

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đoàn Thị Hương

Tên luận án: “Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học theo hướng điều trị bệnh Alzheimer của loài Thạch tùng đuôi ngựa (*Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.”

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền

Mã số: 9720206

Họ và tên cán bộ hướng dẫn (học hàm, học vị):

1. GS.TS. Nguyễn Thị Hoài
2. GS. TS Phạm Thanh Kỳ

Cơ sở đào tạo: Viện Dược liệu

Nội dung tóm tắt luận án:

1. Mục tiêu

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ loài Thạch tùng đuôi ngựa.

- Đánh giá độc tính cấp và một số tác dụng theo hướng điều trị bệnh Alzheimer của cao chiết toàn phần, cao chiết phân đoạn và các hợp chất phân lập được.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nghiên cứu về thực vật học

- Thăm định tên khoa học loài nghiên cứu trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với các tài liệu đã công bố của loài và các khóa phân loại thực vật.

- Xác định đặc điểm vi phẫu phần trên mặt đất, phần rễ và đặc điểm bột dược liệu bằng phương pháp hiển vi.

2.2. Nghiên cứu về hóa học

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

+ Mẫu nghiên cứu thu hái tại xã Hương Sơn, huyện Hương Hóa, tỉnh Quảng Trị được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô ở 50-60°C, sau đó xay thành bột thô, được chiết xuất bằng các phương pháp khác nhau lấy cao chiết toàn phần và cao chiết phân đoạn để đánh giá hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase *in vitro*. Kết quả thu được là cơ

sở để tiến hành chiết xuất, phân lập các hợp chất, cụ thể như sau: Tiến hành chiết theo phương pháp chiết acid thu được cao chiết alcaloid toàn phần (ký hiệu HC). Ngoài ra, phần cặn còn lại sau khi chiết alcaloid toàn phần được chiết bằng ethylacetat thu được cao ethylacetat (ký hiệu HE).

+ Phân lập các hợp chất từ phân đoạn HC và phân đoạn HE bằng sắc ký cột và hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế. Các phân đoạn trong quá trình phân lập được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng.

- 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 FT-IR, UV-Vis, ESI-MS, HR-EI-MS, NMR 1 chiều và 2 chiều, CD kết hợp đối chiếu với tài liệu đã công bố.

2.3. Nghiên cứu về tác dụng sinh học

- Đánh giá độc tính cấp của cao chiết alcaloid toàn phần theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam.

- Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase *in vitro* và *in vivo* dựa theo nguyên tắc của Ellman G.

- Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và nhận thức trên mô hình chuột gây suy giảm trí nhớ bởi scopolamin thông qua các bài tập hành vi: mê lộ chữ Y, nhận diện đồ vật và mê lộ nước Morris.

- Đánh giá tác dụng chống lão suy trên mô hình gây lão suy bởi D-galactose.

3. Kết quả chính và kết luận

3.1. Về đặc điểm thực vật loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.

- Đã mô tả chi tiết kèm theo ảnh chụp đặc điểm thực vật của loài Thạch tùng đuôi ngựa và giám định tên khoa học là *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm., họ Thông đất (Lycopodiaceae).

- Đã mô tả đặc điểm vi phẫu lá, thân và đặc điểm bột thân và lá của loài Thạch tùng đuôi ngựa, góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu.

3.2. Về thành phần hóa học của loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.

- Đã xác định các nhóm hợp chất có trong loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm. gồm: Flavonoid, saponin, coumarin, tanin, alcaloid, chất béo, steroid, carotenoid, đường khử, acid amin và polysaccharid.

- Từ thân và lá loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm. đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 15 hợp chất bao gồm: 5 alkaloid (fawcettidin, huperphlegmin A, huperphlegmin B, phlegmariurin B, huperzin A), 3 diterpenoid (huperphlegmarin A, huperphlegmarin B, lycoxanthol), 4 triterpenoid (21β -hydroxyserrat-14-en- 3β -yl acetat, 21α -hydroxyserrat-14-en- 3β -yl acetat, 21α -hydroxyserrat-14-en- 3β -ol, lycophlemariol A) và 3 dẫn chất furan (5-hydroxymethyl-2-furaldehyd, rehmanon C, loliolid).

- Trong 15 hợp chất phân lập được, có 4 hợp chất mới, bao gồm 2 alkaloid (huperphlegmin A và huperphlegmin B) và 2 abietan diterpenoid (huperphlegmarin A và huperphlegmarin B); 3 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ chi *Huperzia* Bernh. (5-hydroxymethyl-2-furaldehyd, rehmanon C và loliolid) và 3 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm. (phlegmariurin B, lycoxanthol và 21β -hydroxyserrat-14-en- 3β -yl acetat).

3.3. Về độc tính cấp và tác dụng sinh học loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.

- Đã xác định được liều LD_{50} của cao chiết alkaloid toàn phần loài *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm. bằng đường uống trên chuột nhắt trắng là 1170 mg/kg (khoảng tin cậy 95% của LD_{50} là 1148 mg/kg – 1192 mg/kg), tương đương 219,38 g dược liệu khô/kg thể trọng chuột.

- Về tác dụng ức chế AChE *in vitro*:

+ Các mẫu cao chiết nước, methanol, dicloromethan có tác dụng ức chế AChE yếu với giá trị IC_{50} từ $49,81 \pm 0,80$ đến $433,07 \pm 7,16$ μ g/ml. Mẫu cao chiết alkaloid toàn phần có hoạt tính mạnh với giá trị IC_{50} $1,54 \pm 0,10$ μ g/ml.

+ Hai alkaloid mới là huperphlegmin A và huperphlegmin B có hoạt tính ức chế AChE với giá trị IC_{50} lần lượt là $65,50 \pm 1,83$ và $73,55 \pm 1,94$ μ M. Hợp chất huperzin A có hoạt tính ức chế AChE *in vitro* mạnh với $IC_{50} = 0,74 \pm 0,04$ μ M, mạnh hơn chứng dương galantamin ở cùng điều kiện thử nghiệm.

- Về tác dụng cải thiện hành vi nhận thức và trí nhớ trên mô hình chuột gây suy giảm trí nhớ bởi scopolamin: Cao chiết alkaloid toàn phần thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ làm việc trên mô hình mê lộ chữ Y ở liều 150 mg/kg, cải thiện trí nhớ không gian dài hạn trên mô hình mê lộ nước Morris ở liều 150 mg/kg và cải thiện nhận thức trên mô hình nhận diện đồ vật ở mức liều 100 mg/kg và 150 mg/kg. Với liều 150

mg/kg, cao chiết alcaloid toàn phần từ loài Thạch tùng đuôi ngựa có tác dụng ức chế hoạt tính của AChE *in vivo* trên động vật thực nghiệm.

- Về tác dụng chống lão suy: Cao chiết alcaloid Thạch tùng đuôi ngựa với liều 100 mg/kg và liều 150 mg/kg có tác dụng làm tăng nồng độ GSH-Px, liều 150 mg/kg có tác dụng làm tăng SOD; cả ba mức liều 50 mg/kg, 100 mg/kg và 150 mg/kg có tác dụng làm giảm nồng độ MDA huyết tương trên mô hình gây lão suy bằng D-galactose ở chuột thí nghiệm.

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

GS. TS Nguyễn Thị Hoài

GS. TS Phạm Thanh Kỳ

Đoàn Thị Hường