

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP. HỒ CHÍ MINH



TRẦN THỊ THÚY QUỲNH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC
HƯỚNG TÁC DỤNG SINH HỌC
CỦA CÂY XÁO TAM PHÂN
PARAMIGNYA TRIMERA (OLIV.) BURKILL,
RUTACEAE**

Ngành: Dược học cổ truyền

Mã số: 62720406

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH – Năm 2024

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: **TS. PHẠM ĐÔNG PHƯƠNG**

PGS. TS. ĐỖ THỊ HỒNG TƯƠI

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp
trường họp tại

vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC
GIẢ**
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trần Thị Thúy Quỳnh, Lê Thị Kim Thoa, Phạm Đông Phương, Phân lập một số hợp chất coumarin trong rễ Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill), Tạp chí Dược học, 2014, 54 (5), tr. 60-66
2. Trần Thị Thúy Quỳnh, Nguyễn Trung Dũng, Phạm Đông Phương, Phân lập một vài hợp chất acridon alcaloid trong rễ Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill), Tạp chí Dược học, 2014, 54 (6), tr. 60-64.
3. Nguyễn Thị Ngọc Dung, Trần Thị Thúy Quỳnh, Phạm Đông Phương, Vĩnh Định, Định lượng đồng thời ostruthin và 8-methoxyostruthin trong rễ Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao", Tạp chí Dược học, 2015, 55 (12), tr. 45-49
4. Trần Thị Thúy Quỳnh, Nguyễn Hồng Hạnh, Phan Thị Giang Thủy, Phạm Đông Phương, Đỗ Thị Hồng Tươi, Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và độc tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro* của các phân đoạn từ rễ, thân Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill), Tạp Chí Y Dược học Cần Thơ, 2023, 56, tr.1-8.

1. Giới thiệu luận án

a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Xáo tam phân *Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill, họ Cam (Rutaceae) trong dân gian được dùng để giải nhiệt, bồi bổ cơ thể, mát gan, trị viêm gan, xơ gan. Thời gian gần đây, Xáo tam phân được ca ngợi như một loại “thần dược” và được sử dụng chữa một số loại ung thư. Theo công văn số 359/VDL-QLKHĐT ngày 14/11/2012 của Viện Dược liệu, Bộ Y tế, mẫu Xáo tam phân thu hái ở Hòn Hèo, Khánh Hòa chứa các nhóm chất flavonoid, saponin, alkaloid, coumarin, triterpenoid,...; cao chiết methanol, phân đoạn n-hexan và hợp chất ostruthin phân lập từ thân Xáo tam phân thể hiện hoạt tính độc tế bào trên 5 dòng tế bào ung thư: Ung thư gan người HepG2, ung thư đại tràng người HTC116, ung thư vú người MDA-MB-231, ung thư buồng trứng người OVCAR-8 và ung thư cổ tử cung người Hela, trong đó hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2 và tế bào ung thư cổ tử cung Hela mạnh hơn trên 3 dòng tế bào còn lại.

Sau khi Viện Dược liệu công bố tác dụng của Xáo tam phân thì người dân ở các địa phương nói trên đã đổ xô đào rễ Xáo tam phân để sắc nước uống và bán ra thị trường xem như một “thần dược”. Hệ quả của việc khai thác tràn lan này đã làm cho Xáo tam phân hầu như bị tận diệt. Do khan hiếm nguồn Xáo tam phân tự nhiên, một số người dân đã nghiên cứu nhân giống vô tính thành công và đã trồng khá tập trung trên các vùng đất ven đồi ở một huyện của tỉnh Đồng Nai.

Các nhóm nghiên cứu trong nước và kết hợp với nước ngoài

đã và đang công bố các nghiên cứu về thành phần hoá học, tác dụng sinh học và định tính định lượng về cây Xáo tam phân.

Nhằm mục đích nghiên cứu sâu hơn về thành phần hoá học, tác dụng sinh học cũng như kiểm nghiệm Xáo tam phân, đề tài **“Nghiên cứu thành phần hóa học hướng tác dụng sinh học của cây Xáo tam phân *Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill, Rutaceae”** được thực hiện.

b. Mục tiêu nghiên cứu

- Phân tích thành phần hoá học, thử tinh khiết nguyên vật liệu nghiên cứu.
- Khảo sát tác dụng chống oxy hoá, độc tính tế bào ung thư *in vitro* của cao toàn phần và cao phân đoạn.
- Nghiên cứu chiết xuất và phân lập các hợp chất trong các cao hay phân đoạn tiềm năng.
- Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập.
- Sơ bộ đánh giá cơ chế tác động độc tế bào *in vitro* của các hợp chất phân lập có tiềm năng.
- Thiết lập chất chuẩn và xây dựng quy trình định lượng bằng HPLC.

c. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu dùng để chiết xuất – phân lập – khảo sát tác dụng sinh học: Rễ (4.5 kg), thân (5.3 kg), lá (2 kg) Xáo tam phân được thu hái ở đảo Hòn Lớn, vịnh Vân Phong, xã Vạn Thạnh, huyện Vạn Ninh, tỉnh Khánh Hòa (3/2013)

Nguyên liệu dùng để kiểm nghiệm Rễ (2 kg) Xáo tam phân được thu hái tại cơ sở trồng dược liệu Quang Minh, tỉnh Đồng Nai (3/2017). Các mẫu dược liệu rễ Xáo tam phân được mua ở

các cửa hàng dược liệu ở Đà Lạt-Lâm Đồng, Vĩnh Cửu-Đồng Nai, TP HCM, Tây Ninh, Bình Phước (8/2022)

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm.

d. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn

- Nghiên cứu đã khảo sát hoạt tính chống oxy hoá cao chiết rễ, thân, lá Xáo tam phân bằng phương pháp DPPH cho kết quả EC_{50} theo thứ tự giảm dần từ lá (593,94 $\mu\text{g/ml}$), rễ (274,36 $\mu\text{g/ml}$) và thân (158,14 $\mu\text{g/ml}$) so với mẫu đối chứng acid ascorbic 5,27 $\mu\text{g/ml}$
- Nghiên cứu đã khảo sát hoạt tính chống oxy hoá cao phân đoạn rễ, thân, lá Xáo tam phân. Các cao phân đoạn kém phân cực (*n*-hexan, cloroform) từ rễ, thân thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn cao phân cực (ethyl acetat, nước) và các cao phân đoạn từ rễ thể hiện tác dụng chống oxy hóa *in vitro* tốt hơn các cao từ thân.
- Nghiên cứu đã khảo sát tác động của các cao chiết và cao phân đoạn rễ, thân, lá Xáo tam phân đối với sự tăng trưởng của 2 dòng tế bào khác nhau bao gồm: ung thư vú người MDA-MB-231 và tế bào ung thư gan người HepG2.
- Phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất: ostruthin (PT-1), 8-methoxyostruthin (PT-2), xanthyletin (PT-3), oriciacridon (PT-4), citrussin-1 (PT-5), 3'-hydroxy-3'-methyl-3'-(4''-isoprenyl)-pyranocoumarin (PT-6), demethylsuberosin (PT-7) limonin (PT-8), 6-(2'-hydroxy-3'-methylbut-3'-enyl 7-hydroxycoumarin (PT-9), 6-(6'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',7'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-10), 6-(7'-hydroxy-3',7'-

dimethylocta-2',5'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-11), hỗn hợp của 2 chất thuộc nhóm phytosterol là stigmasterol và β -sitosterol (PT-12).

- Phân lập 2 chất chính ostruthin (PT-1), 8-methoxyostruthin (PT-2) với khối lượng từ 300 - 600 mg làm nguyên liệu thiết lập chất đối chiếu.
- Đánh giá hoạt tính độc tế bào của ostruthin và 8-methoxyostruthin: giá trị IC_{50} của ostruthin và 8-methoxyostruthin đối với tế bào HepG2 lần lượt gấp 4,9 lần và 7,3 lần IC_{50} của chất đối chiếu sorafenib (40,095 μ M và 60,112 μ M so với 8,222 μ M). Giá trị IC_{50} của ostruthin và 8-methoxyostruthin đối với tế bào MDA-MB-231 lần lượt là 32,416 μ M và 47,805 μ M so với giá trị IC_{50} của chất đối chiếu sorafenib là 6,099 μ M. Trên hai dòng tế bào MDA-MB-231 và HAK1B, protein KDM2A ảnh hưởng đến tác động của 8-methoxyostruthin lên quá trình tăng trưởng của tế bào.
- Thiết lập 2 chất đối chiếu gồm ostruthin (PT-1), 8-methoxyostruthin (PT-2) bằng phương pháp định lượng HPLC-PDA hàm lượng của 2 CĐC từ 97,8% - 99,0% tính theo nguyên trạng.
- Đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin bằng phương pháp HPLC trong mẫu Xáo tam phân.
- Ứng dụng quy trình định lượng để định lượng một số mẫu rễ Xáo tam phân thu mua trên thị trường.

e. Bố cục của luận án

Luận án có 155 trang không bao gồm tài liệu tham khảo,

gồm các 3 phần: Đặt vấn đề 3 trang; tổng quan tài liệu 34 trang; đối tượng và phương pháp nghiên cứu 27 trang; Kết quả nghiên cứu 64 trang; Bàn luận 22 trang; Kết luận và kiến nghị 5 trang; 46 bảng, 34 hình và 35 phụ lục thể hiện các kết quả thực nghiệm

2. Tổng quan tài liệu

2.1. Đặc điểm chi *Paramignya* và cây Xáo tam phân

Tên chi *Paramignya* được Robert Wight đưa ra năm 1839 dựa trên loài chuẩn là *Paramignya monophylla* thu được ở Ấn Độ. Theo các dữ liệu thực vật học của The Plant List đến năm 2018, có 30 loài được cho là thuộc chi *Paramignya*. Ở Việt Nam, chi *Paramignya* có 7 loài đã được ghi nhận gồm: *Paramignya armata* Oliv. var. *andamanica* King, 1874 (Cựa gà, Gai xanh, Quýt gai), *Paramignya griffithii* Hook. F, 1875 (Xáo Griffith), *Paramignya hispida* Pierre ex Guill, *Paramignya monophylla* Wight, 1840 (Xáo một hoa), *Paramignya petelotii* Guill, 1944 (Xáo Pételot), *Paramignya scandens* (Griff.) Craib, 1926) (Xáo leo), *Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill (Xáo tam phân)

Sơ lược về cây Xáo tam phân

Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill) là một loài cây gỗ nhỏ, dạng dây leo. Rễ hình trụ, có nhiều nếp nhăn dọc, mùi thơm. Thân non màu xanh lục, thân già màu xám, tiết diện tròn, có gai. Lá đơn, mọc so le, không có lá kèm, Cụm hoa: Xim hai ngã. Các bộ phận của cây thường có tinh dầu, nhiều nhất ở rễ, có mùi thơm dịu rất đặc trưng. Xáo tam phân đã được tìm thấy ở một số quốc gia ở Châu Á như: Thái Lan, Malaysia,

Ấn Độ, Indonesia. Theo Phạm Hoàng Hộ (2003) thì Xáo tam phân trước đây được tìm thấy ở núi Lấp Vò, tỉnh Bình Dương. Gần đây loài này được ghi nhận mọc tự nhiên ở Hòn Hèo, huyện Ninh Hòa, tỉnh Khánh Hòa và một số khu vực khác ở tỉnh Ninh Thuận. Bộ phận dùng là rễ, thân, lá, quả, thu hái vào mùa khô, rửa sạch, thái nhỏ, dùng tươi hay phơi khô, sắc nước uống.

Thành phần hóa học

Theo các tài liệu nghiên cứu trên thế giới chi *Paramignya* có 30 loài, cho đến nay các nghiên cứu về hóa thực vật đã tập trung vào các bộ phận khác nhau (rễ, thân, vỏ thân, lá, cành và quả) của bốn loài *P. trimera*, *P. scandens*, *P. griffithii*, *P. monophylla*. Các thành phần hóa học của chi *Paramignya* bao gồm coumarin, coumarin glycosid, acridon alkaloid, tirucallan saponin, flavonoid, phenol, chromen và megastigman.

Tác dụng dược lý

Đánh giá sinh học đầu tiên được thực hiện trong việc sàng lọc hoạt động chống khối u của thân và lá *P. lobata* ở Kuala Lumpur.

Các triterpenoid loại tirucallan được phân lập từ *P. scandens* có tác dụng dược lý như chống kết tập tiểu cầu, kháng viêm, trị ngứa, có khả năng giãn mạch và ức chế enzym 11β - hydroxysteroid dehydrogenase trên chuột đồng thời có tác động lên protease của virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV-1) gây độc tế bào lên các dòng tế bào ung thư ở người như SK-Mel-2 (tế bào ung thư hắc tố), LU-1 (tế bào ung thư phổi) và MCF-7 (tế bào ung thư vú),.

. Các nghiên cứu gần đây cho thấy tác dụng dược lý của dịch chiết từ Xáo tam phân: hoạt tính bảo vệ gan, tác dụng ức chế tốt viêm gan cấp (gây độc bằng CCl_4) ở thí nghiệm trên chuột nhắt, tác dụng gây độc tế bào ung thư trên 5 dòng tế bào ung thư là ung thư gan HepG2, ung thư đại tràng HTC116, ung thư vú MDA MB231, ung thư buồng trứng OVCAR-8 và ung thư cổ tử cung Hela, hoạt tính ức chế α -glucosidase.

Công dụng

Từ lâu, tại các nước Châu Á, các loài thuộc chi *Paramignya* đã được các lương y sử dụng rộng rãi trong dân gian như một vị thuốc quý. Xáo tam phân được người dân Việt Nam sử dụng trong điều trị nhiều bệnh ung thư và bồi bổ sức khỏe. Cành và thân Xáo tam phân dùng chữa viêm gan vàng da, xơ gan cổ trướng, ung thư gan. Xáo tam phân có vị hơi đắng, hậu vị ngọt, tính bình, mùi thơm dễ chịu, không độc, quy vào kinh Tâm, Can, Tỳ, Phế, Thận, Tâm Bào. Dùng tươi, khô, sắc lấy thuốc uống, ngâm rượu hoặc tán thành bột mịn.

2.2. Tổng quan khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Có nhiều phương pháp để khảo sát tác dụng chống oxy hóa *in vitro*. Dựa trên phản ứng hóa học giữa các hợp chất chống oxy hóa và các gốc tự do, các phương pháp khảo sát tác dụng chống oxy hóa *in vitro* được phân loại thành hai loại: Thử nghiệm cho nguyên tử hydro (HAT) và thử nghiệm cho electron (SET).

Thử nghiệm cho nguyên tử hydro (HAT): Các thử nghiệm dựa trên quá trình chuyển trực tiếp nguyên tử hydro từ chất chống oxy hóa sang gốc tự do⁴⁴. Thử nghiệm dựa trên HAT bao

gồm: Phương pháp ORAC, phương pháp ABTS, TRAP, hoạt động quét gốc hydroxyl, thử nghiệm phân tích lipid, quét các gốc H_2O_2 , phương pháp TOSC⁴⁵

Thử nghiệm cho electron (SET): Các thử nghiệm dựa trên quá trình chuyển một electron từ chất chống oxy hóa sang gốc tự do. Thử nghiệm SET bao gồm: Phương pháp DPPH, phương pháp đánh bắt gốc superoxyd $\text{O}_2^\bullet$, FRAP, TEAC sử dụng ABTS, thử nghiệm CUPRAC, phương pháp Folin–Ciocalteu, phương pháp ức chế gốc oxit nitric, phương pháp đánh giá bằng hàm lượng MDA, khả năng kết hợp với ion sắt (II)

Thử nghiệm đánh bắt gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) phổ biến nhất, nhanh, cho kết quả khá chính xác, chi phí thấp, dễ thực hiện các thí nghiệm, khả năng tái tạo, khả năng áp dụng ở nhiệt độ phòng, cũng như khả năng tự động hóa. Tuy nhiên, phép thử này chỉ mang ý nghĩa xác định khả năng loại bỏ gốc tự do của mẫu cần thử vì DPPH không tồn tại trong cơ thể sống. Phương pháp này dùng trong sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* các mẫu dược liệu. Thử nghiệm dựa trên phản ứng giữa chất chống oxy hóa với DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) làm DPPH màu tím đậm bị khử thành sản phẩm vàng nhạt. Mức độ giảm OD ở 517 nm phản ánh hoạt tính chống oxy hóa của chất thử.

2.3. Mô hình nghiên cứu hoạt tính độc tế bào *in vitro*

Việc xây dựng một mô hình hợp lý và hiệu quả là một yếu tố cần thiết trong việc phát triển một thuốc có khả năng điều trị ung thư, đóng góp vào cơ sở dữ liệu của sự sinh trưởng khối u, cũng như tiến triển của tế bào ung thư trên *in vitro*, thử nghiệm

tính hiệu quả của thuốc dự đoán có khả năng điều trị ung thư, giảm chi phí sàng lọc đặc hiệu. Khảo sát hoạt tính độc tế bào *in vitro* là một bước cần thiết để cung cấp cơ sở khoa học cho các thí nghiệm *in vivo* sau đó. Các nghiên cứu đã chứng minh mối liên hệ mật thiết giữa thử nghiệm *in vitro* và đáp ứng của mẫu thử trên *in vivo*.

Tại các phòng thí nghiệm thường sử dụng các dòng tế bào ung thư người như: Tế bào ung thư gan (HepG2), tế bào ung thư gan người (HAK1B), tế bào ung thư vú người MDA-MB-231, tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa), ung thư biểu mô vú (MCF-7), MCF-7 kháng Tamocifen (MCF-7/TamR), MCF-7 kháng Adriamicin (MCF-7/ADR), ung thư phổi (A549), ung thư buồng trứng (OVCAR-8) trong nghiên cứu *in vitro*.

Phương pháp sử dụng trong khảo sát hoạt tính độc tế bào in vitro

Test đo tỷ lệ sống MTT: Hoạt tính độc tế bào đánh giá qua tỷ lệ sống của tế bào được xác định nhờ hoạt tính enzym succinat dehydrogenase (SDH) của ty thể chỉ có trong tế bào sống. SDH chuyển muối tetrazolium MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)] thành tinh thể formazan tan trong dung môi hữu cơ như isopropanol tạo dung dịch màu tím được đo OD ở 570 nm, sẽ phản ánh số lượng tế bào sống trong mẫu nuôi cấy 31

Ưu điểm: Phù hợp với nhiều dòng tế bào. Phạm vi đường tuyến tính rộng, từ 200 – 1000 đến 50.000-100.000 tế bào/giếng. Tương quan tốt với việc đếm tế bào phóng xạ.

Nhược điểm: MTT không hòa tan được hoàn toàn, sự hiện

diện của phenol đỏ, số lượng tế bào lớn và thiếu glucose sẽ cản trở hoạt động của enzym SDH. Sự giảm của các hoạt chất tham gia vào quá trình chuyển đổi MTT như acid ascorbic, hợp chất chứa sulfhydryl có thể làm thay đổi kết quả.

2.4. Đại cương về kỹ thuật Western blot

Western blot là kỹ thuật lai giữa protein với protein được sử dụng với mục đích phát hiện và phân tích protein, dựa vào việc phát hiện phức hợp kháng thể đặc hiệu - protein được gắn trên màng. Protein kháng nguyên được phát hiện qua phản ứng tạo màu hoặc phát huỳnh quang. Các bước chính của Western blot gồm: chuẩn bị mẫu, điện di trên gel, chuyển protein gel lên màng lai, xử lý màng lai, lai và phát hiện vị trí lai. Kỹ thuật này lần đầu tiên được giới thiệu bởi Towbin năm 1979. Tuy nhiên đến năm 1981, cái tên “Western blot” mới được chính thức thừa nhận và sử dụng rộng rãi. Kể từ lúc được phát hiện đến nay, kỹ thuật đã không ngừng được phát triển để tối ưu hóa cũng như tăng tính ứng dụng. Western blot có thể được dùng để xác định sự có mặt của protein, xác định trọng lượng phân tử của protein hoặc để xác định sự thay đổi của lượng protein do sự thay đổi mức độ biểu hiện gen. Kỹ thuật được sử dụng trong sinh học phân tử, miễn dịch di truyền học và một số ngành khác.

2.5. Đại cương về gen KDM2A

KDM2A biểu hiện bất thường ở các khối u khác nhau và đóng một vai trò quan trọng trong sự hình thành và tiến triển của khối u. Wagner và cộng sự đã chứng minh rằng KDM2A liên kết với vùng khởi động gen phosphatase 3 (DUSP3) đặc hiệu kép và ức chế sự biểu hiện, do đó làm tăng quá trình

phosphoryl hóa ERK1 / 2 và thúc đẩy sự xuất hiện và di căn của ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Một nghiên cứu khác đã báo cáo những phát hiện tương tự đối với KDM2A trong ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, với HDAC3 là gen mục tiêu.

3. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

3.1 Đối tượng nghiên cứu

Xáo tam phân (rễ, thân, lá) được thu hái và thu mua vào các thời điểm khác nhau, phục vụ cho từng mục đích nghiên cứu. Việc định danh và giám định tên khoa học được thực hiện bởi TS. Võ Văn Chi. Nguyên liệu sau khi thu hái được cắt nhỏ, phơi dưới bóng râm, sấy khô rồi xay bột qua rây, đóng gói dán nhãn trước nghiên cứu. Mẫu nguyên liệu được lưu tại Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

3.2. Cỡ mẫu

Nguyên liệu dùng để chiết xuất – phân lập – khảo sát tác dụng sinh học: Rễ (4,5 kg), thân (5,3 kg), lá (2 kg) Xáo tam phân được thu hái ở đảo Hòn Lớn, vịnh Vân Phong, xã Vạn Thạnh, huyện Vạn Ninh, tỉnh Khánh Hòa (3/2013)

Nguyên liệu dùng để kiểm nghiệm Rễ (2 kg) Xáo tam phân được thu hái tại cơ sở trồng dược liệu Quang Minh, tỉnh Đồng Nai (03/2017). Các mẫu dược liệu rễ Xáo tam phân được mua ở các cửa hàng dược liệu ở Đà Lạt-Lâm Đồng, Vĩnh Cửu-Dồng Nai, TP HCM, Tây Ninh, Bình Phước (08/2022)

Dòng tế bào thử nghiệm: Dòng tế bào ung thư vú người MDA-MB-231, dòng tế bào HepG2 được cung cấp từ ATCC (American Type Culture Collection, Mỹ), hoạt hóa và lưu tại Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh. Dòng tế bào MDA-MB-

231 và HAK1B được mua từ ATCC, hoạt hóa và lưu tại Department of Molecular Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Takasaki University of Health and Welfare, Takasaki, Japan.

Chất đối chiếu: Acid ascorbic (Vitamin C) (Viện Kiểm Nghiệm TPHCM) hàm lượng 99,17 %. Quercetin (hàm lượng > 99 %) của Sigma – Aldrich. Doxorubicin, Paclitaxel mua từ công ty Ebewe Pharma (Úc). Sorafenib được cung cấp bởi Bayer HealthCare Pharmaceuticals, USA.

3.3. Địa điểm nghiên cứu

- Khoa Dược, Đại học Y Dược Tp. HCM: Bộ môn Dược liệu, Bộ môn Hóa phân tích – Kiểm nghiệm, Bộ môn Dược lý.
- Khoa Y học cổ truyền: Bộ môn Dược học cổ truyền.
- Khoa Y - ĐH QG TP HCM: Bộ môn Dược liệu - Thực vật
- Department of Molecular Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Takasaki University of Health and Welfare, Takasaki, Japan

3.4. Phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu được thử tinh khiết, định tính, định lượng polyphenol, phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao toàn phần và cao phân đoạn bằng phương pháp DPPH. Chứng dương là acid ascorbic.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao phân đoạn bằng phương pháp định lượng MDA: Mẫu thử phản ứng với dịch đồng thể gan. Thêm đệm phosphat, ủ hỗn hợp 15 phút và dừng phản ứng bằng TCA 10 %, ly tâm, lấy dịch trong phản ứng với acid thiobarbituric, làm lạnh và đo ở 532 nm. Chứng dương là quercetin.

Khảo sát hoạt tính độc tế bào ung thư *in vitro* của cao toàn phần và cao phân đoạn: Mẫu thử được chuẩn bị trong dung dịch DMSO ở nồng độ 50 mg/ml. Chứng dương là paclitaxel 0,5 μ M, doxorubicin 10 μ g/ml.

% ức chế tăng trưởng = $100 - (\text{OD}_{\text{thử}}/\text{OD}_{\text{chứng}} \times 100)$.

Các cao toàn phần khảo sát có hoạt tính sinh học cao được chiết xuất bằng ethanol 96%, lắc phân bố với chloroform (Cf), ethyl acetat (EA), *n*-hexan. Phân lập từ cao phân đoạn có hoạt tính sinh học cao bằng sắc ký VLC, SKC; pha tĩnh silica gel (40-60 μ m).

Xác định cấu trúc các chất phân lập được bằng dữ liệu phổ MS và NMR, so sánh với tài liệu.

Đánh giá hoạt tính độc tế bào của các chất phân lập có tiềm năng. Chứng dương là sorafenib. % ức chế tăng trưởng = $100 - (\text{OD}_{\text{thử}}/\text{OD}_{\text{chứng}} \times 100)$. Khảo sát hoạt tính độc tế bào ung thư của ***các chất phân lập có tiềm năng*** có liên quan đến KDM2A hay không thông qua thử nghiệm Western Blot khảo sát mức độ biểu hiện protein,

Thiết lập chất đối chiếu: Theo hướng dẫn của tài liệu do ASEAN ấn bản. Định tính bằng phổ UV, IR, MS, NMR. Định lượng bằng HPLC-PDA so với chuẩn gốc. Giá trị ấn định được xác định theo hướng dẫn của ISO 13528.

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời các chất phân lập có tiềm năng bằng phương pháp HPLC: Khảo sát điều kiện sắc ký (HPLC); Khảo sát quy trình chuẩn bị mẫu thử; Đánh giá quy trình định lượng theo hướng dẫn của ICH. Ứng dụng qui trình đã xây dựng để định lượng một số mẫu rễ

Xáo tam phân thu mua trên thị trường bằng phương pháp HPLC.

4. KẾT QUẢ

▪ *Phân tích thành phần hoá học, thử tính khiết nguyên vật liệu nghiên cứu*

Nghiên cứu sơ bộ thành phần hoá thực vật cho thấy thành phần hóa học chính nhóm hợp chất coumarin ngoài ra còn có acridon alcaloid, triterpenoid, flavonoid...

Nghiên cứu đã thực hiện thử tính khiết nguyên liệu (độ ẩm rễ, thân, lá cây Xáo tam phân lần lượt là 7,61 %, 7,25 %, 8,81 %, độ tro toàn phần là 3,3 %, 4,31 %, 3,25 %; độ tro không tan trong acid hydrocloric là 0,36 %, 0,3 %, 0,27 %). Hàm lượng chất chiết được từ rễ, thân, lá cây Xáo tam phân với dung môi nước lần lượt là 17,8 %, 1,74 % và 1,53 %.

Nghiên cứu tiến hành định tính và định lượng polyphenol trong các cao chiết còn 96 % từ rễ, thân, lá Xáo tam phân. Hàm lượng polyphenol toàn phần của các cao rễ, thân, lá theo thứ tự là 108,05; 154,45; 52,01 mg pyrogallol/g cao chiết. Hàm lượng polyphenol toàn phần trong cao thân lớn nhất, gấp khoảng 1,5 lần cao rễ và gấp khoảng 2,8 lần cao lá.

▪ *Khảo sát tác dụng chống oxy hoá, độc tế bào ung thư in vitro của cao toàn phần*

Hoạt tính chống oxy hóa của cao toàn phần (rễ, thân, lá) bằng phương pháp DPPH được khảo sát sơ bộ ở nồng độ 1000 µg/ml. Ở nồng độ này, cao toàn phần cho hoạt tính chống oxy hóa lần lượt là 90,70 % (thân), 88,81 % (rễ) và 63,62 % (lá). Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của các cao giảm dần theo thứ tự cao thân (158,14) > cao rễ (274,36) > cao lá (593,94). Cao

thân có hoạt tính chống oxy mạnh gấp 1,73 lần so với cao rễ và gấp 3,76 lần cao lá. Chất đối chứng được sử dụng là acid ascorbic (vitamin C) với EC_{50} là 5,27 $\mu\text{g/ml}$.

Hoạt tính độc tế bào ung thư *in vitro* của cao toàn phần (rễ, thân, lá) ở các nồng độ 100; 50; 25; 12,5; 6,25 $\mu\text{g/ml}$ được khảo sát trên dòng tế bào MDA-MB-231 và dòng tế bào HepG2.

Đối với hoạt tính độc tế bào MDA-MB-231 *in vitro*, giá trị IC_{50} của cao rễ và lá lần lượt là 29,57 $\mu\text{g/ml}$ và 58,35 $\mu\text{g/ml}$, cao rễ mạnh gấp hai lần so với cao lá. Đối với hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2 *in vitro*, giá trị IC_{50} của cao rễ và cao lá lần lượt là 24,91 $\mu\text{g/ml}$ và 86,86 $\mu\text{g/ml}$, cao rễ mạnh gấp khoảng 3,5 lần cao lá. Đối với hoạt tính độc tế bào MDA-MB-231 và HepG2 *in vitro*, cao thân tác động thấp với giá trị $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính độc tế bào ung thư *in vitro* của cao phân đoạn

Các cao phân đoạn n-hexan, cloroform, ethylacetat, nước từ rễ thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh theo thứ tự giảm dần: Cao cloroform (133,41 $\mu\text{g/ml}$) > cao ethyl acetat (180,6 $\mu\text{g/ml}$) > cao n-hexan (377,39 $\mu\text{g/ml}$) > cao nước (559,18 $\mu\text{g/ml}$). Đối với mẫu cao từ thân, các cao có hoạt tính oxy hóa mạnh theo thứ tự giảm dần: Cao ethyl acetat (86,33 $\mu\text{g/ml}$) > cao cloroform (182,27 $\mu\text{g/ml}$) > cao n-hexan (329,28 $\mu\text{g/ml}$) > cao nước (377,68 $\mu\text{g/ml}$). Quercetin làm chất đối chiếu với giá trị EC_{50} là 4,94 $\mu\text{g/ml}$.

Các cao phân đoạn từ thân tác dụng làm giảm lượng MDA: Cao n-hexan (325,91 $\mu\text{g/ml}$) > cao cloroform (420,73 $\mu\text{g/ml}$) >

cao ethyl acetat (422,57 $\mu\text{g/ml}$) > cao nước (11435,16 $\mu\text{g/ml}$).
 Cao phân đoạn từ rễ: Cao n-hexan (383,21 $\mu\text{g/ml}$) > cao cloroform (429,22 $\mu\text{g/ml}$) > cao ethyl acetat (653,98 $\mu\text{g/ml}$) > cao nước (8530,21 $\mu\text{g/ml}$).

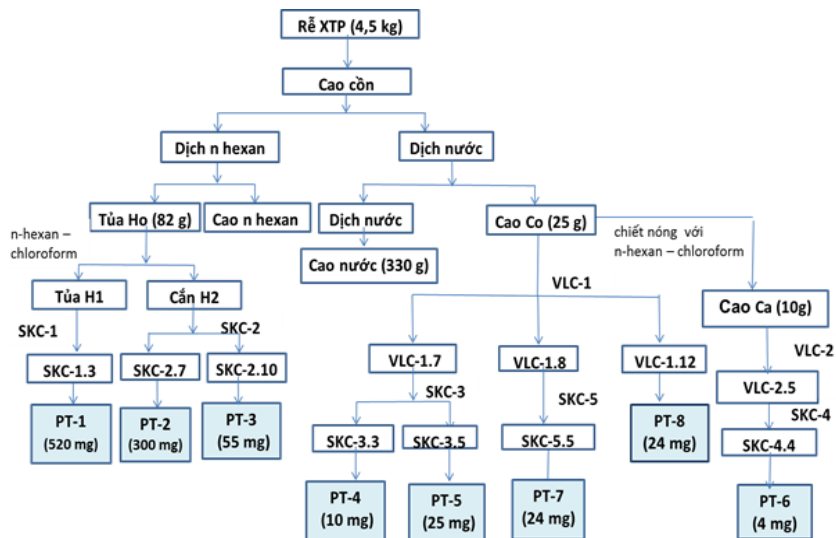
Cao ethyl acetat và cao nước không thể hiện hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2, cao n-hexan và cao cloroform thể hiện hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2, giảm số lượng tế bào sống tỷ lệ thuận với các nồng độ khảo sát.

▪ ***Phân lập các hợp chất từ Xáo tam phân***

Từ kết quả khảo sát hoạt tính sinh học thì thân và rễ được lựa chọn để chiết xuất khối lượng lớn, chiết tách các phân đoạn tiếp theo. các cao phân đoạn kém phân cực (n-hexan, cloroform) thể hiện hoạt tính mạnh hơn nên được lựa chọn phân lập các hợp chất.

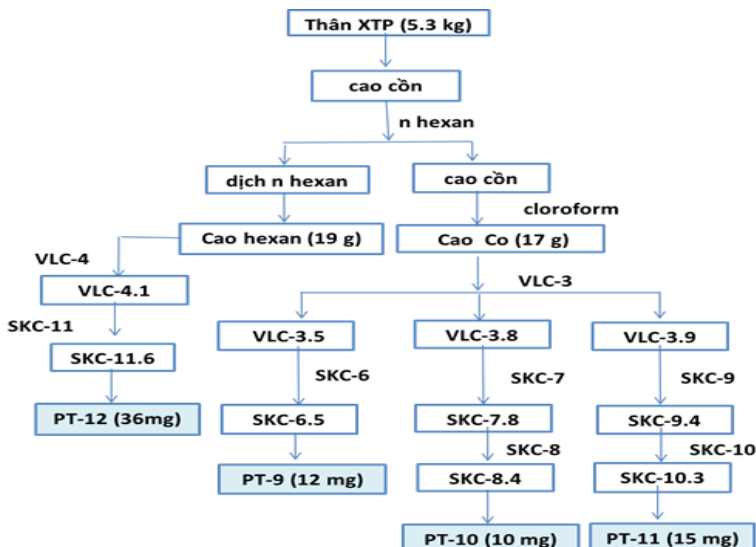
Phân lập các hợp chất từ rễ: 4,5 kg bột rễ được chiết nóng với cồn 96%, lọc, cô thu hồi dung môi bằng cô áp suất giảm, lắ phân bố với các dung môi theo thứ tự độ phân cực tăng dần, thu được tủa Ho (82g) và các cao n-hexan (N₀, 86g), cao chloroform (C₀, 200g), cao ethyl acetat (E₀, 40g) và cao nước (330g).

Sơ đồ phân lập các hợp chất có trong rễ



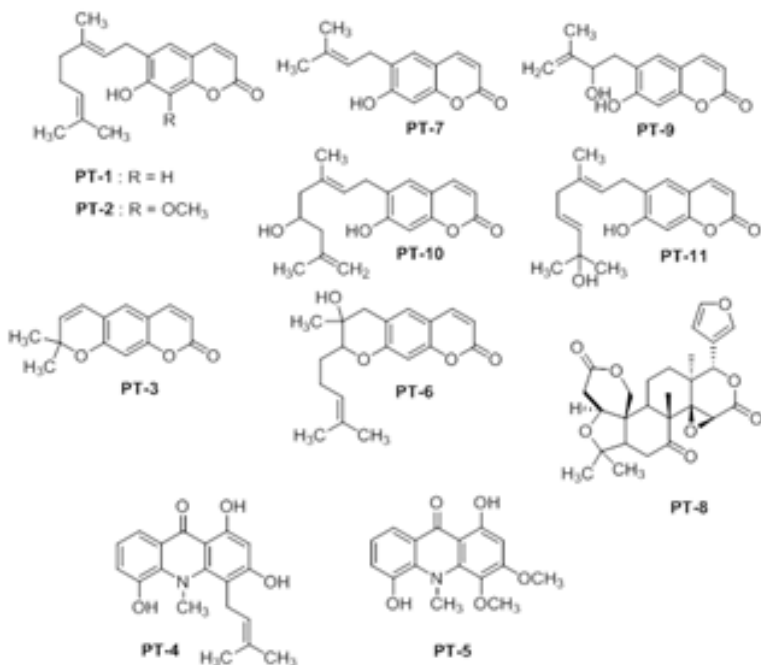
Phân lập các hợp chất từ thân: 5,3 kg bột thân được chiết ngâm kiệt với cồn 96 %, cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, lắc phân bố với các dung môi theo thứ tự độ phân cực tăng dần, cô áp suất giảm cho các cao n-hexan (36 g), cao cloroform (19 g), cao ethyl acetat (39,7 g) và cao nước (92 g).

Sơ đồ phân lập các hợp chất có trong thân



▪ **Xác định cấu trúc các chất phân lập**

Xác định cấu trúc được 8 hợp chất phân lập từ rễ: Ostruthin (PT-1, 520 mg), 8- methoxyostruthin (PT-2, 300 mg), xanthyletin (PT-3, 55 mg), oriciacridon (PT-4, 10 mg), citrussin-1 (PT-5, 25 mg), 3'-hydroxy-3'-methyl-2'-(4''-isoprenyl)-pyranocoumarin (PT-6, 4 mg), demethylsuberosin (PT-7, 24 mg) limonin (PT-8, 24 mg) và 4 hợp chất phân lập từ thân gồm: 6-(2'-hydroxy-3'-methylbut-3'-enyl)-7-hydroxycoumarin (PT-9, 12 mg), 6-(6'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',7'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-10, 10 mg), 6-(7'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',5'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-11, 15 mg), hỗn hợp của 2 chất thuộc nhóm phytosterol là stigmasterol và β -sitosterol (PT-12, 36 mg).



Đánh giá hoạt tính độc tế bào *in vitro* của ostruthin và 8-methoxyostruthin: Trên dòng tế bào HAK1B, ostruthin và 8-methoxyostruthin thể hiện tác động độc tế bào ở các nồng độ khảo sát 12,5 - 100 μ M. So với mẫu chứng, tỷ lệ ức chế tăng trưởng tế bào khoảng 10 % - 70 %. Trên dòng tế bào ung thư MDA-MB-231, ostruthin và 8-methoxyostruthin thể hiện tác động độc tế bào ở các nồng độ khảo sát 25 - 100 μ M. So với mẫu chứng, tỷ lệ ức chế tăng trưởng tế bào khoảng 45 % - 90 %. Ostruthin và 8-methoxyostruthin thể hiện tác động độc tế bào tốt hơn trên dòng tế bào MDA-MB-231 so với dòng tế bào ung thư HAK1B.

Mức độ biểu hiện của protein KDM2A

Kết quả trên hình ảnh Western blot cho thấy sau khi đưa phân tử KDM2A-siRNA vào tế bào HAK1B và tế bào MDA-MB-231, biểu hiện protein KDM2A đã bị bất hoạt gần như hoàn toàn so với nhóm chứng (control siRNA).

Khảo sát vai trò của protein KDM2A

Sau khi xử lý với đối chứng sorafenib trong 72 giờ ở các nồng độ 0.39 - 25 μM , so với nhóm tế bào MDA-MB-231 đối chứng (SiM), thì nhóm tế bào bất hoạt KDM2A (Si97) có tỷ lệ tế bào sống so với mẫu chứng cao hơn, kết quả cho thấy có sự khác biệt rõ giữa nhóm bất hoạt KDM2A và nhóm chứng.

Sau khi xử lý tế bào MDA-MB-231 với ostruthin hoặc 8-methoxyostruthin trong 72 giờ ở các nồng độ 2,5 - 100 μM , so với nhóm tế bào MDA-MB-231 đối chứng (SiM), thì nhóm tế bào bất hoạt KDM2A (Si97) có tỷ lệ tế bào sống so với mẫu chứng cao hơn ở đa số các nồng độ của 8-methoxyostruthin; tuy nhiên sự khác biệt rõ giữa nhóm bất hoạt KDM2A và nhóm chứng không đáng kể 5 - 25%, trong đó cao nhất ở nồng độ 25 μM . Đối với mẫu thử ostruthin, tỷ lệ tế bào MDA-MB-231 bất hoạt KDM2A sống cao hơn so với tỷ lệ sống của tế bào chứng ở 2 nồng độ 75 μM và 100 μM với sự khác biệt lần lượt là 7,5% và 12,2%; ở nồng độ 50 μM , kết quả khác biệt đáng kể so với xu hướng của các nồng độ còn lại.

Sau khi xử lý tế bào HAK1B với ostruthin hoặc 8-methoxyostruthin trong 72 giờ ở các nồng độ 2,5 - 100 μM , so với nhóm tế bào đối chứng, thì nhóm tế bào bất hoạt KDM2A có tỷ lệ tế bào sống so với mẫu chứng cao hơn ở đa số các nồng

độ của 8-methoxyostruthin; tuy nhiên sự khác biệt rõ giữa 2 nhóm không đáng kể, sự khác biệt rõ ở nồng độ 25 μM . Đối với ostruthin, tỷ lệ tế bào bất hoạt KDM2A không khác biệt hoặc thấp hơn so với tỷ lệ sống của tế bào chứng ở các nồng độ khảo sát. Kết quả trên hai dòng tế bào MDA-MB-231 và HAK1B, protein KDM2A ảnh hưởng đến tác động của 8-methoxyostruthin lên quá trình tăng trưởng của tế bào.

Thiết lập chất chuẩn 8-methoxyostruthin, ostruthin đạt tiêu chuẩn chất chuẩn gốc có thể đăng ký chuẩn quốc gia với độ tinh khiết lần lượt là 92,71 % và 94,71 % tính theo nguyên trạng

Xây dựng và đánh giá quy trình định lượng đồng thời demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin bằng phương pháp HPLC trong mẫu Xáo tam phân với điều kiện như sau: Hệ thống HPLC LC-2030C 3D, đầu dò PDA (Shimadzu, Nhật Bản); Cột: Cosmosil 5C18-AR-II, $4,6 \times 250$ mm, 5 μm ; Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút; Bước sóng phát hiện: 332 nm; Thể tích tiêm mẫu: 10 μL ; Thời gian phân tích: 25 phút; Pha động: Acetonitril – nước. Kết quả định lượng cho thấy rõ Xáo tam phân trồng tại Đồng nai chứa 1,04% demethylsuberosin (tính theo dược liệu khô kiệt), hàm lượng ostruthin và 8-methylostruthin lần lượt là 6,55 % và 0,64 %. Nghiên cứu đã khảo sát trên 9 mẫu thu được trên thị trường tại các tỉnh thành Đà Lạt-Lâm Đồng, Vĩnh Cửu-Đồng Nai, TP HCM, Tây Ninh, Bình Phước. Mẫu 10 có chứa demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin nhưng thấp hơn so với mẫu 1 (mẫu nghiên cứu). Trong khi đó mẫu 2, 6, 7, 8 chỉ chứa demethylsuberosin

và ostruthin. Mẫu 3, 4, 5, 9 chỉ chứa ostruthin. Kết quả cho thấy ít mẫu thu thập được chứa đồng thời demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin và các mẫu thu thập được có hàm lượng ostruthin thấp hơn hẳn mẫu nghiên cứu

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Thành phần hóa học chính nhóm hợp chất coumarin ngoài ra còn có acridon alcaloid, triterpenoid, flavonoid....

Hàm lượng polyphenol toàn phần trong cao thân lớn nhất, gấp khoảng 1,5 lần cao rễ và gấp khoảng 2,8 lần cao lá.

Cao chiết thân có tính chống oxy hóa mạnh nhất (158,14 $\mu\text{g/ml}$), sau đó đến cao rễ (274,36 $\mu\text{g/ml}$) và cuối cùng là cao lá (593,94 $\mu\text{g/ml}$).

Cao chiết thân không thể hiện hoạt tính độc tế bào in vitro với cả 2 dòng tế bào MDA-MB-231 và HepG2 có IC50 nằm ngoài giới hạn khảo sát. Giá trị IC50 của cao chiết rễ và lá trên dòng tế bào MDA-MB-231 lần lượt là 29,57 $\mu\text{g/ml}$ và 58,35 $\mu\text{g/ml}$. Giá trị IC50 cao rễ và lá trên dòng tế bào HepG2 lần lượt là 24,91 $\mu\text{g/ml}$ và 86,86 $\mu\text{g/ml}$.

Các cao phân đoạn từ thân, rễ Xáo tam phân thể hiện hoạt tính chống oxy hóa theo hướng các cao phân đoạn kém phân cực (n-hexan, clorofrom) thể hiện hoạt tính mạnh hơn, tốt hơn các cao phân cực (ethyl acetat, nước) và cao chiết từ rễ thể hiện tác động tốt hơn cao chiết từ thân.

Cao ethyl acetat và cao nước từ rễ không thể hiện hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2, cao n-hexan và cao cloroform thể hiện hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2, giảm số lượng tế bào sống tỷ lệ thuận với các nồng độ

khảo sát .

Đã phân lập được 12 hợp chất. **8 hợp chất phân lập từ rễ:** Ostruthin (PT-1, 520 mg), 8- methoxyostruthin (PT-2, 300 mg), xanthyletin (PT-3, 55 mg), oriciacridon (PT-4, 10 mg), citrussin-1 (PT-5, 25 mg), 3'-hydroxy-3'-methyl-2'-(4''-isoprenyl)-pyranocoumarin (PT-6, 4 mg), demethylsuberosin (PT-7, 24 mg) limonin (PT-8, 24 mg). **4 hợp chất phân lập từ thân:** 6-(2'-hydroxy-3'-methylbut-3'-enyl 7-hydroxycoumarin (PT-9, 12 mg), 6-(6'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',7'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-10, 10 mg), 6-(7'-hydroxy-3',7'-dimethylocta-2',5'-dienyl)-7-hydroxycoumarin (PT-11, 15 mg), hỗn hợp của 2 chất thuộc nhóm phytosterol là stigmasterol và β -sitosterol (PT-12, 36 mg). Hợp chất PT-6 được xem là chất mới dựa vào kiểm tra dữ liệu trên cơ sở dữ liệu của Reaxys và Scifinder ngày 30/7/2022. 5 hợp chất lần đầu công bố trong loài Xáo tam phân: xanthyletin (PT-3), oriciacridon (PT-4), citrussin-1 (PT-5), limonin (PT-8), 6-(2'-hydroxy-3'-methylbut-3'-enyl 7-hydroxycoumarin (PT-9)

Trên dòng tế bào ung thư gan người HAK1B, ostruthin và 8-methoxyostruthin thể hiện tác động độc tế bào, giá trị IC_{50} của ostruthin và 8-methoxyostruthin lần lượt gấp 4,9 lần và 7,3 lần IC_{50} của chất đối chiếu sorafenib (40,095 μM và 60,112 μM so với 8,222 μM).

Trên dòng tế bào ung thư vú người MDA-MB-231, ostruthin và 8-methoxyostruthin thể hiện tác động độc tế bào giá trị IC_{50} của ostruthin và 8-methoxyostruthin đối với tế bào MDA-MB-231 lần lượt là 32,416 μM và 47,805 μM so với giá trị IC_{50} của

chất đối chiếu sorafenib là 6,099 μM .

Nghiên cứu khảo sát hoạt tính độc tế bào ung thư của ostruthin và 8-methoxyostruthin có liên quan đến KDM2A hay không thông qua thử nghiệm đưa phân tử siRNA vào trong tế bào nhằm bất hoạt gen KDM2A. Kết quả cho thấy trên hai dòng tế bào MDA-MB-231 và HAK1B, protein KDM2A ảnh hưởng đến tác động của 8-methoxyostruthin lên quá trình tăng trưởng của tế bào trong thời gian xử lý 72 giờ.

Đã tiến hành kiểm định và thiết lập chuẩn 8-methoxyostruthin, ostruthin đạt tiêu chuẩn chất chuẩn gốc có thể đăng ký chuẩn quốc gia.

Đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin bằng phương pháp HPLC. Quy trình định lượng đã thỏa mãn đầy đủ các yêu cầu của một quy trình định lượng theo hướng dẫn của ICH và AOAC.

Kết quả định lượng cho thấy, rễ Xáo tam phân trồng tại Đồng nai chứa 1,04% demethylsuberosin (tính theo dược liệu khô kiệt), hàm lượng ostruthin và 8-methylostruthin lần lượt là 6,55% và 0,64%. Nghiên cứu đã khảo sát trên 9 mẫu thu được trên thị trường tại các tỉnh thành Đà Lạt-Lâm Đồng, Vĩnh Cửu-Đồng Nai, TP HCM, Tây Ninh, Bình Phước.

KIẾN NGHỊ

- Tiếp tục nghiên cứu phân lập các hợp chất khác trong rễ, thân và lá Xáo tam phân vì lá cũng được sử dụng khá phổ biến hiện nay; các nghiên cứu về thành phần hóa học của bộ phận dùng này còn hạn chế.

- Khảo sát động thái tích lũy demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin trong rễ Xáo tam phân để xác định vùng trồng và thời gian thu hoạch thích hợp trên cơ sở kết quả đã đạt được về việc xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời demethylsuberosin, ostruthin và 8-methoxyostruthin bằng phương pháp HPLC.

- Tiếp tục khảo sát mối liên quan giữa protein KDM2A với hoạt tính độc tế bào ung thư của 8-methoxyostruthin trên các dòng tế bào ung thư khác (ví dụ: ung thư phổi, ung thư dạ dày) và mở rộng nghiên cứu với các hợp chất khác được phân lập từ Xáo tam phân trên cơ sở kết quả bước đầu khảo sát mối liên quan của KDM2A với hoạt tính độc tế bào của 8-methoxyostruthin trên tế bào ung thư vú người MDA-MB-231 và tế bào ung thư gan người HAK1B.

- Dựa trên cấu trúc và những kết quả khảo sát tác dụng sinh học của ostruthin, 8-methoxyostruthin cũng như các hợp chất đã được xác định có trong cây Xáo tam phân để áp dụng phương pháp Docking, dự đoán cơ chế tác dụng và hoạt tính chống ung thư của dược liệu, các hợp chất.