

HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT TỪ CỦ NGHỆ VÀNG, HẠT TIÊU ĐEN VÀ CỦ HÀNH TÍM

NGUYỄN THỊ NHẬT THẮNG

Khoa Công nghệ hóa học, Trường Đại học công nghiệp TP Hồ Chí Minh;
nguyenthinhhatthang@iuh.edu.vn

Tóm tắt. Củ nghệ vàng, hạt tiêu đen và củ hành tím thu hoạch trên địa bàn huyện Gò Công Đông, tỉnh Tiền Giang được làm sạch, phơi khô và nghiền thành bột. Quá trình tách chiết được thực hiện trong bình kín trong điều kiện tránh sáng ở nhiệt độ phòng. Ethyl acetate được đánh giá là dung môi thích hợp nhất cho quá trình chiết đối với cả ba loại nguyên liệu. Hiệu suất của quá trình tách chiết không tăng lên khi thay đổi các điều kiện tách chiết. Hoạt tính sinh học *in vitro* của các cao chiết được khảo sát trên nguyên bào sợi da người HSF và tế bào ung thư ruột kết HCT-116. Quá trình nghiên cứu chỉ ra cao chiết tiêu đen và hành tím có tách động tích cực lên hoạt tính của cao chiết nghệ. Thành phần các cao chiết được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng phối khối (LC/MS), sắc ký bản mỏng (TLC) và sắc ký cột.

Từ khóa. Nghệ, tiêu đen, hành tím, curcumin, doxorubicin, hoạt tính sinh học, hoạt tính kháng ung thư, tách chiết, thực phẩm chức năng.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF YELLOW TURMERIC, BLACK PEPPER AND PURPLE ONION EXTRACTS

Abstract. Yellow turmeric, black pepper and purple onion, collected from Go Cong Dong district, Tien Giang province, were cleaned, dried, and crushed into powder. The extraction was carried out in a tightly closed reaction tube for a few days at room temperature in the dark. Ethyl acetate was selected to be the most suitable solvent for extraction during the study period of 1-30 days. Varying the extraction conditions did not increase the extraction yield. The cytotoxicity *in vitro* against the human skin fibroblasts HSF cells and the human colon cancer HCT-116 cells was studied. Black pepper and purple onion extracts showed a good effect on the biological activity of turmeric extract. The obtained extracts were analyzed using LC/MS, TLC, column chromatography on silica gel.

Keywords. turmeric, black pepper, purple onion, curcumin, doxorubicin, cytotoxic activity, anticancer activity, extraction, food supplement.

GIỚI THIỆU

Nghệ còn gọi là uất kim, khương hoàng hay kinh lương. Nghệ là cây thảo mộc sống lâu năm, có tên khoa học là *Curcuma longa* L, thuộc họ gừng [1-3]. Củ nghệ được sử dụng làm gia vị, chất bảo quản, chất tạo màu và dược liệu [1,4]. Nó thể hiện các hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống ký sinh trùng, chống co thắt và kháng ung thư [2,5,6]. Các nghiên cứu đánh giá độ an toàn chỉ ra rằng nghệ được dung nạp tốt ở liều rất cao (0,5-5 g/ngày/người) mà không có tác dụng độc hại [3,6]. Tuy nhiên đặc tính sinh khả dụng thấp chủ yếu là do hấp thụ kém, chuyển hóa nhanh và đào thải nhanh [6,7]. Đồng thời vì kém hòa tan trong nước và nhạy cảm với sự phân hủy, thủy phân và quang hóa làm hạn chế tính khả dụng về mặt dược lý của nghệ [8]. Hiện nay tinh bột nghệ được bán tràn lan trên thị trường mà không rõ nguồn gốc và các tác dụng thực tế gây ra đối với sức khỏe người dùng đặt ra vấn đề cấp thiết cần thay thế các sản phẩm này bằng một loại thực phẩm chức năng có tác dụng tốt, cải thiện nhược điểm của C5-curcumin.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng một số hợp chất như Piperine và Quercetin có trong tiêu đen và hành tím có hoạt tính sinh học cao [5, 9-11], chứa một số hoạt chất có khả năng tăng cường tính sinh khả dụng của curcumin [12-14]. Một trong số đó là piperine, thành phần chính của hạt tiêu đen, khi kết hợp với curcumin có trong củ nghệ đã được chứng minh là có khả năng tăng đặc tính sinh khả dụng của curcumin lên 2000 % [8,13,15,16]. Do vậy để nâng cao hiệu quả sử dụng các cao chiết này nói chung cũng như hoạt tính kháng ung thư của củ nghệ nói riêng, nghiên cứu này xem xét điều kiện tách chiết đạt hiệu suất cao, khảo sát hoạt tính sinh học của ba loại cao chiết khi sử dụng riêng lẻ và khi kết hợp cao chiết nghệ cùng với hai loại cao chiết còn lại từ đó tối ưu hóa tỉ lệ giữa chúng để đạt được hoạt tính kháng ung thư cao đồng thời giảm thiểu tối đa tác dụng độc hại của cao chiết trên cơ thể người. Các cao chiết có kết quả tốt sau đó được phân tích đánh giá và tách chiết bằng TLC, LC/MS và sắc ký cột mong muốn thu được Curcumin và Piperine nhằm mục đích cho ra đời một sản phẩm thực phẩm chức năng hỗ trợ ngăn ngừa và điều trị ung thư hiệu quả cao.

THỰC NGHIỆM

1.1 Nguyên liệu

Củ nghệ vàng, hạt tiêu đen và củ hành tím được thu hoạch trên địa bàn huyện Gò Công Đông, tỉnh Tiền Giang. Nghiên cứu sử dụng ba loại dung môi với độ phân cực khác nhau là chloroform (99%, số hiệu 67-66-3), ethyl acetate (99,5%, số hiệu 141-78-6) và ethanol (99,5%, số hiệu 64-17-5) sản xuất tại công ty VN-Chemsol Việt Nam. Dung môi được chuẩn bị theo các tiêu chuẩn chung, tạp chất được loại bỏ bằng cách sử dụng cô quay chân không (100-200 mbar) ở nhiệt độ 50 °C. Nguyên liệu được định lượng bằng cân điện tử BAS224S Sartorius được sản xuất từ Đức với độ chính xác đạt $\pm 0,001$ g. Quá trình tách chiết và độ tinh khiết của sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp sắc ký bản mỏng sử dụng tấm bản mỏng Sorbfil PTLCAFAUF. Thành phần cao chiết nghệ được đánh giá bằng phương pháp LC/MS với hệ thống sắc ký Dionex (Mỹ) sử dụng phần mềm Chromleon phiên bản 7.2.4.8179, hệ thống UV-VIS-3 với bước sóng 280 nm. Các hoạt chất trong cao chiết nghệ được tách riêng bằng phương pháp sắc ký cột sử dụng cột sắc ký ($\varnothing 22\text{mm}$, $h = 80\text{ mm}$) có màng lọc sử dụng Acros silica gel (60-200 mesh).

Hoạt tính sinh học của cao chiết được đánh giá trên nguyên bào sợi da người HSF (ATCC PCS-201-012™) và tế bào ung thư ruột kết người HCT-116 (GSM136316) nuôi trong môi trường α -MEM (PanEko Russia), 10% huyết thanh (FBS), 2 mM L-glutamine, 1% penicillin và 1% streptomycin. Quá trình đánh giá hoạt tính sinh học in vitro sử dụng MTT-test (MTT, 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, Promega, USA) và DMSO (δH 2,50, δC 39,52). Mật độ quang được đo bằng máy đọc TECAN.

1.2 Tối ưu hóa điều kiện tách chiết

Củ nghệ được thu hoạch vào mùa thu trên địa bàn huyện Gò Công Đông, tỉnh Tiền Giang tiến hành xử lý loại bỏ các chất bẩn (gọt vỏ, rửa sạch, cắt lát mỏng). Sau khi phơi khô trong một tuần, nghệ được sấy ở nhiệt độ 60 °C để loại bỏ hoàn toàn nước sau đó tiến hành nghiền nhỏ thành dạng bột. Hạt tiêu đen và củ hành tím cũng tiến hành quá trình xử lý tương tự. Quá trình chiết tiến hành trong điều kiện tránh sáng ở nhiệt độ phòng, được khảo sát với 3 loại dung môi có độ phân cực khác nhau bao gồm dung môi không phân cực (chloroform), dung môi phân cực aprotic (ethyl acetate) và dung môi phân cực protic (ethanol) để đảm bảo tối ưu hóa hiệu suất tách chiết. Bốn khoảng thời gian được khảo sát trong quá trình tách chiết là 1 ngày, 7 ngày, 14 ngày và 30 ngày. Kết quả của quá trình tách chiết được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC) để so sánh thành phần cao chiết thu được trong các dung môi khác nhau đồng thời tối ưu hóa hệ dung môi thích hợp để tách chiết với từng mẫu. Kết thúc thời gian khảo sát, các mẫu nhiên liệu được lọc qua giấy lọc. Sử dụng giấy lọc định tính số 101 Advantec (đường kính 90 mm) để loại bỏ cặn, dung dịch sau đó được cô đặc chân không thành dạng cao dưới áp suất 1-100 mbar, nhiệt độ 50-60 °C.

1.3 Xác định hoạt tính sinh học *in vitro* của các mẫu cao chiết

Các mẫu cao chiết sau khi tách hoàn toàn dung môi dưới áp suất được bảo quản ở nhiệt độ thấp. Độc tính và hoạt tính kháng ung thư ruột kết của các cao chiết được kiểm tra bằng MTT- test [17-19] tại phòng thí nghiệm công nghệ sinh học viên nghiên cứu và giáo dục về dược học, trường đại học liên bang Kazan, thành phố Kazan, Liên Bang Nga. Nguyên bào sợi da người HSF được sử dụng để nghiên cứu độc tính của cao chiết, hoạt tính kháng ung thư của cao chiết được nghiên cứu trên tế bào ung thư ruột kết người HCT-116. Tế bào được nuôi cấy trong đĩa ủ 96 lỗ với mật độ 3000 tế bào/ lỗ trong 90 μL môi trường α -MEM và được ủ trong tủ nuôi cấy 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 qua một đêm. Nồng độ ban đầu của cao chiết là 1 mg/ml sau đó được pha loãng thành các nồng độ nghiên cứu. Dung dịch cao chiết (10 μL) được thêm vào các lỗ nuôi cấy tế bào và ủ trong vòng 72 giờ. Sau đó hỗn hợp môi trường nuôi cấy và dung dịch cao chiết được loại bỏ khỏi các lỗ nuôi cấy. Tế bào tiếp tục được ủ với α -MEM (80 μL) và 20 μL dung dịch MTT (5 mg/mL) trong 3 giờ, 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 . Hỗn hợp này tiếp tục được loại bỏ khỏi lỗ nuôi cấy sau đó thêm vào mỗi lỗ 100 μL DMSO. Sau 10 phút, mật độ quang của các dung dịch được đo tại hai bước sóng 555 nm và 650 nm sử dụng máy đọc TECAN. Các thí nghiệm được lập lại ba lần để xác định sai số. Kết quả sau đó được tính toán theo giá trị phần trăm dựa trên các mẫu không ủ với cao chiết và xử lý số liệu bằng phần mềm OriginLab phiên bản OriginPro 8.5.1. Để so sánh và kết luận về triển vọng của các cao chiết, trong nghiên cứu này sử dụng doxorubicin, một loại thuốc kháng ung thư đã được dùng rộng rãi lâu đời trong tây y để chữa trị trong tất cả các giai đoạn phát bệnh [17, 20, 21].

Hoạt tính kháng ung thư và độc tính của các cao chiết sau khi được xác định sẽ tiến hành khảo sát ảnh hưởng của cao chiết hành tím và tiêu đen lên hoạt tính của cao chiết nghệ. Tế bào được nuôi cấy trong đĩa ủ 96 lỗ với mật độ 3000 tế bào/ lỗ trong 80 μL môi trường α -MEM qua một đêm sau đó được thêm vào 10 μL cao chiết hành tím hoặc tiêu đen tại nồng độ IC_{25} và 10 μL cao chiết nghệ với các nồng độ được pha loãng từ nồng độ ban đầu là 1 mg/ml. Kết quả sau đó được đo và xử lý theo tiêu chuẩn chung.

1.4 Phân tích thành phần cao chiết

Mẫu cao chiết nghệ được phân tích bằng phương pháp LC/MS để xác định các thành phần có thể có trong cao chiết. Quá trình tối ưu hóa hiệu suất tách chiết cho kết quả về hệ dung môi thích hợp cho việc tách chiết từ phương pháp TLC tiến hành chạy sắc ký cột với cao chiết nghệ, tiêu và hành. Phương pháp này sử dụng Acros silica gel (60-200 mesh). Các thành phần thu được tiến hành xác định hiệu suất ban đầu và sẽ được khảo sát hoạt tính sinh học *in vitro* cũng như định tính cấu trúc hóa học bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ (NMR).

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Điều kiện chiết tối ưu

Quá trình chiết sử dụng 3 loại dung môi với độ phân cực khác nhau là chloroform, ethyl acetate và ethanol. Kết quả khảo sát thu được ở bảng 1

Bảng 1: Dung môi tách chiết tối ưu

Mẫu	Dung môi tối ưu	Hiệu suất tách chiết (%)	Hệ dung môi ethyl acetate-hexane phương pháp TLC
Nghệ	Ethyl acetate	10	2:3
Hành tím	Ethyl acetate	6,7	1:4
Tiêu đen	Ethyl acetate	10	4:1

Sau khi tiến hành ngâm các nguyên liệu ban đầu, ta thu được kết quả về hiệu suất tách chiết và hệ dung môi thích hợp của các mẫu cao chiết. Ethyl acetate được xác định là dung môi thích hợp đối với củ nghệ, hạt tiêu đen và hành tím trong thời gian ngâm mẫu từ 1 đến 30 ngày. Ở thời gian 7 ngày nghệ được chiết với dung môi ethyl acetate cho hiệu suất chiết 10%, với dung môi ethanol đạt 7,1% và chloroform là 5,7%. Cao chiết tiêu và hành tím được thực hiện chiết với ethyl acetate cho hiệu suất lần lượt là 10% và 6,7%.

Quá trình tối ưu dung môi và thời gian thích hợp cho việc thu cao chiết đạt hiệu suất cao cho thấy nghệ và tiêu tách được với hiệu suất tối ưu ở thời gian 7 ngày (10%) trong khi hành tím đạt hiệu suất tối ưu sau 14 ngày ngâm mẫu (6,7%). Khi gia tăng thời gian ngâm thì hiệu suất thu được các cao chiết cũng không tăng lên, điều này thấy được ở quá trình chiết cao nghệ, khi chiết trong dung môi ethyl acetate hiệu suất giảm dần khi tăng thời gian ngâm (7 ngày – 10%, 14 ngày – 8,6%, 30 ngày – 8,6%), việc này được dự đoán là do sự phân hủy các thành phần cao chiết trong điều kiện phân cực của dung môi.

Từ kết quả này ta có thể xác định được thời gian, dung môi, và hệ dung môi tách chiết tối ưu cho từng cao chiết (bảng 1). Kết quả này được xem là cơ sở để tiến hành các bước nghiên cứu tiếp theo.

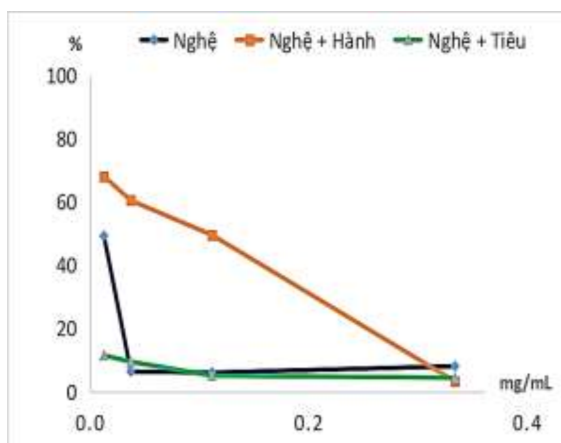
Hoạt tính sinh học của các cao chiết

Độc tính và hoạt tính kháng ung thư của các cao chiết được thể hiện ở bảng 2

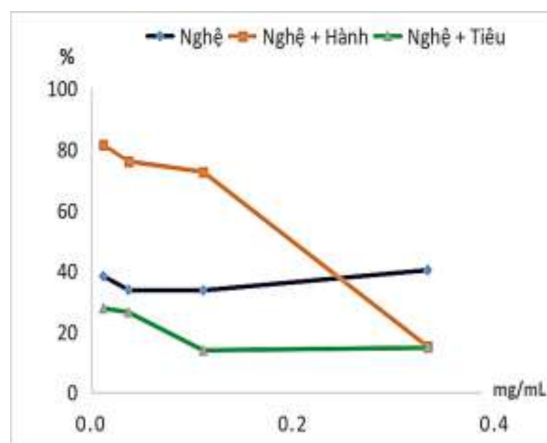
Bảng 2: Độc tính và hoạt tính kháng ung thư của các cao chiết

Cao chiết	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₂₅ (µg/ml)	CC ₅₀ (µg/ml)	CC ₂₅ (µg/ml)	Độ chọn lọc (SI)
	HSF		HCT-116		CC ₅₀ /IC ₅₀
Nghệ	5,26 ± 0,004	4,87 ± 0,004	19,83 ± 0,006	7,40 ± 0,004	3,77
Hành tím	>1000	90,15 ± 0,07	>1000	64,89 ± 0,02	--
Tiêu	>1000	8,08 ± 0,008	49,56 ± 0,07	38,93 ± 0,073	--
Doxorubicin	2262 ± 0,013	1017 ± 1,469	142 ± 3,251	75,06 ± 0,978	15,6

Độc tính gây độc tế bào của các cao chiết thu được đã được kiểm tra bằng MTT-test. Từ kết quả (bảng 2) ta thấy IC₅₀ của cao chiết nghệ là 5,26 µg/ml và CC₅₀ là 19,83 µg/ml, độ chọn lọc đạt 3,77. Điều này cho thấy cao chiết nghệ thể hiện hoạt tính kháng ung thư ruột kết *in vitro* trên tế bào HCT-116 cao hơn doxorubicin 7,3 lần. Tuy nhiên độc tính của cao chiết nghệ trên nguyên bào sợi da người cũng không thấp khi so sánh với doxorubicin (430 lần). Độc tính của cao chiết nghệ được dự đoán là do một số thành phần có thể ngấm vào trong củ nghệ trong quá trình trồng trọt, các hoạt chất gây độc này có thể loại bỏ được khi tiến hành sắc ký cột để phân tách thành phần cao chiết. Cao chiết hành tím cho IC₅₀ và CC₅₀ ở ngoài giới hạn nồng độ thí nghiệm (>1000 µg/ml) và được cho là không thể hiện hoạt tính kháng tế bào ung thư ruột kết HCT-116 *in vitro*. Trong 3 loại cao chiết ta tiến hành khảo sát ở đây thì cao chiết tiêu đen được xem là cao chiết có hoạt tính sinh học tốt nhất. Độc tính của cao chiết tiêu thấp (IC₅₀ > 1000 µg/ml) trong khi đó hoạt tính kháng tế bào ung thư ruột kết HCT-116 *in vitro* thể hiện ở nồng độ 49,56 µg/ml.

Ảnh hưởng của cao chiết Hành tím và Tiêu đen lên hoạt tính sinh học của cao chiết nghệ

Hình 1. Ảnh hưởng của cao chiết hành tím và tiêu đen lên hoạt tính kháng ung thư ruột kết *in vitro* (HCT-116) của cao chiết nghệ.



Hình 2. Ảnh hưởng của cao chiết hành tím và tiêu đen lên độc tính *in vitro* (HSF) của cao chiết nghệ.

Kết quả biểu diễn dưới dạng đồ thị ở hình 1 và hình 2 cho thấy cao chiết hành tím và tiêu đen có tác động khá cao đến hoạt tính sinh học của cao chiết nghệ. Mặc dù cao chiết hành không thể hiện hoạt tính kháng ung thư và độc tính (bảng 2) nhưng kết quả ở hình 1 cho thấy, khi sử dụng cao chiết hành với nồng độ IC_{25} ($90,15 \mu\text{g/ml}$) giúp cải thiện đáng kể hoạt tính kháng ung thư của cao chiết nghệ. Tỷ lệ tối ưu nhất đạt được ở nồng độ hành $64,89 \mu\text{g/ml}$ - nghệ $12,35 \mu\text{g/ml}$ (5:1). Ở nồng độ này, hỗn hợp cao chiết [hành+nghệ] thể hiện hoạt tính kháng ung thư trên tế bào HCT-116 cao hơn cao chiết nghệ 4,3 lần. Tỷ lệ tối ưu của hỗn hợp [tiêu+nghệ] được xác định là tiêu $38,93 \mu\text{g/ml}$ - nghệ $37,04 \mu\text{g/ml}$ (1:1) cho hoạt tính kháng ung thư *in vitro* cao hơn gấp 1,48 lần.

Bảng 3: Ảnh hưởng của cao chiết tiêu đen và hành tím lên hoạt tính của cao chiết nghệ

Cao chiết	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	CC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Độ chọn lọc (SI)
	HSF	HCT-116	CC_{50}/IC_{50}
Nghệ	$5,26 \pm 0,004$	$19,83 \pm 0,006$	3,77
Nghệ+Tiêu	>1000	>1000	--
Nghệ+Hành	$6,21 \pm 0,005$	$109,73 \pm 0,024$	17,67

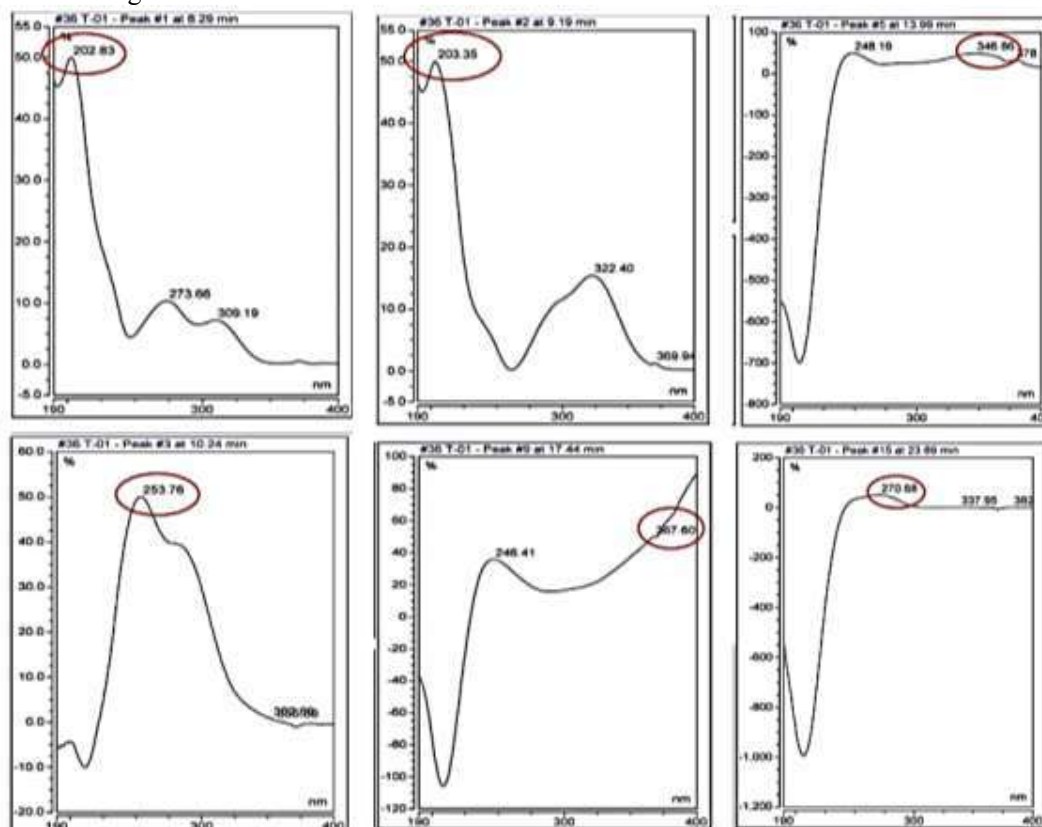
Hình 2 cho thấy ảnh hưởng của hai cao chiết này lên độc tính của cao chiết nghệ *in vitro*. Trong đó, tiêu thể hiện tác động tích cực hơn so với hành. Ở nồng độ nghệ $333,3 \mu\text{g/ml}$ - hành $90,15 \mu\text{g/ml}$ thì độc tính của hỗn hợp [nghệ-hành] là thấp nhất. Ở nồng độ này của nghệ ($333,3 \mu\text{g/ml}$) sự ảnh hưởng của cao chiết tiêu và hành lên độc tính nghệ là như nhau. Tuy nhiên kết quả tổng quan cho thấy nồng độ tối ưu để giảm độc tính của nghệ là hỗn hợp nghệ $111,1 \mu\text{g/ml}$ - tiêu $8,08 \mu\text{g/ml}$ [14:1], tại đây độc tính của nghệ giảm 2,4 lần.

Như vậy tiêu và hành đều có tác động tích cực đến hoạt tính sinh học của nghệ. Đánh giá tổng quan quá trình chiết và khảo sát hoạt tính sinh học, ở các bước tiếp theo nghiên cứu này chọn cao chiết nghệ và tiêu làm nguyên liệu chính vì hiệu suất tách chiết của cao chiết hành khá thấp không đảm bảo mục tiêu ở

quy mô sản xuất. Hơn nữa cao chiết tiêu có khả năng tăng hoạt tính và tối ưu hóa độc tính của cao chiết nghệ.

Phổ LCMS cao chiết nghệ

Thành phần có trong cao chiết nghệ thu hoạch tại Tiền Giang được xác định bằng phương pháp LC/MS ở Viện nghiên cứu hoá học (số 1 Mạc Đĩnh Chi, quận 1, thành phố Hồ Chí Minh) thu được kết quả biểu diễn trong hình 3.



Hình 3. Phổ LC/MS cao chiết nghệ.

Dựa vào kết quả đo LC MS ta thấy được trong cao chiết Nghệ được nghiên cứu ở địa bàn tỉnh Tiền Giang có chứa một số thành phần đặc trưng được dự đoán là Curcumin, □□Curcumene, □□Sesquiphellandrene, □□ Zingiberene... phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Đặc biệt khi đối chiếu với kết quả nghiên cứu của tác giả Phan Thị Hoàng Anh trong nghiên cứu [21], kết quả so sánh được thể hiện trong bảng 4 cho thấy hàm lượng của Curcumin thu được ở cao chiết ở Tiền Giang đạt 5,1% thành phần, trong khi cao chiết ở các địa bàn khác thì không chứa hoặc chứa rất ít không được tìm thấy. Hàm lượng □□Curcumene trong cao chiết ở Tiền Giang 3,42% đạt nồng độ cao hơn các tỉnh khác như Bình Dương (0%), Đồng Nai (1,28%). Hàm lượng □□Sesquiphellandrene thu được trong cao chiết ở Tiền Giang là 1,27% trong khi ở Bình Dương là 1,53%, Đồng Nai - 2,09%, Quảng Nam - 1,33% và Nghệ An - 2,55%. Hàm lượng □□ Zingiberene tìm thấy trong cao chiết ở Tiền Giang là 1,15% tương đối thấp hơn các tỉnh khác như Bình Dương (2,38%), Đồng Nai (1,5%), Quảng Nam (2,51%).

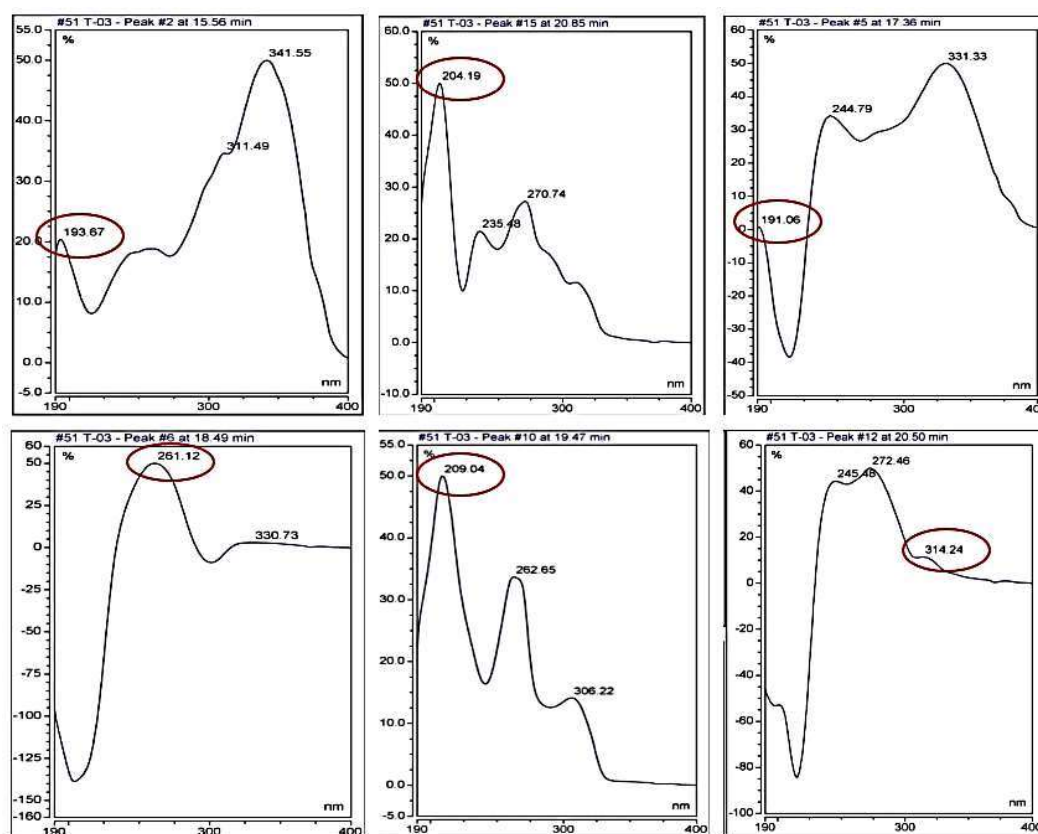
Bảng 4: Các hợp chất trong mẫu cao chiết Nghệ [21]

STT	Tên hợp chất	Thành phần (% khối lượng)				
		Bình Dương	Đông Nai	Quảng Nam	Nghệ An	Tiền Giang
1	-Phellandrene	6,95	3,88	1,82	--	
2	Eucalyptol	2,43	2,38	2,10	--	
3	Terpinolene	--	--	--	2,55	
4	Caryophyllene	--	--	--	1,60	
5	Curcumene	--	1,28	--		3,42
6	Bergamotene	1,34	1,61	1,25	2,05	
7	Sesquiphellandrene	1,53	2,09	1,33	2,55	1,27
8	<i>m</i> -Cymene	--	1,30	--	--	
9	<i>p</i> -Cymene	--	1,31	1,21	1,38	--
10	Myristophenone	1,35	1,26	--	1,23	--
11	<i>Ar</i> Turmerone	19,71	27,04	19,85	25,51	--
12	Turmerone	38,91	31,96	43,07	41,38	--
13	Curlone	22,42	20,47	22,25	20,27	--
14	Zingiberene	2,38	1,50	2,51	--	1,15
15	-Cymene	--	1,35	--	--	--
16	Curcumin	--	--	--	--	5,1
17	Apigenin	--	--	--	--	1,56
18	13-Tetradecen1-ol acetat	--	--	--	--	1,26

Từ kết quả phân tích định tính LC/MS ta nhận thấy rằng củ nghệ thu hoạch trên địa bàn tỉnh Tiền Giang chứa hàm lượng Curcumin khá cao so với nghệ được trồng ở một số tỉnh khác. Đây được xem là một kết quả khá quan trọng phục vụ cho quá trình tách chiết tiếp theo nhằm mục đích tạo viên nén Curcumin-piperine hỗ trợ ngăn ngừa và điều trị ung thư. Ngoài các thành phần được nêu ở trên thì trong cao chiết nghệ ở Tiền Giang tìm thấy một số hợp chất khác được dự đoán là: Apigenin, Zedoarondiol, 1,3-Tetradecen1-ol acetat...

Phổ LC/MS cao chiết tiêu

Thành phần có trong cao chiết tiêu thu hoạch tại Tiền Giang được xác định bằng phương pháp LC/MS ở Viện nghiên cứu hoá học (số 1 Mạc Đĩnh Chi, quận 1, thành phố Hồ Chí Minh) thu được kết quả biểu diễn trong hình 4.



Hình 4. Phổ LC/MS cao chiết tiêu

Dựa vào kết quả đo LC MS ta thấy được trong cao chiết hạt tiêu đen được nghiên cứu ở địa bàn tỉnh Tiền Giang có chứa một số thành phần đặc trưng như Piperine, α -Caryophyllene, Sarian, Elemicin, Benzyl benzoate,... phù hợp với các nghiên cứu trước đây [22-24]. Đặc biệt khi so sánh với nghiên cứu của tác giả Phan Nhật Minh trong nghiên cứu [10], ta nhận thấy được trong thành phần hạt tiêu đen trên địa bàn tỉnh Tiền Giang khi so với hạt tiêu đen được nghiên cứu trên địa bàn Gia Lai thì tìm thấy được một số thành phần phù hợp với nghiên cứu này như Piperine (0,465 %), α -Caryophyllene (0,57%),.. Ngoài ra khi khảo sát thành phần của hạt tiêu đen ở địa bàn tỉnh Tiền Giang chứa các hợp chất được dự đoán là Pipertine, dehydroretrofractamide C, Pipernocaline, Piperoleine A...

Từ kết quả phân tích định tính LC/MS ta nhận thấy rằng hạt tiêu đen thu hoạch trên địa bàn tỉnh Tiền Giang có chứa thành phần Piperine đây là hợp chất cần thiết để chuẩn bị cho các bước nghiên cứu tiếp theo.

Sắc ký cột

Sau khi phân tích định tính thành phần các hợp chất có mặt trong cao chiết nghệ và tiêu đen. Các thành phần trong cao chiết được tiến hành phân tách bằng phương pháp sắc ký cột sử dụng silica gel, hệ dung môi tách sử dụng kết quả ở bảng 1 với độ phân cực thấp hơn. Kết quả tiến hành ban đầu, từ cao chiết nghệ tách được 5 hợp chất riêng biệt với hiệu suất tách chiết khoảng từ 3,5% - 11,5% . Từ cao chiết tiêu đen tách được 4 hợp chất với hiệu suất đạt từ 0,4% - 10,8%. Các thành phần này trong giai đoạn nghiên cứu tiếp theo sẽ được khảo sát hoạt tính sinh học *in vitro* và tiến hành định tính/ định lượng bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ NMR cho kết quả chính xác cao hơn.

KẾT LUẬN

Nghệ được xem là một trong những loại thực vật có hoạt tính sinh học khá cao đã được sử dụng từ lâu đời với nhiều mục đích khác nhau. Các hợp chất trong nghệ đã được nhiều nghiên cứu trước đây chứng minh là có đặc tính sinh khả dụng cao. Nghiên cứu này tối ưu hóa quy trình tách chiết ba loại cao chiết nghệ, tiêu đen và hành tím phục vụ cho y học và công nghiệp thực phẩm. Đồng thời khảo sát hoạt tính kháng ung thư ruột kết và độc tính của chúng *in vitro*. Nghiên cứu chỉ ra sự kết hợp cao chiết nghệ với cao chiết tiêu đen và hành tím ở một tỉ lệ thích hợp có thể tạo ra bước đột phá trong ngành công nghiệp sản xuất thực phẩm chức năng hỗ trợ và điều trị ung thư hiệu quả cao.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính của trường Đại học công nghiệp TP Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.-C. Meng et al., "Turmeric: A review of its chemical composition, quality control, bioactivity, and pharmaceutical application," *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*, pp. 299-350, 2018.
- [2] S. B. Koca, O. Ongun, O. Ozmen, and N. O. Yigit, "Subfertility effects of turmeric (*Curcuma longa*) on reproductive performance of *Pseudotropheus acei*," *Animal reproduction science*, vol. 202, pp. 35-41, 2019.
- [3] G. Singh, I. Kapoor, P. Singh, C. S. De Heluani, M. P. De Lampasona, and C. A. Catalan, "Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.)," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, no. 4, pp. 1026-1031, 2010.
- [4] T. L. Đỗ, "Phần 2: Những cây thuốc và vị thuốc" (Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam). Nhà xuất bản Y học, 2004.
- [5] A. Niranjana and D. Prakash, "Chemical constituents and biological activities of turmeric (*Curcuma longa* L.)- a review," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 45, no. 2, p. 109, 2008.
- [6] G. Shoba, D. Joy, T. Joseph, M. Majeed, R. Rajendran, and P. Srinivas, "Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers," *Planta medica*, vol. 64, no. 04, pp. 353-356, 1998.
- [7] S. J. Park, C. V. Garcia, G. H. Shin, and J. T. Kim, "Improvement of curcuminoid bioaccessibility from turmeric by a nanostructured lipid carrier system," *Food chemistry*, vol. 251, pp. 51-57, 2018.
- [8] S. Hewlings and D. Kalman, "Curcumin: a review of its' effects on human health," *Foods*, vol. 6, no. 10, p. 92, 2017.
- [9] M. Cruz-Correa et al., "Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis," *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 4, no. 8, pp. 1035-1038, 2006.
- [10] A. S. Hammad, S. Ravindran, A. Khalil, and S. Munusamy, "Structure-activity relationship of piperine and its synthetic amide analogs for therapeutic potential to prevent experimentally induced ER stress in vitro," *Cell Stress and Chaperones*, vol. 22, no. 3, pp. 417-428, 2017.
- [11] J. Shaikh, D. Ankola, V. Beniwal, D. Singh, and M. R. Kumar, "Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 37, no. 3-4, pp. 223-230, 2009.
- [12] P. N. Minh, M. T. Chí, and P. V. Trung, "Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu Tiêu (Piper nigrum L.) chiết suất bằng phương pháp Carbon dioxide lỏng siêu tới hạn " *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, vol. 6, pp. 97-102, 2006.
- [13] E. Sunila and G. Kuttan, "Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. and piperine," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 90, no. 2-3, pp. 339-346, 2004.
- [14] M. Kakarala et al., "Targeting breast stem cells with the cancer preventive compounds curcumin and piperine," *Breast cancer research and treatment*, vol. 122, no. 3, pp. 777-785, 2010.

- [15] C. Moorthi and K. Kathiresan, "Curcumin–Piperine/Curcumin–Quercetin/Curcumin–Silibinin dual drug-loaded nanoparticulate combination therapy: A novel approach to target and treat multidrug-resistant cancers," *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*, vol. 7, no. 1, pp. 15-20, 2013.
- [16] C. Moorthi, K. Krishnan, R. Manavalan, and K. Kathiresan, "Preparation and characterization of curcumin–piperine dual drug loaded nanoparticles," *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, vol. 2, no. 11, pp. 841-848, 2012.
- [17] T. N. Nguyen et al., "Synthesis and in vitro antitumor activity of novel alkenyl derivatives of pyridoxine, bioisosteric analogs of feruloyl methane," *Bioorganic & medicinal chemistry*, vol. 26, no. 22, pp. 5824-5837, 2018.
- [18] M. V. Pugachev et al., "Wittig reactions of a bis-triphenylphosphonium pyridoxine derivative," *Tetrahedron letters*, vol. 58, no. 8, pp. 766-769, 2017.
- [19] R. B. Weiss, "The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin?," in *Seminars in oncology*, 1992, vol. 19, no. 6, pp. 670-686.
- [20] K. Chatterjee, J. Zhang, N. Honbo, and J. S. Karliner, "Doxorubicin cardiomyopathy," *Cardiology*, vol. 115, no. 2, pp. 155-162, 2010.
- [21] P. T. H. Anh, "Nghiên cứu quy trình tách chiết, tổng hợp dẫn xuất và xác định tính chất, hoạt tính của tinh dầu và Curcumin từ cây Nghệ vàng (*Curcuma Long L.*) Bình Dương " in *Luận án Tiến sĩ ed. Đại học Bách Khoa*, 2013.
- [22] L. Jirovetz, G. Buchbauer, M. B. Ngassoum, and M. Geissler, "Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction–gas chromatography, solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry and olfactometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 976, no. 1-2, pp. 265-275, 2002.
- [23] C. Perakis, V. Louli, and K. Magoulas, "Supercritical fluid extraction of black pepper oil," *Journal of Food Engineering*, vol. 71, no. 4, pp. 386-393, 2005.
- [24] Y. Jin, D. Qian, and Q. Du, "Preparation of bioactive amide compounds from black pepper by countercurrent chromatography and preparative HPLC," *Industrial crops and products*, vol. 44, pp. 258-262, 2013.

Ngày nhận bài: 02/07/2019

Ngày chấp nhận đăng: 02/10/2019