Vietnam Journal of Community Medicine, Vol 63, No 2 (2022) 160-166

EXPLOITING THE POTENTIAL OF CASHEW NUT SHELL WASTE TO CREATE ANACARDIC ACID-LIPOSOMAL COMPLEX (AL) WITH INHIBITORY POTENCY AGAINST LUNG CANCER CELLS, CONTRIBUTING TO COMMUNITY HEALTH PROTECTION

Le Tri Vien[1,2], Do Thi Thao[2,3], Tran Van Loc[2,4], Tran Hoang Bao Kha[5], Nguyen Hong Hoang[5], Pham Thi Hue[5], Phung Thi Kim Hue[2,*]

[1]*Institute of Biopharmaceutical Sciences, National Yang Ming Chiao Tung University - Taipei, Taiwan*
[2]*Institute of Health Research and Educational Development in Central Highlands - Pleiku, Gia Lai, Vietnam*
[3]*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology - 8 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*
[4]*Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology - 8 Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*
[5]*Huynh Man Dat High School For The Gifted - Tran Cong An, Vinh Lac, Rach Gia, Kien Giang, Vietnam*

Received 20/12/2021
Revised 26/01/2022; Accepted 08/03/2022

ABSTRACT

The cashew tree contains anacardic acid (AA), a natural active ingredient that accounts for about 65% of the shell liquid. This liquid mixture comprises four compounds differing in the saturation degree of the hydrophobic chains, resulting in their limited cellular absorption. Hence, AA shows robust inhibitory activities against the proliferation of many cancer cell lines yet renders low bioavailability and multiple side effects. This study aims to create an AA-encapsulating liposomal material with predictive suppression on cancer cells. AL was fabricated by incorporating AA into liposomes giving particles with nano-size of 99.08-171.2 nm, PDI of 0.228, and zeta potential of -9.38 mV. The results demonstrated that AA hydrogenated from crude AA extract obtained 100% purity. The crystallized AA form weakly inhibited SK-LU-1 with IC_{50} (inhibition at 50%) = 496.39 ± 9.87 µM, while AA - DMSO showed better effect upon SK-LU-1 with IC_{50} = 189.39 ± 5.97 µM. AL inhibited SK-LU-1 cells in vitro with an IC_{50} = 96.59 ± 3.19 µM with a statistically significant difference ($P<0.05$) compared with AA – DMSO. However, AL also suppressed healthy cells with IC_{50} = 109.79 ± 13.19 µM. Thereby, this combination is expected to increase the potency of AA against cancer cells (SK-LU-1) and reduce the toxic effect on healthy cells. However, it is necessary to combine compounds targeting AL to restrain its influence to create an effective cancer treatment support product, thereby exploiting the precious active ingredients in the source of cashew nut shells thoroughly to server for human health.

Keywords: Anacardic acid; AL; human lung cancer cell line; cashew nut shell; nanoliposome; SK-LU-1.

*Corressponding author
Email address: whitelily109@gmail.com
Phone number: (+84) 914 730 099
https://doi.org/10.52163/yhc.v63i2.312

KHAI THÁC TIỀM NĂNG NGUỒN VỎ THẢI HẠT ĐIỀU TẠO CHẾ PHẨM LIPOSOME ANACARDIC ACID (AL) CÓ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ TẾ BÀO UNG THƯ GÓP PHẦN BẢO VỆ SỨC KHOẺ CỘNG ĐỒNG

Lê Trí Viễn[1,2], Đỗ Thị Thảo[2,3], Trần Văn Lộc[2,4], Trần Hoàng Bảo Kha[5], Nguyễn Hồng Hoàng[5], Phạm Thị Huệ[5], Phùng Thị Kim Huệ[2,*]

[1]Viện khoa học Dược phẩm sinh học, Đại học Quốc gia Yang Ming Chiao Tung, Đài Bắc, Đài Loan - Đài Bắc, Đài Loan
[2]Viện Nghiên cứu Sức khoẻ và Phát triển Giáo dục Tây Nguyên, Pleiku, Gia Lai, Việt Nam - TP Pleiku, Gia Lai, Việt Nam
[3]Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam - 8 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
[4]Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam - 8 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
[5]Trường THPT chuyên Huỳnh Mẫn Đạt, Kiên Giang, Việt Nam - Trần Công An, Vĩnh Lạc, Tp Rạch Giá, Kiên Giang, Việt Nam

Ngày nhận bài: 20 tháng 12 năm 2021
Chỉnh sửa ngày: 26 tháng 01 năm 2022; Ngày duyệt đăng: 08 tháng 03 năm 2022

TÓM TẮT

Cây Điều có chứa anacadic acid (AA), là một hoạt chất tự nhiên bởi mức độ không bão hòa của các chuỗi bên kỵ nước khiến chúng hạn chế hấp thu vào tế bào, vì vậy, AA ức chế mạnh sự tăng sinh của tế bào ung thư nhưng sinh khả dụng thấp và các tác dụng phụ. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành chế tạo vật liệu liposome tổ hợp với AA để ức chế tế bào ung thư nhằm khắc phục nhược điểm của AA. Kết quả chứng minh rằng, đã chuyển AA chiết từ vỏ hạt điều sang dạng hydro hóa được độ tinh khiết 100%. AA dạng kết tinh ức chế SK-LU-1 với hiệu lực yếu với IC_{50} = 496,39 ± 9,87 µM. Khi pha AA trong dung môi hữu cơ để khắc phục tính khó tan thì đã ức chế SK-LU-1 với hiệu lực tốt hơn (IC_{50} = 189,39 ± 5,97 µM). Từ đó, AA được tổ hợp vào liposome thu được AL với kích thước nano khoảng 99,08 nm - 171,2 nm, PDI 0,228, thế zeta -9,38 mV và được đánh giá là vật liệu có ứng dụng y sinh. Tế bào SK-LU-1 bị AL ức chế với IC_{50} = 96,59 ± 3,19 µM chênh lệch có ý nghĩa thống kê (P<0,05) so với AA tự do. Qua đó cho thấy, sự kết hợp này được kỳ vọng sẽ làm tăng hoạt động của AA chống lại tế bào ung thư (SK-LU-1) và giảm tác dụng độc hại đối với các tế bào khỏe mạnh, tuy nhiên cần tổ hợp chất hướng đích vào AL để nâng cao hiệu quả của loại vật liệu này.

Từ khóa: Anacardic acid; AL; tế bào ung thư phổi; vỏ hạt điều; liposome; SK-LU-1.

*Tác giả liên hệ
Email: whitelily109@gmail.com
Điện thoại: (+84) 914 730 099
https://doi.org/10.52163/yhc.v63i2.312

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phương pháp điều trị ung thư thường là phẫu thuật bỏ khối u rắn, xạ trị và hóa trị. Sử dụng anacadic acid (AA) trong dịch chiết vỏ hạt cây Điều (VĐ), AA được mô tả là chất gây độc tế bào ung thư (El-Bassiony et al. 2012); chống khối u, chống oxy hóa (Hamad et al. 2015), chống ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú,… (Schneider et al. 2016).

Nanoliposomes được sử dụng như một hệ thống phân phối thuốc để chống khối u (Lee et al., 2015) và mang lại nhiều ưu thế hơn hẳn so với các hệ thống phân phối thuốc khác. Do vậy, để cải thiện tính sinh khả dụng của AA, sau khi phân lập và hydro hoá sẽ được chế tạo thành nano liposome, có kích thước nhỏ nên dễ hấp thu nhờ đó khi sử dụng sẽ giảm liều, bên cạnh việc giảm độc tính thì còn giúp tăng sinh khả dụng của chúng. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi tạo vật liệu mới từ AA, nhằm khắc phục được tính khó tan để làm tăng hiệu quả ức chế tế bào ung thư của chính AA.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

AA chiết từ vỏ hạt Điều và được liên hợp liposomes. Dòng tế bào SK-LU-1, HEK-293A.

2.2. Địa điểm và phạm vi nghiên cứu

Tiến hành thu AA từ vỏ hạt cây Điều để chế tạo AL rồi khảo sát đánh giá khả năng ức chế tế bào ung thư phổi (SK-LU-1) in vitro tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam; Viện Nghiên cứu Sức khoẻ và Phát triển Giáo dục Tây Nguyên, Việt Nam.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Vật liệu nghiên cứu

AA được chiết tách từ vỏ hạt Điều (VĐ). Tế bào ung thư phổi (SK-LU-1), tế bào lành (HEK-293A) được cung cấp bởi GS. Chi-Ying Huang, Đại học Quốc gia Yang Ming Chiao Tung, Đài Loan. Môi trường DMEM, huyết thanh phôi bò (FBS) cung cấp bởi Miltenyi. Hóa chất cung cấp bởi Sigma Aldrich (St. Louis, M.O., USA).

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu

2.3.2.1. Chế tạo tổ hợp liposome bọc anacardic acid (AL)

- Hidro hoá anacardic acid tách chiết từ vỏ hạt điều

Chiết 1 kg vỏ hạt điều thu được 0,15 kg AA (Phùng Thị Kim Huệ và CS., 2021). Cho 2 g AA vào bình cầu 2 cổ 25 ml, bổ sung thêm 10 ml methanol, 50 mg Pd/C vào bình phản ứng và hút hết không khí trong bình bằng bơm chân không. Sục H_2 vào bình phản ứng, khuấy ở nhiệt độ phòng 8 h, thêm 5 ml methanol và lọc cặn, rửa cặn với 5 ml methanol. Dịch lọc được cất loại dung môi, được 2,03 g AA thô, đem kết tinh lại với 10 ml n-hexane nóng, để qua đêm trong tủ lạnh. Lọc kết tủa, rửa với n-hexane, sấy khô được 1,8 g AA kết tinh (ANAC4). Sử dụng phương pháp cộng hưởng hạt nhân xác định phổ khối NMR *(*phổ proton và phổ carbon) để tìm cấu trúc hoá học của AA, dùng phương pháp để định lượng AA sau khi hydro hoá.

- Chế tạo phức hệ nano liposomes anacardic acid (AL)

+ Phương pháp tổng hợp liposomes và tổ hợp hoạt chất vào liposome

Sau khi phân lập và kết tinh, AA thu được đem chế tạo AL, các lipid gồm Phosphatidylcholine (PS), Cholesterol và DSPE-PEG2000-Maleimide được hòa tan trong dung môi Dichloromethane, AA cũng được hòa cùng với hỗn hợp các lipid này được trộn với nhau theo các tỉ lệ mol của PS: Cholesterol: DSPE-PEG-Mal: AA với tỉ lệ nhất định để tạo lớp lipid mỏng. Tiến hành hydrate hóa bằng đệm PBS trong 10 phút. Dung dịch được siêu âm rồi ly tâm để thu cặn liposomes, ép lọc qua màng lọc 13mm PVDF kích thước 0.1 µm. Phần nổi phía trên được thu thập để đo AA không tổ hợp. Hình thái của các hạt nano thu được được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (hệ thống HITACHI S-4800 SEM). Kích thước liposome được xác định thông qua tán xạ ánh sáng động để đo kích thước và điện thế bằng thiết bị zeta Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, UK).

2.3.2.2. Phương pháp khảo sát hiệu quả ức chế SK-LU-1 của AL

-Phương pháp nuôi cấy dòng tế bào

SK-LU-1, HEK-293A *được nuôi cấy trong môi trường DMEM có thành phần kèm theo gồm 2 mML-glutamine, 10 mM HEPES và 1.0 mM sodium pyruvate, 10% huyết thanh phôi bò. Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỷ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm ở 37°C, 5% CO_2.*

-Thử nghiệm MTT đánh giá độc tính tế bào ung thư phổi

Sử dụng muối tetrazolium làm thuốc thử trong phép so màu, vòng tetrazolium của thuốc thử bám chặt vào ti thể của tế bào hoạt động. Dưới tác dụng của enzyme

dehydrogenase trong tế bào, màu vàng của MTT biến đổi thành màu tím formazan. Tế bào được thu hoạch, đưa vào các giếng của đĩa 96 giếng và nuôi trong tủ ấm CO_2, 37°C. Sau đó, 20 µl MTT (5mg/ml) được đưa vào các giếng của đĩa nuôi cấy và ủ tiếp trong tủ ấm 37°C trong 4h. Tiếp theo loại bỏ môi trường và MTT trong các giếng và thêm 100 µl DMSO để hoà tan các tinh thể formazan được tạo thành. Đo độ hấp thụ (OD) của dung dịch trong các giếng bằng máy đo ELISA ở bước sóng 540 nm. Lượng tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$\textbf{\% sống sót} = 100 \text{ x } \frac{\text{OD (chất thử)} - \text{OD (đối chứng trắng)}}{\text{OD (DMSO)} - \text{OD (đối chứng trắng)}}$$

2.4. Phân tích thống kê

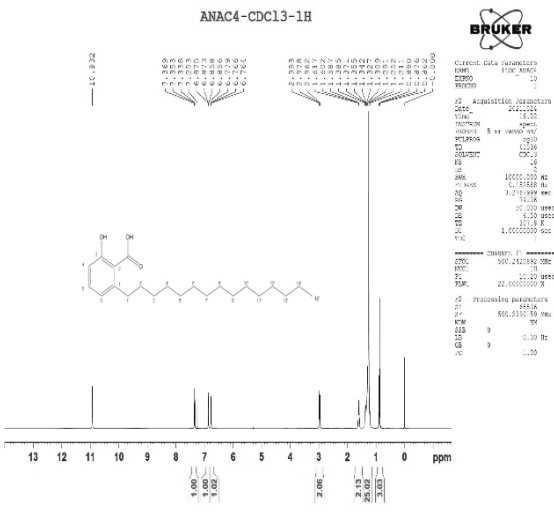
Các số liệu được phân tích, xử lý qua phần mềm Excel 2010 và biểu diễn giá trị trung bình của hai mẫu bằng test thống kê, khác biệt có ý nghĩa khi P<0,05.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

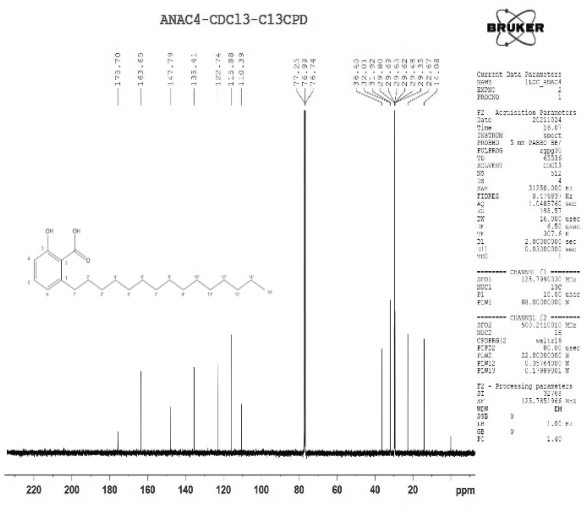
3.1. Chế tạo tổ hợp liposome bọc anacardic acid (AL)

Để thuận tiện trong việc tạo vật liệu liposome, tiến hành chuyển đổi AA (dạng lỏng) thành dạng kết tinh khi tiến hành hydro hoá, sau đó xác định phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR (hình 3.1) để xác định công thức hoá học của AA sau khi kết tinh (ANAC4).

Hình 3.1. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR của anacardic acid sau khi kết tinh



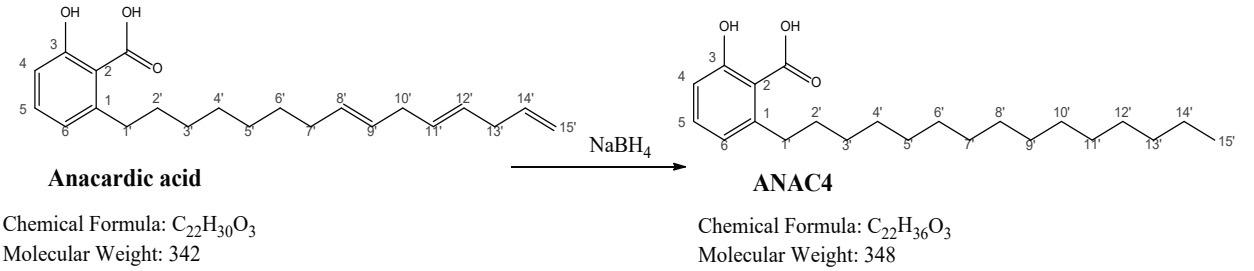
a. Phổ 1H-NMR của anacardic acid sau khi kết tinh



b. Phổ 13C-NMR của anacardic acid sau khi kết tinh

Từ kết quả của các phổ ở trên, xác định được cấu trúc của hợp chất ANAC4 (Hình 3.1), cho thấy, AA dạng lỏng gồm bốn hợp chất khác nhau bởi mức độ không bão hòa của chuỗi bên kị nước, sau khi hydro hoá hoàn toàn, không còn liên kết đôi ở mạch nhánh, phù hợp với cấu trúc của chất **ANAC4** (Hình 3.2).

Hình 3.2. Công thức của Anacardic acid (dạng lỏng) và dạng kết tinh sau khi hydro hoá

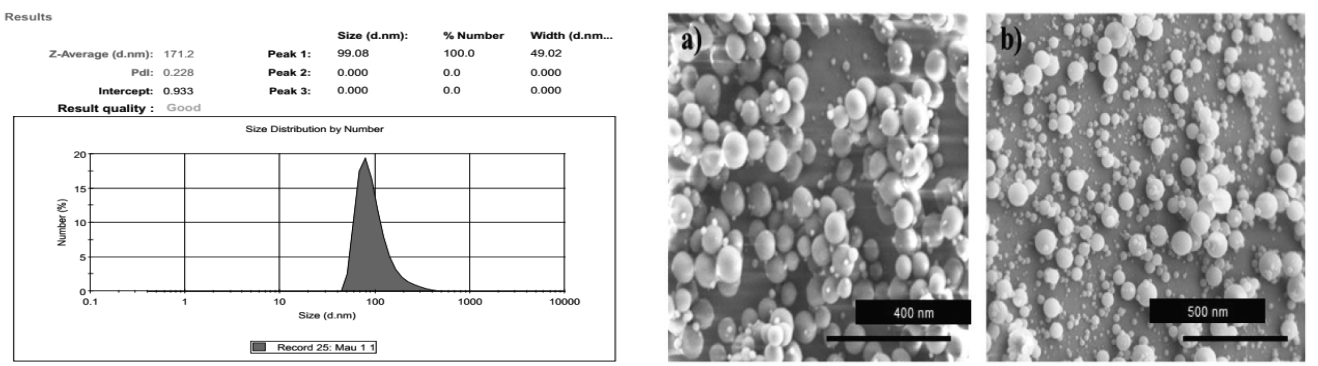


Theo Balasubramanyam và cs. (2003), quá trình hydro hóa AA để tạo thành axit bão hòa đã không làm thay đổi hoạt động ức chế của AA (Balasubramanyam et al., 2003). Để khẳng định điều này, dự án tiến hành khảo sát khả năng ức chế tế bào ung thư phổi (SK-LU-1) và tế bào lành (HEK-293A) của AA dạng lỏng và dạng kết tinh. Kết quả cho thấy, cả 2 dạng trên, khi pha trong nước đã ức chế SK-LU-1 với IC_{50} = 475,46 ± 8,31 µM ở AA dạng lỏng và AA dạng kết tinh có IC_{50} = 496,39 ± 9,87 µM (P>0,05). Kết quả trên cho thấy, AA có khả năng ức chế được tế bào ung thư và khi chuyển sang dạng kết tinh nó vẫn có khả năng này chứng tỏ quá trình hydro hoá AA đã không làm mất đặc tính không bão hoà và không làm thay đổi bản chất của nó. Nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng, AA dạng chưa bão hoà đã ức chế tế bào ung thư vú (MCF-7), ung thư cổ tử cung, ung thư gan và khối u ác tính khác (Sung et al., 2008). Tuy nhiên, AA dạng lỏng và dạng kết tinh khi hoà trong nước đều ức chế tế bào lành với IC_{50} lần lượt là 499,13 ± 7,76 µM và 485,29 ± 8,18 µM, điều này cho thấy AA có thể gây ra tác dụng phụ khi không hướng đích, đây là nền tảng để tạo vật liệu mới có chứa AA trong tương lai.

-Chế tạo AL (Liposome liên hợp với AA)

AA dạng kết tinh hòa cùng với Phosphatidylcholine (PS), Cholesterol, DSPE-PEG2000-Maleimide theo tỉ lệ nhất định trong dung môi Dichloromethane để liposomes hóa, hydrat hoá bằng PBS thu được AL. Hình 3.3. cho thấy, AL có kích thước khoảng 99,08 nm - 171,2 nm, PDI = 0,228, thế zeta = -9,38 mV. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Haeri, nanoliposomes có kích thước (101 ± 12 nm) và thế zeta (-9 ± 2 mv), PDI (0,25 ± 1) (Haeri et al., 2014).

Hình 3.3. Sự phân bố, kích thước của AL (trái) và SEM (phải) của AL



Thế zeta là điện tích bề mặt hạt đóng vai trò như rào cản năng lượng kiểm soát sự ổn định của độ phân tán và chống lại sự tập hợp của các hạt. Các nanoliposomes chứa hoạt chất sinh học có tiềm năng zeta từ −8 đến −13 mV (Haeri et al., 2014). PDI phản ánh sự hình thành cấu trúc nano phân tán hẹp mà không có bất kỳ sự kết tụ nào trong nước, PDI 0,3 là giá trị thể hiện mật độ đồng nhất (Putri et al., 2017).

Hỗn hợp Phosphatidylcholine và DSPE-PEG-MAL khi liposomes hóa sẽ tạo nên lớp màng kép có 2 đầu ưa nước quay ra ngoài mang maleimide để dễ dàng liên kết với mAb^CD133 bằng cầu nối cacbon-lưu huỳnh bền vững. Các AA khó tan nên xen vào bên trong đuôi kị nước của lớp lipid kép của liposome. PEG giúp

liposomes trốn thoát hệ miễn dịch, giúp hạt nano bền và giảm liên kết protein không đặc hiệu hoặc kết dính tế bào (Malam et al., 2009). Như vậy, AL có đầy đủ tính chất của một nano sinh học để ứng dụng y sinh có tiêu chuẩn phù hợp để tải hoạt chất, phân bố tốt trong hệ mạch và tăng thời gian lưu thông của thuốc trong hệ tuần hoàn.

3.2. Hiệu quả ức chế tế bào ung thư phổi của AL

Sau khi tổ hợp AA vào liposomes tạo AL đã làm tăng khả năng ức chế SK-LU-1 với IC_{50} = 96,59 ± 3,19 µM so với AA - DMSO có P<0,05. Điều đặc biệt, AL cũng ức chế tế bào lành với IC_{50} = 139,79 ± 13,19 µM thể hiện AL đã hạn chế ảnh hưởng đến tế bào lành.

Bảng 3.1. Khả năng ức chế sự phát triển của SK-LU-1 và HEK-293A dưới tác động của mẫu

Nồng độ (µM)	Liposome-AA (AL)	
	HEK-293A	SK-LU-1
100	46,15 ± 2,41	54,05 ± 1,19
20	11,18 ± 1,29	17,38 ± 1,86
4	7,15 ± 0,29	6,26 ± 0,29
0,8	3,58 ± 0,55	4,85 ± 0,37
IC_{50}	109,79 ± 13,19	96,59 ± 3,19

Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng, AA có hoạt tính chống ung thư tiềm năng có thể gây ra apoptosis (Seong et al., 2013). AL lại có hoạt tính ức chế tế bào SK-LU-1 so với AA tự do và hạn chế tác động đến tế bào lành. Theo Gogoi và cs. (2016), các liposome sẽ tấn công vào khối u theo kiểu nhắm mục tiêu thụ động do các mạch máu của khối u bị rò rỉ nên tăng hấp thu vào khối u ung thư (Gogoi et al., 2016), trong khi đó các mô bình thường làm hạn chế xâm nhập của các hạt nano nên AL có tiềm năng hướng đích thụ động, tuy nhiên cũng cần gắn thêm chất hướng đích AL để liposome có thể chủ động nhắm mục tiêu đến các mô khối u mà không thể đến mô lành, điều này mở ra một hướng mới trong tương lai.

KẾT LUẬN

Chiết xuất AA từ vỏ hạt điều và chuyển AA sang dạng hydro hóa thu được độ tinh khiết 100%, khi tổ hợp AA vào liposome thu được AL có kích thước và tính chất phù hợp với nano sinh học. AL có khả năng ức chế được tế bào ung thư phổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Balasubramanyam K, Swaminathan V, Ranganathan A, et al., Small Molecule Modulators of Histone Acetyltransferase p300. Journal of Biological Chemistry, 278(21), 19134–19140. https://doi.org/10.1074/jbc.m301580200, 2003

[2] Haeri A, Alinaghian B, Daeihamed M, et al., Preparation and characterization of stable nanoliposomal formulation of fluoxetine as a potential adjuvant therapy for drug-resistant tumors, Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 13(Suppl), 2014, 3-14.

[3] Putri DCA, Dwiastuti R, Marchaban M, et al., Optimization of Mixing Temperature and Sonication Duration in Liposome Preparation. Journal of Pharmaceutical Sciences and Community, 14(2), 79–85. https://doi.org/10.24071/jpsc.142728, 2017.

[4] Seong YA, Shin PG, Kim GD, Anacardic acid induces mitochondrial-mediated apoptosis in the A549 human lung adenocarcinoma cells. International Journal of Oncology, 2013, 42(3), 1045–1051. https://doi.org/10.3892/ijo.2013.1763

[5] Zhang Y, Huo M, Zhou J, et al., PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft

Excel. Computer Methods and Programs in Biomedicine, 2010, 99(3), 306–314. https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2010.01.007

[6] IARC-WHO, Latest global cancer data: Cancer burden rises to 19.3 million new cases and 10.0 million cancer deaths in 2020. International Agency for Research on Cancer (IARC), 2020.

[7] El-Bassiony T, Saad N, El-Zamkan M, Study on the antimicrobial activity of Ethanol Extract of Propolisagainst enterotoxigenic Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in lab prepared Ice-cream. Veterinary World, 2012, 5(3), 155–159. https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.155-159.

[8] Hamad F, Mubofu E, Potential Biological Applications of Bio-Based Anacardic Acids and Their Derivatives. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(12), 8569–8590. https://doi.org/10.3390/ijms16048569

[9] Schneider BUC, Meza A, Beatriz A, et al., Cardanol: toxicogenetic assessment and its effects when combined with cyclophosphamide. Genetics and Molecular Biology, 2016, 39(2), 279–289. https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2015-0170

[10] Lee WH, Loo CY, Traini D, et al., Nano- and micro-based inhaled drug delivery systems for targeting alveolar macrophages. Expert Opinion on Drug Delivery, 2015, 12(6), 1009–1026. https://doi.org/10.1517/17425247.2015.1039509

[11] Filipczak N, Jaromin A, Piwoni A, et al., A Triple Co-Delivery Liposomal Carrier That Enhances Apoptosis via an Intrinsic Pathway in Melanoma Cells. Cancers, 2019, 11(12), 1982. https://doi.org/10.3390/cancers11121982

[12] Sung B, Pandey MK, Ahn KS, et al., Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-κB–regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-κBα kinase, leading to potentiation of apoptosis. Blood, 2008, 111(10), 4880–4891. https://doi.org/10.1182/blood-2007-10-117994

[13] Hue PTK, Vien LT, Sy LD, et al., Optimising extraction process from Cashew nut shell, determination of main chemical components and effectiveness in killing harmful insects The Journal of Agriculture and Development, 2021(5): 153-160, ISSN 1859-4581

[14] Araújo JTCD, Lima LA, Vale EP, et al., Toxicological and genotoxic evaluation of anacardic acid loaded-zein nanoparticles in mice, Toxicology Reports, 2020, 7, 1207–1215. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.08.024