

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGÔ THỊ TRANG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CÂY KÊ HUYẾT ĐẰNG
(*MILLETTIA RETICULATA*) Ở VIỆT NAM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Hà Nội – 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGÔ THỊ TRANG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CÂY KÊ HUYẾT ĐẰNG
(*MILLETTIA RETICULATA*) Ở VIỆT NAM**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: 1. TS. Đỗ Tiến Lâm

2. TS. Vũ Thị Thu Lê

Ký xác nhận

Hướng dẫn khoa học 1

Hướng dẫn khoa học 2

Đỗ Tiến Lâm

Vũ Thị Thu Lê

Hà Nội – 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi dưới sự hướng dẫn của **TS. Đỗ Tiến Lâm** và **TS. Vũ Thị Thu Lê**. Các số liệu nghiên cứu khoa học, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và tài liệu tham khảo đã được ghi rõ nguồn trích dẫn. Kết quả nghiên cứu này không trùng với bất cứ công trình nào đã được công bố trước đó.

Nếu phát hiện bất kỳ sự sao chép nào từ kết quả nghiên cứu khác hoặc sai sót về số liệu nghiên cứu, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước nhà trường và hội đồng.

Hà Nội, ngày tháng năm 2022

Tác giả

Ngô Thị Trang

LỜI CẢM ƠN

Sau 2 năm học tập tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, hiện tại tôi đã hoàn thành chương trình học tập. Để hoàn thành luận văn thạc sĩ này, tôi xin chân thành bày tỏ lời cảm ơn đến Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và quý thầy cô giáo trong khoa Hóa học đã tận tình giảng dạy, truyền đạt cho tôi những kiến thức, kinh nghiệm quý báu trong suốt thời gian học tập vừa qua.

Đặc biệt hơn, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến **TS. Đỗ Tiến Lâm** (Viện hóa học các hợp chất thiên nhiên) và **TS. Vũ Thị Thu Lê** (Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Thái Nguyên) đã tận tình hướng dẫn, hết lòng chỉ bảo, tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài luận văn. Trong quá trình học tập và làm việc, tôi không chỉ tiếp thu thêm nhiều kiến thức chuyên môn bổ ích mà còn học tập được tinh thần làm việc, thái độ nghiên cứu khoa học nghiêm túc, hiệu quả, đây là những điều quý giá mà tôi đã có được trong quá trình học tập và làm việc vừa qua. Những điều đó sẽ giúp tôi rất nhiều trong quá trình công tác sau này.

Bên cạnh đó, tôi xin cảm ơn sự hợp tác từ các cộng sự, anh, chị, em tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, các đơn vị phối hợp đã giúp tôi hoàn thành tốt luận văn này.

Sau cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới gia đình, bạn bè đã khích lệ tinh thần, đóng góp ý kiến, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn tốt nghiệp.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

HỌC VIÊN CAO HỌC

Ngô Thị Trang

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1. Giới thiệu về các thực vật chi Thần mát (<i>Millettia</i>).....	3
1.2. Thành phần hóa học các thực vật chi Thần mát (<i>Millettia</i>)	4
1.2.1. Các hợp chất isoflavone.....	4
1.2.2. Các hợp chất flavone	12
1.2.3. Các hợp chất flavanone.....	14
1.2.4. Các hợp chất flavanonol	16
1.2.5. Các hợp chất chalcone	16
1.2.6. Các hợp chất khác.....	18
1.3. Hoạt tính sinh học	22
1.3.1. Hoạt tính chống co thắt.....	22
1.3.2. Hoạt tính chống kí sinh trùng	22
1.3.3. Hoạt tính gây độc tế bào	22
1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn.....	23
1.3.5. Hoạt tính chống oxi hóa.....	23
1.3.6. Hoạt tính kháng viêm.....	23
1.3.7. Hoạt tính giảm đau.....	23
1.4. Cây Kê huyết đằng (<i>Millettia reticulata</i>).....	24
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ THỰC NGHIỆM.....	27
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	27
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	27
2.2.1. Phương pháp xử lý và chiết mẫu	27
2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất	27
2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hợp chất.....	27

2.2.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm.....	28
2.3. Thực nghiệm	28
2.3.1. Thu nhận các cặn chiết từ cây Kê huyết đằng	28
2.3.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ các cặn chiết cây Kê huyết đằng.....	29
2.3.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro của cặn chiết và chất sạch.....	32
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	33
3.1. Nhận dạng một số hợp chất từ các cặn chiết của cây Kê huyết đằng	33
3.1.1. Các hợp chất flavonoid.....	33
3.1.1.1. Hợp chất 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (MR1)	33
3.1.1.2. Hợp chất 4'-methoxytecto-chrysin (MR2).....	36
3.1.1.3. Hợp chất chalcone: pashanone (MR3)	40
3.1.1.4. Hợp chất apigenin 8-C-glucoside (MR5)	43
3.1.2. Hợp chất triterpenoid: β -amyrin <i>trans</i> -cinnamate (MR4).....	46
3.2. Đánh giá hoạt tính kháng viêm in vitro của các cặn chiết và hợp chất.....	51
KẾT LUẬN.....	54
CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	56

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 1.1.</i> Các loài chi <i>Millettia</i> sử dụng trong y học cổ truyền.....	3
<i>Bảng 1.2.</i> Các hợp chất isoflavone phân lập từ chi Thàn mát (<i>Millettia</i>)	4
<i>Bảng 1.3.</i> Các hợp chất flavone phân lập được từ chi (<i>Millettia</i>)	12
<i>Bảng 1.4.</i> Một số hợp chất flavanone phân lập được từ chi <i>Millettia</i>	14
<i>Bảng 1.5.</i> Một số hợp chất flavanonol được phân lập từ chi <i>Millettia</i>	16
<i>Bảng 1.6.</i> Một số hợp chất chalcone được phân lập từ chi <i>Millettia</i>	16
<i>Bảng 1.7.</i> Một số hợp chất khác phân lập được từ chi Thàn mát (<i>Millettia</i>) ...	18
<i>Bảng 3.1.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của chất MR1 và chất tham khảo	35
<i>Bảng 3.2.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của chất MR2 và chất tham khảo	39
<i>Bảng 3.3.</i> Dữ liệu phổ của chất MR3 và chất tham khảo	42
<i>Bảng 3.4.</i> Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của chất MR5 và chất tham khảo	45
<i>Bảng 3.5.</i> Dữ liệu phổ của chất MR4 và chất tham khảo	49
<i>Bảng 3.6.</i> Kết quả thử khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 .	51

DANH MỤC CÁC HÌNH

<i>Hình 1.1.</i> Các hợp chất isoflavone	12
<i>Hình 1.2.</i> Các hợp chất flavone.....	14
<i>Hình 1.3.</i> Các hợp chất flavanone	15
<i>Hình 1.4.</i> Các hợp chất flavanonol.....	16
<i>Hình 1.5.</i> Các hợp chất chalcone.....	18
<i>Hình 1.6.</i> Các hợp chất khác	21
<i>Hình 1.7.</i> Cây Kê huyết đằng (<i>Milletia reticulata</i>) (nguồn internet)	24
<i>Hình 1.8.</i> Một số hợp chất phân lập từ loài Kê huyết đằng	26
<i>Hình 2.1.</i> Quy trình ngâm chiết thu nhận các cặn chiết từ cây Kê huyết đằng.....	29
<i>Hình 2.2.</i> Phân lập các hợp chất từ cặn <i>n</i> -hexane của cây Kê huyết đằng.....	30
<i>Hình 2.3.</i> Phân lập các hợp chất từ cặn ethyl acetate của cây Kê huyết đằng	31
<i>Hình 3.1.</i> Phổ ¹ H-NMR của MR1	33
<i>Hình 3.2.</i> Phổ ¹³ C-NMR của MR1	34
<i>Hình 3.3.</i> Phổ HSQC của MR1	34
<i>Hình 3.4.</i> Phổ HMBC của MR1	35
<i>Hình 3.5.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của MR1	35
<i>Hình 3.6.</i> Phổ ¹ H-NMR của MR2	36
<i>Hình 3.7.</i> Phổ ¹³ C-NMR của MR2	37
<i>Hình 3.8.</i> Phổ HSQC của MR2	38
<i>Hình 3.9.</i> Phổ HMBC của MR2	38
<i>Hình 3.10.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của MR2	39
<i>Hình 3.11.</i> Phổ ¹ H-NMR của MR3	40
<i>Hình 3.12.</i> Phổ ¹³ C-NMR của MR3	41
<i>Hình 3.13.</i> Phổ HSQC của MR3	41
<i>Hình 3.14.</i> Phổ HMBC của MR3	42
<i>Hình 3.15.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của MR3	42
<i>Hình 3.16.</i> Phổ ¹ H-NMR của MR5	43

<i>Hình 3.17.</i> Phổ ^{13}C -NMR của MR5	44
<i>Hình 3.18.</i> Phổ HMBC của MR5	44
<i>Hình 3.19.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của MR5	44
<i>Hình 3.20.</i> Phổ ^1H -NMR của MR4	46
<i>Hình 3.21.</i> Phổ ^{13}C -NMR của MR4	47
<i>Hình 3.22.</i> Phổ DEPT của MR5	47
<i>Hình 3.23.</i> Phổ HSQC của MR5	48
<i>Hình 3.24.</i> Phổ HMBC của MR5	48
<i>Hình 3.25.</i> Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của MR4	49
<i>Hình 3.26.</i> Các hợp chất phân lập được từ cây Kê huyết đằng.....	50

DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
¹³ C-NMR	Carbon 13- Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết H-C
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân trực tiếp H-C
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetat
EtOH	Ethanol	Ethanol
MeOH	Methanol	Methanol
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Dimethyl sunfoxit
δ_H	Proton chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton
δ_C	Carbon chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của cacbon
ppm	Part per million	Phần triệu
TMS	Tetramethylsilane	
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký bản lớp mỏng
CC	Colum Chromatography	Sắc ký cột

MỞ ĐẦU

Việt Nam thuộc vùng nhiệt đới gió mùa với trên 3000 km bờ biển và 4/5 diện tích là đồi núi đã hình thành các thảm thực vật có mức đa dạng sinh học cao. Theo thống kê, nước ta có hơn 12.000 loài thực vật với khoảng 2.256 chi thuộc 305 họ, trong đó có hơn 3.800 loài được dùng làm thuốc phòng chữa bệnh [1,2]. Tuy nhiên, chỉ có dưới 2% số loài đã được nghiên cứu về hóa học và dược lí học. Hiện nay, xu hướng được thế giới quan tâm là tập trung nghiên cứu các cây thuốc dân gian để tìm kiếm và phát hiện các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt, không có độc tính để tạo ra sản phẩm thuốc có giá trị cao nhằm chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

Trong đó, các thực vật chi Thàn mát (*Millettia*) được biết đến là các dược liệu quý và đã được ứng dụng rất nhiều trong các bài thuốc dân gian. Chi *Millettia* thuộc họ Fabaceae có khoảng 260 loài, được phân bố rộng khắp ở các vùng nhiệt đới đến các vùng cận nhiệt đới, ở châu Phi có khoảng 139 loài và châu Á có khoảng 121 loài, ở Việt Nam có khoảng 20 loài, phân bố trên cả ba miền đất nước [3,4]. Các thực vật chi *Millettia* được sử dụng trong y học cổ truyền dân tộc để chữa trị nhiều bệnh lý khác nhau. Đặc biệt, loài *Millettia reticulata* có tác dụng chữa đau nhức xương khớp, thấp khớp; trị lung gôi đau mỏi tê bại, đòn ngã tổn thương, hoạt huyết [5,6]. Cùng với đó, thành phần hóa học chính của các loài thuộc chi *Millettia* là các hợp chất thuộc nhóm flavonoid, chủ yếu thuộc khung như isoflavone (khoảng 100 hợp chất), flavone (khoảng 30 hợp chất), flavanone (khoảng 20 hợp chất), chalcone (khoảng 30 hợp chất), ngoài ra còn có các thành phần khác như flavanonol, rotenoid,... [7]. Flavonoid đã được chứng minh có hoạt tính sinh học vô cùng phong phú đa dạng như kháng viêm, làm bền thành mạch, chống độc, bảo vệ chức năng gan, chống oxy hoá, virus và ung thư... [8,9]. Điều đó gợi ý các loài thuộc chi *Millettia* có tác dụng sinh học tốt.

Các nghiên cứu về Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) ở Việt Nam hầu như mới tập trung ở khía cạnh liệt kê, nhận biết, mô tả hoặc tổng kết kinh nghiệm dân gian mà ít có các nghiên cứu nào về cả hóa học và hoạt tính sinh học. Với những thông tin tìm hiểu có được về tác dụng các bài thuốc cổ truyền và sự có mặt loài Kê huyết đằng nêu trên, chúng em thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính kháng viêm của cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) ở Việt Nam”** với mục tiêu:

- Nghiên cứu quy trình chiết, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được từ cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) ở Việt Nam.

- Đánh giá tác dụng kháng viêm của các cặn chiết và chất sạch phân lập được.

Nội dung nghiên cứu:

- Thu hái và xử lý mẫu cây Kê huyết đằng;
- Tiến hành chiết tách phân lập các chất sạch bằng những phương pháp thích hợp;
- Xác định cấu trúc các chất phân lập được bằng các phương pháp phổ;
- Thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cặn chiết tổng, phân đoạn và chất sạch thu được từ cây Kê huyết đằng.

Tính mới của luận văn:

Lần đầu tiên, 5 hợp chất gồm có 4 hợp chất flavonoid: 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**), 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**), pashanone (**MR3**) và apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) và 1 triterpenoid: β -amyrin *trans*-cinnamate (**MR4**) đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc từ cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) ở Lạng Sơn, phù hợp với thành phần hóa học các thực vật chi *Millettia*.

Lần đầu tiên hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cặn chiết và hợp chất phân lập từ cây Kê huyết đằng được thử nghiệm. Kết quả cho biết, cặn ethyl acetate (**MRE**) có khả năng ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7 tốt nhất với IC_{50} là 52,15 $\mu\text{g/ml}$ và hợp chất apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 8,25 μM .

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về các thực vật chi *Thàn mát* (*Millettia*)

Họ Đậu (Fabaceae) là một họ thực vật đa dạng lớn gồm có 730 chi và 19400 loài, đứng thứ ba trên thế giới về số lượng loài, được phân bố ở các rừng mưa nhiệt đới và trong rừng khô ở Mỹ và châu Phi [10]. Ở nước ta, Võ Văn Chi đã thống kê họ Đậu có khoảng 90 chi và 450 loài, riêng khu vực Tây Nguyên có đến 58 chi, 202 loài. Nguyễn Tiến Bản đã thống kê họ Đậu có khoảng 600 loài [4,5]. Họ Đậu có tầm quan trọng về kinh tế, là nguồn lương thực cung cấp nguồn dinh dưỡng protein và vi chất dinh dưỡng cao đem lại sức khỏe cho con người. Một số loại quả, củ nhiệt đới cùng với ngũ cốc thuộc họ Đậu đã và đang là nguồn thực phẩm chủ yếu của con người trong suốt nhiều thiên nhiên kỉ. Hơn thế nữa, việc sử dụng chúng liên quan chặt chẽ đến tiến hóa của loài người [10].

Chi *Thàn mát* (*Millettia*) là chi nhỏ thuộc họ Đậu (Fabaceae), thuộc phân họ Papilionoideae, có khoảng 260 loài, ở nước ta, chi có khoảng 12 loài và phân bố rộng khắp cả nước [2,4].

Các thực vật chi *Thàn mát* là cây bụi hoặc dây leo, lá xếp theo hình lông chim với 1 lá chét ở đầu cuối và số lá chét lẻ (hiếm có ba lá chét). Chùm hoa nở ở nách lá hoặc ở đỉnh, hình chùy, nhiều cành hoa. Lá bắc lộ ra nhưng sớm rụng. Đài hoa dạng hình chuông hoặc hình ống. Nhị hoa có một bó nhị hoặc hai bó chỉ nhị và bao phấn dính gốc. Bầu nhụy chứa từ hai hoặc ba đến vài noãn. Vòi nhụy thường nhẵn không có lông hoặc lông ở nửa dưới và nhẵn phía trên. Vỏ quả dạng bầu dục hoặc bán nguyệt. Hạt hình bầu dục ngang, hình vuông hoặc hình chữ nhật [11].

Các thực vật chi *Thàn mát* được sử dụng vào mục đích khác nhau như chống viêm, chống ung thư, kháng virus, diệt côn trùng và sâu bệnh, khử khuẩn,...[12].

Bảng 1.1. Các loài chi Millettia sử dụng trong y học cổ truyền [12]

Loài	Bộ phận	Sử dụng
<i>M. auriculate</i>	Lá Rễ	Chữa vô sinh nam Độc cá Thuốc trừ sâu Thuốc diệt nấm

<i>M. caerulea</i>	Lá và thân	Chống nhiễm trùng
<i>M. dielsiana</i>	Thân leo	Cải thiện lưu thông và làm tan cục máu đông
<i>M. dura</i>	Cả cây	Độc cá
<i>M. elongatistyla</i>	Rễ	Điều trị bệnh sán máng
<i>M. extensa</i>	Rễ Vỏ	Đau bụng Ngăn ngừa thụ thai
<i>M. ferruginea</i>	Rễ	Điều trị bệnh lậu
<i>M. kitanja</i>	Lá	Điều trị bệnh tiểu đường
<i>M. lasiantha</i>	Rễ	Thuốc kích thích tình dục
<i>M. leptobotrya</i>	Rễ	Điều trị vết thương
<i>M. pachycarpa</i>	Rễ Hạt	Điều trị sưng Độc cá
<i>M. pervilleana</i>	Hạt	Độc cá
<i>M. reticulata</i>	Rễ	Ức chế đông máu
<i>M. stullmannii</i>	Rễ	Điều trị đau dạ dày
<i>M. thonningii</i>	Cả cây Rễ	Chống sốt rét Chống giun sán
<i>M. usaramensis</i>	Rễ	Chống nọc độc

1.2. Thành phần hóa học các thực vật chi Thàn mát (*Millettia*) [7]

Các loài thuộc chi Thàn mát có thành phần hóa học chính thuộc nhóm flavonoid chủ yếu có bộ khung như isoflavone, flavanone, flavanonol, chalcone, rotenoid, ...

1.2.1. Các hợp chất isoflavone

Chi Thàn mát chứa nhiều hợp chất isoflavone với hơn 100 hợp chất isoflavone đã được xác định.

Bảng 1.2. Các hợp chất isoflavone phân lập từ chi Thàn mát (*Millettia*)

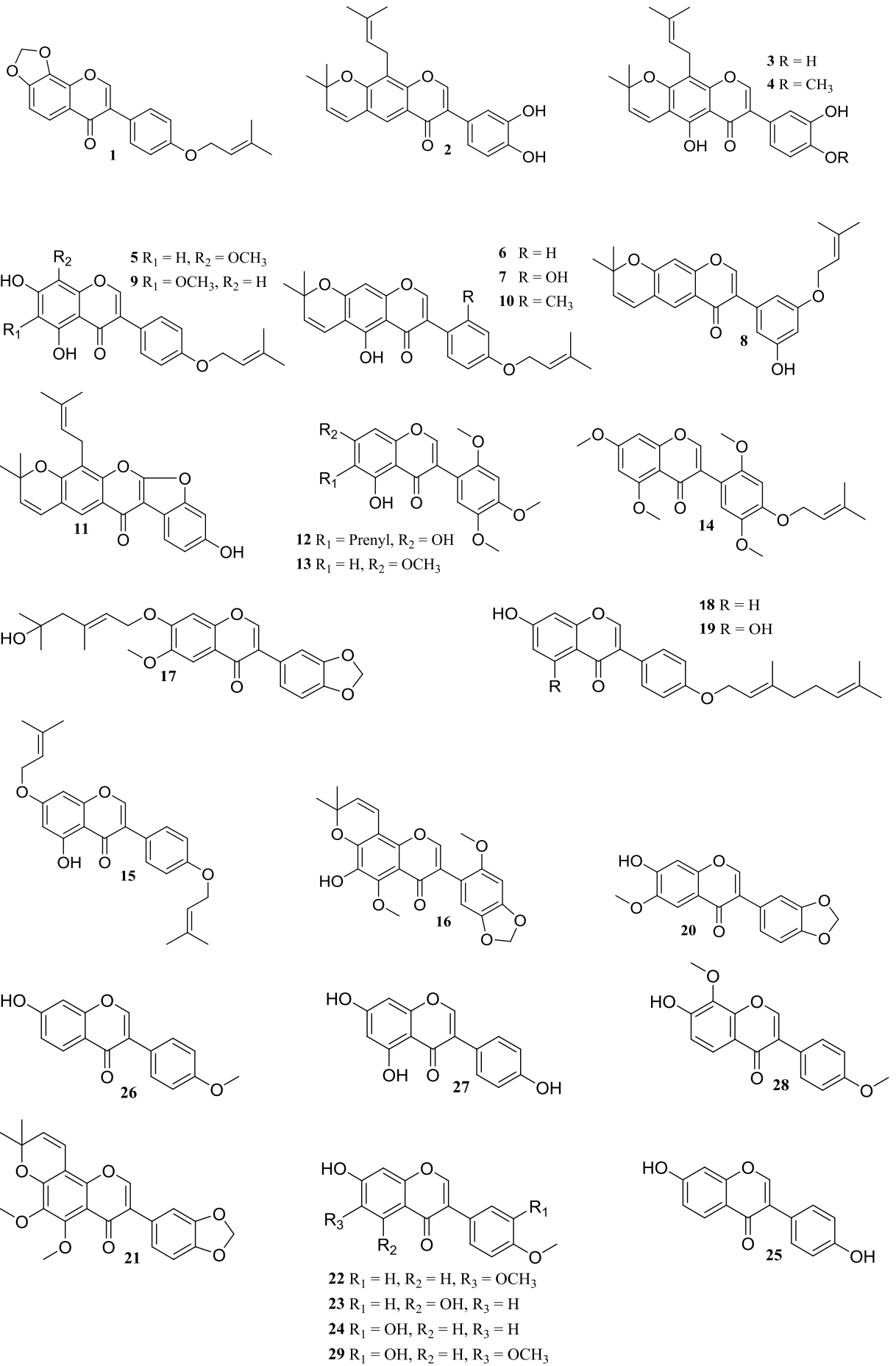
KH	Tên chất	Loài	Bộ phận
1	Auricularin	<i>M. auriculata</i>	Rễ
2	Auriculasin	<i>M. auriculata</i>	Lá
		<i>M. auriculata</i>	Hạt
		<i>M. taiwaniana</i>	Vỏ thân cây

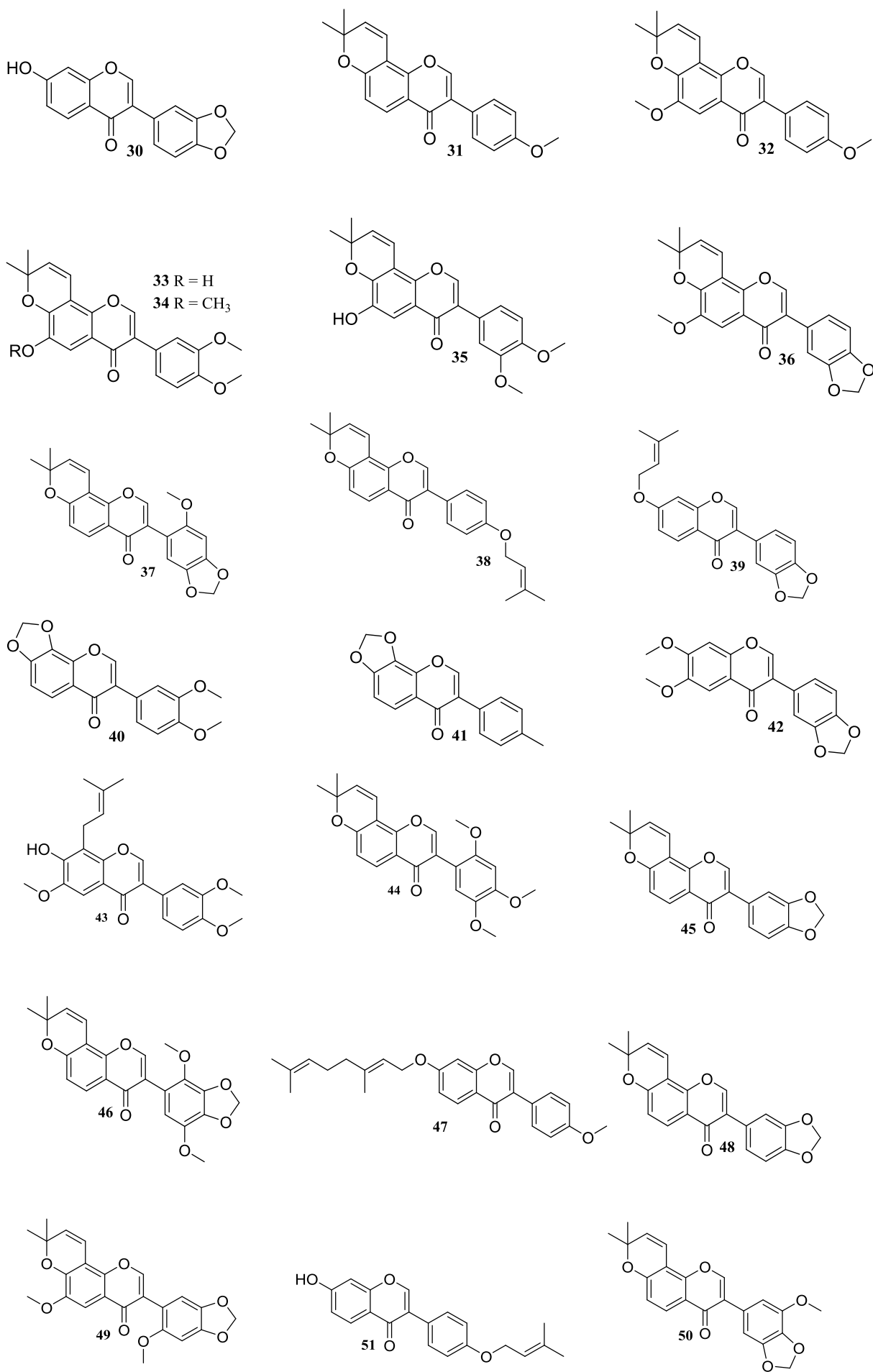
3	Auriculatin	<i>M. auriculata</i> <i>M. auriculata</i>	Rễ Hạt
4	Auriculin	<i>M. auriculata</i>	Vỏ rễ
5	Aurmillone	<i>M. auriculata</i>	Hạt
6	2'-deoxyisoauriculatin	<i>M. auriculata</i>	Rễ
7	Isoauriculasin	<i>M. auriculata</i>	Lá
8	Isoauriculatiin	<i>M. auriculata</i>	Vỏ rễ
9	Isoaurmillone	<i>M. auriculata</i>	Quả
10	2''-O-methylisoauriculatin	<i>M. auriculata</i>	Vỏ rễ
11	Millettin	<i>M. auriculata</i> <i>M. auriculata</i>	Vỏ rễ Hạt
12	Viridiflorin	<i>M. brandisiana</i>	Lá
13	Robustigenin	<i>M. brandisiana</i>	Lá
14	Brandisianin A	<i>M. brandisiana</i>	Lá
15	7,4'-di'-O-prenylgenistein	<i>M. brandisiana</i>	Lá
16	Conrauinone A	<i>M. conraui</i>	Vỏ thân cây
17	Conrauinone B	<i>M. conraui</i>	Vỏ thân cây
18	Conrauinone C	<i>M. conraui</i>	Vỏ thân cây
19	Conrauinone D	<i>M. conraui</i>	Vỏ thân cây
20	7-hydroxy-6-methoxy-3',4'- methylenedioxyisoflavone	<i>M. conraui</i>	Vỏ thân cây
21	5-methoxydurmillone	<i>M. conraui</i> <i>M.ferruginea</i>	Vỏ thân cây Vỏ thân cây
22	Afromosin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. reticulata</i> <i>M. nitida</i>	Vỏ thân cây Vỏ thân cây Thân leo
23	Biochanin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. nitida</i>	Vỏ thân cây Thân leo
24	Calycosin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. laurentii</i>	Vỏ thân cây Lõi gỗ
25	Daidzein	<i>M. dielsiana</i>	Vỏ thân cây
26	Formononetin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. nitida</i>	Vỏ thân cây Thân leo

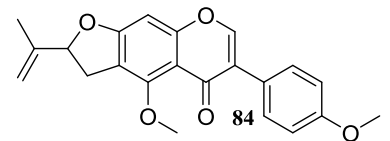
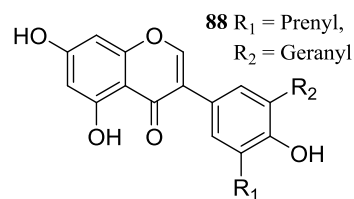
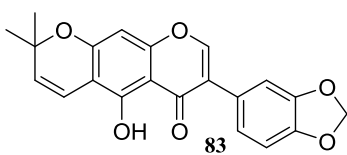
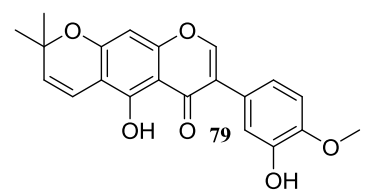
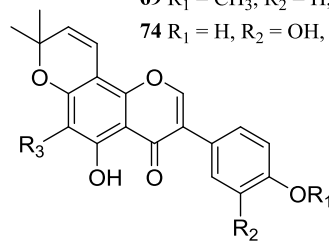
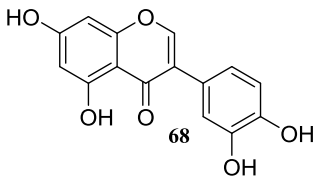
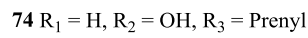
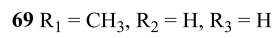
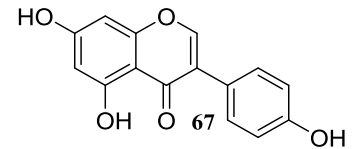
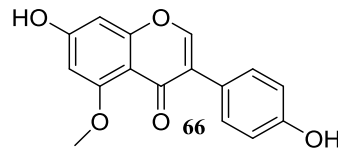
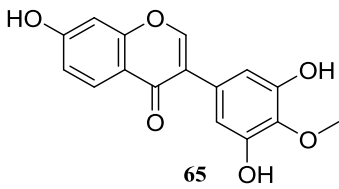
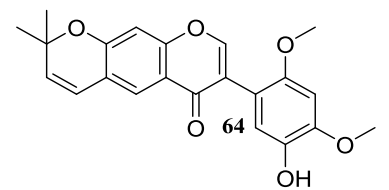
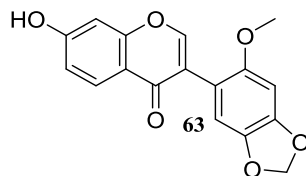
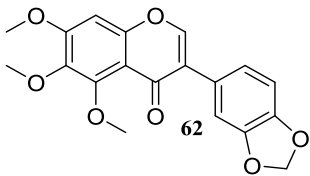
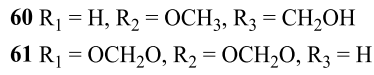
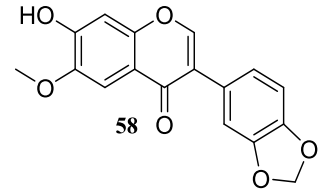
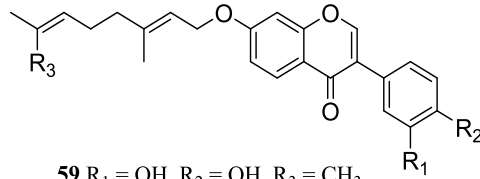
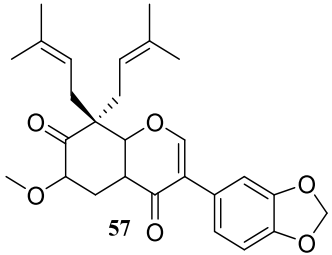
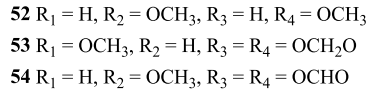
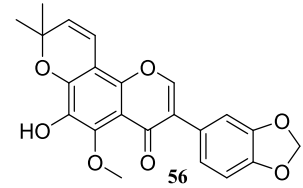
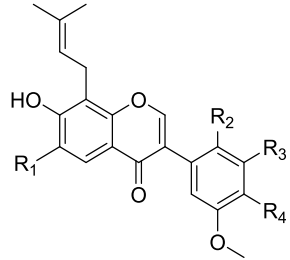
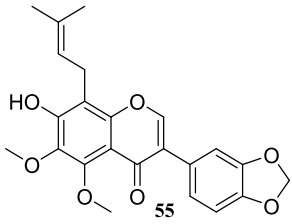
27	Genistein	<i>M. dielsiana</i> <i>M. nitida</i>	Vỏ thân cây Thân leo
28	8'- <i>O</i> -Methylretusin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. reticulata</i>	Vỏ thân cây Vỏ thân cây
29	Odoratin	<i>M. dielsiana</i> <i>M. griffoniana</i>	Vỏ thân cây Vỏ rễ
30	Pseudobaptigenin	<i>M. dielsiana</i>	Vỏ thân cây
31	Calopogoniumisoflavone A	<i>M. dura</i> <i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây Vỏ thân cây
32	Calopogoniumisoflavon A,6 -methoxy	<i>M. dura</i>	Quả
33	6-Demethyldurallone	<i>M. dura</i>	Quả
34	7,2'-dimethoxy-4',5' methylenedioxyisoflavone	<i>M. dura</i> <i>M. griffoniana</i> <i>M. griffoniana</i>	Vỏ thân cây Vỏ rễ Hạt
35	Durallone	<i>M. dura</i>	Quả
36	Durlettone	<i>M. dura</i>	Hạt
37	Durlmillone	<i>M. dura</i> <i>M. ferruginea</i> <i>M. rubiginosa</i> <i>M. griffonianone</i>	Hạt Vỏ thân cây Vỏ rễ Vỏ rễ
38	Isoerythrin A	<i>M. dura</i>	Quả
39	Jamaicin	<i>M. usaramensis</i> <i>M. dura</i> <i>M. griffonianone</i> <i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây Hạt Vỏ rễ Vỏ thân cây
40	Maximaisoflavone B	<i>M. dura</i>	Vỏ thân cây
41	Maximaisoflavone H	<i>M. dura</i>	Vỏ thân cây
42	Milldurone	<i>M. dura</i>	Vỏ thân cây
43	Predurallone	<i>M. dura</i>	Quả
44	Barbigerone	<i>M. ferruginea</i> <i>M. usaramensis</i> <i>M. taiwaniana</i>	Hạt Vỏ thân cây

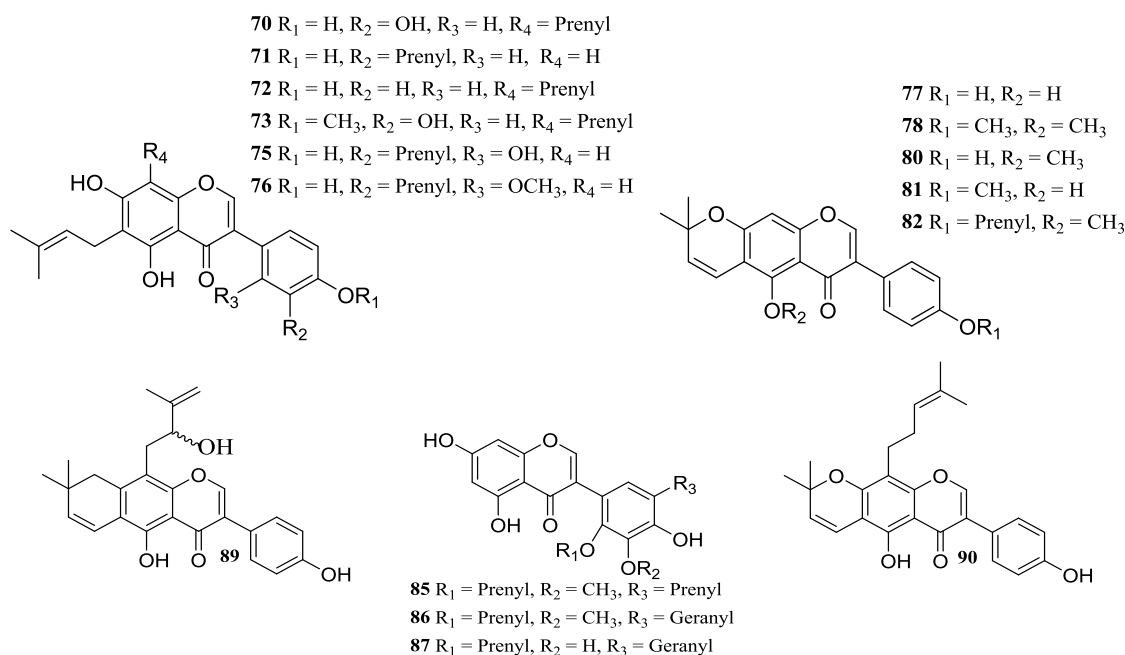
45	Calopogonium isoflavone B	<i>M. ferruginea</i> <i>M. griffonianone</i> <i>M. griffoniana</i>	Vỏ thân cây Vỏ rễ Hạt
46	Ferrugone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây Hạt
47	7'- <i>O</i> -geranylformononetin	<i>M. ferruginea</i> <i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ Vỏ rễ
48	7-Hydroxy-5,6-dimethoxy 3',4'methylenedioxyisoflavone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
49	Ichthynone	<i>M. ferruginea</i> <i>M. rubiginosa</i>	Vỏ thân cây Vỏ rễ
50	Isojamaicin	<i>M. ferruginea</i> <i>M. usaramensis</i>	Vỏ thân cây Vỏ thân cây
51	Nordurlettone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
52	Prebarbigerone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
53	Predurmillone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
54	Preferrugone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
55	Pre-5-methoxydurmillone	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân cây
56	Griffonianone B	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
57	Griffonianone C	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
58	7-hydroxy-6-methoxy-3',4'- methylene dioxy isoflavone	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
59	3',4'-dihydroxy-7'- <i>O</i> -[<i>E</i> -3,7- dimethylallyl-2,6-octadienyl]- isoflavone	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
60	4'-methoxy-7'- <i>O</i> -[<i>E</i> -3-methyl-7- hydroxy-2,6-octadienyl]-isoflavone	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
61	7'- <i>O</i> -geranylpseudobaptigenin	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
62	Odorantin	<i>M. griffonianone</i>	Vỏ rễ
63	Maximaisoflavone G	<i>M. griffonianone</i> <i>M. usaramensis</i>	Vỏ rễ Vỏ thân cây
64	Pyrano[5'',6:6'',7]isoflavone,2',4',5'- trimethoxy-2'',2''-dimethy	<i>M. ichthyochtona</i>	Lá

65	Gliricidin	<i>M. laurentii</i>	Lõi gỗ
66	Hirsutissimisine B	<i>M. nitida</i>	Thân leo
67	Sphaerobioside	<i>M. nitida</i>	Thân leo
68	3''-O-methylorobol	<i>M. nitida</i>	Thân leo
69	4''-O-methylderrone	<i>M. pachycarpa</i>	Hạt
70	6,8-diprenylorobol	<i>M. pachycarpa</i>	Trên mặt đất
71	5,7,4'-trihydroxy-6,3'-diprenylisoflavone	<i>M. pachycarpa</i>	Trên mặt đất
72	6,8-diprenylgenistein	<i>M. pachycarpa</i>	Trên mặt đất
73	6,8-diprenylpratensin	<i>M. pachycarpa</i>	Hạt
74	Pomiferin	<i>M. pachycarpa</i>	Hạt
75	2'-hydroxylupalbigenin	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
76	2'-methoxylupalbigenin	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
77	Alpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i> <i>M. taiwaniana</i>	Hạt
78	O,O-dimethylalpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Vỏ rễ
79	3'-hydroxy-4'-methoxy-alpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Hạt
80	5-methoxyalpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Vỏ rễ
81	4'-methoxyalpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Hạt
82	5'-O-Methyl-4''-O-(3-methyl-2-butenyl) alpinumisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Hạt
83	Robustone	<i>M. thonningii</i>	Hạt
84	Thonninginisoflavone	<i>M. thonningii</i>	Vỏ rễ
85	Millewanin A	<i>M. taiwaniana</i>	Thân
86	Millewanin B	<i>M. taiwaniana</i>	Thân
87	Millewanin C	<i>M. taiwaniana</i>	Thân
88	Millewanin D	<i>M. taiwaniana</i>	Thân
89	Millewanin E	<i>M. taiwaniana</i>	Thân
90	Warangalone	<i>M. taiwaniana</i>	Thân









Hình 1.1. Các hợp chất isoflavone

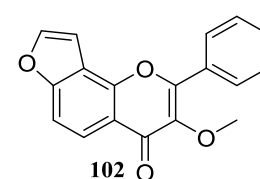
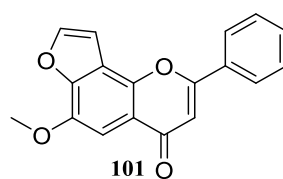
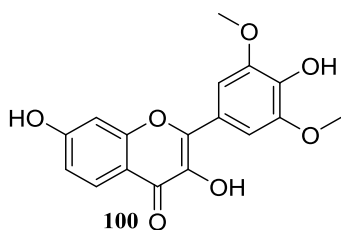
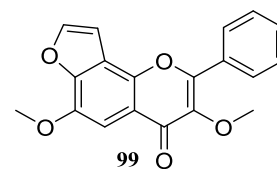
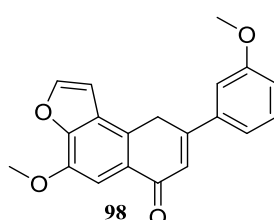
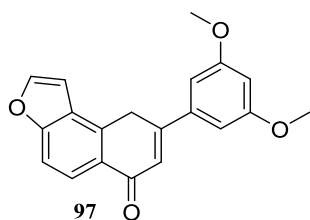
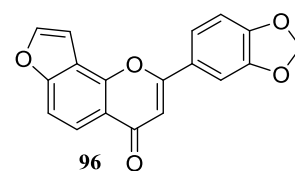
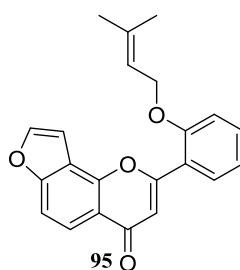
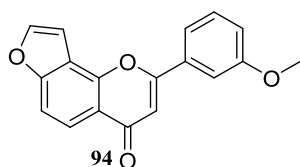
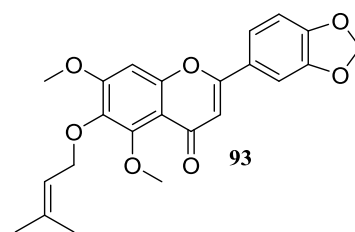
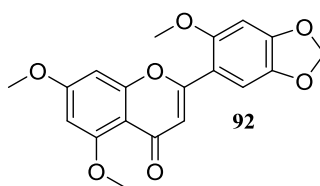
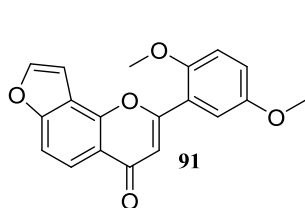
1.2.2. Các hợp chất flavone

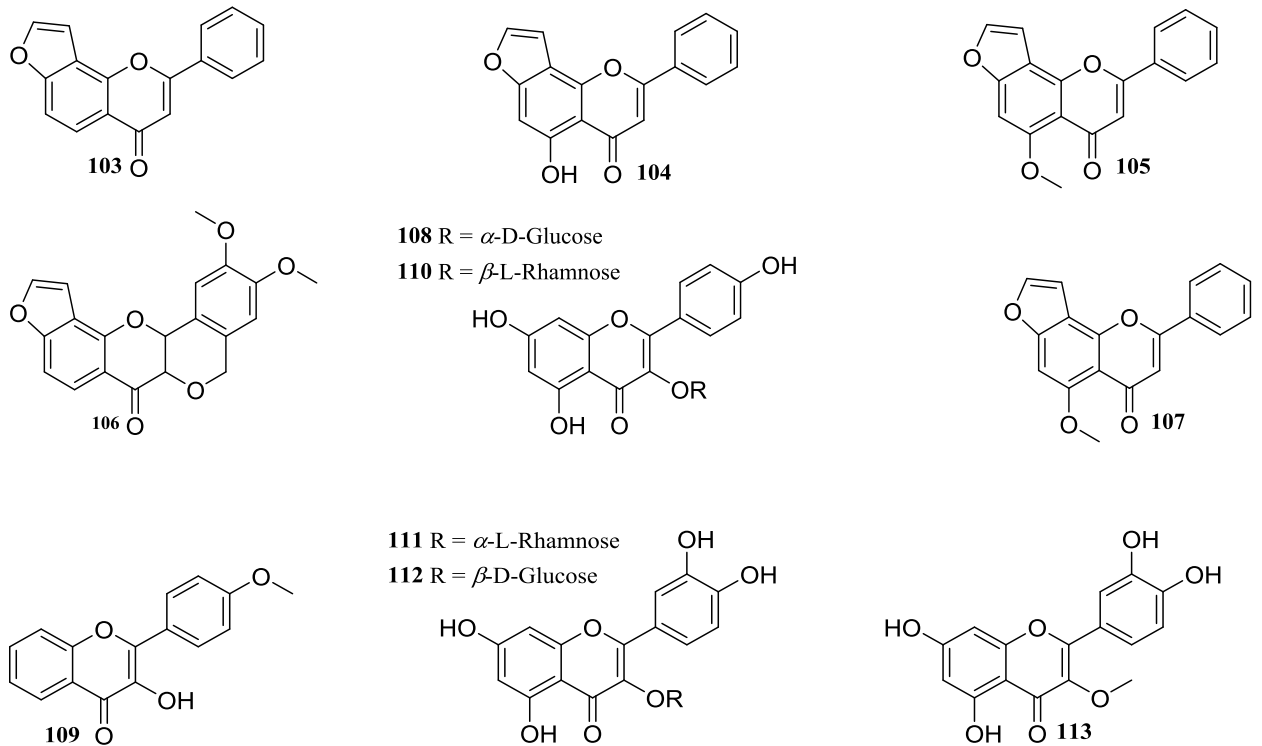
Cho đến nay đã có khoảng gần 30 flavone được phân lập từ chi Thành mát và đặc trưng các hợp chất flavone đều chứa vòng furan. Vòng furan nằm ở vòng A và chủ yếu ở vị trí 7 và 8.

Bảng 1.3. Các hợp chất flavone phân lập được từ chi (*Millettia*)

KH	Hợp chất	Loài	Bộ phận
<i>Flavone</i>			
91	Millettocalyxin C	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
92	Millettocalyxin A	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
93	Millettocalyxin B	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
94	Pongol methyl ether	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
95	Ovalifolin	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
96	Pongaglabrone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ thân
97	3',5'-dimethoxy- [2'',3'':7,8]-furanoflavone	<i>M. erythrocalyx</i>	Lá
98	6,3'-dimethoxy- [2'',3'':7,8]-furanoflavone	<i>M. erythrocalyx</i>	Hạt
99	3,6-dimethoxy-furanol [7,8:2'',3''] - flavone	<i>M. ichthyochtona</i>	Lá
100	Laurentinol	<i>M. laurenti</i>	Hoa
101	Karanjone	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt

102	Karanjin	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
103	Lanceolatin B	<i>M. ovalifolia</i> <i>M. nitida</i>	Hạt Thân leo
104	Pongaglabol	<i>M. penguensis</i>	Lá
105	Pongaglabol methyl ether	<i>M. penguensis</i>	Lá
106	Sanganone	<i>M. sangana</i>	Vỏ rễ
107	5-methoxy furanol [7,8:2'',3'']-flavone	<i>M. sangana</i>	Lá
108	Astragalin	<i>M. zechiana</i>	Trên mặt đất
109	3-hydroxy-4'-methoxyflavone	<i>M. zechiana</i>	Trên mặt đất
110	3-O- α -L-rhamnosekampferol	<i>M. zechiana</i>	Trên mặt đất
111	Quercitrin	<i>M. zechiana</i>	Trên mặt đất
112	Isoquercitrin	<i>M. zechiana</i>	Trên mặt đất
113	3-Methyletherquercetin	<i>M. zechiana</i>	Hoa





Hình 1.2. Các hợp chất flavone

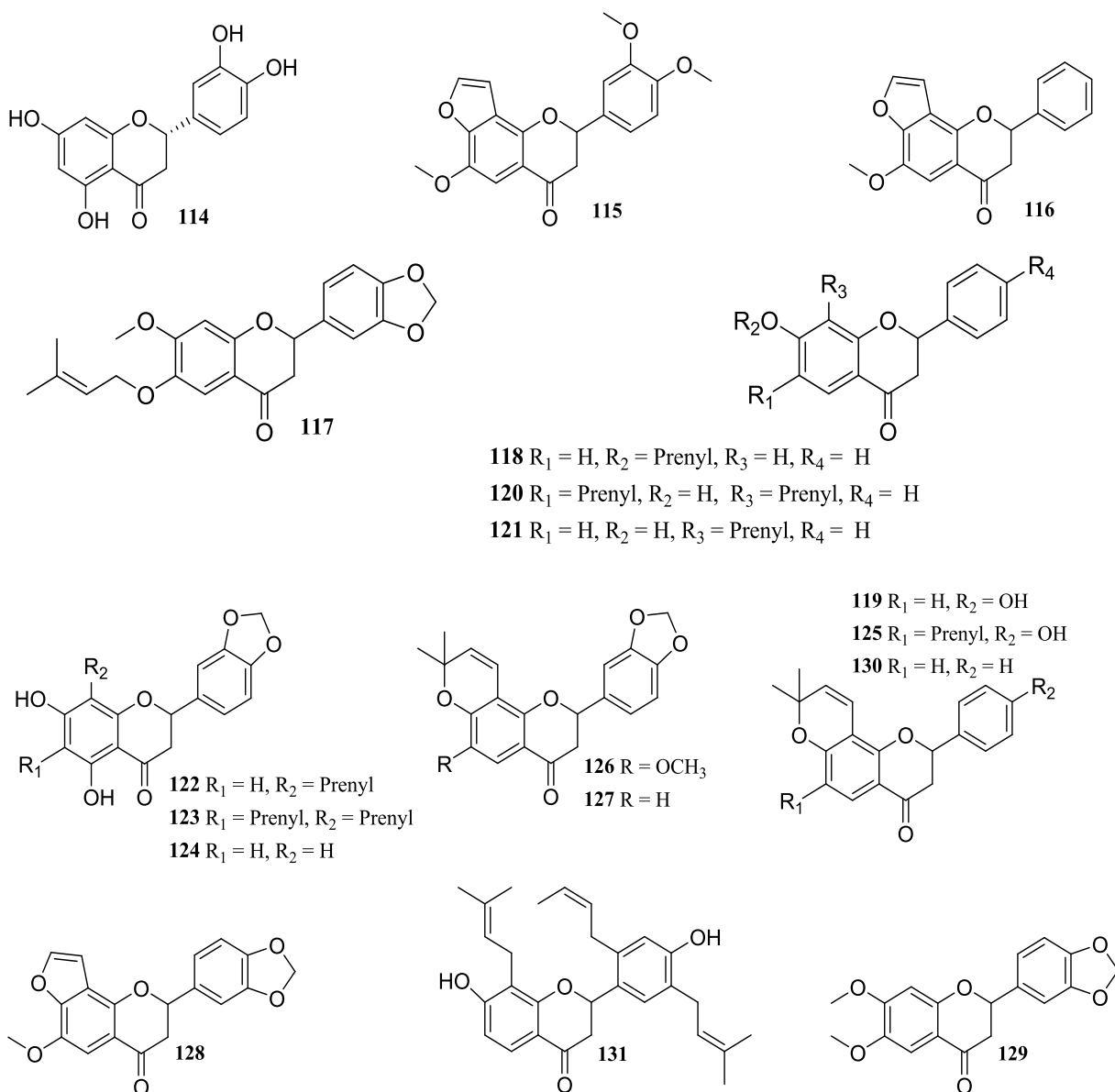
1.2.3. Các hợp chất flavanone

Các hợp chất flavanone từ chi *Millettia* đều là prenylflavonoid và không có oxy ở vị trí C₅. Đây được coi là điển hình của các flavanone thuộc họ Fabaceae.

Bảng 1.4. Một số hợp chất flavanone phân lập được từ chi *Millettia*

KH	Hợp chất	Loài	Bộ phận
114	Eriodictyol	<i>M. duchesnei</i>	Trên mặt đất
115	(-) - (2S)-6,3',4'-trimethoxy [2'',3'':7,8]-furanoflavanone	<i>M. erythrocalyx</i>	Hạt
116	6-methoxy [7,8:2'',3'']-furanoflavanone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
117	Ponganone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
118	7-prenyloxyflavanone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
119	4'-hydroxyisolonchocarpin	<i>M. ferrugineae</i>	Vỏ thân
120	Ovaliflavanone A	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
121	Ovaliflavanone B	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
122	Ovaliflavanone C	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
123	Ovaliflavanone D	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt

124	7-hydroxy-3',4'-methylenedioxyflavanone	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
125	Ovalichromene	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
126	Ovalichromene A	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
127	Ovalichromene B	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
128	Milleteenin A	<i>M. ovalifolia</i>	Lá
129	Milleteenin B	<i>M. ovalifolia</i>	Lá
130	Isolonchocarpin	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
131	Sophoranone	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất



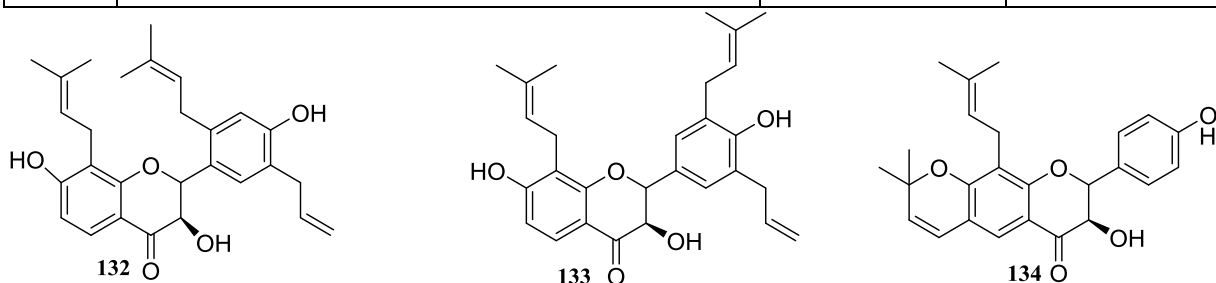
Hình 1.3. Các hợp chất flavanone

1.2.4. Các hợp chất flavanonol

Tới nay, đã phân lập được 3 hợp chất flavanonol từ hai loài *M. pachycarpa* và *M. pulchra* thuộc chi *Millettia*.

Bảng 1.5. Một số hợp chất flavanonol được phân lập từ chi *Millettia*

KH	Hợp chất	Loài	Bộ phận
132	Lupinifolol	<i>M. pachycarpa</i>	Trên mặt đất
133	Dihydroxy-8, 3', 6'- triprenyldihydroflavanol	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
134	Dihydroxy-8, 3', 5'- triprenyldihydroflavanol	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất



Hình 1.4. Các hợp chất flavanonol

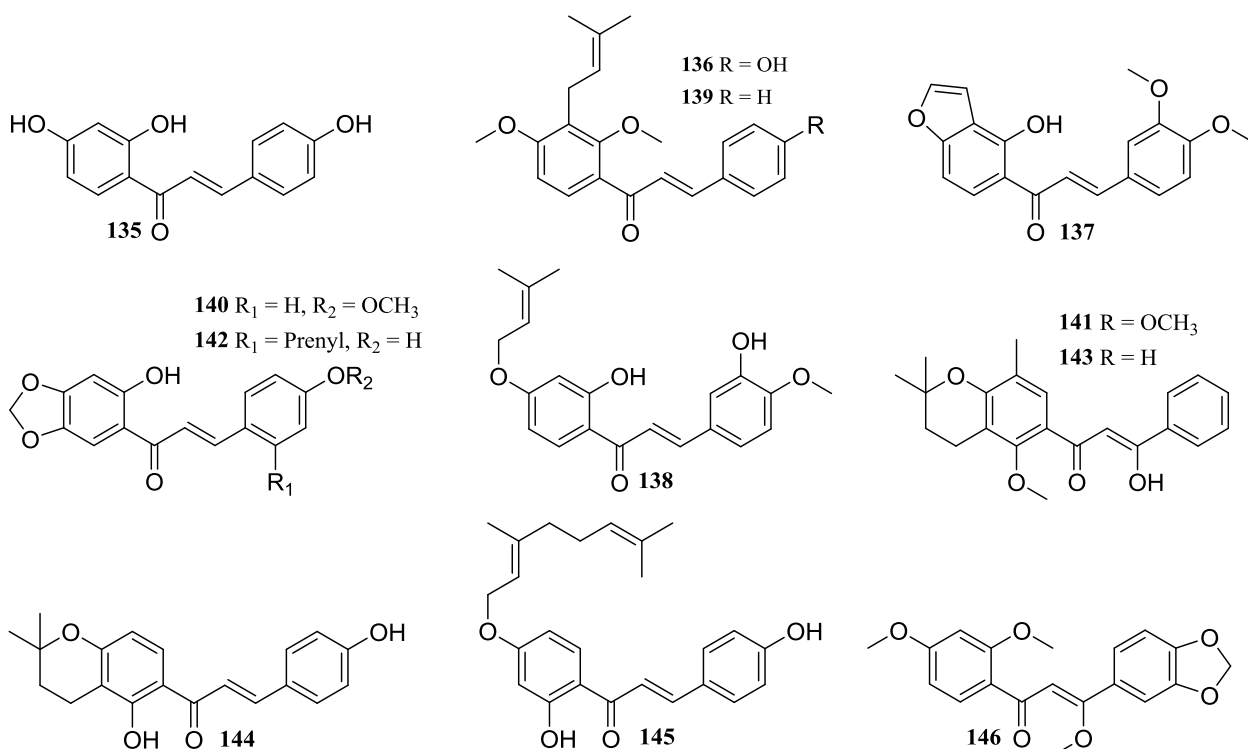
1.2.5. Các hợp chất chalcone

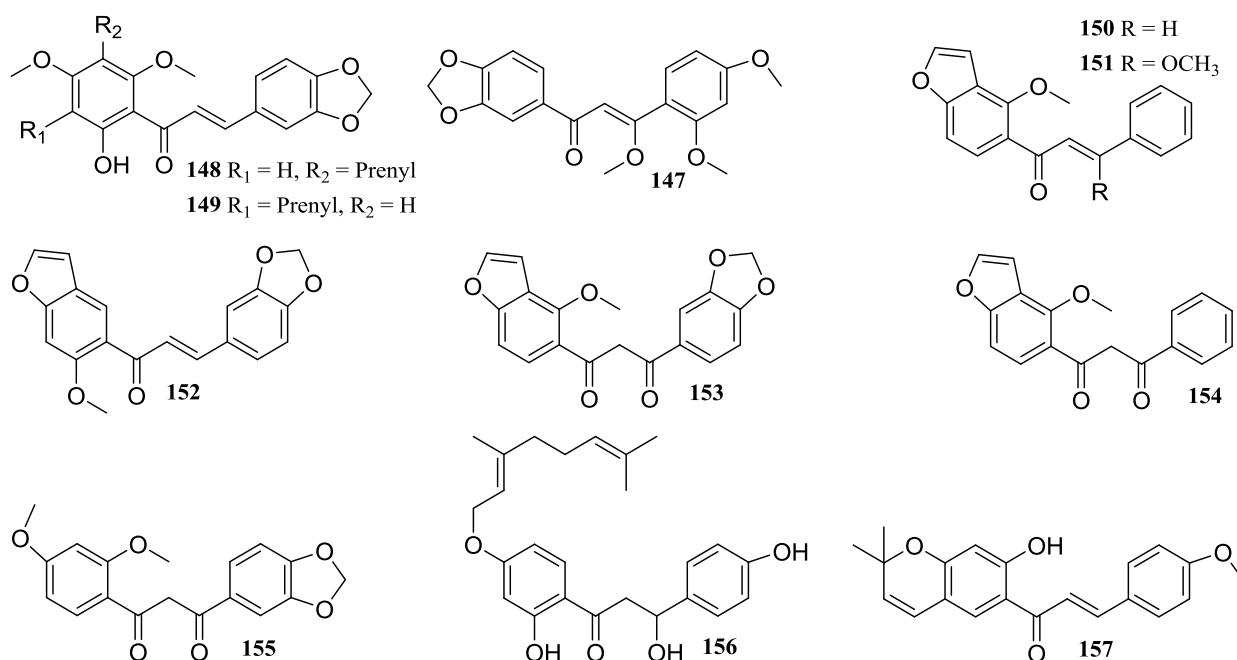
Hầu hết các chalcone phân lập từ chi *Millettia* có chứa nhóm methylenedioxy. Một số hợp chất chalcone là prenylflavonoid.

Bảng 1.6. Một số hợp chất chalcone được phân lập từ chi *Millettia*

KH	Hợp chất	Loài	Bộ phận
135	2',4',4'-Trihydroxychalcone	<i>M. dielsiana</i>	Vỏ thân
136	4-hydroxyderricidin	<i>M. dielsiana</i>	Vỏ thân
137	2'-hydroxy-3,4-dimethoxy- [2'',3'':4',3']- furano-chalcone	<i>M. erythrocalyx</i>	Quả
138	2',3-dihydroxy-4-methoxy-4'- γ, γ dimethylallyloxy-chalcone	<i>M. erythrocalyx</i>	Quả
139	Derricidin	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
140	2'-hydroxy-3,4-methylenedioxy-4'- γ, γ dimethylallyloxychalcone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
141	Ponganone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ

142	3,4-methylenedioxy-2',4'-dimethoxychalcone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
143	Purperenone	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
144	4'-hydroxylonchocarpin	<i>M. ferruginea</i>	Vỏ thân
145	4''-O-geranylisoliquiritigenin	<i>M. ferruginea</i> <i>M. usaramensis</i> <i>M. griffoniana</i>	Vỏ rễ Vỏ thân Vỏ rễ
146	Dihydromilletinone, methylether	<i>M. hemsleyana</i>	Vỏ thân
147	Dihydroisomilletinone, methylether	<i>M. hemsleyana</i>	Vỏ thân
148	Ovalichalcone	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
149	Ovalichalcone A	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
150	Ovalitenin A	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
151	Ovalitenin B	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
152	Ovalitenin C	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
153	Ovalitenone	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
154	Pongamol	<i>M. ovalifolia</i>	Vỏ rễ
155	Milletinone	<i>M. ovalifolia</i>	Hạt
156	4-methoxylonchocarpin	<i>M. pachycarpa</i>	Hạt
157	4'-geranyloxy- α ,4,2'-trihydroxydihydrochalcone	<i>M. usaramensis</i>	Vỏ thân





Hình 1.5. Các hợp chất chalcone

1.2.6. Các hợp chất khác

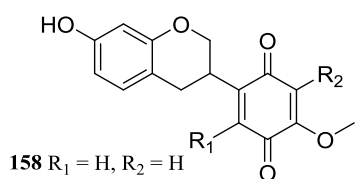
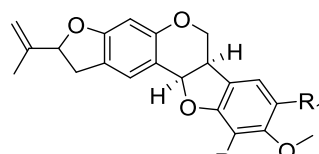
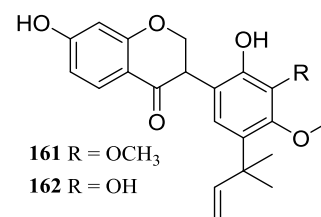
Nghiên cứu thực vật về vỏ rễ và thân của một số loài thuộc chi Thần mát đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học được một số hợp chất khác như isoflavan, flavan, pterocarpanoid, 3-phenylcoumarin, alkaloid, triterpenoid và các hợp chất khác.

Bảng 1.7. Một số hợp chất khác phân lập được từ chi Thần mát (*Millettia*)

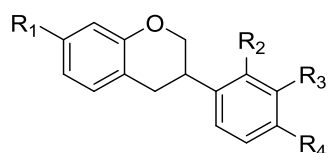
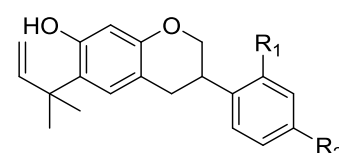
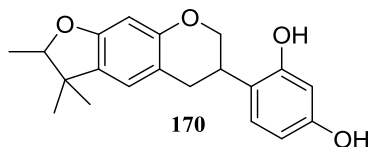
KH	Hợp chất	Loài	Bộ phận
<i>Isoflavan-quinone</i>			
158	Claussequinone	<i>M. pendula</i>	Lõi gỗ
159	Laurentiquinone	<i>M. laurentii</i>	Lõi gỗ
160	Pendulone	<i>M. pendula</i>	Lõi gỗ
<i>Isoflavanone</i>			
161	Pervilleanone	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
162	3''- <i>O</i> -demethylpervilleanone	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
<i>Isoflavan</i>			
163	Isomucronulatol	<i>M. dielsiana</i>	Thân leo
164	Isosativan	<i>M. dielsiana</i>	Thân leo

165	Vesttitol	<i>M. dielsiana</i>	Thân leo
166	Laxifloran	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
167	Isomillinol B	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
168	Millinol	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
169	Millinol B	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
170	Cyclomillinol	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
171	Millinolol	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
172	Neomillinol	<i>M. racemosa</i>	Lõi gỗ
Flavan			
173	2,5-Dimethoxy-4-hydroxi-(2'',3'':7,8)-furanoflavan	<i>M. erythrocalyx</i>	Vỏ rễ
Pterocarpanoid			
174	Flemichapparin B	<i>M. ferruginea</i>	Thân leo
175	Emoroidocarpan	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
176	Pervilline	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
177	Pervillinine	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
178	Maackiain	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
179	6-methoxihomopterocarpin	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
180	6-methoxipterocarpin	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
181	Pterocarpin	<i>M. pulchra</i>	Trên mặt đất
3-phenylcoumarin			
182	4-hydroxi-5,6,7-trimethoxy-3-(3',4' methylenedioxi) phenylcoumarin	<i>M. griffoniana</i>	Vỏ rễ
183	Pervilleanine	<i>M. pervilleana</i>	Vỏ rễ
184	Thonningine A	<i>M. thonningii</i>	Rễ gỗ
185	Thonningine B	<i>M. thonningii</i>	Rễ gỗ
186	Thonningine C	<i>M. thonningii</i>	Rễ gỗ
187	Robustic acid	<i>M. thonningii</i>	Rễ gỗ
Alkaloid			
188	Millaurine	<i>M. laurentii</i>	Hạt
189	O-acetylmillaurine	<i>M. laurentii</i>	Hạt

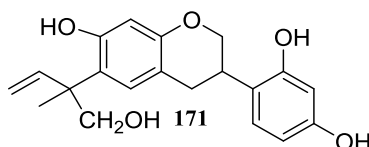
190	<i>5α,9α-dihydro-5α-hydroximillaurine</i>	<i>M. laurentii</i>	Hạt
191	Millettanine	<i>M. laurentii</i>	Vỏ thân
Steroid			
192	β -sitosterol	<i>M. brandiasa</i>	Lá
193	3'- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl]-sitosterol	<i>M. brandiasa</i>	Lá
194	Stigmasterol	<i>M. versicolor</i>	Lá
195	24-methylenecycloartan-3 β -ol	<i>M. versicolor</i>	Lá
196	22,23-dihydrostigmasterol	<i>M. versicolor</i>	Lá
197	Stigmastan-3-ol	<i>M. versicolor</i>	Lá
Triterpene			
198	Lupeol	<i>M. versicolor</i>	Lá
199	Taraxasterol	<i>M. versicolor</i>	Lá
200	β -amyrin	<i>M. versicolor</i>	Lá

158 R₁ = H, R₂ = H159 R₁ = OCH₃, R₂ = H160 R₁ = H, R₂ = OCH₃176 R₁ = H, R₂ = OH177 R₁ = OH, R₂ = H161 R = OCH₃

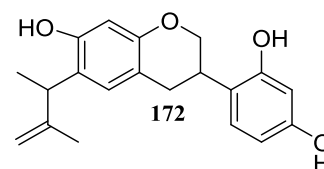
162 R = OH

163 R₁ = OH, R₂ = OH, R₃ = OCH₃, R₄ = OCH₃164 R₁ = OCH₃, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OCH₃165 R₁ = OH, R₂ = OH, R₃ = OH, R₄ = OCH₃166 R₁ = OH, R₂ = OCH₃, R₃ = OCH₃, R₄ = OH167 R₁ = OH, R₂ = OCH₃168 R₁ = OH, R₂ = OH169 R₁ = OCH₃, R₂ = OH

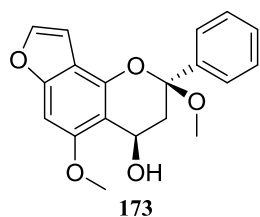
170



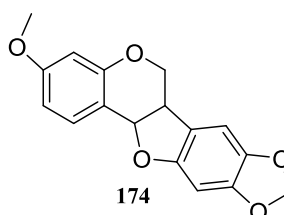
171



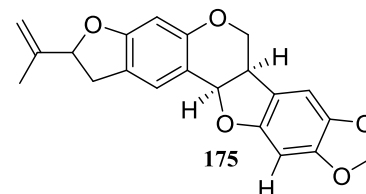
172



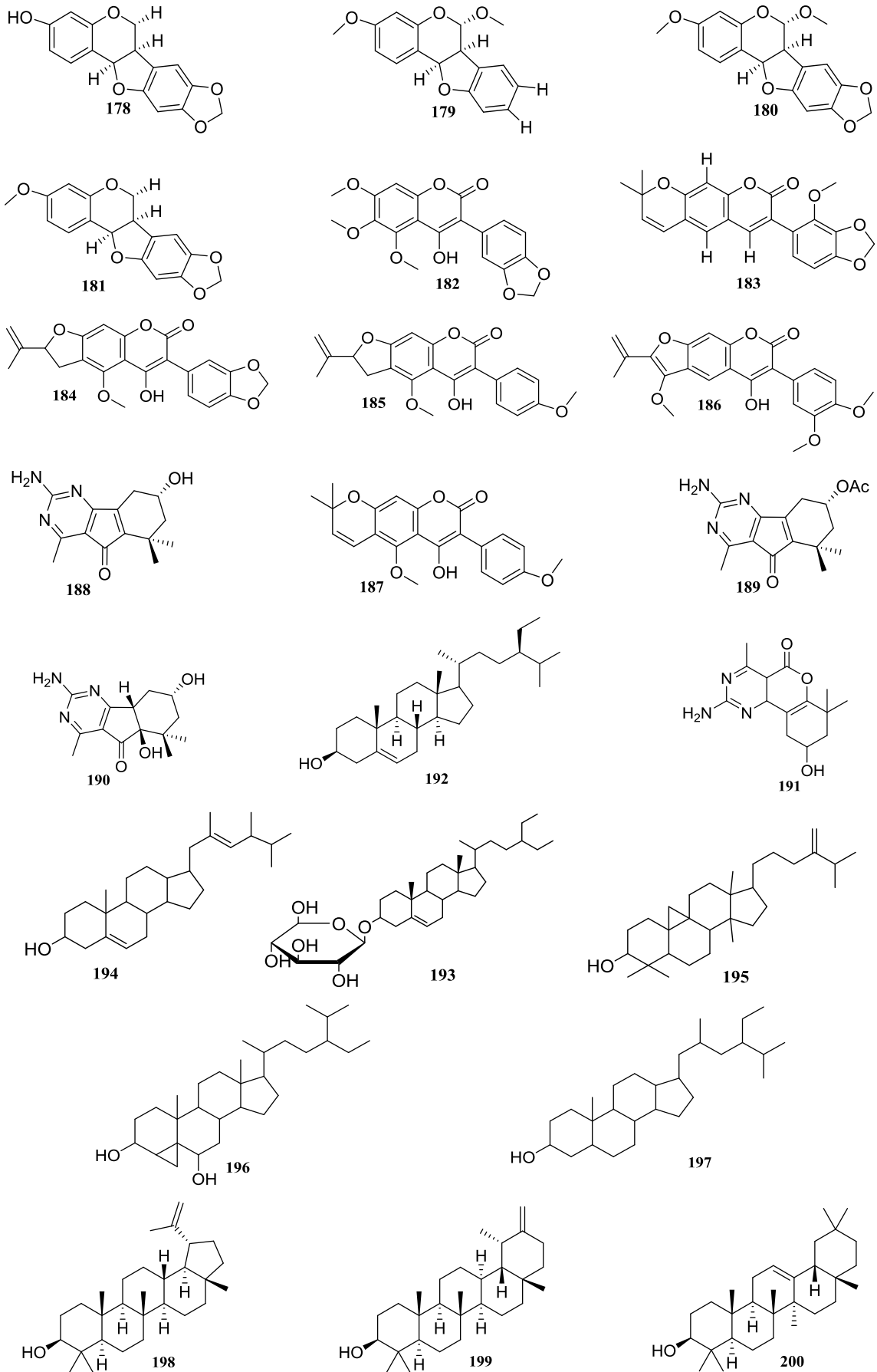
173



174



175



Hình 1.6. Các hợp chất khác

1.3. Hoạt tính sinh học

Các thực vật chi Thàn mát có nhiều hoạt tính như chống co thắt, chống kí sinh trùng, gây độc tế bào, kháng khuẩn, chống oxi hóa, kháng viêm, ...

1.3.1. Hoạt tính chống co thắt

Cận chiết thô ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ tỉ lệ 1:1) từ vỏ loài *Millettia oblata* ssp. *teitensis* đã được thử nghiệm chống co thắt trên hai chủng khác nhau của kí sinh trùng sốt rét. Khả năng chống co thắt cả hai chủng W2 và D6 của kí sinh trùng *Plasmodium falciparum* được ghi nhận với giá trị IC_{50} từ $10,0 \pm 2,3$ $\mu\text{g/ml}$ đến $12,0 \pm 1,2$ $\mu\text{g/ml}$. Cũng từ cận chiết của vỏ loài này đã phân lập xác định cấu trúc hóa học 8 hợp chất, trong đó 5 hợp chất (durmillone, 4'-prenyoxiderrone, isoflavone, tephrosin, lupeol) chống lại hai chủng W2 và D6 của kí sinh trùng *Plasmodium falciparum* [13].

1.3.2. Hoạt tính chống kí sinh trùng

Cận chiết ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ tỉ lệ 1:1) từ thân, hạt và vỏ quả của loài *Millettia oblata* ssp. *teitensis* được phân tách trong hỗn hợp dung môi CH_3OH và $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$. Phần dầu được tách ra bởi lớp $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$. Lớp CH_3OH của thân, hạt và vỏ quả đậu đã được thử nghiệm chống lại ấu trùng *Aedes aegypti*. Chiết xuất thân cây có hoạt tính diệt ấu trùng muỗi với giá trị LC_{50} là $11,2 \pm 1,9$ $\mu\text{g/ml}$ sau 24 giờ. Chiết xuất hạt cho kết quả biểu hiện hoạt tính mạnh hơn với giá trị LC_{50} là $1,4 \pm 0,2$ $\mu\text{g/ml}$ sau 24 giờ. Dịch chiết của vỏ quả không biểu hiện hoạt tính ngay cả ở nồng độ 20,0 $\mu\text{g/ml}$ và sau 10 ngày ấu trùng biến thành muỗi trưởng thành. Hoạt tính chống kí sinh trùng của hạt và thân loài *Millettia oblata* ssp. *teitensis* do các thành phần rotenoid gây nên [13].

1.3.3. Hoạt tính gây độc tế bào

Hợp chất barbigerone, deguelin và tephrosin tách từ hạt của loài *Millettia pachycarpa* Benth thể hiện hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư gan (HepG2), đại trực tràng (C26) và phổi (LL2) được thử nghiệm trên người. Hợp chất $6\alpha,12\alpha$ -dehydrodeguelin biểu hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng tế bào ung thư như gan (HepG2), đại trực tràng (C26) phổi (LL2) và u ác tính ở chuột (B16) với IC_{50} lần lượt 2,93; 7,55; 1,35 và 8,85 μM . Bên cạnh đó, hợp chất 13-homo-13-oxa- $6\alpha,12\alpha$ -dehydrodeguelin và 4',5'-dimethoxy-6,6-dimethylpyranoisoflavone có hoạt tính đối với tế bào ung thư gan (HepG2), ung thư trực tràng (C26), ung thư phổi (LL2) và không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào u ác tính ở chuột (B16) [14].

1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn

Một số dịch chiết $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ và $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ từ loài *Millettia barteri* ức chế vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* và hai loài nấm *Candida* (*Candida albicans* và *Candida parapsilosis*). Các hợp chất phân lập được cũng ức chế hoạt động của nấm *Cryptococcus neoformans*. Hợp chất millaurine biểu hiện hoạt tính tốt nhất trong hai hợp chất guanadine alkaloid phân lập được với giá trị MIC là 4-32 $\mu\text{g/ml}$, hợp chất millettonine có hoạt tính kém hơn với giá trị MIC là 8-128 $\mu\text{g/ml}$. Hai hợp chất guanadine alkaloid có hoạt tính tốt hơn so với hai hợp chất sterol là β -sitosterol (MIC = 64-256 $\mu\text{g/ml}$) và β -sitosterol glucoside (MIC = 64-256 $\mu\text{g/ml}$). Tuy nhiên, hoạt tính của các hợp chất trên vẫn thấp hơn so với ciprofloxacin và nystatin [15].

1.3.5. Hoạt tính chống oxi hóa

Hoạt tính chống oxi hóa thể hiện ở một số hợp chất phân lập được từ cặn chiết $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ và $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ của loài *Millettia barteri*. Trong số 4 hợp chất phân lập được chỉ có hai hợp chất guanadine alkaloid biểu hiện hoạt tính chống oxi hóa còn hai hợp chất sterol không thể hiện hoạt tính. Trong hai hợp chất guanadine alkaloid thu được có millaurine biểu hiện hoạt tính tốt hơn với giá trị IC_{50} là 48,01 $\mu\text{g/ml}$, còn hợp chất millettonine với giá trị IC_{50} là 242,68 $\mu\text{g/ml}$. Hai hợp chất này biểu hiện hoạt tính thấp hơn nhiều so với axit L-ascorbic ($\text{IC}_{50} = 0,96 \mu\text{g/ml}$) [15].

1.3.6. Hoạt tính kháng viêm

Dịch chiết $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ từ thân loài *Millettia pulchra* thể hiện hoạt tính kháng viêm trong việc giảm phù nề tai gây ra do xylen ở chuột. Khi nồng độ sử dụng của dịch chiết tăng lần lượt từ 25, 50 và 100 mg/kg đã cho thấy sự ức chế hiệu quả chứng phù tai ở chuột do xylen gây ra. Khi sử dụng aspirin để chống viêm tai chỉ được 50,1% nhưng khi sử dụng dịch chiết hiệu quả rõ rệt hơn do nồng độ khi tăng dần từ 25 mg/kg đến 100 mg/kg thì tỷ lệ phần trăm chống viêm tai do xylen gây ra đạt hiệu quả giảm viêm từ 52,9% còn 31,1% [16].

1.3.7. Hoạt tính giảm đau

Dịch chiết $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ từ thân loài *Millettia pulchra* kéo dài độ trễ và giảm đau quần quai. Axit axetic giúp tăng các chất trung gian dẫn đến viêm như

prostaglandin và histamin trong dịch màng bụng. Sự co thắt bụng gây ra bởi kích hoạt của các thụ thể ở bộ phận màng bụng. Sử dụng dịch chiết với nồng độ lần lượt là 25, 50 và 100 mg/kg có khả năng ức chế hiệu quả các cơn co thắt bụng ở chuột do axit axetic gây ra. Khi sử dụng aspirin cũng ức chế đáng kể cơn đau quặn quại do axit axetic gây ra nhưng sử dụng dịch chiết hiệu quả rõ rệt hơn. Khi nồng độ tăng dần từ 25 mg/kg đến 100 mg/kg, cơn đau giảm. Thời gian trễ tăng đáng kể ứng ở nồng độ 50 và 100 mg/kg. Trong đó, thời gian trễ ở nồng độ 100 mg/kg là 737 giây, gần như gấp đôi so với khi sử dụng aspirin (thời gian trễ là 427 giây) [16].

1.4. Cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) [4,5,6]

1.4.1. Về thực vật học

Kê huyết đằng (hay Dây máu gà, mát mạng, thàn mát mạng) là một vị thuốc có tên khoa học *Millettia reticulata* Benth thuộc chi Thàn mát. Tên đồng nghĩa: *Callerya reticulata* (Benth.) Schot, *Millettia cognata* Hance; *Millettia purpurea* Yatabe.

Đặc điểm thực vật học: Dạng cây leo. Lá mỏng, giòn, không lông. Hoa xếp xít nhau ở đầu nhánh, màu đỏ. Quả đỏ nâu chứa 3-6.

Sinh thái: Mọc ở hàng rào, trồng cây bụi, ven rừng, trong rừng rậm thường xanh, ở độ cao tới 1000 m.

Phân bố: Lạng Sơn, Quảng Ninh và nhiều địa phương có trồng.

Bộ phận dùng: Rễ và dây.

Tính vị và tác dụng: Thân dây có vị đắng. Rễ thư cân hoạt huyết, trấn tĩnh, dây tán khí, tán phong, hoạt huyết, thông kinh hoạt lạc.

Công dụng: chữa đau nhức mỗi gân xương, đau mỗi, chóng mặt, thiếu máu, phong tê thấp, viêm khớp dạng thấp,...

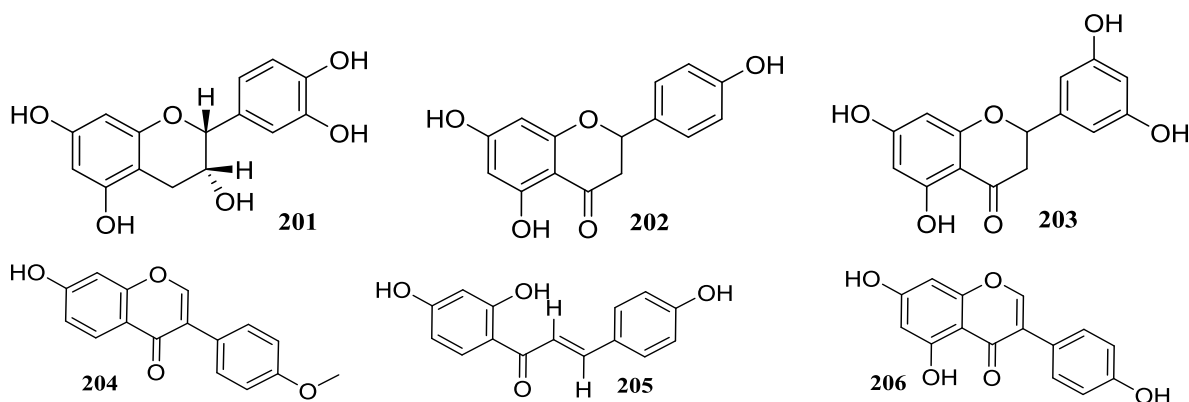


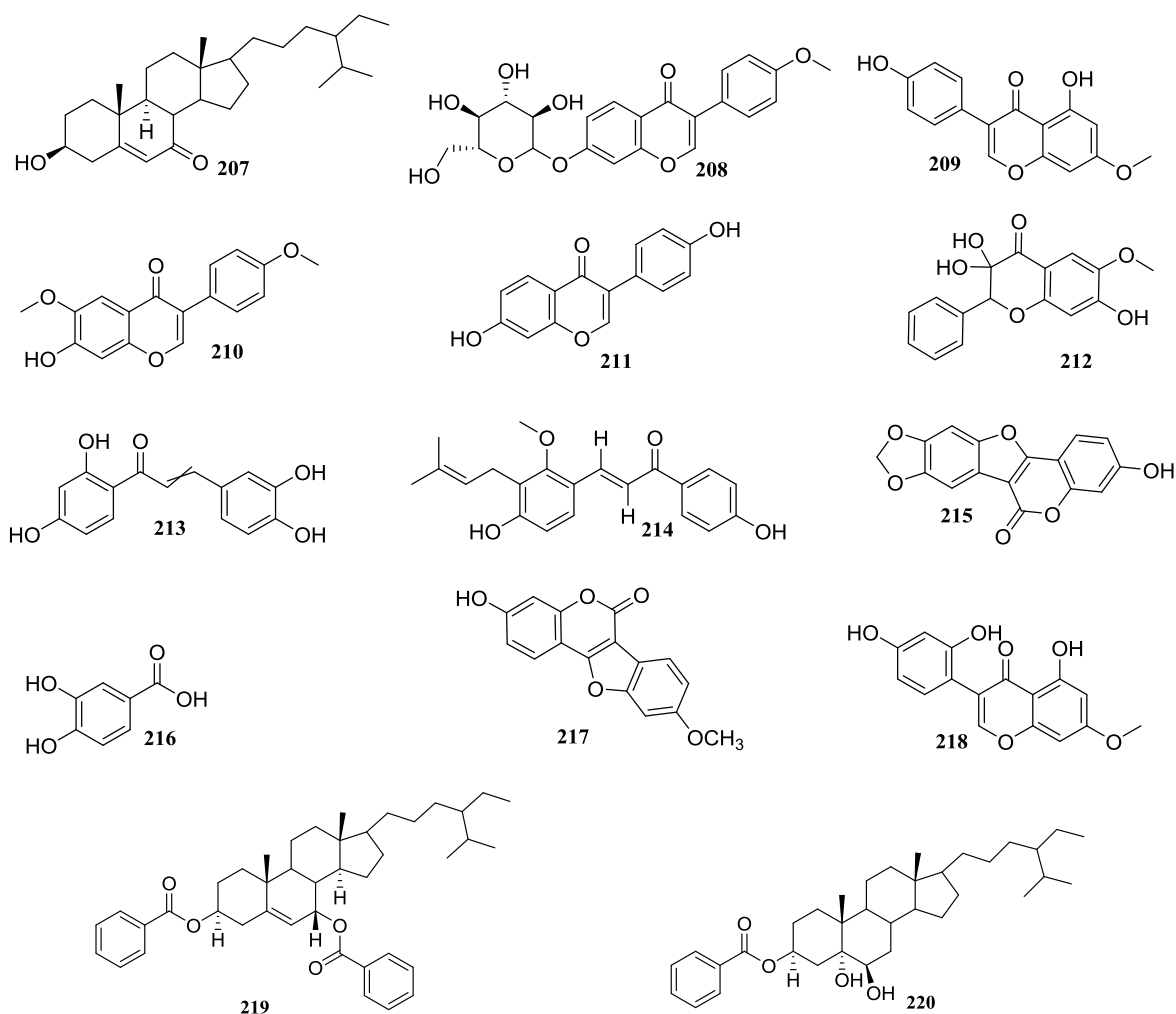
Hình 1.7. Cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*)

1.4.2. Về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học

Ở Trung Quốc, cây Kê huyết đằng được xem như một vị thuốc bổ lâu đời nhất trong y học cổ truyền và có tầm quan trọng khi sử dụng thảo dược trong nền y học hiện đại. Từ căn chiết etyl axetat phân lập từ thân của loài *Milletia reticulata* thu được hợp chất đều thuộc nhóm chất flavonoid. Trong đó, có một flavan-3-ol: (-)-epicatechin (**201**), hai flavanone: naringenin (**202**) và 5,7,3',5'-tetrahydroxyl-flavanone (**203**), hai isoflavone: formononetin (**204**) và genistein (**205**) và một dẫn xuất chalcone: isoliquiritigenin (**206**) [17]. Các dẫn xuất flavonoid được thử nghiệm ức chế một số dòng tế bào ung thư (Hep-G2, Sk-Hep-1, Huh7, PLC5, COLO205, HT29 và SW872). Trong số những hợp chất phân lập, genistein thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất đối với tế bào ung thư gan nguyên phát ở người SK-Hep-1 ($IC_{50} = 16,23 \mu M$). Tế bào SK-Hep-1 được xử lý bằng genistein dẫn đến sự mất điện thế màng ty thể. Genistein cũng kích thích sự gia tăng biểu hiện protein Fas, FasL và p53. Mặt khác, việc xử lý bằng genistein đã thay đổi tỷ lệ mức độ biểu hiện của thành phần gen trong họ Bcl-2, gây ra sự hoạt hóa của enzym caspase-9 và caspase-3 và sự phân cắt poly (ADP-ribose) polymerase (PARP). Những kết quả nghiên cứu chỉ ra, genistein gây ra quá trình tự chết apoptosis ở các tế bào SK-Hep-1 thông qua cả hai con đường Fas và trung gian ty thể [17].

Ngoài ra, trong rễ, vỏ và hạt kê huyết đằng còn có các hợp chất friedelan-3- α -ol (**197**), β -sitosterol (**192**), daucosterol (**193**), 7-oxo- β -sitosterol (**207**), ononin (**208**), prunetin (**209**), afrormosin (**210**), daidzein (**211**), 3,7-dihydroxy-6-methoxy-dihydroflavonol (**212**), 2',4',3,4-tetrahydroxychalcone (**213**), licochalcone (**214**), medicagol (**215**), protocatechuic acid (**216**), 9-methoxycoumestrol (**217**), cajanin (**218**), stigmast-5-ene-3 β -7 α -diol (**219**), 5 α -stigmastane-3 β (**220**) [3].





Hình 1.8. Một số hợp chất phân lập từ loài Kê huyết đằng

Ngoài ra, chiết xuất *Millettia reticulata* và hợp chất axit protocatechuic phân lập được có khả năng chống oxy hóa mạnh, làm giảm tổn thương và viêm gan cấp ở chuột Sprague-Dawley do CCl_4 gây ra [18].

Viêm là các phản ứng sinh học của cơ thể chống lại tác nhân như vi sinh vật, hóa học, vật lý, cơ học, hoại tử, bệnh tự miễn... Các yếu tố tham gia quá trình viêm như: đại thực bào, yếu tố nhân kappa B và nitric oxide. Nitric oxide là phân tử tín hiệu, liên quan đến đáp ứng miễn dịch bởi các đại thực bào kích hoạt cytokine. Nó mang lại hiệu quả chống viêm trong điều kiện sinh lý bình thường. Nhưng khi NO ở nồng độ cao gây ra chứng viêm quá mức trong các tình huống bất thường. Do đó, ức chế NO là sự tiến bộ quan trọng trong việc điều trị các bệnh viêm. [19]. Xu hướng hiện nay sử dụng các dược liệu thiên nhiên để hỗ trợ và điều trị nhiều loại bệnh đang được khuyến khích ưu tiên sử dụng bởi tính hiệu quả và an toàn, đây chính là định hướng trong phát triển các sản phẩm chất lượng từ dược liệu.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu thân cây thu hái tại Lộc Bình - Lạng Sơn vào tháng 10 năm 2021, được PGS.TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật xác định tên khoa học là *Millett*

ia reticulata Benth, họ Fabaceae. Tiêu bản mẫu được lưu trữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý và chiết mẫu [20]

Mẫu cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) được xử lý theo phương pháp thường quy như sau: Mẫu sau khi thu được cắt nhỏ, sấy khô và nghiền nhỏ. Sau đó, mẫu được ngâm chiết với methanol (3 lần) dưới sự hỗ trợ của máy siêu âm. Dịch chiết được dồn lại và đem cất kiệt dung môi ở nhiệt độ nhỏ hơn 50 °C thu được cặn tổng methanol. Cặn tổng methanol được bổ sung thêm nước và chiết phân bố lần lượt với *n*-hexane và ethyl acetate. Sau đó loại dung môi thu được cặn *n*-hexane, ethyl acetate và nước tương ứng.

2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất [20]

Việc phân lập các cặn chiết của cây Kê huyết đằng được thực hiện bởi phối hợp giữa sắc ký lớp mỏng (TLC) và sắc ký cột (CC).

Sắc ký lớp mỏng: bản mỏng DC-Alufolien 60 F254, hãng Merck và RP-18 F254S, hãng Merck. Đèn tử ngoại (bước sóng 254 nm và 365 nm) và thuốc thử vanilin - H₂SO₄ 5% trong methanol để phát hiện chất.

Sắc ký cột: Sắc ký cột thường có pha tĩnh là silica gel 60, cỡ hạt 0,040-0,063 mm, hãng Merck. Sắc ký cột pha đảo có pha tĩnh là YMC C18, cỡ hạt 30-50 µm, hãng Fujisilica Chemical Ltd. Sephadex LH-20 là pha tĩnh trong sắc ký cột rây phân tử.

2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hợp chất [21]

Xác định cấu trúc các hợp chất sạch bằng cách sử dụng các phương pháp và thiết bị hiện đại. Các phương pháp và thiết bị được sử dụng gồm có:

Điểm chảy (mp): đo trên máy Kofler micro-hotstage tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên - VAST.

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): đo trên máy Bruker Avance 500 MHz tại Viện Hóa học - VAST. Gồm 1D-NMR ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT) và 2D-NMR (HSQC, HMBC). Dung môi được sử dụng gồm CD_3OD và CDCl_3 .

2.2.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm [22,23]

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) của chuột được thực hiện tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, VAST.

Tế bào RAW264.7 (đại thực bào chuột) được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường nuôi cấy Dulbecco cải tiến (DMEM-Dulbecco's Modified Eagle Medium) ở 37°C , 5% CO_2 , 10% huyết thanh phôi bò (FBS-Fetal Bovine Serum). Tiếp theo, dịch tế bào được cho vào phiến 96 giếng, mật độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích bằng 2 μl mẫu đối chứng (-) LPS (0,1 mg/ml) trong 24 giờ, tiến hành bổ sung thuốc hoặc chất thử ở các nồng độ khác nhau với đối chứng (+) là cardamonin. Dịch huyền phù tế bào sẽ được ủ với thuốc thử Griess và NaNO_2 ở các nồng độ khác nhau để xây dựng được đường chuẩn. Đo hỗn hợp phản ứng ở bước sóng $\lambda = 570 \text{ nm}$. Hàm lượng NO càng cao thì mật độ quang càng lớn và được xác định bằng đường chuẩn NaNO_2 , so sánh % với mẫu đối chứng là (-) LPS. Khả năng ức chế sản sinh NO của các mẫu thử được xác định theo công thức sau:

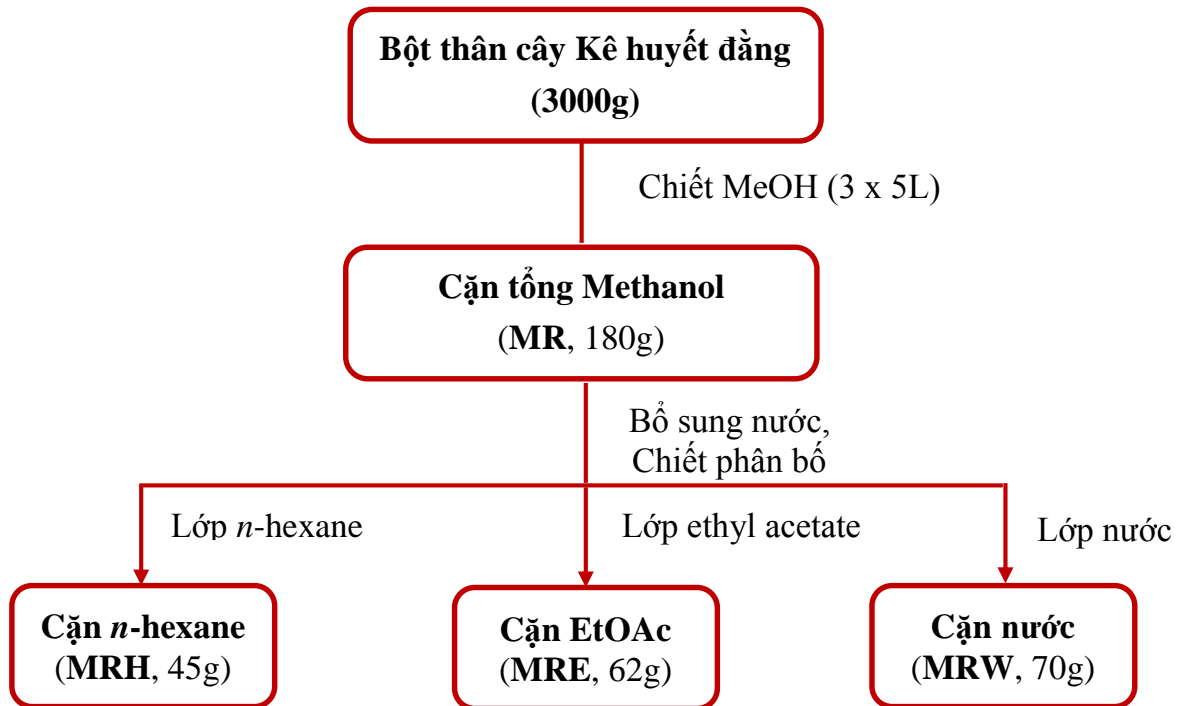
$$\% \text{Ức chế} = 100 - \frac{\text{Hàm lượng NO mẫu thử}}{\text{Hàm lượng NOLPS}} \times 100$$

2.3. Thực nghiệm

2.3.1. Thu nhận các cặn chiết từ cây *Kê huyết đằng*

Mẫu cây *Kê huyết đằng* (*Millettia reticulata*) được xử lý theo phương pháp thường quy như sau: Mẫu sau khi thu được cắt nhỏ, sấy khô và nghiền nhỏ được 3000g. Sau đó, mẫu được ngâm chiết với methanol (3 lần) dưới sự hỗ trợ của máy siêu âm. Dịch chiết được dồn lại và đem cất kiệt dung môi ở nhiệt độ nhỏ hơn 50°C thu được cặn tổng methanol (MR, 180g). Cặn tổng methanol được bổ sung thêm nước và chiết phân bố lần lượt với *n*-hexane và

ethyl acetate. Sau đó loại dung môi thu được cạn *n*-hexane (**MRH**, 45g), ethyl acetate (**MRE**, 62g) và nước (**MRW**, 70g) tương ứng. Quy trình ngâm chiết cây Kê huyết đằng được trình bày trong hình 2.1.



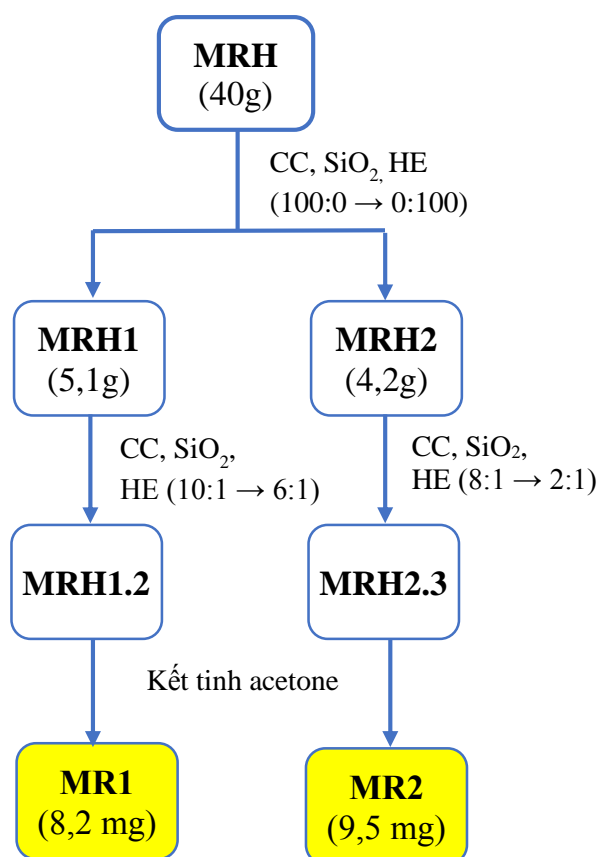
Hình 2.1. Quy trình ngâm chiết thu nhận các cặn chiết từ cây Kê huyết đằng

2.3.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ các cặn chiết cây Kê huyết đằng

Cặn chiết *n*-hexane **MRH** (40 g) được tiến hành tách thô trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane - ethyl acetate (HE 100:0 → 0:100) thu được 3 phân đoạn (**MRH1 -MRH3**).

Phân đoạn **MRH1** (5,1 g) được phân tách trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi giải ly *n*-hexane - ethyl acetate (10:1 → 6:1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**MRH1.1 - MRH1.3**). Phân đoạn **MRH1.2** được kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất **MR1** (8,2 mg).

Phân đoạn **MRH2** (4,2 g) được phân tách trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi giải ly *n*-hexane - ethyl acetate (8:1 → 2:1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**MRH2.1 -MRH2.3**). Phân đoạn **MRH2.3** được kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất **MR2** (9,5 mg). Quy trình phân lập các hợp chất từ cặn *n*-hexane của cây Kê huyết đằng được trình bày trong hình 2.2.



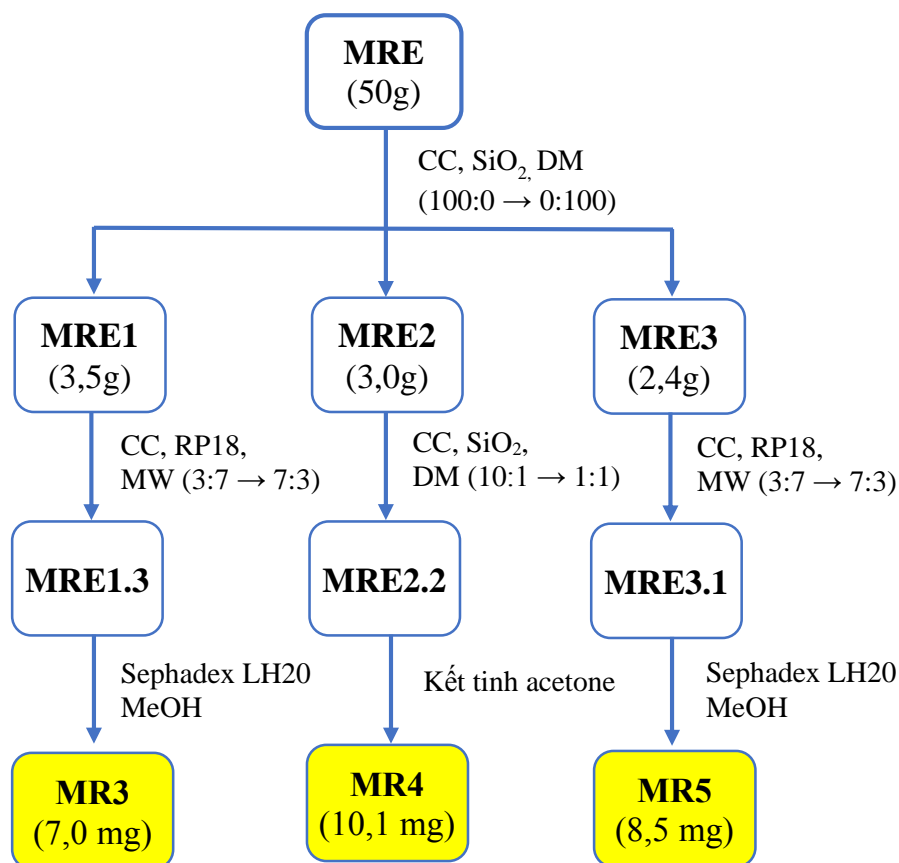
Hình 2.2. Phân lập các hợp chất từ cặn *n*-hexane của cây Kê huyết đằng

Cặn chiết ethyl acetate **MRE** (50 g) được tiến hành tách thô trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane - methanol (DM 100:0 → 0:100) thu được 5 phân đoạn (**MRE1** - **MRE5**).

Phân đoạn **MRE1** (3,5 g) được phân tách trên sắc ký cột RP18 với hệ dung môi giải ly methanol - nước (3:7 → 7:3) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**MRE1.1** - **MRE1.3**). Phân đoạn **MRE1.3** được tách tiếp trên sắc ký cột sephadex LH-20, giải ly bằng methanol thu được hợp chất **MR3** (7,0 mg).

Phân đoạn **MRE2** (3,0 g) được phân tách trên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane - methanol (10:1 → 1:1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**MRE2.1** - **MRH2.3**). Phân đoạn **MRH2.2** được kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất **MR4** (10,1 mg).

Phân đoạn **MRE3** (2,4 g) được phân tách trên sắc ký cột RP18 với hệ dung môi methanol - nước (3:7 → 7:3) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**MRE3.1** - **MRE3.3**). Phân đoạn **MRE3.1** được tiếp tục tách trên sắc ký cột sephadex LH-20, giải ly bằng dung môi methanol thu được hợp chất **MR5** (8,5 mg)



Hình 2.3. Phân lập các hợp chất từ cặn ethyl acetate của cây Kê huyết đằng

❖ **Hợp chất 5-hydroxy-6,7-dimetoxyflavanone (MR1)**

Hợp chất **MR1** thu được dạng bột, màu vàng (8,2 mg), nhiệt độ nóng chảy 98-100 °C. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) và Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CDCl_3) của **MR1** xem bảng 3.1 (trang 35).

❖ **Hợp chất 4'-methoxytectochrysin (MR2)**

Hợp chất **MR2** (9,5 mg) có dạng tinh thể hình kim màu vàng, nhiệt độ nóng chảy: 173-175°C. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD) và Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD_3OD) của **MR2** xem bảng 3.2 (trang 39).

❖ **Hợp chất pashanone (MR3)**

Hợp chất **MR3** thu được dạng hình kim, màu vàng nhạt (7,0 mg), nhiệt độ nóng chảy: 147-149°C. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD) và Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD_3OD) của **MR3** xem bảng 3.3 (trang 41).

❖ **Hợp chất β -amyrin *trans*-cinnamate (MR4)**

Hợp chất **MR4** thu được dạng bột, màu trắng (10,1 mg), nhiệt độ nóng

chảy: 158-160 °C. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CDCl_3) và Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CDCl_3) của **MR4** xem bảng 3.5 (trang 45).

❖ **Hợp chất apigenin 8-C-glucoside (MR5)**

Hợp chất **MR5** thu được dạng bột, màu vàng (8,5 mg), nhiệt độ nóng chảy: 264 – 266 °C. Phổ khối ESI-MS (m/z): $[\text{M-H}]^- = 431$. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD) và Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD_3OD) của **MR5** xem bảng 3.4 (trang 49).

2.3.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cặn chiết và chất sạch

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 (của chuột được thực hiện tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, VAST. Kết quả được trình bày như ở mục 3.2 (trang 52)

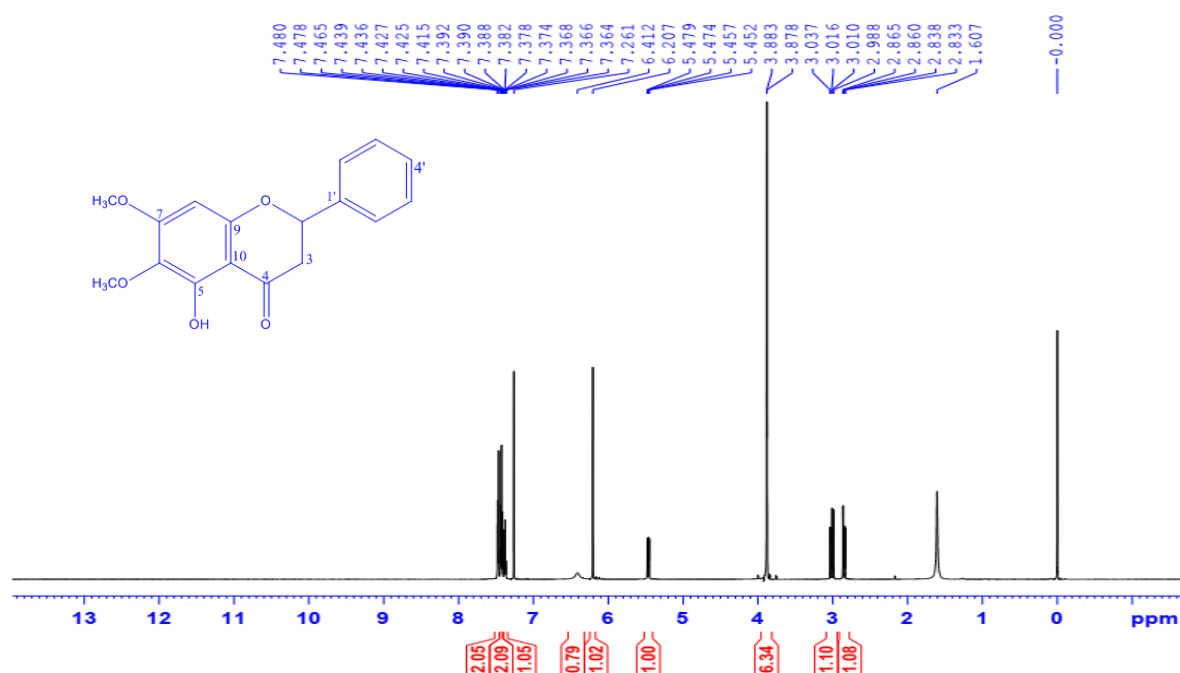
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận dạng một số hợp chất từ các cận chiết của cây Kê huyết đằng

3.1.1. Các hợp chất flavonoid

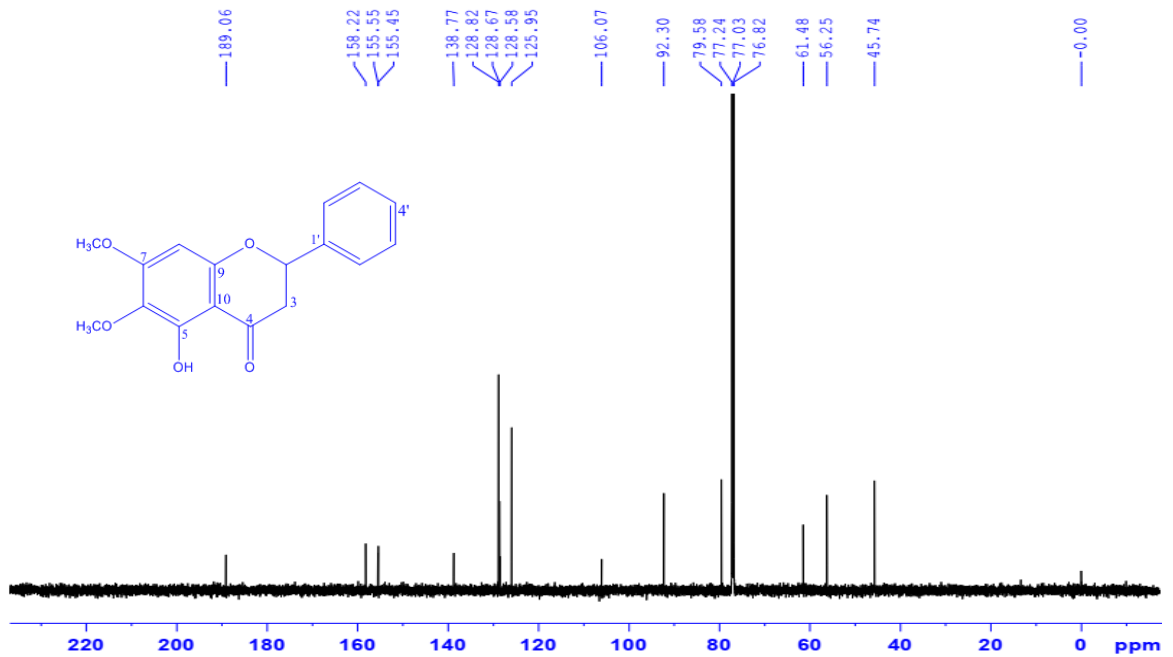
3.1.1.1. Hợp chất 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**)

Hợp chất **MR1** thu được dưới dạng bột, màu vàng. Phân tích sơ bộ dữ liệu phổ NMR của **MR1** cho biết đây là một hợp chất thuộc khung flavonoid. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **MR1** cho biết tín hiệu proton bị che chắn dạng singlet tại δ_{H} 6,21 (1H, s, H-8) của vòng A; tín hiệu của 5 proton thơm tại δ_{H} 7,48 (2H, m, H-2' và H-6'); 7,43 (2H, m, H-3' và H-5') và 7,37 (1H, m, H-4') của vòng B. Tín hiệu cụm proton dưới dạng doublet-doublet tại δ_{H} 5,47 (1H, dd, $J= 13,2$ và $3,0$ Hz, H-2); 3,04 (1H, dd, $J= 16,2$ và $3,0$ Hz, H-3b) và 2,80 (1H, dd, $16,2$ và $3,0$ Hz, H-3a) đặc trưng cho các hợp chất thuộc khung flavanone. Ngoài ra, trên phổ còn có tín hiệu proton dưới dạng singlet của 2 nhóm methoxyl tại δ_{H} 3,87 (3H, s, 6-OCH₃); 3,88 (3H, s, 7-OCH₃).



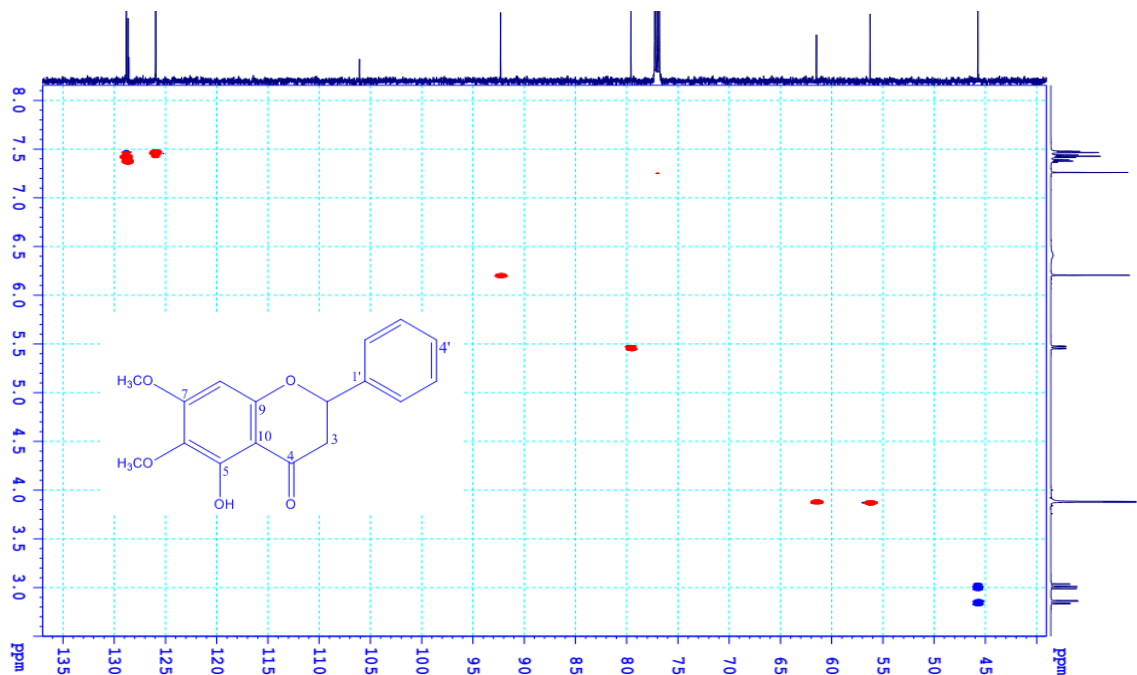
Hình 3.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **MR1**

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT cho biết trong phân tử của **MR1** có 17 carbon, gồm có 2 nhóm methoxyl tại δ_{C} 61,5 (6-OCH₃); 56,2 (7-OCH₃), 1 nhóm methylene tại δ_{C} 45,7 (C-3), 07 nhóm methine tại δ_{C} 79,6 (C-2); 92,3 (C-8); 125,9 (C-2' và C-6'); 128,8 (C-3' và C-5'); 128,5 (C-4') và 7 carbon bậc 4 tại δ_{C} 189,0 (C-4); 155,5 (C-5); 128,6 (C-6); 158,2 (C-7); 155,4 (C-9); 106,1 (C-10); 138,7 (C-1') với 1 nhóm carbonyl tại δ_{C} 189,0 (C-4).



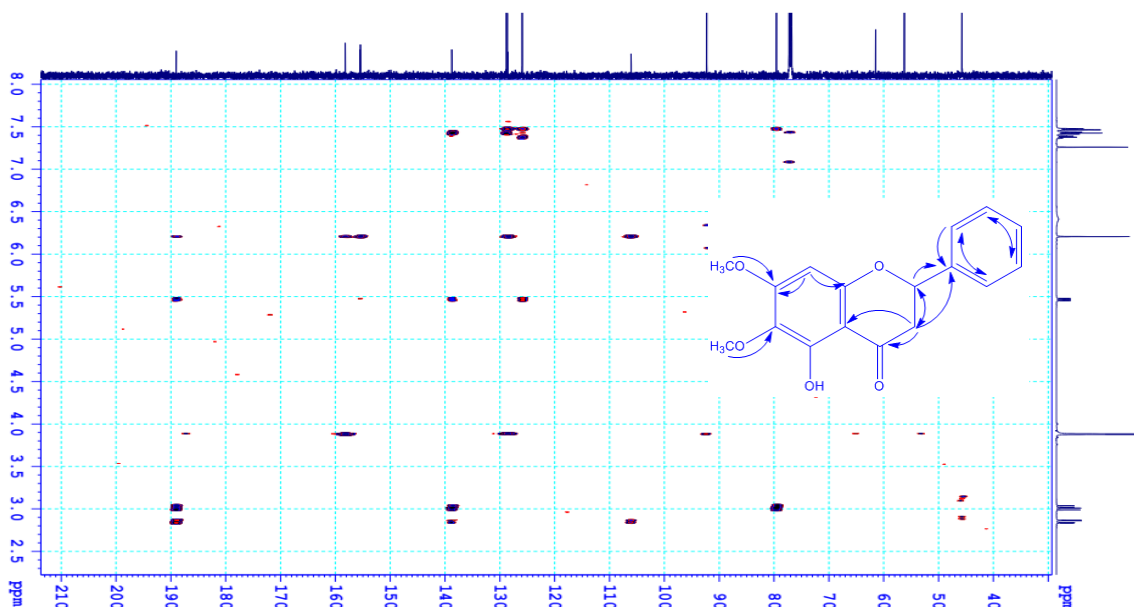
Hình 3.2. Phổ ^{13}C -NMR của **MR1**

Phổ HMBC của **MR1** cho biết tương tác HMBC giữa proton nhóm methoxyl 6- OCH_3 (δ_{H} 3,87) với C-6 (δ_{C} 128,6) khẳng định nhóm methoxyl này đính với carbon C-6 và tương tác giữa proton nhóm methoxyl 7- OCH_3 (δ_{H} 3,88) với carbon C-7 (δ_{C} 158,2) khẳng định nhóm methoxyl này đính với C-7 trong vòng A. Tương tác giữa proton methine H-8 (δ_{H} 6,21) với C-7 (δ_{C} 158,2), C-9 (δ_{C} 155,4) khẳng định nhóm methine duy nhất vòng A tại C-8.



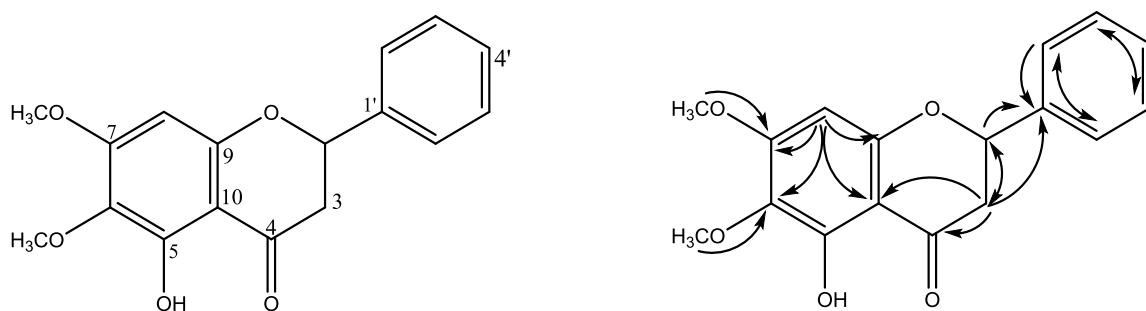
Hình 3.3. Phổ HSQC của **MR1**

Trên phổ HMBC còn quan sát được tương tác HMBC giữa H-3 (δ_H 3,04 và 2,80) với C-4 (δ_C 189,0), C-2 (δ_C 79,6) và C-10 (δ_C 106,1) và H-2 (δ_H 5,47) với C-4 (δ_C 189,0), C-3 (δ_C 45,7) và C-1' (δ_C 138,7) khẳng định liên kết trong vòng C và kết nối giữa vòng A-C-B của hợp chất **MR1**.



Hình 3.4. Phổ HMBC của **MR1**

Dựa vào các số liệu phân tích phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC và HMBC của **MR1**, kết hợp so sánh dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [24,25] cho phép khẳng định **MR1** chính là 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone, có cấu trúc như hình 3.5.



Hình 3.5. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của **MR1**

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của chất **MR1** và chất tham khảo

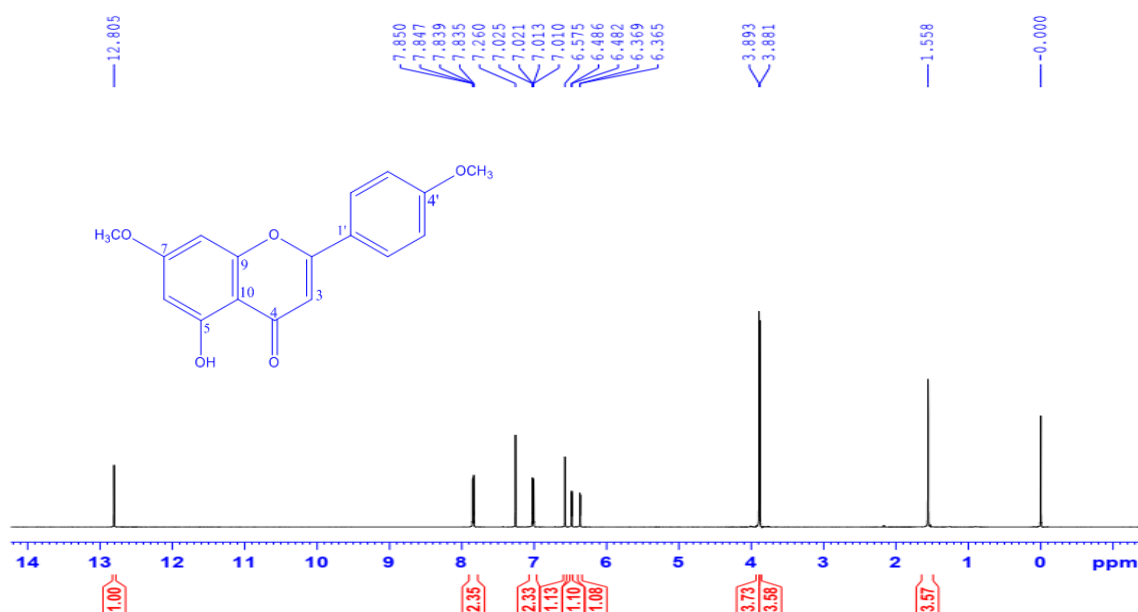
Vị trí	MR1		[24]	
	δ_C	δ_H (mult., J Hz)	# δ_C	# δ_H (mult., J Hz)
2	79,6	5,47 (1H, dd, $J=13,2; 3,0$)	79,6	5,42 (1H, dd, $J=13,0; 3,0$)
3	45,7	2,80 (1H, dd, $J=16,2; 3,0$)	43,4	2,80 (1H, dd, $J=17,0; 3,0$)

		3,04 (1H, dd, $J=16,2; 3,0$)		3,10 (1H, dd, $J=17,0; 3,0$)
4	189,0	-	196,3	-
5	155,5	-	155,1	-
6	128,6	-	130,7	-
7	158,2	-	161,0	-
8	92,3	6,21 (1H, s)	91,7	6,13 (1H, s)
9	155,5	-	158,7	-
10	106,1	-	103,1	-
1'	138,7	-	138,3	-
2',6'	125,9	7,48 (2H, m)	126,1	7,38-7,48 (5H, m)
4'	128,5	7,37 (1H, m)	129,0	
3',5'	128,8	7,43 (2H, m)	128,9	
5-OH		6,41 (1H, brs)		11,90 (1H, s)
6-OCH ₃	61,5	3,87 (3H, s)	60,8	3,85 (3H, s)
7-OCH ₃	56,2	3,88 (3H, s)	56,1	3,88 (3H, s)

δ_H và # δ_C của 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl₃) [24]

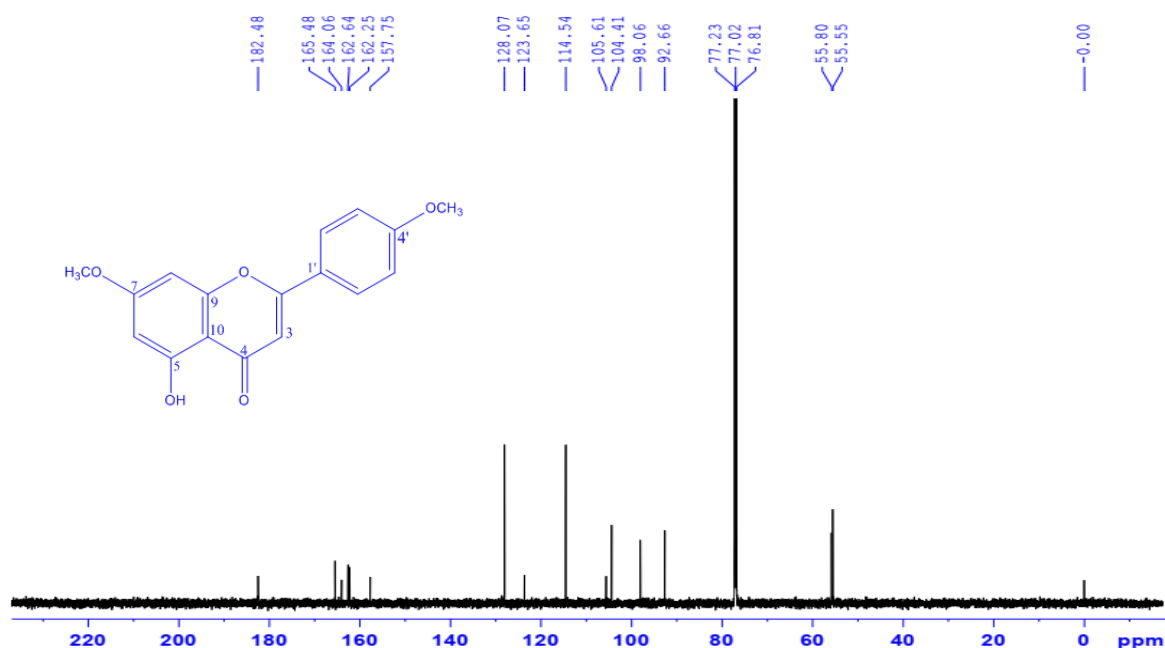
3.1.1.2. Hợp chất 4'-methoxytectochrysin (**MR2**)

Hợp chất **MR2** thu được dạng tinh thể hình kim, màu vàng. Phổ 1H -NMR của **MR2** cho biết tín hiệu proton đặc trưng của hệ vòng thơm meta dưới dạng doublet tại δ_H 6,49 (1H, d, $J= 2,4$ Hz, H-8) và 6,37 (1H, d, $J= 2,4$ Hz, H-6); cặp proton vòng thơm thể kiểu A₂B₂ dưới dạng doublet-doublet tại δ_H 7,85 (2H, dd, $J= 6,6$ và 1,8 Hz, H-2',6') và δ_H 7,03 (2H, dd, $J= 6,6$ và 1,8 Hz, H-3',5').



Hình 3.6. Phổ 1H -NMR của **MR2**

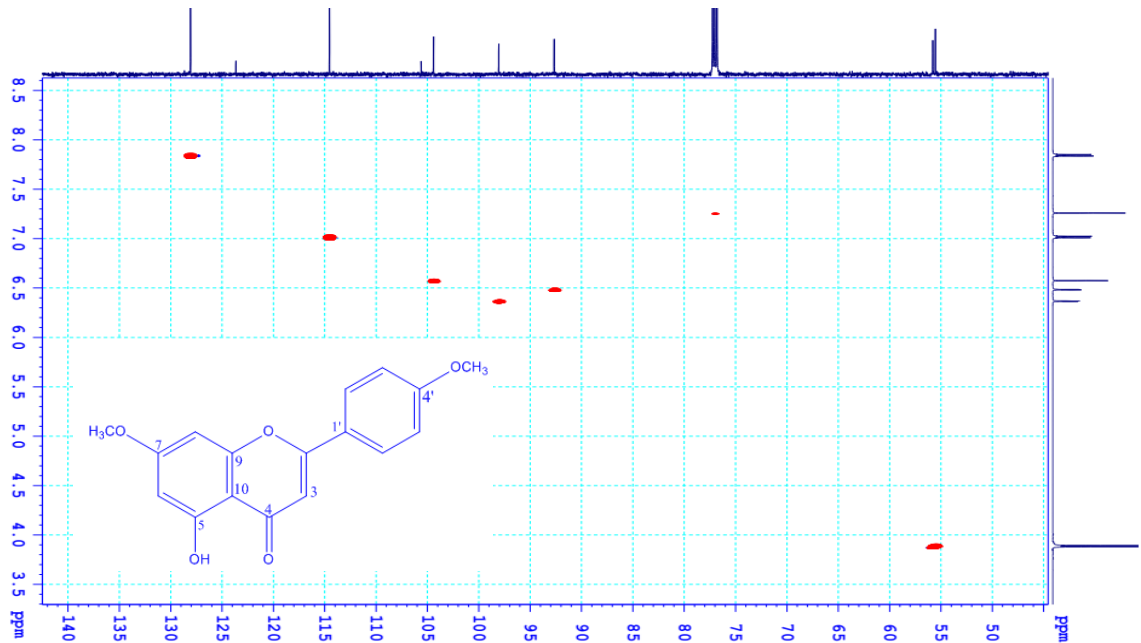
Ngoài ra, trên phổ còn có tín hiệu đặc trưng cho nhóm hydroxyl liên kết cầu hydro nội phân tử với carbon thuộc nhóm carbonyl (C-4) tại δ_H 12,08 ppm ở vùng trường thấp, tín hiệu của proton olefin tại δ_H 6,58 (1H, s, H-3) và tín hiệu proton dưới dạng singlet của 2 nhóm methoxyl tại δ_H 3,89 (3H, s, 4'-OCH₃) và 3,88 (3H, s, 7-OCH₃). Phổ ¹³C-NMR của **MR2** cho biết tín hiệu đặc trưng của carbon nhóm carbonyl tại δ_C 182,5 (C-4), hai carbon nhóm methoxy tại δ_C 55,8 (4'-OCH₃) và 55,6 (7-OCH₃) và hai carbon olefin tại δ_C 164,1 (C-2) và 104,4 (C-3). Đây là một hợp chất flavonoid.



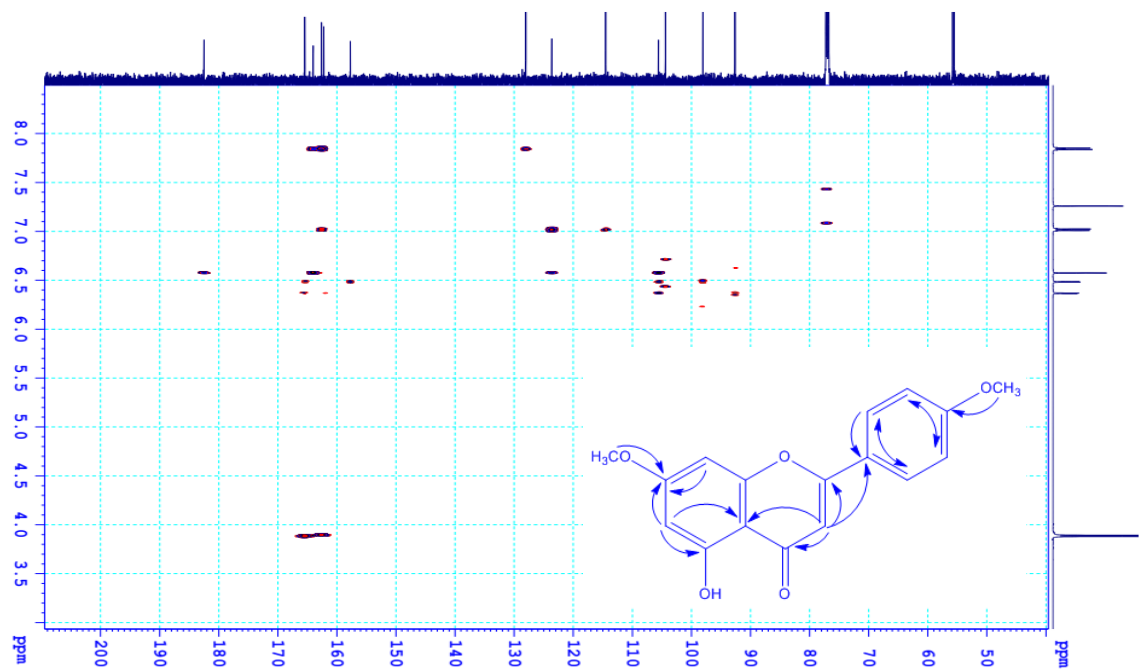
Hình 3.7. Phổ ¹³C-NMR của **MR2**

Phổ HSQC của **MR2** cho phép gán các giá trị của hydro với các carbon tương ứng. Phổ HMBC của **MR2** cho biết tương tác HMBC giữa H-6 (δ_H 6,49) với C-5 (δ_C 162,3), C-7 (δ_C 165,5), C-8 (δ_C 92,7), C-9 (δ_C 157,8) và C-10 (δ_C 105,6); giữa proton methine H-8 (δ_H 6,49) với C-5 (δ_C 162,3), C-6 (δ_C 98,1), C-7 (δ_C 165,5), C-9 (δ_C 157,8) và C-10 (δ_C 105,6) của vòng A trong hợp chất **MR2**. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa proton nhóm methoxy 7-OCH₃ (δ_H 3,88) với C-7 (δ_C 165,5 ppm) khẳng định nhóm methoxy này đính với carbon C-7 trong vòng A. Tương tác HMBC giữa hai proton tương đương H-2', H-6' (δ_H 7,85) với C-2 (δ_C 164,1), C-1' (δ_C 123,7), C-3' và C-5' (δ_C 114,5), C-4' (δ_C 162,6) của hai proton tương đương H-3', H-5' với các carbon C-1' (δ_C 123,7), C-2' và C-6' (δ_C 128,1), C-4' (δ_C 162,6) đã chỉ ra sự có mặt của vòng B. Nhóm

methoxy 4'-OCH₃ (δ_{H} 3,89) với carbon C-4' (δ_{C} 165,6) khẳng định nhóm methoxyl này đính với carbon C-4'. Ngoài ra trên phổ HMBC cũng quan sát được tương tác HMBC giữa H-3 (δ_{H} 6,58) với C-2 (δ_{C} 164,1) và C-4 (δ_{C} 182,5) trong vòng C. Sự liên kết giữa vòng A-C-B của hợp chất **MR2** được thể hiện rõ trong sự tương tác giữa H-3 (δ_{H} 6,58) với các carbon C-1' (δ_{C} 123,7) và C-10 (δ_{C} 105,6).

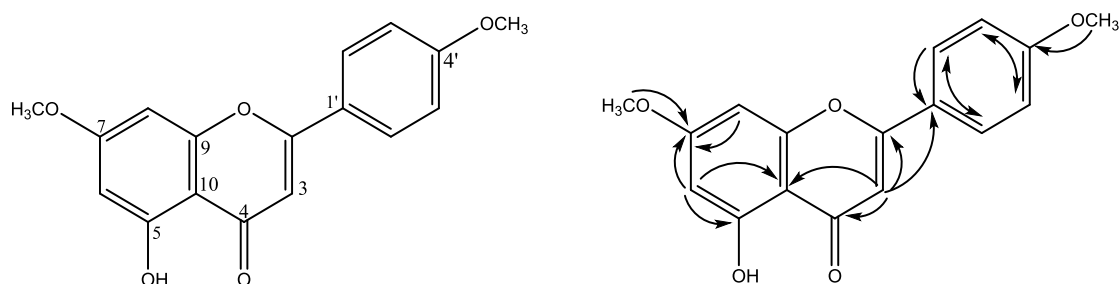


Hình 3.8. Phổ HSQC của MR2



Hình 3.9. Phổ HMBC của MR2

Căn cứ vào các số liệu phân tích phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, HSQC và HMBC của **MR2**, kết hợp các dữ kiện phổ thu được và so sánh phổ với tài liệu tham khảo [26,27] cho phép xác định **MR2** chính là 4'-methoxytecto-chrysin (Hình 3.2).



Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của **MR2**

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **MR2** và chất tham khảo

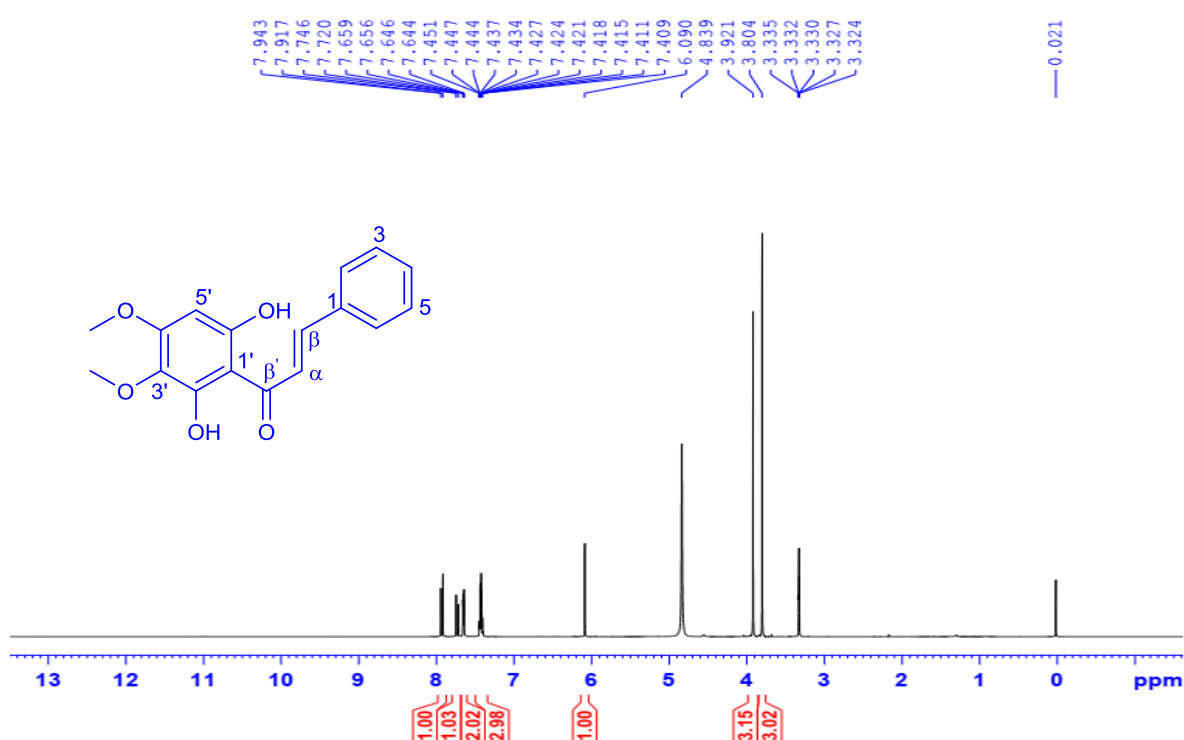
Vị trí	MR2		[26]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$	$\# \delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
2	164,1	-	164,3	-
3	104,4	6,58 (1H, s)	103,3	6,58 (1H, s)
4	182,5	-	182,4	-
5	162,3	-	154,0	-
6	98,1	6,37 (1H, d, $J= 2,0$)	98,1	6,37 (1H, d, $J= 2,44$)
7	165,5	-	148,1	-
8	92,7	6,49 (1H, d, $J= 2,0$)	93,5	6,48 (1H, d, $J= 2,44$)
9	157,8	-	156,4	-
10	105,6	-	103,4	-
1'	123,7	-	124,0	-
2',6'	128,1	7,85 (2H, dd, $J= 6,6; 1,8$)	120,3	7,85 (2H, dd, $J = 6,8; 1,9$)
4'	162,6	-	154,6	-
3', 5'	114,5	7,03 (2H, dd, $J= 6,6; 1,8$)	111,5	7,02 (2H, dd, $J= 6,8; 1,9$)
5-OH	-	12,81(1H, s)	-	12,80 (1H, br)
4'-OCH ₃	55,8	3,89 (3H, s)	55,8	3,89 (3H, s)
7-OCH ₃	55,6	3,88 (3H, s)	55,6	3,88 (3H, s)

$\# \delta_{\text{H}}$ và $\# \delta_{\text{C}}$ của 4'-methoxytecto-chrysin (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3)

3.1.1.3. Hợp chất chalcone: pashanone (MR3)

Hợp chất **MR3** thu được dạng hình kim, màu vàng nhạt (7,0 mg).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **MR3** cho biết, tín hiệu của hai proton olefinic dưới dạng doublet- doublet tại δ_{H} 7,94 (1H, d, $J= 15,6$ Hz, H- β) và 7,75 (1H, d, $J= 15,6$ Hz, H- α) đặc trưng cho hai proton ở vị trí α và β với cấu hình *trans* của khung chalcone, tín hiệu của 5 proton thơm tại δ_{H} 7,66 (2H, dd, $J= 1,5$ và 6,5 Hz, H-2, H-6); 7,45 (2H, m, H-3, H-5) và 7,41 (1H, m, H-4) thuộc vòng A; 1 proton thơm dưới dạng singlet bị che chắn tại δ_{H} 6,09 (1H, s, H-5') và 2 proton của nhóm methoxyl tại δ_{H} 3,92 (3H, s, 4'-OCH₃) và 3,80 (3H, s, 3'-OCH₃) thuộc vòng B; và tín hiệu của nhóm hydroxyl tại δ_{H} 4,84 (2'-OH).

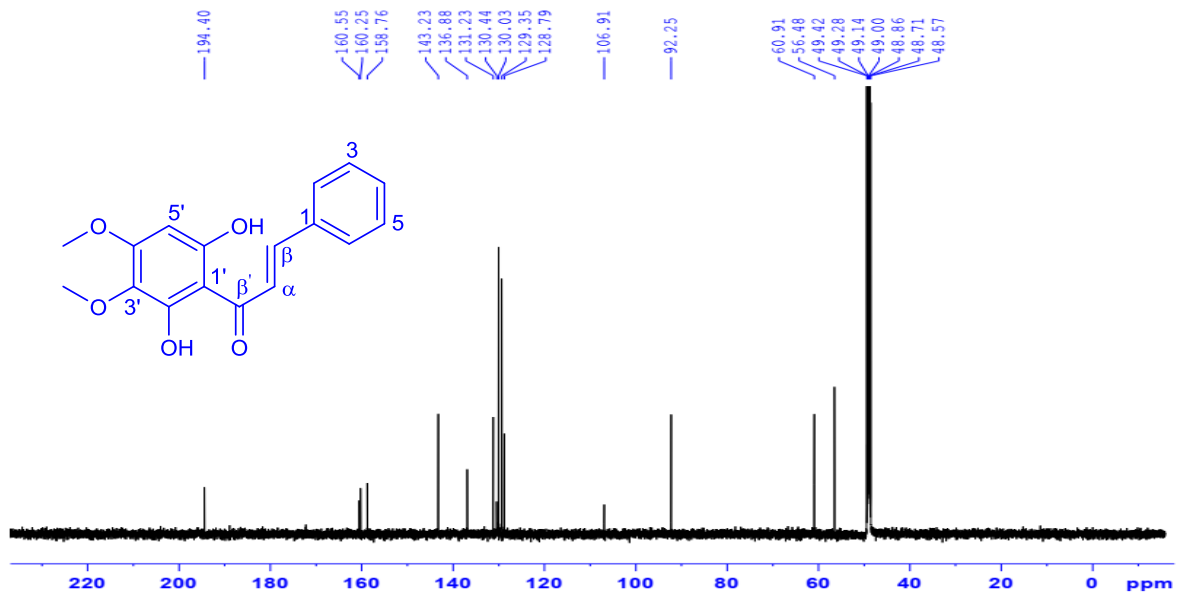


Hình 3.11. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **MR3**

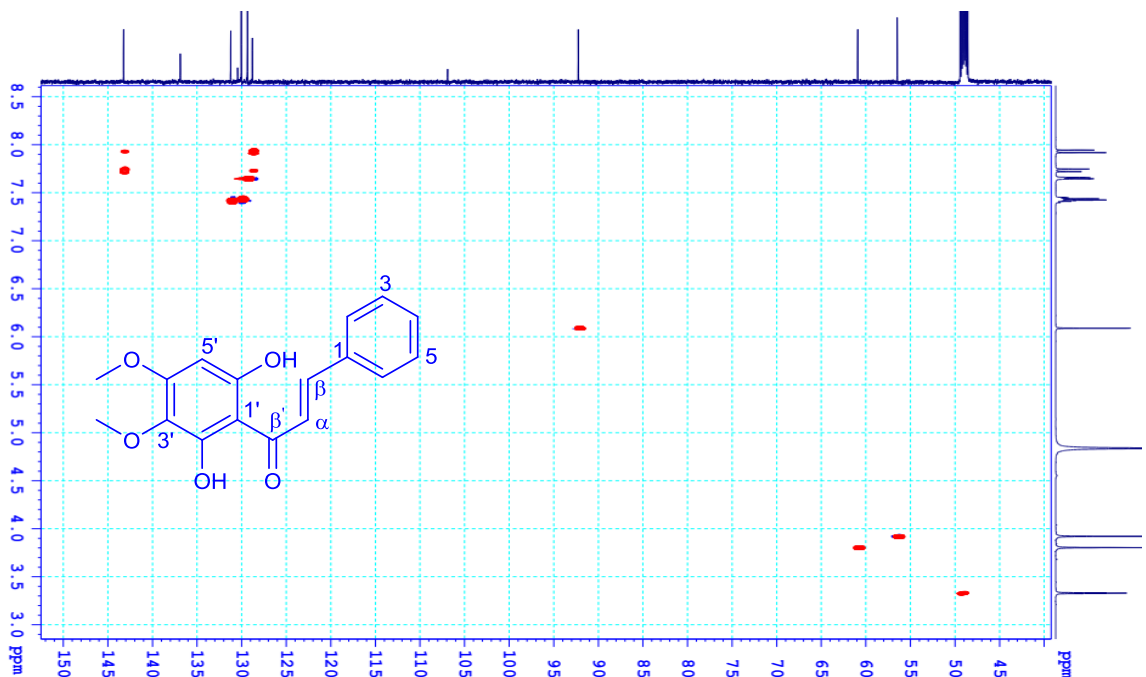
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT xuất hiện tín hiệu của 17 nguyên tử carbon, gồm hai nhóm methoxyl tại δ_{C} 60,9 (3'-OCH₃); 56,5 (4'-OCH₃), tám nhóm methine tại δ_{C} 130,4 (C-2, C-6); 128,8 (C-3, C-5); 131,2 (C-4); 92,3 (C-5'); 129,4 (C- α) và 143,2 (C- β) và bảy nguyên tử carbon bậc 4 tại δ_{C} 136,8 (C-1); 106,9 (C-1'); 158,8 (C-2'); 130,0 (C-3'); 160,5 (C-4'); 160,3 (C-6') và 194,4 (C- β'), trong đó có một nhóm carbonyl tại δ_{C} 194,4 (C- β').

Phổ HSQC của **MR3** cho phép gán các giá trị của proton với các carbon tương ứng. Trên phổ HMBC của **MR3** quan sát được tương tác HMBC giữa H-(4'-OCH₃) với C-4' (δ_{C} 160,5), H-(3'-OCH₃) với C-3' (δ_{C} 130,0) và H-5' (δ_{H}

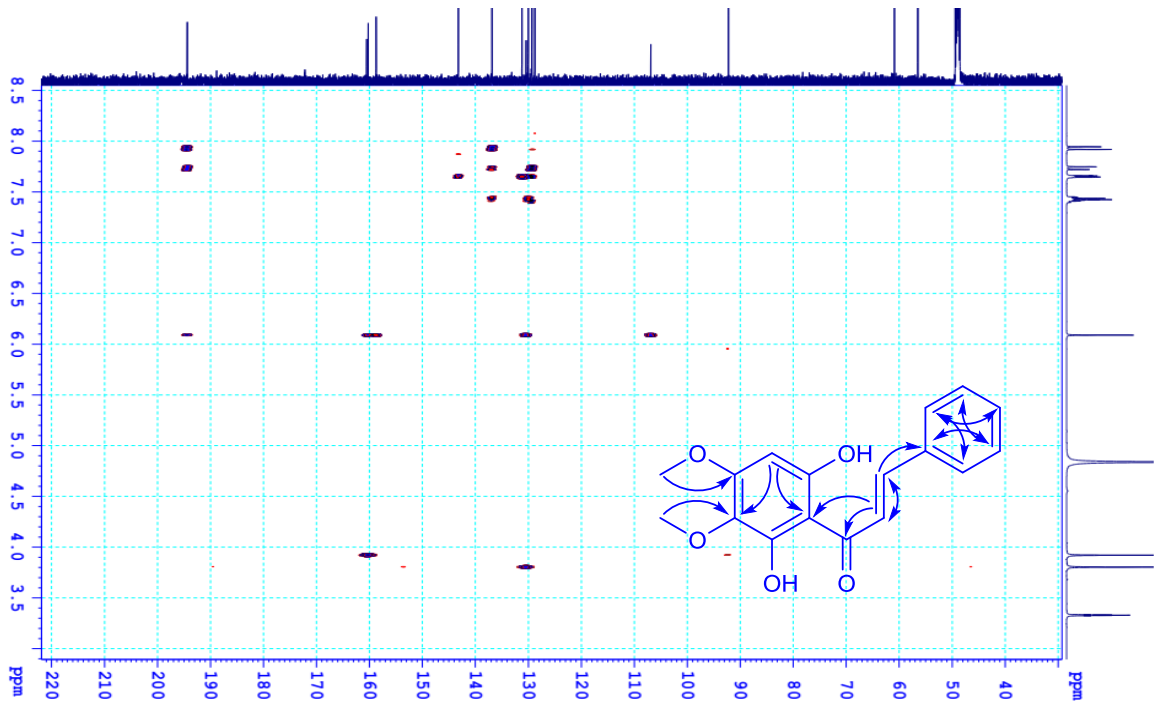
6,09) với C- β' (δ_C 194,4), C-2' (δ_C 158,8), C-4' (δ_C 160,5), C-6' (δ_C 160,3), C-3' (δ_C 130,0) và C-1' (δ_C 106,4); tương tác giữa H-5' với C-2' (δ_C 158,8), C-3' (δ_C 130,0), C-4' (δ_C 160,5) và C-6' (δ_C 160,3). Điều này cho phép gán vị trí của 2 nhóm methoxy tại C-4' và C-3' tương ứng. Tương tác HMBC giữa H- β (δ_H 7,94) với C- β' (δ_C 194,4), C- α (δ_C 129,4) và C-1 (δ_C 136,8); và tương tác giữa H- α (δ_H 7,75) với C- β' (δ_C 194,4), C- β (δ_C 143,2), C-1 (δ_C 136,8) và C-1' (δ_C 106,9) cho thấy vòng A gắn với vòng B qua cầu nối là nhóm carbonyl α , β -không no.



Hình 3.12. Phổ ^{13}C -NMR của MR3

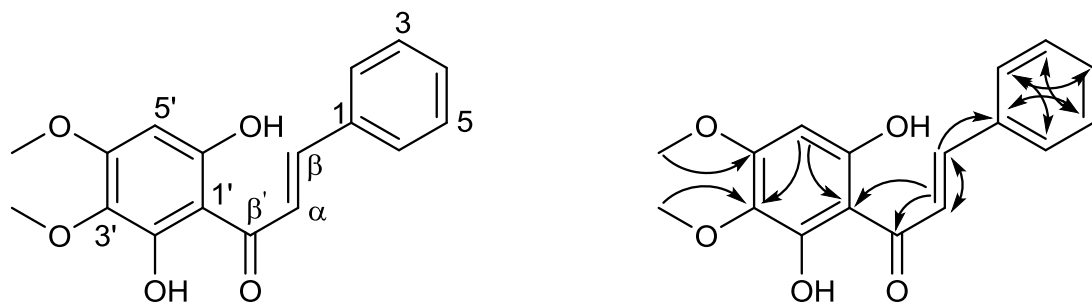


Hình 3.13. Phổ HSQC của MR3



Hình 3.14. Phổ HMBC của **MR3**

Qua các phân tích số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC và HMBC kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [28,29] có thể xác định hợp chất **MR3** là 2',6'-dihydroxy-3',4'-dimethoxychalcone hay pashanone có cấu trúc và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của nó được thể hiện như hình 3.15. Hợp chất này lần còn được phân lập từ loài *Polygonum ferrugineum* [30] và *Polygonum hydropiper* [31] và *Polygonum lapathifolium* [32].



Hình 3.15. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của **MR3**

Bảng 3.3. Dữ liệu phổ của chất **MR3** và chất tham khảo

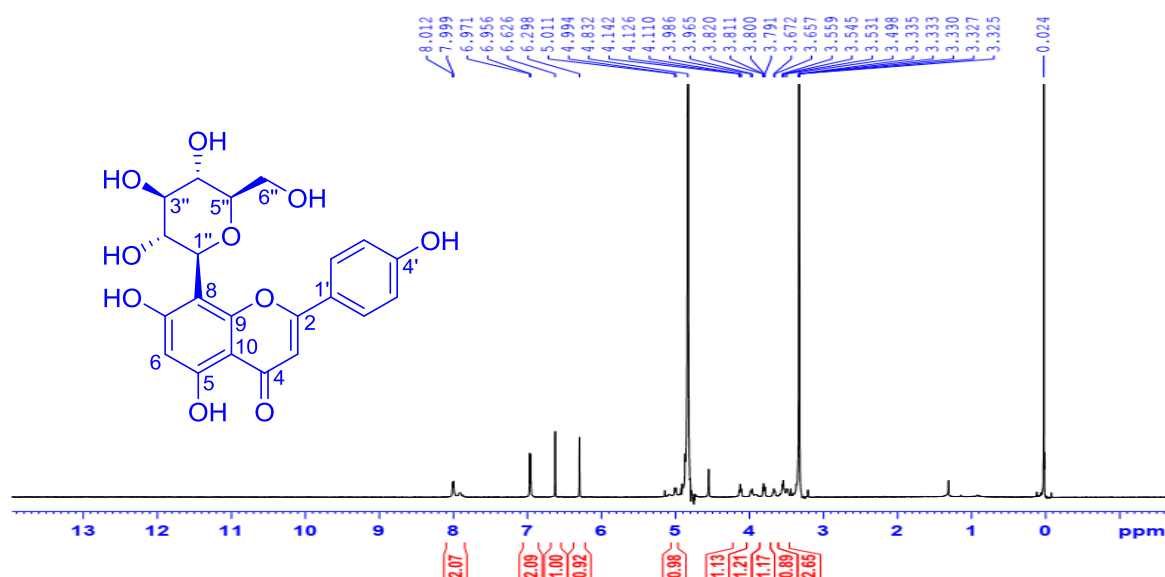
Vị trí	MR3		[28]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\#\delta_{\text{C}}$	$\#\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
1	136,8	-	135,6	-
2, 6	130,4	7,66 (2H, dd, $J= 1,5$ và $6,5$)	128,6	7,61 (2H, m)
3, 5	128,8	7,45 (2H, m)	129,0	7,41 (2H, m)

4	131,2	7,41 (1H, m)	127,6	7,39 (1H, m)
α	129,4	7,75 (1H, d, 15,6)	130,3	7,81 (1H, d, 15,6)
β	143,6	7,94 (1H, d, 15,6)	142,7	7,91 (1H, d, 15,6)
β'	194,4	-	193,4	-
1'	106,4	-	106,6	-
2'	158,8	-	159,0	-
3'	130,3	-	128,5	-
4'	160,5	-	155,5	-
5'	92,3	6,09 (1H, s)	90,0	6,07 (1H, s)
6'	160,3	-	159,2	-
3'-OCH ₃	60,9	3,80 (3H, s)	61,0	3,91 (3H, s)
4'-OCH ₃	56,5	3,92 (3H, s)	56,2	3,93 (3H, s)
2'-OH	-	4,84 (2H, s)		14,36 (2H, s)

δ_H và # δ_C của pashanone (1H : 400 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl₃) [28]

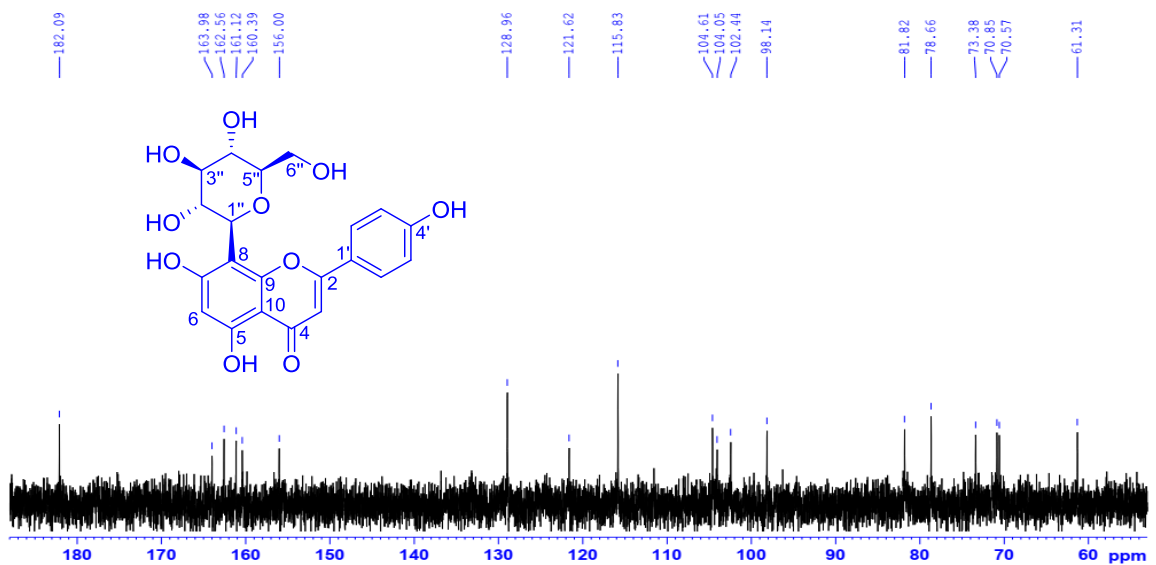
3.1.1.4. Hợp chất apigenin 8-C-glucoside (MR5)

Hợp chất **MR5** dạng bột, màu vàng (8,5 mg). Phổ 1H -NMR của **MR5** cho biết 2 tín hiệu của 4 proton hệ vòng thơm AA'BB' dưới dạng doublet của vòng B tại δ_H 8,01 (2H, d, $J= 7,8$ Hz, H-2',6') và 6,97 (2H, d, $J= 9,0$ Hz, H-3',5'), tín hiệu của 2 proton dưới dạng singlet tại 6,63 (1H, s, H-6) và 6,30 (1H, s, H-3) của phần flavone aglycone, tín hiệu đặc trưng của proton anomeric của phân tử đường gắn trực tiếp vào carbon flavone aglycone tại δ_H 5,01 (1H, d, $J= 8,5$ Hz, H-1"). Ngoài ra, Phổ 1H -NMR cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng khác của phân tử đường tại δ_H 3,4 - 4,2 ppm.

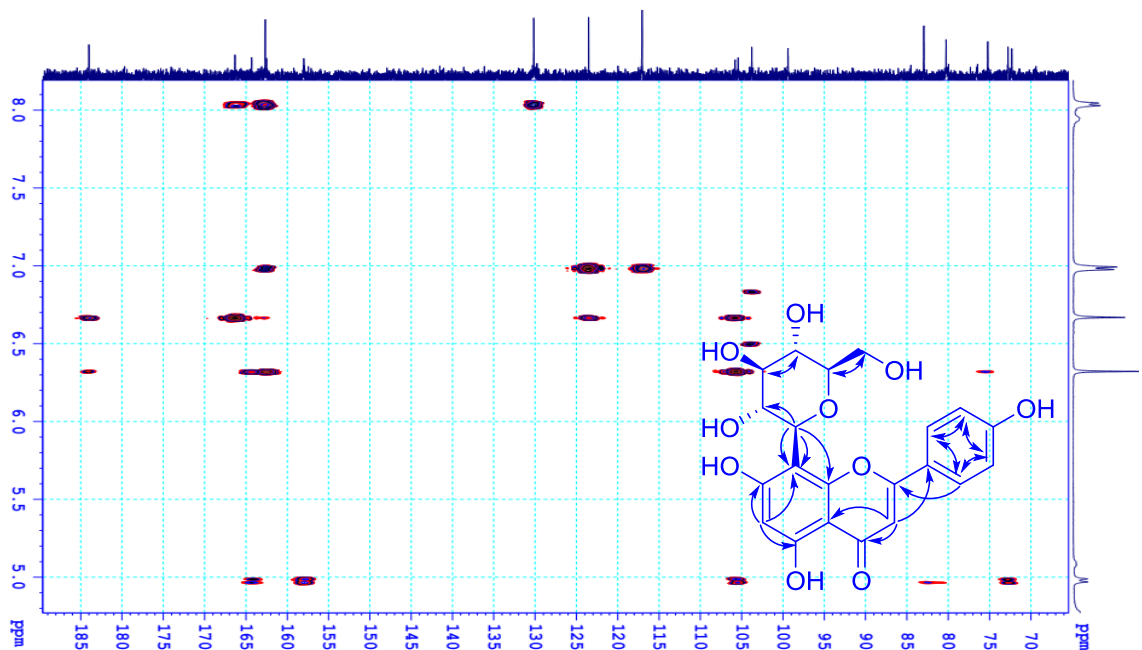


Hình 3.16. Phổ 1H -NMR của **MR5**

Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phân tích dữ liệu phổ của **MR5** quan sát được tín hiệu của 19 carbon không tương đương, gồm 1 nhóm methylene tại δ_{C} 61,3 (C-6''), 9 nhóm methine tại δ_{C} 129,0 (C-2',6'); 115,8 (C-3',5'), 104,6 (C-3), 98,1 (C-6), 73,4 (C-1''); 70,9 (C-2''); 78,7 (C-3''); 70,5 (C-4'') và 81,8 (C-5''), 8 carbon bậc 4 tại δ_{C} 164,0 (C-2); 160,4 (C-5); 162,6 (C-7); 104,1 (C-8); 156,0 (C-9); 104,6 (C-10); 121,6 (C-1'); 161,1 (C-4') và 1 nhóm carbonyl tại δ_{C} 182,1 (C-4). **MR5** có tín hiệu đặc trưng của một phân tử đường C-glucopyranosyl tại δ_{C} 73,4 (C-1''); 70,9 (C-2''); 78,7 (C-3''); 70,5 (C-4''); 81,8 (C-5''); 61,3 (C-6'') với hằng số ghép lớn $J_{\text{H-1}''/\text{H-2}''} = 8,5 \text{ Hz}$.



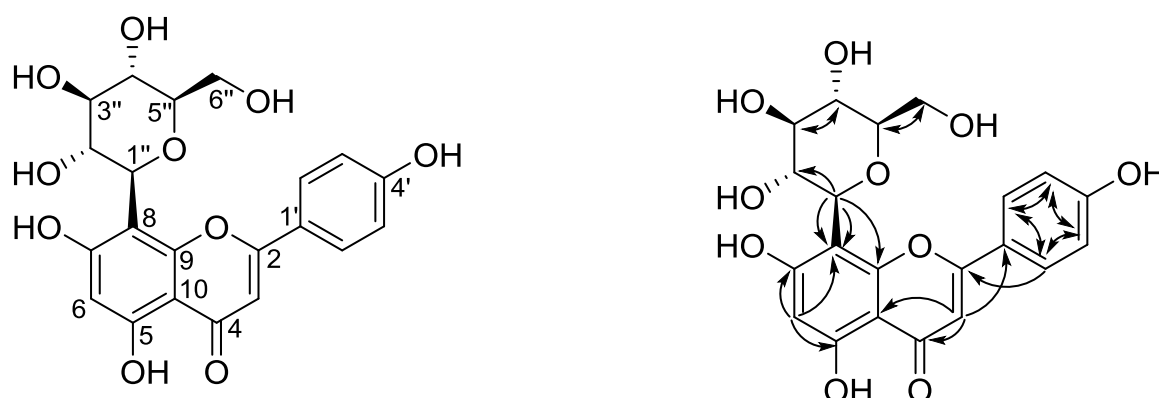
Hình 3.17. Phổ ^{13}C -NMR của **MR5**



Hình 3.18. Phổ HMBC của **MR5**

Phổ HMBC của **MR5** cho biết tương tác HMBC giữa H-3 (δ_H 6,30) với C-1' (δ_C 121,6), C-2 (δ_C 164,0), C-4 (δ_C 182,1) và C-10 (δ_C 104,4); giữa H-6 (δ_H 6,63) với C-5 (δ_C 160,4), C-7 (δ_C 162,6) và C-10 (δ_C 104,0) khẳng định hai proton ở vị trí lần lượt tại C-3 và C-6. Tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 5,01) với C-8 (δ_C 105,5) xác nhận phần đường liên kết với flavone aglycone tại C-8.

Phân tích các dữ liệu phổ NMR của **MR5**, kết hợp với so sánh dữ liệu phổ của hợp chất tham khảo [33,34], có thể khẳng định hợp chất **MR5** có tên gọi là apigenin 8-C-glucoside, có cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính như hình 3.19.



Hình 3.19. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của **MR5**

Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của chất **MR5** và chất tham khảo

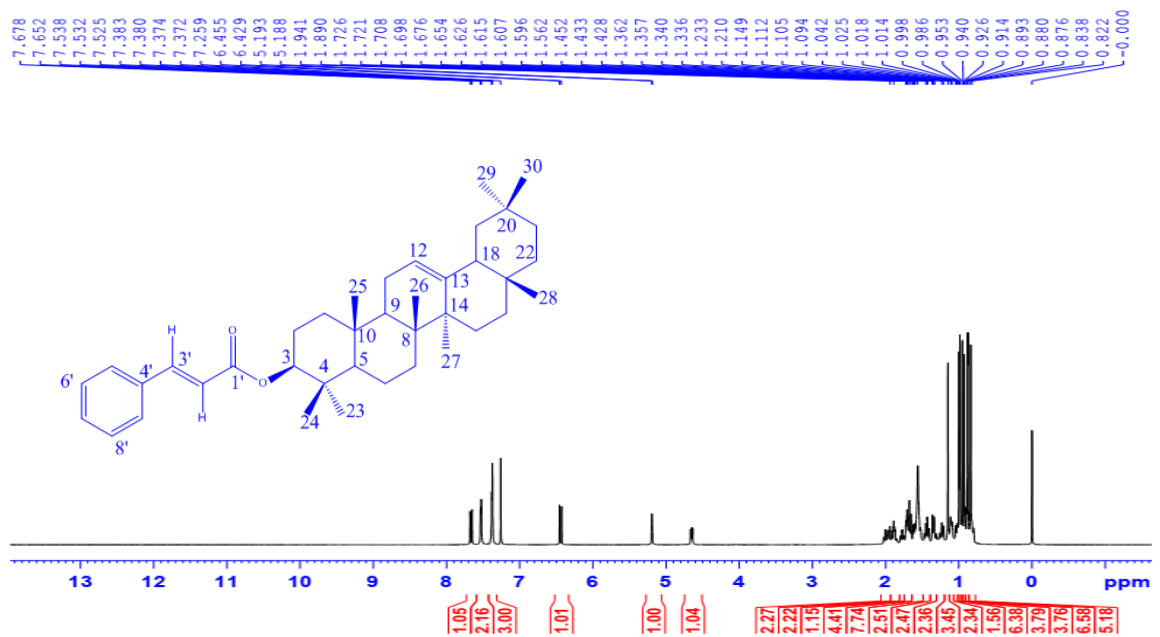
Vị trí	MR5		[33]	
	δ_C	δ_H (mult., J Hz)	# δ_C	# δ_H (mult., J Hz)
aglycone				
2	164,0	-	163,9	-
3	102,4	6,63 (1H, s)	102,4	6,77 (1H, s)
4	182,1	-	182,0	-
5	160,4	-	160,4	-
6	98,1	6,30 (1H, s)	98,1	6,27 (1H, s)
7	162,6	-	162,7	-
8	104,1	-	104,6	-
9	156,0	-	156,0	-
10	104,6	-	104,0	-
1'	121,6	-	121,6	-
2',6'	129,0	8,01 (2H, d, J= 7,8)	128,9	8,02 (d, J= 8,0)
3', 5'	115,8	6,97 (2H, d, J= 9,0)	115,8	6,89 (d, J= 8,0)

4'	161,1	-	161,1	-
8-C-glucoside				
1''	73,8	5,01 (1H, d, $J= 8,5$)	73,4	4.69 (d, $J= 10,0$)
2''	70,9	4,14 (1H, t, $J= 8,5$)	70,8	3,84 (dd, $J= 9,0; 10,0$)
3''	78,7	3,47 (1H, m)	78,7	3,29
4''	70,6	3,56 (1H, m)	70,5	3,34
5''	81,8	3,67 (1H, m)	81,8	3,26
6''	61,3	3,98 (1H, d, $J= 10,5$) 3,82 (1H, dd, $J= 4,5; 10,0$)	61,3	3,52 (dd, $J= 5,5; 11,0$) 3,76 (br d, $J= 11,0$)

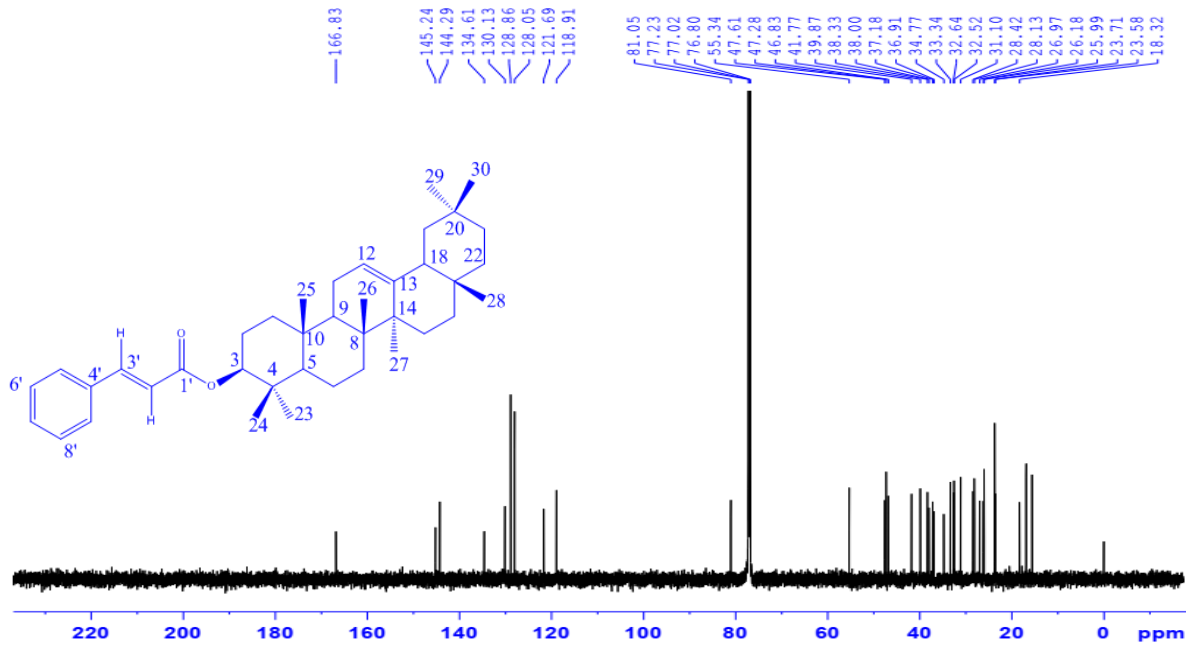
δ_H và # δ_C apigenin 8-C-glucoside (1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, $CDCl_3$)[33]

3.1.2. Hợp chất triterpenoid: β -amyirin trans-cinnamate (MR4)

Hợp chất **MR4** (10,1 mg) thu được dưới dạng bột, màu trắng. Phổ 1H -NMR của **MR4** cho biết sự có mặt 8 proton của nhóm methyl dưới dạng singlet tại δ_H 1,15 (3H, s, H-27); 1,01 (3H, s, H-24); 1,00 (3H, s, H-25); 0,99 (3H, s, H-26); 0,93 (3H, s, H-28); 0,89 (3H, s, H-29); 0,88 (3H, s, H-30) và 0,84 (3H, s, H-23), 3 tín hiệu proton của nối đôi olefin tại δ_H 5,19 (t, $J= 3,0$ Hz, H-12); 7,68 (1H, d, $J= 15,6$ Hz, H-3') và 6,46 (1H, d, $J= 15,6$ Hz, H-2'), 3 tín hiệu của 5 proton thơm tại δ_H 7,54 (2H, m, H-5' và H-9'); 7,38 (2H, m, H-6' và H-8'); 7,26 (1H, brs, H-7'). Ngoài ra, trên phổ còn quan sát được tín hiệu của proton gắn với oxi tại δ_H 4,65 (1H, t; $J= 8,4$ Hz, H-3).

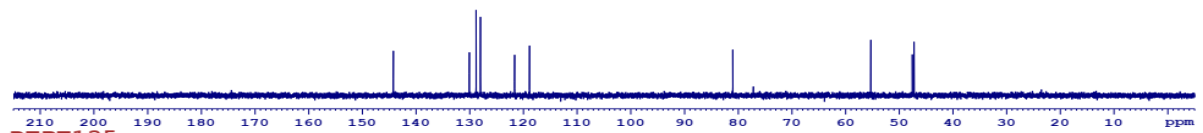


Hình 3.20. Phổ 1H -NMR của **MR4**

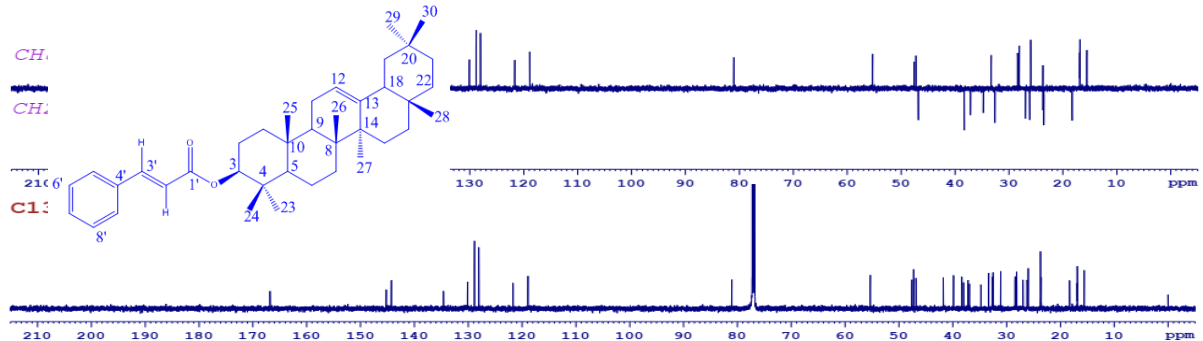


Hình 3.21. Phổ ^{13}C -NMR của MR4

DEPT90



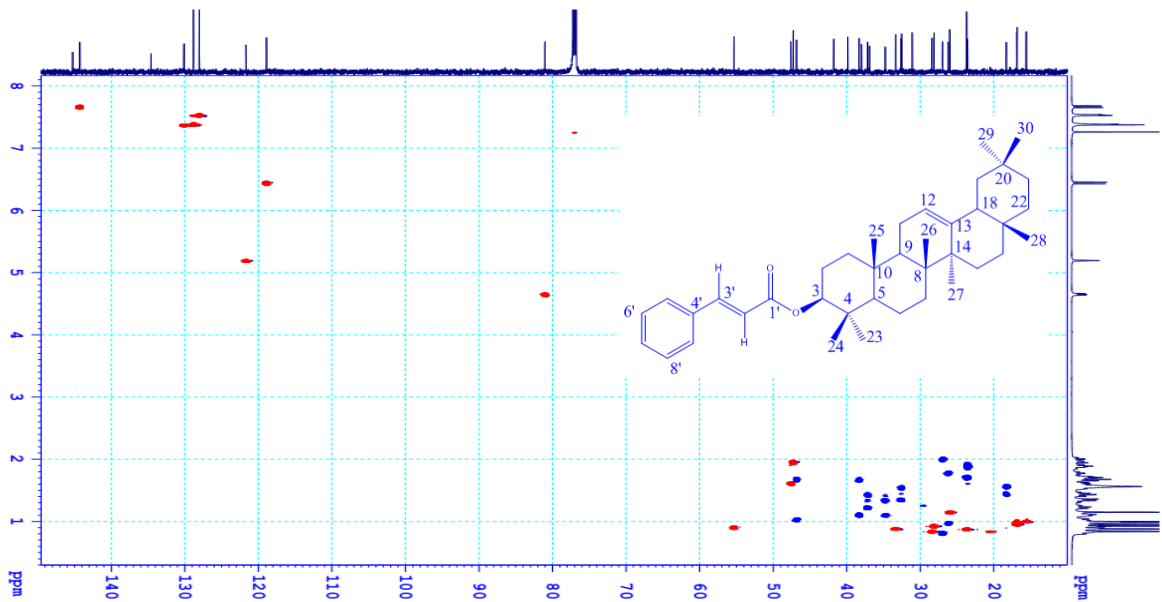
DEPT135



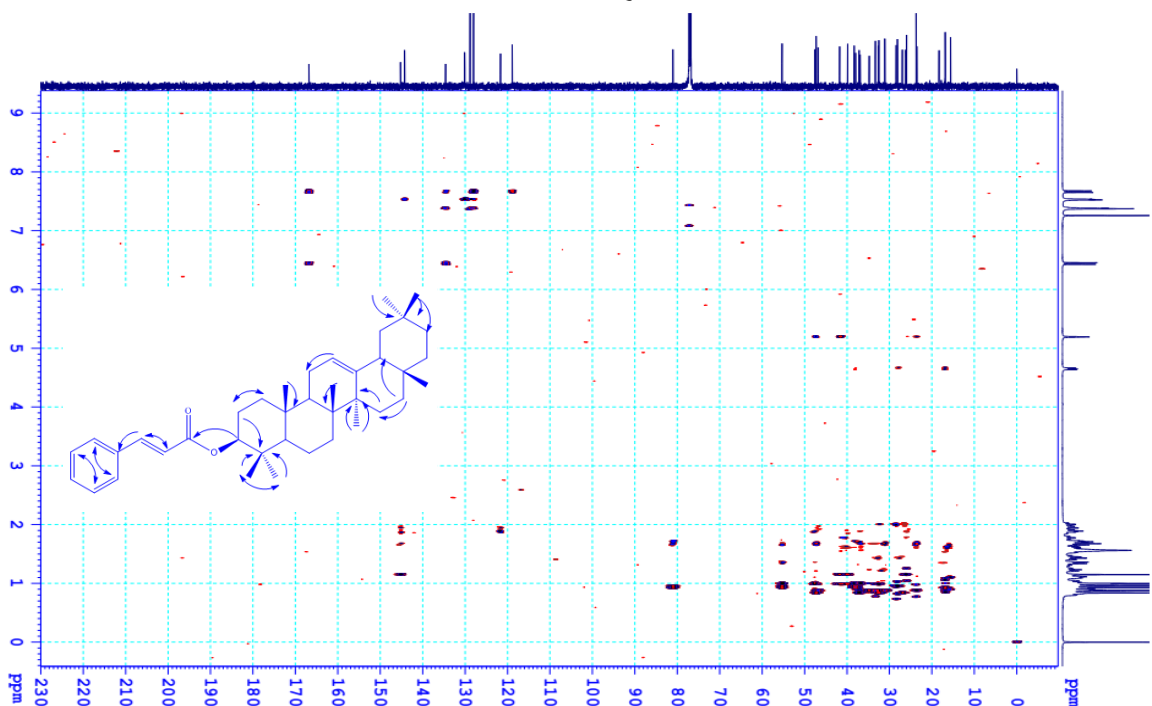
Hình 3.22. Phổ DEPT của MR4

Phổ ^{13}C -NMR và kết hợp với phổ DEPT của MR4 cho biết có tín hiệu 39 nguyên tử carbon, gồm 8 nhóm methyl tại δ_{C} 28,4 (C-23); 16,8 (C-24); 15,6 (C-25); 16,9 (C-26); 26,0 (C-27); 28,1 (C-28); 33,3 (C-29); 23,8 (C-30), 10 nhóm methylene tại δ_{C} 38,3 (C-1); 23,7 (C-2); 18,3 (C-6); 32,6 (C-7); 23,6 (C-11); 26,2 (C-15); 27,0 (C-16); 46,8 (C-19) và 37,2 (C-22), 12 nhóm methine tại δ_{C} 81,1 (C-3); 55,3 (C-5); 47,6 (C-9); 121,7 (C-12); 47,3 (C-18); 118,9 (C-2'); 144,3 (C-3'); 128,1 (C-5' và C-9'); 128,9 (C-6' và C-8') và 130,1 (C-7') và 9 carbon bậc 4 tại δ_{C} 38,0 (C-4); 39,9 (C-8); 36,9 (C-10); 145,2 (C-13); 41,8 (C-14); 32,51 (C-17); 31,10 (C-20); 166,8 (C-1') và 134,6 (C-4'). Trong đó, tín hiệu của nhóm methine tại δ_{C} 121,7 ppm đặc trưng của liên kết đôi ở vị trí C12-13 khung

oleanan-triterpene; tín hiệu nhóm carbonyl tại δ_C 166,8 (C-1'), nhóm carbon olefin tại δ_C 118,9 (C-2'); 144,3 (C-3') và vòng thơm trong khoảng 128 -135 ppm đặc trưng cho nhóm cinnamoyl. Phân tích dữ liệu phổ NMR có thể khẳng định **MR4** là hợp chất có bộ khung oleanan triterpenoid gồm 2 phần hợp thành là cinnamic acid và β -amyrin thông qua liên kết este. Phổ HMBC của **MR4** quan sát được tương tác giữa proton H-3 (δ_H 4,65) với C-1', điều đó cho biết liên kết este giữa phần cinnamic acid và β -amyrin tại vị trí O=C₁-O-C₃. Các số liệu phổ NMR của **MR4** được tổng hợp trong *bảng 3.5*.

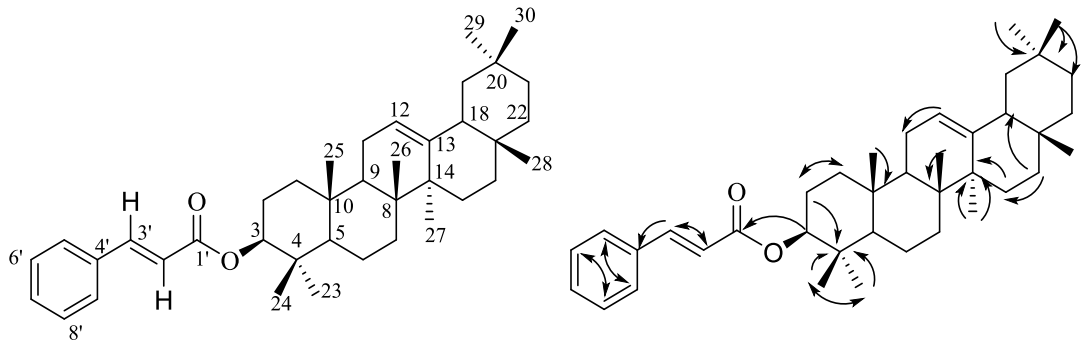


Hình 3.23. Phổ HSQC của **MR4**



Hình 3.24. Phổ HMBC của **MR4**

Qua các phân tích số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC và HMBC kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [35,36,37] có thể xác định hợp chất **MR4** là β -amyrin *trans*-cinnamate và cấu trúc và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của nó được thể hiện như hình 3.25.



Hình 3.25. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H \rightarrow C) của **MR4**

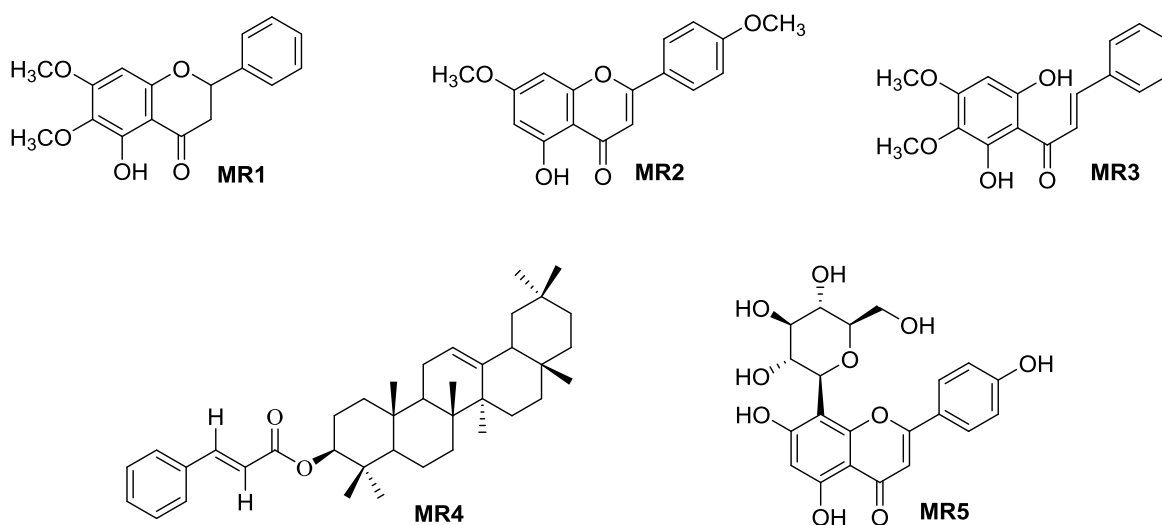
Bảng 3.5. Dữ liệu phổ của chất **MR4** và chất tham khảo

Vị trí	MR4		[35]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$	$\# \delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
1	38,3	1,50 (1H, m) 1,60 (1H, m)	38,2	1,08 1,65
2	23,7	1,56 (1H, m) 1,52 (1H, m)	23,6	1,69 (2H)
3	81,1	4,65 (1H, t, $J=8,4$)	80,1	4,63 (t, $J=8,0$)
4	38,0	-	37,9	-
5	55,3	0,70 (1H, m)	55,2	0,87
6	18,3	1,32 (1H, m) 1,55 (1H, m)	18,2	1,40 1,55
7	32,6	1,32 (1H, m)	32,6	1,32; 1,54
8	39,9	-	39,8	-
9	47,6	1,85 (1H, m)	47,5	1,57
10	36,9	-	38,8	-
11	23,6	1,84 (1H, m)	23,5	1,88 (2H)
12	121,7	5,19 (1H, t, $J=3,0$)	121,6	5,17 (t, $J=3,7$)
13	145,2	-	145,2	-
14	41,8	-	41,7	-
15	26,2	1,74 (1H, m)	26,1	0,94; 1,73
16	27,0	1,73 (1H, m)	26,9	1,43; 1,97
17	32,5	-	32,5	-
18	47,3	1,93 (1H, m)	47,2	1,93

19	46,8	1,65 (1H, m)	46,7	1,01; 1,45
20	31,1	-	31,1	-
21	34,8	1,45 (1H, m)	34,7	1,08; 1,34
22	37,2	1,12 (1H, m)	37,1	1,20; 1,41
23	28,4	0,84 (3H, s)	28,1	0,90 s
24	16,8	1,01 (3H, s)	16,9	0,93 s
25	15,6	1,00 (3H, s)	15,7	0,97 s
26	16,9	0,99 (3H, s)	16,8	0,96 s
27	26,0	1,15 (3H, s)	26,0	1,13 s
28	28,1	0,93 (3H, s)	28,4	0,82 s
29	33,3	0,89 (3H, s)	33,3	0,86 s
30	23,8	0,88 (3H, s)	23,7	0,85 s
1'	166,8	-	166,3	
2'	118,9	6,46 (1H, d, $J= 15,6$)	118,8	6,43 (1H, d, $J= 16,0$)
3'	144,3	7,68 (1H, d, $J= 15,6$)	144,3	7,65 (1H, d, $J= 16,0$)
4'	134,6	-	134,5	-
5', 9'	128,1	7,54 (2H, m)	128,0	7,52
6', 8'	128,9	7,38 (2H, m)	128,8	7,37
7'	130,1	7,26 (1H, brs)	130,1	7,37

δ_H và # δ_C của β -amyrin (1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, $CDCl_3$) [35]

Như vậy, từ cặn chiết *n*-hexane và ethyl acetate của cây Kê huyết đằng đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 5 hợp chất.



Hình 3.26. Các hợp chất phân lập được từ cây Kê huyết đằng

Trong đó có 4 hợp chất thuộc nhóm flavonoid, gồm 01 hợp chất flavanone: 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**), 01 hợp chất flavone: 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**), 01 hợp chất chalcone: pashanone (**MR3**) và 01 hợp chất C-glycosylflavone: apigenin 8-C-glucoside (**MR5**); và 01 hợp chất triterpenoid: β -amyrin *trans*-cinnamate (**MR4**). Đặc trưng cho thành phần hóa học các loài thực vật thuộc chi Thần mát.

3.2. Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cặn chiết và hợp chất

Kết quả thử hoạt tính kháng viêm của các cặn chiết: cặn tổng methanol (**MR**), *n*-hexan (**MRH**), ethyl acetate (**MRE**) và nước (**MRW**) và các hợp chất sạch: 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**), 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**), pashanone (**MR3**), apigenin 8-C-glucoside (**MR5**); và β -amyrin *trans*-cinnamate (**MR4**) thu được từ thân cây Kê huyết đằng được đánh giá thông qua ức chế sinh ra NO kích thích bởi LPS trên đại thực bào RAW 264.7 được trình bày bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả thử khả năng ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7

Mẫu	Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%)	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)	IC ₅₀
Đối chứng (-)	100,00 ± 1,0	101,23 ± 0,7	
Đối chứng (+) [Cardamonin]	86,90 ± 0,8	71,80 ± 0,5	2,13 μM
LPS	0,00 ± 1,2		
MR	58,14 ± 1,5	79,88 ± 2,0	66,81 μg/ml
MRH	52,36 ± 2,2	61,25 ± 1,5	73,24 μg/ml
MRE	66,15 ± 0,9	80,15 ± 1,1	52,15 μg/ml
MRW	30,21 ± 1,6	102,45 ± 2,2	>100 μg/ml
MR1	57,33 ± 2,1	51,28 ± 1,0	49,07 μM
MR2	44,28 ± 1,3	62,55 ± 2,2	>50 μM
MR3	64,35 ± 1,7	67,15 ± 1,5	28,06 μM
MR4	59,78 ± 2,0	78,7 ± 1,7	45,11 μM
MR5	80,25 ± 1,5	90,24 ± 1,8	8,25 μM

*Nồng độ thử nghiệm cao nhất với cặn thô là 100 μg/ml và chất tinh là 50 μM.

Kết quả cho thấy, trong số các căn chiết thì căn **MRE** có khả năng ức chế sản sinh NO tốt nhất và không gây độc cho tế bào với giá trị IC_{50} là 52,15 $\mu\text{g/ml}$. Như vậy, hoạt tính kháng viêm của cây Kê huyết đằng tập chung chủ yếu ở phân đoạn **MRE**. Trong số các hợp chất sạch phân lập được thì hợp chất apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất và không gây độc tế bào với giá trị IC_{50} là 8,25 μM . Kết quả trên góp phần giải thích tác dụng kháng viêm của loài Kê huyết đằng trong dân gian [4,5] và phù hợp với tác dụng kháng viêm tốt của các hợp chất flavonoid [38,39].

Đối với các căn chiết: căn tổng methanol (**MR**) thể hiện hoạt tính kháng viêm *in vitro* trung bình với giá trị IC_{50} 66,81 $\mu\text{g/ml}$, với tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $58,14 \pm 1,5 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót $79,88 \pm 2,0 \%$; trong các căn chiết phân đoạn *n*-hexan (**MRH**), ethyl acetate (**MRE**) và nước (**MRW**) thì căn **MRE** thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} 52,15 $\mu\text{g/ml}$ (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $66,15 \pm 0,9\%$ và tỷ lệ tế bào sống sót là $80,15 \pm 1,1 \%$) tiếp đến là căn *n*-hexan (**MRH**) với giá trị IC_{50} 73,24 $\mu\text{g/ml}$ (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $52,36 \pm 2,2 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót là $61,25 \pm 1,5 \%$) và cuối cùng là căn nước (**MRW**) hầu như không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm, giá trị $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $30,21 \pm 1,6 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót là $102,45 \pm 2,2 \%$). Điều này cho biết, hoạt tính kháng viêm chủ yếu tập trung ở các phân đoạn kém phân cực hơn (*n*-hexan (**MRH**) và ethyl acetate (**MRE**)), định hướng nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học để phát hiện các hoạt chất kháng viêm tốt ưu tiên các phân đoạn này.

Đối với các chất sạch: apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7 *in vitro* mạnh, tốt nhất và không gây độc tế bào với giá trị IC_{50} là 8,25 μM (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $80,25 \pm 1,5 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót là $90,24 \pm 1,8 \%$); tiếp đến là pashanone (**MR3**) thể hiện hoạt tính kháng viêm khá với giá trị IC_{50} 28,06 μM (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $64,35 \pm 1,7 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót là $67,15 \pm 1,5 \%$), hợp 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**) và β -amyrin *trans*-cinnamate (**MR4**) thể hiện hoạt tính kháng viêm ở mức trung bình với giá trị IC_{50} lần lượt là 49,07 μM và 45,11 μM (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $57,33 \pm 2,1\%$ và $59,78 \pm 2,0 \%$; tỷ lệ tế bào sống sót là $51,28 \pm 1,0 \%$ và $78,7 \pm 1,7 \%$ tương ứng) và cuối cùng là 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**) không thể hiện hoạt tính ở nồng

độ thử nghiệm giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$ (tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $44,28 \pm 1,3 \%$ và tỷ lệ tế bào sống sót $62,55 \pm 2,2 \%$).

Về mặt cấu trúc hóa học:

- Trong các hợp chất flavonoid: apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) với bộ khung flavone và có mặt nhóm 3 nhóm thế hydroxyl và đường 8-C-glucoside thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt hơn cả, tiếp đó là hợp chất pashanone (**MR3**) với bộ khung chalcone và 2 nhóm thế methoxyl ở vòng A.

- Với 2 hợp chất khung flavone là apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) và 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**): hợp chất apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) với giá trị IC_{50} là $8,25 \mu M$ thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh hơn nhiều so với hợp chất 4'-methoxytecto-chrysin (**MR2**) với giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$, điều này có thể giải thích do sự có mặt của 3 nhóm thế hydroxyl và đường 8-C-glucoside trong **MR5** so với nhóm 2 nhóm methoxyl và 1 nhóm hydroxyl trong **MR2** là nguyên nhân chính quyết định hoạt tính.

- Với hợp chất 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**) khung flavanone và pashanone (**MR3**) với bộ khung chalcone: chúng đều giống nhau ở các nhóm thế, ở vòng A và B nhưng khác nhau ở vòng C, dẫn đến hoạt tính kháng viêm của pashanone (**MR3**) với bộ khung chalcone (giá trị IC_{50} $28,06 \mu M$) tốt hơn so với 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**) khung flavanone (giá trị IC_{50} lần lượt là $49,07 \mu M$)

KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu hóa thực vật cây Kê huyết đằng (*Millettia reticulata*) ở Lạng Sơn, chúng tôi rút ra được những kết luận chính như sau:

1. Đã phân lập và nhận dạng được cấu trúc hóa học của 5 hợp chất, trong đó có 4 hợp chất flavonoid: 5-hydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (**MR1**), 4'-methoxytectochrysin (**MR2**), pashanone (**MR3**) và apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) và 1 triterpenoid: β -amyrin *trans*-cinnamate (**MR4**).
2. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cặn chiết và hợp chất phân lập từ cây Kê huyết đằng: trong các cặn chiết thì cặn ethyl acetate (**MRE**) có khả năng ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7 tốt nhất với IC_{50} là 52,15 μ g/ml và không gây độc cho tế bào; trong các hợp chất sạch, hợp chất apigenin 8-C-glucoside (**MR5**) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 8,25 μ M và không gây độc tế bào.

KIẾN NGHỊ

1. Tiếp tục nghiên cứu phân lập các hợp chất từ các phân đoạn: *n*-hexane, ethyl acetate và nước để bổ sung và hoàn thiện nghiên cứu về thành phần hóa học của thân cây Kê huyết đằng.

2. Tiếp tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính kháng viêm của các cặn chiết và các hợp chất sạch phân lập được, tiếp tục mở rộng thử nghiệm các hoạt tính sinh học khác để góp phần làm sáng tỏ kinh nghiệm sử dụng dân gian và tác dụng dược lý của loài này.

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

Vu Thi Thu Le, Ngo Thi Trang, Nguyen Thi Hue, Le Thi Huyen, Vu Thanh Dat, Do Tien Lam², “Flavonoids from *milletia reticulata* in Vietnam”, TNU Journal of Science and Technology, 228(01): 184 – 191, 2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Ngọc Phái, Phạm Thanh Huyền, Phan Văn Trường, Nguyễn Tập, Phan Công Tuấn, Nguyễn Văn Ánh, Hồ Quý Phương, Trần Hữu Việt Lợi, Trần Cúc, Huỳnh Minh Đạo, Trịnh Thị Quỳnh, 2017, Kết quả điều tra nguồn tài nguyên cây thuốc tại thành phố Đà Nẵng, *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7*, 1364-1370.
2. Phan Ke Loc, 1988, On the systematic structure of the Vietnamese Flora. In: Proceeding of the first Inter. Symp. On Flora Charact. and Diversity of E. Asian Pl. Kunming, China.
3. J. T. Banzouzu, A. Prost, M. RaJemiarimiraho and P. Ongoka, 2008, Traditional uses of the African *Millettia* species (Fabaceae), *International Journal of Botany*, 4(4), 406-420.
4. Nguyễn Tiên Bân, 2003, *Họ Đậu (Fabaceae) trong Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, NXB Nông nghiệp.
5. Võ Văn Chi, 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học.
6. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, 2004, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
7. Jocelyn Wambui Kamau, 2012, *Phytochemistry and Biological activity of the root extract of Millettia oblata*, Degree Master of Science (Medicinal Chemistry), Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology.
8. Avtar Chand Rana and Bhawna Gulliya, 2019, Chemistry and Pharmacology of Flavonoids- A Review, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53(1), 8-20.
9. Tian-yang Wang, Qing Li and Kai-shun Bi, 2018, Review-Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12-23.
10. A. H. M. Mahbubur Rahman and M. Ismot Ara Parvin, 2014, Study of Medicinal Uses on Fabaceae Family at RaJshahi, Bangladesh, *Research in Plant Sciences*, 2(1), 6-8.
11. Frits Adema, 2000, Notes on Malesian Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae) and 7 The genus *Millettia*, *Blumea*, 45(2), 403-425.

12. J. T. Banzouzu, A. Prost, M. RaJemiarimiraho and P. Ongoka, 2008, Traditional uses of the African *Millettia* species (Fabaceae), *International Journal of Botany*, 4(4), 406-420.
13. Barasa Leonar, 2011, *Phytochemical investigation of the stem bark of Millettia oblata spp. teitensis for antiplasmodial and larvicidal principles*, Master of Science Chemistry Degree, University of Nairobi.
14. Haoyu Ye, Afu Fu, Wenshuang Wu, Yanfang Li, Guangcheng Wang, Minghai Tang, Shucan Li, Shichao He, ShiJie Zhong, HuiJun Lai et al, 2012, Cytotoxic and apoptotic effects of constituents from *Millettia pachycarpa* Benth, *Fitoterapia*, 83(8), 1402-1408.
15. Léopold Havyarimana, Simplicie Tatsimo Ndendoung, Jean de Dieu Tamokou, Alex de Théodore Atchadé and Joseph Mbafor Tanyi, 2012, Chemical constituents of *Millettia barteri* and their antimicrobial and antioxidant activities, *Research Article*, 50(2), 141-146.
16. Xiaowei Huo, Leilei Zhang, Li Gao, Yan Guo, LiJing Zhang, Liyong Li, Jianyong Si and Li Cao, 2015, Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Ethanol Extract and Isolated Compounds from *Millettia pulchra*, *Regular Article*, 38(9), 1328-1336.
17. Song-Chwan Fang, Chin-Lin Hsu, Hsin-Tang Lin and Gow-Chin Yen, 2010, Anticancer Effects of Flavonoid Derivatives Isolated from *Millettia reticulata* Benth in SK-Hep-1 Human Hepatocellular Carcinoma Cells, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 814-820.
18. Chien-Chen Hsu, Chin-Lin Hsu, Shao-En Tsai, Timothy Yu-Chi Fu, Gow-Chin Yen, 2009, Protective effect of *Millettia reticulata* Benth against CCl₄-induced hepatic damage and inflammatory action in rats, *J Med Food*, 12(4):821-828. doi: 10.1089/jmf.2008.1227.
19. H.P. Kim, K.H. Son, H.W. Chang, S.S. Kang, 2004, Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms, *Journal of Pharmacological Sciences*, 96, 229-245
20. Nguyễn Kim Phi Phụng, *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 2007.
21. Nguyễn Đình Thành, *Cơ sở các phương pháp phổ ứng dụng trong hóa học*, Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2011.

22. Verena M. Dirsch et al., "The Griess Assay: Suitable for a Bio-guided Fractionation of Anti-Inflammatory Plant Extracts?" *Plant Med*, Vol. 64, No. 5, pp. 423-426, 1998.
23. Fumio Amano, "Inhibitory Effects of Hydrolyzable Tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour. on Nitric Oxide Production by a Murine Macrophage-Like Cell Line, RAW264.7, Activated with Lipopolysaccharide and Interferon- γ ," *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 2, No. 6, pp. 647-653, 1999.
24. Trần Thị Thanh Thủy, Trần Đức Quân, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Trần Văn Sung, 2009, Chemical constituents of *Milium sinense* Finet et Gagnep. (Annonaceae). Part 1 – Flavonoides, *Tạp chí Hóa Học*, Vol. 47, No.6, 745-748.
25. Hyuk Yoon, Sunglock Eom, Jiye Hyun, Geunhyeong Jo, Doseok Hwang, Sunhee Lee, Yeonjoong Yong, Jun Cheol Park, Young Han Lee and Yoongho Lim, 2011, ^1H and ^{13}C NMR Data on Hydroxy/methoxy Flavonoids and the Effects of Substituents on Chemical Shifts, *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. 32, No.6, 2101-2107.
26. Juan Carlos Romero-Benavides, Gina C. Ortega-Torres, Javier Villacis, Sara L. Vivanco-Jaramillo, Karla I. Galarza-Urgilés, and Natalia Bailon-Moscoso, 2018, Phytochemical Study and Evaluation of the Cytotoxic Properties of Methanolic Extract from *Baccharis obtusifolia*, *International Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 2018, Article ID 8908435, 1-5.
27. Rumbidzai Mangoyi, Jacob Midiwo, and Stanley Mukanganyama, 2015, Isolation and characterization of an antifungal compound 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone from *Combretum zeyheri*, *BMC Complement Altern Med.*, 15: 405.
28. Hailemariam A, Feyera M, Deyou T, Abdissa N, 2018, Antimicrobial Chalcones from the Seeds of *Persicaria lapathifolia*, *Biochem Pharmacol (Los Angel)*, 7:237. doi: 10.4172/2167-0501.1000237.
29. Yoon, C.-S.; Lee, H.; Liu, Z.; Lee, H.-K.; Lee, D.-S., 2022, Effects of Compounds Isolated from *Lindera erythrocarpa* on Anti-Inflammatory and Anti-Neuroinflammatory Action in BV2 Microglia and RAW264.7 Macrophage. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 7122. <https://doi.org/10.3390/ijms23137122>
30. Silvia N. López, Manuel Gonzalez Sierra, Susana J. Gattuso, Ricardo L. Furlan, Susana A. Zacchino, 2006, An unusual homoisoflavanone and a

structurally-related dihydrochalcone from *Polygonum ferrugineum* (Polygonaceae), *Phytochemistry*, 67, 2152–2158

31. A. V. Kurkina, Tatyana Ryasanova, Kurkin Vladimir Alexandrovich, 2013, Flavonoids from the Aerial Part of *Polygonum hydropiper*, *Chemistry of Natural Compounds*, 49(5), DOI:10.1007/s10600-013-0758-y.

32. R Kubinova, R Porizkova, T Bartl, A Navratilova, A Čizek, M Valentova, 2014, Biological activities of polyphenols from *Polygonum lapathifolium*, *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 13(6): 506 – 516.

33. Le Canh Viet Cuong, Do Thi Trang, Nguyen Thi Cuc, Nguyen Xuan Nhiem, Pham Hai Yen, Hoang Le Tuan Anh, Le Mai Huong, Chau Van Minh, Phan Van Kiem, 2015, Flavonoid glycosides from *Antidesma ghaesembilla*, *Vietnam Journal of Chemistry*, vol. 53(2e) 94-97.

34. Shike Liu, Yunbin Lyu, Shiqin Yu, Jie Cheng, and Jingwen Zhou, 2021, Efficient Production of Orientin and Vitexin from Luteolin and Apigenin Using Coupled Catalysis of Glycosyltransferase and Sucrose Synthase, *J. Agric. Food Chem.*, 69, 23, 6578–6587.

35. Toshihiro Akihisa, Nobuo Kojima, Takashi Kikuchi, Ken Yasukawa, Harukuni Tokuda, Eliot T. Masters, Aranya Manosroi and Jiradej Manosroi, 2010, Anti-Inflammatory and Chemopreventive Effects of Triterpene Cinnamates and Acetates from Shea Fat, *Journal of Oleo Science*, 59, (6) 273-280.

36. Virgilio D. Ebajo Jr., Robert Brkljača, Sylvia Urban, Consolacion Y. Ragasa, 2015, Chemical Constituents of *Hoya buotii* Kloppenb. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. 5 (11), pp. 069-072.

37. Consolacion Y Ragasa, Virgilio D. Ebajo Jr., Mariquit M. De Los Reyes, Emelina H Mandia, Robert Brkljača, Sylvia Urban, 2015 Triterpenes and Sterols from *Sonneratia alba*, *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*; 6(6); 256-261.

38. Soheila J Maleki, Jesus F Crespo, Beatriz Cabanillas, 2019, Anti-inflammatory effects of flavonoids, *Food Chem.*, 30; 299:125124. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125124.

39. Al-Khayri, J.M.; Sahana, G.R.; Nagella, P.; Joseph, B.V.; Alessa, F.M.; Al-Mssallem, M.Q., 2022, Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review, *Molecules*, 27, 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>