

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Lĩnh

Tên luận án: “Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học cây Tiên hạc thảo (*Agrimonia pilosa* Ledeb.var. *pilosa*).”

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. Vũ Mạnh Hùng

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

Nội dung tóm tắt luận án:

1. Mục tiêu

- Nghiên cứu về đặc điểm thực vật và đặc điểm vi học của cây Tiên hạc thảo.
- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ cây Tiên hạc thảo.
- Nghiên cứu độc tính và một số tác dụng sinh học trên thực nghiệm góp phần chứng minh tác dụng chữa bệnh của Tiên hạc thảo theo kinh nghiệm dân gian.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Về thực vật.

- *Mô tả đặc điểm hình thái:* Bằng phương pháp quan sát và mô tả phân tích, dựa trên các đặc điểm hình thái của các mẫu nghiên cứu. (Thu hái cây có hoa, quả làm tiêu bản mẫu cây khô và lưu giữ tiêu bản tại cơ sở nghiên cứu).

- *Thẩm định tên khoa học:* Dựa trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với các khóa phân loại và bản mô tả các loài thuộc chi *Agrimonia* L. của Li Chaoluan và cs. (2003) trong Thực vật chí Trung Quốc và Song song với việc phân tích các đặc điểm và đối chiếu với các khóa phân loại, các mẫu nghiên cứu được so sánh với một số mẫu tiêu bản có tên Tiên hạc thảo hiện đang được lưu trữ tại các phòng tiêu bản thực vật của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam, khoa Tài nguyên - Viện Dược liệu; với sự giúp đỡ của các chuyên gia phân loại thực vật.

- *Nghiên cứu đặc điểm vi học:* Cắt, làm tiêu bản vi phẫu, soi bột lá, thân và toàn cây Tiên hạc thảo, quan sát các đặc điểm, mô tả và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi.

2.2. Về hóa học

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

+ Chiết xuất các chất trong dược liệu theo phương pháp ngâm chiết trong methanol kết hợp chiết siêu âm thu được cặn chiết methanol. Cặn chiết này được phân bổ vào 5 lít nước cất nóng và chiết lần lượt bằng dichloromethan và ethyl acetat.

+ Phân lập và tinh chế các hợp chất bằng sắc ký cột. Dùng sắc ký cột với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040 - 0,063 mm (240 - 430 mesh). Pha đảo RP-18 (30-50 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.). Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất: Xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất là sự kết hợp xác định giữa các thông số vật lý với các phương pháp phổ hiện đại bao gồm: phổ khối lượng phun mù điện ESI-MS, phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS, phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, phổ lưỡng sắc tròn (CD), so sánh đối chiếu với số liệu phổ các chất đã công bố.

2.3. Về tác dụng sinh học

- Thử độc tính cấp và bán trường diễn của cao lỏng phần trên mặt đất CL1 và cao lỏng phần rễ CL2 theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam, WHO và OECD.

- Thử tác dụng chống viêm cấp (trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin); tác dụng viêm mạn (theo mô hình gây u hạt trên chuột), tác dụng giảm đau (bằng thử nghiệm Randall-Selitto Test, theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic, mô hình gây đau bởi phiến nóng (Hotplate)).

- Thử tác dụng chống oxy hóa bảo vệ gan của cao lỏng phần trên mặt đất CL1 và cao lỏng phần rễ CL2.

- Thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các hợp chất phân lập được qua đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của các chất sạch đã phân lập được trong điều kiện đại thực bào RAW 264,7 được kích thích với LPS.

- Thử tác dụng gây độc tế bào ung thư *in vitro* của 09 chất sạch phân lập được đối với dòng tế bào ung thư gan (Hep G2), ung thư vú (MCF-7), ung thư phổi (SK-Lu-1).

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 Tiên hạc thảo thu hái ở Trùng Khánh, Cao Bằng là *Agrimonia pilosa* Ledeb.var.*pilosa*, họ Rosaceae.

- Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu lá, thân, và xác định được đặc điểm bột dược liệu cây Tiên hạc thảo.

3.2. Về hóa học

Đã chiết xuất, phân lập, xác định cấu trúc hóa học 18 hợp chất từ Tiên hạc thảo (*Agrimonia pilosa* Ledeb.var.*pilosa*) ở Việt Nam:

+ **02 hợp chất mới**: Agrimopilosid A (**BAP-6**) và Agrimopilosid B (**BAP-13**).

+ **7 hợp chất lần đầu tiên công bố phân lập từ chi *Agrimonia*** : Naringenin 7-*O*- β -D-glucopyranosid (**BAP-4**), Leucosid (**BAP-5**), 2*S*, 3*S*-(-)-Glucodistylin (**BAP-8 = BAR2**), Isolariciresinol -3 α -*O*- β -D-glucopyranosid (**BAP-12**), Vanilic acid 4-*O*- β -D-glucopyranosid (**BAP-16**), Vanillolosid (**BAP-18**); Adenosin (**BAP-20**).

+ **01 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. pilosa*** là Quercetin 3-*O*- β -D-galactopyranosid (**BAP-1**).

+ **08 hợp chất đã được công bố phân lập từ *Agrimonia pilosa* Ledeb** : (-)-aromadendrin 3-*O*- β -D-glucopyranosid (**BAP-2 = BAR1**), quercetin (**BAP-28 = BAR3**), kaempferol (**BAP-29**), quercetin-3-*O*-rutinosid (**BAP-30 = BAR4**), (+)-catechin (**BAP-31**); agrimonolid -6-*O*- β -D-glucopyranosid (**BAR6**), agrimonolid (**BAR7**) và 1 β , 2 α , 3 β , 19 α -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid (**BAR9**).

3.3. Về độc tính và tác dụng sinh học

- **Độc tính cấp**: Chưa xác định được LD₅₀ của Cao lỏng CL1 và CL2 .

- **Độc tính bán trường diễn**: cao lỏng Tiên hạc thảo (CL1 và CL2) không thể hiện độc tính bán trường diễn trên mô hình thử nghiệm ở thỏ. Chúng tỏ dược liệu có tính an toàn cao khi sử dụng ở các mức liều và thời gian thử nghiệm dài ngày.

- **Chống viêm**:

* Trên mô hình gây phù bàn chân chuột: Lô dùng cao lỏng CL1, CL2 liều cao (4,2g/kg thể trọng) có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột tương đương với lô dùng Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng (p < 0,05) .

* Trên mô hình gây u hạt bằng amiant :Cao lỏng phân trên mặt đất (CL1) và cao lỏng phân rã (CL2) của Tiên hạc thảo liều 2,1g/kg và 4,2g/kg thể trọng chuột đều có tác dụng làm giảm khối lượng u hạt rõ rệt so với nhóm chứng (p <0,05). Ở liều cao CL1

và CL2 đều có tác dụng chống viêm mạn tương đương với diclofenac 15mg/kg thể trọng chuột.

- **Giảm đau:** Cao lỏng CL1 và CL2 của Tiên hạc thảo đều có tác dụng giảm đau trên tổ chức viêm chân chuột bằng carrageenin, trên mô hình gây đau quặn và trên mâm nóng ở chuột nhắt trắng với liều thử nghiệm.

- **Chống oxy hóa, bảo vệ gan:** Các cao lỏng phần trên mặt đất (CL1) và cao lỏng phần rễ (CL2) của Tiên hạc thảo với các mức liều 3,6g và 7,2g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng đều thể hiện rõ tác dụng chống oxy hóa (làm giảm MDA gan và phục hồi GSH gan) và bảo vệ gan (làm giảm AST, ALT, giảm trọng lượng tương đối của gan, giảm tổn thương mô bệnh gan so với lô chứng gây độc).

- **Tác dụng ức chế sinh NO và gây độc tế bào của 9 chất sạch**

Hợp chất Naringenin 7-*O*- β -*D*-glucopyranosid (BAP-4) thể hiện hoạt tính ức chế sinh NO ở mức yếu với giá trị $IC_{50} = 91.07 \mu\text{g/ml}$. Còn 8 chất khác chưa thể hiện hoạt tính ức chế NO ở các nồng độ nghiên cứu.

09 chất sạch chưa thể hiện hoạt tính gây độc 3 dòng tế bào ung thư (HepG2, MCF-7, SK-LU-1) ở các nồng độ nghiên cứu (0,8 $\mu\text{g/ml}$, 4 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$ và 100 $\mu\text{g/ml}$).

Hà Nội, ngày tháng năm 2019

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

GS.TS. Phạm Thanh Kỳ

ThS. Nguyễn Văn Lĩnh

PGS. TS. Vũ Mạnh Hùng