

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



HOÀNG THÁI HÒA

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT, THÀNH PHẦN HÓA
HỌC VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY TẦM
BÓP (*Physalis angulata* L.), họ Cà (Solanaceae)

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN
MÃ SỐ: 9720206

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Hà Nội - 2022

CÔNG TRÌNH ĐÃ HOÀN THÀNH TẠI:

- + Khoa Tài nguyên Dược liệu - Viện Dược liệu
- + Khoa Hóa Thực vật - Viện Dược liệu
- + Bộ môn Thực vật - Trường Đại học Dược Hà Nội
- + Bộ môn Dược lực - Trường Đại học Dược Hà Nội
- + Phòng Thực vật - Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật
- + Trung tâm các phương pháp phổ ứng dụng - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
- + Phòng Thử nghiệm Sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
- + Khoa Khoa học Y khoa Thử nghiệm, Khoa Y, Đại học Lund, Thụy Điển

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Trần Thị Oanh
2. PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Viện tổ chức tại Viện Dược liệu

Vào hồi giờ, ngày.... tháng.... năm...

Có thể tìm đọc Luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Hà Nội
- Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Đặt vấn đề

Tầm bóp (*Physalis angulata* L., họ Cà Solanaceae) được sử dụng để tắm cho trẻ em rôm sảy, những người bị mẩn ngứa, toàn cây còn dùng sắc uống điều trị viêm khớp, cứng khớp. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy, các cao chiết và hợp chất tinh khiết phân lập từ *P. angulata* L. có hoạt tính kháng viêm, giảm đau, gây độc tế bào ung thư, chống hen suyễn, điều hòa miễn dịch, kháng khuẩn, kháng nấm, lợi tiểu... với các nhóm chất như tinh dầu, withanolid, flavonoid, terpenoid, acid phenolic và carotenoid. Tuy nhiên, ở Việt Nam, Tầm bóp chưa được quan tâm nhiều. Trong ngành nông nghiệp và lâm nghiệp còn coi loài này như một loại cỏ dại, chưa có nhiều báo cáo về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học. Với mục đích góp phần nghiên cứu về thực vật, thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của Tầm bóp, chứng minh việc sử dụng vị thuốc trong dân gian, nhất là tác dụng chống viêm, giảm đau, chống ung thư..., đồng thời nhằm bổ sung cây thuốc mới vào kho tàng cây thuốc Việt Nam và nâng cao giá trị của cây Tầm bóp về mặt dược học, luận án: “**Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Tầm bóp (*Physalis angulata* L.), họ Cà (Solanaceae)**” đã được tiến hành.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

- Mô tả được hình thái thực vật, giám định tên khoa học và xác định được đặc điểm vi học của cây Tầm bóp.
- Chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc hóa học một số hợp chất từ cây Tầm bóp.
- Đánh giá được một số tác dụng sinh học của cao chiết và một số hợp chất phân lập được từ cây Tầm bóp.

2.2. Nội dung của Luận án

➤ *Nghiên cứu về thực vật*

- Mô tả đặc điểm hình thái và xác định tên khoa học của loài Tầm bóp.
- Xác định đặc điểm giải phẫu và đặc điểm bột lá, thân của loài Tầm bóp.

➤ *Nghiên cứu về hóa học*

- Định tính sự có mặt của các nhóm chất hóa học trong loài Tầm bóp.
- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của một số hợp chất tinh khiết từ loài Tầm bóp.

➤ *Nghiên cứu về một số tác dụng sinh học*

- Nghiên cứu tác dụng chống viêm *in vitro* (mức độ ức chế sản sinh PGE2 và NO, IL-1 β và hoạt tính NF- κ B trong đại thực bào RAW

264.7 gây kích thích viêm bằng LPS) của các cao chiết và các hợp chất withanolid và tác dụng chống viêm *in vivo* (viêm cấp trên mô hình gậy phù bàn chân chuột bằng carrageenan và viêm mạn trên mô hình gậy u hạt thực nghiệm bằng viên bông) của cao toàn phần EtOH 96% từ loài Tầm bóp.

- Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao toàn phần EtOH 96% từ loài Tầm bóp.
- Nghiên cứu cơ chế tác dụng của các hợp chất withanolid đến chuyển hóa acid béo và glucose thông qua con đường AMPK trong tế bào gan HepG2.
- Nghiên cứu khả năng gây độc tế bào ung thư của cao toàn phần EtOH 96%, các cao phân đoạn và một số hợp chất withanolid từ loài Tầm bóp.

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về thực vật học

- Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu thân, lá và xác định được đặc điểm bột dược liệu thân, lá Tầm bóp.

3.2. Về thành phần hóa học

- Đã xác định trong cây Tầm bóp có chứa hầu hết các nhóm chất (flavonoid, caroten, alcaloid, saponin, coumarin, tannin, acid hữu cơ, đường khử, acid amin, chất béo và polysaccharid).
- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 15 hợp chất từ cây Tầm bóp trong đó có 3 hợp chất phenolic (acid caffeic **PA1**, acid ferulic **PA2** và acid 3-*O*-caffeoylquinic **PA3**), 5 flavonoid (quercetin **PA4**, quercitrin **PA5**, quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranosid **PA6**, myricetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosid **PA7** và rutin **PA8**), 2 sterol (stigmasterol **PA9** và daucosterol **PA10**), 4 withanolid (physalindicanol A **PA11**, physalindicanol B **PA12**, physalin B **PA13** và physalin D **PA14**) và 1 triterpen (acid oleanolic **PA15**). Trong số đó, hợp chất **PA7** và **PA12** lần đầu tiên công bố từ cây Tầm bóp.

3.3. Về tác dụng sinh học

- Đây là công trình đầu tiên nghiên cứu tác dụng của cao ethyl acetat và hợp chất tinh khiết physalindicanol A từ Tầm bóp về tác dụng chống viêm *in vitro* (ức chế mạnh sự sản sinh PGE2, NO, IL-1 β và giảm hoạt tính của NF- κ B trong đại thực bào RAW 264.7 gây kích thích viêm bằng LPS).
- Đây cũng là công trình đầu tiên nghiên cứu tác dụng của cao chiết và các hợp chất tinh khiết từ Tầm bóp:
 - + Trên chuyển hóa acid béo và glucose thông qua con đường AMPK trong tế bào gan HepG2.

- + Tác dụng gây độc tế bào ung thư trên các dòng 4T1, SNU-1, Hep3B, NTERA-2 và LLC.

4. Ý nghĩa của Luận án

- Ý nghĩa khoa học: Các kết quả nghiên cứu của Luận án đã góp phần giải thích kinh nghiệm của người dân sử dụng dược liệu Tâm bóp trong dân gian, bổ sung thêm dữ liệu khoa học về thực vật, hóa học và dược lý học của cây Tâm bóp; làm tiền đề cho việc xây dựng tiêu chuẩn và đánh giá chất lượng dược liệu Tâm bóp sau này.
- Ý nghĩa thực tiễn: Làm cơ sở khoa học để phát triển nguồn nguyên liệu Tâm bóp làm thuốc.

5. Bố cục của Luận án

Luận án gồm 4 chương, 28 bảng, 39 hình, 4 sơ đồ, 212 tài liệu tham khảo, 2 phụ lục. Các phần chính trong luận án có 127 trang, gồm: Đặt vấn đề: 1 trang, Tổng quan: 34 trang, Nguyên vật liệu, trang thiết bị và phương pháp nghiên cứu: 18 trang; Kết quả nghiên cứu: 50 trang; Bàn luận: 22 trang; Kết luận và kiến nghị: 2 trang.

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Đã tổng hợp và trình bày có hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay về thực vật học, thành phần hóa học, tác dụng sinh học và công dụng Tâm bóp (*Physalis angulata* L., Solanaceae).

CHƯƠNG 2: NGUYÊN VẬT LIỆU, TRANG THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Mẫu Tâm bóp (có đủ hoa và quả) được thu hái tháng 11 năm 2014 tại huyện Gia Lâm - Hà Nội được sử dụng để nghiên cứu thực vật, định tính và chiết xuất, phân lập. Các mẫu nghiên cứu tác dụng sinh học bao gồm cao toàn phần EtOH 96% (TBT) và các cao phân đoạn (*n*-hexan, TBH; EtOAc, TBE và nước, TBN) và các hợp chất withanolid phân lập từ cây Tâm bóp.

Động vật, hóa chất, dung môi đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Mẫu được lấy cả cây, đầy đủ các bộ phận và làm tiêu bản mẫu cây khô theo phương pháp ghi trong các tài liệu thực vật.
- Làm vi phẫu các bộ phận của cây theo phương pháp cắt ngang, nhuộm kép. Soi bột dược liệu, quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi.
- Định tính các nhóm chất hữu cơ trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học đặc theo tài liệu Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Việt Tự.
- Chiết xuất các cao chiết trong dược liệu bằng phương pháp chiết ngâm với dung môi ethanol 96%.
- Phân lập các chất bằng sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng (TLC). Theo dõi các phân đoạn sắc ký bằng TLC. Phát hiện chất bằng cách phun dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH 96% và hơi nóng, soi dưới đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm.
- Xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên các phương pháp phổ: phổ khối lượng (ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT) và hai chiều (HMBC và HSQC).
- Đánh giá ảnh hưởng của mẫu thử đến khả năng sống sót của tế bào RAW 264.7 và HepG2 bằng phương pháp MTT để xác định nồng độ thử.
- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất withanolid phân lập từ Tâm bóp với các đích nghiên cứu là mức độ sản sinh PGE₂, NO, IL-1 β , NF- κ B trên tế bào RAW 264.7 với tác nhân kích thích là LPS, sử dụng các kỹ thuật ELISA để đo lường.

- Đánh giá tác dụng chống viêm cấp của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan theo phương pháp Winter - Levy.
- Đánh giá tác dụng chống viêm mạn của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng bông của Vogel H. G. và cộng sự, 2008.
- Đánh giá tác dụng giảm đau của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic của Koster và cộng sự.
- Đánh giá tác dụng hoạt hóa AMPK, ACC, FAS và SREBP-1c trong tế bào HepG2 bằng phương pháp Western Blot.
- Đánh giá khả năng ức chế tích tụ lipid của chất tinh khiết phân lập từ Tầm bóp trên tế bào HepG2 bằng thử nghiệm Nile Red.
- Đánh giá tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư *in vitro* của cao chiết theo phương pháp của Skehan và cộng sự.
- Đánh giá tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư *in vitro* của các hợp chất withanolid phân lập được bằng phương pháp MTT.
- Số liệu định lượng được trình bày dưới dạng $M \pm SE$ (M: giá trị trung bình từng lô; SE: sai số chuẩn). Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 5. Phân tích thống kê được thực hiện bằng t-test (đối với những nghiên cứu so sánh 2 lô) hoặc bằng Phân tích phương sai một chiều (one-way ANOVA, đối với những nghiên cứu so sánh nhiều hơn 2 lô). Sự khác biệt giữa các lô đánh giá được coi là có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ THỰC VẬT CỦA TẦM BÓP

3.1.1. Mô tả đặc điểm hình thái và giám định tên khoa học của Tầm bóp

Đặc điểm hình thái

Cây cỏ sống hằng năm, cao tới 1 m; thân rỗng, thiết diện hình tứ giác, phân cành nhiều, cành mọc cùng chỗ với lá. **Thân** màu xanh, có lông rất ngắn, lông nhiều ở cạnh. **Lá** đơn, mọc cách, cuống dài 3 - 10 cm, rộng khoảng 0,3 cm, có lông cứng, nhiều hơn ở mặt trên cuống, mặt trên nổi ở giữa, có 2 cánh ngắn ở hai bên cuống; phiến lá hình trứng, 7 - 10 x 4 - 6 cm, hai mặt nhẵn hoặc có lông rất thưa; gốc lá hình nêm hoặc hơi tròn, đôi khi lệch; mép lá nguyên hoặc có răng cưa thưa, không đều; gốc lá nhọn; gân hình lông chim, 6 - 7 đôi, nổi ở mặt dưới, lõm ở mặt trên, trên gân phủ lông. **Hoa** đơn độc, mọc ở nách lá, lưỡng tính, mẫu 5; cuống hoa dài 1,3 - 1,4 cm, xanh ở phần dưới, nâu đỏ phần trên, phủ lông hướng lên. Đài hoa 5, màu

xanh, hàn liền thành ống ở phần nửa dưới, cao khoảng 5 mm, chia thành 5 thùy hình tam giác ở phần nửa trên, mỗi thùy có một gân chính màu nâu đỏ phần dưới, xanh ở phần trên; mặt ngoài đài phủ lông trắng, mặt trong nhẵn, trừ ở phần thùy, mép thùy có lông; tràng hoa 5, hàn liền, màu vàng nhạt, dài 0,9 cm, thùy tràng hình tam giác rộng, mặt ngoài tràng phủ lông dày, mặt trong phủ lông thưa, có các đốm nâu ở họng tràng, lông mọc dày trên các đốm nâu. Nhị 5, rời nhau, hàn liền với phần ống tràng ở dưới, phần hàn liền khoảng 1mm; chỉ nhị dài 5 - 6 mm, nhẵn, màu xanh vàng ở dưới, hơi nâu ở phần trên; bao phấn 2 ô, khoảng 2 mm, màu xanh nhạt, đỉnh góc, nứt dọc. Bầu trên, 2 mm x 2 mm, 2 ô, 2 lá noãn hàn liền, đỉnh noãn trung trụ, noãn nhiều ở mỗi ô; vòi nhụy dài 5,5 mm, nhẵn, núm nhụy 1, hơi xanh. **Quả** mọng, hình gần cầu, đường kính khoảng 1 cm; cuống quả dài khoảng 2 cm, quả phát triển ở trong đài đồng trường; đài đồng trường khoảng 3 cm x 2 cm, mặt ngoài có lông, mặt trong nhẵn, hình ngũ giác, với 5 gờ chính và 5 gờ phụ màu tím. **Hạt** nhiều, dẹt, khoảng 1,5 mm

Xác định tên khoa học

Căn cứ vào các đặc điểm của tiêu bản đã thu thập (về thân, lá, hoa, quả) đối chiếu với khóa phân loại và bản mô tả trong các tài liệu, mẫu Tầm bóp được xác định tên khoa học là *Physalis angulata* L. (họ Cà - Solanaceae).

3.1.2. Đặc điểm vi học

3.1.2.1. Đặc điểm giải phẫu thân

Mặt cắt tiêu bản hình tròn có 4 góc lồi, từ ngoài vào trong có: (2) Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình đa giác phía ngoài hóa cutin, rải rác có lông che chở đơn bào (1). Mô dày nằm ngay sát lớp biểu bì (3), ở các góc lồi có nhiều lớp tế bào mô dày, các tế bào có thành dày lên ở các góc tiếp xúc với nhau, ở những chỗ còn lại chỉ có 2 lớp tế bào mô dày. Mô mềm vỏ (4) gần như không nhìn rõ, các tế bào bị ép bẹp. Xen kẽ trong mô mềm vỏ có các mô cứng nằm rải rác (5). Libe gỗ xếp liên tiếp tạo thành vòng tròn khép kín gồm libe ở phía ngoài (7) và gỗ ở phía trong (6). Trong cùng là mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác có kích thước lớn, xếp lộn xộn với nhau để hở các khoảng gian bào (8).

3.1.2.2. Đặc điểm giải phẫu lá

Gân lá: Lồi lên cả hai phía. Ngoài cùng là biểu bì trên (1) và biểu bì dưới (11) được cấu tạo bởi một hàng tế bào hình tròn xếp đều đặn, màng ngoài hóa cutin, có lông che chở đa bào (8). Ngay dưới hàng biểu bì trên và biểu bì dưới là lớp mô dày được cấu tạo bởi 2 hàng tế bào thành dày (2, 10). Tiếp đến là mô mềm cấu tạo bởi các tế bào kích thước lớn nhất, thành mỏng, hình đa giác, sắp xếp lộn xộn, tạo thành các khoảng gian bào (3). Bó libe-gỗ sắp xếp liên tục khép kín gồm libe ở ngoài (9) và gỗ ở trong (7).

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Nằm ngay dưới lớp biểu bì trên là mô giậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn nhau (4). Rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai trong mô khuyết (5). Cuối cùng là hạ bì dưới nằm sát biểu bì dưới (6).

3.1.3. Đặc điểm bột dược liệu

3.1.3.1. Đặc điểm bột thân

Bột màu xám, không mùi, vị hơi đắng. Soi trên kính hiển vi thấy các đặc điểm sau: Mảnh mạch xoắn (1), mảnh mạch vạch (2, 3), mảnh mạch điểm (5, 6), mảnh mô mềm gồm các tế bào kích thước lớn, thành mỏng, xếp lộn xộn nhau (4), sợi và bó sợi (7, 8).

3.1.3.2. Đặc điểm bột lá

Bột màu xám, không mùi, vị đắng. Soi trên kính hiển vi thấy các đặc điểm sau: Lỗ khí và mảnh biểu bì mang lỗ khí (7a, 7b), mô giậu gồm các tế bào hình chữ nhật xếp thẳng hàng nhau (4), mảnh mạch xoắn (1a, 1b), mảnh mạch vạch (2), mảnh mạch điểm (3), mảnh mô mềm gồm các tế bào kích thước lớn, thành mỏng, xếp lộn xộn, lông che chở đa bào (5a, 5b) và tinh thể calci oxalat hình cầu gai (6a).

3.2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TẦM BÓP

3.2.1. Định tính

Qua kết quả các phản ứng định tính, sơ bộ kết luận dược liệu phần Tầm bóp có chứa hầu hết các nhóm chất (flavonoid, caroten, alcaloid, saponin, coumarin, tannin, acid hữu cơ, đường khử, acid amin, chất béo và polysaccharid).

3.2.2. Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất

3.2.2.1. Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Chiết xuất và phân lập các hợp chất từ phần Tầm bóp được tiến hành như sơ đồ 3.1-3.4, thu được 15 hợp chất (PA1 - PA15).

3.2.2.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất

✚ Hợp chất PA1: Acid caffeic

Chất rắn màu trắng; ESI-MS: m/z 179,0 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 7,05 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,80 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,95 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6), 7,55 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7), 6,23 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 127,8 (C-1), 115,1 (C-2), 146,8 (C-3), 149,5 (C-4), 116,5 (C-5), 122,8 (C-6), 147,0 (C-7), 115,6 (C-8), 171,0 (C-9).

✚ Hợp chất PA2: Acid ferulic

Tinh thể hình kim màu trắng, ESI-MS: m/z 195,0 [M+H]⁺, 193,0 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 7,19 (1H, d, $J = 1,0$ Hz, H-2), 6,83

(1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 7,08 (1H, dd, $J = 1,0$; 8,0 Hz, H-6), 7,62 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7), 6,33 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8), 3,91 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 127,8 (C-1), 111,8 (C-2), 150,5 (C-3), 149,4 (C-4), 116,5 (C-5), 124,0 (C-6), 146,9 (C-7), 115,9 (C-8), 170,9 (C-9), 56,5 (3-OCH₃).

✚ **Hợp chất PA3: Acid chlorogenic**

Chất rắn màu trắng, ESI-MS: m/z 353,0 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆): δ_H 2,02 (1H, m, H-2), 2,25 (1H, ddd, $J = 2,5$; 4,5; 13,0 Hz, H-2), 5,38 (1H, m, H-3), 3,78 (1H, dd, $J = 3,0$; 9,0 Hz, H-4), 4,23 (1H, q, $J = 3,5$ Hz, H-5), 2,12 (1H, dd, $J = 3,0$; 4,0 Hz, H-6), 2,16 (1H, dd, $J = 3,0$; 14,0 Hz, H-6), 7,15 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,87 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 7,03 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6'), 7,55 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7'), 6,26 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆): δ_C 76,2 (C-1), 39,1 (C-2), 71,3 (C-3), 73,5 (C-4), 71,6 (C-5), 37,9 (C-6), 175,1 (C-7), 127,6 (C-1'), 115,2 (C-2'), 145,8 (C-3'), 148,7 (C-4'), 116,4 (C-5'), 122,5 (C-6'), 146,3 (C-7'), 115,9 (C-8'), 167,1 (C-9').

✚ **Hợp chất PA4: Quercetin**

Chất rắn màu vàng, ESI-MS: m/z 303,0 [M+H]⁺, 301,0 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆): δ_H 6,26 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,51 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 7,82 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,99 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 7,69 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,5 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆): δ_C 146,9 (C-2), 136,7 (C-3), 176,5 (C-4), 162,3 (C-5), 99,1 (C-6), 165,0 (C-7), 94,4 (C-8), 157,7 (C-9), 104,1 (C-10), 123,8 (C-1'), 115,7 (C-2'), 145,8 (C-3'), 148,3 (C-4'), 116,2 (C-5'), 121,4 (C-6').

✚ **Hợp chất PA5: Quercitrin**

Chất rắn màu vàng, ESI-MS: m/z 471,0 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 6,22 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-6), 6,39 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8), 7,36 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 7,33 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6'), 5,37 (1H, br s, H-1''), 4,24 (1H, br d, $J = 1,0$ Hz, H-2''), 3,78 (1H, dd, $J = 3,0$; 9,0 Hz, H-3''), 3,36 (1H, m, H-4''), 3,45 (1H, m, H-5''), 0,95 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 158,5 (C-2), 136,3 (C-3), 179,7 (C-4), 163,2 (C-5), 99,8 (C-6), 165,9 (C-7), 94,7 (C-8), 159,3 (C-9), 105,9 (C-10), 123,0 (C-1'), 116,4 (C-2'), 146,4 (C-3'), 149,8 (C-4'), 117,0 (C-5'), 122,9 (C-6'), 103,6 (C-1''), 71,9 (C-2''), 72,2 (C-3''), 73,3 (C-4''), 72,0 (C-5''), 17,7 (C-6'').

✚ **Hợp chất PA6: Quercetin 3-O- β -D-glucopyranosid**

Chất rắn màu vàng, ESI-MS: m/z 487 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD & DMSO-*d*₆): δ_H 6,24 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 7,85 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 7,63 (1H, dd, $J = 3,0$; 8,5 Hz, H-6'), *glc*: 5,29 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,68

(1H, m, H-2"), 3,51-3,61 (3H, m, H-3", H-4", H-5"), 3,81 (1H, m, H-6"), 3,88 (1H, m, H-6"); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD & DMSO-*d*₆): δ_C 158,6 (C-2), 135,6 (C-3), 179,4 (C-4), 162,9 (C-5), 99,9 (C-6), 165,9 (C-7), 94,8 (C-8), 158,3 (C-9), 105,6 (C-10), 122,9 (C-1'), 116,3 (C-2'), 145,8 (C-3'), 149,9 (C-4'), 117,8 (C-5'), 123,0 (C-6'), *glc*: 105,0 (C-1"), 75,0 (C-2"), 77,1 (C-3"), 69,9 (C-4"), 77,2 (C-5"), 61,9 (C-6").

✚ **Hợp chất PA7: Myricitrin**

Chất bột màu vàng, ESI-MS: *m/z*: 487 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 6,22 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6), 6,38 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8), 6,97 (2H, s, H-2', H-6'), 5,34 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-1"), 4,24 (1H, dd, *J* = 1,5; 3,0 Hz, H-2"), 3,81 (1H, dd, *J* = 3,0; 9,0 Hz, H-3"), 3,36 (1H, m, H-4"), 3,54 (1H, m, H-5"), 0,99 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6"); ¹³C-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_C 159,5 (C-2), 136,3 (C-3), 179,7 (C-4), 163,2 (C-5), 99,8 (C-6), 165,9 (C-7), 94,7 (C-8), 158,5 (C-9), 105,9 (C-10), 122,0 (C-1'), 109,6 (C-2', C-6'), 146,9 (C-3', C-5'), 137,9 (C-4'), 103,6 (C-1"), 71,9 (C-2"), 72,1 (C-3"), 73,4 (C-4"), 72,0 (C-5"), 17,7 (C-6").

✚ **Hợp chất PA8: Rutin**

Chất rắn màu vàng, ESI-MS: *m/z* 633,1 [M+Na]⁺, 609,0 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 6,23 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6), 6,42 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8), 7,69 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-2'), 6,90 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5'), 7,65 (1H, dd, *J* = 2,0; 8,5 Hz, H-6'), *glc*: 5,12 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1"), 3,48 (1H, s, H-2"), 3,36 (1H, m, H-3"), 3,28 (1H, m, H-4"), 3,42 (1H, m, H-5"), 3,43 (1H, m, H-6"a), 3,82 (1H, dd, *J* = 1,5; 11,0 Hz, H-6"b); *rham*: 4,54 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-1"), 3,65 (1H, dd, *J* = 2,0; 3,0 Hz, H-2"), 3,55 (1H, dd, *J* = 3,0; 9,0 Hz, H-3"), 3,30 (1H, m, H-4"), 3,46 (1H, m, H-5"), 1,14 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6"); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 158,5 (C-2), 135,7 (C-3), 179,4 (C-4), 163,0 (C-5), 100,0 (C-6), 166,0 (C-7), 94,9 (C-8), 159,3 (C-9), 105,7 (C-10), 123,6 (C-1'), 117,7 (C-2'), 145,8 (C-3'), 149,8 (C-4'), 116,1 (C-5'), 123,2 (C-6'); *glc*: 104,7 (C-1"), 75,7 (C-2"), 77,2 (C-3"), 71,4 (C-4"), 78,2 (C-5"), 68,6 (C-6"); *rham*: 102,4 (C-1"), 72,1 (C-2"), 72,3 (C-3"), 74,0 (C-4"), 69,7 (C-5"), 17,9 (C-6").

✚ **Hợp chất PA9: Stigmasterol**

Tinh thể hình kim màu trắng; ESI-MS: *m/z* 413,1 [M+H]⁺, 411,2 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ_H 3,53 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, br d, *J* = 3,5 Hz, H-6), 0,84 (3H, s, H-18), 1,03 (3H, s, H-19), 0,91 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21), 5,15 (1H, dd, *J* = 8,5; 15,0 Hz, H-22), 5,02 (1H, dd, *J* = 8,5; 15,0 Hz, H-23), 0,84 (3H, t, *J* = 8,5 Hz, H-26), 0,81 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H-28), 0,68 (3H, d, *J* = 9,0 Hz, H-29); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ_C 37,3 (C-1), 31,7 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,9 (C-7, C-8), 50,1 (C-9), 36,5 (C-10), 21,1 (C-11), 39,7 (C-12), 42,3 (C-13), 56,8 (C-

14), 24,3 (C-15), 28,9 (C-16), 56,0 (C-17), 12,1 (C-18), 19,4 (C-19), 40,5 (C-20), 21,1 (C-21), 138,3 (C-22), 129,3 (C-23), 51,2 (C-24), 31,9 (C-25), 21,2 (C-26), 25,4 (C-27), 19,0 (C-28), 12,3 (C-29).

✚ **Hợp chất PA10: Daucosterol**

Chất rắn màu trắng; ESI-MS: m/z 599,3 $[M+Na]^+$, 575,4 $[M-H]^-$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$ & CD_3OD): δ_H 3,59 (1H, m, H-3), 5,37 (1H, t, $J = 3,5$ Hz, H-6), 0,68 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 0,86 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, H-26), 0,81 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-28), 0,81 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-29), *Glc*: 4,41 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,24 (1H, m, H-2'), 3,44 (2H, m, H-3', H-4'), 3,29 (1H, m, H-5'), 3,84 (1H, dd, $J = 2,0; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,75 (1H, dd, $J = 4,5; 12,0$ Hz, H-6'b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$ & CD_3OD): δ_C 37,4 (C-1), 29,7 (C-2), 79,3 (C-3), 38,8 (C-4), 140,4 (C-5), 122,3 (C-6), 32,0 (C-7), 31,9 (C-8), 50,3 (C-9), 36,8 (C-10), 21,2 (C-11), 39,9 (C-12), 42,4 (C-13), 56,9 (C-14), 24,4 (C-15), 28,3 (C-16), 56,2 (C-17), 11,9 (C-18), 19,4 (C-19), 36,3 (C-20), 18,8 (C-21), 34,1 (C-22), 26,2 (C-23), 45,9 (C-24), 29,3 (C-25), 19,9 (C-26), 19,1 (C-27), 23,1 (C-28), 12,0 (C-29), *Glc*: 101,2 (C-1'), 73,6 (C-2'), 76,5 (C-3'), 70,1 (C-4'), 75,8 (C-5'), 61,9 (C-6').

✚ **Hợp chất PA11: Physalindicanol A**

Chất rắn màu trắng; ESI-MS: m/z 413,1 $[M-H]^-$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 3,52 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-6), 0,68 (3H, s, H-18), 1,10 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 4,81 (1H, t, $J = 1,0$ Hz, H-26 α), 4,95 (1H, t, $J = 1,0$ Hz, H-26 β), 1,74 (3H, br s, H-27), 1,30 (3H, s, H-28); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ_C 37,3 (C-1), 31,9 (C-2), 71,8 (C-3), 42,4 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,7 (C-7), 31,9 (C-8), 50,2 (C-9), 36,6 (C-10), 21,1 (C-11), 39,8 (C-12), 42,4 (C-13), 56,8 (C-14), 24,3 (C-15), 28,2 (C-16), 55,9 (C-17), 11,9 (C-18), 19,4 (C-19), 35,8 (C-20), 18,8 (C-21), 29,7 (C-22), 36,5 (C-23), 75,5 (C-24), 150,5 (C-25), 109,5 (C-26), 19,4 (C-27), 27,8 (C-28).

✚ **Hợp chất PA12: Physalindicanol B**

Chất rắn không màu; ESI-MS: m/z 413,1 $[M-H]^-$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 3,51 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, t, $J = 2,5$ Hz, H-6), 0,69 (3H, s, H-18), 1,01 (3H, s, H-19), 0,97 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 1,35 (6H, s, H-26, H-27), 5,09 (1H, s, H-28 β), 4,76 (1H, d, $J = 1,0$ Hz, H-28 α); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ_C 37,3 (C-1), 31,9 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 31,7 (C-7), 32,0 (C-8), 50,2 (C-9), 36,5 (C-10), 21,1 (C-11), 39,8 (C-12), 42,4 (C-13), 56,8 (C-14), 24,3 (C-15), 28,2 (C-16), 56,0 (C-17), 11,9 (C-18), 19,4 (C-19), 35,9 (C-20), 18,8 (C-21), 31,9 (C-22), 35,6 (C-23), 156,9 (C-24), 73,6 (C-25), 29,4 (C-26), 29,3 (C-27), 106,7 (C-28).

✚ **Hợp chất PA13: Physalin B**

Tinh thể hình kim màu vàng nhạt; ESI-MS: m/z 511,1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 5,90 (1H, dd, $J = 3,0; 10,0$ Hz, H-2), 6,79 (1H, ddd, $J = 3,0; 5,0; 10,0$ Hz, H-3), 5,57 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-6), 2,16 (1H, s, H-16), 1,22 (3H, s, H-19), 1,97 (3H, s, H-21), 4,55 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-22), 2,45 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-25), 3,79 (1H, d, $J = 13,5$ Hz, H-27a), 4,51 (1H, dd, $J = 4,5; 13,5$ Hz, H-27b), 1,27 (3H, s, H-28); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ_C 205,7 (C-1), 127,4 (C-2), 146,1 (C-3), 33,1 (C-4), 133,9 (C-5), 124,5 (C-6), 24,8 (C-7), 39,9 (C-8), 33,2 (C-9), 52,7 (C-10), 24,2 (C-11), 25,9 (C-12), 79,7 (C-13), 107,5 (C-14), 208,1 (C-15), 56,4 (C-16), 81,0 (C-17), 172,3 (C-18), 17,9 (C-19), 80,3 (C-20), 21,5 (C-21), 77,0 (C-22), 32,7 (C-23), 31,6 (C-24), 50,9 (C-25), 166,7 (C-26), 60,7 (C-27), 26,5 (C-28).

✚ **Hợp chất PA14: Physalin D**

Tinh thể hình kim màu vàng nhạt; ESI-MS: m/z 567,0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD & $CDCl_3$): δ_H 5,93 (1H, dd, $J = 2,5; 10,5$ Hz, H-2), 6,66 (1H, m, H-3), 3,71 (1H, m, H-6), 2,16 (1H, s, H-16), 1,31 (3H, s, H-19), 2,00 (3H, s, H-21), 2,45 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H-25), 3,75 (1H, m, H-27a), 4,53 (1H, m, H-27b), 1,28 (3H, s, H-28); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD & $CDCl_3$): δ_C 206,9 (C-1), 127,7 (C-2), 143,6 (C-3), 35,4 (C-4), 76,9 (C-5), 73,5 (C-6), 26,6 (C-7), 38,5 (C-8), 30,5 (C-9), 54,7 (C-10), 25,3 (C-11), 25,7 (C-12), 79,7 (C-13), 107,7 (C-14), 208,5 (C-15), 55,7 (C-16), 81,1 (C-17), 172,6 (C-18), 14,1 (C-19), 80,8 (C-20), 21,7 (C-21), 76,9 (C-22), 32,9 (C-23), 31,1 (C-24), 50,9 (C-25), 167,6 (C-26), 60,8 (C-27), 26,4 (C-28).

✚ **Hợp chất PA15:**

Chất rắn màu trắng; ESI-MS: m/z 479,0 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 3,22 (1H, dd, $J = 4,5; 11,5$ Hz, H-3), 5,28 (1H, t, $J = 3,5$ Hz, H-12), 2,81 (1H, dd, $J = 4,0; 13,5$ Hz, H-18), 0,99 (3H, s, H-23), 0,78 (3H, s, H-24), 0,92 (3H, s, H-25), 0,76 (3H, s, H-26), 1,13 (3H, s, H-27), 0,90 (3H, s, H-29), 0,93 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ_C 38,5 (C-1), 27,2 (C-2), 79,1 (C-3), 38,8 (C-4), 55,3 (C-5), 18,3 (C-6), 32,5 (C-7), 39,3 (C-8), 47,7 (C-9), 37,1 (C-10), 23,0 (C-11), 122,7 (C-12), 143,6 (C-13), 41,7 (C-14), 27,7 (C-15), 23,6 (C-16), 46,6 (C-17), 41,1 (C-18), 45,9 (C-19), 30,7 (C-20), 33,8 (C-21), 32,7 (C-22), 28,1 (C-23), 15,6 (C-24), 15,3 (C-25), 17,2 (C-26), 25,9 (C-27), 182,9 (C-28), 33,1 (C-29), 23,6 (C-30).

3.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA TÂM BÓP

3.3.1. Hoạt tính kháng viêm

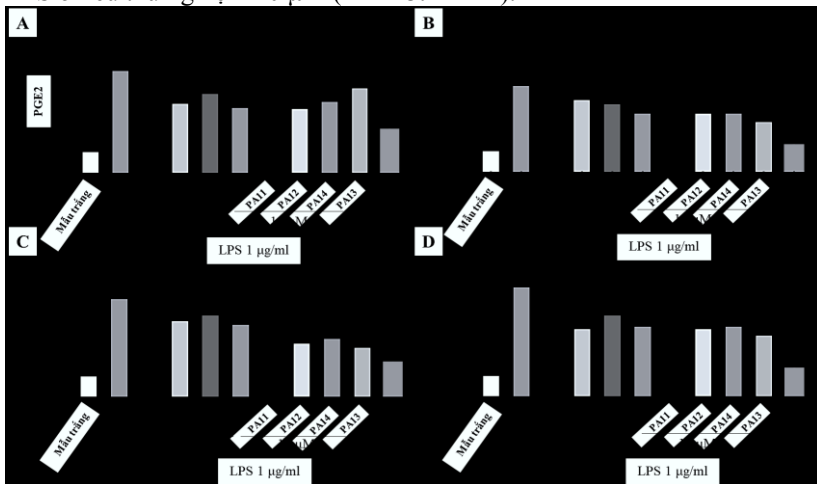
3.3.1.1. Hoạt tính kháng viêm *in vitro*

❖ Ảnh hưởng của mẫu thử đến khả năng sống sót của tế bào RAW 264.7

Sau 24 giờ ủ với cao chiết (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và hợp chất tinh khiết (10 μM), trên 80% các tế bào sống sót, dao động từ 85 - 96%. Do vậy, nồng độ 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ đối với dịch chiết và 10 μM đối với chất tinh khiết là an toàn để thực hiện thí nghiệm chống viêm *in vitro* tiếp theo trên tế bào RAW 264.7.

❖ Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các mẫu thử Tâm bóp

Kết quả cho thấy, trong số 4 cao thử nghiệm, cao EtOAc (TBE, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) của Tâm bóp ức chế mạnh nhất sự sản sinh PGE2, NO, IL-1 β và giảm hoạt tính của NF- κ B trong đại thực bào RAW 264.7 gây kích thích viêm bằng LPS. Các hợp chất withanolid phân lập từ cây Tâm bóp cũng thể hiện hoạt tính kháng viêm *in vitro* tốt. Trong số đó, hợp chất PA11 thể hiện khả năng ức chế mạnh nhất trên sự sản sinh PGE2, NO, và IL-1 β và giảm hoạt tính NF- κ B trong đại thực bào RAW 264.7 gây kích thích viêm bằng LPS ở liều thử nghiệm 10 μM (Hình 3.22A-D).



Hình 3.1. Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và chất tinh khiết (10 μM) từ Tâm bóp

Ảnh hưởng của các cao chiết và chất tinh khiết phân lập từ Tâm bóp lên mức độ sản sinh PGE2 (A), NO (B), IL-1 β (C) và hoạt tính NF- κ B (D). Cao chiết (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và các chất tinh khiết (nồng độ 10 μM) cây Tâm bóp được ủ cùng với chất gây cảm ứng viêm LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) với tế bào RAW 264.7 trên đĩa 96 giếng (30 000 tế bào/giếng) trong 24 giờ. Mẫu trắng được ủ với

DMSO. Dịch môi trường tế bào được thu và thử phản ứng Elisa với các cytokin khác nhau. Độ tin cậy, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ so sánh giữa các mẫu dịch chiết, chất tinh khiết với mẫu chứng LPS. Dexamethason 100 nM được sử dụng là chất đối dương.

3.3.1.2. Hoạt tính kháng viêm in vivo

❖ *Hoạt tính kháng viêm cấp*

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp lên mức độ phù chân chuột

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ phù chân chuột (%)			
		Sau 2 h	Sau 3 h	Sau 4 h	Sau 6 h
Chứng	10	24,60 ± 2,80	38,46 ± 4,58	43,11 ± 4,89	41,16 ± 4,82
Indomethacin (10 mg/kg)	10	8,92 ± 2,20**	14,26 ± 1,77**	11,00 ± 2,55**	5,03 ± 1,48**
Lô 1 (Cao EtOH 96% liều 0,3 g/kg)	11	23,52 ± 2,98	41,51 ± 3,64	39,33 ± 2,60	35,34 ± 2,35
Lô 2 (Cao EtOH 96% liều 0,9 g/kg)	11	22,00 ± 1,56	30,39 ± 1,61	27,04 ± 2,52*	25,11 ± 2,17*

*: $p < 0,05$ và **: $p < 0,01$ khi so sánh với lô chứng

Nhận xét: Cao toàn phần EtOH 96% của Tầm bóp liều 0,3 g/kg không có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột ở các thời điểm 2 h, 3 h, 4 h và 6 h sau khi gây viêm ($p > 0,05$) nhưng liều cao hơn (0,9 g/kg) có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột ở 2 thời điểm là 4 h và 6 h sau khi gây viêm ($p < 0,05$).

❖ *Hoạt tính kháng viêm mạn*

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp trên khối lượng u hạt trên chuột cống trắng

Lô nghiên cứu	n	Khối lượng u hạt tươi (mg)	% ức chế khi cân ướt	Khối lượng u hạt khô (mg)	% ức chế khi cân khô
Chứng	10	634,22 ±74,89	-	103,61 ± 20,04	-

Prednisolon (5 mg/kg)	10	296,34 ± 43,92**	53,28	40,14 ± 6,31*	61,26
Lô 1 (Cao EtOH 96% liều 0,3 g/kg)	10	626,64 ± 79,90	-	107,84 ± 24,54	-
Lô 2 (Cao EtOH 96% liều 0,9 g/kg)	10	453,87 ± 33,39*	28,44	84,37 ± 15,77	-

*: $p < 0,05$ và **: $p < 0,01$ khi so sánh với lô chứng

Nhận xét: Cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp với liều 0,3 g/kg không thể hiện tác dụng làm giảm khối lượng u hạt cả lúc ướt và lúc khô ($p > 0,05$). Cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp với liều 0,9 g/kg có tác dụng làm giảm khối lượng u hạt lúc ướt ($p < 0,05$) với tỷ lệ giảm là 28,44%, nhưng không làm giảm khối lượng u hạt sau khi sấy khô ($p > 0,05$).

3.3.2. Tác dụng giảm đau

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp đến số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng

Lô/Liều	n	Số cơn quặn đau (số cơn/5 phút)					
		0-5 phút	5-10 phút	10-15 phút	15-20 phút	20-25 phút	25-30 phút
Chứng	10	11 (9-15)	26 (21-30)	19 (16-25)	19 (16-20)	13 (12-16)	11 (8-12)
Aspirin (240 mg/kg)	11	0**	4 (0-12)**	8 (1-18)**	6 (0-13)**	7 (0-12)**	7 (0-10)*
Lô 1 (Cao EtOH 96% liều 0,6 g/kg)	10	2 (0-6)**	15 (11-16)**	15 (12- 16)**	11 (8-12)**	9 (4-11)**	7 (6-11)
Lô 2 (Cao EtOH 96% liều 1,8 g/kg)	11	2 (1-4)**	13 (10-14)**	10 (8-10)**	7 (6-10)**	6 (2-7)**	2 (0-6)**

Số liệu được trình bày dưới dạng trung vị và khoảng tứ phân vị, *: $p < 0,05$ và **: $p < 0,01$ khi so sánh với lô chứng, dùng Mann - Whitney U test

Nhận xét: Cao toàn phần EtOH 96% Tầm bóp cả hai mức liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg đều thể hiện tác dụng giảm đau tốt, làm giảm số cơn quặn đau ở thời điểm 5 phút sau khi tiêm acid acetic 1% ($p < 0,01$), tác dụng này

kéo dài đến 30 phút sau khi tiêm đối với mức liều cao 1,8 g/kg ($p < 0,01$) và tác dụng kéo dài đến phút 25 ở mức liều thấp hơn (0,6 g/kg) ($p < 0,01$).

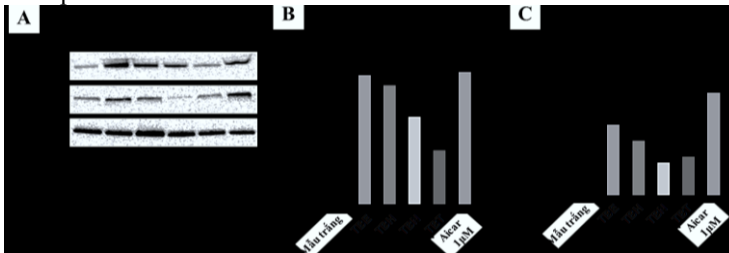
3.3.3. Tác dụng trên chuyển hóa acid béo và glucose trong tế bào gan HepG2

3.3.3.1. Ảnh hưởng của mẫu thử lên khả năng sống sót của tế bào HepG2

Sau 24 giờ ủ với cao chiết (50 $\mu\text{g/mL}$) và hợp chất tinh khiết (10 μM), trên 80% các tế bào sống sót (dao động từ 85 - 96%). Các nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ đối với dịch chiết và 10 μM đối với chất tinh khiết là an toàn với tế bào trong 24 giờ thí nghiệm.

3.3.3.2. Tác dụng hoạt hóa AMPK và ACC trong tế bào gan HepG2

Cao toàn phần (TBT) và các cao phân đoạn tương ứng gồm cao *n*-hexan (TBH), cao EtOAc (TBE) và cao nước (TBN) ở liều thử nghiệm 50 $\mu\text{g/mL}$ đều làm tăng biểu hiện của p-ACC và p-AMPK ở mức độ khác nhau (Hình 3.24A-C) so với giếng chứng (chỉ bổ sung dung môi đã dùng để pha mẫu thử). Tuy nhiên, như quan sát trên hình 3.24B và 3.24C, cao TBE ở liều thử nghiệm 50 $\mu\text{g/mL}$ tăng biểu hiện p-ACC và p-AMPK mạnh nhất so với các mẫu thử khác và mạnh hơn so với chứng dương Aicar liều 1 μM trên biểu hiện p-ACC và yếu hơn trên biểu hiện p-AMPK. Mức độ tác dụng hoạt hóa p-ACC của các cao chiết như sau TBE > TBH > TBN > TBT và hoạt hóa p-AMPK như sau: TBE > TBH > TBT > TBN.

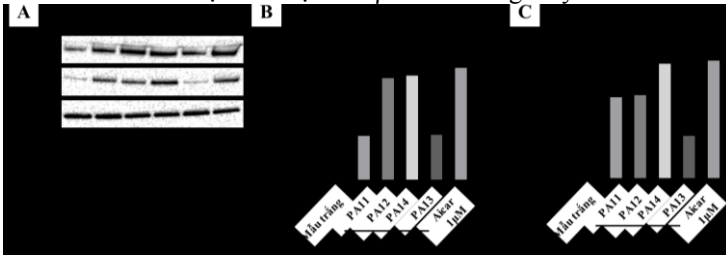


Hình 3.2. Khả năng hoạt hóa p-AMPK và p-ACC trong tế bào HepG2 của các cao chiết

(A) Sự biểu hiện nồng độ protein AMPK và ACC trong tế bào HepG2 bởi các cao chiết (50 $\mu\text{g/mL}$). Dịch chiết (50 $\mu\text{g/mL}$) từ Tâm búp được ủ với tế bào HepG2 trong 2 giờ. Dịch chiết tế bào sau đó được ly giải và phân tích điện di protein với các kháng thể: phospho-AMPK, phospho-ACC và β -actin. (B, C) Cường độ dải của phospho-AMPK và phospho-ACC trong A được định lượng bằng phần mềm Image J. Aicar được sử dụng là chất đối chứng dương cho thí nghiệm. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ so với mẫu trắng.

Ở mức liều thử nghiệm 10 μM , 4 hợp chất tinh khiết PA11 - PA14 đều tăng biểu hiện p-ACC ở mức độ khác nhau. Trong đó, hai hợp chất PA12 và PA14 thể hiện tác dụng mạnh tương đương đối chứng dương

Aicar ở nồng độ thử nghiệm 1 μM . Đối với thử nghiệm trên mức độ biểu hiện p-AMPK, hợp chất PA14 (10 μM) thể hiện tác dụng mạnh nhất so với 3 chất còn lại (PA11-PA13) và tương đương chất đối chứng dương Aicar ở nồng độ thử nghiệm 1 μM (Hình 3.25A, B và C), tiếp theo là đến hợp chất PA11 và PA12. Mức độ biểu hiện của β -actin không thay đổi.

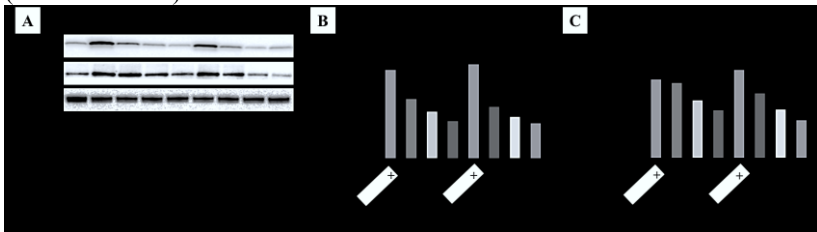


Hình 3.3. Khả năng hoạt hóa p-AMPK và p-ACC trong tế bào HepG2 của các hợp chất

(A) Sự biểu hiện nồng độ AMPK và ACC trong tế bào HepG2 bởi các hợp chất tinh khiết (10 μM). Chất tinh khiết phân lập từ Tầm bốp được ủ với tế bào HepG2 trong 2 giờ. Dịch chiết tế bào sau đó được ly giải và phân tích điện di protein với các kháng thể: p-AMPK, p-ACC và β -actin. (B, C) Cường độ dải của p-AMPK và p-ACC trong A được định lượng bằng phần mềm Image J. Aicar được sử dụng là chất đối chứng dương cho thí nghiệm. * $p < 0,05$ so với mẫu trắng.

3.3.3.3. Tác dụng ức chế FAS và SREBP-1c của PA12 và PA14 trong tế bào HepG2

Tế bào sau khi được bổ sung glucose nồng độ cao 30 mM gây tăng sự biểu hiện FAS và SREBP-1c với mức độ tăng lần lượt là 3,65 và 2,58 so với mẫu chứng không ù glucose. Kết quả thể hiện cụ thể trên hình ảnh chụp Western Blot (Hình 3.26A). Trong khi đó, hai hợp chất PA12 và PA14 (10 μM) đều thể hiện khả năng ức chế mạnh biểu hiện của gen FAS và SREBP-1c phụ thuộc theo nồng độ ở cùng điều kiện nồng độ glucose cao 30 mM (Hình 3.26A-C).

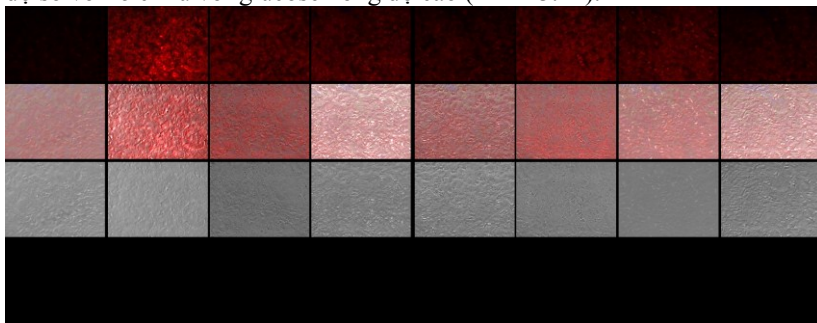


Hình 3.4. Tác dụng ức chế FAS và SREBP-1c theo nồng độ của PA12 và PA14 trong tế bào HepG2

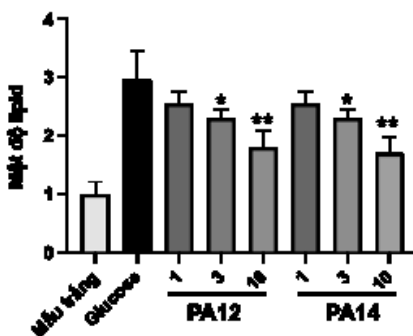
Chất tinh khiết (10 μM) phân lập từ Tầm bóp được ủ với tế bào HepG2 có chứa glucose 30 mM trong 6 giờ. Dịch chiết tế bào sau đó được ly giải và phân tích điện di protein với các kháng thể: SREBP-1c, FAS và β -actin. * $p < 0,05$ so với glucose.

3.3.3.4. Đánh giá khả năng ức chế tích tụ lipid trên tế bào HepG2 bằng thử nghiệm Nile Red

Khi tiến hành đánh giá khả năng tích tụ acid oleic vào trong tế bào, kết quả cho thấy mẫu được ủ nồng độ glucose cao và không được điều trị với các hợp chất tinh khiết PA12 và PA14 cho thấy mức độ tích tụ lipid vào trong tế bào cao trong khi mẫu chúng trắng không ủ glucose mức độ tích tụ lipid không được quan sát thấy. Các hợp chất tinh khiết PA12 và PA14 ở 3 mức liều 1, 3, và 10 μM có tác dụng ức chế sự tích tụ lipid phụ thuộc nồng độ so với lô chỉ ủ với glucose nồng độ cao (Hình 3.27).



Hình 3.5. Hình ảnh nhuộm Nile Red của các tế bào sau khi ủ mẫu



Hình 3.6. Khả năng ức chế tích tụ lipid trên tế bào HepG2 bằng thử nghiệm Nile Red

Chất tinh khiết (1, 3 và 10 μM) phân lập từ Tầm bóp được ủ với tế bào HepG2 có chứa glucose 30 mM trong 24 giờ. Thử nghiệm đánh giá Nile Red được thực hiện như miêu tả phương pháp tiến hành thí nghiệm.

3.3.4. Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư

3.3.4.1. Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư in vitro của cao chiết

Bảng 3.4. Khả năng gây độc tế bào của cao chiết Tầm bóp

STT	Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)					
		4T1	SNU1	Hep3B	NTERA2	LLC	HEK-293A
1	TBT	4,13 ± 0,36	6,71 ± 0,47	4,69 ± 0,34	10,74 ± 1,41	6,84 ± 0,45	4,31 ± 0,15
2	TBH	13,44 ± 1,19	12,98 ± 1,17	11,14 ± 0,59	8,04 ± 0,53	8,95 ± 0,56	9,13 ± 0,94
3	TBE	6,63 ± 0,46	6,88 ± 0,71	6,31 ± 0,28	8,41 ± 0,57	5,41 ± 0,32	3,81 ± 0,27
4	TBN	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
5	Ellipticin	0,40 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,45 ± 0,04	0,46 ± 0,05	0,55 ± 0,06	0,39 ± 0,03

Kết quả trên cho thấy:

+ Các cao **TBT**, **TBH** và **TBE** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC₅₀ từ 4,13 - 13,44 µg/mL. So với cao toàn phần và cao EtOAc, cao *n*-hexan thể hiện tác dụng yếu hơn trên tất cả các dòng tế bào.

+ Mẫu **TBN** không thể hiện hoạt tính gây độc ở các nồng độ nghiên cứu.

3.3.4.2. Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư in vitro của hợp chất phân lập

Bảng 3.5. Khả năng gây độc tế bào của các hợp chất phân lập từ Tầm bóp

STT	Mẫu	IC ₅₀ (µM)					
		4T1	SNU1	Hep3B	NTERA2	LLC	HEK-293A
1	PA11	3,41 ± 0,44	2,67 ± 0,63	7,62 ± 1,17	6,98 ± 8,30	5,57 ± 0,85	8,79 ± 1,13
2	PA12	4,32 ± 0,57	3,12 ± 1,21	8,07 ± 1,54	8,32 ± 7,80	7,18 ± 1,62	9,49 ± 1,65
3	PA13	2,64 ± 0,39	1,10 ± 0,74	6,79 ± 0,96	4,44 ± 0,40	4,59 ± 0,77	5,81 ± 0,68
4	PA14	3,61 ± 0,95	2,70 ± 0,86	7,62 ± 1,53	9,00 ± 0,60	8,53 ± 0,96	13,28 ± 1,49
5	Doxorubicin	0,16 ± 0,03	0,39 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,75 ± 0,06	0,22 ± 0,02	0,81 ± 0,09

Kết quả trên cho thấy:

+ **PA13** thể hiện tác dụng mạnh nhất trong số 4 hợp chất nghiên cứu trên các dòng tế bào 4T1, SNU1, NTERA-2 và LLC, với IC_{50} trong khoảng 1,10 - 4,59 μM .

+ Các hợp chất còn lại (**PA11**, **PA12** và **PA14**) chỉ thể hiện tác dụng trên dòng tế bào 4T1 và SNU1, trong đó tác dụng của **PA11** ~ **PA14** > **PA12**, với IC_{50} lần lượt trên dòng tế bào 4T1 là $3,41 \pm 0,44 \mu\text{M}$ (**PA11**), $4,32 \pm 0,57 \mu\text{M}$ (**PA12**), $3,61 \pm 0,95 \mu\text{M}$ (**PA14**) và trên dòng tế bào SNU1 là $2,67 \pm 0,63 \mu\text{M}$ (**PA11**), $3,12 \pm 1,21 \mu\text{M}$ (**PA12**), $2,70 \pm 0,86 \mu\text{M}$ (**PA14**).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

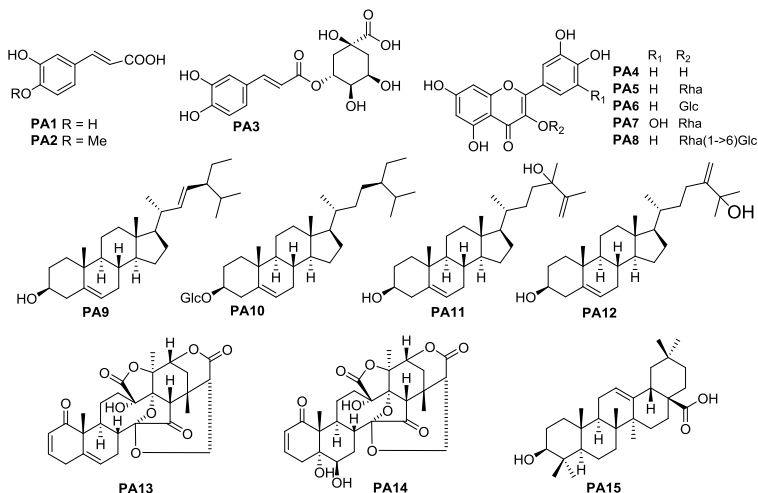
4.1. VỀ THỰC VẬT

Luận án đã xây dựng được bộ dữ liệu hoàn chỉnh về đặc điểm hình thái, cấu tạo giải phẫu (thân, lá) và đặc điểm vi học bột dược liệu (thân, lá). Kết quả này phù hợp với các tài liệu ở trong và ngoài nước đã công bố về cây Tâm bóp. Tuy nhiên, những công bố trước đây mới chỉ tập trung mô tả hình thái, chưa có công bố về đặc điểm giải phẫu, bột dược liệu. Đây là công bố đầu tiên về đặc điểm giải phẫu và bột dược liệu của phần thân và lá cây Tâm bóp góp phần xây dựng tiêu chuẩn dược liệu, phục vụ công tác kiểm nghiệm, đồng thời xác định tính đúng của loài nghiên cứu. Ngoài ra, luận án đã góp phần làm sáng tỏ các đặc điểm thực vật giúp người dân có thể phân biệt Tâm bóp (Lu lu cái) với “tâm bóp” (Lu lu đực) hay dây Xoan leo.

4.2. VỀ HÓA HỌC

Định tính: Kết quả định tính bằng các phản ứng hóa học cho thấy, Tâm bóp chứa hầu hết các nhóm chất ngoại trừ nhóm glycosid tim, trong đó flavonoid là nhóm chất chính của loài này. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước về Tâm bóp.

Chiết xuất và phân lập: Từ cao EtOH 96% Tâm bóp đã phân lập và xác định cấu trúc của 15 hợp chất (**Hình 4.2**), bao gồm 3 acid phenolic (acid caffeic **PA1**, acid ferulic **PA2** và acid chlorogenic **PA3**), 5 flavonoid (quercetin **PA4**, quercitrin **PA5**, quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranosid **PA6**, myricetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosid **PA7** và rutin **PA8**), 2 sterol (stigmasterol **PA9** và daucosterol **PA10**), 4 withanolid (physalindicanol A **PA11**, physalindicanol B **PA12**, physalin B **PA13** và physalin D **PA14**) và 1 triterpen (acid oleanolic **PA15**). Trong số đó, hợp chất **PA7** và **PA12** lần đầu tiên phân lập từ loài *P. angulata*. Kết quả phân lập phù hợp với kết quả định tính và cũng phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới về loài *P. angulata* L.



Hình 4.1. Cấu trúc của các hợp chất phân lập từ Tầm bóp

4.3. VỀ TÁC DỤNG SINH HỌC

4.3.1. Hoạt tính kháng viêm

4.3.1.1. Hoạt tính kháng viêm *in vitro*

PGE₂, NO, IL-1 β và NF- κ B có những vai trò nhất định trong quá trình viêm. Việc ức chế sản xuất, hay làm giảm biểu hiện và hoạt tính của các yếu tố này sẽ góp phần làm giảm viêm. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng viêm *in vitro* của Tầm bóp đã được đánh giá dựa trên khả năng ức chế sản xuất các yếu tố trung gian gây viêm như PGE₂, NO, cytokin viêm (IL-1 β) và hoạt tính của yếu tố nhân kappa B. Kết quả cho thấy, cao EtOAc (TBE) thể hiện hoạt tính chống viêm *in vitro* mạnh nhất trong mô hình thử nghiệm. Bên cạnh đó, các hợp chất withanolid phân lập từ cao EtOAc (physalin B và D) cũng thể hiện hoạt tính kháng viêm. Tuy nhiên, tác dụng này yếu hơn so với hợp chất **PA11** (physalindicanol A) phân lập từ phân đoạn *n*-hexan. Hoạt tính kháng viêm của hợp chất **PA11** là mạnh và gần tương đương dexamethason 100 nM.

4.3.1.2. Hoạt tính kháng viêm *in vivo*

Đánh giá hoạt tính kháng viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan, cao chiết EtOH 96% cây Tầm bóp liều 0,9 g/kg có hoạt tính kháng viêm cấp ở các thời điểm 4 giờ và 6 giờ sau gây viêm. Tuy nhiên, cũng ở liều này cao chiết Tầm bóp không thể hiện hoạt tính kháng viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm. Hoạt tính kháng viêm của Tầm bóp có thể là do tác dụng của nhiều hợp chất khác nhau có trong cây như flavonoid, các steroid, saponin, withanolid... và tác động bằng nhiều cơ

chế khác nhau. Trong đó, nhiều flavonoid đã được chứng minh có hoạt tính kháng viêm cấp và mạn trên thực nghiệm như quercetin, rutin.... Bên cạnh đó, flavonoid trong Tầm bóp cũng được chứng minh là có tác dụng chống oxy hóa, có thể khả năng chống oxy hóa đã góp phần dọn các gốc tự do giải phóng trong quá trình viêm, cản trở quá trình peroxyd hóa lipid màng tế bào, gây bất lợi cho quá trình tổng hợp các chất trung gian hóa học của quá trình viêm của Tầm bóp. Ngoài ra, theo tổng quan tài liệu (mục 1.3.1.), cơ chế chống viêm của Tầm bóp theo nhiều con đường như ức chế COX, tăng sinh lymphocyt, NO và sản xuất TGF- β ... Như vậy, hoạt tính kháng viêm của Tầm bóp là do tác dụng của nhiều hợp chất khác nhau có trong cây như withanolid, flavonoid... và tác động bằng nhiều cơ chế khác nhau.

4.3.2. Tác dụng giảm đau

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chiết EtOH 96% cây Tầm bóp ở cả hai mức liều 0,3 g/kg và 0,9 g/kg đều thể hiện tác dụng giảm đau, làm giảm số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng từ 5 phút đầu sau khi tiêm acid acetic 1% ($p < 0,01$) và tác dụng còn kéo dài đến phút 30 ở lô sử dụng liều cao 0,9 g/kg ($p < 0,01$), phút 25 ở lô sử dụng liều thấp 0,3 g/kg ($p < 0,01$). Tác dụng giảm đau của cao chiết này có thể là do giảm tổng hợp PGF₂ bằng cách ức chế COX, ngoài ra còn có thể do làm giảm tính cảm thụ của ngọn dây thần kinh cảm giác với các chất gây đau của quá trình viêm. Tuy nhiên đây mới chỉ là nhận định ban đầu. Để có thể xác định chính xác cơ chế tác dụng giảm đau của dược liệu này cần phải tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn.

4.3.3. Tác dụng trên chuyển hóa acid béo và glucose trong tế bào gan HepG2

AMPK, ACC, FAS và SREBP-1c có mối tương quan với nhau và có vai trò nhất định trong quá trình chuyển hóa lipid. Sự kích hoạt AMPK sẽ làm giảm biểu hiện của ACC và FAS thông qua quá trình điều hòa ngược SREBP-1c. Trong nghiên cứu này, khả năng hoạt hóa p-AMPK, p-ACC, ức chế FAS và SREBP-1c của các cao chiết và bốn hợp chất withanolid đã được đánh giá. Kết quả cho thấy, cao EtOAc và *n*-hexan (50 μ g/mL) hoạt hóa p-AMPK và p-ACC mạnh hơn các cao còn lại; các hợp chất **PA12** và **PA14** hoạt hóa p-AMPK, p-ACC mạnh hơn hai hợp chất còn lại. Ngoài ra, **PA12** và **PA14** còn thể hiện tác dụng ức chế FAS và SREBP-1c phụ thuộc nồng độ. Đây là nghiên cứu đầu tiên về tác dụng ức chế tích tụ lipid của Tầm bóp trên tế bào HepG2.

4.3.4. Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư *in vitro*

Luận án đánh giá tác dụng gây độc trên 6 dòng tế bào (5 dòng tế bào ung thư: SNU-1, 4T1, LLC, Hep3B, NTERA-2 và 1 dòng tế bào biểu mô phôi thận người (HEK-293A) của cao chiết và 4 hợp chất withanolid

phân lập từ Tầm bóp. Kết quả cho thấy, trừ cao nước (TBN), cao chiết toàn phần (TBT), cao phân đoạn *n*-hexan (TBH) và EtOAc (TBE) đều có tác dụng trên 5 dòng tế bào ung thư nghiên cứu với IC₅₀ từ 4,13 - 13,44 µg/mL. Trong đó, cao *n*-hexan thể hiện tác dụng yếu hơn 2 cao chiết còn lại. Điều này có thể được giải thích dựa trên thành phần hóa học của các cao phân đoạn *n*-hexan và EtOAc với sự có mặt của các hợp chất flavonoid và withanolid. Đây là các nhóm chất đã được nghiên cứu nhiều về tác dụng chống ung thư. Bên cạnh việc đánh giá tác dụng của các cao chiết, luận án cũng tiến hành nghiên cứu tác dụng của 4 withanolid (PA11 - PA14) phân lập từ cao *n*-hexan và EtOAc. Đây là nhóm chất đặc trưng cho loài Tầm bóp nói riêng và chi *Physalis* L. nói chung đồng thời cũng được phân lập từ các phân đoạn có hoạt tính. Kết quả cho thấy, tất cả các chất đều thể hiện tác dụng trên 2 dòng tế bào 4T1 và SNU-1 với IC₅₀ 1,10 - 3,61 µM. Ngoài ra, physalin B (PA13) cũng thể hiện tác dụng gây độc trên 2 dòng tế bào NTERA-2 và LLC với IC₅₀ lần lượt là 4,44 ± 4,40 và 4,59 ± 0,77 µM.

KẾT LUẬN

1. Về thực vật học

Giám định được tên khoa học của cây Tầm bóp thu hái tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội là *Physalis angulata* L. (họ Cà - Solanaceae).

Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu thân, lá và xác định được đặc điểm bột dược liệu lá, thân Tầm bóp.

2. Về thành phần hóa học

Đã xác định trong cây Tầm bóp có chứa hầu hết các nhóm chất (flavonoid, caroten, alcaloid, saponin, coumarin, tannin, acid hữu cơ, đường khử, acid amin, chất béo và polysaccharid).

Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 15 hợp chất từ cây Tầm bóp trong đó có: 3 hợp chất phenolic (acid caffeic PA1, acid ferulic PA2 và acid 3-*O*-caffeoylquinic PA3), 5 flavonoid (quercetin PA4, quercitrin PA5, quercetin 3-*O*-β-D-glucopyranosid PA6, myricetin 3-*O*-α-L-rhamnopyranosid PA7 và rutin PA8), 2 sterol (stigmasterol PA9 và daucosterol PA10), 4 withanolid (physalindicanol A PA11, physalindicanol B PA12, physalin B PA13 và physalin D PA14), 1 triterpen (acid oleanolic PA15). Trong số đó, hợp chất PA7 và PA12 lần đầu tiên công bố từ cây Tầm bóp.

3. Về tác dụng sinh học

❖ Hoạt tính kháng viêm và giảm đau

Cao EtOAc (TBE, 20 µg/mL) và physalindicanol A (10 µM) của Tầm bóp ức chế mạnh nhất sự sản sinh PGE2, NO, IL-1β và giảm hoạt tính

của NF- κ B trong đại thực bào RAW 264.7 gây kích thích viêm bằng LPS trong số các mẫu cao và chất tinh khiết thử nghiệm.

Cao toàn phần EtOH 96% Tâm bóp ở liều 0,9 g/kg thể hiện tác dụng ức chế phù bàn chân chuột cống trắng tại thời điểm 4 giờ và 6 giờ sau khi gây viêm bằng carrageenan, với tỷ lệ phù lần lượt chỉ còn là $27,04 \pm 2,52\%$ và $25,11 \pm 2,17\%$, khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng với $p < 0,05$.

Cao toàn phần EtOH 96% Tâm bóp ở liều 0,6 và 1,8 g/kg thể hiện tác dụng làm giảm số con quận đau so với lô chứng từ 5 phút đầu đến phút 30.

❖ *Trên chuyển hóa acid béo và glucose*

Cao phân đoạn EtOAc (50 μ g/mL) tăng biểu hiện p-ACC và p-AMPK mạnh nhất so với các mẫu thử khác.

Đối với thử nghiệm trên mức độ biểu hiện p-AMPK, hợp chất physalin D (10 μ M) thể hiện tác dụng mạnh nhất tiếp theo là hợp chất physalindicanol A và physalindicanol B.

Physalindicanol B và physalin D (10 μ M) đều thể hiện khả năng ức chế mạnh biểu hiện của gen FAS và SREBP-1c phụ thuộc theo nồng độ ở cùng điều kiện nồng độ glucose cao 30 mM.

Ở 3 mức liều 1, 3 và 10 μ M, physalindicanol B và physalin D có tác dụng ức chế sự tích tụ lipid phụ thuộc nồng độ so với lô chỉ ủ với glucose nồng độ cao.

❖ *Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư*

Cao toàn phần EtOH 96% và 2 cao phân đoạn (*n*-hexan và EtOAc) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư nghiên cứu (4T1, SNU-1, Hep3B, NTERA-2, LLC) và HEK-293A với giá trị IC₅₀ từ 3,81 - 13,44 μ g/mL.

Các hợp chất physalindicanol A, physalindicanol B, physalin B và physalin D thể hiện tác dụng gây độc trên 2 dòng tế bào 4T1 và SNU-1 với IC₅₀ là 1,10 - 3,61 μ M. Ngoài ra, physalin B cũng thể hiện tác dụng gây độc trên 2 dòng tế bào NTERA-2 và LLC với IC₅₀ lần lượt là $4,44 \pm 0,40$ và $4,59 \pm 0,77$ μ M.

KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dược liệu Tâm bóp.
- Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về tác dụng giảm đau, chống viêm, chống đái tháo đường và chống ung thư của cây Tâm bóp.
- Có thể lựa chọn Tâm bóp làm vị thuốc được sử dụng phối hợp với các vị khác trong bài thuốc chống viêm giảm đau, phòng ngừa ung thư của Y học cổ truyền.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Hoàng Thái Hòa**, Nguyễn Thượng Dong, Đào Thanh Hiền, Nghiêm Đức Trọng, Nguyễn Hoàng Tuấn (2017), “Nghiên cứu đặc điểm hình thái và vi học của cây Tầm bóp (*Physalis angulata* L.), thuộc họ Cà (Solanaceae)”, *Tạp chí Dược học*, số 491, năm 57, tr.21-24.
2. **Hoàng Thái Hòa**, Nguyễn Thượng Dong, Trần Thị Oanh, Lê Việt Dũng, Huỳnh Đăng Khoa, Đào Thị Thanh Hiền (2017), “Flavonoid phân lập từ cây Tầm bóp”, *Tạp chí Dược liệu*, 22(2), tr.72-77.
3. **Hoàng Thái Hòa**, Nguyễn Thượng Dong, Trần Thị Oanh, Lê Việt Dũng, Đào Thị Thanh Hiền (2017), “Thành phần hóa học của phân đoạn *n*-hexan cây Tầm bóp thu hái tại Việt Nam”, *Tạp chí Dược liệu*, 22(6), tr.327-332.
4. **Hoàng Thái Hòa**, Trần Thị Oanh, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Thế Hùng (2018), “Các hợp chất physalin và acid phenolic phân lập từ cây Tầm bóp thu hái tại Việt Nam”, *Tạp chí Dược liệu*, 23(2), tr.77-82.
5. **Hoàng Thái Hòa**, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thượng Dong, Trần Thị Oanh, Trần Thị Hiền, Đỗ Thị Hà (2020), “Effects of compounds from *Physalis angulata* on fatty acid synthesis and glucose metabolism in HepG2 cells via the AMP-activated protein kinase pathway”, *Natural Product Sciences*, 26(3), pp.200-206.