

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: **Bùi Thị Thu Hà**

Tên luận án: “**Nghiên cứu tác dụng kháng u thực nghiệm của rễ củ Tam thất (*Panax Notoginseng* (Burk.) F.H. Chen, Araliaceae) trồng ở Việt Nam trước và sau chế biến**”.

Chuyên ngành: **Dược lý – Dược lâm sàng**

Mã số: **9720205**

Họ và tên cán bộ hướng dẫn (học hàm/ học vị):

Cán bộ hướng dẫn 1: **PGS. TS. Vũ Mạnh Hùng**

Cán bộ hướng dẫn 2: **GS.TS. Nguyễn Thanh Hải**

Cơ sở đào tạo: **Viện Dược liệu**

NỘI DUNG TÓM TẮT LUẬN ÁN

1. Mục tiêu

- Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp chế biến hấp nhiệt đến hàm lượng saponin của rễ củ tam thất.
- Nghiên cứu tác dụng kháng u thực nghiệm của các dạng cao định lượng và một số saponin phân lập từ rễ củ tam thất.
- Đánh giá độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của cao định lượng sau hấp nhiệt.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp chế biến bằng hấp nhiệt đến hàm lượng saponin của rễ củ tam thất.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các saponin chính có trong các mẫu tam thất đã qua hấp và không hấp nhiệt.

- Khảo sát sự biến đổi hàm lượng hoạt chất trong tam thất trước và sau khi hấp ở các điều kiện khác nhau dùng HPLC.

2.2. Nghiên cứu tác dụng của 6 saponin phân lập từ rễ củ tam thất và tác dụng kháng u thực nghiệm của 2 cao định lượng.

- Đánh giá *in vitro* tác dụng kháng u của 6 saponin đã phân lập được theo phương pháp Monks A và cộng sự (1991).

- Đánh giá *in vivo* khả năng gây độc tế bào và khả năng kích thích chết tế bào theo chương trình (apoptosis) của cao định lượng NP(H) trên dòng tế bào ung thư mô liên kết chuột, sarcoma TG180. Hoạt hóa và nhân nuôi dòng tế bào Sarcoma TG180. Đánh giá khả năng gây độc tế bào của cao định lượng NP(H) trên dòng tế bào Sarcoma TG180 nuôi cấy theo phương pháp MTT. Đánh giá khả năng kích thích quá trình chết tế bào theo chương trình (apoptosis) của cao định lượng NP(H) trên dòng tế bào ung thư mô liên kết chuột sarcoma TG 180.

- Tạo thành công mô hình khối u rắn sarcoma TG 180 trên chuột theo Lapis và cộng sự. Đánh giá tác dụng ức chế phát triển u của các cao định lượng NP(H) và NP(O); hiệu lực kháng u theo Itokawa; Xác định tỷ số phát triển khối u (GR-Growth Ratio); Xác định tỷ số ức chế khối u (IR-Inhibition Ratio);

- Đánh giá tác dụng của các cao định lượng NP(H) và NP(O) lên hệ miễn dịch của chuột mang khối u rắn sarcoma TG 180 theo phương pháp Stefanova T.H; Đánh giá tác dụng chống oxy hoá theo Zhao và cộng sự; Xác định thời gian sống thêm của chuột mang khối u rắn Sacoma TG 180 theo Geran và cộng sự.

2.3. Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của cao định lượng NP(H).

- Đánh giá độc tính cấp đường uống của cao định lượng NP(H) trên chuột nhắt trắng theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam và WHO.

Các chỉ tiêu theo dõi : Thể trạng chung của chuột, các dấu hiệu ngộ độc, số lượng chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc và tiếp tục theo dõi tiếp trong vòng 14 ngày.

- Đánh giá độc tính bán trường diễn của cao định lượng NP(H) trên chuột cống trắng theo quy định 141 của Bộ y tế Việt Nam và của WHO; Chỉ tiêu: Thể trạng chung của chuột, các dấu hiệu ngộ độc, ít nhất 2 lần/ngày, đầu buổi sáng và cuối buổi chiều. Trọng lượng cơ thể, huyết học và sinh hóa máu chuột được đánh giá tại các thời điểm xuất phát, ngày thứ 30, 60 và 90. Vào cuối thời điểm ngày thứ 90, động vật được giết và phẫu tích để đánh giá đại thể và làm tiêu bản nhuộm HE để đánh giá vi thể mô gan, lách, thận của chuột ở các lô.

3. Kết quả chính và kết luận

3.1. Ảnh hưởng của phương pháp chế biến qua hấp nhiệt đến hàm lượng saponin của rễ củ tam thất

Từ cao n-butanol của dịch chiết MeOH 80%, đã phân lập được 4 hợp chất từ rễ củ Tam thất chưa qua hấp nhiệt là ginsenosid Rg1 (1), ginsenosid Re (2), ginsenosid Rd (3) và ginsenosid Rb1 (4) và 2 hợp chất ginsenosid Rg3 (5) và ginsenosid Rh1 (6) từ rễ củ Tam thất sau khi hấp ở 120°C trong 8h.

Khảo sát thời gian hấp, nhiệt độ hấp (100°C, 120°C), với mẫu tam thất tươi hoặc khô, hàm lượng các saponin chính trong tam thất chưa xử lý qua hấp hơi

nóng là Rg1, Rb1 và Rd, Re giảm dần; hàm lượng các saponin mới như Rh1 và Rg3 tăng lên rõ rệt.

Lựa chọn được điều kiện chế biến hấp nhiệt để cho hàm lượng Rh1 và Rg3 cao nhất là: mẫu khô, hấp 120°C trong 8h.

Đã bào ché hai loại cao định lượng NP(O) từ tam thất chưa hấp và cao định lượng NP(H) từ tam thất đã hấp, với hiệu suất chiết cao và hàm lượng saponin trong cao.

3.2. Tác dụng kháng u thực nghiệm của 2 dạng cao định lượng và một số saponin phân lập từ rễ củ tam thất.

- *Tác dụng kháng ung thư của 6 saponin đã phân lập và 2 loại cao định lượng NP(O), NP(H) trên một số dòng tế bào ung thư người.*

So sánh hoạt tính *in vitro* trên 6 dòng tế bào ung thư người HT29, HepG2, RD và MCF7, SK LU-1 và A549 hoạt tính của hai saponin Rg3 và Rh1 thu được từ tam thất đã qua hấp nhiệt có tác dụng mạnh hơn so với 4 saponin Rg1, Re, Rd và Rb1 thu được khi nguyên liệu không qua hấp nhiệt. Hoàn toàn thể hiện cùng chiều hướng khi so sánh hoạt tính của cao định lượng qua hấp nhiệt NP(H) có tác dụng mạnh hơn cao định lượng chưa qua hấp nhiệt NP(O).

- *Đã chứng minh khả năng kích thích apoptosis của cao định lượng NP(H) trên dòng tế bào ung thư mô liên kết chuột sarcoma TG180.*

NP(H) tác dụng gây độc với tế bào Sarcoma TG180, với giá trị IC₅₀ thu được: IC₅₀=206,65±10,11 µg/ml.

NP(H) ở nồng độ 103,3 µg có tác dụng cảm ứng và kích thích tế bào Sarcoma TG180 chết theo chương trình apoptosis ngay từ giai đoạn sớm thể hiện tỷ lệ dương tính rất cao: tại thời điểm 24h tăng 134,4% và 48h là 193,4%, xấp xỉ tăng 200% so với đối chứng.

- *Tác dụng kháng u trên thực nghiệm *in vivo**

Trên mô hình chuột mang u sarcoma TG 180, cao định lượng NP(H) có tác dụng kháng tế bào ung thư tốt làm giảm kích thước khối u, tăng cường miễn dịch, chống oxy hoá bảo vệ gan, kéo dài thời gian sống thêm của chuột mang u. Các tác dụng này của cao định lượng NP(H) đều mạnh hơn so với của cao định lượng NP(O).

3.3. Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của cao định lượng NP(H)

- *Độc tính cấp:* Chưa tìm thấy LD50 của cao định lượng NP(H) theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 6000 mg/kg thể trọng đã không thể hiện độc tính cấp.

- *Độc tính bán trường diễn:* Khi cho chuột cống trắng uống cao định lượng NP(H) với 2 mức liều là 200mg/kg/ngày và 900mg/kg/ngày liên tục trong 90 ngày đã không ảnh hưởng tới sự phát triển cân nặng và hoạt động của chuột, không ảnh hưởng tới các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng

cầu, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu); sinh hóa (AST, ALT, creatinin, albumin và cholesterol) và hình thái đại thể cũng như vi thể gan, lách và thận.

Hà Nội, ngày 1 tháng 11 năm 2022

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

PGS. TS. Vũ Mạnh Hùng

GS.TS. Nguyễn Thanh Hải

Bùi Thị Thu Hà