

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME ACETYLCHOLINESTERASE CỦA HAI LOÀI *LEE* SP. - HỌ GỐI HẠC (LEEACEAE)

Lê Thị Bích Hiền, Lê Thị Minh Quý

Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Các loài thuộc chi *Leea*, họ Gối hạc được báo cáo có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, giảm đau, kháng khuẩn, được sử dụng để điều trị đau nhức xương khớp, phong thấp, các bệnh về tiêu hóa, ung thư. **Mục tiêu:** Nghiên cứu đặc điểm thực vật và hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase của hai loài thuộc chi *Leea*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Hai loài *Leea rubra* Blume ex Spreng. và *Leea curtisii* King., họ Gối hạc được xác định đặc điểm soi bột, đặc điểm vi phẫu bằng phương pháp nhuộm kép, xác định hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase theo phương pháp của Ellman. **Kết quả:** Đã xác định đặc điểm vi phẫu, soi bột của 2 loài nghiên cứu; dịch chiết toàn phần và dịch chiết các phân đoạn 2 loài nghiên cứu có tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} trong khoảng 42,44 - 97,96 μ g/ml. **Kết luận:** Đề tài đã góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu về mặt vi học và xác định hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase của hai loài thuộc chi *Leea*.

Từ khóa: Acetylcholinesterase, *Leea rubra*, *Leea curtisii*, vi phẫu, soi bột.

Abstract

STUDY ON BOTANICAL CHARACTERISTICS AND ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY ACTIVITY OF TWO SPECIES *LEE* SP. - LEEACEAE

Le Thi Bich Hien, Le Thi Minh Quy

Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: The species belonging to the genus *Leea*, Leeaceae are reported to have anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, antibacterial effects, and have been used to treat osteoarthritis pain, rheumatism, digestive and cancer diseases. The project aims to study botanical characteristics and Acetylcholinesterase inhibitory activity of two species of genus *Leea*. **Materials and method:** Two species *Leea rubra* Blume ex Spreng. and *Leea curtisii* King., Leeaceae were identified the powder characteristics, microsurgical characteristics by double dyeing method, determined Acetylcholinesterase inhibitory activity by the method of Ellman. **Results:** Identified characteristics of microsurgery and powder of 2 studied species; total extracts and fractional extracts of 2 studied species shown the average Acetylcholinesterase inhibitory activities with the IC_{50} values in the range of 42.44 to 97.96 μ g/ml. **Conclusion:** The project contributed to standardize microbiological characteristics and determined Acetylcholinesterase inhibitory activity of two species belonging to the genus *Leea*.

Key words: Acetylcholinesterase, *Leea rubra*, *Leea curtisii*, microsurgery, powder characteristics.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ VÀ MỤC TIÊU

Chi *Leea* D. Royen ex L. thuộc họ Gối hạc phân bố rộng khắp ở khu vực Nam Á, Đông Nam Á, Australia cũng như các khu vực nhiệt đới ở châu Phi. Hiện tại ở Việt Nam chi này có khoảng 7-12 loài. Các loài thuộc chi *Leea* được sử dụng làm thuốc trong y học cổ truyền ở nhiều quốc gia để điều trị các bệnh đau nhức xương khớp, phong thấp, các bệnh về tiêu hóa, ung thư [1], [5]. Các kết quả nghiên cứu được lý cho thấy các loài trong chi này có tác dụng chống

viêm, chống oxy hóa, giảm đau, kháng khuẩn, kháng nấm và ức chế tế bào ung thư [5], [6]. Điển hình như rễ loài Gối hạc *Leea rubra* được sử dụng phổ biến trong dân gian để điều trị đau nhức xương khớp, tê thấp, sưng tấy. Các dịch chiết phân đoạn cây Gối hạc cũng được chứng minh có tác dụng kháng khuẩn, chống oxy hóa *in vitro*, tác dụng giảm đau và chống viêm *in vivo* [2], [7]. Đối với loài Củ rổi bẹ *Leea curtisii* King., kinh nghiệm dân gian sử dụng lá loài này để trị rắn cắn, dịch chiết lá của nó cũng được

Địa chỉ liên hệ: Lê Thị Bích Hiền, email: bichhien1987@gmail.com

Ngày nhận bài: 7/4/2019, Ngày đồng ý đăng: 12/6/2019; Ngày xuất bản: 1/7/2019

DOI: 10.34071/jmp.2019.4.3

báo cáo có tác dụng ức chế tế bào ung thư HL60 [8]. Theo giả thuyết cholinergic, các chất ức chế enzyme Acetylcholinesterase (AChE) sẽ làm tăng nồng độ và thời gian hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh Acetylcholine trong não, do đó có khả năng ngăn chặn sự tiến triển của bệnh Alzheimer. Vì vậy, hiện nay, một trong những hướng chủ yếu điều trị bệnh Alzheimer là sử dụng các chất ức chế AChE. Theo khảo sát sơ bộ của nhóm nghiên cứu, dịch chiết methanol thân và rễ loài Gối hạc có khả năng ức chế AChE khá tốt. Đề tài “Nghiên cứu đặc điểm thực vật và hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase của hai loài *Leea* sp. – Họ Gối hạc (*Leeaceae*)” được thực hiện trên hai loài Gối hạc (*Leea rubra* Blume ex Spreng.) và Củ rối bẹ (*Leea curtisii* King.) với mục tiêu nghiên cứu đặc điểm soi bột và vi phẫu của 2 loài này góp phần nhận biết, tiêu chuẩn hóa dược liệu đồng thời xác định hoạt tính ức chế AChE của 2 loài được liệu trên.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là thân và lá của 2 loài: Gối hạc *Leea rubra* Blume ex Spreng. được thu hái ở huyện Đakrông, tỉnh Quảng Trị và Củ rối bẹ *Leea curtisii* King. được thu hái tại huyện Nam Đông, tỉnh Thừa Thiên Huế. Các mẫu cây được định danh tên khoa học bởi TS. Vũ Tiến Chính, Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các mẫu cây tươi sau khi thu hái về được rửa sạch, sấy khô, xay thành bột thô.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm thực vật

2.2.1.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm soi bột

Bột dược liệu được xay đến kích thước phù hợp, sau đó tiến hành làm tiêu bản và theo dõi các đặc điểm trên kính hiển vi, chụp ảnh và mô tả các đặc điểm đặc trưng.

2.2.1.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm vi phẫu

Tiêu bản vi phẫu được thực hiện bằng phương pháp nhuộm kép, theo dõi các đặc điểm trên kính hiển vi, chụp ảnh và mô tả các đặc điểm đặc trưng.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase

2.2.2.1. Phương pháp chiết xuất

Phương pháp chiết xuất dịch chiết toàn phần: dược liệu được chiết siêu âm trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ phòng bằng dung môi methanol, sau đó lọc thu lấy dịch chiết, đem cô chân không thu được cao toàn phần. Phương pháp chiết xuất phân đoạn lỏng - lỏng: cao toàn phần được phân tán vào nước rồi tiến hành chiết phân đoạn lần lượt với các dung môi: *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate. Sau đó, dịch

chiết các phân đoạn được cất thu hồi dung môi thu được cặn của các phân đoạn *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate và nước.

2.2.2.2. Phương pháp nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase

Xác định hoạt tính ức chế AChE bằng phương pháp đo quang dựa trên nguyên tắc của Ellman [4]. Nguyên tắc của phương pháp: Cơ chất Acetylthiocholine iodide (ATCI) bị thủy phân nhờ xúc tác của AChE tạo Thiocholine. Thiocholine phản ứng với thuốc thử 5,5'-dithiobis-nitrobenzoic acid (DTNB) giải phóng ra hợp chất 5-thio-2-nitrobenzoic acid màu vàng. Tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch tạo thành ở bước sóng 405 nm để xác định hoạt tính ức chế AChE. Chất đối chứng dương được sử dụng là Galantamine (Sigma). Quy trình của phương pháp thử nghiệm: thêm lần lượt dung dịch đệm phosphate pH 8, mẫu thử và dung dịch enzym AChE 0,25 IU/ml vào từng giếng của đĩa 96 giếng. Hỗn hợp này được trộn đều và ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dung dịch thuốc thử DTNB 2,4 mM và dung dịch cơ chất ATCI 2,4 mM lần lượt được thêm vào hỗn hợp và trộn đều. Tiếp tục ủ hỗn hợp trong 24 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó dung dịch được đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm. Mỗi mẫu thử được tiến hành lặp lại 3 lần. Hoạt tính ức chế AChE của mẫu thử được tính theo công thức:

$$I\% = \left(1 - \frac{A_t - A_{tr/t}}{A_{dc} - A_{tr/dc}}\right) \times 100\%$$

I%: phần trăm hoạt tính AChE bị ức chế.

A_t và $A_{tr/t}$ lần lượt là độ hấp thụ của mẫu thử và mẫu trắng của mẫu thử.

A_{dc} và $A_{tr/dc}$ lần lượt là độ hấp thụ của mẫu đối chứng và mẫu trắng của mẫu đối chứng.

Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% AChE) được xác định từ phương trình hồi quy tuyến tính giữa phần trăm ức chế AChE và logarit nồng độ của mẫu thử.

3. KẾT QUẢ, BÀN LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu đặc điểm thực vật

3.1.1. Loài Gối hạc *Leea rubra* Blume ex Spreng.

3.1.1.1. Đặc điểm vi phẫu

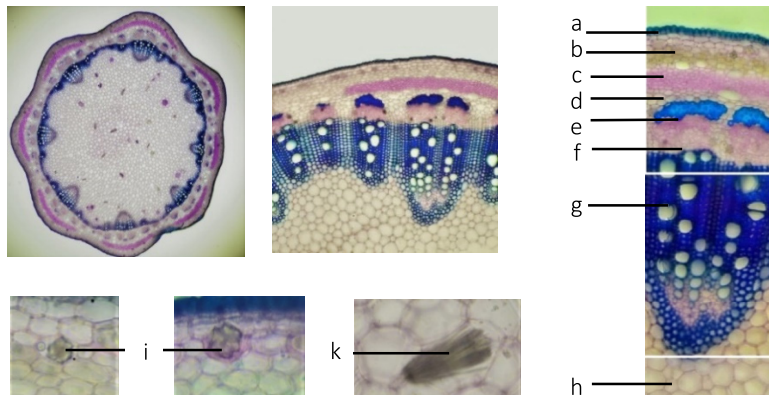
- Đặc điểm vi phẫu thân

Vi phần thân cắt ngang hình tròn, gồm 7 - 8 cạnh lồi không đều nhau, từ ngoài vào trong gồm: Vùng vỏ: Biểu bì gồm một hàng tế bào tương đối đồng đều, lớp cutin dày. Hạ bì gồm 4-6 lớp tế bào hình đa giác hoặc hình bầu dục, xếp chừa những khuyết nhỏ. Mô dày gồm 4 - 6 lớp tế bào có vách dày ở góc, xếp xít nhau thành cung tròn ở cạnh lồi. Mô mềm vỏ gồm 4 - 5 lớp tế bào hình tròn hay hình bầu dục, xếp chừa những khuyết nhỏ. Tinh thể calci oxalate cầu

gai nằm rải rác trong hạ bì và mô mềm vỏ.

Tế bào chứa chất nhầy nằm nhiều trong hạ bì, đôi khi gặp ở mô mềm vỏ. Vùng trung trụ: Cụm mô cứng tập trung từ 4 - 6 cụm tại mỗi chỗ lồi của thân, tế bào mô cứng hình đa giác, xếp xít nhau, ứng với mỗi cụm mô cứng là 1 bó libe gỗ nằm ngay phía

dưới. Libe và gỗ hợp thành từng bó rời, kích thước không đồng đều, các bó to tập trung ở các góc lồi của thân. Mô mềm ruột kích thước không đều, càng vào giữa tế bào càng to, hình đa giác. Các tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim rải rác trong mô mềm ruột.



Hình 1. Vi phẫu thân cây *Leea rubra* Blume ex Spreng.

a. Biểu bì **b.** Hạ bì **c.** Mô dày **d.** Mô mềm vỏ **e.** Mô cứng **f.** Libe **g.** Gỗ **h.** Mô mềm ruột **i.** Tinh thể calci oxalate hình cầu gai **k.** Tinh thể calci oxalate hình kim

- Đặc điểm vi phẫu lá

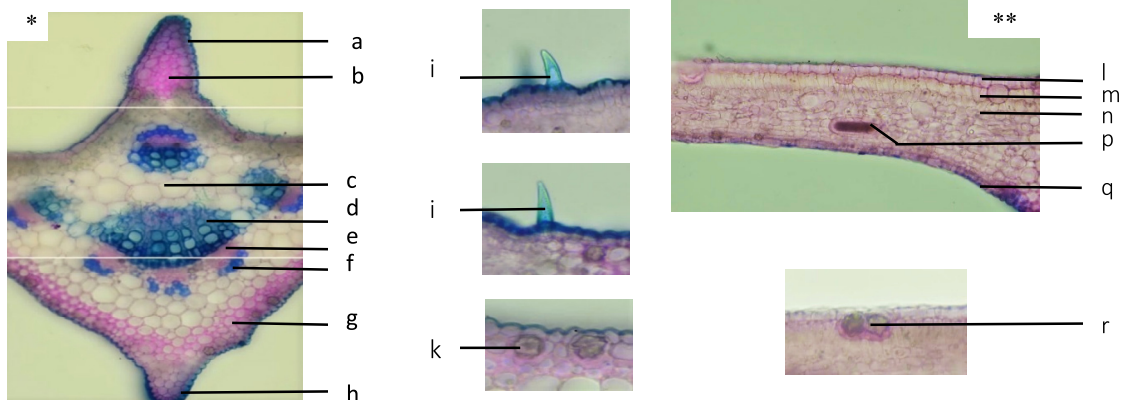
+ Gân lá: Mặt trên có một chóp nhọn kéo dài. Mặt dưới lồi hình chữ V. Từ trên xuống dưới bao gồm: Biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật, lỗ khí rất nhỏ và rất ít gặp. Lông che chở rải rác, thường là lông đơn bào.

Cụm mô dày góc gồm các tế bào thành dày xếp sít nhau, bắt màu hồng sáng; sau đó là một bó libe gỗ nằm trong mô mềm, phía trên bó libe gỗ là 1 cụm mô cứng.

Bó libe gỗ này nằm riêng biệt so với 5-6 bó libe gỗ ở vị trí khoảng giữa gân lá. 5-6 bó libe gỗ giữa gân lá không đều, xếp thành hình cung, các cụm mô cứng

nằm phía dưới mỗi bó libe gỗ. Mô mềm gồm các tế bào hình tròn hay đa giác có kích thước lớn, không đều, càng vào giữa càng lớn. Mô dày dưới gồm 3-4 lớp tế bào dày ở góc. Các tinh thể calci oxalate hình cầu gai rải rác khắp mô dày và biểu bì.

+ Phiến lá: Biểu bì tế bào không đều, hình chữ nhật, lỗ khí nhỏ. Mô giậu 1 lớp tế bào hình chữ nhật thuần dài, xếp khít nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Mô khuyết tế bào hình gần tròn, xếp lộn xộn. Tinh thể calci oxalate hình cầu gai rải rác giữa lớp tiếp giáp mô khuyết và biểu bì dưới. Nằm rải rác trong mô khuyết có các thể cứng chứa bó tinh thể calci oxalate hình kim.



Hình 2. Đặc điểm vi phẫu lá loài *Leea rubra* Blume ex Spreng.

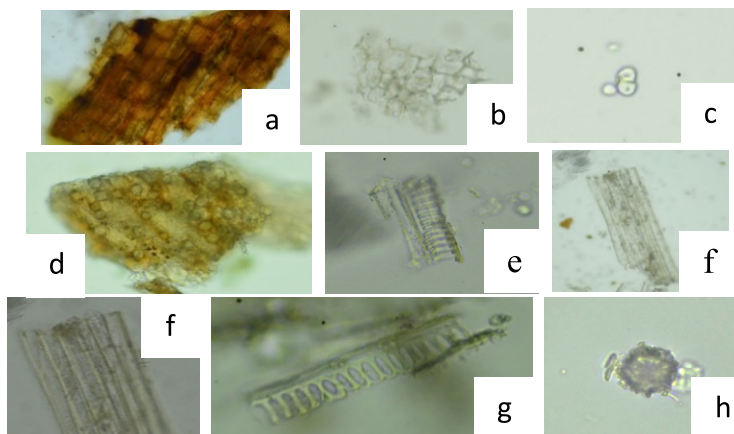
Gân lá (*): **a.** Biểu bì **b.** Mô dày trên **c.** Mô mềm **d.** Gỗ **e.** Libe **f.** Mô cứng **g.** Mô dày dưới **h.** Biểu bì dưới **i.** Lông che chở **k.** Tinh thể calci oxalate.

Phiến lá ():** **l.** Biểu bì trên **m.** Mô giậu **n.** Mô khuyết **p.** Tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim **q.** Biểu bì dưới **r.** Tinh thể calci oxalate cầu gai

3.1.1.2. Đặc điểm soi bột

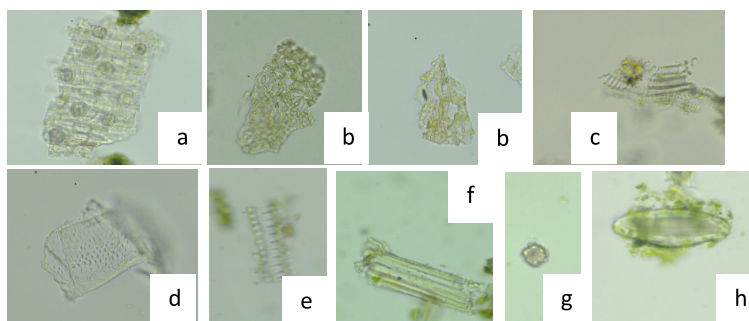
- **Đặc điểm bột thân:** Bột màu lục xám, vị hơi đắng, mùi thơm nhẹ. Soi dưới kính hiển vi thấy các chi tiết: Mảnh bần là những tế bào vàng đậm ngả sang nâu. Mảnh mô mềm là các tế bào thành mỏng. Các hạt tinh bột hình tròn nhỏ, có rốn giữa. Mảnh mô mang tinh thể calci oxalate. Bó sợi. Mảnh mạch xoắn. Mảnh mạch vạch. Các tinh thể calci oxalate hình cầu gai.

- **Đặc điểm bột lá:** Bột màu lục, vị hơi đắng, mùi thơm nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các chi tiết: Mảnh mô mang tinh thể calci oxalate hình cầu gai. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Mảnh mạch điểm. Mảnh mạch vạch. Mảnh mạch xoắn. Tinh thể calci oxalate hình cầu gai rải rác trong bột lá. Bó sợi. Các tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim.



Hình 3. Đặc điểm bột thân Gối hạc *Leea rubra* Blume ex Spreng.

a. Mảnh bần **b.** Mảnh mô mềm **c.** Tinh bột **d.** Mảnh mô mang tinh thể calci oxalate **e.** Mảnh mạch xoắn **f.** Bó sợi **g.** Mảnh mạch vạch **h.** Tinh thể calci oxalate hình cầu gai



Hình 4. Đặc điểm bột lá Gối hạc *Leea rubra* Blume ex Spreng.

a. Mảnh mô mang tinh thể cầu gai **b.** Mảnh biểu bì mang lỗ khí **c.** Mảnh mạch xoắn **d.** Mảnh mạch điểm **e.** Mảnh mạch vạch **f.** Bó sợi **g.** Tinh thể calci oxalate hình cầu gai **h.** Tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim

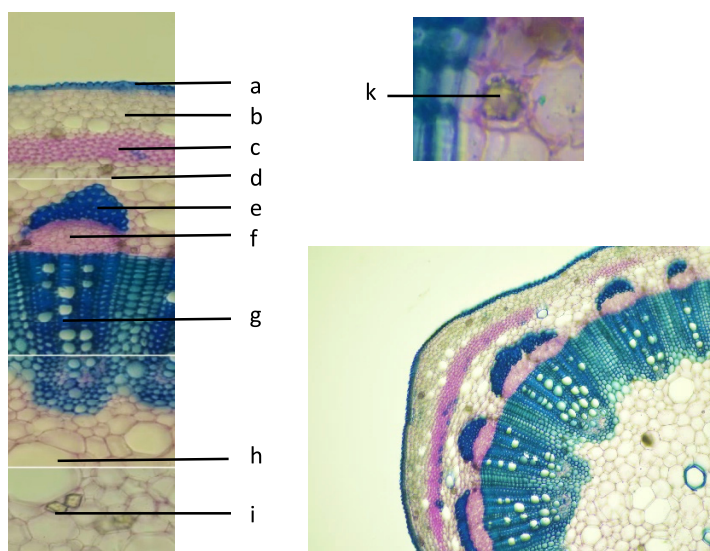
3.1.2. Loài Củ rối bẹ *Leea curtisii* King.

3.1.2.1. Đặc điểm vi phẫu

- Đặc điểm vi phẫu thân

Vi phẫu cắt ngang hình tròn với 4 - 5 cạnh lồi không đều nhau, từ ngoài vào trong gồm: Vùng vỏ: Biểu bì gồm 1 lớp tế bào, lớp cutin dày. Hạ bì có khoảng 5 - 6 lớp tế bào hình đa giác hay hình bầu dục có kích thước không đều nhau, càng đi sâu vào trong kích thước càng lớn, xếp chừa các khuyết nhỏ. Mô dày 5 - 6 lớp tế bào thành dày, xếp xít nhau thành cung tròn ở các vị trí cạnh lồi. Mô mềm vỏ gồm 4 - 5 lớp tế bào hình tròn hay hình bầu dục, xếp chừa những khuyết nhỏ. Tinh thể calci oxalate hình cầu gai nằm rải rác trong hạ bì và mô mềm vỏ. Tế bào chứa chất nhầy nằm nhiều trong hạ bì. Vùng trung trụ: Cụm mô cứng tập trung từ 4-6 cụm tại mỗi chỗ lồi của thân, tế bào mô cứng hình đa giác, thành dày, xếp xít nhau, ứng với mỗi cụm mô cứng là 1 bó libe gỗ nằm ngay phía dưới. Libe và gỗ hợp thành từng bó rời, kích thước không đồng đều, các bó to tập

trung ở các góc lồi của thân. Mô mềm ruột kích thước không đều, càng vào giữa tế bào càng to, hình đa giác hoặc hình trứng. Các tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalat hình kim nằm rải rác trong mô mềm ruột. Các tinh thể calci oxalate hình khối rải rác trong mô mềm ruột.



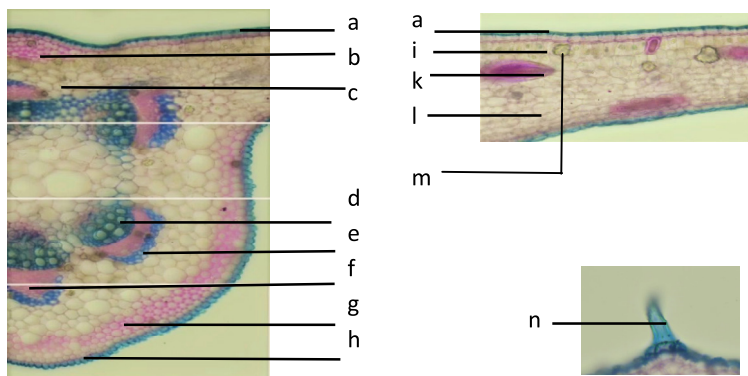
Hình 5. Đặc điểm vi phẫu thân loài *Leea curtisii* King.

a. Biểu bì **b.** Hạ bì **c.** Mô dày **d.** Mô mềm vỏ **e.** Mô cứng **f.** Libe **g.** Gỗ **h.** Mô mềm ruột **i.** Tinh thể hình khối **k.** Tinh thể calci oxalate hình cầu gai

- Đặc điểm vi phẫu lá

+ Gân lá: Mặt trên hơi lồi. Mặt dưới lồi nhiều hình vòng cung. Biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật, lỗ khí rất nhỏ và rất ít gặp. Lông che chở rải rác, thường là lông đơn bào. Mô dày góc gồm các tế bào thành dày xếp sát nhau, tập trung thành cụm. Giữa gân lá gồm 5 - 6 bó libe gỗ không đều xếp thành vòng, bên ngoài mỗi bó libe gỗ có 1 cụm mô cứng thành dày. Mô mềm ruột gồm các tế bào hình tròn hay đa giác có kích thước lớn, không đều, càng vào giữa càng lớn. Mô dày dưới gồm 3 - 4 lớp tế bào dày ở góc. Các tinh thể calci oxalate hình cầu gai rải rác khắp mô mềm và mô dày.

+ Phiến lá: Biểu bì tế bào không đều, hình chữ nhật. Mô giậu là 1 lớp tế bào hình chữ nhật thuôn dài, xếp khít nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Mô khuyết tế bào hình gần tròn, xếp lộn xộn. Tinh thể calci oxalate hình cầu gai rải rác giữa lớp tiếp giáp mô khuyết và biểu bì dưới. Các tế bào cứng chứa bó tinh thể calci oxalate hình kim gặp thường xuyên, đặc biệt trong phần mô khuyết.



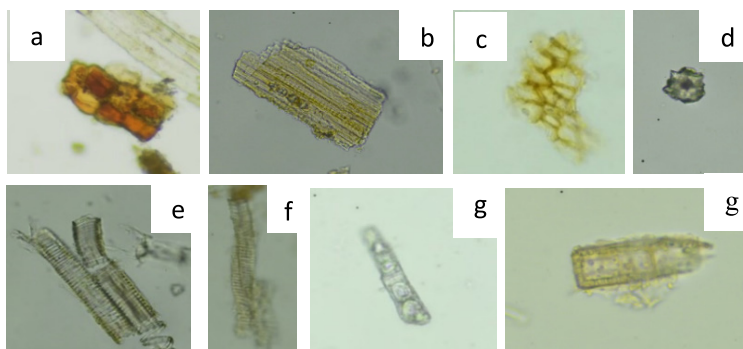
Hình 6. Đặc điểm vi phẫu lá *Leea curtisii* King.

a. Biểu bì **b.** Mô dày trên **c.** Mô mềm **d.** Gỗ **e.** Mô cứng **f.** Libe **g.** Mô dày dưới **h.** Biểu bì dưới **i.** Mô giậu **k.** Tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim **l.** Mô khuyết **m.** Tinh thể calci oxalate cầu gai **n.** Lông che chở

3.1.2.2. Đặc điểm soi bột

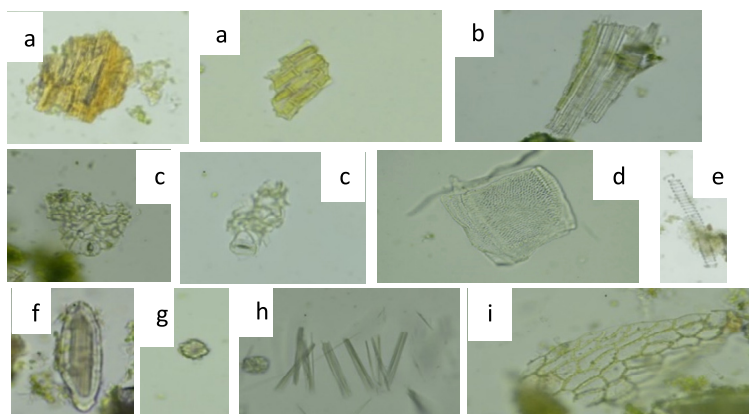
- **Đặc điểm bột thân:** Bột màu lục xám, vị hơi đắng, mùi thơm nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các chi tiết: Mảnh bần là những tế bào vàng đậm ngả sang nâu. Mảnh mô mềm là các tế bào thành mỏng. Bó sợi. Mảnh mạch xoắn. Mảnh mạch vạch. Các tinh thể calci oxalate hình cầu gai. Tế bào cứng có hình chữ nhật, thành dày.

- **Đặc điểm bột lá:** Bột màu lục, vị hơi đắng, mùi thơm nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các chi tiết: Mảnh bần. Sợi. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Mảnh mạch điểm. Mảnh mạch xoắn. Tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim. Tinh thể calci oxalate cầu gai. Tinh thể calci oxalate hình kim gấp phổ biến. Mảnh mô mềm.



Hình 7. Đặc điểm bột thân loài *Leea curtisii* King.

a. Mảnh bần **b.** Sợi **c.** Mảnh mô mềm **d.** Tinh thể calci oxalate cầu gai **e.** Mảnh mạch xoắn **f.** Mảnh mạch vạch **g.** Tế bào cứng



Hình 8. Đặc điểm bột lá loài *Leea curtisii* King.

a. Mảnh bần **b.** Sợi **c.** Mảnh biểu bì mang lỗ khí **d.** Mảnh mạch điểm **e.** Mảnh mạch xoắn **f.** Tế bào cứng mang bó tinh thể calci oxalate hình kim **g.** Tinh thể calci oxalate cầu gai **h.** Tinh thể calci oxalate hình kim **i.** Mảnh mô mềm

Kết quả nghiên cứu là báo cáo đầu tiên mô tả đặc điểm vi phẫu và soi bột lá và thân loài *Leea curtisii* King. Các đặc điểm vi phẫu và soi bột của loài *Leea rubra* Blume ex Spreng. được mô tả trong đề tài phù hợp với nghiên cứu tương tự của Nguyễn Thị Phương vào năm 2014 trên mẫu loài này được thu hái ở huyện Thanh Trì, Hà Nội [3]. Các kết quả về đặc điểm vi học của 2 loài nghiên cứu là cơ sở quan trọng giúp góp phần nhận biết, tiêu chuẩn hoá dược liệu, tạo cơ sở khoa học cho quá trình thu mẫu và kiểm nghiệm dược liệu.

Nghiên cứu cũng góp phần chỉ ra các đặc điểm đặc trưng nhất về vi phẫu và soi bột giúp nhận biết 2 loài dược liệu thuộc chi *Leea* này, bao gồm: Các tế bào cứng mang tinh thể calci oxalate hình kim đặc trưng xuất hiện thường xuyên trong phiến lá và rải rác trong mô mềm ruột ở thân, các tế bào cứng này cũng được tìm thấy nguyên vẹn ở tiêu bản soi bột của lá 2 loài nghiên cứu; Tương ứng với mỗi bó libe-gỗ là một cụm mô cứng ngay phía trên, kể cả bó libe-gỗ trong thân và trong gân chính của lá; Các tinh thể calci oxalate hình cầu gai nằm rải rác trong hạ bì và mô

mềm vỏ của thân, mô dày của gân lá và lớp tiếp giáp giữa mô khuyết và biểu bì dưới của phiến lá; Hạ bì và mô mềm vỏ của thân xếp chừa những khuyết nhỏ.

Ngoài ra, các đặc điểm vi học khác biệt nổi bật giúp phân biệt 2 loài nghiên cứu có thể chỉ ra như sau: Về hình dạng gân lá: loài Gối hạc mặt trên gân lá có một chóp nhọn kéo dài đặc trưng, mặt dưới lồi hình chữ V trong khi loài Củ rổi bẹ mặt trên gân lá hơi lồi, mặt dưới lồi hình vòng cung; trong phiến lá, số lượng tế bào cứng mang tinh thể calci oxalate hình kim xuất hiện ở loài Củ rổi bẹ nhiều hơn so với

loài Gối hạc; loài Gối hạc có vi phẫu cắt ngang thân gồm 7 - 8 cạnh lồi không đều nhau, trong khi đó loài Củ rổi bẹ gồm 3 - 4 cạnh lồi không đều nhau.

3.2. Kết quả nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme Acetylcholinesterase

Hoạt tính ức chế AChE của dịch chiết toàn phần và dịch chiết phân đoạn 2 loài nghiên cứu được đánh giá ở nồng độ 100 µg/ml. Sau đó, dịch chiết toàn phần và dịch chiết phân đoạn có hoạt tính ức chế enzyme AChE mạnh nhất của mỗi loài được tiếp tục xác định giá trị IC_{50} .

Bảng 1. Hoạt tính ức chế AChE của dịch chiết toàn phần và dịch chiết phân đoạn 2 loài *Leea rubra* Blume ex Spreng. và *Leea curtisii* King.

<i>Leea rubra</i> Blume ex Spreng.					<i>Leea curtisii</i> King.				
	STT	Mẫu nghiên cứu	% Ức chế (%)	$IC_{50} \pm SD$ (µg/ml)		STT	Mẫu nghiên cứu	% Ức chế (%)	$IC_{50} \pm SD$ (µg/ml)
Lá	1	Methanol	53,88	$92,47 \pm 0,66$	Lá	11	Methanol	64,52	$68,95 \pm 1,91$
	2	n-hexane	24,98	-		12	n-hexane	29,44	-
	3	Chloroform	44,23	-		13	Chloroform	42,13	-
	4	EA	56,21	$84,96 \pm 2,56$		14	EA	73,31	$42,44 \pm 1,21$
	5	Nước	-	-		15	Nước	48,00	-
Thân - Rễ	6	Methanol	65,58	$63,32 \pm 2,18$	Thân - Rễ	16	Methanol	52,41	$97,96 \pm 0,81$
	7	n-hexane	26,17	-		17	n-hexane	-	-
	8	Chloroform	15,88	-		18	Chloroform	44,42	-
	9	EA	66,83	$58,28 \pm 1,05$		19	EA	53,25	$94,30 \pm 1,28$
	10	Nước	37,31	-		20	Nước	-	-
						21	Galantamine		$0,33 \pm 0,01$

Chú thích:

EA: ethyl acetate

(-): không xác định

Dịch chiết toàn phần và dịch chiết phân đoạn 2 loài nghiên cứu có tác dụng ức chế AChE ở mức độ trung bình với các giá trị IC_{50} từ 42,44 đến 97,96 µg/ml.

Đáng chú ý, phân đoạn có hoạt tính tốt nhất của 2 loài nghiên cứu đều là phân đoạn ethyl acetate. Trong đó, đối với loài *L. rubra*, dịch chiết ethyl acetate từ thân và rễ cây có hoạt tính mạnh nhất trong tất cả các phân đoạn với giá trị IC_{50} $58,28 \pm 1,05$ µg/ml. Đối với loài *L. curtisii*, dịch chiết phân đoạn ethyl acetate từ lá cây thể hiện hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} $42,44 \pm 1,21$ µg/ml. Chất đối chứng dương Galantamine cho giá trị IC_{50} $0,33 \pm 0,01$ µg/ml. Các kết quả này sẽ góp phần định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo để chiết xuất phân lập các hợp chất có hoạt tính ức chế AChE từ các phân đoạn có tiềm năng.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã mô tả các đặc điểm vi phẫu và soi bột của 2 loài *Leea rubra* Blume ex Spreng. và *Leea curtisii* King., thuộc chi *Leea* D. Royen ex L., họ Leeaceae, đã chỉ ra những đặc điểm vi học đặc trưng nhất giúp nhận biết và so sánh các đặc điểm vi học khác nhau của 2 loài được liệu này. Về hoạt tính sinh học, dịch chiết toàn phần và dịch chiết các phân đoạn của 2 loài nghiên cứu đều có tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase ở mức độ trung bình với các giá trị IC_{50} trong khoảng 42,44 - 97,96 µg/ml. Trong đó, 2 phân đoạn thể hiện hoạt tính tốt nhất là phân đoạn ethyl acetate từ lá loài *Leea curtisii* King. và phân đoạn ethyl acetate từ thân và rễ loài *Leea rubra* Blume ex Spreng. với các giá trị IC_{50} tương ứng là $42,44 \pm 1,21$ µg/ml và $58,28 \pm 1,05$ µg/ml.

Lời cảm ơn: Kết quả nghiên cứu được tài trợ bởi đề tài KHCN cấp Trường Đại học Y Dược Huế, mã số: 09/18.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi (2018), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, tập 1, Nhà xuất bản Y học, tr. 1046-1049.
2. Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thuỳ Dương, Đậu Thị Giang, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Phương (2016), "Nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của cây Gối hạc", *Tạp chí Dược học*, 481, tr. 34-37,44.
3. Nguyễn Thị Phương, Trịnh Thị Nga, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Minh Khởi, Phương Thiện Phương (2013), "Nghiên cứu đặc điểm thực vật của cây Gối hạc", *Tạp chí Dược liệu*, 18, tr. 118-123.
4. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V. Jr., Feather-Stone R. M. (1961), "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity", *Biochem Pharmacol*, 7, pp. 88-95.
5. Houghton P. J., Ren Y., Howes M. J. (2006), "Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi", *Nat Prod Rep*, 23(2), pp. 181-199.
6. Neji P.A., Ushie O.A., Neji H.A., Opara I.J., Ojong O.O. (2017), "Phytochemical screening and antimicrobial activity of extracts of *Leea guineensis* stem bark", *International Journal of Modern Chemistry*, 9, pp. 1-9.
7. Sarinya K., Panee S., Siriwoot S., Suntara E., Sunee C. (2014), "Antibacterial and Antioxidant Activities of Various Fraction of *Leea rubra* (Leeaceae)", *Journal of Natural Sciences Research*, 4, pp. 2224-3186.
8. Tan Pei Jean, Ong Cheng Yi, Danial Asma, Yusof Hirzun Mohd, Neoh Bee Keat, Lee Hong Boon (2011), "Cyclic tetrapyrrolic photosensitisers from the leaves of *Phaeanthus ophthalmicus*", *Chemistry Central journal*, 5, pp. 32-32.