

TÓM TẮT LUẬN ÁN

1. GIỚI THIỆU

Tên tác giả: Hoàng Minh Châu

Tên luận án: " Nghiên cứu thành phần hóa học chủ yếu và động thái tích lũy hoạt chất của cây Dây thìa canh *Gymnema sylvestre* (Retz.) R. Br. ex. Schult."

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền

Mã số: 9720206

Họ và tên cán bộ hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS Trần Văn Ôn

2. PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

2. NỘI DUNG TÓM TẮT

2.1. Mục tiêu của luận án

- Xác định cấu trúc hóa học các thành phần hóa học chính của lá Dây thìa canh Việt Nam.

- Xác định sự thay đổi hàm lượng một số hoạt chất chính theo thời gian thu hái trong năm của lá Dây thìa canh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu thành phần hóa học

- Chiết xuất các chất có trong dược liệu bằng phương pháp ngâm và chiết siêu âm với dung môi ethanol 60% . Phân lập các hợp chất trong dược liệu bằng phương pháp sắc ký qua các cột sắc ký pha thuận, pha đảo, sắc ký loại cỡ và HPLC điều chế để thu được các chất tinh khiết.

- Xác định cấu trúc các chất phân lập được dựa trên phương pháp phổ bao gồm: phổ khối lượng phun mù điện tử, phổ khối lượng phun mù điện tử phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D), hai chiều (2D) và đối chiếu với tài liệu tham khảo.

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng sinh học

- Mẫu dược liệu lá Dây thìa canh Việt Nam *G. sylvestre* được chiết siêu âm 3 lần với ethanol 60% ở nhiệt độ 50°C trong 3 giờ. Dịch chiết được cô bay hơi dưới áp suất giảm ở 50°C. Cao khô thu được được hòa tan vào nước để thử tác dụng hạ đường huyết trên chuột.

- Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết trên chuột của dịch chiết Dây thìa canh bằng phương pháp nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của dịch chiết DTC theo mô hình sử dụng chuột nhất gây đái tháo đường typ 2 bằng chế độ ăn giàu chất béo và tiêm Streptozocin.

- Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của các chất phân lập được bằng phương pháp xác định khả năng ức chế enzym PTP1B.

- Nghiên cứu ảnh hưởng độ hấp thu glucose của các chất phân lập bằng phương pháp đo độ hấp thu glucose trong tế bào mô mỡ 3T3-L1.

2.2.3. Nghiên cứu động thái tích lũy hoạt chất trong lá Dây thìa canh

- Xác định chất đại diện của Dây thìa canh là gymnemagenol bằng phương pháp chiết, thủy phân dịch chiết, phân lập bằng sắc ký cột, sắc ký HPLC điều chế, xác định cấu trúc gymnemagenol dựa trên phương pháp phổ bao gồm: phổ khối lượng phun mù điện tử, phổ khối lượng phun mù điện tử phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D), hai chiều (2D) và đối chiếu với tài liệu tham khảo.

- Định lượng gymnemagenol và theo dõi động thái tích lũy hoạt chất: Gymnemagenol được pha với 1 dãy nồng độ 0,08; 0,04; 0,02; 0,01; 0,005; 0,0025 mg/ml và chạy đồng thời, trong cùng điều kiện với các mẫu thủy phân dịch chiết Dây thìa canh trong 12 tháng và xác định diện tích dưới đường cong của pic chất chuẩn. Thời gian lưu của gymnemagenol được xác định là 31,5 phút. Phương trình hồi quy tuyến tính của gymnemagenol đối chiếu trong nghiên cứu được xác định là $AUC = 161,662,666 \times \text{Nồng độ gymnemagenol} + 2,407,421$ ($r^2=0.99$). Hàm lượng gymnemagenol trong các mẫu dược liệu được xác định theo công thức:

%Gymnemagenol

$$= \frac{AUC - 2,407,421}{161,662,666} \times \frac{1}{2} \times \frac{\text{Khối lượng cao khô sau chiết}}{\text{Khối lượng dược liệu cân}} \times 100 (\%)$$

Mỗi tháng phân tích trên 3 mẫu khác biệt. Tỷ lệ hàm lượng gymnemagenol của các mẫu được xác định là trung bình của 3 mẫu \pm SD.

2.3. Kết quả chính và kết luận

2.3.1. Về thành phần hóa học

- Đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 8 chất từ lá của Dây thìa canh *Gymnema sylvestre* (Retz.) R. Br. ex Schult thu tại vùng trồng Hải Hậu, Nam Định, Việt Nam. Trong đó:

+ Có 6 chất mới lần đầu tiên phát hiện từ thực vật:

Chất 1: 3 β ,16 β ,28-trihydroxyolean-12-en-29-oic acid 3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucuronopyranoside; **Chất 2:** Sitakisogenin 3-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)- β -D-glucuronopyranoside; **Chất 3:** Sitakisogenin 3-O- β -D-glucuronopyranoside; **Chất 4:** 29-O-(β -D-glucopyranosyl) gymnemagenol 3-O- β -D-glucuronopyranoside; **Chất 5:** Gymnemagenol 3-O- β -D-glucuronopyranoside; **Chất 8:** 3-O-[β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] oleanolic acid 28-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester.

+ Có 2 chất đã được công bố từ Dây thìa canh (*G.sylvestre*) mẫu thu tại Quảng Tây, Trung Quốc:

Chất 6: 3-O-[β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] oleanolic acid 28- β -D-glucopyranosyl ester. **Chất 7:** 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] oleanolic acid 28-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester.

- 8 chất phân lập được có cấu trúc hóa học khác với các chất đã được nghiên cứu và công bố từ Dây thìa canh Ấn Độ.

2.3.2. Về tác dụng sinh học

- Trên chuột nhất trắng gây đái tháo đường typ 2 bằng chế độ ăn giàu chất béo và tiêm streptozocin, lá Dây thìa canh liều 2,88 g dược liệu khô/kg chuột/ngày và liều 8,64 g dược liệu khô/kg chuột/ngày, uống liên tục trong 2 tuần có tác dụng hạ glucose huyết trên chuột nhất. Không có sự khác biệt về mức độ giảm nồng độ glucose máu giữa lô điều trị bằng gliclazid và lô điều trị bằng Dây thìa canh ($p > 0,05$).

- Dây thìa canh liều 2,88 g dược liệu khô/kg chuột/ngày và liều 8,64 g dược liệu khô/kg chuột/ngày uống kiên tục trong 2 tuần cũng có tác dụng cải thiện về cấu trúc vi thể của tụy trên chuột nhất gây đái tháo đường typ 2.

- Trong 8 chất phân lập được từ Dây thìa canh, các chất 1-5 tương ứng có tác dụng ức chế enzyme PTP1B ở các mức độ khác nhau trong đó chất 5 thể hiện tác dụng tốt nhất. Chất 5 cũng là chất có tác dụng tăng hấp thu glucose tế bào 3T3- L1 mạnh nhất.

2.3.3. Về động thái tích lũy hoạt chất

- Chất 4,5 được chứng minh có tác dụng hạ đường huyết trên in vitro mạnh nhất của Dây thìa canh Việt Nam loài *G. sylvestre*, aglycon của 2 chất này là gymnemagenol được chọn là chất đại diện để định lượng và theo dõi động thái tích lũy hoạt chất trong các mẫu dược liệu. Phương pháp định lượng gymnemagenol bằng HPLC đã được xây dựng và thẩm định.

- Tháng 5,6 và tháng 10 là thời gian có hàm lượng hoạt chất cao nhất trong Dây thìa canh. Hai tháng này có điều kiện thời tiết thuận lợi cho sinh trưởng và phát triển của Dây thìa canh, trùng với thời điểm cây cho sinh khối cao và hoạt chất tích lũy được cũng cao hơn và ngược lại. Mùa đông, tháng 2 là thời điểm sinh khối dược liệu thấp và hàm lượng hoạt chất thấp nhất.

Hà Nội, ngày 08 tháng 11 năm 2018

**TM. TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN
CÁN BỘ HƯỚNG DẪN CHÍNH**

NGHIÊN CỨU SINH

TSKH. Trần Văn Ôn

ThS. Hoàng Minh Châu