

CÁC HỢP CHẤT DIARYLHEPTANOID PHÂN LẬP TỪ THÂN RỄ CÂY RÂU HÙM (*Tacca chantrieri*)

Vũ Thị Quỳnh Chi¹, Phạm Hải Yến¹, Nguyễn Xuân Nhiệm¹, Dương Thị Dung¹, Đan Thị Thúy Hằng¹, Bùi Hữu Tài¹, Hoàng Lê Tuấn Anh¹, Nguyễn Thị Việt Thanh², Châu Văn Minh¹, Phan Văn Klêm^{1*}

¹*Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội*

²*Viện Kỹ thuật Hóa học, Đại học Bách Khoa, 1 Đại Cồ Việt, Hà Nội*

Abstract

Four diarylheptanoid metabolites were isolated from the rhizomes of *Tacca chantrieri* using combined chromatographic methods. Their structures were identified as: 3,5-dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane (1), 3,5-dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside (2), 3,5-dihydroxy-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside (3), and 3,5-dihydroxy-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside (4) by spectroscopic analyses and comparison with the data reported in the literature. All compounds were tested for *in vitro* cytotoxic activity against several human cancer cell lines, including PC3, LNCaP, MDA-MB-231, and HepG2. Compounds 2 and 4 exhibited moderate cytotoxic activities toward three human cancer cell lines PC3, LNCaP, MDA-MB-231 with the IC₅₀ values ranging of 19.1 + 49.3 μ M.

Keywords: *Tacca chantrieri*, *Taccaceae*, *Diarylheptanoid*, *Cytotoxicity*.

1. MỞ ĐẦU

Cây râu hùm, hay còn gọi là củ dôm (*Tacca chantrieri* André, 1901) thuộc họ Râu hùm (Taccaceae) là loài cây thảo sống lâu năm, thường mọc hoang ven suối, dưới tán rừng ẩm núi đất hoặc núi đá vôi. Cây phân bố phổ biến ở các khu nhiệt đới như Đông Nam Á, Ấn Độ và Trung Quốc. Ở Việt Nam, cây phân bố chủ yếu ở các tỉnh miền Bắc và Tây Nguyên [1]. Trong y học dân gian, thân rễ cây được sử dụng trong dân gian để chữa trị bệnh thấp khớp, một số bệnh viêm nhiễm như viêm loét dạ dày, viêm ruột và viêm gan [1]. Thành phần hóa học của cây râu hùm được đánh giá là khá đa dạng. Một số nghiên cứu trên thế giới đã phát hiện ra một số hợp chất thuộc khung diarylheptanoid và các steroid dạng spirostan, furostan, pseudofurostan, withanolide và pregnan từ loài cây này [2-7]. Trong khuôn khổ quá trình tìm kiếm các hoạt chất sinh học từ chi *Tacca*, nghiên cứu này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của bốn hợp chất diarylheptanoid từ dịch chiết methanol của thân rễ cây râu hùm và đánh giá tác dụng gây độc tế bào của các hợp chất này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu nghiên cứu

Mẫu thân rễ cây râu hùm (*Tacca chantrieri* André, 1901) được thu vào tháng 9 năm 2012 tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Tên khoa học được TS. Bùi

Văn Thanh, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản được lưu trữ tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hóa chất, thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Aluofolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040 - 0,063 mm (240 - 430 mesh). Silica gel pha đảo YMC C₁₈ (30 - 50 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Bruker AM500 của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS): Đo trên máy AGILENT 1200 series LC-MSD Ion Trap.

Độ quay cực: đo trên máy Jasco V-630 Spectrophotometer của Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phân lập các hợp chất

Thân rễ cây râu hùm tươi (5,0 kg) được phơi khô nghiên nhỏ, sau đó chiết với metanol ở nhiệt độ phòng (3 lần, mỗi lần 5 ngày) thu được dịch chiết metanol. Sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm

ăn chiết MeOH (300 g) được phân bố trong nước cất và chiết phân lớp lần lượt với dung môi CH_2Cl_2 và EtOAc thu được các cặn chiết tương ứng CH_2Cl_2 (TCRA, 70,0 g), EtOAc (TCRB, 120,0 g) và nước (TCRC, 110,0 g). Phân lớp EtOAc (TCRB, 40 g) được phân tách sắc ký trên cột silica gel pha thường, sử dụng hệ dung môi rửa giải gradient CH_2Cl_2 :MeOH (100:1 \rightarrow 5:1, v/v) và cuối cùng rửa giải bằng MeOH thu được bốn phân đoạn (TCRB1-4). Phân đoạn TCRB3 được phân tách trên cột silica gel pha đảo C_{18} , sử dụng hệ dung môi MeOH:H₂O (1:2, v/v) thu được ba phân đoạn TCRB31-3. Phân đoạn TCRB31 được phân tách trên cột silica gel pha thường, rửa giải bằng hệ dung môi EtOAc:MeOH (13:1, v/v) thu được năm phân đoạn nhỏ TCRB311-5. Phân đoạn TCRB311 tiếp tục được phân tách qua cột silica gel pha thường, rửa giải bằng CH_2Cl_2 :MeOH (6:1, v/v) thu được hợp chất 3 (80 mg). Phân đoạn TCRB312 tiếp tục được phân tách qua cột silica gel pha đảo C_{18} , rửa giải bằng MeOH:H₂O (1:1,7, v/v) thu được hợp chất 2 (50 mg). Phân đoạn TCRB32 được phân tách qua cột silica gel pha đảo C_{18} , rửa giải bằng MeOH:H₂O (1:2, v/v) thu được hợp chất 1 (6 mg) và 4 (100 mg).

5-Dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane (1): chất dạng dầu, không màu. Độ quay cực: $[\alpha]_D^{25} +5,2$ (c 0,2, MeOH). Công thức phân tử: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_8$. Khối lượng phân tử: 348. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3,84 (2H, H-3 và H-5), 6,65 (2H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2' và H-2''), 6,68 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5' và H-5''), 6,53 (2H, dd, $J = 1,5, 8,0$ Hz, H-6' và H-6''). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): xem Bảng 1.

5-Dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside (2): Chất bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$. Khối lượng phân tử: 510. SI-MS: m/z 533 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ_{H} 3,94 (2H, H-3 và H-5), 6,67 (1H, br s, t-2), 6,70 (1H, br s, H-2'), 6,68 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, t-5' và H-5''), 6,53 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6'), 6,54 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6'') và 4,34 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, t-1''). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): xem Bảng 1.

5-Dihydroxy-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside (3): Chất bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_9$. Khối lượng phân tử: 378. SI-MS: m/z 501 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3,95 (2H, H-3 và H-5), 7,04 (2H, $J = 8,0$ Hz, H-2' và H-6'), 6,70 (4H, d, $J = 8,0$ Hz, 3', H-5', H-3'', và H-5''), 7,03 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, 2'' và H-6''), 4,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): xem Bảng 1.

5-Dihydroxy-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-(4-dihydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-

glucopyranoside (4): Chất bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$. Khối lượng phân tử: 494. SI-MS: m/z 517 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3,95 (2H, H-3, H-5), 6,65 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2'), 6,67 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 6,55 (1H, dd, $J = 1,5, 8,5$ Hz, H-6'), 7,02 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2''), 6,70 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3'' và H-5''), 4,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): xem Bảng 1.

2.4. Đánh giá hoạt tính diệt tế bào ung thư

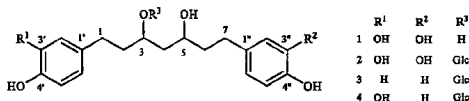
Bốn hợp chất trên được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 4 dòng tế bào ung thư người, PC3 (ung thư tuyến tiền liệt), LNCaP (ung thư biểu mô tuyến tiền liệt), MDA-MB-231 (ung thư vú) và HepG2 (ung thư gan) theo phương pháp MTT được miêu tả bởi Skehan và cs [9]; Likhivitayawuid và cs [10] hiện đang được áp dụng tại viện nghiên cứu ung thư Quốc gia của Mỹ (NCI) và trường đại học Dược, Đại học Tổng hợp Illinois, Chicago, Mỹ.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất

Hợp chất 1 thu được ở dạng dầu không màu. Trên phổ $^1\text{H NMR}$ xuất hiện tín hiệu của các proton hệ ABX của 2 vòng thơm đối xứng tại δ_{H} 6,65 (2H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2' và H-2''), 6,68 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5' và H-5''), và 6,53 (2H, dd, $J = 1,5$ Hz và 8,0 Hz, H-6' và H-6'') cho biết sự có mặt của hai vòng thơm bị thế ở các vị trí 1,3,4. Trên phổ $^1\text{H NMR}$ cũng ghi nhận tín hiệu của hai nhóm oxymethine tại δ_{H} 3,84 (2H, m, H-3 và H-5). Phổ $^{13}\text{C NMR}$ và DEPT ghi nhận sự có mặt của 2 nhóm oxymethine tại δ_{C} 68,80 (C-3 và C-5) và 5 nhóm methylene tại δ_{C} 32,36 (C-1 và C-7), 41,27 (C-2 và C-6) và 45,58 (C-4), qua đó gợi ý sự có mặt của một chuỗi mạch n-heptane (bảng 1). Độ dịch chuyển hóa học về phía trường thấp của nhóm methylene tại δ_{C} 32,36 giúp xác định vị trí liên kết giữa mạch heptane với hai vòng thơm. Những phân tích này cho thấy 1 thuộc lớp chất diaryheptanoid. Phân tích so sánh số liệu phổ ^1H và $^{13}\text{C NMR}$ và độ quay cực của 1- $[\alpha]_D^{25} +5,2$ (c 0,2, MeOH) với một hợp chất diaryheptanoid đã biết- $[\alpha]_D^{25} +4,0$ (c 0,1, MeOH) cho thấy trùng khớp hoàn toàn [8]. Do đó cấu trúc hóa học của hợp chất 1 được xác định là 3,5-dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane.

Hợp chất 2 được phân lập từ phân đoạn ethyl acetate. Trên phổ khối lượng phân tử điện tử xuất hiện tín hiệu ion giả phân tử m/z 533 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ gợi ý công thức phân tử $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$. Phân tích so sánh phổ ^1H và $^{13}\text{C NMR}$ của 2 với 1 cho kết quả khá tương đồng, điểm khác biệt chủ yếu là sự xuất hiện các tín hiệu của một đơn vị đường ở hợp chất 2 (Bảng 1).



Hình 1: Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-4

Bảng 1. Số liệu phổ ¹³C NMR của hợp chất 1-4 và các chất tham khảo

C	1		2		3		4	
	δ_c^a [8]	$\delta_c^{a,b}$	δ_c^c [8]	$\delta_c^{b,c}$	δ_c^d [8]	$\delta_c^{b,c}$	δ_c^e [8]	$\delta_c^{a,b}$
1	32,4	32,36	31,7	31,71	31,5	31,53	31,7	31,72
2	41,3	41,27	39,0	38,98	39,2	39,13	39,0	39,08
3	68,8	68,80	76,8	76,81	76,9	76,91	76,8	76,85
4	45,6	45,58	44,3	44,31	44,4	44,34	44,0	44,32
5	68,8	68,80	67,6	67,54	67,5	67,50	67,4	67,58
6	41,3	41,27	40,9	40,86	41,0	40,96	41,0	40,93
7	32,4	32,36	32,5	32,51	32,3	32,26	32,3	32,25
1'	135,5	135,35	134,3	135,33	134,5	134,63	135,3	135,35
2'	116,3	116,29	116,6	116,57	130,3	130,31	116,6	116,59
3'	146,1	146,06	146,0	145,99	116,0	116,05	146,1	146,07
4'	144,1	144,12	144,1	144,03	156,3	156,24	144,1	144,14
5'	116,6	116,58	116,2	116,23	116,1	116,05	116,3	116,30
6'	120,7	120,67	120,7	120,68	130,3	130,31	120,7	120,69
1''	135,3	135,35	135,5	135,45	134,4	134,35	134,6	134,55
2''	116,3	116,29	116,7	116,68	130,4	130,41	130,4	130,31
3''	146,1	146,06	146,1	146,03	116,1	116,10	116,1	116,04
4''	144,1	144,12	144,2	144,11	156,3	156,31	156,2	156,20
5''	116,6	116,58	116,3	116,28	116,1	116,10	116,0	116,04
6''	120,7	120,67	120,8	120,76	130,4	130,41	130,4	130,31
1'''			103,7	103,67	103,8	103,75	103,7	103,70
2'''			75,2	75,19	75,3	75,26	75,2	75,23
3'''			78,2	78,12	78,2	78,18	78,1	78,14
4'''			72,4	72,32	72,4	72,42	72,4	72,40
5'''			77,7	77,62	77,7	77,68	77,6	77,63
6'''			62,3	63,25	63,3	63,34	63,3	63,31

^a125MHz, ^bđo trong CD₃OD, ^cđo số liệu phổ đã công bố trong tài liệu [8].

Các tín hiệu cộng hưởng tại δ_c 103,67 (C-1'''), 75,19 (C-2'''), 78,12 (C-3'''), 72,32 (C-4'''), 77,62 (C-5'''), và 63,25 (C-6''') trên phổ ¹³C NMR, cùng với tín hiệu của một proton anome tại δ_H 4,34 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') cho phép xác định sự có mặt của một đường β -glucopyranose trong cấu trúc. Ngoài ra, độ dịch chuyển hóa học carbon của C-3 (δ_c 76,81) ở 2 dịch chuyển về trường thấp khi so sánh với 1 (δ_c 68,80), cho thấy phần đường gắn với vị trí C-3 của aglycone của 2. Từ những phân tích trên, kết hợp với so sánh số liệu phổ ¹H và ¹³C NMR của 2 với một hợp chất diarylheptanoid glucoside đã biết [8], cấu trúc hóa học của 2 được xác định là 3,5-dihydroxy-1,7-bis(3,4-dihydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside.

Hợp chất 3 thu được ở dạng bột màu trắng, có khối lượng phân tử được dự đoán là C₂₅H₃₄O₈ thông qua tín hiệu ion giả phân tử m/z 501 [M+Na]⁺ trên

phổ khối lượng phun mù điện tử. Trên phổ ¹H NMR của 3 xuất hiện tín hiệu của các proton hệ AA'BB' tại δ_H 7,04 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2' và H-6'), 6,70 (4H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3', H-5', H-3'' và H-5'') và 7,03 (2H, dd, $J = 8,0$ Hz, H-2'' và H-6'') gợi ý sự có mặt của hai vòng thơm thế para. Phổ ¹H và ¹³C NMR cho biết sự xuất hiện của 1 đơn vị đường β -glucopyranose và một chuỗi mạch n-heptane với 2 nhóm oxymethine (Bảng 1). Tương tự như trên, độ dịch chuyển hóa học của vị trí C-3 dịch chuyển về trường thấp (δ_c 76,91) cho biết phần đường ở vị trí C-3 của aglycone. Phân tích so sánh số liệu phổ ¹H và ¹³C NMR của 3 với các số liệu đã công bố thấy hoàn toàn trùng hợp [8], do đó cấu trúc hóa học của 3 được xác định là 3,5-dihydroxy-1,7-bis(4-hydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside.

Hợp chất 4 có dạng bột màu trắng. Khối lượng phân tử của 4 được dự đoán là C₂₅H₃₄O₁₀ thông qua

tín hiệu ion giả phân tử m/z 517 $[M+Na]^+$ trên phổ khối lượng phân tử điện từ. Trên phổ 1H NMR của 4 xuất hiện tín hiệu của các proton vòng thơm hệ ABX tại δ_{H} 6,65 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2'), 6,67 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5') và 6,55 (1H, dd, $J = 1,5$ Hz và 8,5 Hz, H-6') cùng với hệ AA'BB' tại 7,02 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2'' và H-6''), 6,70 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3'' và H-5''), gợi ý sự có mặt của một vòng thơm thế 1,3,4 và một vòng thơm thế para. Tương tự như trên, phân tích phổ 1H và ^{13}C NMR và so sánh với hợp chất 3 cho biết sự có mặt của một chuỗi n-heptane với một đường β -glucopyranose tại vị trí C-3 (Bảng 1). So sánh số liệu phổ 1H và ^{13}C NMR với hợp chất đã biết cho kết quả trùng khớp hoàn toàn [8], do đó cấu trúc hóa học của 4 được xác định là 3,5-dihydroxy-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl)heptane 3-O- β -D-glucopyranoside.

3.2. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Bốn hợp chất trên đã được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 4 dòng tế bào ung thư người, PC3, LNCaP, MDA-MB-231 và HepG2. Theo đó, các hợp chất 2 và 4 đã thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ở mức độ trung bình trên 3 dòng tế bào ung thư thử nghiệm với giá trị IC_{50} trong khoảng $19,1 \pm 49,3$ μM (bảng 2). Trong khi đó, hợp chất 1 và 3 không thể hiện hoạt tính gây độc trên tất cả các dòng tế bào ung thư thử nghiệm, $IC_{50} > 50$ μM . Ellipticine được sử dụng làm chất đối chứng dương trong các phép thử nghiệm. Giá trị IC_{50} của nó ứng với các thí nghiệm trên các dòng tế bào PC3, LNCaP, MDA-MB-231 và HepG2 lần lượt là 1,06, 0,70, 0,84, và 0,95 μM .

Bảng 2: Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1-4

Hợp chất	IC_{50} (μM)			
	PC3	LNCaP	MDA-MB-231	HepG2
1	>50	>50	>50	>50
2	30,7	19,1	24,2	>50
3	>50	>50	>50	>50
4	30,8	20,2	49,3	>50
Ellipticine	1,06	0,70	0,84	0,95

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED), đề tài mã số 104.01-2012.22.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- V. V. Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tập 2, tr 563 (2012).
- A. Yokosuka, Y. Mimaki, H. Sakagami, Y. Sashida. New diarylheptanoids and diarylheptanoid glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. *Journal of Natural Products*, 65, 283-289 (2002).
- A. Yokosuka, Y. Mimaki, Y. Sashida. Steroidal and pregnane glycosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. *Journal of Natural Products*, 65, 1293-1298 (2002).
- A. Yokosuka, Y. Mimaki, Y. Sashida. Spirostanol saponins from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*, 61, 73-78 (2002).
- A. Yokosuka, Y. Mimaki, Y. Sashida. Chantriolides A and B, two new withanolide glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. *Journal of Natural Products*, 66, 876-878 (2003).

- P. S. Vankar, J. Srivastava, K. Molkanov, B. Kojic-Prodic. Withanolide A. Series steroidal lactones from *Eucalyptus globulus* bark. *Phytochemistry Letters*, 2, 67-71 (2009).
- L. Zhang, J. Y. Liu, L. Z. Xu, S. L. Yang. Chantriolide C, a new withanolide glucoside and a new spirostanol saponin from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 57, 1126-1128 (2009).
- Akihito Yokosuka, Yoshihiro Mimaki, Hiroshi Sakagami, and Yutaka Sashida, New diarylheptanoids and diarylheptanoid glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and Their Cytotoxic Activity, *Journal of Natural Products*, 2002, vol. 65, pp. 283-289.
- P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M. R. Boyd. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of National Cancer Institute*, 82, 1107-1112 (1990).
- K. Likhitwitayawuid, C. K. Angerhofer, G. A. Cordell, J. M. Pezzuto, N. Ruangrungsii. Cytotoxic and antimalarial bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania erecta*. *Journal of Natural Products*, 56, 30-38 (1993).

ên hệ: Phan Văn Kiệt
Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: phankiem@yahoo.com