

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

ĐỖ VĂN MÃI

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ  
TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY ĐÌNH LĂNG  
(*POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS)

Ngành: DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

Mã số: 62720406

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

TP. Hồ Chí Minh, năm 2022

Công trình được hoàn thành tại:

**Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh**

Người hướng dẫn khoa học:

**PGS.TS. TRẦN CÔNG LUẬN**

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Vào hồi      giờ      ngày      tháng      năm 2022

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI CỦA TÁC GIẢ

1. **Đỗ Văn Mãi**, Nguyễn Tấn Phát và Trần Công Luận (2019), "Chiết xuất, phân lập một số saponin từ lá cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harm) trồng tại An Giang", *Tạp chí Dược học*, 514, tr. 78-80.
2. **Đỗ Văn Mãi** và Trần Công Luận (2020), "Xây dựng ADN mã vạch cho cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trồng tại An Giang", *Tạp chí Dược học*, 528, tr. 51-54.
3. **Đỗ Văn Mãi** và Trần Công Luận (2020), "Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho lá cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trồng tại An Giang", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 489 (2), tr. 193-197.
4. **Đỗ Văn Mãi** và Trần Công Luận (2020), "Phân lập 2 sterol từ lá cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms)", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 490 (2), tr. 69-72.
5. **Do Van Mai**, Thieu Van Duong, Truong Trong Ngon, Tran Cong Luan (2021), "Genetic relationship among different cultivars of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms in Vietnam based on morphological characteristics and sequences of "rbcL" gene", *Journal of Medicinal Materials-Hanoi*, 26 (1+2), pp. 127-132.
6. **Do Van Mai**, Nguyen Hoang Minh, Ha Quang Thanh, Mai Thanh Chung, Tran Cong Luan, Nguyen Thi Thu Huong (2021), "The protective effects of *Polyscias fruticosa* extracts against chemotherapy drugs-induced hepatorenal toxicity", *Journal of Medicinal Materials-Hanoi*, 26 (1+2), pp. 95-101.
7. **Đỗ Văn Mãi** và Trần Công Luận (2021), "Nghiên cứu thành phần chất bay hơi trong lá cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trồng tại một số tỉnh ở Việt Nam", *Tạp chí Y Dược học*, 29, tr.127-132.
8. **Do Van Mai**, Tran Cong Luan, Nguyen Tan Phat (2020), "Polysciosides J and K, two new oleanane-type triterpenoid saponins from the leaves of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. cultivating in An Giang Province, Viet Nam", *Natural Product Research*, 34 (9), pp. 1250-1255.
9. **Do Van Mai**, Tran Cong Luan, Duong Thuc Huy, Phan Hoang Vinh Truong, Nguyen Huu Hung, Nguyen Thi Phuong, Sichaem Jirapast (2021), "Chemical constituents of the leaves of *Polyscias fruticosa*", *Chemistry of Natural Compounds*, 57 (6), pp. 1125-1127.

## 1. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Trong những năm gần đây, thế giới có xu hướng quay về với nguồn dược liệu thiên nhiên do phát hiện nhiều tác dụng không mong muốn của nhiều loại thuốc được sản xuất bằng con đường tổng hợp hóa học. Đặc biệt các dược liệu có tác dụng bổ, tăng lực, chống stress được chú ý do đời sống người dân ngày càng được nâng cao nên nhu cầu bảo vệ, nâng cao sức khỏe được xã hội quan tâm. Nhân sâm là vị thuốc bổ đã được nhân dân tín nhiệm lâu đời. Hơn nữa, trong những năm gần đây tác dụng bảo vệ gan, thận của Nhân sâm trước ảnh hưởng của thuốc hóa trị đang được các nhà nghiên cứu quan tâm và chứng minh. Tuy nhiên, Nhân sâm khó trồng, hiếm, giá thành cao nên trong khoảng 50 năm qua các nhà khoa học trong và ngoài nước luôn tìm kiếm những loài dược liệu khác thuộc họ Nhân sâm để thay thế một số tác dụng mang lại từ Nhân sâm, trong đó có những cây thuộc chi *Polyscias*. Đây là chi lớn thứ 2 trong họ Nhân sâm. Đa số được sử dụng làm cây cảnh, chỉ có vài loài được sử dụng làm thuốc, trong đó Đinh lăng thuộc loài *Polyscias fruticosa* (L.) Harms được sử dụng làm thuốc phổ biến. *Polyscias fruticosa* được nghiên cứu bắt đầu từ những năm 60, là một cây thuốc quý được đưa vào Dược điển Việt Nam như một vị thuốc bổ khí, lợi sữa, tăng lực và chống stress; còn gọi là “Nhân sâm của người nghèo”.

Nhiều nghiên cứu cho thấy loài *Polyscias fruticosa* có thành phần saponin, polyacetylen, tinh dầu, flavonoid có nhiều tác dụng sinh học mang lại như chống oxy hóa, cải thiện số lượng tinh trùng, cải thiện cơ trơn tử cung, cải thiện trí nhớ, hạ đường huyết, chống hen

suyễn, kháng histamin, chống hủy tế bào xương. Bên cạnh đó, Đinh lăng là loại cây dễ trồng, rẻ tiền do phù hợp với điều kiện môi trường ở nước ta. Vì thế, hiện nay Đinh lăng được Thủ Tướng Chính Phủ phê duyệt quy hoạch vùng trồng nhiều nơi trong cả nước với hy vọng tìm ra những công dụng thay thế cho Nhân sâm là vị thuốc được nhân dân sử dụng từ lâu.

Mặc dù, Đinh lăng được nghiên cứu từ khá lâu ở nước ta, nhưng chỉ có rễ và cao rễ Đinh lăng được đưa vào Dược điển Việt Nam 5 dùng làm thuốc và nghiên cứu. Trong khi đó, tình hình thực tế hiện nay ngoài việc sử dụng rễ thì người dân còn sử dụng lá Đinh lăng rất phổ biến trong thực phẩm hằng ngày, đồng thời để phòng và hỗ trợ điều trị bệnh. Vì lá Đinh lăng hàng năm cho nguồn sinh khối phong phú, dễ thu hái nhất trong tất cả các bộ phận của cây Đinh lăng. Từ đó hàng loạt sản phẩm trên thị trường sử dụng lá là bộ phận dùng chính ra đời, cũng như dân gian dùng lá để làm gỏi cá và gỏi nằm cho trẻ nhỏ. Do đó, để theo kịp với sự phát triển của khoa học hiện đại và tiềm năng sẵn có thì cần các nghiên cứu mới theo hướng ứng dụng dựa trên thành phần hóa học và tác dụng sinh học. Thêm vào đó, để tăng cường các nghiên cứu mang tính thuyết phục hơn về mặt thực vật, hóa học cũng như sinh học, đề tài sẽ kế thừa các nghiên cứu trước đây để mở rộng và phát triển sâu hơn cho dược liệu Đinh lăng dễ trồng quý giá này.

Chính vì những lý do trên, để tạo cơ sở khoa học cho việc khai thác, sử dụng hiệu quả và khẳng định giá trị cây Đinh lăng thuộc họ Nhân sâm theo hướng kế thừa, phát triển và ứng dụng các nghiên cứu mới về tác dụng sinh học để hỗ trợ điều trị bệnh, bên cạnh tác dụng nổi trội của họ Nhân sâm như bồi bổ, tăng lực và tăng cường miễn dịch thì đề tài được tiến hành.

## **b. Mục tiêu nghiên cứu**

- Phân tích được đặc điểm thực vật học và định danh loài Đinh lăng.
- Xác định được thành phần hóa học có trong lá cây Đinh lăng.
- Đánh giá được tác dụng bảo vệ gan, thận của cao toàn phần lá, rễ và cao phân đoạn tiềm năng trước độc tính của thuốc hóa trị.

## **c. Những đóng góp mới của nghiên cứu**

Sau thời gian nghiên cứu luận án đạt được một số kết quả mới, đóng góp vào công trình nghiên cứu cho Đinh lăng như sau:

### **Về mặt thực vật học**

- Lần đầu tiên xây dựng mã vạch loài *Polyscias fruticosa* ở vùng gen *rbcL*, được công bố trên Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>) với mã số nhận diện MN049915.
- Lần đầu tiên công bố sự đa dạng di truyền loài *Polyscias fruticosa* ở 10 vùng trồng khác nhau của Việt Nam dựa trên vùng gen *rbcL*.

### **Về mặt hóa học**

- Lần đầu tiên công bố hàm lượng và phân tích GC/MS so sánh thành phần chất bay hơi của 10 mẫu Đinh lăng trồng ở 10 tỉnh/thành phố khác nhau của Việt Nam.
- Lần đầu tiên phân lập được 2 hợp chất mới: Polysciosid J (4), Polysciosid K (5); 8 hợp chất mới trong chi *Polyscias*: Chikusetsusaponin IVa, olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol, stigmasta-4,22-dien-3-on, esculetin, liquiritigenin, 6,15 $\alpha$ -epoxy-1 $\beta$ , 4 $\beta$ -dihydroxyeudesman, acid caffeic, (*E*)-isoferulaldehyd và 2 hợp chất mới trong loài *Polyscias fruticosa*: Stigmasterol, acid 3-

*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-(6-*O*-methyl) glucuronopyranosyloleanolic.

### **Về mặt tác dụng sinh học**

- Các cao toàn phần lá, cao toàn phần rễ, cao *n*-BuOH lá, cao *n*-BuOH rễ chưa thể hiện độc tính cấp đường uống ở liều  $D_{\max}$  lần lượt là 25,71 g/kg; 33,23 g/kg; 26,39 g/kg; 34,08 g/kg trong thời gian 72 giờ và kéo dài đến 14 ngày.
- Lần đầu tiên công bố kết quả nghiên cứu, cho biết cao Đinh lăng có tác dụng bảo vệ thận dựa trên mô hình gây tổn thương thận cấp trước tác nhân của thuốc hóa trị cisplatin.
- Lần đầu tiên công bố kết quả nghiên cứu, cho biết cao Đinh lăng có tác dụng bảo vệ gan dựa trên mô hình gây tổn thương gan cấp trước tác nhân của thuốc hóa trị cyclophosphamid.

### **d. Bố cục của luận án**

Luận án gồm 144 trang: Mở đầu 2 trang, tổng quan tài liệu 36 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 18 trang, kết quả nghiên cứu 63 trang, bản luận 23 trang, kết luận và kiến nghị 2 trang.

Luận án có 43 bảng, 32 hình, 9 sơ đồ, 190 tài liệu tham khảo gồm 45 tài liệu tiếng việt, 139 tài liệu tiếng Anh và 6 trang web; 30 phụ lục thể hiện các kết quả thực nghiệm.

## 2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 2.1. Tổng quan về chi *Polyscias*

- *Polyscias* là chi lớn thứ 2 trong họ Araliaceae. Hiện nay, trên thế giới theo tra cứu tại trang chuyên khảo về thực vật của "The Plant list" có tổng cộng 655 tên; trong đó có 176 loài được chấp nhận, có 473 loài đồng nghĩa, 6 loài chưa giải quyết. Trong khi đó, hệ thống phân loại thực vật theo "Catalogue of Life" thì có 174 loài, 4 dưới loài và 6 thứ thuộc chi *Polyscias*. Theo Phạm Hoàng Hộ cho biết ở Việt Nam có 8 loài thuộc chi *Polyscias*, trong đó loài *Polyscias guilfoylei* Bail. có 3 thứ. Theo điều tra của Trung tâm Sâm Việt Nam ở các tỉnh phía Nam chi *Polyscias* có 6 loài. Đa số các loài thuộc chi *Polyscias* được làm cây cảnh, chỉ có một số loài được nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học để sử dụng làm thuốc, trong đó loài *Polyscias fruticosa* (L.) Harms được sử dụng phổ biến nhất.

- Việc nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Polyscias* được nghiên cứu chủ yếu bắt đầu vào những năm 80. Tuy nhiên, cho đến nay có khoảng hơn 200 hợp chất đã được phân lập từ 12 loài thuộc chi (*P. amplifolia*, *P. australiana*, *P. balfouriana*, *P. dichroostachya*, *P. duplicata*, *P. fulva*, *P. fruticosa*, *P. guilfoylei*, *P. murrayi*, *P. nodosa*, *P. scutellaria*, *P. serrata*) trong 176 loài được chấp nhận. Các hợp chất phân lập chủ yếu thuộc các nhóm triterpenoid và saponin triterpenoid. Bên cạnh đó còn có một số nhóm hợp chất khác như polyacetylen, tinh dầu, flavonoid, hợp chất phenol, sterol, ceramid, cerebrosid, dẫn xuất acid propanoic, lignan, dẫn xuất cyanogen khác.

- Các nghiên cứu thử nghiệm *in vitro*, *in vivo* trên dịch chiết, cao chiết và một số hợp chất phân lập được từ các loài thuộc chi *Polyscias* đã được chứng minh có tác dụng đáng kể là hợp chất saponin triterpenoid.



## 2.2. Tổng quan về loài *Polyscias fruticosa*

### **Thực vật học**

- Cây nhỏ dạng bụi, cao 1,5-2 m, thân nhẵn, ít phân nhánh, mang nhiều vết sẹo lồi màu nâu xám do lá rụng để lại. Lá mọc cách, kép lông chim 2-3 lần, dài 20-40 cm. Lá chét chia thùy nhọn không đều, màu xanh, bóng mặt dưới nhiều hơn, gốc lá và phiến lá thuôn nhọn dài 3-5 cm, rộng 0,5-1,5 cm; gân lá hình lông chim, gân chính nổi rõ, 3-4 cặp gân phụ. Cuống lá dài, tròn, màu xanh sậm, có những đốm xanh nhạt trên cuống, đáy cuống phình to thành bẹ lá. Lá kèm dạng phiến mỏng dính hai bên bẹ lá.

### **Thành phần hóa học**

- Cho đến nay, nghiên cứu hóa học trên loài này chưa nhiều. Các nghiên cứu chủ yếu là tập trung vào các nhóm hợp chất quan trọng như: Triterpenoid, saponin triterpenoid, polyacetylen, tinh dầu, flavonoid.

### **Một số tác dụng sinh học**

- Tác dụng chủ yếu của loài *Polyscias fruticosa* là tác dụng tăng lực-chống nhược sức, chống oxy hóa, bảo vệ gan, chống stress tâm lý, kích thích miễn dịch, giảm đường huyết, lợi tiểu, cải thiện trí nhớ, chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm....

- Trong những năm qua nhiều nghiên cứu cho biết loài *P. fruticosa* có các tác dụng sinh học quý giá. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào về tác dụng theo hướng bảo vệ gan, thậm chí do một số tác nhân gây tổn thương như tác dụng không mong muốn các thuốc trong phác đồ điều trị ung thư. Vì vậy, để kế thừa nghiên cứu và phát triển theo hướng mới trên đối tượng đầy tiềm năng này trong việc phòng ngừa và hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến gan, thậm chí trước các tác nhân hóa trị hiện nay là hết sức cần thiết và thời đại.

### 3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Đối tượng nghiên cứu

##### 3.1.1. Nguyên liệu

- Toàn cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) được thu hái tháng 11/2016 và 05/2019 tại Tịnh Biên, tỉnh An Giang. Thu hái vào tháng 07/2020 mẫu ở 10 tỉnh/thành phố như An Giang, Cần Thơ, Hồ Chí Minh, Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam, Thanh Hóa, Nam Định, Phú Thọ và Điện Biên.

##### 3.1.2. Chất đối chiếu

- Các chất đối chiếu: Cisplatin, cyclophosphamid, quercetin, silymarin, D-glucose (đều có độ tinh khiết  $\geq 95\%$ , hãng Sigma-Aldrich, Mỹ).

##### 3.1.3. Hóa chất dùng trong nghiên cứu

- Các thuốc thử, dung môi, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đạt tiêu chuẩn phân tích.

##### 3.1.4. Động vật thử nghiệm

- Chuột nhắt trắng đực khỏe mạnh chủng *Swiss albino* trọng lượng  $25 \pm 2$  g được cung cấp bởi Viện Vaccin và Sinh phẩm Y Tế Nha Trang.

##### 3.1.5. Thiết bị dùng trong nghiên cứu

- Thiết bị nghiên cứu về phân tích định danh loài, phân tích hóa học và nghiên cứu về tác dụng sinh học tại các nơi thực hiện đề tài và được liệt kê đầy đủ trong luận án.

##### 3.1.6. Nơi thực hiện đề tài

- Khoa Dược - Điều dưỡng, Trường đại học Tây Đô. Bộ môn Di truyền  
- Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Viện công nghệ hóa học - Viện hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM.

### **3.2. Phương pháp nghiên cứu**

#### **3.2.1. Phương pháp về thực vật học**

- Khảo sát về hình thái và vi phẫu bằng các kỹ thuật thường quy.
- Khảo sát ADN bằng phương pháp CTAB có cải tiến và giải trình tự ADN trên đoạn gen *rbcL*.
- Đánh giá mối quan hệ đa dạng di truyền các giống Đinh lăng thuộc loài *P. fruticosa* ở 10 tỉnh/thành phố trên cơ sở xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phương pháp UPGMA thông qua hệ thống bằng phần mềm Mega\_X.

#### **3.2.2. Phương pháp về hóa học**

- Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật theo quy trình phân tích của Ciulei có cải tiến.
- Chiết xuất thành phần chất bay hơi bằng phương pháp lôi cuốn theo hơi nước và phân tích thành phần bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ.
- Phân lập các hợp chất bằng các kỹ thuật sắc ký.
- Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập bằng phương pháp phổ học.

#### **3.2.3. Phương pháp thử nghiệm tác dụng sinh học**

- Khảo sát độc tính cấp đường uống bằng mô hình tăng giảm được mô tả bởi Đỗ Trung Đàm (2014).
- Khảo sát tác dụng bảo vệ thận *in vivo* của cao Đinh lăng trên thực nghiệm gây tổn thương thận bằng cisplatin. Các chỉ tiêu đánh giá creatinin, BUN, MDA và mô học thận.
- Khảo sát tác dụng bảo vệ gan *in vivo* của cao Đinh lăng trên thực nghiệm gây tổn thương gan bằng cyclophosphamid. Các chỉ tiêu đánh giá GSH, MDA và mô học thận.

## 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 4.1. Thực vật học

- Nghiên cứu đã mô tả chi tiết đặc điểm hình thái thực vật (rễ, thân, lá, hoa, quả, hạt), vi phẫu (rễ, thân, lá, cuống lá), các cấu tử có trong bột (rễ, thân, lá) của cây Đinh lăng. Đồng thời kết hợp với việc xây dựng đặc điểm mã vạch ADN đã xác định tên khoa học thuộc loài *Polyscias fruticosa*. Kết quả mã vạch ADN được công bố trên Genbank NCBI với mã số MN049915.

- Sự đa dạng di truyền loài *P. fruticosa* ở An Giang, Cần Thơ, Hồ Chí Minh, Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam, Thanh Hóa, Nam Định, Phú Thọ và Điện Biên cho thấy có tỷ lệ tương đồng cao (99,81-100%) so với mẫu trên Genbank. Đồng thời khoảng cách di truyền thấp giữa các mẫu, dao động trong khoảng 0,000-41,822.

### 4.2. Nghiên cứu về hóa học

#### 4.2.1. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

- Kết quả phân tích sơ bộ cho thấy trong cây Đinh lăng có chứa các hợp chất như: Saponin, triterpenoid, tinh dầu, flavonoid, polyphenol, alkaloid, acid hữu cơ, chất khử, hợp chất polyuronic. Trong đó hợp chất saponin và triterpenoid cho phản ứng dương tính rõ nhất. Các phản ứng rõ nhất ở bộ phận lá, rễ và cuối cùng là thân.

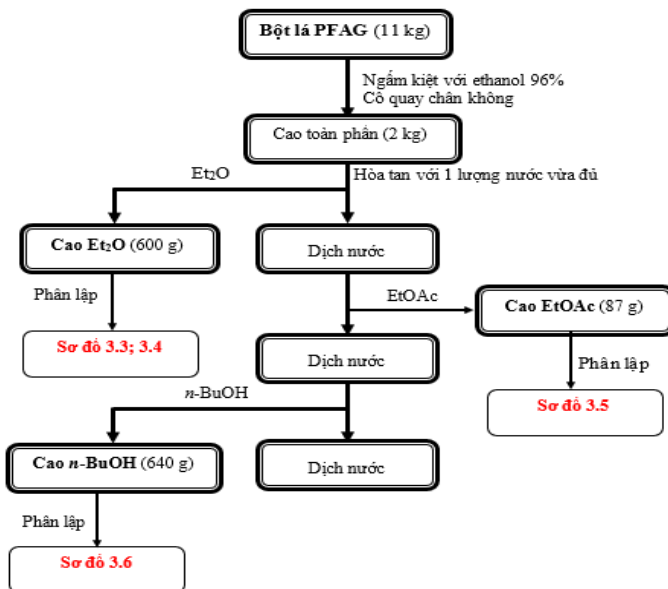
#### 4.2.2. Thành phần chất bay hơi

- Kết quả phân tích thành phần chất bay hơi bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GS/MS) trong 10 mẫu Đinh lăng trồng tại các vùng khác nhau của Việt Nam thu được 65 thành phần, trong đó đã nhận diện được 42 cấu trúc và 23 thành phần không xác định. Đa số thành phần chất bay hơi được xác định trong 10 mẫu Đinh lăng đều thuộc các

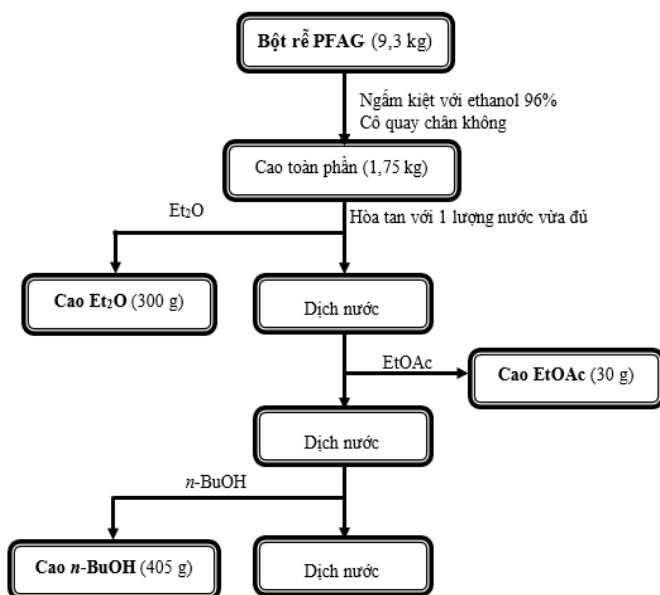
sesquiterpenoid có hàm lượng cao như:  $\alpha$ -farnesen, germacrene B, germacrene D,  $\gamma$ -elemen,  $\beta$ -eudesmen, isospathulenol.

#### 4.2.3. Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc

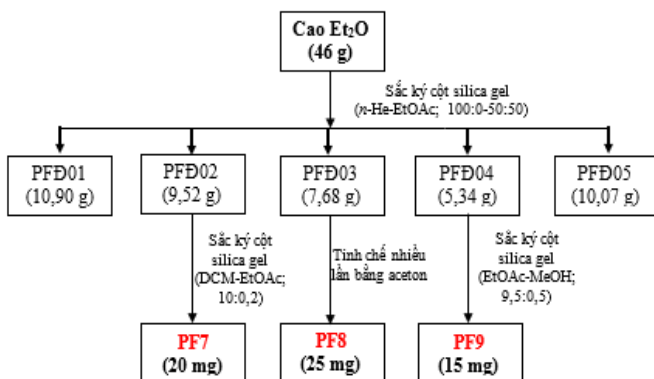
- Từ lá cây Đinh lăng, đề tài đã phân lập và xác định được 16 hợp chất bao gồm 10 hợp chất được phân lập từ cao phân đoạn diethyl ether và ethyl acetat (stigmasta-4,22-dien-3-on, stigmasterol, acid oleanolic, olean-12-en-3 $\beta$ -15 $\alpha$ -diol, kaempferol-3-*O*-rhamnosid (afzelin), liquiritigenin, acid caffeic, (*E*)-isoferulaldehyd, esculetin, 6,15 $\alpha$ -epoxy-1 $\beta$ , 4 $\beta$ -dihydroxyeudesman và 6 hợp chất từ cao phân đoạn *n*-butanol (polysciosid J, polysciosid K, PFS ladyginosid A, chikusetsusaponin Iva, acid 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-(6-*O*-methyl) glucuronopyranosyloleanolic. Trong đó, polysciosid J, polysciosid K là hợp chất mới lần đầu được công bố.



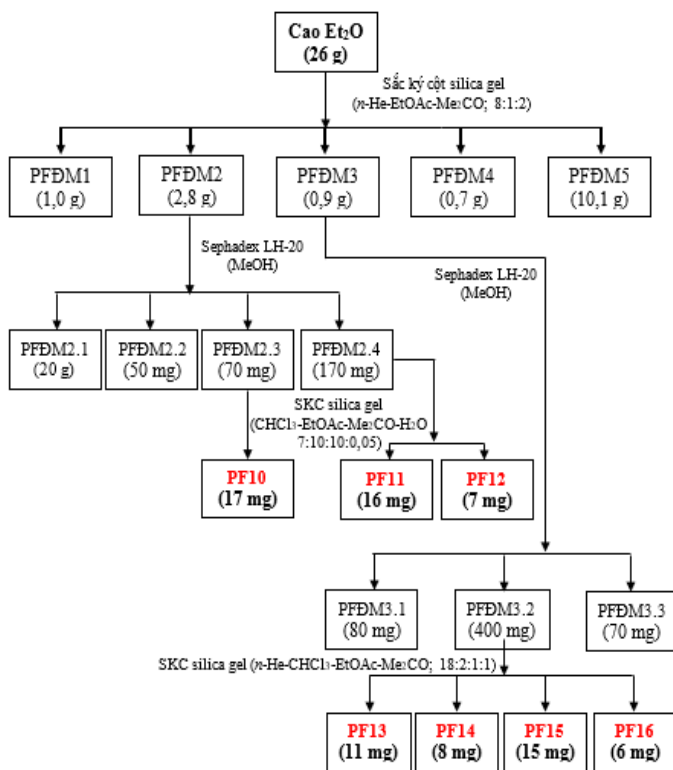
Sơ đồ 3.1. Sơ đồ chiết xuất và thu cao phân đoạn từ lá PFAG



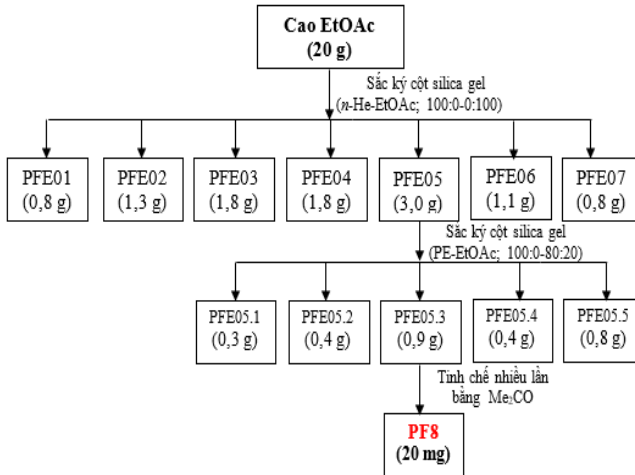
Sơ đồ 3.2. Sơ đồ chiết xuất và thu cao phân đoạn từ rễ PFAG



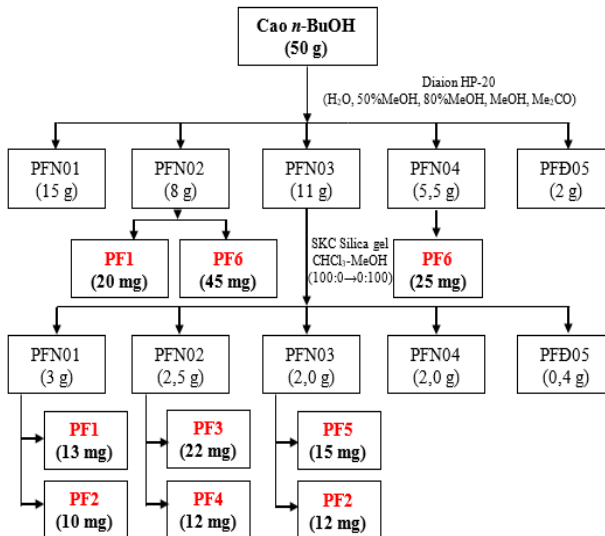
Sơ đồ 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất PF7, 8, 9 từ cao diethyl ether



Sơ đồ 3.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất PF10-16 từ cao Et<sub>2</sub>O



Sơ đồ 3.5. Sơ đồ phân lập hợp chất 8 từ cao EtOAc

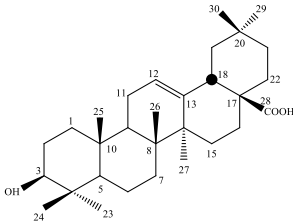


Sơ đồ 3.6. Sơ đồ phân lập hợp chất PF1, 2, 3, 4, 5, 6 từ cao n-BuOH

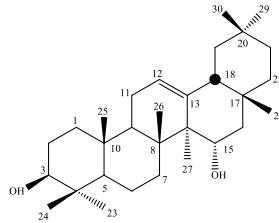


#### 4.2.3.1. Các hợp chất triterpenoid và saponin triterpenoid

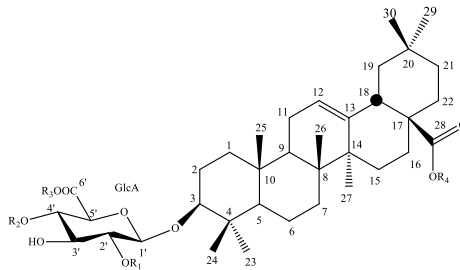
##### \* Hợp chất triterpenoid



PF9: Acid oleanolic

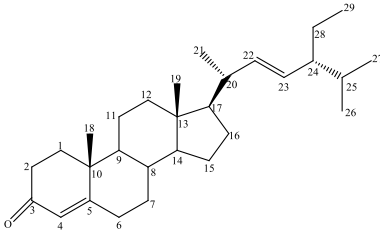
PF14: Olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol

##### \* Hợp chất saponin triterpenoid

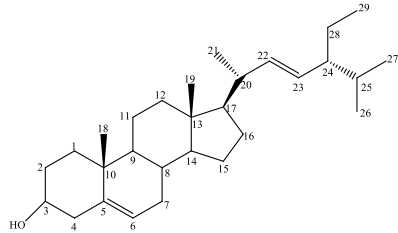


|      | <b>R1</b> | <b>R2</b> | <b>R3</b> | <b>R4</b> |
|------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| PF1: | H         | Glc       | H         | H         |
| PF2: | H         | H         | H         | Glc       |
| PF3: | H         | Glc       | Me        | H         |
| PF4: | H         | Glc       | Me        | Glc       |
| PF5: | Glc       | Glc       | Me        | H         |
| PF6: | H         | Glc       | H         | Glc       |

#### 4.2.3.2. Các hợp chất sterol

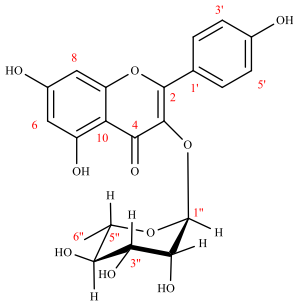


PF7: Stigmasta-4,22-dien-3-on

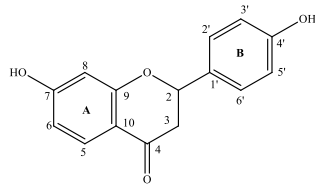


PF8: Stigmasterol

#### 4.2.3.3. Các hợp chất flavonoid

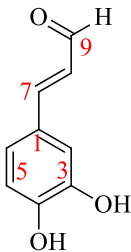


PF10: Kaempferol-3-O-rhamnosid (Afzelin)

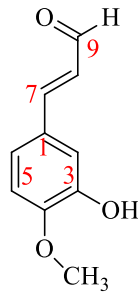


PF12: Stigmasterol

#### 4.2.3.4. Các hợp chất phenol

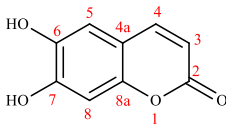


PF15: Acid caffeic

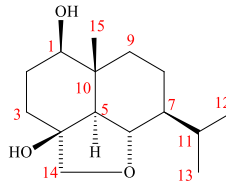


PF16: (E)-Isoferulaldehyd

#### 4.2.3.5. Hợp chất coumarin và sesquiterpen



PF11: Esculetin

PF13: 6,15 $\alpha$ -epoxy-1 $\beta$ , 4 $\beta$ -dihydroxyeudesman

### 4.3. Thử nghiệm tác dụng sinh học

#### 4.3.1. Kết quả khảo sát độc tính cấp

- Không ghi nhận phân suất tử vong ở liều tối đa có thể cho chuột uống cao toàn phần lá, cao toàn phần rễ, cao *n*-BuOH lá, cao *n*-BuOH rễ với liều  $D_{\max}$  lần lượt tương ứng là 25,71 g/kg; 33,23 g/kg; 26,39 g/kg; 34,08 g/kg trong thời gian 72 giờ và kéo dài đến 14 ngày.

**Bảng 3.21. Liều thử nghiệm sinh học của các cao Đinh lăng**

| Mẫu                      | Hiệu suất chiết<br>(tính theo dược<br>liệu khô và cao<br>khô kiệt) (%) | Dược<br>liệu<br>khô<br>(g/kg) | Liều thử<br>nghiệm<br>tính theo g<br>cao khô kiệt/kg |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------|
| Cao toàn<br>phần lá      | 16,6                                                                   | 2,5                           | 0,415                                                |
|                          |                                                                        | 5,0                           | 0,83                                                 |
| Cao toàn<br>phần rễ      | 17,6                                                                   | 2,5                           | 0,44                                                 |
|                          |                                                                        | 5,0                           | 0,88                                                 |
| Cao <i>n</i> -BuOH<br>lá | 5,4                                                                    | 2,5                           | 0,135                                                |
|                          |                                                                        | 5,0                           | 0,27                                                 |
| Cao <i>n</i> -BuOH<br>rễ | 3,6                                                                    | 2,5                           | 0,09                                                 |
|                          |                                                                        | 5,0                           | 0,18                                                 |

#### **4.3.2. Tác dụng bảo vệ thận của cao Đinh lăng trên thực nghiệm gây tổn thương thận bằng cisplatin**

Kết quả xác định hàm lượng creatinin, BUN và MDA trong thận chuột trên thực nghiệm cisplatin:

- Kết quả cho thấy nhóm chuột không tiêm cisplatin: Lô uống cao toàn phần lá, cao toàn phần rễ, cao *n*-BuOH lá, cao *n*-BuOH rễ với liều tương ứng 2,5-5,0 g dược liệu trong 3 ngày hàm lượng creatinin, BUN và MDA chưa thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Điều này cho biết các cao chiết từ Đinh lăng không ảnh hưởng đến nồng độ creatinin, BUN và MDA trên chuột bình thường.

- Kết quả cho thấy nhóm chuột tiêm cisplatin: Hàm lượng creatinin, BUN, MDA của lô chứng bệnh lý tăng 173,87%, 447,65%, 125,06% tương ứng khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với lô chứng sinh lý. Chứng tỏ cyclophosphamid liều duy nhất 150 mg/kg gây tổn thương oxy hóa trên gan.

- Lô bệnh chuột cho uống cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg và liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg làm nồng độ creatinin giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ( $p < 0,001$ ). Trong đó, các cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg thể hiện tác dụng phục hồi nồng độ creatinin trong huyết tương tương tự quercetin liều 0,03 g/kg trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin ( $p = 0,645$ ;  $p = 0,793$ ;  $p = 0,82$ ;  $p = 0,725$ ).

- Nồng độ BUN trong huyết tương ở lô tiêm cisplatin và uống cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg và cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg không khác biệt so với lô chứng bệnh lý ( $p = 0,06$ ;  $p = 0,437$ ; tương ứng). Lô chuột

cho uống cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg làm nồng độ BUN giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ( $p < 0,001$ ). Nồng độ BUN trong huyết tương ở lô tiêm cisplatin và uống cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg không khác biệt nhau đạt ý nghĩa thống kê ( $p = 0,998$ ), chứng tỏ cao *n*-BuOH rễ ở cả 2 liều có tác dụng tương tự nhau. Đồng thời cao *n*-BuOH rễ thể hiện tác dụng hồi phục nồng độ BUN tương tự như tác dụng của quercetin 0,03 g/kg ( $p = 0,964$ ) và điển hình hơn so với các cao chiết còn lại trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin.

- Hàm lượng MDA trong dịch đồng thể thận ở lô uống cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg không khác biệt so với lô chứng bệnh lý ( $p = 0,753$ ). Lô chuột cho uống cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg làm hàm lượng MDA giảm đạt ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh lý ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p = 0,003$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ; tương ứng). Trong đó, cao *n*-BuOH rễ liều 0,18 g/kg thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA tương tự như quercetin liều 0,03 g/kg ( $p = 0,837$ ), điển hình hơn so với các cao chiết còn lại, đưa hàm lượng MDA trở về giá trị bình thường khi so sánh với lô sinh lý trong mô hình gây tổn thương thận cấp bằng cisplatin ( $p = 0,378$ ).

### ***Kết quả quan sát vi thể tiêu bản tế bào mô học thận chuột***

- Kết quả khảo sát vi thể mô học thận chuột cho thấy sau khi tiêm cisplatin 3 ngày, mô thận ở lô chứng tiêm cisplatin chưa thể hiện rõ tổn thương so với lô chứng sinh lý. Ở lô cho uống các cao chiết từ Đinh

lăng cũng như lô uống thuốc đối chiếu quercetin liều 0,03 g/kg đều nằm trong giới hạn bình thường.

**Bảng 3.25. Phân tích mô học thận chuột ở các lô**

| Nhóm          | Lô thử nghiệm         | Liều (g/kg) | Mất bờ bàn chải | Nhân co lại | Có không bào | Viêm mô kẽ thận | Mô thận trong giới hạn bình thường |
|---------------|-----------------------|-------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|------------------------------------|
| Cisplatin (-) | Chứng sinh lý         | -           | 0/3             | 0/3         | 0/3          | 0/3             | 3/3                                |
|               | Cao toàn phần lá      | 0,83        | 0/3             | 0/3         | 0/3          | 0/3             | 3/3                                |
|               | Cao toàn phần rễ      | 0,88        | 0/3             | 0/3         | 0/3          | 0/3             | 3/3                                |
|               | Cao <i>n</i> -BuOH lá | 0,27        | 0/3             | 0/3         | 0/3          | 0/3             | 3/3                                |
|               | Cao <i>n</i> -BuOH rễ | 0,18        | 0/3             | 0/3         | 0/3          | 0/3             | 3/3                                |
| Cisplatin (+) | Chứng bệnh lý         | -           | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               | Cao toàn phần lá      | 0,415       | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               |                       | 0,83        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               | Cao toàn phần rễ      | 0,44        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               |                       | 0,88        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               | Cao <i>n</i> -BuOH lá | 0,135       | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               |                       | 0,27        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               | Cao <i>n</i> -BuOH rễ | 0,09        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               |                       | 0,18        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |
|               | Quercetin             | 0,03        | 0/5             | 0/5         | 0/5          | 0/5             | 5/5                                |

#### ***4.3.3. Tác dụng bảo vệ gan của cao Đinh lăng trên thực nghiệm gây tổn thương gan bằng cyclophosphamid***

Kết quả xác định hàm lượng MDA và GSH trong gan chuột trên thực nghiệm cyclophosphamid:

- Kết quả cho thấy nhóm chuột không tiêm cyclophosphamid: Lô uống cao toàn phần lá, cao toàn phần rễ, cao *n*-BuOH lá, cao *n*-BuOH rễ với liều tương ứng 2,5-5,0 g dược liệu trong 8 ngày hàm lượng MDA và GSH chưa thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Điều này cho biết các cao chiết từ Đinh lăng không ảnh hưởng đến nồng độ GSH và MDA trên chuột bình thường.

- Kết quả cho thấy nhóm chuột tiêm cyclophosphamid: Hàm lượng MDA của lô chứng bệnh lý tăng 176,57% khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với lô chứng sinh lý và hàm lượng GSH của lô chứng bệnh lý giảm 36,10% đạt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với lô chứng sinh lý. Chứng tỏ cyclophosphamid liều duy nhất 150 mg/kg gây tổn thương oxy hóa trên gan.

- Cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg và liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg đều thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ( $p < 0,001$ ). Trong đó, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA tương tự silymarin liều 0,10 g/kg ( $p = 0,558$ ;  $p = 0,315$ ;  $p = 1,0$ ; tương ứng), điển hình hơn so với các cao chiết còn lại, đưa hàm lượng MDA trở về giá trị bình thường khi so sánh với lô sinh lý trên mô hình gây tổn thương gan bằng cyclophosphamid ( $p = 0,157$ ;  $p = 0,127$ ;  $p = 0,352$ ; tương ứng).

- Cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg và liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg đều thể hiện tác dụng làm phục hồi hàm lượng GSH đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ( $p=0,005$ ;  $p=0,004$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,007$ ;  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,003$ ; tương ứng). Trong đó, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg thể hiện tác dụng giúp phục hồi hàm lượng glutathion nội sinh tương tự silymarin liều 0,10 g/kg ( $p=0,288$ ;  $p=0,841$ ;  $p=0,381$ ; tương ứng), diễn hình hơn so với các cao chiết còn lại, đưa hàm lượng GSH trở về giá trị bình thường khi so sánh với lô sinh lý trên mô hình gây tổn thương gan bằng cyclophosphamid ( $p=0,255$ ;  $p=0,559$ ;  $p=0,221$ ; tương ứng).

- Cho thấy cao toàn phần lá liều 0,415 g/kg và liều 0,83 g/kg, cao toàn phần rễ liều 0,44 g/kg và liều 0,88 g/kg, cao *n*-BuOH lá liều 0,135 g/kg và liều 0,27 g/kg, cao *n*-BuOH rễ liều 0,09 g/kg và liều 0,18 g/kg tương ứng 2,5-5,0 g dược liệu và silymarin 0,01 g/kg thể hiện tác dụng ức chế quá trình peroxy hóa lipid tế bào gan, có tác dụng bảo vệ gan.

### ***Kết quả quan sát vi thể tiêu bản tế bào mô học gan chuột***

- Kết quả quan sát vi thể tiêu bản tế bào mô học gan chuột cho thấy ở lô chứng sinh lý các tế bào gan bình thường. Lô uống cao chiết Đinh lăng có hiện tượng các tế bào nhu mô gan bị viêm ở mức độ nhẹ và bình thường. Ở lô chứng bệnh lý sau khi tiêm cyclophosphamid 8 ngày tiêu bản tế bào cho thấy nhu mô gan đa số (80%) viêm trung bình, một số ít (20%) thoái hóa và viêm nhẹ. Đối với lô chuột sau khi tiêm cyclophosphamid, tiếp tục cho uống silymarin hoặc các cao chiết Đinh lăng, biểu hiện tổn thương gan giảm so với chứng bệnh lý.



**Bảng 3.28. Phân tích mô học gan chuột ở các lô thử nghiệm**

| <b>Nhóm</b> | <b>Lô</b>                  | <b>Liều<br/>(g/kg)</b> | <b>Bình<br/>thường<br/>(%)</b> | <b>Viêm<br/>nhẹ<br/>(%)</b> | <b>Viêm<br/>trung bình<br/>(%)</b> |
|-------------|----------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| <b>CY-</b>  | Chứng sinh lý              | -                      | 100                            | 0/3                         | 0/3                                |
|             | Cao toàn phần lá liệu      | 0,83                   | 3/3                            | 0/3                         | 0/3                                |
|             | Cao toàn phần rễ liệu      | 0,88                   | 3/3                            | 0/3                         | 0/3                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH lá liệu | 0,27                   | 3/3                            | 0/3                         | 0/3                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH rễ liệu | 0,18                   | 3/3                            | 0/3                         | 0/3                                |
| <b>CY+</b>  | Chứng bệnh lý              | -                      | 0/5                            | 1/5                         | 4/5                                |
|             | Cao toàn phần lá liệu      | 0,415                  | 0/5                            | 4/5                         | 1/5                                |
|             | Cao toàn phần lá liệu      | 0,83                   | 1/5                            | 1/5                         | 3/5                                |
|             | Cao toàn phần rễ liệu      | 0,44                   | 0/5                            | 4/5                         | 1/5                                |
|             | Cao toàn phần rễ liệu      | 0,88                   | 0/5                            | 3/5                         | 2/5                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH lá liệu | 0,135                  | 0/5                            | 2/5                         | 3/5                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH lá liệu | 0,27                   | 0/5                            | 2/5                         | 3/5                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH rễ liệu | 0,09                   | 0/5                            | 3/5                         | 2/5                                |
|             | Cao <i>n</i> -BuOH rễ liệu | 0,18                   | 2/5                            | 1/5                         | 2/5                                |
|             | Silymarin liệu             | 0,10                   | 2/5                            | 3/5                         | 0/5                                |

## 5. KẾT LUẬN

Luận án đã hoàn thành các nội dung nghiên cứu với những mục tiêu đã đề ra như sau:

### 1. Nghiên cứu về thực vật học

- Nghiên cứu đã mô tả chi tiết đặc điểm hình thái thực vật, vi phẫu, các cấu tử có trong bột của cây Đinh lăng. Đồng thời kết hợp với việc xây dựng đặc điểm mã vạch ADN đã xác định được tên khoa học cây Đinh lăng thuộc loài *Polyscias fruticosa*. Kết quả mã vạch ADN được công bố trên Genbank NCBI với mã số MN049915.

### 2. Nghiên cứu về hóa học

- Về kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học cho thấy trong cây Đinh lăng có các nhóm hợp chất như saponin, triterpenoid tự do, tinh dầu, flavonoid, alkaloid, polyphenol, acid hữu cơ, chất khử...

- Từ lá cây Đinh lăng bằng phương pháp sắc ký khí, đã phân tích được 65 thành phần trong chất bay hơi. Trong đó đã nhận diện được 42 cấu trúc và 23 thành phần chưa xác định. Đa số thành phần được xác định đều thuộc các sesquiterpenoid có hàm lượng cao như:  $\alpha$ -farnesen, germacrene B, germacrene D,  $\gamma$ -elemen,  $\beta$ -eudesmen, Isospathulenol...

- Đồng thời, kết quả nghiên cứu còn phân lập và xác định được 16 hợp chất. Trong đó có 2 hợp chất mới, 8 hợp chất lần đầu phân lập từ chi *Polyscias*, 2 hợp chất lần đầu phân lập từ loài *P. fruticosa* và 4 hợp chất đã biết.

+ Các hợp chất mới: Polysciosid J (PF4) và polysciosid K (PF5).

+ Các hợp chất lần đầu phân lập từ chi *Polyscias*: Chikusetsusaponin IVa (PF2), olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol (PF14), stigmasta-4,22-dien-3-on (PF7), esculetin (PF11), liquiritigenin (PF12), 6,15 $\alpha$ -epoxy-1 $\beta$ , 4 $\beta$ -dihydroxyeudesman (PF13), acid caffeic (PF15), (*E*)-isoferulaldehyd (PF16).

+ Các hợp chất lần đầu phân lập từ loài *P. fruticosa* là stigmasterol (PF8) và acid 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-(6-O-methyl) glucuronopyranosyloleanolic (PF3).

+ Các hợp chất đã biết là ladyginosid A (PF1), PFS (PF6), acid oleanolic (PF9), kaempferol-3-*O*-rhamnosid (PF10).

### 3. Về mặt tác dụng sinh học

- *Đánh giá độc tính cấp đường uống*: Các cao toàn phần lá, cao toàn phần rễ, cao *n*-BuOH lá, cao *n*-BuOH rễ chưa thể hiện độc tính cấp đường uống ở liều  $D_{\max}$  lần lượt là 25,71 g/kg; 33,23 g/kg; 26,39 g/kg; 34,08 g/kg trong thời gian 72 giờ và kéo dài đến 14 ngày.

- *Đánh giá tác dụng bảo vệ thận của cao chiết*: Các cao toàn phần lá/rễ, cao *n*-BuOH lá/rễ ở các liều thử nghiệm tương ứng với 2,5-5,0 g dược liệu khô/kg đã chứng minh tác dụng bảo vệ chống lại độc tính trên thận do cisplatin liều 15 mg/kg gây ra ở chuột nhắt.

- *Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết*: Các cao toàn phần lá/rễ, cao *n*-BuOH lá/rễ ở các liều thử nghiệm tương ứng với 2,5-5,0 g dược liệu khô/kg đã chứng minh tác dụng bảo vệ chống lại độc tính trên gan do cyclophosphamid liều 150 mg/kg gây ra ở chuột nhắt.

## 6. KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu của luận án là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về mặt thực vật học, hóa học, tác dụng sinh học. Để kế thừa và phát huy những kết quả thu được từ nghiên cứu, các hướng nghiên cứu tiếp theo được kiến nghị bao gồm:

1. Tiến hành phân lập thêm các phân đoạn còn lại của lá và rễ cây Đinh lăng.
2. Thử một số tác dụng sinh học của tinh dầu lá cây Đinh lăng như: Kháng khuẩn và gây độc một số tế bào ung thư.
3. Nghiên cứu ứng dụng dược liệu Đinh lăng trở thành sản phẩm hỗ trợ điều trị các bệnh về gan, thận cho bệnh nhân nói chung và cho các đối tượng dùng thuốc hóa trị nói riêng.
4. Cần có hướng nghiên cứu tiếp theo sâu hơn để xác định marker quyết định tác dụng bảo vệ gan, thận của cao Đinh lăng.