

VIỆN DƯỢC LIỆU



VŨ DUY HỒNG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT,
THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ
TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY BAN HOOKER
(*Hypericum hookerianum* Wight. and Arn.,
Họ Ban - Hypericaceae)

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền

Mã số: 972.02.06

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Hà Nội, năm 2023

Công trình được hoàn thành tại:

- Viện Dược liệu;
- Trường đại học Dược Hà Nội;
- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;
- Viện Khoa học và Công nghệ Hàn Quốc (Korea Institute of Science and Technology - KIST).

Người hướng dẫn khoa học :

PGS. TS. Nguyễn Mạnh Tuyển

PGS. TSKH. Nguyễn Minh Khởi

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng

Phản biện 2: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Phản biện 3: PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện, tổ chức tại Viện Dược liệu.

Vào hồi 08 giờ 30 phút, ngày 12 tháng 7 năm 2023.

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện: Thư viện Quốc gia VN

Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của luận án

Cây Ban hooker là một loài thuộc chi *Hypericum*, phân bố chủ yếu tại một số vùng của Trung Quốc, Nepal, Ấn Độ. Ở Việt Nam, cây Ban hooker được tìm thấy ở Sa Pa (Lào Cai). Loài *H. hookerianum* đã được sử dụng trong y học cổ truyền của Ấn Độ và Trung Quốc để làm lành vết thương, điều trị viêm bàng quang. Tại Việt Nam, đồng bào miền núi thường dùng lá cây Ban hooker để chữa đau mắt cho gia súc.

Trên thế giới, một số nghiên cứu (phần lớn của tác giả Trung Quốc) đã công bố về thành phần hóa học và tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn của loài *H. hookerianum*. Ở Việt Nam, theo hiểu biết của chúng tôi, chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài Ban hooker được báo cáo.

Cây Ban hooker có nhiều đặc điểm hình thái khá giống với các loài khác thuộc chi *Hypericum*. Vì vậy, xác định tên khoa học của cây này là việc cần thiết để làm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu về hóa học và tác dụng sinh học, góp phần nâng cao hiệu quả và giá trị sử dụng cho một cây thuốc dân gian ở Việt Nam. Với những lý do trên, chúng tôi thực hiện đề tài:

Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Ban hooker (*Hypericum hookerianum* Wight. and Arn., họ Ban - Hypericaceae)

2. Mục tiêu và nội dung của luận án

2.1. Mục tiêu của luận án

- Mô tả đặc điểm thực vật, xác định tên khoa học và đặc điểm vi học của cây Ban hooker.

- Chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc một số hợp chất từ cây Ban hooker.

- Đánh giá *in vitro* hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ tế bào thần kinh, khảo sát *in vivo* tác dụng bảo vệ gan của cao chiết tổng, các phân đoạn và các hợp chất tinh sạch có tiềm năng từ cây Ban hooker.

2.2. Nội dung của luận án

** Mô tả đặc điểm thực vật và xác định tên khoa học mẫu nghiên cứu*

- Thu hái mẫu nghiên cứu.

- Mô tả đặc điểm hình thái và phân tích đặc điểm cơ quan sinh sản để giám định tên khoa học của mẫu Ban hooker nghiên cứu.

- Mô tả đặc điểm vi phẫu và đặc điểm bột cây Ban hooker.

** Phân tích thành phần hóa học*

- Định tính các thành phần hóa học của mẫu Ban hooker.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ phần trên mặt đất cây Ban hooker.

** Nghiên cứu tác dụng sinh học*

- Đánh giá tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan và bảo vệ tế bào thần kinh của một số cao chiết và các hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Ban hooker.

3. Ý nghĩa của luận án

** Ý nghĩa khoa học:*

- Luận án đã xác định và mô tả đầy đủ đặc điểm hình thái thực vật bên ngoài, xác định đặc điểm vi phẫu, đặc điểm bột của một số bộ phận cây Ban hooker.

- Về hóa học, đã phân lập được 37 hợp chất (**HH1 – HH37**) từ phần trên mặt đất cây Ban hooker đã thu hái. Trong số đó có 11 hợp chất (**HH6, HH7, HH11–HH16, HH24, HH31** và **HH37**) có thể là lần

đầu được phân lập từ một loài trong chi *Hypericum*. Cũng trong số 37 hợp chất đã phân lập được, trừ 01 hợp chất **HH4**, tất cả các chất còn lại đều có thể là lần đầu được phân lập từ loài *H. hookerianum*. Đây là đóng góp mới của Luận án về hóa thực vật học của chi *Hypericum* và loài *H. hookerianum*.

- Nghiên cứu đã chứng minh tác dụng dọn gốc tự do DPPH và superoxid của cao phân đoạn ethyl acetat; tác dụng bảo vệ tế bào gan trong mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol của cao tổng methanol và cao phân đoạn ethyl acetat; tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ trên mô hình gây độc bởi glutamat của cao chiết methanol và các cao phân đoạn *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol. Đã chứng minh tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ trên mô hình gây độc bởi glutamat của hợp chất **HH12** và tác dụng bảo vệ tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y gây ra bởi 6-OHDA của hợp chất **HH15**.

*** Ý nghĩa thực tiễn:**

Tạo cơ sở khoa học để nghiên cứu phát triển chế phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe và dược phẩm từ cây Ban hooker theo hướng tác dụng bảo vệ gan, chống oxy hóa, bảo vệ tế bào thần kinh phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

4. Cấu trúc luận án

Luận án có 148 trang, bao gồm 4 chương, 28 bảng, 48 hình, 297 tài liệu tham khảo và 48 phụ lục. Các phần chi tiết trong luận án: Đặt vấn đề (02 trang), Tổng quan (36 trang), Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu (13 trang), Thực nghiệm và kết quả (70 trang), Bàn luận (25 trang), Kết luận và kiến nghị (02 trang).

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Đã tập hợp và trình bày một cách hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước tới nay về thực vật học, thành phần hóa học và tác dụng sinh học của chi *Hypericum* và loài *Hypericum hookerianum* Wight. and Arn., họ Ban (Hypericaceae)” trên thế giới và Việt Nam.

CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Toàn cây Ban hooker (lá, thân, rễ, hoa, quả) được thu hái tại Xã Sa Pa, Huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai vào các ngày 18/6/2016 và ngày 22/10/2016. Mẫu cây để giám định tên khoa học được lấy vào ngày 18/6/2016. Các tiêu bản mẫu cây được lưu tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (số tiêu bản HH20160619).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

** Mô tả đặc điểm thực vật và xác định tên khoa học mẫu nghiên cứu*

- Xác định tên khoa học của mẫu nghiên cứu trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với các khóa phân loại thực vật. Đồng thời, mẫu nghiên cứu được so sánh với một số mẫu tiêu bản có tên Ban hooker đang được lưu trữ tại Phòng Tiêu bản Thực vật của Khoa Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu và Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Nghiên cứu đặc điểm vi học: cắt, làm tiêu bản vi phẫu lá, thân, rễ, đặc điểm bột của lá, thân, rễ cây Ban hooker, quan sát các đặc điểm, mô tả và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi.

** Nghiên cứu thành phần hóa học*

- Chiết xuất, phân tích sơ bộ các nhóm chất có trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

- Phân lập các hợp chất có trong phần trên mặt đất của cây Ban hooker bằng phương pháp sắc ký cột, sắc ký lỏng HPLC điều chế, theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được dựa trên các phương pháp phổ bao gồm: phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Nhận dạng cấu trúc các hợp chất dựa vào phân tích dữ liệu phổ đo được và đối chiếu với dữ liệu phổ trong các tài liệu tra cứu.

** Nghiên cứu tác dụng sinh học*

- Đánh giá khả năng dọn gốc tự do DPPH và khả năng dọn gốc tự do superoxid của các mẫu nghiên cứu được tiến hành bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của các mẫu nghiên cứu trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh của các mẫu nghiên cứu trên mô hình gây độc bởi glutamat trên tế bào thần kinh hải mã chuột HT₂₂ và mô hình gây độc bởi 6-hydroxydopamin trên tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y.

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

3.1. Mô tả đặc điểm thực vật và giám định tên khoa học cây Ban hooker.

Đã khẳng định mẫu Ban hooker thu hái ở Sa Pa, Lào Cai là loài *Hypericum hookerianum* Wihgt. and Arn., họ Ban

(Hypericaceae). Đã mô tả đặc điểm vi phẫu lá, thân, rễ, bột lá, bột thân, bột rễ từ mẫu nghiên cứu.

3.2. Thành phần hóa học

3.2.1. Định tính

Dựa vào kết quả thử định tính, sơ bộ kết luận trong phần trên mặt đất cây *Ban hooker* có flavonoid, polysaccharid, acid hữu cơ, acid amin, các hợp chất phenolic và tanin.

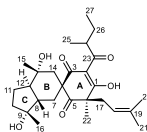
3.2.2. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Dựa trên các kết quả nghiên cứu định tính bằng phản ứng ống nghiệm, khảo sát bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, đồng thời được định hướng dựa trên các kết quả nghiên cứu tác dụng sinh học của các cao chiết trong luận án này. Nhóm nghiên cứu đã phân lập được 37 hợp chất (**HH1** – **HH37**) bằng phương pháp sắc ký từ các cao phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat phân trên mặt đất cây *Ban hooker*.

3.2.3. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ phần trên mặt đất cây *Ban hooker*

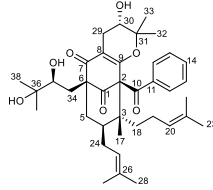
Cấu trúc các hợp chất được xác định dựa vào phân tích dữ liệu phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo được và đối chiếu với dữ liệu phổ trong các tài liệu tham khảo. 37 hợp chất đã được xác định gồm:

- Hợp chất **HH1 (Chipericumin D)**: Bột màu trắng, độ tinh khiết 88%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.13 dưới đây.



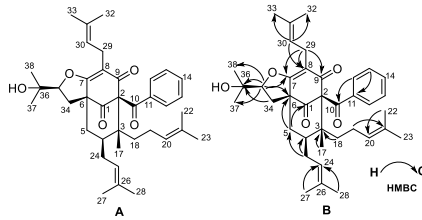
Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH1**

- Hợp chất **HH2 (Uralion D)**: Bột màu trắng, độ tinh khiết 92%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.14 dưới đây.



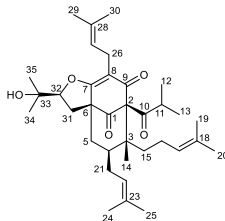
Hình 3.14. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH2**

- Hợp chất **HH3 (Uraloidin A)**: Bột màu trắng, độ tinh khiết 90%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.15 dưới đây.



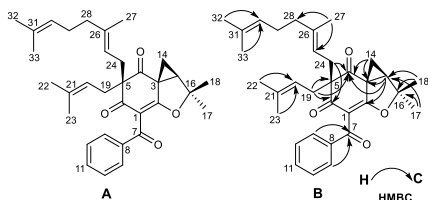
Hình 3.15. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH3**

- Hợp chất **HH4 (Furohyperformin)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 85%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.16 dưới đây.



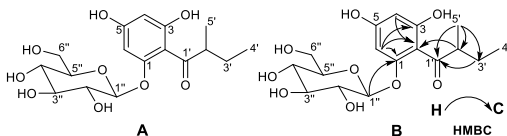
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH4**

- Hợp chất **HH5 (Hypercohin K)**: Dạng keo, không màu, độ tinh khiết 89%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.17 dưới đây.



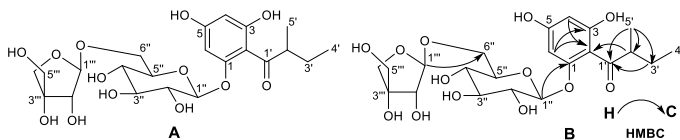
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH5**

- Hợp chất **HH6 (Multifidol glucosid)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 87%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.18 dưới đây.



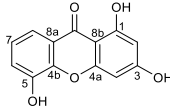
Hình 3.18. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH6**

- Hợp chất **HH7 (2-(2-methylbutyryl)phloroglucinol 1-O-(6''-O- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucopyranosid)**: Keo màu trắng ngà, độ tinh khiết 84%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.19 dưới đây.



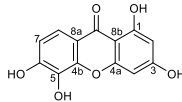
Hình 0.19. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH7**

- Hợp chất **HH8 (1,3,5-trihydroxyxanthon)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 88%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.20 dưới đây.



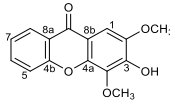
Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH8**

- Hợp chất **HH9 (1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 92%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.21 dưới đây.



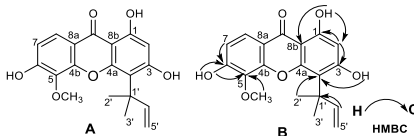
Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH9**

- Hợp chất **HH10 (3-hydroxy-2,4-dimethoxyxanthone)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 85%, cấu trúc hóa học được xác định trong hình 3.22 dưới đây.



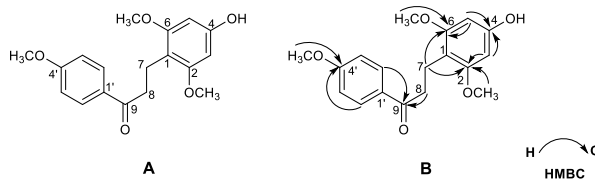
Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH10**

- Hợp chất **HH11 (Neriifolon A)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 88%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.23 dưới đây.



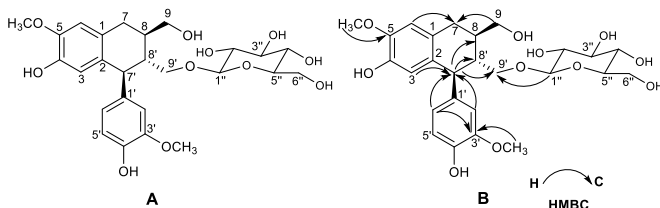
Hình 3.23. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH11**

- Hợp chất **HH12 (4-hydroxy-2,6,4'-trimethoxydihydrochalcon)**: Bột màu vàng nhạt, độ tinh khiết 90%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.24 dưới đây.



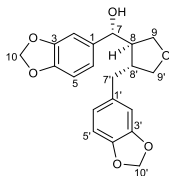
Hình 3.24. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH12**

- Hợp chất **HH13 (isolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranosid)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 89%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.25 dưới đây.



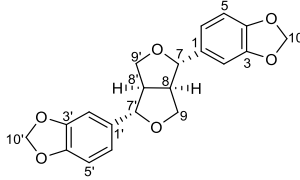
Hình 3.25. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH13**

- Hợp chất **HH14 (Isocubein)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 94%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.26 dưới đây.



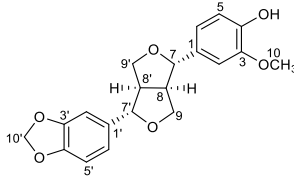
Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH14**

- Hợp chất **HH15 (Sesamin)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 97%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.27 dưới đây.



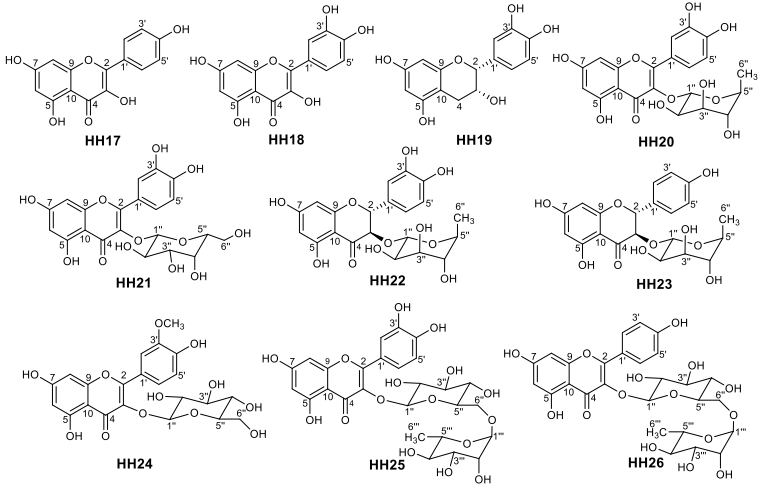
Hình 3.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH15**

- Hợp chất **HH16 (Piperitol)**: bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 98%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.28 dưới đây.



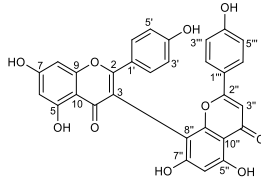
Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của **HH16**

- Các hợp chất: **HH17 (Kaempferol)**, độ tinh khiết 96%), **HH18 (Quercetin)**, độ tinh khiết 88%), **HH19 ((-)-Epicatechin)**, độ tinh khiết 90%), **HH20 (Quercitrin)**, độ tinh khiết 92%), **HH21 (Hyperoside)**, độ tinh khiết 91%), **HH22 (Astilbin)**, độ tinh khiết 94%), **HH23 (Engeletin)**, độ tinh khiết 96%), **HH24 (Isorhamnetin-3-O-β-D-glucopyranosid)**, độ tinh khiết 85%), **HH25 (Rutin)**, độ tinh khiết 89%), **HH26 (Nicotiflorin)**, độ tinh khiết 91%) là những hợp chất flavonoid thu được dưới dạng bột màu vàng, cấu trúc hóa học của các hợp chất này được mô tả trong hình 3.29.



Hình 3.29. Công thức cấu tạo của các hợp chất **HH17–HH26**

- Hợp chất **HH27 (3,8''-biapigenin)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 90%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.31 dưới đây.



Hình 3.31. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH27**

- Hợp chất **HH28 (Acid caffeic)**: Bột màu vàng nhạt, độ tinh khiết 96%.

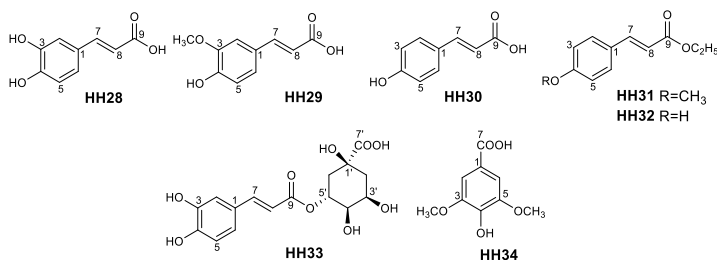
- Hợp chất **HH29 (Acid ferulic)**: Bột màu vàng, độ tinh khiết 97%.

- Hợp chất **HH30 (Acid *p*-coumaric)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 95%.

- Hợp chất **HH31 (Ethyl-4-methoxy-*trans*-cinnamat)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 88%.

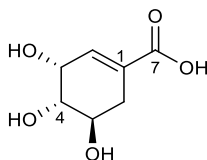
- Hợp chất **HH32 (Ethyl-*trans*-cinnamat)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 87%.
- Hợp chất **HH33 (Acid chlorogenic)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 93%.
- Hợp chất **HH34 (Acid syringic)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 89%

Các hợp chất **HH28-HH34** là dẫn xuất của các acid phenolic. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **HH28-HH34**, được mô tả trong hình 3.32 dưới đây.



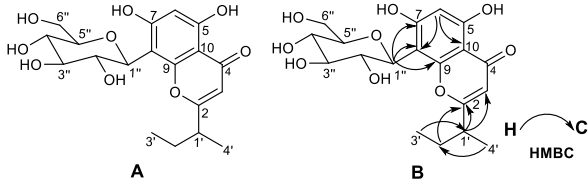
Hình 3.32. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **HH28–HH34**

- Hợp chất **HH35 (Acid shikimic)**: Tinh thể màu trắng, độ tinh khiết 84%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.33 dưới đây.



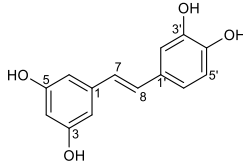
Hình 3.33. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH35**

- Hợp chất **HH36 (5,7-dihydroxy-2-(1-methylpropyl) chromon-8-β-D-glucopyranosid)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 86%, cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính được mô tả trong hình 3.34 dưới đây.



Hình 3.34. Cấu trúc hóa học (A) và các tương tác HMBC chính (B) của hợp chất **HH36**

- Hợp chất **HH37 (Piceatannol)**: Bột màu trắng ngà, độ tinh khiết 85%, cấu trúc hóa học được mô tả trong hình 3.35 dưới đây.



Hình 3.35. Cấu trúc hóa học của hợp chất **HH37**

3.3. Tác dụng sinh học.

3.3.1. Tác dụng chống oxy hóa

Kết quả đánh giá tác dụng dọn gốc tự do DPPH và superoxid của cao toàn phần methanol (BHM), các cao phân đoạn *n*-hexan (BHH), ethyl acetat (BHE), *n*-butanol (BHB) và cao nước (BHW) của phần trên mặt đất cây *Ban hooker* thể hiện trong Bảng 3.25 dưới đây.

Bảng 3.24. Tác dụng dọn gốc tự do của các mẫu cao chiết từ cây *Ban hooker*

TT	Mẫu thử	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL, 95% CI)	
		DPPH	O ₂ ⁻
1	BHM	25,91 (15,60 - 41,18)	17,64 (8,324 - 29,66)
2	BHH	74,18 (56,59 - 101,20)	51,40 (29,03 - 116,9)
3	BHE	17,92 (11,48 - 26,63)	7,39 (5,96 - 9,04)
4	BHB	52,91 (35,39 - 82,98)	19,83 (5,585 - 43,42)
5	BHW	71,45 (54,63 - 97,68)	23,39 (14,04 - 35,32)
6	Quercetin ^a	2,10 (1,441 - 2,904)	1,23 (1,116 - 1,357)

Kết quả bảng 3.25 cho thấy cao chiết tổng methanol từ phần trên mặt đất cây Ban hooker có tác dụng tốt trên 02 thử nghiệm dọn gốc tự do DPPH và superoxid. Trong số các cao phân đoạn, phân đoạn ethyl acetat có tác dụng tốt nhất trên cả 02 thử nghiệm.

3.3.2. Tác dụng bảo vệ gan

Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết methanol và cao phân đoạn ethyl acetat trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol được trình bày trong Bảng 3.25 dưới đây.

Bảng 3.25. Ảnh hưởng của các cao chiết cây Ban hooker trong mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol

Lô chuột	ALT (U/L)	AST (U/L)	MDA (nmol/g mô)	GSH (nmol/g mô)	SOD (U/mg mô)
Lô 1 (chứng sinh lý)	61,6 ± 14,7	93,5 ± 27,5	16,8 ± 10,5	5,3 ± 0,8	63,4 ± 6,5
Lô 2 (chứng bệnh lý)	681,0 ± 240,0 [#]	585,5 ± 190,8 [#]	33,7 ± 23,9	4,5 ± 0,5	31,6 ± 9,7 [#]
Lô 3 (silymarin 100 mg/kg)	448,0 ± 139,1*	332,9 ± 169,1*	13,4 ± 5,6*	6,0 ± 1,2*	43,4 ± 8,0*
Lô 4 (BHM 250 mg/kg)	356,4 ± 260,6*	333,2 ± 232,1*	27,3 ± 25,8	3,5 ± 2,1	52,1 ± 14,0*
Lô 5 (BHM 500 mg/kg)	299,7 ± 240,8*	262,6 ± 242,1*	22,1 ± 7,0	5,4 ± 1,6	47,2 ± 15,6*
Lô 6 (BHE 250 mg/kg)	470,2 ± 255,2	569,3 ± 276,5	34,6 ± 30,6	3,3 ± 2,2	52,6 ± 17,8*
Lô 7 (BHE 500 mg/kg)	463,6 ± 293,8	456,0 ± 262,2	39,1 ± 30,0	4,2 ± 1,6	59,9 ± 12,6*

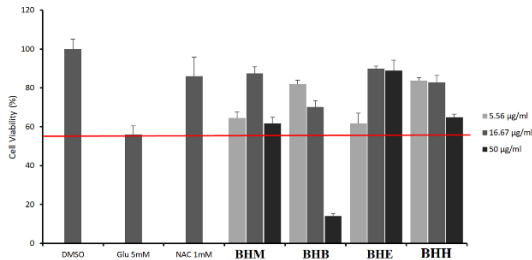
* Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với chứng bệnh lý (Lô 2)
[#] Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với chứng sinh lý (Lô 1)

Theo kết quả trên, hoạt độ ALT và AST trong huyết thanh chuột sử dụng cao toàn phần BHM ở cả hai mức liều 250 mg/kg và 500 mg/kg đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,05$), giảm lần lượt 56% và 55% so với lô chứng bệnh lý. Hoạt độ ALT và AST ở nhóm chuột sử dụng cao phân đoạn BHE ở cả hai mức liều nghiên cứu có thấp hơn so với lô chứng bệnh lý nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.3. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh

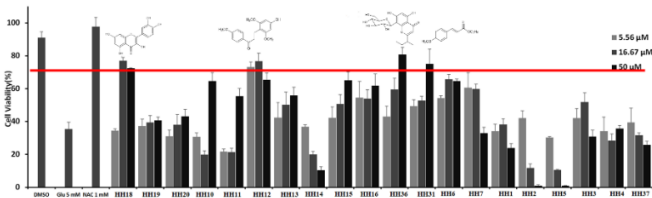
3.3.3.1. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ trên mô hình gây độc bởi glutamat

Các cao chiết từ cây Ban hooker được đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình gây độc tế bào thần kinh hải mã chuột HT₂₂ ở 03 nồng độ là 5,56; 16,67 và 50,0 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả được trình bày trong Hình 3.37 dưới đây.



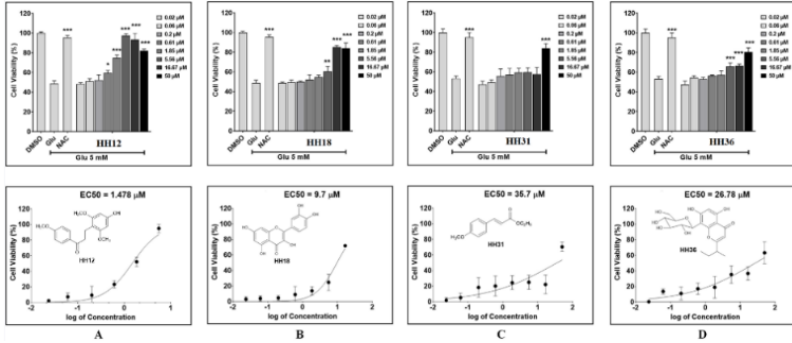
Hình 3.37. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ của các cao chiết trên mô hình gây độc bởi glutamat 5mM

Sàng lọc, đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình gây chết tế bào HT₂₂ bởi glutamat của 20 hợp chất phân lập được (HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HH6, HH7, HH10, HH11, HH12, HH13, HH14, HH15, HH16, HH18, HH19, HH20, HH31, HH36, và HH37) ở 03 nồng độ 5,56; 16,67 và 50,0 μM . Kết quả được thể hiện trong Hình 3.38 dưới đây.



Hình 3.38. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ của các hợp chất trên mô hình gây độc bởi glutamat

Bốn hợp chất **HH12**, **HH18**, **HH31** và **HH36** được tiến hành thử tác dụng ở 08 nồng độ 0,02; 0,06; 0,20; 0,61; 1,85; 5,56; 16,67; 50 μM trên mô hình gây độc tế bào thần kinh HT₂₂ bởi glutamat. Kết quả đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào thần kinh và giá trị EC₅₀ của 04 hợp chất được thể hiện trong Hình 3.39 dưới đây.

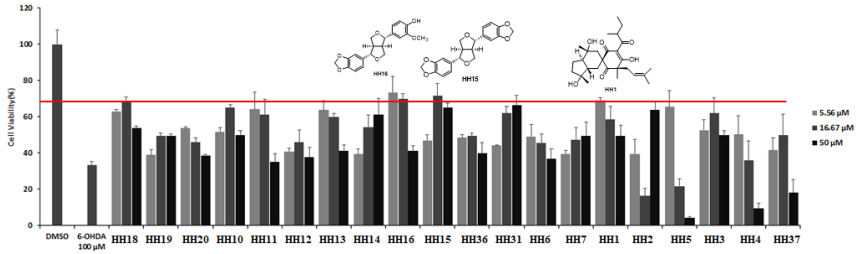


*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ khi so với nhóm chỉ xử lý bằng glutamat 5 mM.

Hình 3.39. Giá trị EC₅₀ của các hợp chất **HH12**, **HH18**, **HH31** và **HH36** với tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ trên mô hình gây độc bởi glutamat

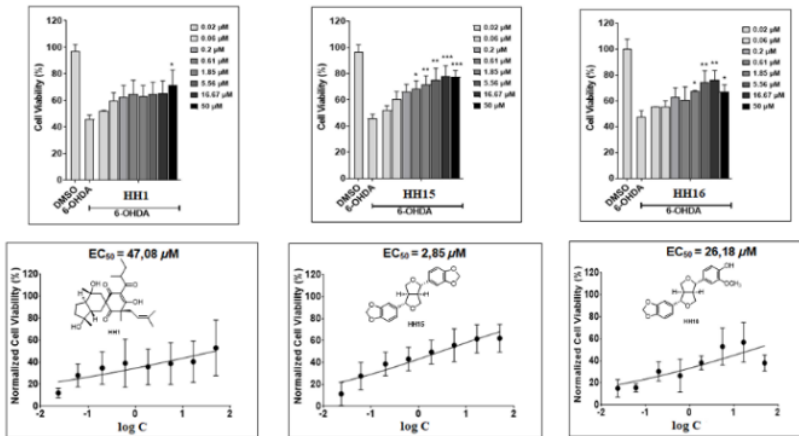
3.3.3.2. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh SH-SY5Y của các hợp chất đã phân lập được trên mô hình gây độc bởi 6-OHDA

Sàng lọc, đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình gây độc tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y bởi 6-OHDA của 20 hợp chất phân lập được (**HH1**, **HH2**, **HH3**, **HH4**, **HH5**, **HH6**, **HH7**, **HH10**, **HH11**, **HH12**, **HH13**, **HH14**, **HH15**, **HH16**, **HH18**, **HH19**, **HH20**, **HH31**, **HH36**, và **HH37**) ở 03 nồng độ 5,56; 16,67 và 50,0 μM . Kết quả được trình bày trong Hình 3.40 dưới đây.



Hình 3.40. Tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh SH-SY5Y của các hợp chất trên mô hình gây độc bởi 6-OHDA

Ba hợp chất **HH1**, **HH15** và **HH16** được tiến hành thử ở 08 nồng độ 0,02; 0,06; 0,20; 0,61; 1,85; 5,56; 16,67; 50 μM trên mô hình gây độc tế bào thần kinh SH-SY5Y bởi 6-OHDA. Kết quả đánh giá hoạt tính và giá trị EC_{50} của 03 hợp chất được thể hiện trong Hình 3.41 dưới đây.



*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ khi so với nhóm chỉ xử lý bằng 6-OHDA 100 μM .

Hình 3.41. Giá trị EC_{50} của các hợp chất **HH1**, **HH15** và **HH16** với tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh SH-SY5Y trên mô hình gây độc bởi 6-OHDA

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Về đặc điểm thực vật và tên khoa học của cây *Ban hooker*

Tại Việt Nam, nghiên cứu về đặc điểm thực vật của cây *Ban hooker* nói riêng và các loài thuộc chi *Hypericum* nói chung vẫn còn hạn chế, chưa có nghiên cứu mô tả đầy đủ, chi tiết, đặc biệt là cấu tạo của cơ quan sinh sản để phân biệt giữa loài *H. hookerianum* và các loài khác cùng chi để thuận tiện cho việc định danh, phân loại.

Từ các đặc điểm chung của chi *Hypericum* cũng như các đặc điểm đặc trưng của cây *Ban hooker*, chúng tôi khẳng định mẫu nghiên cứu có tên khoa học là *Hypericum hookerianum* Wight. and Arn., họ Ban (Hypericaceae).

4.2. Về thành phần hóa học

Bằng phương pháp sắc ký, đã phân lập được 37 hợp chất từ phần trên mặt đất của cây *Ban hooker* (**HH1 – HH37**). Trong đó, 11 hợp chất (**HH6, HH7, HH11–HH16, HH24, HH31** và **HH37**) có thể là lần đầu tiên được tìm thấy trong một loài thuộc chi *Hypericum*. Đồng thời trong số 37 hợp chất đã phân lập, trừ **HH4**, 36 hợp chất còn lại có thể là lần đầu tiên được phân lập từ loài *H. hookerianum*.

4.3. Về tác dụng sinh học

Nghiên cứu cho thấy cao phân đoạn BHE có tác dụng tốt nhất trên cả 02 mô hình nghiên cứu dọn gốc tự do DPPH và superoxid. Các kết quả nghiên cứu này tương tự như những báo cáo về tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của loài *H. hookerianum*. So với các nghiên cứu đã được công bố về loài *H. hookerianum* trên thế giới, cây *Ban hooker* thu hái tại Việt Nam trong nghiên cứu này cũng có tác dụng

chống oxy hóa tốt so với cây cùng loài đó tại các vùng khí hậu và thổ nhưỡng khác trên thế giới.

Trong Luận án này, tại bảng 4.2 đã cho thấy có 11 hợp chất đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa bằng các kết quả nghiên cứu là **HH8, HH17, HH18, HH20, HH21, HH25, HH26, HH29, HH30, HH33, HH34**. Trong số 11 hợp chất này, chỉ có 01 hợp chất được phân lập từ phân đoạn cao *n*-hexan (BHH) là **HH8**, 10 hợp chất còn lại đều được phân lập từ phân đoạn cao ethylacetat (BHE) và 10 hợp chất này đều là những flavonoid (**HH17, HH18, HH20, HH21, HH25, HH26**) và phenolic (**HH29, HH30, HH33, HH34**). Như vậy, có thể thấy tác dụng tốt của cao phân đoạn BHE trong thử nghiệm tác dụng chống oxy hóa là phù hợp với kết quả phân lập các hợp chất, phù hợp với các nghiên cứu quốc tế đã được công bố.

Kết quả đánh giá sơ bộ tác dụng bảo vệ gan của các mẫu thử cho thấy, ở 2 mức liều là 250 mg/kg và 500 mg/kg, cao toàn phần (BHM) cây *Ban hooker* làm giảm hoạt độ AST và ALT có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Cao BHM làm giảm hoạt độ MDA, tăng hoạt độ GSH và SOD so với lô chứng bệnh. Mặc dù tác dụng giảm hoạt độ MDA và tăng hoạt độ GSH có xu hướng phụ thuộc vào nồng độ nhưng chỉ có tác dụng làm tăng hoạt độ SOD là có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh. Trong khi đó, cao phân đoạn ethyl acetat (BHE) cũng làm tăng hoạt độ SOD có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh, mức tăng có xu hướng phụ thuộc vào nồng độ. Từ các kết quả trên cho thấy cao BHM có tác dụng bảo vệ gan liên quan đến cơ chế chống oxy hóa theo hướng

tăng hoạt độ SOD. Đối với cơ chế tăng tác dụng của GSH, giảm hàm lượng MDA của cao BHM cần tiến hành thêm các nghiên cứu trong tương lai theo hướng tăng liều thử để khẳng định giả thiết này. So với các nghiên cứu đã được công bố về loài *H. hookerianum* trên thế giới, cây Ban hooker thu hái tại Việt Nam trong nghiên cứu này cũng có tác dụng bảo vệ gan tốt so với cây cùng loài đó tại các vùng khí hậu và thổ nhưỡng khác trên thế giới.

Các cao chiết của cây Ban hooker trong nghiên cứu này đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa trên mô hình gây độc tế bào thần kinh hải mã chuột HT₂₂ bởi glutamat. Theo đó, cao chiết BHM, cao phân đoạn BHH, BHE của cây Ban hooker đều có tác dụng bảo vệ tế bào bị gây độc bởi glutamat 5 mM ở 03 nồng độ 5,56; 16,67 và 50,0 $\mu\text{g/mL}$. Bốn hợp chất thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào gây độc bởi glutamat bao gồm **HH12**, **HH18**, **HH31**, **HH36** với tỷ lệ tế bào sống sót > 70%. Hợp chất quercetin (**HH18**) đã được báo cáo có tác dụng ức chế sự chết tế bào HT₂₂ gây ra bởi glutamat trong các nghiên cứu trước đây. Đây là công bố đầu tiên về tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh của 03 hợp chất **HH12**, **HH31** và **HH36**. Đặc biệt, tác dụng rất tốt của hợp chất 4-hydroxy-2,6,4'-trimethoxydihydrochalcon (**HH12**) có $EC_{50} = 1,48 \mu\text{M}$ cho thấy Ban hooker là một nguyên liệu tiềm năng cho các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo về tìm kiếm các thuốc điều trị các bệnh liên quan đến thoái hóa thần kinh.

Với mô hình gây độc tế bào SH-SY5Y bởi 6-OHDA, có 03 hợp chất có tác dụng bảo vệ tốt nhất là chipericum D (**HH1**), sesamin (**HH15**), piperitol (**HH16**) với tỷ lệ tế bào sống sót > 70%

với ít nhất một trong các nồng độ nghiên cứu. Đây là đóng góp mới của Luận án. Các kết quả tạo cơ sở khoa học, gợi mở cho những nghiên cứu tiếp theo trên tác dụng đối với bệnh Parkinson của các mẫu chiết từ cây Ban hooker.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Về đặc điểm thực vật

Luận án đã xác định được tên khoa học của cây Ban hooker thu hái tại Xã Sa Pả, Huyện Sa Pa, Tỉnh Lào Cai là *Hypericum hookerianum* Wight & Arn., họ Ban (Hypericaceae).

Đã mô tả được đầy đủ đặc điểm hình thái thực vật bên ngoài, xác định đặc điểm vi phẫu, đặc điểm bột của một số bộ phận cây Ban hooker.

2. Về hóa học

Luận án đã phân lập được 37 hợp chất từ phần trên mặt đất cây Ban hooker. Các hợp chất lần lượt được xác định là chipericumidin D (HH1), uralone D (HH2), uraloidin A (HH3), furohyperforin (HH4), hypercohin K (HH5), multifidol glucosid (HH6), 2-(2-methylbutyryl)phloroglucinol 1-O-(6''-O-β-D-apiofuranosyl)-β-D-glucopyranosid (HH7), 1,3,5-trihydroxyxanthon (HH8), 1,3,5,6-tetrahydroxyxanthon (HH9), 3-hydroxy-2,4-dimethoxyxanthon (HH10), neriifolone A (HH11), 4-hydroxy-2,6,4'-trimethoxydihydrochalcon (HH12), isolariciresinol 9'-O-β-D-glucopyranosid (HH13), isocubein (HH14), sesamin (HH15), piperitol (HH16), kaempferol (HH17), quercetin (HH18), (-)-

epicatechin (**HH19**), quercitrin (**HH20**), hyperoside (**HH21**), astilbin (**HH22**), engeletin (**HH23**), isorhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranosid (**HH24**), rutin (**HH25**), nicotiflorin (**HH26**), 3,8''-biapigenin (**HH27**), acid caffeic (**HH28**), acid ferulic (**HH29**), acid *p*-coumaric (**HH30**), ethyl-4-methoxy-*trans*-cinnamat (**HH31**), ethyl-*trans*-cinnamat (**HH32**), acid chlorogenic (**HH33**), acid syringic (**HH34**), acid shikimic (**HH35**), 5,7-dihydroxy-2-(1-methylpropyl) chromon-8- β -D-glucopyranosid (**HH36**), piceatannol (**HH37**).

Trong số 37 hợp chất, có 11 hợp chất là **HH6**, **HH7**, **HH11–HH16**, **HH24**, **HH31** và **HH37** có thể là lần đầu tiên được tìm thấy trong một loài thuộc chi *Hypericum*. Đồng thời, ngoại trừ **HH4**, tất cả các hợp chất còn lại có thể đều là lần đầu tiên phân lập được từ loài *H. hookerianum*.

3. Về tác dụng sinh học

Cao phân đoạn ethyl acetat phân trên mặt đất cây Ban hooker có tác dụng dọn gốc tự do DPPH và superoxid với giá trị IC₅₀ lần lượt là 17,92 và 7,39 μ g/mL.

Trong nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan, cao methanol cây Ban hooker (ở 2 mức liều là 250 mg/kg và 500 mg/kg) làm giảm hoạt độ AST và ALT có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.

Hoạt độ SOD trong gan ở nhóm thử cao methanol và cao phân đoạn ethyl acetat (ở 02 mức liều 250 mg/kg và 500 mg/kg) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,05$).

Cao chiết methanol, các cao phân đoạn *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol từ loài *H. hookerianum* có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trên mô hình gây độc tế bào thần kinh hải mã chuột HT₂₂ bởi

glutamat ở các nồng độ 5,56; 16,67 và 50,0 $\mu\text{g/mL}$.

Hợp chất 4-hydroxy-2,6,4'-trimethoxydihydrochalcon (**HH12**) có tác dụng bảo vệ tốt nhất tế bào HT₂₂ bị gây độc bởi glutamat với giá trị EC₅₀ là 1,48 μM . Các hợp chất **HH18**, **HH31**, **HH36** có giá trị EC₅₀ lần lượt là 9,70; 35,70 và 26,78 μM .

Các hợp chất **HH1**, **HH15** và **HH16** thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y bị gây độc bởi 6-OHDA với giá trị EC₅₀ lần lượt là 47,08; 2,85 và 26,78 μM .

KIẾN NGHỊ

1. Đề nghị gọi tên tiếng Việt của loài nghiên cứu là Ban hooker. Tiếp tục nghiên cứu bằng giải trình tự gen của cây Ban hooker để củng cố thêm cho việc định danh loài này.
2. Tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học của cao chiết phân đoạn *n*-Butanol mà luận án chưa có điều kiện nghiên cứu.
3. Tiếp tục nghiên cứu cơ chế và tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh của hợp chất 4-hydroxy-2,6,4'-trimethoxydihydrochalcon (**HH12**) và sesamin (**HH15**) vì có tác dụng tốt bảo vệ tế bào thần kinh HT₂₂ trên mô hình gây độc bởi glutamat và tế bào thần kinh SH-SY5Y trên mô hình gây độc bởi 6-OHDA.

CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ

1. **Vũ Duy Hồng**, Nguyễn Mạnh Tuyển, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2019), Nghiên cứu đặc điểm thực vật cây Ban hooker *Hypericum hookerianum* Wight & Arnott. (Hypericaceae), *Tạp chí Dược học*, 518, 78-82.
2. **Vũ Duy Hồng**, Nguyễn Mạnh Tuyển, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương (2020), Tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan của cây Ban hooker thu hái tại Việt Nam, *Tạp chí Dược liệu*, 25(4), 251-256.
3. **Vũ Duy Hồng**, Nguyễn Mạnh Tuyển, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương, Vũ Văn Tuấn (2021), Thành phần hóa học của loài *Hypericum hookerianum*, *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*, 12(6), 40-46.
4. **Vũ Duy Hồng**, Nguyễn Mạnh Tuyển, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương, Vũ Văn Tuấn (2022) Cấu trúc một số flavonoid phân lập từ loài Ban hooker (*Hypericum hookerianum* Wight & Arn.), *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*, 13(6), 1-8.
5. **Vũ Duy Hồng**, Nguyễn Mạnh Tuyển, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Thương, Vũ Văn Tuấn, Nguyễn Duy Thuận, Jae Wook Lee (2023), Chemical constituents and neuroprotective activity of *Hypericum hookerianum*, *Natural Product Communications*, *Natural Product Communications*, Volume 18(5), 1-7