



kim tuyến đã được sử dụng để điều trị các chứng đau ngực và đau bụng (Hu, 1971), bệnh tiểu đường và viêm thận (Chiu and Chang, 1995), sốt, tăng huyết áp, liệt dương, rối loạn gan, lá lách và đau phế mạc (Kan, 1986). Ngoài ra chúng còn được sử dụng như một loài thảo mộc để điều trị rắn cắn (Kan, 1986). Tại Malaysia, loài Lan kim tuyến được dùng để điều trị lao phổi (Gutierrez 2010). Tại Đài Loan và Trung Quốc, loài Lan kim tuyến còn được gọi là “Vua thảo dược” vì tác dụng dược lý đa dạng để điều trị các bệnh: ho ra máu, tiểu đường, viêm thận, viêm bàng quang, nhược cơ, thấp khớp và viêm khớp dạng thấp, co giật do sốt và rắn cắn (National Compendium of Chinese Herbal Medicine Editorial Board, 1978; Chinese Herbalism Editorial Board, 1999; Jiangsu Institute of Botany, 1990). Ngoài ra nó còn được sử dụng cho trẻ em để điều trị các bệnh sốt và viêm nhiễm (Fujian Forestry Science Research Institute, 1960).

Gần đây, những nghiên cứu đã xác định được các thành phần hợp chất thứ cấp trong Lan kim tuyến như: axit stearic, axit palmitic, axit succinic, axit p-hydroxy cinnamic, o-hydroxy phenol, beta-sitosterol, daucosterol, gastrodin (4-(β-D-glucopyranosyl oxy) benzyl alcohol), gastrodigenin (p-hydroxybenzyl alcohol), và Kinsenoside (3-(R)-3-β-D-glucopyranosyloxybutanolide). He et al. (2005) đã chứng minh được trong cao chiết của Lan kim tuyến có các hợp chất p-hydroxybenzaldehyd, axit ferulic, quercetin, daucosterol, cirsilinol, sorghumol, friedelin, axit palmitic, hỗn hợp 2 sterol (24-isopropenylcholesterol và 26-methylstigmasta-5,22,25,(27) trien-3-beta-ol), sitosterol, stigmasterol và campesterol. Tiếp đó, năm 2006, He et al. tiếp tục phát hiện một số hợp chất flavonoid glucosid mới trong loài này gồm quercetin-7-O-β-D-[6"-O-(trans-feruloyl)]-glucopyranosid, 8-C-p - hydroxybenzyl-quercetin, isorhamnetin-7-O-β-D-glucopyranosid, isorhamnetin-3-O-β-D-glucopyranosid, kaempferol-3-O-β-D-glucopyranosid, kaempferol-7-O-β-D-glucopyranosid, 5-hydroxy-3',4',7-trimethoxyflavonol-3-O-β-D-rutinosid, và isorhamnetin-3-O-β-D-rutinosid.

Liu et al. (2014) cũng đã phân tích được hai dẫn xuất 3-hydroxybutanolid mới là kinsenbenol và kinsendioside và một flavonoid glucosid mới là roxburosides từ loài Lan kim tuyến *A. roxburghii*. Các nghiên cứu khác của Huang et al. 2007; Wang and Xiong (2014), và Du et al. (2000) cũng đã phân tích được các hợp chất ergosterol, stigmasterol, xác định được hàm lượng Kinsenoside, các hợp chất glycoside: 2-(β-D-glucopyranosyloxymethyl)-5-hydroxymethylfuran, 3-(R)-3-β-D-glucopyranosyloxybutanolid (Kinenoside), acid

3-(R)-3-β-D-glucopyranosyloxy-4-hydroxybutanoic, 1-O-isopropyl-β-D-glucopyranosid, acid (R)-(+)-3,4-dihydroxy-butanoic γ-lacton, 4-(β-D-glucopyranosyloxy) benzyl alcohol, (6R,9S)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-on-9-O-β-D-glucopyranosid, corchoinosid C. Các hợp chất trong *Anoectochilus*. đều được chứng minh có hoạt tính sinh học và hoạt tính dược lý quan trọng.

Lan kim tuyến đã được nghiên cứu từ những năm 1980s (Arditti, 2008), cho đến nay đã có rất nhiều nghiên cứu chuyên sâu về loài lan này ở trên cả thế giới và trong nước. Tuy nhiên, những nghiên cứu tổng quan về Lan kim tuyến còn hạn chế. Trên thế giới có các nghiên cứu tổng quan về Lan kim tuyến nhưng chỉ trên loài nhất định như: *A. roxburghii*: Đánh giá về hợp chất thứ cấp, dược lý học và ứng dụng lâm sàng (Shenyi et al. 2017); phân lập, cấu trúc và hoạt tính sinh học của polysaccharide chiết xuất từ *A. roxburghii* (Yi et al. 2023); nghiên cứu thành phần hoạt tính sinh học của *A. formosanus* (Du and Shoyama 2011); hoặc chỉ trên hợp chất chính Kinsenoside: Hoạt tính sinh học đầy hứa hẹn từ loài *Anoectochilus* (Qi et al. 2018). Trong khi đó, tại Việt Nam, hiện tại vẫn chưa có bất kỳ nghiên cứu tổng quan nào về loài lan này. Chính vì vậy chúng tôi thực hiện bài báo này nhằm tổng hợp những kết quả nghiên cứu đạt được về nhân giống *in vitro*, nuôi trồng, hoạt tính sinh học và tiềm năng ứng dụng của Lan kim tuyến.

## 2. NHÂN GIỐNG IN VITRO

Chow et al. (1982) đã xây dựng thành công quy trình nhân giống vô tính loài *A. formosanus* tại Đài Loan. Tại Việt Nam, Ket et al. (2004), đã nghiên cứu quy trình nhân nhanh *in vitro* ở loài *A. formosanus* từ chồi trên môi trường Hyponex (H3): 6,5N-4,5P-19K 1 g/L + 20N-20P-20K 1 g/L + 2 g/L peptone + 1 mg/L benzyladenine (BAP) hoặc 1-2 mg/L Thidiazuron (TDZ) + 1% than hoạt tính. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ tái sinh và ra rễ từ mẫu nuôi cấy là 100%. Phê và cộng sự (2010a) cũng đã nghiên cứu kỹ thuật nhân nhanh chồi *in vitro* loài *A. Roxburghii*. Kết quả cho thấy thể chồi 8 tuần tuổi từ phôi hạt chín và chồi từ thể chồi cao 2 – 3 cm là phù hợp nhất để nhân nhanh. Theo đó, môi trường Knud bổ sung 0,5 mg/L BAP + 0,3 mg/L kinetin + 0,3 mg/L Naphthalene axit axetic (NAA) + 100 g/L dịch chiết khoai tây + 20 g/L sucrose + 7 g/L agar + 0,5 g/L activated charcoal (AC) là môi trường phù hợp nhất để nhân giống nhanh. Tương tự, theo kết quả nghiên cứu trên loài *A. setaceus* của Thạch và cộng sự (2012), môi trường Knud bổ sung 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,3 mg/l αNAA + 20 g/l sucrose + 0,5 g/l than hoạt tính + 7 g agar/L cho thấy mẫu phù hợp

nhất để nhân nhanh là thể chồi và mắt đốt ngang thân, hệ số nhân chồi là 6,55 chồi/mẫu, tỷ lệ ra rễ là 100% và số rễ/chồi (4,21 rễ/chồi).

Sukamto et al. (2011) đã so sánh sự khác nhau giữa *A. setaseus* và *A. formasanus* khi sử dụng TDZ trong nhân giống *in vitro*. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng môi trường nhân giống chứa 0,1 mg/L TDZ là tốt nhất đối với *A. setaseus* và 0,5 mg/L đối với *A. formasanus*. Số lá nhiều nhất ở *A. setaseus* và *A. formasanus* khi sử dụng TDZ lần lượt là 0,001 mg/L và 0,005 mg/L; số chồi và số rễ tốt nhất được tạo ra trên môi trường TDZ đối với loài *A. setaseus* và *A. formasanus* lần lượt là 0,01 mg/L, 0,05 mg/L và 0,001 mg/L, 0,005 mg/L. Tiếp đó, Sherif et al. (2012) khi nghiên cứu về loài *A. elatus* đã chỉ ra rằng số chồi tốt nhất được quan sát ở nồng độ TDZ là 3 mg/L và chiều dài chồi đạt cao nhất ở nồng độ Kinetin là 3,5 mg/L đối với mắt đốt thân; 0,01 mg/L đối với chồi đỉnh.

Anh và cộng sự (2013) đã nhân giống *in vitro* loài *A. roxburghii* bằng phương pháp nuôi cấy lát mỏng (thin cell layer-TCL). Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng đỉnh sinh trưởng và đoạn thân mang chồi nách (2 – 3 cm) của cây tự nhiên được khử trùng bằng HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong 10 phút là thích hợp nhất, cho tỷ lệ mẫu sống 86,1% đối với đỉnh sinh trưởng và 84,77% với đoạn thân mang chồi nách. Môi trường MS cơ bản bổ sung 1,0 mg/L Kinetin thích hợp cho đỉnh sinh trưởng và đoạn thân mang chồi nách; tái sinh chồi sau 8 tuần (1,42 chồi/đỉnh sinh trưởng; 1,53 chồi/đoạn thân). Đoạn thân của chồi *in vitro* được cắt thành lát mỏng 1 – 1,5 mm để sử dụng cho tái sinh chồi. Môi trường tốt nhất dùng để tái sinh là ½ MS bổ sung 1 mg/L Kinetin + 0,8 mg/L NAA cho số chồi hình thành lớn nhất đạt 3,4 chồi/TCL.

Cường và cộng sự (2015) cũng đã nghiên cứu ảnh hưởng một số yếu tố lên quá trình sinh trưởng và phát triển của *A. setaseus* nuôi cấy *in vitro*. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường Schenk & Hilderandt (SH) có bổ sung 1,0 mg/L BA đạt cao nhất về chiều cao chồi (6,70 cm), số đốt (6,33 đốt/mẫu), khối lượng tươi (1,41 g), khối lượng khô (0,1751 g). Sau đó, các mắt đốt tiếp tục được nuôi cấy trên môi trường bổ sung 1,0 mg/L BA kết hợp αNAA ở các nồng độ khác nhau nhằm tìm ra môi trường thích hợp cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chồi cây Lan kim tuyến. Sau 2 tháng nuôi cấy, môi trường có bổ sung 1,0 mg/L BA kết hợp 1,0 mg/L αNAA các chồi có sự sinh trưởng và phát triển tốt nhất (chiều cao chồi: 9,03 cm; số đốt: 9,33 đốt/mẫu; khối lượng tươi: 2,63 g và khối lượng khô: 0,2187 g), hệ rễ phát triển mạnh (số rễ: 7,33 rễ/mẫu; chiều dài rễ: 1,36 cm).

Tương tự, Luận và cộng sự (2015) nghiên cứu

về vi nhân giống và định tính hoạt chất β-sitosterol trên loài *A. setaseus*. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường nuôi cấy phù hợp cho quá trình sinh trưởng và phát triển chồi Lan kim tuyến *in vitro* là SH lỏng với giá thể bông gòn có bổ sung 30 g/L đường, 0,5 mg/L NAA, 1,0 mg/L BA và 1,5 g/L than hoạt tính. Ảnh hưởng của vị trí đốt thân lên quá trình nhân nhanh chồi cũng được khảo sát, kết quả tại vị trí số 5 và 6 chỉ tạo một chồi đơn và phát triển thành cây hoàn chỉnh trên cả hai môi trường rắn và lỏng. Ở vị trí số 4 đã có sự gia tăng về chồi bên, tuy nhiên vẫn nhận thấy hiện tượng ưu thế ngọn ở chồi chính. Trên vị trí của đốt số 1, 2 và 3 có sự hình thành cụm đa chồi với mỗi mắt hình thành một chồi mới không có sự hình thành lá và đạt cao nhất với hệ số nhân giống 10 chồi/mẫu.

Hà và cộng sự (2017) đã chứng minh ảnh hưởng của các loại và nồng độ các chất và chất điều hòa sinh trưởng thực vật tới khử trùng mẫu, nhân chồi, kéo dài chồi và ra rễ khi nghiên cứu kỹ thuật nhân giống trên loài *Anoectochilus* sp. Kết quả cho thấy mẫu chồi được khử trùng đạt kết quả tốt nhất ở nồng độ Javel 30% trong thời gian 20 phút cho tỷ lệ mẫu sống sạch là 50%. Mẫu cây sau đó được chuyển sang môi trường MS có bổ sung BA để cảm ứng tạo chồi. Tỷ lệ nhân chồi cao nhất trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA với số chồi và chiều cao chồi tương ứng là 23,9 chồi/mẫu, 1,1 cm/chồi. Môi trường MS có bổ sung 0,3 mg/L BA và 0,3 mg/L NAA cho kết quả vươn chồi tốt nhất với chiều cao trung bình chồi là 3,9 cm/chồi. Chồi được ra rễ trong môi trường MS có bổ sung 1 mg/L IBA chiều dài trung bình là 4,4 rễ/cây và 2,8 cm/chồi.

Nghiên cứu khác của Ty và Hiền (2020) trên loài *A. roxburghii* khi sử dụng đốt thân chứa chồi ngủ cho thấy môi trường tối ưu là MS + 0,3 mg/L Kinetin + 1 mg/L BA + 0,1 mg/L TDZ, bổ sung các chất dinh dưỡng khác để cảm ứng tạo chồi. Tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 87% sau 45 ngày nuôi cấy. Tỷ lệ tạo cụm chồi là 80,05%, số chồi trên cụm là 9,2 chất lượng chồi rất tốt trên môi trường ½ MS, bổ sung 20 g/L sucrose, kết hợp 0,4 mg/L kinetin + 1 mg/L BA + 0,2 mg/L TDZ. Chiều cao chồi đạt 8 cm, số đốt là 6,5 đốt/thân trên môi trường ½ MS kết hợp 1,0 mg/L BA và 0,5 mg/L NAA.

Haque et al. (2016) đã nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng đến quá trình nhân giống *in vitro* loài *A. formasanus*. Kết quả cho thấy nhân giống *in vitro* dưới đèn LED xanh lá cây với quang kỳ 16 giờ/ngày trong 6 tuần thì trọng lượng tươi đạt 158,5 mg, tỷ lệ hình thành chồi tối đa đạt 92% và tỷ lệ hình thành rễ đạt 56%. Kết quả này chỉ ra ánh sáng LED xanh có tác dụng thúc đẩy số lượng chồi, lá và rễ tối đa của cây con mà không cần bất

kỳ chất điều hòa sinh trưởng nào khác.

Như vậy, nhân giống *in vitro* Lan kim tuyến đã được đánh giá và nghiên cứu sâu rộng (Bảng 1). Hầu hết các kết quả đều cho thấy rằng môi trường Knud và môi trường MS có bổ sung các chất như Kinetin, BAP, αNAA và TDZ là thích hợp nhất để nhân nhanh loài *Anoectochilus* sp. Bên cạnh đó nghiên cứu của Haque et al. (2016) cũng đã

chứng minh được rằng ánh sáng đèn LED xanh có tác dụng quan trọng trong sự sinh trưởng và phát triển của loài lan này. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Luận và cộng sự (2015) cũng đã đưa ra một phương pháp tiếp cận nhân giống khác bằng cách sử dụng môi trường lỏng lác mà kết quả tương đương khi nhân giống trên môi trường rắn thông thường.

**Bảng 1. Nhân giống *in vitro* Lan kim tuyến**

Loài nghiên cứu	Môi trường nghiên cứu	Tác giả
<i>A. formosanus</i>	Hyponex (H3): 6.5N-4.5P-19K 1 g/L + 20N-20P-20K 1 g/L + 2 g/L peptone + 1 mg/L BAP hoặc 1-2 mg/L TDZ + 1% than hoạt tính	Kết và cộng sự (2004)
<i>A. roxburghii</i> (Wall.) Lindl.	Knud + 0,5 mg/L BAP + 0,3 mg/L kinetine + 0,3 mg/L NAA + 100 mL/L ND + 100 g/L dịch chiết khoai tây + 20 g/L sucrose + 7 g/L agar + 0,5 g/L AC.	Phê và cộng sự (2010a)
<i>A. roxburghii</i> (Wall.) Lindl.	Knud + 0,5 mg/L BAP + 0,3 mg/L kinetine + 0,3 mg/L NAA + 100 g/L dịch chiết khoai tây + 20 g/L sucrose + 7 g/L agar + 0,5 g/L AC.	Thạch và cộng sự (2012)
<i>A. setaseus</i>	MS + 0,1 mg/L TDZ	Sukamto et al. (2011)
<i>A. formosanus</i>	MS + 0,5 mg/L TDZ	
<i>A. elatus</i> Lindley	MS + 3 mg/L TDZ	Sherif et al. (2012)
<i>A. roxburghii</i> (Wall.) Lindl.	½MS bổ sung 1 mg/L kinetine + 0,8 mg/L NAA	Anh và cộng sự (2013)
<i>A. setaseus</i> Blume	SH có bổ sung 1,0 mg/L BA	Cường và cộng sự (2015)
<i>A. setaseus</i> Blume	SH lỏng với giá thể bông gòn có bổ sung 30 g/L đường, 0,5 mg/L NAA, 1,0 mg/L BA và 1,5 g/L than hoạt tính.	Luận và cộng sự (2015)
<i>Anoectochilus</i> sp.	MS có bổ sung 1 mg/L BA	Hà và cộng sự (2017)
<i>A. roxburghii</i> (Wall.) Lindl.	MS + 0,3 mg/L Kinetin + 1 mg/L BA + 0,1 mg/L TDZ	Ty và Hiên (2020)

### 3. NUÔI TRỒNG

Lan kim tuyến sau khi được nhân giống *in vitro* tiếp tục được nghiên cứu trên điều kiện *ex vitro* để có thể bảo tồn nguồn gen hoặc tạo vùng nguyên liệu. Gangaprasad et al. (2000) đã nuôi trồng thử nghiệm hai loài *A. sikkimensis* và *A. regalis* trên điều kiện *ex vitro*. Sau sáu tháng nuôi trồng trong nhà kính, các chậu lan tiếp tục được nuôi dưới tán rừng tự nhiên. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống sót đạt trên 70% sau 12 tháng nuôi trồng. Tiếp đó, Pandey et al. (2006) đã khảo sát ảnh hưởng của mức chiếu xạ đến quá trình quang hợp trong quá trình thích nghi *ex vitro* của cây con *A. formosanus*. Nghiên cứu đã thực hiện trên ba thí nghiệm: mức chiếu xạ thấp (LI: 60µmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); bức xạ trung gian (II: 180µmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); và bức xạ cao (HI: 300µmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) trong 30 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy: ở thí nghiệm II có sự gia tăng đáng kể hàm lượng diệp lục, tốc độ quang hợp, độ dẫn khí khổng và hoạt tính của enzyme ribulose-

1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Kết quả này cho thấy sử dụng bức xạ trung gian là hiệu quả nhất cho cây con *Anoectochilus* trong quá trình thích nghi *ex vitro*.

Chang et al. (2007) đã đưa ra một phương pháp mới để nuôi trồng Lan kim tuyến. *A. formosanus*: *A. formosanus* được trồng trong chậu nhựa với giá thể là vỏ cây lên men và hai chậu được bao trong một túi nhựa OPP trong suốt để hạn chế mất nước và côn trùng xâm nhập (PBCM). Sau đó, cây được đặt trên kệ trong nhà kính hoặc dưới tán cây. Kết quả cho thấy, số lượng lá, chiều dài và chiều rộng của lá và số lượng rễ ở cả hai thí nghiệm tương đương nhau. Tuy nhiên, chiều cao và trọng lượng tươi của cây được nuôi trong túi cao hơn 1,28 và 1,12 lần so với đối chứng. Tương tự, Cheng và Chang (2009) cũng đã nghiên cứu phản ứng tăng trưởng và thành phần hoạt động của *A. formosanus* trên điều kiện *ex vitro*. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy tỷ lệ sống sót ở điều kiện *ex vitro* là trên 80%

sau bảy tháng nuôi trồng; và nếu cây không được nuôi trồng bằng phương pháp PBCM thì tất cả cây sẽ chết nếu không phun thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt nấm. Tiếp theo, Huyền và cộng sự (2016) đã nghiên cứu nhân giống *in vitro* và nuôi trồng cây Lan kim tuyến (*A. lylei*) ở điều kiện *ex vitro*. Nghiên cứu đã sử dụng giá thể là vụn xơ dừa, tro trấu, phân Nitrophoska® Foliar và vườn ươm có mái che mưa và che lưới đen chắn 80 – 85% ánh sáng, nhiệt độ 20 – 25°C, độ ẩm 80 – 85%. Kết quả cho thấy sau 120 ngày nuôi trồng, tỷ lệ sống sót của cây đạt 100% và cây sinh trưởng tốt nhất ở nồng độ 2 g/L phân Nitrophoska® Foliar với chiều cao cây là 11,0 cm; chiều dài rễ 7,60 cm và khối lượng tươi 1,81 g/cây.

Việc nuôi trồng Lan kim tuyến ở điều kiện *ex vitro* là cần thiết với mục đích không những bảo tồn nguồn gen mà còn định hướng phát triển các vùng dược liệu. Những vùng dược liệu này sẽ cung cấp nguồn nguyên liệu phục vụ cho mục đích sản xuất các loại thực phẩm chức năng hoặc thuốc điều trị bệnh.

## 4. HOẠT TÍNH SINH HỌC

### 4.1. Kháng oxy hóa

Khi nghiên cứu sâu hơn về các thành phần hóa học của *A. roxburghii*, He et al. (2005), đã tập trung chủ yếu vào ba loại flavonoid là quercetin, kaempferol và isorhamnetin. Tác giả đã cho thấy hầu hết các flavonoid và glycoside trong Lan kim tuyến đều có hoạt tính kháng oxy hóa nhờ vào khả năng cho phép loại bỏ các gốc tự do. Tương tự khi nghiên cứu trên loài *A. roxburghii*, Wan and Xiong (2014) cũng đã chứng minh được khả năng kháng oxy hóa từ hợp chất Flavonoid của cây Lan kim tuyến.

Nghiên cứu của Phatcharaporn et al. (2016) đã chứng minh dịch chiết toàn phần của *Anoectochilus burmannicus* có khả năng loại bỏ gốc 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) lên đến 70% ( $p < 0.05$ ) theo cách phụ thuộc liều lượng với nồng độ ức chế 50% (IC 50) là  $3,39 \pm 0,23$  mg/mL. Tương tự, Gám và cộng sự (2017), cũng đã chứng minh được hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất Flavonoid chiết xuất từ ba loài Lan kim tuyến tại Việt Nam là: *A. roxburghii*, *A. lylei* và *A. anamensis*. Nghiên cứu đã chứng minh được hợp chất flavonoid thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt thông qua phản ứng oxy hóa indigocarmin bởi enzyme peroxydaza ở các nồng độ từ 10 – 200 µg/mL trên nhóm máu O của người.

Nghiên cứu của Yaoli et al. (2019), nhằm kiểm tra hoạt tính của polysaccharide chiết xuất từ *A. roxburghii* lên bệnh viêm khớp do collagen loại 2

trên chuột cũng đã cho thấy khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết loài cây này. Kết quả nghiên cứu cho thấy polysaccharide làm ức chế sản xuất nitric oxide (NO) và ức chế quá trình kích hoạt yếu tố kB (NF-kB) bằng cách ngăn chặn quá trình phosphoryl hóa IκB và p65, sau đó điều chỉnh giảm biểu hiện mRNA của IL-1β và IL-6 trong tế bào RAW 264.7.

Cui et al. (2013), đã chỉ ra dịch chiết từ *A. roxburghii* làm tăng đáng kể ( $p < 0.05$ ) hoạt động của các enzyme chống oxy hóa và mức độ của vitamin E trong gan và thận khi nghiên cứu trên chuột. Tương tự, nghiên cứu của Ho et al. (2018) đã khẳng định, dịch chiết từ *A. formosanus* có tác dụng kháng oxy hóa theo liều lượng. Kết quả nghiên cứu cho thấy chuột sử dụng dịch chiết *A. formosanus* ở liều lượng 200 mg/mL có thể giảm hơn 41% các gốc tự do.

Zeng et al. (2016), nghiên cứu khả năng bảo vệ gan và kháng oxy hóa của polysaccharide từ *A. roxburghii* cũng cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của polysaccharide tương đối mạnh theo cách phụ thuộc nồng độ. Tương tự, nghiên cứu của Wu et al. (2021) về cấu trúc và hoạt tính dược lý của polysaccharide từ *A. roxburghii* cũng cho thấy khả năng kháng oxy hóa của hợp chất này. Kết quả nghiên cứu cho thấy polysaccharide có thể thúc đẩy các enzyme superoxide dismutase và glutathione peroxidase của huyết thanh chuột dẫn đến làm giảm lượng hợp chất maleic dialdehyde trong huyết thanh một cách hiệu quả.

Mengyi et al. (2020), đã thực hiện nghiên cứu trên loài *A. roxburghii* nhằm kiểm tra các hoạt tính sinh học mới của các hợp chất thứ cấp; kết quả nghiên cứu đã cho thấy hợp chất asperergoster A có khả năng ức chế IL-1β, NO và TNF-α mạnh trong các đại thực bào chuột RAW 264.7, với các giá trị IC50 lần lượt là 35,5; 33,9 và 31,3 µM. Hơn nữa, khi kiểm tra hoạt tính ức chế miễn dịch của các hợp chất trong *in vitro* bằng mAbs kháng CD3/ kháng CD28. Kết quả cho thấy hợp chất asperergoster A có tác dụng ức chế đối với mAbs kháng CD3/kháng CD28, kích thích sự tăng sinh tế bào lách chuột ở chuột, với giá trị IC50 lần lượt là 9,9 và 7,8 µM.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết từ Lan kim tuyến có khả năng kháng oxy bằng thử nghiệm DPPH. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng hoạt tính kháng oxy hóa chủ yếu từ hợp chất thứ cấp là flavonoid, glycoside và polysaccharide.

### 4.2. Kháng viêm

Các nghiên cứu của Li và Zou, (1995); và Tang

et al. (2008) cũng đã chứng minh được dịch chiết của *A. roxburghii* (15 g/kg) có tác dụng chống viêm đáng kể trên chuột tiền xử lý với xylene. Ngoài ra, dịch chiết từ Lan kim tuyến ở liều trung bình và cao còn ức chế đáng kể tính thấm của mao mạch do axit acetic gây ra trên chuột. Tương tự khi nghiên cứu dịch chiết từ *A. roxburghii*, Cui et al. (2013), đã chứng minh được rằng chuột sử dụng dịch chiết từ 0,5 đến 2 g/ngày trong vòng 14 ngày, đã làm giảm đáng kể ( $p < 0,05$ ) mức độ glucose trong máu.

Phatcharaporn et al. (2016) đã chứng minh được khả năng kháng viêm của dịch chiết toàn phần từ *A. burmannicus* khi nghiên hoạt tính kháng viêm, kháng insulin từ dịch chiết của loài *Anoectochilus* sp. Kết quả cho thấy dịch chiết làm giảm đáng kể quá trình sản xuất nitric oxide trong tế bào RAW 264,7 được tiền xử lý bằng lipopolysaccharide (LPS) thông qua việc ức chế biểu hiện mRNA và protein của enzyme nitric oxide synthase. Tương tự, Mengyi et al. (2020) cũng đã chỉ ra khả năng khám viêm của *A. roxburghii* khi thử nghiệm trên các tế bào RAW 264,7.

Các nghiên cứu khác của Hsiao et al. (2011) và Wu et al. (2007) về kinsenoside trong thành phần của *A. formosanus* cũng cho thấy ở nồng độ 80 mg/kg hoạt chất có tác dụng ức chế sản xuất các chất trung gian gây viêm và tăng cường sản xuất các cytokine kháng viêm. Kinsenoside ức chế sản xuất các chất trung gian gây viêm như NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , protein hóa hấp dẫn đơn nhân 1 và các yếu tố ức chế di chuyển đại thực bào trong dịch rửa phúc mạc chuột được kích thích bằng LPS. Kinsenoside làm giảm sự hình thành mức protein phức hợp p65 và p50 của yếu tố  $\kappa$ B-DNA và ức chế sự chuyển vị của yếu tố  $\kappa$ B thông qua cả hai con đường phụ thuộc và không phụ thuộc vào I $\kappa$ Ba. Ngược lại, kinsenoside kích thích sản xuất cytokine IL-10 chống viêm và tăng cường biểu hiện mRNA của IL-10 và ức chế tín hiệu cytokine 3 trong cùng các tế bào do LPS gây ra. Thêm vào đó, kinsenoside có khả năng ức chế viêm gan mãn tính do CCl<sub>4</sub> gây ra và thể hiện hoạt tính chống nhiễm độc gan đáng kể.

Hoạt tính kháng viêm của *Anoectochilus* sp. đã được nghiên cứu từ những năm 1995 và vẫn tiếp tục được nghiên cứu cho đến hiện nay. Các kết quả nghiên cứu càng ngày càng rõ ràng để chỉ ra cơ chế ức chế các chất trung gian gây viêm như NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ,... và CCl<sub>4</sub> trên tế bào WAW 264,7 hoặc trên chuột của dịch chiết từ Lan kim tuyến, trong đó hợp chất kinsenoside đóng vai trò quan trọng nhất.

### 4.3. Điều hòa miễn dịch

Nghiên cứu của Tseng et al. (2006) cho thấy cao chiết loài *A. formosanus* có hoạt tính kháng u trên mô hình chuột ghép khối u đồng loài ung thư đại tràng CT-26. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hoạt tính điều hòa miễn dịch của cao chiết thông qua việc hoạt hóa đáp ứng miễn dịch trên mô hình *in vivo* như kích thích sự tăng sinh của tế bào lympho và hoạt hóa chức năng của đại thực bào. Tương tự, nghiên cứu khác của Hsieh et al. (2011) cũng cho thấy cao chiết từ loài *A. formosanus* có tác dụng kích thích hệ miễn dịch.

Xiao (2005) đã chứng minh dịch chiết từ *A. roxburghii* có tác dụng tăng cường sức đề kháng, bảo vệ hệ thần kinh, thúc đẩy sự tăng trưởng và phát triển của trẻ em. Nghiên cứu của Zhang et al. (2014) cũng đã cho thấy chuột uống dung dịch polysaccharide chiết xuất từ *A. roxburghii* (ARP) ở nồng độ 100 mg/kg thì có thể tăng cường chức năng miễn dịch, cải thiện đáng kể các chỉ số lá lách, tuyến ức và thực bào; đồng thời thúc đẩy sản xuất hormone tán huyết và tăng sinh tế bào lympho lách. ARP có tác dụng làm tăng khối lượng và chỉ số cơ quan miễn dịch của chuột bị ức chế miễn dịch qua đó thúc đẩy sự tăng sinh tế bào lympho. Tương tự, các nghiên cứu của An et al. (2014) và Liu et al. (2015) cũng chỉ ra rằng ở những con chuột khỏe mạnh ARP cũng có tác dụng thúc đẩy tăng trưởng, tăng trọng lượng lá lách, trọng lượng tuyến ức và chỉ số tuyến ức; đồng thời thúc đẩy quá trình thực bào và TNF-Q của yếu tố hoại tử khối u.

Kết quả của những nghiên cứu về khả năng điều hòa miễn dịch của *Anoectochilus* sp. đã cho thấy tiềm năng to lớn trong việc sử dụng loại cây này như một thực phẩm tăng cường sức khỏe hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan.

### 4.4. Bảo vệ gan và thận

Nghiên cứu của Li et al. (2015) đã cho thấy ở nồng độ 100 mg/kg chiết xuất polysaccharide từ *A. roxburghii* có tác dụng ức chế sự biểu hiện của MAP kinase p38 ở thận và các yếu tố gây viêm, bao gồm yếu tố hoại tử khối u- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), protein-1 chất hóa học hấp dẫn đơn bào (MCP- 1), FN và MMP2/9. Hơn nữa, sự lắng các hạt matrix trung mô giảm rõ rệt và tổn thương cấu trúc vi mạch đã được quan sát thấy sau khi dùng polysaccharide. Do đó, tác dụng bảo vệ của chiết xuất này đối với tổn thương thận do bệnh tiểu đường có thể là do sự ức chế p38 MAP kinase.

Zeng et al. (2016), khi thực hiện nghiên cứu về khả năng bảo vệ gan và chống oxy hóa của

polysaccharide từ *A. roxburghii* đã cho thấy polysaccharide có tác dụng bảo vệ gan khi thí nghiệm trên chuột. Kết quả chỉ ra rằng khi tiền xử lý những con chuột bị nhiễm độc gan do carbon tetrachloride bằng polysaccharide-ARPP80 đã làm giảm đáng kể mức độ chuyển hóa amino aspartate, amino alanine và malonyldialdehyde ( $p < 0,01$ ); đồng thời đã phục hồi mức độ các enzyme superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase và giảm glutathione trong huyết thanh hoặc mẫu gan đồng nhất.

Trong khi đó, một nghiên cứu khác của Yang et al. (2017) đã tiến hành phân lập, xác định các polysaccharid từ loài Lan kim tuyến *A. roxburghii* (ARP) và đánh giá tác dụng bảo vệ gan của ARP trên mô hình gây tổn thương gan bởi  $CCl_4$ . Kết quả cho thấy, ARP có cấu tạo là glucose và galactose với tỷ lệ mol: 1.9/1, trọng lượng phân tử là 19,5 kDa. ARP có khả năng loại bỏ các gốc tự do như gốc hydroxyl, gốc superoxid anion, DPPH. Thử nghiệm *in vivo* đã chứng minh cho chuột uống ARP (150 mg/kg) 7 ngày trước khi sử dụng carbon tetrachlorid, có khả năng làm giảm mức độ biểu hiện của aspartat aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), triglycerid (TG) trong huyết thanh và ức chế sự hình thành của malondialdehyd (MDA) trong gan.

Nghiên cứu của Huang et al. (2007b) trên loài *A. roxburghii* và Wu et al. (2007) trên loài *A. formosanus* đã chỉ ra rằng Lan kim tuyến có tác dụng bảo vệ chống lại tổn thương gan cấp tính và mãn tính do hóa chất và có thể làm giảm tỷ lệ xơ hóa gan sớm. Các hoạt chất chịu trách nhiệm về tác dụng bảo vệ gan có thể là flavonoid và polysaccharide, với cơ chế cơ bản liên quan đến việc loại bỏ các gốc tự do trong tế bào gan, ức chế peroxy hóa lipid và ổn định màng tế bào. Tương tự, các nghiên cứu của An và cộng sự (2014) và Hu (2009), cũng đã chứng minh rằng ở nồng độ 100 mg/kg thì kinsenoside có tác dụng bảo vệ gan cấp tính do  $CCl_4$  gây ra; hoạt chất này cũng có tác dụng bảo vệ các cơ quan miễn dịch trên những con chuột bị tổn thương gan cấp tính. Dẫn xuất acetyl hóa hoàn toàn của kinsenoside có thể làm giảm đáng kể tình trạng nhiễm mỡ và hoại tử tế bào gan. Dịch chiết từ Lan kim tuyến có tác dụng ức chế các bệnh về gan, lách to và bệnh teo tuyến ức, tất cả đều do tổn thương gan gây ra; đồng thời làm giảm đáng kể tổn thương gan ở chuột và sự hình thành xơ gan sớm.

Nghiên cứu của Shih et al. (2005) đã đánh giá tác dụng ức chế sự xơ hóa gan của AFE

trên mô hình gây độc cho gan chuột bởi carbon tetrachlorid ( $CCl_4$ ). Kết quả nghiên cứu cho thấy, AFE có khả năng giảm hoạt lượng GOT và GPT gây ra bởi  $CCl_4$ . AFE làm tăng nồng độ albumin trong huyết thanh, tăng trọng lượng gan và giảm trọng lượng lá lách (tăng đáng kể hàm lượng protein và giảm hàm lượng collagen trong gan. Ngược lại,  $CCl_4$  làm giảm hàm lượng protein, và gia tăng hàm lượng collagen trong gan chuột. Tương tự, nghiên cứu của Wu et al. (2010) đã chứng minh ảnh hưởng của dịch chiết của Lan kim tuyến *A. formosanus* (AFE) trên mô hình xơ hóa gan gây ra bởi thioacetamide (TAA). Nghiên cứu đã cho thấy hiệu quả ngăn cản quá trình xơ hóa của tế bào gan bởi Ginsenoside, một thành phần chính của AFE trên khối u yếu tố hoại tử  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) được tiết ra từ các tế bào Kupffer có thể được bắt nguồn ít nhất một phần từ ức chế thụ thể LPS của tuyến yên như tín hiệu Toll 4 (TLR4). Những con chuột được điều trị AFE đã giảm đáng kể hoạt động của tín hiệu alanine aminotransferase trong huyết tương, trọng lượng của gan liên quan với hàm lượng hydroxyproline trong gan.

Tác dụng bảo vệ gan và thận là một trong những hoạt tính quan trọng của Lan kim tuyến và tác dụng này đã được nghiên cứu rất kỹ càng. Các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra dịch chiết từ *Anoectochilus* sp. đặc biệt là flavonoid, polysaccharide và kinsenoside có tác dụng to lớn trong việc bảo vệ gan và thận trên cả mô hình *in vitro* và động vật (chuột) thí nghiệm.

## 5. TIỀM NĂNG ỨNG DỤNG

Lan kim tuyến là một loại thảo dược quý có chứa các hợp chất thứ cấp quan trọng như: axit 4-hydroxycinnamic,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -D-glucopyranoside, 3-glucosides butanoic axit và kinsenoside. Các hợp chất này có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y tế như giảm huyết áp cao, điều trị chống viêm, xơ vữa động mạch, tiểu đường, chứng rối loạn gan, lá lách, tim, bệnh phổi, viêm thận, rắn cắn, chống khối u, ung thư. Ngoài Lan kim tuyến còn có tác dụng điều trị hen phế quản, chống loãng xương, chống mệt mỏi và đóng vai trò quan trọng trong nâng cao hiệu quả chống lão hóa, chuỗi polysaccharide nâng cao hiệu lực của miễn dịch trong cơ thể con người. Dưới đây là một số ứng dụng quan trọng của loài Lan này.

**Bảng 2. Ứng dụng điều trị một số bệnh ở người của *Lan kim tuyến***

Loài nghiên cứu	Ứng dụng điều trị	Mô hình nghiên cứu	Tác giả
<i>A. formosanus</i>	Ung thư vú	MCF-7	Shyur et al. (2004)
<i>A. formosanus</i>	Ung thư ruột kết	Tế bào ruột	Tseng et al. (2006)
<i>A. roxburghii</i>	Ung thư tuyến tiền liệt	PC-3	Weng et al. (2011)
<i>A. roxburghii</i>	Ung thư	Tế bào khối u	Jue et al. (2011)
<i>A. setaceus</i>	Ung thư vú và ung thư phổi	BT474 và A549	Chac L.D et al. (2021)
<i>A. formosanus</i>	Loãng xương do thiếu estrogen	Chuột	Masuda et al. (1998)
<i>A. roxburghii</i>	Tiểu đường	Chuột	Xu et al. (2000)
<i>A. roxburghii.</i>	Tiểu đường		Cui et al. (2013), Zhang et al. (2015)
<i>A. burmannicus</i>	Tiểu đường	3T3-L1	Phatcharaporn et al. (2016)
<i>A. formosanus</i>	Tiểu đường	Chuột	Ho et al. (2018)
<i>A. roxburghii</i> và <i>A. formosanus</i>	Tiểu đường	Chuột	Tang et al. (2018)
<i>A. roxburghii</i>	Axit uric máu	Người	Chen et al. (2010)
<i>A. roxburghii</i>	Tay chân miệng	Người	Li et al. (2012)
<i>A. roxburghii</i>	Viên gan B	Người	Liu and Li (2008)
<i>A. roxburghii</i>	Vi khuẩn Hp	Người	Yang (2008)
<i>A. roxburghii</i>	Hội chứng tic-coprolalia	Người	Xiao (2005)

**5.1. Điều trị ung thư**

Shyur et al. (2004) thực hiện nghiên cứu về bộ gen chức năng đã chỉ ra rằng đường dẫn truyền tín hiệu của các tế bào ung thư vú MCF-7 ở người phản ứng với chất chiết xuất etyl axetat của *A. formosanus*, điều này cho thấy rằng *A. formosanus* có thể gây ra quá trình apoptosis của các tế bào ung thư vú MCF-7 ở người. Tương tự, nghiên cứu của Tseng et al. (2006) cũng cho thấy ở nồng độ 10 mg/chuột từ chiết xuất *A. formosanus* có tác dụng ức chế hiệu quả các tế bào ung thư ruột kết ở chuột. Kết quả thí nghiệm cũng đã chỉ ra rằng dịch chiết của *A. formosanus* có thể kích thích phản ứng miễn dịch của chuột, chẳng hạn như bằng cách kích thích hệ thống miễn dịch tăng sinh mô bạch huyết và bằng cách kích hoạt quá trình thực bào của đại thực bào đối với *Staphylococcus aureus*.

Nghiên cứu của Weng et al. (2011) cho thấy dịch chiết polysaccharide từ *A. roxburghii* (ARP) (IC50: 509,24 mg/L) có tác dụng ức chế sự phát triển và tăng sinh tế bào ung thư tuyến tiền liệt PC-3 ở người trong ống nghiệm; kích hoạt protease apoptotic caspase-3; gián tiếp hoặc trực tiếp thúc đẩy biểu hiện caspase-3 và thúc đẩy tế bào khối u apoptosis. Nghiên cứu khác của Jue et al. (2011) cho thấy dịch chiết từ *A. roxburghii* (IC50: 122,85 µg/mL và IC50: 70,17 µg/mL) có tác dụng nhanh

chóng kích hoạt cơ chế apoptosis của tế bào khối u và kích hoạt quá trình apoptosis của tế bào khối u liên quan đến enzym, gây ra sự tan rã cấu trúc tế bào khối u và cuối cùng là kích thích các tế bào apoptotic hình thành các cơ thể apoptotic.

Hơn nữa, nghiên cứu của Chac et al. (2021) cũng cho thấy khả năng điều trị ung thư vú và phổi của dịch chiết *A. setaceus* khi nghiên cứu trên hai dòng tế bào ung thư vú BT474 và ung thư phổi A549. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh được dịch chiết *A. setaceus* có tác dụng gây độc tế bào mạnh trên hai dòng tế bào BT474 và A549 với giá trị IC50 lần lượt là 5,45 µg/mL và 14,85 µg/mL.

**5.2. Điều trị bệnh tiểu đường**

Đầu tiên, nghiên cứu của Masuda et al. (1998) đã cho thấy rằng chất chiết xuất từ loài *A. formosanus* có khả năng ngăn chặn loãng xương do thiếu estrogen thông qua ức chế sự hình thành các tế bào phân hủy xương. Tiếp đó, Xu et al. (2000) đã sử dụng hợp chất chiết xuất từ *A. roxburghii* để điều trị bệnh tiểu đường. Kết quả nghiên cứu cho thấy hợp chất chiết xuất này có tác dụng hạ đường huyết rõ rệt, giúp cải thiện đáng kể các triệu chứng của bệnh tiểu đường loại 2. Tổng tỷ lệ hiệu quả của phương pháp điều trị là 80% và liều hiệu quả là 1,2 g/kg.

Nghiên cứu của Cui et al. (2013), cho thấy tác dụng làm giảm đường huyết của cao chiết loài *A. roxburghii* trên mô hình chuột tiểu đường thông qua các chỉ tiêu: giảm đường huyết, giảm cholesterol và tổng triglyceride và tăng hàm lượng high-density lipoprotein cholesterol trên mô hình chuột đái tháo đường cảm ứng bằng Alloxan. Tương tự, nghiên cứu của Zhang et al. (2015), cho thấy phân đoạn giàu polysaccharose có hoạt tính giảm đường huyết trên mô hình chuột đái tháo đường cảm ứng bằng STZ và duy trì chế độ ăn giàu chất béo.

Nghiên cứu của Phatcharaporn et al. (2016) đã cho thấy khả năng kháng insulin to lớn của loài *A. burmannicus*. Tác giả đã chỉ ra rằng dịch chiết từ Lan kim tuyến có khả năng cải thiện đáng kể sự hấp thu glucose trong các tế bào mỡ 3T3-L1 được xử lý bằng TNF- $\alpha$ . Tương tự, nghiên cứu của Ho et al. (2018) cũng chỉ ra dịch chiết từ *A. formosanus* có tác dụng làm giảm đường huyết theo các phụ thuộc liều lượng khi nghiên cứu trên mô hình chuột. Kết quả nghiên cứu cho thấy chuột sử dụng dịch chiết *A. formosanus* ở liều lượng 50 mg/kg có tác dụng đối với thử nghiệm dung nạp glucose trong màng bụng. Thêm vào đó, nghiên cứu của Tang et al. (2018) cho thấy 6 phân đoạn giàu polysaccharides ARPs, ARPs-1, ARPs-2, AFPs, AFPs-1 và AFPs-2 từ 2 loài Lan kim tuyến *A. roxburghii* và *A. formosanus* đều có tác dụng làm giảm đường huyết trên mô hình chuột đái tháo đường cảm ứng bằng STZ.

### 5.3. Điều trị tăng axit uric máu

Tăng axit uric máu là tình trạng nồng độ axit uric cao trong máu. Có hai nguyên nhân chính gây tăng axit uric máu: Ăn nhiều thực phẩm giàu purine và sản xuất quá nhiều axit amin, axit photphoric, ribose hoặc các phân tử nhỏ khác trong cơ thể và tỷ lệ dị hóa axit nucleic cao. Bởi vì axit uric cũng được phát hiện là một yếu tố nguy cơ đối với bệnh tim mạch nên tăng axit uric máu ngày càng thu hút nhiều sự chú ý. Trong nghiên cứu của Chen et al. (2010) trên 69 bệnh nhân cao tuổi về khả năng điều trị bệnh tăng axit uric máu. Nhóm điều trị (36 trường hợp) được dùng viên nang *A. roxburghii* trong 30 ngày, trong khi nhóm đối chứng (33 trường hợp) dùng giả dược. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ hiệu quả của nhóm điều trị đạt 88,89% cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng 27,24% (P < 0.01). Nồng độ axit uric huyết thanh ở nhóm điều trị đã giảm đáng kể (P < 0.01). Những kết quả này chứng minh rằng viên nang *A. roxburghii* có tác dụng điều trị đối với chứng tăng axit uric máu ở người cao tuổi, đồng thời cho thấy tính an toàn và khả năng dung nạp cao.

### 5.4. Bệnh Tay chân miệng

Bệnh tay chân miệng do hơn 20 loại vi rút đường ruột khác nhau gây ra, trong đó vi rút CVA16 và vi rút EV 71 là hai tác nhân gây bệnh phổ biến nhất. Bệnh xảy ra ở trẻ em dưới 5 tuổi, với những triệu chứng lâm sàng: đau, chán ăn và sốt, với mụn rộp nhỏ hoặc vết loét nhỏ phát triển trên tay, chân, miệng và các bộ phận khác. Li et al. (2012) đã thực hiện nghiên cứu trên 65 bệnh nhi, chia ngẫu nhiên thành nhóm điều trị (33 trường hợp) và nhóm chứng (32 trường hợp). Ngoài liệu pháp cơ bản, nhóm điều trị được xịt *A. roxburghii* (3 - 4 lần một ngày), trong khi nhóm đối chứng được điều trị bằng xịt Interferon  $\alpha$ -2b tái tổ hợp (3 - 4 lần một ngày). Kết quả cho thấy thời gian hết đau miệng và hồi phục mụn rộp miệng ở nhóm điều trị thấp hơn rõ rệt so với nhóm chứng, điều này cho thấy *A. roxburghii* có tác dụng tốt trong điều trị mụn rộp miệng ở tay chân miệng.

Để kiểm tra tác dụng của *A. roxburghii* đối với vết loét miệng do hóa trị liệu Li et al. (2016) đã nghiên cứu trên 76 bệnh nhân. Bệnh nhân được chia thành nhóm điều trị (40 trường hợp) và nhóm đối chứng (36 trường hợp). Nhóm điều trị được xử lý bằng thuốc xịt *A. roxburghii*, trong khi nhóm đối chứng dùng thuốc xịt “Kailhoujian” đã được cấp bằng sáng chế của Trung Quốc. Ngày điều trị 3 lần, mỗi lần 10 ml, trong 7 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm điều trị giảm rõ rệt kích thước vết loét miệng và giảm đau tốt hơn so với nhóm chứng (P < 0.05). Ngoài ra, mức độ hồi phục tốt hơn nhiều so với nhóm đối chứng (P < 0.01); và điều này cũng tương tự đối với hiệu quả lâm sàng (P < 0.05).

### 5.5. Điều trị bệnh viêm gan B mãn tính

Viêm gan B mãn tính là do nhiễm vi-rút viêm gan B (HBV) gây ra, bệnh có thể lây truyền từ mẹ sang con, qua máu và các sản phẩm của máu, da, niêm mạc bị tổn thương và quan hệ tình dục. Biểu hiện lâm sàng bao gồm mệt mỏi, sợ hãi, buồn nôn, đầy bụng và đau vùng gan. Liu và Li (2008) đã thực hiện nghiên cứu điều trị bệnh viêm gan B. Nghiên cứu đã chia bệnh nhân thành 2 nhóm ngẫu nhiên: Nhóm điều trị (30 trường hợp) được dùng dung dịch uống từ chiết xuất của *A. roxburghii* (10 mL/lần x 3 lần/ngày) kết hợp với entecavir (0,5 mg/lần x 1 lần/ngày). Nhóm đối chứng (30 trường hợp) được điều trị bằng entecavir (0,5 mg/lần x 1 lần/ngày). Vào cuối giai đoạn điều trị (12 tuần), kết quả đã cho thấy những thay đổi về tốc độ bình thường hóa ALT, tốc độ chuyển đổi huyết thanh HBeAg và dấu hiệu axit nucleic của vi rút viêm gan B

HBV-DNA. Mặc dù, không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ HBeAg âm tính giữa hai nhóm ( $P > 0.05$ ), nhưng nhóm điều trị có tác dụng thúc đẩy tỷ lệ âm tính HBV-DNA và tỷ lệ bình thường hóa ALT ( $P < 0.05$ ) vượt trội hơn so với nhóm đối chứng.

### 5.6. Ứng dụng khác

Vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP) được biết đến là một trong những nguyên nhân gây ra bệnh viêm loét dạ dày mãn tính, do đó kháng sinh được sử dụng rộng rãi, thậm chí lạm dụng để điều trị nhiễm HP dẫn đến vi khuẩn này kháng nhiều loại kháng sinh. Yang (2008) đã thử nghiệm trên 120 bệnh nhân nhiễm HP. Thí nghiệm được chia thành 2 nhóm: Nhóm điều trị (60 trường hợp) và nhóm đối chứng 1 (30 trường hợp) và 2 (30 trường hợp). Nhóm điều trị được sử dụng *A. roxburghii* (20 g cây tươi, sắc với nước, 0,1 g/mL, 100 mL, ngày 2 lần) kết hợp với viên nén bao tan từ dịch chiết của *Anoectochilus* sp. (20 mg). Nhóm đối chứng 1 được điều trị bằng phương pháp kết hợp hai loại kháng sinh: Clarithromycin 250 mg và Metronidazole 400 mg; nhóm đối chứng 2 được điều trị bằng thuốc ức chế bơm proton và hai loại kháng sinh (viên nang: Clarithromycin 250 mg, Metronidazole 400 mg). Điều trị 2 lần một ngày trong 7 ngày. Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ nhiễm HP ở nhóm điều trị thấp hơn so với nhóm chứng 1 và tương tự nhóm chứng 2, thêm vào đó, nhóm điều trị có chi phí thấp hơn và ít tác dụng phụ hơn.

Hội chứng Tic-coprolalia là một bệnh rối loạn tâm thần kinh mãn tính biểu hiện chủ yếu là co giật đột ngột nhiều lần không tự chủ kèm theo giọng nói chửi tai và các triệu chứng Tourette. Theo thống kê, tỷ lệ mắc bệnh là 0,1% đến 0,5% và có xu hướng gia tăng trong những năm gần đây. Nguyên nhân của hội chứng tic-coprolalia có thể là do tăng dopamine trong hệ thống thần kinh trung ương. Điều trị bằng haloperidol có hiệu quả nhất định, nhưng không thể điều trị lâu dài vì tác dụng phụ. Nghiên cứu của Xiao (2005) đã cho thấy tác dụng làm giảm hội chứng tic-coprolalia khi nghiên cứu trên 49 trẻ em mắc hội chứng này. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm được điều trị bằng *A. roxburghii* (dung dịch uống: liều/ lần x 2 – 3 lần/ ngày, trong một tháng) có tỷ lệ ít mắc hội chứng tic-coprolalia hơn với tỷ lệ hiệu quả lên đến 91,8%.

Tất cả những kết quả của những nghiên cứu trên cho thấy Lan kim tuyến là loài dược liệu quý có khả năng phòng ngừa và điều trị nhiều loại bệnh, đặc biệt là các bệnh về gan, thận, tiểu đường và ung thư. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu

sâu hơn về quá trình hấp thụ, phân phối, chuyển hóa và độc tính của loài này.

## 6. KẾT LUẬN

*Anoectochilus* sp. đã được nghiên cứu chuyên sâu về phương pháp nhân giống *in vitro*, nuôi trồng, hợp chất thứ cấp hoạt tính sinh học và tiềm năng ứng dụng. Các kết quả nghiên cứu từ các loài *A. roxburghii*, *A. setaceus*, *A. formosanus*, *A. sikkimensis*, *A. regalis*, *A. lylei*, *A. burmannicus* và *A. anamensis* trong bài tổng quan này đã cho thấy dễ dàng nhân giống Lan kim tuyến trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng như BAP, Kinetine, NAA và TDZ bằng cách nhân nhanh chồi, đốt thân, TCL và cả bioreactor. Các kết quả về nghiên cứu nuôi trồng Lan kim tuyến ở điều kiện *ex vitro* bằng phương pháp PBCM và bức xạ trung tính và/hoặc giá thể là vụn xơ dừa, tro trấu, phân Nitrophoska® Foliar cho tỷ lệ sống sót là 100% và tỷ lệ sinh trưởng là tối ưu nhất. Ngoài ra, các nghiên cứu cũng đã cho thấy rằng *Anoectochilus* sp. có thành phần hợp chất thứ cấp rất đa dạng như axit stearic, axit palmitic, axit succinic, axit p-hydroxy cinnamic, o-hydroxy phenol, beta-sitosterol, daucosterol, gastrodin,... và gastrodigenin, gastrodigenin. Trong đó, thành phần hóa học chính là polysacaride, flavonoid, glycoside và kinsenoside; các hoạt chất này có nhiều tác dụng dược lý có tiềm năng trong việc sử dụng để điều trị ho do nhiệt phổi và lao phổi, ho ra máu, đái ra máu, phù thận, rắn cắn, đái tháo đường, viêm gan cấp tính và mãn tính, bảo vệ thận, viêm khớp dạng thấp, ung thư, điều hòa miễn dịch; ngoài ra, còn có tác dụng thể cải thiện toàn diện hệ thống miễn dịch của con người và nâng cao khả năng chống lại bệnh tật của cơ thể.

Nghiên cứu bổ sung đã cho thấy tiềm năng để sử dụng các hoạt chất từ Lan kim tuyến để bào chế thành các dạng thích hợp (thực phẩm chức năng hoặc thuốc) nhằm phòng và điều trị các chứng tăng axit uric máu, bệnh tiểu đường loại 2 và viêm gan B mãn tính. Tuy nhiên, quá trình hấp thụ, phân phối, chuyển hóa và bài tiết của các hoạt chất sinh học được phân lập từ *Anoectochilus* sp. vẫn cần được làm rõ thông qua phương pháp mô hình hóa được động học. Hơn nữa, độc tính của *Anoectochilus* sp. cũng rất cần được nghiên cứu sâu hơn, đặc biệt cần thực hiện các thử nghiệm độc tính mãn tính *in vivo* lâu dài.

**JEWEL ORCHIDS (ANOECTOCHILUS): MICROPROPAGATION, CULTIVATION, BIOLOGICAL ACTIVITIES, AND POTENTIAL APPLICATIONS**

**Hoang Duy Vu<sup>1</sup>, Nguyen Thi Luyen<sup>1</sup>, Nguyen Trung Phuong Thao<sup>1</sup>, Phan Thi Anh Ngoc<sup>1</sup>,  
Nguyen Van Tinh<sup>1</sup>**

Received Date: 10/5/2023; Revised Date: 25/8/2023; Accepted for Publication: 26/8/2023

**ABSTRACT**

*Anoectochilus* sp is a precious medicinal plant used and exploited by many countries around the world, including Vietnam. Currently, there were many research on micropropagation, cultivation, analysis of secondary compounds and potential applications from varies differents species *Anoectochilus*. In this article, we summarized and updated information on optimal conditions for *in vitro* propagation, *ex vitro*, pharmacological activities and potential applications from *A. roxburghii*, *A. setaceus*, *A. formosanus*, *A. sikkimensis*, *A. regalis*, *A. lylei*, *A. burmannicus* và *A. anamensis*. The *in vitro* results showed that *Anoectochilus* sp. was easily propagated on MS, supplemented with growth regulators such as BAP, Kinetine, NAA and TDZ by rapidly multiplying shoots, nodule and TCL. In addition, this orchid was susccesfully cultured with 100% survival rate by PBCM method and growth rate was optimized by coir crumbs, rice husk ash, Nitrophoska® Foliar fertilizer and neutral radiation. Furthermore, there were many secondary compounds in the spieces. They were axit stearic, axit palmitic, axit succinic, axit p-hydroxy cinnamic, o-hydroxy phenol, beta-sitosterol, daucosterol, gastrodin, gastrodigenin, gastrodigenin and so on. In which, the main chemical components are polysaccharides, flavonoids, glycosides and kinsenosides having various potential effects to treat cough caused by pulmonary heat and tuberculosis, hemoptysis, hematuria, renal edema, snakebite, diabetes mellitus, acute hepatitis and chronic, kidney protection, rheumatoid arthritis, cancer, immunomodulation.

**Keywords:** *Anoectochilus*, Application, Biological activity, Cultivation, Micropropagation.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

**Tài liệu tiếng Việt**

- Đỗ Mạnh Cường, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Việt Cường, Nguyễn Thanh Sang, Nguyễn Hồng Hoàng, Hồ Thanh Tâm, Nguyễn Xuân Tuấn, Trần Hiếu, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Thị Kim Loan và Dương Tấn Nhật (2014). Ảnh hưởng một số yếu tố lên quá trình sinh trưởng và phát triển của cây Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí khoa học và phát triển*, 13(3): 337-344.
- Đỗ Thị Gấm, Hà Việt Hải, Chu Hoàng Hà và Phạm Bích Ngọc (2017). Khảo sát một số đặc điểm hóa học và tác dụng chống oxy hóa (antioxydant) của các hợp chất Flavonoid chiết xuất từ một số loài Lan kim tuyến của Việt Nam. *Tạp chí Khoa học đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 33(1S): 104-113.
- Nguyễn Minh Ty và Nguyễn Vinh Hiền (2020). Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo chồi và cụm chồi Lan kim tuyến nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một*, Số 4(47).
- Nguyễn Thị Lệ Hà, Phạm Thị Mận, Cao Minh Thủy Nguyễn, Phạm Thị Nhật Truyền, Nguyễn Xuân Cường và Nguyễn Văn Thiết (2017). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống Lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.). *Tạp chí khoa học lâm nghiệp, chuyên san*, 8-15.
- Nguyễn Tuấn Anh, Phan Ngọc Khoa và Trương Thị Bích Phượng (2013). Nghiên cứu nuôi cấy lát mỏng trong nhân giống *in vitro* cây Lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.). *Hội nghị sinh học toàn quốc* 690-694.
- Nguyễn Quang Thạch và Phí Thị Cẩm Miện (2012). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống loài Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) *in vitro* bảo tồn nguồn dược liệu quý. *Tạp chí khoa học và phát triển*, tập 10, số 4: 597-603.
- Phan Xuân Huyền, Nguyễn Văn Kết, Phan Hoàng Đại và Nguyễn Thị Cúc (2016). nghiên cứu nhân

<sup>1</sup>Applied Biomedical Research Institute, Buon Ma Thuot Medical University;

Corresponding author: Nguyen Van Tinh; Tel: 0869340391; Email: nvtinh@bmtvietnam.com.

giống *in vitro* và nuôi trồng cây Lan kim tuyến (*Anoectochilus lylei* Rolfe Ex Downies) ở điều kiện *ex vitro*. *Tạp chí khoa học đại học Đà Lạt*, tập 6, số 4, 481-492.

Phùng Văn Phê, Nguyễn Thị Hồng Gấm và Nguyễn Trung Thành (2010a). Nghiên cứu kỹ thuật nhân nhanh chồi *in vitro* loài Lan kim tuyến *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. *Tạp chí khoa học đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 26: 248-253.

Phùng Văn Phê, Nguyễn Trung Thành và Vương Duy Hưng (2010b). Đặc điểm hình thái, phân bố của loài Lan kim tuyến *Anoectochilus setaceus* Blume ở vườn quốc gia Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc. *Tạp chí Khoa học đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 26: 104-109.

Vũ Quốc Luận, Trần Đình Phương, Trần Công Luận và Dương Tấn Nhựt (2015). Vi nhân giống và định tính hoạt chất  $\beta$ -sitosterol trên cây Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 13(4): 1113-1125.

### Tài liệu tiếng Anh

An, Y.F., Zhang Y.Q. and Feng, D.Q. (2014). Pharmacological Effects and Clinical Use Advances of *Anoectochilus roxburghii*. *Modern Chinese Medicine*, 16: 685-687.

Asahi, E. (1997). The World of Plants; Asahi Shinbun. *Tokyo, Japan*, 9: 243-244.

Chac, L.D., Thinh, B.B. and Yen, N.T. (2021). Anti-cancer activity of dry extract of *Anoectochilus setaceus* Blume against BT474 breast cancer cell line and A549 lung cancer cell line. *Research Journal Pharmacy and Technology*, 14(2):730-73.

Chang, D.C.N., Chou, L.C. and Lee, G.C. (2007). New cultivation methods for *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Orchid Science and Biotechnology*, 1(2): 56- 60.

Chen, X.X., Xia, X.N., Zhang, D.F., Huang, M. and Xiao, Z.G. (2010b). Treatment of 36 cases of hyperuricemia in elderly patients with *Anoectochilus roxburghii* capsule. *Military Medical Journal of Southeast China*, 12: 331-332.

Cheng, S.F. and Chang, D.C.N. (2009). Growth responses and changes of active components as influenced by elevations and orchid mycorrhizae on *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Botanical Studies*, 50: 459-466.

Chinese Herbalism Editorial Board (1999). Chinese Materia Medica. *Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai*.

Chiu, N.Y. and Chang, K.H. (1995). *Anoectochilus formosanus* Hayata. In: The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan. *SMC Publishing Inc., Taipei, Taiwan*, 4: 282-283.

Chow, H.T., Hsieh, W.C., Chang, C.S. (1982). In vitro propagation of *Anoectochilus formosanus*. *Journal science engineering*, 19: 155-166.

Cui, S.C., Yu, J., Zhang, X.H., Cheng, M.Z., Yang, L.W. and Xu, J.Y. (2013). Antihyperglycemic and antioxidant activity of water extract from *Anoectochilus roxburghii* in experimental diabetes. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 485-488.

Du, X.M., Sub, N.Y., Irino, N. and Shoyama, Y. (2000). Glycosidic constituents from *in vitro* *Anoectochilus formosanus*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48: 1803-1804.

Du, X.M. and Shoyama, Y. (2011). Study on bioactive components of *Anoectochilus formosanus* Hayata. *International University Academic Institutional Repository*, 119-130

Fujian Forestry Science Research Institute (1960). Fujian wild medicinal plants. *Fujian People's Publishing House, Fujian*.

Gangaprasad, A., Latha, P.G. and Seeni, S. (2000). Micropropagation of terrestrial orchids, *Anoectochilus sikkimensis* and *Anoectochilus regalis*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(2): 149-154.

Gutierrez, R.M.P. (2010). Orchids: a review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4(8): 592-638.

Haqea S.M., Nahar S.J. and Shimasaki K. (2016). *In vitro* organogenesis of *Anoectochilus formosanus* under different sources of lights. *Acta Horticulturae*, 1134.

He C.N., Wang C.L., Guo S.X., Yang J.S. and Xiao P.G. (2005). Study on chemical constituents in herbs of *Anoectochilus roxburghii* II. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 30: 761-763.

He C.N., Wang C.L., Guo S.X., Yang J.S. and Xiao P.G. (2006). A Novel Flavonoid Glucoside from

- Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48: 359-363.
- Ho Y, Chen Y.H., Wang, L.H., Hsu, K.Y., Chin, Y.T., Chen, Y., Yang, S.H., Wang, S.H., Chen, Y.R., Shih, Y.J., Liu, L.F., Wang, K., Peng, J.W., Tang, H.Y., Lin, H.Y., Liu, H.L. and Lin, S.J. (2018). Inhibitory Effect of *Anoectochilus formosanus* Extract on Hyperglycemia-Related PD-L1 Expression and Cancer Proliferation. *Frontiers in Pharmacology*, 9:807.
- Hsiao, H.B., Wu, J.B., Lin, H. and Lin, W.C. (2011). Kinsenoside Isolated from *Anoectochilus Formosanus* Suppresses LPS-Stimulated Inflammatory Reactions in Macrophages and Endotoxin Shock in Mice. *China Medical University, Taiwan*, 35: 184-190.
- Hsieh, W.T., Tsai, C.T., Wu, J.B., Hsiao, H.B., Yang, L.C. and Lin, W.C. (2011). Kinsenoside, a high yielding constituent from *Anoectochilus formosanus*, inhibits carbon tetrachloride induced Kupffer cells mediated liver damage. *Journal of Ethnopharmacol*, 135(2): 440-449.
- Hu, G.H. (2009). Study on the Activity of Kinsenoside and Its Synthesis of Complete Acetylation. *Huazhong University of Science and Technology, Hubei*.
- Hu, S.Y. (1971). The Orchidaceae of China. *Quarterly Journal of the Taiwan Museum*, 4: 67- 103.
- Huang, L., Cao, Y., Xu, H. and Chen, G. (2011). Separation and purification of ergosterol and stigmaterol in *Anoectochilus roxburghii* (wall) Lindl by high speed counter current chromatography. *Journal of Separation Science*, 34: 385-392.
- Huang, L.F., Lu, R.Y., Su, Z.M., Fan, S. T. and Yu, X.Q. (2007b). Effect of Herba *Anoectochili* Extracts on Acutely and Chronically Damaged Livers Induced by CCl<sub>4</sub> in Mice. *Pharmaceutical Journal of Chinese Peoples Liberation Army*, 23: 278-281.
- Jiangsu Institute of Botany (1990). Xinhua Compendium of Materia Medica. *Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai*.
- Kan, W.S. (1986). *Anoectochilus formosanus* Hayata. In: *Pharmaceutical Botany. National Research Institute of Chinese Medicine. Taipei, Taiwan*.
- Ket, N.V., Hahn, E.J., Park, S.Y., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. (2004). Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus*. *Biologia plantarum*, 48(3): 339-344.
- Jue, W. C. (2011). The extraction of volatile oil in *Anoectochilus* and its inhibition effect in lung cancer cell NCI-H446. *Fujian Medical University, Fujian*.
- Li, L., Li, Y.M., Liu, Z.L., Zhang, J.G., Liu, Q. and Yi, L.T. (2015). The renal protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose on diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin. *Journal of ethnopharmacology*, 178, 58.
- Li, M. and Zou, D. (1995). Three different sources of *Anoectochilus roxburghii* pharmacological studies. *Strait Pharmaceutical Journal*, 4: 12-14.
- Li, Q., Huang, W., Zhou, W., Li, J. and Chen, Z.S. (2016). Clinical Study of *Anoectochilus Roxburghii* Liquid in Treating Oral Ulcer Due to Chemotherapy for Childhood Leukemia. *Journal of Nanjing University Traditional Chinese Medicine*, 32: 422-424.
- Li, Q., Zhou, W., Liu, L., Zheng, L. and Guan, S.C. (2012). Clinical Observation on the Treatment of Hand-Foot-Mouth Disease with *Anoectochilus roxburghii* Spray. *Fujian Journal of TCM*, 43: 9-10.
- Liu, B., Gao, Y.Q., Wang, X.M., Wang, Y. C. and Fu, L. Q. (2014). Germacrone inhibits the proliferation of glioma cells by promoting apoptosis and inducing cell cycle arrest. *Molecular Medicine Reports*, 10(2): 1046-1050.
- Liu, H. H., Shen, L. and Mao, B.Z. (2015). Chemical Composition Research Progress of Pharmacological Action and vitro Culture in Shorthairy Antenoron (*Anoectochilus roxburghii*). *Pharmaceutical Biotechnology*, 22: 553-556.
- Liu, Z. F. and Li, Q. (2008). Clinical Observation on 30 Cases of Chronic Hepatitis B Treated by Compound Jinlianlian Oral Liquid Combined with Entecavir. *Fujian Journal of TCM*, 39: 3-4.
- Martin, K. P., Geevarghese, J., Joseph, D. and Madassery, J. (2005). In vitro propagation of *Dendrobium* hybrids using flower stalk node explants, *Indian Journal of Experimental Biology*, 43: 280-285.
- Matsuda, H., Ninomiya, K., Morikawa, T. and Yoshikawa, M. (1998). Inhibitory effect and action mechanism of sesquiterpenes from *Zedoariae* rhizoma on D-galactosamine/lipopolysaccharide-

- induced liver injury. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* 8: 339-344.
- Mengyi, D., Yaping, L., Yingying, H., Xu, Y., Yuan, Z., Yulin, D., Shuangshuang, X., Yi, G., Yuben, Q., Zhengyi, S., Li, T., Yunfang, C., Changxing, Q. and Yonghui, Z. (2020). New bioactive secondary metabolites from the *Anoectochilus roxburghii* endophytic fungus *Aspergillus versicolor*. *Fitoterapia*, 143, 104532.
- National Compendium of Chinese Herbal Medicine Editorial Board (1978). National Compendium of Chinese Herbal Medicine. *People's Medical Publishing House, Beijing*.
- Pandey, D.M., Yu, K.W., Wu, R.Z., Hahn, E.J. and Paek, K.Y. (2006). Effects of different irradiances on the photosynthetic process during ex vitro acclimation of *Anoectochilus* plantlets. *Photosynthetica*, 44: 419-424.
- Phatcharaporn, B., Pornsiri, P., Pisamai, T., Piya, T., Ariyaphong, W. and Arisa, I. (2016). Anti-inflammatory and anti-insulin resistance activities of aqueous extract from *Anoectochilus burmannicus*. *Food Science & Nutrition*, 5: 486-496.
- Qi, C.X., Zhou, Q., Yuan, Z., Lou, Z. W., Dai, C., Zhu, H. C., Chen, C. M., Xue, Y.B., Wang, J.P., Wang, Y.F., Liu, Y.P., Xiang, M., Sun, W.G., Zhang, J.W. and Zhang, Y.H. (2018). Kinsenoside: A promising bioactive compound from *Anoectochilus* species. *Current medical science*, 38: 11-18.
- Sherif, N.A., Benjamin, J.H.F., Muthukrishnan, S., Kumar, T.S. and Rao, M.V. (2012), Regeneration of plantlets from nodal and shoot tip explants of *Anoectochilus elatus* Lindley, an endangered terrestrial orchid, *African Journal of Biotechnology*, 11(29): 7549-7553.
- Shenyi, Y., Qingsong, S. and Ailian, Z. (2017). *Anoectochilus roxburghii*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications. *Journal of Ethnopharmacol*, 209: 184-202.
- Shih, C.C., Wu, Y.W. and Lin, W.C. (2005). Aqueous extract of *Anoectochilus formosanus* attenuate hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Phytomedicine*, 12(6-7): 453-60.
- Shyur, L.F., Chen, C.H., Lo, C.P., Wang, S.Y., Kang, P.L., Sun, S.J., Chang, C.A., Tzeng, C.M. and Yang, N.S. (2004). Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. *Journal of biomedical science*, 11(6): 928-939.
- Sukamto, L.A., Rahayu, E.D. and Sandra, E. (2011), Characteristics between *Anoectochilus setaceus* and *Anoectochilus formosanus* by application of TDZ in vitro, *International Conference of Science and Technology*, ISBN No. 978 979 16415 9 3.
- Tang, J., Deng, Y.R. and Zhuo, Y.R. (2008). Advances in pharmacological activity of *Anoectochilus roxburghii*. *Strait Pharmaceutical Journal*, 20: 77-79.
- Tang, T., Duan, X., Ke, Y., Zhang, L., Shen, Y., Hu, B., Liu, A., Chen, H., Li, C., Wu, W., Shen, L. and Liu, Y. (2018). Antidiabetic activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* and *Anoectochilus formosanus* in STZ-induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112: 882-888.
- Teuscher, H. (1978). *Erythrodes*, *Goodyera*, *Haemaria* and *Macodes*, with *Anoectochilus*. *American Orchid Society Bulletin*, 47: 121-129.
- Tseng, C.C., Shang, H. F., Wang, L. F., Su, B., Hsu, C.C., Kao, H.Y. and Cheng, K.T. (2006). Antitumor and immunostimulating effects of *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Phytomedicine*, 13(5): 366-70.
- Wang, T. and Xiong, F. (2014). Determination of kinsenoside in *Anoectochilus roxburghii* by HPLC-ELSD. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 7.
- Weng, X.H., Wang, C.L., Yuan, X. and Chen, W.J. (2011). Inhibitory effect of *Anoectochilus formosanus* polysaccharide on human prostate cancer PC-3 cell in vitro. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy* 31: 1083-1087.
- Wu, J.B., Chuang, H.R., Yang, L.C. and Lin, W.C. (2010). A standardized aqueous extract of *Anoectochilus formosanus* ameliorated thioacetamide-induced liver fibrosis in mice: The role of Kupffer cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74(4): 781-787.
- Wu, J.B., Lin, W.L., Hsieh, C.C., Ho, H.Y., Tsay, H.S. and Lin, W.C. (2007). The hepatoprotective activity of kinsenoside from *Anoectochilus formosanus*. *Phytotherapy Research P*, 21, 58.

- Wu, T., Li, S., Huang, Y., He, Z., Zheng, Y., Stalin, A., Shao, Q. and Lin, D. (2021). Structure and pharmacological activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. *Journal of Functional Foods*, 87:104815.
- Xiao, W. (2005). Treatment of 49 Cases of Infantile Tourette Syndrome with *Anoectochilus roxburghii* Oral Liquid. *Journal of Northwest Pharmaceutical*, 20: 81-82.
- Xu, W.J., Chen, Y., Huang, Z.Q., Yang, S.Y. and Chen, J.Y. (2000). A preliminary study on the treatment of compound Herba anoectochili capsule on diabetes. *Subtropical Plantence*, 29: 47-49.
- Yan, Y.B. (2008). Clinical Observation on Treatment of 60 Cases of Hp Infection with Omeprazole and *Anoectochilus roxburghii*. *Fujian Journal of TCM*, 39: 11-12.
- Yang, Z. (2017). Protective effect of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative liver damage in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96: 442-450.
- Yaoli, G., Qi, Y., Shuling, Y., Jinzhong, W., Bingzhu, Y., Yanbin, W., Zehao, H. and Chengjian, Z. (2019). Therapeutic effects of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* on type II collagen-induced arthritis in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122: 882-892.
- Yi, Q., Wenbo, S., Ying, Y., Guojie, Z., Yidan, B., Toshihiro, A., Feng, Y., Feng, F., Wangshu, Z. and Jie, Z. (2023). Isolation, structural and bioactivities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 236: 123883.
- Zeng, B., Sua, M., Chena, Q., Changa, Q., Wang, W. and Li, H. (2016). Antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii*. *Carbohydrate Polymers*, 153: 391-398.
- Zhang, J.G., Liu, Q., Liu, Z.L., Li, L. and Yi, L.T. (2015). Anti-hyperglycemic activity of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin. *Journal of Ethnopharmacol*, 164: 180-185.