BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU

TRẦN PHI HÙNG

NGHIÊN CỨU VỀ THỰC VẬT, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY HẾ MỌ (*Psychotria prainii* H. Lév.)

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

MÃ SỐ: 9720206

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Hà Nội - 2018

CÔNG TRÌNH ĐÃ HOÀN THÀNH TẠI:

Viện Dược liệu

Viện Sinh Thái và Tài nguyên Sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Viện Hóa Sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Trường Đại học Y Hà Nội

Trường Đại học Dược Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Trọng Thông
2. PGS.TS. Lê Việt Dũng

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 2018

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

Hế mọ từ lâu đã được người Thái ở Sơn La sử dụng để chữa các hội chứng ly, viêm đại tràng cấp và mạn. Dựa trên kinh nghiệm này, một số công trình nghiên cứu bước đầu đã được thực hiện tại Sơn La về tác dụng điều trị viêm đại tràng cấp và mạn tính của Hế mọ. Kết quả cho thấy, Hế mọ có tiềm năng là một cây thuốc quí, nếu được nghiên cứu và phát triển có thể tạo ra sản phẩm chữa viêm đại tràng, một chứng bệnh thường gặp và khó chữa trị hiện nay. Mặc dù vậy, hiện những hiểu biết khoa học về cây này còn rất nghèo nàn, thậm chí cây mới bước đầu được xác định là một loài thuộc chi Lấu (*Psychotria* sp.) thuộc họ Cà phê (Rubiaceae). Để có thể minh chứng về góc độ khoa học hiện đại kinh nghiệm sử dụng trong dân gian cây này, cần thiết phải có những nghiên cứu toàn diện trên nhiều khía cạnh, từ đặc điểm thực vật đến thành phần hoá học và tác dụng sinh học. Vì vậy, đề tài "**Nghiên cứu về thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Hế mọ (*Psychotria prainii* H. Lév.)**" đã được tiến hành.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

- Khẳng định được tên khoa học và mô tả được đặc điểm hình thái và đặc điểm vi học của cây Hế mọ.
- Chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc hóa học một số hợp chất phần trên mặt đất cây Hế mọ.
- Đánh giá một số tác dụng sinh học của cao chiết nước và một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Hế mọ.

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 Hế mọ.
- Xác định đặc điểm giải phẫu lá, thân, rễ, đặc điểm bột dược liệu Hế mọ.

- *Nghiên cứu về hóa học*

- Định tính sự có mặt của các nhóm chất hóa học trong phần trên mặt đất cây Hế mọ.
- Chiết xuất, phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc của một số hợp chất tinh khiết từ phần trên mặt đất cây Hế mọ.

- *Nghiên cứu về tác dụng sinh học:*

- Đánh giá tác dụng của cao nước Hế mọ trên nhu động ruột ở chuột nhắt trắng.
- Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi của cao nước Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích ở động vật thực nghiệm.
- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Hế mọ trên mô hình ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7.

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về thực vật học

- Lần đầu tiên mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu thân, lá, rễ và xác định được đặc điểm bột dược liệu lá, thân, rễ Hế mọ.

3.2. Về thành phần hóa học

- Đã xác định phần trên mặt đất Hế mọ có chứa các nhóm chất chính là flavonoid, alcaloid và tanin. Ngoài ra còn có mặt các nhóm chất như acid hữu cơ, acid amin, đường khử, polysaccharid, chất béo, sterol và caroten.
- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 1 hợp chất mới lần đầu tiên biết đến trong tự nhiên: acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic và 9 chất lần đầu tiên từ loài *Psychotria prainii* H. Lév trong đó 8 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Psychotria*: sulfuretin (3′,4′,6-trihydroxyauron) (**2**), butein (2′,3,4,4′-tetrahydroxychalcon) (**4**), carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester (**5**), acid asperulosidic (7), degalloylmacarangiosid B (**8**), 6-hydroxyjunipeionolosid (**9**) và roseosid II (**10**).

3.3. Về tác dụng sinh học

- Đây là công trình đầu tiên chứng minh tác dụng chống viêm của các chất tinh khiết acid asperulosidic và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester phân lập từ phần trên mặt đất cây Hế mọ trên mô hình ức chế tạo thành NO trên tế bào RAW264.7.
- Đây cũng là công trình đầu tiên nghiên cứu tác dụng của cao nước Hế mọ trên mô hình chuột bị gây hội chứng ruột kích thích. Kết quả nghiên cứu này đã góp phần chứng minh tác dụng điều trị các bệnh đường tiêu hóa, viêm đại tràng mạn tính của Hế mọ theo kinh nghiệm dân gian.

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 và làm cơ sở khoa học cho việc sử dụng Hế mọ làm thuốc chữa bệnh về đường tiêu hóa.
- Ý nghĩa thực tiễn: Làm cơ sở khoa học để phát triển nguồn nguyên liệu Hế mọ làm thuốc quý và góp phần bảo tồn tài nguyên cây thuốc này.

5. Bố cục của Luận án

Luận án gồm 4 chương, 51 bảng, 44 hình, 1 sơ đồ, 178 tài liệu tham khảo, 14 phụ lục. Các phần chính trong luận án có 137 trang, gồm: Đặt vấn đề: 2 trang, Tổng quan: 40 trang, Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 14 trang; Kết quả nghiên cứu: 58 trang; Bàn luận: 21 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, công dụng và tác dụng sinh học của một số loài thuộc chi *Psychotria* nói chung và loài *Psychotria prainii* H. Lév. nói riêng, đồng thời cũng đã tổng hợp các thông tin tổng quan về viêm và hội chứng ruột kích thích.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây Hế mọ được thu hái tại bản Púng Ngò, xã Chiềng Mai, huyện Mai Sơn, tỉnh Sơn La vào tháng 7 năm 2013. Dược liệu được rửa sạch, phơi khô, xay nhỏ.

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Ếch, trọng lượng 200 - 220 g, cả 2 giống, khỏe mạnh.

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.
- Áp dụng phương pháp hiển vi để nghiên cứu cấu tạo giải phẫu và đặc điểm bột dược liệu các bộ phận lá, thân, rễ của loài.
- Định tính các nhóm chất hữu cơ trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học đặc trưng và sắc ký lớp mỏng dựa theo tài liệu "Thực tập dược liệu" của Bộ môn Dược liệu – Đại học Dược Hà Nội.
- Chiết xuất các chất trong dược liệu bằng phương pháp chiết hồi lưu với dung môi ethanol 96%.
- Phân lập các chất bằng sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng (TLC). Theo dõi các phân đoạn bằng TLC.
- Xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên tính chất vật lý (nhiệt độ nóng chảy, góc quay cực) và các phương pháp phổ: phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và DEPT) và hai chiều (HMBC, HSQC và NOESY).
- Đánh giá tác dụng của cao nước phần trên mặt đất Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích bằng dầu mù tạt.
- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của một số hợp chất phân lập từ phần trên mặt đất Hế mọ trên mô hình ức chế tạo thành NO của đại thực bào RAW264.7.
- Số liệu được nhập bằng Microsoft Excel 2013, được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T test – Student, kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm$ SD. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực vật học

3.1.1. Thẩm định tên khoa học

Tiến hành phân tích đặc điểm hình thái của các mẫu Hế mọ thu thập tại bản Púng Ngò, xã Chiềng Mai, huyện Mai Sơn, tỉnh Sơn La vào thời điểm cây ra hoa và khi có quả (năm 2013). Đối chiếu với khóa phân loại và bản mô tả các loài thuộc chi Lấu *Psychotria* L., họ Cà phê (Rubiaceae) của các tác giả trên thế giới và trong nước như: H. Léveillé, Pitard. J., Chen W., Chen T., Phạm Hoàng Hộ, Võ Văn Chi, Trần Ngọc Ninh đã xác định mẫu Hế mọ trên thuộc chi Lấu *Psychotria* L., có tên khoa học là *P. prainii* H. Lév., họ Cà phê (Rubiaceae). Kết quả nghiên cứu này được giám định lại bởi các chuyên gia của Khoa Tài nguyên dược liệu - Viện Dược liệu (tiêu bản mang số hiệu TB-9938), Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - HN (số hiệu tiêu bản 1572013SL) và Bộ môn Thực vật Trường Đại học Dược Hà Nội - HNIP (số hiệu 18071/14).

3.1.2. Đặc điểm hình thái thực vật

Cây bụi, cao 0,5 - 2 m, có phân cành; cành non, cuống lá, mặt dưới lá, cuống cụm hoa có lông cứng (đơn) màu nâu hơi đỏ, nâu vàng đến nâu xám, dày đặc. Lá đơn, mọc đối đôi khi tập trung ở đỉnh cành; cuống lá dài 0,5 - 2,0 cm, có lông cứng dày đặc; phiến lá chất giấy hoặc chất da mỏng, không có điểm tuyến, màu xanh hơi xám hoặc xanh hơi nâu, hình bầu dục, bầu dục thuôn, mác thuôn, trứng ngược hoặc trứng, kích thước 3 - 15 x 1,3 - 6,5 cm, mặt trên nhẵn, mặt dưới có lông cứng dày đặc, gốc lá nhọn đến tù, mép lá nguyên, chóp lá tù đôi khi có đuôi ngắn; gân bên 6 - 11 cặp, rời hoặc gần như nối với nhau thành vòng mờ tạo thành viền gân không trọn vẹn ở mép; lá kèm sớm rụng, hình trứng, nằm giữa 2 cuống lá, kích thước 5 - 6 x 10 - 13 mm, có lông cứng dày đặc, xẻ thành 2 thùy tới 1/3 - 1/2 chiều dài, thùy hình giùi. **Cụm hoa** ở đỉnh cành, dạng đầu tới dạng xim co ngắn, không cuống hoặc có cuống ngắn, không phân nhánh; đường kính cụm hoa 1 - 1,5 cm; hoa có cuống hoặc gần như không cuống, lá bắc hình tam giác hẹp, dài 3 - 5 mm. **Đài** có lông dài và dày ở mặt ngoài, phần xẻ gồm 5 thùy có hình mác hẹp, hình thìa hoặc bầu dục hẹp, dài 1,5 - 3,2 mm; đế hoa dạng nón ngược. **Tràng** màu trắng, hình phễu, mặt ngoài nhẵn ngoại trừ phần chóp thùy có túm lông; ống tràng 3 - 5 mm, có lông tơ ở họng; thùy tràng 5, hình tam giác đến hình trứng, dài 1,5 - 1,7 mm, chóp thùy hơi dày lên. **Nhị** 5; chỉ nhị gắn trên ống tràng dài 1,5 - 1,8 mm; bao phấn 2 ô, đính lưng ở gần gốc, mở rãnh dọc, kích thước 0,8 - 1 x 0,5 - 0,6 mm, thò ra khỏi ống tràng. **Bầu** dưới 2 ô, mỗi ô 1 noãn đính gốc. **Vòi nhụy** 1, dài 0,9 - 1,2 mm; gốc vòi nhụy được bao quanh bởi đĩa mật lớn, hình cầu dẹt, chất thịt, nhẵn, kích thước 2 x 1 mm; núm nhụy hình dùi, ở vị trí thấp hơn bao phấn, chẻ 2, dài khoảng 0,3 mm. Quả bế màu đỏ hoặc tía, hình bầu dục hoặc trứng, bề mặt phủ đầy lông cứng với nhiều gờ dọc nổi rõ khi khô, kích thước 5 - 7 x 3,5 - 4,5 mm. Hạt 2, cứng, hình bầu dục, kích thước 4,8 - 6,7 x 3,2 - 4,3 mm; mặt lưng có 4 - 5 gờ dọc, nông; mặt bụng có 1 rãnh.

3.1.3. Đặc điểm giải phẫu

3.1.3.1. Lá

Nhìn từ mặt dưới gồm: Biểu bì dưới gồm một hàng tế bào có màng hóa cutin. Tế bào biểu bì dưới mang lông che chở đơn bào. Mô dày góc gồm 3 – 4 hàng tế bào nằm phía trên biểu bì dưới. Mô mềm gồm nhiều tế bào hình đa giác xếp lộn xộn. Bó mạch của gân giữa tạo thành hình thận; bên

ngoài là vòng mô cứng có vách hóa gỗ; libe và gỗ nằm ở trong. Ở giữa bó mạch là một đám mô mềm (nằm phía trong gỗ). Trên cùng là lớp biểu bì trên, có màng hóa cutin. Tế bào biểu bì trên không mang lông che chở. Phía dưới lớp biểu bì trên là 5 – 6 hàng mô dày và mô mềm.

3.1.3.2. Thân

Mặt cắt của thân có hình tròn, từ ngoài vào trong gồm có: Biểu bì, gồm một lớp tế bào, có màng hóa cutin, mang lông che chở. Mô dày góc gồm 4 – 5 hàng tế bào, nằm dưới lớp biểu bì. Mô mềm vỏ, gồm các tế bào hình đa giác xếp lộn xộn. Mô cứng tập trung thành một dải bao quanh libe cấp 2. Libe cấp hai, gồm các bó libe xếp thành vòng. Gỗ cấp hai, cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, xếp đều đặn thành từng dãy xuyên tâm. Mô mềm ruột nằm ở giữa, gồm các tế bào hình đa giác không đều.

3.1.3.4. Rễ

Mặt cắt ngang rễ hình tròn, từ ngoài vào trong gồm có: Bần, gồm vài hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thành các vòng tròn đồng tâm và dãy xuyên tâm, màng tế bào hóa bần. Mô mềm vỏ, gồm các tế bào hình đa giác, kích thước không đều. Libe cấp hai, gồm các bó libe xếp thành vòng. Gỗ cấp hai, cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, xếp đều đặn thành từng dãy xuyên tâm.

3.1.4. Đặc điểm bột dược liệu lá, thân, rễ

3.1.4.1. Lá

Bột màu xanh đen, không mùi, vị đắng, nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm (1) thành tế bào mỏng; hạt tinh bột (2) kép đôi, kép ba hay tập trung thành đám; mảnh mạch điểm (3), mạch xoắn (4); lông che chở đa bào (5); mảnh biểu bì mang lỗ khí (6); tinh thể canxi oxalat hình kim (7).

3.1.4.2. Thân

Bột màu trắng xám không mùi, vị đắng, nhìn dưới kính hiển vi thấy: Hạt tinh bột (1) kép đôi, kép ba hay tập trung thành đám; mảnh mạch xoắn (2); tinh thể canxi oxalat hình kim (3-5).

3.1.4.3. Rễ

Bột màu nâu, không mùi, vị đắng, nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần thành tế bào dày (1); hạt tinh bột (2) kép đôi, kép ba hay tập trung thành đám; mảnh mạch điểm (3).

3.2. Thành phần hóa học phần trên mặt đất cây Hế mọ

3.2.1. Định tính các nhóm chất hữu cơ

3.2.1.1. Định tính bằng phản ứng hóa học

Qua kết quả các phản ứng định tính, sơ bộ kết luận dược liệu phần trên mặt đất Hế mọ có chứa hai nhóm chất chính là flavonoid và tanin. Ngoài ra còn có mặt các nhóm chất như acid hữu cơ, acid amin, đường khử, polysaccharid, chất béo, sterol và caroten. Chưa phát hiện được alcaloid trong hế mọ bằng phương pháp định tính các nhóm chất bằng phản ứng hóa học.

3.2.1.2. Định tính alcaloid bằng sắc ký lớp mỏng

Kết quả định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng sử dụng thuốc thử đặc trưng của alcaloid trên dung dịch đã được làm giàu alkaloid, kết quả nghiên cứu cho thấy có sự xuất hiện các vết chất màu vàng đậm quan sát bằng ánh sáng thường sau khi phun bản mỏng thuốc thử Dragendorf và đi đến khẳng định phần trên mặt đất cây Hế mọ có chứa nhóm chất alcaloid.

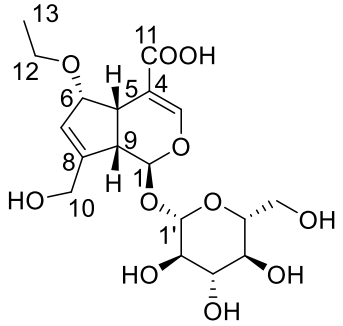
3.2.2. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Chiết xuất và phân lập các hợp chất từ phần trên mặt đất Hế mọ được tiến hành như sơ đồ 3.1, thu được 10 hợp chất (**PPW30.4**, **PPE10.12**, **PPE11.2**, **PPE12.4**, **PPW25.6**, **PPW26.7**, **PPW29.14**, **PPW31.6**, **PPW32.1** và **PPW33.6**).

3.2.3. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập

*3.2.3.1. Hợp chất **1*** **(PPW30.4): Acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic**

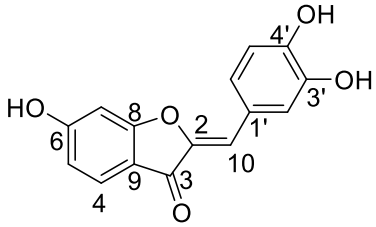
Chất rắn vô định hình màu trắng, đnc. 116-118ºC, $[\alpha]_D^{24}$ +4,0 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 453,0 $[M+Cl]^-$, HR-ESI-MS (positive): *m/z* 441,1401 $[M+Na]^+$ (tính toán theo lý thuyết 441,1373, $C_{18}H_{26}NaO_{11}$). Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,57 (1H, *s*, H-3); 6,11 (1H, *s*, H-7); 5,04 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-1); 4,75 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-1′); 4,51 (1H, *br s*, H-6); 4,49 (1H, *d*, *J* = 15,5 Hz, H-10b); 4,24 (1H, *d*, *J* = 15,5 Hz, H-10a); 3,85 (1H, *dd*, *J* = 12,0; 2,0 Hz, H-6′); 3,70 (1H, *dd*, *J* = 12,0; 5,5 Hz, H-6); 3,52 (2H, *m*, H-12); 3,43 (1H, *dd*, *J* = 9,0; 8,5 Hz, H-3′); 3,35 (1H, *m*, H-4′); 3,30 (1H, *m*, H-5′); 3,27 (1H, *m*, H-2′); 3,09 (1H, *m*, H-5); 2,52 (1H, *t*, *J* = 7,5 Hz, H-9); 1,08 (3H, *t*, *J* = 6,0 Hz, H-13). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) : δ_C 101,5 (C-1); 154,0 (C-3); 108,9 (C-4); 42,5 (C-5); 83,5 (C-6); 128,4 (C-7); 152,1 (C-8); 45,9 (C-9); 61,8 (C-10); 171,2 (C-11); 66,2 (C-12); 15,9 (C-13); 100,6 (C-1′); 74,9 (C-2′); 77,8 (C-3′); 71,4 (C-4′); 78,2 (C-5′); 62,6 (C-6′).



Hình 3.9. Cấu trúc của hợp chất 1

*3.2.3.2. Hợp chất **2*** **(PPE10.12): Sulfuretin**

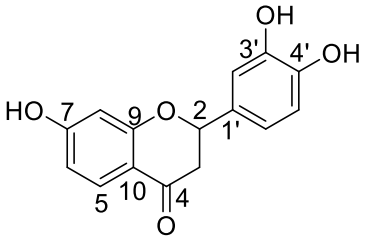
Chất rắn vô định hình màu nâu, đnc. 290-292ºC. Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 269,0 $[M-H]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,63 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-5′); 7,54 (1H, *s*, H-2′); 7,26 (1H, *dd*, *J* = 8,0; 2,0 Hz, H-5); 6,86 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-4); 6,72 (1H, *m*, H-7, H-10, H-6′). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 147,7 (C-2); 184,4 (C-3); 126,8 (C-4); 116,7 (C-5); 169,8 (C-6); 99,4 (C-7); 168,2 (C-8); 114,9 (C-9); 114,7 (C-10); 125,5 (C-1′); 114,0 (C-2′); 146,7 (C-3′); 149,4 (C-4′); 118,9 (C-5′); 126,4 (C-6′).



Hình 3.18. **Cấu trúc hóa học của hợp chất 2**

*3.2.3.3. Hợp chất **3*** **(PPE11.2): (±)-Butin**

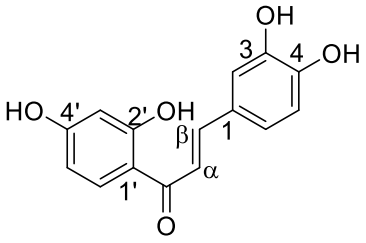
Chất rắn vô định hình màu vàng nhạt, đnc. 221-224ºC, $[\alpha]_D^{24}$ +0,0 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 272,1 $[M-H]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,74 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-5); 6,95 (1H, *s*, H-2′); 6,81 (1H, *br s*, H-5′); 6,79 (1H, *br s*, H-6′); 6,51 (1H, *dd*, *J* = 8,5; 2,5 Hz, H-6); 6,37 (1H, *d*, *J* = 2,5 Hz, H-8); 5,34 (1H, *dd*, *J* = 13,0; 3,0 Hz, H-2); 3,02 (1H, *dd*, *J* = 17,0; 12,5 Hz, H-3); 2,72 (1H, *dd*, *J* = 17,0; 3,0 Hz, H-3). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 81,0 (C-2); 44,9 (C-3); 193,5 (C-4); 129,8 (C-5); 111,8 (C-6); 166,8 (C-7); 103,8 (C-8); 165,5 (C-9); 114,9 (C-10); 132,0 (C-1′); 114,7 (C-2′); 146,8 (C-3′); 146,5 (C-4′); 116,2 (C-5′); 119,2 (C-6′).



Hình 3.19. **Cấu trúc hóa học hợp chất 3**

*3.2.3.4. Hợp chất **4*** **(PPE12.4): Butein**

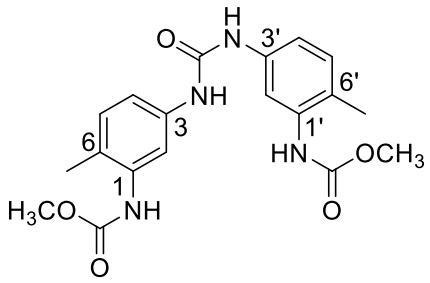
Bột vô định hình màu vàng nhạt, đnc. 218-219ºC. Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 271,0 $[M-H]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,96 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-6′); 7,75 (1H, *d*, *J* = 15,0 Hz, H-*β*); 7,56 (1H, *d*, *J* = 15,0 Hz, H-*α*); 7,20 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz, H-2); 7,14 (1H, *dd*, *J* = 8,5; 2,0 Hz, H-6); 6,84 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-5); 6,45 (1H, *dd*, *J* = 8,5; 2,5 Hz, H-5′); 6,31 (1H, *d*, *J* = 2,5 Hz, H-3′). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 191,5 (CO); 116,6 (C-*α*); 144,3 (C-*β*); 126,5 (C-1); 114,0 (C-2); 147,5 (C-3); 144,5 (C-4); 114,8 (C-5); 121,8 (C-6); 112,9 (C-1′); 165,2 (C-2′); 102,4 (C-3′); 164,1 (C-4′); 107,6 (C-5′); 131,2 (C-6′).



Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4

*3.2.3.5. Hợp chất **5*** **(PPE25.6): Carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester**

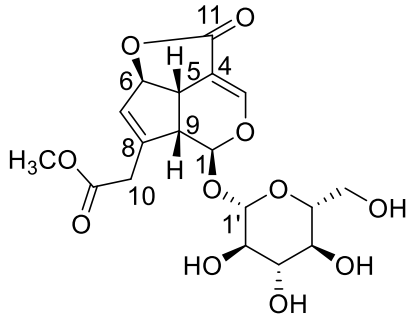
Bột vô định hình màu trắng. Phổ HR-ESI-MS *m/z:* 387,1609 $[M+H]^+$, 409,1499 $[M+Na]^+$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ_C 8,77 (2H, *s*, NHCOO); 8,50 (2H, *s*, NHCONH); 7,50 (2H, *br s*, H-2, H-2′); 7,14 (2H, *dd*, *J* = 8,5; 2,0 Hz, H-4, H-4′); 7,05 (2H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-5, H-5′); 3,64 (6H, *br s*, 2xOCH_3); 2,12 (6H, *s*, H-7, H-7′). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ_C 136,4 (C-1, C-1′); 114,3 (C-2, C-2′); 137,7 (C-3, C-3′); 114,7 (C-4, C-4′); 130,2 (C-5, C-5′); 124,5 (C-6, C-6′); 17,1 (C-7, C-7′); 51,6 (OCH_3); 152,4 (NHCONH); 154,7 (NHCOO).



Hình 3.21. Cấu trúc của hợp chất 5

3.2.3.6. Hợp chất ***6*** **(PPW26.7): Asperulosid**

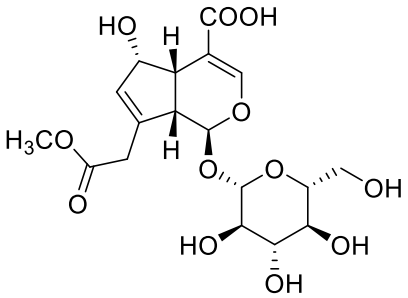
Chất rắn vô định hình màu trắng, đnc. 126-128ºC. $[\alpha]_D^{24}$ –9,8 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 449,0 $[M+Cl]^-$. Phổ ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,32 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz, H-3); 5,98 (1H, *d*, *J* = 11,5 Hz, H-1); 5,75 (1H, *s*, H-7); 5,59 (1H, *d*, *J* = 6,5 Hz, H-6); 4,81 (1H, *m*, H-10b); 4,71 (1H, *d*, *J* = 7,5 Hz, H-1′); 4,69 (1H, *m*, H-10a); 3,89 (1H, *m*, H-6b′); 3,71 (1H, *m*, H-5); 3,70 (1H, *m*, H-6a′); 3,40 (1H, *m*, H-4′); 3,33 (1H, *m*, H-9); 3,31 (1H, *m*, H-5′); 3,22 (1H, *m*, H-2′); 2,10 (3H, *s*, CH_3CO). Phổ ^{13}C NMR (125 MHZ, CD_3OD): δ_C 93,3 (C-1); 150,3 (C-3); 106,2 (C-4); 37,5 (C-5); 86,3 (C-6); 128,9 (C-7); 144,2 (C-8); 45,2 (C-9); 60,9 (C-10); 172,2 (C-11); 172,5 ($CH_3\underline{C}O$); 20,7 ($\underline{C}H_3CO$); 100,0 (C-1′); 74,6 (C-2′); 78,3 (C-3′); 71,5 (C-4′); 77,8 (C-5′); 62,8 (C-6′).



Hình 3.22. **Cấu trúc hóa học của hợp chất 6**

3.2.3.7. Hợp chất ***7*** **(PPW29.14): Acid asperulosidic**

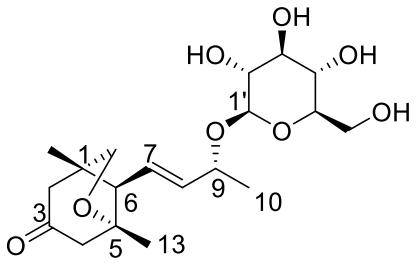
Chất bột vô định hình màu trắng, đnc. 132-136ºC. $[\alpha]_D^{24}$ +3,5 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 431,0 $[M+Cl]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7,54 (1H, *s*, H-3); 6,00 (1H, *s*, H-7); 5,00 (1H, *d*, *J* = 9,0 Hz, H-1); 4,98 (1H, *m*, H-10b); 4,95 (1H, *m*, H-6); 4,80 (1H, *m*, H-10a); 4,75 (1H, *d*, *J* = 7,5 Hz, H-1′); 3,87 (1H, *m*, H-6b′); 3,65 (1H, *m*, H-6a′); 3,43 (1H, *m*, H-3′); 3,33 (1H, *m*, H-5′); 3,32 (1H, *m*, H-4′); 3,27 (1H, *m*, H-2′); 3,09 (1H, *m*, H-5); 2,61 (1H, *t*, *J* = 16,0; 8,0; 6,5 Hz, H-9); 2,12 (3H, *s*, CH_3CO). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 100,9 (C-1); 152,5 (C-3); 112,0 (C-4); 43,2 (C-5); 75,9 (C-6); 131,6 (C-7); 145,9 (C-8); 46,8 (C-9); 63,9 (C-10); 172,7 (C-11); 172,7 ($CH_3\underline{C}O$); 20,9 ($\underline{C}H_3CO$); 100,5 (C-1′); 74,9 (C-2′); 77,8 (C-3′); 71,5 (C-4′); 78,3 (C-5′); 62,9 (C-6′).



Hình 3.23. **Cấu trúc hóa học của hợp chất 7**

*3.2.3.8. Hợp chất **8*** **(PPW31.6): Degalloylmacarangiosid B**

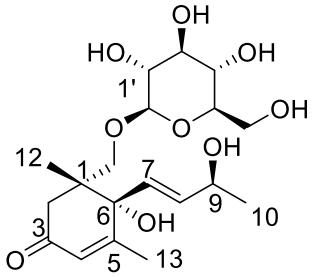
Chất rắn màu trắng; đnc. 221-292ºC; $[\alpha]_D^{24}$ -3,0 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 421,1 $[M+Cl]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 6,00 (1H, *dd*, *J* = 15,0; 10,0 Hz, H-7); 5,79 (1H, *dd*, *J* = 15,0; 7,0 Hz, H-8); 4,55 (1H, *t*, H-9); 3,71 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-12b); 3,62 (1H, *m*, H-12a); 2,67 (1H, *d*, *J* = 17,0 Hz, H-4b); 2,60 (1H, *dd*, *J* = 17,0; 2,0 Hz, H-2b); 2,47 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, H-6); 2,32 (1H, *d*, *J* = 17,0 Hz, H-4a); 2,23 (1H, *d*, *J* = 17,0 Hz, H-2a); 1,34 (3H, *d*, *J* = 6,5 Hz, H-10); 1,29 (3H, *s*, H-13); 1,04 (3H, *s*, H-11). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 45,4 (C-1); 49,9 (C-2); 211,6 (C-3); 51,0 (C-4); 84,9 (C-5); 59,6 (C-6); 127,0 (C-7); 139,5 (C-8); 74,5 (C-9); 22,5 (C-10); 20,4 (C-11); 79,8 (C-12); 24,6 (C-13); 101,3 (C-1′); 75,0 (C-2′); 78,4 (C-3′); 71,8 (C-4′); 78,3 (C-5′); 62,9 (C-6′).



Hình 3.24. **Cấu trúc hóa học của hợp chất 8**

*3.2.3.9. Hợp chất **9*** **(PPW32.1): 6-Hydroxyjunipeionolosid**

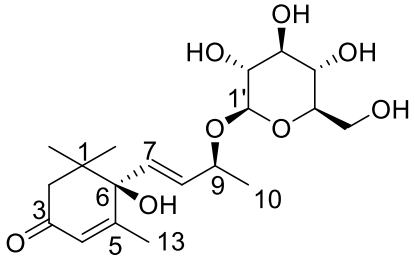
Chất rắn màu trắng, đnc. 145-147ºC; $[\alpha]_D^{24}$ + 24,6 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 437,1 $[M+Cl]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 5,85 (1H, *dd*, *J* = 15,5; 5,5Hz, H-8); 5,78 (1H, *d*, *J* = 16,0 Hz, H-7); 5,94 (1H, *s*, H-4); 4,35 (1H, *dq*, H-9); 4,18 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-1′); 3,98 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, H-11b); 3,88 (1H, *dd*, *J* = 13,0; 2,0 Hz, H-6′b); 3,69 (1H, *m*, H-6′a); 3,62 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, H-11a); 3,30 (1H, *m*, H-4′); 3,26 (2H, *m*, H-3′, H-5′); 3,18 (1H, *t*, H-2′); 2,67 (1H, *d*, *J* = 17,5 Hz, H-2b); 2,42 (1H, *d*, *J* = 17,5 Hz, H-2a); 1,94 (3H, *d*, *J* = 1,0 Hz, H-13); 1,27 (3H, *d*, *J* = 6,5 Hz, H-10); 1,09 (3H, *s*, H-12). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 46,3 (C-1); 45,5 (C-2); 201,2 (C-3); 127,8 (C-4); 167,4 (C-5); 79,4 (C-6); 129,6 (C-7); 137,2 (C-8); 68,6 (C-9); 23,8 (C-10); 74,6 (C-11); 20,1 (C-12); 19,6 (C-13); 104,5 (C-1′); 75,0 (C-2′); 77,9 (C-3′); 71,5 (C-4′); 77,9 (C-5′); 62,6 (C-6′).



Hình 3.25. Cấu trúc hóa học của hợp chất 9

*3.2.3.10. Hợp chất **10*** **(PPW33.6): Roseosid II**

Chất rắn màu trắng; đnc. 155-156ºC; $[\alpha]_D^{24}$ +9,0 (c 0,1, MeOH). Phổ ESI-MS (negative): *m/z* 421,1 $[M+Cl]^-$. Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 6,00 (1H, *d*, *J* = 15,5 Hz, H-4); 5,89 (1H, *br s*, H-8); 5,76 (1H, *dd*, *J* = 15,5; 7,0 Hz, H-7); 4,56 (1H, *dq*, *J* = 12,0; 6,0 Hz, H-9); 4,30 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-1′); 3,88 (1H, *dd*, *J* = 11,5; 2,0 Hz, H-6′b); 3,66 (1H, *dd*, *J* = 11,5; 6,0 Hz, H-6a′); 3,30 (1H, *m*, H-3′); 3,19 (1H, *m*, H-5′); 3,24 (1H, *m*, H-2′); 2,64 (1H, *d*, *J* = 17,0 Hz, H-2b); 2,18 (1H, *d*, *J* = 17,0 Hz, H-2a); 1,96 (3H, *d*, *J* = 1,0 Hz, H-13); 1,31 (3H, *d*, *J* = 6,5 Hz, H-10); 1,06 (3H, *s*, H-12); 1,04 (3H, *s*, H-11). Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 42,4 (C-1); 50,8 (C-2); 201,2 (C-3); 127,2 (C-4); 167,3 (C-5); 80,0 (C-6); 131,5 (C-7); 133,7 (C-8); 78,1 (C-9); 21,3 (C-10); 23,5 (C-11); 24,7 (C-12); 19,5 (C-13); 101,3 (C-1); 75,0 (C-2); 78,4 (C-3); 71,7 (C-4); 78,2 (C-5); 62,8 (C-6).



Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất 10

3.3. Tác dụng sinh học

3.3.1. Tác dụng của cao nước Hế mọ trên nhu động ruột

3.3.1.1. Độ di động của than hoạt trong lòng ruột theo phương pháp của Dobrescu

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của cao nước Hế mọ trên độ di động của than hoạt trong lòng ruột

Lô	**n**	***Tỉ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột*** ($\overline{X}$ ± SD, %)	
		20 phút	**40 phút**
Lô 1: Chứng sinh học	10	69,16 ± 9,00	81,01 ± 13,89
Lô 2: Chứng dương Duspatalin (80 mg/kg)	10	60,58 ± 8,29*	83,89 ± 10.25
Lô 3: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	65,24 ± 17,40	82,80 ± 12,39
Lô 4: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	69,85 ± 16,03	91,11 ± 8,92

*Chú thích: * Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05*

Kết quả trình bày ở bảng 3.13 cho thấy:

- Ở thời điểm 20 phút sau khi cho chuột uống than hoạt 10% pha trong CMC 3%:
  - Duspatalin 80 mg/kg làm giảm rõ rệt nhu động ruột (thể hiện qua tỉ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột) so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).
  - Cao Hế mọ liều 0,32 g/kg làm giảm nhu động ruột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
  - Không có sự khác biệt khi so sánh nhu động ruột giữa lô dung cao Hế mọ liều 0,8 g/kg so với lô chứng sinh học và lô chứng dương ($p < 0,001$).
- Ở thời điểm 40 phút sau khi cho chuột uống than hoạt 10% pha trong CMC 3%:
  - Duspatalin 80 mg/kg, cao Hế mọ liều 0,32 g/kg và 0,80 g/kg không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê tác động trên nhu động ruột so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

3.3.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đến sự hấp thu nước và điện giải từ lòng ruột vào máu

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của thuốc đến sự hấp thu nước từ lòng ruột vào máu

Thể tích dịch (ml) / Lô	n	Thể tích dịch đưa vào (ml) ($\overline{X} \pm SD$)	Thể tích dịch rút ra (ml) ($\overline{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	1,00 ± 0,00	0,52 ± 0,08***
Lô 2: Duspatalin 80 mg/100 ml	8	1,00 ± 0,00	0,59 ± 0,06***
Lô 3: Cao Hế mọ 0,32 g/100 ml	8	1,00 ± 0,00	0,30 ± 0,16$^{\Delta\Delta}$###
Lô 4: Cao Hế mọ 0,80 g /100 ml	8	1,00 ± 0,00	0,35 ± 0,13$^{\Delta\Delta}$###

Chú thích: ***: *Khác biệt so với lúc đưa vào với* $p < 0,001$

$^{\Delta\Delta}$: *Khác biệt so với chứng sinh học với* $p < 0,01$

$^{###}$: *Khác biệt so với chứng dương với* $p < 0,001$

Kết quả trình bày ở bảng 3.13 cho thấy:

- Thể tích dịch rút ra giảm rõ rệt khi so sánh với thể tích dịch đưa vào ở từng lô ($p < 0,001$).
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh thể tích dịch rút ra ở lô Duspatalin 80 mg/100 ml khi so sánh với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Cao Hế mọ liều 0,32 g/100 ml và 0,80 mg/100 ml làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch rút ra khi so sánh với thể tích dịch rút ra ở lô chứng sinh học ($p < 0,01$) và lô chứng dương ($p < 0,001$).

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của thuốc đến sự hấp thu điện giải từ lòng ruột vào máu

Điện giải (mmol/l) / Lô	n	Na ($\overline{X}$ ± SD)	K ($\overline{X}$ ± SD)	Cl ($\overline{X}$ ± SD)
Lô 1: Chứng sinh học	8	62,63 ± 30,99	9,96 ± 3,30	40,50 ± 13,92
Lô 2: Duspatalin 80 mg/100 ml	8	45,25 ± 20,60	12,74 ± 1,68	39,38 ± 12,05
Lô 3: Cao Hế mọ 0,32 g/100 ml	8	61,25 ± 20,67	15,98 ± 1,66 ***$^{\Delta\Delta}$	49,88 ± 9,30
Lô 4: Cao Hế mọ 0,80 g/100 ml	8	57,13 ± 34,70	18,28± 7,98 *	44,25 ± 14,12

*Chú thích: *,**,***: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05;* p < *0,01;* p < *0,001*

$^{\Delta,\Delta\Delta,\ \Delta\Delta\Delta}$*: Khác biệt so với chứng dương với* p < *0,05;* p < *0,01;* p < *0,001*

Kết quả trình bày ở bảng 3.14 cho thấy:

- Duspatalin 80 mg/100 ml có xu hướng làm giảm nồng độ natri và clo trong dịch ruột so với lô chứng sinh học, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ kali trong dịch ruột giữa lô chứng dương và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Cao Hế mọ liều 0,32 g/ml và liều 0,8 g/ml có xu hướng làm giảm nồng độ natri trong dịch ruột so với lô chứng sinh học, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Cao Hế mọ liều 0,32 g/ml làm tăng nồng độ kali trong dịch ruột so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$) và lô chứng dương ($p < 0,01$).
- Cao Hế mọ liều 0,80 g/ml làm tăng nồng độ kali trong dịch ruột so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ kali trong dịch ruột ở lô dùng cao Hế mọ 0,8 g/kg khi so sánh với lô chứng dương ($p > 0,05$).
- Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ clo trong dịch ruột giữa các lô dùng cao Hế mọ với lô chứng dương và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

3.3.2. Tác dụng của cao nước Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích trên động vật thực nghiệm

3.3.2.1. Tác dụng phục hồi của cao nước Hế mọ trên chuột gây HCRKT bằng dầu mù tạt

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của thuốc nghiên cứu lên cân nặng chuột

Lô	n	*Cân nặng chuột (g)* ($\overline{X}$ ± SD)	
		Trước khi gây mô hình	**Thời điểm kết thúc nghiên cứu**
Lô 1: Chứng sinh học	8	25,19 ± 4,66	39,50 ± 6,21
Lô 2: Chứng ethanol	8	24,94 ± 1,94	37,21 ± 2,69
Lô 3: Mô hình	8	25,06 ± 1,47	34,25 ± 2,96*
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	8	25,56 ± 2,21	37,19 ± 2,53
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	8	25,06 ± 2,13	35,39 ± 2,56
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	8	25,13 ± 2,25	35,25 ± 2,82

*Chú thích: * Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05*

Kết quả trình bày ở bảng 3.15 cho thấy:

- Ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu, cân nặng chuột ở các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Ở thời điểm kết thúc nghiên cứu:
  - Cân nặng chuột ở lô mô hình giảm rõ rệt khi so sánh với lô chứng sinh học ($p < 0,05$), tuy nhiên cân nặng ở lô mô hình khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng ethanol ($p > 0,05$).
  - Không có sự khác biệt khi so sánh cân nặng chuột ở các lô Duspatalin 80 mg/kg, cao Hế mọ 2 mức liều 0,32 g/kg và 0,80 g/kg với lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của thuốc trên độ di động của than hoạt trong lòng ruột tại thời điểm 20 phút sau khi chuột uống than hoạt

Lô	**n**	***Tỉ lệ chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột*** ($\overline{X}$ ± SD, %)
Lô 1: Chứng sinh học	8	71,90 ± 10,94
Lô 2: Chứng ethanol	8	72,11 ± 9,47
Lô 3: Mô hình	8	83,81 ± 10,14*$^{\Delta}$
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	8	57,37 ± 12,31*$^{\Delta\ \#\#\#}$
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	8	72,20 ± 9,80 $^{\#\square}$
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	8	70,44 ± 10,74$^{\#\square}$

*Chú thích: *: Khác biệt so với chứng sinh học với* $p < 0,05$

$^{\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* $p < 0,05$

$^{\#,\#\#\#}$*: Khác biệt so với lô mô hình với* $p < 0,05$; $p < 0,001$

$^{\square}$*: Khác biệt so với lô chứng dương với* $p < 0,05$

Kết quả trình bày ở bảng 3.16 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tác động trên nhu động ruột (thể hiện qua tỉ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột) giữa lô chứng ethanol và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Nhu động ruột ở lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học và chứng ethanol ($p < 0,05$).
- Duspatalin làm giảm có ý nghĩa thống kê nhu động ruột so với lô mô hình ($p < 0,001$).
- Cao Hế mọ liều 0,32 g/kg và 0,80 g/kg làm giảm rõ rệt nhu động ruột so với lô mô hình ($p < 0,05$).
- Không có sự khác biệt khi so sánh tác động trên nhu động ruột qua độ di động của than hoạt giữa các lô dùng cao Hế mọ với lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của thuốc trên chỉ số đại thể

Lô	n	*Điểm chỉ số đại thể* ($\overline{X}$ ± SD)
Lô 1: Chứng sinh học	8	0,25 ± 0,46
Lô 2: Chứng ethanol	8	0,25 ± 0,71
Lô 3: Mô hình	8	2,38 ± 0,92*** $^{\Delta\Delta\Delta}$
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	8	0,63 ± 0,74 $^{\#\#\#}$
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	8	0,50 ± 0,76 $^{\#\#\#}$
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	8	0,63 ± 0,74 $^{\#\#\#}$

*Chú thích: ***: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,001*

$^{\Delta\Delta\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* p < *0,001*

$^{\#\#\#}$*: Khác biệt so với lô mô hình với* p < *0,001*

Kết quả trình bày ở bảng 3.17 sau 10 ngày dùng thuốc chứng dương và thuốc nghiên cứu cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh chỉ số đại thể giữa lô chứng dương với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).
- Chỉ số đại thể ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học và chứng ethanol và các lô dùng thuốc ($p < 0,001$).
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh chỉ số đại thể giữa các lô dùng thuốc nghiên cứu với các lô chứng sinh học, lô chứng ethanol và lô chứng dương ($p > 0,05$).

Đánh giá chi tiết sự khác biệt này trên từng chỉ số đại thể, ta thu được bảng sau:

Bảng 3.18. Ảnh hưởng của thuốc trên điểm chỉ số đại thể

Lô	n	*Điểm chỉ số đại thể* ($\overline{X}$ ± SD)			
		Cân nặng đại tràng (mg)	Chiều dài đại tràng (mm)	Phân	Viêm
Lô 1: Chứng sinh học	8	554,25 ± 128,29	83,75 ± 14,08	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
Lô 2: Chứng ethanol	8	549,50 ± 98,95	90,00 ± 14,14	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
Lô 3: Mô hình	8	565,88 ± 57,45	86,25 ± 11,88	2,13 ± 0,83 *** $^{\Delta\Delta\Delta}$	0,25 ± 0,46
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	8	560,38 ± 51,98	91,25 ± 15,53	0,38 ± 0,52 $^{\#\#\#}$	0,25 ± 0,46
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	8	516,75 ± 192,85	98,75 ± 15,53	0,38 ± 0,74 $^{\#\#\#}$	0,13 ± 0,35
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	8	509,88 ± 147,56	95,00 ± 13,09	0,50 ± 0,76 $^{\#\#}$	0,13 ± 0,35

*Chú thích: ***: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,001*

$^{\Delta\Delta\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* p < *0,001*

$^{\#\#,\#\#\#}$*: Khác biệt so với lô mô hình với* p < *0,01;* p < *0,001*

Kết quả trình bày ở bảng 3.18 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh các chỉ số: cân nặng đại tràng, chiều dài đại tràng, tình trạng viêm trên đại thể giữa các lô ($p > 0,05$).
- Kết quả đánh giá tình trạng phân của các lô trong nghiên cứu tại thời điểm 10 ngày sau dùng thuốc cho thấy:
  + Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tình trạng phân giữa lô chứng dương với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).
  + Tình trạng phân ở lô mô hình khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học ($p < 0,001$), lô chứng ethanol ($p < 0,001$).
  + Duspatalin 80 mg/kg, cao Hế mọ 2 mức liều 0,32 g/kg và 0,80 g/kg cải thiện rõ rệt tình trạng phân so với lô mô hình (tương ứng $p < 0,001$, $p < 0,001$ và $p < 0,01$).
  + Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tình trạng phân giữa các lô dùng thuốc nghiên cứu với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).

Bảng 3.19. Ảnh hưởng của thuốc trên chỉ số vi thể

Lô	n	***Điểm chỉ số vi thể*** ($\overline{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	8	0,13 ± 0,35
Lô 2: Chứng ethanol	8	0,38 ± 0,52
Lô 3: Mô hình	8	0,13 ± 0,35
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	8	0,38 ± 0,52
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	8	0,13 ± 0,35
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	8	0,13 ± 0,35

Kết quả trình bày ở bảng 3.19 cho thấy: Tại thời điểm 10 ngày sau khi dùng thuốc chứng dương và các thuốc nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số vi thể giữa các lô ($p > 0,05$).

3.3.2.2. Tác dụng bảo vệ của cao nước Hế mọ trên chuột gây HCRKT bằng dầu mù tạt

Bảng 3.20. Ảnh hưởng của thuốc nghiên cứu lên cân nặng chuột

Lô	n	***Cân nặng chuột (g)*** ($\overline{X} \pm SD$)	
		Thời điểm bắt đầu nghiên cứu	***Thời điểm kết thúc nghiên cứu***
Lô 1: Chứng sinh học	10	22,22 ± 1,72	33,90 ± 3,48
Lô 2: Chứng ethanol	10	23,70 ± 1,77	31,90 ± 2,34
Lô 3: Mô hình	10	22,70 ± 1,42	32,90 ± 3,34
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	10	21,70 ± 2,93	30,90 ± 3,21
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	22,80 ± 1,81	30,30 ± 3,05
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	22,10 ± 1,79	30,85 ± 1,20

Kết quả trình bày ở bảng 3.20 cho thấy:

- Ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu, cân nặng chuột ở các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Ở thời điểm kết thúc nghiên cứu:
  - Cân nặng chuột ở các lô chứng ethanol không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
  - Cân nặng chuột ở các lô mô hình, Duspatalin, cao nước Hế mọ 2 mức liều 0,32 g/kg và 0,8 g/kg không có sự khác biệt khi so sánh với lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).

Bảng 3.21. Ảnh hưởng của thuốc trên độ di động của than hoạt trong lòng ruột tại thời điểm 20 phút sau khi chuột uống than hoạt

Lô	**n**	***Tỉ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột*** ($\overline{X}$ ± SD, %)
Lô 1: Chứng sinh học	10	68,25 ± 13,83
Lô 2: Chứng ethanol	10	66,82 ± 13,31
Lô 3: Mô hình	10	80,39 ± 10,03*$^{\Delta}$
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	10	60,55 ± 10,72$^{\#\#\#}$
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	50,74 ± 6,45**$^{\Delta\Delta\ \#\#\#\square}$
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	69,73 ± 19,83

*Chú thích: *,**: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05;* p < *0,01*

$^{\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* p < *0,05*

$^{\#\#\#}$*: Khác biệt so với lô mô hình với* p < *0,001*

$^{\square}$*: Khác biệt so với lô chứng dương với* p < *0,05*

Kết quả trình bày ở bảng 3.21 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tác động trên nhu động ruột (thể hiện qua tỉ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột) giữa lô chứng ethanol và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).
- Nhu động ruột ở lô mô hình tăng có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học và chứng ethanol ($p < 0,05$).
- Duspatalin 80 mg/kg làm giảm rõ rệt nhu động ruột so với lô mô hình ($p < 0,001$).
- Cao Hế mọ liều 0,32 g/kg làm giảm rõ rệt nhu động ruột so với lô mô hình ($p < 0,001$), lô chứng sinh học ($p < 001$), lô chứng ethanol ($p < 001$) và lô chứng dương ($p < 0,05$).
- Cao Hế mọ liều 0,80 g/kg làm giảm nhu động ruột so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
- Không có sự khác biệt khi so sánh tác động trên nhu động ruột giữa lô cao Hế mọ liều 0,8 g/kg với lô chứng sinh học, chứng ethanol và lô chứng dương ($p > 0,05$).

Bảng 3.22. Ảnh hưởng của thuốc trên chỉ số đại thể

Lô	n	*Chỉ số đại thể* ($\overline{X}$ ± SD)
Lô 1: Chứng sinh học	10	0,20 ± 0,42
Lô 2: Chứng ethanol	10	0,20 ± 0,42
Lô 3: Mô hình	10	1,30 ± 1,34*$^{\Delta}$
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	10	0,50 ± 0,71
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	0,60 ± 0,84
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	0,50 ± 0,71

*Chú thích: *: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05*

$^{\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* p < *0,05*

Kết quả trình bày ở bảng 3.22 cho thấy tại thời điểm kết thúc nghiên cứu:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh chỉ số đại thể giữa lô chứng dương, với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).
- Chỉ số đại thể ở lô mô hình tăng cao có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học và chứng ethanol và các lô dùng thuốc ($p < 0,05$).
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh chỉ số đại thể giữa các lô dùng cao Hế mọ ở 2 mức liều 0,32 g/kg và 0,80 g/kg với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).

Đánh giá chi tiết sự khác biệt này trên từng chỉ số đại thể, ta thu được bảng sau:

Bảng 3.23. Ảnh hưởng của thuốc trên điểm chỉ số đại thể

Lô	n	*Điểm chỉ số đại thể* ($\overline{X}$ ± SD)			
		Cân nặng đại tràng (mg)	Chiều dài đại tràng (cm)	Phân	Viêm
Lô 1: Chứng sinh học	10	0,554 ± 0,068	9,30 ± 1,34	0,10 ± 0,32	0,10 ± 0,32
Lô 2: Chứng ethanol	10	0,536 ± 0,111	9,13 ± 1,13	0,10 ± 0,32	0,10 ± 0,32
Lô 3: Mô hình	10	0,502 ± 0,063	9,19 ± 0,92	1,00 ± 0,94 *$^{\Delta}$	0,30 ± 0,48
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	10	0,507 ± 0,084	8,95 ± 1,53	0,40 ± 0,2	0,10 ± 0,32
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	0,545 ± 0,110	9,10 ± 1,22	0,40 ± 0,52	0,20 ± 0,42
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	0,506 ± 0,107	9,44 ± 1,69	0,30 ± 0,48	0,10 ± 0,32

*Chú thích: *: Khác biệt so với chứng sinh học với* p < *0,05*

$^{\Delta}$*: Khác biệt so với chứng ethanol với* p < *0,05*

Kết quả trình bày ở bảng 3.23 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh các chỉ số: cân nặng đại tràng, chiều dài đại tràng, tình trạng viêm trên đại thể giữa các lô ($p > 0,05$).
- Kết quả đánh giá tình trạng phân của các lô trong nghiên cứu tại thời điểm kết thúc nghiên cứu cho thấy:
  + Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tình trạng phân giữa lô chứng dương, các lô dùng cao Hế mọ 2 mức liều 0,32 g/kg và 0,8 g/kg với các lô chứng sinh học và lô chứng ethanol ($p > 0,05$).
  + Tình trạng phân ở lô mô hình khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh học và chứng ethanol và các lô dùng thuốc ($p < 0,05$).

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của thuốc trên chỉ số vi thể

Lô	**n**	***Điểm chỉ số vi thể*** ($\overline{X} \pm SD$)
Lô 1: Chứng sinh học	10	0,20 ± 0,42
Lô 2: Chứng ethanol	10	0,30 ± 0,48
Lô 3: Mô hình	10	0,10 ± 0,32
Lô 4: Duspatalin 80 mg/kg	10	0,30 ± 0,48
Lô 5: Cao Hế mọ 0,32 g/kg	10	0,10 ± 0,32
Lô 6: Cao Hế mọ 0,80 g/kg	10	0,20 ± 0,42

Kết quả trình bày ở bảng 3.24 cho thấy: Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số vi thể giữa các lô ($p > 0,05$).

3.3.3. Tác dụng chống viêm của các chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Hế mọ trên mô hình gây ức chế sự tạo thành NO

Bảng 3.25. Kết quả thử tác dụng ức chế giải phóng NO của các chất phân lập từ phần trên mặt đất cây Hế mọ

Tên chất	**IC_{50} (μM)**	**Nồng độ gây độc tế bào RAW264.7 (MTT)**
Acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic (**1**)	> 30	> 30 μM
Acid asperulosidic (**7**)	5,75 ± 0,85	
Asperulosid (**6**)	> 30	
Carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester (**5**)	6,92 ± 0,43	
Cardamonin (chất đối chiếu)	2,24	

Kết quả ở bảng 3.25 cho thấy acid asperulosidic và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester thể hiện tác dụng ức chế mạnh sự tạo thành NO với giá trị IC_{50} lần lượt là 5,75 ± 0,85 μM và 6,92 ± 0,43 μM. Nồng độ gây độc tế bào RAW264.7 ở thử nghiệm MTT là trên 30 μM. Điều đó cho thấy tác dụng ức chế giải phóng NO của 2 hợp chất trên không phải do tác dụng gây độc tế bào. Hợp chất acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic và asperulosid không thể hiện tác dụng chống viêm trên mô hình này (IC_{50} >30 μM).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Về thực vật học

Psychotria prainii H. Lév. là cây thuốc chưa được nghiên cứu đầy đủ về hình thái và giải phẫu ở cả Việt Nam và trên thế giới. H. Léveillé (1911) là người đầu tiên mô tả và đặt tên cho loài dựa trên mẫu thu thập ở Quang-Mou, Quí Châu, Trung Quốc. Tuy nhiên bản mô tả thiếu dẫn liệu về hình thái cụm quả/quả và không mô tả kích thước ống tràng. Cùng năm đó, tác giả W.G. Craib đồng thời mô tả và đặt tên loài là *Cephaelis siamica* Craib. Gần đây, chi *Cephaelis* được coi là synonym của chi *Psychotria*. Do vậy, *P. prainii* H. Lév. là tên khoa học chính thức của loài Hế mọ. Năm 1999, Chen Weichiu (1999) mô tả loài và dẫn chứng hình vẽ gồm cả hoa và cành mang quả. Chen Tao và Charlotte M. Taylor sau đó đã mô tả ống tràng của *P. prainii* H. Lév. dài khoảng 3 mm (dài hơn thùy tràng) và sử dụng hình minh họa của Chen Weichiunhưng lại lưu ý rằng hình vẽ này không hoàn toàn phù hợp với các tiêu bản của loài đặc biệt là ống tràng trong hình quá ngắn so với thùy tràng. Ở Việt Nam, Pitard J. (1924) là người đầu tiên đề cập và xếp Hế mọ trong chi *Cephaelis* với tên khoa học là *Cephaelis siamica* Craib căn cứ vào đặc điểm cụm hoa đầu. Loài này được mô tả với ống tràng dài khoảng 4 mm và có phân bố ở Xieng mai, Thái Lan. Trong cuốn Cây cỏ Việt Nam, Phạm Hoàng Hộ (2000) mô tả loài *P. siamica* (Craib) Hutch. (= *P. prainii* H. Lév.) có ống tràng cao khoảng 5 mm với tên gọi Lấu xiêm kèm hình vẽ đơn giản. Như vậy kích thước ống tràng của loài Hế mọ - *P. prainii* H. Lév. được mô tả trong các tài liệu trên có sự sai khác và ở một số tài liệu còn chưa rõ ràng.

Luận án này đã tiến hành nghiên cứu toàn diện về thực vật của cây Hế mọ thu thập tại bản Púng Ngò, xã Chiềng Mai, huyện Mai Sơn, tỉnh Sơn La. Phân tích đặc điểm hình thái đã xác định các đặc điểm đặc trưng phân biệt Hế mọ với các loài cùng chi bao gồm: cành non, cuống lá, mặt dưới lá và cuống cụm hoa có lông dày đặc; lá không có điểm tuyến; cụm hoa ở đỉnh cành, dạng đầu tới dạng xim co ngắn; tràng hoa dạng phễu, ống tràng dài hơn thùy tràng, chóp thùy có túm lông ở mặt ngoài; bao phấn ở vị trí cao hơn núm nhụy; đĩa mật lớn, hình cầu dẹt, chất thịt; gân lá lồi ở cả 2 mặt.

Để thẩm định tên khoa học của các mẫu Hế mọ, chúng tôi dựa vào các khóa phân loại chi Lấu *Psychotria* L. trong Thực vật chí Trung Quốc; các khóa phân loại Pitard. J., H. Léveillé [24], W. G. Craib. Hế mọ thuộc họ Rubiaceae do có các đặc điểm: lá mọc đối, có lá kèm, bầu dưới. Hế mọ thuộc chi *Psychotria* do có các đặc điểm: có lá kèm bao quanh thân và rụng sớm để lại sẹo, có lông màu nâu đỏ, hạt khi cắt ngang có hình bán cầu, mặt trong phẳng hoặc có hai rãnh theo chiều dọc, nhiều gân trên mặt lồi và thiếu khe nẩy mầm. Có tên khoa học là *P. prainii* dựa và các đặc điểm: cụm hoa dạng đầu tới dạng sim co ngắn, hình gần cầu, không cuống hoặc có cuống gần 1 cm. Chúng tôi khẳng định mẫu nghiên cứu có tên khoa học chính xác là *P. prainii* H. Lév., họ Cà phê (Rubiaceae). Như ở phần kết quả đã đề cập, việc thẩm định tên khoa học đã được các chuyên gia về thực vật học ở Viện sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Viện Dược liệu giám định lại. Luận án cũng là công trình đầu tiên mô tả chi tiết đặc điểm giải phẫu thân, lá, rễ và đặc điểm bột dược liệu lá, thân, rễ của cây Hế mọ thu hái ở Việt Nam. Cùng với các đặc điểm hình thái của cây, đặc điểm giải phẫu cũng là dẫn liệu quan trọng trong việc kiểm nghiệm xác định tính đúng của dược liệu Hế mọ khi cần thiết. Những kết quả nghiên cứu trong công trình này về thực vật

đóng góp cơ sở khoa học chỉnh lý các sách chuyên khảo về mô tả đặc điểm thực vật loài *P. prainii* H. Lév., đồng thời góp phần nhận biết dược liệu Hế mọ.

4.2. Về thành phần hóa học

4.2.1. Kết quả định tính

Theo kết quả định tính sơ bộ các nhóm chất bằng phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng, dược liệu phần trên mặt đất Hế mọ có chứa hai nhóm chất chính là flavonoid và tanin. Ngoài ra còn có mặt các nhóm chất như alcaloid, acid hữu cơ, acid amin, đường khử, polysaccharid, chất béo, sterol và caroten.

Tổng quan tài liệu cho thấy các loài thuộc chi *Psychotria* chứa các nhóm chất: flavonoid, tanin, acid hữu cơ, acid amin, đường khử, polysaccharid, chất béo, sterol và caroten, các hợp chất phenol, alcaloid. Trong đó, alcaloid là thành phần hóa học chính của chi này. Trong kết quả nghiên cứu định tính bằng phản ứng hóa học, chúng tôi chưa phát hiện được alcaloid ở cây Hế mọ. Các phép thử phản ứng hóa học thường không phát hiện được các hợp chất ở lượng nhỏ hoặc có thể bị che phủ bởi sự hiện màu của các chất khác. Do vậy, để có thể đi đến kết luận liệu phần trên mặt đất Hế mọ có chứa alcaloid hay không chúng tôi đã thực hiện cách tiếp cận khác, định tính bằng alcaloid trong hế mọ bằng sắc ký lớp mỏng sử dụng thuốc thử đặc trưng của alcaloid trên dung dịch đã được làm giàu alcaloid và đi đến khẳng định Hế mọ có chứa nhóm chất này. Như vậy, thành phần hóa học của phần trên mặt đất cây Hế mọ khá tương đồng với các công bố trước đây về chi *Psychotria*. Tuy nhiên trên cơ sở của phép định tính, sơ bộ kết luận nhóm alcaloid trong phần trên mặt đất cây Hế mọ không phải là thành phần chính.

4.2.2. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất

Nghiên cứu thành phần hóa học cây Hế mọ đã phân lập và xác định được cấu trúc 10 hợp chất, bao gồm: acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic (**1**), sulfuretin (3′,4′,6-trihydroxyauron) (**2**), (±)-butin (7,3′,4′-trihydroxyflavanon) (**3**), butein (2′,3,4,4′-tetrahydroxychalcon) (**4**), carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester (**5**), asperulosid (**6**), acid asperulosidic (**7**), degalloylmacarangiosid B (**8**), 6-hydroxyjunipeionolosid (**9**) và roseosid II (**10**). Trong số các hợp chất phân lập được, có 3 flavonoid, 3 monoterpen glucosid, 3 chất megastigman và 1 alcaloid. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả định tính các nhóm chất bằng phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng.

4.3. Về tác dụng sinh học

4.3.1. Tác dụng chống viêm in vitro của các chất phân lập từ phần trên mặt đất Hế mọ trên mô hình ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7.

Kết quả thử tác dụng chống viêm *in vitro* của 4 hợp chất phân lập được từ cây Hế mọ trên mô hình ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7 cho thấy acid asperulosidic và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester là hai chất tiềm năng có tác dụng chống viêm mạnh, ức chế sự tạo thành NO với giá trị IC_{50} khá thấp, lần lượt là 5,75 ± 0,85 µM và 6,92 ± 0,43 µM. Như vậy, đây có thể là các thành phần đóng góp vào tác dụng chống viêm của cây Hế mọ. Đây cũng là công bố đầu tiên chứng minh tác dụng chống viêm của các chất tinh khiết acid asperulosidic và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-

phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester phân lập từ cây Hế mọ trên mô hình ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7.

4.3.2. Tác dụng của cao nước Hế mọ trên hội chứng ruột kích thích

Hế mọ (*Psychotria prainii* H.Lév) là một thảo dược đã được sử dụng từ lâu để điều trị các bệnh lý đường tiêu hóa. Theo kinh nghiệm dân gian, Hế mọ được dùng nhiều ở Trung Quốc với tên Chia xương chín để chữa viêm ruột, kiết lị. Ở Việt Nam, đồng bào Thái cũng dùng Hế mọ chữa viêm đại tràng mãn tính, đại tràng co thắt. Đây chính là những triệu chứng của hội chứng ruột kích thích. Để giải thích, chứng minh công dụng của dược liệu Hế mọ theo y học cổ truyền, chúng tôi đã tiến hành đánh giá tác dụng của Hế mọ trên mô hình gây Hội chứng ruột kích thích bằng dầu mù tạt và tác dụng của Hế mọ trên nhu động ruột. Theo dân gian, bộ phận dùng là toàn cây Hế mọ được chế dưới dạng cao chiết nước. Do vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng sử dụng cao chiết nước Hế mọ để đánh giá tác dụng (1,5 kg dược liệu cho 100 g cao khô).

4.3.2.1. Về tác dụng của cao nước Hế mọ trên nhu động ruột

Trước đây, rối loạn vận động bất thường của đại tràng được coi là một trong những cơ chế bệnh sinh cơ bản gây nên các triệu chứng của HCRKT. Tăng nhu động ruột gây ra tình trạng tiêu chảy, đó cũng là nguyên nhân gây ra các triệu chứng đau bụng, khó chịu trên nhiều bệnh lý tiêu hóa, đặc biệt là bệnh nhân HCRKT thể lỏng. Với thể bệnh này, các thuốc kháng cholinergic như Duspatalin (mebeverin) được sử dụng phổ biến, có tác dụng làm giảm nhu động ruột. Việc tăng tái hấp thu nước và điện giải trong lòng ruột cũng giúp cải thiện tình trạng phân lỏng, nước ở bệnh nhân tiêu chảy. Ở những bệnh nhân HCRKT có phân khô táo là chủ yếu thì nhu động ruột giảm, cơ vòng thắt lại.

Năm 2005, Bùi Thị Phương Thảo và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu tác dụng của viên nang Hế mọ trên 39 bệnh nhân HCRKT (thể can khắc tỳ và thể tỳ thận dương hư); kết quả cho thấy Hế mọ có hiệu quả tốt trong điều trị rối loạn cơ năng đại tràng, tính an toàn cao. Tỷ lệ đạt kết quả tốt sau 30 ngày điều trị là 62%. Tuy nhiên chưa có các nghiên cứu đánh giá tác dụng của Hế mọ trên nhu động ruột và sự hấp thu nước và điện giải trong lòng ruột trên thực nghiệm.

❖ *Ảnh hưởng của cao nước Hế mọ trên độ di động của than hoạt trong lòng ruột*

Trong nghiên cứu này, độ di động của than hoạt trong lòng ruột được đánh giá bằng tỷ lệ % chiều dài đoạn ruột có than hoạt so với chiều dài đoạn ruột từ môn vị đến manh tràng chuột. Độ di động của than phụ thuộc vào nhiều yếu tố: sự trống rỗng của dạ dày, độ đặc của than đưa vào, thời gian từ thời điểm dùng than tới thời điểm đánh giá, nhu động tiêu hóa của động vật nghiên cứu. Thuốc chứng dương được sử dụng là mebeverin (biệt dược Duspatalin). Đây là một thuốc kháng cholinergic tổng hợp, thuốc tác dụng trực tiếp lên cơ trơn đường tiêu hóa làm giảm co thắt, được sử dụng trên lâm sàng để điều trị HCRKT phân lỏng chiếm ưu thế. Cơ chế tác dụng của mebeverin là giảm tính thấm của kênh ion, phong tỏa tái hấp thu noradrenalin, thay đổi hấp thu nước, gây tê cục bộ. Tác dụng giảm độ nhu động ruột của Duspatalin được thể hiện rõ qua nghiên cứu *in vivo* đo độ di động của than hoạt trong lòng ruột trên chuột nhắt trắng. Cũng trong nghiên cứu này, Hế mọ liều 0,32 g cao/kg cũng thể hiện xu hướng giảm nhu động ruột so với lô chứng sinh học, dù sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

❖ *Ảnh hưởng của cao nước Hế mọ đến sự hấp thu nước và điện giải từ lòng ruột vào máu*

Trong nghiên cứu tiến hành trên ruột ếch, các lô dùng cao nước Hế mọ cho thấy tác dụng rõ rệt làm tăng tái hấp thu nước trong lòng ruột so với lô chứng sinh học và Duspatalin 80 mg/kg.

Cao Hế mọ có tác dụng làm giảm thể tích dịch và các ion trong dịch ruột phụ thuộc liều lượng. Cao Hế mọ liều 0,32 mg/100 ml và 0,80 mg/100 ml làm giảm rõ rệt sự thể tích dịch trong ruột ếch (0,30 ± 0,16 ml và 0,35 ± 0,13 ml) so với lô chứng sinh học (0,52 ± 0,08 ml) ($p < 0,01$) và lô chứng dương (0,59 ± 0,11 ml) ($p < 0,001$). Cao Hế mọ liều 0,32 g cao/100 ml và liều 0,8 g cao/100 ml có xu hướng làm giảm nồng độ natri trong dịch rút ra so với lô chứng sinh học, nhưng xu hướng này chưa rõ rệt và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$); trong khi đó nồng độ kali ở hai lô này tăng so với lô chứng sinh học. Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ clo trong dịch rút ra giữa các lô dùng cao Hế mọ với lô chứng dương và lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Trên đây là những kết quả khả quan về tác dụng của cao Hế mọ trên nhu động ruột và sự hấp thu nước và điện giải trong lòng ruột, minh chứng tiềm năng của Hế mọ trong điều trị một số bệnh lý đường tiêu hóa với triệu chứng tiêu chảy như HCRKT thể lỏng. Để khẳng định chính xác và thật sự thuyết phục tác dụng điều trị của cao Hế mọ thì cần có những nghiên cứu thực nghiệm và thử nghiệm lâm sàng sâu thêm.

4.3.2.2. Về tác dụng của cao nước Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích bằng dầu mù tạt

Đề tài đã tiến hành đánh giá tác dụng của cao nước Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích trên động vật thực nghiệm theo Kimball ES và cộng sự: nghiên cứu tác dụng bảo vệ của cao nước Hế mọ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt và nghiên cứu tác dụng phục hồi của Hế mọ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt. Gây mô hình HCRKT bằng mù tạt có ưu điểm là tạo được một mô hình rối loạn chức năng đại tràng sau viêm tại chỗ (phù hợp với bệnh cảnh của nhiều bệnh nhân HCRKT), có tính ổn định cao, thời gian gây mô hình nhanh, thời gian duy trì mô hình kéo dài, đồng thời mô hình dễ thực hiện, hóa chất mô hình sẵn có, động vật thực nghiệm là chuột nhắt trắng. Vì những lý do đó, nhóm nghiên cứu chọn dầu mù tạt để gây mô hình HCRKT. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh tác động của mù tạt lên chức năng của đại tràng mà không kèm theo tổn thương vi thể, rất phù hợp về mặt bệnh học của HCRKT.

Dầu mù tạt (allyl isothiocyanat) là một chất kích thích thần kinh, gây viêm cấp tính mạnh và tăng nhận cảm đau nội tạng sau khi đưa và đại tràng. Trên thế giới, Kimball và cộng sự đã gây được mô hình HCRKT thứ phát sau viêm đại tràng trên chuột nhắt trắng bằng dầu mù tạt với đặc điểm: viêm đại tràng tối đa vào ngày thứ 3 sau khi đưa 50 microlit dầu mù tạt 0,5% vào đại tràng chuột; tình trạng viêm phục hồi vào ngày thứ 7 và để lại tình trạng tăng nhu động ruột kéo dài tới ngày thứ 28. Như vậy trong khoảng thời gian từ ngày 7 đến ngày 28, đại tràng chuột không còn tổn thương thực thể do viêm, tuy nhiên chuột vẫn xuất hiện tình trạng tăng nhu động ruột và tiêu chảy, tương tự các triệu chứng của HCRKT sau viêm. Như vậy mô hình HCRKT thứ phát sau viêm đại tràng bằng dầu mù tạt liên quan đến cả cơ chế viêm và cơ chế thần kinh, phù hợp với sinh lý bệnh HCRKT. Và tương tự đặc điểm của HCRKT sau viêm ở trên người bệnh, mô hình

HCRKT với triệu chứng nổi bật là tình trạng tiêu chảy và rối loạn nhu động ruột.

❖ *Tác dụng phục hồi của cao nước Hế mọ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt*

Để đánh giá tác dụng phục hồi của cao nước Hế mọ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt, vào ngày thứ 7 khi mô hình hội chứng ruột kích thích thành công, chuột ở các lô tương ứng được uống thuốc thử, hoặc thuốc đối chứng hoặc dung môi liên tục trong vòng 10 ngày. Sau 10 ngày uống thuốc, chuột ở các lô được theo dõi: trọng lượng chuột; đo độ di động của chất than hoạt trong lòng ruột; đánh giá các chỉ số đại thể và vi thể đại tràng thông qua các chỉ số và tính điểm.

Cao Hế mọ được thử nghiệm ở 2 mức liều: liều 0,32 g/kg/ngày (liều tương đương với liều trên lâm sàng) và liều 0,80 g/kg/ngày (liều cao gấp 2,5 lần liều lâm sàng).

So sánh với lô mô hình HCRKT, cao Hế mọ liều 0,32 g cao/kg và 0,80 g cao/kg làm giảm rõ rệt nhu động ruột thể hiện qua sự cải thiện tỉ lệ % độ dài đoạn ruột có than hoạt so với đoạn ruột từ dạ dày tới manh tràng. Lô mô hình HCRKT có biểu hiện phân lỏng, dính, tiêu chảy nhiều hơn hẳn so với các lô nghiên cứu khác. Điều này hoàn toàn phù hợp với bệnh cảnh lâm sàng của HCRKT thể lỏng. Các lô dùng cao Hế mọ và Duspatalin cũng cho thấy sự cải thiện hiệu quả triệu chứng lâm sàng của HCRKT, chuột ở các lô này không còn tình trạng tiêu chảy như lô mô hình. Về toàn trạng, cân nặng của chuột uống cao Hế mọ tăng đều, không khác biệt với lô chứng sinh học và chứng dương, trong khi thể trọng chuột lô mô hình giảm rõ rệt khi so sánh với lô chứng sinh học. Tại thời điểm 10 ngày sau khi dùng thuốc chứng dương và các thuốc nghiên cứu: không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số vi thể giữa các lô ($p > 0,05$). Điều này phù hợp với bệnh cảnh HCRKT – một rối loạn chức năng ruột, không có tổn thương thực thể.

❖ *Tác dụng bảo vệ của cao nước Hế mọ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt*

Hiệu quả tương tự của cao Hế mọ cũng được quan sát thấy trong nghiên cứu tác dụng bảo vệ trên chuột nhắt trắng gây HCRKT bằng dầu mù tạt. Cao Hế mọ liều 0,32 g/kg/ngày và 0,8 g/kg/ngày làm giảm nhu động ruột rõ rệt so với chứng sinh học và tương tự như Duspatalin (liều 80 mg/kg). Tác dụng này có sự khác biệt giữa 2 mức liều được sử dụng. Nhu động ruột ở liều 0,32 g/kg/ngày (50,74 ± 6,45%) giảm so với nhu động ruột ở lô chứng dương (60,55 ± 10,72%), và cùng thấp hơn nhu động ruột ở lô chứng sinh học (68,25 ± 13,83%) và lô mô hình (80,39 ± 10,03 %). Nhu động ruột ở liều 0,80 g/kg/ngày (64,52 ± 16,40%) không khác biệt với nhu động ruột ở lô chứng dương và lô chứng sinh học, cùng thấp hơn so với lô mô hình.

Cao Hế mọ 0,32 g/kg/ngày và 0,8 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ các tổn thương do dầu mù tạt gây ra tương tự như Duspatalin (liều 80 mg/kg). Tác dụng này chưa có sự khác biệt giữa 2 mức liều được sử dụng. Các chỉ số đại thể gồm cân nặng đại tràng, chiều dài đại tràng, tình trạng phân, tình trạng viêm trở về bình thường, không khác biệt so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$). Các chỉ số vi thể gồm thâm nhiễm tế bào viêm, tổn thương biểu mô và tổn thương cơ trơn trở về bình thường, không khác biệt so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

Như vậy, cao Hế mọ liều 0,32 g/kg/ngày và liều 0,8 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ tổn thương viêm do dầu mù tạt gây ra.

Kết quả phân lập và xác định cấu trúc các chất thu được 3 flavonoid, 1 alcaloid, 3 irridoid glycosid và 3 megastigman glycosid. Khi chiết bằng nước, các flavonoid, tanin glycosid và muối

alcaloid tan ra và là thành phần trong cao khô. Từ tổng quan tài liệu, chúng tôi cho rằng các thành phần hóa học này đem lại tác dụng của cao Hế mọ trên hội chứng ruột kích thích. Các alcaloid dạng muối và irridoid glycosid có tác dụng trên thần kinh thực vật, giúp điều hòa nhu động ruột. Các alcaloid và flavonoid cũng đem lại một tác dụng đáng chú ý nữa là tác dụng giảm đau, chống viêm. Các hợp chất sperulosidic và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester hiện tác dụng chống viêm mạnh trên mô hình chống viêm *in vitro*, thành phần tanin có tác dụng giảm co thắt cơ trơn, sát khuẩn cũng có thể đóng góp vào tác dụng làm giảm Hội chứng ruột kích thích.

Các kết quả nghiên cứu tác dụng của cao chiết nước trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích với những kết quả ghi nhận được trong luận án này đã phần nào minh chứng về việc sử dụng cây Hế mọ trong dân gian để điều trị viêm ruột và viêm đại tràng mạn tính.

KẾT LUẬN

1. Về thực vật học

- Đã khẳng định được tên khoa học của cây Hế mọ thu hái tại Bản Púng Ngò, xã Chiềng Mai, huyện Mai Sơn, tỉnh Sơn La là *Psychotria prainii* H. Lév., thuộc họ Cà phê (Rubiaceae).
- Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu thân, lá, rễ và xác định được đặc điểm bột dược liệu lá, thân và rễ Hế mọ.

2. Về hóa học

- Đã xác định phần trên mặt đất cây Hế mọ có chứa các nhóm chất chính là flavonoid, alcaloid và tanin. Ngoài ra còn có mặt các nhóm chất như acid hữu cơ, acid amin, đường khử, polysaccharid, chất béo, sterol và caroten.
- Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 10 hợp chất từ cây Hế mọ trong đó có 3 flavonoid (**2**-**4**), 3 monoterpen glucosid (**8**-**10**), 3 chất megastigman (**1**, **6**-**7**) và 1 alcaloid (**5**). Cả 10 chất đều lần đầu tiên được phân lập từ loài *Psychotria prainii* H. Lév trong đó hợp chất **1** lần đầu tiên biết đến trong tự nhiên (acid 6-ethyl ether deacetylasperulosidic) và 7 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Psychotria*: sulfuretin (3′,4′,6-trihydroxyauron) (**2**), butein (2′,3,4,4′-tetrahydroxychalcon) (**4**), carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester (**5**), acid asperulosidic (**7**), degalloylmacarangiosid B (**8**), 6-hydroxyjunipeionolosid (**9**) và roseosid II (**10**).

3. Về tác dụng sinh học

❖ Nghiên cứu tác dụng của cao nước phần trên mặt đất của cây Hế mọ trên mô hình gây hội chứng ruột kích thích bằng dầu mù tạt cho thấy:
  - Cao Hế mọ liều 0,32 g cao/kg/ngày và liều 0,80 g cao/kg/ngày có tác dụng phục hồi trên mô hình hội chứng ruột kích thích do dầu mù tạt gây ra.
  - Cao Hế mọ liều 0,32 g cao/kg/ngày và liều 0,80 g cao/kg/ngày có tác dụng bảo vệ trên mô hình hội chứng ruột kích thích do dầu mù tạt gây ra.

❖ Nghiên cứu tác dụng của cao nước Hế mọ trên nhu động ruột cho thấy:
  - Cao Hế mọ liều 0,32 g cao/kg và 0,80 g cao/kg có xu hướng làm giảm nhu động ruột ở động vật thực nghiệm.

- Cao Hế mọ nồng độ 0,32 g/100 ml và 0,80 g/100 ml có tác dụng làm giảm thể tích dịch trong lỏng ruột trên động vật thực nghiệm.

❖ Đã sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 *in vitro* của 4 hợp chất phân lập từ phần trên mặt đất cây Hế mọ (**1**, **5-7**) cho thấy acid asperulosidic (**7**) và carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylen)]bis[carbamic acid] dimethyl ester (**5**) thể hiện tác dụng chống viêm, ức chế mạnh sự tạo thành NO với giá trị IC_{50} lần lượt là 5,75 ± 0,85 µM và 6,92 ± 0,43 µM.

KIẾN NGHỊ

- Tiếp tục nghiên cứu chiết xuất, phân lập các hợp chất trong cao nước phần trên mặt đất cây Hế mọ.
- Tiếp tục nghiên cứu tác dụng sinh học theo hướng chống viêm của cao chiết cồn và các hợp chất phân lập được phần trên mặt đất Hế mọ.
- Tiếp tục nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dược liệu phần trên mặt đất cây Hế mọ và nghiên cứu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị hội chứng ruột kích thích.

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

- Phi Hung Tran, Viet Dung Le, Thi Ha Do, Thi Luyen Nguyen, Phuong Thao Nguyen, Trong Thong Nguyen, Tien Dat Nguyen (2017), "Anti-inflammatory constituents from *Psychotria prainii* H. Lév", *Natural Product Research*, 6, 1-6.
- Trần Phi Hùng, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Thị Thu, Lê Việt Dũng, Nguyễn Trọng Thông (2015), "Thành phần hóa học của phân đoạn nước phần trên mặt đất cây thuốc Hế mọ (*Psychotria prainii* H. Lév.)", *Tạp chí Dược học*, 55 (469), trang 46-50.
- Trần Phi Hùng, Nguyễn Tiến Đạt, Đỗ Thị Hà, Lê Vũ Ngọc Hân, Lê Việt Dũng (2015), "Khảo sát thành phần hóa học của cây Hế mọ", *Tạp chí Dược liệu*, tập 20, số 1, trang 7-12.
- Trần Phi Hùng, Nguyễn Quỳnh Nga, Phạm Thanh Huyền, Lê Việt Dũng, Nguyễn Viết Thân (2014), "Đặc điểm hình thái và giải phẫu của cây thuốc Hế mọ thuộc họ Cà phê", *Tạp chí Dược liệu*, tập 19, số 6, trang 319-324.
- Trần Phi Hùng, Nguyễn Trọng Thông, Đậu Thùy Dương, Nguyễn Chí Dũng (2016), "Nghiên cứu tác dụng của hế mọ trên mô hình hội chứng ruột kích thích ở chuột nhắt trắng thực nghiệm", *Tạp chí Dược học*, số 483, trang 32-36.
- Trần Phi Hùng, Nguyễn Trọng Thông, Đậu Thùy Dương, Nguyễn Chí Dũng (2016), "Nghiên cứu tác dụng của hế mọ trên sự hấp thu nước, điện giải và nhu động ruột ở động vật thực nghiệm", *Tạp chí nghiên cứu Y Dược học cổ truyền Việt Nam*, số 51, trang 47-52.