

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



HỒ VĂN BAN

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA HAI LOÀI
AMESIODENDRON CHINENSE (SAPINDACEAE) VÀ
BACCAUREA SYLVESTRIS (PHYLLANTHACEAE)

LUẬN ÁN TIẾN SỸ HÓA HỌC

Hà Nội - 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



HỒ VĂN BAN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA HAI LOÀI
AMESIODENDRON CHINENSE (SAPINDACEAE) VÀ
BACCAUREA SYLVESTRIS (PHYLLANTHACEAE)**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 944 01 14

LUẬN ÁN TIẾN SỸ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS. TS. NGUYỄN QUỐC VƯỢNG

2. TS. NGUYỄN LÊ TUẤN

Hà Nội - 2023

MỤC LỤC

MỤC LỤC	i
LỜI CAM ĐOAN	ix
LỜI CẢM ƠN	x
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT.....	xv
DANH MỤC BẢNG BIỂU	xviii
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ.....	xx
DANH MỤC PHỤ LỤC PHỔ	xxiii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Họ Bồ hòn (Sapindaceae) và chi <i>Amensiodendron</i>	3
1.1.1. Họ Bồ hòn	3
1.1.2. Chi <i>Amensiodendron</i>	3
1.1.2.1. Phân loại.....	3
1.1.2.2. Phân bố và đặc điểm thực vật chi <i>Amensiodendron</i>	3
• Phân bố.....	3
• Đặc điểm thực vật của các loài thuộc chi <i>Amensiodendron</i>	4
1.1.3. Loài trường sinh (<i>Amesiodendron chinese</i>).....	4
1.1.4. Ứng dụng trong y học cổ truyền và giá trị của một số loài trong họ Bồ hòn(<i>Sapindaceae</i>).....	4
1.1.4.1. Chi <i>Sapindus</i>	4
1.1.4.2. Chi <i>Dodonaea</i>	5
1.1.4.3. Chi <i>Litchi</i>	5
1.1.4.4. Một số chi khác	5
1.1.5. Thành phần hóa học của các loài thuộc họ Bồ hòn.....	5
1.1.5.1. Lớp chất saponin.....	6
1.1.5.2. Lớp chất flavonoid.....	7
• Lớp chất flavonoid đơn giản	7
• Lớp chất glycosylflavonoid.....	12
1.1.5.3. Lớp chất lignan.....	13
1.1.5.4. Các lớp chất khác	14

1.1.6. Hoạt tính sinh học của một số loài trong họ Bồ hòn	15
1.1.6.1. Hoạt tính chống oxi hóa	15
1.1.6.2. Hoạt tính kháng khuẩn	18
1.1.6.3. Hoạt tính chống ung thư	19
1.1.6.4. Hoạt tính sinh học khác	20
1.2. Giới thiệu về chi <i>Baccaurea</i>	21
1.2.1. Phân loại.....	21
1.2.2. Phân bố và đặc điểm thực vật.....	21
1.2.2.1. Phân bố.....	21
1.2.2.2. Đặc điểm thực vật của các loài thuộc chi <i>Baccaurea</i>	21
1.2.2.3. Giới thiệu về loài <i>Du moóc</i> (<i>B. sylvestris</i>).....	22
1.2.3. Ứng dụng trong y học cổ truyền của một số loài thuộc chi <i>Baccaurea</i>	22
1.2.4. Thành phần hóa học của các loài thuộc chi <i>Baccaurea</i>.....	23
1.2.4.1. Lớp chất phenolic	23
1.2.4.2. Lớp chất flavonoid.....	24
1.2.4.3. Lớp chất khác.....	24
1.2.5. Hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi <i>Baccaurea</i>	25
1.2.5.1. Hoạt tính chống oxi hóa	25
1.2.5.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm và kháng nấm.....	26
1.2.5.3. Hoạt tính chống ung thư	28
1.2.5.4. Hoạt tính sinh học khác	28
1.3. Tình hình nghiên cứu về loài <i>Amensiodendron chinense</i> (Merr.) Hu và loài <i>Baccaurea sylvestris</i> Lour trên thế giới và Việt Nam	29
CHƯƠNG 2: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU - THỰC NGHIỆM	30
2.1. Đối tượng nghiên cứu	30
2.1.1. Loài <i>A. chinense</i>	30
2.1.2. Loài <i>B. sylvestris</i>	30
2.2. Phương pháp nghiên cứu	31
2.2.1. Phương pháp chiết và phân lập các hoạt chất.....	31
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc	32

2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào <i>in vitro</i>	32
2.2.3.1. Dòng tế bào nghiên cứu.....	32
2.2.3.2. Phương pháp nuôi cấy <i>in vitro</i>	32
2.2.4. Phương pháp thủy phân acid để xác định cấu trúc của đường.....	32
2.3. Thiết bị và hóa chất	33
2.3.1. Thiết bị.....	33
2.3.2. Hóa chất	34
2.4. Thực nghiệm.....	35
2.4.1. Chiết xuất và phân lập các hoạt chất từ lá của loài <i>A. chinense</i>	35
2.4.2. Chiết xuất và phân lập các hoạt chất từ hoa của loài <i>A. chinense</i>	36
2.4.3. Chiết xuất và phân lập hoạt chất từ lá của loài <i>B. sylvestris</i>	38
2.4.4. Hoạt tính gây độc tế bào	39
2.5. Dữ liệu phổ và tính chất vật lí của các chất đã phân lập	40
2.5.1. Các chất phân lập từ lá của loài <i>A. chinense</i>	40
• Hợp chất AC1: amesiflavone A (chất mới)	40
• Hợp chất AC2: amesiflavone B (chất mới)	40
• Hợp chất AC3: amesiflavone C (chất mới)	40
• Hợp chất AC4: (+)-aptosimon.....	40
• Hợp chất AC5: (+)-isolariciresinol.....	41
• Hợp chất AC6: (-)-cleomiscosin A.....	41
• Hợp chất AC7: (-)-cleomiscosin C	41
• Hợp chất AC8: β -sitosterol.....	42
• Hợp chất AC9: daucosterol	42
• Hợp chất AC10: 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde	43
• Hợp chất AC11: protocatechuic acid methyl ester.....	43
• Hợp chất AC12: protocatechuic acid	43
2.5.2. Các chất phân lập từ hoa của loài <i>A. chinense</i>	43
• Hợp chất AC13: astralagin.....	43
• Hợp chất AC14: kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside	44
• Hợp chất AC15: quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside.....	44

• Hợp chất AC16: (-)- <i>epi-catechin</i>	44
• Hợp chất AC17: (-)- <i>catechin</i>	45
• Hợp chất AC18: 3'- <i>methoxyluteolin (chrysoeriol)</i>	45
• Hợp chất AC3 (là chất mới được đặt tên là <i>amesiflavone C</i>).....	45
2.5.3. Các hợp chất phân lập từ lá của loài <i>B. sylvestris</i>.....	45
• Hợp chất BS1: <i>friedelin</i>	45
• Hợp chất BS2: 3 β - <i>friedelanol</i>	46
• Hợp chất BS3: <i>stigmast-4-en-3-one</i>	46
• Hợp chất BS4: (-)- <i>epiafzelechin</i>	46
• Hợp chất BS5: 4- <i>hydroxybenzaldehyde</i>	47
• Hợp chất BS6: 4- <i>hydroxybenzoic acid</i>	47
• Hợp chất BS7: (3,4,5- <i>trimethoxyphenyl-β-D-glucopyranoside</i>).....	47
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	48
3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất được phân lập từ loài <i>A. chinense</i>.....	48
3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ lá của loài <i>A. chinense</i>.....	49
3.1.1.1. Hợp chất AC1: <i>amesiflavone A</i>	49
3.1.1.2. Hợp chất AC2: <i>amesiflavone B</i>	58
3.1.1.3. Hợp chất AC3: <i>amesiflavone C</i>	67
3.1.1.4. Hợp chất AC4: (+)- <i>aptosimon</i>	77
3.1.1.5. Hợp chất AC5: (+)- <i>isolariciresinol</i>	81
3.1.1.6. Hợp chất AC6: (-)- <i>cleomiscosin A</i>	85
3.1.1.7. Hợp chất AC7: (-)- <i>cleomiscosin C</i>	88
3.1.1.8. Hợp chất AC8: β - <i>sistosterol</i>	91
3.1.1.9. Hợp chất AC9: <i>daucosterol</i>	91
3.1.1.10. Hợp chất AC10, AC11, AC12.....	92
3.1.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ hoa của loài <i>A. chinense</i>.....	94
3.1.2.1. Hợp chất AC13: <i>astralagin</i>	94
3.1.2.2. Hợp chất AC14: <i>kaempferide 3-O-β-D-glucopyranoside</i>	96
3.1.2.3. Hợp chất AC15: <i>quercetin 3-O-β-D-glucoside</i>	98
3.1.2.4. Hợp chất AC16: (-)- <i>epi-catechin</i>	100

3.1.2.5. Hợp chất AC17: (-)-catechin	103
3.1.2.6. Hợp chất AC18: (3'-methoxyluteolin, chrysoeriol)	105
3.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất được phân lập từ lá của loài <i>B. sylvestris</i>	107
3.2.1. Hợp chất BS1: friedelin	108
3.2.2. Hợp chất BS2: 3 β -friedelanol.....	110
3.2.3. Hợp chất BS3: stigmast-4-en-3-one	113
3.2.4. Hợp chất BS4: (-)-epiafzelechin.....	115
3.2.5. Hợp chất BS5: 4-hydroxybenzaldehyde	116
3.2.6. Hợp chất BS6: 4-hydroxybenzoic acid.....	117
3.2.7. Hợp chất BS7: 3,4,5-trimethoxyphenol-1-O- β -D-glucopyranoside.....	118
3.3. Hoạt tính sinh học của cao chiết và các hợp chất sạch được phân lập từ loài <i>A. chinense</i> và loài <i>B. sylvestris</i>	120
3.3.1. Kết quả thử hoạt tính sinh học của một số cao chiết từ loài <i>A. chinense</i> và loài <i>B. sylvestris</i>	120
3.3.2. Kết quả thử hoạt tính độc tế bào của một số hợp chất chọn lọc từ loài <i>A. chinense</i>	120
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	122
KẾT LUẬN	122
KIẾN NGHỊ	123
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN..	124
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	125
PHỤ LỤC PHỔ.....	1PL
PHỤ LỤC: KẾT QUẢ THỬ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO	131PL

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của **PGS.TS Nguyễn Quốc Vượng** và **TS. Nguyễn Lê Tuấn**, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng được ai công bố ở bất cứ công trình nào khác.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Tác giả luận án

Hồ Văn Ban

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Với lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới **PGS.TS Nguyễn Quốc Vượng** và **TS Nguyễn Lê Tuấn**, những người thầy đã tận tình hướng dẫn, hết lòng chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong thời gian làm luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã quan tâm, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự quan tâm giúp đỡ của tập thể Phòng Công nghệ hóa dược- Viện Hóa sinh biển đã giúp đỡ và chỉ bảo tôi trong quá trình làm luận án tại đây.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới Lãnh đạo Viện Hóa Sinh Biển và quý thầy cô đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận án của mình.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu và Khoa Khoa học Tự nhiên- Đại học Quy Nhơn đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện tối đã để tôi có thể học tập tốt và hoàn thành luận án tiến sĩ đúng mục tiêu đề ra.

Luận án này được hỗ trợ kinh phí và thực hiện trong khuôn khổ đề tài thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, hướng “Đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học”, mã số đề tài VAST 04.04/18-19 do TS Trịnh Thị Thanh Vân làm chủ nhiệm.

Cuối cùng tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến những người thân trong gia đình, bạn bè và đồng nghiệp đã động viên và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tác giả

Hồ Văn Ban

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

A-431	Human epidermoid carcinoma cells	Tế bào ung thư biểu bì
A-498	Human Renal Carcinoma cell line	Tế bào ung thư biểu mô thận
A-549	Human lung cancer	Tế bào ung thư phổi
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid	
AGS	Human gastric epithelial	Tế bào ung thư biểu mô dạ dày
aP2	Gen expression of fatty acid-binding protein	Gen liên kết giữa protein và acid béo
BHA	Butylated hydroxyanisol	Butyl hydroxyanisol (Chất bắt gốc tự do chuẩn)
BHT	Butylated hydroxytoluene	Butyl hydroxytoluene Chất bắt gốc tự do chuẩn
BS	<i>Baccaurea sylvestris</i>	Loài Du Moóc
¹³ C-NMR Spectroscopy	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13.
CD	(concentration to double quinone reductase activity)	nồng độ để tăng gấp đôi hoạt tính men quinone)
COSY	Correlated Spectroscopy	Phổ tương tác H-H
CTPT		Công thức phân tử
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	Phổ DEPT
DMSO- <i>d</i> 6	Dimethyl sulfoxide	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
EC ₅₀	Half maximal effective concentration	Nồng độ hiệu quả 50%
ED ₅₀	Effective dose 50	Liều lượng hiệu quả 50%
EtOH	Ethanol	Ethanol
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetate
ESI-MS	Electron Spray Ionization Mass Spectroscopy	Phổ khối lượng phun mù điện tử
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power	Khả năng khử chất oxi hóa Fe ³⁺
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
H1299		Tế bào ung thư phổi
HCT116	Human colon cancer cell line	Tế bào ung thư ruột kết
HDL	High Density Lipoprotein Cholesterol	Cholesterol lipoprotein tỉ trọng cao
Hela	Human cervical carcinoma	Tế bào ung thư đốt sống cổ
HELF	Human embryonic lung fibroblast	Tế bào ung thư nguyên bào sợi.
Hep-G2	Human hepatoma	Tế bào ung thư gan
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence	Tương tác dị nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao.
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Tương tác hạt nhân qua một liên kết
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cell	Tế bào nội mô tĩnh mạch rốn của con người
HT29	Human colorectal denocarcinoma cell line	Tế bào ung thư biểu mô tuyến trực tràng
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối đa 50%
<i>J</i>		Hằng số tương tác (Hz)
δ		Độ dịch chuyển hóa học (<i>ppm</i>)
LC ₅₀	Letal concentration	Nồng độ gây chết 50%
LNCaP	Lymph node carcinoma of the prostate	Tế bào ung thư biểu mô tuyến tiền liệt
Lu-1	Human lung cancer	Tế bào ung thư phổi ở người
KB		Tế bào ung thư biểu mô ở miệng
MCF 7	Michigan cancer foundation-7	Tế bào ung thư vú
MeOH	Methanol	Methanol
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MTT	3-(4,5-dimethylthia-zol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	3-(4,5-dimethylthia-zol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy	Phổ hiệu ứng hạt nhân proton tiếng vọng xa (không gian)

NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity	Khả năng bắt gốc tự do
PC3	Prostate adenocarcinoma	Ung thư tiền liệt
<i>s/d/t/dd/m/br s</i>	Singlet/douplet/triplet/douplet of doublet/multiplet/broad singlet	Đơn/kép/ doublet of doublet/ multiplet/broad singlet
SD ₅₀	50% Supression Dose	Liều lượng ức chế 50%
SKC	Column chromatography	Sắc ký cột
SKLM	Thin layer chromatography	Sắc kí lớp mỏng
SK-MEL-5	melanoma	Tế bào u ác tính
SRB	Sulforhodamine B	Sulforhodamine B (chất được dùng để thử độc tính tế bào)
SK-OV-3	Human ovarian carcinoma	Tế bào ung thư biểu mô buồng trứng
SW480	Human colon adenocarcinoma	Tế bào ung thư đại tràng ở người
TBHQ	<i>tert</i> -Butylhydroquinone	<i>tert</i> -Butylhydroquinone (Chất bắt gốc tự do)
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Chất chống oxi hóa chuẩn)
UV	Ultraviolet-Visible spectroscopy	Phổ Tử ngoại - khả kiến

DANH MỤC BẢNG BIỂU

<i>Bảng 1.1.</i> Hoạt tính chống oxy hóa của một số hợp chất từ họ Bồ hòn	17
<i>Bảng 1.2.</i> Một số loài thuộc chi <i>Baccaurea</i> phân bố tại Việt Nam	21
<i>Bảng 2.1.</i> Danh mục hóa chất dùng trong thực nghiệm.....	34
<i>Bảng 3.1.</i> Phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất AC1 và chất tham khảo.....	57
<i>Bảng 3.2.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất AC2.....	66
<i>Bảng 3.3.</i> Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong $\text{DMSO-}d_6$ của AC3 và cassiaoccidentalinalin A.....	76
<i>Bảng 3.4.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl_3 của hợp chất AC4 và chất tham khảo	80
<i>Bảng 3.5.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong MeOD của hợp chất AC5 và chất tham khảo	84
<i>Bảng 3.6.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong $\text{DMSO-}d_6$ của hợp chất AC6 và của chất tham khảo	87
<i>Bảng 3.7.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất AC7 và chất tham khảo.....	90
<i>Bảng 3.8.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của các hợp chất AC10, AC11, AC12 và các hợp chất tham khảo	93
<i>Bảng 3.9.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất AC13 và chất tham khảo	95
<i>Bảng 3.10.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong dung môi $\text{DMSO-}d_6$ của hợp chất AC14 và chất tham khảo	97
<i>Bảng 3.11.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất AC15 và chất tham khảo	99
<i>Bảng 3.12.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất AC16 và chất tham khảo	102
<i>Bảng 3.13.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất AC17 và chất tham khảo	104
<i>Bảng 3.14.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong $\text{acetone-}d_6$ của của hợp chất AC18 và chất tham khảo	107
<i>Bảng 3.15.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl_3 của hợp chất BS1 và chất tham khảo	109
<i>Bảng 3.16.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl_3 của hợp chất BS2 và chất tham khảo	112

<i>Bảng 3.17.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl_3 của hợp chất BS3 và chất tham khảo	114
<i>Bảng 3.18.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất BS4 đo trong CD_3OD và chất tham khảo	116
<i>Bảng 3.19.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất BS5 và chất tham khảo	117
<i>Bảng 3.20.</i> Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất BS6 và chất tham khảo	118
<i>Bảng 3.21.</i> Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất BS7 và chất tham khảo	119
<i>Bảng 3.22.</i> Kết quả thử độc tính tế bào của một số cao chiết loài <i>A. chinense</i> và loài <i>B. sylvestris</i>	120
<i>Bảng 3.23.</i> Kết quả thử độc tính tế bào của 7 hợp chất từ loài <i>A. chinense</i>	121

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

Hình 2.1. Mẫu tiêu bản của loài <i>A. chinense</i>	30
Hình 2.2. Mẫu tiêu bản của loài <i>B. sylvestris</i>	31
Hình 2.3. Sơ đồ phân lập các chất từ lá của loài <i>A. chinense</i>	36
Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các chất từ hoa của loài <i>A. chinense</i>	37
Hình 2.5. Sơ đồ phân lập các chất từ lá của loài <i>B. sylvestris</i>	39
Hình 3.1. Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ lá của loài <i>A. chinense</i>	48
Hình 3.2. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ hoa của loài <i>A. chinense</i>	49
Hình 3.3. Cấu trúc của hợp chất AC1	49
Hình 3.4. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC1	49
Hình 3.5. Phổ UV-Vis của hợp chất AC1	50
Hình 3.6. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất AC1	50
Hình 3.7. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC1	52
Hình 3.8. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC1	53
Hình 3.9. Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC1	53
Hình 3.10. Phổ COSY giãn 2 của hợp chất AC2.....	54
Hình 3.11. Phổ COSY giãn 3 của hợp chất AC1	54
Hình 3.12. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC1	55
Hình 3.13. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC1	55
Hình 3.14. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC1	56
Hình 3.15. Phổ NOESY giãn của hợp chất AC1	56
Hình 3.16. Một số tương tác COSY, HMBC và NOSEY chính của hợp chất AC1 ..	58
Hình 3.17. Cấu trúc của hợp chất AC2	58
Hình 3.18. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC2.....	59
Hình 3.19. Phổ UV-Vis của hợp chất AC2.....	59
Hình 3.20. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC2.....	60
Hình 3.21. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC2.....	61
Hình 3.22. Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC2.....	62
Hình 3.23. Phổ COSY giãn 2 của hợp chất AC2.....	63
Hình 3.24. Phổ COSY giãn 3 của hợp chất AC2.....	63
Hình 3.25. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC2.....	64
Hình 3.26. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC2.....	64

<i>Hình 3.27.</i> Phổ HMBC giã 3 của hợp chất AC2	64
<i>Hình 3.28.</i> Phổ NOESY giã của hợp chất AC2	65
<i>Hình 3.29.</i> Một số tương tác COSY, HMBC và NOSEY chính của hợp chất AC2 và phân đường 6-C- β -6-deoxygulopyranosyl	67
<i>Hình 3.30.</i> Cấu trúc của hợp chất AC3	67
<i>Hình 3.31.</i> Phổ hồng ngoại của hợp chất AC3	68
<i>Hình 3.32.</i> Phổ UV-Vis của hợp chất AC3	68
<i>Hình 3.33.</i> Phổ HR-ESI-MS của hợp chất AC3	69
<i>Hình 3.34.</i> Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở 60°C	70
<i>Hình 3.35.</i> Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở nhiệt độ thường	70
<i>Hình 3.36.</i> Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC3	71
<i>Hình 3.37.</i> Phổ COSY của hợp chất AC3	72
<i>Hình 3.38.</i> Phổ COSY giã của hợp chất AC3	72
<i>Hình 3.39.</i> Phổ HMBC giã 1 của hợp chất AC3	73
<i>Hình 3.40.</i> Phổ HMBC giã 2 của hợp chất AC3	73
<i>Hình 3.41.</i> Phổ HMBC giã 3 của hợp chất AC3	74
<i>Hình 3.42.</i> Phổ NOESY giã 1 của hợp chất AC3	75
<i>Hình 3.43.</i> Phổ NOESY giã 2 của hợp chất AC3	75
<i>Hình 3.44.</i> Một số tương tác COSY, HMBC và NOSEY chính của hợp chất AC3 và phân đường 6-C- β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl	76
<i>Hình 3.45.</i> Cấu trúc của hợp chất AC4	77
<i>Hình 3.46.</i> Phổ COSY giã của hợp chất AC4	78
<i>Hình 3.47.</i> Phổ HMBC của hợp chất AC4	79
<i>Hình 3.48.</i> Phổ HMBC giã 1 của hợp chất AC4	79
<i>Hình 3.49.</i> Phổ HMBC giã 2 của hợp chất AC4	79
<i>Hình 3.50.</i> Phổ HMBC giã 4 của hợp chất AC4	80
<i>Hình 3.51.</i> Một số tương tác chính COSY, HMBC và NOESY của hợp chất AC4	81
<i>Hình 3.52.</i> Cấu trúc của hợp chất AC5	81
<i>Hình 3.53.</i> Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC5	82
<i>Hình 3.54.</i> Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC5	83
<i>Hình 3.55.</i> Một số tương tác chính COSY, HMBC và NOESY của hợp chất AC5	84
<i>Hình 3.56.</i> Cấu trúc của hợp chất AC6	85

Hình 3.57. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC6.....	85
Hình 3.58. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC6.....	86
Hình 3.59. Một số tương tác chính HMBC và NOESY của hợp chất AC6.....	88
Hình 3.60. Cấu trúc của hợp chất AC7	88
Hình 3.61. Một số tương tác chính HMBC và NEOSY của hợp chất AC7.....	90
Hình 3.62. Cấu trúc của hợp chất AC8	91
Hình 3.63. Cấu trúc của hợp chất AC9	91
Hình 3.64. Cấu trúc của các hợp chất AC10, AC11, AC12.....	92
Hình 3.65. Cấu trúc của hợp chất AC13	94
Hình 3.66. Cấu trúc của hợp chất AC14	96
Hình 3.67. Cấu trúc của hợp chất AC15	98
Hình 3.68. Cấu trúc của hợp chất AC16	100
Hình 3.69. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC16.....	100
Hình 3.70. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC16.....	101
Hình 3.71. Một số tương tác chính COSY và HMBC của hợp chất AC16	102
Hình 3.72. Cấu trúc của hợp chất AC17	103
Hình 3.73. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC17.....	103
Hình 3.74. Cấu trúc của hợp chất AC18	105
Hình 3.75. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC18.....	105
Hình 3.76. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC18.....	106
Hình 3.77. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất AC18.....	107
Hình 3.78. Cấu trúc của các hợp chất được phân lập từ lá của loài <i>B. sylvestris</i> ...	108
Hình 3.79. Cấu trúc của hợp chất BS1	108
Hình 3.80. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất BS1	110
Hình 3.81. Cấu trúc của hợp chất BS2.....	110
Hình 3.82. Một số tương tác chính trong phổ HMBC của hợp chất BS2.....	112
Hình 3.83. Cấu trúc của hợp chất BS3.....	113
Hình 3.84. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất BS3	115
Hình 3.85. Cấu trúc của hợp chất BS4.....	115
Hình 3.86. Cấu trúc của hợp chất BS5.....	116
Hình 3.87. Cấu trúc của hợp chất BS6.....	117
Hình 3.88. Cấu trúc của hợp chất BS7.....	118

DANH MỤC PHỤ LỤC PHỔ

Phụ lục 1: Phổ MS, IR, UV-Vis, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, của hợp chất AC1: amesiflavone A	1PL
Phụ lục 2: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, IR của hợp chất AC2: amesiflavone B.....	12PL
Phụ lục 3: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, IR của hợp chất AC3: amesiflavone C	24PL
Phụ lục 4: Phổ IR, UV-Vis, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, của hợp chất AC4: (+)-aptosimon.....	36PL
Phụ lục 5: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC5: (+)-isolariciresinol.....	45PL
Phụ lục 6: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC6: (-)-cleomiscosin A.....	55PL
Phụ lục 7: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC7: (-)-cleomiscosin C.....	66PL
Phụ lục 8: Phổ MS, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT của hợp chất AC8: β -sistosterol.....	75PL
Phụ lục 9: Phổ ¹ H-NMR và ¹³ C-NMR của hợp chất AC9: daucosterol.....	77PL
Phụ lục 10: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, MS, của hợp chất AC10: vanilin. 78PL	78PL
Phụ lục 11: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, MS của hợp chất AC11: protocatechuic acid methyl ester	80PL
Phụ lục 12: Phổ ¹ H-NMR, phổ ¹³ C-NMR, phổ DEPT, phổ MS của hợp chất AC12: protocatechuic acid.....	82PL
Phụ lục 13: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, MS của hợp chất AC13: astralagin	84PL
Phụ lục 14: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, MS của hợp chất AC14: kaempferide 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	87PL
Phụ lục 15: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, MS của hợp chất AC15: quercetin 3- <i>O</i> - β -D-glucoside	90PL
Phụ lục 16: Phổ ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, MS của hợp chất AC16: (-)-epi-catechin.....	93PL

Phụ lục 17: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC17: (-)-catechin.....	99PL
Phụ lục 18: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất AC18: (3'-methoxyluteolin, chrysoeriol).....	102PL
Phụ lục 19: Phổ của hợp chất AC19 giống như hợp chất AC3.....	107PL
Phụ lục 20: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất BS1: friedelin	107PL
Phụ lục 21: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất BS2: 3β -friedelanol	112PL
Phụ lục 22: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất BS3: stigmast-4-en-3-one.....	116PL
Phụ lục 23: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS của hợp chất BS4: (-)-epiafzelechin.....	121PL
Phụ lục 24: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, phổ khối của hợp chất BS5: 4-hydroxybenzaldehyde	124PL
Phụ lục 25: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất BS6: 4-hydroxybenzoic acid	126PL
Phụ lục 26: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất BS7: 3,4,5-trimethoxyphenol-1- O - β -D-glucopyranoside	128PL

MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển khoa học kỹ thuật, con người hiện nay đối mặt với không ít thách thức về ô nhiễm môi trường và dịch bệnh, trong đó bệnh ung thư đã và đang được đặc biệt quan tâm. Theo tổ chức Y tế thế giới (WHO), số lượng người mắc ung thư trên toàn thế giới ngày càng tăng và số người tử vong càng nhiều. Năm 2018, số người tử vong ước tính gần 9,6 triệu người. Việt Nam có 165000 ca mắc ung thư mới và trung bình 115000 người chết vì ung thư mỗi năm [1]. Các phương pháp điều trị ung thư mới sử dụng các thiết bị hiện đại và các thuốc điều trị ung thư mới đã không ngừng phát triển nhằm đáp ứng nhu cầu chữa bệnh cho con người. Tuy nhiên, việc sử dụng các thuốc tổng hợp hóa học trong điều trị ung thư thường gây ra các tác dụng phụ. Do đó, việc tìm kiếm phát hiện các hoạt chất có hoạt tính kháng ung thư từ thực vật nhằm tạo ra các loại thuốc chữa ung thư mới có giá, trị an toàn, hiệu quả và ít tác dụng phụ luôn luôn là yêu cầu cấp thiết.

Việt Nam là một nước nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nên có hệ thực vật đa dạng và phong phú, ước tính, có khoảng gần 13000 loài thực vật bậc cao trong đó có khoảng hơn 4000 loài được sử dụng làm thuốc. Do sự đa dạng về thành phần, chủng loại, nguồn dược liệu của Việt Nam đã được sử dụng rộng rãi từ lâu đời để chữa bệnh và nhiều hoạt chất được phát hiện từ thực vật đã được phát triển thành thuốc.

Họ Bồ hòn (Sapindaceae) và họ Diệp hạ châu (Phyllanthaceae) là 2 họ lớn với nhiều loài thuộc các chi khác nhau thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đa dạng quý báu, trong đó nhiều hoạt chất đã được sử dụng cho việc điều trị các bệnh nan y.

Quá trình sàng lọc các dịch chiết từ thảm thực vật Việt Nam thuộc chương trình hợp tác Pháp - Việt đã phát hiện ra nhiều loài có những hoạt tính sinh học giá trị. Trong đó, các dịch chiết ethyl acetate từ lá của loài *Amesiodendron chinense* (Merr) Hu thuộc họ Bồ hòn (Sapindaceae) ức chế 100% tế bào ung thư tuyến thượng thận SW13 ở nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$; và từ lá của loài *Baccaurea sylvestris* (Lour) thuộc họ Diệp hạ châu ức chế 11,3% dòng tế bào ung thư biểu mô KB tại nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$ và ức chế 100% tế bào ung thư SW13 tại nồng độ 5 $\mu\text{g/mL}$ [2]. Hai loài *Amesiodendron chinense* (Merr) Hu và *Baccaurea sylvestris* (Lour) chưa từng được nghiên cứu cả trong nước và trên thế giới, vì vậy rất cần thiết cho việc nghiên cứu thành phần hoá học cũng như hoạt tính sinh học đặc biệt là hoạt tính chống ung thư

của chúng nhằm tìm kiếm và phát hiện ra những hoạt chất nguồn gốc từ thực vật có hoạt tính chống ung thư cao. Trên cơ sở tính cấp thiết và kết quả sàng lọc các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật Việt Nam, chúng tôi chọn đề tài là **“Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của hai loài *Amesiodendron chinense* (Sapindaceae) và *Baccaurea sylvestris* (Phyllanthaceae)”**.

Mục tiêu của luận án:

- Xác định thành phần hóa học loài *Amesiodendron chinense* (Merr.) Hu họ Bồ hòn (Sapindaceae) và loài *Baccaurea sylvestris* Lour họ Diệp hạ châu (Phyllanthaceae).

- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập được.

Các nội dung chính của luận án như sau:

- Thu hái và định tên mẫu thực vật 2 loài *A. chinense* và *B. sylvestris*.

- Tiến hành chiết và phân lập thành phần hoá học của loài *A. chinense* và loài *B. sylvestris*.

- Tiến hành xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập bằng các phương pháp phổ hiện đại.

- Thử hoạt tính gây độc tế bào của các cao chiết và một số hợp chất phân lập được trên 4 dòng tế bào ung thư KB, Hep-G2, LU, MCF-7.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Họ Bồ hòn (Sapindaceae) và chi *Amensiodendron*

1.1.1. Họ Bồ hòn

Họ bồ hòn (Sapindaceae) là một họ thực vật trong bộ Bồ hòn (Sapindales). Họ này có khoảng 138 chi với khoảng 1858 loài. Các chi lớn nhất trong họ này bao gồm chi *Serjania*, *Paullinia*, *Allophylus* và *Acer*. Các loài thuộc họ này là những loài thực vật có hoa có được phân bố ở những vùng ôn đới và nhiệt đới. Về đặc điểm sinh học, lá của các loài thuộc các chi khác nhau thường có hình dạng khác nhau. Thông thường lá mọc xen kẽ theo hình xoắn ốc trong khi đó là của các loài thuộc chi *Acer*, *Aesculus* và một số chi khác thì mọc ngược lại. Hoa thì nhỏ và thường đơn tính. Quả chín có thể bùi hoặc khô [3].

1.1.2. Chi *Amensiodendron*

1.1.2.1. Phân loại

Giới:	Thực vật
Ngành:	Magnoliophyta
Lớp:	Eudicots
Bộ (ordo):	Sapindales
Họ (familia):	Sapindaceae
Chi:	<i>Amensiodendron</i>

Theo “The plant list”, chi *Amensiodendron* có 3 loài tên là *Amensiodendron chinense* (Merr.) Hu (*A. chinense*), *Amensiodendron integrifoliolatum* H.S.Lo (*A. integrifoliolatum*) và *Amensiodendron tienlinense* H.S.Lo (*A. tienlinense*).

1.1.2.2. Phân bố và đặc điểm thực vật chi *Amensiodendron*

- *Phân bố*

Cả 3 loài *A. chinense*, *A. integrifoliolatum* và *A. tienlinense* của chi *Amensiodendron* thuộc họ Bồ hòn (Sapindaceae) đều phân bố chủ yếu ở châu Á. Trong đó, loài *A. chinense* là loài phổ biến nhất phân bố ở miền Nam Trung Quốc, đảo Sumatra (Indonesia), Lào, Malaysia, Myanmar, Thái Lan và Việt Nam. Ở Việt Nam loài *A. chinense* được gọi là trường mật hay trường ngân, trường sâng. Tại Việt Nam, loài trường sâng phân bố từ Quảng Trị đến Bình Định là loài thân gỗ, cao 20m đến 30m, đã được đưa vào sách đỏ Việt Nam năm 1996 [4].

Năm 2007, tác giả Hà Minh Tâm và cộng sự đã phát hiện và bổ sung thêm loài *A. tienlinense* vào hệ thực vật Việt Nam. Như vậy, tại Việt Nam hiện nay, chi *Amensiodendron* có hai loài đó là *A. chinense* và *A. tienlinense* [5].

- *Đặc điểm thực vật của các loài thuộc chi Amensiodendron*

Về đặc điểm sinh học, các loài của chi *Amensiodendron* đều thuộc dạng loài thân gỗ, chiều cao khoảng từ 25-30 m, đường kính khoảng 30-60 cm. Mép lá thường có khía hay răng, vỏ quả thường nhăn nheo hay có nốt sần. Hạt có tử y bao quanh rốn hạt [6].

1.1.3. Loài trường sâng (*Amesiodendron chinense*)

Loài trường sâng (tên gọi khác là trường mật, trường ngân), tên khoa học: *Amesiodendron chinense* (Merr.) Hu thuộc họ Sapindaceae.

Là loài đại mộc cao đến 25m, gốc to 50 cm, nhánh non có lông vàng. Về đặc điểm sinh học của loài này như sau: lá phụ không lông, láng, bìa có răng thấp, thưa, đáy từ từ hẹp cuống. Chùm tu tán, hoa trắng, thơm. Cánh hoa: 5, tiểu nhụy: 8, noãn sào: 2 buồng. Trái to 15-20 mm, có đeo, hạt cao 17mm, có màu nâu [7].

1.1.4. Ứng dụng trong y học cổ truyền và giá trị của một số loài trong họ Bồ hòn (*Sapindaceae*)

1.1.4.1. Chi Sapindus

Họ Bồ hòn (*Sapindaceae*) có nhiều loài được sử dụng dân gian, trong đó chi *Sapindus* là chi mang tên họ có 3 loài được ứng dụng trong dân gian là *S. mukorossi*, *S. trifoliatum* và *S. saponaria* với thành phần hóa học chính đặc trưng là lớp chất saponin [8]. Loài *S. saponaria* được sử dụng làm cây thuốc truyền thống ở châu Mỹ. Quả của loài này được dùng để chữa loét, vết thương và kháng viêm. 2 loài còn lại được sử dụng làm thuốc ở các nước Đông Nam Á, cả 3 loài đều được sử dụng làm các chất tẩy rửa. Mặt khác, quả của loài *S. saponaria* được sử dụng làm thuốc chữa ung nhọt, hoặc thuốc bôi bên ngoài vết thương, vết loét, chỗ bị viêm, sưng tấy [9]. Vỏ quả của loài bồ hòn (*S. Mukorossi*) có rất nhiều công dụng như dùng làm thuốc long đờm đồng thời là nguồn nguyên liệu chất hoạt động bề mặt tự nhiên. Hạt được ứng dụng dùng làm chất tẩy rửa, dầu gội trừ sâu hại và trong điều trị bệnh như thuốc chữa động kinh, bệnh vàng da, v.v...[10]. Quả của loài *S. trifoliatum* cũng có nhiều tác dụng như làm thuốc bổ, thuốc chữa hen suyễn, chống vẩy nến, diệt côn trùng, v.v....[11].

1.1.4.2. Chi *Dodonaea*

Chi *Dodonaea* là một chi thuộc họ Bồ hòn có nhiều loài đã được ứng dụng trong y học cổ truyền. Trong số đó có 5 loài *D. viscosa*, *D. angustifolia*, *D. spatulate*, *D. polyandra* và *D. ceratocarpa* là những loài phổ biến và có nhiều ứng dụng nhất. Thành phần hóa học chính của các loài thuộc chi *Dodonaea* bao gồm các saponin, các flavonoid, các terpenoid, và các dẫn xuất của chúng. Hoạt tính phổ biến ở các loài này bao gồm hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxi hóa, chống tiêu đường, bảo vệ gan, chống sốt rét. Ngoài ra các loài này được sử dụng trong dân gian để điều trị các bệnh còi xương, viêm nhiễm, đau thận, đau họng, ký sinh trùng đường ruột, mụn rộp, bỏng vết thương, thấp khớp, ho, đau lưng, đau răng, bỏng da, nhiễm trùng da, khối u và chữa lành vết thương [12].

1.1.4.3. Chi *Litchi*

Quả vải từ loài *L. chinensis* thuộc chi *Litchi* làm thực phẩm đồ uống như nước trái cây kết hợp với mật ong, rượu vang, mứt. Mặt khác, quả vải giàu kali được dùng để bảo vệ gan, tim mạch, chống nhiễm độc tế bào, chống ung thư, chống virút, chống tăng đường huyết [13].

1.1.4.4. Một số chi khác

Một số loài khác có giá trị sử dụng cao trong đời sống hàng ngày như lá của loài *Paullinia pinta* thuộc chi *Paullinia* của họ Bồ hòn ở Đông Phi có tác dụng điều trị rắn cắn, bệnh dại, bệnh tâm thần và các bệnh về mắt. Rễ cây thì có tác dụng chữa trị một số bệnh như bệnh lậu, tê liệt, bệnh sốt rét, bệnh chàm, v.v... Gốc cây sắc nước uống chống nôn và buồn nôn [14]. Lá và hạt của loài *Koelreuteria paniculata* Laxm thuộc chi *Koelreuteria* được sử dụng làm làm chất kháng khuẩn, kháng nấm và thuốc trừ sâu [15].

Như vậy, họ Bồ hòn có rất nhiều loài được sử dụng trong y học cổ truyền cho việc điều trị các bệnh về viêm nhiễm, tim mạch và đường huyết.

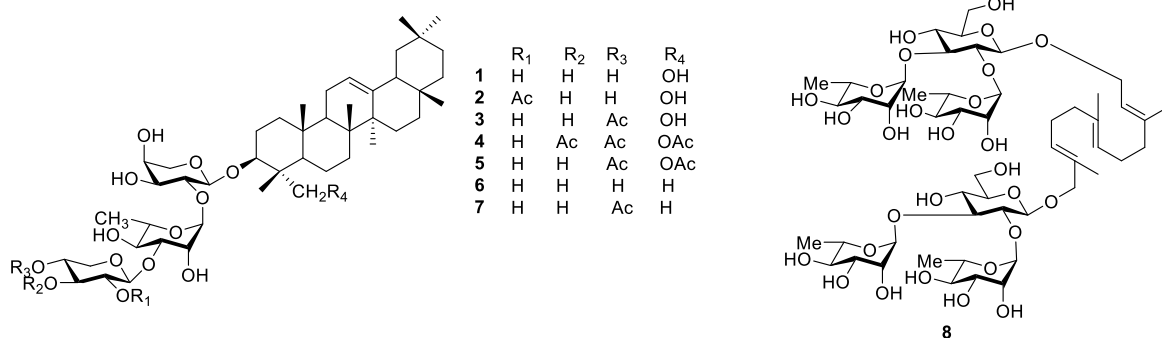
1.1.5. Thành phần hóa học của các loài thuộc họ Bồ hòn

Do có nhiều hoạt tính sinh học lý, các loài thuộc họ Bồ hòn cũng được nghiên cứu nhiều về thành phần hoá học. Các công bố về các loài thuộc họ Bồ hòn cho thấy thành phần hóa học của các loài thuộc họ này rất phong phú bao gồm nhiều lớp chất khác nhau như saponin, flavonoid, clerodane, triterpenoid, sesquiterpene glucoside, v.v...

1.1.5.1. Lớp chất saponin

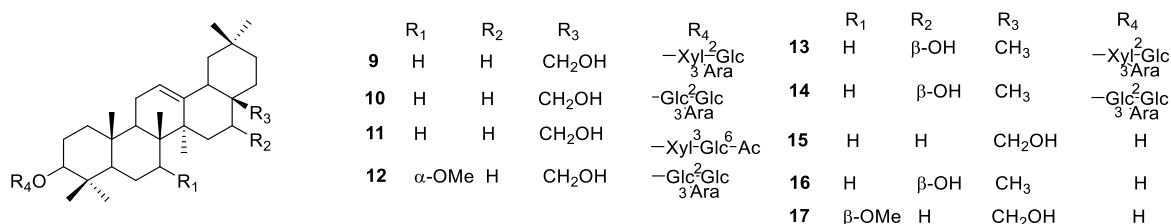
Saponin là lớp chất chính trong họ Bồ hòn có cấu trúc gồm một aglycone là các steroid hoặc các triterpene kết hợp với một hoặc nhiều phân tử đường. Các hợp chất saponin có mặt hầu hết ở các loài thực vật thuộc họ Bồ hòn trong các bộ phận của cây như thân, lá, cành, rễ và hoa. Một lượng lớn saponin được tìm thấy ở các loài chi *Sapindus* là chi lớn nhất thuộc họ Bồ Hòn và thường gặp nhất ở các loài như *S. saponaria*, *S. mukorossi*, và *S. emarginatus*, ngoài ra cũng được tìm thấy ở một số loài như *Nephelium maingayi*, *D. butyracea*.

Năm 2001, từ vỏ của loài *S. emarginatus*, Kanchanapoom T. và cộng sự đã phân lập được 8 loại hợp chất saponin là sapindoside B (**1**), hederagenin 3-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (**2**), mukurozi-saponin E1 (**3**), hederagenin 3-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (**4**), 23-*O*-acetyl-hederagenin 3-*O*-(4-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (**5**), prosapogenin CP3 (**6**), oleanolic acid 3-*O*-(4-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (**7**), mukurozioside Iib (**8**). Trong đó có 3 hợp chất acetyl saponin mới có cấu trúc kiểu hederagenin là **2**, **5**, **7** [16].

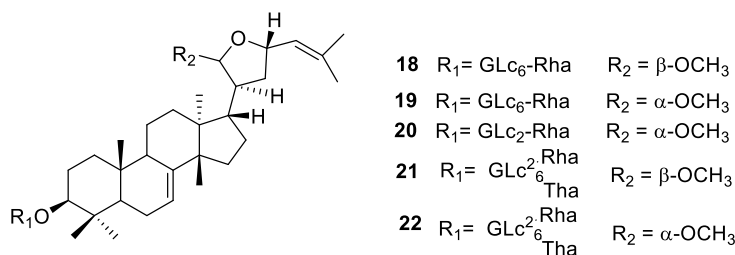


Năm 2004, từ thân của loài *Nephelium maingayi*, Aiko Ito và cộng sự đã phân lập được 9 hợp chất saponin gồm các nephelioside I-VI (**9-14**), và 7 α -methoxy

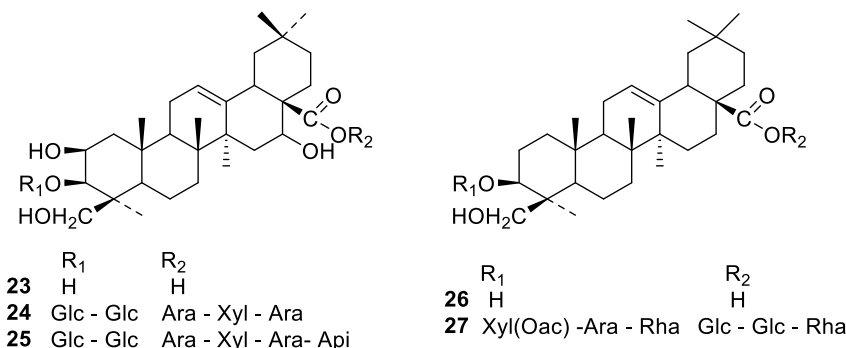
erythrodiol (**17**) là những hợp chất mới, hai chất còn lại đã biết là erythrodiol (**15**), maniladiol (**16**) [17].



Cũng từ loài *S. mukorossi*, Huang và cộng sự đã phân lập ra 5 loại hợp chất saponin kiểu tirucallane mới là các saponinmusaponin F-J (**18-22**) [18].



Năm 2010, từ cao chiết *n*-BuOH loài *D. butyracea* và *S. Mukorossi*, Supradip Saha và cộng sự phân lập được 5 hợp chất saponin mới bằng HPLC gồm 16-hydroxyprotobassic acid (**23**), diploknema saponin MI-III (**24-25**), hederagenin (**26**), và SM-I (**27**) [19].



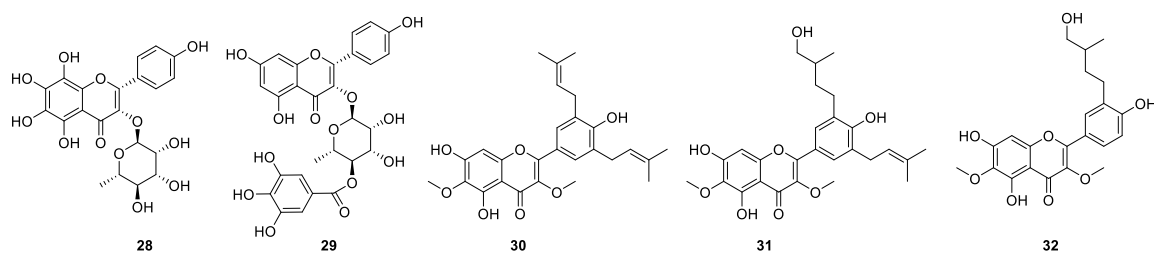
1.1.5.2. Lớp chất flavonoid

- Lớp chất flavonoid đơn giản

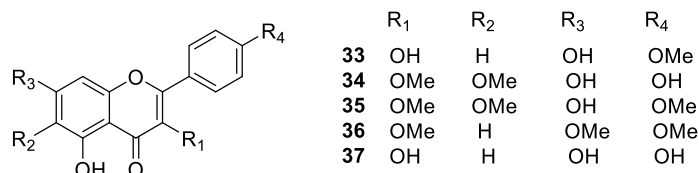
Các hợp chất flavonoid được phân lập từ rất nhiều loài thuộc họ Bồ hòn có cấu trúc đa dạng và có nhiều hoạt tính sinh học quý báu. Những hợp chất này thể hiện hoạt tính sinh học cao như hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn, vv....

Năm 2001, từ lá loài *Koelreuteria paniculata*, Mahmoud và cộng sự đã phân lập được 2 flavonoid là 6,8-dihydroxy-afzelin (**28**) và afzelin 3-O-gallate (**29**) [20]. Năm 2010, từ thân của loài *D. viscosa*, Hong Mei Niu và cộng sự đã phân lập được 3 hợp chất prepylated flavonoid là 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-di(3-

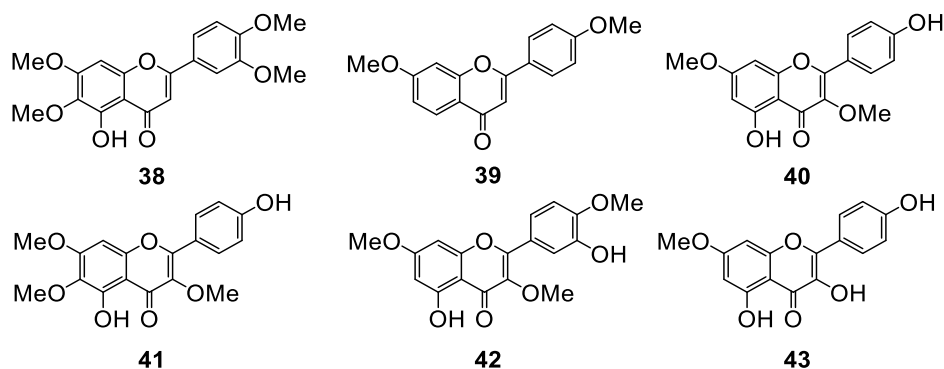
methylbut-2-enyl)-3,6-dimethoxyflavone (**30**), 5,7,4'-trihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5'-(3-methylbut-2-enyl)-3,6-dimethoxyflavone (**31**), aliarin (**32**) trong đó hợp chất **30** và **31** là hai hợp chất mới [21].



Cũng từ loài *D. viscosa*, Teffo và cộng sự đã phân lập được 5 hợp chất kaempferol gồm 3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavone (**33**), 5,7,4'-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavone (**34**), 5,7-dihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone (santin, **35**) và 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone (**36**), 3,4',5,7-tetrahydroxy flavone (kaempferol) (**37**) [22].

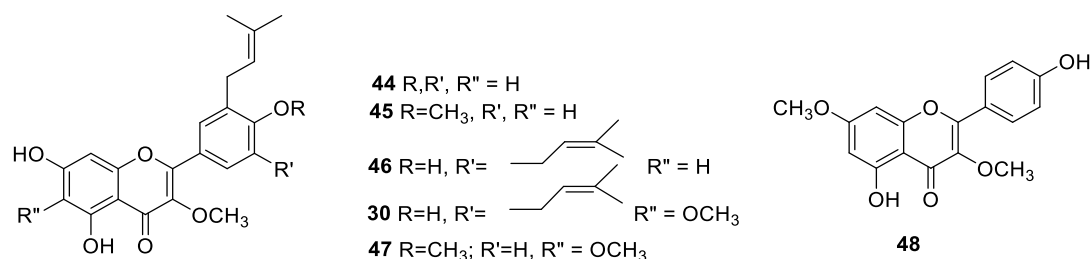


Từ dịch chiết lá của loài *D. angustifolia*, Osmosa và cộng sự đã phân lập được một số hợp chất flavonoid gồm 2 hợp chất cũ là **36**, **37** và 6 chất mới bao gồm 5-hydroxy-3,6,7,4'-tetramethoxyflavone (**38**), 7,4'-*O*-dimethoxyflavone (**39**), kumatakenin (**40**), penduletin (**41**), ayanin (**42**), rhamnocitrin (**43**) [23].

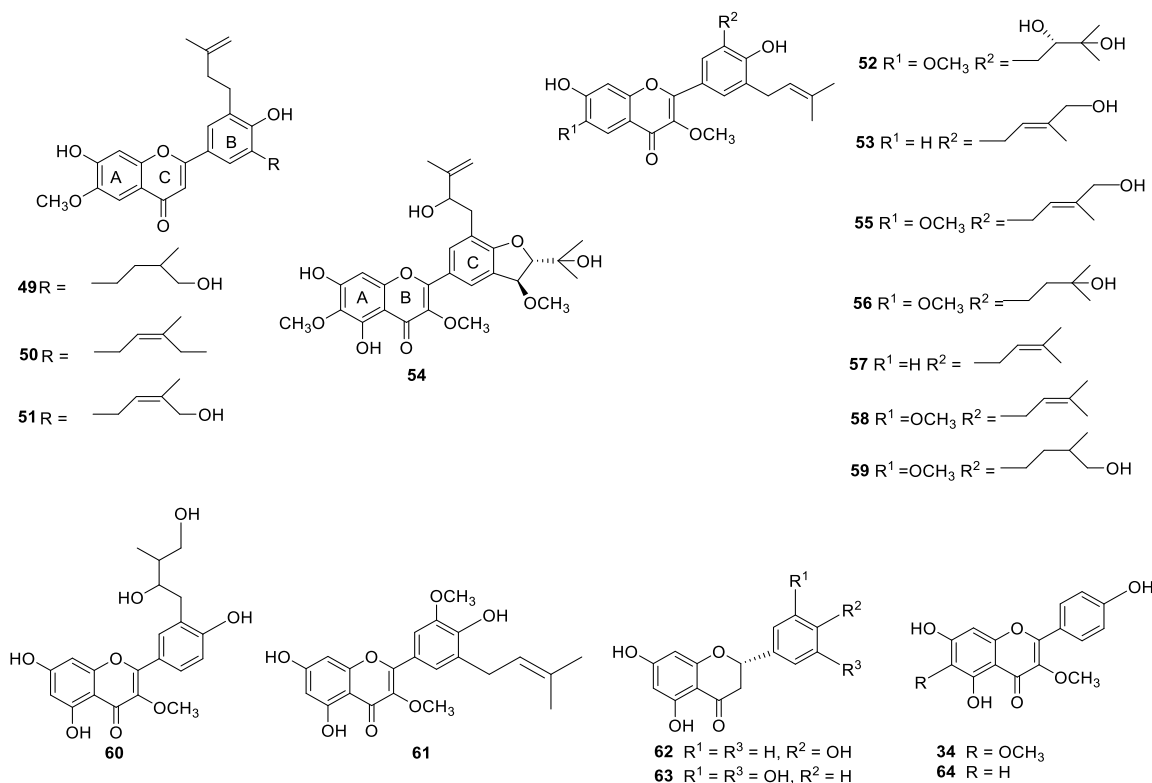


Năm 2011, từ lá và thân của loài *D. polyandra* (một loài cây thảo dược truyền thống ở Australia), Simpson và cộng sự đã phân lập được 6 hợp chất flavonoid gồm **30**, 5,7,4'-trihydroxy-3'(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxy flavone (**44**), 5,7-dihydroxy-3'(3-methylbut-2-enyl)-3,4'-dimethoxy flavone (**45**), 5,7,4'-trihydroxy-3',5'(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxy flavone (**46**) và 5,7-dihydroxy-3'(3-methylbut-2-enyl)-3,6,4'

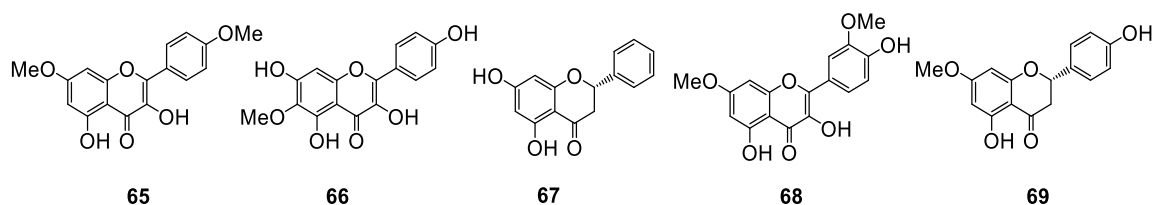
trimethoxy flavone (viscosol, **47**), 5,4'-dihydroxy-3,7-dimethoxyflavone (**48**) trong đó 3 hợp chất mới là **44-46** [24].



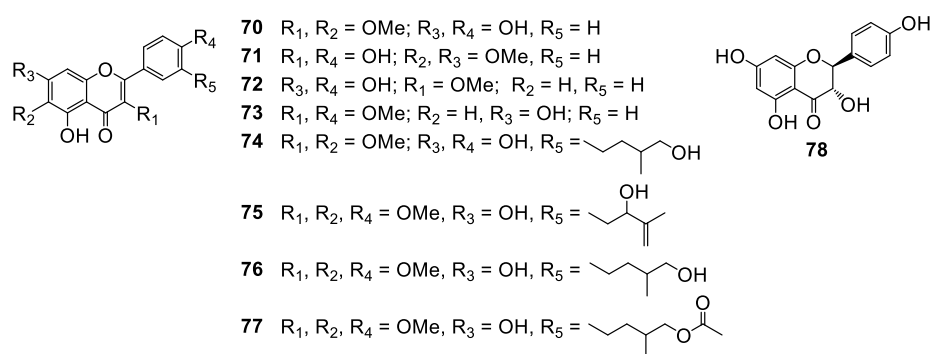
Năm 2012, từ cành của loài *D. viscosa*, Lai Bin Zhang và cộng sự đã phân lập được 17 flavonoid (**49-64**) trong đó có nhóm chất dodoviscin A-J (**49-58**) mới và 7 hợp chất đã biết là: 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-bis(3-methyl-2-buten-1-yl)-3,6-dimethoxyflavone (**59**), 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-bis(3-methyl-2-buten-1-yl)-3,6-dimethoxyflavone (**60**), 5,7,4'-trihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5'-(3-methyl-2-buten-1-yl)-3,6-dimethoxy-flavone (**61**), sakuranetin (**62**), blumeatin (**63**), **34**, và isokaemferide (**64**) [25].



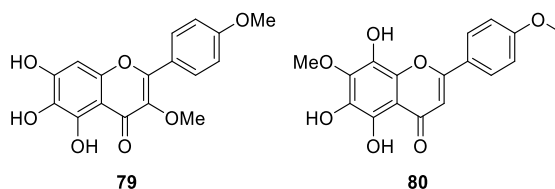
Năm 2014, từ lá của loài *D. angustifolia*, Omosa và cộng sự đã phân lập được 11 flavonoid gồm 5 chất mới: 3,5-dihydroxy-4',7-dimethoxyflavone (**65**), 3,4',5,7, tetrahydroxy-6-methoxyflavone (**66**), pinocembrin (**67**), 3,4',5-trihydroxy-3',7-dimethoxyflavone (**68**), 5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavanone (**69**) và 6 chất cũ **35**, **36**, **40**, **41**, **43**, **64** [26].



Năm 2015, từ bộ phận cành của loài *D. viscosa*, Akhtar Muhammad và cộng sự phân lập được 12 flavonoid trong đó có 9 hợp chất mới (**70-78**) gồm viscosine (**70**), 6,7-dimethylkaempferol (**71**), kaempferol-3-methylether (**72**), 3,4'-dimethoxy-5,7-dihydroxyflavone (**73**), 5,7,4'-trihydroxy-3-(3-hydroxymethylbutyl)-3,6-dimethoxyflavone (**74**), 5,7-dihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-3,6,4'-trimethoxy-flavone (**75**), 5,7-dihydroxy-3'-(3-hydroxy-methylbutyl)-3,6,4'-trimethoxyflavone (**76**), 5,7-dihydroxy-3'-(4''-acetoxy-3''-methylbutyl)-3,6,4'-trimethoxyflavone (**77**), aromadendrin, (2*S*,3*S*)3,4',5,7-tetrahydroxyflavanone (**78**), và 3 hợp chất cũ là **35**, **41** và **67** [27].



Năm 2017, từ dịch chiết ethyl acetate (EtOAc) của lá loài *D. angustifolia*, Ngabaza và cộng sự đã phân lập được một flavonoid mới 5,6,7-trihydroxy-3,4'-dimethoxyflavone (**79**) và 3 flavonoid đã biết (**35**, **34** và **67**) [28]. Cũng trong năm 2017, từ lá của loài *D. viscosa*, Ngabaza và cộng sự đã phân lập được một flavonoid mới là 5,6,8-trihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone (**80**) [29].

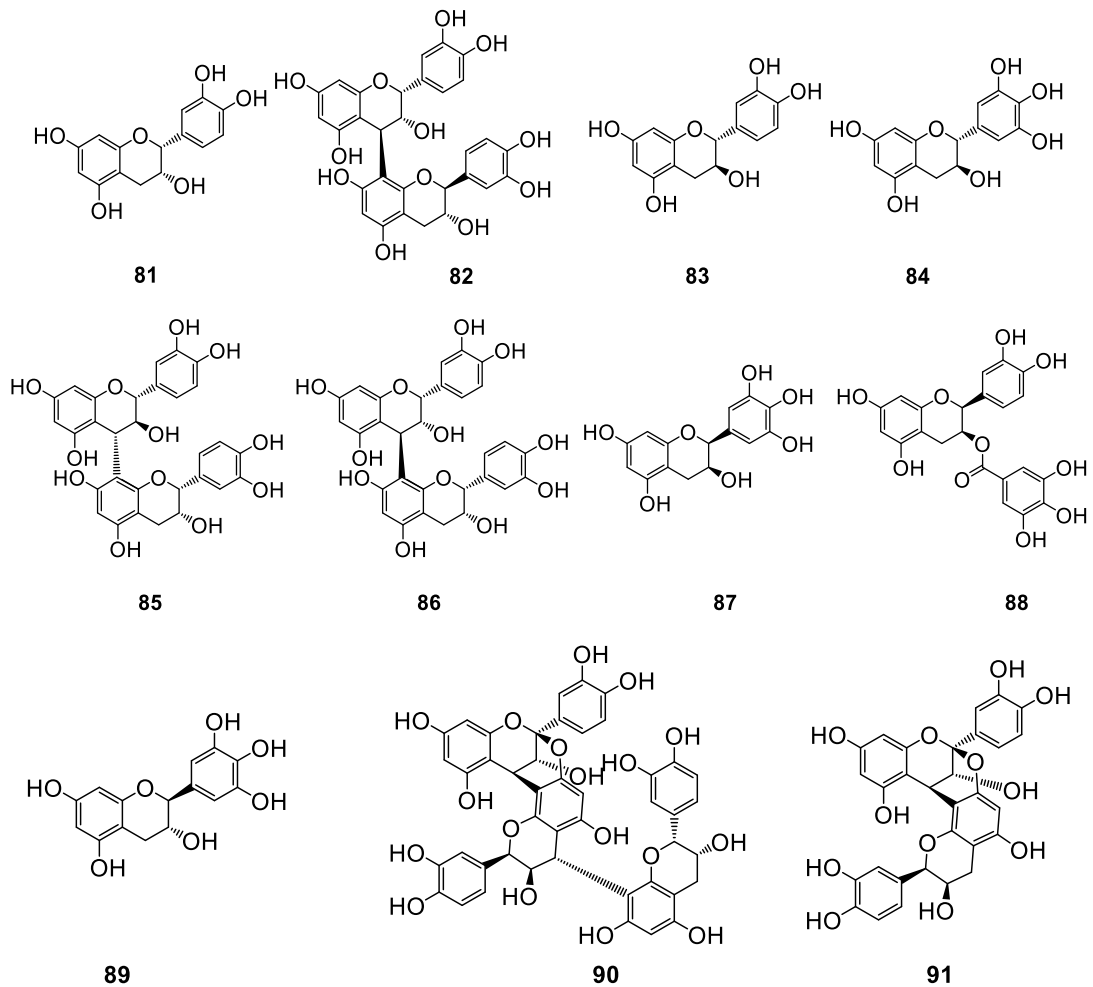


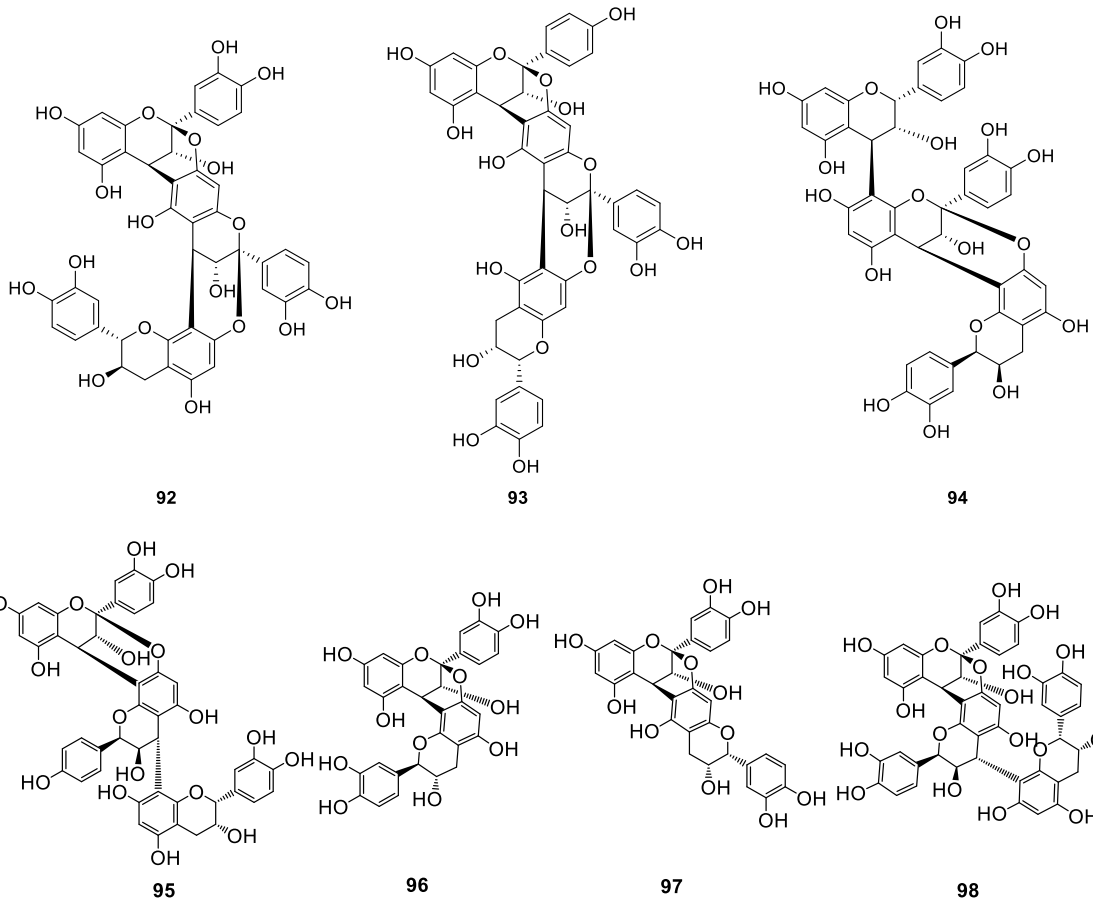
Lớp chất flavonoid còn tìm thấy trong hạt và vỏ quả của loài *Litchi chinensis* thuộc chi *Litchi* của họ Bồ hòn. Trong đó, các flavonoid đơn giản là (-)-epicatechin (**81**), (+)-catechin (**83**), (+)-gallocatechin (**84**), (-)-epigallocatechin (**87**), (-)-epicatechin-3-gallate (**88**) và kế tiếp là những phenolic có các đơn vị epicatechin liên kết theo kiểu nội phân tử flavonoid A và B là proanthocyanidin B1 (**82**),

proanthocyanidin B4 (**85**), proanthocyanidin B2 (**86**) [30]. Năm 2009, từ hạt của loài *L. chinensis*, Nagendra Prasad và cộng sự đã phân lập được một số flavonoid gồm (-)-gallocatechin (**89**), **86**, **81** và **88** [31].

Các procyanidin kiểu A dạng oligomeric được tìm thấy từ vỏ quả của loài *L. chinensis* gồm epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-epicatechin-(4 β →8)-epicatechin (**90**), và proanthocyanidin A2 (**91**) là các hợp chất có hoạt tính chống oxi hóa tốt [32].

Các hợp chất oligomeric của proanthocyanidin được phân lập từ loài *L. chinensis* bao gồm: litchitanin A1 (**92**), litchitanin A2 (**93**), aesculitannin A (**94**), epicatechin-(2 β →O→7,4 β →8)-epiafzelechin-(4 α →8)-epicatechin (**95**), proanthocyanidin A1 (**96**), proanthocyanidin A6 (**97**) [33], trime dạng A **98** [34].





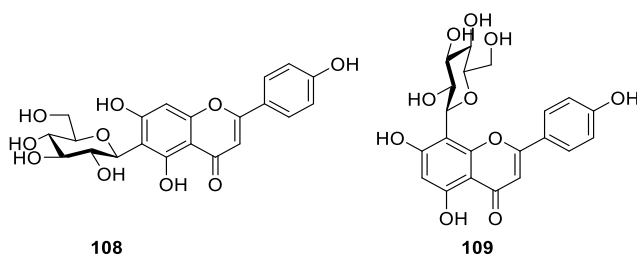
- Lớp chất glycosylflavonoid
+ Lớp chất flavonoid-C-glycoside

Các hợp chất flavonoid-C-glycoside ít gặp trong một số loài thuộc họ Bồ hòn. Năm 1992, Hoffmann và cộng sự đã tìm thấy một số các hợp chất flavonoid -C-glycoside từ lá của loài *Allophyllus edulis* gồm schaftoside (**99**), vicenin-2 (**100**), lucenin-2 (**101**), isovitexin 2''-Orhamnoside (**102**), cerarvensin 2''-O-rhamnoside (**103**), vitexin 2''-O-rhamnoside (**104**), mollupentin 2''-O-rhamnoside (**105**), isoorientin 2''-O-rhamnoside (**106**) và orientin 2''-O-rhamnoside (**107**)[35].

	R ₃ '	R ₄ '	R ₆	R ₇	R ₈
99	H	OH	Glc	OH	Ara
100	H	OH	Glc	OH	Glc
101	OH	OH	Glc	OH	Glc
102	H	OH	Rha-Glc	OH	H
103	H	OH	Rha-Xyl	OH	H
104	H	OH	H	OH	Rha-Glc
105	H	OH	H	OH	Rha-Ara
106	OH	OH	Rha-Glc	OH	H
107	OH	OH	H	OH	Rha-Glc

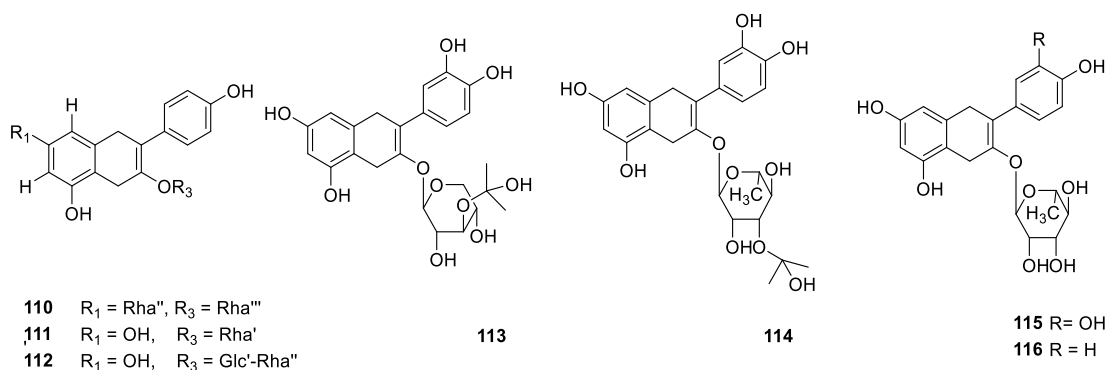
Năm 2013, từ loài *Serjania erecta* thuộc họ Sapindaceae, Cardoso và cộng sự đã phân lập được hai hợp chất phổ biến là isovitexin (**108**) và vitexin

(109). Tương tự, năm 2015, Camila và cộng sự cũng phân lập được 2 chất này [36, 37].



+ Lớp chất flavonoid-*O*-glycoside

Lớp chất này đã được tìm thấy ở một số loài với số lượng cũng không nhiều. Từ cao chiết ethanol của lá và cành thuộc loài *S. erecta*, Cardoso và cộng sự đã phân lập được các hợp chất flavonoid-*O*-glycoside gồm kaempferol 3,7-di-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**110**), kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**111**), và kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**112**) [36]. Năm 2015, từ lá thuộc loài *Dimocarpus longan*, Yongmei Xue và cộng sự đã phân lập được 4 flavonol glycoside là quercetin 3-*O*-(3''-*O*-2'''-methyl-2'''-hydroxyethyl)- β -D-xyloside (**113**), quercetin 3-*O*-(3''-*O*-2'''-methyl-2'''-hydroxyethyl)- α -L-rhamnopyranoside (**114**), afzelin (**115**), và kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**116**) [38].

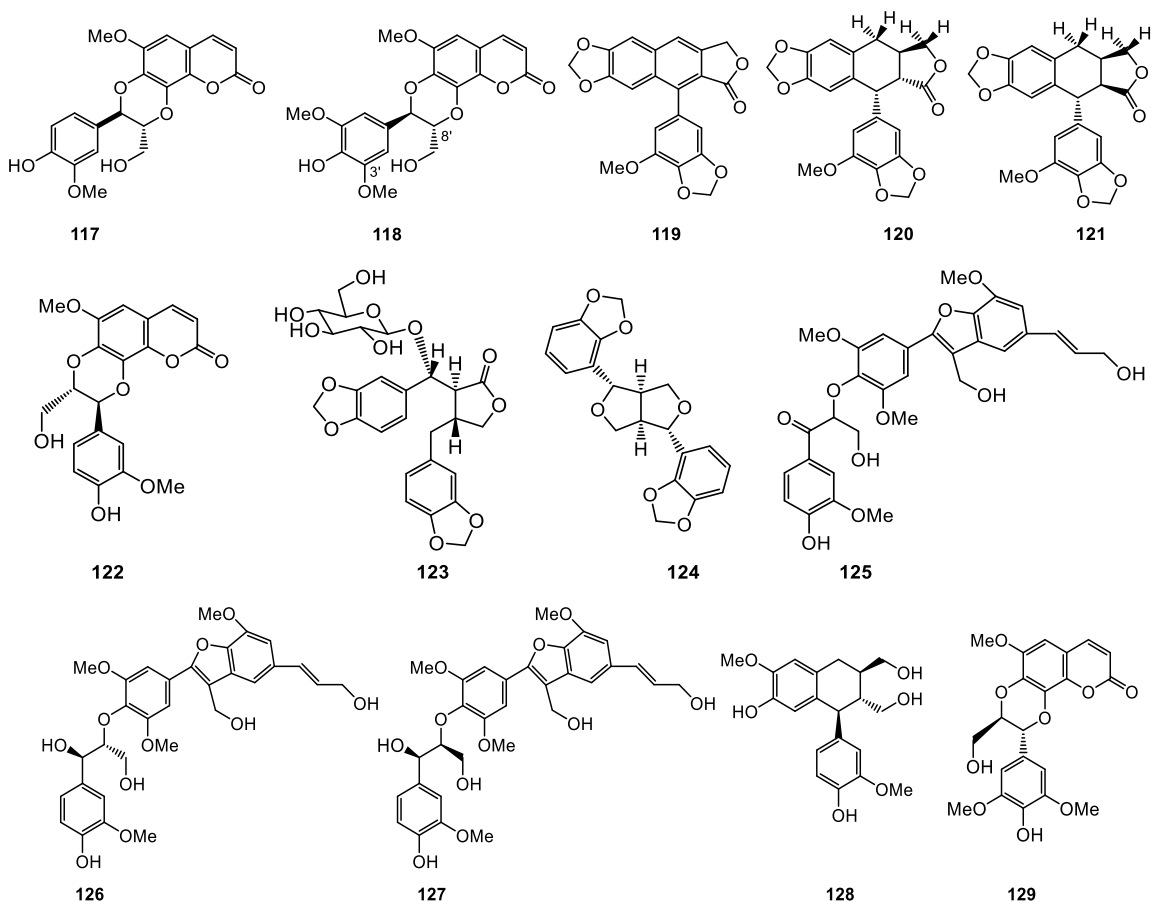


1.1.5.3. Lớp chất lignan

Lớp chất lignan được tìm thấy trong một số loài thuộc họ Bồ hòn với cấu trúc rất đa dạng tuy nhiên số lượng không nhiều. Năm 1984, từ cao chiết MeOH của các bộ phận cành và thân của loài *Matayba arborescens*, Arisawa và cộng sự đã phân lập được một lignan đã biết là cleomiscosin A (**117**) [39]. Từ thân cây của loài *D. viscosa*, Hemlata và cộng sự đã phân lập một lignan đã biết là cleomiscosin C (**118**) [40]. Năm 1994, Song và cộng sự đã phân lập được ba hợp chất cyclolignan đã biết từ loài *K. henryi* là koelreuterin-1 (**119**), austrobailignan-1 (**120**) và austrobailignan-2 (**121**) [41].

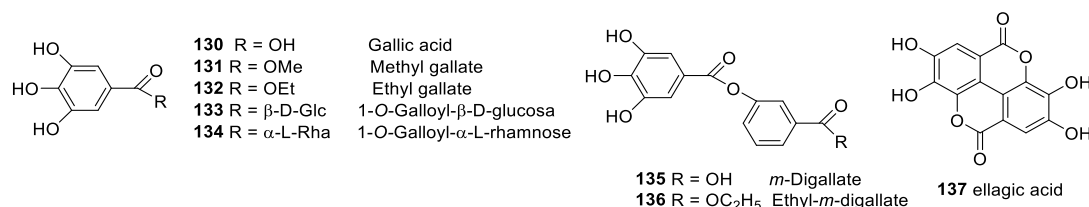
Năm 1997, từ thân gỗ của loài *Diatenopteryx sorbifolia* thuộc họ Bồ Hòn, Chávez J. P. và cộng sự đã phân lập được một lignan đã biết là cleomiscosin B (**122**) [42]. Năm 2009, từ loài *K. henryi*, 4 lignan được phân lập trong đó có 2 lignan glucoside mới là hinokinin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**123**) và (+)-sesamin (**124**), hai lignan cũ là **120** và **121** [43]. Từ cành con của loài *Eurycorymbus cavaleriei*, Zhongjun Ma và cộng sự đã phân lập được 3 lignan là **125-127**, trong đó hợp chất 125 là lignan mới và hai lignan còn lại đã biết [44]. Từ vỏ quả của loài *L. chinesis*, Jiang và cộng sự đã phân lập được một lignan đã biết là isolariciresinol (**128**) cũng đã được phân lập [45].

Năm 2020, từ lá của loài *P. pinnata*, Verena Spiegler đã phân lập được 4 lignan đã biết là **117** và **118**, **122** và cleomiscosin D (**129**) [46].



1.1.5.4. Các lớp chất khác

Ngoài những lớp chất phổ biến trên, có rất nhiều lớp chất có giá trị cao về mặt dược học đã được phân lập từ các loài thuộc họ Bồ hòn. Các ellagic acid và dẫn xuất gallate (**130-137**) được phân lập từ loài *Acer rubrum*. Trong đó hợp chất **131** và 5 hợp chất **132-135** có hoạt tính hoạt tính chống lại côn trùng mạnh [47].



Năm 2013, từ vỏ của loài *L. chinensis*, các nhà khoa học đã phân lập được 8 hợp chất gồm 3,4-dihydroxy benzoat methyl (**138**), stigmasterol (**139**), kaemferol (**10**), 2-(2-hydroxy-5-(methoxycarbonyl)-phenoxy) benzoic acid (**140**), methyl shikimate (**141**), ethyl shikimate (**142**), butyrate hydroxytoluene (**143**) [45].

Như vậy, các công bố cho thấy họ Bồ hòn chứa nhiều loại hợp chất có cấu trúc đa dạng phong phú trong đó được đặc biệt chú ý là các lớp chất saponin triterpenoid, các flavonoid và các lignan. Đây là các lớp chất có hoạt tính sinh học cao được đặc biệt quan tâm cho việc tìm kiếm và phát hiện các hoạt chất phục vụ chữa bệnh cho con người cũng như bảo vệ cây trồng v.v...

1.1.6. Hoạt tính sinh học của một số loài trong họ Bồ hòn

Họ Bồ hòn có rất nhiều giá trị về kinh tế và dược học. Từ các nghiên cứu công bố cho thấy, hoạt tính sinh học của các loài thuộc họ Bồ hòn chủ yếu bao gồm các hoạt tính như hoạt tính chống oxy hoá, chống viêm nhiễm, chống tiểu đường, chống ung thư, bảo vệ tim mạch...

1.1.6.1. Hoạt tính chống oxi hóa

Các hợp chất được phân lập từ các loài thuộc họ Bồ hòn có hoạt tính chống oxi hóa rất cao. Kết quả thử hoạt tính chống oxi hóa sử dụng DPPH là chất bắt gốc tự do cho thấy, trong số các hợp chất phân lập được từ loài *D. viscosa* (Linn) Jacq. thì hợp chất **33** và **37** có hoạt tính chống oxi hóa với giá trị EC₅₀ (75,49 ± 1,76 µM) và (35,06 ± 0,85 µM) thấp hơn chất chuẩn L-ascorbic acid (EC₅₀ = 13,55 ± 0,28 µM) [22]. Cao chiết ethanol từ hoa của loài này có hoạt tính chống oxi hóa cao, ức chế 82,09 ± 0,15 %, cao hơn so với chất chuẩn BHA (68,2 %) và thấp hơn chất chuẩn TBHQ (98,2 %) [48]. Trong 1 công bố khác, các hợp chất **70**, **72**, **71**, **78**, **74**, **42**, **73** cho giá trị IC₅₀ lần lượt là 60,15 ± 0,64; 52,07 ± 0,45; 15,61 ± 0,22; 45,62 ± 0,41; 40,60 ± 0,36; 75,32 ± 0,78, 190,10 ± 1,24 µM. Trong khi đó các hợp chất **35**, **35A** (dạng tinh thể của **35**), **70A** (dạng tinh thể của **70**), **75**, **76**, **77**, ức chế enzyme acetylcholinesterase tại nồng độ 200 µM trong phạm vi 7,51- 45,34% (chất chuẩn galantamine là 65,80 ± 1,08%). Khi dùng chất bắt gốc tự do là DPPH, các flavonoid

này đều thể hiện khả năng bắt gốc tự do yếu, nhưng hợp chất **77** có hoạt tính oxi hóa cao, giá trị IC_{50} là $16,36 \pm 0,86 \mu\text{M}$ tại nồng độ 200 μM . Tuy nhiên, nếu dùng chất bắt gốc tự do ABTS, thì hợp chất **74** thể hiện hoạt tính tốt nhất (IC_{50} : $14,91 \pm 0,08 \mu\text{M}$), tốt hơn chất chuẩn là α -tocopherol (IC_{50} : $17,18 \pm 0,36 \mu\text{M}$). Các hợp chất **35**, **35A**, **70**, **70A**, **71**, **75** cũng thể hiện khả năng chống gốc tự do tốt với IC_{50} nằm trong phạm vi ($23,69 \div 40,46 \mu\text{M}$) [27]. Trong một công bố năm 2019 cho thấy, cao chiết ethyl acetate và cao chiết *n*-butanol từ lá của loài *D. viscosa* có hoạt tính chống oxi hóa rất cao với các giá trị IC_{50} lần lượt của 2 cao chiết là ($0,00358 \pm 0,090$); ($0,00400 \pm 0,088$) (mg/ml) so với chất chuẩn gallic acid ($4,42 \mu\text{g/ml}$) [49].

Khảo sát hoạt tính chống oxi hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH, hydroxy, anion superoxide của các hợp chất **84**, **88** và **89** cũng như cao chiết EtOAc từ vỏ quả của loài *Litchi* cho thấy hợp chất **84** có khả năng bắt gốc tự do cao nhất, còn hợp chất **89** có hoạt tính bắt gốc tự do hydroxyl và anion superoxide hơn hợp chất **88** và **84**. Đối với cao chiết EtOAc chứa cả 3 hợp chất **84**, **88** và **89** có khả năng bắt gốc tự do tốt. Phần trăm (%) bắt gốc tự do ở hai hàm lượng 20 μg và 40 μg của cả ba hợp chất **84**, **88**, **89** và cao chiết nằm trong phạm vi $46,1 \div 76,0\%$ (đối với phương pháp bắt gốc tự do DPPH), $38,7 \div 96,8\%$ (bắt gốc tự do hydroxyl), $54,1 \div 93,2\%$ (bắt gốc tự do anion superoxide) [50]. Trong một công bố khác cho thấy cao chiết từ vỏ quả và các hợp chất **90**, **91** được phân lập từ loài *Litchi* đều có khả năng kháng oxi hóa với giá trị IC_{50} lần lượt là 2,6 $\mu\text{g/ml}$, 1,65 $\mu\text{g/ml}$ và 1,75 $\mu\text{g/ml}$ [32]. Khảo sát hoạt tính chống oxi hóa của các chất phân lập được từ vỏ của loài *L. chinensis* với chất đối chứng BHT, cho thấy hợp chất **37** có hoạt tính chống oxi hóa kém hơn [22]. Các hợp chất proanthocyanidin loại A được phân lập từ loài *Litchi* có hoạt tính chống oxi hóa cao khi khảo sát bằng phương pháp bắt gốc tự do FRAP và DPPH. Giá trị IC_{50} (mmol/g) của các chất **81**, **92**, **93**, **94**, **95**, **96**, **97** nằm trong phạm vi $3,71 \div 24,18 \text{ mmol/g}$ (đối với FRAP), và $5,25 \div 20,07 \mu\text{M}$ (đối với DPPH) so với chất chuẩn L-ascobic $2,67 \pm 0,10 \text{ mmol/g}$ và $45,36 \pm 0,98 \mu\text{M}$ [33].

Một nghiên cứu khác cho thấy, ở nồng độ 40 $\mu\text{g/mL}$ cao chiết ethanol của lá loài *S. erecta*, % bắt gốc tự do là $87,2 \pm 0,2 \%$ (chất chuẩn quercetin là $94,3 \pm 0,1\%$), và cao chiết ethanol của cành, % bắt gốc tự do dao động trong khoảng từ $25,5\% \pm 0,1$

% đến $77,6 \pm 0,3\%$ và % giá trị ức chế oxi hóa peroxide trong khoảng từ $15,1\% \pm 0,1\%$ đến $58,5\% \pm 0,2\%$ [36].

Khảo sát hoạt tính bắt gốc tự do của các hợp chất lignan được phân lập từ loài *K. henryi* cho thấy chỉ có hợp chất **123** có khả năng bắt gốc tự do yếu. Giá trị IC_{50} (μM) của hợp chất **123** > 100 [43]. Tương tự hợp chất **128** được phân lập từ vỏ quả của loài *L. chinensis*, có hoạt tính chống oxi hóa yếu trong số các hợp chất đã được phân lập [45].

Hoạt tính chống oxy hóa của một số hợp chất từ một số loài thuộc họ Bồ hòn được tổng kết lại trong bảng 1.1.

Bảng 1.1. Hoạt tính chống oxy hóa của một số hợp chất từ họ Bồ hòn

Chất	Từ loài	Phương pháp thử			TLTK	
		FRAP	DPPH	ABTS		
33	<i>D. viscosa</i> (Linn) Jacq		$75,49 \pm 1,76^a$		[22]	
35				$(23,69 \div 40,46)^b$	[27]	
37			$35,06 \pm 0,85^a$		[22]	
42	<i>D. viscosa</i> (Linn) Jacq		$75,32 \pm 0,78^c$		[27]	
70			$60,15 \pm 0,64^c$	$(23,69 \div 40,46)^b$	[27]	
70A					[27]	
71			$15,61 \pm 0,22^c$		[27]	
72			$52,07 \pm 0,45^c$		[27]	
73			$190,10 \pm 1,24^c$		[27]	
74			$40,60 \pm 0,36^c$	$14,91 \pm 0,08^b$	[27]	
75				$23,69 \div 40,46^b$	[27]	
77			$16,36 \pm 0,86^b$		[27]	
78			$(45,62 \pm 0,41)^b$		[27]	
81	<i>Litchi</i>	$3,71 \div 24,18^e$	$5,25 \div 20,07^e$		[33]	
90			$1,65^d$		[32]	
91			$1,75^d$		[32]	
92					[33]	
93			$3,71 \div 24,18^e$	$5,25 \div 20,07^e$		[33]
94						[33]
95						[33]

96					[33]
97					[33]
123	<i>K. henryi</i>		>100		[43]

^aEC₅₀(μ M), ^{b,c}IC₅₀ (μ M), ^{d,e}IC₅₀ (mmol/g)

1.1.6.2. Hoạt tính kháng khuẩn

Một số hợp chất và cao chiết của một số loài thuộc họ Bồ hòn có hoạt tính kháng khuẩn cao. Các hợp chất **33-37** thể hiện hoạt tính kháng một số loại vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa*. Trong đó hợp chất **37** là hợp chất kháng khuẩn tốt đối với 5 loại vi khuẩn trên (MIC₅₀ từ 16 μ g/ml-63 μ g/ml). Hợp chất **34** chỉ có tính kháng khuẩn đối với khuẩn *P. aeruginosa*. Hợp chất **33** có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất đối với khuẩn *E. faecalis* (23 μ g/ml) nhưng có giá trị kháng khuẩn thấp đối với các loại vi khuẩn khác. Hợp chất **35** thì có tính kháng khuẩn kém đối với tất cả các loại vi khuẩn (μ g/ml 63 < MIC₅₀ < 125 μ g/ml). Hợp chất **36** thì không có tính kháng khuẩn tại nồng độ (250 μ g/ml) [22]. Hợp chất **67** với liều 20 mg/kg và 40 mg/kg ức chế parasitaemia tương ứng là 77,03% và 81,00 %, trong khi đó đối với hợp chất **35** là 85,50% và 80,95 % ở liều 100 mg/kg và 50 mg/kg [28]. Cao chiết methanol từ ba loài *Agathosma crenulata*, *D. viscosa* và *Eucalyptus globulus* có tính kháng khuẩn rất tốt với giá trị MIC là 49 μ g/ml đối với khuẩn *S. aureus* và *Bacillus subtilis*, và 98 μ g/ml với khuẩn *Klebsiella pneumoniae* và *E. coli*.

Trong số các hợp chất phân lập từ lá của loài *D. angustifolia*, hợp chất **42** có khả năng kháng khuẩn *E. coli* và *B. pumilus* với giá trị MIC < 31,25 μ g/ml , trong khi đó với khuẩn *S. aureus* (giá trị MIC < 62,5 μ g/ml, ngoài ra những hợp chất khác như **69**, **35** được phân lập từ loài này có khả năng kháng nấm tốt nhất với khuẩn *S. cerevisiae*, với giá trị MIC lần lượt là đối với **69** < 7,8 μ g/ml và **35** là 3,9 μ g/ml [26]. Hợp chất **81** được phân lập từ loài này ức chế tế bào gây ra các bệnh thông thường và các vi khuẩn nấm đơn bào với IC₅₀ là 0,03 mg/ml[29]. Các cao chiết từ lá và cành của loài *D. viscosa* có khả năng kháng khuẩn *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *P. aurogonosa*, *K. pneumoniae* ở 21/7, 14/6, 24/8, 18/9, 20/7(mm) và kháng nấm *Aspergillusniger*, *Trichodermaviride*, *C. albicans* ở 12/6, 10/5, 15/9 (mm) [51].

Khi tiến hành thử hoạt tính kháng virus *in vitro* của các chất **81, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97** được phân lập từ loài *Litchi* đối với hai loại virus CVB3 và HSV-1 cho thấy khả năng kháng virus của các chất khác nhau. Các chất **92, 94** kháng virus HSV rất tốt trong khi đó hợp chất **93** kháng virus CVB3 tốt nhất với IC₅₀ (µg/mL) là 35,2 và các chất **92, 94** là 27,1 và 18,9 đối với virus HSV-1 [33].

1.1.6.3. Hoạt tính chống ung thư

Cao chiết MeOH từ lá của hai loài *Allophyllus edulis* var. *edulis* và *Allophyllus edulis* var. *gracilis* ở liều 0,1 mg/ml và 0,01 mg/ml có hoạt tính bảo vệ tế bào gan chuột chống lại độc chất CCl₄ và galactosamine (Galc) là 59,52% và 20,10% [35].

Khi thử hoạt tính bảo vệ tế bào PC12 của các hợp chất flavonoid chống lại tác nhân Aβ₂₅₋₃₅ (tác nhân tạo ra độc chất NO tiêu diệt tế bào thần kinh của não bộ gây nên những khiếm khuyết trong não bộ của bệnh Alzheimer) cho thấy khả năng các tế bào PC12 được bảo vệ bởi các hợp chất flavonoid và làm tăng khả năng sống sót của tế bào. Hợp chất isovitexin (**108**) ảnh hưởng không đáng kể đến khả năng sống sót tế bào thần kinh não tại các nồng độ thử 25-100 µg/mL nhưng vitexin (**109**) lại có ảnh hưởng đáng kể ở nồng độ cao hơn 50, 100 và 150 µg/mL với khả năng sống sót của các tế bào là 10, 17, và 28%. Ở liều lượng 150 µg/mL, vitexin tiếp xúc với peptit Aβ làm giảm nồng độ NO từ đó làm giảm sự giải phóng NO do peptit Aβ₂₅₋₃₅ gây ra trong tế bào PC12 [37].

Lớp chất lignan phân lập được từ một số loài thuộc họ Bồ hòn có một số hoạt tính cao đặc biệt là hoạt tính chống ung thư. Hợp chất cleomiscosin A (**117**) được phân lập từ cao chiết MeOH của các bộ phận cành, thân của loài *Matayba arborescens* có hoạt tính yếu với tế bào ung thư máu P-388 (ED₅₀ = 3,8 µg/ml) [39].

Ba hợp chất **118** và **119, 120** có khả năng chống ung thư đối với các tế bào A-431, A-498, A-549, HT-29, MCF-7, PC-3, SK-MEL-5, SK-OV-3 với ED₅₀ (µg/ml) nằm trong phạm vi $3,0 \times 10^{-7} \div 9,7$ (µg/ml). Mặt khác, các cao chiết CH₂Cl₂ và MeOH 90% có độc tính đối với một số tế bào ung thư A-549, MCF-7, HT-29 với ED₅₀ là $5,78 \times 10^{-2} \div 2,48 \times 10^{-1}$ (µg/ml) và $3,13 \times 10^{-2} \div 3,95 \times 10^{-2}$ (µg/ml) tương ứng [41]. Ba lignan **125, 126** và **127** được phân lập từ loài *Eurycorymbus cavaleriei* có hoạt tính yếu với tế

bào Hepa-1c1c7 (một loại tế bào u gan ở chó), với giá trị $CD > 20 \mu\text{g/ml}$ men khử quinone [44].

Hợp chất **120** có khả năng ức chế hoạt tính của enzyme topoisomerase và phá hủy DNA, làm chậm lại chu trình phát triển tế bào của pha G2/M, tiêu diệt các tế bào ung thư ở hai dòng tế bào ung thư phổi không tế bào nhỏ A549 và H1299 [52].

Các proanthocyanidin có giá trị về mặt hoạt tính sinh học. Epicatechin, proanthocyanidin B2 and proanthocyanidin B4 có khả năng làm tăng tế bào lách của chuột so với rutin (nồng độ đạt tới $15 \mu\text{g/ml}$) và kháng ung thư nhưng ít gây nguy hại đến các tế bào lành tính khác hơn so với khi dùng thuốc paclitaxel. Giá trị IC_{50} đối với tế bào ung thư MCF-7 của epicatechin và proanthocyanidin B2 là 102 và $99 \mu\text{g/ml}$. Ngay cả khi nồng độ của proanthocyanidin B4 và cao chiết phân đoạn EtOAc đạt đến $500 \mu\text{g/ml}$ thì số lượng tế bào lành tính ổn định không bị phá hủy. Khi đó giá trị IC_{50} của epicatechin, proanthocyanidin B2, proanthocyanidin B4 và cao chiết phân đoạn EtOAc đối với ung thư HELF lần lượt là 231, 254, 452 và $421 \mu\text{g/ml}$ [53].

1.1.6.4. Hoạt tính sinh học khác

Ngoài một số hoạt tính nêu trên, các hợp chất được phân lập còn có một số hoạt tính sinh học khác. Kết quả khi tiến hành thử nghiệm hoạt tính của các chất được phân lập từ loài *D. viscosa* cho thấy, các hợp chất **49, 50, 51, 52, 53, 56, 58-62** có diện thể ảnh hưởng đến quá trình tạo thành mạch của nguyên bào sợi 3T3L1 với biểu hiện làm tăng hàm lượng triglyceride trong tế bào chuột [25]. Sử dụng phương pháp phân tích phản ứng khuếch đại gen thời gian thực (PCR) cho thấy các hợp chất **49, 53, 62** có tác dụng tăng mức độ hiện diện gen GLUT4 và $\alpha P2$. Trong khi đó, hợp chất **61** gây ra quá trình tạo mạch bằng cách mở rộng sự có mặt của gen $PPAR\gamma 2.21$ [25].

Trong số các hợp chất được phân lập từ lá của loài *Acer rubrum* chỉ có những hợp chất (**130-136**) đặc biệt có hoạt tính chống côn trùng rất cao ở (1,7; $+ 33,7 \pm 33,8$), (1,6; $+ 52,1 \pm 29,5$), (1,4; $+ 33,4 \pm 32,9$), (0,9; $+43,7 \pm 33,8$), (0,9; $+ 40,5 \pm 26,5$), (0,9; $+ 90,4 \pm 12,5$), (0,8; $+ 89,2 \pm 9,1$) (μM ; % \pm SD). Đây là những kết quả khả quan mang lại những tín hiệu tích cực trong việc sử dụng hợp chất thiên nhiên để chống lại côn trùng bảo vệ cây trồng [47].

1.2. Giới thiệu về chi *Baccaurea*

1.2.1. Phân loại

Giới:	Thực vật
Ngành:	Magnoliophyta
Lớp:	Eudicots
Bộ:	Malpighiales
Họ (Family):	Phyllanthaceae
Chi:	<i>Baccaurea</i>

Họ Diệp hạ châu (Phyllanthaceae), trước đây được coi là phân họ Phyllanthoideae của họ Đại kích (Euphorbiaceae), có khoảng 55-59 chi với khoảng 2.000 loài [54]. Chi Dâu da (*Baccaurea*) là một chi thực vật có hoa thuộc họ Phyllanthaceae. Theo The Plant list, chi này cho đến nay có khoảng 168 loài trong đó có 53 loài đã được ghi nhận [55].

1.2.2. Phân bố và đặc điểm thực vật

1.2.2.1. Phân bố

Tất cả các loài thuộc chi này phân bố từ Indonesia cho đến phía Tây Thái Bình Dương.

Theo cô GS Phạm Hoàng Hộ và sách dữ liệu thực vật Việt Nam, ở Việt Nam có 6 loài thuộc chi *Baccaurea* [56, 57].

Bảng 1.2. Một số loài thuộc chi *Baccaurea* phân bố tại Việt Nam

TT	Loài	Tên Tiếng Việt	Phân bố
1	<i>B. annamensis</i> Gagnep	Giâu tiên, dâu đất, du Trung Bộ, dâu da lông, dâu da quả đỏ, dâu da quả gồ.	Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, Đà Nẵng (Bà Nà), Khánh Hòa
2	<i>B. harmandii</i> Gagn	Dâu da nhỏ, Du lông	Tây Nguyên
3	<i>B. henii</i> Thun	Giâu hen	Thành phố Hồ Chí Minh
4	<i>B. ramiflora</i> Lour	Dâu da đất, Dâu tiên (Rambai).	Phạm vi rộng từ Tây Nguyên đến Phú Quốc
5	<i>B. sylvestris</i> Lour	Dâu tiên, dâu búng, chọt chẹt	Bình Trị Thiên, Bà Nà, Tây Nguyên, Bình Định.
6	<i>B. oxycarpa</i> Gagnep	Dâu trái nhọn, Gạt nai.	Bình Trị Thiên, Đồng Nai.

1.2.2.2. Đặc điểm thực vật của các loài thuộc chi *Baccaurea*

Chi *Baccaurea* là một chi nhỏ trong họ Dâu da (Phyllanthaceae). Đa phần là những cây lưỡng tính, trong đó hoa có đầu dục xuống thành từng búi hoặc dưới dạng

cành hoa. Có một vài loại hoa mọc ở thân. Quả thì đặc chắc, vỏ thường bị chẻ thành nhiều rãnh, hạt có từ 1-6 múi, đa phần ăn được và dùng để trồng trọt [58].

1.2.2.3. Giới thiệu về loài *Du moóc* (*B. sylvestris*)

Theo trung tâm dữ liệu thực vật Việt Nam, loài *B. sylvestris* còn có tên gọi khác là lòn bon, du vỏ đỏ, chọt chẹt, búng, dâu tiên, chọt chạt hay dâu gia vỏ đỏ, du moóc. Năm 1790, nhà khoa học João de Loureiro đã có những mô tả khoa học về loại cây này. Về đặc điểm hình thái sinh học, thì loài *B. sylvestris* là loài dạng gỗ đại mộc nhỏ, cao 14-15 m, đường kính thân cây khoảng 30-50 cm. Thân tròn, nhánh nghiêng, tán cây xanh đậm, vỏ ngoài nứt nẻ màu hồng thit dọc theo thân cây. Lá đơn, xen kẽ trên cành, mọc dày ở ngọn, hình trái xoan, nhọn, dài 10-12 cm, rộng 5-7 cm, màu sắc hai mặt lá khác nhau. Cuống lá tròn, dài 1,8-1,9 cm, hình to ở hai đầu. Quả mọng, đường kính từ 1,7-1,8 cm, cuống ngắn, mỗi quả có 6 khía, khi khô tách làm 3 mảnh, ruột quả có màu vàng. Quả ăn được và có vị chua ngọt, thường có 1-3 múi. Loài *B. sylvestris* là loài đặc hữu mọc trong tự nhiên, xanh quanh năm, có thể mọc ở rừng đầu nguồn hay rừng sản xuất. Phạm vi phân bố từ tỉnh Nghệ An đến Bình Định. Mùa hoa bắt đầu từ tháng 5 đến mùa quả vào khoảng tháng 8 đến tháng 9 [59].

1.2.3. Ứng dụng trong y học cổ truyền của một số loài thuộc chi *Baccaurea*

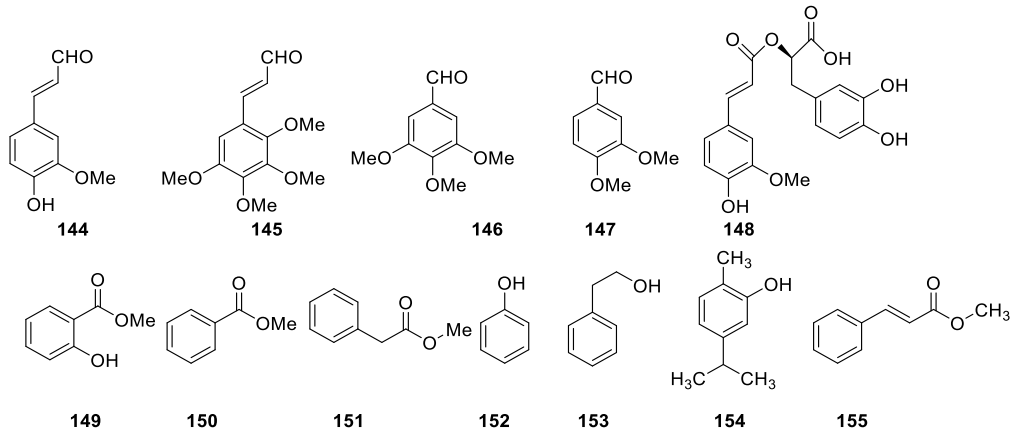
Trong số các loài thuộc chi *Baccaurea*, có một số loài phổ biến ở Đông Nam Á bao gồm *B. ramiflora*, *B. angulata*, *B. courtallensis*, *B. macrophylla*, *B. macrocarpa*, *B. lanceolata*, *B. racemosa* và *B. motleyana* được xem là những cây thuốc được sử dụng trong dân gian [60]. Loài *B. ramiflora* được sử dụng điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, giảm đau, viêm mô tế bào, chứng áp xe và điều trị chấn thương [61-63]; quả, lá non, thân, và hạt được dùng chữa rắn cắn, hay sử dụng trong các nghi lễ để tạo hương vị cho món ăn, điều trị chứng táo bón, chữa bệnh tiêu chảy và nhuộm màu cho các vật liệu dệt [64-67]. Loài *B. courtallensis* được sử dụng điều trị chứng còi cọc, làm thuốc giải độc, điều trị vô trùng, loét miệng, dạ dày, tiêu đường, đau đầu, hạ sốt, chống viêm, chứng rối loạn màng nhầy, kháng khuẩn và kiểm soát cholesterol [68-74]. Cao chiết dạng gel từ loài *B. angulata* được dùng làm gel chữa vết thương trong điều trị bệnh về răng [75]. Loài *B. lanceolata* dùng để điều trị đau đầu, hạ sốt, viêm nhiễm, đau dạ dày, chống say rượu và chữa chứng tiêu chảy [76-78]. *B. macrophylla* là một cây thảo dược phổ biến ở Thái Lan dùng để trong ẩm thực và là dược phẩm dùng điều trị đau bụng và các bệnh về mắt [79]. Loài *B. motleyana*, được

sử dụng điều trị chứng đau mắt, mụn trứng cá và các bệnh về da, còn được sử dụng làm thực phẩm [80-83]. Tại Indonesia, loài *B. macrocarpa* được sử dụng làm thuốc chữa bệnh về tiêu chảy [84]. Loài *B. racemosa* chủ yếu tìm thấy trong rừng rậm chứa nhiều chất dinh dưỡng và các hợp chất có ích được dùng để bổ trợ cho các món ăn của dân địa phương sống gần rừng [85].

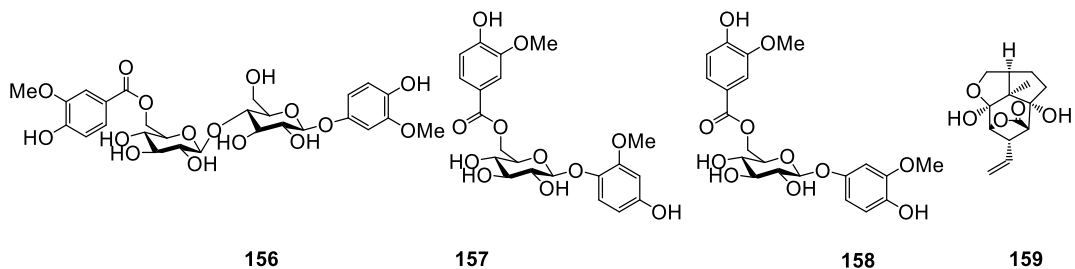
1.2.4. Thành phần hóa học của các loài thuộc chi *Baccaurea*

1.2.4.1. Lớp chất phenolic

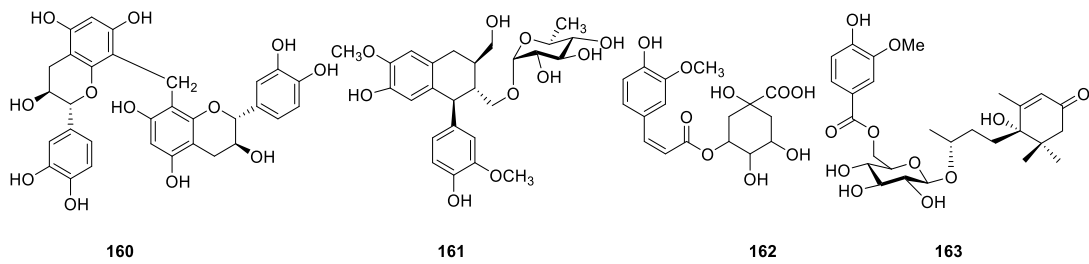
Các hợp chất phenolic là lớp chất phổ biến tìm thấy ở nhiều loài thuộc chi *Baccaurea*. Một số hợp chất phenolic đơn giản gồm 3-methoxy-4-hydroxycinnamaldehyde (**144**), 3,4,5-trimethoxy cinnamaldehyde (**145**), 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (**146**), và 3,4-dimethoxybenzaldehyde (**147**) từ thân loài *B. ramiflora* [86]; rosmarinic acid (**148**) [87], và methyl salicylate (**149**) từ quả loài *B. motleyana* [88], methyl benzoate (**150**), methyl phenylacetate (**151**), phenol (**152**), 2-phenylethanol (**153**), carvacrol (**154**) và methyl (*E*)-cinnamate (**155**) từ quả (loài *B. motleyana*) [89].



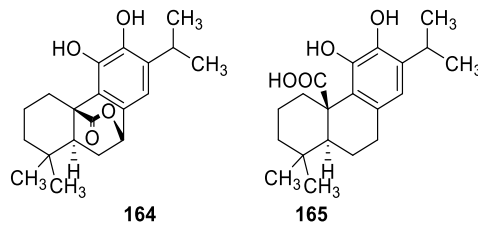
Từ lá của loài *B. ramiflora* đã phân lập ra 3 hợp chất gồm 4'-*O*-(6-*O*-vanilloyl)- β -D-glucopyranosyl tachioside D (**156**) [90], 6'-*O*-vanilloylisotachioside (**157**), 6'-*O*-vanilloyltachioside (**158**) [91]. Từ hạt của loài *B. sapida* đã phân lập được hợp chất sapidolide A (**159**) (meroisoprenoid) [92].



Một số dẫn xuất phenolic khác được phân lập từ các bộ phận của loài *B. ramiflora* bao gồm: bis(8,8'-catechynyl)methane (**160**), aviculin (**161**), 3-*O*-caffeoyl-4-*O*-methylquinic acid (**162**) [91], 6'-*O*-vanilloylcariside B₅ (**163**) [90].

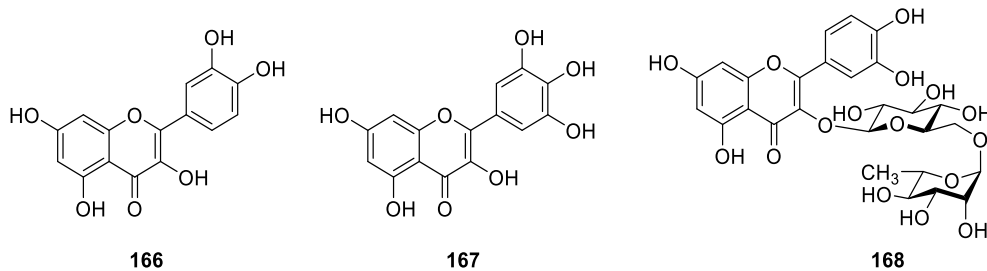


Một số dẫn xuất phenolic khác được phân lập từ quả của loài *B. angulata* như carnosol (**164**) và carnosic acid (**165**) [93].



1.2.4.2. Lớp chất flavonoid

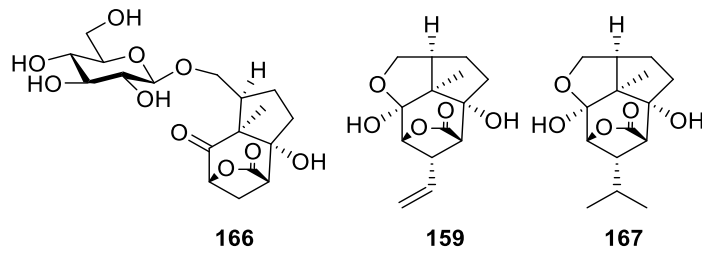
Cho đến nay, lớp chất flavonoid rất ít được tìm thấy ở các loài thuộc chi *Baccaurea*. 5 hợp chất flavonoid gồm quercetin (**166**), catechin (**83**), kaempferol (**37**), myricetin (**167**), rutin (**168**) được phân lập từ quả loài *B. angulata* [93]. Hợp chất (-)-epicatechin (**81**) được phân lập từ lá của loài *B. ramiflora* [91].



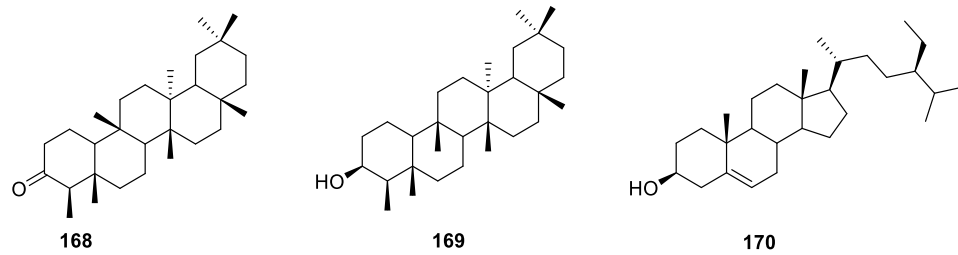
1.2.4.3. Lớp chất khác

Ngoài hai lớp chất cơ bản đã nói ở trên, các loài thuộc chi *Baccaurea* ít được nghiên cứu, các nghiên cứu thường dừng lại ở mức thử hoạt tính của cao chiết chỉ có một vài công bố nghiên cứu sâu hơn về phân lập.

Năm 2015, từ quả loài *B. ramiflora*, Zheng-Hong Pan và cộng sự đã phân lập ba hợp chất picrotoxane sesquiterpene, trong đó có một chất sesquiterpene glycoside mới (**166**) và hai chất đã biết là sapidolide A (**159**), picrotoximaesin (**167**) [94].



Ngoài ra một số hợp chất terpenoid cũng được phân lập từ thân của loài *B. sapida* gồm friedelin (**168**), *epi*-friedelanol (**169**) và 1 steroid là β -sitosterol (**170**) [95].



1.2.5. Hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Baccaurea*

1.2.5.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Một số loài thuộc chi *Baccaurea* có hoạt tính chống oxy hóa nổi bật gồm *B. ramiflora*, *B. angulata*, *B. courtallensis*, *B. macrocarpa*, *B. macrophylla*, *B. lanceolata*, *B. racemosa*. Các loại cao chiết tạo nên từ các bộ phận của loài *B. ramiflora* như lá, thân, cành và quả, đều có hoạt tính chống oxy hóa. Cao chiết MeOH từ lá có khả năng bắt gốc tự do tốt với $IC_{50} = 23,83 \mu\text{g/ml}$ [96].

Cao chiết chloroform và ether dầu hỏa, từ quả loài *B. ramiflora* thể hiện độc tính cao đối với tôm biển với LC_{50} là $74,2 \mu\text{g/ml}$ và $129 \mu\text{g/ml}$ (chất đối chứng vincristine sulfate có LC_{50} là $0,54 \mu\text{g/ml}$) [97]. Cao chiết phân đoạn chloroform từ thân của loài *B. ramiflora* cũng thể hiện khả năng bắt gốc tự do cao với $IC_{50} = 12,87 \mu\text{g/ml}$ so với chất chuẩn BHT có $IC_{50} = 5,64 \mu\text{g/ml}$ [86]. Các phép thử về độc tế bào và ức chế huyết tán với các tế bào tế bào lách, tế bào tụy, tế bào gan và dịch tiết phúc mạc của đại thực bào từ dịch quả loài *B. ramiflora* cho thấy quả của loài này không có độc tố và an toàn cho sử dụng [98]. Cao chiết nước từ các bộ phận cành và lá loài *B. courtallensis* có hoạt tính chống oxy hóa rất mạnh với IC_{50} $1,5 \mu\text{g/ml}$ và $1,0 \mu\text{g/ml}$ tương ứng [71].

Năm 2018, Erwin và cộng sự xác định cao chiết methanol từ thân của loài *B. macrocarpa* chứa các hợp chất alkaloid, flavonoid, phenolic, steroid, triterpenoid và

cao chiết này có hoạt tính chống oxi hóa cao với giá trị IC_{50} là 11,50 ppm [99]. Cao chiết ethanol từ lá loài *B. macrophylla*, chứa tổng hàm lượng phenol rất cao ($161 \pm 0,32$ mg gallic acid đương lượng/1 gam mẫu) và có hoạt tính chống oxi hóa cao với IC_{50} là 1,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [79]. Cao chiết MeOH từ thân và lá loài *B. racemosa* có hoạt tính oxi hóa rất mạnh với $IC_{50} \pm SD$ (DPPH) là $4,298 \pm 0,306$ và $10,627 \pm 0,996$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) [100].

Khi nghiên cứu về khả năng chống oxi hóa của nước ép trái cây của loài *B. angulata* trên đối tượng là thỏ với các liều lượng khác nhau là 0,50, 1,00 và 1,50 ml/kg/ngày. Kết quả cho thấy, nước ép trái cây làm giảm sự hình thành hợp chất MDA và tăng cường khả năng chống oxi hóa của các enzyme tốt nhất với liều lượng 1,50 ml/kg/ngày [101]. Trong một công bố về loài *B. sapida* cho thấy, quả của loài này chứa nhiều polyphenol có hoạt tính chống oxi hóa cao với IC_{50} và EC_{50} là 0,027 và 1,12 (mg/mg). Giá trị này gần như đạt chuẩn của hợp chất quercetin. Điều này giúp cho việc bảo vệ ADN khỏi bị biến đổi bởi các gốc tự do [102].

Bên cạnh khảo sát hoạt tính chống oxi hóa của các cao chiết từ các loài thuộc chi *Baccaurea*, các hợp chất phân lập được cũng cho thấy khả năng chống oxi hóa tốt.

Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học cho thấy, hợp chất sapidolide A (**159**) có hoạt tính ức chế các loại nấm gây bệnh như *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora oryzae*, *Alternaria solani*, *Curvularia eragrostidis*, *Collectotrichum gleosporioides* [92]. Qua khảo sát cho thấy, 6 hợp chất **157**, **158**, và **81**, **160-162** có khả năng chống gốc tự do DPPH nằm trong phạm vi ($15,2 \div 86,9$) μM [91].

Cũng liên quan đến loài *B. ramiflora*, kết quả khảo sát hoạt tính chống gốc tự do của các chất cho thấy, hợp chất **156** có khả năng chống gốc tự do tốt với giá trị IC_{50} là 36,9 μM [90].

1.2.5.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm và kháng nấm

Bên cạnh hoạt tính chống oxi hóa, các cao chiết và các hợp chất phân lập từ các loài thuộc chi *Baccaurea* có hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, và kháng nấm cao.

Khảo sát các cao chiết ethanol, methanol, cao nước tạo nên từ các bộ phận quả của loài *B. angulata* cho thấy: cao chiết ethanol của phần vỏ quả cho hoạt tính kháng khuẩn cao chống lại khuẩn *S. pneumonia* (bán kính ức chế 37 ± 1 mm, theo phương

pháp khuếch tán agar), đồng thời có tác dụng chống lại mạnh nhất đối với khuẩn *S. epidermidis* và *K. pneumoniae* (phương pháp vi lượng) [103]; cao chiết methanol từ nhân của quả của loài *B. sapida* có khả năng chống lại một số vi khuẩn gram (+) và vi khuẩn gram (-) với giá trị MIC từ 2,5-5 mg/ml, vùng bán kính ức chế đối với khuẩn *Shigella flexeneri* tại giá trị $18,8 \pm 0,7$ mm [104]; cao chiết thô ((nồng độ 400 µg/ml) từ thân loài *B. ramiflora* có hoạt tính kháng khuẩn *S. aureus* (bán kính ức chế là 22 mm) và kháng khuẩn *S. boydii* (bán kính 25 mm) so với chất chuẩn là ciprofloxacin (30 µg/disk, bán kính 34 và 38 mm [105]. Cao chiết methanol từ lá của loài *B. courtallensis* có hoạt tính cao chống lại một số vi khuẩn gram (+) bao gồm *S. aureus* (MIC là 1,6 µg/ml), *E. coli* (4,68 µg/ml) và một số vi khuẩn gram (-) như *B. subtilis* (2,36 µg/ml) và *P. aeruginosa* (37,5 µg/ml) [106]. Cao chiết ethyl acetate từ lá của loài *B. macrocarpa* chứa các alkaloid, các anthraquinone, các flavonoid, và các tannin có hoạt tính chống hai loại khuẩn *E. coli* và *B. cereus* với bán kính ức chế đối với hai chủng khuẩn này là $8,33 \pm 0,577$ và $7,33 \pm 1,528$ (mm); còn cao chiết hexane chỉ có hoạt tính khử khuẩn với chủng *B. cereus* với vùng bán kính ức chế là $7,00 \pm 0,000$ (mm) [107]. Cao chiết thô từ loài *B. lanceolata* có hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối 2 chủng *P. aeruginosa* và *B. cereus* với giá trị MIC là 12,5 µg/ml [76]. Các cao chiết ether dầu hỏa, chloroform và ethanol từ vỏ quả của loài *B. motleyana* đều có hoạt tính kháng khuẩn. Trong đó, nổi bật nhất là cao chiết ethanol với vùng bán kính ức chế đối với một số loại khuẩn *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* tương ứng là 20, 25, 35, 20 (mm) [80].

Cao chiết thô từ thân của loài *B. ramiflora* có khả năng kháng nấm mạnh với 3 chủng vi khuẩn *Rhizopus oryzae*, *Candida arrizae* và *Saccharomyces cervisia*, với vùng bán kính ức chế tương ứng là 9, 10 và 9 (mm) [105]. Cao chiết từ quả của loài *B. angulata* có tác dụng làm giảm chất kháng viêm serum, khi ở hàm lượng 1,5 ml/kg, nước trái cây trong bữa ăn có hiệu quả giảm cytokine hơn so với liều lượng 0,5 ml/kg và 1 ml/kg từ đó giảm các triệu chứng về bệnh tim mạch do hội chứng cholesterol gây ra [108].

Các hợp chất phân lập được từ những loài thuộc chi *Baccaurea* cũng có những hoạt tính sinh học quan trọng. Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học cho thấy, hợp chất

sapidolide A (**159**) có hoạt tính ức chế các loại nấm gây bệnh như *Helminthosporium oryzae*, *Phytophthora oryzae*, *Alternaria solani*, *Curvularia eragrostidis*, *Collectotrichum gleosporioides* [92]. 3 hợp chất **166**, **159** và **167** được phân lập từ loài *B. ramiflora* có khả năng chống nấm mốc *Collectotrichum gleosporioides* rất cao với giá trị MIC lần lượt là 12,5, 12,5 và 50 mg/mL [94].

Kết quả thử nghiệm các liều lượng khác nhau của cao chiết methanol từ vỏ quả và hạt của loài *B. ramiflora* và từ hạt của loài *B. ramiflora* vào cơ thể chuột bị phù nề ở chân thì cho thấy kết quả sau 4h ứng với liều lượng 200 mg/kg, khả năng ức chế của 2 cao chiết này làm giảm chứng phù nề 42% và 55,22% so với chất đối chứng ibuprofen đã chứng tỏ các bộ phận của loài *B. ramiflora* có hoạt tính kháng viêm tốt [109]. Năm 2019, cao chiết ethanol lá của loài *B. courtallensis* có khả năng ức chế giảm chứng phù nề ở chuột tới 68,18% với liều lượng 150 mg/kg và 86,36% tại liều lượng 450 mg/kg so với chất đối chứng indomethacin (92,72 % tại liều lượng 10mg/kg) [72].

1.2.5.3. Hoạt tính chống ung thư

Năm 2012, khi tiến hành thử hoạt tính chống ung thư của các cao chiết phân đoạn *n*-hexane và dichloromethane từ cao chiết methanol của vỏ và quả loài *B. motleyana* cho thấy giá trị IC₅₀ lần lượt là 51,0 ± 3,1 và 82,4 ± 2,4 µg/mL (hexane); 43,6 ± 0,3; 75,0 ± 1,2 µg/mL (dichloromethane) đối với tế bào ung thư HT-29 [110]. Các cao chiết ethanol từ trái, lá, hạt và thân có hoạt tính tính chống lại các tế bào ung thư HeLa, HT29 và HCT116 sau 72h [79].

1.2.5.4. Hoạt tính sinh học khác

Cao chiết MeOH của lá thuộc loài *B. ramiflora* ở liều 200mg/kg/ngày làm giảm đáng kể đường huyết thậm chí về mức bình thường của chuột bị mắc tiểu đường (do tiêm alloxane với liều 120 mg/kg) sau 14 ngày điều trị. Điều này mở ra triển vọng trong việc phân lập các hợp chất tự nhiên làm thuốc giảm đường huyết và giảm mỡ máu nhằm phục vụ cho việc chữa bệnh cho con người [96].

Khi khảo sát hoạt tính độc tố của các phân đoạn *n*-hexane, chloroform và carbon tetrachlorua được chiết từ lá và cành của loài *B. ramiflora* (Lour.) với đối tượng là tôm, tác giả Md. Amran Howlader và cộng sự nhận thấy trong số các phân đoạn trên thì phân đoạn cao *n*-hexane có ảnh hưởng độc tố mạnh với giá trị LC₅₀ là 7,79

$\mu\text{g/ml}$ (ngưỡng quy định là 6,48-9,37) và 5,78 $\mu\text{g/ml}$ (ngưỡng quy định là 4,76-6,99) so với chất đối chứng dương là vincristine sulfate có giá trị LC_{50} là 2,81 $\mu\text{g/ml}$ (ngưỡng quy định là (1,97-4,01) [111].

Cao chiết methanol từ lá của loài *B. courtallensis* có khả năng giảm lipid trong máu với mức độ HDL của nhóm triton (nhóm mỡ máu dưới tác dụng triton + fenofibrate) + cao chiết (200 mg/kg) và triton + cao chiết (400 mg/kg) là $33,75 \pm 1,89$ (mg/dl) và $34,51 \pm 1,8$ (mg/dl) so với nhóm bình thường là $46,86 \pm 1,88$ (mg/dl) cho thấy cao chiết này có khả năng làm giảm lipid trong máu [69].

Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Baccaurea* cho thấy các công bố về các hoạt tính sinh học của các hoạt chất phân lập từ các loài thuộc chi này còn hạn chế, các nghiên cứu chủ yếu dừng lại ở các cao chiết từ các bộ phận của loài mặc dù tiềm năng về giá trị sử dụng của chúng rất lớn. Vì vậy cần tiến hành nhiều hơn nữa các nghiên cứu phân lập và đánh giá hoạt tính của các hợp chất phân lập được từ các loài trong chi *Baccaurea* để tìm kiếm các hoạt chất có hoạt tính cao phục vụ phát triển các sản phẩm dược từ các loài thuộc chi này.

1.3. Tình hình nghiên cứu về loài *Amsiodendron chinense* (Merr.) Hu và loài *Baccaurea sylvestris* Lour trên thế giới và Việt Nam

Cho đến hiện nay, trên thế giới đã có một công bố thành phần hóa học chính của dầu từ hạt của loài *A. chinense* là 9-octadecenoic acid [112]. Ngoài ra, chưa có công trình nào nghiên cứu sâu về thành phần hoá học cũng như hoạt tính của loài này. Còn đối với loài *B. sylvestris*, trên thế giới cũng như ở Việt Nam chưa có công trình công bố nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài này.

CHƯƠNG 2: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU - THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Loài *A. chinense*

Lá và hoa loài *A. chinense* được thu hái tại bán đảo Sơn Trà-thành phố Đà Nẵng vào tháng 3/2018.

Tọa độ cây: N= 16°07'48.8"/E= 108°13'39.2" độ cao 400m. Cây có đường kính 52 cm, cao 14-15m, đường kính tán rộng 22m. Mẫu được giám định bởi tiến sĩ Đỗ Văn Hải, Viện Sinh Thái và Tài nguyên Sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản (PTH15032018) của loài *A. chinense* được lưu giữ tại Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Mẫu tiêu bản của loài *A. chinense*

2.1.2. Loài *B. sylvestris*

Lá loài *B. sylvestris* được thu hái tại trạm thực vật Kon Hà Nùng, xã Đak Smar, huyện Kbang, tỉnh Gia Lai vào tháng 3/2018.

Tọa độ cây: Tọa độ N = 14°10'815"/ E = 108°39'180". Độ cao 715 m, chiều cao vút ngọn $H_{vn} = 25$ m, chiều cao dưới cành $H_{dc} = 12$ m, chiều rộng tán = 12m.

Mẫu được giám định bởi tiến sĩ Đỗ Văn Hải, Viện Sinh Thái và Tài nguyên Sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản (PTH24032018) của loài *B. sylvestris* được lưu giữ tại Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.2. Mẫu tiêu bản của loài *B. sylvestris*

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết và phân lập các hoạt chất

Mẫu thực vật tươi được chặt nhỏ, phơi khô rồi nghiền và chiết trong dung môi MeOH ở nhiệt độ phòng. Cặn chiết tổng được chiết phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần như *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate để tạo các cặn chiết tương ứng.

Các phương pháp sắc ký được sử dụng như sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn silica gel Merck 60F254, có độ dày 0,2 mm. Thuốc hiện màu cho sắc ký bản mỏng là dung dịch ceri (IV) sunfat trong acid H₂SO₄.

Sắc ký cột được thực hiện như sau:

- Sắc ký cột thường với chất hấp phụ là silica gel 60 F254.
- Sắc ký cột pha đảo với chất hấp phụ là silica gel pha đảo Rp-18 F254S.
- Sắc ký lọc gel với chất hấp phụ là Sephadex LH-20 (Merck), nhựa Dianion HP-20.
- Hệ dung môi rửa giải sử dụng các dung môi hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, MeOH, acetone và nước ở các tỉ lệ phù hợp.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

Cấu trúc của các hợp chất phân lập được xác định dựa trên sự kết hợp các phương pháp phổ hiện đại như quang phổ hồng ngoại (FT-IR), phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis), phổ khối thường (ESI-MS) và phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT) và hai chiều (HSQC, HMBC, COSY, NOESY), phương pháp đo năng suất quay cực, đo nhiệt độ nóng chảy.

2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào *in vitro*

2.2.3.1. Dòng tế bào nghiên cứu

4 dòng tế bào ung thư KB, LU, HepG2, và MCF-7 do GS. TS. J. M. Pezzuto, Trường Đại học Hawaii và GS. Jeanette Maier, trường Đại học Milan, Italia cung cấp.

2.2.3.2. Phương pháp nuôi cấy *in vitro*

Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* thực hiện theo phương pháp của Monks [113] được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute – NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*.

Nguyên tắc của phép thử là tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD – Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn.

2.2.4. Phương pháp thủy phân acid để xác định cấu trúc của đường

Hợp phần đường trong các hợp chất **AC1**, **AC2** và **AC3** được xác định bằng phương pháp thủy phân acid.

Mỗi hợp chất (**AC1**, **AC2** hoặc **AC3**; 2,0 mg) được hòa tan trong hỗn hợp dung dịch HCl ~1 N [0,1 mL HCl đậm đặc (10N) pha trong hỗn hợp dioxane/H₂O, 1/1, v/v, 0,9 mL]. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt cách thủy ở 80 °C trong 3 h, sau đó được sục khí N₂ qua đêm, rồi được chiết phân bố với hỗn hợp dung môi (H₂O/CHCl₃, 1:1, v/v). Lớp nước được cô quay dưới chân không thấp rồi làm khô bằng khí N₂. Phần cặn thô thu được được hòa tan trong pyridine khan (0,1 mL), sau đó thêm vào hỗn hợp 0,1 mL L-cysteine methyl ester hydrochloride (0,06 M)/pyridine (0,1 mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 60 °C trong 2 h, sau đó thêm

trimethylsilylimidazole (0,1 mL) vào rồi tiếp tục đun trong 1,5 h nữa. Hỗn hợp sản phẩm được cô quay đến khô rồi được tạo huyền phù với nước và được chiết phân bố trong hexane (thể tích mỗi dung môi là 0,1 mL). Lốp chất hữu cơ (trong *n*-hexane) được làm khan rồi được phân tích bằng sắc ký khí sử dụng cột DB-5 (đường kính cột 0,32 mm x độ dài 30 m), detector FID, nhiệt độ cột 210 °C, nhiệt độ buồng tiêm mẫu 270 °C, nhiệt độ detector 300 °C, khí mang He (2 mL/phút). Từ các điều kiện trên, các đường chuẩn cho các đỉnh peak tại thời gian lưu t_R (phút) là 14,11 và 14,26 tương ứng với đường D- và L-glucose; 4,50 cho L-rhamnose. Các hợp chất **AC1**, **AC2**, **AC3** sau khi thủy phân và tiến hành chạy sắc ký khí các sản phẩm thu được dẫn xuất của đường D- glucose (t_R là 14,11 phút) của hợp chất **AC1**, và dẫn xuất của đường L-rhamnose (t_R là 4,50 phút) của hợp chất **AC2** và **AC3**.

2.3. Thiết bị và hóa chất

2.3.1. Thiết bị

- * Các loại cột sắc ký thủy tinh với kích cỡ khác nhau.
- * Đèn tử ngoại ở bước sóng 254 và 365 nm
- * Máy cô quay chân không hãng Buchi
- * Máy hứng phân đoạn Eyela DC-100
- * Cân điện tử
- * Độ quay cực được đo trên thiết bị Jasco P-2000 Polarimeter serial A060161232, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- * Máy đo điểm chảy Thermo scientific Mel-Temp 3.0 (USA) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- * Phổ hồng ngoại FT-IR được đo bằng phương pháp ép nén KBr bằng máy IMPACT 410, Nicolet-Carl Zeiss Jena (Đức) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và máy Iffanity-1S, Shimzadu (Nhật Bản) tại Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Đại Học Quy Nhơn.
- * Phổ UV-Vis được đo trên máy UV-Vis -1800 Shimadzu tại Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Trường Đại học Quy Nhơn
- * Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D và 2D-NMR được đo trên máy Varian FT-NMR Spectromter, Bruker AM 500 và Bruker AM600 tại Viện Hóa học, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- * Phổ khối thường được đo trên máy Agilent 6120 Quadrupole LC/MS tại Viện

Hóa học, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- * Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy FT-ICR-MS Varian (USA), tại Viện Hóa học, và máy ESI Q-TOF MS/MS tại Viện Hóa sinh biển thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.2. Hóa chất

Các dung môi dùng trong sắc kí bản mỏng và sắc kí cột, ngâm mẫu đều được chung cất lại (thuộc hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc).

Silicagel dùng trong sắc kí bản mỏng và sắc kí cột thuộc loại tinh khiết (Merck - Đức).

Các dung môi thường được sử dụng là *n*-hexane, acetone, dichloromethane, chloroform, methanol, ethyl acetate, nước cất.

Bảng 2.1. Danh mục hóa chất dùng trong thực nghiệm

STT	Hóa chất	Công thức	Xuất xứ
1	acetone	CH ₃ COCH ₃	Hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc
2	chloroform	CHCl ₃	Hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc
3	L-cysteine methyl ester hydrochloride	HSCH ₂ CH(NH ₂)COOCH ₃ · HCl	Merck – Đức
4	dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	Hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc
5	1,4-Dioxane	C ₄ H ₈ O ₂	Merck – Đức
6	ethyl acetate	CH ₃ COOC ₂ H ₅	Hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc
7	<i>n</i> -hexane	C ₅ H ₁₂	Hàng công nghiệp hoặc Trung Quốc
8	Hydrochloric acid	HCl	Merck – Đức
9	Nước cất	H ₂ O	Merck – Đức
10	Pyridine	C ₅ H ₅ N	Merck – Đức
11	Silicagel	SiO ₂	Merck – Đức
12	Trimethylsilylimidazole	C ₆ H ₁₂ N ₂ Si	Merck – Đức

2.4. Thực nghiệm

2.4.1. Chiết xuất và phân lập các hoạt chất từ lá của loài *A. chinense*

Mẫu lá tươi loài *A. chinense* thu được phơi nắng và sấy khô rồi nghiền nhỏ thu được 7 kg bột khô. Bột lá khô được ngâm chiết bằng MeOH 85% (5 × 35 L × 24 h) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được gộp lại và cô quay dưới áp suất giảm loại bớt dung môi thu được dịch cô MeOH (1,5 L). Dịch cô được tạo huyền phù với nước (1/1, v/v) cho 3 L huyền phù. Hỗn hợp huyền phù (3 L) được chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane và ethyl acetate. Các phân đoạn dịch chiết sau khi loại bỏ dung môi thu được 70 g cao *n*-hexane (AH) và 50 g cao ethyl acetate (AE) tương ứng; phần dịch nước còn là 2,5 L.

Cao AE (50 g) được phân lập qua SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải lần lượt là CH₂Cl₂/EtOAc (2/0,2), EtOAc, EtOAc/MeOH (2/0,5) thu được 5 phân đoạn AE1 (6 g), AE2 (8 g), AE3 (15 g), AE4 (13 g), AE5 (10 g).

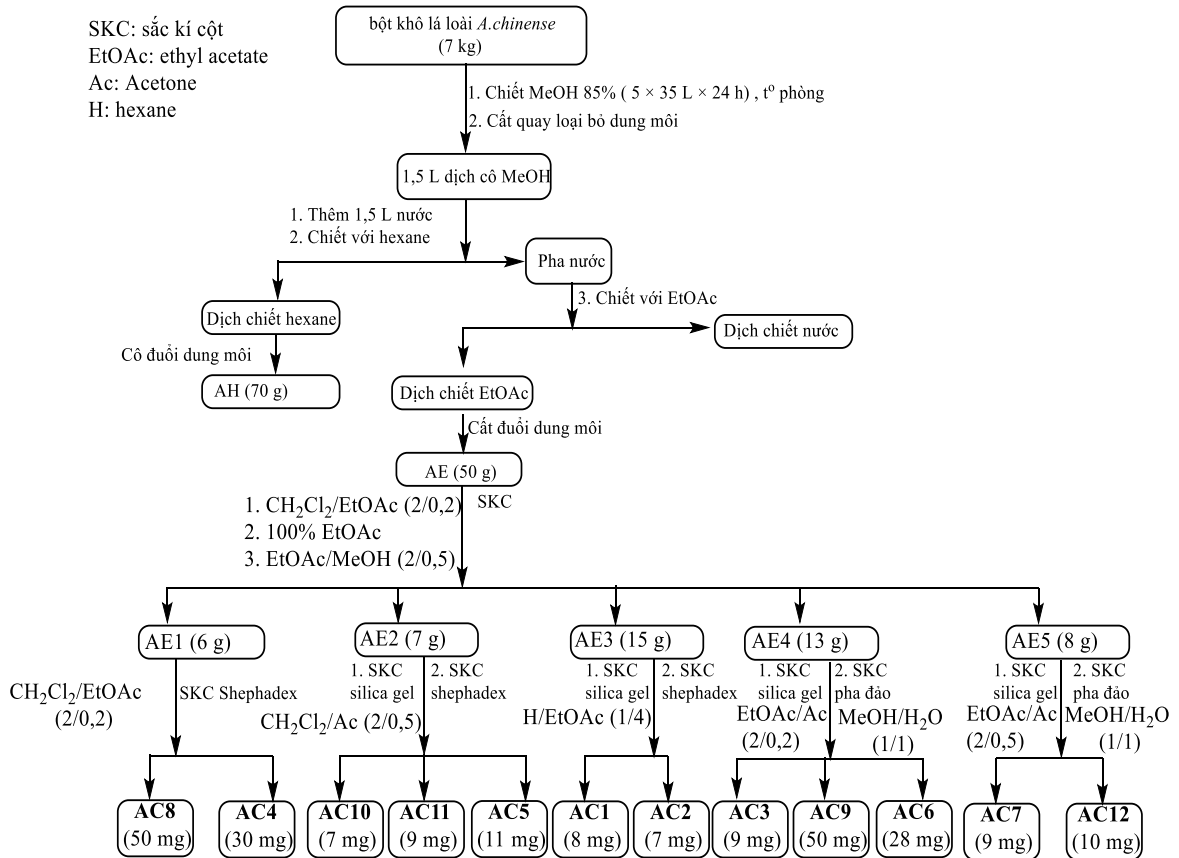
Phân đoạn AE1 (6 g) được tinh chế bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/EtOAc (2/0,2) thu được hai hợp chất, hai hợp chất này được tinh chế qua SKC Sephadex LH 20 thu được 2 hợp chất sạch là **AC8** (50 mg) và **AC4** (30 mg).

Phân đoạn AE2 (8 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/Acetone (2/0,2) thu được 3 hợp chất. Tiến hành tinh chế 3 hợp chất này qua SKC Sephadex LH 20 thu được 3 hợp chất sạch là **AC10** (7 mg), **AC11** (9 mg) và **AC5** (11 mg).

Phân đoạn AE3 (15 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/EtOAc (1/4) sau đó tinh chế tiếp bằng SKC Sephadex LH 20 thu được 2 hợp chất sạch là **AC1** (8 mg) và **AC2** (7 mg).

Phân đoạn AE4 (13 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải EtOAc/Acetone (2/0,2) sau đó tinh chế tiếp bằng SKC silica gel pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (1/1) thu được 3 hợp chất sạch là **AC3** (9 mg), **AC9** (50 mg) và **AC6** (28 mg).

Phân đoạn AE5 (10 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải EtOAc/Acetone (2/0,5) sau đó tinh chế tiếp bằng SKC silicagel pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (1/1) thu được 2 hợp chất sạch là **AC7** (9 mg) và **AC12** (10 mg).



Hình 2.3. Sơ đồ phân lập các chất từ lá của loài *A. chinense*

2.4.2. Chiết xuất và phân lập các hoạt chất từ hoa của loài *A. chinense*

Mẫu hoa cây *A. chinense* được thu hái, phơi nắng rồi sấy khô, nghiền nhỏ, thu được 2,3 kg bột khô. Bột mẫu được ngâm chiết siêu âm trong MeOH/H₂O (10/1, v/v) (1 x 10 L + 4 x 5 L) ở nhiệt độ 50 °C, mỗi lần chiết siêu âm trong 3 x 30 phút. Dịch chiết được gộp lại và cô quay dưới áp suất giảm loại hết MeOH thu được dịch cặn thô (1 L). Dịch cặn thô được tạo huyền phù với 1 L nước. Hỗn hợp huyền phù (2 L) được chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane và ethyl acetate. Các dịch chiết sau khi loại bỏ dung môi thu được cao *n*-hexane (AFH, 20 g) và cao ethyl acetate (AFE) tương ứng; phần dịch nước còn lại là 1.7 L.

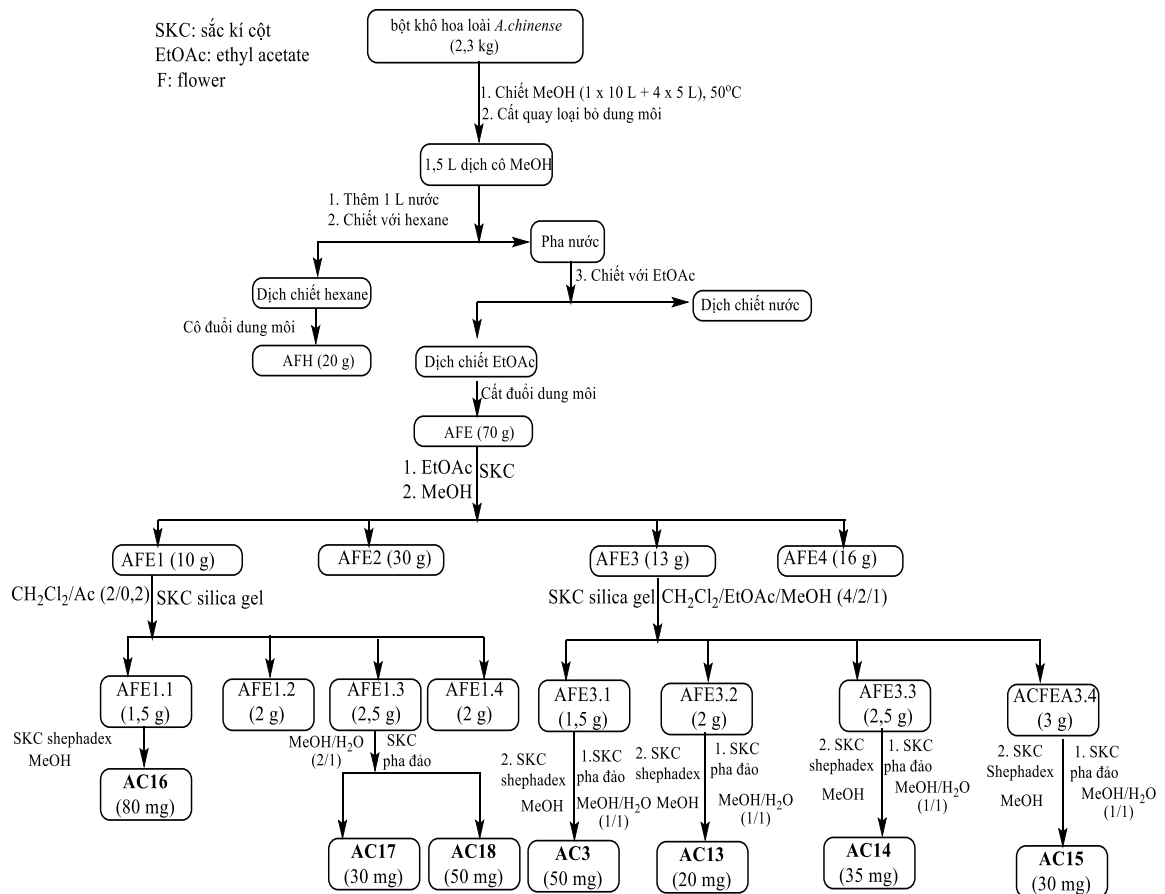
Cao chiết AFE (70 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với dung môi EtOAc rồi rửa giải bằng MeOH thu được các phân đoạn tương ứng AFE1 (10 g), AFE2 (30 g), AFE3 (13 g), AFE4 (10 g).

Phân đoạn AFE1 (10 g) được phân lập bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/Ac (2/0,2) thu được các phân đoạn AFE1.1 (1,5 g), AFE1.2 (2 g), AFE1.3 (2,5 g), AFE1.4 (2 g).

Phân đoạn AFE1.1 được tinh chế (1,5 g) trên SKC Sephadex LH-20 với dung môi MeOH thu được hợp chất sạch **AC16** (80 mg). Phân đoạn AFE1.3 được tinh chế qua cột pha đảo bằng silica gel pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (2/1) thu được 2 hợp chất sạch là **AC17** (30 mg) và **AC18** (50 mg).

Phân đoạn AFE3 (13 g) được qua SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH (2/1/0,5) thu được các phân đoạn AFE3.1 (2 g), AFE3.2 (2 g), AFE3.3 (2,5 g), AFE3.4 (3 g). Phân đoạn AFE3.1 (2 g) được tinh chế qua SKC silica gel pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (1/1) và SKC Sephadex LH-20 với dung môi MeOH thu được hợp chất sạch là **AC3** (50 mg).

Hai phân đoạn AFE3.2 (2 g), và AFE3.3 (2,5 g) và phân đoạn AFE3.4 (3 g) được phân lập và tinh chế tương tự như phân đoạn AFE3.1 lần lượt thu được hợp chất sạch **AC13** (20 mg) và **AC14** (35 mg), hợp chất sạch **AC15** (30 mg).



Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các chất từ hoa của loài *A. chinense*

2.4.3. Chiết xuất và phân lập hoạt chất từ lá của loài *B. sylvestris*

Mẫu lá tươi cây *B. sylvestris* được phơi nắng, sấy khô rồi nghiền nhỏ thu được 5 kg bột khô. Bột lá khô được ngâm chiết bằng MeOH 85% (4 × 25 L × 24h) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được gộp lại và cô dưới áp suất giảm loại bớt dung môi thu được dịch cặn thô (1 L). Cặn thô được tạo huyền phù với nước với tỉ lệ 1/1 (v/v). Hỗn hợp huyền phù thu được (2 L), được chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane và ethyl acetate. Các dịch chiết sau khi loại bỏ dung môi thu được cao hexane (BH, 50 g), cao ethyl acetate (BE, 15 g; phần dịch nước còn lại là 1.75 L).

Cao BH (50 g) được phân lập qua skc trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient hexane/EtOAc (20/1, 15/1, 10/1, 5/1, 100% EA), thu được 3 phân đoạn BH1 (4 g), BH2 (8.5 g), BH3 (15.5 g)

Phân đoạn BH1 (4 g) được phân lập bằng skc trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/ EtOAc (10/1). Quá trình phân lập được lặp lại 2 lần thu được hợp chất sạch là **BS1** (7 mg).

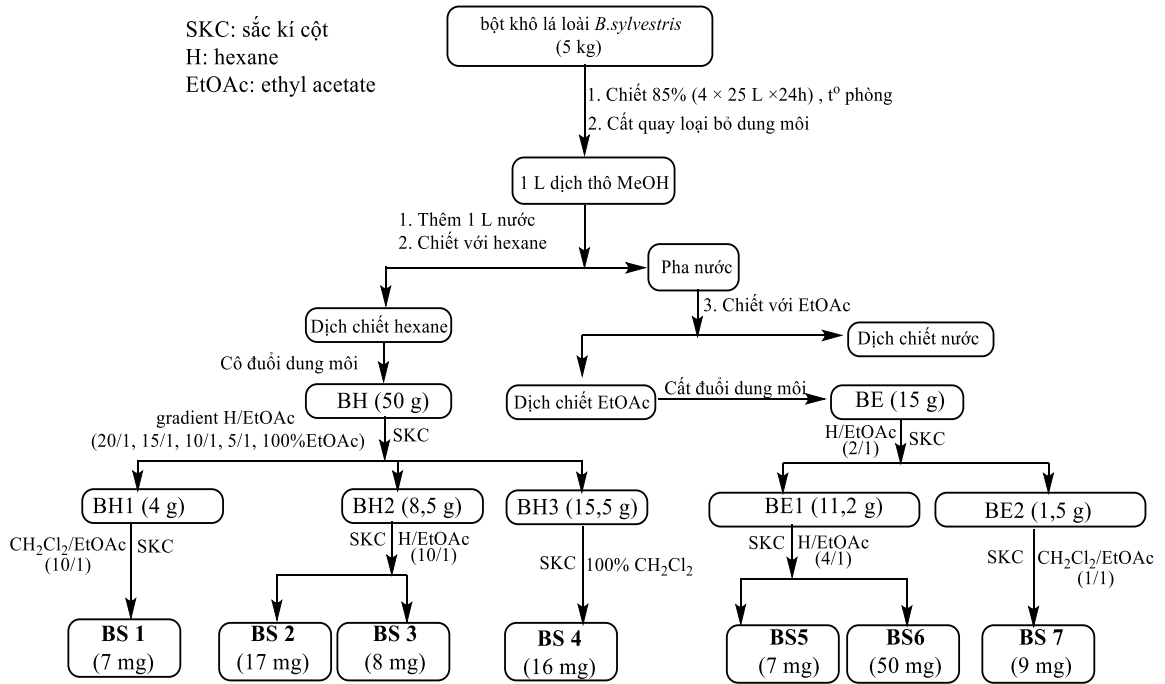
Phân đoạn BH2 (8.5 g) được phân lập bằng skc trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải hexane/EtOAc (10/1) thu được 2 hợp chất sạch là **BS2** (17 mg), và **BS3** (8 mg)

Phân đoạn BH3 (15.5 g) được qua SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂ (100%) thu được hợp chất sạch là **BS4** (16 mg).

Cao BE (15 g) được phân lập qua SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải hexane/EtOAc (2/1) thu được 2 phân đoạn BE1 (11,2 g) và BE2 (1,5 g).

Phân đoạn BE1 (11.2 g) được phân lập tiếp bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải hexane/EtOAc (4/1) thu được 2 hợp chất sạch là **BS5** (7 mg) và **BS6** (50 mg).

Phân đoạn BE2 (1.5 g) được phân lập tiếp bằng SKC trên silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/EtOAc (1/1) thu được hợp chất **BS7** (9 mg).



Hình 2.5. Sơ đồ phân lập các chất từ lá của loài *B. sylvestris*

2.4.4. Hoạt tính gây độc tế bào

* Các bước tiến hành phép thử:

Theo phương pháp Monks [113], tế bào được nuôi trong các giếng của khay gồm 96 giếng chứa 190 μL môi trường (DMSO 10%) với 3,104 tế bào / giếng và sau đó được ủ ở 37 $^{\circ}\text{C}$ và 5% CO_2 . Sau 24h, các hợp chất thử hoạt tính được hòa tan trong DMSO (10 μL) được thêm vào tại mỗi giếng để có các nồng độ sàng lọc 100 $\mu\text{g/ml}$; 20 $\mu\text{g/ml}$; 4 $\mu\text{g/ml}$; 0,8 $\mu\text{g/ml}$. Một đĩa chứa các tế bào ung thư làm chất đối chứng (ngày 0). Các tế bào tiếp tục được nuôi cấy thêm 72 giờ. Sau khi ủ, các đơn lớp tế bào được thêm vào 1 lượng trichloroacetic acid 20% và nhuộm màu trong 30 phút và rửa bằng acetic acid 5% (ba lần) để loại bỏ lượng SRB dư. Protein liên kết với thuốc nhuộm được hòa tan trong dung dịch bazơ Tris 10 mM. Giá trị mật độ quang học (OD) được xác định ở bước sóng 515 nm bằng máy đọc đĩa ELISA (Biotek).

% ức chế tế bào được tính bởi công thức sau:

$$\% \text{ức chế} = 100\% - \left(\frac{\text{OD}_{\text{chất thử}} - \text{OD}_{\text{ngày 0}}}{\text{OD}_{\text{chất đối chứng}} - \text{OD}_{\text{ngày 0}}} \times 100\% \right)$$

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần để cho kết quả chính xác. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính Table Curve.

2.5. Dữ liệu phổ và tính chất vật lý của các chất đã phân lập

2.5.1. Các chất phân lập từ lá của loài *A. chinense*

- Hợp chất **AC1**: amesiflavone A (**chất mới**)

Hợp chất **AC1** dạng bột vàng; Góc quay cực riêng $[\alpha]_{D^{25}} = -76,0^{\circ}$ (c 0,1, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH, nm): 326; 273; 212. HR-ESI-MS m/z : 577,1910 $[M+H]^+$; IR max (film) cm^{-1} : 3318; 2904; 1653; 1607; 1510; 1255; 1183; 1071. Phổ ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) và ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) xem Bảng 3.1.

- Hợp chất **AC2**: amesiflavone B (**chất mới**)

Hợp chất **AC2** dạng bột vàng. Góc quay cực riêng $[\alpha] = -43,0^{\circ}$ (c 0,1, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH, nm): 323; 273; 215. HR-ESI-MS m/z : 577,1915 $[M+H]^+$; IR max (film) cm^{-1} : 3703; 2904; 1656; 1625; 1248; 1183. Phổ ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) và ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) xem Bảng 3.2.

- Hợp chất **AC3**: amesiflavone C (**chất mới**)

Hợp chất **AC3** dạng bột vàng. Góc quay cực riêng $[\alpha]_{D^{25}} = -25,0^{\circ}$ (c 0,1, MeOH); UV λ_{\max} (MeOH, nm): 330, 272, 216; HR-ESI-MS m/z : 575,1761 $[M+H]^+$; IR max (film) cm^{-1} : 3413; 3306; 2940; 1731; 1650; 1623; 1605; 1261; 1136; 1102; 1056; 1027. Phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) và ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) xem Bảng 3.3.

- Hợp chất **AC4**: (+)-aptosimon

Hợp chất **AC4** là chất rắn màu trắng; góc quay cực riêng $[\alpha]_{D^{25}}: +65^{\circ}$ (c 0,1, MeOH), IR (KBr) $\nu_{\max} = 3073, 2899, 1764, 1264, 1167, 1040, 926\ cm^{-1}$; UV λ_{\max} (MeOH) nm: 286,4; 205,6. Phổ khối ESI-MS: m/z 369 $[M+H]^+$. Phổ ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ_H (ppm): 6,86 (1H, br s, H-2''), 6,84 (1H, br d, 8,0 Hz, H-6''), 6,81 (1H, br s, H-2'), 6,80 (1H, br d, $J = 6,5\ Hz$, H-6'), 3,20 (1H, m, H-1), 6,77 (H, d, $J = 8,0\ Hz$, H-5''), 6,76 (1H, d, $J = 6,5\ Hz$, H-5'), 5,30 (1H, d, $J = 3,5\ Hz$, H-6), 5,28 (1H, d, $J = 4,0\ Hz$, H-2), 4,32 (1H, dd, $J = 7,0; 9,5\ Hz$, H- α -8), 4,00 (1H, dd, $J = 5,0; 9,5\ Hz$, H- β -8), và 3,42 (1H, dd, $J = 3,5; 9,0\ Hz$, H-5). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ_C 49,9 (C-1), 53,3 (C-5), 72,7 (C-8), 83,4 (C-6), 84,3 (C-2), 101,4 và 101,2 (2 \times OCH₂O), 105,7 (C-5'), 106,0 (C-5''), 108,3 (C-2'), 108,5 (C-2''), 118,8 (C-6'),

119,0 (C-2'), 133,1(C-1'), 134,4 (C-1''), 147,3, 148,0, 148,1, 148,4 (C-4', C-4'', C-3', C-3''), và 176,6 (4-CO).

- Hợp chất **AC5**: (+)-isolariciresinol

Hợp chất **AC5** dạng bột trắng. Góc quay cực riêng $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: + 25° (*c* 0,1, MeOH), UV λ_{max} (MeOH) nm: 211,6; 284,6. Phổ khối ESI-MS: m/z 721 [2M+H]⁺. Phổ ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ_{H} (ppm): 6,76 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-5), 6,68 (1H, s, H-2'), 6,70 (1H, br d, *J* = 1,5 Hz, H-2), 6,63 (1H, dd, *J* = 1,5; 8,0 Hz, H-6), 6,21 (1H, s, H-5'), 3,83 (3H, s, 3'-OCH₃), 3,82 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-7), 3,80 (3H, s, 3-OCH₃), 3,65-3,72 (2 H, trùng chập, H₂-9' và H_a-9), 3,42(1H, dd, *J* = 4,5; 11,5 Hz, H_b-9), 2,79 (2H, brd, *J* = 7,5 Hz, H-7'), 2,02 (1H, m, H-8'), và 1,80 (1H, ddt, *J* = 3,5; 4,5; 10,0 Hz, H-8). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz), δ_{C} (ppm): 149,0 (C-3), 147,2 (C-3'), 146,0 (C-4), 145,3 (C-4'), 138,6 (C-1), 134,2 (C-6'), 129,0 (C-1'), 123,2 (C-6), 117,4 (C-5'), 116,0 (C-5), 113,8 (C-2), 112,4 (C-2'), 66,0 (C-9'), 62,3 (C-9), 56,4 (3-OCH₃), 56,4 (3'-OCH₃), 48,0 (C-7/8), 40,1 (C-8'), và 33,6 (C-7').

- Hợp chất **AC6**: (-)-cleomiscosin A

Hợp chất **AC6** dạng tinh thể hình kim, *t*_{nc} 249 - 250°C. Góc quay cực riêng $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -34° (*c* 0,1, MeOH). UV λ_{max} (MeOH) nm: 324,8; 206,8. Phổ khối ESI-MS: m/z = 387 [M + H]⁺. Phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_{H} (ppm): 7,96 (1H, d, *J* = 9,5, H-4), 7,02 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'), 6,91 (1H, s, H-5), 6,88 (1H, dd, *J* = 2,0; 8,0 Hz, H-6'), 6,82 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-5'), 6,34 (1H, d, *J* = 9,5 Hz, H-3), 4,99 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-7'), 4,34-4,30 (m, H-8'), 3,79 (3H, s, 6-OMe), 3,78 (3H, s, 3'-OMe), 3,66 (dd, *J* = 2,0; 5,0 Hz, H_β-9'), 3,41-3,36 (m, H_α-9'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz), δ_{C} (ppm): 160,0 (C-2), 147,2 (C-3'), 147,6 (C-4'), 145,2 (C-6), 144,8 (C-4), 138,0 (C-10), 137,1 (C-7), 131,6 (C-8), 126,7 (C-1'), 120,8 (C-6'), 115,4 (C-5'), 113,2 (C-3), 112,1 (C-2'), 111,2 (C-9), 100,8 (C-5), 77,8 (C-8'), 76,2 (C-7'), 59,8 (C-9'), 55,8 (3'-OMe), 55,7 (6-OMe).

- Hợp chất **AC7**: (-)-cleomiscosin C

Hợp chất **AC7** dạng bột trắng; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -23° (*c* 0,1, MeOH). UV λ_{max} (MeOH) nm: 321,6; 221,0. Phổ khối ESI-MS: m/z = 417 [M + H]⁺. Phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_{H} (ppm): 7,96 (1H, d, *J* = 9,5, H-4), 6,91 (1H, s, H-5), 6,75 (1H, s, H-2'), 6,75 (1H, s, H-6'), 6,34 (1H, d, *J* = 9,5 Hz, H-3), 4,97 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-7'), 4,35-4,38 (1H, m, H-8'), 3,79 (3H, s, H-6-OMe), 3,77 (3H, s, H-3'-OMe), 3,77 (3H, s, H-

5'-OMe), 3,67 (1H, br d, $J = 12$ Hz, $H_{\beta-9}$), 3,38 -3,42 (1H, m, $H_{\alpha-9}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ_{C} 160,1 (C-2), 148,0 (C-3', C-5'), 145,3 (C-6), 144,8 (C-4), 138,0 (C-9), 137,1 (C-7), 136,3 (C-4'), 131,7 (C-7), 125,7 (C-1'), 113,2 (C-3), 111,3 (C-10), 105,7 (C-2', C-6'), 100,9 (C-5), 77,8 (C-8'), 76,6 (C-7'), 56,2 (3'-OMe, 5'-OMe), 55,9 (6-OMe). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz), δ_{C} (ppm): 160,9 (C-2), 149,7 (C-3', C-5'), 146,4 (C-6), 144,6 (C-4), 139,3 (C-9), 138,4 (C-7), 135,6 (C-4'), 133,0 (C-8), 126,6 (C-1'), 113,8 (C-3), 112,0 (C-10), 106,4 (C-2', C-6'), 101,2 (C-5), 79,7 (C-8'), 77,8 (C-7'), 56,4 (3'-OMe, 5'-OMe), 56,2 (6-OMe).

- Hợp chất **AC8**: β -sitosterol

Hợp chất **AC8** dạng bột màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3), δ_{H} (ppm): 5,35 (1H, t, $J = 2,0; 3,0$ Hz, H-6), 3,52 (1H, m, $H_{\alpha-3}$), 2,20-2,31 (2H, m), 1,95-2,02 (2H, m), 1,81-1,86 (3H, m), 1,44-1,68 (9H, m), 1,20-1,30 (6H, m), 1,08-1,17 (8H, m), 1,01 (3H, s, 19- CH_3), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, 21- CH_3), 0,84 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, 29- CH_3), 0,83 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, 27- CH_3), 0,80 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, 26- CH_3), 0,68 (3H, s, 18- CH_3). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ_{C} (ppm): 140,8 (C-5), 121,7 (C-6), 71,8 (C-3), 56,8 (C-14), 56,1 (C-17), 50,2 (C-9), 45,9 (C-24), 42,3 (C-13), 42,3 (C-4), 39,8 (C-12), 37,3 (C-1), 36,5 (C-10), 36,2 (C-20), 34,0 (C-22), 31,9 (C-7), 31,9 (C-8), 31,7 (C-2), 29,2 (C-25), 28,3 (C-16), 21,1 (C-11), 24,3 (C-15), 11,9 (C-18), 19,4 (C-19), 18,8 (C-21), 26,1 (C-23), 19,1 (C-26), 19,8 (C-27), 23,1 (C-28), 12,0 (C-29).

- Hợp chất **AC9**: daucosterol

Hợp chất **AC9** dạng bột trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 5,32 (1H, br s), 3,42 (1H, m), 1,00 (3H, d, $J = 6,0; 7,0$ Hz), 0,96 (3H, s), 0,90 (3H, t, $J = 6,5$ Hz), 0,81 (3H, d, $J = 6,8$ Hz), 0,80 (3H, d, $J = 6,9$ Hz), 0,65 (3H, s); glucopyranosyl: 4,83 (3H, m; $3 \times \text{H-OH}$), 4,39 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, H-OH), 4,22 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,64 (1H, dd, $J = 5,5; 10,1$ Hz), 3,46 (1H, m), 3,14-3,20 (3H, m), 3,07 (1H, m). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 140,1 (C-5), 121,1 (C-6), 100,7 (C-1'), 76,9 (C-3), 76,7 (C-5'), 76,7 (C-4'), 73,4 (C-2'), 70,1 (C-3'), 61,0 (C-6'), 56,1 (C-14), 55,4 (C-17), 49,6 (C-9), 45,1 (C-24), 41,8 (C-13), 40,1 (C-12), 38,3 (C-4), 36,8 (C-1), 27,7 (C-16), 36,2 (C-10), 35,4 (C-20), 33,3 (C-22), 31,4 (C-2), 31,3 (C-8),

31,3 (C-7), 28,7 (C-25), 25,4 (C-23), 23,8 (C-15), 22,6 (C-28), 20,5 (C-11), 19,6 (C-27), 19,0 (C-26), 18,9 (C-19), 18,6 (C-21), 11,7 (C-29), 11,6 (C-18).

- Hợp chất **AC10**: 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde

Hợp chất **AC10** dạng bột trắng. IR (KBr) ν_{\max} : 3450, 2918, 1732 và 1595 cm^{-1} ; UV-Vis (MeOH) λ_{\max} : 306,0; 275,0 nm; Phổ khối ESI-MS: $m/z = 137$ $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$. Phổ ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 9,83 (1H, s, -CHO), 7,43 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-6), 7,42 (1H, s, H-2), 7,04 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5), 6,17 (1H, s, -OH), 3,97 (3H, s, -OCH₃). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 190,8 (-CHO), 151,7 (C-4), 147,2 (C-3), 129,9 (C-1), 127,5 (C-6), 114,4 (C-5), 108,8 (C-2), 56,2 (-OCH₃).

- Hợp chất **AC11**: protocatechuic acid methyl ester

Hợp chất **AC11** dạng bột trắng. IR (KBr) ν_{\max} : 3450, 2929, 1686, 1535 cm^{-1} , UV-Vis (MeOH) λ_{\max} : 296,0; 261,2 nm; Phổ khối ESI-MS: $m/z = 167$ $[\text{M}-\text{H}]^-$. Phổ ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD), δ_{H} (ppm): 7,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 7,43 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6), 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 3,85 (3H, s, -OCH₃). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD), δ_{C} (ppm): 168,9 (COO), 151,7 (C-4), 146,2 (C-3), 123,6 (C-6), 122,6 (C-1), 117,4 (C-2), 115,9 (C-5), 52,2 (-OCH₃).

- Hợp chất **AC12**: protocatechuic acid

Hợp chất **AC12** dạng bột trắng. IR (KBr) ν_{\max} : 3450, 1641, 1535 cm^{-1} . UV-Vis (MeOH) λ_{\max} : 295,4; 259,4 nm. Phổ ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD), δ_{H} (ppm): 7,46 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6), 7,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD), δ_{C} (ppm): 170,3 (COO), 151,5 (C-4), 146,1 (C-2), 123,9 (C-1), 123,2 (C-6), 117,8 (C-2), 115,8 (C-5).

2.5.2. Các chất phân lập từ hoa của loài *A. chinense*

- Hợp chất **AC13**: astralagin

Hợp chất **AC13** là chất rắn màu vàng, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -28^\circ$ (c 1,1; MeOH). Phổ khối ESI-MS m/z 448 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 8,07 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và H-6'), 6,91 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và H-5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,0$, H-8), 6,21 (1H, br s, H-6), 5,25 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,71 (1H, dd, $J = 2,5$; 12,0 Hz, H_b-6''), 3,55 (1H, dd, $J = 5,5$; 12,0 Hz, H_a-6''), 3,47 (1H, dd, $J = 7,0$; 9,5 Hz, H-2''), 3,45 (1H, t, $J = 9,0$, H-3''), 3,33 (1H, trùng chập, H-4''), 3,23 (1H, m, H-5'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 179,5 (C-4), 166,4 (C-7), 163,1 (C-5), 161,6 (C-4'), 159,1 (C-9), 158,5 (C-2), 135,5 (C-3), 132,3 (C-6'), 132,3 (C-2'), 122,8 (C-1'), 116,1 (C-5'), 116,1 (C-3'), 105,6 (C-10), 104,2 (C-1''), 100,1 (C-6), 94,9 (C-8), 78,4 (C-3''), 78,1 (C-5''), 71,4 (C-4''), 75,7 (C-2''), 62,7 (C-6'').

- Hợp chất **AC14**: kaempferide 3-*O*- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **AC14** là chất rắn màu vàng, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -16^\circ$ (c 0,1, MeOH). Phổ khối ESI-MS $m/z = 461$ $[\text{M-H}]^-$. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-*d*6, 500 MHz), δ_{H} (ppm): 12,56 (5-OH), 8,13 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và H-6'), 7,07 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và H-5'), 6,43 (1H, d, $J = 2$, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2$, H-6), 5,47 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,85 (3H, 4'-OCH₃, s), 3,2-3,6 (6H, trùng chập, H-2'' đến H-5'' và 2H(H-6'')).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-*d*6, 125 MHz), δ_{C} (ppm): 177,4 (C-4), 164,6 (C-7), 161,2 (C-5), 158,8 (C-4'), 156,4 (C-2), 155,7 (C-9), 133,5 (C-3), 130,7 (C-6'), 130,7 (C-2'), 122,5 (C-1'), 113,7 (C-5'), 113,7 (C-3'), 104,1 (C-10), 100,8 (C-1''), 98,8 (C-6), 93,7 (C-8), 77,5 (C-5''), 76,4 (C-3''), 74,2 (C-2''), 69,9 (C-4''), 60,8 (C-6''), 55,4 (OCH₃).

- Hợp chất **AC15**: quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **AC15** là chất rắn màu vàng, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -10^\circ$ (c 0,1, MeOH). Phổ khối ESI-MS $m/z = 463$ $[\text{M-H}]^-$. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 7,73 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,59 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,5 Hz, H-6'), 6,89 (d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 6,39 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,25 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,74 (1H, dd, $J = 2,5$; 12 Hz, H_b-6''), 3,60 (1H, dd, $J = 5,5$; 12,0 Hz, H_a-6''), 3,55 (1H, ddd, $J = 2,5$; 5,5; 9,5 Hz, H-5''), 3,51 (1H, dd, $J = 7,5$; 9,0 Hz, H-2''), 3,46 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3''), 3,38 (1H, dd, $J = 9,0$; 9,5 Hz, H-4'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 179,4 (C-4), 166,1 (C-7), 162,9 (C-5), 159,0 (C-9), 158,4 (C-2), 149,8 (C-4'), 145,8 (C-3'), 135,6 (C-3), 123,2 (C-6'), 123,1 (C-1'), 116,0 (C-2'), 105,6 (C-10), 104,4 (C-1''), 99,9 (C-6), 94,8 (C-8), 78,3 (C-5''), 78,1 (C-3''), 75,7 (C-2''), 71,2 (C-4''), 62,6 (C-6'').

- Hợp chất **AC16**: (-)-epi-catechin

Hợp chất **AC16** là chất rắn màu vàng, độ quay cực riêng $[\alpha]_{\text{D}} = -19^\circ$ (c 0,1; MeOH). Phổ khối ESI-MS $m/z = 289$ $[\text{M-H}]^-$. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 7,00 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,82 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6'), 6,78 (1H,

d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 5,94 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 5,96 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 4,83 (1H, trùng chập, H-2), 4,20 (1H, br s, H-3), 2,88 (1H, dd, $J = 5,0; 16,5$ Hz, H-4_{eq}), 2,76 (1H, dd, $J = 3,0; 16,5$ Hz, H-4_{ax}).

¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz), δ_C (ppm): 158,0 (C-7), 157,7 (C-9), 157,4 (C-5), 146,0 (C-3'), 145,8 (C-4'), 132,3 (C-1'), 119,4 (C-6'), 115,9 (C-5'), 115,4 (C-2'), 100,1 (C-10), 96,4 (C-6), 95,9 (C-8), 79,9 (C-2), 67,5 (C-3), 29,3 (C-4).

- Hợp chất **AC17**: (-)-catechin

Hợp chất **AC17** là chất rắn màu vàng; Góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{25} = -54^\circ$ (c 0,1, MeOH). Phổ khối ESI-MS: m/z 289 [M-H]⁻. ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ_H (ppm): 6,86 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,79 (1H, d, $J = 8,0$, H-5'), 6,74 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6'), 5,96 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,89 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 4,59 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-2), 4,00 (1H, ddd, 5,5; 7,5; 8,0 Hz, H-3), 2,87 (1H, dd, $J = 5,5; 16,0$ Hz, H-4_{eq}), 2,54 (1H, dd, $J = 8,0; 16,0$ Hz, H-4_{ax}),.

¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz), δ_C (ppm): 157,8 (C-7), 157,5 (C-5), 156,9 (C-9), 146,2 (C-3'), 146,2 (C-4'), 132,2 (C-1'), 120,0 (C-6'), 116,1 (C-5'), 115,3 (C-2'), 100,9 (C-10), 96,3 (C-6), 95,4 (C-8), 82,8 (C-2), 68,8 (C-3), 28,4 (C-4).

- Hợp chất **AC18**: 3'-methoxyluteolin (chrysoeriol)

Hợp chất **AC18** là chất rắn màu vàng, $[\alpha]_D^{25} = -23^\circ$ (MeOH; c 0,1). Phổ khối ESI-MS $m/z = 301$ [M+H]⁺. ¹H-NMR (Acetone-*d*₆, 500 MHz), δ_H (ppm): 12,99 (s, 5-OH), 7,62 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,59 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6'), 7,00 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 6,69 (1H, s, H-3), 6,54 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,25 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-6), 4,00 (3H, 3'-OCH₃, s).

¹³C-NMR (Acetone-*d*₆, 125MHz), δ_C (ppm): 183,1 (C-4), 165,1 (C-7), 165,0 (C-2), 163,3 (C-5), 158,8 (C-9), 151,5 (C-4'), 148,9 (C-3'), 123,5 (C-1'), 121,3 (C-6'), 116,4 (C-5'), 110,6 (C-2'), 105,3 (C-10), 104,4 (C-3), 99,7 (C-6), 94,8 (C-8), 56,6 (3'-OCH₃).

- Hợp chất **AC3** (là chất mới được đặt tên là amesiflavone C)

2.5.3. Các hợp chất phân lập từ lá của loài *B. sylvestris*

- Hợp chất **BS1**: friedelin

Hợp chất **BS1** là chất rắn dạng bột trắng; ESI-MS: m/z 427,2 [M+H]⁺. ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ_H (ppm): (2,29; 2,38) (2H, m, H-2), 2,27 (1H, q, $J = 7,0$ Hz, H-4), (1,69; 1,96) (2H, m, H-1), 1,56 (1H, m, H-18), 1,55 (1H, m, H-10), (1,40;

1,48) (2H, m, H-7), 1,40 (1H, m, H-8), (1,38; 1,57) (2H, m, H-16), 1,35 (2H, m, H-12), (1,29; 1,51) (2H, m, H-15), (1,28; 1,48) (2H, m, H-21), (1,28; 1,46) (2H, m, H-11), (1,27; 1,75) (2H, m, H-6), (1,20; 1,37) (2H, m, H-19), 1,18 (3H, s, H-28); 1,05 (3H, s, H-27), 1,01 (3H, s, H-26), 1,00 (3H, s, H-30), 0,95 (3H, s, H-29), (0,94; 1,49) (2H, m, H-22), 0,88 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-23), 0,87 (3H, s, H-25), 0,72 (3H, s, H-24). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): xem Bảng 3.15.

- Hợp chất **BS2**: 3 β -friedelanol

Hợp chất **BS2** là chất rắn dạng bột trắng; ESI-MS: m/z 429,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) và ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz): xem Bảng 3.16.

- Hợp chất **BS3**: stigmast-4-en-3-one

Hợp chất **BS3** là chất rắn dạng bột trắng; ESI-MS: m/z 413,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phổ ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 5,72 (1H, s, H-4), (2,26; 2,39) (2H, m, H-6), (1,68; 2,42) (2H, m, H-2), 1,66 (1H, m, H-25), 1,51 (1H, m, H-8), (1,42; 1,50) (2H, m, H-11), 1,36 (1H, m, H-20), (1,32; 2,01) (2H, m, H-1), (1,30; 1,60) (2H, m, H-15), (1,28; 1,86) (2H, m, H-16), (1,22-1,28) (2H, m, H-28), 1,18 (3H, m, H-19); 1,16 (2H, m, H-23), (1,15; 2,02) (2H, m, H-12), 1,11 (1H, m, H-17), (1,02; 2,32) (2H, m, H-22), (1,01; 1,83) (2H, m, H-7), 1,00 (1H, m, H-14), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 0,92 (1H, trùng chập, H-9), 0,91 (1H, m, H-24), 0,85 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, H-29), 0,84 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26), 0,82 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27), 0,71 (3H, s, H-18). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): xem Bảng 3.17.

- Hợp chất **BS4**: (-)-epiafzelechin

Hợp chất **BS4** là chất rắn dạng màu trắng, ESI-MS: 297,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Phổ ^1H -NMR (MeOD, 500 MHz), δ_{H} (ppm): 7,34 (2H, dd, $J = 2,0; 7,5$ Hz, H-2'; H-6'), 6,80 (2H, dd, $J = 2,5; 7$ Hz, H-3'; H-5'), 5,97 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-8), 5,95 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-6), 4,89 (1H, s, H-2), 4,20 (1H, br s, H-3), 2,89 (1H, dd, $J = 4,5; 16,5$, $H_{\alpha-4}$), 2,76 (1H, dd, $J = 2,5; 16,5$ Hz, $H_{\beta-4}$), ^{13}C -NMR (MeOD, 125 MHz), δ_{C} (ppm): 158,0 (C-7), 157,9 (C-4'), 157,7 (C-5), 157,4 (C-9), 131,6 (C-1'), 129,2 (C-6'), 129,2 (C-2'), 115,8 (C-3'), 115,8 (C-5'), 100,1 (C-10), 96,5 (C-6), 95,9 (C-8), 79,9 (C-2), 67,4 (C-3), 29,3 (C-4).

- Hợp chất **BS5**: 4-hydroxybenzaldehyde

Hợp chất **BS5** là chất rắn dạng bột trắng; ESI-MS: m/z 123 $[M+H]^+$; 1H -NMR (MeOD, 500 MHz), δ_H (ppm): 9,73 (CHO), 7,76 (1H, dd, $J = 2,0; 7,0$ Hz, H-2, H-6), 6,88 (2H, dd, $J = 2,0; 7,0$ Hz, H-3, H-5). ^{13}C -NMR (MeOD, 125 MHz), δ_C (ppm): 192,7 (CHO), 167,4 (C-4), 133,6 (C-2, C-6), 129,3 (C-1), 117,5 (C-3, C-5).

- Hợp chất **BS6**: 4-hydroxybenzoic acid

Hợp chất **BS6** là chất rắn dạng bột trắng; ESI-MS: m/z 121 $[M-H_2O+H]^+$; 1H -NMR (MeOD, 500 MHz), δ_H (ppm): 7,89 (2H, dd, $J = 2,5; 6,5$ Hz, H-2, H-6), 6,84 (1H, dd, $J = 2,5; 6,5$ Hz, H-3, H-5); ^{13}C -NMR (MeOD, 125 MHz), δ_C (ppm): 170,1 (C, COO), 163,3 (C-4), 144,7 (C-1), 133,0 (C-2, C-6), 116,0 (C-3, C-5).

- Hợp chất **BS7**: (3,4,5-trimethoxyphenyl)- β -D-glucopyranoside

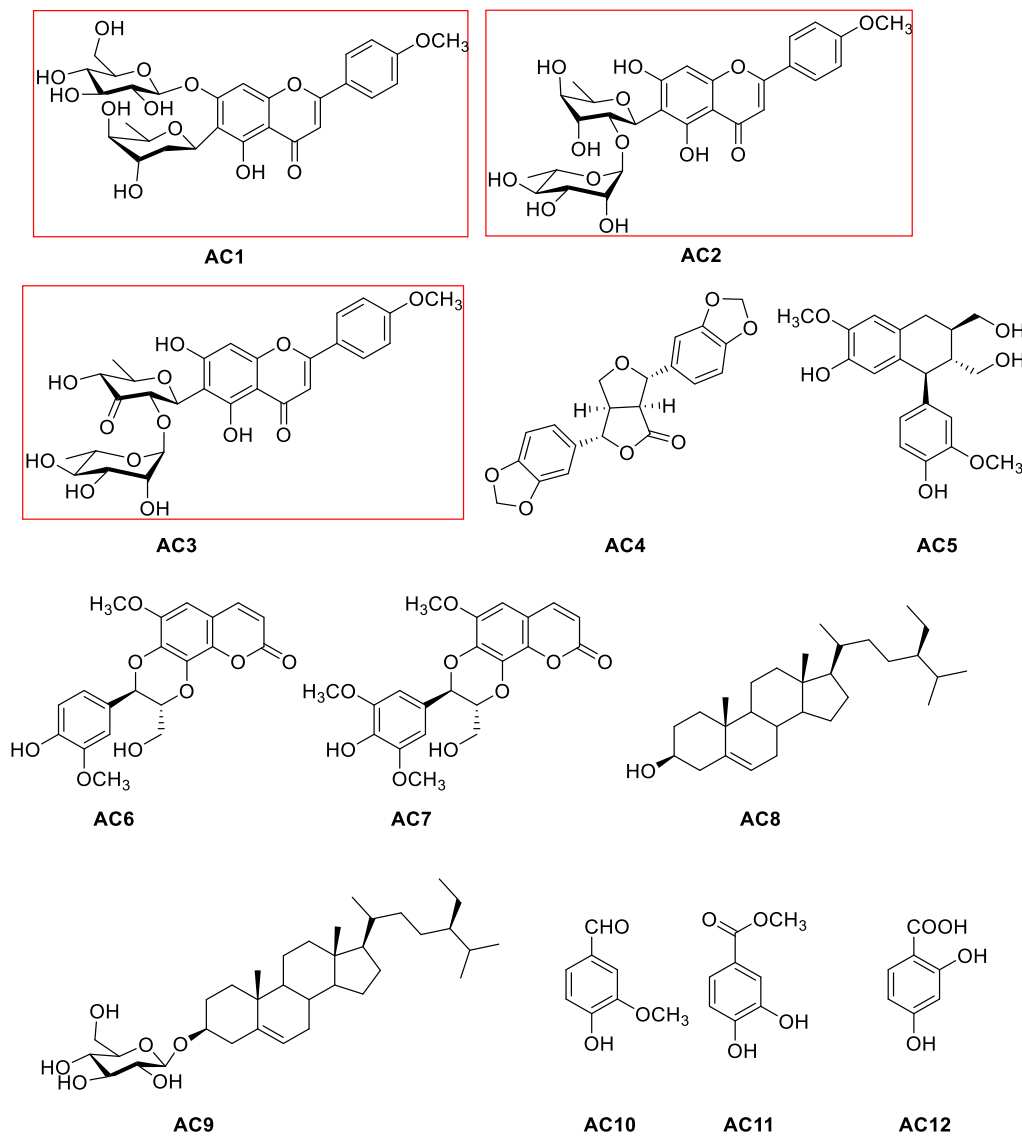
Hợp chất **BS7** là chất rắn dạng bột trắng; $[\alpha]_D = -17^\circ$ (c 0,1; MeOH); ESI-MS: m/z 345 $[M-H]^-$; 1H -NMR (MeOD, 500 MHz), δ_H (ppm): 6,51 (2H, s, H-2, H-6), 4,83 (1H, trùng chập, H-1'), 3,94 (1H, dd, $J = 2,5; 12,5$ Hz, H_b-6'), 3,83 (6H, s, 2 x OCH₃), 3,72 (3H, s, OCH₃), 3,68 (1H, dd, $J = 6,5; 12,5$ Hz, H_a-6'), 3,49 (1H, dd, $J = 6,5; 9,0$ Hz, H-2'), 3,46 (1H, m, H-5'), 3,45 (1H, dd, $J = 8,0; 9,0$ Hz, H-3'), 3,60 (1H, dd, $J = 8,0; 9,5$ Hz, H-4'). ^{13}C -NMR (MeOD, 125 MHz), δ_C (ppm): 156,0 (C-1), 154,8 (C-3, C-5), 134,5 (C-4), 103,2 (C-1'), 96,2 (C-2, C-6), 78,4 và 78,1 (C-3', C-5'), 75,0 (C-2'), 71,7 (C-4'), 62,8 (C-6'), 61,2 (4-OCH₃), 56,6 (3-OCH₃ và 5-OCH₃).

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất được phân lập từ loài *A. chinense*

Từ các bộ phận lá và hoa của loài *A. chinense* thu hái tại Đà Nẵng đã phân lập được 18 hợp chất:

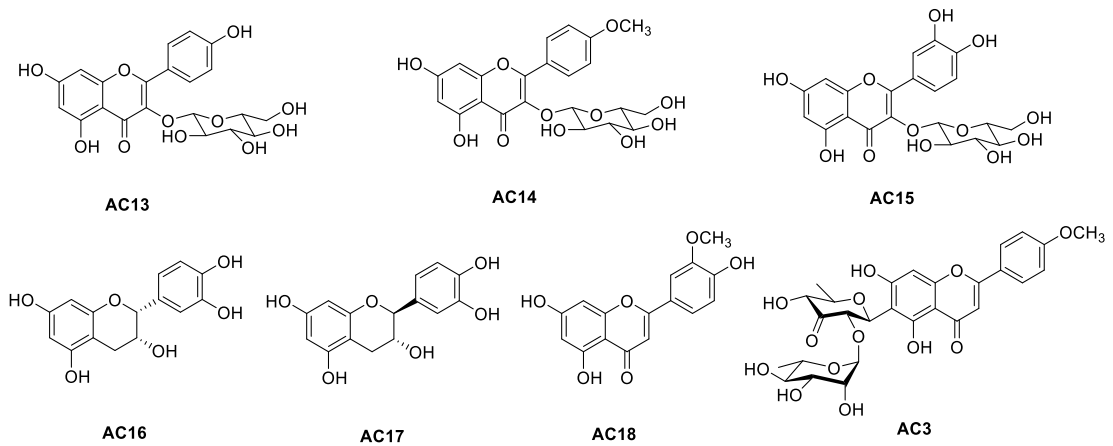
12 hợp chất từ lá gồm 3 hợp chất C-glucoside mới là amesiflavone A (AC1), amesiflavone B (AC2) và amesiflavone C (AC3) và 9 hợp chất đã biết gồm 4 hợp chất lignan là (+)-aptosimon (AC4), (+)-isolariciresinol (AC5), (-)-cleomiscosin A (AC6), và (-)-cleomiscosin C (AC7); 2 hợp chất steroid là β -sitosterol (AC8) và daucosterol (AC9); và 3 hợp chất phenolic là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (AC10), protocatechuic acid methyl ester (AC11), và protocatechuic acid (AC12).



Hình 3.1. Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ lá của loài *A. chinense*.

- 7 hợp chất flavonoid từ hoa gồm astragalín (AC13), kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside (AC14), quercetin 3-O- β -D-glucoside (AC15), (-)-epi-catechin

(**AC16**), (-)-catechin (**AC17**), chrysoeriol (**AC18**), và 1 chất mới là amesioflavone C (**AC3**) đã được phân lập từ lá.

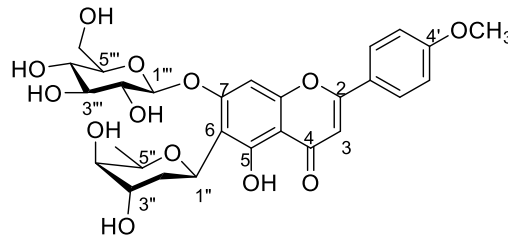


Hình 3.2. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ hoa của loài *A. chinense*.

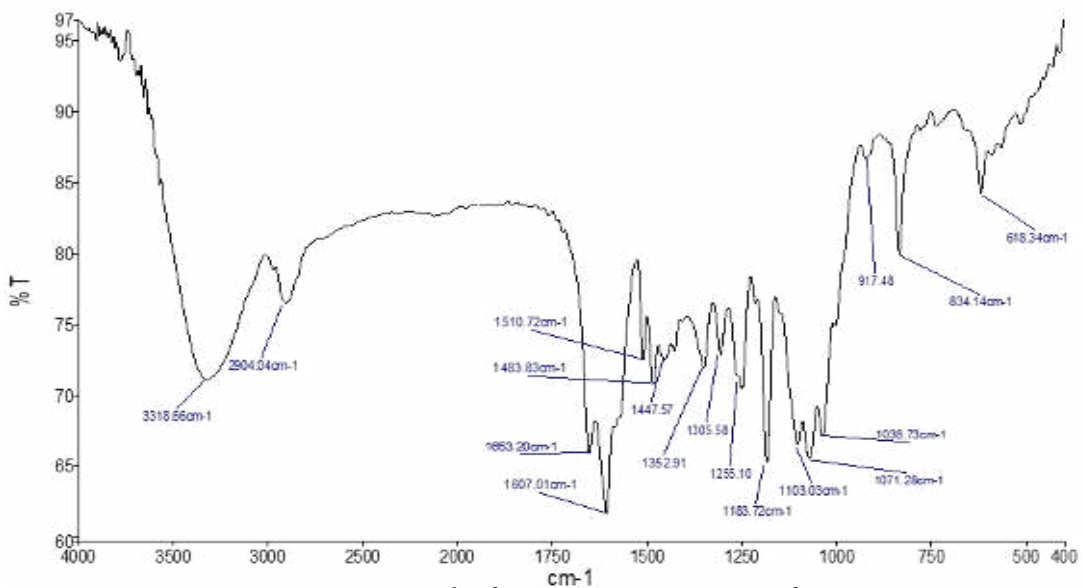
3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ lá của loài *A. chinense*

3.1.1.1. Hợp chất **AC1**: amesiflavone A

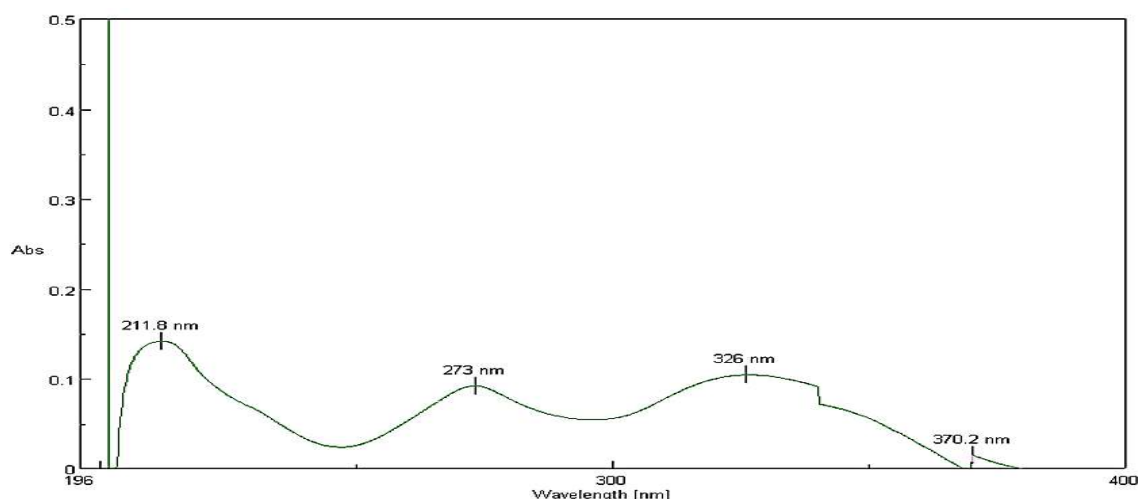
Hợp chất **AC1** được xác định là **hợp chất mới** và đặt tên là amesiflavone A có cấu trúc như sau:



Hình 3.3. Cấu trúc của hợp chất **AC1**



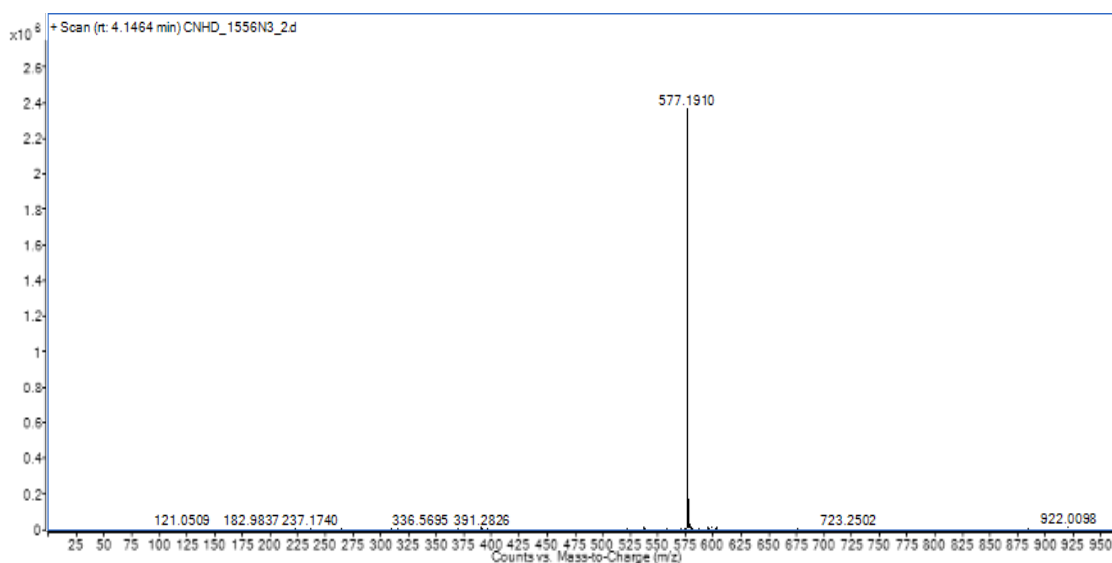
Hình 3.4. Phổ hồng ngoại của hợp chất **AC1**



Hình 3.5. Phổ UV-Vis của hợp chất **AC1**

Phổ hồng ngoại của **AC1** (Hình 3.4) cho những vân hấp thụ đặc trưng dao động hóa trị của nhóm OH ($\nu_{\text{O-H}}$) ở 3318 cm^{-1} (tb), $\nu_{\text{C-H}}$ (CH_3) ở 2904 cm^{-1} (m), dao động biến dạng của nhóm C=O ($\delta_{\text{C=O}}$) ở 1653 cm^{-1} (m), $\nu_{\text{C=C}}$ ở 1607 cm^{-1} , $\nu_{\text{C-C}}$ ở 1510 cm^{-1} , $\nu_{\text{C-O}}$ ở 1255 cm^{-1} , $\gamma_{\text{C-H}}$ (dao động biến dạng phẳng trong vòng benzen) ($1183\text{--}1071$) cm^{-1} . Phổ UV-Vis (Hình 3.5) thể hiện hai giá trị 212 nm và 273 nm là những giá trị hấp thụ cực đại trong vùng UV ứng với chuyển mức $\pi\text{-}\pi^*$ trong vòng benzen và giá trị 326 nm ứng với chuyển mức $n\text{-}\pi^*$ trong vòng benzen.

Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS (Hình 3.6) cho pic giả phân tử cộng proton tại m/z 577,1910 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức là $[\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}]^+$: 577,1916) đã xác định công thức phân tử (CTPT) của hợp chất **AC1** là $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{13}$.



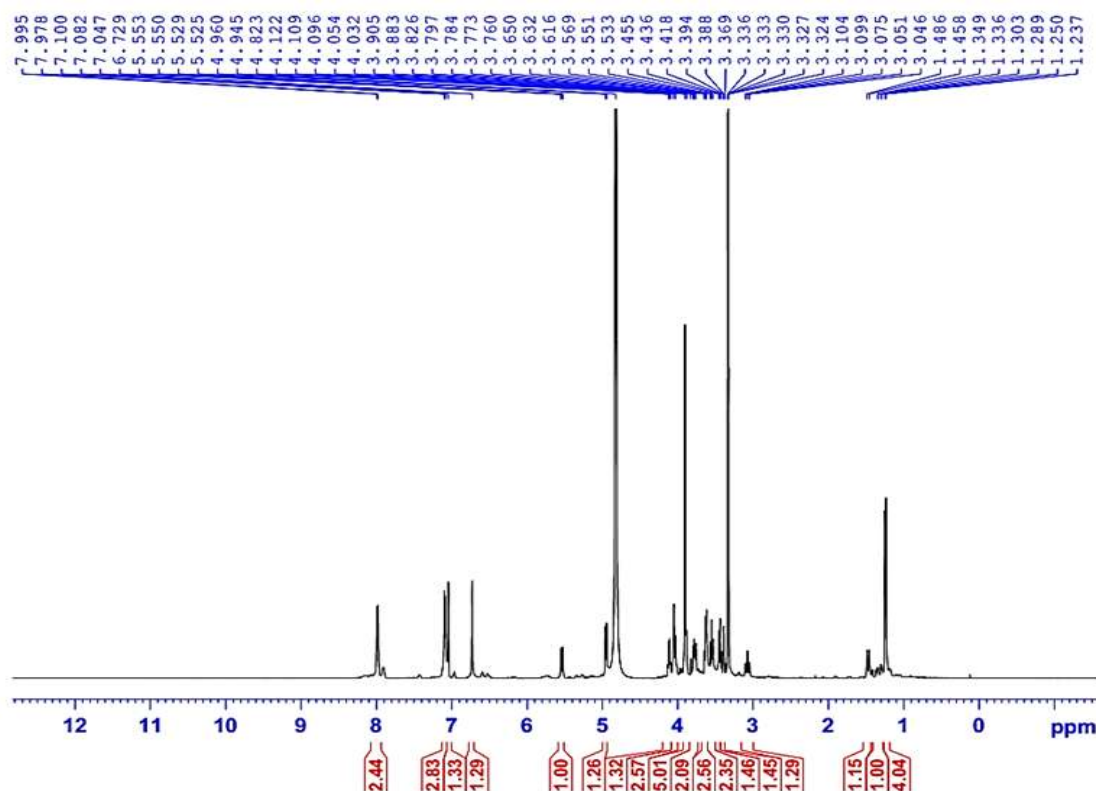
Hình 3.6. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **AC1**

Phổ NMR (Hình 3.7) của **AC1** cho các tín hiệu đặc trưng của hợp chất flavonoid glycoside. Các tín hiệu của khung flavone trên phổ $^1\text{H-NMR}$ (PLI.4 đến PLI.6) gồm hai doublet của 4 proton vòng benzen thế para hệ A_2B_2 ở δ_{H} 8,00 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và H-6') và 7,10 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và H-5'); hai tín hiệu singlet của 1 proton vòng A ở δ_{H} 7,06 (s, H-8) và 1 proton vòng C ở δ_{H} 6,74 (s, H-3) của phần aglycone.

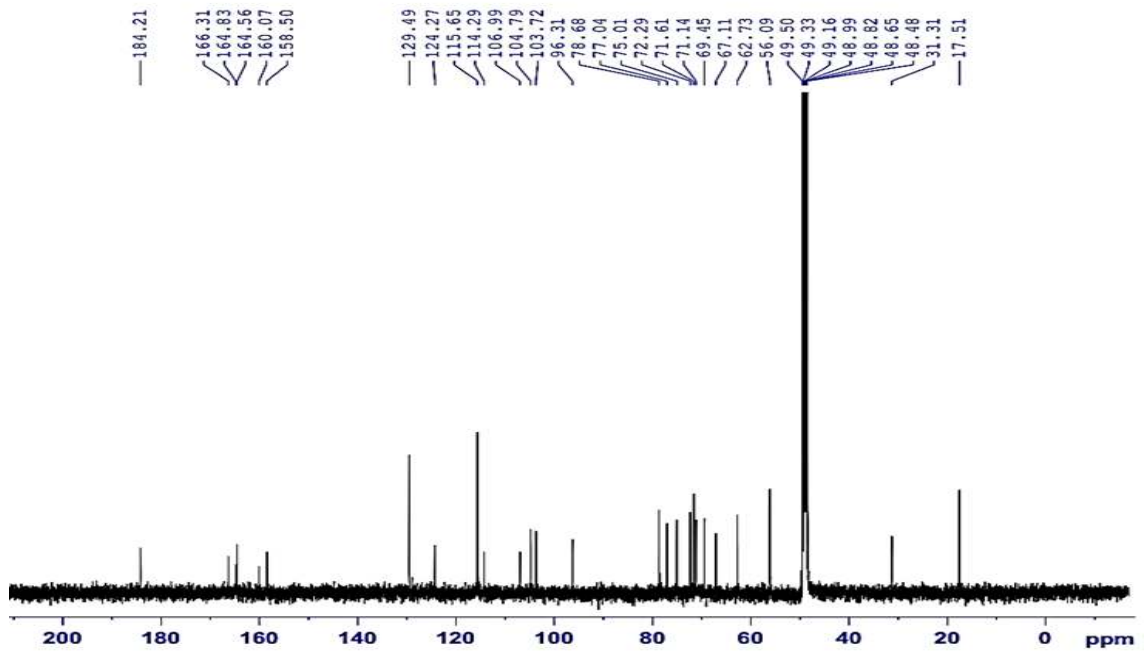
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Hình 3.8) và DEPT (PLI.8) của phần aglycone này cho tín hiệu tương ứng của 15 carbon khung flavone gồm một nhóm carbonyl tại δ_{C} 184,2 (C-4); 8 carbon sp^2 không liên kết với proton, trong đó 5 carbon sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 166,3 (C-2), 164,8 (C-7), 164,6 (C-4'), 160,1 (C-5), và 158,5 (C-9), và 3 carbon sp^2 bậc 4 tại δ_{C} 124,3 (C-1'), 114,3 (C-6), và 107,0 (C-10); và 6 carbon methine sp^2 tại δ_{C} 129,5 (C-2', 6'), 115,7 (C-3', 5'), 104,8 (C-3), 96,3 (C-8); ngoài ra còn tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,90 (4'-OCH₃)/ δ_{C} 56,1(4'-OCH₃). Những dữ liệu phân tích phổ ^1H , $^{13}\text{C-NMR}$ ở trên gợi ý sự có mặt của một phần apigenin có thêm một nhóm thế tại vòng A [114, 115]. Giá trị độ chuyển dịch hóa học của C-6 (δ_{C} 114,3) gợi ý nhóm thế này ở vị trí C-6 vì độ chuyển dịch hóa học thông thường trong flavone của 6-CH ở khoảng δ_{C} 99,0.

Các tín hiệu của hai hợp phần đường được gán cho một đường hiếm gặp trong tự nhiên là boivinopyranose và đường còn lại là glucopyranose. Phần đường boivinopyranosyl được chỉ ra như là đường 2,6-dideoxyhexopyranosyl, là đường hexopyranose đã bị đề oxy tại vị trí 2'' và 6'' [114]. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **AC1**, phần đường này cho các tín hiệu gồm của 1 proton anomer ở δ_{H} 5,54 (dd, $J = 3,0$; 12,5 Hz, H-1''), hằng số tương tác spin-spin lớn của $^3J_{\text{H-1''/H-2''}} = 12,5$ Hz chứng tỏ H-1'' ở vị trí *axial* và phần đường có liên kết β -; 3 proton của 3 nhóm oxymethine ở δ_{H} 4,12 (q, $J = 6,5$, H-5''), 4,06 (br d, $J = 3,0$, H-3''), và 3,39 (br d, $J = 3,5$, H-4''); 2 proton geminal không tương đương của 1 nhóm methylene ở δ_{H} 3,08 (ddd, $J = 3,0$; 12,5; 14,0, H_{ax}-2'') và ở δ_{H} 1,47 (dd, $J = 3,0$; 14,0 Hz, H_{eq}-2''); và một nhóm methyl ở δ_{H} 1,24 (d, $J = 6,5$, 3H-6''); hằng số tương tác nhỏ giữa các proton H-3'' và H-4'' cho thấy chúng có liên kết *equatorial* và các nhóm 3''-OH và 4''-OH định hướng *axial*; như vậy, phần đường 2,6-dideoxyhexopyranosyl đã được xác định và sự định hướng các liên kết đã gợi ý là cấu trúc của phần đường β -boivinopyranosyl [114, 115].

Phổ ^{13}C -NMR, phổ DEPT và HSQC (*PLI.13*) cho các tín hiệu carbon tương ứng của các phần trong phân tử. Phần đường β -boivinopyranosyl cho tín hiệu của 6 carbon ở δ_{C} 72,3 (C-5''), 71,1 (C-4''), 69,5 (C-3''), 67,1 (C-1''), 31,3 (C-2''), và 17,5 (C-6''), giá trị độ chuyển dịch hóa học ở trường cao của carbon anomer của C-1'' cho thấy phần đường liên kết trực tiếp (C-C) với carbon của aglycone tạo liên kết C-glycoside hay C- β -boivinopyranosyl. Phần đường glucopyranosyl còn lại cho tín hiệu của 1 proton anomer/carbon anomer ở 4,96 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''')/103,7 (C-1'''), 4 nhóm oxymethine ở 3,64 (dd, $J = 7,5; 9,5$, H-2''')/75,0 (C-2'''), 3,62 (m)/78,7 (C-5'''), 3,55 (dd, $J = 9,0; 9,5$, H-3''')/77,1 (C-3'''), 3,43 (dd, $J = 9,0; 9,5$, H-4''')/71,6 (C-4'''), và một nhóm oxymethylene ở 4,04 (dd, $J = 6,5; 12,0$) và 3,78 (dd, $J = 2,0; 12,0$)/62,7 (C-6'''). Hằng số tương tác lớn giữa các proton H-1'''/H-2''', H-2'''/H-3''', H-3'''/H-4''' cho thấy các proton này định hướng *axial*, các nhóm 2'''-OH, 3'''-OH, 4'''-OH định hướng *equatorial* đã cho thấy cấu trúc của đường glucopyranose và đường có liên kết O- β -glucopyranosyl.

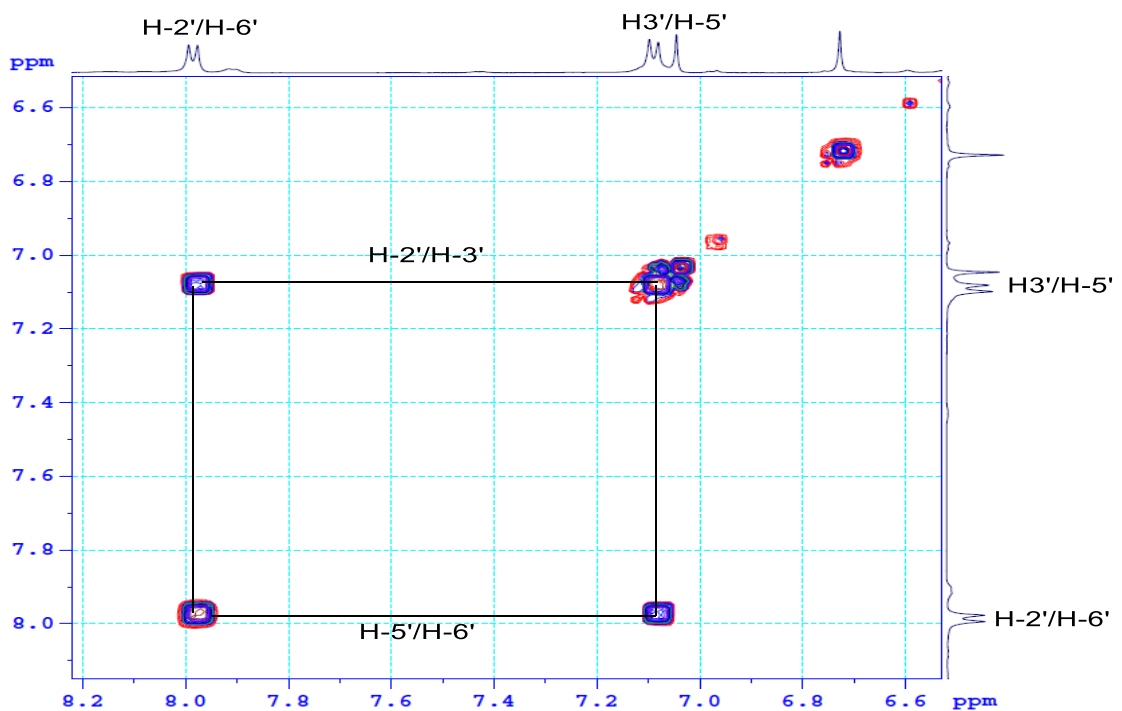


Hình 3.7. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AC1

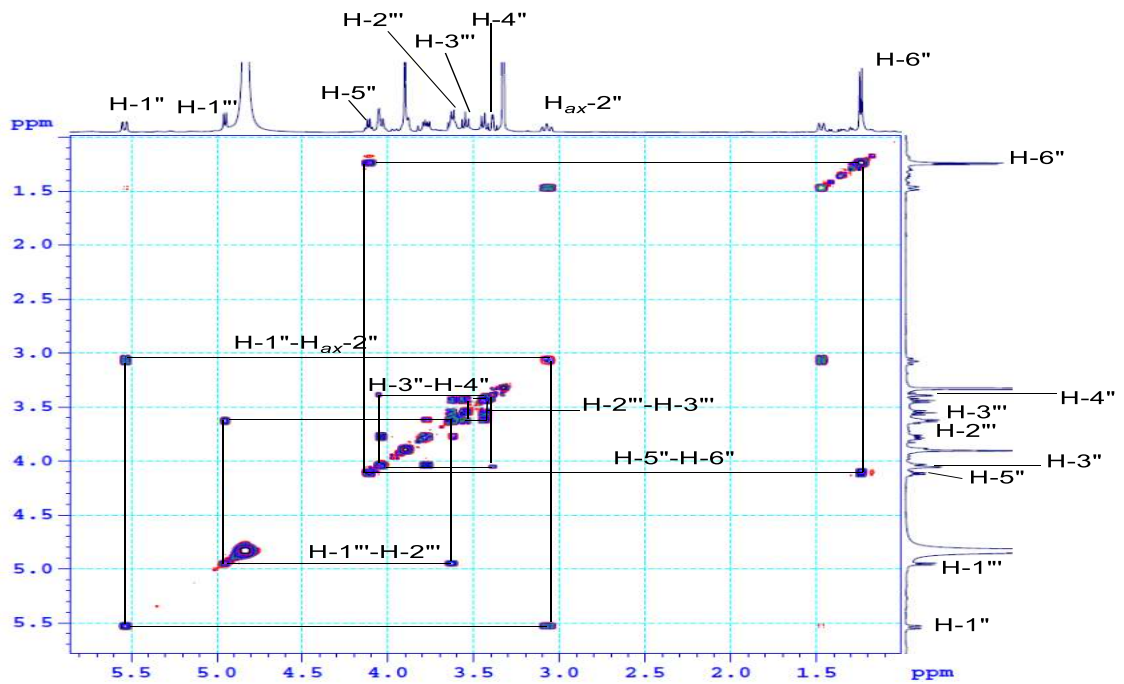


Hình 3.8. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC1

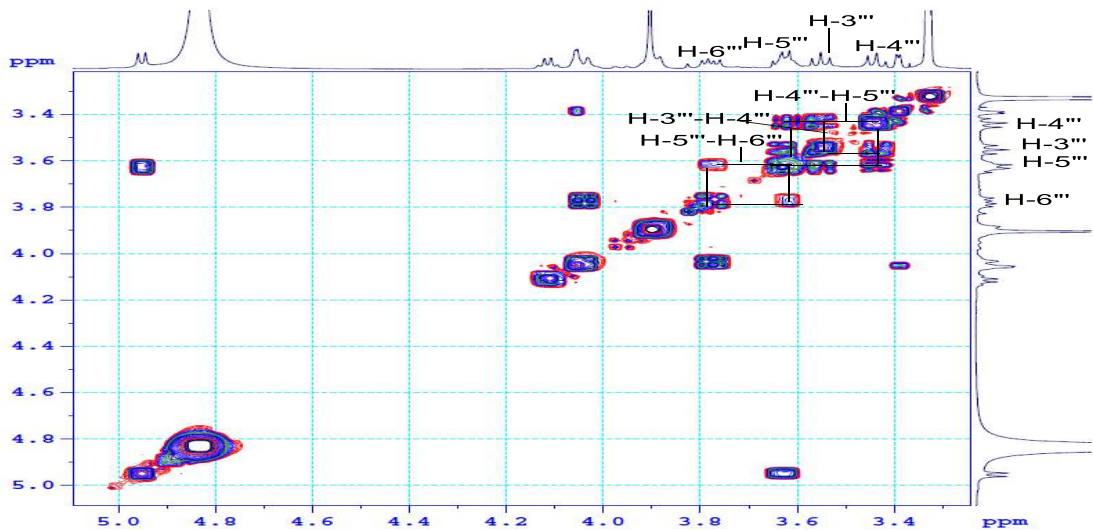
Phổ COSY (Hình 3.9 đến Hình 3.11) cho các tương tác spin-spin giữa các proton qua 3 liên kết trong mỗi phần, giữa H-2'/H-3' và H-5'/H-6' của vòng B, giữa H-1''/H_{2ax}-2'', H_{2eq}-2''/H-3'', H-3''/H-4'', H-4''/H-5'' và H-5''/H-6'' của phần đường β -boivinopyranosyl, và giữa H-1'''/H-2''', H-2'''/H-3''', H-3'''/H-4''', H-4'''/H-5''' và H-5'''/H₂-6''' của phần đường β -glucopyranosyl.



Hình 3.9. Phổ COSY giản 1 của hợp chất AC1



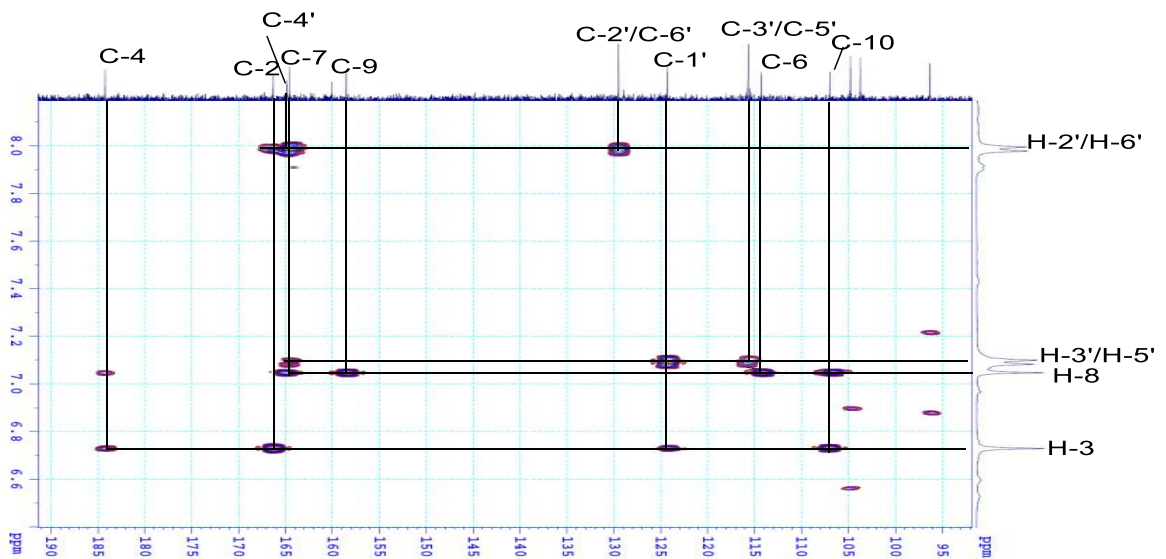
Hình 3.10. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC2



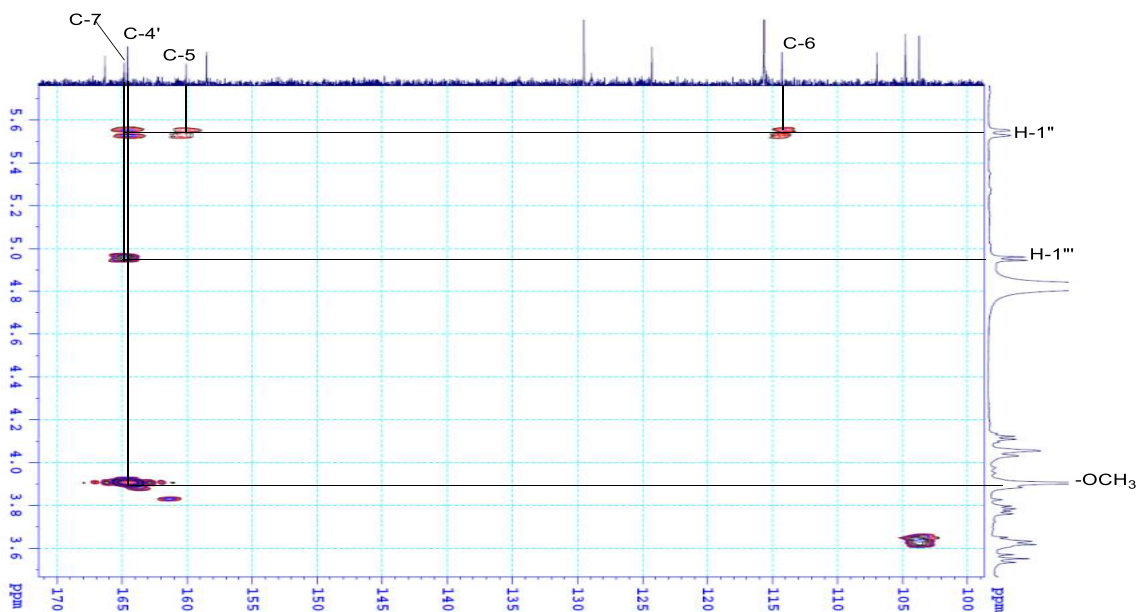
Hình 3.11. Phổ COSY giản 3 của hợp chất AC1

Các tương tác HMBC (Hình 3.12 đến Hình 3.14) giữa H-8 (δ_H 7,06) với C-7 (δ_C 164,8)/C-9 (δ_C 158,5)/C-6 (δ_C 114,3)/C-10 (δ_C 107,0) và H-3 (δ_H 6,74) với C-4 (184,2)/C-2 (δ_C 166,3)/C-1' (δ_C 124,3)/C-10 (δ_C 107,0) đã khẳng định vị trí của hai proton ở C-8, C-3 và cấu trúc của vòng A và vòng C; giữa H-2' và H-6' (δ_H 8,00) với C-2/C-4' (δ_C 164,6)/C-2'/C-6' và giữa H-3' và H-5' (δ_H 7,10) với C-1'/C-4'/C-2'/C-3'/C-5', và giữa nhóm methoxy (δ_H 3,90) với C-4' (δ_C 164,6) đã chứng minh cấu trúc của vòng B và vị trí của nhóm methoxy 4'-OCH₃; giữa H-1'' (5,54) với C-7 (δ_C 164,8)/C-5 (δ_C 160,1)/C-6 (δ_C 114,3) và giữa H-1''' (δ_H 4,96) với C-7 (δ_C 164,8) đã chỉ ra phần đường β -boivinopyranosyl gắn vào C-6, và phần đường β -glucopyranosyl

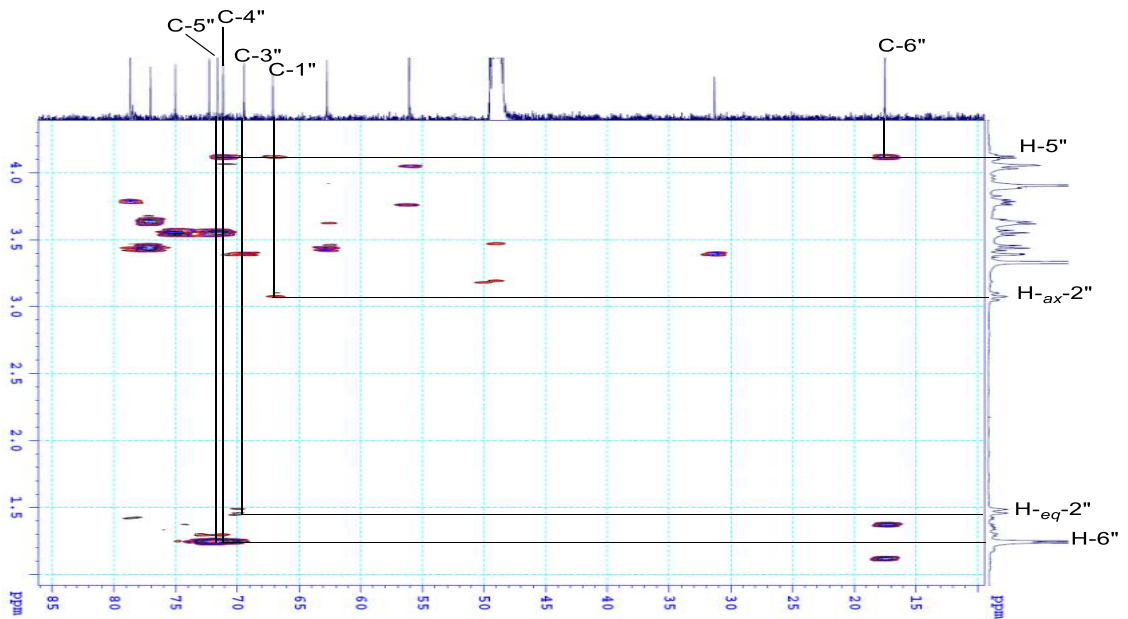
gắn vào C-7 của vòng A. Phần đường β -boivinopyranosyl gắn vào C-6 còn được khẳng định khi so sánh độ chuyển dịch hóa học C-6 (δ_C 114,3) của **AC1** với trường hợp vòng A của flavone có 2 nhóm thế, 1 nhóm thế là 7-*O*-glycoside và nhóm thế còn lại là *C*-glycoside ở C-6 hoặc C-8, thì giá trị độ chuyển dịch hóa học của 6-*C*-glycoside ở δ_C 112,9 [115] và 8-*C*-glycoside ở δ_C 107,7 [116]. Ngoài ra, các tương tác HMBC giữa $H_{ax-2''}$ với C-1'' và $H_{eq-2''}$ với C-3'', giữa H-5'' với C-1''/C-6''/C-4''/C-3'', giữa H-6'' với C-4''/C-5'' đã khẳng định thêm vị trí của nhóm 2''-CH₂ trong cấu trúc của phần đường 6-*C*- β -boivinopyranosyl.



Hình 3.12. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất **AC1**

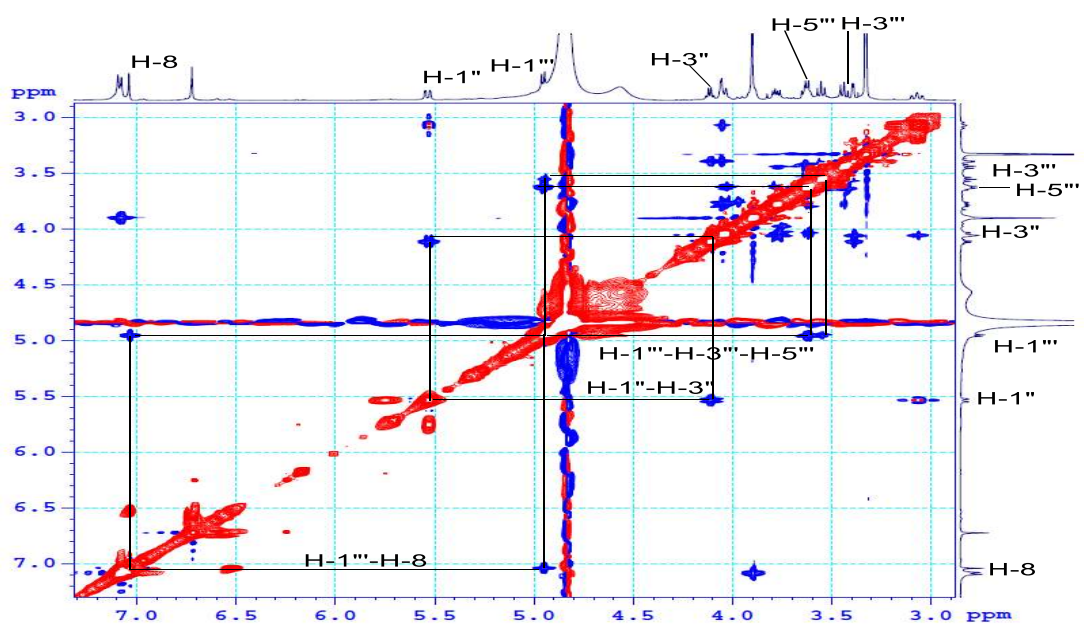


Hình 3.13. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất **AC1**



Hình 3.14. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC1

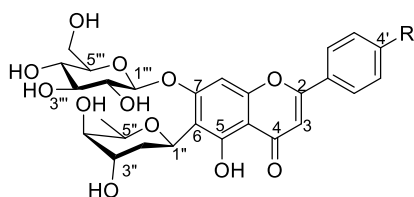
Các giả định về cấu hình của các phần đường được khẳng định chắc chắn thêm trên phổ NOESY (Hình 3.15 và PL1.20 đến PL1.22). Phần đường 6-C- β -boivinopyranosyl cho tương tác NOESY giữa H-1'' (δ_H 5,54) với H-5'' (δ_H 4,12) mà không có tương tác NOESY giữa H-1'' (δ_H 5,54) với H-3'' (δ_H 4,06) đã chỉ ra định hướng *equatorial* của H-3'' và khẳng định thêm cấu trúc của đường phần đường boivinopyranose [114, 115]. Phần đường *O*- β -D-glucopyranosyl cho các tương tác NOESY giữa H-1'''/H-3'''/H-5''' đã khẳng định định hướng *axial* của các proton H-1'''/H-3'''/H-5'''; Tương tác NOESY giữa H-1''' (4,96) với H-8 (7,06) đã khẳng định thêm vị trí liên kết của phần đường 7-*O*- β -glucopyranosyl vào C-7 của aglycone.



Hình 3.15. Phổ NOESY giản của hợp chất AC1

Kết hợp phân tích phổ 1D, 2D -NMR của hợp chất **AC1** ở trên và so sánh các dữ liệu phổ của hợp chất này với tài liệu [115] (Bảng 3.1) cho thấy sự tương đồng giữa các dữ liệu phổ của **AC1** với apigenin 6-*C*- β -D-boivinopyranosyl-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**AC1'**) ngoại trừ sự thêm vào của một nhóm methoxy 4'-OCH₃ trong cấu trúc của **AC1**. Như vậy, cấu trúc của **AC1** được xác định là acacetin-6-*C*- β -D-boivinopyranosyl-7-*O*- β -D-glucopyranoside là hợp chất mới và được đặt tên là amesiflavone A.

Bảng 3.1. Phổ ¹H-, ¹³C-NMR của hợp chất **AC1** và chất tham khảo



AC1: R = OCH₃

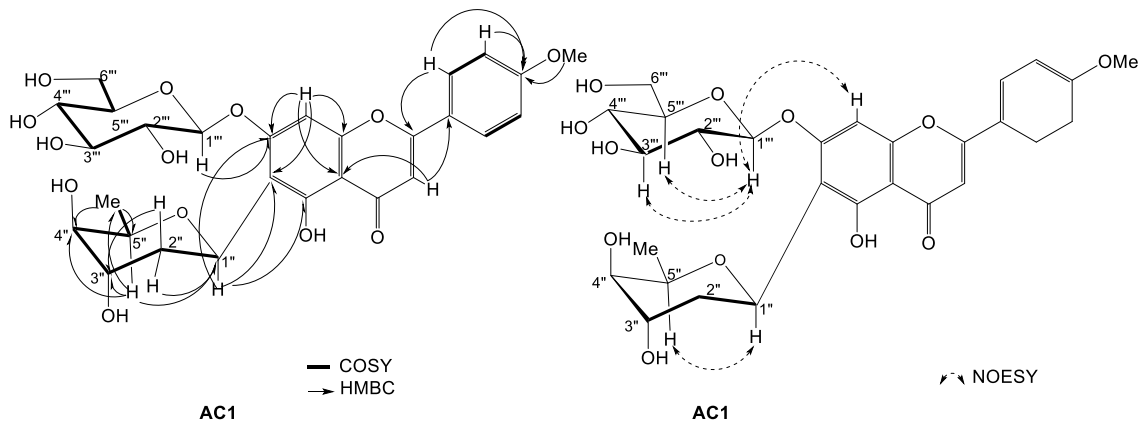
AC1': R = OH (Apigenin-6-*C*- β -boivinopyranosyl-7-*O*- β -glucopyranoside)

Vị trí C	AC1		Apigenin 6- <i>C</i> - β -boivinopyranosyl-7- <i>O</i> - β -glucopyranoside[115]	
	δ_C^a	δ_H^b (độ bội, <i>J</i> = Hz)	δ_C^c	δ_H^d (độ bội, <i>J</i> = Hz)
2	166,3	-	164,1	-
3	104,8	6,74 (s)	103,2	6,88 (s)
4	184,2	-	182,0	-
5	160,1	-	157,8	-
6	114,3	-	112,9	-
7	164,8	-	163,0	-
8	96,3	7,06 (s)	94,7	6,96 (s)
9	158,5	-	156,1	-
10	107,0	-	105,0	-
1'	124,3	-	120,8	-
2', 6'	129,5	8,00 (d, 9,0)	128,4	7,95 (d, 8,8)
3', 5'	115,7	7,10 (d, 9,0)	115,9	6,94 (d, 8,8)
4'	164,6	-	161,0	-
4'-	56,1	3,90 (s)	-	-
OMe				
	Boi		Boi	
1''	67,1	5,54 (dd, 3,0; 12,5)	64,6	5,31 (dd, 2,3; 12)
2''	31,3	3,08 (ddd, 3,0; 12,5; 14,0), ax 1,47 (dd, 3,0; 14,0), eq	30,0	3,90 (dt, 2,7; 12), ax 1,25 (br d, 13), eq
3''	69,5	4,06 (m)	67,1	3,86 (d, 2,7)
4''	71,1	3,39 (br d, 3,5)	69,8	3,19 (d, 3,7)
5''	72,3	4,12 (q, 6,5)	70,0	3,89 (q, 6,3)
6''	17,5	1,24 (d, 6,5)	17,1	1,05 (d, 6,6)
	Glc		Glc	
1'''	103,7	4,96 (d, 7,5)	102,0	4,86 (d, 7,6)
2'''	75,0	3,64 (dd, 7,5; 9,5)	73,6	3,34 (m)

3'''	77,1	3,55 (dd, 9,0; 9,5)	77,3	3,40 (m)
4'''	71,6	3,43 (dd, 9,0; 9,5)	69,2	3,20 (m)
5'''	78,7	3,62 (m)	75,1	3,29 (m)
6'''	62,7	4,04 (dd, 6,5; 12,0)	60,1	3,80, (dd, 5,3; 10,9)
		3,78 (dd, 2,0; 12,0)		3,52 (dd, 6,0; 10,9)

^{a,b}Đo trong CD₃OD; ^{c,d}Đo trong DMSO-*d*₆; ^{a,c}125 MHz, ^{a,d}500 MHz; Boi:

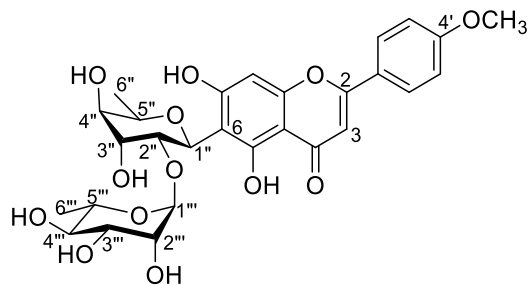
boivinopyranosyl; Glc: glucopyranosyl.



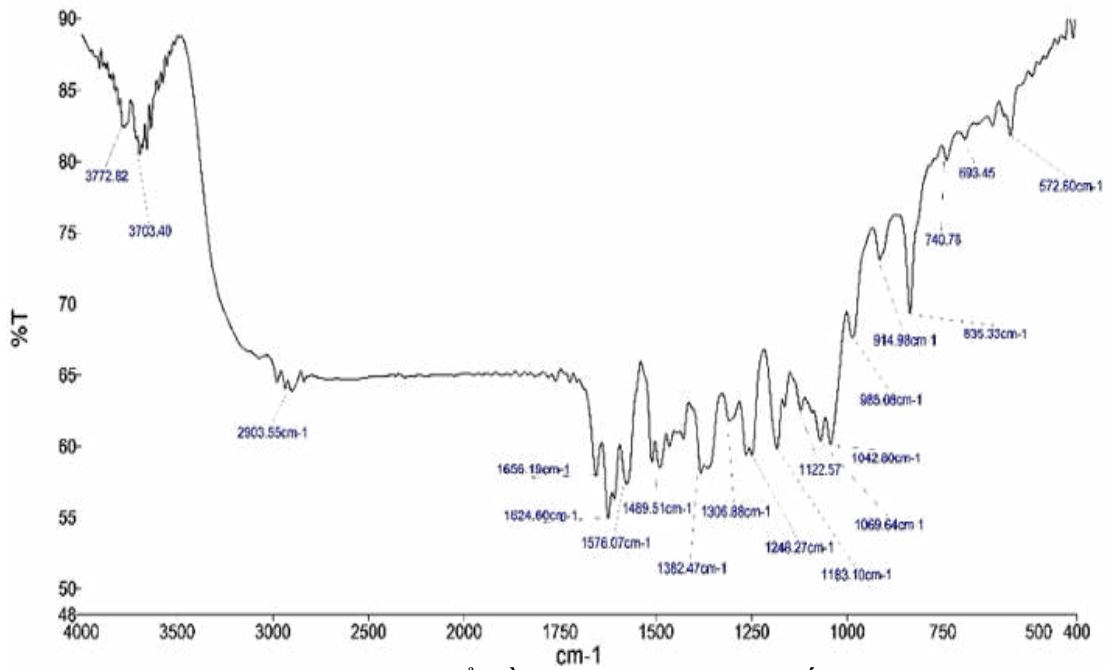
Hình 3.16. Một số tương tác COSY, HMBC và NOSEY chính của hợp chất AC1

3.1.1.2. Hợp chất AC2: amesiflavone B

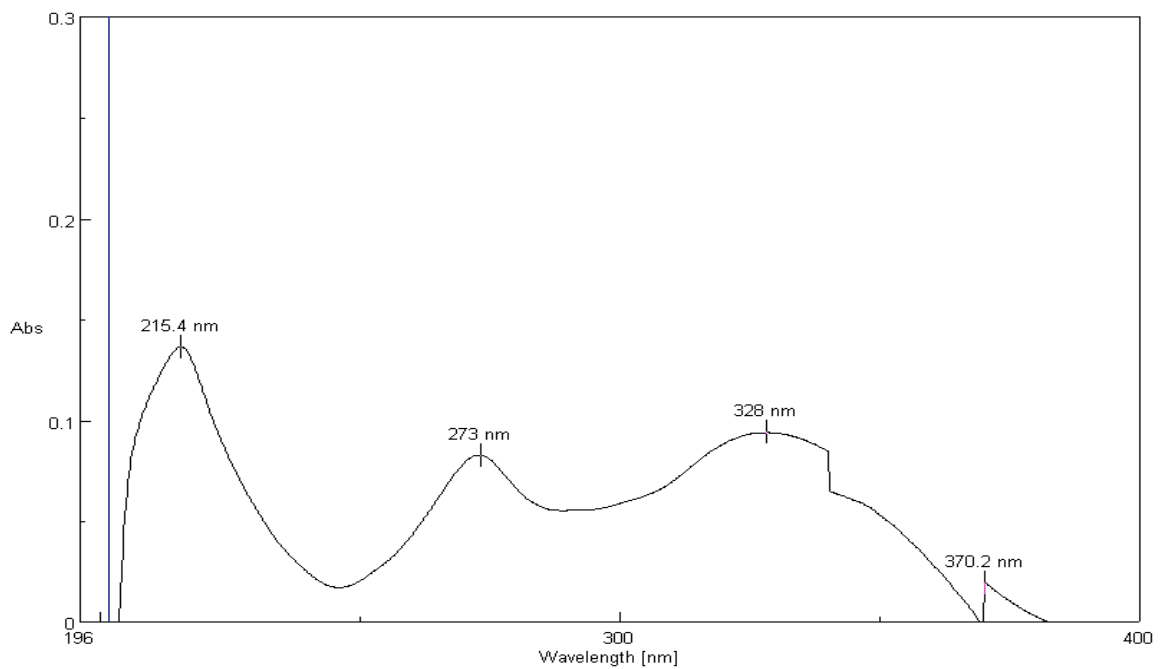
Hợp chất AC2 được xác định là **hợp chất mới** và đặt tên là amesiflavone B có cấu trúc như sau:



Hình 3.17. Cấu trúc của hợp chất AC2



Hình 3.18. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC2

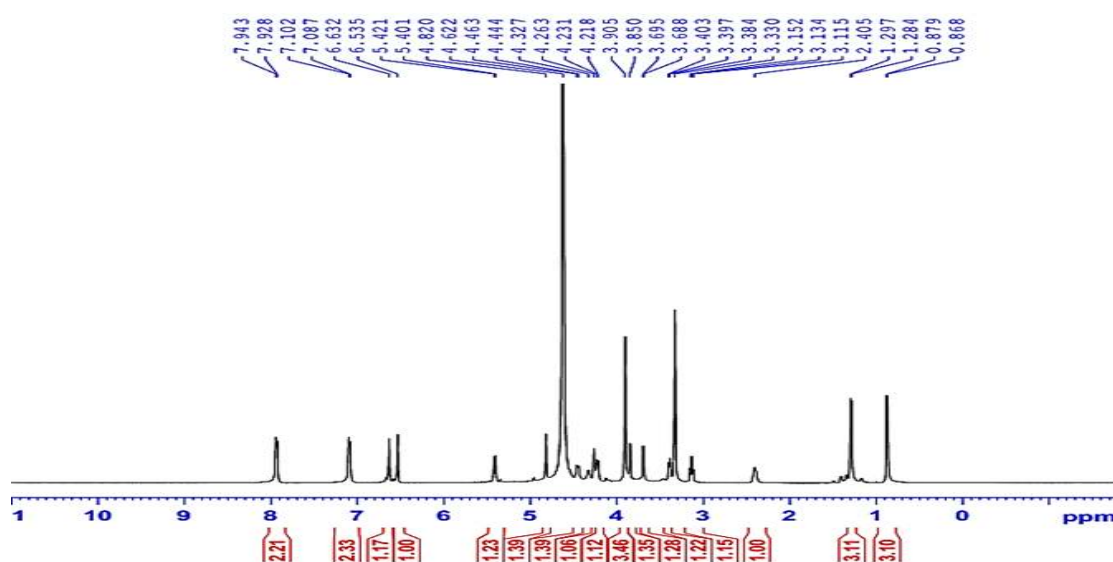


Hình 3.19. Phổ UV-Vis của hợp chất AC2

Phổ hồng ngoại của AC2 (Hình 3.18) cho những vân hấp thụ đặc trưng dao động hóa trị của nhóm OH ν_{O-H} ở khoảng $3500-3000\text{ cm}^{-1}$, ν_{C-H} (CH_3) ở 2904 cm^{-1} ., $\delta_{C=O}$ ở 1656 cm^{-1} , $\nu_{C=C}$ ở 1624 cm^{-1} , ν_{C-O} ở 1248 cm^{-1} , γ_{C-H} ở 1183 cm^{-1} . Phổ UV-Vis (Hình 3.19) của hợp chất AC2 thể hiện hai giá trị ở 215 nm và 273 nm là những giá trị hấp thụ cực đại trong vùng UV ứng với chuyển mức $\pi-\pi^*$ trong vòng benzen và giá trị 328 nm ứng với chuyển mức $n\rightarrow\pi^*$ trong vòng benzen.

Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS (*PL2.1*) của hợp chất **AC2** cho pic ion dương giả phân tử cộng proton tại m/z 577,1915 $[M+H]^+$ (theo tính toán lý thuyết cho công thức $C_{28}H_{33}O_{13}^+$: 577,1916) đã xác định CTPT của hợp chất **AC2** là $C_{28}H_{32}O_{13}$.

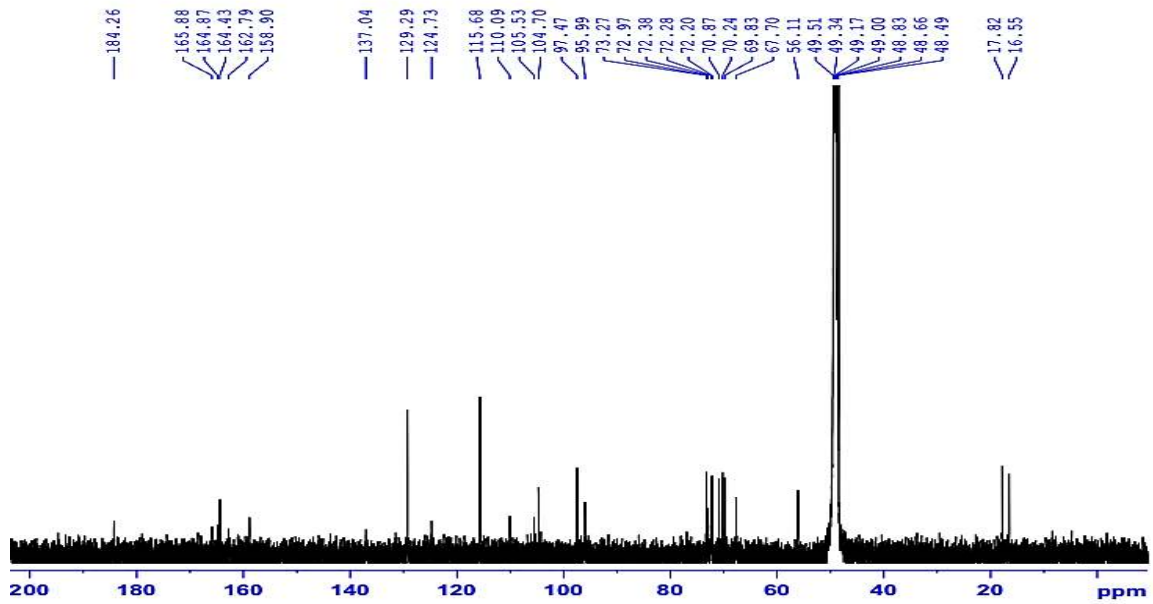
Tương tự hợp chất **AC1**, phổ NMR của **AC2** cũng cho các tín hiệu của hợp chất flavone glycoside khung acacetin ngoại trừ sự khác nhau về 2 phần đường. Trên phổ 1H -NMR (*Hình 3.20* và *PL2.5* và *PL2.6*) của **AC2** những tín hiệu của các proton của phần khung apigenin bị thế ở C-6 gồm hai tín hiệu doublet của 4 proton vòng benzene thế *para* tại δ_H 7,93 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-2' và H-6') và 7,09 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-3' và H-5') của vòng B; một proton ở δ_H 6,63 (1H, s, H-3) của vòng C và một proton ở δ_H 6,54 (1H, s, H-8) của vòng A; và một nhóm methoxy ở δ_H 3,91 (3H, s, 4'-OCH₃).



Hình 3.20. Phổ 1H -NMR của hợp chất **AC2**

Phổ ^{13}C -NMR (*Hình 3.21*), phổ DEPT (*PL2.8*) và HSQC (*PL2.9*) của **AC2** chỉ ra 15 carbon tương ứng của 3 vòng A, B và C của khung flavone acacetin gồm 1 carbonyl ở 184,3 (4-CO), 8 carbon sp^2 không proton, trong đó 5 carbon sp^2 liên kết với oxy tại δ_C 165,9 (C-2), 164,9 (C-7), 164,4 (C-4'), 161,1 (C-5), 158,9 (C-9), và 3 carbon sp^2 bậc 4 tại δ_C 124,7 (C-1'), 110,1 (C-6), và 105,5 (C-10); 6 carbon methine sp^2 tại δ_C 129,3 (C-2', 6'), 115,7 (C-3', 5'), 104,7 (C-3), 96,0 (C-8). Ngoài ra còn một carbon của nhóm methoxy tại δ_C 56,1(4'-OCH₃). Những dữ liệu phân tích phổ 1H -

, C-NMR ở trên gợi ý sự có mặt của một phần acacetin có thêm một nhóm thế tại C-6 (δ_C 110,1) của vòng A [114].

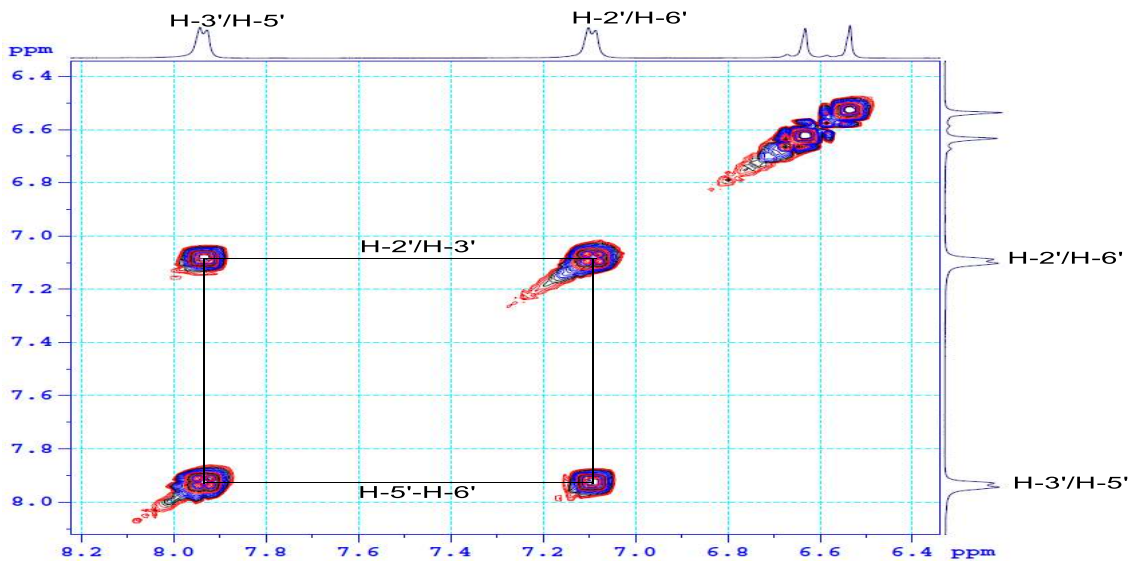


Hình 3.21. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC2

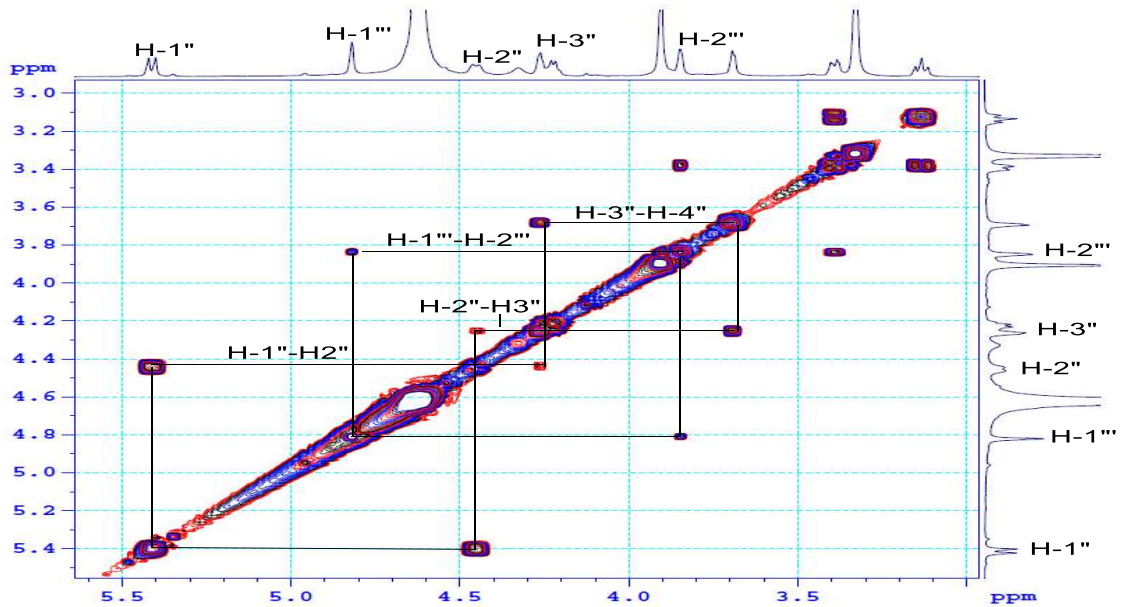
Bên cạnh những tín hiệu đặc trưng của các proton phần aglycone acacetin, phổ NMR bộc lộ những tín hiệu của hai phần đường với 2 tín hiệu proton anomer/carbon anomer ở δ_H 5,41 (1H, d, $J = 9,8$ Hz, H-1'')/ δ_C 70,3 (C-1'') và ở δ_H 4,82 (1H, br s, H-1''')/ δ_C 97,5 (C-1'''). Hằng số tương tác spin-spin lớn của $^3J_{\text{H-1}''/\text{H-2}''} = 9,8$ Hz chứng tỏ H-1'' định hướng *axial* và phần đường thứ nhất có liên kết liên kết β -; ngược lại, hằng số tương tác spin-spin nhỏ của $^3J_{\text{H-1}'''/\text{H-2}'''}$ (br s) chứng tỏ H-1''' ở vị trí *equatorial* và phần đường thứ hai có liên kết α -. Mặt khác, độ chuyển dịch hóa học của carbon anomer ở δ_C 70,3 (C-1'') đã cho thấy carbon này liên kết trực tiếp với carbon của phần aglycone tạo liên kết 6-C- β -glycoside. Phần đường thứ nhất được xác định là 6-deoxyhexopyranosyl là đường hexopyranose đã bị đề oxy tại vị trí C-6''. Trên phổ NMR, phần đường 6-deoxyhexopyranosyl cho các tín hiệu còn lại của 4 nhóm methine liên kết với oxy ở δ_H 4,45 (1H, br d, $J = 9,8$ Hz, H-2'')/ δ_C 70,8 (C-2''), δ_H 4,26 (1H, m, H-3'')/ δ_C 67,7 (C-3''), δ_H 4,22 (1H, m, H-5'')/ δ_C 72,3 (C-5''), và δ_H 3,69 (1H, br d, $J = 3,5$ Hz, H-4'')/ δ_C 73,0 (C-4''), và một nhóm methyl ở δ_H 1,29 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-6'')/ δ_C 17,8 (C-6''). Hằng số tương tác nhỏ giữa H-3''/H-4'' chứng tỏ các proton này định hướng *equatorial* và các nhóm hydroxy 3''-OH và 4''-OH định hướng *axial*. Liên kết 6-C- β -glycoside và sự định hướng của các liên kết

trong phần đường thứ nhất gọi ý đây là đường 6-deoxygulopyranose và phần đường thứ nhất là 6-C- β -deoxygulopyranosyl [117]. Phần đường thứ 2, được xác định là phần đường rhamnopyranosyl, cho các tín hiệu còn lại của 4 nhóm oxymethine ở δ_H 3,85 (1H, brs, H-2''')/ δ_C 72,4 (C-2'''), δ_H 3,40 (1H, dd, $J = 3,0$ 9,5 Hz, H-3''')/ δ_C 72,2 (C-3'''), δ_H 4,22 (1H, m, H-5''')/ δ_C 72,3 (C-5'''), và δ_H 3,14 (1H, dd, $J = 3,0$; 9,5 Hz, H-4''')/ δ_C 73,0 (C-4'''), và một nhóm methyl ở δ_H 0,87 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-6''')/ δ_C 16,6 (C-6'''). Hằng số tương tác lớn giữa H-3'''/H-4''' ($J = 9,5$ Hz) chứng tỏ 2 proton này định hướng *axial* và các nhóm hydroxy 3'''-OH và 4'''-OH định hướng *equatorial*. Liên kết *O*- α -glycoside và sự định hướng của các liên kết trong phần đường thứ hai cho thấy phần đường thứ 2 là *O*- α -L-rhamnopyranosyl.

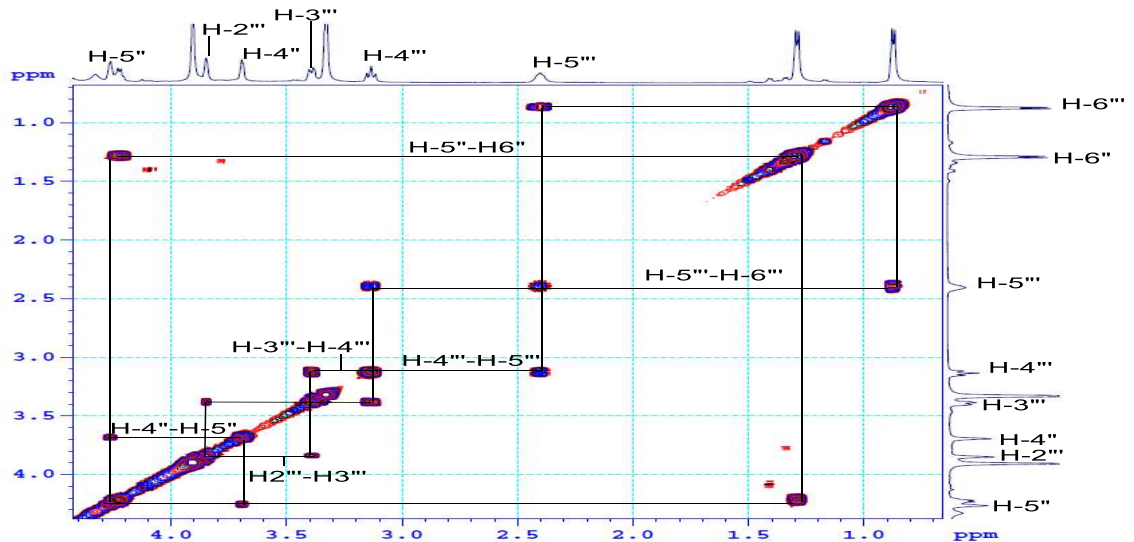
Phổ COSY (Hình 3.22 đến Hình 3.24) của AC2 cho các tương tác spin-spin giữa các proton qua 3 liên kết trong mỗi phần giữa H-2'/H-3' và H-5'/H-6' của vòng B, giữa H-1''/H-2'', H-2''/H-3'', H-3''/H-4'', H-4''/H-5'' và H-5''/H-6'' của phần đường C- β -6-deoxygulopyranoside; và giữa H-1'''/H-2''', H-2'''/H-3''', H-3'''/H-4''', H-4'''/H-5''' và H-5'''/H-6''' của phần đường *O*- α -L-rhamnopyranosyl.



Hình 3.22. Phổ COSY giản 1 của hợp chất AC2

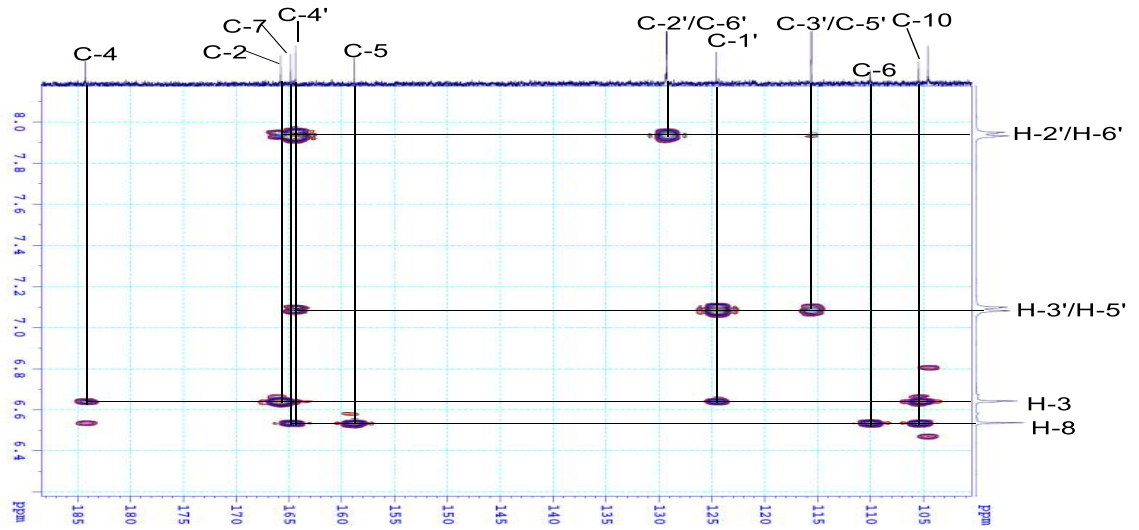


Hình 3.23. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC2

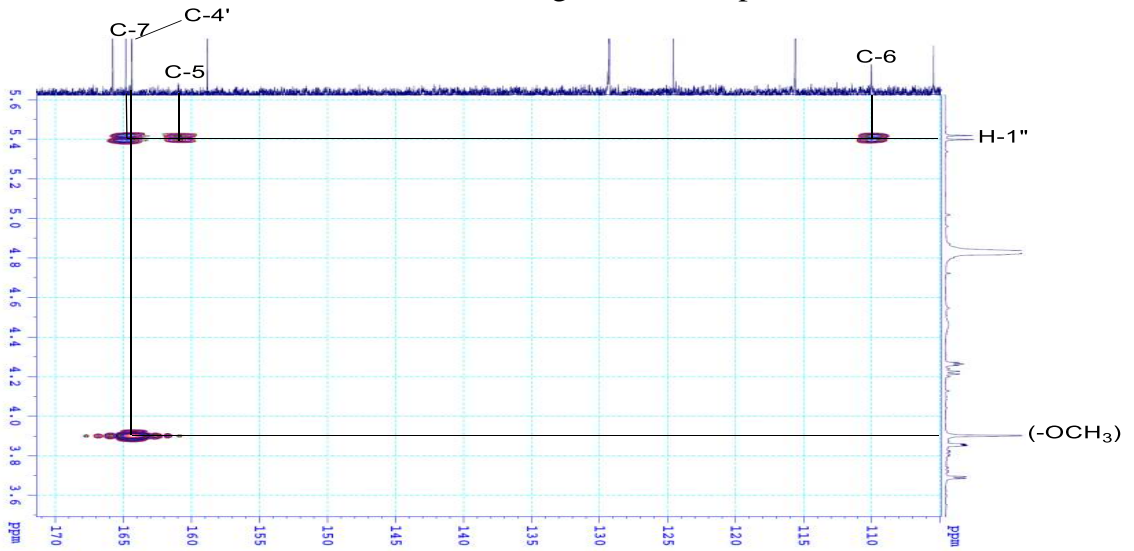


Hình 3.24. Phổ COSY giản 3 của hợp chất AC2

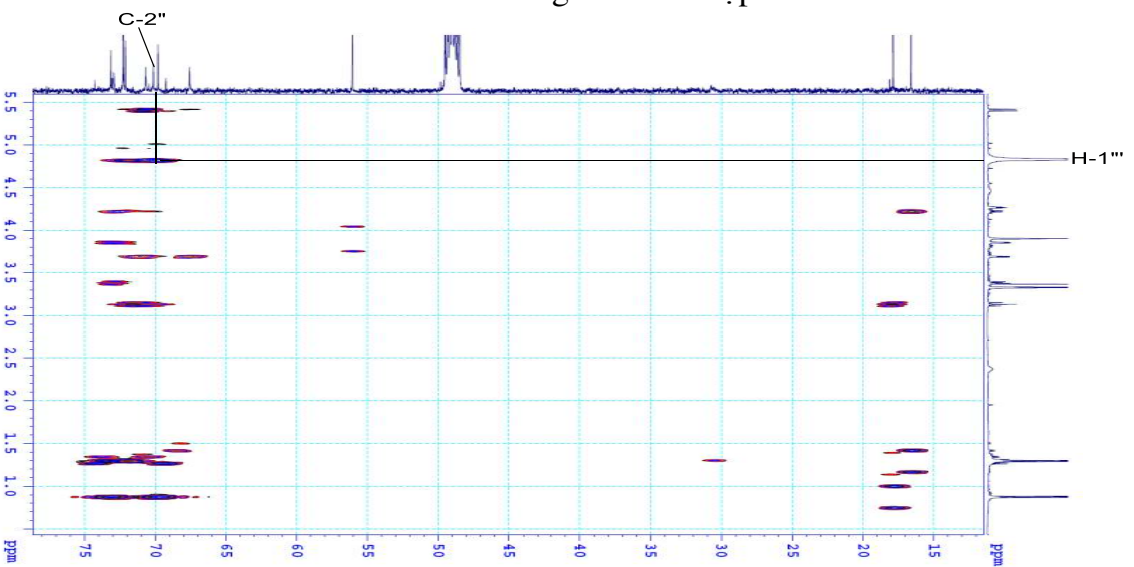
Các tương tác HMBC (Hình 3.25 đến Hình 3.27) giữa H-3 (6,63) với C-10 /C-1'/C-2 /C-4 và giữa H-8 (6,54) với C-6/C-7/C-9/C-10 đã khẳng định vị trí của hai proton ở C-3, C-8 và cấu trúc của vòng C và vòng A; giữa H-2' và H-6' với C-2/C-4'/C-2'/C-6' và giữa H-3' và H-5' với C-1'/C-4'/C-3'/C-5', và giữa nhóm methoxy (δ_H 3,90) với C-4' đã chứng minh cấu trúc của vòng B và vị trí của nhóm methoxy ở C-4'; giữa H-1''(5,41) với C-5/C-6/C-7 đã chỉ ra phần đường β -6-deoxygulopyranoside gắn vào C-6 của vòng A; và giữa H-1'''(4,82) với C-2''(70,8) đã chỉ ra phần đường O- α -L-rhamnopyranosyl gắn vào C-2'' của phần đường 6-C- β -6-deoxygulopyranosyl.



Hình 3.25. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC2



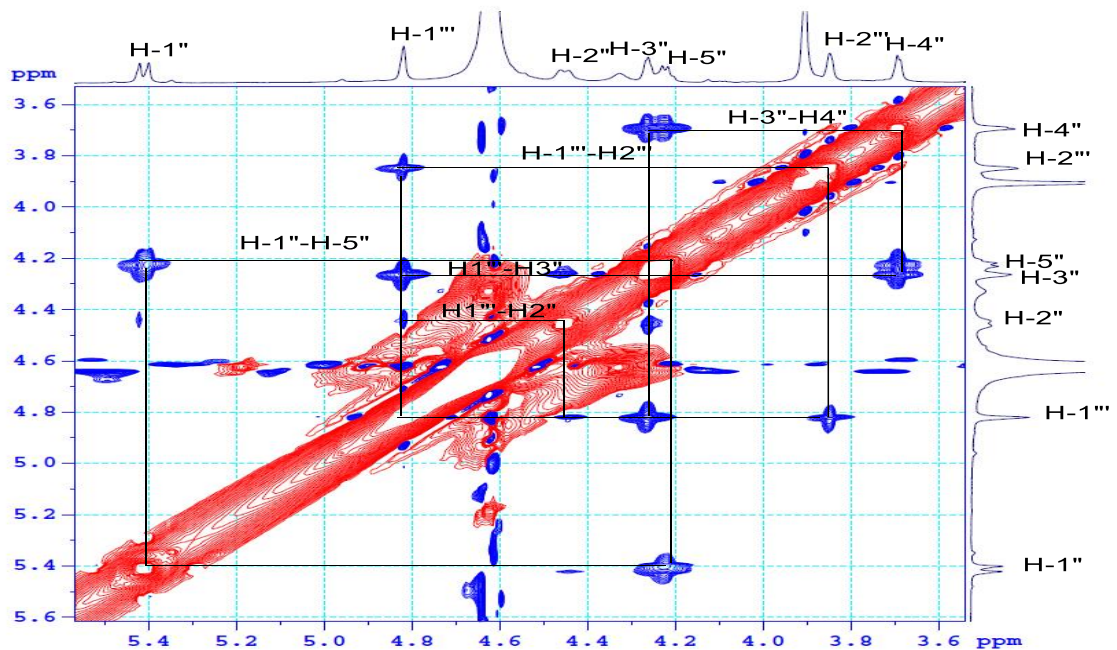
Hình 3.26. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC2



Hình 3.27. Phổ HMBC giản 3 của hợp chất AC2

Phần đường 6-*C*- β -6-deoxygulopyranosyl cho tương tác NOESY giữa H-1'' (δ_H 5,41) với H-5'' (δ_H 4,22), giữa H-3'' (δ_H 4,26)/H-4'' (δ_H 3,69) mà không có tương tác NOESY giữa H-1'' với H-3''/H-4'' đã khẳng định thêm định hướng *axial* của H-1'' và H-5'', định hướng *equatorial* của H-3''/H-4'' và định hướng *axial* của các nhóm 3''-OH, 4''-OH. Kết hợp các phân tích phổ 1D và 2D-NMR ở trên và so sánh với các tài liệu cho phép khẳng định phần đường thứ nhất là β -6-deoxygulopyranosyl [117], [118]. Phần đường thứ hai α -L-rhamnopyranosyl cho các tương tác NOESY giữa H-1''' (δ_H 4,82) /H-2''' (δ_H 3,85) và H-1''' với H-2''/H-3'' khẳng định thêm định hướng *equatorial* của H-2''' và sự kết nối của phần đường α -L-rhamnopyranosyl vào C-2'' của β -6-deoxygulopyranosyl; giữa H-3'''/H-5''' khẳng định thêm sự cùng định hướng *axial* của các proton H-3'''/H-5'''.

Kết hợp các phân tích phổ 1D và 2D-NMR ở trên cho phép khẳng định phần đường thứ 2 là phần đường α -L-rhamnopyranosyl và gắn vào C-2'' của phần đường thứ nhất.



Hình 3.28. Phổ NOESY giãn của hợp chất AC2

Phân tích các dữ liệu phổ của hợp chất AC2 cho thấy đây cũng là một hợp chất flavone *C*-glycoside với aglycone là acacetin. Hai phần đường kết nối với nhau và gắn vào aglycone ở C-6 của vòng A bằng liên kết C-C. Phần đường kết nối trực tiếp C-C với acacetin là đường β -6-deoxygulopyranose là đường hiếm gặp trong tự nhiên và phần đường thứ 2 là đường α -L-rhamnopyranose, đường này gắn vào C-2'' của

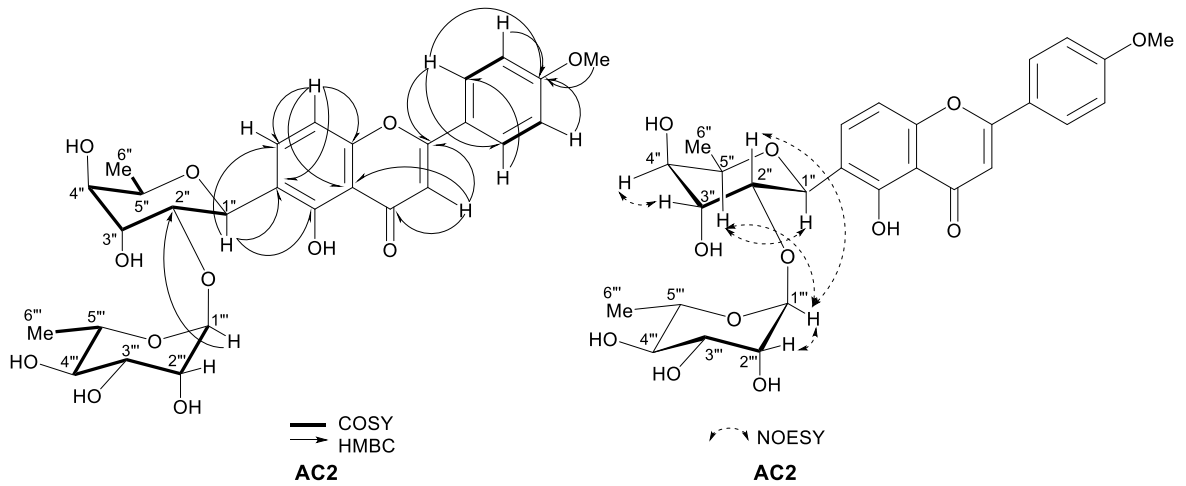
đường thứ nhất. Như vậy hợp chất **AC2** được xác định là acacetin-6-*C*-(2''- α -L-rhamnopyranosyl)- β -6-deoxygulopyranoside là hợp chất mới được đặt tên là amesiflavone B. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC2** được đưa ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC2**

Vị trí C	AC2		HMBC ^c (H→C)	NOESY (H→C)
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)		
2	165,9	-	3, 2',6'	
3	104,7	6,63 (s)		
4	184,3	-	3	
5	161,1	-	1''	
6	110,1	-	8	
7	164,9	-	8, 1'''	
8	96,0	6,54 (s)	1'''	
9	158,9	-	8	
10	105,5	-	8	
1'	124,7	-	3, 3', 5'	
2', 6'	129,3	7,93 (d, 7,5)	2', 6'	2', 6'
3', 5'	115,7	7,09 (d, 7,5)	3',5'	3', 5'
4'	164,4	-	2', 6', 3', 5', 4'-OMe	
4'-OMe	56,1	3,91 (s)		
Gul				
1''	70,3	5,41 (d, 9,8)		5''
2''	70,8	4,45 (br d, 9,8)	1''', 1'', 4''	3''
3''	67,7	4,26 (m)	4''	4'', 2''
4''	73,0	3,69 (br d, 3,5)		3'', 6''
5''	72,3	4,22 (m)	3''	1'', 6''
6''	17,8	1,29 (d, 6,5)	5''	5''
Rha				
1'''	97,5	4,82 (br s)		2''', 3'', 2''
2'''	72,4	3,85 (br s)	1'''	1''', 3'''
3'''	72,2	3,40 (dd, 3,0; 9,5)	1''', 4'''	5''', 4'''
4'''	73,3	3,14 (dd, 9,0; 9,5)	2''', 3'''	6'''
5'''	69,8	2,41 (m)	1''', 4'''	5'''
6'''	16,6	0,87 (d, 6,5)	4'''	4''', 5'''

^{a,b}Đo trong CD_3OD ; ^{c,d}Đo trong $\text{DMSO}-d_6$; ^a125 MHz, ^b500 MHz; ^c90 MHz, ^d360

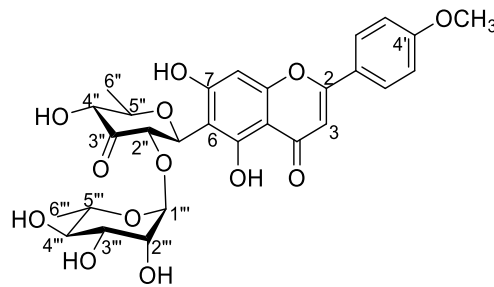
MHz; Gul: 6-deoxygulopyranosyl; Rha: rhamnopyranosyl.



Hình 3.29. Một số tương tác COSY, HMBC và NOESY chính của hợp chất **AC2** và phần đường 6-C- β -6-deoxygulopyranosyl

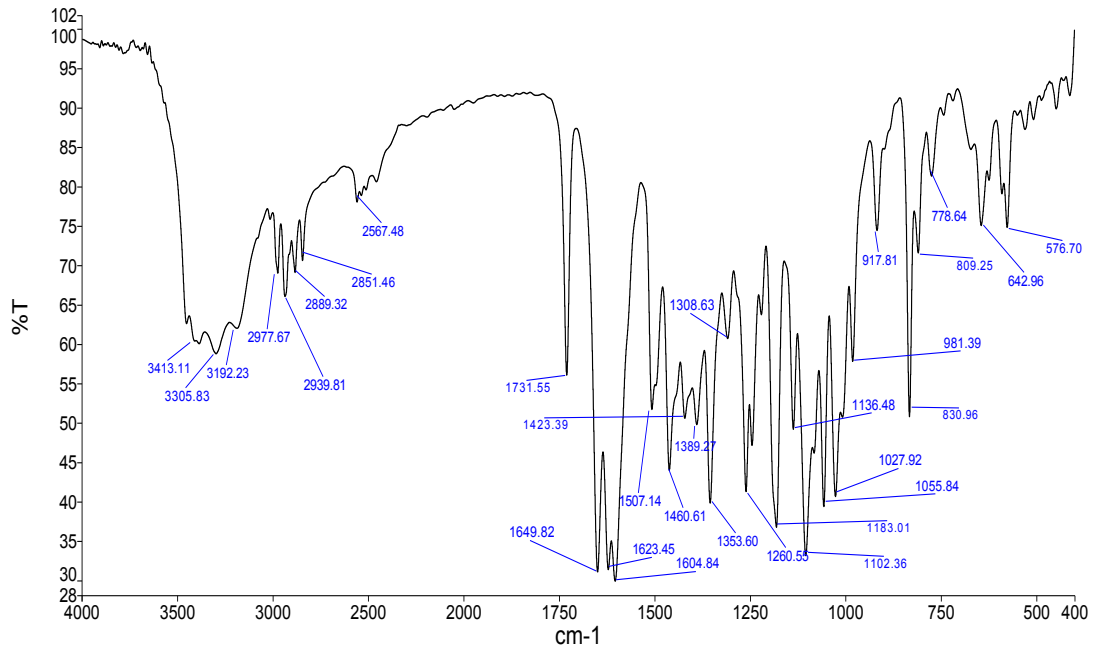
3.1.1.3. Hợp chất **AC3**: amesiflavone C

Hợp chất **AC3** được xác định là **hợp chất mới** và đặt tên là amesiflavone C có cấu trúc như sau:

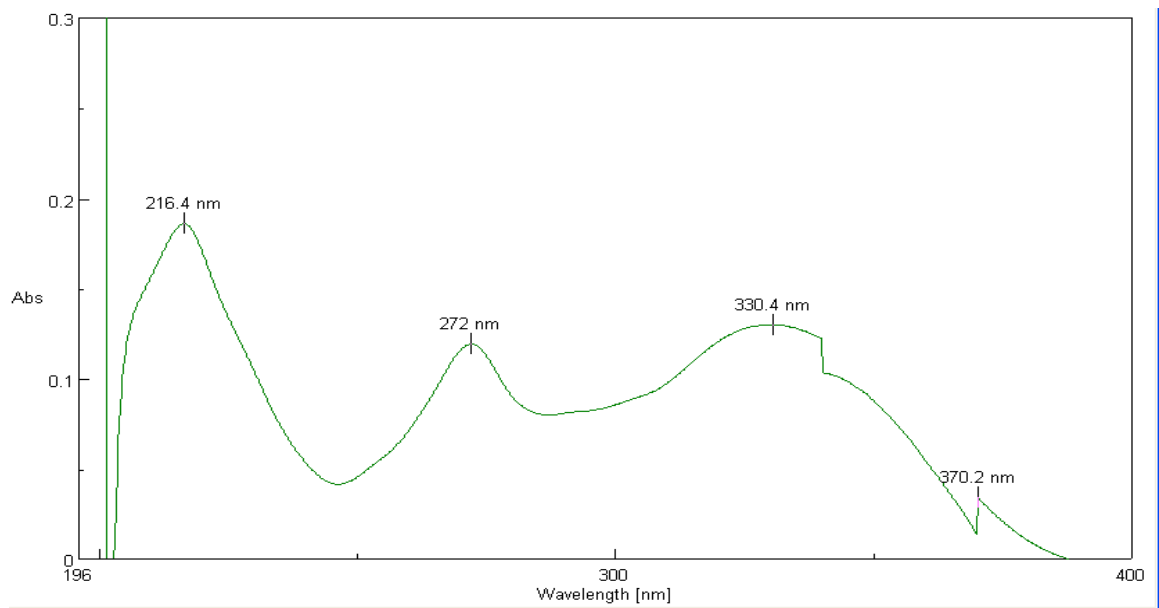


Hình 3.30. Cấu trúc của hợp chất **AC3**

Tương tự như hợp chất **AC1**, phổ hồng ngoại của **AC3** (Hình 3.31) cho những vân hấp thụ đặc trưng dao động hóa trị (ν_{O-H}) ở $3306\text{ (cm}^{-1}\text{)}$, ν_{C-H} (CH_3) ở $2940\text{ (cm}^{-1}\text{)}$, $\nu_{C=O}$ ở $1731\text{ (cm}^{-1}\text{)}$, $\nu_{C=C}$ ở $1605\text{ (cm}^{-1}\text{)}$, ν_{C-O} ở $1261\text{ (cm}^{-1}\text{)}$; Dao động biến dạng (γ_{C-H}) ở $1056\text{ (cm}^{-1}\text{)}$ nhóm C-H trong vòng benzen. Phổ UV-Vis (Hình 3.32) thể hiện ba giá trị hấp thụ 330 nm , 272 nm , và 215 nm . Tương tự hợp chất **AC1**, phổ UV-Vis (Hình 3.32) của hợp chất **AC1** hai giá trị 215 nm và 272 nm là những giá trị hấp thụ cực đại trong vùng UV ứng với chuyển mức $\pi\text{-}\pi^*$ trong vòng benzen và giá trị 330 nm ứng với chuyển mức $n\text{-}\pi^*$ trong vòng benzen.

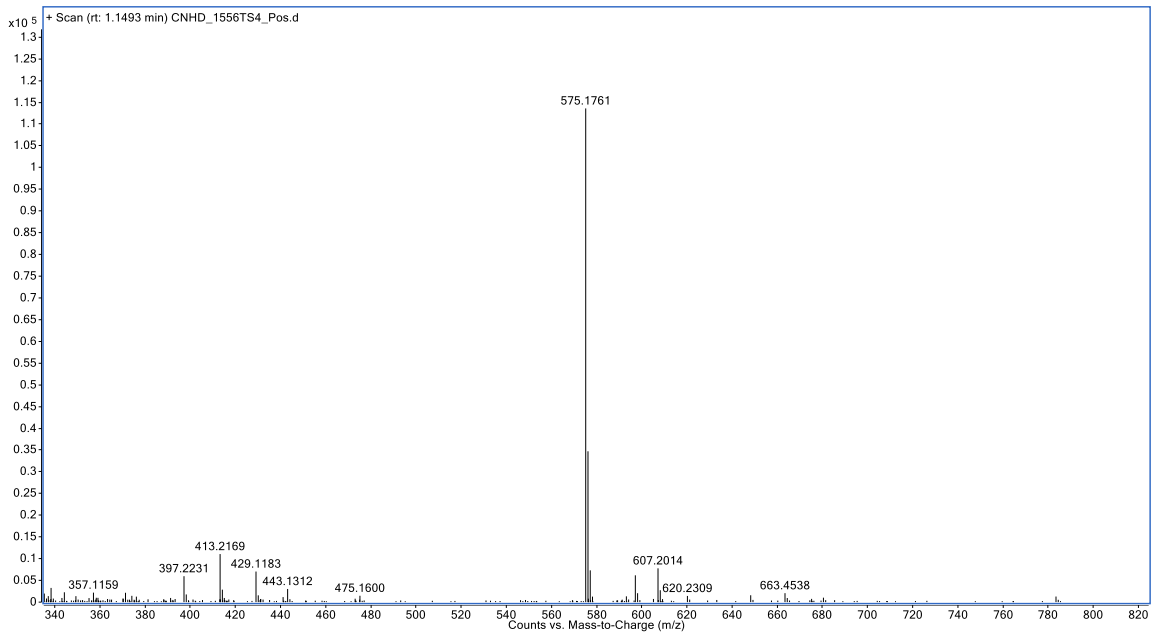


Hình 3.31. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC3



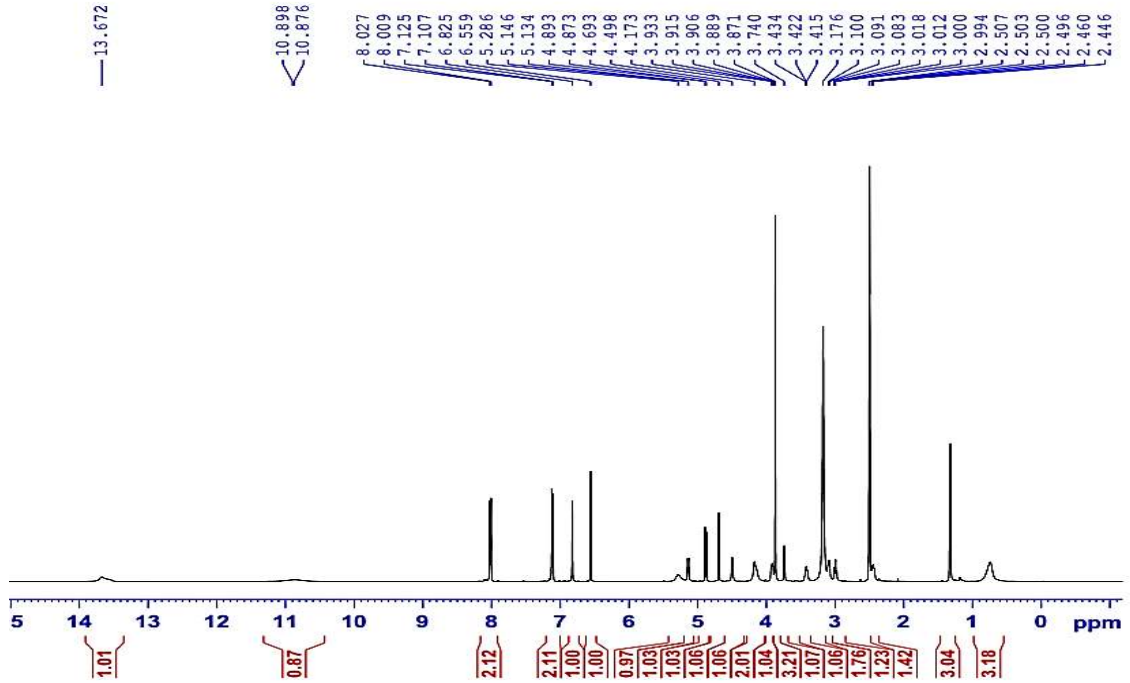
Hình 3.32. Phổ UV-Vis của hợp chất AC3

Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS (Hình 3.33) của hợp chất AC3 cho pic ion dương giả phân tử cộng proton tại m/z 575,1761 $[M+H]^+$, theo tính toán lý thuyết ứng với công thức phân tử là $C_{28}H_{31}O_{13}^+$: 575,1759 đã xác định CTPT của AC3 là $C_{28}H_{30}O_{13}$.

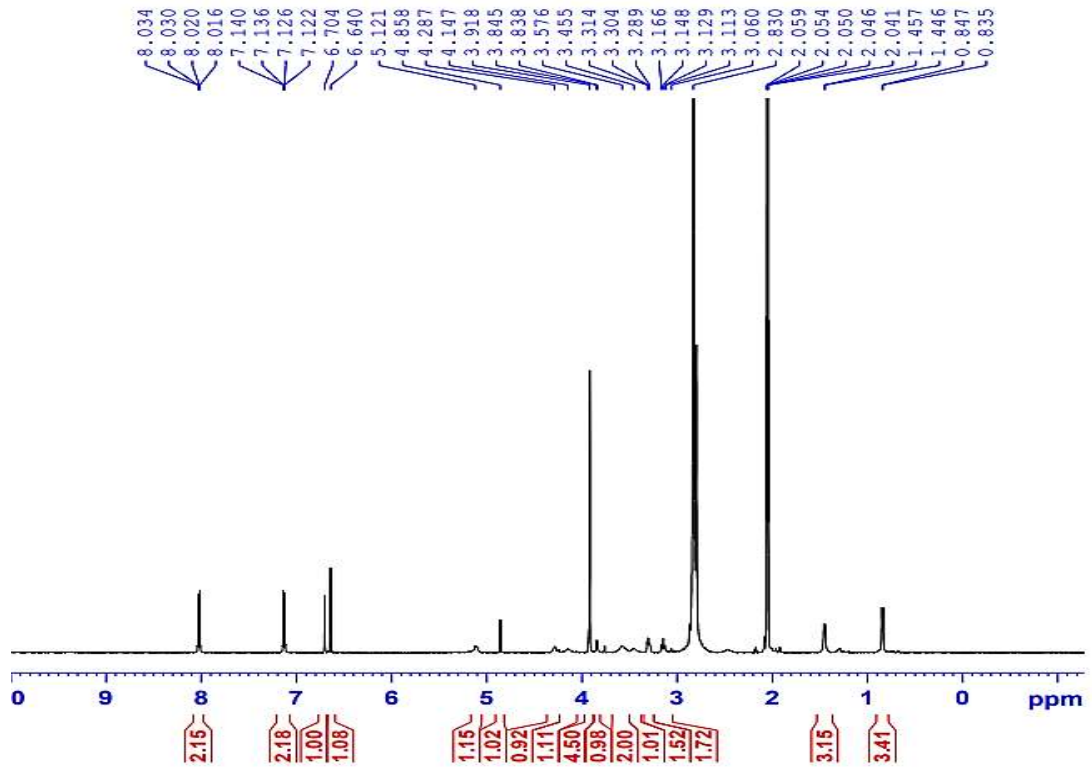


Hình 3.33. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AC3**

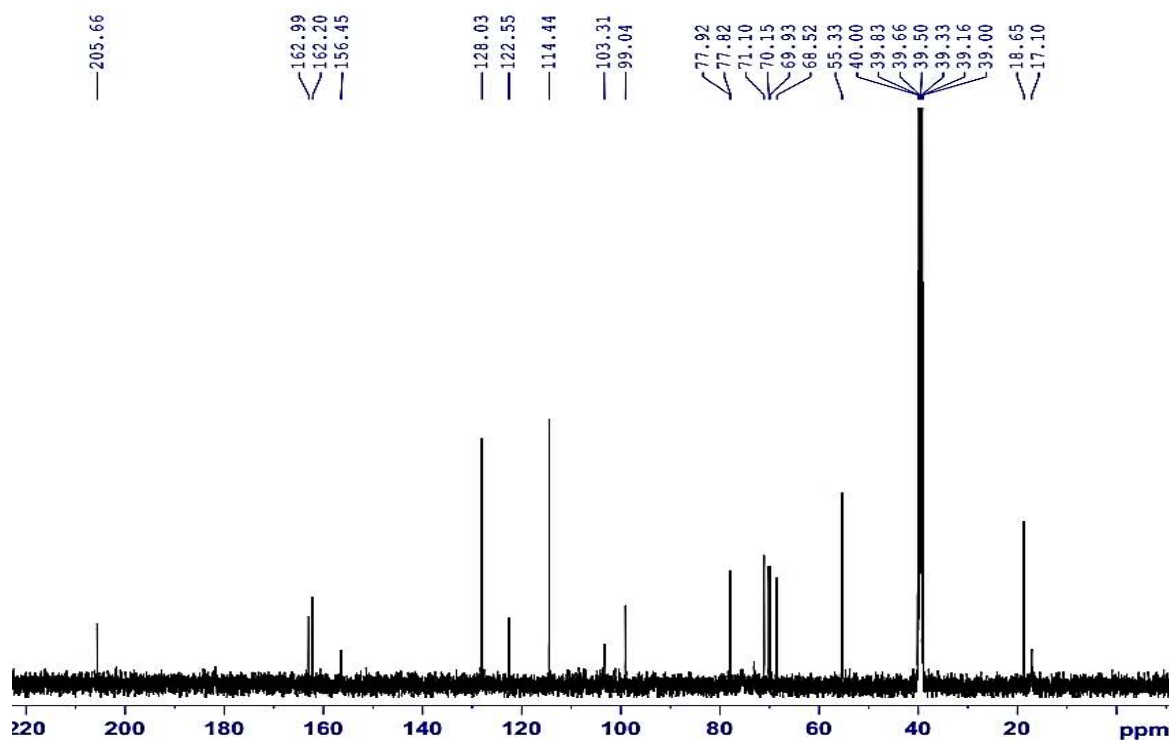
Tương tự như hợp chất **AC1** và **AC2**, phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.34 và PL3.5 đến PL3.7), $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **AC3** cũng cho tín hiệu của hợp chất flavone glycoside với các tín hiệu proton của phần aglycone là acacetin đã bị thế ở C-6 gồm tín hiệu của 4 proton của một vòng benzene thế para (vòng B) tại δ_{H} 8,02 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và H-6') và 7,12 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và H-5') của vòng B; 1 proton của vòng C ở δ_{H} 6,80 (1H, s, H-3); 1 proton của vòng A ở δ_{H} 6,56 (1H, brs, H-8); và 3 proton của nhóm methoxy ở δ_{H} 3,87 (3H, s). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Hình 3.36), DEPT (PL3.10) và HSQC (PL3.15) của **AC3** chỉ ra 15 carbon tương ứng của 3 vòng A, B và C của khung flavone gồm 1 carbonyl ở 181,6 (4-CO), 8 carbon sp^2 bậc 4, trong đó 5 carbon sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 163,0 (C-2), 162,2 (C-4'), 161,5 (C-5), 161,8 (C-7), và 156,5 (C-9), và 3 carbon sp^2 bậc 4 tại δ_{C} 122,6 (C-1'), 107,4 (C-6), và 103,3 (C-10); 6 carbon methine sp^2 tại δ_{C} 128,0 (C-2', 6'), 114,4 (C-3', 5'), 103,3 (C-3), 93,3 (C-8); và một carbon của nhóm methoxy tại δ_{C} 55,3 (4'-OCH₃). Khác với 2 hợp chất **AC1** và **AC2**, các tín hiệu ^1H , $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **AC3** là bất thường khi đo ở nhiệt độ thường (Hình 3.35). Một số tín hiệu không tách vạch mà cho tín hiệu singlet tù như tín hiệu của H-1'' khi đo ở nhiệt độ thường (30°C) cho một tín hiệu singlet tù ở 4,86 nhưng khi đo ở 60°C lại cho doublet $J = {}^3J_{\text{H-1}''/\text{H-2}''} = 10,0$ Hz (Hình 3.34). Hiện tượng này liên quan đến sự hạn chế quay xung quanh trục C (sp^3)–C (sp^2) của liên kết C-glucosyl tại C-6 bởi 2 nhóm 5-OH và 7-OH của flavone [119]. Điều này cũng đã cho thấy phần đường được gắn vào C-6 mà không vào C-8 ở vòng A của flavone.



Hình 3.34. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở 60°C



Hình 3.35. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở nhiệt độ thường

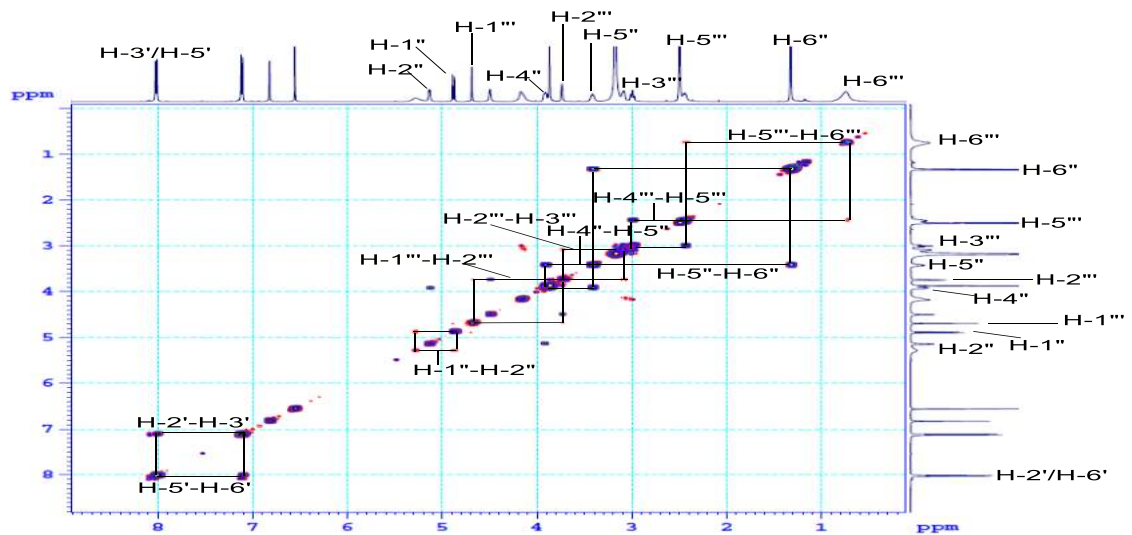


Hình 3.36. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC3

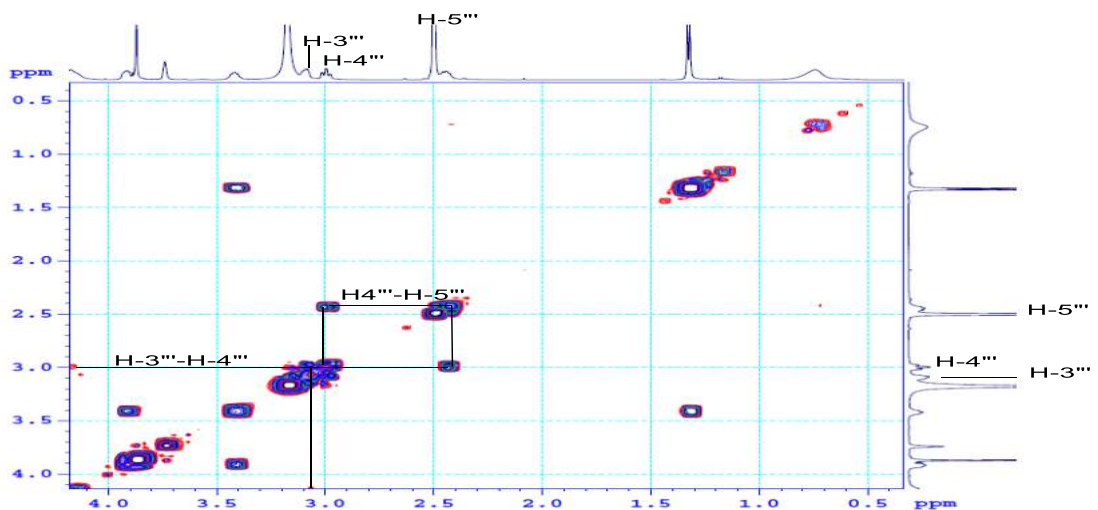
Bên cạnh những tín hiệu đặc trưng của các proton phần aglycone, phổ NMR bộc lộ những tín hiệu của hai phần đường với 2 tín hiệu proton anomer/carbon anomer ở δ_{H} 4,88 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-1'')/ δ_{C} 73,0 và ở δ_{H} 4,69 (1H, s, H-1''')/ δ_{C} 99,0. Hằng số tương tác spin-spin lớn của $^3J_{\text{H-1}''/\text{H-2}''} = 10,0$ Hz chứng tỏ H-1'' định hướng *axial* và phần đường thứ nhất có liên kết liên kết β -, ngược lại, hằng số tương tác spin-spin nhỏ của $^3J_{\text{H-1}'''/\text{H-2}'''}$ (s) chứng tỏ H-1''' ở vị trí *equatorial* và phần đường thứ hai có liên kết α - mặt khác độ chuyển dịch hóa học của carbon anomer ở δ_{C} 73,0 của phần đường thứ nhất đã gợi ý carbon này liên kết trực tiếp với carbon của phần aglycone. Phần đường thứ nhất được xác định là β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl là đường hexopyranose đã bị đề oxy tại vị trí C-6'' và ketone hóa tại C-3''. Trên phổ NMR của AC3, phần đường β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl cho các tín hiệu còn lại của một nhóm ketone tại 205,7 (C-3''); 3 nhóm methine liên kết với oxy ở δ_{H} 5,29 (1H, brs, H-2'')/ δ_{C} 75,4 (C-2''), δ_{H} 3,92 (1H, m, H-4'')/ δ_{C} 77,2 (C-4''), δ_{H} 3,42 (1H, m, H-5'')/ δ_{C} 77,8 (C-5''), và một nhóm methyl ở δ_{H} 1,29 (3H, d, 6,5 Hz, H-6'')/ δ_{C} 17,8 (C-6''); sự có mặt của một nhóm ketone ở vị trí C-3'', sự đề oxy hóa ở C-6'' trong phần đường thứ nhất gợi ý đây là đường β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranose [120]. Phần đường thứ 2, được xác định là phần đường L-rhamnopyranosyl, cho các tín hiệu còn lại của 4 nhóm methine liên kết với oxy ở δ_{H} 3,74 (1H, br s, H-2''')/ δ_{C} 69,9 (C-2'''),

δ_H 3,09 (1H, m, H-3''')/ δ_C 70,2 (C-3'''), δ_H 3,01 (1H, dd, $J = 9,0, 9,5$ Hz, H-4''')/ δ_C 71,1 (C-4'''), và δ_H 2,45 (1H, m, H-5''')/ δ_C 68,5 (C-5'''), và một nhóm methyl ở δ_H 0,74 (3H, br s, H-6''')/ δ_C 17,1 (C-6'''); hằng số tương tác lớn giữa H-4'''/H-3'''/ và H-4'''/H-5''' ($J = 9,0$ và $9,0$ Hz) chứng tỏ 3 proton này định hướng *axial* và các nhóm hydroxy 3'''-OH và 4'''-OH và 6'''-CH₃ định hướng *equatorial*. Sự định hướng của các liên kết trong phần đường thứ hai gợi ý đây là đường α -L-rhamnopyranose.

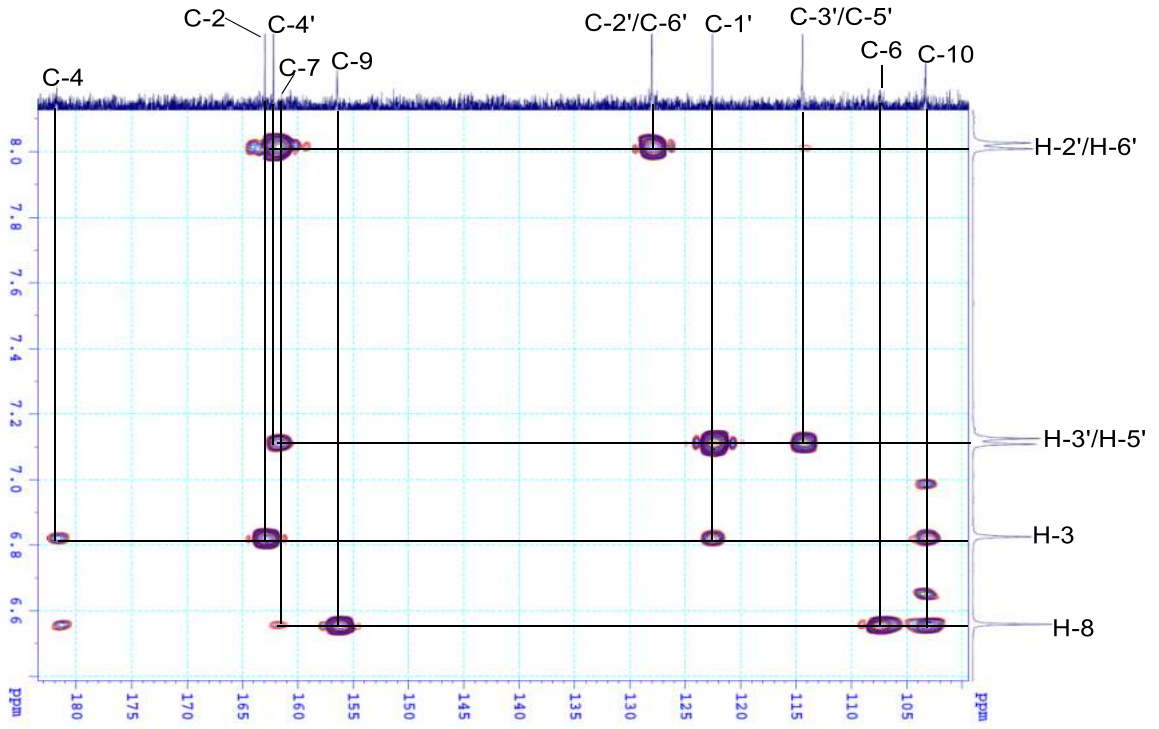
Phổ COSY (Hình 3.37 và Hình 3.38) của AC3 cho các tương tác spin-spin giữa các proton qua 3 liên kết trong mỗi phần giữa H-2'/H-3' và H-5'/H-6' của vòng B, giữa H-1''/H₂-2'', H-4''/H-5'' và H-5''/H-6'' của phần đường β -6-deoxy-ribohexos-3-ulopyranosyl; và giữa H-1'''/H-2''', H-2'''/H-3''', H-3'''/H-4''', H-4'''/H-5''' và H-5'''/H₂-6''' của phần đường α -L-rhamnopyranosyl.



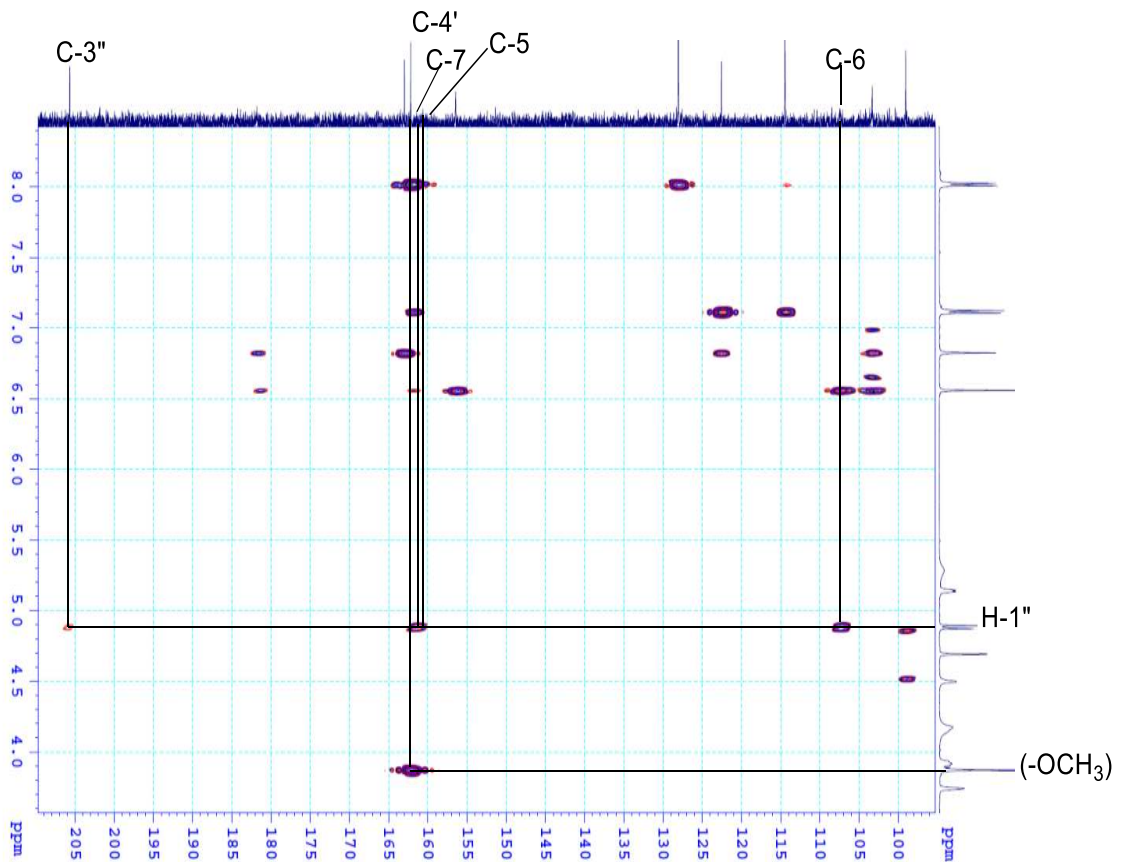
Hình 3.37. Phổ COSY của hợp chất AC3



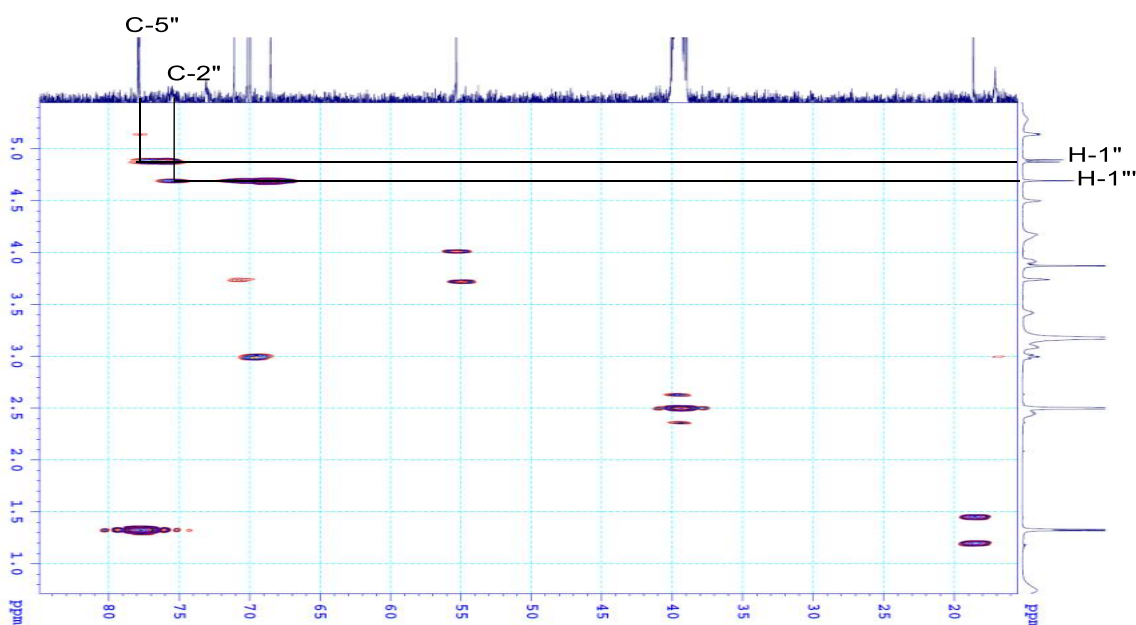
Hình 3.38. Phổ COSY giãn của hợp chất AC3



Hình 3.39. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC3



Hình 3.40. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC3

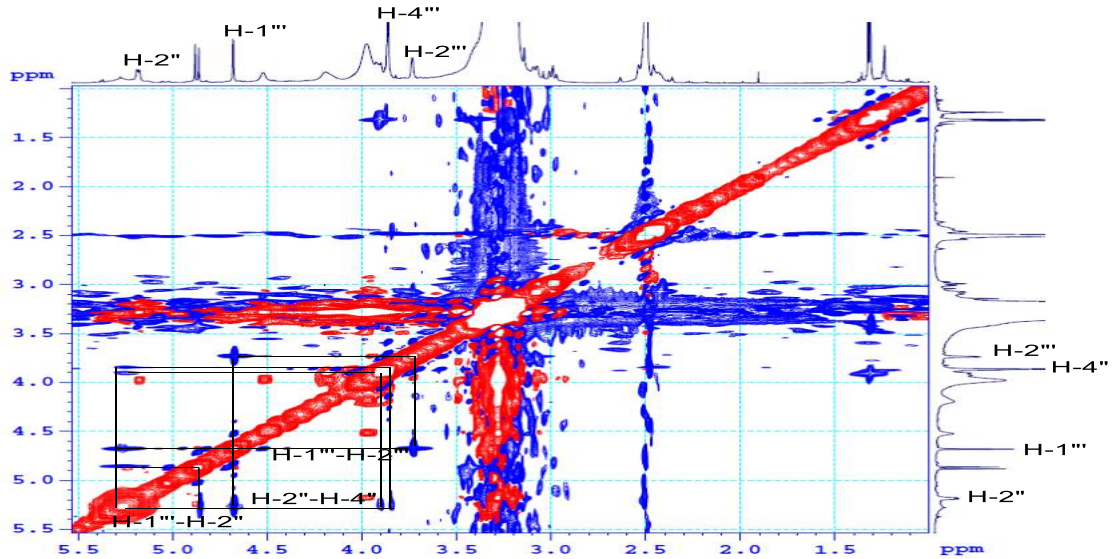


Hình 3.41. Phổ HMBC giản 3 của hợp chất **AC3**

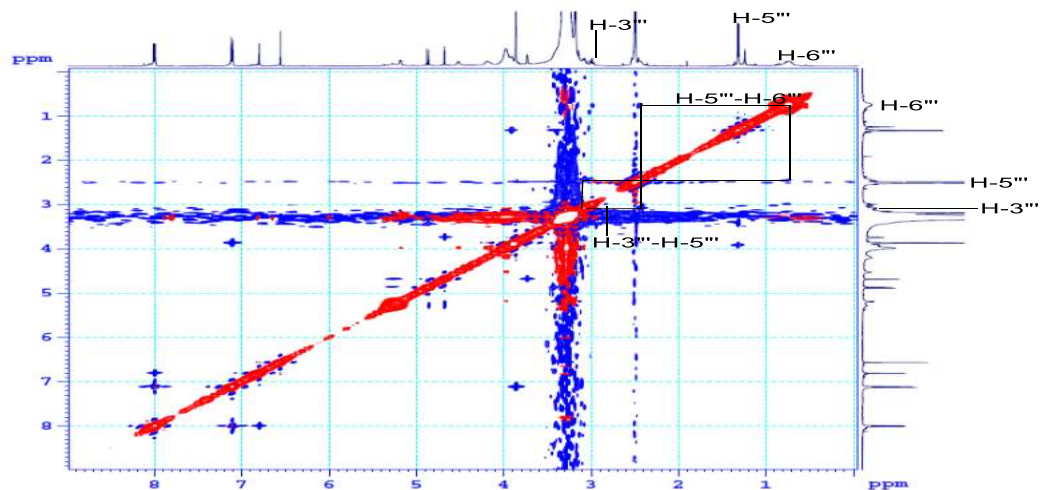
Các tương tác HMBC (Hình 3.39 đến Hình 3.41) giữa H-3 (δ_H 6,80) với C-10 /C-1'/C-2 /C-4 và giữa H-8 (δ_H 6,56) với C-6/C-7/C-9/C-10 đã khẳng định vị trí của hai proton ở C-3, C-8 và cấu trúc của vòng C và vòng A; giữa H-2' và H-6' với C-2/C-4'/C-2'/C-6' và giữa H-3' và H-5' với C-1'/C-4'/C-3'/C-5', và giữa nhóm methoxy (δ_H 3,87) với C-4' đã chứng minh cấu trúc của vòng B và vị trí của nhóm methoxy ở C-4'; giữa H-1'' (4,88) với C-5/C-6/C-7 đã chỉ ra phần đường β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl gắn vào C-6 của vòng A; thêm vào đó, các tương tác HMBC giữa H-1'' với C-5''/C-3'' (205,7) đã cho thấy nhóm keton thuộc phần đường này. Ngoài ra tương tác giữa H-1''' (δ_H 4,69) với C-2'' (δ_C 75,4) đã chỉ ra phần đường α -L-rhamnopyranosyl gắn vào C-2'' của phần đường β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl.

Cấu hình của các phần đường được khẳng định chắc chắn thêm trên phổ NOESY (Hình 3.43 và PL3.22 đến PL3.24). Các tương tác NOESY giữa H-2''/H-4'' mà không có tương tác NOESY giữa H-1'' với H-2''/H-4'' đã chỉ ra các proton H-2''/H-4'' ở trên cùng mặt phẳng khác phía với các proton H-1''/H-5'' của mặt phẳng đường pyranose và các proton này định hướng *axial* như được trình bày trong hình (Hình 3.43). Kết hợp các phân tích phổ 1D và 2D-NMR ở trên cho phép khẳng định phần đường thứ nhất là β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl. Phần đường α -L-rhamnopyranosyl cho các tương tác NOESY giữa H-1'''/H-2'''/H-2'' cho thấy định

hướng *equatorial* của H-2''' và phần đường α -L-rhamnopyranosyl vào C-2'' của phần đường β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl; giữa H-3'''/H-5'''/H-6''' cho thấy sự định hướng *axial* của các proton H-3'''/H-5'''. Kết hợp các phân tích phổ 1D và 2D-NMR ở trên cho phép khẳng định phần đường thứ 2 là phần đường α -L-rhamnopyranosyl và gắn vào C-2'' của phần đường thứ nhất.



Hình 3.42. Phổ NOESY giản 1 của hợp chất AC3



Hình 3.43. Phổ NOESY giản 2 của hợp chất AC3

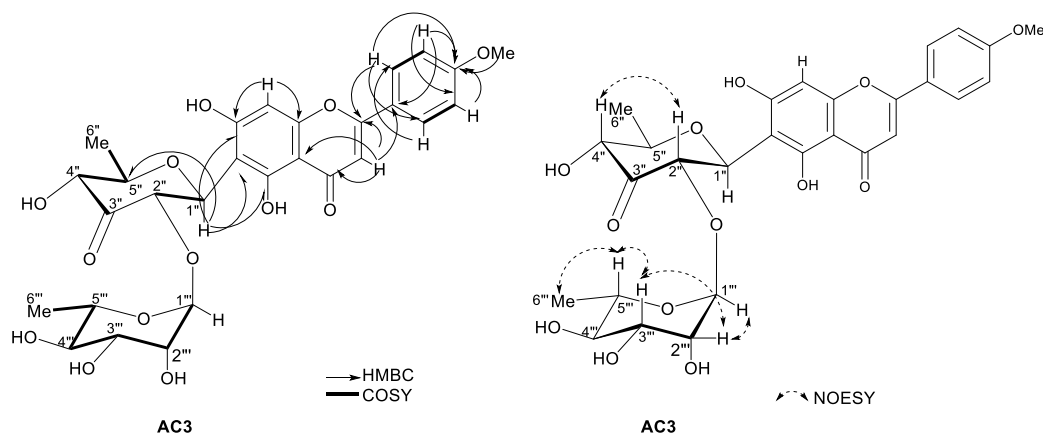
Phân tích các dữ liệu phổ phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AC3 được trình bày trong Bảng 3.3 gần như trùng khớp với hợp chất cassiaoccidentalinalin A [120] ngoại trừ trong phân tử của AC3 có mặt thêm nhóm methoxy ở C-4'. Như vậy AC3 được xác định là acacetin-6-C-(2''- α -L-rhamnopyranose)- β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl là hợp chất mới được đặt tên là amesiflavone C. Các số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của AC3 và hợp chất đối chứng cassiaoccidentalinalin A được trình bày trong Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong DMSO- d_6 của AC3 và cassiaoccidentalinalin A

Vị trí C	AC3		Cassiaoccidentalinalin A[120]	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	163,0	-	163,9	-
3	103,3	6,80 (s)	103,3	6,74 (s)
4	181,6	-	182,4	-
5	161,5	-	161,1	-
6	107,4	-	107,8	-
7	161,8	-	162,3	-
8	93,3	6,56 (br s)	93,5	6,53 (s)
9	156,5	-	156,9	-
10	103,3	-	103,1	-
1'	122,6	-	121,4	-
2', 6'	128,0	8,02 (d, 9,0)	128,8	7,88 (d, 9,0)
3', 5'	114,4	7,12 (d, 9,0)	116,3	6,92 (d, 9,0)
4'	162,2	-	161,3	-
4'-OMe	55,3	3,87 (s)	-	-
Rib				
1''	73,0	4,88 d, 10,0)	73,6	4,84 (d, 10,0)
2''	75,4	5,29 (br s)	75,8	5,27 (d, 10,0)
3''	205,7	-	206,2	-
4''	77,2	3,92 (m)	78,2	3,88 (d, 10,0)
5''	77,8	3,42 (m)	78,4	3,37 (m)
6''	18,7	1,33 (d, 6,0)	19,2	1,29 (d, 5,5)
Rha				
1'''	99,0	4,69 (s)	99,5	4,64 (br s)
2'''	69,9	3,74 (br s)	70,4	3,69 (m)
3'''	70,2	3,09 (m)	70,3	3,02 (m)
4'''	71,1	3,01 (giống t, 9,0)	71,4	2,95 (d, 9,5)
5'''	68,5	2,45 (m)	69,1	2,34-2,41 (m)
6'''	17,1	0,74 (br s)	17,6	0,78 (m)

^{a,b}Đo ở 60°C ; ^{c,d}Đo ở 40°C; ^{a,c}125 MHz, ^{b,d}500 MHz; Rha: rhamnopyranosyl; Rib:

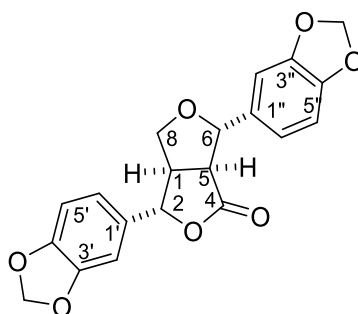
6-Deoxy-ribo-hexos-3-ulose.



Hình 3.44. Một số tương tác COSY, HMBC và NOSEY chính của hợp chất AC3 và phân đường 6-C- β -6-deoxy-ribo-hexos-3-ulopyranosyl

3.1.1.4. Hợp chất AC4: (+)-aptosimon

Hợp chất AC4 được xác định là (+)-aptosimon có cấu trúc như sau:



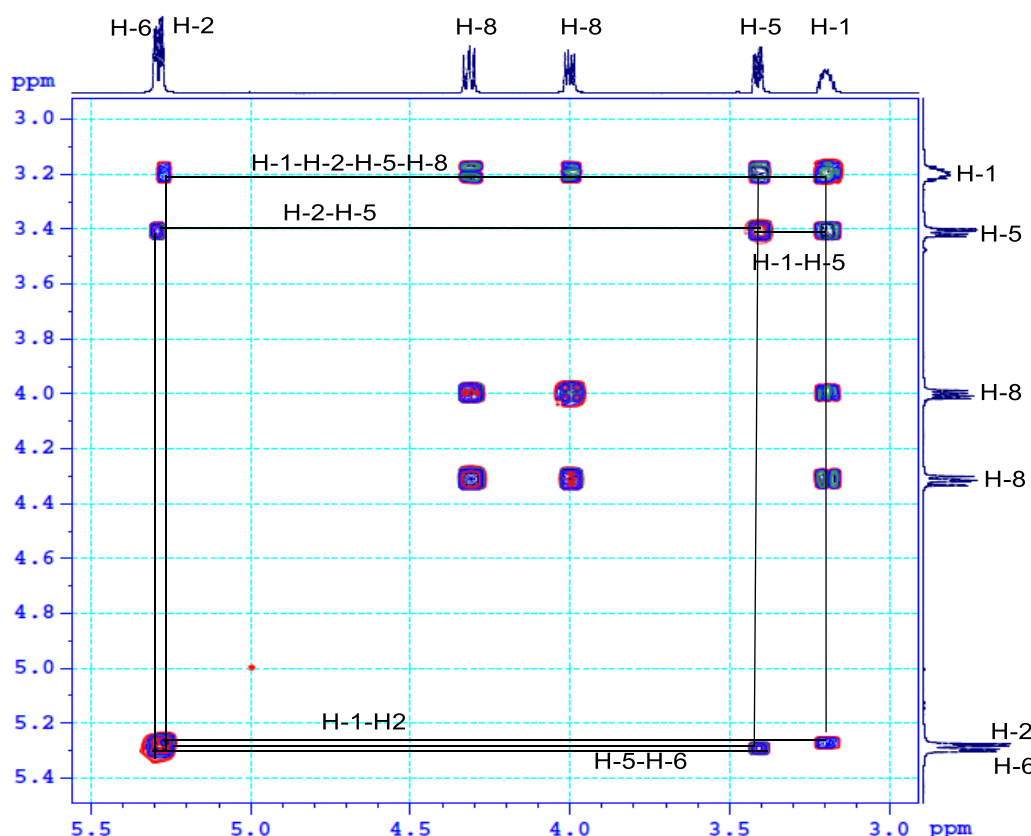
Hình 3.45. Cấu trúc của hợp chất AC4

Phổ hồng ngoại FTIR của AC4 (PL4.2) cho các dải hấp thụ tại ν_{C-H} (cm^{-1}) = 3073 cm^{-1} (tb, =CH), 2899 (m, C-H (CH_2)), 1764 cm^{-1} (m, C = O) và 1167 cm^{-1} (m, C-O) dự đoán được trong phân tử AC4 có vòng benzen và vòng lacton. Phổ UV-Vis (PL4.3) cho các đỉnh hấp thụ tại λ_{max} (MeOH) nm: 286,4 và 205,6 đặc trưng cho hấp thụ cực đại của nhóm cacbonyl ($n - \pi^*$) và vòng benzene ($\pi - \pi^*$).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL4.4 đến PL4.6) của AC4 cho các tín hiệu gồm: 2 hệ proton thơm ABX, hệ thứ nhất tại δ_{H} 6,86 (1H, br s, H-2''), 6,84 (1H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-6''), 6,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'') và hệ thứ hai tại 6,81 (1H, br s, H-2'), 6,80 (1H, br d, $J = 6,5$ Hz, H-6'), 6,76 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-5'); bốn proton của 2 nhóm dioxymethylene tại δ_{H} 5,97 và 5,95 (mỗi nhóm 2H, s); một phân bicyclooctane với sáu proton gồm: hai proton của hai nhóm oxymethine tại δ_{H} 5,30 và 5,28 (mỗi nhóm 1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-6, H-2), hai proton của nhóm oxymethylene tại δ_{H} 4,32 (1H, dd, $J = 7,0; 9,5$ Hz, $\text{H}_{\alpha-8}$) và 4,00 (1H, dd, $J = 5,0; 9,5$ Hz, $\text{H}_{\beta-8}$) và hai proton methine tại δ_{H} 3,41 (1H, dd, $J = 3,5; 9,0$ Hz, H-5) và 3,20 (1H, m, H-1). Giá trị hằng số tương tác nhỏ giữa H-1 và H-2 ($J = 4,0$ Hz) và H-5 và H-6 ($J = 3,5$ Hz) của H-2 và H-6 cho phép xác định cấu hình *cis*- giữa H-1/H-2 và H-5/H-6.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL4.7) và phổ DEPT (PL4.8) đã chỉ ra các tín hiệu của 20 carbon gồm 12 carbon của 2 vòng thơm tại δ_{C} 148,4 (C-3''), 148,1 (C-3'), 148,0 (C-4''), 147,3 (C-4'), 134,4 (C-1''), 133,1 (C-1'), 119,0 (C-6''), 118,8 (C-6'), 108,3 (C-2'), 108,5 (C-2''), 106,0 (C-5''), và 105,7 (C-5'); 6 carbon của vòng bicyclooctane gồm: một carbonyl ở δ_{C} 176,6 (C-4), nhóm oxymethine ở δ_{C} 83,4 (C-6) và 84,3 (C-2), nhóm oxymethylene ở δ_{C} 72,7 (C-8), hai methine ở δ_{C} 49,9 (C-1) và 53,3 (C-5); và hai dioxymethylene tại δ_{C} 101,2 (OCH₂'O) và 101,4 (OCH₂''O).

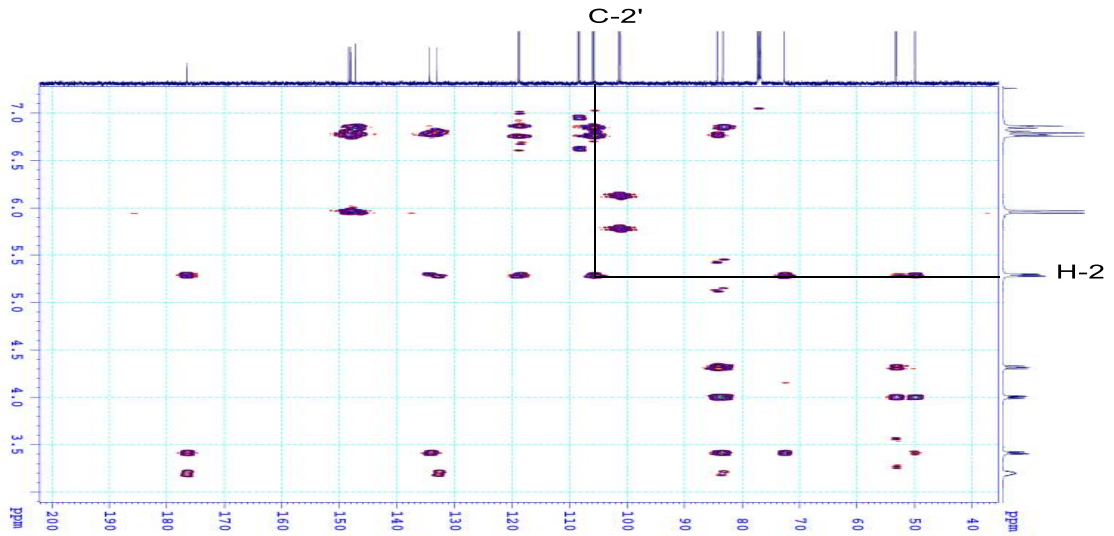
Các tương tác COSY (PL4.9) giữa H-5'' (δ_H 6,77)/H-6'' (δ_H 6,84) và H-5' (δ_H 6,76)/H-6' (δ_H 6,80) và cho thấy sự hiện diện của 2 vòng thơm; giữa H-5 (δ_H 3,42) với H-6 (δ_H 5,30); và giữa H-1 (δ_H 3,20) với H-2 (δ_H 5,28)/H-5 (δ_H 3,42)/H₂-8 (δ_H 4,32 và 4,00) cùng với các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC (PL4.10) của các proton cho phép qui kết các giá trị của C-1, C-2, C-8, C-5 và C-6 của vòng bicyclooctane khung lignan dạng 4-oxofurofurane.



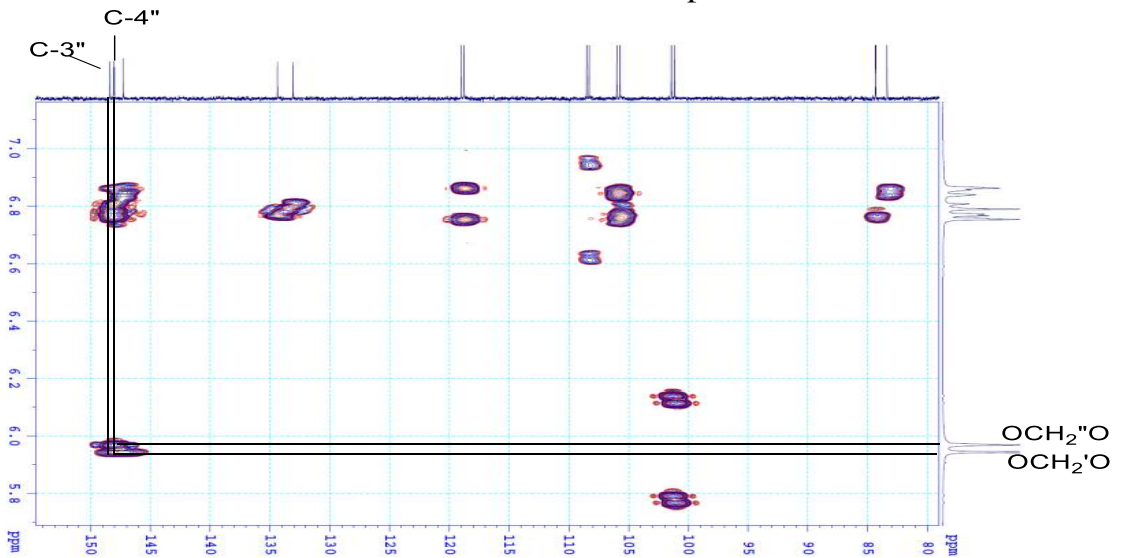
Hình 3.46. Phổ COSY giản của hợp chất AC4

Các tương tác HMBC (Hình 3.47 đến Hình 3.50) giữa H-6 (δ_H 5,30) với C-4 (δ_C 176,6)/C-1' (δ_C 133,1)/C-6'' (δ_C 119,0)/C-2'' (δ_C 108,5)/C-5 (δ_C 53,3)/C-1 (δ_C 49,9); giữa H-2 (δ_H 5,28) với C-4 (δ_C 176,6)/C-6' (δ_C 118,8)/C-2' (δ_C 108,3)/C-8 (δ_C 72,7)/C-5 (δ_C 53,3)/C-1 (δ_C 49,9); giữa H₂-8 (δ_H 4,32 và 4,00) với C-2 (δ_C 84,3)/C-5 (δ_C 53,3)/C-1 (δ_C 49,9); giữa H-5 (δ_H 3,42) với C-4 (δ_C 176,6)/C-1'' (δ_C 134,4)/C-2 (δ_C 84,3)/C-8 (δ_C 72,7)/C-1 (δ_C 49,9); giữa H-1 (δ_H 3,20) với C-4 (δ_C 176,6)/C-1' (δ_C 133,1)/C-2 (δ_C 84,3) đã khẳng định vòng bicyclooctane dạng 4-oxofurofurane có hai vòng benzyl gắn kết ở C-2 và C-6; giữa những proton methylene ở δ_H 5,95 (OCH₂'O) với C-3' (δ_C 148,1)/C-4' (δ_C 147,3) và ở δ_H 5,97 (OCH₂''O) với C-3'' (δ_C 148,4)/C-4''

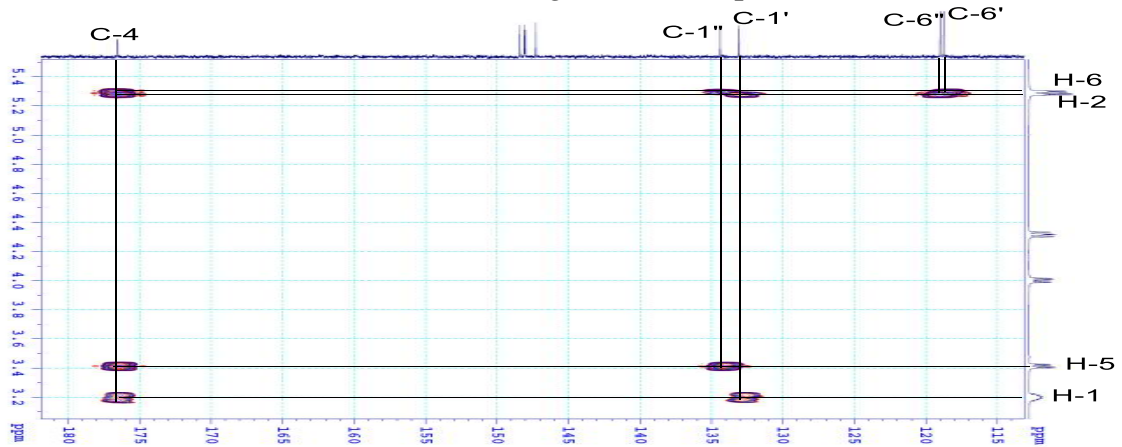
(δ_C 148,0) khẳng định vị trí gắn kết của các nhóm methylenedioxy vào 2 vòng benzene tương ứng.



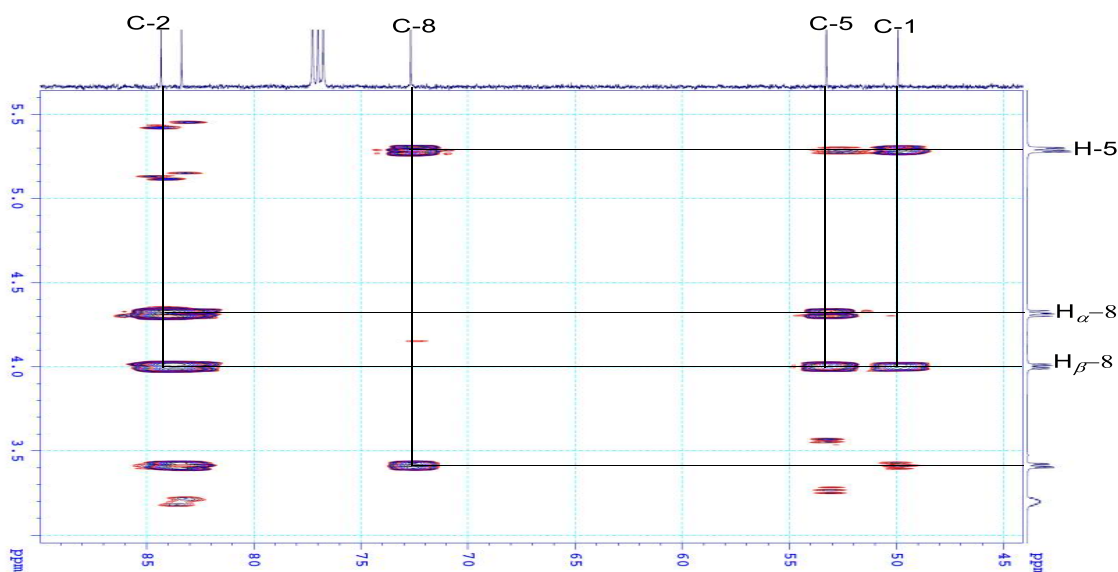
Hình 3.47. Phổ HMBC của hợp chất AC4



Hình 3.48. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC4



Hình 3.49. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC4



Hình 3.50. Phổ HMBC giản 4 của hợp chất **AC4**

Các tương tác NOESY (*PL4.15* đến *PL4.17*) giữa H-2 (δ_{H} 5,28) với H-5' (δ_{H} 6,76)/H $_{\beta}$ -8 (δ_{H} 4,00) khẳng định H-2 ở cùng phía trên mặt phẳng vòng bicyclooctane và cho thấy vòng benzene C $_6$ H $_6$ ' gắn vào vị trí C-2 của vòng bicyclooctane.

Phổ khối ESI-MS (*PL4.1*) của **AC4** cho pic ion dương giả phân tử cộng proton [M+H]⁺ tại $m/z = 369$ cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC4** là C $_{20}$ H $_{16}$ O $_7$.

Từ các phân tích phổ trên và so sánh các dữ liệu phổ NMR (Bảng 3.4), phổ ESI-MS và năng suất quay cực của hợp chất **AC4** là $[\alpha]_{\text{D}} + 65^{\circ}$ (c 0,1, MeOH) với tài liệu [121], xác định cấu trúc của hợp chất **AC4** là (+)-aptosimon.

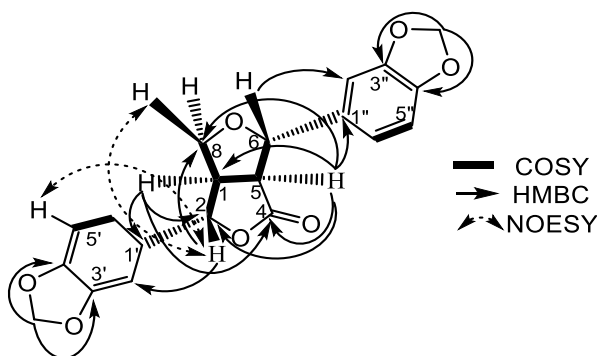
(+)-Aptosimon lần đầu tiên đã được tách ra từ *Aptosimum spinescens* (Thunbg.) [122] và tổng hợp toàn phần bởi Yamauchi *et. al* [121].

Bảng 3.4. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl $_3$ của hợp chất **AC4** và chất tham khảo

Vị trí C	AC4		(+) -Aptosimon[121]	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{d}}$
1	3,20 (m)	49,9	3,20 (m)	49,9
2	5,28 (d, 4,0)	84,3	5,28 (d, 3,9)	84,3
3	-	-	-	-
4	-	176,6	-	176,6
5	3,42 (dd, 3,5; 9,0)	53,3	3,42 (dd, 3,4; 9,0)	53,2
6	5,30 (d, 3,5)	83,4	5,30 (d, 3,4)	83,3
7	-	-	-	-
8 α	4,32 (dd, 7,0; 9,5)	72,7	4,32 (dd, 6,8; 9,6)	72,6

8 β	4,00 (dd, 5,0; 9,5)	72,7	4,00 (dd, 4,9; 9,6)	72,6
1'	-	133,1	-	133,0
2'	6,81 (br s)	108,3		108,3
3'	-	148,1		148,0
4'	-	147,3	6,80-6,86 (2H, s, ArH)	147,2
5'	6,76 (d, 6,5)	105,7	6,75-6,79 (4H, m, ArH)	105,7
6'	6,80 (br d, 6,5)	118,8		118,7
OCH ₂ 'O	5,95 (s)	101,1	5,95 (s)	101,2
1''	-	134,4		134,3
2''	6,86 (br s)	108,5		108,5
3''	-	148,4	6,80-6,86 (2H, s, ArH)	148,3
4''	-	148,0	6,75-6,79 (4H, m, ArH)	148,0
5''	6,77 (d, 8,0)	106,0		105,9
6''	6,84 (br d, 8,0)	119,0		119,0
OCH ₂ ''O	5,97 (s)	101,4	5,97 (s)	101,4

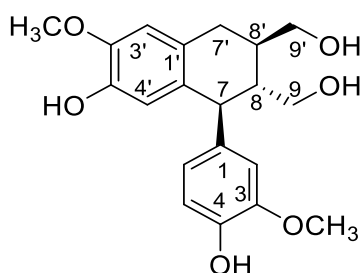
^a500 MHz, ^b125 MHz; ^c400 MHz, ^d100 MHz



Hình 3.51. Một số tương tác chính COSY, HMBC và NOESY của hợp chất AC4

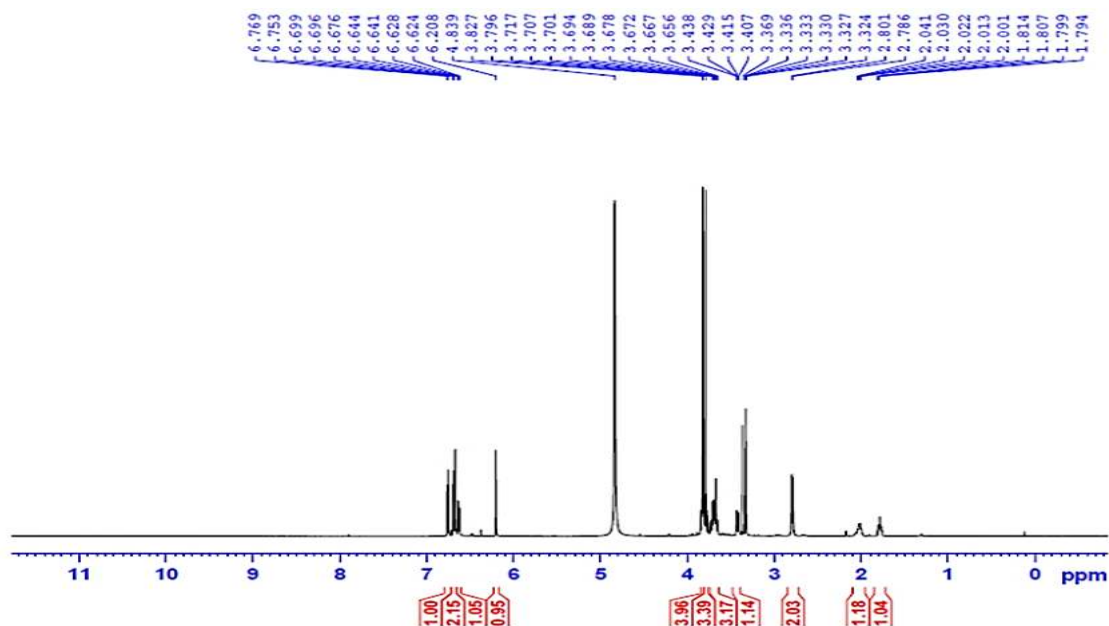
3.1.1.5. Hợp chất AC5: (+)-isolariciresinol

Hợp chất AC5 được xác định là (+)-isolariciresinol có cấu trúc như sau:



Hình 3.52. Cấu trúc của hợp chất AC5

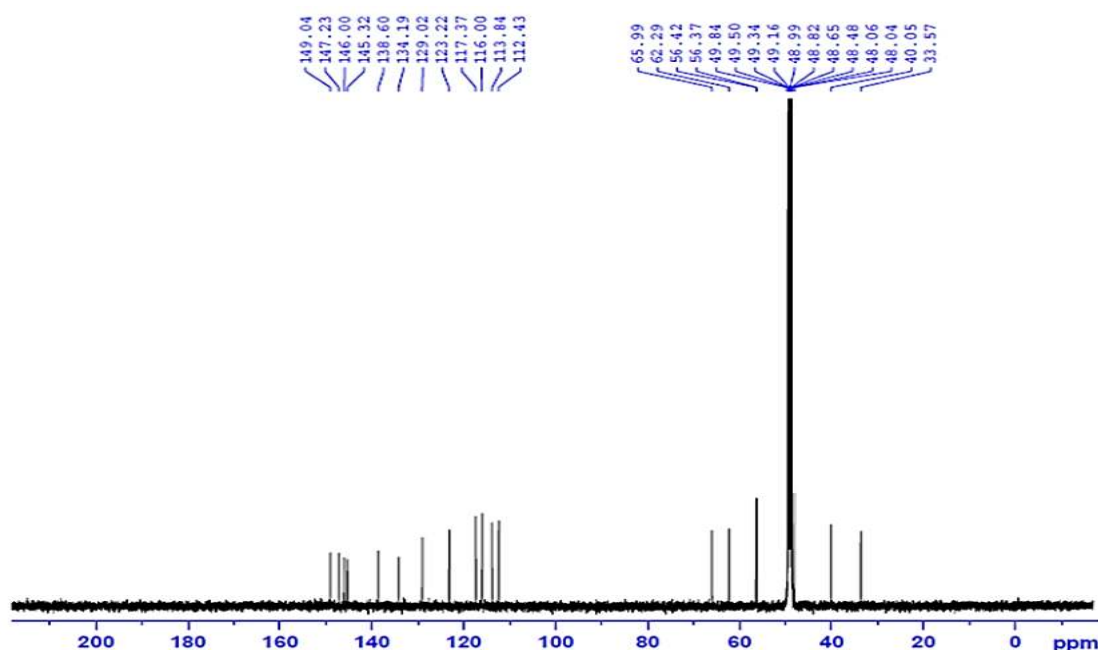
Phổ UV-Vis (PL5.2) cho các dải hấp thụ tại λ_{\max} (MeOH) nm: 286,4 và 211,6 đặc trưng cho hấp thụ cực đại của nhóm carbonyl ($n - \pi^*$) và vòng benzene ($\pi - \pi^*$).



Hình 3.53. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AC5**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.53, PL5.4 và PL5.5) của **AC5** cho những tín hiệu của một lignan aryltetralin [123] gồm: 3 proton của vòng thơm thứ nhất có 3 nhóm thế (1,3,4-) hệ ABX ở δ_{H} 6,76 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,70 (1H, br d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 6,63 (1H, dd, $J = 1,5; 8,0$ Hz, H-6); hai proton singlet của vòng thơm thứ hai có 4 nhóm thế (1',3',4',6'-) hệ AA'BB', ở δ_{H} 6,68 (1H, s, H-2') và 6,21 (1H, s, H-5'); ba proton methine ở δ_{H} 3,82 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-7), 2,02 (1H, m, H-8'), và 1,80 (1H, ddt, $J = 3,5; 4,5; 10,0$ Hz, H-8); 6 proton methyl của 2 nhóm methoxy ở δ_{H} 3,83 (3H, s, 3'-OMe) và 3,80 (3H, s, 3-OMe); 2 nhóm proton oxymethylene ở δ_{H} (3,65-3,72) (3H, trùng chập, H₂-9' và H_a-9) và 3,43 (1H, dd, $J = 4,5; 11,5$ Hz, H_b-9); một nhóm methylene ở δ_{H} 2,79 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-7'). Hằng số tương tác lớn của H-7 (d, $J = 10,0$ Hz) chứng tỏ H-7 định hướng *axial* và vòng thơm thứ 2 là 7-aryl định hướng *equatorial* hay ta có 7 β -aryl.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Hình 3.54) và DEPT (PL5.7) của hợp chất **AC5** đã chỉ ra những tín hiệu tương ứng của 20 carbon gồm: 12 carbon thơm của 2 vòng thơm (7 carbon sp^2 bậc 4 và 5 carbon methine sp^2) ở δ_{C} 149,0 (C-3), 147,2 (C-3'), 146,0 (C-4), 145,3 (C-4'), 138,6 (C-1), 134,2 (C-6'), 129,0 (C-1'), 123,2 (C-6), 117,4 (C-5'), 116,0 (C-5), 113,8 (C-2) và 112,4 (C-2'); 2 nhóm oxymethylene tại δ_{C} 66,0 (C-9'), 62,3 (C-9); 2 carbon methoxy tại δ_{C} 56,4 (3-OCH₃) và 56,4 (3'-OCH₃); 3 nhóm methine tại δ_{C} 48,0 (C-7/8), 40,1 (C-8'); 1 nhóm methylene tại δ_{C} 33,6 (C-7').



Hình 3.54. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC5

Các tương tác COSY (PL5.9 đến PL5.11) giữa H-5 (δ_{H} 6,76)/H6 (δ_{H} 6,63); H-8' (δ_{H} 2,02) với H-7' (δ_{H} 2,79) /H-9' (δ_{H} 3,65-3,72) /H-8 (δ_{H} 1,80) và giữa H-8 (δ_{H} 1,80) với H-7 (δ_{H} 3,82)/H-9 (δ_{H} 3,42)/H-8' (δ_{H} 2,02) kết hợp với phổ HSQC đã cho phép qui kết các carbon tại các vị trí C-7, C-8, C-9, C-7', C-8' và C-9' của khung của aryltetraline.

Các tương tác HMBC của AC5 (PL5.12 đến PL5.16) giữa H-7 (δ_{H} 3,82)/ C-1 (δ_{C} 138,6)/C-6' (δ_{C} 134,2)/C-6 (δ_{C} 123,2)/C-2 (δ_{C} 113,8)/C-8 (δ_{C} 48,0)/ C-8' (δ_{C} 40,1); và giữa H-7' (δ_{H} 2,79)/C-6' (δ_{C} 134,2)/C-1' (δ_{C} 129,0)/C-2' (δ_{C} 112,4)/C-9' (δ_{C} 66,0)/C-8 (δ_{C} 48,0)/C-8' (δ_{C} 40,1) đã chỉ ra vị trí gắn giữa vòng no (C-7) với vòng thơm (C-1) và các nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$ gắn tại C-8 và C-8'. Đặc biệt, các tương tác HMBC giữa những proton của các nhóm methoxy với C-3 và C-3' đã khẳng định vị trí các nhóm methoxy ở C-3 và C-3'.

Phổ NOESY (PL5.17 đến PL5.20) cho các tương tác giữa H-7 (δ_{H} 3,82)/H-8' (δ_{H} 2,02), giữa H-8 (δ_{H} 1,80) với H-2 (δ_{H} 6,70)/H-9' (δ_{H} 3,65-3,72) đã khẳng định H-7 và H-8' ở cùng mặt phẳng dưới (α -); H-8 và H-9' ở cùng mặt trên (β -) và cấu hình hai nhóm 8α -hydroxylmethylene và $8'\beta$ -hydroxylmethylene, kết quả này thống nhất với hằng số tương tác lớn giữa H_2 -7'(2H, br d, $J = 7,5$ Hz) với H-8'; Ngoài ra tương tác NOESY giữa các nhóm OMe với H-2 và H-2' cho thấy vị trí liên kết của các nhóm methoxy 3-OMe và 3'-OMe.

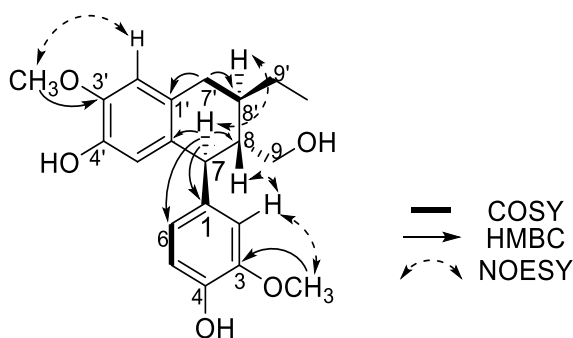
Phổ khối ESI-MS (*PL5.1*) của **AC5** cho pic ion dương giả phân tử cộng proton $[2M+H]^+$ tại m/z 721 cùng với các dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định công thức phân tử của **AC5** là $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ ($M = 360$).

Kết quả phân tích phổ 1D, 2D-NMR và năng suất quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+25^\circ$ (c 0,1; MeOH) cho thấy sự tương đồng giữa các dữ liệu phổ của hợp chất **AC5** với tài liệu [123] khẳng định cấu trúc của hợp chất **AC5** là (+)-isolariciresinol. Các số liệu phổ ^1H -, ^{13}C - NMR của hợp chất **AC5** và (+)-isolariciresinol được trình bày trong Bảng 3.5.

Bảng 3.5. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong MeOD của hợp chất **AC5** và chất tham khảo

Vị trí C	(+) -Isolariciresinol [123]		AC5	
	$\delta_{\text{c}}^{\text{a}}$	δ_{H} (độ bội, $J = \text{Hz}$) ^b	$\delta_{\text{c}}^{\text{c}}$	δ_{H} (độ bội, $J = \text{Hz}$) ^d
1	135,9	-	138,6	-
2	115,2	6,66 (d, 1,8)	113,8	6,70 (br d, 1,5)
3	148,2	-	149,0	-
4	145,8	-	146,0	-
5	115,4	6,73 (d, 8,0)	116,0	6,76 (dd, 8,0).
6	124,0	6,60 (d, 1,8; 8,0)	123,2	6,63 (dd, 1,5; 8,0)
7	46,5	3,79 (d, 10,7)	48,0	3,82 (d, 10,0)
8	44,7	1,75 (tt, 3,9; 10,0)	48,0	1,80 (ddt, 3,5; 4,5; 10,0)
9	63,4	3,38 (dd, 3,9; 11,0) 3,65 (4,5; 11,0)	62,3	3,42 (dd, 4,5; 11,5, H _b -9) 3,65-3,72 (trùng chập, H _a -9)
1'	128,4	-	129,0	-
2'	112,3	6,64 (s)	112,4	6,68 (s)
3'	147,8	-	147,2	-
4'	145,5	-	145,3	-
5'	117,0	6,17 (s)	117,4	6,21 (s)
6'	133,0	-	134,2	-
7'	33,1	2,77 (d, 7,7)	33,6	2,79 (br d, 7,5)
8'	35,5	1,99 (m)	40,1	2,02 (m)
9'	65,8	3,66 (m)	66,0	3,65-3,72 (trùng chập H ₂ -9')
3-OMe	56,3	3,76 (s)	56,4	3,80 (3H, s, 3-OCH ₃)
3'-OMe	56,3	3,79 (s)	56,4	3,83 (3H, s, 3'-OCH ₃)

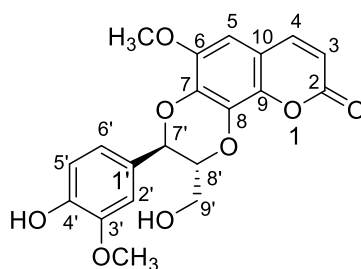
^a100 MHz, ^b400 MHz, ^c125 MHz, ^d500 MHz



Hình 3.55. Một số tương tác chính COSY, HMBC và NOESY của hợp chất **AC5**

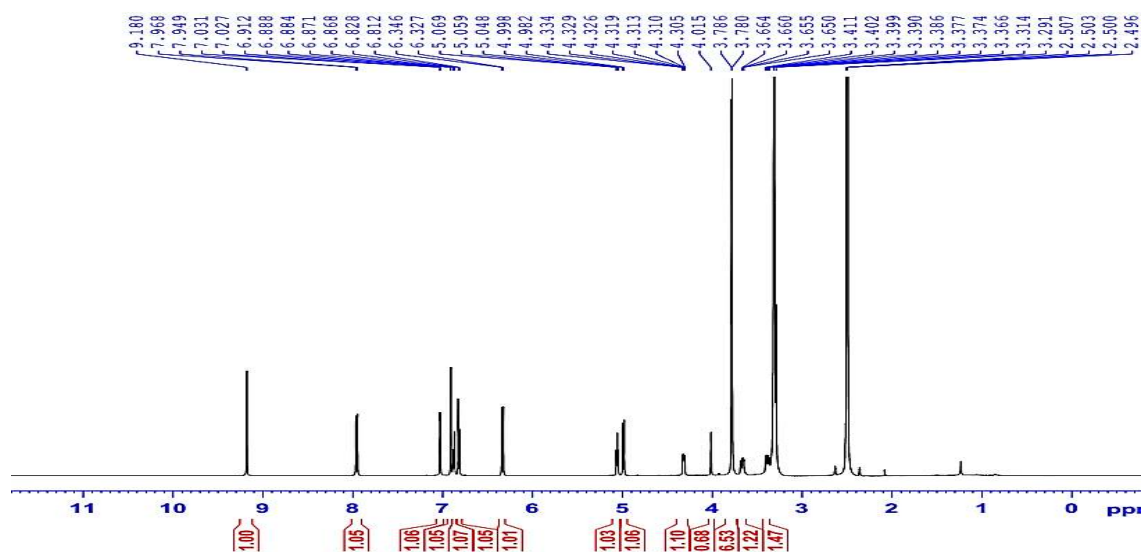
3.1.1.6. Hợp chất AC6: (-)-cleomiscosin A

Hợp chất AC6 được xác định là (-)-cleomiscosin A có cấu trúc như sau:



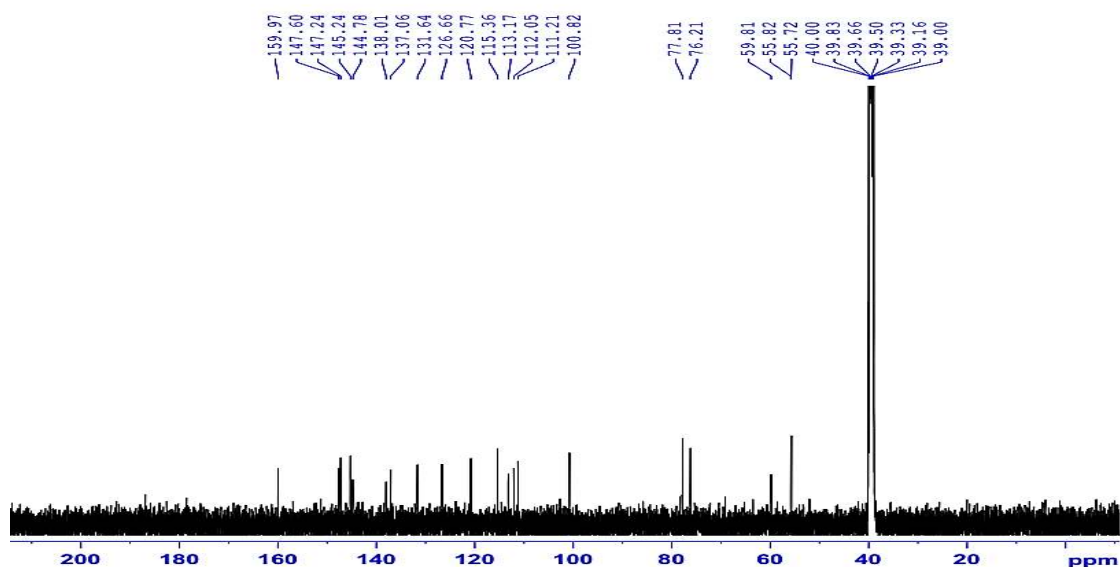
Hình 3.56. Cấu trúc của hợp chất AC6

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.57, PL6.3 và PL6.4) cho những tín hiệu đặc trưng của một coumarinolignan gồm một phần coumarin tạo liên kết lignan với phần phenylpropanoid. Phần coumarin cho các tín hiệu của hai proton olefin tại δ_{H} 7,96 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-4) và 6,34 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 1 proton methine vòng thơm 5 nhóm thế tại δ_{H} 6,91 (1H, s, H-5). Bên cạnh đó là các tín hiệu của phần phenylpropanoid gồm 1 vòng phenyl 3 nhóm thế (1,3,4-) hệ ABX tại δ_{H} 7,02 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,88 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6') và 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'); 2 nhóm methoxy gắn vào vòng thơm tại δ_{H} 3,79 (3H, s, 6-OMe) và 3,78 (3H, s, 3'-OMe); và một phần propanoid gồm 2 proton của 2 nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,99 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-7') và 4,32 (1H, m, H-8'), một oxymethylene tại 3,66 (2H, ddd, $J = 2,0; 5,0; 12,5$ Hz, $\text{H}_{\beta-9'}$) and 3,41-3,36 (m, $\text{H}_{\alpha-9'}$). Hằng số tương tác spin-spin lớn của proton H-7' (d, $J = 8,0$ Hz) cho thấy định hướng $\text{H}_{\alpha-7'}$ và $7'_{\beta}$ -aryl, đồng thời cho thấy 2 proton H-7' và H-8' liên kết *trans*-.



Hình 3.57. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC6

Phổ ^{13}C -NMR (Hình 3.58) và phổ DEPT (PL6.6) của hợp chất **AC6** cho tín hiệu của 20 carbon của một hợp chất coumarinolignan gồm: 1 carbonyl lactone tại δ_{C} 160,0 (C-2); 2 carbon olefin tại δ_{C} 144,8 (C-4) và 113,2 (C-3); 6 carbon bậc 4 sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 147,6 (C-4'), 147,2 (C-3'), 145,2 (C-6), 138,0 (C-9), 137,1 (C-7), và 131,6 (C-8); 4 carbon methine sp^2 vòng thơm tại δ_{C} 120,8 (C-6'), 115,4 (5'), 112,1 (C-2') và 100,8 (C-5); 2 carbon bậc 4 sp^2 vòng thơm tại 126,7 (C-1') và 111,2 (C-10); 2 carbon nhóm methoxy tại δ_{C} 55,8 (3'-OCH₃) và 55,7(6-OMe); và 3 carbon mạch béo sp^3 liên kết với oxi tại δ_{C} 77,8 (C-8'), 76,2 (C-7'), và 59,8 (C-9').



Hình 3.58. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AC6**

Các tương tác HMBC (PL6.12 đến PL6.17) cho những tương tác giữa H-7' (δ_{H} 4,99) với C-1' (δ_{C} 126,7)/C-6' (δ_{C} 120,8)/C-2' (δ_{C} 112,1)/C-8' (δ_{C} 77,8); giữa H-2' (δ_{H} 7,02), H-6' (δ_{H} 6,88), H $_{\beta}$ -9' (δ_{H} 3,66), H-8' (δ_{H} 4,34) với C-7' (δ_{C} 76,2), khẳng định cấu trúc của hợp phần phenylpropanoid. Sự trùng khớp độ chuyển dịch hóa học của C-7', C-8', C-7, C-8 của **AC6** so với coumarinolignan trong tài liệu [124] đã cho thấy hợp phần phenylpropanoid liên kết với nửa hợp phần coumarin thông qua cầu nối dioxan của khung coumarinolignan. Thêm vào đó, các tương tác giữa 3'-OMe (δ_{H} 3,78)/C-3' (147,2), 6-OMe (δ_{H} 3,79)/C-6 (δ_{C} 145,2) chứng tỏ rằng hai nhóm methoxy gắn vào vị trí C-3' và C-6. Mặt khác, những tương tác NOESY (PL6.18 đến PL6.22) bao gồm giữa 3'-OMe (δ_{H} 3,78) với H-2' (δ_{H} 7,02); 6-OMe (δ_{H} 3,79) với H-5 (δ_{H} 6,91), đã khẳng định hợp chất coumarinolignan mang hai nhóm methoxy groups ở C-6 và C-3'.

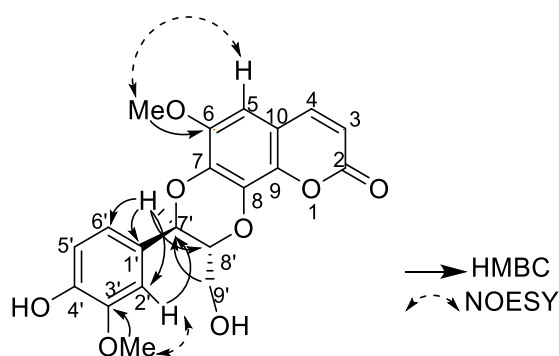
Phổ khối ESI-MS (*PL6.1*) của **AC6** cho pic ion dương giả phân tử cộng proton $[M + H]^+$ tại $m/z = 387$ cùng với phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định công thức phân tử của **AC6** là $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$.

Kết hợp phân tích phổ IR, UV-Vis, 1D, 2D-NMR và phổ khối ESI-MS và so sánh với tài liệu [124] hợp chất **AC6** được xác định cleomiscosin A hoặc cleomiscosin B. So sánh các thông số vật lý như nhiệt độ nóng chảy là (253-255 °C) và năng suất quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 34^\circ$ (c 0.1, MeOH) và tài liệu [125] có thể khẳng định hợp chất **AC6** là (-)-cleomiscosin A. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC6** được trình bày trong Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong $\text{DMSO-}d_6$ của hợp chất **AC6** và của chất tham khảo

Vị trí C	Cleomiscosin A [124]	AC6	
	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	160,0	160,0	-
3	113,2	113,2	6,34 d (9,5)
4	144,7	144,8	7,96 (d, 9,5)
5	100,6	100,8	6,91 (s)
6	145,3	145,2	-
7	137,1	137,1	-
8	131,6	131,6	-
9	110,7	111,2	-
10	138,3	138,0	-
1'	126,7	126,3	-
2'	112,0	112,1	7,02 (d, 2,0)
3'	147,2	147,2	-
4'	147,6	147,6	-
5'	117,4	115,4	6,82 (d, 8,0)
6'	121,3	120,8	6,88 (dd, 2,0; 8,0)
7'	76,2	76,2	4,99 (d, 8,0)
8'	77,4	77,8	4,34-4,30 (m)
9'	59,9	59,8	3,66 (dd, 2,0; 5,0; 12,5, β) 3,41-336 (m, α)
6-MeO	55,7	55,7	3,79
3'-MeO	55,8	55,8	3,78
4'-OH	-	-	9,18 (s)
9'-OH	-	-	5,06 (t, 5,0)

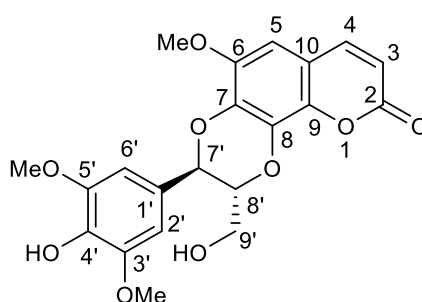
^b125 MHz, ^c500 MHz, [#] δ_{C} 100 MHz



Hình 3.59. Một số tương tác chính HMBC và NOESY của hợp chất **AC6**

3.1.1.7. Hợp chất **AC7**: (-)-cleomiscosin C

Hợp chất **AC7** được xác định là (-)-cleomiscosin C với cấu trúc như sau:



Hình 3.60. Cấu trúc của hợp chất **AC7**

Tương tự hợp chất **AC6**, phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL7.2 đến PL7.4) của hợp chất **AC7** cũng cho những tín hiệu đặc trưng dạng khung Coumarinlignan gồm một phần coumarin kết hợp với phần phenylpropanoid thông qua cầu nối dioxane. Phần coumarin cho các tín hiệu của hai proton olefin tại δ_{H} 7,96 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-4), 6,34 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 1 tín hiệu singlet của proton methine vòng thơm 5 nhóm thế tại δ_{H} 6,91 (1H, s, H-5). Các tín hiệu của nhóm phenylpropanoid gồm: 1 vòng phenyl 4 nhóm thế (1,3,4,5-) với 2 proton tại δ_{H} 6,75 (2H, s, H-2', H-6'); hai proton của hai nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,97 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-7'), 4,38–4,35 (1H, m, H-8'), và 2 proton của nhóm oxymethylene tại 3,67 (1H, br d, $J = 12,0$, H_{β} -9') và 3,42 (1H, m, H_{α} -9'). Ngoài ra còn các tín hiệu của 3 nhóm methoxy gắn vào hai vòng thơm tại δ_{H} 3,79 (3H, s, 6-OMe), 3,78 (3H, s, 3'-OMe), và 3,68 (3H, s, 5'-OMe). Hằng số tương tác spin-spin lớn của proton H-7' (d, $J = 8,0$ Hz) cho thấy định hướng của H_{α} -7' và $7'_{\beta}$ -aryl, đồng thời cho thấy 2 proton H-7' và H-8' liên kết *trans*-.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL7.5 và PL7.6) và phổ DEPT (PL7.7) của hợp chất **AC7** cho tín hiệu của 21 carbon của một coumarinlignan gồm: một carbonyl lacton tại δ_{C} 160,8 (C-2); 2 carbon olefin tại δ_{C} 144,8 (C-4) và 113,2 (C-3); 12 carbon vòng thơm

gồm: 9 carbon gồm 7 carbon bậc 4 liên kết với oxy tại δ_C 148,0 (C-3'), 148,0 (C-5'), 145,3 (C-6), 137,1 (C-7), 131,7 (C-8), 138,0 (C-9), và 136,3 (C-4'), và 2 carbon bậc 4 sp^2 tại 125,7 (C-1') và 111,3 (C-10); 3 carbon còn lại của 3 nhóm methine sp^2 tại δ_C 105,7 (C-6') và 105,7 (C-2'), 100,9 (C-5); 3 carbon nhóm methoxy (-OCH₃) tại δ_C 56,2 (C-3') và 56,2 (C-5'), 55,9 (C-6); và 3 carbon mạch béo liên kết với oxy tại δ_C 77,8 (C-8'), 76,6 (C-7'), 59,9 (C-9').

Tương tự hợp chất **AC6**, các tương tác HMBC (*PL7.10* đến *PL7.12*) của hợp chất **AC7** giữa H-2' (δ_H 6,75), H-6' (δ_H 6,75), H $_{\beta}$ -9' (δ_H 3,67) với C-7' (δ_C 76,6); giữa H-7' (δ_H 4,97) với C-1' (δ_C 125,7)/C-2' (δ_C 105,7)/C-6' (δ_C 105,7)/C-8' (δ_C 77,8), khẳng định cấu trúc của hợp phần phenylpropanoid. Sự trùng khớp độ chuyển dịch hóa học của C-7', C-8', C-7, C-8 của **AC7** so với coumarinolignan trong tài liệu [126, 127] đã cho thấy phần phenylpropanoid liên kết với phần coumarin thông qua cầu nối dioxane của khung coumarinolignan. Thêm vào đó, các tương tác giữa các nhóm 6-OCH₃ (δ_H 3,79)/C-6 (δ_C 145,3), 3'-OCH₃ (δ_H 3,77)/C-3' (δ_C 148,0), 5'-OCH₃ (δ_H 3,77)/C-5' (δ_C 148,0) khẳng định vị trí của 3 nhóm methoxy của 2 vòng thơm.

Các tương tác NOESY (*PL7.13* đến *PL7.17*) giữa H-5 (δ_H 6,91)/6-OCH₃ (δ_H 3,79); H-2' (δ_H 6,75)/(3'-OCH₃) (δ_H 3,77)/; H-6' (δ_H 6,75)/5'-OCH₃ (δ_H 3,77) đã khẳng định thêm hợp chất coumarinolignan mang 3 nhóm methoxy gắn vào C-6 và C-3', C-5'.

Phổ khối ESI-MS (*PL7.1*) của hợp chất **AC7** cho pic ion dương giả phân tử cộng proton tại $m/z = 417$ [M + H]⁺ cùng với phổ ¹³C-NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC7** là C₂₁H₂₀O₉ (M = 416).

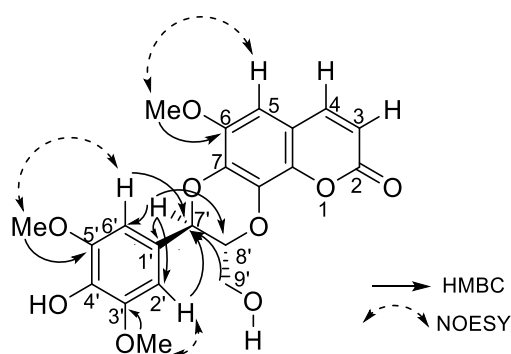
Từ các kết quả phân tích phổ 1D- và 2D-NMR và phổ khối ESI-MS kết hợp với các yếu tố khác như góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{25} = -23^\circ$ (c 0.1, MeOH), nhiệt độ nóng chảy 249-250°C của hợp chất **AC7** so với tài liệu [126, 127] khẳng định hợp chất **AC7** là (-)-cleomiscosin C. Số liệu ¹H-, ¹³C-NMR của hợp chất **AC7** được trình bày trong Bảng 3.7.

Bảng 3.7. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC7** và chất tham khảo

Vị trí	Cleomiscosin C [126]	AC7		
	$\delta_{\text{C}}^{\#\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{d}, \text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}, \text{b}}$	δ_{H} (độ bội, $J = \text{Hz}$) ^{a, c}
2	160,8	160,9	160,1	-
3	113,7	113,8	113,2	6,34 (d, 9,5)
4	144,5	144,6	144,8	7,96 (d, 9,5)
5	101,0	101,2	100,9	6,91 (s)
6	146,3	146,4	145,3	-
7	138,1	138,1	137,1	-
8	132,5	133,0	131,7	-
9	139,2	139,2	138,0	-
10	111,9	112,0	111,3	-
1'	126,3	126,6	125,7	-
2'	106,1	106,4	105,7	6,75 (s)
3'	149,1	149,7	148,0	-
4'	135,9	135,6	136,3	-
5'	149,1	149,7	148,0	-
6'	106,1	106,4	105,7	6,75 (s)
7'	77,7	77,8	76,6	4,97 (d, 8,0)
8'	79,7	79,7	77,8	4,35-4,38 (m)
9'	60,7	60,7	59,9	3,67 (br d, 12,0, β) 3,42-3,38 (m, α)
6-MeO	56,2	56,2	55,9	3,79 (3H, s)
3'-MeO	56,4	56,4	56,2	3,77 (3H, s)
5'-MeO	56,4	56,4	56,2	3,77 (3H, s)
4'-OH	-	-	-	8,56 (s)
9'-OH	-	-	-	-

^a Đo trong DMSO- d_6 , ^{b, d} 25 MHz, ^c 500 MHz, ^d đo trong Pyridine ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), ^{##} δ_{C} của cleomiscosin C (Đo trong $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ở 60 MHz)

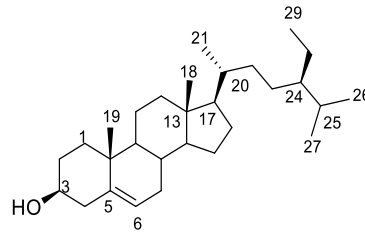
Một số tương tác chính HMBC và NOESY của hợp chất **AC7** được trình bày trong Hình 3.61.



Hình 3.61. Một số tương tác chính HMBC và NEOSY của hợp chất **AC7**

3.1.1.8. Hợp chất AC8: β -sitosterol

Hợp chất AC8 được xác định là β -sitosterol có cấu trúc như sau:



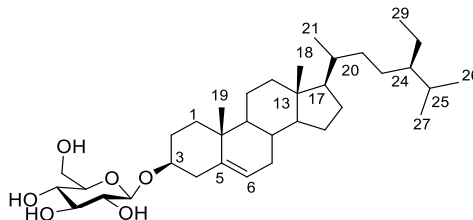
Hình 3.62. Cấu trúc của hợp chất AC8

Phổ NMR của AC8 (PL8.2) cho các tín hiệu đặc trưng của hợp chất β -sitosterol với một nối đôi 3 nhóm thế ở δ_H 5,35 (1H, dd, $J = 2,0; 5,0$ Hz, H-6)/ δ_C 121 (C-6) và 140,8 (C-5); một nhóm oxymethine ở δ_H 3,52 (1H, m, H-3)/ δ_C 71,8; 6 nhóm methyl trong đó có 2 singlet tại δ_H 1,01 (3H, s, H-19)/ δ_C 19,4 (C-19) và 0,68 (3H, s, H-18)/ δ_C 11,9 (C-18), 3 nhóm methyl bậc 2 với tín hiệu doublet tại δ_H 0,92 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21)/ δ_C 18,8 (C-21), 0,83 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26)/19,1 (C-26), 0,80 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27)/19,8 (C-27), và một nhóm methyl bậc 1 với tín hiệu triplet tại δ_H 0,84 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, H-29)/12,0 (C-29). Phổ ^{13}C -NMR (PL8.3) và DEPT (PL8.4) cho 29 carbon, trong đó có 6 nhóm methyl, 11 nhóm methylene, 9 nhóm methine và 3 carbon bậc 4 phù hợp với cấu trúc của β -sitosterol.

Dựa trên kết quả phân tích phổ NMR của hợp chất AC8 cùng với giá trị phổ khối ESI-MS (PL8.1) $m/z = 413$ [M-H]⁺ và so sánh với tài liệu [128] xác định hợp chất AC8 là β -sitosterol. Đây là một hợp chất phổ biến trong thực vật.

3.1.1.9. Hợp chất AC9: daucosterol

Hợp chất AC9 được xác định là daucosterol hoặc β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside có cấu trúc như sau:



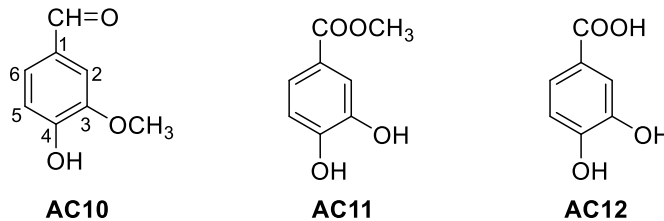
Hình 3.63. Cấu trúc của hợp chất AC9

Hợp chất AC9 có công thức phân tử $C_{35}H_{60}O_6$. Phổ 1H -, ^{13}C -NMR (PL9.1) và (PL9.2) của AC9 cho các tín hiệu trùng khớp với các tín hiệu của β -sitosterol (AC8) ngoại trừ sự thêm vào các tín hiệu của phần đường glucose bao gồm các tín hiệu δ_H

4,83 (3H, m; 3 × H-OH), 4,39 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, H-OH), 4,22 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,64 (1H, dd, $J = 5,5; 10,1$ Hz), 3,46 (1H, m), 3,14-3,20 (3H, m), 3,07 (1H, m). Dựa trên phân tích các số liệu phổ NMR của **AC9** trùng khớp với các tín hiệu phổ của daucosterol trong tài liệu [128] và kiểm tra SKLM với mẫu lưu cho phép khẳng định hợp chất **AC9** là daucosterol.

3.1.1.10. Hợp chất **AC10**, **AC11**, **AC12**

Hợp chất **AC10**, **AC11**, **AC12** có cấu trúc như sau:



Hình 3.64. Cấu trúc của các hợp chất **AC10**, **AC11**, **AC12**

- Hợp chất **AC10**: là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanilin)

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL10.2) cho các tín hiệu của 1 proton aldehyde tại δ_{H} 9,83 (1H, s), 1 proton nhóm hydroxyl ở δ_{H} 6,17 (1H, s), 3 proton thơm methine hệ ABX tại δ_{H} 7,43 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-6), 7,42 (1H, s, H-2), và một tương tác ortho giữa H-5 và H-6 tại δ_{H} 7,04 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5), 3 proton của nhóm methoxy ở 3,97 (3H, s). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL10.3) và phổ DEPT (PL10.4) của hợp chất **AC10** cho các tín hiệu của 8 carbon gồm 4 carbon bậc bốn tại δ_{C} 190,8 (C=O), 151,7 (C-4), 147,2 (C-3), 129,9 (C-1); 3 carbon nhóm methine tại δ_{C} 127,5 (C-6), 114,4 (C-2), 108,8 (C-5), và 1 carbon nhóm OCH_3 tại δ_{C} 56,2 ($-\text{OCH}_3$). Phổ khối ESI-MS (PL10.1) của hợp chất **AC10** cho pic ion dương giả phân tử $m/z = 137$ $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ cùng với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT đã xác định CTPT của hợp chất **AC10** là $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ ($M = 152$). Dựa vào kết quả phân tích NMR, MS và so sánh với tài liệu [129] xác định hợp chất **AC10** là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanilin).

- Hợp chất **AC11**: protocatechuic acid methyl ester

Tương tự hợp chất **AC10**, phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL11.2) của hợp chất **AC11** cho những tín hiệu proton của hệ thống vòng thơm ABX tại δ_{H} 7,43 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6), 7,42 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5); và một tín hiệu proton của nhóm methoxy ($-\text{OCH}_3$) tại δ_{H} 3,85 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL11.3) và phổ DEPT (PL11.4) của hợp chất **AC11** cho các tín hiệu của 8 carbon

gồm 4 carbon bậc 4 tại δ_C 168,9 (COO-), 151,7 (C-4), 146,2 (C-3), 122,6 (C-1); 3 carbon nhóm methine tại δ_C 123,6 (C-6), 117,4 (C-5), 115,9 (C-2), và 1 carbon của nhóm methoxy tại δ_C 52,2 (-OCH₃). Phổ khối ESI-MS (*PL11.1*) của hợp chất **AC11** cho pic ion âm giả phân tử trừ proton $m/z = 167$ [M-H]⁻ cùng với phổ ¹³C-NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC11** là C₈H₈O₄ (M = 168). Như vậy dựa trên kết quả phân tích phổ và dựa vào tài liệu [130] xác định hợp chất **AC11** là methyl 3,4-dihydroxybenzoate hay còn có tên khác là protocatechuic acid methyl ester.

- Hợp chất **AC12**: protocatechuic acid

Phổ ¹H-NMR và phổ ¹³C-NMR của hợp chất **AC12** tương tự so với hợp chất **AC11** ngoại trừ sự vắng mặt tín hiệu proton và carbon của nhóm OCH₃. Phổ ¹H-NMR (*PL12.2*) chỉ ra các tín hiệu của protons tại δ_H 7,46 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6), 7,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,82 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-5). Phổ ¹³C-NMR (*PL12.3*) cho các tín hiệu của 7 carbon, bao gồm 4 carbon bậc 4 tại δ_C 170,3 (COO-), 151,5 (C-4), 146,1 (C-3), 123,9 (C-1), và 3 methine carbon tại δ_C 123,2 (C-6), 117,8 (C-2), 115,8 (C-5). Phổ khối ESI-MS (*PL12.1*) của hợp chất **AC12** cho pic ion dương giả phân tử $m/z = 155$ [M+H]⁺ cùng với phổ ¹³C-NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC12** là C₇H₆O₄ (M = 154). So sánh kết quả phân tích phổ của hợp chất **AC12** và tài liệu [131] khẳng định hợp chất **AC12** là 3,4-dihydroxybenzoic acid hay protocatechuic acid.

Bảng 3.8. Số liệu phổ ¹H-, ¹³C-NMR của các hợp chất **AC10**, **AC11**, **AC12** và các hợp chất tham khảo

Vị trí C	[129]		AC10		[130]		AC11		[131]		AC12	
	$\delta_C^{\#}$	δ_C^a	δ_H^b (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{\#\#}$	δ_C^c	δ_H^d (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{\#\#\#}$	δ_C^e	δ_H^f (độ bội, $J = \text{Hz}$)			
1	129,9	129,9	-	122,7	122,6	-	123,9	123,9	-			
2	114,4	114,4	7,42(s)	115,9	115,9	7,42 (d, 2)	117,9	117,8	7,44 (d, 2,0)			
3	147,1	147,2	-	146,3	146,2	-	146,2	146,1	-			
4	151,6	151,7	-	151,8	151,7	-	151,5	151,5	-			
5	108,7	108,8	7,04 (d, 8,5)	117,5	117,4	6,82 (d, 8)	115,8	115,8	6,82 (d, 8)			
6	127,5	127,5	7,43 (d, 8,5)	123,7	123,6	7,43 (dd, 2; 8)	123,8	123,2	7,46 (dd, 2,0; 8)			
C=O	190,6	190,8	9,83 (s, CHO)	168,9	168,9	-	171,0	170,3	-			
OH	-	-	6,17 (s, OH)	-	-	-	-	-	-			

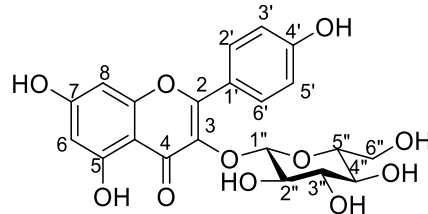
(-OCH ₃)	56,1	56,2	3,97 (s, 3H)	52,3	52,2	3,85 (s, 3H)	-	-	-
----------------------	------	------	--------------	------	------	--------------	---	---	---

a,b, # δ_C đo trong CDCl₃, c,d,e,f, ## δ_C , ### δ_C đo trong MeOD, b,d,f 500 MHz, ## δ_C , ### δ_C 125 MHz, a,c,e 125 MHz, # δ_C 100 MHz.

3.1.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ hoa của loài *A. chinense*

3.1.2.1. Hợp chất **AC13**: astragalgin

Hợp chất **AC13** được xác định là astragalgin có cấu trúc như sau:



Hình 3.65. Cấu trúc của hợp chất **AC13**

Phổ ¹H-NMR (PL13.2 đến PL13.4) cho thấy hợp chất **AC13** có cấu trúc là một flavonol glucoside. Phổ ¹H-NMR **AC13** cho các tín hiệu proton thơm vòng B hệ A2B2 ở δ_H 8,07 (d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,91 (d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5') và 2 proton meta của vòng A tại δ_H 6,40 (1H, br s, H-8) và 6,21 (1H, br s, H-6) của hợp phần flavonol aglycone. Các tín hiệu còn lại là của hợp phần đường gồm 1 proton anomeric tại δ_H 5,25 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''); hai proton của nhóm methylene tại δ_H 3,71 (1H, dd, $J = 2,5; 12,0$ Hz, H_a-6'') và 3,55 (1H, dd, $J = 5,5; 12,0$ Hz, H_b-6''); 4 proton methine tại δ_H 3,47 (1H, dd, $J = 7,5; 9,0$ Hz, H-2''), 3,45 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3''), 3,33 (1H, trùng chập, H-4''), 3,23 (m, H-5''). Hằng số tương tác lớn giữa H-1''/H-2'' ($J = 7,5$), H-2''/H-3'' ($J = 9,0$), H-3''/H-4'' ($J = 9,5$) khẳng định các proton H-1, H-2, H-3, H-4 định hướng *axial* và các nhóm OH định hướng *equatorial*. Như vậy các nhóm OH của phần đường định hướng *equatorial* và có liên kết β -D-glucopyranosyl.

Mặt khác, phổ ¹³C-NMR và DEPT (PL13.5 và PL13.6) của hợp chất **AC13** cho thấy tín hiệu của 21 carbon tương ứng của một flavonol glucoside. Phần flavonol cho tín hiệu của 15 carbon gồm: 1 carbonyl tại δ_C 179,5; 6 carbon thơm sp² liên kết với oxy tại δ_C 166,4 (C-7), 163,1 (C-5), 161,6 (C-4'), 159,1 (C-9), 158,5 (C-2), và 135,5 (C-3); 2 carbon thơm sp² bậc 4 tại δ_C 122,8 (C-1') và 105,6 (C-10); 6 carbon methine sp² vòng thơm tại δ_C 132,3 (C-2' và C-6'), 116,1 (C-3' và C-5'), 100,1 (C-6), 94,9 (C-8). Phần đường cho tín hiệu của 6 carbon sp³ gồm: 1 carbon anome tại δ_C 104,2 (C-1''); 4 oxymethine tại δ_C 78,4 (C-3''), 78,1 (C-5''), 75,7 (C-2''), và 71,4 (C-4''); và một oxymethylene tại δ_C 62,7 (C-6''). Phổ ESI-MS (PL16.1) cho pic ion âm

giả phân tử trừ proton tại $m/z = 447 [M-H]^-$ cùng với dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT của nó xác định CTPT của hợp chất **AC13** là $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$.

Từ sự phân tích kết quả phổ NMR, phổ khối ESI-MS, của hợp chất **AC13**, so sánh các dữ liệu phổ với tài liệu [132] xác định cấu trúc của hợp chất **AC13** là astragalin. Astragalin là một flavonoid có trong nhiều thảo dược truyền thống với nhiều tính năng y học quý báu như kháng viêm, chống oxi hóa, bảo vệ thần kinh, chống tiểu đường, chống ung thư v.v...[133]. Số liệu phổ ^1H -, $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **AC13** và astragalin được trình bày trong Bảng 3.9.

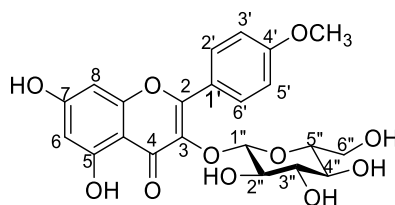
Bảng 3.9. Số liệu phổ ^1H -, $^{13}\text{C-NMR}$ đo trong CD_3OD của hợp chất **AC13** và chất tham khảo

Vị trí C	Astragalin [132]		AC13	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	-	-	-	-
2	158,0	-	158,5	-
3	135,3	-	135,5	-
4	179,2	-	179,5	-
5	162,7	-	163,1	-
6	99,8	6,19 (d, 2,0)	100,1	6,21 (br s)
7	165,7	-	166,4	-
8	94,8	6,37 (d, 2,0)	94,9	6,40 (d, 2,0)
9	158,8	-	159,1	-
10	105,6	-	105,6	-
1'	122,5	-	122,8	-
2'	132,1	8,05 (d, 9,2)	132,3	8,07 (d, 9,0)
3'	115,9	6,89 (d, 9,2)	116,1	6,91 (d, 9,0)
4'	161,2	-	161,6	-
5'	115,9	6,89 (d, 9,2)	116,1	6,91 (d, 9,0)
6'	132,1	8,05 (d, 9,2)	132,3	8,07 (d, 9,0)
1''	104,0	5,21 (d, 7,6)	104,2	5,25 (d, 7,5)
2''	75,6	3,43 (dd, 7,6; 8,4)	75,7	3,47 (dd, 7,5; 9,0)
3''	78,2	3,43*	78,4	3,45 (t, 9,0)
4''	71,2	3,43*	71,4	3,33*
5''	78,0	3,21 (m)	78,1	3,23 (m)
6''	62,4	3,69 H _a (dd, 2,4; 12,0) 3,53 H _b (dd, 5,6; 12,0)	62,7	3,71 H _a (dd, 2,5; 12,0) 3,55 H _b (dd, 5,5; 12,0)

^a100 MHz, ^b400 MHz, ^c125 MHz và ^d500 MHz; *: trùng chập

3.1.2.2. Hợp chất **AC14**: kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **AC14** được xác định là kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside có cấu trúc như sau:



Hình 3.66. Cấu trúc của hợp chất **AC14**

Phổ ^1H -, ^{13}C -NMR (PL14.2 đến PL14.4, PL14.5) và phổ DEPT (PL14.6) cho thấy hợp chất **AC14** có cấu trúc giống với cấu trúc của hợp chất **AC13**, cũng là một flavonol glycoside, phân tử gồm aglycone flavonol là kaempferol gắn với một đường glucose, ngoại trừ phân tử có thêm một nhóm methoxy. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất này được trình bày trong Bảng 3.10. Trên phổ ^{13}C -NMR, phần flavonol cho tín hiệu của 15 carbon sp^2 vòng thơm gồm: 1 carbonyl tại δ_{C} 177,4; 6 carbon sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 161,2 (C-5), 161,1 (C-7), 158,8 (C-4'), 155,7 (C-9), 156,4 (C-2), và 133,5 (C-3); 2 carbon sp^2 bậc 4 tại δ_{C} 122,5 (C-1') và 104,1 (C-10); 6 carbon sp^2 nhóm methine tại δ_{C} 130,7 (C-2' và C-6'), 113,7 (C-3' và C-5'), 98,8 (C-6), 93,7 (C-8). Phần đường cho tín hiệu của 6 carbon sp^3 gồm: 1 carbon anomeric tại 100,8 (C-1''); 4 carbon oxymethine tại δ_{C} 77,5 (C-5''), 74,2 (C-2''), 76,4 (C-3''), và 69,9 (C-4''); 1 carbon oxymethylene tại δ_{C} 60,8 (C-6''). Trên phổ ^1H -NMR cho các tín hiệu tương ứng của các proton của phần flavonol gồm: các proton thơm vòng B hệ A2B2 ở δ_{H} 8,13 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 7,07 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), 2 proton meta của vòng A tại δ_{H} 6,43 (1H, d, $J = 2,0$, H-8) và 6,20 (1H, d, $J = 2,0$, H-6). Phần đường có một tín hiệu của proton anome tại δ_{H} 5,47 (H-1'') và các tín hiệu proton của các nhóm oxymethine và oxymethylene nằm trong khoảng δ_{H} 3,18 – 3,59. Mặt khác, hằng số tương tác $J_{\text{H-1''-H-2''}} = 7,5$ cho thấy phần đường là β -glucopyranosyl.

Phổ khối ESI-MS (PL14.1) cho ion giả phân tử âm trừ proton $[\text{M-H}]^-$ tại m/z 461 cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC14** là $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ($M = 462$).

Dựa trên kết quả phân tích các dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR, ESI-MS của hợp chất **AC14** và sự trùng khớp với dữ liệu phổ trong tài liệu [134] đã xác định hợp chất **AC14** là kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside. Hợp chất kaempferide 3-O- β -D-

glucopyranoside được phân lập từ loài *Cordia sinensis* thuộc họ Boraginaceae có khả năng chống lại quá trình biến chứng tiểu đường, có tính kháng viêm cao, hoạt tính chống oxi hóa cao [134, 135].

Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC14** và kaempferide 3-*O*- β -D-glucopyranoside được trình bày trong Bảng 3.10.

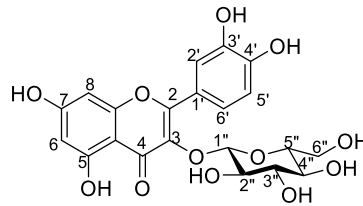
Bảng 3.10. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong dung môi DMSO- d_6 của hợp chất **AC14** và chất tham khảo

Vị trí C	AC14		Kaempferide 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside[134]	
	δ_{C}^a	δ_{H}^b (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_{C}^c	δ_{H}^d (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	156,4	-	156,9	-
3	133,5	-	133,5	-
4	177,4	-	177,6	-
5	161,2	-	161,4	-
6	98,8	6,20 (d, 2,0)	98,8	6,23 (br s)
7	161,1	-	164,6	-
8	93,7	6,43 (d, 2,0)	94,2	6,41 (br s)
9	155,7	-	156,7	-
10	104,1	-	103,9	-
1'	122,5	-	121,5	-
2'	130,7	8,13 (d, 9,0)	131,4	7,90 (d, 8,4)
3'	113,7	7,07 (d, 9,0)	116,7	6,87 (d, 8,4)
4'	158,8	-	157,5	-
5'	113,7	7,07 (d, 9,0)	116,7	6,87 (d, 8,4)
6'	130,7	8,13 (9,0)	131,4	7,90 (d, 8,4)
1''	100,9	5,47 (d, 7,5)	101,5	5,30 (d, 7,5)
2''	74,2	3,18-3,59*	74,3	
3''	76,4	3,18-3,59*	76,5	
4''	69,9	3,18-3,59*	70,3	3,2-4,3(6H-sugar)
5''	77,5	3,18-3,59*	76,0	
6''	60,8	3,18-3,59*	62,2	
4'-OCH ₃	55,4	3,85 (s)	56,7	3,85 (s)
5-OH	-	12,56 (s)	-	-

a, c 125 MHz, b, d 500 MHz; *: trùng chập

3.1.2.3. Hợp chất **AC15**: quercetin 3-*O*- β -D-glucoside

Hợp chất **AC15** được xác định là quercetin 3-*O*- β -D-glucoside có cấu trúc như sau:



Hình 3.67. Cấu trúc của hợp chất **AC15**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AC15** (*PL15.2* đến *PL15.4*) cho những tín hiệu đặc trưng của flavonol glycoside gồm aglycon là khung 15 carbon với 3 vòng A, B và C được gắn với một phân tử đường glucoside. Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy các tín hiệu gồm 3 proton thơm hệ ABX thuộc vòng B ở δ_{H} 7,73 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,59 (1H, dd, $J = 2,0; 8,5$ Hz, H-6') và 6,89 (1H, d, $J = 8,5$ Hz); và 2 proton thơm meta thuộc vòng A ở 6,39 (d, $J = 2,0$ Hz, H-8) và δ_{H} 6,20 (d, $J = 2,0$ Hz, H-6). Các proton của phần đường (xuất hiện ở vùng trường cao hơn gồm một tín hiệu doublet của proton anomer ở δ_{H} 5,25 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 4 tín hiệu của 4 proton nhóm methine liên kết với oxy ở δ_{H} 3,51 (1H, dd, $J = 7,5; 9,0$ Hz, H-2''), 3,46 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3''), 3,38 (1H, dd, $J = 9,0; 9,5$ Hz, H-4'') và ở 3,25 (1 H, ddd, 2,5; 5,5 và 9 Hz, H-5''), 2 proton nhóm methylene ở δ_{H} 3,74 (1H, dd, $J = 2,5; 12$ Hz, H_a-6''); và 3,60 (1H, dd, $J = 5,5; 12,0$ Hz, H_b-6'');

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (*PL15.5*) và phổ DEPT giãn (*PL15.6*) cho thấy phân tử **AC15** có 21 nguyên tử carbon gồm 15 carbon của 3 vòng ABC và 6 carbon phần đường. Phần aglycon gồm: 1 nhóm carbonyl ở δ_{C} 179,4 (C-4); 7 carbon bậc 4 lai hóa sp^2 liên kết trực tiếp với nguyên tử oxy ở δ_{C} 166,1 (C-7), 162,9 (C-5), 159,0 (C-9), 158,4 (C-2), 149,8 (C-4'), 145,8 (C-3') và 135,6 (C-3); 5 carbon methine sp^2 ở δ_{C} 123,2 (C-6'), 117,6 (C-5'), 116,0 (C-2'), 99,9 (C-6), và 94,8 (C-8); 2 carbon bậc 4 sp^2 ở δ_{C} 123,1 (C-1'), 105,6 (C-10). Phần đường gắn với carbon C-3 có 6 carbon gồm: 1 carbon anome ở δ_{C} 104,4 (C-1''), 4 carbon sp^3 nhóm oxymethine ở 78,8 (C-3''), 78,3 (C-5''), 75,7 (C-2''), và 71,2 (C-4''); và một carbon oxymethylene sp^3 ở δ_{C} 62,6.

Kết quả phổ 1D-NMR và giá trị phổ khối ESI-MS (*PL15.1*) cho pic ion âm giả phân tử trừ proton tại $m/z = 463$ $[\text{M-H}]^-$ cùng với dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC15** là $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ($M = 464$).

Từ việc phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR, phổ ESI-MS của hợp chất **AC15** và so sánh tài liệu [147], xác định hợp chất **AC15** là quercetin 3-*O*- β -D-glucoside hay isoquercetin. Isoquercetin có rất nhiều trong thảo dược, trái cây, rau quả. So với quercetin, isoquercetin có nhiều hoạt tính sinh học tốt hơn như chống oxy hóa, chống ung thư, hỗ trợ điều trị rối loạn tim mạch, v.v... [135, 136]. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC15** và quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside được trình bày trong Bảng 3.11.

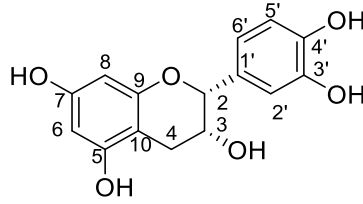
Bảng 3.11. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất **AC15** và chất tham khảo

Vị trí C	Quercetin 3- <i>O</i> - β -D-glucoside [147]		AC15	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	159,6	-	158,4	-
3	135,7	-	135,6	-
4	179,5	-	179,4	-
5	163,0	-	162,9	-
6	100,2	6,20 (d, 2,0)	99,9	6,20 (d, 2,0)
7	166,7	-	166,1	-
8	94,9	6,38 (d, 2,0)	94,8	6,39 (d, 2,0)
9	159,0	-	159,0	-
10	105,5	-	105,6	-
1'	123,1	-	123,1	-
2'	116,0	7,71 (d, 2,0)	116,0	7,73 (d, 2,0)
3'	146,0	-	145,8	-
4'	149,9	-	149,8	-
5'	117,6	6,87 (d, 8,0)	117,6	6,89 (d, 8,5)
6'	123,2	7,59 (dd, 2,0; 8,0)	123,2	7,59 (dd, 2,0; 8,5)
1''	104,5	5,21 (d, 8,0)	104,4	5,25 (d, 7,5)
2''	75,8	3,48 (t, 8,0)	75,7	3,51 (dd, 7,5; 9,0)
3''	78,2	3,42 (t, 8,5)	78,1	3,46 (t, 9,0)
4''	71,3	3,35 (m)	71,2	3,38 (dd, 9,0; 9,5)
5''	78,4	3,22 (ddd, 2,0; 5,0; 10,0)	78,3	3,55 (ddd, 2,5; 5,5; 9,5)
6''	62,6	3,58 (dd, 5,0; 12,0)	62,6	3,60 (dd, 5,5; 12,0)
		3,71 (dd, 2,5; 12,0)		3,74 (dd, 2,5; 12,0)

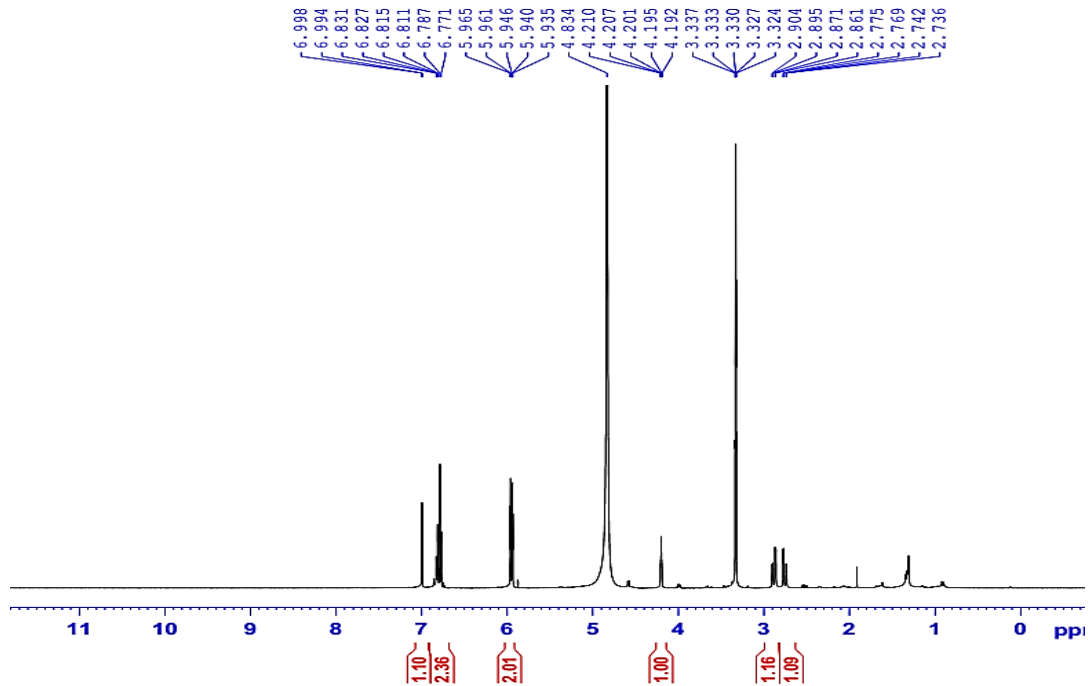
^a 75,5 MHz, ^b 300 MHz; ^c 125 MHz, ^d 500 MHz

3.1.2.4. Hợp chất **AC16**: (-)-*epi*-catechin

Hợp chất **AC16** được xác định là [(-)-*epi*-catechin] với cấu trúc như sau:



Hình 3.68. Cấu trúc của hợp chất **AC16**



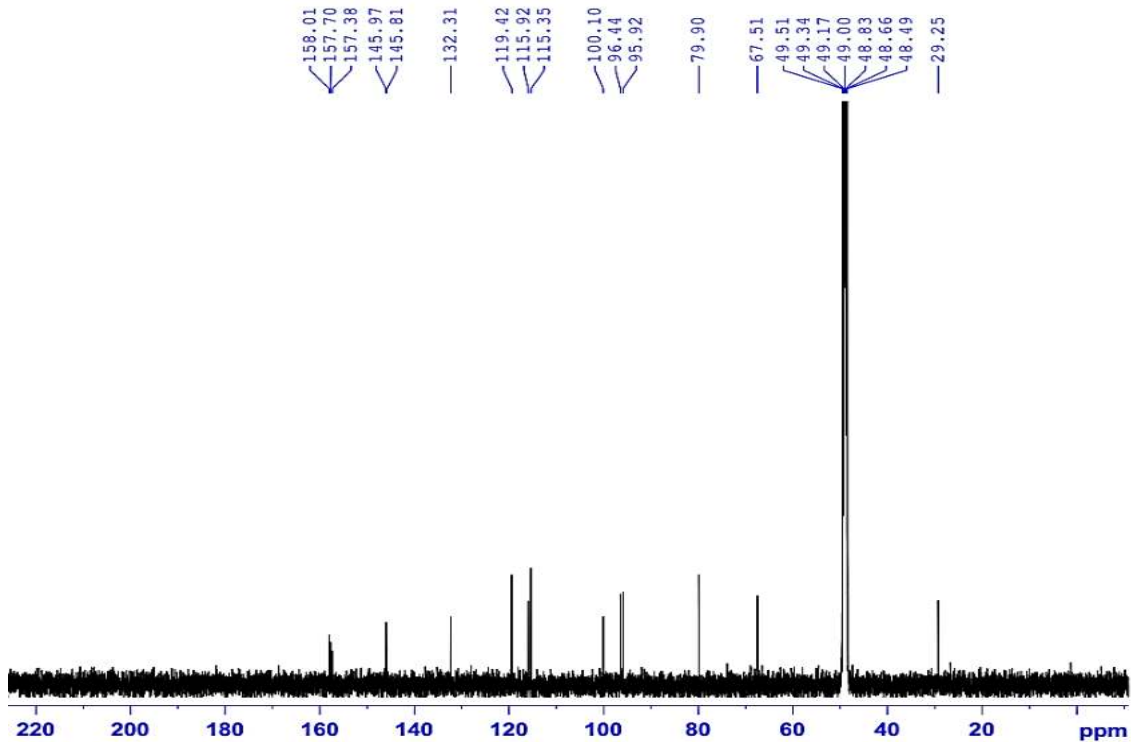
Hình 3.69. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AC16**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.69, *PL16.3* và *PL16.4*) của hợp chất **AC16** cho thấy các tín hiệu của 1 flavanol gồm: 3 proton vòng thơm hệ ABX của vòng B ở δ_{H} 7,00 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2'), 6,82 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6') và 6,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'); 2 proton meta của vòng thơm A ở δ_{H} 5,96 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,94 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 2 proton nhóm oxymethine ở δ_{H} 4,83 (trùng chập, H-2) và 4,20 (1H, br s, H-3) và 2 proton không tương đương của nhóm methylene ở δ_{H} 2,88 (1H, dd, $J = 5,0; 16,5$ Hz, H-4_{eq}) và 2,76 (1H, dd, $J = 3,0$ và 16,5 Hz, H-4_{ax}).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Hình 3.70) và phổ DEPT (*PL16.6*) của hợp chất **AC16** cho 15 nguyên tử carbon tương ứng gồm 5 carbon methine sp^2 tại δ_{C} 119,4 (C-6'), 115,9 (C-5'), 115,4 (C-2'), 96,4 (C-6), 95,9 (C-8); 5 carbon bậc 4 sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 158,0 (C-7), 157,7 (C-9), 157,4 (C-5), 145,8 (C-4'), 146,0 (C-3'); 2 carbon bậc 4 sp^2

tại δ_C 132,3 (C-1'), 100,1 (C-10); 2 carbon oxymethine sp^3 tại δ_C 79,9 (C-2), 67,5 (C-3); và 1 carbon methylene sp^3 tại δ_C 29,3 (C-4).

Độ chuyển dịch hóa học của H-2 (δ_H 4,83) và C-2 (δ_C 79,9) đề nghị cấu hình ở C₂-C₃ là 2,3-*cis*-; điều này được khẳng định thêm bởi hằng số tương tác nhỏ giữa proton H-2 và H-3 ($J < 1$) với tín hiệu br s tại δ_H 4,20 (H-3), chứng tỏ các proton này định hướng *equatorial*, hai nhóm thế là vòng B và nhóm 3-OH định hướng *axial*.



Hình 3.70. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AC16**

Phổ COSY (PL16.7) cho thấy có 2 hệ tương tác spin-spin giữa H-6' (δ_H 6,82)/H-5' (δ_H 6,78) của vòng B và giữa H-2 (δ_H 4,83)/H-3 (δ_H 4,20), H-3 (δ_H 4,20)/H₂-4 (δ_H 2,88) của vòng C.

Các tương tác HMBC (PL16.10 đến PL16.12) giữa H₂-4 với C-10/C-9/C-5/C-3, C-2; giữa H-3 với C-10 và giữa H-2 với C-9/C-4/C1'/C-2'/C-6' kết hợp với các tương tác COSY, HSQC cho phép quy kết các giá trị phổ tại các vị trí carbon C-2, C-3, C-4, C-9, C-10, C-1' của 3 vòng A,B,C và khẳng định cấu trúc của flavanol với sự gắn kết vòng A với vòng C tại C-9, C-10, và vòng B gắn kết với vòng C tại C-2.

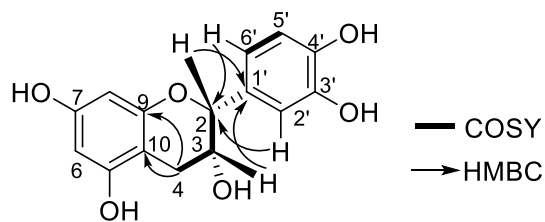
Phổ khối ESI-MS (PL16.1) cho pic ion âm giả phân tử nhường proton tại m/z 289 $[M-H]^-$ cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC16** là C₁₅H₁₄O₆ phù hợp.

Kết hợp sự phân tích phổ 1D-, 2D-NMR, ESI-MS và so sánh với tài liệu [137] có thể kết luận hợp chất **AC16** là *epi*-catechin. Mặt khác, góc quay cực riêng của **AC16** đo được là $[\alpha]_D = -19^\circ$ (c 0,1; MeOH) khẳng định hợp chất **AC16** là (-)-*epi*-catechin. (-)-*Epi*-catechin là hợp chất có trong lá trà xanh (loài *Camellia sinensis*) có hoạt tính chống oxi hóa cao, hỗ trợ tim mạch và chống ung thư [137, 138]. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC16** và (-)-*epi*-catechin được trình bày trong Bảng 3.12.

Bảng 3.12. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC16** và chất tham khảo

Vị trí C	AC16		(-)- <i>Epi</i> -catechin [137]	
	δ_C^a	δ_H^b (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^c	δ_H^d (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	79,9	4,83 (trùng chập)	79,5	4,88 (s)
3	67,5	4,20 (brs)	67,0	4,21 (brs)
4 _{ax}	29,3	2,76 (dd, 3,0; 16,5)	29,0	2,87 (br d, 16,5)
4 _{eq}	29,3	2,88 (dd, 5,0; 16,5)	29,0	2,74 (br d, 16,5)
5	157,4	-	157,6	-
6	96,4	5,96 (d, 2,0)	96,2	6,02 (d, 1,8)
7	158,0	-	157,6	-
8	95,9	5,94 (d, 2,0)	95,7	5,92 (d, 1,8)
9	157,7	-	157,2	-
10	100,1	-	100,0	-
1'	132,3	-	132,3	-
2'	115,4	7,00 (d, 2,0)	115,3	7,05 (d, 1,8)
3'	146,0	-	145,4	-
4'	145,8	-	145,3	-
5'	115,9	6,78 (d, 8,0)	115,5	6,79 (d, 8,0)
6'	119,4	6,82 (dd, 2,0; 8,0)	119,4	6,84 (dd, 1,8; 8,0)

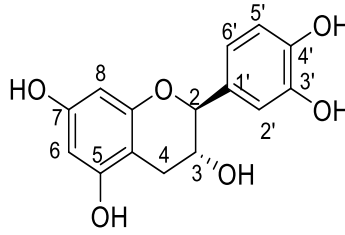
^{a, b}Đo trong CD₃OD, ^{c, d}Đo trong acetone-*d*₆, ^{a, c}125 MHz, ^{b, d}500 MHz



Hình 3.71. Một số tương tác chính COSY và HMBC của hợp chất **AC16**

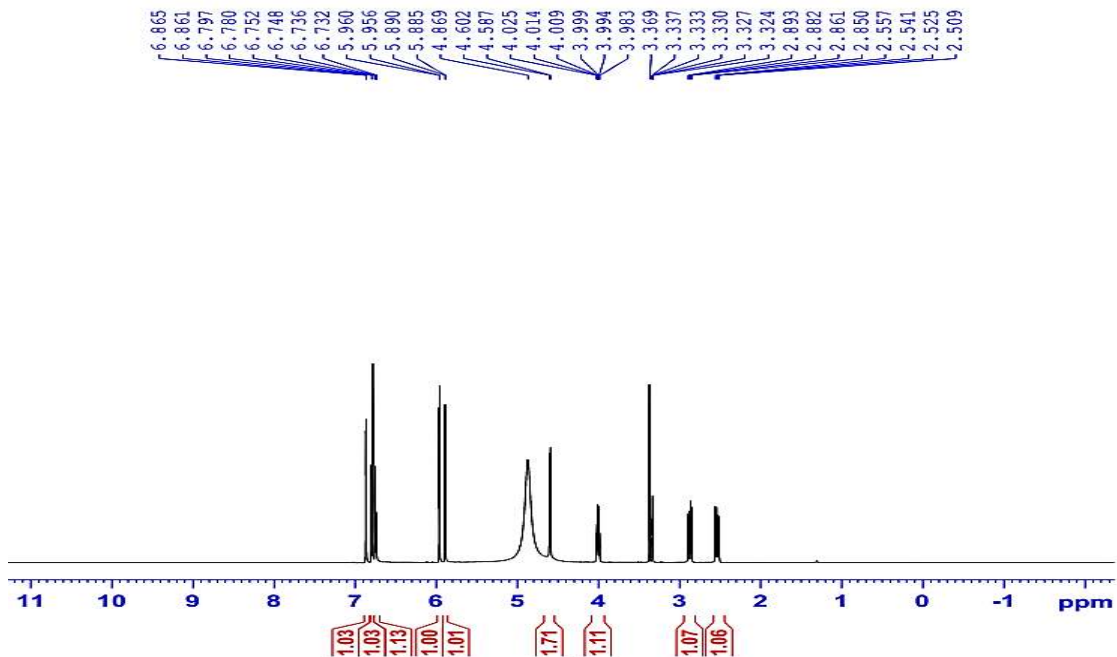
3.1.2.5. Hợp chất **AC17**: (-)-catechin

Hợp chất **AC17** được xác định là (-)-catechin có cấu trúc như sau:



Hình 3.72. Cấu trúc của hợp chất **AC17**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.73, *PL17.3* và *PL17.4*) của hợp chất **AC17** cho thấy các tín hiệu tương tự hợp chất **AC16** với các tín hiệu của 1 flavanol gồm: 3 proton vòng thơm hệ ABX của vòng B ở δ_{H} 6,86 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5') và 6,74 (1H, dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz, H-6'); 2 proton meta của vòng thơm A tương tác ở δ_{H} 5,96 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,89 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); vòng C gồm 2 proton nhóm oxymethine ở δ_{H} 4,75 (1H, $J = 7,5$, H-2) và 4,00 (1H, ddd, $J = 5,5; 7,5; 8,0$ Hz, H-3) và 2 proton không tương đương của nhóm methylene ở δ_{H} 2,87 (1H, dd, $J = 5,5; 16,0$ Hz, H-4_{ax}) và 2,54 (1H, dd, $J = 5,5; 16,0$ Hz, H-4_{eq}).



Hình 3.73. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AC17**

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (*PL17.5*) và phổ DEPT (*PL17.6*) của hợp chất **AC17** cho thấy tín hiệu của 15 carbon khung flavanol gồm: 5 carbon sp^2 vòng thơm gắn với oxy ở δ_{C} 157,5 (C-5), 157,8 (C-7), 156,9 (C-9) và 146,2 (C-3', C-4'); 2 carbon sp^2 bậc 4 vòng

thơm tại δ_C 132,2 (C-1') và 100,9 (C-10); 5 carbon sp^2 nhóm methine vòng thơm tại δ_C 120,0 (C-6'), 116,1 (C-5'), 115,3 (C-2'), 96,3 (C-6), và 95,4 (C-8); hai carbon oxymethine sp^3 tại δ_C 82,8 (C-2) và 68,8 (C-3); 1 carbon methylene sp^3 tại δ_C 28,4 (C-4). Hằng số tương tác lớn ($J = 7,5$ Hz) giữa proton H-2 (δ_H 4,59) và H-3 (δ_H 4,00), và độ chuyển dịch hóa học C-2 ở 82,8 ppm chứng tỏ hợp chất này có cấu hình 2,3-*trans*-.

Phổ khối ESI-MS (*PL17.1*) cho pic ion âm giả phân tử trừ proton tại $m/z = 289$ $[M-H]^-$ cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC17** là $C_{15}H_{14}O_6$.

Từ các kết quả phân tích phổ 1D-NMR, phổ ESI-MS và dựa vào góc quay cực riêng của hợp chất **AC17** là $[\alpha]_D = -54^\circ$ (MeOH, c 0,1) và so sánh với tài liệu [137] xác định cấu trúc của hợp chất **AC17** là (-)-catechin. Catechin là một polyphenol có trong nhiều loại thực phẩm và thảo mộc như trà, táo, v.v ... Nó có tác dụng hỗ trợ tim mạch, có hoạt tính oxi hóa cao chống lại các gốc tự do cao [138]. Số liệu phổ 1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC17** và (-)-catechin được trình bày trong Bảng 3.13.

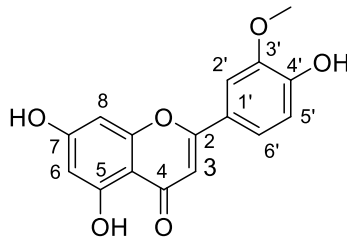
Bảng 3.13. Số liệu phổ 1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC17** và chất tham khảo

Vị trí C	AC17		(-)-Catechin [137]	
	δ_C^a	δ_H^b (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^c	δ_H^d (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	82,8	4,59 (d, 7,5)	82,8	4,55 (d, 7,5)
3	68,8	4,00 (ddd, 5,5; 7,5; 8,0)	68,3	3,98 (ddd, 5,5; 7,5; 8,0)
4	28,4	2,54 (dd, 8,0; 16,0, H-ax) 2,87 (dd, 5,5; 16,0, H-eq)	28,8	2,52 (dd, 8,0, 16,0) 2,91 (dd, 5,5; 16,0)
5	157,5	-	157,2	-
6	96,3	5,96 (d, 2,0)	96,1	6,02 (d, 2,0)
7	157,8	-	157,7	-
8	95,4	5,89 (d, 2,0)	95,3	5,87 (d, 2,0)
9	156,9	-	156,9	-
10	100,9	-	100,6	-
1'	132,2	-	131,8	-
2'	115,3	6,86 (d, 2,0)	115,2	6,88 (d, 2,0)
3'	146,2	-	146,1	-
4'	146,2	-	146,0	-
5'	116,1	6,79 (d, 8,0)	115,7	6,77 (d, 8,0)
6'	120,0	6,74 (dd, 2,0; 8,0)	118,8	6,73 (dd, 2,0; 8,0)

^{a, b} Đo trong CD_3OD , ^{c, d} Đo trong acetone- d_6 , ^{a, c} 125MHz, ^{b, d} 500MHz

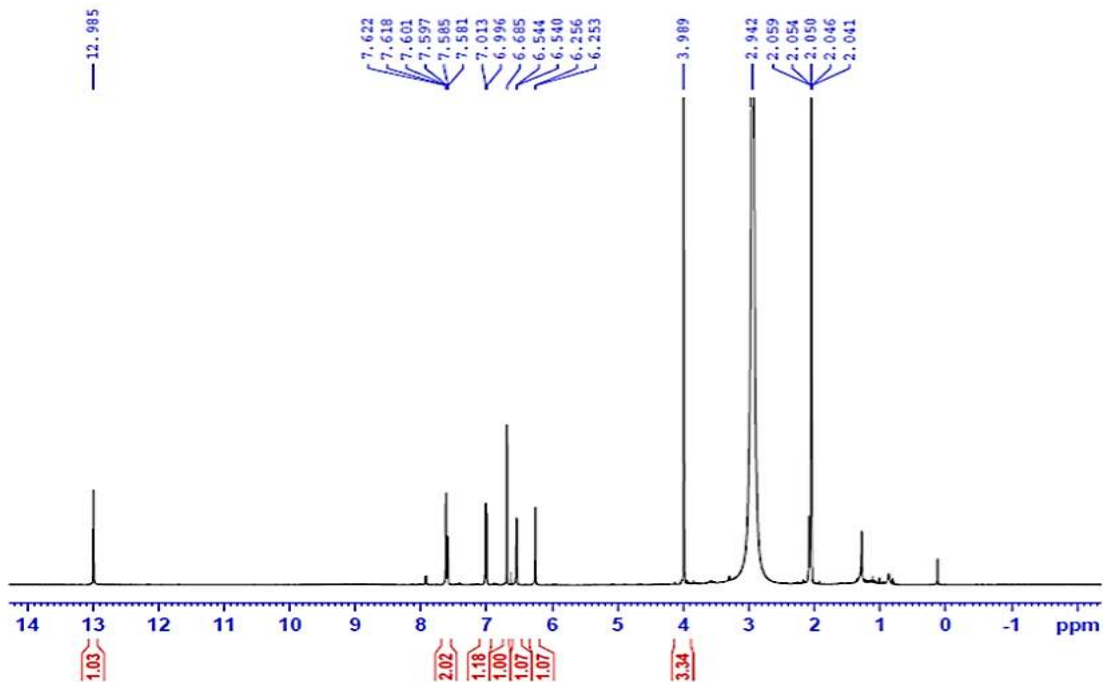
3.1.2.6. Hợp chất **AC18**: (*3'-methoxyluteolin, chrysoeriol*)

Hợp chất **AC18** được xác định là 3'-methoxyluteolin hay chrysoeriol có cấu trúc như sau:



Hình 3.74. Cấu trúc của hợp chất **AC18**

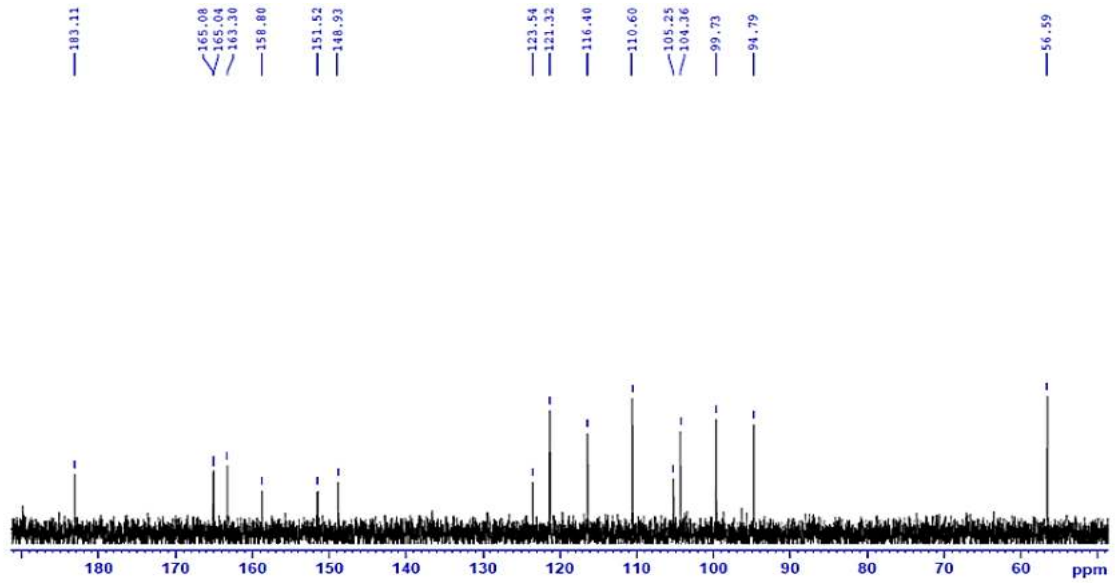
Phổ $^1\text{H-NMR}$ (Hình 3.75, *PL18.3* và *PL18.4*) của hợp chất **AC18** cho các tín hiệu dễ nhận biết đặc trưng của khung flavonone gồm 3 proton hệ ABX vòng thơm B ở δ_{H} 7,62 (d, $J = 2,0$ Hz; H-2'), 7,59 (dd, $J = 2,0 ; 8,0$ Hz, H-6'), 7,00 (d, $J = 8,0$ Hz; H-5'); tín hiệu proton ở δ_{H} (6,69, s, H-3) của vòng C; 2 proton ở vị trí meta của vòng A ở δ_{H} 6,25 (d, $J = 2,0$ Hz, H-6) và ở δ_{H} 6,54 (d, $J = 2,0$ Hz, H-8). Ngoài ra còn một tín hiệu singlet của 3 proton nhóm oxymethine ở δ_{H} 4,00 (s).



Hình 3.75. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AC18**

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Hình 3.76), DEPT (*PL18.6*) của hợp chất **AC18** cho thấy phân tử flavonone có 16 nguyên tử carbon gồm: 1 carbonyl ở δ_{C} 183,1 (C-4); 6 carbon sp^2 nhóm methine ở δ_{C} 121,3 (C-6'), 116,4 (C-5'), 110,6 (C-2'), 104,4 (C-3), 99,7 (C-6), và 94,8 (C-8); 6 carbon sp^2 bậc 4 liên kết với oxy ở δ_{C} 165,1 (C-7), 165,0 (C-2),

163,3 (C-5), 158,8 (C-9), 151,5 (C-4'), 148,9 (C-3'); 2 carbon sp^2 bậc 4 ở 123,5 (C-1') và 105,3 (C-10); và 1 nhóm methoxy ở δ_C 56,6.



Hình 3.76. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AC18**

Tương tác HMBC (*PL18.8* đến *PL18.10*) giữa H-3 (δ_H 6,69)/C-4 (δ_C 183,1)/C-2 (δ_C 165,0)/C-1' (δ_C 123,5)/C-10 (δ_C 105,2); giữa H-8 (δ_H 6,55)/C-7 (δ_C 165,1)/C-9 (δ_C 158,8)/C-10 (δ_C 105,3)/C-6 (δ_C 99,7); và giữa H-6' (δ_H 7,59)/C-2 (δ_C 165,0)/C-4' (δ_C 151,5)/C-2' (δ_C 110,6) đã khẳng định cấu trúc khung flavone. Ngoài ra tương tác HMBC giữa những proton của nhóm OCH_3 (δ_H 4,00)/C-3' (δ_C 148,9) đã khẳng định vị trí của nhóm thế methoxy 3'- OCH_3 .

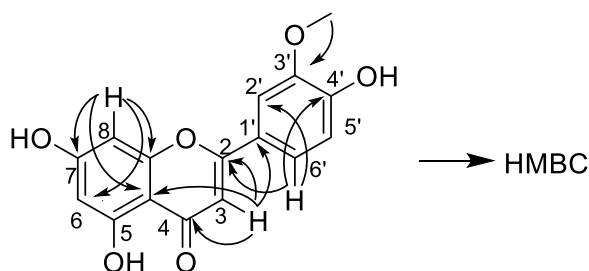
Phổ khối ESI-MS (*PL18.1*) cho pic ion giả phân tử cộng proton tại $m/z = 301$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **AC18** là $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$.

Từ việc phân tích phổ 1D- và 2D-NMR, phổ ESI-MS và so sánh với số liệu phổ trong tài liệu [139] cấu trúc hợp chất **AC18** được xác định là chrysoeriol (3'-methoxyluteolin). Chrysoeriol là một dẫn xuất của luteolin, có tác dụng chống loãng xương, có tính kháng khuẩn cao [139, 140]. Các số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **AC18** và chrysoeriol được trình bày trong Bảng 3.14.

Bảng 3.14. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong acetone- d_6 của của hợp chất **AC18** và chất tham khảo

Vị trí C	Chrysoeriol [139]		AC18	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	164,9	-	165,0	-
3	104,5	6,69 (1H, s)	104,4	6,69 (s)
4	182,9	-	183,1	-
5	163,3	-	163,3	-
6	99,7	6,26 (d, 2,0)	99,7	6,25 (d, 2,0)
7	165,0	-	165,1	-
8	94,7	6,55 (d, 2,0)	94,8	6,54 (d, 2,0)
9	158,7	-	158,8	-
10	105,2	-	105,3	-
1'	123,6	-	123,5	-
2'	110,7	7,63 (d, 2,1)	110,6	7,62 (d, 2,0)
3'	148,8	-	148,9	-
4'	151,3	-	151,5	-
5'	116,4	7,01 (d, 8,3)	116,4	7,00 (d, 8,0)
6'	121,4	7,6 (dd, 2,1; 8,3)	121,3	7,59 (dd, 2,0; 8,0)
3'-OCH ₃	56,6	4,00 (s)	56,6	4,00 (s)

^a600 MHz và ^b150 MHz; ^c500 MHz và ^d125 MHz

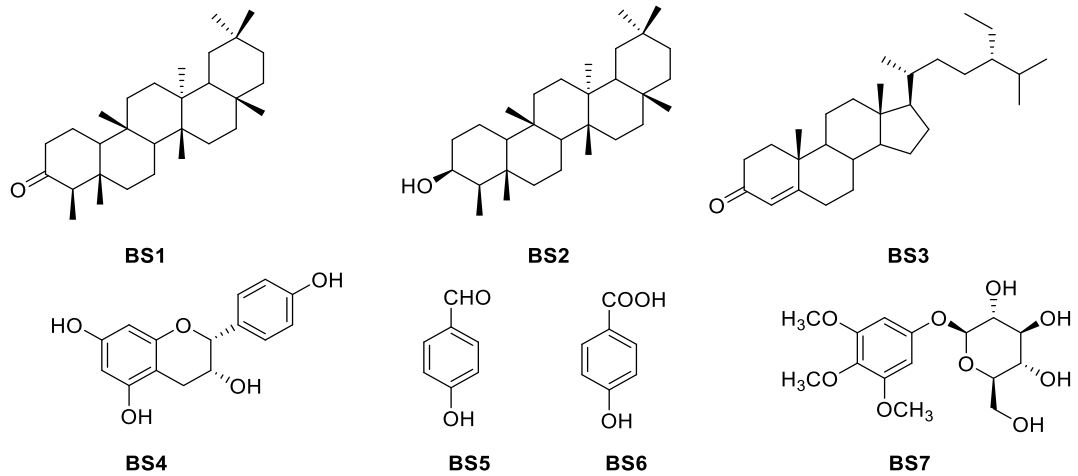


Hình 3.77. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất **AC18**

3.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất được phân lập từ lá của loài *B. sylvestris*

Từ lá của loài *B. sylvestris* thu hái tại tỉnh Gia Lai đã phân lập được 7 hợp chất là friedelin (**BS1**), 3 β -friedelanol (**BS2**), stigmast-4-en-3-one (**BS3**), (-)-epiafzelechin (**BS4**), 4-hydroxybenzaldehyde (**BS5**) và 4-hydroxybenzoic acid (**BS6**), 3,4,5-trimethoxyphenyl- β -D-glucopyranoside (**BS7**).

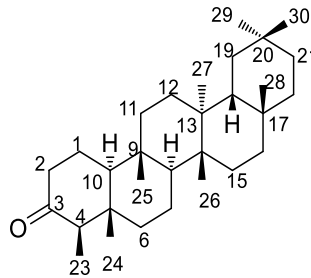
Cấu trúc các chất được phân lập từ lá của loài *B. sylvestris* được biểu diễn như Hình 3.78.



Hình 3.78. Cấu trúc của các hợp chất được phân lập từ lá của loài *B. sylvestris*

3.2.1. Hợp chất BS1: friedelin

Hợp chất **BS1** có cấu trúc được trình bày như sau:



Hình 3.79. Cấu trúc của hợp chất **BS1**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL20.2) của hợp chất **BS1** cho thấy các tín hiệu của khung friedelane gồm: 4 nhóm methine tại δ_{H} 2,27 (q, $J = 7,0$ Hz, H-4), 1,56 (m, H-18), 1,55 (m, H-10), và 1,40 (m, H-8); 11 nhóm methylene gồm 2 nhóm tại δ_{H} 2,38 (m, $\text{H}_{\text{a}}-2$) và 2,29 (m, $\text{H}_{\text{b}}-2$), 1,96 (m, $\text{H}_{\text{a}}-1$) và 1,69 (m, $\text{H}_{\text{b}}-1$), và 9 nhóm còn lại dạng trùng lặp tại δ_{H} 1,75-0,94 (m, $9 \times \text{H}_2$); 8 nhóm methyl tại δ_{H} 1,18 (3H, s, H-28), 1,05 (3H, s, H-27), 1,01 (3H, s, H-26), 1,00 (3H, s, H-30), 0,95 (3H, s, H-29), 0,88 (3H, d, $J = 6,5$, H-23), 0,87 (3H, s, H-25), 0,72 (3H, s, H-24).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL20.3) và DEPT (PL20.4) của hợp chất **BS1** cho 30 carbon tương ứng gồm: 1 carbonyl tại δ_{C} 213,1 (C-3); 4 nhóm methine tại δ_{C} 59,5 (C-10), 58,2 (C-4), 53,1 (C-8), 42,8 (C-18); 6 carbon bậc 4 tại δ_{C} 42,1 (C-5), 39,7 (C-13), 38,3 (C-14), 30,0 (C-17), 37,5 (C-9), 28,2 (C-20); 11 nhóm methylene tại δ_{C} 41,5 (C-6), 41,5 (C-2), 39,3 (C-22), 36,0 (C-16), 35,6 (C-11), 35,4 (C-19), 32,8 (C-21), 32,4 (C-15), 30,5 (C-12), 22,3 (C-1), và 18,3 (C-7); 8 nhóm methyl tại δ_{C} 35,0 (C-29),

32,1 (C-28), 31,8 (C-30), 20,3 (C-26), 18,7 (C-27), 18,0 (C-25), 14,7 (C-24), 6,8 (C-23).

Phổ HMBC (PL20.6 đến PL20.9) cho các tương tác xa giữa H-4 (δ_H 2,27)/C-3 (δ_C 213,1)/C-10 (δ_C 59,5)/C-5 (δ_C 42,1)/C-24 (δ_C 14,7)/C-23 (δ_C 6,8); giữa H-2a (δ_H 2,38)/C-3 (δ_C 213,1)/C-10 (δ_C 59,5)/C-1 (δ_C 22,3); giữa H₃-28 (1,18)/C-18 (δ_C 42,8)/C-21 (δ_C 32,8)/C-17 (δ_C 30,0); H₃-27 (1,05)/C-18 (δ_C 42,8)/C-13 (δ_C 39,7)/C-12 (δ_C 30,5); H₃-26 (1,01)/C-8 (δ_C 53,1)/C-13 (δ_C 39,7)/C-14 (δ_C 38,3)/C-15 (δ_C 32,8); H₃-30 (1,00)/C-19 (δ_C 35,4)/C-29 (δ_C 35,0)/C-20 (δ_C 28,2); H₃-29 (0,96)/C-19 (δ_C 35,4)/C-30 (δ_C 31,8)/C-20 (δ_C 28,2); H₃-23 (δ_H 0,88)/C-4 (δ_C 58,2)/C-5 (δ_C 42,1); H₃-25 (0,87)/C-10 (δ_C 59,5)/C-8 (δ_C 53,1)/C-9 (δ_C 37,5)/C-11 (δ_C 35,6); H₃-24 (δ_H 0,72)/C-10 (δ_C 59,5)/C-4 (δ_C 58,2)/C-5 (δ_C 42,1)/C-6 (δ_C 41,3) đã xác định vị trí của nhóm carbonyl, cấu trúc của vòng A và vị trí các nhóm methyl.

Phổ khối ESI-MS (PL20.1) cho pic ion phân tử dương giả phân tử cộng proton tại m/z: 427 [M+H]⁺ cùng với dữ kiện phổ ¹³C-NMR và phổ DEPT của nó đã xác định công thức phân tử của hợp chất **BS1** là C₃₀H₅₀O (M=426).

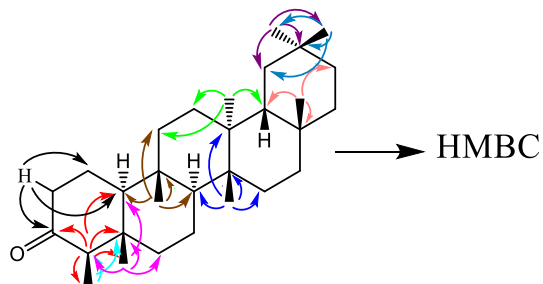
Từ kết quả phân tích dữ liệu phổ 1D- và 2D-NMR, ESI-MS của hợp chất **BS1** và so sánh với tài liệu [141] xác định rằng hợp chất **BS1** là friedelin (3-friedelanone). Hợp chất friedelin được phân lập từ loài *Lingnania chungii* McClure [141]. Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C-NMR của hợp chất **BS1** và tài liệu được trình bày trong Bảng 3.15.

Bảng 3.15. Số liệu phổ ¹H-, ¹³C-NMR đo trong CDCl₃ của hợp chất **BS1** và chất tham khảo

Vị trí C	BS1		Friedelin[141]
	δ_H^a (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^b	δ_C^c
1	1,96 (m), 1,69 (m)	22,3	22,3
2	2,38 (m), 2,29 (m)	41,5	41,5
3	-	213,1	213,2
4	2,27 (q, $J = 7,0$)	58,2	58,2
5	-	42,1	42,1
6	1,75 (m), 1,27 (m)	41,3	41,3
7	1,48 (m), 1,40 (m)	18,2	18,2
8	1,40 (m)	53,1	53,1
9	-	37,5	37,4
10	1,55 (m)	59,5	59,4
11	1,46 (m), 1,28 (m)	35,6	35,6
12	1,35 (m)	30,5	30,5
13	-	39,7	39,7
14	-	38,3	38,3

15	1,51 (m), 1,29 (m)	32,4	32,4
16	1,57 (m), 1,38 (m)	36,0	36,0
17	-	30,0	30,0
18	1,56 (m)	42,8	42,8
19	1,37 (m), 1,20 (m)	35,4	35,3
20	-	28,2	28,1
21	1,48 (m), 1,28 (m)	32,8	32,7
22	1,49 (m), 0,94 (m)	39,3	39,2
23	0,88 (d, 6,5)	6,8	6,8
24	0,72 (s)	14,7	14,6
25	0,87 (s)	18,0	17,9
26	1,01 (s)	20,3	20,2
27	1,05 (s)	18,7	18,6
28	1,18 (s)	32,1	32,1
29	0,96 (s)	35,0	35,0
30	1,00 (s)	31,8	31,8

^a 500 MHz, ^b 125 MHz, ^c 100 MHz

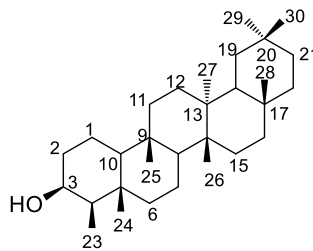


Hình 3.80. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất **BS1**

Hợp chất friedelin là hợp chất thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh với khả năng ức chế tối đa là 52,5% ($P < 0,05$) tại liều lượng 40 mg/kg trong thí nghiệm thử khả năng kháng viêm đối với chứng phù nề ở chuột [142].

3.2.2. Hợp chất **BS2**: 3 β -friedelanol

Hợp chất **BS2** có cấu trúc được trình bày như sau:



Hình 3.81. Cấu trúc của hợp chất **BS2**

Tương tự như hợp chất **BS1**, phổ ¹H-NMR (*PL21.2*) của hợp chất **BS2** cho các tín hiệu của khung friedelane trong đó 5 nhóm methine bao gồm δ_H 3,73 (1H, br d, $J = 2,0$ Hz H-3), 1,54 (1H, m, H-18), 1,28 (1H, m, H-8), 1,22 (1H, m, H-4), 0,90 (1H, br d, $J=12,5$ Hz, H-10); 11 nhóm methylene CH₂ cho các tín hiệu trùng

lập tại δ_H 1,90-0,91 (m, $11 \times H_2$); và 8 nhóm methyl tại δ_H 1,17 (3H, s, H-28), 1,01 (3H, s, H-27), 1,00 (3H, m, H-30), 0,99 (3H, m, H-26), 0,97 (3H, s, H-24), 0,95 (3H, s, H-29), 0,94 (3H, d, $J = 7,5$, H-23), 0,86 (3H, m, H-25). Mặt khác hằng số tương tác J nhỏ của H-3 tại δ_H 3,73 (br d, $J = 2$ Hz) chứng tỏ rằng nguyên tử H-3 nằm ở hướng *equatorial* (H-3 α) còn nhóm OH thì ở hướng *axial* (3 β -OH) [143].

Phổ ^{13}C -NMR (PL21.3) và DEPT (PL21.4) cho thấy hợp chất **BS2** có 30 carbon trong đó 5 nhóm methine trong đó nhóm oxymethine tại δ_C 72,8 (C-3), 61,4 (C-10), 53,2 (C-8), 49,2 (C-4), 42,9 (C-18); 11 nhóm CH_2 tại δ_C 41,8 (C-6), 39,3 (C-22), 36,1 (C-16), 36,1 (C-2), 35,4 (C-11), 35,2 (C-19), 32,9 (C-21), 32,4 (C-15), 30,7 (C-12), 17,6 (C-7), 15,8 (C-1); 6 carbon bậc 4 tại δ_C 39,7 (C-14), 38,4 (C-9), 37,9 (C-13), 37,1 (C-5), 30,0 (C-17), 28,2 (C-20); 8 nhóm CH_3 tại δ_C 35,0 (C-29), 32,1 (C-28), 31,8 (C-30), 20,1 (C-26), 18,7 (C-27), 18,3 (C-25), 16,4 (C-24), 11,6 (C-23).

Phổ HMBC (PL21.6 đến PL21.8) chỉ ra các tương tác chính bao gồm H₃-28 (δ_H 1,17)/C-22 (δ_C 39,3)/C-16 (δ_C 35,6)/C-17 (δ_C 30,0); H₃-27 (δ_H 1,01)/C-18 (δ_C 42,9)/C-14 (δ_C 39,7)/C-13 (δ_C 38,4)/C-12 (δ_C 30,7); H₃-30 (δ_H 1,00)/C-19 (δ_C 35,2)/C-29 (δ_C 35,0)/C-21 (δ_C 32,9)/C-20 (δ_C 28,2); H₃-26 (δ_H 0,99)/C-8 (δ_C 53,2)/C-14 (δ_C 39,7)/C-15 (δ_C 32,4); H₃-24 (δ_H 0,97)/C-4 (δ_C 49,2)/C-6 (δ_C 41,8)/C-5 (δ_C 37,9); H₃-29 (δ_H 0,95)/C-19 (δ_C 35,2)/C-21 (δ_C 32,9)/C-30 (δ_C 31,8)/C-20 (δ_C 28,2); H₃-23 (δ_H 0,94)/C-3 (δ_C 72,8)/C-4 (δ_C 49,2)/C-5 (δ_C 37,9); H₃-25 (δ_H 0,86)/C-10 (δ_C 61,4)/C-8 (δ_C 53,2)/C-9 (δ_C 37,1)/C-11 (δ_C 35,4), đã xác định vị trí của nhóm carbonyl và các nhóm methyl.

Phổ khối ESI-MS (PL21.1) cho pic ion dương giả phân tử cộng proton tại m/z : 429,1 $[M+H]^+$ cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất của hợp chất **BS2** là $C_{30}H_{52}O$ ($M = 428$).

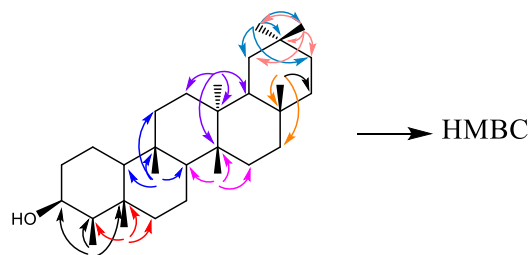
Dựa trên cơ sở phân tích dữ liệu phổ 1D-, 2D-NMR, phổ ESI-MS và so sánh tài liệu [144] khẳng định hợp chất **BS2** là: 3 β -friedelanol. Hợp chất 3 β -friedelanol lần đầu được phân lập từ loài *Vitis trifolia* [144] thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh với khả năng ức chế phủ nề ở chuột tối đa là 51% ($P < 0,05$) tại liều lượng 40 mg/kg [145].

Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **BS2** và ^{13}C -NMR của chất tham khảo được trình bày trong Bảng 3.16.

Bảng 3.16. Số liệu ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CDCl_3 của hợp chất **BS2** và chất tham khảo

Vị trí C	BS2		3β -Friedelanol[144]
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
1	1,55*, 1,43 (m)	15,8	15,8
2	1,55*, 1,34*	36,1	35,2
3	3,73 (br d, 2,0)	72,8	72,8
4	1,25*	49,2	49,2
5	-	37,9	37,1
6	1,74 (dt, 3,0; 13,0), 0,97*	41,8	41,7
7	1,39 (m)	17,6	17,6
8	1,27*	53,2	53,2
9	-	37,1	38,4
10	0,90 (br d, 12,5)	61,4	61,4
11	1,55*, 1,20 (m)	35,4	35,3
12	1,34*, 1,31*	30,7	30,6
13	-	38,4	37,8
14	-	39,7	39,7
15	1,47*, 1,27*	32,4	32,3
16	1,43*, 1,14*	35,6	36,1
17	-	30,0	30,0
18	1,54 (m)	42,9	42,8
19	1,90 (dt, 2,5; 10,5), 1,55*	35,2	35,6
20	-	28,2	28,2
21	1,47*, 1,27*	32,9	32,8
22	1,47*, 0,91*	39,3	39,3
23	0,94 (d, 7,5)	11,6	11,6
24	0,97 (s)	16,4	16,4
25	0,86 (s)	18,3	18,2
26	0,99 (s)	20,1	18,6
27	1,01 (s)	18,7	20,1
28	1,17 (s)	31,8	31,8
29	0,95 (s)	35,0	35,0
30	1,00 (s)	32,1	32,1

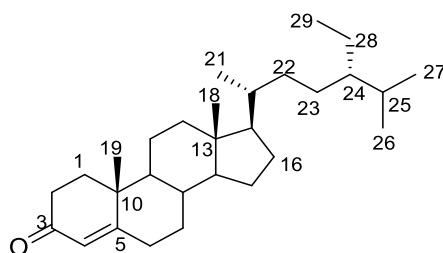
^a 500 MHz, ^b125 MHz, ^c400 MHz, ^e125 MHz; *trùng chập



Hình 3.82. Một số tương tác chính trong phổ HMBC của hợp chất **BS2**

3.2.3. Hợp chất BS3: stigmast-4-en-3-one

Hợp chất **BS3** có cấu trúc được trình bày như sau:



Hình 3.83. Cấu trúc của hợp chất **BS3**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (PL22.2) của hợp chất **BS3** cho thấy các tín hiệu của khung stigmastane gồm tín hiệu 1 olefinic proton ở δ_{H} 5,72 (1H, s, H-4) và các tín hiệu trùng chập của proton thuộc 11 nhóm CH_2 và 7 nhóm methine. Ngoài ra còn có 6 nhóm methyl trong đó có 1 triplet tại δ_{H} 1,81 (3H, m, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,5$, H-21), 0,89 (3H, t, $J = 7,5$, H-29), 3 doublet tại δ_{H} 0,84 (3H, d, $J = 7,0$, H-26), 0,82 (3H, d, $J = 6,5$, H-26), và 2 singlet tại δ_{H} 0,71 (3H, s, H-18).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (PL22.3) và DEPT (PL22.4) cho thấy hợp chất **BS3** có 29 carbon trong đó 1 carbon của nhóm carbonyl tại δ_{C} 199,6 (C-3); 2 carbon olefinic carbon tại δ_{C} 123,7 (C-4) và 171,7 (C-5) và 6 nhóm CH_3 bao gồm δ_{C} 19,8 (C-26), 19,0 (C-27), 18,7 (C-21), 17,4 (C-19), 11,9 (C-29), 12,0 (C-18). Các giá trị còn lại được trình bày trong *Bảng 3.17*.

Phổ HMBC (PL22.6 đến PL22.9) chỉ ra các tương tác chính bao gồm H-4 (δ_{H} 5,72)/C-3 (δ_{C} 199,6)/C-10 (δ_{C} 38,6); H₂-2 (δ_{H} 2,42; 1,68)/C-3 (δ_{C} 199,6); H₂-1 (δ_{H} 2,01; 1,32)/C-3 (δ_{C} 199,6)/C-5 (δ_{C} 171,7); và độ chuyển dịch hóa học ở trường thấp cho thấy rõ vị trí của nhóm carbonyl và nhóm olefine. Các tương tác HMBC khác bao gồm H₃-19 (δ_{H} 1,18)/C-5 (δ_{C} 171,7)/C-9 (δ_{C} 53,8)/C-10 (δ_{C} 38,6)/C-1 (δ_{C} 35,6); H₃-21 (δ_{H} 0,92)/C-20 (δ_{C} 36,1)/C-22 (δ_{C} 33,9)/C-21 (δ_{C} 18,7); H₃-29 (δ_{H} 0,89)/C-24 (δ_{C} 45,9)/C-28 (δ_{C} 23,1); H₃-26 (δ_{H} 0,84)/C-24 (δ_{C} 45,9)/C-25 (δ_{C} 29,2)/C-27 (δ_{C} 19,0); H₃-27 (δ_{H} 0,82)/C-24 (δ_{C} 45,9)/C-25 (δ_{C} 29,2)/C-26 (δ_{C} 19,8); H₃-18 (δ_{H} 0,71)/C-17 (δ_{C} 56,0)/C-13 (δ_{C} 42,4)/C-12 (δ_{C} 39,7). Các tương tác này chứng tỏ rằng methyl groups (H-18), (H-19), (H-21), (H-25), (H-26), (H-27), (H-29) gắn vào các vị trí C-10, C-13, C-20, C-24, C-25, C-28.

Phổ khối ESI-MS của hợp chất **BS3** (PL22.1) cho pic ion phân tử dương giả phân tử cộng proton tại m/z : 413 $[M+H]^+$ cùng với dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **BS3** là $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ ($M = 412$).

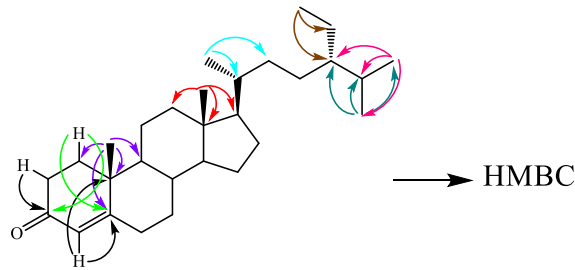
Từ các kết quả phân tích phổ 1D- và 2D-NMR và phổ ESI-MS và tài liệu [146] khẳng định hợp chất **BS3** là: stigmast-4-en-3-one. Hợp chất stigmast-4-en-3-one có hoạt tính kháng viêm ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} là $15,9 \mu\text{M}$ [147].

Số liệu phổ $^1\text{H-}$, $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **BS3** và $^{13}\text{C-NMR}$ của chất tham khảo stigmast-4-en-3-one được trình bày trong dữ liệu phổ ở *Bảng 3.17*.

Bảng 3.17. Số liệu phổ $^1\text{H-}$, $^{13}\text{C-NMR}$ đo trong CDCl_3 của hợp chất **BS3** và chất tham khảo

Vị trí C	BS3		Stigmast-4-en-3-one[146]
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
1	2,01 (m), 1,32 (m)	35,6	35,7
2	2,42 (m), 1,68 (m)	34,0	33,9
3	-	199,6	198,9
4	5,72 (1H, s)	123,7	123,6
5	-	171,7	171,0
6	2,39 (m), 2,26 (m)	33,0	32,9
7	1,83 (m), 1,01 (m)	32,1	32,1
8	1,51 (m)	35,7	35,7
9	0,92*	53,8	53,8
10	-	38,6	38,6
11	1,50 (m), 1,42 (m)	21,1	21,0
12	2,02 (m), 1,15 (m)	39,7	39,5
13	-	42,4	42,4
14	1,00 (m)	55,9	55,9
15	1,60 (m), 1,30 (m)	24,2	24,1
16	1,86 (m), 1,28 (m)	28,2	28,1
17	1,11 (m)	56,0	56,1
18	0,71 (s)	12,0	12,0
19	1,18 (m)	17,4	17,4
20	1,36 (m)	36,1	36,1
21	0,92 (d, 6,5)	18,7	18,7
22	2,32 (m), 1,02 (m)	33,9	34,0
23	1,16 (m)	26,1	26,0
24	0,91 (m)	45,9	45,8
25	1,66 (m)	29,2	29,1
26	0,84 (d, 7,0)	19,8	19,8
27	0,82 (d, 6,5)	19,0	19,2
28	1,28 (m), 1,22 (m)	23,1	23,1
29	0,85 (d, 7,5)	11,9	11,1

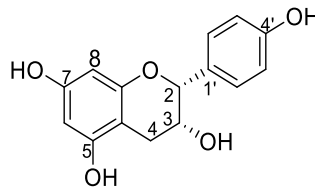
^a 500 MHz, ^b125 MHz, ^c100 MHz, *trùng chập



Hình 3.84. Một số tương tác chính HMBC của hợp chất **BS3**

3.2.4. Hợp chất **BS4**: (-)-epiafzelechin

Hợp chất **BS4** được xác định là (-)-epiafzelechin với cấu trúc như sau:



Hình 3.85. Cấu trúc của hợp chất **BS4**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (*PL23.2* đến *PL23.4*) của hợp chất **BS4** cho những tín hiệu của một flavanol với 3 vòng A, B, C, Những tín hiệu vòng thơm hệ AA'BB' của vòng B tại δ_{H} 7,34 (2H, dd, $J = 2,0; 7,5$ Hz, H-2', H-6') và δ_{H} 6,80 (2H, dd, $J = 2,5; 7,0$ Hz, H-3', H-5'); hai proton meta của vòng A tại δ_{H} 5,95 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-8) và 5,97 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-6); những tín hiệu của vòng C gồm hai proton nhóm oxymethine của vòng C ở δ_{H} 4,89 (1H, s, H-2) và 4,20 (1H, br s, H-3); và 2 proton không tương đương của nhóm methylene ở δ_{H} 2,89 (1H, dd, $J = 4,5; 16,5$ Hz, $\text{H}_{\alpha-4}$) và 2,76 (1H, dd, $J = 2,5; 16,5$ Hz, $\text{H}_{\beta-4}$). Mặt khác, hằng số tương tác nhỏ $J_{2,3}$ của H-2 (s) và H-3 (m) ứng với các giá trị tại δ_{C} 79,9 (C-2) và δ_{C} 67,4 (C-3) xác nhận rằng H-2 và H-3 ở dạng cấu hình 2,3-*cis*-[137].

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (*PL23.5*) của hợp chất **BS4** cho các tín hiệu của 15 carbon gồm 6 carbon methine sp^2 tại δ_{C} 129,2 (C-2', C-6'), 115,8 (C-3', C-5'), 96,5 (C-6) và 95,9 (C-8); 4 carbon bậc 4 sp^2 liên kết với oxy tại δ_{C} 158,0 (C-7), 157,9 (C-4'), 157,7 (C-5) và 157,4 (C-9); 2 carbon bậc 4 sp^2 tại δ_{C} 131,6 (C-1') và 100,1 (C-10); 2 carbon methine sp^3 liên kết với oxy tại δ_{C} 79,9 (C-2) và 67,4 (C-3); và 1 carbon methylene tại δ_{C} 29,3 (C-4).

Phổ khối ESI-MS (*PL23.1*) cho pic ion dương giả phân tử cộng natri tại m/z ESI-MS: m/z 297,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ cùng với dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **BS4** là $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ ($M = 274$).

Từ các kết quả phân tích phổ 1D-NMR, phổ khối ESI-MS, so sánh với tài liệu [148] và góc quay cực riêng của hợp chất **BS4** là $[\alpha]_D = -41^\circ$ (MeOH; c 0,1) khẳng định hợp chất **BS4** là (-)-epiafzelechin. Hợp chất (-)-epiafzelechin là hợp chất có hoạt tính kháng viêm cao tại liều lượng 100 mg/kg trong việc điều trị chứng phù nề ở chuột do tác nhân carrageenin [149].

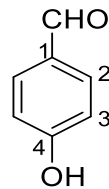
Bảng 3.18. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **BS4** đo trong CD_3OD và chất tham khảo

Vị trí C	BS4		(-)-Epiapfzelechin [148]	
	δ_C^a	δ_H^b (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^c	δ_H^d (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	-	-	-	-
2	79,9	4,89 (br s)	80,1	4,87 (br s)
3	67,4	4,20 (br s)	67,6	4,18 (br s)
4	29,3	2,89 (dd, 4,5; 16,5) $\text{H}_{\alpha-4}$ 2,76 (dd, 2,5; 16,5) $\text{H}_{\beta-4}$	29,5	2,87 (dd, 4,9; 16,8) $\text{H}_{\alpha-4}$ 2,74 (dd, 2,8; 16,8) $\text{H}_{\beta-4}$
5	157,7	-	157,7	-
6	96,5	5,95 (d, 2,5)	95,7	5,94 (d, 2,1)
7	158,0	-	157,9	-
8	95,9	5,97 (d, 2,5)	96,0	5,91 (d, 2,1)
9	157,4	-	157,6	-
10	100,1	-	100,2	-
1'	131,6	-	131,8	-
2'	129,2	7,34 (dd, 2; 7,0)	129,3	7,31 (d, 8,4)
3'	115,8	6,80 (dd, 2,5; 7,0)	115,9	6,78 (d, 8,4)
4'	157,9	-	158,1	-
5'	115,8	6,80 (dd, 2,5; 7,0)	115,9	6,78 (d, 8,4)
6'	129,2	7,34 (dd, 2,0; 7,0)	129,3	7,31 (d, 8,4)

^a125 MHz, ^b500 MHz, ^c175 MHz, ^d700 MHz

3.2.5. Hợp chất **BS5**: 4-hydroxybenzaldehyde

Hợp chất **BS5** có cấu trúc của hợp chất **BS5** được trình bày như sau:



Hình 3.86. Cấu trúc của hợp chất **BS5**

Kết quả phổ ^1H -NMR (*PL24.2*) của hợp chất này cho thấy những tín hiệu của hệ thống vòng thơm A2B2 bao gồm các tín hiệu proton tại δ_H 9,73 (CHO) và 4 proton thơm ở vị trí ortho tại δ_H 7,76 (1H, dd, $J = 2,0; 7,0$ Hz, H-2, H-6), 6,88 (1H, dd, $J = 2,0; 7,0$ Hz, H-3, H-5). Phổ ^{13}C -NMR (*PL24.3*) cho tín hiệu của 7 carbon gồm 1

carbon carbonyl tại δ_C 192,7 (CHO), và 6 carbon thơm tại δ_C 167,4 (C-4), 133,6 (C-2, C-6), 129,3 (C-1) và 117,5 (C-3, C-5).

Phổ ESI-MS (*PL24.1*) của **BS5** cho ion dương giả phân tử cộng proton $[M+H]^+$ tại m/z : 123 cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **BS5** là $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ ($M = 122$).

Dựa trên kết quả phân tích phổ ^1H -, ^{13}C -NMR và phổ ESI-MS, so sánh dữ liệu phổ của **BS5** với tài liệu [150] khẳng định hợp chất **BS5** là 4-hydroxybenzaldehyde.

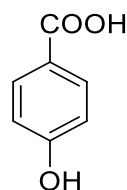
Bảng 3.19. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất **BS5** và chất tham khảo

Vị trí C	BS5		4-Hydroxybenzaldehyde[150]
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
1	-	129,3	130,4
2	7,76 (2,0; 7,0)	133,6	133,6
3	6,88 (2,0;7,0)	117,5	117,0
4	-	167,4	165,3
5	6,88 (2,0; 7,0)	117,5	117,0
6	7,76 (2,0; 7,0)	133,6	133,6
CHO	9,73 (s)	192,7	193,0

^a500 MHz, ^b125 MHz, ^c100 MHz.

3.2.6. Hợp chất **BS6**: 4-hydroxybenzoic acid

Hợp chất **BS6** có cấu trúc được trình bày như sau:



Hình 3.87. Cấu trúc của hợp chất **BS6**

Tương tự như hợp chất **BS5**, các tín hiệu proton của hợp chất **BS6** (*PL25.2*) bao gồm của 2 cặp proton ortho tại δ_{H} 7,89 (1H, dd, $J = 2,5; 6,5$ Hz, H-2, H-6), 6,84 (1H, dd, $J = 2,5; 6,5$ Hz, H-3, H-5). Phổ ^{13}C -NMR (*PL25.3*) cho tín hiệu của 7 carbon gồm 1 carbon carbonyl tại δ_{C} 170,1 (COOH), và 6 carbon thơm tại δ_{C} 163,3 (C-4), 122,7 (C-1), 133,0 (C-2, C-6), 116,0 (C-3, C-5).

Phổ ESI-MS (*PL25.1*) cho ion dương giả phân tử $[M-\text{H}_2\text{O}+ \text{H}]^+$ tại m/z : 121 cùng với dữ kiện phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của nó đã xác định CTPT của hợp chất **BS6** là $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$.

Dựa trên kết quả phân tích 1D-NMR và phổ ESI-MS, so sánh dữ liệu phổ của **BS6** với tài liệu [150] khẳng định hợp chất **BS6** là 4-hydroxybenzoic. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của hợp chất **BS6**, chất tham khảo 4-hydroxybenzoic được trình bày trong Bảng 3.20.

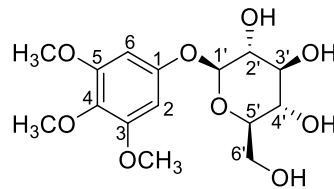
Bảng 3.20. Số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR đo trong CD_3OD của hợp chất **BS6** và chất tham khảo

Vị trí C	BS6		4-Hydroxybenzoic[150]
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{c}}$
1	-	122,7	123,2
2	7,89 (dt, 2,5; 6,5)	133,0	133,4
3	6,84 (dt, 3,0; 8,5)	116,0	116,4
4	-	163,3	163,7
5	6,84 (dt, 3; 8,5)	116,0	116,4
6	7,89 (dt, 2,5; 6,5)	133,0	133,4
COOH	-	170,1	170,5

^a500 MHz, ^b125 MHz, ^c100 MHz

3.2.7. Hợp chất **BS7**: 3,4,5-trimethoxyphenol-1-O- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **BS7** được xác định là 3,4,5-trimethoxyphenol-1-O- β -D-glucopyranoside có cấu trúc như sau:



Hình 3.88. Cấu trúc của hợp chất **BS7**

Phổ ^1H -NMR (PL26.2 và PL26. 4) cho thấy hợp chất **BS7** có dạng khung phenolic glycoside gồm hợp phần 3,4,5-trimethoxyphenyl tại δ_{H} 6,51 (2H, s, H-2, H-6), 3,83 (6H, s, 3,5-OMe), 3,72 (3H, s, 4-OMe) và hợp phần đường β -glucopyranosyl tại δ_{H} 4,83 (1H, trùng chập, H-1'), 3,94 (1H, dd, $J = 2,5; 12,5$ Hz, $\text{H}_{\text{b}}-6'$), 3,68 (1H, dd, $J = 6,5; 12,5$ Hz $\text{H}_{\text{a}}-6'$), 3,60 (1H, dd, $J = 8,0; 9,5$ Hz, H-4'), 3,49 (1H, dd, $J = 6,5; 9,0$ Hz, H-2'), 3,46 (1H, m, H-5'), 3,45 (1H, dd, $J = 8,0; 9,0$ Hz, H-3'). Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT (PL26.5, PL26.6) chỉ ra các tín hiệu của 12 carbon bao gồm 6 carbon thơm (2 carbon nhóm CH (C-2 và C-6) và 4 carbon bậc 4) tại 156,0 (C-1), 154,8 (C-3, C-5), 134,5 (C-4), 96,2 (C-2, C-6) và 6 carbon của vòng

glucopyranosyl bao gồm 5 carbon nhóm methine no (C-1' đến C-5') và 1 nhóm methylen CH₂ (C-6') tại δ_C 103,2 (C-1'), 78,4 (C-5'), 78,1 (C-3'), 74,9 (C-2'), 71,7 (C-4'), 62,8 (C-6'). 3 giá trị carbon còn lại là của 3 nhóm methoxy tại 61,2 (C-(4-OMe)), 56,6 (C-(3,5-OMe)).

Phổ khối ESI-MS (PL26.1) cho ion âm giả phân tử nhường proton tại m/z 345 [M-H]⁻ cùng với dữ kiện phổ ¹³C-NMR và phổ DEPT của nó xác định CTPT của hợp chất **BS7** là C₁₅H₂₂O₉ (M = 346).

Trên cơ sở phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR và phổ ESI-MS, góc quay cực riêng của hợp chất **BS7** là $[\alpha]_D = -17^\circ$ (MeOH; c 0,1) so sánh với tài liệu [151] khẳng định hợp chất **BS7** là 3,4,5-trimethoxyphenol-1-*O*- β -D-glucopyranoside. Số liệu ¹H-, ¹³C-NMR của hợp chất **BS7** và chất tham khảo được trình bày trong *Bảng 3.21*.

Bảng 3.21. Số liệu ¹H-, ¹³C-NMR đo trong CD₃OD của hợp chất **BS7** và chất tham khảo

Vị trí C	3,4,5-Trimethoxyphenol-1- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside [151]	BS7		
	δ_H^a (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^b	δ_H^c (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^d
1	-	156,1	-	156,0
2	6,51 (s)	96,1	6,51 (s)	96,2
3	-	154,8	-	154,8
4	-	134,5	-	134,5
5	-	154,8	-	154,8
6	6,51 (s)	96,1	6,51 (s)	96,2
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
1'	4,83 (d, 7,4)	103,2	4,83 (trùng chập)	103,2
2'	3,40-3,49 (m)	75,0	3,49 (dd, 6,5; 9,0)	75,0
3'		78,4	3,45 (dd, 8,0; 9,0)	78,4
4'	3,37 (m)	71,7	3,60 (dd, 8,0; 9,0)	71,7
5'	3,40-3,49 (m)	78,1	3,46 (m)	78,1
6'	3,94 (m, H _a -6')	62,7	3,68 (dd, 6,5; 12,5, H _a -6')	62,8
	3,63 (m, H _b -6')		3,94 (dd, 2,5; 12,5; H _b -6')	
3-MeO	3,83 (s)	56,5	3,83 (s)	56,6
4-MeO	3,73 (s)	61,2	3,72 (s)	61,2
5-MeO	3,83 (s)	56,5	3,83 (s)	56,6

^a600 MHz, ^b150 MHz, ^c500 MHz, ^d125 MHz

3.3. Hoạt tính sinh học của cao chiết và các hợp chất sạch được phân lập từ loài *A. chinense* và loài *B. sylvestris*

3.3.1. Kết quả thử hoạt tính sinh học của một số cao chiết từ loài *A. chinense* và loài *B. sylvestris*

Các phép thử hoạt tính độc tế bào được thực hiện theo phương pháp của Monks [113]. Các kết quả thu được được trình bày trong *Bảng 3.22*.

Bảng 3.22. Kết quả thử độc tính tế bào của một số cao chiết loài *A. chinense* và loài *B. sylvestris*

STT	Tên mẫu	Giá trị IC ₅₀ trên các dòng tế bào (µg/ml)			
		KB	HepG2	Lu	MCF7
1	AH	114,78	102,02	88,37	102,24
2	AE	20,55	71,86	72,05	105,6
3	AFH	143,03	144,41	103,8	>256
4	AFE	105,25	136,68	134,1	>256
5	BH	116,67	128,68	196,06	150,71
6	BE	150,33	149,21	114,8	>256
Ellipticine		0,34	0,37	0,41	0,47

AH, AE; AFH, AFE: cao chiết hexane, cao chiết ethyl acetate từ lá; hoa của loài *A. chinense*, BH, BE: Cao chiết hexane, ethyl acetate từ lá của loài *B. sylvestris*.

Ghi chú: Dãy nồng độ thử: 256, 51,2, 10,24, 2,04 và 0,40 µg/ml

Kết quả thử độc tính của các cao chiết cho thấy chỉ có cao chiết AE là cần chiết ethyl acetate phần lá của loài *A. chinense* có hoạt tính chọn lọc trên dòng tế bào ung thư KB với IC₅₀ = 20,55 µg/ml. Tất cả các cao chiết còn lại đều cho hoạt tính yếu hoặc không có hoạt tính với các dòng tế bào ung thư thử nghiệm KB, HepG2, Lu và MCF7.

3.3.2. Kết quả thử hoạt tính độc tế bào của một số hợp chất chọn lọc từ loài *A. chinense*

Trên cơ sở kết quả thử độc tính tế bào các cao chiết của 2 loài, chúng tôi đã chọn lọc một số hợp chất phân lập được từ cao chiết ethyl acetate của loài *A. chinense* cho việc thử tác dụng gây độc tế bào tiếp theo của chúng. Các kết quả được trình bày trong *Bảng 3.23*.

Bảng 3.23. Kết quả thử độc tính tế bào của 7 hợp chất từ loài A. chinense

Chất thử nghiệm	IC ₅₀ (µM) ^{a)}				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
AC1	89,3±6,6	118,2±9,4	95,6±9,3	71,0±6,2	102,8±8,9
AC2	94,6 ± 5,0	132,2± 9,1	138,1±8,6	104,5±7,4	109,4±2,0
AC3	>200	>200	>200	>200	>200
AC4	88,5 ±8,4	143,5±10,7	140,1±6,3	120,1±6,9	99,0±6,2
AC5	>100	>100	>100	>100	>100
AC6	118,0±10,0	141,3±14,8	146,0±8,8	96,8±12,7	113,0±11,9
AC7	92,6±6,9	139,6±13,5	153,9±13,7	127,9±8,9	124,7±13,8
Ellipticine ^{b)}	1,6±0,2	1,8±0,1	2,0±0,2	1,8±0,2	1,5±0,2

^{a)}IC₅₀ là nồng độ ức chế 50% sự phát triển của tế bào; các hợp chất đã được kiểm tra ở nồng độ cực đại 200 µM và dữ liệu trung bình của 3 lần thực nghiệm lặp lại. ^{b)} Ellipticine là chất đối chứng dương.

Các chất được phân lập từ phân đoạn ethyl acetate từ phần lá của loài *A. chinense* bao gồm **AC1, AC2, AC3, AC4, AC5, AC6** và **AC7**, được đánh giá về hiệu lực gây độc tế bào của chúng bằng thử nghiệm MTT đối với các dòng tế bào ung thư KB, SK-LU-1, MCF7, HepG2 và SW480 sử dụng Ellipticine làm đối chứng dương tính. Kết quả cho thấy hợp chất **AC5** và **AC3** không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào, các hợp chất còn lại **AC4, AC1, AC2, AC6** và **AC7** có hoạt tính ức chế yếu 5 dòng tế bào thử nghiệm trong dãy IC₅₀ 71,0-146,0 µM.

Các cao chiết phân đoạn thể hiện độc tính tế bào với các giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng từ 20,55 đến 153,9 µM. Tuy nhiên, hiệu lực của các hợp chất phân lập **AC1, AC2, AC4, AC6** và **AC7** được chỉ ra bởi giá trị IC₅₀ cao hơn nhiều so với hiệu lực của các cao chiết phân đoạn (*Bảng 3.23*). Quan sát này hỗ trợ rằng các hợp chất được phân lập ít gây độc tế bào hơn trong thử nghiệm đơn lẻ so với các chất chiết phân đoạn. Các kết quả cho thấy rằng các hợp chất từ chiết xuất lá của loài *A. chinense* có thể có tác dụng hiệp đồng trong thử nghiệm độc tính tế bào.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Lần đầu tiên ở Việt Nam và trên thế giới, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của 2 loài *Amesiodendron chinense* và loài *Baccaurea sylvestris* đã được nghiên cứu.

1. Thành phần hóa học

Từ loài *A. chinense* thu hái tại Đà Nẵng đã phân lập được 18 hợp chất:

- 12 hợp chất được phân lập từ lá gồm 3 hợp chất flavone C-glucoside mới là amesiflavone A (**AC1**), amesiflavone B (**AC2**) và amesiflavone C (**AC3**); 4 hợp chất lignan là (+)-aptosimon (**AC4**), (+)-isolariciresinol (**AC5**), (-)-cleomiscosin A (**AC6**), (-)-cleomiscosin C (**AC7**); 2 hợp chất steroid là β -sitosterol (**AC8**) và daucosterol (**AC9**); và 3 hợp chất phenolic là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (**AC10**), protocatechuic acid methyl ester (**AC11**), và protocatechuic acid (**AC12**).

- 6 flavonoid được phân lập từ hoa gồm 3 flavonol là astragalin (**AC13**), kaempferide 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**AC14**), và quercetin 3-*O*- β -D-glucoside (**AC15**); 2 flavanol là (-)-epi-catechin (**AC16**) và (-)-catechin (**AC17**); 1 hợp chất flavone là chrysoeriol (**AC18**); và 1 hợp chất mới đã được phân lập trùng với hợp chất được phân lập từ lá là amesiflavone C (**AC3**).

- Từ lá của loài *B. sylvestris* thu hái tại Gia Lai đã phân lập được 7 hợp chất, trong đó có 2 hợp chất triterpenoid là friedelin (**BS1**) và 3 β -friedelanol (**BS2**); một steroid là stigmast-4-en-3-one (**BS3**); một flavanol là (-)-epiafzelechin (**BS4**); và 3 hợp chất phenol là 4-hydroxybenzaldehyde (**BS5**), 4-hydroxybenzoic acid (**BS6**) và 3,4,5-trimethoxyphenyl- β -D-glucopyranoside (**BS7**).

2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết, các hợp chất phân lập từ 2 loài *A. chinense* và *B. sylvestris*

- Đã thử hoạt tính độc tế bào một số cao chiết với 4 dòng tế bào KB, LU, MCF7 và HepG2, kết quả cho thấy cặn chiết ethyl acetate phần lá của loài *A. chinense* có hoạt tính mạnh với tế bào KB với $IC_{50} = 20,55 \mu\text{g/ml}$. Tất cả các cặn chiết còn lại đều cho hoạt tính yếu hoặc không có hoạt tính với 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm.

- Đã chọn 7 hợp chất **AC4**, **AC5**, **AC1**, **AC2**, **AC3**, **AC6** và **AC7** cho việc đánh giá độc tế bào với các dòng tế bào KB, LU, MCF7, HepG2 và SW480, kết quả cho

thấy các hợp chất từ loài *A. chinense* có hoạt tính độc tế bào yếu trong dãy $IC_{50} = 71,0 - 146,0 \mu M$ hoặc không có hoạt tính độc tế bào.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Lần đầu tiên, loài *A. chinense* (Merr.) Hu thuộc họ Bồ hòn (Sapindaceae) và loài *B. sylvestris* Lour thuộc họ Diệp hạ châu (Phyllanthaceae) đã được nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học một cách chi tiết. 25 hợp chất được phân lập từ 2 loài, trong đó có 3 chất mới (**AC1, AC2, AC3**) và 15 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Amentsiodendron* (**AC3, AC4-AC18**); còn lại 7 hợp chất được phân lập lần đầu tiên từ loài *B. sylvestris* Lour (**BS1-BS7**).

KIẾN NGHỊ

Các kết quả nghiên cứu trên hai loài *A. chinense* (Merr.) Hu và *B. sylvestris* Lour, cho thấy loài *A. chinense* và *B. sylvestris* có thành phần hóa học phong phú như các hợp chất *C*-glucoside, các lignan và các triterpene, dẫn xuất phenolic, đó là các lớp chất có rất nhiều hoạt tính sinh học quý báu. Trong đó các hợp chất flavonoid từ hoa của loài *A. chinense* là những hợp chất quý báu có nhiều ứng dụng trong dược phẩm. Tuy nhiên, cần được tiếp tục tiến hành nghiên cứu thêm, sâu hơn hoạt tính sinh học của chúng để làm cơ sở phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Ho Van Ban**, Trinh Thi Thanh Van, Vu Van Chien, Nguyen Thi Hue, Pham Thi Hang, Nguyen Le Tuan, Nguyen Xuan Nhiem, Pham Van Cuong, Nguyen Quoc Vuong, *Lignans from leaves of Amesiodendron Chinense and their cytotoxic activity*, Vietnam Journal of Science and Technology, 2020, 58(4) 442-449. Doi:10.15625/2525-2518/58/4/14877.
2. **Ho Van Ban**, Trinh Thi Thanh Van, Vu Van Chien, Nguyen Thi Hue, Pham Thi Hang, Pham Van Cuong, Nguyen Le Tuan, Nguyen Quoc Vuong, *Flavonoids from flowers of Amesiodendron Chinense*, Vietnam Journal of Science and Technology, 2020, 58(6), 676-684. doi:10.15625/2525-2518/58/6/15127.
3. **Ho Van Ban**, Trinh Thi Thanh Van, Vu Van Chien, Nguyen Thi Hue, Pham Thi Hang, Nguyen Le Tuan, Marc Litaudon, Chau Van Minh, Pham Van Cuong, Nguyen Quoc Vuong, Nguyen Xuan Nhiem, *Flavone C-glycosides from the leaves of Amesiodendron chinense*, Phytochemistry Letters, 2020, 40 105-108. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.09.017>.
4. **Ho Van Ban**, Vu Van Chien, Nguyen Thi Hue, Pham Thi Hang, Nguyen Le Tuan, Hoang Nu Thuy Lien, Nguyen Quoc Vuong, *Phenolic compounds from leaves of Amensiodendron chinense (Sapindaceae)*, Hue University Journal of Science: Natural Science, 2021, Vol. 130, No. 1B, 53–57. DOI: 10.26459/hueunijns.v130i1B.6169.
5. **Ho Van Ban**, Vu Van Chien, Nguyen Thi Hue, Pham Thi Hang, Phạm Văn Cường, Nguyen Quoc Vuong, Nguyen Le Tuan, *Anti-inflammatory activity and phytochemistry of the leaf extracts of Baccaurea sylvestris Lour.* (đã submit trên tạp chí khoa học và công nghệ Việt Nam).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://www.who.int/vietnam/health-topics/cancer>. (Accessed 30-12-2018).
2. *France-Vietnamese cooperation project*, <https://psn-ext.icsn.cnrs-gif.fr/Initial/Authentication.php> (Accessed 15-6-2016).
3. <https://en.wikipedia.org/wiki/Sapindaceae>.(Accessed 15-6-2020)
4. N.T. Bân, *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản nông nghiệp, 2003, Hà Nội, tập 2,1016.
5. H.M. Tâm, N.K. Khôi, V.X. Phương, *Bổ sung loài Amensiodendron tienlinense H. S. Lo cho hệ thực vật Việt Nam*, Tạp chí Sinh học, 2007, 29(1), 37-39.
6. H.M. Tâm, N.K. Khôi, V.X. Phương, *Hệ thống phân loại và khóa định loại các chi trong Họ bồ hòn (Sapindaceae juss.) có ở Việt Nam*, tạp chí Sinh Học, 2004, 26(3), 29-33.
7. P.H. Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, 2003, Thành phố Hồ Chí Minh, tập 2, 326.
8. G. Sachin, K. Dileep, M. Gopal and S. Shivali, *Medicinal plants of the genus Sapindus (Sapindaceae) - a review of their botany, phytochemistry, biological activity and traditional uses*, Journal of Drug Delivery & Therapeutics, 2014, 4(5), 7-20.
9. A.L. Meyer Albiero, E.M. Bacchi and K.S.M. Mourão, *Characterização anatômica das folhas, frutos e sementes de Sapindus saponaria L. (Sapindaceae)*, Acta Scientiarum, 2001, 23(2), 549-560.
10. A. Upadhyay and DK. Singh, *Pharmacological effects of Sapindus mukorossi*, Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2012, 54(5), 273-280.
11. VN. Meena, M. Rajakohila, LAM. Syndia, PN. Prasad and VN. Ariharan, *Multifaceted uses of Soapnut Tree – A mini review*, Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 2012, 3(1), 420-424.
12. F. Beshah, Y. Hunde, M. Getachew, R.K. Bachheti, A. Husen and A. Bachheti, *Ethnopharmacological, phytochemistry and other potential applications of Dodonaea genus: A comprehensive review*, Current Research in Biotechnology, 2020, 2, 103-119.

13. V. Srivastava, B. Viswakarma, P. Deep, H. Awasthi, S. Verma, R. Vishnoi and S.K. Verma, *A phytopharmacological review of Litchi chinensis*, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 2018, 51(1), 58-65.
14. S. C. Chhabra, R. L. Mahunnah, E. N. Mshiu, *Plants used in traditional medicine in Eastern Tanzania. V. Angiosperms (Passifloraceae to Sapindaceae)*, J Ethnopharmacol, 1991, 33, 143-57.
15. W.H. Lin, Z.W. Deng, H.M. Lei, H.Z. Fu and J. Li, *Polyphenolic compounds from the leaves of Koelreuteria paniculata Laxm*, Journal of Asian Natural Products Research, 2002, 4(4), 287-295.
16. T. Kanchanapoom, R. Kasai and K. Yamasaki, *Acetylated triterpene daponins from the Thai medicinal plant Sapindus emarginatus*, Chem. Pharm. Bull., 2001, 49 (9), 1195-1197.
17. A. Ito, H.B. Chai, L.B.S Kardono, F.M Setowati, J.J Afriastini, S. Riswan, N. R Farnsworth, G.A Cordell, J.M Pezzuto, S.M Swanson, A.D. Kinghorn, *Saponins from the bark of Nephelium maingayi*, Journal of Natural Products 2004, 67(2), 201-205.
18. H.C. Huang, W.J. Tsai, S. L M. Natschke, H. Tokuda, K.H. Lee, Y.C. Wu, Y.H. Kuo, *Sapnmusaponins F-J bioactive Tirucallane-type saponins from the galls of S. Mukorossi*, J.Nat.Prod, 2006, 69(5), 763-767.
19. S. Saha, S. Walia, J. Kumar, S. Dhingra and B.S. Parmar, *Screening for feeding deterrent and insect growth regulatory activity of triterpenic saponins from Diploknema butyracea and Sapindus mukorossi*, Food Chem., 2010, 58, 434-440.
20. I. Mahmoud, F. A. Moharram, M. S. Marzouk, H. S. Soliman, R. A. el-Dib, *Two new flavonol glycosides from leaves of Koelreuteria paniculata*, Pharmazie, 2001, 56(7), 580-582.
21. H. M. Niu, D. Q. Zeng, C. L. Long, Y. H. Peng, Y. H. Wang, J. F. Luo, H. S. Wang, Y. N. Shi, G. H. Tang & F. W. Zhao, *Clerodane diterpenoids and prenylated flavonoids from Dodonaea viscosa*, Journal of Asian Natural Products Research, 2010, 12(1), 7-14.
22. L.S. Teffo, M.A. Aderogba and J.N. Eloff, *Antibacterial and antioxidant activities of four kaempferol methyl ethers isolated from Dodonaea viscosa*

- Jacq. var. angustifolia leaf extracts*, South African Journal of Botany, 2010, 76(1), 25-29.
23. L. K. Omosa, J. O. Midiwo, S. Derese, A. Yenesew, M. G. Peter & M. Heydenreich, *neo-Clerodane diterpenoids from the leaf exudate of Dodonaea angustifolia*, Phytochemistry Letters, 2010, 3, 217-220.
 24. B.S. Simpson, D.J. Claudie, N.M. Smith, J.P. Gerber, R.A. McKinnon and S.J. Semple, *Flavonoids from the leaves and stems of Dodonaea polyandra: A Northern Kaanju medicinal plant*, Phytochemistry, 2011, 72(14), 1883-1888.
 25. L.B. Zhang, J. Ji, C. Lei, H.Y. Wang, Q.S. Zhao and A.J. Hou, *Isoprenylated flavonoid and adipogenesis-promoting constituents of Dodonaea viscosa*, Journal of Natural Products, 2012, 75(4), 699-706.
 26. L.K. Omosa, B. Amugune, B. Ndunda, T.K. Milugo, M. Heydenreich, A. Yenesew and J.O. Midiwo, *Antimicrobial flavonoids and diterpenoids from Dodonaea angustifolia*, South African Journal of Botany, 2014, 91, 58-62.
 27. A. Muhammad, G. Tel-Cayan, M. Öztürk, S. Nadeem, M.E. Duru, I. Anis, S.W. Ng and M.R. Shah, *Biologically active flavonoids from Dodonaea viscosa and their structure-activity relationships*, Industrial Crops and Products, 2015, 78, 66-72.
 28. Y. Melaku, T. Worku, Y. Tadesse, Y. Mekonnen, J. Schmidt, N. Arnold and E. Dagne, *Antiplasmodial compounds from leaves of Dodonaea angustifolia*, Current Bioactive Compounds, 2017, 13(3), 268-273.
 29. T. Ngabaza, M.M. Johnson, S. Moeno and M. Patel, *Identification of 5,6,8-Trihydroxy-7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one with antimicrobial activity from Dodonaea viscosa var. angustifolia*, South African Journal of Botany, 2017, 112, 48-53.
 30. D. Zhang, P.C. Quantick and J.M. Grigor, *Changes in phenolic compounds in Litchi (Litchi chinensis Sonn.) fruit during postharvest storage*, Postharvest Biology and Technology, 2000, 19(2), 165-172.
 31. K. Nagendra Prasad, B. Yang, S. Yang, Y. Chen, M. Zhao, M. Ashraf and Y. Jiang, *Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (Litchi sinensis Sonn.) seeds*, Food Chemistry, 2009, 116(1), 1-7.

32. L. Liu, B. Xie, S. Cao, E. Yang, X. Xu and S. Guo, *A-type procyanidins from Litchi chinensis pericarp with antioxidant activity*, Food Chem, 2007, 105, 1446-1451.
33. X. Xu, H. Xie, Y. Wang and X. Wei, *A-type proanthocyanidins from lychee seeds and their antioxidant and antiviral activities*, J Agric Food Chem, 2010, 58(22), 11667-72.
34. J. Sun, L. Li, X. R. You, C. B. Li, E. Zhang, Z. C. Li, G. L. Chen and H. X. Peng, *Phenolics and polysaccharides in major tropical fruits: chemical compositions, analytical methods and bioactivities*, Anal. Methods, 2011, 3, 2212-2220.
35. K. Hoffmann-Bohm, H. Lotter, O. Seligmann and H. Wagner, *Antihepatotoxic C-glycosylflavones from the leaves of Allophylus edulis var. edulis and gracilis*, Planta Med, 1992, 58(6), 544-8.
36. C. Cardoso, R. Coelho, N. Honda, A. Pott, F. Pavan and C. Leite, *Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of Serjania erecta Radlk. (Sapindaceae)*, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 49, 775-782.
37. C.C. Guimarães, D.D. Oliveira, M. Valdevite, A.L. Saltoratto, S.I. Pereira, C. França Sde, A.M. Pereira and P.S. Pereira, *The glycosylated flavonoids vitexin, isovitexin, and quercetrin isolated from Serjania erecta Radlk (Sapindaceae) leaves protect PC12 cells against amyloid- β 25-35 peptide-induced toxicity*, Food Chem Toxicol, 2015, 86, 88-94.
38. Y. Xue, W. Wang, Y. Liu, R. Zhan and Y. Chen, *Two new flavonol glycosides from Dimocarpus longan leaves*, Nat Prod Res, 2015, 29(2), 163-8.
39. M. Arisawa, S.S. Handa, D.D. McPherson, D.C. Lankin, G.A. Cordell, H.H. Fong and N.R. Farnsworth, *Plant anticancer agents XXIX. Cleomiscosin A from Simaba multiflora, Soulamea soulameoides, and Matayba arborescens*, J Nat Prod, 1984, 47(2), 300-7.
40. Hemlata and S.B. Kalidhar, *Chemical components of Dodonaea viscosa stems*, Journal of the Indian Chemical Society, 1994, 71(4), 213-214.
41. Y.N. Song, H.L. Zhang, C.J. Chang and D.M. Bollag, *Cytotoxic cyclolignans from Koelreuteria henryi*, Journal of Natural Products, 1994, 57(12), 1670-1674.

42. J.P. Chávez, J.M. David, S.W. Yang and G.A. Cordell, *24-Norhopene Derivatives from Diatenopteryx sorbifolia*, Journal of Natural Products, 1997, 60(9), 909-911.
43. T.H. Lee, Y.H. Chiang, C.H. Chen, P.Y. Chen and C.K. Lee, *A new flavonol galloylrhamnoside and a new lignan glucoside from the leaves of Koelreuteria henryi Dummer*, J Nat Med, 2009, 63(2), 209-14.
44. Z. Ma, X. Zhang, L. Cheng and P. Zhang, *Three lignans and one coumarinolignoid with quinone reductase activity from Eurycorymbus cavaleriei*, Fitoterapia, 2009, 80(6), 320-6.
45. G. Jiang, S. Lin, L. Wen, Y. Jiang, M. Zhao, F. Chen, K.N. Prasad, X. Duan and B. Yang, *Identification of a novel phenolic compound in litchi (Litchi chinensis Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation*, Food Chemistry, 2013, 136(2), 563-568.
46. V. Spiegler, *Anthelmintic A-type procyanidins and further characterization of the phenolic composition of a root extract from Paullinia pinnata*, Molecules 2020, 25(2287), 1-23.
47. M.M. Abou-Zaid, B.V. Helson, C. Nozzolillo and J.T. Arnason, *Ethyl mdigallate from red maple, Acer rubrum L., as the major resistance factor to forest tent caterpillar, Malacosoma disstria Hbn*, Journal of Chemical Ecology 2001, 27(12), 2517-2527.
48. R. Shafek, N.H. Shafik, H.N. Michael, A.M. El-Hagrassi and A.F. Osman. *Phytochemical studies and biological activity of Dodonaea Viscosa flowers extract*, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, 7(5), 109-116.
49. A. Fadlelmula and A. Alomari, *Antioxidant activity and total phenolic contents of Dodonaea viscosa and Capparis spinosa from Jebal Shuda in Albaha Area of Saudi Arabia*, Asian Journal of Chemistry, 2019, 31, 445-448.
50. M. Zhao, B. Yang, J. Wang, B. Li and Y. Jiang, *Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities*, Food Chemistry, 2006, 98, 539-544.
51. V. Ramamurthy, D. Rajeswari, R. Gowri, M.K. Vadivazhagi, G. Jayanthi and S. Raveendran, *Study of the phytochemical analysis and antimicrobial activity of Dodonaea Viscosa*, J. Pure Appl. Zool., 2013, 1(2), 178-184.

52. C.C. Wu, K. F. Huang, T.Y. Yang, Y. L. Li, C.L. Wen, S. L. Hsu and T.H. Chen, *The Topoisomerase I inhibitor austrobailignan-1 isolated from Koelreuteria henryi induces a G2/M-Phase Arrest and cell death independently of p53 in non-small cell lung cancer cells*, PLOS ONE, 2015, 1-18.
53. M. Zhao, B. Yang, J. Wang, Y. Liu, L. Yu and Y. Jiang, *Immunomodulatory and anticancer activities of flavonoids extracted from litchi (Litchi chinensis Sonn.) pericarp*, International Immunopharmacology, 2007, 7, 162-166.
54. H.S. Kathriarachchi, R. Samuel, P. Hoffmann, J. Mlinarec, K.J. Wurdack, H. Ralimanana, T.F. Stuessy and M.W. Chase., *Phylogenetics of tribe Phyllanthae (Phyllanthaceae) based on nrITS and plastid matK DNA sequence data*, American Journal of Botany, 2006, 93(4), 637-655.
55. <http://www.theplantlist.org/browse/A/Phyllanthaceae/Baccaurea/>.
(Accessed 7-12-2019).
56. N.T.Bân (chủ biên), *Danh lục thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản nông nghiệp 2003, Hà Nội, tập 2, 584.
57. P.H. Hộ, *Cây Cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản trẻ, 2003, Thành phố Hồ Chí Minh, tập 2, 221-222.
58. M. Allaby, D. Sainsbury, R. Allaby, T.C. Whitmore and M. Kent, *Dictionary of Plant Sciences*, Oxford, 1998, New York, 42.
59. T.N. Thang, N.T. Dung, D. Hulse, S. Sharma and G. P. Shivakoti, *Redefining diversity and dynamics of natural resourus management in Asia*, Elsevier Inc, 2017, 3, 105.
60. T.K. Charu, N.S. Chowdhury, I.B. Fatema, F.I. Liya and L. Salsabil, *Traditional and pharmacological reports of the genus Baccaurea. A Review.*, Am J Biomed Sci & Res., 2021, 11(6), 494-508.
61. X.W. Yang, J.S. Wang, Y.L. Ma, H.T. Xiao, Y.Q. Zuo, H. Lin, H.P. He, L. Li and X.J. Hao, *Bioactive phenols from the leaves of Baccaurea ramiflora*, Planta Med, 2007, 73(13), 1415-7.
62. M. Hossain, *Nutritional value and medicinal uses of minor fruits: Burmese Grape (Baccaurea ramiflora Lour.)*, International Journal of Nutrition and Food Sciences, 2017, 6, 211.

63. M. Ramjan and M. Raghavan, *Burmese grape (Baccaurea ramiflora Lour.): A promising fruit crop for future generations*, Journal of Medicinal Plants Studies, 2018, 6(3), 50-52.
64. A. Abdullah, M. Hossain and M.K.Bhuiyan, *Propagation of Latkan (Baccaurea sapida Muell. Arg.) by mature stem cutting*, Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2005, 1(2), 129-134.
65. S. Akter, T. Majumder, R. Karim, Z. Ferdous and M. Sikder, *Analgesic activities of Geodorum densiflorum, Diospyros blancoi, Baccaurea ramiflora and Trichosanthes dioica*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2015, 4(3), 29-32.
66. S.J. Uddin, J.A.Shilpi, A. Delazar, L. Nahar and S. D. Sarke, *Free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants*, Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, 2004, 4(3), 187-195.
67. A. Choudhury and N. Patel, *Pharmacognostical and physico-chemical studies of the bark of Baccaurea ramiflora Lour*, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 2016, 8(12), 1935-1939.
68. J. Britto and R. Mahesh, *Exploration of Kani tribal botanical knowledge in agasthiayamalai biosphere reserve - South India*, Ethnobotanical Leaflets, 2007, 11, 258-265.
69. AG. Sreelakshmi, N. Thomas, B. Carla and C. Sunil, *Antihyperlipidemic and antibacterial activities of Baccaurea courtallensis leaves*, Journal of Pharmaceutical Research, 2017, 1(3), 1-8.
70. P. Vazhacharickal, J. Mathew, S. N K and E. George, *Phytochemical analysis of fruit extracts of Baccaurea courtallensis and evaluation of cholesterol lowering property*, Grin Publishers, 2017, Germany, 1-32.
71. B.S. Babu and K.Surekha, *Antioxidant activity of leaf and root extracts of Baccaurea courtallensis (Wight) Muell.-Arg., Euphorbiaceae.*, International Journal of Scientific Research and Review, 2019, 8(5), 112-122.
72. M. Jasim and R.R. Nair, *Analysis of anti-oxidant and anti-inflammatory potential of Baccaurea courtallensis (Wight) Mull. Arg*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2019, 8(3), 3994-4000.

73. Kp. Aiswarya, N. S. Unnikrishnan, S. Mahesh, L. S. Nair, *Phytochemical analysis of leaf, bark and fruit extracts of Baccaurea courtallensis Muell. Arg*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2016, 5, 196-198.
74. R. Maharani and L. A. Sheba, *Preliminary phytochemical analysis and in vitro antioxidant activity of Baccaurea courtallensis*, Research J. Pharm. and Tech, 2019, 12(9), 4397-4399.
75. S. Sukmasari, O.A.J.A. Qader, M.N.A. Rahman, M. Ibrahim and A.A. Doolaanea, *The release profiles of baccaurea angulata extract from various gelling agents*, Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2018, 10, 45-50.
76. S. Galappathie, E.A. Palombo, T.C. Yeo, D.L.S. Ley, C.L. Tu, F.M. Malherbe and P.J. Mahon, *Comparative antimicrobial activity of South East Asian plants used in Bornean folkloric medicine*, Journal of Herbal Medicine, 2014, 4(2), 96-105.
77. A.B. Suwardi, Z. Ilman Navia, T. Harmawan, S. Syamsuardi and E. Mukhtar, *Ethnobotany and conservation of indigenous edible fruit plants in South Aceh, Indonesia*, BIODIVERSITAS, 2020, 21(5), 1850-1860.
78. S. Hadi, S. Wahyuono, A. Yuswanto and E. Lukitaningsih, *SPF Test from Baccaurea lanceolata Muell.Arg Fruit Isolates, Indones J Cancer Chemoprevent*, 2017, 8, 38-41.
79. S. Tisadondilok and T. Senawong, *Antioxidant activities and anticancer screening of ethanolic extracts from Baccaurea macrophylla Muell and Elateriospermum tapos Blume*, Interdisciplinary Research Review, 2017, 12(5), 11-18.
80. S. Mohamed, Z. Hassan and N.A. Hamid, *Antimicrobial activity of some tropicalfruit wastes (Guava, Starfruit, Banana, Papaya, Passionfruit, Langsat, Duku, Rambutan and Rambai)*, J. Trap. Agric. Sci., 1994, 17(3), 219-227.
81. M. Ismail, G. Bagalkotkar, S. Iqbal and H.A. Adamu, *Anticancer properties and phenolic contents of sequentially prepared extracts from different parts of selected medicinal plants indigenous to Malaysia*, Molecules, 2012, 17(5), 5745-56.

82. A. Ferdoushi, *A survey on medicinal plant usage by folk medicinal practitioners in different villages at Nalitabari Upazilla, Sherpur District, Bangladesh*, European Journal of Medicinal Plants, 2016, 11(3), 1-22.
83. M. Ahmad Hasan Salahuddin, A. Ismail, K. Kassim Nur, M. Hamid and S. Mat Ali Mohd, *Underutilised fruits: a review of phytochemistry and biological properties*, Journal of Food Bioactives, 2018, 1(1), 2-30.
84. S. Sudarmono, *Biodiversity of medicinal plants at Sambas botanical garden, West Kalimantan, Indonesia*, Journal of Tropical Life Science, 2018, 8, 116-122.
85. R. Susandarini, U. Khasanah And N. Rosalia, *Ethnobotanical study of plants used as food and for maternal health care by the Malays communities in Kampar Kiri Hulu, Riau, Indonesia*, BIODIVERSITAS, 2021, 22(6), 3111-3120.
86. S. Puja, C. Hasan and M. Ahsan, *Baccaurea ramiflora : Isolation of aldehydes and in vitro biological investigations*, Pharmacology & Pharmacy, 2020, 11, 147-157.
87. T. Usha, S.K. Middha, M. Bhattacharya, P. Lokesh and A.K. Goyal, *Rosmarinic acid, a new polyphenol from Baccaurea ramiflora Lour. Leaf: A probable compound for its anti-inflammatory activity*, Antioxidants (Basel), 2014, 3(4), 830-42.
88. H.R. Halim, D.P. Hapsari, A. Junaedi, A.W. Ritonga, A. Natawijaya, R. Poerwanto, Sobir, W.D. Widodo and D.D. Matra, *Metabolomics dataset of underutilized Indonesian fruits; rambai (Baccaurea motleyana), nangkadak (Artocarpus nangkadak), rambutan (Nephelium lappaceum) and Sidempuan salak (Salacca sumatrana) using GCMS and LCMS*, Data Brief, 2019, 23(103706), 1-3.
89. K.C. Wong, S.W. Wong, S.S. Siew and D.Y. Tie, *Volatile constituents of the fruits of lansium domesticum correa (Duku and Langsat) and baccaurea motleyana (Muell. Arg.) Muell. Arg. (Rambai)*, Flavour and Fragrance Journal, 1994, 9(6), 319-324.

90. X.W. Yang, H.P. He, Y.L. Ma, F. Wang, Y.Q. Zou, H. Lin, S.L. Li, L. Li and X.J. Hao, *Three new vanilloid from the stems of Baccaurea ramiflora*, *Planta Med*, 2010, 76, 88-90.
91. X.W. Yang, J.S. Wang, Y.L. Ma, H.T. Xiao, Y.Q. Zou, H. Lin, H.P. He, L. Li and X.J. Hao, *Bioactive phenols from theleaves of Baccaurea ramiflora*, *Letter Planta Med*, 2007, 73, 1415-1417.
92. M. Bordoloi, N. C.Mathur, A. C.Ghosh and U. RychlewAa, *Sapidolide A : An unprecedented spherical carbocyclic lactone from Baccaurea sapida seed kernels: Is it a meroisoprenoid*, *Tetrahedron Letters*, 1996, 30(30), 6791-6792.
93. I.A. Ahmed, M.A. Mikail and M. Ibrahim, *Baccaurea angulata fruit juice ameliorates altered hematological and biochemical biomarkers in diet-induced hypercholesterolemic rabbits*, *Nutr Res*, 2017, 42, 31-42.
94. Z.H. Pan, D.S. Ning, S.S. Huang, Y.F. Wu, T. Ding and L. Luo, *A new picrotoxane sesquiterpene from the berries of Baccaurea ramiflora with antifungal activity against Colletotrichum gloeosporioides*, *Natural Product Research*, 2015, 29(14), 1323-1327.
95. D. Misra and H.N. Khastgir, *Terpenoids and related compounds. V. Chemical investigation of Baccaurea sapida Muell*, *J. Indian Chem. Soc.*, 1967, 44(8), 728.
96. M.O. Ullah, K.F. Urmi, M.A. Howlader, M. Hossain, M.T. Ahmed and K. Hamid, *Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of leaves methanolic extract of baccaurea ramiflora*, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2012, 4, 266-269.
97. R. Amin and M.N. Nabi, *Evaluation of cytotoxic and antioxidant activity of different fractions of methanolic extract of Baccaurea ramiflora (Lour.) fruits*, *International Current Pharmaceutical Journal*, 2015, 4(6), 386-389.
98. M.R. Saha, P. Dey, T.K. Chaudhuri, A.K. Goyal, D.D. Sarker and A. Sen, *Assessment of haemolytic, cytotoxic and free radical scavenging activities of an underutilized fruit, Baccaurea ramiflora Lour. (Roxb.) Muell. Arg*, *Indian J Exp Biol*, 2016, 54(2), 115-25.

99. E. Erwin, W.R. Pusparohmana, I.P. Sari, R. Hairani and U. Usman, *GC-MS profiling and DPPH radical scavenging activity of the bark of Tampoi (Baccaurea macrocarpa)*, F1000Res, 2018, 7(1977), 1-19.
100. H. Widodo, S. Sismindari and W. Asmara, *Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics*, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2019, 9, 99-105.
101. M. Ibrahim, M.A. Mikail, I.A. Ahmed, N. Hazali, M.S.B.A. Rasad, R.A. Ghani, R. Hashim, S.J. Arief, M.L.M. Isa and S. Draman, *Comparison of the effects of three different Baccaurea angulata whole fruit juice doses on plasma, aorta and liver MDA levels, antioxidant enzymes and total antioxidant capacity*, Eur J Nutr, 2017, 1-12.
102. D. Parkash, C. Gupta, P. Purhpangadan and K.K.Singh, *Antioxidant and free radical scavenging activities of some promising wild edible fruits*, Internatinal Food Research Journal, 2012, 19(3), 1109-1116.
103. L. Zakaria, *Antimicrobial effect of Baccaurea angulata fruit extracts against Human Pathogenic Microorganisms*, Medicinal & Aromatic Plants, 2014, 2(10), 229-237.
104. S. Mann, A. Sharma, S. Biswas and R.K. Gupta, *Identification and molecular docking analysis of active ingredients with medicinal properties from edible Baccaurea sapida*, Bioinformation, 2015, 11(9), 437-43.
105. M. Mandal, L. Kabir, I. Khan, S.T. Haque and M.E. Haque, *Isolation of bioactive principles and studies of antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the stem bark of Baccaurea ramiflora (Euphorbiaceae)*, Bioresearch Communications, 2018, 4(2), 1-17.
106. AG. Sreelakshmi, N. Thomas, B. Carla and C. Sunil, *Antihyperlipidemic and Antibacterial activities of Baccaurea courtallensis leaves*, Journal of Pharmaceutical Research, 2017, 1(3), 1-7.
107. I. Zamzani and N. Triadisti, *Antibacterial activity of extract and fraction of Baccaurea macrocarpa leaf on Escherichia coli and Bacillus cereus*, International Summit on Science Technology and Humanity, 2019, 551-556.

108. M. Ibrahim, M.A. Mikail, I.A. Ahmed and R. Abdul Ghani, *Phenolic-rich Baccaurea angulata modulates inflammatory biomarkers of Atherosclerosis*, Journal of Nutrition and Metabolism, 2018, 1-8.
109. M.L. Nesa, S.M.S. Karim, K. Api, M.M.R. Sarker, M.M. Islam, A. Kabir, M.K. Sarker, K. Nahar, M. Asadujjaman and M.S. Munir, *Screening of Baccaurea ramiflora (Lour.) extracts for cytotoxic, analgesic, anti-inflammatory, neuropharmacological and antidiarrheal activities*, BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1), 35.
110. M. Ismail, S. Iqbal and H.A. Adamu, *Anticancer properties and phenolic contents of sequentially prepared extracts from different parts of selected medicinal plants indigenous to Malaysia*, Molecules, 2012, 17, 5745-5756.
111. M.A. Howlader, A.S. Apu, R.K. Saha, F. Rizwan, N. Nasrin and M. Asaduzzaman, *Cytotoxic activity of n-hexane, chloroform and carbon tetrachloride fractions of the ethanolic extract of leaves and stems of Baccaurea Ramiflora (Lour.)*, IJPSR, 2012, 3(3), 822-825.
112. C. Khuniad, J.W. Birkett, L. Nahar, K.J. Ritchie, S. D. Sarker, *Chemical composition and in vitro bioactivities of Amesiodendron chinense (merr.) hu seed oil*, PSE meeting, 2022, 92.
113. A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, *Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines*, J Natl Cancer Inst, 1991, 83(11), 757-66.
114. Y. Takeda, Y. Okada, T. Masuda, E. Hirata, T. Shinzato and H. Otsuka, *C,O-Bisglycosylapigenins from the leaves of Rhamnella inaequilatera*, Phytochemistry, 2004, 65(4), 463-468.
115. D. Zhu, J. Yang, X.T. Deng, M.X. Lai and Q. Wang, *A new C-glycosylflavone from Pogonatherum crinitum*, Chinese Journal of Natural Medicines, 2009, 7(3), 184-186.
116. S. Pacifico, M. Scognamiglio, B. D'Abrosca, S. Piccolella, N. Tsfantakis, M. Gallicchio, A. Ricci and A. Fiorentino, *Spectroscopic characterization and antiproliferative activity on HepG2 human hepatoblastoma cells of flavonoid*

- C-glycosides from Petrorhagia velutina*, Journal of Natural Products, 2010, 73(12), 1973-1978.
117. A.P. Carnat, A. Carnat, D. Fraisse, J.L. Lamaison, A. Heitz, R. Wylde and J.C. Teulade, *Violarvensin, a new flavone di-C-glycoside from Viola arvensis*, J Nat Prod, 1998, 61(2), 272-4.
118. T. Asai, Y. Hirayama and Y. Fujimoto, *Epi- α -bisabolol 6-deoxy- β -D-gulopyranoside from the glandular trichome exudate of Brillantaisia owariensis*, Phytochemistry Letters, 2012, 5(2), 376-378.
119. G. Zhou, R. Yan, X. Wang, S. Li, J. Lin, J. Liu and Z. Zhao, *The overlooked rotational isomerism of C-glycosyl flavonoids*, Phytochem. Rev., 2019, 18(2), 443-461.
120. T. Hatano, S. Mizuta, H. Ito and T. Yoshida, *C-Glycosidic flavonoids from Cassia occidentalis*, Phytochemistry, 1999, 52(7), 1379-1383.
121. S. Yamauchi and M. Yamaguchi, *Synthesis of (+)-Aptosimon, a 4-Oxofurofuran lignan, by erythro selective aldol condensation and stereoconvergent cyclization as the key reactions*, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(4), 838-846.
122. H. Brieskorn and H. Huber, *Vier neue Lignane aus Aptosimum spinescens (Thunbg.)*, Tetrahedron Letters, 1976, 17(26), 2221-2224.
123. A. Jutiviboonsuk, H. Zhang, G.T. Tan, C. Ma, N.V. Hung, N.M. Cuong, N. Bunyapraphatsara, D.D. Soejarto and H.H.S. Fong, *Bioactive constituents from roots of Bursera tonkinensis*, Phytochemistry, 2005, 66(23), 2745-2751.
124. Y. Jianhong, W. Liu, S. Li, H. Ye, H. Tang, L. Chen and A. Peng, *ChemInform Abstract: Coumarinolignans isolated from the Seeds of Brucea javanica*, Helvetica Chimica Acta, 2014, 97, 278-282.
125. H. Tanaka, I. Kato, K. Ichino and K. Ito, *Coumarinolignoids, Cleomiscosin A and Cleomiscosin B, from Aesculus turbinata*, Journal of Natural Products, 1986, 49(2), 366-367.
126. A.B. Ray, S.K. Chattopadhyay, S. Kumar, C. Konno, Y. Kiso and H. Hikino, *Structures of cleomiscosins, coumarinolignoids of cleome viscosa seeds* // *Liver-protective drugs. Part 21 of Tohoku University group*, Tetrahedron, 1985, 41(1), 209-214.

127. H. Tanaka, M. Ishihara, K. Ichino and K. Ito, *Total synthesis of Coumarinolignans, Aquillochin (Cleomiscosin C) and Cleomiscosin D*, Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1988, 36(10), 3833-3837.
128. A.Sadikun, I.Aminah, N.Ismail and P.Ibrahim, *Sterols and sterol glycosidé from the leaves of Gynura procumbens*, Natural Product Sciences, 1996, 2(1), 19-23.
129. W.H. Ma and L.P. Qin, *Chemical constituents of Arabidopsis thaliana*, Chemistry of Natural Compounds, 2014, 50(4), 776-777.
130. Megawatia, A. Darmawan, S. Fajriah, G. Primahana, R.T. Dewi, Minarti and L. Meiliawati, *Antioxidant and α -Glucosidase activities of benzoic acid derivate from the bark of Myristica fatua Houtt*, AIP Conference Proceedings, 2017, 1-15.
131. D.N. M.Chanh, D.J. Seo, K.Y. Kim, R.D. Park, D.H. Kim, Y.S. Han, T.H. Kim and W.J. Jung, *Nematicidal activity of 3,4-dihydroxybenzoic acid purified from Terminalia nigrovenulosa bark against Meloidogyne incognita*, Microbial Pathogenesis, 2013, (59-60), 52-59.
132. K.H. Seo, J.W. Jung, N. Thi, Y.H. Lee and N.I. Baek, *Flavonoid glycosides from the flowers of Pulsatilla koreana Nakai*, Natural Product Sciences, 2016, 22, 41-45.
133. A. Riaz, A. Rasul, G. Hussain, M.K. Zahoor, F. Jabeen, Z. Subhani, T. Younis, M. Ali, I. Sarfraz and Z. Selamoglu, *Astragalin: A bioactive phytochemical with potential therapeutic activities* ,Advances in pharmacological sciences, 2018, 1-15.
134. N. AlMusayeib, S. Perveen, I. Fatima, M. Nasir and A. Hussain, *Antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from Cordia sinensis*, Molecules, 2011, 16(12), 10214-26.
135. S.J. Choi, B.H. Tai, N.M. Cuong, Y.H. Kim and H.D. Jang, *Antioxidative and anti-inflammatory effect of quercetin and its glycosides isolated from mampat (Cratoxylum formosum)*, Food Science and Biotechnology, 2012, 21(2), 587-595.
136. D. Gutzeit, V. Wray, P. Winterhalter and G. Jerz, *Preparative isolation and purification of flavonoids and protocatechuic acid from sea Buckthorn juice*

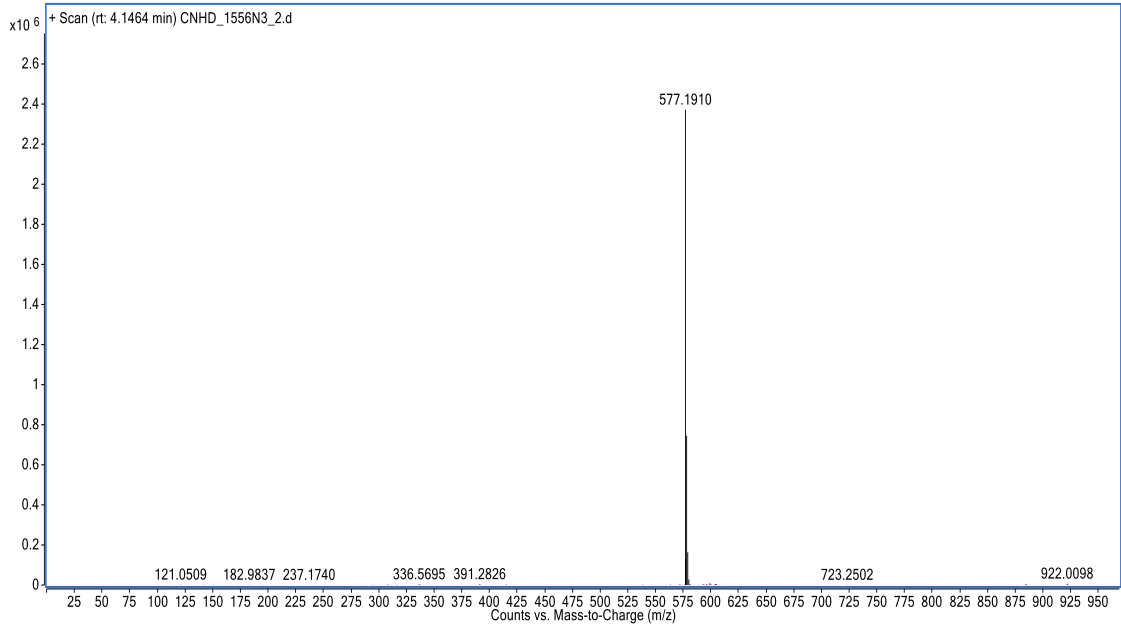
- concentrate (Hippophaë rhamnoides L. ssp. rhamnoides) by high-speed counter-current chromatography, Chromatographia, 2006, 65, 1-7.*
137. M. Abd El-Razek, *NMR assignments of four catechin epimers*, Asian Journal of Chemistry, 2007, 19, 4867-4872.
138. T.S. Martin, H. Kikuzaki, M. Hisamoto and N. Nakatani, *Constituents of Amomum tsao-ko and their radical scavenging and antioxidant activities*, Journal of the American Oil Chemists' Society, 2000, 77(6), 667.
139. L.A.L. da Silva, L.G. Faqueti, F.H. Reginatto, A.D.C. dos Santos, A. Barison and M.W. Biavatti, *Phytochemical analysis of Vernonanthurra tweedieana and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol*, Revista Brasileira de Farmacognosia, 2015, 25(4), 375-381.
140. B.H. Tai, N.M. Cuong, T.T. Huong, E.M. Choi, J.A. Kim and Y.H. Kim, *Chrysoeriol isolated from the leaves of Eurya ciliata stimulates proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells*, J Asian Nat Prod Res, 2009, 11(9), 817-23.
141. T. Akihisa, K. Yamamoto, T. Tamura, Y. Kimura, T. Iida, T. Nambara and F.C. Chang, *Triterpenoid ketones from Lingnania chungii Moench: Arborinone, Friedelin and Glutinone*, Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1992, 40(3), 789-791.
142. P. Antonisamy, V. Duraipandiyan and S. Ignacimuthu, *Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from Azima tetraacantha Lam. in mouse and rat models*, J Pharm Pharmacol, 2011, 63(8), 1070-7.
143. G.C.M. Salazar, G.D.F. Silva, L.P. Duarte, S.A. Vieira Filho and I.S. Lula, *Two epimeric friedelane triterpenes isolated from Maytenus truncata Reiss: ¹H and ¹³C chemical shift assignments*, Magnetic Resonance in Chemistry, 2000, 38(11), 977-980.
144. J.K. Kundu, A.S. Rouf, M.N. Hossain, C.M. Hasan and M.A. Rashid, *Antitumor activity of epifriedelanol from Vitis trifolia*, Fitoterapia, 2000, 71(5), 577-9.
145. M. Duwiejua, I.J. Zeitlin, A.I. Gray and P.G. Waterman, *The anti-inflammatory compounds of Polygonum bistorta: isolation and characterisation*, Planta Med, 1999, 65(4), 371-4.

146. M. Della Greca, P. Monaco and L. Previtiera, *Stigmasterols from Typha latifolia*, Journal of Natural Products, 1990, 53(6), 1430-1435.
147. S. Tewtrakul, P. Tansakul, C. Daengrot, C. Ponglimanont and C. Karalai, *Anti-inflammatory principles from Heritiera littoralis bark*, Phytomedicine, 2010, 17(11), 851-5.
148. S.S. Hong, Y.H. Choi, H.J. Suh, M.J. Kang, J.H. Shin, O.O. Kwon and J. Oh, *Flavonoid constituents of Acacia catechu*, Journal of Applied Biological Chemistry, 2015, 58, 189-194.
149. K.R. Min, B.Y. Hwang, H.S. Lim, B.S. Kang, G.J. Oh, J. Lee, S.H. Kang, K.S. Lee, J.S. Ro and Y. Kim, *(-)-Epiafzelechin: cyclooxygenase-1 inhibitor and anti-inflammatory agent from aerial parts of Celastrus orbiculatus*, Planta Med, 1999, 65(5), 460-2.
150. N.D. Hung, B.T. Zhao, D.D. Le, K.Y. Kim, Y.H. Kim, Y.H. Yoon, J.Y. Ko, K.S. Woo and M.H. Woo, *Phenolic constituents and their anti-inflammatory activity from Echinochloa utilis Grains*, Natural Product Sciences, 2016, 22(2), 140-145.
151. C. Turghun, M. Bakri, G. A. Zou, K.M. Bobakulov and H.A. Aisa, *Phenolic Compounds from leaves of Nitraria sibirica*, Chemistry of Natural Compounds, 2018, 54(5), 987-989.

PHỤ LỤC PHỔ

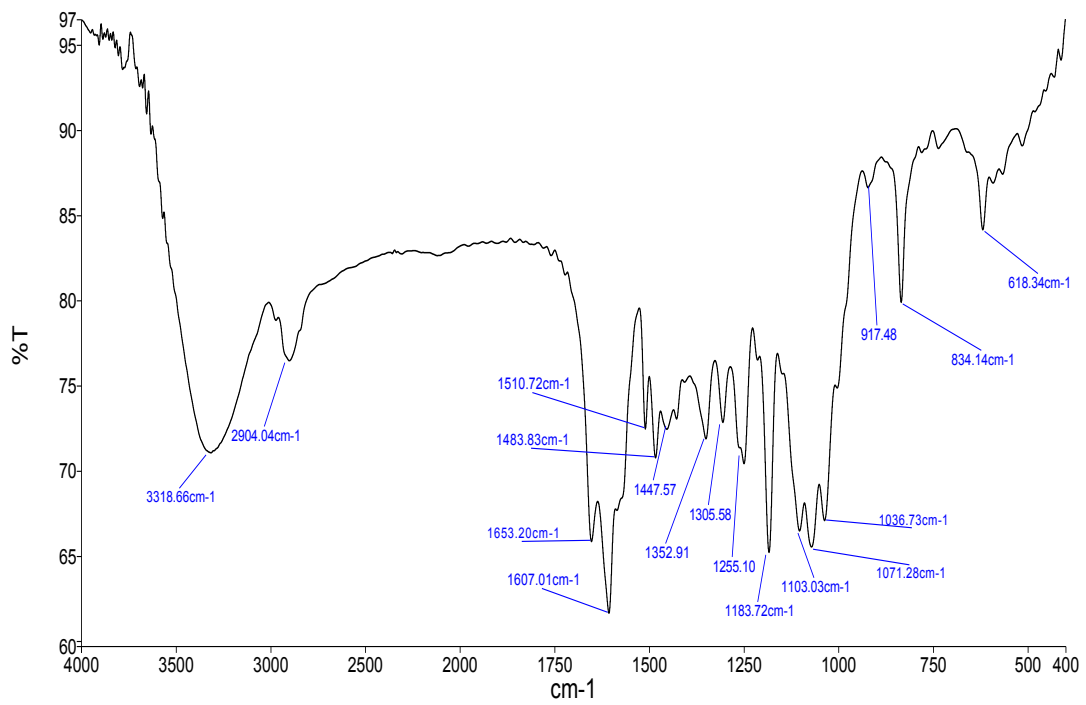
Phụ lục 1: Phổ MS, IR, UV-Vis, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC, COSY, NOESY của hợp chất AC1: amesiflavone A

• Phổ khối



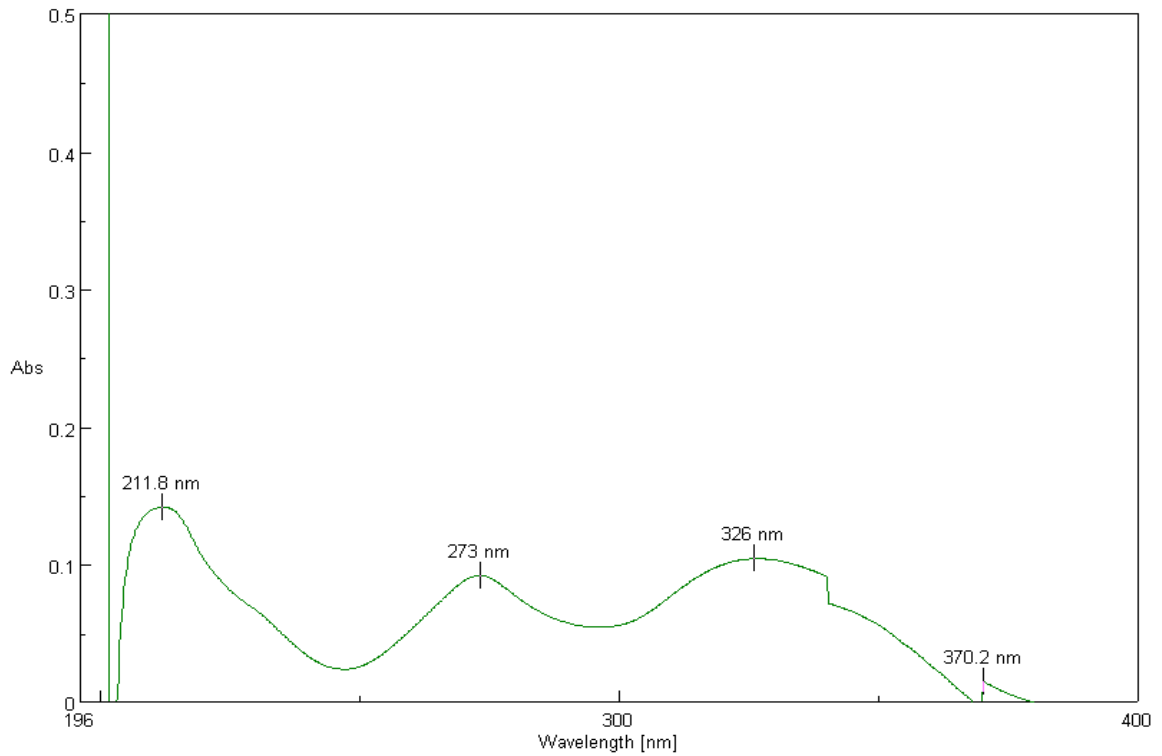
PL1.1. Phổ khối của hợp chất AC1

• Phổ IR



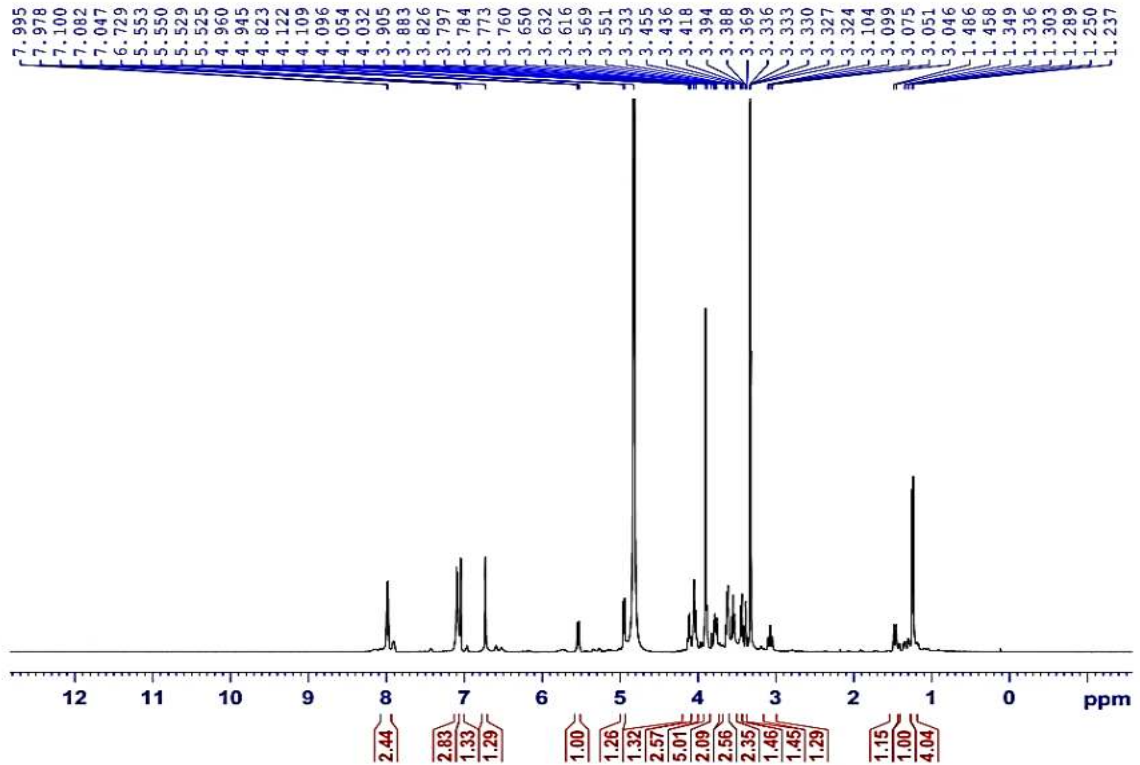
PL1.2. Phổ IR của hợp chất AC1

- Phổ UV-Vis

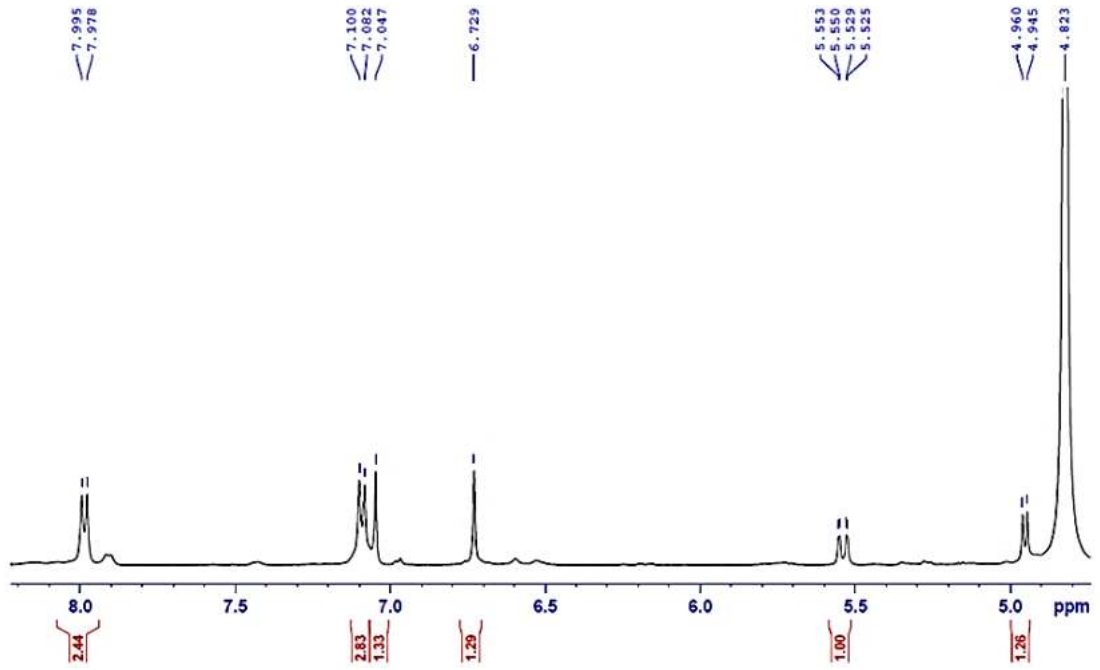


PL1.3. Phổ UV-Vis của hợp chất AC1

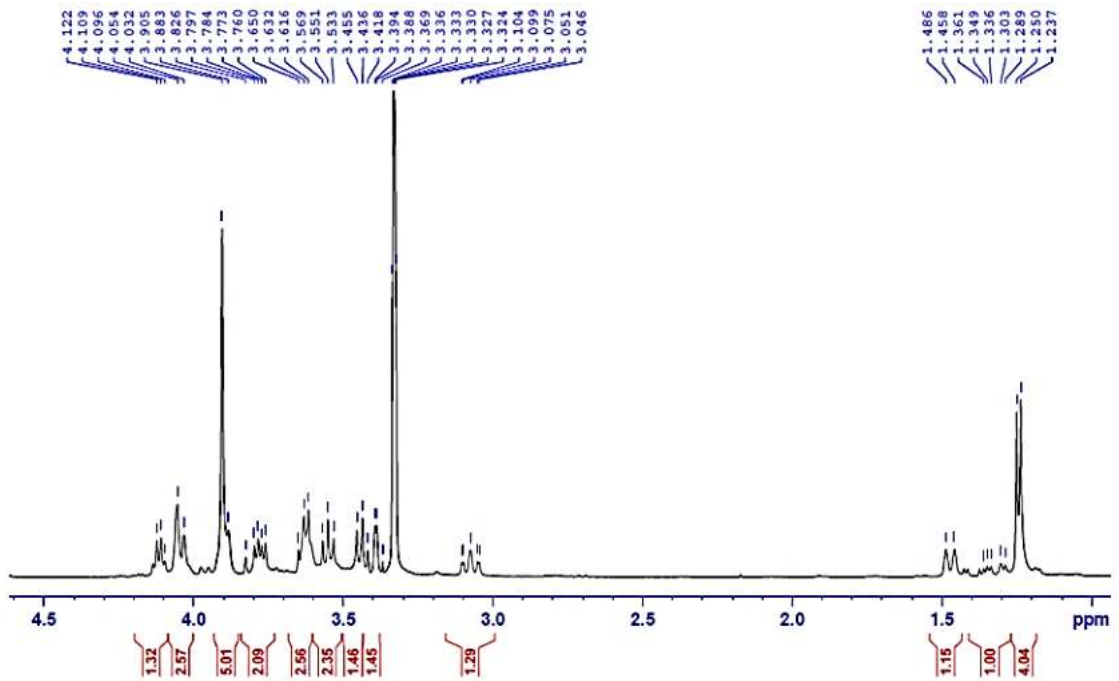
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL1.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC1

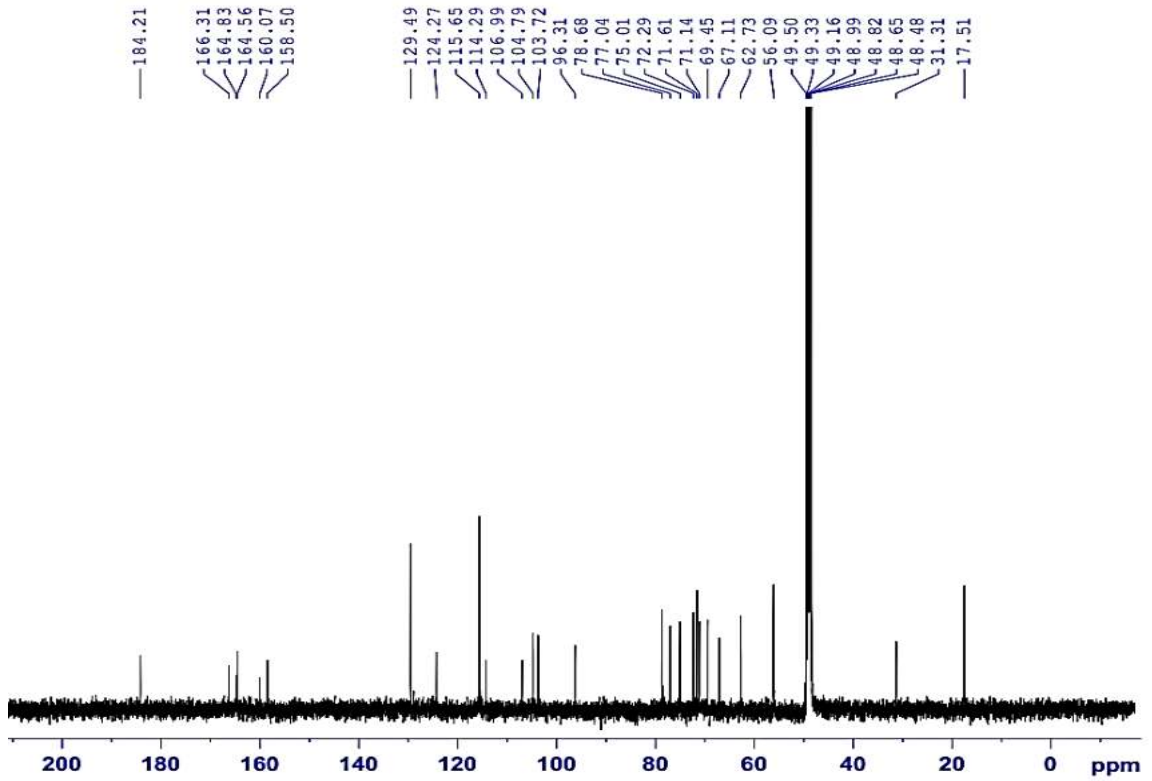


PL1.5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC1



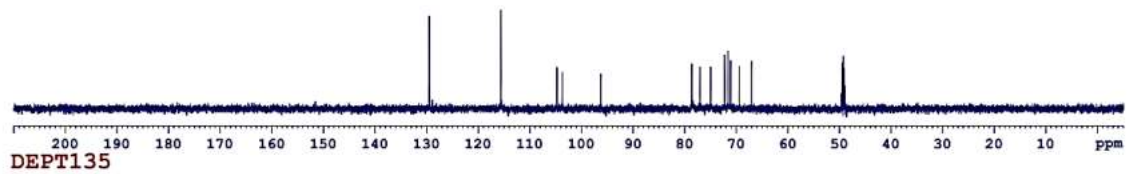
PL1.6. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC1

- Phổ ^{13}C -NMR

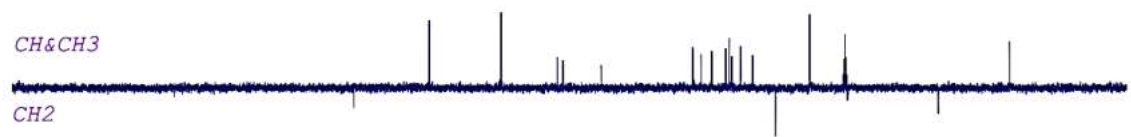


PLI.7. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC1

DEPT90

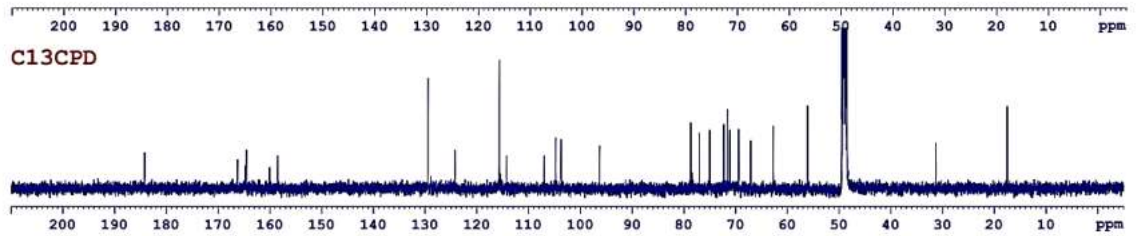


DEPT135



CH&CH3

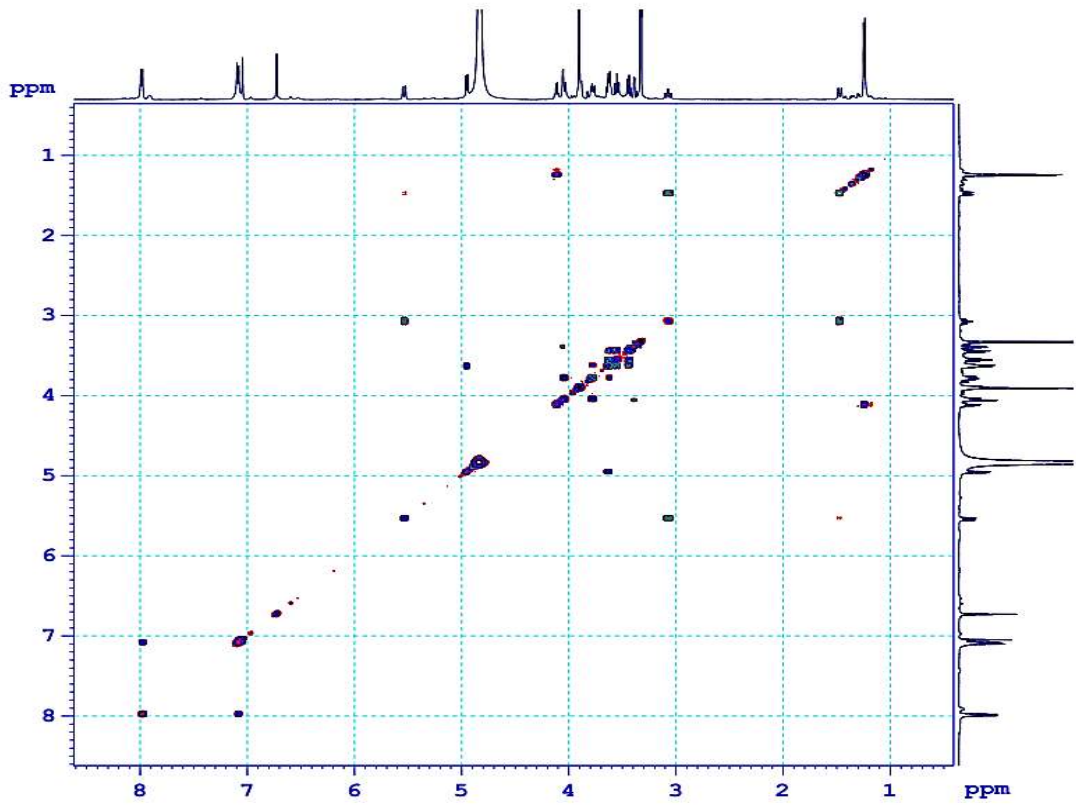
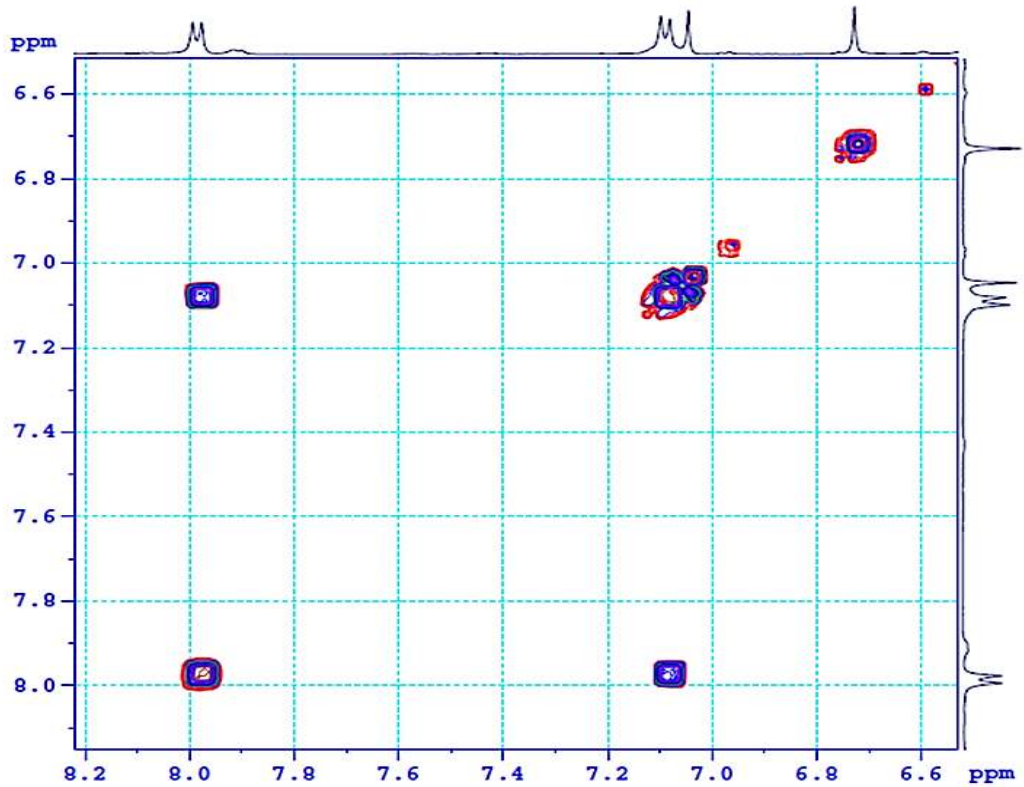
CH2

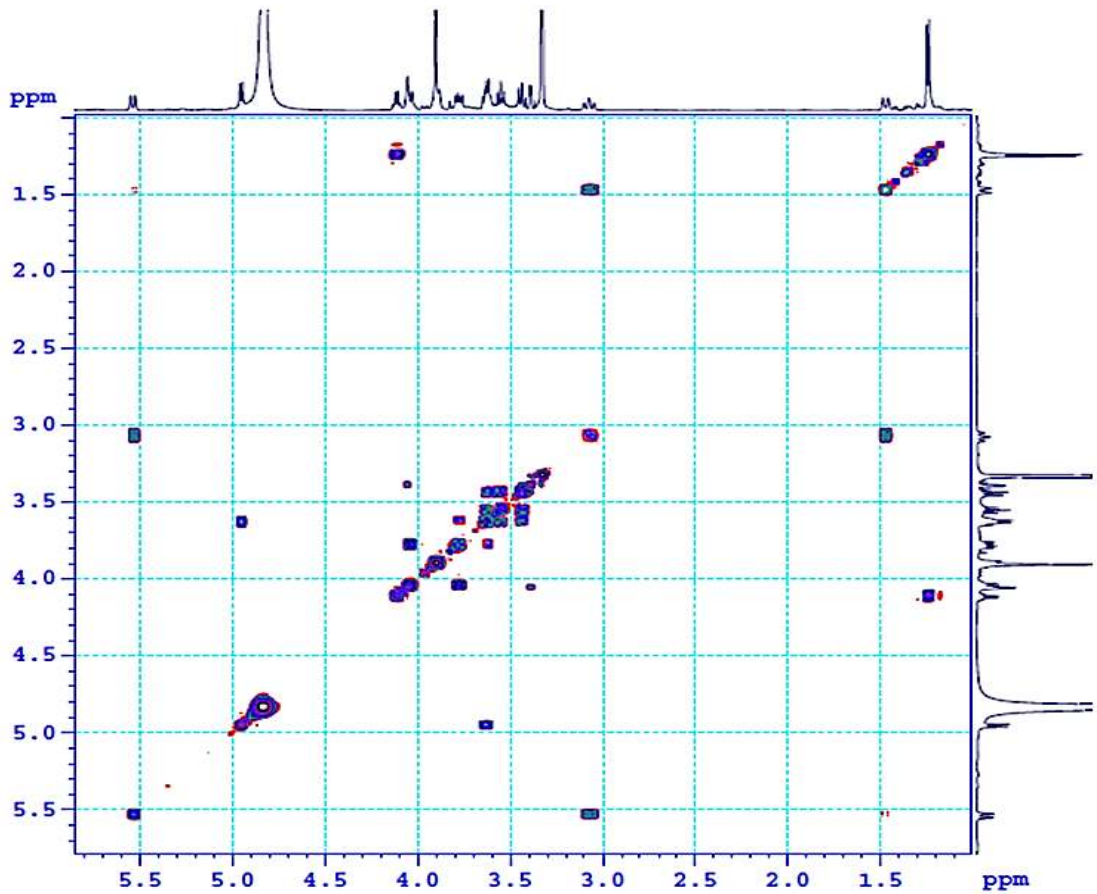


C13CPD

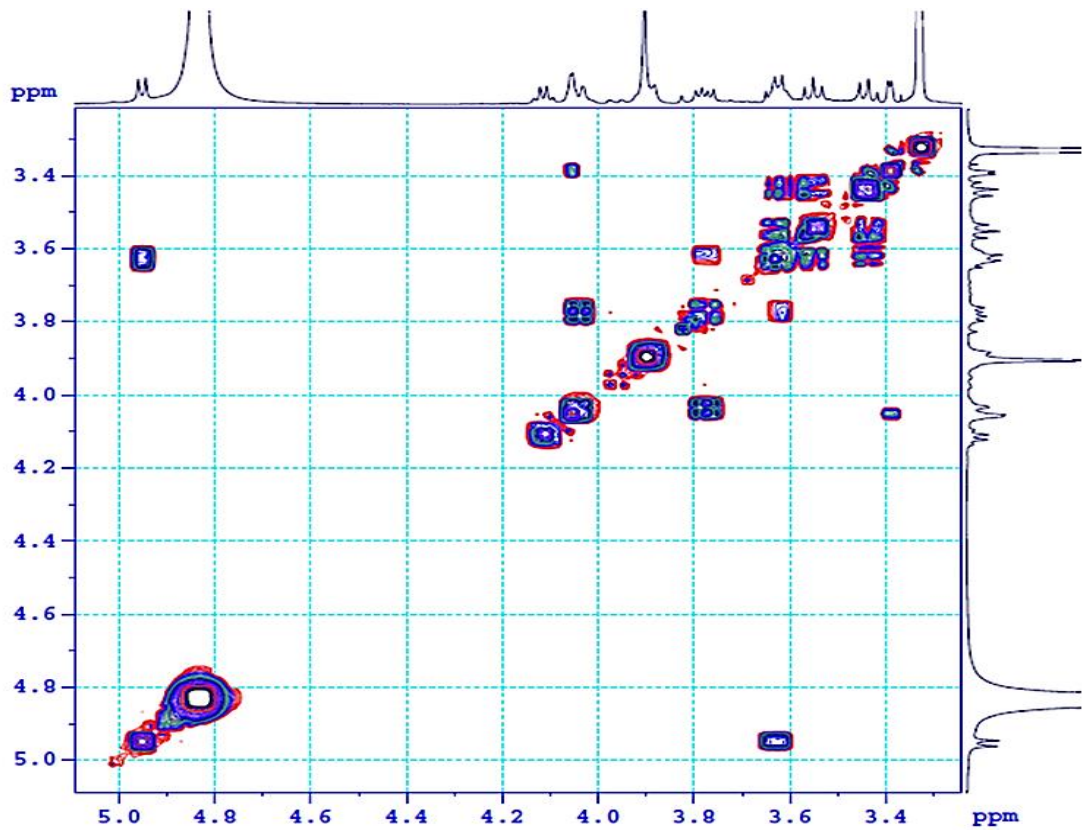
PLI.8. Phổ DEPT của hợp chất AC1

Phổ COSY

*PL1.9.* Phổ COSY của hợp chất AC1*PL1.10.* Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC1

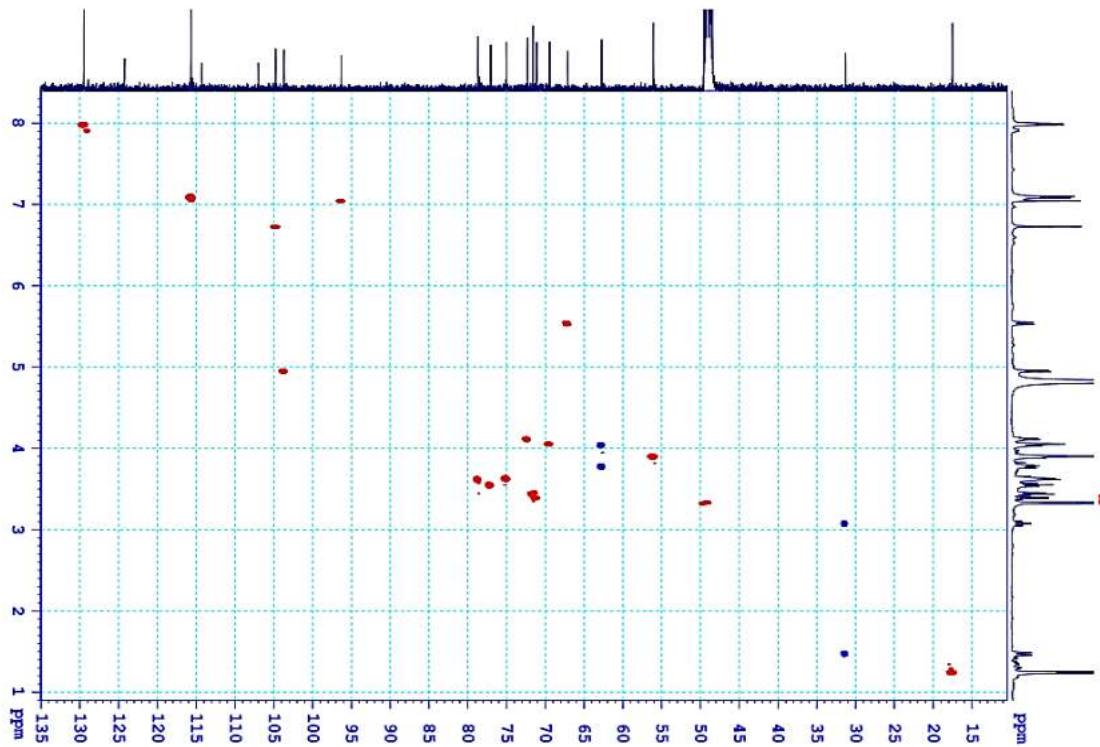


PLI.11. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC1



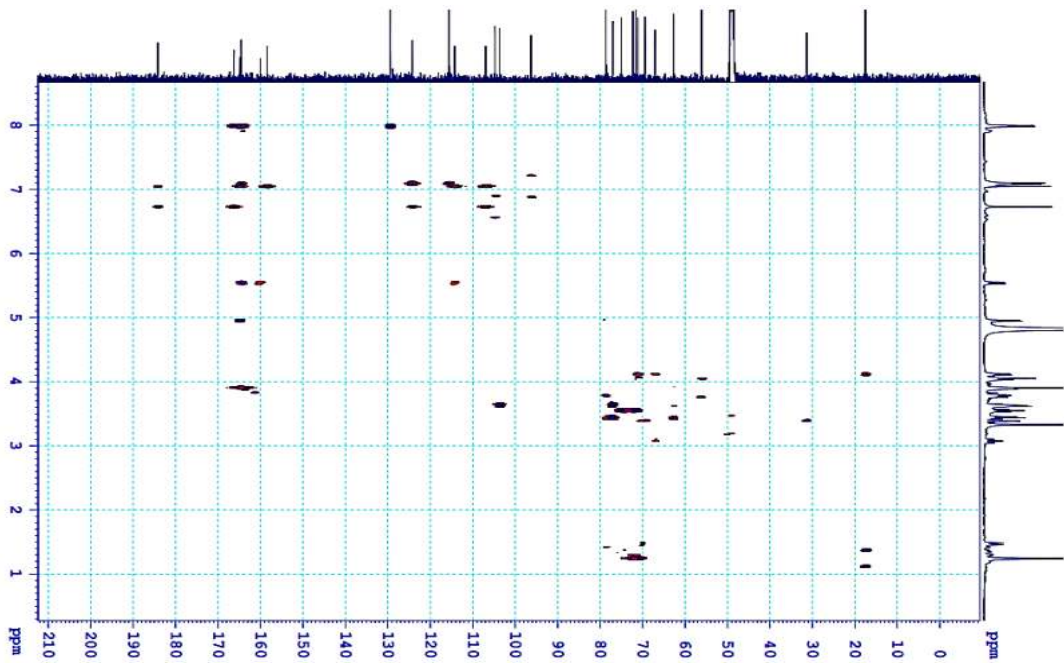
PLI.12. Phổ COSY giản 3 của hợp chất AC1

- Phổ HSQC

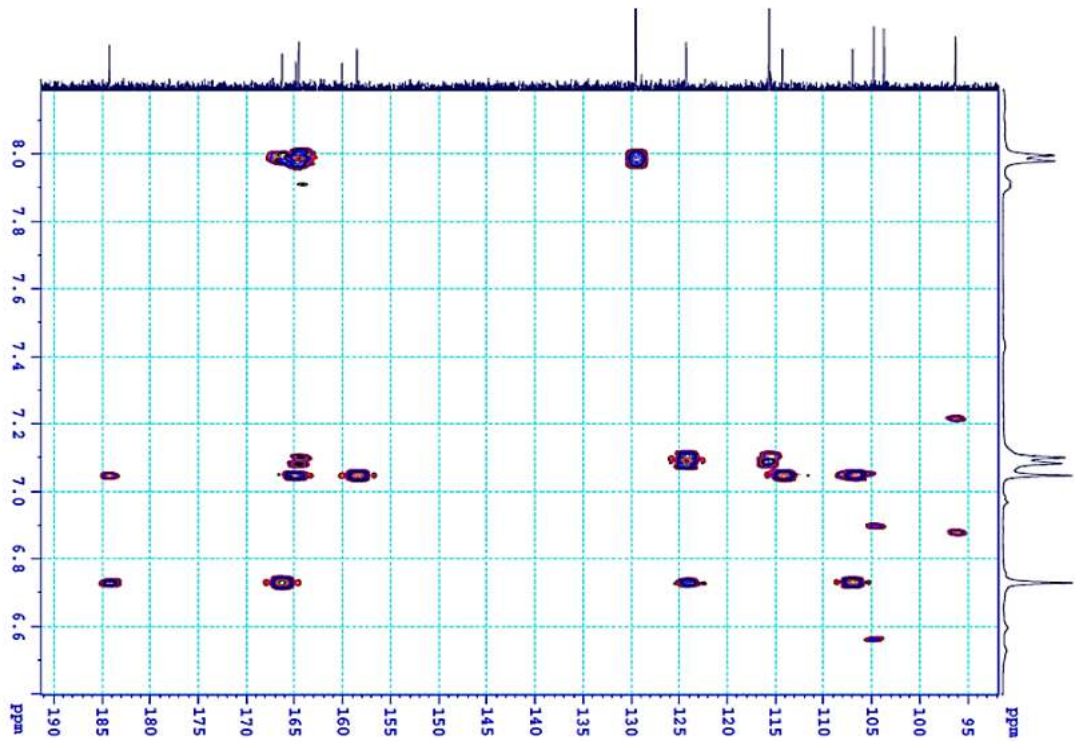


PL1.13. Phổ HSQC của hợp chất AC1

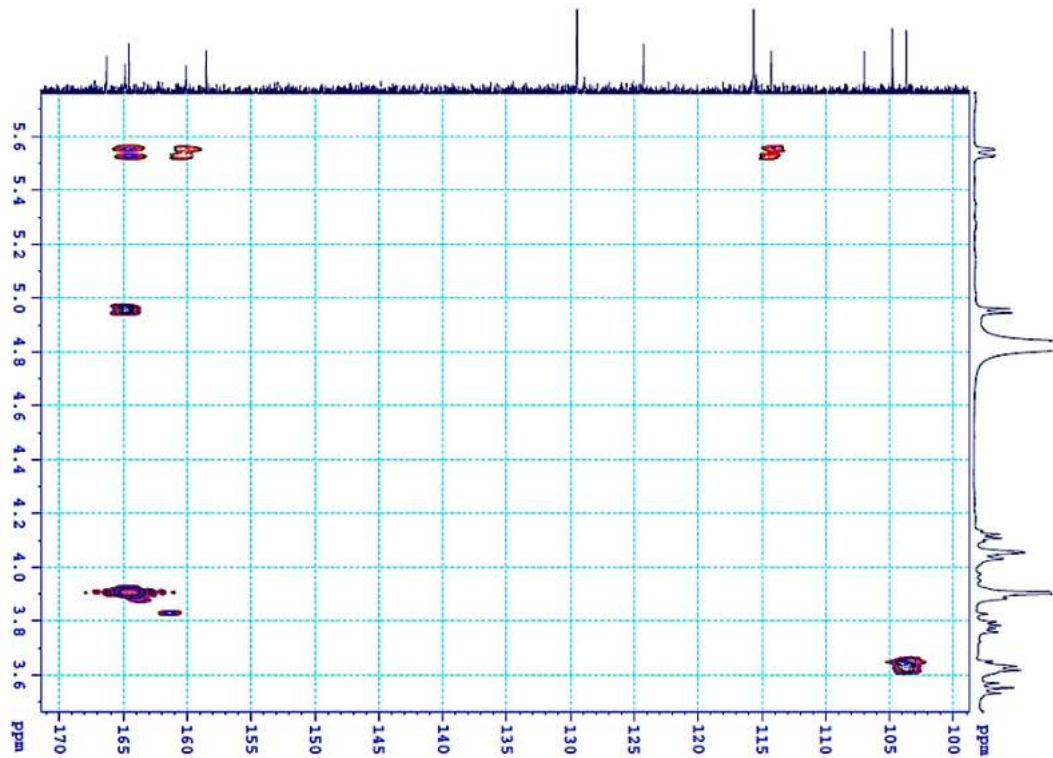
- Phổ HMBC



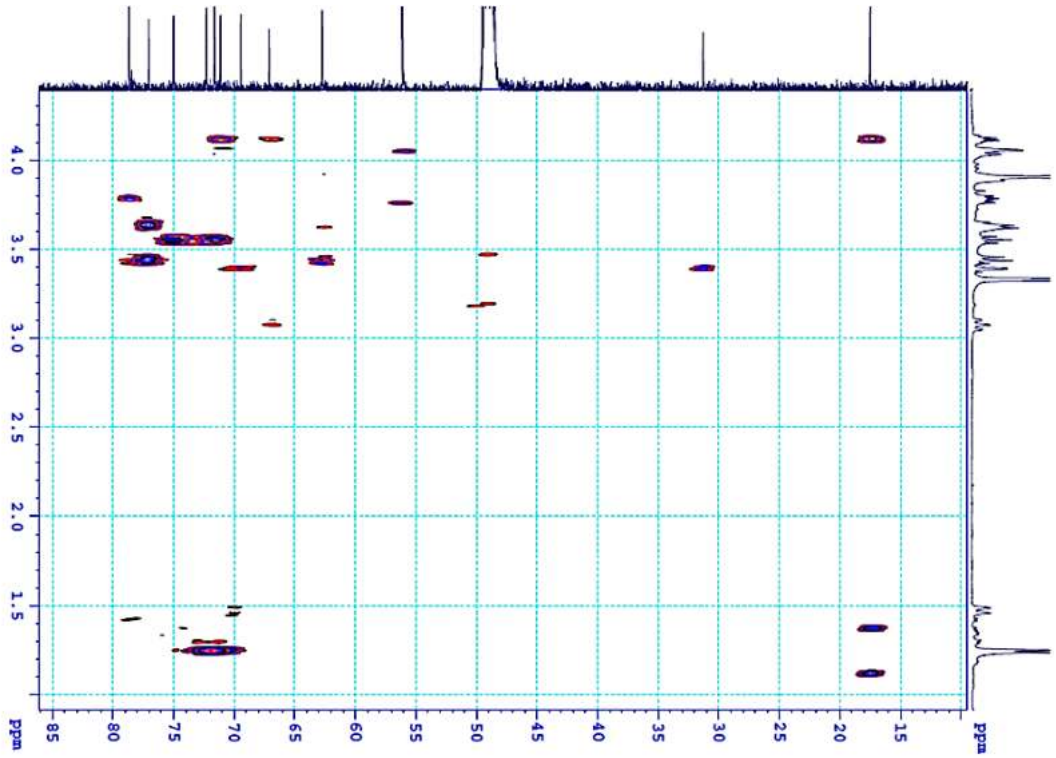
PL1.14. Phổ HMBC của hợp chất AC1



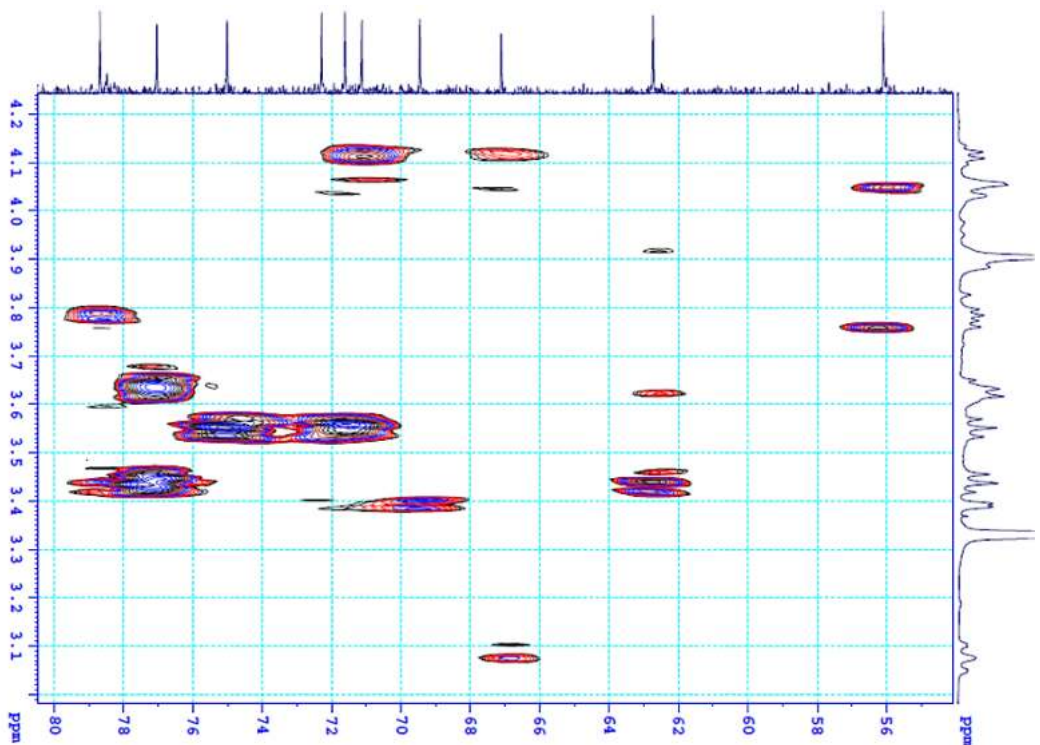
PL1.15. Phổ HMBC gắn 1 của hợp chất AC1



PL1.16. Phổ HMBC gắn 2 của hợp chất AC1

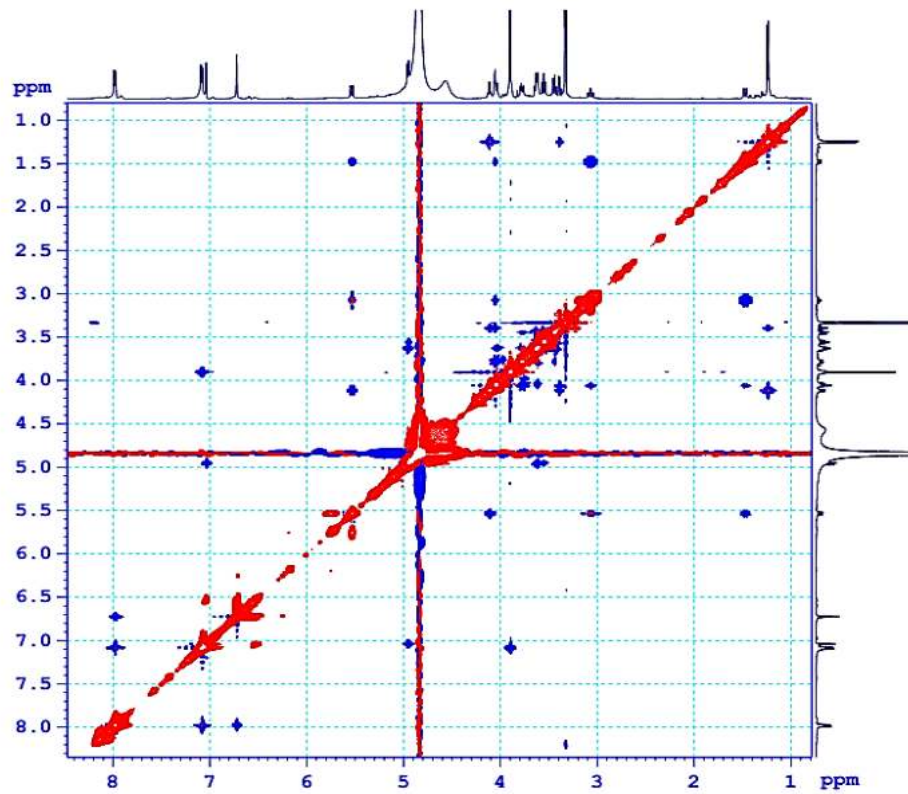


PL1.17. Phổ HMBC giãn 3 của hợp chất AC1

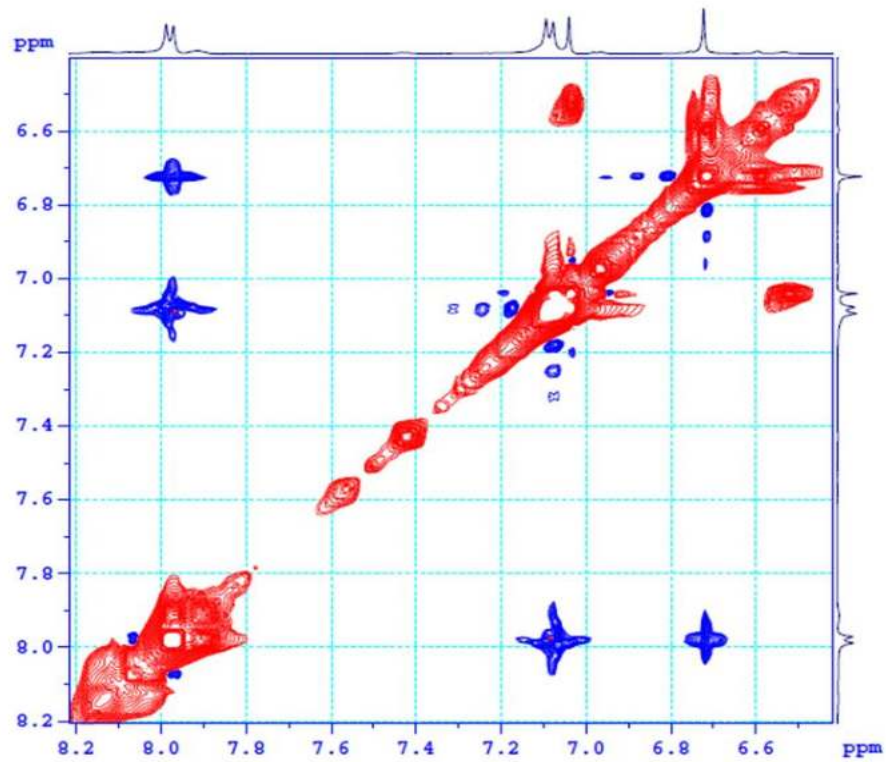


PL1.18. Phổ HMBC giãn 4 của hợp chất AC1

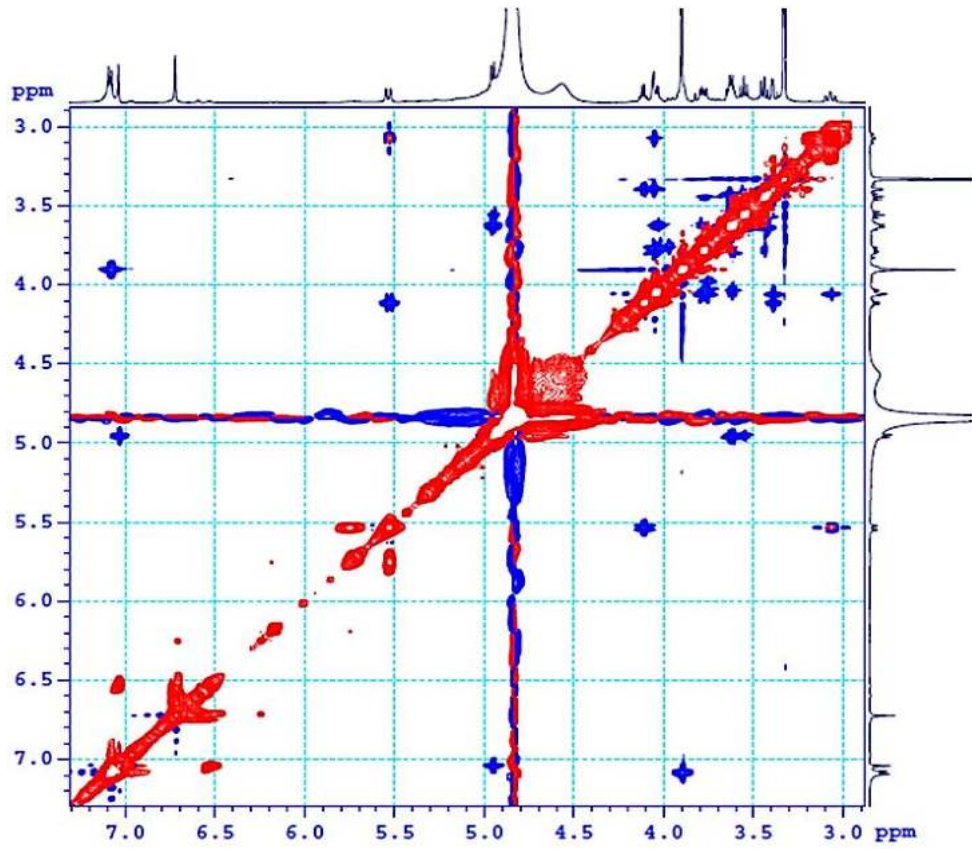
- Phổ NOESY



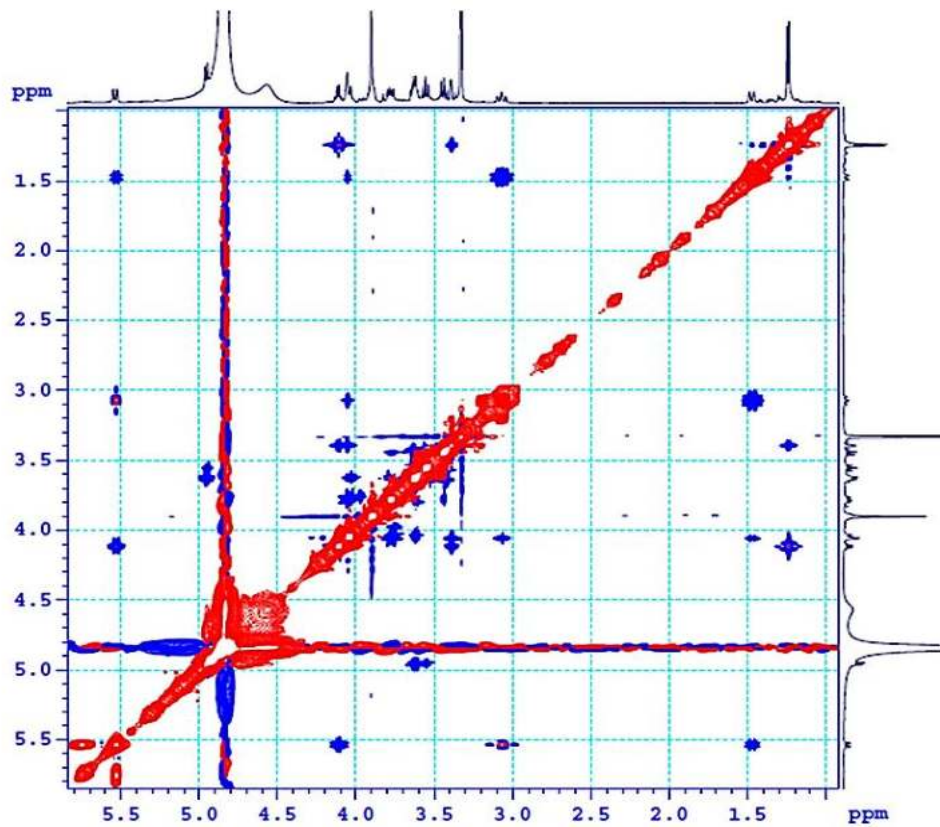
PL1.19. Phổ NOESY của hợp chất AC1



PL1.20. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC1



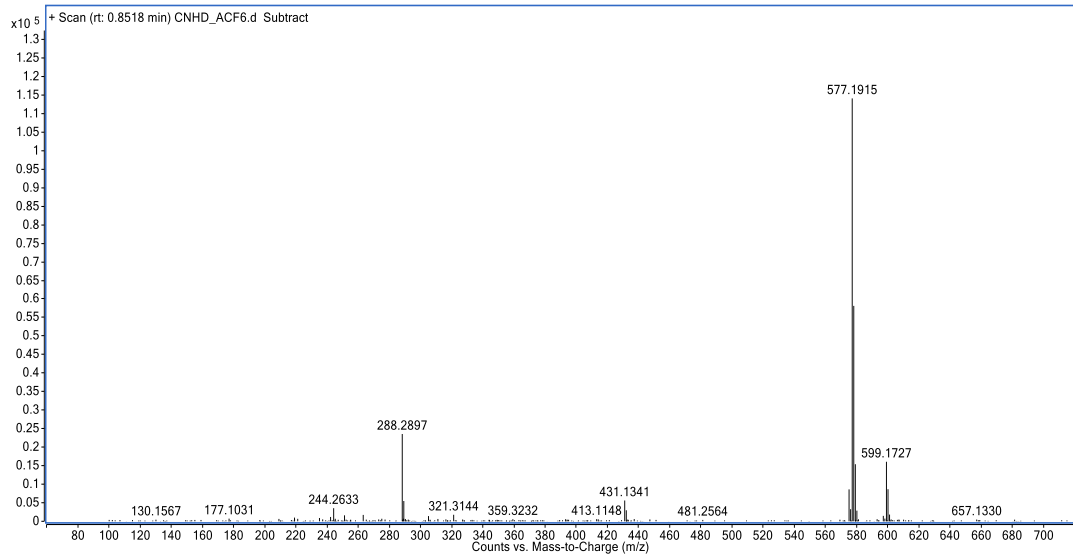
PL1.21. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC1



PL1.22. Phổ NOESY giãn 3 của hợp chất AC1

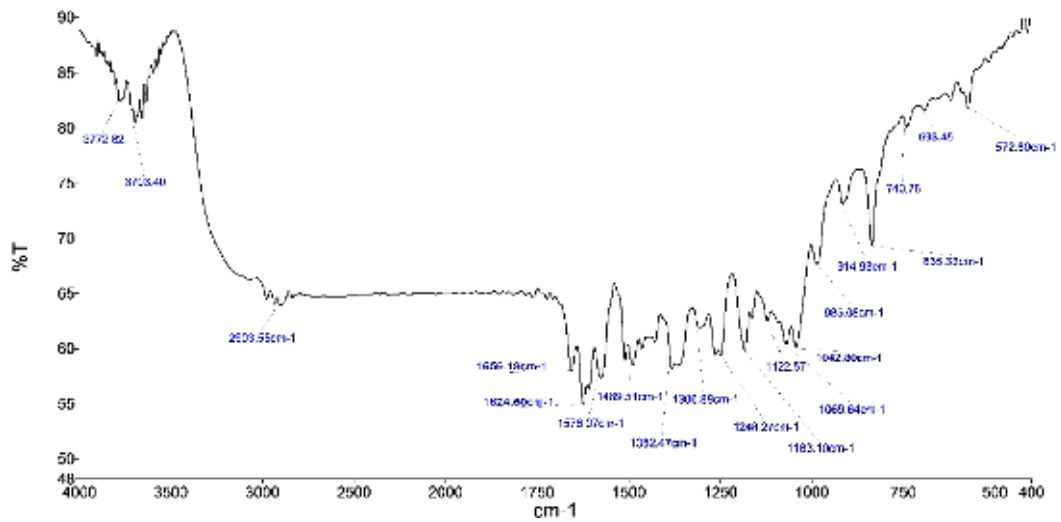
Phụ lục 2: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, IR của hợp chất AC2: amesiflavone B

• **Phổ khối**



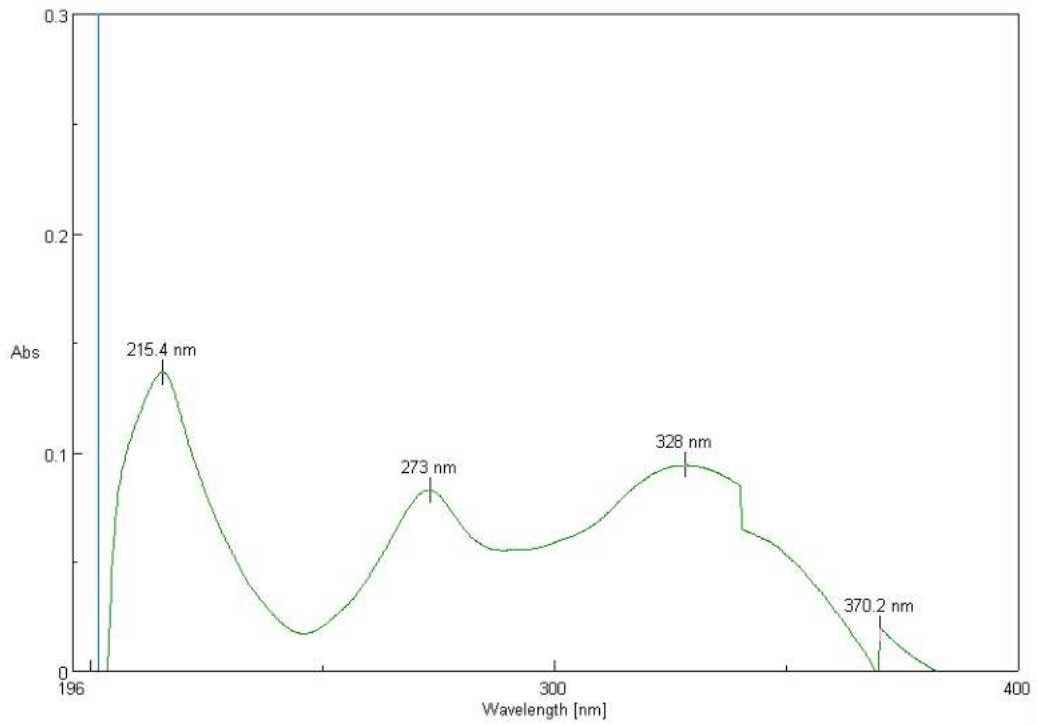
PL2.1. Phổ khối của hợp chất AC2

• **Phổ IR**



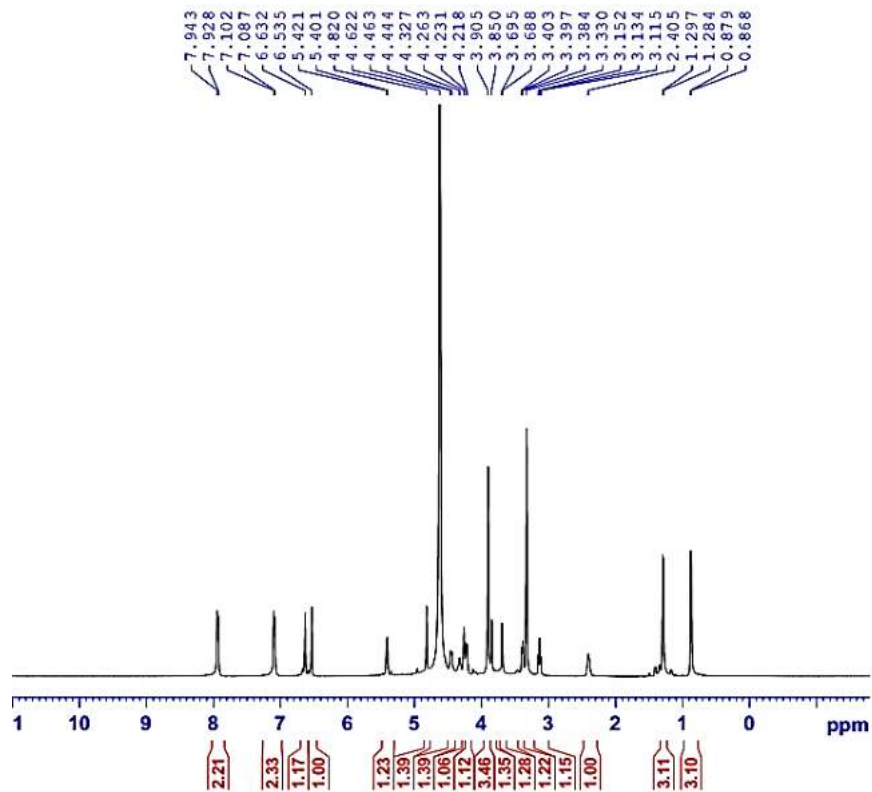
PL2.2. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC2

- **Phổ UV-Vis**

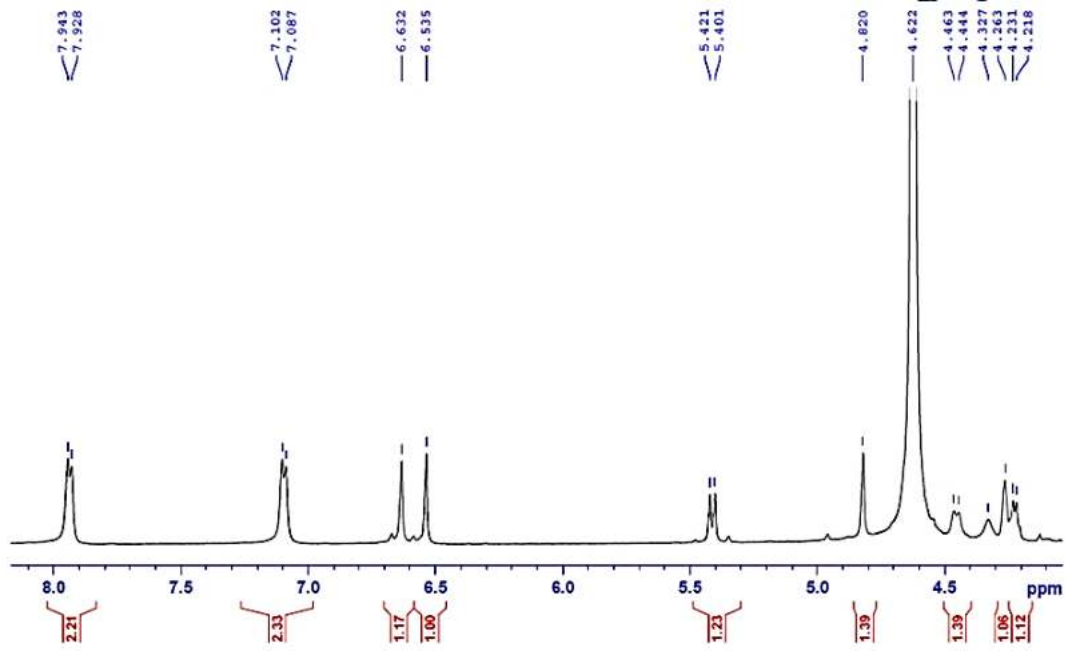


PL2.3. Phổ UV-Vis của hợp chất AC2

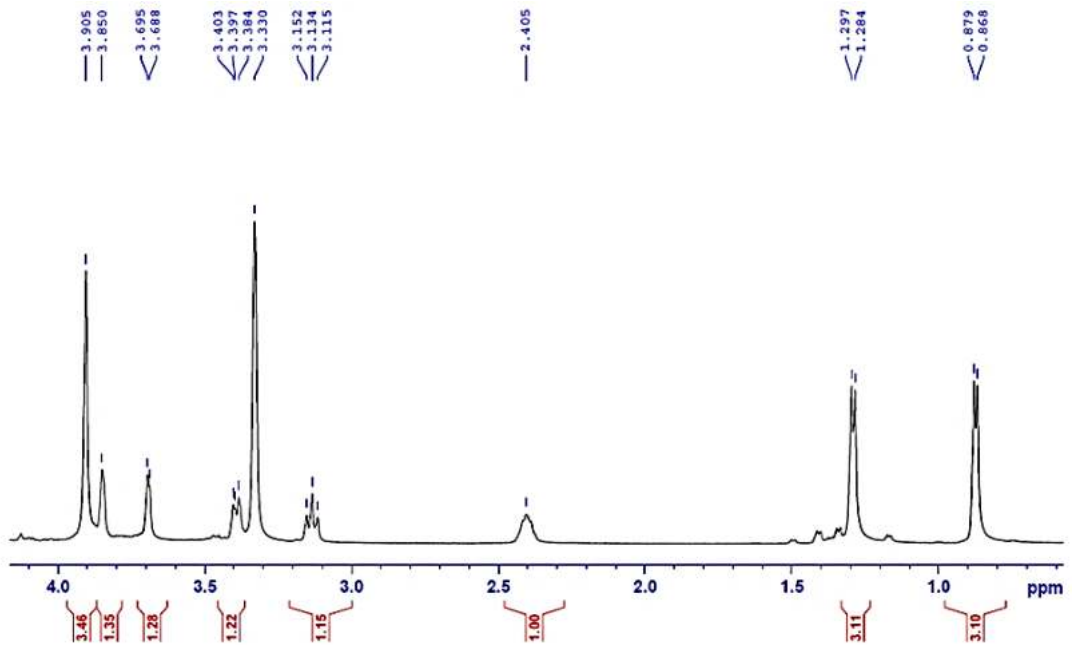
- **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL2.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC2 đo ở 50°C

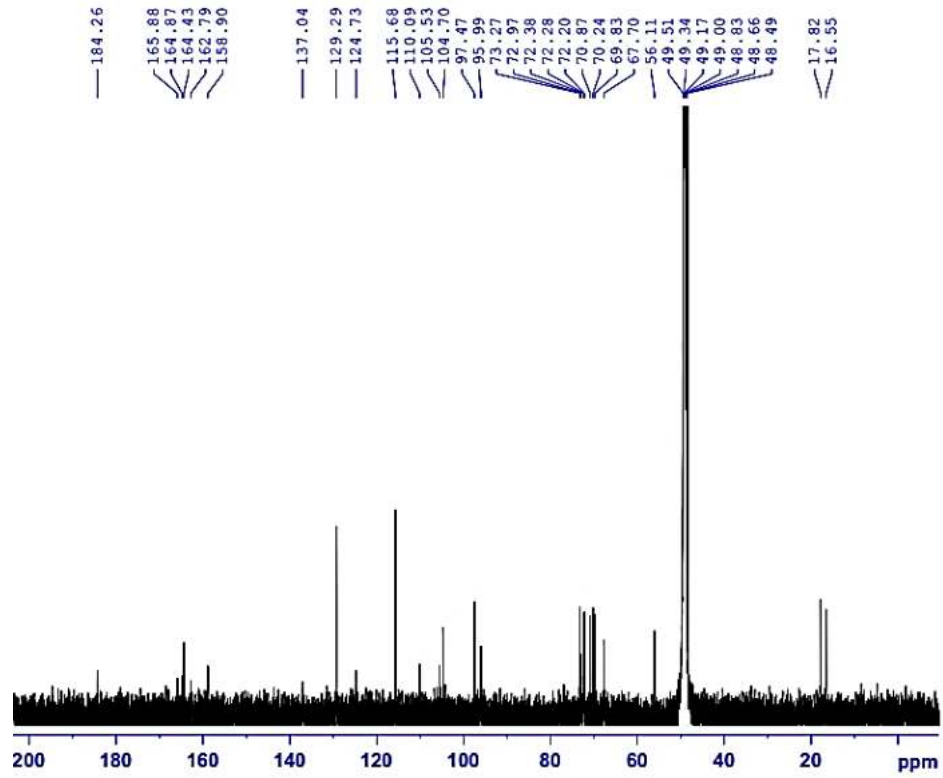


PL2.5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 1 của hợp chất AC2



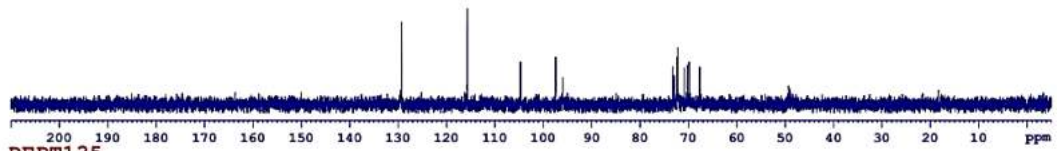
PL2.6. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 2 của hợp chất AC2

- Phổ ^{13}C -NMR

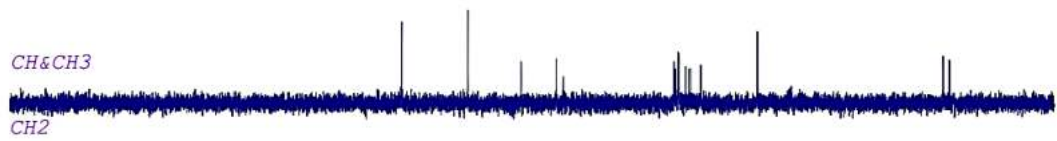


PL2.7. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC2

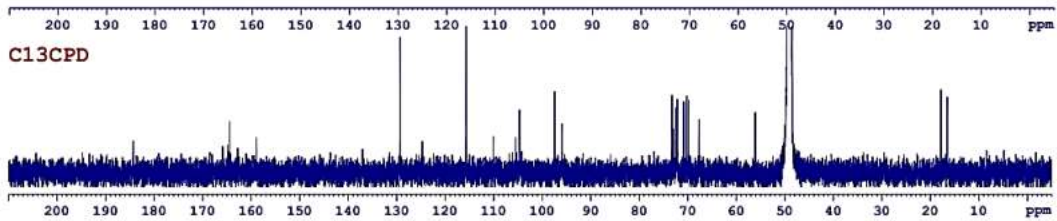
DEPT90



DEPT135

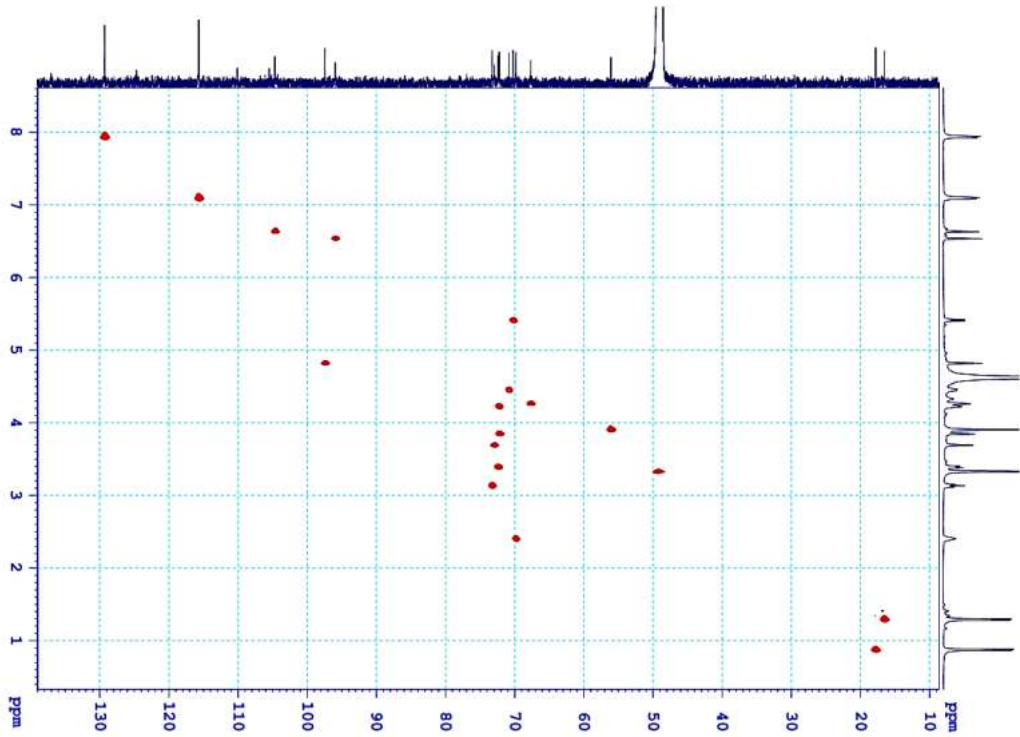


C13CPD



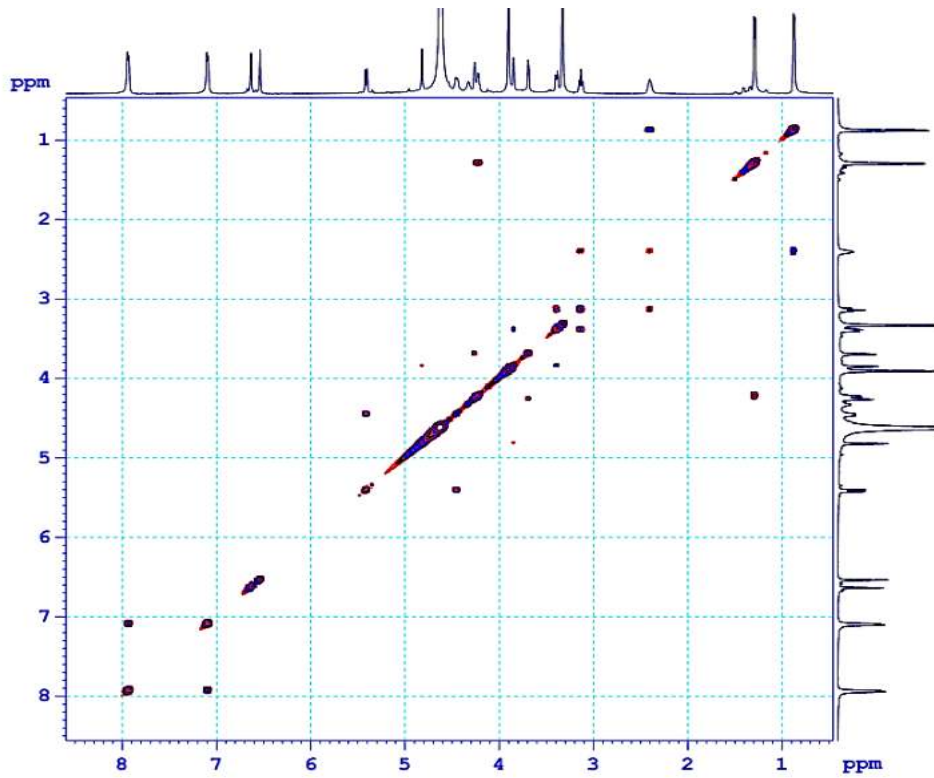
PL2.8. Phổ DEPT của hợp chất AC2

- Phổ HSQC

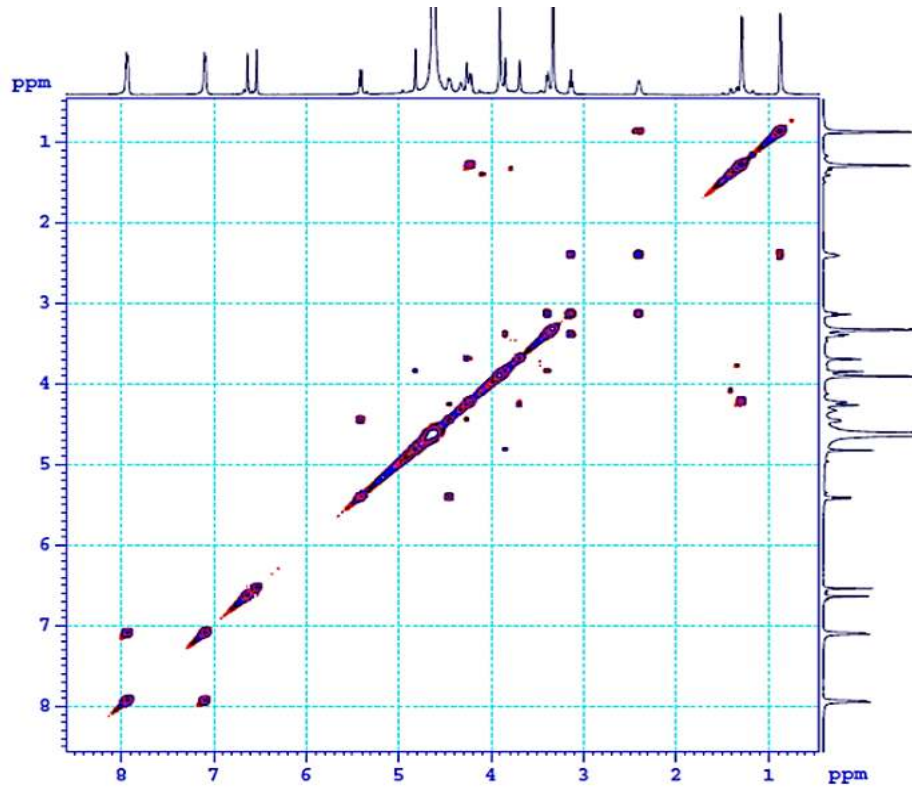


PL2.9. Phổ HSQC của hợp chất AC2

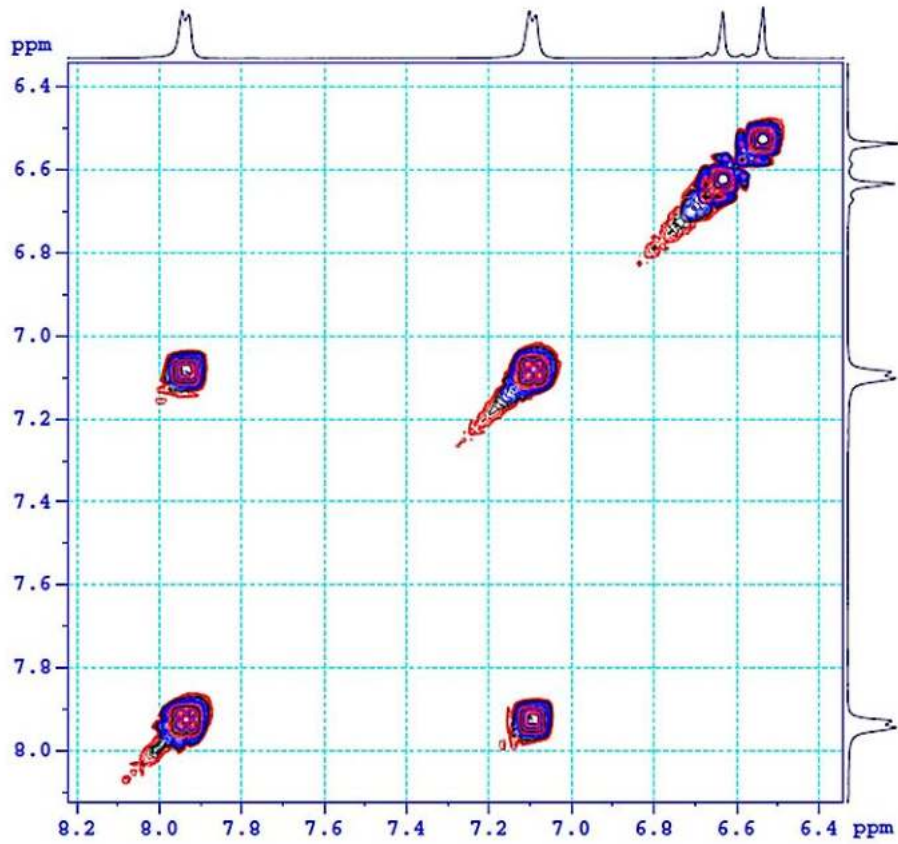
- Phổ COSY



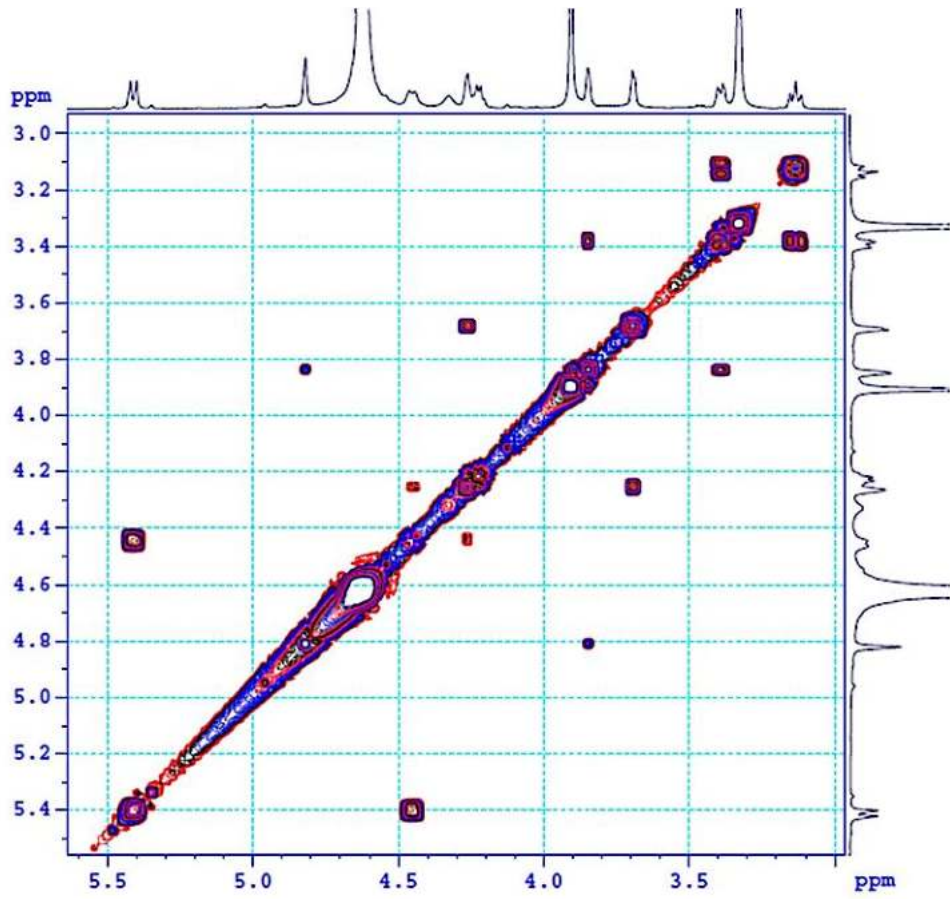
PL2.10. Phổ COSY của hợp chất AC2



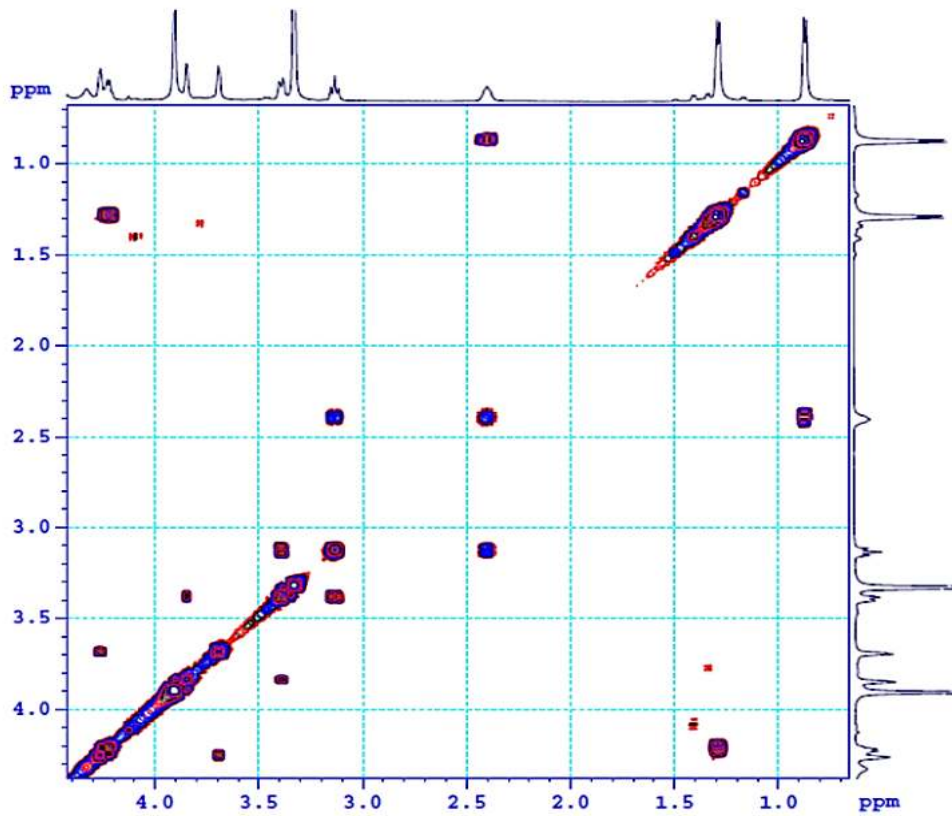
PL2.11. Phổ COSY giản 1 của hợp chất AC2



PL2.12. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC2

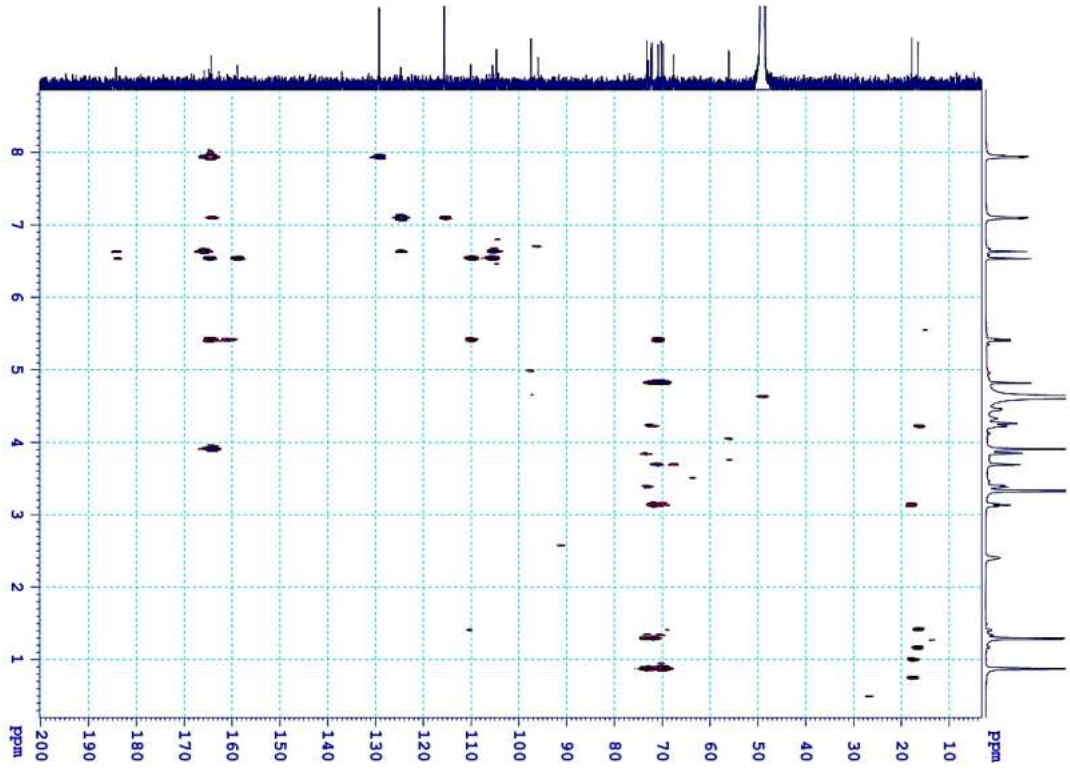


PL2.13. Phổ COSY giản 3 của hợp chất AC2

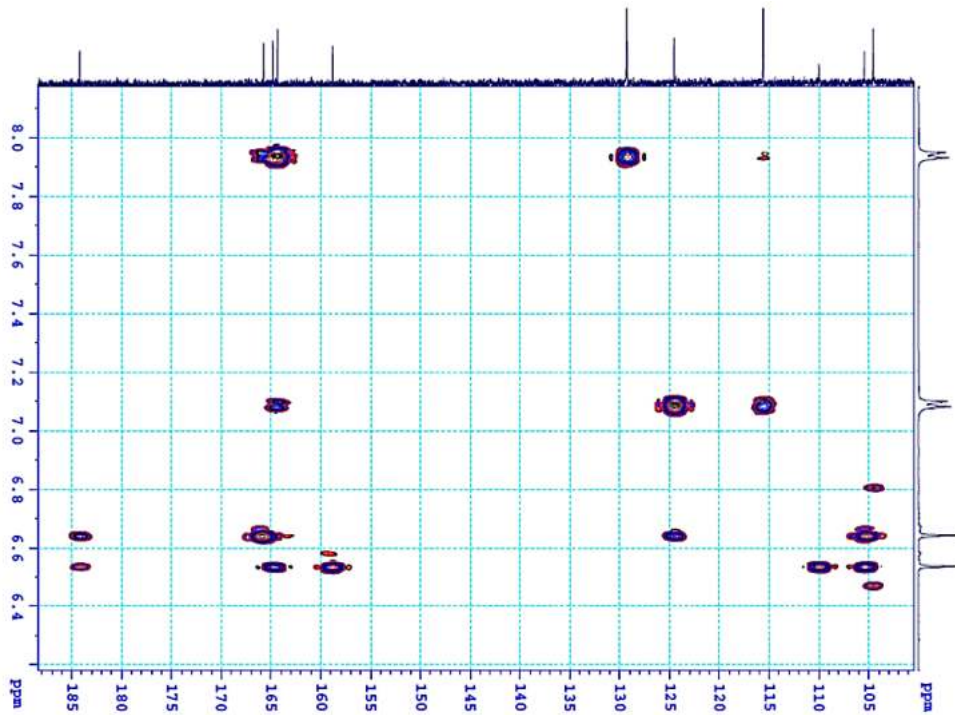


PL2.14. Phổ COSY giản 4 của hợp chất AC2

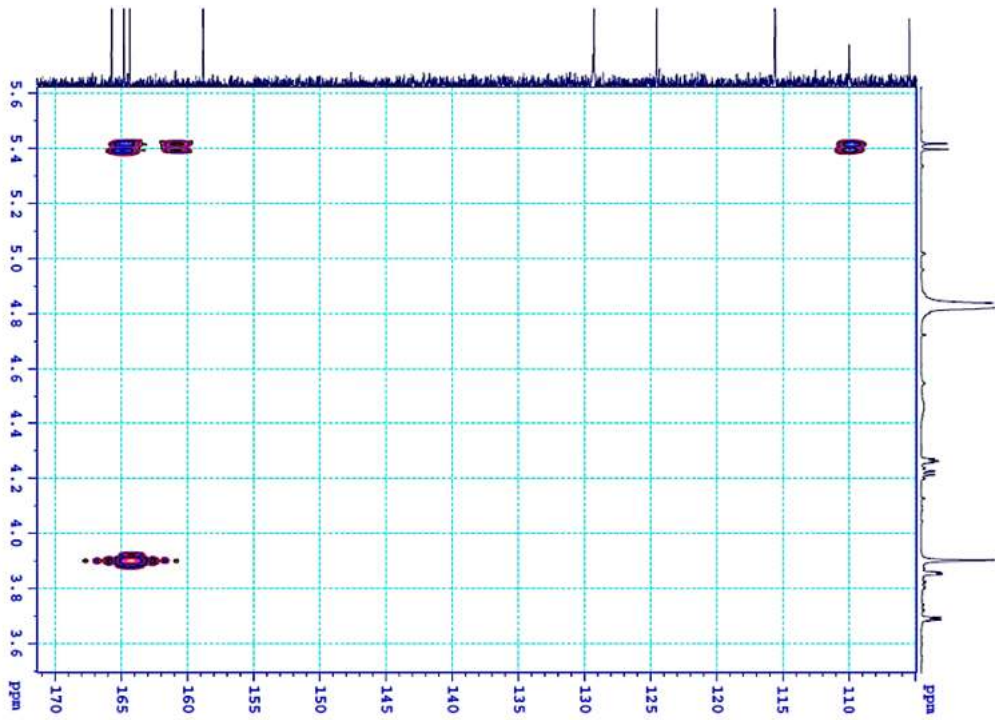
- Phổ HMBC



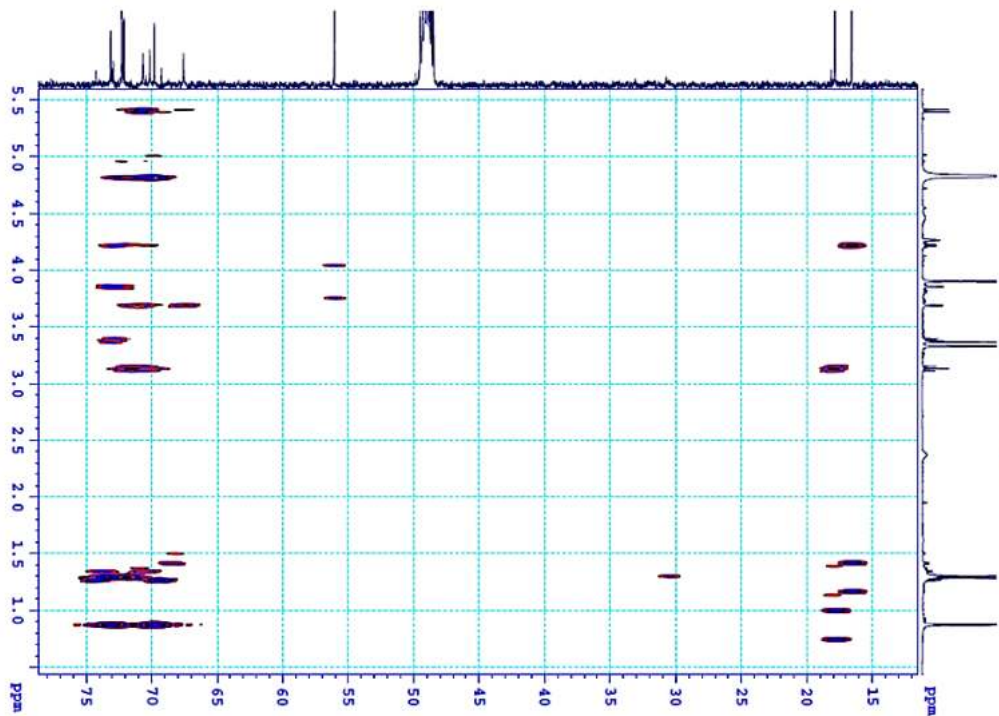
PL2.15. Phổ HMBC của hợp chất AC2



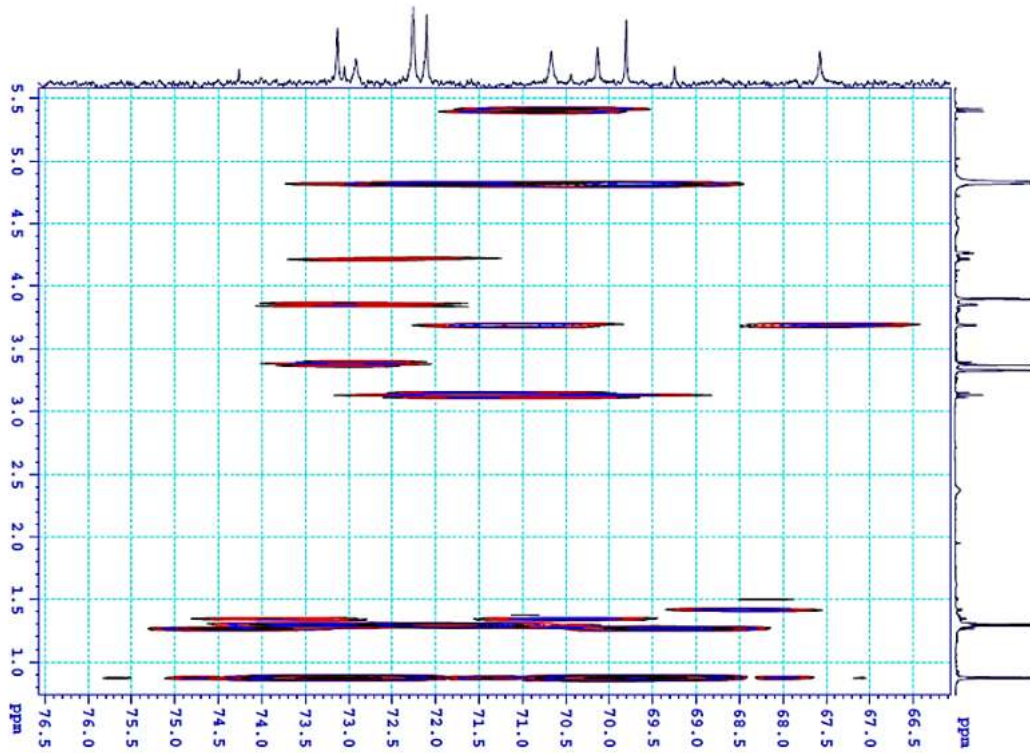
PL2.16. Phổ HMBC gần 1 của hợp chất AC2



PL2.17. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC2

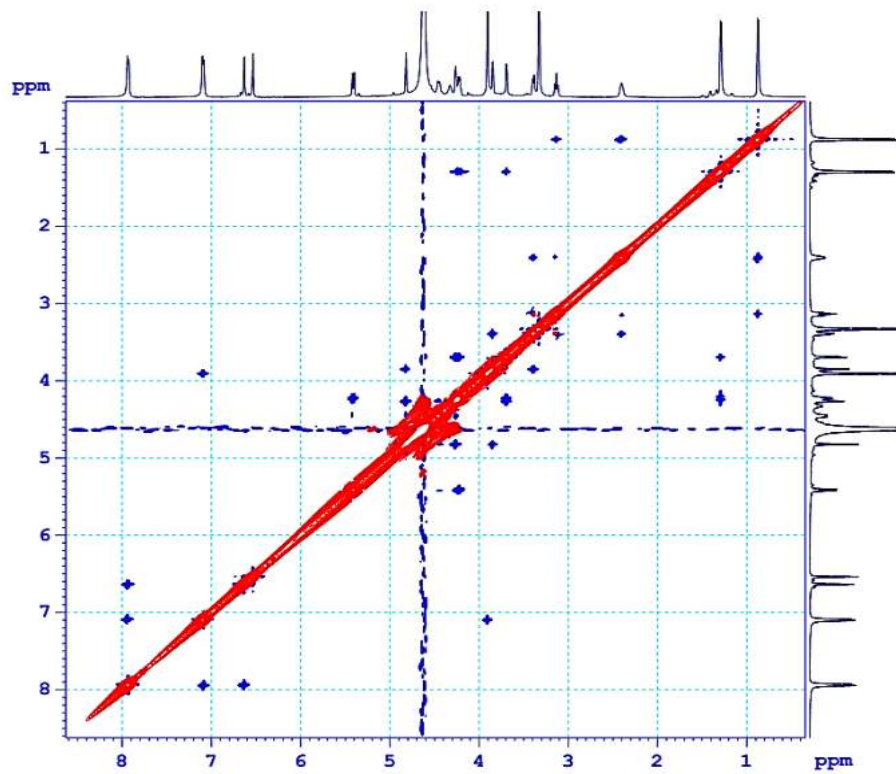


PL2.18. Phổ HMBC giãn 3 của hợp chất AC2

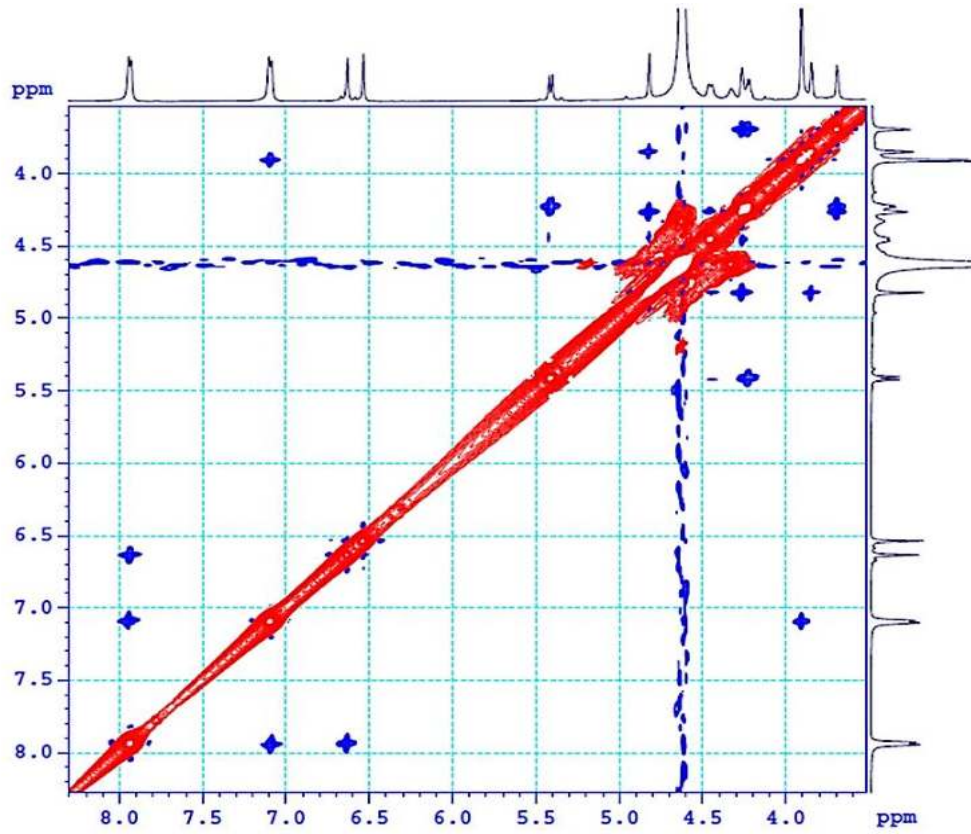


PL2.19. Phổ HMBC giãn 4 của hợp chất AC2

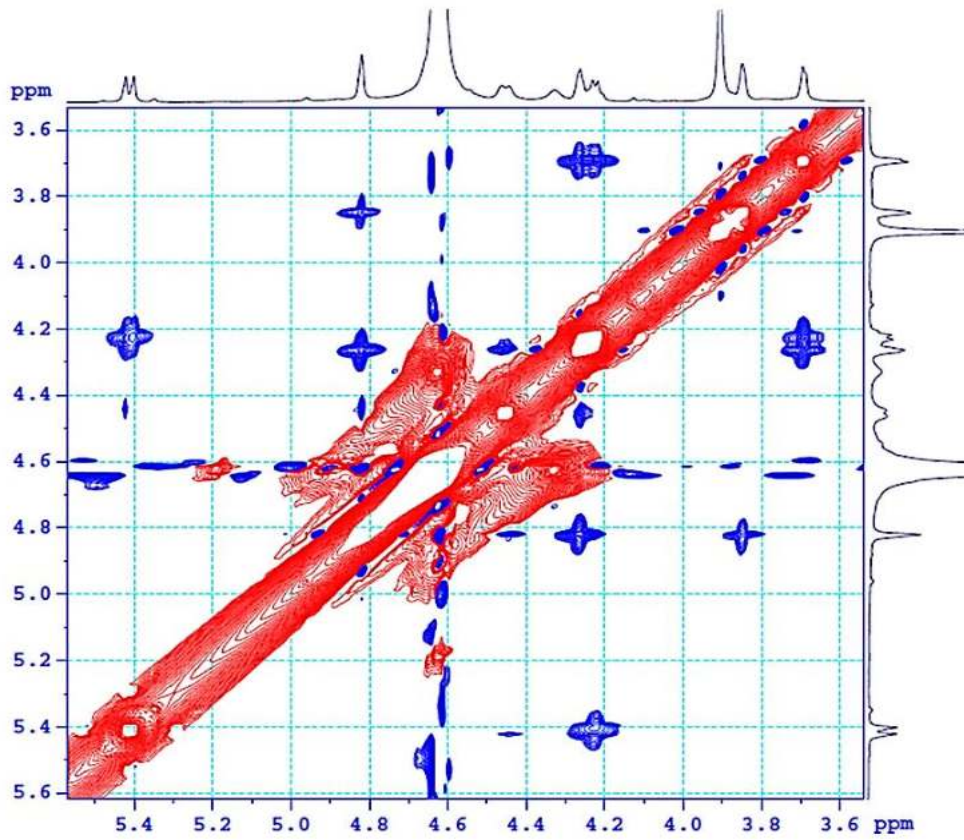
- **Phổ NOESY**



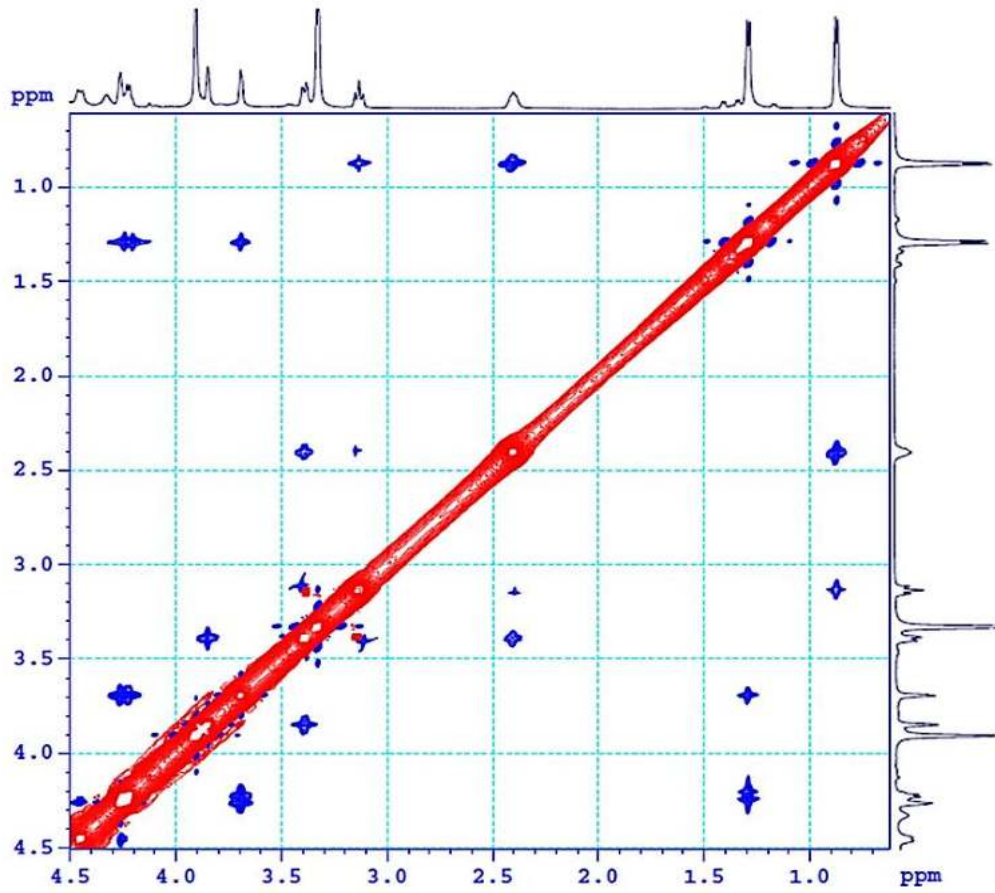
PL2.20. Phổ NOESY của hợp chất AC2



PL2.21. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC2



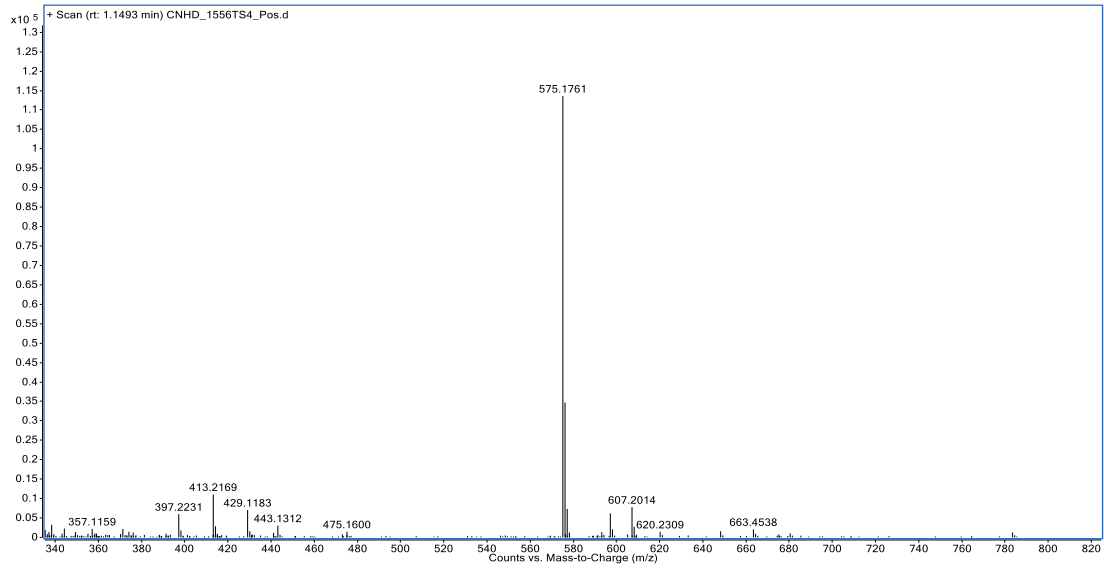
PL2.22. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC2



PL2.23. Phổ NOESY giản 3 của hợp chất AC2

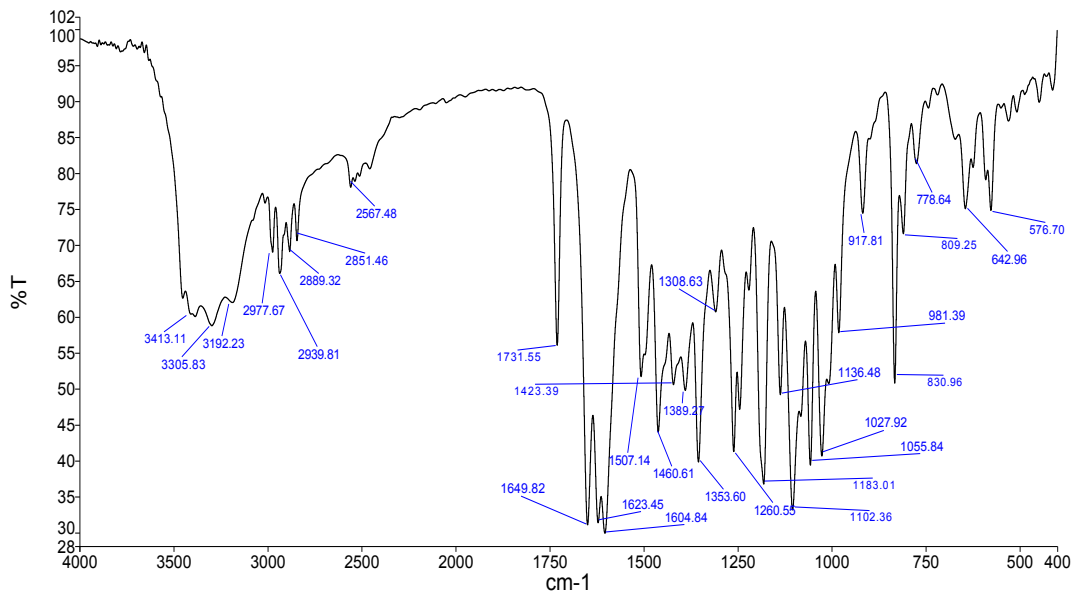
Phụ lục 3: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, IR của hợp chất AC3: amesiflavone C

• Phổ Khối



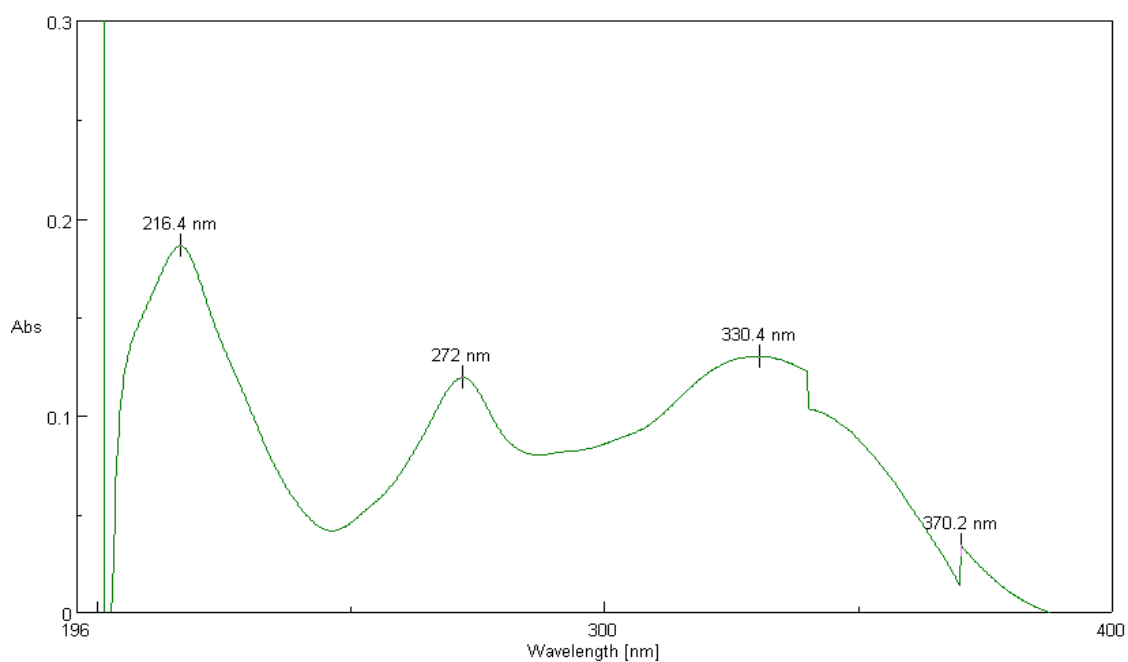
PL3.1. Phổ khối của hợp chất AC3

• Phổ IR



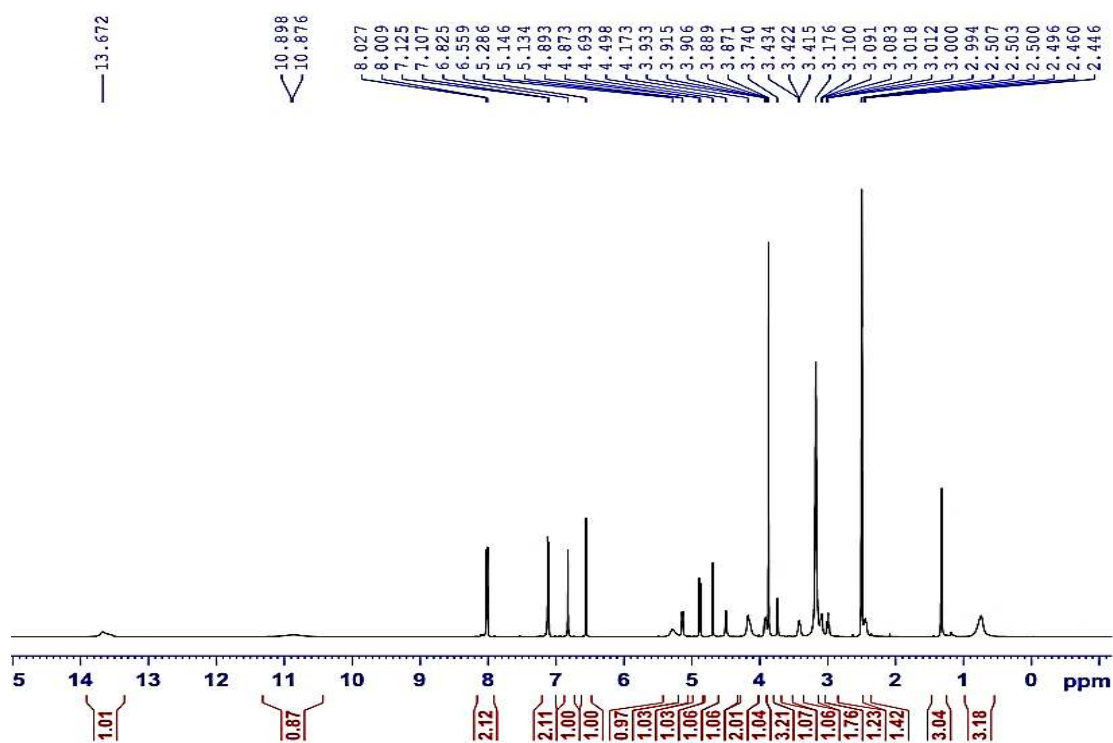
PL3.2. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC3

- Phổ UV-Vis

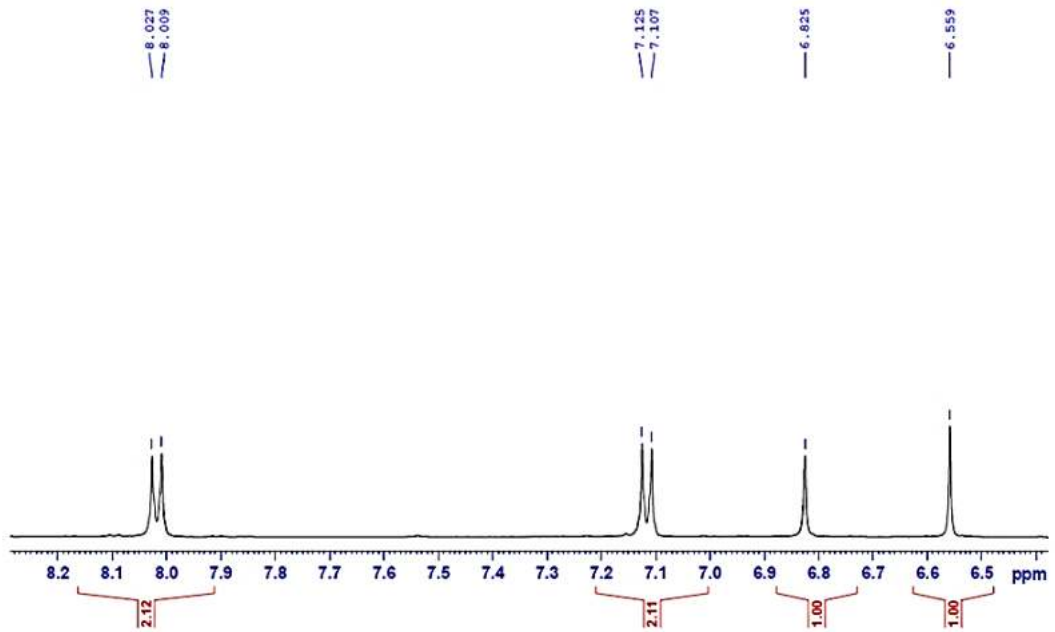


PL3.3. Phổ UV-Vis của hợp chất AC3

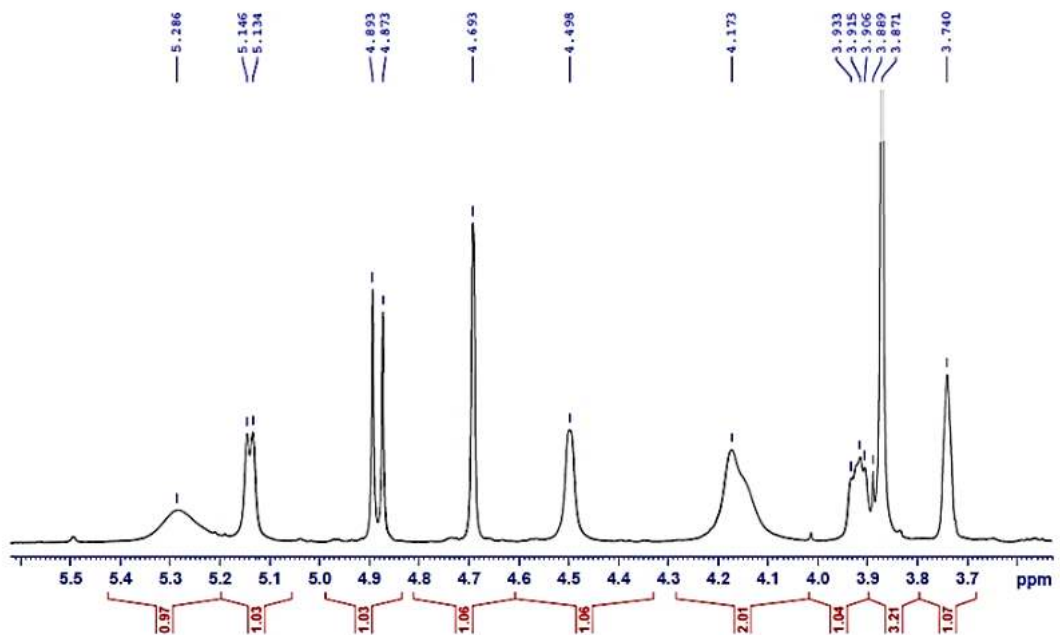
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



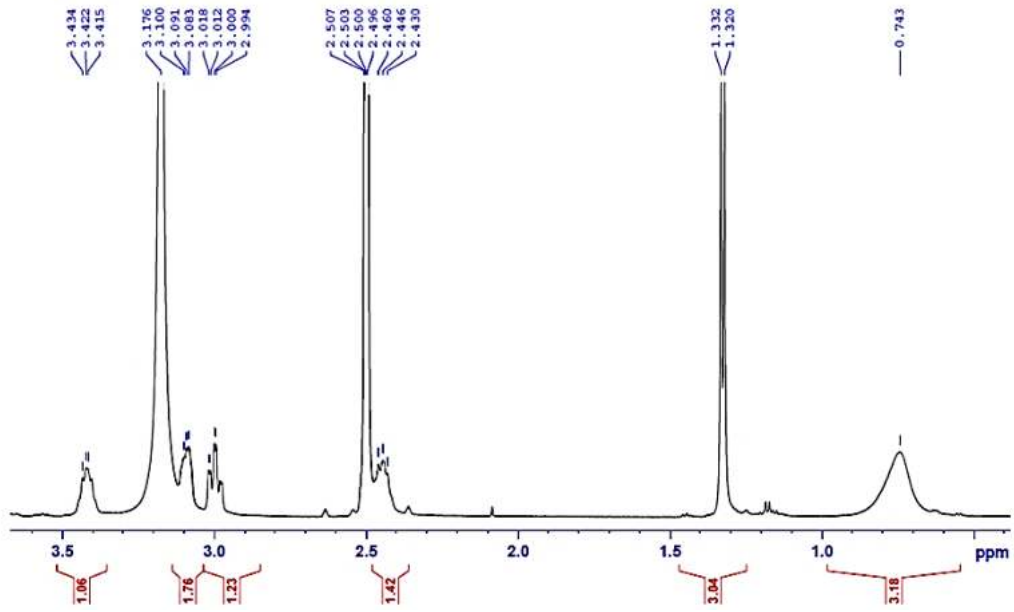
PL3.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở 60°C



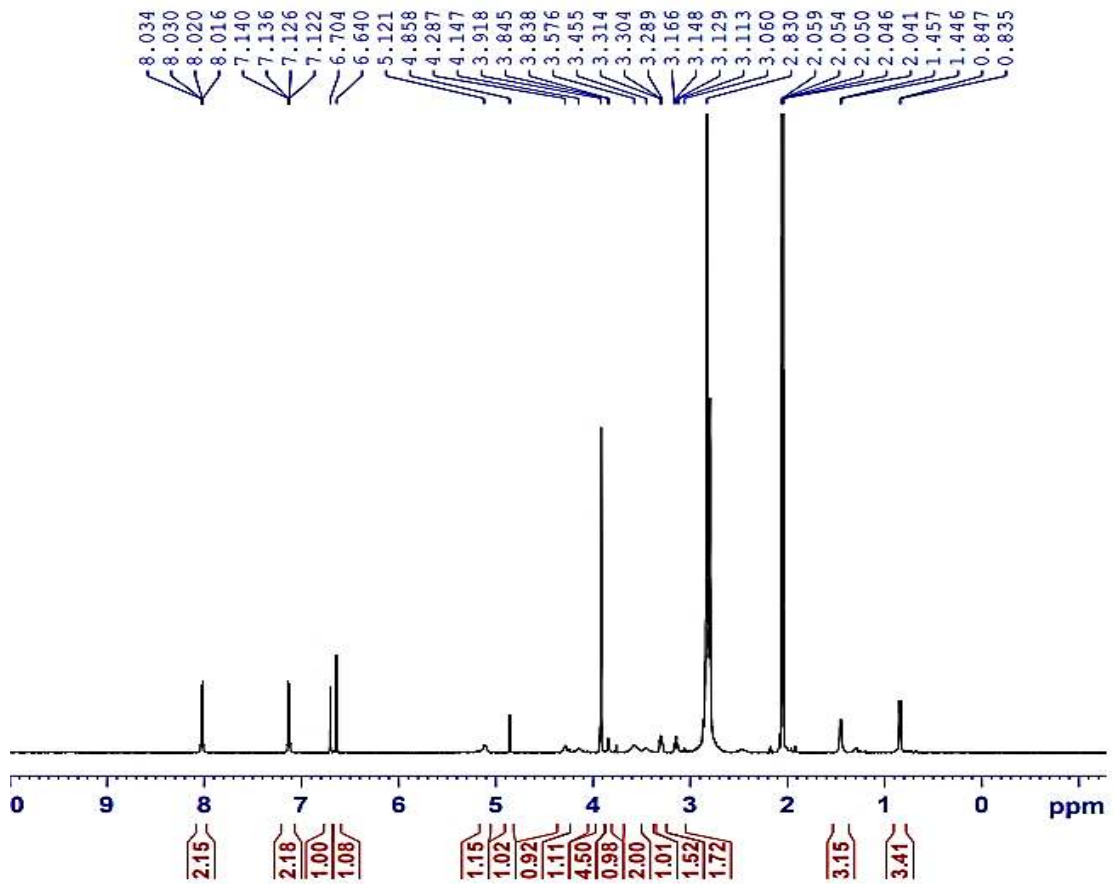
PL3.5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 1 của hợp chất AC3 đo ở 60°C



PL3.6. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 2 của hợp chất AC3 đo ở 60°C

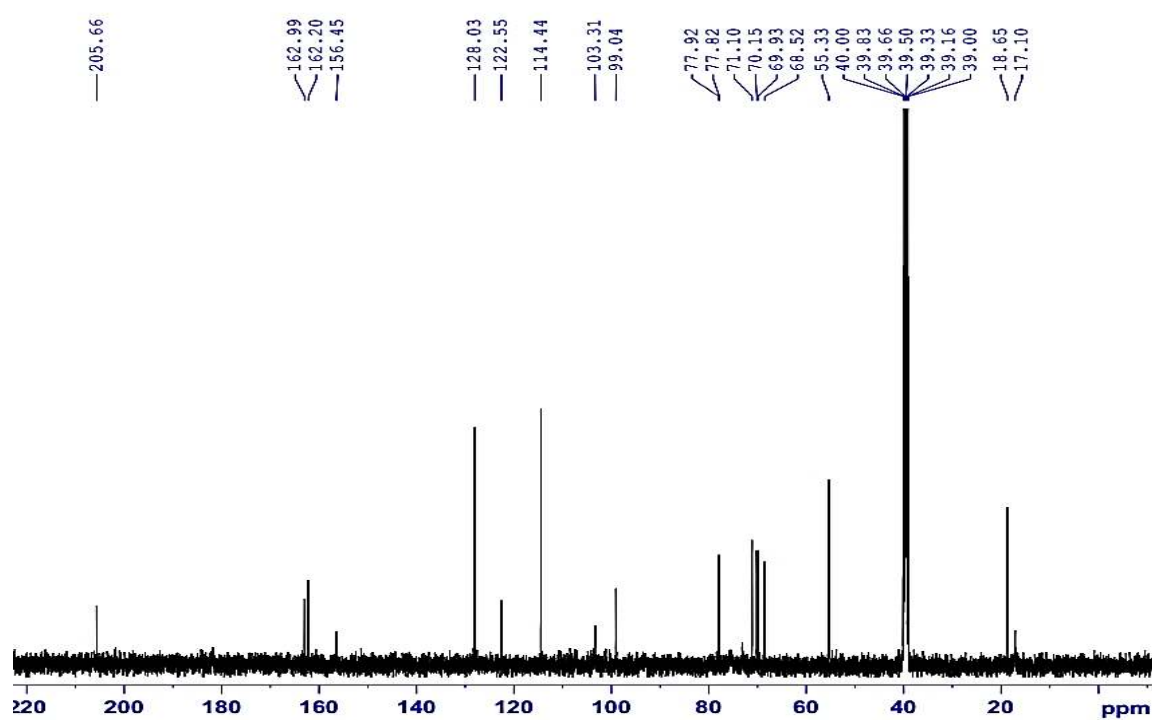


PL3.7. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 3 của hợp chất AC3 đo ở 60°C



PL3.8. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3 đo ở nhiệt độ thường

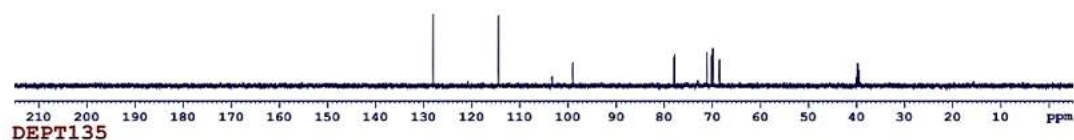
- Phổ ^{13}C -NMR



PL3.9. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC3

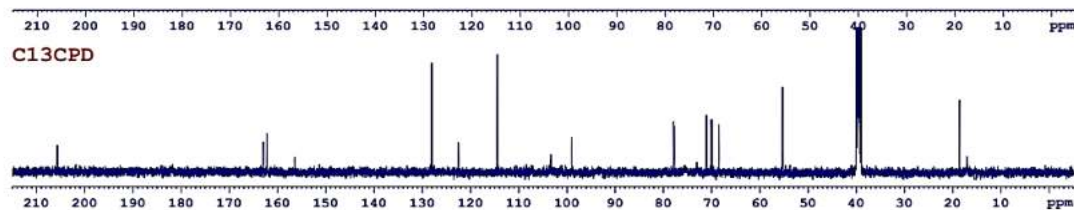
- Phổ DEPT

DEPT90



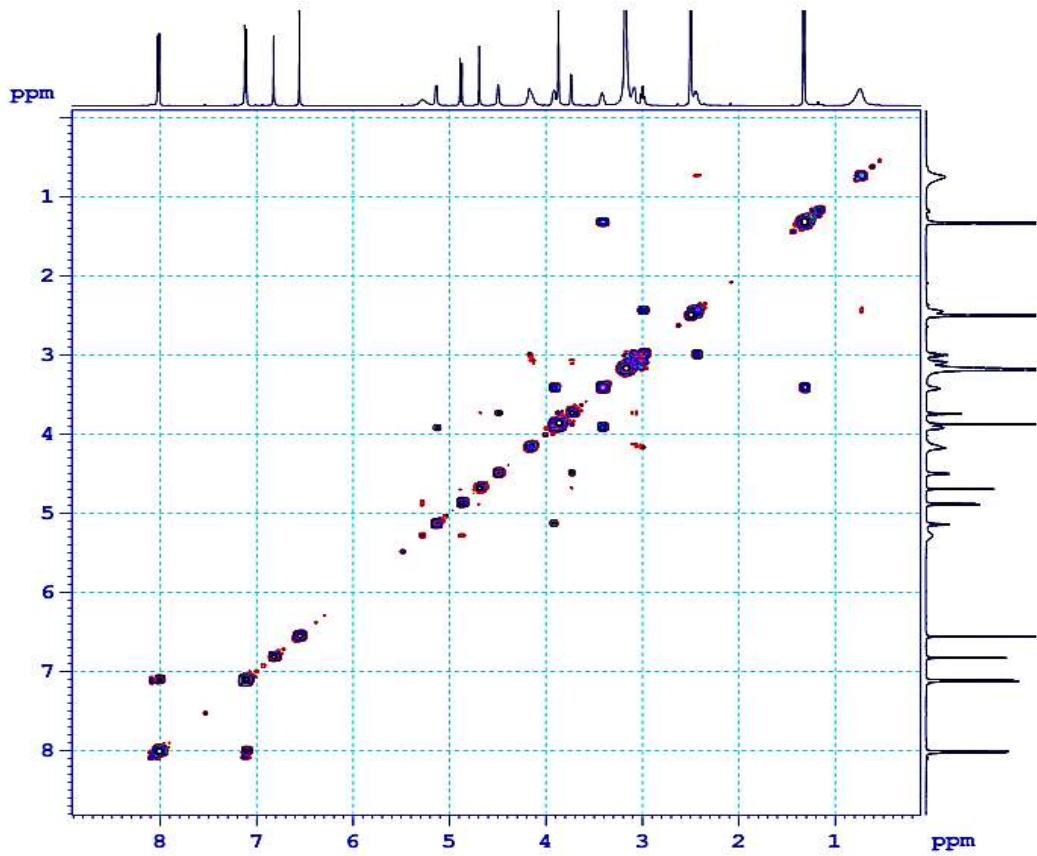
CH&CH3

CH2

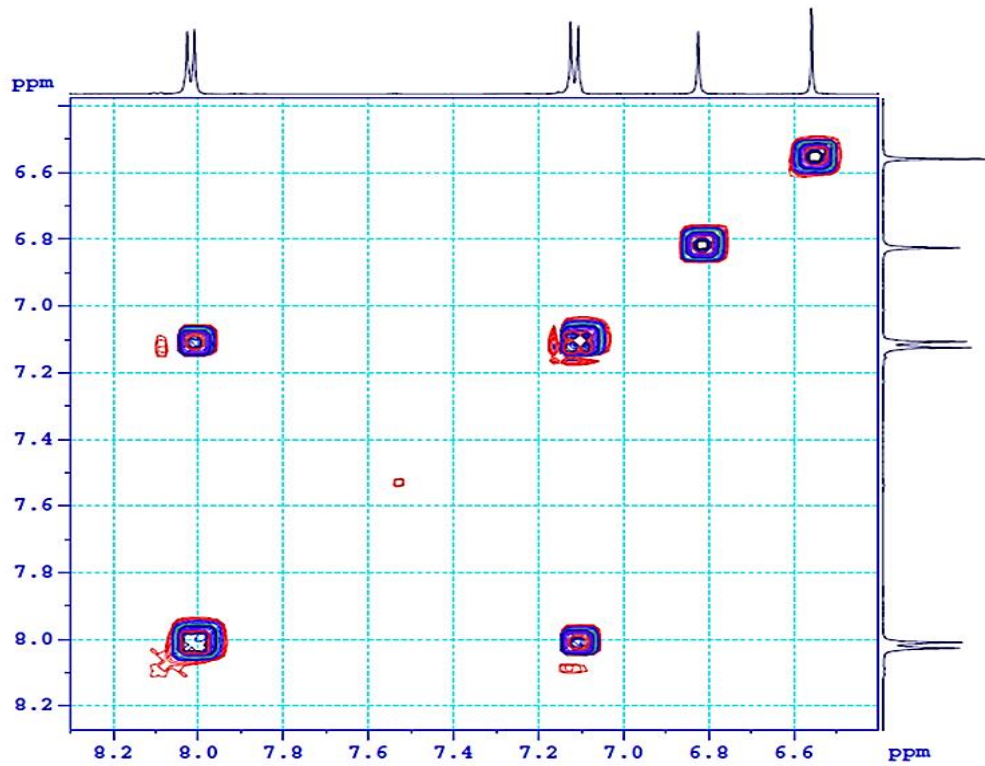


PL3.10. Phổ DEPT của hợp chất AC3

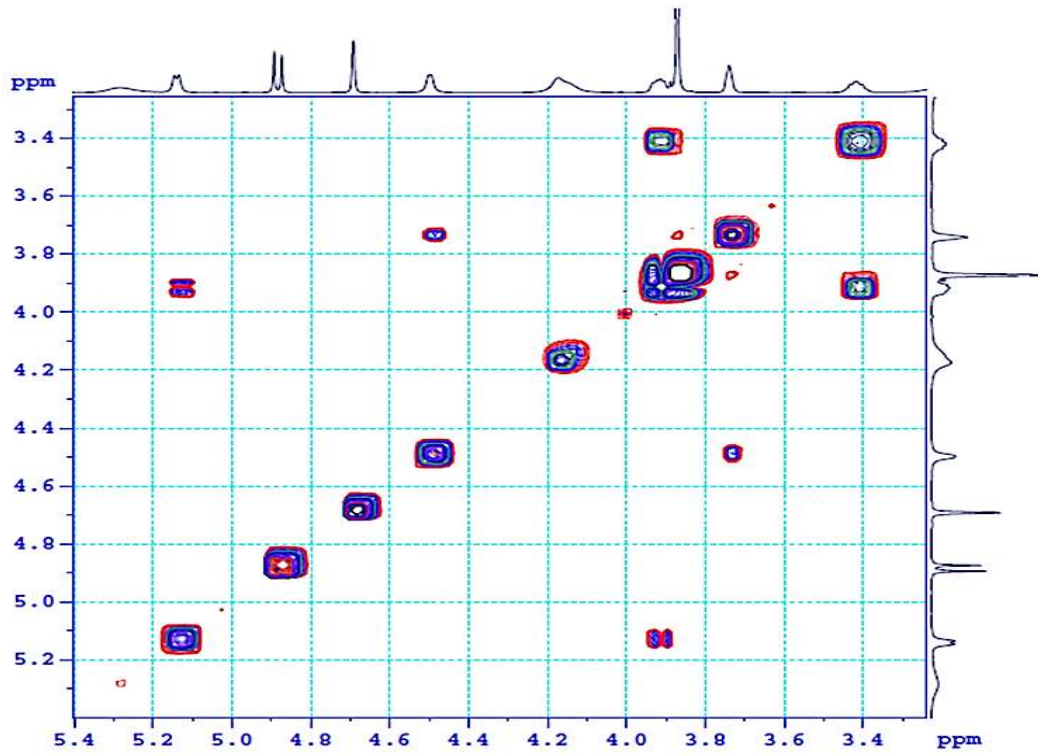
- Phổ COSY



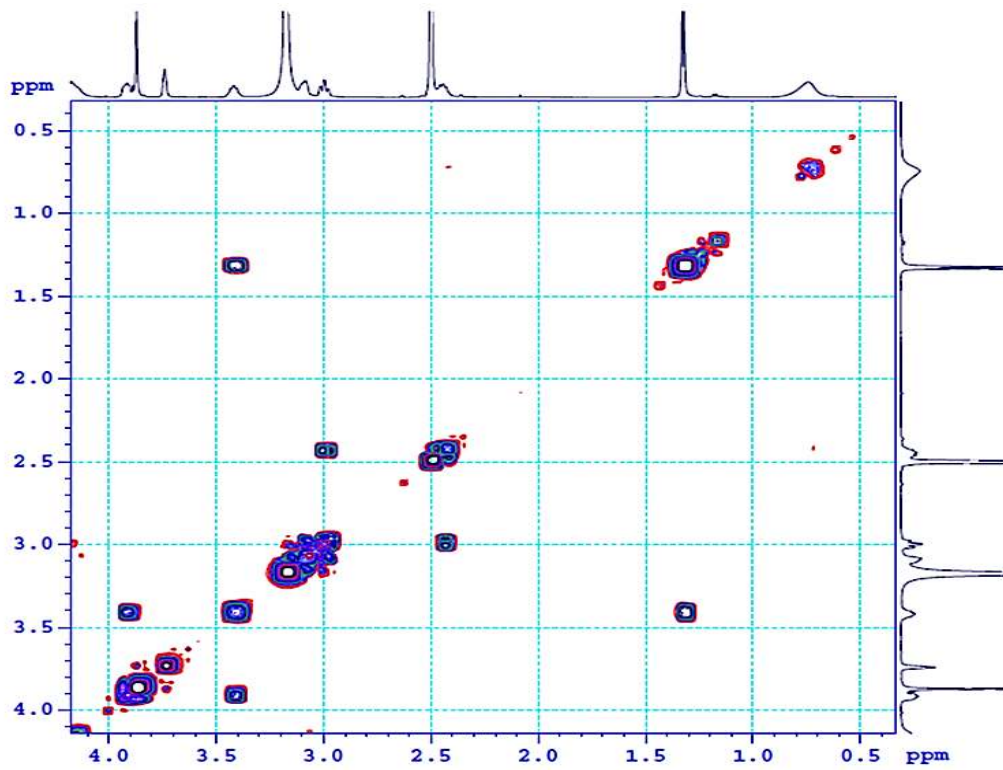
PL3.11. Phổ COSY của hợp chất AC3



PL3.12. Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC3

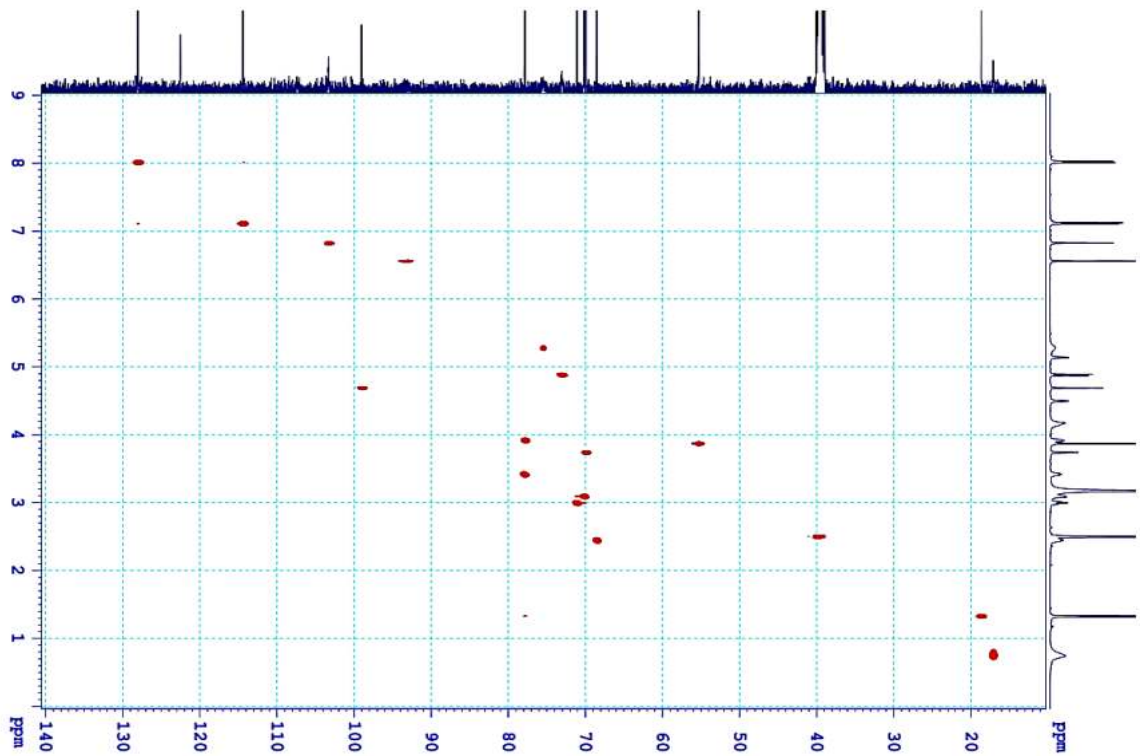


PL3.13. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC3



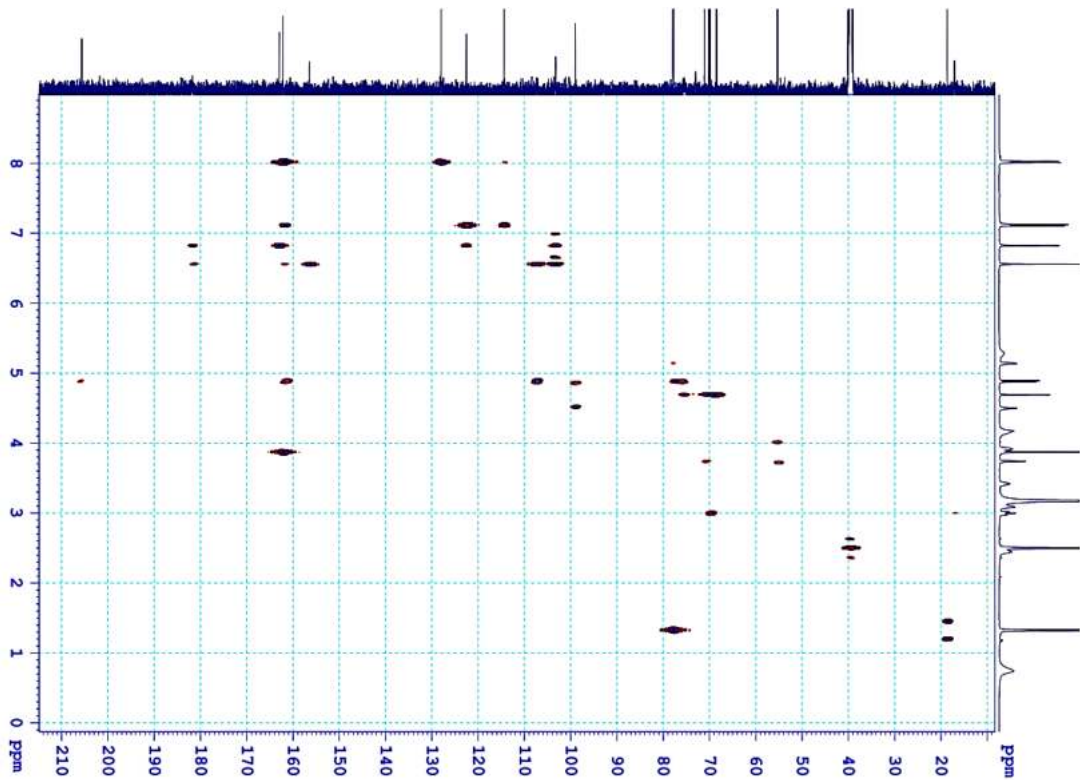
PL3.14. Phổ COSY giản 3 của hợp chất AC3

- Phổ HSQC

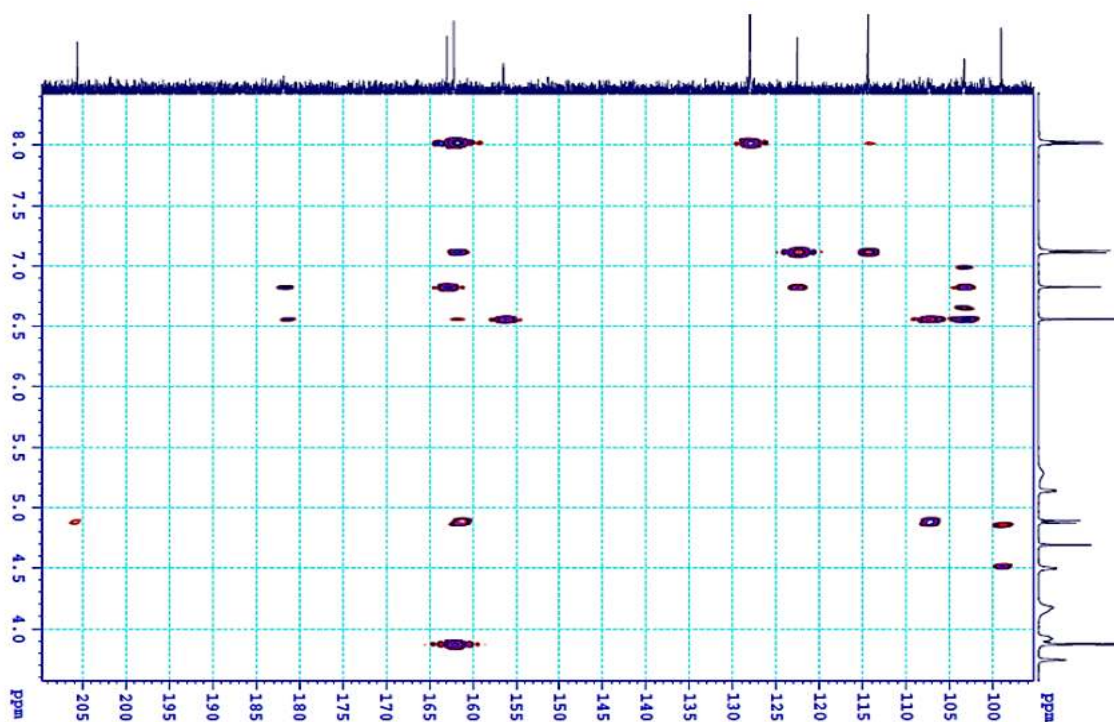


PL3.15. Phổ HSQC của hợp chất AC3

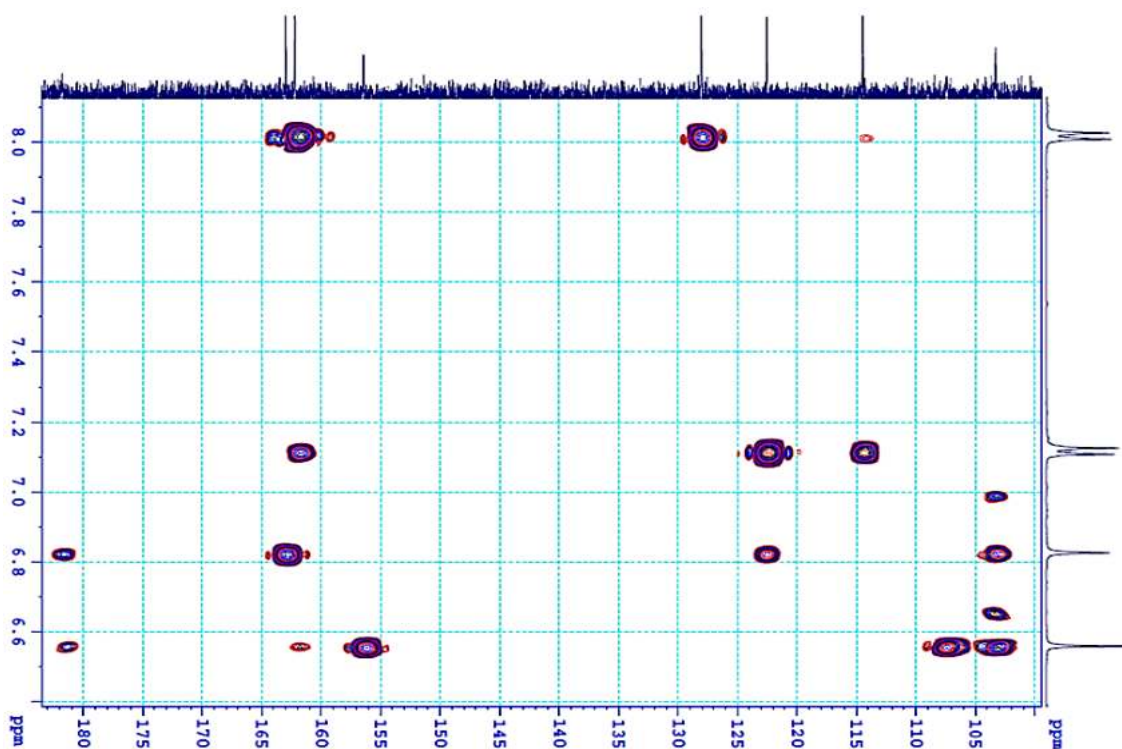
- Phổ HMBC



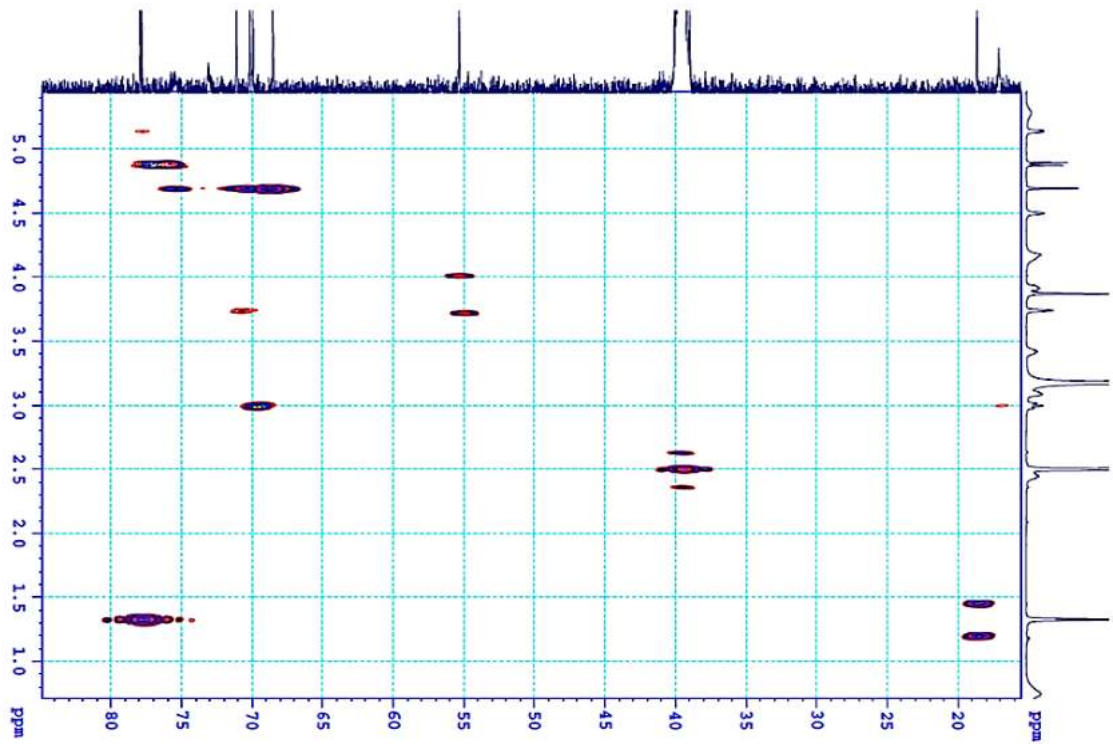
PL3.16. Phổ HMBC của hợp chất AC3



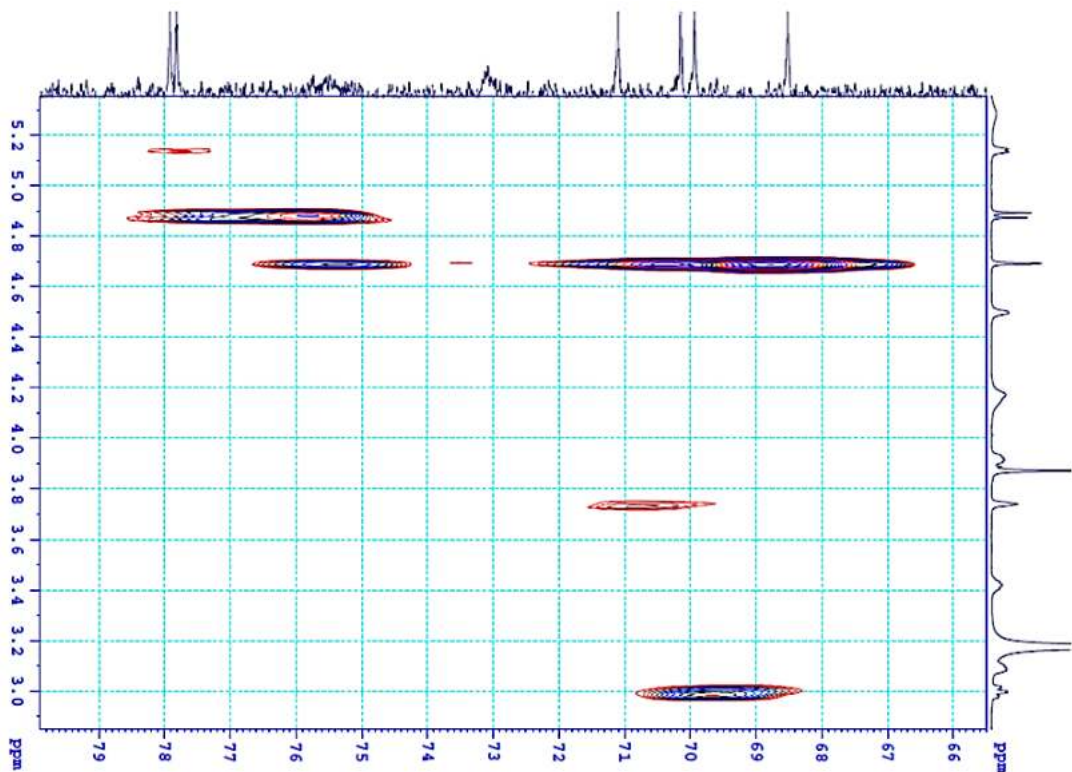
PL3.17. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC3



PL3.18. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC3

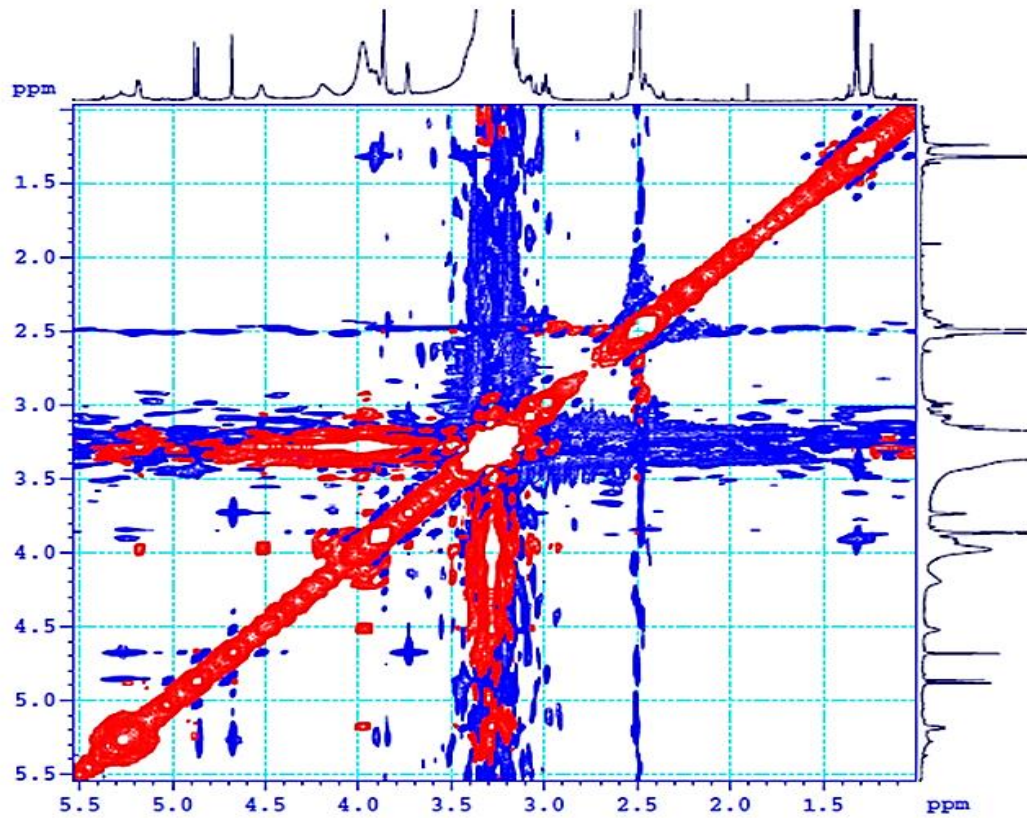


PL3.19. Phổ HMBC gián 3 của hợp chất AC3

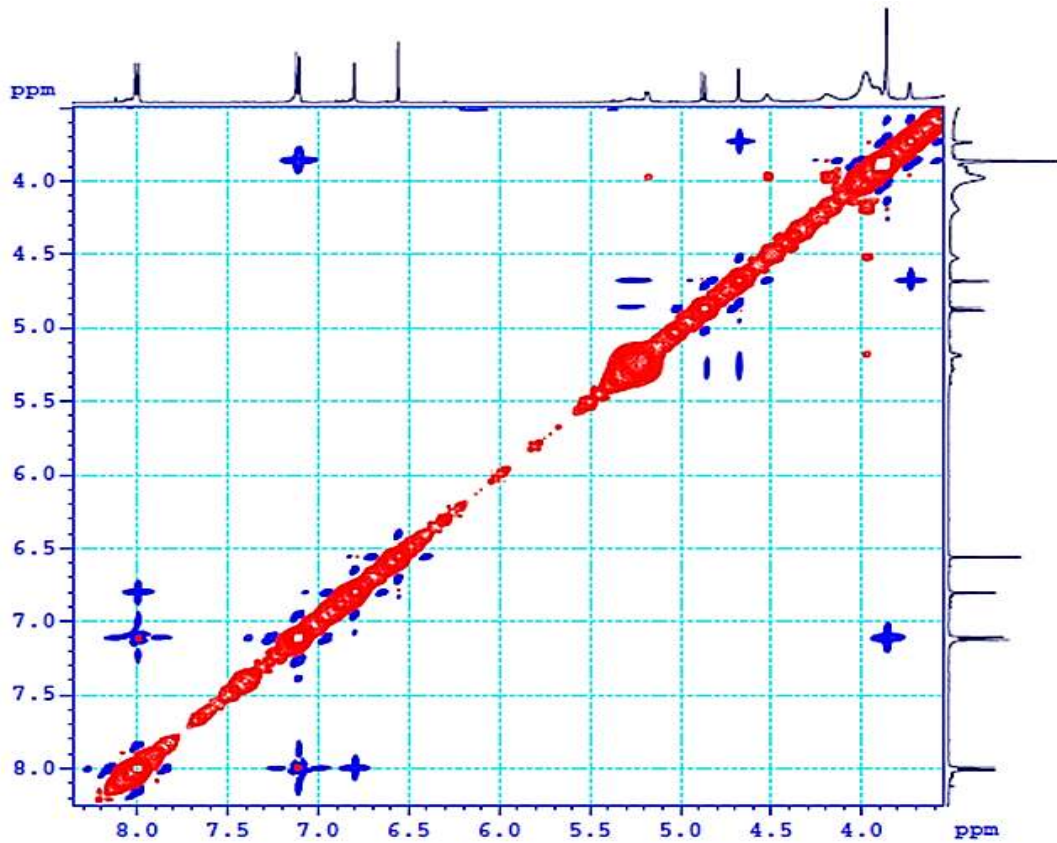


PL3.20. Phổ HMBC gián 4 của hợp chất AC3

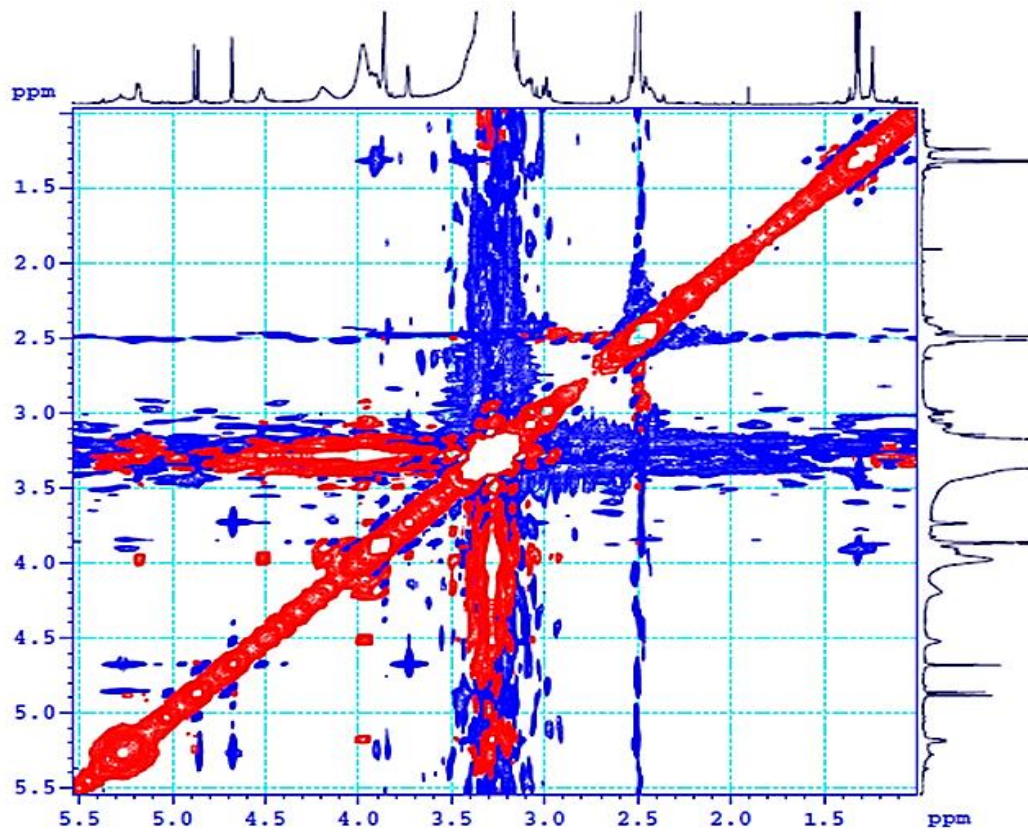
- **Phổ NOESY**



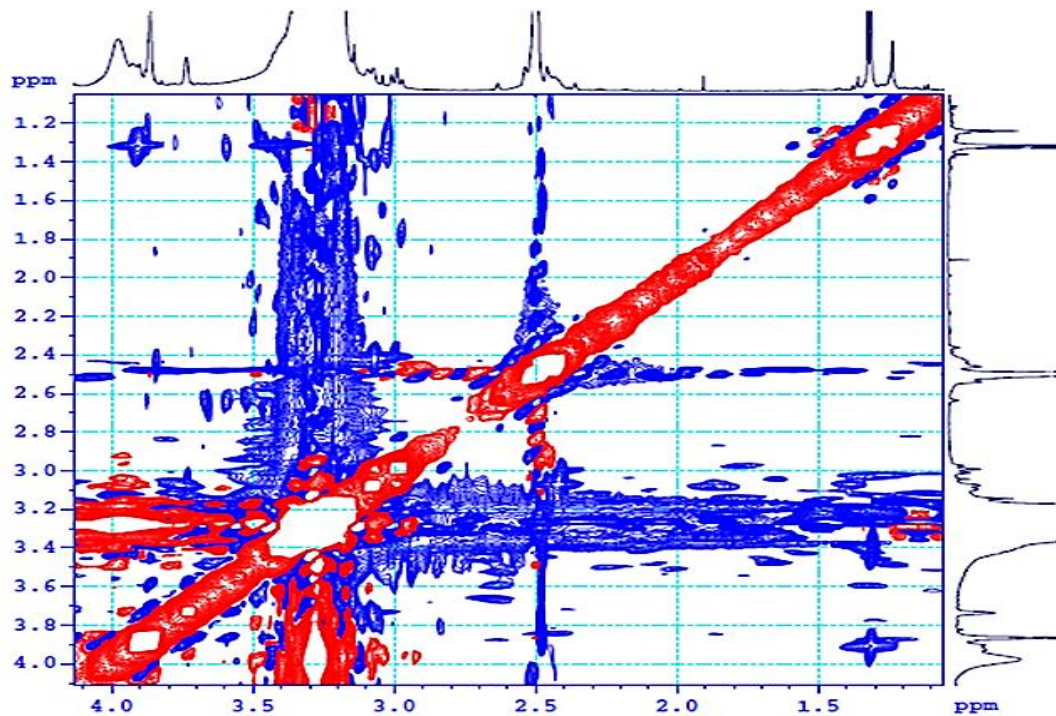
PL3.21. Phổ NOESY của hợp chất AC3



PL3.22. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC3



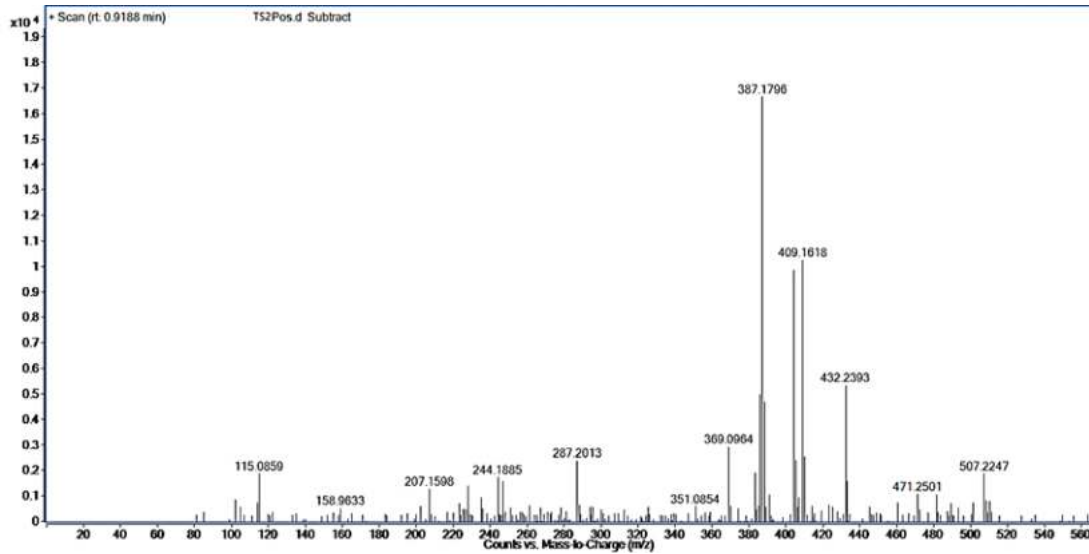
PL3.23. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC3



PL3.24. Phổ NOESY giãn 3 của hợp chất AC3

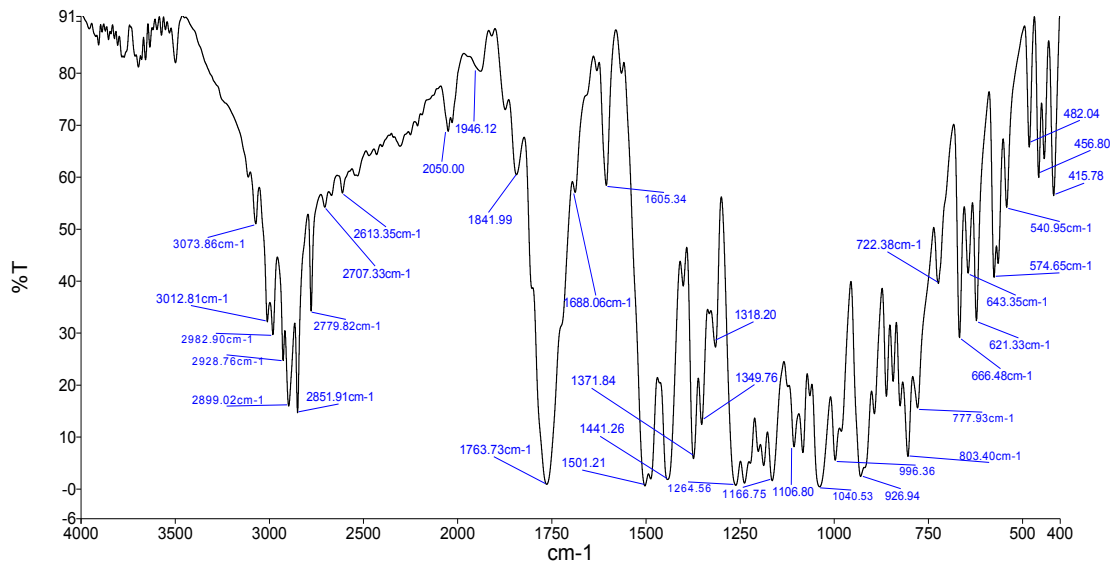
Phụ lục 4: Phổ IR, UV-Vis, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS, của hợp chất AC4: (+)-aptosimon

• **Phổ khối**



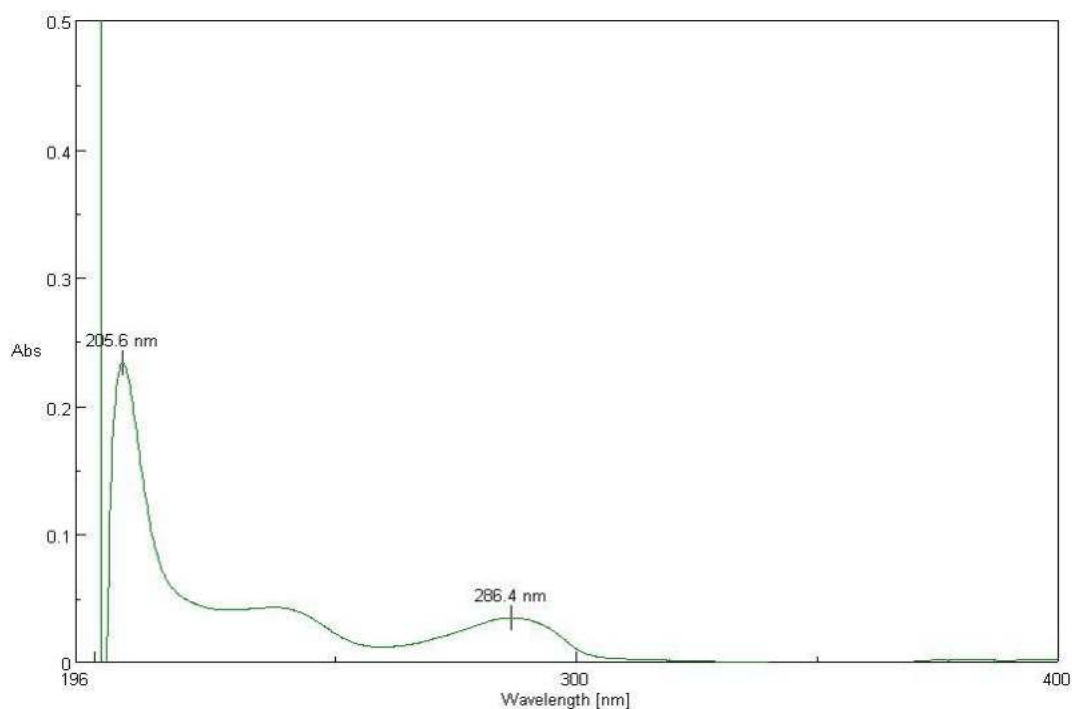
PLA.1. Phổ khối của hợp chất AC4

• **Phổ hồng ngoại**



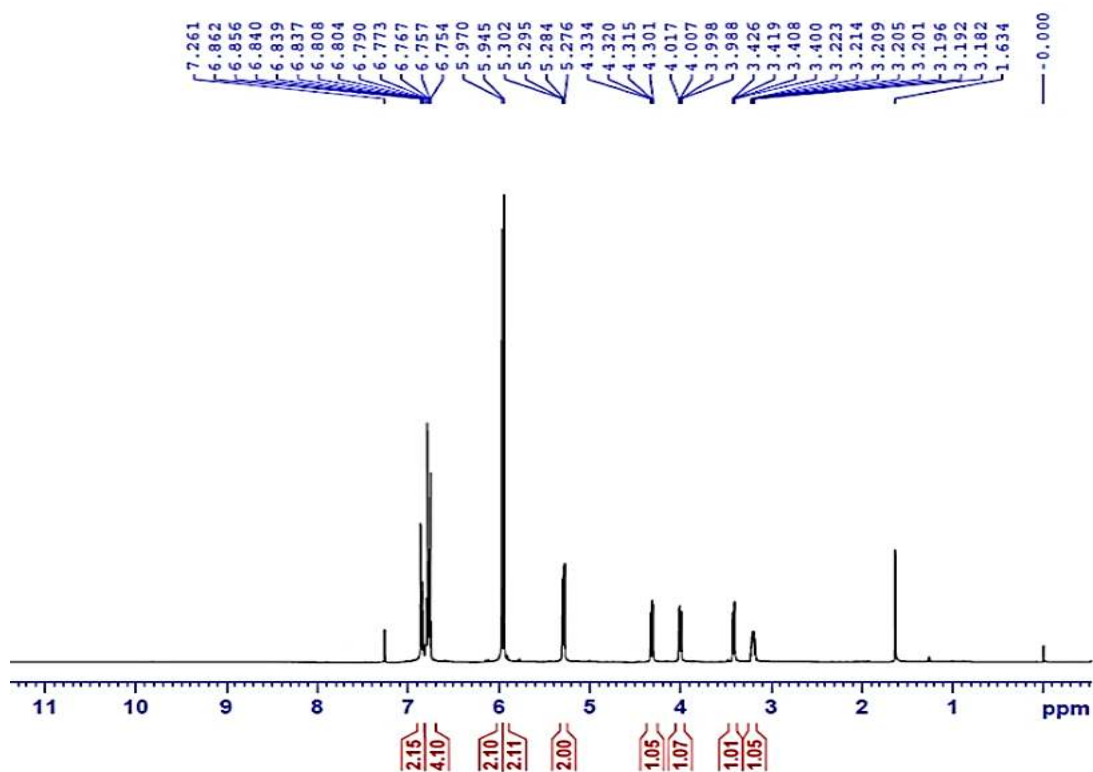
PLA.2. Phổ hồng ngoại của hợp chất AC4

- **Phổ UV-VIs**

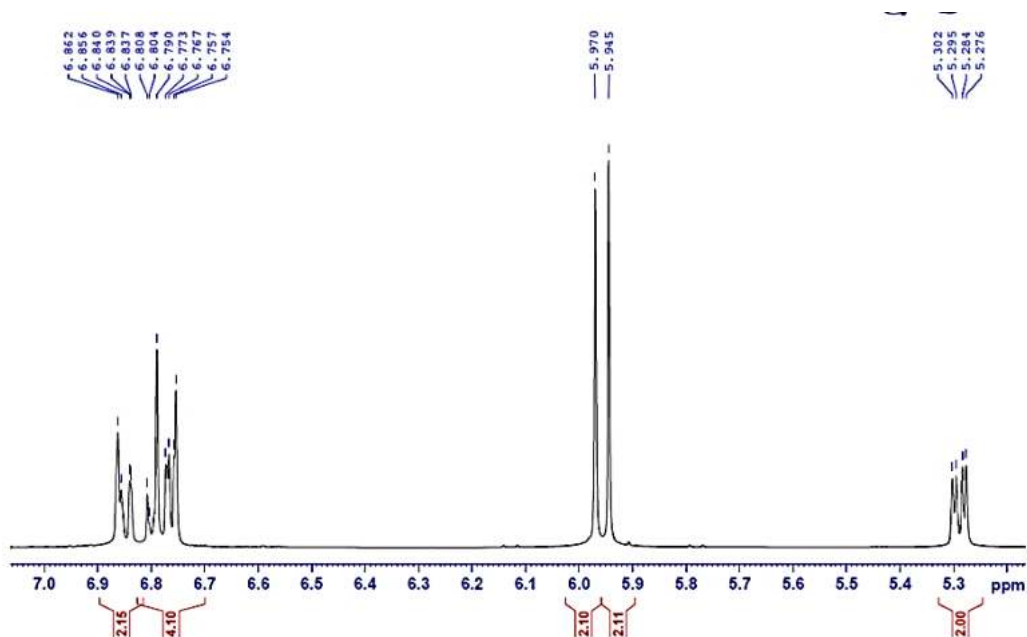


PLA.3. Phổ UV-Vis của hợp chất AC4

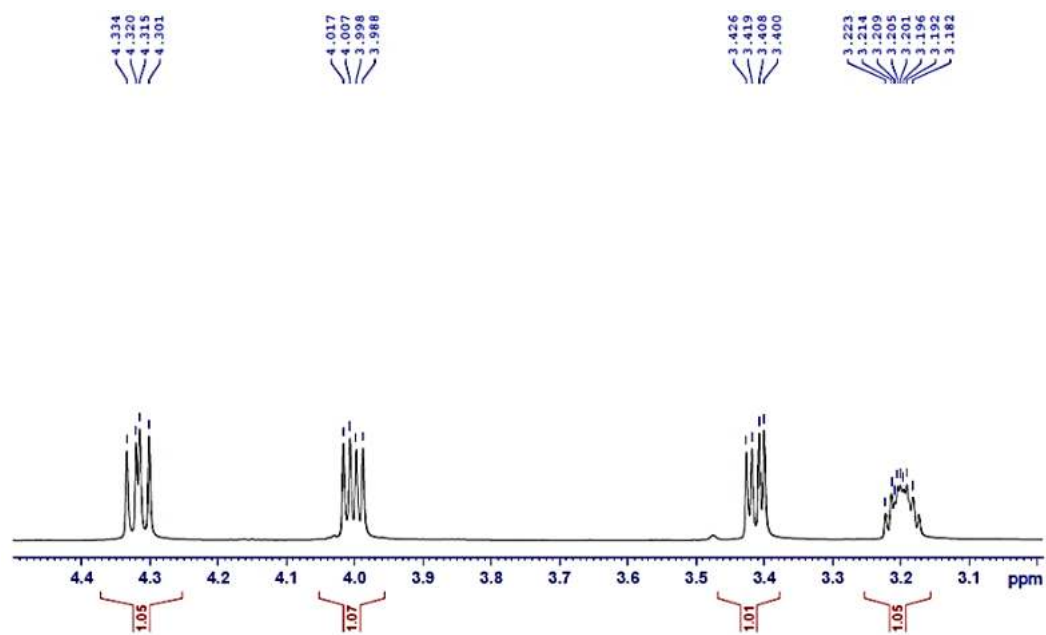
- **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PLA.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC4

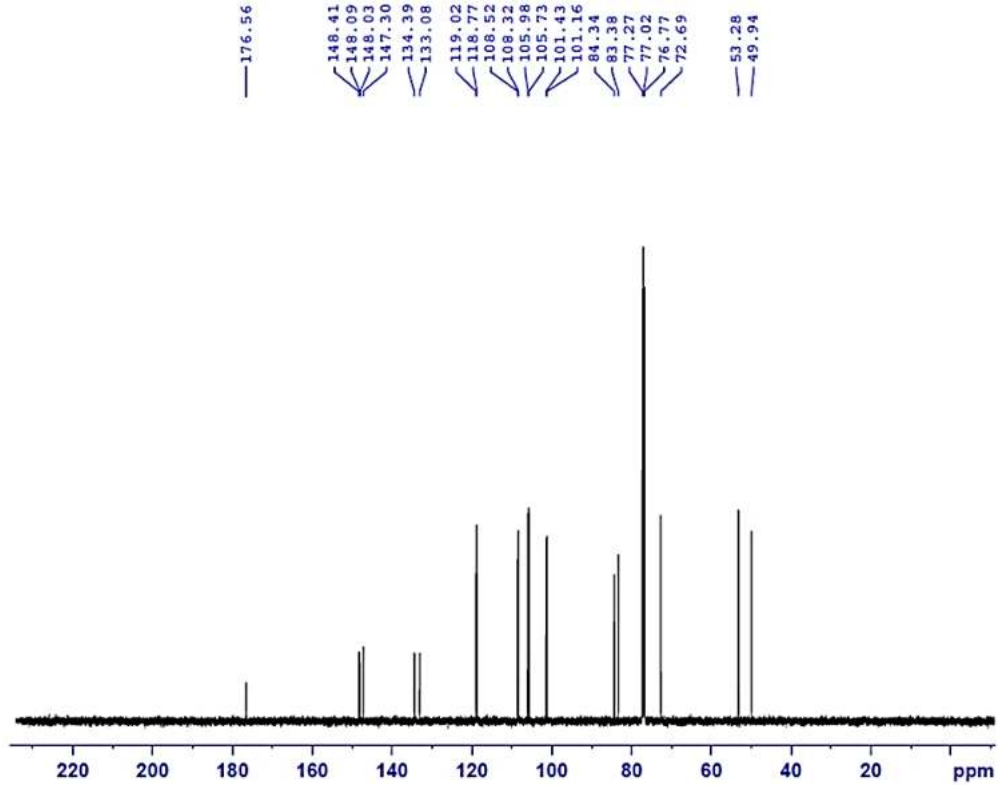


PL4.5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC4



PL4.6. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC4

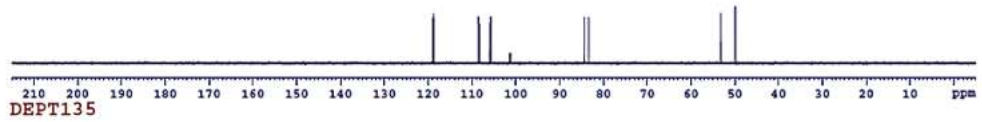
• Phổ ^{13}C -NMR



PL4.7. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC4

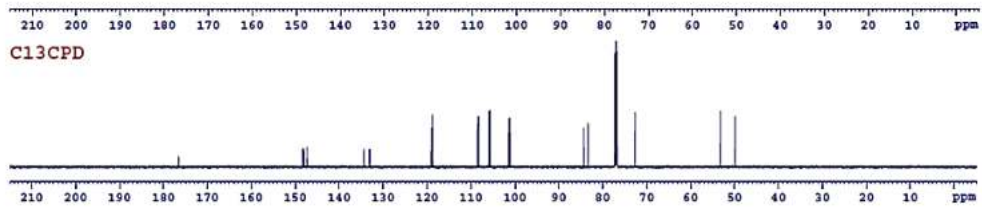
• Phổ DEPT

DEPT90

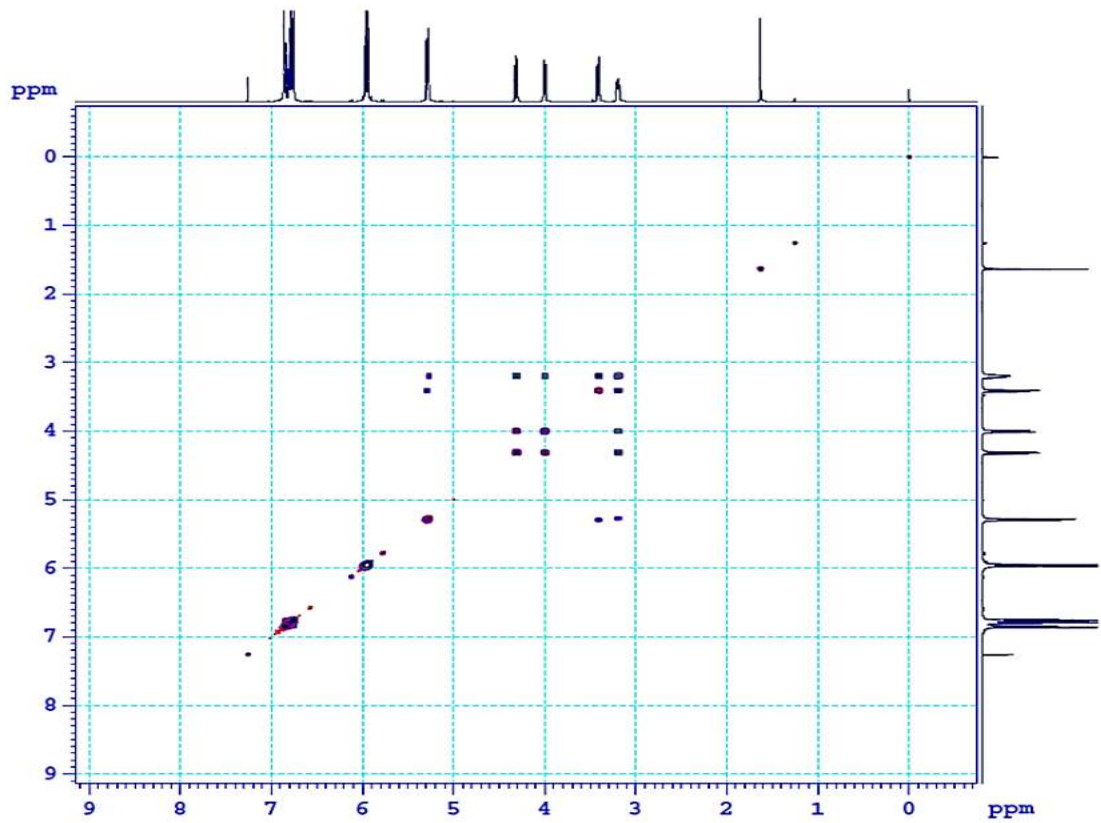


CH&CH3

CH2

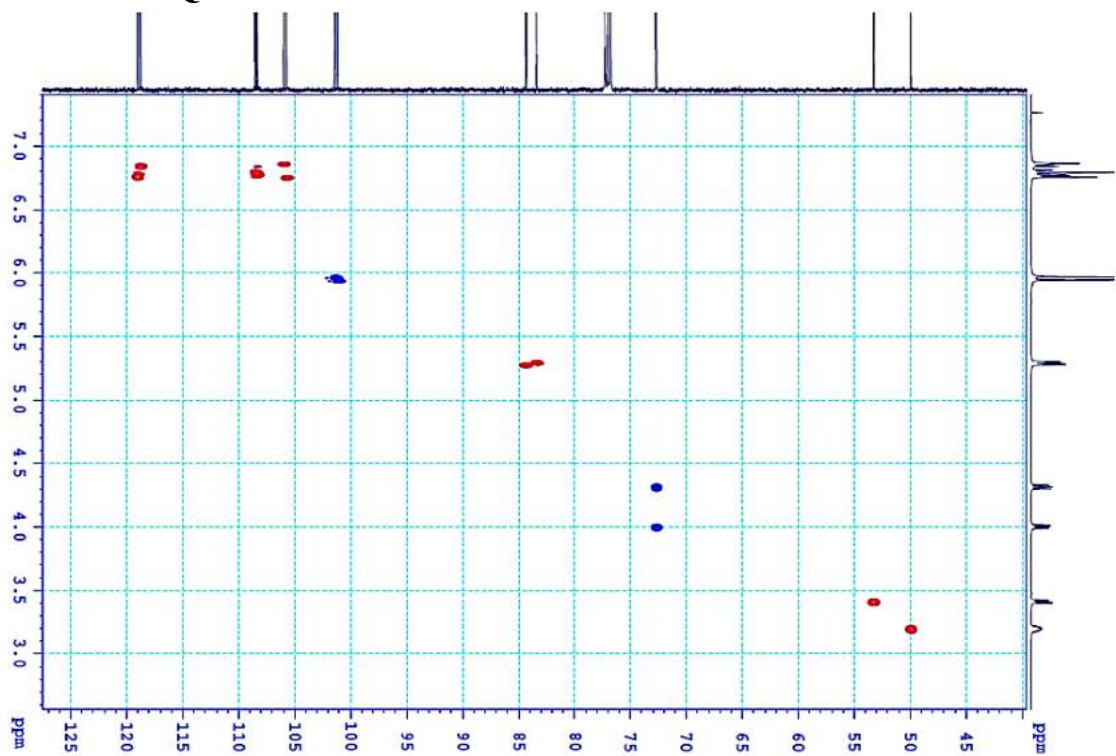


PL4.8. Phổ DEPT của hợp chất AC4



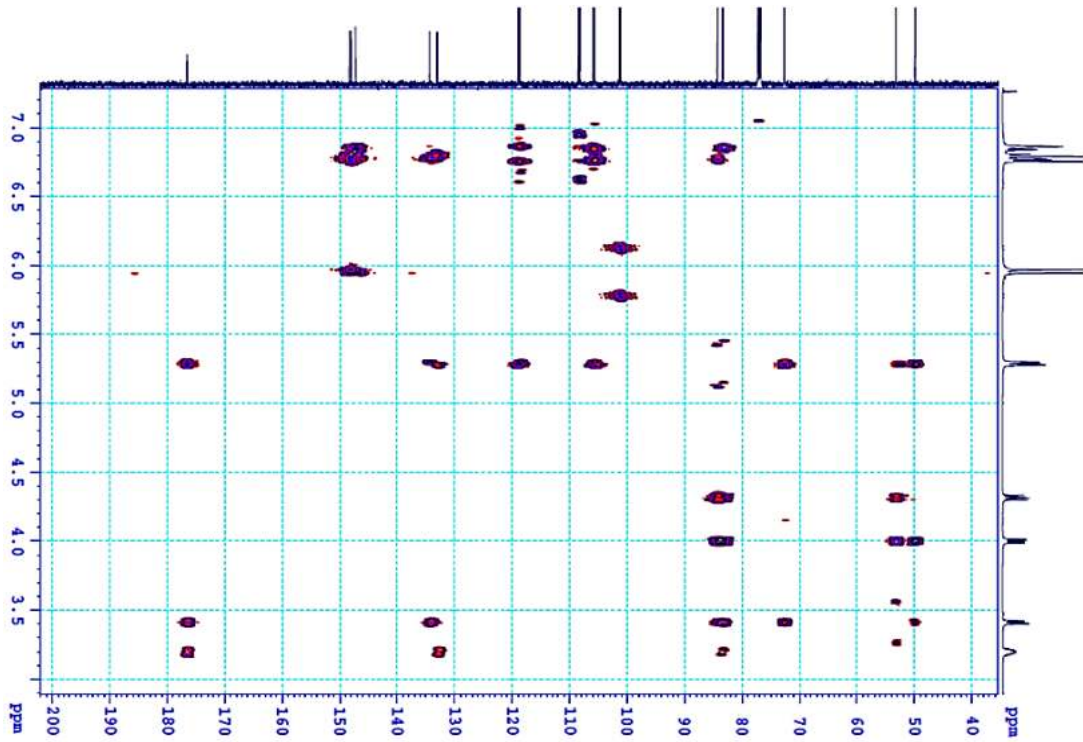
PLA.9. Phổ COSY của hợp chất AC4

- Phổ HSQC

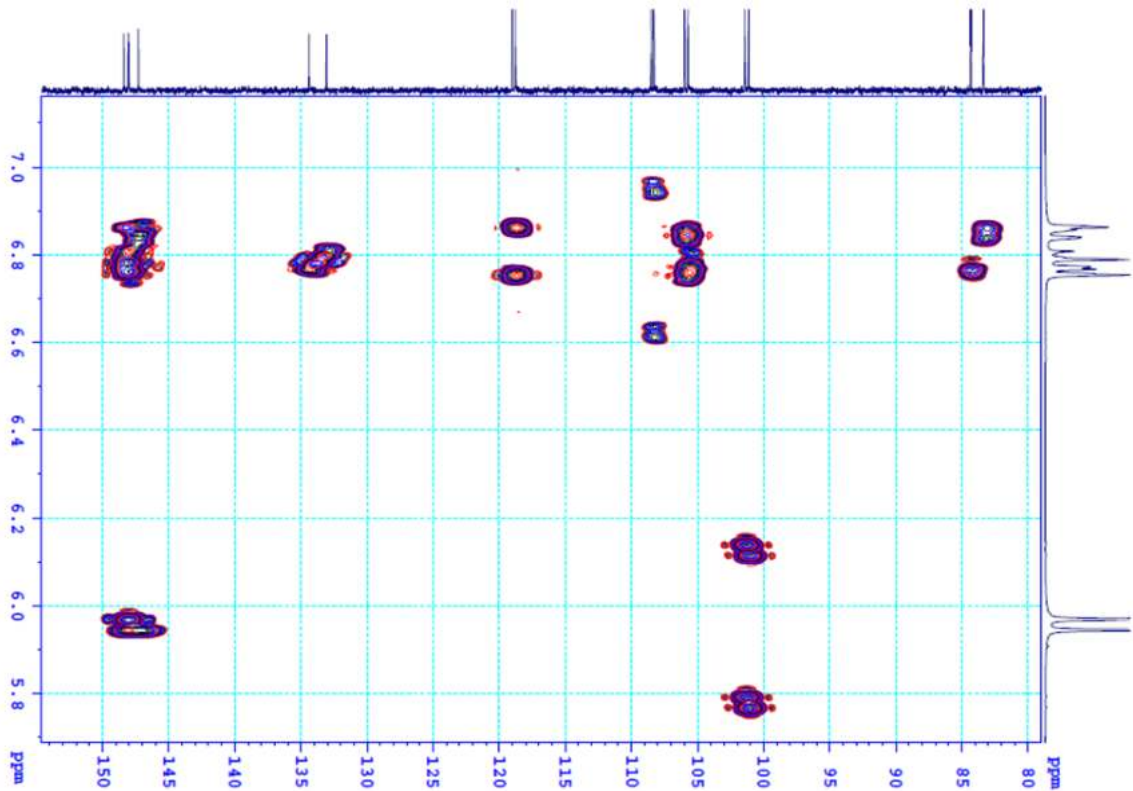


PLA.10. Phổ HSQC của hợp chất AC4

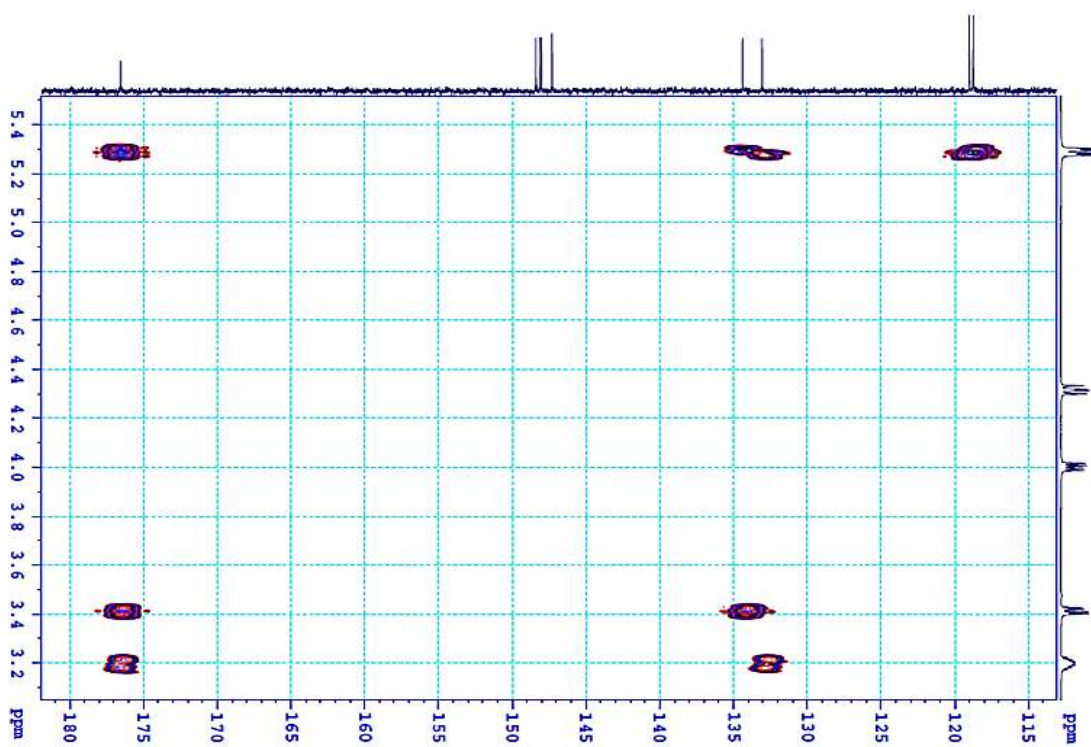
- Phổ HMBC



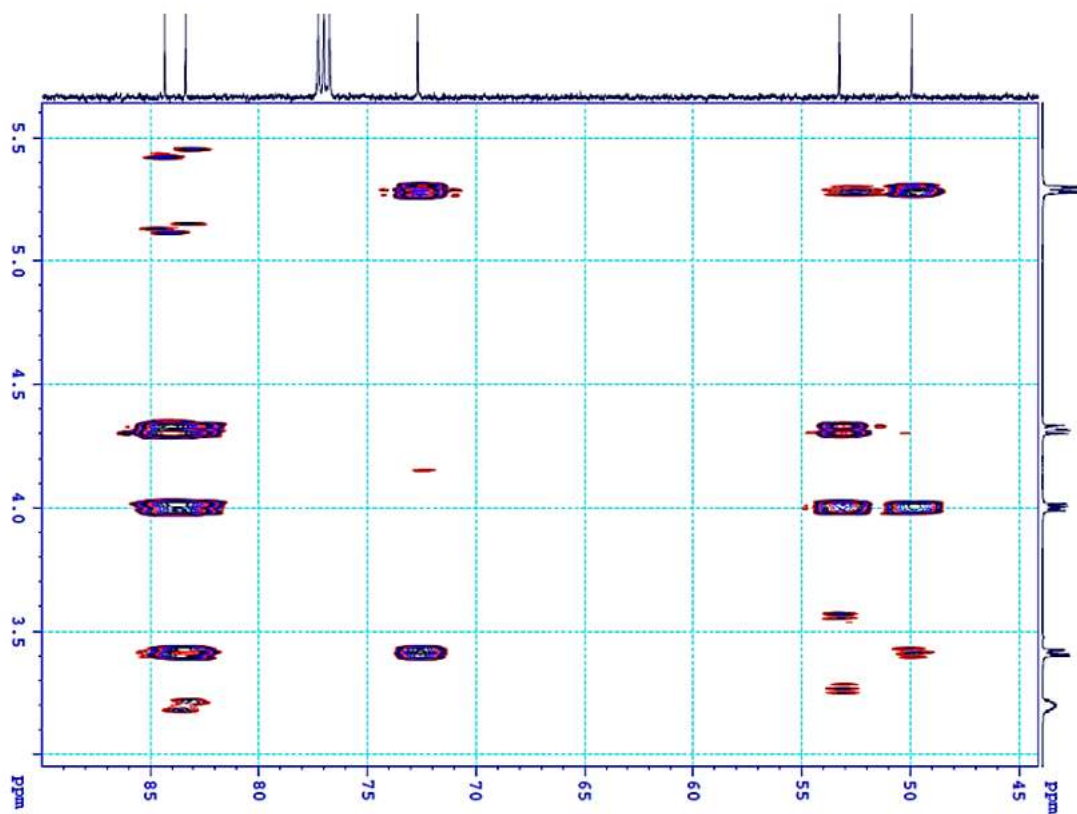
PL4.11. Phổ HMBC của hợp chất AC4



PL4.12. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC4

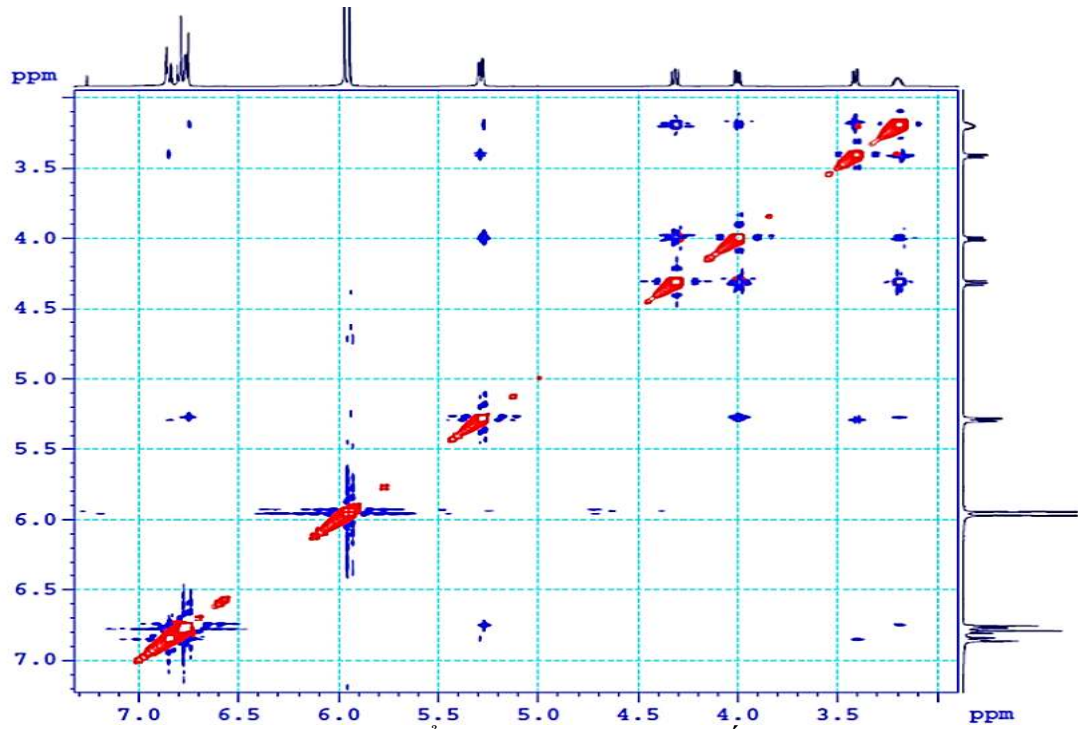


PL4.13. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC4

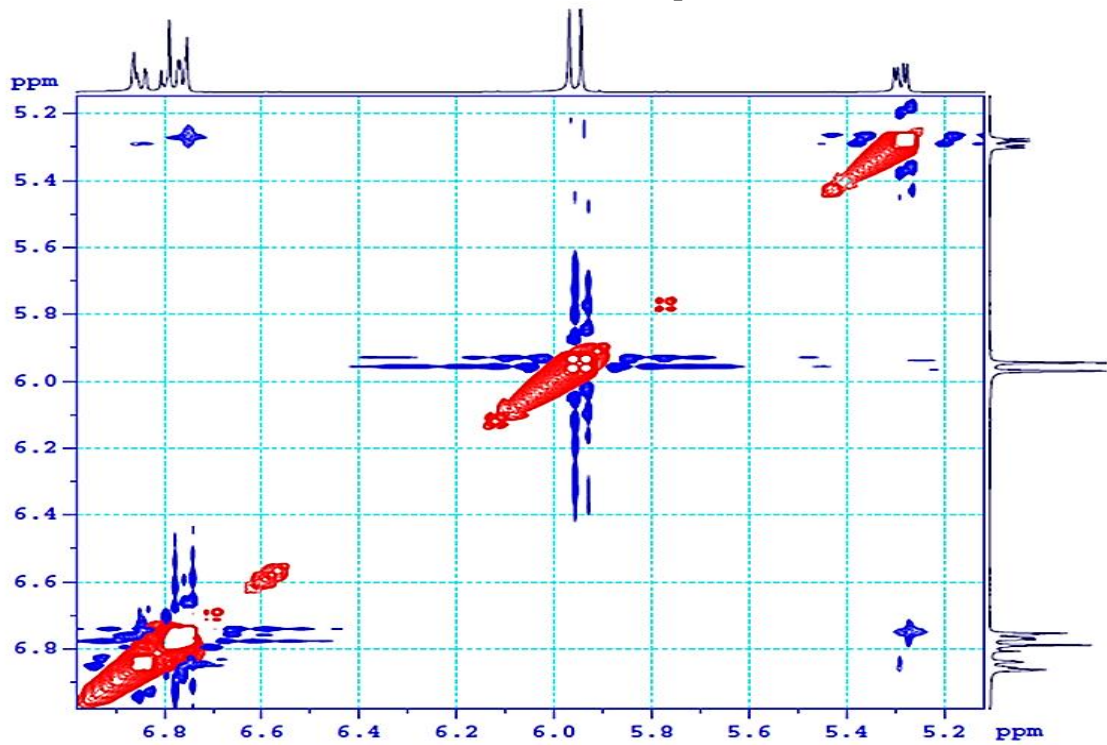


PL4.14. Phổ HMBC giãn 3 của hợp chất AC4

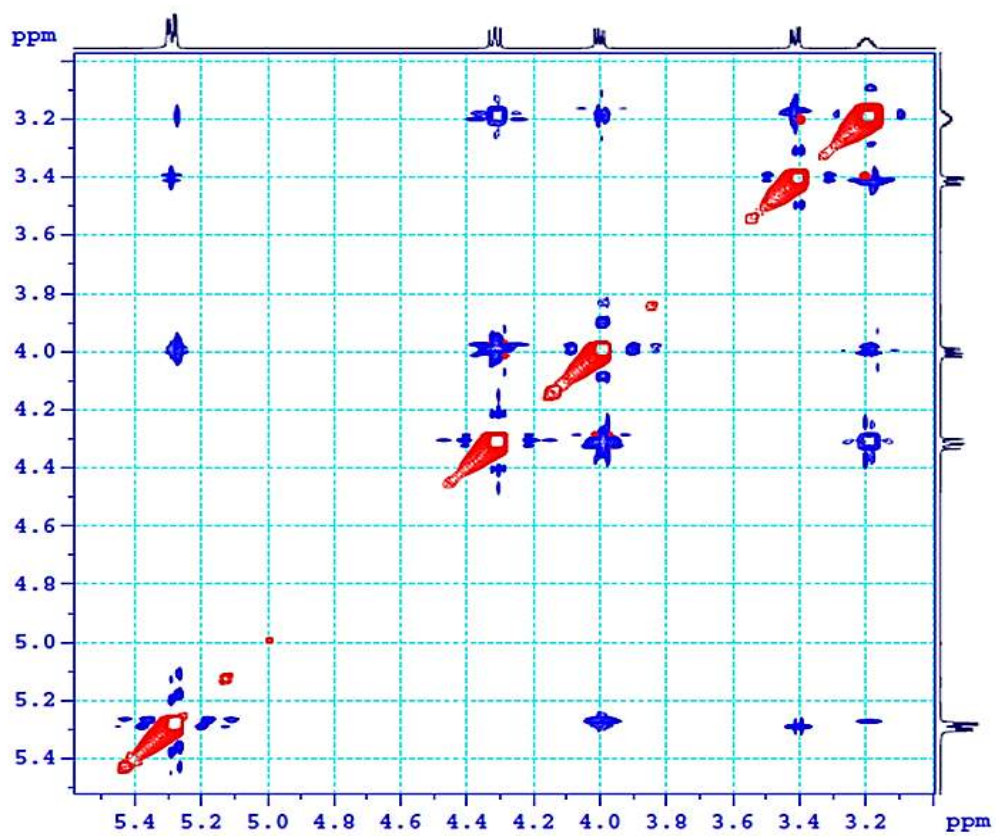
- Phổ NOESY



PL4.15. Phổ NOESY của hợp chất AC4



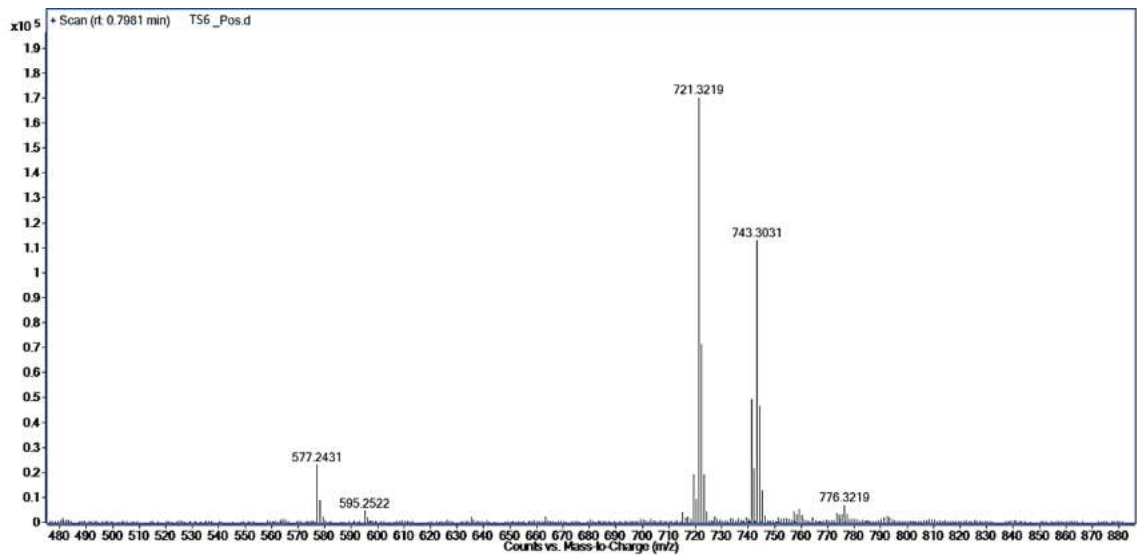
PL4.16. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC4



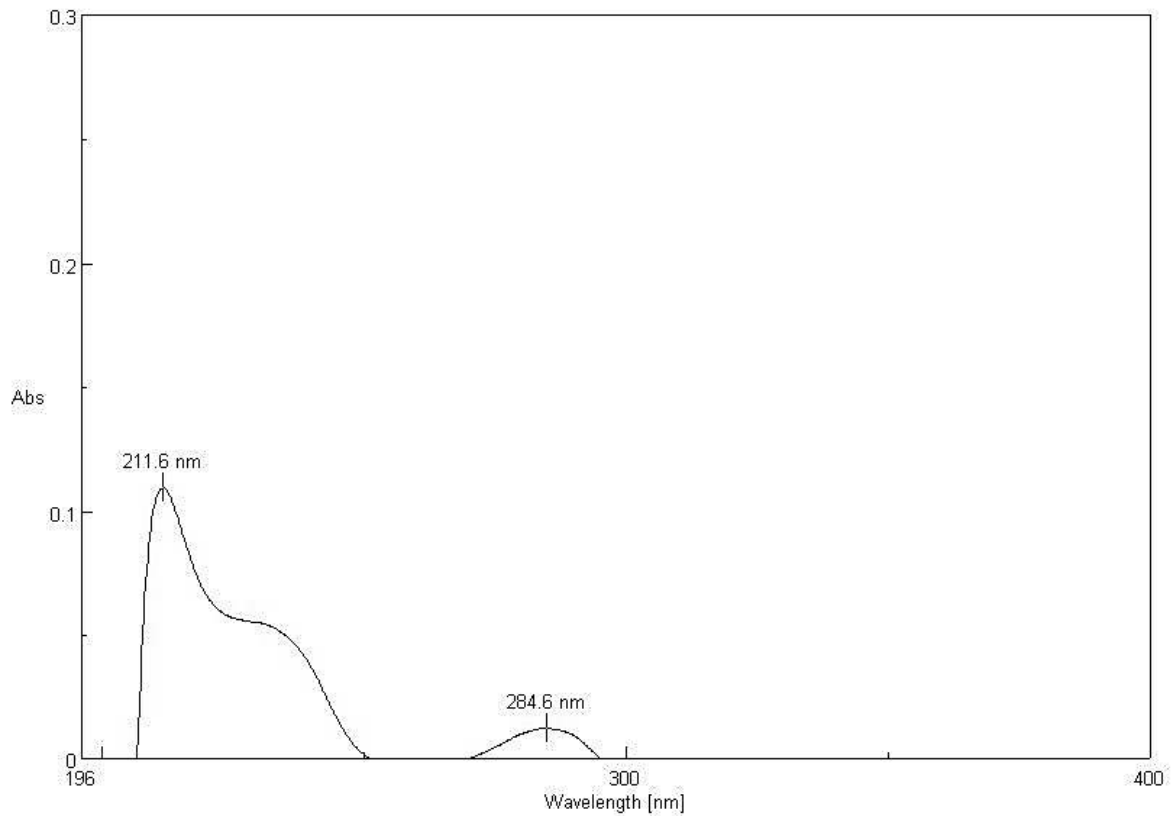
PLA.17. Phổ NOESY giản 2 của hợp chất AC4

Phụ lục 5: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC5: (+)-isolariciresinol

• **Phổ khối**

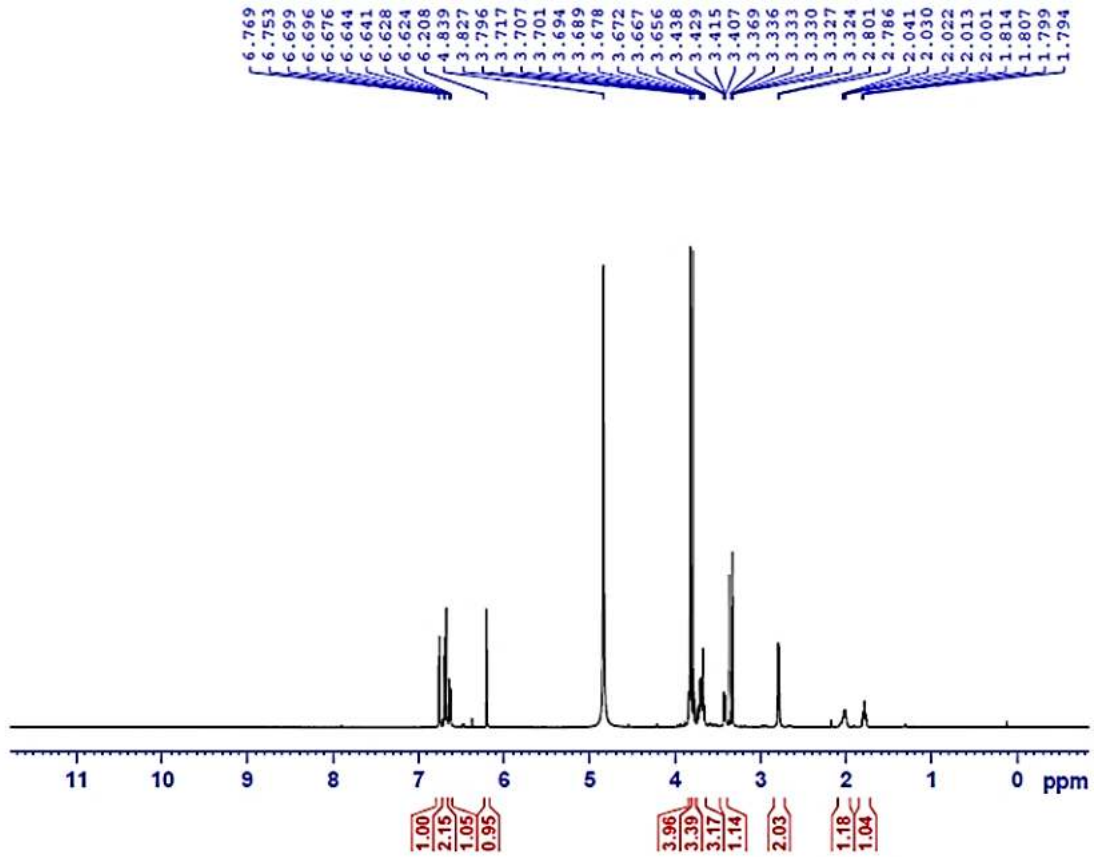


PL5.1. Phổ khối của hợp chất AC5

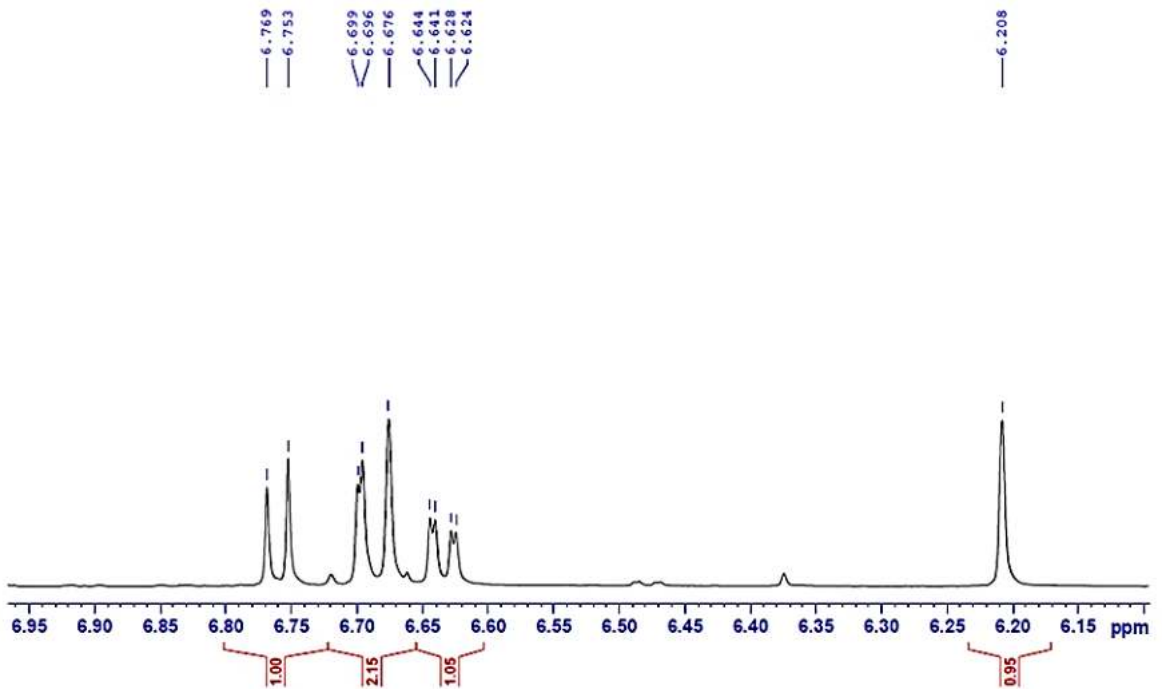


PL5.2. Phổ UV-Vis của hợp chất AC5

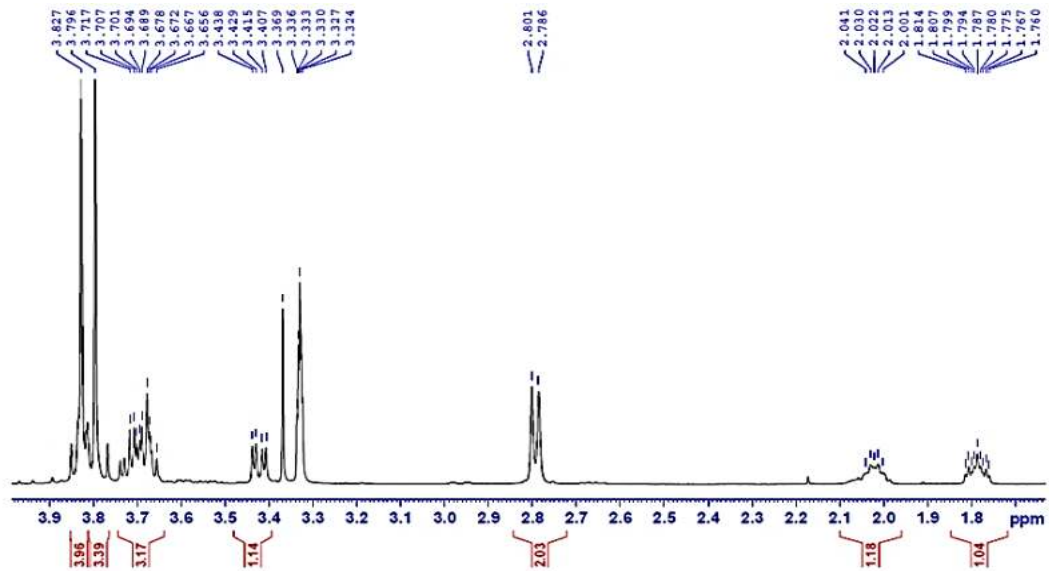
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL5.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC5

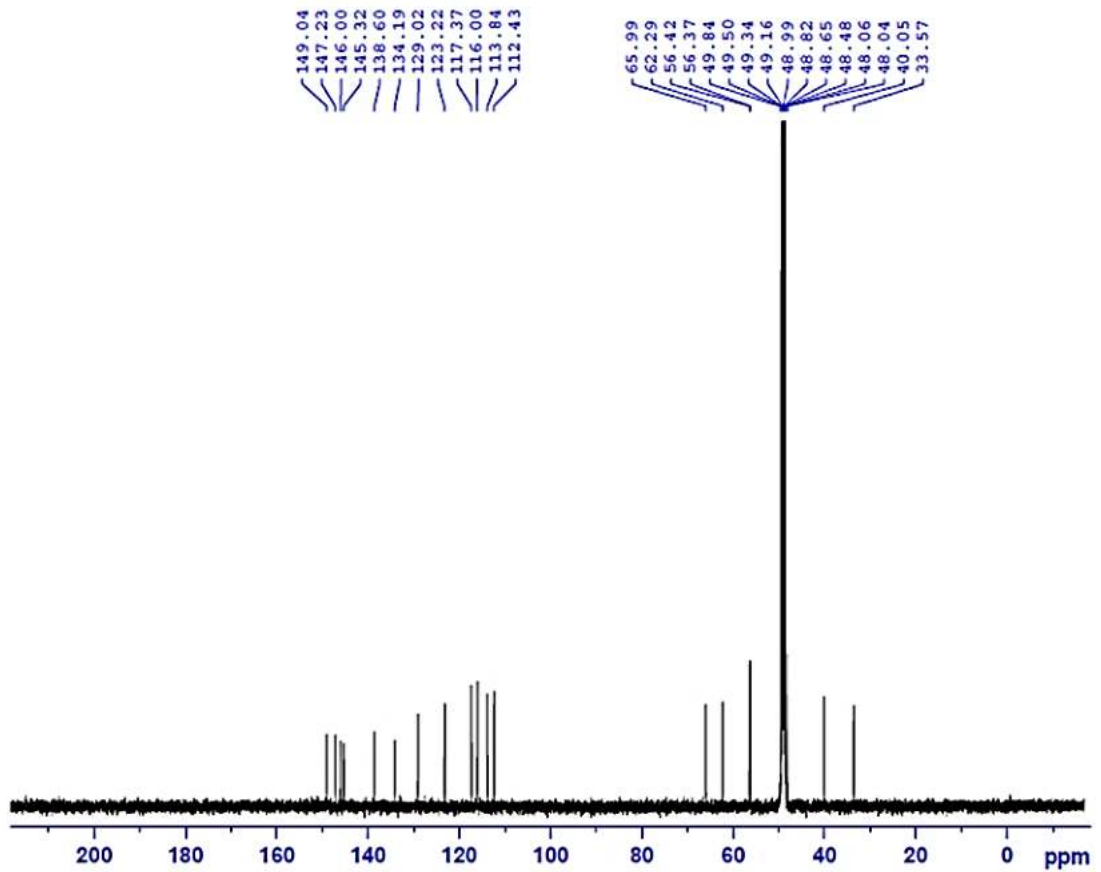


PL5.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC5



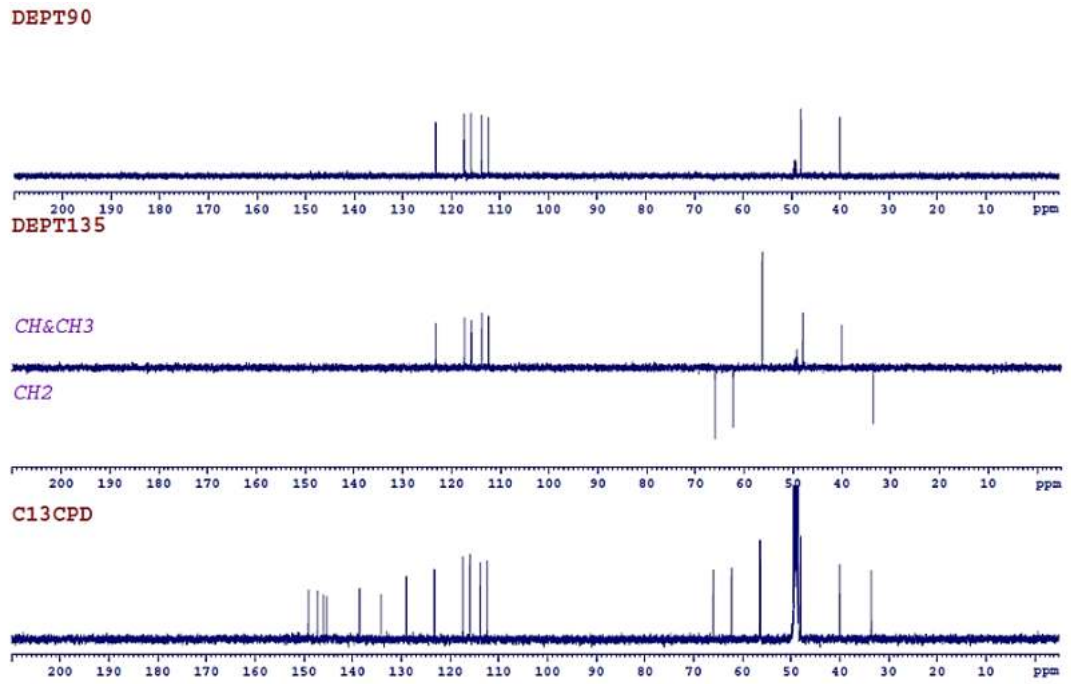
PL5.5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 2 của hợp chất AC5

• Phổ $^{13}\text{C-NMR}$



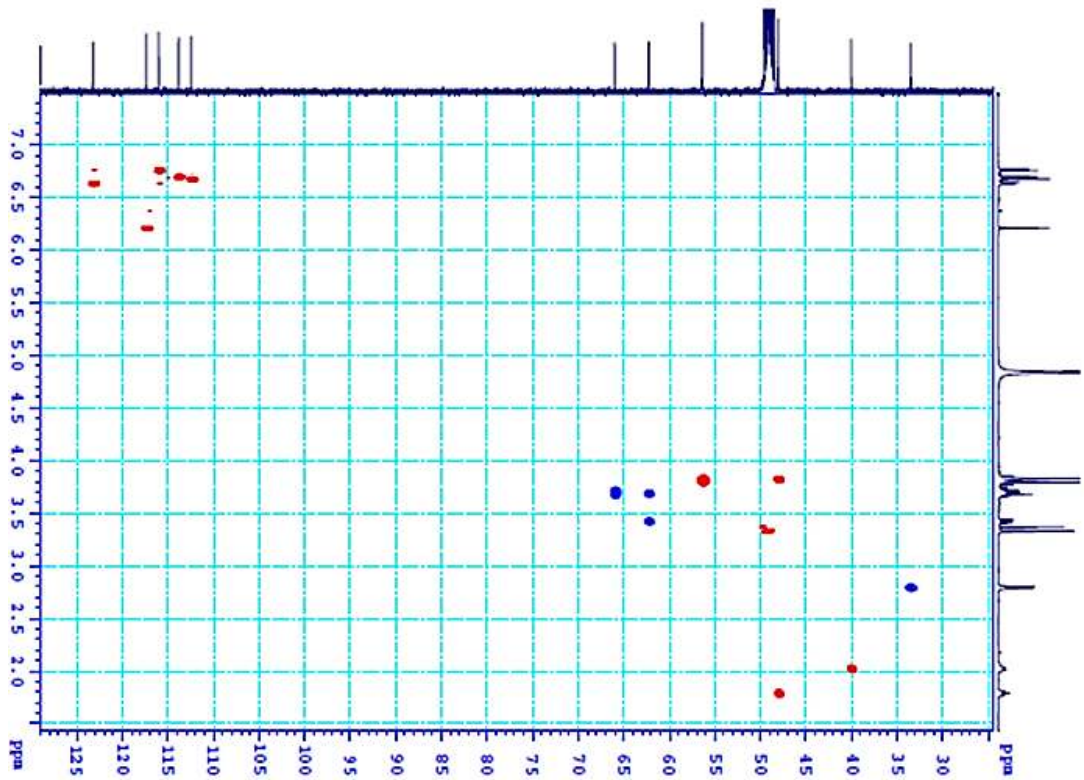
PL5.6. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC5

- Phổ DEPT



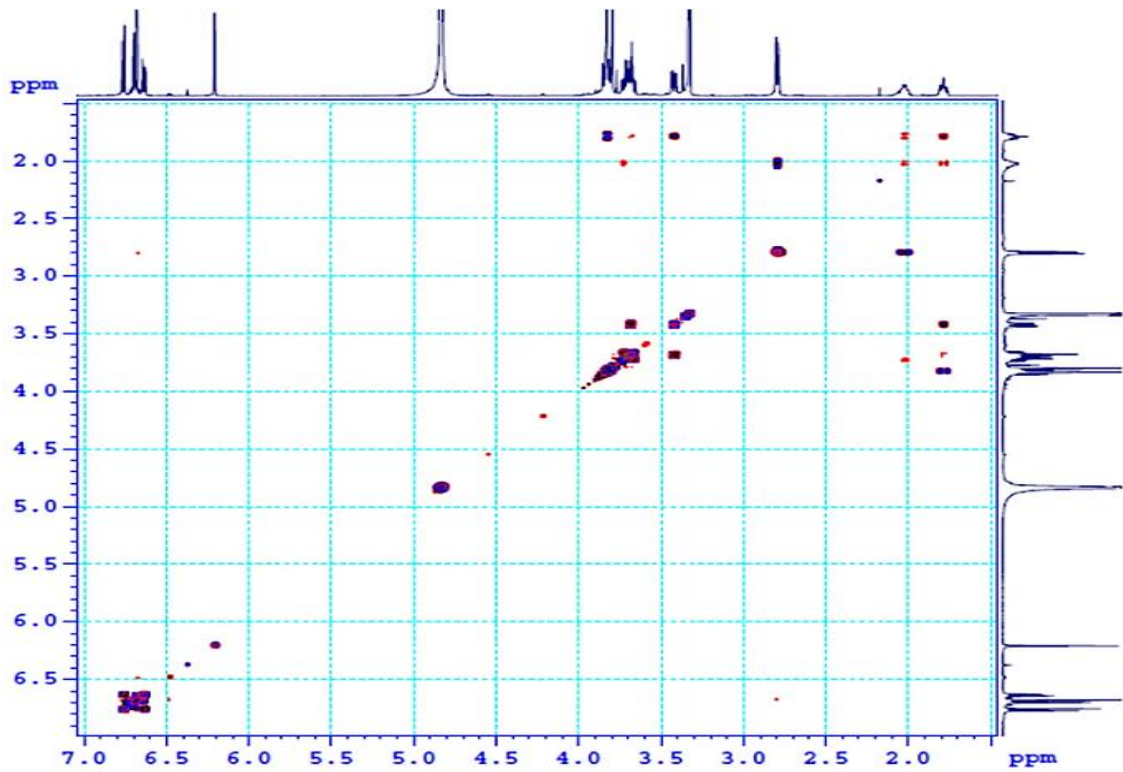
PL5.7. Phổ DEPT của hợp chất AC5

- Phổ HSQC

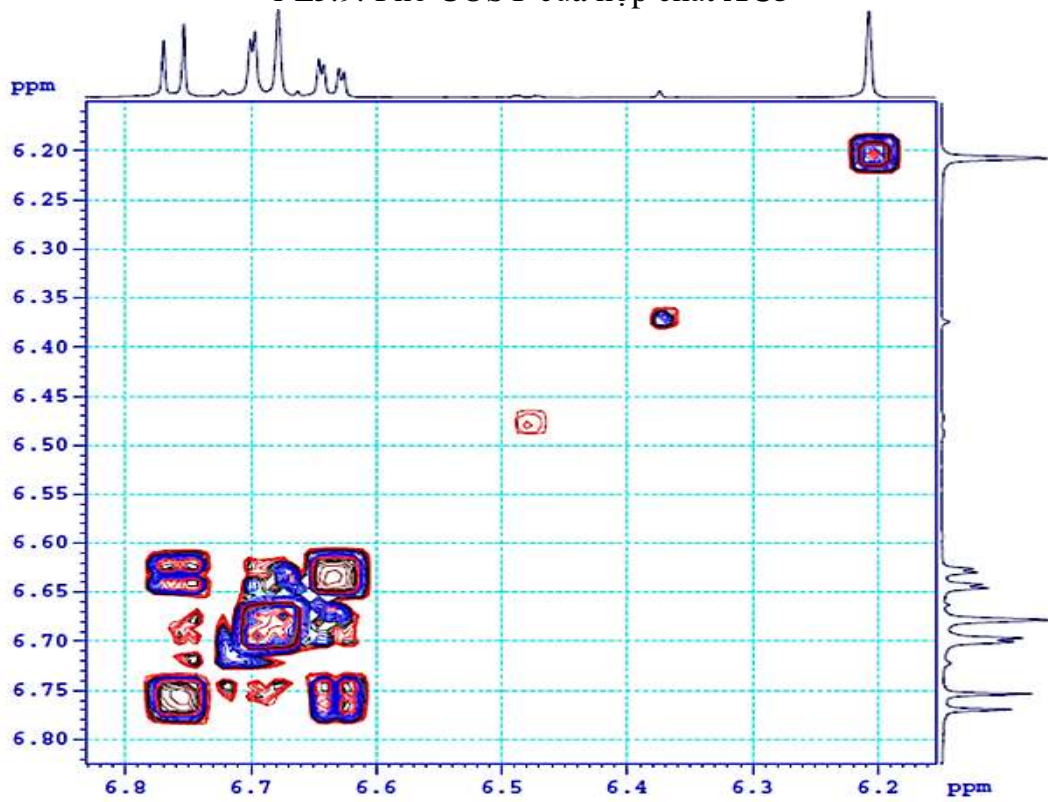


PL5.8. Phổ HSQC của hợp chất AC5

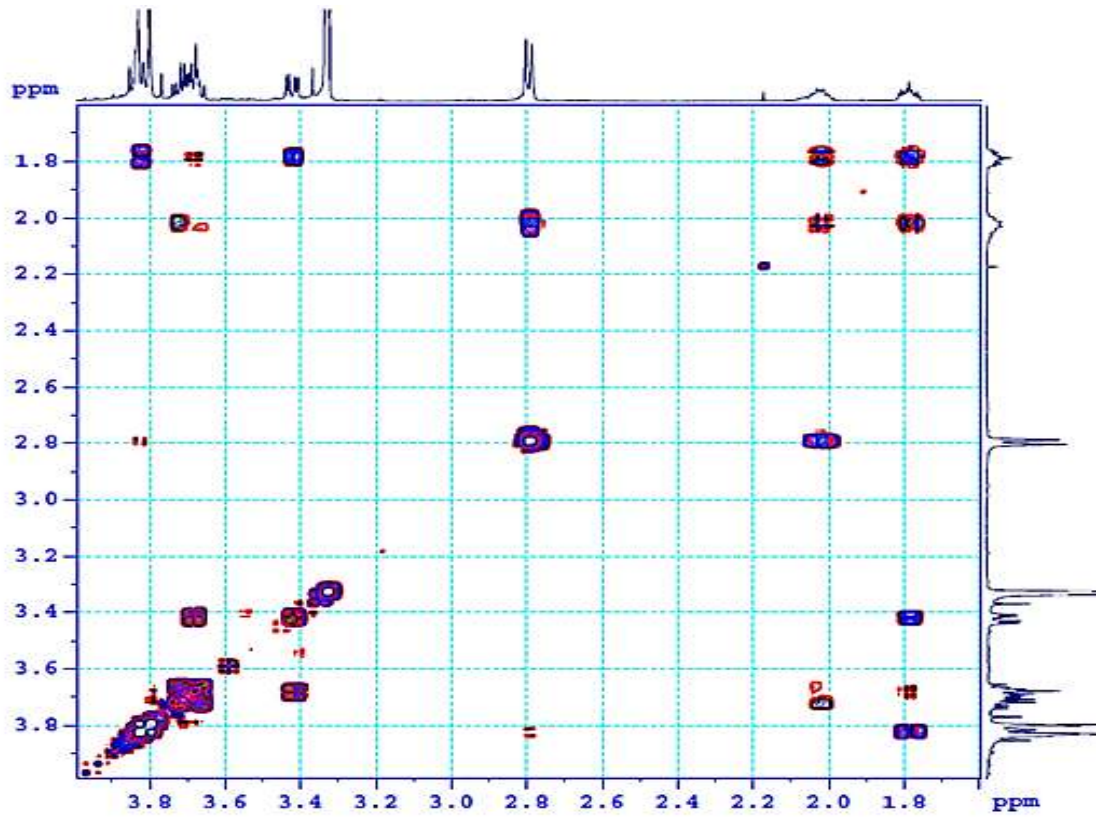
- Phổ COSY



PL5.9. Phổ COSY của hợp chất AC5

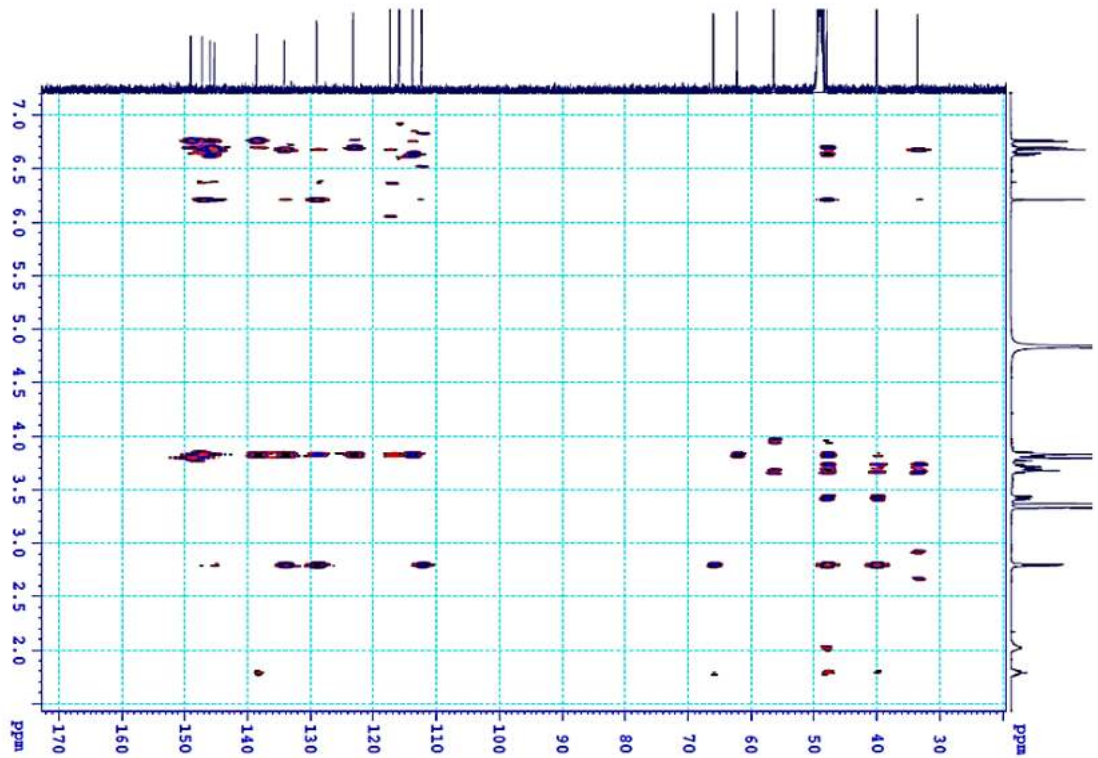


PL5.10. Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC5

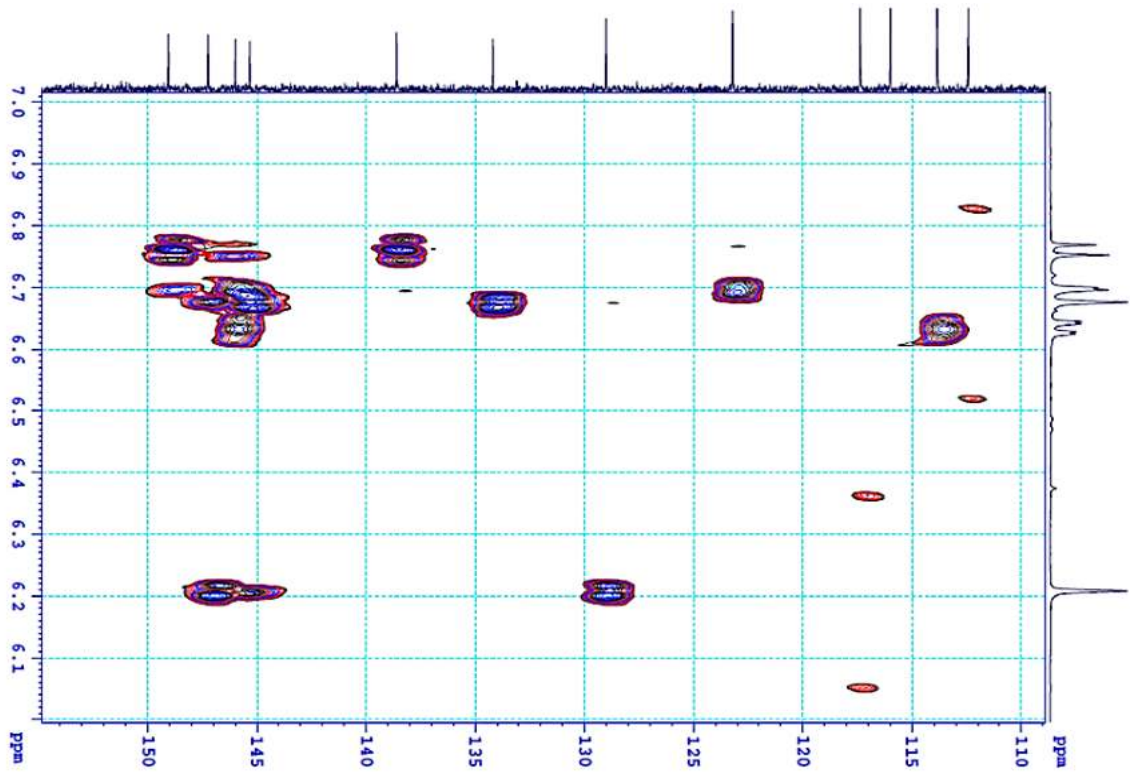


PL5.11. Phổ COSY giản 2 của hợp chất AC5

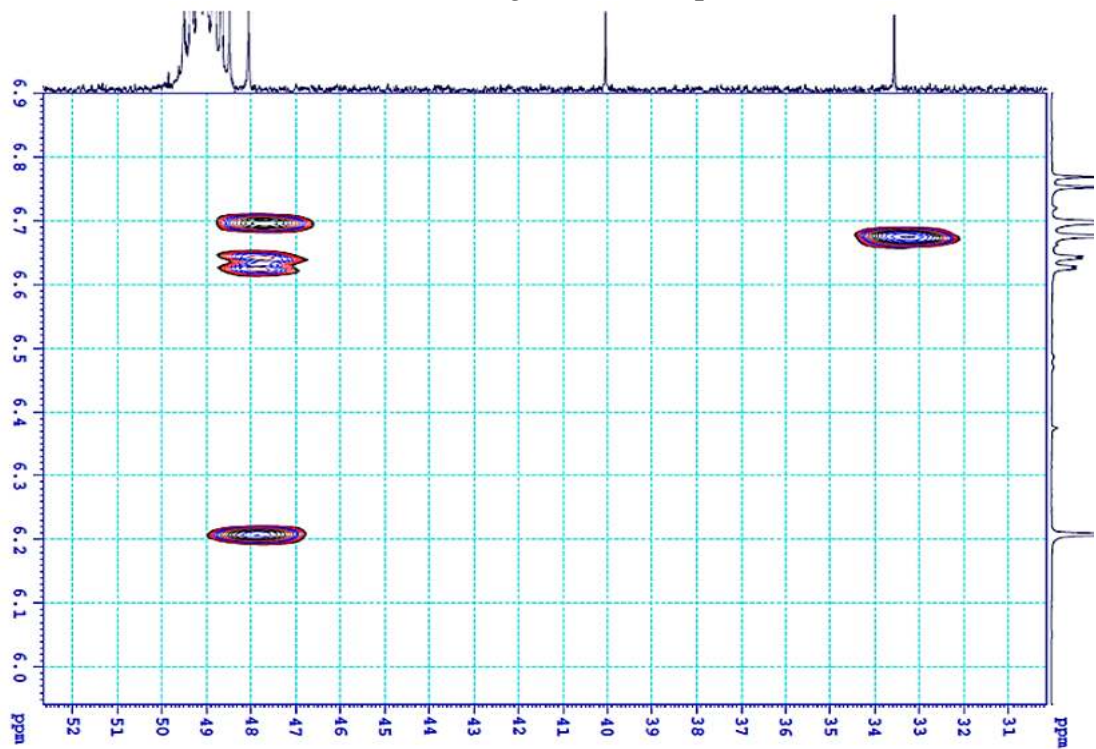
- Phổ HMBC



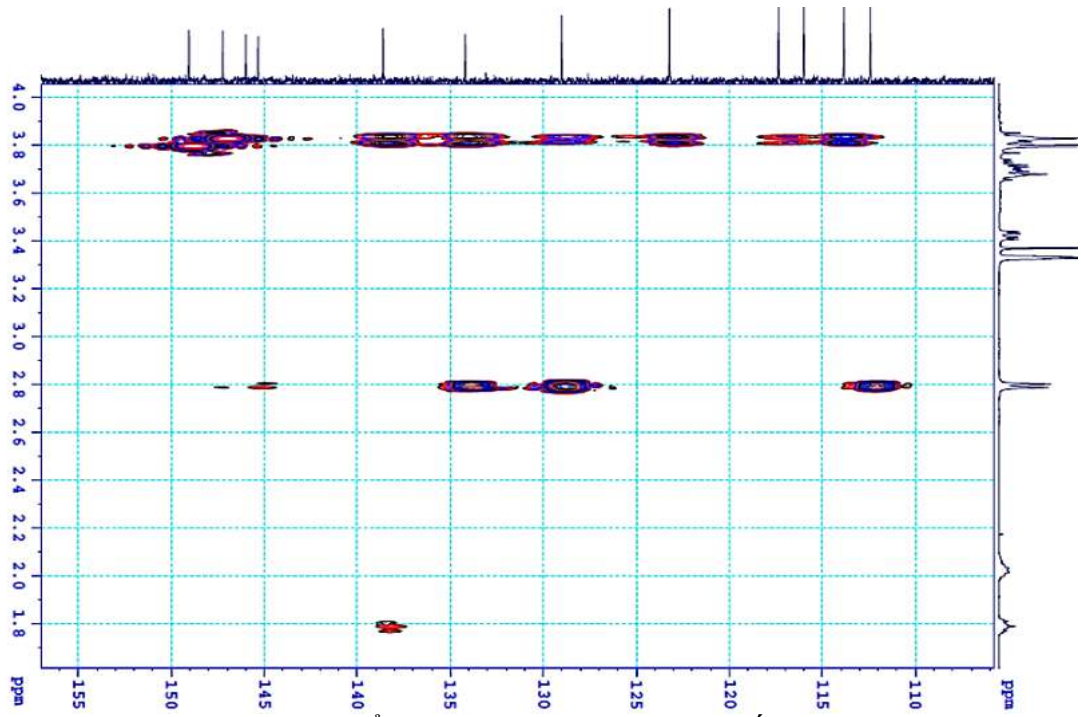
PL5.12. Phổ HMBC của hợp chất AC5



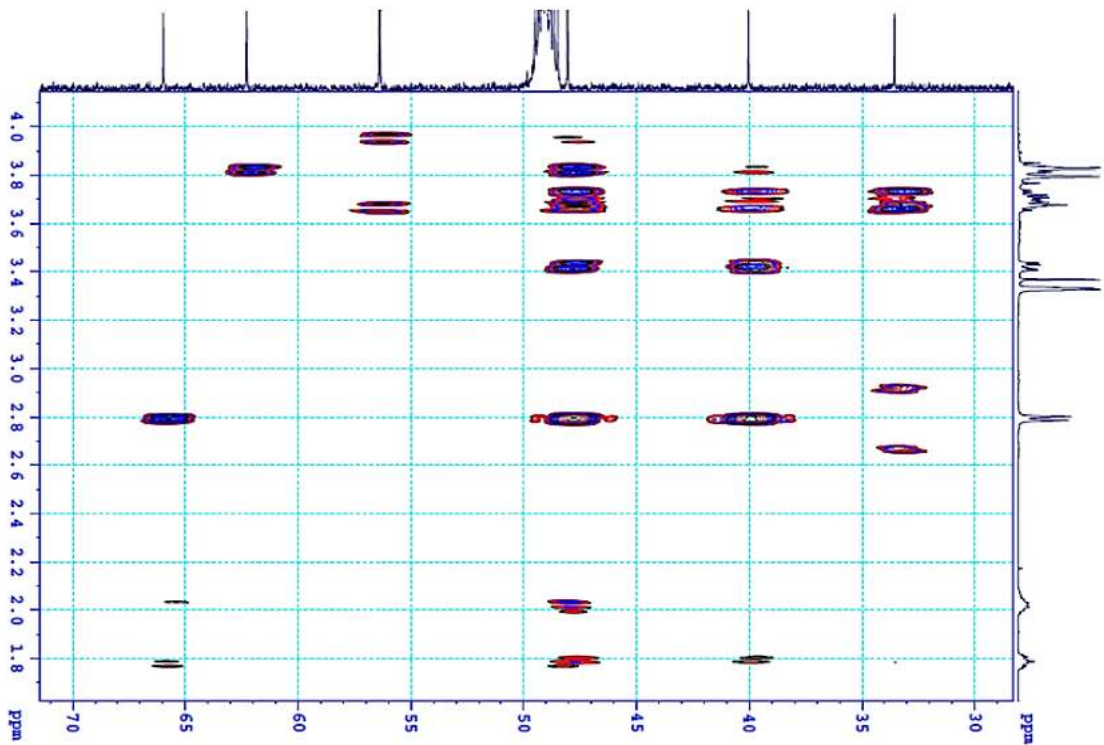
PL5.13. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC5



PL5.14. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC5

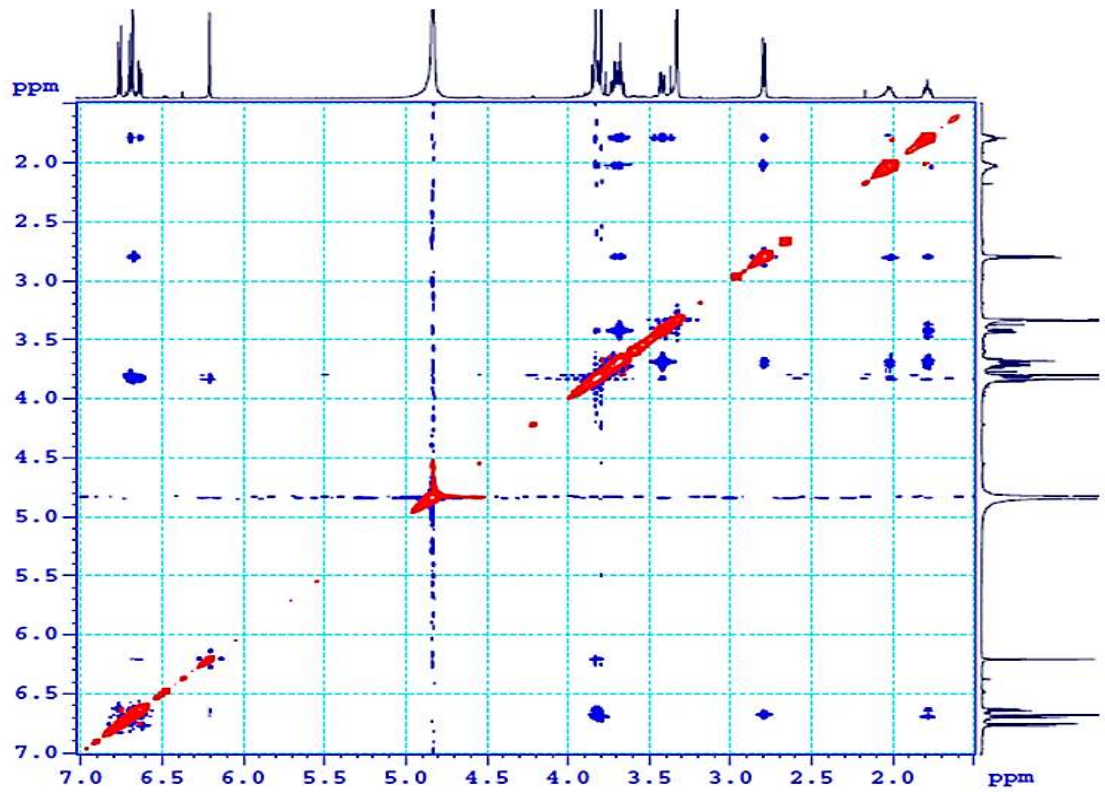


PL5.15. Phổ HMBC gần 3 của hợp chất AC5

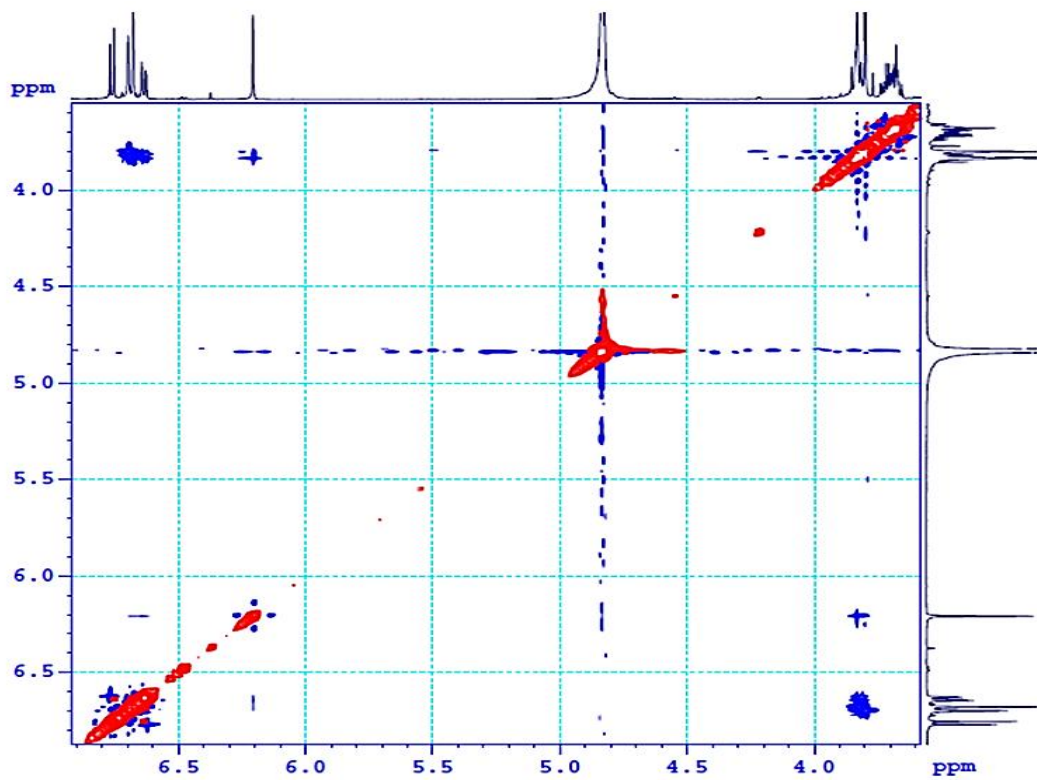


PL5.16. Phổ HMBC gần 4 của hợp chất AC5

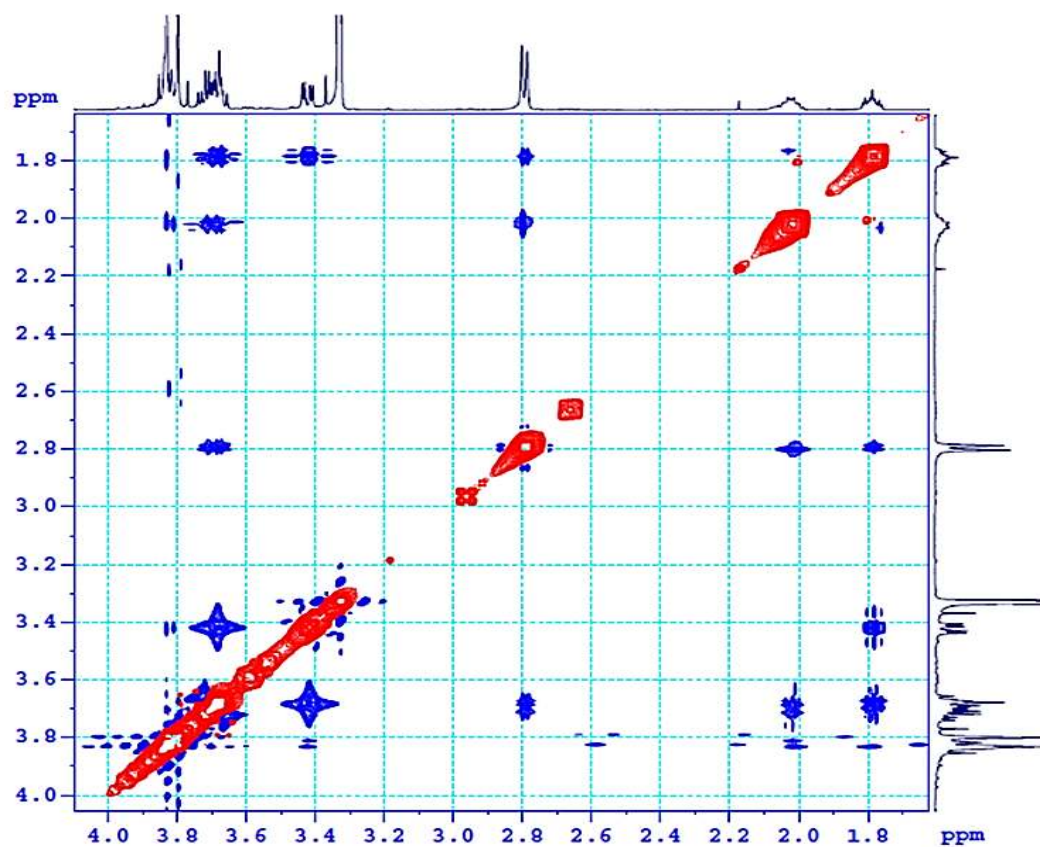
- Phổ NOESY



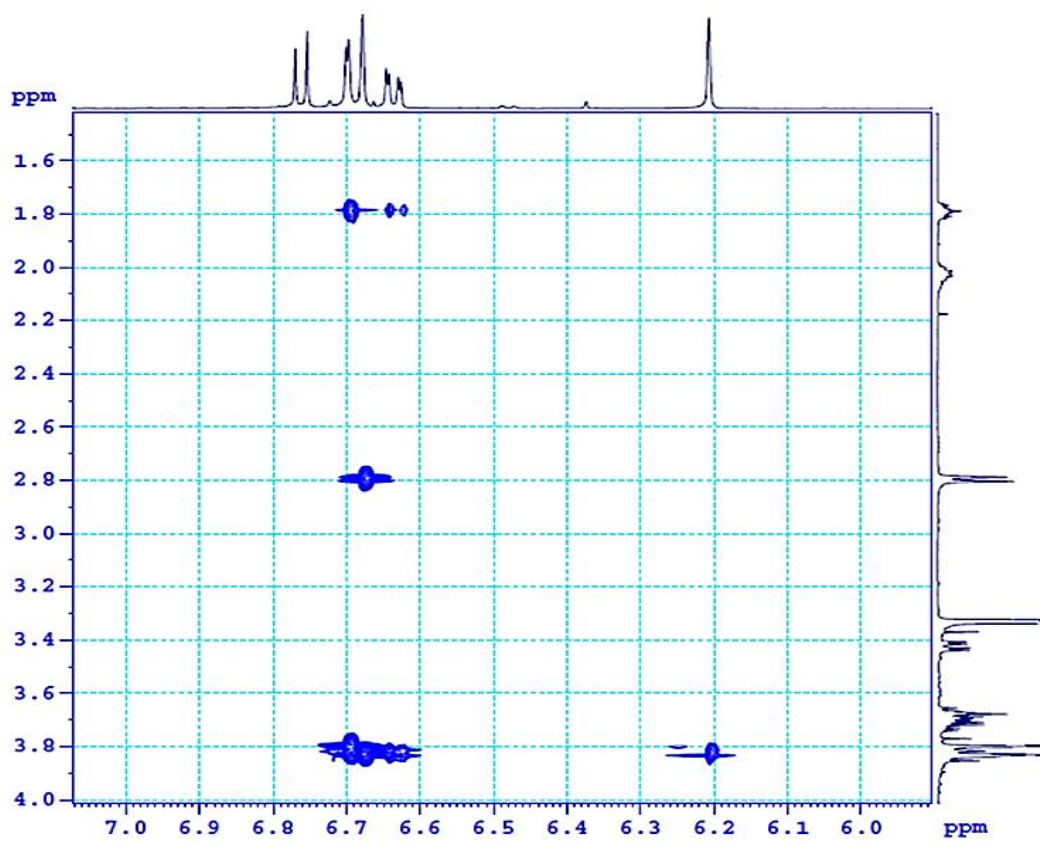
PL5.17. Phổ NOESY của hợp chất AC5



PL5.18. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC5



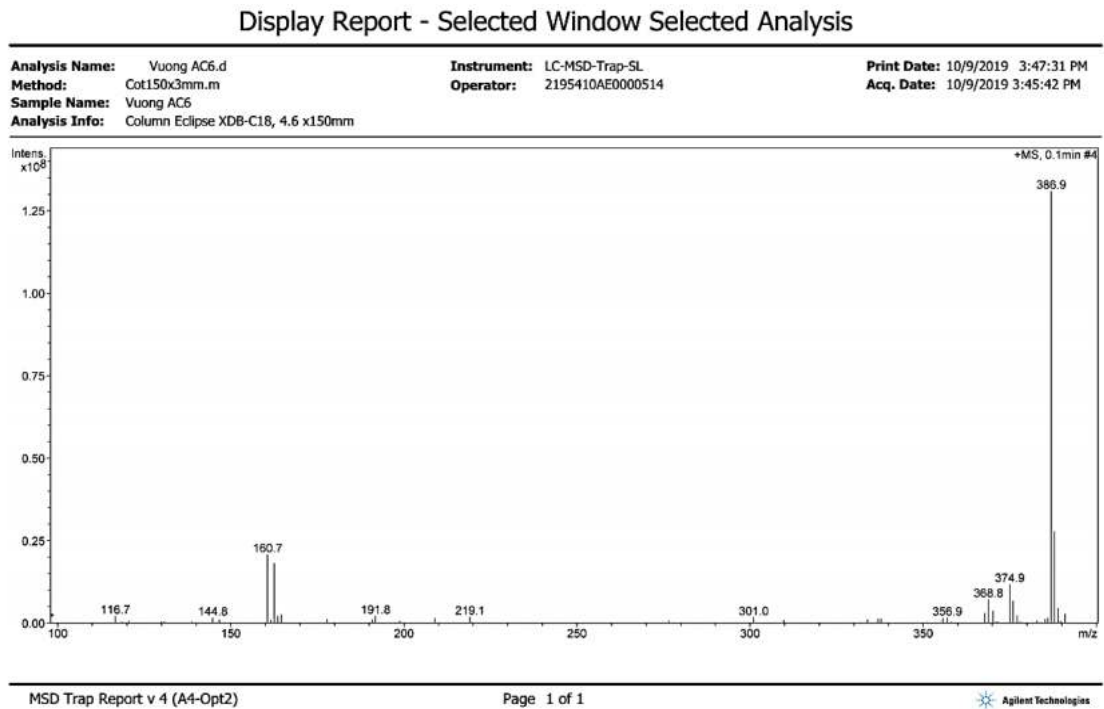
PL5.19. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC5



PL5.20. Phổ NOESY giãn 3 của hợp chất AC5

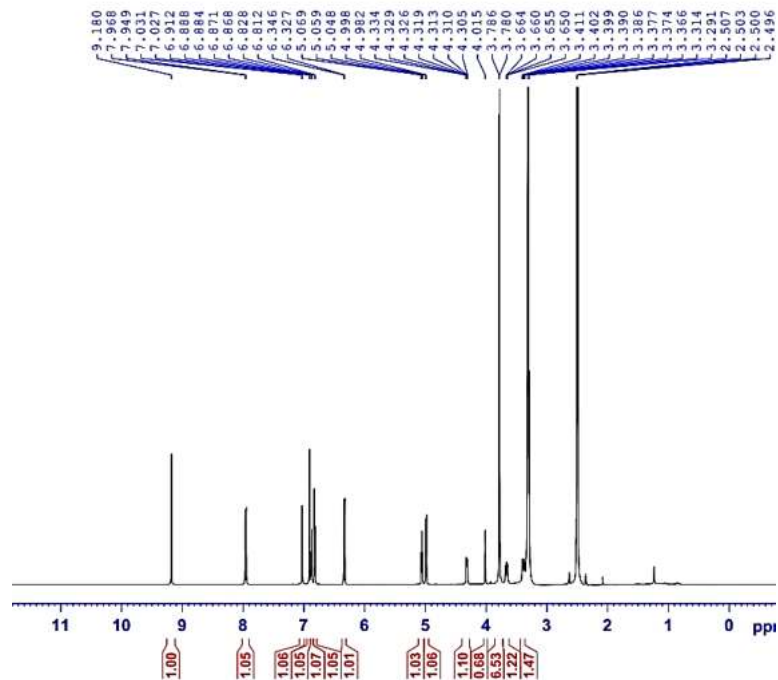
Phụ lục 6: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC6: (-)-cleomiscosin A

• **Phổ khối**

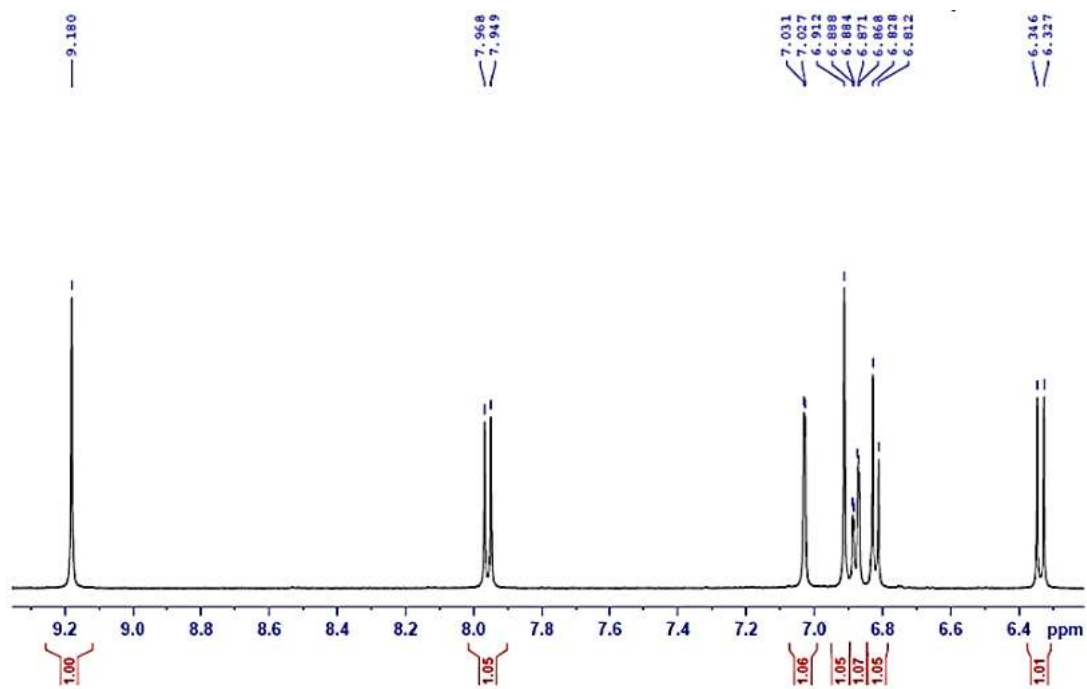


PL6.1. Phổ khối của hợp chất AC6

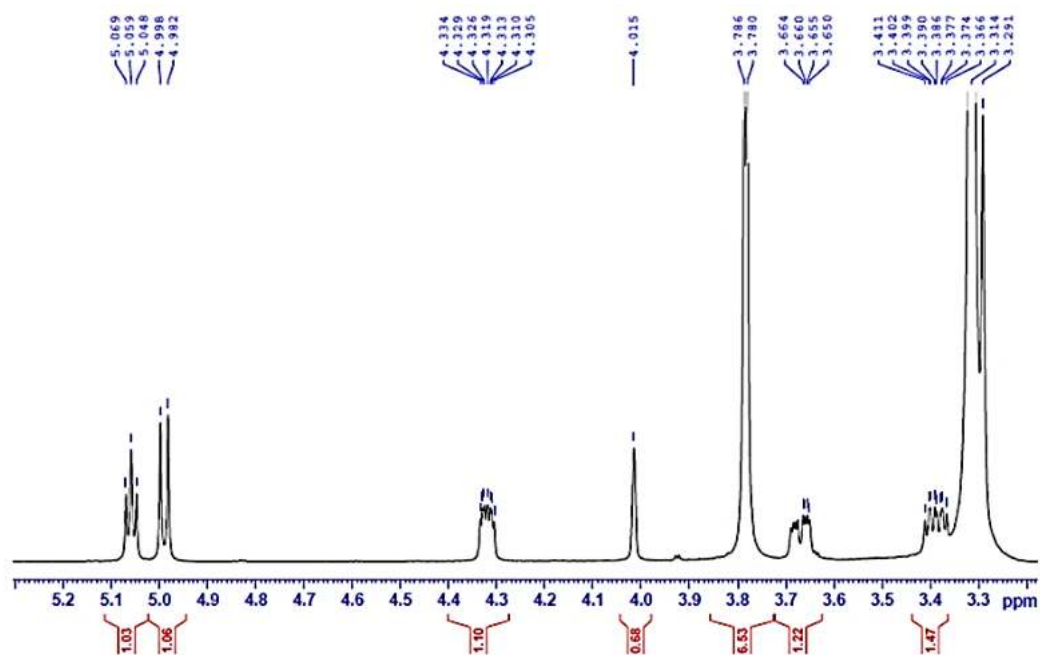
• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL6.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC6

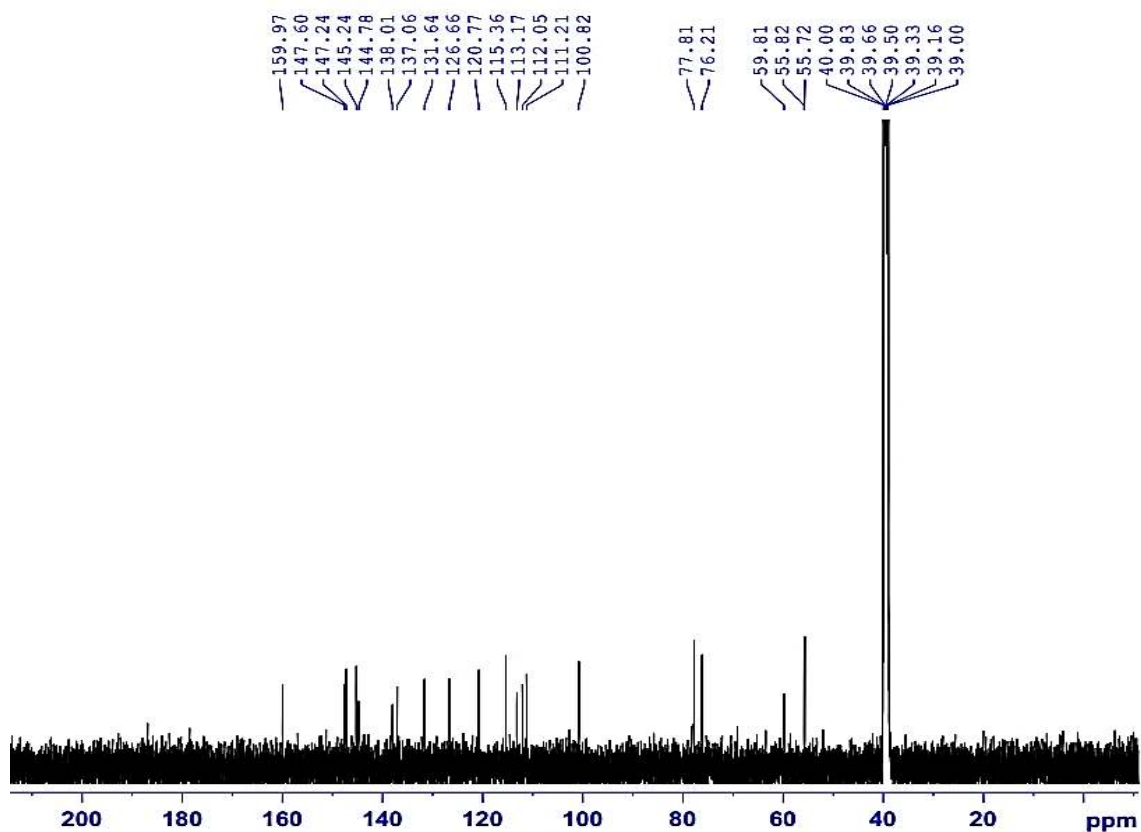


PL6.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất **AC6**



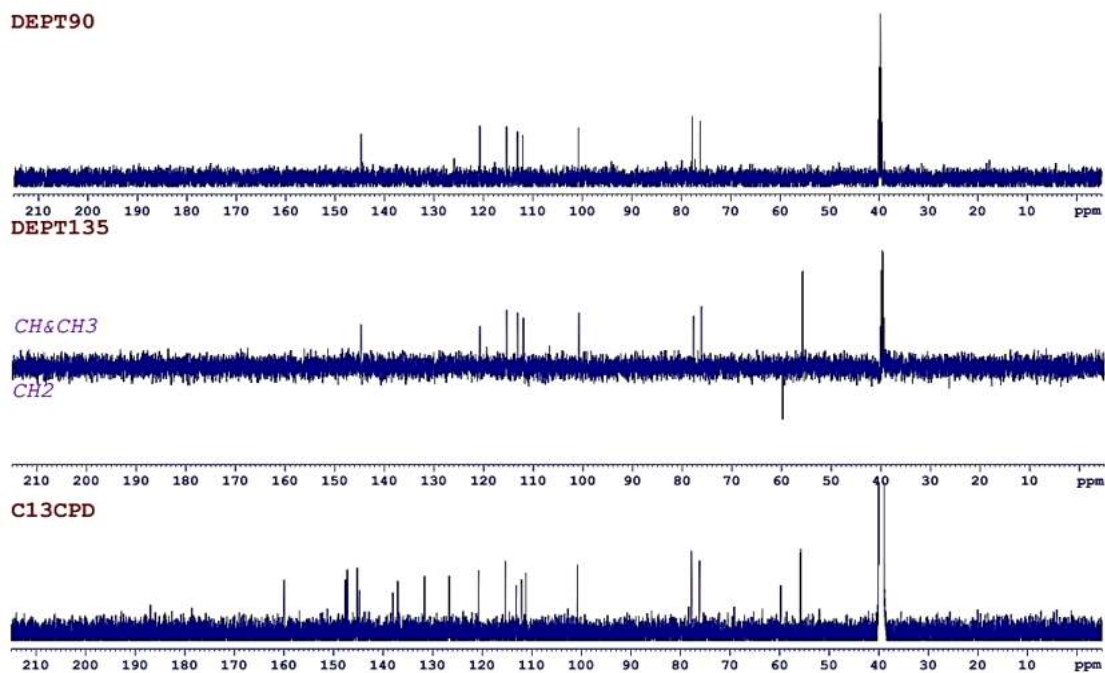
PL6.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất **AC6**

- Phổ ^{13}C -NMR



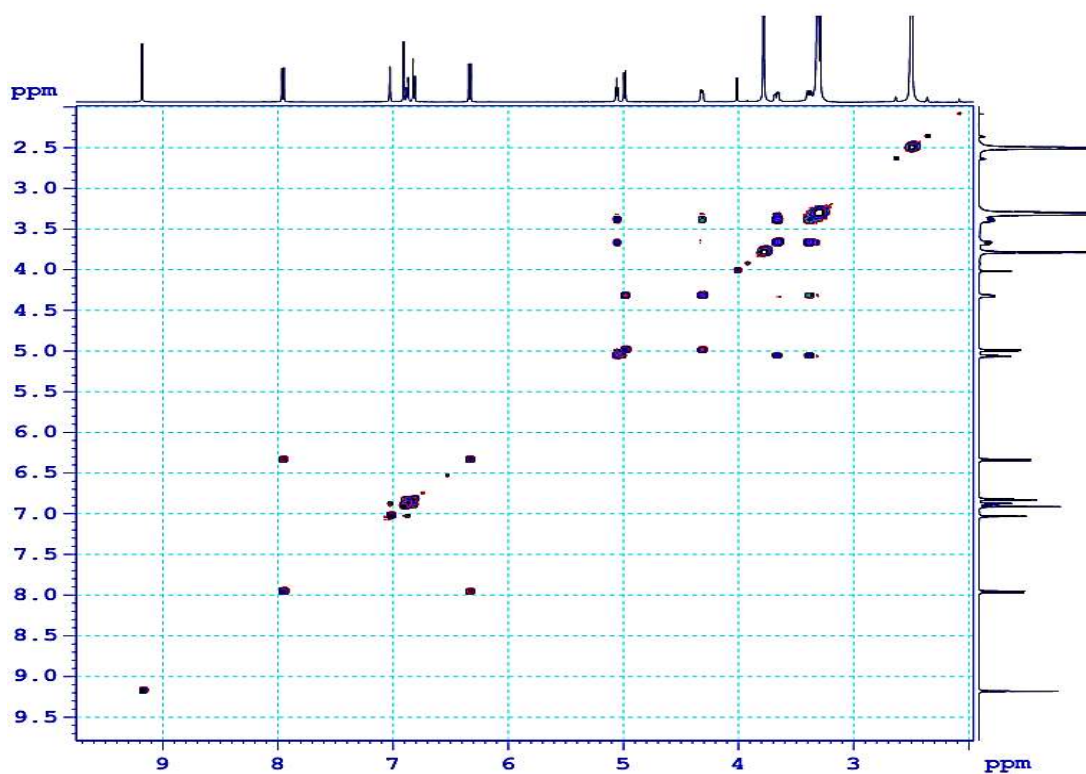
PL6.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC6

- Phổ DEPT

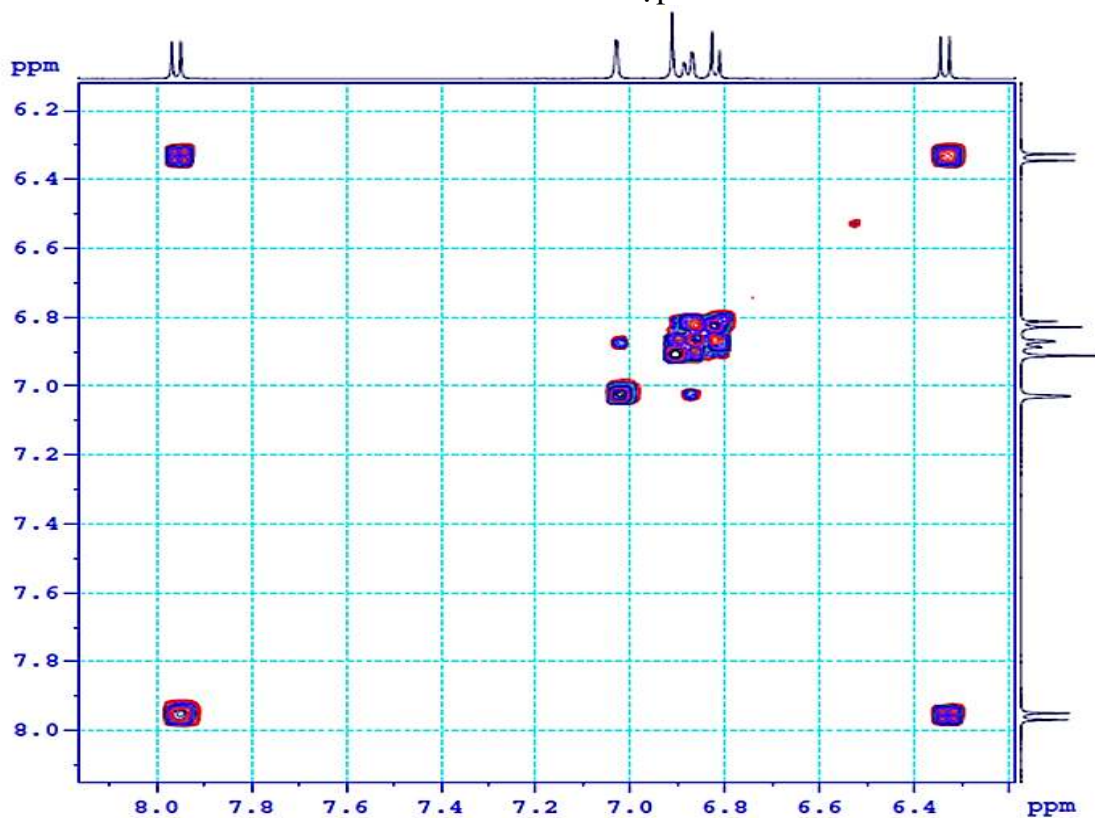


PL6.6. Phổ DEPT của hợp chất AC6

- Phổ COSY

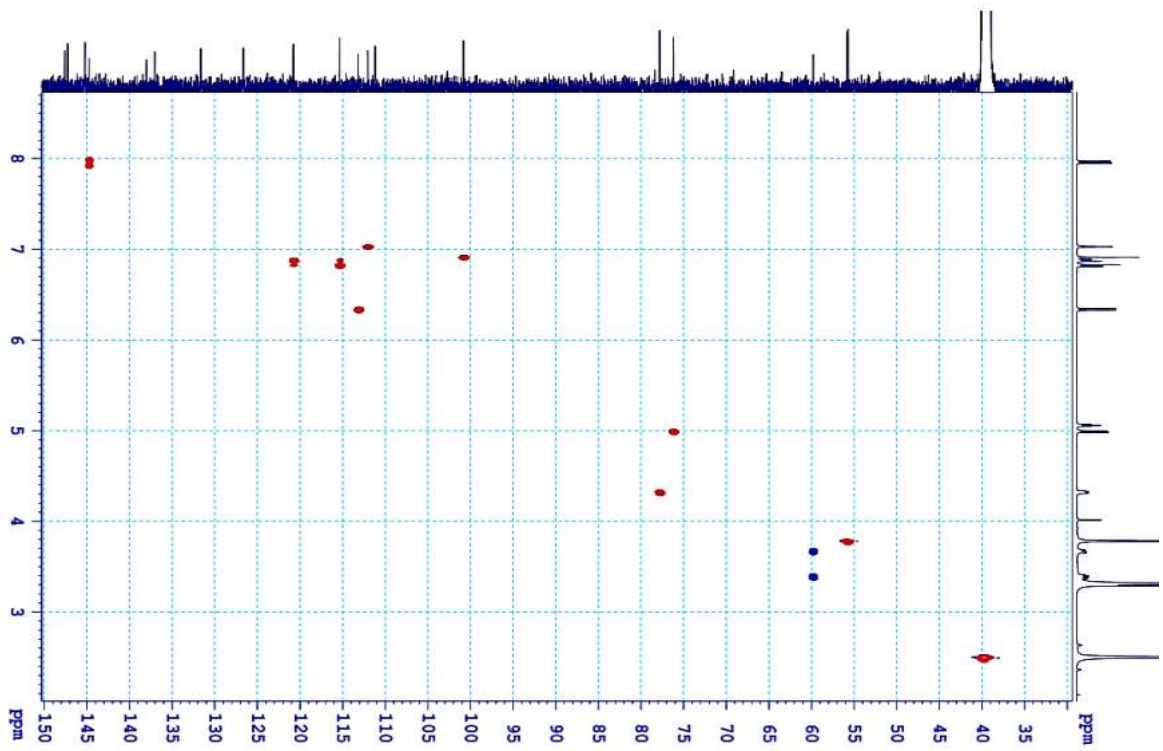


PL6.7. Phổ COSY của hợp chất AC6



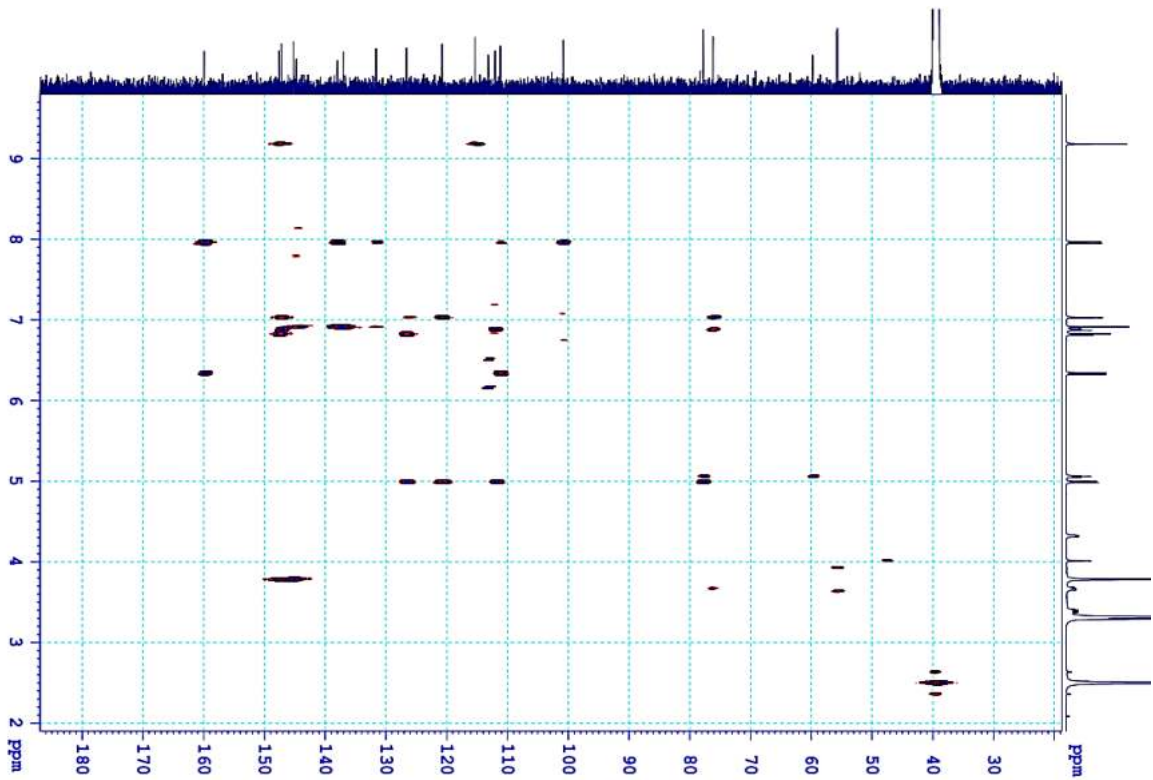
PL6.8. Phổ COSY giãn 1 của hợp chất AC6

- Phổ HSQC

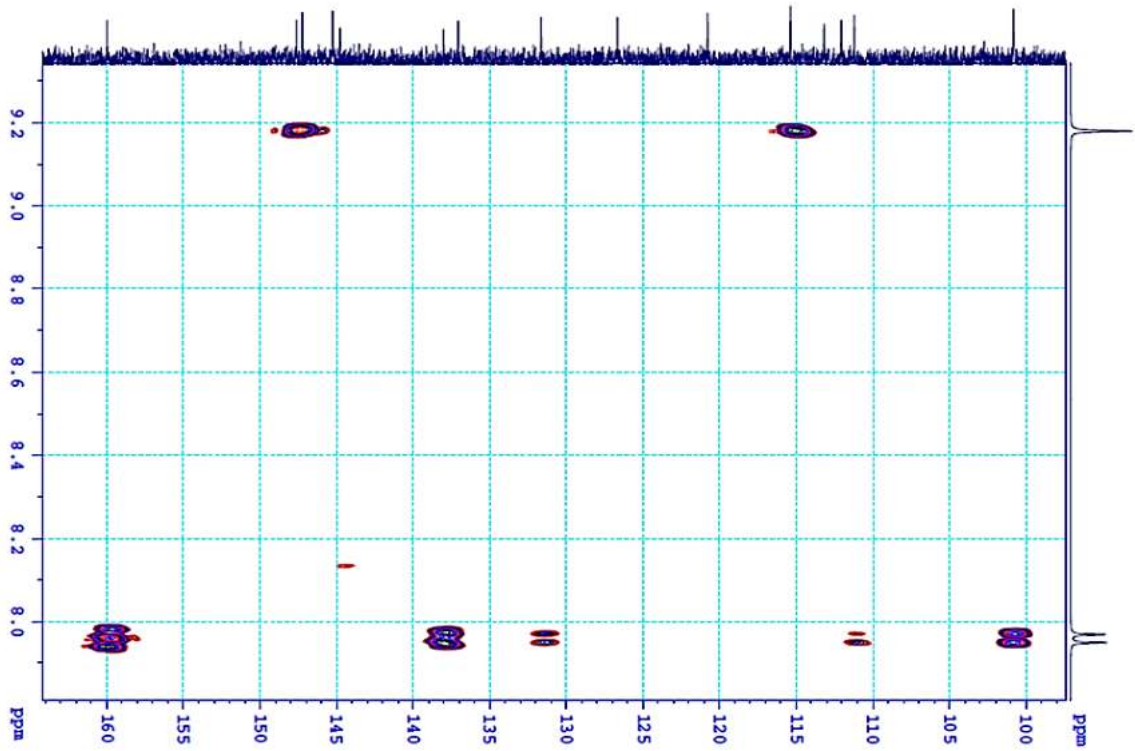


PL6.11. Phổ HSQC của hợp chất AC6

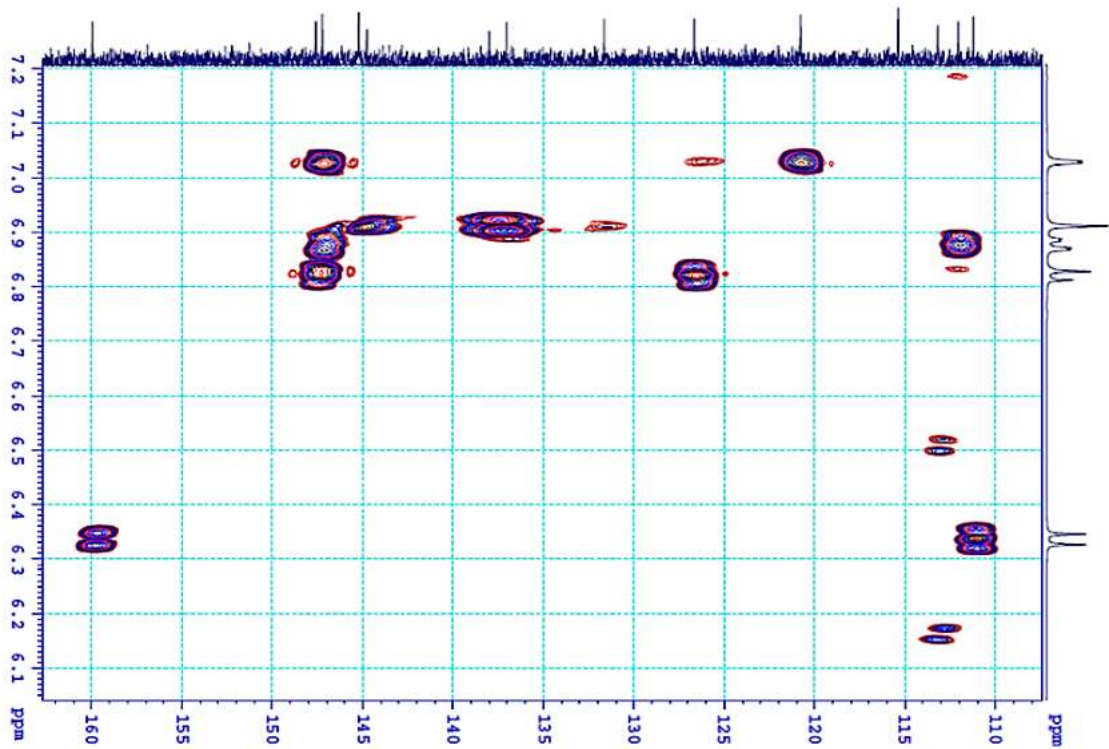
- Phổ HMBC



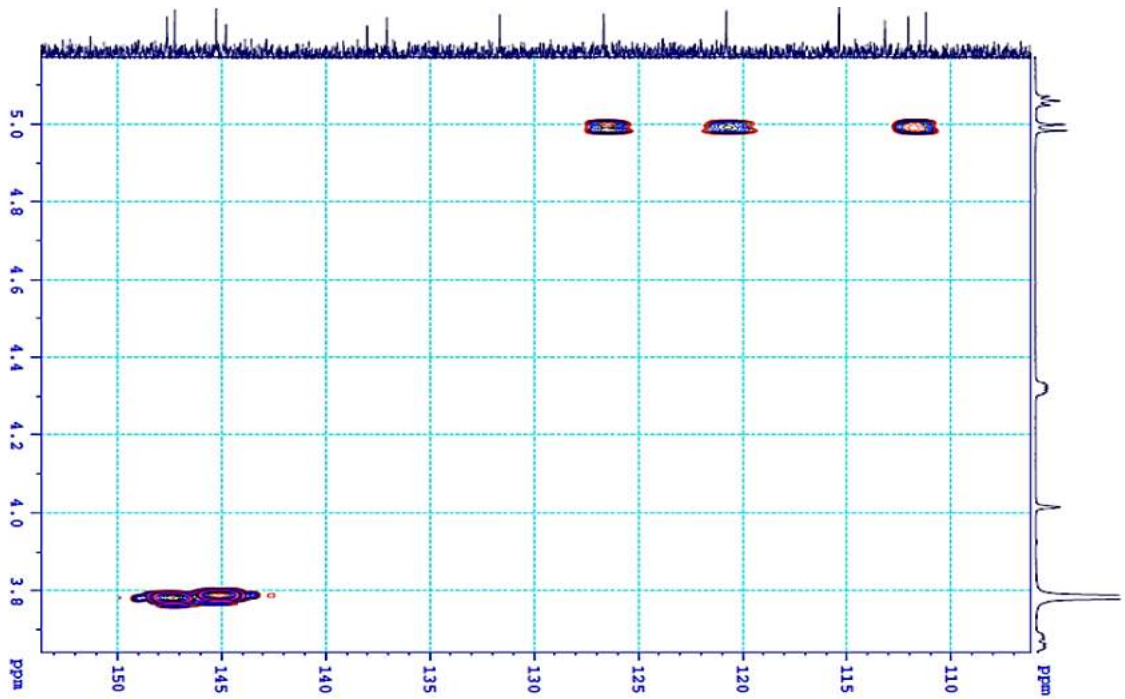
PL6.12. Phổ HMBC của hợp chất AC6



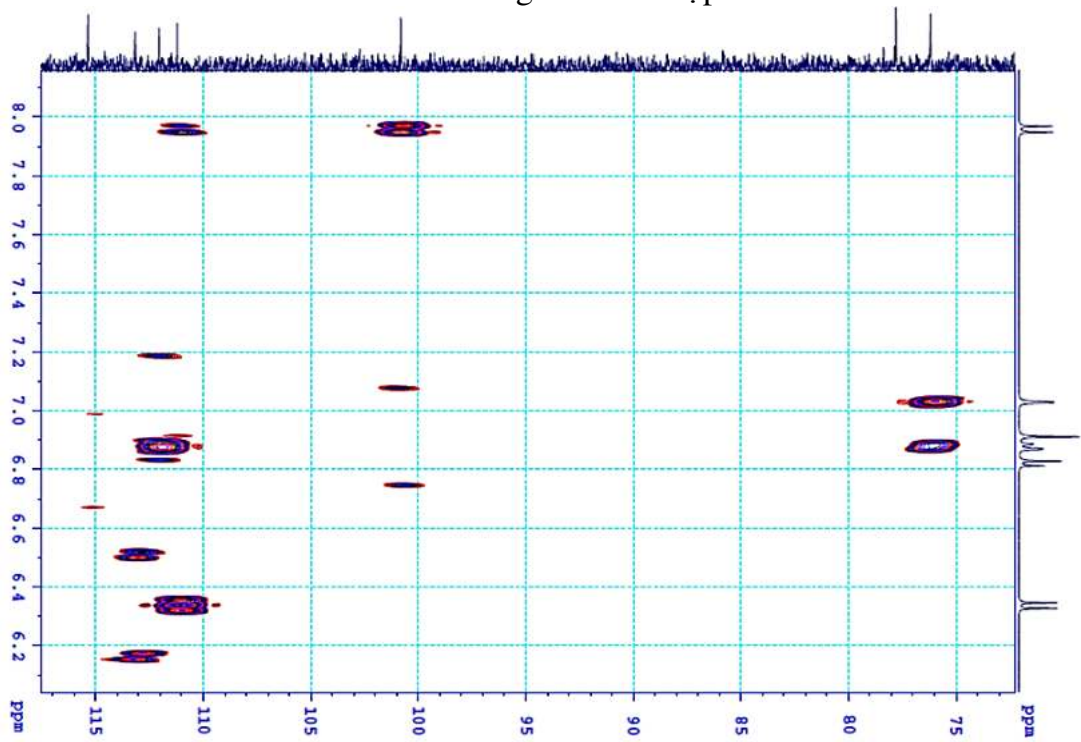
PL6.13. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC6



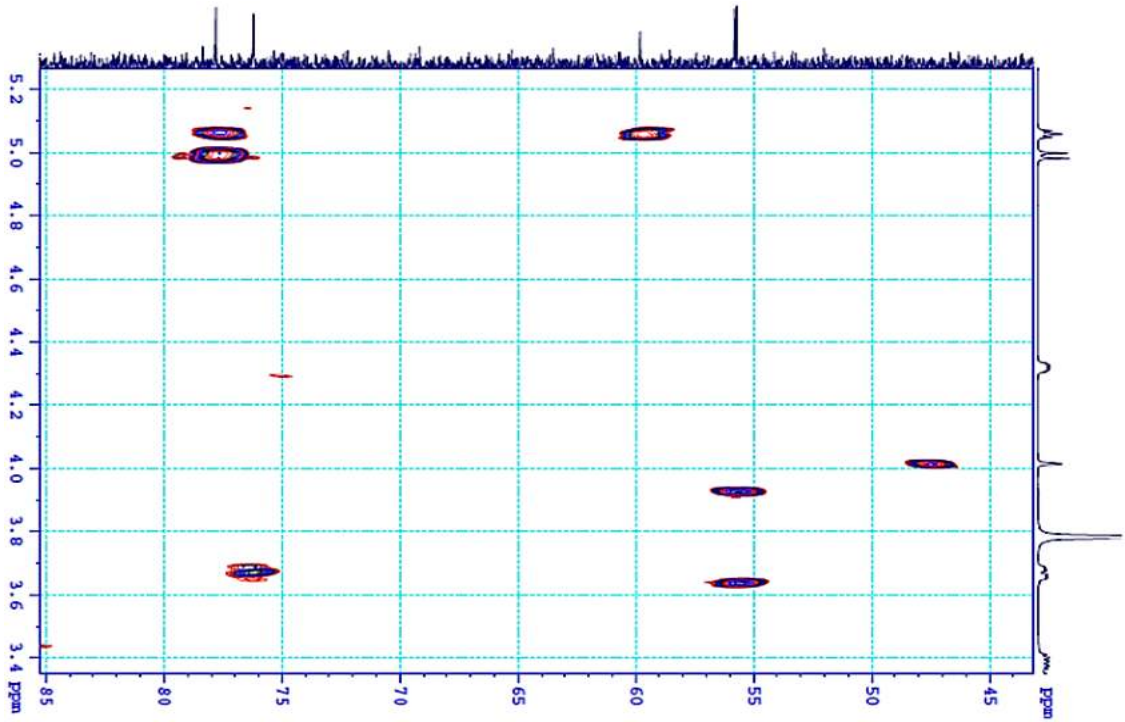
PL6.14. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC6



PL6.15. Phổ HMBC giãn 3 của hợp chất AC6

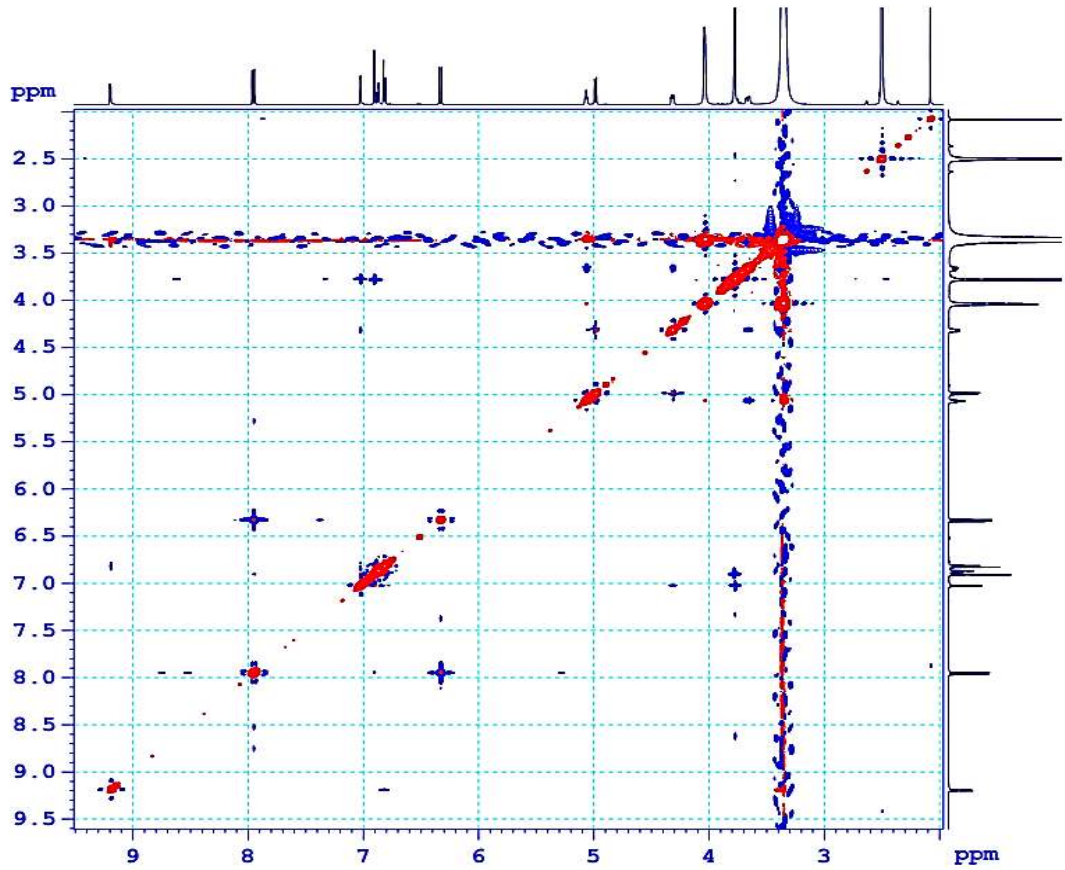


PL6.16. Phổ HMBC giãn 4 của hợp chất AC6

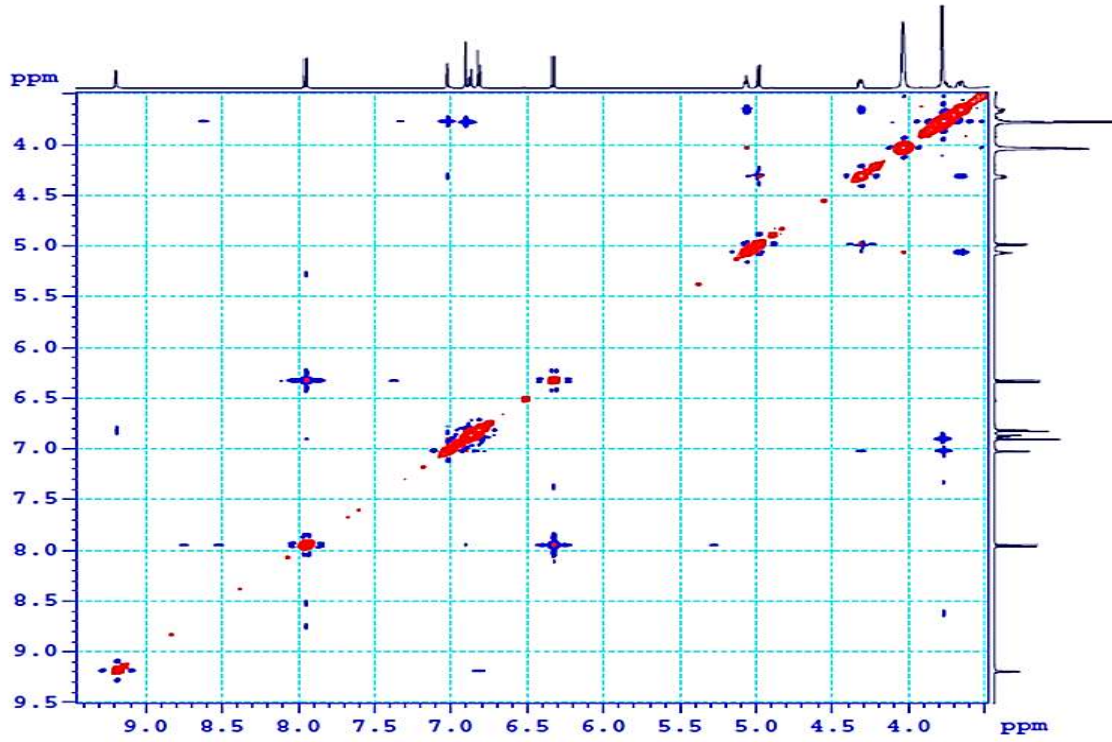


PL6.17. Phổ HMBC giản 5 của hợp chất AC6

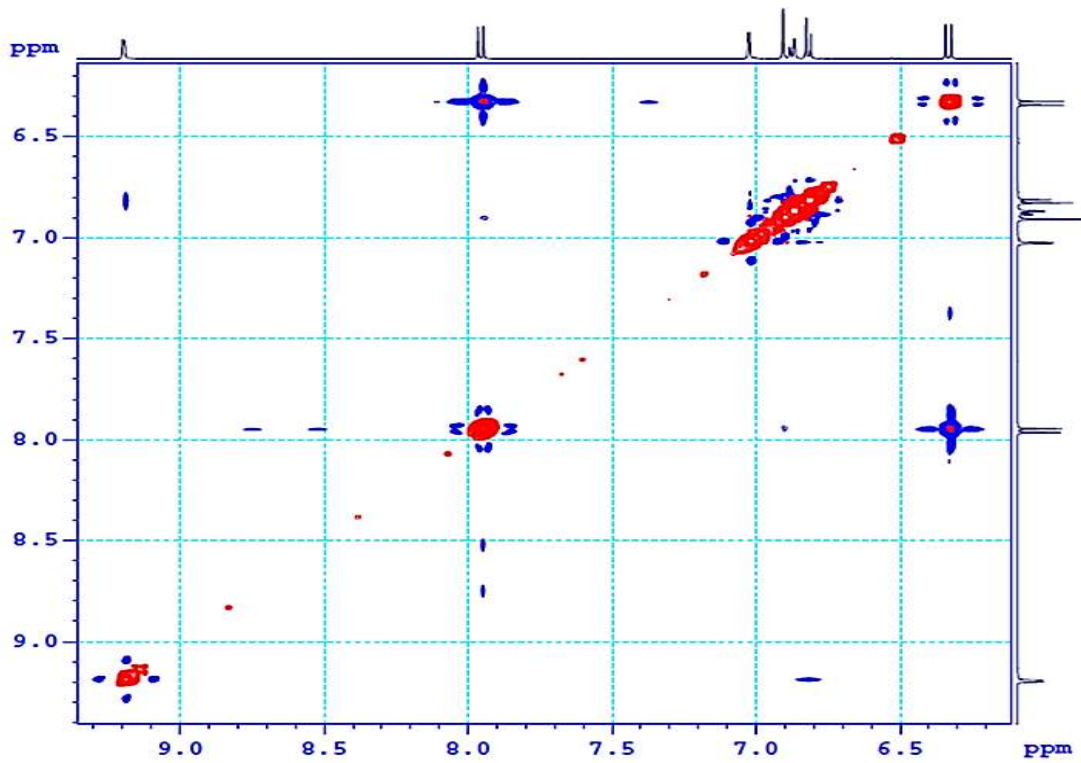
- Phổ NOESY



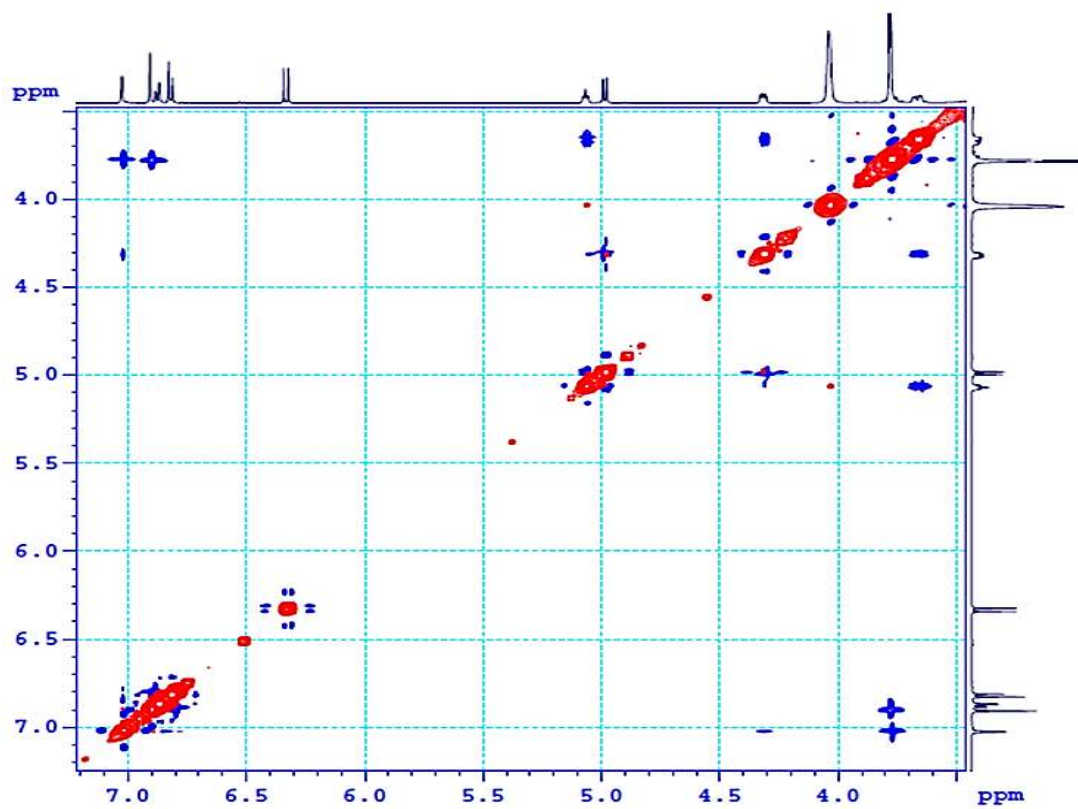
PL6.18. Phổ NOESY của hợp chất AC6



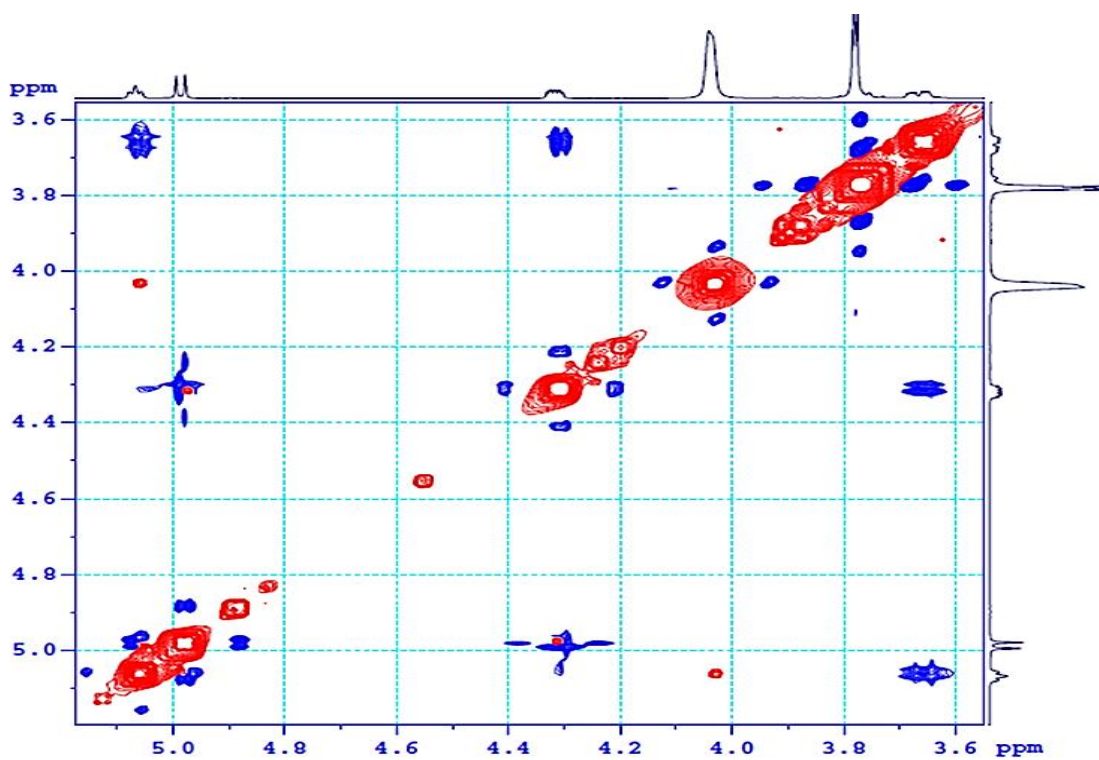
PL6.19. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC6



PL6.20. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC6



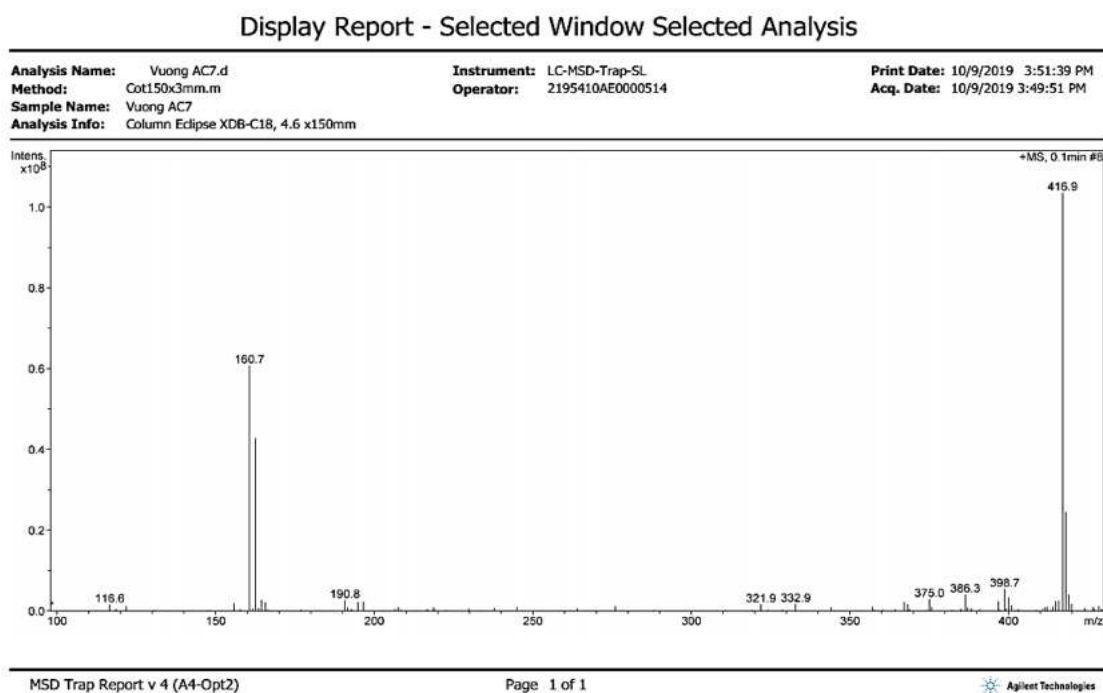
PL6.21. Phổ NOESY giản 3 của hợp chất AC6



PL6.22. Phổ NOESY giản 4 của hợp chất AC6

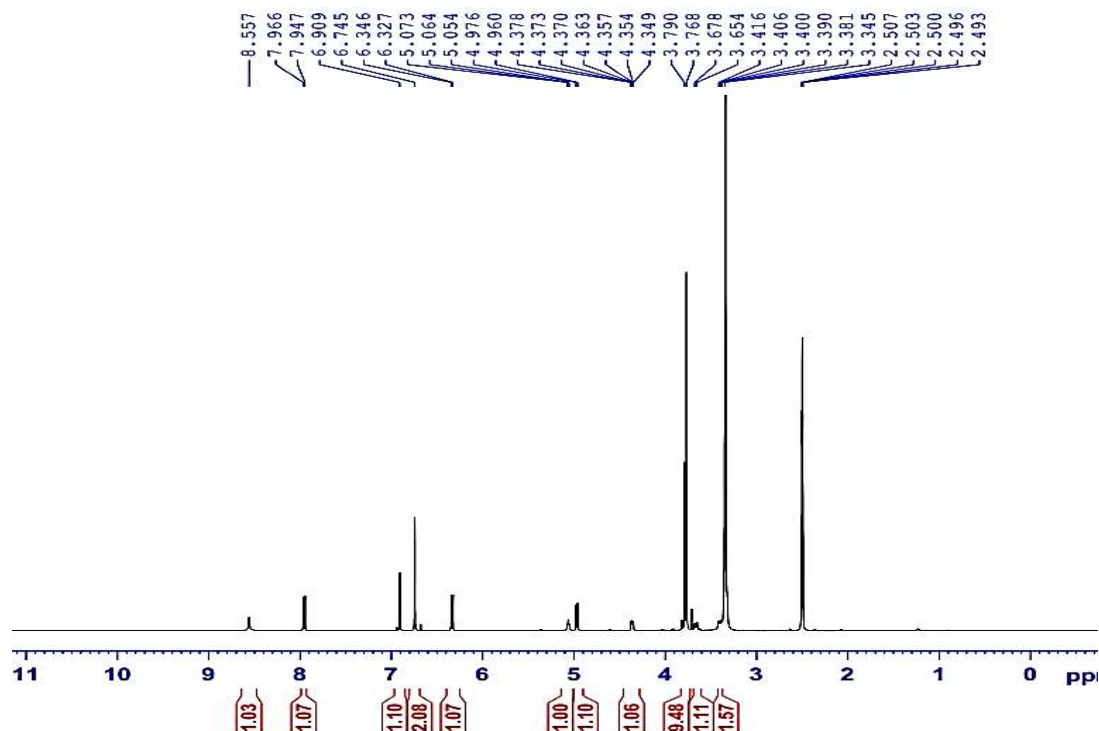
Phụ lục 7: Phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, MS của hợp chất AC7: (-)-cleomiscosin C

• **Phổ khối**

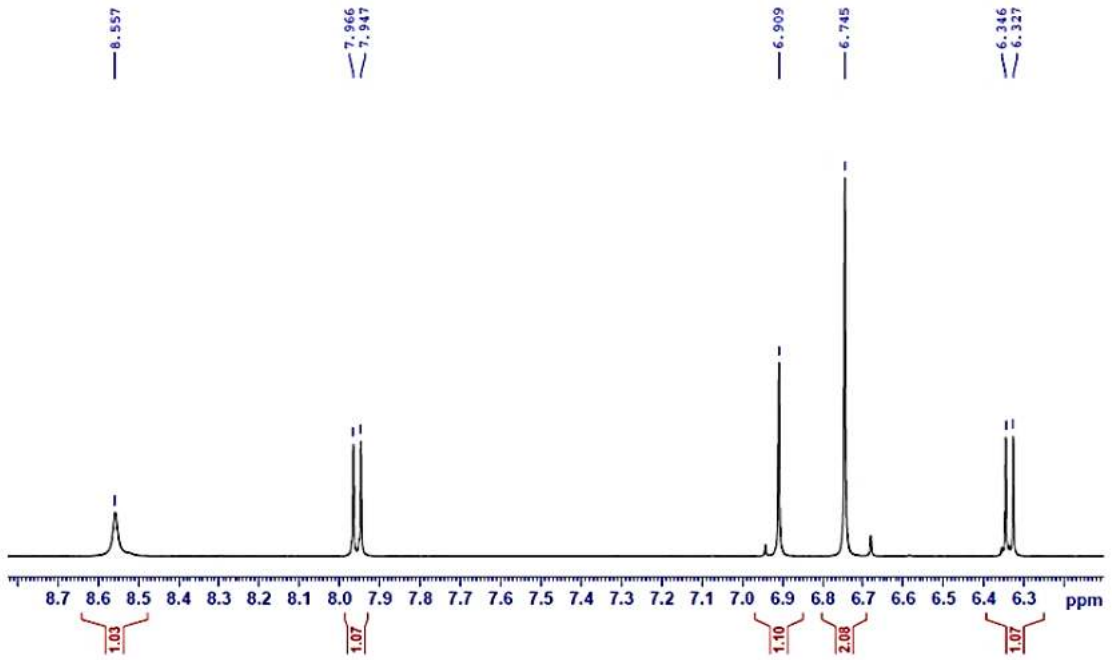


PL7.1. Phổ khối của hợp chất AC7

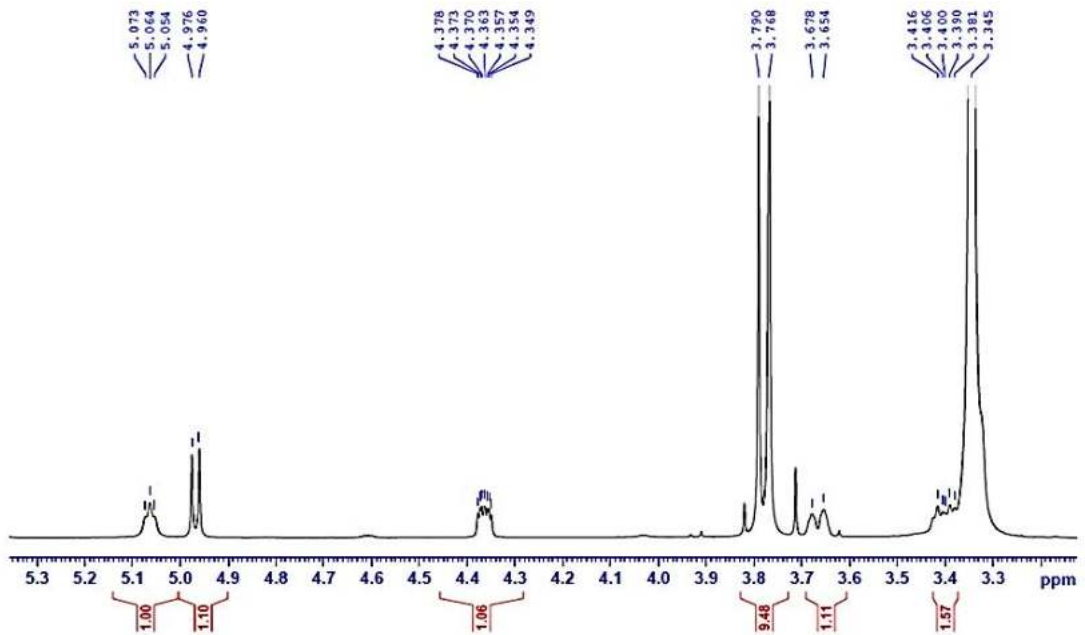
• **Phổ ^1H -NMR**



PL7.2. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AC7

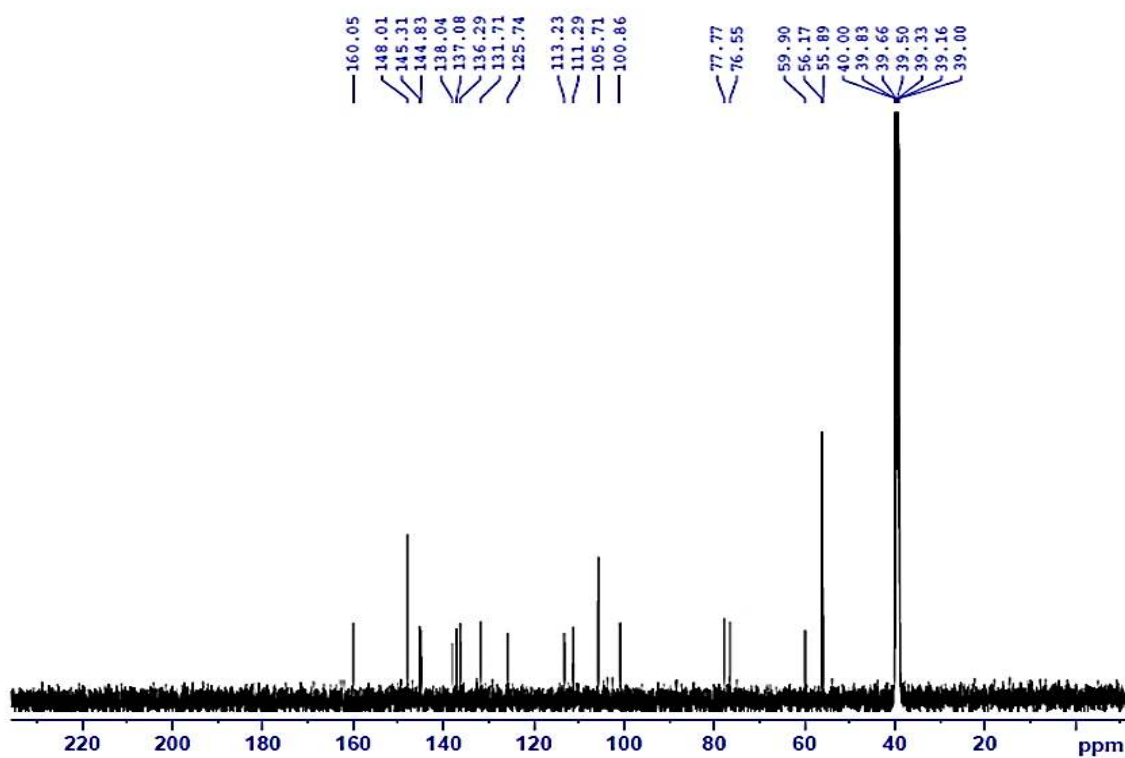


PL7.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC7

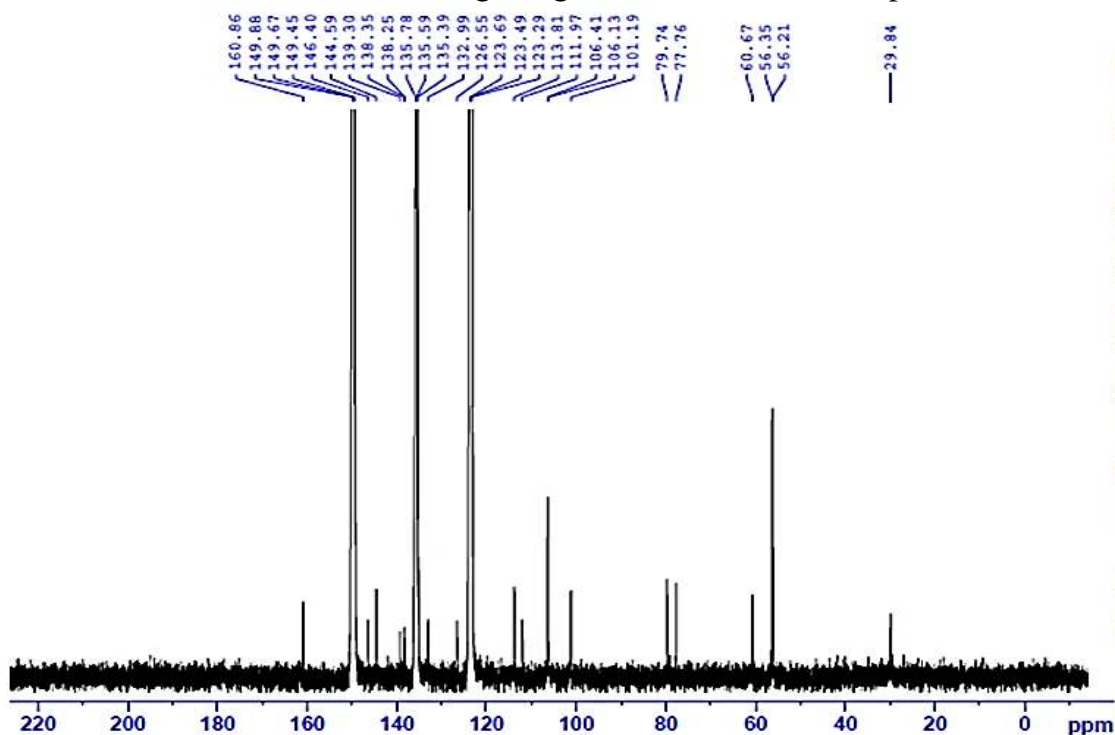


PL7.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC7

- Phổ ^{13}C -NMR



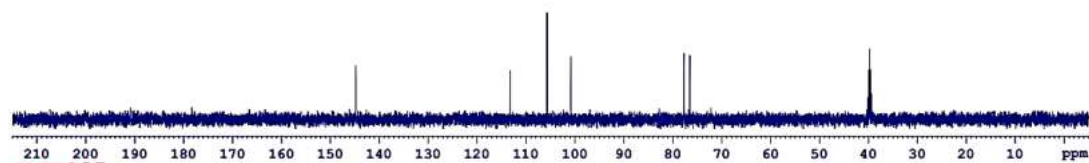
PL7.5. Phổ ^{13}C -NMR đo trong dung môi DMSO- d_6 của hợp chất AC7



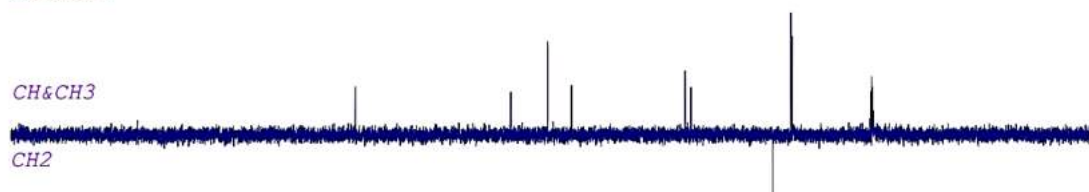
PL7.6. Phổ ^{13}C -NMR đo trong dung môi pyridine của hợp chất AC7

- Phổ DEPT

DEPT90



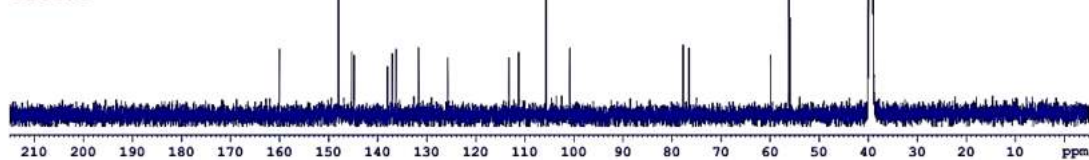
DEPT135



CH&CH3

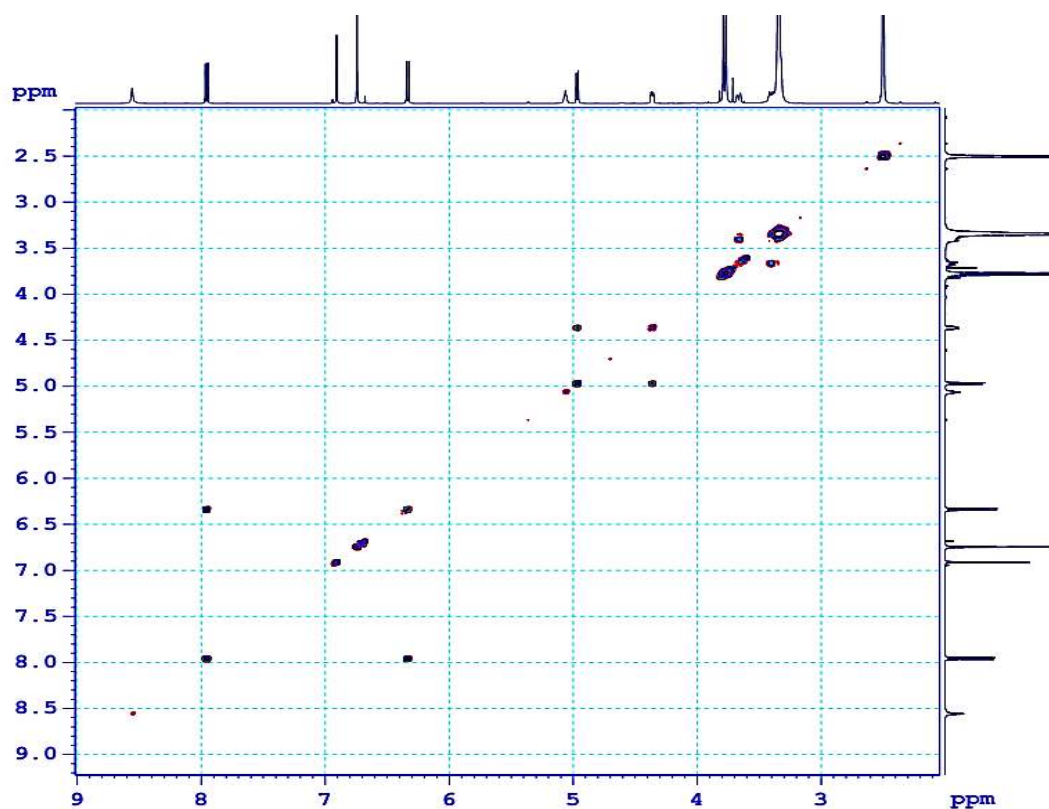
CH2

C13CPD



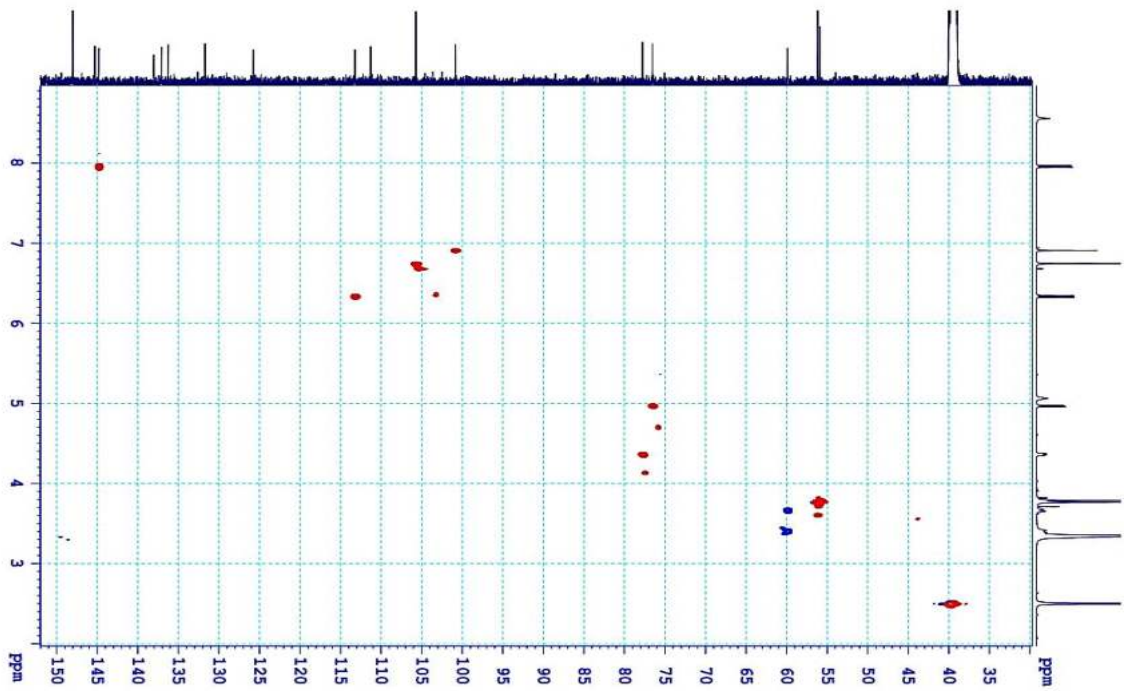
PL7.7. Phổ DEPT của hợp chất AC7

- Phổ COSY



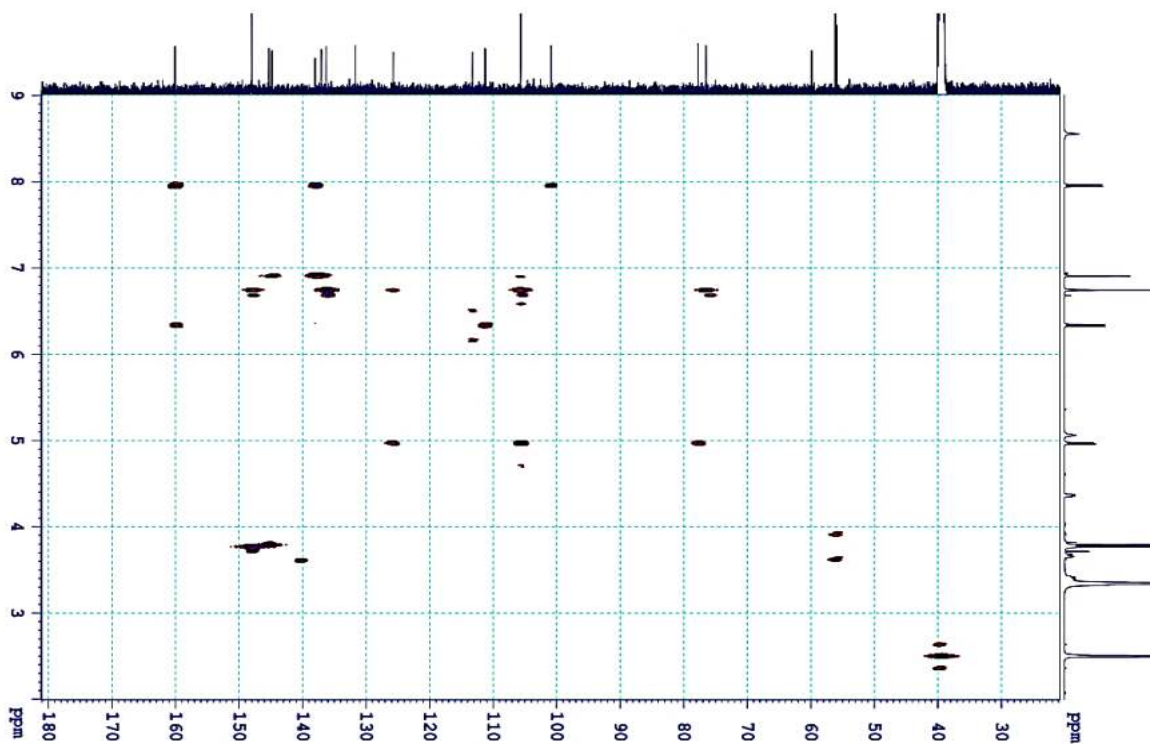
PL7.8. Phổ COSY của hợp chất AC7

- Phổ HSQC

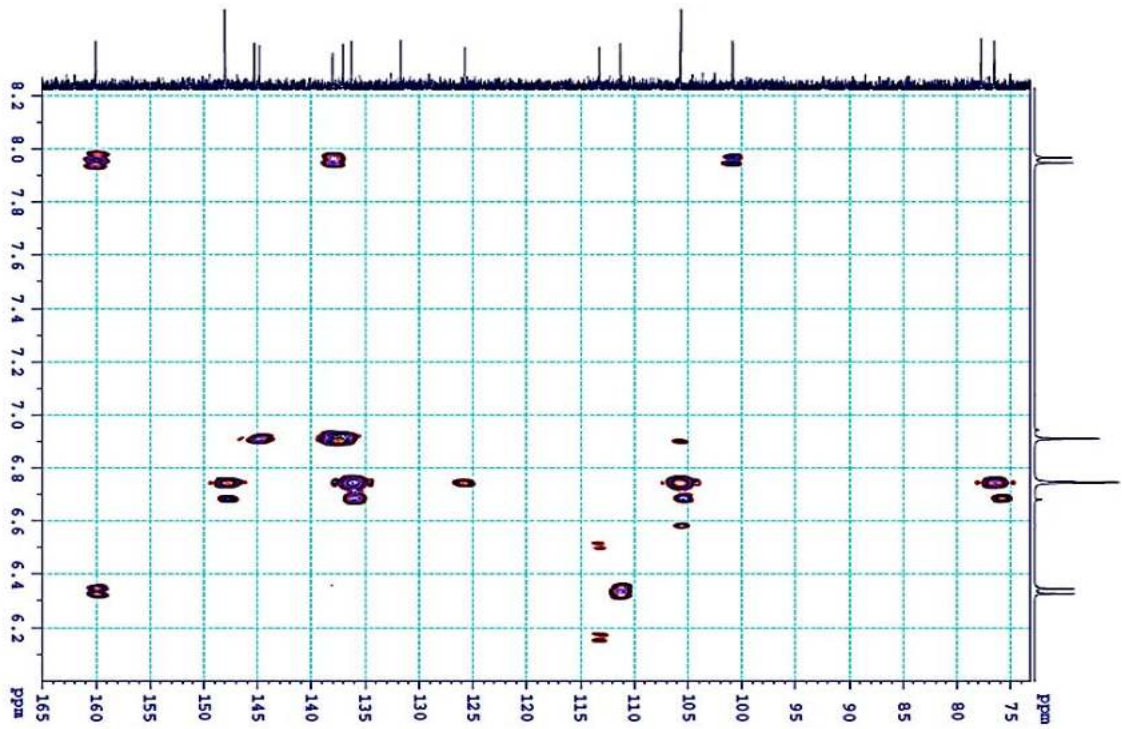


PL7.9. Phổ HSQC của hợp chất AC7

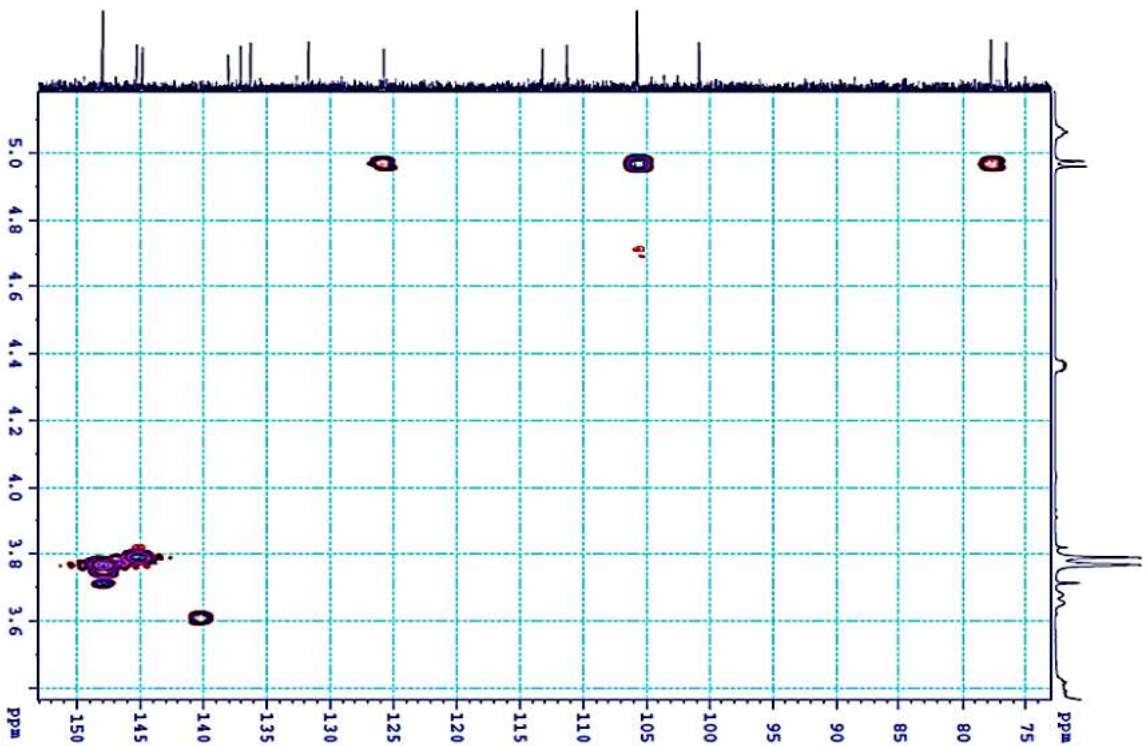
- Phổ HMBC



PL7.10. Phổ HMBC của hợp chất AC7

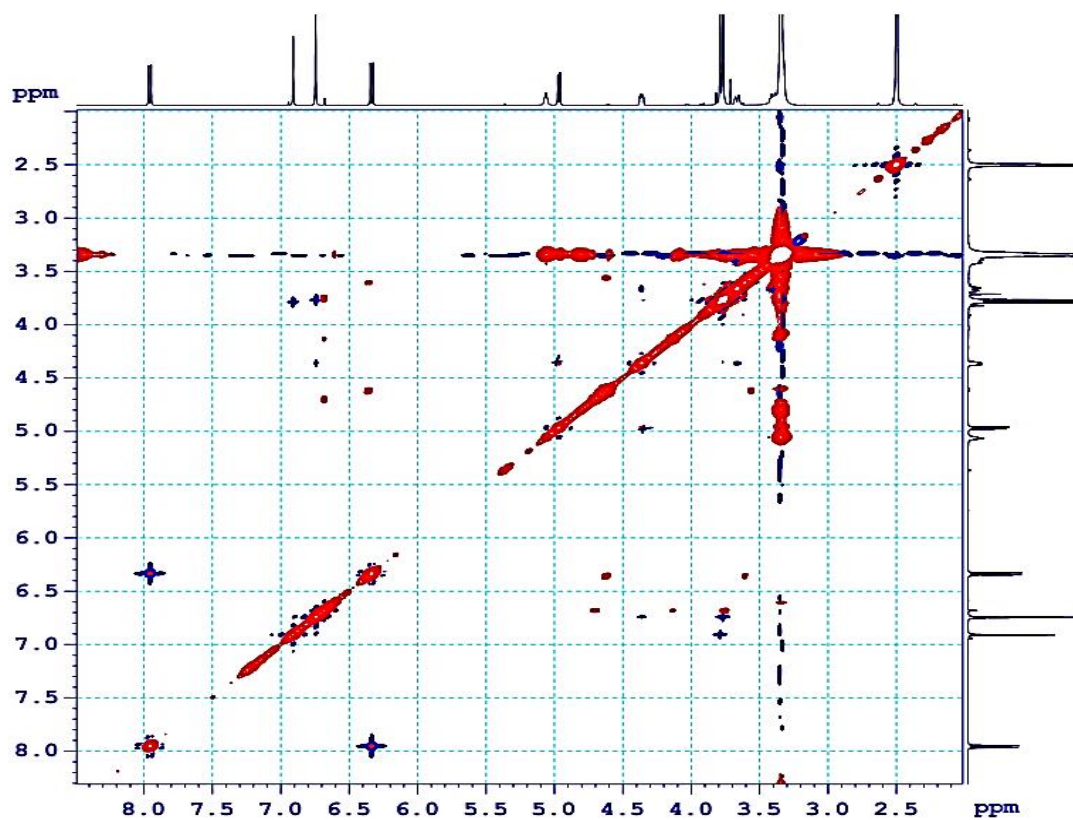


PL7.11. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất AC7

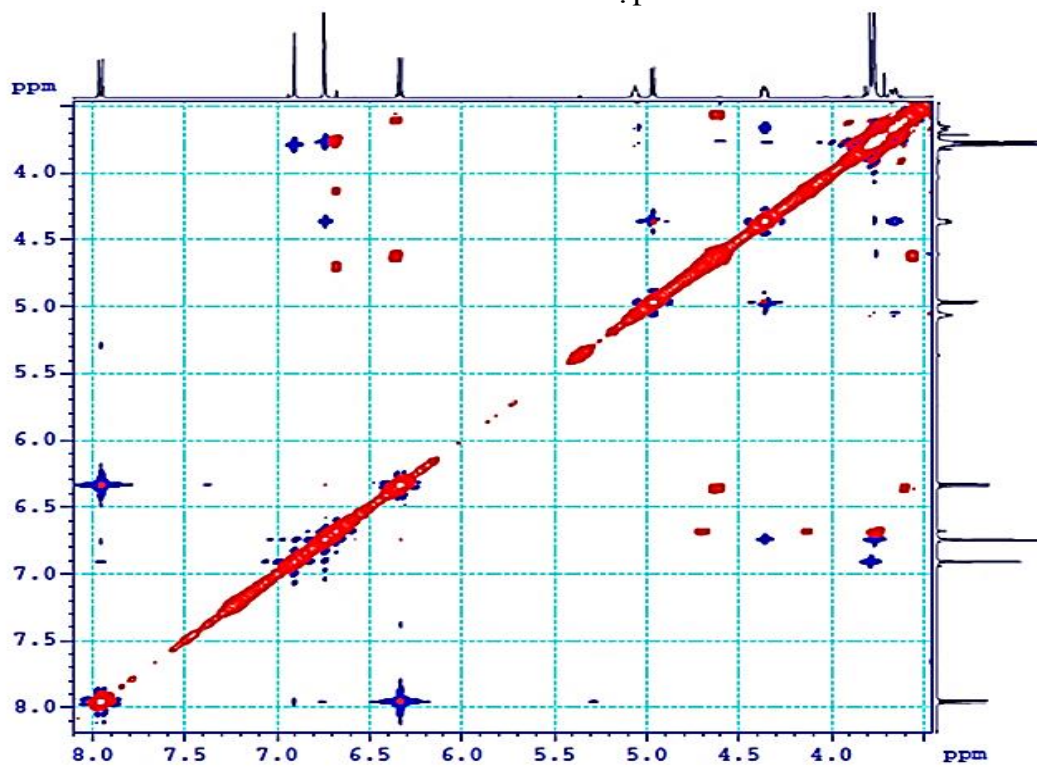


PL7.12. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất AC7

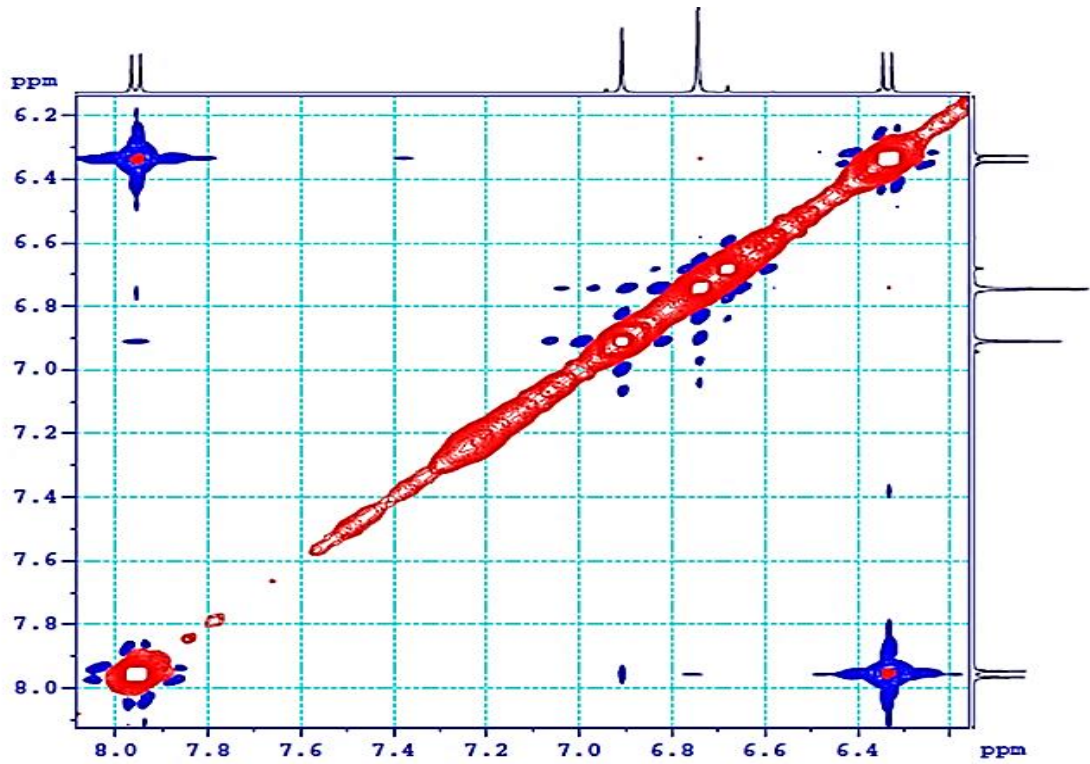
- Phổ NOESY



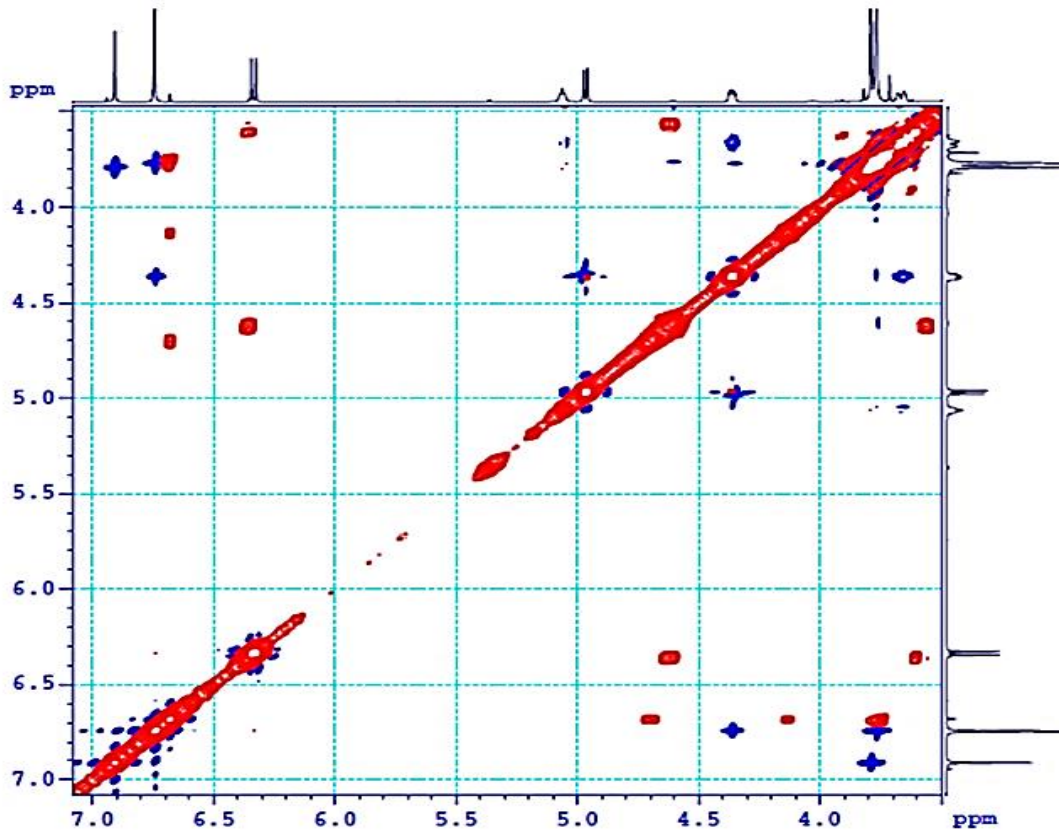
PL7.13. Phổ NOESY của hợp chất AC7



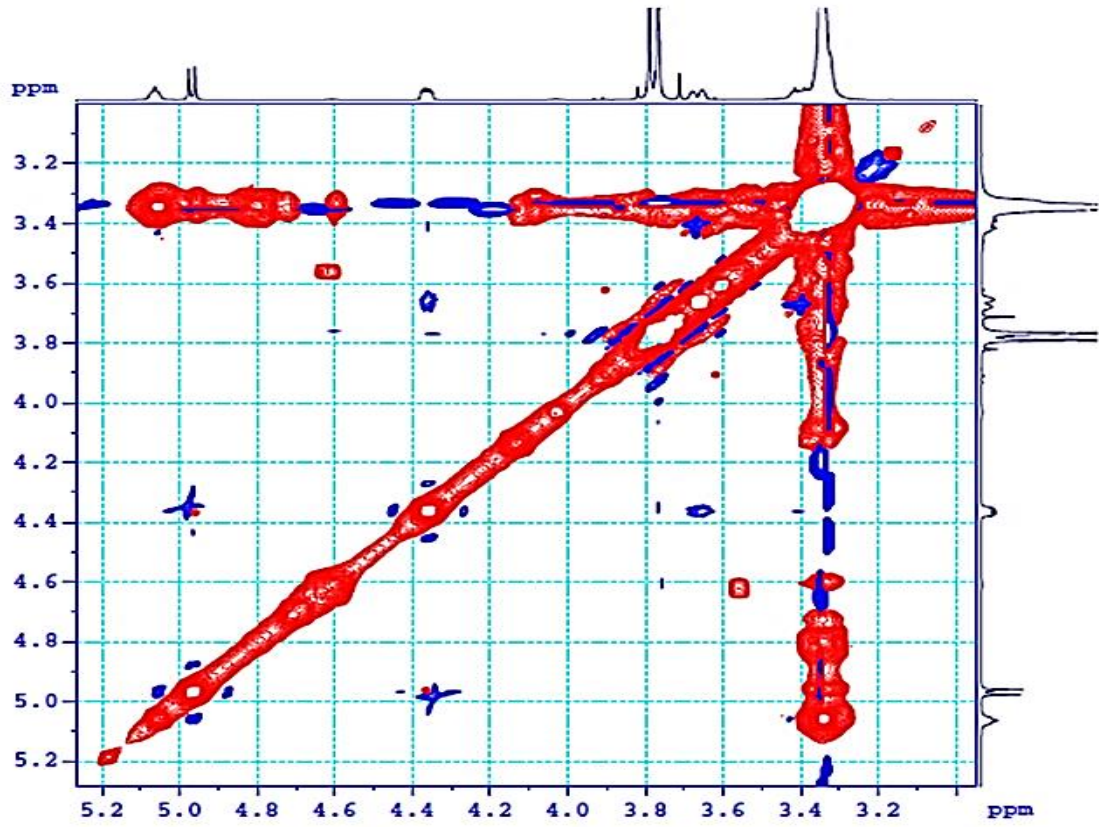
PL7.14. Phổ NOESY giãn 1 của hợp chất AC7



PL7.15. Phổ NOESY giãn 2 của hợp chất AC7



PL7.16. Phổ NOESY giãn 3 của hợp chất AC7

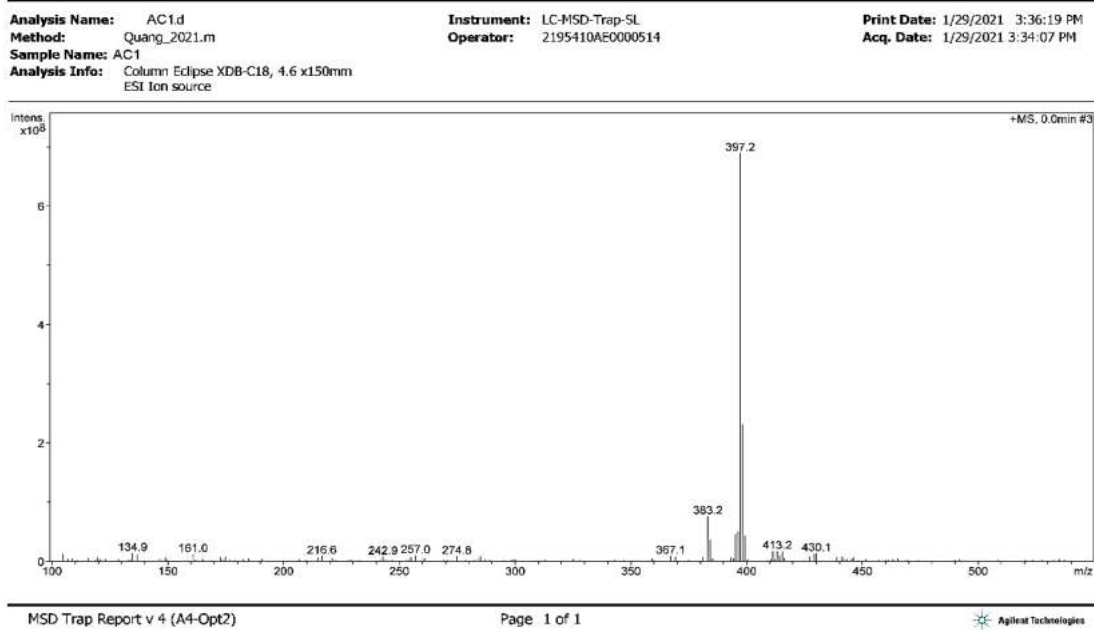


PL7.17. Phổ NOESY giữa 4 của hợp chất AC7

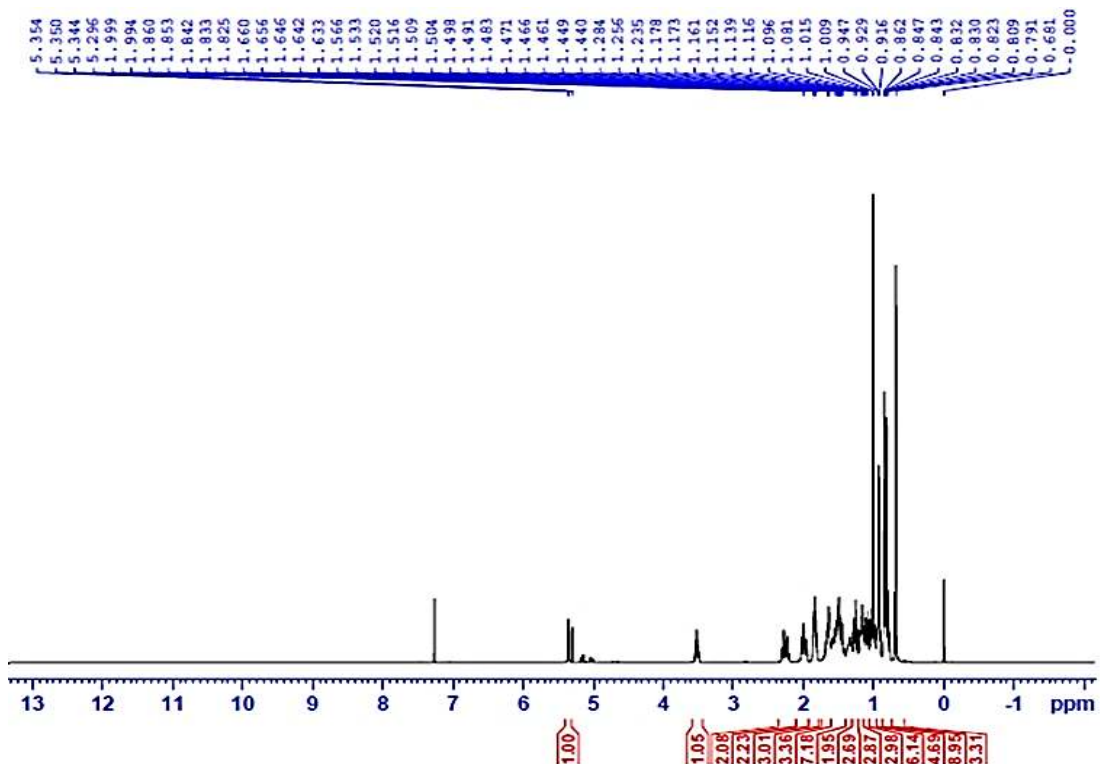
Phụ lục 8: Phổ MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT của hợp chất AC8: β -sistosterol

• Phổ khối

Display Report - Selected Window Selected Analysis

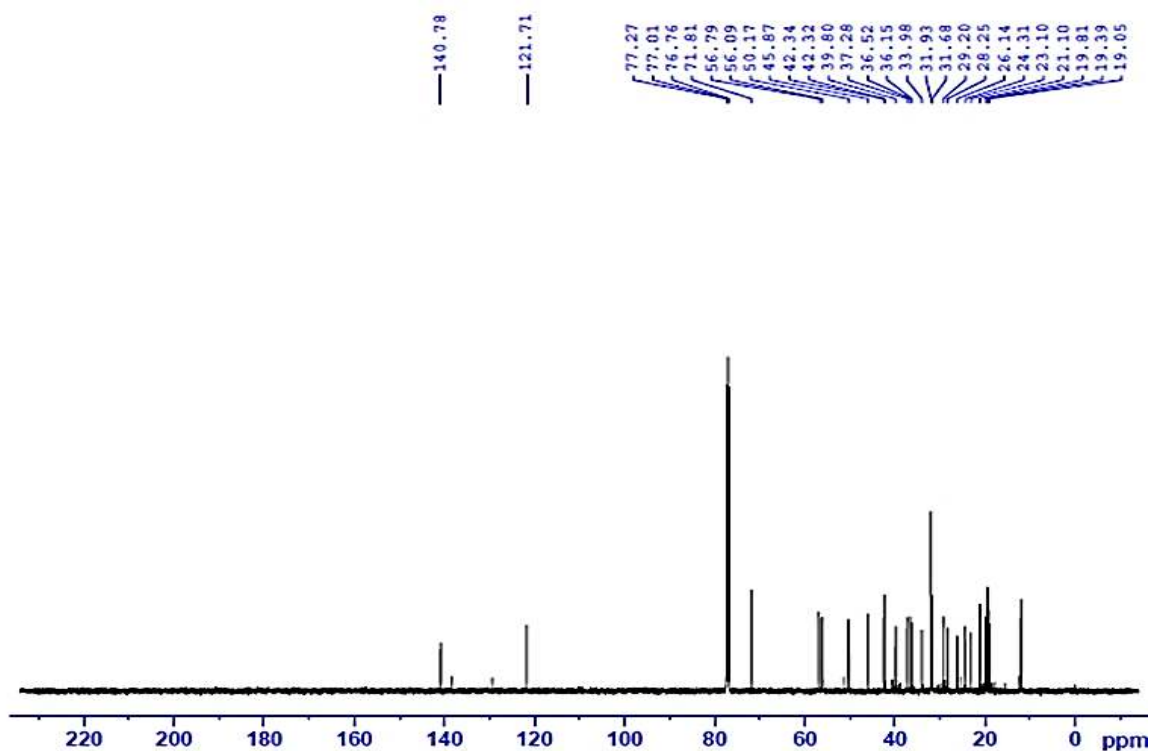


PL8.1. Phổ khối của hợp chất AC8



PL8.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC8

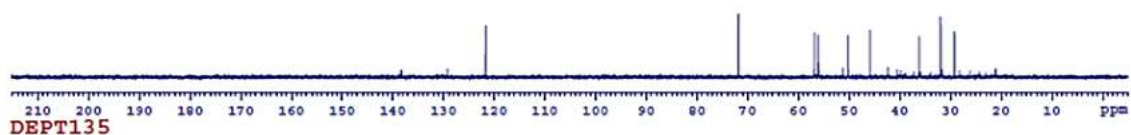
- Phổ ^{13}C -NMR



PL8.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC8

- Phổ DEPT

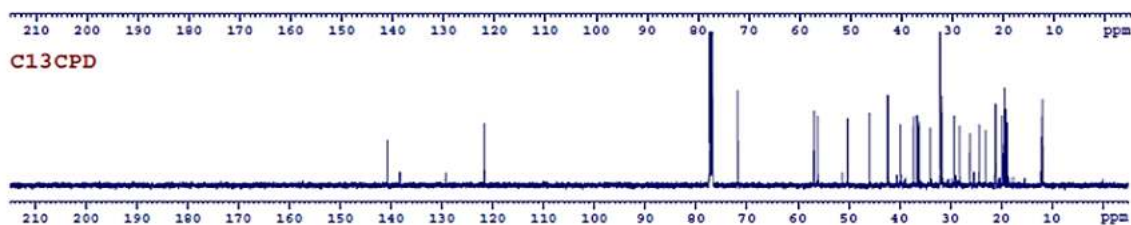
DEPT90



DEPT135

CH&CH3

CH2

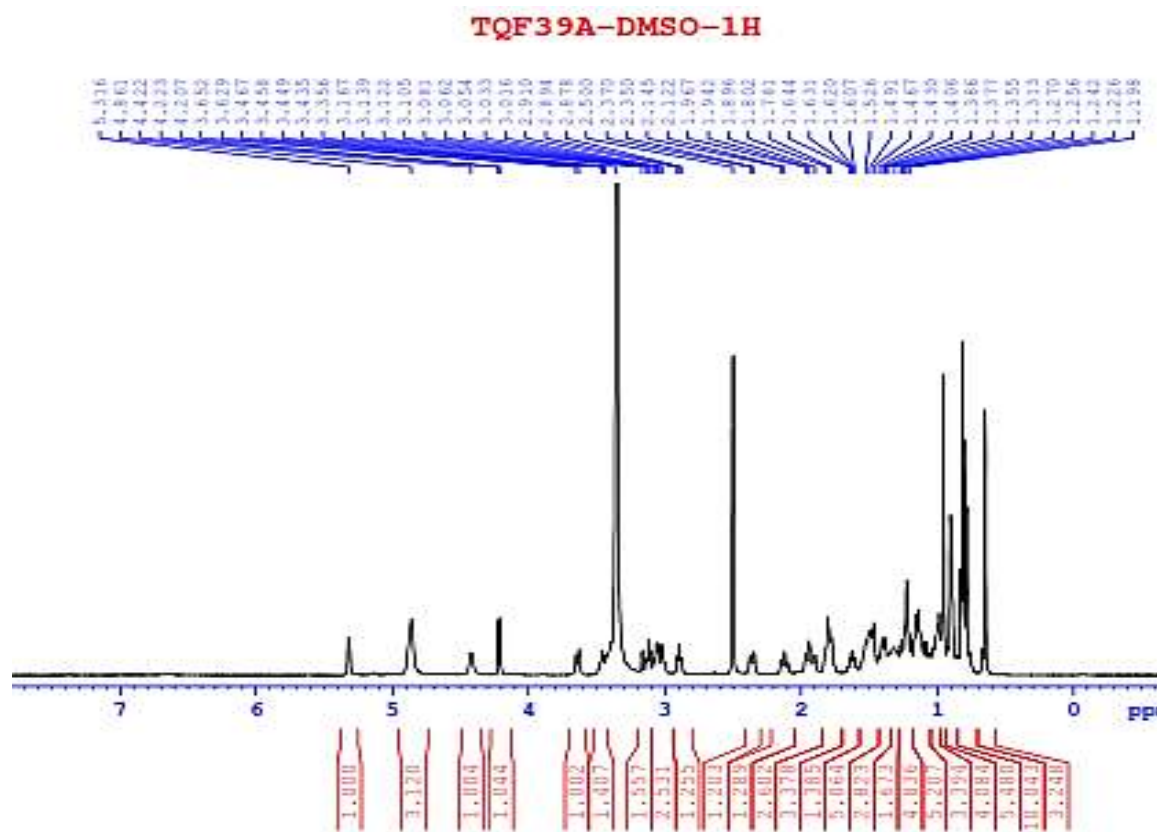


C13CPD

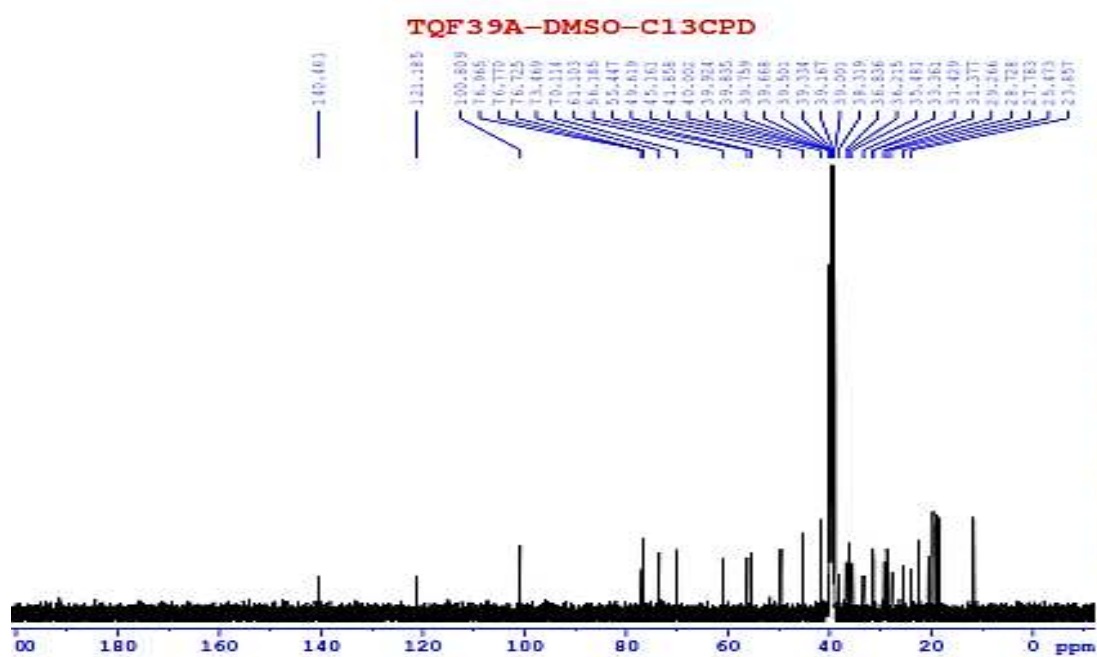
PL8.4. Phổ DEPT của hợp chất AC8

Phụ lục 9: Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC9: daucosterol

• Phổ $^1\text{H-NMR}$



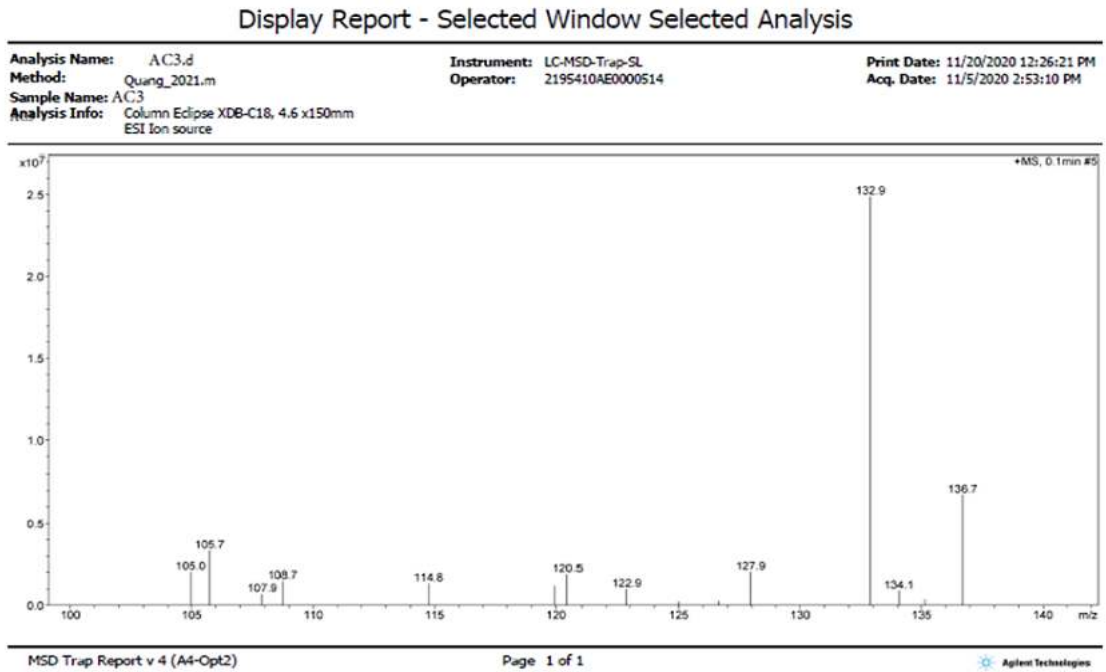
PL9.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC9



PL9.2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AC9

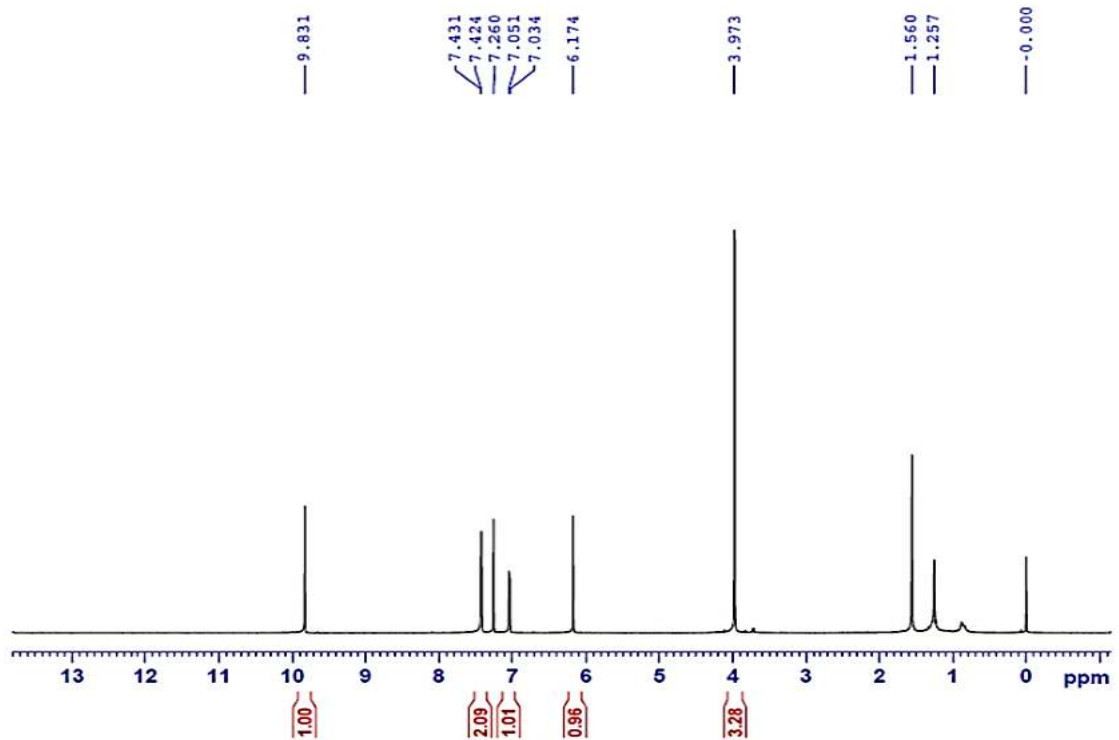
Phụ lục 10: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS, của hợp chất AC10: vanilin

- Phổ khối



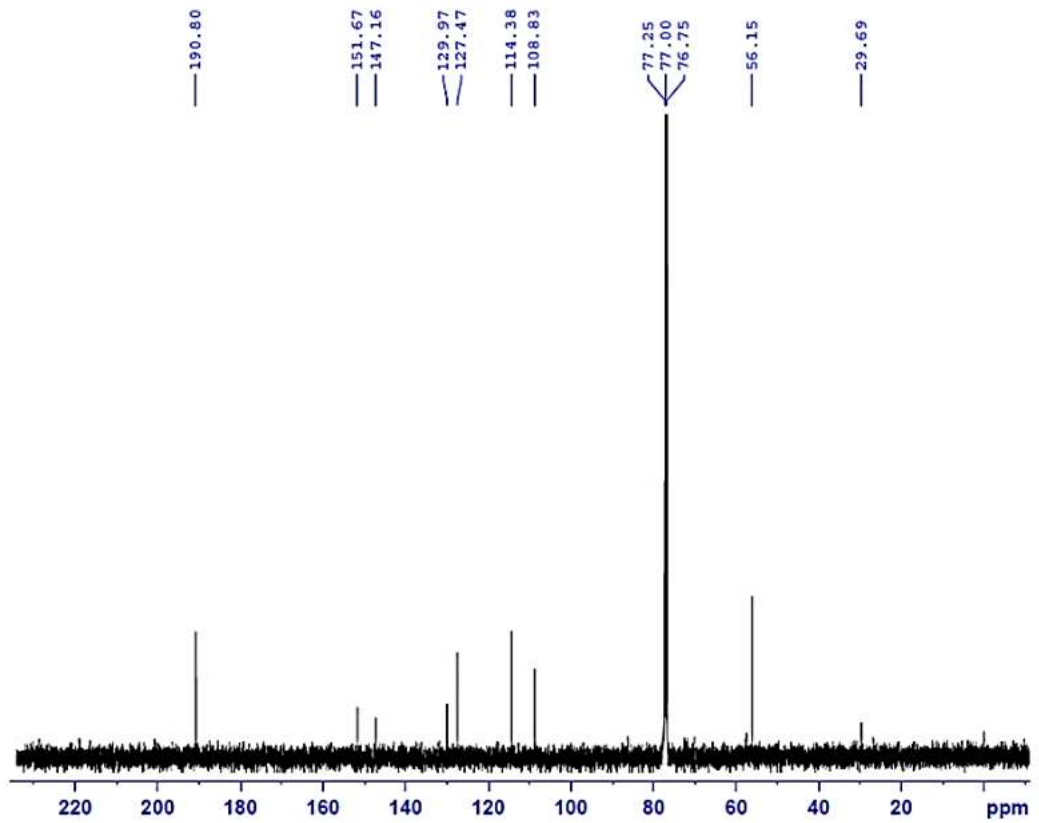
PL10.1. Phổ khối của hợp chất AC10

- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL10.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC10

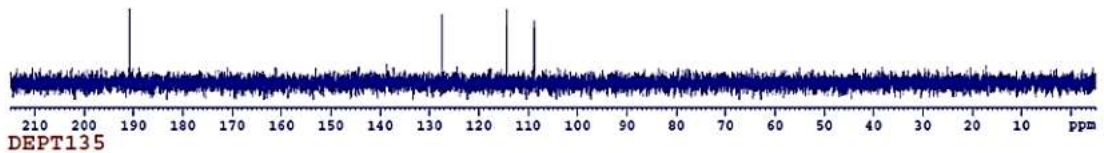
- Phổ ^{13}C -NMR



PL10.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC10

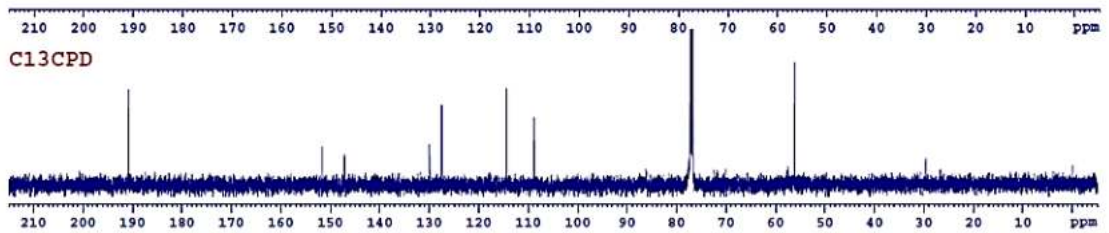
- Phổ DEPT

DEPT90



CH&CH3

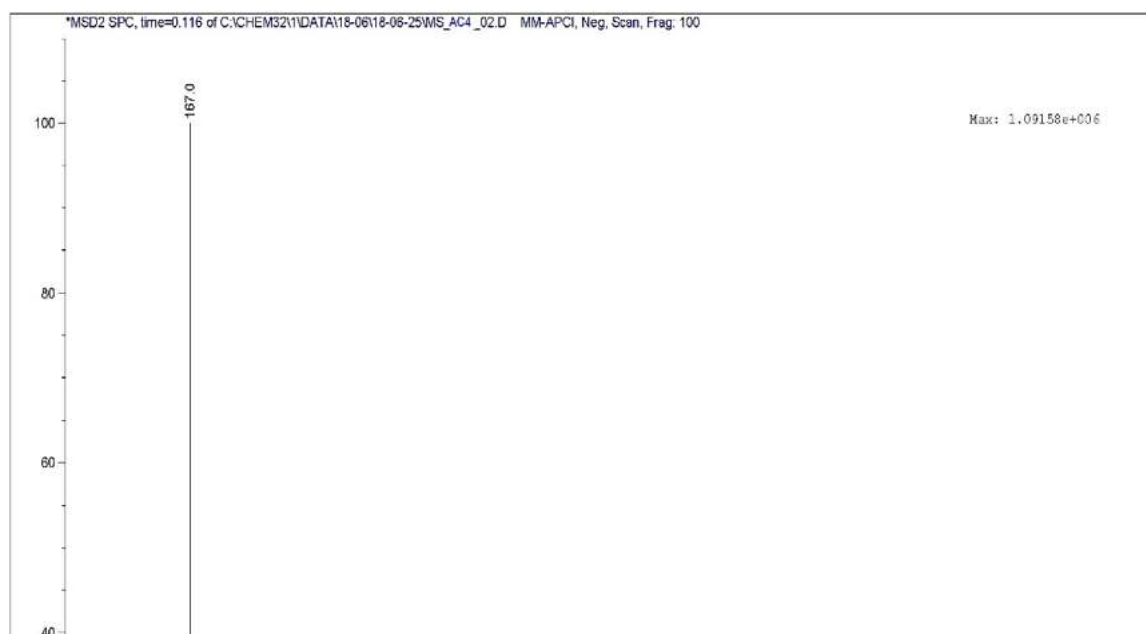
CH2



PL10.4. Phổ DEPT của hợp chất AC10

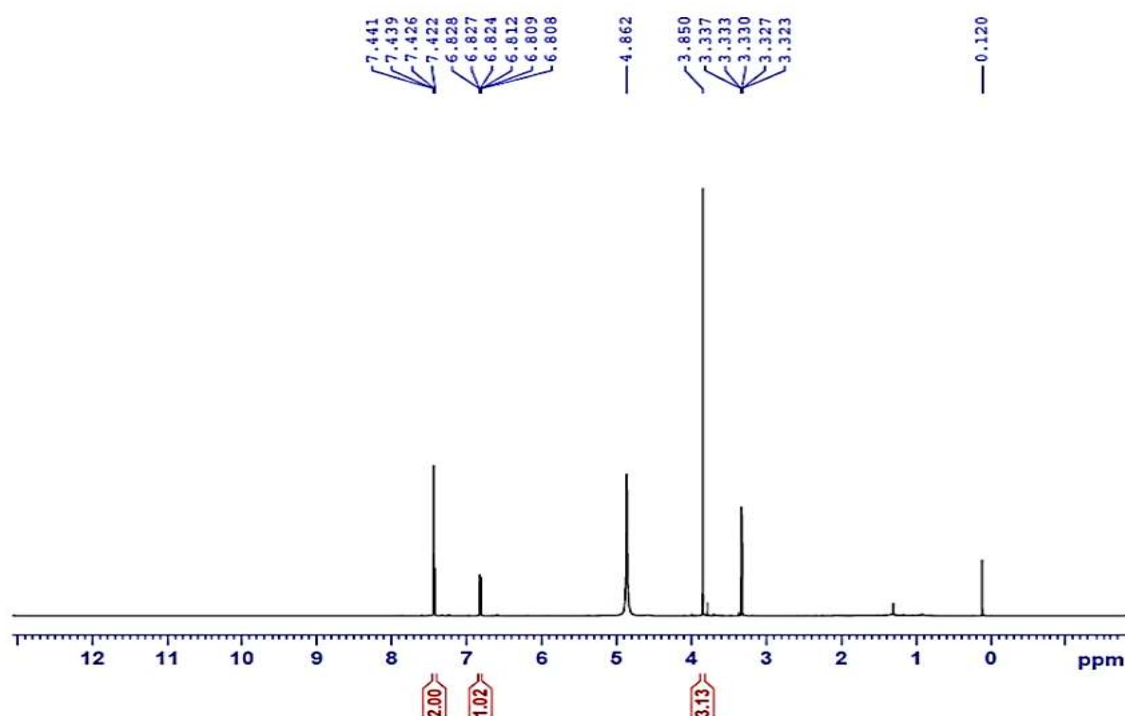
Phụ lục 11: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC11: protocatechuic acid methyl ester

• **Phổ khối**



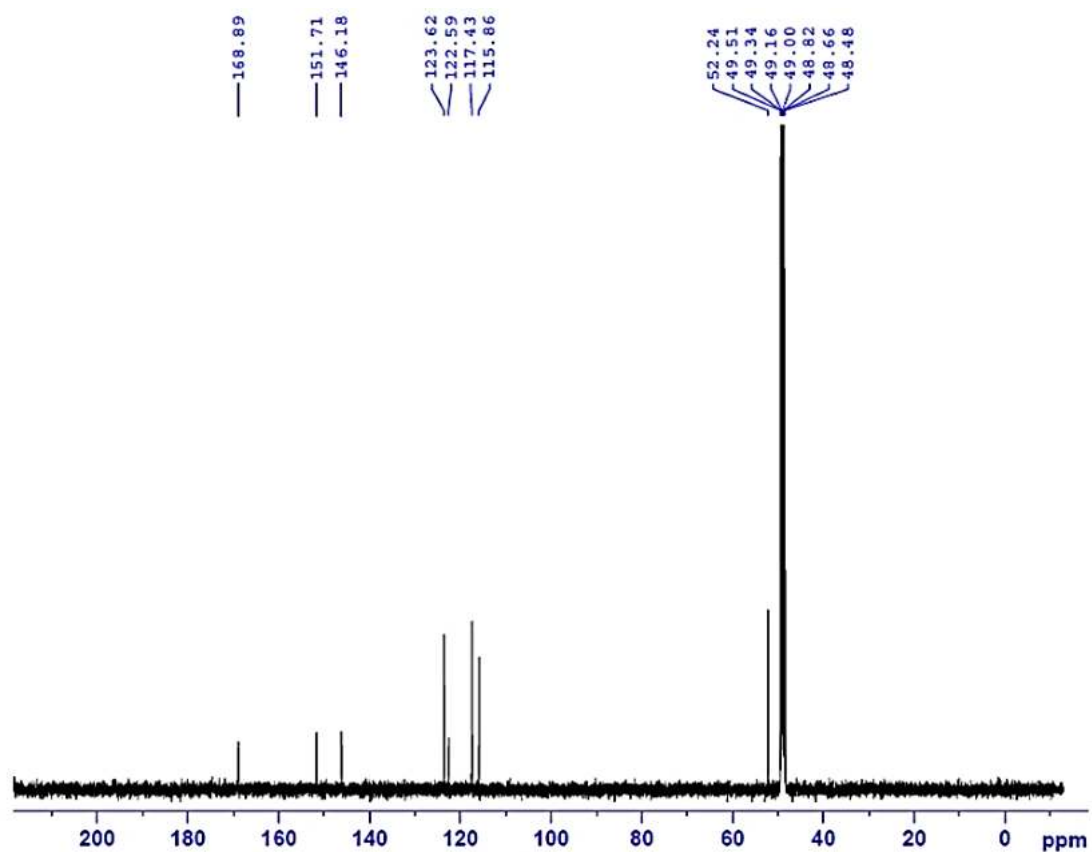
PL11.1. Phổ khối của hợp chất AC11

• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL11.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC11

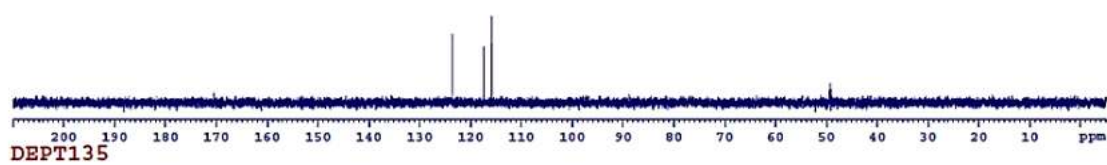
- Phổ ^{13}C -NMR



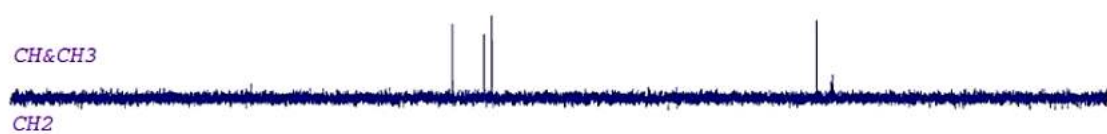
PL11.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC11

- Phổ DEPT

DEPT90

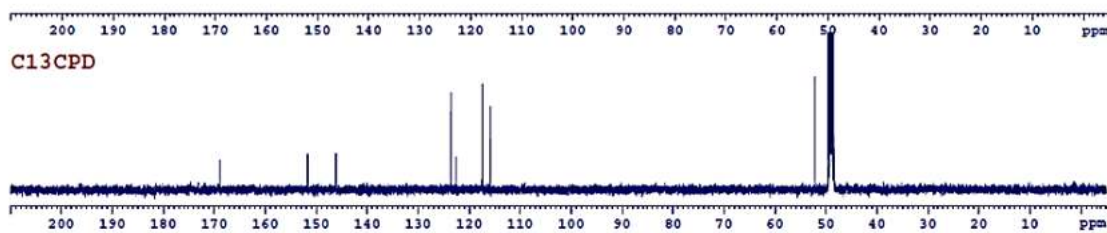


DEPT135



CH&CH3

CH2

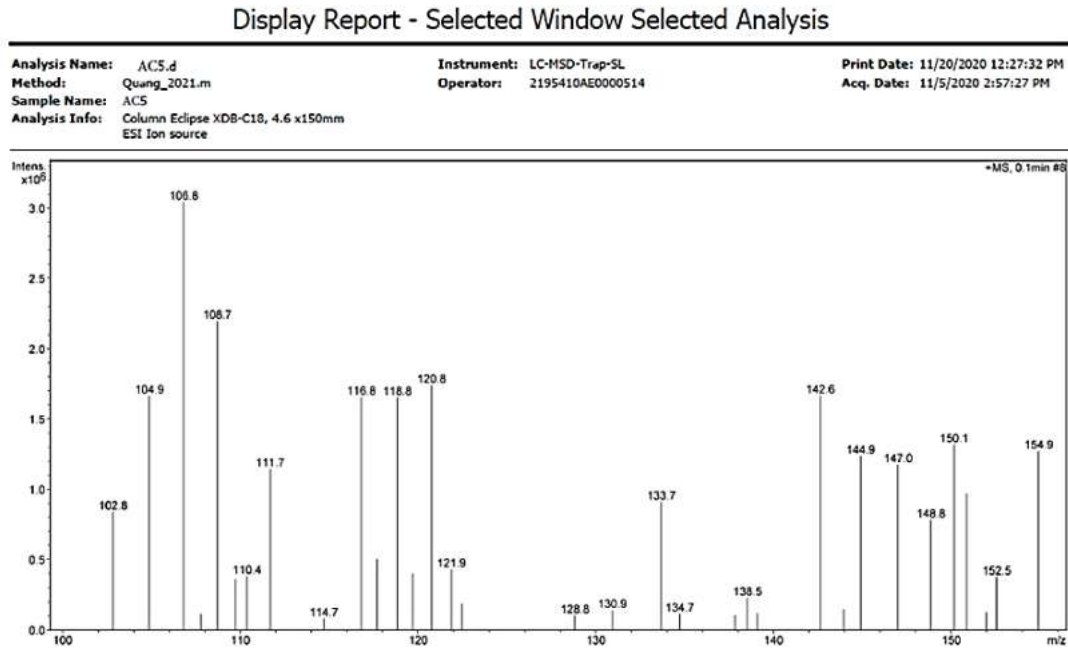


C13CPD

PL11.4. Phổ DEPT của hợp chất AC11

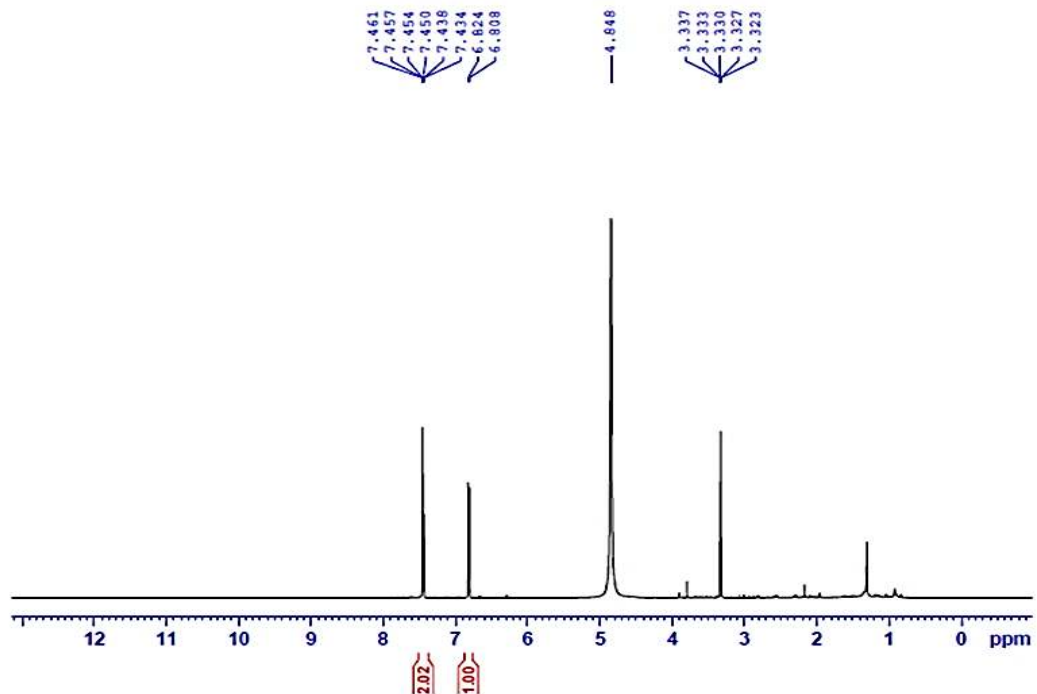
Phụ lục 12: Phổ $^1\text{H-NMR}$, phổ $^{13}\text{C-NMR}$, phổ DEPT, phổ MS của hợp chất AC12: protocatechuic acid

• **Phổ khối**



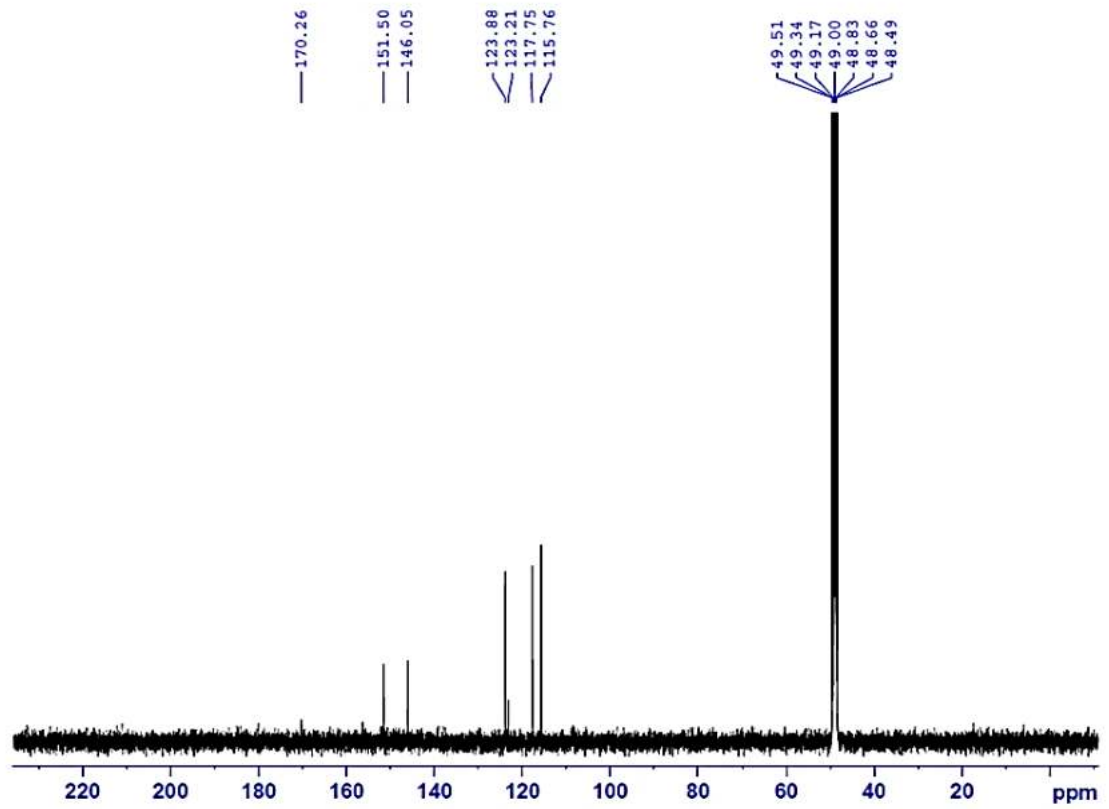
PL12.1. Phổ khối của hợp chất AC12

• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL12.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC12

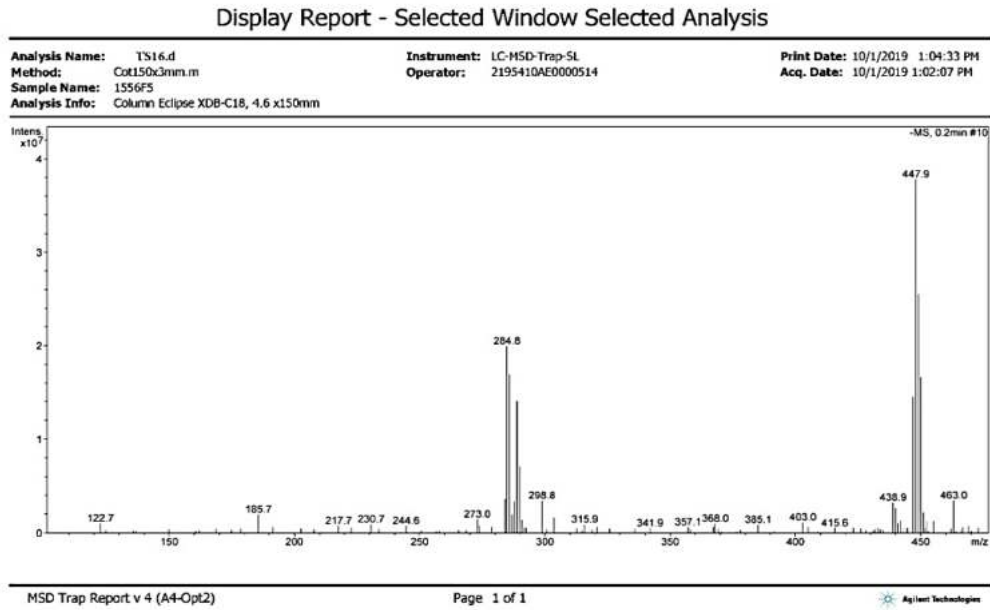
- Phổ ^{13}C -NMR



PL12.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC12

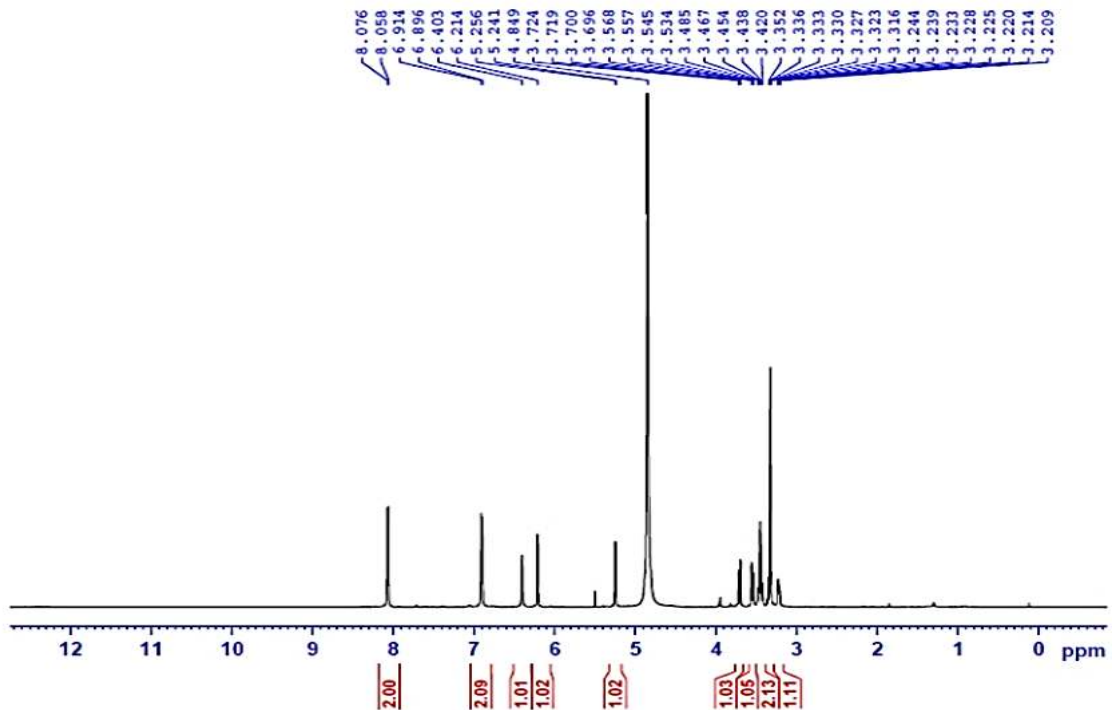
Phụ lục 13: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC13: astralagin

- Phổ khối

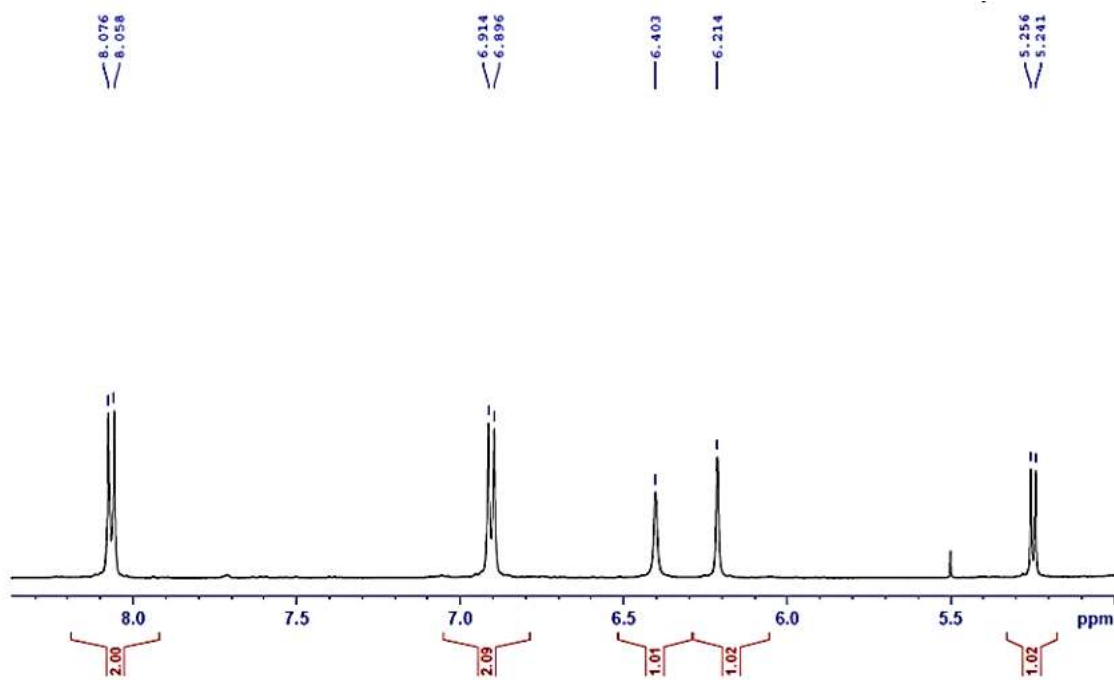


PL13.1. Phổ khối của hợp chất AC13

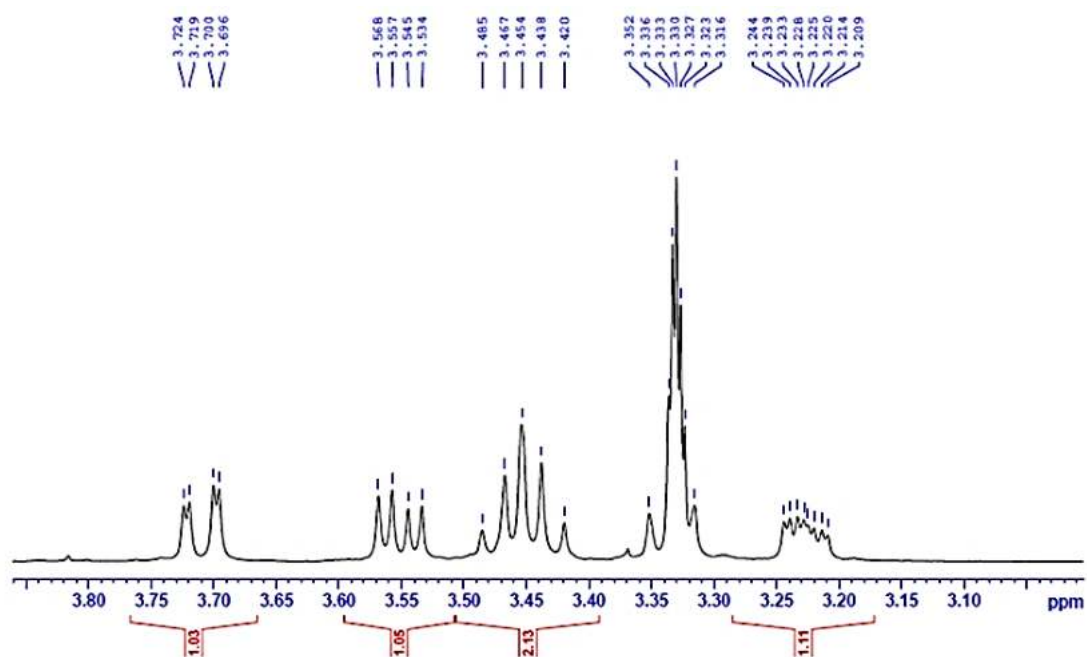
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL13.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC13

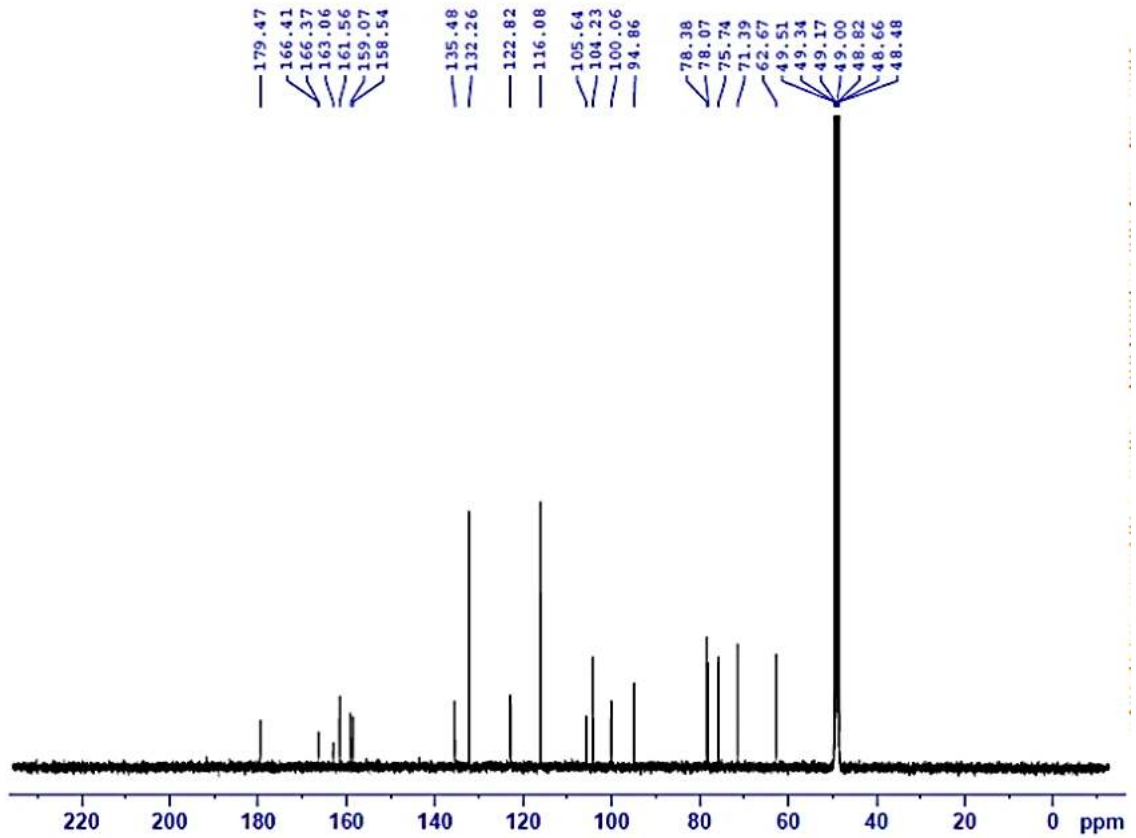


PL13.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC13



PL13.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC13

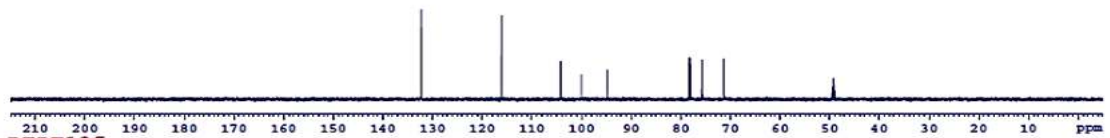
- Phổ ^{13}C -NMR



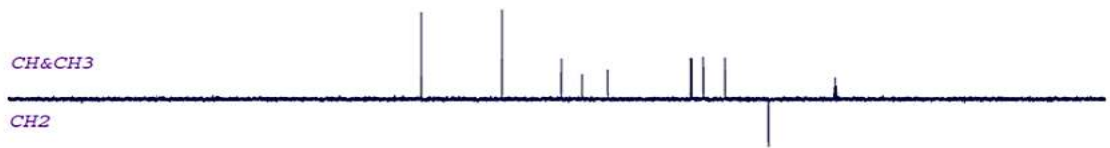
PL13.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC13

- Phổ DEPT

DEPT90

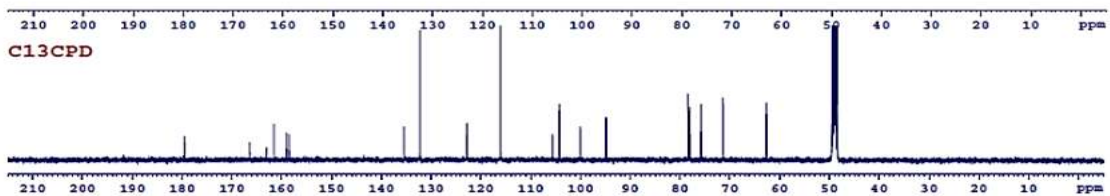


DEPT135



CH&CH3

CH2

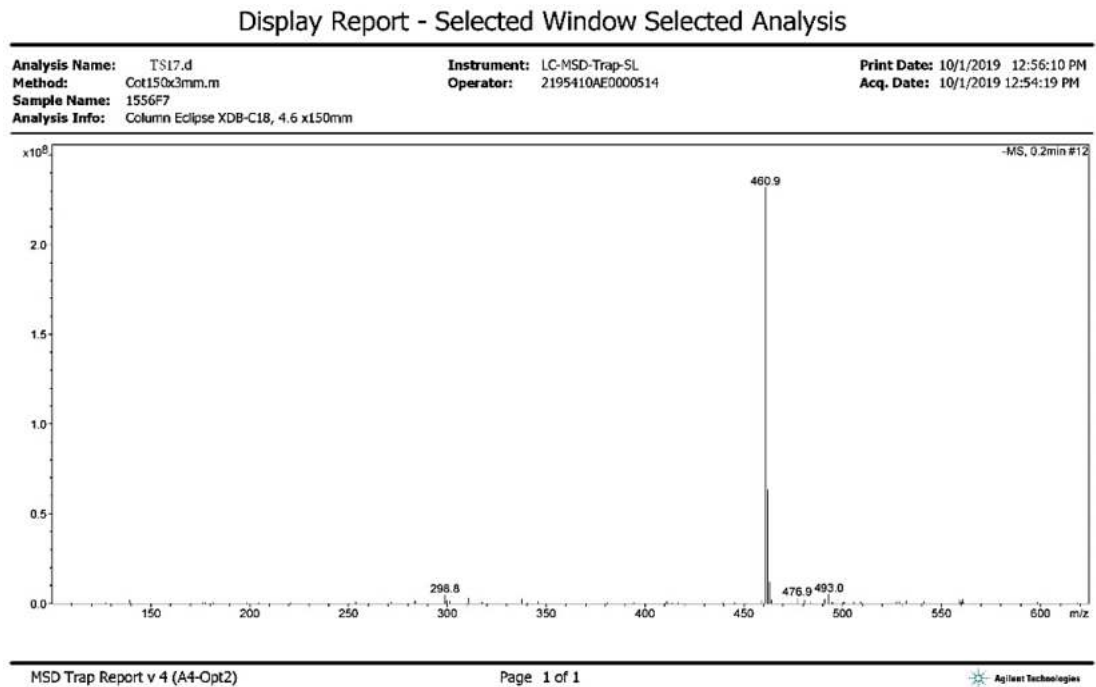


C13CPD

PL13.6. Phổ DEPT của hợp chất AC13

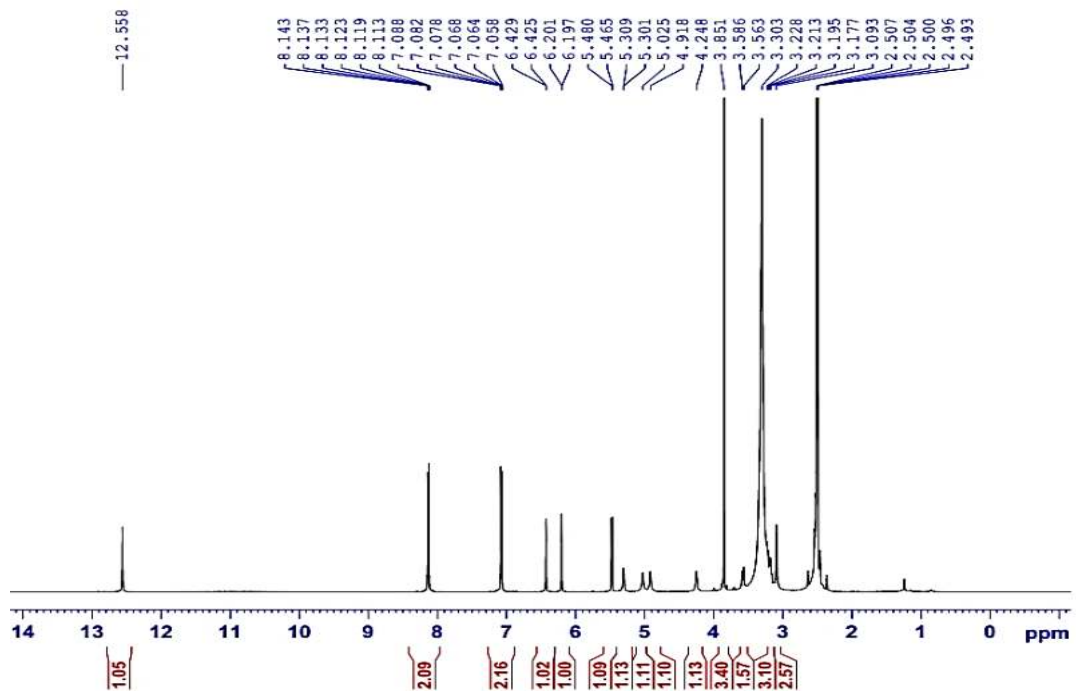
Phụ lục 14: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC14: kaempferide 3-O- β -D-glucopyranoside

• **Phổ Khối**

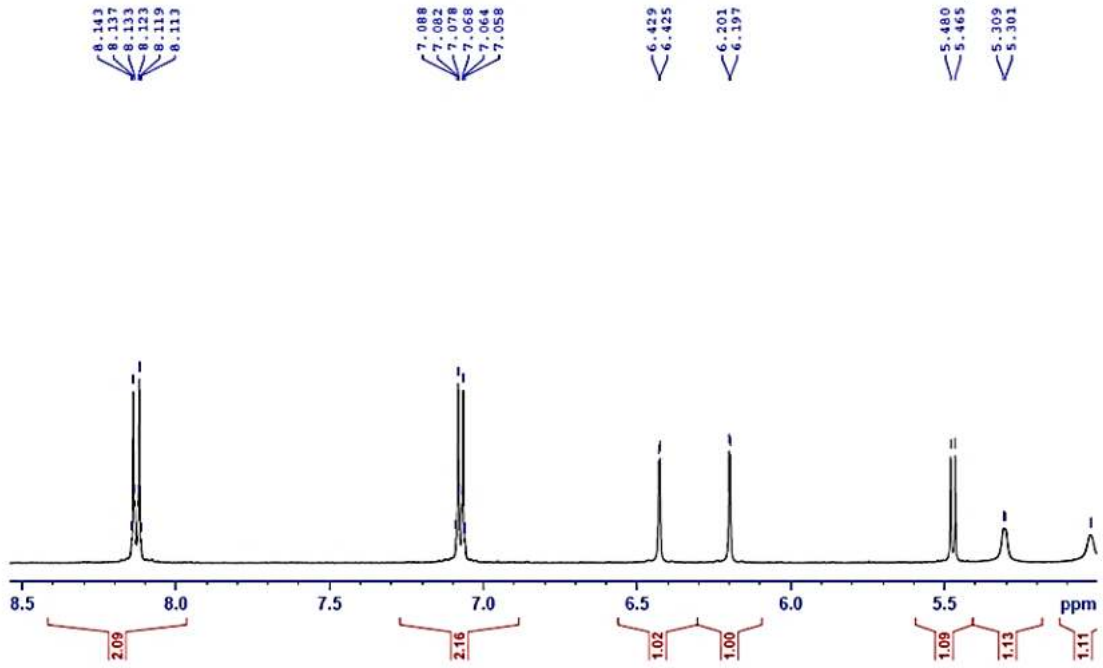


PL14.1. Phổ khối của hợp chất AC14

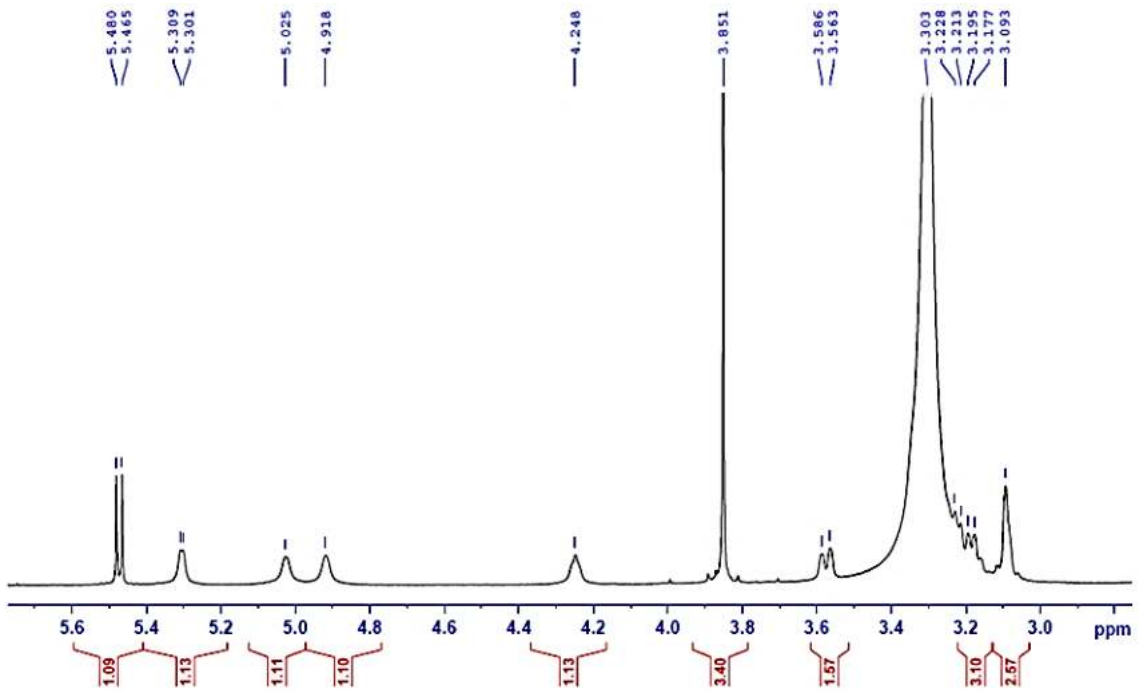
• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL14.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC14

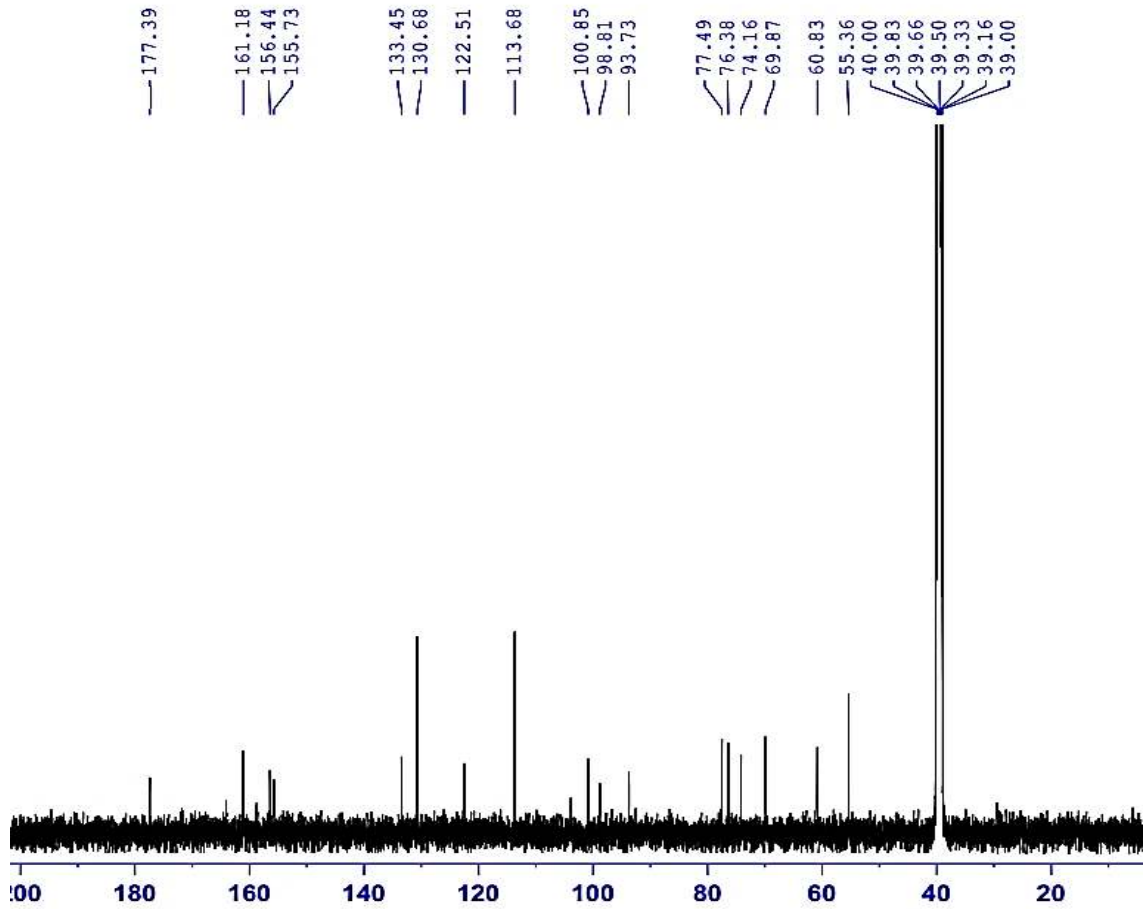


PL14.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC14



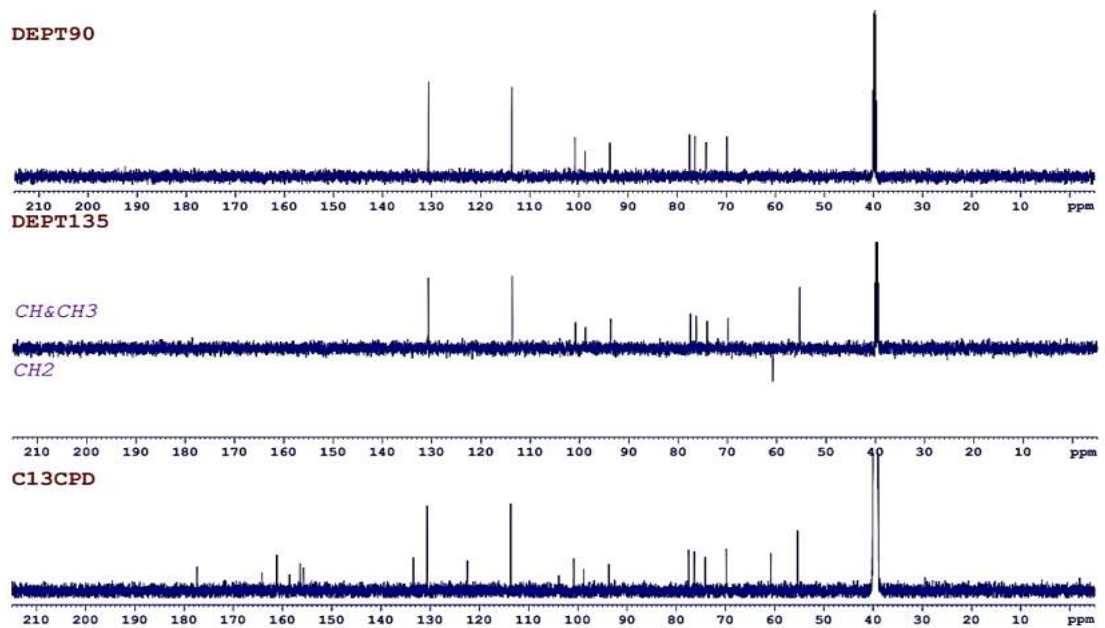
PL14.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC14

- Phổ ^{13}C -NMR



PL14.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC14

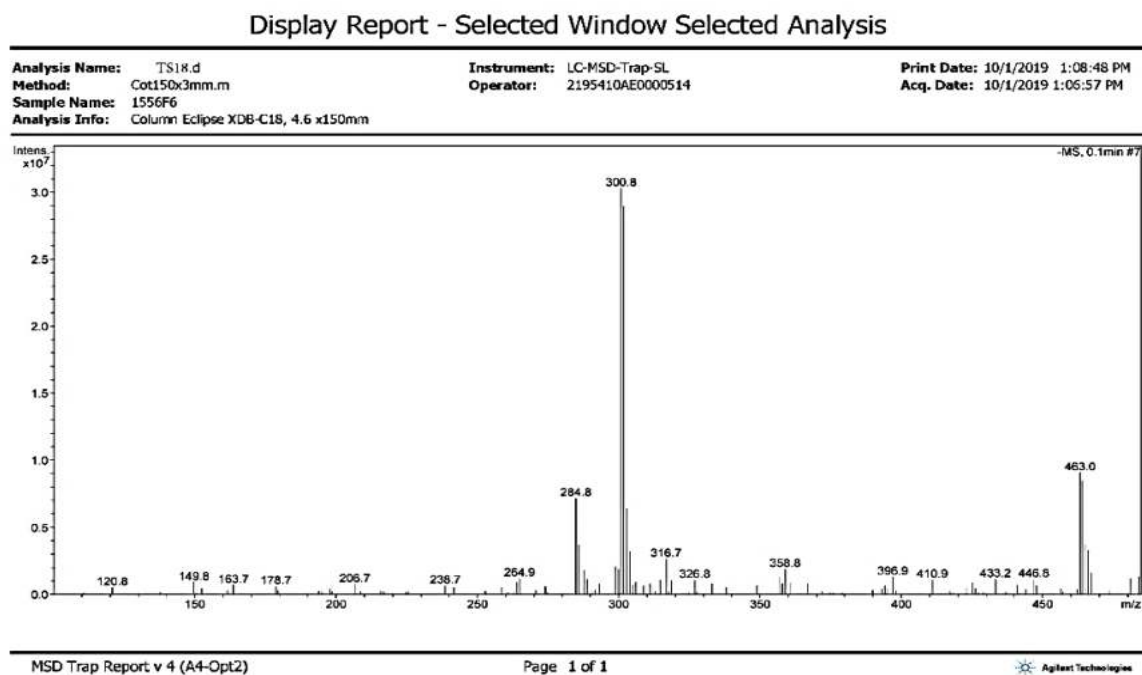
- Phổ DEPT



PL14.6. Phổ DEPT của hợp chất AC14

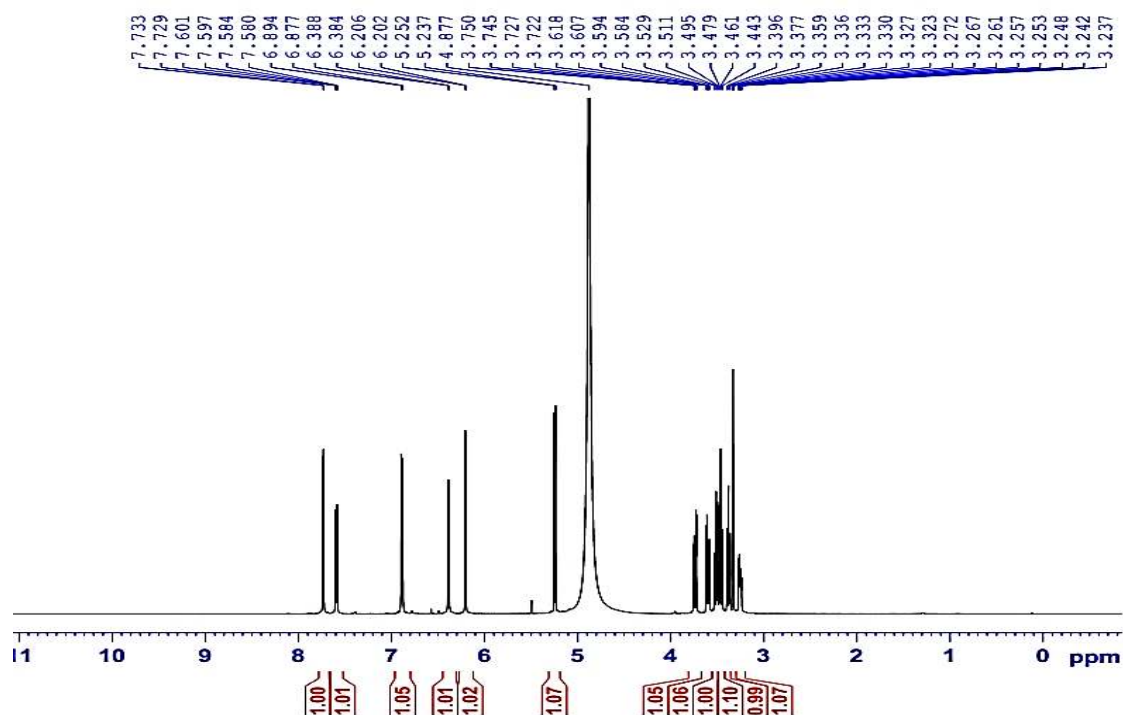
Phụ lục 15: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC15: quercetin 3-*O*- β -D-glucoside

• Phổ khối

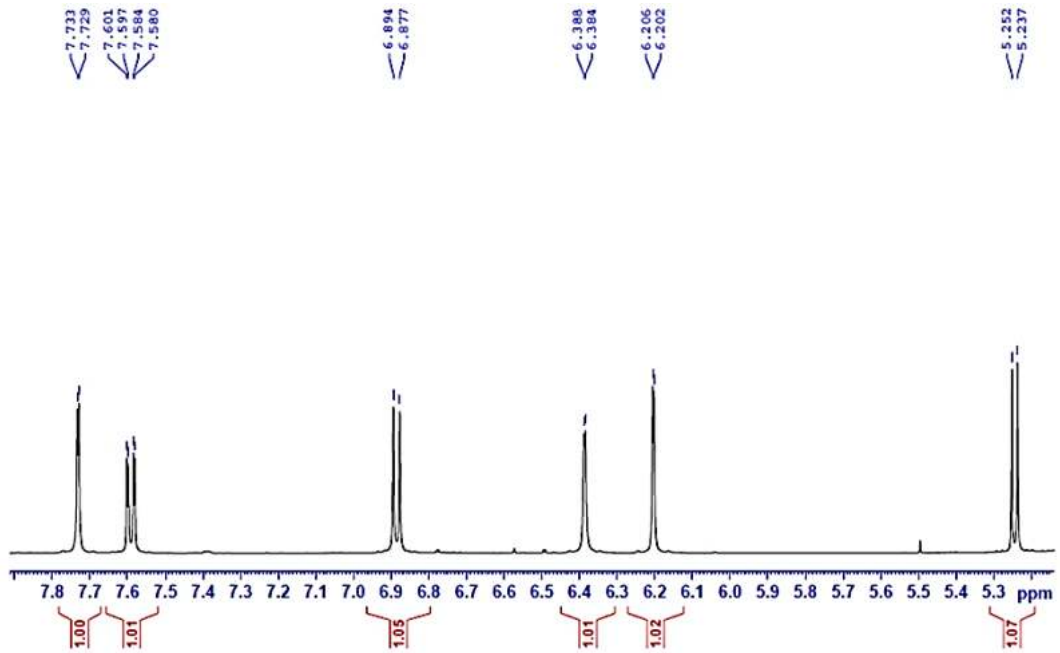


PL15.1. Phổ khối của hợp chất AC15

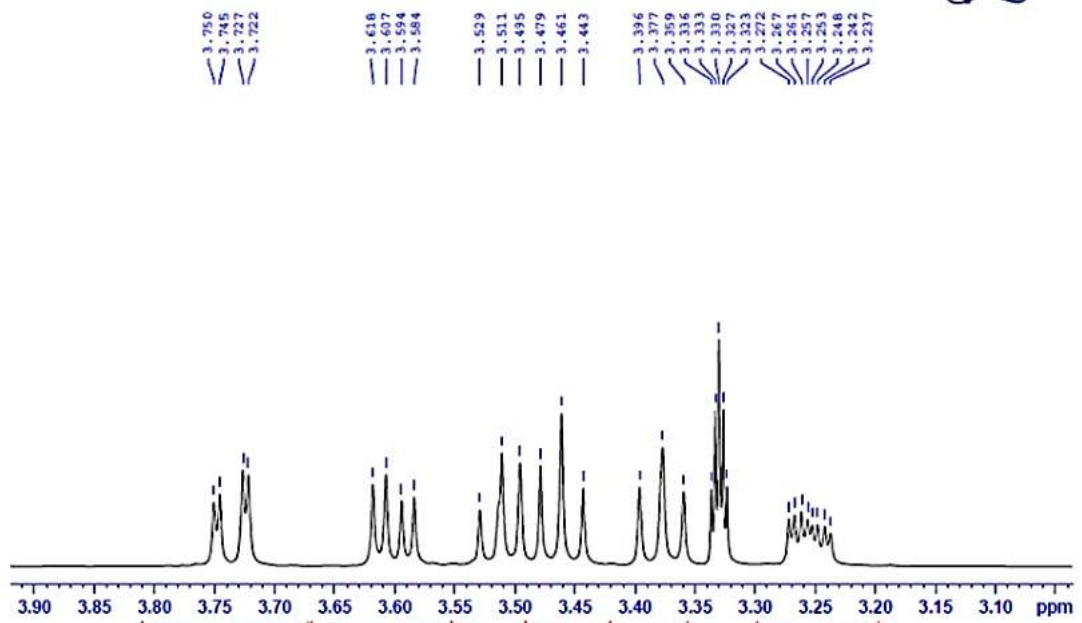
• Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL15.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC15

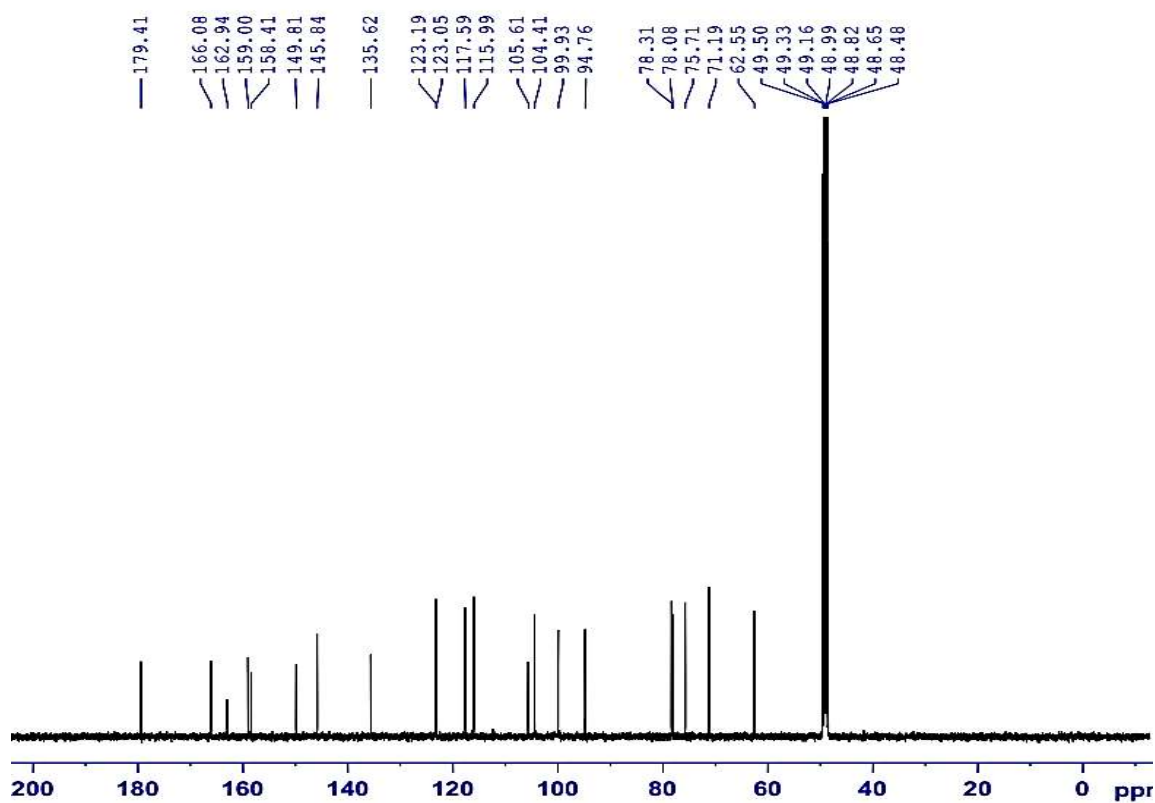


PL15.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC15



PL15.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC15

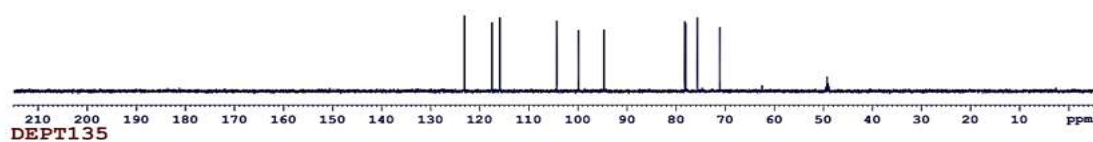
- Phổ ^{13}C -NMR



PL15.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC15

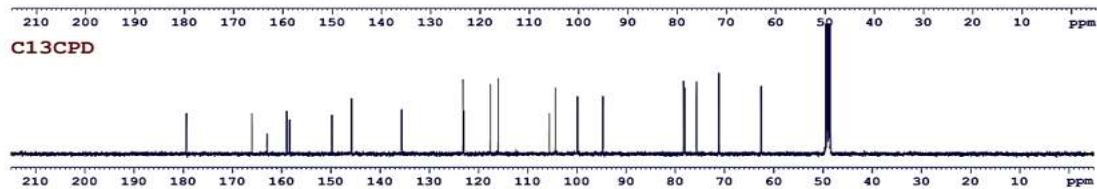
- Phổ DEPT

DEPT90



CH&CH3

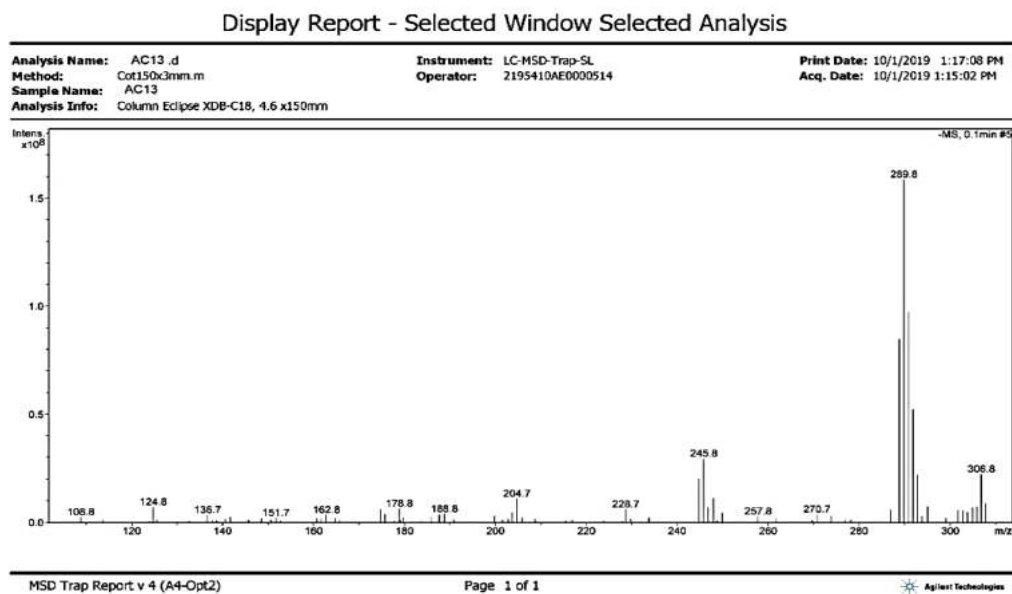
CH2



PL15.6. Phổ DEPT của hợp chất AC15

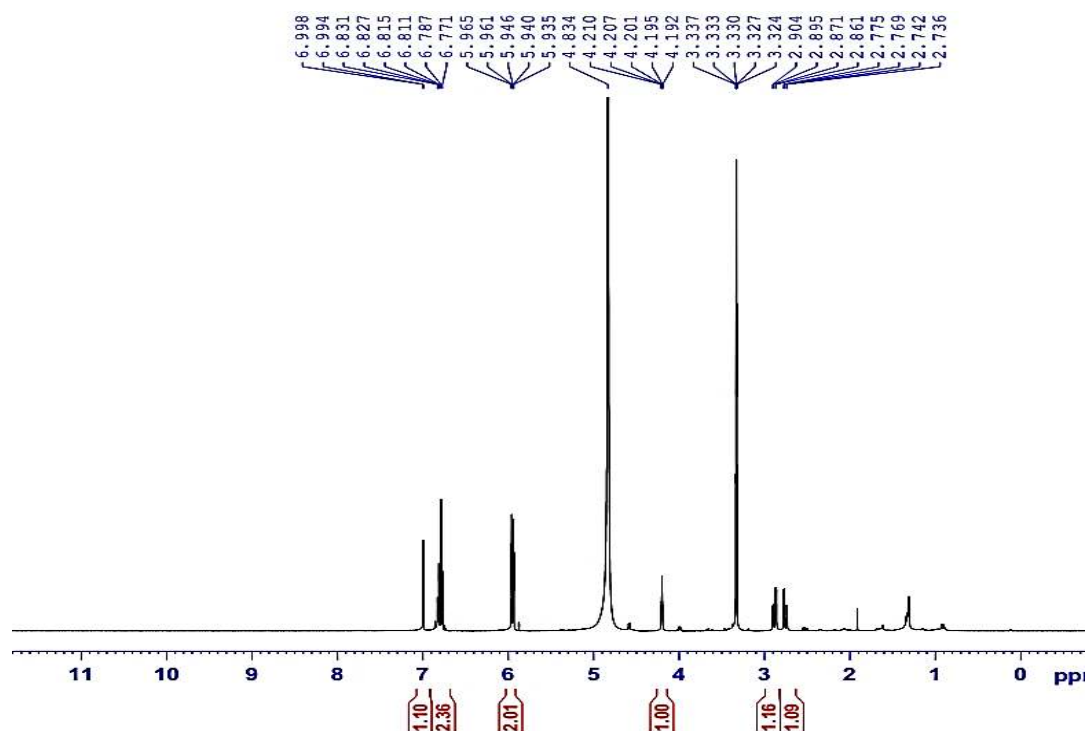
Phụ lục 16: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, MS của hợp chất AC16: (-)-*epi*-catechin

- Phổ khối

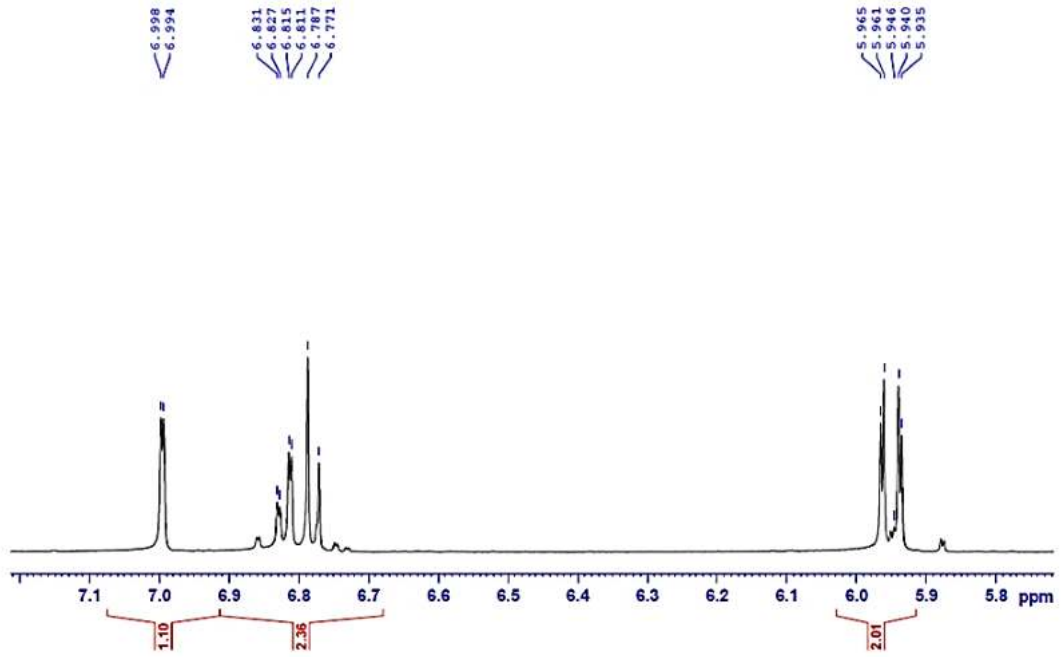


PL16.1. Phổ khối của hợp chất AC16

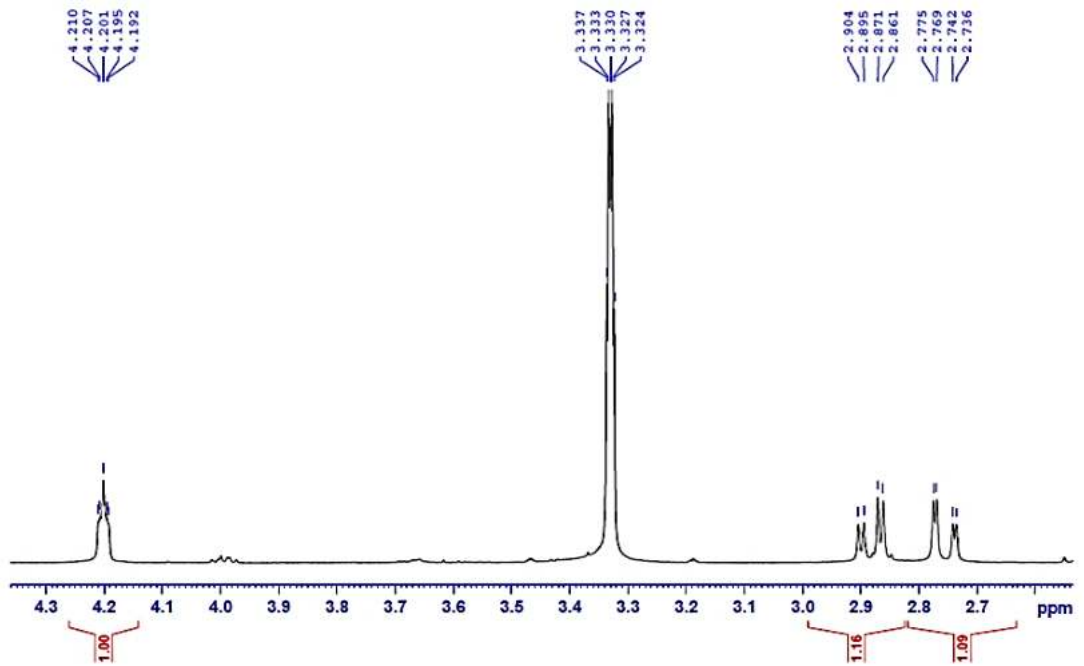
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL16.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC16

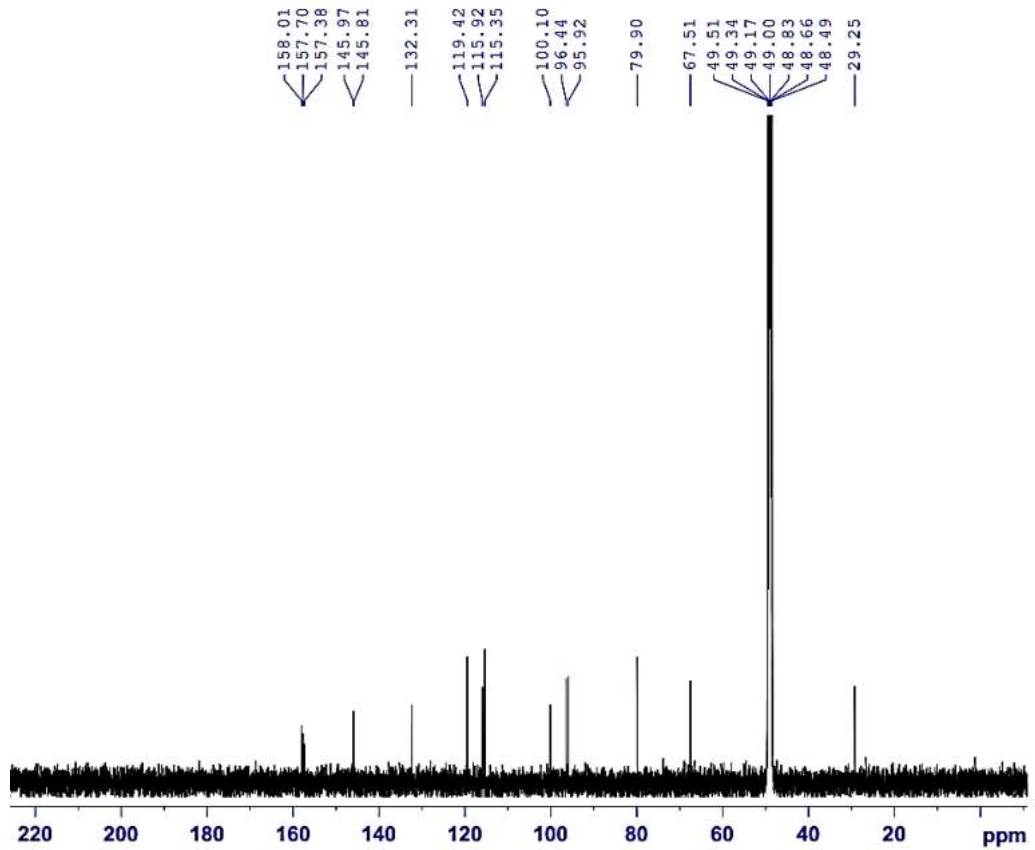


PL16.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất AC16



PL16.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất AC16

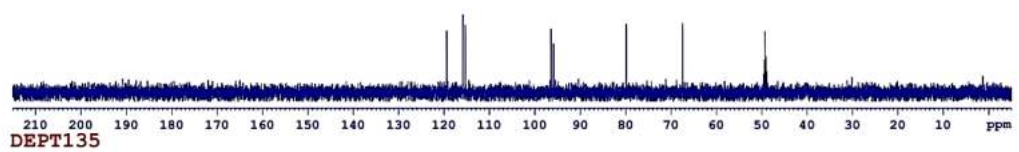
- Phổ ^{13}C -NMR



PL16.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC16

- Phổ DEPT

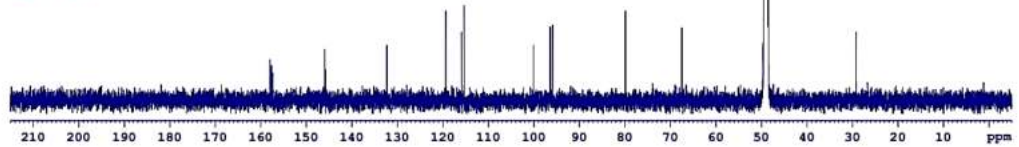
DEPT90



CH&CH3

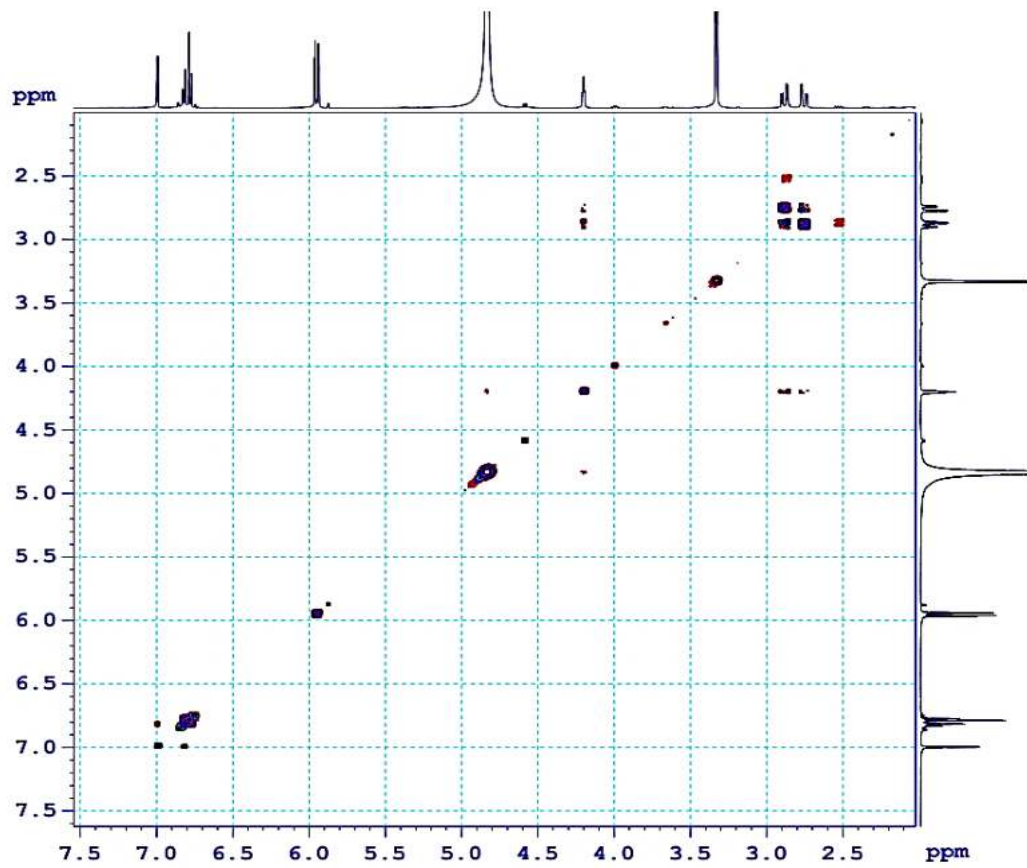
CH2

C13CPD



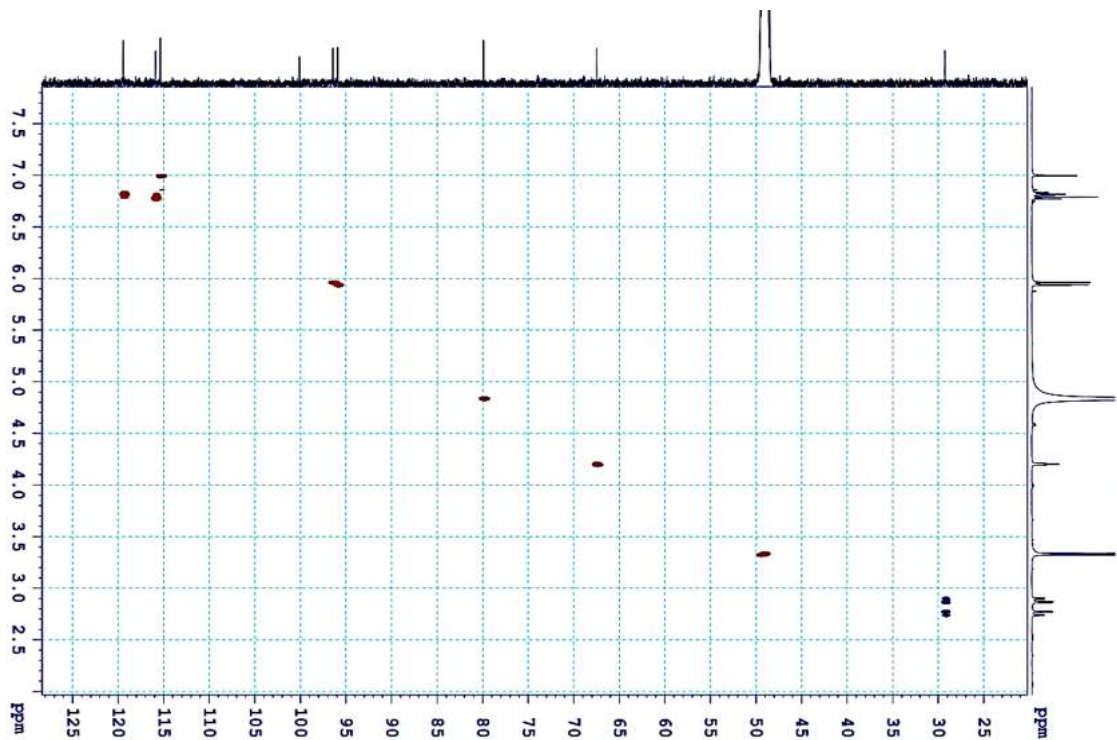
PL16.6. Phổ DEPT của hợp chất AC16

- Phổ COSY



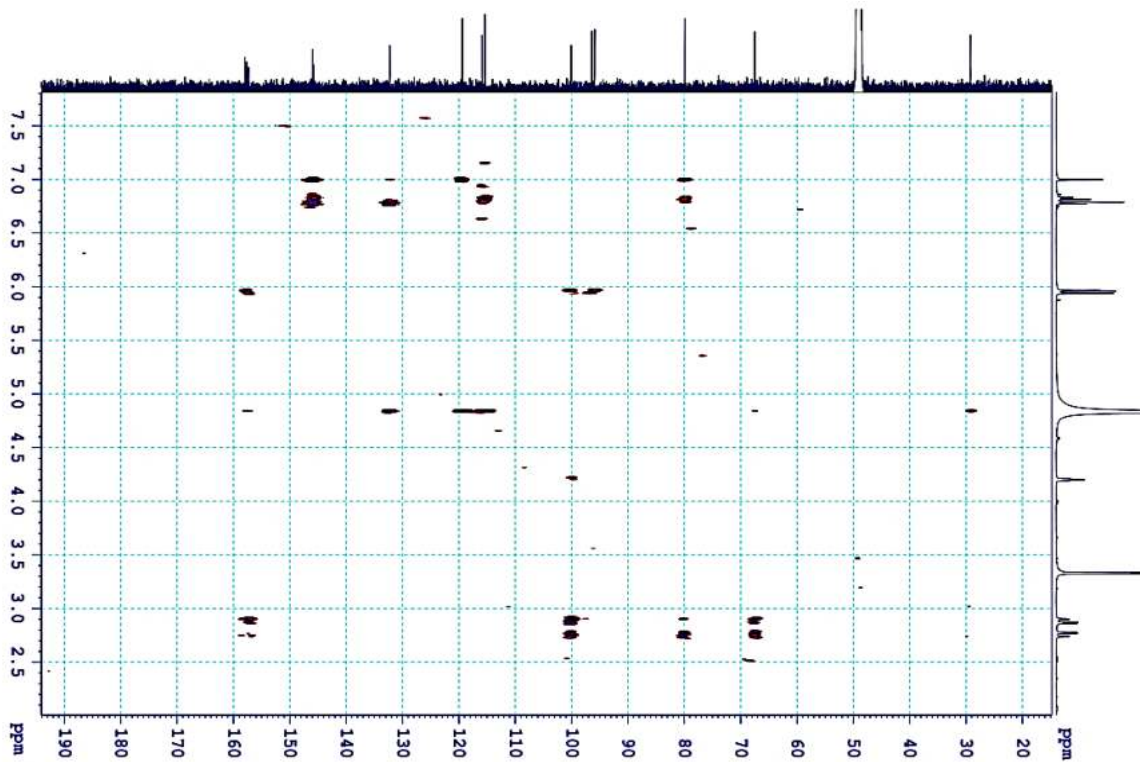
PL16.7. Phổ COSY của hợp chất AC16

- Phổ HSQC

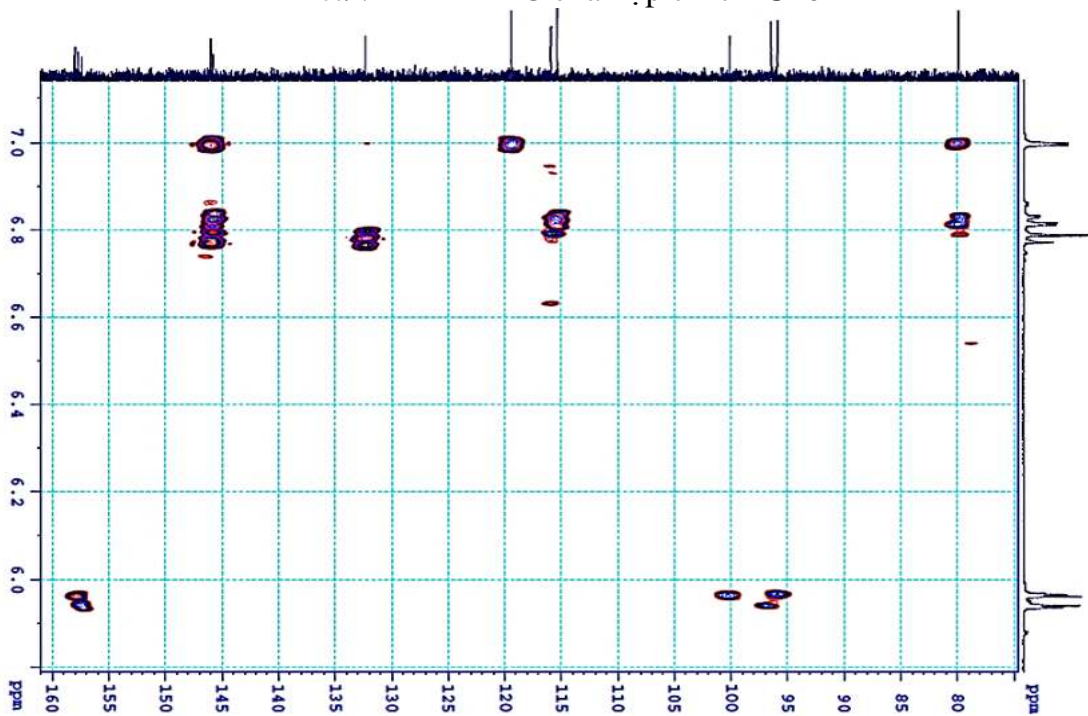


PL16.8. Phổ HSQC của hợp chất AC16

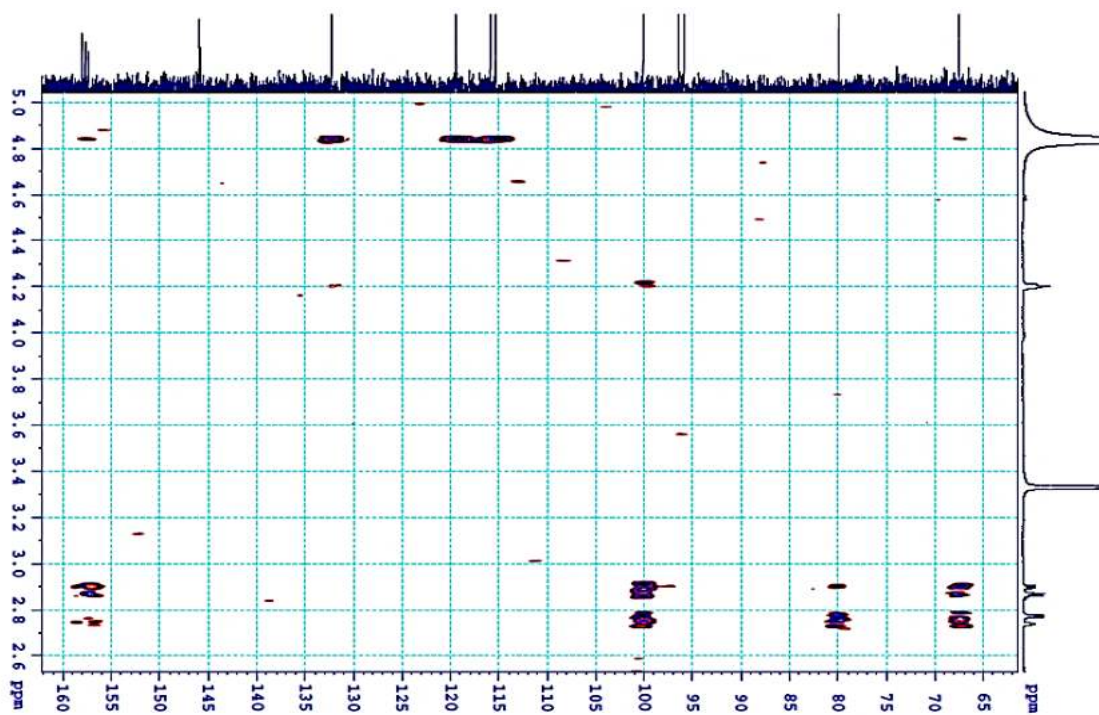
- Phổ ^2H HMBC



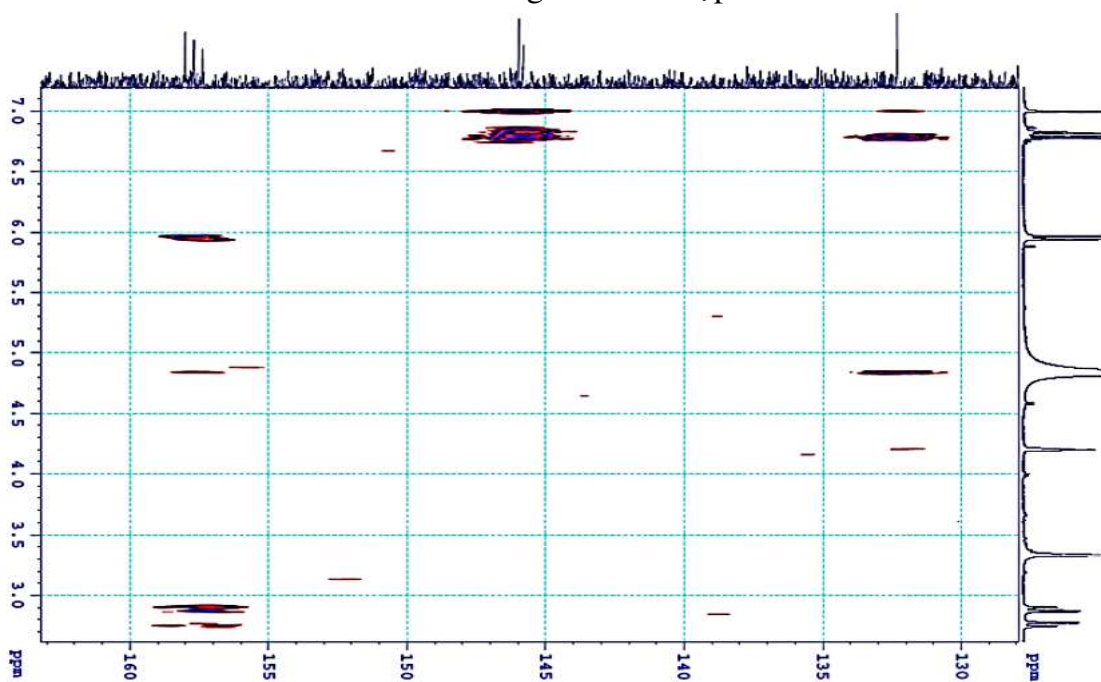
PL16.9. Phổ HMBC của hợp chất AC16



PL16.10. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC16



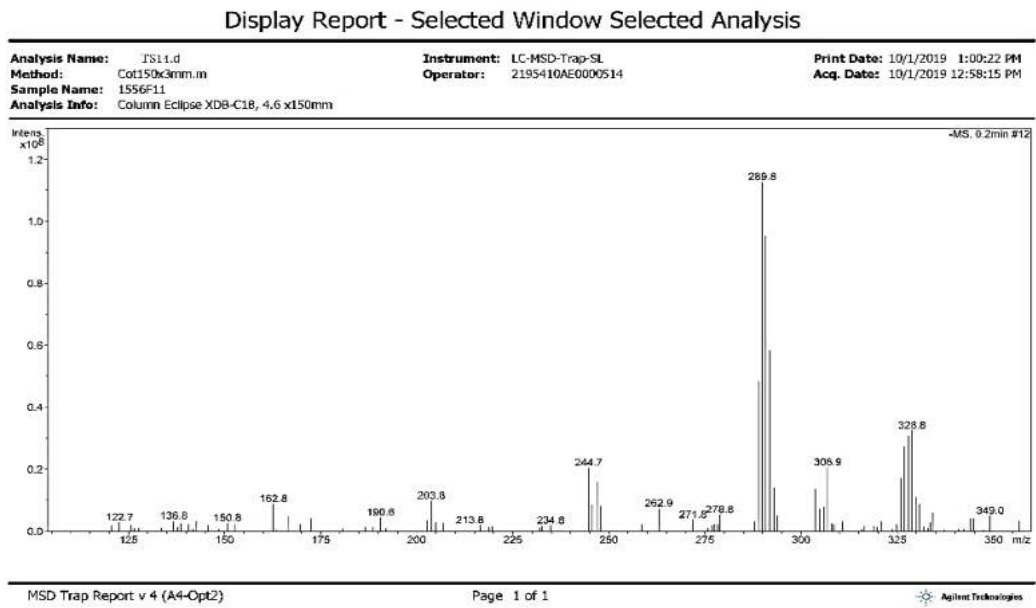
PL16.11. Phổ HMBC gián 2 của hợp chất AC16



PL16.12. Phổ HMBC gián 3 của hợp chất AC16

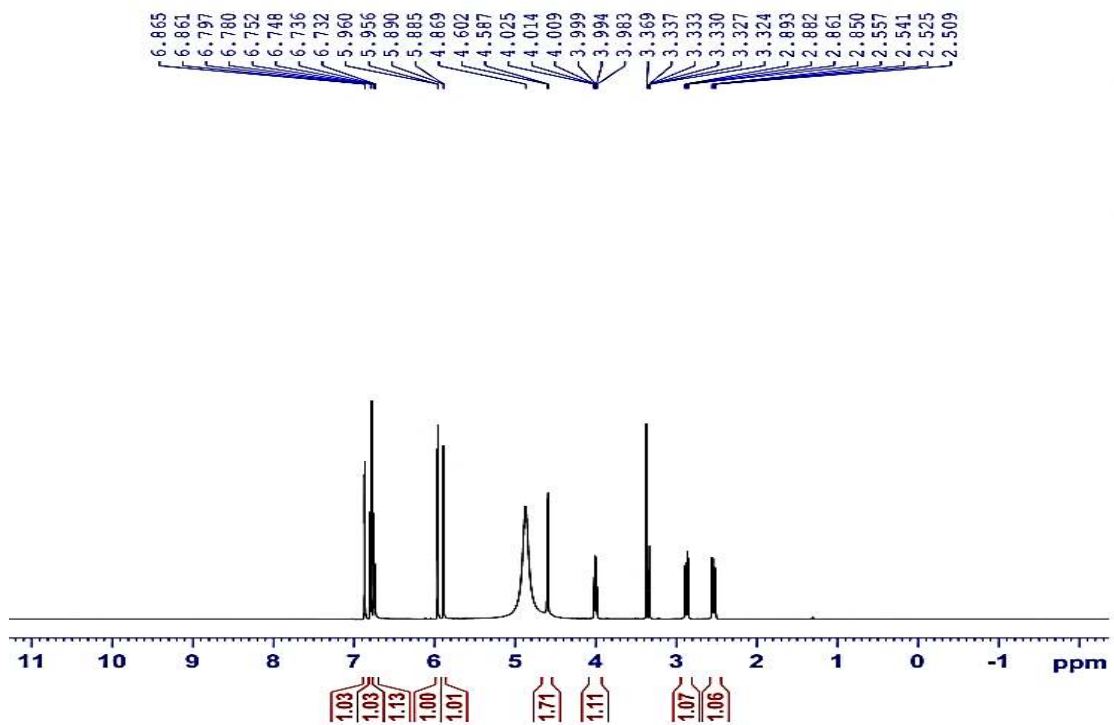
Phụ lục 17: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất AC17: (-)-catechin

• Phổ khối

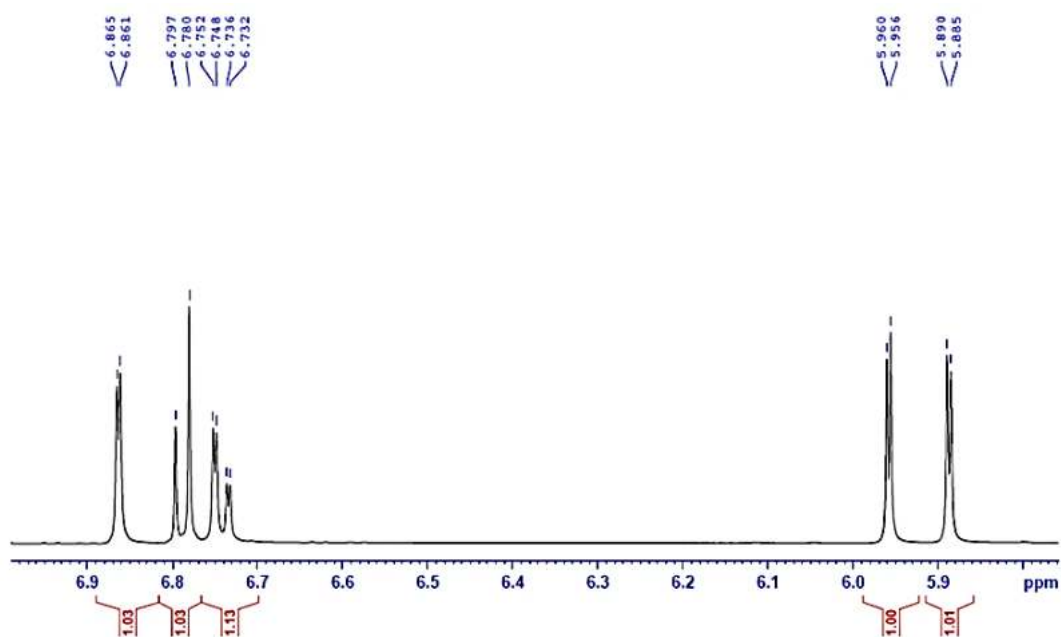


PL17.1. Phổ khối của hợp chất AC17

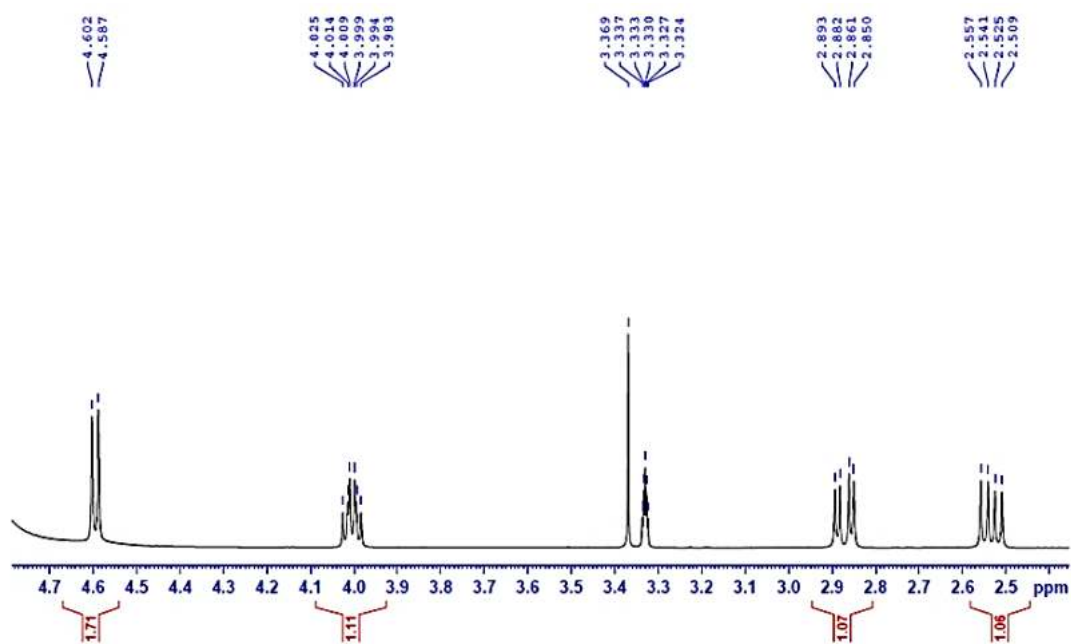
• Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL17.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC17

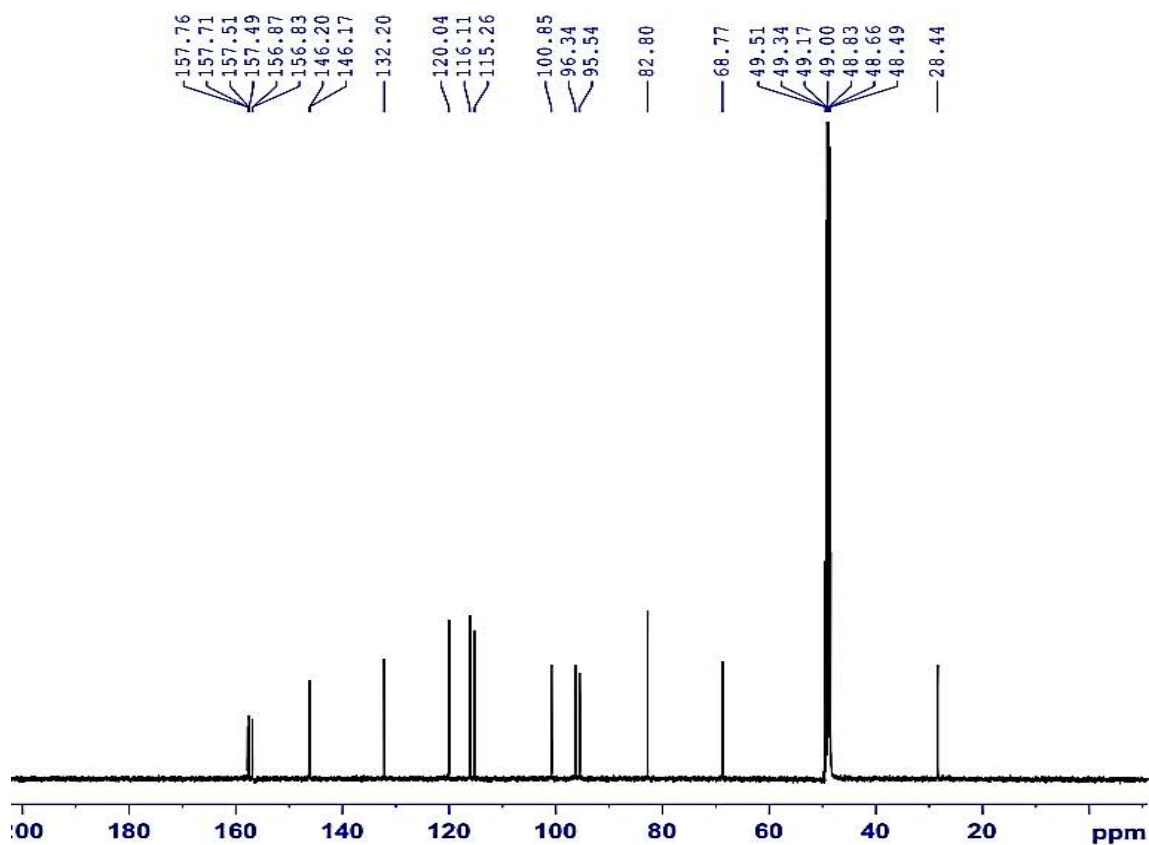


PL17.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 1 của hợp chất AC17



PL17.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản 2 của hợp chất AC17

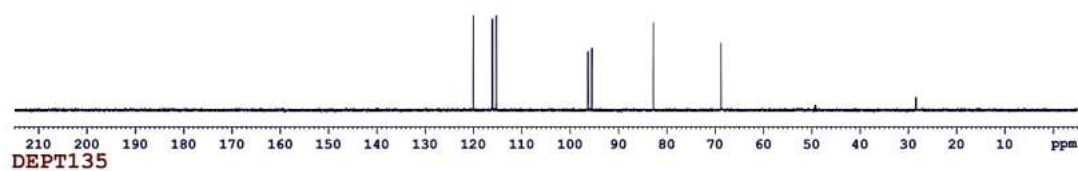
- Phổ ^{13}C -NMR



PL17.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC17

- Phổ DEPT

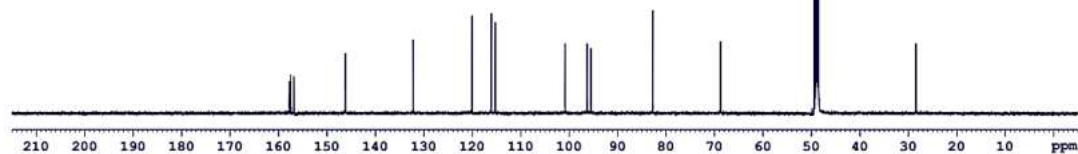
DEPT90



CH&CH3

CH2

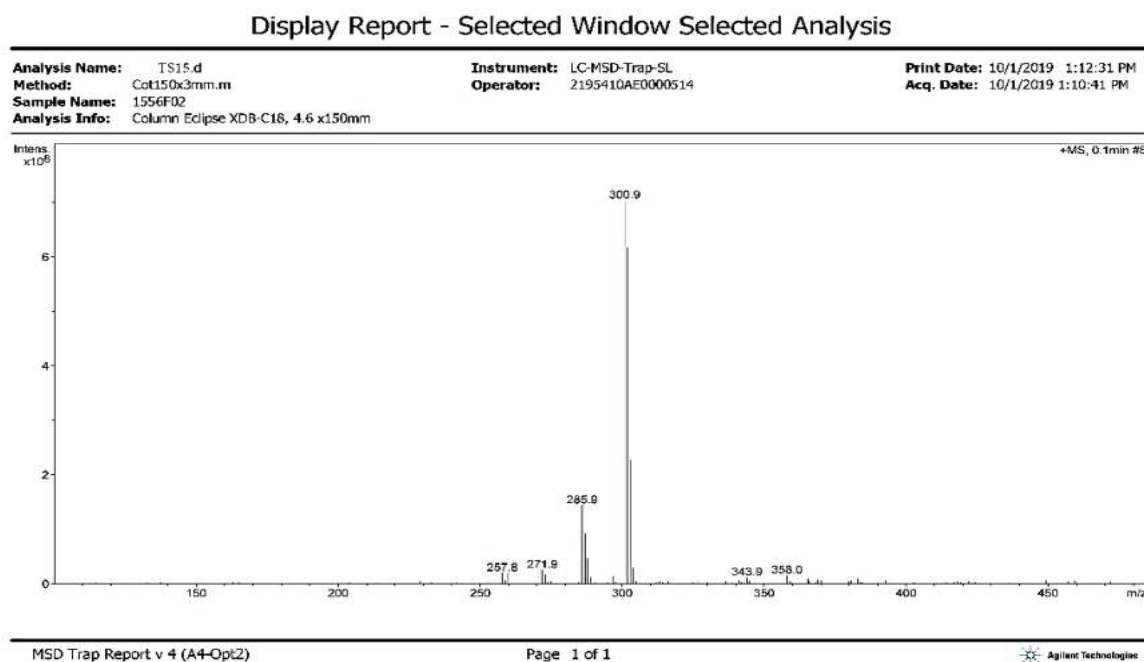
C13CPD



PL17.6. Phổ DEPT của hợp chất AC17

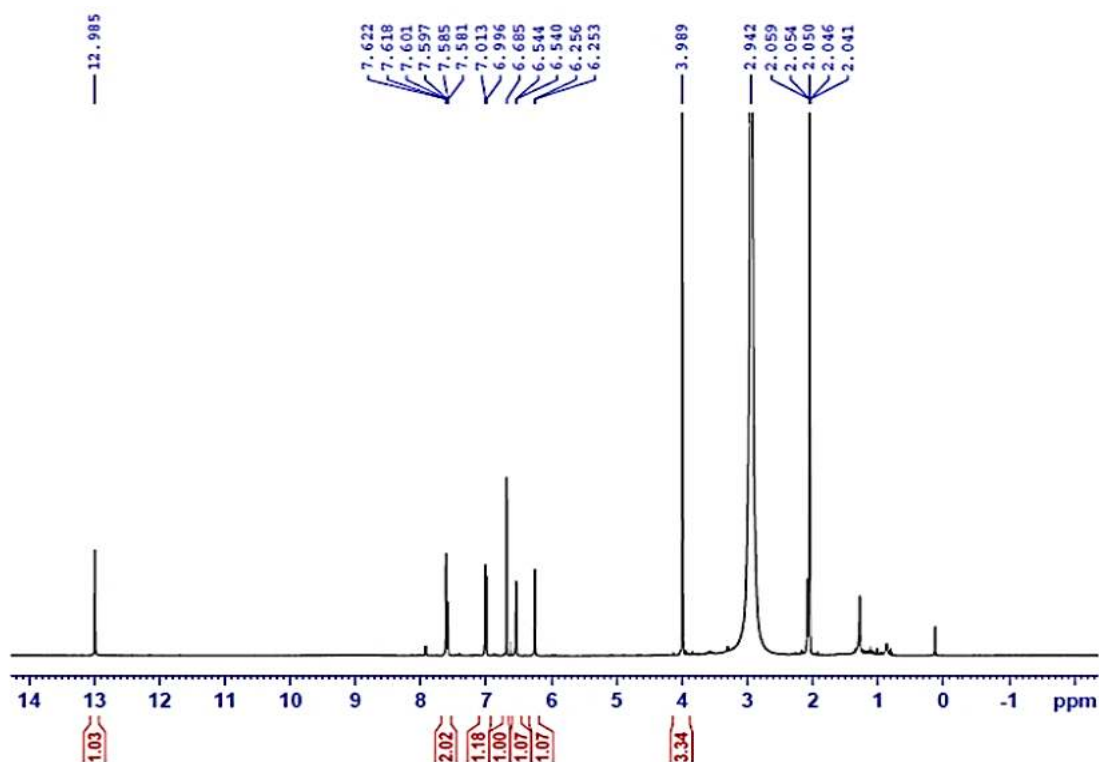
Phụ lục 18: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất AC18: (3'-methoxyluteolin, chrysoeriol)

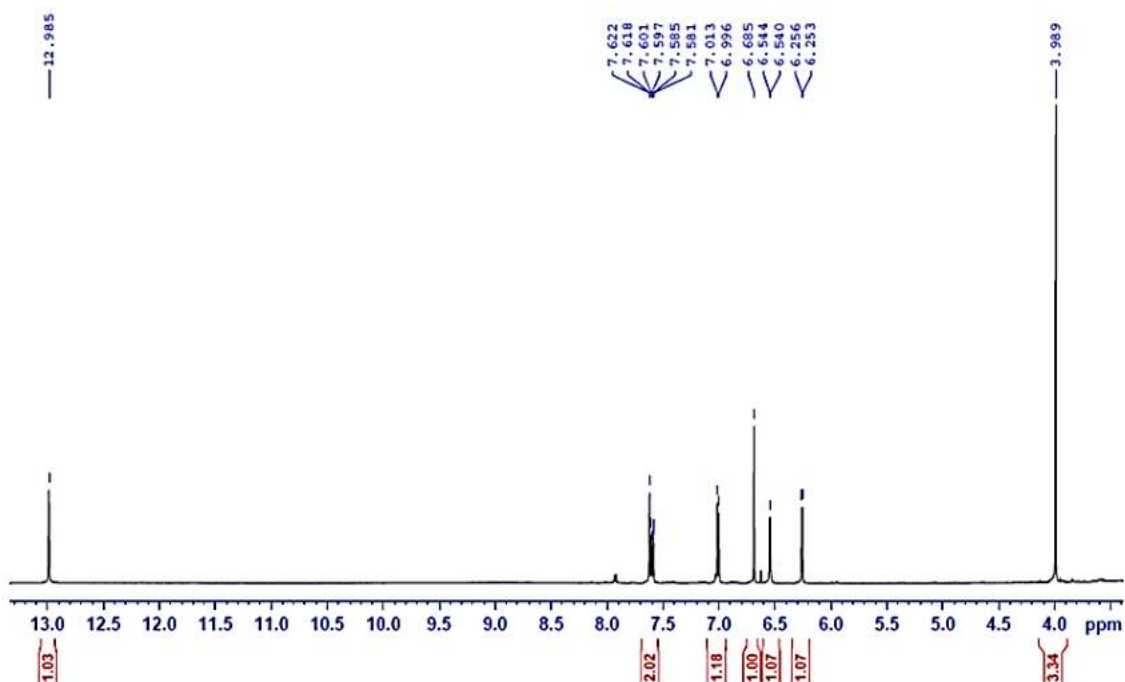
• **Phổ khối**



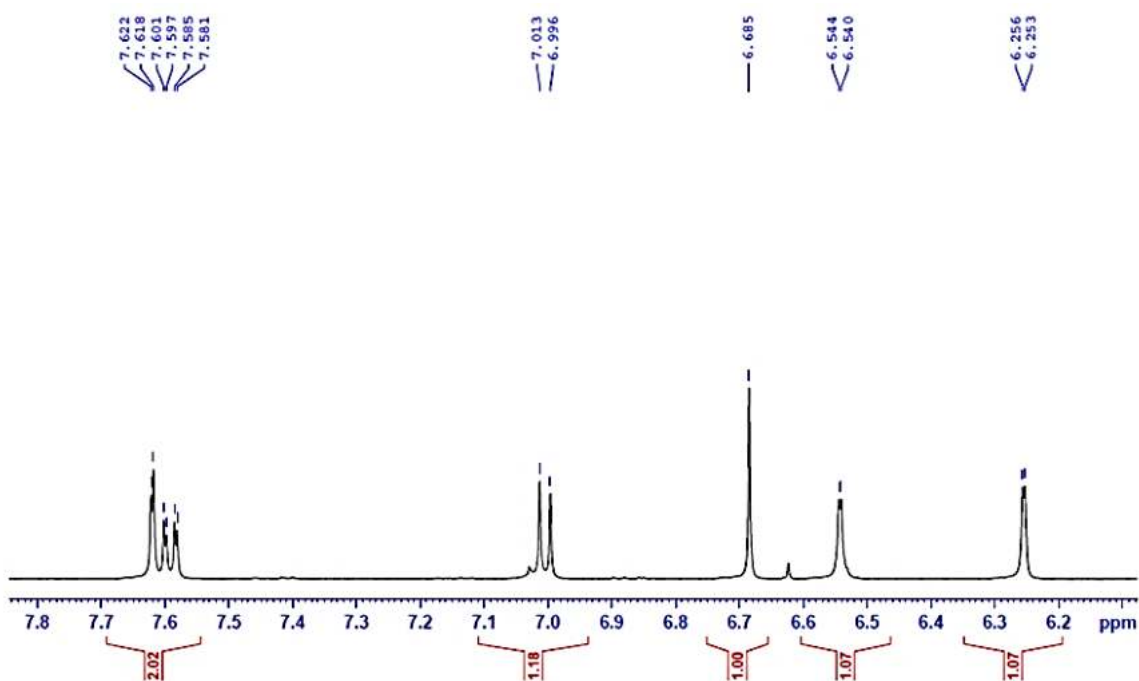
PL18.1. Phổ khối của hợp chất AC18

• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



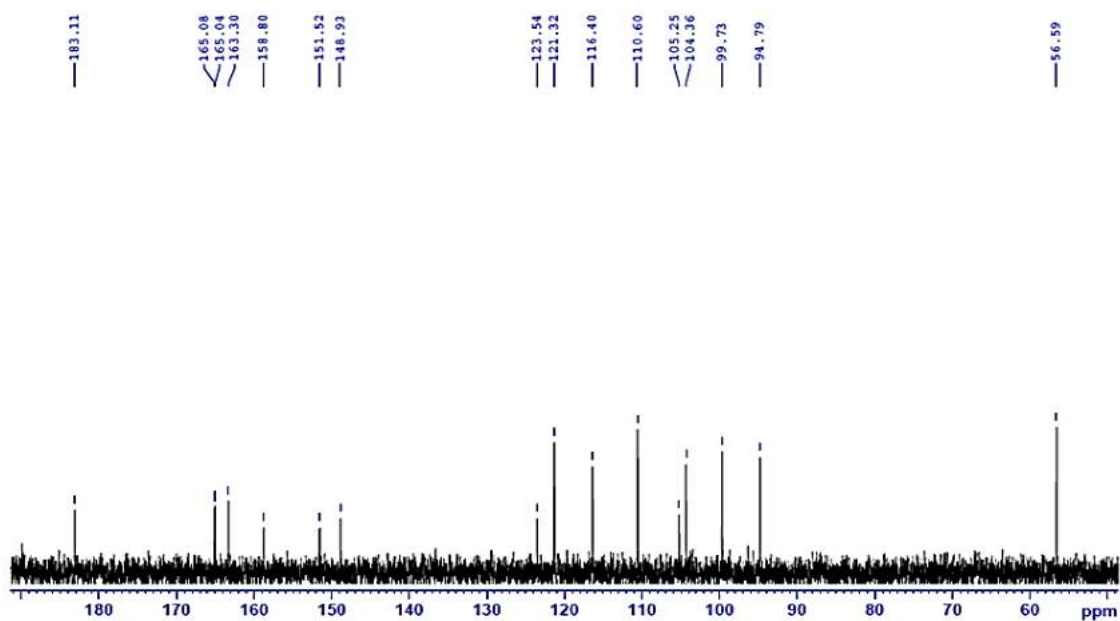


PL18.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất **AC18**



PL18.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất **AC18**

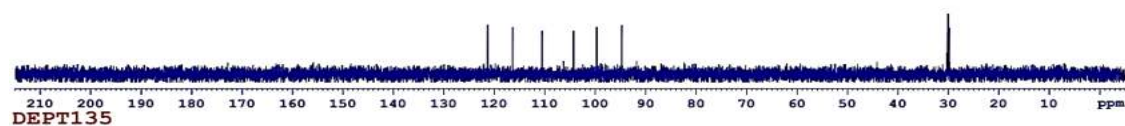
- Phổ ^{13}C -NMR



PL18.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AC18

- Phổ DEPT

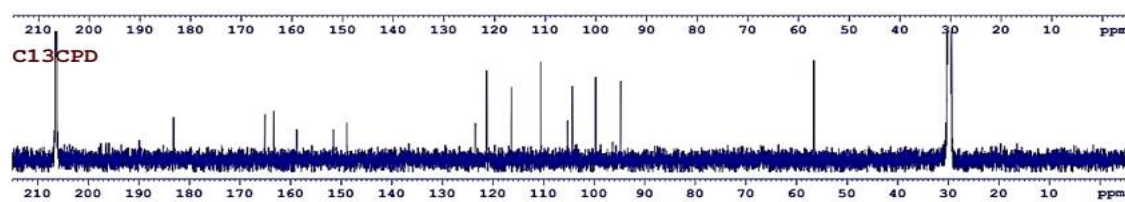
DEPT90



DEPT135

CH&CH3

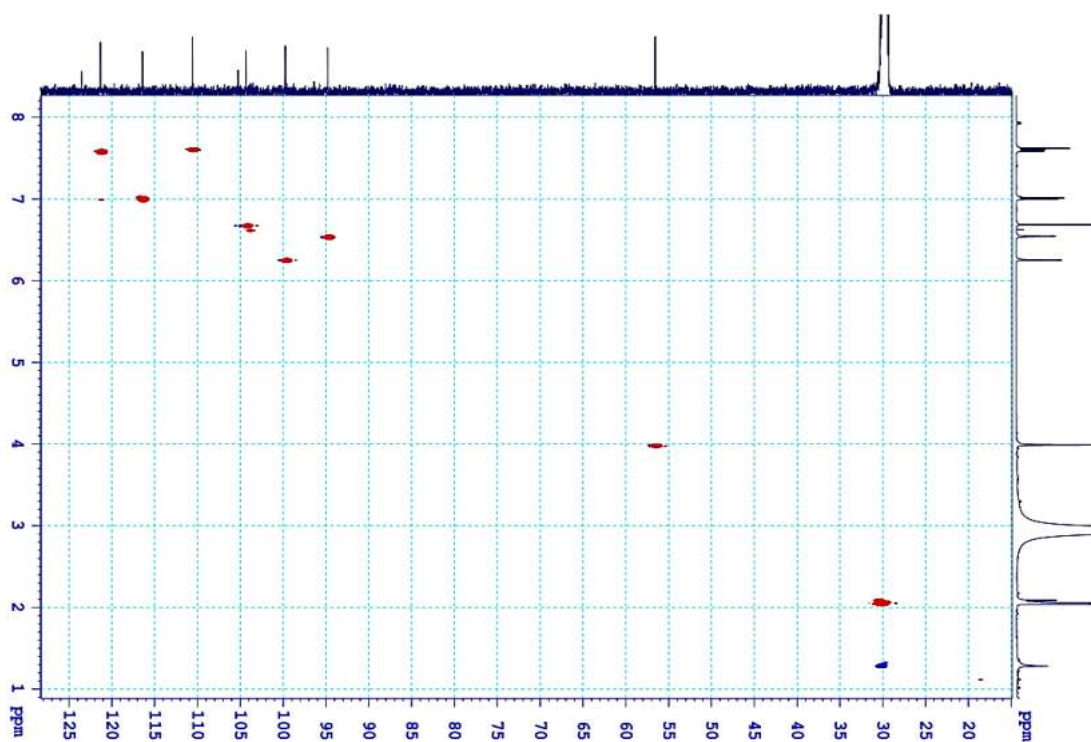
CH2



C13CPD

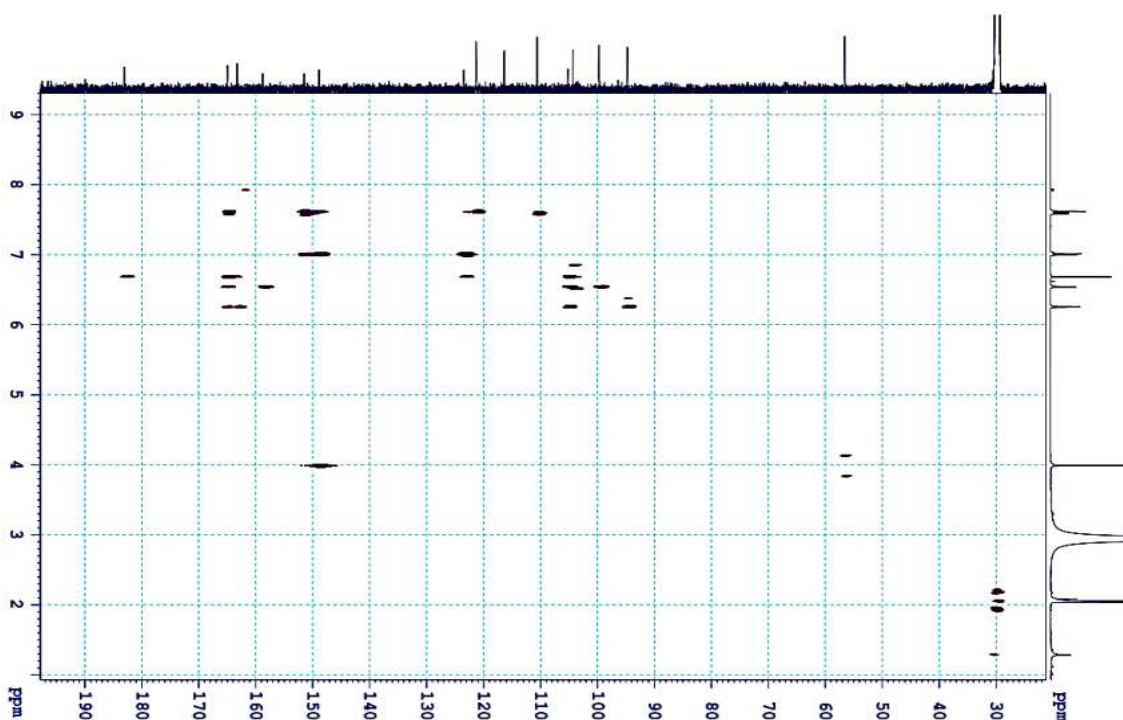
PL18.6. Phổ DEPT của hợp chất AC18

- Phổ HSQC

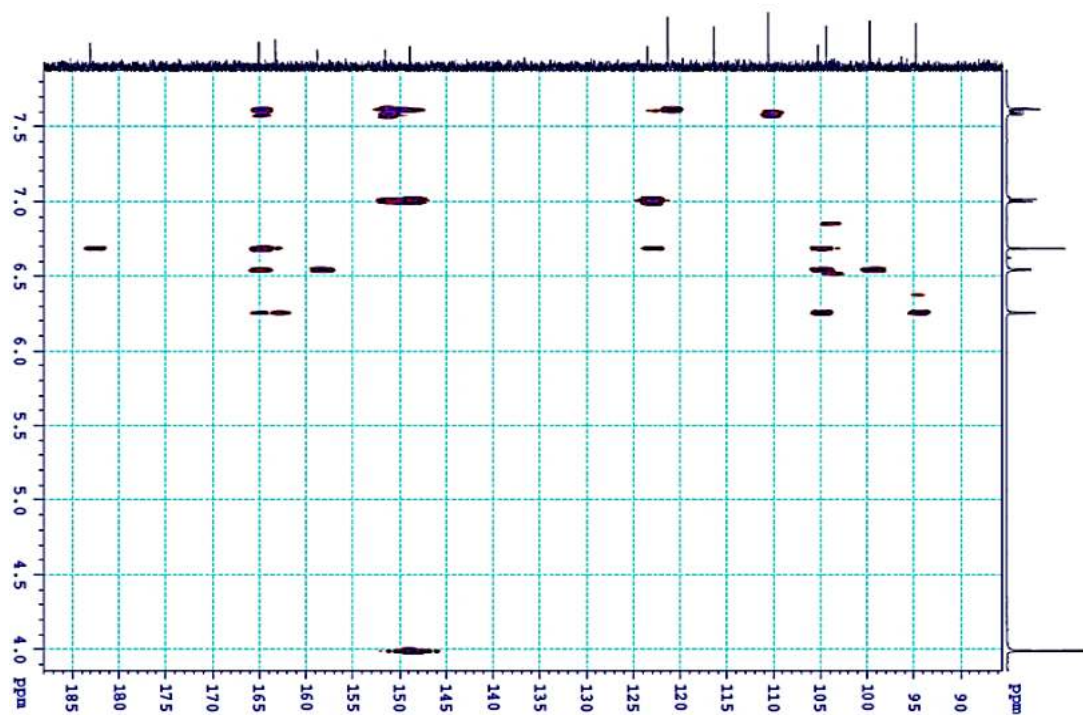


PL18.7. Phổ HSQC của hợp chất AC18

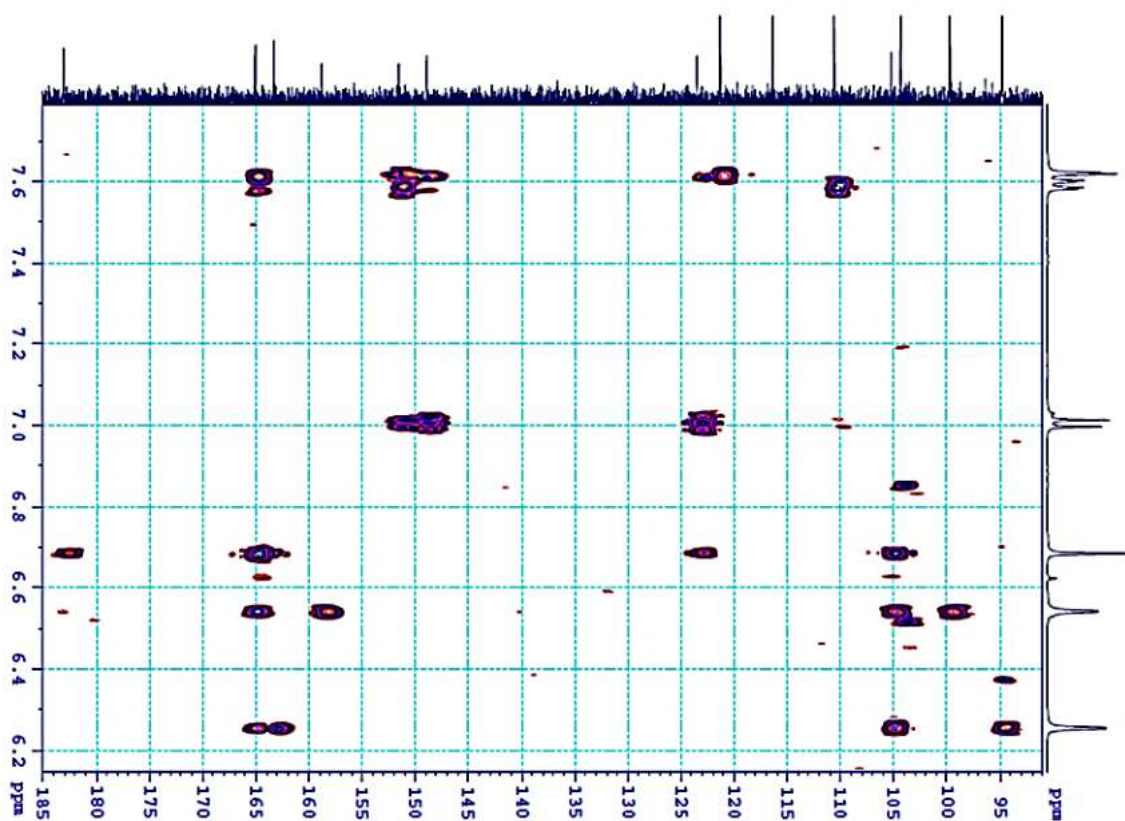
- Phổ HMBC



PL18.8. Phổ HMBC của hợp chất AC18



PL18.9. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất AC18



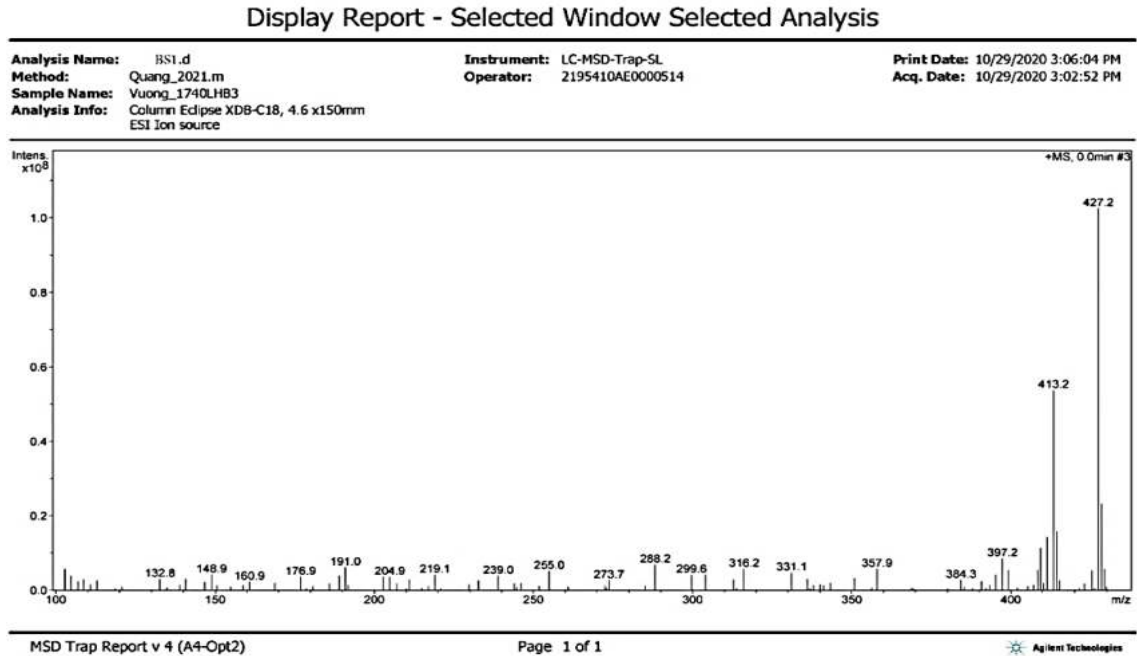
PL18.10. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất AC18

Phụ lục 19: Phổ của hợp chất AC19 giống như hợp chất AC3

Phụ lục 20: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất

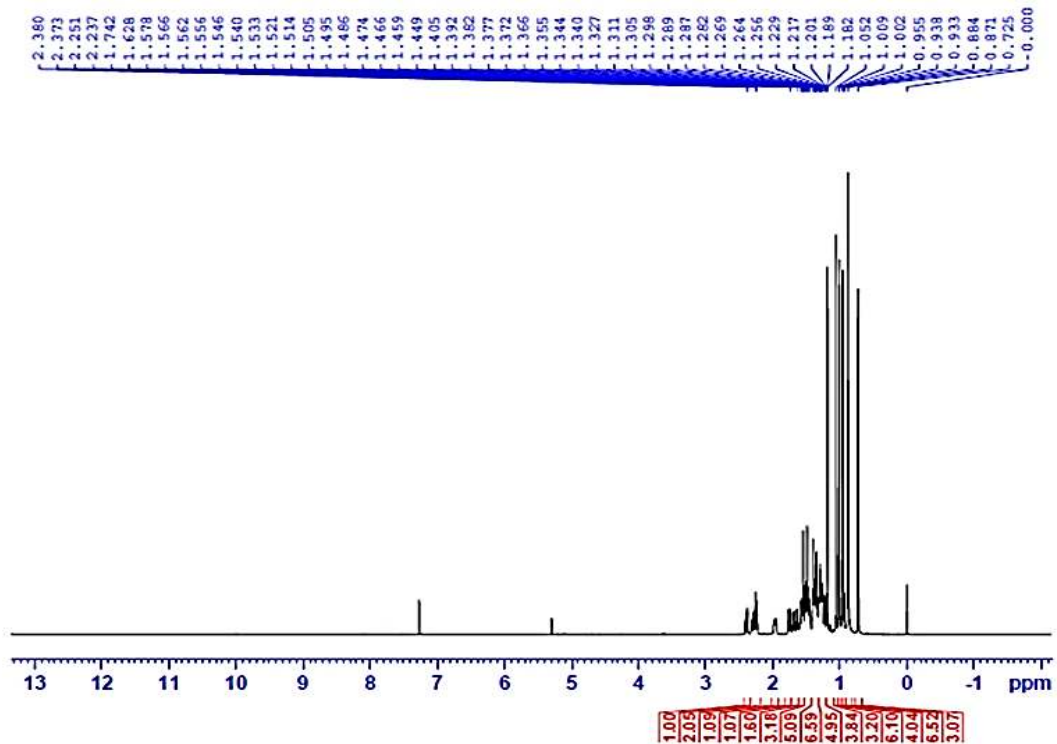
BS1: friedelin

- Phổ khối



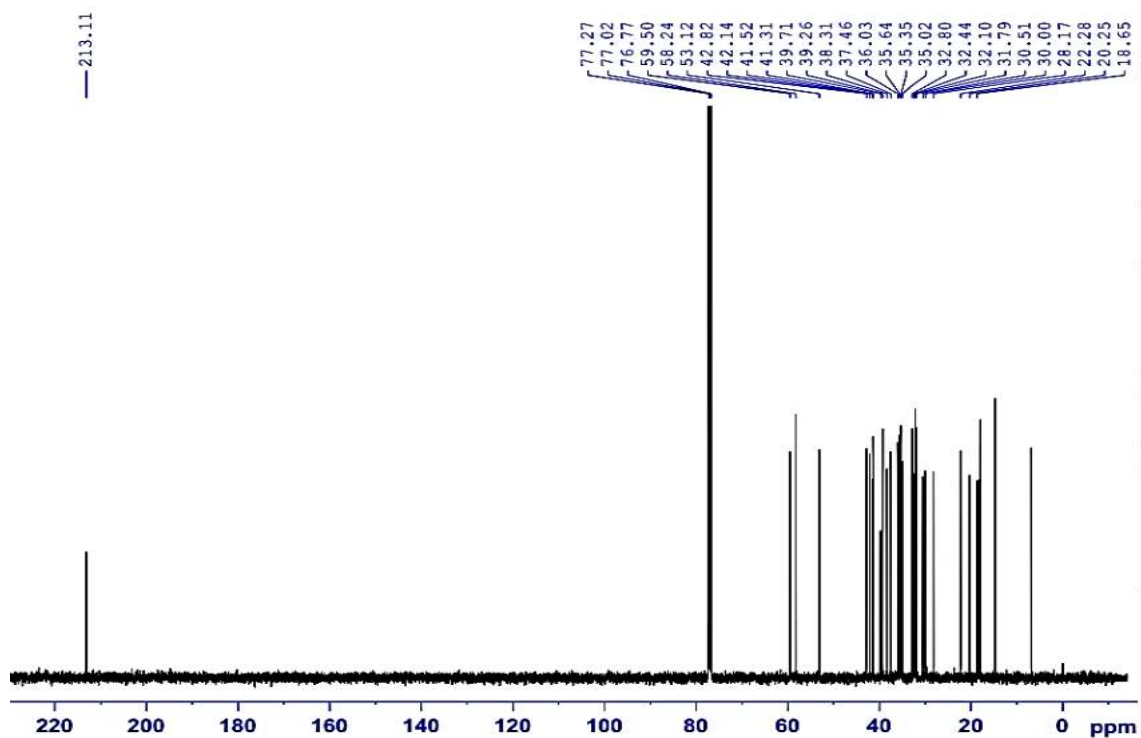
PL20.1. Phổ khối của hợp chất BS1

- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL20.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất BS1

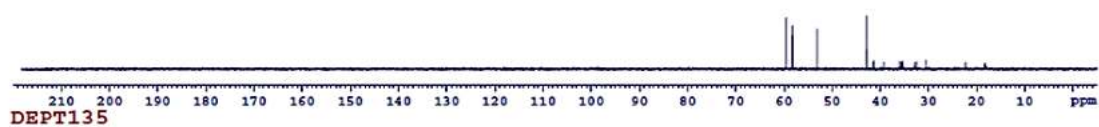
- Phổ ^{13}C -NMR



PL20.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **BS1**

- Phổ DEPT

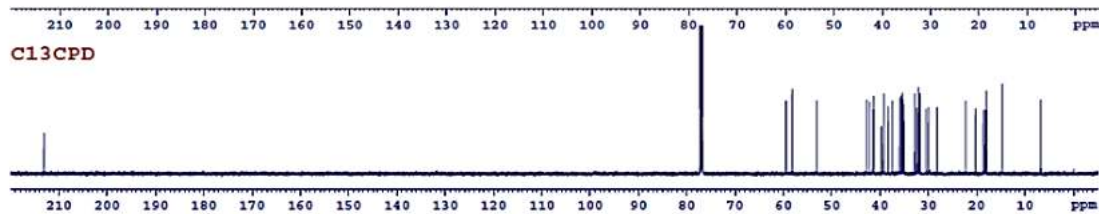
DEPT90



DEPT135

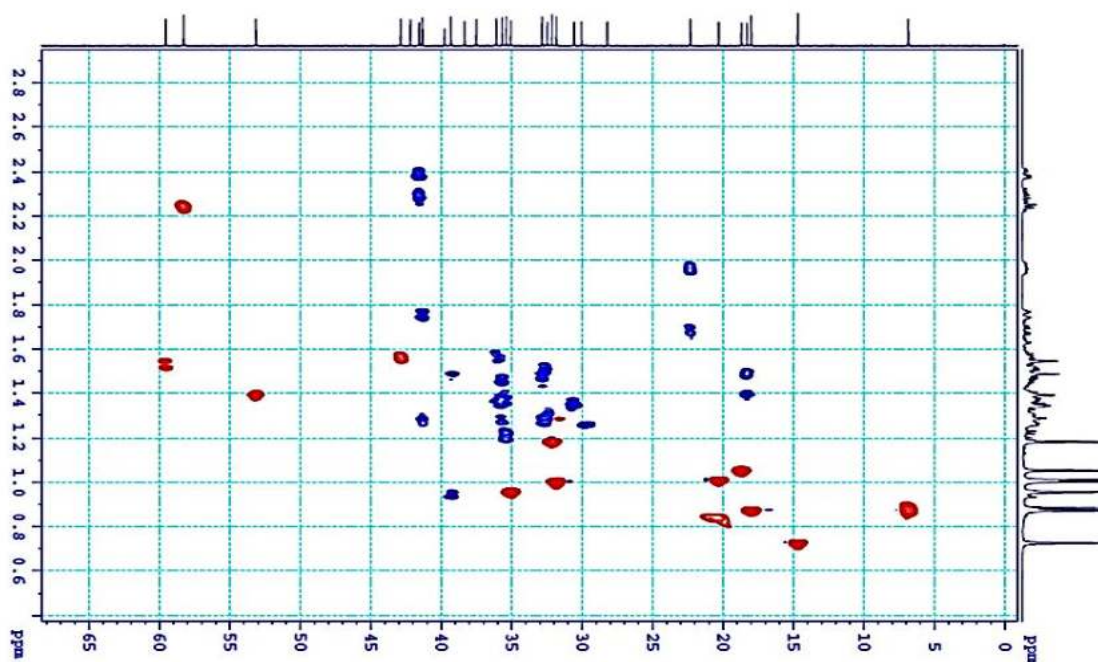
CH&CH3

CH2



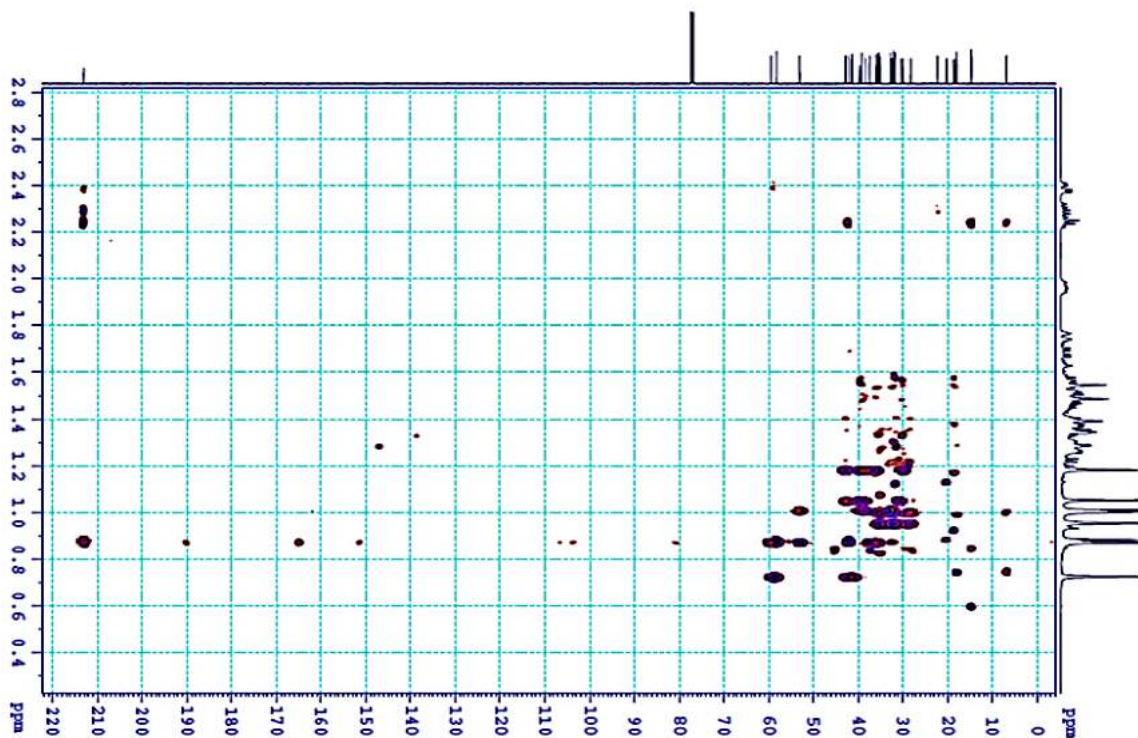
PL20.4. Phổ DEPT của hợp chất **BS1**

- Phổ HSQC

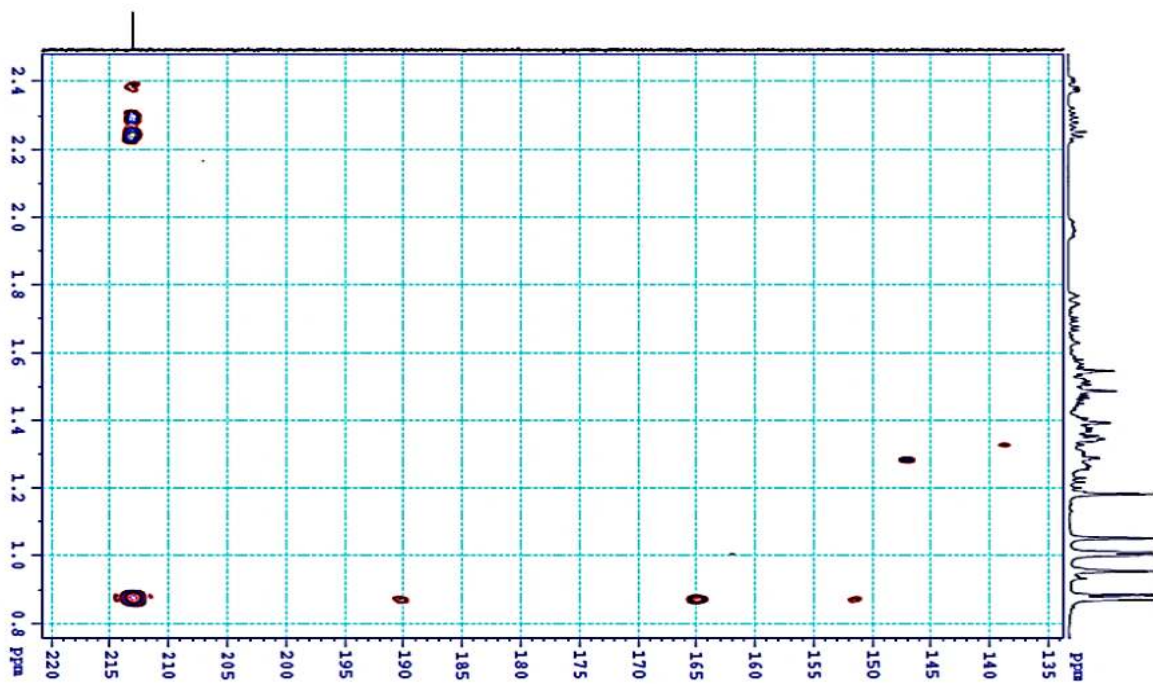


PL20.5. Phổ HSQC của hợp chất **BS1**

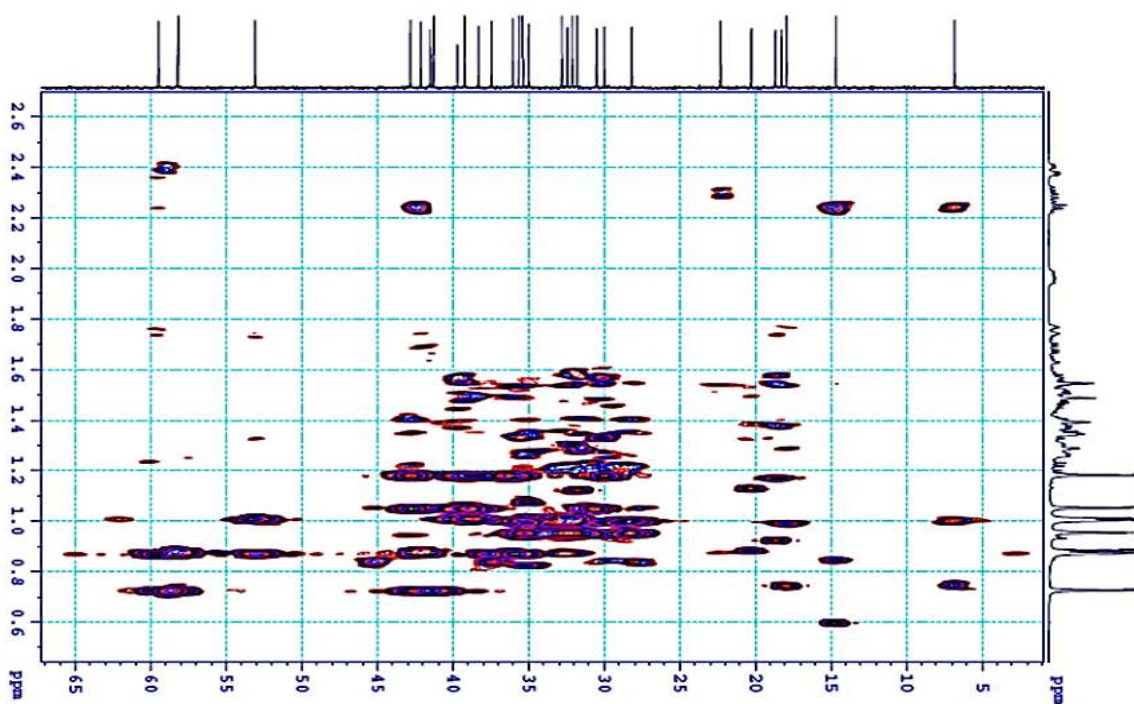
- Phổ HMBC



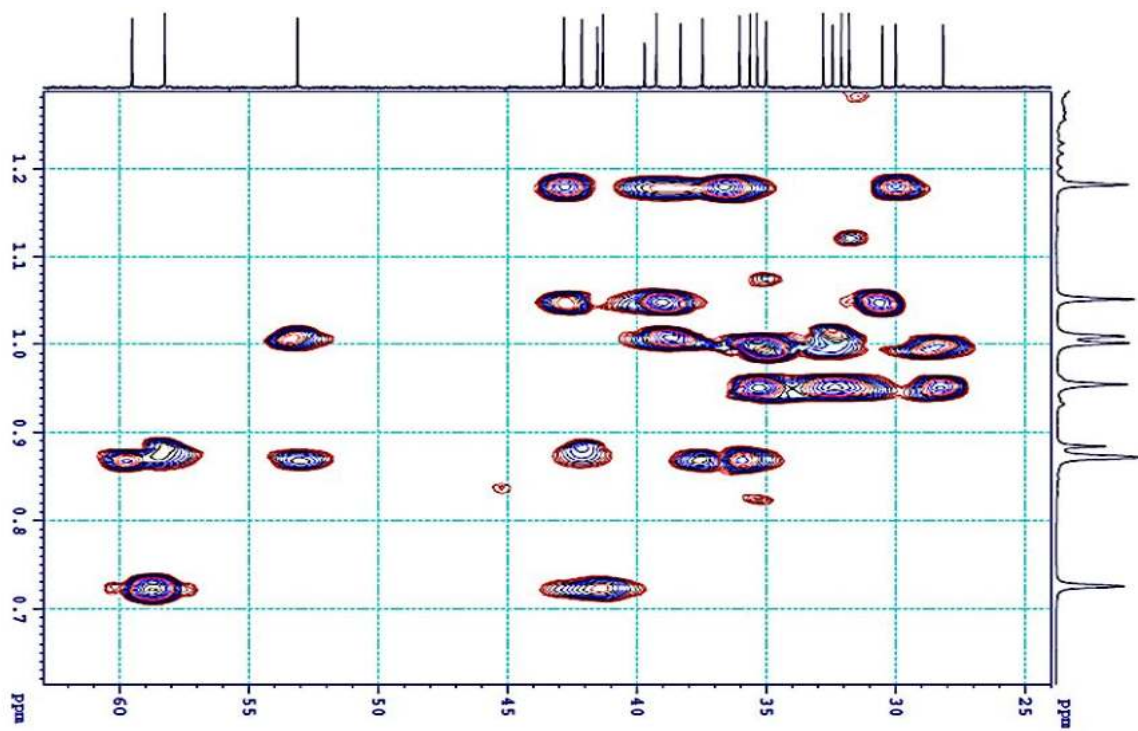
PL20.6. Phổ HMBC của hợp chất **BS1**



PL20.7. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất **BS1**



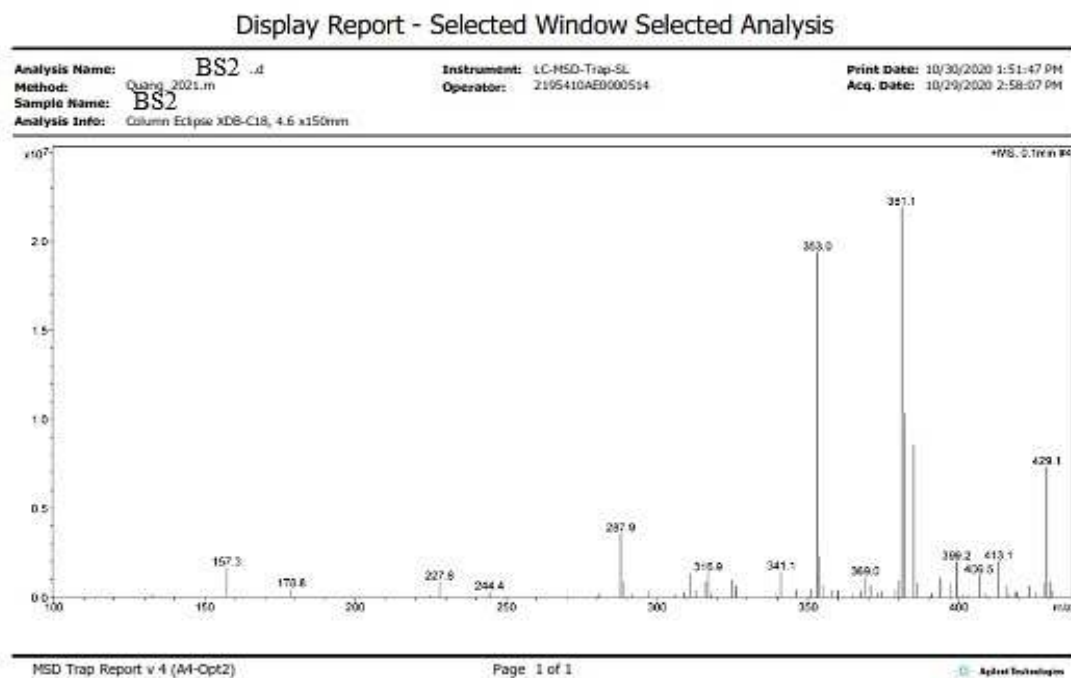
PL20.8. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất **BS1**



PL20.9. Phổ HMBC giãn 3 của hợp chất **BS1**

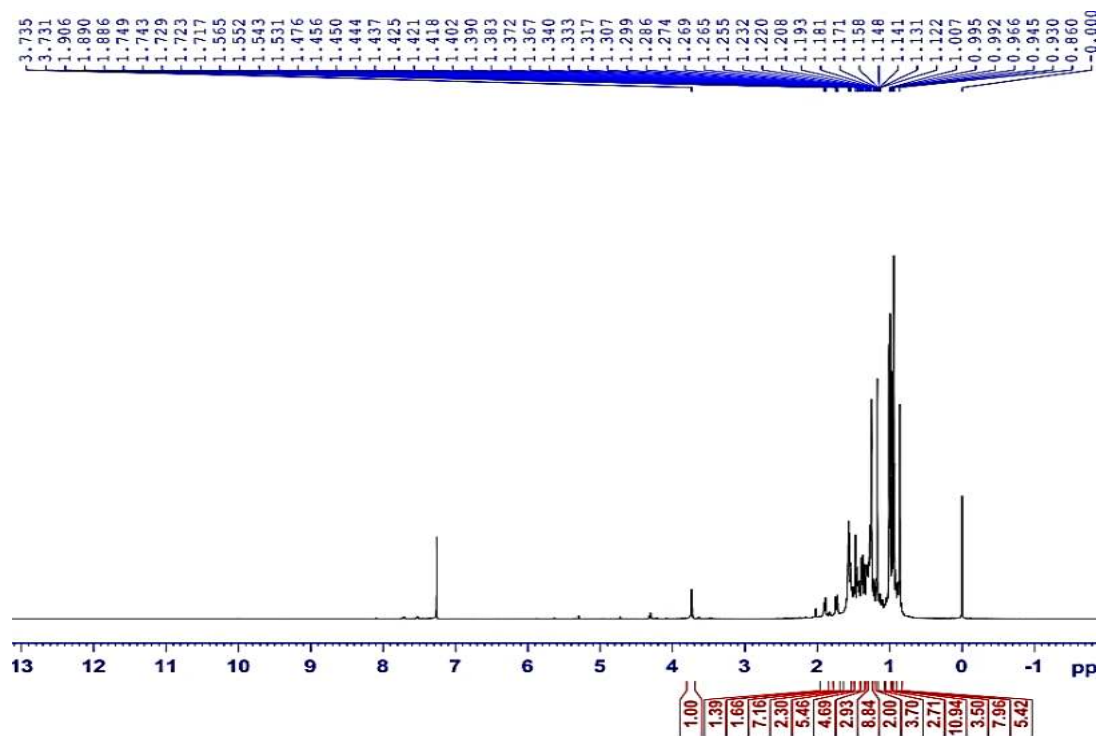
**Phụ lục 21: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất BS2:
3\beta-friedelanol**

• **Phổ khối**



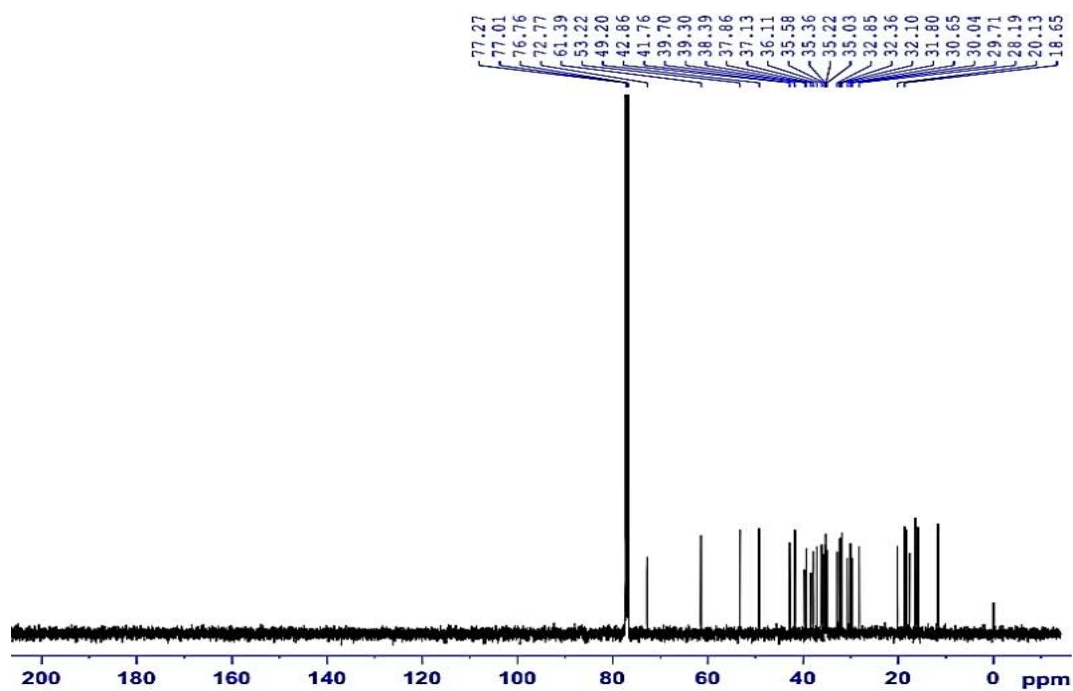
PL21.1. Phổ khối của hợp chất **BS2**

• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL21.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **BS2**

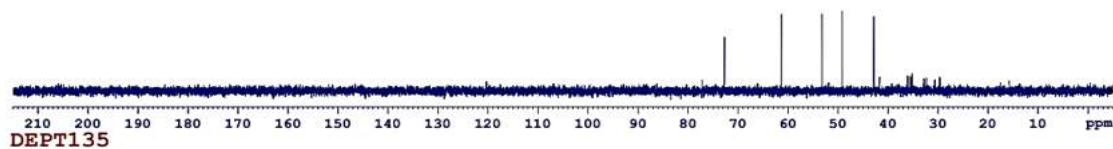
- Phổ ^{13}C -NMR



PL21.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất BS2

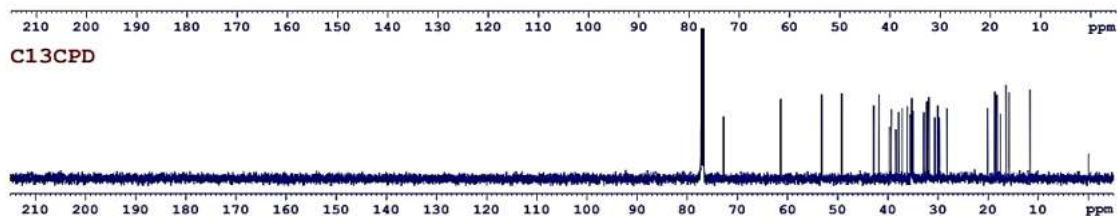
- Phổ DEPT

DEPT90



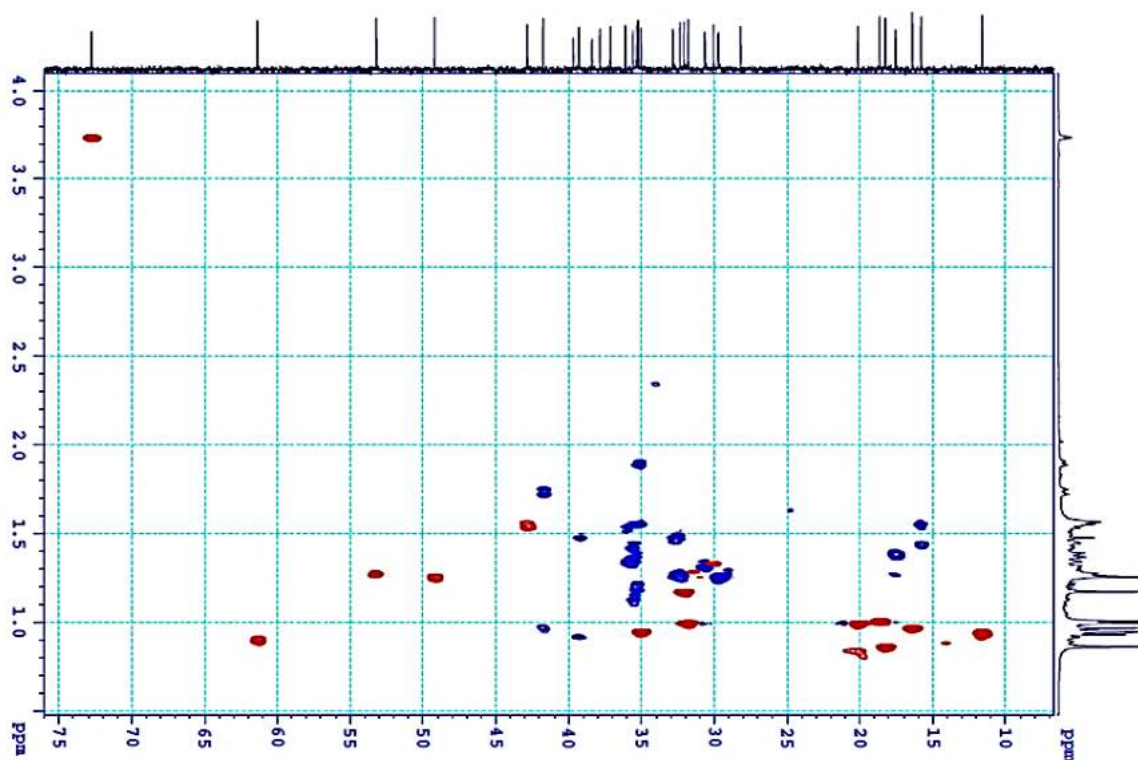
CH&CH3

CH2



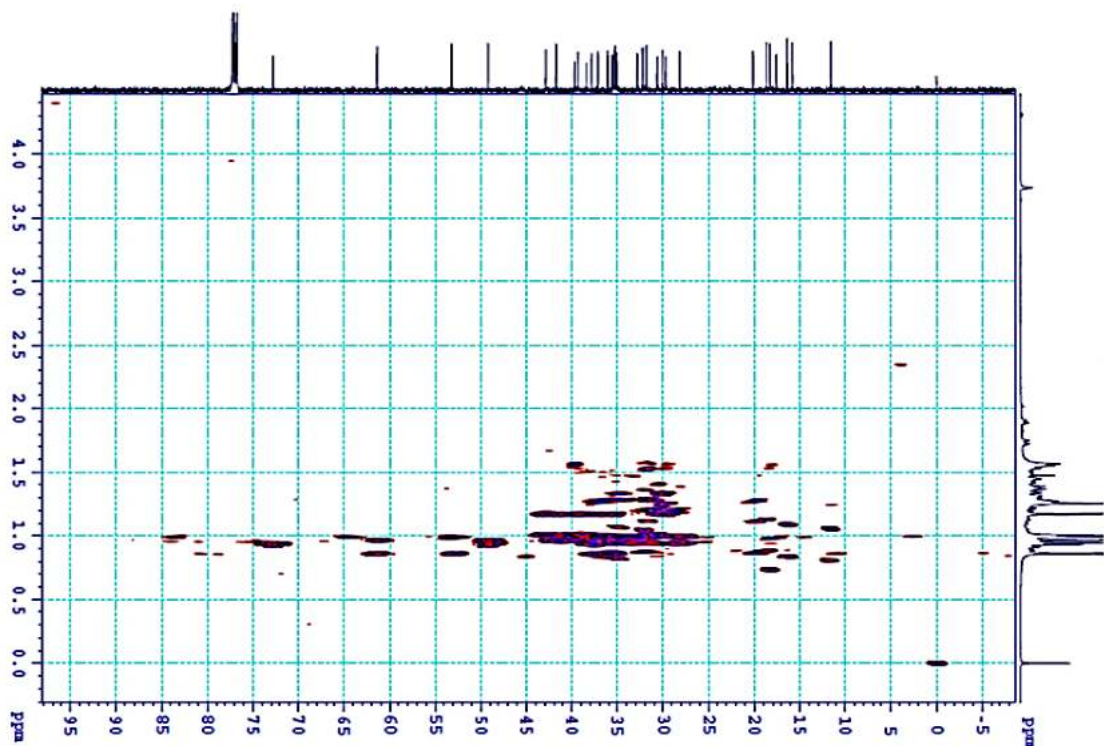
PL21.4. Phổ DEPT của hợp chất BS2

- Phổ HSQC

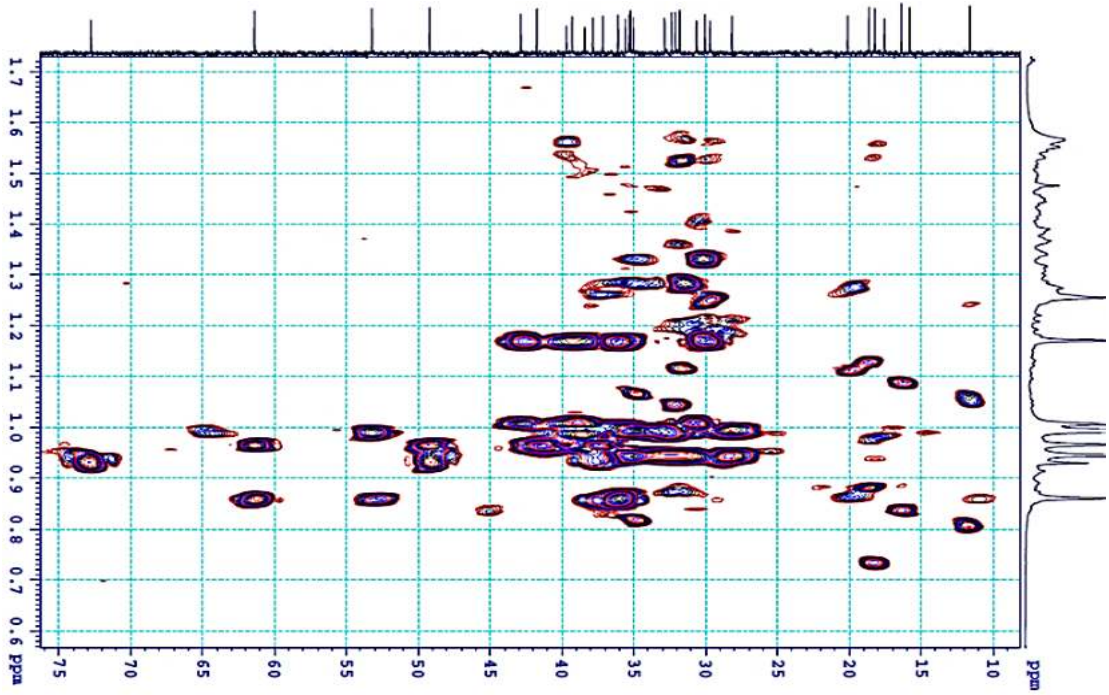


PL21.5. Phổ HSQC của hợp chất **BS2**

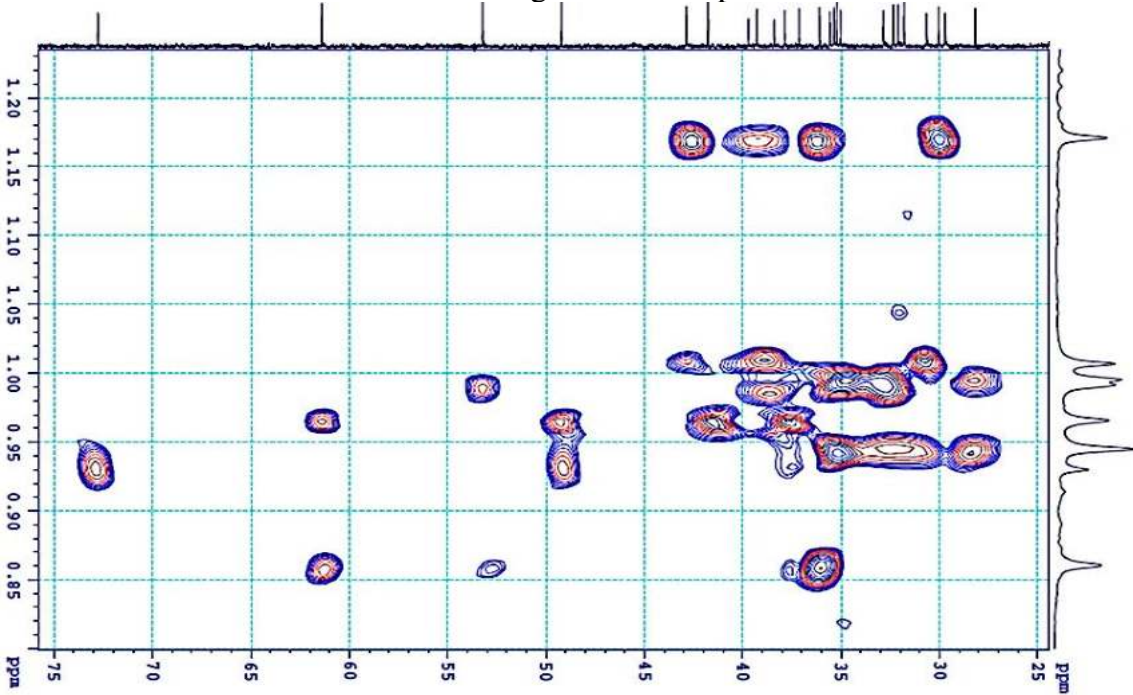
- Phổ HMBC



PL21.6. Phổ HMBC của hợp chất **BS2**



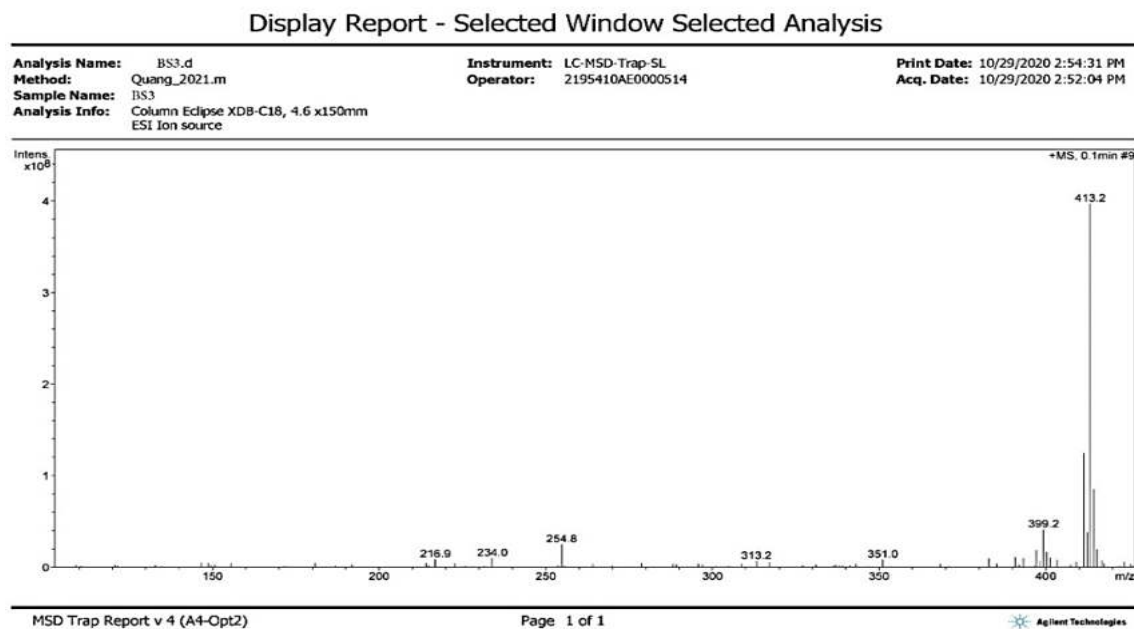
PL21.7. Phổ HMBC giản 1 của hợp chất **BS2**



PL21.8. Phổ HMBC giản 2 của hợp chất **BS2**

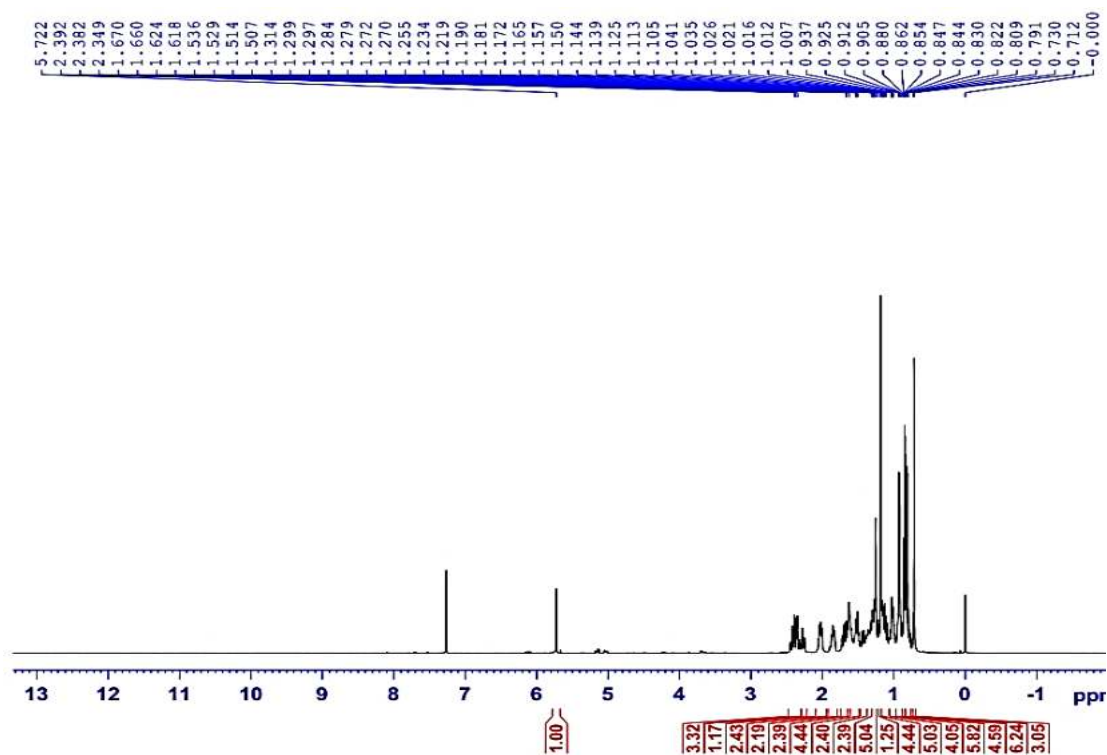
Phụ lục 22: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, HSQC, HMBC, MS của hợp chất BS3: stigmast-4-en-3-one

• **Phổ khối**



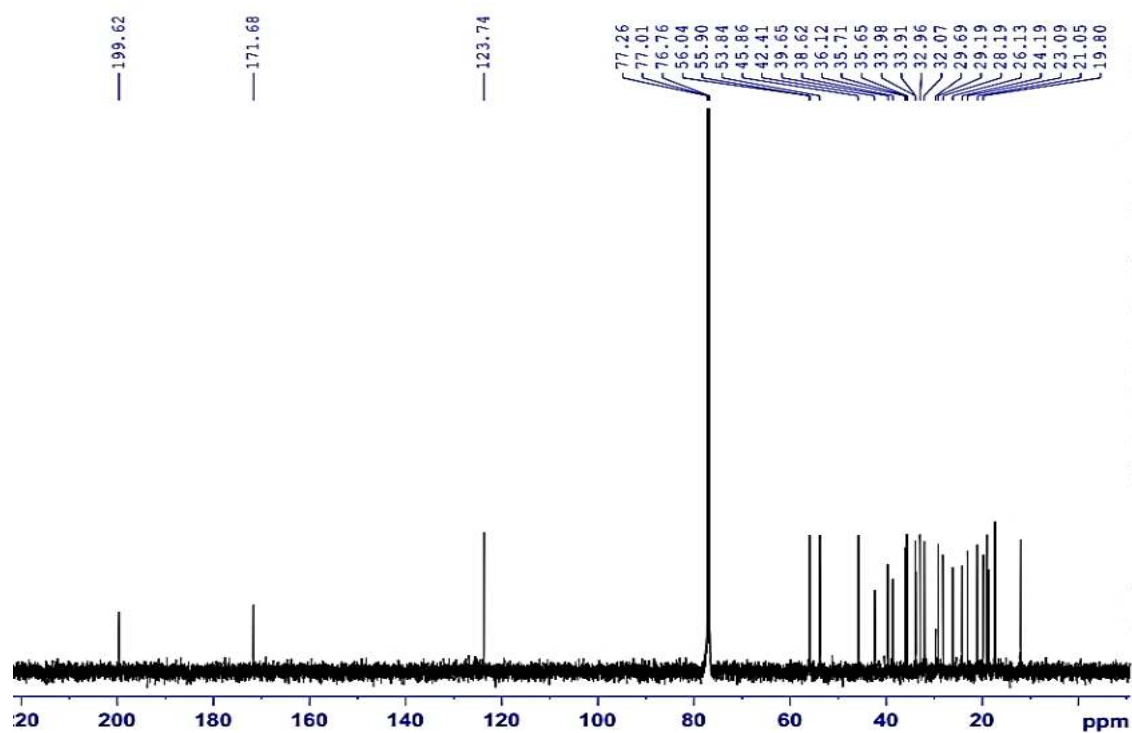
PL22.1. Phổ khối của hợp chất BS3

• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL22.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất BS3

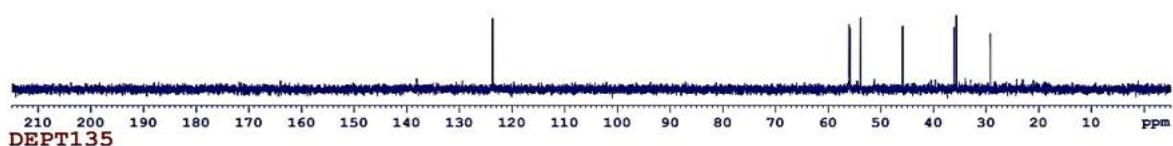
- Phổ ^{13}C -NMR



PL22.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất BS3

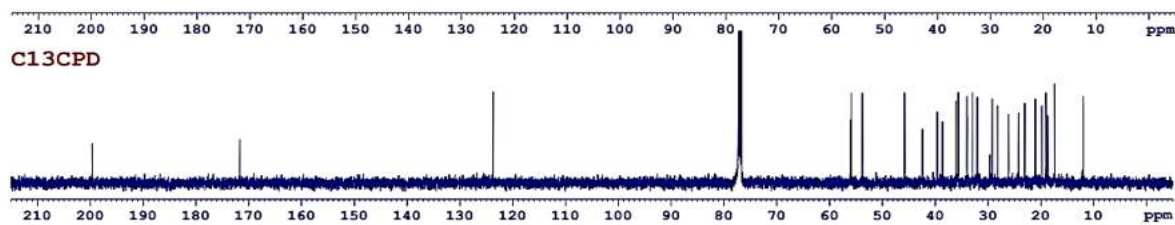
- Phổ DEPT

DEPT90



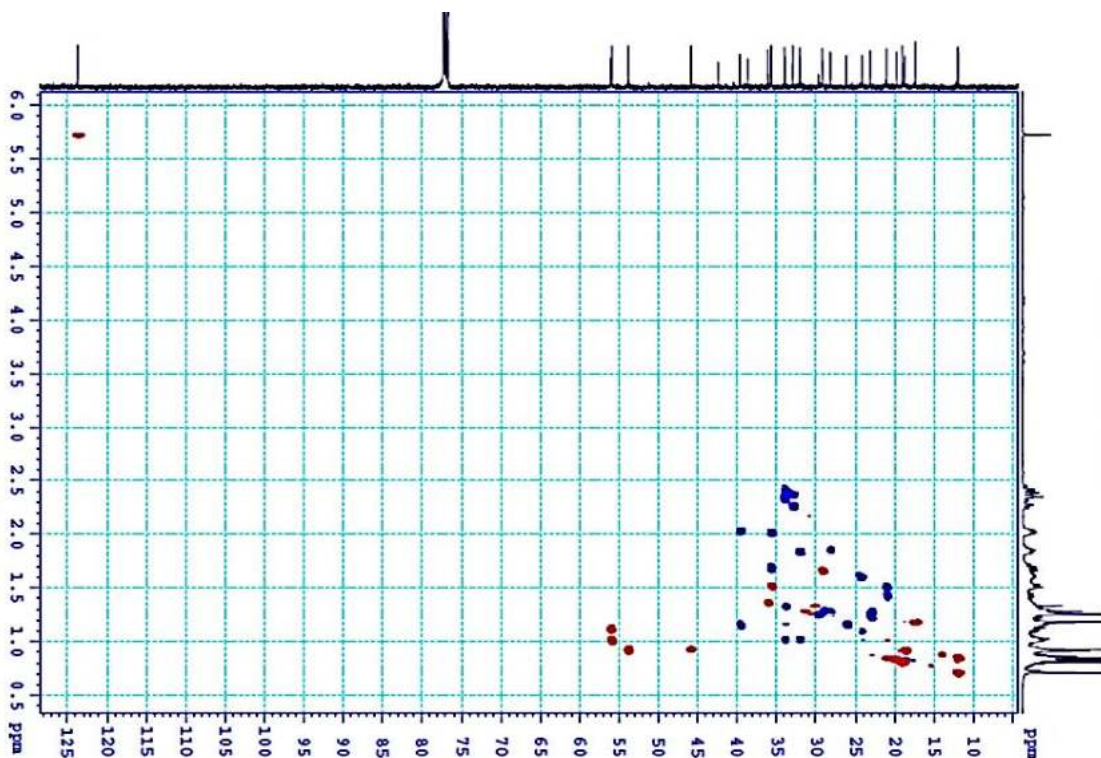
CH&CH3

CH2



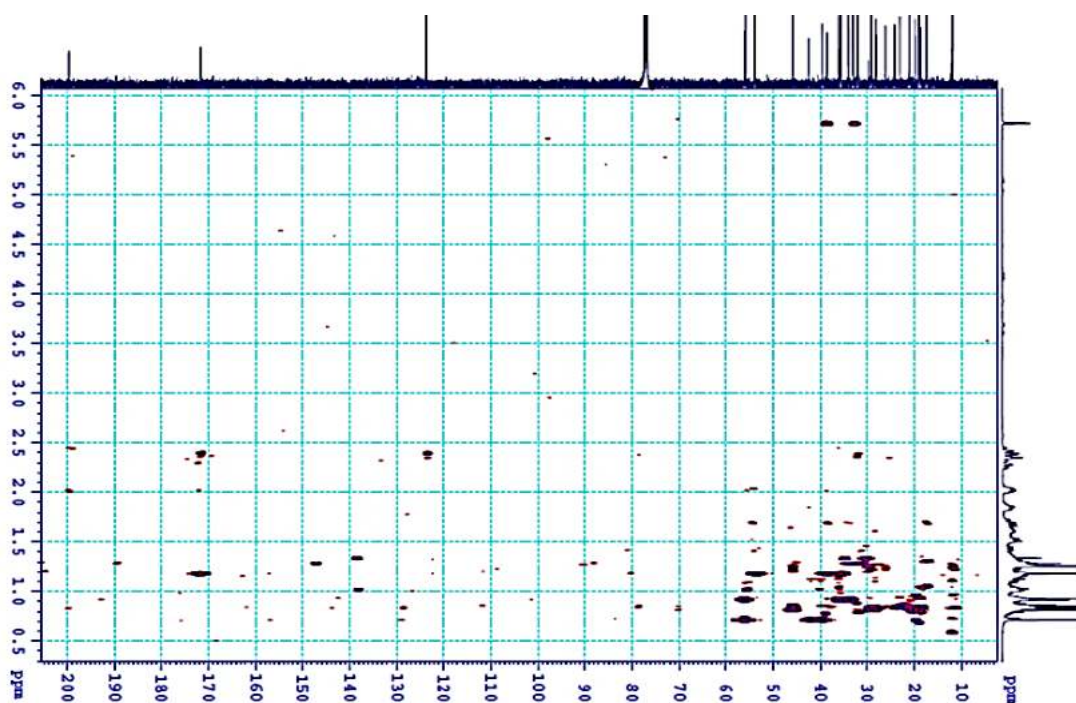
PL22.4. Phổ DEPT của hợp chất BS3

- Phổ HSQC

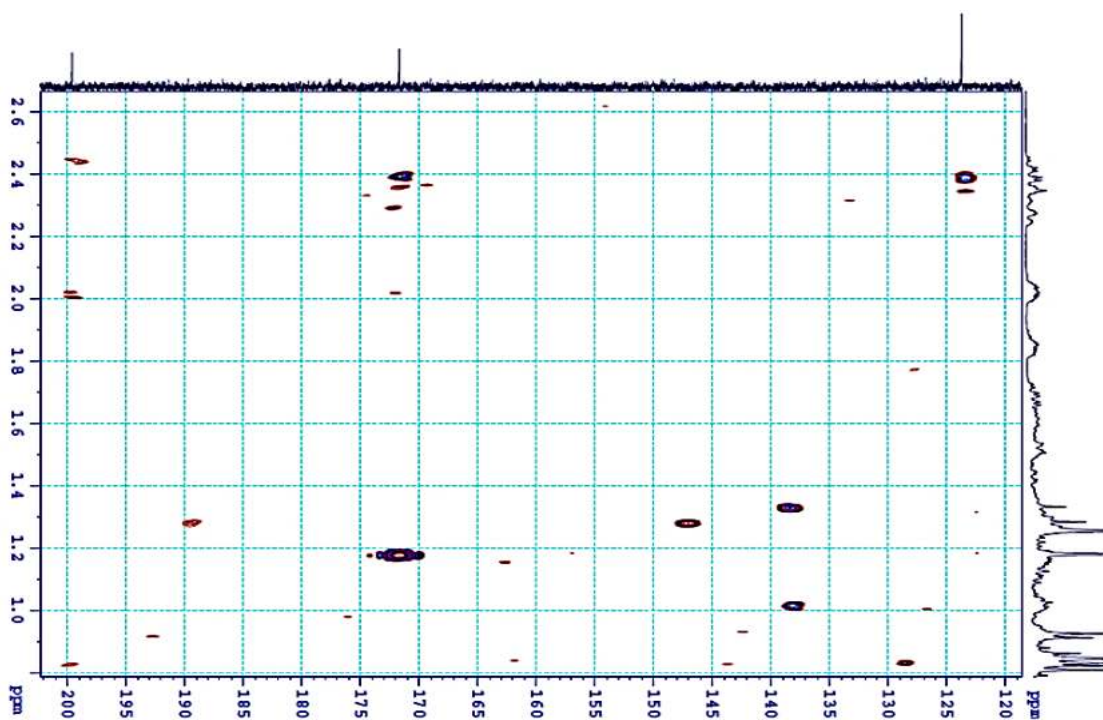


PL22.5. Phổ HSQC của hợp chất **BS3**

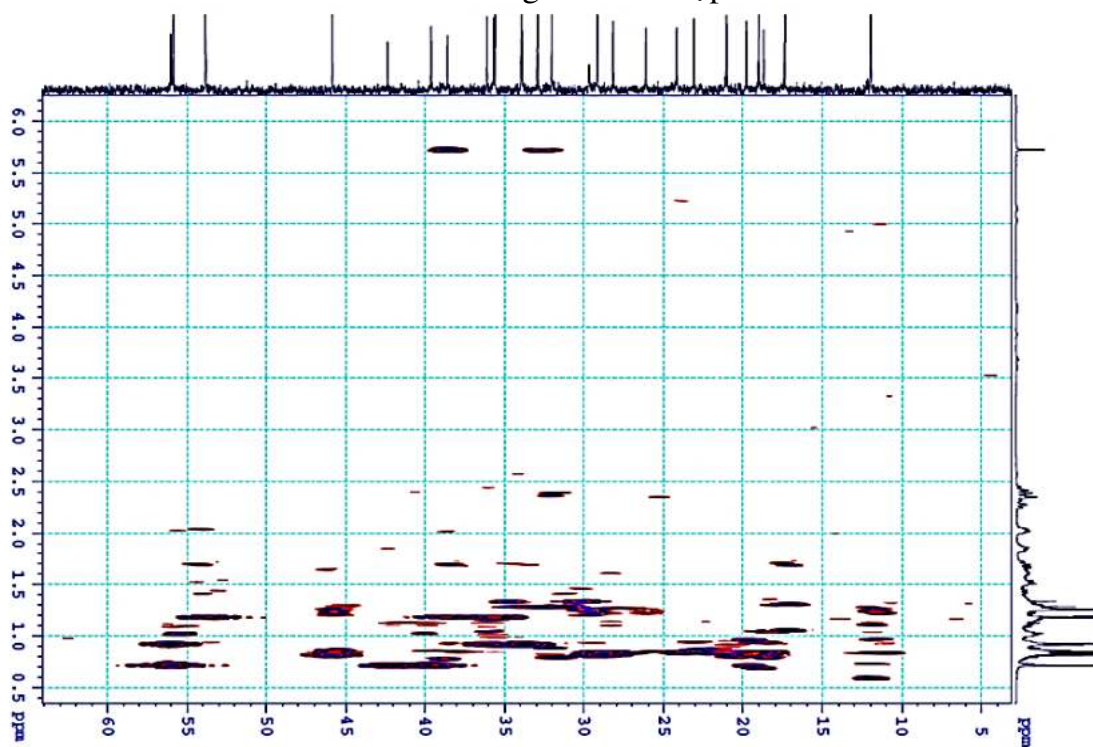
- Phổ HMBC



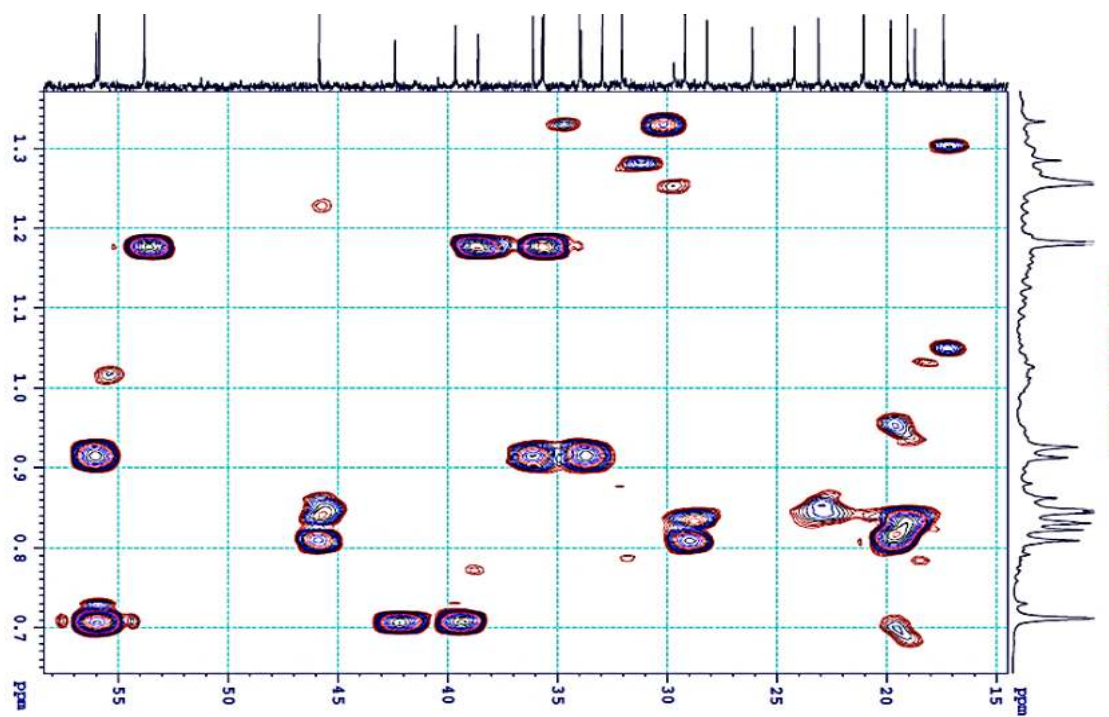
PL22.6. Phổ HMBC của hợp chất **BS3**



PL22.7. Phổ HMBC giãn 1 của hợp chất BS3



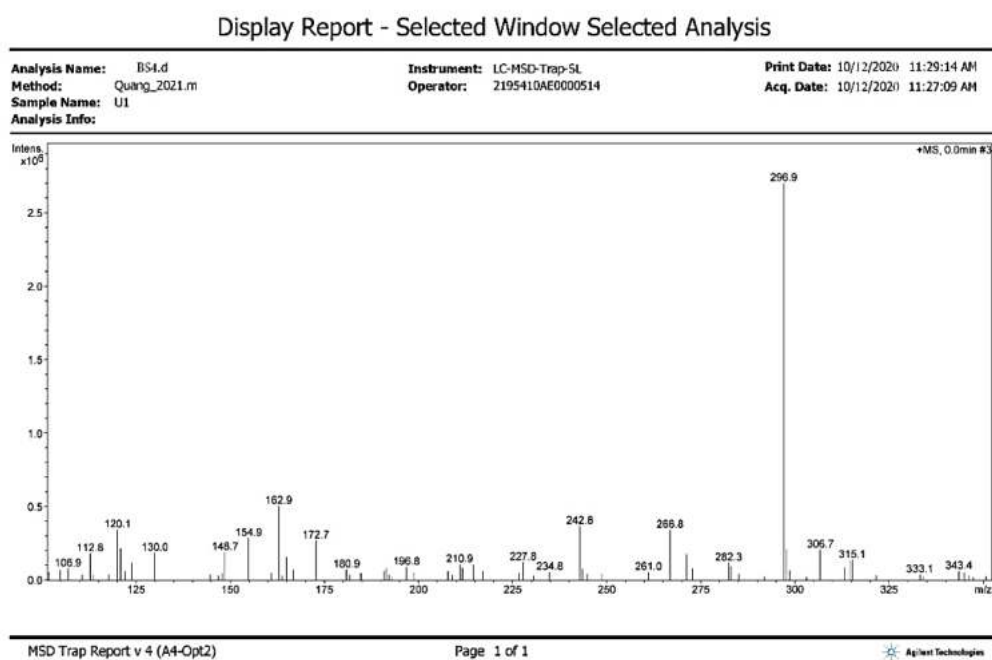
PL22.8. Phổ HMBC giãn 2 của hợp chất BS3



PL22.9. Phổ HMBC giữa 3 của hợp chất **BS3**

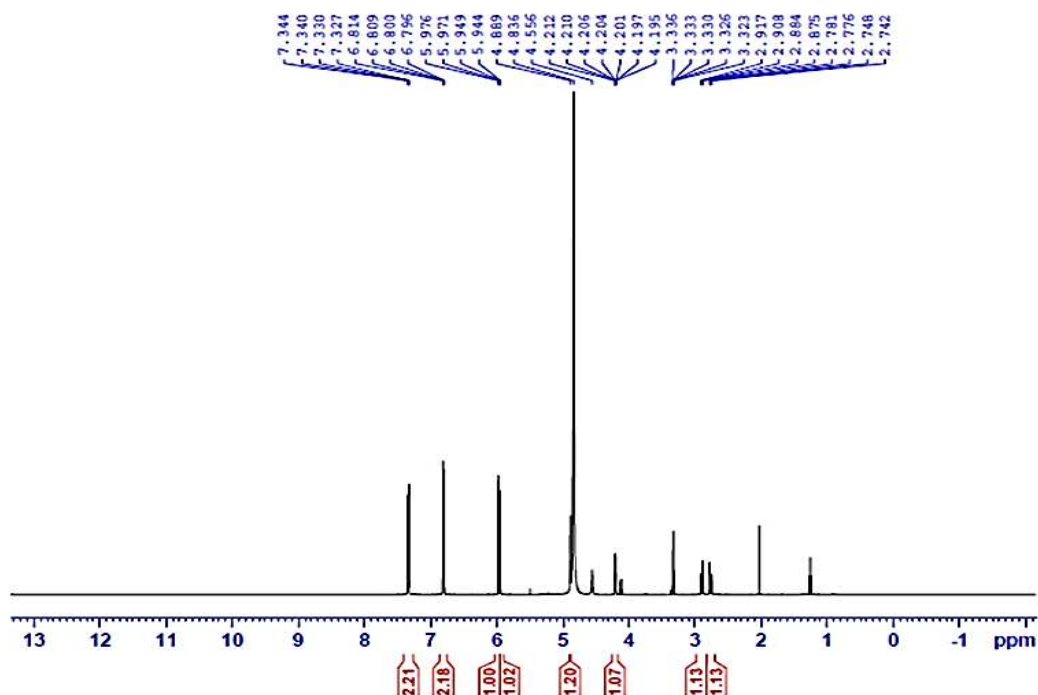
Phụ lục 23: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS của hợp chất BS4: (-)-epiafzelechin

- Phổ khối

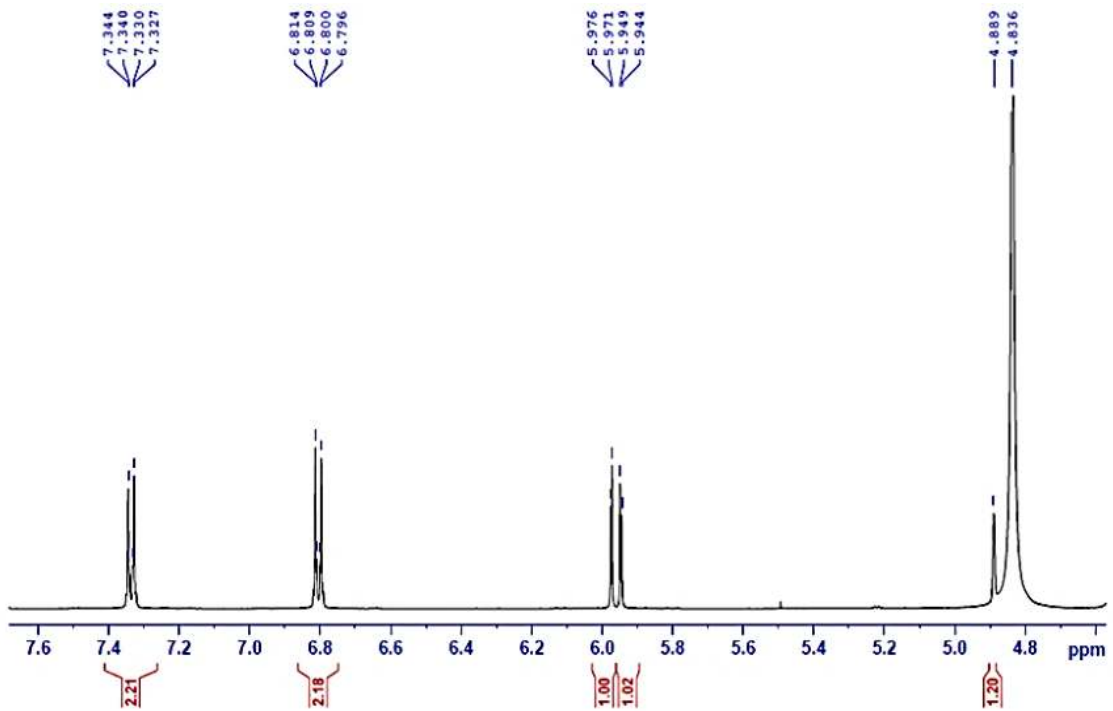


PL23.1. Phổ khối của hợp chất BS4

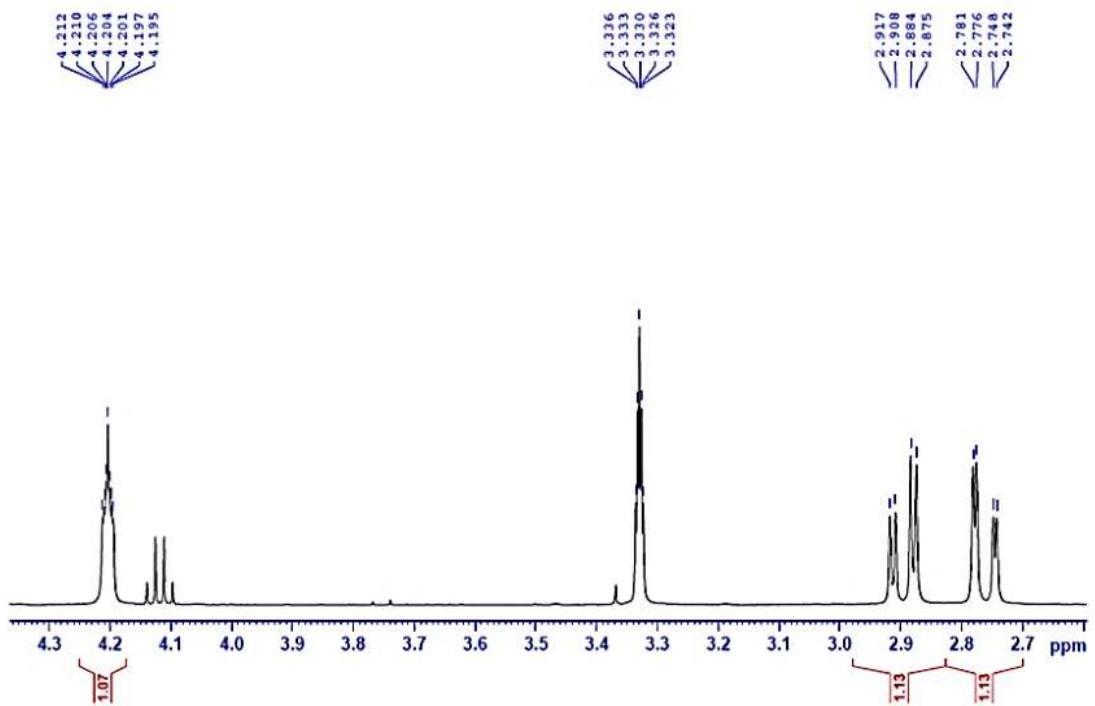
- Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL23.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất BS4

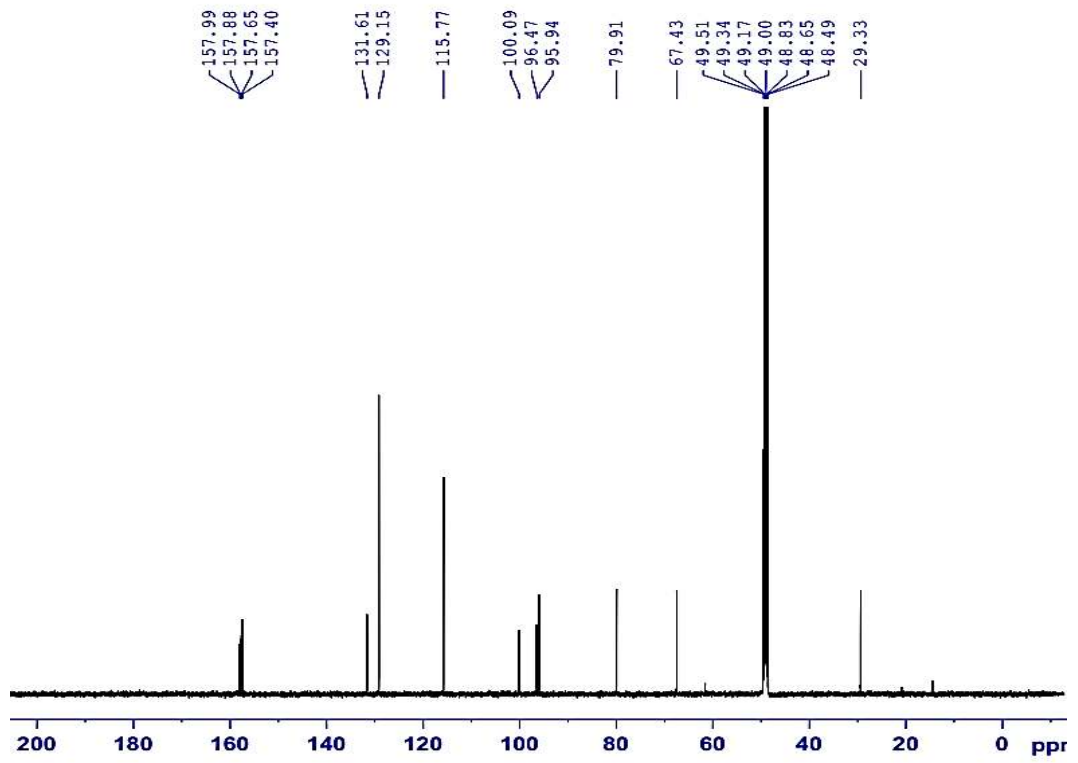


PL23.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất **BS4**



PL23.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất **BS4**

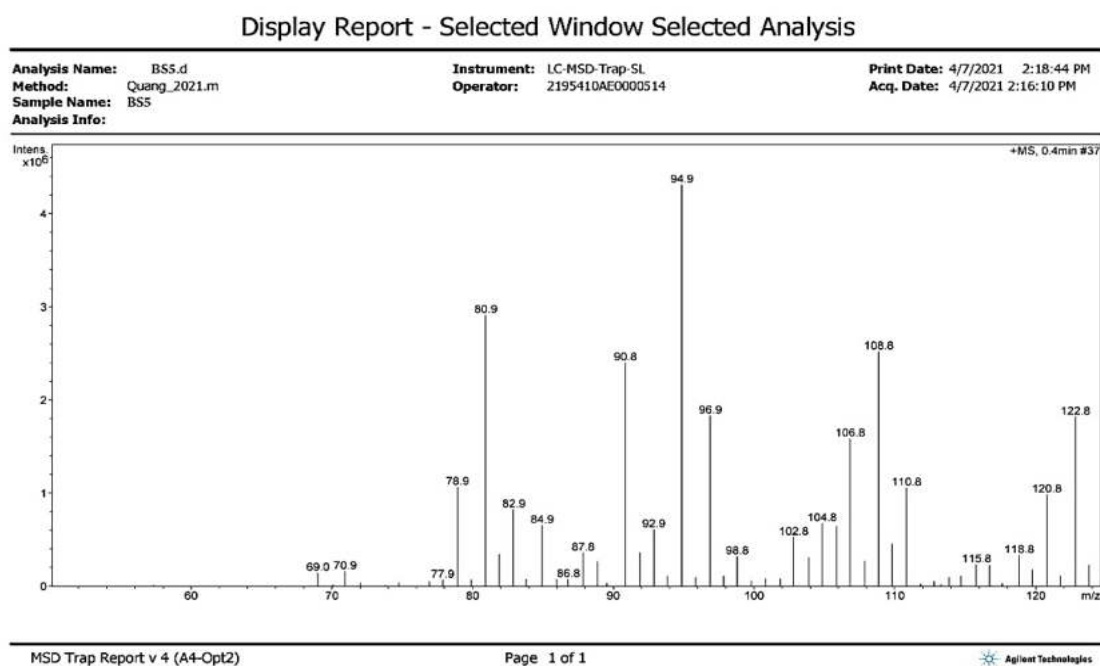
- Phổ ^{13}C -NMR



PL23.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất BS4

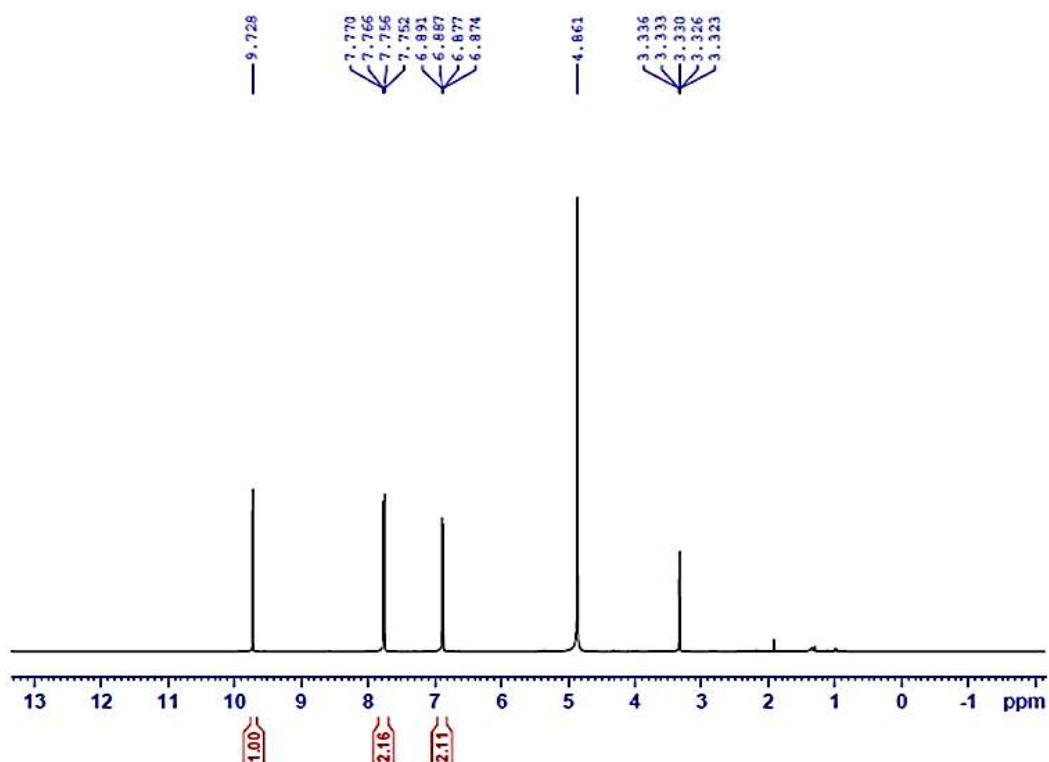
Phụ lục 24: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, phổ khối của hợp chất BS5: 4-hydroxybenzaldehyde

• Phổ khối



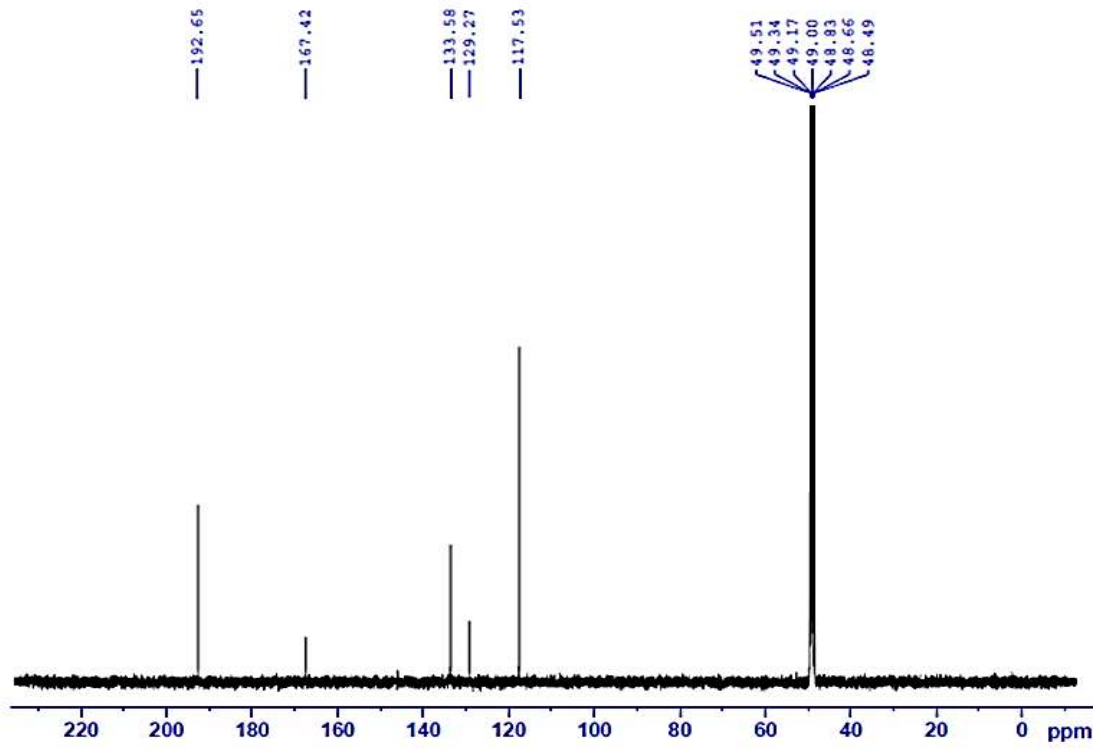
PL24.1. Phổ khối của hợp chất BS5

• Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL24.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất BS5

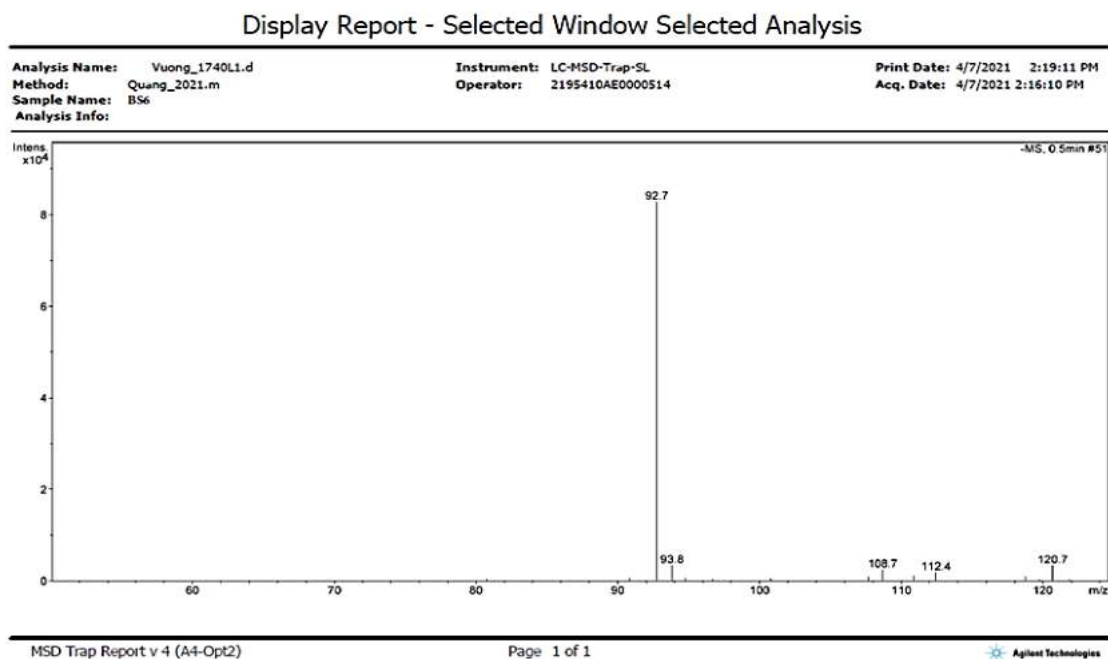
- Phổ ^{13}C -NMR



PL24.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **BS5**

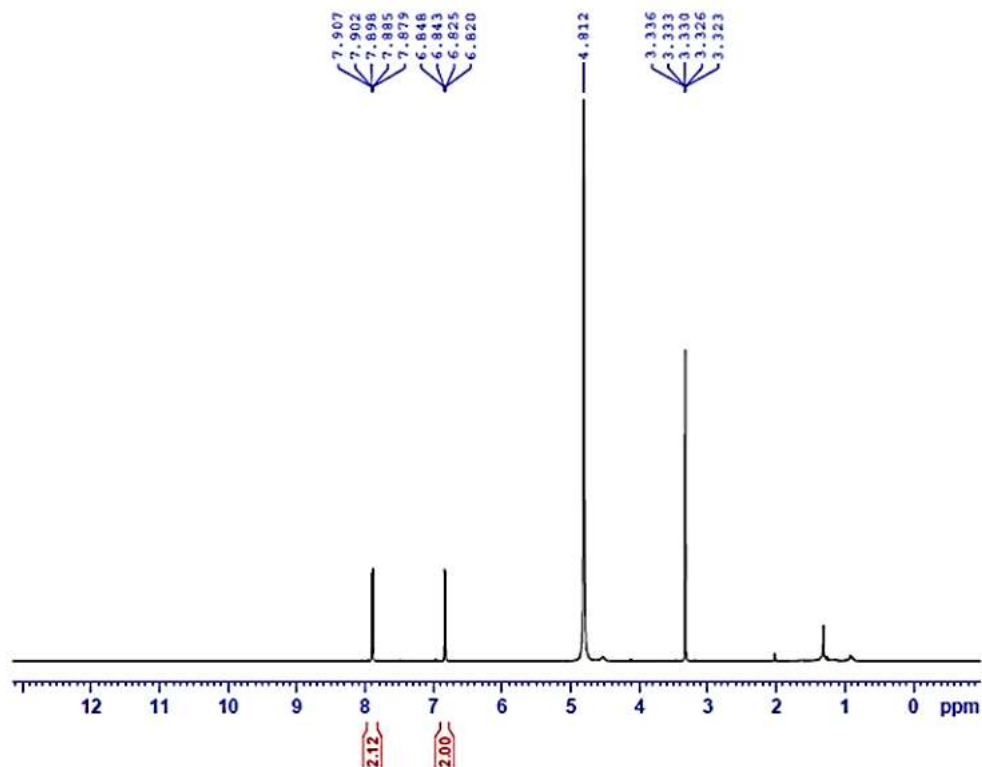
Phụ lục 25: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất BS6: 4-hydroxybenzoic acid

• Phổ khối



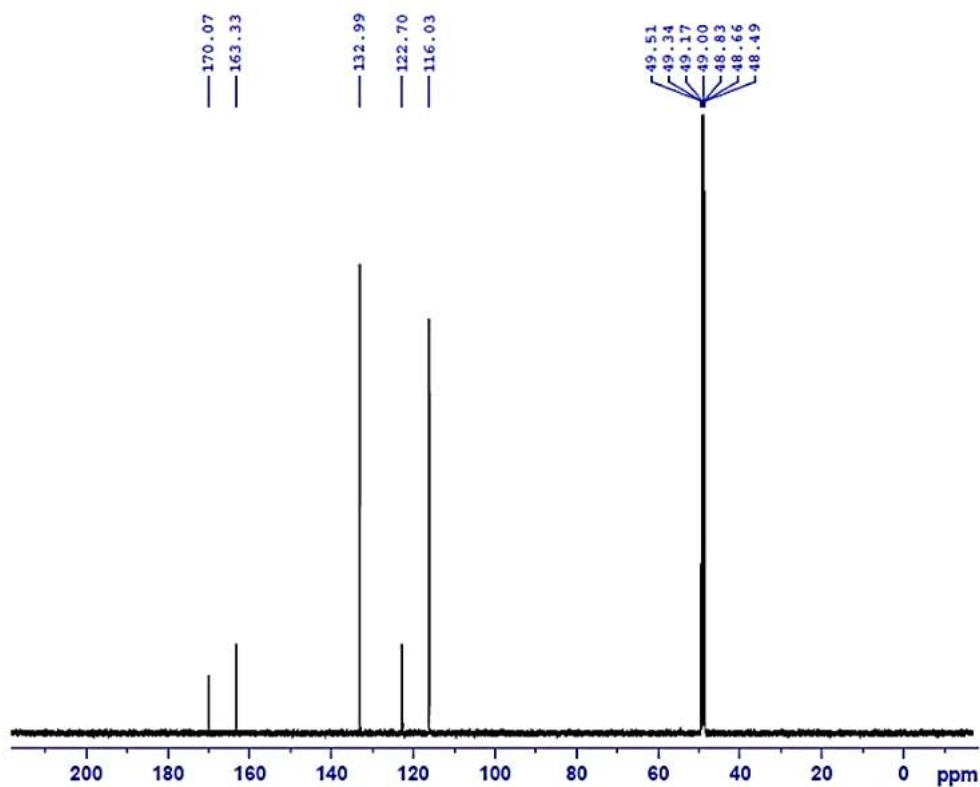
PL25.1. Phổ khối của hợp chất BS6

• Phổ $^1\text{H-NMR}$



PL25.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất BS6

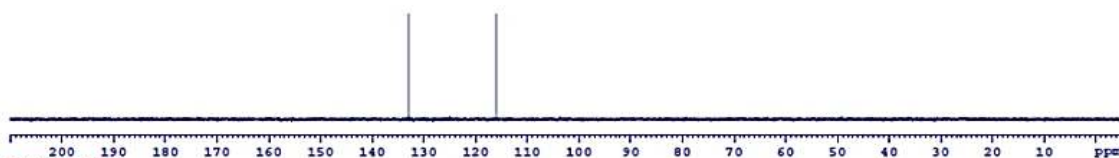
- Phổ ^{13}C -NMR



PL25.3. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất BS6

- Phổ DEPT

DEPT90

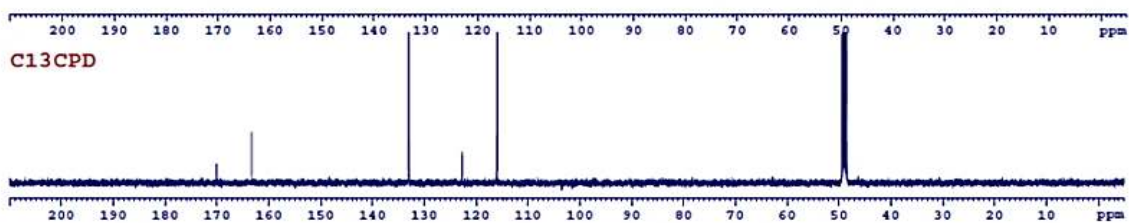


DEPT135



CH&CH3

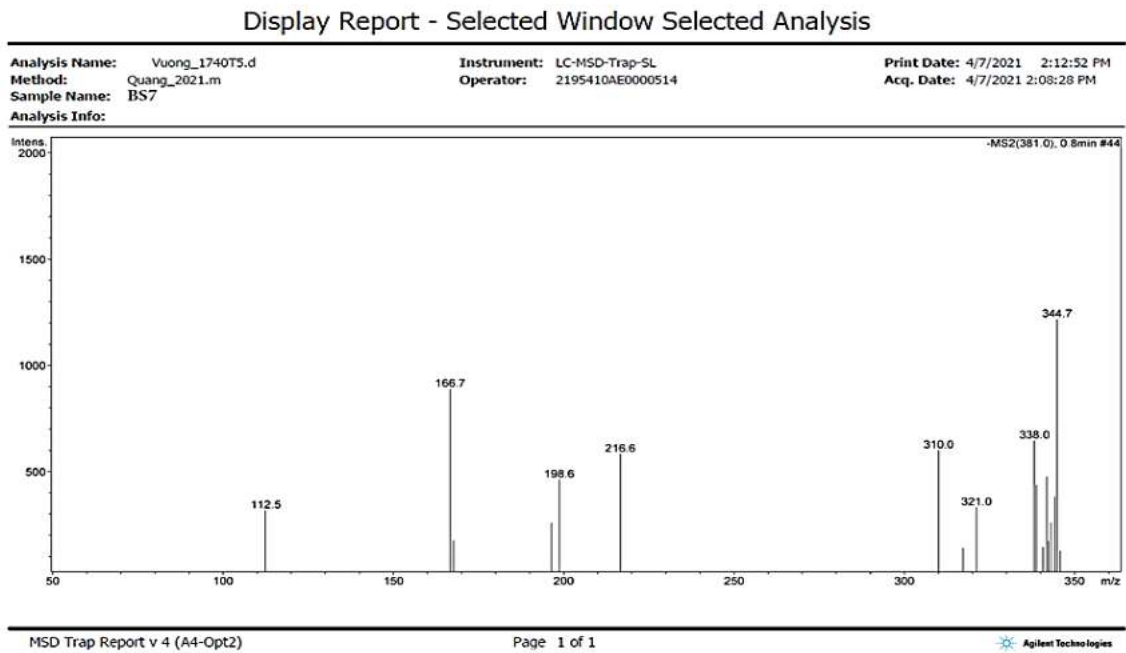
CH2



PL25.4. Phổ DEPT của hợp chất BS6

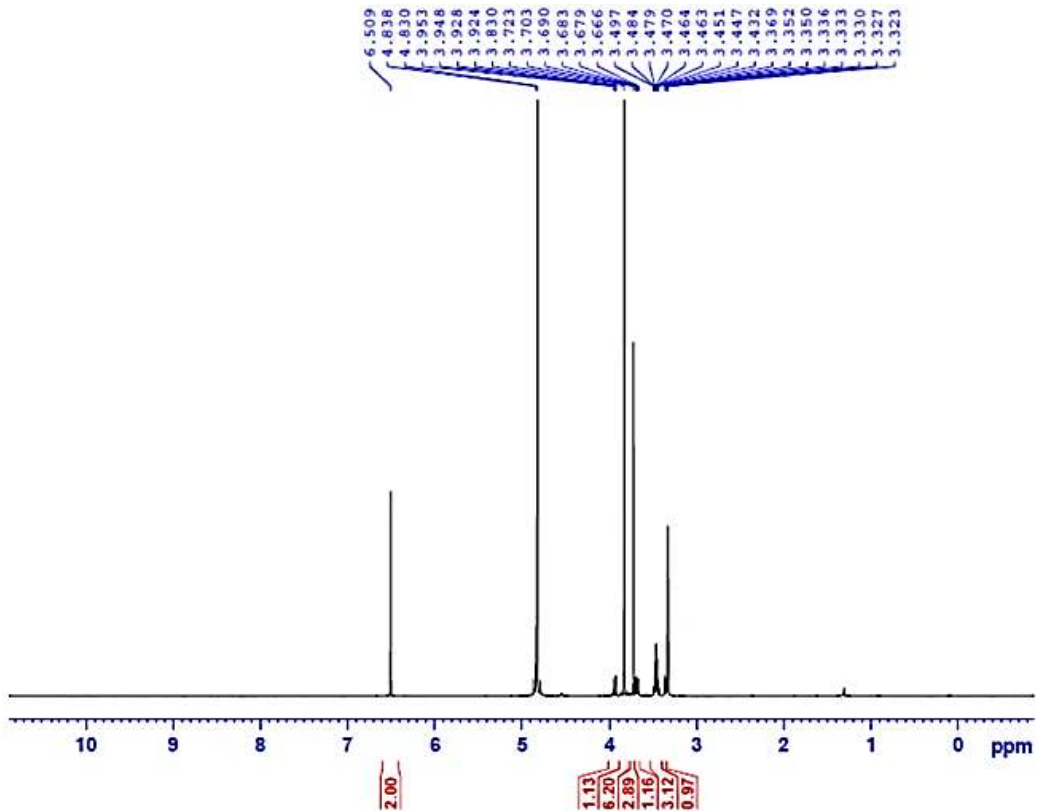
Phụ lục 26: Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, MS của hợp chất BS7: 3,4,5-trimethoxyphenol-1- O - β -D-glucoopyranoside

• **Phổ khối**

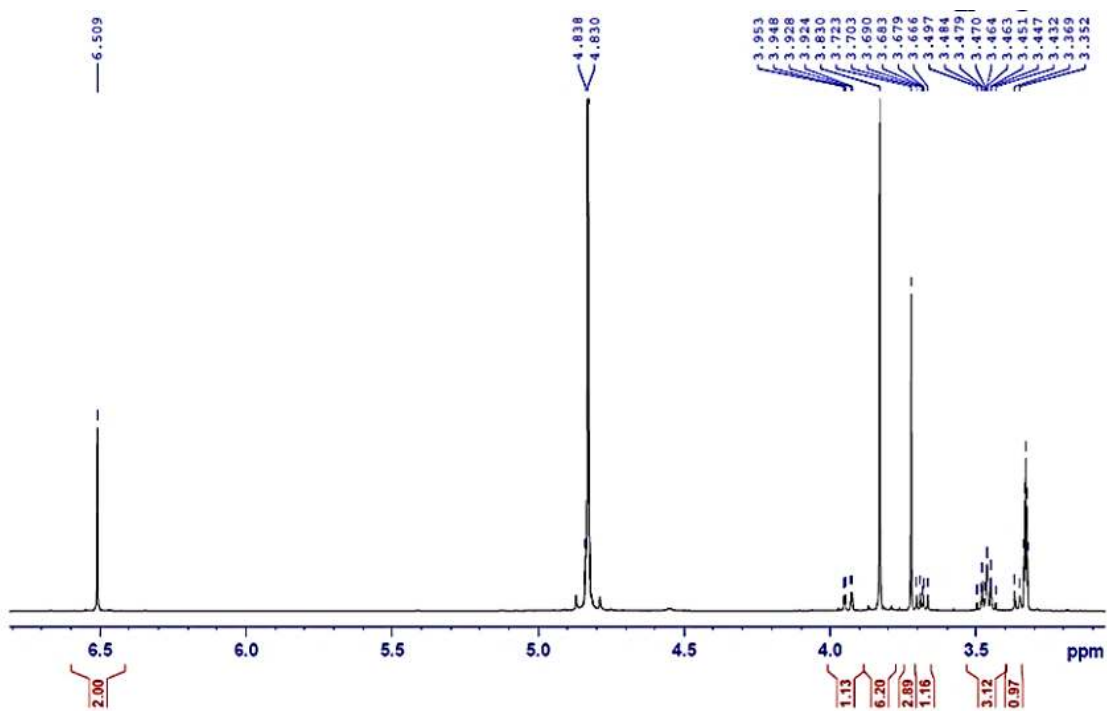


PL26.1. Phổ khối của hợp chất **BS7**

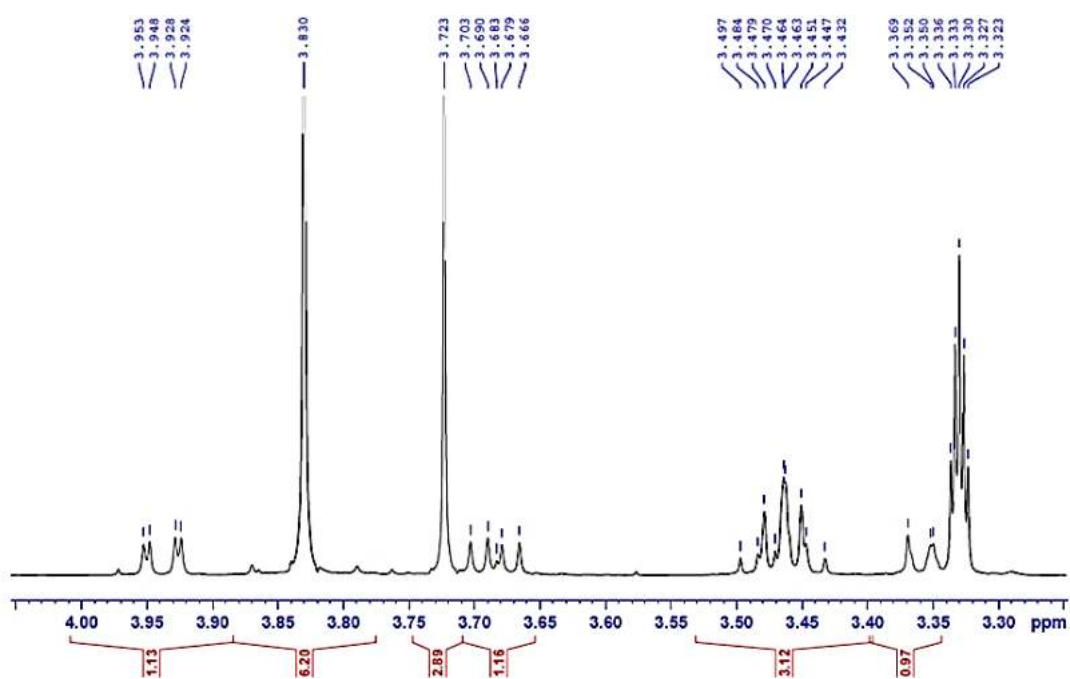
• **Phổ $^1\text{H-NMR}$**



PL26.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **BS7**

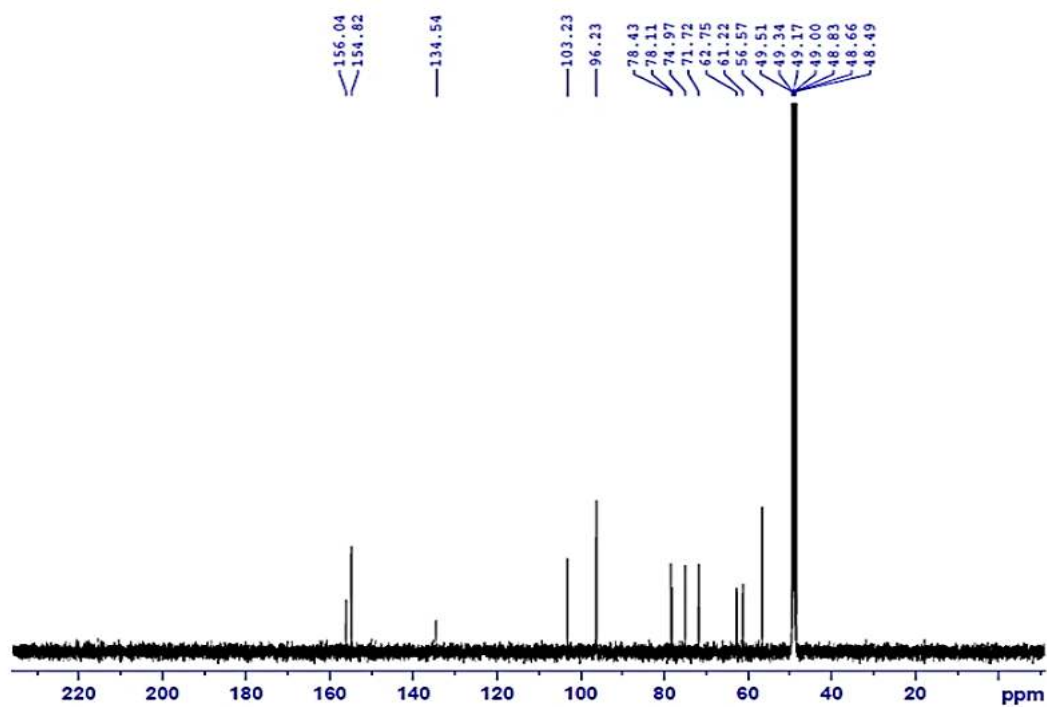


PL26.3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 1 của hợp chất **BS7**



PL26. 4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn 2 của hợp chất **BS7**

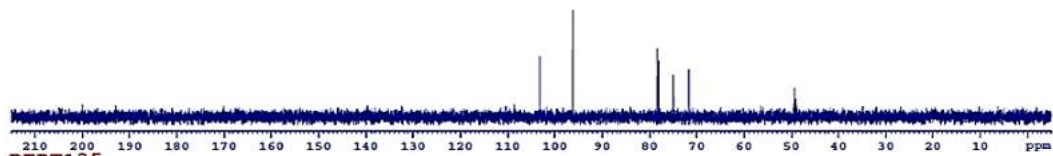
- Phổ ^{13}C -NMR



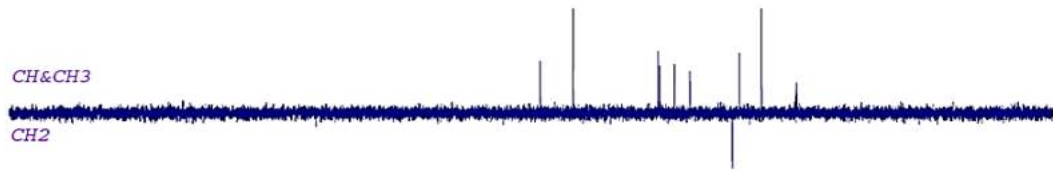
PL26.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất BS7

- Phổ DEPT

DEPT90



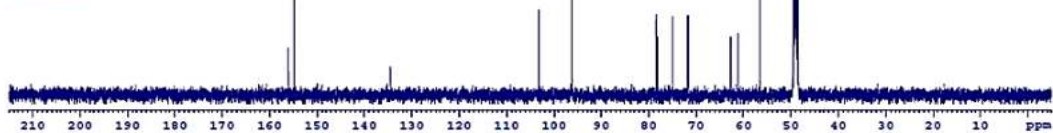
DEPT135



CH&CH3

CH2

C13CPD



PL26.6. Phổ DEPT của hợp chất BS7

PHỤ LỤC: KẾT QUẢ THỬ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO



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

Địa chỉ: 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Tel: 844-38361774; Fax: 844-38363144; Email: thaodo@ibt.ac.vn

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ (Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị với mẫu đem thử)

- Tên mẫu: 8 mẫu AC
- Các dòng tế bào sử dụng trong nghiên cứu:
 - + SW480: Ung thư đại tràng ở người (human colon carcinoma)
 - + SK-LU-1: Ung thư phổi ở người (human lung carcinoma)
 - + MCF-7: Ung thư vú ở người (human breast carcinoma)
 - + HepG2: Ung thư tế bào gan ở người (human hepatocellular carcinoma)
 - + KB : Ung thư biểu mô ở người (human epithelial carcinoma)
- Ngày sản xuất:
- Người gửi mẫu: Viện Hóa sinh biển
- Thời gian thử nghiệm: 13/9/2019 -20/9/2019
- Tài liệu tham khảo:
 - Hughes JP, Rees S, Kalindjian SB, Philpott KL (2011) Principles of early drug discovery. *British journal of pharmacology* 162(6):1239-1249.
 - Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, Hose C, Langley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M (1991) Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Institute* 83(11):757-766.
 - Shoemaker RII, Scudiero DA, Melillo G, Currens MJ, Monks AP, Rabow AA, Covell DG, Sausville EA (2002) Application of high-throughput, molecular-targeted screening to anticancer drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry* 2(3):229-246.
 - Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR (1990) New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute* 82(13):1107-1112

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Vật liệu

Vật liệu và hoá chất:

- TCA, SRB (Sigma), Ellipticine (Calbiochem-Merck)
- Các hóa chất dùng trong nuôi cấy tế bào của Invitrogen



- Đĩa 96 giếng nhựa (Corning, USA), pipette (Eppendorf), máy đọc ELISA 96 giếng (Biotek)
- Các hóa chất thông thường khác
- Các dòng tế bào ung thư do GS. TS. J. M. Pezzuto, Trường Đại học Long-Island, US và GS. Jeanette Maier, trường Đại học Milan, Italia cung cấp.

1.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

- Các dòng tế bào ung thư được nuôi cấy dưới dạng đơn lớp trong môi trường nuôi cấy DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (Invitrogen).
- Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂.

1.3. Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư (cytotoxic assay) đối với tế bào nuôi cấy dạng đơn lớp

Phương pháp thử độ độc tế bào ung thư *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute – NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt TBUT ở điều kiện *in vitro*. Phép thử này được thực hiện theo phương pháp của Skekan et al. (1990). Phép thử tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD – Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn. Phép thử được thực hiện trong điều kiện cụ thể như sau:

- Chất thử được pha từ stock thành các dải nồng độ thích hợp bằng DMSO 10%
- Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm để điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm.
- Chất thử đã pha ở các nồng độ được đưa vào các giếng của đĩa 96 giếng, thêm tế bào đã điều chỉnh nồng độ phù hợp ở trên vào các giếng này sao cho nồng độ chất thử trong giếng là 100 µg/ml; 20 µg/ml; 4 µg/ml và 0.8 µg/ml. Ủ trong tủ ấm 72 giờ. Giếng không có chất thử nhưng có TBUT (180 µl) sẽ

VI
NG
NH

được sử dụng làm đối chứng ngày 0. Sau 1 giờ, giếng đối chứng ngày 0 tế bào sẽ được cố định bằng Trichloroacetic acid – TCA 20%.

- Sau 72 giờ, tế bào được cố định bằng TCA 20% trong 1 giờ, được nhuộm bằng SRB (0.4% w/v trong acetic acid 1%) trong 30 phút ở 37°C, rửa 3 lần bằng acetic acid 1% rồi để khô ở nhiệt độ phòng. 10 mM unbuffered Tris base (100 µl) được thêm vào từng giếng để hòa tan lượng SRB, lắc nhẹ trong 10 phút.
- Đọc kết quả OD ở bước sóng 540 nm trên máy ELISA Plate Reader (Biotek).
- Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = 100\% - \frac{[\text{OD}_{\text{chất thử}} - \text{OD}_{\text{ngày 0}}] \times 100}{\text{OD}_{\text{đối chứng âm}} - \text{OD}_{\text{ngày 0}}}$$

- Phép thử được lặp lại 3 lần trên đĩa để đảm bảo tính chính xác. Ellipticine ở các nồng độ 10 µg/ml; 2 µg/ml; 0,4 µg/ml; 0,08 µg/ml được sử dụng như là chất đối chứng dương;
- DMSO 10% luôn được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.
- Theo tiêu chuẩn của Viện ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCI), căn chiết được coi có hoạt tính tốt với IC₅₀ ≤ 20 µg/ml, trong khi chất tinh khiết được coi có hoạt tính tốt khi IC₅₀ ≤ 5 µM [Hughes JP, (2011)]

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Khả năng gây độc tế bào của các mẫu trên các dòng tế bào

Nồng độ (µg/ml)	% Ức chế				
	KB	SK-LU-1	ACMe		
100	50.10	49.34	MCF7	HepG2	SW480
20	8.65	3.64	11.58	10.61	15.88
4	5.60	0.79	5.24	6.37	3.89
0.8	-2.22	-0.66	-5.49	-4.94	-0.24
IC ₅₀ (µg/ml)	99.98 ± 1.10	>100	>100	97.67 ± 2.12	92.63 ± 3.79
IC ₅₀ (µM)	-	-	-	-	-
Nồng độ (µg/ml)	ACI 368.34				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	73.98	63.49	66.94	68.24	70.43
20	43.79	33.41	31.74	36.16	42.04

4	10.23	12.95	12.08	17.14	18.96
0.8	-4.50	0.12	0.96	5.35	10.86
IC ₅₀ (µg/ml)	32.61± 3.08	52.86± 3.94	51.62± 2.31	44.22± 2.54	36.47± 2.27
IC ₅₀ (µM)	88.53 ±8.36	143.51±10.70	140.14±6.27	120.05±6.90	99.01±6.16
Nồng độ (µg/ml)	AC2 574.55				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	48.13	35.84	45.63	49.30	49.25
20	38.32	18.36	13.59	23.58	35.30
4	6.05	6.64	11.14	6.76	11.49
0.8	0.42	2.86	7.90	4.40	5.82
IC ₅₀ (µg/ml)	>100	>100	>100	>100	>100
IC ₅₀ (µM)	-	-	-	-	-
Nồng độ (µg/ml)	AC3 360.41				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	59.94	52.08	61.50	71.23	65.18
20	23.37	13.58	13.53	14.47	28.37
4	10.40	2.68	1.16	7.23	18.27
0.8	0.84	0.69	-0.23	0.79	8.22
IC ₅₀ (µg/ml)	71.93± 2.46	95.18± 5.33	79.92± 8.62	70.16± 4.17	59.40± 6.76
IC ₅₀ (µM)	199.58±6.83	264.09±14.79	221.75±23.92	194.67±11.57	164.81±18.76
Nồng độ (µg/ml)	AC4 576.55				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	78.39	57.57	62.56	80.19	63.38
20	25.72	22.42	11.54	16.98	28.04
4	13.06	12.86	0.17	7.55	11.49
0.8	8.86	-1.47	-2.41	-0.94	5.75
IC ₅₀ (µg/ml)	54.52± 2.88	76.20± 5.27	79.62± 4.95	60.26± 4.28	63.05± 1.15
IC ₅₀ (µM)	94.56±5.01	132.17±9.14	138.10±8.59	104.52±7.42	109.36±1.99
Nồng độ (µg/ml)	AC5 576.55				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	61.24	57.11	69.79	74.37	62.75
20	35.56	31.15	25.71	36.57	31.90
4	18.23	12.41	18.23	14.62	15.94
0.8	2.70	0.33	2.68	5.82	9.94
IC ₅₀ (µg/ml)	51.50± 3.81	68.13± 5.40	55.09± 5.36	40.93± 3.55	59.29± 5.11
IC ₅₀ (µM)	89.32±6.61	118.17±9.37	95.55±9.30	70.99±6.16	102.84±8.86
Nồng độ (µg/ml)	AC6 386.36				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	72.05	68.58	76.73	83.96	82.36
20	32.45	27.74	21.54	35.66	30.38
4	11.09	19.68	11.09	10.16	18.59
0.8	-1.85	5.53	-0.03	0.31	6.55
IC ₅₀ (µg/ml)	45.59± 3.87	54.60± 5.73	56.42± 3.40	37.39± 4.91	43.65± 4.61
IC ₅₀ (µM)	118.00±10.02	141.32±14.83	146.03±8.80	96.78±12.71	112.98±11.93
Nồng độ (µg/ml)	AC7 416.38				
	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
100	86.54	65.16	67.76	77.99	74.90
20	33.51	29.66	23.31	24.94	29.02
4	12.23	13.89	11.87	10.06	19.96
0.8	2.10	6.31	5.79	3.14	11.50
IC ₅₀ (µg/ml)	38.55± 2.86	58.12± 5.60	64.08± 5.69	53.24± 3.71	51.94± 5.73
IC ₅₀ (µM)	92.58±6.87	139.58±13.45	153.90±13.67	127.86±8.91	124.74±13.76
Nồng độ	Ellipticine 246.31				



($\mu\text{g/ml}$)	KB	SK-LU-1	MCF7	HepG2	SW480
10	93.62	89.11	85.28	86.01	93.29
2	82.35	79.79	79.69	73.90	87.21
0.4	51.02	50.27	48.33	51.27	50.07
0.08	22.39	23.17	21.05	24.91	22.85
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	0.40 \pm 0.05	0.43 \pm 0.03	0.49 \pm 0.05	0.45 \pm 0.04	0.38 \pm 0.05
IC ₅₀ (μM)	1.62 \pm 0.20	1.75 \pm 0.12	1.99 \pm 0.20	1.83 \pm 0.16	1.54 \pm 0.20

Kết quả trên cho thấy mẫu AC2 chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu. Mẫu ACMe chưa thể hiện hoạt tính trên 2 dòng MCF7 và SK-LU-1. Các mẫu còn lại thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC₅₀ từ 32.61 – 99.98 $\mu\text{g/ml}$. Chất đối chứng dương Ellipticine hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

IV. KẾT LUẬN

- Mẫu AC2 chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.
- Mẫu ACMe chưa thể hiện hoạt tính trên 2 dòng MCF7 và SK-LU-1.
- Các mẫu còn lại thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC₅₀ từ 36.47 – 99.98 $\mu\text{g/ml}$.

Hà Nội, ngày 20 tháng 9 năm 2019

Xác nhận của
Viện Công nghệ sinh học
PHÓ TRƯỞNG PHÒNG
QUẢN LÝ TỔNG HỢP



Lương Thị Lan Anh

Trưởng phòng

PGS.TS. Đỗ Thị Thảo