XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH SINH HỌC VÀ KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG CỦA CÁC SẢN PHẨM TỪ CỦ NGẢI BÚN, *BOESENBERGIA PANDURATA*, TẠI VIỆT NAM

GS.TS. NGUYỄN THỊ THANH MAI

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

05-2022

GIỚI THIỆU VỀ CÂY NGẢI BÚN

- Tên KH: *Boesenbergia pandurata* Roxb. Schltr.
- Họ: Zingiberaceae (Gừng)
- Công dụng dân gian:
  - Kháng khuẩn, kháng viêm
  - Kháng ung thư
  - Tiêu chảy, kiết lỵ, dạ dày
  - Ngứa, sốt, loét
  - Giảm đau…

Củ Ngải bún của Myanmar và Thái Lan:

- Chứa nhiều tinh dầu & chalcone;
- Kháng ung thư tụy.

Có rất ít nghiên cứu về củ Ngải bún của Việt Nam

Gia vị đặc trưng của món bún cá miền tây

CÁC ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU VỀ CỦ NGẢI BÚN

1

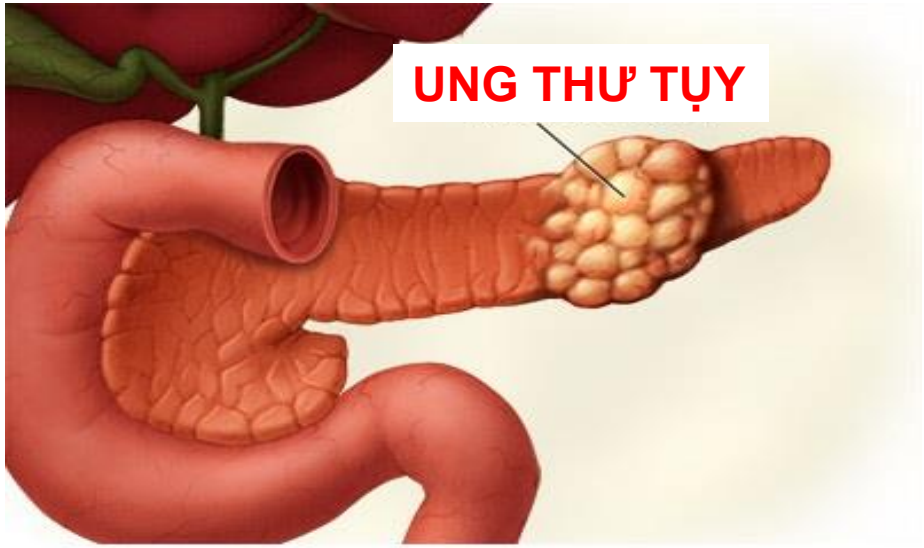
Nghiên cứu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị ung thư tụy.

2

Nghiên cứu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị viêm loét dạ dày.

Nghiên cứu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị ung thư tụy

GIỚI THIỆU VỀ UNG THƯ TỤY



Ung thư ngoại tiết: ung thư những tế bào ở mặt trong của tuyến tụy

Ung thư nội tiết: ở tế bào sản xuất hormone

Ung thư di căn nhanh, khó phát hiện ở giai đoạn đầu, đứng thứ 5 trong số các bệnh ung thư dễ tử vong nhất

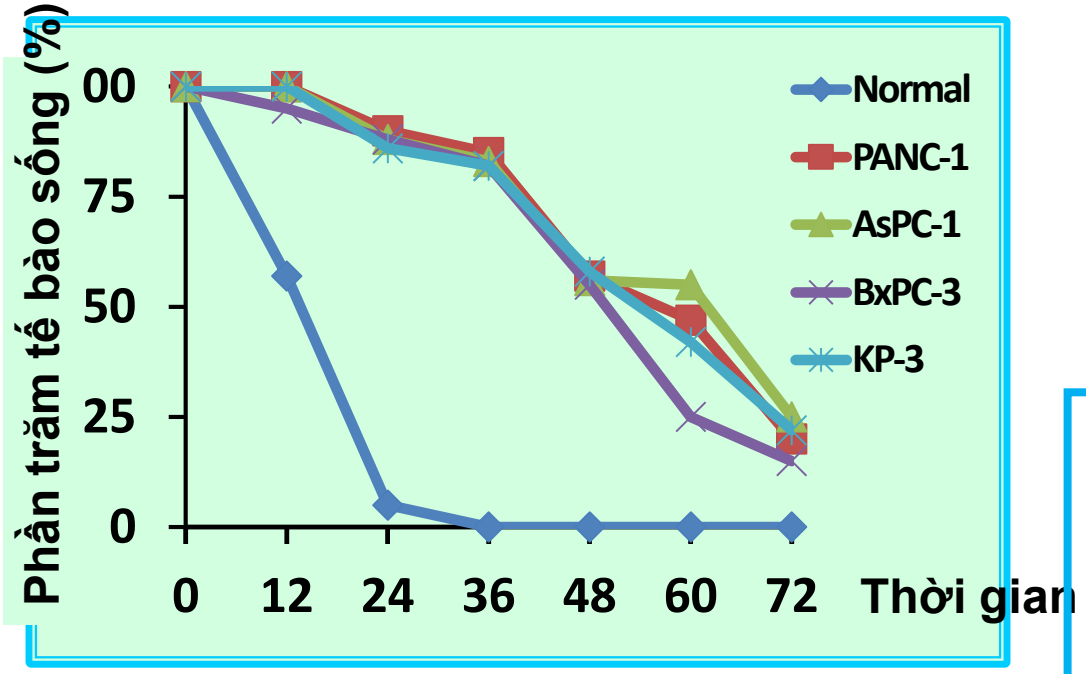
HƯỚNG ĐI MỚI TRONG NGHIÊN CỨU THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ TỤY

Thông thường tế bào ung thư cần nhiều dinh dưỡng (glucose, amino acid, ...) để phát triển.

Các nghiên cứu thuốc điều trị ung thư đều thử nghiệm nuôi cấy tế bào trong môi trường có dinh dưỡng.

Tế bào ung thư tuyến tụy rất ít mạch máu, luôn sống trong trạng thái thiếu dinh dưỡng

HƯỚNG ĐI MỚI TRONG NGHIÊN CỨU THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ TỤY



Khả năng sống của tế bào ung thư tụy trong môi trường thiếu dinh dưỡng

Tìm kiếm những tác nhân có khả năng tấn công tế bào ung thư tụy trong điều kiện ít dinh dưỡng và oxigen (anti-austerity agents)

Nghiên cứu này được hợp tác với Viện Nghiên cứu Thuốc từ Tự Nhiên, Đại học Toyama, Nhật Bản

QUY TRÌNH THỬ TÁC DỤNG GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ TỤY TRONG MÔI TRƯỜNG THIẾU DƯỠNG CHẤT

Nuôi tế bào PANC-1 trong môi trường có dưỡng chất DMEM

↓ Ủ ở 37^0C trong điều kiện 5 % CO_2 24h

Rửa, thêm mẫu thử và nuôi cấy trong môi trường có dưỡng chất DMEM hoặc không có dưỡng chất NDM

↓ Ủ ở 37^0C trong điều kiện 5 % CO_2 24h

Thêm dung dịch WST-8

↓ Ủ ở 37^0C trong điều kiện 5 % CO_2 3h

Đo quang ở 450 nm

Positive control: Arctigenin

$$\text{Cell survival (\%)} = \frac{Abs_{sample} - Abs_{blank}}{Abs_{control} - Abs_{blank}}$$

→ IC_{50}: Concentration at which 50% cells were killed preferentially under NDM condition but non-cytotoxic under DMEM at 24 h.

This experiment was done in Toyama University, Japan.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ TỤY TRONG MÔI TRƯỜNG THIẾU DƯỠNG CHẤT CỦA CỦ NGẢI BÚN

QUY TRÌNH LY TRÍCH VÀ PHÂN LẬP CHẤT

Mẫu Ngải bún khô
(5.5 kg)

↓ Trích hoàn lưu với MeOH

Cao MeOH
(680 g)

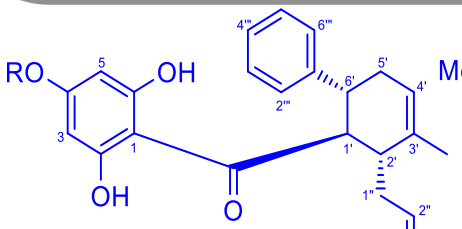
↓ Phân tán trong H_2O và chiết qua các DM

Cao Hexane | **Cao EtOAc** | **Cao BuOH** | **Cao H_2O**

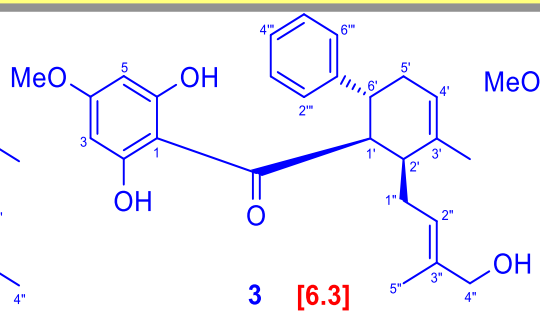
↓ **Thử hoạt tính**

Phân lập và xác định cấu trúc và thử hoạt tính các hợp chất

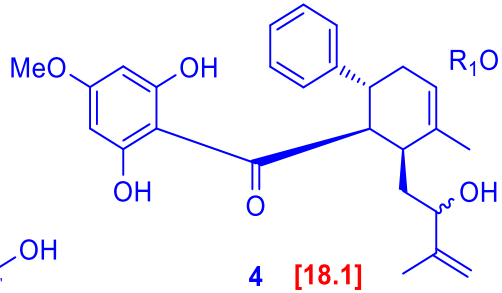
Cấu trúc các hoạt chất phân lập được từ củ Ngải bún có tác dụng gây độc tế bào ung thư tụy PANC-1



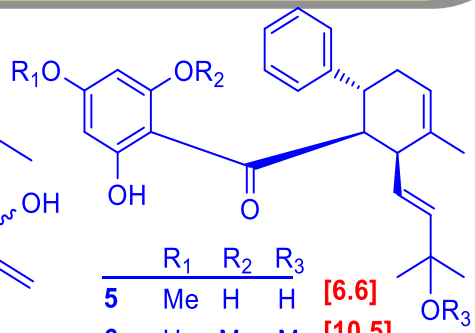
	R	
1	H	[5.8]
2	Me	[18.9]



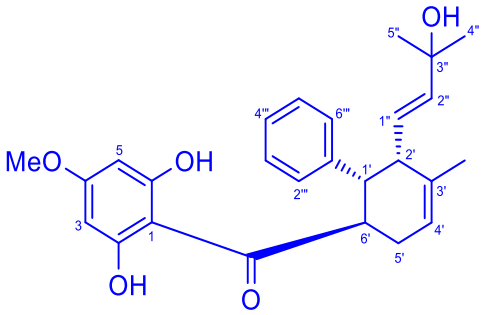
3 [6.3]



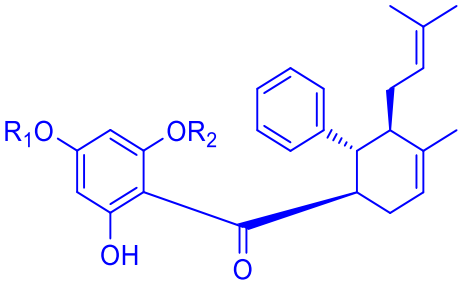
4 [18.1]



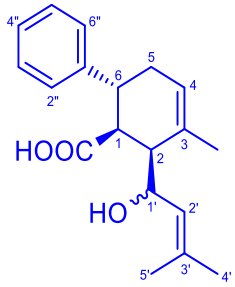
	R_1	R_2	R_3	
5	Me	H	H	[6.6]
6	H	Me	Me	[10.5]



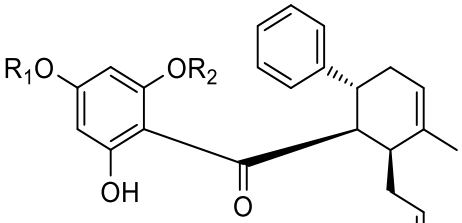
7 [3.3]



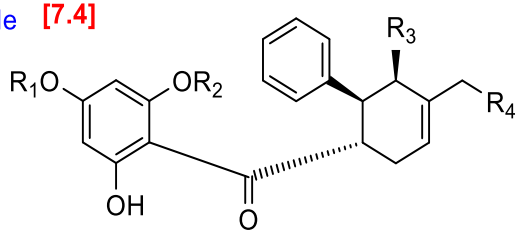
	R_1	R_2	
8	Me	H	[7.8]
9	H	Me	[7.4]



10



	R_1	R_2	
11	Me	H	[7.8]
12	H	Me	[3.8]
13	[illegible]	H	[3.1]



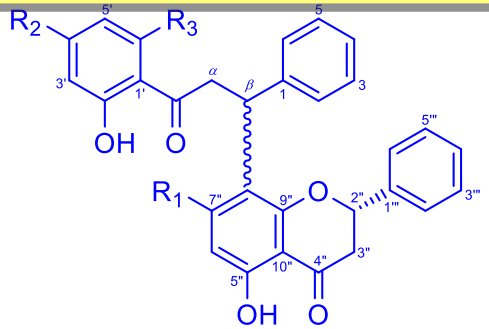
	R_1	R_2	R_3	R_4	
14	Me	H	prenyl	H	[2.1]
15	H	Me	prenyl	H	[1.0]
16	Me	H	H	prenyl	[0.8]

Arctigenin: [1.0]

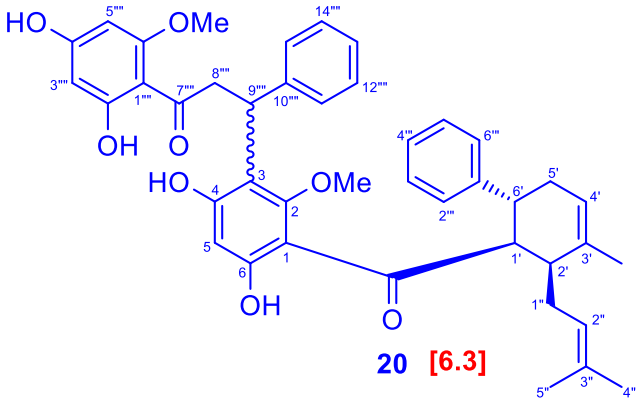
[ ]: IC_{50} (μM)

21/36/41

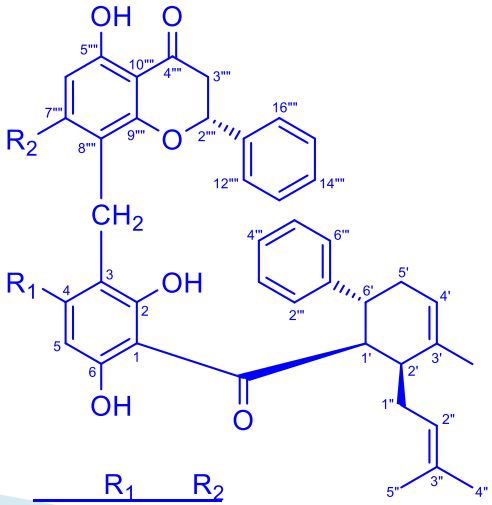
Cấu trúc các hoạt chất phân lập được từ củ Ngải bún có tác dụng gây độc tế bào ung thư tụy PANC-1



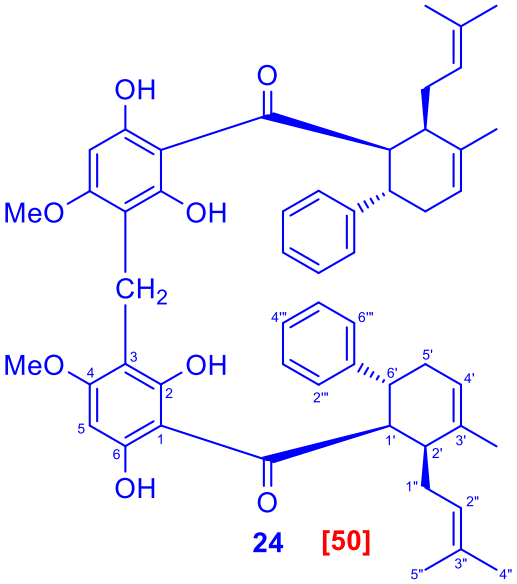
	R_1	R_2	R_3	
17	OMe	OH	OH	[-]
18	OH	OMe	OH	[3.8]
19	OH	OH	OMe	[2.4]



20 [6.3]



	R_1	R_2	
21	OMe	OH	[1.5]
22	OH	OMe	[0.8]
23	OMe	OMe	[25.2]



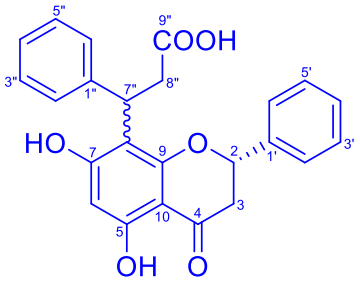
24 [50]

Arctigenin: [1.0]

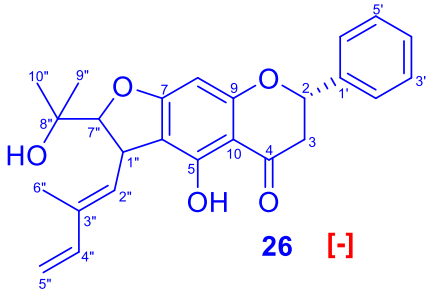
[ ]: IC_{50} (μM)

21/36/41

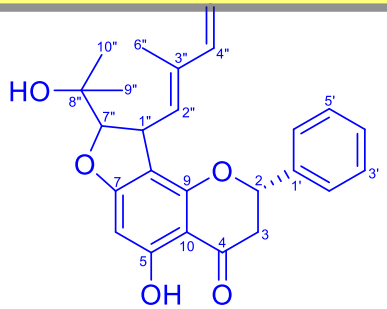
Cấu trúc các hoạt chất phân lập được từ củ Ngải bún có tác dụng gây độc tế bào ung thư tụy PANC-1



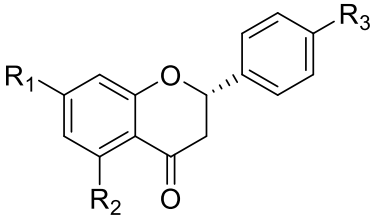
25 [6.4]



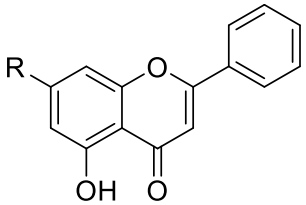
26 [-]



27 [4.8]

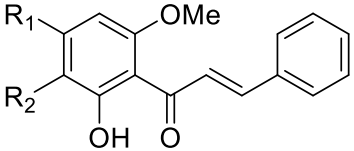


	R_1	R_2	R_3	
28	OMe	OH	H	[32.3]
29	OH	OMe	H	[>100]
30	OH	OH	H	[67.6]
31	OMe	OH	OH	[>100]

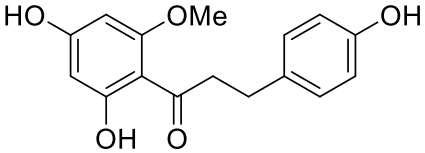


7

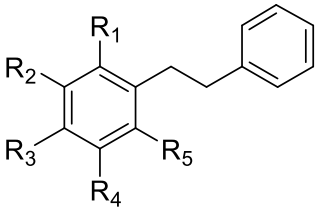
	R	
32	OMe	[50.8]
33	OH	[46.9]



	R_1	R_2	
34	OMe	H	[43.6]
35	OH	geranyl	[59.7]
36	OH	H	[6.3]



37 [31.6]



	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	
38	H	OH	H	OH	H	[26.6]
39	COOH	OH	H	OH	H	[45.9]
40	COOMe	OH	H	OH	H	[7.3]
41	OH	H	OH	H	OH	[7.9]

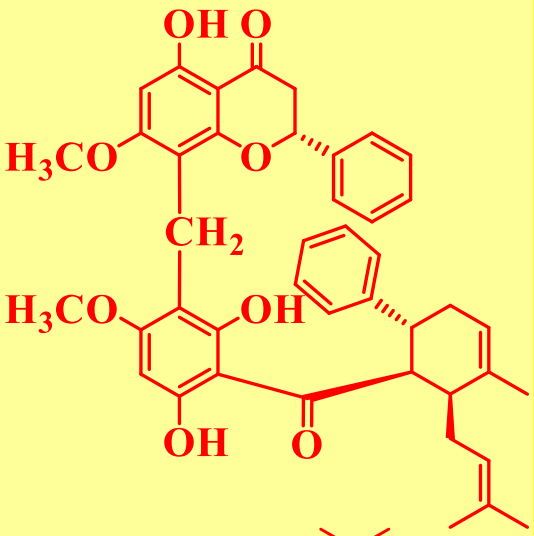
Arctigenin: [1.0]

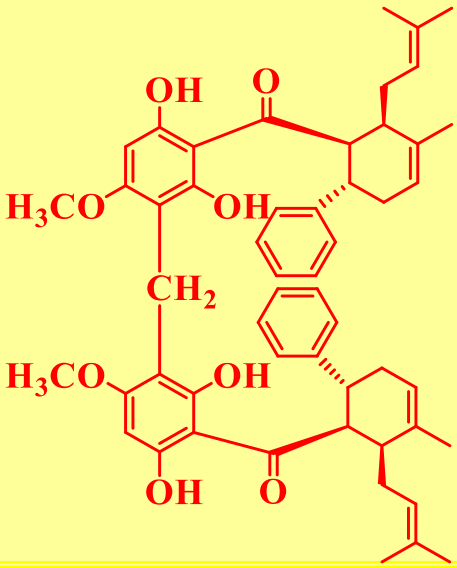
[ ]: IC_{50} (μM)

21/36/41

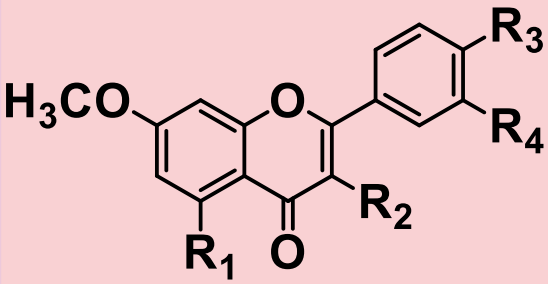
Cấu trúc các hợp chất của củ Ngải bún ở một số quốc gia

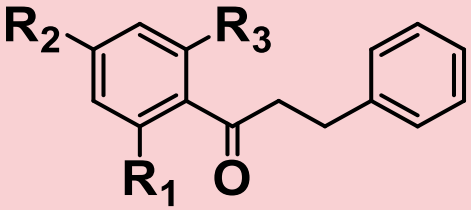
Việt Nam



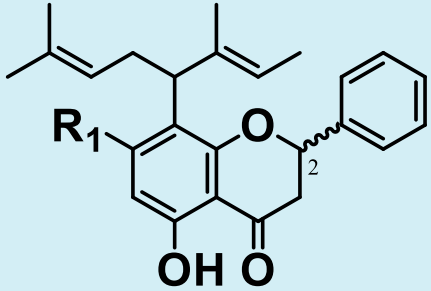


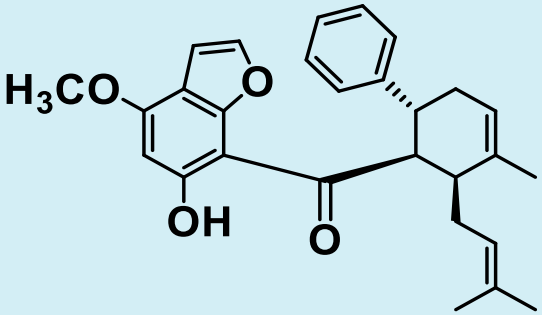
Thái Lan





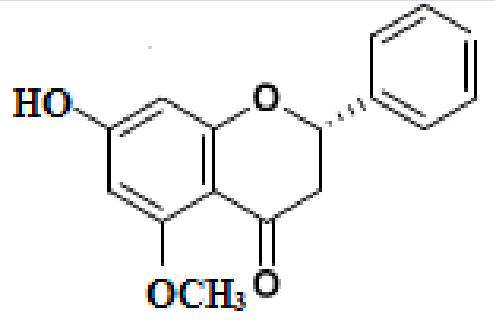
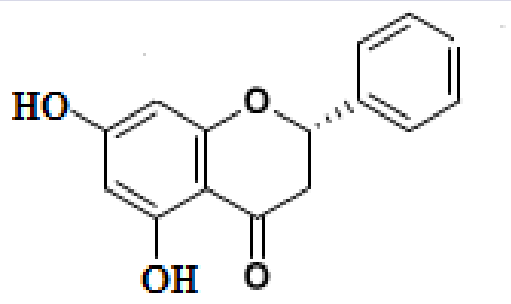
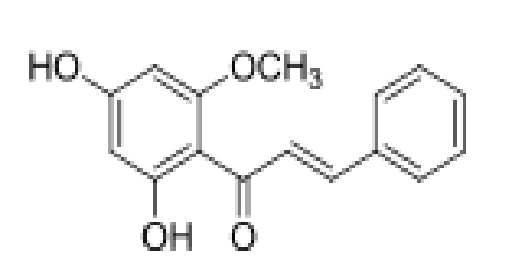
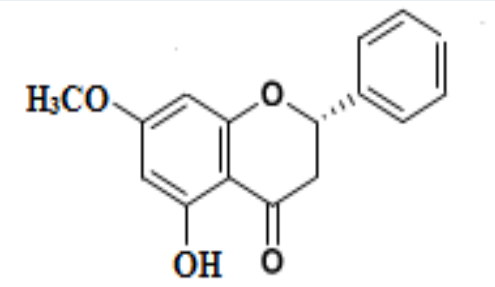
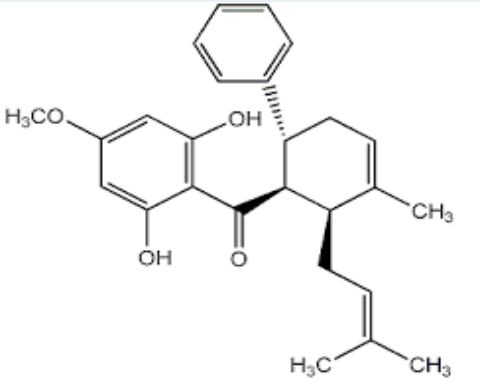
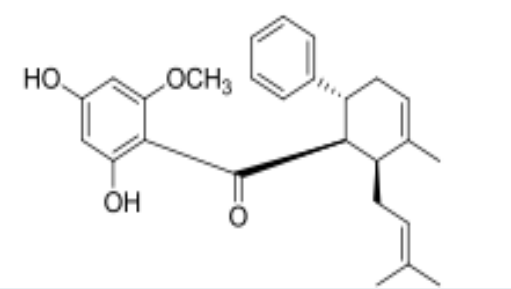
Myanmar





KẾT QUẢ XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG CÁC THÀNH PHẦN CHÍNH CÓ TRONG NGUYÊN LIỆU, CAO CHIẾT CỦA CỦ NGẢI BÚN BẰNG HPLC/DAD

6 HỢP CHẤT CHÍNH TRONG CỦ NGẢI BÚN

		
Alpinetin (1)	**Pinocembrin (2)**	**Cardamonin (3)**
		
Pinostrobin (4)	**Panduratin A (5)**	**Isopanduratin A (6)**

Xây dựng bộ dữ liệu nhận dạng chất đối chiếu (marker) của củ Ngải bún

- Đặc điểm cảm quang
- Nhiệt độ nóng chảy
- Phổ UV-VIS
- Phổ IR
- Phổ ^{1}H, ^{13}C-NMR
- Độ tinh khiết

Quy trình phân tích định lượng bằng HPLC/DAD

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 LC - DAD

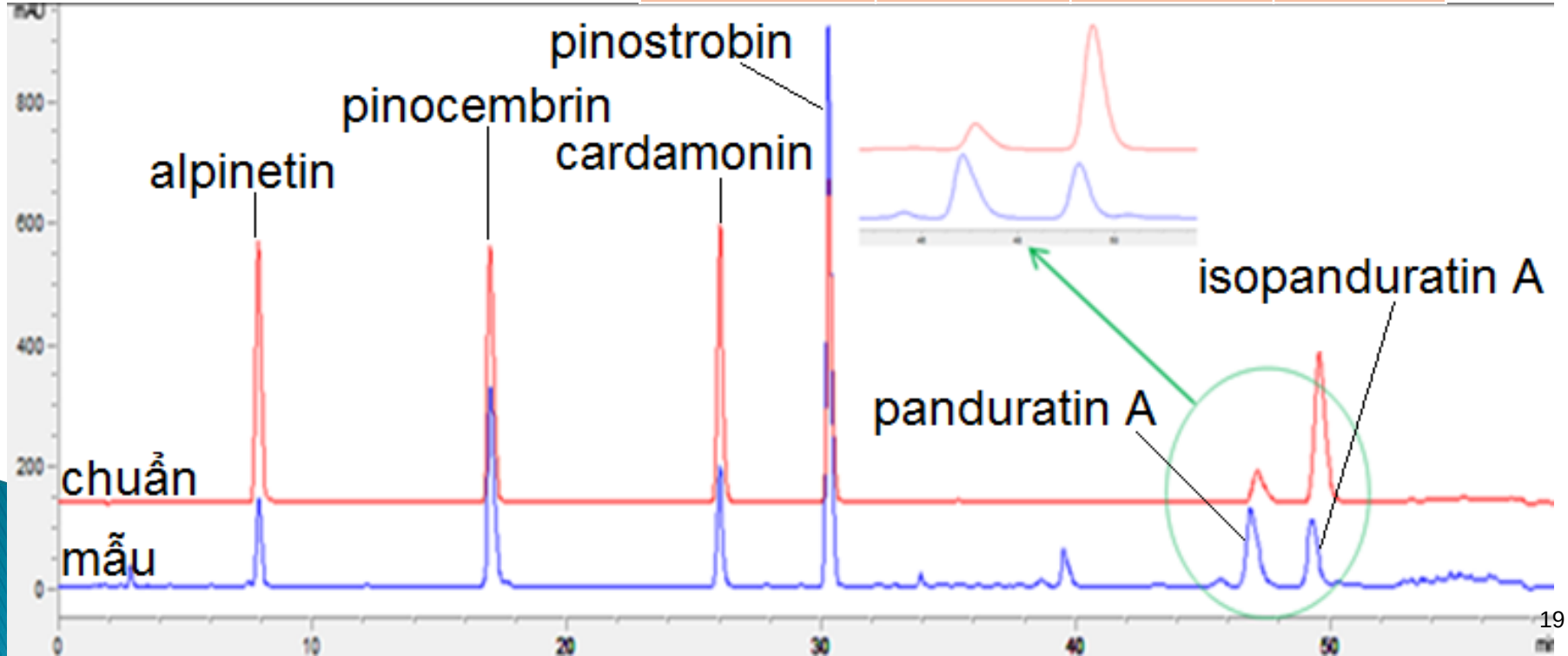
Tốc độ dòng: 1.0 mL/phút

- **Nhiệt độ cột: 40 °C**
- **Thể tích tiêm: 20 µL**
- **Bước sóng phát hiện:**

292 nm và 350 nm

Hệ pha động tối ưu

Thời gian (phút)	% ACN	% MeOH	%H_3PO_4
0	50	10	40
3	50	10	40
30	90	10	0
35	90	10	0



Kết quả thẩm định quy trình phân tích

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Alpinetin (1)	Pinocembrin (2)	Cardamonin (3)	Pinostrobin (4)	Panduratin A (5)	Isopandurati n A (6)
Tính phù hợp hệ thống	Phương pháp phân tích phù hợp hệ thống						
Tính chọn lọc	Phương pháp có tính chọn lọc với các hợp chất nghiên cứu						
Tính tuyến tính	$R^2 > 0.9995$	0.9999	1	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
Khoảng tuyến tính (mg/mL)	0.2 - 100						
Độ lặp lại	%RSD $_{tR}$ ≤ 1.8 %	0.1	0.067	0.067	0.052	0.089	0.093
	%RSD $_{S\ mũi}$ ≤ 1.8 %	0.598	0.46	0.94	1.3	0.69	1.009
Độ tái lặp	$F_{max} < 87.5$	32.25	6.47	1.32	8.65	1.47	17.43
Hiệu suất thu hồi	95 – 100 %	100.44	100.07	100.25	100.36	99.82	100.11
	% RSD ≤ 1.8 %	0.17	0.17	0.11	0.16	0.34	0.31
Độ đúng	95 – 100 %	99.58	99.52	99.49	99.56	99.46	99.26
	% RSD ≤ 1.8 %	0.13	0.45	0.41	0.22	0.31	0.11
LOD		0.0057	0.01	0.025	0.056	0.1	0.077
LOQ		0.017	0.031	0.075	0.17	0.31	0.23

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN SẢN PHẨM HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ TỤY CỦA TỪ NGẢI BÚN

QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO EtOH QUY MÔ THỬ NGHIỆM

Củ Ngải bún khô (500 g)

↓ **Đun hoàn lưu**

EtOH (9 lít); t^o = 60 ^oC
Tốc độ khuấy 35-45 vòng/phút
Thời gian khảo sát: 1-8 giờ

Dịch trích

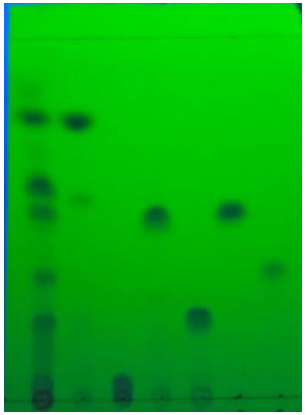
↓ **Cô đặc**

Dịch cô đặc

↓ **Cô quay**

Cao EtOH (60 g)

Tiêu chuẩn cơ sở của cao chiết



- **Mô tả** Cao đặc, màu vàng nâu, có mùi đặc trưng.
- **Thử tinh khiết** Độ ẩm: không quá 18.8 %

  Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật: không phát hiện

  Kim loại nặng: dưới giới hạn cho phép của QCVN 8-2:2011/BYT
- **Định tính**
- **Định lượng**

Hàm lượng tinh dầu: không nhỏ hơn 0.3 % tính theo củ tươi

Hàm lượng chất chiết được: Không nhỏ hơn 10 %.

Hàm lượng polyphenol toàn phần: không được nhỏ hơn 66.0 mg gallic acid g^{-1} mẫu khô.

Flavone và flavonol: 4.0 mg quercetin/g mẫu khô

Flavanone và flavanonol: 285 mg pinostrobin/g mẫu khô

Isopanduratin A: 2.416 mg g^{-1};
Alpinetin: 4.110 mg g^{-1};
Pinocembrin: 10.686 mg g^{-1};
Cardamonin: 1.870 mg g^{-1};
Pinostrobin: 28.86 mg g^{-1};
Panduratin A: 47.00 mg g^{-1}.

- **Hoạt tính sinh học**

Ức chế DPPH: IC_{50} 41.0 µg/mL

Gây độc tế bào PANC-1: PC_{50} 3.2 µg/mL

QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ BỘT NANO

Cao EtOH (1.5 g)

Lecithin: 2.1 g
EtOH: 3 g
H_2O: 293.4g

Đồng hóa tốc độ cao

Nhiệt độ phòng
Tốc độ: 3000 rpm

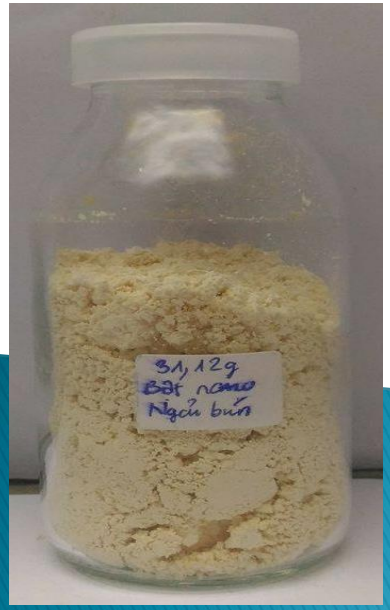
Dung dịch nano (300 g)

Maltodextrin: 28.5g
H_2O: 30 g

Sấy phun

Bột nano (70 g)

Kích thước: 300 nm
Chứa 5% EtOH cao



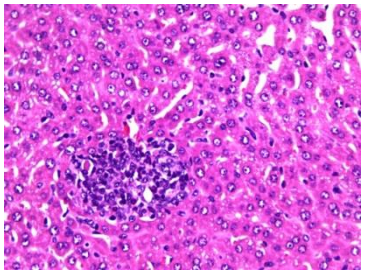
Bột nano sau sấy phun

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CAO ETOH VÀ BỘT NANO TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Cao EtOH
Bột nano → Không có độc tính cấp

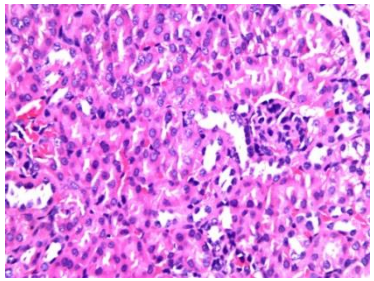
Cao EtOH : 200 & 600 mg/kg
Bột nano: 240 & 720 mg/kg → Không có độc tính bán trường diễn (sau 8 tuần)

- Cân nặng
- Chỉ số máu
- Chỉ số men gan
- Thận



Histopathlogy of the liver

An toàn



Histopathlogy of the kidney

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ TỤY TRONG MÔI TRƯỜNG THIẾU DƯỠNG CHẤT CỦA CAO ETOH VÀ BỘT NANO

STT	Mẫu thử	IC_{50} ($\mu g\ mL^{-1}$)
1	Cao Ethanol	6,1
2	Bột nano (5% cao chiết)	56,5
Arctigenin		0,8
Taxol		> 200
5-Fluorouracil		> 200

Sản phẩm bột nano có tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư tụy từ củ Ngải bún

Viên nang bột nano

Nghiên cứu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị viêm loét dạ dày

TỔNG QUAN VỀ BỆNH LOÉT DẠ DÀY

Loét dạ dày là bệnh lý liên quan đến đường tiêu hóa, hình thành khi acid ăn mòn lớp lót dạ dày do có dư thừa acid trong hệ thống hoặc khi lớp bảo vệ chất nhầy trên lớp lót bị phá vỡ.

Nguyên nhân chính:

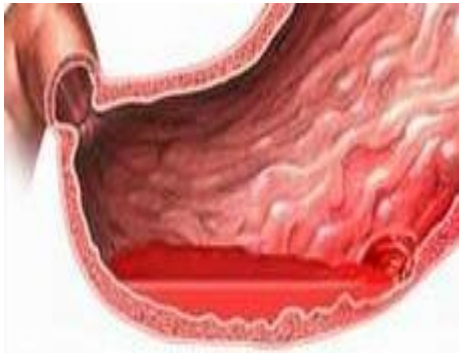
nhiễm trùng do vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP)

sử dụng thuốc chống viêm không steroid (NSAID)

TỔNG QUAN VỀ BỆNH LOÉT DẠ DÀY

Biến chứng của loét dạ dày:

- Chảy máu dạ dày
- Thủng dạ dày
- Hẹp môn vị
- Ung thư dạ dày

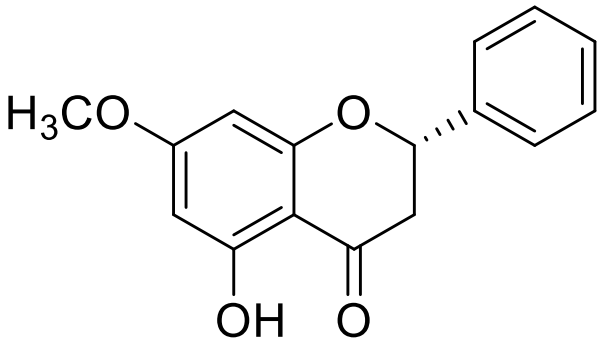


Điều trị loét dạ dày: Cách hiệu quả nhất để điều trị loét dạ dày là tìm được nguyên nhân gây ra loét.

- Điều trị HP
- Ngừng sử dụng thuốc NSAID
- Các phương pháp khác để giảm triệu chứng

TỔNG QUAN VỀ PINOSTROBIN

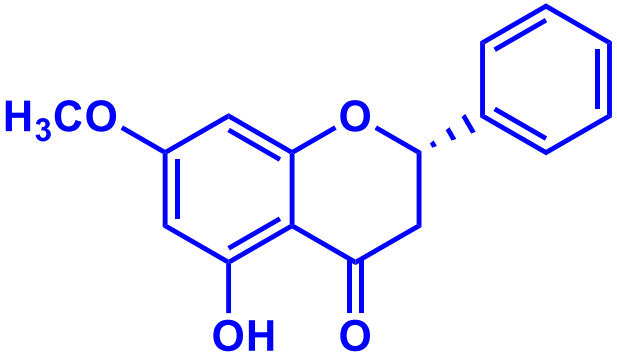
Nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện trong củ Ngải bún chứa hàm lượng lớn hợp chất pinostrobin (**chiếm khoảng 15-20% trong mẫu cao EtOH**).



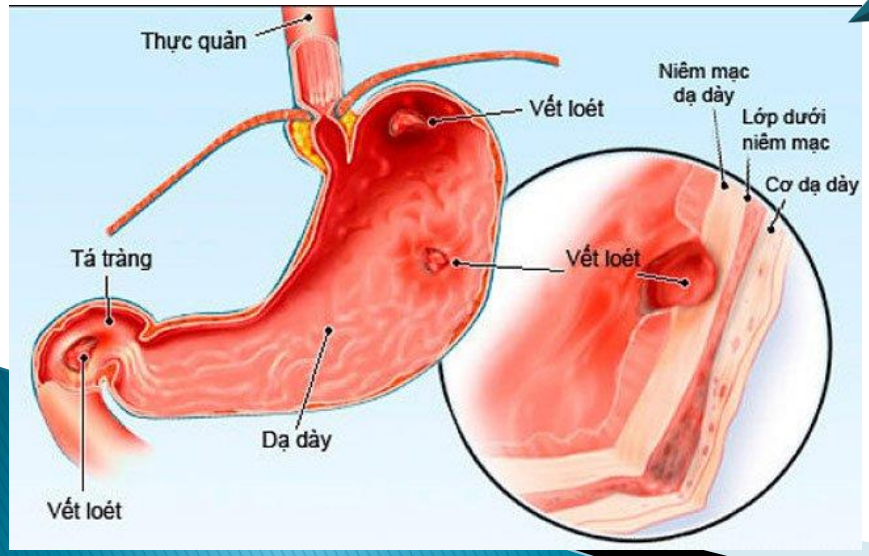
Theo TLTK: Pinostrobin có tác dụng bảo vệ dạ dày trước các vết loét gây ra bởi ethanol bằng cách:

- Tăng thành niêm mạc dạ dày
- Làm giảm diện tích vết loét;
- Ức chế sự xâm nhập leucocytes của thành dạ dày
- Giảm tế bào loét dạ dày tăng sinh.

CHIẾT XUẤT CAO ĐỊNH CHUẨN CHỨA 30% PINOSTROPIN TỪ CỦ NGẢI BÚN



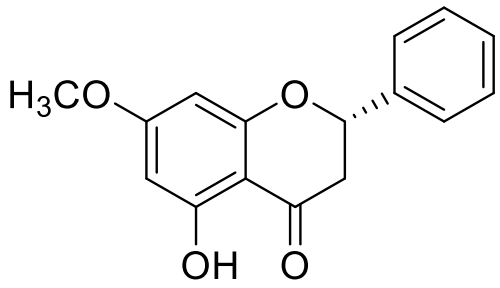
Pinostrobin
(Hàm lượng lớn)



SẢN PHẨM HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM LOÉT DẠ DÀY DO RƯỢU VÀ VI KHUẨN HP

KẾT QUẢ XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG PINOSTROBIN CÓ TRONG NGUYÊN LIỆU, CAO CHIẾT CỦA CỦ NGẢI BÚN

Bộ dữ liệu nhận dạng chất đối chiếu (marker) pinostrobin



Cấu trúc của pinostrobin

Tính chất vật lý:

Đặc điểm cảm quang	Nhiệt độ nóng chảy (°C)	Dung môi hòa tan
Tinh thể trắng	99.9 – 101.4	$CHCl_3$, Acetone, EtOH,...

Dữ liệu phổ nhận dạng chất đối chiếu: phổ UV-Vis, phổ FT-IR; phổ NMR của pinostrobin phù hợp với tài liệu tham khảo.

Xác nhận độ tinh khiết của pinostrobin: phân tích 10 mẫu pinostrobin trên hệ thống HPLC-DAD Agilent 1260 thu được độ tinh khiết sắc ký là **99.26 %** (RSD là 0.087 %).

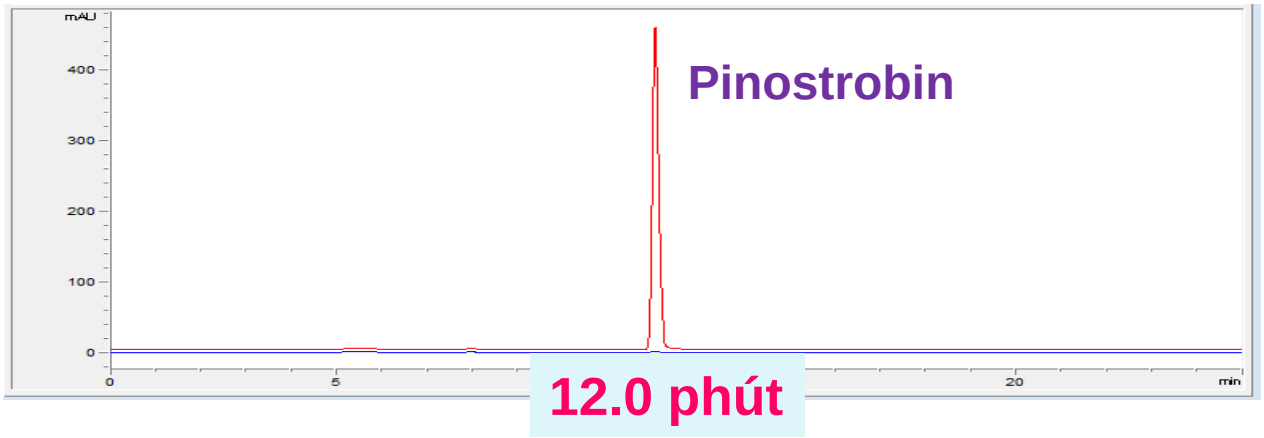
Kết quả khảo sát xây dựng được điều kiện phân tích pinostrobin bằng HPLC

Hệ thống sắc ký HPLC-DAD Agilent 1260

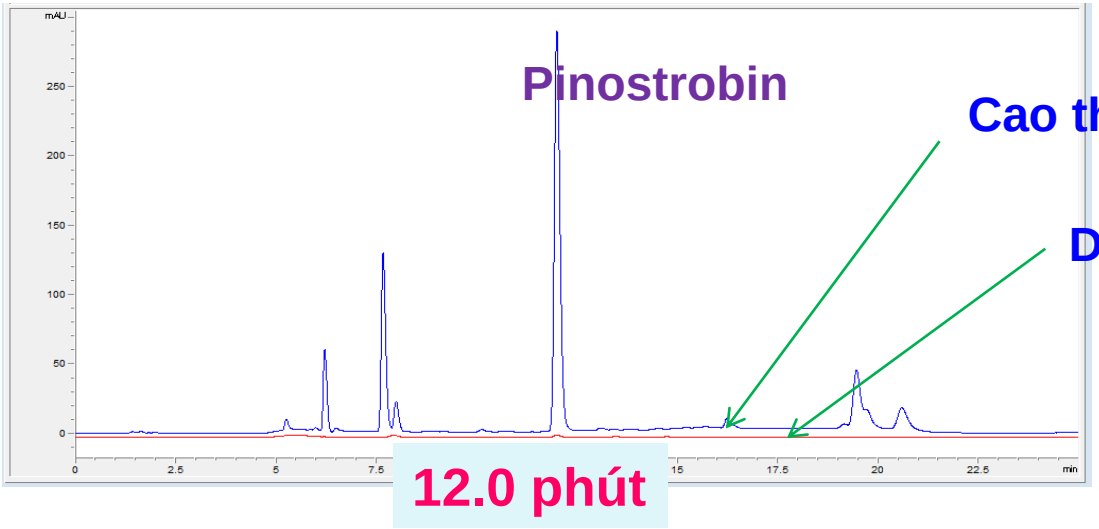
- Cột: ZORBAX Eclipse Plus XDB-C18 (4.6 x 150 mm; 5 µm)
- Tốc độ dòng: 1.0 mL/phút
- Nhiệt độ cột: 35 °C
- Thể tích tiêm: 10 µL
- Bước sóng phát hiện: 290 nm
- Hệ pha động tối ưu: gradient ACN-MeOH-H_3PO_4 0.05 %

Thời gian (phút)	% ACN	% MeOH	% $H_3PO_4$0.05%
0	15	10	75
2	15	10	75
3	45	25	35
8	45	25	35
13	60	20	20
18	60	20	20
22	15	10	75
25	15	10	75

Sắc ký đồ chuẩn pinostrobin 100 ppm và dung môi EtOH



Sắc ký đồ mẫu cao thô EtOH 50 ppm và dung môi EtOH



Pinostrobin tách khỏi tạp chất, mũi nhọn và đối xứng

Kết quả thẩm định quy trình phân tích

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Pinostrobin
Tính phù hợp hệ thống	Phương pháp phân tích phù hợp hệ thống	Có
Tính tuyến tính	$R^2 \geq 0.999$	**0.9995**
Tính chọn lọc	Có tính chọn lọc với chấy phân tích	Có
Khoảng tuyến tính (ppm)		**1-500**
Độ đúng	90-107 %	96.46-99.32
	RSD ≤ 2%	1.52
Độ lặp	$RSD_{\text{Thời gian lưu}} \leq 2\%$	0.928
	$RSD_{\text{Nồng độ mẫu}} \leq 2\%$	0.025
Độ tái lặp	$RSD_{\text{Thời gian lưu}} \leq 2\%$	1.4
	$RSD_{\text{Nồng độ mẫu}} \leq 2\%$	1.3
	$RSD_{\text{Chuẩn QC}} \leq 2\%$	1.8
LOD (ppm)		**0.3**
LOQ (ppm)		**1.0**

KẾT QUẢ XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO ĐỊNH CHUẨN CHỨA PINOSTROBIN TỪ CỦ NGẢI BÚN

Quy trình ly trích cao định chuẩn chung

Củ Ngải bún khô
(1 kg)

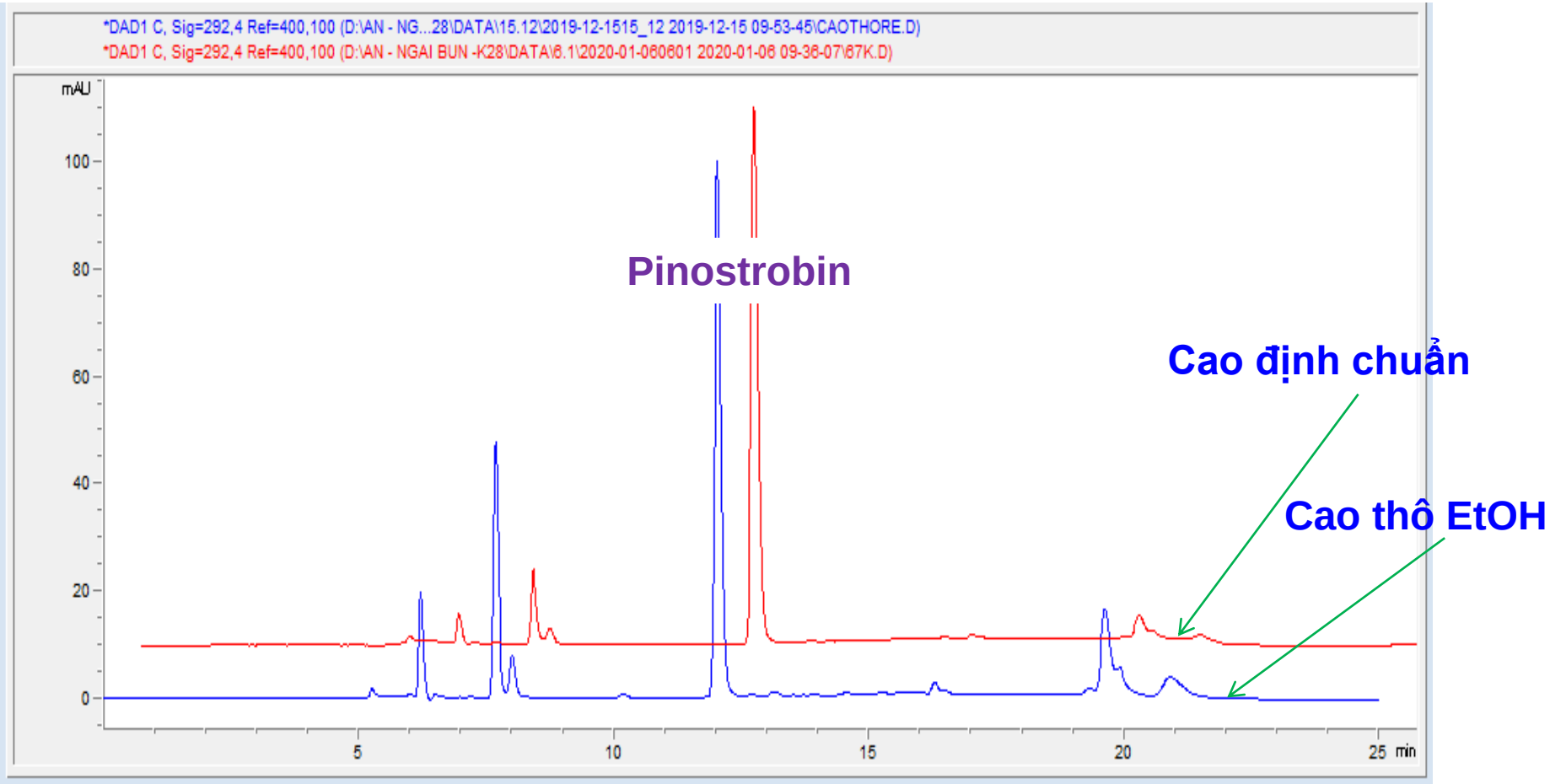
↓ ***Đun hoàn lưu với EtOH***
3 giờ x 4 lần

Cao EtOH
(200 g)
Pinostrobin (13-20) %

↓ ***Hòa tan bằng EtOH 80%, lọc nóng***
Kết tinh 24h ở 5-8 ^{o}C

Cao định chuẩn
(70 g)
Pinostrobin 30.89 %

Sắc ký đồ mẫu cao định chuẩn và cao thô EtOH



Tiêu chuẩn cơ sở của cao định chuẩn

- **Điều chế cao định chuẩn:**

Kết quả từ 1 kg củ Ngải bún khô điều chế được khoảng 70.1 g cao định chuẩn chứa pinostrobin 30.89 %.

- **Mô tả**

Có màu nâu vàng, dạng sệt đặc quánh, nếu lượng cao ít và được dàn mỏng ra để khô thì có thể nhìn thấy được các tinh thể pinostrobin.

- **Thử tinh khiết**

Độ ẩm: không quá 12 %

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật: không phát hiện

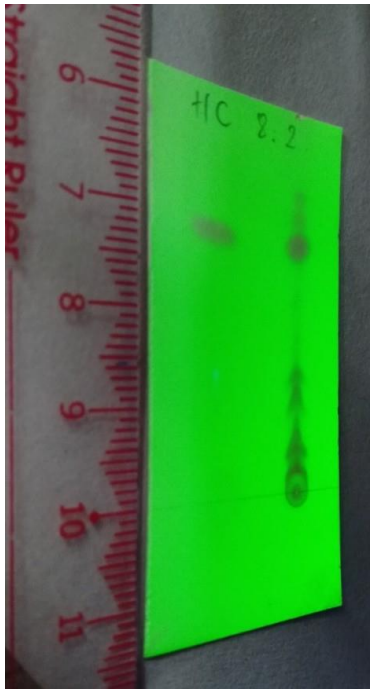
Kim loại nặng: dưới giới hạn cho phép của QCVN 8-2:2011/BYT

Tro toàn phần: 0.62 %

Tiêu chuẩn cơ sở của cao định chuẩn

- **Định tính**

Dung dịch mẫu thử có vết tương ứng về màu sắc và R_f với vết của pinostrobin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn



- **Định lượng**

Định lượng bằng phương pháp HPLC-DAD: hàm lượng pinostrobin trong cao không dưới 30 %.

- **Thử độ nhiễm khuẩn**

Không phát hiện các loại vi khuẩn, nấm men, nấm mốc, *E. coli, Salmonella, Staphylococcus aureus* theo tiêu chuẩn chất lượng

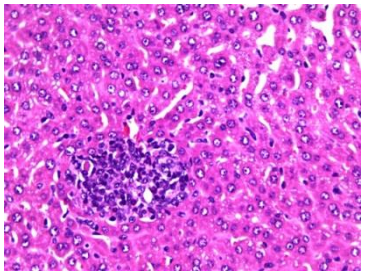
ĐÁNH GIÁ ĐỘ AN TOÀN VÀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM LOÉT DẠ DÀY CỦA CAO ĐỊNH CHUẨN

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CAO ĐỊNH CHUẨN TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Cao định chuẩn → Không có độc tính cấp

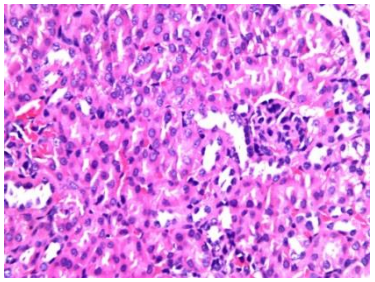
Cao định chuẩn: 30 & 90 mg/kg → Không có độc tính bán trường diễn (sau 8 tuần)

- Cân nặng
- Chỉ số máu
- Chỉ số men gan
- Thận



Histopathlogy of the liver

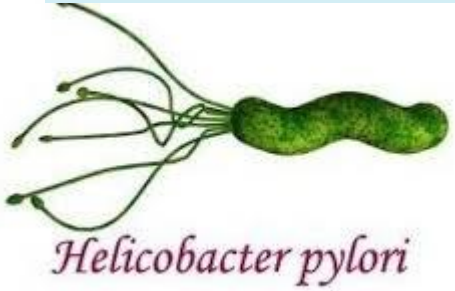
An toàn



Histopathlogy of the kidney

Mô hình thử nghiệm *in vitro*

➢ **Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme urease**



Enzyme urease

$$(NH_2)_2CO + 2H_2O \longrightarrow 2NH_3 + H_2O + CO_2$$

thuốc thử phenol

Đo quang ở 630 nm

Cao định chuẩn: IC_{50}: 233.3 μg/mL

➢ Đánh giá tác dụng ức chế (tiêu diệt) vi khuẩn HP

- Chủng HP chuẩn 26695 (nhạy với các loại kháng sinh)
- Chủng lâm sàng GD37 (phân lập từ bệnh nhân VN, kháng 4 loại kháng sinh thường dùng)

Vi khuẩn HP

↓ Nuôi cấy
Thử mẫu

Đo quang ở 600 nm → **Xác định MIC**

➢ Đánh giá tác dụng ức chế (tiêu diệt) vi khuẩn HP

Mẫu thử	IC_{50} (µg/mL)	
	Chủng HP 26695	Chủng HP GD37
Cao định chuẩn	83.9	64.0
Ampicillin	0.5	0.13

Mẫu	MIC	Nồng độ ức chế tối thiểu (µg/mL)	
		Chủng HP 26695	Chủng HP GD37
Cao định chuẩn	MIC50	77.63 ± 8.48	59.58 ± 4.94
	MIC90	199.80 ± 41.77	141.33 ± 26.82
Ampicillin	MIC50	0.45 ± 0.07	0.015 ± 0.03
	MIC90	4.23 ± 1.63	0.62 ± 0.37

Cao định chuẩn có khả năng tiêu diệt HP chủng 26695 và GD37.

Đánh giá tác dụng kháng viêm do HP gây ra trên tế bào AGS

Tế bào AGS tiết IL-8 (bị viêm) mạnh khi nhiễm chủng 26695

Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Khả năng kháng viêm	
		Tỉ lệ (%) ức chế tiết IL-8	Tỉ lệ (%) gây độc tế bào
Nhiễm HP + cao định chuẩn chứa pinostrobin	200	91%	99%
	100	78%	95%
	50	60%	67%
	25	37%	52%
	10	52%	29%
	5	31%	8%
Nhiễm HP + Resveratrol	6.25	55 %	46 %

Cao định chuẩn ở nồng độ từ 5 – 200 µg/mL có tác dụng giảm lượng IL-8 trong khoảng từ 31 – 91 %

Mô hình thử nghiệm *in vivo*

Đánh giá tác dụng giảm đau trên chuột nhắt gây quặn đau bằng acid acetic

Chuột thử nghiệm được chia làm 4 nhóm, mỗi nhóm 8 con.

+ Nhóm 1: uống nước muối sinh lý liều 0.1 mL/10g chuột/ngày.

+ Nhóm 2: uống aspégic liều 100 mg/kg.

+ Nhóm 3: uống cao định chuẩn liều 40 mg/kg .

+ Nhóm 4: uống cao định chuẩn liều 80 mg/kg

Ngày thứ 4, sau khi uống nước cất hoặc thuốc/mẫu thử 1 giờ, tiến hành tiêm ổ bụng mỗi chuột 0.2 mL acid acetic 1% và đánh giá số lần quặn đau của chuột.

Đánh giá tác dụng giảm đau trên chuột nhắt

Nhóm thử nghiệm		Số chuột	Số lần đau quặn
1	Không điều trị	8	62.33 ± 14.12
2	Aspégic 100 mg/Kg	8	40,00 ± 12,48
3	Cao định chuẩn 40 mg/Kg	8	32,71 ± 15,17
4	Cao định chuẩn 80 mg/Kg	8	31.00 ± 7.18

Cao định chuẩn liều 40 và 80 mg/Kg có tác dụng làm giảm số lần quặn đau trên chuột hơn aspegic liều 100 mg/kg.

Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày trên chuột cống trắng gây ra do ethanol

Chuột thử nghiệm được chia làm 4 nhóm, mỗi nhóm 8 con.

+ Nhóm 1: uống nước muối sinh lý liều 0.1 mL/10g chuột/ngày.

+ Nhóm 2: uống omeprazol liều 20 mg/kg.

+ Nhóm 3: uống cao định chuẩn liều 20 mg/kg .

+ Nhóm 4: uống cao định chuẩn liều 40 mg/kg

+ Nhóm 5: uống cao định chuẩn liều 100 mg/kg

+ Nhóm 6: uống cao định chuẩn liều 150 mg/kg

Ngày thứ 4, sau khi uống nước muối hoặc thuốc/mẫu thử 1 giờ, ethanol tuyệt đối 5 mL/kg được sử dụng để gây loét dạ dày ở tất cả các nhóm chuột.

Một giờ sau khi uống ethanol, chuột bị giết và lấy dạ dày ra ngay để kiểm tra các yếu tố.

Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày

Chỉ số pH dịch vị dạ dày

	Nhóm thử nghiệm	Số chuột	V dịch vị	pH dịch vị
1	Không điều trị	8	4.73 ± 0.94	2.47 ± 0.65
2	Omeprazol 20 mg/Kg	8	3.51 ± 0.88	5.23 ± 0.87
3	Cao định chuẩn 20 mg/Kg	8	3.88 ± 0.83	4.82 ± 0.85
4	Cao định chuẩn 40 mg/Kg	8	3.74 ± 0.96	5.00 ± 0.80
5	Cao định chuẩn 100 mg/Kg	8	3.66 ± 0.55	5.12 ± 0.98
6	Cao định chuẩn 150 mg/Kg	8	3.60 ± 0.59	5.31 ± 0.63

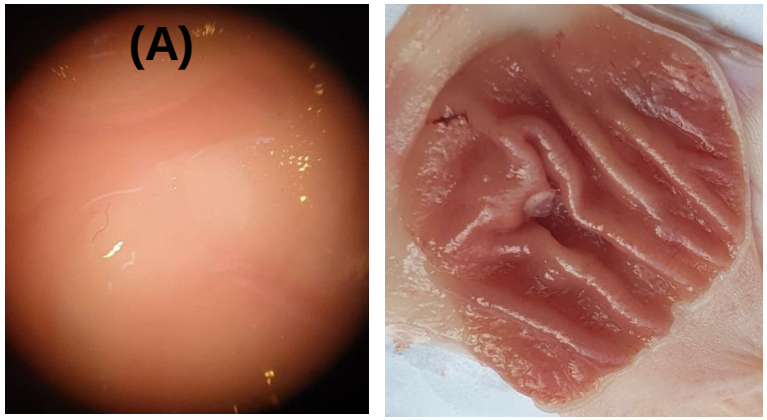
pH dịch vị ở các nhóm điều trị bằng thuốc omeprazol hoặc cao định chuẩn tăng lên đáng kể, thậm chí là gấp đôi so với pH dịch vị ở nhóm không điều trị

Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày

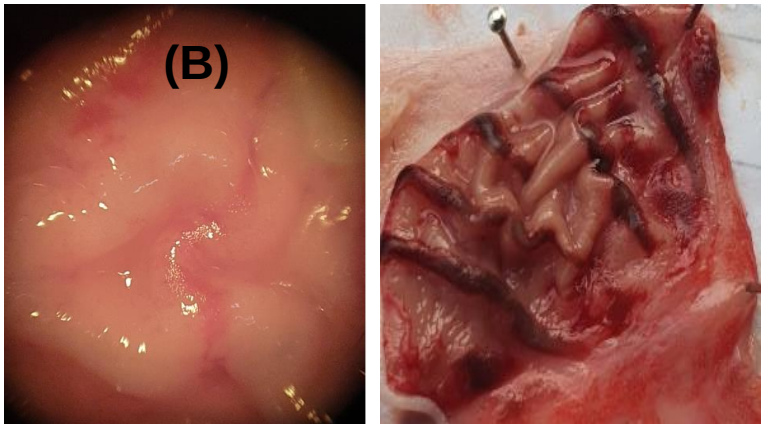
Tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày

	Nhóm thử nghiệm	Số chuột	Số ổ loét	Mức độ loét
1	Không điều trị	8	7.17 ± 2.32	1.83 ± 0.26
2	Omeprazol 20 mg/Kg	8	2.75 ± 1.91	0.88 ± 0.35
3	Cao định chuẩn 20 mg/Kg	8	4.50 ± 2.88	1.19 ± 0.37
4	Cao định chuẩn 40 mg/Kg	8	3.63 ± 1.51	0.81 ± 0.26
5	Cao định chuẩn 100 mg/Kg	8	3.13 ± 1.13	0.81 ± 0.26
6	Cao định chuẩn 150 mg/Kg	8	2.88 ± 0.83	0.75 ± 0.27

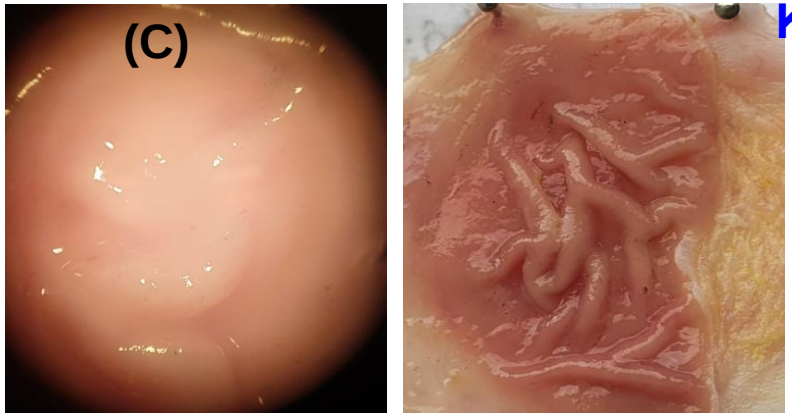
Cao định chuẩn ở liều 20 - 150 mg/kg có tác dụng giảm đáng kể số ổ loét và mức độ loét trên chuột.



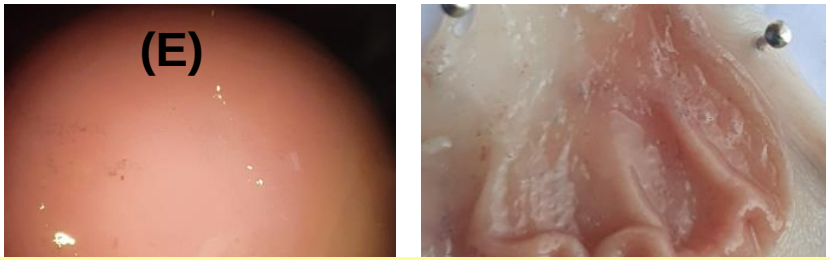
Bình thường



Không điều trị



Omeprazol 20 mg/kg



Chuột ở nhóm uống cao định chuẩn và omeprazol thấy niêm mạc dạ dày ít bị viêm, xuất huyết và đặc biệt là không có các vết loét sâu.

Sản phẩm bột cao định chuẩn giàu pinostrobin có tác dụng hỗ trợ điều trị viêm loét dạ dày từ củ Ngải bún

Viên nang bột cao định chuẩn

KẾT LUẬN

Đã phân lập 41 hợp chất; 21 hợp chất có cấu trúc mới; 36 hoạt chất có tác dụng gậy độc tế bào ung thư tụy trong môi trường thiếu dưỡng chất.

Đã hoàn thiện quy trình điều chế bột nano từ củ Ngải bún có tác dụng gây độc tế bào ung thư tụy và an toàn trên động vật thực nghiệm.

Đã hoàn thiện quy trình định lượng đồng thời 6 hợp chất chính bằng phương pháp HPLC/DAD để phục vụ kiểm soát chất lượng nguyên liệu và thành phẩm.

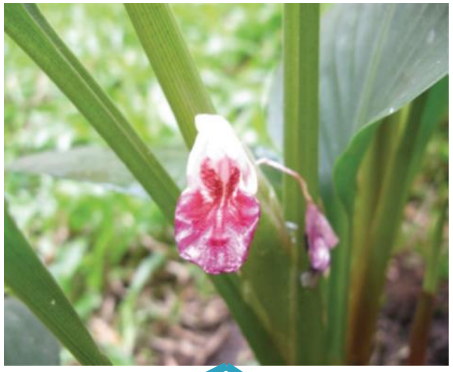
KẾT LUẬN

Đã hoàn thiện quy trình chiết xuất cao định chuẩn (30% pinostrobin) từ củ Ngải bún có tác dụng chống viêm loét dạ dày và an toàn trên động vật TN.

Đã hoàn thiện quy trình định lượng pinostrobin bằng phương pháp HPLC/DAD để phục vụ kiểm soát chất lượng nguyên liệu và thành phẩm.

Đã công bố 4 bài báo quốc tế (2 Q1, 2 Q2) và 2 bài báo trong nước;
Đã nộp đơn đăng ký 01 sáng chế.

POTENTIAL PRODUCTS



Anti pancreatic cancer dietary supplement
(Nano tablets)

Anti-ulcer dietary supplement
(Extract enrich)

Thank You Very Much For Your Attention!