

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Huy Hoàng

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA LOÀI KINH GIỚI *ELSHOLTZIA CILIATA*
(THUNB.) HYL.**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Hà Nội – 2022

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

VIỆN HÀN LÂM

KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Huy Hoàng

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA LOÀI KINH GIỚI *ELSHOLTZIA CILIATA*
(THUNB.) HYL.**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. Dương Thị Dung

Hà Nội – 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan kết quả nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm.

Tác giả**Nguyễn Huy Hoàng**

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được hoàn thành tại Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài NCCB 104.01-2020.03.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc, sự khâm phục và kính trọng nhất tới TS. Dương Thị Dung - Người đã tận tâm hướng dẫn chỉ dạy cho tôi về mặt chuyên môn, và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận văn .

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo và các đồng nghiệp phòng Nghiên cứu cấu trúc - Viện Hóa Sinh biển về sự ủng hộ to lớn, những lời khuyên bổ ích và những góp ý quý báu trong việc thực hiện và hoàn thiện luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ và Viện Hóa sinh biển đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể gia đình, bạn bè và những người thân đã luôn luôn quan tâm, khích lệ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Xin trân trọng cảm ơn!

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	I
LỜI CẢM ƠN	II
MỤC LỤC	III
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	V
DANH MỤC BẢNG	VI
DANH MỤC HÌNH	VII
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về chi <i>Elsholtzia</i>	3
1.1.1. Giới thiệu chung về chi <i>Elsholtzia</i>	3
1.1.2. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi <i>Elsholtzia</i>	3
1.1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	3
1.1.2.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam	8
1.2. Tổng quan về loài Kinh giới (<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.).....	9
1.2.1. Giới thiệu chung về loài Kinh giới (<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.)....	9
1.2.2. Các nghiên cứu về loài Kinh giới (<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.).....	9
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	12
2.1. Đối tượng nghiên cứu	12
2.2. Phương pháp nghiên cứu	12
2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	12
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất.....	13
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học	13
2.3. Phân lập các hợp chất.....	14
2.4. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được	17
2.4.1. Hợp chất EC1: <i>elsholciliata</i> A (hợp chất mới).....	17
2.4.2. Hợp chất EC2: 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside	17
2.4.3. Hợp chất EC3: 3-O- β -D-glucopyranosyl-1- (3', 5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-propanone).....	17
2.4.4. Hợp chất EC4: β -hydroxypropiovanillone 3-O- β -D-glucopyranoside..	17
2.4.5. Hợp chất EC5: methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	17
2.4.6. Hợp chất EC6: syringin	18
2.4.7. Hợp chất EC7: icaricide F ₂	18

2.4.8. Hợp chất EC8: 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one.....	18
2.4.9. Hợp chất EC9: manglieside B	18
2.4.10. Hợp chất EC10: 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	18
2.5. Thử hoạt tính các hợp chất phân lập được	19
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	20
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài kinh giới (<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.).....	20
3.1.1. Hợp chất EC1: elsholciliata A (hợp chất mới).....	20
3.1.2. Hợp chất EC2: 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside	27
3.1.3. Hợp chất EC3: 3-O- β -D-glucopyranosyl-1-(3', 5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-propanone).....	30
3.1.4. Hợp chất EC4: β -hydroxypropiovanillone 3-O- β -D-glucopyranoside..	34
3.1.5. Hợp chất EC5: methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	36
3.1.6. Hợp chất EC6 syringin.....	39
3.1.7. Hợp chất EC7 icariside F ₂	42
3.1.8. Hợp chất EC8 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one	44
3.1.9. Hợp chất EC9 manglieside B.....	46
3.1.10. Hợp chất EC10: 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	49
3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được	52
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	53
CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	54
TÀI LIỆU THAM KHẢO	55

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C -NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CD	Circular dichroism Spectroscopy	Phổ lưỡng sắc tròn
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
CTPT	Molecular formula	Công thức phân tử
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
FBS	Fetal bovine serum	Huyết thanh bò
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC_{50}	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
KLPT	Molecular mass	Khối lượng phân tử
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
L-NMMA	N^G -monomethyl-L-arginine acetate	N^G -monomethyl-L-arginine acetate
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy	Phổ NOESY
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của EC1 và hợp chất tham khảo	22
Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của EC2 và hợp chất tham khảo	27
Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của EC3	31
Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của EC4 và chất tham khảo.....	34
Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của EC5 và chất tham khảo.....	37
Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của EC6 và hợp chất tham khảo	39
Bảng 3.7. Số liệu phổ NMR của EC7 và chất tham khảo.....	42
Bảng 3.8. Số liệu phổ NMR của EC8 và hợp chất tham khảo	44
Bảng 3.9. Số liệu phổ NMR của EC9 và hợp chất tham khảo	47
Bảng 3.10. Số liệu phổ NMR của EC10 và hợp chất tham khảo	49
Bảng 3.11. Khả năng ức chế sản sinh NO của các hợp chất EC1-EC10	52

DANH MỤC HÌNH

Hình 2.1. Mẫu kính giới (<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.).....	12
Hình 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài kính giới <i>E. ciliata</i> (Thunb.) Hyl.....	16
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC1 và hợp chất tham khảo 1a	20
Hình 3.2. Các tương tác NOESY, HMBC và COSY chính của hợp chất EC1	22
Hình 3.3. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất EC1	23
Hình 3.4. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC1	23
Hình 3.5. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC1	24
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất EC1	24
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất EC1	25
Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất EC1	25
Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất EC1	26
Hình 3.10. Phổ ECD của hợp chất EC1	26
Hình 3.11. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC của hợp chất EC2	27
Hình 3.12. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC2	28
Hình 3.13. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC2	29
Hình 3.14. Phổ HSQC của hợp chất EC2	29
Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất EC2	30
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất EC3	30
Hình 3.17. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC3	32
Hình 3.18. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC3	32
Hình 3.19. Phổ HSQC của hợp chất EC3	33
Hình 3.20. Phổ HMBC của hợp chất EC3	33
Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC4	34
Hình 3.22. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC4	35
Hình 3.23. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC4	36
Hình 3.24. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC5	36
Hình 3.25. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC5	38
Hình 3.26. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC5	38
Hình 3.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC6	39
Hình 3.28. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC6	40
Hình 3.29. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC6	41
Hình 3.30. Phổ HSQC của hợp chất EC6	41
Hình 3.31. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC7	42
Hình 3.32. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC7	43
Hình 3.33. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC7	43
Hình 3.34. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC8	44
Hình 3.35. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC8	45
Hình 3.36. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất EC8	46
Hình 3.37. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC9	46
Hình 3.38. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất EC9	48

Hình 3.39. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất EC9	48
Hình 3.40. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC10	49
Hình 3.41. Phổ ^1H -NMR của hợp chất EC10	50
Hình 3.42. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất EC10	51

MỞ ĐẦU

Nước ta có khí hậu và thảm thực vật khá phong phú và đa dạng. Theo các số liệu thống kê thảm thực vật Việt Nam có trên 12000 loài, trong số đó có trên 3200 loài được sử dụng làm thuốc trong y học dân gian [1]. Gần đây, xu hướng tìm kiếm một số hoạt chất trong các loài thảo mộc có tác dụng chữa bệnh ngày một tăng và thu hút các nhà khoa học nghiên cứu. Một số loài thực vật đã được đưa ra làm thuốc hoặc thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị như Dây thìa canh, Trinh nữ hoàng cung, Hoàng liên, Hoàng cầm, Nghệ... Điều đáng chú ý là các sản phẩm này sử dụng an toàn, ít tác dụng phụ, ít hiện tượng nhờn thuốc.

Chi Kinh giới *Elsholtzia* là một chi phổ biến ở Việt Nam. Ở nước ta và các nước trên thế giới hầu hết các loài thuộc chi *Elsholtzia* đều được sử dụng trong các bài thuốc điều trị sốt, cảm lạnh, tiêu chảy, kiết lỵ, rối loạn tiêu hóa và giải độc. Một số loài trong chi còn được sử dụng để giảm đau và kháng viêm như: *E. rugulosa*, *E. penduliflora*, *E. blanda*, *E. bodinieri*, *E. stauntoni*, *E. fruticosa*, *E. myosurus*, *E. densa* và *E. ciliata*. Đặc biệt, trong các bài thuốc dân gian, loài kinh giới *E. ciliata* đã được sử dụng để điều trị viêm da, viêm khớp và trĩ. Hơn nữa, loài kinh giới này còn được sử dụng rộng rãi như một loại gia vị không thể thiếu. Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Kinh giới *Elsholtzia ciliata*. Chính vì thế, việc điều tra, nghiên cứu thành phần hóa học, đánh giá hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập được từ loài *E. ciliata* sẽ có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao, góp phần tích cực vào việc khai thác và sử dụng một cách hợp lý nguồn tài nguyên thiên nhiên của đất nước. Xuất phát từ điểm đó, tôi đã lựa chọn đề tài “**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Kinh giới *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.**”

Mục tiêu của luận án: Nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ loài Kinh giới *E. ciliata*. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập được để tìm kiếm các hoạt chất làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo để tạo ra sản phẩm chăm sóc sức khỏe cho cộng đồng.

Nội dung luận văn bao gồm:

1. Thu thập mẫu thực vật;
2. Tạo dịch chiết và các phân đoạn;
3. Phân lập các hợp chất sạch từ loài Kinh giới *E. ciliata* bằng các phương pháp sắc ký;
4. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp vật lý, hóa học;
5. Nghiên cứu hoạt tính kháng viêm của các hợp chất đã phân lập;

Những đóng góp của luận văn:

Từ loài Kinh giới *Elsholtzia ciliata* đã phân lập và xác định được cấu trúc của 10 hợp chất trong đó bao gồm: 1 hợp chất mới: elsholciliata A (**EC1**) và 9 hợp chất đã biết 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-*O*- β -D-glucopyranoside (**EC2**), 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-1-(3',5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl)-1-propanone) (**EC3**), β -hydroxypropiovanillone 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**EC4**), methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**EC5**), syringin (**EC6**), icariside F₂ (**EC7**), 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one (**EC8**), manglieside B (**EC9**) và 4-allyl-2-hydroxyphenyl-1-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**EC10**). Các hợp chất đã được đánh giá hoạt tính kháng viêm thông qua đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7 được kích thích bởi LPS.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về chi *Elsholtzia*

1.1.1. Giới thiệu chung về chi *Elsholtzia*

Chi *Elsholtzia* (thuộc họ Hoa môi (*Lamiaceae*)) bao gồm 44 loài. Chúng phân bố chủ yếu ở Đông Á, châu Phi, Bắc Mỹ và châu Âu. Ở các nước trên thế giới hầu hết các loài thuộc chi *Elsholtzia* đều được sử dụng trong các bài thuốc điều trị sốt, cảm lạnh, tiêu chảy, kiết lỵ, rối loạn tiêu hóa và giải độc. Một số loài trong chi còn được sử dụng để giảm đau và kháng viêm như: *E. rugulosa*, *E. penduliflora*, *E. blanda*, *E. bodinieri*, *E. stauntoni*, *E. fruticosa*, *E. myosurus*, *E. densa* và *E. ciliata*. Loài *E. cypriani* được sử dụng để điều trị sốt xuất huyết, viêm mũi. Loài *E. bodinieri* được dùng làm thuốc chữa đau đầu, đau toàn thân, đau họng, đau răng, khó tiêu, kiết lỵ, đau mắt viêm kết mạc cấp tính, gây mê và viêm gan [2]. Ở Việt Nam hiện có 7 loài thuộc chi *Elsholtzia*: *E. ciliata*, *E. winitiana*, *E. blanda*, *E. rugulosa*, *E. communis*, *E. penduliflora* và *E. pilosa*. Trong các bài thuốc dân gian, loài kinh giới rìa *E. ciliata* đã được sử dụng để điều trị viêm da, viêm khớp và trĩ, loài kinh giới dây *E. winitiana* được dùng để điều trị bệnh thấp khớp và viêm khớp; loài kinh giới rừng *E. blanda* được sử dụng để điều trị viêm thận, sát trùng và giảm đau; loài kinh giới sần *E. rugulosa* được dùng để chữa cảm cúm, viêm dạ dày, viêm ruột, lỵ và ăn uống không tiêu [3].

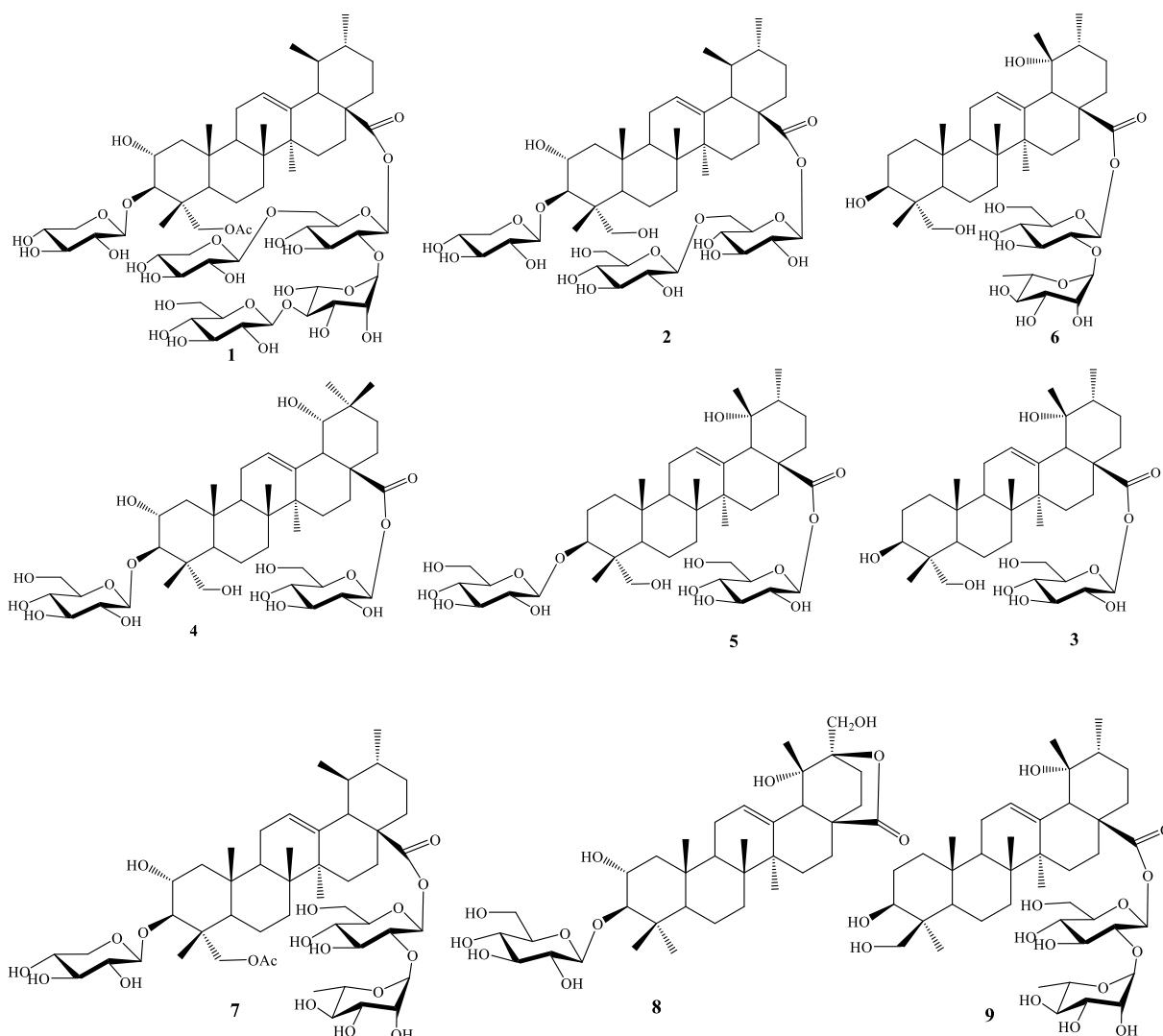
Các loài thuộc chi kinh giới phần lớn là cây cỏ, cây bụi hay cây bụi thấp. Cụm hoa dạng chùm hay bông, liên tục hay ngắt quãng ở đầu cành, hình trụ, đôi khi có dạng chùy. Lá bắc hình trứng hay hình quạt đến kim, nhỏ hơn đài hoa. Đài hình chuông hay hình ống, gốc đài nhẵn, năm thùy gần bằng nhau hoặc có hai thùy dài hơn ở phía trước. Tràng hoa màu trắng, vàng, tím, hai môi, mặt ngoài có tuyến và lông, mặt trong nhẵn. Ống tràng của hoa dài mảnh hơn đài hoa, môi trên thẳng dạng phễu, mép liền hoặc có khía, môi dưới ba thùy trái dài về một bên. Thùy giữa lớn nhất, mép liền, đỉnh môi dưới có khía. Bốn nhị thường thò ra khỏi tràng, hai nhị trước dài hơn. Chỉ nhị nhẵn, bao phấn hai ô, lúc đầu giãn ra sau chụm lại. Bầu nhụy nhẵn hay có lông, vòi nhụy thường thò ra xa khỏi nhị hoa, xẻ hai thùy như nhau ở đỉnh từ nông đến sâu. Thùy hình chùy hoặc hình dùi. Quả hình bầu dục hay hình thuôn, nhẵn hay có lông, có nốt sần[4].

1.1.2. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Elsholtzia*

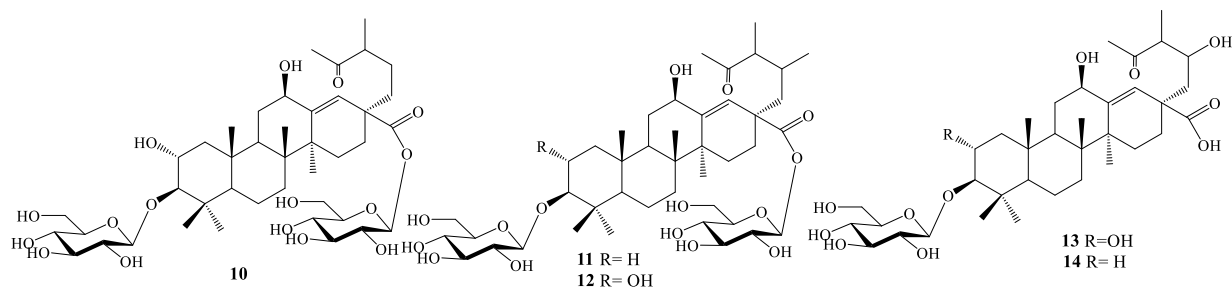
1.1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Elsholtzia* được bắt đầu từ những năm 1990. Thống kê các nghiên cứu về

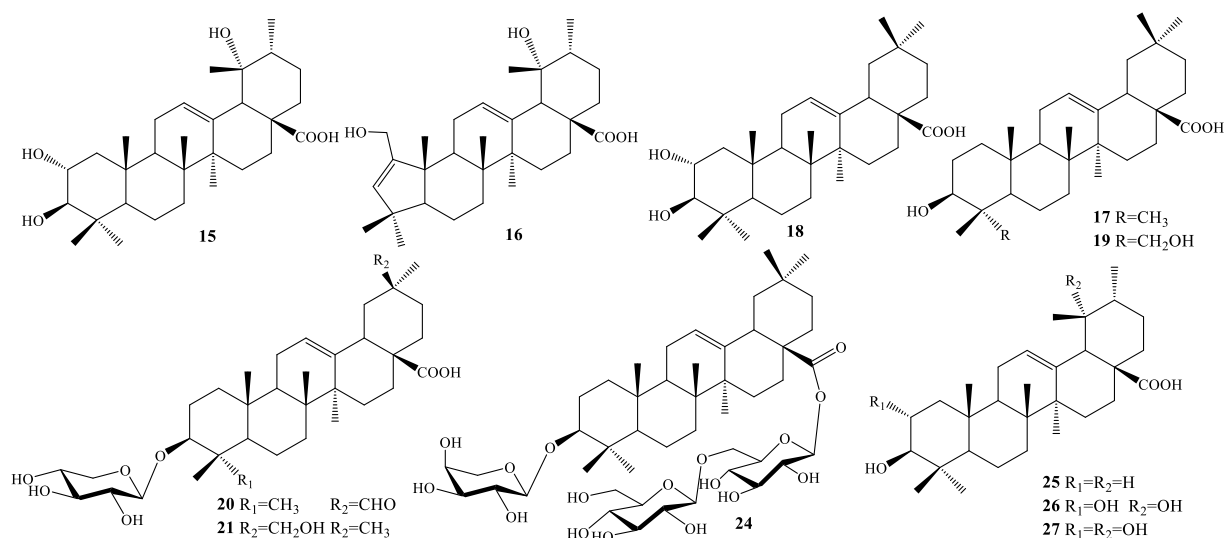
thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Elsholtzia* cho thấy các hợp chất phân lập được có cấu trúc rất đa dạng chủ yếu thuộc các lớp chất terpenoid, flavonoid, phenyl propanoid, phytosterol và glycoside cyanogen [5]. Trong đó terpenoid là thành phần được tìm thấy nhiều trong các loài thuộc chi *Elsholtzia* với khoảng 36 hợp chất triterpenoid (khung oleanane và ursane), diterpenoid và sesquiterpenoid. Gần đây nhất vào năm 2016 và 2019, Zhong và cộng sự đã thông báo phân lập, xác định cấu trúc của 9 hợp chất khung ursane triterpenoid từ phần trên mặt đất của loài *E. bodinieri* bao gồm: bodinioside O (1), bodinioside P (2), rotungenoside (3), 19 α -hydroxyarjunolic acid 3,28-*O*-bis- β -D-glucopyranoside (4), oblonganoside I (5), acid rotungenic 28-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside (6), bodinioside M (7), bodinioside N (8) và pseudobuxussaponin B (9) [6,7].



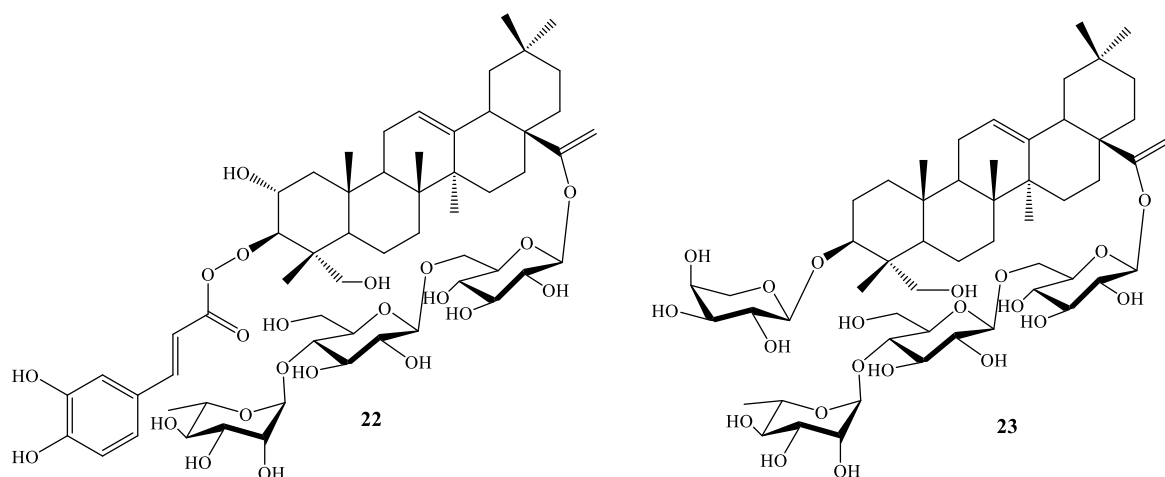
Từ phần thân cành lá của loài *E. bodinieri*, 5 hợp chất 18,19-secoursane glycoside: bodinioside E-G (10–12), bodinioside A (13) và bodinioside B (14) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Các hợp chất này có cấu trúc rất đặc biệt và hiếm gặp với sự phá vỡ nối đôi tại C-18/ C-19 để mở vòng *E* [8-10].



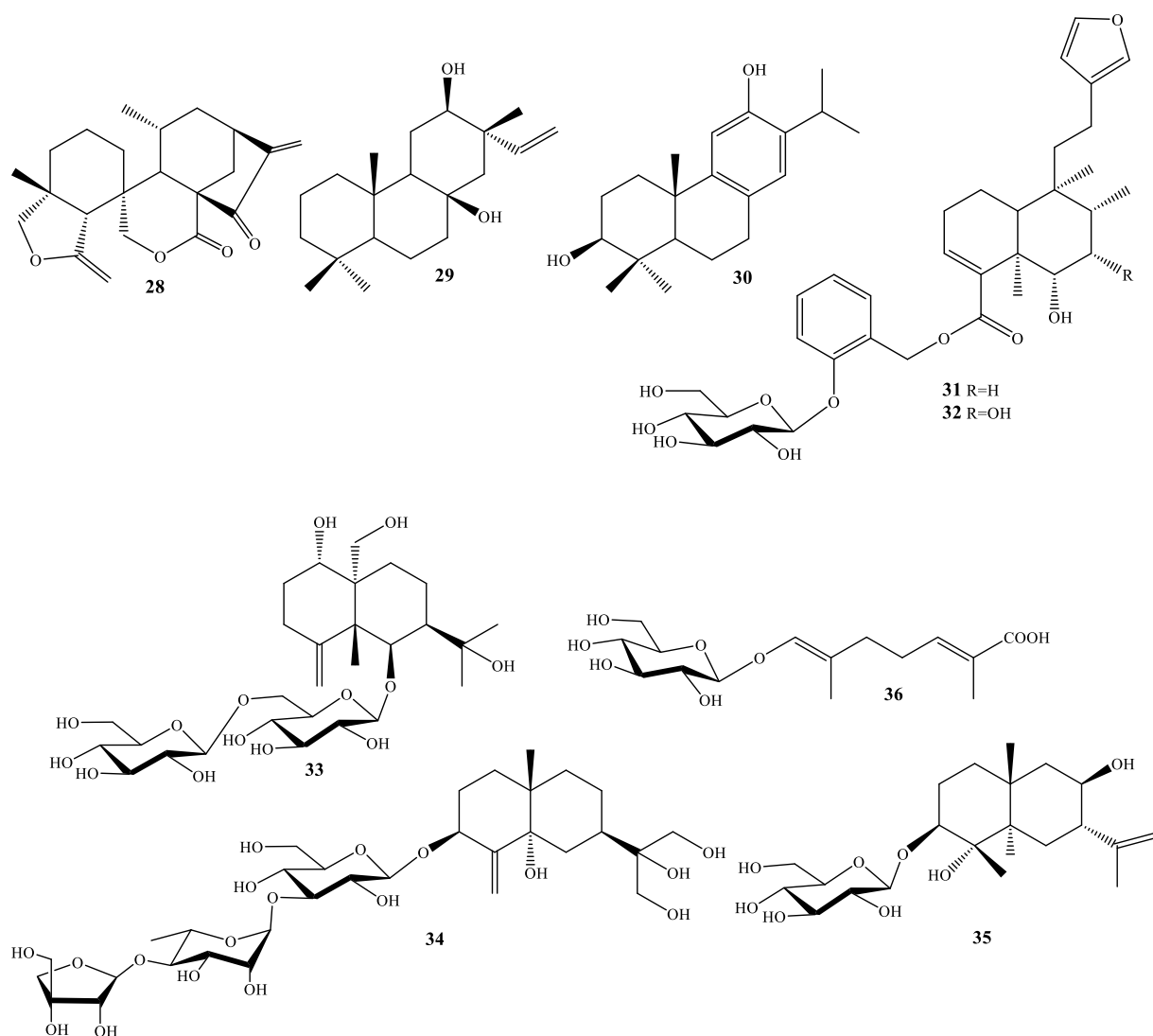
Thêm vào đó, cũng từ loài *E. bodinieri* các hợp chất 2,3,19-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (**15**) and hypadienic acid (**16**) đã được phân lập và xác định cấu trúc bởi hai nhóm tác giả Zhao [8], Hu và cộng sự [10].



Các hợp chất khung olean triterpenoid (**17-24**) cũng được phân lập từ phần trên mặt đất của loài *E. bodinieri* [11-14]. Ba hợp chất khung ursane triterpenoid bao gồm: acid ursolic (**25**), acid corosolic (**26**) và acid 2 α ,3 β ,19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic (**27**) được tìm thấy từ cả 3 loài *E. rugulosa*, *E. ciliata* và *E. bodinieri* [5,9,15].

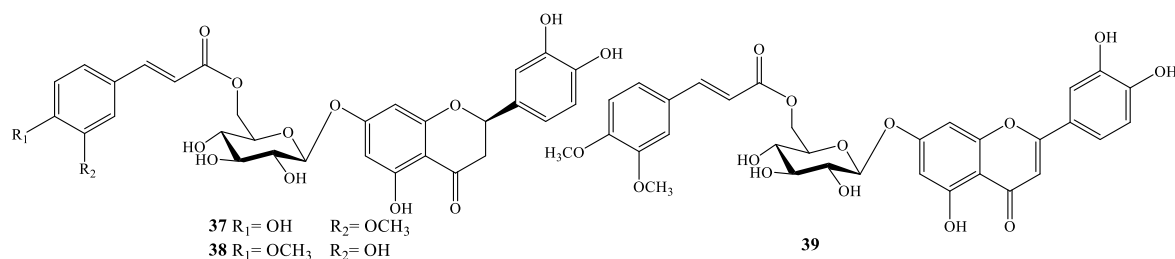


Ngoài ra, 5 hợp chất diterpenoid (**28-32**) được phân lập từ loài *E. bodinieri*: ludongnin 5 (**28**), sandaracopimar-15-en $8\beta,12\beta$ -diol (**29**), (+)-hinokiol (**30**), 6-hydroxyhardwickiic acid 2'-*O*- β -D-glucopyranosylbenzyl ester (**31**), và 6,7-dihydroxyhardwickiic acid 2'-*O*- β -D-glucopyranosylbenzyl ester (**32**) [10,12,16,17]. Từ loài *E. bodinieri*, nhóm tác giả Hu đã thông báo phân lập, xác định cấu trúc của 3 hợp chất có dạng khung eudesmane sesquiterpenoid glycoside bao gồm: dic-tamnoside G (**33**), $3\beta,5\alpha,11,12,13$ -pentahydroxy-eudesm-4(15)-ene-3-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 3)- β -D-Glycopyranoside (**34**) và integrifoside A (**35**) [18]. Một hợp chất monoterpene: acid 2,6-dimethyl-8-hydroxyl-2,6-octadienic-8-*O*- β -D-glucoside (**36**) được phân lập từ loài *E. bodinieri* [19].

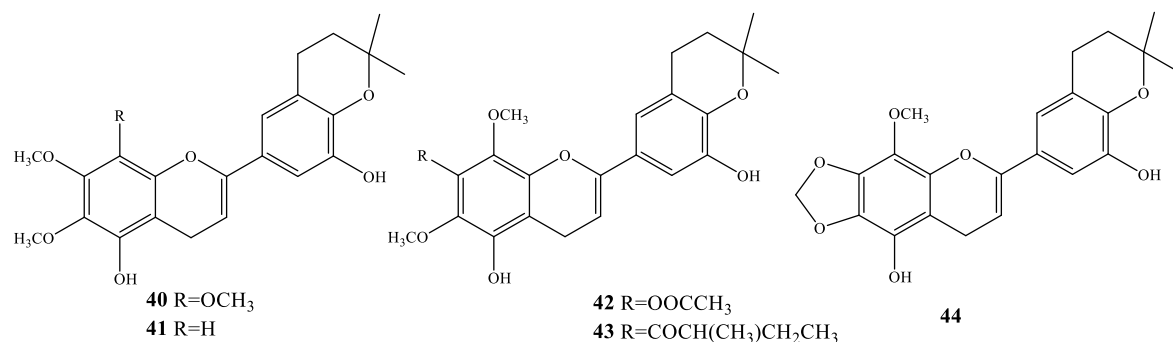


Flavonoid cũng là một trong những lớp chất chính trong chi *Elsholtzia*. Có khoảng 60 hợp chất flavonoid và flavonoid glycoside đã được phân lập từ chi này.

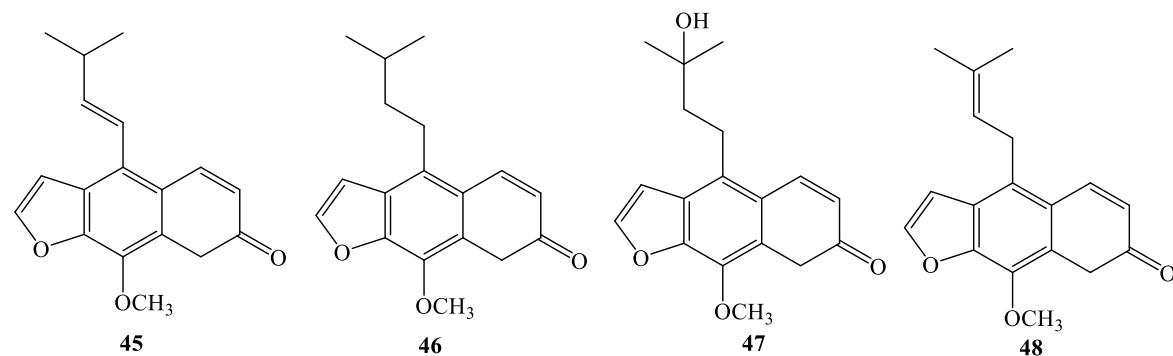
Năm 2008, Li và cộng sự đã phân lập và xác định cấu trúc của 3 hợp chất flavonoid glycoside bao gồm: eriodictyol 7-*O*-(6-feruloyl)- β -D-glucopyranoside (**37**), eriodictyol 7-*O*-[6-(3-hydroxy-4-methoxycinnamoyl)]- β -D-glucopyranoside (**38**) và luteolin 7-*O*-[6-(3-hydroxy-4-methoxycinnamoyl)]- β -D-glucopyranoside (**39**) [20].

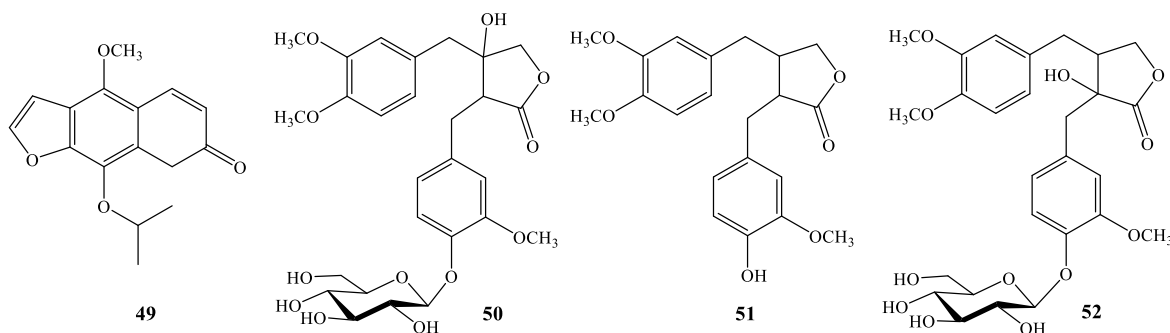


Muxiangrine I (**40**) và muxiangrine II (**41**) được phân lập từ loài *E. stauntonii* [21,22]. Các hợp chất sifanghaoine I-III (**42-44**) được thông báo từ loài *E. blanda* [23,24].

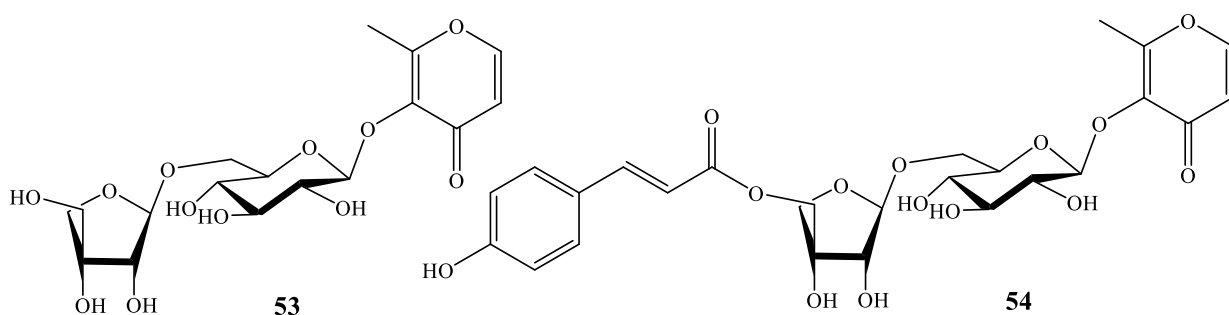


Các hợp chất (**45-49**) là dẫn xuất của furanocoumarin, trong đó **46-49** được tìm thấy từ loài *E. densa* [21,25]. Ba chất lignanolide được xác định từ chi này bao gồm: 3-hydroxyarctiin (**50**) và arctigenin (**51**) được phân lập từ *E. eriostachya*; saussurenoside (**52**) được phân lập từ loài *E. ianthina* [25,26].

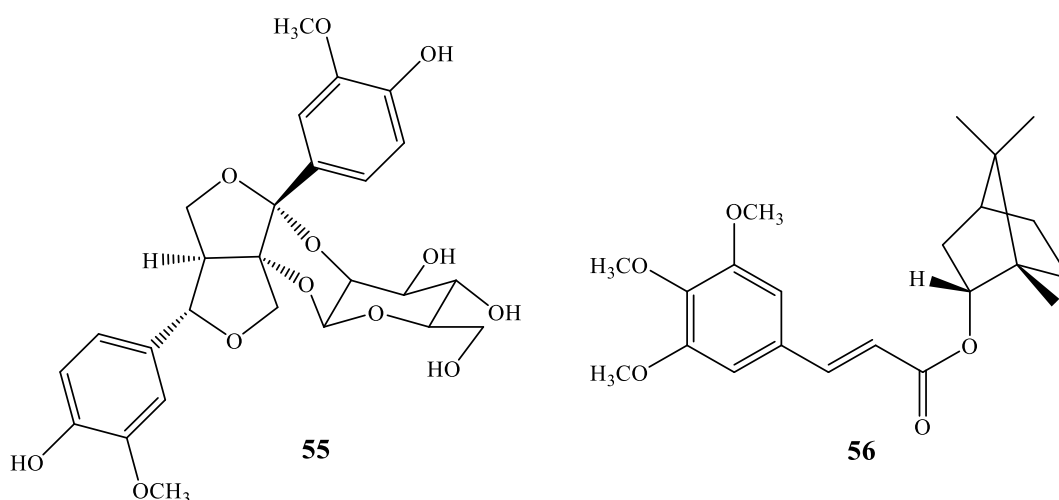




Ngoài ra, còn có một số hợp chất thuộc một số lớp chất khác như: maltol, lignane,... Hai hợp chất maltol, maltol 6-*O*- β -D-apiofuranosyl- β -D-glucopyranoside (**53**) và maltol 6-*O*-(5-*O*-*p*-coumaroyl)- β -D-apiofuranosyl- β -D-glucopyranoside (**54**) được Li và cộng sự thông báo phân lập từ loài *E. rugulosa* [27].



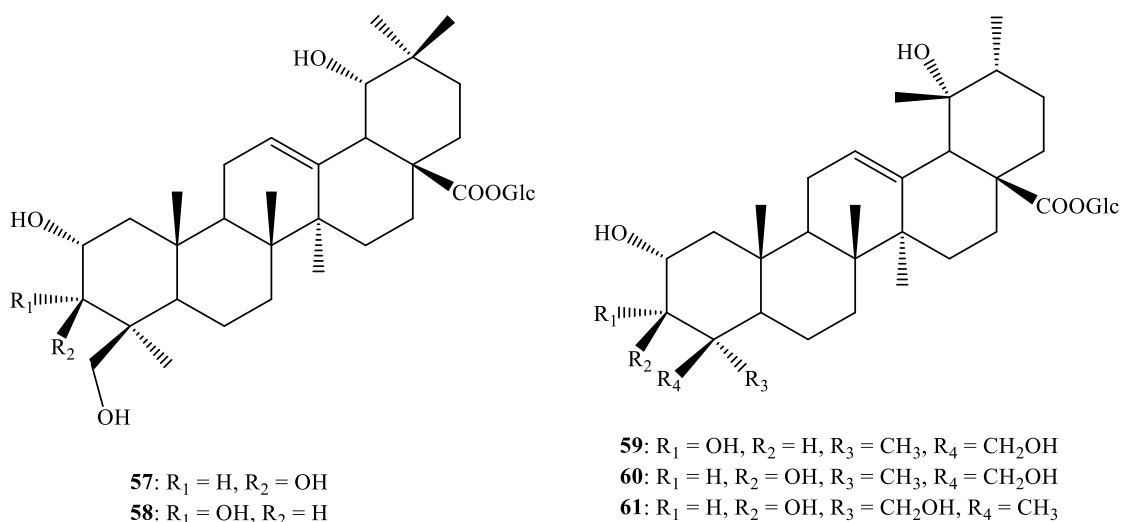
Cũng từ loài *E. rugulosa*, nhóm tác giả Trung Quốc đã thông báo một hợp chất lignan có tên là elshrugulosain (**55**) và hợp chất bornyl (*E*)-3,4,5-trimethoxycinnamate (**56**) được phân lập từ dịch chiết ethanol [28].



1.1.2.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

Việt Nam mới chỉ có một vài nghiên cứu sơ bộ về một vài loài thuộc chi *Elsholtzia*. Trong một nghiên cứu về hàm lượng tinh dầu của loài *E. blanda* thu ở Sơn La cho thấy thành phần chính của nó là: 1,8-cineol (62,04%), β -pinen (5,69%), α -pinen (4,31%) và α -terpineol (4,98%) [29]. Cuối năm 2021, nhóm nghiên cứu

Viện Dược liệu đã thông báo xác định cấu trúc năm hợp chất saponin từ phân đoạn ethyl acetate loài kinh giới rừ *E. penduliflora*: sericoside (**57**), acid 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic 28-O- β -D-glucopyranosyl este (**58**), pruvuloside B (**59**), acid 24-hydroxytormentonic glucoside este (**60**) và niga-ichigoside F1 (**61**) [30].



1.2. Tổng quan về loài Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.)

1.2.1. Giới thiệu chung về loài Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.)

Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) thuộc họ Hoa môi (*Lamiaceae*) là cây thảo cao khoảng 30-40 cm. Thân vuông, mọc đứng và có lông mịn. Lá phiến thuôn nhọn, mọc đối, mép có răng cưa, dài 5-8 cm, rộng 3 cm, cuống lá dài 2-3 cm. Hoa nhỏ màu tím nhạt, không cuống. Quả nhẵn gồm 4 quả hạch nhỏ [31].

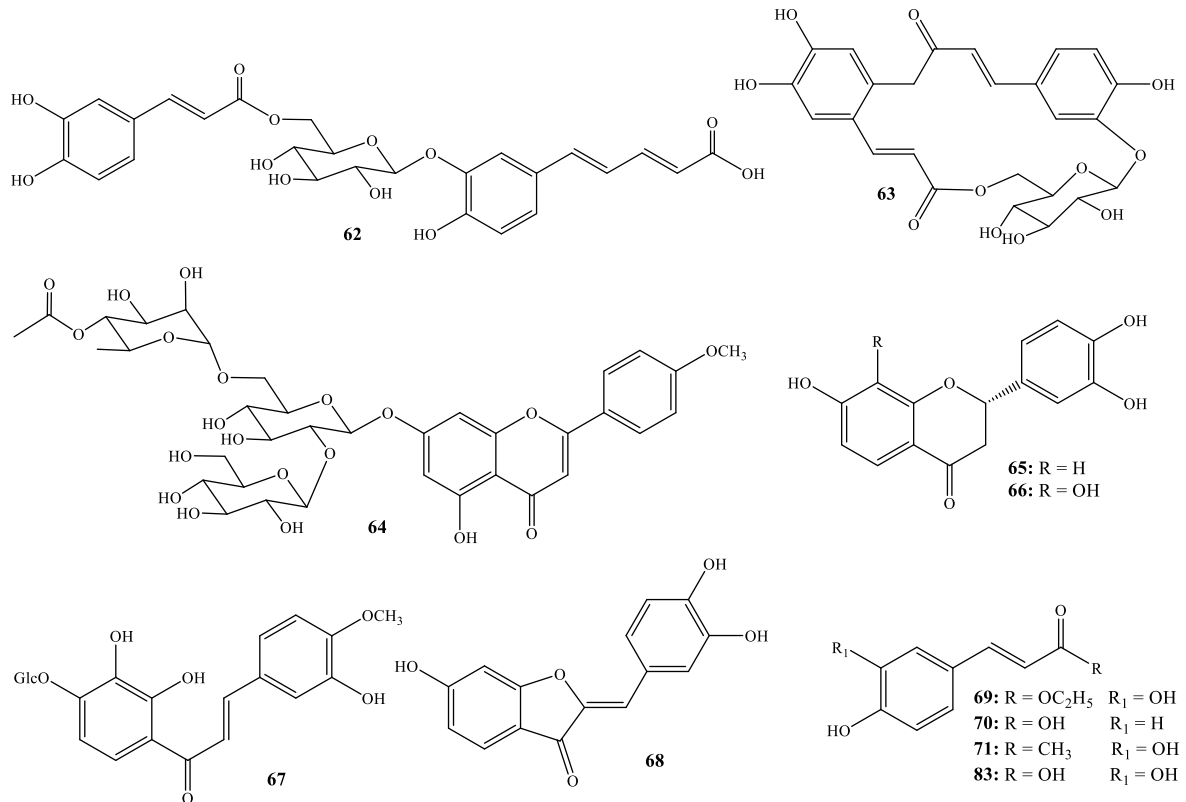
Phân bố: Kinh giới có ở khắp các tỉnh và thành phố từ Lào Cai, Vĩnh Phúc, Ninh Bình, Lạng Sơn, Cao Bằng, Phú Thọ, Hòa Bình, Hà Nội vào các tỉnh phía nam. Kinh giới còn phân bố ở Mianma, Ấn độ, Nêpan, Trung Quốc, Triều Tiên, Nhật Bản, Lào, Campuchia, một số nước châu Á, châu Mỹ [31].

Tác dụng dược lí : Kinh giới tính vị nóng và cay, nó có tác dụng lợi tiểu, làm toát mồ hôi, khử phong, trừ sốt và chỉ ngứa. Kinh giới thường dùng trị say nắng, cúm mùa, nhức đầu, sốt không toát mồ hôi, viêm dạ dày viêm ruột cấp; hơi thở nặng; giảm niệu, đau xương, phong thấp, đau mình. Kinh giới còn được dùng chữa rong huyết, băng huyết, đi ngoài ra máu, thổ huyết. Liều dùng sắc 3-10 gram dạng uống, trị mụn nhọt, viêm mủ da thì giã cành lá tươi đắp [31].

1.2.2. Các nghiên cứu về loài Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.)

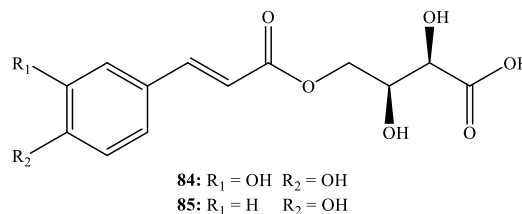
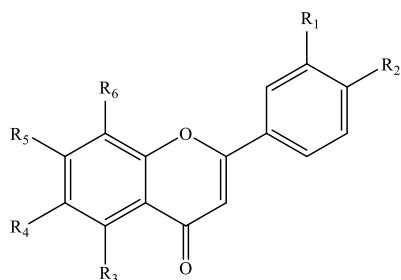
Năm 2020, Young Hye Seo và các cộng sự thông báo xác định cấu trúc 38 hợp chất từ phần thân cành lá loài *E. ciliata*. Hoạt tính bảo vệ thần kinh của 38 hợp chất trên được đánh giá bằng một thử nghiệm khả năng sống sót của tế bào trên tế bào thần kinh HT22 của chuột. Kết quả cho thấy 10 hợp chất: (7E,9E)-3-

hydroxyavenalumatic acid-3-O-[6'-O-(*E*)-caffeoyl]- β -D-glucopyranoside (**62**), gnaphaliin C (**63**), acacetin-7-O-[β -D-glucopyranosyl(1''' \rightarrow 2'')-4'''-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl(1''' \rightarrow 6'')]- β -D-glucopyranoside (**64**), butin (**65**), isookanin (**66**), okanin-4-methoxy-4'-O- β -D-glucopyranoside (**67**), sulfuretin (**68**), ethyl caffeate (**69**), (*E*)-*p*-coumaric acid (**70**), osmundacetone (**71**) thể hiện hoạt tính bảo vệ thần kinh mạnh mẽ chống lại sự chết tế bào HT22 do glutamate gây ra với giá trị EC_{50} 1,5-8,3 μ M [32].

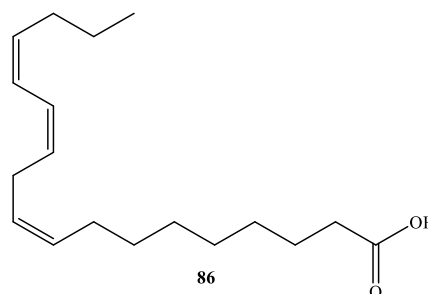


Tính đến nay, ở nước ta mới chỉ có một vài nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Elsholtzia* nhưng chưa có nghiên cứu đầy đủ và hệ thống. Phân tích GC - MS cho thấy tinh dầu của loài *E. ciliata* thu ở Vinh có chứa hơn 30 hợp chất như là: wereneral (15.2 - 20.5%), geranial (19.5 - 26.5%), limonene (10.9 - 14.2%) và (*Z*)- β -farnesene (10.8 - 11.7%) [33]. Trong một nghiên cứu khác, cũng từ loài *E. ciliata* thu ở Huế đã thông báo có chứa geranial (28,4%), β -*cis*-ocimen (23,0%) và neral (21,7%). Tinh dầu của loài *E. ciliata* được thông báo thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với chủng *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* và kháng nấm *Candida albicans* [34]. Năm 2020, nhóm tác giả trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh đã thông báo cấu trúc 15 hợp chất: vitexin (**72**), pedalin (**73**), luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (**74**), apigenin-5-O- β -D-glucopyranoside (**75**), apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (**76**), chrysoeriol-7-O-

β -D-glucopyranoside (**77**), 7,3'-dimethoxyluteolin-6-O- β -D-glucopyranoside (**78**), luteolin (**79**), 5,6,4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone (**80**), 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavone (**81**), 5-hydroxy-7,8-dimethoxyflavone (**82**), caffeic acid (**83**), 4-(*E*)-caffeoyl-L-threonic acid (**84**), 4-O-(*E*)-*p*-coumaroyl-L-threonic acid (**85**) và α -linolenic acid (**86**) từ phân trên mặt đất loài *E. ciliata* trong đó có tới 11 hợp chất thuộc khung flavonoid. 15 hợp chất đều có tác dụng chống oxy hóa và kháng viêm tốt ở nồng độ 2,5-10 μ M [35].



72: R ₁ = H	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = OH	R ₆ = H
73: R ₁ = OH	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = O- β -D-Glc	R ₅ = OCH ₃	R ₆ = H
74: R ₁ = OH	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = O- β -D-Glc	R ₆ = H
75: R ₁ = H	R ₂ = OH R ₃ = O- β -D-Glc	R ₄ = H	R ₅ = OH	R ₆ = H
76: R ₁ = H	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = O- β -D-Glc	R ₆ = H
77: R ₁ = OCH ₃	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = O- β -D-Glc	R ₆ = H
78: R ₁ = OCH ₃	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = O- β -D-Glc	R ₅ = OCH ₃	R ₆ = H
79: R ₁ = OH	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = OH	R ₆ = H
80: R ₁ = OCH ₃	R ₂ = OH R ₃ = OH	R ₄ = OH	R ₅ = OCH ₃	R ₆ = H
81: R ₁ = H	R ₂ = H R ₃ = OH	R ₄ = OCH ₃	R ₅ = OCH ₃	R ₆ = H
82: R ₁ = H	R ₂ = H R ₃ = OH	R ₄ = H	R ₅ = OCH ₃	R ₆ = OCH ₃



Qua tổng quan tài liệu cho thấy, ở Việt Nam mới chỉ có một vài nghiên cứu về các loài thuộc chi *Elsholtzia*. Những nghiên cứu tập trung vào phân tích thành phần tinh dầu của hai loài *E. ciliata* và *E. blanda*. Vì vậy, việc điều tra, nghiên cứu thành phần hóa học, khảo sát hoạt tính kháng viêm của loài Kinh giới *E. ciliata* sẽ có ý nghĩa khoa học, đóng góp tích cực cho việc sử dụng, khai thác hợp lý nguồn tài nguyên thiên nhiên của quốc gia.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) được thu ở tỉnh Hòa Bình; vào tháng 1 năm 2020. Tên khoa học của mẫu được định danh bởi TS. Nguyễn Thế Cường - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST. Mẫu tiêu bản (NCCT-P118) được trưng bày tại Viện Hóa sinh biển, VAST.



Hình 2.1. Mẫu kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

- *Sắc ký lớp mỏng (TLC)*: được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC - Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP - 18 F_{254S} (Merck). Chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại tại hai bước sóng 365 nm và 254 nm và dùng thuốc thử hiện màu là dung dịch H₂SO₄ loãng (10%) được bôi đều lên bản mỏng, sấy khô rồi đốt nóng đến khi màu chất hiện lên.

- *Sắc ký cột (C.C.)*: sử dụng chất hấp phụ là nhựa trao đổi ion Diaion HP - 20 (Mitsubishi Chem. Ind. Co., Ltd.), hạt silica gel kích cỡ là 0.040 - 0.063 mm (240-430 mesh) và hạt pha ngược RP - 18 (150 µm, Fuji Silysia Chemical Ltd.).

- *Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)*: được thực hiện với cột sắc ký HPLC pha ngược (RP-HPLC), pha tĩnh không phân cực, trong khi pha động là chất lỏng phân cực. Cột điều chế được làm bằng thép không rỉ độ dài 250 mm với đường kính 20 mm. Đầu dò UV (detector) nằm ở cuối cột có tác dụng phát hiện chất điều chế. Tín hiệu đầu dò được ghi lại qua phần mềm lưu trữ và xử lý dữ liệu, sau đó hứng phân đoạn thu được chất điều chế.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

- *Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS*: được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass QTOF LC/MS của Viện Hóa sinh biển.

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR*: được đo trên máy Bruker AM600 FT - NMR và Bruker AM500 FT - NMR của Viện Hoá học. Chất nội chuẩn là TMS. Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều: $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC, HMBC, NOSEY và COSY.

- *Phổ lưỡng sắc tròn (CD)*: Phổ CD được đo trên máy Chirascan™ CD spectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK) tại Viện Hóa sinh biển.

- *Độ quay cực $[\alpha]_D$* : được đo trên máy JASCO P - 2000 Polarimeter tại Viện Hóa sinh biển, VAST.

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

Vật liệu thử hoạt tính kháng viêm gồm:

- Sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride, sodium nitrite và dimethyl sulphoxide (DMSO), lipopolysaccharides (LPS) từ chủng Escherichia coli của công ty Hóa học Sigma tại Mỹ. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), huyết thanh bò (FBS) của hãng Life Technologies và các hóa chất cần thiết khác của các công ty Invitrogen, Sigma,...

**Phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh NO của tế bào RAW 264.7*

- Tế bào RAW 274.7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ 2×10^5 tb / giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5 % CO_2 trong 24 giờ.

- Tiếp đến, thay thế môi trường nuôi cấy bằng môi trường DMEM không có huyết thanh bò trong 3 giờ.

- Sau đó, tế bào nghiên cứu được ủ ở các nồng độ khác nhau trong 2 giờ rồi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS ($1 \mu\text{g} / \text{mL}$) trong 24 giờ.

- N^G -Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) được sử dụng là đối chứng dương ở các nồng độ 100; 20; 4 và $0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$. Đối chứng âm được coi là một số giếng chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu và không được ủ mẫu.

- Việc tạo NO được xác định dựa vào chỉ thị nitrite (NO_2^-) thông qua bộ Hệ thống thuốc thử Griess (tập đoàn Promega, Mỹ).

- Hỗn hợp được tiếp tục ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng; hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng đầu đọc microplate tại bước sóng 540 nm. Mẫu trắng (blank) là môi trường DMEM không FBS.

- Hàm lượng nitrite (NO) của từng mẫu thí nghiệm được tính toán dựa vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

- Công thức tính toán khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu:

$$\% \text{ Ức chế} = 100\% - \left[\frac{\text{hàm lượng NO}_{\text{sample}}}{\text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}} \right] * 100$$

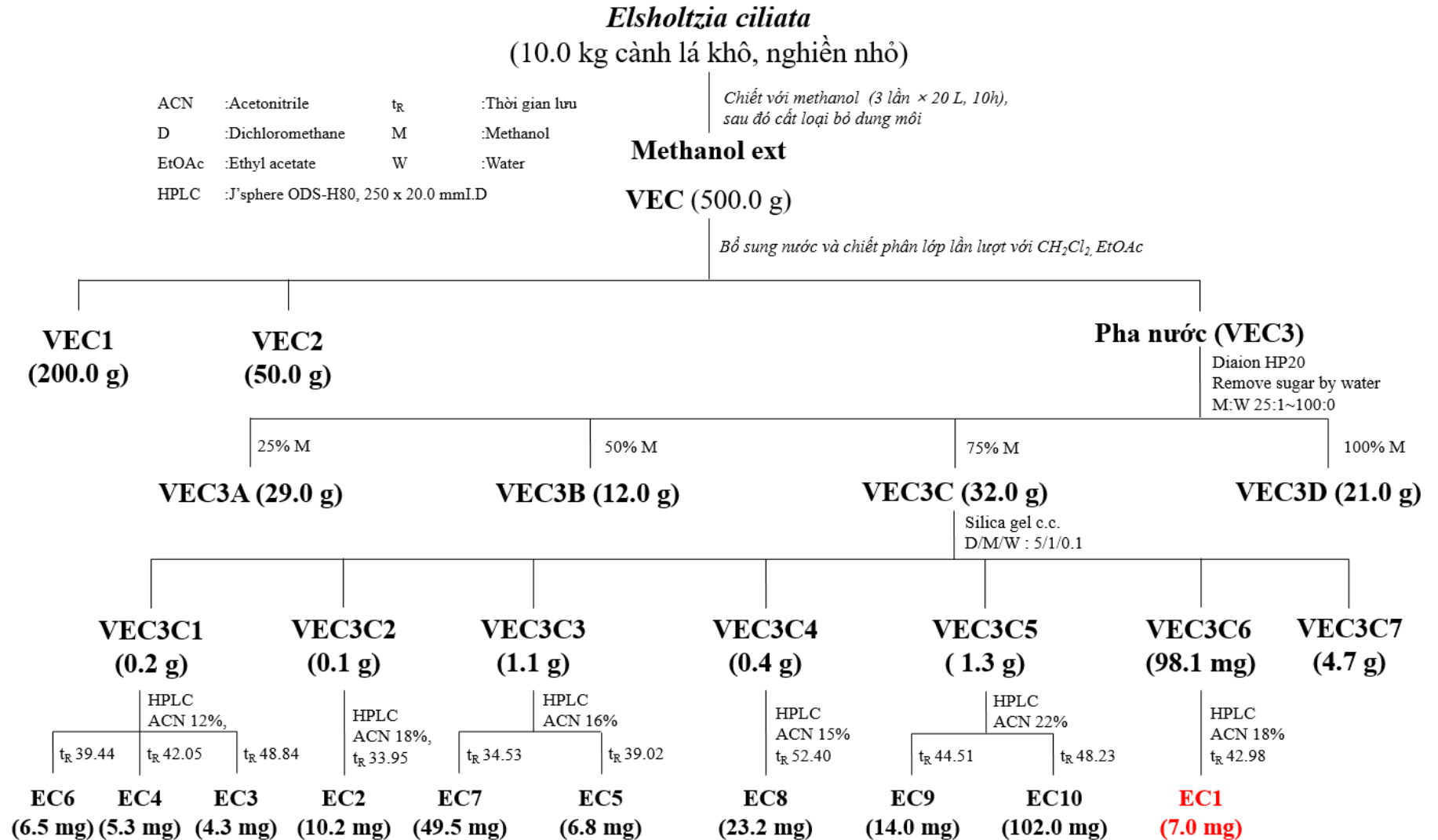
- Phép thử sẽ được thực hiện lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác cao, giá trị IC₅₀ được tính toán bằng phần mềm máy tính Table Curve 2Dv4.

2.3. Phân lập các hợp chất

Loài kinh giới *E. ciliata* (Thunb.) Hyl. (10 kg bột khô) được ngâm với MeOH trong bể siêu âm 10 giờ (3 lần × 20 lít). Dịch chiết MeOH sau đó được quay khô bằng máy cất quay chân không thu được 500 g cặn MeOH (VEC). Phân bố đều cặn chiết MeOH với 4 lít nước cất, sau đó đem chiết phân lớp lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần là dichloromethane và ethyl acetate thu được các dịch chiết dichloromethane, ethyl acetate, sau đó các dịch chiết được quay khô bằng máy cất quay chân không thu được các cặn chiết tương ứng dichloromethane (VEC1), ethyl acetate (VEC2) và pha nước (VEC3).

Phân đoạn VEC3 được chạy sắc ký trên cột Diaion HP-20 rửa giải bằng nước cất để loại bỏ đường, muối vô cơ, sau lần lượt rửa giải với hệ dung môi MeOH/ nước với tỉ lệ 25% MeOH, 50% MeOH, 75% MeOH, 100% MeOH (2 lít) sau đó loại bỏ dung môi bằng máy cất quay chân không thu được 4 phân đoạn VEC3A-VEC3D. Tiếp tục phân tách phân đoạn VEC3C trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol/water (5/1/0.1, v/v/v) thu được bảy phân đoạn VEC3C1-VEC3C7. Phân đoạn VEC3C6 được phân tách trên hệ thống HPLC cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 18% ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút thu được hợp chất EC1 (7.0 mg) tại t_R 42.98. Hợp chất EC2 (10.2 mg) tại t_R 33.95 được phân lập từ phân đoạn VEC3C2 khi chạy trên hệ thống HPLC sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 18% ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút. Phân tách phân đoạn VEC3C5 hệ thống HPLC cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 22% ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút thu được hai hợp chất EC9 (14.0 mg) tại t_R 44.51 và EC10 (102.0 mg) tại t_R 48.23. Hợp chất EC7 (49.5 mg) và EC5 (6.8 mg) lần lượt thu được tại t_R 34.53 và t_R 39.02 khi phân tách phân đoạn VEC3C3 trên hệ thống HPLC sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 18% ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút. Hợp chất EC8 (23.2 mg) tại t_R 52.40 được phân lập từ phân đoạn VEC3C4 khi chạy trên hệ thống HPLC sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 15 % ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút. Phân đoạn VEC3C1 được phân tách

trên hệ thống HPLC cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm với hệ dung môi rửa giải 12% ACN trong nước, tốc độ dòng 3mL/phút thu được ba hợp chất **EC6** (6.5 mg) tại t_R 39.44, **EC4** (5.3 mg) tại t_R 42.05 và **EC3** (4.3 mg) tại t_R 48.84.



Hình 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài kinh giới *E. ciliata* (Thunb.) Hyl.

2.4. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được

2.4.1. Hợp chất EC1: *elsholciliata A* (hợp chất mới)

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -31.1° ($c=0.1$, *MeOH*)

CTPT: $C_{24}H_{38}O_{12}$

KLPT: 518

Phổ HR - ESI - MS m/z : 553.2030 $[M+Cl]^-$

$C_{24}H_{38}O_{12}Cl$ ($M= 553.2057$)

Phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR (Bảng 3.1.)

2.4.2. Hợp chất EC2: *4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside*

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -39.5° ($c=0.1$, *MeOH*)

CTPT: $C_{16}H_{22}O_8$

KLPT: 342

Phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR (Bảng 3.2.)

2.4.3. Hợp chất EC3: *3-O- β -D-glucopyranosyl-1- (3', 5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-propanone)*

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -20.7° ($c=0.1$, *MeOH*)

CTPT: $C_{17}H_{24}O_{10}$

KLPT: 388

Phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR (Bảng 3.3.)

2.4.4. Hợp chất EC4: *β -hydroxypropiovanillone 3-O- β -D-glucopyranoside*

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -18.3° ($c=0.1$, *MeOH*)

CTPT: $C_{16}H_{22}O_9$

KLPT: 358

Phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR (Bảng 3.4.)

2.4.5. Hợp chất EC5: *methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside*

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -58.3° ($c=0.1$, *MeOH*)

CTPT: C₁₉H₂₆O₁₂

KLPT: 446

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.5.)

2.4.6. Hợp chất EC6: syringin

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -40.6 ($c=0.1$, MeOH)

CTPT: C₁₇H₂₄O₉

KLPT: 372

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.6.)

2.4.7. Hợp chất EC7: icariside F₂

Chất dạng bột, vô định hình, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -87.8 ($c=0.1$, MeOH).

CTPT: C₁₈H₂₆O₁₀

KLPT: 402

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.7.)

2.4.8. Hợp chất EC8: 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one

Chất dạng dầu, màu vàng nhạt.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -37.5 ($c=0.1$, MeOH).

CTPT: C₁₆H₂₀O₈

KLPT: 340

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.8.)

2.4.9. Hợp chất EC9: manglieside B

Chất dạng dầu, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -85.0 ($c=0.1$, MeOH).

CTPT: C₂₀H₂₈O₁₁

KLPT: 444

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.9.)

2.4.10. Hợp chất EC10: 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside

Chất dạng dầu, không màu.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -58.2 ($c=0.1$, MeOH).

CTPT: C₂₀H₂₈O₁₁

KLPT: 444

Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (Bảng 3.10.)

2.5. Thử hoạt tính các hợp chất phân lập được

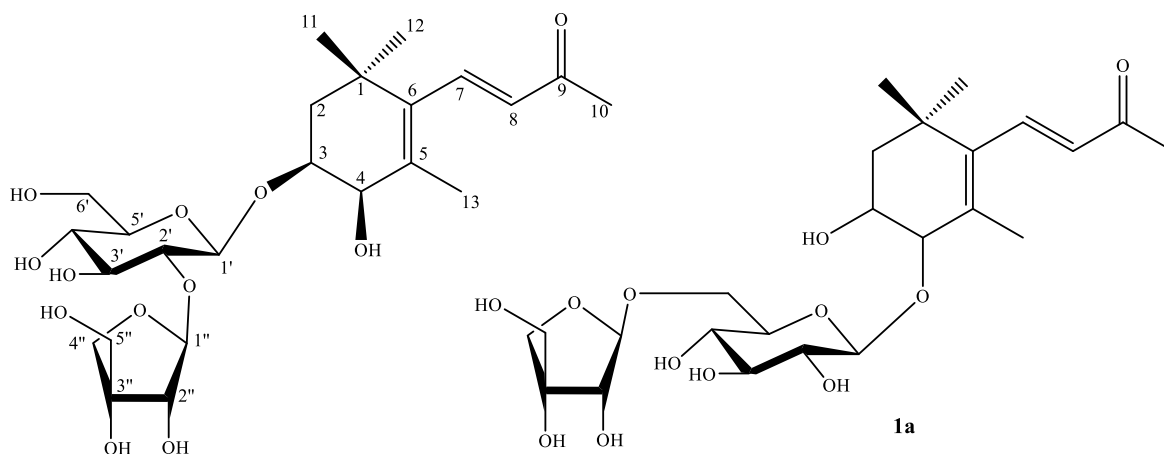
Tiến hành thử hoạt tính kháng viêm các hợp chất phân lập được thông qua khả năng ức chế sản sinh nitric oxide tại Phòng công nghệ sinh học, Viện Công nghệ sinh học, VAST.

Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học (bảng 3.11)

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.)

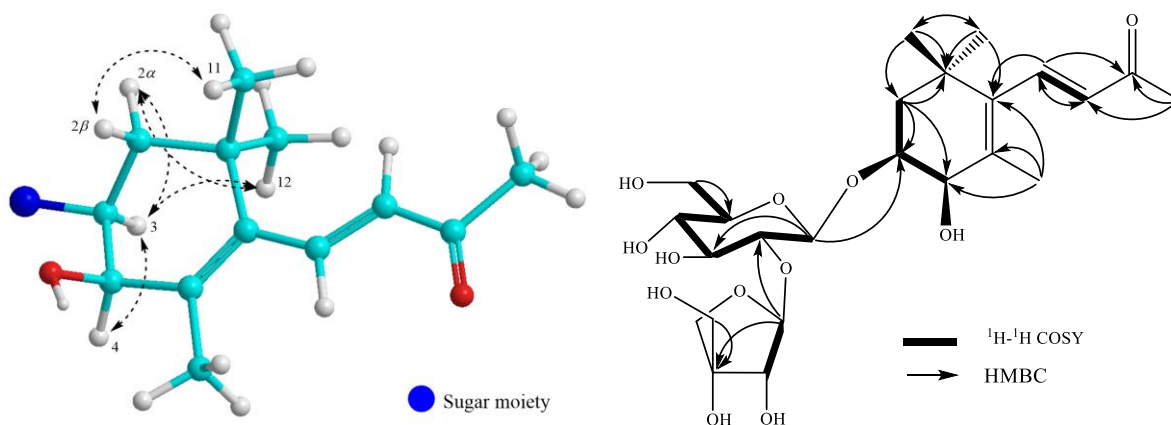
3.1.1. Hợp chất EC1: *elsholciliata* A (hợp chất mới)



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC1 và hợp chất htham khảo 1a

Hợp chất EC1 thu được ở dạng chất bột vô định hình không màu. CTPT của hợp chất EC1 là $C_{24}H_{38}O_{12}$ dựa vào pic ion giả phân tử tại m/z : 553.2030 (tính toán lí thuyết cho công thức phân tử $[C_{24}H_{38}O_{12} Cl]^-$, 553.2057) trên phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS. Phân tích phổ 1H -NMR của hợp chất EC1 thấy xuất hiện tín hiệu của bốn nhóm methyl bậc bốn tại δ_H 1.12 (3H, s), 1.16 (3H, s), 1.90 (3H, s) và 2.34 (3H, s), một nối đôi *trans* tại δ_H 6.16 (1H, d, $J = 16.2$ Hz) và 7.30 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), hai nhóm oximethine tại δ_H 4.07 (1H, dt, $J = 3.6, 12.6$ Hz) và 4.15 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), một nhóm methylene tại δ_H 1.64 (1H, ddd, $J = 1.2, 3.6, 12.6$ Hz)/ 1.96 (1H, t, $J = 12.6$ Hz), một proton anome tại δ_H 4.60 (1H, d, $J = 7.8$ Hz) và một nhóm oxymethylene tại δ_H 3.69 (1H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz)/ 3.88 (1H, dd, $J = 2.4, 12.0$ Hz) đặc trưng cho một phân tử đường glucopyranose, và một proton anome tại δ_H 5.26 (1H, d, $J = 3.6$ Hz), hai nhóm oxymethylene group tại δ_H 3.77 (1H, d, $J = 9.6$ Hz)/ 4.15 (1H, d, $J = 9.6$ Hz) và tại δ_H 3.60 (2H, d, $J = 11.4$ Hz) đặc trưng cho một phân tử đường apiofuranose. Tiếp tục phân tích phổ ^{13}C -NMR và HSQC của hợp chất EC1 nhận thấy sự xuất hiện tín hiệu của hai mươi tư carbon, trong đó có sáu carbon của một phân tử glucopyranose (δ_C 101.6, 83.6, 77.8, 77.8, 71.5, 62.6) [36], năm carbon đặc trưng của một phân tử đường apiofuranose (δ_C 112.4, 77.6, 79.7, 74.8, 65.0) [36] và mười ba carbon đặc trưng cho một aglycone megastigmane (trong đó có một carbon carbonyl tại δ_C 200.9, bốn carbon olefin tại δ_C 144.3, 141.2, 134.7 và 132.5; bốn carbon methyl tại δ_C 30.3, 28.0, 27.2 và 20.0; hai carbon oxymethine tại δ_C 75.4 và 69.8; một carbon methylene tại δ_C 40.1; và một carbon bậc bốn tại δ_C 37.9). Các dữ liệu phổ NMR của hợp chất EC1 khá giống với dữ liệu phổ của hợp

chất sonchusionoside B [37]. Các tương tác $^1\text{H}-^1\text{H}$ (COSY) giữa H-1' (δ_{H} 4.60)/ H-2' (δ_{H} 3.32)/ H-3' (δ_{H} 3.50)/ H-4' (δ_{H} 3.36)/ H-5' (δ_{H} 3.30)/ H-6a (δ_{H} 3.69) và H-6b (δ_{H} 3.88), kết hợp các tín hiệu δ_{H} 4.60 (d, $J = 7.8$ Hz) và δ_{C} 101.6, 83.6, 77.8, 71.5, 77.8, 62.6 gợi ý cho sự xuất hiện của một phân tử β -D-glucopyranosyl. Thêm vào đó các tương tác trên phổ HMBC giữa H-7 (δ_{H} 7.30) với C-8 (δ_{C} 134.7), C-9 (δ_{C} 200.9) và C-5 (δ_{C} 132.5), giữa H-10 (δ_{H} 2.34) với C-9, C-8, giữa H-12 (δ_{H} 1.16) và H-11 (δ_{H} 1.12) với C-1 (δ_{C} 37.9), C-2 (δ_{C} 40.1), C-6 (δ_{C} 141.2); giữa H-13 (δ_{H} 1.90) với C-4 (δ_{C} 69.8), C-5, C-6, giữa H-2_{eq} (δ_{H} 1.64) và H-2_{ax} (δ_{H} 1.96) với C-1, C-3, C-4 gợi ý cho phân aglycone của hợp chất **EC1** là a 3,4-dihydro-5,7-megastigmadien-9-one. Các tương tác HMBC giữa proton anome H-1' (δ_{H} 4.60) với C-3 (δ_{C} 75.4) và giữa H-1'' (δ_{H} 5.26) với C-2' (δ_{C} 83.6) đã chỉ ra rằng phân tử đường apiofuranose đính tại vị trí C-2' của phân tử đường glucopyranose và phân tử glucopyranose đính tại vị trí C-3 của aglycone. Như vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất **EC1** được xác định là (3*S*,4*R*,7*E*)-megastigma-5,7-diene-9-one-3,4-diol 3-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside. Cấu hình tương đối của hợp chất **EC1** được xác định thông qua các tương tác trên phổ NOESY, các tương tác NOE giữa H-12 (δ_{H} 1.16) và H-3_{ax} (δ_{H} 4.07), H-11 (δ_{H} 1.12) và H-2_{ax} (δ_{H} 1.96), H-12 (δ_{H} 1.16) và H-2_{eq} (δ_{H} 1.63) đã chỉ ra rằng H-12, H-2_{eq} và H-3_{ax} ở cùng phía còn H-11 và H-2_{ax} được xác định ở hướng khác của phân tử. Hằng số tương tác proton J nhỏ giữa H-3 và H-4 ($J = 3.6$ Hz) cho phép xác định cấu hình *cis* [38] [39], khác với cấu hình *trans* ($J = 7.8$ Hz) [40]. Cấu hình tuyệt đối của hợp chất **EC1** được xác định thông qua phổ ECD, giá trị ^{13}C và thủy phân đường. Phân tích phổ ECD của hợp chất **EC1** thấy xuất hiện hiệu ứng Cotton dương tại bước sóng 274 nm (+ 1.50 mdeg) và hiệu ứng Cotton âm tại bước sóng 314 nm (- 0.53 mdeg) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [40] cho phép xác định cấu hình 3*S*,4*R*. Tiếp theo, hai phân tử đường của hợp chất **EC1** được xác định là D-glucose và D-apiose được xác định thông qua phương pháp thủy phân, phân tích HPLC sản phẩm thủy phân với cysteine methyl ester và *O*-tolyl isothiocyanate kết hợp với so sánh đường chuẩn [41]. Như vậy, hợp chất **EC1** được xác định là hợp chất mới và được đặt tên là elsholciliata A.



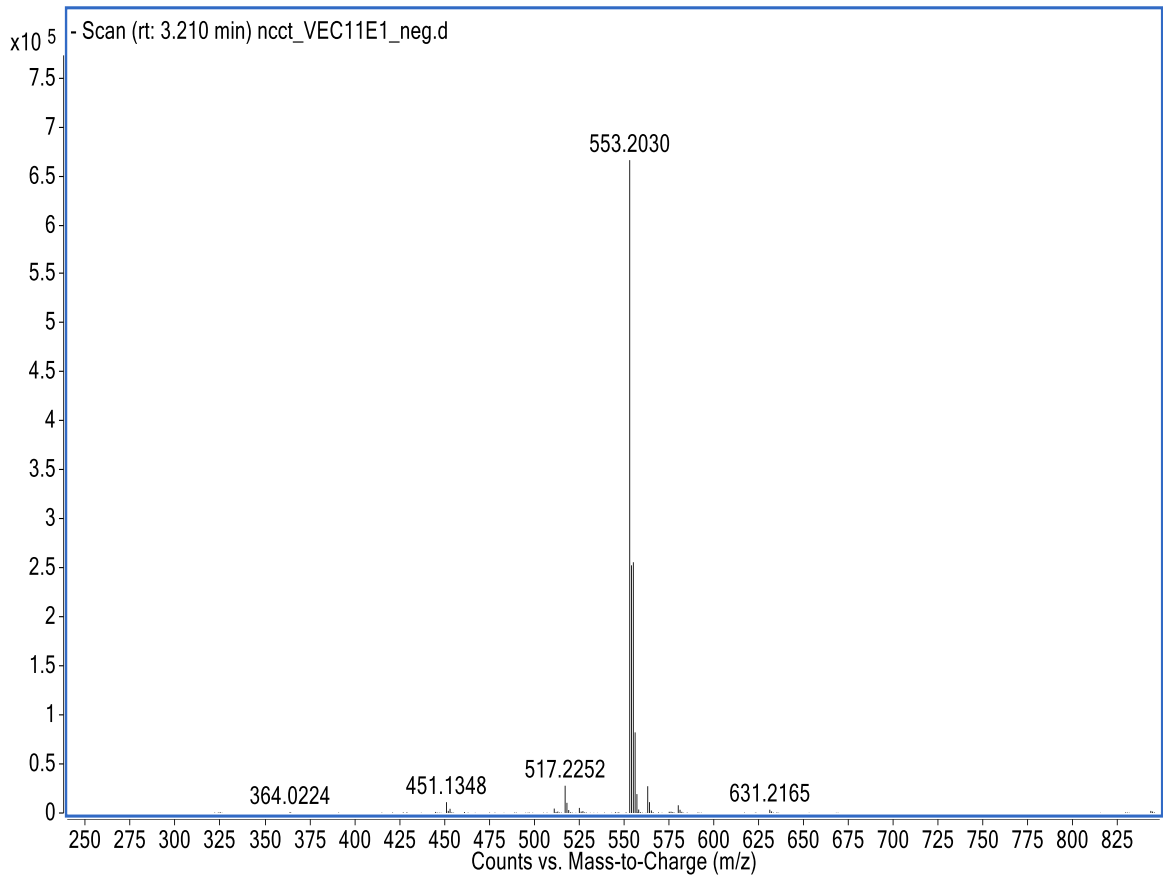
Hình 3.2. Các tương tác NOESY, HMBC và COSY chính của hợp chất **ECI**

Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của **ECI** và hợp chất tham khảo

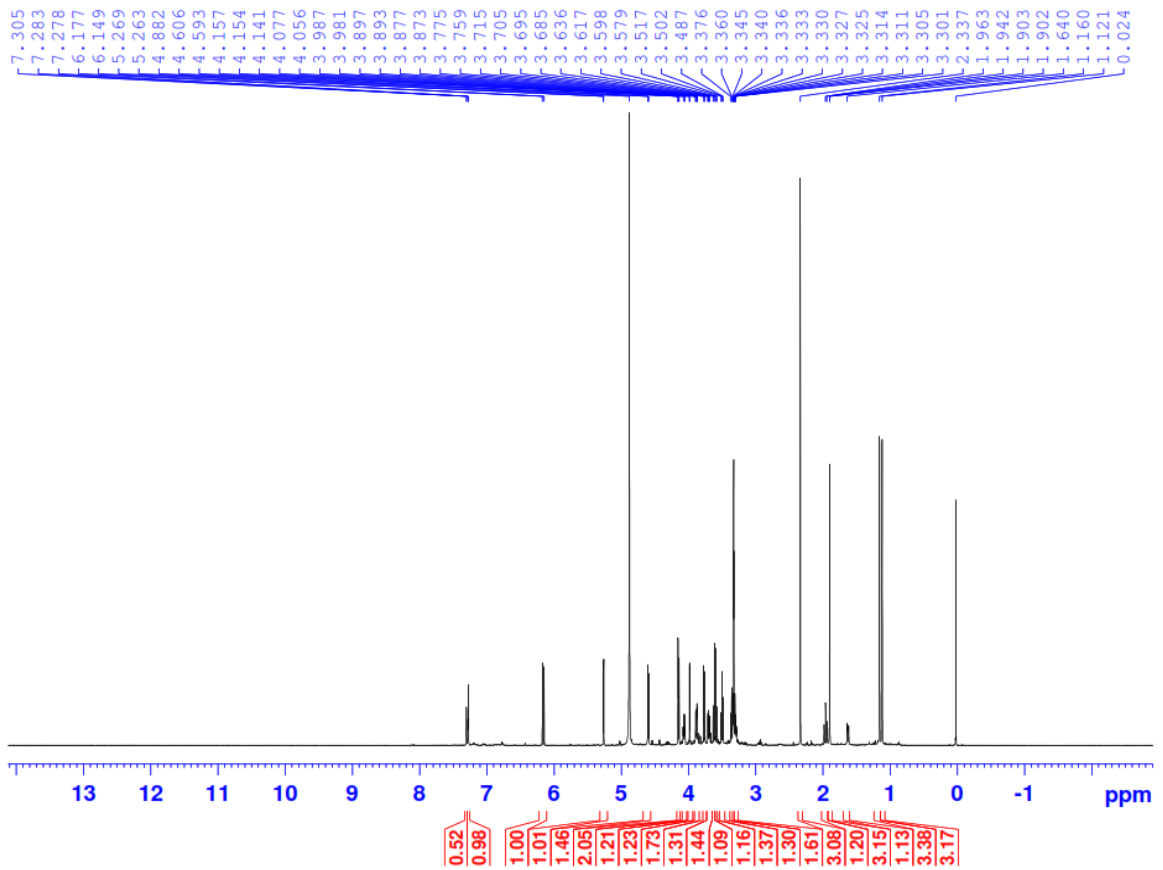
C	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	37.2	37.9	-
2	43.0	40.1	1.64 (ddd, 1.2, 3.6, 12.6) 1.96 (t, 12.6)
3	66.3	75.4	4.07 (dt, 3.6, 12.6)
4	84.4	69.8	4.15 (d, 1.8)
5	131.4	132.5	-
6	139.7	141.2	-
7	141.8	144.3	7.30 (d, 16.2)
8	133.9	134.7	6.16 (d, 16.2)
9	197.3	200.9	-
10	27.3	27.2	2.34 (s)
11	30.0	30.3	1.12 (s)
12	27.5	28.0	1.16 (s)
13	19.9	20.0	1.90 (s)
1'	106.7	101.6	4.60 (d, 7.8)
2'	74.5	83.6	3.32*
3'	78.3	77.8	3.50 (t, 9.0)
4'	71.9	71.5	3.36 (t, 9.0)
5'	76.9	77.8	3.30 (m)
6'	69.3	62.6	3.69 (dd, 6.0, 12.0) 3.88 (dd, 2.4, 12.0)
1''	111.3	112.4	5.26 (d, 3.6)
2''	77.7	77.6	3.98 (d, 3.6)
3''	80.5	79.7	-
4''	75.3	74.8	3.77 (d, 9.6)/ 4.15 (d, 9.6)
5''	65.8	65.0	3.60 (d, 3.6)

^{a)}CD₃OD, ^{b)}500MHz, ^{c)}125MH, *) tín hiệu bị trùng chập, # δ_C của sonchusionoside B đo trong

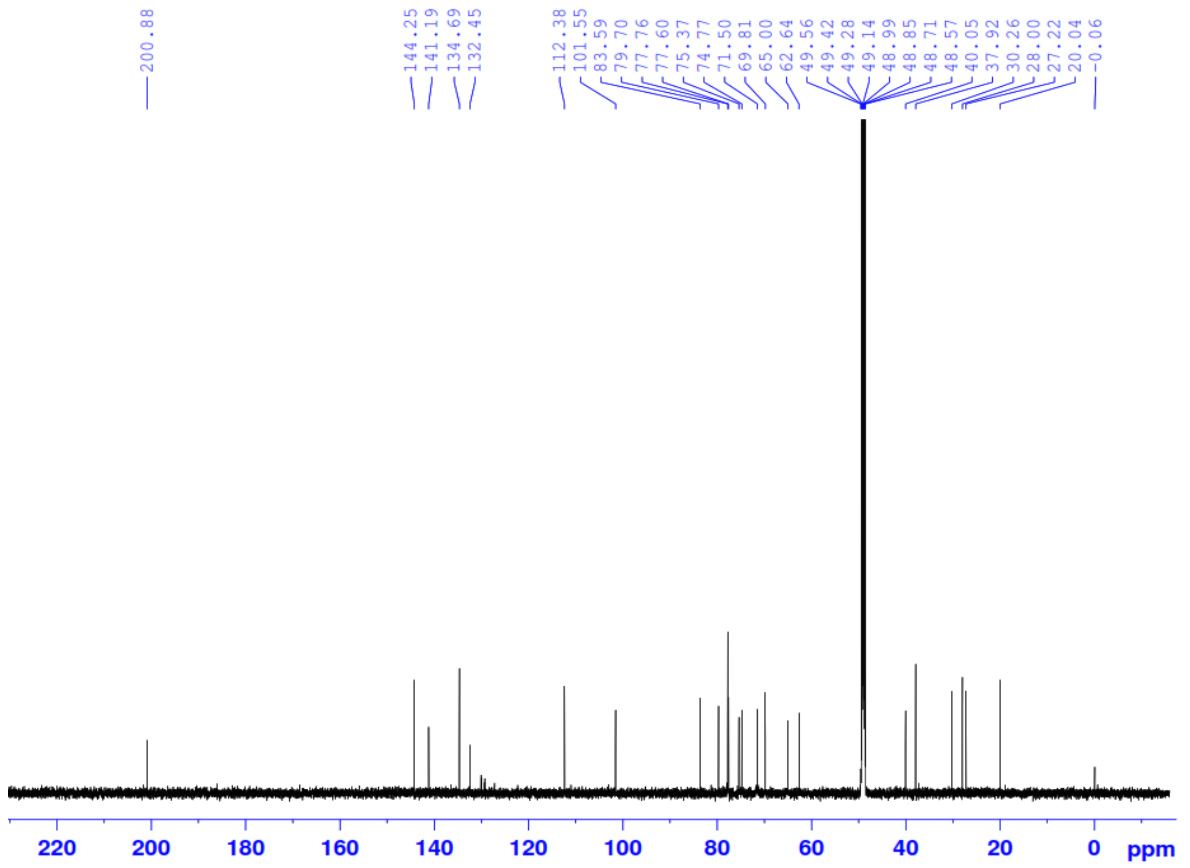
C₅D₅N [37]



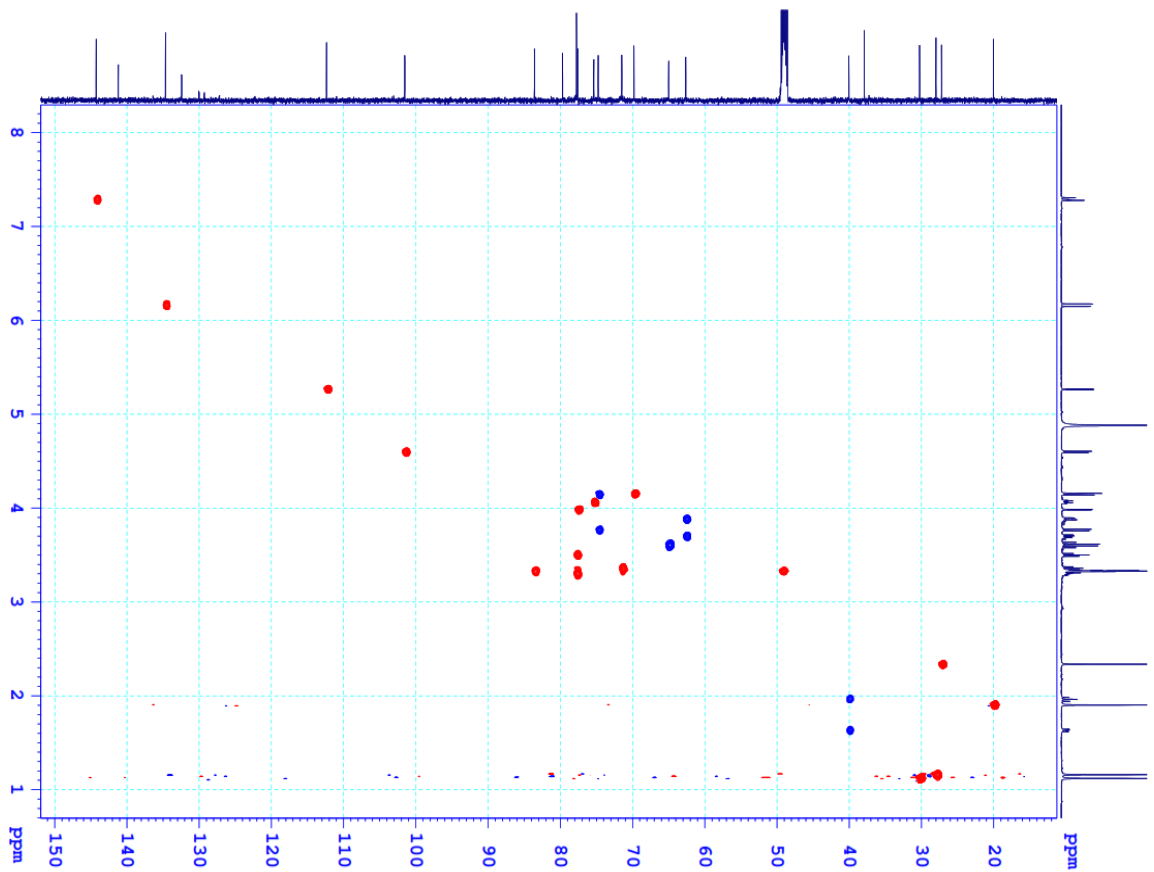
Hình 3.3. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất EC1



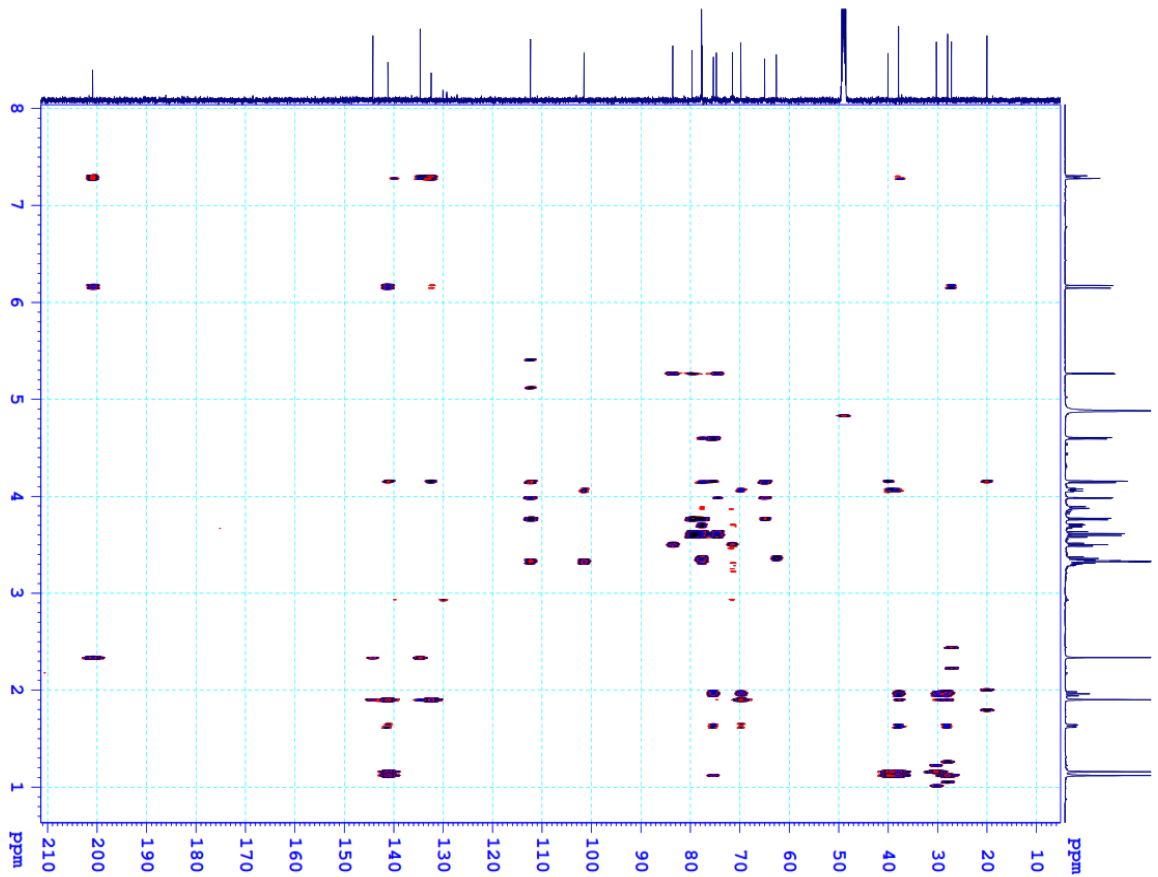
Hình 3.4. Phổ ¹H-NMR của hợp chất EC1



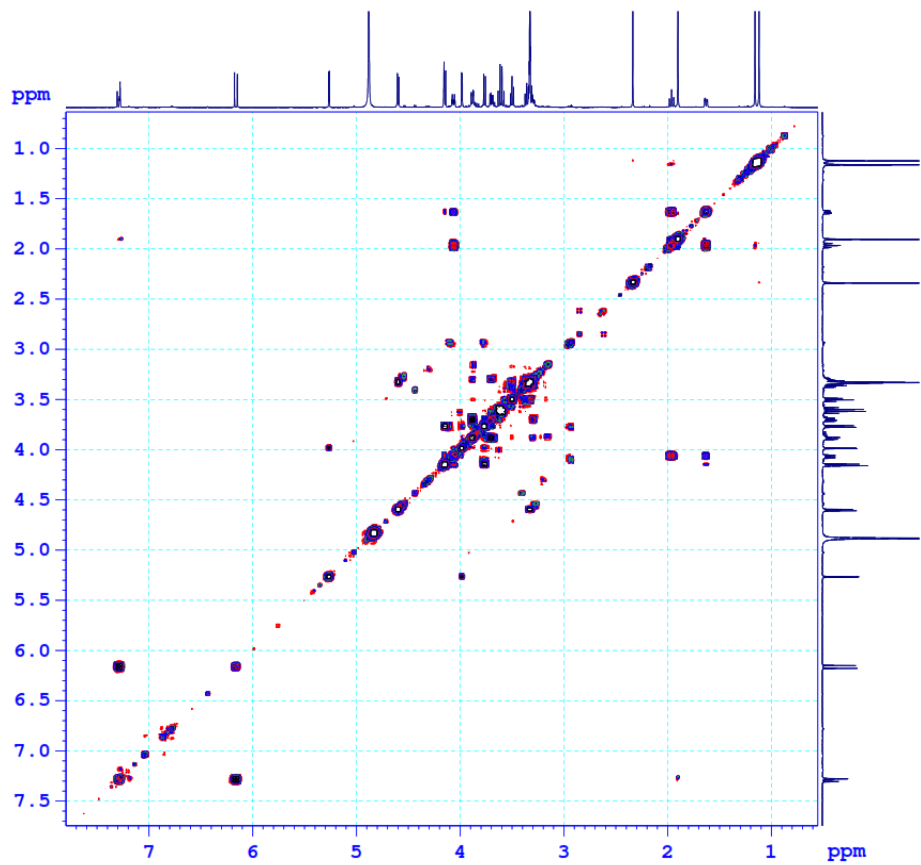
Hình 3.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất EC1



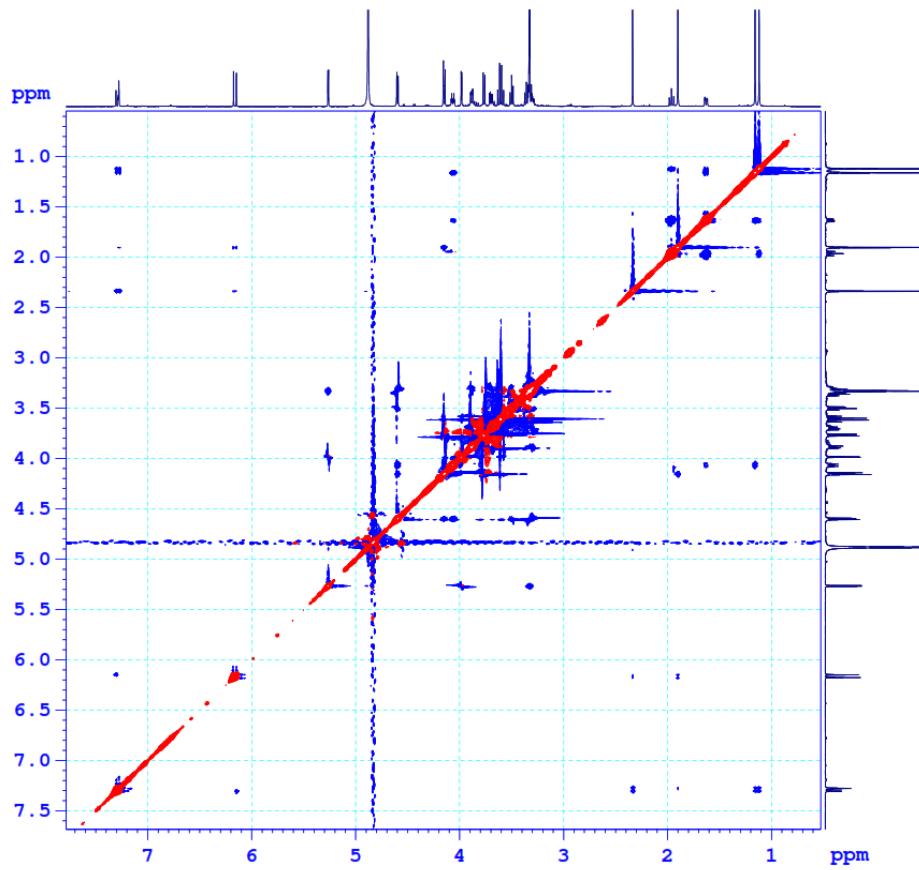
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất EC1



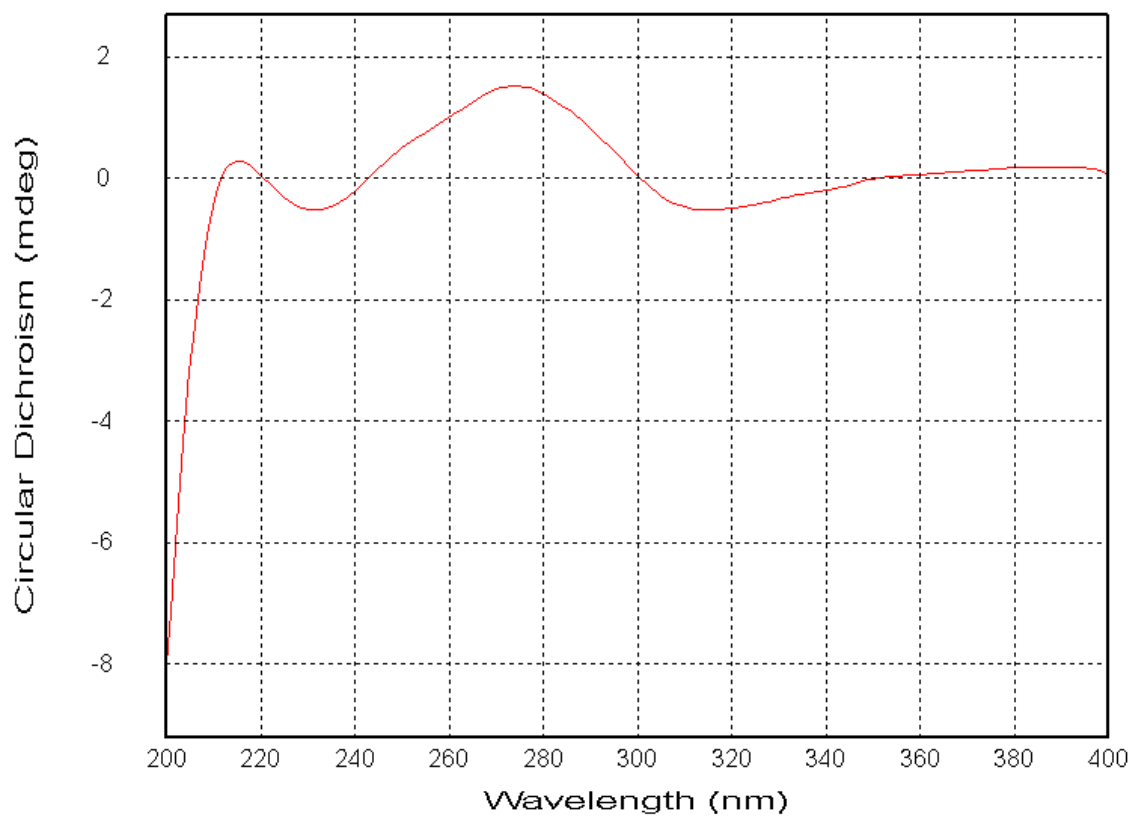
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất EC1



Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất EC1

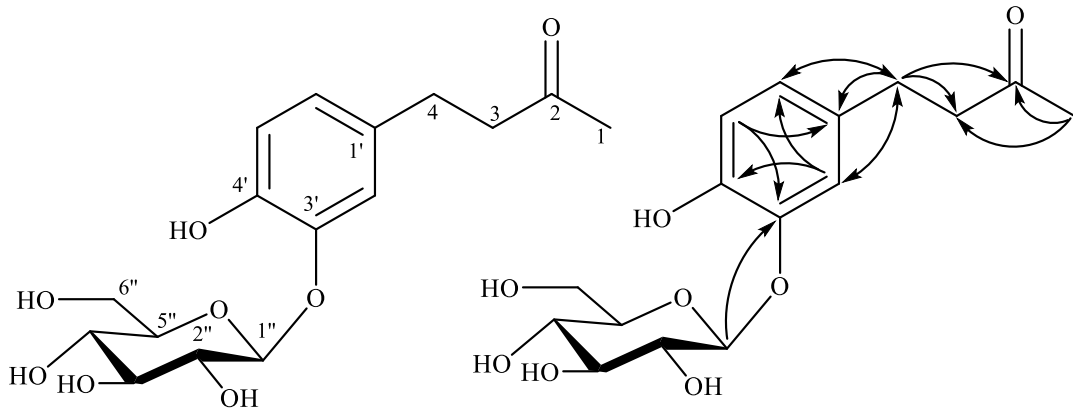


Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất EC1



Hình 3.10. Phổ ECD của hợp chất EC1

3.1.2. Hợp chất EC2: 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside



Hình 3.11. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC của hợp chất EC2

Hợp chất EC2 thu được dưới dạng chất bột vô định hình, không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ thấy xuất hiện tín hiệu của ba proton thơm tại δ_{H} 7.07 (1H, d, $J = 1.0$ Hz), 6.76 (2H, tín hiệu bị trùng chập), một proton anome tại δ_{H} 4.75 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), một nhóm methyl tại 2.14 (3H, s).

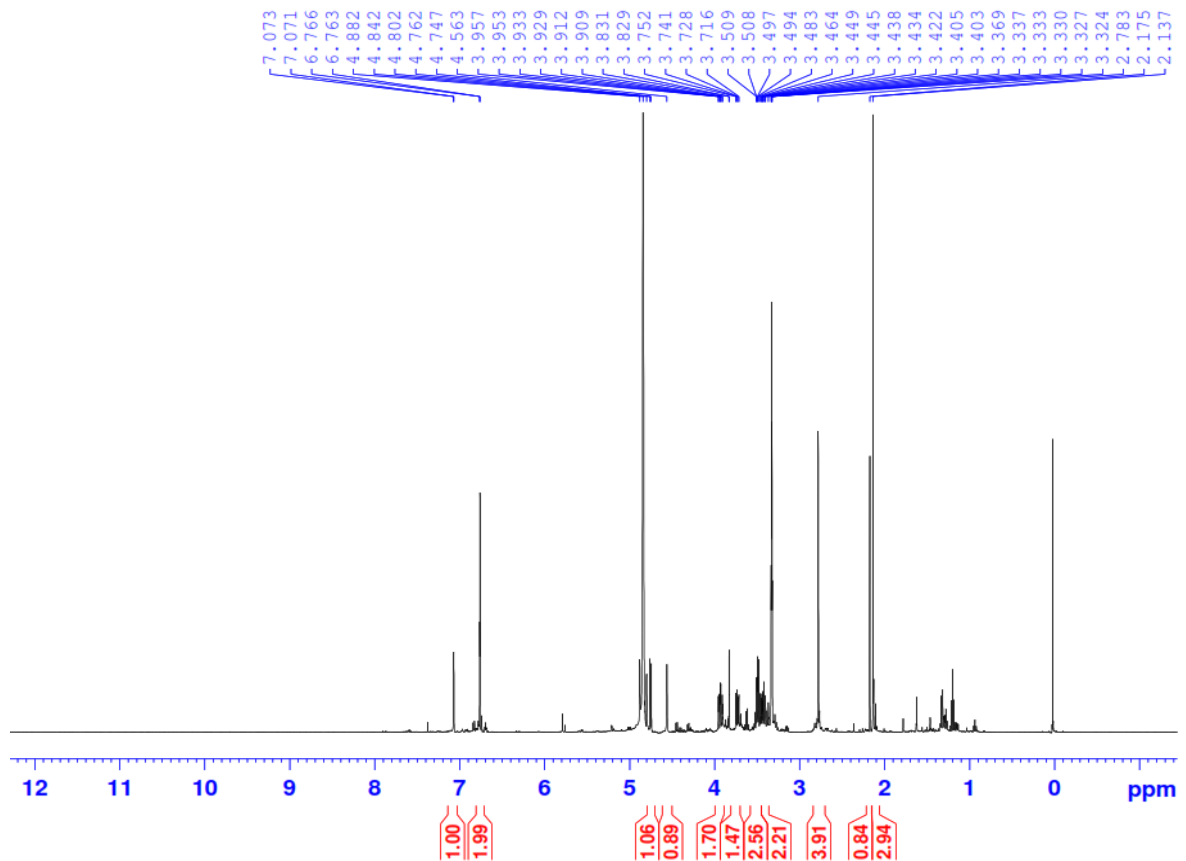
Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của EC2 và hợp chất tham khảo

C	$^{\#}\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	30.00	30.0	2.14 (s)
2	nd	211.4	-
3	45.99	46.0	2.78*
4	30.18	30.2	2.78*
1'	132.37	134.2	-
2'	118.97	118.9	7.07 (d, 1.2)
3'	146.60	146.6	-
4'	146.60	146.5	-
5'	116.97	117.0	6.76 *
6'	124.48	124.5	6.76 *
1''	104.40	104.3	4.75 (d, 7.5)
2''	74.93	74.9	
3''	78.40	78.4	3.45 (t, 9.0)
4''	71.49	71.5	3.40 (t, 9.0)
5''	77.71	77.7	3.50 (m)
6''	62.58	62.6	3.74 (dd, 5.0, 12.0) 3.95 (dd, 2.0, 12.0)

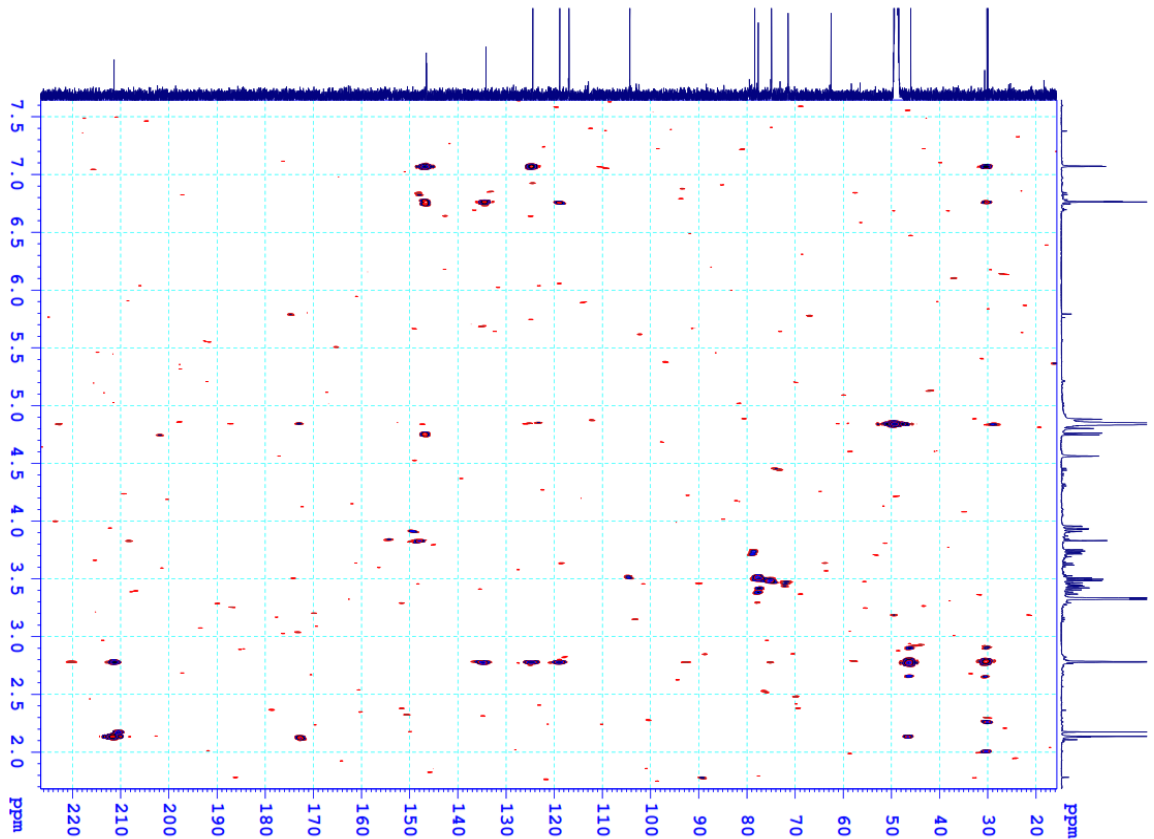
^{a)} CD_3OD , ^{b)}500MHz, ^{c)}125MH, [#] δ_{C} của 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside đo trong CD_3OD [42]

Tiếp tục phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC thấy xuất hiện tín hiệu của mười sáu carbon bao gồm một carbon carbonyl tại δ_{C} 211.4; sáu carbon thơm tại δ_{C} 146.6, 146.5, 134.2, 124.5, 118.9 và 117.0; hai nhóm methylene tại δ_{C} 46.0, 30.2; và một

nhóm sáu carbon của nhóm glucopyranosyl (δ_C 104.7, 78.0, 78.0, 75.1, 71.6, 62.8), cấu hình của đường được xác định là β dựa vào hằng số tương tác lớn của glc H-1" ($J = 7.5$). Từ những dữ liệu trên, hợp chất **EC2** được xác định là phenylbutan-2-one β -D-glucopyranoside. Các tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 2.14) với C-2 (δ_C 211.4)/C-3 (δ_C 46.0), H-3 và H-4 (δ_H 2.28) với C-2/C-3/C-4 (δ_C 30.2) cho phép xác định một đơn vị butan-2-one. Hơn nữa, một vòng benzen ABX benzene đính tại vị trí C-4 được xác định dựa trên các tương tác HMBC giữa H-4 với C-1' (δ_C 134.2)/C-2' (δ_C 118.9)/C-6' (δ_C 124.5); giữa H-2' (δ_H 7.07) với C-4/C-4' (δ_C 146.5)/C-6', giữa H-6' (δ_H 6.76) với C-4; và giữa H-5' (δ_H 6.76) với C-1'/C-3' (δ_C 146.6). Phân tử glucopyranosyl được xác định đính tại vị trí C-3' dựa vào tương tác HMBC giữa H-1" (δ_H 4.75) với C-3'. Dựa vào các bằng chứng trên kết hợp so sánh với số liệu đã công bố [42] hợp chất **EC2** được xác định là 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-O- β -D-glucopyranoside.

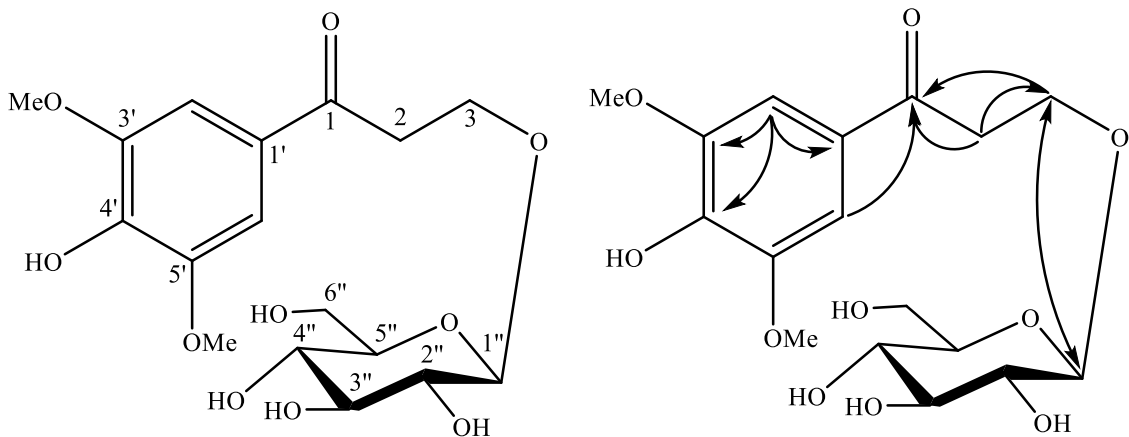


Hình 3.12. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **EC2**



Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất EC2

3.1.3. Hợp chất EC3: 3-O- β -D-glucopyranosyl-1-(3', 5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl)-1-propanone



Hình 3.16. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất EC3

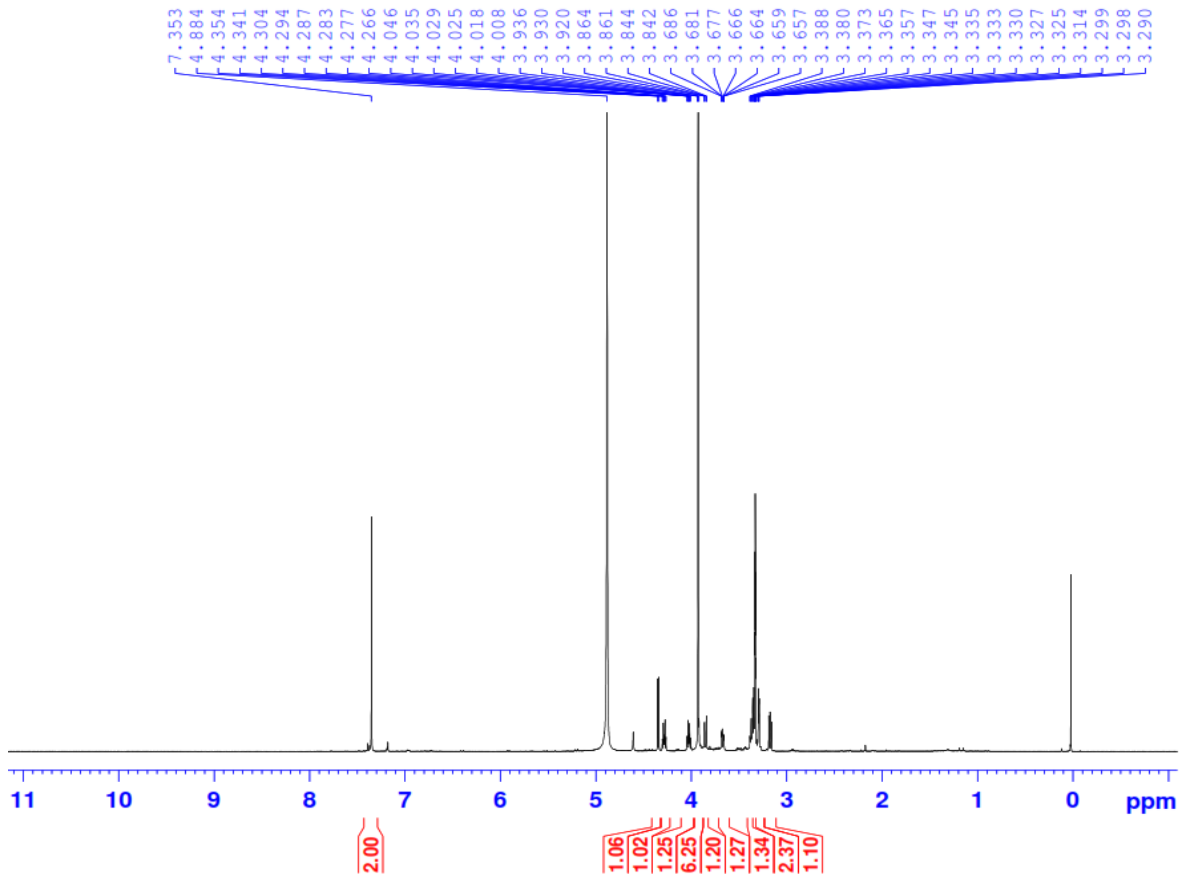
Hợp chất EC3 thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp EC3 thấy xuất hiện tín hiệu của vòng benzene thế 1,3,4,5 tại δ_{H} 7.53 (2H, s), hai nhóm methoxy tại δ_{H} 3.93 (6H, s), hai nhóm oximethylene tại δ_{H} 4.28 (1H, ddd, $J = 6.0, 6.0, 10.4$ Hz)/ 4.03 (1H, ddd, $J = 6.0, 6.0, 10.4$ Hz) và 3.85 (1H, dd, $J = 1.2, 12.0$ Hz)/ 3.66 (1H, dd, $J = 6.6, 12.0$ Hz), một proton anome tại δ_{H} 4.34 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), bốn nhóm oximethine tại δ_{H} 3.17 (1H, dd, $J = 7.8,$

9.0 Hz), 3.31 (1H, t, $J = 9.0$ Hz), 3.30 (1H, t, $J = 9.0$ Hz), 3.38 (1H, m) và một nhóm methylene tại $\delta_{\text{H}} 3.33$ (2H, m). Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC của hợp chất **EC3** xuất hiện tín hiệu của mười bảy carbon bao gồm một nhóm carbon carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 199.3$, sáu carbon thơm tại $\delta_{\text{C}} 149.1$ (x 2C), 143.0, 107.4 (x 2C), 129.0, một nhóm methylene tại $\delta_{\text{C}} 66.6$, một nhóm methylene tại $\delta_{\text{C}} 39.4$, hai nhóm methoxy tại $\delta_{\text{C}} 56.9$ (x 2C) và sáu carbon đặc trưng cho một phân tử glucopyranosyl tại $\delta_{\text{C}} 104.7, 78.1, 78.0, 75.1, 71.6, 62.7$. Các tương tác HMBC giữa H-2 ($\delta_{\text{H}} 3.33$) với C-1 ($\delta_{\text{C}} 199.3$)/C-3 ($\delta_{\text{C}} 66.6$), giữa H-3 ($\delta_{\text{H}} 4.28$ và 4.03) với C-2 ($\delta_{\text{C}} 39.4$)/C-1'' (104.7) và giữa proton anome H-1'' (4.34) với C-3 cho phép xác định một đơn vị propanone và nguyên tử glucopyranosyl đính tại vị trí C-3. Các tương tác HMBC giữa H-2' và H-6' ($\delta 7.53$) với C-1' ($\delta_{\text{C}} 129.0$)/C-3' hoặc C-5' ($\delta_{\text{C}} 149.1$)/C-4' hoặc C-6' ($\delta_{\text{C}} 143.0$)/C-1 ($\delta_{\text{C}} 199.3$) cho phép xác định giá trị carbon của vòng benzene thế 1,3,4,5 và vòng benzene đính tại vị trí C-1. Vị trí đính của hai nhóm methoxy được xác định tại C-3' và C-5' và nhóm hydroxy đính tại C-4' được xác định thông qua các tương tác HMBC giữa proton methoxy $\delta_{\text{H}} (3.93)$ với C-3'/ C-5'. Như vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất **EC3** được xác định là 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-1-(3', 5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl)-1-propanone [43]. Hợp chất này lần đầu tiên được công bố số liệu NMR và lần đầu phân lập từ chi *Elsholtzia*.

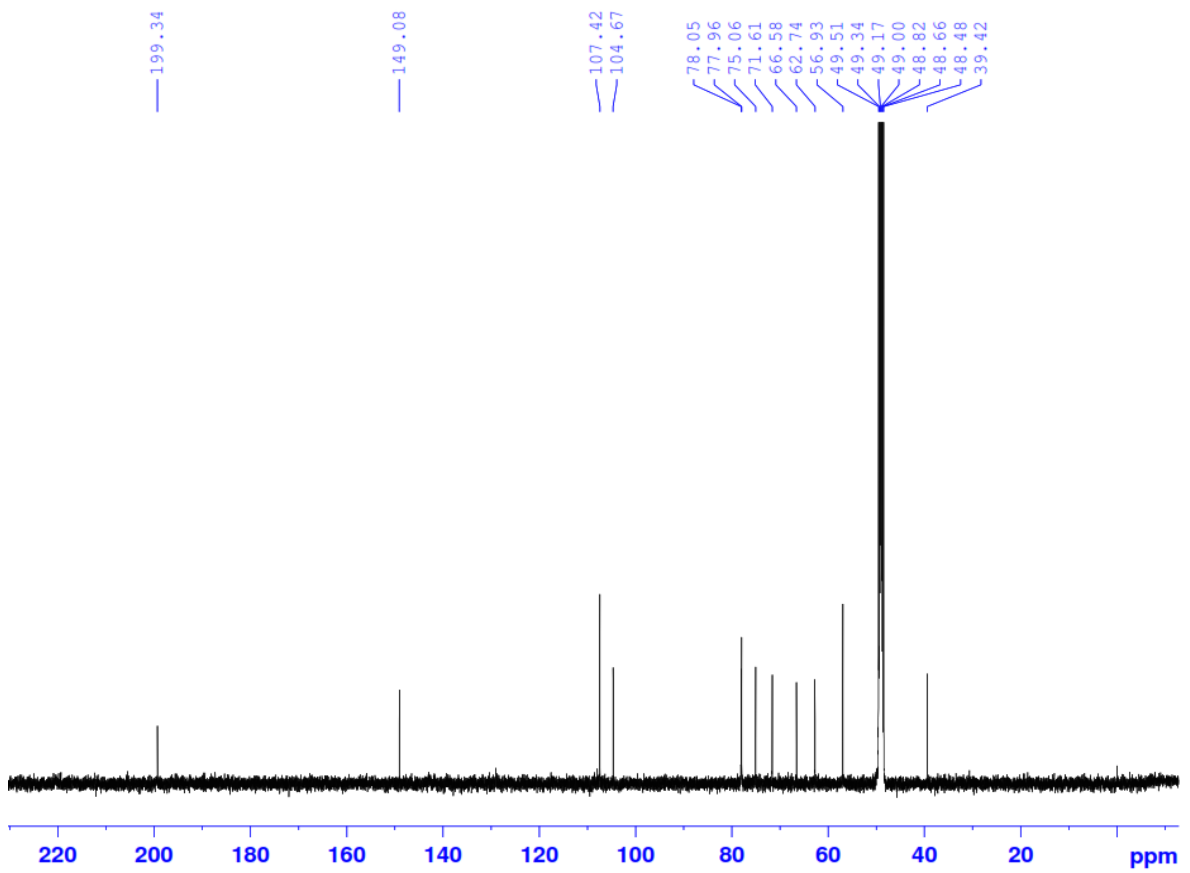
Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của **EC3**

C	^{a,b} δ_{C}	^{a,c} δ_{H} (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	199.3	-
2	39.4	3.33 (m)
3	66.6	4.03 (ddd, 6.0, 6.0, 10.4) 4.28 (ddd, 6.0, 6.0, 10.4)
1'	129.0	-
2'	107.4	7.35 (s)
3'	149.1	-
4'	143.0	-
5'	149.1	-
6'	107.4	7.35 (s)
1''	104.7	4.34 (d, 7.8)
2''	75.1	3.17 (dd, 7.8, 9.0)
3''	78.1	3.31 (t, 9.0)
4''	71.6	3.30 (t, 9.0)
5''	78.0	3.38 (m)
6''	62.7	3.67 (dd, 6.6, 12.0) 3.86 (dd, 1.2, 12.0)
3'- OMe	56.9	3.93 (s)
5'- OMe	56.9	3.93 (s)

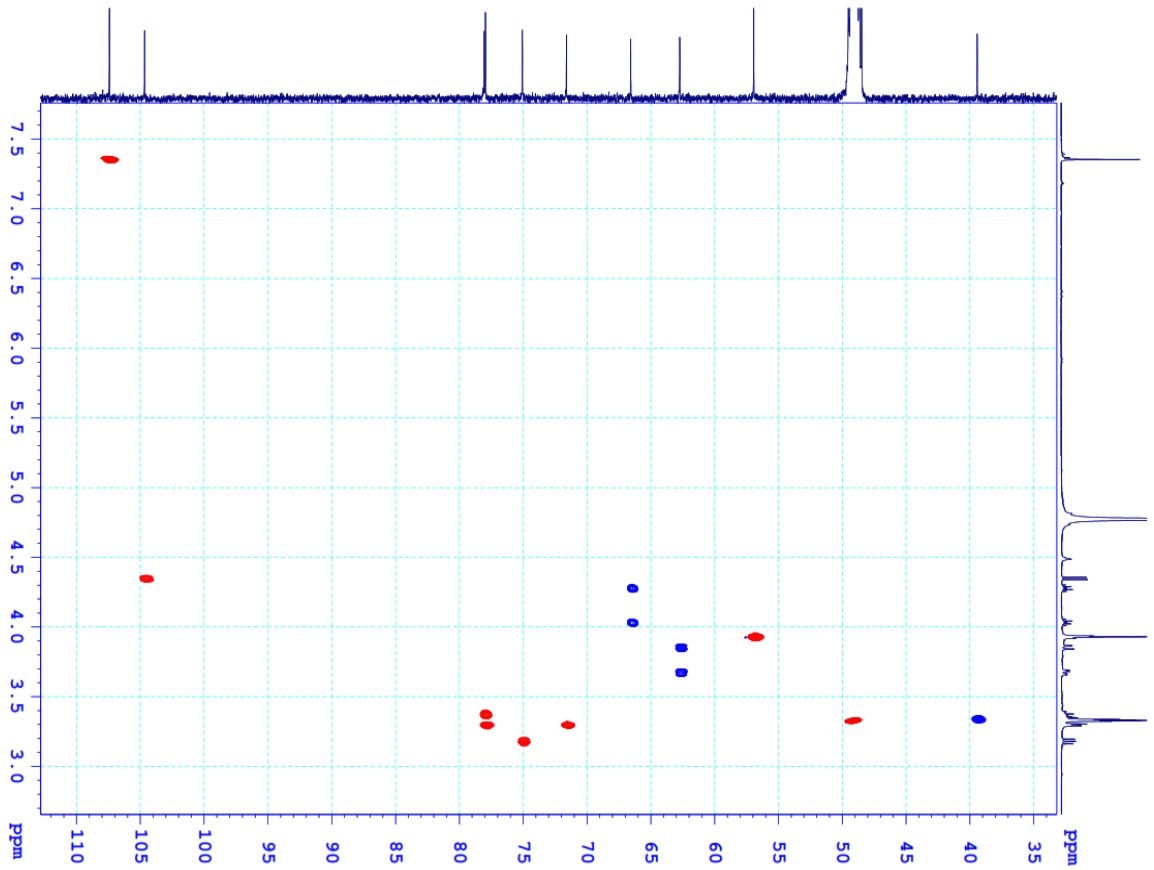
^{a)} CD_3OD , ^{b)}125 MHz, ^{c)}600 MHz



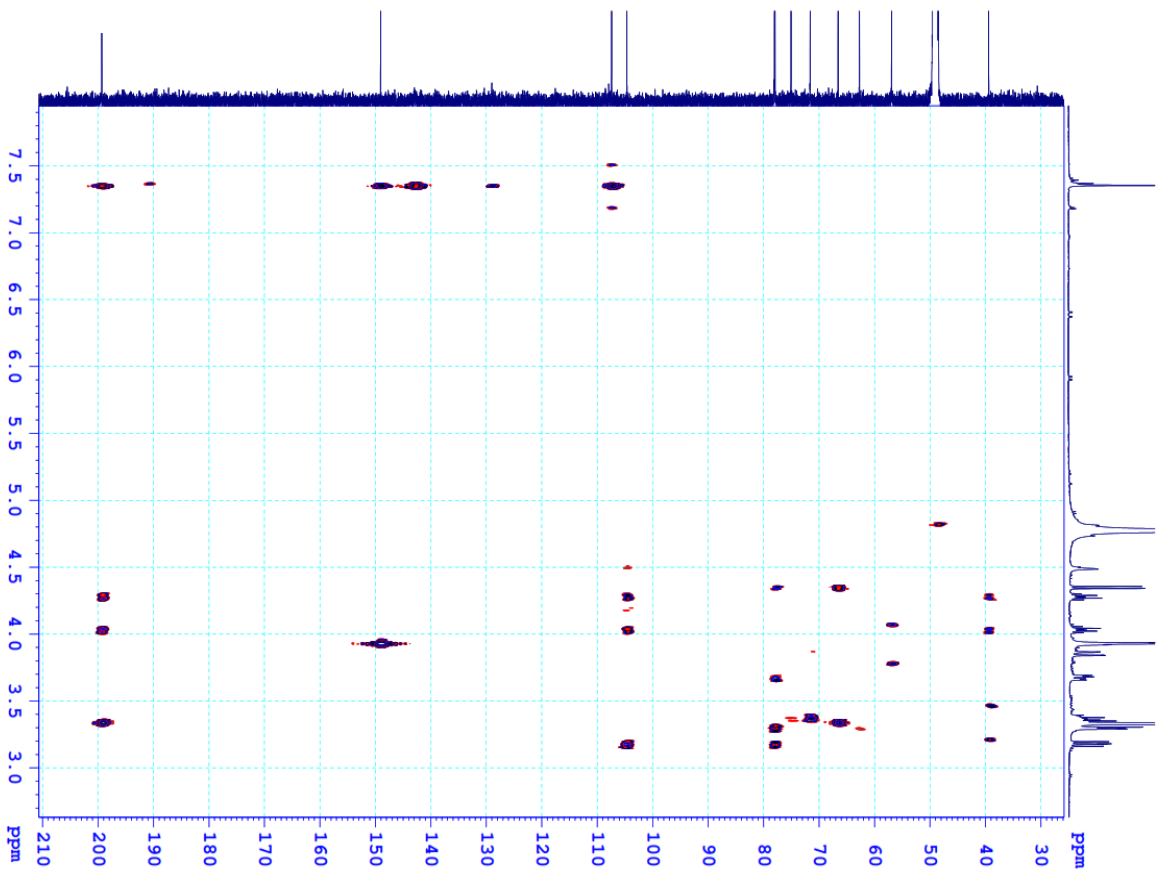
Hình 3.17. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất EC3



Hình 3.18. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC3

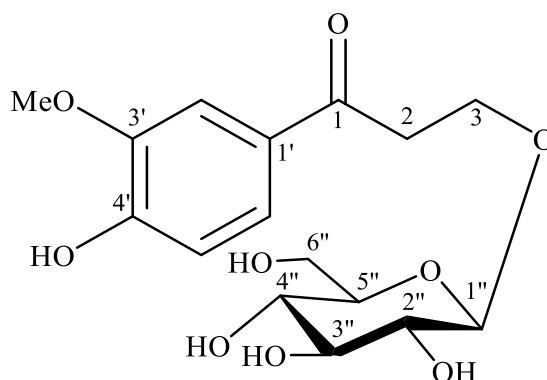


Hình 3.19. Phổ HSQC của hợp chất EC3



Hình 3.20. Phổ HMBC của hợp chất EC3

3.1.4. Hợp chất EC4: β -hydroxypropiovanillone 3-O- β -D-glucopyranoside



Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC4

Hợp chất **EC4** thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **EC4** thấy xuất hiện tín hiệu của vòng benzene thể ABX tại δ_{H} 7.61 (1H, dd, $J = 1.8, 8.0$ Hz), 7.57 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.88 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), nhóm methoxy tại δ_{H} 3.93 (3H, s), hai nhóm oximethylene tại δ_{H} 4.28 (1H, ddd, $J = 6.0, 6.0, 10.4$ Hz)/ 4.02 (1H, ddd, $J = 6.0, 6.0, 10.4$ Hz) và 3.85 (1H, dd, $J = 1.2, 12.0$ Hz)/ 3.67 (1H, dd, $J = 6.6, 12.0$ Hz), một proton anome at δ_{H} 4.34 (1H, d, $J = 7.8$ Hz) và một nhóm methylene tại δ_{H} 3.33 (2H, m).

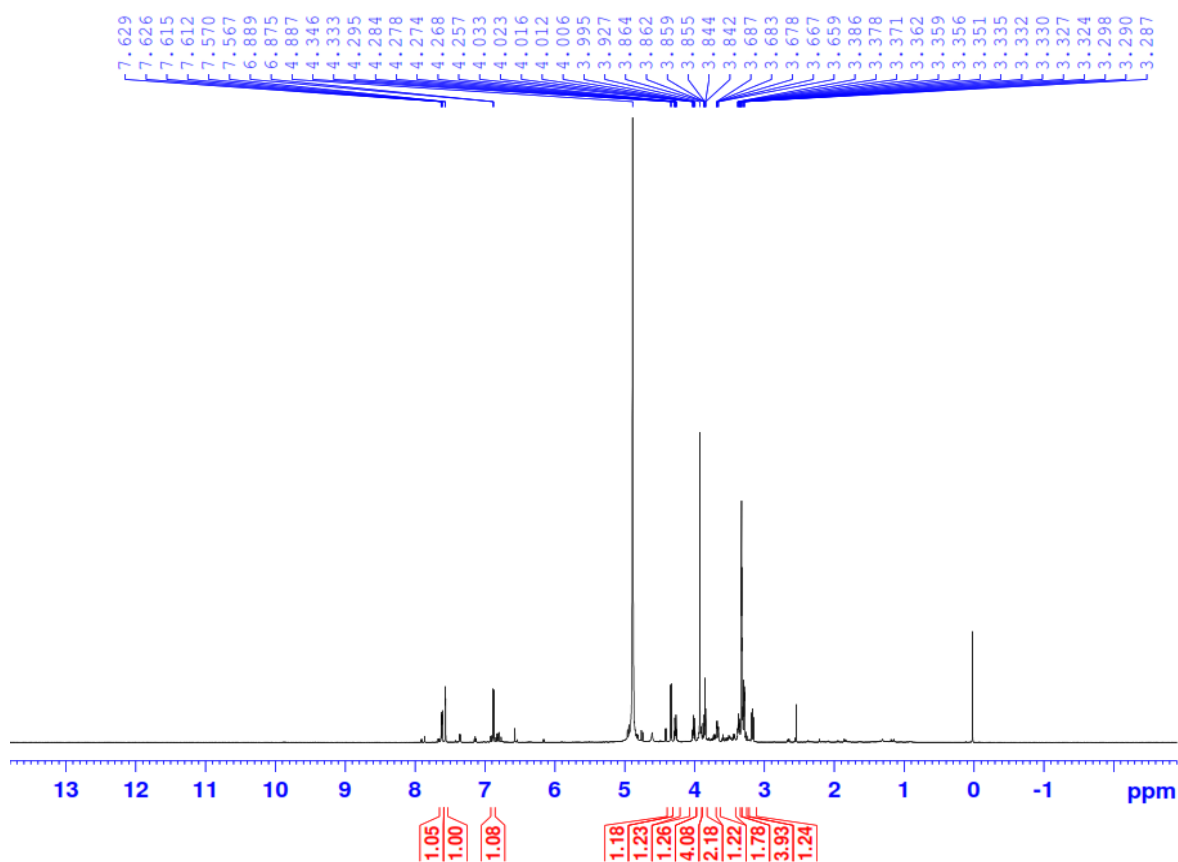
Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của EC4 và chất tham khảo

C	$\# \delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	199.3	199.4	-
2	39.4	39.4	3.33 (m)
3	66.5	66.6	4.02 (ddd, 6.0, 6.0, 10.4) 4.28 (ddd, 6.0, 6.0, 10.4)
1'	130.5	130.4	-
2'	115.8	116.3	7.57 (d, 1.8)
3'	153.4	153.6	-
4'	149.1	149.1	-
5'	112.0	112.0	6.88 (d, 8.0)
6'	124.9	124.9	7.61 (1.8, 8.0)
1''	104.7	104.7	4.34 (d, 7.8)
2''	75.1	75.1	3.17 (dd, 7.8, 9.0)
3''	78.0	78.0	3.31 (t, 9.0)
4''	71.6	71.7	3.30 (t, 9.0)
5''	78.0	78.0	3.37 (m)
6''	62.7	62.7	3.67 (dd, 6.6, 12.0) 3.86 (dd, 1.2, 12.0)
3'-OMe	56.4	56.4	3.93 (s)

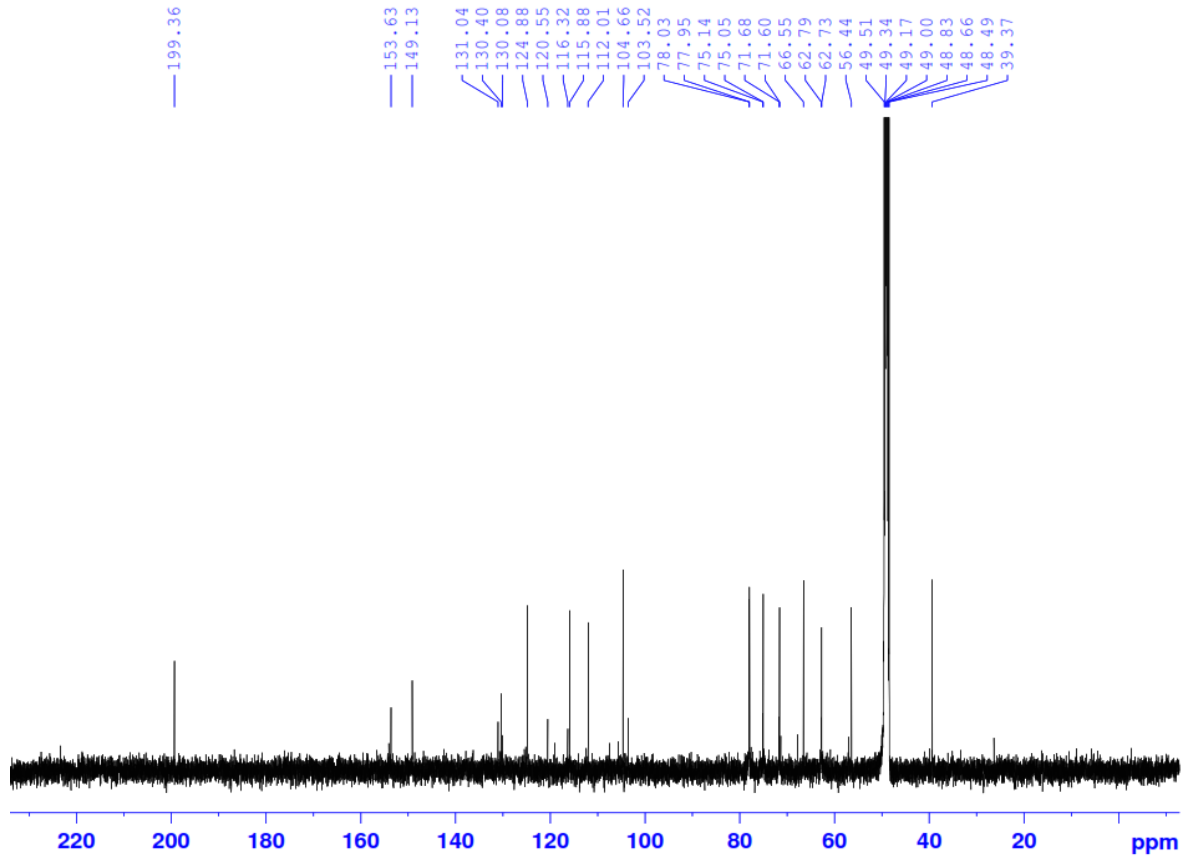
^{a)} CD_3OD , ^{b)}600MHz, ^{c)}125MH, $\# \delta_{\text{C}}$ của β -hydroxypropiovanillone 3-O- β -D-glucopyranoside [44]

Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **EC4** xuất hiện tín hiệu của 16 carbon bao gồm sáu carbon đặc trưng cho một vòng benzene thể ABX tại δ_{C} 153.6, 149.1,

130.4, 124.9, 116.3, 112.0, ba carbon của một nhóm butanone tại δ_C 199.4, 66.6, 39.4, một nhóm methoxy tại δ_C 56.4, sáu carbon của một phân tử glucopyranosyl tại δ_C 104.7, 78.0 (x 2C), 75.1, 71.7, 62.7. So sánh dữ liệu phổ NMR của hai hợp chất **EC4** và **EC3** nhận thấy cấu trúc của hợp chất **EC4** gần giống với cấu trúc của hợp chất **EC3** ngoại trừ sự mất đi của một nhóm methoxy. Từ đó, hợp chất **EC4** được xác định là một phenylbutanone glucoside. So sánh dữ liệu NMR của hợp chất **EC4** với dữ liệu đã được công bố của hợp chất β -hydroxypropiovanillone 3-*O*- β -D-glucopyranoside [44] nhận thấy tương tự nhau. Như vậy, cấu trúc của hợp chất **EC4** đã được xác định. Hợp chất này cũng lần đầu tiên được phân lập từ chi *Elsholtzia*.

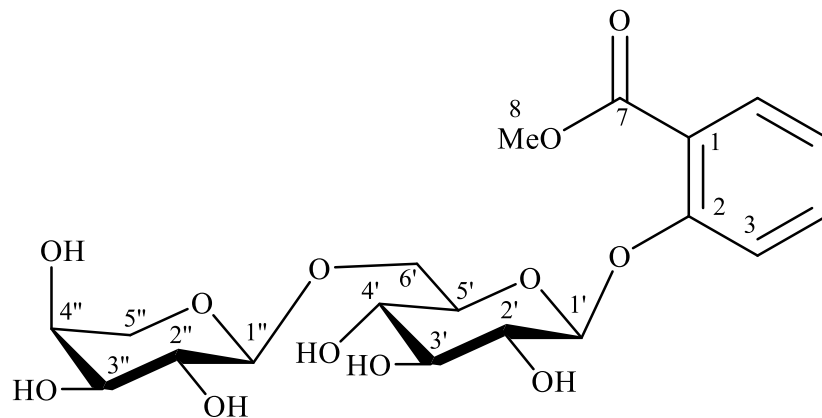


Hình 3.22. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **EC4**



Hình 3.23. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC4

3.1.5. Hợp chất EC5: methyl salicylate $\alpha\text{-L-arabinopyranosyl-(1}\rightarrow\text{6)-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$



Hình 3.24. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC5

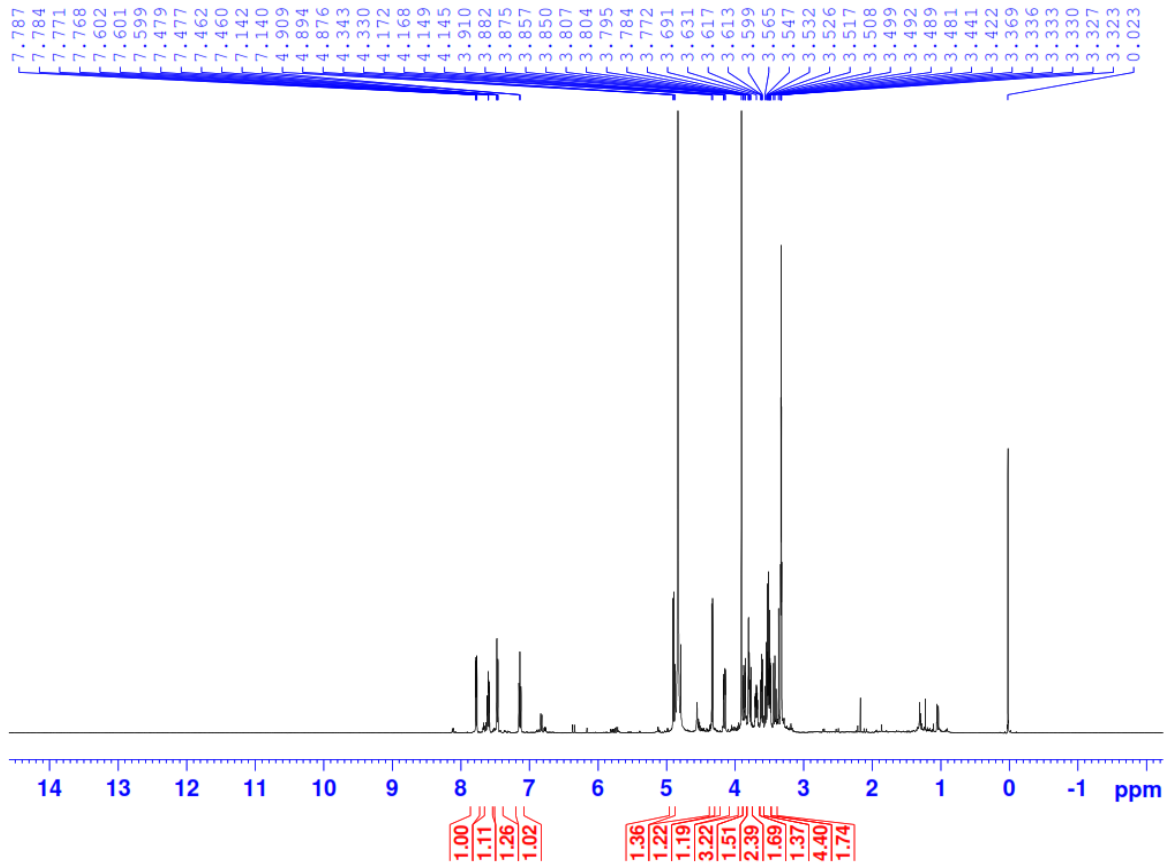
Hợp chất EC5 thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ thấy xuất hiện tín hiệu của bốn proton vòng thơm tại δ_{H} 7.58 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.24 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), hai proton anome tại δ_{H} 4.34 (1H, d, $J = 6.5$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) và một nhóm methoxyl tại δ_{H} 3.91 (s). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của mười chín carbon bao gồm một carbon carbonyl tại δ_{C} 168.5, sáu carbon thơm tại δ_{C} 158.6,

135.4, 132.0, 123.6, 122.3, 119.2, sáu carbon đặc trưng của một phân tử đường glucopyranosyl tại δ_C 103.9, 77.5, 77.5, 75.0, 71.5, 69.6; năm carbon đặc trưng của một phân tử đường arabinopyransyl tại δ_C 105.5, 74.2, 72.5, 69.5, 66.7 và một carbon methoxyl tại δ_C 52.8. Từ những phân tích trên, kết hợp với so sánh dữ liệu NMR tài liệu tham khảo nhận thấy cấu trúc của hợp chất **EC5** giống với cấu trúc của hợp chất methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside [45]. Như vậy, hợp chất **EC5** được xác định là methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside.

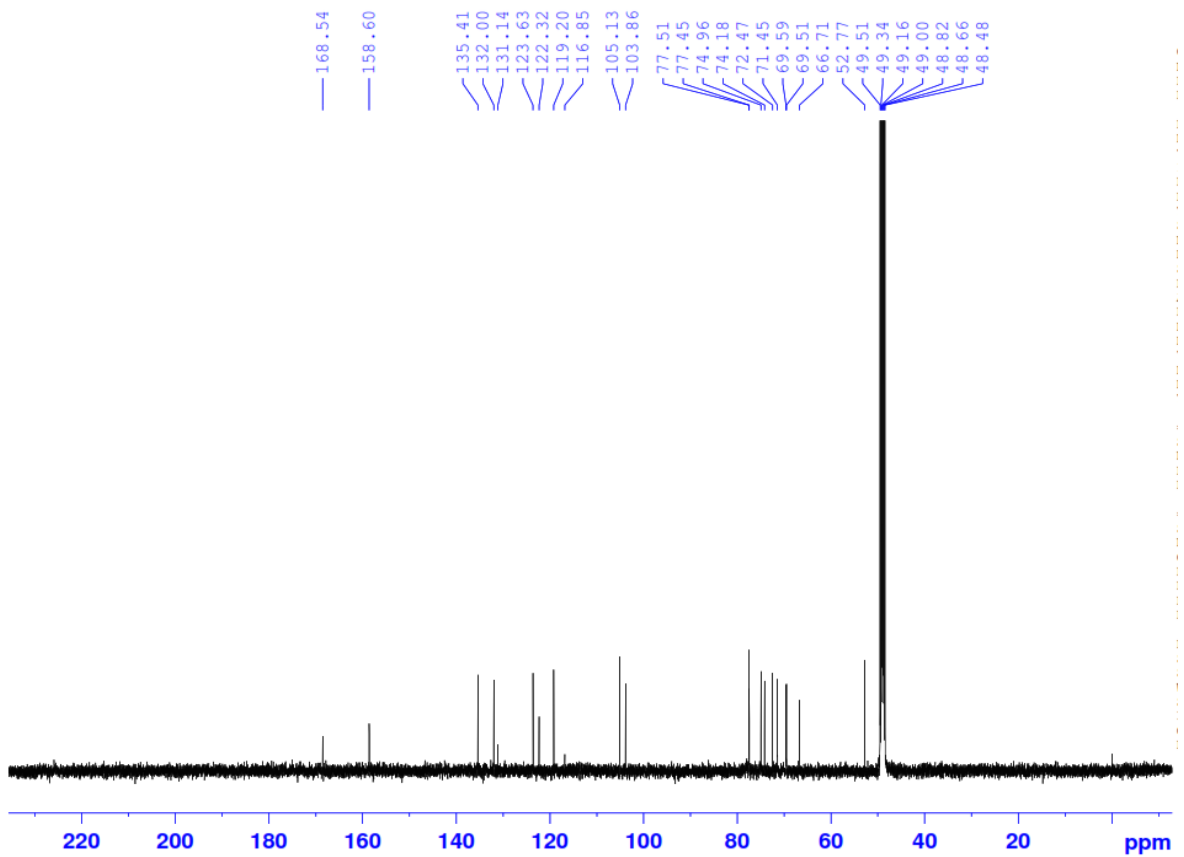
Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của **EC5** và chất tham khảo

C	#δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	122.4	122.3	-
2	158.5	158.6	-
3	119.2	119.2	7.46 (dd, 1.5, 8.0)
4	135.3	135.4	7.60 (ddd, 1.5, 8.0, 8.0)
5	123.6	123.6	7.14 (ddd, 1.5, 8.0, 8.0)
6	132.0	132.0	7.78 (dd, 1.5, 8.0)
7	168.5	168.5	-
8	52.8	52.8	3.91 (s)
1'	103.8	103.9	4.89 (d, 7.5)
2'	74.9	75.0	3.43-4.16
3'	77.4	77.5	3.43-4.16
4'	71.5	71.5	3.43-4.16
5'	77.4	77.5	3.43-4.16
6'	69.6	69.6	3.43-4.16
1''	105.0	105.5	4.33 (d, 6.5)
2''	74.1	74.2	3.43-4.16
3''	72.4	72.5	3.43-4.16
4''	69.4	69.5	3.43-4.16
5''	66.6	66.7	3.43-4.16

^{a)}CD₃OD, ^{b)}500MHz, ^{c)}125MH, # δ_C của methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside đo trong CD₃OD [45]

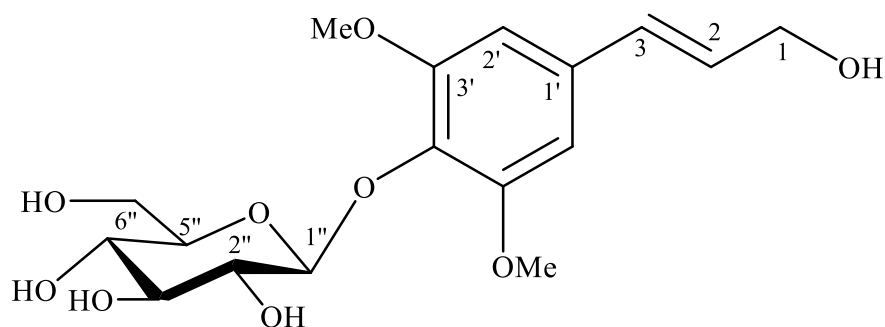


Hình 3.25. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất EC5



Hình 3.26. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC5

3.1.6. Hợp chất EC6 syringin



Hình 3.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC6

Hợp chất EC6 thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ thấy xuất hiện tín hiệu của một vòng benzene thế đối xứng 1,3,4,5 tại δ_{H} 6.77 (2H, s), một nối đôi *trans* tại δ_{H} 6.57 (1H, d, $J = 15.6$ Hz) và 6.34 (1h, dt, $J = 4.8, 15.6$ Hz), một proton anome tại δ_{H} (4.90, overlap), hai nhóm methoxy tại δ_{H} 3.88 (6H, s), một nhóm oxymethylene tại δ_{H} 4.24 (2H, d, $J = 4.8$ Hz).

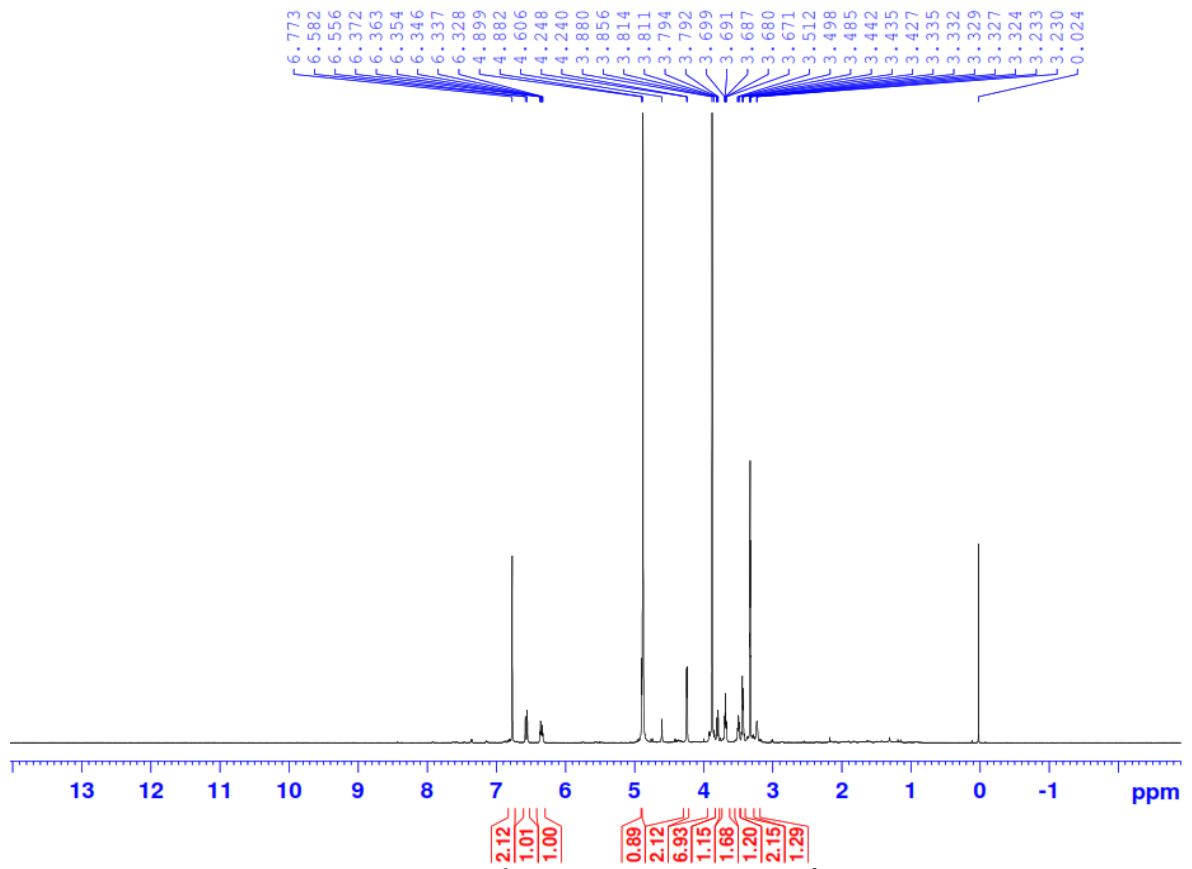
Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của EC6 và hợp chất tham khảo

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	64.0	63.6	4.24 (dd, 1.2, 5.5)
2	130.5	130.0	6.34 (dt, 5.5, 16.0)
3	131.7	131.3	6.57 (d, 16.0)
1'	136.3	135.3	-
2'	105.9	105.5	6.77 (s)
3'	154.7	154.3	-
4'	135.7	135.9	-
5'	154.7	154.3	-
6'	105.9	105.5	6.77 (s)
OMe-3'	57.4	57.0	3.88 (s)
OMe-5'	57.4	57.0	3.88 (s)
Glc			
1''	105.8	105.4	4.89 (d, 7.5)
2''	76.0	75.7	3.51 (dd, 7.5, 9.0)
3''	78.1	77.8	3.44 (t, 9.0)
4''	71.6	71.3	3.42 (t, 9.0)
5''	78.6	78.3	3.24 (m)
6''	63.0	62.6	3.68 (dd, 5.0, 11.5) 3.80 (dd, 2.0, 11.5)

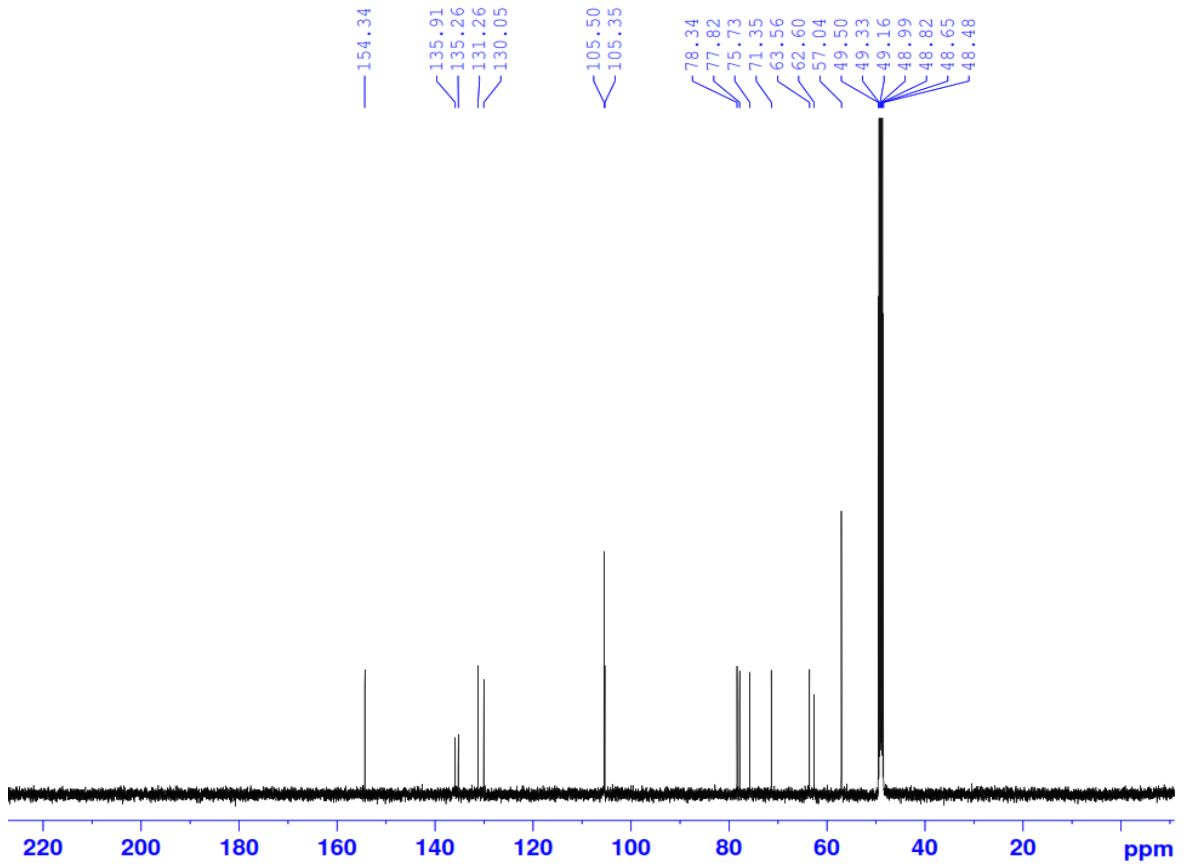
(^a) CD_3OD , (^b)125 MHz, (^c)600 MHz; # δ_{C} của syringin in CD_3OD [46]

Tiếp tục phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất EC6 thấy xuất hiện tín hiệu của 15 carbon bao gồm 6 carbon của một vòng thơm thế 1,3,4,5 đối xứng tại δ_{C} 154.3 (x2C), 135.9, 135.3, 105.5 (x 2C), hai carbon của nối đôi *trans* tại δ_{C}

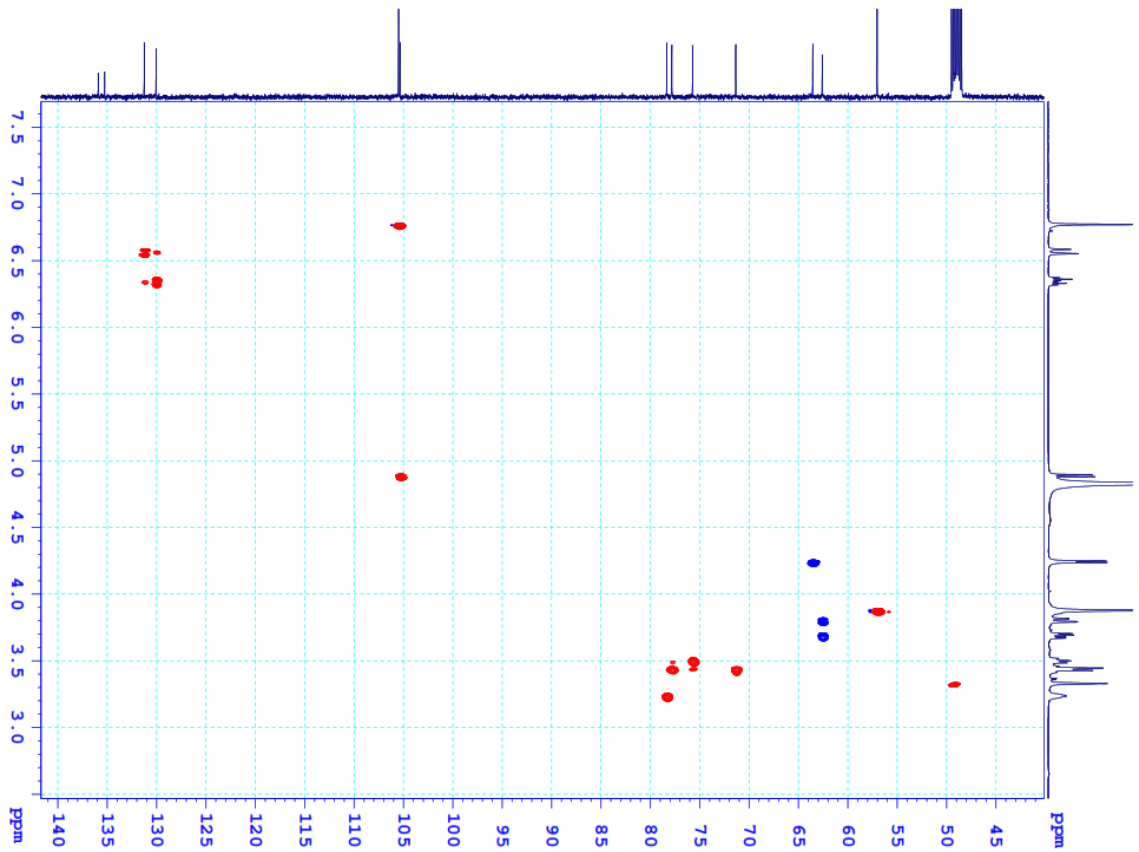
131.3, 130.0; một carbon oxymethylene tại δ_c 63.6, hai carbon methoxy tại δ_c 57.0 (x 2C), sáu carbon đặc trưng cho một phân tử đường glucopyranosyl tại δ_c 105.4, 78.3, 77.8, 75.7, 71.3, 62.6. Dựa trên những phân tích trên nhận thấy cấu trúc của hợp chất **EC6** là một hợp chất dạng phenylglucoside prop-2-en-1-ol. Kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [46], cho thấy dữ liệu phổ 1D-NMR của hợp chất **EC6** giống với dữ liệu phổ của hợp chất syringin, như vậy cấu trúc của hợp chất **EC6** đã được xác định.



Hình 3.28. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **EC6**

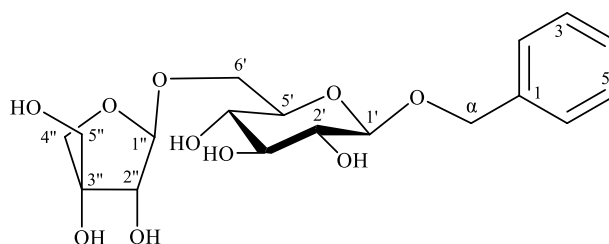


Hình 3.29. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC6



Hình 3.30. Phổ HSQC của hợp chất EC6

3.1.7. Hợp chất EC7 icariside F₂



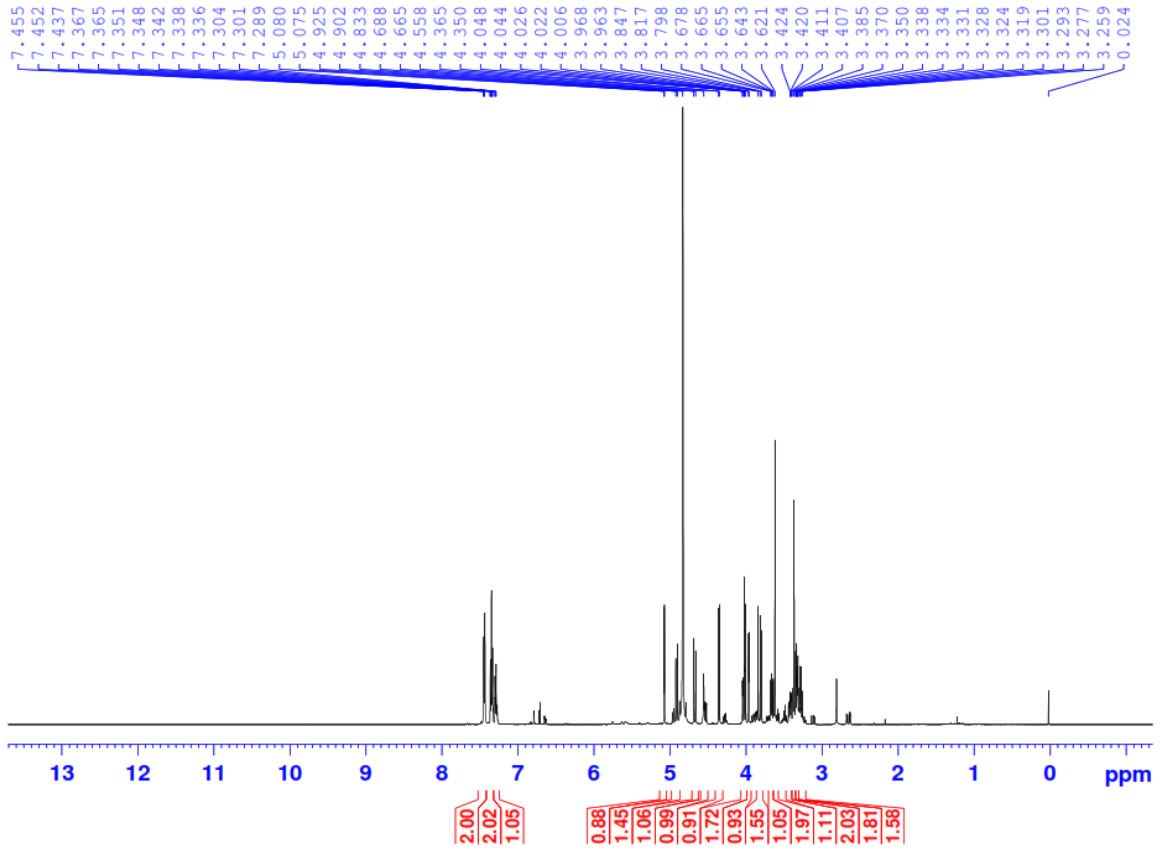
Hình 3.31. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC7

Hợp chất **EC7** thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ ¹H-NMR của hợp chất **EC7** xuất hiện tín hiệu của một vòng phenyl tại δ_H 7.45 (2H, dd, *J* = 1.5, 7.5 Hz), 7.34 (2H, ddd, *J* = 1.5, 7.5, 7.5 Hz), 7.29 (1H, m); hai proton anome tại δ_H 5.08 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 4.91 (1H, d, *J* = 7.5 Hz). Tiếp tục phân tích phổ ¹³C-NMR của hợp chất **EC7** thấy xuất hiện tín hiệu của 18 carbon trong đó bao gồm 6 carbon thơm của một vòng phenyl tại δ_C 138.9, 129.3 (x 4C), 128.7; sáu carbon đặc trưng cho sự xuất hiện của một phân tử đường glucopyranosyl tại δ_C 103.2, 78.0, 76.9, 75.0, 71.7, 68.7; năm carbon đặc trưng cho sự xuất hiện của một phân tử đường apiofuranosyl tại δ_C 111.0, 80.5, 78.0, 75.0, 65.6. Từ những phân tích trên kết hợp so sánh dữ liệu phổ 1D-NMR của hợp chất **EC7** với dữ liệu NMR của hợp chất icariside F₂ [47] thấy tương tự nhau. Như vậy, hợp chất **EC7** được xác định là icariside F₂.

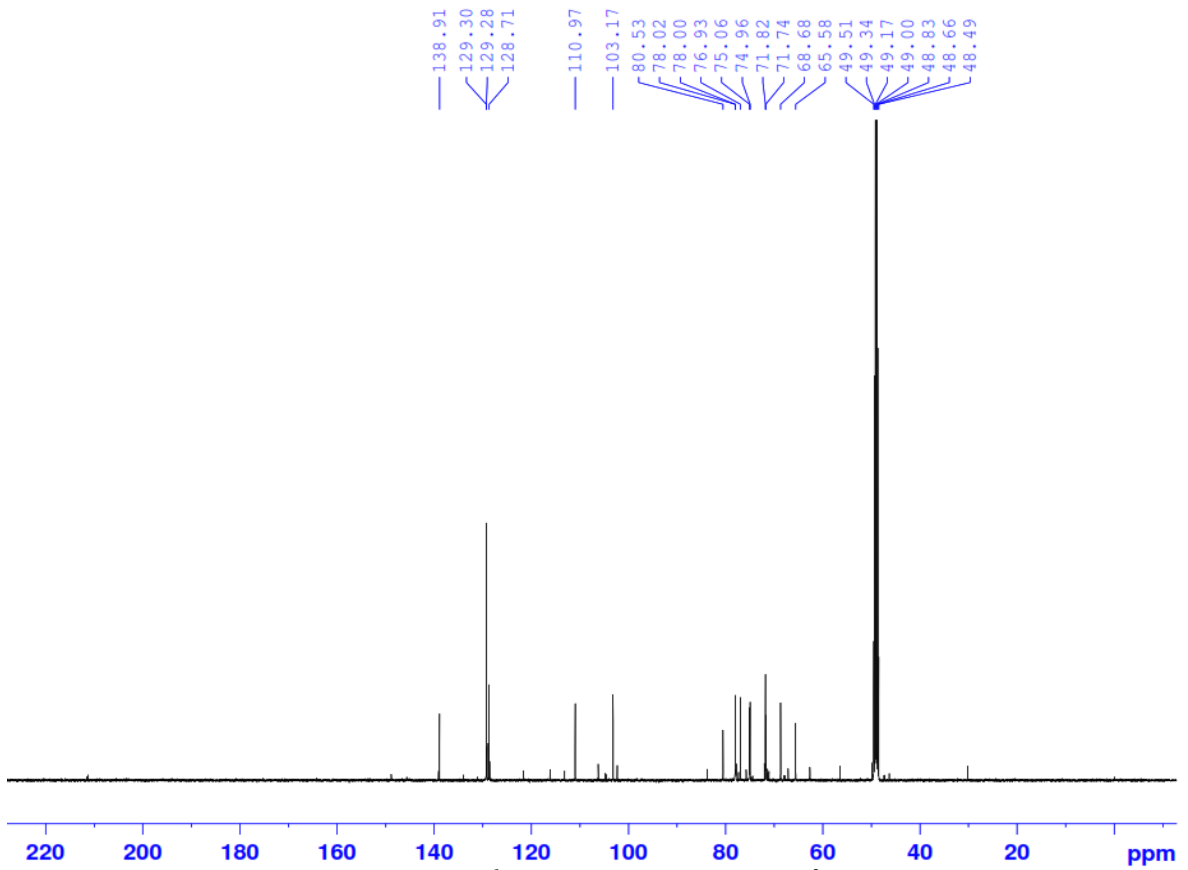
Bảng 3.7. Số liệu phổ NMR của EC7 và chất tham khảo

C	#δ _C	δ _C ^{a,b}	δ _H ^{a,c} (độ bội, <i>J</i> = Hz)
1	138.9	138.9	-
2	128.7	129.3	7.45 (dd, 1.5, 7.5)
3	127.9	129.3	7.34 (ddd, 1.5, 7.5, 7.5)
4	128.7	128.7	7.29 (m)
5	127.9	129.3	7.34 (ddd, 1.5, 7.5, 7.5)
6	128.7	129.3	7.45 (dd, 1.5, 7.5)
α	71.0	71.8	4.91 (d, 11.5)/ 4.67 (d, 11.5)
1'	103.7	103.2	4.36 (d, 7.5)
2'	75.1	75.0	3.28-4.03
3'	78.6	78.0	3.28-4.03
4'	72.0	71.7	3.28-4.03
5'	77.3	76.9	3.28-4.03
6'	69.1	68.7	3.28-4.03
1''	111.2	111.0	5.07 (d, 2.5)
2''	78.0	78.0	3.28-4.03
3''	80.6	80.5	3.28-4.03
4''	75.1	75.0	3.28-4.03
5''	65.7	65.6	3.28-4.03

^{a)}CD₃OD, ^{b)}500MHz, ^{c)}125MH, #δ_C của icariside F₂ đo trong Pyridine-D₅ [47]

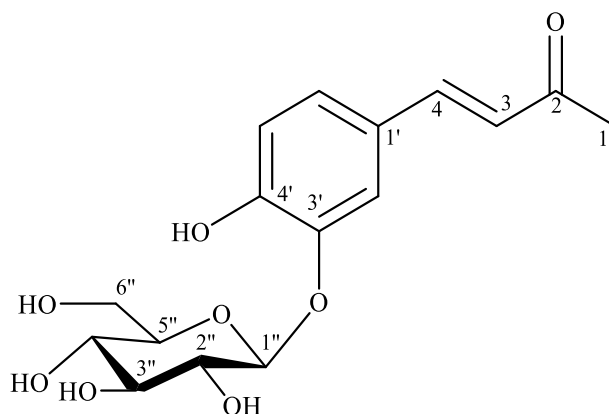


Hình 3.32. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất EC7



Hình 3.33. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC7

3.1.8. Hợp chất EC8 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one



Hình 3.34. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC8

Hợp chất **EC8** thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ thấy xuất hiện tín hiệu đặc trưng của ba proton thơm tại δ_{H} 7.58 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.24 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$); một nối đôi *trans* tại δ_{H} 7.57 (1H, d, $J = 16.0$) và 6.67 (1H, d, $J = 16.0$) một proton anome tại δ_{H} 4.84 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), một nhóm methyl tại 2.36 (3H, s).

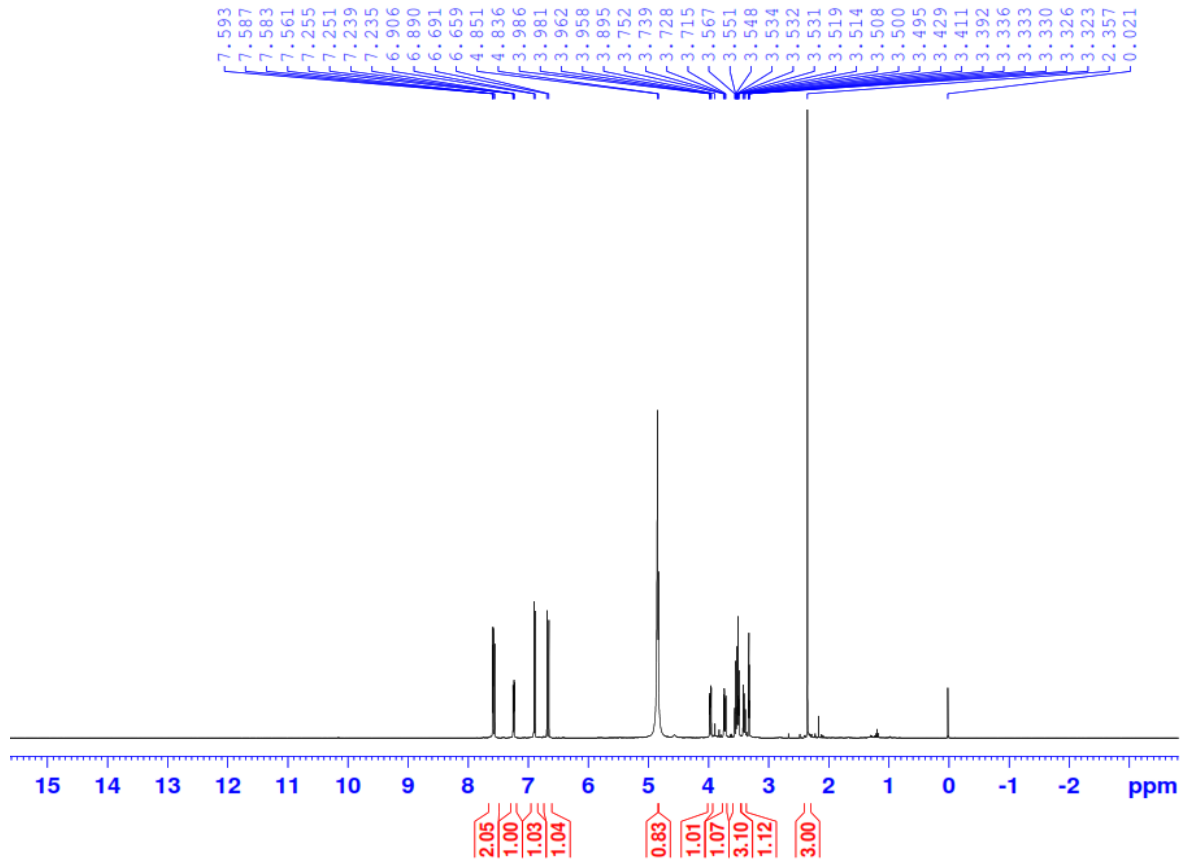
Bảng 3.8. Số liệu phổ NMR của EC8 và hợp chất tham khảo

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	27.3	27.3	2.36 (s)
2	201.4	201.5	-
3	125.5	125.4	7.57 (d, 16.0)
4	145.9	146.0	6.67 (d, 16.0)
1'	128.0	128.0	-
2'	118.4	118.3	7.58 (d, 2.0)
3'	147.1	147.1	-
4'	151.4	151.5	-
5'	117.5	117.5	6.90 (d, 8.0)
6'	126.5	126.5	7.24 (d, 2.0, 8.0)
1''	104.2	104.2	4.84 (d, 7.5)
2''	74.9	74.9	3.41-3.98
3''	78.3	78.3	3.41-3.98
4''	71.5	71.5	3.41-3.98
5''	77.6	77.6	3.41-3.98
6''	62.6	62.6	3.73 (dd, 5.0, 12.0) 3.97 (dd, 2.0, 12.0)

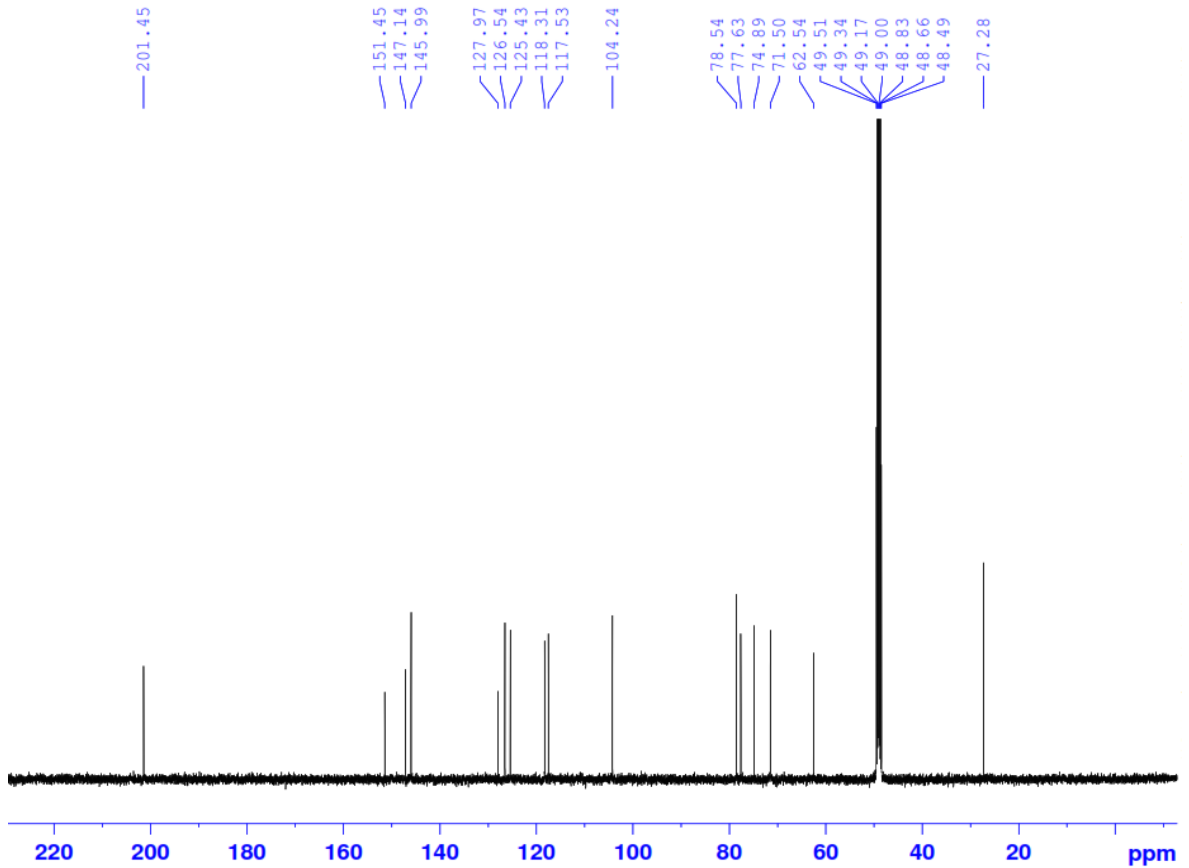
^{a)} CD_3OD , ^{b)}500MHz, ^{c)}125MH, # δ_{C} của 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one đo trong CD_3OD [45]

Tiếp tục phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ thấy xuất hiện tín hiệu của mười năm carbon bao gồm một carbon carbonyl tại δ_{C} 201.5; sáu carbon thơm tại δ_{C} 151.4, 147.1, 128.0, 126.5, 118.4 và 117.5; hai carbon của nối đôi *trans* tại δ_{C} 146.0, 125.4;

một carbon nhóm methyl tại δ_C 27.3 và một nhóm sáu carbon đặc trưng cho một phân tử đường (δ_C 104.2, 74.9, 78.3, 71.5, 77.6, 62.6), cấu hình của đường được xác định là β dựa vào hằng số tương tác lớn của glc H-1" ($J = 7.5$). Từ những phân tích trên, kết hợp so sánh số liệu của hợp chất 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one [45]. Hợp chất **EC8** được xác định là 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one.

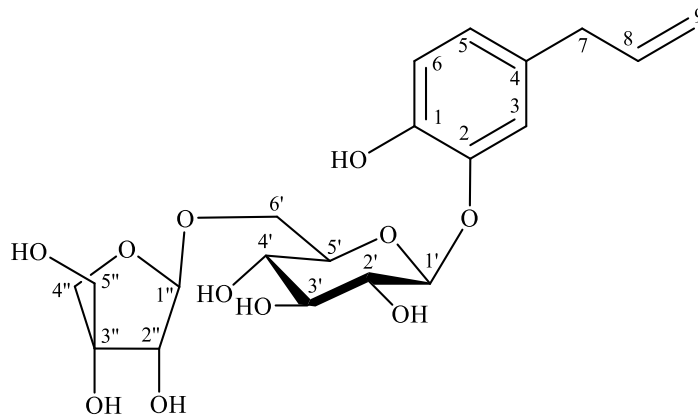


Hình 3.35. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **EC8**



Hình 3.36. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất EC8

3.1.9. Hợp chất EC9 manglieside B



Hình 3.37. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC9

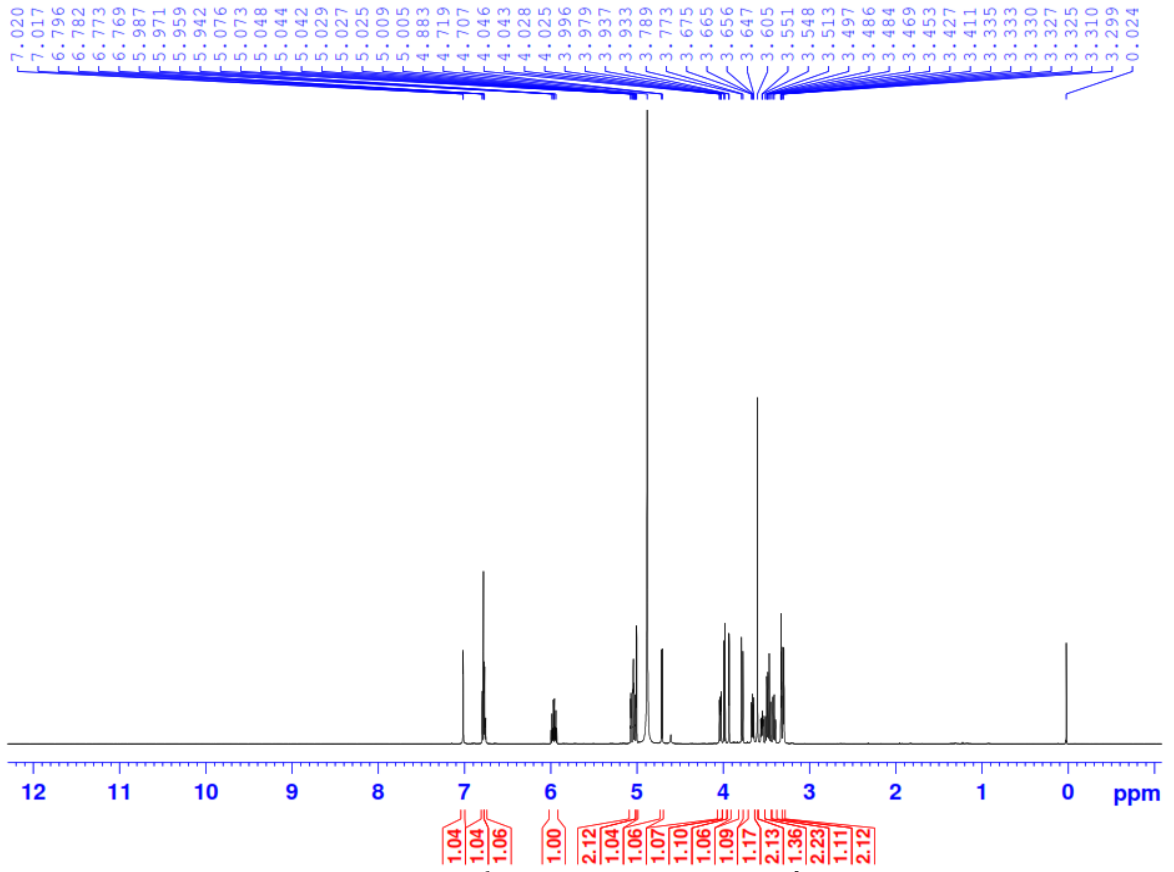
Hợp chất **EC9** thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ ^1H -NMR thấy xuất hiện tín hiệu của một vòng thơm thế ABX tại δ_{H} 7.02 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 6.78 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.75 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz); một nối đôi *trans* tại δ_{H} 5.97 (1H, ddd, $J = 6.6, 10.2, 16.2$ Hz) và 5.03 (1H, dd, $J = 2.4, 10.2$ Hz)/ 5.06 (1H, dd, $J = 2.4, 16.2$ Hz); hai proton anome tại δ_{H} 4.71 (1H, d, $J = 7.2$ Hz) và 5.02 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). Tiếp tục phân tích phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **EC9** thấy xuất hiện tín hiệu của hai mươi carbon bao gồm sáu carbon của một vòng thơm thế ABX tại δ_{C} 146.7, 146.6, 133.2, 125.0, 119.7, 117.1, hai carbon của 2 nối

đôi tại δ_C 139.3, 115.7, sáu carbon đặc trưng cho một phân tử glucopyranosyl tại δ_C 104.7, 77.6, 77.0, 74.9, 71.4, 68.4, năm carbon của một phân tử apiofuranosyl tại δ_C 110.9, 80.6, 78.1, 75.1, 65.8 và một carbon methylene tại δ_C 40.5. Với những phân tích trên, kết hợp so sánh dữ liệu phổ 1D -NMR của hợp chất **EC9** với dữ liệu phổ của hợp chất manglieside B [48] đã công bố thấy hoàn toàn trùng khớp. Như vậy cấu trúc của hợp chất **EC9** đã được xác định là manglieside B.

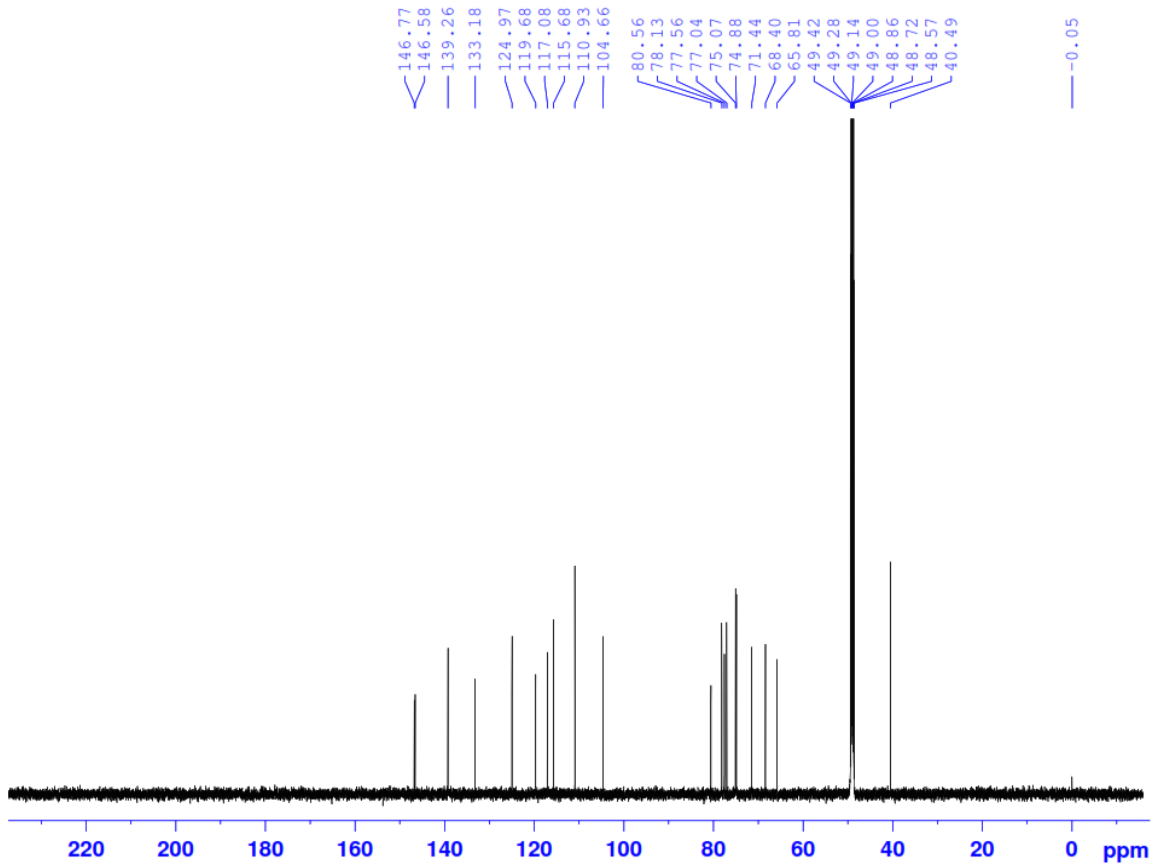
Bảng 3.9. Số liệu phổ NMR của **EC9** và hợp chất tham khảo

C	$\# \delta_C$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	146.59	146.6	-
2	146.80	146.7	-
3	119.70	119.7	7.02 (d, 1.8)
4	133.18	133.2	-
5	124.98	125.0	6.75 (dd, 8.4, 1.8)
6	117.01	117.1	6.78 (d, 8.4)
7	40.49	40.5	3.30 (d, 6.6)
8	139.29	139.3	5.97 (ddd, 6.6, 10.2, 16.2)
9	115.67	115.7	5.03 (dd, 2.4, 10.2) 5.06 (dd, 2.4, 16.2)
1'	104.69	104.7	4.71 (d, 7.2)
2'	74.90	74.9	3.46 (dd, 7.2, 9.0)
3'	77.58	77.6	3.49 (t, 9.0)
4'	71.46	71.4	3.42 (dd, 9.0, 9.0)
5'	77.06	77.0	3.55 (ddd, 1.8, 6.0, 9.0)
6'	68.41	68.4	3.66 (dd, 6.0, 12.0) 4.04 (dd, 1.8, 12.0)
1''	110.95	110.9	5.02 (d, 2.4)
2''	78.14	78.1	3.93 (d, 2.4)
3''	80.57	80.6	-
4''	75.08	75.1	3.78 (d, 9.6) 4.02 (d, 9.6)
5''	65.82	65.8	3.57 (s)

^{a)} CD_3OD , ^{b)}600MHz, ^{c)}150MH, $\# \delta_C$ của manglieside B đo trong CD_3OD [48]

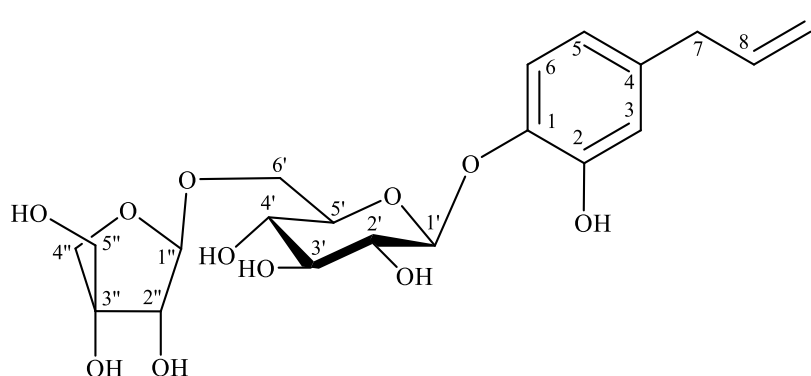


Hình 3.38. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất EC9



Hình 3.39. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC9

3.1.10. Hợp chất EC10: 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside



Hình 3.40. Cấu trúc hóa học của hợp chất EC10

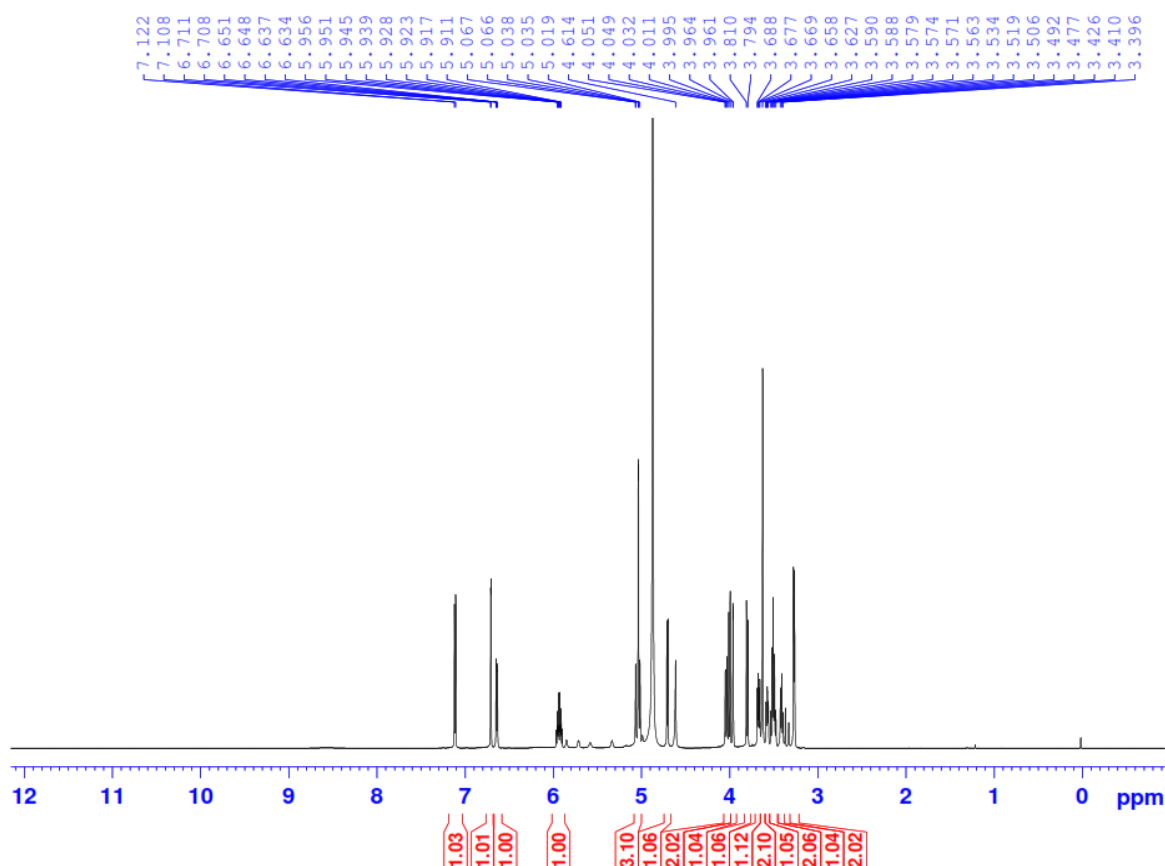
Bảng 3.10. Số liệu phổ NMR của EC10 và hợp chất tham khảo

C	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J in Hz)
1	146.3	145.0	-
2	148.3	148.2	-
3	119.2	119.2	6.70 (d, 1.8)
4	136.7	137.3	-
5	121.1	121.1	6.34 (dd, 1.8, 8.4)
6	110.2	117.3	7.12 (d, 8.4)
7	40.6	40.5	3.27 (d, 7.2)
8	139.0	138.9	5.93 (ddd, 6.6, 10.2, 16.2)
9	115.7	115.8	5.02 (dd, 2.4, 10.2) 5.05 (dd, 2.4, 16.2)
1'	102.0	104.5	4.71 (d, 7.2)
2'	75.0	74.8	3.49 (dd, 7.2, 9.0)
3'	78.0	77.4	3.52 (t, 9.0)
4'	71.6	71.4	3.42 (t, 9.0)
5'	77.1	76.9	3.58 (m)
6'	68.4	68.6	3.66 (dd, 6.0, 12.0) 4.05 (dd, 1.8, 12.0)
1''	110.9	110.9	5.03 (d, 2.4)
2''	77.6	78.0	3.96 (d, 2.4)
3''	80.5	80.5	-
4''	74.9	74.9	3.80 (d, 9.6) 4.00 (d, 9.6)
5''	65.6	65.6	3.62 (s)

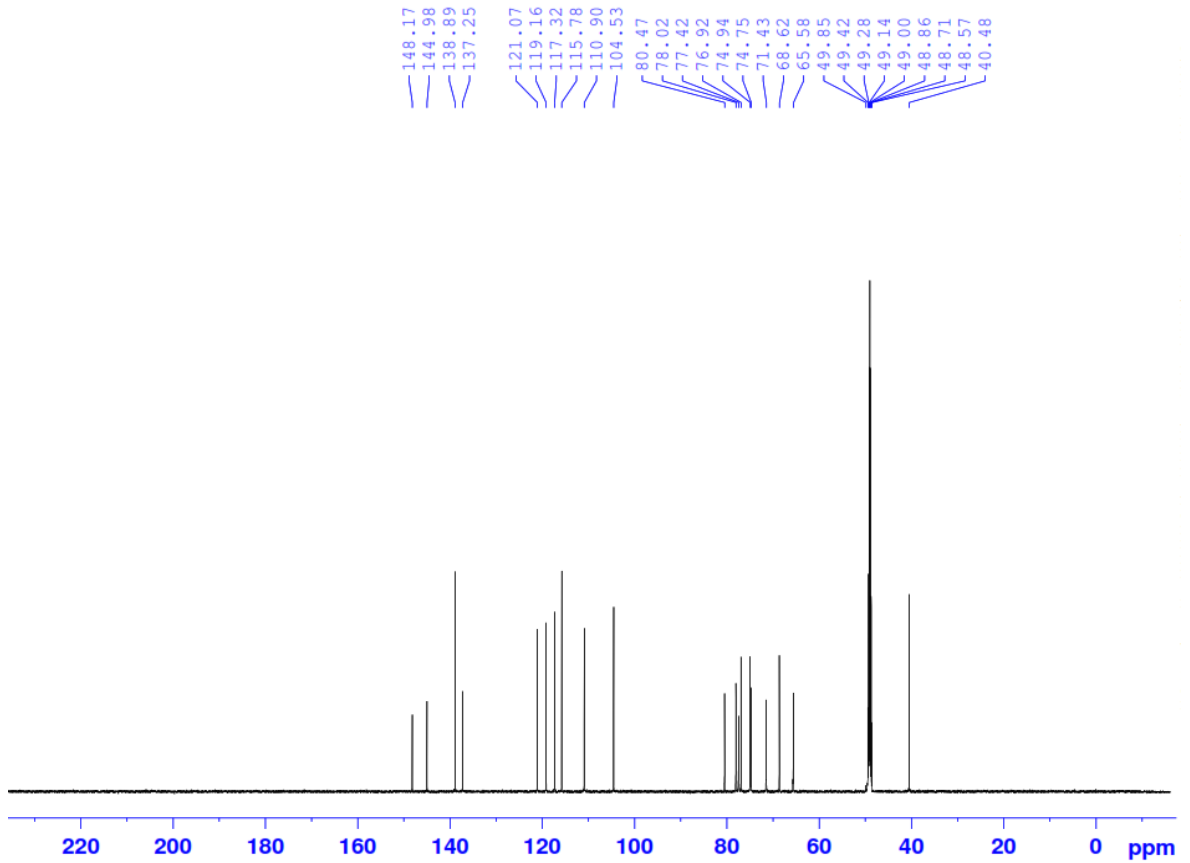
^{a)}CD₃OD, ^{b)}600MHz, ^{c)}150MH, # δ_C của 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside đo trong CD₃OD [49]

Hợp chất EC10 thu được dưới dạng chất bột vô định hình không màu. Phân tích phổ ¹H-NMR thấy xuất hiện tín hiệu của một vòng thơm thể ABX tại δ_H 7.12 (1H, d, J = 8.4 Hz), 6.70 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.34 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz); một

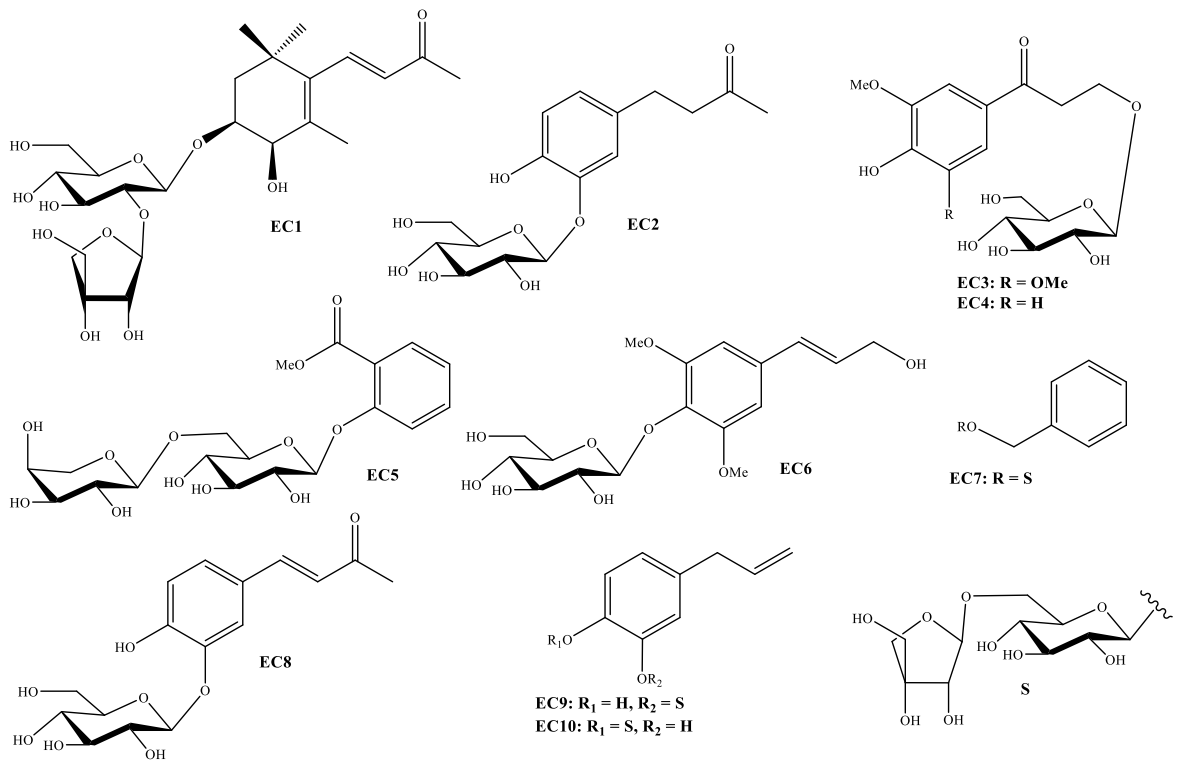
nổi đôi *trans* tại δ_{H} 5.97 (1H, ddd, $J = 6.6, 10.2, 16.2$ Hz) và 5.03 (1H, dd, $J = 2.4, 10.2$ Hz)/ 5.06 (1H, dd, $J = 2.4, 16.2$ Hz); hai proton anome tại δ_{H} 4.71 (1H, d, $J = 7.2$ Hz) và 5.02 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). Tiếp tục phân tích phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **EC10** thấy xuất hiện tín hiệu của hai mươi carbon bao gồm sáu carbon của một vòng thơm thế ABX tại δ_{C} 148.2, 145.0, 137.3, 121.1, 119.2, 117.3, hai carbon của 2 nối đôi tại δ_{C} 138.9, 115.8, sáu carbon đặc trưng cho một phân tử glucopyranosyl tại δ_{C} 104.5, 77.4, 76.9, 74.8, 71.4, 68.6, năm carbon của một phân tử apiofuranosyl tại δ_{C} 110.9, 80.5, 78.0, 74.9, 65.6 và một carbon methylene tại δ_{C} 40.5. Với những phân tích trên, kết hợp so sánh dữ liệu phổ ^1D -NMR của hợp chất **EC10** với dữ liệu phổ của hợp chất 4-allyl-2-hydroxyphenyl 1-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside [49] đã công bố thấy hoàn toàn trùng khớp. Như vậy cấu trúc của hợp chất **EC10** đã được xác định.



Hình 3.41. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **EC10**



Hình 3.42. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất EC10



Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl

3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được

Các hợp chất (**EC1-EC10**) được đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 được kích thích bởi LPS. Kết quả được thể hiện ở bảng dưới:

Bảng 3.11. Khả năng ức chế sản sinh NO của các hợp chất EC1-EC10

Hợp chất	IC ₅₀ (μM)
EC1	68.21 ± 3.42
EC2	126.38 ± 3.98
EC3	110.74 ± 3.72
EC4	143.21 ± 2.39
EC5	16.51 ± 1.56
EC6	107.89 ± 4.53
EC7	123.32 ± 3.72
EC8	102.54 ± 2.67
EC9	16.13 ± 0.98
EC10	14.27 ± 1.12
L-NMMA ^a	32.51 ± 3.70

^a) Đối chứng dương

Hợp chất **EC1**, **EC5**, **EC9** và **EC10** thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 tốt nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 68.21 ± 3.42, 16.51 ± 1.56, 16.13 ± 0.98, 14.27 ± 1.12 μM so với chất đối chứng dương L-NMMA có giá trị IC₅₀ là 32.51 ± 3.70. Các hợp chất còn lại chưa thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 với giá trị IC₅₀ trên 100 μM.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Luận văn “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài kinh giới *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.” đã đạt được một số kết quả sau:

- Sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và xác định cấu trúc 10 hợp chất từ loài kinh giới *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl., trong đó có 1 hợp chất mới là elsholciliata A (**EC1** 7.0 mg) và 9 hợp chất đã biết: 4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan-2-one 3'-*O*- β -D-glucopyranoside (**EC2** 10.2 mg), 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-1-(3',5'-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-propanone) (**EC3** 4.3 mg), β -hydroxypropiovanillone 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**EC4** 5.3 mg), methyl salicylate α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**EC5** 6.8 mg), syringin (**EC6** 6.5 mg), icariside F2 (**EC7** 49.5 mg), 4-(3'-glucopyranosyloxy-hydroxyphenyl)-(E)-3-buten-2-one (**EC8** 23.2 mg), manglieside B (**EC9** 14.0 mg) và 4-allyl-2-hydroxyphenyl-1-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**EC10** 102.0 mg).

- Đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 được kích thích bởi LPS của 10 hợp chất phân lập được. Các hợp chất **EC1**, **EC5**, **EC9** và **EC10** thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 tốt nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 68.21 ± 3.42 , 16.51 ± 1.56 , 16.13 ± 0.98 , $14.27 \pm 1.12 \mu\text{M}$ so với chất đối chứng dương L-NMMA có giá trị IC₅₀ là 32.51 ± 3.70 . Các hợp chất còn lại chưa thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 với giá trị IC₅₀ trên $100 \mu\text{M}$.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài kinh giới *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. chúng tôi nhận thấy:

Hợp chất **EC10** thể hiện hoạt tính ức chế đối với sự sản sinh NO trong RAW 264.7 được kích thích bởi LPS rất đáng quan tâm với giá trị IC₅₀ là $14.27 \mu\text{M}$ và có hàm lượng khá cao. Do vậy, cần nghiên cứu thêm các thí nghiệm về kháng viêm của hợp chất này để định hướng cho thử nghiệm *in vivo*.

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

1. Duong Thi Dung, **Nguyen Huy Hoang**, Duong Thi Hai Yen, Pham Hai Yen, Vu Kim Thu, Nguyen Viet Dung, Ngo Anh Bang, Do Thi Trang, Nguyen Thi Cuc, Phan Thi Thanh Huong, Bui Huu Tai, Nguyen Xuan Nhiem, and Phan Van Kiem, **2022**, Phytochemical constituents from *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. and their nitric oxide production inhibitory activities. *Natural Product Research*, 10.1080/14786419.2022.2147170.
2. Duong Thi Dung, Tran Phuong Thao, **Nguyen Huy Hoang**, Bui Huu Tai, and Phan Van Kiem, **2022**, Phenolic constituents from *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland and their NO production inhibition activity. *Vietnam Journal of Chemistry*, doi: 10.1002/vjch.202200178.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1) Bích, Đ. H., Trung, Đ. Q., Chương, B. X., Dong, N. T., Đàm, Đ. T., Hiền, P. V., Lộ, V. N., Mai, P. D., Mãn, P. K., Thu, Đ. T., Tập, N., and Toàn, T., Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. (2004) Nhà xuất bản Khoa học và Công Nghệ Hà Nội: Vol. 1, 827-828.
- 2) Liu, A., Lee, S., Wang, Y.-T., and Du, G.-H., (2007) *Elsholtzia*: Review of traditional uses, chemistry and pharmacology. *J Chin Pharm Sci*, 16.
- 3) Trung, Đ. Q., Bích, Đ. H., Chương, B. X., Dong, N. T., Đàm, Đ. T., Hiền, P. V., Lộ, V. N., Mai, P. D., Mãn, P. K., Thu, Đ. T., Tập, N., and Toàn, T., Cây Thuốc Và Động Vật Làm Thuốc Ở Việt Nam. (2006) Nhà xuất bản Khoa học và Công Nghệ Hà Nội: Vol. 2, 118-123.
- 4) Hương, T. T. M., (2007) Động thái tích lũy tinh dầu của cây kinh giới (*Elsholtzia cristata* Willd.). *Luận văn Thạc sĩ Dược học*.
- 5) Guo, Z., Liu, Z., Wang, X., Liu, W., Jiang, R., Cheng, R., and She, G., (2012) *Elsholtzia*: phytochemistry and biological activities. *Chemistry Central Journal*, 6, 147-147.
- 6) Xiang, L., Zhang, L., Chen, X., Xia, X., Li, R., and Zhong, J., (2019) Ursane-type triterpenoid saponins from *Elsholtzia bodinieri*. *Natural Product Research*, 33, 1349-1356.
- 7) Zhong, J. D., Zhao, X. W., Chen, X. Q., Li, H. M., Chen, C. H., Xia, X. S., and Li, R. T., (2016) Two new ursane-type triterpenoid saponins from *Elsholtzia bodinieri*. *Archives of Pharmacol Research*, 39, 771-777.
- 8) Zhao, X.-W., Zhong, J.-D., Li, H.-M., and Li, R.-T., (2015) Three new 18,19-seco-ursane glycosides from *Elsholtzia bodinieri*. *Phytochemistry Letters*, 12, 308-312.
- 9) Li, R.-T., Li, J.-T., Wang, J.-K., Han, Q.-B., Zhu, Z.-Y., and Sun, H.-D., (2005) Two New E-Secoursane Glycosides: Bodiniosides A and B, Isolated from *Elsholtzia bodinieri*. *Helvetica Chimica Acta*, 88, 252-258.
- 10) Hu, H., Cao, H., Jian, Y., Zheng, X., and Liu, J., (2008) Two New Clerodane Diterpenoid Glucosides (I) and Other Constituents from the Roots of *Elsholtzia bodinieri* Van't. *Cheminform*, 39.
- 11) Zhao, D., Yang, Y., Zhang, W., Liu, X., Zhai, C., and Wang, H., (2005) [Studies on chemical constituents from *Elsholtzia bodinieri* Vaniot]. *Zhong yao cai = Zhongyaocai = Journal of Chinese medicinal materials*, 28, 94-96.
- 12) Haobin Hu, H. C., Yufeng Jiang, Xudong Zeng and Jianxin Liu., (2008) Two new clerodane diterpenoid glucosides and other constituents from the roots of *Elsholtzia bodinieri* Van't. *Indian J Chem B*, 47B, 166-170.
- 13) Zhu WM, H. H., Wang S, Zuo GY, Hao XJ, (2002) Two new triterpenoid glycosides from *Elsholtzia bodinieri* Van't. *China Chemistry Letters*, 13, 253-255.
- 14) Hu, H.-B., Zheng, X.-D., Hu, H.-S., and Jian, Y.-F., (2007) Triterpenoid Saponins from *Elsholtzia bodinieri*. 28, 1519-1522.
- 15) Lai, G. F., Zhu, X. D., Luo, S. D., and Wang, Y. F., (2008) Chemical constituents from *Elsholtzia rugulosa*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 39, 661-664.
- 16) Hu HB, W. X., Liu JX, Cao H, Jian YF, (2006) Study on the antifungal components in the root of *Elsholtzia bodinieri* vaniot. . *J Sichuan Univ (Nat Sci)* 43, 913-917.

- 17) Hu HB, Z. X., Hu HS, Zhang YQ, (2006) Studies on chemical constituents from *Elsholtzia bodinieri* var. *vaniot* (I) in Gansu, China. *J Baoji Univ Arts Sci (Nat Sci)* 26, 196–199.
- 18) Hu, H.-b., Jian, Y.-f., Zheng, X.-d., and Cao, H., (2007) Three sesquiterpene glycosides from *Elsholtzia bodinieri*. *Cheminform*, 38.
- 19) Chen RL, Z. C., Chen HY, (2004) Chemical constituents of *Elsholtzia bodinieri*. *Chin Trad Herbal Drugs*, 1084–1086.
- 20) Li, R. T., Li, J. T., Wang, J. K., Han, Q. B., Zhu, Z. Y., and Sun, H. D., (2008) Three new flavonoid glycosides isolated from *Elsholtzia bodinieri*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56, 592-594.
- 21) Zheng, S., Kang, S., and Shen, T., (2000) The chemical constituents of *Elsholtzia stauntonii* Benth. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 36, 51-57.
- 22) Shangzhen Zheng, S. K., Yuwei Shen, and Liping Sun, (1999) Three New C-Methylated Flavones from *Elsholtzia stauntonii*. *Planta Med.*, 65 173-175.
- 23) Chen, H.-y., Zhou, C.-x., Lou, Y.-j., Duan, Z.-h., and Zhao, Y., (2005) Chemical constituents from *Elsholtzia blanda*. *China journal of Chinese materia medica*, 30, 1589-1591.
- 24) Zheng SZ, L. J., Shen T, Liu HY, Shen XW, (2001) New C-methylated flavones from *Elsholtzia blanda* Benth. *Indian J Chem B* 232-234.
- 25) Sun, L., Yin, Z., Fu, Z., Zheng, S., and Shen, X., (1996) The chemical constituents of *Elsholtzia densa* Benth. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 38, 672-676.
- 26) Ding, C., Zhou, L., Ji, L., Ji, W., and Ma, Y., (2004) Studies on chemical constituents from tibetan medicine *Elsholtzia ianthina*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 24, 1093-1095.
- 27) Li, H., Nakashima, T., Tanaka, T., Zhang, Y. J., Yang, C. R., and Kouno, I., (2008) Two new maltol glycosides and cyanogenic glycosides from *Elsholtzia rugulosa* Hemsl. *Journal of Natural Medicines*, 62, 75-78.
- 28) Liu, B., Deng, A. J., Yu, J. Q., Liu, A. L., Du, G. H., and Qin, H. L., (2012) Chemical constituents of the whole plant of *Elsholtzia rugulosa*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 14, 89-96.
- 29) Chu Bá Nam, N. X. D., Lê Văn Hạc, (1994) Các kết quả nghiên cứu về chùa dù (*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.) của Việt Nam. *Tạp chí Dược học*, 6, 14-15.
- 30) Hương, H. T. D., Hà, Đ. T., and Vân, L. T. K., (2022) Một số hợp chất saponin từ phân đoạn ethyl acetat của Chùa dù (*Elsholtzia penduliflora* W.W. Smith). *Nghiên cứu Dược & Thông tin thuốc*, 1, 1-8.
- 31) Chi, V. V., Từ điển cây thuốc Việt Nam. (2018) *Nhà xuất bản Y học*: Vol. 1, 1254-1259.
- 32) Seo, Y. H., Trinh, T. A., Ryu, S. M., Kim, H. S., Choi, G., Moon, B. C., Shim, S. H., Jang, D. S., Lee, D., Kang, K. S., and Lee, J., (2020) Chemical Constituents from the Aerial Parts of *Elsholtzia ciliata* and Their Protective Activities on Glutamate-Induced HT22 Cell Death. *J. Nat. Prod.*, 83, 3149-3155.
- 33) Dung, N. X., Hac, L. V., Hai, L.H., Leclercq, P.A., (1996) Nghiên cứu thành phần và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của tinh dầu cây kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.) *Journal of Essential Oil Research*, 8, 107-109.

- 34) Đặng Thị Thanh Nhân, L. T. H., (2017) Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của tinh dầu cây kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.) *Tạp chí Khoa học và Giáo dục, Trường Đại học Sư phạm Huế*, 42, 85-91.
- 35) Nguyen, D. T. X., Tran, H., Schwaiger, S., Stuppner, H., and Marzocco, S., (2020) Effect of non-volatile constituents of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. from Southern Vietnam on reactive oxygen species and nitric oxide release in macrophages. *Chem. Biodiversity*, 18, e2000577.
- 36) Pawar, R. and Bhutani, K., (2004) Madhucosides A and B, protobassic acid glycosides from madhuca indica with Inhibitory Activity on Free Radical Release from Phagocytes. *Journal of natural products*, 67, 668-671.
- 37) Shimizu, S., Miyase, T., Ueno, A., and Usmanghani, K., (1989) Sesquiterpene lactone glycosides and ionone derivative glycosides from *Sonchus asper*. *Phytochemistry*, 28, 3399-3402.
- 38) Yu, Q., Matsunami, K., Otsuka, H., and Takeda, Y., (2005) Staphylionosides A—K: megastigmane glucosides from the leaves of *Staphylea bumalda* DC. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 800-807.
- 39) Lee, I., Kim, K., Lee, S., Choi, S., and Lee, K., (2011) ChemInform Abstract: Three New Megastigmane Glucopyranosides from the Cardamine komarovii. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59, 773-777.
- 40) Yan, J., Shi, X., Donkor, P. O., Zhu, H., Gao, X., Ding, L., and Qiu, F., (2017) Nine pairs of megastigmane enantiomers from the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver. *J Nat Med*, 71, 780-790.
- 41) Tanaka, T., Nakashima, T., Ueda, T., Tomii, K., and Kouno, I., (2007) Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 55, 899-901.
- 42) Pabst, A., Barron, D., Adda, J., and Schreier, P., (1990) Phenylbutan-2-one β -d-glucosides from raspberry fruit. *Phytochemistry*, 29, 3853-3858.
- 43) Li, Z. J., Zheng, X., Wan, C. P., Cai, L., Li, Y., Huang, L., and Ding, Z. T., (2016) A new phenolic compound with antioxidant activity from the branches and leaves of *Pyrus pashia*. *Nat Prod Res*, 30, 1136-1143.
- 44) Sun, Y., Liu, Y., Sun, Y.-P., Ye, H.-L., Pan, J., Guan, W., Yang, B.-Y., and Kuang, H.-X., (2020) Lanicepsides C-E from the aerial part of *Clematis chinensis* Osbeck. *Phytochemistry Letters*, 37, 95-100.
- 45) Ohmura, K., Miyase, T., and Ueno, A., (1989) Sesquiterpene glucosides and a phenylbutanoid glycoside from *Hypochoeris radicata*. *Phytochemistry*, 28, 1919-1924.
- 46) Gohari, A., Saeidnia, S., Bayati-Moghadam, M., Amin, G., and Hadjiakhoondi, A., (2009) Phytochemical and Chemotaxonomic Investigation of *Stelleropsis iranica*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 3423-3427.
- 47) Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kobayashi, H., and Oguchi, H., (1988) Studies on the Glycosides of *Epimedium grandiflorum* MORR. var. *thunbergianum* (MIQ.) NAKAI. III. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 2475-2484.
- 48) Kiem, P. V., Tri, M. D., Tuong le, V. D., Tung, N. H., Hanh, N. N., Quang, T. H., Cuong, N. X., Minh, C. V., Choi, E. M., and Kim, Y. H., (2008) Chemical constituents from the leaves of *Manglietia phuthoensis* and their effects on osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 56, 1270-1275.

- 49) Yamauchi, H., Kakuda, R., Yaoita, Y., Machida, K., and Kikuchi, M., (2007) Two new glycosides from the whole plants of *Glechoma hederacea* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 55, 346-347.