

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



NGUYỄN THỊ PHƯƠNG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC
VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY GỐI
HẠC**

(Leea rubra Blume ex Spreng., họ Leeaceae)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



NGUYỄN THỊ PHƯƠNG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ
TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY GỎI HẠC
(*Leea rubra* Blume ex Spreng., họ Leeaceae)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Chuyên ngành: Dược học cổ truyền

Mã số: 62 72 04 06

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS. TSKH. Nguyễn Minh Khởi

2. PGS.TS. Phương Thiện Thương

HÀ NỘI - 2017

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi và PGS.TS. Phương Thiện Thương. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tôi xin chịu trách nhiệm về nghiên cứu của mình.

Tác giả

Nguyễn Thị Phương

LỜI CẢM ƠN

Luận án tiến sĩ này được thực hiện tại Viện Dược liệu dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi và TS. Phương Thiện Thương. Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới các thầy đã định hướng nghiên cứu, tận tình hỗ trợ, chỉ bảo, giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi nhất cho tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các nhà khoa học, các tác giả của những công trình khoa học đã trích dẫn trong luận án vì đã cung cấp nguồn tư liệu quý báu, những kiến thức liên quan trong quá trình nghiên cứu hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo, các Khoa, Phòng và các đồng nghiệp tại Viện Dược liệu, Trường Đại học Dược Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên-Đại học Quốc gia Hà Nội đã nhiệt tình giúp đỡ, tạo điều kiện và cộng tác để giúp tôi hoàn thành công trình này.

Tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn tới PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu, TS. Nguyễn Thùy Dương, Ths. Vũ Văn Tuấn đã có những ý kiến đóng góp quý báu giúp tôi hoàn thiện luận án.

Cuối cùng xin cảm ơn những người thân yêu trong gia đình, cảm ơn những bạn bè thân thiết đã dành cho tôi những tình cảm, sự động viên chí tình trong suốt thời gian qua.

Nguyễn Thị Phương

MỤC LỤC

Mục lục

Danh mục các ký hiệu, chữ viết tắt

Danh mục các hình, bảng

Trang

TÀI LIỆU THAM KHẢO	9
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	3
1.1. THỰC VẬT HỌC	3
<i>1.1.1. Vị trí phân loại, đặc điểm thực vật và phân bố của chi Leea Royen ex L.....</i>	<i>3</i>
1.1.1.1. Vị trí phân loại của chi <i>Leea</i>	3
1.1.1.2. Đặc điểm thực vật của chi <i>Leea</i>	4
1.1.1.3. Phân bố của chi <i>Leea</i>	6
1.1.1.4. Các loài thuộc chi <i>Leea</i> và sự phân bố ở Việt Nam.....	10
<i>1.1.2. Vị trí phân loại, đặc điểm thực vật, phân bố và sinh thái của cây Gối hạc Leea rubra Blume ex Spreng.</i>	<i>12</i>
1.1.2.1. Vị trí phân loại của cây Gối hạc.....	12
1.1.2.2. Đặc điểm thực vật của cây Gối hạc.....	12
1.1.2.3. Phân bố và sinh thái của cây Gối hạc.....	13
1.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC	13
<i>1.2.1. Thành phần hóa học của chi Leea.</i>	<i>13</i>
1.2.1.1. Các hợp chất triterpenoid.....	14
1.2.1.2. Các hợp chất flavonoid.....	17
1.2.1.3. Các acid phenolic	20
1.2.1.4. Tinh dầu	22
1.2.1.5. Các nhóm hợp chất khác	23

1.3. CÔNG DỤNG VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI THUỘC CHI	
<i>LEEAE</i>	24
1.3.1. Công dụng của các loài thuộc chi <i>Leea</i> trong y học cổ truyền.....	24
1.3.2. Tác dụng sinh học của cao chiết và một số hợp chất phân lập được từ các loài thuộc chi <i>Leea</i>	26
1.3.2.1. Tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, trừ giun sán.....	26
1.3.2.2. Tác dụng chống oxy hóa.....	27
1.3.2.3. Tác dụng độc tế bào và chống ung thư.....	28
1.3.2.4. Tác dụng chống tạo sỏi.....	29
1.3.2.5. Tác dụng chống viêm, giảm đau.....	29
1.3.3. Một số công dụng và tác dụng sinh học của cây Gối hạc <i>Leea rubra</i> Blume ex Spreng.....	30
1.3.3.1. Tính vị, tác dụng.....	30
1.3.3.2. Công dụng.....	30
1.3.3.3. Tác dụng sinh học.....	31
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	33
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	33
2.1.1. Nguyên liệu nghiên cứu.....	33
2.1.2. Động vật thí nghiệm.....	33
2.1.3. Thuốc thử, hóa chất, dung môi.....	33
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	34
2.2.1. Nghiên cứu về thực vật học.....	34
2.2.2. Nghiên cứu về hóa học.....	34
2.2.2.1. Phương pháp định tính.....	34
2.2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	35
2.2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất.....	35
2.2.2.4. Định lượng một số hợp chất chính phân lập được từ Gối hạc.....	36

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng dược lý.....	38
2.2.3.1. Mẫu nghiên cứu.....	38
2.2.3.2. Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu tác dụng sinh học.....	39
2.2.3.3. Đánh giá tác dụng chống oxy hóa.....	39
2.2.3.4. Đánh giá tác dụng ức chế sự hoạt động của enzym xanthin oxidase.....	41
2.2.3.5. Đánh giá tác dụng chống viêm.....	41
2.2.3.6. Đánh giá tác dụng giảm đau.....	46
2.2.3.7. Thử hoạt tính ức chế enzym protease HIV-1 của các cao chiết và một số hợp chất triterpen phân lập được từ dược liệu Gối hạc.....	48
2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu.....	49
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	50
3.1. THỰC VẬT HỌC.....	50
3.1.1. Thẩm định tên khoa học của cây Gối hạc.....	50
3.1.2. Đặc điểm hình thái thực vật.....	50
3.1.3. Đặc điểm vi học.....	53
3.1.3.1. Đặc điểm vi phẫu thân.....	53
3.1.3.2. Đặc điểm vi phẫu lá.....	54
3.1.3.3. Đặc điểm giải phẫu rễ.....	55
3.1.4. Đặc điểm bột dược liệu.....	56
3.1.4.1. Đặc điểm bột thân.....	56
3.1.4.2. Đặc điểm bột lá.....	57
3.1.4.3. Đặc điểm bột rễ.....	58
3.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC.....	58
3.2.1. Định tính các nhóm chất hữu cơ.....	58
3.2.2. Chiết xuất và phân lập các hợp chất.....	60
3.2.2.1. Chiết xuất và phân lập các hợp chất từ lá Gối hạc.....	60
3.2.2.2. Chiết xuất và phân lập các hợp chất từ thân cây Gối hạc.....	64

3.2.3. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ Gối hạc.....	65
3.2.4. Định lượng các hợp chất chính phân lập được từ dược liệu Gối hạc	106
3.2.4.1. Khoảng tuyến tính và phương trình đường chuẩn	106
3.2.4.2. Đánh giá phương pháp phân tích	107
3.2.4.3. Định lượng acid gallic và europetin-3-O- α -L-rhamnopyranosid trong mẫu dược liệu Gối hạc.....	108
3.3. TÁC DỤNG SINH HỌC	110
3.3.1. Tác dụng chống oxy hóa.....	110
3.3.2. Tác dụng ức chế hoạt động của enzym xanthin oxidase	111
3.3.3. Tác dụng chống viêm.....	111
3.3.3.1. Tác dụng chống viêm <i>in vitro</i>	111
3.3.3.2. Tác dụng chống viêm <i>in vivo</i>	113
3.3.4. Tác dụng giảm đau của cao Gối hạc.....	116
3.3.4.1. Tác dụng giảm đau trung ương của cao Gối hạc trên mô hình mâm nóng	116
3.3.4.2. Tác dụng giảm đau ngoại vi của cao Gối hạc trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic	117
3.3.4. Tác dụng ức chế enzym protease HIV-1 của các cao chiết và một số hợp chất triterpen phân lập được từ dược liệu Gối hạc.....	119
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	121
4.1. VỀ THỰC VẬT HỌC	121
4.2. VỀ HÓA HỌC	122
4.2.1. Kết quả định tính.....	123
4.2.2. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất	123
4.2.3. Kết quả định lượng các hợp chất chính phân lập được từ dược liệu Gối hạc	134
4.3. VỀ TÁC DỤNG SINH HỌC	134
4.3.1. Về tác dụng chống oxy hóa.....	135

4.3.2. Về hoạt tính ức chế hoạt động enzym xanthine oxidase.....	136
4.3.3. Về hoạt tính ức chế hoạt động enzym 5-lipoxygenase	137
4.3.4. Về hoạt tính ức chế hoạt động COX.....	138
4.3.5. Về tác dụng giảm đau	140
4.3.6. Về tác dụng chống viêm in vivo	142
4.3.7. Về hoạt tính ức chế protease HIV-1	146
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	149
KẾT LUẬN	149
1. Về thực vật học.....	149
2. Về hóa học	149
3. Về tác dụng sinh học	150
KIẾN NGHỊ	151

TÀI LIỆU THAM KHẢO

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, TỪ VIẾT TẮT

ARV: Anti retroviral drug therapy

ABTS: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

APCI-MS: Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry (Phổ khối lượng ion hóa hóa học tại áp suất khí quyển)

BuOH: Butanol

CD: Circular Dichroism (Phổ lưỡng sắc tròn).

COSY: Correlation Spectroscopy

COX: Cyclooxygenase (COX-1; COX-2).

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DMSO: Dimethylsulfoxid

DPPH: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

ESI-MS: Electron Spray Ionization Mass Spectrometry (Phổ khối lượng ion hóa phun điện tử)

EtOAc: Ethyl acetat

EtOH: Ethanol

GHL: Cao ethanol chiết từ lá Gối hạc

GHR: Cao ethanol chiết từ rễ Gối hạc

GHT: Cao ethanol chiết từ thân Gối hạc

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Sắc ký lỏng hiệu năng cao)

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

Hx: *n*-Hexan

IC₅₀: Inhibitory Concentration 50% (Nồng độ ức chế 50%)

IL: Interleukin