

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Trung Tường

Tên luận án: “Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây thuốc thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban; họ Na - Annonaceae)”

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. TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

Nội dung tóm tắt luận án:

1. Mục tiêu

- Thăm định tên khoa học và xác định đặc điểm thực vật, đặc điểm vi học của mẫu nghiên cứu.
- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học các hợp chất đã phân lập được từ dược liệu.
- Thử độc tính và một số tác dụng sinh học (chống viêm, giảm đau, gây độc một số dòng tế bào ung thư).

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, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

- *Mô tả cấu tạo giải phẫu:* Làm tiêu bản vi học các bộ phận rễ, thân, lá của cây theo phương pháp tấy 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, thân, lá cây thuốc Thượng, 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 chiết xuất, phân lập các hợp chất:

- + Chiết xuất các chất trong dược liệu theo phương pháp siêu âm với dung môi methanol ở 50°C. Phân tán cạn chiết methanol trong acid acetic 5% rồi chiết lần lượt với dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexan, cloroform và EtOAc.
- + Phân lập và tinh chế các hợp chất bằng sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng hiệu năng cao. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoilen 60 F254, RP18 F254S. Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh và 230-400 mesh, Merck); pha đảo sử dụng loại RP-18 có cỡ hạt là 30-50 μm ; Diaion HP-20. Các hợp chất được tinh chế bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC Agilent 1200, cột J'sphere kích thước 20 \times 250 mm, H-80.

- 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 khối phân giải cao, 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

- Thử độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của cao lỏng lá và thân cành cây thuốc Thượng theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam, WHO và OECD.

- Thử tác dụng chống viêm khớp (gây ra bởi CFA theo mô hình của Newbould); tác dụng chống viêm cấp (trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan); tác dụng chống viêm mạn (trên mô hình gây u hạt của Ducrot).

- Thử tác dụng giảm đau tại tổ chức viêm (theo phương pháp nghiên cứu của Randall và Selitto); tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn (sử dụng acid acetic - Writhing Tests); tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng (Hotplate).

- Thử tác dụng gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các hợp chất phân lập được đối với dòng tế bào ung thư gan (Hep G2), ung thư vú (MCF-7), ung thư phổi (Lu-1) và dòng tế bào lympho (Jurkat).

- Thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các hợp chất phân lập được qua đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO.

3. Kết quả chính và kết luận

3.1. Về thực vật học

- Đã thẩm định được tên khoa học của mẫu nghiên cứu cây thuốc Thượng thu hái tại xã Hòa Nhơn, huyện Hòa Vang, thành phố Đà Nẵng là *Phaeanthus vietnamensis* Ban, thuộc họ Na-Annonaceae.

- Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu rễ, thân, lá và xác định được đặc điểm bột rễ, thân, lá cây thuốc Thượng.

3.2. Về hóa học

- Đã chiết xuất, phân lập, xác định cấu trúc hóa học 15 hợp chất từ cây thuốc Thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) ở Việt Nam:

+ **3 hợp chất mới:** (7*S*,8*R*,8'*R*)-3,5,3',5'-tetramethoxy-4,4',7-trihydroxy-9,9'-epoxylignan (PV1), 8 α -hydroxyoplop-11(12)-en-14-on (PV5) và (1*R*,2*S*,4*S*)-2-*E*-cinnamoyloxy-4-acetyl-1-methylcyclohexan-1-ol (PV12).

+ **8 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ chi *Phaeanthus*:** 8*R*,8'*R*-bishydroxyrinenin (PV2), (+)-5,5'-dimethoxylariciresinol (PV3), spathulenol (PV6), 1 α H,5 β H-aromandendrane-4 β ,10 α -diol (PV7), 1 α H,5 β H-aromandendrane-4 α ,10 α -diol (PV8), 1 β H,5 β H-aromandendrane-4 α ,10 β -diol (PV9), 3 α ,4 β -dihydroxybisabola-1,10-dien (PV10), nerolidol (PV11).

+ **2 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ loài *P. vietnamensis* Ban:** thalifolin (PV14) và moupinamid (PV15).

3.3. Về độc tính và tác dụng sinh học

- **Độc tính cấp:** Đã xác định được liều LD₅₀ của cao lỏng lá (CL1) bằng đường uống là 135,63 (118,97÷154,62) g/kg ở $p = 0,05$. Chưa xác định được LD₅₀ của cao lỏng thân cành (CL2) với liều tối đa chuột có thể dung nạp là 550 g/kg.

- **Độc tính bán trường diễn:** Cao lỏng lá (CL1), cao lỏng thân cành (CL2) cây thuốc Thượng an toàn ở các mức liều 2 g và 4 g/kg/ngày khi dùng trên chuột cống trong thời gian 60 ngày.

- **Chống viêm:** Cao lỏng CL1 và CL2 với các mức liều 1,4 g/kg và 2,8 g/kg đều có tác dụng chống viêm khớp, tương đương với thuốc tham chiếu indomethacin liều 10 mg/kg; Cao lỏng CL1 và CL2 với các mức liều 1,4 g/kg và 2,8 g/kg đều có tác dụng chống viêm cấp và viêm mạn, tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac liều 15 mg/kg.

- Giảm đau:

+ Cao lỏng **CL1** và **CL2** với mức liều 1,4 g/kg và 2,8 g/kg đều có tác dụng giảm đau trên tổ chức viêm, tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac liều 15 mg/kg;

+ Cao lỏng **CL1** và **CL2** với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn, tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg;

+ Cao lỏng **CL1** và **CL2** với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có chiều hướng làm tăng thời gian phản ứng đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng.

- Tác dụng của các hợp chất phân lập từ cây thuốc Thượng:

+ Hợp chất **PV6** (spathulenol) có hoạt tính trên 3 dòng tế bào: Jurkat (với $IC_{50}=42,00 \mu M$), HepG-2 (với $IC_{50}=44,64 \mu M$), MCF-7 (với $IC_{50}=53,88 \mu M$). Các hợp chất **PV1**, **PV5**, **PV8-PV11**, **PV14** thể hiện hoạt tính yếu với IC_{50} trong khoảng 109,11-186,72 μM .

+ Hợp chất **PV6** (spathulenol) thể hiện khả năng ức chế mạnh sản sinh NO với giá trị IC_{50} là $15,7 \pm 1,2 \mu M$. Các hợp chất **PV2**, **PV8** và **PV9** thể hiện khả năng đáng kể ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} từ 22,6 tới 25,3 μM .

Hà Nội, ngày tháng năm 2019

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

GS.TS. Phạm Thanh Kỳ

ThS. Nguyễn Trung Tường

TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

