nhóm tác giả ở trong và ngoài nước.	NCS đã bổ sung thêm phần biện luận ở Chương 3. - Cụ thể, đối với kết quả <i>in vitro</i>, NCS đã lập bảng so sánh hoạt tính kháng viêm và gây độc tế bào của dẫn xuất lai hóa curcumin-monozerumbone với một số dẫn xuất lai hóa của curcumin đã được công bố trên thế giới (Mục 3.3.4, trang 83). Đối với kết quả mô phỏng <i>in silico</i> (docking và MD) của BDMC trên phức hệ TLR4/MD-2. - NCS cũng đã đối chiếu mức năng lượng liên kết với các chất ức chế chuẩn hoặc các phối tử đã công bố để làm nổi bật ái lực liên kết của cấu trúc không chứa nhóm methoxy (Mục 3.5.1, trang 101).
2.4	Trong thời gian tới, NCS sẽ tiến hành thử nghiệm <i>in vivo</i> sử dụng dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC trên mô hình bệnh mạn tính nào?	NCS xin cảm ơn câu hỏi/góp ý của chủ tịch hội đồng. NCS xin trả lời: Dựa trên kết quả nghiên cứu của luận án, BDMC cho thấy khả năng ức chế sản sinh NO tốt ($IC_{50} = 91,22 \mu g/ml$) và có ái lực bền vững với phức hệ TLR4/MD-2 trong mô phỏng MD. Đây là con đường tín hiệu khởi phát phản ứng viêm. Do đó, trong thời gian tới, NCS dự kiến sẽ phát triển dòng thực phẩm chức năng giàu BDMC và tiến hành thử nghiệm <i>in vivo</i> trên mô

		hình chuột bị viêm loét đại tràng (gây ra bởi dextran sulfate sodium - DSS) hoặc mô hình viêm khớp dạng thấp mạn tính. Cấu trúc tinh giản và độ bền hóa học cao của BDMC rất phù hợp để vượt qua các rào cản chuyển hóa tại hệ tiêu hóa, mang lại tác dụng kháng viêm tại chỗ và toàn thân tốt hơn cho các bệnh lý này.
3	Góp ý của PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân – Phản biện 1	
3.1	Hình 1.1. Cây nghệ vàng (<i>C. longa</i>) (trang 10): Nên sử dụng ảnh chụp mẫu cây/tiêu bản cây Nghệ vàng của chính tác giả, không nên dùng ảnh vẽ hoặc ảnh copy trên mạng internet.	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Phản biện 1. - Về Hình 1.1 trong Chương 1 (Tổng quan), mục đích của hình ảnh này là để cung cấp cho người đọc một cái nhìn toàn cảnh, minh họa đầy đủ các đặc điểm thực vật học đặc trưng của loài <i>Curcuma longa</i> L. (bao gồm hệ thống lá, cấu trúc cụm hoa và củ), phục vụ cho nội dung mô tả đặc điểm thực vật ở tiểu mục 1.2.1. Do đó, NCS xin phép được giữ lại hình ảnh này và đã bổ sung trích dẫn nguồn gốc dưới hình để đảm bảo tính học thuật. - NCS xin báo cáo rằng ảnh chụp thực tế mẫu vật (củ nghệ vàng) thu thập tại Kon Tum và sử dụng làm nguyên liệu trực tiếp cho các thí nghiệm đã được NCS trình bày chi tiết tại Hình 2.1 (Mẫu củ nghệ vàng <i>C. longa</i> L.) trong Chương 2 (Đối tượng và phương pháp nghiên cứu).
3.2	Thống nhất sử dụng thuật ngữ "củ" hay là "thân rễ", "rễ" của cây Nghệ vàng.	NCS đã thống nhất sử dụng thuật ngữ "thân rễ" trong toàn bộ luận án theo góp ý của Phản biện 1.
3.3	Trang 28 (Hình 1.4): Xem lại cách viết "vị trí nhóm mang màu đặc trưng".	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Phản biện 1. Ở Hình 1.4, NCS là muốn chỉ ra cấu trúc chromophore

		(cấu trúc mang màu) tạo nên màu vàng đặc trưng của hệ curcuminoid. Tuy nhiên, cụm từ cũ (vị trí nhóm mang màu) chưa thật sự chuẩn xác vì đây không phải là một nhóm thể cục bộ mà là một hệ liên hợp xuyên suốt. NCS đã tiếp thu và sửa lại tên Hình 1.4 thành: 'Hệ liên hợp mang màu đặc trưng' để phản ánh đúng bản chất hóa lý của phân tử (Trang 28).
3.4	Trang 36 và 37: Xem lại và chỉnh sửa thống nhất về đánh số thứ tự carbon của zerumbone ở phần diễn giải trang 36 và phần hình vẽ trang 37.	NCS đã chỉnh sửa lại để khớp hoàn toàn phần text mô tả (trang 35) với đánh số thứ tự các nguyên tử carbon trên Hình vẽ (trang 36), đảm bảo tính logic và thống nhất.
3.5	Phân biện luận phổ xác định cấu trúc hoá học của ba hợp chất curcuminoid phân lập được từ củ Nghệ vàng (CUR - trang 63, DMC - trang 64, BDMC - trang 66): Sửa "mũi ion phân tử giả ở m/2? ("mũi ion phân tử ở m/z"/" mũi ion tại m/z" thành "peak ion giả phân tử tại m/z..."	NCS đã sửa đổi toàn bộ các cụm từ 'mũi ion phân tử giả ở m/z...' hoặc 'mũi ion tại m/z...' thành thuật ngữ chuyên ngành chuẩn xác là 'peak ion giả phân tử tại m/z...' trong toàn bộ các phần biện luận phổ MS của ba hợp chất curcuminoid theo góp ý của Phản biện 1.
3.6	Các bảng kết quả đánh giá hoạt tính <i>in vitro</i> của ba dẫn xuất tổng hợp được (4), (5) và (6) ở các trang 83, 84, 87: Thống nhất ghi kết quả theo trình tự các dẫn xuất (4), (5) và (6) cho dễ theo dõi.	NCS đã sắp xếp lại các hàng trong Bảng 3.7 (trang 82), Bảng 3.8 (trang 83) và Bảng 3.9 (trang 86). Trình tự các chất được thống nhất từ trên xuống dưới theo đúng logic tổng hợp là: Curcumin-monozerumbone (4), Curcumin-biszerumbone (5) và Dipropargyl curcumin (6) để người đọc dễ dàng theo dõi, đối chiếu mức độ hoạt tính.
3.7	Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: in nghiêng tên khoa học của chi/loài thực vật/vi sinh vật; không in nghiêng tên khoa học của họ thực vật.	NCS đã rà soát lại toàn bộ văn bản theo đúng quy tắc danh pháp quốc tế: - Đảm bảo in nghiêng toàn bộ tên chi và loài (ví dụ: <i>Curcuma longa</i> L., <i>Scutellonema curcumae</i> sp. n., ...).

		- Đảm bảo in đúng tên các Họ (ví dụ: Zingiberaceae, Hoplolaimidae...). Chữ 'sp. n.' và 'L.' (tên tác giả) cũng đã được định dạng in đúng.
3.8	Thống nhất sử dụng thuật ngữ hóa học: hoặc viết theo tiếng Việt, hoặc viết theo tiếng anh (vd: etanol/ethanol)	NCS đã sử dụng hệ thống danh pháp và thuật ngữ hóa học theo tiếng Anh (bảo lưu nguyên gốc) nhằm đảm bảo tính hội nhập và thống nhất trong toàn quyền luận án.
3.9	Phần Kết luận nên biên tập lại cho rõ ràng hơn.	NCS đã viết lại phần Kết luận (trang 110) theo hướng cô đọng, súc tích hơn, lược bỏ những diễn giải dài dòng mang tính chất của phần Thảo luận.
3.10	Ở phần "Những đóng góp mới của luận án" trong quyền Tóm tắt luận án: Cần viết lại rõ ràng và chính xác hơn.	NCS đã viết lại mục Những đóng góp mới của luận án trong quyền Tóm tắt luận án theo hướng rõ ràng, chính xác và thống nhất với quyền Luận án như góp ý của Phản biện 1.
4	Góp ý của PGS.TS. Phạm Thị Tâm – Phản biện 2	
4.1	Về thuật ngữ khoa học, văn phong: Cần nhất quán trong việc trình bày tên Latin của cây nghệ vàng (<i>Curcuma longa</i> L.), trình bày tên của các dẫn xuất bán tổng hợp. Cần rà soát và chú giải đầy đủ các từ viết tắt trong toàn bộ luận án, các từ viết tắt cần được trình bày đầy đủ khi xuất hiện lần đầu tiên trong văn bản. Chỉnh sửa các lỗi văn phong (văn nói, câu khó hiểu, câu chưa thuần Việt), ví dụ: Tuyển trùng mới... và tác động của “nó” đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nghệ củ nghệ (trang 68)?; cơ sở hoạt tính từ thành phần hóa thực vật (tr.8).	NCS xin cảm ơn, tiếp thu và chỉnh sửa theo góp ý của Phản biện 2 trong toàn bộ Luận án. Cụ thể, NCS đã: - In nghiêng và nhất quán tên khoa học <i>Curcuma longa</i> L. trong toàn bộ Luận án. - Rà soát và chú thích toàn bộ từ viết tắt ở lần xuất hiện đầu tiên. - Viết lại các câu văn ở trang 7 và 67 cho rõ nghĩa, thuần Việt. Tại trang 7: Tiêu đề mục 1.1.5 đã được đổi từ "Cơ sở hoạt tính từ thành phần hóa thực vật" thành "Cơ sở hóa học của các hoạt tính sinh học" để đảm bảo tính thuần Việt và đúng bản chất thuật ngữ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Tại trang 67: Tiêu đề mục 3.2 đã được lược bỏ đại từ nhân xưng và biên tập lại thành "Tác động của loài tuyển trùng mới

		<i>Scutellonema curcumae</i> sp. n. đến thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của thân rễ nghệ vàng". - Chính sửa lại các nhận định ở trang 26 và 27 theo hướng khách quan, giảm mức độ khẳng định tuyệt đối.
4.2	Về logic trình bày: Tổng quan tình hình nghiên cứu không nên trình bày theo hướng tách biệt tình hình nghiên cứu trong nước và quốc tế, vì cách tiếp cận này thường dẫn đến việc liệt kê các công trình nghiên cứu, thiếu sự tổng hợp, so sánh, đối chiếu và làm rõ khoảng trống nghiên cứu. Thay vào đó, nên tổ chức nội dung theo từng nhóm vấn đề nghiên cứu nhằm làm rõ những kết quả đã đạt được, những vấn đề còn tồn tại và khoảng trống mà luận án tập trung giải quyết. Phần tổng quan nên được bố cục theo các nhóm nội dung chính liên quan đến: (i) cây nghệ vàng (đặc điểm, phân bố, thành phần có hoạt tính sinh học, yếu tố ảnh hưởng chất lượng như bệnh hại...); (ii) curcuminoid và các hoạt tính sinh học; (iii) các nghiên cứu về tổng hợp, bán tổng hợp dẫn xuất curcumin; (iv) các nghiên cứu <i>in silico</i> trong dự đoán hoạt tính sinh học và cơ chế tác dụng.	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý định hướng của Phản biện 2: - Về vấn đề này, NCS xin phép được giải trình và tiếp thu như sau: Về cấu trúc tổng thể: Chương 1 của luận án đã được thiết kế bám sát theo đúng 4 mạch nội dung chuyên môn mà Phản biện 2 gợi ý, bao gồm: Mục 1.2 (Tổng quan cây nghệ vàng); Mục 1.3 (Hệ curcuminoid); Mục 1.4 (Bán tổng hợp) và Mục 1.5 (Nghiên cứu <i>in silico</i>). - Về việc tách biệt trong nước/quốc tế: Cách trình bày này chỉ áp dụng ở quy mô hẹp tại mục 1.2.2 và 1.2.3. Dụng ý của NCS là thông qua phép đối chiếu này để làm nổi bật sự tương phản (thế giới đã nghiên cứu rất sâu, trong khi tại Việt Nam chưa khai thác đầy đủ bằng công cụ hiện đại), từ đó nhấn mạnh tính cấp thiết của đề tài. Vì khung cấu trúc này đã tạo mạch logic xuyên suốt, NCS xin phép được giữ nguyên các tiểu mục. NCS đã có một đoạn tổng hợp và đánh giá ở cuối mục 1.2.3. Đoạn văn này giúp xâu chuỗi, đúc kết các vấn đề còn tồn tại và vạch rõ vấn đề nghiên cứu mà luận án tập trung giải quyết.
4.3	Về sự kết nối nội dung: Kết quả phát hiện loài tuyến trùng mới gây bệnh cho cây nghệ là một kết quả mới và có ý nghĩa, tuy nhiên nội	Xin trân trọng cảm ơn Phản biện 2 về những nhận xét cho NCS hoàn thiện luận án. NCS xin phép giữ nguyên bố cục hiện tại của Chương 3 và xin

	dung này hiện được lồng ghép vào luận án còn khá khiên cưỡng, chưa tạo được sự kết nối logic và thiếu tính liên kết với các nội dung nghiên cứu khác. Đề tài thực hiện lấy mẫu ở 2 vùng nguyên liệu khác nhau nhưng chưa làm rõ nguyên liệu sử dụng cho nghiên cứu được lựa chọn từ vùng nào, lý do vì sao lựa chọn, chưa thấy có kết quả, phân tích về hàm lượng và chất lượng của hoạt chất. Xem xét điều chỉnh bố cục, đưa lên đầu tiên nội dung đánh giá chất lượng củ nghệ làm nguyên liệu phục vụ nghiên cứu, từ đó lựa chọn củ nghệ để tiếp tục các nội dung phân lập, tách chiết, bán tổng hợp và nghiên cứu tác dụng.	được giải trình làm rõ về ý đồ liên kết logic của các nội dung như sau: - Về việc đặt Mục 3.1 (Xác định cấu trúc) trước Mục 3.2 (Tuyển trùng): Để có thể đánh giá và định lượng một cách chính xác sự biến đổi hàm lượng của từng thành phần CUR, DMC và BDMC dưới tác động của tuyển trùng (ở Mục 3.2), NCS hoàn thiện quy trình phân lập và xác nhận cấu trúc của 3 hợp chất này (ở Mục 3.1) nhằm tạo ra các chất chuẩn tham chiếu. Do đó, Mục 3.1 là công cụ nền tảng để phục vụ cho các đánh giá sinh thái học ở Mục 3.2. - Việc thu mẫu tại hai vùng (Kon Tum và Bắc Kạn) ban đầu nhằm mục đích khảo sát phổ sinh thái rộng của loài tuyển trùng mới. Tuy nhiên, toàn bộ nguyên liệu thân rễ nghệ vàng dùng cho nghiên cứu hóa học (chiết xuất khối lượng lớn, bán tổng hợp ở Mục 3.3) đều được NCS quyết định lựa chọn từ vùng Tu Mơ Rông, Kon Tum. Vì đây là vùng thu được các mẫu có mật độ nhiễm tuyển trùng thấp, đất có độ pH hơi acid phù hợp, giúp đảm bảo hàm lượng hoạt chất (đặc biệt là BDMC) đạt mức tối ưu cao nhất.
4.4	Ở nội dung 3.4 và 3.5: Cần có sự luận giải vì sao lựa chọn 3 dạng curcuminoid (CUR, MDC, BMDC) để nghiên cứu mô phỏng dự đoán hoạt tính quét gốc tự do HOO và ức chế protein TLR4/MD-2 mà không sử dụng các dẫn xuất bán tổng hợp đã được chứng minh có hiệu quả hơn về hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và gây độc tế bào	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Phản biện 2. - Về việc ưu tiên lựa chọn 3 chất curcuminoid cho mô phỏng <i>in silico</i>, NCS xin được luận giải dựa trên trình tự tiếp cận của luận án như sau: Mục đích cốt lõi ban đầu của đề tài là tập trung làm rõ bản chất hoạt tính của hệ curcuminoid trong tự nhiên, qua đó tìm ra thành phần có hoạt tính và độ

		ổn định nhất (chính là BDMC). Mô phỏng <i>in silico</i> ở giai đoạn này được sử dụng như một công cụ để giải mã cơ sở phân tử cho sự vượt trội của chất tự nhiên đó. Sau khi đã tìm hiểu bản chất của nguồn nguyên liệu gốc, luận án tiến hành bán tổng hợp các dẫn xuất mới nhằm tối ưu hóa và gia tăng hoạt tính, hướng tới tạo ra các sản phẩm hữu ích. Hiện tại, trong khuôn khổ thời gian và nguồn lực của một đề tài Tiến sĩ, NCS ưu tiên thiết lập mô hình chuẩn và hoàn thiện dữ liệu <i>in silico</i> cho các chất tự nhiên. - Đối với các dẫn xuất bán tổng hợp, NCS xin tiếp thu ý kiến, coi đây là định hướng cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn và đã đưa nội dung này vào phần Kiến nghị để triển khai trong thời gian tới.
4.5	Về tính khách quan, chính xác của thông tin, dữ liệu: Cần rà soát và điều chỉnh một số nhận định chưa thật sự khách quan hoặc chưa có đủ căn cứ khoa học, ví dụ: nhận định “đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm gợi mở tiềm năng...” (trang 26) cần được cân nhắc về mức độ suy luận. Mục 1.2.6.5 về các tác dụng khác và tính an toàn còn trình bày sơ sài, cần xem xét lại nhận định khẳng định tính an toàn (trang 27). Đối với kết quả ở Bảng 3.4, chưa có đủ căn cứ để kết luận mức độ lây nhiễm tuyến trùng ảnh hưởng đến hàm lượng curcuminoid trong củ nghệ do chưa rõ sự suy giảm là do loài tuyến trùng mới phát hiện, loài khác, hay tác động tổng hợp. Việc phân loại mẫu “nhiễm bệnh ít” chưa	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Phản biện 2 và xin giải trình ngắn gọn như sau: - Về nguyên nhân suy giảm hoạt chất và căn cứ phân loại “nhiễm bệnh ít”: NCS đã loại bỏ cách gọi cảm tính “nhiễm bệnh ít”, thay bằng mô hình Hồi quy tuyến tính (Linear regression) đánh giá toàn diện trên cả 10 mẫu. Phân tích quần xã cho thấy 70% là tuyến trùng sống tự do (không gây hại); các loài ký sinh khác xuất hiện không đáng kể (< 5 cá thể/100g đất). Riêng <i>S. curcumae</i> sp. n. chiếm áp đảo 55,9% - 80% tổng số tuyến trùng ký sinh. Kết quả hồi quy tuyến tính chứng minh Chính quần thể <i>S. curcumae</i> nội ký sinh trong rễ có hệ số tương quan âm mạnh nhất và có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) làm suy

	rõ căn cứ do chưa có thang phân loại. Đồng thời, cần xem xét lại cách trình bày số liệu mật độ tuyến trùng ở Bảng 3.4 ở dạng số thập phân khi chưa có kết quả xử lý thống kê.	giảm curcuminoid. - Về số liệu thập phân tuyến trùng ở Bảng 3.4 do bước quy đổi đơn vị: Số lượng đếm thực tế trên tổng thể tích 1 kg đất, sau đó chia trung bình để chuẩn hóa về đơn vị cá thể/100g đất.
4.6	Về phần biện luận: Xem xét bổ sung phần biện luận kết quả nghiên cứu nhằm làm rõ hơn tính mới, ý nghĩa khoa học và mức độ phù hợp của các kết quả so với mục tiêu. Các kiến nghị về phát triển chế phẩm sinh học kiểm soát tuyến trùng và kiểm soát pH đất canh tác cần được cân nhắc mức độ phù hợp vì chưa được nghiên cứu trực tiếp và chưa đủ căn cứ đưa ra khuyến nghị cụ thể.	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Phản biện 2 nhằm đảm bảo tính chặt chẽ của luận án. NCS xin được tiếp thu và giải trình như sau: - Về việc bổ sung phần biện luận làm rõ tính mới và ý nghĩa: NCS đã bổ sung các đoạn biện luận đối chiếu trực tiếp kết quả của luận án với các công trình trên thế giới vào Chương 3. Cụ thể: so sánh hoạt tính <i>in vitro</i> của dẫn xuất mới curcumin-monozerumbone với các dẫn xuất lai hóa khác (pyrazole, chalcone); và so sánh năng lượng docking của BDMC với các chất ức chế chuẩn. Việc so sánh này giúp làm bật lên tính mới, ý nghĩa khoa học của các cấu trúc đã chọn, đối ứng trực tiếp với mục tiêu góp phần giải mã cơ sở phân tử của luận án. - Về kiến nghị kiểm soát tuyến trùng và pH đất: Do khuôn khổ luận án chỉ dừng ở mức khảo sát sinh thái học hóa học (phát hiện mối tương quan) mà chưa trực tiếp tiến hành các thử nghiệm cải tạo đất hay phun xịt chế phẩm sinh học trên đồng ruộng, nên việc đưa ra khuyến nghị áp dụng thực tiễn ngay là chưa đủ căn cứ. Do đó, NCS đã điều chỉnh lại văn phong ở phần Kiến nghị theo hướng nhằm tạo tiền đề mở hướng cho các đề tài thuộc lĩnh vực nông học, Bảo vệ thực vật trong tương lai tiếp tục

		kiểm chứng trên thực địa.
5	Góp ý của PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Tú – Ủy viên Hội đồng	
5.1	Đối tượng nghiên cứu cần làm rõ khái niệm nghệ vàng. Trong phương pháp nghiên cứu bổ sung phương pháp lấy mẫu đất, phương pháp phân tích tính chất lý hoá của đất và mật độ quần thể tuyến trùng.	NCS xin trân trọng cảm ơn góp ý của Ủy viên Hội đồng nhằm củng cố cơ sở phương pháp luận của đề tài. NCS đã tiếp thu và đã hoàn thiện vào Chương 2 của luận án, cụ thể là: - Đã chỉ rõ tên khoa học (<i>Curcuma longa</i> L.) của nghệ vàng để phân biệt với các loài nghệ khác (nghệ đen, nghệ trắng...) tại mục Đối tượng nghiên cứu. - Đã bổ sung mục 2.5 (trang 54, 55) mô tả chi tiết: (1) Kỹ thuật lấy mẫu đất vùng rễ; (2) Phương pháp đo đặc các chỉ tiêu lý hóa cơ bản của đất (đặc biệt là pH) và (3) Quy trình trích xuất bằng khay Baermann cải tiến để định lượng mật độ quần thể tuyến trùng.
6	Góp ý của PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm – Ủy viên Hội đồng	
6.1	Không nên dùng các từ so sánh định lượng như "mạnh gấp bao nhiêu lần" đối với các thử nghiệm sinh học vì sai số cho phép thường khá lớn.	NCS xin tiếp thu và đã rà soát, chỉnh sửa trong toàn bộ phần Kết quả, Thảo luận và Kết luận. NCS đã xóa bỏ hoàn toàn các cụm từ như "mạnh gấp 3,8 lần" hay "gấp 2,5 lần", và thay thế bằng các cụm từ so sánh xu hướng chuẩn mực hơn như thể hiện hoạt tính tốt hơn, có hiệu lực ức chế tốt hơn so với chất đối chứng, hoặc cải thiện đáng kể hoạt tính sinh học ...
6.2	Phần kiến nghị hiện đang quá dài, cần cô đọng lại.	NCS đã biên tập và cô đọng lại phần Kiến nghị (trang 111). Các nội dung hiện được tóm gọn thành 03 gạch đầu dòng súc tích, chỉ tập trung vào các hướng nghiên cứu tiếp nối cấp thiết (ví dụ: mô phỏng <i>in silico</i> cho các dẫn xuất mới, hoặc thử nghiệm lây nhiễm tuyến trùng <i>in vivo</i>), đảm bảo ngắn

		gọn và đi thẳng vào trọng tâm.
6.3	Tên loài tuyển trùng cần chuẩn hóa lại theo danh pháp thực vật (bỏ chữ "sp. n." sau khi đã công danh).	NCS đã rà soát toàn bộ văn bản luận án, đã lược bỏ hoàn toàn hậu tố "sp. n.", chỉ giữ lại việc giới thiệu là loài mới ở lần xuất hiện đầu tiên. Trong toàn bộ phần biện luận, bảng biểu và kết luận, tên loài đã được chuẩn hóa theo đúng danh pháp là <i>Scutellonema curcumae</i> hay <i>S. curcumae</i> .
6.4	Một số nội dung của luận án cần được rà soát thêm về lỗi chính tả, ký hiệu hoá học và viết hoá thuật ngữ Tiếng Anh.	NCS đã tiến hành rà soát tổng thể và chỉnh sửa trong toàn bộ quyền luận án theo góp ý của Ủy viên Hội đồng.
6.5	Một số lỗi in ấn cần được rà soát lại	NCS đã căn chỉnh lại khoảng cách dòng, ngắt trang và định dạng tiêu đề các bảng biểu để bản in cuối cùng đạt chất lượng hình thức tốt nhất.
6.6	NCS nên thống nhất viết đầy đủ tên tạp chí hoặc viết tắt	NCS đã định dạng lại toàn bộ Danh mục Tài liệu tham khảo theo quy định định dạng luận án tiến sĩ.
7	Góp ý của PGS.TS. Trần Thu Hương – Ủy viên Hội đồng	
7.1	Còn một số lỗi hình thức, lỗi hóa trị của cacbon trong các công thức cấu trúc (ví dụ trang 80).	NCS xin tiếp thu, kiểm tra và chỉnh sửa một số lỗi hình thức, lỗi hóa trị của cacbon trong các công thức cấu trúc trong toàn bộ luận án theo góp ý của Ủy viên Hội đồng.
7.2	Chỉnh sửa lỗi in ấn, thống nhất một số thuật ngữ hóa học theo quy định (trong luận án cũng như tóm tắt luận án).	NCS xin tiếp thu, kiểm tra và đã tiến hành rà soát song song bản Toàn văn luận án và bản Tóm tắt luận án. Toàn bộ các thuật ngữ hóa học, danh pháp nhóm chất (như curcuminoid, sesquiterpenoid, dẫn xuất, xúc tác...) và tên gọi hoạt chất đã được chuẩn hóa thống nhất theo quy định danh pháp Hóa học của IUPAC và Tiêu chuẩn Việt Nam.

8	Góp ý của TS. Trịnh Thị Thu Hương – Ủy viên, Thư ký Hội đồng	
8.1	Tài liệu tham khảo cần trình bày theo đúng qui định	NCS đã rà soát lại toàn bộ Danh mục tài liệu tham khảo. NCS đã tiến hành định dạng lại thống nhất các tài liệu theo đúng quy định của Học viện theo góp ý của Ủy viên, Thư ký Hội đồng.
8.2	Sửa các lỗi in ấn, chế bản.	NCS đã kiểm tra lại toàn văn luận án và tiến hành biên tập lại kỹ lưỡng. Đã khắc phục lỗi in ấn, chế bản, đảm bảo bản in cuối cùng đạt chất lượng nhất góp ý của Ủy viên, Thư ký Hội đồng

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 13 tháng 7 năm 2026

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

(Trường hợp có 02 người hướng dẫn xin chữ ký cả 02 người, ký và ghi rõ họ tên)

NGHIÊN CỨU SINH



PGS.TS. Phạm Minh Quân



PGS.TS. Ngô Kim Chi



Đinh Thị Tú

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



GS.TS. Thái Hoàng