

TÓM TẮT LUẬN ÁN

1. GIỚI THIỆU

Tên tác giả: Nguyễn Thị Phương

Tên luận án: "Nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng sinh học của cây gổi hạc (*Leea rubra* Blume ex Spreng., họ Leeaceae)".

Chuyên ngành: Dược học cổ truyền

Mã số: 62720406

Họ và tên cán bộ hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi

2. PGS.TS. Phương Thiện Thương

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

2. NỘI DUNG TÓM TẮT

2.1. Mục tiêu của luận án

- *Về thực vật học:* Mô tả dược đặc điểm hình thái và vi học của dược liệu Gổi hạc
- *Về thành phần hóa học:* Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Gổi hạc.
- *Về tác dụng sinh học:* Đánh giá một số tác dụng sinh học của cao chiết và một số hợp chất phân lập từ cây Gổi hạc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về thực vật học

- *Thẩm định tên khoa học:* Theo phương pháp so sánh hình thái, được đối chiếu với các khoá phân loại của chi *Leea*, họ Leeaceae trong các tài liệu chuyên khảo về phân loại thực vật và đối chiếu với các mẫu tiêu bản có tên Gổi hạc đã được xác định. Thẩm định lại kết quả bởi các chuyên gia phân loại thực vật.

- *Nghiên cứu vi học:* Theo phương pháp nghiên cứu hình thái giải phẫu thực vật, bao gồm các bộ phận (rễ, thân, lá). Các tiêu bản giải phẫu được làm theo phương pháp nhuộm kép (đỏ carmin và xanh methylen). Quan sát dưới kính hiển vi soi nổi và chụp ảnh bằng máy ảnh kỹ thuật số.

2.2.2. 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 bằng EtOH, phân đoạn bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần.
- + Phân lập và tinh chế các chất bằng sắc ký cột, sử dụng chất hấp phụ là silica gel pha thuận, pha đảo YMC RP-18 và Sephadex LH20; sắc ký lỏng điều chế (preparative HPLC).

- *Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất*

Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được dựa trên các thông số vật lý như hình thái, nhiệt độ nóng chảy; các phương pháp phổ: UV, IR, MS, CD, NMR (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, NOESY, HMBC, HSQC, COSY).

2.2.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học

- Mẫu nghiên cứu: Cao ethanol rễ, thân, lá cây Gối hạc (GHR, GHT, GHL).
- Đánh giá tác dụng dọn gốc tự do DPPH và superoxid bằng phương pháp đo quang.
- Xác định hoạt tính ức chế hoạt động enzym xanthin oxidase (XO) bằng phương pháp đo quang.
- Đánh giá tác dụng ức chế sự hoạt động của enzym 5-lipoxygenase (LO) bằng phương pháp đo quang.
- Đánh giá tác dụng ức chế enzym cyclooxygenase (COX-1, COX-2) bằng phương pháp đo quang theo kit và hướng dẫn số 560131 do hãng Cayman (Mỹ) cung cấp.
- Đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan theo phương pháp Winter.
- Đánh giá tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm trên chuột bằng viên bông.
- Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình mâm nóng.
- Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic.
- Đánh giá hoạt tính ức chế enzym protease HIV-1 bằng phương pháp đo quang (mô tả bởi Richards và cộng sự).

2.3. Kết quả chính và kết luận

2.3.1. Về thực vật học

- Đã thẩm định được tên khoa học của cây Gối hạc nghiên cứu là *Leea rubra* Blume ex Spreng., họ Gối hạc (Leeaceae).
- Đã mô tả đặc điểm thực vật, phân tích hoa, quả, hạt và xác định đặc điểm giải phẫu (vi phẫu, bột) của lá, thân, rễ cây Gối hạc.

2.3.2. Về hóa học

- Đã xác định các nhóm chất chính trong lá Gối hạc **gồm** flavonoid, tanin, nhóm triterpenoid, sterol, carbohydrat và acid hữu cơ. Trong thân và rễ Gối hạc có chứa sterol, tanin, carbohydrat và acid hữu cơ.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 21 hợp chất (**1-21**) từ cây Gối hạc.

+ Các hợp chất được phân lập từ lá bao gồm: kaempferol (**1**), quercetin (**2**), myricitrin (**3**), europetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosid (**4**), rhamnetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosid (**5**), juglanin (**6**), artabotrysid B (**7**), acid gallic (**8**), acid protocatechuic (**9**), acid *p*-hydroxybenzoic (**10**), arctiin (**11**), β -sitosterol (**12**), daucosterol (**13**), acid ursolic (**14**), acid oleanolic (**15**), acid maslinic (**16**), β -amyrin (**17**), huzhangosid D (**19**).

+ Các hợp chất có trong rễ bao gồm acid gallic (**8**), β -sitosterol (**12**), daucosterol (**13**).

+ Các hợp chất có trong thân bao gồm acid gallic (**8**), acid protocatechuic (**9**), β -sitosterol (**12**), daucosterol (**13**), lup-20(29)-en-3 β ,6 α -diol (**18**), stigmast-4-en-3,6-dion (**20**), goniothalamine (**21**).

- Mười hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ chi (**họ**) *Leea* gồm các chất số **4, 5, 6, 7, 11, 16, 18, 19, 20** và **21**. Có 18 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *Leea rubra* gồm: **1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21**.

- Đã xây dựng phương pháp định lượng acid gallic trong thân, rễ và định lượng đồng thời 2 chất acid gallic và europetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosid trong lá Gối hạc. Xác định được hàm lượng acid gallic (**8**) trong rễ, thân và lá Gối hạc lần lượt là 0,236%, 0,116% và 0,142%.; hàm lượng europetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosid (**4**) trong lá Gối hạc đạt 0,097%.

2.3.3. Về tác dụng sinh học

- Cao GHR, GHL, GHT có tác dụng dọn gốc tự do DPPH với giá trị IC₅₀ lần lượt là 8,72; 19,71 và 25,94 μ g/ml. Các chất phân lập được thử nghiệm đều có tác dụng dọn gốc tự do DPPH mạnh (IC₅₀ < 5 μ g/ml), trừ hợp chất acid *p*-hydroxybenzoic

- Cao GHR có tác dụng dọn gốc tự do superoxid với giá trị IC₅₀ là 28,05 μ g/ml.

- Cao Gối hạc có tác dụng ức chế một số enzym liên quan đến viêm:

+ Cao GHR có hoạt tính ức chế hoạt động của enzym xanthine oxidase với giá trị IC₅₀ là 18,39 μ g/ml.

+ Cao GHR, GHT, GHL đều có tác dụng ức chế sự hoạt động enzym 5-lipoxygenase với giá trị IC₅₀ lần lượt là 14,37; 24,95 và 21,50 μ g/ml.

+ Cao GHL và GHR có tác dụng ức chế sự hoạt động enzym COX-1 với giá trị IC_{50} lần lượt là 35,35 $\mu\text{g/ml}$; 40,78 $\mu\text{g/ml}$ và trên COX-2 lần lượt là 26,89 $\mu\text{g/ml}$; 30,10 $\mu\text{g/ml}$.

- Cao GHL, GHR có tác dụng giảm đau ngoại vi ở các mức liều 200 mg/kg và 400 mg/kg nhưng không có tác dụng giảm đau trung ương trên chuột nhắt trắng ở các mức liều trên.

- Cao GHL, GHR có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan ở các mức liều 100 mg/kg và 200 mg/kg. Cao GHL có tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng bông ở cả hai mức liều thử nghiệm là 100 mg/kg và 200 mg/kg. Riêng cao GHR chỉ thể hiện tác dụng chống viêm mạn ở mức liều 200 mg/kg.

- Cao ethanol toàn phần, cao phân đoạn ethyl acetat lá và thân cũng như cao phân đoạn *n*-hexan lá cây Gối hạc có hoạt tính ức chế enzym protease HIV-1. Ba hợp chất triterpen bao gồm acid ursolic (**14**), acid maslinic (**16**) và lup-20(29)-en-3 β ,6 α -diol (**18**) phân lập được từ lá và thân Gối hạc có tác dụng ức chế protease HIV-1 với giá trị IC_{50} lần lượt là 6,2 μM ; 4,3 μM và 33,1 μM .

Hà Nội, ngày 15 tháng 5 năm 2017

TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi

ThS. Nguyễn Thị Phương

PGS.TS. Phương Thiện Thương