

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



BÙI THỊ XUÂN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC,
ĐỘC TÍNH VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC HỖ TRỢ
ĐIỀU TRỊ VIÊM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG CỦA
LÁ CÂY XĂNG XÊ (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



BÙI THỊ XUÂN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC,
ĐỘC TÍNH VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC HỖ TRỢ
ĐIỀU TRỊ VIÊM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG CỦA
LÁ CÂY XĂNG XÊ (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)**

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU – DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

MÃ SỐ: 9720206

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. TS. Trần Minh Ngọc**
- 2. TS. Trần Thanh Hà**

HÀ NỘI, NĂM 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Trần Minh Ngọc và TS. Trần Thanh Hà.

Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

NCS. Bùi Thị Xuân

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận án, tôi nhận được sự giúp đỡ vô cùng quý báu của các thầy cô giáo, các nhà khoa học thuộc nhiều lĩnh vực cùng đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới TS Trần Minh Ngọc và TS Trần Thanh Hà, những người Thầy, Cô đã trực tiếp hướng dẫn, hết lòng chỉ bảo tận tình và động viên tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu khoa học. Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS Nguyễn Tiến Vững, PGS.TS. Vũ Đức Lợi là những người thầy đã giúp tôi khi mới bắt đầu thực hiện nghiên cứu.

Trong quá trình thực hiện luận án, tôi đã luôn nhận được sự giúp đỡ của các cơ quan, đơn vị và cá nhân. Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo, các Khoa, Phòng và các đồng nghiệp tại phòng thí nghiệm trung tâm - Viện Dược liệu, Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội, Phòng thí nghiệm trung tâm – ĐHQGHN đã giúp đỡ, tạo điều kiện để giúp tôi trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Bộ môn Y Dược cộng đồng và Y Dự phòng, trường ĐH Y Dược - ĐHQGHN, nơi tôi công tác, đã động viên tinh thần và tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành luận án này.

Cuối cùng tôi xin cảm ơn sâu sắc tới những người thân yêu trong gia đình; cảm ơn những bạn bè thân thiết đã dành cho tôi những tình cảm, sự động viên, sự giúp đỡ trong suốt thời gian qua.

Xin trân trọng cảm ơn tất cả những giúp đỡ quý báu này!

NCS. Bùi Thị Xuân

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC BẢNG.....	vii
DANH MỤC HÌNH	ix
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Vị trí phân loại, đặc điểm thực vật và phân bố chi <i>Sanchezia</i>	3
1.1.1. Vị trí phân loại chi <i>Sanchezia</i>	3
1.1.2. Thành phần loài và phân bố của chi <i>Sanchezia</i>	3
1.1.3. Đặc điểm thực vật.....	6
1.2. Thành phần hóa học chi <i>Sanchezia</i>.....	9
1.3. Tác dụng sinh học chi <i>Sanchezia</i>.....	18
1.3.1. Độc tính cấp	18
1.3.2. Tác dụng chống viêm.....	19
1.3.3. Tác dụng giảm đau	20
1.3.4. Tác dụng kháng vi sinh vật.....	20
1.3.5. Tác dụng trên hệ tiêu hóa.....	22
1.3.6. Các tác dụng khác.....	22
1.4. Công dụng.....	24
1.5. Bệnh lý viêm loét dạ dày, tá tràng	25
1.5.1. Định nghĩa	25
1.5.2. Nguyên nhân gây viêm loét dạ dày tá tràng	25
1.5.3. Những tác nhân gây tăng tiết và giảm khả năng bảo vệ dạ dày tá tràng.....	27
1.5.4. Triệu chứng và chẩn đoán viêm loét dạ dày tá tràng	28
1.6. Các mô hình gây loét dạ dày, tá tràng trên thực nghiệm	28
1.6.1. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp vật lí.....	28
1.6.2. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp hóa học.....	30
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	35
2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu	35

2.1.1. Nguyên liệu.....	35
2.1.2. Hóa chất – dụng cụ.....	35
2.1.3. Động vật thí nghiệm.....	37
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	38
2.2.1. Phương pháp giám định tên khoa học.....	38
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu thành phần hóa học.....	38
2.2.3. Đánh giá độc tính và tác dụng sinh học	39
2.3. Phương pháp xử lý số liệu	46
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	47
3.1. Đặc điểm thực vật cây Xăng xê	47
3.1.1. Đặc điểm hình thái cây Xăng xê.....	47
3.1.2. Kết quả giám định tên khoa học	48
3.2. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học	49
3.2.1. Kết quả chiết xuất và phân lập các hợp chất.....	49
3.2.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được	56
3.3. Kết quả nghiên cứu về độc tính và tác dụng sinh học.....	88
3.3.1. Kết quả thử độc tính cấp	88
3.3.2. Kết quả thử độc tính bán trường diễn.....	89
3.3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày	97
3.3.4. Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau	107
CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN	111
4.1. Về đặc điểm thực vật.....	111
4.2. Về thành phần hóa học loài <i>Sanchezia nobilis</i> Hook.F.	112
4.3. Về độc tính và tác dụng sinh học của loài <i>Sanchezia nobilis</i> Hook.F.....	126
4.3.1. Về độc tính.....	126
4.3.2. Về tác dụng sinh học	128
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	137
KẾT LUẬN	137
1. Về thành phần hóa học loài <i>Sanchezia nobilis</i> Hook.F.....	137
2. Về độc tính và tác dụng sinh học loài <i>Sanchezia nobilis</i> Hook.F. (Xăng xê).....	137
KIẾN NGHỊ	138

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Nội dung viết tắt	Nghĩa tiếng Việt
δ	Độ dịch chuyển hóa học	
$^1\text{H-NMR}$	Proton nuclear magnetic resonance	Phổ cộng hưởng từ proton $^1\text{H-NMR}$
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon (13) nuclear magnetic resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^{13}\text{C-NMR}$
AChE	Acetylcholinesterase	Acetylcholinesterat
ALT	Alanine Transaminase	
AST	Aspartate transaminase	
CHCl_3	Chloroform	
cs.		Cộng sự
CTPT		Công thức phân tử
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY tương tác H-H cạnh nhau
d	Doublet	Đỉnh đôi trong phổ $^1\text{H-NMR}$
DCM	Dichloromethan	
Dd	Dung dịch	
DD-TT	Dạ dày tá tràng	
ĐĐVN V	Dược điển Việt Nam V	
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	Phổ DEPT
DMSO	Dimethyl sulfoside	
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	
DL	Dược liệu	
ED ₅₀	Effective Dose 50%	Liều có hiệu quả 50%
EDTA	Ethylene Diamine Tetracetic Acid	
ESI-MS	Electron Spray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối phun mù điện tử
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetat
FT-IR	Fourier-transform infrared spectroscopy	Phổ hồng ngoại
<i>H.P</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	Vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương tác di hạt nhân qua nhiều liên kết

HPLC	High-performance liquid chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết
HR-ESI MS	High Resolution electrospray ionisation mass Spectrometry	Phổ khối phân giải cao phun mù điện tử
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
LC ₅₀	Half maximal Lethal Concentration	Nồng độ gây chết 50%
LD ₅₀	Half maximal Lethal Dose	Liều lượng gây chết 50%
MeOH	Methanol	
M.I.C	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MS	Mass Spectroscopy	Phổ khối lượng
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazol brom	
Nxb		Nhà xuất bản
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ tương tác không gian H-H
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity	Khả năng hấp thụ gốc oxy hóa
P-HPLC	Preparative High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế
s	Singlet	Pic đơn trong phổ ¹ H NMR
SKC		Sắc ký cột
SKLM		Sắc ký lớp mỏng
t	Triplet	Pic ba đỉnh trong phổ ¹ H-NMR
δ _H , δ _C		Độ chuyển dịch hóa học của proton và cacbon
<i>J</i>		Hằng số tương tác (đơn vị Hz)

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Thành phần loài và phân bố của chi <i>Sanchezia</i>	4
Bảng 1.2. Các công bố về thành phần hóa học của chi <i>Sanchezia</i> trên Thế giới và Việt Nam ...	16
Bảng 2. 1. Các mức liều thử tác dụng sinh học của cao tổng và các cao phân đoạn lá Xăng xê.....	40
Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất SXH1 và chất tham khảo	56
Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất SXH2 và chất tham khảo	58
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất SXH3 và chất tham khảo	60
Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất SXH4.....	61
Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXH6 và chất tham khảo.....	63
Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXH7 và chất tham khảo.....	65
Bảng 3.7. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE8 và chất tham khảo	67
Bảng 3.8. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE9.....	69
Bảng 3.9. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE10 và chất tham khảo ...	71
Bảng 3.10. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE11 và chất tham khảo ...	72
Bảng 3.11. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE12 và chất tham khảo ...	73
Bảng 3.12. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE13 và chất tham khảo ...	74
Bảng 3.13. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE14 và chất tham khảo ...	76
Bảng 3.14. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE15 và chất tham khảo ...	77
Bảng 3.15. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE16 và chất tham khảo .	79
Bảng 3.16. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE17 và chất tham khảo ...	80
Bảng 3.17. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE18 và chất tham khảo ...	82
Bảng 3.18. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE19 và chất tham khảo .	84
Bảng 3.19. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE20 và chất tham khảo .	85
Bảng 3.20. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE22 và chất tham khảo .	87
Bảng 3.21. Kết quả thử độc tính cấp của các cao phân đoạn dịch chiết từ lá Xăng xê...	88
Bảng 3.22. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến thể trọng chuột.....	90
Bảng 3.23. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến khả năng tạo máu.....	91

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu	92
Bảng 3.25. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột	93
Bảng 3.26. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến mức độ hủy hoại tế bào gan (AST/ALT)...	93
Bảng 3.27. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến chức năng gan (bilirubin, albumin, cholesterol toàn phần trong máu chuột)	94
Bảng 3.28. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến chức năng thận.....	95
Bảng 3.29. Hình ảnh vi thể gan chuột	95
Bảng 3.30. Hình ảnh vi thể thận chuột.....	96
Bảng 3.31. Tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị.....	97
Bảng 3.32. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến mức độ nặng của tổn thương loét....	97
Bảng 3.33. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến điểm số loét trung bình, chỉ số loét	98
Bảng 3.34. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến thể tích dịch vị,.....	99
Bảng 3.35. Hình ảnh đại thể, vi thể dạ dày chuột ở mỗi lô.....	100
Bảng 3.36. Tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị.....	102
Bảng 3.37. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến mức độ nặng của tổn thương loét.....	102
Bảng 3.38. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến điểm số loét.....	103
Bảng 3.39. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH dịch vị	104
Bảng 3.40. Hình ảnh đại thể, vi thể dạ dày chuột ở mỗi lô.....	105
Bảng 3.41. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng	107
Bảng 3.42. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau	108
Bảng 3.43. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên.....	109

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh cây <i>Sanchezia noilis</i> Hook.f.	6
Hình 1.2. Hình vẽ mô tả vi phẫu lá	8
Hình 1.3. Hình vẽ mô tả vi phẫu thân	8
Hình 1.4. Hình vẽ mô tả vi phẫu hoa.....	9
Hình 1. 5. Các hợp chất flavonoid được phân lập từ chi <i>Sanchezia</i>	11
Hình 1. 6. Các hợp chất phenolic được phân lập từ chi <i>Sanchezia</i>	13
Hình 1. 7. Các hợp chất acid hữu cơ và glycosid phân lập từ chi <i>Sanchezia</i>	15
Hình 1.8. Các hợp chất terpen được phân lập từ chi <i>Sanchezia</i>	15
Hình 1.9. Các hợp chất khác được phân lập từ chi <i>Sanchezia</i>	16
Hình 2. 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	38
Hình 3.1. Hình ảnh cây Xăng xê ở Nam Định	47
Hình 3.2. Đặc điểm cơ quan sinh dưỡng cây Xăng xê.....	48
Hình 3.3. Đặc điểm cơ quan sinh sản cây Xăng xê.....	48
Hình 3.4. Sơ đồ chiết xuất phân đoạn lá cây Xăng xê	52
Hình 3.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất phân cao <i>n</i> -hexan	53
Hình 3.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất phân cao giàu alcaloid của cao ethyl acetat	54
Hình 3.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất của cao ethyl acetat (E2) sau khi loại phần alcaloid (E1)	55
Hình 3.8. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH1	57
Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH2	59
Hình 3.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH3	60
Hình 3.11. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH4	62
Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH6	64
Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH7	66
Hình 3.14. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE8.....	67
Hình 3.15. Dự đoán sơ bộ cấu trúc của hợp chất SXE9.....	68
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY và NOESY của SXE9.....	70
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE10.....	71
Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE11	72

Hình 3.19. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE12.....	74
Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE13.....	75
Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE14.....	76
Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE15.....	78
Hình 3.23. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE16.....	79
Hình 3.24. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE17.....	81
Hình 3.25. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE18.....	83
Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE19.....	84
Hình 3.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE20.....	86
Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE22.....	88
Hình 4.1. Cấu trúc hóa học của 20 hợp chất phân lập từ lá cây Xăng xê	113
Hình 4.2. Các hoạt tính chống viêm của quercetin trong các mô hình thử nghiệm.....	123

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay các nhà khoa học trên thế giới đã ghi nhận sự có mặt của khoảng hơn 390.000 loài thực vật, trong đó có ít nhất 30.000 loài được cho là có tác dụng và khoảng 17.810 loài có công dụng làm thuốc [178]. Các loài thực vật chứa khoảng 5 triệu hợp chất hóa học. Ở Việt Nam có khoảng 5.100 loài thực vật dùng làm thuốc [7]. Khu vực Đông Á, Trung Quốc, Nhật Bản và Ấn Độ là các nước có nhiều kinh nghiệm sử dụng cũng như tiêu thụ đông dược hơn cả. Việt Nam có truyền thống sử dụng đông dược từ lâu đời và đến nay nhu cầu sử dụng đông dược cũng còn rất lớn.

Từ khi thuốc hóa dược đầu tiên xuất hiện đến nay đã có vài nghìn hoạt chất được dùng làm thuốc. Sự phát triển này đã mang lại rất nhiều hiệu quả to lớn trong điều trị nhưng nó cũng làm mai một dần kinh nghiệm sử dụng cây thuốc. Việc sử dụng thuốc hóa dược luôn tiềm ẩn nhiều tác dụng không mong muốn, đặc biệt trên các trường hợp mắc đồng thời nhiều bệnh. Do đó, ngày nay việc nghiên cứu và sử dụng thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đang phát triển mạnh mẽ. Việc kết hợp giữa tiến bộ khoa học kỹ thuật với những kinh nghiệm sử dụng cây dược liệu trong nhân dân sẽ tạo ra những thuốc mới an toàn và hiệu quả hơn, cũng như giúp con người thêm hiểu rõ hơn về tự nhiên. Vì thế rất nhiều loài thực vật, động vật và khoáng vật đã được nghiên cứu, nhưng con số này chiếm một tỷ lệ rất nhỏ, và cũng có những loài thực vật dù đã nghiên cứu rất nhiều nhưng khi nghiên cứu sâu hơn còn cho những phát hiện thú vị cần tiếp tục khám phá.

Cây Xăng xê có tên khoa học là *Sanchezia nobilis* Hook.f., (họ Ô rô - Acanthaceae) [3]. Cây chưa có nhiều nghiên cứu cả về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học. Một số loài thuộc chi *Sanchezia* được sử dụng trong y học dân gian các nước trong điều trị co giật, an thần, ho có đờm, chống lao và chống ung thư [22]. Loại cây này được sử dụng rộng rãi ở Ấn Độ và Bangladesh khi bị rắn cắn, sốt rét, kiết lỵ, tiêu chảy, rối loạn chức năng gan [146]. Ngoài ra, ở Thái Lan, cây Xăng xê được sử dụng như một loại thức ăn có tác dụng an thai, bổ máu, điều trị đau bụng kinh [123]... Ở Việt Nam, người dân sử dụng cây Xăng xê như một vị thuốc chữa bệnh viêm loét dạ, dày tá tràng, lấy vài lá tươi rửa sạch ăn với muối là giảm

cơn đau, dùng một thời gian là có tác dụng, hoặc có thể sắc lá khô uống hằng ngày thay nước. Tuy nhiên cho đến nay chưa có nghiên cứu nào được thực hiện một cách hệ thống về tác dụng trên viêm loét dạ dày, tá tràng của lá cây Xăng xê trên Thế giới cũng như ở Việt Nam. Từ thực tế trên để cung cấp thêm bằng chứng khoa học cho việc sử dụng của người dân, luận án tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu thành phần hóa học, độc tính và một số tác dụng sinh học hỗ trợ điều trị viêm loét dạ dày, tá tràng của lá cây Xăng xê (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)”** với các mục tiêu:

Mục tiêu 1: Phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ lá cây Xăng xê.

Mục tiêu 2: Đánh giá được độc tính, tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng và giảm đau trung ương của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.

Để thực hiện được các mục tiêu nêu trên, luận án tiến hành thực hiện 3 nội dung sau:

1. Về thực vật học
 - Mô tả đặc điểm hình thái, giám định tên khoa học mẫu nghiên cứu.
2. Về thành phần hóa học
 - Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất theo hướng phân đoạn có tác dụng sinh học của lá Xăng xê.
3. Về độc tính và tác dụng sinh học
 - Xác định độc tính cấp của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.
 - Xác định độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn có tác dụng và có khả năng độc tính cao nhất của lá Xăng xê.
 - Đánh giá được tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.
 - Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Vị trí phân loại, đặc điểm thực vật và phân bố chi *Sanchezia*

1.1.1. Vị trí phân loại chi *Sanchezia*

Theo “Hệ thống phân loại về ngành Ngọc lan (*Magnoliophyta*)” của tác giả A. Takhtajan, *Sanchezia nobilis* Hook.f. có vị trí phân loại như sau [68]: Giới Thực vật (Plantae), ngành Ngọc lan (Magnolipphyta), phân lớp Mộc lan (Magnoliidae Novák ex Takht), bộ Hoa môi (Lamiales), họ Ô rô (Acanthaceae), chi (*Sanchezia*), loài *Sanchezia nobilis* Hook.f.

1.1.2. Thành phần loài và phân bố của chi *Sanchezia*

Chi *Sanchezia* chủ yếu phân bố ở phía Tây Nam Mỹ. Trung tâm của sự đa dạng loài thuộc chi nằm ở Peru và Ecuador. Một số ít loài phân bố ở phía bắc và đông của Bắc Mỹ, Trung Mỹ và Caribe. Nhưng ngày nay chi được di thực trồng ở nhiều nơi và được coi như cây bản địa ở một số nơi như Việt Nam, Cuba, Bangladesh...[220]. Chi *Sanchezia* được mô tả lần đầu tiên bởi Ruiz và Pavón vào năm 1794 với hai loài. Đến năm 1964, chi này được sửa đổi bởi Emery C. Leonard và Lyman B. Smith, với 59 loài trong đó 26 loài được mô tả lần đầu tiên, đồng thời công bố khóa phân loại cho 59 loài này [215]. Năm 2015, E.A. Tripp và D. M. Koenemann đã thống kê lại lịch sử phát triển của chi *Sanchezia* và lập danh lục 55 loài [91]. Trên trang “Plants of the world online” [220] đến ngày 15 tháng 10 năm 2022 thì chi *Sanchezia* được liệt kê có 70 kết quả bao gồm có 1 tên chi và 69 tên loài, trong đó có 44 loài được chấp nhận. Trong một công bố mới đây của Igor và Pedro [103] đã xác định thêm 11 tên đồng nghĩa, cho rằng chi *Sanchezia* có 44 loài. Kết quả khóa phân loại theo Igor và Pedro và trang “Plants of the world online” là hoàn toàn trùng nhau. Trên trang “Plants of the world online” cho thấy *Sanchezia oblonga* có 11 tên đồng nghĩa: *S. hirsuta* Pers, *Ancylogyne peruviana* Nees, *S. bicolor* Leonard & L.B.Sm, *S. flava* Leonard, *S. helophila* Leonard & L.B.Sm, *S. macbridei* Leonard, *S. megalia* Leonard & L.B.Sm., *S. nobilis* Hook.f., *S. nobilis* var. *glaucophylla* Lem, *S. peruviana* (Nees) Rusby, *S. speciosa* Leonard. Như vậy 3 tên loài được nghiên cứu và công bố của chi là *S. nobilis*, *S. speciosa* và *S. oblonga* thì được xác định là đồng danh.

Bảng 1.1. Thành phần loài và phân bố của chi *Sanchezia*

STT	Tên loài	Phân bố	TLTK
1	<i>Sanchezia arborea</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	b
2	<i>Sanchezia aurantiaca</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
3	<i>Sanchezia aurea</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
4	<i>Sanchezia bicolor</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	b
5	<i>Sanchezia capitata</i> (Nees) Lindau	Peru	b
6	<i>Sanchezia coccinea</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
7	<i>Sanchezia coleifolia</i> Leonard & L.B. Sm.	Ecuador	a, b, c
8	<i>Sanchezia conferta</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
9	<i>Sanchezia cyathibractea</i> Mildbr.	Peru	b
10	<i>Sanchezia dasia</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
11	<i>Sanchezia decora</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	b
12	<i>Sanchezia ecuadorensis</i> Leonard, J.Wash	Ecuador	a, b, c
13	<i>Sanchezia ferreyrae</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
14	<i>Sanchezia filamentosa</i> Lindau	Peru	a, b, c
15	<i>Sanchezia flava</i> Leonard, J.Wash	Peru	b
16	<i>Sanchezia fosteri</i> Wassh	Peru	a, b, c
17	<i>Sanchezia killipii</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
18	<i>Sanchezia klugii</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
19	<i>Sanchezia lampra</i> Leonard & L.B. Sm.	Ecuador	a, b, c
20	<i>Sanchezia lasia</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
21	<i>Sanchezia lispa</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
22	<i>Sanchezia longiflora</i> Hook. f., Planch.	Ecuador, Peru	a, b, c
23	<i>Sanchezia loranthifolia</i> Lindau	Peru, Brazil	a, b, c
24	<i>Sanchezia macrocnemis</i> Nees Wassh	Peru, Ecuador, Brazil...	a, c
25	<i>Sanchezia lutea</i> Leonard	Colombia	b
26	<i>Sanchezia megalia</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	b
27	<i>Sanchezia munita</i> Nees, Planch.	Brazil	a, b, c
28	<i>Sanchezia oblonga</i> Ruiz & Pav. <i>Sanchezia nobilis</i> Hook.f	Ecuador, Việt Nam, Bangladesh Brazil,...	a, b, c
29	<i>Sanchezia ovata</i> Ruiz & Pav.	Peru, Bolivia, Brazil	a, b, c
30	<i>Sanchezia parvibracteata</i> Sprague & Hutch	Srilanka, Belize, Bolivia...	a, b, c

31	<i>Sanchezia parviflora</i> Leonard, J.Wash	Ecuador, Colombia	a, b, c
32	<i>Sanchezia pedicellata</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
33	<i>Sanchezia pennellii</i> Leonard, J.Wash	Colombia	b
34	<i>Sanchezia pulchra</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
35	<i>Sanchezia punicea</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
36	<i>Sanchezia putumayensis</i> Leonard	Colombia, Bolivia, Ecuador, Peru	a, b, c
37	<i>Sanchezia rhodochroa</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
38	<i>Sanchezia rosea</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
39	<i>Sanchezia rubriflora</i> Leonard	Peru	a, c
40	<i>Sanchezia sanmartinensis</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
41	<i>Sanchezia scandens</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru, Brazil North, Colombia, Ecuador	a, b, c
42	<i>Sanchezia sericea</i> Leonard, J.Wash	Ecuador	a, b, c
43	<i>Sanchezia siraensis</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
44	<i>Sanchezia skutchii</i> Leonard & L.B. Sm.	Ecuador	b
45	<i>Sanchezia speciosa</i> Leonard, J.Wash	Cuba	b
46	<i>Sanchezia sprucei</i> Lindau	Peru	a, b, c
47	<i>Sanchezia stenantha</i> Leonard, J.Wash	Peru	b
48	<i>Sanchezia stenomacra</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	b
49	<i>Sanchezia sylvestris</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
50	<i>Sanchezia tarapotensis</i> Leonard & L.B.Sm.	Peru	a, b, c
51	<i>Sanchezia thinophila</i> Leonard	Columbia	a, b, c
52	<i>Sanchezia tigrina</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
53	<i>Sanchezia villosa</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
54	<i>Sanchezia williamsii</i> Leonard, J.Wash	Peru	a, b, c
55	<i>Sanchezia woytzkowskii</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c
56	<i>Sanchezia wurdackii</i> Wassh	Peru	a, b, c
57	<i>Sanchezia xantha</i> Leonard & L.B. Sm.	Peru	a, b, c

(a: phân loại theo trang “Plants of the world online”, b: phân loại theo E.A. Tripp và D. M. Koenemann; c: phân loại theo “Igor và Pedro”)

Trong khi đó tại Việt Nam, chi này mới được phát hiện một loài là Xăng xê (*Sanchezia nobilis* Hook.f.), loài này còn được gọi với các tên khoa học là *Sanchezia speciosa*, được Phạm Hoàng Hộ mô tả và được liệt kê trong Danh lục các loài thực vật ở Việt Nam [5]. Theo Trung tâm dữ liệu thực vật Việt Nam [221] các tên khoa

học này do các nhà khoa học khác nhau mô tả cây và đặt tên khác nhau, nhưng đến nay đã được xác định đều là của một loài.

Cây được trồng ở nhiều tỉnh thành trong cả nước như Tuyên Quang, Nam Định, Thừa Thiên Huế... Cây chủ yếu là được trồng làm cảnh. Cây có nguồn gốc từ Peru, Ecuador nhưng trồng lâu năm đã gần như cây bản địa đã có tên trên bản đồ phân bố của cây ở trang “Plants of the world online” [220].

1.1.3. Đặc điểm thực vật

1.1.3.1. Đặc điểm chung của chi *Sanchezia*

Sanchezia là một chi nhỏ của họ thực vật Acanthaceae (họ Ô rô). Ước tính có khoảng 20 đến 50 loài [215]. Các thành viên của chi này là cây bụi, hiếm khi cây nhỏ hoặc cây thân thảo phân bố ở vùng đất thấp nhiệt đới Nam và Trung Mỹ. Chi *Sanchezia* thường là cây bụi hay cây cỏ, rễ không có lông, hoa mọc đơn độc hoặc hợp lại thành chùm, thường lớn, có màu vàng, cam, đỏ hoặc tím, mọc ở ngọn, có lá bắc thường có màu, dài 5 thùy, tràng 5, dính nhau thành hình ống, nhị 4, nhị 2 lép nhị 2 thò ra, bao phấn 2 ô. Quả nang, 6-8 hạt, hạt hình cầu [215]. Chúng có những cánh hoa lớn và nhiều màu sắc, và đôi khi thậm chí là những chiếc lá đầy màu sắc, một số loài được trồng làm cây cảnh ở khắp vùng nhiệt đới và trong những khu vườn thực vật của những vùng ôn đới. Ví dụ về các loài được biết đến trồng làm cảnh như *S. nobilis*, *S. parvibracteata* và *S. speciosa* nhưng một số loài thì gần như đã tuyệt chủng như *S. lampra* từ Ecuador. *Sanchezia* được đặt tên theo José Sanchez, một giáo sư thực vật thế kỷ 19 tại Cadiz, Tây Ban Nha [39].

1.1.3.2. Đặc điểm loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.



Nguồn: www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/2/4/2418

Hình 1.1. Hình ảnh cây *Sanchezia nobilis* Hook.f.

Cây bụi, cao 0,5 - 1,5m, thân và gân chính của lá có màu lục, đỏ hoặc vàng, gân bên màu trắng. Lá đơn mọc đối hình chữ thập, cuống lá ngắn, hình trụ, phiến lá hình mũi mác, dài 10 - 25 cm, rộng 3 - 7 cm, nhẵn, mép lá hơi lượn sóng, mặt trên có màu xanh đậm, mặt dưới xanh nhạt, hệ gân lông chim, có 9 - 12 đôi gân bên. Hoa mọc thành cụm, hoa bông gồm 3 bông nhỏ trở lên, hoa ở ngọn, cuống hoa ngắn. Lá bắc màu lục hay đỏ, hình trứng, đỉnh tù, nhẵn, ôm lấy cụm hoa. Hoa lưỡng tính, màu xanh lục mờ, mùi nhạt đặc trưng. Đài nhiều, hình vẩy, dài 1,5 - 1,8 cm, rộng 3 - 5 mm, tròn ở đỉnh. Tràng hình ống tròn, màu vàng có sấp, cao 4 - 5 cm, rộng 7 - 8 cm ở phía trên, thu hẹp dần xuống dưới đến 3 mm, nhẵn, các thùy dài 3 - 4 mm, tròn, có khía, chỉ nhị dài, nhị 4 trong đó có 2 nhị phát triển dài 4 - 4,5 cm, có lông và 2 nhị tiêu giảm. Quả nang có 8 hạt [2], [27].

Cả 3 loài đã có nghiên cứu được công bố về thành phần hóa học và tác dụng sinh học, nhưng chỉ có loài *Sanchezia nobilis* là được mô tả tương đối chi tiết và đầy đủ.

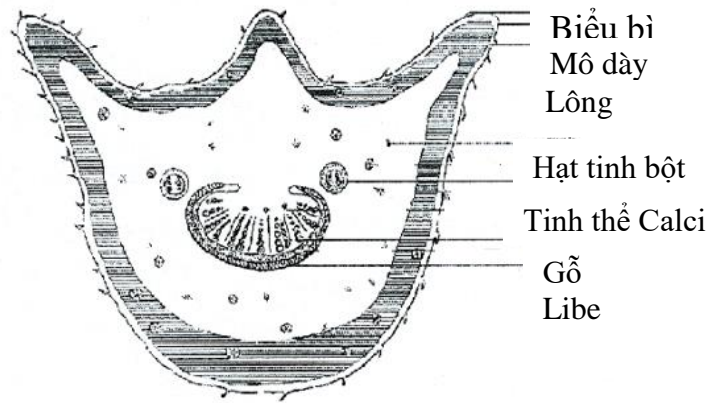
*** Đặc điểm vi phẫu loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.**

➤ **Lá:** Vi phẫu gân lá lồi lên ở 2 mặt trên và dưới. Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi 1 hàng tế bào đa giác xếp đều đặn nhau. Mô dày trên và mô dày dưới cấu tạo bởi nhiều lớp tế bào thành dày lên ở các góc. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, gần tròn bên trong có chứa các tinh thể canxi oxalat và các hạt tinh bột, rải rác có các bó mạch phụ. Libe gỗ xếp thành hình vòng cung gồm libe ở phía ngoài và gỗ ở phía trong. Một số tế bào biểu bì thành lông che chở, lông tiết [27].

Vi phẫu phiến lá: Gồm biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi 1 hàng tế bào đa giác sắp xếp đều đặn nhau. Mô giậu ngay dưới biểu bì trên cấu tạo bởi 2 hàng tế bào hình chữ nhật sắp xếp đều đặn nhau. Mô khuyết cấu tạo bởi các tế bào hình gần tròn xếp lộn xộn [27].

Vi phẫu cuống lá hình chén, có các đặc điểm tương tự gân lá, tuy nhiên có thêm lớp mô dày sát lớp biểu bì [27].

Vi phẫu lá được thể hiện ở **hình 1.2** [27].



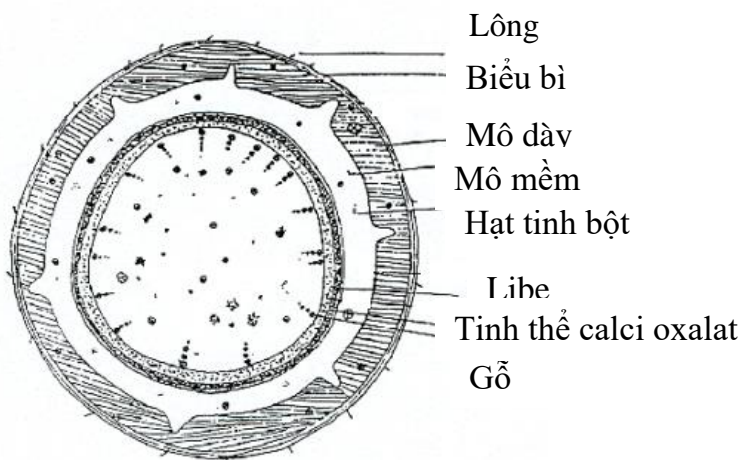
Hình 1.2. Hình vẽ mô tả vi phẫu lá

➤ *Thân*

Thân non: Vi phẫu hình tròn. Cấu tạo từ ngoài vào trong gồm: ngoài cùng là lớp biểu bì cấu tạo bởi một hàng tế bào, có lông che chở đơn bào; tiếp theo là mô dày gồm 6-8 hàng tế bào xếp thành hình tròn khép kín; mô mềm gồm 5 - 7 lớp tế bào, bên trong có chứa tinh thể calci oxalat hình kim và các hạt tinh bột đơn; libe gần như hình tròn khép kín, libe ở ngoài, gỗ ở trong, thỉnh thoảng bị gián đoạn bởi một số tế bào mô mềm; mô mềm ruột cấu tạo bởi nhiều lớp tế bào, các tế bào thành mỏng, to, hình đa giác xếp lộn với nhau [27].

Thân già: Vi phẫu hình vuông, cấu tạo tương tự thân non, ngoại trừ có thêm lớp bản bên ngoài cùng [27].

Vi phẫu thân được thể hiện ở **hình 1.3** [27].



Hình 1.3. Hình vẽ mô tả vi phẫu thân

➤ **Hoa**

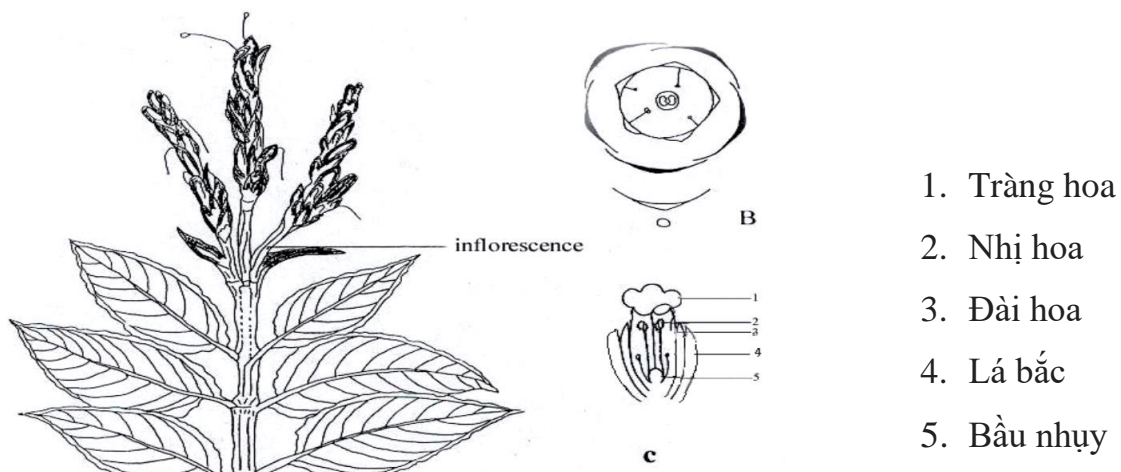
- Nghiên cứu về hình thái học của hoa: Hoa được sắp xếp theo chùm, tạo thành một cụm hoa có đầu nhọn, sự phát triển bắt đầu từ dưới lên trên. Những bông hoa là lưỡng tính, không cuống, nhỏ, không đều và đối xứng hai bên. Hoa có mùi đặc trưng thoang thoảng, vị đắng nhẹ, dài khoảng 2,5 - 3,5 cm [27].

- Lá bắc: có màu xanh lục, hình thuôn hoặc hình thuôn dài với đỉnh nhọn có chiều dài 1,2 - 1,3 cm và chiều rộng 0,25 - 0,5 cm [27].

- Đài hoa: có màu xanh lục, bao gồm năm đài xen kẽ (đa giác), có chiều dài 1,3 - 1,5 cm và đường kính 0,2 - 0,4 cm, xếp lớp lên nhau [27].

- Tràng hoa: có màu vàng cam được tạo thành từ năm cánh hoa thông nhất (giao tử), hình ống, có lông bên ngoài, hình thành năm thùy mỗi hai môi, một bên ngoài và một bên trong. Các cánh hoa có hình thuôn dài, với các đầu tròn và mép nguyên. Tràng hoa có chiều dài 2,5 - 3 cm [27].

- Bộ nhị: bao gồm 4 nhị hoa trong chia 2 bên, có hình thuôn dài, bao phấn và hai nhị lép. Chỉ nhị được đặt bên ngoài ống tràng hoa và có chiều dài 1,3 - 1,5 cm, những sợi này có chiều dài rất ngắn 0,5 - 0,7 cm. Bao phấn được gắn vào chỉ nhị giống như là hợp sinh. Bao phấn nở hướng trong [27].



Hình 1.4. Hình vẽ mô tả vi phẫu hoa

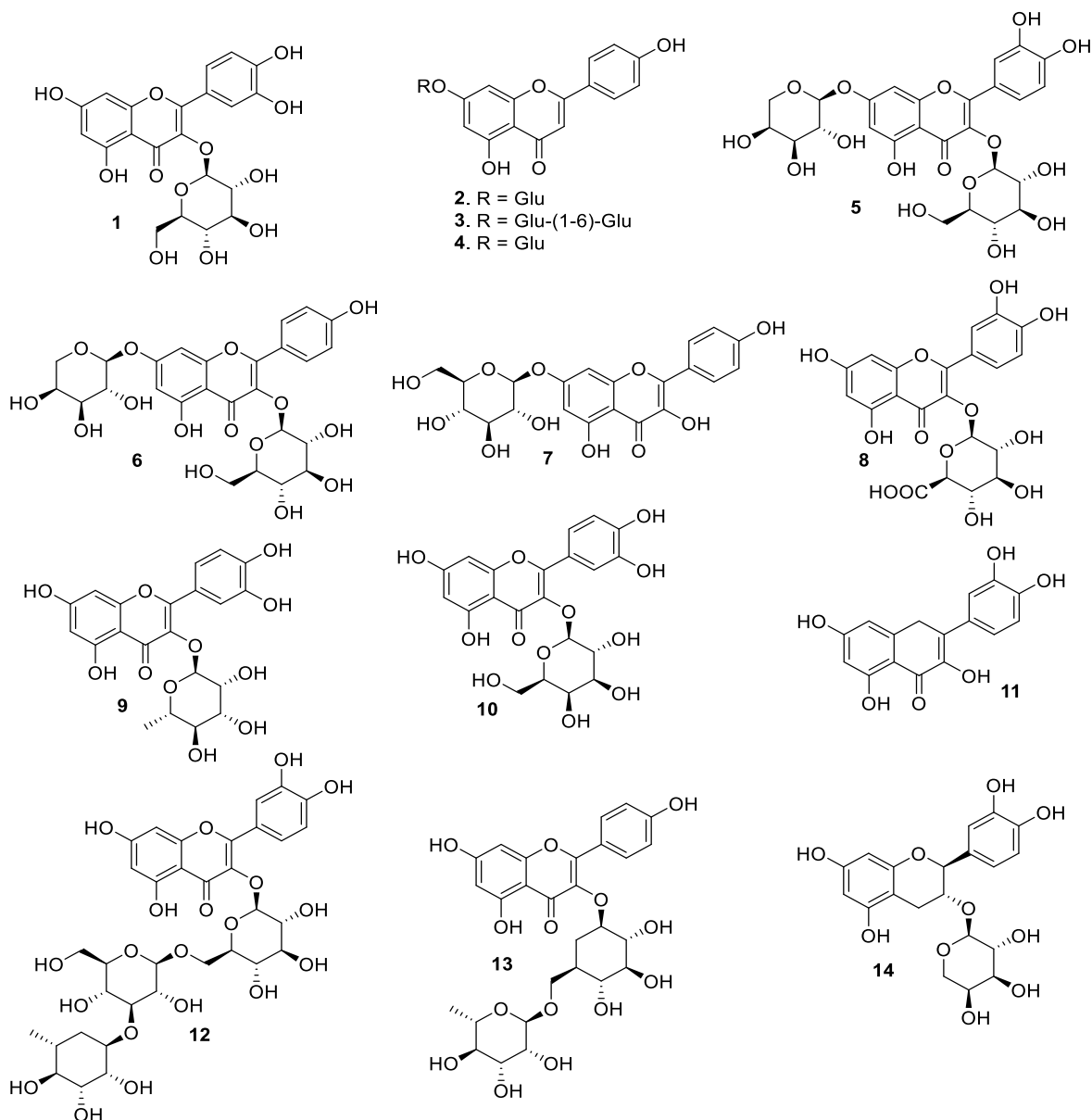
1.2. Thành phần hóa học chi *Sanchezia*

Các nghiên cứu về thành phần hóa học của các loài thuộc chi *Sanchezia* còn rất khiêm tốn, chỉ có một số loài được nghiên cứu về thành phần hóa học. Kết quả nghiên

cứu sơ bộ của Abu S. R. và cộng sự năm 2015 cho thấy dịch chiết ethyl acetat từ lá *S. speciosa* thu hái ở Bangladesh có chứa các hợp chất thuộc nhóm alkaloid, glycosid, flavonoid, triterpenoid, carbohydrat, steroid, phenolic, saponin và tannin [218]. Trong một nghiên cứu khác của Nusrat Shaheen và cộng sự cho thấy, trong dịch chiết vỏ thân và vỏ rễ của *S. speciosa* thu hái ở Pakistan có alkaloid, glycosid, steroid, terpenoid và tannin không thấy có anthraquinon, flavonoid, saponin [155]. Kết quả định tính của Omondi Seline (2015), cho thấy lá *S. speciosa* trồng ở Kenya có chứa các nhóm chất anthraquinon và saponin [57]. Và công bố gần đây nhất của Progga và cộng sự [161] cho thấy trong cây *S. nobilis* trồng ở Bangladesh có chứa phenolic, tanin, alkaloid, flavonoid, steroid, glycosid, gum, triterpenoid; không có saponin và xanthoprotein. Ở Việt Nam, theo nghiên cứu sơ bộ của Nguyễn Tiến Dũng và cộng sự năm 2017 với dịch chiết lá *S. speciosa* trồng ở Tuyên Quang [4], cho thấy có glycosid tim, flavonoid, tannin, acid hữu cơ, sterol và caroten; không thấy có saponin, alkaloid, anthranoid, coumarin, acid amin và chất béo. Thành phần hóa học của cây ở các công bố khác nhau cho thấy có sự khác nhau có thể do thời vụ thu hái, thổ nhưỡng và khí hậu giữa các vùng khác nhau.

- ***Các nhóm hợp chất đã được xác định cấu trúc của Sanchezia***

Năm 2017, Nusrat Shaheen và cộng sự [155] đã tách được một hợp chất flavonoid từ dịch chiết dichloromethan rễ *S. speciosa* là quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranosid (**1**). Ngoài ra, Ahmed E và cộng sự đã phân ba hợp chất flavonoid từ cao chiết methanol của hoa *S. nobilis* gồm: apigenin-7-*O*- β -glucopyranosid (**2**), apigenin-7-*O*-gentiobiosid (**3**), apigenin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**4**) [213].



Hình 1. 5. Các hợp chất flavonoid được phân lập từ chi *Sanchezia*

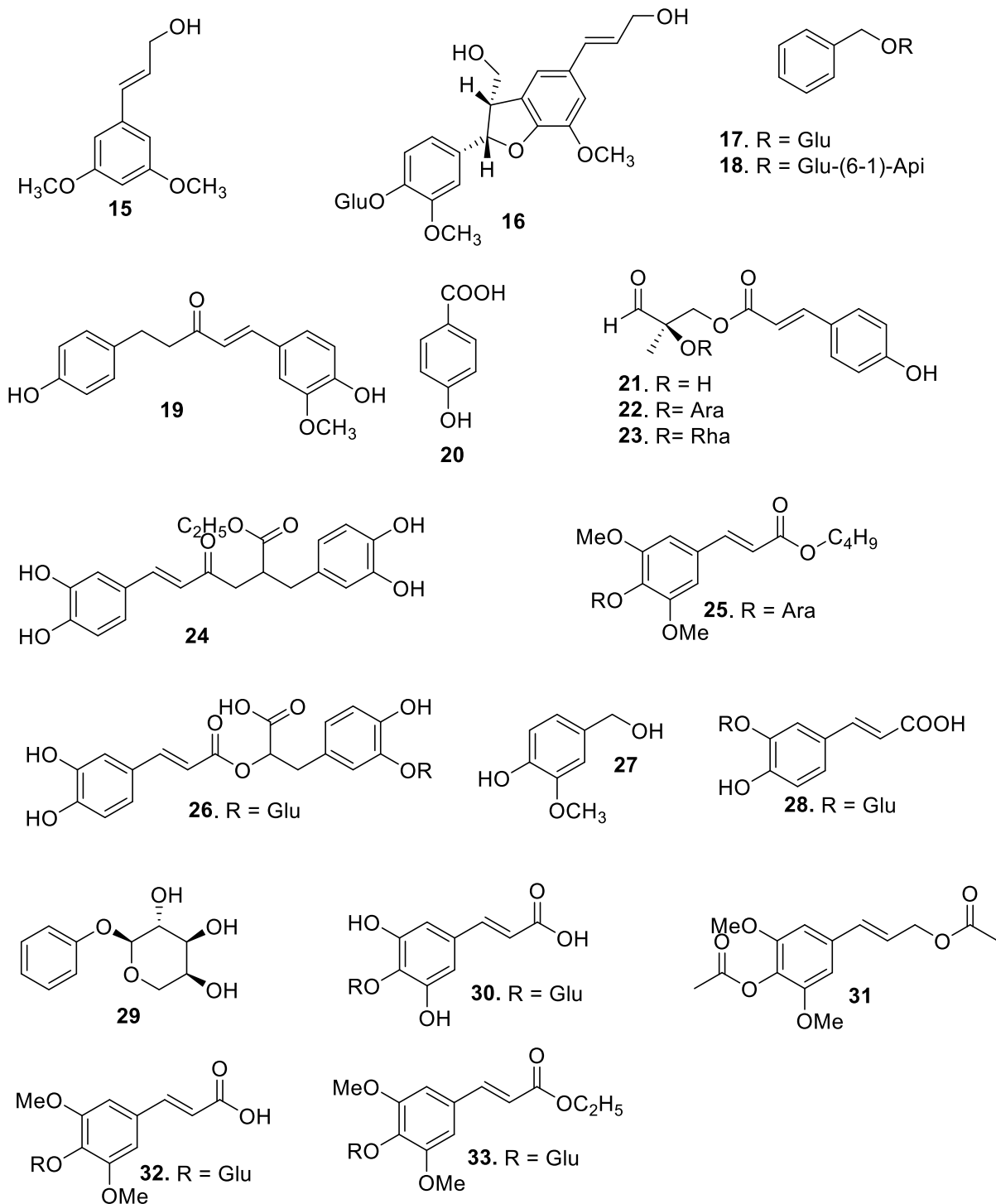
Một nghiên cứu khác của Juliana Mourao Ravasi và cộng sự [107] bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký khối phổ và sắc ký lỏng hiệu năng cao từ các bộ phận khác nhau của loài *S. oblonga* trồng ở Brazil thu được 36 hợp chất, trong đó có các flavonoids như: quercetin-7-*O*-arabinopyranosyl -3-*O*-glucopyranosid (5), kaempferol-7-*O*-arabinopyranosyl-3-*O*-glucopyranosid (6), kaempferol-7-*O*-glucopyranosid (7) và quercetin-3-glucuronopyranosid (8).

Tại Việt Nam cũng, một số tác giả đã nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này, theo nghiên cứu của Bùi Thanh Tùng và cộng sự năm 2016 [29] từ dịch chiết ethanol của lá *S. speciosa* đã tách được hai hợp chất là quercitrin (9), hyperosid

(10), đây là hai hợp chất lần đầu tiên phân lập từ *S. speciosa*. Ngoài ra, năm 2019, tác giả Vũ Đức Lợi và cộng sự [183] đã nghiên cứu thành phần hóa học từ phân đoạn chiết ethyl acetat của lá *S. speciosa* thu được các flavonoid như là quercetin (11), quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosid (12), kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid (13), epicatechin-3-*O*-arabinopyranosyl (14).

Ngoài ra, từ các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới chỉ ra chi *Sachezia* chứa nhiều các hợp chất phenolic, cụ thể là từ dịch chiết methanol của lá và rễ *S. nobilis*, Ahmed E và cộng sự đã phân lập được các hợp chất như syringin (15), 4-*O*- β -glucopyranosyl dehydrodiconiferyl alcohol (16) và hai hợp chất benzyl alcohol glycosid: 7-*O*- β -glucopyranosyl benzyl alcohol (17) và 7-*O*- β -apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -glucopyranosyl benzyl alcohol (18) [213].

Theo đó năm 2017, Nusrat Shaheen [155] đã tách được 2 hợp chất phenolic từ dịch chiết dichloromethan rễ *S. speciosa* là *p*-hydroxyphenethyl-*trans*-ferulat (19), 4-hydroxy benzoic Acid (20). Các hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ rễ *S. speciosa*.



Hình 1. 6. Các hợp chất phenolic được phân lập từ chi *Sanchezia*

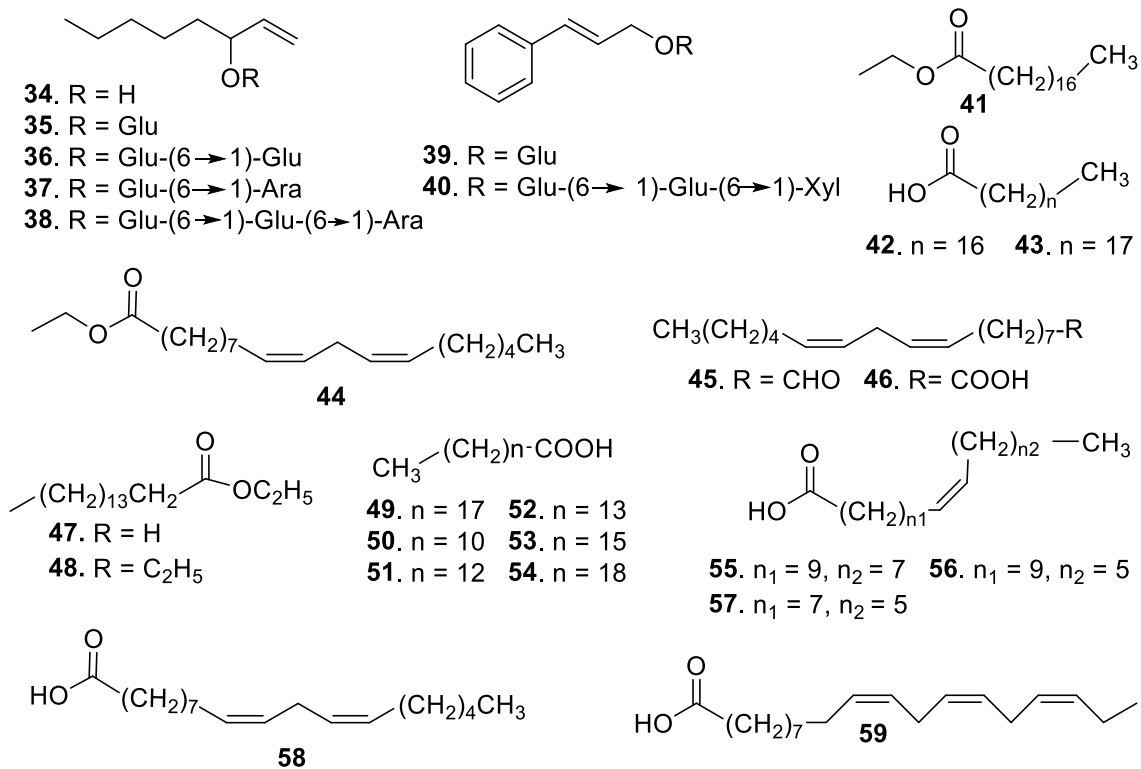
Bằng phương pháp sắc ký khối phổ và sắc ký lỏng hiệu năng cao Juliana Mourao Ravasi và cộng sự [107] đã phân lập các hợp chất từ các bộ phận khác nhau của loài *S. oblonga* trồng ở Brazil trong đó có nhiều hợp chất polyphenol như là 1-*O*-coumaroyl-2-hydroxy propanal (**21**), 1-*O*-coumaroyl-2-*O*-arabinopyranosyl (**22**), 1-*O*-coumaroyl-2-*O*-rhamnopyranosyl propanal (**23**), ethyl rosmarinate (**24**), 4-*O*-

arabinopyranosyl butyl sinapate (25), rosmarinic acid-3'-*O*-glucopyranosid (26), 4-hydroxy-3-methoxybenzyl (27), caffeic acid glucopyranosid (28), benzyl alcohol-7-*O*-arabinopyranosyl (29), dihydrosinapic acid-*O*-glucopyranosid (30), 4-*O*-galloyl-sinapyl alcohol diacetate (31), sinapic acid-*O*-glucopyranosid (32) và 4-*O*-glucopyranosyl-ethyl-dihydrosinapat (33).

Ngoài ra, một số công bố trên thế giới và ở Việt Nam đã chỉ ra rằng, từ phần trên mặt đất của chi *Sanchezia* cho thấy có chứa nhiều các acid và các glycosid. Theo đó năm 2013, Ahmed E. Abd Ellah và cộng sự đã phân lập 5 hợp chất alcohol từ dịch chiết methanol của phần trên mặt đất của *S. speciosa* gồm [22]: (1-octen-3-ol) (34), 3-*O*- β -glucopyranosyl-1-octen-3-ol (35), 3-*O*- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranosyl-1-octen-3-ol (36), 3-*O*- β -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranosyl-1-octen-3-ol (37), 3-*O*- β -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranosyl-1-octen-3-ol (38). Cũng từ cao chiết methanol của lá và rễ *S. speciosa*, Ahmed E và cộng sự đã phân lập được 2 hợp chất là 9-*O*- β -glucopyranosyl-*trans*-cinnamyl alcohol (39), 9-*O*- β -xylopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -glucopyranosyl-*trans*-cinnamyl alcohol (40).

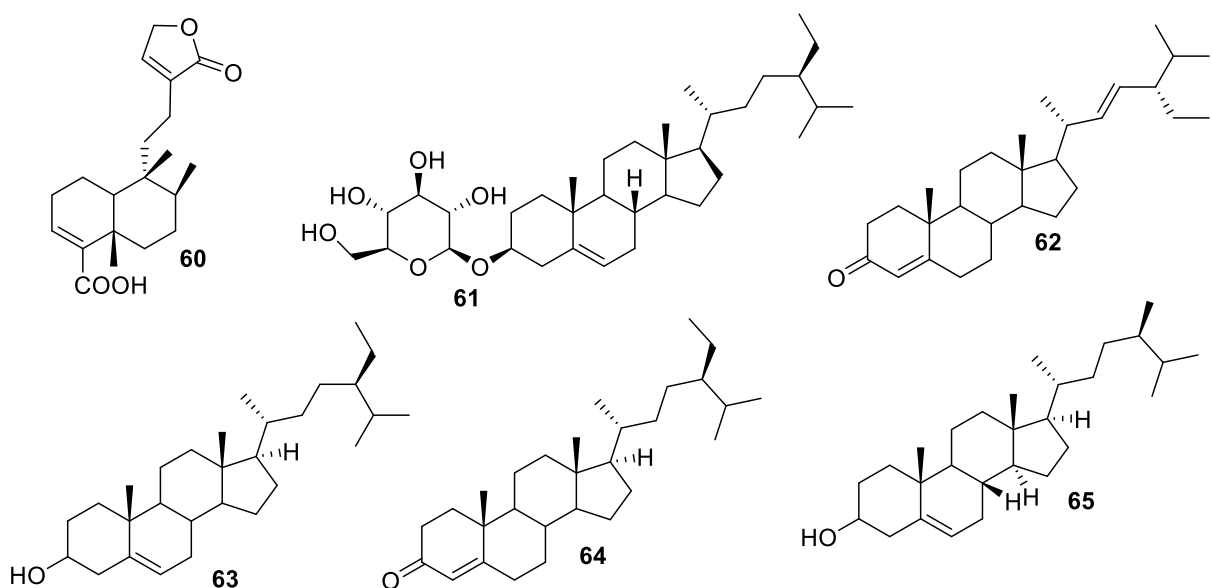
Theo nghiên cứu của Juliana Mourao Ravasi và cộng sự [107] bằng phương pháp sắc ký khối phổ và sắc ký lỏng hiệu năng cao gắn khối phổ đã xác định được một số acid béo từ các bộ phận khác nhau của loài *S. oblonga* trồng ở Brazil trong đó có các acid hữu cơ: ethyl octadecanoate (41), stearic acid (42), oleic acid (43), ethyl linoleate (44), 9,12-octadecadienal (45), linoleic acid (46), ethyl palmitate (47), palmitic acid (48), acid nonadecylic acid (49).

Tại Việt Nam theo nghiên cứu của tác giả Lê Thị Hồng Nhung năm 2018 [1], từ phân đoạn *n*-hexan của lá *S. speciosa* bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký khối phổ (GC-MS), đã xác định được 14 acid béo bao gồm stearic acid (42), oleic acid (43), palmitic acid (48), nonadecylic acid (49), acid lauric (50), acid myristic (51), acid pentadecylic (52), acid margaric (53), acid arachidic (54), acid eicosenoic (55), acid vaccenic (56), acid palmitoleic (57), acid linoleic (58), acid α -linolenic (59).



Hình 1. 7. Các hợp chất acid hữu cơ và glycosid phân lập từ chi *Sanchezia*

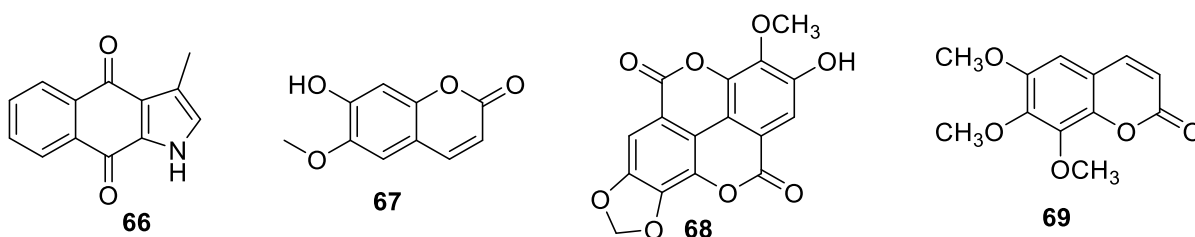
Ngoài các nhóm hợp chất ở trên, theo một số công bố chi *Sanchezia* cũng có chứa một số các hợp chất terpen khác. Theo đó năm 2017, Nusrat Shaheen và cộng sự [155] xác định từ cao chiết dichloromethan từ phần rễ của chi *S. Speciosa* là (+)-3,13-clerodadien-16,15-olid-18-oic acid (**60**), stigmasterol 3-*O*-β-D-glucopyranosid (**61**).



Hình 1. 8. Các hợp chất terpen được phân lập từ chi *Sanchezia*

Cũng theo nghiên cứu của Juliana Mourao Ravasi và cộng sự [107] đã chỉ ra từ các bộ phận khác nhau của loài *S. oblonga* trồng ở Brazil trong đó có stigmasta-4,22-dien-3-one (**62**), sitosterol (**63**), stigmast-4-en-3-one (**64**), campesterol (**65**).

Ngoài ra, một số công bố khác chỉ ra rằng chi *Sanchezia* còn chứa một số nhóm hợp chất khác. Năm 2017, Nusrat Shaheen [155] đã tách được hợp chất alcaloid từ cao chiết dichloromethan của rễ loài *S. speciosa* là 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**). Tương tự, năm 2019 tác giả Vũ Đức Lợi và cộng sự [183] đã phân lập được một số hợp chất hóa học từ phân đoạn chiết ethyl acetat của lá *S. speciosa* là 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**), scopoletin (**67**), 3'-O-methyl-3,4-methylenedioxy ellagic acid (**68**). Từ dịch chiết methanol của lá và rễ *S. nobilis*, Ahmed E và cộng sự đã phân lập được một hợp chất neolignan glucosid: 6,7,8-trimethoxy-cumarin (**69**).



Hình 1.9. Các hợp chất khác được phân lập từ chi *Sanchezia*

Bảng 1.2. Các công bố về thành phần hóa học của chi *Sanchezia* trên Thế giới và Việt Nam

STT	Năm công bố	Tác giả	Loài/Phân bố/BPD	Các chất xác định	Số TLTK
Trên thế giới					
1	2013 2014	Ahmed E. Abd Ellah, Khaled M. Mohamed, Enaam Y. Backheet, Mahmoud H. Mohamed,	<i>Sanchezia nobilis</i> (Ai cập) Rễ, lá, phần trên mặt đất	2, 3, 4, 15, 16, 17, 18, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 - 5 hợp chất matsuke alcohol - 3 hợp chất flavonoid - 2 hợp chất cinamyl alcohol - 4 hợp chất phenolic	[22], [213]
2	2015	Parvin S., Abu Shuaib Rafshanjani,	<i>Sanchezia speciosa</i> (Bangladesh) Lá	Định tính	[218]

STT	Năm công bố	Tác giả	Loài/Phân bố/BPD	Các chất xác định	Số TLTK
		Kader T. Sharmin,			
4	2015	Seline Omondi J.C. Onyango,	<i>Sanchezia speciosa</i> Vườn thực vật ĐH Maseno, Kenya	Định tính	[57]
5	2017	Nusrat shaheen, Muhammad Uzair, Bashir Ahmad, Alamgeer,	<i>Sanchezia speciosa</i> (Pakistan) Rễ, hoa,	1, 19, 20, 60, 61 - 1 hợp chất flavonoid - 2 hợp chất phenolic - 2 hợp chất terpen - 1 hợp chất alcaloid	[155]
6	2020	Juliana Mourão Ravasi, Giuseppina Negri, Antonio Salatino, Maria Luiza Faria Salatino, et al	<i>Sanchezia oblonga</i> (Brazil) Toàn cây	5-8; 21-33, 41-49, 62-65 - 4 hợp chất flavonoid - 13 hợp chất phenolic - 9 hợp chất acid béo - 4 hợp chất terpen	[107]
7	2022	Progga Paramita Paul, Pritam Kundu, Utpal Kumar Karmakar,	<i>Sanchezia nobilis</i> (Bangladesh)	Định tính	[161]
Ở Việt Nam					
8	2016	Bui Thanh Tung, Vu Duc Loi, Nguyen Thanh Hai, Nguyen Tien Vung,	<i>Sanchezia speciosa</i> (Tuyên Quang) Lá	9, 10, 61,66 - 2 hợp chất flavonoid - 1 hợp chất terpen - 1 hợp chất alcaloid	[29]
9	2017	Nguyễn Tiến Vững, Vũ Đức Lợi, Nguyễn Thị Mai	<i>Sanchezia speciosa</i> (Tuyên Quang) Lá	Định tính	[4]
10	2017	Loi Vu Duc, Tung Bui Thanh, Ha Vu Hoang,	<i>Sanchezia speciosa</i> (Tuyên Quang)	9, 10, 61,66 - 2 hợp chất flavonoid - 1 hợp chất terpen - 1 hợp chất alcaloid	[63]

STT	Năm công bố	Tác giả	Loài/Phân bố/BPD	Các chất xác định	Số TLTK
		Tuyen Nguyen Manh,	Lá		
11	2018	Lê Thị Hồng Nhung,	<i>Sanchezia speciosa</i> Lá	41, 42, 43, 47, 50-59 - 14 hợp chất acid béo	[1]
12	2019	Vu Duc Loi, Tran Minh Ngoc, Bui Thi Xuan,	<i>Sanchezia nobilis</i> (Nam Định) Lá	11, 12, 13, 67, 68 - 3 hợp chất flavonoid; 2 hợp chất khác	[183]

Như vậy, các loài được nghiên cứu thành phân hóa học của chi *Sanchezia* là *S. speciosa*, *S. nobilis* và *S. oblonga*, tuy nhiên 3 tên loài này được xác định là đồng danh [220] do đó luận án chỉ tổng hợp thành phần học theo chi mà không tổng hợp theo loài. Các nhóm hợp chất phổ biến nhất trong chi là flavonoid, terpen và alcaloid. Nhưng số lượng các chất phân lập và xác định được cấu trúc còn hạn chế, do đó việc tiếp tục phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất sẽ cung cấp thêm thông tin về thành phần hóa học của cây, cũng như góp phần biện giải tác dụng sinh học của cây.

1.3. Tác dụng sinh học chi *Sanchezia*

1.3.1. Độc tính cấp

Các nghiên cứu trước đây về độc tính cấp của chi *Sanchezia* tập trung chủ yếu vào cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat của lá và rễ, dịch chiết methanol của vỏ, gỗ, lá và rễ *S. speciosa* bằng phương pháp thử trên ấu trùng tôm nước mặn [51], [218]. Kết quả phân tích cho thấy trên các cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat từ lá *S. speciosa* cho tỷ lệ tử vong tăng lên cùng với sự gia tăng nồng độ. Giá trị LC₅₀ của các cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat được tìm thấy là 19,95 µg/mL và 12,88 µg/mL so với vincristine sulphat chứng dương có giá trị LC₅₀ đáng kể là 10,96 µg/mL. Vì vậy, cao phân đoạn ethyl acetat độc hơn so với cao phân đoạn *n*-hexan trên ấu trùng tôm nước mặn nhưng đều an toàn hơn vincristine sulphat [218].

Nusrat Shaheen và cộng sự (2017) đã tiến hành thử nghiệm độc tính cấp từ cao chiết dichloromethan và methanol của vỏ, gỗ, lá và rễ *S. speciosa* trồng ở Multan trên ấu trùng tôm với các mức liều khác nhau. Kết quả cho thấy, mức độ gây chết

khác nhau đã được quan sát khi tiếp xúc với các liều thử nghiệm khác nhau và tỷ lệ tử vong được tìm thấy tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết thử nghiệm. Trong đó, cao chiết dichloromethan của rễ cây có tác dụng gây độc đáng kể với IC_{50} là 2,52 $\mu\text{g/mL}$ so với chất đối chứng etoposid có IC_{50} là 7,46 $\mu\text{g/mL}$ [51].

1.3.2. Tác dụng chống viêm

Từ cao chiết methanol của vỏ và rễ *S. speciosa* được Nurat haseen [155] thử tác dụng chống viêm trên 2 mô hình, gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan và bằng cotton-pellet. Ở mức liều 50 mg/kg chưa cho kết quả chống viêm trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan, nhưng thể hiện tác dụng chống viêm nhẹ trên mô hình cotton-pellet. Ở mức liều 100 mg/kg (giảm độ phù 52,79%) và 200 mg/kg (giảm độ phù 68,75%) sau 3 giờ đều cho tác dụng chống viêm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh và gần bằng tác dụng của indomethacin ở mức liều 5 mg/kg (giảm độ phù 76,34%) trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan. Trên mô hình cotton-pellet cũng cho kết quả tương tự, lô dùng indomethacin ở mức liều 5 mg/kg làm giảm viêm là 65,35% trong khi đó cao chiết methanol vỏ và rễ *S. speciosa* mức liều 100 mg/kg giảm 46,12%, mức liều 200 mg/kg giảm 59,32%.

Ở Việt Nam, theo nghiên cứu của Vũ Đức Lợi và cộng sự năm 2016 [63], từ phân đoạn ethyl acetat cao chiết ethanol lá *S. speciosa* trong đã phân lập được 4 hợp chất, các hợp chất được đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carragenan. Mức độ tác dụng: Hợp chất 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**) > daucosterol (**61**) > hyperosid (**10**) > quercitrin (**9**). Hợp chất 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**) ức chế mạnh nhất, với giá trị IC_{50} là $193,70 \pm 5,24 \mu\text{g/mL}$. 4 hợp chất này cũng được đánh giá trên mô hình kháng viêm *in vitro* bằng thử nghiệm biến tính albumin của Bùi Thanh Tùng và cộng sự [29], kết quả cho thấy bốn hợp chất đều ức chế hiệu quả sự biến tính albumin nhiệt ở các nồng độ khác nhau theo thứ tự như trên. Hoạt động chống viêm của tất cả các hợp chất là phụ thuộc nồng độ.

Lê Thị Hồng Nhung năm 2018 cũng thử hoạt tính kháng viêm của cao chiết *n*-hexan, ethyl acetat và butanol từ *S. speciosa* bằng phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit (NO) trên tế bào RAW264.7 kết quả cho thấy trong 3 căn

chiết thử nghiệm, căn *n*-hexan và ethyl acetat có hoạt tính ức chế sự sản sinh NO tốt. Đáng chú ý căn *n*-hexan có hoạt tính mạnh hơn ở nồng độ thấp (IC₅₀ 10,82 ± 1,80 µg/mL) [1].

1.3.3. Tác dụng giảm đau

Nurat haseen [155] sử dụng cao chiết methanol từ vỏ và rễ *S. speciosa* để đánh giá tác dụng giảm đau trên 3 mô hình là acid acetic, tấm nóng và formalin. Trên mô hình gây đau quặn bụng do acid acetic gây ra, cao chiết methanol thể hiện tác dụng ức chế đau tối đa 79,21% khi sử dụng liều 200 mg/kg thể trọng so với thuốc aspirin có biểu hiện ức chế 88,01%. Cao chiết với liều lượng sử dụng 100 và 200 mg/kg cho thấy hiệu quả đáng kể sau 1 giờ trên mô hình tấm nóng. Các kết quả được thể hiện rõ ở liều 200 mg/kg là 20,28 ± 4,6 (giây) có thể so sánh được với thuốc tham chiếu tramadol (22,60 ± 4,3 giây). Tác dụng giảm đau trong thí nghiệm liếm chân do formalin gây ra, bằng cách đo thời gian (29,6 ± 3,1 giây) với liều 200 mg/kg, kết quả này gần với kết quả thuốc đối chiếu indomethacin (39,3 ± 2,9 giây). Như vậy kết quả cho thấy cao chiết methanol từ vỏ và rễ *S. speciosa* có tác dụng giảm đau trung ương khá tốt.

Một nghiên cứu khác của Progga và cộng sự [161] đã sử dụng cao chiết ethanol cây *S. nobilis* để đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình acid acetic. Mẫu nghiên cứu được sử dụng với mức liều 250 và 500 mg/kg, chứng dương là natri diclofenac với mức liều 25 mg/kg. Kết quả cho thấy cao chiết ethanol của cây *S. nobilis* thể hiện sự ức chế đau bằng 32,7% (p < 0,03) và 41,78% (p < 0,02) với liều lần lượt là 250 và 500 mg/kg trong khi chứng dương natri diclofenac biểu hiện sự ức chế đáng kể phản xạ đau bằng 74,23% (p < 0,008).

1.3.4. Tác dụng kháng vi sinh vật

Năm 2014, Abu Shuaib và cộng sự đã đánh giá tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm và diệt côn trùng của cây *S. nobilis* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, trên 15 chủng vi khuẩn Gram (+) và Gram (-), 6 chủng nấm và một chủng *Tribolium castaneum*. Kết quả cho thấy, trong 3 phân đoạn thu được từ cao chiết ethanol của cây *S. nobilis* là ether dầu hỏa, chloroform và ethyl acetat thì phân đoạn chloroform

thể hiện tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm tốt hơn hai phân đoạn ether dầu hỏa và ethyl acetat nhưng yếu hơn kháng sinh đối chiếu [23].

Giá trị M.I.C của các cao phân đoạn chloroform, ethyl acetat và ether dầu hỏa đối với 15 chủng vi khuẩn lần lượt nằm trong khoảng 16-64, 32-128 và 64-128 $\mu\text{g/mL}$. Phân đoạn chloroform có tác dụng kháng khuẩn mạnh trên các chủng *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Bacillus megaterium*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Shigella shiga*. Phân đoạn ethyl acetat có tác dụng tốt trên chủng vi khuẩn *Shigella sonnei* và *Shigella dysenteriae* [23].

Vùng ức chế đối với các chủng nấm của các phân đoạn, nằm trong khoảng $8 \pm 0,01$ cho tới $18 \pm 0,41$ mm, với nồng độ 50 $\mu\text{g}/\text{đĩa}$. Phân đoạn chloroform có tác dụng tốt trên các chủng *Candida albicans*, *Rizopus oryzae*, *Aspergillus niger* và *Trycophyton rubrum*. Phân đoạn ethyl acetat có tác dụng ức chế trung bình trên chủng *Rizopus oryzae* và *Trycophytonrubrum*, trong khi phân đoạn ether dầu hỏa hầu như không có tác dụng.

Thí nghiệm diệt côn trùng *Tribolium castaleum* (Herbst) cho thấy, tỷ lệ chết của côn trùng là 60%, 40%, 20% ở liều lượng 50 mg/ml trong 48 h, tương ứng với phân đoạn chloroform, ethyl acetat và ether dầu hỏa [23].

Progga và cộng sự [161] đã đánh giá tác dụng của cao chiết ethanol của cây *S. nobilis* trên 6 loại ký sinh trùng và so sánh với chứng dương sử dụng albendazol liều 15 mg/1 ml. Kết quả cho thấy tác dụng này yếu và giảm phụ thuộc vào liều theo thời gian tê liệt và thời gian chết của ký sinh trùng. Cụ thể, thời gian để tê liệt ở nồng độ 25, 50, 100 và 200 mg/ml lần lượt là 83,91; 34,83; 21,15 và 9,00 phút. Thời gian chết ở các mức nồng độ trên là 86,33; 37,33; 23,83 và 11,33 phút. Trong khi đó thời gian tê liệt và chết của lô dùng albendazol là 6,58 phút và 8,15 phút với liều 15 mg/ml.

Tại Việt Nam, năm 2018 Lê Thị Hồng Nhung cũng thử hoạt tính kháng khuẩn của ba cao chiết *n*-hexan, ethyl acetat và butanol từ lá *S. speciosa* trên bốn dòng vi khuẩn *S. aureus*, *E. coli*, *P.aeruginosa*, *C. albicans* kết quả cho thấy, cả ba cao chiết đều chỉ có hoạt tính kháng khuẩn *Staphylococcus aureus* và không có tác dụng với các dòng vi khuẩn còn lại [1].

1.3.5. Tác dụng trên hệ tiêu hóa

Hoạt tính chống tiêu chảy của cao chiết ethanol cây *S. nobilis* được đánh giá trên mô hình gây tiêu chảy bằng dầu thầu dầu ở chuột. Tất cả các con chuột được sàng lọc ban đầu bằng cách cho uống 0,5 ml dầu thầu dầu và chỉ những con chuột bị tiêu chảy được chọn làm thí nghiệm. Các lô chuột được cho uống cao chiết ethanol liều 250 và 500 mg/kg thể trọng, chứng dương sử dụng là loperamid với mức liều 50 mg/kg thể trọng chuột 1 giờ trước khi cho chuột uống 0,5 ml dầu thầu dầu. Theo dõi chuột trong 4 tiếng sau đó. Kết quả cho thấy cao chiết ethanol lá *S. nobilis* làm chậm sự khởi phát đợt tiêu chảy 143,0 phút và 190,0 phút ở liều 250 và 500 mg/kg thể trọng trong khi đó lô dùng loperamid là 199,9 phút. Phần trăm ức chế đại tiện tương ứng là 62,49 % và 74,01% so với lô dùng loperamide là 87,05% [161].

1.3.6. Các tác dụng khác

Năm 2013, Paydar và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa và hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của cao chiết methanol từ lá *S. speciosa*. Paydar và cộng sự đã so sánh tác dụng chống oxy hóa từ cao chiết methanol lá *S. speciosa* với quercetin chuẩn, bằng phương pháp ORAC, kết quả cho thấy tác dụng chống oxy hóa của lá *S. speciosa* là $55,77 \pm 1,73 \mu\text{g/mL}$, và của quercetin là $63,07 \pm 0,93 \mu\text{g/mL}$. Như vậy tác dụng chống oxy hóa của cao chiết methanol lá *S. speciosa* gần bằng quercetin chuẩn [49].

Các nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy các hợp chất: quercitrin (**9**), hyperosid (**10**), daucosterol (**61**), và 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**) đã được phân lập và xác định cấu trúc từ cao phân đoạn ethyl acetat của cao chiết ethanol lá *S. speciosa*. Cả 4 chất được Bùi Thanh Tùng và cộng sự đã đánh giá tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH đều cho thấy có tác dụng chống oxy hóa mạnh, nhưng hợp chất hyperosid (**10**) > quercitrin (**9**) > 3-methyl-1H-benzoindole-4,9-dion (**66**) > daucosterol (**61**) với giá trị IC_{50} của hợp chất hyperosid (**10**) là $20,83 \pm 1,29 \mu\text{g/mL}$, hợp chất quercitrin (**9**) là $25,9 \pm 2,57 \mu\text{g/mL}$ [29].

Nghiên cứu của S Parvin và M Paydar cho thấy từ cao chiết methanol lá *S. speciosa* thể hiện tác dụng ức chế tốt sự tăng trưởng của dòng tế bào MCF-7 với IC_{50} là $23,20 \pm 1,18 \mu\text{g/mL}$, có tác dụng ức chế trung bình trên dòng tế bào SK-MEL-5

với IC_{50} là $62,56 \pm 5,32 \mu\text{g/mL}$, và có tác dụng ức chế yếu trên dòng tế bào HUVEC với IC_{50} là $91,15 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$. Như vậy, cao chiết methanol có tác dụng gây độc trên tế bào ung thư vú khá mạnh [218], [49].

Để đánh giá hiệu quả của *S. speciosa* đối với xét nghiệm tăng sinh tế bào, khả năng tăng trưởng của tế bào ung thư đã được nghiên cứu trong xét nghiệm MTT, với các cao chiết dichloromethan và methanol từ vỏ cây và vỏ rễ của *S. speciosa*. Hiệu quả chống ung thư trong ống nghiệm được đánh giá trên các tế bào Hela trong các đĩa 96 giếng và sau đó được ủ ở 37°C trong các khoảng thời gian khác nhau ($n = 3$) có khả năng chống lại sự hấp thụ của formazan ở bước sóng 540 nm. Sử dụng doxorubicin làm chứng dương. Trong khi đó, cao chiết dichloromethan của rễ *S. speciosa* được tìm thấy có tác dụng hóa trị liệu với giá trị IC_{50} $46,7 \pm 1,7 \mu\text{g/mL}$. Tương tự thử nghiệm đáp ứng liều MTT của cao chiết dichloromethan rễ *S. speciosa* được thực hiện ở các nồng độ khác nhau cho thấy hiệu quả hóa trị tối đa ở $100 \mu\text{g/mL}$ [51].

Các cao chiết methanol và dichloromethan của rễ và vỏ rễ *S. speciosa* được đánh giá khả năng ức chế trên ba enzym là α -glucosidase, acetylcholinesterase và lipoxygenase. Kết quả cho thấy tác dụng ức chế enzym α -glucosidase là rõ nhất với $IC_{50} = 15,3 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$ (cao chiết methanol của vỏ) và $IC_{50} = 15,9 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ (cao chiết methanol của rễ) so với acarbose có $IC_{50} = 37,2 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$. Tác dụng trên enzym acetylcholinesterase yếu và trên lipoxygenase gần như không có [155].

Các cao chiết này được đánh giá khả năng điều hòa miễn dịch đối với các loại oxy phản ứng (ROS) sản xuất bằng cách xác định luminol thăm dò và sử dụng các tế bào máu. Cao chiết methanol từ rễ ($IC_{50} = 28,7 \mu\text{g/mL}$) và vỏ ($IC_{50} = 33,1 \mu\text{g/mL}$) đều cho thấy tác dụng mạnh hơn cao chiết DCM cũng như so sánh với doxorubicin tiêu chuẩn (giá trị IC_{50} là $92,6 \mu\text{g/mL}$) [155].

Cao chiết ethanol cây *S. nobilis* cũng được thử nghiệm đánh giá trên hoạt động thần kinh bằng cách sử dụng mô hình trường mở ở chuột. Chuột được cho uống mẫu thử liều 250 và 500 mg/kg thể trọng, chứng dương sử dụng là diazepam liều 1 mg/kg thể trọng. Sau khi cho uống mẫu nghiên cứu, các chuột được đặt riêng lẻ vào một góc trong các góc của hình vuông và số lượng ô vuông được các con vật đến được đếm trong 3 phút vào các thời điểm 0, 30, 60, 90 và 120 phút trong suốt thời gian

nghiên cứu. Kết quả cho thấy ở liều 250 mg/kg thể trọng chuột số ô vuông đếm được ở các thời điểm tương ứng là 142,5; 103,7; 77,2; 64,5 và 35,8. Ở liều 500 mg/kg thể trọng là 117,7; 93,0; 68,8; 36,6 và 12,4. Trong khi đó ở nhóm chứng ghi nhận kết quả: 79; 58,2; 46,4; 29,6 và 8,0 [161].

Trên thực tế người dân đã sử dụng lá Xăng xê và các sản phẩm từ lá Xăng xê trong bệnh lý đau dạ dày, viêm loét dạ dày, tá tràng nhưng các nghiên cứu trên hệ tiêu hóa của Xăng xê còn rất ít và chưa thể hiện rõ tác dụng trên bệnh lý dạ dày. Đây là tiền đề cho định hướng nghiên cứu của luận án về tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng của lá cây Xăng xê.

1.4. Công dụng

Hiện nay, một số loài thuộc chi *Sanchezia* được sử dụng trong y học dân gian các nước trong điều trị chống co giật, an thần, ho có đờm, chống lao và chống ung thư [22]. *S. speciosa* được sử dụng rộng rãi ở Ấn Độ và Bangladesh khi bị rắn cắn, sốt rét, kiết lỵ, tiêu chảy, rối loạn chức năng gan, và trong việc ngăn ngừa khả năng sinh sản ở nam giới [146], rễ và vỏ cây cũng được dùng trong bệnh dạ dày [166]. Ngoài ra, ở Thái Lan, cây *S. speciosa* được sử dụng như một loại thức ăn có tác dụng an thai, bổ máu, điều trị đau bụng kinh [123], rễ cây *S. speciosa* được dùng để điều trị liệt dương và làm tăng cường ham muốn tình dục [155], lá *S. oblonga* giã đắp lên người để chữa đau lưng, đau thắt lưng, đau gân, đau cơ và bầm tím [185]. Ở Trung Quốc, *S. speciosa* được dùng trong gãy xương [194]. *S. oblonga* ở Peru thì dùng lá để xông trong bệnh đau đầu [182].

Thêm vào đó, một trong những tác dụng của lá cây Xăng xê được dùng ở Việt Nam là sử dụng trong bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng. Cách dùng: lấy vài lá tươi rửa sạch và nhai sống với một ít muối là giảm cơn đau, dùng một thời gian thì khỏi. Ngoài việc ăn sống còn có thể sắc lá khô thay nước chè uống hằng ngày. Trên thị trường hiện nay cũng đã có một số sản phẩm thực phẩm chức năng có lá Xăng xê sử dụng hỗ trợ các vấn đề của dạ dày như:

- Cao dạ dày sadu:

+ Thành phần: Xăng xê, Hoàn ngọc, Chè dây và một số thành phần khác như: Cao cà gai leo, Dạ cẩm, Cỏ ngọt, Cam thảo bắc, Gừng, Quế...

+ Tác dụng: Là thực phẩm chức năng hỗ trợ các vấn đề về dạ dày như: đau thắt dạ dày lâu năm, viêm loét dạ dày, trào ngược dạ dày thực quản, nhiễm vi khuẩn *H.P* dạ dày.

- Trà túi lọc Khôi đóm- chè xanh

+ Thành phần: Bột cây Khôi đóm (Xăng xê) và bột lá trà xanh.

+ Công dụng: giúp hỗ trợ điều trị đau dạ dày, viêm loét dạ dày, hành tá tràng, đau bụng, kém ăn, ăn không tiêu. Hỗ trợ trung hòa, làm giảm tiết acid dịch vị, giảm ợ hơi, ợ chua, làm se vết loét.

1.5. Bệnh lý viêm loét dạ dày, tá tràng

1.5.1. Định nghĩa

Viêm loét dạ dày - tá tràng (DD-TT) là những tổn thương của lớp niêm mạc, có thể xâm lấn sâu xuống lớp dưới niêm mạc. Vị trí hay gặp nhất là bờ cong nhỏ, hang vị, môn vị và hành tá tràng.

Viêm loét dạ dày, tá tràng là bệnh mạn tính thường tái phát, có thể gây biến chứng như chảy máu, thủng dạ dày, hẹp môn vị, hoặc hiếm hơn có thể tiến triển thành ung thư [17].

1.5.2. Nguyên nhân gây viêm loét dạ dày tá tràng

Theo Schwartz (1910), ngoài tác dụng tiêu hóa thức ăn, bản thân dịch vị có tác dụng phá hủy niêm mạc DD-TT nhưng tác dụng này bị các yếu tố bảo vệ chống lại, làm mất hiệu lực, do vậy viêm loét DD-TT không xuất hiện ở những người bình thường. Viêm loét DD-TT là hậu quả của sự mất cân bằng giữa yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ, trong đó yếu tố tấn công chiếm ưu thế hơn [17].

Yếu tố bảo vệ [15]: Lớp nhày, sự tái tạo niêm mạc...

Yếu tố tấn công gồm [15]: acid hydrochloric, pepsinogen

• *Yếu tố bảo vệ*

- Lớp nhày: phủ trên bề mặt niêm mạc. Do tồn tại ở dạng gel và mang tính kiềm, nó không thích hợp cho sự tiêu hủy của pepsin, đồng thời không cho phép acid từ dịch vị tự do khuếch tán sâu vào trong.

- Tế bào biểu mô niêm mạc: tái sinh rất nhanh mỗi khi tổn thương, đồng thời sản xuất một số ion bicarbonat (trung hòa ion H^+ nếu nó đi qua được lớp gel).

- Sự tưới máu phong phú: mang đi các ion H^+ và cung cấp các vật liệu hàn gắn tổn thương.

- Prostaglandin: Được sản xuất tại chỗ, prostaglandin có tác dụng khuếch đại và điều phối các yếu tố bảo vệ nói trên giúp quá trình tái tạo xảy ra ngay lập tức.

- Sự tái tạo và hàn gắn: Những tổn thương do yếu tố tấn công gây ra cho niêm mạc dạ dày được hàn gắn tức khắc kể cả khi nồng độ ion H^+ trong dịch vị tăng gấp 5 lần. Khi các yếu tố bảo vệ tỏ ra bất cập, khiến thương tổn vượt quá lớp đáy của biểu mô đến lớp dưới niêm mạc thì sự tái tạo tức thì của biểu mô không thể thực hiện được. Quá trình sửa chữa diễn biến chậm lại, vì phải có các tế bào từ ngoài xâm nhập và tăng sinh ở vùng tổn thương để lấp chỗ. Vai trò phối hợp của prostaglandin lúc này càng quan trọng. Ngoài ra, yếu tố tăng trưởng EGF (Epidermal growth factor) được bài tiết trong nước bọt và tá tràng, có tác dụng giảm tiết acid, kích thích sự xâm nhập và tăng sinh tế bào vùng tổn thương [15].

- ***Yếu tố tấn công***

- Pepsinogen: Trên thực nghiệm, động vật không bị viêm loét nếu chỉ gây tăng tiết acid riêng nhưng sẽ tăng tỷ lệ viêm loét nếu phối hợp với pepsinogen. Hơn nữa, dù có phối hợp nhưng nếu gây ức chế hoạt tính của pepsinogen thì vẫn giảm tỷ lệ xuất hiện viêm loét. Như vậy, pepsin tạo điều kiện cho ion H^+ của acid khuếch tán vào sâu lớp gel để tiếp cận lớp biểu mô niêm mạc dạ dày. Một khi lớp nhày bị phá vỡ và niêm mạc bị ion H^+ làm tổn thương thì pepsin có điều kiện phối hợp làm nặng hơn các tổn thương tại ổ loét [15].

- Acid hydrochloric: Sự khuếch tán ngược của ion H^+ từ lòng dạ dày qua lớp gel vào tận cấu trúc niêm mạc, mặc dù lớp gel cản được 3/4 hay 9/10 số ion này. Ion H^+ có gây tổn thương hay không còn tùy thuộc vào nồng độ ion H^+ thấm vào và khả năng bảo vệ. Các cấu trúc bị tổn thương do ion H^+ gây ra gồm biểu mô niêm mạc, các notron, mạch máu, kết hợp với sự xâm nhiễm của các tế bào viêm để gây ra một chuỗi hậu quả như:

- + Giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh

- + Xâm nhập các thành phần máu vào nơi tổn thương, tạo ra hỗn hợp peptid và các acid amin gây kích thích tiết thêm acid hydrochloric.

+ Hoạt hóa các tế bào viêm trực tiếp kích thích tế bào thành tiết hydrochloric. Cuối cùng hình thành một vòng bệnh lý tự duy trì [15].

1.5.3. Những tác nhân gây tăng tiết và giảm khả năng bảo vệ dạ dày tá tràng

- Do di truyền
 - Nhóm máu O, sau đó là nhóm máu A
 - Nhóm HLA, có B5 và DQ-A1
 - Tình trạng tăng tiết bả sinh acid hydrochloric và pepsinogen
 - Sự nhạy cảm đối với các yếu tố nguy cơ ngoại cảnh [17]

- Thuốc kháng viêm không steroid (và cortisol)

Cơ chế gây tổn thương của NSAID, gồm:

- Trực tiếp gây tổn thương niêm mạc dạ dày: do tính chất acid yếu của NSAID, nhất là của aspirin, khiến chúng không bị ion hóa mà còn phát huy ái tính với lipid, nhờ vậy các NSAID dễ dàng thấm qua lớp nhầy để tiếp cận với biểu mô nhưng ở đây do pH tương đối cao nên tồn tại nhiều dưới dạng ion hóa dẫn đến phá hủy niêm mạc. NSAID còn có khả năng làm giảm tính kỵ nước của lớp nhầy, giúp cho acid khuếch tán tiếp cận biểu mô niêm mạc. Một cơ chế khác khi vào máu, NSAID bị phân hủy tại gan và hệ võng nội mô để tạo ra các sản phẩm chuyển hóa, sẽ được bài tiết theo mật. Các sản phẩm này đã được chứng minh là có thể gây tổn thương cho niêm mạc ruột và nếu bệnh nhân có hội chứng “trào mật” lên dạ dày thì chúng có điều kiện gây tổn thương dạ dày và nhiều khi cả thực quản [17].

- Ngoài ra, NSAID có tác dụng gián tiếp: làm suy giảm hàng rào phòng ngự, ức chế tổng hợp prostaglandin và NO, gây giảm vi tuần hoàn ở niêm mạc, ngăn cản quá trình tái tạo và chữa lành [15].

- Các yếu tố nguy cơ của NSAID: sử dụng NSAID gây ra biến chứng nhiều hay ít phụ thuộc vào: Tuổi của bệnh nhân, lịch sử loét cũ, dùng đồng thời với corticoid; khi có đồng thời có vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H.P*) trong dạ dày, có hút thuốc lá, có uống rượu trong đợt điều trị...[15].

- Thuốc lá; rượu, cà phê, acid mật, stress...
- Vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H.P*)

Thực nghiệm cho thấy *H.P* gây viêm cấp ở dạ dày nếu nhiễm một lượng lớn. Nó gây viêm loét DD-TT nếu nhiễm kéo dài hoặc làm viêm chuyển sang loét vì làm tăng tiết acid đồng thời làm giảm khả năng bảo vệ. Hậu quả muộn là làm teo niêm mạc đưa đến giảm toan, vô toan. *H.P* là bệnh nguyên phổ biến gây loét, đồng thời là tác nhân quan trọng của rối loạn tiết dịch vị với bằng chứng những người lành mang bệnh vẫn có những thay đổi trong tiết dịch vị nhưng sẽ dần trở về bình thường khi vi khuẩn bị loại trừ. *H.P* được tìm thấy ở 90-96% những người viêm loét tá tràng và ít nhất 70% người viêm loét dạ dày [14], [142].

1.5.4. Triệu chứng và chẩn đoán viêm loét dạ dày tá tràng

- **Triệu chứng [15]**

- Đau bụng: Đây là triệu chứng sớm nhất. Thường đau vùng bụng trên rốn; cơn đau xuất hiện khi đói hoặc sau khi ăn 2 - 3 giờ, cơn đau có thể nửa đêm về sáng. Cơn đau có thể âm ỉ hoặc quặn từng cơn, bỗng rất đôi khi cảm giác tức ngực.

- Nôn hoặc buồn nôn, đầy bụng, chậm tiêu: Cảm giác buồn nôn, nôn xuất hiện khi dạ dày đang tiêu hóa thức ăn. Nôn cũng có thể gặp khi bị hẹp môn vị. Nếu nôn ra được, người bệnh sẽ cảm thấy dễ chịu, cơn đau cũng giảm đi.

- Mất ngủ hoặc giấc ngủ bị gián đoạn do bụng bị đầy hơi, ậm ạch khó tiêu về đêm.

- Ợ chua, ợ hơi, nóng rát vùng thượng vị

- Rối loạn tiêu hóa: do quá trình tiêu hóa không bình thường, bệnh nhân có thể đi ngoài phân sống, tiêu chảy hoặc táo bón. Có trường hợp bệnh nhân đi ngoài phân đen nhưng không có triệu chứng đau bụng, đây gọi là hiện tượng loét âm.

- Giảm cân [15]

- **Chẩn đoán**

- Chẩn đoán lâm sàng: các triệu chứng mang tính chất gợi ý

- Chẩn đoán cận lâm sàng: Nội soi cho kết quả chính xác có thể kết hợp với sinh thiết để chẩn đoán viêm loét DD-TT, ung thư dạ dày và tìm vi khuẩn (*H.P*) [15].

1.6. Các mô hình gây loét dạ dày, tá tràng trên thực nghiệm

1.6.1. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp vật lí

- **Mô hình thắt môn vị Shay trên chuột cống trắng**

- * Nguyên tắc:

Shay và cộng sự (1945) đã đề xuất phương pháp thắt môn vị trên chuột cống. Đây là phương pháp mô phỏng tình trạng tăng tiết acid cũng như làm chậm tháo rỗng dạ dày tương tự bệnh hẹp môn vị, từ đó gây viêm loét dạ dày tá tràng [64] [25].

Sử dụng chuột cống trắng cân nặng từ 150 - 170 g, chia ngẫu nhiên thành các lô khác nhau. Trước ngày uống liều thuốc cuối cùng, chuột để nhịn đói 24 - 48 giờ nhưng vẫn cho uống nước trước khi làm thực nghiệm. Gây mê chuột, mở ổ bụng bộc lộ môn vị dạ dày chuột. Dùng chỉ phẫu thuật thắt môn vị (tránh thắt vào động mạch tạng), rồi khâu đóng thành bụng. Sau đó, các lô chuột được uống nước muối sinh lý, thuốc đối chiếu và thuốc nghiên cứu. Sau 19 giờ, giết chuột, mở ổ bụng, cắt phần dạ dày ra khỏi ổ bụng. Dịch vị trong dạ dày được đo thể tích và quay li tâm để xác định độ acid bằng NaOH 0,1N. Dạ dày được mở dọc theo bờ cong lớn, rửa bằng nước muối sinh lý, thấm khô và cố định trên đĩa. Niêm mạc dạ dày được soi dưới kính hiển vi để kiểm tra mức độ tổn thương. Các vết loét thường xuất hiện nhiều ở dạ dày và hang vị. Đánh giá mức độ tổn thương: Đếm số vết loét và đánh giá mức độ tổn thương theo phương pháp tính điểm [52].

- Mô hình gây viêm loét bằng stress

*** Nguyên tắc:**

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng stress có thể gây viêm loét dạ dày. Theo nghiên cứu của Selye, khi gây một stress thì ngay sau đó cơ thể phản ứng lại bằng cách co mạch máu, giảm trương lực cơ, giảm glucose, giảm bạch cầu, sau đó sẽ gây tăng tiết ACTH (tuyến yên) và corticosteroid (hormon vỏ thượng thận). Như vậy, sau một stress thì cơ thể xuất hiện một loạt các phản ứng để chống stress và kết quả là tạo ra các hormon có tác dụng gây viêm loét, giảm yếu tố bảo vệ dạ dày (giảm dòng máu tuần hoàn tại dạ dày, giảm tiết chất nhày, giảm tiết prostaglandin). Trên thực nghiệm, các tác giả đã dùng nhiều phương pháp gây stress khác nhau để gây viêm loét dạ dày [20].

- Gây stress bằng cách giữ cố định con vật thí nghiệm (phương pháp gò bó) [38].

Selye (1936) là người đầu tiên giới thiệu mô hình này, sau đó được cải tiến bởi nhóm tác giả Hanson và Brodie (1960), Bofitls và cộng sự (1966). Gây stress bằng cách gò bó, con vật có tình trạng tương tự như bị một stress kéo dài [38].

- **Gây stress bằng cách nhúng đột ngột trong nước lạnh (cold restraint stress) [38].**

Phương pháp này được Takagi và cộng sự (1964), West (1982) giới thiệu. Nhúng con vật trong nước lạnh trong suốt quá trình làm thí nghiệm, kết hợp với việc giữ cố định con vật trong một thời gian ngắn để gây nên tình trạng bị kích thích như một stress kéo dài.

- **Gây viêm loét bằng kẹp động mạch tạng gây thiếu máu cục bộ - tái tưới máu**

* Nguyên tắc

Vai trò bảo vệ dạ dày của mạch máu nuôi dạ dày là lấy đi ion H^+ và cung cấp các yếu tố làm liền loét. Trên thực tế, những bệnh nhân thiếu máu, bệnh nhân xơ gan cổ trướng thì tỷ lệ viêm loét dạ dày là khá cao.

Cho chuột uống thuốc trong một khoảng thời gian từ 5 - 10 ngày trước khi làm thực nghiệm. Sau khi uống liều gần cuối, để chuột nhịn đói trong 24 giờ nhưng vẫn được uống nước. Trước khi gây loét khoảng 30 - 60 phút, chuột được cho uống liều cuối cùng. Gây mê chuột, sau đó phẫu thuật mở ổ bụng chuột, truyền vào dạ dày dung dịch HCl 0,15 M liều 1 ml/100g chuột. Kẹp động mạch trái dạ dày trong 5 phút để gây thiếu máu cục bộ và để 30 phút tái tưới máu sau khi bỏ kẹp ra. Giết chuột, mở dạ dày dọc theo bờ cong lớn rồi ngâm trong dung dịch formalin. Kiểm tra mức độ tổn thương bằng kính hiển vi và so sánh với lô chứng [41] [53].

Ngoài ra, Takashi Kyoji và cộng sự đã cải tiến mô hình kẹp động mạch gây thiếu máu cục bộ bằng cách kết hợp mô hình này với mô hình thắt môn vị dùng kèm thêm acid để gây viêm loét.

1.6.2. Mô hình gây viêm loét bằng phương pháp hóa học

- **Mô hình gây viêm loét bằng acid**

Các acid thường dùng là acid hydrochloric, acid acetic (dùng để tạo mô hình viêm loét mạn tính)

Gây viêm loét cấp bằng acid hydrochloric

* Nguyên tắc

Vai trò gây viêm loét dạ dày tá tràng của acid hydrochloric (HCl) đã được các nhà khoa học tìm ra. Mô phỏng những bệnh nhân tăng tiết acid (hội chứng Zollinger

- Ellison, bệnh tăng acid nguyên phát...), mô hình gây loét bằng acid hydrochloric sẽ gây nên tình trạng thừa acid trong dạ dày dẫn đến viêm loét dạ dày cấp ở động vật thí nghiệm [58] [26].

Chuột được uống thuốc từ 5 - 10 ngày trước khi làm thực nghiệm. Sau khi cho chuột uống liều gần cuối, chuột để nhịn đói nhưng vẫn cho uống nước trong 18 giờ. Sau 30 phút uống thuốc lần cuối cùng, chuột bị gây loét bằng dung dịch acid HCl 0,6 M với liều 5 ml/kg chuột. Sau 1 giờ, giết chuột, tách lấy dạ dày. Mở dạ dày theo bờ cong lớn, rửa dạ dày bằng nước ấm, ngâm trong dung dịch formalin rồi đem soi dưới kính hiển vi để kiểm tra mức độ tổn thương và hiệu quả điều trị của thuốc [58].

Gây viêm loét mạn bằng acid acetic

*** Nguyên tắc**

Mô hình sử dụng acid acetic để gây viêm loét dạ dày mô phỏng trên những bệnh nhân bị viêm loét dạ dày mạn tính [42].

Chuột bị bỏ đói trong 24 giờ trước khi làm thực nghiệm nhưng vẫn cho uống nước. Gây mê chuột, mở ổ bụng bộc lộ dạ dày, tiêm vào thành dạ dày 0,05 ml dung dịch acid acetic 30% (v/v) cho mỗi con vật. Sau đó, đóng thành bụng lại, chuột tiếp tục được nuôi dưỡng bình thường. Những ngày tiếp theo chuột được cho uống thuốc trong 7 đến 14 ngày. Sau đợt uống thuốc, để chuột nhịn đói một ngày, giết chuột, tách lấy dạ dày, mở dạ dày dọc bờ cong lớn. Cắt dạ dày thành những miếng nhỏ để đánh giá vết loét dưới kính hiển vi [42].

- Mô hình gây viêm loét bằng ethanol

*** Nguyên tắc**

Các nghiên cứu đã cho thấy ethanol là một trong những yếu tố nguy cơ gây viêm loét. Trên thử nghiệm với động vật, ethanol cũng có tác dụng gây viêm loét. Phương pháp này dựa trên đặc điểm gây viêm loét của ethanol là phá hủy lớp màng nhày bảo vệ, tăng tính thấm của niêm mạc, ức chế tổng hợp prostaglandin [72].

Chuột để đói 18 giờ trước khi làm thực nghiệm nhưng vẫn cho chuột uống nước. Cho chuột uống thuốc chống viêm loét dạ dày, sau 30 phút cho chuột uống 1 ml ethanol tuyệt đối [72]. Sau 1 giờ, mở ổ bụng chuột tách lấy dạ dày, mở dạ dày

dọc theo bờ cong lớn, rửa bằng nước muối sinh lý. Kiểm tra mức độ tổn thương dạ dày dưới kính hiển vi.

- Mô hình gây loét bằng ethanol - acid

*** Nguyên tắc**

Năm 1979, Robert dùng phối hợp ethanol với acid hydrochloric, NaOH, một số NSAIDs để gây viêm loét dạ dày (sử dụng nồng độ ethanol thấp hơn 50% - 70%). Mô hình này mô phỏng tình trạng trên những bệnh nhân nghiện rượu có kèm tăng tiết acid [35].

Để chuột nhịn đói 18 - 24 giờ trước lần uống thuốc cuối cùng. Sau khi cho chuột uống thuốc 25 phút, cho chuột uống 1 ml hỗn hợp ethanol và acid, hoặc ethanol và NSAIDs. 1 giờ sau giết chuột, tách lấy dạ dày, mở dọc theo bờ cong lớn, rửa dạ dày bằng nước muối sinh lý, rồi kiểm tra dưới kính hiển vi [35]. Mô hình này cũng có thể thực hiện trên chuột nhắt trắng (Mizui và Douteuchi - 1993). Để chuột nhịn đói 24 giờ trước thời điểm gây loét nhưng vẫn cho uống nước. Sau khi uống liều cuối cùng 50 phút, cho chuột uống 0,2 ml dung dịch hỗn hợp (HCl 0,3M/ethanol 60%). Sau 1 giờ, giết chuột, tách lấy dạ dày, mở dọc theo bờ cong lớn. Kiểm tra mức độ tổn thương dạ dày dưới kính hiển vi [42].

- Mô hình gây viêm loét bằng thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs)

*** Nguyên tắc**

Các thống kê dịch tễ dược học đã cho thấy NSAIDs gây nhiều tác dụng không mong muốn lên hệ tiêu hóa, đặc biệt là gây viêm loét dạ dày tá tràng. Tác dụng không mong muốn này của NSAIDs đã được các nhà nghiên cứu tìm ra cơ chế gây bệnh: tác dụng trực tiếp làm tổn thương niêm mạc do tính acid yếu của NSAIDs, tác dụng gián tiếp là ức chế tổng hợp prostaglandin và NO. Kết quả là làm suy giảm hàng rào bảo vệ bằng cách giảm sản xuất chất nhày, bicarbonat, giảm lưu lượng tuần hoàn, ngăn cản quá trình tái tạo niêm mạc. Dựa trên cơ chế này, các nhà nghiên cứu đã sử dụng NSAIDs như là một tác nhân gây viêm loét trong mô hình thử trên động vật để nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của thuốc [35], [48] [24].

Các NSAIDs hay được sử dụng trong thực nghiệm gây viêm loét là aspirin, indomethacin...Sử dụng chuột cống trắng trọng lượng từ 150 – 200 g.

Cho chuột uống thuốc nghiên cứu trong 6 đến 10 ngày. Trước ngày uống thuốc cuối cùng, để chuột nhịn đói trong vòng 18 giờ. Sau 10 - 30 phút cho chuột uống liều thuốc cuối cùng thì cho chuột uống NSAIDs. Sau 5 - 6 giờ, giết chuột, mổ lấy dạ dày của chuột. Tiêm dung dịch formalin vào dạ dày để qua đêm. Ngày hôm sau, mở dạ dày dọc theo bờ cong lớn, rửa dạ dày bằng nước ấm, kiểm tra mức độ tổn thương dạ dày bằng kính lúp hoặc kính hiển vi.

- Mô hình gây viêm loét dạ dày bằng thuốc corticoid

* Nguyên tắc

Các thuốc nhóm corticoid có tác dụng không mong muốn trên hệ tiêu hóa là tăng tiết dịch vị (acid và pepsin), giảm sản xuất chất nhày, giảm prostaglandin (do ức chế phospholipase A2). Dựa trên đặc điểm tác dụng này một số tác giả đã sử dụng nhóm thuốc corticoid để gây viêm loét dạ dày.

Sử dụng chuột cống trắng cân nặng 150 – 200 g. Chuột được uống cortison liều cao (1 mg – 3 mg/150 mg chuột) trong 12 ngày liền, hay uống prednisolon liều cao (5 mg - 10 mg/150 mg chuột) trong 4 ngày liền. Thực nghiệm cho thấy, prednisolon có khả năng gây loét cao hơn cortison.

- Mô hình gây viêm loét tá tràng dùng cysteamin

* Nguyên tắc

Cysteamin (2-aminoethanthiol, mercaptamine) là chất có nhóm sulfhydryl hoạt động dùng để cấp cứu khi ngộ độc paracetamol. Cysteamin là một chất có khả năng gây viêm loét tá tràng cấp tính và mãn tính, được Szabo (1978) sử dụng đầu tiên trong mô hình gây viêm loét tá tràng cấp. Cysteamin kích thích tiết endothelin-1, một chất gây co mạch, làm giảm lượng máu đến tá tràng gây thiếu máu, thiếu O₂ ở mô. Do đó, niêm mạc tá tràng bị giảm các yếu tố bảo vệ, ion không được khuếch tán dẫn đến tá tràng bị viêm loét [36], [28], [33].

Chuột được ăn và uống nước bình thường trong khi tiến hành thí nghiệm. Một giờ trước khi gây loét bằng cysteamin, chuột được uống thuốc thử và thuốc chuẩn. Sau đó, cho chuột uống cysteamin với liều 400 mg/kg, pha vào 1 ml nước x 2 - 3 lần, mỗi lần cách nhau 4 giờ. Sau khi cho uống liều cysteamin đầu tiên khoảng 12 giờ thì giết chuột, mổ bụng lấy tá tràng. Rửa tá tràng bằng nước muối sinh lí, cắt thành từng

miếng nhỏ có chiều dài 2,5 cm và ngâm trong nước lạnh. Kiểm tra tá tràng dưới kính hiển vi, đếm số vết loét, đo độ dài vết loét.

Mô hình gây viêm loét tá tràng mạn bằng histamin

* Nguyên tắc

Dựa vào tính chất của histamin là một chất có tác dụng gây tăng tiết acid ở dạ dày, Parmar và Desai (1993) đề xuất phương pháp sử dụng histamin để gây viêm loét tá tràng [53].

Sau khi uống thuốc 45 phút, chuột được tiêm dung dịch histamin phosphoric với liều 0,25 mg/kg. Thí nghiệm được lặp lại sau mỗi 4 giờ và thí nghiệm kéo dài trong 3 ngày. Trước khi tiêm histamin 15 phút, tiêm promethazine hydroclorid với liều 2,5 mg/kg để chống độc histamin, 30 phút sau khi uống liều histamin cuối cùng, giết chuột, lấy tá tràng, kiểm tra mức độ tổn thương dưới kính hiển vi.

Như vậy, phần tổng quan đã tổng hợp được các tài liệu nghiên cứu công bố về đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và các tác dụng sinh học của chi *Sanchezia* cũng như cung cấp các thông tin cơ bản về bệnh viêm loét dạ dày tá tràng, các mô hình đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng. Cho đến nay, chi *Sanchizia* chưa có nhiều nghiên cứu được công bố cả về thành phần hóa học và tác dụng sinh học. Đặc biệt chưa có công bố về tác dụng sinh học trên viêm loét dạ dày tá tràng một cách hệ thống và đầy đủ, trong khi đó người dân nước ta đã đang sử dụng cây trong bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng và trên thị trường đã có một số thực phẩm chức năng trong thành phần có lá Xăng xê hoặc cao Xăng xê. Luận án nghiên cứu về thành phần hóa học, độc tính và tác dụng sinh học theo hướng viêm loét dạ dày tá tràng của lá Xăng xê góp phần cung cấp thêm thông tin khoa học về thành phần hóa học của cây cũng như cho việc sử dụng của người dân, và mở ra khả năng nâng cao hiệu quả sử dụng khi chọn lọc được các cao phân đoạn có tác dụng tốt hơn.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

Lá cây *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê) họ Ô rô (Acanthaceae) được thu hái vào tháng 1/2018 tại Cỏ Lẽ, Trục Ninh, Nam Định, được phơi sấy, bảo quản trong túi nilon kín, để tiến hành các nghiên cứu về thành phần hóa học, độc tính và tác dụng sinh học. Mẫu nghiên cứu được giám định tên khoa học bởi Thạc sĩ Nguyễn Quỳnh Nga, Viện Dược liệu, Bộ Y tế (Phiếu giám định ngày 28/03/2018 của Viện Dược liệu - Phụ lục 1). Mẫu dược liệu được lưu tại phòng tiêu bản, Khoa Tài Nguyên Cây Thuốc, Viện Dược liệu (số hiệu DL-150118) và được lưu tại Trường ĐH Y Dược, Đại Học Quốc Gia Hà Nội với số hiệu 190DV18 SMP-VNU.

2.1.2. Hóa chất – dụng cụ

**Hóa chất, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu thực vật, hóa học*

- Dung môi được sử dụng cho quá trình chiết là các dung môi công nghiệp được sử dụng mà không cần tinh chế, dung môi sử dụng cho phương pháp sắc kí cột là các dung môi công nghiệp được cất lại trước khi sử dụng.

- Dung môi sử dụng cho quá trình tinh chế bằng phương pháp HPLC là các dung môi của hãng Merck đạt tiêu chuẩn HPLC. Các hóa chất và thuốc thử đạt tiêu chuẩn phân tích theo quy định của Dược điển Việt Nam V.

- Kính lúp soi nổi: Krussoptroni (Đức).

- Máy ảnh kỹ thuật số Canon (Nhật Bản).

- Dụng cụ cắt vi phẫu cầm tay.

- Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1.05715) và silica gel 60 RP-18 F_{254S} 20x20 cm của Merck.

- Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường của Merck kích thước silica gel 60 (40-63 μm), Sephadex LH-20 (Sigma–Aldrich, Hoa Kỳ).

- Sắc kí cột pha đảo được tiến hành với chất hấp phụ YMC RP-18 (Fuji Silysia Chemical Ltd, Kasugai, Aichi, Nhật Bản).

- Sắc kí lỏng điều chế (Preparative High-performance liquid chromatography) được triển khai trên hệ thống Shimadzu Preparative High-performance liquid

chromatography (LC-20AP pump, đầu dò SPD-M20A PDA, cột HS C₁₈ column (cỡ hạt 10 µm, 25 cm x 21,2 mm), tại Phòng Thí Nghiệm Trung Tâm Viện Dược Liệu, Bộ Y Tế.

- Điểm nóng chảy được đo trên máy Buchi B-545 (Thụy sĩ), tại Phòng Thí Nghiệm Trung Tâm Viện Dược Liệu, Bộ Y Tế.

- Góc quay cực ($[\alpha]_D$) được đo trên máy JASCO DIP-1000 KUY polarimeter. tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS) được đo trên máy Agilent 1290 LC (Q-TOF) 6530 (Agilent Ted của Mỹ) tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ khối phun mù điện tử ESI-MS được đo trên máy LC/MS-8045 Shimadzu (Nhật bản) tại Viện Hóa Học, Viện Hàn Lâm Khoa Học Việt Nam.

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) và 2D (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer và máy Bruker Avance NEO 600 NMR spectrometers (Thụy sĩ) tại Viện Hoá học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Khoa Hóa Học Đại Học Khoa Học Tự Nhiên Đại Học Quốc Gia Hà Nội.

- Dung môi được sử dụng để đo NMR là DMSO-*d*₆, MeOH-*d*₄, CDCl₃ và aceton-*d*₆, sử dụng TMS làm chất nội chuẩn.

*** Hóa chất, thuốc và dụng cụ dùng trong đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng tại Trường ĐH Y Hà Nội**

- Ranitidin viên nén 300 mg (Domesco – Việt Nam).
- Nước muối sinh lý NaCl 0,9% (HD Pharma – Việt Nam).
- Phenolphthalein, NaOH, Topfer của Merck đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.
- Cloral hydrat của Merck đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.
- Formaldehyd 5% (TraceCERT®.), các hóa chất làm giải phẫu bệnh.
- Vật tư tiêu hao dùng trong nghiên cứu (bông, gạc...).
- Bộ dụng cụ phẫu thuật, kính lúp, dụng cụ cho chuột cống uống thuốc.
- Máy đo pH, Burette (SI Analytics (Schott) - Đức) .
- Chỉ khâu loại 4.0, dao mổ.

- Máy chụp hình (Canon, Nhật Bản).
- Kính hiển vi đọc giải phẫu bệnh.

*** Hóa chất, dụng cụ dùng trong đánh giá tác dụng giảm đau tại Trường ĐHY Hà Nội**

- Codein phosphat của Viện Kiểm nghiệm Trung ương (Số lô 5020117B)
- Kim chuyên dụng cho chuột nhắt uống thuốc.
- Máy Hot plate model - DS37 của hãng Ugo-Basile (Ý).
- Máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của hãng Ugo-Basile (Ý).

*** Hóa chất, dụng cụ dùng trong đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn tại Trường ĐHY Dược - ĐHQGHN và Trường ĐHY Hà Nội**

- Kít định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, và creatinin của hãng Erba (Đức).

- Các dung dịch xét nghiệm máu của hãng Horiba Medical (Pháp).
- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Kim chuyên dụng cho chuột nhắt và chuột cống uống thuốc.
- Vật tư tiêu hao dùng trong nghiên cứu (bông, gạc,...).
- Máy chụp hình (Canon, Nhật Bản)
- Kính hiển vi đọc giải phẫu bệnh

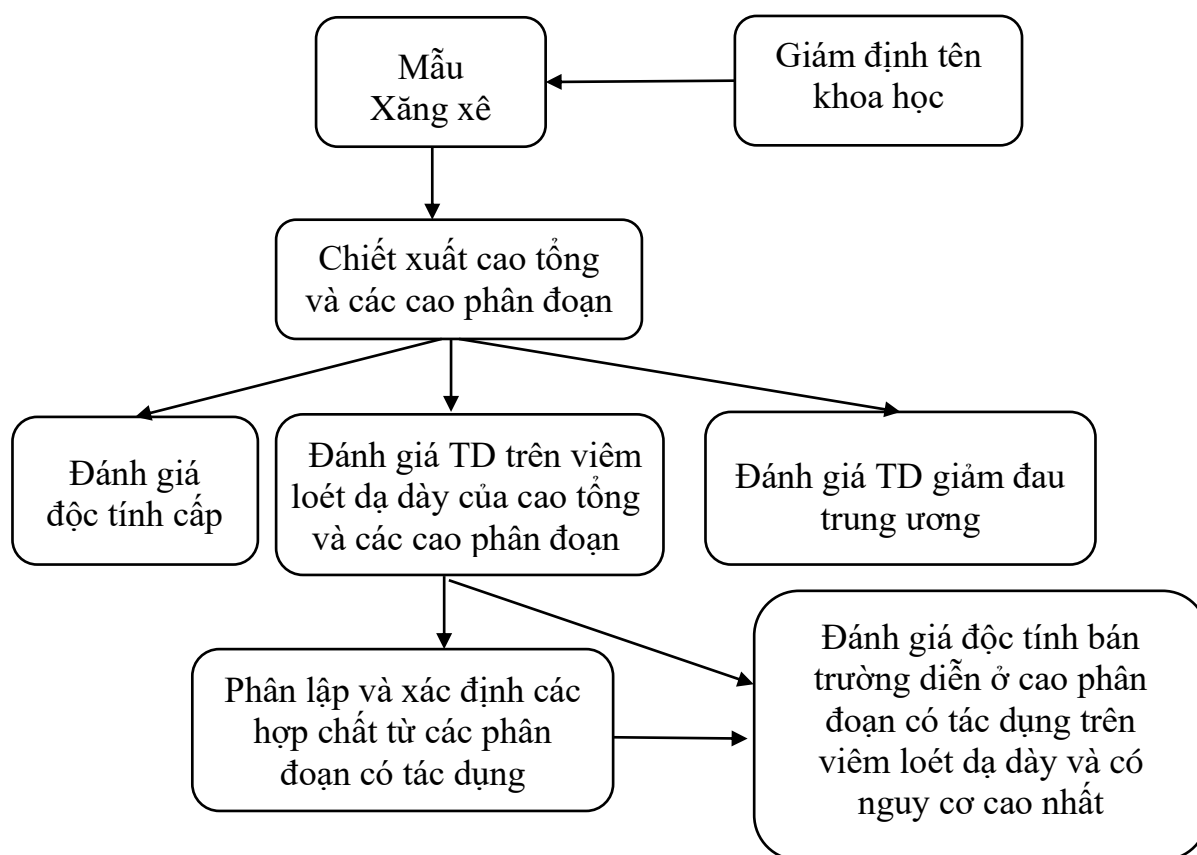
2.1.3. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g do viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 180 – 250 g do trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng – Hà Nội cung cấp.

Động vật thí nghiệm được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu



Hình 2. 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp giám định tên khoa học

Xác định tên khoa học bằng phương pháp so sánh đặc điểm hình thái thực vật, làm tiêu bản mẫu khô theo phương pháp của Viện Dược liệu. Giám định tên khoa học của mẫu nghiên cứu: Đối chiếu đặc điểm mô tả với đặc điểm thực vật đã được công bố về chi *Sanchezia* và một số loài thuộc chi này với sự giúp đỡ của các chuyên gia phân loại thực vật.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu thành phần hóa học

2.2.2.1. Phương pháp chiết xuất, phân lập và tinh chế các hợp chất

Mẫu nghiên cứu là lá cây Xăng xê được thu hái và được phơi sấy, bảo quản trong túi nilon kín. Để tiến hành các nghiên cứu lá được chiết xuất bằng phương pháp chiết ngâm ethanol 80% ở nhiệt độ phòng ba lần (3 x 3 ngày), cất thu hồi dung môi và cô đến khối lượng không đổi được cao chiết toàn phần. Tiến hành chiết theo phương pháp chiết phân đoạn để thu được các phân đoạn *n*-hexan, ethyl acetat và

nước. Cao ethyl acetat được chiết bằng phương pháp chiết acid-base thu được cao chiết alkaloid toàn phần **E1**. Phần dung dịch còn lại sau khi chiết alkaloid được tiếp tục chiết bằng ethyl acetat, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao ethyl acetat **E2**.

Phân lập các hợp chất từ cao chiết *n*-hexan, phân đoạn alkaloid **E1** và phân đoạn **E2** bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký cột pha thường, pha đảo, sephadex và sắc ký lỏng điều chế.

2.2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa vào các hằng số vật lý (điểm chảy, góc quay cực) phổ khối phun mù điện tử ESI-MS, phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) kết hợp với phổ 2D (HMBC, HSQC, COSY và NOESY) và so sánh với các dữ liệu phổ đã công bố trong tài liệu tham khảo.

2.2.3. Đánh giá độc tính và tác dụng sinh học

2.2.3.1. Chuẩn bị mẫu thử để đánh giá độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và các tác dụng sinh học khác.

Lá của cây Xăng xê được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô ở điều kiện thường (6,8 kg độ ẩm 10%) sau đó tán thành bột thô, chiết ngâm bằng EtOH 80% (3 lần mỗi lần 3 ngày) ở nhiệt độ phòng. Gộp dịch chiết và tiến hành cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cao toàn phần (567 g). Một phần cao toàn phần (316 g) được tiến hành chiết phân đoạn lỏng lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan, ethyl acetat. Các cao này được sử dụng cho việc phân lập các hợp chất.

Bằng phương pháp chiết lỏng lỏng tương tự như trên với 150 g cao toàn phần thu được các cao tương ứng. Các cao được cô tới khối lượng không đổi và đem đo độ ẩm lần lượt là cao *n*-hexan (28,6 g độ ẩm 2,3%), ethyl acetat (56,8 g độ ẩm 23,0%) và còn lại là cao nước (55,6 g độ ẩm 22,8%). Các cao này được dùng để đánh giá tác dụng sinh học.

Từ liều được liệu thường dùng trên người là 12 g dược liệu khô/ngày/người kết hợp với độ ẩm dược liệu, hiệu suất chiết, độ ẩm các cao và hệ số qui đổi trên

chuột cống là 5-7, chuột nhắt là 10-12. Nghiên cứu đã xây dựng các mức liều để thử nghiệm tác dụng sinh học như sau:

Bảng 2. 1. Các mức liều thử tác dụng sinh học của cao tổng và các cao phân đoạn lá Xăng xê

Thử nghiệm	Liều nghiên cứu (mg/kg thể trọng chuột/ngày)			
	Liều thấp	Liều tương đương 12 g DL khô/ngày/người	Liều cao	
Chống viêm loét dạ dày cao toàn phần trên chuột cống trắng	50	150	450	
Từ mức liều cao tổng 150 mg/kg thể hiện tác dụng trên viêm loét dạ dày, nghiên cứu xây dựng các mức liều cao phân đoạn như sau:				
Chống viêm loét dạ dày cao các phân đoạn trên chuột cống trắng	<i>n</i> -hexan		50	
	ethyl acetat		50	
	nước		100	
Tác dụng giảm đau trung ương (cả 2 mô hình) trên chuột nhắt trắng	<i>n</i> -hexan		100	300
	ethyl acetat		100	300
	nước		200	600
Độc tính bán trường diễn cao ethyl acetat trên chuột cống trắng			50	250

2.2.3.2. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp

Độc tính cấp của các phân đoạn dịch chiết lá Xăng xê được xác định trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield-Wilcoxon [115], [12], theo quy định của Bộ Y tế [18].

- Mẫu nghiên cứu: Cao toàn phần và các cao phân đoạn thu được ở mục 2.2.3.1. Các cao được pha ở các mức nồng độ tăng dần, xác định hàm lượng cao tối đa có thể pha trong mức thể tích có thể cho chuột uống 1 lần mà chuột vẫn dung nạp được là liều 12 g cao/kg thể trọng chuột. Nghiên cứu thử nghiệm với mức liều 12 g/kg thể trọng chuột. Từ kết quả độc tính cấp thu được sẽ tính toán đưa ra các mức liều thử nghiệm tiếp theo.

- Phương pháp và cách thực hiện:
 - + Trước khi tiến hành thí nghiệm, để chuột nhịn ăn qua đêm.
 - + Chuột được chia thành các lô khác nhau (mỗi lô 10 chuột). Cho chuột uống mẫu nghiên cứu với liều tối đa trong thể tích có thể cho chuột uống xác định số chuột chết sau uống mẫu nghiên cứu.
 - + Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tiến hành xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của mẫu nghiên cứu. Số chuột sống trong các lô tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống mẫu nghiên cứu.

2.2.3.3. Phương pháp xác định độc tính bán trường diễn

Dựa vào những công bố của các tác giả trên thế giới và ở Việt Nam về tác dụng của Xăng xê. Hầu hết các công bố đều cho thấy phân đoạn ethyl acetat là phân đoạn có tác dụng mạnh, và có chứa alcaloid, nhóm hợp chất thường có độc tính và phân đoạn ethyl acetat cũng cho thấy có tác dụng trên viêm loét dạ dày. Do đó, phân đoạn ethyl acetat được lựa chọn để đánh giá độc tính bán trường diễn.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat được tiến hành trên chuột cống trắng theo đường uống [90], [158], [12]:

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 3 lô:

- Lô chứng (n = 10): Uống nước cất 10 ml/kg/ngày
- Lô trị 1 (n = 10): Uống mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg/ngày
- Lô trị 2 (n = 10): Uống mẫu cao ethyl acetat liều 250 mg/kg/ngày

Chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử vào mỗi buổi sáng liên tục trong 28 ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.
- Đánh giá chức năng tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.
- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: Bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống, sau 14 ngày, sau 28 ngày uống nước cất hoặc thuốc thử.

Mô bệnh học: sau 28 ngày uống mẫu nghiên cứu, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan.

Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát hiện sớm Ung thư (do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc kết quả vi thể).

2.2.3.4. Phương pháp nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày bằng mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng (Shay)

**** Cao toàn phần***

Nguyên tắc phép thử: Nghiên cứu theo phương pháp gây mô hình loét dạ dày của Shay và cộng sự (1945) bằng cách thắt môn vị trên chuột cống trắng. Đây là phương pháp mô phỏng tình trạng tăng tiết acid cũng như làm chậm tháo rỗng dạ dày tương tự bệnh hẹp môn vị, từ đó gây loét dạ dày tá tràng [133]. Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh lý): uống dung môi pha mẫu nghiên cứu.
- Lô 2 (Lô chứng bệnh): uống dung môi pha mẫu nghiên cứu.
- Lô 3 (Chứng dương): Ranitidin 50 mg/kg/ngày, uống 1 ml/100 g.
- Lô 4 (Mẫu cao toàn phần): uống mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg, uống 1 ml/100 g.
- Lô 5 (Mẫu cao toàn phần): uống mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg, uống 1 ml/100g.
- Lô 6 (Mẫu cao toàn phần): uống mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg, uống 1 ml/100g.

Chuột ở các lô được uống nước cất/ranitidin/mẫu nghiên cứu liên tục trong thời gian 7 ngày. Chuột để nhịn đói 18-24 giờ nhưng vẫn cho uống nước trước khi gây mô hình. Ngày thứ 7 của nghiên cứu, sau uống mẫu nghiên cứu 2 giờ các lô chuột từ lô 2 đến lô 6 được tiến hành gây loét dạ dày bằng phương pháp thắt môn vị. Gây mê chuột bằng cloral hydrat (liều tiêm màng bụng 1 ml/100g thể trọng), mở ổ bụng bộc lộ môn vị dạ dày chuột. Dùng chỉ phẫu thuật thắt môn vị (tránh thắt vào động mạch

tạng), khâu đóng thành bụng. Chuột được nhốt vào các chuồng sạch, không có thức ăn được uống nước tự do, 6 giờ sau thất môn vị, gây mê chuột, mở ổ bụng, cắt phần dạ dày ra khỏi ổ bụng. Dịch dạ dày đem li tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 20 phút sau đó đo thể tích, lấy phần dịch trong tiến hành xác định độ acid bằng NaOH 0,1N. Dạ dày được mở dọc theo bờ cong lớn, rửa bằng nước muối sinh lý, thấm bề mặt dạ dày bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày. Niêm mạc dạ dày được soi dưới kính lúp có độ phóng đại gấp 10 lần để đánh giá mức độ tổn thương. Chuột ở các lô nghiên cứu được tiến hành đánh giá các chỉ số sau:

- Tỉ lệ chuột có loét dạ dày ở mỗi lô
- Mức độ tổn thương: Đếm số vết loét và đánh giá mức độ tổn thương theo phương pháp tính điểm [117], [133]:

- + 0 điểm: không loét
- + 1 điểm: vết loét nông, loét bề mặt
- + 2 điểm: các vết loét sâu
- + 3 điểm: loét thủng niêm mạc.

- Chỉ số loét U_i (Ulcer Index) được tính theo công thức [69], [133]:

$$U_i = U_n + U_s + U_p \times 0,1$$

- + U_n: số lượng vết loét trung bình của 1 lô chuột
- + U_s: điểm số loét trung bình của 1 lô chuột
- + U_p phần trăm chuột bị loét của 1 lô chuột

- Thể tích dịch vị:

Thông số đánh giá là số ml dịch vị toàn phần tính trên 100 g động vật thí nghiệm (ml/100g). $V = V_{tp}/m \times 100$

- + V: thể tích dịch vị (ml)
- + V_{tp}: thể tích dịch vị toàn phần thu được (ml),
- + m: trọng lượng chuột (g)

- Độ acid dịch vị:

+ Độ acid tự do: Số ml dung dịch NaOH 0,1 N trung hòa lượng acid tự do có trong 10 ml dịch vị (ml/10 ml).

+ Độ acid toàn phần: Số ml dung dịch NaOH 0,1 N trung hòa lượng acid HCl toàn phần có trong 10 ml dịch vị (ml/10 ml).

$$A_1 = n_1/n \times 10$$

$$A_2 = n_2/n \times 10$$

- A_1 : độ acid tự do
- A_2 : độ acid toàn phần
- n: thể tích dịch vị đem định lượng
- n_1 : thể tích dung dịch NaOH 0,1 N trung hoà HCl tự do
- n_2 : thể tích dung dịch NaOH 0,1 N trung hoà HCl toàn phần
- Hình ảnh đại thể dạ dày chuột
- Hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô

Xét nghiệm giải phẫu bệnh được đánh giá tại Trung tâm Nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư thuộc Liên hiệp các hội khoa học và kỹ thuật Việt Nam, kết quả do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc.

*** Các cao phân đoạn**

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, tương tự nghiên cứu ở trên, mỗi lô 10 con. Từ mức liều cao toàn phần có tác dụng, tính liều cao phân đoạn để đánh giá tác dụng của các cao phân đoạn như sau.

- Lô 1 (chứng sinh lý): uống dung môi pha mẫu nghiên cứu.
- Lô 2 (chứng bệnh): uống dung môi pha mẫu nghiên cứu.
- Lô 3 (chứng dương): Uống ranitidin 50 mg/kg/ngày, uống 1 mL/100g
- Lô 4 (cao *n*-hexan): uống mẫu cao *n*-hexan liều 50 mg/kg, uống 1 mL/100g
- Lô 5 (cao ethyl acetat): uống mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg, uống 1 mL/100 g
- Lô 6 (cao nước): uống mẫu cao nước liều 100 mg/kg, uống 1 mL/100g

Nghiên cứu và cách tính kết quả tương tự như trên.

2.2.3.5. Nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương

*** Bằng phương pháp tấm nóng (hot plate)**

Nguyên tắc phép thử: Phương pháp đánh giá giảm đau trung ương bằng tấm nóng dựa trên nguyên lý kích thích nhiệt. Động vật được sử dụng trong nghiên cứu này được đánh giá đau bằng cách nhốt trong lồng có sàn lồng được làm nóng. Điều này sẽ gây ra đau đớn và chuột sẽ bắt đầu liếm chân sau của nó rồi cố gắng đứng

bằng một chân trong giầy lát. Thử nghiệm đánh giá sự gia tăng khoảng thời gian chuột liếm chân sau khi tiêm hoặc cho chuột uống mẫu nghiên cứu so với trước khi dùng mẫu nghiên cứu. Nhiệt độ tắm nóng phải được duy trì liên tục ở 56°C [159], [13].

Chuột nhất trắng được chia ngẫu nhiên thành 10 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh lý): uống dung môi pha mẫu nghiên cứu 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (thuốc chứng dương): uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày
- Lô 3: uống cao toàn phần liều 300 mg/kg/ngày
- Lô 4: uống cao toàn phần liều 900 mg/kg/ngày
- Lô 5: uống cao *n*-hexan liều 100 mg/kg/ngày
- Lô 6: uống cao *n*-hexan liều 300 mg/kg/ngày
- Lô 7: uống cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày
- Lô 8: uống cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày
- Lô 9: uống cao nước liều 200 mg/kg/ngày
- Lô 10: uống cao nước liều 600 mg/kg/ngày

Chuột các lô được uống nước cất/chứng dương/mẫu nghiên cứu mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 20 ml/kg/ngày trong 5 ngày liên tục. Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống mẫu nghiên cứu và sau khi uống mẫu nghiên cứu lần cuối cùng 1 giờ. Đặt chuột lên tấm nóng (Hot plate model-DS37, Ugo-Basile, Ý) luôn duy trì ở nhiệt độ 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên tấm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu [73], [159].

* *Bảng máy đo ngưỡng đau*

Nguyên tắc phép thử: Phương pháp đánh giá giảm đau bằng máy đo ngưỡng đau sử dụng các kích thích photon điện. Khi cho dòng điện chạy qua sàn máy, chuột sẽ cố gắng trốn thoát hoặc nhảy khỏi đó. Sau đó tiêm hoặc cho chuột uống mẫu nghiên cứu để đánh giá sự gia tăng khoảng thời gian chuột cố nhảy khỏi máy hoặc tìm cách trốn [159].

Chuột nhất trắng được chia ngẫu nhiên thành 10 lô, tương tự nghiên cứu trên, mỗi lô 10 con. Chuột các lô được uống dung môi pha mẫu nghiên cứu /chứng

dương/mẫu nghiên cứu mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 20 ml/kg/ngày trong 5 ngày liên tục. Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo-Basile, Ý) trước khi uống mẫu nghiên cứu và sau khi uống thuốc thử lần cuối cùng 1 giờ. So sánh lực gây đau và thời gian phản ứng với kích thích đau trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu [201], [163].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm SPSS 22.0 và phần mềm Excel 2010.

Các số liệu trong nghiên cứu tác dụng giảm đau, độc tính bán trường diễn được trình bày dưới dạng trung bình \pm S.D. Các số liệu nghiên cứu trước và sau khi uống dung môi pha mẫu nghiên cứu/chứng dương/mẫu nghiên cứu của cùng một lô được xử lý thống kê theo t-test ghép cặp (paired-sample t-test). So sánh giữa lô chứng sinh lý và các lô uống chứng dương/mẫu nghiên cứu sử dụng t-test-Student.

Các số liệu trong nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày: số liệu về tỷ lệ chuột có loét và mức độ nặng của loét sử dụng test khi bình phương để so sánh các tỷ lệ quan sát giữa các nhóm. Ảnh hưởng của mẫu nghiên cứu đến điểm số loét trung bình, chỉ số loét, thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH được phân tích bằng phương pháp so sánh phương sai một nhân tố (One-way ANOVA, sử dụng hậu kiểm LSD test để so sánh giá trị trung bình của lô thử so với lô chứng).

Sự khác biệt được coi có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm thực vật cây Xăng xê

3.1.1. Đặc điểm hình thái cây Xăng xê



Hình 3.1. Hình ảnh cây Xăng xê ở Nam Định

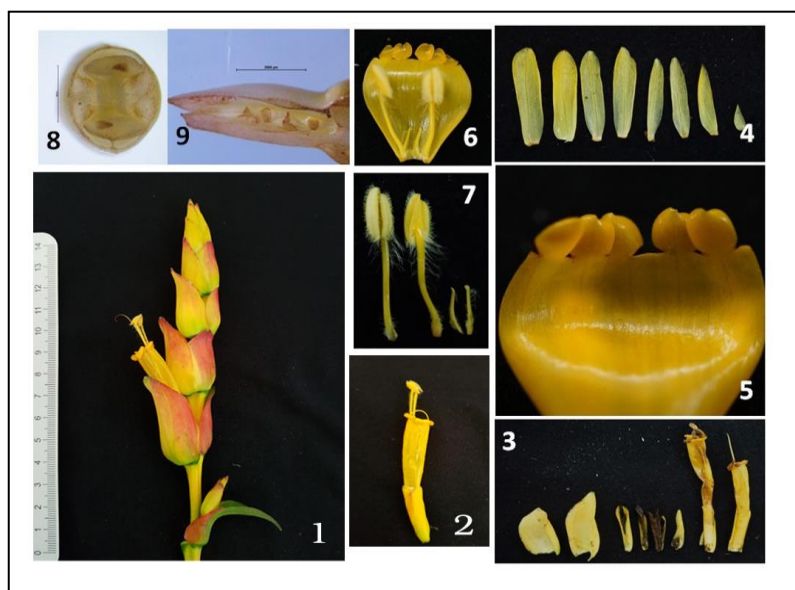
Cây bụi nhỏ, cao khoảng 1 m, thân màu vàng xanh, thân non tiết diện 4 cạnh. Lá đơn mọc đối chéo chữ thập; cuống lá dài khoảng 2-3 cm, hơi lõm, màu hơi đỏ tím; phiến lá hình mác, dài 15-25 cm, rộng 8-12 cm, nhẵn, gốc và ngọn lá nhọn, mép lá hơi lượn sóng; hệ gân lông chim, với các gân nổi rõ ở mặt dưới lá và có màu, gân giữa có gốc màu đỏ tím, gân bên màu trắng vàng. Hoa mọc thành cụm hoa bông gồm 6-10 bông nhỏ ở ngọn. Ở mỗi mẫu của cụm hoa có 2 lá bắc mọc đối diện, ôm lấy 1 cụm có nhiều hoa. Hoa đều, lưỡng tính, màu vàng, Cuống gần như không có. Đài nhiều, rời, hình vẩy. Tràng hàn liền thành ống, phía trên chia làm 5 thùy. Nhị 4, màu vàng, trong đó có 2 nhị phát triển và 2 nhị tiêu giảm thành 2 sợi nhỏ ở góc đế hoa; chỉ nhị dài, bao phấn 2 ô, nứt dọc, cả chỉ nhị và bao phấn đều có các lông mịn và dài thành sợi, màu trắng. Bầu trên, 2 lá noãn hàn liền thành bầu 1 ô, đính noãn trung tâm. Cây thường ra hoa, quả vào khoảng từ tháng 5 đến 7 hàng năm.



Chú thích:

1. Cành mang lá, hoa
2. Tiết diện thân
3. Cách mọc của lá
4. Hình thái lá
5. Cuống lá
6. Mép lá
7. Mặt sau lá
8. Mặt trước lá

Hình 3.2. Đặc điểm cơ quan sinh dưỡng cây Xăng xê



Chú thích:

1. Cụm hoa
2. Hoa nguyên vẹn
3. Các bộ phận của hoa
4. Đài
5. Tràng
- 6,7. Bộ nhị
8. Bầu cắt ngang
9. Bầu cắt dọc

Hình 3.3. Đặc điểm cơ quan sinh sản cây Xăng xê

3.1.2. Kết quả giám định tên khoa học

Phân tích đặc điểm hình thái của thân, lá, hoa; quan sát đặc điểm giải phẫu của các bộ phận trên, có sự so sánh và đối chiếu với khóa phân loại thực vật của *Sanchezia* trong tài liệu [3], [5], [61] xác định mẫu tiêu bản số DL-150118 (ngày 15/01/2018) thu hái tại TT Cổ Lễ, huyện Trực Ninh, tỉnh Nam Định là loài *Sanchezia nobilis*

Hook.f. (Xăng xê), họ Acanthaceae (họ Ô rô). Mẫu nghiên cứu được giám định bởi ThS. Nguyễn Quỳnh Nga, Viện Dược liệu (Phiếu Giám định ngày 28-03-2018- Phụ lục 1).

3.2. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học

3.2.1. Kết quả chiết xuất và phân lập các hợp chất

Lá của cây Xăng xê được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô ở điều kiện thường (6,8 kg) sau đó tán thành bột thô, chiết ngâm bằng EtOH 80% (3 lần x 3 ngày, mỗi lần 30 L, 25 L, 20 L) ở nhiệt độ phòng. Gộp dịch chiết và tiến hành cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 567 g cao toàn phần. Lấy 316 g cao toàn phần được phân tán trong nước cất, và chiết lần lượt với dung môi có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan, ethyl acetat, thu được lần lượt các cao *n*-hexan (60 g), ethyl acetat (121 g) còn lại là cao nước (119 g). Một phần cao toàn phần 150 g được chiết phân đoạn tương tự như trên để thử hoạt tính sinh học. Qua kết quả nghiên cứu tác dụng dược lý, phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat có tác dụng trên viêm loét dạ dày. Nghiên cứu đã thực hiện phân lập và xác định cấu trúc từ 2 phân đoạn này.

Phần cao chiết *n*-hexan (60 g) được phân tách bằng sắc ký cột pha thường silica gel (Merck, 40-63 μ m). Mẫu được đưa lên cột theo phương pháp tẩm mẫu trên silica gel. Rửa giải sắc ký với *n*-hexan và hệ dung môi gradient *n*-hexan/ethyl acetat với các tỷ lệ 100:1, 20:1, 10:1, 9:1, 4:1, 3:1 và 2:1 (v/v) được 300 phân đoạn, mỗi phân đoạn 15 ml. Các phân đoạn có sắc ký đồ TLC giống nhau được gộp lại và cất loại dung môi dưới áp suất giảm cho 9 nhóm phân đoạn **H1** (1-29), **H2** (30-49), **H3** (50-79), **H4** (80-125), **H5** (126-150), **H6** (151-195), **H7** (196-214), **H8** (215-259) và **H9** (260-300). Nhóm phân đoạn **H2** (1,02 g) được tinh chế bằng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μ m) rửa giải bằng *n*-hexan, sau đó rửa với hệ dung môi *n*-hexan/acetone (20/1, v/v), kết tinh lại trong acetone cho các tinh thể hình kim màu trắng **SXH1** (30 mg) và **SXH2** (15 mg).

Nhóm phân đoạn **H4** (1,11 g) được tinh chế bằng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μ m), phân tách bằng hệ dung môi *n*-hexan/EtOAc (3/1, v/v) cho tinh thể hình kim màu trắng **SXH3** (15 mg).

Nhóm phân đoạn **H5** (1,21 g) được tinh chế bằng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μ m) với hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH (10/1, v/v). Qua phân tích TLC các phân

đoạn được gộp thành 3 nhóm phân đoạn từ **H5.1** đến **H5.3**. Nhóm phân đoạn **H5.2** được tinh chế bằng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi *n*-hexan/acetone (20/1-9/1, v/v), thu được hai phân đoạn **H5.2.1** và **H5.2.2**. Phân đoạn **H5.2.1** (0,25 g) được rửa với acetone, sau đó kết tinh lại với trong hỗn hợp dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (100/1, v/v) thu được chất rắn màu trắng **SXH4** (15 mg).

Nhóm phân đoạn **H8** (2,11 g) được tinh chế trên silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (6/1, v/v), sau khi loại màu và kết tinh lại thu được chất rắn màu trắng **SXH6** (27 mg) và **SXH7** (19 mg).

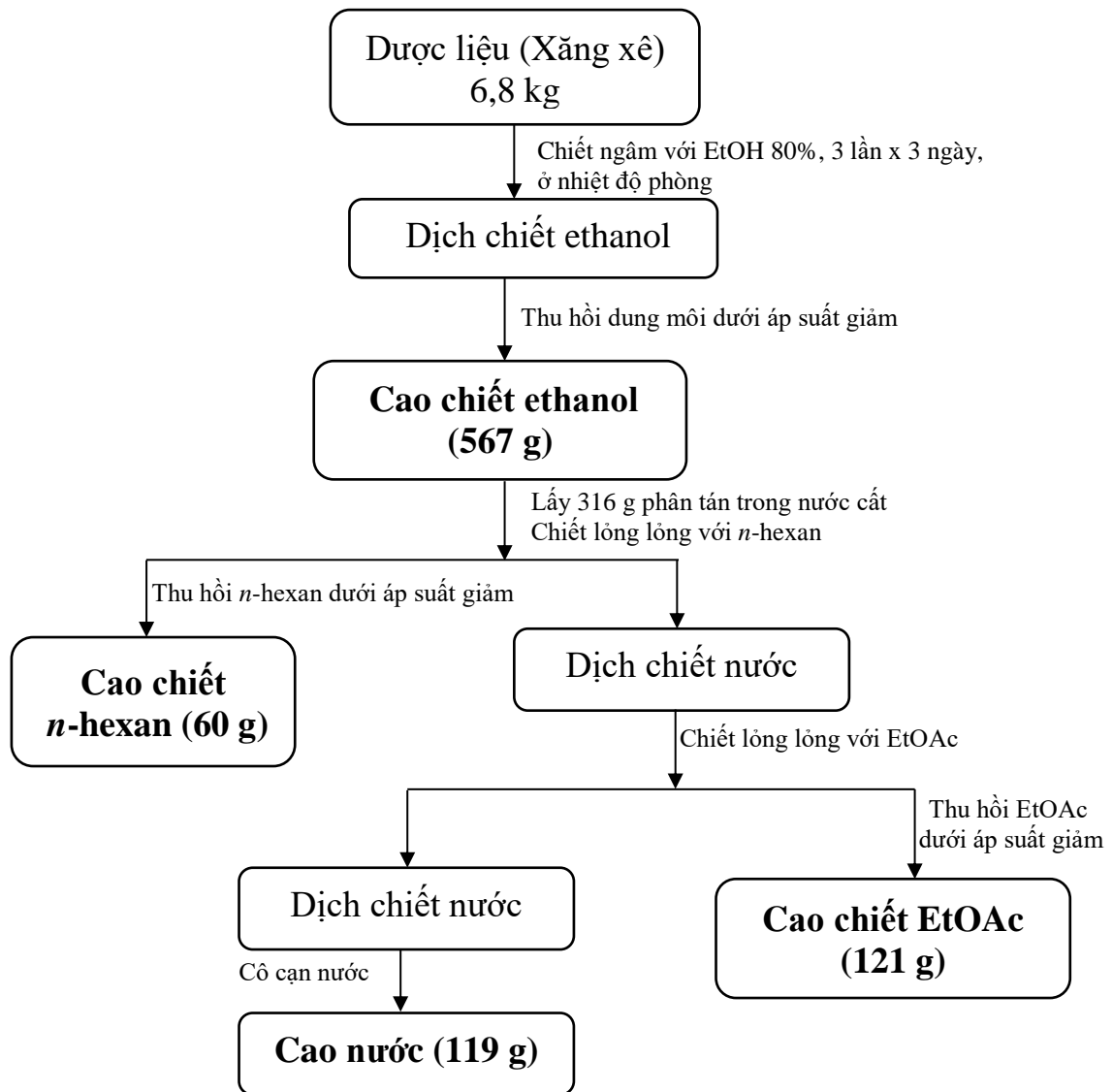
Phần cao chiết ethyl acetat được hòa tan bằng acid tartric 2% (1,0 L) đến pH 1-2, tiếp tục được lọc qua phễu lọc bucher, thu được dịch lọc (phân đoạn alcaloid) và phần cao còn lại **E2** (101 g). Dịch lọc acid lắc với ethyl acetat để loại tạp, sau đó được điều chỉnh đến pH 10 với dung dịch bão hòa Na_2CO_3 , tiếp tục lắc với CH_2Cl_2 , gộp các dịch chiết với CH_2Cl_2 , lắc với nước để loại bỏ kiềm dư, sau đó loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn alcaloid toàn phần **E1** (20 g). Tinh chế phần cao **E1** (20 g) bằng phương pháp sắc kí cột pha thường silica gel (Merck, 40-63 μm), với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (100/1-20/1, v/v) thu được các phân đoạn chính từ **E1.1-E1.4**. Phân đoạn **E1.1** (1,5 g) được tiến hành tinh chế bằng phương pháp sắc kí cột pha thường silica gel (Merck, 40-63 μm), với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ (4/6/1, v/v/v) thu được hợp chất **SXE8** (15 mg). Sử dụng phương pháp tinh chế tương tự với phân đoạn **E1.2** (1,0 g) thu được hợp chất **SXE9** (12 mg).

Phần cao **E2** (101 g) thu được tiếp tục phân đoạn bằng phương pháp sắc kí cột silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi tăng dần độ phân cực $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4/1/0-2/2/1, v/v/v) thu được lần lượt 5 phân đoạn chính từ **E2.1-E2.5**. Phân đoạn **E2.1** (5,0 g) được tinh chế bằng cách sử dụng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1 đến 3/1, v/v) thu được phân đoạn **E2.1.1** (2,0 g), tiến hành tinh chế tiếp tục bằng sắc kí cột pha thường với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1, v/v) thu được hợp chất **SXE10** (10 mg) và phân đoạn **E2.1.1.2** (0,2 g). Phân đoạn **E2.2** (2,0 g) được tinh chế bằng phương pháp sắc kí cột nhanh sử dụng silica gel (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1, v/v) thu được thêm lượng hợp chất **SXE10** (30 mg).

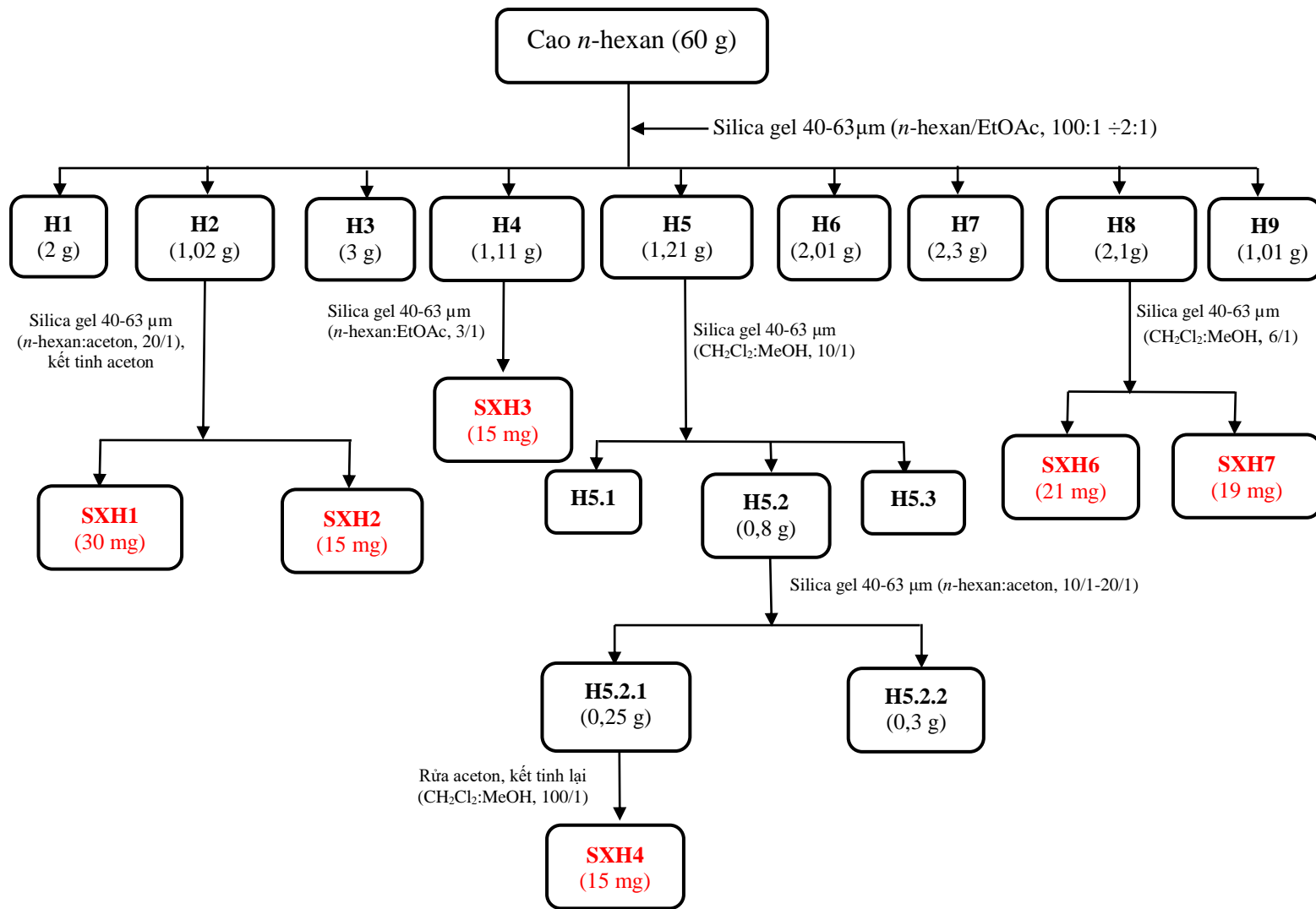
Phân đoạn **E2.3** (4,0 g) tinh chế qua silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ từ 100% CH_2Cl_2 đến 9/1 (v/v) thu được lần lượt ba hợp chất lần lượt là **SXE11** (8 mg), **SXE12** (10 mg) và **SXE13** (14 mg).

Phân đoạn **E2.4** (2,0 g) được tinh chế bằng silica gel pha thường (Merck, 40-63 μm) với hệ dung môi gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (4/1-1/1, v/v) thu được các đoạn từ **E2.4.1-E2.4.8**. Phân đoạn **E2.4.1** (0,5 g) được loại màu qua sephadex LH-20 với dung môi MeOH và tiếp tục tinh chế bằng sắc kí cột pha đảo YMC RP-18, với hệ dung môi MeOH/ H_2O (9/1-4/1, v/v) thu được hợp chất **SXE14** (8 mg) và **SXE15** (9 mg). Phân đoạn **E2.4.6** (0,3 g) được loại màu bằng cách qua cột sephadex LH-20 với dung môi MeOH, sau đó tiến hành tinh chế bằng sắc kí cột pha đảo YMC RP-18 với hệ dung môi MeOH/ H_2O (9/1-2/1, v/v) thu được hợp chất **SXE16** (9,1 mg) và **SXE17** (12 mg). Phân đoạn **E2.4.8** (0,25 g) được loại màu qua sephadex LH-20 với dung môi MeOH, tiến hành tinh chế bằng YMC RP-18, với hệ dung môi MeOH/ H_2O (9/1-4/1, v/v) thu được hai hợp chất **SXE18** (30 mg) và **SXE19** (7 mg).

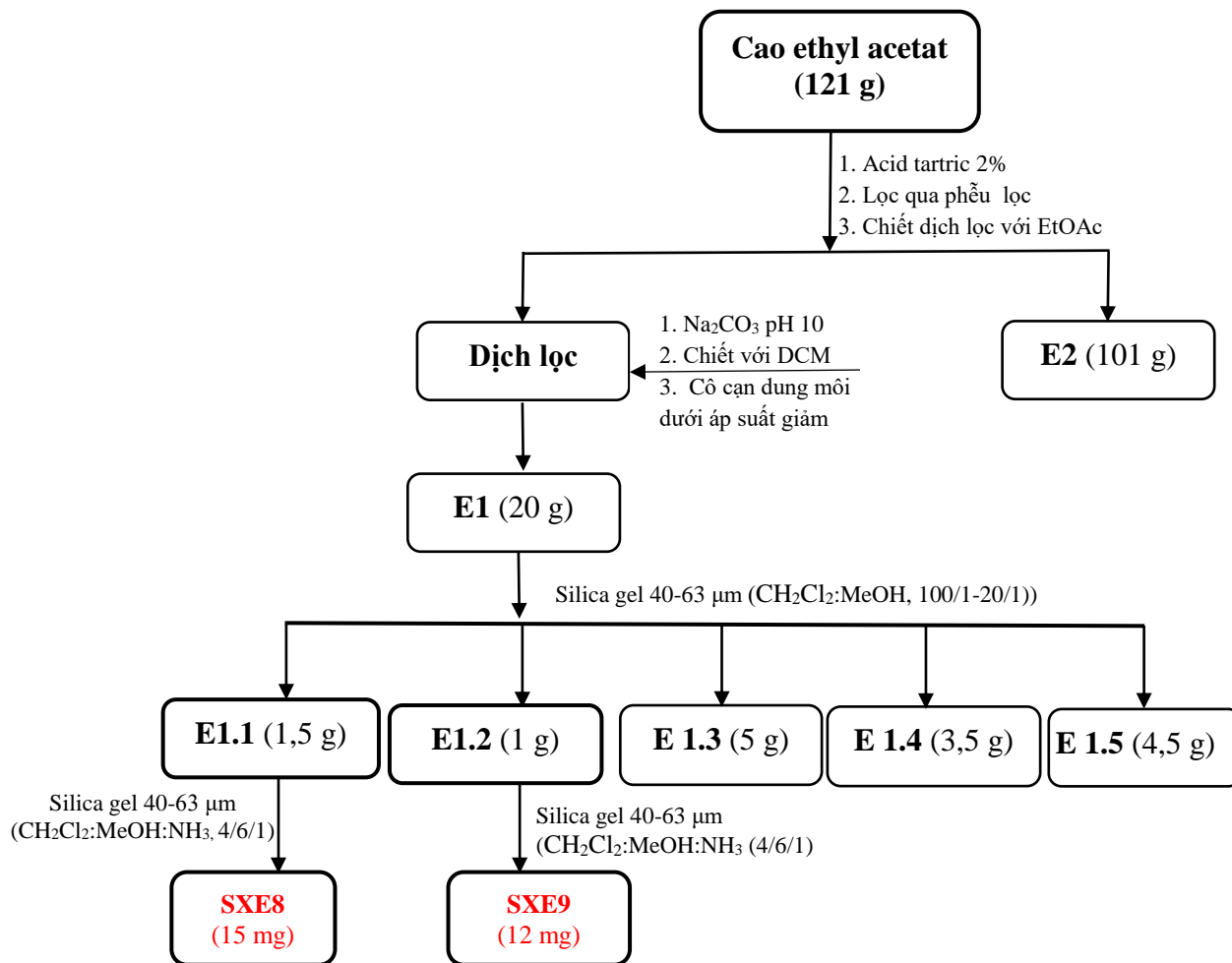
Phân đoạn **E2.5** (3,0 g) được loại màu qua sephadex LH-20, sau đó sử dụng sắc kí cột pha đảo YMC RP-18 với hệ dung môi MeOH/ H_2O (3/1-1/1, v/v) thu được hợp chất **SXE20** (16 mg) và hai phân đoạn **E2.5.2** và **E2.5.3**. Phân đoạn **E2.5.3** (0,18 g) được tinh chế lần lượt qua sephadex LH-20 và HPLC điều chế (LC-20AP pump, đầu dò SPD-M20A PDA, cột HS C_{18} column, cỡ hạt 10 μm , 25 cm x 21,2 mm), với hệ dung môi pha động $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ tăng dần độ phân cực từ 10% đến 40% CH_3CN , tốc độ dòng 8 ml/phút thu được hợp chất **SXE22** (30 mg) tương ứng với thời gian lưu 20,3 phút trên sắc kí đồ.



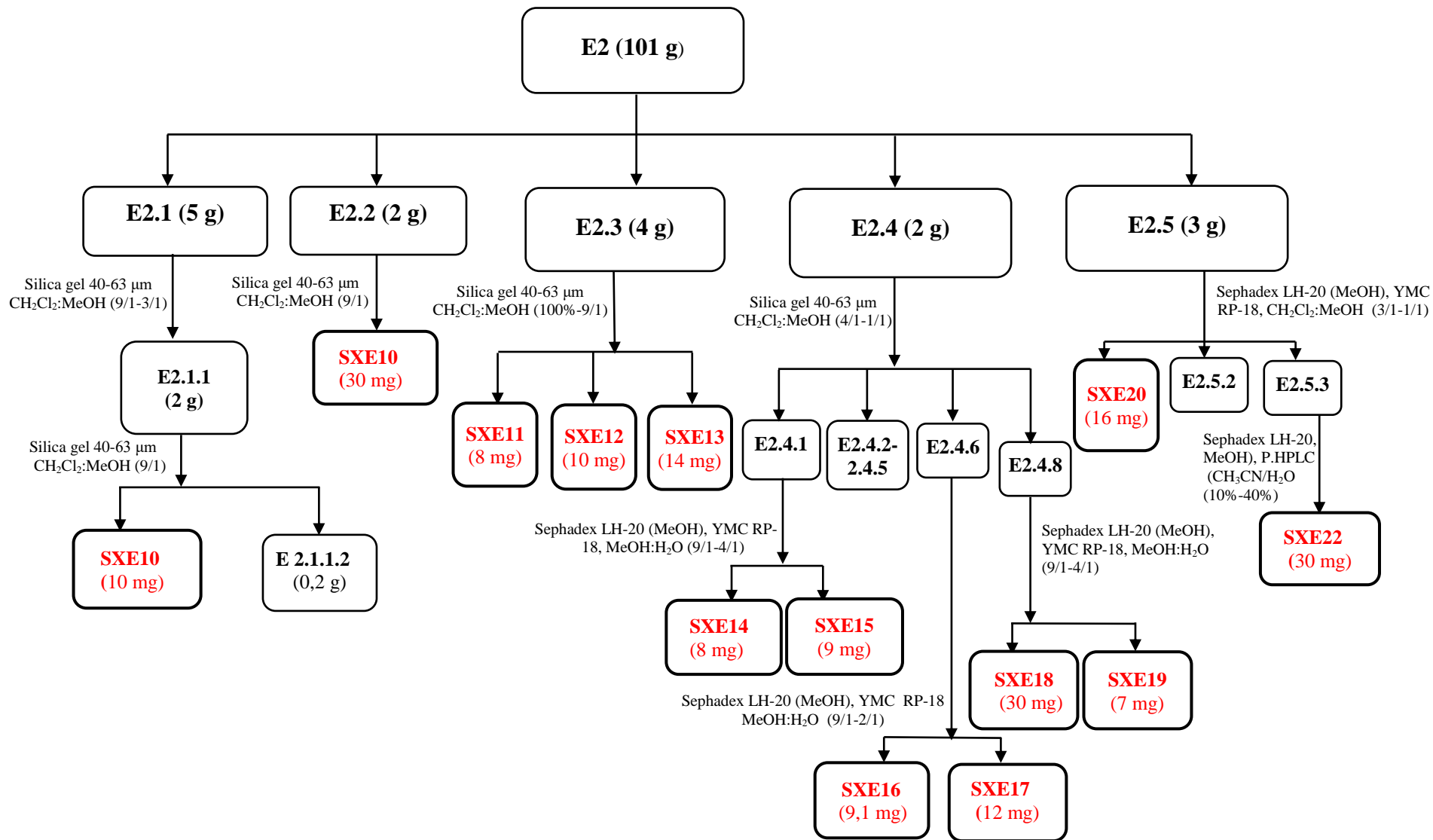
Hình 3.4. Sơ đồ chiết xuất phân đoạn lá cây Xăng xê



Hình 3.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất phần cao *n*-hexan



Hình 3.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất phần cao giàu alkaloid của cao ethyl acetat



Hình 3.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất của cao ethyl acetat (E2) sau khi loại phần alkaloid (E1)

3.2.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được

3.2.2.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ cao *n*-hexan

* Hợp chất SXH1

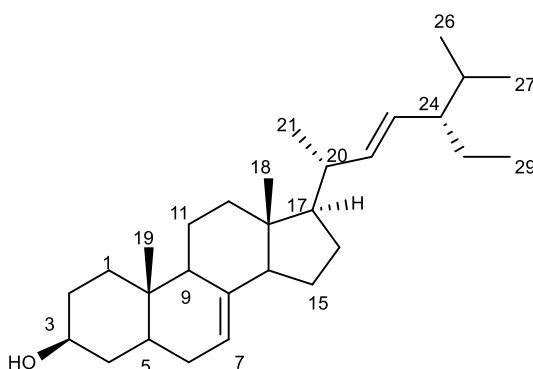
Hợp chất **SXH1** kết tinh dưới dạng tinh thể màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 231-233°C. Phổ khối ESI-MS của hợp chất xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 413,3 [M + H]⁺, kết hợp với phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất **SXH1** phù hợp với công thức phân tử C₂₉H₄₈O (M = 412,4).

Trên phổ ¹H-NMR (**Bảng 3.1**) của hợp chất **SXH1** cho thấy sự xuất hiện cấu trúc một steroid với các tín hiệu proton đặc trưng của 6 nhóm methyl ở δ_H 0,59 (3H, s); 0,81 (2 x 3H, s); 0,82 (3H, s); 1,05 (3H, d, $J = 6,5$ Hz); 0,87 (3H, d, $J = 6,0$ Hz). Một nối đôi thế ba lần ở δ_H 5,17 (1H, br s), một nối đôi khác cho hiệu ứng mác nhà ở δ_H 5,22 (1H, dd, $J = 8,5; 15,0$ Hz) và δ_H 5,09 (1H, dd, $J = 8,5; 15,0$ Hz). Trên phổ ¹³C-NMR (**Bảng 3.1**) của hợp chất **SXH1** cho thấy sự xuất hiện của các tín hiệu carbon nối đôi tại δ_C 118,2; 140,2; 139,2 và 130,3, từ các dữ kiện trên cho thấy sự xuất hiện của một khung stigmast-7(22)-dien, sự dịch chuyển về phía trường thấp của tín hiệu proton oxygenated ở vị trí C-3 (δ_H 3,49 và δ_C 70,7) cho thấy sự xuất hiện của carbon có liên kết với nhóm chức hydroxyl. Trên cơ sở của các phân tích phổ NMR, kết hợp với tài liệu tham khảo [16] cấu trúc của hợp chất **SXH1** được xác định là (3 β , 5 α , 22 *E*)-stigmasta-7,22-dien-3-ol hay α -spinasterol (**Hình 3.8**).

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất SXH1 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [16]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [16]
1	38,9	37,2	1,67 (1H, m) 1,23 (1H, m)	1,8 (1H, m) 1,0 (1H, m)
2	32,3	31,5	1,36 (1H, m) 1,75 (1H, m)	1,79 (1H, m) 1,38 (1H, m)
3	70,7	71,1	3,49 (1H, m)	3,59 (1H, m)
4	38,0	38,1	1,09 (1H, m) 1,81 (1H, m)	1,7 (1H, m) 1,26 (1H, m)
5	41,1	40,3	1,38 (1H, m)	1,39 (1H, m)
6	29,3	29,7	1,75 (2H, m)	1,77 (2H, m)
7	118,4	117,5	5,17 (1H, brs)	5,14 (1H, t; 4,0)
8	140,2	139,6		
9	50,4	49,5	1,65 (1H, m)	1,64 (1H, m)
10	34,9	34,3		

11	22,2	21,6	1,67 (1H, m) 1,45 (1H, m)	1,58 (1H, m) 1,46 (1H, m)
12	40,3	39,5	2,02 (1H, m) 1,28 (1H, m)	1,99 (1H, m) 1,24 (1H, m)
13	43,9	43,3		
14	55,9	55,2	1,87 (1H, m)	1,81 (1H, m)
15	23,6	23,0	1,54 (1H, m) 1,40 (1H, m)	1,50 (1H, m) 1,38 (1H, m)
16	29,3	28,5	1,75 (1H, m) 1,20 (1H, m)	1,27 (1H, m) 1,72 (1H, m)
17	56,7	56,0	1,28 (1H, m)	1,24 (1H, m)
18	12,4	11,8	0,59 (3H, s)	0,55 (3H, s)
19	13,4	13,1	0,81 (3H, s)	0,8 (3H, s)
20	41,6	40,8	2,05 (1H, m)	2,04 (1H, m)
21	19,3	21,4	0,82 (3H, s)	1,03 (3H, d; 6,5)
22	139,2	138,2	5,22 (1H, dd; 8,5;15,0)	5,16 (1H, dd; 8,5; 15,0)
23	130,3	129,5	5,09 (1H, dd; 8,5;15,0)	5,03 (1H, dd; 8,5; 15,0)
24	52,2	51,3	1,57 (1H, m)	1,56 (1H, m)
25	32,7	31,9	1,54 (1H, m)	1,51 (1H, m)
26	21,8	21,1	1,05 (3H, d; 6,5)	0,85 (3H, d; 6,5)
27	21,4	19,0	0,87 (3H, d; 6,5)	0,85 (3H, d; 6,5)
28	26,0	25,4	1,18 (1H, m) 1,44 (1H, m)	1,41 (1H, m) 1,18 (1H, m)
29	12,6	12,2	0,81 (3H, t; 5,5)	0,81 (3H, t; 6,0)
<i>a</i> aceton- <i>d</i> ₆ , <i>b</i> 125 MHz, <i>c</i> 500 MHz, <i>a</i> * CDCl ₃ , 125 MHz, <i>b</i> * CDCl ₃ 500 MHz				



Hình 3.8. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH1

*** Hợp chất SXH2**

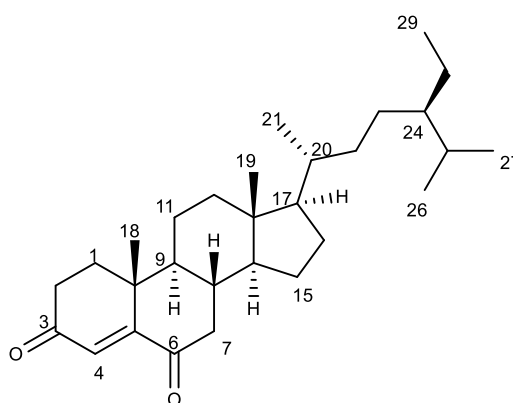
Hợp chất **SXH2** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, có nhiệt độ nóng chảy ở 272-274°C. Phổ ¹H-NMR (**Bảng 3.2**) của hợp chất **SXH2** chỉ ra hợp chất này là một steroid với các tín hiệu đặc trưng như là sự có mặt của 6 nhóm methyl trong phân tử bao gồm 2 nhóm bậc 3 ở δ_H 0,72; 1,16; 3 nhóm methyl bậc 2 ở δ_H 0,93 (d, J

= 6,5 Hz); 0,83; 0,81 và một methyl bậc 1 ở δ_H 0,84 (d, $J = 7,6$), thêm vào đó sự xuất hiện của tín hiệu nối đôi ở δ_H 6,02 đặc trưng cho nối đôi liên kết với hai nhóm carbon bậc 4 ở δ_C 202,0 và 199,1. Kết hợp với phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.2**) và phổ DEPT ta thấy có 29 tín hiệu carbon, trong đó có 6 nhóm CH_3 , 10 nhóm CH_2 , 8 nhóm CH và 3 carbon bậc 4 trong đó có 2 carbon không liên kết hydro thuộc nhóm carbonyl ở δ_C 202,0 và δ_C 199,1. Đặc biệt trên phổ ^{13}C -NMR còn thấy xuất hiện các tín hiệu ở δ_C 160,0; 202,0; 125,0 và 199,1 cho phép dự đoán về sự có mặt của khung stigmast-4-ene-3,6-dion. Từ các kết quả nêu trên so sánh với dữ liệu phổ đã công bố [214] hợp chất **SXH2** được xác định là stigmast-4-ene-3,6-dion (**Hình 3.9**).

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất **SXH2** và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [214]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [214]
1	35,6	35,6	1,92 (1H, dd; 14,0; 5,5) 2,15 (1H, dd; 11,5; 3,0)	1,91 (1H, dd; 9,9; 5,7) 2,14 (1H, dd; 5,0; 2,8)
2	34,0	34,0	2,45 (1H, m) 2,53 (1H, m)	2,46 (1H, m) 2,53 (1H, m)
3	199,1	199,5		
4	125,0	125,5	6,2 (1H, s)	6,18 (1H, s)
5	160,1	161,1		
6	202,0	202,3		
7	46,9	46,9	2,01 (1H, dd; 12,5; 3,5) 2,68 (1H, dd; 20,0; 4,0)	2,01 (1H, dd; 12,6; 4,0) 2,67 (1H, dd; 19,5; 4,2)
8	34,2	34,3	1,89 (1H, m)	1,90 (1H, m)
9	51,0	51,1	1,35 (1H, m)	1,36 (1H, m)
10	39,9	39,9		
11	20,9	21,0	1,62 (2H, m)	1,62 (1H, m) 1,49 (1H, dd, 13,3; 4,2)
12	39,2	39,2	2,03 (1H, dd, 12,5; 3,5) 1,26 (1H, m)	2,09 (1H, dd, 13,0; 3,4) 1,25 (1H, m)
13	42,6	42,6		
14	56,6	56,6	1,20 (1H, m)	1,19 (1H, m)
15	24,0	24,1	1,61 (1H, m) 1,14 (1H, m)	1,61 (1H, m) 1,12 (1H, m)
16	28,0	28,1	1,90 (1H, m) 1,30 (1H, m)	1,88 (1H, m) 1,30 (1H, m)
17	55,9	56,0	1,19 (1H, m)	1,17 (1H, m)
18	12,0	12,0	0,72 (3H, s)	0,72 (3H, s)
19	17,6	17,6	1,17 (3H, s)	1,16 (3H, s)
20	36,0	36,1	1,35 (1H, m)	1,38 (1H, m)

21	18,8	18,8	0,93 (3H, d; 6,5)	0,93 (3H, d; 6,5)
22	33,9	33,9	1,04 (2H, m)	1,04 (2H, m)
23	26,1	26,2	1,20 (2H, m)	1,18 (2H, m)
24	45,8	45,9	0,84 (1H, m)	0,93 (1H, m)
25	29,2	29,3	1,67 (1H, m)	1,67 (1H, m)
26	19,9	19,9	0,83 (3H, d; 7,0)	0,83 (3H, d; 6,5)
27	19,0	19,1	0,88 (3H, d; 7,0)	0,81 (3H, d; 6,5)
28	23,1	23,2	1,23 (2H, m)	1,22 (2H, m)
29	11,9	12,0	0,92 (3H, d; 8,0)	0,85 (3H, d; 7,6)
<i>^aCDCl₃, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a*}125 MHz, CDCl₃, ^{b*}500 MHz, CDCl₃</i>				



Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH2

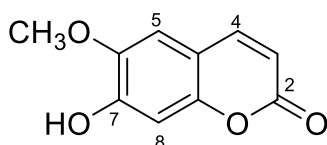
*Hợp chất SXH3

Hợp chất **SXH3** thu được là chất rắn màu vàng nhạt. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (**Bảng 3.3**) của hợp chất **SXH3** cho các tín hiệu ở δ_{H} 6,16 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) và 7,83 (1H, d, $J = 9,5$ Hz). Hai tín hiệu proton singlet ở δ_{H} 6,79 (1H, s) và δ_{H} 7,18 (1H, s) là của một vòng benzen bốn lần thế. Thêm vào đó, sự có mặt của nhóm methoxy trên vòng thơm thể hiện qua tín hiệu proton singlet xuất hiện ở δ_{H} 3,90 (3H, s, 6-OCH₃). Kết hợp với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (**Bảng 3.3**) và DEPT chỉ ra sự xuất hiện của 10 tín hiệu carbon, trong đó có 4 nhóm CH, 1 nhóm CH₃, 1 nhóm C=O lacton, và 4 carbon bậc 4 (không có liên kết với hydro). Từ các dữ kiện trên cho thấy xuất hiện các hiệu đặc trưng của một dẫn xuất 6,7-dioxy-benzopyrone (coumarin). So sánh với tài liệu tham khảo [217] hợp chất **SXH3** được khẳng định là (7-hydroxy-6-methoxy coumarin) hay scopoletin (**Hình 3.10**).

Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất SXH3 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [217]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [217]
2	161,2	162,6		
3	109,9	108,1	6,16 (1H, d; 9,5)	6,02 (1H, d; 9,2)
4	144,6	144,2	7,83 (1H, d; 9,5)	7,70 (1H, d; 9,2)
5	113,3	111,6	7,18 (1H, s)	6,90 (1H, s)
6	145,9	145,3		
7	151,9	115,0		
8	103,7	102,9	6,79 (1H, s)	6,80 (1H, s)
9	151,1	149,8		
10	112,1	110,9		
6-OCH ₃	56,7	55,8	3,90 (3H, s)	3,88 (3H, s)

^aacetone-d₆, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^{a}125 MHz, CDCl₃, ^{b*}500 MHz, CDCl₃*

**Hình 3.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH3*****Hợp chất SXH4**

Hợp chất **SXH4** thu được kết tinh dưới dạng tinh thể hình kim, không màu, nhiệt độ nóng chảy 151-152°C, kết tinh lại trong hệ dung môi CH₂Cl₂/aceton (10:1, v/v). Phổ ESI-MS cho pic ion giả phân tử m/z 455,0 [M + H]⁺, cùng với 30 tín hiệu carbon trên phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất **SXH4** phù hợp với công thức phân tử C₃₀H₄₆O₃ (M = 454,3).

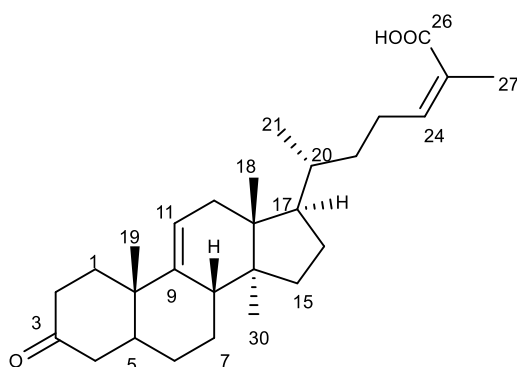
Trên phổ ¹H-NMR (**Bảng 3.4**) của hợp chất **SXH4** cho các tín hiệu cộng hưởng của 7 nhóm methyl trong đó 5 nhóm methyl bậc 4, một nhóm methyl bậc 2 và một nhóm methyl liên kết với nối đôi đầu mạch, hai nhóm methin ở δ_H 6,08 (1H, td, $J = 4,2; 7,8$ Hz) và 5,29 (1H, d, $J = 6,0$ Hz). Phổ ¹³C-NMR (**Bảng 3.4**) của hợp chất **SXH3** chỉ ra sự có mặt của hai tín hiệu carbon carbonyl ở δ_C 217,3 và 172,6. Các tín hiệu trên cho phép dự đoán sự có mặt của khung cấu trúc 3-oxo-tetracyclic triterpenoid của hợp chất **SXH4**. Ngoài ra, một tín hiệu proton olefinic ở δ_H 6,08 (1H, td, $J = 4,2; 7,8$ Hz) và proton methyl ở δ_H 0,91 (3H, d, $J = 6,0$ Hz) cho phép dự đoán về sự có mặt của cấu trúc nhánh CH(Me)CH₂CH₂CH=C(Me)COOH. Điều này được khẳng định qua tín hiệu m/z 312,9 [M-C₈H₁₃O₂]⁻ trên phổ ESI-MS. Các vị trí carbon và proton còn lại được quy kết nhờ vào sự phân tích tương tác giữa các phổ HSQC,

COSY và HMBC. Trên phổ HMBC chỉ ra các tương tác giữa H-2 (δ_H 2,66) với C-3 (δ_C 217,3), H-29 (δ_H 1,23) với C-3 (δ_C 217,3) cho phép ta khẳng định vị trí của nhóm carbonyl và hai nhóm methyl, ngoài ra tương tác giữa H-12 (δ_H 5,12) với C-14 (δ_C 47,7), H-24 (δ_H 6,08) với C-26 (δ_C 172,6), H-27 (δ_H 1,92) với C-26 (δ_C 172,6). Thêm vào đó, sự chuyển dịch của proton olefinic ở δ_H 6,08 (1H, td, 1,2; 7,3 Hz) và sự chuyển dịch về trường cao của nhóm methyl singlet ở δ_H 1,93 và δ_C 20,6 cho dự đoán về cấu hình *E* của liên kết đôi và nhóm carbonyl còn lại giữa C-24 và C-25 dựa vào các dữ liệu tham khảo [186], [206]. Phổ COSY của hợp chất **3** chỉ ra tương tác chính giữa H-23 (δ_H 1,90) với H-24 (δ_H 6,08), H-12 (δ_H 5,29) với H-11 (δ_H 2,1). Từ các phân tích trên cùng với tham khảo tài liệu [206] cho phép kết luận về cấu trúc của hợp chất **SXH4** là 3-oxolanosta-11,24-dien-26-oic acid (heilaohuacid F) hay acid coccinic (**Hình 3.11**).

Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất SXH4

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a*}}$ (ppm) [206]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)
1	36,8	36,7	2,11 (1H, m); 1,82 (1H, td, 5,4; 13,2)
2	34,9	34,8	2,74 (1H, dddd, 6,32; 13,4; 15,4) 2,38 (1H, dq, 3,16; 5,32; 15,4)
3	217,3	217,3	
4	47,7	47,7	
5	53,4	53,4	1,36 (1H, m)
6	27,7	25,9	1,35 (2H, m)
7	22,6	22,6	1,69 (1H, m); 1,41 (1H, m)
8	41,9	41,9	2,22 (1H, m)
9	147,1	147,1	
10	39,1	39,1	
11	116,3	116,2	5,28 (1H, d, 6,0)
12	37,2	37,2	2,08 (1H, m); 1,9 (1H, m)
13	44,3	44,4	
14	47,0	47,0	
15	33,9	33,9	1,34 (2H, m)
16	28,0	28,0	1,94 (1H, m); 1,58 (1H, m)
17	50,9	50,9	1,64 (1H, m)
18	21,8	21,8	0,68 (3H, s)
19	14,4	14,4	1,22 (3H, s)
20	36,1	36,0	1,42 (1H, m)
21	18,2	18,2	0,89 (3H, d, 6,4)
22	35,9	34,9	1,55 (1H, m); 1,15 (1H, m)

23	26,9	25,9	2,56 (1H, m); 2,46 (1H, m)
24	147,1	145,7	6,08 (1H, td, 1,2; 7,3)
25	125,8	126,6	
26	172,6	172,6	
27	20,6	20,5	1,93 (3H, s)
28	22,1	22,1	1,07 (3H, s)
29	25,6	25,6	1,07 (3H, s)
30	18,4	18,4	0,74 (3H, s)
<i>^aCDCl₃, ^b150MHz, ^c600 MHz, ^{a*}CDCl₃, 150 MHz</i>			



Hình 3.11. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH4

*Hợp chất SXH6

Hợp chất **SXH6** thu được kết tinh lại trong hệ dung môi dichlormethan/aceton (20:1, v/v) dưới dạng tinh thể hình kim không màu, hiện màu vàng cam với thuốc thử H₂SO₄ 10%. Không xuất hiện UV ở bước sóng 254 nm. Phổ ESI-MS cho thấy xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 457,0 [M + H]⁺, kết hợp với phổ ¹³C-NMR ta thấy xuất hiện 30 tín hiệu carbon, cho thấy **SXH6** phù hợp với công thức phân tử là C₃₀H₄₈O₃ (M = 456,4).

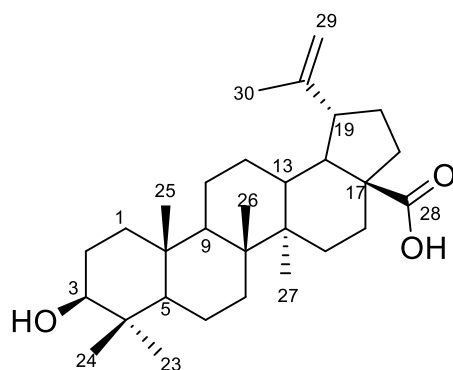
Phổ ¹H-NMR (**Bảng 3.5**) của hợp chất **SXH6** cho tín hiệu cộng hưởng của một carbinolic proton vị trí axial định hướng α ở δ_H 3,19 (1H, dd, $J = 4,8; 12,0$ Hz), hai tín hiệu proton nối đôi đầu mạch ở δ_H 4,74 (1H, d, $J = 1,8$ Hz) và 4,60 (1H, d, $J = 1,8$ Hz), sáu tín hiệu proton methyl ở δ_H 0,98 (3H, s); 0,97 (3H, s); 0,82 (3H, s) 0,75 (3H, s); 1,03 (3H, s) và 1,69 (3H, s) cho chúng ta một giả thiết về một hợp chất lupan-triterpenoid của hợp chất **SXH6**. Kết hợp với phổ ¹³C-NMR (**Bảng 3.5**) và DEPT chỉ ra sự có mặt của 30 C với hai tín hiệu đặc trưng của carbon carbonyl ở δ_C 179,3, một nhóm olefinic ở δ_C 109,7, một carbon methin tại δ_C 79,0 cùng với 6 tín hiệu của carbon methyl tại δ_C 28,0; 16,1; 16,2; 15,4; 14,7 và 19,4. Ngoài ra trên phổ còn chỉ

ra sự có mặt của 10 nhóm methylen, 5 nhóm methin và 5 carbon không liên kết với hydro. Hai carbon lai hóa sp^2 ở δ_C 150,4; 109,7 đặc trưng cho sự có mặt của một triterpen khung lupan. Từ những phân tích ở trên cùng với việc so sánh với các tài liệu đã được công bố [151] cho phép khẳng định hợp chất **SXH6** là acid 3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic hay acid betulinic (**Hình 3.12**).

Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXH6 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [151]	$\delta_H^{a,b}$ (ppm, Hz)
1	38,7	39,3	
2	27,4	28,2	
3	79,0	78,1	3,19 (1H, dd; 4,8; 12,0)
4	38,9	39,5	
5	55,4	55,3	0,68 (1H, d; 9,6)
6	18,3	18,8	1,48-1,50 (2H, m)
7	34,4	34,9	1,42 (1H, m); 1,46 (1H, m)
8	40,7	41,1	
9	50,4	50,9	1,26 (1H, m)
10	37,3	37,5	
11	20,9	21,7	1,47 (2H, m)
12	25,6	26,1	1,08 (1H, m); 1,60 (1H, m)
13	38,4	38,6	1,95 (1H, m)
14	42,5	42,9	
15	29,7	30,3	1,17 (1H, m); 1,54 (1H, m)
16	32,2	32,9	1,38 (2H, m)
17	56,3	56,6	
18	49,3	49,8	1,56 (1H, m)
19	46,9	47,8	3,00 (1H, ddd, 7,2; 12,6)
20	150,4	151,3	
21	30,6	31,2	1,4 (2H, m)
22	37,0	37,6	1,39 (2H, m)
23	28,0	28,7	0,98 (3H, s)
24	16,1	16,3	0,97 (3H, s)
25	16,2	16,4	0,82 (3H, s)
26	15,4	16,4	0,75 (3H, s)
27	14,7	14,9	1,03 (3H, s)
28	179,3	178,8	
29	109,7	109,9	4,74 (2H, d; 1,8)
30	19,4	19,5	1,69 (3H, s)

$^a\text{CDCl}_3$, $^b125\text{ MHz}$, $^c600\text{ MHz}$, $^{a*}\text{CDCl}_3$, 125 MHz



Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH6

*** Hợp chất SXH7**

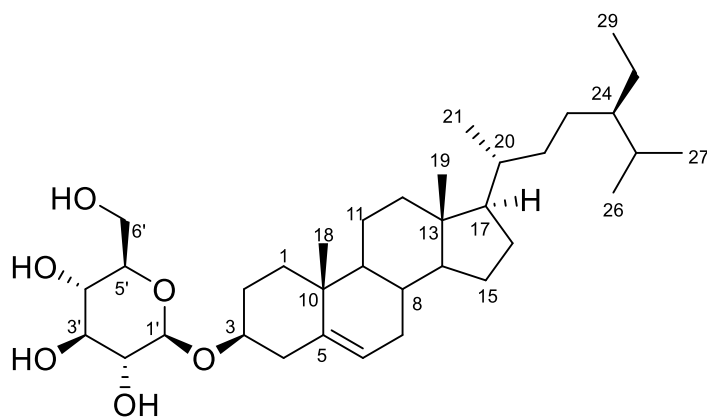
Hợp chất **SXH7** là chất rắn, màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 284-286°C. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (**Bảng 3.6**) có tín hiệu cộng hưởng của 6 nhóm methyl trong đó có 2 tín hiệu singlet tại δ_{H} 0,70 (3H, s) và 1,08 ppm (3H, s), 3 tín hiệu doublet tại δ_{H} 0,96 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), δ_{H} 0,85 (3H, d, $J = 7,5$ Hz), δ_{H} 0,92 (3H, d, $J = 7,5$ Hz), và một tín hiệu triplet tại δ_{H} 0,84 ppm (3H, t, $J = 7,5$ Hz). Và một tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của một proton anken tại δ_{H} 5,4 (1H, brs). Sự xuất hiện của proton anomeric ở δ_{H} 4,40 (1H, d, $J = 7,6$ Hz) chỉ ra sự xuất hiện của đường β , ngoài ra sự xuất hiện của các proton oxymethin đặc trưng cho một phân tử đường xuất hiện từ δ_{H} 3,23-3,65.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (**Bảng 3.6**) và DEPT của **SXH7** cho thấy tín hiệu cộng hưởng của 7 nhóm carbon methin, 11 nhóm carbon methylen, 6 nhóm carbon methyl và 2 nhóm carbon bậc bốn, trong đó có một liên kết đôi tại δ_{C} 122,1 và 141,7. Đặc biệt các carbon oxymetin của phân tử đường tại δ_{C} 75,8; 79,4; 73,6; 77,3; 61,9 và carbon anomeric tại δ_{C} 101,2 cho phép ta kết luận về sự có mặt của đường β -glucose trong phân tử, ngoài ra còn một nhóm oxymetin khác tại δ_{C} 77,5. Sự tương đồng về số liệu phổ của phần aglycon của **SXH7** với sự trùng khớp về R_f với chất chuẩn daucosterol. Từ các kết quả nêu trên so sánh với dữ liệu phổ đã công bố [216] phù hợp chất **SXH7** được xác định là: sitosterol-3- O - β -glucopyranosid hay daucosterol (**Hình 3.13**).

Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C-NMR của hợp chất SXH7 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [216]	$\delta_H^{b,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [216]
1	36,8	38,0	1,12 (1H, m);1,92 (1H, m)	1,12 (1H, m);1,91 (1H, m)
2	29,3	30,2	1,62 (1H, m) 1,90 (1H, m)	1,63 (1H, m) 1,93 (1H, m)
3	77,5	79,6	3,58 (1H, m)	3,59 (1H, m)
4	38,8	39,3	2,28 (1H, m);2,41 (1H, m)	2,29 (1H, m);2,45 (1H, m)
5	141,3	141,7		
6	122,0	122,1	5,40 (1H, brs)	5,39 (1H, brd; 4,5)
7	32,0	32,4	1,56 (1H, m);2,00 (1H, m)	1,56 (1H, m);2,00 (1H, m)
8	29,7	32,7	1,49 (1H, m)	1,49 (1H, m)
9	50,3	51,2	0,97 (1H, m)	0,98 (1H, m)
10	36,3	37,4		
11	21,1	21,8	1,56 (2H, m)	1,56 (2H, m)
12	39,9	40,5	1,20 (1H, m) 2,03 (1H, m)	1,21 (1H, m) 2,07 (1H, m)
13	42,4	41,1		
14	56,9	57,7	1,05 (1H, m)	1,05 (1H, m)
15	24,4	24,6	1,14 (1H, m) 1,62 (1H, m)	1,14 (1H, m) 1,63 (1H, m)
16	26,2	28,9	1,89 (2H, m)	1,88 (2H, m)
17	56,2	56,8	1,16 (1H, m)	1,16 (1H, m)
18	12,1	11,8	0,70 (3H, s)	0,74 (3H, s)
19	19,4	19,3	1,08 (3H, s)	1,07 (3H, s)
20	34,1	36,8	1,36 (1H, m)	1,39 (1H, m)
21	19,1	18,9	0,96 (3H, d; 6,5)	0,97 (3H, d; 6,5)
22	32,1	34,6	1,36 (2H, m)	1,39 (2H, m)
23	23,0	26,8	1,23 (2H, m)	1,23 (2H, m)
24	46,0	46,8	0,99 (1H, m)	0,98 (1H, m)
25	29,3	29,9	1,69 (1H, m)	1,72 (1H, m)
26	18,8	18,9	0,85 (3H, d; 7,5)	0,86 (3H, d; 6,7)
27	18,9	19,9	0,92 (3H, d; 7,5)	0,89 (3H, d; 6,7)
28	19,7	23,7	1,32 (2H, m)	1,32 (2H, m)
29	12,0	11,8	0,84 (3H, d; 2,0)	0,88 (3H, d; 7,4)
1'	101,2	102,1	4,40 (1H, d; 7,6)	4,39 (1H, d; 7,6)
2'	75,8	74,9	3,23 (1H, m)	3,17 (1H, m)
3'	79,4	77,7	3,26 (1H, m)	3,27 (1H, m)
4'	73,6	71,5	3,29 (1H, m)	3,29 (1H, m)
5'	77,3	77,7	3,37 (1H, m)	3,37 (1H, m)
6'	61,9	62,1	3,60 (1H, m) 3,82 (1H, m)	3,67 (1H, dd; 11,0; 4,4) 3,85(1H, dd; 11,0; 3,3)

^aCDCl₃, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a*}CDCl₃, 125 MHz, ^{b*}CDCl₃, 500 MHz



Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXH7

3.2.2.2. Các chất phân lập được từ cao ethyl acetat

*Hợp chất SXE8

Hợp chất **SXE8** thu được dưới dạng bột màu trắng. Hiện màu vàng cam trên thuốc thử Dragendorff. Giá trị góc quay cực $[\alpha]_D^{25} = + 55,8$ ($c = 0,50$, MeOH).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (**Bảng 3.7**) của hợp chất **SXE8** chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefinic ở $\delta_{\text{H}} 5,70$ (1H, d, $J = 5,2$ Hz), một nhóm methyl bậc hai tại $\delta_{\text{H}} 1,05$ (3H, d, $J = 7,0$ Hz), một tín hiệu methin ở $\delta_{\text{H}} 2,72$ (1H, d, $J = 7,5$ Hz). Các tín hiệu ở $\delta_{\text{H}} 3,13 - 2,97$ (m, 4H); $2,32 - 2,23$ (m, 2H); $2,17 - 2,08$ (m, 3H); $1,80 - 1,33$ (m, 3H); $1,27 - 1,20$ (m, 2H); $1,86 - 1,75$ (m, 2H) và $1,86 - 1,55$ (m, 2H) đặc trưng cho các tín hiệu của nhóm methin, methylen.

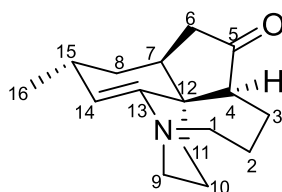
Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (**Bảng 3.7**) và phổ DEPT của hợp chất **SXE8** cho thấy xuất hiện 16 tín hiệu carbon trong đó có 1 nhóm CH_3 ở $\delta_{\text{C}} 21,1$; 8 nhóm CH_2 , 5 nhóm CH và hai nhóm carbon không liên kết với hydro. Thêm vào đó sự xuất hiện của một nhóm carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 218,0$ ($\text{C}=\text{O}$) và hai carbon olefinic tại $\delta_{\text{C}} 145,0$ và $127,1$. Cùng với hai nhóm carbon gắn với dị tố chuyển dịch về trường thấp ở $\delta_{\text{C}} 60,3$ và $\delta_{\text{C}} 56,2$.

Từ các dữ kiện trên cùng với sự xuất hiện màu vàng cam trên thuốc thử Dragendorff cho phép dự đoán về sự xuất hiện của dẫn xuất chứa dị tố nitơ trong phân tử. Kết hợp với các tài liệu tham khảo [89], có thể khẳng định cấu trúc của hợp chất **SXE8** là (+)-fawcettidin (**Hình 3.14**).

Bảng 3.7. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE8 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a*}}$ (ppm) [89]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b*}}$ (ppm, Hz) [89]
1	60,3	60,3	3,13 (1H, m) 3,04 (1H, m)	3,14 (2H, m)
2	29,1	29,1	1,35 (1H, m) 1,75 (1H, m)	1,34 (2H, m)
3	31,0	31,2	1,75 (1H, m) 2,27 (1H, m)	2,24 (2H, m)
4	56,2	56,2	2,32 (1H, m)	2,34 (1H, m)
5	218,0	218,8		
6	44,1	44,0	1,89 (1H, m) 2,05 (1H, m)	1,91-1,83 (2H, m)
7	37,0	37,3	1,94-1,98 (1H, m)	1,99-1,93 (1H, m)
8	34,1	34,1	1,23-1,26 (2H, m)	1,18-1,21 (2H, m)
9	51,9	51,9	3,10 (1H, m) 2,97 (1H, m)	2,98 (2H, m)
10	24,0	23,7	1,60 (1H, m) 2,00 (1H, m)	1,79 (2H, m)
11	39,1	39,1	1,61 (1H, m) 2,10 (1H, m)	1,59 (2H, m)
12	46,1	46,1		
13	145,0	145,7		
14	127,1	127,3	5,70 (1H, d; 5,2)	5,71 (1H, d; 5,0)
15	27,7	27,7	2,74 (1H, dd; 16,8; 7,5)	2,72 (1H, dd; 7,5; 17)
16	21,1	20,8	1,05 (3H, d; 7,0)	1,04 (3H, d; 7,0)

^aCDCl₃, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a}CDCl₃, 125 MHz, ^{b*}CDCl₃, 500 MHz*

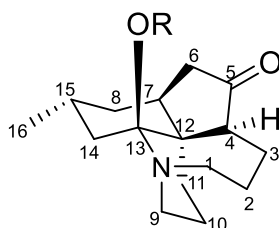


Hình 3.14. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE8

* Hợp chất SXE9

Hợp chất **SXE9** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Hiện màu vàng cam trên thuốc thử Dragendorff. Giá trị góc quay cực $[\alpha]_D^{25} = + 71,3$ ($c = 0,60$, MeOH).

Phổ HR-ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 306,2058 $[M + H]^+$, vì thế khối lượng phân tử của **SXE9** là $M = 305,1991$, dựa vào khối lượng có thể dự đoán trong cấu trúc có chứa dị tố nitơ, từ các dữ kiện trên kết hợp với phổ ^{13}C -NMR cho phép ta có thể dự đoán hợp chất **SXE9** phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ ($M = 305,1991$). Phổ ^1H -NMR (**Bảng 3.8**) của hợp chất **SXE9** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl ở $\delta_{\text{H}} 0,99$ (3H, d, $J = 6,5$) và một tín hiệu methyl singlet ở $\delta_{\text{H}} 1,97$ (3H, s). Kết hợp giữa phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.8**) và phổ HSQC cho thấy sự xuất hiện của 2 nhóm CH_3 , 3 nhóm CH, 9 nhóm CH_2 , 2 carbon không chứa hydro, trong đó một tín hiệu carbon chuyển dịch về trường thấp ở $\delta_{\text{C}} 94,7$ và hai nhóm carbonyl ở $\delta_{\text{C}} 216,4$ và $\delta_{\text{C}} 180,0$. Dựa vào số liên kết pi trong phân tử ($n = 6$), ngoại trừ 2 liên kết đôi ở nhóm $\text{C}=\text{O}$, có thể giả thiết phân tử **SXE9** có chứa số vòng liên kết là 4. Từ các dữ kiện phổ trên có thể dự đoán hợp chất **SXE9** là dẫn xuất của fawcettimin [212], [119], [97] có cấu trúc như sau (**Hình 3.15**):



Hình 3.15. Dự đoán sơ bộ cấu trúc của hợp chất SXE9

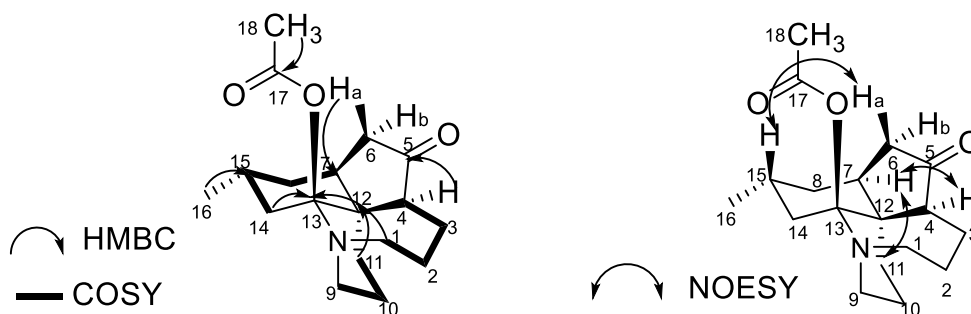
Thêm vào đó, trên phổ HMBC chỉ ra tương tác giữa proton của nhóm methyl ở H-16 ($\delta_{\text{H}} 0,99$) với C-15 ($\delta_{\text{C}} 23,6$), chứng tỏ nhóm methyl được gắn vào vị trí C-15, nhóm methyl ở H-17 ($\delta_{\text{H}} 1,97$) tương tác với carbonyl ở C-17 ($\delta_{\text{C}} 180,0$) và sự chuyển dịch về phía trường thấp của C-13 ($\delta_{\text{C}} 94,7$) chứng tỏ nhóm acetoxy được gắn ở vị trí C-13 của khung fawcettimin. Ngoài ra các tương tác HMBC giữa H-1 ($\delta_{\text{H}} 3,44$)/H-4 ($\delta_{\text{H}} 2,04$)/H-14 ($\delta_{\text{H}} 1,86$) với C-13 ($\delta_{\text{C}} 94,7$) chứng tỏ được các vị trí liên kết của khung fawcettimin. Thêm vào đó tương tác HMBC của H-4 ($\delta_{\text{H}} 2,04$)/H-

6 (δ_H 2,63)/H-7 (δ_H 2,09)/H-3 (δ_H 2,22) với C-5 (δ_C 216,4) chỉ ra các vị trí của proton và C-5. Tương tác HMBC giữa H-11 (δ_H 2,19; 2,07)/H-6 (δ_H 2,15)/H-14 (δ_H 2,2) với C-12 (δ_C 47,2) xác định được vị trí của C-12 trong cấu trúc. Phổ COSY chỉ ra tương tác giữa H-9 (δ_H 3,89; 2,86)/H-11 (δ_H 2,19) với H-10 (δ_H 1,91), tương tác giữa H-1 (δ_H 3,44)/H-3 (δ_H 2,22; 1,57) với H-2 (δ_H 2,22; 1,86), tương tác giữa H-3 (δ_H 2,22) với H-4 (δ_H 2,04), giữa H-6 (δ_H 2,63; 2,15)/H-8 (δ_H 1,7) với H-7 (δ_H 2,07). Ngoài ra còn các tương tác giữa H-16 (δ_H 0,99)/H-14 (δ_H 2,2)/H-8 (δ_H 1,7) với H-15 (δ_H 2,16). Phổ NOESY chỉ ra vị trí tương đối của các proton trong cấu trúc. Từ giá trị của hằng số tương tác của H-6a ở δ_H 2,63 (1H, q, $J = 13,0$) và tài liệu tham khảo [119], [192], cho thấy định hướng β của H-6a, thêm vào đó tương tác của H-6a (δ_H 2,63) với H-15 (δ_H 2,16) chỉ ra định hướng β của H-15. Mặt khác tương tác của H-6b (δ_H 2,15) với H-7 (δ_H 2,07)/H-4 (δ_H 2,04) chỉ ra định hướng α của H-7 và H-4. Bên cạnh đó, tương tác giữa H-7 (δ_H 2,07) với H-11 (δ_H 2,40; 2,07) chỉ ra định hướng α của nhóm CH₂ ở vị trí 12. Vì vậy cấu trúc của hợp chất **SXE9** được xác định là (+)-13-O-acetyl fawcettimin (**Hình 3.16**), là hợp chất được lần đầu tiên phân lập từ tự nhiên.

Bảng 3.8. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C-NMR của hợp chất SXE9

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [119], [192]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)
1	49,6	49,86	3,44 (1H, td; 14,5; 28,5; 4,5) 3,05(1H, dd; 5,5; 14,0)
2	19,1	21,49	2,22 (1H, m), 1,86 (1H, m)
3	33,2	35,01	2,22 (1H, m) 1,57 (1H, dd; 4,5; 14,5)
4	59,4	59,83	2,04 (1H, m)
5	216,4	219,3	
6	41,1	42,8	2,63 (1H, q; 13,0) 2,15 (1H, m)
7	43,2	43,14	2,07 (1H, m)
8	31,5	31,71	1,70 (1H, dt; 2,0; 1,75, 14,0) 1,44 (1H, ddd; 6,0; 6,5; 13,0)
9	54,5	53,81	3,89 (1H, m); 2,86 (1H, m)
10	24,4	27,43	2,22 (1H, m); 1,91 (1H, m)
11	26,7	27,69	2,40 (1H, m); 2,07 (1H, m)
12	47,2	47,75	
13	94,7	88,0	
14	39,9	41,62	2,34 (1H, m); 1,84 (1H, m)

15	23,6	23,57	2,17 (1H, m)
16	21,4	21,67	0,99 (1H, d; 6,5)
17	23,4		1,97 (3H, s)
18	180,0		
<i>^aCDCl₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^{a*}100 MHz, CDCl₃ (Phổ của (+)-fawcettimin)</i>			



Hình 3.16. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY và NOESY của SXE9

*Hợp chất SXE10

Hợp chất **SXE10** thu được ở dạng bột màu vàng. Phổ ESI-MS cho thấy xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 301,0 $[M + H]^+$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR ta thấy sự xuất hiện của 14 đơn vị carbon, phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ ($M = 300,1$). Dựa vào phổ NMR có thể dự đoán hợp chất **SXE10** có thể là một flavone. Trên phổ ^1H -NMR (**Bảng 3.9**) có sự xuất hiện của proton trong vòng thơm thế para ở δ_{C} 6,92 (2H, d, $J = 8,8$ Hz) và 7,92 (2H, d, $J = 8,8$ Hz), sự xuất hiện của proton singlet tại δ_{H} 6,77 (1H, s), và một tín hiệu proton singlet ở δ_{H} 7,34 (1H, s). Sự xuất hiện của proton ở δ_{H} 13,07 (1H, brs, 5-OH) đặc trưng cho nhóm OH không thế tại vị trí số 5. Thêm vào đó, sự xuất hiện của proton trong nhóm methoxy ở δ_{H} 3,75 (1H, s, OCH_3).

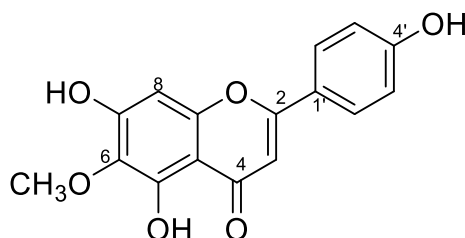
Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.9**) cho thấy sự xuất hiện của nhóm carbon trong vòng B thế para ở δ_{C} 116,0 và 128,5. Và carbon trong nhóm methoxy ở δ_{C} 60,0 (OCH_3), ngoài ra sự xuất hiện của một nhóm carbonyl ở δ_{C} 182,1 đặc trưng cho C-4 của khung flavone. Phổ HMBC của hợp chất **SXE10** chỉ ra sự tương tác của proton trong nhóm methoxy (δ_{H} 3,75) với C-6 (δ_{C} 131,3) và proton singlet ở δ_{H} 6,59 (s, H-3) tương tác với C-4 (δ_{C} 182,1), điều này chứng tỏ nhóm methoxy gắn vào vị trí C-6 của khung flavone. Ngoài ra, tương tác của proton H-8 (δ_{H} 6,83) và H-2',6' (δ_{H} 7,94) với C-2 (δ_{C} 164,5), chứng tỏ vòng B và vòng C liên kết ở vị trí C-2. Dựa vào các tài liệu tham khảo [157] cho thấy hợp chất **SXE10** là một dẫn xuất của scutellarein, được xác định là

4',5,7-trihydroxy-6-methoxyflavone hay hispidulin (**Hình 3.17**).

Bảng 3.9. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE10 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,*}}$ (ppm) [157]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b,*}}$ (ppm, Hz) [157]
2	163,8	164,4		
3	102,4	102,7	6,59 (1H, s)	6,65 (1H, s)
4	182,1	182,6		
5	152,4	153,3		
6	131,3	131,5		
7	157,2	157,2		
8	94,2	94,2	6,77 (1H, s)	6,63 (1H, s)
9	152,4	152,6		
10	104,1	104,2		
1'	121,2	122,0		
2',6'	128,5	128,1	7,92 (2H, d; 8,8)	7,82 (2H, d; 9,0)
3',5'	116,0	115,8	6,92 (2H, d; 8,8)	6,94 (2H, d; 9,0)
4'	161,2	161,2		
3-OCH ₃	60,0	60,0	3,75 (3H, s)	3,91 (3H, s)
5-OH			13,07 (1H, brs)	13,05 (1H, s)

^aDMSO-d₆, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^{a}CDCl₃ + MeOD, ^{b*}CDCl₃ + MeOH, 600MHz*



Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE10

* Hợp chất SXE11

Hợp chất **SXE11** thu được dưới dạng màu vàng sáng. Phổ ESI-MS cho thấy sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 270,9 $[\text{M} + \text{H}]^+$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR với sự xuất hiện của 15 đơn vị carbon, cho thấy hợp chất **SXE11** phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ ($\text{M} = 270,1$).

Sự xuất hiện của các tín hiệu trên phổ ^1H và ^{13}C -NMR (**Bảng 3.10**) cho phép ta dự đoán về sự có mặt của hợp chất flavon. Trên phổ ^1H -NMR của ta thấy xuất hiện proton của nhóm hydroxy ở δ_{H} 12,94 (s, OH-5), hai tín hiệu proton doublet ở δ_{H} 6,17

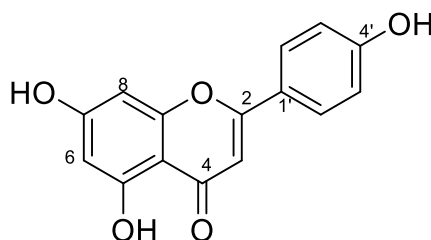
(1H, d, $J = 2,0$ Hz) và 6,47 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) đặc trưng cho các proton thế meta trong vòng A. Ngoài ra sự xuất hiện tín hiệu proton của hệ spin A_2B_2 ở δ_H 7,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và 6,92 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) đặc trưng cho các proton thế para của vòng B. Đặc biệt sự xuất hiện của tín hiệu proton olefinic ở δ_H 6,77 (s).

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE11** chỉ ra 13 tín hiệu carbon trong đó có 6 tín hiệu thuộc về vòng A, 4 tín hiệu thuộc về vòng B và 3 tín hiệu thuộc về vòng C. Trong đó một nhóm carbonyl ở δ_C 181,7. Kết hợp với phổ HMBC chỉ ra tương tác của H-3 (δ_H 6,77) với C-4 (δ_C 181,7)/C-2 (δ_C 163,7). Ngoài ra tương tác giữa proton H-2',6' (δ_H 7,91) với C-2 (δ_C 163,7) xác định được vị trí gắn của vòng B với vòng C tại C-2 của khung flavon. Kết hợp với tài liệu tham khảo [167] hợp chất **SXE11** được xác định là 4',5,7-trihydroxyflavon hay apigenin (**Hình 3.18**).

Bảng 3.10. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE11 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [167]	$\delta_H^{b,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [167]
2	163,7	163,7		
3	102,8	102,8	6,77 (1H, s)	6,75 (1H, s)
4	181,7	181,7		
5	161,4	161,3		
6	98,8	99,0	6,47 (1H, d; 2,0)	6,44 (1H, d; 1,95)
7	164,1	164,8		
8	93,9	94,1	6,17 (1H, d; 2,0)	6,15 (1H, d; 1,95)
9	157,3	157,4		
10	103,7	103,7		
1'	121,1	121,2		
2',6'	128,4	128,5	7,91 (2H, d; 8,5)	7,91 (2H, d; 9,1)
3',5'	115,9	116,0	6,92 (2H, d; 8,5)	6,90 (2H, d; 9,1)
4'	161,1	161,5		
5-OH			12,94 (s)	

^aDMSO-d₆, ^b125MHz, ^c500MHz, ^{a}DMSO-d₆, 125 MHz, ^{b*}DMSO-d₆, 500 MHz*



Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE11

*Hợp chất SXE12

Hợp chất **SXE12** thu được có màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 284,8 $[M - H]^-$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR cho phép dự đoán công thức phân tử tương ứng với công thức phân tử là $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ ($M = 286,0$). So sánh phổ NMR của hợp chất **SXE12** và phổ **SXE11** có sự tương đồng về cấu trúc ngoại trừ sự biến mất của tín hiệu proton H-3 ở vòng C.

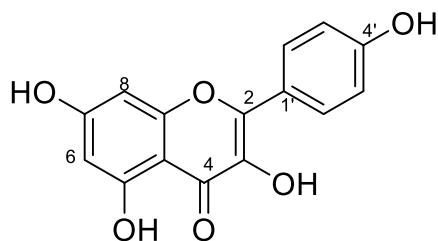
Trên phổ ^1H -NMR (**Bảng 3.11**) của hợp chất **SXE12** xuất hiện hệ tương tác spin hệ A_2B_2 ở δ_{H} 6,92 (2H, dd, $J = 9,0$ Hz) và δ_{H} 8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz) đặc trưng cho thể para của vòng B. Sự xuất hiện của tương tác spin hệ AB tại vòng A ở δ_{H} 6,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) và 6,43 (1H, d, $J = 2,0$ Hz).

Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.11**) chỉ ra 13 đơn vị carbon bao gồm 12 tín hiệu carbon từ 93,4 -163,8 ppm và một tín hiệu carbonyl ở δ_{C} 175,9 (C-4) thuộc về vòng C. Từ những dữ liệu trên kết hợp với tài liệu tham khảo [118] cấu trúc của hợp chất **SXE12** được xác định là 3,4',5,7-tetrahydroxyflavon hay kaempferol (**Hình 3.19**).

Bảng 3.11. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE12 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a*}}$ (ppm) [118]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b*}}$ (ppm, Hz) [118]
2	146,8	146,8		
3	135,6	135,6		
4	175,9	175,8		
5	160,7	160,7		
6	98,2	98,2	6,18 (1H, d; 2,0)	6,18 (1H, d; 2,0)
7	163,8	163,9		
8	93,4	93,5	6,43 (1H, d; 2,0)	6,43 (1H, d; 2,0)
9	156,1	156,1		
10	103,0	103,0		
1'	121,6	121,6		
2',6'	129,4	129,5	8,04 (2H, d; 9,0)	8,03 (2H, dd; 11,6; 2,8)
3',5'	115,0	115,4	6,92 (2H, dd; 9,0)	6,93 (2H, dd; 9,8; 2,7)
4'	159,1	159,1		
5-OH			12,47 (1H, s)	

^aDMSO-*d*₆, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a*}DMSO-*d*₆, 125 MHz, ^{b*}DMSO-*d*₆, 500 MHz



Hình 3.19. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE12

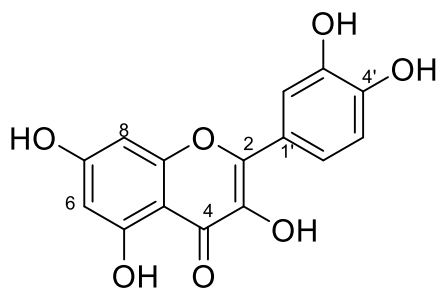
***Hợp chất SXE13**

Hợp chất **SXE13** thu được có màu vàng đậm, phổ ESI-MS của hợp chất cho pic ion giả phân tử m/z 302,8 $[M + H]^+$ và m/z 300,8 $[M - H]^-$, phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất này cho thấy sự xuất hiện của 15 đơn vị carbon chỉ ra tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ($M = 302,0$). So sánh với NMR của hợp chất **SXE13** với **SXE12** ta thấy không có sự xuất hiện của tín hiệu thế para. Cụ thể, phổ $^1\text{H-NMR}$ (**Bảng 3.12**) cho thấy xuất hiện tín hiệu đặc trưng của hệ ABX lần lượt tại δ_{H} 7,67 (1H, d, $J = 2,5$ Hz); 7,53 (1H, dd, $J = 8,5; 2,5$ Hz) và 6,88 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), thêm vào đó hai tín hiệu ở δ_{H} 6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz); 6,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) đặc trưng cho thế meta của vòng A. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (**Bảng 3.12**) của hợp chất **SXE13** cho thấy sự xuất hiện của nhóm carbonyl ở δ_{C} 175,8 và 14 tín hiệu carbon nằm trong khoảng 93,3 - 163,8 ppm. Dựa vào việc phân tích dữ liệu và so sánh với tài liệu tham khảo [118], hợp chất **SXE13** được xác định là 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavon hay quercetin (**Hình 3.20**).

Bảng 3.12. Dữ liệu phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất SXE13 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,*}}$ (ppm) [118]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b,*}}$ (ppm, Hz) [118]
2	146,8	147,7		
3	135,7	135,7		
4	175,8	175,8		
5	160,7	160,7		
6	98,1	98,2	6,18 (1H, d; 2,0)	6,18 (1H, d; 1,8)
7	163,8	163,9		
8	93,3	93,3	6,40 (1H, d; 2,0)	6,40 (1H, d; 1,9)
9	156,1	156,1		
10	103,0	103,0		
1'	121,9	121,9		
2'	115,0	115,0	7,67 (1H, d; 2,5)	7,67 (1H, d; 2,1)
3'	145,0	145,0		
4'	147,7	146,7		
5'	115,6	115,6	6,88 (1H, d; 8,5)	6,88 (1H, d; 8,5)
6'	119,9	119,9	7,53 (1H, dd; 8,5; 2,5)	7,53 (1H, dd; 8,4; 2,2)

^aDMSO-d₆, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a}DMSO-d₆, 125 MHz, ^{b*}DMSO-d₆, 500 MHz*



Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE13

*** Hợp chất SXE14**

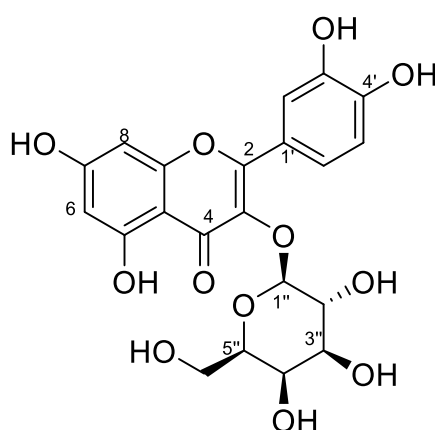
Hợp chất **SXE14** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ ESI-MS của hợp chất **SXE14** thấy xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 465,10 $[M + H]^+$ và m/z 463,15 $[M - H]^-$, kết hợp với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy hợp chất trên tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ($M = 464,10$). So sánh phổ NMR của hợp chất **SXE14** với hợp chất **SXE13** ta thấy có sự tương đồng ngoại trừ sự xuất hiện của phần đường. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (**Bảng 3.13**) của hợp chất này xuất hiện của proton anomeric tại δ_H 5,39 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') điều này khẳng định sự có mặt của đường β trong cấu trúc, các tín hiệu ở vùng trường thấp tại δ_H 3,56-3,30 thuộc về các proton của vòng đường.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (**Bảng 3.13**) xuất hiện các tín hiệu của 21 nguyên tử carbon, trong đó 15 nguyên tử thuộc về khung aglycon và 6 nguyên tử carbon thuộc về phân tử đường. Các tín hiệu của phần aglycon tương tự với các tín hiệu tương ứng của hợp chất quercetin (**SXE13**). Thêm vào đó các tín hiệu xuất hiện ở δ_C 101,9; 71,3; 73,3; 67,9; 75,9 và 60,2 cho thấy sự xuất hiện của đường β -galactopyranose. Phổ HMBC của hợp chất **SXE14** chỉ ra tương tác giữa H-1'' (δ_H 5,39) với C-3 (δ_C 133,4) cho thấy liên kết glycoside giữa đường β -galactopyranose với aglycon tại vị trí C-3, thêm vào đó tương tác giữa H-2' (δ_H 7,53) với C-2 (δ_C 156,3) chứng tỏ vòng B liên kết với vòng C tại vị trí C-2. Từ các dữ kiện trên kết hợp tài liệu tham khảo [144] cho phép ta khẳng định cấu trúc của hợp chất **SXE14** là quercetin-3- O - β -galactopyranosid hay hyperosid (**Hình 3.21**).

Bảng 3.13. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE14 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}*}$ (ppm)[144]	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}*}$ (ppm, Hz)[144]
2	156,3	156,3		
3	133,4	133,8		
4	177,6	177,6		
5	161,3	161,2		
6	98,8	98,6	6,21 (1H, d; 2,0)	6,15 (1H, d; 1,9)
7	164,2	164,1		
8	93,6	93,5	6,42 (1H, d; 2,0)	6,36 (1H, d; 1,9)
9	156,4	156,3		
10	103,9	103,9		
1'	121,3	121,3		
2'	115,3	115,3	7,53 (2H, d; 2,5)	7,48 (2H, d; 2,2)
3'	144,9	144,7		
4'	148,5	148,4		
5'	115,9	116,2	6,83 (1H, d; 9,0)	6,77 (1H, d; 8,5)
6'	121,9	121,8	7,68 (1H, dd; 2,5; 8,5)	7,63 (1H, d; 8,5)
5-OH			12,63 (1H, s)	
1''	101,9	102,3	5,39 (1H, d; 7,5)	5,34 (1H, d; 7,7)
2''	71,3	71,3	3,46 (1H, m)	3,53 (1H, dd; 8,0; 9,3)
3''	73,3	73,4	3,56 (1H, m)	3,22-3,34 (1H, m)
4''	67,9	68,0	3,30-3,40 (4H, m)	3,61 (1H, d; 3,2)
5''	75,9	75,7		3,22-3,34 (1H, m)
6''	60,2	60,7		3,42 (2H, dd; 5,6; 10,1)

^aDMSO-d₆, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^{a}DMSO-d₆, 125 MHz, ^{b*}DMSO-d₆, 500 MHz,*



Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE14

***Hợp chất SXE15**

Hợp chất **SXE15** thu được có màu vàng nhạt. Phổ khối của hợp chất **SXE15** cho thấy sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 433,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ kết hợp với phổ

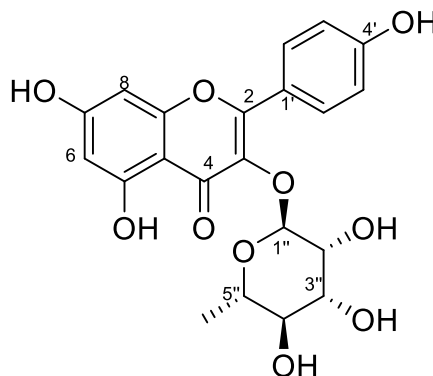
^{13}C -NMR cho thấy tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ ($M = 432,1$), so sánh phổ của hợp chất **SXE15** với phổ của hợp chất **SXE12** ta thấy có sự tương đồng ngoại trừ sự xuất hiện của phần đường. Cụ thể là trên phổ ^1H -NMR (**Bảng 3.14**) của hợp chất **SXE15** chỉ ra sự có mặt của hệ tương tác spin A_2B_2 đặc trưng cho các proton thể para thuộc vòng B ở δ_{H} 6,93 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) và 7,74 (2H, dd, $J = 7,5$ Hz). Hệ tương tác spin AB cũng được chỉ ra ở δ_{H} 6,17 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) và 6,42 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) đặc trưng cho thể meta của vòng A. Sự xuất hiện của proton anomeric ở δ_{H} 5,39 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) chỉ ra cấu hình của đường α , thêm vào đó một tín hiệu của proton doublet của nhóm methyl ở δ_{H} 0,95 (1H, d, $J = 6,0$ Hz) chỉ ra sự xuất hiện của đường α -rhamnose. Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.14**) của hợp chất **SXE15** chỉ ra sự có mặt của 18 tín hiệu carbon trong đó có một nhóm carbonyl ở δ_{C} 179,4 cho phép xác định được sự có mặt của khung kaempferol và đường α -rhamnopyranose.

Kết hợp với phổ HMBC chỉ ra tương tác giữa proton anomeric ở δ_{H} 5,39 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-1'') với C-3 (δ_{C} 136,1), cho phép khẳng định liên kết glycosid của đường với aglycon ở vị trí C-3, các tương tác của proton trong vòng B ở δ_{H} 7,74 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) với C-2 (δ_{C} 158,3) chỉ ra liên kết của vòng B và vòng C tại vị trí C-2, so sánh với tài liệu tham khảo [176] cho thấy hợp chất **SXE15** là kaempferol-3- O - α -rhamnopyranosid hay afzelin (**Hình 3.22**).

Bảng 3.14. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE15** và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}*}$ (ppm) [176]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}*}$ (ppm, Hz) [176]
2	158,3	158,6		
3	136,1	136,2		
4	179,4	179,4		
5	162,9	163,2		
6	99,8	100,0	6,17 (1H, d; 2,0)	6,19 (1H, d; 2,4)
7	165,6	166,6		
8	94,7	94,9	6,42 (1H, d; 2,0)	6,36 (1H, d; 2,2)
9	159,1	159,2		
10	105,8	105,7		
1'	122,6	122,6		
2',6'	132,2	131,9	7,74 (2H, d; 7,5)	7,76 (1H, d; 8,8)
3',5'	116,4	116,5	6,93 (2H, d; 7,5)	6,93 (1H, d; 8,9)
4'	161,4	161,6		
1''	103,4	103,5	5,39 (2H, d; 1,5)	5,36 (1H, d; 2,2)

2''	72,1	72,1	4,26 (1H, brs)	4,21 (1H, dd; 1,7; 3,42)
3''	72,9	72,0	3,75 (1H, t; 5,5)	3,71 (1H, m)
4''	73,2	73,2	3,36 (1H, m)	3,60 (1H, m)
5''	71,8	71,9	3,35 (1H, m)	3,47 (1H, m)
6''	17,6	17,7	0,95 (3H, d; 6,0)	0,91 (3H, d; 5,6)
^a MeOD-d ₆ , ^b 125MHz, ^c 500 MHz, ^{a*} DMSO-d ₆ , 125 MHz, ^{b*} DMSO-d ₆ , 500MHz				



Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE15

* Hợp chất SXE16

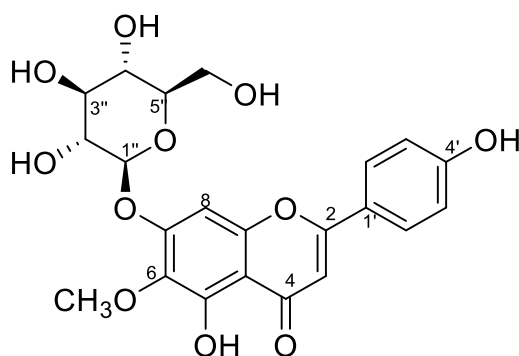
Hợp chất **SXE16** thu được có màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra pic ion giả phân tử m/z 460,9 $[M - H]^-$ và m/z 485,0 $[M + Na]^+$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR chỉ ra hợp chất **SXE16** tương ứng với công thức phân tử $C_{22}H_{22}O_{11}$ ($M = 462,1$). So sánh phổ 1H và ^{13}C -NMR (**Bảng 3.15**) của hợp chất **SXE16** với hợp chất **SXE10** ta thấy có sự tương đồng ngoại trừ sự xuất hiện của vòng đường. Vì thế hợp chất **SXE16** có thể là một dẫn xuất của scutellarein. Sự xuất hiện của tín hiệu proton anomeric tại δ_H 5,10 (1H, d, $J = 4,7$ Hz) cho phép dự đoán sự có mặt của vòng đường, so sánh với tài liệu tham khảo [98] cho phép ta dự đoán về sự có mặt của đường β trong cấu trúc. Các tín hiệu proton còn lại của vòng đường nằm trong khoảng từ δ_H 3,21- 3,75 ppm. Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.15**) của hợp chất **SXE16** chỉ ra sự xuất hiện của 13 đơn vị carbon trong đó 4 carbon đặc trưng cho vòng B thế para, và 6 carbon vòng A, còn lại là 3 carbon vòng C với tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl ở δ_C 182,3. Thêm vào đó, 4 tín hiệu của carbon của vòng đường tại δ_C 73,2; 76,8; 69,6; 77,3; 60,3 và một tín hiệu carbon anomeric tại δ_C 100,2 cho phép ta khẳng định sự xuất hiện của đường β -glucopyranose trong phân tử [98]. Vị trí liên kết của các nhóm thế được xác định dựa vào phổ tương tác xa HMBC, trên phổ ta thấy sự xuất hiện tương tác của nhóm methoxy ở δ_H 3,76 (3H, s, OCH₃) với δ_C 132,6 (C-6) chứng tỏ nhóm methoxy gắn với aglycon ở vị trí C-6 của dẫn xuất

scutellarein. Thêm vào đó sự thay đổi về độ chuyển dịch của proton H-8 tương tự như các cấu trúc **SXE10** khác cho phép ta khẳng định được liên kết glycosid giữa đường β -glucopyranose với aglycon ở vị trí C-7 và kết hợp tài liệu tham khảo [98] cho phép ta khẳng định hợp chất **SXE16** là hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**Hình 3.23**).

Bảng 3.15. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE16** và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a*}}$ ppm [98]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)
2	164,5	164,6	
3	102,3	102,6	7,00 (1H, s)
4	182,3	182,3	
5	152,5	152,4	
6	132,6	132,5	
7	156,4	156,4	
8	94,3	94,3	6,81 (1H, s)
9	152,2	152,1	
10	105,7	105,7	
1'	120,1	120,9	
2',6'	128,6	128,6	7,92 (2H, d; 8,4)
3',5'	116,3	116,0	6,90 (2H, d, 8,8)
4'	162,7	161,0	
5-OH			13,0 (1H, brs)
1''	100,2	101,0	5,10 (1H, d; 4,6)
2''	73,2	73,2	3,45-3,33 (m)
3''	76,8	77,3	3,45-3,33 (1H, m)
4''	69,6	70,4	3,21 (1H, t; 8,9)
5''	77,3	77,9	3,45-3,33 (1H, m)
6''	60,3	61,7	3,46 (1H, m); 3,75 (1H, d; 10,6)
3-OCH ₃	60,6	61,1	3,76 (3H, s)

^aDMSO-d₆, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^{a}DMSO-d₆, 125 MHz*



Hình 3.23. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SXE16**

* Hợp chất SXE17

Hợp chất **SXE17** thu được có màu vàng sáng, trên phổ HR-ESI MS (positive) cho thấy xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 463,1232 $[M + H]^+$, phổ HR-ESI MS (negative) còn xuất hiện pic ion m/z 461,1088 $[M - H]^-$ và m/z 497,0851 $[M + Cl]^-$ kết hợp với phổ ^{13}C -NMR, cho thấy phù hợp với công thức phân tử $C_{22}H_{22}O_{11}$ ($M = 462,1162$).

So sánh phổ NMR (**Bảng 3.16**) của hợp chất **SXE17** với hợp chất **SXE16** cho thấy sự tương đồng ngoại trừ sự khác biệt về vòng đường. Sự xuất hiện của tín hiệu của proton anomeric ở δ_H 4,98 (d, $J = 7,2$ Hz, H-1") cho thấy sự xuất hiện của đường β , các tín hiệu proton còn lại thuộc về các proton vòng đường ở δ_H 3,25-3,70 ppm.

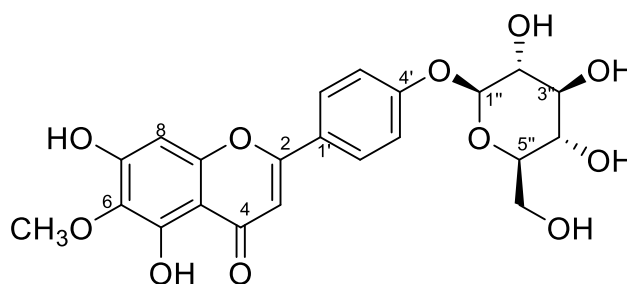
Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.16**) của hợp chất chỉ ra sự có mặt của 20 tín hiệu carbon, trong đó có 6 tín hiệu carbon thuộc về vòng A ở δ_C 96,2; 99,5; 133,8; 153,4; 151,6 và 156,3, các tín hiệu ở δ_C 179,8; 160,8 và 102,8 thuộc về vòng C, và còn lại của vòng B. Từ những dữ kiện trên cho phép khẳng định về sự xuất hiện của dẫn xuất scutellarein. Ngoài ra 5 tín hiệu xuất hiện ở vùng từ δ_C 77,2-60,7 và một tín hiệu carbon ở δ_C 100,0 cho phép xác định được sự có mặt của đường β -glucopyranose trong phân tử.

Phổ HMBC của hợp chất **SXE17** chỉ ra tương tác của tín hiệu proton anomeric tại δ_H 4,98 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1") với carbon C-4' (δ_C 159,6), cho phép ta xác định vị trí liên kết glycosid tại vị trí 4'-OH của vòng B. Bên cạnh đó vị trí liên kết của vòng B với vòng C được xác định qua tương tác giữa proton H-2',6' (δ_H 7,90) với C-2 (δ_C 160,8) của vòng C. Tương tác của proton methoxy (δ_H 3,65) với carbon C-6 (δ_C 133,8), điều này chỉ ra nhóm methoxy được gắn vào vị trí C-6 của scutellarein [83]. Vì vậy hợp chất **SXE17** được xác định là hispidulin-4'- O - β -glucopyranosid (**Hình 3.24**).

Bảng 3.16. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE17** và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [83]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)
2	160,8	162,0	
3	102,8	103,4	6,54 (1H, s)
4	179,8	181,9	
5	151,6	152,4	
6	133,8	132,0	
7	156,3	157,7	
8	96,2	94,5	6,05 (1H, s)

9	153,4	152,8	
10	99,5	101,8	
1'	125,0	124,2	
2',6'	127,5	128,1	7,90 (2H, d; 8,9)
3',5'	116,6	116,7	7,15 (2H, d; 8,9)
4'	159,6	160,4	
5-OH			12,78 (1H, brs)
1''	100,0	99,8	4,98 (1H, d; 7,5)
2''	73,3	73,3	3,38-3,27 (2H, m)
3''	77,2	76,3	
4''	69,7	69,7	3,19 (1H, t; 9,0)
5''	76,6	77,2	3,38-3,27 (1H, m)
6''	60,7	60,7	3,49 (1H, m); 3,70 (1H, dd; 2,4; 11,7)
3-OCH ₃	58,9		3,65 (3H, s)
^a DMSO-d ₆ , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^{a*} DMSO-d ₆ , 125 MHz			



Hình 3.24. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE17

* Hợp chất SXE18

Hợp chất **SXE18** thu được dưới dạng màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra pic ion giả phân tử m/z 488,9 $[M - H]^-$ và 491,0 $[M + H]^+$, kết hợp với phổ ¹³C-NMR xuất hiện 21 đơn vị carbon, cho thấy phù hợp với công thức phân tử C₂₃H₂₀O₁₂ (M = 490,1).

Phổ ¹H-NMR (**Bảng 3.17**) của hợp chất **SXE18** chỉ ra các tín hiệu proton tương tự như hợp chất số **SXE16** ngoại trừ sự xuất hiện thêm một nhóm methoxy ở δ_H 3,66 (3H, s). Sự xuất hiện của proton anomeric chuyển dịch về trường thấp ở δ_H 5,35 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1'') cho phép khẳng định sự có mặt của đường β . Trên phổ ¹³C-NMR (**Bảng 3.17**) của hợp chất **SXE18** với sự xuất hiện của 21 tín hiệu carbon trong đó 13 carbon thuộc về dẫn xuất của scutellarein, 4 đơn vị carbon ở δ_C 75,7-71,3 và một tín hiệu ở δ_C 99,4 chỉ ra sự có mặt của đường β -glucopyranose, và hai tín hiệu carbon tại δ_C 52,0 và δ_C 60,4 thuộc về hai nhóm methoxy. Sự xuất hiện của hai carbon carbonyl ở δ_C 182,4 và δ_C 169,2 thuộc về carbon carbonyl của vòng C và tín hiệu còn lại cho

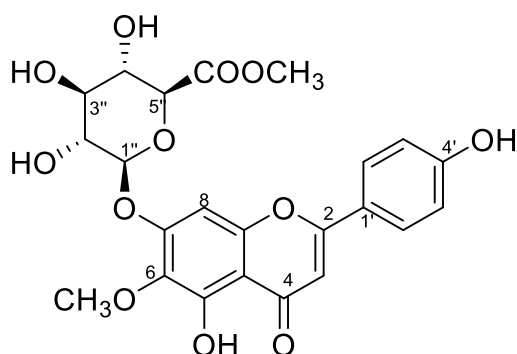
phép dự đoán về sự có mặt của nhóm carbonyl tại vị trí số 6 của đường β -glucopyranose.

Kết hợp với phổ HMBC chỉ ra tương tác của proton methoxy ở δ_H 3,75 (3H, s) với C-6 (δ_C 132,5), cho thấy nhóm methoxy gắn vào vị trí C-6 của dẫn xuất scutellarein. Mặt khác, tín hiệu proton methoxy ở δ_H 3,66 (3H, s) tương tác với C-6'' (δ_C 169,2), chứng tỏ liên kết ester được tạo thành ở vị trí C-6'' của vòng đường. Các tương tác của proton ở δ_H 7,95 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2',6') với C-2 (δ_C 164,4) chỉ ra vị trí liên kết của vòng B với vòng C ở vị trí C-2. Đặc biệt tương tác giữa proton anomeric ở δ_H 5,35 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1'') với C-7 (δ_C 156,0), chỉ ra liên kết glycosid giữa aglycon và vòng đường tại vị trí C-7 của vòng A. Từ các dữ kiện trên và các tài liệu tham khảo [179] có thể khẳng định được hợp chất **SXE18** là hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**Hình 3.25**).

Bảng 3.17. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE18 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm)[179]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [179]
2	164,4	164,3		
3	102,8	102,7	6,86 (1H, s)	6,95 (1H, s)
4	182,4	182,2		
5	152,7	152,6		
6	132,5	132,6		
7	156,0	155,8		
8	93,9	93,9	7,07 (1H, s)	7,06 (1H, s)
9	152,2	152,0		
10	105,9	105,9		
1'	121,1	121,0		
2',6'	128,6	128,5	7,95 (2H, d; 8,8)	7,95 (2H, d; 8,8)
3',5'	116,1	116,0	6,95 (2H, d; 8,8)	6,95 (2H, d; 8,8)
4'	161,4	161,3		
5-OH			13,0 (1H, s)	
1''	99,4	99,5	5,35 (1H, d; 7,2)	5,32 (1H, d; 7,0)
2''	72,8	72,8	3,42-3,37 (3H, m)	
3''	75,7	75,6		
4''	71,3	71,2		
5''	75,3	75,3	4,20 (1H, d; 9,6)	4,21 (1H, d; 9,0)
6''	169,2	169,0		
6''-OCH ₃	52,0	52,0	3,66 (3H, s)	3,67 (3H, s)
6-OCH ₃	60,4	59,7	3,75 (3H, s)	3,77 (3H, s)

*a*DMSO-*d*₆, *b*125 MHz, *c*400 MHz, *a**DMSO-*d*₆, 100 MHz, *b**DMSO-*d*₆, 400 MHz



Hình 3.25. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE18

***Hợp chất SXE19**

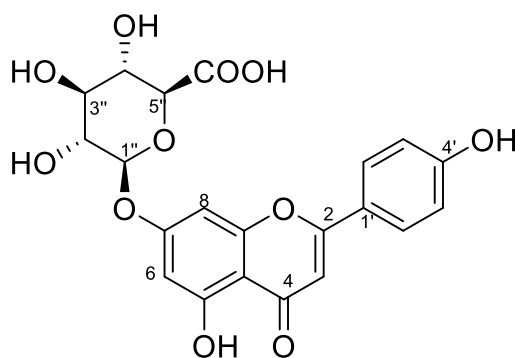
Hợp chất **SXE19** thu được dưới dạng bột màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra pic ion giả phân tử m/z 446,8 $[M + H]^+$ và m/z 444,9 $[M - H]^-$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR với 21 tín hiệu carbon cho thấy phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ ($M = 446,1$).

Phổ NMR (**Bảng 3.18**) của hợp chất **SXE19** thấy có sự tương đồng với hợp chất **SXE11** (apigenin) ngoại trừ sự xuất hiện của vòng đường. Sự xuất hiện của proton anomeric tại δ_{H} 5,09 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H-1''), so sánh các dữ liệu phổ NMR [116] cho phép dự đoán về sự có mặt của đường β trong phân tử, các tín hiệu của proton trong vòng đường còn lại nằm trong khoảng 3,30-3,68 ppm. Phổ ^{13}C -NMR (**Bảng 3.18**) cho thấy sự xuất hiện của 19 tín hiệu carbon trong đó 12 tín hiệu carbon thuộc về khung apigenin, 2 tín hiệu carbon carbonyl trong đó một tín hiệu thuộc về vị trí C-4 của vòng C, 4 tín hiệu carbon còn lại ở δ_{C} 73,4; 76,8; 72,4; 74,6 và tín hiệu ở δ_{C} 100,1 và so sánh với phổ ^{13}C NMR cho phép ta kết luận sự có mặt của đường β -glucuronopyranose. Kết hợp với phổ HMBC chỉ ra tương tác của proton anomeric tại δ_{H} 5,09 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H-1'') với carbon C-7 (δ_{C} 163,4), điều này chỉ ra liên kết glycosid ở vị trí số 7 của vòng A. Tương tác giữa proton trong vòng B tại δ_{H} 7,90 (2H, d, $J = 7,7$ Hz, H -2', H-6') với C-2 (δ_{C} 164,7) chứng tỏ vòng B và vòng C liên kết với nhau thông qua vị trí C-2. Từ các dữ kiện trên kết hợp với tài liệu tham khảo [116], [210] có thể khẳng định được cấu trúc của hợp chất **SXE19** là apigenin-7- O - β -glucuronopyranosid (**Hình 3.26**).

Bảng 3.18. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất SXE19 và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,*}}$ (ppm) [116]	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (ppm, Hz)
2	164,7	163,6	
3	103,4	103,2	6,81 (1H, s)
4	182,4	182,3	
5	159,5	160,4	
6	99,9	99,9	6,81 (1H, s)
7	163,4	163,2	
8	95,1	95,1	6,41 (1H, s)
9	157,4	157,4	
10	105,8	105,7	
1'	121,2	120,9	
2',6'	128,9	128,9	7,90 (2H, d; 7,7)
3',5'	116,5	116,4	6,91 (2H, d; 7,7)
4'	162,1	162,1	
5-OH			12,97 (1H, brs)
1''	100,1	100,2	5,09 (1H, d; 4,9)
2''	73,4	73,5	3,30-3,25 (3H, m)
3''	76,8	77,1	
4''	72,4	72,5	
5''	74,6	74,1	3,68 (1H, d; 7,2)
6''	173,4	171,9	

^aDMSO-d₆, ^b125MHz, ^c500 MHz, ^{a}DMSO-d₆, 150 MHz*



Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE19

*** Hợp chất SXE20**

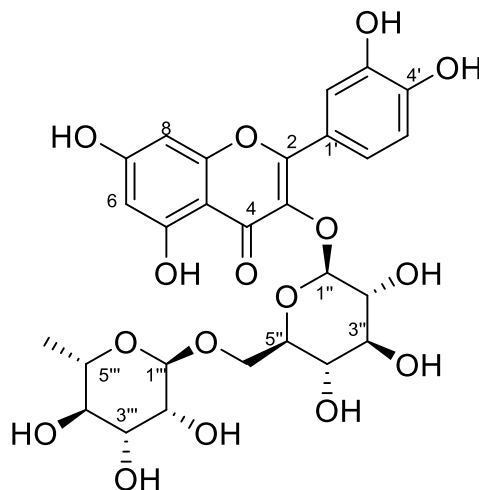
Hợp chất **SXE20** thu được dưới dạng màu vàng sáng. Từ các tín hiệu cộng hưởng của proton và carbon trên phổ ^1H và ^{13}C -NMR (**Bảng 3.19**) cho thấy hợp chất **SXE20** cũng là một dẫn xuất của quercetin glycosid. So sánh số nguyên tử carbon của **SXE20** với quercetin (15 C) (**SXE13**) (**Bảng 3.13**), kết hợp phân tích các tín hiệu

cộng hưởng của các proton trong vùng δ_H 3,05 - 5,35 ppm cho thấy **SXE20** có thể chứa 2 đường. Kết hợp các phổ HSQC, COSY và HMBC xác định chính xác vị trí của các liên kết. Trong đó một đường là rhamnose đặc trưng bởi tín hiệu proton methyl doublet cộng hưởng rất mạnh ở δ_H 0,98 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'''). Một đường khác là glucose với tín hiệu proton anomeric ở δ_H 5,35 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') liên kết trực tiếp với aglycon tại vị trí C-3 ở δ_C 133,3 (C-3), đồng thời glucose cũng liên kết với rhamnose thông qua liên kết (6 \rightarrow 1)-*O*-glycosid. Điều này được khẳng định thông qua các dữ liệu phổ HMBC với tương tác của H-1'' (δ_H 5,35) với C-3 (δ_C 133,3), H-1''' (δ_H 4,38) với C-6'' (δ_C 67,0) được quan sát, từ các dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [181] có thể kết luận hợp chất **SXE20** là quercetin 3-*O*- α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -glucopyranosid hay rutin (**Hình 3.27**).

Bảng 3.19. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE20** và chất tham khảo

Vị trí C/H	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	δ_C^{a*} (ppm)[181]	$\delta_H^{a,c}$ (ppm)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [181]
2	156,6	156,9		
3	133,3	133,8		
4	177,3	178,0		
5	161,2	161,7		
6	98,6	99,2	6,19 (1H, d; 2,0)	6,19 (1H, d; 2,0)
7	164,0	164,7		
8	93,5	94,1	6,38 (1H, d; 2,0)	6,38 (1H, d; 2,0)
9	156,4	157,1		
10	103,9	104,4		
1'	121,2	121,7		
2'	116,2	115,7	7,53 (1H, d; 2,0)	7,53 (1H, d; 2,1)
3'	144,7	145,2		
4'	148,4	148,9		
5'	115,2	116,8	6,83 (1H, d; 8,0)	6,84 (1H, d; 9,0)
6'	121,5	122,1	7,55 (1H, dd; 2,0; 8,0)	7,55 (1H, dd; 9; 2,1)
1''	101,2	101,2	5,35 (1H, d; 7,5)	5,35 (1H, d; 7,4)
2''	74,0	74,6	3,22-3,5 (4H, m)	3,22-3,70 (4H, m)
3''	75,9	76,9	3,22-3,5 (1H, m)	
4''	68,2	70,5	3,22 (1H, m)	
5''	76,4	76,4	3,24 (1H, m)	
6''	67,0	67,5	3,72 (1H, brd; 10,0) 3,24 (1H, m)	3,70 (1H, m); 3,2 (1H,m)
1'''	100,7	101,7	4,38 (1H, s)	4,40 (1H, s)

2'''	70,5	70,9	3,05-3,39 (4H, m)	3,33-3,4 (4H, m)
3'''	70,3	71,1	3,39 (1H, m)	
4'''	71,8	72,4		
5'''	70,0	68,7	3,05 (1H, m)	
6'''	17,7	18,2	0,98 (3H, d; 6,0)	1,00 (3H, d; 6,1)
<i>^aDMSO-d₆, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^{a*}DMSO-d₆, 125 MHz, ^{b*}DMSO-d₆, 500 MHz</i>				



Hình 3.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE20

* Hợp chất SXE22

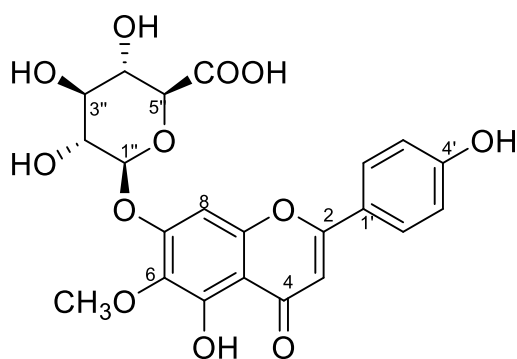
Hợp chất **SXE22** thu được dưới dạng bột màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 474,9 $[M - H]^-$ kết hợp với phổ ^{13}C -NMR cho thấy sự xuất hiện của 19 đơn vị carbon, cho phép dự đoán về công thức phân tử của hợp chất **SXE22** là $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ($M = 476,1$). So sánh dữ liệu phổ NMR (**Bảng 3.20**) của hợp chất **SXE22** ta thấy có sự tương đồng với hợp chất số **SXE18**, ngoại trừ sự biến mất của một nhóm methoxy. Sự xuất hiện của tín hiệu proton anomeric ở δ_{H} 5,22 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, H-1'') cho phép khẳng định về sự có mặt của đường β .

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE22** xuất hiện 20 đơn vị carbon trong đó 4 tín hiệu carbon thuộc về vòng B, 6 tín hiệu carbon thuộc về vòng A, ba tín hiệu thuộc về vòng C. Sự xuất hiện của 2 tín hiệu carbonyl ở δ_{C} 182,3) và δ_{C} 172,1 tương tự như hợp chất **SXE18** chỉ ra sự có mặt của nhóm carbonyl tại vị trí số 6 của đường β -glucopyranose. Các tín hiệu còn lại ở δ_{C} 73,0; 76,7; 71,9; 73,9 và một tín hiệu ở δ_{C} 99,7 chỉ ra sự có mặt của đường β -glucuronopyranosid.

Kết hợp phổ HMBC chỉ ra tương tác của proton methoxy ở δ_H 3,92 (3H, s) với C-6 (δ_C 132,4) cho thấy nhóm methoxy gắn với aglycon ở vị trí C-6 của dẫn xuất scutellarein, thêm vào đó tương tác giữa proton anomeric ở δ_H 5,17 (1H, H-1'') với C-7 (δ_C 156,5) chứng tỏ vòng đường liên kết với aglycon ở vị trí số 7 của vòng A, tương tác giữa proton δ_H 7,88 (2H, H-2', H-6') với C-2 (δ_C 164,3) chứng tỏ vòng B liên kết với vòng C tại vị trí C-2. Từ các dữ kiện trên kết hợp với tài liệu tham khảo [156] cho phép ta khẳng định cấu trúc của hợp chất **SXE22** là hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**Hình 3.28**).

Bảng 3.20. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **SXE22** và chất tham khảo

Vị trí C/H	δ_C^a (ppm)	δ_C^{a*} (ppm) [156]	δ_H^b (ppm, Hz)	δ_H^{b*} (ppm, Hz) [156]
2	164,3	166,9		
3	102,4	103,7	6,68 (1H, s)	6,65 (1H, s)
4	182,3	184,4		
5	152,4	154,1		
6	132,4	134,3		
7	156,5	157,7		
8	94,1	95,8	7,02 (1H, s)	6,97 (1H, s)
9	152,1	154,1		
10	105,6	107,7		
1'	120,6	123,1		
2',6'	128,4	129,7	7,92 (2H, d; 8,8)	7,88 (2H, d; 8,5)
3',5'	115,9	117,0	6,96 (2H, d; 8,8)	6,92 (2H, d; 8,5)
4'	161,7	162,9		
5-OH				
1''	99,7	101,8	5,22 (1H, d; 7,4)	5,20 (1H, d; 7,5)
2''	73,0	74,5	3,69-3,61 (3H, m)	3,61 (1H, m)
3''	76,7	77,5		3,59 (1H, m)
4''	71,9	73,1		3,62 (1H, m)
5''	73,9	76,6	4,01 (1H, d; 9,0)	4,03 (1H, d; 9,4)
6''	172,1	174,0		
3-OCH ₃	60,3	61,5	3,96 (3H, s)	3,89 (3H, s)
<i>^aDMSO-d₆, ^b125 MHz, ^c600MHz, ^{a*}MeOD, 100 MHz, ^{b*}MeOD, 400 MHz</i>				



Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất SXE22

3.3. Kết quả nghiên cứu về độc tính và tác dụng sinh học

3.3.1. Kết quả thử độc tính cấp

Mẫu nghiên cứu được chuẩn bị và tiến hành thử độc tính cấp theo phương pháp ghi ở mục 2.2.3.2. Liều 12 g mẫu nghiên cứu/kg thể trọng chuột là liều tối đa có thể pha cao dược liệu trong thể tích dung môi cho chuột uống 1 lần/ngày mà chuột vẫn dung nạp được. Thử nghiệm nghiên cứu với mức liều 12 g/kg thể trọng chuột với cao toàn phần và các cao phân đoạn.

Bảng 3.21. Kết quả thử độc tính cấp của các cao phân đoạn dịch chiết từ lá Xăng xê

Lô	n	Liều thử (g/kg)	Tỷ lệ chuột chết ở mỗi lô (%)	Tỷ lệ chuột có hoạt động bất thường
Cao toàn phần	10	12	0	0
Cao phân đoạn <i>n</i> -hexan	10	12	0	0
Cao phân đoạn ethyl acetat	10	12	0	0
Cao phân đoạn nước	10	12	0	0

Kết quả **Bảng 3.21** cho thấy:

Khi cho chuột nhắt trắng uống các mẫu nghiên cứu với liều 12 g mẫu/kg thể trọng chuột, một lần/ngày, theo dõi trong 3 ngày, chuột vẫn khỏe mạnh, ăn uống, bài tiết, vận động bình thường, không có chuột nào chết.

Theo dõi chuột tiếp theo từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 thấy chuột vẫn khỏe mạnh, ăn uống, vận động, bài tiết bình thường, không có chuột nào chết.

Liều 12 g mẫu nghiên cứu/kg thể trọng chuột là liều tối đa có thể cho mỗi con chuột nhắt uống trong một ngày mà chuột vẫn không có biểu hiện bất thường. Như

vậy, ở mức liều của các mẫu thử là 12 g mẫu/kg thể trọng chuột chưa xác định được LD₅₀, và không nhận thấy độc tính cấp trên chuột nhất. Với mức liều 12 g cao toàn phân/kg/ngày tương đương với 144 g dược liệu khô/kg thể trọng chuột/ngày chuột nhất trắng sinh hoạt, vận động bình thường và không có chuột nào chết. Mức liều này tương đương khoảng 600g dược liệu khô/ngày/người, gấp khoảng 50 lần liều dùng trên người chưa ghi nhận độc tính cấp.

3.3.2. Kết quả thử độc tính bán trường diễn

Theo những công bố trên thế giới và Việt Nam về tác dụng sinh học chi *Sanchezia*, hầu hết các kết quả cho thấy hai phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat là phân đoạn thể hiện hoạt tính mạnh. Và trong nghiên cứu này, hai phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat đều cho thấy tác dụng chống viêm loét dạ dày và giảm đau trung ương, đặc biệt phân đoạn ethyl acetat cho tác dụng tốt hơn trên viêm loét dạ dày. Hơn thế nữa, trong phân đoạn ethyl acetat đã phân lập và xác định cấu trúc có 2 hợp chất alkaloid. Alkaloid là nhóm hợp chất thường có khả năng gây độc tính. Dược liệu và thuốc có nguồn gốc dược liệu thường được người dân sử dụng lâu dài. Đánh giá độc tính bán trường diễn sẽ cho kết quả tính an toàn của dược liệu, thuốc từ dược liệu có độ tin cậy cao hơn độc tính cấp và phù hợp hơn. Do đó phân đoạn ethyl acetat được sử dụng đánh giá độc tính bán trường diễn.

Chuột được cho uống cao ethyl acetat với mức liều tương đương liều dùng trên người (Lô 1: 50 mg/kg/ngày) và liều gấp 5 lần liều dùng trên người (Lô 2: 250 mg/kg/ngày) liên tục trong 28 ngày, kết quả thu được như sau:

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở lô chứng sinh lý và 2 lô uống mẫu nghiên cứu (MNC) hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột cống trắng trong suốt thời gian nghiên cứu.

Bảng 3.22. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến thể trọng chuột

Thời gian	Lô chứng (n = 10)		Lô 1 (n = 10)		Lô 2 (n = 10)		p (t-test student)
	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng	Trọng lượng (g)	% thay đổi trọng lượng	
Trước uống MNC	174,00 ± 15,78		171,00 ± 12,87		171,00 ± 11,97		> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	193,00 ± 14,94	↑ 11,18	189,00 ± 15,95	↑ 10,64	192,00 ± 17,51	↑ 12,41	> 0,05
p trước – sau	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
Sau 28 ngày uống MNC	209,50 ± 20,88	↑ 20,81	207,00 ± 17,03	↑ 21,31	214,00 ± 17,13	↑ 25,60	> 0,05
p trước – sau	< 0,05		< 0,05		< 0,05		

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.22** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, trọng lượng chuột tăng có ý nghĩa so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về mức độ thay đổi trọng lượng chuột giữa lô chứng và các lô dùng mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.23. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến khả năng tạo máu

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/l)			Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)			Hematocrit (%)			Thể tích trung bình hồng cầu (fl)			P (t-test student)
	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	
Trước uống MNC	8,33 ± 1,29	8,09 ± 1,07	8,10 ± 1,01	11,07 ± 1,90	11,12 ± 1,06	10,94 ± 1,20	44,40 ± 4,91	43,36 ± 4,87	43,79 ± 3,85	53,40 ± 2,63	54,00 ± 2,21	53,90 ± 1,79	> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	8,86 ± 1,40	8,20 ± 1,41	8,02 ± 1,14	11,42 ± 1,30	10,84 ± 1,11	10,70 ± 1,12	46,40 ± 3,61	44,12 ± 5,33	43,23 ± 3,91	52,80 ± 2,70	53,20 ± 1,40	53,50 ± 1,51	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 28 ngày uống MNC	8,65 ± 1,14	8,12 ± 1,13	8,26 ± 1,46	11,64 ± 1,23	10,97 ± 1,18	10,85 ± 0,95	46,17 ± 4,59	42,85 ± 3,43	43,52 ± 4,24	52,40 ± 2,27	52,70 ± 1,95	53,00 ± 1,94	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.23** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu ở cả lô 1 (uống cao ethyl acetat liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (uống cao ethyl acetat 250 mg/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/l)			p (t-test student)	Công thức bạch cầu					
	Lô chứng (n = 10)	Lô 1 (n = 10)	Lô 2 (n = 10)		Lô chứng (n = 10)		Lô 1 (n = 10)		Lô 2 (n = 10)	
					Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)
Trước uống MNC	5,83 ± 1,34	5,72 ± 1,18	5,12 ± 1,35	> 0,05	77,76 ± 3,37	10,34 ± 2,13	78,13 ± 3,44	10,62 ± 2,67	79,37 ± 4,09	10,55 ± 2,66
Sau 14 ngày uống MNC	6,15 ± 1,55	5,57 ± 1,04	5,78 ± 1,55	> 0,05	74,61 ± 4,16	11,70 ± 2,82	77,45 ± 3,67	10,35 ± 3,25	76,75 ± 5,40	11,43 ± 3,95
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 28 ngày uống MNC	6,72 ± 1,42	6,33 ± 1,44	6,07 ± 1,56	> 0,05	74,38 ± 4,62	11,19 ± 2,14	76,32 ± 4,34	12,72 ± 3,42	76,52 ± 3,74	11,35 ± 2,65
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.24** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu ở cả lô 1 (liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (liều 250 mg/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.25. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/l)			P (t-test student)
	Lô chứng (n = 10)	Lô 1 (n = 10)	Lô 2 (n = 10)	
Trước uống MNC	517,70± 85,17	465,70± 91,18	474,80± 76,71	> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	528,90± 95,40	504,90± 81,13	465,40± 85,34	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 28 ngày uống MNC	541,50± 76,13	511,30± 95,01	521,70± 95,28	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.25** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, số lượng tiểu cầu ở cả lô 1 (liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (liều 250 mg/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.26. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến mức độ hủy hoại tế bào gan (AST/ALT)

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/l)			Hoạt độ ALT (UI/l)			P (t-test student)
	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	
Trước uống MNC	72,30 ± 8,97	68,70 ± 8,90	70,20 ± 10,20	29,10 ± 4,53	31,70 ± 3,95	32,10 ± 5,04	> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	70,60 ± 8,15	68,60 ± 11,16	69,20 ± 10,76	27,10 ± 5,02	28,60 ± 4,93	29,20 ± 5,47	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 28 ngày uống MNC	71,40 ± 8,92	65,90 ± 11,69	68,40 ± 10,39	27,60 ± 5,52	29,00 ± 5,33	28,90 ± 3,98	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.26** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, xét nghiệm đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan hoạt độ AST và ALT trong máu chuột ở cả lô 1 (liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (liều 250 mg/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.27. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến chức năng gan (bilirubin, albumin, cholesterol toàn phần trong máu chuột)

Thời gian	Bilirubin toàn phần (mmol/l)			Albumin (g/dl)			Cholesterol toàn phần (mmol/l)			p (t-test student)
	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	
Trước uống MNC	10,76 ± 1,45	10,00 ± 0,85	10,14 ± 0,94	2,78 ± 0,31	2,74 ± 0,21	2,76 ± 0,13	1,24 ± 0,16	1,26 ± 0,18	1,30 ± 0,11	> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	10,67 ± 1,43	10,11 ± 1,07	10,38 ± 1,17	2,75 ± 0,30	2,70 ± 0,23	2,80 ± 0,19	1,25 ± 0,19	1,29 ± 0,17	1,33 ± 0,19	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 28 ngày uống MNC	10,09 ± 1,07	10,29 ± 0,90	10,57 ± 0,84	2,86 ± 0,25	2,80 ± 0,18	2,84 ± 0,15	1,28 ± 0,12	1,31 ± 0,12	1,26 ± 0,18	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

Kết quả ở **Bảng 3.27** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, nồng độ bilirubin toàn phần, albumin toàn phần và cholesterol toàn phần trong máu chuột ở cả lô 1 (liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (liều 250 mg/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

**Bảng 3.28. Ảnh hưởng của cao ethyl acetat đến chức năng thận
(nồng độ creatinin trong máu chuột)**

Thời gian	Creatinin (mg/dl)			p(t-test student)
	Lô chứng (n=10)	Lô 1 (n=10)	Lô 2 (n=10)	
Trước uống MNC	0,81 ± 0,17	0,82 ± 0,15	0,85 ± 0,13	> 0,05
Sau 14 ngày uống MNC	0,85 ± 0,11	0,79 ± 0,14	0,80 ± 0,14	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 28 ngày uống MNC	0,83 ± 0,13	0,84 ± 0,11	0,82 ± 0,18	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

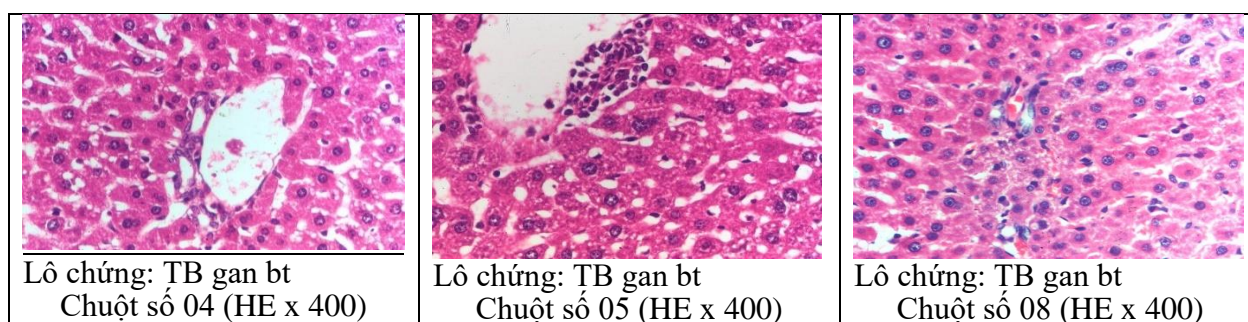
Các số liệu so sánh trước sau p(trước-sau) sử dụng t-test ghép cặp

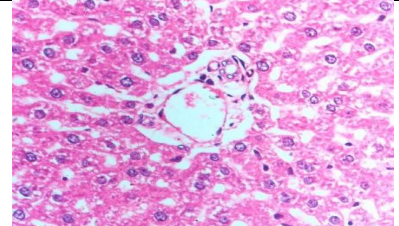
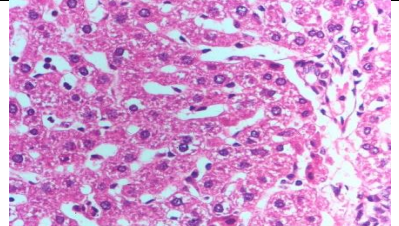
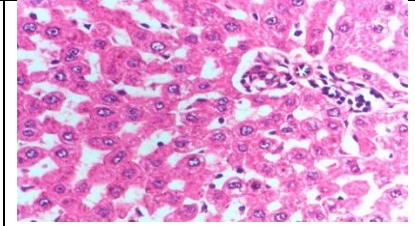
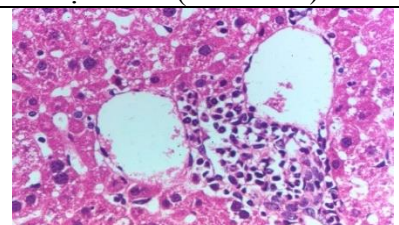
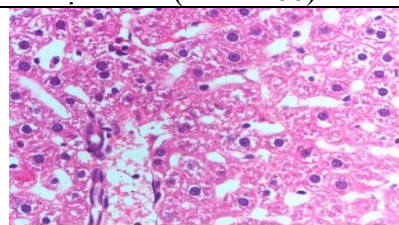
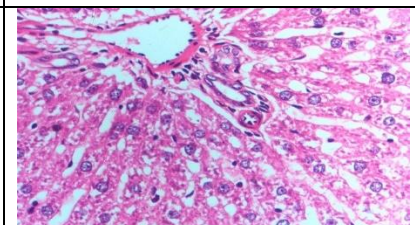
Kết quả ở **Bảng 3.28** cho thấy: Sau 14 ngày và 28 ngày uống cao ethyl acetat, ở cả lô 1 (liều 50 mg/kg/ngày) và lô 2 (liều 250 mg/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống mẫu nghiên cứu ($p > 0,05$).

Nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc thử lên hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận của chuột

Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô dùng cao ethyl acetat), không quan sát thấy thay đổi bệnh lý nào về đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hóa của chuột. Cấu trúc vi thể gan, thận của 2 lô chuột uống mẫu nghiên cứu không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh lý.

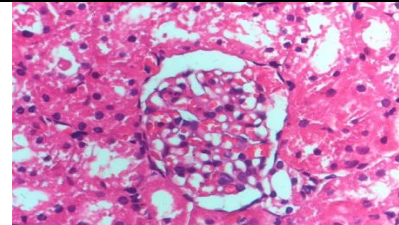
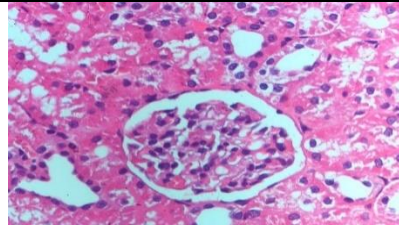
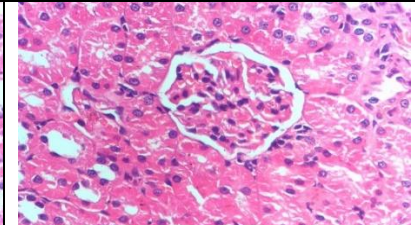
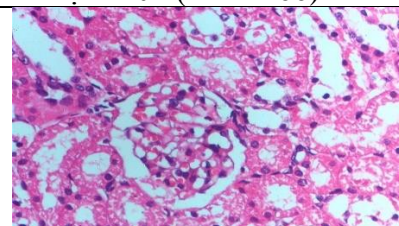
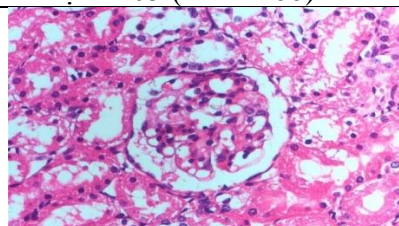
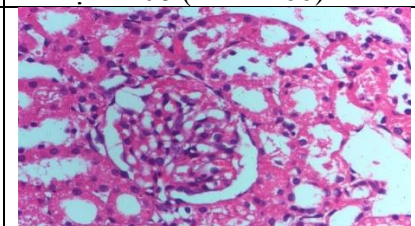
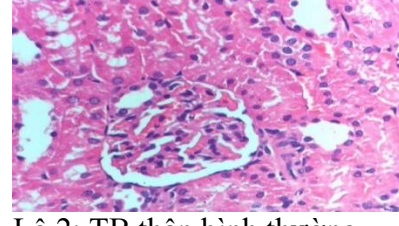
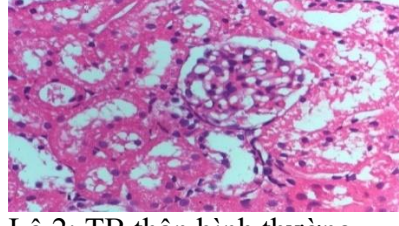
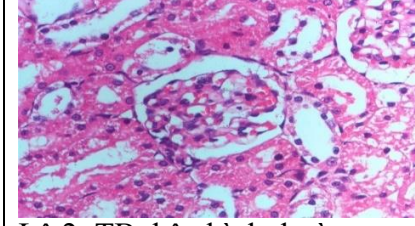
Bảng 3.29. Hình ảnh vi thể gan chuột



		
Lô 1: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 12 (HE x 400)	Lô 1: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 14 (HE x 400)	Lô 1: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 17 (HE x 400)
		
Lô 2: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 23 (HE x 400)	Lô 2: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 27 (HE x 400)	Lô 2: TB gan thoái hóa nhẹ Chuột số 28 (HE x 400)

(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

Bảng 3.30. Hình ảnh vi thể thận chuột

		
Lô chứng: TB thận bình thường Chuột số 04 (HE x 400)	Lô chứng: TB thận bình thường Chuột số 05 (HE x 400)	Lô chứng: TB thận bình thường Chuột số 08 (HE x 400)
		
Lô 1: TB thận bình thường Chuột số 12 (HE x 400)	Lô 1: TB thận bình thường Chuột số 14 (HE x 400)	Lô 1: TB thận bình thường Chuột số 17 (HE x 400)
		
Lô 2: TB thận bình thường Chuột số 23 (HE x 400)	Lô 2: TB thận bình thường Chuột số 27 (HE x 400)	Lô 2: TB thận bình thường Chuột số 28 (HE x 400)

(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

3.3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày

3.3.3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của cao toàn phần

Thí nghiệm được tiến hành như mục 2.2.3.4 và thu được kết quả nghiên cứu như sau:

Bảng 3.31. Tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ chuột có loét
Lô 1: Chứng sinh lý	10	0/10
Lô 2: Lô chứng bệnh	10	10/10
Lô 3: Ranitidin	10	9/10
Lô 4: Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg	10	10/10
Lô 5: Mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg	10	9/10
Lô 6: Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg	10	10/10

$p > 0,05$ so với lô chứng bệnh (test khi bình phương)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.31** cho thấy:

- Lô chứng sinh lý: chuột không có hình ảnh loét ở dạ dày.
- Lô chứng bệnh và lô dùng mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg và liều 450 mg/kg có tỷ lệ chuột bị loét dạ dày sau thắt môn vị là 100%, lô dùng ranitidin và mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị là 90%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ chuột bị loét giữa các lô uống mẫu nghiên cứu khi so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 3.32. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến mức độ nặng của tổn thương loét

Lô nghiên cứu	Loét nông (%)	Loét sâu (%)	Loét thủng (%)
Lô 1: Chứng sinh lý	0	0	0
Lô 2: Lô chứng bệnh	86,36	13,84	0
Lô 3: Ranitidin	96,77	3,23	0
Lô 4: Mẫu cao tổng liều 50 mg/kg	87,50	12,50	0
Lô 5: Mẫu cao tổng liều 150 mg/kg	93,62	6,38	0
Lô 6: Mẫu cao tổng liều 450 mg/kg	90,91	9,09	0

Bảng 3.32 cho thấy tỷ lệ % loét nông, loét sâu, loét thủng ở mỗi lô thông qua đếm số điểm loét và cho điểm các điểm loét, từ đó tính tỷ lệ phần trăm.

- Lô chứng bệnh: tỷ lệ tổn thương loét sâu (13,64%) cao nhất trong 5 lô có tiến hành thắt môn vị dạ dày. Tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt ở lô chứng bệnh là 86,36%.

- Lô uống ranitidin: mức độ tổn thương loét có sự cải thiện hơn so với lô chứng bệnh với giảm tỷ lệ tổn thương loét sâu (3,23%), tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt là 96,77%.

- Lô uống mẫu cao toàn phần ở hai mức liều (150 và 450 mg/kg) có sự cải thiện mức độ loét hơn so với lô chứng bệnh: giảm tỷ lệ tổn thương loét sâu (9,09%; 6,38%) và gia tăng tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt (90,91%; 93,62%)

- Lô uống mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg chưa có sự cải thiện mức độ tổn thương loét so với lô chứng bệnh.

Bảng 3.33. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến điểm số loét trung bình, chỉ số loét

Lô nghiên cứu	n	Điểm số loét trung bình	Chỉ số loét UI
Lô 2: Lô chứng bệnh	10	7,50 ± 2,17	15,10 ± 3,87
Lô 3: Ranitidin	10	3,20 ± 1,93***	7,20 ± 3,77***
Lô 4: Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg	10	7,03 ± 1,98*	13,24 ± 3,67*
Lô 5: Mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg	10	5,00 ± 1,89*	10,60 ± 3,62*
Lô 6: Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg	10	3,60 ± 1,84***	7,90 ± 3,31***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (Kiểm định ANOVA một chiều, hậu kiểm LSD)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.33** cho thấy:

- Ranitidin làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

- Lô uống cao toàn phần liều 50 mg/kg/ngày không làm giảm điểm số loét và chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh.

- Lô uống cao toàn phần liều 150 mg/kg/ngày làm giảm đáng kể điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh với mức ý nghĩa quan sát được $p < 0,05$.

- Lô uống mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg/ngày làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh với mức ý nghĩa quan sát được $p < 0,001$.

Bảng 3.34. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH


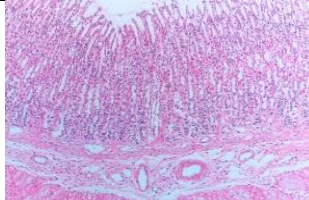

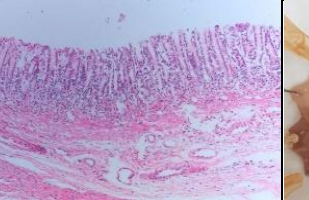
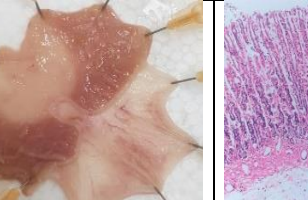
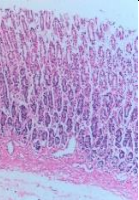

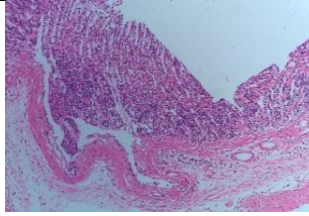

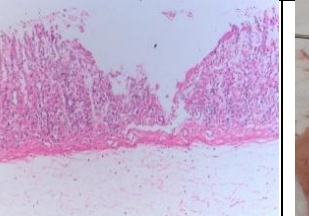
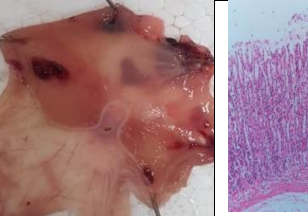
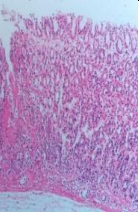
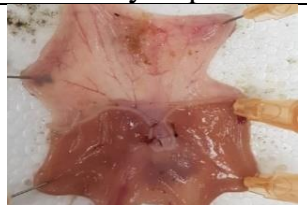
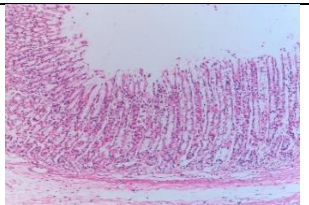

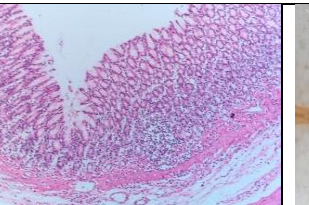
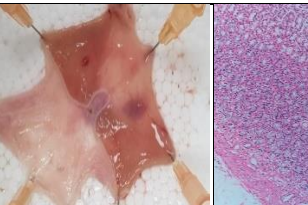
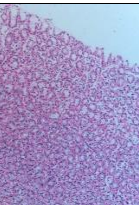
Lô nghiên cứu	Thể tích dịch vị (mL)	Độ acid tự do (meq/l)	Độ acid toàn phần (meq/l)	pH
Lô 2: Lô chứng bệnh	4,40 ± 1,29	14,87 ± 4,09	30,08 ± 7,70	2,46 ± 0,77
Lô 3: Ranitidin	3,17 ± 0,77*	10,54 ± 2,81*	26,30 ± 7,31	3,82 ± 0,56***
Lô 4: Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg	3,32 ± 1,09	20,62 ± 5,43	44,77 ± 8,53	2,91 ± 0,85
Lô 5: Mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg	3,78 ± 0,63	11,03 ± 2,60*	22,93 ± 5,01*	3,93 ± 1,07**
Lô 6: Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg	3,01 ± 1,00*	13,72 ± 3,15	28,73 ± 4,82	3,46 ± 0,62**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (T-test Student)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.34** cho thấy:

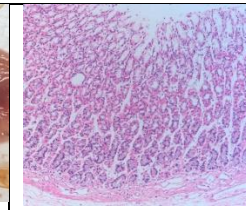
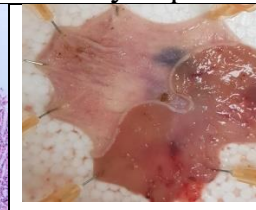
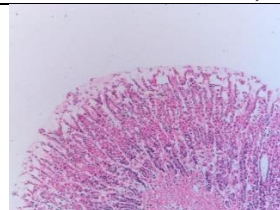
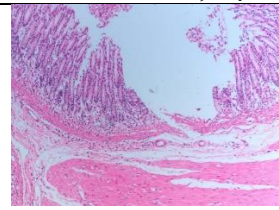
- Ranitidin liều 50 mg/kg làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch vị, độ acid tự do, làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$ và $p < 0,001$)
- Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg/ngày không làm thay đổi đáng kể thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần, pH dịch dạ dày có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).
- Mẫu cao toàn phần với liều 150 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm độ acid tự do, độ acid toàn phần, đồng thời làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$ và $p < 0,01$). Ngoài ra, với liều 150 mg/kg/ngày cao toàn phần có xu hướng làm giảm thể tích dịch vị so với lô chứng bệnh, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg/ngày làm giảm đáng kể thể tích dịch vị, đồng thời làm tăng pH dịch dạ dày có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Mẫu cao toàn phần 450 mg/kg chưa làm giảm độ acid tự do và độ acid toàn phần so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 3.35. Hình ảnh đại thể, vi thể dạ dày chuột ở mỗi lô

<p>Lô chứng sinh lý Trên các mảnh cắt thấy niêm mạc dạ dày bao gồm vùng biểu mô không tuyến và biểu mô tuyến. Vùng biểu mô không tuyến có cấu trúc và hình thái trong giới hạn bình thường. Vùng biểu mô tuyến thấy các tuyến trong mô đậm rõ cấu trúc, có hình thái và cấu trúc trong giới hạn bình thường. Không thấy xâm nhập viêm. Mô dạ dày trong giới hạn bình thường</p>					
					
Chuột # 03, nhuộm HEx40		Chuột # 04, nhuộm HE x 40		Chuột # 08, nhuộm Hex40	
<p>Lô chứng bệnh Trên các mảnh cắt thấy dạ dày có những ổ loét mất lớp niêm mạc chỉ còn lại tuyến, vùng dưới niêm mạc có nhiều chỗ giãn rộng, ít huyết quản.</p>					
					
Chuột # 12, nhuộm HE x 40		Chuột # 13, nhuộm HE x 40		Chuột # 19, nhuộm HE x 40	
<p>Lô ranitidin Cấu trúc dạ dày bình thường, một số vùng có quá sản lớp biểu mô tuyến. Phân hạ niêm mạc bình thường, có ít tế bào viêm, nhiều huyết quản.</p>					
					
Chuột #26, nhuộm HE x 40		Chuột #27, nhuộm HE x 40		Chuột #30, nhuộm HE x 40	

Lô mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg

Dạ dày có ổ loét sâu gần sát cơ niêm, hạ niêm mạc có vùng lỏng lẻo, nhiều tế bào viêm, nhiều huyết quản.



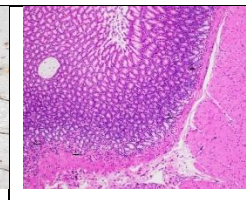
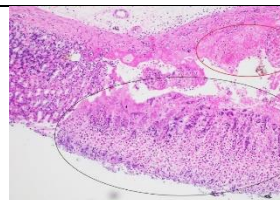
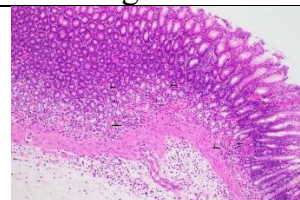
Chuột #35, nhuộm HE x 40

Chuột #34, nhuộm HE x 40

Chuột #37, nhuộm HE x 40

Lô mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg

Trên các mảnh cắt thấy niêm mạc dạ dày bao gồm vùng biểu mô không tuyến và biểu mô tuyến. Vùng biểu mô không tuyến có cấu trúc và hình thái trong giới hạn bình thường. Vùng biểu mô tuyến thấy các tuyến trong mô đệm rõ cấu trúc, có hình thái và cấu trúc trong giới hạn bình thường. Mô đệm tăng nhẹ bạch cầu đa nhân trung tính. Mô dạ dày trong giới hạn bình thường, tăng nhẹ bạch cầu đa nhân trung tính.



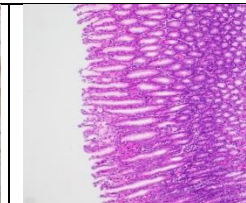
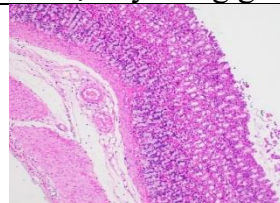
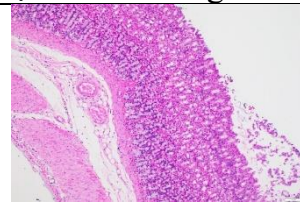
Chuột #49, nhuộm HE x 40

Chuột # 50, nhuộm HE x 40

Chuột # 47, nhuộm HE x 40

Lô mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg

Trên các mảnh cắt thấy niêm mạc dạ dày bao gồm vùng biểu mô không tuyến và biểu mô tuyến. Vùng biểu mô không tuyến có cấu trúc và hình thái trong giới hạn bình thường. Vùng biểu mô tuyến thấy các tuyến trong mô đệm rõ cấu trúc, có hình thái và cấu trúc trong giới hạn bình thường. Không thấy xâm nhập viêm. Mô dạ dày trong giới hạn bình thường.



Chuột # 59, nhuộm HE x 40

Chuột # 52, nhuộm HE x 40

Chuột # 57, nhuộm HE x 40

3.3.3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của các cao phân đoạn.

Các cao phân đoạn *n*-hexan, ethyl acetat và nước của lá Xăng xê được đánh giá tác dụng trên loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng (Shay) thu được kết quả nghiên cứu như sau:

Bảng 3.36. Tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ chuột có loét
Lô 1: Chứng sinh lý	10	0/10
Lô 2: Lô chứng bệnh	10	10/10
Lô 3: Ranitidin	10	9/10
Lô 4: Mẫu cao <i>n</i> -hexan liều 50 mg/kg	10	10/10
Lô 5: Mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg	10	10/10
Lô 6: Mẫu cao nước liều 100 mg/kg	10	10/10

p > 0,05 so với lô chứng bệnh (test khi bình phương)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.36** cho thấy:

- Lô chứng sinh lý: chuột không có hình ảnh loét.
- Lô chứng bệnh và các lô dùng mẫu thử cao phân đoạn *n*-hexan, ethyl acetat và nước có tỷ lệ chuột bị loét dạ dày sau thắt môn vị là 100%, lô dùng ranitidin tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị là 90%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ chuột bị loét giữa các lô uống mẫu nghiên cứu khi so với lô chứng bệnh (*p* > 0,05).

Bảng 3.37. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến mức độ nặng của tổn thương loét

Lô nghiên cứu	Loét nông, loét bề mặt (%)	Loét sâu (%)	Loét thủng (%)
Lô 1: Chứng sinh lý	0	0	0
Lô 2: Lô chứng bệnh	72,46	27,54	0
Lô 3: Ranitidin	93,18	6,82	0
Lô 4: Mẫu cao <i>n</i> -hexan 50 mg/kg	87,50	12,50	0
Lô 5: Mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg	88,68	11,32	0
Lô 6: Mẫu cao nước liều 100 mg/kg	71,19	28,81	0

Nhận xét: Kết quả **Bảng 3.37** cho thấy:

Lô chứng bệnh: tỷ lệ tổn thương loét sâu là 27,54% và tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt là 72,46%.

- Lô uống ranitidin: mức độ tổn thương loét có sự cải thiện hơn so với lô chứng bệnh với giảm tỷ lệ tổn thương loét sâu (6,82%), tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt là 93,18%.

- Các lô uống mẫu cao *n*-hexan 50 mg/kg, mẫu ethyl acetat 50 mg/kg cũng có sự cải thiện mức độ loét hơn so với lô chứng bệnh: giảm tỷ lệ tổn thương loét sâu (11,32%; 12,20%) và gia tăng tỷ lệ tổn thương loét nông, loét bề mặt (88,68%; 87,8%).

- Lô uống mẫu cao nước 100 mg/kg chưa cải thiện mức độ tổn thương so với lô chứng bệnh.

Bảng 3.38. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến điểm số loét

Lô nghiên cứu	n	Điểm số loét trung bình	Chỉ số loét (UI)
Lô 2: Lô chứng bệnh	10	8,80 ± 1,93	16,70 ± 2,91
Lô 3: Ranitidin	10	4,70 ± 2,06**	10,00 ± 3,93**
Lô 4: Cao <i>n</i> -hexan liều 50 mg/kg	10	5,90 ± 2,13*	12,20 ± 4,08
Lô 5: Cao ethyl acetat liều 50 mg/kg	10	4,60 ± 1,90**	9,70 ± 3,59**
Lô 6: Cao nước liều 100 mg/kg	10	7,60 ± 2,22	14,50 ± 3,69

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (Kiểm định Anova một chiều, hậu kiểm LSD)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.38** cho thấy: điểm số loét trung bình và chỉ số loét là khác nhau giữa các nhóm nghiên cứu. Trong đó:

- Ranitidin 50 mg/kg và mẫu thử ethyl acetat liều 50 mg/kg làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

- Mẫu cao *n*-hexan liều 50 mg/kg làm giảm điểm số loét trung bình có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$) và có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô chứng bệnh tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Mẫu cao nước có xu hướng giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 3.39. Ảnh hưởng của các mẫu cao phân đoạn đến thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH dịch vị


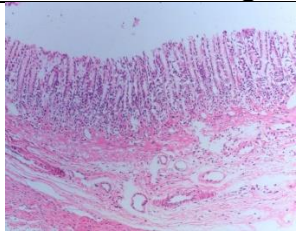

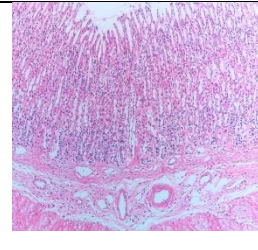

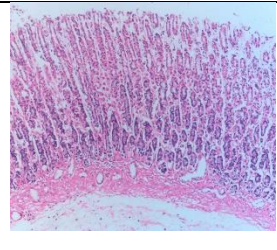

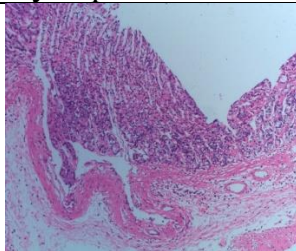

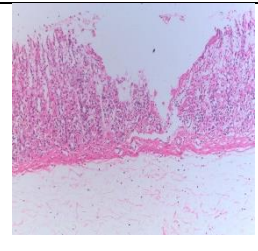
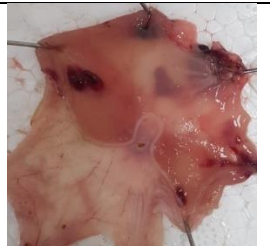
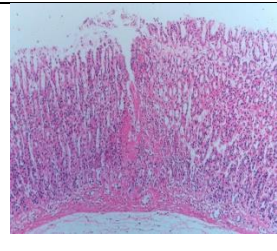

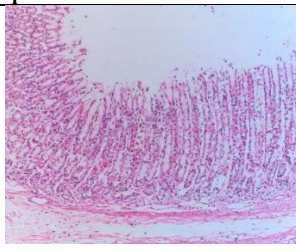
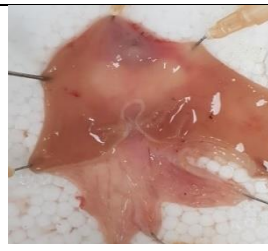
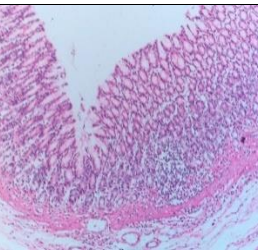

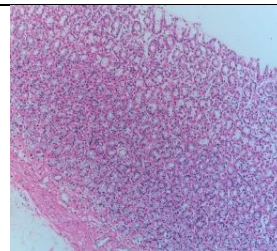
Lô nghiên cứu (n = 10)	Thể tích dịch vị (mL)	Độ acid tự do (meq/L)	Độ acid toàn phần (meq/L)	pH
Lô 2: Lô chứng bệnh	3,77 ± 0,97	21,53 ± 4,81	50,73 ± 7,25	2,52 ± 0,83
Lô 3: Ranitidin	1,43 ± 0,28***	17,33 ± 3,20*	47,00 ± 12,86	3,25 ± 0,49*
Lô 4: Cao <i>n</i> -hexan liều 50 mg/kg	1,34 ± 0,40***	20,12 ± 5,91	41,83 ± 11,07*	3,04 ± 0,67
Lô 5: Cao ethyl acetat liều 50 mg/kg	0,97 ± 0,49***	18,63 ± 5,05	40,87 ± 9,16*	3,38 ± 0,85*
Lô 6: Cao nước liều 100 mg/kg	2,94 ± 0,81	22,56 ± 5,38	46,02 ± 7,77	2,97 ± 0,88

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (T-test Student)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.39** cho thấy:

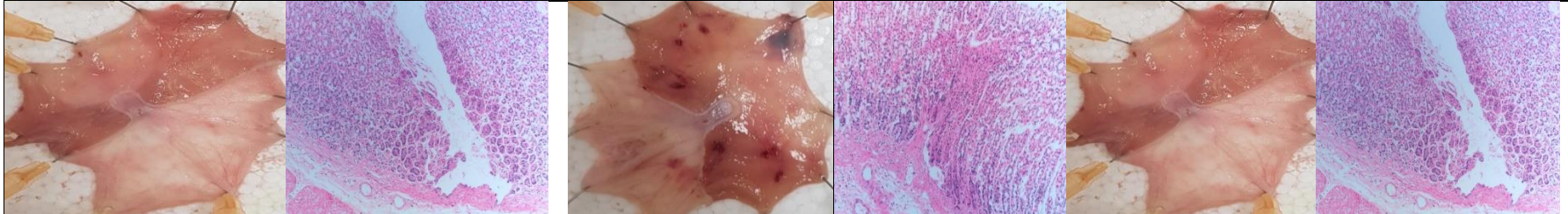
- Ranitidin liều 50 mg/kg làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch vị, độ acid tự do và làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$ và $p < 0,05$)
- Mẫu cao *n*-hexan liều 50 mg/kg/ngày làm giảm đáng kể thể tích dịch vị, độ acid toàn phần so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$ và $p < 0,05$) và có xu hướng làm giảm độ acid tự do, tăng pH dịch vị so với lô chứng bệnh, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)
- Mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch vị, độ acid toàn phần và làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$ và $p < 0,05$), đồng thời có xu hướng làm giảm độ acid tự do so với lô chứng bệnh, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)
- Mẫu cao nước liều 100 mg/kg/ngày không làm thay đổi đáng kể thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần, pH dịch vị có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 3.40. Hình ảnh đại thể, vi thể dạ dày chuột ở mỗi lô

<p>Lô chứng sinh lý Vùng biểu mô có các tuyến trong mô đệm rõ cấu trúc, có hình thái và cấu trúc trong giới hạn bình thường. Không thấy xâm nhập viêm. Mô dạ dày có cấu trúc bình thường.</p>					
					
Chuột # 04, nhuộm HE x 40		Chuột # 03, nhuộm HE x 40		Chuột # 08, nhuộm HE x 40	
<p>Lô chứng bệnh: Trên các mảnh cắt thấy dạ dày có những ổ loét mất lớp niêm mạc chỉ còn lại tuyến, vùng dưới niêm mạc có nhiều chỗ giãn rộng, ít huyết quản.</p>					
					
Chuột # 12, nhuộm HE x 40		Chuột # 13, nhuộm HE x 40		Chuột # 19, nhuộm HE x 40	
<p>Lô ranitidin: Cấu trúc dạ dày bình thường, một số vùng có quá sản lớp biểu mô tuyến. Phần hạ niêm mạc bình thường, có ít tế bào viêm, nhiều huyết quản.</p>					
					
Chuột #26, nhuộm HE x 40		Chuột #27, nhuộm HE x 40		Chuột #30, nhuộm HE x 40	

Lô mẫu cao n-hexan liều 50 mg/kg

Cấu trúc dạ dày bình thường, ít ổ viêm xơ từ dưới cơ niêm, một số vùng quá sản tuyến, hạ niêm mạc có nhiều huyết quản.



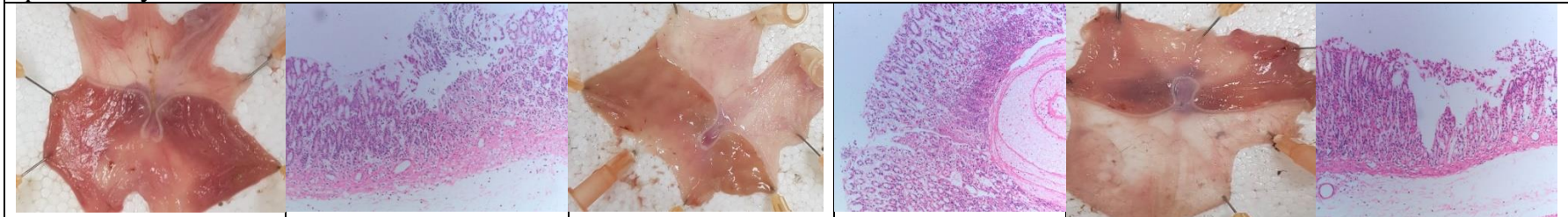
Chuột #43, nhuộm HE x 40

Chuột #44, nhuộm HE x 40

Chuột #43, nhuộm HE x 40

Lô mẫu cao ethyl acetat liều 50 mg/kg

Mô dạ dày có cấu trúc trong giới hạn bình thường. Mô dạ dày có ổ viêm xơ nhẹ từ dưới cơ niêm. Cấu trúc dạ dày có một số vùng quá sản tuyến.

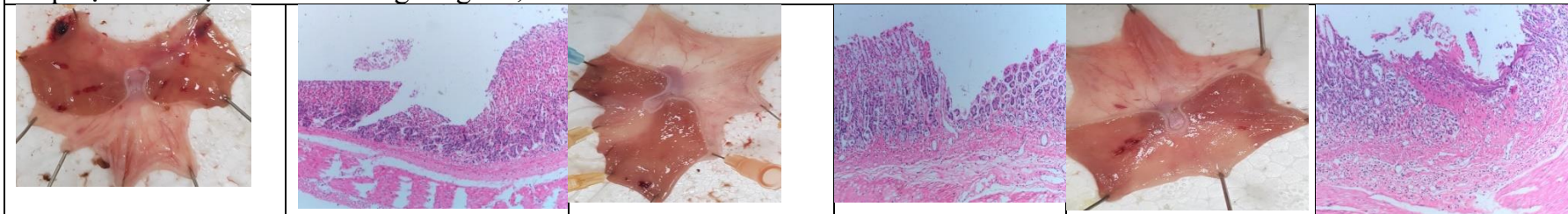


Chuột # 55, nhuộm HE x 40

Chuột # 59, nhuộm HE x 40

Chuột # 52, nhuộm HE x 40

Lô mẫu cao nước liều 100 mg/kg: Dạ dày có ổ loét sâu, các vùng mất các lớp tuyến và niêm mạc sát cơ niêm tạo ổ loét lớn. Lớp hạ niêm mạc có nhiều vùng lỏng lẻo, rải rác có nhiều tế bào viêm.



Chuột # 61, nhuộm HE x 40

Chuột # 69, nhuộm HE x 40

Chuột # 66, nhuộm HE x 40

3.3.4. Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau

* *Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau của các phân đoạn dịch chiết bằng phương pháp tâm nóng*

Bảng 3.41. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng với nhiệt độ ($\bar{M} \pm SD$) (giây)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
Lô 1 Chứng sinh lý	10	18,89 ± 2,86	19,64 ± 2,18	> 0,05
Lô 2 Codein phosphat 20mg/kg	10	18,71 ± 3,72	25,98 ± 2,87***	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 32,3	
Lô 3 Cao toàn phần liều 300 mg/kg/ngày	10	19,14 ± 2,99	20,65 ± 4,55	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 5,1	
Lô 4 Cao toàn phần liều 900 mg/kg/ngày	10	19,75 ± 4,70	21,21 ± 4,04	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 8,0	
Lô 5 Cao n-hexan liều 100 mg/kg/ngày	10	18,26 ± 3,06	22,86 ± 2,73**	< 0,01
% thay đổi so với chứng			↑ 16,4	
Lô 6 Cao n-hexan liều 300 mg/kg/ngày	10	18,86 ± 3,72	23,05 ± 2,53**	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 17,4	
Lô 7 Cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày	10	19,28 ± 2,98	21,48 ± 4,45	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 9,4	
Lô 8 Cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày	10	18,48 ± 3,61	23,89 ± 3,06**	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 21,6	
Lô 9 Cao nước liều 200 mg/kg/ngày	10	19,20 ± 1,92	20,84 ± 4,86	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 6,1	
Lô 10 Cao nước liều 600 mg/kg/ngày	10	19,52 ± 3,72	21,26 ± 3,63	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 8,2	

*Khác biệt so với lô chứng sinh lý (lô 1): *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (t-test ghép cặp)*

Kết quả ở **Bảng 3.41** cho thấy:

- Codein có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$).

- Mẫu cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày và cao nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày đều không thể hiện tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$).

- Mẫu cao *n*-hexan liều 100 và 300 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

- Mẫu cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày có xu hướng làm kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý, tuy nhiên mức tăng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mẫu ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

*** Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau của cao toàn phần và các cao phân đoạn bằng máy đo ngưỡng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer**

Bảng 3.42. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau

Lô chuột	n	Lực gây đau ($\bar{M} \pm SD$) (gram)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
Lô 1 Chứng sinh lý	10	6,29 ± 1,41	6,53 ± 1,06	> 0,05
Lô 2 Codein phosphat 20mg/kg	10	6,54 ± 1,07	8,79 ± 1,38***	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 34,6	
Lô 3 Cao toàn phần liều 300 mg/kg/ngày	10	6,15 ± 1,44	7,05 ± 1,76	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 8,0	
Lô 4 Cao toàn phần liều 900 mg/kg/ngày	10	6,28 ± 1,38	6,95 ± 1,93	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 6,4	
Lô 5 Cao <i>n</i> -hexan liều 100 mg/kg/ngày	10	6,64 ± 1,50	7,73 ± 1,34*	<0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 18,4	
Lô 6 Cao <i>n</i> -hexan liều 300 mg/kg/ngày	10	6,42 ± 1,93	8,00 ± 1,2*	< 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 22,5	

Lô chuột	n	Lực gây đau ($\bar{M} \pm SD$) (gram)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
Lô 7 Cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày	10	6,37 ± 1,23	7,47 ± 1,57	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 14,4	
Lô 8 Cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày	10	6,61 ± 0,89	8,40 ± 1,83*	< 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 28,6	
Lô 9 Cao nước liều 200 mg/kg/ngày	10	6,05 ± 1,35	6,91 ± 1,38	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 5,8	
Lô 10 Cao nước liều 600 mg/kg/ngày	10	6,31 ± 1,96	7,35 ± 1,34	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 12,6	

Khác biệt so với lô chứng sinh lý (lô 1): * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (t-test ghép cặp)

Kết quả ở **Bảng 3.42** cho thấy:

- Codein có tác dụng làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$).

- Mẫu cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày và cao nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày đều không thể hiện tác dụng tăng lực gây phản xạ đau của chuột so với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$).

- Mẫu cao n-hexan liều 100 và 300 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng tăng lực gây phản xạ đau có ý nghĩa thống kê của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$).

- Mẫu cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày có xu hướng làm tăng lực gây phản xạ đau của chuột so với lô chứng sinh lý, tuy nhiên mức tăng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mẫu cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$).

Bảng 3.43. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên thời gian gây đau trên máy đo ngưỡng đau

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng đau ($\bar{M} \pm SD$) (giây)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
Lô 1 Chứng sinh học	10	3,55 ± 0,84	3,68 ± 0,65	> 0,05
Lô 2 Codein phosphat 20mg/kg	10	3,70 ± 0,65	4,84 ± 0,69**	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 31,5	
Lô 3 Cao toàn phần	10	3,45 ± 0,87	4,00 ± 1,06	> 0,05

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng đau (M ± SD) (giây)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
liều 300 mg/kg/ngày				
% thay đổi so với chứng			↑ 8,7	
Lô 4 Cao toàn phần liều 900 mg/kg/ngày	10	3,53 ± 0,83	3,93 ± 1,16	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 6,8	
Lô 5 Cao <i>n</i> -hexan liều 100 mg/kg/ngày	10	3,76 ± 0,90	4,41 ± 0,80*	< 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 19,8	
Lô 6 Cao <i>n</i> -hexan liều 300 mg/kg/ngày	10	3,51 ± 1,02	4,58 ± 0,81*	< 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 24,5	
Lô 7 Cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày	10	3,59 ± 0,75	4,24 ± 0,94	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 15,2	
Lô 8 Cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày	10	3,73 ± 0,55	4,68 ± 1,00*	< 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 27,2	
Lô 9 Cao nước liều 200 mg/kg/ngày	10	3,38 ± 0,82	3,89 ± 0,86	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 5,7	
Lô 10 Cao nước liều 600 mg/kg/ngày	10	3,56 ± 1,18	4,17 ± 0,81	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 13,3	

*Khác biệt so với lô chứng sinh học (lô 1): *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 (t-test ghép cặp)*

Kết quả ở **Bảng 3.43** cho thấy:

- Codein có tác dụng làm kéo dài rõ rệt thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với lô chứng sinh học ($p<0,01$).

- Mẫu cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày đều không thể hiện tác dụng kéo dài thời gian đáp ứng với đau của chuột so với lô chứng sinh học ($p>0,05$).

- Mẫu cao *n*-hexan liều 100 và 300 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng kéo dài thời gian đáp ứng với đau của chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p<0,05$).

- Mẫu cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày có xu hướng làm kéo dài thời gian đáp ứng với đau của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên mức tăng chưa có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Mẫu cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày kéo dài rõ rệt thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với lô chứng sinh học ($p<0,05$).

- Mẫu cao nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày đều không thể hiện tác dụng kéo dài thời gian đáp ứng với đau của chuột so với lô chứng sinh học ($p>0,05$).

CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN

Các loài thuộc chi *Sanchezia* đã được biết đến từ lâu nhưng gần đây một vài loài trong chi mới được quan tâm nghiên cứu tác dụng sinh học và một số tác dụng được ghi nhận như chống oxy hóa, chống viêm, khả năng gây độc tế bào, chống ung thư, tác dụng trên vi khuẩn, nấm... Tuy nhiên chi này vẫn là chưa được nghiên cứu nhiều và hiện nay các nhà khoa học vẫn tiếp tục nghiên cứu để tìm thêm những hợp chất mới, cũng như cung cấp thêm bằng chứng khoa học về tác dụng của cây.

4.1. Về đặc điểm thực vật

Chi *Sanchezia* là một chi thuộc họ Acanthaceae với khoảng hơn 40 loài, cho đến nay số lượng loài thuộc chi còn khác nhau giữa các công bố. Theo khóa phân loại đầu tiên của E. C. Leonard và L. B. Smith năm 194 có 59 loài, theo E.A. Tripp và D. M. Koenemann năm 2015 [91] thì công bố khóa phân loại có 55 loài, theo trang “Plants of the world online” [220] thì chi được phân loại có 44 loài và gần đây nhất là Proggia Paramita Paul [161] xác định chi có 44 loài. Các loài trong nghiên cứu đề cập đến là *S. nobilis*, *S. Speciosa*, *S. oblonga* thì được xác định là đồng danh [220]. Cùng một loài nhưng được các nhà thực vật học khác nhau mô tả, mẫu thu hái ở các địa điểm khác nhau, điều kiện sinh trưởng phát triển khác nhau cũng có thể có những sự khác nhau nhỏ trong đặc điểm thực vật. Tuy nhiên, trong 3 tên loài này chỉ có loài *S. nobilis* là có nghiên cứu công bố về đặc điểm thực vật [27].

Đặc điểm thực vật giữa các loài khác trong chi cũng chỉ khác nhau ở một số điểm nhất định như cuống lá có loài hình trụ, có loài hình tròn, có loài cuống lá trần có loài có rãnh; lá bắc cũng có thể có hình dạng khác nhau, cụm hoa đều 3 nhưng có loài thì hình gần cầu có loại lại hình dài, nhị và nhụy hoa cũng khác nhau đôi chút. Có một số khác biệt của loài *S. nobilis* Hook.f. so với các loài khác có thể thấy như tràng hoa (với loài *S. leucerythra* tràng hoa màu hồng, loài *S. capitata* tràng hoa màu đỏ, *S. aurea* tràng hoa màu cam [27], [91] trong khi loài *S. nobilis* có tràng hoa màu vàng nhạt), lá bắc (với loài *S. leucerythra* lá bắc có hình trứng hay hình mác, với loài *S. capitata* có hình chữ nhật trong khi loài *S. nobilis* lá bắc chỉ hơi nhọn [27]). Chi này phân bố ở khu vực phía Tây Nam Mỹ, tập trung phần lớn ở Peru và Ecuador. Một số ít loài phân bố ở phía bắc và đông của Bắc Mỹ, Trung Mỹ và Caribe [215],

[91]. Ở Việt Nam cũng ghi nhận sự có mặt của cây Xăng xê có ở một số tỉnh như Tuyên Quang, Thừa Thiên Huế, Nam Định, Thái Bình... nhưng cây đều được di thực từ Peru và Ecuador về Việt Nam. Loài Xăng xê trồng ở Việt Nam có đầy đủ đặc điểm đặc trưng chung của chi là gân lá nổi rõ trên mặt lá, có màu đặc trưng. Hoa mọc thành cụm, mẫu của đầu hoa có lá bắc, hoa đều, lưỡng tính, màu vàng, gần như không có cuống.

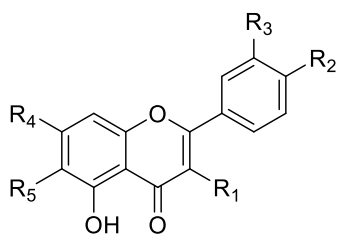
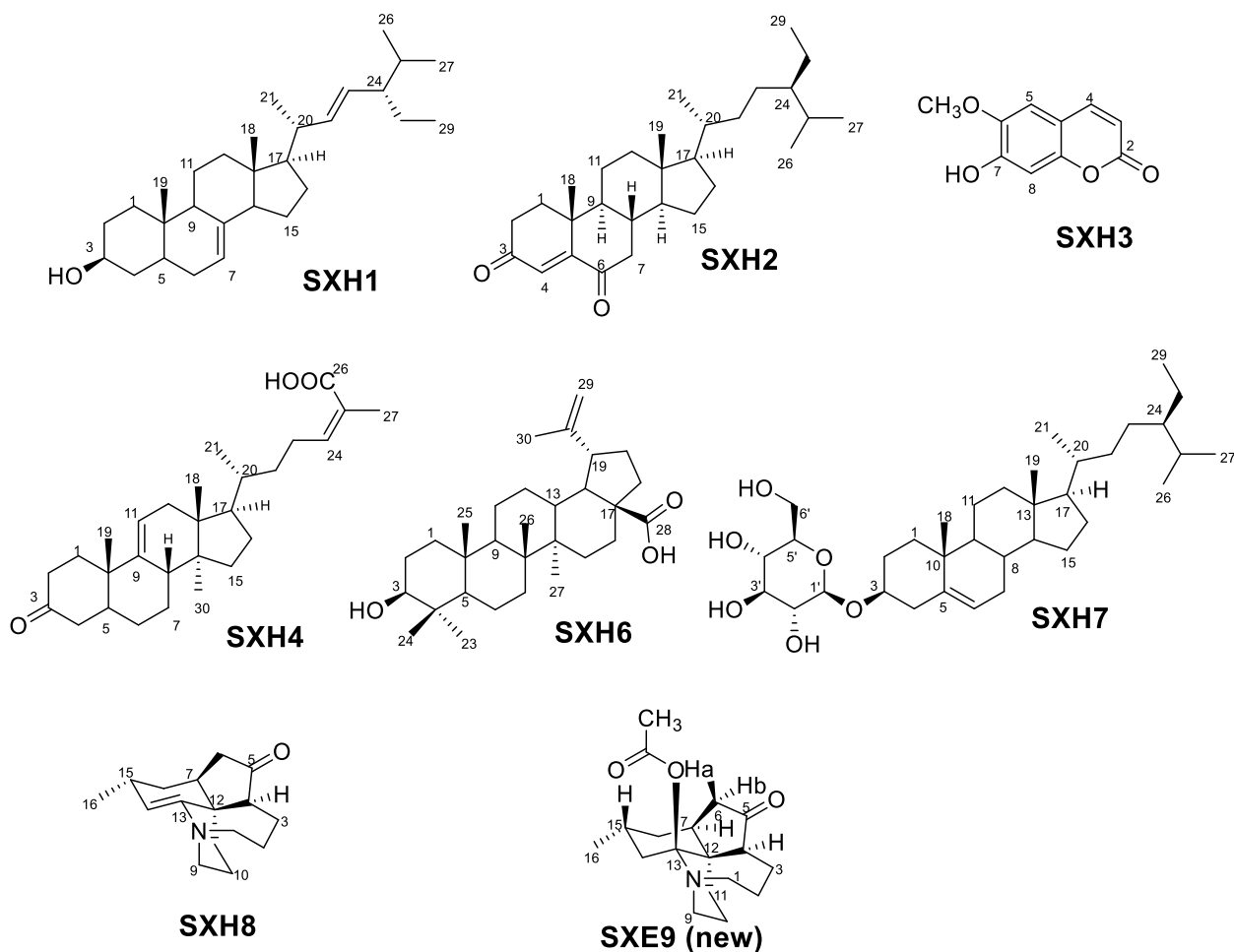
Ở Việt Nam, chi này chỉ có một loài là *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê), loài này còn có tên khoa học khác là *Sanchezia speciosa*, được Phạm Hoàng Hộ mô tả và được liệt kê trong Danh lục các loài thực vật ở Việt Nam [5]. Theo Trung tâm dữ liệu thực vật Việt Nam [221] các tên khoa học này do các nhà khoa học khác nhau mô tả cây và đặt tên khác nhau, nhưng đến nay đã được xác định đều là của một loài. Do đặc điểm thực vật giữa các loài khác nhau không nhiều, cùng 1 loài sống trong các điều kiện khác nhau có thể có sự khác nhau về hình thái. Mẫu cây Xăng xê thu hái ở tỉnh Nam Định được các chuyên gia về thực vật của Viện Dược liệu (ThS Nguyễn Quỳnh Nga) giám định danh pháp cho thấy mẫu cây có đặc điểm thực vật có đặc điểm của loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. [3], [5], [61]. Qua kết quả giám định này một lần nữa chúng ta khẳng định chi *Sanchezia* ở Việt Nam hiện mới phát hiện một loài, chưa ghi nhận sự xuất hiện của các loài khác.

4.2. Về thành phần hóa học loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.

Các loài thuộc chi *Sanchezia* chủ yếu được trồng làm cảnh nên các nghiên cứu về thành phần hóa học chưa nhiều. Chi cũng không phải là chi lớn và các nghiên cứu chủ yếu tập trung ở một số loài *S. nobilis*, *S. speciosa*, *S. oblonga*... Nhưng các tên loài này thì được xác định là đồng danh. Cho đến nay mới có số lượng hạn chế các chất được công bố phân lập từ chi này. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của chi này đều được công bố trong các năm gần đây cho thấy chi này đang được quan tâm nghiên cứu.

Luận án đã tiến hành chiết cao phân đoạn theo độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan, ethyl acetat và nước từ cao toàn phần của lá Xăng xê. Từ 2 phân đoạn có tác dụng chống viêm loét dạ dày là *n*-hexan và ethyl acetat của lá loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê), bằng các phương pháp sắc ký thông thường đã phân lập và xác định được cấu trúc của 20 hợp chất trong đó có 1 hợp chất lần đầu được phân lập từ

tự nhiên, 12 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Sanchezia*. Trong số 20 hợp chất có 12 hợp chất thuộc nhóm flavonoid, 1 dẫn xuất của coumarin, 2 hợp chất thuộc nhóm alkaloid, 2 dẫn xuất của triterpenoid, 3 dẫn xuất sterol. Như vậy nhóm hợp chất chính trong Xăng xê là nhóm flavonoid.



SXE10. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = OH, R₅ = OCH₃

SXE11. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = OH, R₅ = H

SXE12. R₁ = OH, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = OH, R₅ = H

SXE13. R₁ = OH, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OH, R₅ = H

SXE14. R₁ = *O*-β-gal, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OH, R₅ = H

SXE15. R₁ = *O*-α-rha, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OH, R₅ = H

SXE16. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = *O*-β-glu, R₄ = H, R₅ = OCH₃

SXE17. R₁ = H, R₂ = *O*-β-glu, R₃ = H, R₄ = OH, R₅ = OCH₃

SXE18. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = *O*-β-glcA-methyl ester, R₅ = OCH₃

SXE19. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = *O*-β-glcA, R₅ = H

SXE20. R₁ = *O*-rut, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OH, R₅ = H

SXE22. R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = *O*-β-glcA, R₅ = OCH₃

Hình 4.1. Cấu trúc hóa học của 20 hợp chất phân lập từ lá cây Xăng xê

Phân đoạn *n*-hexan

Nghiên cứu đã phân lập và xác định được 6 hợp chất từ phân đoạn *n*-hexan, trong đó có 5 hợp chất lần đầu được phân lập từ chi *Sanchezia*.

***(3 β , 5 α , 22E)-stigmasta-7,22-dien-3-ol hay α -spinasterol (SXH1)**

α -Spinasterol, được phân lập từ các loài như *Spinacia oleracea*, *Melandrium firmum* [148], *Amaranthus spinosus*, *Acacia auriculiformis*... α -spinasterol là một chất đối kháng vanilloid 1 (TRPV1) tiềm năng, có tác dụng chống viêm, chống trầm cảm, chống oxy hóa và chống ung thư, α -spinasterol ức chế hoạt động COX-1 và COX-2 với giá trị IC₅₀ lần lượt là 16,17 μ M và 7,76 μ M [101]. α -spinasterol có tác dụng chống co giật cấp tính, làm tăng ngưỡng co giật phụ thuộc vào liều lượng và làm giảm hành vi giống như trầm cảm ở chuột [177]. Chất cũng được thử nghiệm tác dụng chống viêm trên *in vitro* [93] ức chế tăng sản lạnh tính tuyến tiền liệt ở chuột [148], α -spinasterol có thể là một chất an toàn và hiệu quả thay thế thuốc để điều trị chứng đau và trầm cảm ở bệnh nhân đau cơ xơ hóa [174]. Kết quả của luận án là công bố đầu tiên phân lập hợp chất (3 β , 5 α , 22E)-stigmasta-7,22-dien-3-ol hay α -spinasterol từ chi *Sanchezia*.

* **Stigmast-4-ene-3,6-dion (SXH2)**: hợp chất thuộc nhóm β -sitosterol. Hợp chất được phân lập lần đầu tiên ở loài *Sambucus ebullus* năm 1974 [19]. Hợp chất này đã được nghiên cứu về tác dụng sinh học và cho thấy có tác dụng chống viêm [56], gây độc tế bào [44], bảo vệ thành mạch, giảm đau [40]...tác dụng hiệp đồng với kháng sinh ampicillin [60], tác dụng bảo vệ, chống lại sự tăng sinh Angiotensinogen II của dòng tế bào cơ trơn động mạch chủ A7r5 [31]...Đây là lần đầu tiên hợp chất stigmast-4-ene-3,6-dion được phân lập từ chi *Sanchezia*.

***7-hydroxy-6-methoxy coumarin hay scopoletin (SXH3)**

Scopoletin là một hợp chất coumarin phenolic được chiết xuất từ nhiều cây thuốc, bao gồm *Erycibe purusifolia*, *Aster tataricus*, *Foeniculum vulgare*, và *Artemisia iwayomogi*, cũng như một số cây ăn quả, chẳng hạn như *Lycium barbarum* và *Morinda citrifolia* [200], [100], [138]...Scopoletin đã được chứng minh là có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, chống trầm cảm, hạ huyết áp và bảo vệ thần kinh

[149], [134], [209]. Hơn nữa, một báo cáo gần đây cho thấy scopoletin có hiệu quả trên mô hình chuột bị viêm khớp do tá dược gây ra, làm tăng khả năng ứng dụng nó như một tác nhân điều trị các bệnh tự miễn [164]. Scopoletin đóng một vai trò quan trọng trong y học cổ truyền ở Châu Phi, Châu Á và Châu Âu. Cây chứa scopoletin được sử dụng trong các bệnh như co giật (Nigeria), viêm (Colombia), đau thấp khớp và bệnh phong (Nigeria, Ghana) [75]... Đây là lần đầu tiên hợp chất 7-hydroxy-6-methoxy coumarin hay scopoletin được phân lập từ chi *Sanchezia*.

* **Coccinic acid (SXH4):** Coccinic acid được phân lập lần đầu tiên năm 1986 từ rễ và thân của loài *Kadsura coccinea* bởi Li Lian-niang and Xue Hong [124]. Coccinic acid được tìm thấy trong nhiều vị thuốc cổ truyền Trung Quốc [186]. Các nghiên cứu về tác dụng sinh học của acid coccinic chưa nhiều. Coccinic acid được đánh giá tác dụng trên một số dòng tế bào ung thư như ung thư biểu mô phổi (A549), ung thư biểu mô tuyến tiền liệt (PC-3), ung thư biểu mô biểu bì của mũi họng nhưng chưa thấy có tác dụng [203]. Tế bào hình sao ở gan được coi là đóng vai trò quan trọng trong bệnh xơ gan, acid coccinic được đánh giá tác dụng chống xơ gan bằng cách đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh của tế bào hình sao và cho kết quả khả quan [99]. Kết quả của nghiên cứu là lần đầu tiên acid coccinic được phân lập từ chi *Sanchezia*.

* **Acid 3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic (acid betulinic) (SXH6):** là một triterpenoid năm vòng có nguồn gốc tự nhiên. Nó được tìm thấy trong vỏ của một số loài thực vật, chủ yếu là bạch dương trắng (*Betula pubescens*) [204], ngoài ra còn có cây táo chua (*Ziziphus mauritiana*), cây hạ khô thảo (*Prunella vulgaris*), loài cây ăn thịt nhiệt đới *Triphyophyllum peltatum* và *Ancistrocladus heyneanus*, *Diospyros leucomelas*, một thành viên của họ hồng, *Tetracera boiviniana*, thành viên họ sim (*Syzygium formosanum*) [184], trong lá *Aegiphila integrifolia* (Jacq) Moldenke [128], dịch chiết methanol vỏ thân *Alstonia boonei* [109]... Acid betulinic có nhiều đặc tính sinh học như ức chế vi rút suy giảm miễn dịch ở người (HIV), chống vi khuẩn [80], chống sốt rét [109], tẩy giun sán [152], và các hoạt động chống ung thư [77]... Đặc biệt acid betulinic cho thấy sự ức chế mạnh các đặc tính chống viêm với

IC₅₀ 10,34 µg/mL (COX-1), 12,92 µg/mL (COX-2), 15,53 µg/mL (5-LOX), 15,21 µg/mL (Nitrit), 16,65 µg/mL (TNF- α), và cũng thể hiện mạnh hoạt động chống oxy hóa với IC₅₀ là 18,03 µg/mL [77], [106]. Kết quả của luận án là công bố đầu tiên của acid betulinic từ chi *Sanchezia*.

• **Daucosterol (SXH7)**: Daucosterol có hệ thống vòng cyclopentan perhydrophenanthren, là các hợp chất thuộc nhóm sterol khá phổ biến, có mặt trong đa số các thực vật bậc cao. Daucosterol là một hợp chất glycosid có phần aglycon là β -sitosterol, còn phần đường là glucopyranose nối vào ở vị trí C-3. Trong một nghiên cứu ở trong nước, daucosterol được công bố có ở Cùm rụm răng (*E. dentata* Courch.) và cườm rụng hoa dài (*Ehretia longiflora* Champ. ex Benth) [6]. β -sitosterol có tác dụng chống viêm và không gây ức chế cyclooxygenase (COX) [43], β -sitosterol còn được coi là thuốc giảm đau sinh học. Trong nghiên cứu của Villasenor và cộng sự [40] cho thấy số lượng cơn đau quặn đã giảm ở mức liều tương đương với chứng dương (acid mefenamic). Kết quả nghiên cứu cho thấy cả β -sitosterol và glucoside của nó đều làm giảm số lượng cơn đau quặn (tương ứng 70% và 73%), được gây ra bởi acid acetic. β -sitosterol cũng có tác dụng chống oxy hóa tốt và giảm cholesterol [47], có tác dụng điều hòa miễn dịch (paraoxonase 1) thông qua thụ thể kích hoạt peroxisome proliferator [34]. Trong những năm gần đây cả β -sitosterol và daucosterol được nghiên cứu thêm nhiều tác dụng mới...[45], [59].

Như vậy ở phân đoạn *n*-hexan đã có 6 hợp chất được phân lập, trong đó có 5 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Sanchezia*. Trong 6 hợp chất thì α -spinasterol, stigmast-4-ene-3,6-dion, scopoletin, acid betulinic, daucosterol cho thấy có hoạt tính chống viêm, một số có khả năng chống vi khuẩn, làm giảm cơn đau quặn...Hoạt tính của các hợp chất này góp phần mang lại tác dụng cho phân đoạn *n*-hexan trên viêm loét dạ dày và giảm đau trung ương. Nhưng để có thêm các bằng chứng khoa học thì các nghiên cứu sâu hơn có thể đánh giá các hợp chất tinh khiết phân lập trên tác dụng giảm đau trung ương, viêm loét dạ dày và ức chế vi khuẩn *H.P.*

• **Phân đoạn ethyl acetat**

* Các hợp chất alcaloid: (+)-*fawcettidin* (SXE8) và (+)-*13-O-acetyl fawcettimin* (SXE9).

Nghiên cứu đã phân lập được 2 alkaloid là (+)-fawcettidin (**SXE8**) và (+)-13-*O*-acetyl fawcettimin (**SXE9**). Fawcettimin là một dẫn xuất đại diện cho Lycopodium alkaloids, nhóm các hợp chất rất đa dạng về cấu trúc và tác dụng sinh học. Fawcettimin sở hữu cấu trúc tuần hoàn 6,6,5,7-tetracyclic độc đáo với khung cấu trúc 4 vòng và carbon bất đối. Đã có rất nhiều công bố các chất được phân lập cũng như tổng hợp về nhóm chất này [193]. Đây là nhóm hợp chất lớn chủ yếu được phân lập từ chi *Lycopodium* họ rêu [197]. Những chi thuộc họ này được tìm thấy trên khắp nơi trên thế giới và được sử dụng trong y học cổ truyền nhiều nước [162]. Tác dụng sinh học của nhóm chất này được nghiên cứu trên *in vitro* và *in vivo* chủ yếu với tác dụng chống lão suy. Tuy nhiên fawcettidin và fawcettimin chưa có ghi nhận tác dụng đáng chú ý [160], [197]. Ngày càng nhiều hợp chất hợp chất thuộc nhóm này được phân lập mở ra những hy vọng tìm thấy những hợp chất có tác dụng khác. Kết quả của luận án là lần đầu tiên (+)-fawcettidin được phân lập từ chi *Sanchezia*.

(+)-13-*O*-acetyl fawcettimin là dẫn xuất của fawcettimin, ở vị trí C-13 có gắn thêm nhóm acetyl. Các hợp chất có khung fawcettimin đã công bố trước đây có nhóm acetyl gắn ở vị trí số 8 của khung và đây là lần đầu tiên xác định được chất có nhóm acetyl gắn vào vị trí 13 của khung. Hiện nay chưa có nghiên cứu về hoạt tính của các hợp chất này [211]. Qua tra cứu tài liệu cho thấy hợp chất (+)-13-*O*-acetyl fawcettimin là hợp chất mới lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên.

*Các flavonoid

Hispidulin và dẫn xuất: hispidulin (4',5,7-trihydroxy-6-methoxyflavone) (**SXE10**), hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**SXE16**), hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid (**SXE17**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**SXE18**) và hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE22**). Cả 5 flavonoids này đều là lần đầu tiên được phân lập từ chi *Sanchezia*.

- ***Hispidulin* (SXE10):**

Hispidulin được phân lập từ các cây khác nhau như *Millingtonia hortensis* Linn., *Salvia plebeian* R. Br, *Salvia officinalis*, *Scoparia dulcis* Linn., và các loài *Artemisia* [132]. Hispidulin, nepetin và jaceosidin được phân lập từ *Eupatorium*

arnottianum Griseb được thử nghiệm chống viêm trong phù tai chuột và được cho thấy có hiệu quả tốt [135]. Hoạt động chống viêm tại chỗ của dịch chiết methanolic lá *Santolina insularis* và tất cả các chất được phân lập bao gồm hispidulin đã được nghiên cứu trong thử nghiệm viêm da do dầu croton gây ra ở tai chuột kết quả cho thấy hispidulin giảm phù nề 49% so với indomethacin 59% [92]. Dịch chiết các phân đoạn lá của loài *Clerodendrum inerme* (L.) Gaertn. và 3 flavonoid tách từ lá là acacetin, hispidulin và diosmetin được đánh giá tác dụng chống viêm. Trong số ba hợp chất, hispidulin thể hiện rõ là một chất ức chế sản xuất oxit nitrit và PGE₂ bằng cách ức chế hoạt động liên kết DNA NF-κB và con đường tín hiệu JNK [122]. Hispidulin cho thấy tác dụng kháng nguyên bào xương bằng cách giảm NF-κB, c-Jun-terminal kinase gây ra bởi RANKL và p38 và NFATc1 trong tiền chất hủy xương. Hispidulin cho thấy tác dụng bảo vệ xương ở tế bào RAW 264,7 được kích thích bằng RANKL và tế bào BMM [143]. Hispidulin (40,5,7-trihydroxy-6-metoxylavone) có một số tác dụng dược lý như các chống oxy hóa, chống viêm [172], chống động kinh [207], bảo vệ gan [188]. Đáng lưu ý, các nghiên cứu đã chứng minh hoạt động chống ung thư của hispidulin trong ung thư biểu mô tế bào thận, ung thư túi mật, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào gan, và ung thư đại trực tràng bằng cách gây ức chế tăng trưởng, kích hoạt apoptotic, và ức chế di căn [120]. Hispidulin cho thấy tác dụng ức chế sự phát triển khối u và thể hiện độc tính thấp đặc biệt ở tế bào ung thư biểu mô vòm họng ở chuột với liều lượng 20 mg/kg/ngày [198]. Đây là lần đầu tiên hispidulin được phân lập từ chi *Sanchezia*.

• ***hispidulin-7-O-β-glucopyranosid* (SXE16)** và ***hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid* (SXE22)**.

Hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid được coi là chất đánh dấu hóa học của loài *Plantago asiatica* ở Nhật Bản [205]. Hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid và hispidulin được đánh giá tác dụng chống oxy hóa nhưng cho kết quả chưa khả quan [189]. Hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid được đánh giá về các hoạt động chống viêm *in vitro* thông qua các hoạt động ức chế giải phóng oxit nitrit và IL-6 từ các tế bào đại thực bào RAW 264,7 do LPS gây ra. Hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid

thể hiện khả năng khử oxit nitrit đáng kể ở nồng độ 100 μM tương đương với các chất đối chứng dương là indomethacin [137].

Hispidulin-7-*O*-glucopyranosid (Homoplantagin) thể hiện đặc tính chống oxy hóa với IC_{50} là 0,35 $\mu\text{g/ml}$ trong phương pháp DPPH. Thử nghiệm *in vivo*, Xian-Jun Qu sử dụng mô hình của chuột bị thương gan do vi khuẩn *Bacillus Calmette–Guérin* gây ra để đánh giá hiệu quả của homoplantagin. Homoplantagin (25–100 mg/kg) làm giảm đáng kể sự gia tăng alanin aminotransferase huyết thanh (ALT) và aspartate aminotransferase (AST), giảm mức độ yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α) và interleukin-1 (IL-1) [190].

Theo nghiên cứu của Wu và cộng sự, homoplantagin cải thiện tình trạng kháng insulin nội mô bằng cách ức chế phản ứng viêm và điều chỉnh tín hiệu tế bào thông qua con đường IKK β /IRS-1/pAkt/peNOS, cho thấy nó có thể được sử dụng để phòng ngừa và điều trị rối loạn chức năng nội mô liên quan đến kháng insulin [94].

Akram và cộng sự chứng minh rằng homoplantagin ức chế oxit nitrit và sản xuất PGE₂ và biểu hiện protein iNOS và COX-2 thông qua cảm ứng heme oxygenase-1 (HO-1) thông qua việc kích hoạt yếu tố hạt nhân erythroid 2-liên quan đến yếu tố 2 (Nrf2) [130]. Trong một nghiên cứu khác, chứng viêm do acid palmitic gây ra là bị ức chế bởi homoplantagin thông qua tương tác với phản ứng protein thioredoxin nhạy cảm với oxy (ROS). Homoplantagin có thể bảo vệ các tế bào nội mô khỏi sự tác động của acid palmitic bằng cách khôi phục sự tạo oxit nitrit bị suy giảm [76]. Kết quả của luận án là công bố đầu tiên của hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid và hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid từ chi *Sanchezia*.

- ***hispidulin-4'-O- β -glucopyranosid* (SXE17)**

Được phân lập từ lần đầu tiên từ *Cirsium oligophyllum* vào năm 1999 [180], năm 2003 chất được tìm thấy trong *Cirsium oligophyllum* [102], và gần đây nhất được phân lập từ *Abrus precatorius* [82]. Tuy nhiên hợp chất chưa ghi nhận các công bố về tác dụng sinh học. Đây là lần đầu tiên hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid được phân lập từ chi *Sanchezia*.

• ***hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid methyl ester (SXE18)***

Hợp chất được phân lập từ *Millinotonia hortensis* năm 1995 [179], sau đó được Salah Akkal phân lập từ *Centaurea furfuracea* vào năm 1999 [165]. Hợp chất cũng chưa ghi nhận các công bố về tác dụng sinh học. Hợp chất hispidulin-7-O-β-glucuronopyranosid methyl ester được công bố lần đầu tiên từ chi *Sanchezia*.

Luận án đã phân lập và xác định cấu trúc của hispidulin và 4 dẫn xuất. Đây là lần đầu tiên nhóm hợp chất này được phân lập từ chi *Sanchezia*. Hispidulin và các dẫn xuất của nó cho thấy tác dụng chống viêm, giảm đau, chống oxy hóa... Đây là một nhóm chất tiềm năng mang lại tác dụng chống viêm loét dạ dày cho phân đoạn ethyl acetat. Các nghiên cứu sâu hơn trên nhóm hợp chất này cũng sẽ góp phần cung cấp thêm bằng chứng khoa học cho tác dụng của phân đoạn ethyl acetat lá Xăng xê.

Kaempferol (SXE12) và kaempferol-3-O-α-rhamnopyranosid (SXE15)

Kaempferol (SXE12) và các dẫn xuất của nó được tìm thấy ngày càng nhiều trong nhiều loại thực vật và thực phẩm có nguồn gốc thực vật. Kaempferol được đặt theo tên nhà tự nhiên học người Đức ở thế kỷ 17, Engelbert Kaempfer. Có rất nhiều công trình nghiên cứu về tác dụng của kaempferol và dẫn xuất của nó cho thấy flavonoid này có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, chống ung thư... [70], [74] và hiện nay các nhà khoa học vẫn đang tiếp tục nghiên cứu thêm các tác dụng khác của các hợp chất này như tác dụng ức chế các chất trung gian của quá trình thoái hóa não chuột gây ra bởi acid 3-nitropropionic [195], flavonoids cũng được cho thấy có lợi trong covid-19 và bệnh lý võng mạc [67], hay nghiên cứu để làm tăng hoạt tính chống viêm của kaempferol [187], kaempferol làm giảm béo phì, ngăn ngừa viêm đường ruột và điều chỉnh hệ vi sinh vật đường ruột ở chuột ăn nhiều chất béo... [195].

Kaempferol-3-O-α-rhamnopyranosid (afzelin) (SXE15) là một sản phẩm glycosid flavonol tự nhiên có nguồn gốc từ kaempferol. Afzelin chứa bốn vị trí nhóm hydroxy ở vị trí số 3, 5, 7 và 4 trên flavon. Afzelin được tạo ra bằng cách hình thành liên kết glycosidic giữa nguyên tử 3-O của kaempferol và α-L-rhamnose. Gần đây afzelin đã được đánh giá về các đặc tính sinh học như quét các gốc 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) với giá trị IC₅₀ 6,44 μg/ml [169]. Afzelin có hoạt tính chống lại *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* và *C. neoformans*

(MICs = 8, 16, 2, 16, 4, và 4 µg/ml, tương ứng). Afzelin ức chế sự tăng sinh của tế bào A549, SKOV3 và SK-MEL-2 (EC_{50} = 40,6, 34,5 và 33,9 µg/ml, tương ứng) [202]. Afzelin (26 mg/kg mỗi ngày) làm giảm số lượng bạch cầu ái toan, các chứng viêm khác ở mô hình chuột bị hen dị ứng [140]... Đây là lần đầu tiên afzelin được phân lập từ chi *Sanchezia*.

- ***Apigenin (SXE11) và Apigenin-7-O-β-glucuronopyranosid (SXE19)***

Apigenin có rất nhiều tác dụng hữu ích đã được nghiên cứu thử nghiệm trên nhiều mô hình cả *in vitro* và *in vivo*. Apigenin ngày càng được quan tâm như một chất có lợi và tăng cường sức khỏe, độc tính thấp, apigenin cũng đang được coi là chất hỗ trợ ung thư rất tiềm năng [88], [129], [87]... Apigenin làm giảm chứng viêm thần kinh do acrylonitril gây ra ở chuột [95]. Apigenin được phân lập từ tự nhiên được chứng minh có là một chất điều trị thích hợp chống lại các bệnh viêm nhiễm [121]. Apigenin cho thấy tiềm năng lớn như một tác nhân ức chế quá trình viêm tế bào biểu mô dạ dày do *H.P* gây ra [196], [81]. Khi được thử nghiệm để xem liệu flavonoid có thể ức chế bài tiết TNF-do LPS gây ra trong các đại thực bào chuột có nguồn gốc từ tủy xương, apigenin không hiệu quả như quercetin, luteolin hoặc genistein, nhưng tương tự như kaempferol, diosmetin, Đường như liên kết đôi ở C₂-C₃ và vị trí của vòng B ở 2 đóng góp vào hiệu quả chống viêm cao [136]. Apigenin ức chế sản xuất các cytokine tiền viêm IL-1β, IL-8 và TNF trong các tế bào đơn nhân của lipopolysaccharid estimated và đại thực bào chuột trong ống nghiệm [84], trong các tế bào NIH/3T₃, giảm tình trạng viêm cấp tính bàn chân chuột gây ra bởi carrageenan [139]. Apigenin thể hiện tác dụng chống viêm trên dòng tế bào microglia murine bằng cách giảm sản xuất oxit nitric và prostaglandin E₂ và được tìm thấy để bảo vệ chống lại các tế bào thần kinh [170]. Hoạt tính chống viêm của apigenin thể hiện trên cả tình trạng viêm do lipopolysaccharit gây ra tổn thương phổi [111].

Luteolin, kaempferol, apigenin và quercetin là bốn hợp chất glycosid flavonol phổ biến được tìm thấy trong nhiều loại thực vật có nhiều hoạt tính sinh học. Nghiên cứu hiện tại tập trung vào các hoạt động chống viêm và chống oxy hóa của chúng trong ống nghiệm bằng cách kiểm tra hàm lượng NO, khả năng thực bào, các hoạt

động thu dọn gốc DPPH và ABTS và khả năng chống oxy hóa. Nghiên cứu này chỉ ra rằng tất cả bốn hợp chất ở nồng độ 50, 100 và 200 μM có thể làm giảm cả nồng độ NO và khả năng thực bào, các hoạt động chống oxy hóa của chúng tăng lên khi nồng độ tăng từ 0,5 đến 32,0 $\mu\text{g/ml}$. Ngoài ra, nghiên cứu này sơ bộ cho thấy hoạt động chống oxy hóa tỷ lệ thuận với số lượng nhóm hydroxyl phenolic, và sau khi so sánh các hoạt động chống viêm và chống oxy hóa, các hợp chất có nhóm enol vượt trội hơn so với các hợp chất không có nhóm enol [85].

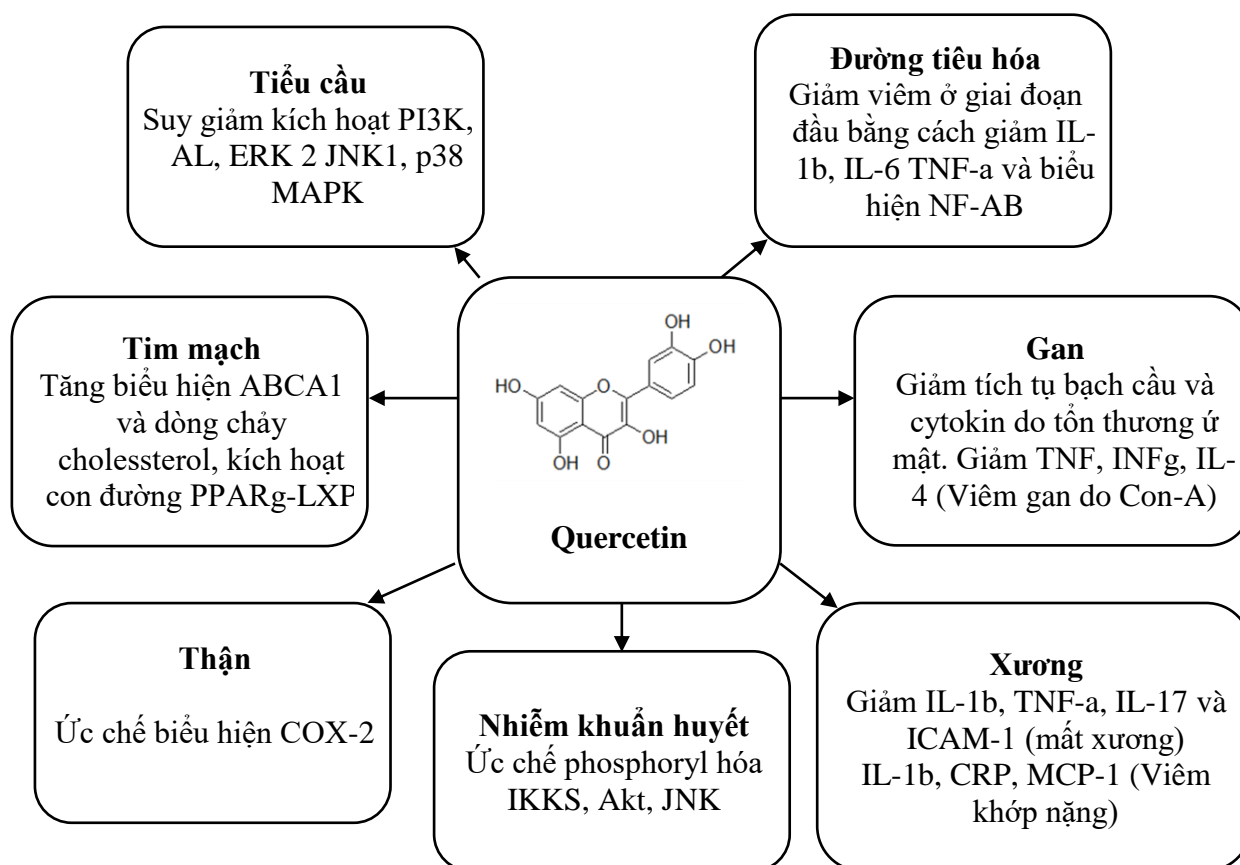
Vitexin và isovitexin, các dẫn xuất C-glycosyl hóa tự nhiên của apigenin, đã được biết đến là có tác dụng chống bệnh tiểu đường, chống bệnh Alzheimer và chống viêm mạnh. Mặc dù tiềm năng chống tiểu đường và chống bệnh Alzheimer tương đối yếu, apigenin cho thấy hoạt động chống viêm mạnh mẽ bằng cách ức chế sản xuất NO và biểu hiện iNOS và COX-2 trong khi vitexin và isovitexin không hoạt động. Do đó, có thể suy đoán rằng C-glycosyl hóa apigenin ở các vị trí khác nhau có thể liên quan chặt chẽ đến cường độ tương đối của các tiềm năng chống tiểu đường, chống bệnh Alzheimer và chống viêm [110].

Apigenin-7- β -O-glucuronopyranosid (AGL) được nghiên cứu tác dụng chống viêm, chống oxy hóa và chống ung thư. Kết quả cho thấy AGL ức chế sự tăng sinh của tế bào Hela (IC_{50} là 47,26 μM ở 48 giờ) bằng cách gây ra quá trình chết tế bào (apoptosis). Hơn nữa, điều trị AGL gây ra sự ngừng pha G0/G1, giảm điện thế màng ty thể (MMP) và nâng cấp sản xuất ROS nội bào. AGL có thể thúc đẩy sự giải phóng cytochrome c bằng cách điều chỉnh các protein họ Bcl-2, và sau đó kích hoạt caspase 9/3 để thúc đẩy quá trình thoái hóa của tế bào. Hơn nữa, điều trị AGL thúc đẩy sự biểu hiện của p16 INK4A, trong khi ức chế sự biểu hiện của Cyclin A/D/E và CDK2/6. Đồng thời trong các tế bào Hela được điều trị bằng AGL, con đường PTEN/PI3K/AKT bị ức chế theo cách phụ thuộc vào nồng độ, và sự di chuyển của tế bào cũng bị cản trở tương ứng thông qua ma trận metalloproteinase 2 và 9. Nghiên cứu về AGL có thể cung cấp một hướng nghiên cứu mới để khai thác các hợp chất tự nhiên mới trong điều trị ung thư cổ tử cung [141].

Quercetin (SXE13), hyperosid (SXE14) và rutin (SXE20)

- **Quercetin**

Quercetin (**SXE13**) là một flavonol tự nhiên (flavonoid) được tìm thấy trong nhiều loại trái cây, rau, lá và ngũ cốc như tiểu hồi hương, cà rốt dại, cam thảo nhẵn, xoài, mướp đắng, hương nhu tía, đàn hương trắng... [71]. Nồng độ cao hơn quercetin được tìm thấy trong hành tây đỏ và trong cà chua [55]... Hợp chất quercetin có đã được chứng minh là có tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư, chống viêm [62], ức chế vi khuẩn, một số chủng virus và nấm [65] và tác dụng giãn mạch [37]. Quercetin có thể bảo vệ não chuột chống lại nhiễm độc thần kinh do chì [32], bảo vệ tế bào cơ tim khỏi tổn thương do thiếu oxy [46], tổn thương thiếu máu cục bộ [66]... Quercetin và các dẫn xuất của nó được chứng minh có hiệu quả chống viêm trên nhiều mô hình, cơ chế. Gần đây nó được báo cáo có thể giảm viêm thông qua một số cơ chế sau [96]:



Hình 4.2. Các hoạt tính chống viêm của quercetin trong các mô hình thử nghiệm

Một kết quả quan trọng khác về đặc tính chống viêm của quercetin đã được tìm thấy trong một số mô hình trên tiêu hóa. Trong viêm tụy cấp liên quan đến tăng triglycerid máu, quercetin có thể làm giảm sớm giai đoạn viêm bằng cách giảm IL-1 β , IL-6, TNF- α mức và biểu thức NF- κ B [113]. Quercetin cũng đã được nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày chuột và trên dòng tế bào biểu mô ruột người (tế bào Caco-2) cho kết quả khả quan [199]. Quercetin được cho là có thể phòng ngừa và/hoặc điều trị các tác dụng phụ liên quan đến thuốc chống viêm không steroid trên tiêu hóa mà không ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của chúng [79]. Quercetin cũng cho thấy hiệu quả trong viêm do gout, do xơ vữa động mạch, trong viêm khớp dạng thấp...

Quercetin làm giảm đáng kể điểm số đau trong giai đoạn viêm mãn tính trong thử nghiệm formalin với liều 10 mg/kg, trong 6 tuần, ở chuột mắc bệnh tiểu đường [108], một loại đau rất khó điều trị. Streptozotocin gây ra chuột mắc bệnh tiểu đường đã được đánh giá đau bằng thử nghiệm ngâm đuôi với thuốc đối chứng là naloxon (2 mg/kg), một chất đối kháng thụ thể opioid. Kết quả nhóm sử dụng quercetin tạo ra một sự gia tăng rõ rệt thời gian trễ, làm tăng ngưỡng chịu đau đáng kể [131]. Quercetin hoạt động như một chất giảm đau bằng cách ức chế sự dẫn truyền cytokine pro-nociceptor và sự trung gian mất cân bằng oxy hóa của đau do viêm [86]. Đây là lần đầu tiên Quercetin được phân lập từ chi *Sanchezia*.

- ***Hyperosid (SXE14)***

Hyperosid là một flavonoid chính được tìm thấy trong *Hypericum perforatum* L. [112]. Hyperosid có nhiều chức năng sinh học như ức chế *E. histolytica* và *G. lamblia* [105], ngăn chặn quá trình oxy hóa gốc tự do của vitamin E trong lipoprotein mật độ thấp của con người, chống lại stress oxy hóa thông qua cảm ứng HO-1 [112], làm giảm tổng lượng cholesterol, tăng hoạt tính superoxid disutase và lipoprotein mật độ cao [125], bảo vệ apoptosis trong tế bào cơ tim chuột gây ra do thiếu máu cục bộ và tổn thương tái tưới máu [126], ức chế Ca²⁺ trong chất chống oxy hóa ở trẻ sơ sinh [208]. Quercitrin và hyperosid trong lá dấp cá được cho là có khả năng chống lại tổn thương tế bào do tia UVB gây ra và làm giảm độc lực các chất trung gian gây viêm do tia UVB, bao gồm IL-6, IL-8, COX-2 và iNOS [150]. Hyperosid thể hiện

hoạt động chống viêm với sự ức chế arachidonic trong phù do acid và phù do dầu croton. Chất cũng ức chế COX-2 và các enzym hyaluronidase [168]. Hyperosid là một chất điều trị để điều trị các bệnh viêm mạch máu thông qua sự ức chế con đường tín hiệu HMGB1 [171], hyperosid ức chế sự tăng sinh, di chuyển và phản ứng viêm do LPS gây ra bằng cách ngăn chặn sự hoạt hóa của con đường tín hiệu NF- κ B, góp phần chống viêm trong viêm khớp do collagen [191].

- **Rutin (SXE 20)**

Rutin là một flavonoid glycosid phổ biến trong trái cây, rau quả và đồ uống có nguồn gốc thực vật [30]. Hợp chất rutin cũng được tìm thấy trong các loại trái cây và hoa của loài hoa dại, hoa quả và vỏ trái cây đặc biệt là các loại trái cây họ cam, bưởi, chanh, và táo, các loại quả mọng như dâu tằm, trái cây và quả nam việt quất. Hợp chất Rutin đã được báo cáo có một số tính chất dược lý bao gồm chống oxy hóa, chống ung thư, bảo vệ tế bào, kháng tiểu cầu, chống huyết khối, vận mạch và hoạt động bảo vệ tim mạch [127], hạ đường huyết [30], ngăn ngừa cục máu đông, bảo vệ thận, làm giảm độc tính do hexachlorobutadien gây ra...[21]

Rutin có hoạt tính chống oxy hóa mạnh đã được chứng minh bằng các thử nghiệm chất chống oxy hóa khác nhau [54], [127], [114]...Rutin được thử nghiệm điều trị viêm đại tràng thực nghiệm và cho kết quả khả quan với liều 10 mg/kg/ngày [145]. Rutin cũng cho thấy hiệu quả đáng kể trên thử nghiệm phù chân chuột do carrageenan và phù tai do xilol [147], [153]. Olaleye và Akinmoladun [50] đã chứng minh tiềm năng chống loét với liều thấp (20 mg/kg/ngày) của rutin trong loét dạ dày ở chuột, rutin cũng được cho là bảo vệ dạ dày trong nghiên cứu thử nghiệm trên chuột dùng indomethacin [104].

Flavonoid là một nhóm lớn các hợp chất phân bố rộng khắp trong giới thực vật. Các flavonoid cũng có rất nhiều tác dụng sinh học đáng chú ý là tác dụng chống viêm, chống oxy hóa mạnh. Ở phân đoạn ethyl acetat có 12 flavonoid được phân lập, nhiều flavonoid cho thấy tác dụng chống viêm tốt trên thực nghiệm như quercetin, apigenin, hispidulin và dẫn xuất, hyperosid, rutin...Đặc biệt quercetin cho thấy có tác dụng giảm đau trên thực nghiệm và chống viêm trên một số mô hình trên tiêu

hóa. Việc phân lập được các hợp chất này phần nào minh chứng cho tác dụng chống viêm loét dạ dày của phân đoạn ethyl acetat lá Xăng xê.

Bên cạnh các kết quả báo cáo trong luận án, lá Xăng xê cũng đã được nhóm tác giả nghiên cứu, trong đó có một số công bố về thành phần hóa học và hoạt tính [9], [11], [8], [78]. Các kết quả trong nghiên cứu tiền đề đã phân lập được các nhóm hợp chất tương đồng với các nghiên cứu của các tác giả khác đã công bố về cây như: sterol, acid hữu cơ, flavonoid... Cụ thể trong phân đoạn *n*-hexan đã phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất: stigmasterol, mangiferin, β -sitosterol, acid margaric, acid ursolic, acid oleanolic. Từ phân đoạn ethyl acetat phân lập 10 hợp chất là: 9-hydroxyheterogorgiolid, 9-methoxycanthin-6-on, *O*-methyl furodysin in lacton, kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosid-7-*O*- α -L-rhamnopyranosid, quercetin-3-*O*- α -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid, scopoletin, epicatechin, kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid, quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosid, 3'-*O*-methyl-3,4-methylen edioxyellagic acid.

Từ các kết quả của luận án và các nghiên cứu tiền đề cho thấy không có sự trùng lặp, các kết quả này đã làm phong phú thêm các nghiên cứu về thực vật học và tác dụng sinh học, và góp phần bổ sung thêm những nghiên cứu mới về cây Xăng xê cũng như của chi *Sanchezia*.

4.3. Về độc tính và tác dụng sinh học của loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.

4.3.1. Về độc tính

Độ độc cấp tính được định nghĩa là độ độc thể hiện sau khi phơi nhiễm một thời gian ngắn với chất độc. Nghiên cứu độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của mẫu thử, dự đoán triệu chứng và dự kiến biện pháp điều trị ngộ độc cấp, thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính và tác dụng cũng như phạm vi an toàn của mẫu nghiên cứu.

Từ cao toàn phần và cao 3 phân đoạn của lá Xăng xê được thử độc tính cấp theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và theo qui định của Bộ y tế. Liều các cao cho chuột uống là liều tối đa có thể pha loãng để cho chuột uống vẫn dung nạp được 1

lần/ngày chưa xác định được liều LD₅₀. Với lượng cao toàn phần cho chuột uống (12 g/kg/ngày) tương đương với 50 g cao/người/ngày (khoảng 600 g DL khô/người/ngày). Với mức liều như vậy có thể khẳng định dùng lá Xăng xê đúng liều ít khả năng gây ra ngộ độc cấp tính.

Cho tới nay, các công bố về độc tính cấp của các dịch chiết từ chi *Sanchezia* còn rất hạn chế. Năm 2015, Albu Shuaib và cộng sự [218] đã thử độc tính cấp của phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat trên ấu trùng tôm nước mặn. Giá trị LC₅₀ của các phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat được tìm thấy là 19,95 µg/mL và 12,88 µg/mL so với vincristine sulphate kiểm soát dương tính có giá trị LC₅₀ đáng kể là 10,96 µg/mL. Nusrat Shaheen và cộng sự (2017) cũng thử độc tính trên ấu trùng tôm từ cao chiết dichloromethan và methanol của vỏ, lá và rễ loài *Sanchezia speciosa* trồng ở Multan [51]. Kết quả cho thấy, mức độ gây chết khác nhau đã được quan sát khi tiếp xúc với các liều thử nghiệm khác nhau và tỷ lệ tử vong được tìm thấy tỷ lệ thuận với nồng độ chất chiết được thử nghiệm. Trong đó, cao chiết dichloromethan của rễ cây có tác dụng gây độc đáng kể với IC₅₀ là 2,52 µg/mL so với chất đối chứng etoposide có IC₅₀ là 7,46 µg/mL. Ấu trùng tôm thường rất nhạy cảm với hợp chất có hoạt tính sinh học độc hại. Nhưng thử nghiệm trên chuột cho kết quả đáng tin cậy hơn.

Theo kết quả định tính tham khảo được có thể thấy, trong lá của cây Xăng xê trồng ở Việt Nam có sự có mặt của nhóm alkaloid và kết quả nghiên cứu cũng phân lập được 2 alkaloid là fawcettidin và 13-*O*-acetyl fawcettimin trong phân đoạn ethyl acetat. Alkaloid là thành phần gây độc tính hay có trong dược liệu. Mặt khác, thuốc dược liệu, thuốc có nguồn gốc từ dược liệu thì thường được người dân sử dụng lâu dài, đôi khi sử dụng như một loại nước uống. Phân đoạn ethyl acetat cũng cho thấy tác dụng khả quan nhất trên viêm loét dạ dày và có tác dụng giảm đau. Việc sử dụng phân đoạn này thay cho việc sử dụng cao toàn phần có thể nâng cao hiệu quả sử dụng trên lâm sàng. Nghiên cứu lựa chọn phân đoạn ethyl acetat với mức liều tương đương và mức liều gấp 5 lần liều dùng trên người đã để đánh giá độc tính bán trường diễn. Kết quả phân đoạn ethyl acetat không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng mặc dù trên hình ảnh vi thể gan chuột có thấy thoái hóa nhẹ nhưng không có sự khác biệt so với lô chứng. Dấu hiệu thoái hóa nhẹ ở trên tế bào gan nhưng chưa

biểu hiện ra trên các chỉ số hóa sinh là phản ứng bình thường của gan khi có tiếp xúc với tác nhân trong thời gian dài, và gan sẽ tự hồi phục khi không còn tiếp xúc với tác nhân. Như vậy với phân đoạn có chứa alcaloids thì việc sử dụng dài ngày vẫn tương đối an toàn. Đây là công bố đầu tiên về độc tính bán trường diễn của loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. thu hái ở Việt Nam và trên thế giới.

4.3.2. Về tác dụng sinh học

4.3.2.1. Về tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng (Shay)

- Về mô hình thắt môn vị

Viêm loét dạ dày là một bệnh đường tiêu hóa chính ảnh hưởng đến khoảng 8,4 % dân số thế giới [154]. Thắt môn vị là phương pháp phổ biến nhất để chẩn đoán tổn thương dạ dày ở chuột. Phương pháp này các tổn thương được gây ra thông qua sự kích thích của các thụ thể histamin-2 (H2R) dẫn đến tăng tiết acid clohydric (HCL) bên trong dạ dày, làm tăng acid dịch vị và thay đổi pH dạ dày [175]. Thắt môn vị gây ra hiện tượng tăng tiết acid quá mức gây ra sự tự tiêu của niêm mạc dạ dày và phá vỡ hàng rào niêm mạc dạ dày, dẫn đến tổn thương đường tiêu hóa trên bao gồm tổn thương, loét và xuất huyết. Điều này dẫn đến tích tụ acid dịch vị và phát triển loét trong dạ dày. Thuốc kháng thụ thể histamin-2 được báo cáo là loại thuốc chống co thắt phổ biến nhất với hiệu quả chống lại sự thắt môn vị trên mô hình [173]. Các tác nhân làm giảm tiết acid và tăng tiết chất nhày có hiệu quả trong việc ngăn ngừa các vết loét do phương pháp này gây ra như ranitidin. Ranitidin là thuốc đối kháng thụ thể H₂ histamin, ức chế cạnh tranh với histamin ở thụ thể H₂ của tế bào viền, làm giảm lượng acid dịch vị tiết ra cả ngày và đêm, cả trong tình trạng bị kích thích bởi thức ăn, insulin, amino acid, histamin, hoặc pentagastrin. Ranitidin có tác dụng ức chế tiết acid dịch vị mạnh hơn cimetidin từ 3 - 13 lần.

- Mức liều lựa chọn

Dược liệu khô được chiết ngâm trong ethanol 80⁰, 3 ngày x 3 lần ở nhiệt độ phòng, sau đó thu được dịch chiết toàn phần. Dịch chiết được thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, đến khối lượng không đổi (độ ẩm là 3,82%). Hiệu suất chiết của lá Xăng xê khoảng 8,9%. Liều dùng của lá Xăng xê khô trên người chưa có tài liệu nào

đề cập nên nghiên cứu sử dụng mức liều hay sử dụng của dược liệu khô là khoảng 12 g/ngày, kết hợp với hệ số ngoại suy sang chuột cống trắng là 5-7, như vậy mức liều cao toàn phần sử dụng trên chuột cống để tương đương liều dược liệu khô trên người là khoảng 150 mg/kg thể trọng chuột/ngày. Do đó, nghiên cứu đã lựa chọn 3 mức liều cao toàn phần để đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày, tá tràng trên mô hình thất môn Shay trên chuột cống trắng là 50, 150 và 450 mg/kg thể trọng chuột/ngày. Kết quả trên cao toàn phần cho thấy với mức liều 150 mg/kg thể trọng chuột /ngày ghi nhận có tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng, giảm mức độ tổn thương, giảm thể tích dịch vị và pH dạ dày.

Nghiên cứu đã tiến hành chiết các cao phân đoạn bằng các dung môi theo thứ tự có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan, ethyl acetat và nước. Từ liều cao toàn phần có tác dụng (150 mg/kg thể trọng chuột/ngày), hiệu suất chiết và độ ẩm các cao phân đoạn, nghiên cứu đã tính toán mức liều cho cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat là 50 mg/kg thể trọng chuột/ngày và nước là 100 mg/kg thể trọng chuột /ngày để đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng (Shay), để xem xét tác dụng của cao toàn phần đến từ cao phân đoạn nào. Từ đó có thể định hướng tăng hiệu quả của dược liệu khi sử dụng các cao phân đoạn thay vì cao toàn phần. Nghiên cứu đã thiết kế mức liều thử nghiệm đảm bảo logic, hợp lý và khoa học.

- Kết quả của thử nghiệm cao toàn phần

Với mức liều 50 mg/kg thể trọng chuột /ngày, cao toàn phần chưa thể hiện tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng ở tất cả các chỉ số. Với mức liều 150 mg/kg thể trọng chuột /ngày tương đương với mức liều điều trị trên người, cao toàn phần làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét, độ acid tự do, độ acid toàn phần, đồng thời làm tăng pH so với lô chứng bệnh có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên với mức liều này cao toàn phần làm giảm thể tích dịch vị và có sự cải thiện trên hình ảnh đại thể và vi thể so với lô chứng bệnh nhưng không có ý nghĩa thống kê. Với mức liều 450 mg/kg thể trọng chuột/ngày, cao toàn phần là giảm điểm số loét trung bình, chỉ số loét, thể tích dịch vị và làm tăng pH dịch vị dạ dày so với lô chứng bệnh đồng thời có xu hướng làm giảm độ acid tự do và độ acid toàn phần; có sự cải thiện hình ảnh

đại thể và vi thể so với lô chứng bệnh. Do đó, để đánh giá rõ hơn tác dụng của cao toàn phần lá Xăng xê cần có thêm các nghiên cứu sâu hơn. Kết quả của nghiên cứu này là nghiên cứu đầu tiên của lá Xăng xê trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng (Shay) khẳng định lá Xăng xê có tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng.

- Kết quả thử nghiệm trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng của các cao phân đoạn.

Trên các cao phân đoạn với mức liều tương đương mức liều dùng trên người, phân đoạn cao nước không thể hiện tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng. Cao phân đoạn *n*-hexan làm giảm điểm số loét trung bình, thể tích dịch vị và độ acid toàn phần, nhưng phân đoạn này chỉ có xu hướng làm giảm chỉ số loét, độ acid tự do và tăng pH dịch vị so với lô chứng bệnh. Phân đoạn ethyl acetat giảm ở tất cả các chỉ số và mức độ giảm ở các chỉ số có xu hướng tốt hơn ở phân đoạn *n*-hexan và tương đương với lô dùng ranitidin, như chỉ số điểm số loét trung bình trong khi phân đoạn *n*-hexan là $5,90 \pm 2,13$ ($p < 0,05$) thì phân đoạn ethyl acetat là $4,60 \pm 1,90$ ($p < 0,01$), lô ranitidin là $4,70 \pm 2,13$ ($p < 0,01$) hay ở chỉ số loét phân đoạn *n*-hexan là $12,20 \pm 4,08$ ($p > 0,05$) trong khi phân đoạn ethyl acetat là $9,70 \pm 3,59$ ($p < 0,01$), tương đương với kết quả lô dùng ranitidin $10,00 \pm 3,93$ ($p < 0,01$)...Như vậy có thể thấy tác dụng trên viêm loét dạ dày của các cao phân đoạn lá Xăng xê thì cao phân đoạn ethyl acetat cho hiệu quả rõ ràng nhất.

Trong kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của mẫu nghiên cứu đến thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH không đưa vào kết quả của lô chứng sinh lý. Trên thực nghiệm, rất khó để có thể thu được thể tích dịch vị dạ dày ở chuột do thể tích dịch vị lấy được rất ít gần như không đủ để đánh giá độ acid. Trong các nghiên cứu đã được công bố sử dụng phương pháp này các tác giả chỉ sử dụng nhóm chứng bệnh trong so sánh các kết quả thử nghiệm để đánh giá tác dụng của mẫu nghiên cứu so với thuốc đối chứng và không dùng lô chứng sinh lý [69].

Tác dụng chống viêm loét dạ dày của phân đoạn ethyl acetat có thể được giải thích là nhờ các thành phần hóa học đã phân lập được. Các hợp chất phân lập được từ phân đoạn ethyl acetat chủ yếu là các flavonoids có tác dụng chống viêm, giảm đau, làm lành vết thương đã được chứng minh bằng thực nghiệm như quercetin

[96], [62]...apigenin [121]...hispidulin và dẫn xuất [92], [137]...hyperosid [168]... Đặc biệt quercetin cho thấy có tác dụng chống viêm trên một số mô hình trên tiêu hóa [113], [199] hay apigenin cho thấy tiềm năng ức chế quá trình viêm tế bào biểu mô dạ dày do *H.P* gây ra [81], [196] và rutin cho kết quả tốt trên viêm dạ dày thực nghiệm [145], tiềm năng chống loét dạ dày liều thấp (20 mg/kg/ngày) [50] và khả năng bảo vệ dạ dày trong mô hình gây viêm dạ dày chuột dùng indomethacin [104]. Qua kết quả của luận án, có thể khẳng định phân đoạn ethyl acetat có xu hướng tác dụng tốt với bệnh viêm loét dạ dày, đây là một gợi ý để chúng ta có thể tăng hoạt tính sinh học của cao chiết khi ứng dụng nghiên cứu phát triển sản phẩm. Trong khi đó các chất phân lập được của phân đoạn *n*-hexan chưa cho thấy có nhiều nghiên cứu về tác dụng chống viêm, làm lành vết thương, đây cũng là hạn chế của luận án. Trong các nghiên cứu tiếp theo, cần phân lập thêm các hợp chất và đánh giá tác dụng dược lý của các chất đã phân lập được để cung cấp thêm bằng chứng khoa học giải thích cho kết quả dược lý.

Trong nghiên cứu tiền đề trước đây [78], nhóm tác giả cũng đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê trên mô hình gây loét bằng indomethacin. Kết quả cao toàn phần và cao nước chưa thể hiện tác dụng chống loét trên mô hình indomethacin, cao *n*-hexan và ethyl acetat làm giảm chỉ số loét và % ức chế loét. Một kết quả nữa trong nghiên cứu tiền đề [183] là phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat được đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày, tá tràng trên mô hình gây loét bằng cysteamin. Phân đoạn *n*-hexan cải thiện mức độ tổn thương loét, có xu hướng làm giảm số ổ loét trung bình, tuy nhiên không làm thay đổi diện tích ổ loét và chỉ số loét. Phân đoạn ethyl acetat cải thiện mức độ tổn thương loét, làm giảm rõ rệt số ổ loét trung bình và chỉ số loét, tuy nhiên không làm thay đổi diện tích ổ loét. Như vậy trong nghiên cứu trước phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat cho thấy có hiệu quả trên viêm loét dạ dày trên mô hình gây viêm loét bằng indomethacin và cysteamin. Gây loét dạ dày bằng indomethacin là mô hình dùng để nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của thuốc theo cơ chế tăng cường yếu tố bảo vệ mà chủ yếu là tăng chất nhày bảo vệ niêm mạc, còn cysteamin gây co mạch đặc biệt chủ yếu gây co mạch ở tá tràng, thiếu máu và thiếu oxy dẫn đến gây loét. Cách thiết kế mức liều thử nghiệm trong nghiên cứu

trước khác với nghiên cứu này nhưng kết quả của nghiên cứu trước có thể cung cấp thêm thông tin về cơ chế tác dụng của các cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat trên viêm loét dạ dày, tá tràng. Trong nghiên cứu này, tôi đã sử dụng phương pháp thất môn vị trên chuột cống trắng. Đây là lần đầu tiên lá Xăng xê được đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng (Shay). Trên mô hình thất môn vị, ngoài đánh giá được các chỉ số về tỷ lệ loét, mức độ nặng của tổn thương loét, điểm số loét và chỉ số loét, phương pháp này còn cho phép đánh giá tác động của thuốc/mẫu nghiên cứu lên thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH. Như vậy phương pháp đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị cho thấy cơ chế tác dụng của mẫu nghiên cứu là tăng cường yếu tố bảo vệ chủ yếu bằng giảm tiết acid và tăng tiết chất nhày.

4.3.2.2. Về tác dụng giảm đau trung ương

Có nhiều nguyên nhân và cơ chế gây đau nên trên thực nghiệm có nhiều mô hình nghiên cứu tác dụng giảm đau. Mỗi mô hình gây đau sẽ đại diện cho một loại cơ chế đau nhất định và được dùng để đánh giá tác dụng của một loại cơ chế giảm đau của mẫu nghiên cứu. Khi tác nhân gây đau tác động vào cơ thể, cảm giác đau sẽ được mã hóa thành luồng xung động thần kinh. Các xung động này truyền lên đồi thị để khuyếch đại cảm giác đau làm cơ thể có thể cảm nhận được rồi tiếp tục truyền lên vỏ não để xác định loại phản ứng đối phó của cơ thể. Đau trong viêm loét dạ dày tá tràng thường là đau trung ương, do đó nghiên cứu sử dụng các phương đánh giá tác dụng giảm đau trung ương để đo lường hiệu quả giảm đau của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.

Phương pháp “tấm nóng” (hot plate) là một phương pháp nghiên cứu đánh giá tác dụng giảm đau trung ương. Phương pháp này được tiến hành trên chuột uống codein phosphat và uống mẫu nghiên cứu, đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ, đặt chuột lên tấm nóng (máy hot plate), luôn duy trì ở nhiệt độ 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên tấm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Loại bỏ những chuột có phản ứng quá nhanh (trước

8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi uống thuốc thử và với uống codein phosphat [163].

Tương tự như phương pháp “tấm nóng”, ở đây nghiên cứu sử dụng máy để đo ngưỡng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer với nhiều ưu điểm hơn như tính nhất quán trong áp dụng lực, tốc độ và hướng, thử nghiệm nhanh và cho hiệu quả cao hơn. Ngoài ra, sử dụng máy đo ngưỡng đau giúp nghiên cứu có thể cài đặt các thông số phù hợp với nghiên cứu, cũng có thể linh động trong cách tính điểm thủ công khi hành vi của động vật khó phát hiện tự động [159].

Từ mức liều cao toàn phần có tác dụng là 150 mg/kg thể trọng chuột cống/ngày, từ tỷ lệ chiết các cao phân đoạn và độ ẩm các cao phân đoạn kết hợp với hệ số ngoại suy trên chuột nhắt trắng (12), nghiên cứu đã sử dụng mức liều là 100 và 300 mg/kg thể trọng chuột/ngày của các phân đoạn ethyl acetat và *n*-hexan, 200 và 600 mg/kg thể trọng chuột/ngày của cao nước, 300 và 900 mg/kg thể trọng chuột/ngày của phân đoạn cao toàn phần để đánh giá tác dụng giảm đau.

Kết quả thử nghiệm từ cao toàn phần và các cao phân đoạn cho thấy cao toàn phần và cao phân đoạn nước ở cả 2 mức liều không thể hiện tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình tấm nóng, phân đoạn *n*-hexan ở cả 2 mức liều đều có xu hướng thể hiện tác dụng có ý nghĩa thống kê. Phân đoạn ethyl acetat thì có xu hướng giảm đau trung ương nhưng chỉ mức liều cao là có ý nghĩa thống kê. Ở mô hình tấm nóng, theo gợi ý của tác giả trong “Nghiên cứu thuốc và các sản phẩm dược phẩm” [73] để khẳng định mẫu nghiên cứu có tác dụng giảm đau có ý nghĩa khi thời gian sau khi dùng mẫu nghiên cứu tăng lên so với trước khi dùng từ 50% đến 100%. Như vậy kết quả của luận án, chưa khẳng định được xu hướng tác dụng giảm đau trung ương của phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat. Để tăng độ tin cậy của kết quả nghiên cứu, luận án sử dụng thêm một phương pháp khác để đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết lá Xăng xê. Kết quả nghiên cứu trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau cho thấy ở cả 2 chỉ số là lực gây đau và thời gian phản ứng đều ghi nhận kết quả tương tự với phương pháp tấm nóng. Qua kết quả cả 2 mô hình thì có thể khẳng định cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat của lá Xăng xê có xu hướng làm giảm đau trung ương.

Các kết quả của nghiên cứu trước đây cho thấy cao chiết methanol vỏ và rễ của Xăng xê thì có tác dụng giảm đau trung ương khá tốt và có thể so sánh được với chứng dương [155], nhưng cao chiết ethanol cây Xăng xê được đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình acid acetic cho thấy tác dụng yếu và cũng chưa so sánh được với chứng dương [161].

Trong nghiên cứu tiền đề trước đây nhóm tác giả cũng đã đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat lá Xăng xê trên 2 mô hình là tấm nóng và rê kim [10]. Trong quy trình chiết và cách xác định mức liều thử có sự khác biệt so với nghiên cứu này, do đó kết quả cũng có sự khác biệt khi phân đoạn *n*-hexan chưa cho kết quả giảm đau trung ương, phân đoạn ethyl acetat thì cho kết quả giảm đau trung ương có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên mức liều thử của phân đoạn *n*-hexan trong nghiên cứu trước chỉ bằng 1/3 mức liều thử của phân đoạn ethyl acetat. Kết quả thu được trong nghiên cứu trước là gợi ý quan trọng để tôi thiết kế nghiên cứu này được hoàn thiện và thu được kết quả tin cậy hơn.

Trong kết quả của nghiên cứu này có điểm rất thú vị đó là mặc dù tác dụng giảm đau của phân đoạn ethyl acetat phụ thuộc vào liều, do kết quả thu được cho thấy khi phân đoạn ethyl acetat không thể hiện tác dụng tốt ở mức liều thấp (liều 100 mg/kg thể trọng), nhưng khi tăng lên mức liều 300 mg/kg thì có sự gia tăng tác dụng rất nhanh (ở mô hình tấm nóng từ tác dụng giảm đau tăng 9,4% lên 21,6%, và ở mô hình máy đo ngưỡng đau từ 14,4% lên 28,6%), trong khi đó ở phân đoạn *n*-hexan không thể hiện tác dụng giảm đau phụ thuộc vào liều, khi gia tăng mức liều lại không mang lại nhiều sự gia tăng tác dụng (mô hình tấm nóng từ 16,4% lên 17,4%, mô hình máy đo ngưỡng đau từ 18,4% lên 22,5%). Hạn chế của luận án là chưa đánh giá được tác dụng của các chất tinh khiết phân lập được. Các nghiên cứu tiếp theo có thể đánh giá hoạt tính giảm đau trung ương của các chất tinh khiết phân lập được nhằm xác định được hoạt chất chính mang lại tác dụng này cho các cao phân đoạn và giải thích rõ ràng hơn điểm thú vị trong nghiên cứu này.

Một trong những nguyên nhân gây viêm loét dạ dày tá tràng là do vi khuẩn *H.P* [14], [142]. Nghiên cứu cũng đã thực hiện khảo sát sơ bộ khả năng ức chế vi khuẩn *H.P* của cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat. Kết quả khảo sát cho thấy cả 2 cao

phân đoạn *n*-hexan và ethyl actat có tiềm năng ức chế trên vi khuẩn *H.P.* Trong các nghiên cứu tiếp theo cần đánh giá đầy đủ tác dụng này để có kết quả chính xác, tin cậy về khả năng ức chế vi khuẩn *H.P.* từ đó có thể giải thích rõ ràng hơn cơ chế chống viêm loét dạ dày, tá tràng của lá Xăng xê.

*** Những đóng góp mới của luận án**

Về thành phần hóa học

Luận án đã phân lập và xác định được cấu trúc của **20** hợp chất trong đó có **1** hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên là (+)-13-*O*-acetylfawcettimin (**SXE9**). Và **13** hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Sanchezia* là α -spinasterol (**SXH1**), stigmast-4-ene-3,6-dion (**SXH2**), 7-hydroxy-6-methoxy coumarin (**SXH3**), acid coccinic (**SXH4**), acid betulinic (**SXH6**), (+)-fawcettidin (**SXE8**), hispidulin (**SXE10**), kaempferol (**SXE12**), afzelin (**SXE15**), hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**SXE16**), hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid (**SXE17**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**SXE18**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE22**). Những công bố của luận án về thành phần hóa học của *Sanchezia nobilis* Hook.f. đã bổ sung thêm về thành phần hóa học của cây. Ngoài ra, luận án cũng đã chỉ ra được thành phần hoạt chất chính của cây là nhóm chất flavonoid, tập trung chủ yếu trong phân đoạn ethyl acetat. Kết quả này có thể gợi ý cho các nghiên cứu sâu hơn có thể nghiên cứu làm cao giàu flavonoid, và đánh giá tác dụng sinh học của phân đoạn cao giàu flavonoid để nâng cao hiệu quả sử dụng của dược liệu này trên lâm sàng.

Về độc tính và tác dụng sinh học.

Luận án đã đánh giá độc tính của lá Xăng xê thông qua kết quả đánh giá độc tính cấp của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê, kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat. Kết quả của luận án là căn cứ khoa học để khẳng định tính an toàn trong sử dụng dược liệu cũng như là căn cứ cho việc thiết kế liều của phân đoạn ethyl acetat trong ứng dụng phát triển sản phẩm trong tương lai. Kết quả nghiên cứu của luận án về độc tính bán trường diễn của phân đoạn ethyl acetat lá Xăng xê là công bố đầu tiên cả trên Thế giới và Việt Nam.

Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày. Người dân nước ta đã và đang sử dụng lá Xăng xê, các sản phẩm có lá Xăng xê hoặc cao lá Xăng xê trong viêm loét dạ dày tá tràng nhưng kết quả nghiên cứu của Luận án là công bố đầu tiên về tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng. Kết quả của luận án giúp cung cấp thêm bằng chứng khoa học cho việc sử dụng của người dân cũng như định hướng sử dụng các cao phân đoạn để làm tăng hiệu quả trong điều trị. Trên Thế giới cũng chưa có một nghiên cứu nào về tác dụng trên viêm loét dạ dày của cây Xăng xê trên mô hình này.

Tác dụng giảm đau trung ương. Luận án là nghiên cứu đầu tiên đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình máy đo ngưỡng đau của lá Xăng xê. Sử dụng máy đo ngưỡng đau có nhiều ưu điểm hơn như tính nhất quán trong áp dụng lực, tốc độ và hướng, thử nghiệm nhanh và cho hiệu quả cao hơn. Ngoài ra, sử dụng máy đo ngưỡng đau giúp nghiên cứu có thể cài đặt các thông số phù hợp với nghiên cứu, cũng có thể linh động trong cách tính điểm thủ công khi hành vi của động vật khó phát hiện tự động. Các phương pháp đánh giá tác dụng giảm đau thường có sai số lớn, độ tin cậy không cao. Luận án đã sử dụng kết hợp hai phương pháp giúp kết quả nghiên cứu có tính chính xác và độ tin cậy cao hơn.

CHƯƠNG V: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Về thành phần hóa học loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.

Lá loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê) thông qua việc chiết phân đoạn, phân lập và xác định được cấu trúc của **20** hợp chất từ 2 phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat là 2 phân đoạn có tác dụng trên viêm loét dạ dày. Cụ thể là từ cao *n*-hexan thu được **6** hợp chất, từ cao ethyl acetat bằng phương pháp acid-base thu được **2** hợp chất alkaloid, và phần cao ethyl acetat còn lại thu được **12** hợp chất thuộc nhóm flavonoid. Trong đó:

- **1** hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ tự nhiên là (+)-13-*O*-acetyl fawcettimin (**SXE9**).

- **13** hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Sanchezia* là α -spinasterol (**SXH1**), stigmast-4-ene-3,6-dion (**SXH2**), 7-hydroxy-6-methoxy coumarin (**SXH3**), acid coccinic (**SXH4**), acid betulinic (**SXH6**), (+)-fawcettidin (**SXE8**), hispidulin (**SXE10**), kaempferol (**SXE12**), afzelin (**SXE15**), hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**SXE16**), hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid (**SXE17**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**SXE18**), và hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE22**).

- Và **6** hợp chất còn lại cũng đã được công bố từ chi *Sanchezia* là: daucosterol (**SXH7**), apigenin (**SXE11**), quercetin (**SXE13**), hyperosid (**SXE14**), apigenin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE19**) và rutin (**SXE20**).

2. Về độc tính và tác dụng sinh học loài *Sanchezia nobilis* Hook.F. (Xăng xê)

- Độc tính cấp: Chưa xác định được liều LD₅₀ của cao toàn phần và các cao phân đoạn dịch chiết lá Xăng xê với mức liều thử 12g/kg thể trọng chuột.

- Độc tính bán trường diễn: Với mức liều 50 và 250 mg/kg thể trọng chuột/ ngày của phân đoạn ethyl acetat không ghi nhận độc tính bán trường diễn trên chuột sau 28 ngày dùng liên tục.

- Về tác dụng chống viêm loét dạ dày:

+ Cao toàn phần (50 mg/kg /ngày) chưa thể hiện tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng.

+ Cao toàn phần (150 và 450 mg/kg/ngày) có tác dụng giảm viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng ở điểm số loét trung bình, chỉ số loét, pH dịch vị. Cao toàn phần liều 150 mg/kg/ngày còn làm giảm độ acid tự do, độ acid toàn phần, trong khi đó cao toàn phần liều 450 mg/kg/ngày làm giảm thể tích dịch vị.

+ Cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat (50 mg/kg/ngày) có tác dụng giảm viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng thông qua tác dụng làm giảm điểm số loét trung bình, thể tích dịch vị, độ acid toàn phần. Ngoài ra cao phân đoạn ethyl acetat còn làm giảm chỉ số loét và pH dịch vị.

+ Cao phân đoạn nước (100 mg/kg/ngày) chưa thể hiện tác dụng chống viêm loét dạ dày trên tất cả các chỉ số.

- Về tác dụng giảm đau:

+ Cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày, cao phân đoạn nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày, cao phân đoạn ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày (Tương đương với liều giảm loét trên chuột cống) chưa thể hiện tác dụng giảm đau trung ương.

+ Cao phân đoạn *n*-hexan (100 và 300 mg/kg/ngày) và cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày có tác dụng giảm đau trung ương trên chuột nhắt trắng.

KIẾN NGHỊ

Với những kết quả nghiên cứu của luận án có thể là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về mặt thực vật học, hóa học và tác dụng sinh học. Vì thế để kế thừa và tiếp tục phát triển những kết quả thu được từ nghiên cứu, chúng tôi đề xuất các hướng nghiên cứu tiếp theo như sau:

- Đánh giá tác dụng trên viêm loét dạ dày, giảm đau trung ương của một số hợp chất tinh khiết phân lập được từ cây.
- Nghiên cứu tác dụng trên vi khuẩn *H.P* của phân đoạn ethyl acetat và *n*-hexan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. L T H Nhung (2018), "Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của căn chiết n-hexan từ lá loài Xăng sê (*Sanchezia speciosa*)", *Khoa học công nghệ*. 45, tr. 110-113.
2. V V Chi (2004), *Từ điển thực vật thông dụng*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật., Vol. 2.
3. N T Bân (2003), *Danh mục các loài thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, Vol. Vol 3, 272.
4. N T Vững, V Đ Lợi and N T Mai (2017), "Đặc điểm thực vật và vi học của cây Xăng sê", *Tạp chí Dược liệu*. 1(11), tr. 14-19.
5. P H Hộ (2000), *Cây cỏ Việt Nam*, 39, quyển 3, ed, Nhà xuất bản tuổi trẻ, Tp Hồ Chí Minh.
6. H Q Hoa, P T Kỳ, P H Yên, C V Minh and P V Kiệm (2009), "Ba hợp chất sterol và acid ursolic phân lập từ cây Cờm rụng hoa dài (*Ehretia longiflora* Champ. ex Benth.)", *Tạp chí Dược học*. 49(393), tr. 32 – 37
7. Viện Dược Liệu (2018), *Danh lục cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
8. B T Xuân, N T T Hoài, N T Hồng, T M Ngọc and V Đ Lợi (2019), "Ba hợp chất flavonoid phân lập từ phân đoạn dịch chiết ethylacetat của lá cây Khôi đốm (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)", *Tạp chí Dược học*. 516(4), tr. 33-36.
9. B T Xuân, T M Ngọc, P T Hà, V Đ Lợi and B T K Dung (2019), "Một số hợp chất phân lập từ phân đoạn n-hexan của lá cây Khôi đốm (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)", *Tạp chí Khoa học - ĐHGQHN*. 35(1), tr. 61-66.
10. B T Xuân, T M Ngọc, V D Lợi, V D Cảnh and T T B Thúy (2018), "Nghiên cứu tác dụng giảm đau của phân đoạn dịch chiết từ lá cây Khôi đốm (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)", *Tạp chí Khoa học - ĐHGQHN*. 34(2), tr. 26-30.
11. B T Xuân, V T Mây, T T B Thúy, V Đ Lợi, H V Dũng and Đ T M Hương (2018), "Một số hợp chất phân lập từ lá cây Khôi Đốm (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)", *Tạp chí Khoa học - ĐHGQHN*. 34(1), tr. 42-47.

12. Đ T Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà XB Y học.
13. Đ T Đàm (2017), *Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*, Nhà xuất bản Y học.
14. H V Sỹ, Q T Đức and L T Vũ (2021), *Tiếp cận điều trị bệnh nội khoa*, Nhà xuất bản Đại học quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 154-167.
15. N D Thắng (2018), *Bệnh lý Dạ dày Tá tràng*, Nhà Xuất bản Y học.
16. N T T Uyên, T T T Phúc, L V Dũng and T T Điệp (2019), "Các hợp chất Phytosterol, triterpen và alcol mạch dài phân lập từ lá trà Đà Lạt (*Camellia dalatensis* Luong, Tran & Hakoda)", *Tạp chí khoa học Đại học Đà Lạt*. 9(2), tr. 70-80.
17. N T Vân (2019), *Phác đồ điều trị bệnh Dạ dày Tá tràng*, Nhà Xuất bản Y học.
18. Bộ Y tế - Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo (2015), "Quyết định về việc Ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu"". Số: 141/QĐ-K2ĐT.

Tiếng Anh

19. P Tunmann and H J Grimm (1974), "Uber ein Steroidketon in der Wurzel von *Sambucus ebulus*", *Arch Pharm Chemistry in Life Science*. 307, tr. 891-893.
20. Eric Toby Hefindal and Dick R Gourley (2000), "Text book of therapeutics- Drug and Disease management", *Lippincott Willian & Wilikins*, tr. 515- 529
21. A A Elberry (2013), "Protective effect of sildenafil against cysteamine induced duodenal ulcer in Wistar rats", *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(33), tr. 2352-2357.
22. A E A Ellah, K M Mohamed, E Y Backheet and M H Mohamed (2013), "Matsutake alcohol glycoside from *Sanchezia nobilis*", *Chemistry of Natural Compounds*. 48(6), tr. 930-933.
23. A S Rafshanjani, S Parvin, A Kader, M Saha and M A Makhta. (2014), "In vitro antibacterial, antifungal and insecticidal activities of ethanolic extract and its fractionates of *Sanchezia speciosa* Hook. f", *International Research Journal of Pharmacy*. 5(9), tr. 717-720.

24. A W. Herling (2016), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part XI: Activity on the Gastrointestinal Tract. Indomethacin induced ulcers in rats", *spinger*, tr. 2392-2393.
25. A W. Herling (2016), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part XI: Activity on the Gastrointestinal Tract. Pylorus ligation in rats (SHAY rat)", *Springer*, tr. 2391-2392.
26. A W. Herling (2016), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part XI: Activity on the Gastrointestinal Tract. Subacute gastric ulcer in rats", *spinger*, tr. 2395-2397.
27. A E Abd-Ellah;, K M Mohamed;,, E Y Backheet; and M H Mohamed (2006), "Macro-and micromorphology of *Sanchezia nobilis* Hook. cultivated in Egypt: leaf, stem and flower", *Bulletin of Pharmaceutical Science*. 29(2), tr. 300-327.
28. B Rezvanjoo, S Rashidi, A Jouyban, S H S Beheshtiha and M Samini (2010), "Effects of vitamin C and melatonin on cysteamine induced duodenal ulcer in a cholestatic rat model: A controlled experimental study", *Current therapeutic research, clinical and experimental*. 71(5), tr. 322-330.
29. B T Tung, V D Loi, N T Hai and N T Vung (2016), "In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compound of ethanol extra from *Sanchezia speciosa* Leonard's leaves", *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*. 28(1), tr. 79-84.
30. C H Wu, M C Lin, H C Wang, M Y Yang, M J Jou and C J Wang (2011), "Rutin inhibits oleic acid induced lipid accumulation via reducing lipogenesis and oxidative stress in hepatocarcinoma cells", *Journal of Food Science*. 76(2), tr. 65-72.
31. C Li, Y Liu, Z Xie, Q Lu and S Luo (2015), "Stigmasterol protects against Ang II-induced proliferation of the A7r5 aortic smooth muscle cell-line", *Food & Function*. 6(7), tr. 2266–2272.
32. C M Liu, G H Zheng, C Cheng and J M Sun (2013), "Quercetin protects mouse brain against leadinduced neurotoxicity", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(31), tr. 7630-7635.
33. "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part XI: Activity on the Gastrointestinal Tract. Cysteamine-induced duodenal ulcers in rats ." (2008), *Drug discovery and evaluation*. J.4.5.1, tr. 894-895.

34. E M Moustafa and N M Thabet (2017), "Beta-sitosterol upregulated paraoxonase-1 via peroxisome proliferator-activated receptor- γ in irradiated rats", *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 95(6), tr. 661–666.
35. E O Adeyemi, S A Bastaki, I S Chandranath, M Y Hasan, M Fahim and A Adem (2005), "Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer", *World Journal of Gastroenterology* 11(27), tr. 4154-4160.
36. Ahmed A. Elberry (2013), "Protective effect of sildenafil against cysteamine induced duodenal ulcer in Wistar rats", *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(33), tr. 2352-2357.
37. F P Vizcaíno, M Ibarra, A L Cogolludo, J Duarte, F Z Arnáez, L Moreno , et al. (2002), "Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries.", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 302(1), tr. 66-72.
38. Gerhard Vogel H. (2006), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Chapter J: Activity on the gastrointestinal tract. Stress ulcer through immobilization stress", *Springer*. J.3.7.2, tr. 868-869.
39. H F Clay, J C Hubbard and G Rick (1987), "Tropical Shrubs", *University of Hawaii Press*, tr. ISBN 0-8248-1128-3.
40. I M Villaseñor, J Angelada, A P Canlas and D Echegoyen (2002), "Bioactivity studies on betasitosterol and its glucoside", *Phytotherapy Research*. 16, tr. 417-421.
41. J Cabeza (2002), "Effect of melatonin against gastric injury caused by ischemia-reperfusion", *Biological Rhythm Research Published*. 33(3), tr. 319- 332
42. J M Antonio, J SGracioso, W Toma, L C Lopez, F Oliveira and A R M Souza Brito (2004), "Anti ulcerogenic activity of ethanol extract of *Solannum variable*", *Journal of ethnopharmacology*. 93, tr. 83- 88.
43. J M Prieto-Garcia, M C Recio and R M Giner (2006), "Anti-inflammatory activity of β -sitosterol in a model of oxazolone induced contact-delayed-type hypersensitivity", *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 5(3), tr. 57-62.

44. J W Chai, U R Kuppusamy and M S Kanthimathi (2008), "Beta-sitosterol induces apoptosis in MCF- 7 cells", *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 16(2), tr. 28-30.
45. J Zeng, X Liu, X Li, Y Zheng , B Liu and Y Xiao (2017), "Daucosterol inhibits the proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells via Wnt/ β -catenin signaling", *Molecules*. 22(6), tr. 862.
46. LTang, Y Peng, T Xu, X Yi, Y Liu, Y Luo , et al. (2013), "The effects of quercetin protect cardiomyocytes from A/R injury is related to its capability to increasing expression and activity of PKCepsilon protein", *Molecular and Cellular Biochemistry*. 382(1-2), tr. 145-152.
47. M B Sayeed, S Karim, T Sharmin and T Morshed (2016), "Critical analysis on characterization, systemic effect, and therapeutic potential of beta-sitosterol: A plant-derived orphan phytosterol", *Medicines*. 3(4), tr. 29-33.
48. M Joshi, M Dorababu, T Prabha, M Kumar and R Goel (2004), "Effect of *Pterocarpus marsupium* on NIDDM- induced rat gastric ulceration and mucosal offensive and defensive factors", *Indian Journal of Pharmacology*(36), tr. 296- 302
49. M Paydar, Y L Wong, B A Moharam, W F Wong and C Y Looi (2013), "In vitro anti-oxidant and anti-cancer activity of methanolic extract from *Sanchezia speciosa* leaves", *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 16(20), tr. 1212-1215.
50. M T Olaleye and A C Akinmoladun (2013), "Comparative gastroprotective effect of post-treatment with low doses of rutin and cimetidine in rats", *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 27(2), tr. 138-145.
51. N shaheen, M Uzair, B Ahmad and Alamgeer (2017), "In vitro cytotoxicity of *Sanchezia speciosa* extract on human epithelial cervical cancer (Hela) cell line", *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 74(5), tr. 1389-1394.
52. P Bigoniya and K Singh (2014), "Ulcer protective potential of standardized hesperidin, a citrus flavonoid isolated from *Citrus sinensis*", *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 24(3), tr. 330-340.

53. P Dharmani, V Kr Kuchibhotla, R Maurya, S Srivastava, S Sharma and G Palit (2003), "Evaluation of anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties of *Ocimum sanctum* Linn", *Journal of Ethnopharmacology*(7), tr. 125- 139
54. R A Khan, M R Khan and S Sahreen (2012), "Protective effects of rutin against potassium bromate induced nephrotoxicity in rats", *BMC Complement Altern Med.* 12(1), tr. 204.
55. S K Jaganathan (2011), "Can flavonoids from honey alter multidrug resistance?", *Medical Hypotheses.* 76(4), tr. 53-57.
56. S Loizou, I Lekakis, G P Chrousos and P Moutsatsou (2010), "Beta-sitosterol exhibits antiinflammatory activity in human aortic endothelial cells", *Molecular Nutritipn & Food Research.* 54(4), tr. 551-558.
57. S O J C Onyango (2015), "Phytochemical analysis of 50 selected plants found in the University Botanic Garden, Maseno, Kenya for their chemotaxonomic values", *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine.* 1, tr. 130-135.
58. T Kyoji, S Kitazawa, K Tajima, X Zhang and Y Ukai (2004), "Phosphodiesterase type IV inhibitors prevent ischemia- reperfusion induced gastric ulcer injury in rat", *Journal of Pharmacological Sciences.* 95(3), tr. 321-328
59. T Rajavel, R Mohankumar, G Archunan, K Ruckmani and K P Devi (2017), "Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells", *Scientific Report.* 7(1), tr. 3418.
60. T W Yenn, M A Khan, N A Syuhada, L C Ring, D Ibrahim and W N Tan (2017), "Stigmasterol: An adjuvant for beta lactam antibiotics against beta-lactamase positive clinical isolates", *Steroids.* 128, tr. 68–71.
61. Editorial committee of the Flora of Taiwan (1979), "Flora of Taiwan", *Epoch publishing Co. Ltd, Taipei, Taiwan.* 1st Edition(6:130).
62. U J Joshi, A S Gadge, P D'Mello and R S Sudha (2011), "Anti-inflammatory, antioxidant and anticancer activity of quercetin and its analogues", *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.* 2(4), tr. 1756-1766.

63. V D Loi, B T Tung, H V Ha and N M Tuyen (2016), "Phytochemical and anti-inflammatory effect from the leaf of *Sanchezia speciosa* Leonard growing in Viet Nam", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 8(7), tr. 309-315.
64. H Gerhand vogel (2011), "Drug discovery and evaluation - Pharmacological assay", *Springerplus*, tr. 833- 872
65. Y Shu, Y Liu, L Li, J Feng, B Lou, X Zhou , et al. (2011), "Antibacterial activity of quercetin on oral infectious pathogens", *African Journal of Microbiology Research*. 5(30), tr. 5358-5361.
66. Y W Chen, H C Chou, S T Lin, Y H Chen, Y J Chang, L Chen , et al. (2013), "Cardioprotective effects of quercetin in cardiomyocyte under ischemia/reperfusion Injury", *Evid Based Complement Alternat Med*. 364519.
67. A Firoz and P Talwar (2022), "COVID-19 and retinal degenerative diseases: Promising link “Kaempferol”", *Current Opinion in Pharmacology*. 64, tr. 102231.
68. A L Takhtadzhian (1997), "Diversity and classification of flowering plants", *Columbia University Press*.
69. A N Mekonnen, S A Atnafie and M A W Atta (2020), "Evaluation of antiulcer activity of 80% methanol extract and solvent fractions of the root of *Croton macrostachyus* Hocsht: Ex Del. (Euphorbiaceae) in rodents", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 3, tr. 1-11.
70. A N Panche, A D Diwan and S R Chandra (2016), "Flavonoids: an overview", *Journal of Nutritional Science*. 5(47), tr. 1-15.
71. A V A David, A Arulmoli and S Parasuraman (2016), "Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid", *Pharmacognogy Review*. 10(20), tr. 84-89.
72. A W. Herling (2016), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part VIII: analgesic, anti-inflammatory, anti- pyretic activity. Ethanol-Induced Mucosal Damage in Rats", *Springer*, tr. 2394-2395.
73. A W. Herling (2016), "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Part VIII: analgesic, anti-inflammatory, anti- pyretic activity. Hot plate menthol", *Springer*, tr. 1827-1829.

74. A Y Chen and Y C Chen (2013), "A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention", *Food Chemistry*. 138, tr. 2099–2107.
75. B Gnonlonfin, A Sanni and L Brimer (2012), "Review scopoletin – a coumarin phytoalexin with medicinal properties", *Critical Reviews in Plant Sciences*. 31(1), tr. 47–56.
76. B He (2016), "Hypergeometric-like series for $1/\Pi^2$ arising from Ramanujan's quartic theory of elliptic functions", *Journal of Approximation Theory*. 205, tr. 93-101.
77. B N Karana, T K Maity, B C Pal, T Singha and S Jana (2018), "Betulinic acid, the first lupane-type triterpenoid isolated via bioactivity-guided fractionation, and identified by spectroscopic analysis from leaves of *Nyctanthes arbor-tristis*: its potential biological activities *in vitro* assays", *Natural product research*. 33(22), tr. 3287-3292
78. B T Xuan, B T Tung, T M Ngoc and V D Loi (2019), "Chemical constituent and antiulcer activity of n-hexane extract of *Sanchezia nobilis* Hook.F. leaves from Vietnam", *Asian journal of chemistry*. 31(9), tr. 2125-2132.
79. C Carrasco-Pozoa, R L Castillo, C Beltrán, A Mirandac, J Fuentesd and M Gottelanda (2016), "Molecular mechanisms of gastrointestinal protection by quercetin against indomethacin-induced damage: role of NF- κ B and Nrf2", *Journal of Nutrition Biochemistry*. 27, tr. 289–298.
80. C Chandramu, Rao D Manohar, David G L Krupadanam and Reddy V Dashavantha (2003), "Isolation, characterization and biological activity of Betulinic acid and Ursolic acid from *Vitex negundo* L ", *Phytotherapy Research*. 17(2), tr. 129-134.
81. C H Kuo, B C Weng, C C Wu, S F Yang, D C Wu and Y C Wang (2014), "Apigenin has anti-atrophic gastritis and anti-gastric cancer progression effects in *Helicobacter pylori*-infected *Mongolian gerbils*", *Journal of Ethnopharmacology* 151, tr. 1031–1039.
82. C He, W Huang, X Xue, Z Liang, H Ye, K Li , et al. (2022), "UPLC-MS fingerprints, phytochemicals and quality evaluation of flavonoids from *Abrus precatorius* leaves", *Journal of Food Composition and Analysis*. 110, tr. 104585.
83. C Hea, W Huanga, X Xuea, Z Liang, H Ye, K Li , et al. (2022), "UPLC-MS fingerprints, phytochemicals and quality evaluation of flavonoids from *Abrus precatorius* leaves", *Journal of Food Composition and Analysis*. 110, tr. 104585.

84. C Nicholas, S Batra, M A Vargo, Or H Voss, M A Gavrilin, M D Wewers , et al. (2007), "Apigenin blocks lipopolysaccharide-induced lethality in vivo and proinflammatory cytokines expression by inactivating NF- κ B through the suppression of p65 phosphorylation", *The Journal of Immunology*. 179(10), tr. 7121–7127.
85. C Tian, X Liu, Y Chang, R Wang, L Tianmeng, C Cui , et al. (2021), "Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin", *South African Journal of Botany*. 137, tr. 257-264.
86. D A Valério, S R Georgetti, D A Magro, R Casagrande, T M Cunha, Fa T M C Vicentini , et al. (2009), "Quercetin reduces inflammatory pain: inhibition of oxidative stress and cytokine production", *Journal of Natural Products*. 72(11), tr. 1975–1979.
87. D Kashyap, A Sharma, H S Tuli, K Sak, V K Garg, H S Buttar , et al. (2018), "Apigenin: A natural bioactive flavone-type molecule with promising therapeutic function", *Journal of Functional Foods*. 48, tr. 457-471.
88. D Singh, M Gupta, M Sarwat and H R Siddique (2022), "Apigenin in cancer prevention and therapy: A systematic review and meta-analysis of animal models", *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 176, tr. 103751.
89. D T Huong, H V Duc, L T B Hien, L T Anh, P T Ky, N T Hoai , et al. (2019), "Two new abietane diterpenes huperphlegmarins A and B from *Huperzia phlegmaria*", *Natural product research*. 33(14), tr. 2051-2059.
90. Organisation for Economic Co-operation and Development (2008), "Guidelines for the testing of chemicals repeated dose oral toxicity study in rodents", *Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment*. No 407.
91. E A Tripp and D M Koenemann (2015), "Nomenclatural synopsis of *Sanchezia* (Acanthaceae), fifty years since last treated", *Novon*. 24(2), tr. 213–221.
92. F Cottiglia, L Casu, L Bonsignore, M Casu, C Floris, S Sosa , et al. (2005), "Topical anti-inflammatory activity of flavonoids and a new xanthone from *Santolina insularis*", *Zeitschrift Naturforschung. C, Journal of biosciences*. 60(1-2), tr. 63-66.
93. F R M Borges, M D Silva, M M Córdova, T R Schambach, M G Pizzolatti and A R S Santos (2014), "Anti-inflammatory action of hydroalcoholic extract, dichloromethane fraction and steroid α -spinasterol from *Polygala sabulosa* in LPS-induced peritonitis in mice", *Journal of Ethnopharmacology*. 151(1), tr. 144-150.

94. F Wu, H Wang, J Li, J Liang and S Ma (2012), "Homoplantagin Modulates Insulin Sensitivity in Endothelial Cells by Inhibiting Inflammation", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 35(7), tr. 1171-1177.
95. F Zhao, Y Dang, R Zhang, G Jing, W Liang, L Xie , et al. (2019), "Apigenin attenuates acrylonitrile-induced neuro-inflammation in rats: Involved of inactivation of the TLR4/NF- κ B signaling pathway", *International Immunopharmacology*. 75 tr. 105697.
96. G Carullo, A R Cappello, L Frattaruolo, M Badolato, B Armentano and F Aiello (2017), "Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management", *Future Medicinal Chemistry*. 9(1), tr. 79–93.
97. G Pan and R M Williams (2012), "Unified total syntheses of fawcettimine class alkaloids: fawcettimine, fawcettidine, lycoflexine, and lycoposerramine B", *The Journal of Organic Chemistry*. 77(10), tr. 4801–4811.
98. H Abd-Alla, N S Abu-Gabal, A Z Hassan, M M El-Safty and N M M Shalaby (2012), "Antiviral activity of *Aloe hijazensis* against some haemagglutinating viruses infection and its phytoconstituents", *Archives of Pharmacal Research*. 35(8), tr. 1347-1354.
99. H C Huang, Y C Lin, A E Fazary, I W Lo, C C Liaw, Y Z Huang , et al. (2011), "New and bioactive lignans from the fruits of *Schisandra sphenanthera*", *Food Chemistry* 128(2), tr. 348-357.
100. H I Lee, K I Yun, K I Seo, M J Kim and M K Lee (2014), "Scopoletin prevents alcohol-induced hepatic lipid accumulation by modulating the AMPK-SREBP pathway in diet-induced obese mice", *Metabolism*. 63(4), tr. 593–601.
101. I Brusco, C Camponogara, F B Carvalho, M R C Schetinger, M S Oliveira, G Trevisan , et al. (2017), " α -Spinasterol: a cyclooxygenase inhibitor and a TRPV1 antagonist presents an antinociceptive effect in clinically relevant models of pain in mice", *British Journal of Pharmacology*. 174(23), tr. 4247-4262.
102. I E Jordon and T S M Louda (2003), "Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: a role in ecological risk assessment for biological control of weeds", *Biochemical Systematics and Ecology*. 31, tr. 1353–1396.
103. I H F Azevedo and P L R de Moraes (2021), "New synonymies in *Sanchezia* (Acanthaceae)", *Nordic Journal of Botanic*. 2(e03426), tr. 1-8.

104. I T Abdel-Raheem (2010), "Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats", *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 107(3), tr. 742-750.
105. J Arrieta, B Reyes, F Calzada, R Cedillo-Rivera and A Navarrete (2001), "Navarrete amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianum*", *Fitoterapia*. 72, tr. 295–297.
106. J F Oliveira-Costa, C S Meira, M V Neves, B P C Dos Reis and M B P Soares (2022), "Anti-Inflammatory activities of Betulinic acid: A review", *Inflammation Pharmacology*. 23(13), tr. 883857.
107. J M Ravasi, G Negri, A Salatino, M L F Salatino and M A S Mayworm (2020), "GC-MS and HPLC-ESI-MS-MS characterization of *Sanchezia oblonga* (Acanthaceae) extracts", *Journal of Food Research*. 9(1), tr. 57-71.
108. J Narenjkar, M Roghani, H Alambeygi and F Sedaghati (2011), "The effect of the flavonoid quercetin on pain sensation in diabetic rats", *Basic and Clinical Neuroscience*. 2(3), tr. 51–57.
109. J O Olanlokun, P O Okoro, O S Lawal, O Bodede, F Olotu, T O Idowu , et al. (2021), "Betulinic acid purified from *Alstonia boonei* inhibits folate biosynthesis in malarial Plasmodium, enhances mitochondrial pore opening and F1F0 ATPase in mice", *Journal of Molecular Structure*. 1239, tr. 130454.
110. J S Choi, N Islam, Y Ali, E J Kim, Y M Kim and H A Jung (2014), "Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin", *Food and Chemical Toxicology*. 64 tr. 27-33.
111. J Wang, Y T Liu, L Xiao, L Zhu, Q Wang and T Yan (2014), "Anti inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF- κ B pathway", *Inflammation*. 37(6), tr. 2085–2090.
112. J Y Park, X Han, M J Piao, M C Oh, P Madushan, D J Fernando , et al. (2016), "Hyperoside induces endogenous antioxidant system to alleviate oxidative stress", *Journal of Cancer Prevention*. 21(1), tr. 41–47.
113. J Y Zheng, J H Wu, J C Jie, L Y Ying, L C Lan, H G Yong , et al. (2016), "Therapeutic effects of quercetin on early inflammation in hypertriglyceridemia-related acute pancreatitis and its mechanism", *Pancreatology*. 16(2), tr. 200–210.

114. J Yang, J Guo and G Yuan (2008), "In vitro antioxidant properties of rutin", *LWT-Food Science and Technology*. 41(6), tr. 1060-1066.
115. JT Jr Litchfield and F Wilcoxon (1948), "A simplified method of evaluating dose-effect experiments", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 96, tr. 99-113.
116. K A Eshbakova, Z O Toshmatov, Yili and H A Aisa (2013), "Flavonoid galacturonides and glucuronide from the aerial part of *Scutellaria schachristanica*", *Chemistry of Natural Compounds*. 49(1), tr. 103-105.
117. K Ashokan, M Kurane and M Pillai (2010), "Effect of ovariectomy and of estrogen administration upon duodenal ulceration induced by cysteamine", *Internet Science Publications*. 69(1), tr. 7-16.
118. K J Wha, K T Bum, Y Heejung and S Hyun (2016), "Phenolic compounds isolated from *Opuntia ficus-indica* fruits", *Natural Product Sciences*. 22(2), tr. 117-121.
119. K Katakawa, H Mito and N Kogure (2011), "Ten new fawcettidine-related alkaloids from three species of *Lycopodium*", *Tetrahedron*. 67, tr. 6561-6567.
120. K Liu, F Zhao, J Yan, Z Xia, D Jiang and P Ma (2020), "Hispidulin: A promising flavonoid with diverse anti-cancer properties", *Life Science*. 259, tr. 118359.
121. K S Kumar, V Sabu, G Sindhu, A A Rauf and A Helen (2018), "Isolation, identification and characterization of apigenin from *Justicia gendarussa* and its anti-inflammatory activity", *International Immunopharmacology*. 59 tr. 157–167.
122. K Srisook, E Srisook, W Nachaiyo, M Chan-In, J Thongbai, K Wongyoo, et al. (2015), "Bioassay-guided isolation and mechanistic action of anti-inflammatory agents from *Clerodendrum inerme* leaves", *Journal of Ethnopharmacology*. 165, tr. 94–102.
123. K Srithi, C Trisonthi, P Wangpakapattanawonga and H Balslev (2012), "Medicinal plants used in Hmong women's healthcare in northern Thailand", *Journal of Ethnopharmacology* 139(1), tr. 119–135.
124. L Lian-niang and X Hong (1986), "Triterpenoids from Roots and Stems of *Kadsura coccinea*", *Planta medica*. 52(6), tr. 492-493.

125. Luo L, Sun Q, Mao Y, Lu Y, Tan R (2004), "Inhibitory effects of flavonoides from *Hypericum perforatum* on nitric oxide synthase", *Journal of Ethnopharmacology*. 93, tr. 221–225.
126. Qinglin L, Guixin C, Zhiwu C and Chuangeng M (2002), "Inhibitory mechanism of hyperinon the apoptosis in myocardial ischemia/ischemia/reperfusion in rats", *Acta Pharmaceutica Sinica*. 37(11), tr. 849–852.
127. L S Chua (2013), "A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities", *Journal of Ethnopharmacology*. 150, tr. 805-817.
128. Nascimento L S, Nogueira-Souza P D, Rocha-Junior J R S, Monteiro-Machado M A, Strauch S A L Prado, et al. (2021), "Phytochemical composition, antsnake venom and antibacterial activities of ethanolic extract of *Aegiphila integrifolia* (Jacq) Moldenke leaves", *Toxicon*. 198, tr. 121-131.
129. Adel M, Zahmatkeshan M, Akbarzadeh A, Rabie N, Ahmadi S, Keyhanvardga P, et al. (2022), "Chemotherapeutic effects of Apigenin in breast cancer: Preclinical evidence and molecular mechanisms; enhanced bioavailability by nanoparticles", *Biotechnology Reports*. 34, tr. e00730.
130. Akram M, Syed A S and Kim A K (2015), "Heme oxygenase 1-mediated novel anti-inflammatory activities of *Salvia plebeia* and its active components", *Journal of Ethnopharmacology*. 174(4), tr. 322-330.
131. Anjaneyulu M and Chopra K (2003), "Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain", *Progres Neuropsychopharmacology & Biologycal Psychiatry*. 27(6), tr. 1001–1005.
132. Atif M, Ali I, Hussain A, V Hyder S, Niaz B, Khan F A, et al. (2015), "Pharmacological assessment of hispidulin - a natural bioactive flavone", *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*. 72(5), tr. 829-842.
133. Adinortey M B, Ansah C, Galyuon I and Nyarko A (2013), "In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents", *Ulcer*. 2013(4).
134. Basu M, Mayana K, Xavier S, Balachandran S and Mishra N (2016), "Effect of scopoletin on monoamine oxidases and brain amines", *Neurochemistry International*. 93, tr. 113–117.

135. M Clavin, S Gorzalczany, A Macho, E Muñoz, G Ferraro, C Acevedo , et al. (2007), "Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Eupatorium arnottianum*", *Journal of Ethnopharmacol.* 112(3), tr. 585-589.
136. M Comalada, I Ballester, E Bailón, S Sierra, J Xaus, J Gálvez , et al. (2006), "Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship", *Biochemical Pharmacology.* 72(8), tr. 1010–1021.
137. M Erdoğan, R Konya, Y Özhan, H Sipahi, I Çinbilgel, M Masullo , et al. (2021), "Secondary metabolites from *Scutellaria brevibracteata* subsp. subvelutina and their in vitro anti-inflammatory activities", *South African Journal of Botany.* 139, tr. 12-18.
138. M Forino, L Tartaglione, C Dell’aversano and D Ciminiello (2016), "NMR-based identification of the phenolic profile of fruits of *Lycium barbarum* (goji berries). Isolation and structural determination of a novel N-feruloyl tyramine dimer as the most abundant antioxidant polyphenol of goji berries", *Food Chem.* 194, tr. 1254–1259.
139. M Funakoshi-Tago, K Nakamura, K Tago, T Mashino and T Kasahara (2011), "Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, Apigenin, Luteolin and Fisetin", *International Immunopharmacology* 11(9), tr. 1150–1159.
140. M J Chung, R P Pandey, J W Choi, J K Sohng, D J Choi and Y I Park (2015), "Inhibitory effects of kaempferol-3-O-rhamnoside on ovalbumin-induced lung inflammation in a mouse model of allergic asthma", *International Immunopharmacology.* 25(2), tr. 302-310.
141. M M Liu, R H Ma, Z J Ni, K Thakur, C L Cespedes-Acuña, L Jiang , et al. (2020), "Apigenin 7-O-glucoside promotes cell apoptosis through the PTEN/PI3K/AKT pathway and inhibits cell migration in cervical cancer HeLa cells", *Food and Chemical Toxicology.* 146 tr. 111843.
142. M Narayanan, K M Reddy and E Marsicano (2018), "Peptic ulcer disease and *Helicobacter pylori* infection", *Missouri Medicine.* 115(3), tr. 219-224.
143. M Nepal, H J Choi, B Y Choi, M S Yang, J I Chae, L Li , et al. (2013), "Hispidulin attenuates bone resorption and osteoclastogenesis via the RANKL-induced NF-kappaB and NFATc1 pathways", *European Journal of Pharmacology.* 715(1-3), tr. 96-104.

144. M Olszewwska (2005), "Flavonoid from *Prunus serotina* Ehrh", *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 62(2), tr. 127-133.
145. M Rabišková, T Bautzová, J Gajdziok, K Dvořáčková, A Lamprecht, Y Pellequer, et al. (2012), "Coated chitosan pellets containing rutin intended for the treatment of inflammatory bowel disease: *in vitro* characteristics and *in vivo* evaluation", *International Journal of Pharmaceutics*. 422(1-2), tr. 151-159.
146. M Shamsuzzoha, M S Rahman, M M Ahmed and A K Islam (1978), "Antifertility effect in mice of medicinal plant of family Acaethaceae", *The Lancet*. 312(8095), tr. 900.
147. M Torres-Rêgo, A Furtado and A Bitencourt (2016), "Anti-inflammatory activity of aqueous extract and bioactive compounds identified from the fruits of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)", *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16, tr. 275.
148. M Y Lee, I S Shin, H Kyoung, C S Seo, J K Son and H K Shin (2014), " α -spinasterol from *Melandrium firmum* attenuates benign prostatic hyperplasia in a rat model", *Molecular Medicine Reports*. 9(6), tr. 2362-2366.
149. N A A M Shalan, N M Mustapha and S Mohamed (2016), "*Morinda citrifolia* leaf enhanced performance by improving angiogenesis, mitochondrial biogenesis, antioxidant, anti-inflammatory & stress responses", *Food Chem*. 212(1), tr. 443–452.
150. N Charachit, A Sukhamwang, P Dejkriengkraikul and S Yodkeeree (2022), "Hyperoside and quercitrin in *Houttuynia cordata* extract attenuate UVB-induced human keratinocyte cell damage and oxidative stress via modulation of MAPKs and akt signaling pathway", *Antioxidants*. 11(2), tr. 221.
151. N Jamila, M Khairuddea, S N Khan, N Khan and H Osman (2014), "Phytochemicals from the bark of *Garcinia hombroniana* and their biological activities", *Records Natural Products*. 8(3), tr. 312-316.
152. N M Enwerem, J I Okogun., C O Wambebe, D A Okorie and P A Akah (2001), "Anthelmintic activity of the stem bark extracts of *Berlina Grandiflora* and one of its active principles, betulinic acid", *Phytomedicine Plus*. 8(2), tr. 112-114.
153. N Muvhulawa, P V Dlodla, K Ziqubu, S X H Mthembu, F Mthiyane, B B Nkambule, et al. (2022), "Rutin ameliorates inflammation and improves metabolic function: A comprehensive analysis of scientific literature", *Pharmacological Research*. 178, tr. 106163.

154. N Salari, N Darvishi, S Shohaimi, Y Bartina, M Ahmadipanah, H R Salari , et al. (2021), "The global prevalence of peptic ulcer in the World: a systematic review and meta-analysis", *Indian Journal of Surgery*. 9337, tr. 1-9.
155. N Shaheen (2017), *Phytochemical and Biological Evaluation of Sanchezia speciosa and Polygonum plebeium*, Faculty of Pharmacy, Bahauddin Zakariya University, Multan, 14.
156. N Zaabat, A E Hay, S Michalet, I Skandrani, L C Ghedira, M G Dijoux-Franca , et al. (2020), "Chemical composition, antioxidant, genotoxic and antigenotoxic potentials of *Phlomis Bovei* De Noé aerial parts", *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 19(1), tr. 282-291.
157. O D Safo, M Chama, L Addae-Mensah and R Waibel (2009), "Hispidulin and other constituents of *Scoparia dulcis* Linn", *Journal of Science and Technology*. 29(2), tr. 7-11.
158. World Health Organization (2000), "Working group on the safety and efficacy of herbal medicine", *Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization*.
159. P K Patel, J Sahu and S S Chandel (2016), "A detailed review on nociceptive models for the screening of analgesic activity in experimental animals", *International Journal of Neurologic Physical Therapy*. 2(6), tr. 44-50.
160. P Li, Wen Huang, J Zhuo, Z Guo, W Cao, L Xu , et al. (2015), "Seven new Lycopodium alkaloids from the aerial parts of *Phlegmariurus squarrosus*", *Tetrahedron*. 71(33), tr. 5308-5314.
161. P Paul, P Kundu and U K Karmakar (2022), "Chemical and biological investigation of *Sanchezia nobilis* leaves extract", *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 15(1), tr. 121-131.
162. R A Murphy and R Sarpong (2014), "Heathcock-inspired strategies for the synthesis of Fawcettimine-type lycopodium alkaloid", *Chemistry A European Journal*. 20, tr. 42 – 56.
163. R Nirogi, V Goura, D Shanmuganathan, P Jayarajan and R Abraham (2012), "Comparison of manual and automated filaments for evaluation of neuropathic pain behavior in rats", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 66(1), tr. 8-13.

164. R Pan, X H Gao, Y Li, Y F Xia and Y Dai (2010), "Anti-arthritis effect of scopoletin, a coumarin compound occurring in *Erycibe obtusifolia* Benth stems, is associated with decreased angiogenesis in synovium", *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 24(4), tr. 477–490.
165. S Akkal, F Benayache, S Benayache, K Medjroubi, M Jay, F Tillequin, et al. (1999), "A new flavone glycoside from *Centaurea furfuracea*", *Fitoterapia*. 70, tr. 368-370.
166. S Baruah, Dr. MK Sarma, AA Sharma, P Borah, ASN Ahmed, RK Goswami, et al. (2021), "Diversity in ethno-medicinal plant species, their conservation and traditional uses: A case study in North Bank plain zone of Assam, India", *The Pharma Innovation Journal*. 10(12), tr. 1789-1808.
167. S Fajriah, Megawati and A Darmawan (2016), "Apigenin, an anticancer isolated from *Macaranga gigantifolia* leaves", *The Journal of Tropical Life Science*. 6(1), tr. 7-9.
168. S J Kim, J Y Um and J Y Lee (2011), "Anti-inflammatory activity of hyperoside through the suppression of nuclear factor- κ B activation in mouse peritoneal macrophages", *The American Journal of Chinese Medicine*. 39(1), tr. 171–181.
169. S J N Tatsimo, J D Tamokou, L Havyarimana, D Csupor, P Forgo, J Hohmann, et al. (2012), "Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*", *BMC Research Notes*. 5(158).
170. S K Ha, P Lee, J A Park, H R Oh, S Y Lee, J H Park, et al. (2008), "Apigenin inhibits the production of NO and PGE2 in microglia and inhibits neuronal cell death in a middle cerebral artery occlusion-induced focal ischemia mice model", *Neurochemistry International*. 52(4), tr. 878–886.
171. S K Ku, S Kwak, O J Kwon and J S Bae (2014), "Hyperoside inhibits high-glucose-induced vascular inflammation *in vitro* and *in vivo*", *Inflammation Pharmacology*. 37(5), tr. 1389–1400.
172. S M Salah and A K Jäger (2005), "Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* asso with *in vitro* GABAA-benzodiazepine receptor activity", *Journal of Ethnopharmacology* 99(1), tr. 145–146.
173. S Okabe, K Takeuchi, Okada, Y Kumadaki, M Nakata and H Nakata (1989), "Effects of nizatidine, a new histamine H₂receptor antagonist, on gastric acid secretion and various gastric and duodenal lesions in rats: comparison with cimetidine", *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 99(3), tr. 133 –144.

174. S P M Fischer, I Brusco, E S Brum, M F P Fialho, C Camponogara, R Scussel , et al. (2020), "Involvement of TRPV1 and the efficacy of α -spinasterol on experimental fibromyalgia symptoms in mice", *Neurochemistry International*. 134, tr. 104673.
175. S S Zaghlool, B A Shehata, A A Abo-Seif and H A A El-Latif (2015), "Comparison between the protective effects of famotidine, ginger and marshmallow on pyloric ligation-induced peptic ulcer in rats", *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 7(4), tr. 170–178.
176. S Y Lee, Y J So, M S Shin, J Y Cho and J Lee (2014), "Antibacterial effects of Afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals ", *Molecules*. 19, tr. 3173-3180.
177. Socała, Katarzyna, Właż and Piotr (2016), "Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like activity of α -spinasterol, a plant derivative with TRPV1 antagonism effects, in mice", *Behavioural Brain Research*. 303, tr. 19-25.
178. "State of the World's Plants Report - 2016 (PDF)" (2016), *Royal Botanic Gardens, Kew*.
179. T Hase, K Ohtani and R Kasa (1995), "Resived structure for hortensin, a flavonoid from *Millingtonia hortensis*", *Phytochemistry*. 40(1), tr. 287-290.
180. T Iwashina, K Kamenosono and T Ueno (1999), "Hispidulin and nepetin 4'-glucosides from *Cirsium oligophyllum*", *Phytochemistry*. 51, tr. 1109-1111.
181. T L Echeverri, V M Galindo, P Aubad, A Ortiz-Reyes, L M Preciado, M Sánchez , et al. (2019), "Inhibition of *Leucoagaricus gongylophorus* with *Carica papaya*: an alternative to control the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinosus*", *International Journal of Pest Management*. 66(3), tr. 1-14.
182. V Célinea, P Adriana, D Eric, A C Joaquina, E Yannick, L F Augusto , et al. (2009), "Medicinal plants from the Yanesha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts", *Journal of Ethnopharmacology*. 123, tr. 413–422.
183. V D Loi, T M Ngoc and B T Xuan (2019), "Chemical constituents and anti-ulcer activity of ethylacetate extract of the leaves of *Sanchezia nobilis* Hook.F.", *Pharmacognosy Journal*. 11(6), tr. 1172-1180.

184. V Zuco, R Supino, S C Righetti, L Cleris, E Marchesi, C G Passerini , et al. (2002), "Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not on normal cells", *Cancer Letters*. 175(1), tr. 17–25.
185. W Somprasong, S Vjarodaya and K Chayamarit (2014), "Taxonomic study of the family Acanthaceae used as traditional medicinal plants for ethnic groups in north, central and northeastern Thailand", *Thai Agricultural Research Journal*. 32(1), tr. 77–88.
186. W Wu and H Ruan (2019), "Triterpenoids and lignans from the stems of *Schisandra glaucescens*", *Natural product research*. 33(3), tr. 328-334.
187. W Yang, D Xie, Y Liang, N Chen, B Xiao, L Duan , et al. (2022), "Multi-responsive fibroin-based nanoparticles enhance anti-inflammatory activity of kaempferol", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 68, tr. 103025.
188. X Jin, J Qian and Y Lu (2011), "The role of hepatoprotective effect of a flavonoid-rich extract of *Salvia plebeia* R.Br. on carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice", *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(9), tr. 1558–1563.
189. X C Weng and W Wang (2000), "Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeia*", *Food Chemistry*. 71, tr. 489-493.
190. X J Qu, X Xia, Y S Wang, M J Song, L L Liu, Y Y Xie , et al. (2009), "Protective effects of *Salvia plebeia* compound homoplantagin in on hepatocyte injury", *Food and Chemical Toxicology*. 47(7), tr. 1710-1715.
191. X Jin, E Z Yan, H M Wang, H J Sui, Z Liu, W Gao , et al. (2016), "Hyperoside exerts anti-inflammatory and anti-arthritic effects in LPS-stimulated human fibroblast-like synoviocytes in vitro and in mice with collagen-induced arthritis", *Acta Pharmacological Sinica*. 37(5), tr. 674–686.
192. X Linghu, J J Kennedy-Smith and F D Toste (2007), "Total Synthesis of (+)-Fawcettimine", *Angewandte International Edition Chemie*. 46(40), tr. 7671-7673.
193. X Wang, H Li and X Lei (2013), "Synpacts challenges and strategies to the total syntheses of Fawcettimine-type and Serratine-type Lycopodium alkaloids", *Synlett* 24(9), tr. 1032–1043.
194. X Zheng and F Xing (2009), "Ethnobotanical study on medicinal plants around Mt. Yinggeling, Hainan Island, China", *Journal of Ethnopharmacology*. 124(2), tr. 197-210.

195. Y Bian, J Lei, J Zhong, B Wang, Y Wan, J Li, et al. (2022), "Kaempferol reduces obesity, prevents intestinal inflammation, and modulates gut microbiota in high-fat diet mice", *Journal of Nutritional Biochemistry*. 99, tr. 108840.
196. Y C Wang and K M Huang (2013), "*In vitro* anti-inflammatory effect of apigenin in the *Helicobacter pylori*-infected gastric adenocarcinoma cells", *Food and Chemical Toxicology*. 53, tr. 376-383.
197. Y Chen, Q Yang and Y Zhang (2020), "Lycopodium japonicum: A comprehensive review on its phytochemicals and biological activities", *Arabian Journal of Chemistry*. 13, tr. 5438–5450.
198. Y Dai, X Sun, B Li, H Ma, P Wu, Y Zhang, et al. (2021), "The effect of Hispidulin, a flavonoid from *Salvia plebeia*, on human nasopharyngeal carcinoma CNE-2Z cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis", *Molecules*. 26(6), tr. 1604.
199. Y Dong, Q Hou, J Lei, P G. Wolf, H Ayansola and B Zhang (2020), "Quercetin alleviates intestinal oxidative damage induced by H₂O₂ via modulation of GSH: In vitro screening and in vivo evaluation in a Colitis model of mice", *ACS Omega*. 55(14), tr. 8334–8346.
200. Y Dou, B Tong, Z Wei, Y Li, Y Xia and Y Dai (2013), "Scopoletin suppresses IL-6 production from fibroblast-like synoviocytes of adjuvant arthritis rats induced by IL-1beta stimulation", *International Immunopharmacology*. 17(4), tr. 1037–1043.
201. Y Funai, A E Pickering, D Uta, K Nishikawa, T Mori, A Asada, et al. (2014), "Systemic dexmedetomidine augments inhibitory synaptic transmission in the superficial dorsal horn through activation of descending noradrenergic control: an in vivo patch-clamp analysis of analgesic mechanisms", *Pain*. 155(3), tr. 617–628.
202. Y K Kim, Y S Kim, S U Choi and S Y Ryu (2004), "Isolation of flavonol rhamnosides from *Loranthus tanakae* and cytotoxic effect of them on human tumor cell lines", *Archives of Pharmacal Research*. 27(1), tr. 44-47.
203. Y Lu, Y Q Li, Y N Liu, K H Lee and D F Chen (2013), "Cytotoxic and potential anticancer constituents from the stems of *Schisandra pubescens*", *Pharmaceutical Biology*. 51(9), tr. 1204–1207.

204. Y M Tan, R Yu and J M Pezzuto (2003), "Betulinic acid-induced programmed cell death in human melanoma cells involves mitogen-activated protein kinase activation", *Clinical Cancer Research*. 9(7), tr. 2866–2875.
205. Y Murai, S Takemura, J Kitajima and T Iwashina (2009), "Geographic variation of phenylethanoids and flavonoids in the leaves of *Plantago asiatica* in Japan", *Bulletin of the National Museum of Nature & Science*. 35(3), tr. 131-140.
206. Y Yang, Y Jian, Y Liu, M Ismail, Q Xie, H Yu , et al. (2021), "Triterpenoids from *Kadsura coccinea* with their anti-inflammatory and inhibited proliferation of *Rheumatoid Arthritis-Fibroblastoid Synovial* cells activities", *Frontiers in Chemistry*. 9, tr. 808870.
207. Y Yin, F Y Gong, X X Wu, Y Sun, Y H Li, T Chen , et al. (2008), "Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*", *Journal of Ethnopharmacol*. 120(1), tr. 1-6.
208. Z Chen and C Ma (1999), "Effects of hyperin on free intracellular calcium in dissociated rat brain cells", *Acta Pharmacologica Sinica*. 20(1), tr. 27–30.
209. Z Ding, Y Dai and Z Wang (2005), "Hypouricemic action of scopoletin arising from xanthine oxidase inhibition and uricosuric activity ", *Planta Medica*. 71(2), tr. 183–185.
210. Z Guvenalp, H Ozbek, M Karadayi, M Gulluce, A Kuruuzum-Uz, B Salih , et al. (2015), "Two antigenotoxic chalcone glycosides from *Mentha longifolia subsp. longifolia*", *Pharmaceutical Biology*. 53(6), tr. 888-896.
211. Z J Zhang, Y Y Qi, X D Wu, J Su and Q S Zhao (2018), "Lycogladines A-H, fawcettimine-type Lycopodium alkaloids from *Lycopodium complanatum* var. *glaucum* Ching", *Tetrahedron*. 74(14), tr. 1692-1697.
212. Z T Deng, Y C Liu, Q F Zhu, S Jiang, X D Wu and Q S Zhao (2022), "Hupertimines A–E, fawcettimine-type lycopodium alkaloids from *Huperzia serrate*", *Chem Biodivers*. 19(7), tr. e202200454.
213. E A E Abd , M K Mohamed, Y E Backheet and H M Mohamed (2014), "Cinnamyl alcohol, benzyl alcohol and flavonoid glycosides from *Sanchezia nobilis*", *Chemistry of Natural Compounds*. 50(5), tr. 823-826.

214. A M Yahya, A W Y Wan and D Ibrahim (2017), "Phytochemical study of *Hedychium malayanum* (Zingiberaceae)", *Sains Malaysiana*. 46(1), tr. 83-89.
215. E C Leonard and L B Smith (1964), "*Sanchezia* and related American Acanthaceae", *Rhodora*. 66, tr. 313-343.
216. M S Kobarfard, F Ayatollahi and S A Majid (2014), "Phytochemical investigations on chemical constituents of *Achillea tenuifolia* Lam", *Iranian journal of pharmaceutical research*. 13(3), tr. 1049.
217. N M M U Khan and Md Sagar (2015), "Scopoletin and β -sitosterol glucoside from roots of *Ipomoea digitata*", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(2), tr. 05-07.
218. S Parvin, A S Rafshanjani and K T Sharmin (2015), "Preliminary phytochemical screening and cytotoxic potentials from leaves of *Sanchezia speciosa* Hook. f", *International Journal of Advances in Scientific Research*. 1(3), tr. 145-150.
220. [Sanchezia | Plants of the World Online | Kew Science](#) ngày truy cập 15/10/2022
[World Checklist of Vascular Plants \(kew.org\)](#) ngày truy cập 15/10/2022
221. <https://www.botanyvn.com/> ngày truy cập 15/10/2022

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Vu Duc Loi, Nguyen Minh Khoi, Tran Thanh Ha (2021); “Flavonoids from the leaves of *Sanchezia nobilis* Hook. f” , *Journal of Medicinal Materials*, 1+2 (26), pp. 19-23.
2. **Bùi Thị Xuân**, Trần Minh Ngọc, Trần Thanh Hà, “Tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng và phân lập các hợp chất từ phân đoạn *n*-hexan lá cây *Sanchezia nobilis* Hook.f.”, *Tạp chí Khoa học – ĐHQGHN*, Vol 4, năm 2022. (chấp nhận đăng)
3. **Bùi Thị Xuân**, Trần Minh Ngọc, Trần Thanh Hà, Đặng Thị Thu Hiền, “Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cao chiết lá *Sanchezia nobilis* Hook.f. trên thực nghiệm”, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. (chấp nhận đăng).
4. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Vu Duc Loi, Le Hong Duong, (2020); “Chemical constituents and anti *Helicobacter pylori* effect of ethyl acetate fraction from *Sanchezia nobilis* Hook.F”, *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(3), pp. 4715-4721.
5. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Tran Thanh Ha, Dang Thi Thu Hien. “Flavonoids and the sub-chronic toxicity, anti-peptic ulcer, and analgesic effects of the ethyl acetate soluble fraction of the ethanol extract from *Sanchezia nobilis* Hook. F. Leaves”. *Natural product communications.*, 2022, DOI: 10.1177/1934578X221126306.