

TÓM TẮT LUẬN ÁN

1. GIỚI THIỆU

Tên tác giả: Bùi Thị Bình

Tên luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của loài *Belamcanda chinensis* (L.) DC. thu hái tại Việt Nam.

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền

Mã số: 9720206

Họ và tên cán bộ hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu
2. PGS.TS. Đỗ Thị Hà

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

2. NỘI DUNG TÓM TẮT

2.1. Mục tiêu của luận án

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ cây Xạ can.
- Nghiên cứu một số tác dụng sinh học của cao chiết và các hợp chất phân lập từ cây Xạ can.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về hóa học

- *Phương pháp định tính:* Định tính các nhóm chất hữu cơ trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.
- *Phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất:*
 - + Chiết xuất các chất trong dược liệu bằng phương pháp chiết hồi lưu với dung môi methanol và ethanol 70%.
 - + Phân lập các chất bằng sắc ký cột (CC) pha thuận (silica gel 0,04 - 0,063 mm, Merck), pha đảo YMC RP-18 (30-50 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.), Sephadex LH20, MCI gel (CHP20P, 75 - 150 μ m) và HPLC điều chế. Theo dõi các phân đoạn sắc ký bằng sắc ký lớp mỏng. Phát hiện chất bằng cách phun dung dịch H_2SO_4 10% trong ethanol 96% và hơi nóng, soi dưới đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 366 nm.

- + 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 tử ngoại (UV), phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT) và hai chiều (COSY, HMBC, HMQC và NOESY).
- + Xây dựng phương pháp định lượng một số chất chính phân lập từ Xạ can bằng phương pháp HPLC.

2.2.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học

- Đánh giá ảnh hưởng của mẫu thử đến khả năng sống sót của tế bào RAW264.7 bằng phương pháp MTT để xác định nồng độ thử.
- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* với các đích nghiên cứu là mức độ biểu hiện COX-2 và chất trung gian gây viêm PGE2 trên tế bào RAW264.7 với tác nhân kích thích là LPS, sử dụng các kỹ thuật Western blot, ELISA và định lượng RT-PCR để đo lường.
- Đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin theo phương pháp Winter.
- Đánh giá tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng viên amiant của Meier và cộng sự, 1950.
- Sàng lọc tác dụng chống tăng sinh tế bào được tiến hành theo phương pháp từ bộ tăng sinh tế bào (11465007001, Sigma).

2.3. Kết quả chính và kết luận

2.3.1. Về hóa học

- Đã xác định trong cây Xạ can có các nhóm chất hữu cơ như flavonoid, acid hữu cơ, acid amin, polysaccarid và đường khử.
- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 20 hợp chất [11 chất từ phần thân rễ (**BC1 - BC11**) và 9 chất từ phần trên mặt đất (**BC12 - BC20**) trong đó có 4 chất mới (**BC12, BC13, BC18, BC19**) và 6 chất lần đầu tiên phân lập từ Xạ can (**BC6, BC8, BC11, BC14, BC15** và **BC17**)]. 20 hợp chất cụ thể là: Iristectorigenin A (**BC1**), acetovanillon (**BC2**), irisfloreantin (**BC3**), irilin D (**BC4**), tectorigenin (**BC5**), (**7R,8S**)-

dehydrodiconiferyl alcohol- γ' -methyl ether (**BC6**), iristectorin A (**BC7**), isorhamnetin-3-*O*-(6''-acetyl)- β -D-glucopyranosid (**BC8**), tectoridin (**BC9**), iridin (**BC10, BC20**), 1,3-*O*-diferuloylsucrose (**BC11**), 2'-*O*-acetyl-1,3-*O*-diferuloylsucrose (**BC12**), irigenin 3'-*O*- β -glucopyranosid (**BC13**), isoswertisin (**BC14**), 2''-*O*- α -L-rhamnosyl-4'-*O*-methylisovitexin (**BC15**), 2''-*O*-rhamnosylswertisin (**BC16**), embinin (**BC17**), 6''-*O*-acetylembinin (**BC18**) và 3''-*O*-acetylembinin (**BC19**).

- Đã xây dựng được phương pháp định lượng đồng thời 6 hợp chất phân lập từ thân rễ Xạ can và xác định hàm lượng của chúng trong 6 mẫu thân rễ Xạ can thu hái tại các tỉnh Nghệ An, Phú Thọ, Thái Bình, Thanh Hóa, Vĩnh Phúc và Yên Bái. Các mẫu này đều đạt tiêu chuẩn của Dược điển Trung Quốc quy định về hàm lượng irisfloreantin trong dược liệu Xạ can không thấp hơn 0,1%. Hàm lượng của các hợp chất này dao động nhiều và thay đổi phụ thuộc vào từng mẫu thu hái: tectoridin (**BC9**) 1,66 - 5,27%, iristectorigenin A (**BC1**) 0,17 - 0,40%, irisfloreantin (**BC3**) 0,27 - 0,86%, tectorigenin (**BC5**) 0,74 - 1,95%, iristectorin A (**BC7**) 0,12 - 0,38% và iridin (**BC10**) 0,50 - 1,41%.

2.3.2. Về tác dụng sinh học

- Ở nồng độ 30 μ g/ml, phân đoạn ethyl acetat thân rễ Xạ can ức chế mạnh sự biểu hiện protein COX-2 gây ra bởi LPS và sản sinh PGE2.
- Ở nồng độ 30 μ M, các hợp chất **BC2**, **BC6** và **BC9** có khả năng làm giảm đáng kể mức độ biểu hiện COX-2 do LPS gây ra ở các tế bào RAW246.7.
- Hai hợp chất **BC2** và **BC6** đã được đánh giá cơ chế chống viêm *in vitro* thông qua một số tín hiệu viêm trên tế bào RAW364.7. Hợp chất **BC6** ức chế biểu hiện gen COX-2 và ức chế sản sinh PGE2 phụ thuộc theo nồng độ (3, 10, 30 μ M); ức chế biểu hiện gen miR-146a và miR-155 sau khi kích hoạt bởi LPS ở nồng độ 30 μ M và gây ức chế biểu hiện COX-2 gây bởi LPS, miR-146a và miR-155. Hợp chất **BC2** ức chế biểu hiện gen COX-2 phụ thuộc theo nồng độ (3, 10, 30 μ g/ml) và ức chế sản sinh PGE2 phụ thuộc theo nồng độ (3, 10, 30, 100 μ g/ml). **BC2** có tác dụng ức chế một số tín hiệu liên quan đến cơ chế viêm NF-kB, AP-1, p65 và c-Jun phụ thuộc theo nồng độ.

- Ở cả 2 mức liều 225 và 450 mg/kg thể trọng chuột, cao MeOH thân rễ Xạ can đều thể hiện rõ tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù chân chuột công bằng carrageenin và làm giảm khối lượng u hạt tươi khi so với lô chứng.
- Ở nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$ cao ethyl acetat phần trên mặt đất Xạ can ức chế đáng kể sự tăng sinh của tế bào VSMC.
- Ở nồng độ 30 μM các hợp chất **BC14**, **BC17** - **BC20** có tác dụng ức chế đáng kể sự tăng sinh của tế bào VSMC.

Hà Nội, ngày 23 tháng 12 năm 2018

TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu

ThS. Bùi Thị Bình

PGS.TS. Đỗ Thị Hà