

# TÓM TẮT LUẬN ÁN

**Họ và tên nghiên cứu sinh:** Đỗ Thị Oanh

**Tên luận án:** “Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hoá học và một số tác dụng sinh học của loài *Chloranthus japonicus* Sieb. ở Việt Nam”

**Chuyên ngành:** Dược liệu – Dược học cổ truyền

**Mã số:** 9720206

**Họ và tên cán bộ hướng dẫn khoa học:**

1. GS.TS. Phạm Thanh Kỳ

2. PGS.TS. Lê Việt Dũng

**Cơ sở đào tạo:** Viện Dược liệu

**Nội dung tóm tắt luận án:**

## 1. Mục tiêu

- Thăm định tên khoa học của mẫu nghiên cứu và xác định các đặc điểm vi học các bộ phận của cây để góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học các hợp chất đã phân lập được từ dược liệu.

- Thử độc tính cấp, tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, bảo vệ gan của cao chiết dược liệu và tác dụng ức chế enzym protease HIV – 1 của một số hợp chất tinh khiết đã phân lập được.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nghiên cứu về thực vật học

- *Mô tả đặc điểm hình thái:* Bằng phương pháp mô tả phân tích, dựa trên các đặc điểm hình thái của các mẫu nghiên cứu, bao gồm cả mẫu cây tươi và cây khô. Các đặc điểm mô tả bao gồm dạng sống, lá, hoa và quả.

- *Thăm định tên khoa học:* Dựa trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với mẫu tiêu bản lưu giữ tại Viện Dược liệu (VDL), Đại học Khoa học tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội (HNU), Trường Đại học Dược Hà Nội (HNP).

- *Mô tả cấu tạo giải phẫu:* Làm tiêu bản vi học các bộ phận rễ và phần trên mặt đất của cây theo phương pháp tẩy và nhuộm kép. Quan sát dưới kính hiển vi soi nổi và chụp ảnh bằng máy ảnh kỹ thuật số.

- *Mô tả đặc điểm bột dược liệu:* Soi bột rễ, bột phần trên mặt đất cây Sói nhật, quan sát các đặc điểm, mô tả và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi.

### 2.2. Nghiên cứu về hóa học

- *Phương pháp định tính:* Định tính sơ bộ các nhóm chất theo phương pháp phân tích sàng lọc các nhóm hợp chất thiên nhiên có trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng.

- *Phương pháp chiết xuất, phân lập các hợp chất:*

- + Chiết xuất các chất trong dược liệu theo phương pháp ngâm với dung môi ethanol 70% ở nhiệt độ phòng. Phân tán cao EtOH 70% trong nước rồi lắc với dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexan, EtOAc và *n*-butanol.
- + Phân lập và tinh chế các hợp chất bằng sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng điều chế, Sắc ký lớp mỏng điều chế được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn silica gel 60G F<sub>254</sub>. Sắc ký cột được tiến hành trên cột silica gel (cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm), silica gel pha đảo RP-18, Dianon HP-20 và Sephadex LH20.

- *Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất:* Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các thông số vật lý và các phương pháp phổ bao gồm: Điểm chảy  $[\alpha]_D$ , phổ tử ngoại, phổ hồng ngoại, phổ khối, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều (1D&2D-NMR), so sánh đối chiếu với số liệu phổ các chất đã công bố.

### **2.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học**

- Xác định độc tính cấp của cao chiết nước từ bộ phận trên mặt đất và rễ cây Sói nhật.

- Đánh giá tác dụng chống viêm cấp của cao chiết nước từ phần trên mặt đất và rễ cây Sói nhật trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin và mô hình gây viêm màng bụng.

- Đánh giá tác dụng chống viêm mạn của cao chiết nước từ phần trên mặt đất và rễ cây Sói nhật trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amiant.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa của cao chiết nước từ phần trên mặt đất và rễ cây Sói nhật trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol.

- Thử hoạt tính ức chế enzym protease HIV-1 của hợp chất tinh khiết đã phân lập được theo phương pháp của Richards và cộng sự.

## **3. Kết quả chính và kết luận**

### **3.1. Về thực vật học**

- Khẳng định mẫu nghiên cứu trong luận án là cây Sói nhật có tên khoa học là *Chloranthus japonicus* Sieb., họ Hoa sói (Chloranthaceae).

- Đã mô tả đầy đủ các đặc điểm hình thái thực vật có ảnh chụp cơ quan sinh trưởng và cơ quan sinh sản và giải phẫu rễ, thân, lá của cây Sói nhật.

### **3.2. Về hóa học**

- Đã xác định được trong phần trên mặt đất cây Sói nhật có flavonoid, saponin, acid hữu cơ, chất béo, steroid, caroten, polysaccharid và tinh dầu.

- Đã xác định được trong rễ cây Sói nhật có flavonoid, saponin, coumarin, acid hữu cơ, steroid, caroten, polysaccharid và tinh dầu.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học được 14 chất từ cây Sói nhật ở Việt Nam:
- + **4 hợp chất phân lập từ phần trên mặt đất:** shizukolidol (1), 4 $\alpha$ ,8 $\beta$ -dihydroxyeudesm-7(11)-en-12,8-olid (2), 4 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,8 $\beta$ (H)-eudesm-7(11)-en-8,12-olid (3) và linarionosid A (4).
- + **10 hợp chất phân lập từ rễ:** chloranosid A (5), 5-(hydroxymethyl)furaldehyd (6), acid glucosyringic (7), vanillosid (8), sarcaglabosid G (9), yinxiancaosid C (10), sacaglabosid C (11), calycanthosid (12), shizukanolid F (13) và isofraxidin (14).
- + Các chất 2, 3, 11, 13 và 14 là những chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *C. japonicus* Sieb..
- + Các chất 4, 6, 7, 8, 9 và 12 là những chất lần đầu tiên phân lập được từ chi *Chloranthus* Sw..

### 3.3. Về độc tính và tác dụng sinh học

- **Độc tính cấp:**
  - + Cao chiết nước phần trên mặt đất cây Sói nhật không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 150 g dl/kg gấp 37,5 - 75 lần liều dùng trên lâm sàng bằng đường uống.
  - + Đã xác định LD<sub>50</sub> của cao chiết nước rễ cây Sói nhật trên chuột nhắt trắng theo đường uống là: LD<sub>50</sub> = 202,18 (219,86 – 166,82) g/kg thể trọng chuột.
- **Tác dụng chống viêm cấp:**
  - + **Mô hình gây phù bàn chân chuột:**
    - ✓ Cao chiết phần trên mặt đất của cây Sói nhật ở cả hai liều 2,8 g dl và 8,4 g dl/kg có xu hướng làm giảm phù chân chuột nhưng chưa có ý nghĩa thống kê. Liều 8,4 g dl/kg có tác dụng làm giảm phù chân chuột ở thời điểm sau gây viêm 2 h ( $p < 0,05$ ) nhưng không mạnh bằng aspirin 200 mg/kg.
    - ✓ Cao chiết rễ cây Sói nhật ở cả hai liều 2,8 g dl và 8,4 g dl/kg đều không thể hiện tác dụng chống viêm cấp.
  - + **Mô hình gây tràn dịch màng bụng:** Cao chiết phần trên mặt đất và phần rễ liều 2,8 g dl không làm giảm thể tích dịch rỉ viêm, số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm so với lô chứng, nhưng cao chiết Sói nhật phần trên mặt đất ở liều cao 8,4 g dl/kg đã làm giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm so với lô chứng ( $p < 0,05$ ).

#### - Tác dụng chống viêm mạn:

Cao chiết Sói nhật cả phần trên mặt đất và phần rễ ở cả hai liều 4 g dl và 12 g dl/kg đều có tác dụng làm giảm trọng lượng khối u hạt so với lô chứng ( $p < 0,05$ ).

**- Tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa**

- + Cao chiết phần trên mặt đất và phần rễ cây Sói nhật ở cả hai liều 4 g dl và 12 g dl/kg đều có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng PAR liều cao, thông qua việc làm giảm nồng độ AST và ALT. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về sự giảm hoạt độ enzym ALT và AST giữa lô dùng liều 4 g dl/kg và lô 12 g dl/kg thể trọng chuột.
- + Cao chiết phần trên mặt đất cây Sói nhật có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA dịch đồng thể gan chuột, tuy nhiên sự khác biệt chỉ có ý nghĩa thống kê ở lô uống Sói nhật liều 4 g dl/kg ( $p < 0,05$ ).
- + Cao chiết phần rễ cây Sói nhật không có tác dụng làm giảm MDA dịch đồng thể gan chuột bị gây độc bởi PAR.

**- Tác dụng ức chế enzym protease HIV-1**

Hợp chất **2** ( $4\alpha,8\beta$ -dihydroxyeudesm-7(11)-en-12,8-olid) được phân lập từ phân đoạn cồn ethylacetat phần trên mặt đất cây Sói nhật có hoạt tính ức chế enzym protease HIV-1 với giá trị  $IC_{50}$  là  $0,45 \mu M$ .

Hà Nội, ngày      tháng      năm 2018

**CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**

**NGHIÊN CỨU SINH**

**GS.TS. Phạm Thanh Kỳ**

**ThS. Đỗ Thị Oanh**

**PGS.TS. Lê Việt Dũng**