

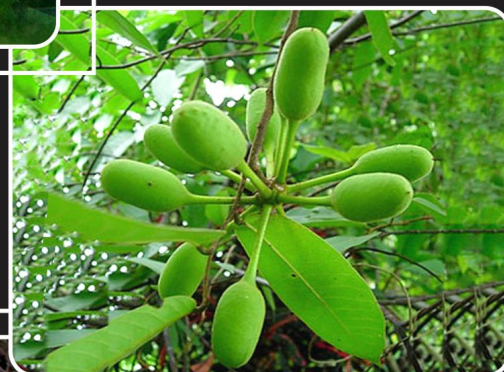
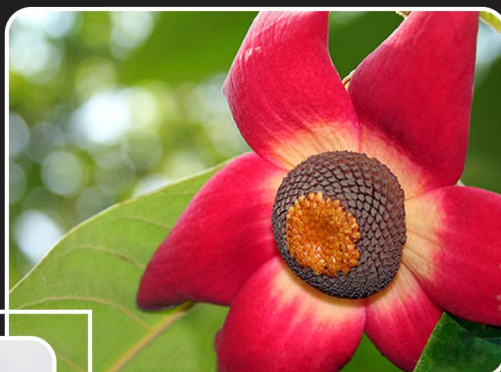
446

6-2013

tap chí

DƯỢC HỌC

SỐ 446 * NĂM THỨ 53 * THÁNG RA 1 KỶ * ISSN 0866 - 7861



CÂY BÙ DẸ TÍA

Uvaria grandiflora Roxb. ex Hornem,
họ Na - Annonaceae



BỘ Y TẾ XUẤT BẢN

Địa chỉ Tòa soạn: 138A Giảng Võ - Hà Nội

Tel: 043.8461430 - 043.7368367

E-mail: tapchiduoc@yahoo.com

NGHIÊN CỨU – KỸ THUẬT

- VŨ THỊ HỒNG HẠNH, BÙI THỊ LAN PHƯƠNG, NGUYỄN THANH HẢI, PHẠM THỊ MINH HUỆ: Nghiên cứu bào chế viên glipizid giải phóng kéo dài theo cơ chế bơm thẩm thấu kéo – đẩy 2
- HỒ VIỆT ĐỨC, LÊ THỊ BÍCH HIỀN, PHAN VĂN KIÊM, ĐỖ THỊ THẢO, NGUYỄN THỊ HOÀI: Tác dụng gây độc tế bào ung thư của dịch chiết phân đoạn và các hợp chất polyoxygenated cyclohexen từ bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora*) 7
- VŨ BÌNH DƯƠNG, VŨ XUÂN NGHĨA, PHẠM XUÂN PHONG: Nghiên cứu khả năng bảo vệ cơ quan tạo máu của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn trên chuột bị chiếu xạ 12
- TẠ VĂN BÌNH, TẠ THANH HẢI: Ảnh hưởng của thuốc HL lên thời gian tiềm tàng và số con ho trong họ thực nghiệm ở chuột 16
- ĐOÀN MINH THỤY, VŨ MẠNH HÙNG, NGUYỄN THỊ BÍCH THU: Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của bài thuốc Khang bảo tử 19
- TRẦN THỊ OANH, TRẦN VĂN ƠN, NGHIÊM ĐỨC TRỌNG: Điều tra tính đa dạng sinh học cây đại bi (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) cho nguồn borneol ở miền Bắc Việt Nam 23
- NGUYỄN TƯỜNG VY, MAI THANH HẢI: Nghiên cứu thiết lập chất đối chiếu vinblastin sulfat 27
- TRƯƠNG NGỌC TUYẾN, TRẦN HỮU DŨNG: Tổng hợp các dẫn xuất 3 vòng có chứa nhân imidazole 34
- CHƯƠNG NGỌC NÃI, VŨ THỊ THÚY HÀ, ĐẶNG VĂN TỊNH, VÕ PHÙNG NGUYỄN, NGUYỄN ĐỨC TUẤN: Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các dẫn chất quang hoạt *cis-N*-heptyl tetrahydro phthalazinon và *cis-N*-benzyl tetrahydro phthalazinon 38
- PHẠM HUY CƯỜNG, NGUYỄN THỊ NGỌC TRÂM, NGUYỄN VĂN ĐỒ, PHAN THỊ PHI PHI: Nghiên cứu tác dụng gây tiết IL-2 và TNF α của chế phẩm trình tử *Crila in vitro* 42
- ĐINH THỊ THANH HẢI, TRẦN VIẾT HÙNG, LÊ VĂN MẠNH: Tổng hợp một số dẫn chất của isatin và thẩm dò tác dụng sinh học 47
- TẠ VĂN BÌNH, HOÀNG MINH CHUNG: Ảnh hưởng của cao Khang man thông ty lên hình thái mô bệnh học gan, thận và chức năng thận ở thỏ 53
- TRƯƠNG NGỌC TUYẾN, HUỖNH NGUYỄN ĐỒNG OANH: Tổng hợp ambroxol acefyllinat từ theophyllin và trans-4-aminocyclohexanol trong phòng thí nghiệm 56
- ĐỖ THỊ NGUYỆT QUẾ, TRẦN THỊ OANH, NGUYỄN TRẦN THỊ GIÁNG HƯƠNG: Đánh giá độc tính bán trường diễn của cấn dịch chiết ethylacetat cầu kỳ tử 60
- NGUYỄN THỊ BÍCH THU, ĐÀO TRỌNG TUẤN: Tác dụng chống viêm của ngũ gia bì gai *Acanthopanax trifoliatum* thông qua con đường ức chế sự hoạt động của NF- κ B trên đại thực bào Raw 264.7 64

Y DƯỢC HỌC NGÀY NAY

TIN TRONG NGÀNH

RESEARCH – TECHNIQUES

- VŨ THỊ HỒNG HẠNH, BÙI THỊ LAN PHƯƠNG, NGUYỄN THANH HẢI, PHẠM THỊ MINH HUỆ: Formulation of push-pull osmotic pump tablets (PPOP) of glipizid 2
- HỒ VIỆT ĐỨC, LÊ THỊ BÍCH HIỀN, PHAN VĂN KIÊM, ĐỖ THỊ THẢO, NGUYỄN THỊ HOÀI: Anticancer cytotoxic bioactivities of the fractional extracts and polyoxygenated cyclohexenes from *Uvaria grandiflora* (Roxb. ex Hornem) 7
- VŨ BÌNH DƯƠNG, VŨ XUÂN NGHĨA, PHẠM XUÂN PHONG: The protective ability of Ly Son black garlic to the hematopoietic system in mice exposed to radiation 12
- TẠ VĂN BÌNH, TẠ THANH HẢI: Study on antitussive effects of the drug HL in mice 16
- ĐOÀN MINH THỤY, VŨ MẠNH HÙNG, NGUYỄN THỊ BÍCH THU: Acute and subchronic toxicity of the drug "Khang bao tử" 19
- TRẦN THỊ OANH, TRẦN VĂN ƠN, NGHIÊM ĐỨC TRỌNG: Biodiversity of the species *Blumea balsamifera* (L.) DC. as natural sources of borneol in the North Vietnam 23
- NGUYỄN TƯỜNG VY, MAI THANH HẢI: Establishment of the reference standard of vinblastine sulfate 27
- TRƯƠNG NGỌC TUYẾN, TRẦN HỮU DŨNG: Synthesis of tri-cyclic derivatives of imidazole 34
- CHƯƠNG NGỌC NÃI, VŨ THỊ THÚY HÀ, ĐẶNG VĂN TỊNH, VÕ PHÙNG NGUYỄN, NGUYỄN ĐỨC TUẤN: Estimation of anti-inflammatory activities of the newly synthesized chiral derivatives - *cis-N*-heptyl tetrahydro phthalazinone and *cis-N*-benzyl tetrahydro phthalazinone 38
- PHẠM HUY CƯỜNG, NGUYỄN THỊ NGỌC TRÂM, NGUYỄN VĂN ĐỒ, PHAN THỊ PHI PHI: *In vitro* IL-2- and TNF α -productive action of the mixed extracts from *Crinum latifolium* L. var. *crilae* (Tram & Khanh) 42
- ĐINH THỊ THANH HẢI, TRẦN VIẾT HÙNG, LÊ VĂN MẠNH: Synthesis and bioactivities of some isatin derivatives 47
- TẠ VĂN BÌNH, HOÀNG MINH CHUNG: Influences of the "Khang man thông ty" extracts on the hepatic and renal histopathological morphology and renal functions in rabbits 53
- TRƯƠNG NGỌC TUYẾN, HUỖNH NGUYỄN ĐỒNG OANH: Laboratorial synthesis of ambroxole acefyllinate from theophylline and trans-4-aminocyclohexanol 56
- ĐỖ THỊ NGUYỆT QUẾ, TRẦN THỊ OANH, NGUYỄN TRẦN THỊ GIÁNG HƯƠNG: Evaluation of subchronic toxicity of the ethyl acetate extracts from the fruits of *Lycium chinense* 60
- NGUYỄN THỊ BÍCH THU, ĐÀO TRỌNG TUẤN: Anti-inflammatory property of *Acanthopanax trifoliatum* by suppressing the activity of NF- κ B on the macrophagocytes Raw 264.7 64

TODAY MEDICINE AND PHARMACY

NEWS IN BRANCH

Tác dụng gây độc tế bào ung thư của dịch chiết phân đoạn và các hợp chất polyoxygenated cyclohexen từ bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora*)

Hồ Việt Đức¹, Lê Thị Bích Hiền¹, Phan Văn Kiệm²
Đỗ Thị Thảo³, Nguyễn Thị Hoài^{1*}

¹Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế, ²Viện Hóa sinh biển,
³Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
*E-mail: hoai77@gmail.com

Summary

In continuance of the study on screening cytotoxic plants that proved the medicinal plant *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem of time-honoured use by the ethnic minorities in Quang Tri Province (Central Vietnam) highly cytotoxic in vitro and the plant chloroform extracts possessing strong cytotoxicity towards two cancer cell lines MDA-BA-321 and MKN7 at IC₅₀ 0.97 and 1.30 µg/ml, respectively, the chloroform extracts were investigated for isolation and structural identification of Subglain B (1), Zeulenone (2), Pipoxide (3) and Zeulenol (4). These findings really encouraged further researches for anticancer agents from natural products.

Keywords: *Uvaria grandiflora*, cytotoxic, polyoxygenated cyclohexen.

Đặt vấn đề

Việt Nam là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng sinh học cao nhất trên thế giới, tuy nhiên đối tượng sử dụng làm thuốc đã được ghi nhận chủ yếu xuất phát từ kinh nghiệm của cộng đồng các dân tộc ở nhiều địa phương trong cả nước. Kinh nghiệm sử dụng thảo dược trong cộng đồng người dân tộc hầu như chỉ được phổ biến qua truyền khẩu từ đời này sang đời khác và có nguy cơ bị thất truyền do nhiều nguyên nhân. Vì vậy, việc bảo tồn tri thức bản địa đóng vai trò quan trọng trong việc gìn giữ bản sắc văn hóa của mỗi dân tộc, đặc biệt nhằm phục vụ hiệu quả cho công tác chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân.

Từ việc điều tra, tìm hiểu các cây thuốc của đồng bào dân tộc Pako, Vân Kiều – tỉnh Quảng Trị chữa các bệnh hiểm nghèo, cây bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem) đã được phát hiện và các công bố trước đây của chúng tôi đã chứng minh tác dụng gây độc tế bào ung thư mạnh của dịch chiết toàn phần^[1]. Bài báo

này tiếp tục thông báo các kết quả nghiên cứu về hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các phân đoạn và 4 hợp chất polyoxygenated cyclohexen được phân lập từ phân đoạn có tác dụng tốt nhất.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là phần trên mặt đất cây bù dẻ tía, có tên khoa học là *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem, thuộc họ Annonaceae. Mẫu nghiên cứu được thu ở huyện Đakrông – tỉnh Quảng Trị, vào thời điểm tháng 10 năm 2011. Mẫu cây nghiên cứu được PGS. TS. Ninh Khắc Bản, TS. Nguyễn Thế Cường – Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học.

Thử nghiệm được tiến hành trên 2 dòng tế bào ung thư: MDA-BA-321 (ung thư vú) và MKN7 (ung thư dạ dày). Các dòng tế bào ung

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

thư: do GS. TS. J. M. Pezzuto, Trường Đại học Hawaii và GS. Jeanette Maier, Trường Đại học Milan, Italia cung cấp.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều chế mẫu thử

Dược liệu được phơi sấy khô, xay nhỏ thành bột mịn, sau đó chiết với methanol tuyệt đối bằng pháp ngâm lạnh (48 giờ/lần x 3 lần). Gộp dịch chiết methanol và cất thu hồi hết dung môi dưới áp suất giảm cho đến cạn thu được cao cồn toàn phần.

Lấy một lượng cao cồn toàn phần phân tán vào nước rồi chiết xuất phân đoạn bằng các phương pháp chiết lỏng-lỏng với các dung môi n-hexan, chloroform, ethylacetat, butanol, thu được dịch chiết các phân đoạn và phần nước còn lại. Cất thu hồi hết dung môi dưới áp suất giảm thu được các cồn tương ứng.

Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

Các dòng tế bào ung thư được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamin, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvat, ngoài ra bổ sung 10 % FBS

(fetal bovine serum) (GIBCO). Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37 °C, 5 % CO₂.

Phép thử sinh học xác định tính độc tế bào (cytotoxic assay) ^[2, 4, 7]

Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute – NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*. Phép thử này được thực hiện theo phương pháp của Monks (1991). Phép thử tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD – Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng sulforhodamin B (SRB). Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn.

Khả năng ức chế sự sống sót của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\% \text{ sống sót} = \frac{[\text{OD}(\text{chất thử}) - \text{OD}(\text{ngày 0})] \times 100}{\text{OD}(\text{đối chứng âm DMSO 10\%}) - \text{OD}(\text{ngày 0})}$$
$$\% \text{ ức chế} = 100\% - \% \text{ sống sót}$$

Các phép thử được lặp lại 3 lần. Ellipticine (Sigma) được sử dụng làm chất đối chứng dương và được thử nghiệm ở các nồng độ 10 µg/ml; 2 µg/ml; 0,4 µg/ml; 0,08 µg/ml. DMSO 10 % được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve. Chất thử nào có IC₅₀ < 20 µg/ml (với chất chiết thô, hoặc với phân đoạn hóa học) hoặc IC₅₀ ≤ 4 µg/ml (với hoạt chất tinh khiết) được xem là có hoạt tính gây độc tế bào và có khả năng ức chế sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư.

Phương pháp nghiên cứu về hoá học

Phân lập các chất tinh khiết bằng sắc ký cột silica gel pha thường (Silica gel 60 0,040-0,063 mm (230-400 mesh ASTM), Merck); silica gel pha đảo YMC (30-50 µm, Fuji Silica Chemical Ltd.); Sephadex LH-20. Theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng pha thường, pha đảo (TLC-Silicagel 60 F₂₅₄ Merck). Phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và

366 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10 % phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các phương pháp phổ: phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) và hai chiều (HMBC, HSQC) đo trên máy Bruker Avance AM500 FT-NMR tại Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, chất chuẩn nội là tetrametyl silan.

Kết quả và bàn luận

Kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi^[1] đã cho thấy, dịch chiết methanol toàn phần của dược liệu có hoạt tính tốt trên cả 6 dòng tế bào ung thư thử nghiệm với các giá trị IC₅₀ từ 0,62 – 7,51 µg/ml. Trong đó, thể hiện hoạt tính tốt nhất với dòng MDA-BA-321 (ung thư vú) và MKN7 (ung thư dạ dày) với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 0,62 và 0,89 µg/ml. Do đó nghiên cứu này đã tiến hành chiết xuất các phân đoạn và

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

thử tác dụng trên 2 dòng tế bào mà dịch chiết toàn phần đã có tác dụng mạnh nhất là MDA-BA-321 và MKN7.

Tác dụng ức chế tế bào ung thư của dịch chiết các phân đoạn

Bảng 1: Kết quả xác định hoạt tính gây độc tế bào của các phân đoạn trên dòng tế bào MDA-BA-321 và MKN7

| Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) | Cao chiết <i>n</i> -hexan (% ức chế) | | Cao chiết cloroform (% ức chế) | | Cao chiết ethyl acetat (% ức chế) | |
|---------------------------------|---|--------|-----------------------------------|-------|--------------------------------------|-------|
| | MDA-BA | MKN7 | MDA-BA | MKN7 | MDA-BA | MKN7 |
| 100 | 104,47 | 100,56 | 99,12 | 97,89 | 98,59 | 98,05 |
| 20 | 93,68 | 91,42 | 97,72 | 96,92 | 79,65 | 80,37 |
| 4 | 37,72 | 39,09 | 94,83 | 74,84 | 31,32 | 32,82 |
| 0,8 | 24,12 | 22,34 | 36,49 | 38,13 | 18,33 | 21,77 |
| IC ₅₀ | 3,27 | 3,42 | 0,97 | 1,30 | 8,44 | 8,08 |

| Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) | Cao chiết <i>n</i> -butanol (% ức chế) | | Cao chiết nước (% ức chế) | | Ellipticin (% ức chế) | |
|---------------------------------|---|-------|------------------------------|-------|--------------------------|-------|
| | MDA-BA | MKN7 | MDA-BA | MKN7 | MDA-BA | MKN7 |
| 100 | 95,70 | 97,35 | 74,91 | 76,55 | 90,77 | 99,78 |
| 20 | 48,16 | 51,21 | 29,47 | 32,08 | 59,72 | 65,72 |
| 4 | 27,19 | 30,02 | 21,84 | 23,49 | 19,76 | 33,33 |
| 0,8 | 21,14 | 20,46 | 14,47 | 17,82 | -0,54 | 5,76 |
| IC ₅₀ | 22,72 | 18,77 | 60,92 | 52,48 | 1,24 | 0,93 |

Chất đối chứng dương, ellipticin với các nồng độ thử nghiệm lần lượt là 10 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 0,4 $\mu\text{g/ml}$ và 0,08 $\mu\text{g/ml}$, hoạt động ổn định và cho giá trị IC₅₀ = 1,24 và 0,93 $\mu\text{g/ml}$ trên 2 dòng tế bào MDA-BA-321 và MKN7 một cách tương ứng. Các kết quả trên là chính xác với $r^2 \geq 0,99$.

Kết quả cho thấy, trong 5 phân đoạn nghiên cứu, dịch chiết nước không thể hiện hoạt tính, còn cả 4 phân đoạn còn lại đều có tác dụng ở các mức độ khác nhau, trong đó phân đoạn cloroform và *n*-hexan thể hiện hoạt tính mạnh nhất với các giá trị IC₅₀ thấp nhất.

Điều này rất có ý nghĩa trong quá trình nghiên cứu thuốc từ dược liệu. Vì như chúng ta biết, khó khăn trong việc phát triển thuốc dân tộc cổ truyền lâu nay là chúng ta thường dùng dịch chiết tổng (dịch chiết toàn phần) mà không tìm ra, không chứng minh được phân đoạn nào có tác dụng. Cao chiết toàn phần với khối lượng lớn rất khó khăn đưa vào các dạng bào chế phân liều hiện đại. Việc chứng minh được thành phần, phân đoạn có tác dụng sẽ định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về hoá học. Và

Cao chiết các phân đoạn của dược liệu (được chiết theo phương pháp ở mục "Phương pháp điều chế mẫu thử") được thử nghiệm tác dụng gây độc tế bào ung thư trên 2 dòng MDA-BA-321, MKN7. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

quá trình chiết xuất phân lập hoạt chất tiếp theo sẽ được thực hiện trong phân đoạn có tác dụng mạnh nhất là dịch chiết phân đoạn cloroform.

Kết quả nghiên cứu về hoá học

Chiết xuất và phân lập các chất tinh khiết

6,0 kg dược liệu đã xay thành bột được ngâm chiết trong methanol (10 lít x 3 lần), dịch chiết sau đó được cô khô ở áp suất thấp, thu được cao cấn. Cấn methanol được phân bố vào nước rồi lần lượt chiết với *n*-hexan, cloroform, ethyl acetat, *n*-butanol cho các phân đoạn chiết *n*-hexan (UGH), cloroform (UGC), ethyl acetat (UGE), *n*-butanol (UGB) và dịch nước còn lại. Dịch nước được tách phân đoạn bằng cột Dianion HP-20, rửa giải bằng hỗn hợp methanol/nước 1/3 - 1/1 - 3/1 - 1/0, thu được 4 phân đoạn (UGW1-4).

Phân đoạn cloroform (UGC) được tách trên cột silica gel, rửa giải lần lượt bằng *n*-hexan/ethyl acetat 100 - 10/1 - 5/1 - 1/1 - 0/100 và methanol 100% thu được 6 phân đoạn (UGC1-6). Phân đoạn UGC4 được tách trên cột silica gel, rửa giải bằng hỗn hợp *n*-cloroform/methanol 40/1, thu được 4 phân đoạn

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

(UGC4A-D). Phân đoạn UGC4A được sắc ký lặp lại với cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi hexan/acetone 5/1 thu được 7 phân đoạn (UGC4A1-7). Phân đoạn UGC4A3 xuất hiện tinh thể trắng khi được cô đặc; tiến hành lọc, rửa tinh thể thu được chất sạch 1 (50 mg). Phân đoạn UGC4A5 được tinh chế bằng cột Sephadex LH-20, rửa giải bằng methanol, thu được chất sạch 2 (200 mg) dưới dạng chất bột trắng, tan được trong methanol, acetone. Phân đoạn UGC4A7 xuất hiện tinh thể trắng khi được cô đặc; tiến hành lọc, rửa tinh thể thu được chất sạch 3 (15 mg).

Phân đoạn UGC4B được tách bằng cột YMC (Rp-18), rửa giải bằng hệ methanol/nước 3/2 - 2/1 thu được 5 phân đoạn (UGC4B1-5). Tinh chế phân đoạn UGC4B2 bằng cột silica gel, rửa giải bằng hexan/acetone 3/1-2/1, thu được 2 phân đoạn (UGC4B2A-B). Phân đoạn UGC4B2B được tách bằng cột YMC (Rp-18), rửa giải bằng hệ acetone/nước 4/3, thu được chất sạch 4 (30 mg).

Xác định cấu trúc của các hợp chất đã được phân lập

Thông qua việc phân tích dữ kiện phổ 1D, 2D – NMR, cấu trúc của các chất sạch 1-4 được xác định là subglain B (1), zeylenon (2), pipoxid (3) và zeylenonol (4). Các thông số hóa lý của chúng được dẫn ra dưới đây:

Subglain B (1): $C_{21}H_{19}ClO_6$ (M = 402,82); bột màu trắng; tan tốt trong chloroform, acetone; $T_{nc} = 187-189^{\circ}C$; $R_f = 0,25$ (hexan/acetone 4/1). ^1H-NMR (500 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 8,05-8,07 (4H, *m*, H-2', 2'', 6', 6''); 7,59-7,64 (2H, *m*, H-4', 4''); 7,45-7,50 (4H, *m*, H-3', 3'', 5', 5''); 6,04 (1H, *ddd*, 10,0 5,0, 2,5 Hz, H-5); 5,88 (1H, *dd*, 10,0, 2,5 Hz, H-4); 5,80 (1H, *br.d*, 7,5 Hz, H-3); 4,82 (1H, *d*, 5,0 Hz, H-6); 4,73 (2H, *d*, 1,5 Hz, H-7); 4,35 (1H, *d*, 7,5 Hz, H-2). $^{13}C-NMR$ (125 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 168,0 & 167,9 (s, C-7', 7''); 134,3 (*d*, C-4', 4''); 131,3 (s, C-1', 1''); 130,6 & 130,7 (*d*, C-2', 2'', 6', 6''); 129,5 & 129,6 (*d*, C-3', 3'', 5', 5''); 129,6 (*d*, C-5); 128,5 (*d*, C-4); 76,6 (s, C-1); 75,3 (*d*, C-3); 70,7 (*d*, C-2); 69,0 (*t*, C-7); 58,6 (*d*, C-6).

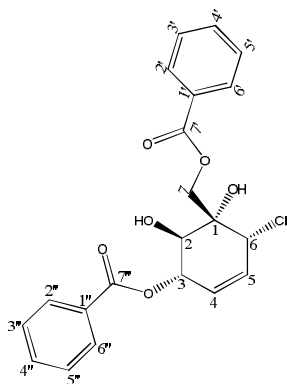
Zeylenon (2): $C_{21}H_{18}O_7$ (M = 382,36); bột màu trắng; tan tốt trong acetone, methanol; $T_{nc} = 155-156^{\circ}C$; $R_f = 0,40$ (hexan/acetone 2/1 hoặc

methanol/nước 3/1). ^1H-NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$), δ (ppm): 8,08 (2H, *d*, 8,0 Hz, H-2', 6''); 7,90 (2H, *d*, 8,0 Hz, H-2', 6''); 7,64-7,70 (2H, *m*, H-4', 4''); 7,51-7,56 (4H, *m*, H-3', 3'', 5', 5''); 7,07 (1H, *dd*, 2,0, 10,5 Hz, H-4); 6,33 (1H, *s*, 1-OH); 6,17 (1H, *dd*, 2,5, 10,5 Hz, H-5); 6,03 (1H, *d*, 6,5 Hz, 2-OH); 5,98 (1H, *td*, 2,0, 10,5 Hz, H-3a) 5,98 (1H, *ddd*, 2,0, 2,5, 8,5 Hz, H-3b); 4,57 (1H, *d*, 10,0 Hz, H-7a); 4,36 (1H, *d*, 10,0 Hz, H-7b); 4,26 (1H, *t*, 7,5 Hz, H-2). $^{13}C-NMR$ (125 MHz, $DMSO-d_6$), δ (ppm): 195,1 (s, C-6); 165,6 (s, C-7''); 165,0 (s, C-7'); 147,4 (*d*, C-4); 133,5 (*d*, C-4''); 133,4 (*d*, C-4'); 129,5 (*d*, C-2'', 6''); 129,4 (s, C-1', 1''); 129,1 (*d*, C-2', 6'); 128,7 (*d*, C-3', 3'', 5', 5''); 127,9 (*d*, C-5); 76,1 (s, C-1); 72,3 (*d*, C-3); 71,3 (*d*, C-2); 61,4 (*t*, C-7).

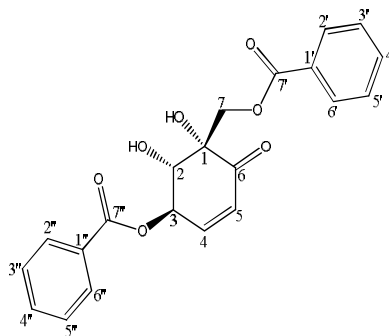
Pipoxid (3): $C_{21}H_{18}O_6$ (M = 366,36); bột màu trắng; tan tốt trong acetone; $R_f = 0,30$ (acetone/nước 2/1), 0,4 (hexan/acetone 5/2), $T_{nc} = 153-154^{\circ}C$. ^1H-NMR (500 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 8,07-8,10 (4H, *m*, H-2', 2'', 6', 6''); 7,62 - 7,67 (2H, *m*, H-4', 4''); 7,49-7,54 (4H, *m*, H-3', 3'', 5', 5''); 6,14 (1H, *ddd*, 10,0, 4,0, 2,5 Hz, H-5); 5,91 (1H, *td*, 10,0, 1,5 Hz, H-4); 5,63 (1H, *ddd*, 8,0, 2,5, 1,5 Hz, H-3); 4,91 (1H, *d*, 12,0 Hz, H-7a); 4,57 (1H, *d*, 12,0 Hz, H-7b); 4,34 (1H, *d*, 8,0 Hz, H-2); 3,66 (1H, *dd*, 4,0, 1,5 Hz, H-6). $^{13}C-NMR$ (125 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 167,7 & 167,5 (s, C-7', 7''); 134,7 (*d*, C-4); 134,4 & 134,5 (*d*, C-4', 4''); 131,4 & 131,0 (s, C-1', 1''); 130,7 (*d*, C-2', 2'', 6', 6''); 129,7 & 129,6 (*d*, C-3', 3'', 5', 5''); 125,8 (*d*, C-5); 75,8 (*d*, C-3); 71,1 (*d*, C-2); 63,7 (*t*, C-7); 61,0 (s, C-1); 55,1 (*d*, C-6).

Zeylenonol (4): $C_{21}H_{20}O_7$ (M = 384,38); bột màu trắng; tan tốt trong acetone; $R_f = 0,50$ (acetone/nước 2/1,2). ^1H-NMR (500 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 8,05 (4H, *d*, 7,5 Hz, H-2', 2'', 6', 6''); 7,56 (1H, *t*, 7,5 Hz, H-4', 4''); 7,45 (2H, *t*, 7,5 Hz, H-3', 3'', 5', 5''); 5,98 (1H, *ddd*, 1,8, 4,3, 10,1 Hz, H-5); 5,84 (1H, *dd*, 2,0, 10,0 Hz, H-4); 5,72 (1H, *dm*, 6,5 Hz, H-3); 4,71 (1H, *d*, 11,5 Hz) (7a); 4,63 (1H, *d*, 11,5 Hz) (7b); 4,38 (1H, *d*, 4,5 Hz, H-6); 4,26 (1H, *d*, 6,5 Hz, H-2). $^{13}C-NMR$ (125 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 168,3 (s, C-7', 7''); 134,1 (*d*, C-4', 4''); 131,5 (s, C-1', 1''); 131,4 (*d*, C-5); 130,6 (*d*, C-2', 2'', 6', 6''); 129,5 (*d*, C-3', 3'', 5', 5''); 127,7 (*d*, C-4); 76,5 (s, C-1); 75,5 (*d*, C-3); 71,1 (*d*, C-2); 70,0 (*d*, C-6); 68,1 (*t*, C-7).

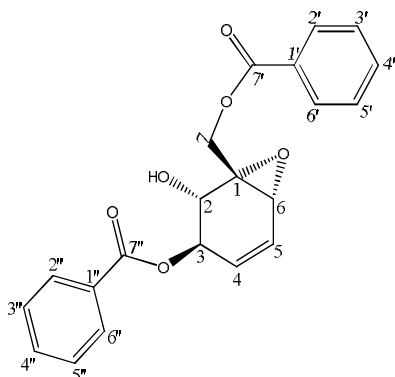
● Nghiên cứu – Kỹ thuật



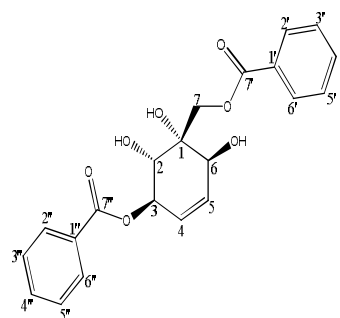
Subglain B (1)



Zeylenon (2)



Pipoxid (3)



Zeylenol (4)

Như vậy cả 4 dẫn chất phân lập được đều thuộc nhóm polyoxygenated cyclohexen. Trong số hợp chất này subglain B (1), pipoxid (3), zeylenol (4) lần đầu tiên được tìm thấy trong thành phần hóa học của cây bù dẻ tía *Uvaria grandiflora*.

Polyoxygenated cyclohexen là một nhóm các hợp chất thiên nhiên thường gặp trong họ Na (Annonaceae) và có khoảng 30 dẫn chất của nhóm này đã được phân lập từ chi *Uvaria* [9]. Trong 10 năm trở lại đây, nhóm hợp chất này được các nhà khoa học chú ý quan tâm bởi các hoạt tính sinh học của chúng như hoạt tính gây độc tế bào ung thư, kháng virus và kháng vi sinh vật. Trong đó chú ý đến kết quả ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư người như KB, HCT-8, Bel 7402, A 2780^[3,6]. Các dẫn chất polyoxygenated cyclohexen phân lập từ *U. kweichowensis* (kweichowenol C, kweichowenol D) cũng cho thấy hiệu lực kháng khối u tốt^[5].

Trong các hợp chất phân lập được, zeylenon (2) đã được chứng minh trước đó là có khả năng ức chế vận chuyển nucleosid trong tế bào ung thư Ehrlich, gây độc các dòng tế bào HCT-8

(ung thư ruột kết), BGC-823 (ung thư dạ dày) và Bel-7402 (ung thư gan) với các giá trị IC₅₀ thấp^[6]. Zeylenol (4) có khả năng ức chế chọn lọc đối với dòng tế bào ung thư máu (HL-60) với IC₅₀ 11,65 µg/ml^[8].

Như vậy, quá trình thực nghiệm đã chiết xuất phân lập được 4 dẫn chất polyoxygenated cyclohexen từ phân đoạn cloroform. Với tác dụng tốt của nhóm này trên các dòng tế bào ung thư, kết quả nghiên cứu đã cung cấp cái nhìn toàn diện hơn về thành phần hóa học của bù dẻ tía, đồng thời đã góp phần chứng minh kinh nghiệm của đồng bào dân tộc Pako, Vân Kiều về việc sử dụng dược liệu này để chữa các bệnh liên quan đến khối u là có cơ sở khoa học.

Kết luận

Dịch chiết các phân đoạn của cây bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem, họ Annonaceae) đã được nghiên cứu hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng MDA-BA-321, MKN7. Kết quả dịch chiết phân đoạn cloroform thể hiện hoạt tính mạnh nhất với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 0,97 và 1,30 µg/ml. Từ phân đoạn cloroform

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

đã chiết xuất phân lập, xác định cấu trúc được 4 hợp chất tinh khiết thuộc nhóm polyoxygenated cyclohexen bao gồm subglain B, zeylenon, pipoxid, và zeylenol.

Các kết quả đạt được mở ra triển vọng mới và cần thiết cho các nghiên cứu tiếp theo về thành phần hoá học và tác dụng dược lý của loài này để có thể ứng dụng trong việc tìm kiếm các hoạt chất có tác dụng phòng và chữa bệnh cho con người.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của Bộ GD&ĐT để thực hiện được nghiên cứu này trong nội dung đề tài “Nghiên cứu các cây thuốc của đồng bào Pako, Vân Kiều ở Miền Trung theo hướng tác dụng chống oxy hoá, diệt tế bào ung thư” (Mã số: B2012-DHH-56).

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Thị Hoài, Trịnh Thị Điệp, Đỗ Thị Thảo, Lê Thị Bích Hiền, Nguyễn Khánh Thuỳ Linh, Hoàng Thị Diệu Hương (2012), “Sàng lọc hoạt tính diệt tế bào ung thư một số cây thuốc của đồng bào Pako – Vân Kiều ở Quảng Trị”, *Tạp chí Dược liệu*, 17, 2, 95-100.
2. A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemake, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, H. Campbell, J. Mayo, M. Boyd (1991), “Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines”, *Journal of National Cancer Institute*, 11(83), 757-766.
3. Alireza Nematollahi, Noushin Aminimoghadamfarouj, Tracey D. Bradshaw, Christophe Wiart (2012), “In vitro cytotoxic activity of two Malaysian rainforest plants on Colon carcinoma cell line”, *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, 2(1), 293-295.
4. D. A. Scudiero, R. H. Shoemaker, K. D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T. H. Nofziger, M. J. Currens, D. Seniff, M. R. Boyd. (1988), “Evaluation of a soluble Tetrazolium/Formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines”, *Cancer Research*, 48, 4827-4833.
5. Feras Q. Alali, Xiao-Xi, Jerry L. Mc Laughlin (1999), “Annonaceous acetogenins: Recent progress”, *J. Nat. Prod*, 62, 504-540.
6. Liao, Y.H. et al. (1997), “Three cyclohexene oxides from *Uvaria grandiflora*”, *Phytochemistry*, 45, 4, 729-732.
7. M. C. Alley, D. A. scudiero, A. Monks, M. L. Hursey, M. J. Czerwinski, D. L. Fine, B. J. Abbott, J. G. Mayo, R. H. Shoemaker, M. R. Boyd., (1988), “Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay”, *Cancer Research*, 48, 589-601.
8. Sook Wah Tang, Mohd Aspollah Sukari, Mawardi Rahmani, Nordin Hj. Lajis, Abdul Manaf Ali (2011), “A New Abietene Diterpene and Other Constituents from *Kaempferia angustifolia* Rosc.”, *Molecules*, 11, 16, 3018-3028.
9. Zhao W, Fan C, Qin G (1999), “A study on major chemical components of *Uvaria grandiflora*”, *China Journal of Chinese Materia Medica*, 24(8), 476-7, 510-501.

Nghiên cứu khả năng bảo vệ cơ quan tạo máu của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn trên chuột bị chiếu xạ

Vũ Bình Dương^{1*}, Vũ Xuân Nghĩa¹, Phạm Xuân Phong²

¹Học viện Quân y - Bộ Quốc phòng

²Viện YHCT Quân đội - Bộ Quốc phòng

*E-mail: vbduong2978@gmail.com

Summary

Black garlic of Ly Son was investigated in view of radiation-resistant bioactivity in mice experimentally exposed to radiation. Mice were divided into four groups: (1) control (CG), (2) radiation (RG), (3) radiation+fresh garlic (RFGG), and (4) radiation+black garlic (RBGG). The black garlic was found to exhibit highly protective potential to the hematopoietic system by the images of bone marrow and lympho node