

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



PHAN HOÀNG VĨNH TRƯỜNG

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨNG
CHẾ ENZYME α -GLUCOSIDASE CỦA MỘT SỐ HỢP
CHẤT PHÂN LẬP TỪ THÂN CÂY DÂU TẮM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ
(Chuyên ngành Hóa Hữu cơ)

PHAN HOÀNG VĨNH TRƯỜNG

HÓA HỮU CƠ

NĂM 2023

Tp. Hồ Chí Minh - Năm 2023

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



PHAN HOÀNG VĨNH TRƯỜNG

Lớp: Hóa Hữu cơ – 2021A – Thành phố Hồ Chí Minh, Khóa: 2021A

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ
ENZYM E α -GLUCOSIDASE CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ
THÂN CÂY DẦU TẦM**

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ
Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Nguyễn Văn Kiều
2. PGS.TS. Lê Tiến Dũng

Tp. Hồ Chí Minh – Năm 2023

LỜI CAM ĐOAN

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

Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên

PHAN HOÀNG VĨNH TRƯỜNG

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin chân thành cảm ơn TS. Nguyễn Văn Kiều, Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng (IFAS), Thành phố Hồ Chí Minh - Trường Đại học Duy Tân và PGS.TS. Lê Tiến Dũng, Viện Khoa học Vật liệu và Ứng dụng, Thành phố Hồ Chí Minh - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã tận tình hướng dẫn, định hướng, truyền đạt nhiều kiến thức chuyên môn và kinh nghiệm quý báu về nghiên cứu hóa học các hợp chất tự nhiên, đồng thời giúp đỡ và tạo điều kiện tốt nhất để tôi có thể hoàn thành đề tài nghiên cứu một cách thuận lợi.

Tôi xin trân trọng cảm ơn TS. Lưu Hồng Trường-Viện trưởng Viện Sinh thái học miền Nam-Thành phố Hồ Chí Minh, đã tận tình giúp đỡ tôi trong công tác định danh mẫu thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được sử dụng trong đề tài.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban Lãnh đạo và phòng Đào tạo của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi có thể hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn toàn thể quý Thầy, Cô khoa Hóa Học-Học viện Khoa học và Công nghệ-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã luôn nhiệt tình, ân cần trong quá trình giảng dạy, giúp tôi tiếp thu nhiều kiến thức mới mẻ, những kỹ năng hữu ích và kinh nghiệm sống quý báu.

Trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành đề tài, tôi đã nhận được sự giúp đỡ tận tình từ NCS.ThS. Trần Thanh Nhã, NCS.ThS. Đào Thị Bích Ngọc và học viên Đồng Phan Sĩ Nguyên, các đàn anh, đàn chị và đồng nghiệp đã luôn hỗ trợ, truyền đạt nhiều kinh nghiệm và lời khuyên quý giá. Tôi xin chân thành cảm ơn.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình, đồng nghiệp và bạn bè đã luôn động viên tinh thần, ủng hộ và cho tôi động lực mãnh mẽ để hoàn thành tốt chương trình học tập và quá trình nghiên cứu.

Tác giả luận văn

Phan Hoàng Vĩnh Trường

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT	v
DANH MỤC BẢNG	vi
DANH MỤC HÌNH ẢNH	vii
MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài	1
2. Mục đích nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài	3
5. Những đóng góp của luận văn	3
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	5
1.1. Tình trạng bệnh đái tháo đường hiện nay	5
1.2. Tổng quan về cây Dâu tằm	9
1.2.1. Thông tin cơ bản	9
1.2.2. Đặc điểm hình thái	10
1.2.3. Các nghiên cứu về thành phần hóa học	11
1.2.3.1. Các nghiên cứu trên thế giới	11
1.2.3.2. Các nghiên cứu trong nước	14
1.2.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học	22
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. Đối tượng nghiên cứu	24
2.2. Hóa chất và thiết bị	24
2.2.1. Hóa chất	24
2.2.2. Thiết bị	25
2.3. Phương pháp nghiên cứu	25
2.3.1. Thu hái, xử lý mẫu thân cây Dâu tằm	25
2.3.2. Điều chế cao phân đoạn	25
2.3.3.1. Phương pháp sắc ký	25
2.3.3.2. Quy trình phân lập	26
2.3.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập	27
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	29

3.1. Kết quả xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập	29
3.1.1. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 1.....	29
3.1.2. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 2.....	31
3.1.3. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 3.....	33
3.1.4. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 4.....	35
3.1.5. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 5.....	41
3.1.6. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 6.....	43
3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase	47
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	49
Kết luận.....	49
Kiến nghị.....	50
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	51
PHỤ LỤC	57

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

IDF	International Diabetes Federation <i>Liên đoàn Tiểu đường Thế giới</i>
IC ₅₀	Half-maximal Inhibitory Concentration <i>Nồng độ ức chế 50 %</i>
TLC	Thin Layer Chromatography <i>Sắc ký lớp mỏng</i>
CC	Column Chromatography <i>Sắc ký cột</i>
HR-ESI-MS	High-Resolution Electrospray Ionisation Mass Spectrometry <i>Khối phổ độ phân giải cao</i>
NMR	Nuclear Magnetic Resonance <i>Phổ cộng hưởng từ hạt nhân</i>
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
¹³ C-NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Các nhóm hợp chất tự nhiên có tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase...9	9
Bảng 1.2. Một số hợp chất cô lập từ các bộ phận của cây Dâu tằm.....14	14
Bảng 3.1. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 1 và hợp chất betulinic acid.....30	30
Bảng 3.2. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 2 và hợp chất ursolic acid.....30	30
Bảng 3.3. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 3 , hợp chất 2 và hợp chất oleanolic acid.....32	32
Bảng 3.4. So sánh dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 4 , hợp chất 1 , hợp chất 2 , hợp chất 3 , Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate và 2β -Methyltetrahymanol.....38	38
Bảng 3.5. So sánh dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất 4 , hợp chất 1 , hợp chất 2 , hợp chất 3 , Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate và 2β -Methyltetrahymanol.....40	40
Bảng 3.6. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 5 và hợp chất cycloeucalenol.....42	42
Bảng 3.7. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 5 và hợp chất 644	44
Bảng 3.8. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất 6 và các hợp chất 4-epicycloeucalenone và (4 <i>S</i>)-cycloeucalenone.....46	46
Bảng 3.9. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các phân đoạn điều chế từ thân cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.).....48	48
Bảng 3.10. So sánh khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất được phân lập từ thân cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.) và các hợp chất từ các công bố khác ...48	48

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Các biến chứng nguy hiểm của bệnh đái tháo đường.....	6
Hình 1.2. Cơ chế bệnh sinh của bệnh đái tháo đường tuýp I và II.....	6
Hình 1.3. Một số thuốc ức chế enzyme α -glucosidase được sử dụng phổ biến hiện nay trong điều trị bệnh đái tháo đường.....	8
Hình 1.4. Cấu trúc phân tử và cấu trúc hóa học của hợp chất Acarbose.....	9
Hình 1.5. Một số hình ảnh về cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.).....	10
Hình 2.1. Quy trình phân lập các hợp chất từ thân cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.).....	27
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ thân cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.).....	29
Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1	30
Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của hợp chất 2	32
Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của hợp chất 3	34
Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1, 2, 3 , Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate, 2β -Methyltetrahymanol và hợp chất 4	38
Hình 3.6. Cấu trúc hóa học và tương quan HMBC/NOESY của hợp chất 4	41
Hình 3.7. Cấu trúc hóa học của hợp chất 5	42
Hình 3.8. Hợp chất 4-epicycloeucalenone và đồng phân epimer tại vị trí C-4, hợp chất (4 <i>S</i>)-cycloeucalenone – hợp chất 6	45
Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất 6	47
Hình 3.10. Các hợp chất được phân lập từ thân cây Dâu tằm (<i>M. alba</i> L.).....	50

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Hóa học các hợp chất tự nhiên đã và đang là hướng nghiên cứu phổ biến ở nhiều nước thuộc các khu vực có khí hậu nhiệt đới nhờ sở hữu nguồn dược liệu phong phú, trong đó có Việt Nam. Các nguồn dược liệu quý này, chủ yếu là các loài thực vật, đã sớm được chúng ta tận dụng và khai thác nhằm phục vụ nhiều mục đích khác nhau từ ăn uống cho đến điều trị nhiều chứng bệnh. Do đó, nghiên cứu và phân lập các hợp chất tự nhiên có vai trò rất quan trọng trong việc làm sáng tỏ thành phần hóa học và những yếu tố liên quan đến dược tính của các loài dược liệu. Bên cạnh đó, hướng nghiên cứu này còn nhằm mục đích phát hiện những hợp chất mới sở hữu tiềm năng hoạt tính sinh học và giá trị dược học cao. Khi được nghiên cứu sâu hơn, các hợp chất này có tiềm năng lớn trong ứng dụng vào quá trình điều trị nhiều căn bệnh phổ biến hiện nay như ung thư, đái tháo đường, Gout, Từ đó, tạo tiền đề cho sự phát triển của các dược chất, các phương thuốc và phương pháp điều trị mới có nguồn gốc từ tự nhiên như: Aspirin giúp giảm đau, hạ sốt, được phân lập từ vỏ cây Liễu Trắng (*Salix alba* L.); thuốc Digitalis được sử dụng trong điều trị suy tim có trong cây Mao Địa Hoàng (*Digitalis purpurea*); Caffeine điều trị mệt mỏi, suy nhược có trong thành phần của hạt cây café. Tuy nhiên, với chỉ khoảng 10% nguồn nguyên liệu sinh học này đã được khám phá [1], vẫn còn rất nhiều loại dược liệu có tính ứng dụng cao chưa được nghiên cứu hoặc được nghiên cứu chưa triệt để. Trong đó có cây Dâu tằm.

Dâu tằm (*Morus alba* L.), với nhiều tên gọi khác như Dâu cang, Tằm tang, Mạy môn, là một trong những loài cây trồng phổ biến và gắn bó mật thiết với đời sống của người dân Việt Nam. Lá cây Dâu tằm từ lâu đã được sử dụng làm nguồn thức ăn chính trong nuôi tằm lấy tơ. Bên cạnh đó, các bộ phận của cây từ thân, rễ, lá và quả, đều sở hữu nhiều tác dụng dược lý và được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian điều trị nhiều chứng bệnh như thông manh, đau mắt, nhức mỏi, hen suyễn, đi tiểu nhiều lần, có tác dụng lợi tiểu, ngăn ngừa bệnh rụng tóc, hói đầu, mồ hôi trộm ở trẻ nhỏ, mồ hôi tay ở người lớn, tẩy sán, ngăn ngừa huyết áp cao và viêm tuyến ngực ở phụ nữ.... Những ứng dụng của cây Dâu tằm đã bước đầu được chứng minh dựa trên những khảo sát về thành phần hóa học ở rễ, vỏ, lá và trái, cho thấy sự tồn tại đa dạng các nhóm hợp chất quan trọng như flavonoid, amino acid, alkaloid, chalcone, các dẫn xuất benzofuran,... Tuy nhiên, các nghiên cứu trên thân cây Dâu tằm vẫn còn rất hạn chế, nổi bật

với công bố của nhóm nghiên cứu Huyncheol Oh vào năm 2002 thực hiện trên nhánh cây Dâu tằm khô và phân lập được bốn hợp chất 5,7-dihydroxycourmarin-7-methyl ether (**90**), cudraflavone B và C (**91-92**), và oxyresveratrol (**93**), sở hữu hoạt tính chống oxy hoá, bảo vệ gan và khả năng gây độc tế bào [2]. Điều này cho thấy hướng nghiên cứu về thành phần hóa học của thân cây Dâu tằm dù có tiềm năng phát triển nhưng vẫn chưa nhận được nhiều sự quan tâm.

Dựa trên những cơ sở khoa học và lý do đã nêu, tôi quyết định thực hiện đề tài “**Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của một số hợp chất phân lập từ thân cây Dâu tằm**”. Thân cây Dâu tằm được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu với định hướng khảo sát thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được.

2. Mục đích nghiên cứu

- **Mục tiêu tổng quát:**

- Cung cấp dữ liệu khoa học về thành phần hóa học của thân cây Dâu tằm sinh trưởng và phát triển tại Việt Nam;
- Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được và đánh giá tiềm năng của các hợp chất trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

- **Mục tiêu cụ thể:**

- Điều chế cao phân đoạn từ mẫu bột thân cây Dâu tằm, áp dụng phương pháp ngâm trong ethanol và tiến hành quá trình sắc ký cột Sephadex-LH20 thu được các cao phân đoạn tương ứng;
- Thực hiện quá trình phân lập các hợp chất hữu cơ từ cao phân đoạn đã điều chế sử dụng các phương pháp sắc ký: sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột pha thường – pha đảo;
- Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập được, dựa trên dữ liệu thu được từ các phương pháp phổ nghiệm như 1D-, 2D-NMR, MS;
- Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên các hợp chất đã phân lập.

3. Nội dung nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu bao gồm 5 nội dung chính :

- **Nội dung 1:** Thu thập, giám định và xử lý mẫu thân cây Dâu tằm.
- **Nội dung 2:** Điều chế các cao phân đoạn từ mẫu bột thân cây Dâu tằm bằng phương pháp ngâm trong ethanol và tiến hành quá trình sắc ký cột Sephadex-

LH20 thu được các cao phân đoạn tương ứng.

- **Nội dung 3:** Tiến hành thực nghiệm phân lập các hợp chất từ cao phân đoạn đã điều chế bằng các phương pháp sắc ký như sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột pha thường/pha đảo, Sephadex-LH20,.....
- **Nội dung 4:** Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được sử dụng các phương pháp phổ nghiệm 1D-, 2D-NMR, HR-EIS-MS,.....
- **Nội dung 5:** Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên các hợp chất đã phân lập.

4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài

Dâu tằm là một loại cây trồng phổ biến tại Việt Nam, và từ lâu các bộ phận của loài cây này đã được xem là một vị thuốc phổ biến trong nền y học dân tộc. Dựa trên những khảo sát về thành phần hóa học của cây Dâu tằm, điều này đã bước đầu được chứng minh từ sự có mặt của đa dạng các nhóm hợp chất mang dược tính quan trọng. Tuy nhiên hiện nay, các nghiên cứu liên quan thực hiện trên thân cây Dâu tằm vẫn còn rất hạn chế, đặc biệt đối với cây Dâu tằm sinh trưởng tại Việt Nam. Các nghiên cứu này lại mới chỉ tập trung vào đánh giá tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa của các hợp chất được phân lập mà chưa có những đánh giá cụ thể liên quan đến tiềm năng ứng dụng của các hợp chất này trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh nhân đái tháo đường, đặc biệt là các hợp chất triterpenoid. Bên cạnh đó, dữ liệu về các hợp chất triterpenoid phân lập từ cây Dâu tằm và khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của những hợp chất này vẫn còn rời rạc và thiếu đầy đủ. Trên cơ sở đó, tiếp tục tiến hành các nghiên cứu liên quan đến phân lập các hợp chất thiên nhiên từ thân cây Dâu tằm, đặc biệt là các hợp chất triterpenoid, sẽ góp phần nâng cao tính toàn diện của những nghiên cứu đã được công bố. Bên cạnh đó, dữ liệu về hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên các hợp chất được phân lập sẽ giúp mở rộng tiềm năng ứng dụng của những hợp chất này, đồng thời tạo tiền đề khoa học vững chắc trong phát triển các nhóm thuốc mới có nguồn gốc từ thiên nhiên, hỗ trợ tích cực trong công tác điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh nhân đái tháo đường.

5. Những đóng góp của luận văn

Các kết quả thu được từ nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng góp phần nâng cao sự đa dạng và toàn diện của những nghiên cứu đã được công bố. Bên cạnh đó, các thông tin về đặc điểm, tính chất và cấu trúc của các hợp chất được phân lập sẽ góp phần mở rộng những kiến thức còn hạn chế về thành phần hóa

học của các bộ phận của cây Dâu tằm (*M. alba* L.) sinh trưởng và phát triển tại Việt Nam. Đồng thời, kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase còn giúp làm tăng giá trị dược lý, cũng như khả năng ứng dụng của cây Dâu tằm trong tương lai, đặc biệt là trong sản xuất dược phẩm và các sản phẩm hỗ trợ điều trị ở bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tình trạng bệnh đái tháo đường hiện nay

1.1.1. Khái niệm

Đái tháo đường (hay tiểu đường) có tên khoa học là diabetes mellitus. Đây là một bệnh lý phổ biến liên quan đến những rối loạn trong chuyển hóa đường huyết, bắt nguồn từ sự suy giảm hoặc những khiếm khuyết về điều tiết insulin, hoặc sự suy giảm hoạt tính của insulin trong cơ thể. Bên cạnh đó, sự tăng đường huyết trong một thời gian dài còn có thể gây ra những rối loạn trong chuyển hóa carbohydrate, chất béo và protein, đồng thời tiềm ẩn nguy cơ gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến chức năng hoạt động của nhiều cơ quan, đặc biệt ở tim, mạch máu, mắt, hệ thần kinh và thận (**Hình 1.1.**) [3-6].

Hiện nay, đái tháo đường được phân chia thành 2 nhóm chính bao gồm: (1) đái tháo đường nguyên phát và (2) đái tháo đường thứ phát. Trong đó, đái tháo đường nguyên phát bao gồm ba dạng chính lần lượt là:

- *Đái tháo đường tuýp I* (Chiếm khoảng 10% số ca chuẩn đoán):

Đây là dạng bệnh lý gây ra bởi sự tấn công của các tác động từ môi trường bên ngoài như virus quai bị, sởi hoặc do sự có mặt của các kháng nguyên như HLA B8, B15 trong cơ thể bệnh nhân [7]. Từ đó, dẫn đến sự thiếu hụt insulin tuyệt đối, một dạng hormone quan trọng được tiết ra từ các tế bào đảo tụy ở tuyến tụy, có vai trò chuyển hóa và lưu trữ glucose trong cơ thể ở gan và mô mỡ (**Hình 1.2.**)

- *Đái tháo đường tuýp II* (Chiếm khoảng 80 – 90% số ca chuẩn đoán):

Cơ chế bệnh sinh của đái tháo đường tuýp II hoạt động dựa trên hai cơ chế chính bao gồm: sự đề kháng với insulin và sự suy giảm chức năng tiết insulin của tế bào β trong cơ thể người bệnh [8]. Cần lưu ý, đối với bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, cơ thể người bệnh vẫn có thể sản xuất insulin, tuy nhiên, lượng insulin được hình thành lại không đủ dùng hoặc thậm chí là không thể được sử dụng bởi các tế bào trong cơ thể. Hiện tượng này được gọi là sự kháng insulin và có thể bắt nguồn từ nhiều nguyên nhân, trong đó thường gặp là sự suy giảm mức độ tiêu thụ glucose ở các cơ quan, sự giảm khả năng thu nhận glucose ở các mô ngoại vi và khả năng ức chế quá trình sản xuất glycogen ở gan. Tình trạng béo phì và thừa cân là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến sự kháng insulin trong cơ thể.

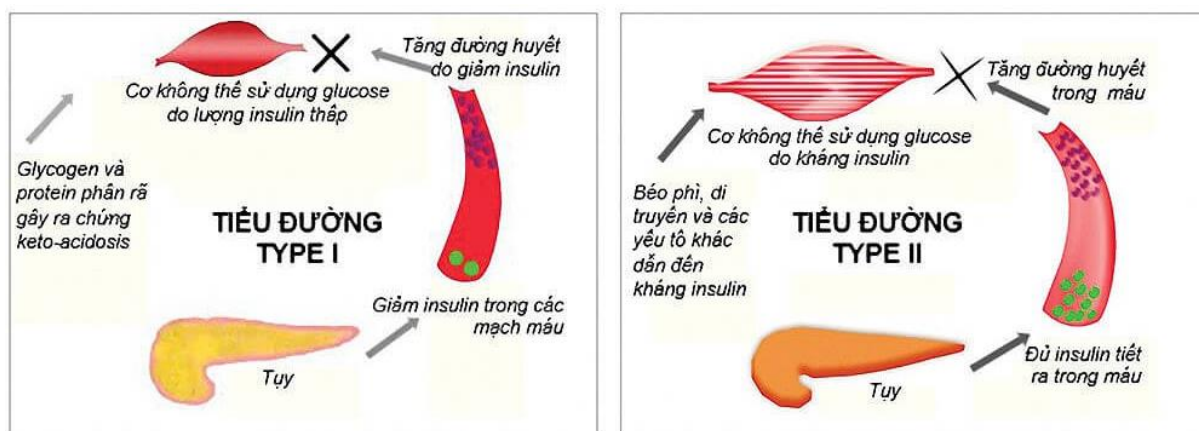
- *Đái tháo đường thai kỳ:*

Đây là tình trạng bệnh lý thường gặp ở phụ nữ mang thai và thai nhi, có thể dẫn đến những biến chứng khó lường nếu không được điều trị kịp thời. Đối với phụ nữ đang mang thai, đái tháo đường thai kỳ tiềm ẩn nguy cơ gây ra nhiều biến chứng

như: chân thương ở vùng lưng, gãy xương hoặc trật khớp khi thai nhi có trọng lượng lớn; tỷ lệ tiền sản giật cao gấp 4 lần người bình thường; sinh non, sẩy thai, chết thai lưu hoặc băng huyết sau khi sinh; và nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường tuýp II cao gấp 7 lần [9]. Đối với thai nhi, đái tháo đường thai kì có thể gây ra nhiều dị tật khó đoán, cũng như là tình trạng thừa cân, béo phì, hoặc các bệnh lý liên quan đến hô hấp, tụt canxi trong máu... ở trẻ sau khi sinh [9].



Hình 1.1. Các biến chứng nguy hiểm của bệnh đái tháo đường.



Hình 1.2. Cơ chế bệnh sinh của bệnh đái tháo đường tuýp I và II.

Đái tháo đường đã và đang là một trong những thách thức lớn đối với nền y học hiện đại và công tác chăm sóc sức khỏe người dân tại nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Theo thống kê của Liên đoàn Tiểu đường Quốc tế - IDF (International Diabetes Federation) vào năm 2021, số ca được chuẩn đoán mắc bệnh đái tháo đường trên toàn cầu ước tính vào khoảng 536,6 triệu người trong độ tuổi từ 20 đến 79, chiếm khoảng 10,5 % dân số thế giới. Dự đoán đến năm 2045, số ca mắc bệnh đái tháo đường sẽ đạt 783,2 triệu người, chiếm 12,2 % dân số thế giới [10]. Sự gia tăng với mức độ ngày càng cao của số ca mắc bệnh, được cho là bắt nguồn từ sự gia tăng tỷ lệ béo phì ở giới trẻ, một trong những lý do chính dẫn tới bệnh đái tháo

đường [5]. Theo số liệu thống kê vào năm 2013, Việt Nam là một trong năm nước thuộc khu vực Thái Bình Dương có số ca mắc cao nhất với khoảng 5,37% dân số mắc bệnh tiểu đường (khoảng 3,3 triệu người) [3]. Từ những số liệu đáng báo động đã nêu, có thể khẳng định, tình trạng mắc bệnh đái tháo đường đang ngày càng trở nên phổ biến. Do đó, xây dựng một lối sống lành mạnh và chuẩn đoán sớm nhằm hạn chế những biến chứng không mong muốn, đặc biệt là đẩy mạnh nghiên cứu và phát triển các phương pháp và dược phẩm hiệu quả trong điều trị bệnh đái tháo đường, được xem là các giải pháp then chốt hiện nay.

1.1.2. Các dạng thuốc điều trị bệnh đái tháo đường

Bên cạnh các giải pháp điển hình trong phòng ngừa bệnh tiểu đường như duy trì một chế độ ăn uống (ít chất béo, nhiều chất xơ và đạm có nguồn gốc từ thực vật) và vận động thể lực hợp lý, rất nhiều các dạng thuốc đã được nghiên cứu và phát triển trong công tác điều trị và hỗ trợ điều trị các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, đặc biệt là đái tháo đường tuýp II. Trong đó, bao gồm ba nhóm thuốc chính:

- *Nhóm thuốc kích thích:*

Có chức năng kích thích sự bài tiết insulin ở tuyến tụy

Ví dụ: nhóm thuốc sulphonylurea bao gồm gliclazide, glimepiride, glibenclamid;

- *Nhóm thuốc tăng nhạy cảm insulin:*

Có tác dụng giảm sự đề kháng insulin ở các mô ngoại vi

Ví dụ: nhóm thuốc biguanide, nhóm thuốc thiazolidinemedion

- *Nhóm thuốc ức chế enzyme α -glucosidase:*

Có tác dụng làm chậm quá trình hấp thu glucose từ ruột vào máu

Ví dụ: acarbose, voglibose, miglitol

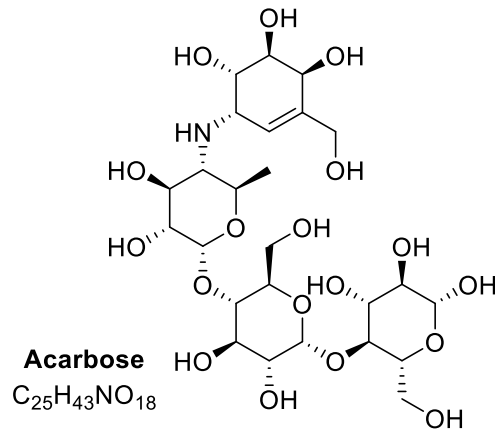
Trong các nhóm thuốc đã nêu, các chất tổng hợp có tác dụng ức chế sự hoạt động của enzyme α -glucosidase (**Hình 1.3**), đã và đang được sử dụng phổ biến như một nhóm thuốc hỗ trợ điều trị cho các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường tuýp II [11]. Nhìn chung, nhóm thuốc này hoạt động dựa trên khả năng ức chế của một số hợp chất đối với chức năng hoạt động của enzyme α -glucosidase. Enzyme α -glucosidase (còn được gọi là maltase, α -D-glucosidase, hoặc α -glucosidase hydrolase) là một hợp chất thuộc nhóm các enzyme glycoside hydrolase được đặc trưng bởi khả năng bẻ gãy các liên kết bằng phản ứng thủy phân. Enzyme α -glucosidase thường có mặt trên bề mặt đường ruột và đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa các hợp chất carbohydrate thành các phân tử đường đơn, để được thẩm thấu vào máu và vận chuyển đến các cơ quan trong cơ thể [12]. Cụ thể, enzyme α -glucosidase có vai trò xúc tác và thúc đẩy quá trình bẻ gãy liên kết 1,4- α -D-glucosid trong cấu trúc carbohydrate, cho phép giải phóng các phân tử α -D-glucose. Trên cơ sở đó, việc sử dụng các dạng thuốc ức chế enzyme α -glucosidase

sẽ giúp kiểm soát đường huyết một cách hiệu quả ở các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường [13].



Hình 1.3. Một số thuốc ức chế enzyme α -glucosidase được sử dụng phổ biến hiện nay trong điều trị bệnh đái tháo đường.

Dù mang lại hiệu quả tích cực trong hỗ trợ kiểm soát đường huyết ở các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, sử dụng trong một thời gian dài các hợp chất tổng hợp như acarbose (**Hình 1.4**) có thể dẫn đến nhiều bệnh lý không mong muốn về hệ tiêu hóa như tiêu chảy, buồn nôn, đầy hơi, chướng bụng, hoặc các triệu chứng khác như phát ban, nổi mẩn, bầm tím... Hạn chế này chủ yếu xuất phát từ sự lên men của các phân tử carbohydrate không được hấp thu tại đại tràng. Hiện nay, rất nhiều các nhà khoa học đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học của nhiều loại dược liệu điển hình trong điều trị bệnh đái tháo đường trên cơ sở y học cổ truyền, nhằm tìm kiếm những hợp chất mang tiềm năng ức chế enzyme α -glucosidase. Một số loại dược liệu điển hình có thể kể đến như: rễ cây hoàng liên (*Coptis teeta* Wall), đậu bắp (*Abelmoschus esculentus*), hạt methi (*Trigonella foenum-graecum* L.), câu kỷ tử (*Fructus lycii*), Hoài sơn (*Rhizoma Dioscoreae*), Nhàu (*Morinda citrifolia*), mạch môn (*Ophiopogon japonicus* L.f), Bồ công anh (*Taraxacum officinale* A.), Chuối hột (*Musra barjoo* S.), Mướp đắng (*Mormordica charantia* C.). Rất nhiều các dạng hợp chất bao gồm flavonoid, anthocyanidin, phenolic, curcuminoid, terpenoid... (**Bảng 1.1**) đã được phân lập và báo cáo sở hữu khả năng ức chế enzyme α -glucosidase từ những công trình nghiên cứu này [14-16]. Từ đó, cho thấy được tiềm năng to lớn của hướng nghiên cứu trong công tác điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh nhân mắc bệnh Đái tháo đường theo định hướng thân thiện và an toàn. Tuy nhiên, những nghiên cứu và đánh giá khoa học về tác dụng hạ đường huyết của các loại thảo dược ở Việt Nam dựa trên phân tích thành phần hóa học hiện còn khá hạn chế, đặc biệt là trên cây Dâu tằm.



Hình 1.4. Cấu trúc phân tử và cấu trúc hóa học của hợp chất Acarbose.

Bảng 1.1. Các nhóm hợp chất tự nhiên có tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase

NHÓM HỢP CHẤT	CÁC HỢP CHẤT ĐẠI DIỆN
<i>Flavonoid</i>	Luteolin; Apigennin; Hesperetin,
<i>Triterpenoid</i>	3 β -acetoxy-16 β -hydroxybetulinic acid Betulinic acid
<i>Curcuminoid</i>	Curcumin; Demethoxycurcumin; Bisdemethoxycurcumin
<i>Phenolic</i>	Bromophenol; 2,4,6-tribromophenol; 2,4-dibromophenol

1.2. Tổng quan về cây Dâu tằm

1.2.1. Thông tin cơ bản

Tên khoa học: *Morus alba* L.

Phân loại sinh giới:

- Giới (Regnum): Thực vật (Plantae)
- Bộ (Ordo): Hoa hồng (Rosales)
- Họ (Famillia): Dâu tằm (Moraceae)
- Chi (Genus): Dâu tằm (*Morus*)
- Loài (Species): *Morus alba*

Tên tiếng Anh: White mulberry, Russian mulberry, Silkworm mulberry.

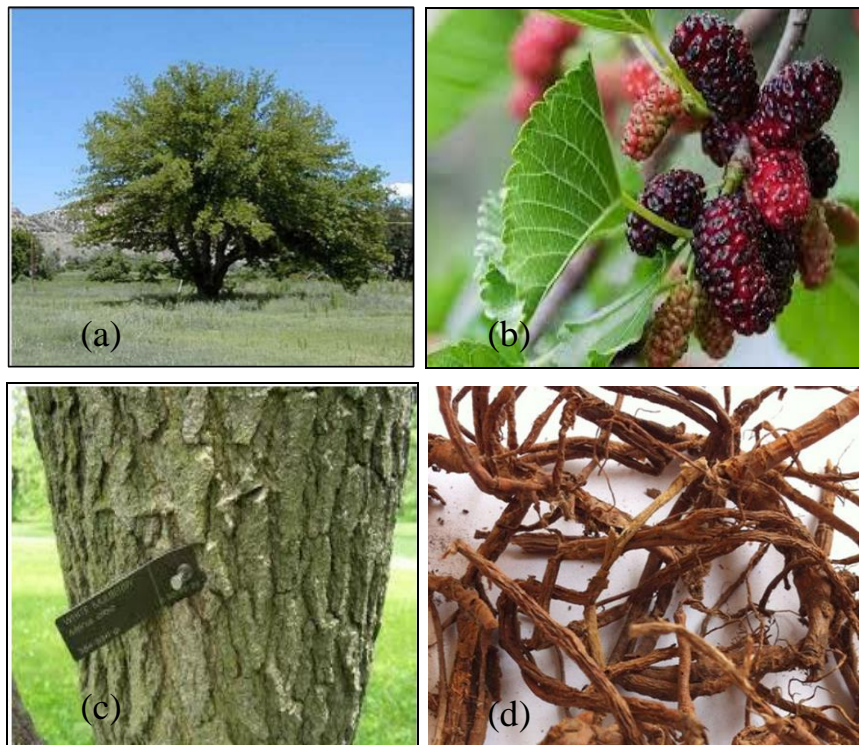
Tên tiếng Việt: Dâu tằm, Dâu cang, Tằm tang, Mạy môn.

Đặc điểm phân bố: Dâu tằm là loài thực vật có nguồn gốc từ khu vực Đông

Á, phân bố và sinh trưởng tốt tại các khu vực có nhiệt độ dao động từ 25 – 32 °C, như vùng thảo nguyên ôn đới mát mẻ, các khu rừng nhiệt đới khô. Loài cây này được trồng phổ biến tại rất nhiều quốc gia thuộc vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của Bắc bán cầu bao gồm: Trung Quốc, Nhật Bản, Nga, Ấn Độ, miền Nam châu Âu, ... và Việt Nam [17].

1.2.2. Đặc điểm hình thái

Dâu tằm là loài cây bụi, có tán rộng, đỉnh tròn, cao từ 15 – 20 m và đường kính thân vào khoảng 60 cm. Lá mọc xen kẽ, màu lục nhạt, chia thùy hoặc không chia thùy, có khía răng cưa, hình tim ở góc lá, mặt trên thường nhẵn, mặt dưới lá nhẵn hoặc có lông tơ, mặt cuống lá dài, chiều dài lá từ 8 – 12 cm khi cây có quả hoặc thậm chí lên đến 20 – 25 cm khi cây không có quả. Hoa nhỏ, có màu vàng lục và mọc thành chùm dày đặc, dài khoảng 2 cm, nhị hoa duỗi thẳng. Quả có màu thay đổi từ trắng đến hồng hoặc tím đen, hình trứng hoặc hình trụ thuôn dài từ 1 – 5 cm, khi chín có vị ngọt thanh và chua nhẹ. Tuổi thọ của Dâu tằm dao động từ 8 – 12 năm và có thể sinh trưởng tốt ở những điều kiện sống khắc nghiệt [17].



Hình 1.5. Một số hình ảnh về cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

- | | |
|---------------------|-------------------|
| a. Cây Dâu tằm | b. Trái Dâu tằm |
| c. Thân cây Dâu tằm | d. Rễ cây Dâu tằm |

1.2.3. Các nghiên cứu về thành phần hóa học

Rất nhiều các công trình nghiên cứu về thành phần hóa học trong các bộ phận của cây Dâu tằm, đặc biệt là vỏ, lá, rễ và trái, đã được công bố. Tuy nhiên, các nghiên cứu được thực hiện trên thân cây Dâu tằm vẫn còn rất hạn chế. Cụ thể:

1.2.3.1. Các nghiên cứu trên thế giới

- Năm 1978, nghiên cứu đầu tiên về thành phần hoá học trong vỏ rễ cây Dâu tằm đã được thực hiện bởi nhóm tác giả Taro Nomura, công bố quá trình phân lập bốn hợp chất flavone mới lần lượt là Kuwanon A, B, C (**1-3**) và Oxydihydromorusin (**4**) từ vỏ rễ cây [18];
- Năm 1983, từ nghiên cứu được thực hiện trên vỏ cây Dâu tằm, nhóm nghiên cứu Taro Nomura đã tiến hành phân lập được 7 hợp chất (**5-11**), với hai hợp chất flavonoid mới lần lượt là Kuwanon K (**5**) và L (**6**) [11];
- Vào năm 1994, Naoki Asano và cộng sự đã phân lập được 18 hợp chất đường chứa nguyên tố N (**12-29**) từ rễ và lá cây Dâu tằm [19];
- Tiếp tục vào năm 1996, hợp chất mới Oxyresveratrol 3'-O- β -Glucopyranoside (**30**) cùng các hợp chất cũ mulberroside A (**31**), *cis*-mulberroside A (**32**), oxyresveratrol (**33**) được nhóm nghiên cứu của Feng Qui cô lập từ vỏ cây Dâu tằm [20];
- Vào năm 1999, nhóm nghiên cứu Sun Yeou Kim đã tiến hành phân lập từ lá cây Dâu tằm chín hợp chất flavonoid (**34-42**), đồng thời hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất cũng đã được khảo sát [21];
- Năm 2001, cũng từ lá cây Dâu tằm, Kayo Doi và các cộng sự đã phân lập được 2 hợp chất prenylflavane mới (**43-44**), một hợp chất glycoside (**45**) và sáu hợp chất cũ bao gồm: quercitrin (**46**), astragalín (**47**), scopolin (**48**), skimmin (**49**), roseoside II (**50**) và benzyl D-glucopyranoside (**51**) [22]; Cùng năm, nhóm nghiên cứu của Naoki Asano tiếp tục khảo sát thành phần hóa học trong vỏ cây Dâu tằm và đã phân lập được 18 hợp chất polyhydroxylated alkaloid (**52-69**) [23];
- Vào năm 2002, rất nhiều nghiên cứu được tiến hành. Cụ thể, nhóm nghiên cứu Jiang Du đã phân lập được một hợp chất flavonoid mới là Moralbanone (**70**) và 7 hợp chất cũ (**71-77**) từ rễ cây Dâu tằm [24]; Genjiro Kusano và cộng sự báo cáo đã phân lập được 11 hợp chất mới (**78-88**) từ trái Dâu tằm bao gồm 5 hợp chất nortropane alkaloid và 6 hợp chất amino acid [25]; Hợp chất Mulberroside F (**89**) được phân lập bởi nhóm nghiên cứu của Sang Hee Lee, đồng thời hợp chất này cũng được

chứng minh là có thể được sử dụng như một chất làm trắng da tự nhiên [26]; Và quá trình phân lập 4 hợp chất 5,7-dihydroxycoumarin 7-methyl ether (**90**), cudraflavone B và C (**91-92**), oxyresveratrol (**93**) từ nhánh cây Dâu tằm khô đã được báo cáo bởi nhóm nghiên cứu của Huyncheol Oh [2]; Bên cạnh đó, chức năng bảo vệ gan và hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất này cũng được nhóm nghiên cứu tiến hành khảo sát.

- Năm 2004, nhóm nghiên cứu Hisayoshi Kofujita đã phân lập được hợp chất flavone mới 7,2',4',6'-tetrahydroxy-6-geranyl-flavanone (**94**) từ rễ cây Dâu tằm [27]; Cùng trong năm ấy, hai hợp chất Mulberofuran G (**95**) và Albanol B (**96**) cũng được phân lập từ vỏ cây Dâu tằm [28];
- Năm 2005, Abdel Nasser B. Singab đã tiến hành cô lập và thử nghiệm khả năng hỗ trợ điều trị tiểu đường của 5 hợp chất (dựa trên quá trình peroxy hóa lipid trên chuột mắc bệnh tiểu đường gây ra bởi tác nhân streptozotocin) Morusin (**97**), cyclomorusin (**98**), neo-cyclomorusin (**99**), moracin M (**100**) và kuwanon E (**101**) từ vỏ rễ cây Dâu tằm [29];
- Vào năm 2009, trong nghiên cứu về thành phần hóa học của rễ cây Dâu tằm, Mi Zhang và các cộng sự đã cô lập được 3 hợp chất moracin M (**100**), Steppogenin-4'-*O*- β -D-glucosiade (**102**), và Mullberroside A (**103**) [30]; Cùng năm ấy, Shu-Juan Piao và nhóm nghiên cứu đã báo cáo phân lập được 15 hợp chất (**104-112**) từ vỏ cây Dâu tằm với 5 hợp chất mới thuộc khung stilbene, benzofuran và coumarin glycoside [31];
- Năm 2010, nhóm nghiên cứu Yan Yang báo cáo đã phân lập được 6 dẫn xuất 2-arylbenzofuran (**113-118**) lần lượt là Moracin V-Y, Moracin N và P từ lá cây Dâu tằm [32]; Trong cùng năm, Yan Yang tiếp tục báo cáo sự phân lập của hai hợp chất chalcone mới Morachalcone B (**119**) và Morachalcone C (**120**) từ lá cây Dâu tằm [33]; Tiếp tục, nhóm nghiên cứu của Takashi Kikuchi phát hiện hai hợp chất Albanol A (**121**) và Mulberrofurane Q (**122**) từ rễ cây Dâu tằm [12];
- Vào năm 2012, Hua-Dong Chen và cộng sự lần đầu tiên công bố sự phân lập hợp chất Morusalbanol A (**123**), với khung sườn carbon mới, cùng dẫn xuất của hợp chất này (**124**)-một sản phẩm Diels-Alder tự nhiên, từ vỏ cây Dâu tằm, có tác dụng bảo vệ thần kinh [34]; Trong cùng năm, nhóm nghiên cứu Zhenzhong Yang báo cáo quá trình cô lập và đánh giá khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của 18 hợp chất (**125-142**) từ lá cây Dâu tằm [35];
- Trong năm 2013, nhóm nghiên cứu Yihai Wang đã tiến hành báo cáo 24

hợp chất (**143-166**) phân lập từ trái của cây Dâu tằm, đồng thời tác dụng chống tiểu đường, chống oxy hóa của những hợp chất cũng được nhóm khảo sát [36]; Cùng năm, từ cao methanol được điều chế từ vỏ thân cây Dâu tằm, Abuzer Ali và Mohd Ali đã báo cáo quá trình phân lập 6 hợp chất triterpenoid lần lượt là α -Amyrin acetate (**167**), Moruslanosteryl acetate (**168**), β -Amyrin- β -D-glucopyranoside (**169**), Moruslupeolic acid A (**170**), Moruslupeolic acid B (**171**) và Betulinic acid (**172**) [37];

- Năm 2014, Céline Rivière và các cộng sự đã tiến hành phân lập từ thân cây Dâu tằm 1 hợp chất coumarin – *iso*-scopoletin 6-(6-*O*- β -apiofuranosyl- β -glucopyranoside) (**173**); 3 hợp chất stilbene lần lượt là (*E*)-resveratrol (**174**), (*E*)-oxyresveratrol (**175**) và (*E*)-mulberroside A (**176**); và 4 hợp chất flavonoid lần lượt là steppogenin (**177**), dihydromonin (**178**), moracin M (**100**) và dihydromorin 7-*O*- β -glucopyranoside (**179**) [38];
- Năm 2015, nhóm tác giả Kyeong-Hwa Seo đã phân lập được 7 hợp chất từ trái của cây Dâu tằm bao gồm: artoindonesianin O (**180**), *iso*-bavachalcone (**181**), morachalcone A (**182**), quercetin (**183**), astragalín (**184**), *iso*-quercetin (**185**), và rutin (**186**), đồng thời tác dụng bảo vệ thần kinh của các hợp chất này cũng được thử nghiệm [39]; Cùng năm, nhóm nghiên cứu Jae-Woo Jung đã phân lập được 12 hợp chất (**187-198**) từ rễ cây Dâu tằm và đánh giá hoạt động bảo vệ gan và thần kinh của các hợp chất [40].

Như vậy, có thể khẳng định, các nghiên cứu tập trung vào khảo sát thành phần hóa học trên thân cây dâu tằm vẫn còn rất hạn chế. Trong đó, nổi bật là công bố của các nhóm nghiên cứu Oh H, et al. 2002 (tiến hành trên nhánh cây) [2], Rivière C, et al. 2014 (tiến hành trên thân cây) [38], Ali A & Ali M 2013 [37] (tiến hành trên vỏ thân cây). Các nghiên cứu trên đã chứng minh sự có mặt của đa dạng các nhóm hợp chất trong thân cây Dâu tằm, nổi bật như: flavonoid, prenylflavonoid, coumarin, stilbene, polyphenol, và triterpenoid.

Tuy nhiên, các nghiên cứu đã nêu bước đầu chỉ mới tiến hành đánh giá tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa đối với các hợp chất. Do đó, những đánh giá cụ thể về hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, đặc biệt đối với các hợp chất triterpenoid vẫn còn rất hạn chế. Sự hiện diện của hợp chất betulinic acid (**172**), một chất ức chế enzyme α -glucosidase mạnh cùng tiềm năng ứng dụng lớn trong sản xuất và điều chế các sản phẩm chức năng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường [41], trong thành phần hóa học của vỏ thân cây Dâu tằm [37] đã cho thấy tiềm năng của

các hợp chất triterpenoid có trong thành phần hóa học của thân cây Dâu tằm trong nghiên cứu và phân lập các hợp chất mới sở hữu hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.

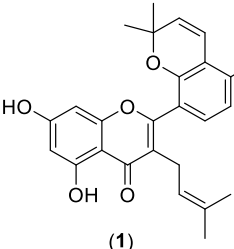
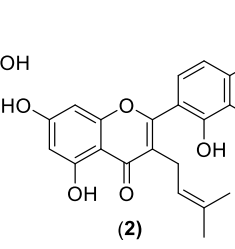
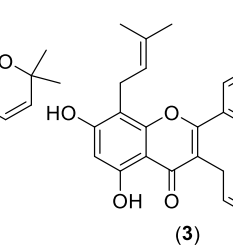
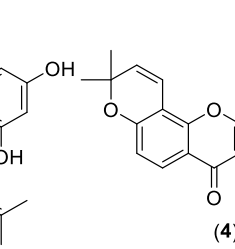
1.2.3.2. Các nghiên cứu trong nước

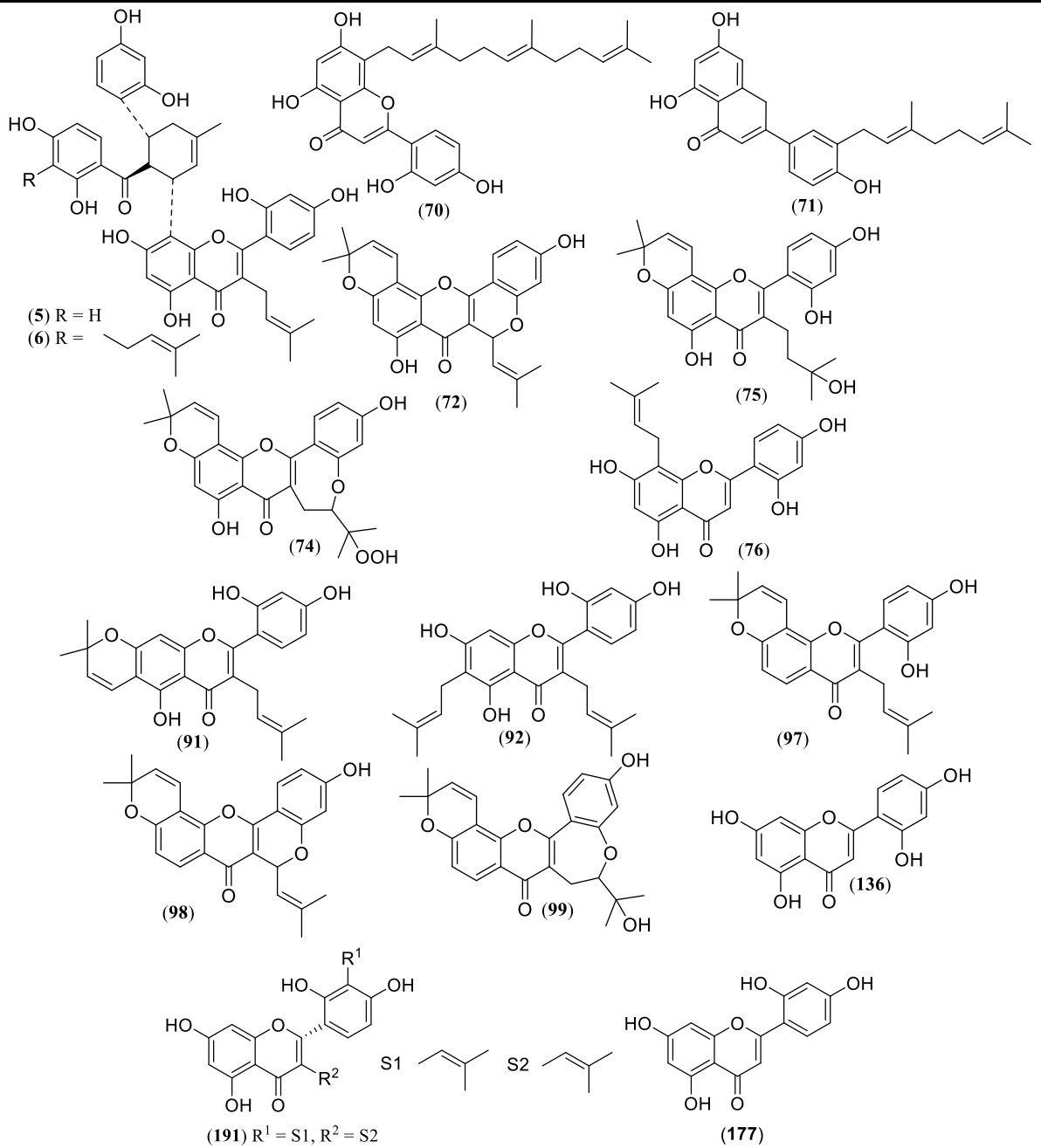
Theo tìm hiểu, đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học được thực hiện trên cây Dâu tằm sinh trưởng và phát triển tại Việt Nam, tuy nhiên vẫn còn rất hạn chế. Một số công bố nổi bật bao gồm:

- Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Vũ Đức Lợi đã thực hiện đề tài nghiên cứu trên lá cây dâu (*Morus alba* L.) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên và đã tiến hành phân lập được hai hợp chất kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**199**) và quercetin-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**200**) [42];
- Năm 2018, cũng từ mẫu lá cây Dâu tằm thu hái tại tỉnh Thái Nguyên, Trịnh Trọng Minh đã tiến hành phân lập 3 hợp chất lần lượt là maesopsin-4-*O*-glucosid (**201**), leonuriside A (**202**) và eriodictyol (**203**) [43].

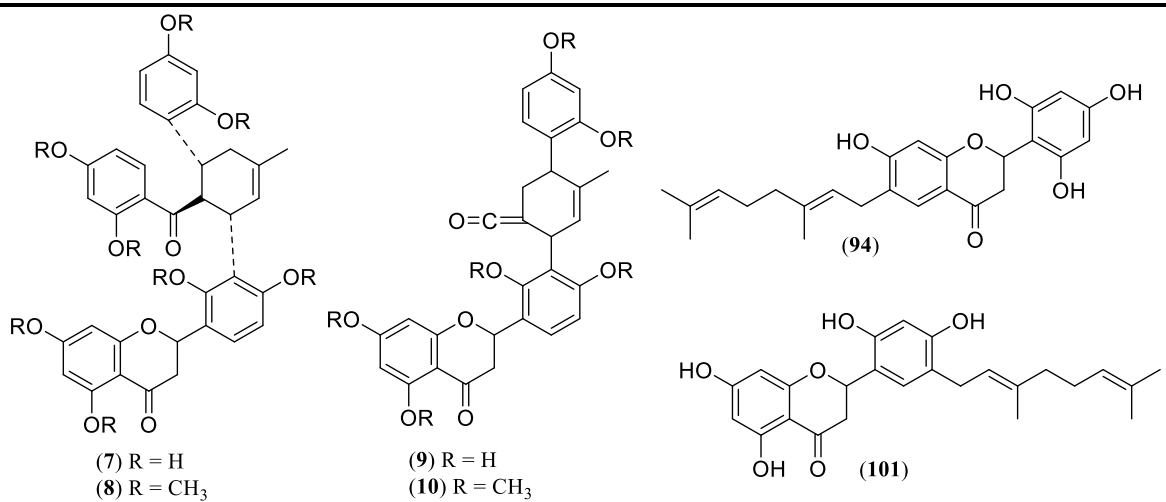
Công thức cấu tạo của một số hợp chất đã được phân lập trong các nghiên cứu về thành phần hóa học thực hiện trên các bộ phận của cây Dâu tằm *M. alba* L. ở trong và ngoài nước được tổng hợp và trình bày ở **Bảng 1.2**.

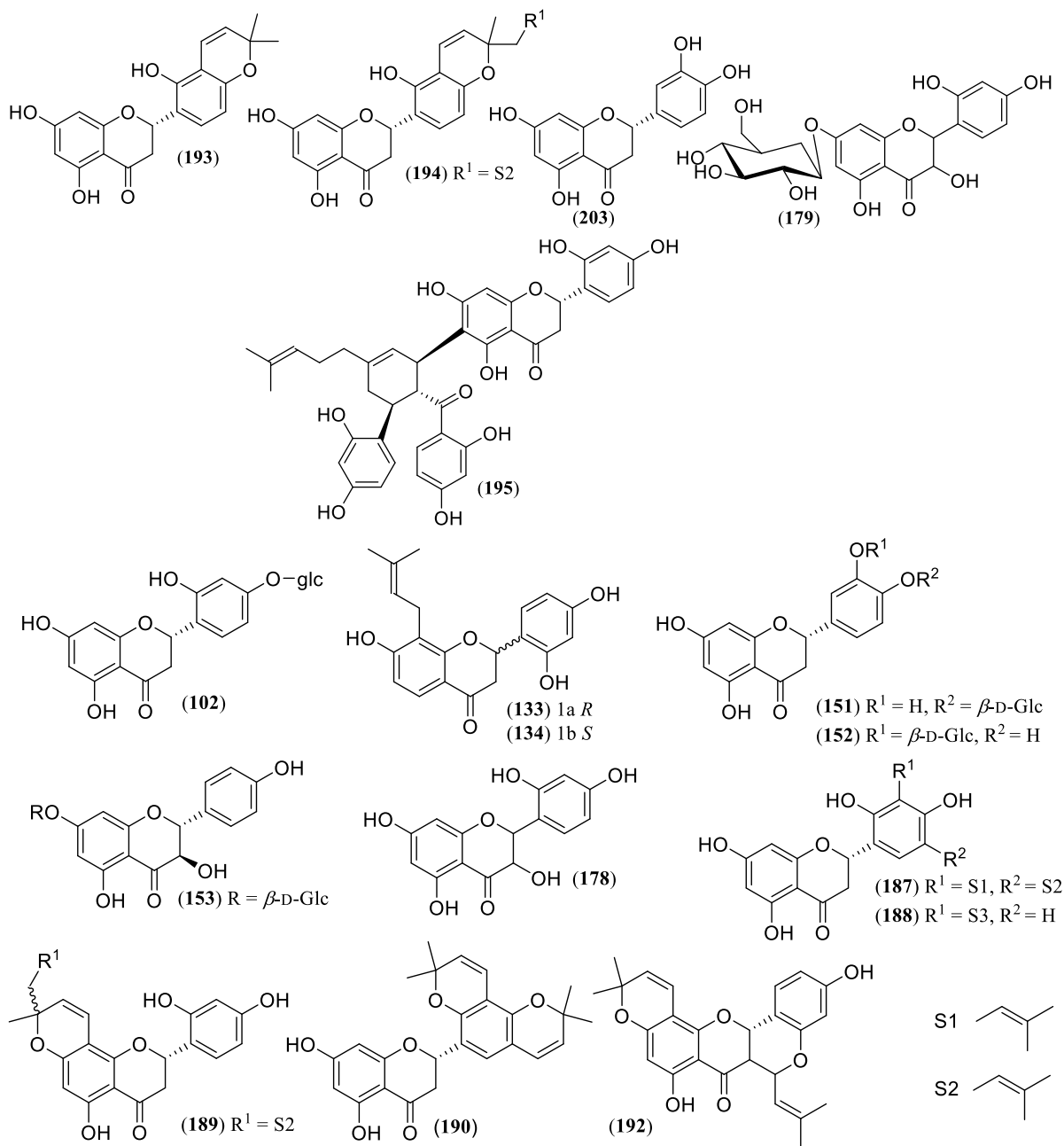
Bảng 1.2. Một số hợp chất cô lập từ các bộ phận của cây Dâu tằm.

Flavon			
 <p>(1)</p>	 <p>(2)</p>	 <p>(3)</p>	 <p>(4)</p>

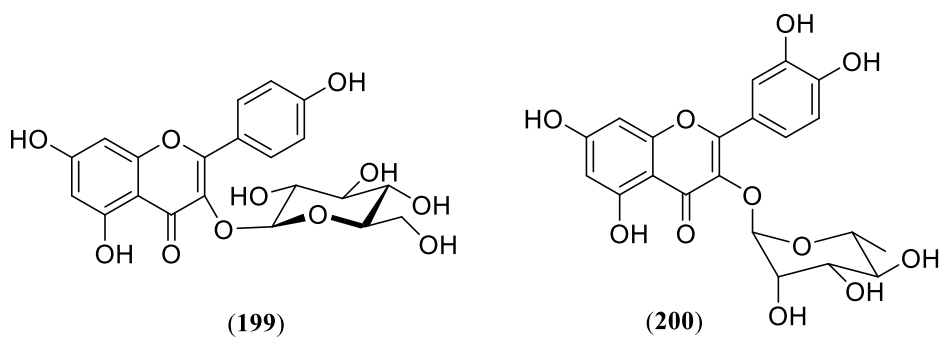


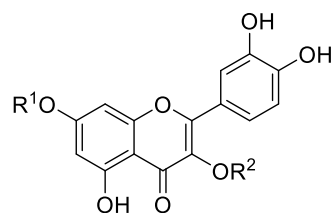
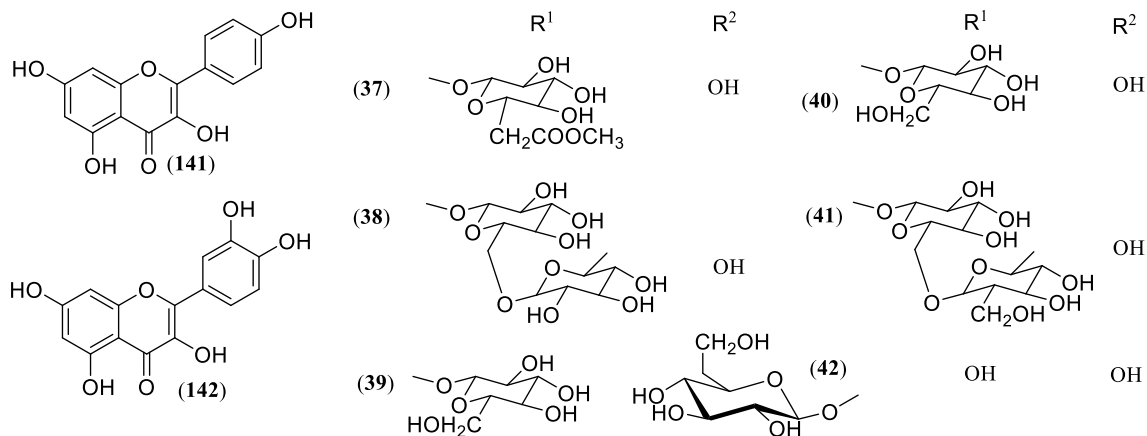
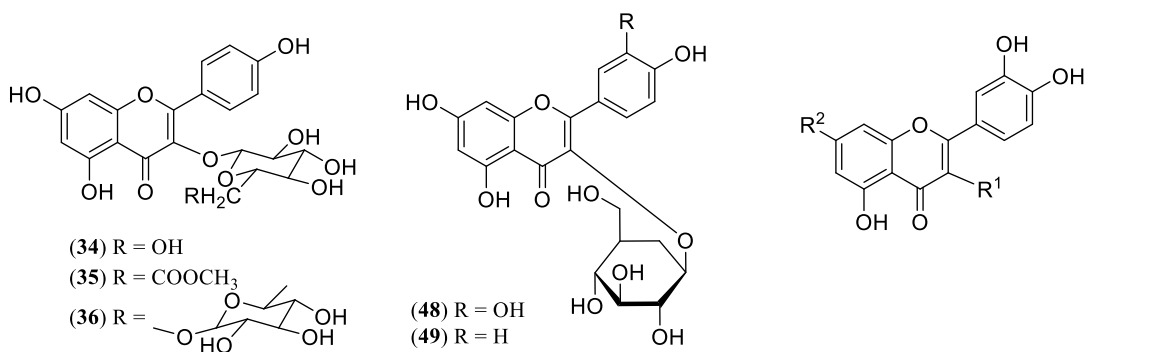
Flavonon



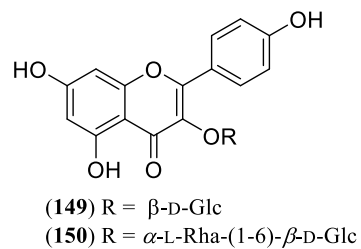
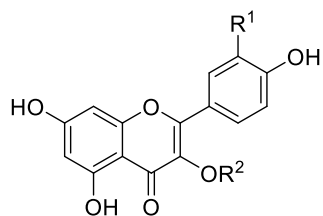


Flavonol

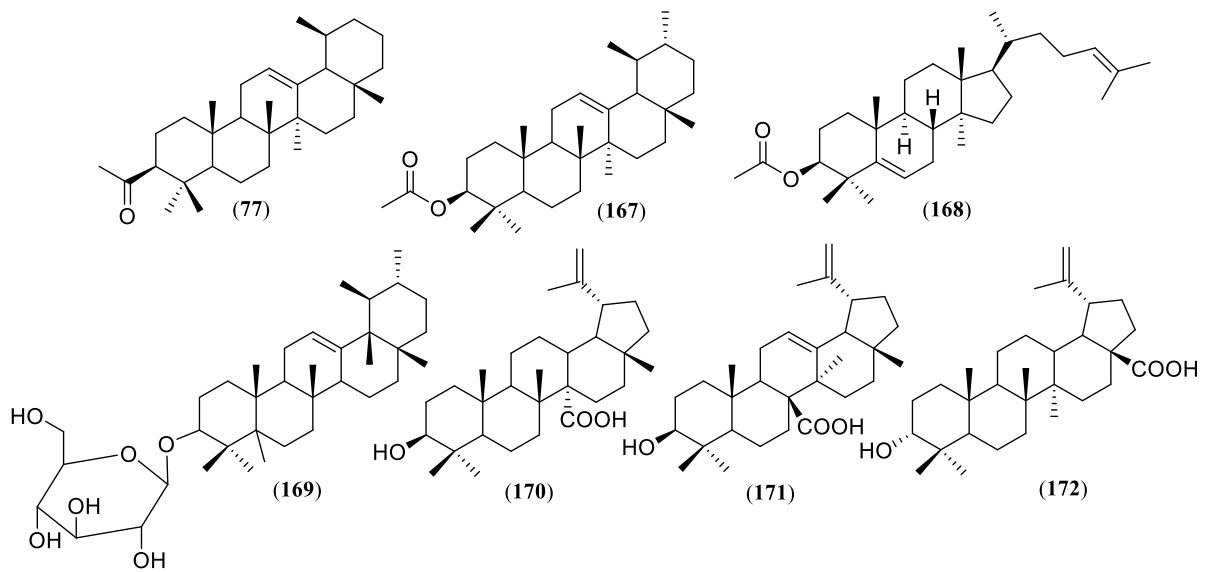




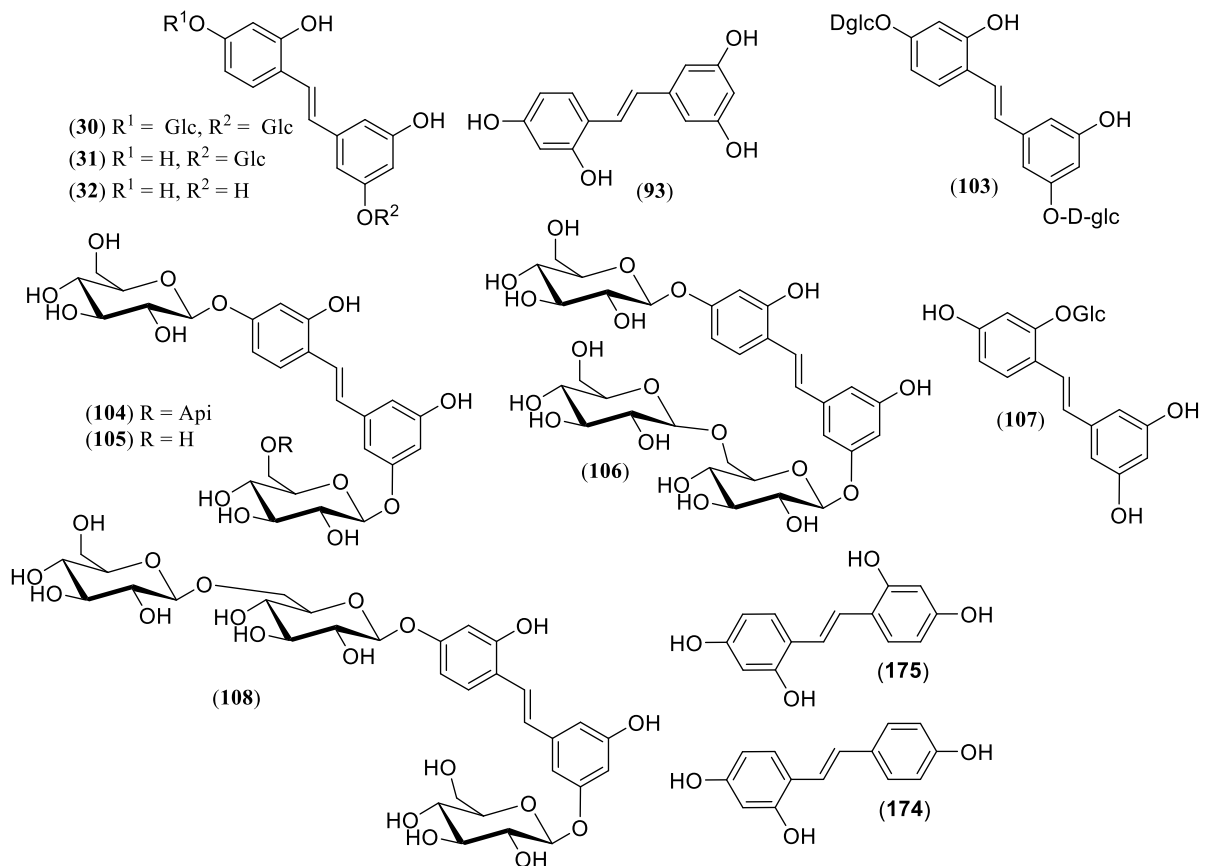
- (144) R¹ = H, R² = β -D-Glc
 (145) R¹ = H, R² = (6''-O-acetyl)- β -D-Glc
 (146) R¹ = H, R² = α -L-Rha-(1-6)- β -D-Glc
 (147) R¹ = β -D-Glc, R² = H
 (148) R¹ = β -D-Glc, R² = β -D-Glc



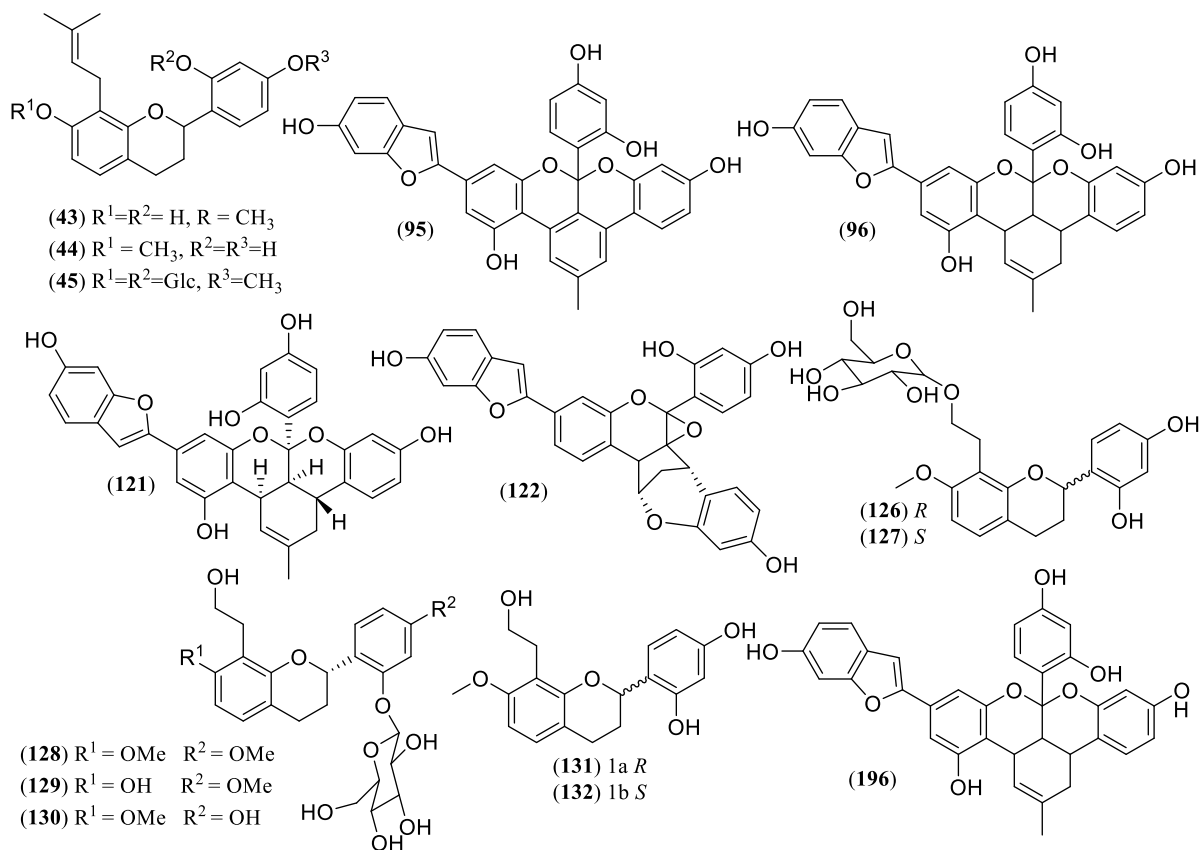
Triterpenoid



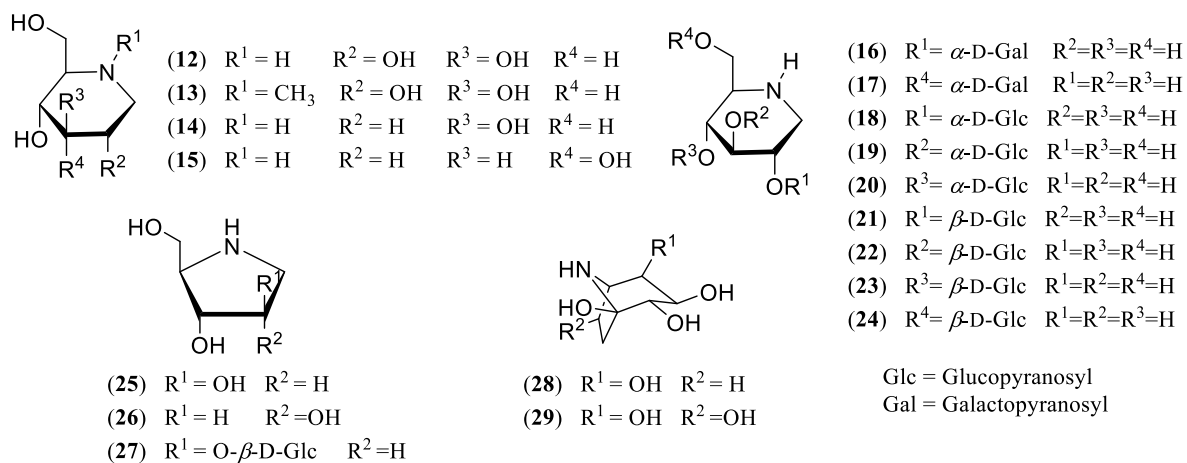
Stilbene

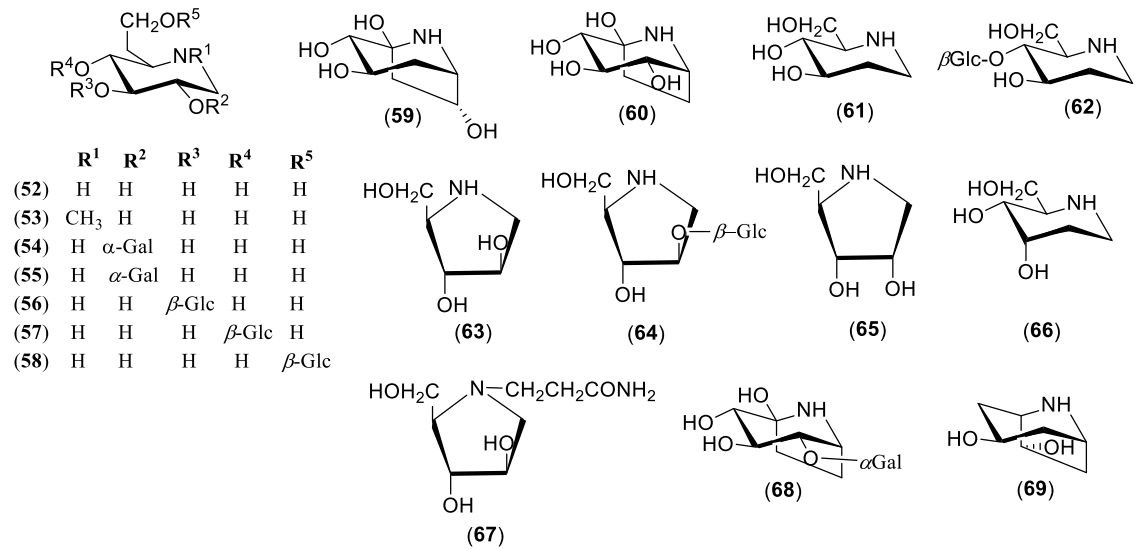


Prenylated flavane

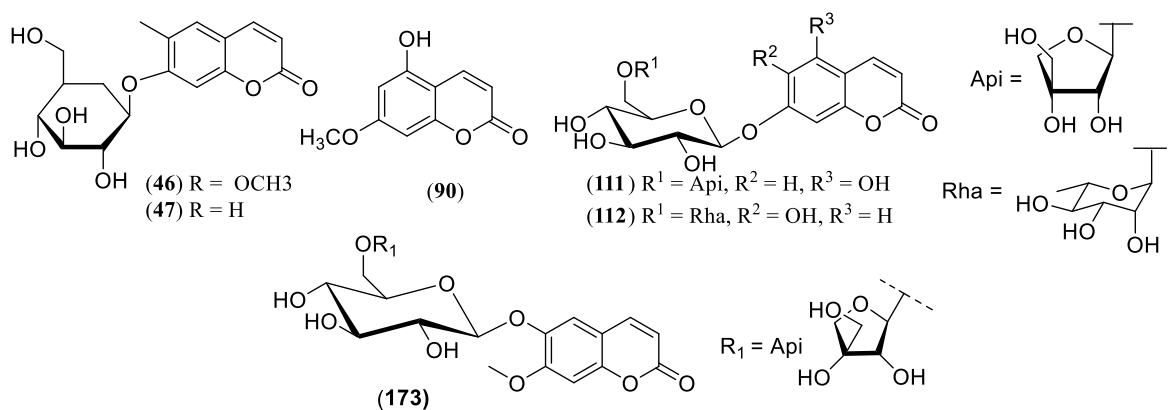


Alkaloid

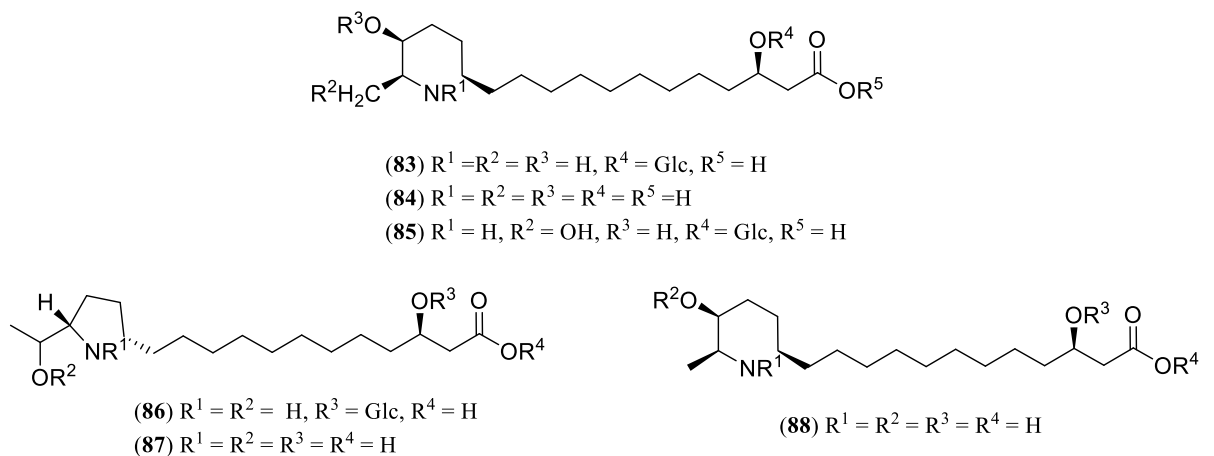




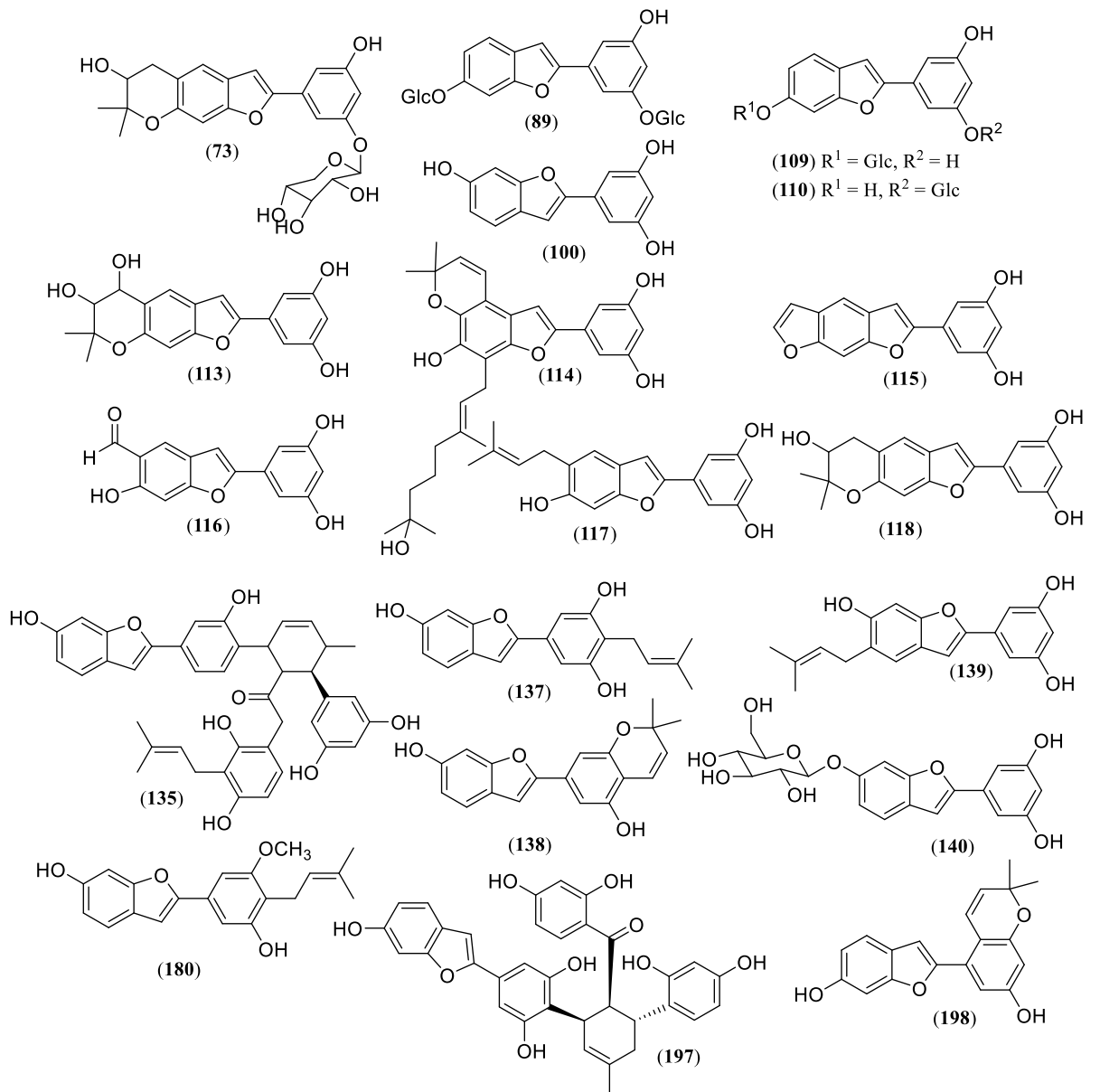
Coumarin



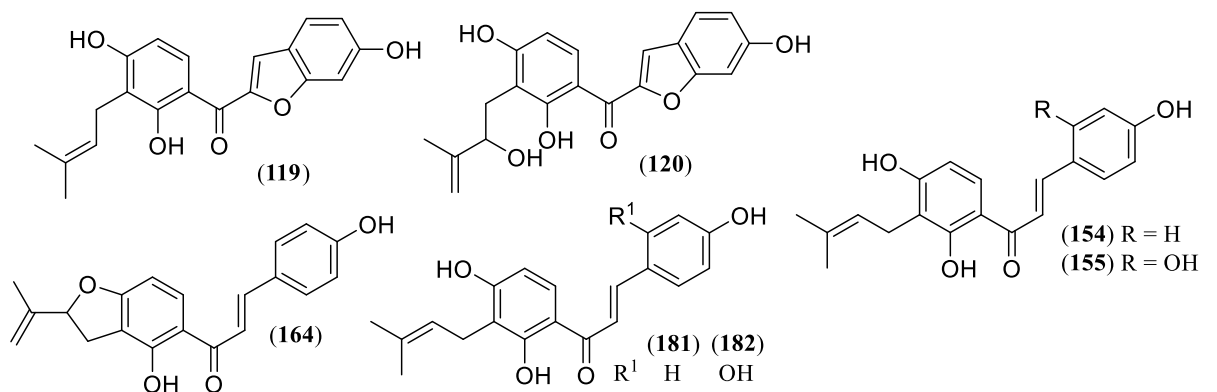
Amino acid



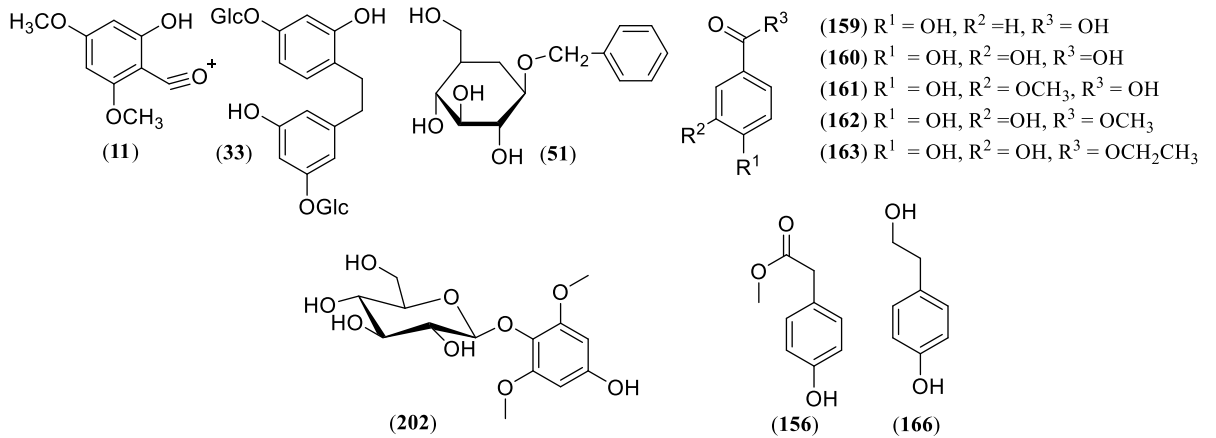
Benzofuran



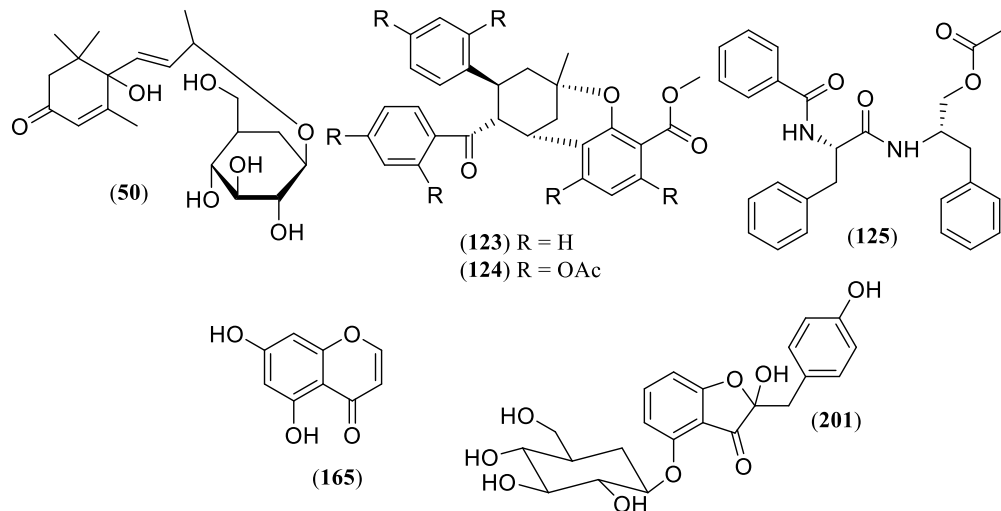
Chalcone



Phenolic



Một số hợp chất khác


1.2.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học

Theo y học cổ truyền, các bộ phận của cây Dâu tằm thường được sử dụng dưới dạng dược liệu trong nhiều bài thuốc điều trị nhiều chứng bệnh khác nhau. Có thể kể đến như: Hen xuyễn; Đau mắt; Nhức mũi; Khó tiểu; Tiểu không kiểm soát; Huyết áp cao; Viêm tuyến ngực,... Trong lĩnh vực y sinh, khi tiến hành khảo sát các hợp chất được phân lập từ cây Dâu tằm hoặc các cao chiết điều chế từ các bộ phận của cây, nhiều hoạt tính sinh học đã được ghi nhận:

- Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase [1];
- Tác dụng hạ đường huyết [2, 18]; Hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường [11];
- Khả năng gây độc tế bào [19-21]; Kháng ung thư [22];
- Kháng virus [23]; Kháng khuẩn [20, 24];

- Chống oxi hoá [11, 25-31]; Giảm mỡ máu [28];
- Kích hoạt đại thực bào [32];
- Điều hoà miễn dịch [33];
- Kháng viêm [12, 22];
- Hỗ trợ hoạt động và bảo vệ hệ thần kinh [34, 35];
- Bảo vệ hoạt động và chức năng gan [25, 35];

Đối với tác dụng điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh nhân đái tháo đường của thành phần hóa học của cây Dâu tằm, các khảo sát liên quan đã được tiến hành và cho thấy nhiều kết quả tiềm năng. Cụ thể:

- Năm 2005, trong quá trình khảo sát thành phần hóa học của cao chiết methanol điều chế từ vỏ rễ cây Dâu tằm, Abdel Nasser B. Singab và các cộng sự đã tiến hành phân lập và thử nghiệm khả năng hỗ trợ điều trị tiểu đường của thành phần flavonoid có trong bộ phận này. Áp dụng mô hình thử nghiệm *in vivo* trên chuột dựa trên quá trình peroxy hóa lipid gây mắc bệnh tiểu đường bởi tác nhân streptozotocin, các hợp chất flavonoid có trong thành phần của cao chiết đã được chứng minh là có tác dụng tích cực trong phục hồi các triệu chứng ở bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, cũng như giúp bảo vệ tế bào tuyến tụy khỏi sự thoái hóa [29];
- Năm 2009, trong nghiên cứu về thành phần hóa học của rễ cây Dâu tằm, Mi Zhang và các cộng sự đã cô lập được 3 hợp chất Moracin M (**102**), Steppogenin-4'-O- β -D-glucosiade (**103**), và Mullberroside A (**104**) từ cao chiết ethanol. Tiến hành thử nghiệm *in vivo* trên chuột sử dụng tác nhân gây tiểu đường là Alloxan, các hợp chất phân lập đã được chứng minh có tác dụng làm giảm chỉ số đường huyết trong máu, ở liều dùng trong khoảng 50-100 mg/kg [30];
- Năm 2013, nhóm nghiên cứu Yihai Wang đã tiến hành khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase đối với cao chiết ethyl acetate điều chế từ trái Dâu tằm. Kết quả khảo sát cho thấy cao chiết từ trái Dâu tằm thể hiện hoạt tính ức chế với chỉ số IC_{50} được ghi nhận là $72,01 \pm 4,18$ mg/L, tốt hơn khi so sánh với chất chứng dương Acarbose - $IC_{50} = 77,05 \pm 6,10$ mg/L [36].

Như vậy, có thể khẳng định, các bộ phận của cây Dâu tằm, đặc biệt là thân cây, là những đối tượng nghiên cứu đầy tiềm năng trong khảo sát thành phần hóa học, nhằm phát hiện những hợp chất có khả năng ức chế tốt enzyme α -glucosidase, ứng dụng trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:**

Thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được thu hái tại Bình Định. Mẫu thân cây Dâu tằm được định danh bởi TS. Lưu Hồng Trường – Viện trưởng Viện Sinh thái học miền Nam – Thành phố Hồ Chí Minh.

- **Phạm vi nghiên cứu:**

*Khảo sát thành phần hóa học trên cao phân đoạn điều chế từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được thu hái tại Bình Định.* Các nghiên cứu đã được tiến hành về cây Dâu tằm sinh trưởng và phát triển tại Việt Nam hiện chỉ mới tập trung vào đánh giá các mẫu lá được thu hái tại tỉnh Thái Nguyên [42, 43]. Bên cạnh đó, dâu tằm được xem là cây trồng chủ lực trong phát triển và mở rộng các làng nghề trồng dâu nuôi tằm trên địa bàn tỉnh Bình Định, với hơn 40 ha Dâu tằm tại thôn Vạn Khánh. Do đó, Dâu tằm tại tỉnh Bình Định là đối tượng nghiên cứu phù hợp khi bắt nguồn từ khu vực có trữ lượng lớn, cùng chất lượng được đảm bảo.

Thử nghiệm và đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase ở các hợp chất phân lập được. Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm hợp chất tự nhiên thuộc Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng (IFAS) – Trường Đại học Duy Tân, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Hóa chất và thiết bị

2.2.1. Hóa chất

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm:

- Các dung môi hữu cơ được dùng trong các quá trình ly trích, sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng bao gồm: *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, acetone, methanol, ethanol 96 % (Trung Quốc và Việt Nam) và nước cất;
- Thuốc thử dùng để phát hiện các vết hữu cơ bằng phương pháp sắc ký bản mỏng: sulfuric acid (H_2SO_4) 10 % trong ethanol (hơ nóng trên bếp điện);
- Silica gel dùng cho sắc ký cột: (1) Pha thường, cỡ hạt 0,04 – 0,06 mm (240 – 430 mesh) Merck; (2) Pha đảo, Rp-18 cỡ hạt 0,03 – 0,05 mm; (3) Sephadex LH-20;
- Sắc ký bản mỏng tráng sẵn: (1) DC - Alufolien F254 (Merck) dùng cho sắc ký bản mỏng pha thường và (2) Rp-18 F254s (Merck) dùng cho sắc ký bản mỏng pha đảo.

2.2.2. Thiết bị

Các thiết bị và dụng cụ được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm:

- Dụng cụ dùng để li trích: erlen, ống nghiệm, pipet pasteur, hủ bi,...;
- Bình cô quay (100, 250, 500 mL); Cốc thủy tinh (250, 500, 1000 mL); Ống đong (10, 50, 100 mL);
- Cột sắc ký;
- Ống vi quản (Kapillaren) dùng cho sắc ký bản mỏng;
- Kẹp gấp bản mỏng;
- Giấy lọc Advantec (Nhật Bản);
- Hệ thống cô quay chân không ở áp suất thấp Heidolph Hei-VAP Precision (Heidolph-Germany);
- Bếp điện từ; Tủ sấy (Mermmert); Tủ lạnh;
- Đèn UV ở bước sóng 254 - 365 nm;
- Máy khối phổ HR-ESI-MS (Bruker MicroOTOF-Q 10187); Máy cộng hưởng từ hạt nhân (BRUKER AVANCE) - tần số 400-600 MHz đối với phổ $^1\text{H-NMR}$ và 100-150 MHz đối với phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Máy quang phổ Shimadzu UV-1800 (Shimadzu Pte., Ltd).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu hái, xử lý mẫu thân cây Dâu tằm

Mẫu thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được thu hái, rửa sạch, làm khô tự nhiên và được xay nhuyễn thành bột khô. Mẫu bột khô được bảo quản tại nhiệt độ phòng và điều kiện khô ráo, chuẩn bị cho các giai đoạn thực nghiệm tiếp theo.

2.3.2. Điều chế cao phân đoạn

6 kg mẫu bột thu được từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được ngâm trong dung môi ethanol (10L x 3) tại nhiệt độ phòng. Sau đó, tiến hành lọc dung dịch ngâm để loại bỏ tạp chất rắn, đồng thời thực hiện cô quay dưới áp suất thấp để loại bỏ dung môi và thu được cao tổng ethanol (**DET**), khối lượng 40 g. Thực hiện sắc ký khối lượng Sephadex LH-20 trên cao **DET**, sử dụng hệ dung môi giải ly chloroform : methanol (3:7, v/v) để thu được ba phân đoạn lần lượt là **DET1** (1,825 g), **DET2** (12,402 g) và **DET3** (4,380 g).

2.3.3. Quy trình phân lập hợp chất

2.3.3.1. Phương pháp sắc ký

- **Sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography – TLC):**

Quá trình sắc ký được thực hiện trên một bản mỏng, đã được tráng sẵn một lớp DC-Alufoalien 60 F254 (Merck 1,05715) (đối với sắc ký lớp mỏng pha thường) hoặc Rp-18 F254S (Merck) (đối với sắc lý lớp mỏng pha đảo). Các phân tử hữu cơ sẽ được phát hiện bằng cách sử dụng đèn UV ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm, hoặc bằng cách tráng đều bề mặt bản sắc ký bằng dung dịch H₂SO₄ 10% rồi sấy khô và hơ nóng từ từ trên bếp điện cho đến khi hiện màu;

- **Sắc ký lớp mỏng điều chế:**

Phương pháp sắc ký này được thực hiện trên bản mỏng tương tự như phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC). Sau khi quá trình giải ly được tiến hành, vị trí và sự phân tách của các phân tử hữu cơ sẽ được xác định bằng đèn tử ngoại hoặc bằng thuốc thử dung dịch H₂SO₄ 10 % tương tự như sắc ký lớp mỏng. Lớp silica gel ứng với vị trí hợp chất hữu cơ cần phân lập được cạo sạch, và sau đó quá trình giải hấp phụ sử dụng dung môi thích hợp được tiến hành để thu được hợp chất tinh, sạch.

- **Sắc ký cột (Column Chromatography – CC):**

Quá trình sắc ký được tiến hành với chất hấp phụ được nhồi trong một cột thủy tinh. Các chất hấp phụ thường được sử dụng như: Silica gel pha thường (cỡ hạt 0,040–0,063 mm; 240 – 430 mesh); Silica gel pha đảo ODS; hoặc Sephadex LH20.

2.3.3.2. Quy trình phân lập

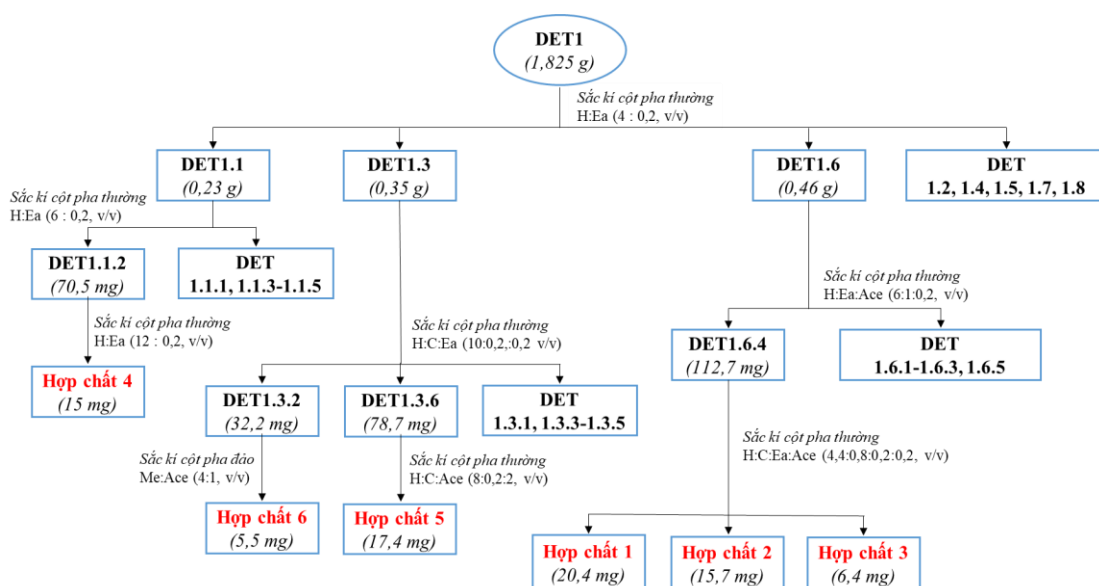
Quy trình phân lập được thực hiện dựa trên tham khảo các nghiên cứu đã được công bố về khảo sát thành phần hóa học được thực hiện trên các bộ phận của thân cây Dâu tằm như: nhánh cây [2], thân cây [38], và trên vỏ thân cây [37], với một số thay đổi để phù hợp với điều kiện thực tế. Quy trình phân lập cụ thể như sau:

Tiến hành sắc ký cột pha thường trên phân đoạn **DET1** đã chuẩn bị, sử dụng hệ dung môi giải ly *n*-hexane : ethyl acetate (4:0,2 v/v) để thu được tám phân đoạn **DET1.1- DET1.8**. Tiếp tục thực hiện sắc ký cột pha thường trên phân đoạn **DET1.1** (0,23 g) với hệ dung môi giải ly *n*-hexane : ethyl acetate (6:0,2, v/v), thu được năm phân đoạn **DET1.1.1-DET1.1.5**. Phương pháp sắc ký cột pha thường sử dụng hệ dung môi giải ly *n*-hexane : ethyl acetate (12:0,2, v/v) được tiến hành trên phân đoạn **DET1.1.2** (70,5 mg) để thu được hợp chất **4** (15 mg).

Đến phân đoạn **DET1.3** (0,35 g), phương pháp sắc ký cột pha thường sử dụng hệ dung môi giải ly *n*-hexane : chloroform : ethyl acetate (10:0,2:0,2, v/v) được tiến hành và thu được sáu phân đoạn **DET1.3.1-DET1.3.6**. Thực hiện phương pháp sắc ký cột pha đảo trên phân đoạn **DET1.3.2** (32,2 mg), giải ly bằng hệ dung môi methanol : acetone (4:1, v/v), thu được hợp chất **6** (5,5 mg). Phân đoạn **DET1.3.6** (78,7 mg) tiếp tục được thực hiện phương pháp sắc ký cột pha thường, giải ly bằng

hệ dung môi *n*-hexane : chloroform : acetone (8:0,2:2 giọt, v/v), thu được hợp chất **5** (17,4 mg).

Tiếp tục tiến hành phương pháp sắc ký cột pha thường trên phân đoạn **DET1.6** (0,46 g), sử dụng hệ dung môi *n*-hexane : ethyl acetate : acetone (6:1:0,2, v/v), thu được năm phân đoạn **DET1.6.1-DET1.6.5**. Phân đoạn **DET1.6.4** (112,7 mg) tiếp tục được áp dụng phương pháp sắc ký cột pha thường và giải ly bằng hệ dung môi *n*-hexane : chloroform : ethyl acetate : acetone (4,4:0,8:0,2:0,2, v/v) để thu được hợp chất **1** (20,4 mg), hợp chất **2** (15,7 mg) và hợp chất **3** (6,4 mg).



Hình 2.1. Quy trình phân lập các hợp chất từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

2.3.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập

- Khối phổ (HR-ESI-MS): Máy HR-ESI-MS (Bruker MicroOTOF–Q 10187);
- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân – NMR (i) 1D-NMR ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$), (ii) 2D-NMR (HSQC, HMBC, COSY, NOESY): Máy cộng hưởng từ hạt nhân (BRUKER AVANCE) - tần số 400-600 MHz (phổ $^1\text{H-NMR}$) và 100-125 MHz (phổ $^{13}\text{C-NMR}$) tại Trung tâm phổ ứng dụng – Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Hà Nội) và Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3.4. Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

- **Nguyên tắc:**

α -Glucosidase là một enzyme được tiết ra từ ruột non có vai trò chuyển hóa phân tử đường oligosaccharide thành các phân tử đường đơn. Quá trình khảo sát

hoạt tính ức chế α -glucosidase dựa trên quá trình chuyển hóa *p*NPG (*p*-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside) thành α -D-glucose và *p*-nitrophenol (*p*-NP) được thực hiện bởi enzyme α -glucosidase. Theo đó, lượng glucose sinh ra sẽ tỉ lệ với lượng *p*-NP. Như vậy, khi một hợp chất có khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase, đồng nghĩa với sự suy giảm lượng *p*-NP được tạo thành. Trên cơ sở đó, bằng cách xác định và so sánh độ hấp thụ của *p*-NP ở bước sóng 401 nm khi có và không có chất ức chế, khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của mẫu khảo sát sẽ có thể được tính toán dựa trên lượng α -D-glucose sinh ra.

- **Quy trình thực nghiệm:**

Quy trình khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên các cao phân đoạn và hợp chất đã phân lập được tiến hành dựa trên quy trình của Le T.H. et al. [44].

Bước 1: Hỗn hợp gồm 50 μ L *p*NPG (3 mM) và 50 μ L dung dịch α -glucosidase (0,1 U/mL) được chuẩn bị trong dung dịch đệm kali photphat 0,01 M và được ủ ở nhiệt độ phòng trong thời gian 15 phút;

Bước 2: Hỗn hợp đã chuẩn bị sau đó được thêm vào 525 μ L dung dịch mẫu ở các nồng độ khác nhau để tiến hành phản ứng. Mỗi phản ứng được tiến hành ở 37°C trong vòng 30 phút.

Bước 3: 375 μ L Na_2CO_3 0,1 M được thêm vào để hoàn thành phản ứng. Mật độ quang của dung dịch sau phản ứng được xác định ở bước sóng 401 nm, sử dụng máy quang phổ Shimadzu UV-1800 (Shimadzu Pte., Ltd);

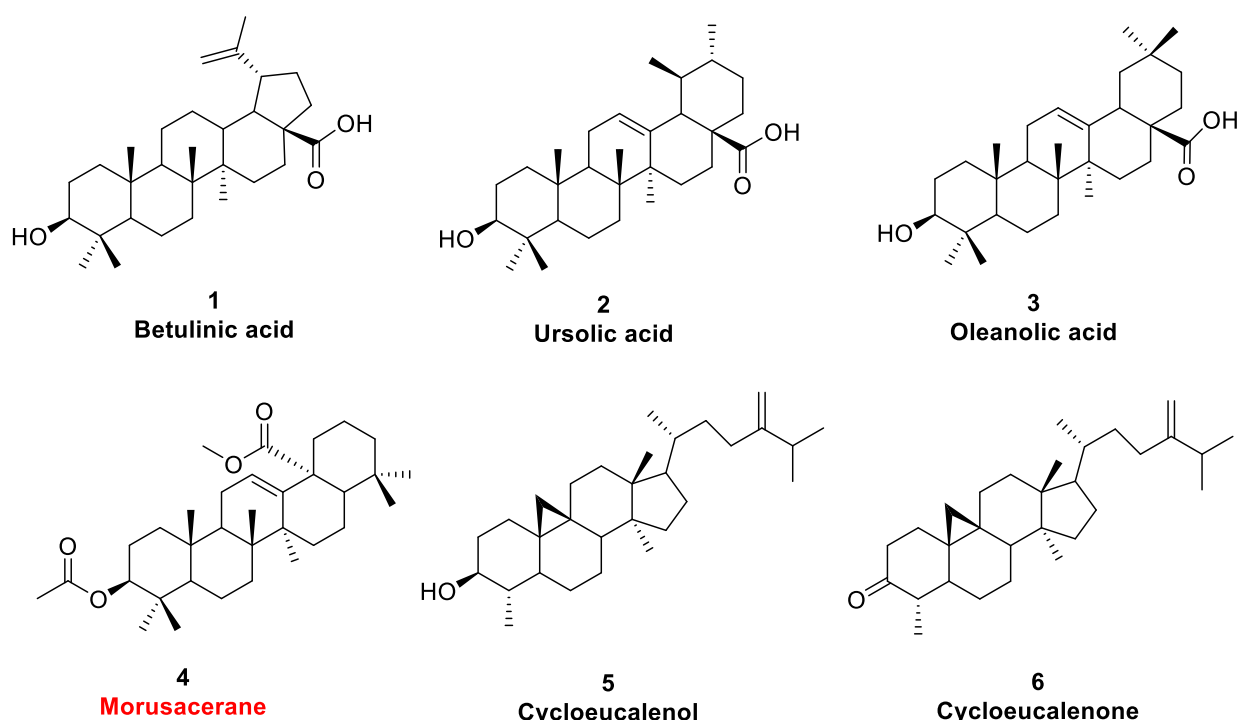
Bước 4: Tất cả các mẫu được lặp lại thí nghiệm 3 lần với các nồng độ khác nhau để xác định giá trị IC_{50} . Phần trăm ức chế được xác định bởi phương trình:

$$\text{Khả năng ức chế (\%)} = [1 - (A_{\text{mẫu}}/A_{\text{đối chứng}})] \times 100$$

Giá trị IC_{50} của các hợp chất phân lập được so sánh với chất chứng dương Acarbose nhằm đánh giá khả năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị bệnh nhân đái tháo đường.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đề tài nghiên cứu đã tiến hành điều chế cao ethanol và các cao phân đoạn **DET1 – 3** từ mẫu thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được thu hái tại Bình Định. Tiến hành các phương pháp sắc ký trên cao phân đoạn **DET1** được điều chế, 6 hợp chất triterpenoid đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học dựa trên các phương pháp phổ nghiệm và so sánh với các tài liệu nghiên cứu đã được công bố. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được trình bày như ở **Hình 3.1**.



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.).

3.1. Kết quả xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập

3.1.1. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 1

Hợp chất **1** (20,4 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

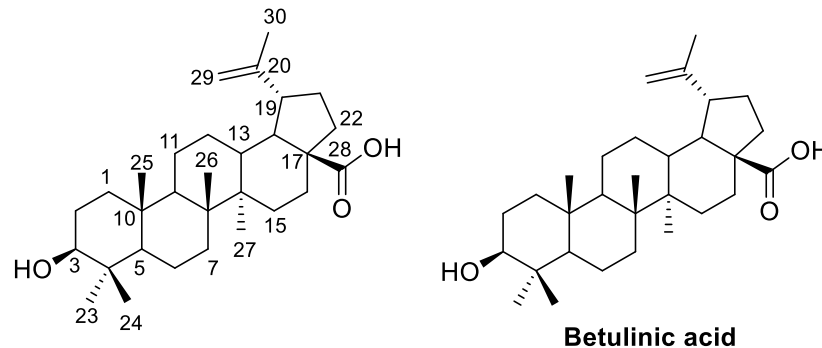
❖ Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ (đo trong $\text{DMSO-}d_6$, **Phụ lục 1, 2, 3, 4**).

Biện luận cấu trúc:

Phân tích dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) của hợp chất **1** cho thấy sự hiện diện của các tín hiệu proton δ_{H} (ppm): 12,05 (1H, *s*, 28-COOH), 4,68 (1H, *d*, $J = 2,8$ Hz, H-29b), 4,56 (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz, H-29), 4,26 (1H, *d*, 5,2 Hz, 3-OH), 1,64 (3H, *br s*, H-30), 0,93 (3H, *s*, H-27), 0,87 (3H, *s*, H-23), 0,86 (3H, *s*, H-25), 0,76

(3H, *s*, H-26), 0,65 (3H, *s*, H-24). Trong đó, nổi bật là sáu tín hiệu proton nhóm methyl lần lượt tại δ_H (ppm): 1,64, 0,93, 0,87, 0,86, 0,76, 0,65, hai tín hiệu proton methine không no lần lượt tại δ_H (ppm): 4,68 và 4,56. Bên cạnh đó, một loạt các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển trong khoảng từ 1,80 – 1,20 ppm.

Tiếp tục phân tích dữ liệu phổ ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) của hợp chất **1** cho thấy sự hiện diện của 30 tín hiệu carbon. Trong đó, các tín hiệu nổi bật bao gồm: một tín hiệu carbon carboxyl tại δ_C (ppm): 177,7 (C-28); một tín hiệu carbon oxymethine tại δ_C (ppm): 78,6 (C-3), đặc biệt là hai tín hiệu carbon olefine lần lượt tại δ_C (ppm): 150,8 (C-20) và 110,1 (C-29); và sáu tín hiệu carbon nhóm methyl lần lượt tại δ_C (ppm): 28,6 (C-23), 19,4 (C-30), 16,4 (C-26), 16,3 (C-25), 16,2 (C-24) và 14,9 (C-27). Như vậy có thể khẳng định hợp chất **1** là một hợp chất triterpenoid thuộc khung lupane với sự hiện diện của một nhóm chức hydroxyl (-OH) và một nhóm chức carboxyl (-COOH) trong cấu trúc. So sánh các dữ liệu phổ thu được của hợp chất **1** với dữ liệu phổ đã được công bố của hợp chất betulinic acid [45] (**Bảng 3.1**) cho thấy nhiều sự tương đồng. Từ đó, hợp chất **1** được xác định là betulinic acid (**Hình 3.2**).



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất **1**.

Bảng 3.1. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **1** và hợp chất betulinic acid.

No.	Hợp chất 1		Betulinic acid [45]	
	δ_H^a (ppm), J (Hz)	δ_C^a (ppm)	δ_H^a (ppm), J (Hz)	δ_C^a (ppm)
1		39,0		38,9
2		27,6		27,6
3	2,97 (<i>m</i>)	77,3	2,97 (<i>m</i>)	77,2
4		38,7		38,7
5		55,4		55,3
6		18,4		18,4
7		36,8		36,8
8		40,7		40,9

9		50,4		50,4
10		37,2		37,2
11		20,9		20,9
12		25,6		25,5
13		38,1		38,0
14		42,5		42,4
15		30,6		30,6
16		34,4		34,4
17		55,9		55,8
18		47,1		47,0
19	2,91 (<i>m</i>)	49,0	2,90 (<i>m</i>)	48,9
20		150,8		150,8
21		29,6		29,6
22		38,8		38,9
23	0,87 (<i>s</i>)	28,6	0,88 (<i>s</i>)	28,5
24	0,65 (<i>s</i>)	16,2	0,69 (<i>s</i>)	14,8
25	0,86 (<i>s</i>)	16,3	0,88 (<i>s</i>)	16,2
26	0,76 (<i>s</i>)	16,4	0,75 (<i>s</i>)	16,4
27	0,93 (<i>s</i>)	14,9	0,95 (<i>s</i>)	14,4
28	-	177,7	-	177,7
29	4,68 (<i>d</i> , 2,8) 4,56 (<i>d</i> , 2,8)	110,1	4,70 (<i>d</i> , 2,3) 4,58 (<i>d</i> , 2,3)	110,0
30	1,64 (<i>br s</i>)	19,4	1,63 (<i>br s</i>)	19,6
3-OH	4,26 (<i>d</i> , 5,2 Hz)			
28-COOH	12,05 (<i>s</i>)			

^a Phổ được đo trong dung môi DMSO-*d*₆, tần số máy 400 MHz – 100 MHz

3.1.2. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 2

Hợp chất **2** (15,7 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

❖ Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (đo trong DMSO-*d*₆, **Phụ lục 5, 6, 7**).

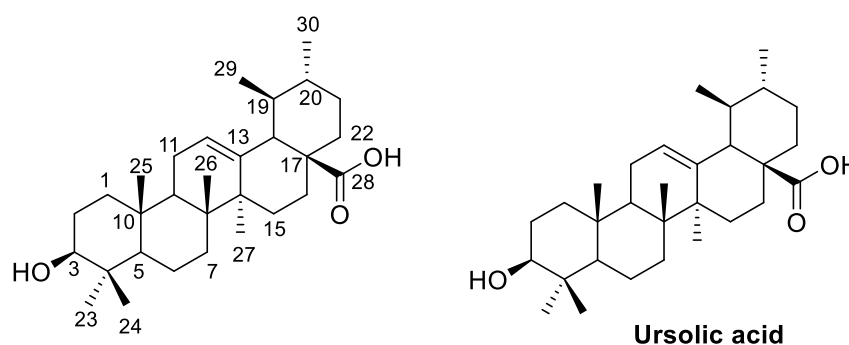
Biện luận cấu trúc:

Phân tích dữ liệu phổ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) của hợp chất **2** cho thấy sự hiện diện của các tín hiệu proton nổi bật bao gồm: một tín hiệu proton olefin tại δ_H (ppm): 5,13 (1H, *t*, *J* = 3,6 Hz, H-12); một tín hiệu proton nhóm hydroxyl tại δ_H (ppm): 4,28 (1H, *d*, *J* = 5,4 Hz, 3-OH); một tín hiệu proton oxymethine tại δ_H (ppm): 3,00 (1H, *m*, H-3); năm tín hiệu proton nhóm methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_H (ppm): 1,04 (3H, *s*, H-23), 0,91 (6H, *s*, H-26, H-27), 0,89 (3H, *s*, H-24); 0,75 (3H, *s*, H-25); hai tín hiệu proton nhóm methyl liên kết với carbon methine no lần lượt tại δ_H (ppm): 0,84 (3H, *d*, *J* = 6,6 Hz, H-30), 0,81 (3H, *d*, *J* =

6,0 Hz, H-29); và các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao với độ dịch chuyển phân bố trong khoảng từ 1,80 – 1,20 ppm.

Tiến hành phân tích dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **2** giúp xác nhận cấu trúc của hợp chất với 30 tín hiệu carbon. Trong đó, đáng lưu ý nhất là sự hiện diện của một tín hiệu carbon carboxyl tại δ_{C} (ppm): 178,3 (C-28); một tín hiệu carbon methine olefin tại δ_{C} (ppm): 124,6 (C-12); một tín hiệu carbon olefin tứ cấp tại δ_{C} (ppm): 138,2 (C-13); một tín hiệu carbon oxymethine tại δ_{C} (ppm): 76,9 (C-3); năm tín hiệu carbon methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_{C} (ppm): 28,3 (C-23), 22,9 (C-27), 16,1 (C-24), 16,1 (C-26), 15,2 (C-25); và đặc biệt là hai tín hiệu carbon methyl liên kết với carbon methine no lần lượt tại δ_{C} (ppm): 21,1 (C-30) và 16,9 (C-29).

Kết hợp các dữ liệu đã phân tích, có thể khẳng định, hợp chất **2** là một hợp chất triterpenoid thuộc khung ursane, sở hữu một nhóm chức hydroxyl (-OH), một nhóm chức carboxyl (-COOH) và một nhóm chức olefin (-CH=C-) trong cấu trúc. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **2** với dữ liệu phổ đã được báo cáo của hợp chất ursolic acid [46] cho thấy nhiều sự tương đồng (**Bảng 3.2**). Từ đó, hợp chất **2** được xác định là ursolic acid (**Hình 3.3**).



Hình 3.3 Cấu trúc hóa học của hợp chất **2**.

Bảng 3.2. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **2** và hợp chất ursolic acid.

No.	Hợp chất 2		Ursolic acid [46]	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (ppm), J (Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ (ppm), J (Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$ (ppm)
1		38,3		38,1
2		27,0		26,9
3	3,00 (m)	76,9	3,04 (dd, 4,8, 10,8)	76,8
4		38,5		36,5
5		54,8		54,7
6		18,1		17,8
7		32,7		32,6
8		38,4		38,7
9		46,9		46,7

10		36,3		36,4
11		23,3		22,7
12	5,13 (<i>t</i> , 3,6 Hz)	124,6	5.17 (<i>t</i> , 3,5 Hz)	124,5
13		138,2		137,9
14		41,7		41,5
15		27,6		27,4
16		23,8		23,7
17		47,0		46,9
18		52,4		52,2
19		38,4		38,4
20		38,3		38,2
21		30,7		30,1
22		36,6		36,2
23	1,04 (<i>s</i>)	28,3	1,07 (<i>s</i>)	28,1
24	0,89 (<i>s</i>)	16,1	0,90 (<i>s</i>)	15,1
25	0,75 (<i>s</i>)	15,2	0,72 (<i>s</i>)	15,8
26	0,91 (<i>s</i>)	16,1	0,94 (<i>s</i>)	16,8
27	0,91 (<i>s</i>)	22,9	0,94 (<i>s</i>)	23,1
28	-	178,3	-	178,3
29	0,81 (<i>d</i> , 6,0)	16,9	0,77 (<i>d</i> , 6,9)	16,7
30	0,84 (<i>d</i> , 6,6)	21,1	0,84 (<i>d</i> , 6,4)	20,9
3-OH	4,28 (<i>d</i> , 5,4 Hz)			

^a Phổ được đo trong dung môi DMSO-*d*₆, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

^b Phổ được đo trong hệ dung môi CDCl₃ + DMSO-*d*₆, tần số máy 300 MHz – 75 MHz

3.1.3. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 3

Hợp chất **3** (6,4 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

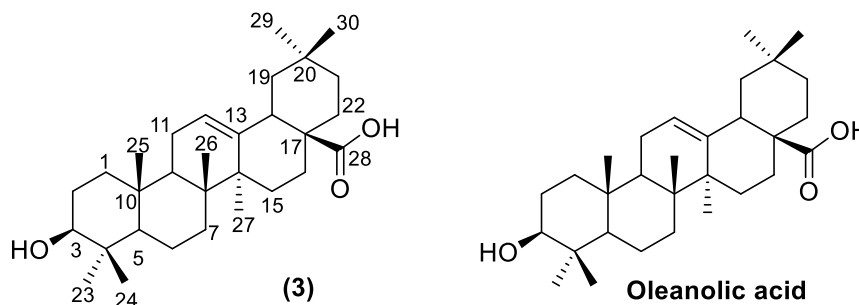
❖ Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (đo trong CDCl₃, **Phụ lục 8, 9, 10**).

Biện luận cấu trúc:

Tiến hành phân tích dữ liệu phổ ¹H-NMR của hợp chất **3** cho thấy sự hiện diện của các tín hiệu proton đáng chú ý bao gồm: một tín hiệu proton olefin tại δ_H (ppm): 5,29 (1H, *m*, H-12); một tín hiệu proton oxymethine tại δ_H (ppm): 3,22 (1H, *d*, *J* = 4,2, 11,4 Hz, H-3); một tín hiệu proton methine no tại δ_H (ppm): 2,83 (1H, *dd*, *J* = 4,2, 9,0, H-18); bảy tín hiệu proton nhóm methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_H (ppm): 1,14 (3H, *s*, H-23), 0,99 (3H, *s*, H-27), 0,97 (3H, *s*, H-26), 0,93 (3H, *s*, H-24); 0,91 (3H, *s*, H-29), 0,78 (3H, *s*, H-30), 0,77 (3H, *s*, H-25); và một loạt các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển dao động trong khoảng từ 2,30 – 1,20 ppm.

Tiếp tục phân tích dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **3** giúp xác nhận cấu trúc của hợp chất với 30 tín hiệu carbon. Đáng lưu ý là sự hiện diện của một tín hiệu carbon nhóm carboxyl tại δ_{C} (ppm): 181,9 (C-28); một tín hiệu carbon methine olefin tại δ_{C} (ppm): 122,8 (C-12); một tín hiệu carbon olefin tứ cấp tại δ_{C} (ppm): 143,7 (C-13); một tín hiệu carbon oxymethine tại δ_{C} (ppm): 79,2 (C-3); và bảy tín hiệu carbon methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_{C} (ppm): 33,2 (C-29), 28,3 (C-23), 26,1 (C-27), 23,7 (C-30), 17,1 (C-26), 15,7 (C-24), 15,5 (C-25).

So sánh dữ liệu phổ giữa hợp chất **2** (ursolic acid) và hợp chất **3** (**Bảng 3.3**) nhận thấy có sự tương đồng. Điểm khác biệt lớn nhất nằm ở việc thiếu vắng các tín hiệu methyl mũ đôi tại δ_{H} (ppm): 0,84 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-30), 0,81 (3H, *d*, $J = 6,0$ Hz, H-29) và δ_{C} (ppm): 21,1 (C-30), 16,9 (C-29) được ghi nhận ở hợp chất **2**, thay vào đó là sự xuất hiện của các tín hiệu methyl singlet lần lượt tại δ_{H} (ppm): 0,91 (3H, *s*, H-29), 0,78 (3H, *s*, H-30) và δ_{C} (ppm): 33,2 (C-29), 23,7 (C-30) ở hợp chất **3**. Từ đó, giúp nhận định hợp chất **3** thuộc khung sườn oleanane thay vì ursane như hợp chất **2**. Tiếp tục so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **3** với các dữ liệu phổ đã được báo cáo của hợp chất oleanolic acid [47] cho thấy nhiều sự tương đồng (**Bảng 3.3**). Như vậy, hợp chất **3** được xác định là oleanolic acid (**Hình 3.4**).



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của hợp chất **3**.

Bảng 3.3. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **3**, hợp chất **2** và hợp chất oleanolic acid.

No.	Hợp chất 3		Hợp chất 2		Oleanolic acid [47]	
	δ_{H}^a (ppm) J (Hz)	δ_{C}^a (ppm)	δ_{H}^b (ppm) J (Hz)	δ_{C}^b (ppm)	δ_{H}^c (ppm) J (Hz)	δ_{C}^c (ppm)
1		38,6		38,3		38,4
2		27,8		27,0		27,2
3	3,22 (<i>dd</i> , 4,2, 11,4)	79,2	3,00 (<i>m</i>)	76,9	3,23 (<i>dd</i> , 4,8, 10,5)	79,4
4		38,9		38,5		38,7
5		55,4		54,8		55,2
6		18,5		18,1		18,3
7		32,6		32,7		32,6
8		39,5		38,4		39,3

9		47,8		46,9		47,6
10		37,2		36,3		37,0
11		22,8		23,3		23,0
12	5,29 (m)	122,8	5,13 (t, 3,6 Hz)	124,6	5,28 (m)	122,6
13		143,7		138,2		143,6
14		41,8		41,7		41,6
15		27,3		27,6		27,7
16		23,6		23,8		23,4
17		46,6		47,0		46,5
18	2,83 (dd, 4,2, 9,0)	41,3		52,4	2,82 (dd, 4,4, 9,8)	41,0
19		46,1		38,4		45,9
20		30,8		38,3		30,6
21		33,9		30,7		33,8
22		32,1		36,6		32,4
23	1,14 (s)	28,3	1,04 (s)	28,3	1,13 (s)	28,1
24	0,93 (s)	15,7	0,89 (s)	16,1	0,93 (s)	15,6
25	0,77 (s)	15,5	0,75 (s)	15,2	0,75 (s)	15,3
26	0,97 (s)	17,1	0,91 (s)	16,1	0,96 (s)	16,9
27	0,99 (s)	26,1	0,91 (s)	22,9	0,99 (s)	26,0
28		181,9	-	178,3		179,9
29	0,91 (s)	33,2	0,81 (d, 6,0)	16,9	0,92 (s)	33,1
30	0,78 (s)	23,7	0,84 (d, 6,6)	21,1	0,77 (s)	23,6

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

^b Phổ được đo trong dung môi DMSO-*d*₆, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

^c Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 400 MHz – 100 MHz

3.1.4. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 4

Hợp chất **4** (15 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

- ❖ Phổ HR-ESI-MS (Phụ lục 11);
- ❖ Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (đo trong CDCl₃, Phụ lục 12, 13, 14, 15);
- ❖ Phổ HSQC, HMBC (đo trong CDCl₃, Phụ lục 16, 17, 18, 19);
- ❖ Phổ NOESY (đo trong CDCl₃, Phụ lục 20).

Biện luận cấu trúc:

Từ dữ liệu phổ HR-ESI-MS được đo ở chế độ đo dương (*positive ion mode*), công thức phân tử của hợp chất **4** được xác định là C₃₃H₅₂O₄, suy ra từ mũi ion giả phân tử tại *m/z* 513,3942 (ứng với giá trị 513,3944 của C₃₃H₅₂O₄ + H⁺).

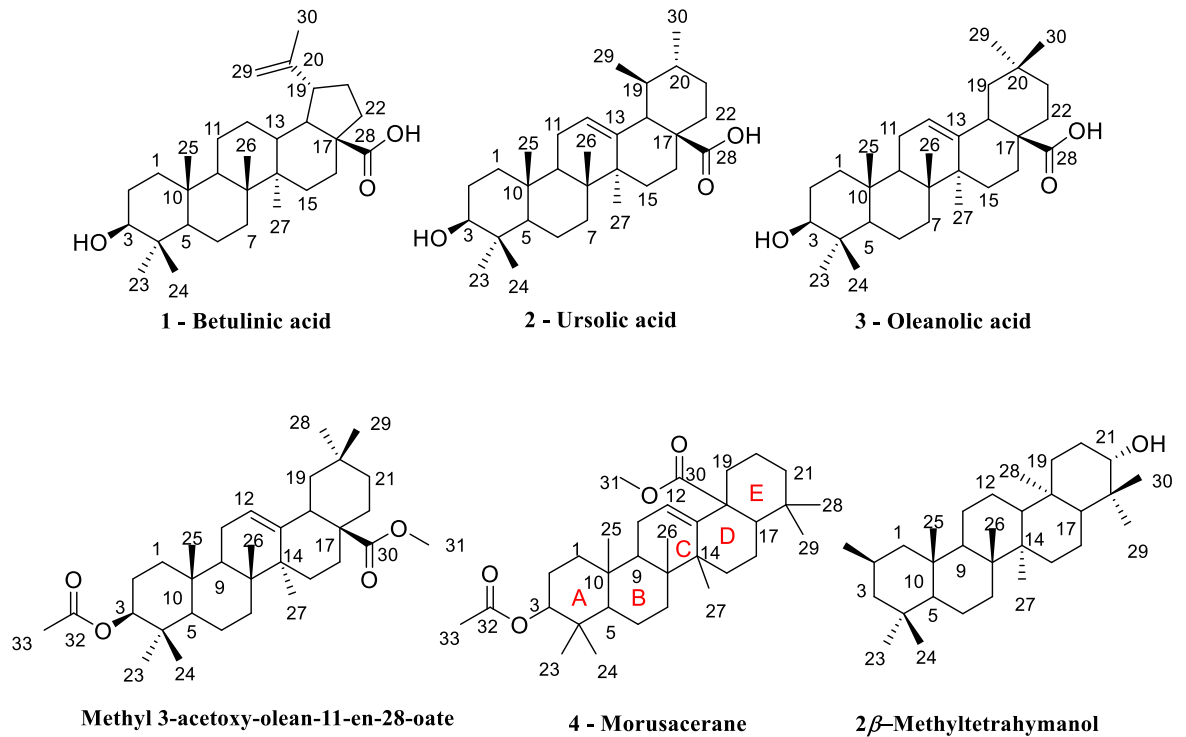
Phân tích kết hợp các dữ liệu phổ ¹H-NMR và HSQC của hợp chất **4** cho thấy sự hiện diện của một số tín hiệu quan trọng bao gồm một tín hiệu proton

oxymethine tại δ_H (ppm): 4,51 (1H, *dd*, $J = 5,4, 9,0$ Hz, H-3); một tín hiệu proton methine olefin tại δ_H (ppm): 5,13 (1H, *m*, H-12); một tín hiệu proton nhóm methoxy tại δ_H (ppm): 3,66 (3H, *s*, H-31); tám tín hiệu proton của các nhóm methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_H (ppm): 2,05 (3H, *s*, H-33), 1,07 (3H, *s*, H-27), 1,01 (3H, *s*, H-26), 0,98 (3H, *s*, H-25), 0,88 (3H, *s*, H-24), 0,87 (3H, *s*, H-23), 0,86 (3H, *s*, H-28), 0,80 (3H, *s*, H-29); và một loạt các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao với độ dịch chuyển dao động trong khoảng từ 2,30 – 1,20 ppm.

Tiếp tục tiến hành phân tích đồng thời các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và HSQC giúp xác định được hợp chất **4** có cấu trúc bao gồm 33 carbon. Trong đó bao gồm, hai tín hiệu carbon carbonyl lần lượt tại δ_C (ppm): 175,7 (C-30) và 171,2 (C-32); một tín hiệu carbon olefine tứ cấp tại δ_C (ppm): 139,8 (C-13); một tín hiệu carbon methine olefin tại δ_C (ppm): 124,5 (C-12); một tín hiệu carbon oxymethine tại δ_C (ppm): 81,1 (C-3); một tín hiệu carbon methoxy liên kết với carbon carbonyl δ_C (ppm): 51,6 (C-31); mười tín hiệu carbon methylene no lần lượt tại δ_C (ppm): 42,3 (C-21), 37,0 (C-1), 33,1 (C-7), 32,1 (C-19), 26,8 (C-15), 23,8 (C-2), 23,5 (C-11), 21,4 (C-16), 18,4 (C-20), 17,7 (C-6); ba tín hiệu carbon methine no lần lượt tại δ_C (ppm): 59,3 (C-17), 55,5 (C-5), 47,8 (C-9); năm tín hiệu carbon tứ cấp no lần lượt tại δ_C (ppm): 49,5 (C-18), 41,7 (C-14), 39,7 (C-8), 38,7 (C-4), 37,9 (C-10), 33,9 (C-22); và tám tín hiệu carbon methyl lần lượt tại δ_C (ppm): 28,9 (C-29), 28,3 (C-23), 28,2 (C-28), 23,4 (C-27), 21,5 (C-33), 17,0 (C-26), 15,9 (C-25), 14,3 (C-24). Từ các dữ liệu đã nêu, kết hợp với các dữ liệu phổ HMBC, có thể kết luận hợp chất **4** có cấu trúc của một hợp chất triterpenoid với sự xuất hiện của một nhóm chức acetoxyl tại vị trí C-3 được chứng minh dựa trên các tương quan giữa H-3 (δ_H 4,51, *dd*, $J = 5,4, 9,0$ Hz) và C-32 (δ_C 171,2), và giữa CH_3 -33 (δ_H 2,05, *s*) và C-32 (δ_C 171,2); và một nhóm chức methoxycarbonyl (CH_3OCO) tại vị trí chưa được xác định, dựa trên tương quan giữa H-31 (δ_H 3,66, *s*) và C-30 (δ_C 175,7).

Tiến hành so sánh các dữ liệu phổ đã nêu của hợp chất **4** với các hợp chất triterpenoid thuộc các khung lupane (hợp chất **1**), khung ursane (hợp chất **2**) và khung oleanane (hợp chất **3**) (**Bảng 3.4 – Bảng 3.5**), cho thấy cấu trúc của hợp chất **4** có nhiều điểm tương đồng tại các vòng A, B, C và D. Điểm khác biệt lớn nhất nằm tại vòng E với sự xuất hiện của tín hiệu carbon đặc trưng tại δ_C (ppm): 59,3 (C-

17), khác biệt rất nhiều so với giá trị tương ứng của các hợp chất **1**, **2**, **3** và (3 β) Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate [48] lần lượt tại δ_C (ppm): 55,9, 47,0, 46,6, 46,7, với sự có mặt của nhóm chức carbonyl tại vị trí C-17 trong cấu trúc (**Bảng 3.4** – **Bảng 3.5**). Từ đó, vị trí của nhóm chức methoxycabonyl (CH₃OCO) trong cấu trúc của hợp chất **4** được xác định tại C-18 (δ_C 49,5) thay vì C-17 của các hợp chất **1**, **2** và **3**. Bên cạnh đó, dữ liệu phổ ¹H-NMR của hợp chất **4** vẫn cho thấy sự hiện diện của hai tín hiệu proton methyl singlet tại H-28 (δ_H 0,86, *s*) và H-29 (δ_H 0,80, *s*). Từ đó, nhận định rằng so với ở hợp chất (3 β) Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate [48], vị trí gắn nhóm thế methyl CH₃-28 và CH₃-29 tại vòng E của hợp chất **4** có sự thay đổi, cụ thể là ở vị trí C-22. Nhận định này càng được khẳng định dựa trên các tương quan HMBC của hợp chất **4** (**Hình 3.6**), giữa H-28 và C-29 (δ_C 28,9) và giữa H-29 với C-17 (δ_C 59,3), C-21 (δ_C 42,3), C-22 (δ_C 33,9). Từ những dữ liệu đã nêu, kết hợp với so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 2 β -methyltetrahymanol (**Bảng 3.4** – **Bảng 3.5**) một hợp chất triterpenoid đặc trưng thuộc khung Gammacerane [49], cấu trúc của hợp chất **4** được xác định thuộc khung Gammacerane. Đây là một khung chất triterpenoid thường có trong thành phần của các cây thuộc họ Thông (Pinaceae), được đặc trưng bởi sự có mặt của hai nhóm methyl liên kết tại C-22 [50]. Tiếp tục phân tích dữ liệu phổ HMBC của hợp chất **4** (**Hình 3.6**), cụ thể là các tương quan giữa H-12 (δ_H 5,13, *m*) và C-18 (δ_C 49,5), C-9 (δ_C 47,8), C-14 (δ_C 41,7), và giữa CH₃-27 (δ_H 1,07, *s*) và C-13 (δ_C 139,8) giúp xác định vị trí của nhóm chức olefine -CH=C- tại vị trí C-12 – C-13. Phân tích dữ liệu phổ NOESY của hợp chất **4** cho thấy các tương quan giữa H-3 và H-23 (δ_H 0,87, *s*), H-28 (δ_H 0,86, *s*), H-31 (δ_H 3,66, *s*); giữa H-27 (δ_H 1,07, *s*) và H-23, H-28; giữa H-29 (δ_H 0,80, *s*) và H-26 (δ_H 1,01, *s*); giữa H-25 (δ_H 0,98, *s*) và H-29 với H-24 (δ_H 0,88, *s*). Như vậy cấu trúc lập thể của hợp chất **4** được đề nghị như ở **Hình 3.5**. Hợp chất **4** được đặt tên là Morusacerane, đây là hợp chất triterpenoid mới lần đầu tiên được báo cáo.



Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **1**, **2**, **3**, Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate, 2β-Methyltetrahymanol và hợp chất **4**.

Bảng 3.4. So sánh dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **4**, hợp chất **1**, hợp chất **2**, hợp chất **3**, Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate và 2β-Methyltetrahymanol.

No.	Hợp chất	Hợp chất	Hợp chất	Hợp chất	Methyl-3-	2β-
	4^a	1^b	2^c	3^d	acetoxy-olean- 11-en-28-oate ^e [48]	Methyltetrahy- manol ^f [49]
δ_{H} (ppm), J (Hz)						
1						
2						
3	4,51 (dd, 5,4, 9,0)	2,97 (m)	3,00 (m)	3,22 (dd, 4,2, 11,4)	4,49 (dd, 7,1, 8,9)	
4						
5						
6						
7						
8						
9					1,51 (dd, 3,8, 10,9)	
10						
11						
12	5,13 (m)		5,13	5,29 (m)	5,28	

			(<i>t</i> , 3,6 Hz)		(<i>dd</i> , 3,5, 3,5)	
13						
14						
15						
16					1,97 (<i>ddd</i> , 3,8, 5,6, 14,3)	
17						
18				2,83 (<i>dd</i> , 4,2, 9,0)	2,86 (<i>dd</i> , 4,1, 18,9)	
19		2,91 (<i>m</i>)			1,70 (<i>dd</i> , 13,8, 4,5)	
20						
21					1,34 (<i>ddd</i> , 14,7, 10,5, 5,9)	3,18 (<i>dd</i> , 5,1, 11,2)
22						
23	0,87 (<i>s</i>)	0,87 (<i>s</i>)	1,04 (<i>s</i>)	1,14 (<i>s</i>)	0,86 (<i>s</i>)	0,88 (<i>s</i>)
24	0,88 (<i>s</i>)	0,65 (<i>s</i>)	0,89 (<i>s</i>)	0,93 (<i>s</i>)	0,85 (<i>s</i>)	0,83 (<i>s</i>)
25	0,98 (<i>s</i>)	0,86 (<i>s</i>)	0,75 (<i>s</i>)	0,77 (<i>s</i>)	0,92 (<i>s</i>)	0,89 (<i>s</i>)
26	1,01 (<i>s</i>)	0,76 (<i>s</i>)	0,91 (<i>s</i>)	0,97 (<i>s</i>)	0,72 (<i>s</i>)	0,94 (<i>s</i>)
27	1,07 (<i>s</i>)	0,93 (<i>s</i>)	0,91 (<i>s</i>)	0,99 (<i>s</i>)	1,12 (<i>s</i>)	0,94 (<i>s</i>)
28	0,86 (<i>s</i>)	-	-		0,90 (<i>s</i>)	0,81 (<i>s</i>)
		4,68				
29	0,80 (<i>s</i>)	(<i>d</i> , 2,8) 4,56 (<i>d</i> , 2,8)	0,81 (<i>d</i> , 6,0)	0,91 (<i>s</i>)	0,93 (<i>s</i>)	0,75 (<i>s</i>)
30	-	1,64 (<i>br</i> <i>s</i>)	0,84 (<i>d</i> , 6,6)	0,78 (<i>s</i>)	-	0,95 (<i>s</i>)
31	3,66 (<i>s</i>)	-	-	-	3,62 (<i>s</i>)	0,82 (<i>s</i>)
32	-	-	-	-	-	
33	2,05 (<i>s</i>)	-	-	-	2,04 (<i>s</i>)	

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz

^b Phổ được đo trong dung môi DMSO-*d*₆, tần số máy 400 MHz

^c Phổ được đo trong dung môi DMSO-*d*₆, tần số máy 600 MHz

^d Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz

^e Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 400 MHz

^f Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 400 MHz

Bảng 3.5. So sánh dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **4**, hợp chất **1**, hợp chất **2**, hợp chất **3**, Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate và 2β -Methyltetrahymanol.

No.	Hợp chất 4 ^a	Hợp chất 1 ^b	Hợp chất 2 ^c	Hợp chất 3 ^d	Methyl-3-acetoxy-olean-11-en-28-oate ^e [48]	2β -Methyltetrahymanol ^f [49]
δC^a (ppm)						
1	37,0	39,0	38,3	38,6	38,1	49,7
2	23,8	27,6	27,0	27,8	23,5	24,8
3	81,1	77,3	76,9	79,2	80,9	45,2
4	38,7	38,7	38,5	38,9	41,6	46,5
5	55,5	55,4	54,8	55,4	55,3	49,7
6	17,7	18,4	18,1	18,5	18,2	32,4
7	33,1	36,8	32,7	32,6	32,6	19,9
8	39,7	40,7	38,4	39,5	41,2	41,8
9	47,8	50,4	46,9	47,8	47,6	50,9
10	37,9	37,2	36,3	37,2	36,9	37,8
11	23,5	20,9	23,3	22,8	23,1	22,1
12	124,5	25,6	124,6	122,8	122,2	21,5
13	139,8	38,1	138,2	143,7	143,8	50,7
14	41,7	42,5	41,7	41,8	37,7	42,0
15	26,8	30,6	27,6	27,3	27,6	33,2
16	21,4	34,4	23,8	23,6	23,4	18,4
17	59,3	55,9	47,0	46,6	46,7	55,2
18	49,5	47,1	52,4	41,3	41,3	37,1
19	32,1	49,0	38,4	46,1	45,8	38,8
20	18,4	150,8	38,3	30,8	30,7	27,4
21	42,3	29,6	30,7	33,9	33,4	79,0
22	33,9	38,8	36,6	32,1	32,4	38,9
23	28,3	28,6	28,3	28,3	28,0	31,1
24	14,3	16,2	16,1	15,7	16,7	26,1
25	15,9	16,3	15,2	15,5	15,3	21,8
26	17,0	16,4	16,1	17,1	16,8	16,0
27	23,4	14,9	22,9	26,1	25,9	16,5
28	28,2	177,7	178,3	181,9	33,1	16,1
29	28,9	110,1	16,9	33,2	23,6	15,4
30	175,7	19,4	21,1	23,7	178,3	28,0
31	51,6	-	-	-	51,5	23,2
32	171,2	-	-	-	170,9	
33	21,5	-	-	-	21,2	

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl_3 , tần số máy 150 MHz

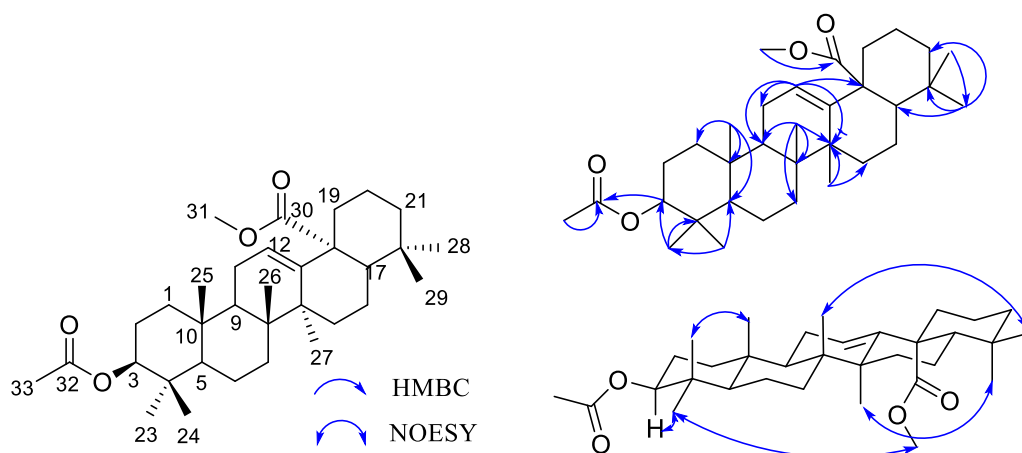
^b Phổ được đo trong dung môi $\text{DMSO}-d_6$, tần số máy 100 MHz

^c Phổ được đo trong dung môi $\text{DMSO}-d_6$, tần số máy 150 MHz

^d Phổ được đo trong dung môi CDCl_3 , tần số máy 150 MHz

^e Phổ được đo trong dung môi CDCl_3 , tần số máy 125 MHz

^f Phổ được đo trong dung môi CDCl_3 , tần số máy 100 MHz



Hình 3.6. Cấu trúc hóa học và tương quan HMBC/NOESY của hợp chất **4**.

3.1.5. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất **5**

Hợp chất **5** (5,5 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu vàng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

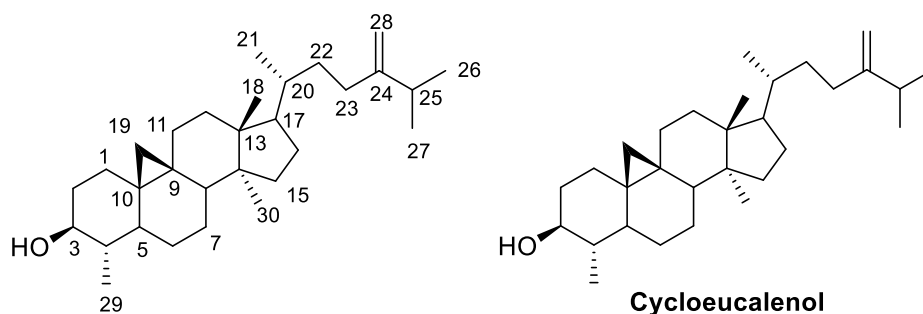
❖ Phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ (đo trong CDCl_3 , **Phụ lục 21, 22, 23, 24**).

Biện luận cấu trúc:

Tiến hành phân tích dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **5** cho thấy sự hiện diện của các tín hiệu proton đáng chú ý bao gồm: hai tín hiệu proton olefin tại δ_{H} (ppm): 4,72 (1H, br *s*, H-28a) và 4,66 (1H, br *d*, $J = 1,2$ Hz, H-28b); một tín hiệu proton oxymethine tại δ_{H} (ppm): 3,21 (1H, *ddd*, $J = 4,8, 9,0, 10,8$ Hz, H-3); bảy tín hiệu proton methylene no lần lượt tại δ_{H} (ppm): 2,23 (1H, septet, $J = 7,2$ Hz, H-25), 2,13 (1H, *ddd*, $J = 4,8, 12,0, 15,6$ Hz, H-23a), 1,89 (1H, *ddd*, $J = 5,4, 12,0, 15,6$ Hz, H-23b), 1,58 (1H, *m*, H-22a), 1,13 (1H, *m*, H-22b), 0,39 (1H, *d*, $J = 4,2$ Hz, H-19a), 0,14 (1H, *d*, $J = 4,2$ Hz, H-19b); hai tín hiệu proton methyl liên kết với carbon tứ cấp lần lượt tại δ_{H} (ppm): 0,97 (3H, *s*, H-18), 0,89 (3H, *s*, H-30); bốn tín hiệu proton methyl liên kết với carbon methine lần lượt tại δ_{H} (ppm): 1,03 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-27), 1,02 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-26); 0,98 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-29), 0,90 (3H, *d*, $J = 6,0$ Hz, H-21). Bên cạnh đó, là một loạt các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển phân bố trong khoảng từ 2,0 – 0,5 ppm.

Tiếp tục, phân tích dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **5** cho thấy sự hiện diện của 30 tín hiệu carbon trong cấu trúc của hợp chất. Trong đó, nổi bật là sự có mặt của một tín hiệu carbon olefin tứ cấp tại δ_{C} (ppm): 157,1 (C-24); một tín hiệu carbon olefin methylene tại δ_{C} (ppm): 106,1 (C-28); một tín hiệu carbon oxymethine tại δ_{C} (ppm): 76,8 (C-3); và sáu tín hiệu carbon methyl lần lượt tại δ_{C} (ppm): 22,2 (C-26); 22,0 (C-27); 19,3 (C-30); 18,5 (C-21); 17,9 (C-18); 14,5 (C-

29). Từ các dữ liệu đã nêu, có thể dự đoán hợp chất **5** có cấu trúc thuộc khung cycloartane triterpenoid, dựa trên sự xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của vòng cyclopropane [51] lần lượt tại δ_H (ppm): 0,39 (1H, *d*, $J = 4,2$ Hz, H-19a), 0,14 (1H, *d*, $J = 4,2$ Hz, H-19b), δ_C (ppm): 27,4 (C-19); của nhóm chức olefine $-C=CH_2$ tại vị trí C-24 – C-28 lần lượt tại δ_H (ppm): 4,72 (1H, *br s*, H-28a), 4,66 (1H, *br d*, $J = 1,2$ Hz, H-28b) và δ_C (ppm): 157,1 (C-24), 106,1 (C-28); của các nhóm methyl trong cấu trúc của hợp chất bao gồm hai tín hiệu methyl singlet lần lượt tại δ_H (ppm): 0,97 (3H, *s*, H-18), 0,89 (3H, *s*, H-30) và bốn tín hiệu methyl mũ đôi δ_H (ppm): 1,03 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-27), 1,02 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-26); 0,98 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, H-29), 0,90 (3H, *d*, $J = 6,0$ Hz, H-21). Khi so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **5** với các dữ liệu phổ đã được báo cáo của hợp chất cycloeucalenol [52] cho thấy nhiều sự tương đồng (**Bảng 3.6**). Như vậy, hợp chất **5** được xác định là cycloeucalenol (**Hình 3.7**). Đây là lần đầu tiên hợp chất cycloeucalenol được báo cáo phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.)



Hình 3.7. Cấu trúc hóa học của hợp chất **5**.

Bảng 3.6. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **5** và hợp chất cycloeucalenol.

No.	Hợp chất 5		Cycloeucalenol [52]	
	δ_H^a (ppm), J (Hz)	δ_C^a (ppm)	δ_H^b (ppm), J (Hz)	δ_C^b (ppm)
1		30,9		30,9
2		35,0		34,9
3	3,21 (<i>ddd</i> , 4,8, 9, 10,8)	76,8	3,21 (<i>ddd</i> , 4,5, 9, 10,5)	76,6
4		44,8		44,7
5		43,5		43,4
6		24,8		24,7
7		25,3		25,2
8		47,0		46,9
9		23,7		23,6
10		29,7		29,7
11		27,1		27,1
12		33,1		33,0
13		45,5		45,5

14		49,1		49,0
15		35,5		35,4
16		28,3		28,2
17		52,4		52,3
18	0,97 (<i>s</i>)	17,9	0,97 (<i>s</i>)	17,8
19	0,39 (<i>d</i> , 4,2) 0,14 (<i>d</i> , 4,2)	27,4	0,39 (<i>br d</i> , 4,0) 0,14 (<i>d</i> , 4,0)	27,3
20		36,3		36,2
21	0,90 (<i>d</i> , 6,0)	18,5	0,90 (<i>d</i> , 6,5) 1,58	18,4
22	1,58 (<i>m</i>) 1,13 (<i>m</i>)	35,2	(<i>dddd</i> , 3,5, 6,0, 11,5, 13,0) 1,14 (<i>dddd</i> , 5,0, 9,0, 11,5, 13,0)	35,1
23	2,13 (<i>ddd</i> , 4,8, 12,0, 15,6) 1,89 (<i>ddd</i> , 5,4, 12,0, 15,6)	31,5	2,13 (<i>ddd</i> , 5,0, 11,5, 15,0) 1,89 (<i>ddd</i> , 5,5, 11,5, 14,5)	31,4
24		157,1		156,9
25	2,23 (<i>septet</i> , 7,2)	34,0	2,23 (<i>septet</i> , 7,0)	33,9
26	1,02 (<i>d</i> , 6,6)	22,2	1,02 (<i>d</i> , 7,0)	22,1
27	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	22,0	1,03 (<i>d</i> , 6,7)	21,9
28	4,72 (<i>br s</i>) - 4,66 (<i>br d</i> , 1,2)	106,1	4,71 (<i>br s</i>) - 4,66 (<i>br d</i> , 1,0)	106,1
29	0,98 (<i>d</i> , 6,6)	14,5	0,98 (<i>d</i> , 7,0)	14,5
30	0,89 (<i>s</i>)	19,3	0,89 (<i>s</i>)	19,1

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

^b Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 400MHz – 100 MHz

3.1.6. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 6

Hợp chất **6** (17,4 mg) được phân lập từ phân đoạn **DET1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

Dữ liệu phổ (Phụ lục):

❖ Phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR (đo trong CDCl₃, **Phụ lục 25, 26, 27, 28**).

Biện luận cấu trúc:

Phân tích dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất **6**, đồng thời so sánh với các dữ liệu phổ của hợp chất **5** (**Bảng 3.7**) giúp khẳng định đây là một hợp chất cycloartane triterpenoid có cấu trúc tương tự. Điểm khác biệt duy nhất chính là sự thay thế nhóm hydroxyl tại vị trí C-3 ở hợp chất **5** thành nhóm chức ketone ở hợp chất **6**, được xác định từ sự biến mất của tín hiệu proton oxymethine H-3 (δ_{H} (ppm): 3,21, 1H, *ddd*, *J* = 4,8, 9,0, 10,8 Hz), và sự thay đổi độ dịch chuyển của tín hiệu carbon C-3 từ vùng từ trường cao tại δ_{C} (ppm): 76,8 (ở hợp chất **5**) đến vùng từ trường thấp tại δ_{C} (ppm): 212,4 (ở hợp chất **6**).

Nhận định này càng được khẳng định khi tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **6** và hợp chất 4-epicycloeucalenone [53] (**Hình 3.8**) cho thấy nhiều sự tương đồng trong cấu trúc của hai hợp chất (**Bảng 3.8**). Tuy nhiên, khi so sánh dữ liệu phổ proton H-19 của vòng cyclopropane được ghi nhận ở hai hợp chất lại cho thấy sự khác biệt. Cụ thể, tại hợp chất **6** các tín hiệu proton methylene H-19 được ghi nhận lần lượt tại δ_H (ppm): 0,63 (1H, *d*, $J = 3,6$ Hz, H-19a), 0,40 (1H, *d*, $J = 4,2$ Hz, H-19b) (**Bảng 3.8**). Trong khi đó, theo dữ liệu phổ được công bố của hợp chất 4-epicycloeucalenone, các tín hiệu proton tương tự lại được ghi nhận là δ_H (ppm): 0,78 (1H, *d*, $J = 4,0$ Hz, H-19a), 0,57 (1H, *d*, $J = 4,4$ Hz, H-19b) [53]. Bên cạnh đó, theo công bố của Akihisha và các cộng sự vào năm 1997 [53], hợp chất 4-epicycloeucalenone có một đồng phân epimer tại vị trí C-4, chính là (4*S*)-cycloeucalenone (**Hình 3.8**). Theo báo cáo của Chaojie Shang vào năm 2014, dữ liệu phổ proton H-19 của hợp chất (4*S*)-cycloeucalenone được ghi nhận lần lượt là δ_H (ppm): 0,64 (1H, *d*, $J = 3,8$ Hz, H-19a), 0,42 (1H, *d*, $J = 4,0$ Hz, H-19b) [54] (**Bảng 3.8**), hoàn toàn trùng khớp với dữ liệu được ghi nhận ở hợp chất **6**. Trên cơ sở đó, tiếp tục tiến hành so sánh dữ liệu phổ ^{13}C -NMR giữa hợp chất **6** và hợp chất cycloeucalenone [55] cho thấy rất nhiều sự tương đồng. Như vậy có thể khẳng định, hợp chất **6** chính là (4*S*)-cycloeucalenone với cấu trúc hóa học được trình bày ở **Hình 3.9**. Lần đầu tiên hợp chất (4*S*)-cycloeucalenone, với dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR đầy đủ, được báo cáo phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.).

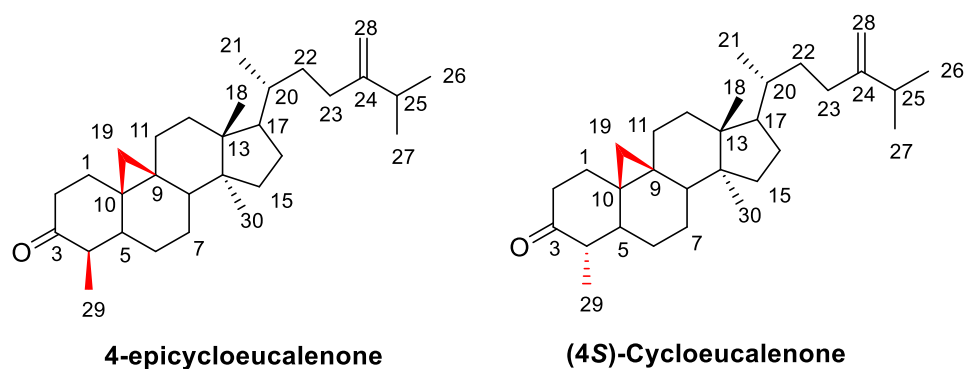
Bảng 3.7. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **5** và hợp chất **6**.

No.	Hợp chất 5		Hợp chất 6	
	δ_H^a (ppm), J (Hz)	δ_C^a (ppm)	δ_H^b (ppm), J (Hz)	δ_C^b (ppm)
1		30,9		32,9
2		35,0		41,1
3	3,21 (<i>ddd</i> , 4,8, 9, 10,8)	76,8		212,4
4		44,8		50,2
5		43,5		46,2
6		24,8		25,1
7		25,3		28,3
8		47,0		47,2
9		23,7		25,0
10		29,7		29,8
11		27,1		25,4
12		33,1		35,6
13		45,5		45,6
14		49,1		48,9
15		35,5		33,0
16		28,3		27,1

17		52,4		52,4
18	0,97 (<i>s</i>)	17,9	0,97 (<i>s</i>)	18,1
19	0,39 (<i>br d</i> , 4,2) 0,14 (<i>d</i> , 4,2)	27,4	0,40 (<i>d</i> , 4,2) 0,63 (<i>d</i> , 3,6)	27,4
20		36,3		36,3
21	0,90 (<i>d</i> , 6,0)	18,5	0,91 (<i>d</i> , 6,0)	18,5
22	1,58 (<i>m</i>) 1,13 (<i>m</i>) 2,13	35,2		35,1
23	(<i>ddd</i> , 4,8, 12,0, 15,6) 1,89 (<i>ddd</i> , 5,4, 12,0, 15,6)	31,5	2,13 (<i>ddd</i> , 4,8, 12,0, 16,2) 1,87 (<i>m</i>)	31,5
24		157,1		157,0
25	2,23 (<i>septet</i> , 7,2)	34,0	2,24 (<i>m</i>)	34,0
26	1,02 (<i>d</i> , 6,6)	22,2	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	22,0
27	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	22,0	1,04 (<i>d</i> , 6,6)	22,2
28	4,72 (<i>br s</i>) - 4,66 (<i>br d</i> , 1,2)	106,1	4,72 (<i>br s</i>)-4,67 (<i>br d</i> , 1,1)	106,1
29	0,98 (<i>d</i> , 6,6)	14,5	1,00 (<i>d</i> , 7,2)	10,9
30	0,89 (<i>s</i>)	19,3	0,88 (<i>s</i>)	19,3

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

^b Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz – 125 MHz



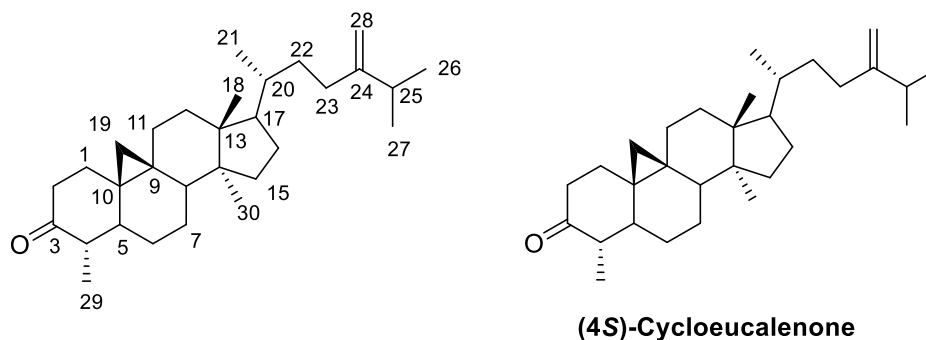
Hình 3.8. Hợp chất 4-epicycloeucalenone và đồng phân epimer tại vị trí C-4, hợp chất (4S)-cycloeucalenone – hợp chất **6**.

Bảng 3.8. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **6** và các hợp chất 4-epicycloeucalenone và (4*S*)-cycloeucalenone.

No.	Hợp chất 6		4-Epicycloeucalenone [53]		(4 <i>S</i>)- Cycloeucalenone	
	δ_H^a (ppm) J (Hz)	δ_C^a (ppm)	δ_H^b (ppm) J (Hz)	δ_C^b (ppm)	δ_H^c (ppm) J (Hz)	δ_C^d (ppm)
1		32,9		33,1		32,8
2		41,1		37,4		40,8
3		212,4		216,4		212,2
4		50,2		51,7		49,8
5		46,2		42,6		45,9
6		25,1		25,7		25,1
7		28,3		25,2		28,0
8		47,2		48,2		46,9
9		25,0		20,1		24,9
10		29,8		24,8		29,3
11		25,4		26,7		25,8
12		35,6		32,8		35,3
13		45,6		45,4		45,2
14		48,9		48,8		48,7
15		33,0		35,6		32,8
16		27,1		28,1		26,9
17		52,4		52,3		52,1
18	0,97 (<i>s</i>) 0,40	18,1	1,0 (<i>s</i>) 0,57	18,1	0,42	17,9
19	(<i>d</i> , 4,2) 0,63 (<i>d</i> , 3,6)	27,4	(<i>d</i> , 4,4) 0,78 (<i>d</i> , 4,0)	29,4	(<i>d</i> , 4,0) 0,64 (<i>d</i> , 3,8)	27,1
20		36,3		36,1		36,0
21	0,91 (<i>d</i> , 6,0)	18,5	0,91 (<i>d</i> , 6,2)	18,3		18,3
22		35,1		35,0		35,0
23	2,13 (<i>ddd</i> , 4,8, 12,0, 16,2) 1,87 (<i>m</i>)	31,5		31,3		31,3
24		157,0		156,9		156,1
25	2,24 (<i>m</i>)	34,0		23,8		33,7
26	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	22,0	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	21,9		21,8
27	1,04 (<i>d</i> , 6,6)	22,2	1,03 (<i>d</i> , 6,6)	22,0		21,8
28	4,72 (<i>br s</i>) 4,67	106,1	4,72 (<i>br s</i>) 4,67	106,0		105,6

	(br <i>d</i> , 1,1)		(br <i>d</i> , 1,1)	
29	1,00 (<i>d</i> , 7,2)	10,9	1,14 (<i>d</i> , 7,3)	12,9
30	0,88 (<i>s</i>)	19,3	0,89 (<i>s</i>)	19,3

^a Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz – 125 MHz
^b Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 400 MHz – 100 MHz
^c Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 600 MHz [54]
^d Phổ được đo trong dung môi CDCl₃, tần số máy 22,63 MHz [55]



Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất **6**.

3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Cao ethanol **DET** và các phân đoạn **DET1**, **DET2** và **DET3** thu được từ quá trình sắc ký Sephadex LH-20 được khảo sát và đánh giá khả năng ức chế enzyme α -glucosidase nhằm xác định phân đoạn tiềm năng để tiến hành các quy trình phân lập tiếp theo (**Phụ lục 29**). Như được trình bày ở **Bảng 3.9**, cao **DET** và các cao phân đoạn tương ứng được điều chế đều thể hiện khả năng ức chế rất tốt đối với enzyme α -glucosidase khi so sánh với chất chứng dương acarbose ($IC_{50} = 108,36 \mu\text{g/mL}$). Trong đó, cao phân đoạn **DET1** thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất với chỉ số IC_{50} là $7,27 \mu\text{g/mL}$. Trên cơ sở đó, phân đoạn **DET1** được lựa chọn để tiến hành phân lập các hợp chất.

Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn **DET1** được trình bày ở **Bảng 3.10** (**Phụ lục 30**). Theo đó, khi so sánh với chất chứng dương acarbose ($IC_{50} = 168,0 \mu\text{M}$), các hợp chất **1**, **2**, **3**, **5**, **6** đều thể hiện hoạt tính ức chế tốt đối với hoạt động của enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} dao động trong khoảng $21,5 - 45,7 (\mu\text{M})$, đặc biệt là hai hợp chất **1** và **2** với giá trị IC_{50} lần lượt là $27,5 (\mu\text{M})$ và $21,5 (\mu\text{M})$. Vì thời gian thực hiện nghiên cứu có giới hạn, hoạt tính của hợp chất **4** – Morusacerane hiện vẫn đang được khảo sát. Bên cạnh đó, khi so sánh dữ liệu đã thu được với các dữ liệu về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase được khảo sát trên các nhóm hợp chất prenylflavone, flavonoid, benzofuran và chalcone đã được phân lập từ cao chiết ethyl acetate điều

ché từ lá [35] và trái Dâu tằm [36], các hợp chất triterpenoid phân lập từ thân cây Dâu tằm đều thể hiện hoạt tính tương đương hoặc tốt hơn (**Bảng 3.10**).

Từ các kết quả đã nêu, có thể khẳng định, các hợp chất triterpenoid có mặt trong thành phần hóa học của thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) sở hữu khả năng ức chế tốt đối với enzyme α -glucosidase. Đặc biệt là các hợp chất sở hữu các nhóm chức đặc trưng như carbonyl, carboxyl hoặc hydroxyl. Kết quả khảo sát đã chứng minh được tiềm năng của các hợp chất triterpenoid có trong thành phần của thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.), ứng dụng trong điều chế và phát triển các dạng thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên, giúp điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

Bảng 3.9. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các phân đoạn điều chế từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.).

Cao phân đoạn	DET	DET1	DET2	DET3	Acarbose*
IC ₅₀ (μ g/mL)	18,69	7,27	9,69	29,90	108,36

* Chất chứng dương

Bảng 3.10. So sánh khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất được phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) và các hợp chất từ các công bố khác.

Kết quả đề tài		Cao chiết Ethyl acetate Lá Dâu tằm [35]		Cao chiết Ethyl acetate trái Dâu tằm [36]	
Hợp chất	IC ₅₀ (μ M)	Hợp chất	IC ₅₀ (μ M)	Hợp chất	IC ₅₀ (μ M)
1	27,5	125	11,4 \pm 1,2	143	8,57 \pm 0,57
2	21,5	126	ni*	144	165,35 \pm 11,55
3	45,4	127	ni	145	310,10 \pm 12,73
5	38,1	128	ni	146	165,64 \pm 11,73
6	45,7	129	ni	147	369,89 \pm 31,24
		130	12,7 \pm 0,8	148	600,31 \pm 45,88
		131 – 132	75,4 \pm 1,2	149	197,05 \pm 9,26
		133 – 134	6,28 \pm 1,01	150	178,34 \pm 0,35
		135	2,59 \pm 0,24	151	408,91 \pm 38,70
		136	13,4 \pm 0,6	152	727,97 \pm 67,74
		137	4,04 \pm 0,84	153	932,51 \pm 98,75
		138	2,54 \pm 0,40	154	67,30 \pm 5,51
		139	2,76 \pm 0,35	155	49,96 \pm 3,18
		140	32,6 \pm 4,3	157	116,14 \pm 6,75
		141	33,7 \pm 0,7	158	31,70 \pm 3,38
		142	13,4 \pm 0,6	164	225,29 \pm 4,79
Acarbose**	168,0		181,0 \pm 18,0		119,15 \pm 4,90

* ni: phần trăm ức chế nhỏ hơn 10%

** : Chất chứng dương

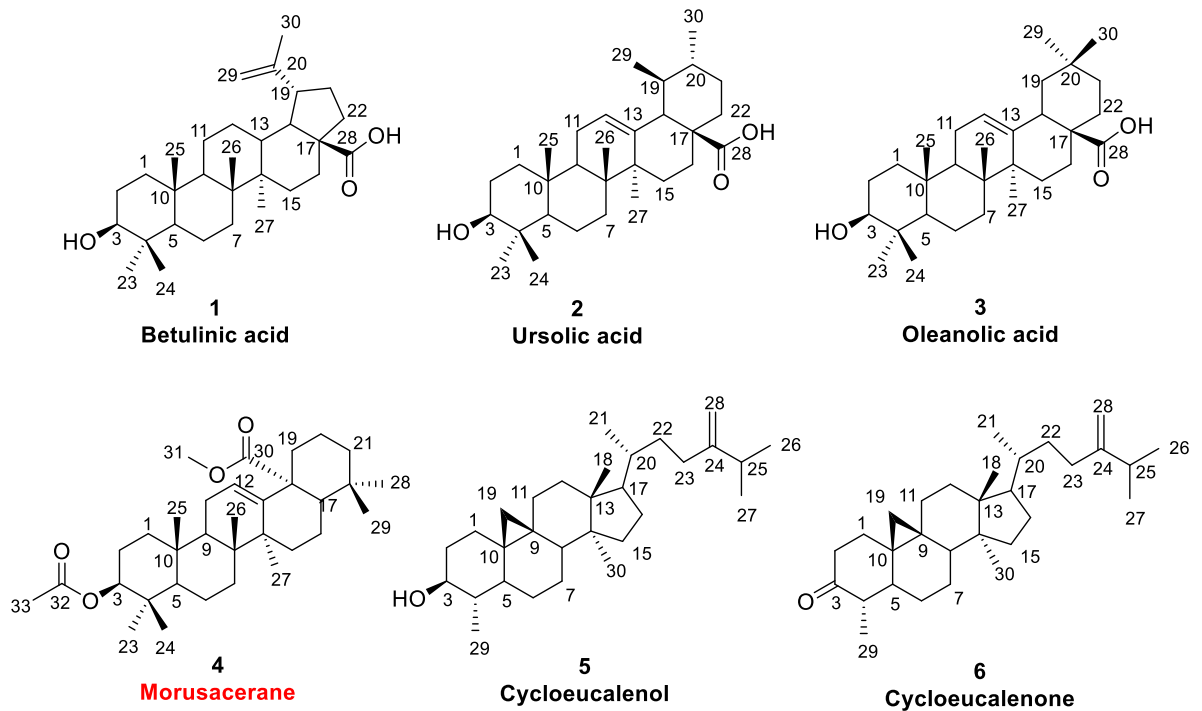
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Từ cao ethanol điều chế từ mẫu thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) được thu hái tại Bình Định, các phương pháp sắc ký và phổ nghiệm đã được tiến hành, cho phép phân lập và xác định cấu trúc của sáu hợp chất bao gồm: betulinic acid (Hợp chất 1), ursolic acid (Hợp chất 2), oleanolic acid (Hợp chất 3), morusacerane (Hợp chất 4), cycloeucalenol (Hợp chất 5) và (4*S*)-cycloeucalenone (Hợp chất 6). Theo đó, hợp chất 4 – morusacerane được xác định là một dẫn xuất triterpenoid mới và chưa từng được báo cáo trước đây. Bên cạnh đó, đây là lần đầu tiên các hợp chất 5 và 6 được phân lập từ cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase đã khẳng định khả năng ức chế rất tốt của các hợp chất được phân lập. Bên cạnh hoạt tính của hợp chất 4 hiện vẫn đang được khảo sát, các hợp chất 1, 2, 3, 5 và 6 đều cho thấy khả năng ức chế tốt đối với hoạt động của enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} dao động trong khoảng 21,5 – 45,7 (μ M), khi so sánh với chất chứng dương acarbose ($IC_{50} = 168,0 \mu$ M). Trong đó, nổi bật là các hợp chất 1 và 2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,5 (μ M) và 21,5 (μ M). So sánh với các nhóm hợp chất đã được phân lập và khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase được công bố từ những nghiên cứu trước đây, các hợp chất triterpenoid đã cho thấy khả năng ức chế tương đương hoặc tốt hơn. Từ đó, chứng minh được tiềm năng ứng dụng của các hợp chất triterpenoid có trong thành phần của thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.) trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu là những dữ liệu và cơ sở khoa học quan trọng trong đánh giá và xác định nhóm hợp chất chính quyết định hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase có trong thành phần hóa học của thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.). Từ đó, mở rộng những kiến thức còn hạn chế về thành phần hóa học của các bộ phận của cây Dâu tằm (*M. alba* L.) sinh trưởng và phát triển tại Việt Nam, hướng tới ứng dụng trong sản xuất dược phẩm và các sản phẩm hỗ trợ điều trị ở bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường.



Hình 3.10. Các hợp chất được phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

Kiến nghị

Từ những kết quả nghiên cứu đã đạt được, tôi đề xuất tiếp tục thực hiện hướng nghiên cứu như sau:

- Tiếp tục khảo sát thành phần hóa học của phân đoạn **DET1**, tập trung vào các dẫn xuất triterpenoid. Tiến hành khảo sát thành phần hóa học của các phân đoạn còn lại (**DET2** và **DET3**) nhằm đảm bảo tính toàn diện của nghiên cứu;
- Tiến hành thử nghiệm và so sánh hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase giữa các hợp chất phân lập được. Từ đó, đánh giá và xác định hợp chất/nhóm hợp chất quyết định hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase ở mỗi phân đoạn, và trong thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.);
- Tiến hành thử nghiệm và đánh giá thêm các dạng hoạt tính sinh học khác như hoạt tính kháng ung thư, hoạt tính chống oxy hóa... nhằm mở rộng tiềm năng ứng dụng của các hợp chất phân lập được;

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dias D.A., Urban S., Roessner U., 2012, A historical overview of natural products in drug discovery, *Metabolites*, 2(2), pp. 303-336.
- [2] Oh H., Ko E.-K., Jun J.-Y., Oh M.-H., Park S.-U., Kang K.-H., Lee H.-S., Kim Y.-C., 2002, Hepatoprotective and free radical scavenging activities of prenylflavonoids, coumarin, and stilbene from *Morus alba*, *Planta Medica*, 68(10), pp. 932-934.
- [3] Hồ Thị Huyền Trang, Phạm Thị Ngọc Bích, Phạm Xuân Xinh, Trương Thị Bạch Vân, Vũ Tiên Luyện, Lao Đức Thuận, 2014, Khảo sát tác dụng hạ đường huyết của một số loại thảo dược trên mô hình chuột *in vivo*, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Mở Tp. HCM*, 9(1), pp. 35-42.
- [4] Bộ Y Tế, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị tiểu đường typ 2, 2017.
- [5] Negi A., Vernon S.A., 2003, An overview of the eye in diabetes, *Journal of The Royal Society of Medicine*, 96, pp. 266-272.
- [6] Scully T., 2012, Diabetes in numbers, *Nature*, 485, pp. S2-S3.
- [7] Yu H., Paiva R., Flavell R.A., 2017, Harnessing the power of regulatory T cells to control autoimmune diabetes: overview and perspective, *Immunology*, 153(2), pp. 161-170.
- [8] Lebovitz H.E. 1999, Type 2 Diabetes: An overview, *Clinical Chemistry*, 45(8), pp. 1339-1345.
- [9] Benhalima K., Crombrugge P.V., Hanssens M., Devlieger R., Verhaeghe J., Mathieu C., 2014, Gestational diabetes: overview of the new consensus screening strategy and diagnostic criteria, *International Journal of Clinical and Laboratory Medicine*, 67(4), pp. 255-261.
- [10] Sun H., Saeedi P., Karuranga S., Pinkepank M., Ogurtsova K., Duncan B.B., Stein C., Basit A., Chan J.C.N., Mbanya J.C., Pavkov M.E., Ramachandaran A., Wild S.H., James S., Herman W.H., Zhang P., Bommer C., Kuo S., Boyko E.J., Magliano D.J., 2022, IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183, Article ID: 109119.

- [11] Nomura T., Fukai T., Hano Y., Nemoto K., Terada S., Kuramochi T., 1983, Constituents of cultivated mulberry tree, *Planta Medica*, 47(03), pp. 151-156.
- [12] Kikuchi T., Nihei M., Nagai H., Fukushi H., Tabata K., Suzuki T., Akihira T., 2010, Albanol A from the root bark of *Morus alba* L. induces apoptotic cell death in HL60 human leukemia cell line, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(4), pp. 568-571.
- [13] Choi C.W., Choi Y.H., Cha M.-R., Yoo D.S., Kim Y.S., Yon G.H., Hong K.S., Kim Y.H., Ryu S.Y., 2010, Yeast α -glucosidase inhibition by isoflavonones from plants of Leguminosae as an *in vitro* alternative to acarbose, *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 58(18), pp. 9988-9991.
- [14] Duong T.-H., Devi A.P., Tran N.-M.-A., Phan H.-V.-T., Huynh N.-V., Sichaem J., Tran H.-D., Alam M., Nguyen T.-P., Nguyen H.-H., Chavasiri W., Nguyen T.-C., 2020, Synthesis, α -glucosidase inhibition, and molecular docking studies of novel *N*-substituted hydrazide derivatives of atranorin as antidiabetic agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(17), Article ID: 127359.
- [15] Ezuruike U.F., Prieto J.M., 2014, The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: pharmacological and toxicological considerations, *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2), pp. 857-924.
- [16] Babu P.A., Suneetha G., Boddepalli R., Lakshmi V.V., 2007, A database of 389 medicinal plants for diabetes, *Bioinformation*, 1(4), pp. 130-131.
- [17] Duke J.A., 2020, *Morus alba* L., Handbook of Energy Crops, Purdue University, Center for New Crops and Plant Products.
- [18] Nomura T., Fukai T., Katayanagi M., 1978, Studies on the constituents of the cultivated mulberry tree. III. Isolation of four new flavones, kuwanon A, B, C and oxydihydromorusin from the root bark of *Morus alba* L, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 26(5), pp. 1453-1458.
- [19] Asano N., Oseki K., Tomioka E., Haruhisa K., Matsui K., 1994. *N*-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities, *Carbohydrate research*, 259(2), pp. 243-255.

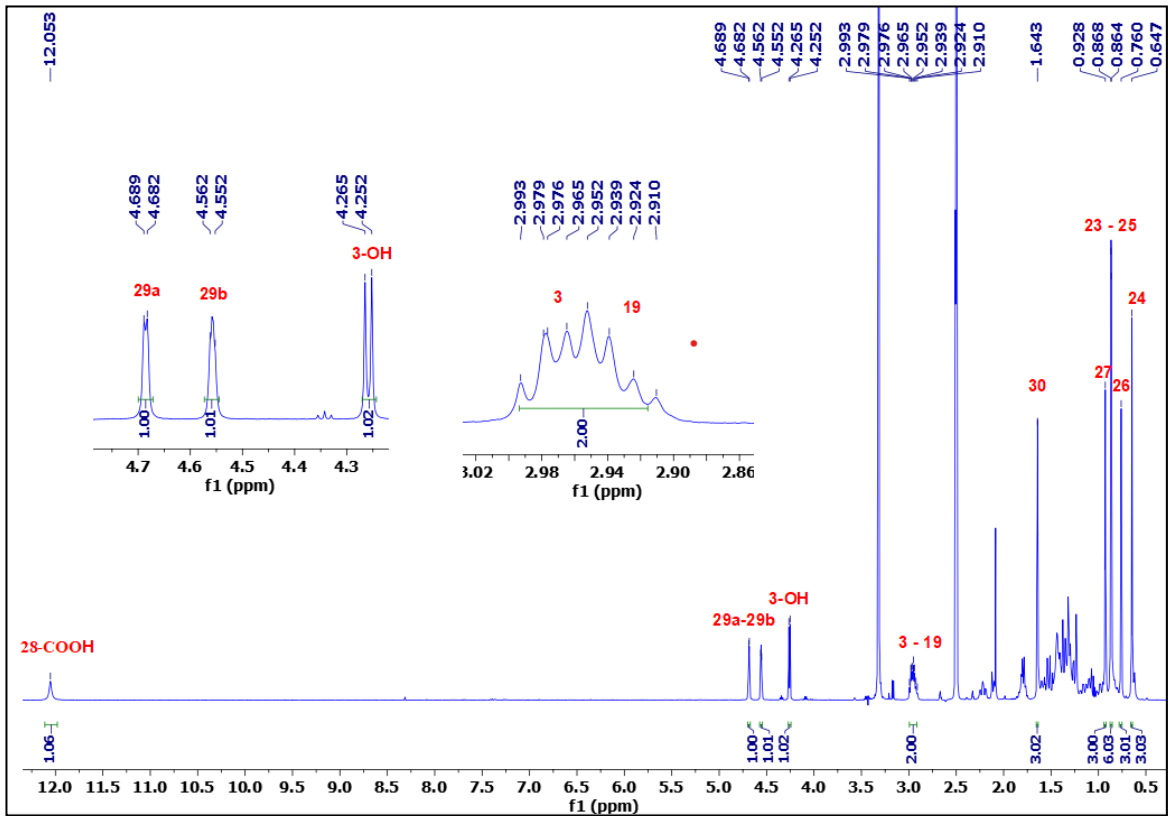
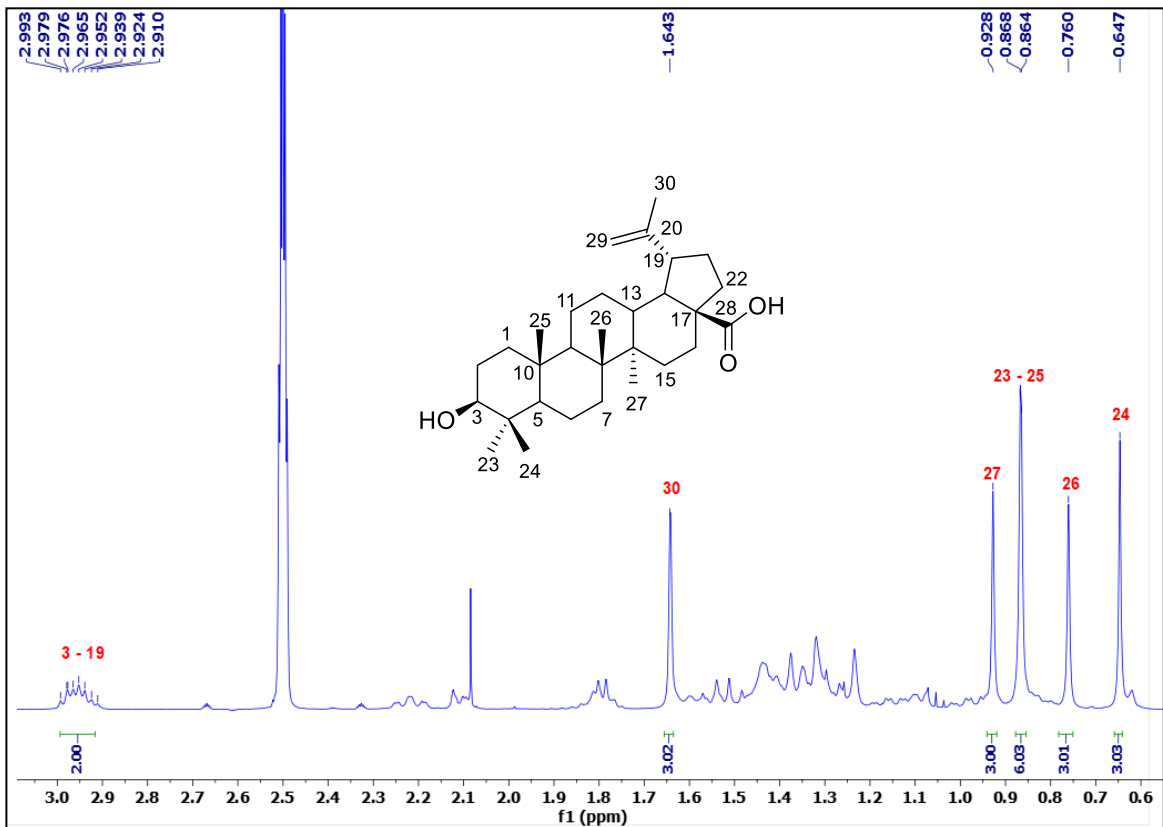
- [20] Qiu F., Komatsu K., Kawasaki K., Saito K., Yao X., Kano Y., 1996, A novel stilbene glucoside, oxyresveratrol 3'-*O*- β -glucopyranoside, from the root bark of *Morus alba*, *Planta medica*, 62(06), pp. 559-561.
- [21] Kim S.Y., Gao J.J., Lee W.C., Ryu K.S., Lee K.R., Kim Y.C., 1999, Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*, *Archives of Pharmacal Research*, 22(1), pp. 81-85.
- [22] Doi K., Kojima T., Makino M., Kimura Y., Fujimoto Y., 2001, Studies on the constituents of the leaves of *Morus alba* L., *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 49(2):151-153.
- [23] Asano N., Yamashita T., Yasuda K., Ikeda K., Kizu H., Kameda Y., Kato A., Nash R.J., Lee H.S., Ryu K.S., 2001, Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.), *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), pp. 4208-4213.
- [24] Du J., He Z.-D., Jiang R.-W., Ye W.-C., Xu H.-X., But P.P.-H., 2003, Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry*, 62(8), pp. 1235-1238.
- [25] Kusano G., Orihara S., Tsukamoto D., Shibano M., Coskun M., Guvenc A., Erdurak C.S., 2002, Five new nortropane alkaloids and six new amino acids from the fruit of *Morus alba* Linné growing in Turkey, *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 50(2):185-192.
- [26] Lee S.H., Choi S.Y., Kim H., Hwang J.S., Lee B.G., Gao J.J., Kim S.Y., 2002, Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(8), pp. 1045-1048.
- [27] Hisayoshi K., Masashi Y., Koichi S., 2004, A novel cytotoxic prenylated flavonoid from the root of *Morus alba*, *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, 73(3), pp. 113-116.
- [28] Sohn H.-Y., Son K.H., Kwon C.-S., Kwon G.-S., Kang S.S., 2004, Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai, *Phytomedicine*, 11(7-8), pp. 666-672.

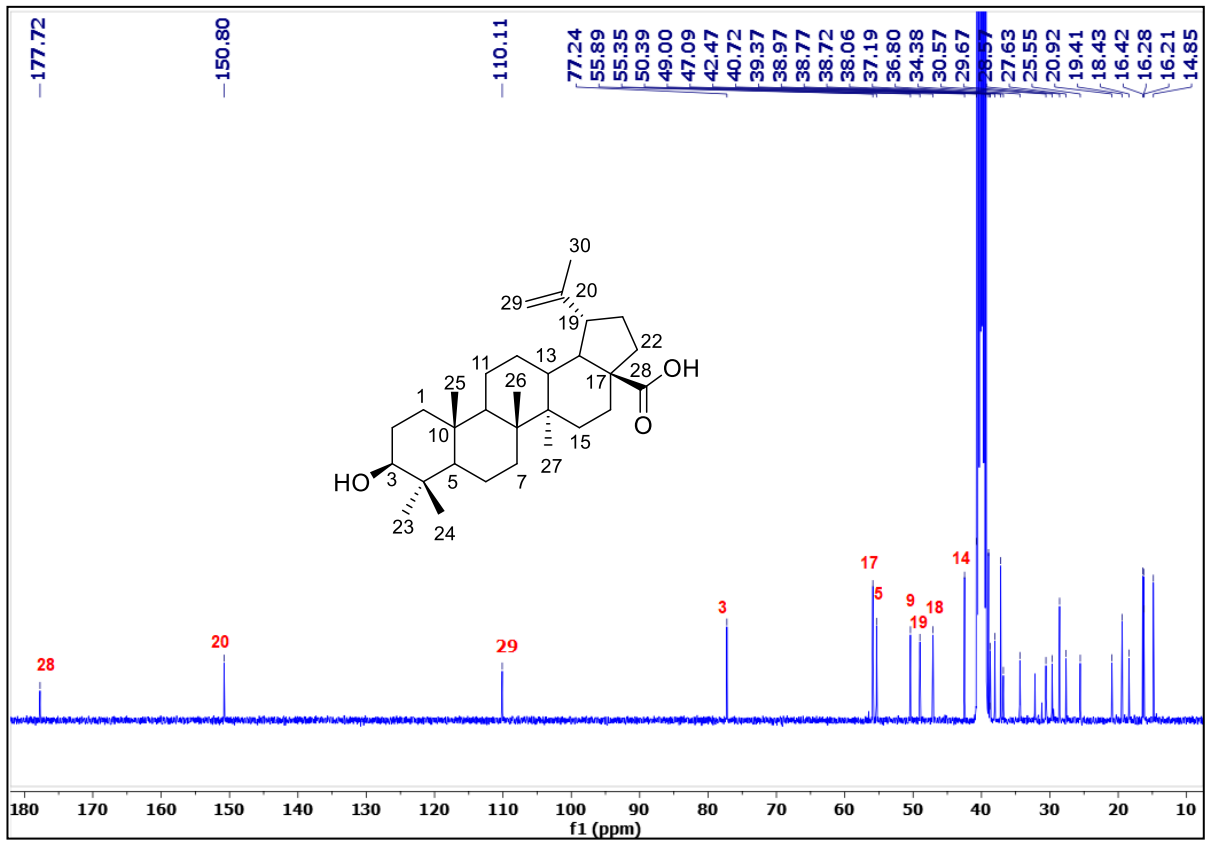
- [29] Singab A.N.B., El-Beshbishy H.A., Yonekawa M., Nomura T., Fukai T., 2005, Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3), pp. 333-338.
- [30] Zhang M., Chen M., Zhang H.-Q., Sun S., Xia B., Wu F.-H., 2009, *In vivo* hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*, *Fitoterapia*, 80(8), pp. 475-477.
- [31] Piao S.-J., Qiu F., Chen L.-X., Pan Y., Dou D.-Q., 2009, New stilbene, benzofuran, and coumarin glycosides from *Morus alba*, *Helvetica Chimica Acta*, 92(3), pp. 579-587.
- [32] Yang Y., Wang Y., Wang Y., Zhang Y., 2010, Four new 2-arylbenzofuran derivatives from leaves of *Morus alba* L., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(2), pp. 257-260.
- [33] Yang Y., Zhang T., Xiao L., Yang L., Chen R., 2010, Two new chalcones from leaves of *Morus alba* L., *Fitoterapia*, 81(6), pp. 614-616.
- [34] Chen H.-D., Ding Y.-Q., Yang S.-P., Li X.-C., Wang X.-J., Zhang H.-Y., Ferreira D., Yue J.-M., 2012, Morusalbanol A, a neuro-protective Diels–Alder adduct with an unprecedented architecture from *Morus alba*, *Tetrahedron*, 68(30), pp. 6054-6058.
- [35] Yang Z., Wang Y., Wang Y., Zhang Y., 2012, Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba*, *Food chemistry*, 131(2), pp. 617-625.
- [36] Wang Y., Xiang L., Wang C., Tang C., He X., 2013, Antidiabetic and antioxidant effects and phytochemicals of mulberry fruit (*Morus alba* L.) polyphenol enhanced extract, *PloS one*, 8(7).
- [37] Ali A., Ali M., 2013, New triterpenoids from *Morus alba* L. stem bark, *Natural Product Research*, 27(6), pp. 524-531.
- [38] Rivière C., Krisa S., Pechamart L., Nassra M., Delaunay J.-C., Marchal A., Badoc A., Waffo-Téguo, Mérillon J.-M., 2014, Polyphenols from the stems of *Morus alba* and their inhibitory activity against nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated microglia, *Fitoterapia*, 97, pp. 253-260.

- [39] Seo K.-H., Lee D.-Y., Jeong R.-H., Lee D.-S., Kim Y.-E., Hong E.-K., Kim Y.-C., Baek N.-I., 2015, Neuroprotective effect of prenylated arylbenzofuran and flavonoids from *Morus alba* fruits on glutamate-induced oxidative injury in HT22 hippocampal cells, *Journal of Medicinal Food*, 18(4), pp. 403-408.
- [40] Jung J.-W., Ko W.-M., Park J.-H., Seo K.-H., Oh E.-J., Lee D.-Y., Lee D.-S., Kim Y.-C., Lim D.-W., Han D., 2015, Isoprenylated flavonoids from the root bark of *Morus alba* and their hepatoprotective and neuroprotective activities, *Archives of pharmacal research*, 38(11), pp. 2066-2075.
- [41] Ding H., Wu X., Pan J., Hu X., Gong D., Zhang G., 2018, New Insights into the Inhibition Mechanism of Betulinic Acid on α -Glucosidase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(27), pp. 7065-7075.
- [42] Vũ Đức Lợi, Đỗ Thị Nghĩa Tình, Bùi Thị Xuân, Vũ Kiều Oanh, Trịnh Nam Trung, 2017, Một số hợp chất flavonoid phân lập từ lá cây dâu (*Morus alba* L.) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN Khoa học Y Dược*, 33(1), tr. 45–50.
- [43] Trịnh Trọng Minh, 2018, Nghiên cứu chiết xuất, phân lập một số hợp chất từ lá cây dâu tằm (*Morus alba* L.). Khóa luận, Đại học Quốc Gia Hà Nội, Việt Nam.
- [44] Le T.H., Nguyen N.K.T., Nguyen M.T.T., Nguyen T.N., 2022, Two new phenylbutenoids from the rhizomes of cassumunar ginger and their α -glucosidase inhibitory activity, *Natural Product Research*.
- [45] Ramadan M.A., Ahmad A.S., Nafady A.M., Mansour A.I., 2009, Chemical composition of the stem bark and leaves of *Ficus pandurata* Hance, *Natural Product Research*, 23(13), pp. 1218–1230.
- [46] Min B.S., Kim Y.H., Lee S.M., Jung H.J., Lee J.S., Na M.K., Lee C.O., Lee J.P., Bae K.H., 2000, Cytotoxic Triterpenes from *Crataegus pinnatifida*, *Archives Pharmacal Research*, 23(2), pp. 155–158.
- [47] Shin S.-J., Park C.-E., Baek N.-I., Chung I.S., Park C.-H., 2009, Betulinic and Oleanolic Acids Isolated from *Forsythia suspensa* Vahl Inhibit Urease Activity of *Helicobacter pylori*, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14, pp. 140–145.

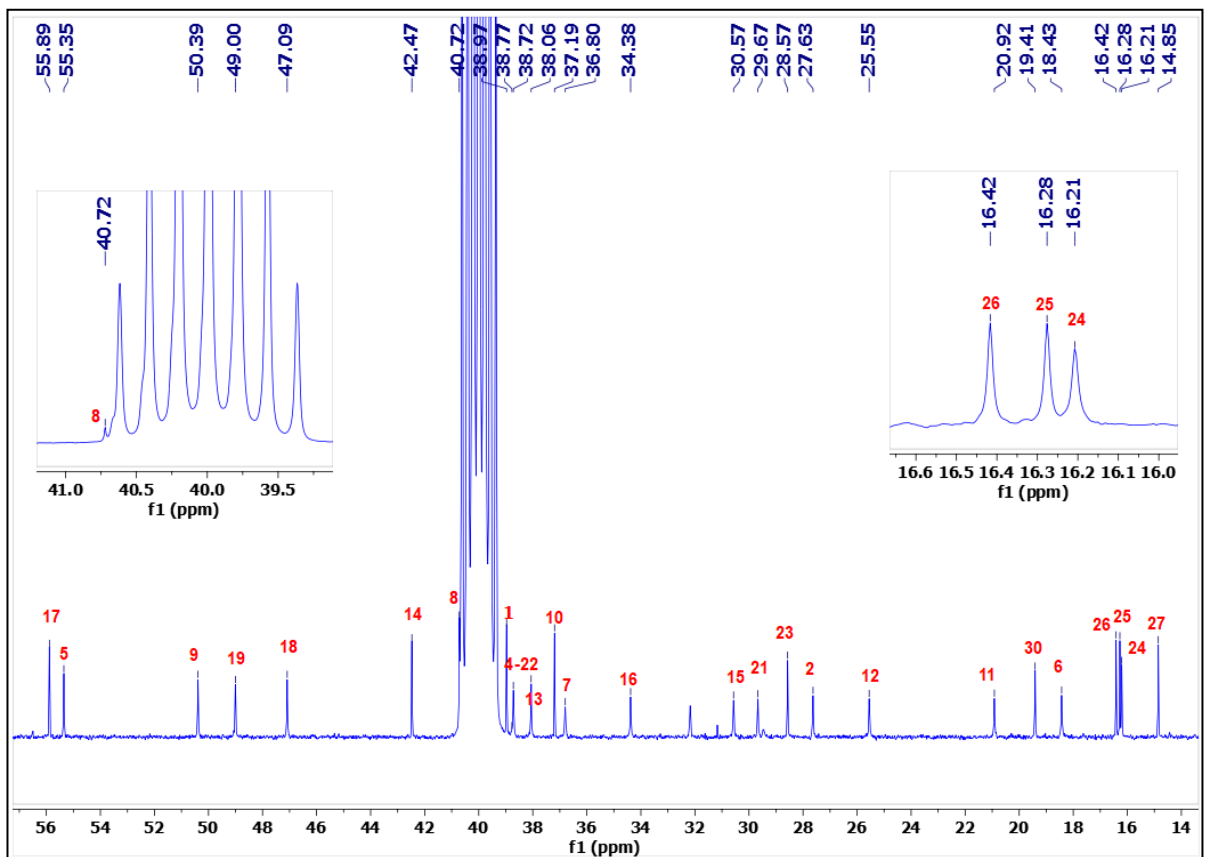
- [48] Siewert B., Wiemann J., Köwitsch A., Csuk R., 2014, The chemical and biological potential of C ring modified triterpenoids, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 72, pp. 84-101.
- [49] Bravo J.-M., Perzl M., Hartner T., Kannenberg E.L., Rohmer M., 2001, Novel methylated triterpenoids of the gammacerane series from the nitrogen-fixing bacterium *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, *European Journal of Biochemistry*, 268, pp. 1323-1331.
- [50] Wang J., Guo Y., Yin X., Wang X., Qi Xi., Xue Z., 2022, Diverse triterpene skeletons are derived from the expansion and divergent evolution of 2,3-oxidosqualene cyclases in plants, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 57(2), pp. 113–132.
- [51] Trần Thị Thanh Thủy, Trần Đức Quân, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Trần Văn Sung, 2009, Nghiên cứu thành phần hóa học cây Song môi tàu [*Milium sinensis* Finet et Gagnep.], họ Na (Annonaceae), Phần II, Các hợp chất chalcon và cycloartan, *Tạp chí Hóa học*, 47.
- [52] Kikuchi T., Kadota S., Tsubono K., 1986, Studies on the Constituents of Orchidaceous Plants IV, Proton and Carbon-13 Signal Assignments of Cycloeucalenol-Type Triterpens from *Nervilia purpurea* SCHLECHTER by Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(6), pp. 2479-2486.
- [53] Akihisa T., Kimura Y., Kokke W.C.M.C., Takase S., Yasukawa K., Jin-Nai A., Tamura T., 1997, 4-Epicycloeucalenone and 4-epicyclomusalenone: Two 3-Oxo-28-norcycloartanes from the Fruit peel of *Musa sapientum* L., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45(4), pp. 744-766.
- [54] Shang C., Gu Y., Koyama T., 2021, Major triterpenes, cycloeucalenone and 31-norcyclolaudenone as inhibitors against both α -glucosidase and α -amylase in banana peel, *International Journal of Food Science and Technology*, 56(7), pp. 3519-3526.
- [55] Khuong-Huu F., Sangare M., Chari, V.M., Bekaert A., Devys M., Barbier M., Lukacs G., 1975, Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectral analysis and related compounds, *Tetrahedron Letters*, 16(22-23), pp. 1787-1790.

PHỤ LỤC

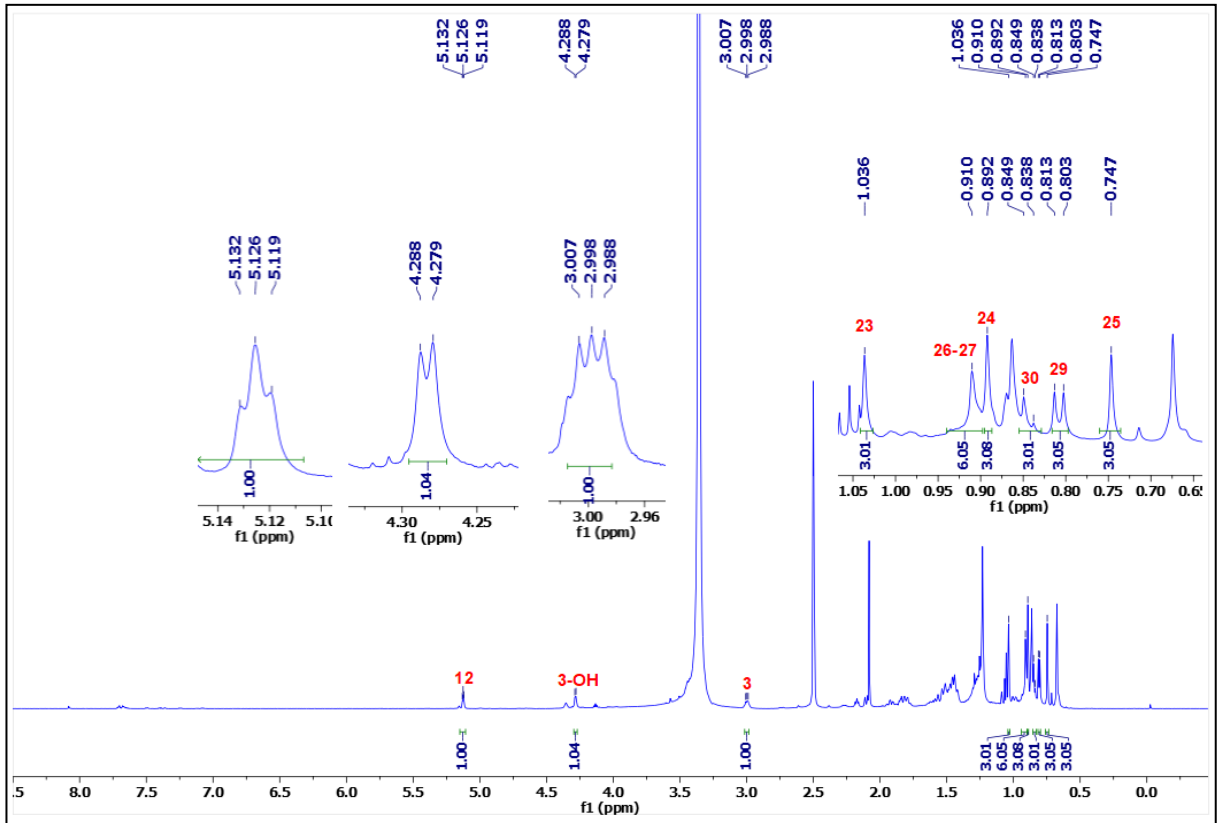
Phụ lục 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) của hợp chất 1.Phụ lục 2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) của hợp chất 1 (Mở rộng).



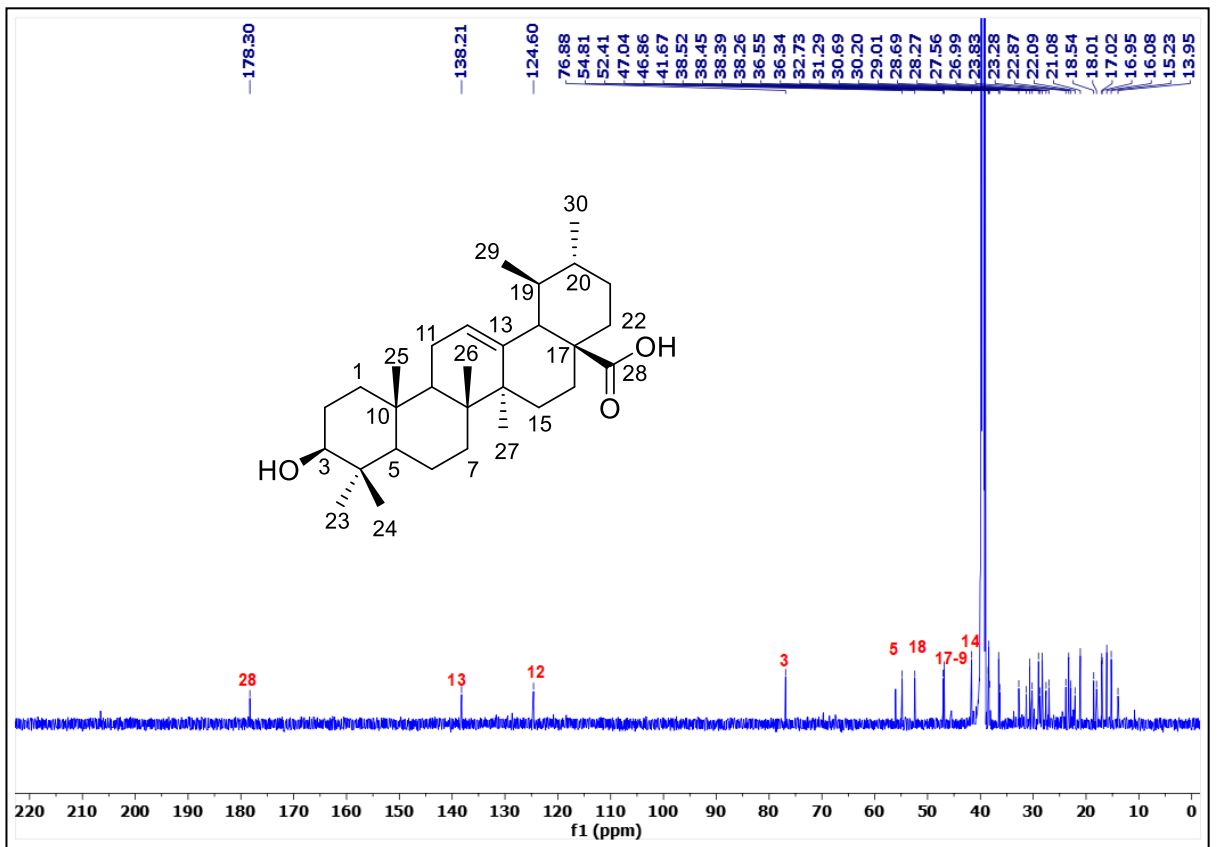
Phụ lục 3. Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) của hợp chất 1.



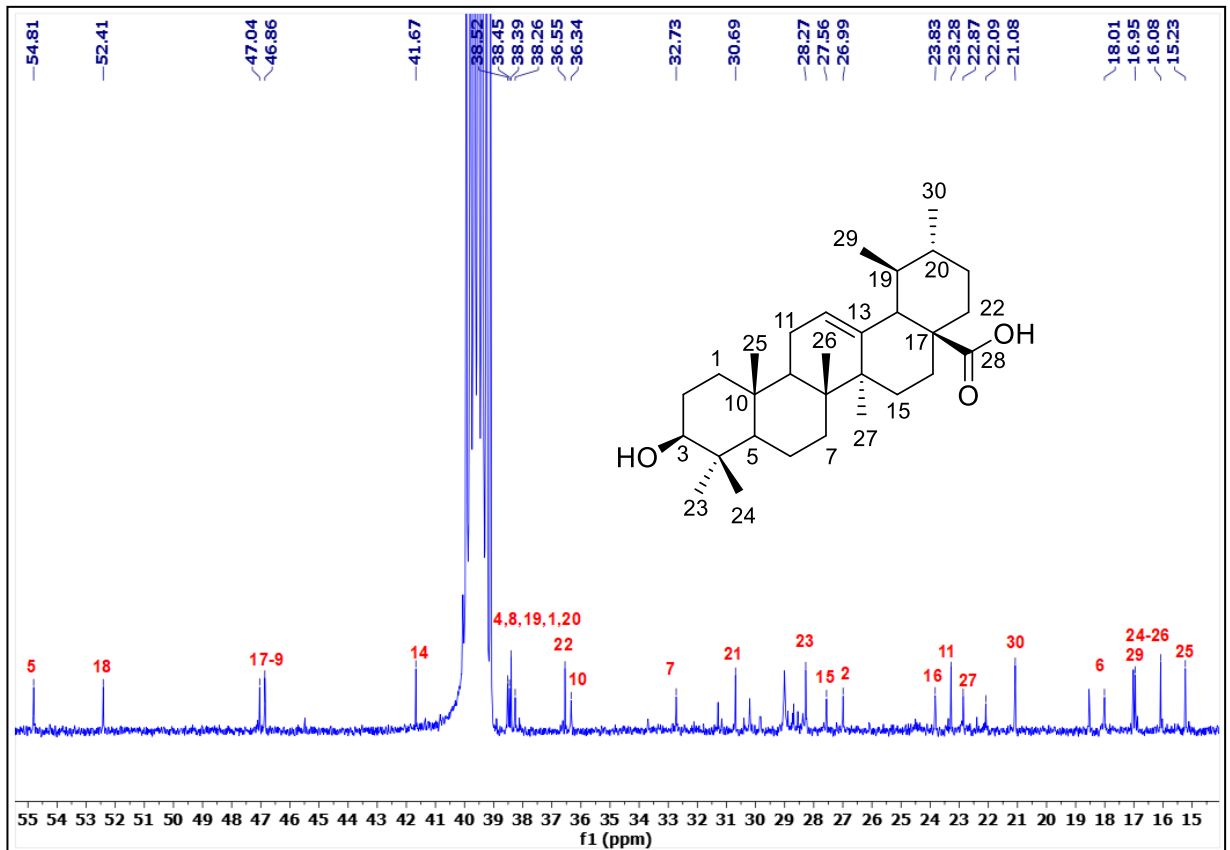
Phụ lục 4. Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) của hợp chất 1 (Mở rộng).



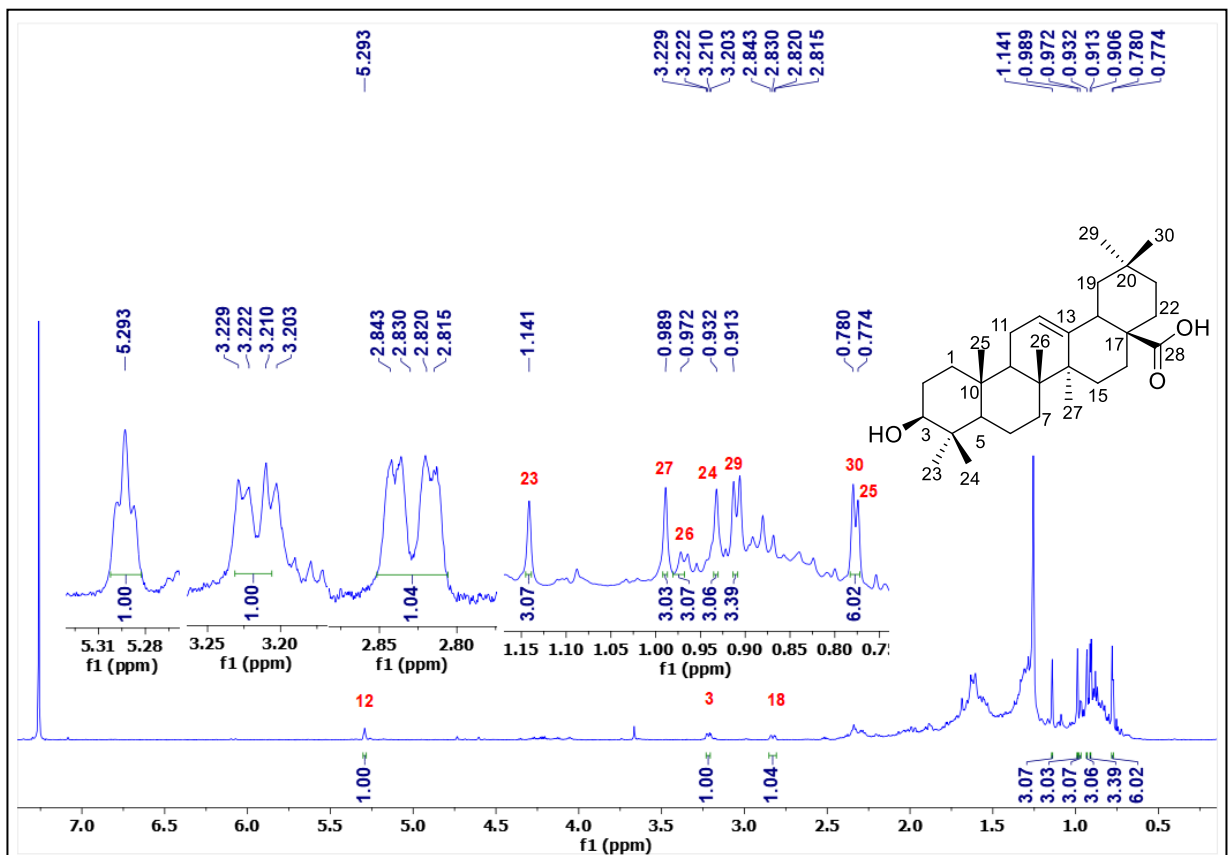
Phụ lục 5. Phổ $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 600 MHz) của hợp chất 2.



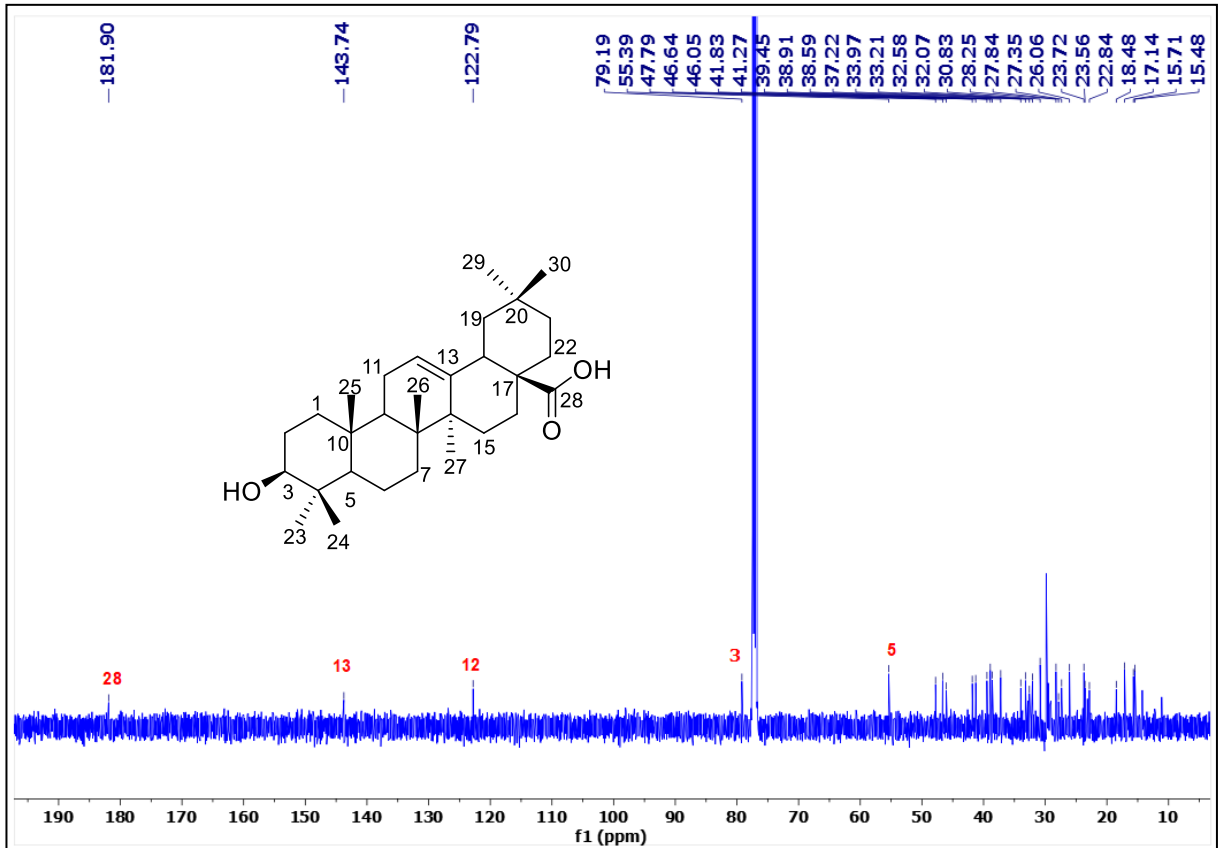
Phụ lục 6. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 150 MHz) của hợp chất 2.



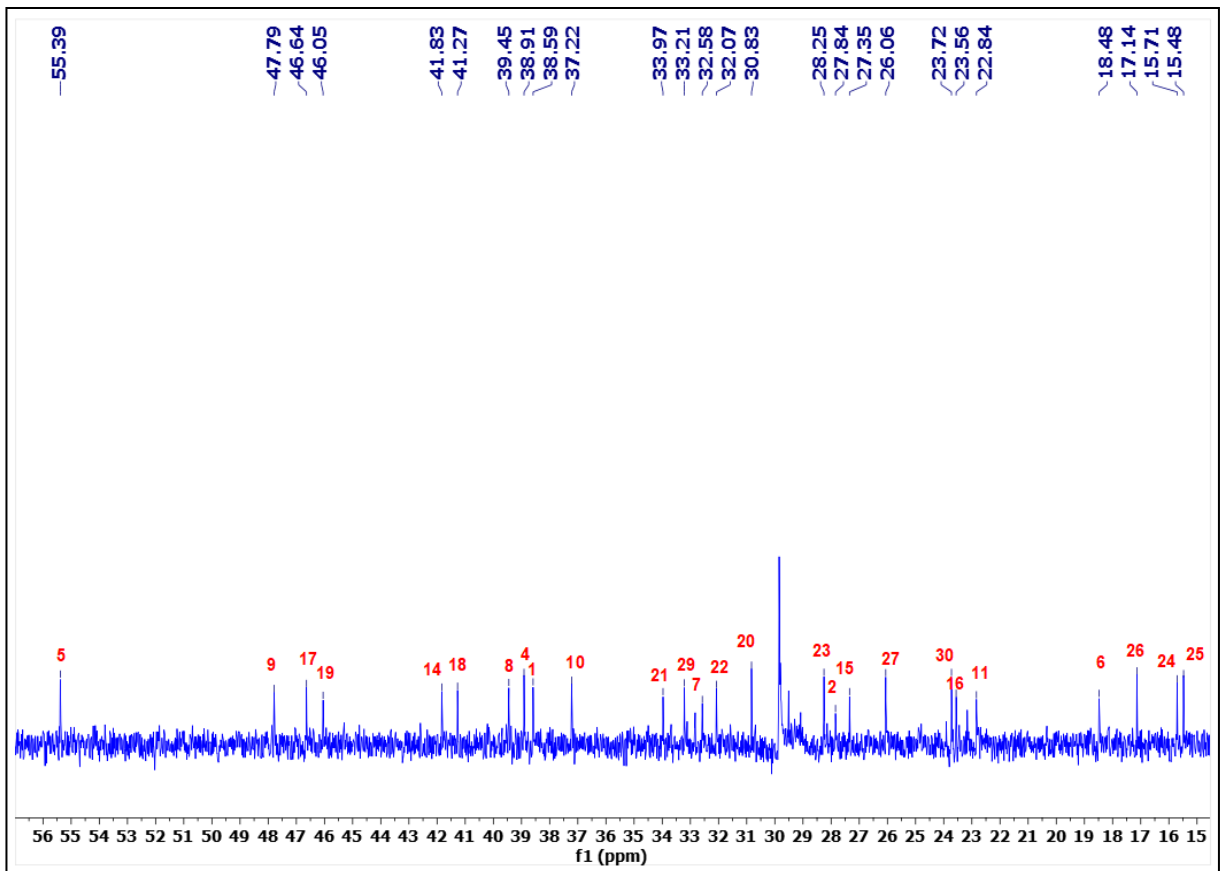
Phụ lục 7. Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) của hợp chất 2 (Mở rộng).



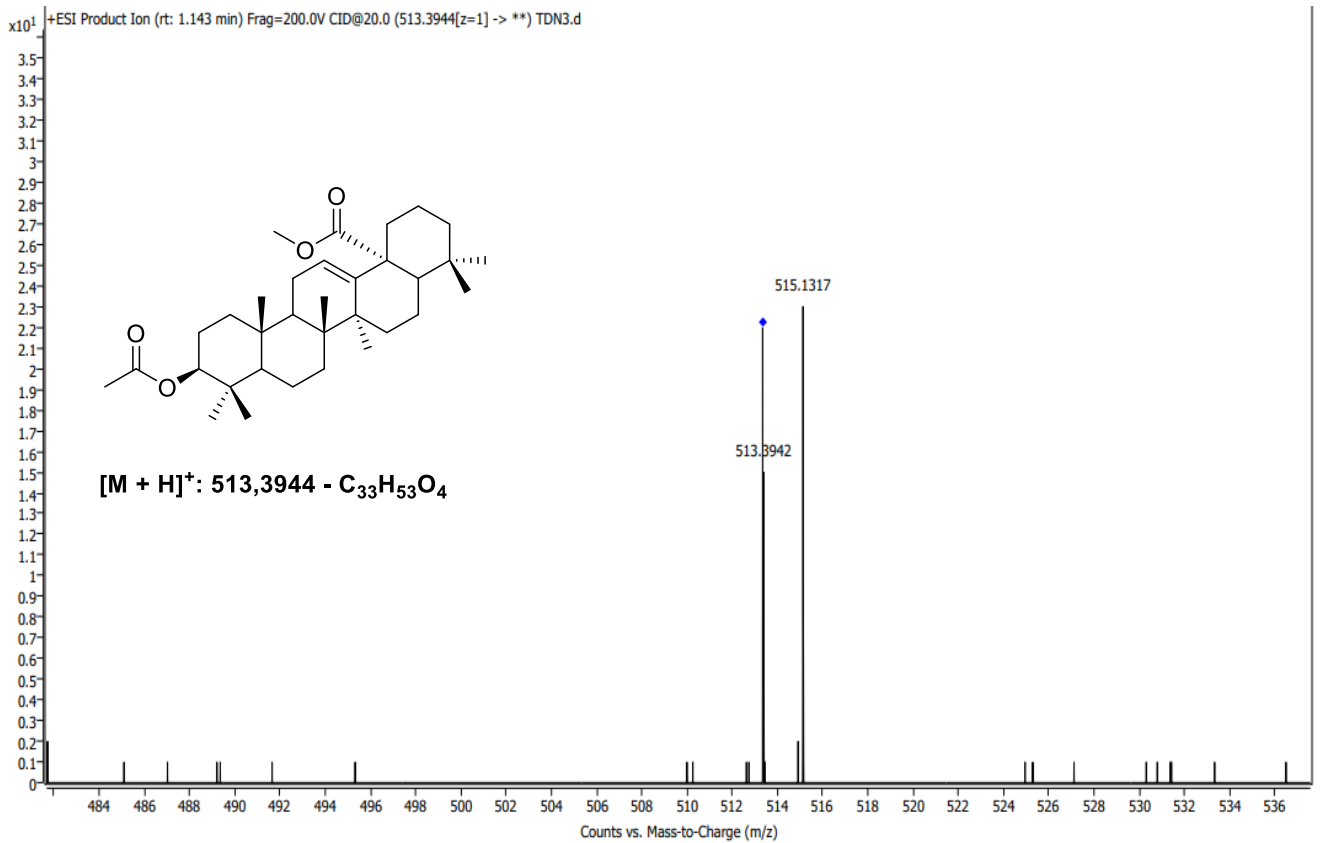
Phụ lục 8. Phổ ^1H -NMR (CDCl $_3$, 600 MHz) của hợp chất 3.



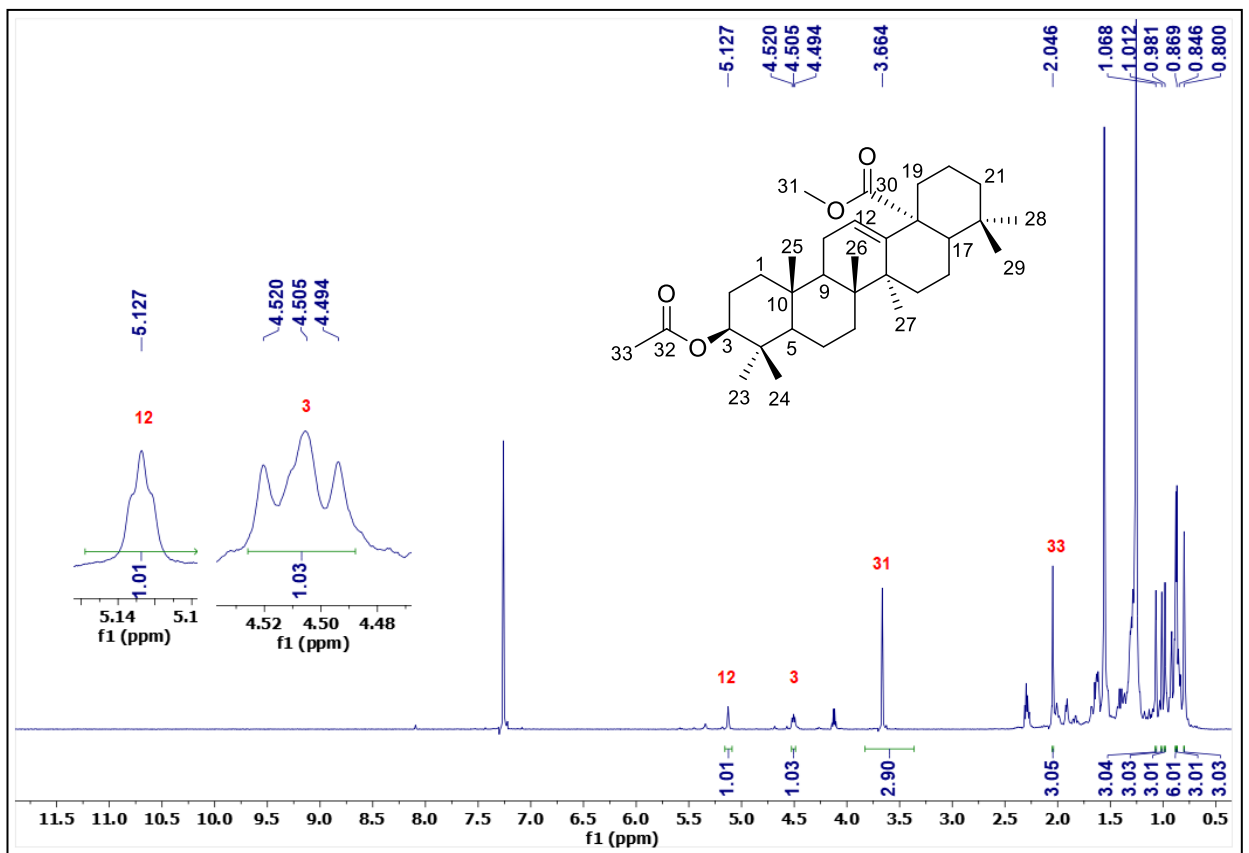
Phụ lục 9. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 150 MHz) của hợp chất 3.



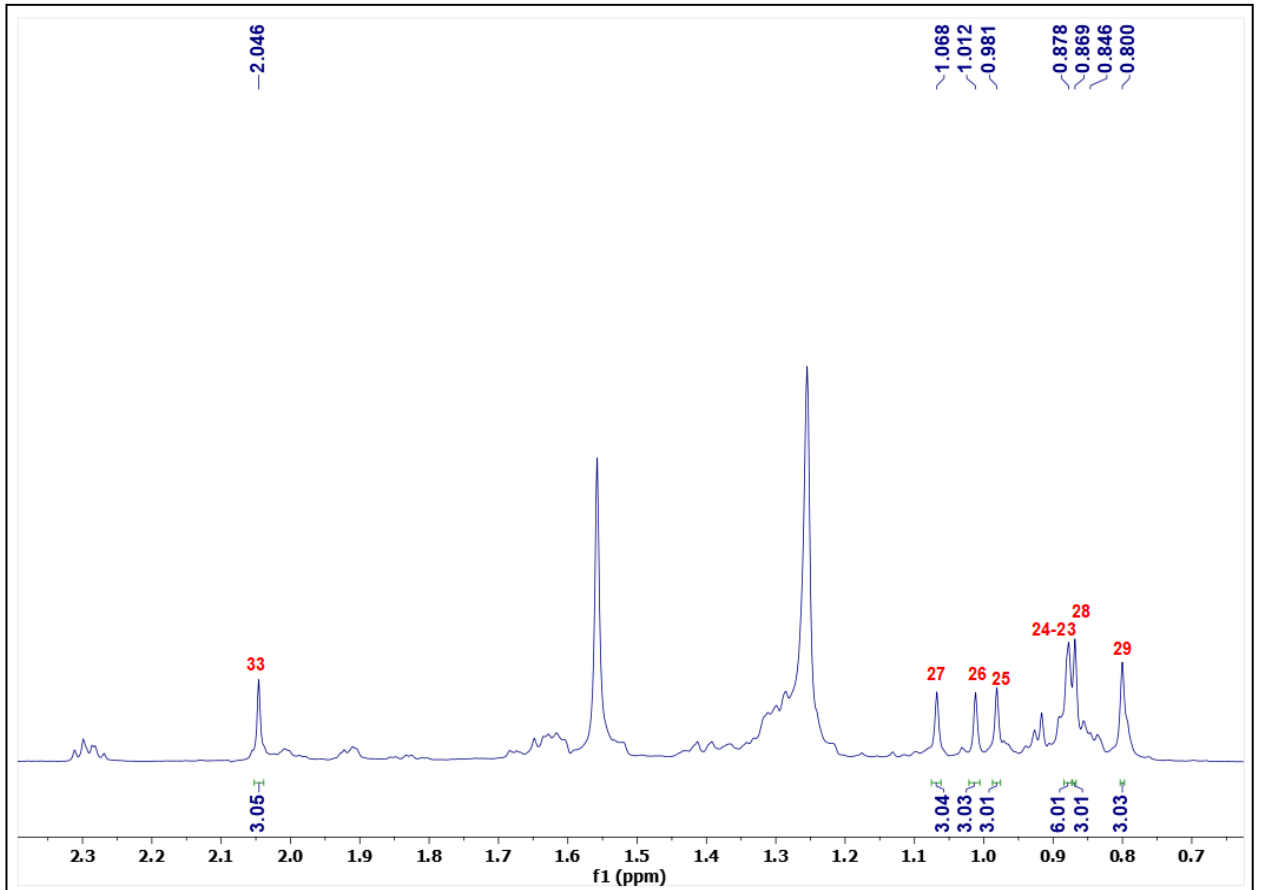
Phụ lục 10. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 150 MHz) của hợp chất 3 (Mở rộng).



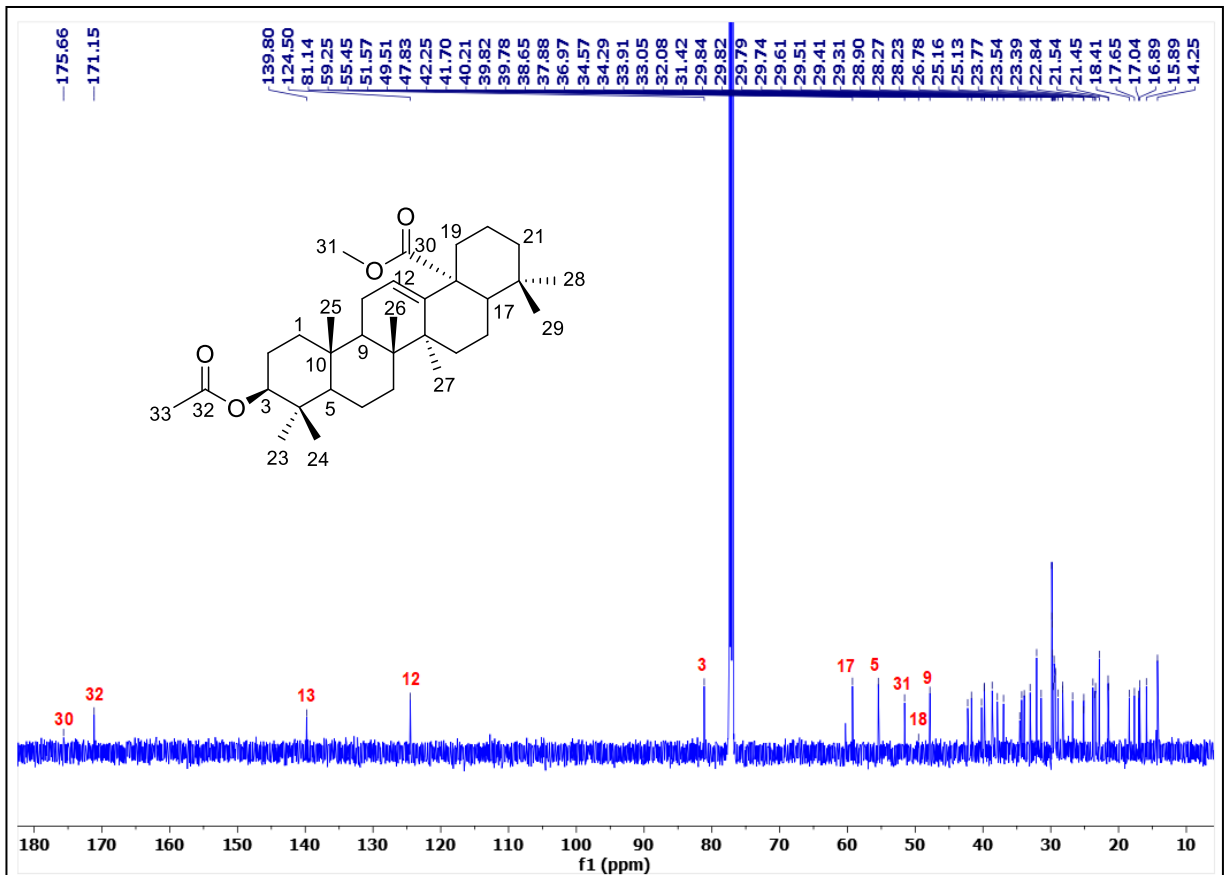
Phụ lục 11. Khối phổ HR-ESI-MS của hợp chất 4.



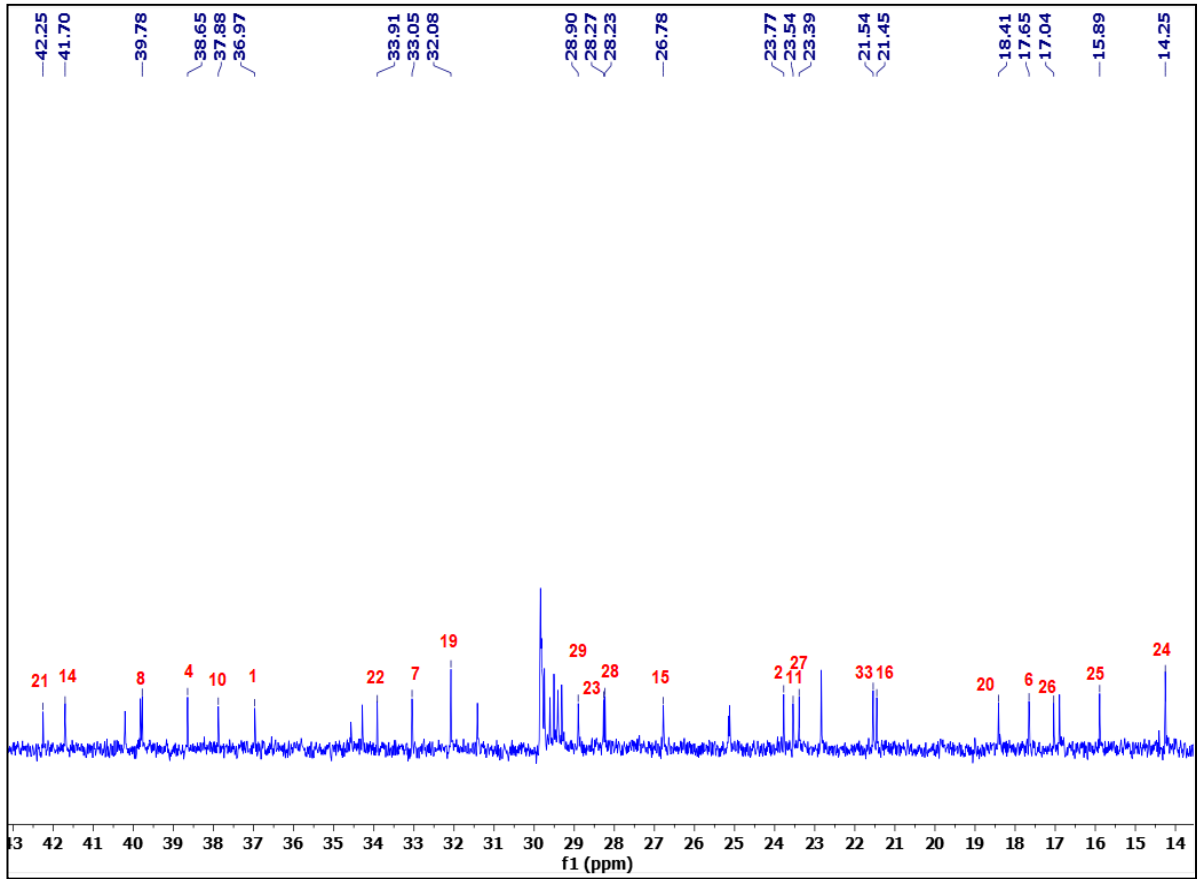
Phụ lục 12. Phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất 4.



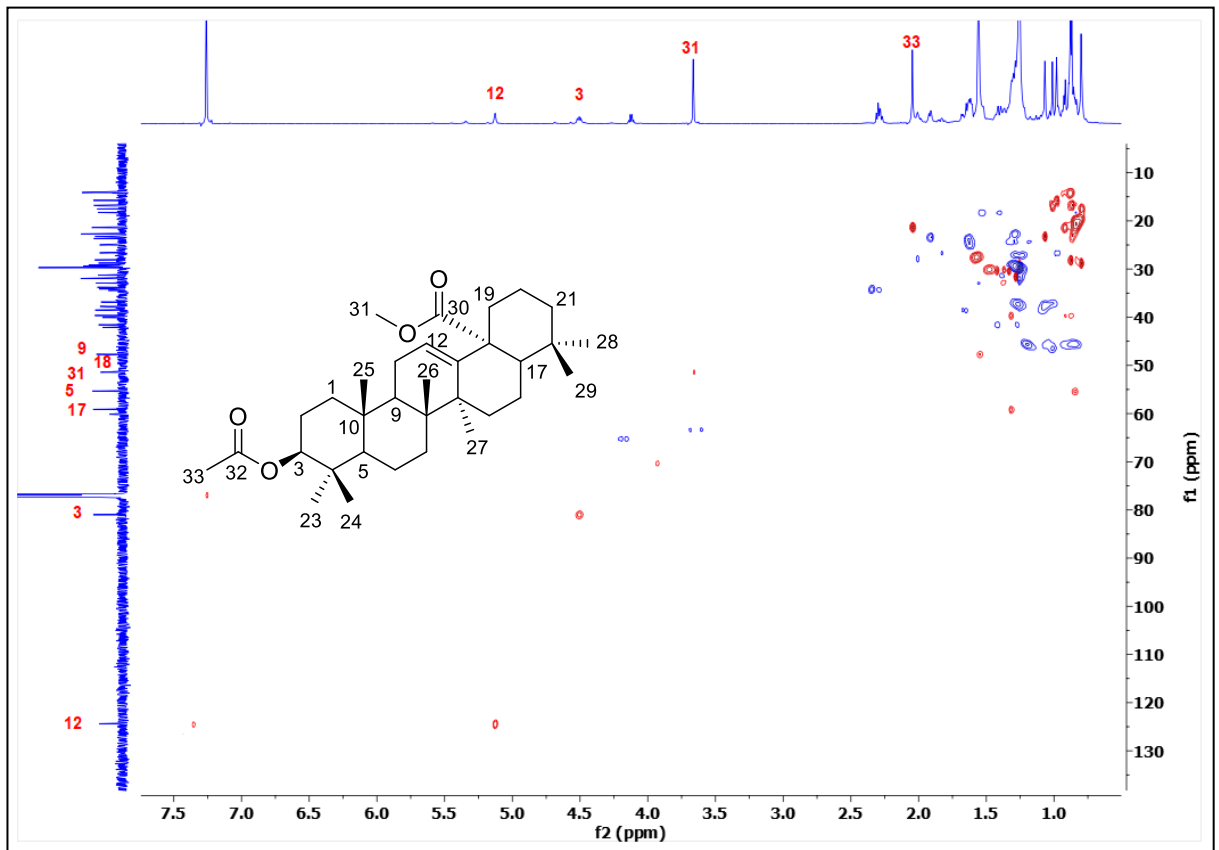
Phụ lục 13. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) của hợp chất 4 (Mở rộng).



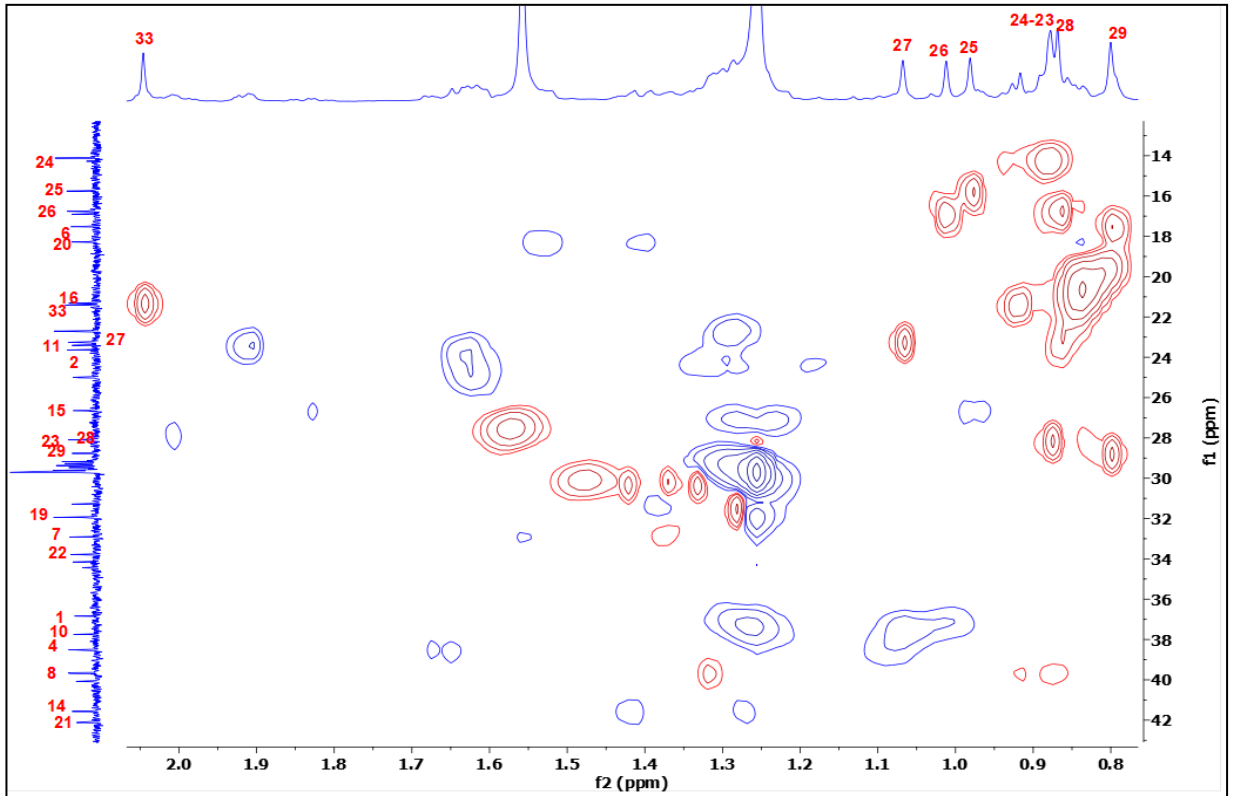
Phụ lục 14. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) của hợp chất 4.



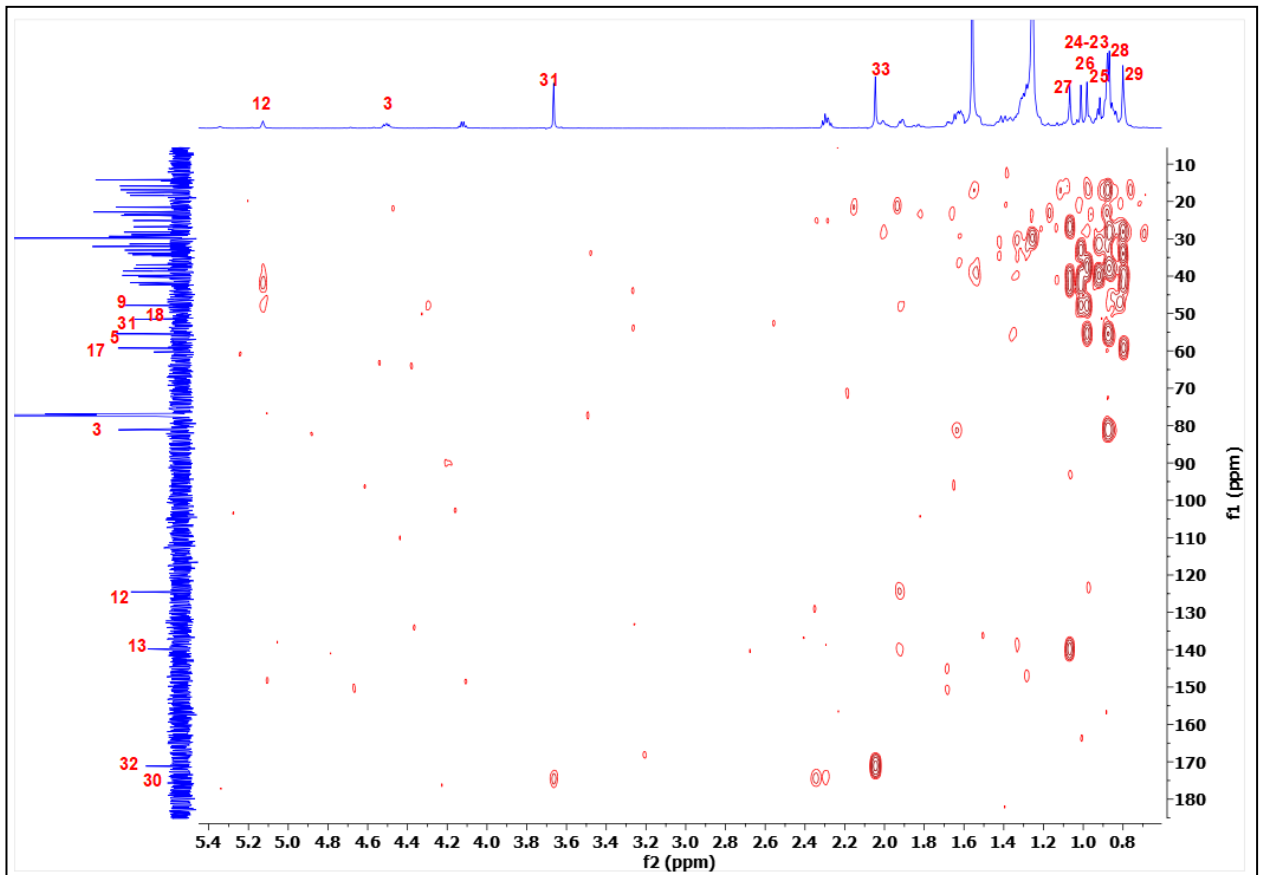
Phụ lục 15. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 150 MHz) của hợp chất **4** (Mở rộng).



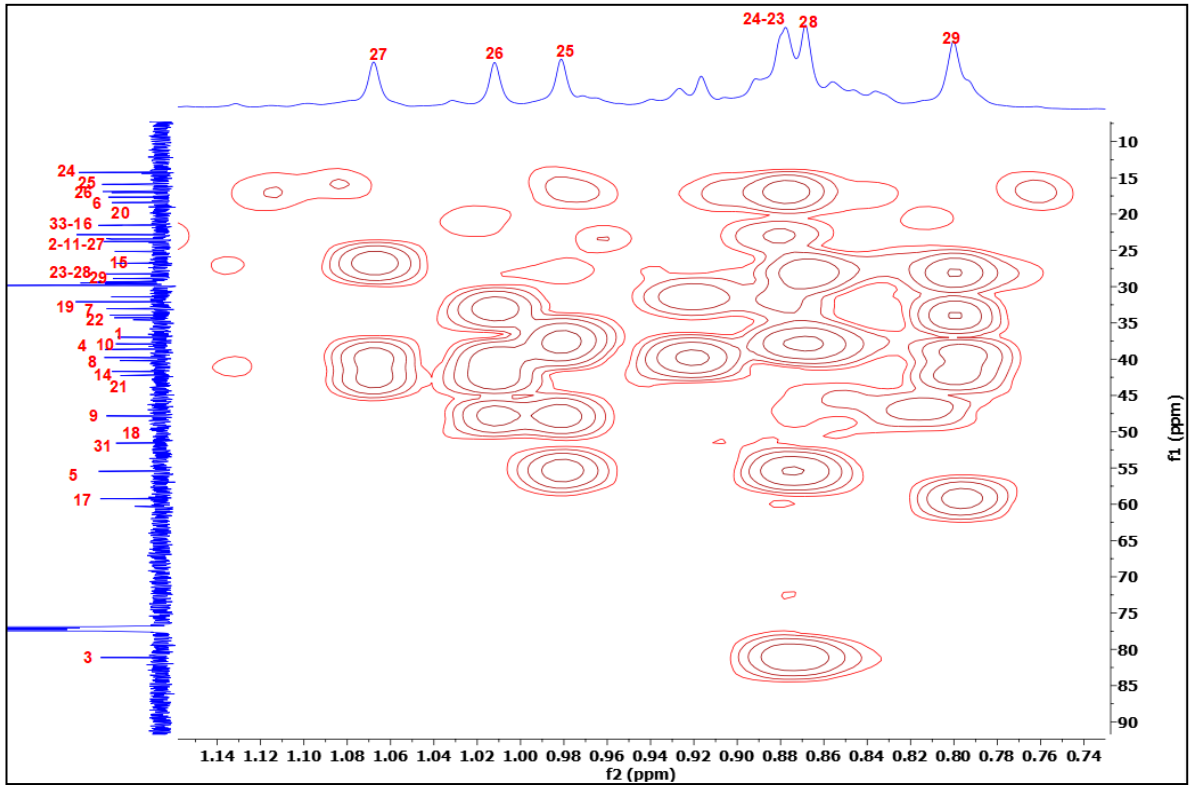
Phụ lục 16. Phổ HSQC (CDCl_3) của hợp chất **4**.



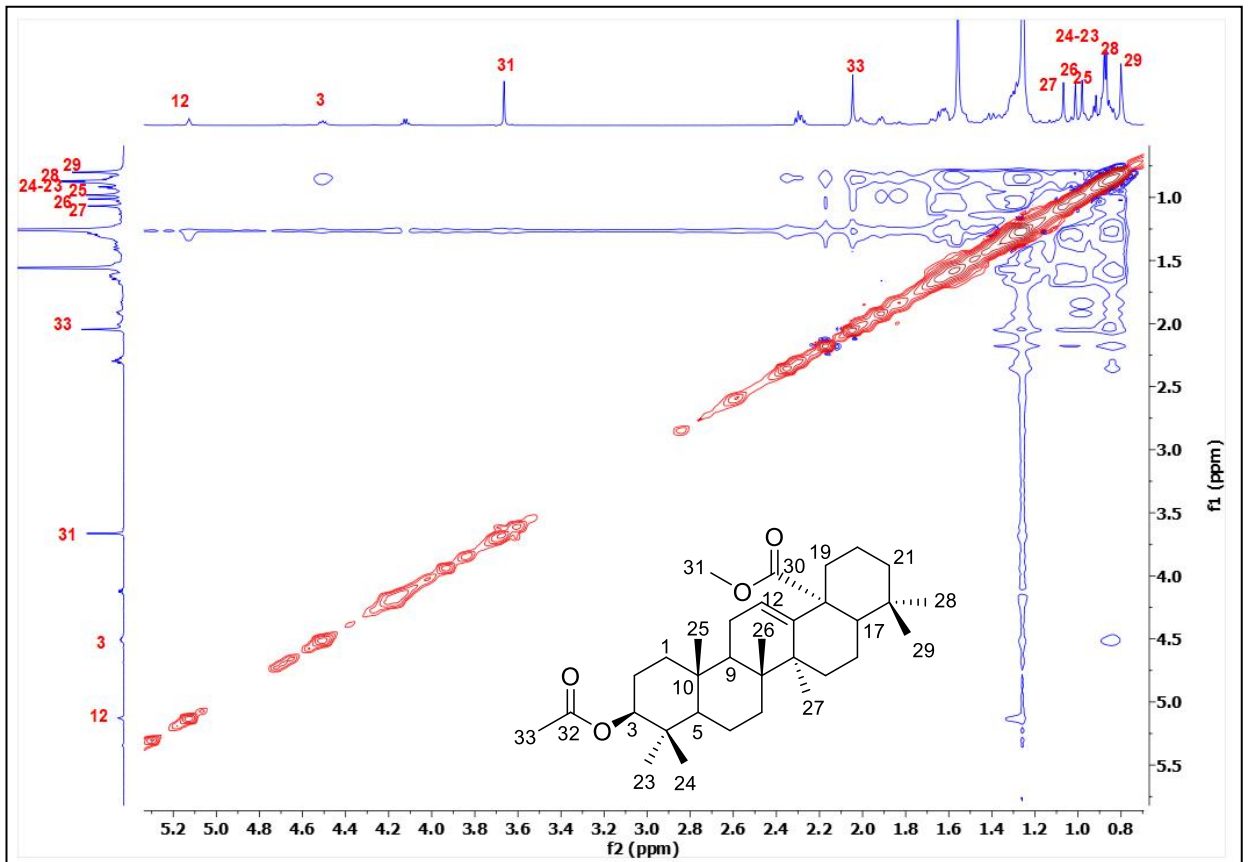
Phụ lục 17. Phổ HSQC (CDCl_3) của hợp chất 4 (Mở rộng).



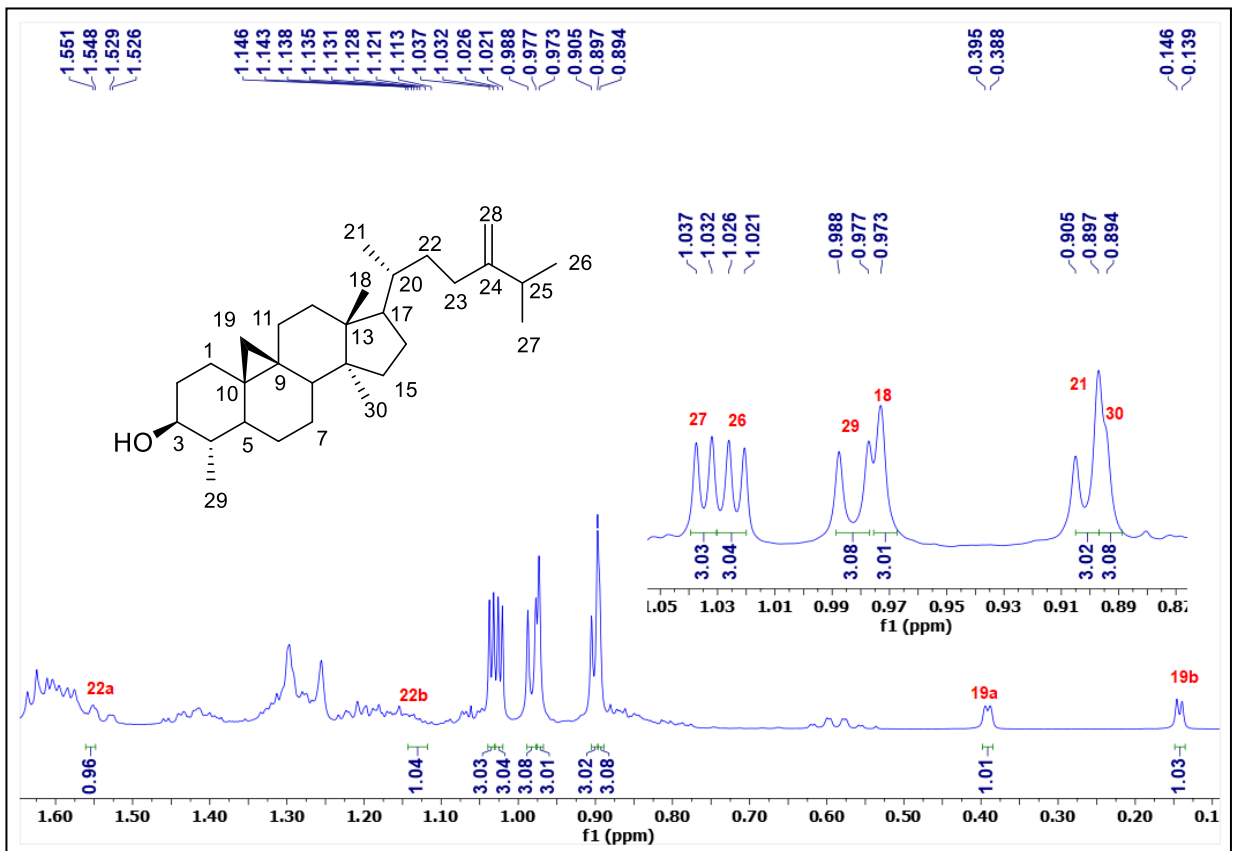
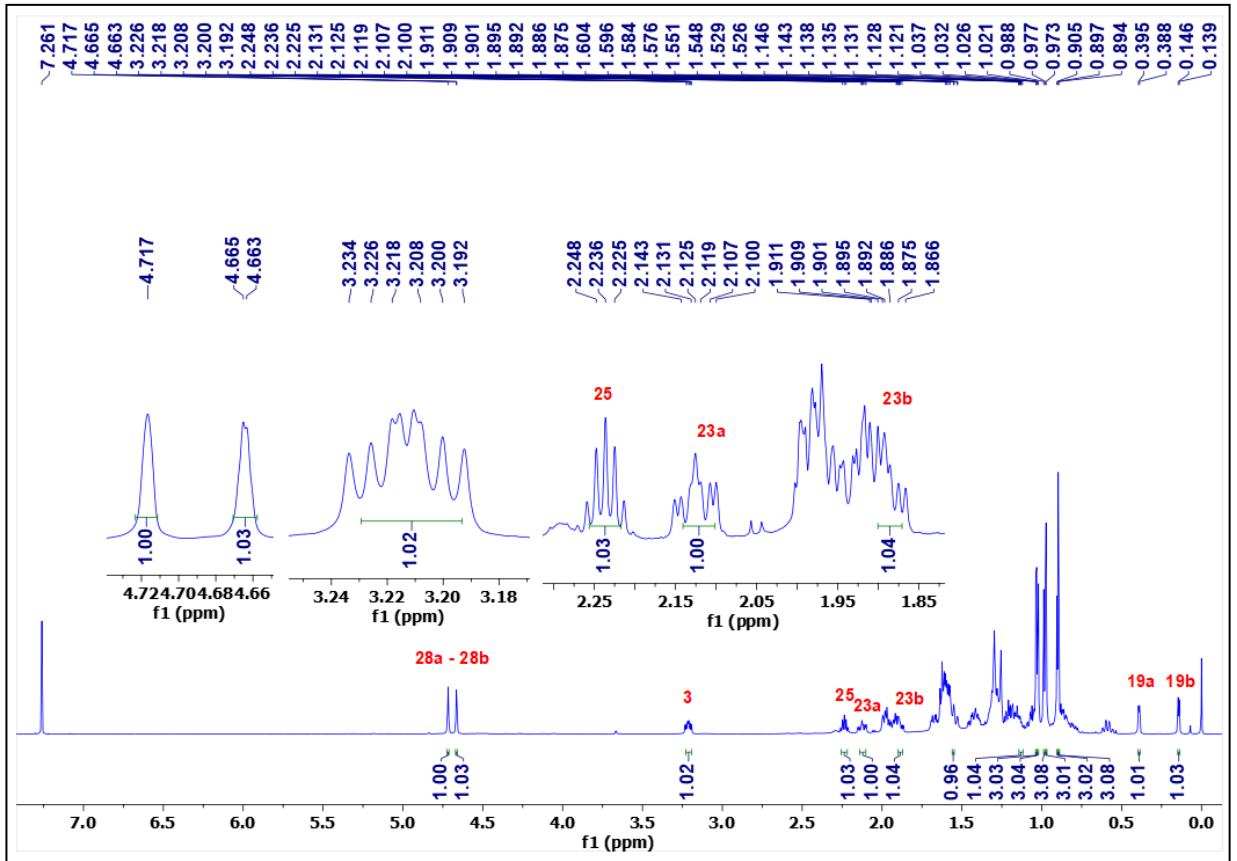
Phụ lục 18. Phổ HMBC (CDCl_3) của hợp chất 4.

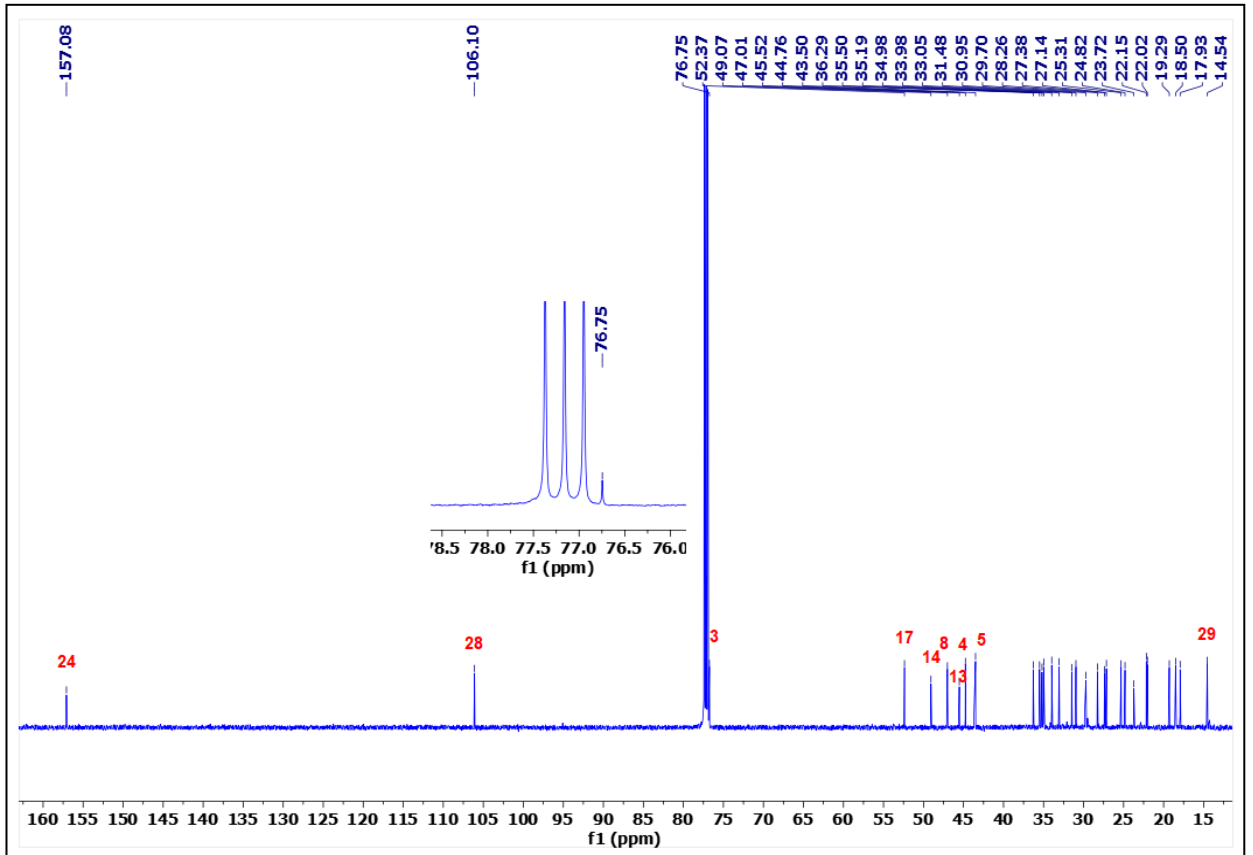


Phụ lục 19. Phổ HMBC (CDCl_3) của hợp chất 4 (Mở rộng).

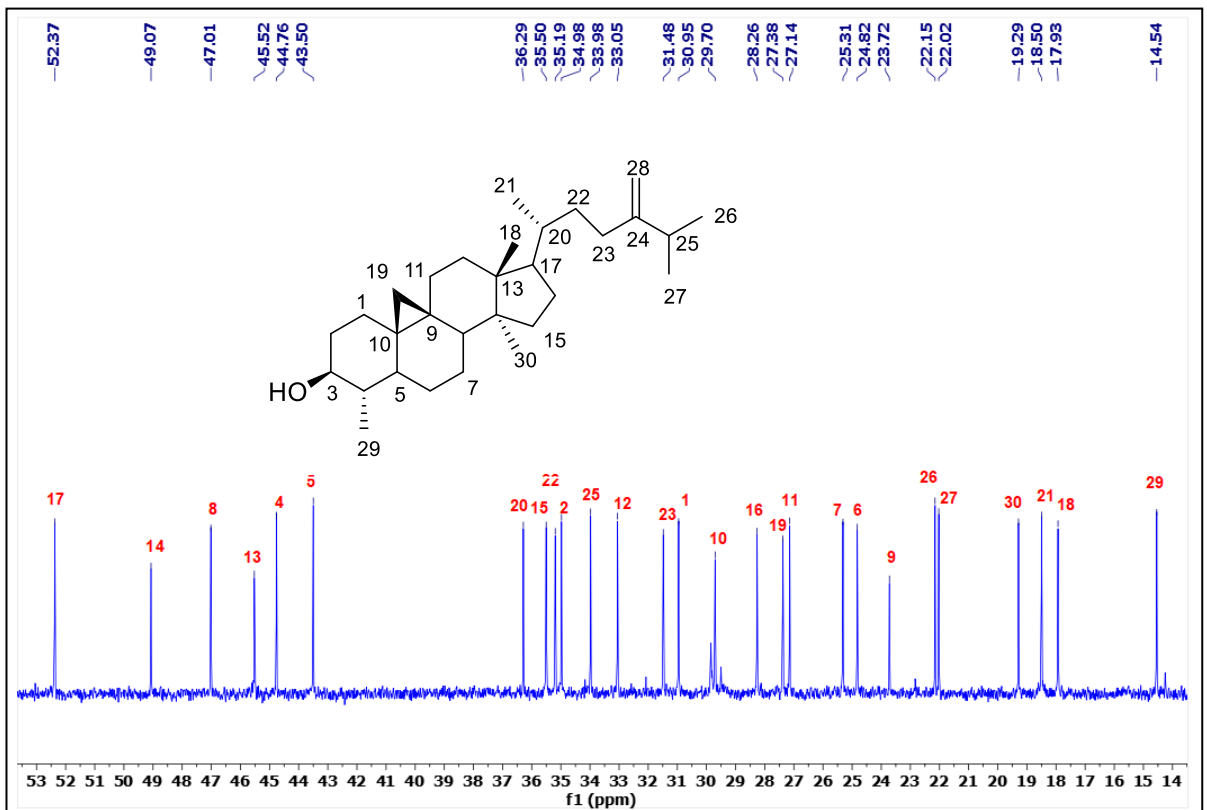


Phụ lục 20. Phổ NOESY của hợp chất 4.

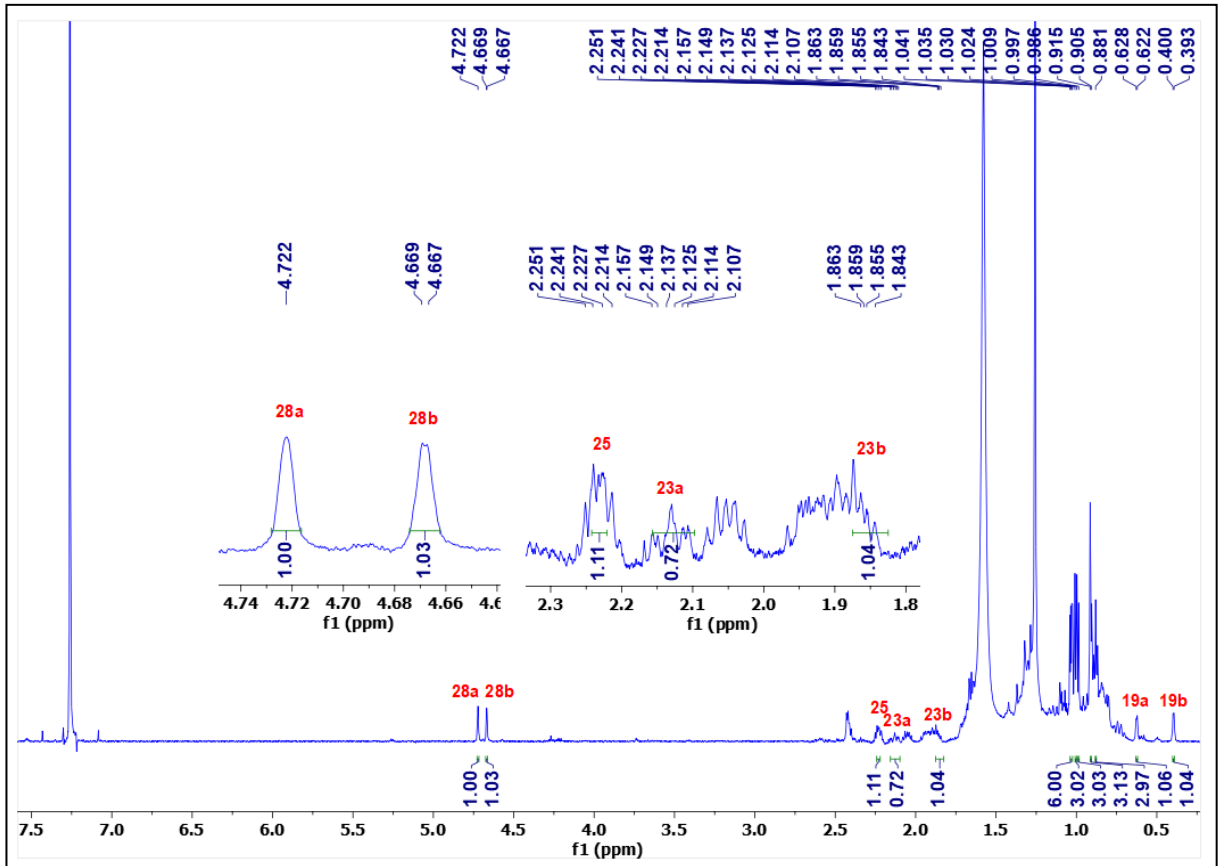




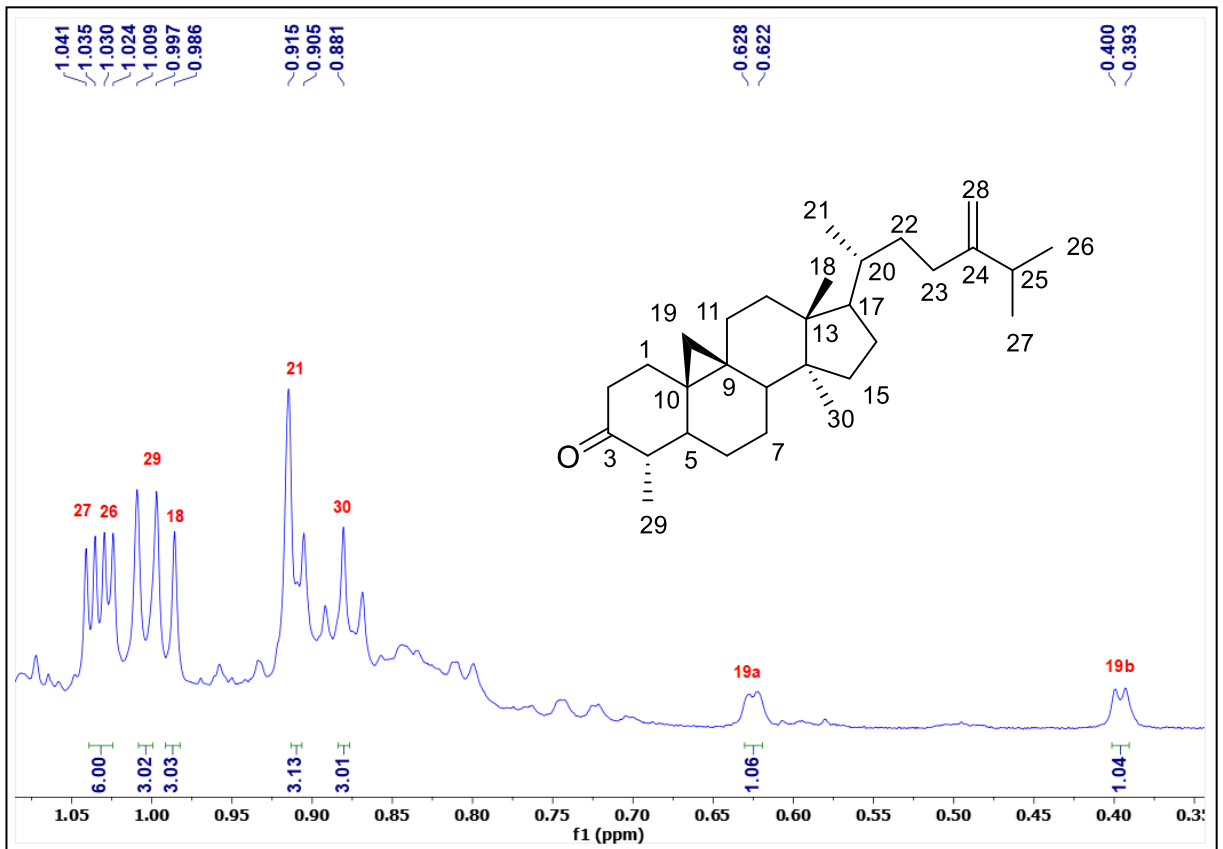
Phụ lục 23. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) của hợp chất 5.



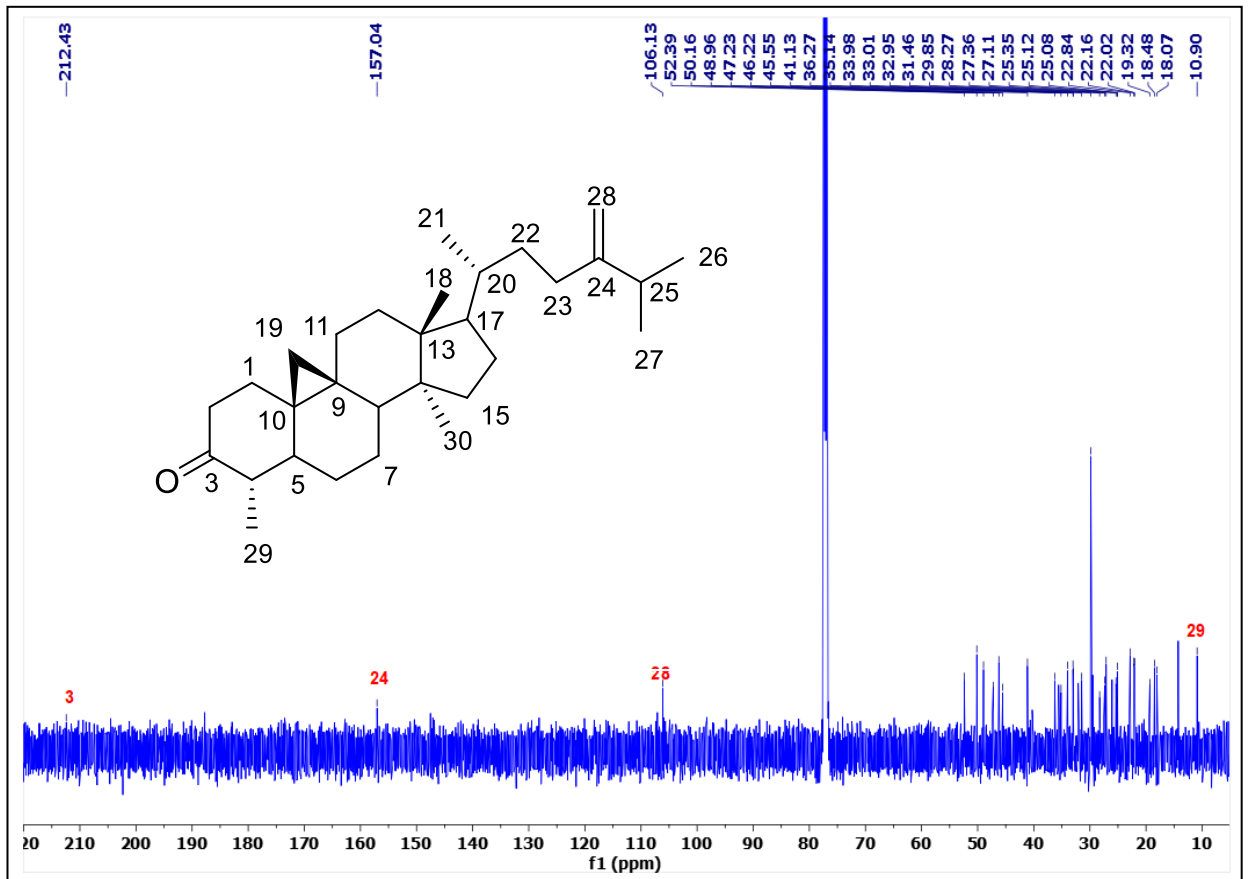
Phụ lục 24. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) của hợp chất 5 (Mở rộng).



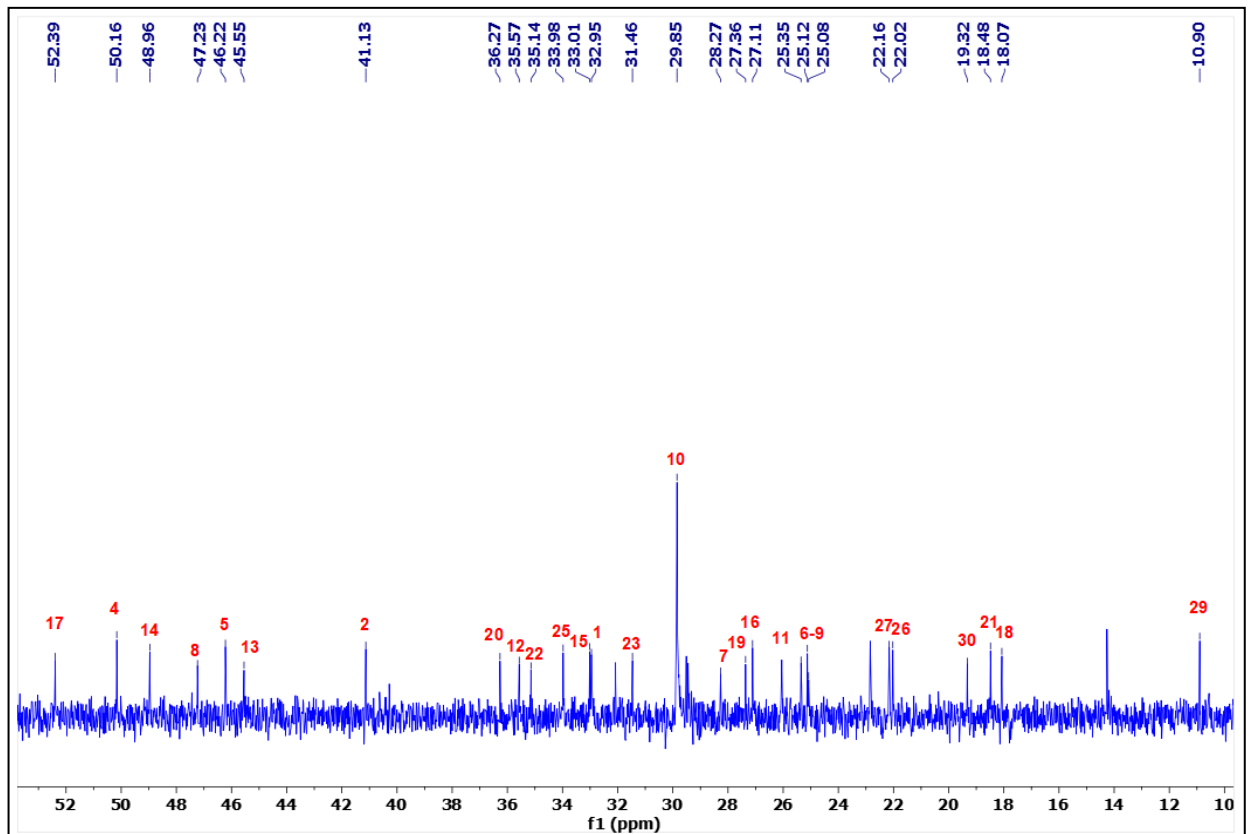
Phụ lục 25. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) của hợp chất **6**.



Phụ lục 26. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) của hợp chất **6** (Mở rộng).



Phụ lục 27. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất 6.



Phụ lục 28. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất 6 (Mở rộng).

Phụ lục 29. Dữ liệu hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các cao phân đoạn được điều từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

Mẫu thử	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
DET	18,69
DET1	7,27
DET2	9,69
DET3	29,90
Acarbose ^a	108,36

Kết quả I (%) được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn n = 3. cho thấy sự khác biệt các giá trị phần trăm ức chế giữa các nồng độ trong một mẫu thử nghiệm ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

^a Chất đối chứng dương

Phụ lục 30. Dữ liệu hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất được phân lập từ thân cây Dâu tằm (*M. alba* L.)

Hợp chất	Phần trăm ức chế (I, %)					IC ₅₀ (μM)
	250 μM	100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
1		96,13 \pm 0,53	87,17 \pm 0,88	45,5 \pm 2,2	7,64 \pm 0,78	27,5
2		96,1 \pm 1,2	79,36 \pm 0,59	56,5 \pm 1,4	30,9 \pm 1,3	21,5
3		81,8 \pm 2,4	57,8 \pm 2,5	15,31 \pm 0,63	1,74 \pm 0,98	45,4
5		84,46 \pm 0,63	62,8 \pm 1,4	35,8 \pm 2,2	8,52 \pm 0,96	38,1
6		82,4 \pm 1,1	55,99 \pm 0,98	21,42 \pm 0,92	3,8 \pm 1,8	45,7
Acarbose ^a	64,5 \pm 1,3	37,9 \pm 1,2	15,5 \pm 3,1	2,8 \pm 1,7	-	168,0

Kết quả I (%) được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn n = 3. cho thấy sự khác biệt các giá trị phần trăm ức chế giữa các nồng độ trong một mẫu thử nghiệm ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

-Không thể hiện hoạt tính ức chế.

^a Chất đối chứng dương