

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Vũ Thành Trung

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢO SÁT
HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ LÁ CỦA LOÀI *Hibiscus tiliaceus* L.**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 84 4 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. Nguyễn Phương Thảo

Hà Nội – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của riêng 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 được công bố trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Tác giả

Vũ Thành Trung

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được thực hiện tại Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của dự án Điều tra cơ bản: “Điều tra các chất có hoạt tính sinh học từ nguồn thực vật ven biển và đảo tỉnh Khánh Hòa”, mã số: UQĐTCB.04/22-24, thuộc nhiệm vụ Điều tra cơ bản cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Với tất cả sự kính trọng và lòng biết ơn chân thành, tôi xin gửi lời cảm ơn đến TS. Nguyễn Phương Thảo, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã định hướng và hướng dẫn tôi tận tình trong suốt thời gian thực hiện luận văn tốt nghiệp. Cùng với đó, tôi xin gửi lời cảm ơn đến Ban lãnh đạo, phòng Đào tạo và các thầy cô giáo của Học viện Khoa học và Công nghệ đã hết lòng giúp đỡ và chỉ bảo tôi trong quá trình học tập và tốt nghiệp.

Tôi xin gửi lời cảm ơn phòng Hoạt chất sinh học - Viện Hóa sinh biển, đặc biệt là TS. Nguyễn Văn Thanh và ThS. Phạm Thanh Bình về sự chỉ bảo tận tình, góp ý cho tôi thuận lợi hoàn thành luận văn và cũng như tạo điều kiện cho tôi được sử dụng các thiết bị của Viện để nghiên cứu, học tập và hoàn thành tốt luận văn tốt nghiệp của mình. Xin cảm ơn gia đình, bạn bè đã động viên, khích lệ giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Vì kiến thức bản thân còn hạn chế nên trong quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn này tôi không tránh khỏi những sai sót, kính mong nhận được những ý kiến đóng góp từ các quý thầy cô.

Tôi xin chân thành cảm ơn !

Học viên

Vũ Thành Trung

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ	vii
DANH MỤC CÁC BẢNG	viii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	3
1.1. Giới thiệu về chi Dâm bụt	3
1.2. Tổng quan về loài Bụt tra	4
1.2.1. Giới thiệu về loài Bụt tra.....	4
1.2.2. Đặc điểm thực vật	4
1.2.3. Tác dụng dược lý	5
1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Bụt tra	5
1.3.1. Các nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học của loài Bụt tra	5
1.3.1.1. Các hợp chất sesquiterpene	5
1.3.1.2. Các hợp chất triterpenoid	7
1.3.1.3. Các hợp chất steroid	8
1.3.1.4. Các hợp chất khác.....	9
1.3.2. Các nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học của loài Bụt tra	11
1.3.3. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học của loài Bụt tra.....	13
1.3.3.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định	13
1.3.3.2. Hoạt tính gây độc tế bào.....	14
1.3.3.3. Các hoạt tính khác	14
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	17
2.1. Đối tượng nghiên cứu	17
2.2. Phương pháp nghiên cứu	17
2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu thực vật	17
2.2.2.1. Các phương pháp phân lập các hợp chất.....	18
2.2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học.....	18
2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định	19

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	20
3.1. Kết quả phân lập	20
3.2. Thông số vật lý của các hợp chất	22
3.2.1. Hợp chất HT1 : methyl-tiliaceate A (Hợp chất mới)	22
3.2.2. Hợp chất HT2 : methyl-tiliaceate B (Hợp chất mới).....	22
3.2.3. Hợp chất HT3 : cleistantoxin	23
3.2.4. Hợp chất HT4 : <i>N-trans</i> -(<i>p</i> -hydroxyphenethyl) ferulamide.....	23
3.2.5. Hợp chất HT5 : <i>N-cis</i> -(<i>p</i> -hydroxyphenethyl) ferulamide.....	23
3.2.6. Hợp chất HT6 : 3-hydroxy-1-(<i>p</i> -hydroxyphenyl)propan-1-one.....	23
3.3. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất	23
3.3.1. Hợp chất HT1 : methyl-tiliaceate A (Hợp chất mới)	23
3.3.2. Hợp chất HT2 : methyl-tiliaceate B (Hợp chất mới).....	30
3.3.3. Hợp chất HT3 : cleistantoxin	36
3.3.4. Hợp chất HT4 : <i>N-trans</i> -(<i>p</i> -hydroxyphenethyl) ferulamide.....	38
3.3.5. Hợp chất HT5 : <i>N-cis</i> -(<i>p</i> -hydroxyphenethyl) ferulamide.....	39
3.3.6. Hợp chất HT6 : 3-hydroxy-1-(<i>p</i> -hydroxyphenyl)propan-1-one.....	40
3.4. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất phân lập được	42
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	44
1. Kết luận	44
2. Kiến nghị	44
TÀI LIỆU THAM KHẢO	45
PHỤ LỤC PHỔ CỦA HỢP CHẤT ĐÃ BIẾT	i

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
<i>Các phương pháp sắc ký:</i>		
CC/SKC	Column Chromatography	Sắc ký cột
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký lớp mỏng
<i>Các phương pháp phổ:</i>		
^{13}C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
CTPT		Công thức phân tử
1D/2D NMR	1-Dimensional/2-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO	Dimethylsulfoxide	Dimethylsulfoxide
KLPT		Khối lượng phân tử
^1H NMR	Proton Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
^1H - ^1H COSY	^1H - ^1H Chemical Shift Correlation Spectroscopy	Phổ tương tác proton
HR-TOF-MS	High Resolution Time of-Flight Mass Spectrometer	Phổ khối phân giải cao thời gian bay
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
MeOH	Methanol	Metanol/rượu metylic
Mp	Melting point	Điểm chảy
TMS	Tetramethylsilane	Tetrametyl silan
Các định lượng sinh học khác:		
EC ₅₀	Effective concentration 50%	Nồng độ có hiệu quả 50%
EC ₁₀₀	Effective concentration 100%	Nồng độ có hiệu quả 100%
ED ₅₀	Effective dose 50%	Liều hiệu dụng 50%
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50%	Nồng độ ức chế 50%
LC ₅₀	Median lethal concentration	Liều chết cấp tính theo nồng độ
LD ₅₀	Median lethal dose	Liều chết cấp tính theo khối lượng
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MTT	[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide]	[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromua]
VSVKĐ		Vi sinh vật kiểm định
<p>s: singlet; d: doublet; dd: doublet doublet; ddd: doublet doublet doublet; t: triplet; dt: doublet triplet; q: quartet; qu: quintet; m: multiplet; br: broad.</p>		
<p>Tên của các hợp chất, lớp chất, nhóm thế, chức hóa học được sử dụng nguyên gốc theo tiếng Anh.</p>		

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

Hình 2.1. Cây Bụt tra - <i>Hibiscus tiliaceus</i> L.	17
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài Bụt tra.....	21
Hình 3.2. Cấu trúc của HT1 , chất tham khảo và các tương tác HMBC chính	24
Hình 3.3. Phổ HR-ESI-MS của HT1	24
Hình 3.4. Phổ ¹ H-NMR của HT1	24
Hình 3.5. Phổ ¹³ C-NMR của HT1	25
Hình 3.6. Phổ HSQC của HT1	26
Hình 3.7. Phổ HMBC của HT1	26
Hình 3.8. Phổ COSY của HT1	27
Hình 3.9. Phổ NOESY của HT1	28
Hình 3.10. Một số tương tác NOESY của HT1	28
Hình 3.11. Phổ CD của HT1	29
Hình 3.12. Các hợp chất tham khảo phân lập thể tại C-9	29
Hình 3.13. Cấu trúc của HT2 , chất tham khảo và các tương tác HMBC chính	31
Hình 3.14. Phổ HR-ESI-MS của HT2	31
Hình 3.15. Phổ ¹ H-NMR của HT2	31
Hình 3.16. Phổ ¹³ C-NMR của HT2	32
Hình 3.17. Phổ HSQC của HT2	33
Hình 3.18. Phổ HMBC của HT2	33
Hình 3.19. Phổ COSY của HT2	34
Hình 3.20. Phổ NOESY của HT2	34
Hình 3.21. Một số tương tác NOESY của HT2	35
Hình 3.22. Phổ CD của HT2	36
Hình 3.23. Cấu trúc của HT4 và các tương tác HMBC chính.....	38
Hình 3.24. Cấu trúc của HT5 và các tương tác HMBC chính.....	39
Hình 3.25. Cấu trúc của HT6 và các tương tác HMBC chính.....	40
Hình 3.26. Các hợp chất phân lập được từ lá của loài <i>H. tiliaceus</i>	42

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Bảng số liệu phổ NMR của HT1 và hợp chất tham khảo	30
Bảng 3.2. Bảng số liệu phổ NMR của HT2 và hợp chất tham khảo	35
Bảng 3.3. Bảng số liệu phổ NMR của HT3 và hợp chất tham khảo	37
Bảng 3.4. Bảng số liệu phổ NMR của HT4 và hợp chất tham khảo	38
Bảng 3.5. Bảng số liệu phổ NMR của HT5 và hợp chất tham khảo	40
Bảng 3.6. Bảng số liệu phổ NMR của HT6 và hợp chất tham khảo	41
Bảng 3.7. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của một số hợp chất phân lập được	42

MỞ ĐẦU

Cây thực vật ngập mặn/bán ngập mặn thường là một loại cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ phân bố ở các vùng nước lợ, nước mặn hoặc ven biển, trong đất bùn hoặc gành đá và rất quan trọng về mặt sinh thái trong sinh cảnh biển ven bờ biển của nhiều quốc gia. Những loài thực vật này phát triển trong điều kiện môi trường khắc nghiệt như độ mặn cao, ngập úng, thủy triều cao/thấp, nhiệt độ cao, hàm lượng oxy và dinh dưỡng thấp, đất kỵ khí bùn lầy và điều kiện gió mạnh nơi các loài thực vật khác khó có thể phát triển. Cùng với các điều kiện sống khắc nghiệt trên, còn các loài côn trùng, vi sinh vật và các điều kiện khác cũng đóng góp một phần lớn vào việc gia tăng sự cạnh tranh sinh tồn cho quần thể thực vật độc đáo này [1]. Tuy nhiên, những cây ngập mặn này vẫn thích nghi tốt với điều kiện sống bất lợi bằng cách thay đổi các điều kiện sinh trưởng của chúng dẫn đến quá trình sinh tổng hợp các hợp chất hóa học mới giúp bảo vệ những loài này chống lại các tác nhân sinh học và phi sinh học khác nhau. Chúng còn biết đến là nguồn cung cấp các chất chuyển hóa tự nhiên và thể hiện đa dạng tiềm năng hoạt tính sinh học đa dạng [2, 3]. Một số hợp chất hoặc chất chuyển hóa thứ cấp đã thể hiện dược lý đáng quan tâm để điều trị một số bệnh theo cách sử dụng truyền thống trong dân gian. Đến nay, 84 loài thực vật ngập mặn đã được xác định, trong số đó có 27 loài được sử dụng như những thảo dược truyền thống, tuy nhiên không phải tất cả chúng được thử nghiệm về các tác dụng dược lý [1]. Trong thời gian dài, thực vật ngập mặn đã được sử dụng phổ biến làm thực phẩm (như trái cây, mật hoa...), thức ăn chăn nuôi và làm thuốc ở nhiều nơi trên thế giới [4-6]. Thực vật ngập mặn đã được đánh giá cao về tầm quan trọng trên thế giới vì chúng được biết đến với nhiều hoạt tính tiềm năng chống lại nhiều bệnh như các bệnh tim mạch, tiểu đường, kháng sinh và kháng ung thư [1, 7]. Hiện nay, các loại thuốc có nguồn gốc từ tự nhiên thường an toàn và có tính tương thích cao hơn với cơ thể con người do thành phần hóa học có sự tương quan đến sinh học hơn và có ít tác dụng phụ hơn so với các loại thuốc bán/tổng hợp hóa học. Do đó, những loài thực vật ngập mặn này có thể là một trong những nguồn cung cấp các hợp chất/thành phần hóa học tiềm năng đặc trị chữa nhiều loại bệnh. Trước đây đã có nhiều nỗ lực nhằm chứng minh các công dụng truyền thống của một số cây ngập mặn bằng các mô hình thử nghiệm sinh học *in vitro* và *in vivo*. Tuy nhiên, các nghiên cứu hiện vẫn còn nhiều hạn chế để làm rõ được các công dụng dân gian của những loài thực vật ngập mặn.

Chi Dâm bụt (*Hibiscus*) thuộc họ Bông (Malvaceae) bao gồm khoảng hơn 300 loài phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới [8], trong đó khoảng 21 loài đã được ghi nhận ở nước ta [9, 10]. Loài Bụt tra có tên khoa học *Hibiscus tiliaceus* L. (thuộc chi *Hibiscus*, họ Malvaceae) [11], theo tác giả V. V. Chi, loài Bụt tra này có thể chữa ung sang thũng độc, trúng độc do ăn lá sắn. Lá cây có tác dụng rửa vết thương, mụn mủ, nhuận tràng... bên cạnh đó thì phần rễ cây có thể gây nôn [12]. Trên thế giới đã có nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *H. tiliaceus*, ở Việt Nam cũng có công bố về loài này [13, 14]. Để nghiên cứu sâu hơn liên quan đến loài *H. tiliaceus*, đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính sinh học từ lá của loài *Hibiscus tiliaceus* L.” đã được lựa chọn. Việc nghiên cứu thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính sinh học của loài này là cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao, góp phần tích cực vào việc khai thác và sử dụng một cách hợp lý nguồn tài nguyên thiên nhiên của đất nước.

❖ **Mục tiêu của luận văn:**

1. Nghiên cứu và làm rõ thành phần hóa học chủ yếu của loài *H. tiliaceus*.
2. Đánh giá sơ bộ về hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất phân lập được.

❖ **Nội dung chính của luận văn:**

1. Thu thập mẫu lá của loài *H. tiliaceus*.
2. Phân lập và xác định các hợp chất từ loài *H. tiliaceus* phân lập được bằng các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ kết hợp.
3. Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định đối với các hợp chất phân lập được.

❖ **Bố cục của luận văn:**

Mở đầu (02 trang): giới thiệu chung về luận văn. Chương 1: Tổng quan (12 trang): phân tích đánh giá về tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước, các vấn đề có liên quan đến đối tượng nghiên cứu, các vấn đề còn tồn tại và nội dung cần giải quyết. Chương 2: Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu (04 trang): trình bày các phương pháp chủ yếu sử dụng trong thực nghiệm, phương pháp phân tích đánh giá kết quả bằng các kỹ thuật. Chương 3: Kết quả và thảo luận (11 trang): trình bày mô hình thí nghiệm và kết quả đạt được, xử lý và phân tích số liệu đưa ra nhận xét và đánh giá về kết quả thông qua số liệu thực nghiệm (30 trang). Kết luận và Kiến nghị (01 trang). Tài liệu tham khảo (69 tài liệu, 8 trang) và Phụ lục các phổ (15 trang).

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về chi Dâm bụt

Giới: Plantae

Bộ: Malvales

Họ: Malvaceae

Chi: *Hibiscus*

Chi Dâm bụt (*Hibiscus*) thuộc họ Bông (Malvaceae) bao gồm khoảng hơn 300 loài phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, trong đó có tới 43 loài được tìm thấy ở vùng Malaysia [8]. Theo tác giả N. T. Bân, chi *Hibiscus* bao gồm 21 loài đã được ghi nhận ở nước ta trong Danh lục các loài thực vật Việt Nam [10]. Chi này bao gồm các loại cây thân thảo một năm hay lâu năm cũng như các loại cây bụi thân gỗ và cây thân gỗ nhỏ. Lá mọc so le, loại lá đơn hình trứng hay hình mũi mác, thông thường với mép lá dạng răng cưa hay dạng thùy. Hoa lớn, dễ thấy, hình kèn, với năm cánh hoa, có màu từ trắng tới hồng, đỏ, tím hay vàng và rộng từ 4-15 cm. Quả là loại quả nang năm thùy khô, chứa vài hạt trong mỗi thùy, được giải phóng khi quả nang tách ra khi chín [15].

Các loài thuộc chi *Hibiscus* phát triển mạnh và thích ứng với nhiều điều kiện khí hậu và tạo ra sự đa dạng của các nhóm hợp chất thiên nhiên với các hoạt tính sinh học tiềm năng [16]. Vì vậy, không khỏi ngạc nhiên khi các điều tra dược lý gần đây của chi *Hibiscus* chỉ ra sự hiện diện của một số loài có tác dụng sinh học như hạ huyết áp, hạ sốt, ức chế khối u, chống ứ nước, chống viêm gan, chống tiêu chảy, phòng và hỗ trợ tiểu đường, chống co giật, chất chống miễn dịch, chống giun sán, chống oxy hóa và kháng thể các tác nhân di truyền khác [17-20]. Trong số đó, đã có gần 20 loài *Hibiscus* đã được đánh giá hoạt tính sinh học [21]. Mở rộng nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Hibiscus* đã xác định các hợp chất chính thuộc các nhóm chất như alkaloid, flavonoid, sesquiterpenoid, triterpenoid và các acid hữu cơ [22]. Tuy nhiên, ở nước ta đến nay các nghiên cứu liên quan đến thành phần hóa học cũng như đánh giá hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi này vẫn rất hạn chế.

Trên thế giới, chi *Hibiscus* được trồng khá phổ biến làm cảnh quan, thực phẩm và làm thuốc. Lá của một số loài được dùng làm rau và sợi thân cũng được dùng làm bột giấy và giấy. Chất nhầy của cây được sử dụng làm chất làm mềm và giảm mỡ cho

áp xe, loét, nhiễm trùng da, sung tấy, nhọt và quai bị. Ở Nam, Đông Nam và Đông Á, chất nhầy được cho là có tác dụng làm mát và được sử dụng để chữa lành vết bỏng và bỏng nước, một số ít được dùng làm thuốc chữa ho, viêm phế quản, đái buốt, rong kinh [22].

1.2. Tổng quan về loài Bụp tra

1.2.1. Giới thiệu về loài Bụp tra

Tên khoa học: *Hibiscus tiliaceus* L.

Tên đồng nghĩa: *Talipariti tiliaceum* (L.) Fryxell

Tên thường gọi: Bụp tra, Tra làm chiếu, Tra hoa vàng...

Thuộc chi: Dâm bụt - *Hibiscus*

Họ: Bông - Malvaceae Juss

1.2.2. Đặc điểm thực vật

Loài Bụp tra có tên khoa học là *Hibiscus tiliaceus* L. (còn có tên đồng nghĩa là *Talipariti tiliaceum* (L.) Fryxell), thuộc chi Dâm bụt (*Hibiscus*), họ Bông (Malvaceae) [23]. Có tên gọi khác ở Việt Nam như là Tra làm chiếu, Tra hoa vàng... Cây phân bố rộng rãi ở các vùng nước lợ, gần nước mặn, vùng ven biển, các khu vực rừng bán ngập mặn ở bãi bồi ven sông nước ta thuộc các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long và một số tỉnh miền Đông Nam bộ như Đồng Nai, Bà Rịa, Vũng Tàu và Thành phố Hồ Chí Minh. Ngoài ra, loài này còn khá phổ biến ở Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản, Campuchia, Thái Lan, Malaysia, Indonesia, Philippines, New Guinea... [10].

Bụp tra là một loài thực vật ven biển vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Gắn liền với rừng ngập mặn, đây là loài cây sinh trưởng nhanh, có thể cao tới 20 m [24]. Là loại cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ, cao từ 5-15 m. Lá đơn, mọc cách, phiến lá hình tim, cỡ 5-11 × 3-8 cm, gân góc 5-7, gân phụ 3-5 cặp, mặt dưới có lông hình sao, cuống lá dài 3-8 cm. Lá kèm hình trứng hay bầu dục thuôn, cỡ 2-3 × 1,2-1,5 cm. Hoa mọc đơn độc ở nách lá hay cụm hoa hình chùm ở đỉnh cành, cuống hoa dài 3-6 cm. Đài phụ hình chén, 10-11 thùy hình mũi giáo hay tam giác nhọn. Đài hình chén, mép có năm thùy hình mũi giáo hay trứng thuôn. Cánh hoa màu vàng, gốc mặt trong màu nâu đậm, hình trứng ngược. Ống chỉ nhị dài 2,5-3 cm. Quả nang hình cầu hay cầu dẹt, cỡ 2,3-2,5 × 2,5-3 cm, có lông cứng và lông hình sao màu vàng. Lá hình trái tim, hoa

hình chuông với tâm và nhụy màu hạt dẻ. Chúng có màu vàng vào buổi sáng, chuyển sang màu đỏ cam vào buổi tối và màu hoa cà vào sáng hôm sau [9].

1.2.3. Tác dụng dược lý

Theo tác giả V. V. Chi, loài Bụp tra có vị ngọt, nhạt, tính hơi hàn, thân và lá có tác dụng thanh lương tiêu thũng và nhuận tràng, cành non và hoa có tác dụng giải độc sẩn [12]. Trong y học dân gian Trung Quốc, loài Bụp tra có thể dùng làm thuốc, có tác dụng thanh nhiệt giải độc và tán huyết tiêu sưng. Rễ của cây được sử dụng làm thuốc hạ sốt và gây nôn, trong khi phần lá và vỏ cây được sử dụng để điều trị ho và viêm phế quản [25]. Hoa của cây còn được sử dụng để điều trị nhiễm trùng tai [26] và sử dụng trong mục đích kế hoạch hóa gia đình ở các nước Châu Á và Châu Phi [27]. Ở Indonesia, lá của loài này được dùng làm thuốc nhuận tràng. Bên cạnh đó, ở Philippines, vỏ cây còn được dùng để chữa bệnh kiết lỵ. Ở quần đảo Papua New Guinea, lá cây được sắc nước dùng để chữa đau họng, viêm phổi, ho, lao và tiêu chảy [8].

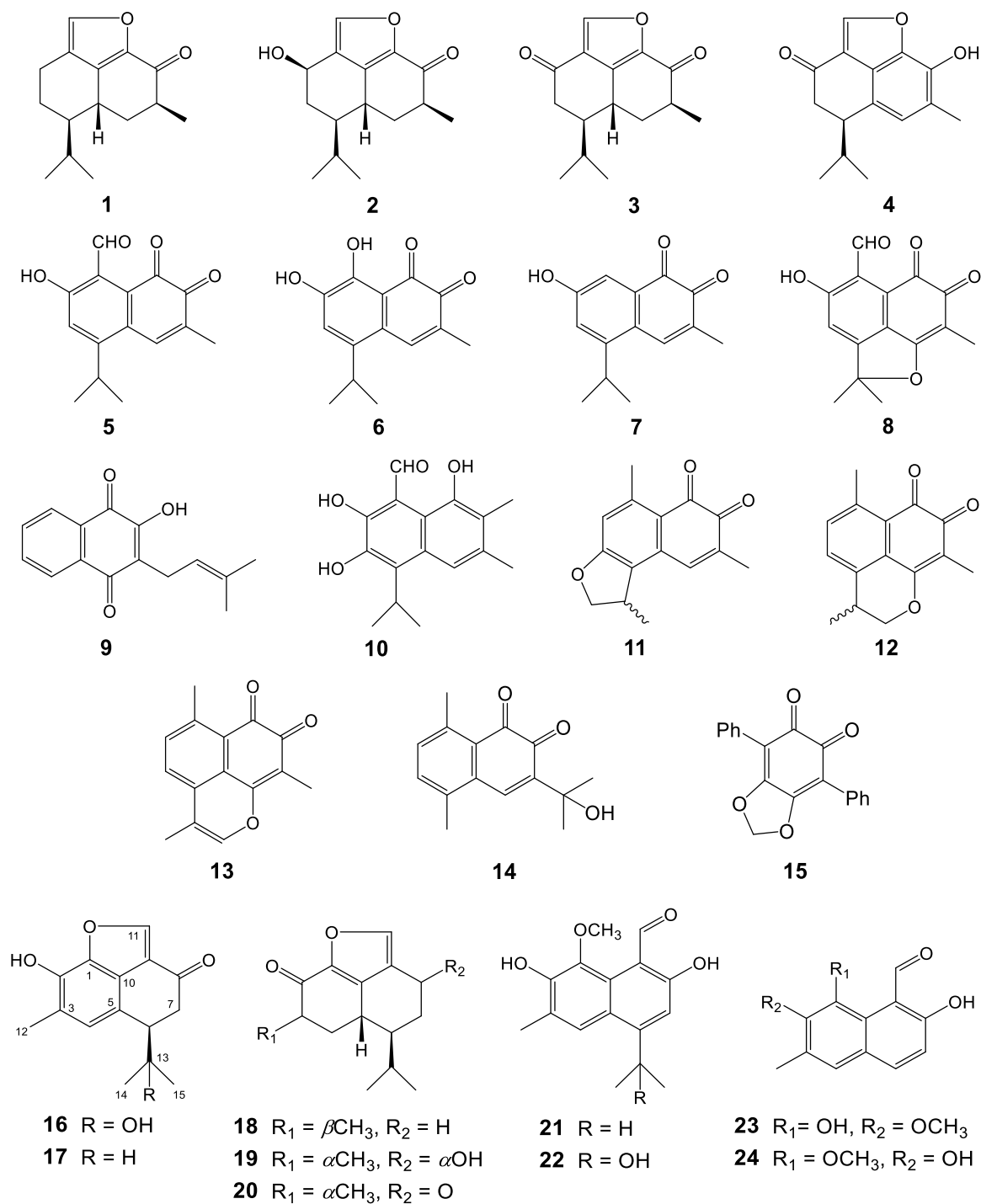
1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Bụp tra

1.3.1. Các nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học của loài Bụp tra

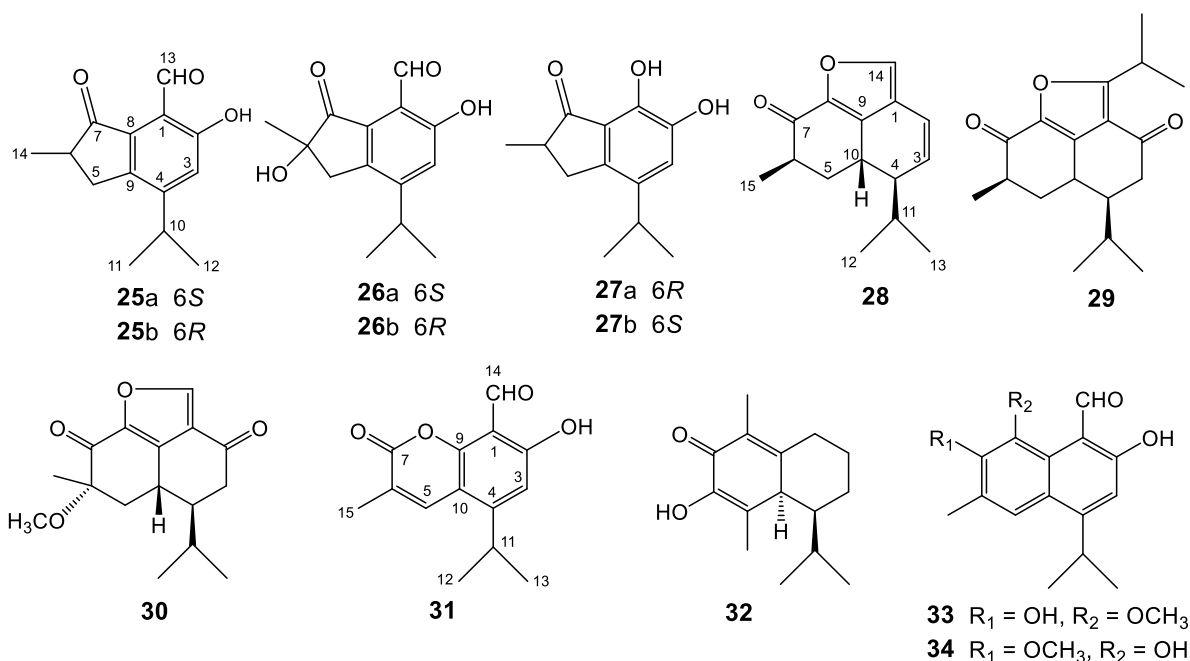
Cho đến nay, các nhà khoa học trên thế giới đã báo cáo các nhóm chất chính như benzaldehyde, flavonoid, terpenoid, steroid... từ các bộ phận khác nhau của loài *H. tiliaceus* [28]. Trong số các loại hợp chất đã được công bố thì các hợp chất sesquiterpene chiếm ưu thế. Từ những năm 1973, S. Subramanian và các cộng sự đã xác định được sự có mặt của các dẫn xuất phenol của acid *p*-coumaric, acid fumaric, kaempferol, kaempferol-3-*O*-D-galactoside, quercetin và quercetin-3-*O*-D-galactoside từ phần quả cây [29]. Cyanidin-3-glucoside là anthocyanin chính có mặt trong hoa của loài này [30]. Rất nhiều các hợp chất khác cũng đã được xác định trong hoa của loài này là các hydrocarbon no của 15-34 carbon, methyl este của các acid béo, α -tocopherol và phytosteroid [31].

1.3.1.1. Các hợp chất sesquiterpene

Từ những năm 1980, A. Sadaquat và các cộng sự đã phân lập được 15 hợp chất là các dẫn xuất sesquiterpenoid quinone trong đó có chín hợp chất phân lập từ phần thân của loài *H. tiliaceus* bao gồm hibiscone A-D (1–4), hibiscoquinone A-D



(5–8) và lapachol (9) [32]. Còn từ phần rễ của loài này, các nhà khoa học đã phân lập được sáu hợp chất khác như gossypol (10), mansonone D-F (11–13), emmotin-H (14) và phlebiarubrone (15) [32]. Cũng theo hướng nghiên cứu này, năm 2020, T. Matsumoto và các cộng sự đã phân lập 11 hợp chất trong đó có năm hợp chất terpenoid mới được đặt tên là hibiscusterpen I-V (16–20) và sáu hợp chất đã biết bao gồm hibiscone B-C (2–3), sohemigossypol-1-methyl ether (21), virginicin (22), parvifloral A (23) và syriacusin A (24) từ thân và cành của loài này [33]. Năm 2022,

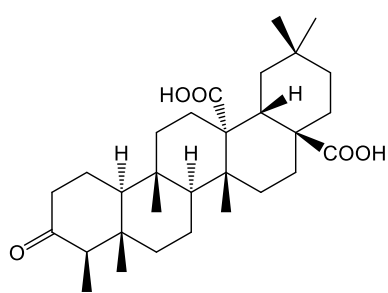


C. Deli và nhóm nghiên cứu của mình đã phân lập được tám hợp chất cadinane sesquiterpenoid mới (**25–32**), trong đó có ba cặp đồng phân đối quang được đặt tên là hibisceusin A-C (**25–27**), hibisceusin F-H (**28–30**) và hibisceusin D-E (**31–32**) cùng với hai hợp chất isomer isohemigossypol-1-methyl ether (**33–34**) đã biết cũng được tìm thấy từ phần vỏ cây của loài này. Các hợp chất **25–27** đã được tinh chế thành công bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC với cột sắc ký tách đồng phân đối quang và cấu hình tuyệt đối của từng chất được xác định bằng cách so sánh phổ ECD tính toán và thực nghiệm. Kết quả này cho phép xác định hợp chất **25a/25b**, **26a/26b** và **27a/27b** là các cặp đồng phân đối quang của nhau và cấu trúc của các hợp chất này còn được xác định bằng phương pháp phổ X-ray [34].

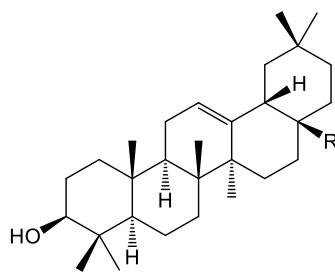
1.3.1.2. Các hợp chất triterpenoid

Năm 2006, từ phần thân và vỏ của loài *H. tiliaceus*, L. Lyia và các cộng sự đã công bố một friedelane triterpenoid mới là acid 27-oxo-3-oxo-28-friedelanoic (**35**) và tám triterpenoid đã biết trong đó có năm hợp chất là dẫn xuất của khung friedelane bao gồm 3 α -hydroxy friedelane-2-one (**36**), 4 α -hydroxyfriedelane-3-one (**37**), friedelin (**38**), *epi*-friedelanol (**39**) và pachysandiol A (**40**) [35].

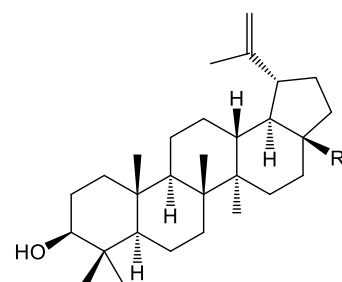
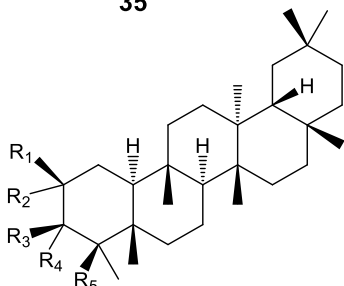
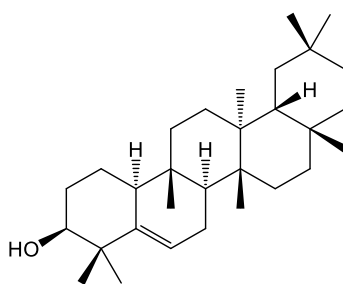
Năm 2008, nhóm nghiên cứu của C. Feng từ cặn chiết EtOAc từ lá loài này đã phân lập được bốn hợp chất triterpenoid đã biết là **38**, 12-oleanen-3 β -ol (**41**), 3 β -hydroxy-12-oleanen-28-oic acid (**42**) và 20(29)-lupen-3 β ,28-diol (**43**) [36]. Đến năm 2011, mười hợp chất từ vỏ và thân của loài *H. tiliaceus* đã được W. Z. Zhao và nhóm



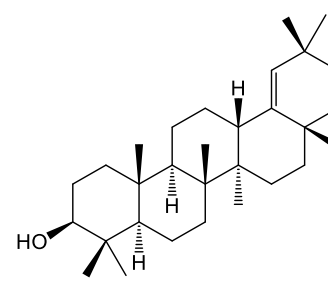
35

41 R = CH₃

42 R = COOH

43 R = CH₂OH46 R = CH₃36 R₁ + R₂ = O, R₃ = R₅ = H, R₄ = OH37 R₁ = R₂ = H, R₃ + R₄ = O, R₅ = OH38 R₁ = R₂ = R₅ = H, R₃ + R₄ = O39 R₁ = R₂ = R₄ = R₅ = H, R₃ = OH40 R₁ = R₄ = R₅ = H, R₂ = R₃ = OH

44

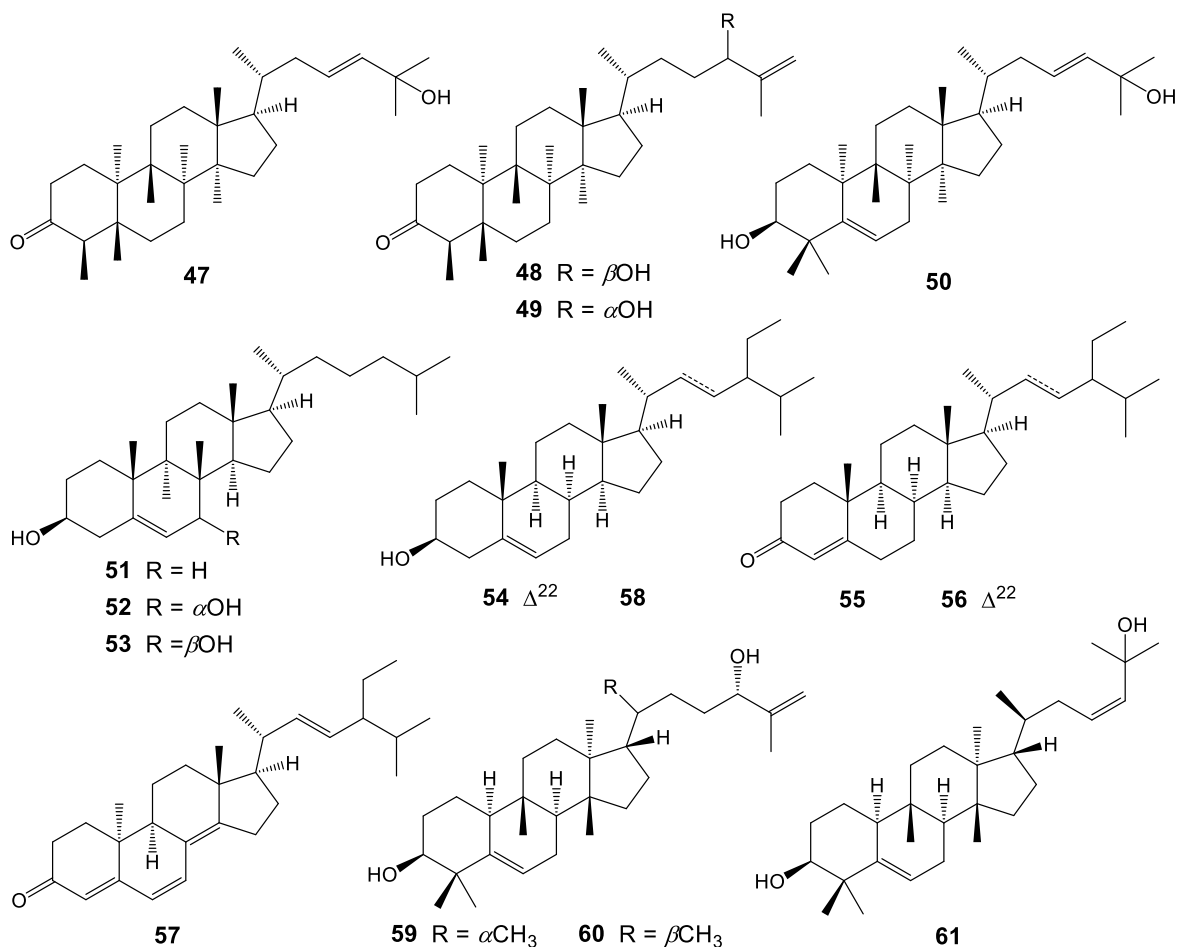


45

ngiên cứu đã xác định, trong đó có ba hợp chất triterpenoid đó là glutinol (**44**), germanicol (**45**) và lupeol (**46**) [37].

1.3.1.3. Các hợp chất steroid

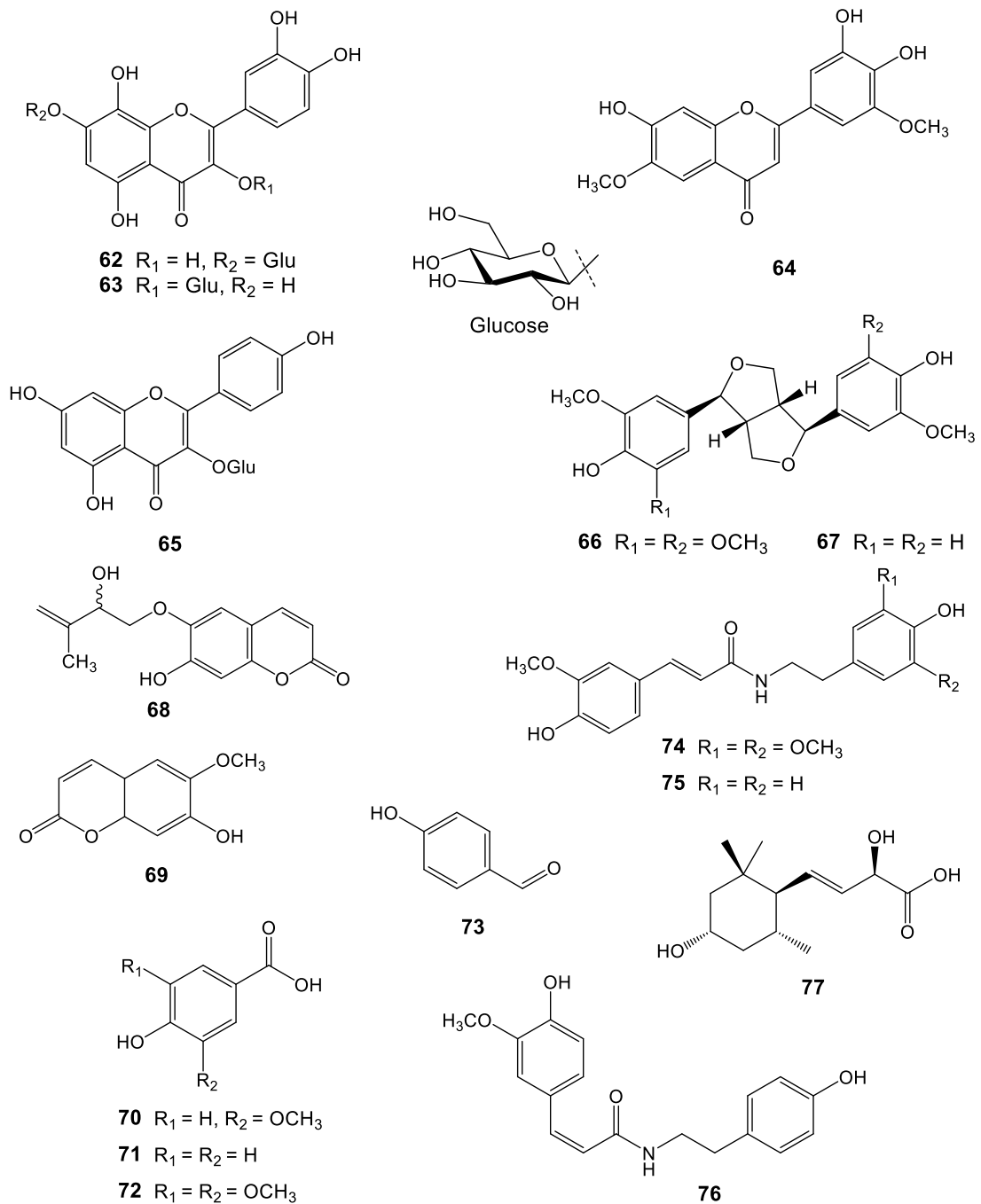
Trong cùng báo cáo năm 2008, nhóm nghiên cứu của C. Feng từ cặn chiết EtOAc từ lá loài này đã phân lập được bốn hợp chất, trong đó có ba hợp chất mới có bộ khung nigrum hiếm là (20*E*)-22-hydroxynigrum-20-en-3-one (**47**), 21β-hydroxynigrum-22(29)-en-3-one (**48**) và 21α-hydroxynigrum-22(29)-en-3-one (**49**) và một hợp chất đã biết là cucurbita-5,23-dien-3β,25-diol (**50**). Đây cũng là lần đầu tiên các hợp chất có bộ khung nigrum này được phân lập được từ các loài thực vật ngập mặn [36]. Năm 2008, từ túi mật hoa của loài *H. tiliaceus* được thu thập ở đảo Hải Nam, C. Feng và các cộng sự đã phân lập được ba hợp chất cholesteroloid bao gồm cholesteroloid (**51**), 7α-hydroxycholesteroid (**52**) và 7β-hydroxycholesteroid (**53**) [38]. Năm 2011, các hợp chất steroid bao gồm stigmasteroid (**54**), stigmast-4-en-3-one (**55**), stigmast-4,22-dien-3-one (**56**), ergosta-4,6,8,22-tetraen-3-one (**57**), β-sitosteroid (**58**) đã được nhóm nghiên cứu của Z. Z. Wang cũng báo cáo từ thân và vỏ cây của loài này [37]. C. L. Cheng và các đồng nghiệp (năm 2013) đã nghiên cứu chiết xuất từ lá và cành của loài *H. tiliaceus* và đã công bố sự có mặt của hai triterpenoid tứ vòng mới và được đặt tên là tiliacol A (**59**) và tiliacol B (**60**) cùng với



một chất có cấu trúc tương tự với **59** là 19(10 \rightarrow 9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirucalla-5,25-diene-3 β ,24-diol (**61**) [39].

1.3.1.4. Các hợp chất khác

Từ những năm 1961, A. Nair và cộng sự đã nghiên cứu thành phần hóa học của loài này và tinh chế được hai dẫn xuất flavonoid glycoside là 8-hydroxy-quercetin-7-*O*-glucoside (**62**) và 8-hydroxy-quercetin-3-*O*-glucoside (**63**) [40]. Đến năm 2008, C. Feng và cộng sự đã xác định được hai flavonoid là glenone (**64**) và astragaloside (**65**), bên cạnh hai hợp chất phenylpropanol là syringoresinol (**66**) và pinoresinol (**67**) từ loài này [38]. Năm 2006, nhóm nghiên cứu của C. J. Jung đã phân lập được một hợp chất coumarin mới 7-hydroxy-6-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyloxy)-2*H*-chromen-2-one (**68**) và một hợp chất amide mới là hibiscusamide (có tên gọi khác là (*E*)-*N*-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenethyl)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) acrylamide) (**74**) cùng với các hợp chất đã biết như scopoletin (**69**), acid vanillic (**70**), acid *p*-hydroxybenzoic (**71**), acid syringic (**72**), *p*-hydroxybenzaldehyde (**73**), *N*-*trans*-feruloyltyramine (**75**), *N*-*cis*-feruloyltyramine (**76**) từ phần thân gỗ của *H. tiliaceus* [41].



Năm 2012, X. Zhang cùng nhóm nghiên cứu đã phân lập được 14 hợp chất sạch bao gồm acid azelaic, cleomiscosin C, daucosteroid, friedelin, acid fumaric, hibiscolactone, kaempferol, quercetin, rutin, scopoletin, β -sitosteroid, acid succinic, syriacusin A và vanilin từ lá và thân của loài này vào năm 2012 [42]. Năm 2015, nhà khoa học S. Shimokawa và các đồng nghiệp đã phân lập và xác định cấu trúc được một anthocyanin (cyanidin 3-*O*-sambubioside) và bốn flavonol (cyanidin 3-*O*-sambubioside, gossypetin 3-*O*-glucuronide-8-*O*-glucoside, quercetin 7-*O*-rutinoside, gossypetin 3-*O*-glucoside and gossypetin 8-*O*-glucuronide) từ hoa của loài này bằng phương pháp phổ UV [43].

1.3.2. Các nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học của loài *Bup tra*

Năm 2019, nhóm nghiên cứu của tác giả L. B. Vinh và cộng sự đã công bố 15 hợp chất, bao gồm một megastigmane mới được đặt tên là acid tiliaceic A (**77**) và 14 hợp chất đã biết, bao gồm: *trans*-tiliroside, 4'-dihydrophaseate, astragalín, blumenyl C, β -D-glucopyranoside, chromone, isoquercitrin, rutin, kaempferol 3-*O*-rutinoside, roseoside A, 3,5,7-trimethoxyflavone, 3,7',4-trimethylkaempferol, 7-methylacetin, isomericitrin, myricitrin từ cặn chiết ethanol lá của *H. tiliaceus* [13].

Năm 2020, trong luận văn thạc sĩ của tác giả N. T. T. Huyền, bốn hợp chất sạch đã được báo cáo bao gồm acid tiliaceic A (**77**) và ba hợp chất đã biết như blumenol C, kaempferol 3-*O*- β -D-glucoside, isomericitrin [14].

Bảng 1.1. Các hợp chất đã được phân lập từ loài *Hibiscus tiliaceus*

Kí hiệu	Tên chất	Bộ phận	TLTK
1	Hibiscone A	Thân	[32]
2	Hibiscone B		
3	Hibiscone C		
4	Hibiscone D		
5	Hibiscoquinone A	Rễ cây	[32]
6	Hibiscoquinone B		
7	Hibiscoquinone C		
8	Hibiscoquinone D		
9	Lapachol		
10	Gossypol		
11	Mansonone D		
12	Mansonone E		
13	Mansonone F		
14	Emmotin-H		
15	Phlebiarubrone	Thân và cành	[33]
16	Hibiscusterpen I		
17	Hibiscusterpen II		
18	Hibiscusterpen III		
19	Hibiscusterpen IV		
20	Hibiscusterpen V		
21	Sohemigossypol-1-methyl ether		
22	Virginicin		

23	Parvifloral A		
24	Syriacusin A		
25	Hibisceusin A	Vỏ cây nhiễm bệnh	[34]
26	Hibisceusin B		
27	Hibisceusin C		
28	Hibisceusin F		
29	Hibisceusin G		
30	Hibisceusin H		
31	Hibisceusin D		
32	Hibisceusin E		
33-34	Isohemigossypol-1-methyl ether		
35	Acid 27-oic-3-oxo-28-friedelanoic	Thân và vỏ	[35]
36	3 α -Hydroxyfriedelane-2-one		
37	4 α -Hydroxyfriedelane-3-one		
38	Friedelin		
39	<i>epi</i> -Friedelanol		
40	Pachysandiol A		
41	12-Oleanen-3 β -ol	Lá	[36]
42	3 β -Hydroxy-12-oleanen-28-oic acid		
43	20(29)-Lupen-3 β ,28-diol		
44	Glutinol	Thân và vỏ	[37]
45	Germanicol		
46	Lupeol		
47	(20 <i>E</i>)-22-Hydroxynigrum-20-en-3-one	Lá	[36]
48	21 β -Hydroxynigrum-22(29)-en-3-one		
49	21 α -Hydroxynigrum-22(29)-en-3-one		
50	Cucurbita-5,23-dien-3 β ,25-diol		
51	Cholesteroid	Túi mật hoa	[38]
52	7 α -Hydroxycholesteroid		
53	7 β -Hydroxycholesteroid		
54	Stigmasteroid	Thân và vỏ	[37]
55	Stigmast-4-en-3-one		
56	Stigmast-4, 22-dien-3-one		
57	Ergosta-4,6,8,22-tetraen-3-one		
58	β -Sitosteroid		
59	Tiliacol A	Lá và cành	[39]

60	Tiliacol B		
61	19(10→9)-Abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirucalla-5,25-diene-3 β ,24-diol		
62	8-Hydroxy-quercetin-7- <i>O</i> -glucoside	Cành và lá	[40]
63	8-Hydroxy-quercetin-3- <i>O</i> -glucoside		
64	Glenone		
65	Astragaloside		[38]
66	Syringoresinol		
67	Pinoresinol		
68	7-Hydroxy-6-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyloxy)-2 <i>H</i> -chromen-2-one	Thân gỗ	[41]
69	Scopoletin		
70	Acid vanillic		
71	Acid <i>p</i> -hydroxybenzoic		
72	Acid syringic		
73	<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde		
74	Hibiscusamide		
75	<i>N-trans</i> -Feruloyltyramine		
76	<i>N-cis</i> -Feruloyltyramine		
77	Acid tiliaceic A	Lá	[13]

1.3.3. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học của loài *Bup tra*

1.3.3.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Năm 2008, C. Feng và cộng sự đã đánh giá khả năng kháng khuẩn và kháng nấm của ba hợp chất **48–50**, tuy nhiên các hợp chất này không thể hiện hoạt tính kháng VSVKĐ trên các chủng *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và *Candida albicans* (các giá trị định lượng không được công bố trong bài báo này) [36]. Trong báo cáo của S. Wong năm 2010, hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết methanol từ lá của loài này đã thử nghiệm với liều ức chế tối thiểu là 1,0, 0,5 và 0,25 mg/đĩa đối với vi khuẩn Gram dương trên các chủng *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* và *S. aureus* [44]. Tuy nhiên, không có sự ghi nhận ức chế nào đối với vi khuẩn Gram âm trên các chủng *E. coli*, *P. aeruginosa* và *Salmonella choleraesuis*. Nhóm tác giả S. Ramproshad bằng các nghiên cứu của mình (năm 2012) đã cho thấy cặn chiết ethanol của lá *H. tiliaceus* có khả năng ức chế trên các chủng vi khuẩn *S. aureus*, *E. coli* và *Salmonella paratyphi* với đường kính vùng ức chế là 9,0 mm và 12-15 mm ở mức 250 và 500 μ g/đĩa [45]. Năm 2016, một nhóm nghiên cứu của Bangladesh thực hiện

các thí nghiệm sàng lọc hoạt tính kháng VSVKĐ của cặn chiết từ lá của loài này trên mô hình *in vitro*. Kết quả cho thấy không có tác dụng rõ rệt nào được tìm thấy để chống lại các chủng vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* và *S. pyogenes*) và Gram âm (*P. shigelloides*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholera*, *Salmonella typhi*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei* và *Pseudomonas aeruginosa*). Tuy vậy cặn chiết từ vỏ loài này lại có tác dụng ức chế đáng kể trên hai chủng vi khuẩn *S. aureus* và *S. epidermidis* [46].

1.3.3.2. Hoạt tính gây độc tế bào

Các hợp chất hibiscusamide (**74**), *N-trans-feruloyl*tyramine (**75**) và *N-cis-feruloyl*tyramine (**76**) đã được J. J. Chen và đồng nghiệp thử hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào P-388 và HT-29 và kết quả cho thấy các giá trị $IC_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$. Trong đó, hibiscusamide là chất có hoạt tính gây độc tế bào mạnh nhất với giá trị $IC_{50} = 1,7 \pm 0,3$ đối với dòng tế bào P-388 và $3,8 \pm 0,8 \text{ mg/mL}$ đối với dòng tế bào HT-29 [41]. Năm 2013, trong số ba triterpenoid được C. L. Cheng tinh chế từ dịch chiết của lá và cành của loài này, hợp chất 19(10 \rightarrow 9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirucalla-5,25-diene-3 β ,24-diol (**61**) cho thấy khả năng gây độc tế bào đối với dòng tế bào P388 và HeLa với giá trị IC_{50} lần lượt là 11,2 và 11,5 mmol/L [39]. Theo S. M. Abdul-Awal và cộng sự (năm 2016) thì cặn chiết từ lá của *H. tiliaceus* có tác dụng gây độc tế bào ở mức độ vừa phải ($LC_{50} = 20 \mu\text{g/mL}$ và $LC_{90} = 40 \mu\text{g/mL}$), trong khi đó cặn chiết vỏ cây có tác dụng gây độc tế bào thấp hơn ($LC_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$) [46]. Năm 2020, trong nghiên cứu về tiềm năng chống lại các tế bào ung thư vú MCF-7 từ phần lá của *H. tiliaceus* của nhà khoa học Y. Adrian, kết quả cho thấy thể hiện khả năng gây độc tế bào vừa phải với giá trị IC_{50} là $10 \mu\text{g/mL}$ [47].

1.3.3.3. Các hoạt tính khác

Phần lá và hoa của một số loài thuộc chi *Hibiscus* đã được sàng lọc về hàm lượng phenolic tổng số (TPC) và loại bỏ gốc tự do (FRS), trong đó chiết xuất của loài *H. tiliaceus* được đánh giá tốt với các giá trị vượt trội [44, 48]. Các giá trị TPC và FRS từ lá của loài *H. tiliaceus* cao gấp nhiều lần so với các loài cùng chi khác. Đặc biệt, các chỉ số này trong hoa của cây còn cao gấp 4,9 và 5,6 lần so với các loài khác.

Trong số các loài thực vật ven biển được sàng lọc để tìm các đặc tính chống oxy hóa, giá trị TPC và FRS từ lá là khả quan nhất (các lá non có giá trị cao hơn một chút so với các lá già) [49]. Không có chứng minh nào cho thấy các quần thể ven biển

có đặc tính chống oxy hóa mạnh hơn mặc dù ở các khu vực ven biển có lượng bức xạ tia cực tím lớn. Các hợp chất được chiết xuất từ hoa của loài này có tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ một số chủng tế bào nấm chống lại sự gây độc tế bào của các tác nhân như hydrogen peroxide (H_2O_2), tert-butyl-hydroperoxide (TBHP) [29] và cho thấy tác dụng chống độc cùng khả năng chống lại sự hủy hoại DNA do oxy hóa gây ra bởi hai tác nhân H_2O_2 và TBHP trên dòng tế bào V79 [50]. Năm 2012, C. Vanzella và nhóm nghiên cứu cũng báo cáo rằng dịch chiết methanol từ hoa của loài này có tác dụng và ảnh hưởng giống như thuốc chống trầm cảm trên những con chuột đực bạch tạng Thụy Sĩ mà không có tác dụng phụ an thần [51].

Dịch chiết methanol từ hoa của *H. tiliaceus* được đánh giá có tác dụng phòng và chống tiểu đường và giảm nồng độ natri máu trên chuột thí nghiệm Wistar khi sử dụng dịch chiết với liều 250 và 500 mg/kg trong 21 ngày [52]. Hiệu quả cho thấy khả năng chống tiểu đường có tác dụng đáng kể với việc cải thiện trọng lượng cơ thể, giảm cholesteroid và chất béo trung tính trong huyết thanh và cải thiện mức cholesteroid-lipoprotein mật độ cao (HDL).

Theo nghiên cứu của T. Masuda, trong số 39 loài thực vật ven biển được tìm thấy ở vùng Okinawa, Nhật Bản và trong số đó có 36 loài thực vật có thể ăn được và làm thuốc, thì lá cây của loài *H. tiliaceus* có khả năng ức chế tyrosinase cao nhất trong các loài được nghiên cứu [53, 54]. Trong số các loài thuộc chi *Hibiscus* được S. Wong và các cộng sự thử nghiệm, lá của *H. tiliaceus* có hoạt tính ức chế tyrosinase mạnh nhất (42%), sau đó lá của loài cùng chi *H. mutabilis* (25%) [44].

Năm 2008, khả năng chống khối u của dịch chiết từ rễ của *H. tiliaceus* đã được công bố bởi nhóm nghiên cứu của A. J. Sunilson. Những con chuột bạch tạng Thụy Sĩ có mầm bệnh ung thư hạch Dalton (DAL) được cấy dịch chiết với liều lượng 200 mg/kg/ngày trong chín ngày, thời gian sống sót trung bình và số lượng tế bào phúc mạc được tăng cường cùng với đó là khả năng ức chế sự phát triển của tế bào khối u được phát hiện. Kết quả chỉ ra rằng các nhóm mẫu vật được thử bằng dịch chiết có thể đảo ngược các thông số huyết học của chúng khi bị thay đổi bởi các tế bào DAL trong vòng 14 ngày. Trong cơ sở dữ liệu về thuốc cổ truyền Trung Quốc (TCM) đã ghi nhận đây là một dược liệu có khả năng chống khối u và đã được y học hiện đại xác nhận trong cơ sở dữ liệu Hóa dược (CMC) [55].

Năm 2009, K. S. Narender đã dùng các hợp chất được phân lập từ các dịch chiết methanol, ether dầu hỏa và chloroform từ lá của *H. tiliaceus* để thử nghiệm về tác dụng kháng viêm và giảm đau ở chuột ở liều uống 250 và 500 mg/kg [56]. Kết quả cho thấy khả năng kháng viêm chống lại triệu chứng phù chân gây ra sau 2-3 giờ và khả năng ức chế đáng kể tình trạng quặn bụng do acid acetic gây ra sau 1 giờ. Hiệu quả của các dịch chiết theo thứ tự là methanol > chloroform > ether dầu hỏa. Dịch chiết methanol từ phần thân gỗ của *H. tiliaceus* với nồng độ 200 và 400 mg/kg đã được chứng minh là có tác dụng chống viêm và giảm đau ở chuột vào năm 2012 [57].

Năm 2013, G. Rajeswari và các cộng sự đã nghiên cứu khả năng điều hòa hệ miễn dịch từ dịch chiết của loài này bằng cách cho những con chuột Wistar uống dịch chiết methanol từ lá với liều 250 và 500 mg/kg/ngày trong 28 ngày và kết quả đã cho thấy sự gia tăng đáng kể kháng thể tuần hoàn để đáp ứng với các tế bào hồng cầu, tăng cường sản sinh hồng cầu, bạch cầu và hemoglobin [58].

Năm 2014, nhà khoa học T. Vijay và nhóm của mình đã sử dụng dịch chiết từ lá và thân gỗ của loài này để thử nghiệm khả năng tẩy giun bằng cách sử dụng loài giun *Pheretima posthuma* làm sinh vật thử nghiệm. Dựa trên thời gian tê liệt và thời gian tử vong bằng cách sử dụng 10-40 mg/mL chất chiết xuất, hoạt tính được thể hiện tốt qua dịch chiết EtOAc từ lá (28-46 và 45-74 phút) và dịch chiết ether dầu hỏa từ gỗ (29-45 và 47-78 phút) [59].

Năm 2020, A. R. Surana và cộng sự đã sử dụng xét nghiệm ly giải cục máu đông, thí nghiệm hoạt tính tan huyết khối của chiết xuất methanol từ lá *H. tiliaceus* có kết quả cao hơn 14% so với hoạt tính của streptokinase - thuốc tan huyết đã được làm cấp phép làm thuốc (62%) [60].

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá Bụp tra được thu thập tại huyện Ninh Vân, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 3 năm 2022 và được giám định loài bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Mẫu tiêu bản (KH-32) được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Cây Bụp tra - *Hibiscus tiliaceus* L.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu thực vật

Thu thập mẫu thực vật: Phương pháp thu thập mẫu thực vật tuân thủ theo các phương pháp, tiêu chuẩn và yêu cầu về thực vật học để tiện cho lưu trữ, phân loại và giám định loài. Mẫu thu có các thông tin về địa điểm, tên mẫu, bộ phận thu và ảnh mẫu.

Tạo tiêu bản mẫu: Các tiêu bản được lưu trữ trong kho bảo quản để đảm bảo mẫu không bị hỏng và mất/thất lạc tiêu bản, tiện cho việc tra cứu và tìm hiểu thông tin sau này. Xác định đặc điểm hình thái của mẫu. Tiến hành làm vi phẫu với các bộ phận mẫu.

Mẫu thực vật được làm sạch, phơi khô trong điều kiện thích hợp, nghiền nhỏ, sau đó gắn ký hiệu và bảo quản trong điều kiện không bị ẩm mốc.

2.2.2. Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất

Mẫu thực vật được chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng. Sau khi cô quay loại dung môi dưới áp suất giảm, cặn chiết thu được phân tán trong nước và chiết phân bố

lần lượt với các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần như *n*-hexane, CH₂Cl₂ và EtOAc, v/v. Các dịch chiết phân đoạn cũng được cô quay loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm để thu được các cặn chiết tương ứng.

2.2.2.1. Các phương pháp phân lập các hợp chất

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Sắc ký lớp mỏng điều chế thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 1,05875). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 và 365 nm và sử dụng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu sắc.

Sắc ký cột (CC): Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường, pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silica gel pha đảo RP-18 (30-50 mm, YMC FujiSilica Chemical Ltd.). Nhựa trao đổi ion Dianion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.). Ngoài ra sử dụng kết hợp các phương pháp kỹ thuật chiết và kết tinh để tinh chế các hợp chất.

2.2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học

Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được xác định bằng việc sử dụng các phương pháp vật lý và hóa lý (IR, UV, [α]_D, CD...), kết hợp sử dụng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR (một chiều và hai chiều), phổ khối lượng phân giải cao (HR-MS)...

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer của Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chất chuẩn được sử dụng khi đo là TMS (Tetramethylsilane). Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm:

- + Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều: ¹H- và ¹³C-NMR.
- + Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC và HMBC, COSY và NOESY...
- + Dung môi được sử dụng bao gồm các dung môi: CDCl₃ hoặc CD₃OD. Dung môi đo phụ thuộc vào bản chất và khả năng tan của từng mẫu, trên nguyên tắc là dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu đo.

Phổ lưỡng sắc tròn (CD) được đo trên máy ChirascanTM CD spectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK) tại Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được thực hiện dựa trên phương pháp trước đó của F. Hadacek và H. Greger [61]. Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và kháng nấm nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh yếu của các mẫu thử thông qua các giá trị thể hiện hoạt tính là MIC. Mẫu ban đầu được pha loãng trong DMSO ở dải nồng độ giảm dần: 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4 và 2 $\mu\text{g/mL}$ với số thí nghiệm lặp lại ba lần.

- Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn hoặc nấm với nồng độ 2×10^5 CFU/mL.

- Tiến hành thử: lấy 5,12 μL dung dịch mẫu thử có nồng độ 10 mg/mL vào hàng đầu tiên có chứa 100 μL môi trường LB rồi pha loãng nối tiếp giảm $\frac{1}{2}$ nồng độ vào các hàng có chứa 50 μL cho đến khi đạt được nồng độ là 2 $\mu\text{g/mL}$, thêm 50 μL dung dịch vi khuẩn và nấm ở nồng độ 2×10^5 CFU/mL, ủ ở 37°C. Sau 24h, xác định sơ bộ giá trị MIC bằng quan sát. Giá trị MIC được xác định tại giếng có nồng độ chất thử thấp nhất gây ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật sau 24 giờ nuôi cấy và được xác định chính xác dựa trên số liệu đo độ đục tế bào bằng máy quang phổ Bioteck và phần mềm Rawdata. Chất đối chứng là kháng sinh streptomycin cho các chủng vi khuẩn, cyclohexamide cho nấm.

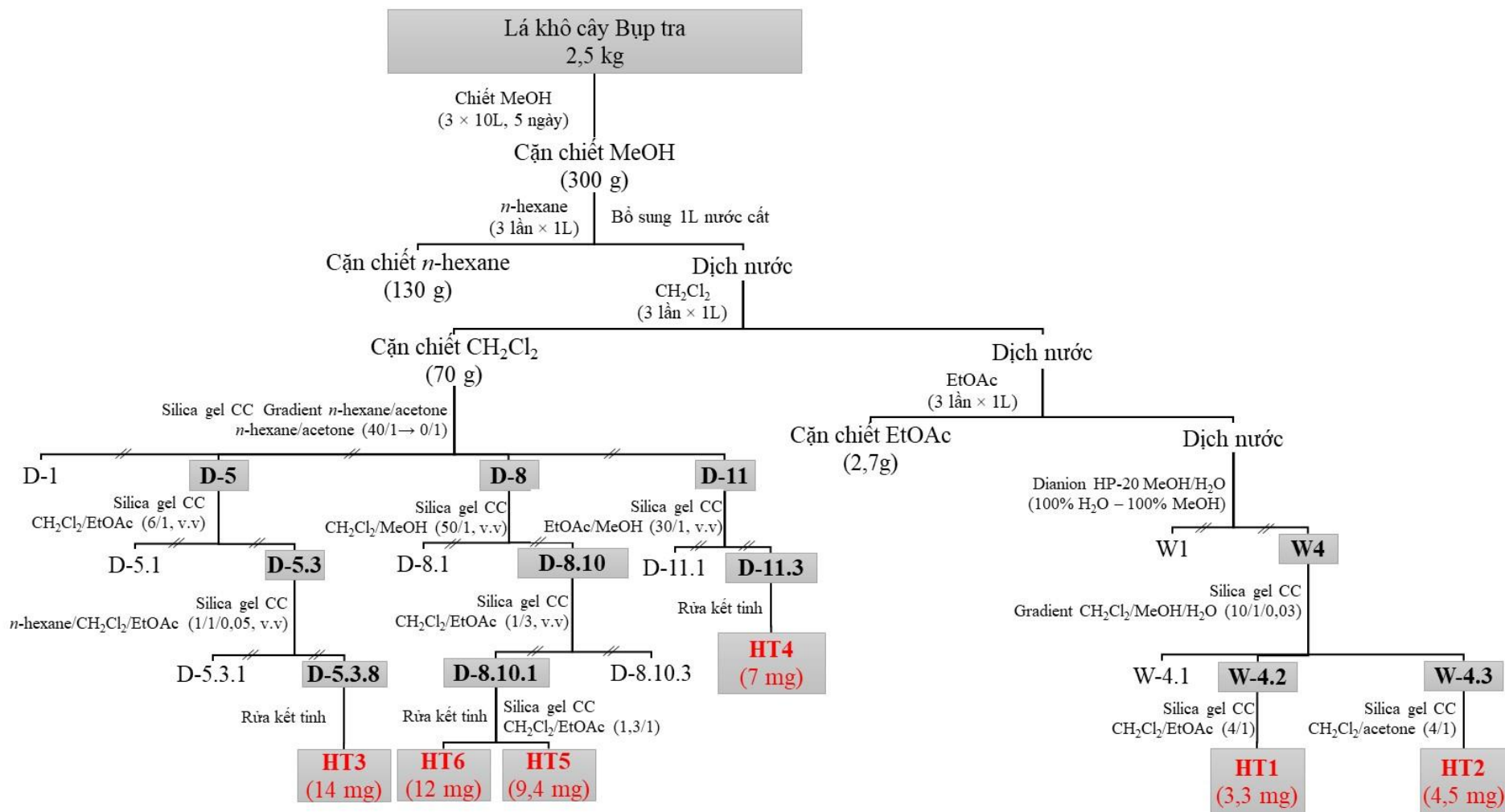
Các chủng vi sinh vật kiểm định được sử dụng bao gồm ba chủng vi khuẩn Gram dương (*Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579) và ba chủng vi khuẩn Gram âm (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076) và một chủng nấm men *Candida albicans* ATCC10231. Các chủng này có nguồn gốc từ ATCC (American Type Culture Collection), Mỹ.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập

Lá cây Búp tra sau khi thu hái được phơi khô, nghiền nhỏ thu được 2,5 kg bột mẫu khô. Mẫu bột khô sẽ được ngâm chiết với MeOH (3 lần \times 10L, mỗi lần 5 ngày), sau khi thu được dịch chiết tiến hành cất loại bỏ dung môi ở áp suất giảm thu được 300 g cặn chiết MeOH. Cặn chiết này tiếp tục được bổ sung thêm nước cất (1L) và chiết phân lớp lần lượt với các dung môi *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc (mỗi loại dung môi tiến hành 3 lần, mỗi lần 1L), các dịch chiết này được cất loại ở áp suất giảm để loại bỏ dung môi và thu được các cặn chiết tương ứng: *n*-hexane (130 g), cặn chiết CH₂Cl₂ (70 g), cặn chiết EtOAc (2,7 g) và dịch nước.

Khảo sát các chất trên bản mỏng TLC, cặn chiết CH₂Cl₂ cho thấy tiềm năng và được lựa chọn nghiên cứu tiếp. Cặn chiết này được hòa tan với một lượng MeOH tối thiểu sau đó được tẩm với silica gel (200 g), cất loại dung môi cho đến khi hỗn hợp bột tơi khô. Tiến hành phân tách hỗn hợp này sử dụng cột silica gel pha thường, rửa giải gradient bằng hệ dung môi *n*-hexane/acetone với độ phân cực tăng dần (40/1 \rightarrow 0/1) thu được 15 phân đoạn (D-1 – D-15). Sau khi khảo sát trên bản mỏng TLC, phân đoạn D-5 được lựa chọn và tiếp tục cất phân đoạn áp dụng trên cột silica gel pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂/EtOAc (6/1, v/v) thu được tám phân đoạn nhỏ (D-5.1 – D-5.8). Phân đoạn D-5.3 phân tách bằng cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane/CH₂Cl₂/EtOAc (1/1/0,05) thu được phân đoạn D-5.3.8. Sau đó rửa kết tinh phân đoạn này bằng dung môi MeOH thu được hợp chất **HT3** (14 mg). Sau khi kiểm tra các phân đoạn còn lại trên bản mỏng TLC, phân đoạn D-8 được lựa chọn phân tách trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/MeOH (50/1) thu được 13 phân đoạn (D-8.1 – D-8.13). Sau đó, phân đoạn D-8.10 được đưa lên cột phân tích silica gel pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂/EtOAc (1/3, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ (D-8.10.1 – D-8.10.3). Phân đoạn nhỏ D-8.10.1 được rửa kết tinh bằng dung môi MeOH thu được hợp chất **HT6** (12 mg) và phân đoạn này tiếp tục được phân tách bằng cột silica gel pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂/EtOAc (1,3/1, v/v) thu được hợp chất **HT5** (9,4 mg). Phân đoạn D-11 được lựa chọn phân tách bằng cột silica gel pha thường với hệ dung môi EtOAc/MeOH (30/1, v/v) thu được sáu phân đoạn (D-11.1 – D-11.6). Từ phân đoạn D-11.3 rửa kết tinh bằng dung môi MeOH thu được hợp chất **HT4** (7 mg).



Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài Bup tra

Phần dịch nước còn lại sau khi chiết phân lớp được đưa lên cột Dianion HP-20, rửa giải bằng hỗn hợp MeOH/H₂O (100% H₂O – 100% MeOH) thu được bốn phân đoạn (W-1 – W-4). Sau khi được kiểm tra trên sắc ký bản mỏng, phân đoạn W-4 được lựa chọn tiến hành cắt phân đoạn bằng phương pháp sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (10/1/0,03, v/v) thu được tám phân đoạn (W-4.1 – W-4.8). Tinh chế phân đoạn W4.2 bằng phương pháp sắc ký cột pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂/EtOAc (4/1, v/v) thu được hợp chất **HT1** (3,3 mg). Tương tự, tinh chế phân đoạn W-4.3 bằng cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂/acetone (4/1, v/v) thu được hợp chất **HT2** (4,5 mg)

3.2. Thông số vật lý của các hợp chất

3.2.1. Hợp chất HT1: methyl-tiliaceate A (Hợp chất mới)

Chất dạng bột, màu trắng;

CTPT: C₁₄H₂₄O₄, KLPT: M = 256;

Góc quay cực riêng: $[\alpha]_D^{25}$ -26,2 (c 1,0, MeOH);

Phổ IR (KBr) ν_{\max} 3416, 2961, 2929, 2875, 1712, 1651, 1460, 1370, 1251, 1188 và 1031 cm⁻¹;

Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS: m/z 279,1568 [M + Na]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₄NaO₄]⁺, M = 279,1572);

Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): xem Bảng 3.1.

3.2.2. Hợp chất HT2: methyl-tiliaceate B (Hợp chất mới)

Chất dạng dầu, không màu;

CTPT: C₁₄H₂₄O₅, KLPT: M = 272;

Góc quay cực riêng: $[\alpha]_D^{25}$ -47,6 (c 1,0, MeOH);

Phổ IR (KBr) ν_{\max} 3416, 2960, 2932, 2877, 1738, 1455, 1438, 1367, 1262, 1209, 1113, 1035, 910 cm⁻¹;

Phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS): m/z 295,1516 [M + Na]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₄NaO₅]⁺, 295,1521) và 290,1967 [M + NH₄]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₈NO₅]⁺, 290,1967);

Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): xem Bảng 3.2.

3.2.3. Hợp chất HT3: *cleistantoxin*

Chất dạng tinh thể, màu trắng;

CTPT: C₂₁H₁₈O₈; KLPT: M = 398;

Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) và ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃):

xem Bảng 3.3.

3.2.4. Hợp chất HT4: *N-trans-(p-hydroxyphenethyl) ferulamide*

Chất dạng tinh thể, màu trắng;

CTPT: C₁₈H₁₉NO₄; KLPT: M = 313;

Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD):

xem Bảng 3.4.

3.2.5. Hợp chất HT5: *N-cis-(p-hydroxyphenethyl) ferulamide*

Chất dạng bột, màu trắng;

CTPT: C₁₈H₁₉NO₄; KLPT: M = 313;

Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD):

xem Bảng 3.5.

3.2.6. Hợp chất HT6: *3-hydroxy-1-(p-hydroxyphenyl)propan-1-one*

Chất dạng tinh thể, màu trắng;

CTPT: C₉H₁₀O₃; KLPT: M = 166;

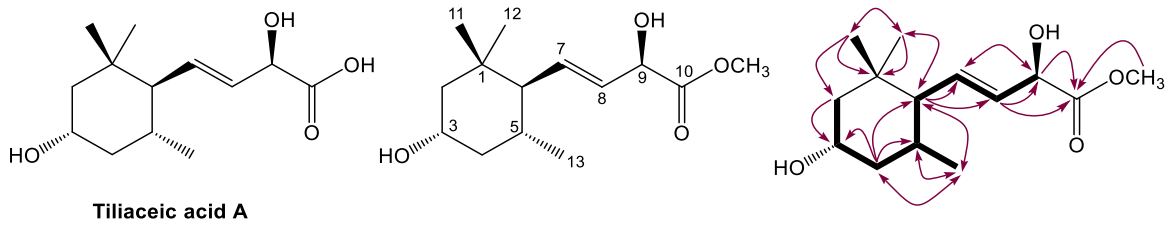
Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD):

xem Bảng 3.6.

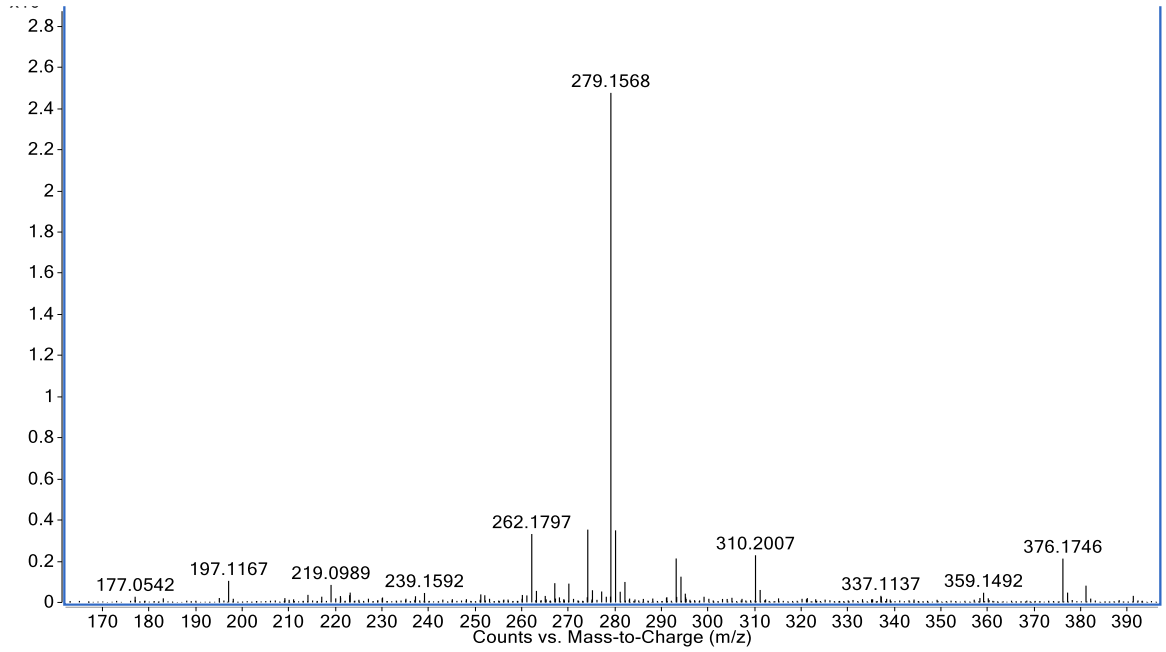
3.3. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

3.3.1. Hợp chất HT1: *methyl-tiliaceate A (Hợp chất mới)*

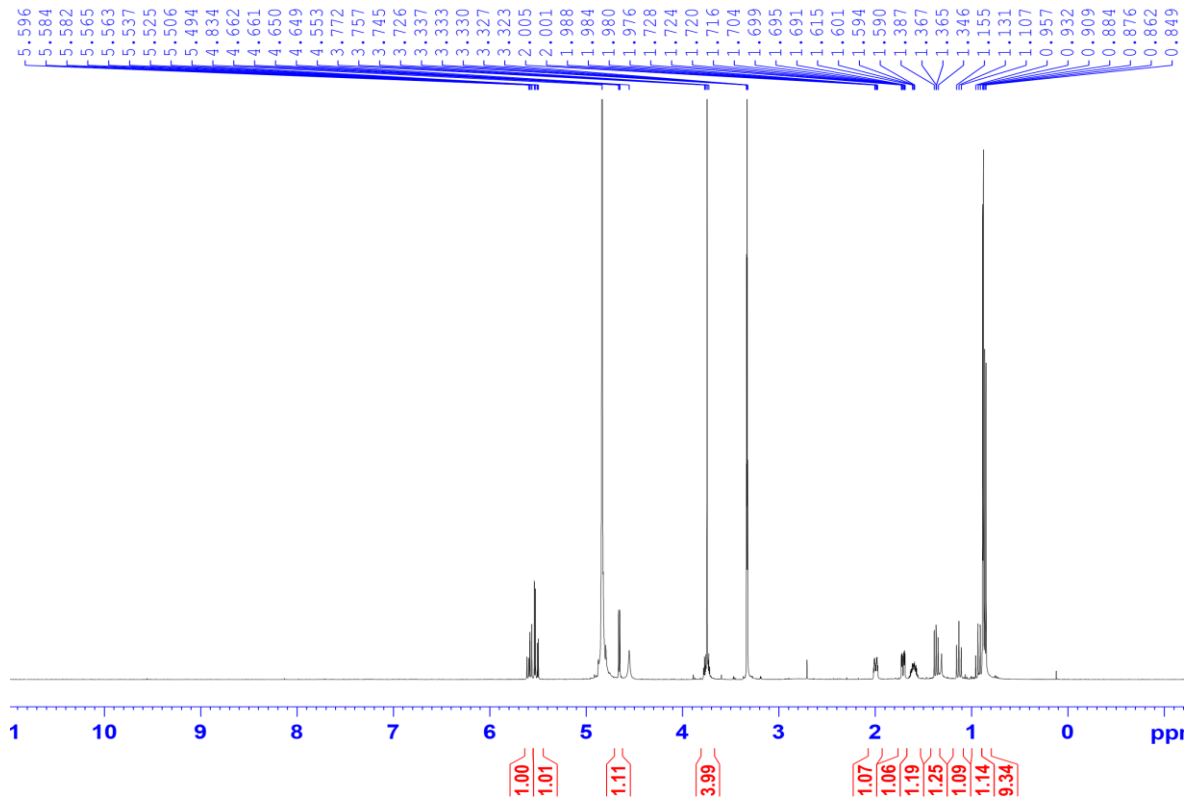
Hợp chất **HT1** được thu dưới dạng bột, màu trắng và góc quay cực $[\alpha]_D^{25}$ -26,2 (*c* 1,0, MeOH). Công thức phân tử của **HT1** được xác định là C₁₄H₂₄O₄ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak ion giả phân tử tại *m/z* 279,1568 [M + Na]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₄NaO₄]⁺, 279,1572) và phổ NMR. Quan sát trên phổ ¹³C-NMR và phổ HSQC cho thấy sự cộng hưởng của 14 tín hiệu carbon, gợi ý **HT1** có thể là một dẫn xuất của nhóm chất megastigmane [13]. Cụ thể bao gồm một nhóm carbonyl [δ_C 175,0 (C-10)], hai nhóm methine olefinic [δ_C 135,9 (C-7) và 130,7 (C-8)], ba nhóm methyl [δ_C 21,7 (C-11), 31,7 (C-12) và 21,6 (C-13)], hai nhóm methylene lai hóa sp³ [δ_C 51,1 (C-2) và 45,4 (C-4)], hai nhóm methine [δ_C 32,1 (C-5) và 58,6 (C-6)], hai nhóm oxymethine [δ_C 67,2 (C-



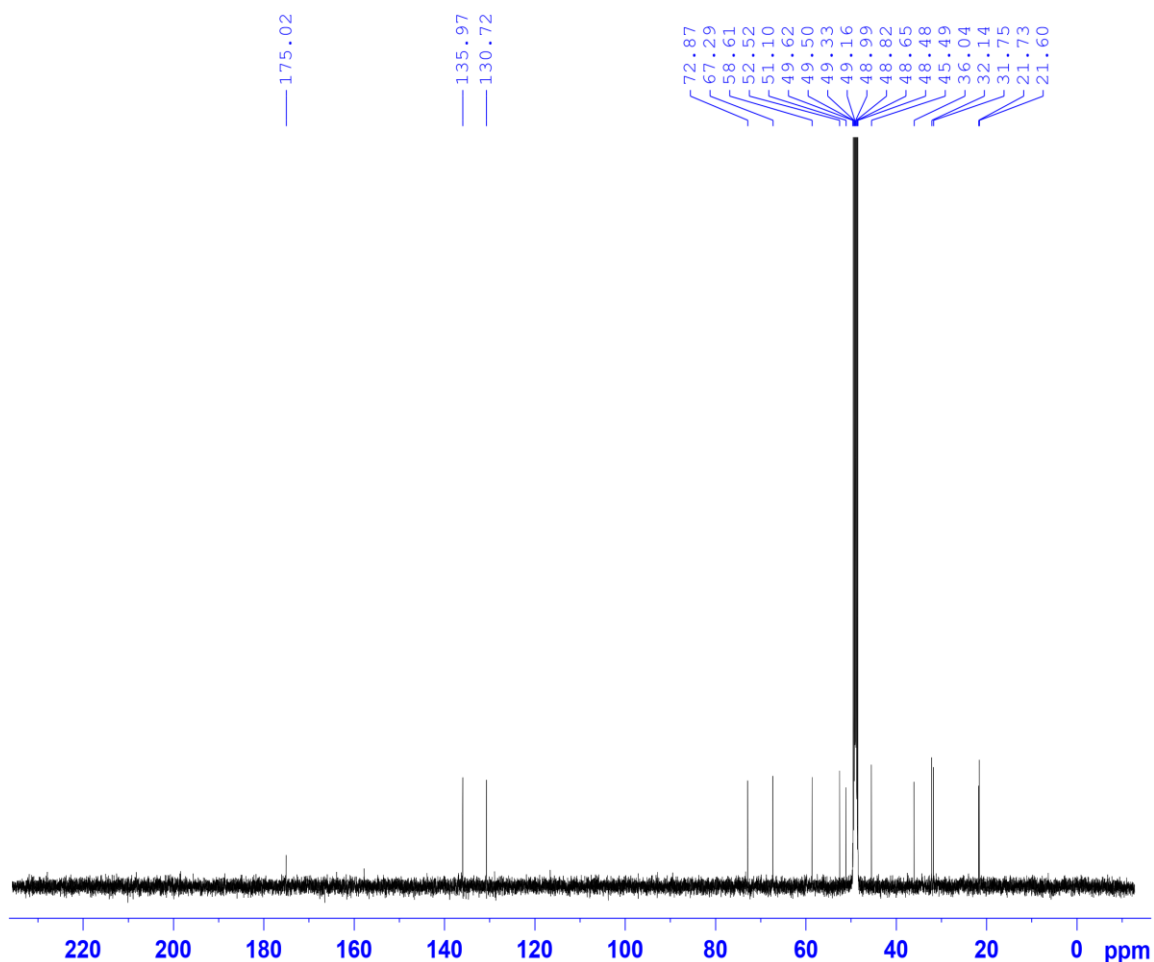
Hình 3.2. Cấu trúc của **HT1**, chất tham khảo và các tương tác HMBC chính



Hình 3.3. Phổ HR-ESI-MS của **HT1**



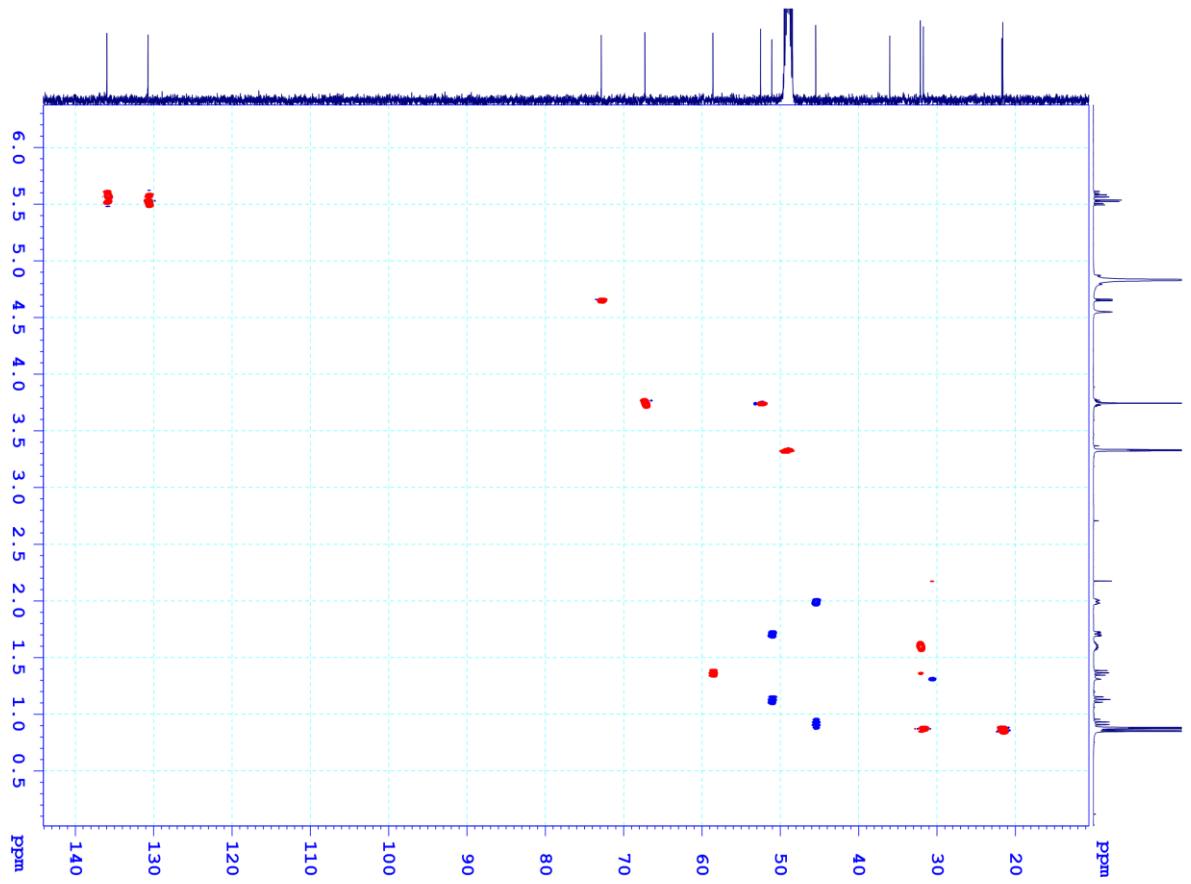
Hình 3.4. Phổ ¹H-NMR của **HT1**



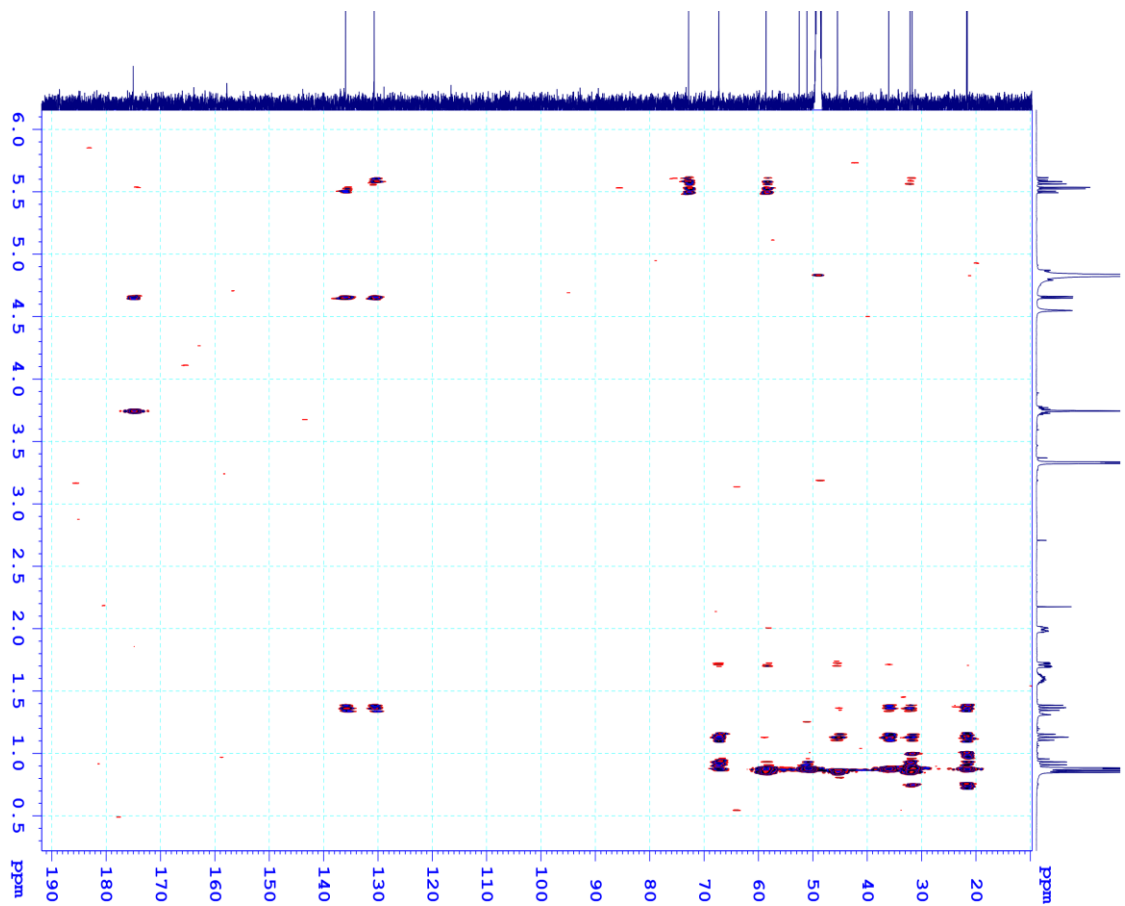
Hình 3.5. Phổ ^{13}C -NMR của **HT1**

3) và 72,8 (C-9)], một carbon không liên kết với hydro [δ_{C} 36,0 (C-1)] và một nhóm oxymethyl (δ_{C} 52,5). Trong khi đó, phổ ^1H -NMR thể hiện tín hiệu đặc trưng của một liên kết đôi có cấu hình dạng *trans* [δ_{H} 5,59 (1H, ddd, $J = 1,0, 9,5, 15,5$ Hz, H-7) và 5,51 (1H, dd, $J = 6,0, 15,5$ Hz, H-8)], hai proton oxymethine [δ_{H} 3,75 (1H, dddd, $J = 4,2, 4,2, 11,4, 11,4$ Hz, H-3) và 4,65 (1H, dd, $J = 0,5, 6,0$ Hz, H-9)], hai tín hiệu proton singlet của hai nhóm methyl bậc ba [δ_{H} 0,88 (3H, H-11) và 0,87 (3H, H-12)], một nhóm methyl bậc hai [δ_{H} 0,86 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-13)] và một nhóm oxymethyl [δ_{H} 3,74 (3H, s)].

So sánh dữ liệu NMR của **HT1** với tiliaceic acid A [13] gợi ý rằng hai hợp chất có cấu trúc tương tự nhau. Sự khác biệt rõ rệt nhất giữa cấu trúc của hai hợp chất là sự xuất hiện thêm một nhóm oxymethyl tại C-10 của **HT1** thay vì nhóm hydroxy trong tiliaceic acid A (Bảng 3.1).

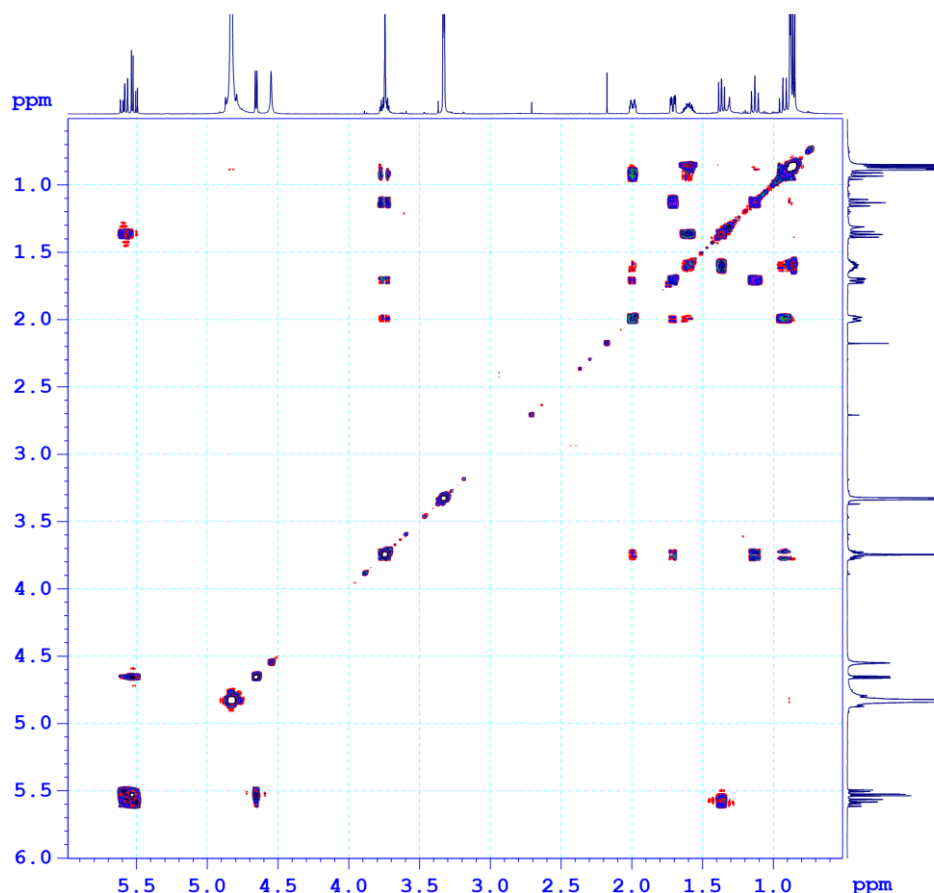


Hình 3.6. Phổ HSQC của HT1

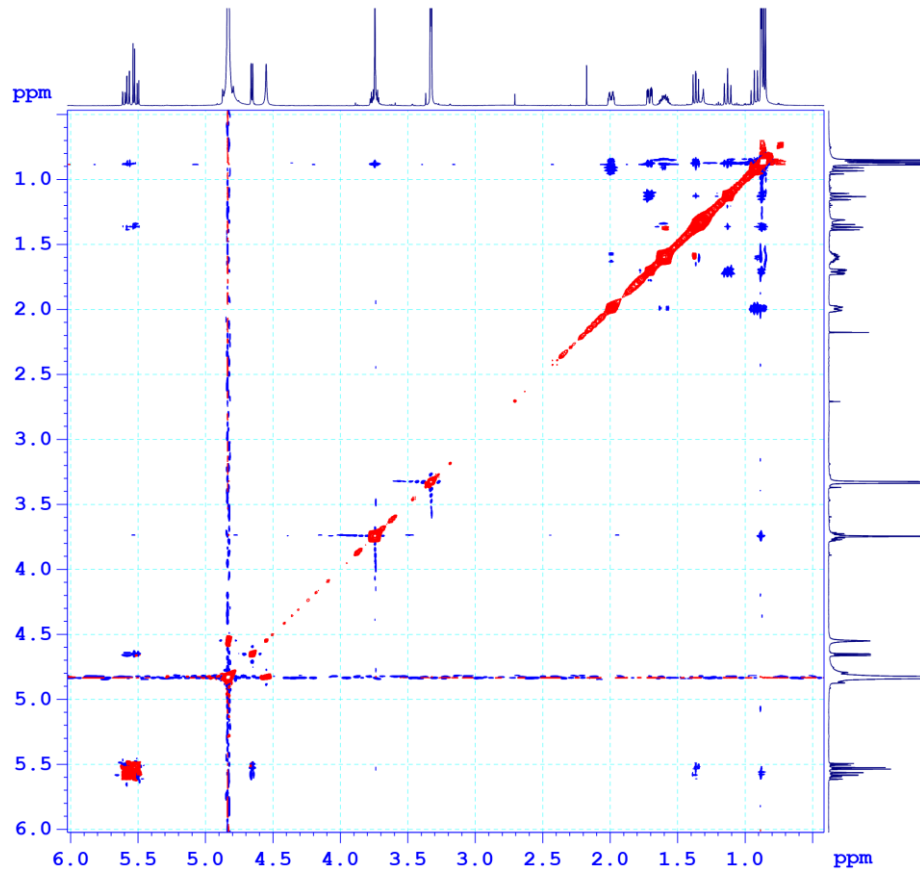


Hình 3.7. Phổ HMBC của HT1

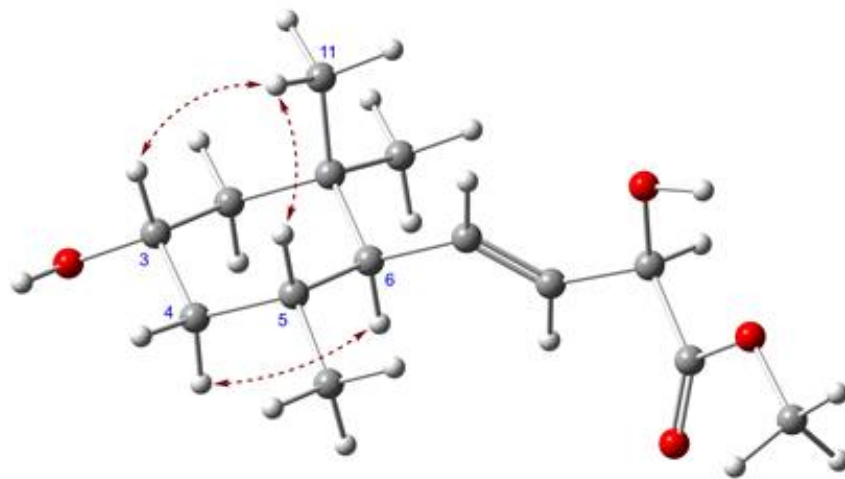
Cấu trúc phẳng của hợp chất **HT1** còn được chứng minh dựa trên các tương tác trên phổ hai chiều COSY của H-2/H-3/H-4/H-5/H-6/H-7/H-8/H-9 và H-5/H₃-13 cùng với các tương tác trên phổ HMBC từ H₃-11 đến C-1, C-2, C-6, C-12, từ H-9 đến C-7, C-8 và C-10, từ H-13 đến C-4, C-5, C-6 và proton của nhóm OCH₃ tương tác với C-10. Hằng số ghép lớn giữa H-4a và H-3 ($J \approx 12,0$ Hz) và giữa H-5 với H-6 ($J = 11,0$ Hz) gợi ý các proton này đều có cấu hình *axial*. Điều này còn được xác nhận dựa trên các tương tác trên phổ NOESY giữa H-3/H₃-11, H₃-11/H-5 và H-6/H-4a (Hình 3.9). Trên phổ CD của **HT1** (Hình 3.11) có hiệu ứng Cotton âm tại 220 nm tương tự như hợp chất *R*-methyl mandelate (một chất chuẩn được Amanda C. Evans và cộng sự lựa chọn để nghiên cứu phương pháp tính toán phổ CD lý thuyết) chứng tỏ cấu hình của C-9 là *R* [62]. Kết luận này cũng hoàn toàn phù hợp với các hợp chất 9*R*-megastigmane tương tự với hiệu ứng Cotton âm trong vùng lân cận 220 nm như tiliaceic acid A [13] và (8*E*,9*R*)-ethyl-7-(3*S*,5*R*,6*S*)-3,6-dihydroxy-1,1,5-trimethyl-cyclohexyl-9-hydroxybut-8-enoate [63].



Hình 3.8. Phổ COSY của **HT1**



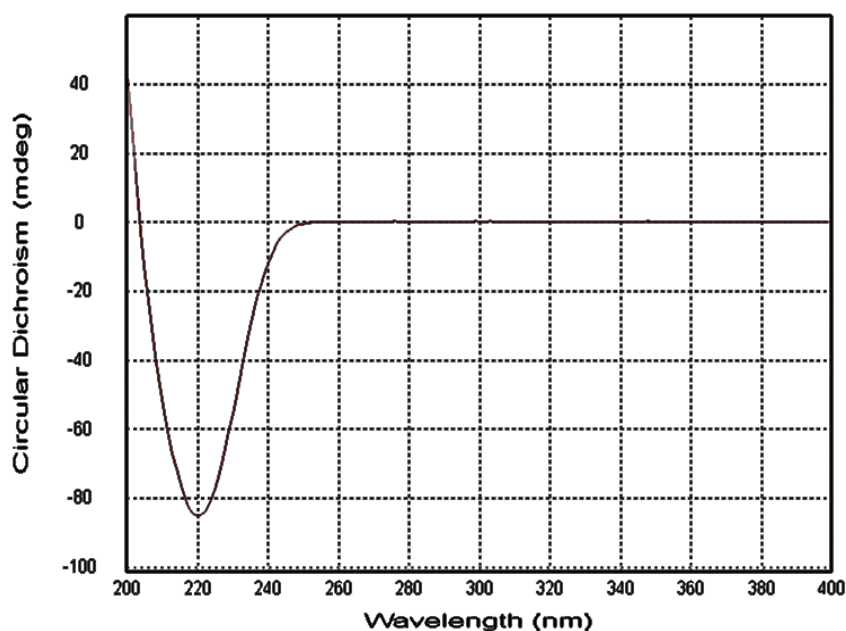
Hình 3.9. Phổ NOESY của **HT1**



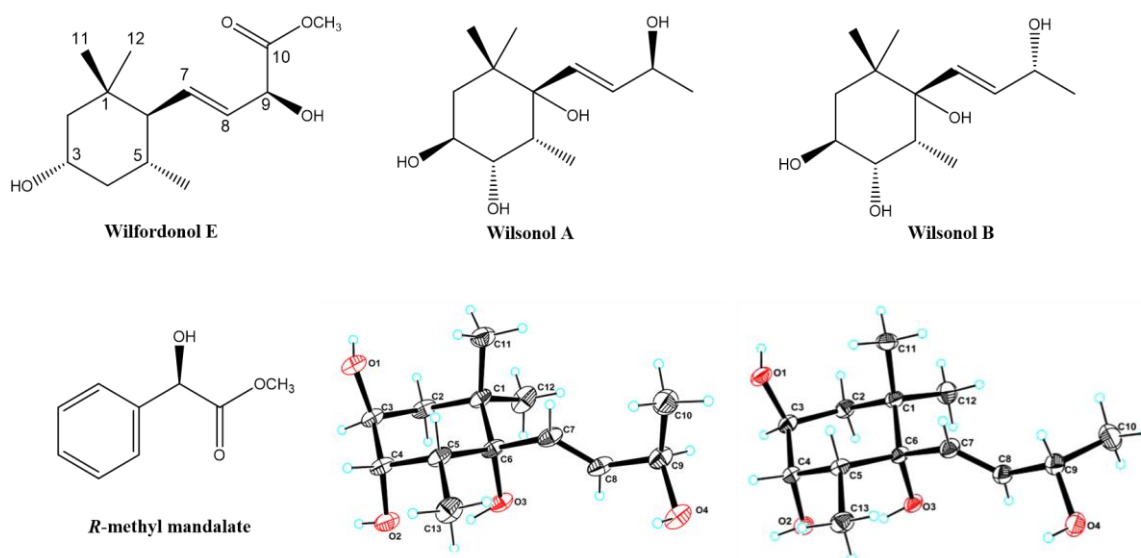
Hình 3.10. Một số tương tác NOESY của **HT1**

Ngoài ra, hợp chất wilfordonol E ($[\alpha]_D^{18} -37,6$) có cấu trúc và cấu hình các vị trí C-3 (δ_C 66,8), C-5 (δ_C 30,9) và C-6 (δ_C 57,1) tương tự với **HT1** và các giá trị phổ NMR của hai hợp chất cũng hoàn toàn tương đồng. Cấu hình 9*S* của wilfordonol E được tác giả L. Q. Quan và cộng sự chứng minh dựa theo giá trị độ quay cực âm và so sánh với tài liệu công bố trước đó. Tuy nhiên, các luận chứng đưa ra là chưa thuyết

phục [64]. Lấy ví dụ hai hợp chất wilsonol A-B đã công bố trên tạp chí Journal of Natural Products năm 2013. Hai chất này có cấu trúc được chứng minh bằng phương pháp X-ray và chỉ khác nhau duy nhất cấu hình của C-9, nhưng cả hai hợp chất này đều có độ quay cực âm trong khi các giá trị phổ NMR tại C-9 là tương đồng [wilsonol A: $\delta_{H/C}$ 4,29 (1H, dq, $J = 6,4, 5,9$ Hz)/69,4 và wilsonol B: $\delta_{H/C}$ 4,29 (1H, dq, $J = 6,4, 5,9$ Hz)/69,4] [65]. Từ những phân tích nêu trên, **HT1** tuy có cùng độ quay cực âm như wilfordonol E, nhưng với cấu hình 9R được đề nghị là một hợp chất mới và có tên là methyl-tiliaceate A.



Hình 3.11. Phổ CD của **HT1**



Hình 3.12. Các hợp chất tham khảo phân lập thể tại C-9

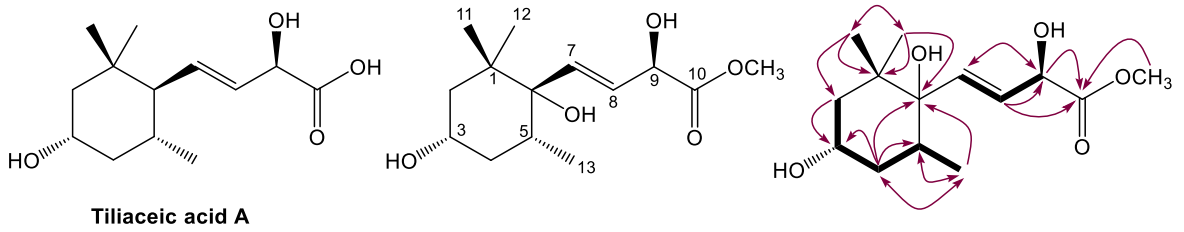
Bảng 3.1. Bảng số liệu phổ NMR của **HT1** và hợp chất tham khảo

C	$^{\#}\delta_C$ [13]	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{a,b}$ (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	36,2	36,0	-	
2	51,3	51,1	1,13 (br dd, 12,0, 12,0) 1,71 (ddd, 2,0, 4,0, 12,0)	1, 3, 4, 6, 11, 12
3	67,3	67,2	3,75 (dddd, 4,2, 4,2, 11,4, 11,4)	
4	45,6	45,4	0,92 (ddd, 12,0, 12,0, 12,5) 1,99 (dddd, 2,0, 4,0, 4,0, 12,5)	2, 3, 5, 6, 13
5	32,3	32,1	1,60 (m)	13
6	58,8	58,6	1,36 (dd, 9,5, 11,0)	1, 4, 5, 7, 8, 11, 13
7	134,0	135,9	5,59 (ddd, 1,0, 9,5, 15,5)	6, 8, 9, 11
8	132,9	130,7	5,51 (dd, 6,0, 15,5)	6, 7, 9, 10
9	75,2	72,8	4,65 (dd, 0,5, 6,0)	7, 8, 10
10	180,0	175,0	-	
11	22,0	21,7	0,88 (s)	1, 2, 6, 12
12	32,0	31,7	0,87 (s)	1, 2, 6, 11
13	21,8	21,6	0,86 (d, 6,5)	4, 5, 6
OCH ₃	-	52,5	3,74 (s)	10

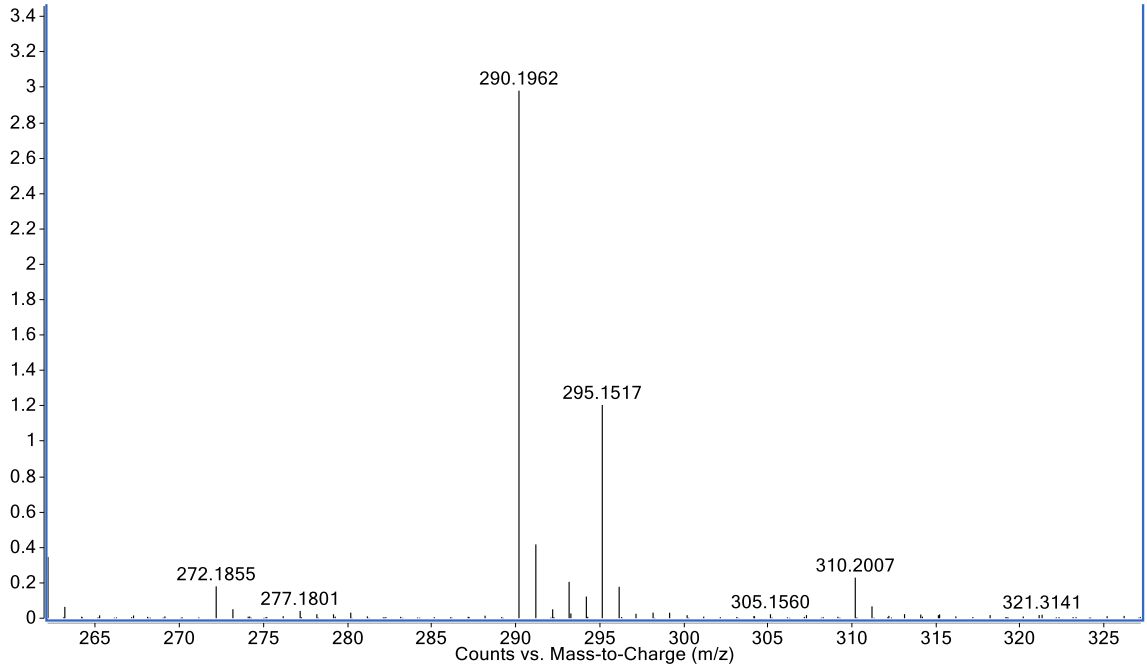
^a Đo trong dung môi CD₃OD, ^b 500 MHz và ^c 125 MHz. [#] δ_C của tiliaceic acid A theo TLTK [13].

3.2.2. Hợp chất HT2: methyl-tiliaceate B (Hợp chất mới)

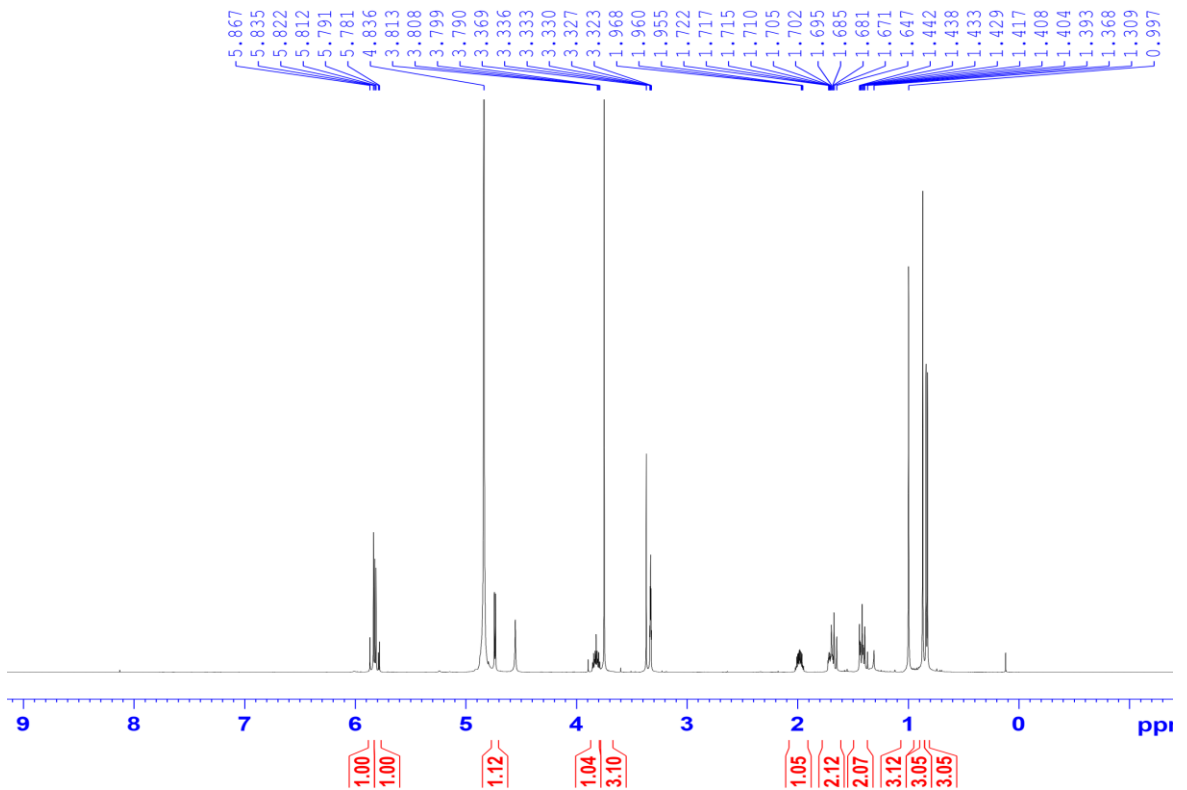
Hợp chất **HT2** được thu dưới dạng chất bột, màu trắng và góc quay cực $[\alpha]_D^{25}$ -47,6 (c 1,0, MeOH). Công thức phân tử của hợp chất **HT2** được xác định là C₁₄H₂₄O₅ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak ion giả phân tử tại m/z 295,1517 [M + Na]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₄NaO₅]⁺, 295,1521) và 290,1962 [M + NH₄]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho ion [C₁₄H₂₈NO₅]⁺, 290,1967) và phổ NMR. Quan sát trên phổ 1D NMR cho thấy sự cộng hưởng của 14 tín hiệu carbon, bao gồm một nhóm carbonyl, hai nhóm methine olefinic có cấu hình dạng *trans*, hai nhóm oxymethine, ba nhóm methyl, hai nhóm methylene lai hóa sp³, một nhóm methine, hai carbon không liên kết với hydro và một nhóm oxymethyl (Bảng 3.2). Từ các phân tích chi tiết các tương tác chính trên phổ hai chiều NMR của **HT2**, cùng với kết hợp so sánh số liệu phổ NMR với số liệu phổ của **HT1** và tiliaceic acid A [13] cho thấy cấu trúc hóa học của chúng có sự tương đồng về độ dịch chuyển hoá học ở



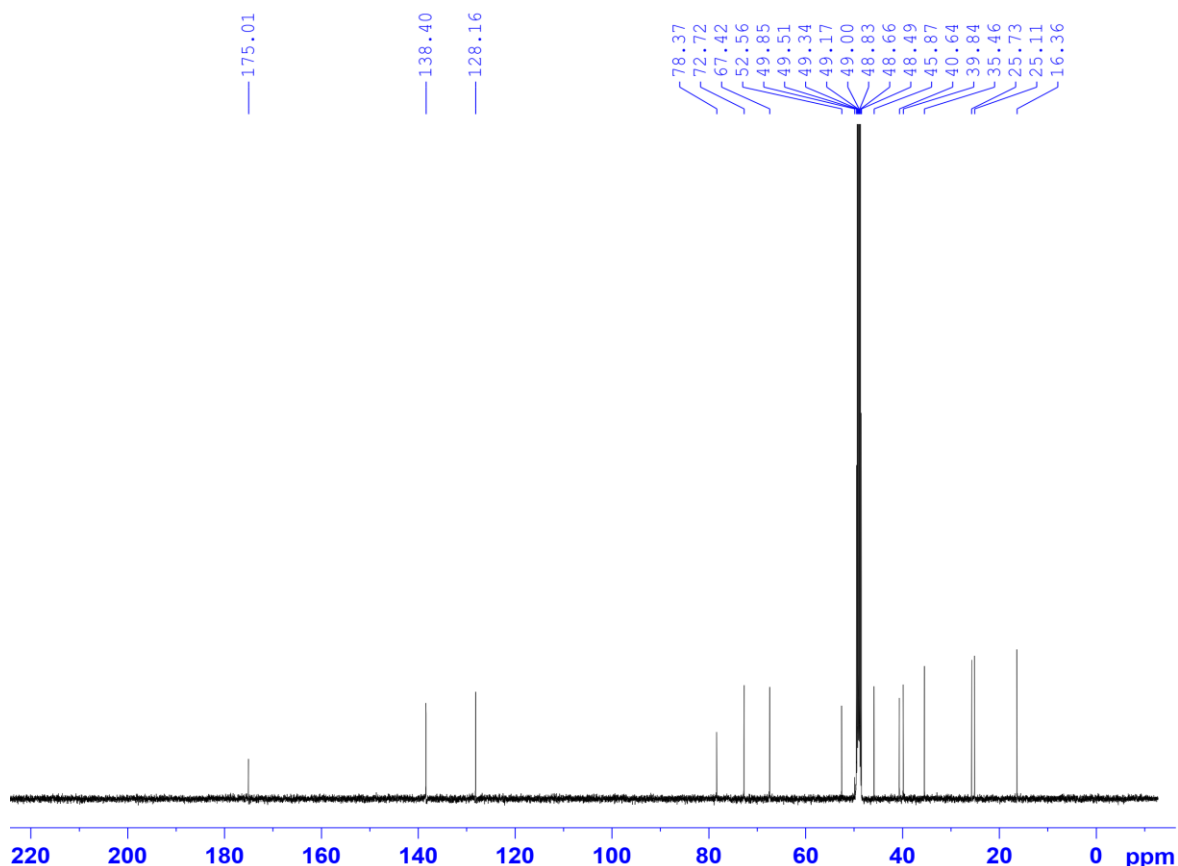
Hình 3.13. Cấu trúc của **HT2**, chất tham khảo và các tương tác HMBC chính



Hình 3.14. Phổ HR-ESI-MS của **HT2**



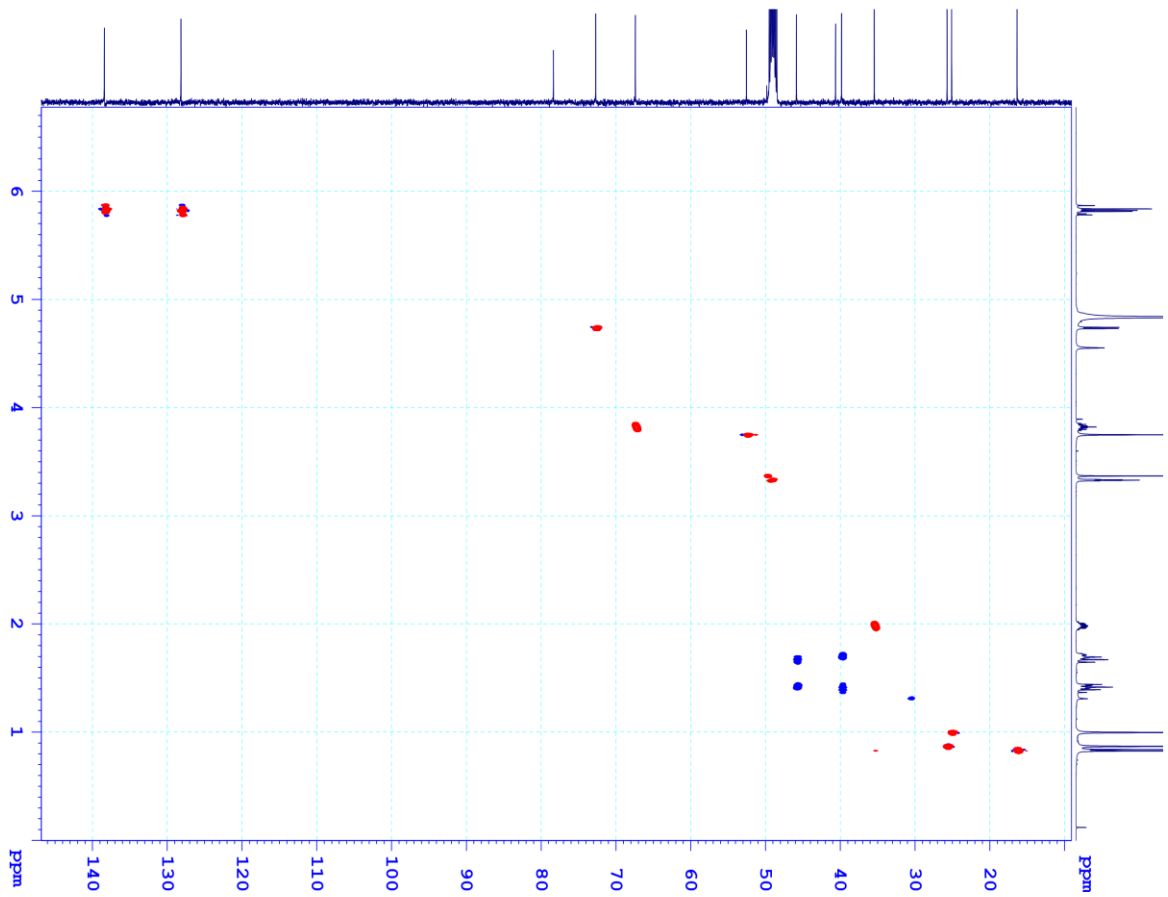
Hình 3.15. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **HT2**



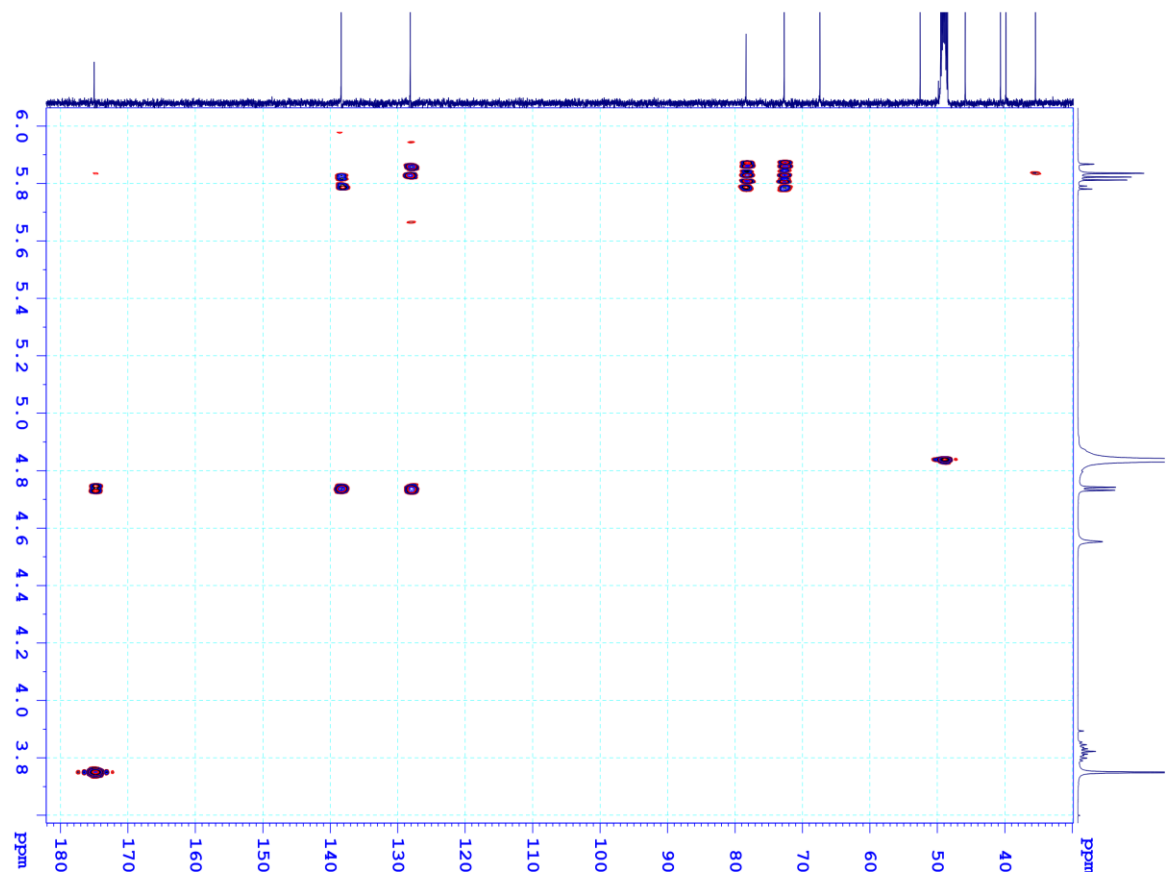
Hình 3.16. Phổ ^{13}C -NMR của **HT2**

phần lớn các vị trí tương ứng (Bảng 3.2), đây cũng là một dẫn xuất của nhóm chất megastigmane như **HT1**. Tuy nhiên, sự khác nhau thể hiện rõ độ dịch chuyển hóa học ^{13}C -NMR liên quan đến vị trí C-1, C-2, C-5 và C-7 của **HT2** khi xem xét với cùng các vị trí này với **HT1** và tiliaceic acid A. Thêm vào đó, quan sát trên phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của **HT2** xác nhận bởi sự thêm 16 Da trọng lượng phân tử của nó so với **HT1**.

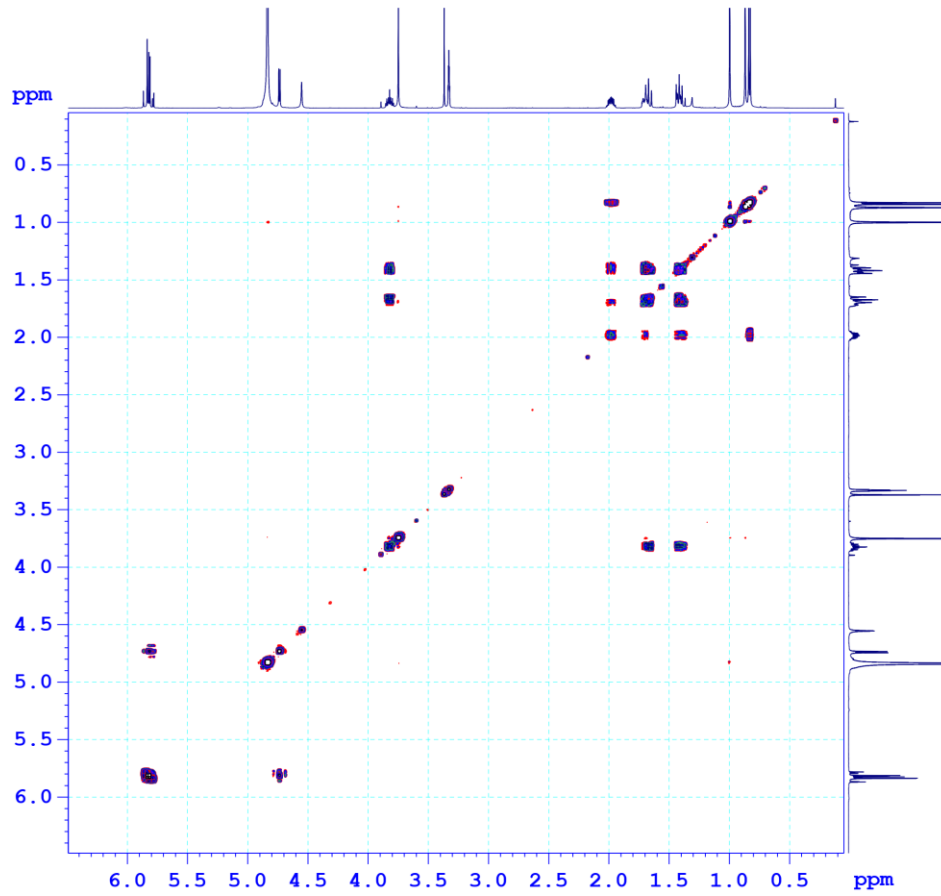
Tương quan trên phổ hai chiều HMBC đầy đủ xác nhận một nhóm hydroxy liên kết tại C-6 (Hình 3.18). Các trung tâm bất đối của **HT2** được xác định giống với **HT1**. Theo đó, tương tự như **HT1**, hằng số ghép đôi lớn giữa H-3 và H-4a ($J \approx 12,0$ Hz) và giữa H-5 với H-4a ($J \approx 12,5$ Hz) cho biết cấu hình *axial* của các proton này. Trên phổ NOESY các tương tác quan sát được giữa H₃-11 với H-3, H-5 với H-7 không chỉ khẳng định cấu hình β của cả H-3 và H-5 mà còn chứng minh cấu hình α của nhóm OH-6 (Hình 3.20). Cuối cùng, cấu hình 9*R* của chất mới **HT2** cũng được chứng minh bởi hiệu ứng Cotton âm tại 221 nm trên phổ CD (Hình 3.22). Vì vậy, hợp chất **HT2** được xác định có tên là methyl-tiliaceate B.



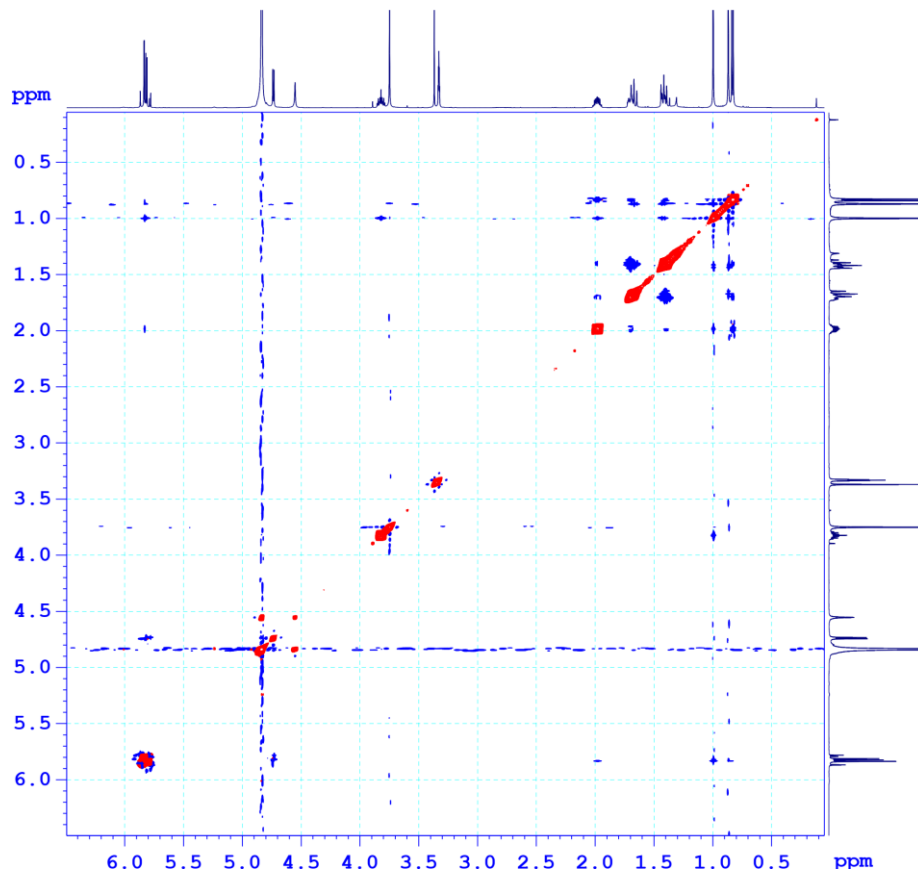
Hình 3.17. Phổ HSQC của HT2



Hình 3.18. Phổ HMBC của HT2



Hình 3.19. Phổ COSY của HT2

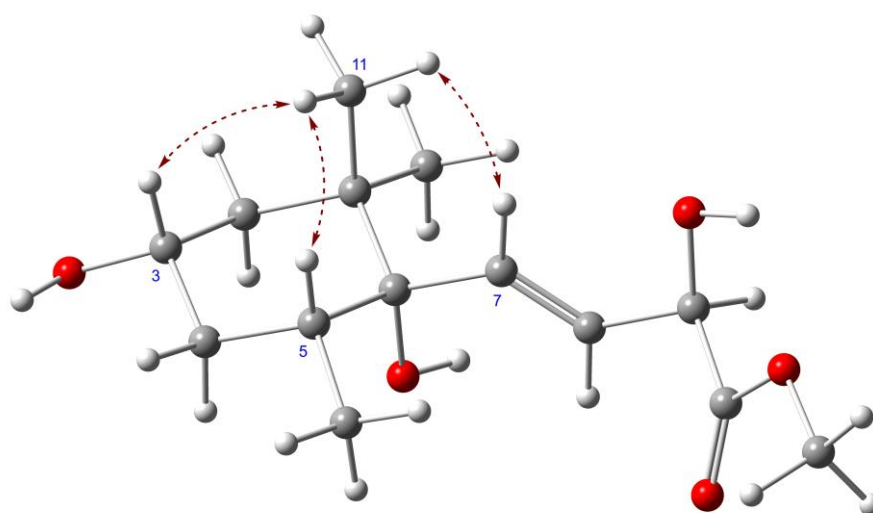


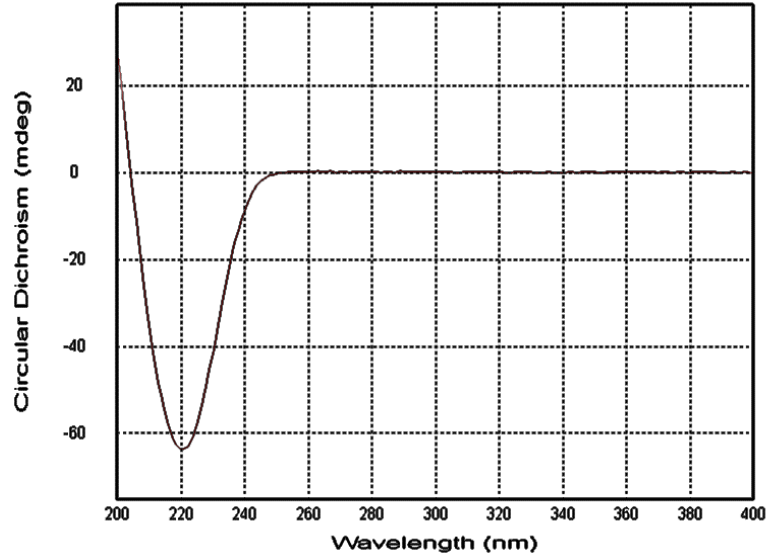
Hình 3.20. Phổ NOESY của HT2

Bảng 3.2. Bảng số liệu phổ NMR của **HT2** và hợp chất tham khảo

C	# δ_C [13]	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{a,b}$ (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	36,2	40,6	-	
2	51,3	45,8	1,42* 1,67 (dd, 12,0, 12,0)	1, 3, 4, 6, 11
3	67,3	67,4	3,82 (dddd, 4,5, 4,5, 11,5, 12,0)	
4	45,6	39,8	1,40 (ddd, 12,0, 12,5, 12,5) 1,70*	2, 3, 5, 6, 13
5	32,3	35,4	1,98 (ddq, 4,0, 13,0, 7,0)	13
6	58,8	78,3	-	
7	134,0	138,4	5,85 (d, 16,0)	5, 6, 8, 9
8	132,9	128,1	5,80 (dd, 5,0, 15,5)	6, 7, 9, 10
9	75,2	72,7	4,74 (d, 5,0)	7, 8, 10
10	180,0	175,0	-	
11	22,0	25,1	1,00 (s)	1, 2, 6, 12
12	32,0	25,7	0,87 (s)	1, 2, 6, 11
13	21,8	16,3	0,83 (d, 7,0)	4, 5, 6
OCH ₃	-	52,5	3,75 (s)	10

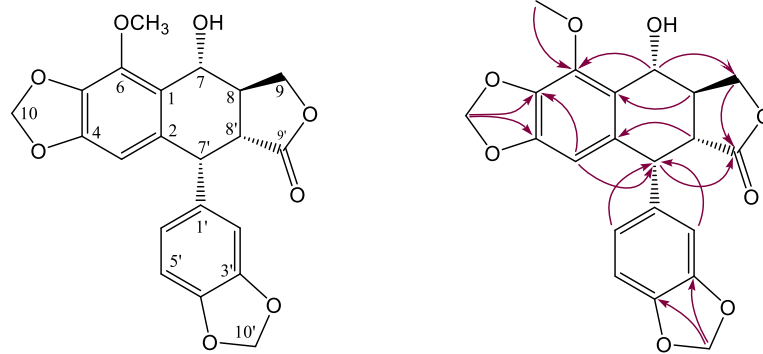
^aĐo trong dung môi CD₃OD, ^b500 MHz và ^c125 MHz. *Tín hiệu bị chồng lấp. # δ_C của tiliaceic acid A theo TLTK [13].

Hình 3.21. Một số tương tác NOESY của **HT2**



Hình 3.22. Phổ CD của **HT2**

3.2.3. Hợp chất **HT3**: *cleistantoxin*



Hình 15. Cấu trúc hóa học của **HT3** và các liên kết HMBC chính

Hợp chất **HT3** thu được dưới dạng tinh thể, màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **HT3** cho thấy có một tín hiệu single proton của một vòng thơm bị thế năm vị trí [δ_{H} 6,25 (H-3)] và ba proton thuộc vòng thơm khác tương tác spin-spin hệ ABX [δ_{H} 6,73 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2'), 6,69 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5') và 6,66 (1H, dd, $J = 1,5, 8,0$ Hz, H-6')]. Ngoài ra, trên phổ này cũng cho thấy tín hiệu đặc trưng về sự có mặt của một nhóm methoxy [δ_{H} 4,15 (3H, s, 6-OCH₃)] và hai nhóm methylenedioxy [δ_{H} 5,91 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-10a), 5,93 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-10b) và 5,89 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-10'a), 5,90 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-10'b)], một nhóm oxymethine [δ_{H} 5,01 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-7)], một nhóm oxymethylene [δ_{H} 4,05 (1H, dd, $J = 8,5, 10,5$ Hz H-9a) và 4,62 (1H, dd, $J = 7,5, 8,5$ Hz, H-9b)] cùng với ba proton ở vùng trường mạnh khác (Hình S1 trong phần Phụ lục). Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **HT3** cho thấy tín hiệu của 21 carbon trong đó bao gồm 12 carbon vòng thơm, một nhóm carboxylic

Bảng 3.3. Bảng số liệu phổ NMR của **HT3** và hợp chất tham khảo

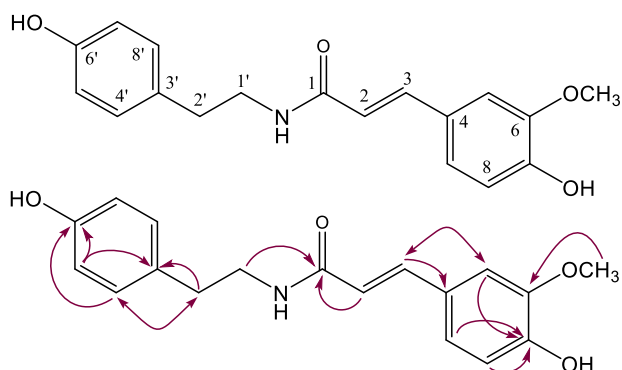
C	[#] $\delta_C^{a,b}$ [66]	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$, (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	124,7	124,7	-	
2	132,9	133,0	-	
3	104,1	104,3	6,25 (s)	1, 2, 5, 7'
4	149,4	149,5	-	
5	134,9	134,9	-	
6	141,5	141,6	-	
7	70,4	70,6	5,01 (d, 9,0)	1, 2, 6, 8, 9, 8'
8	38,7	38,7	2,87 (m)	7, 8, 9, 8'
9	71,8	71,8	4,05 (dd, 8,5, 10,5) 4,62 (dd, 7,5, 8,5)	7, 8, 8', 9'
10	101,2	101,3	5,91 (d, 1,5)/5,93 (d, 1,5)	4, 5
1'	133,0	133,1	-	
2'	111,1	111,2	6,73 (d, 1,5)	3', 4', 6', 7'
3'	147,2	147,3	-	
4'	146,5	146,6	-	
5'	107,6	107,7	6,69 (d, 8,0)	1', 3'
6'	124,1	124,2	6,66 (dd, 1,5, 8,0)	2', 4', 7'
7'	43,9	44,0	4,50 (d, 5,0)	1, 8, 1', 2', 6', 8'
8'	44,6	44,7	2,72 (dd, 5,0, 15,0)	2, 8, 9, 7', 8'
9'	174,2	174,2	-	
10'	100,9	100,9	5,89 (d, 1,5)/5,90 (d, 1,5)	3', 4'
6-OCH ₃	59,8	59,9	4,15 (s)	6

^aĐo trong dung môi CDCl₃, ^b125 MHz và ^c500 MHz. [#] δ_C của cleistantoxin theo TLTK [66].

[δ_C 174,2 (C-9')], bốn nhóm methine liên kết với vòng thơm [δ_C 104,3 (C-3), 111,2 (C-2'), 107,7 (C-5') và 124,2 (C-6')], một nhóm oxymethylene [δ_C 71,8 (C-9)], một nhóm methoxy [δ_C 59,9 (6-OCH₃)] , hai nhóm dioxymethylene [δ_C 101,3 (C-10) và 100,9 (C-10')] và các tín hiệu carbon khác (Bảng 3.3). So sánh số liệu phổ ¹³C NMR của **HT3** với các số liệu tương ứng đã được công bố (Bảng 3.3), kết hợp phân tích chi tiết các tương tác trên phổ hai chiều HMBC chứng minh hợp chất này là (7*R*,8*R*,7'*R*,8'*R*)-7-hydroxy-6-methoxy-3',4':4,5-bis(methylenedioxy)-2,7'-cyclolignan-9',9'-olite (còn có tên gọi khác là cleistantoxin). Cấu hình tuyệt đối tại vị trí C-7' đã được nhóm tác giả làm sáng tỏ bằng phương pháp phổ ECD thực nghiệm. Hợp

chất **HT3** có cấu trúc tương tự như cấu trúc của podophyllotoxin, vốn nổi tiếng với đặc tính kháng virus và chống khối u.

3.2.4. Hợp chất **HT4**: *N-trans-(p-hydroxyphenethyl) ferulamide*



Hình 3.23. Cấu trúc của **HT4** và các tương tác HMBC chính

Bảng 3.3. Bảng số liệu phổ NMR của **HT4** và hợp chất tham khảo

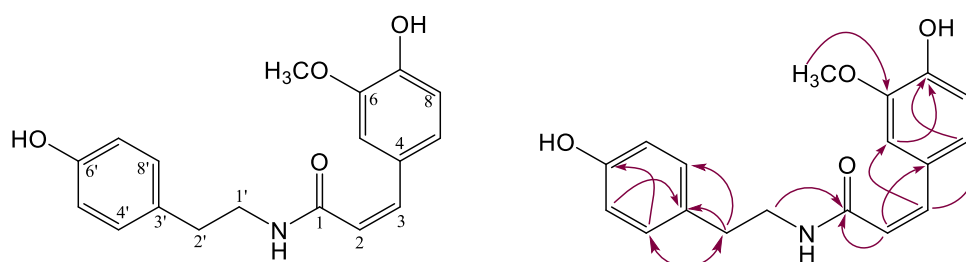
C	[#] $\delta_C^{a,d}$ [67]	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	169,5	169,1	-	
2	119,0	118,7	6,42 (d, 15,5)	1, 4
3	142,5	142,0	7,45 (d, 15,5)	1, 2, 4, 5, 9
4	128,5	128,3	-	
5	112,0	111,6	7,13 (d, 2,0)	3, 7, 9
6	149,7	149,3	-	
7	150,5	149,8	-	
8	117,0	116,4	6,81 (d, 8,0)	4, 6
9	123,5	123,2	7,04 (dd, 8,0, 2,0)	3, 5, 7
1'	43,0	42,5	3,48 (t, 7,5)	1, 2', 3'
2'	36,0	35,8	2,77 (t, 7,5)	1', 3', 4', 8'
3'	131,5	131,3	-	
4', 8'	131,0	130,7	7,07 (br d, 8,5)	2', 4', 6'
5', 7'	116,5	116,2	6,73 (br d, 8,5)	3', 5'
6'	157,5	156,9	-	
6-OCH ₃	56,4	56,4	3,90 (s)	6

^aĐo trong dung môi CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz và ^d75 MHz. [#] δ_C của hợp chất *N-trans-(p-hydroxyphenethyl) ferulamide* theo TLTK [67].

Hợp chất **HT4** thu được dưới dạng tinh thể, màu trắng bởi sử dụng các phương pháp sắc ký kết hợp. Trên phổ ¹H-NMR của hợp chất **HT4** cho thấy các tín hiệu của hai nhóm methylene [δ_H 3,48 (2H, t, $J = 7,5$ Hz, H-1') và 2,77 (2H, t, $J = 7,5$ Hz, H-

2')], một nhóm methyl liên kết với dị nguyên tử [δ_{H} 3,48 (1H, t, $J = 7,5$ Hz)] gợi ý sự có mặt của các nhóm α,β -carboxamide không bão hòa, một tín hiệu đặc trưng của một nhóm methoxy [δ_{H} 3,90 (3H, s, 6-OCH₃)]. Ngoài ra, trên phổ này còn các tín hiệu điển hình của một hệ tương tác spin-spin ABX [δ_{H} 7,13 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-5), 6,81 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-8) và 7,04 (1H, dd, $J = 8,0, 2,0$ Hz, H-9)] và một hệ tương tác spin-spin AB khác [δ_{H} 7,07 (2H, br d, $J = 8,5$ Hz, H-4'/H-8') và 6,73 (2H, br d, $J = 8,5$ Hz, H-5'/H-7')]. Sự chuyển dịch hóa học của hai proton olefinic [δ_{H} 6,42 (1H, H-2) và 7,45 (1H, H-3)] với hằng số ghép cặp lớn ($J = 15,5$ Hz) cho thấy đây là cấu hình *trans*. Phân tích phổ ¹³C-NMR cho thấy sự có mặt tổng số 18 carbon, trong đó có 12 carbon thuộc vào hai vòng thơm, hai nhóm methylene [δ_{C} 42,5 (C-1') và 35,8 (C-2')], một nhóm methoxy [δ_{C} 56,4 (6-OCH₃)] và một nhóm carbonyl [δ_{C} 169,1 (C-1)] (Bảng 3.4). Dựa vào những phân tích ở trên cùng với so sánh các dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất **HT4** với hợp chất tham khảo [67], xác định đây là hợp chất *N-trans*-(*p*-hydroxyphenethyl) ferulamide.

3.2.5. Hợp chất **HT5**: *N-cis*-(*p*-hydroxyphenethyl) ferulamide



Hình 3.24. Cấu trúc của **HT5** và các tương tác HMBC chính

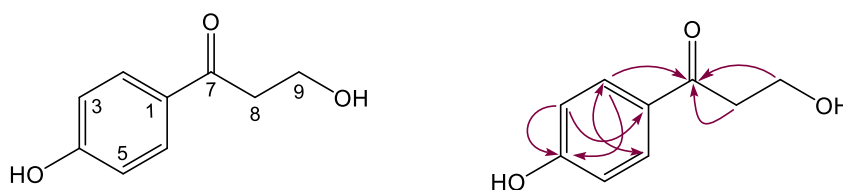
Hợp chất **HT5** thu được dưới dạng chất bột, màu trắng. Phân tích các phổ 1D và 2D NMR của **HT5** cho thấy xuất hiện 18 carbon bao gồm hai vòng thơm hệ AB và ABX, hai nhóm methylene, một liên kết olefinic và một nhóm ketone (Bảng 3.5). So sánh số liệu phổ NMR của **HT5** với các số liệu của **HT4** và số liệu phổ đã được công bố của trước đó [67], cho thấy **HT5** chỉ khác **HT4** liên quan đến hằng số tương tác của hai proton olefine [δ_{H} 5,82 (1H, d, $J = 13,0$ Hz (H-2))/ δ_{C} 121,7 (C-2) và 6,62 (1H, d, $J = 13,0$ Hz, H-3)/ δ_{C} 138,3 (C-3)] (Bảng 3.5). Hằng số ghép cặp nhỏ ($J = 13,0$ Hz), có thể cho thấy đây là dạng cấu hình *cis* [67]. Dựa vào các phân tích trên cùng với kết hợp so sánh các dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của hợp chất **HT5** (Hình S17-S19 trong phần Phụ lục) với hợp chất tham khảo [67], có thể khẳng định đây là hợp chất **HT5** có tên *N-cis*-(*p*-hydroxyphenethyl) ferulamide.

Bảng 3.4. Bảng số liệu phổ NMR của **HT5** và hợp chất tham khảo

C	$^{\#}\delta_C^a$ [67]	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	170,7	170,3	-	
2	122,0	121,7	5,82 (d, 13,0)	1, 4
3	138,7	138,3	6,62 (d, 13,0)	1, 2, 4, 5, 9
4	129,0	128,5	-	
5	114,5	113,9	7,36 (d, 2,0)	3, 7, 9
6	149,1	148,6	-	
7	149,0	148,5	-	
8	116,3	115,8	6,76 (d, 8,0)	4, 6
9	125,5	124,8	6,94 (dd, 8,0, 2,0)	3, 5, 7
1'	42,5	42,3	3,41 (t, 7,5)	1, 2', 3'
2'	36,0	35,5	2,71 (t, 7,5)	1', 3', 4', 8'
3'	131,5	131,2	-	
4', 8'	131,0	130,6	7,01 (br d, 8,5)	2', 4', 6'
5', 7'	116,5	116,2	6,70 (br d, 8,5)	3', 5'
6'	157,5	156,9	-	
6-OCH ₃	56,5	56,4	3,84 (s)	6

^aĐo trong dung môi CD₃OD, ^b125 MHz và ^c500 MHz. [#] δ_C của hợp chất *N-cis-(p-hydroxyphenethyl)ferulamide* theo TLTK [67].

3.2.6. Hợp chất **HT6**: 3-hydroxy-1-(*p*-hydroxyphenyl)propan-1-one



Hình 3.25. Cấu trúc của **HT6** và các tương tác HMBC chính

Hợp chất **HT6** thu được dưới dạng tinh thể, màu trắng. Quan sát phổ ¹H-NMR của **HT6** ở vùng trường yếu xuất hiện hai tín hiệu proton doublet (có cùng hằng số tương tác là $J = 8,5 \text{ Hz}$) đặc trưng của một vòng thơm hệ tương tác spin-spin AB có độ chuyển dịch hoá học tại δ_H 7,92 (2H, H-2/H-6) và 6,86 (2H, H-3/H-5). Ngoài ra, ở vùng trường mạnh còn xuất hiện một nhóm oxymethylene [δ_H 3,95 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$, H-9)] và một nhóm methylene khác [δ_H 3,17 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$, H-7)] gợi ý chúng có thể nằm gần nhóm hút điện tích mạnh như nhóm hydroxyl (-OH) và nhóm ketone carbonyl (C=O). Các phân tích phổ ¹³C-NMR và phổ HSQC của **HT6** cho thấy hợp

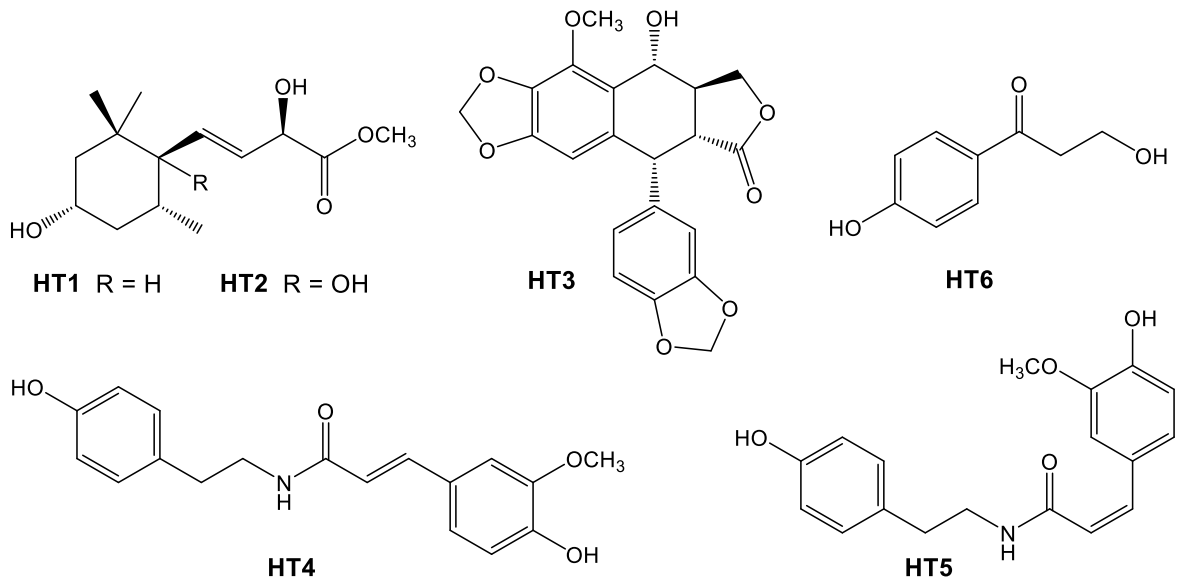
Bảng 3.5. Bảng số liệu phổ NMR của **HT6** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{a,d}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (dạng peak, $J = \text{Hz}$)	HMBC
1	130,2	130,0	-	
2, 6	131,8	131,8	7,92 (d, 8,5)	4, 7
3, 5	116,2	116,2	6,86 (d, 8,5)	1, 2, 4
4	163,8	164,2	-	
7	199,7	200,0	-	
8	41,7	41,7	3,17 (t, 6,5)	1, 7, 9
9	58,9	58,8	3,95 (t, 6,5)	7, 8

^aĐo trong dung môi CD_3OD , ^b125 MHz, ^c500 MHz và ^d75 MHz. ^s δ_C của 3-hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)propan-1-one theo TLTK [68].

chất này có chứa chín nguyên tử carbon. Trong đó phải kể đến bao gồm sáu tín hiệu của hệ vòng thơm bị thế hai vị trí [δ_C 130,0 (C-1), 131,8 (C-2/C-6), 116,2 (C-3/C-5) và 164,2 (C-4)]. Ngoài ra, trên phổ này còn xuất hiện một tín hiệu đặc trưng của một nhóm ketone tại δ_C 200,0 (C-7) và hai tín hiệu của hai nhóm methylene tại δ_C 41,7 (C-8) và 58,8 (C-9) (Hình S26-S29 trong phần Phụ lục). Trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính của proton δ_H 7,92 (H-2/H-6) tương tác lên C-4, C-6 và C-7 và của δ_H 3,17 (H-8) tương tác lên C-7 và C-9 từ đó cho thấy hợp chất chứa một vòng thơm hệ AA'BB' và liên kết với mạch nhánh propan-1-one-3-hydroxy. Từ những phân tích dữ liệu phổ trên và so sánh với tài liệu tham khảo đã công bố thì xác định được hợp chất **HT6** là 3-hydroxy-1-(*p*-hydroxyphenyl)propan-1-one [68].

Các hợp chất phân lập được từ loài *H. tiliaceus* thuộc khung cấu trúc megastigmane và phenolic là nhóm chất đặc trưng được biết đến từ các loài thuộc chi *Hibiscus*. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc hai hợp chất mới này cung cấp thông tin liên quan đến sự đa dạng của sự chuyển đổi sinh hóa từ các loài thuộc chi này. Ngoài ra, các kết quả cho thấy có sự tương đồng cao với các nghiên cứu công bố của các nhà khoa học trước đây.



Hình 3.26. Các hợp chất phân lập được từ lá của loài *H. tiliaceus*

3.4. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất phân lập được

Bảng 3.6. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của một số hợp chất phân lập được

Hợp chất*	Nồng độ ức chế tối thiểu MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	Gram dương			Gram âm			Nấm men
	<i>E.faecalis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.enterica</i>	<i>C.albicans</i>
HT1	-	-	128	-	-	-	-
HT3	128	-	256	-	-	-	128
HT4	128	-	128	-	-	-	128
HT5	128	-	128	-	-	-	128
Streptomycin	256	256	128	32	256	128	
Cycloheximide							32

Streptomycin và *cycloheximide* được sử dụng như những kháng sinh chuẩn. (–) Không xác định. *Các hợp chất còn lại không thể hiện hoạt tính kháng VSVKD ở nồng độ thử nghiệm.

Các hợp chất phân lập được từ loài Búp tra đã được thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên bảy chủng vi khuẩn bao gồm ba chủng vi khuẩn Gram dương (*E. faecalis*, *S. aureus* và *B. subtilis*), ba chủng vi khuẩn Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa* và *S. enterica* và một chủng vi khuẩn nấm men (*C. albicans*). Kết quả cho thấy ba

hợp chất **HT3-HT5** thể hiện hoạt tính kháng trên hai chủng vi khuẩn Gram dương là *E. faecalis* và *B. cereus* và một chủng nấm men *C. albicans* với cùng giá trị MIC là 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Bên cạnh đó, hợp chất mới **HT1** chỉ thể hiện trên duy nhất một chủng vi khuẩn Gram dương *B. cereus* (MIC = 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Tuy nhiên, kết quả cho thấy rằng hợp chất còn lại không thể hiện khả năng kháng VSVKĐ trên các chủng vi khuẩn đã thử nghiệm. Những kết quả nghiên cứu này phần nào giải thích được công dụng dân gian đã sử dụng cây này để chữa đau họng tiêu chảy, kiết lỵ... ở người.

Bên cạnh việc thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, các nghiên cứu trên thế giới cũng chỉ ra rằng các hợp chất này còn thể hiện các hoạt tính rất đáng lưu tâm khác. Có thể kể đến nghiên cứu của tác giả T. T. T. Vân và các cộng sự vào năm 2012, hợp chất **HT3** (cleistantoxin) đã được báo cáo có hoạt tính mạnh đối với dòng tế bào ung thư biểu bì KB với giá trị IC_{50} là 0,022 μM , bên cạnh đó hợp chất này cũng có hoạt tính đáng kể chống lại các dòng tế bào ung thư như MCF7 ($\text{IC}_{50} = 0,036 \mu\text{M}$), MCF7R ($\text{IC}_{50} = 0,014 \mu\text{M}$) và các dòng tế bào ung thư HT29 ($\text{IC}_{50} = 0,035 \mu\text{M}$) [66]. Cùng trong năm đó, nhóm tác giả người Hàn Quốc đứng đầu là S. W. Hwang đã báo cáo tác dụng ức chế COX-1 và COX-2 của các hợp chất phenylpropanoid phân lập từ loài *Ailanthus altissima*, trong đó hợp chất **HT6** thể hiện hoạt tính ức chế COX-2 với giá trị $\text{IC}_{50} \approx 58 \mu\text{M}$ [69].

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

❖ Về nghiên cứu thành phần hóa học:

Sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ kết hợp, đã phân lập thành công và xác định cấu trúc của sáu hợp chất từ lá của *Hibiscus tiliaceus* L. Trong đó bao gồm hai hợp chất mới là methyl-tiliaceate A (**HT1**) và methyl-methyl-tiliaceate B (**HT2**) và bốn hợp chất khác như cleistantoxin (**HT3**), *N-trans*-(*p*-hydroxyphenethyl) ferulamide (**HT4**), *N-cis*-(*p*-hydroxyphenethyl) ferulamide (**HT5**) và 3-hydroxy-1-(*p*-hydroxyphenyl)propan-1-one (**HT6**).

❖ Về nghiên cứu hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định:

Các hợp chất đã được tiến hành thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên ba chủng vi khuẩn Gram dương (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) và ba chủng vi khuẩn Gram âm (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*) và một dòng nấm *Candida albicans*. Hợp chất mới **HT1** thể hiện hoạt tính chọn lọc với chủng *B. cereus* với giá trị MIC là 128 $\mu\text{g/mL}$. Ba hợp chất **HT3-HT5** thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định phải trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*E. faecalis* và *B. cereus*) và chủng nấm men *C. albicans* với cùng giá trị MIC là 128 $\mu\text{g/mL}$.

2. Kiến nghị

Từ các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của *H. tiliaceus* tác giả nhận thấy:

1. Cần tiếp tục nghiên cứu về các hoạt tính khác từ các hợp chất được phân lập từ loài *Hibiscus tiliaceus* như hoạt tính kháng viêm, chống tiêu đường....
2. Tiếp tục mở rộng nghiên cứu về các loài thực vật *Hibiscus* khác để góp phần khẳng định được giá trị dược liệu của các loài thực vật ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.N. Bibi, M.M. Fawzi, Z. Gokhan, J. Rajesh, N. Nadeem, R.R.R. Kannan, R.D.D.G. Albuquerque, S.K. Pandian, 2019, Ethnopharmacology, phytochemistry, and global distribution of mangroves-a comprehensive review, *Marine Drugs*, 17(4), 231.
- [2] T. Isah, 2019, Stress and defense responses in plant secondary metabolites production, *Biological Research*, 52, 39.
- [3] W.M. Bandaranayake, 2002, Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants, *Wetlands Ecology and Management*, 10, 421-452.
- [4] M.T. Islama, J. Sharifi-Rad, M. Martorell, E.S. Ali, M.N. Asghar, F. Deebah, C.K. Firozi, M.S. Mubarak, 2020, Chemical profile and therapeutic potentials of *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem.: a literature-based review, *Journal of Ethnopharmacology*, 259, 112958.
- [5] H.O. Dossou-Yovo, F.G. Vodouhè, B. Sinsin, 2014, Ethnobotanical survey of mangrove plant species used as medicine from Ouidah to Grand-Popo Districts, Southern Benin, *American Journal of Ethnomedicine*, 4(1:8), 1-6.
- [6] R. Reef, I.C. Feller, C.E. Lovelock, 2010, Nutrition of mangroves, *Tree Physiology*, 30(9), 1148-1160.
- [7] S.M. Abdel-Aziz, F.E. Mouafi, Y.A.M.M. Elkhatee, N. A.M. Abdelwahed, 2016, *Microbes in food and health*, Springer International Publishing, Switzerland, 77-96.
- [8] Dasuki, 2001, *Plant resources of southeast asia No. 12(2): Medicinal and poisonous plants 2*, Leiden Backhuys Pub, Netherlands, 297-303.
- [9] D.T. Xuyen, 2017, *Flora of Vietnam*, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, 14, 170-172.
- [10] N.T. Bân, 2003, *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 2, 560-564.
- [11] T.K. Lim, 2014, *Edible medicinal and non medicinal plants: Volume 8, Flowers*, Springer, Netherlands.

- [12] V.V. Chi, 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2, 1022.
- [13] L.B. Vinh, N.T.M. Nguyet, C.D. Thanh, T.T. Huong, L.H. Tram, N. Van Thong, N.H. Minh, N.P. Thao, I. Hwang, S.Y. Yang, 2021, Chemical constituents of Vietnamese mangrove *Hibiscus tiliaceus* with antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activity, *Natural Product Research*, 35(17), 2899-2904.
- [14] N.T.T. Huyền, 2020, *Nghiên cứu thành phần hóa học loài Hibiscus tiliaceus L.(Mavaceae) ở vùng rừng ngập mặn Quảng Ninh-Việt Nam*, Luận văn Thạc sĩ Hóa học, Đại học Bách Khoa Hà Nội.
- [15] B.P. Lawton, 2004, *Hibiscus: hardy and tropical plants for the garden*, Timber Press (OR).
- [16] R.A. Holser, G. Bost, M.V. Boven, 2004, Phytosterol composition of hybrid *Hibiscus* seed oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2546-2548.
- [17] A.A. Dafallah, Z. Al-Mustafa, 1996, Investigation of the antiinflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa*, *The American Journal of Chinese Medicine*, 24(3-4), 263-269.
- [18] A. Sachdewa, L.D. Khemani, 2003, Effect of *Hibiscus rosa-sinensis* ethanol flower extract on blood glucose and lipid profile in streptozotocin induced diabetes in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 61-66.
- [19] A. Kumar, A. Singh, 2012, Review on *Hibiscus rosasinensis*, *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(2), 534-538.
- [20] M.Z.M. Salem, J. Olivares-Pérez, A.Z.M. Salem, 2014, Studies on biological activities and phytochemicals composition of *Hibiscus* species - a review, *Life Sciences Journal*, 11(5), 1-8.
- [21] E.G. Maganha, R.d.C. Halmenschlager, R.M. Rosa, J.A.P. Henriques, A.L.L.d.P. Ramos, J. Saffi, 2010, Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*, *Food Chemistry*, 118(1), 1-10.
- [22] E.W.C. Chan, S.K. Wong, H.T. Chan, 2016, A review on the phytochemistry and pharmacology of two *Hibiscus* species with spectacular flower colour

- change: *H. tiliaceus* and *H. mutabilis*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(7), 1200-1208.
- [23] P.A. Fryxell, 2001, Talipariti (Malvaceae), a segregate from *Hibiscus*, *Contributions from the University of Michigan Herbarium*, 23, 225-270.
- [24] H. Chan, S. Baba, 2009, *Manual on guidelines for rehabilitation of coastal forests*, International Society for Mangrove Ecosystems (ISME) and International Tropical Timber Organization (ITTO), 41-42.
- [25] W. Kan, 1997, *Malvaceae in pharmaceutical botany*, National Research Institute of Chinese Medicine, Taipei, 333-339
- [26] W.J.M. Bandaranayake, 1998, *Mangroves and salt marshes 2: Traditional and medicinal uses of mangroves*, Springer, Netherlands, 133-148.
- [27] R.M. Rosa, M.I.S. Melecchi, R.d.C Halmenschlager, F.C. Abad, C.R. Simoni, E.B. Caramao, J.A.P. Henriques, J.d.P.R. Saffi, Ana Lúcia Lia, 2006, Antioxidant and antimutagenic properties of *Hibiscus tiliaceus* L. methanolic extract, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54(19), 7324-7330.
- [28] S.K. Wong, E.W. Chan, 2022, Botany, uses, phytochemistry and bioactivities of mangrove associates I: *Hibiscus tiliaceus*, *ISME/GLOMIS Electronic Journal*, 20(3), 17-22.
- [29] S.S. Subramanian, A.R. Nair, 1973, Chemical constituents of the fruits of *Hibiscus tiliaceus*, *Current science*, 770-771.
- [30] J. Lowry, 1976, Floral anthocyanins of some Malesian *Hibiscus* species, *Phytochemistry*, 15(9), 1395-1396.
- [31] M.I.S. Melecchi, V.F. Péres, C. Dariva, C.A. Zini, F.C. Abad, M.M. Martinez, E.B. Caramão, 2006, Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers, *Ultrasonics sonochemistry*, 13(3), 242-250.
- [32] S. Ali, P. Singh, R.H.J. Thomson, 1980, Naturally occurring quinones. Part 28. Sesquiterpenoid quinones and related compounds from *Hibiscus tiliaceus*. *Journal of the Chemical Society*, 257-259.
- [33] T. Matsumoto, D. Imahori, K. Achiwa, Y. Saito, T. Ohta, T. Yoshida, N. Kojima, M. Yamashita, Y. Nakayama, T. Watanabe, 2020, Chemical structures and cytotoxic activities of the constituents isolated from *Hibiscus tiliaceus*. *Fitoterapia*, 142, 104524.

- [34] D.L. Chen, M.Y. Chen, Y. Hou, C.H. Wang, Z.C. Sun, Y. Yang, H.Q. Liang, G.-. Ma, X.D. Xu, J.H. Wei, 2022, Cadinane-type sesquiterpenoids with cytotoxic activity from the infected stems of the semi-mangrove *Hibiscus tiliaceus*, *Journal of Natural Products*, 85, 127-135.
- [35] L. Li, X. Huang, I. Sattler, H. Fu, S. Grabley, W. Lin, 2006, Structure elucidation of a new friedelane triterpene from the mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 44(6), 624-628.
- [36] C. Feng, X.M. Li, N.Y. Ji, B.G.J. Wang, 2008, Triterpenoids from the mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*, *Helvetica Chimica Acta*, 91, 850-855.
- [37] W.Z. Zhao, L. Jun, T.X. Li, L.J.G. Qiang, 2011, Triterpenes and steroids from semi-mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(3), 190-192.
- [38] 冯超, 李晓明, 田敏卿, 王.J. 海洋科学, 2008, 药用红树林植物黄槿的化学成分研究, 32(9), 57-60.
- [39] C.L. Cheng, Z.Z. Wang, P.L. Li, X.W. Zhang, R.C. Wu, H.Y. Zhu, X.L. Tang, G.Q. Li, 2013, Tetracyclic triterpenoids isolated from semi-mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*, *Chinese Chemical Letters*, 24(12), 1080-1082.
- [40] A. Nair, S. Subramnian, S. Nayara-Swamun, 1961, Glycosides from flowers of *Hibiscus tiliaceus*, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 20, 553-554.
- [41] J.J. Chen, S.Y. Huang, C.Y. Duh, I.S. Chen, T.C. Wang, H.Y. Fang, 2006, A new cytotoxic amide from the stem wood of *Hibiscus tiliaceus*, *Planta medica*, 72(10), 935-938.
- [42] X. Zhang, J. Zhang, Y. Pei, X. Xu, Y. Tan, S. Kang, M. Liu, 2012, Chemical constituents from *Hibiscus tiliaceus*, *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 3, 440-443.
- [43] S. Shimokawa, T. Iwashina, N. Murakami, 2015, Flower color changes in three Japanese *Hibiscus* species: further quantitative variation of anthocyanin and flavonols, *Natural Product Communications*, 10(3), 451-452.
- [44] S. Wong, Y. Lim, E. Chan, 2010, Evaluation of antioxidant, anti-tyrosinase and antibacterial activities of selected *Hibiscus* species, *Ethnobotanical Leaflets*, 14, 781-796.

- [45] S. Ramproshad, T. Afroz, B. Mondal, A. Haque, S. Ara, R. Khan, S. Ahmed, 2012, Antioxidant and antimicrobial activities of leaves of medicinal plants *Hibiscus tiliaceus* L., *Pharmacol Online*, 3, 82-87.
- [46] S.M. Abdul-Awal, S. Nazmir, S. Nasrin, T.R. Nurunnabi, S.J. Uddin, 2016, Evaluation of pharmacological activity of *Hibiscus tiliaceus*, *SpringerPlus*, 5, 1209.
- [47] Y. Andriani, M. Sababathy, H. Amir, P. Sarjono, D. Syamsumir, S. Sugiwati, M. Kassim, 2020, The potency of *Hibiscus tiliaceus* leaves as antioxidant and anticancer agents via induction of apoptosis against MCF-7 cells, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 959, 012022
- [48] S.K. Wong, Y.Y. Lim, E.W.C.J. Chan, 2009, Antioxidant properties of *Hibiscus*: Species variation, altitudinal change, coastal influence and floral colour change, *Journal of Tropical Forest Science*, 21(4), 307-315.
- [49] D. Nivas, B. Sonar, S. Shaikh, U. Patil, D. Gaikwad, N. Chavan, A. Sabale, P. Chavan, 2010, Screening of some coastal plant resources for their antioxidant potential, total polyphenol and flavonoid content, *Pharmacognosy Journal*, 2(7), 151-156.
- [50] R.M. Rosa, D.J. Moura, M.I.S. Melecchi, R.S. dos Santos, M.F. Richter, E.B. Camarao, J.A.P. Henriques, A.L.L. de Paula Ramos, J. Saffi, 2007, Protective effects of *Hibiscus tiliaceus* L. methanolic extract to V79 cells against cytotoxicity and genotoxicity induced by hydrogen peroxide and tert-butylhydroperoxide, *Toxicology in vitro*, 21(8), 1442-1452.
- [51] C. Vanzella, P. Bianchetti, S. Sbaraini, S.I. Vanzin, M.I.S. Melecchi, E.B. Caramão, I.R. Siqueira, 2012, Antidepressant-like effects of methanol extract of *Hibiscus tiliaceus* flowers in mice, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 1-6.
- [52] S. Kumar, V. Kumar, O. Prakash, 2010, Antidiabetic and hypolipidemic activities of *Hibiscus tiliaceus* (L.) flowers extract in streptozotocin induced diabetic rats, *Pharmacologyonline*, 2, 1037-1044.
- [53] T. Masuda, D. Yamashita, Y. Takeda, S. Yonemori, 2005, Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of

- potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*, *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 69(1), 197-201.
- [54] T. Masuda, N. Fujita, Y. Odaka, Y. Takeda, S. Yonemori, K. Nakamoto, H. Kuninaga, 2007, Tyrosinase inhibitory activity of ethanol extracts from medicinal and edible plants cultivated in okinawa and identification of a water-soluble inhibitor from the leaves of *Nandina domestica*, *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 71(9), 2316-2320.
- [55] A.J. Sunilson, S. Mohan, M.A. Mohamed, J. Thomas, A.G. Kumari, 2008, Antitumour activity of *Hibiscus tiliaceus* Linn. roots, *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 7,123-125.
- [56] K.S. Narender, D. Kumar, V. Kumarm, 2009, Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Hibiscus tiliaceus* leaves, *International Journal of Pharmacognosy Phytochemical Research*, 1(1), 15-17.
- [57] P. Borhade, P. Dalal, A. Pachauri, K. Lone, N. Chaudhari, P.J. Rangari, 2012, Evaluation of anti-inflammatory activity of *Hibiscus tiliaceus* Linn wood extract, *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(3), 1246-1250.
- [58] G. Rajeswari, B. Priyanka, R. Amrutha, C. Rajaram, R.S. Kanhere, S.N. Kumar, 2013, *Hibiscus tiliaceus*: a possible immunomodulatory agent, *Journal of Pharmacy Research*, 6(7), 742-747.
- [59] T. Vijay, B.J. Rajendra, 2014, Phytochemical screening and anthelmintic activity of wood and leaves of *Hibiscus tiliaceus* Linn., *World Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, 3(10), 880-889.
- [60] A.R. Surana, M.R. Kumbhare, A.R. Gunjal, S.S. Goswami, D.M. Ghuge, 2022, Chemical characterization, thrombolytic and antioxidant activity of *Hibiscus tiliaceus* L. leaves, *Natural Product Research*, 36(23), 6106-6110.
- [61] F. Hadacek, H. Greger, B. Techniques, 2000, Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical Analysis*, 11(3), 137-147.
- [62] A.C. Evans, A.S. Petit, S.G. Guillen, A.J. Neukirch, S.V. Hoffmann, N.C. Jones, 2021, Chiroptical characterization tools for asymmetric small molecules –

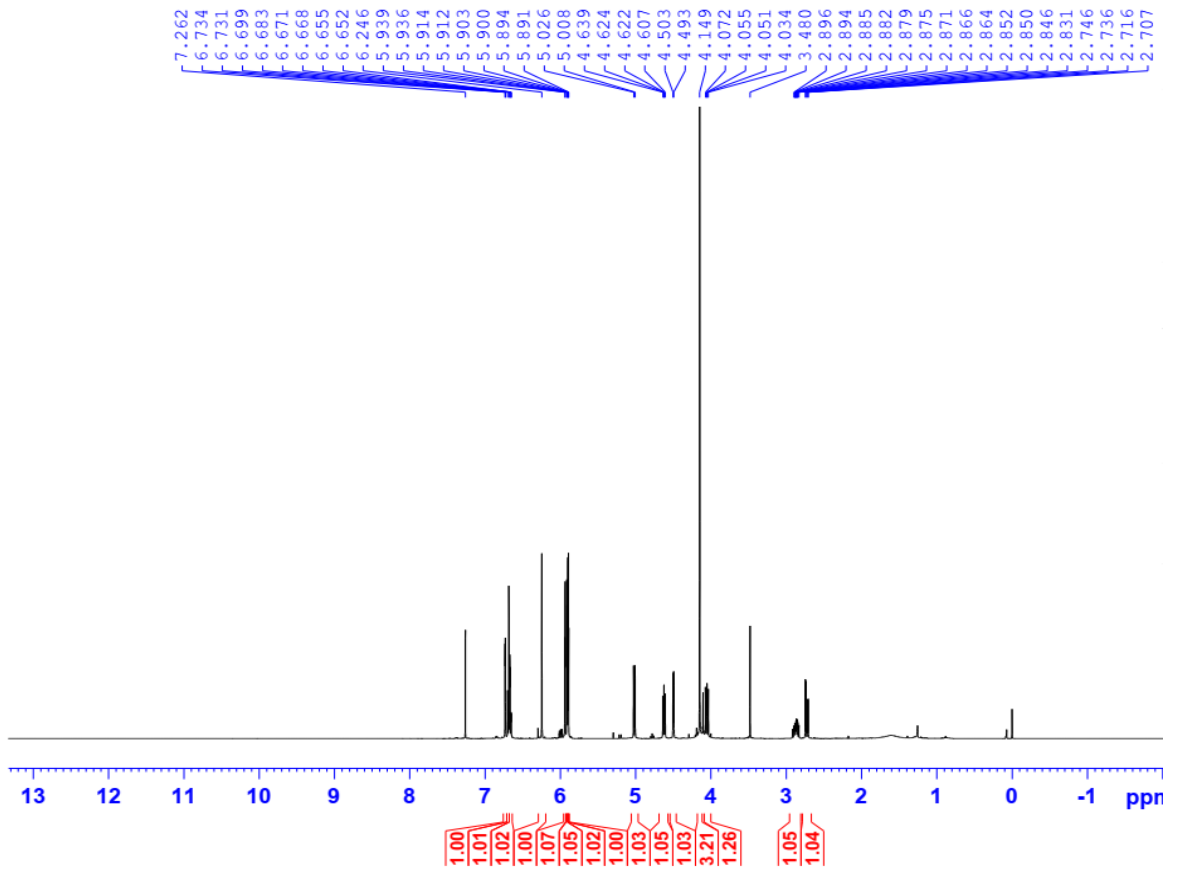
- experimental and computational approaches for electronic circular dichroism (ECD) and anisotropy spectroscopy, *RSC Advances*, 11, 1635-1643.
- [63] Q.G. Ma, Y.G. Wang, W.M. Liu, R.R. Wei, J.B. Yang, A.G. Wang, T.F. Ji, J. Tian, Y.L. Su, 2014, Hepatoprotective sesquiterpenes and rutinoides from *Murraya koenigii* (L.) Spreng, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 4145-4151.
- [64] L.Q. Quan, Q. Zhao, R.T. Li, H.M. Li, 2022, The isolation of two new compounds from *Valeriana jatamansi*, *Natural Product Research*, 36(13), 3280-3285.
- [65] P. Shu, X. Wei, Y. Xue, W. Li, J. Zhang, M. Xiang, M. Zhang, Z. Luo, Y. Li, G. Yao, Y. Zhang, 2013, Wilsonols A-L, megastigmane sesquiterpenoids from the leaves of *Cinnamomum wilsonii*, *Journal of Natural Products*, 76(7), 1303-1312.
- [66] T.T.T. Van, P.V. Cuong, D.T.M. Huong, M. Litaudon, F. Guéritte, P. Retailleau, N.V. Hung, C.V. Minh, 2012, Cytotoxic lignans from fruits of *Cleistanthus indochinensis*: synthesis of cleistantoxin derivatives, *Journal of Natural Products*, 75(9), 1578-1583.
- [67] O. Muñoz, M. Piovano, J. Garbarino, V. Hellwing, E. Breitmaier, 1996, Tropane alkaloids from *Schizanthus litoralis*, *Phytochemistry*, 43(3), 709-713.
- [68] M. Jacubert, O. Provot, J.F. Peyrat, A. Hamze, J.D. Brion, M. Alami, 2010, *p*-Toluenesulfonic acid-promoted selective functionalization of unsymmetrical arylalkynes: a regioselective access to various arylketones and heterocycles. *Tetrahedron*, 66(21), 3775-3787.
- [69] S.W. Hwang, J. Lee, S.J. Sun, J.Y. Lee, K.T. Lee, D.S. Jang, 2012, Inhibitory effects of phenylpropanoids isolated from the bark of *Ailanthus altissima* on COX-2 activity, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 33(8), 2759-2761.

PHỤ LỤC PHỔ CỦA CÁC HỢP CHẤT ĐÃ BIẾT

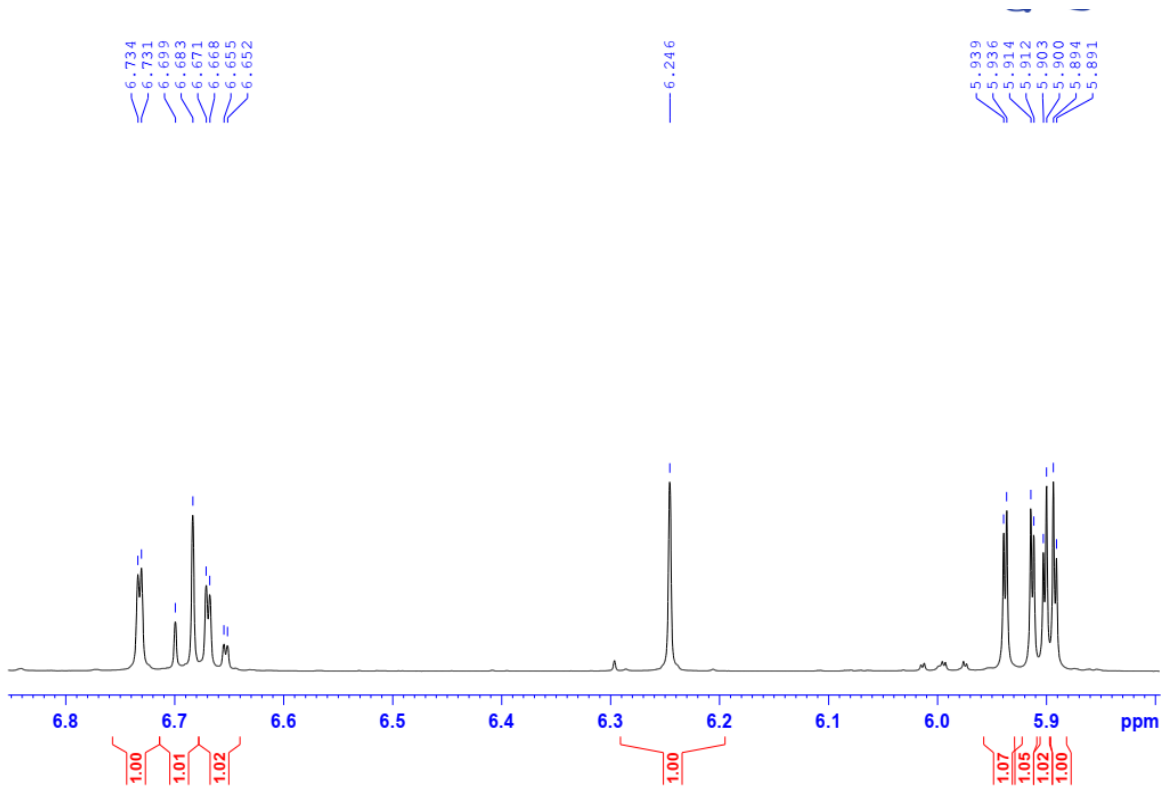
PHỤ LỤC 1. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT3	1
Hình S1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT3	1
Hình S2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT3	1
Hình S3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT3	2
Hình S4. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT3	2
Hình S5. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ giãn của HT3	3
Hình S6. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ giãn của HT3	3
Hình S7. Phổ HSQC của HT3	4
Hình S8. Phổ HMBC của HT3	4
PHỤ LỤC 2. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT4	5
Hình S9. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT4	5
Hình S10. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT4	5
Hình S11. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT4	6
Hình S12. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT4	6
Hình S13. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ giãn của HT4	7
Hình S14. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT4	7
Hình S15. Phổ HSQC của HT4	8
Hình S16. Phổ HMBC của HT4	8
PHỤ LỤC 3. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT5	9
Hình S17. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT5	9
Hình S18. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT5	9
Hình S19. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT5	10
Hình S20. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ giãn của HT5	10
Hình S21. Phổ HSQC của HT5	11
Hình S22. Phổ HMBC của HT5	11
PHỤ LỤC 4. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT6	12
Hình S23. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT6	12
Hình S24. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT6	12
Hình S25. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT6	13

Hình S26. Phổ ^{13}C -NMR của HT6	13
Hình S27. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT6	14
Hình S28. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT6	14
Hình S29. Phổ HSQC của HT6	15
Hình S30. Phổ HMBC của HT6	15

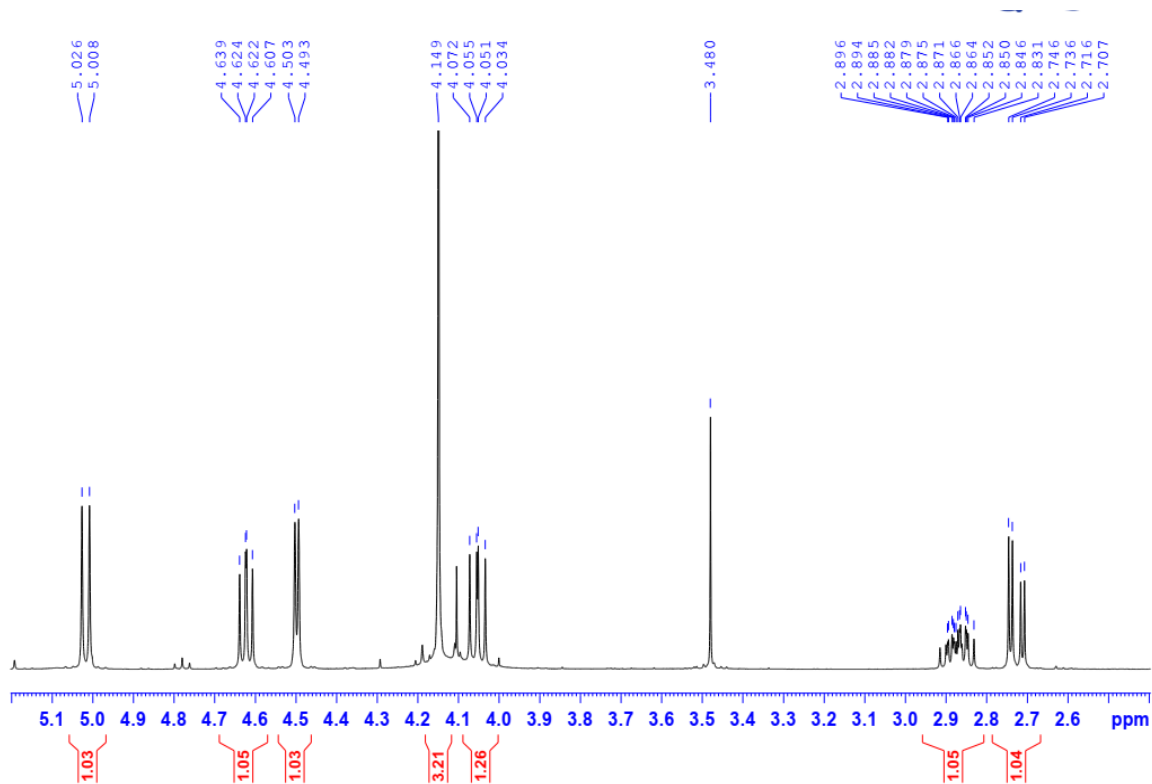
PHỤ LỤC 1. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT3



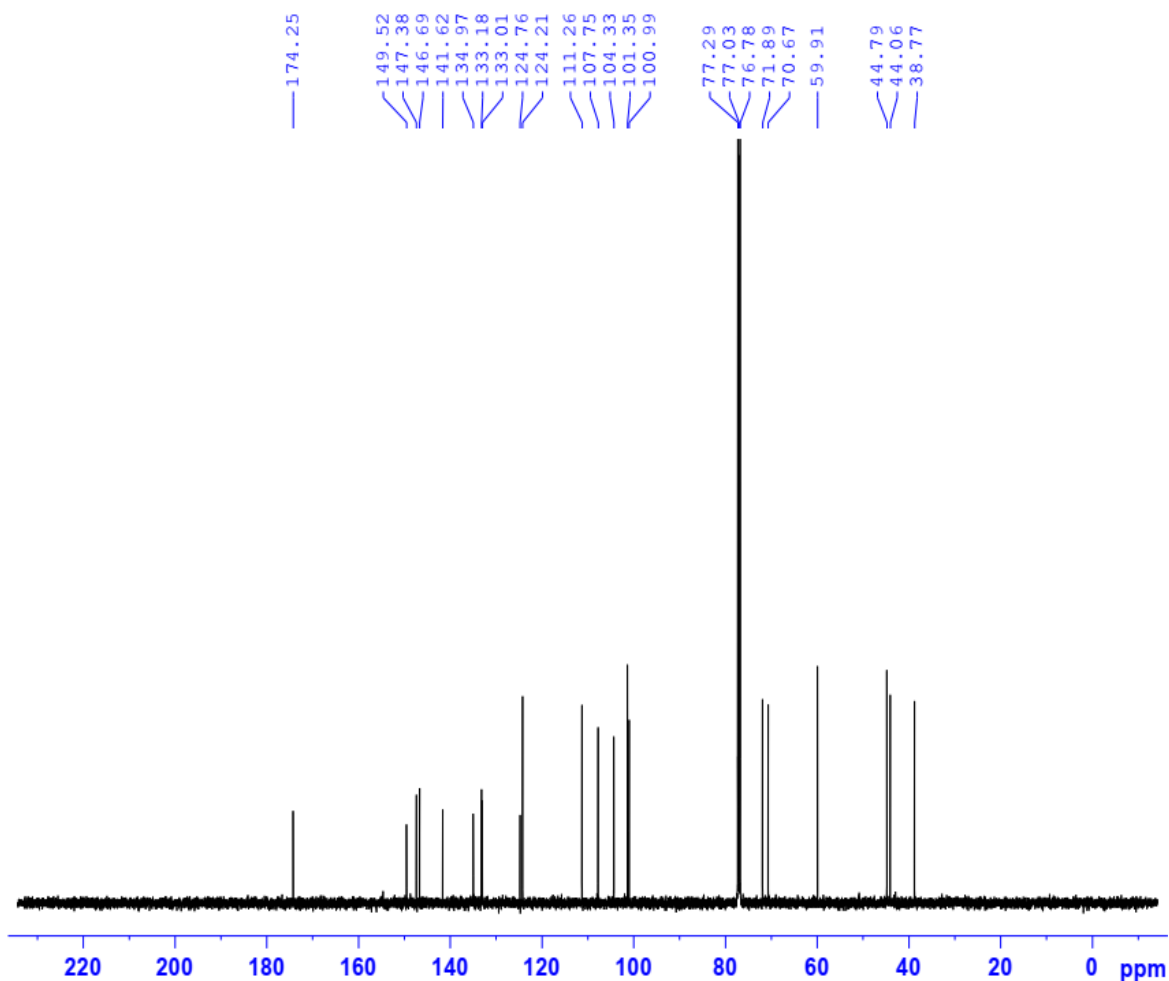
Hình S1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **HT3**



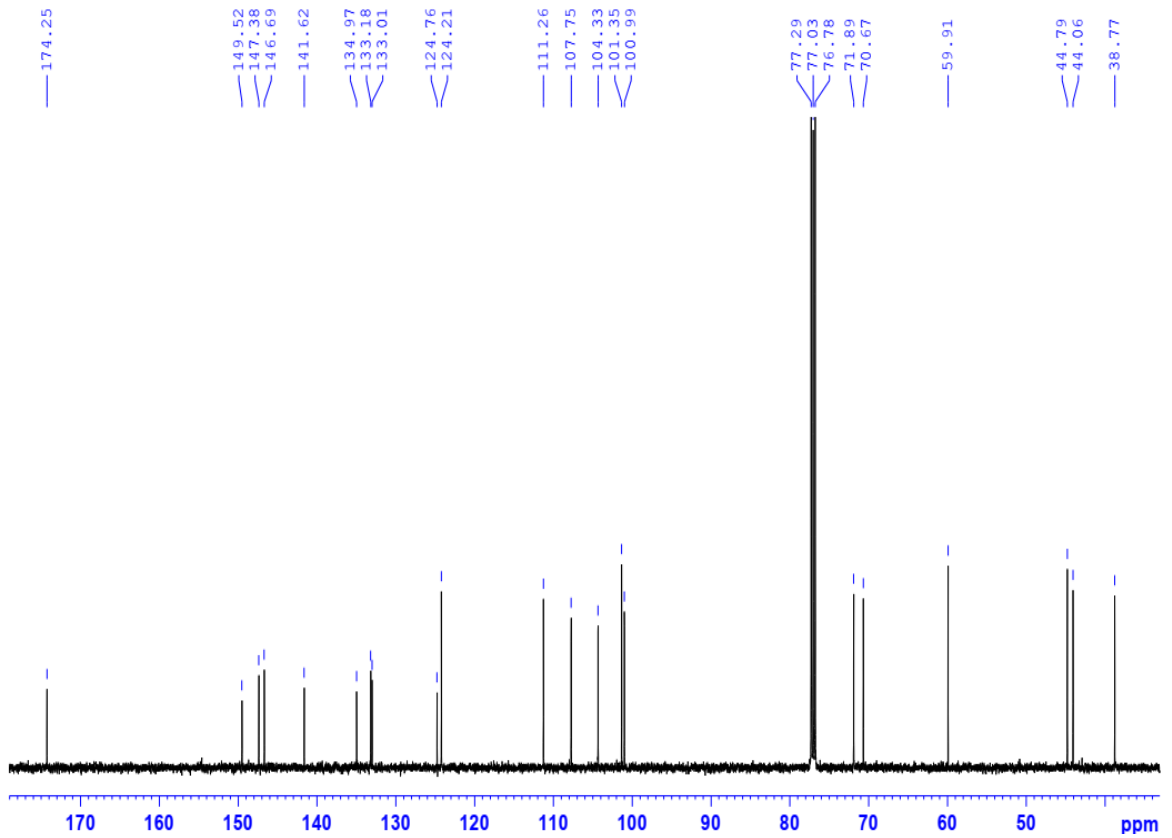
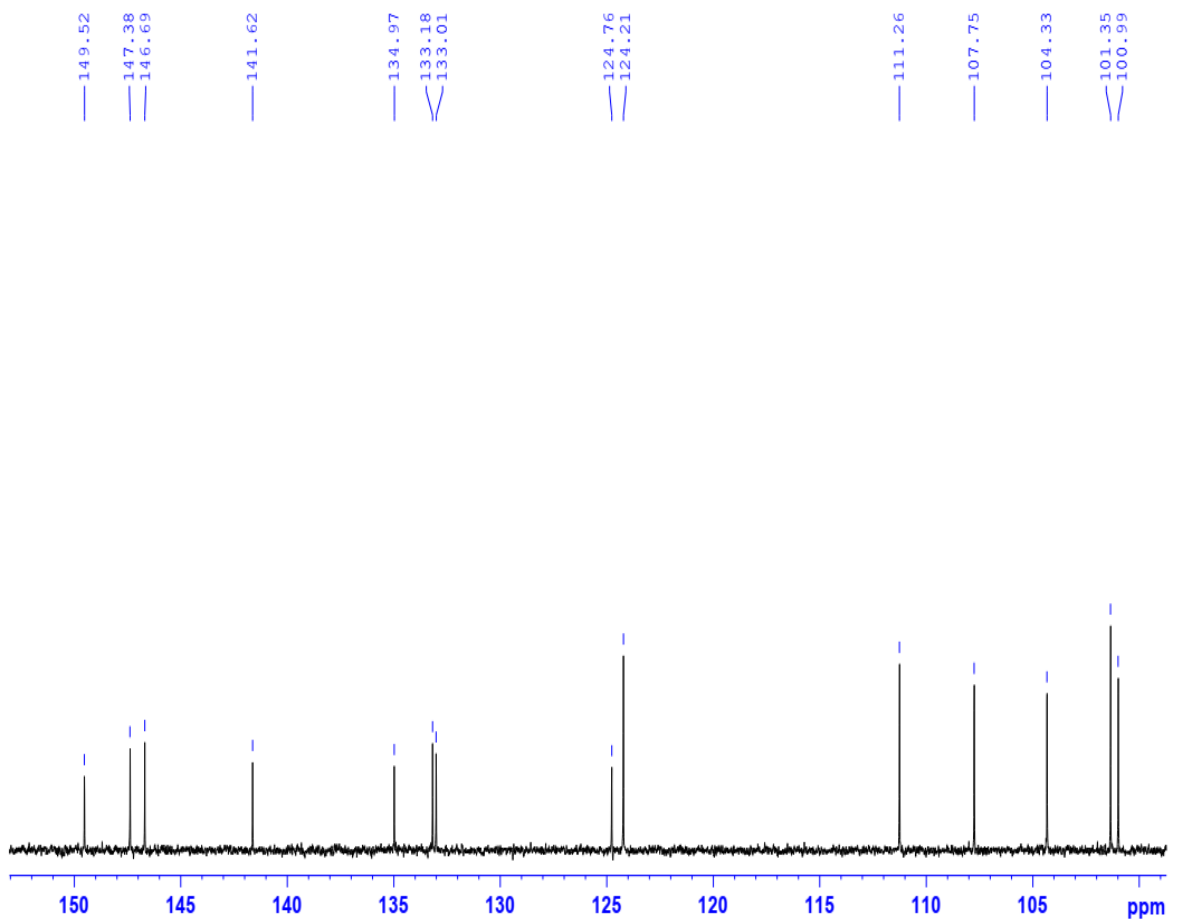
Hình S2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của **HT3**

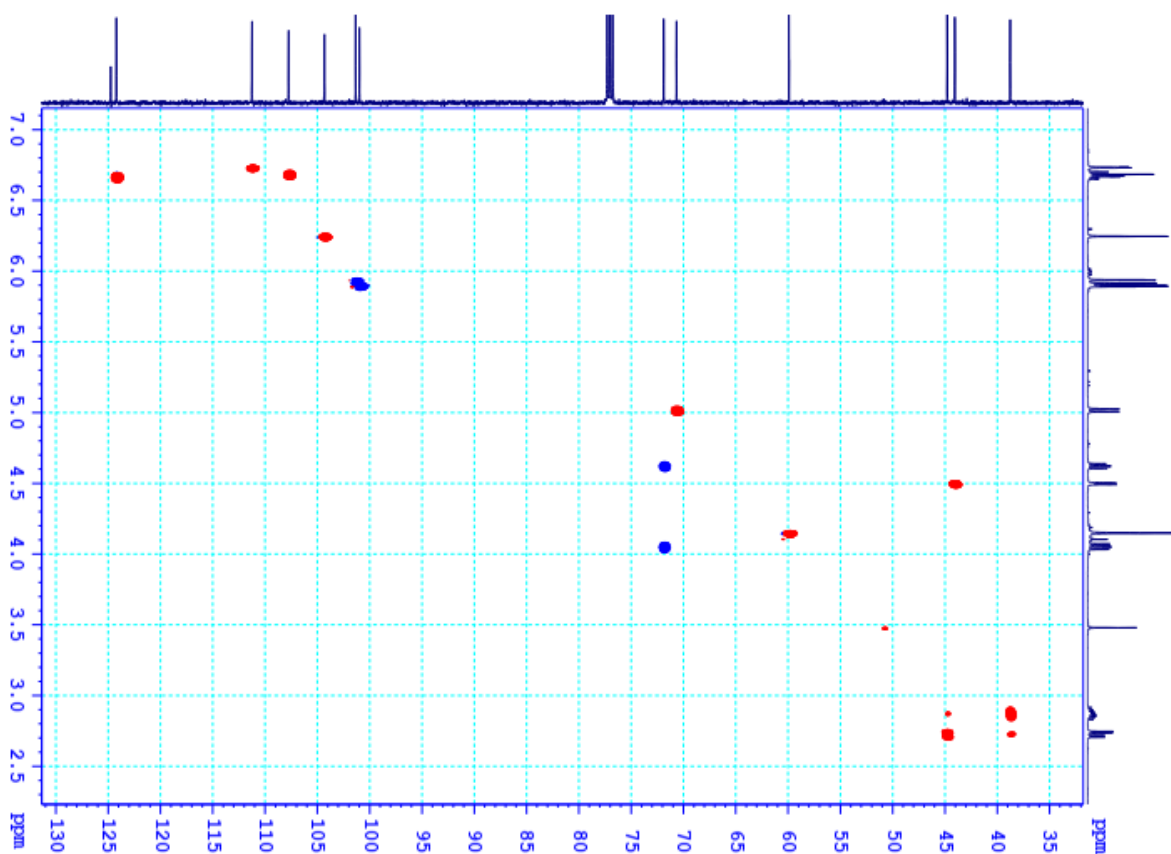


Hình S3. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản của HT3

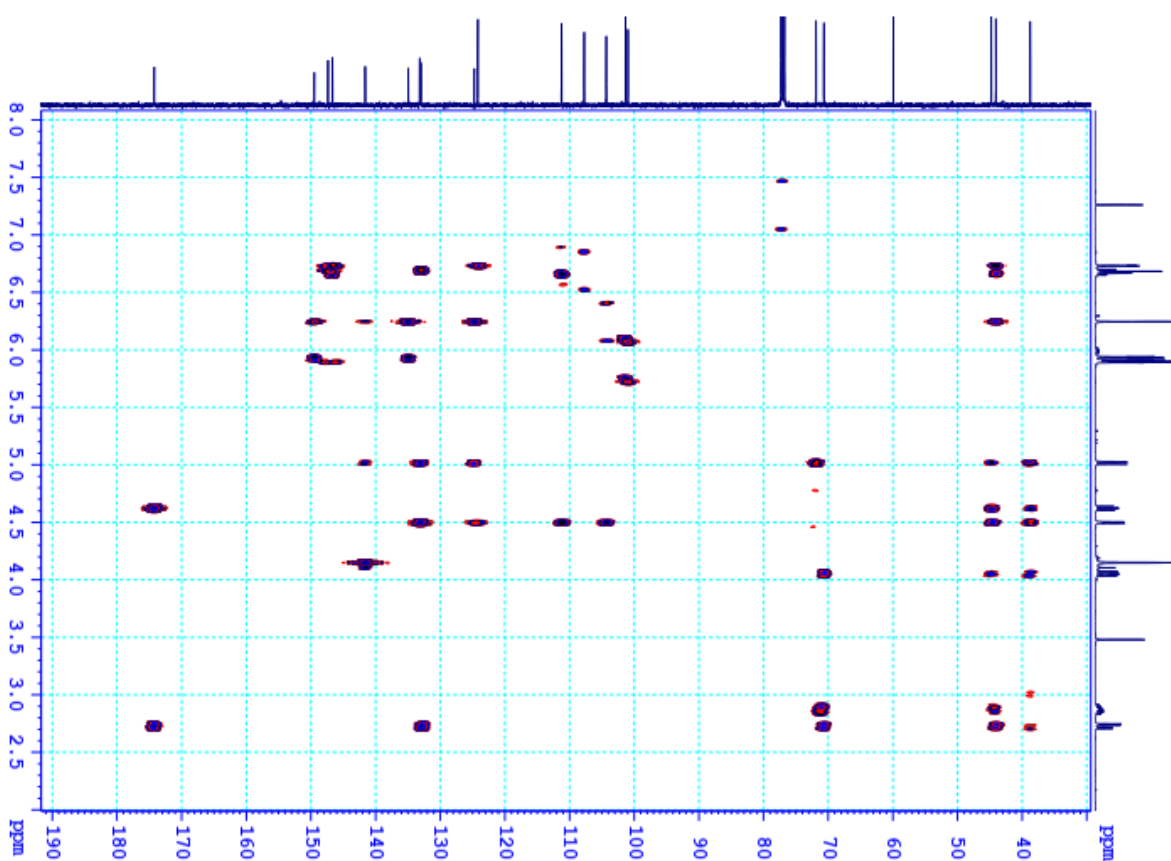


Hình S4. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT3

Hình S5. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT3Hình S6. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT3

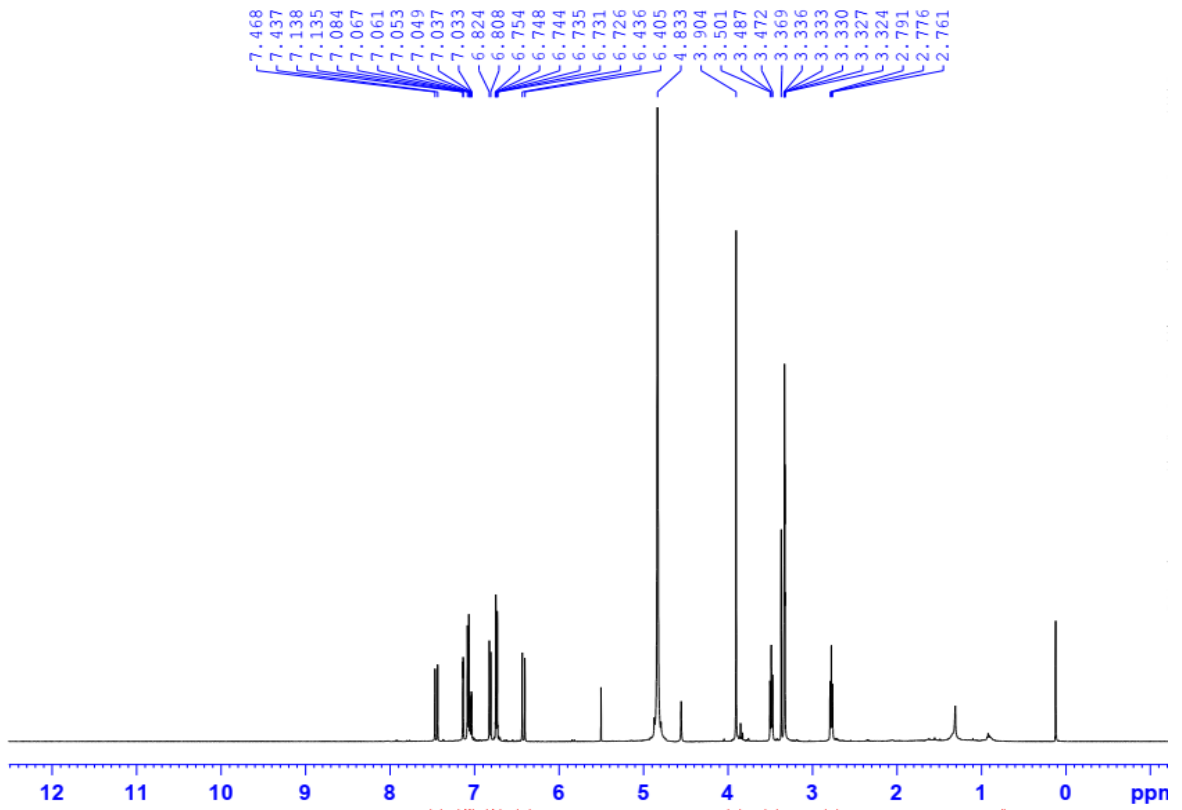


Hình S7. Phổ HSQC của HT3

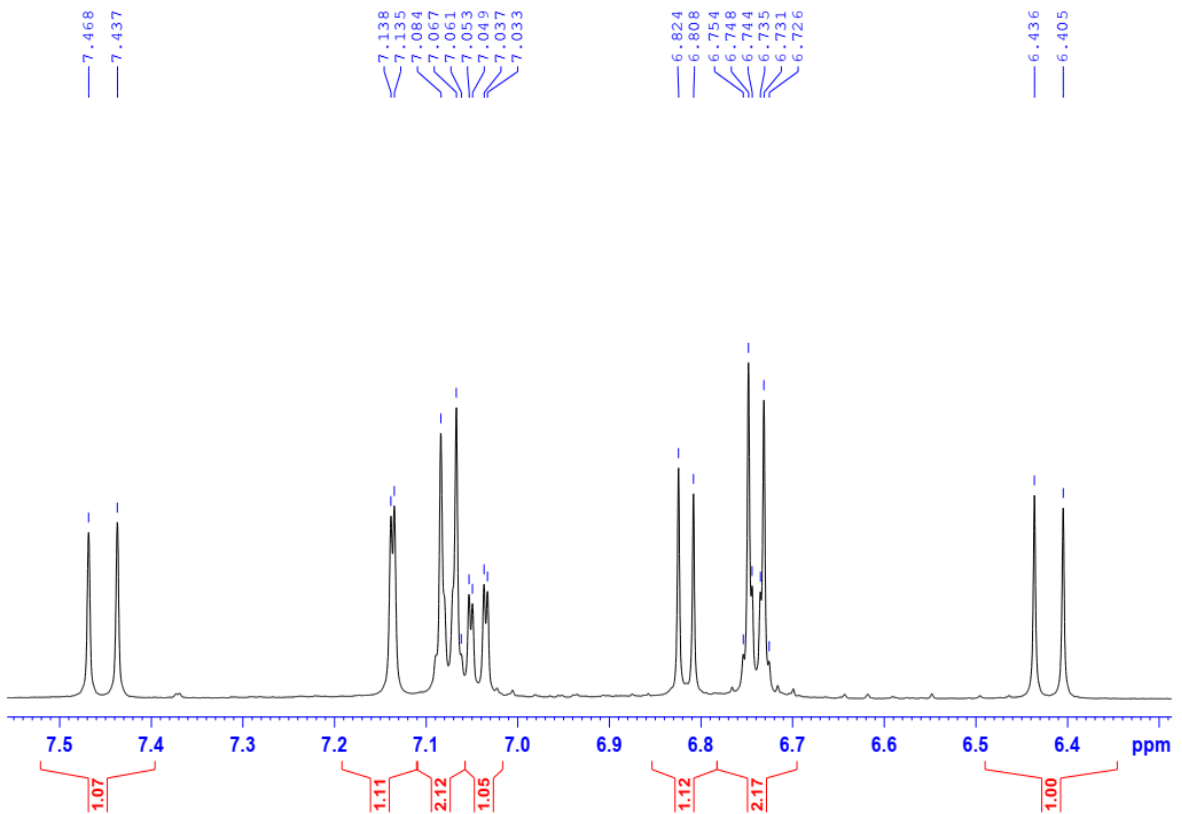


Hình S8. Phổ HMBC của HT3

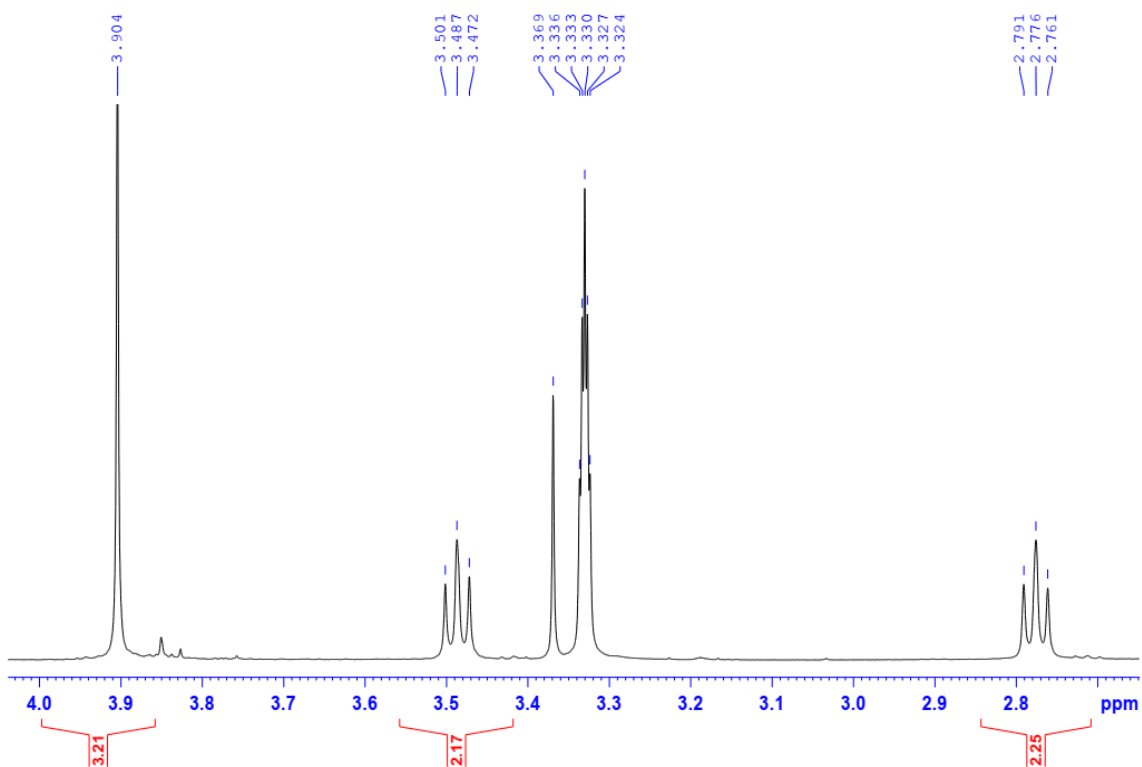
PHỤ LỤC 2. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT4



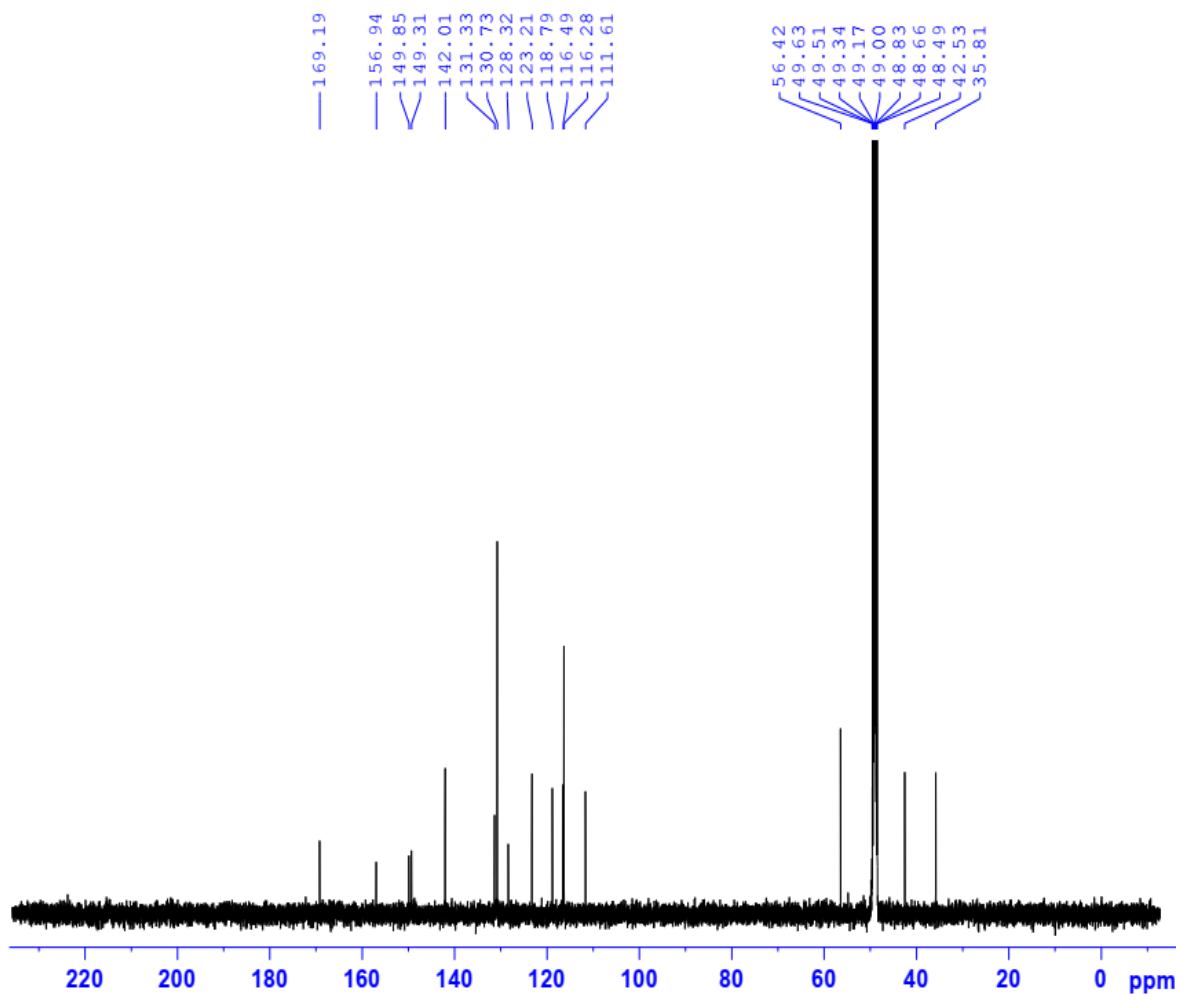
Hình S9. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT4



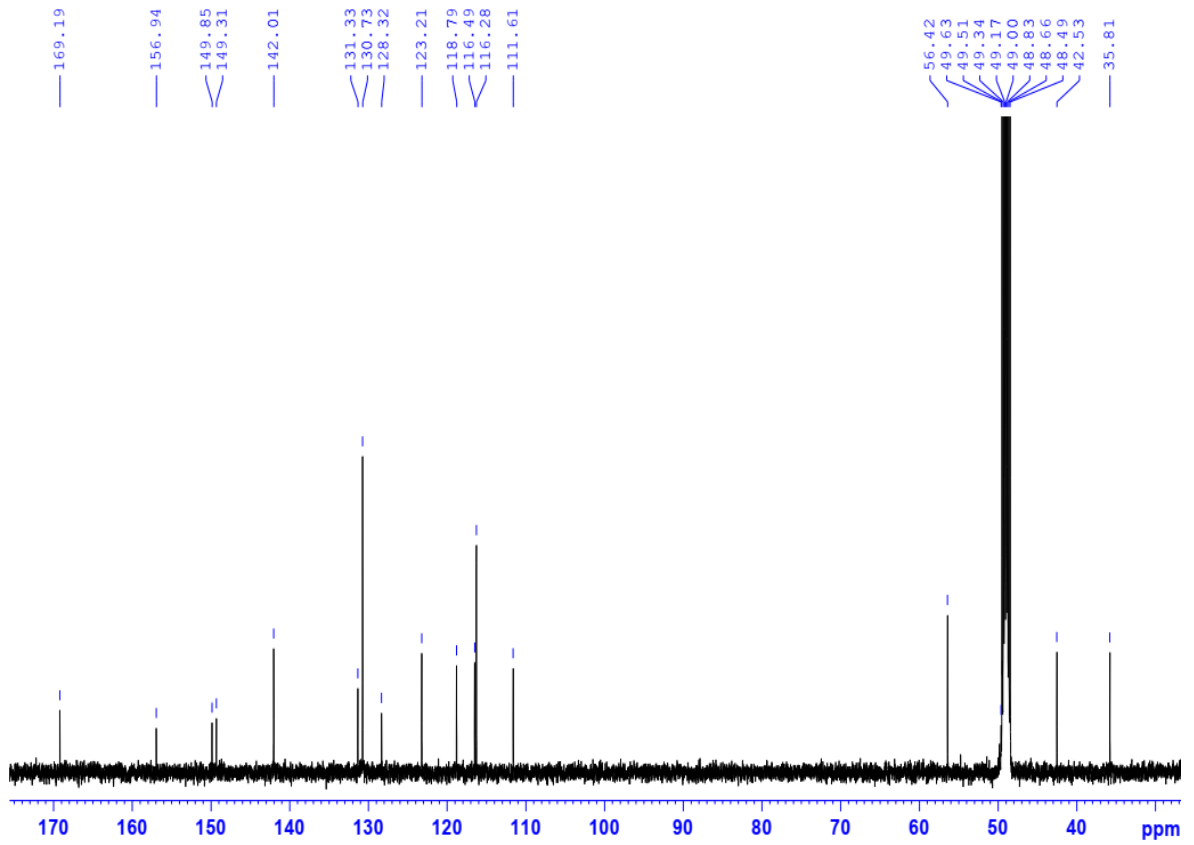
Hình S10. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT4



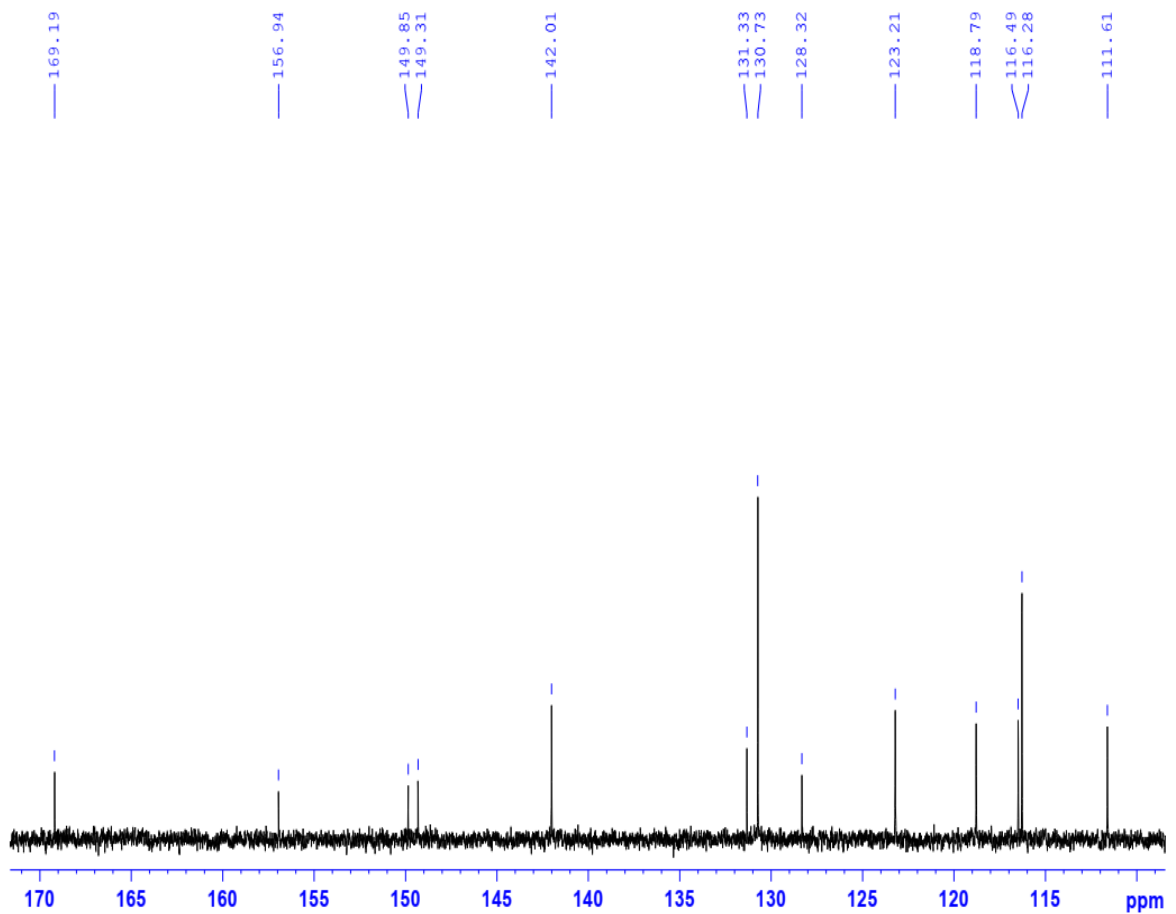
Hình S11. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản của HT4



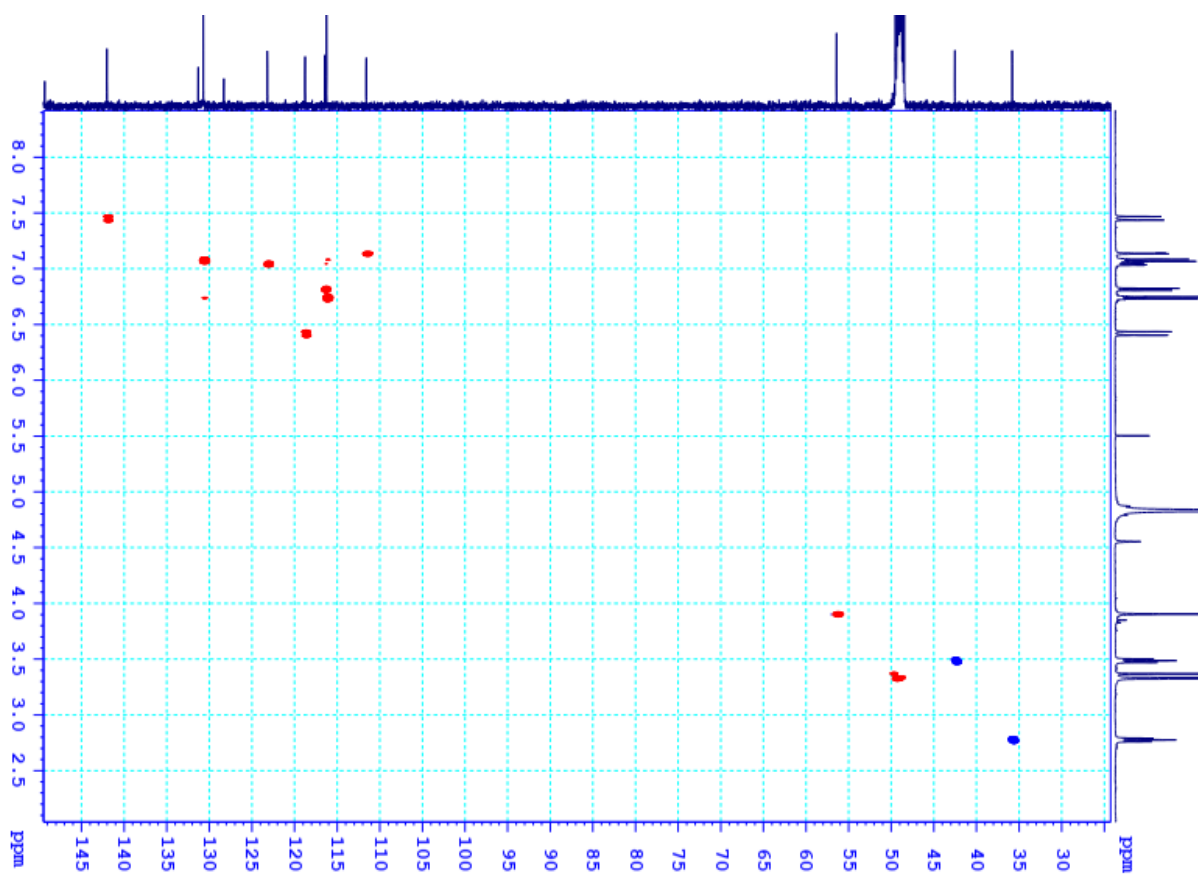
Hình S12. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của HT4



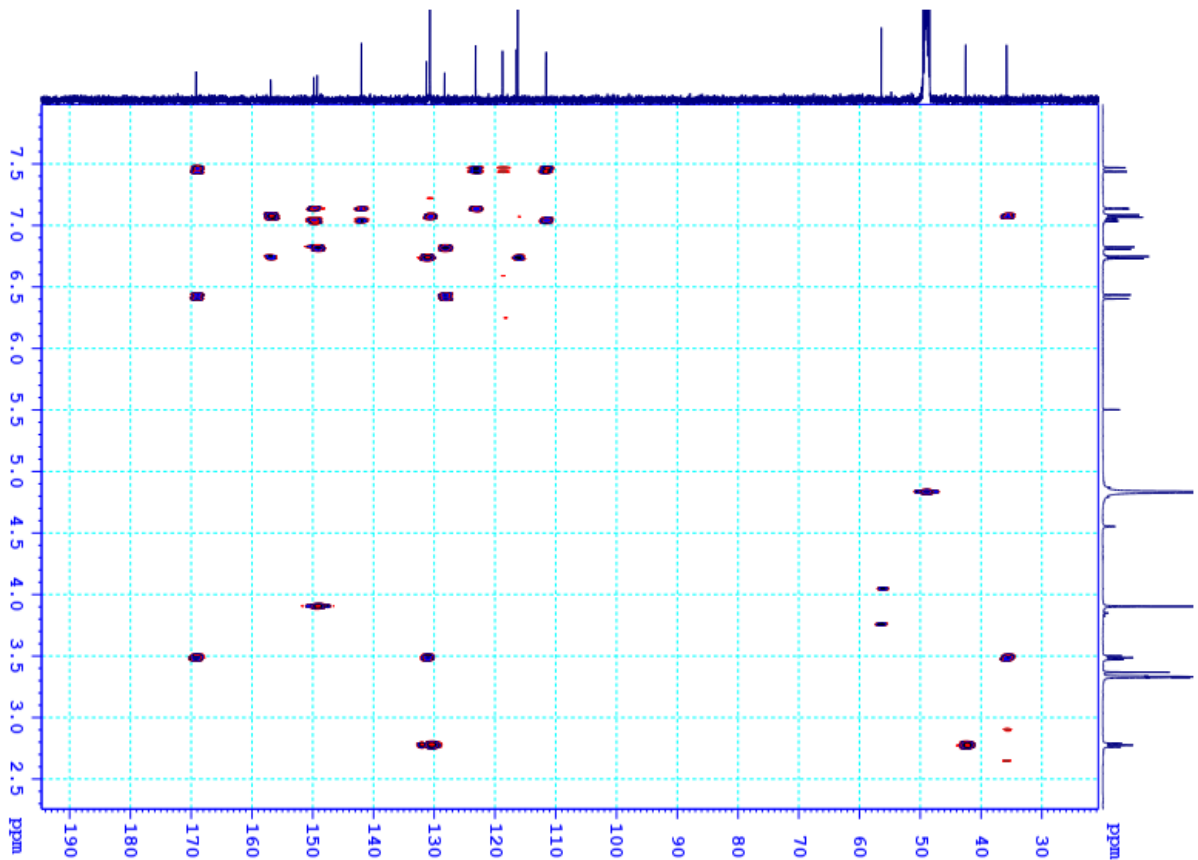
Hình S13. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT4



Hình S14. Phổ ^{13}C -NMR của HT4

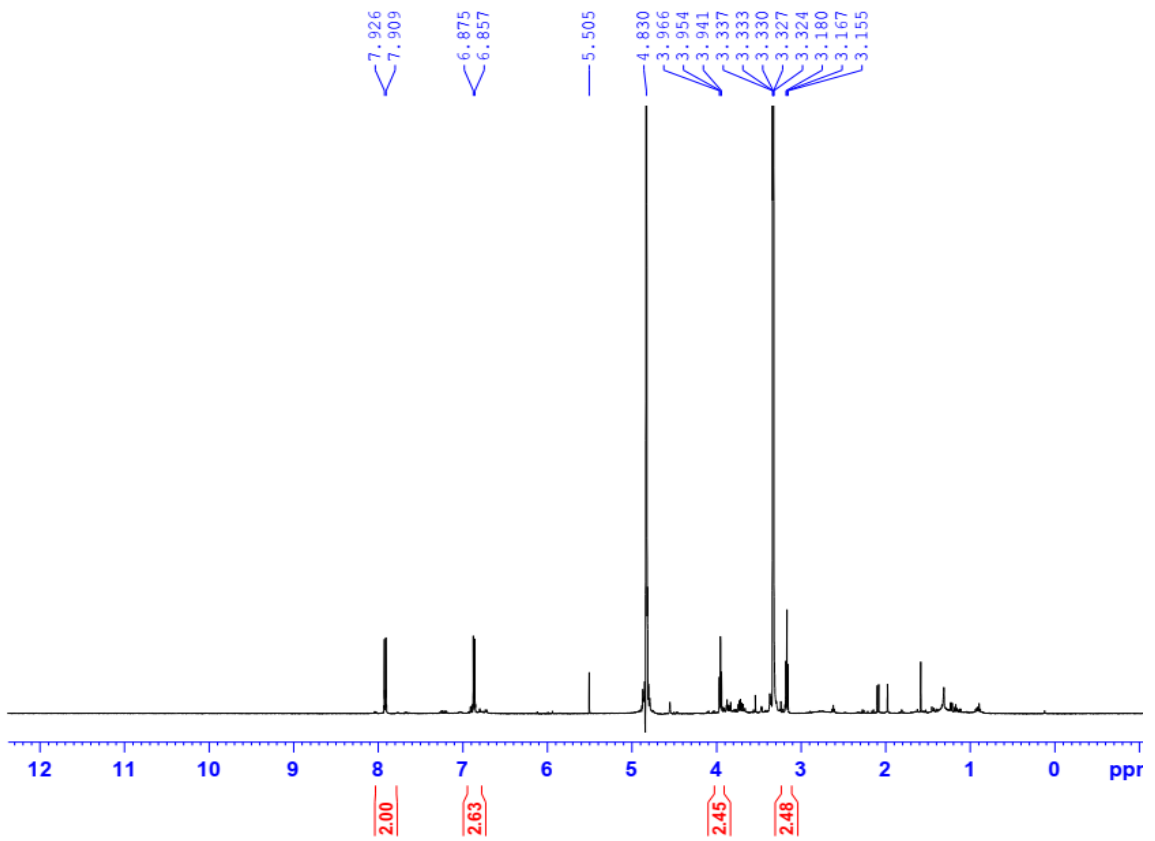
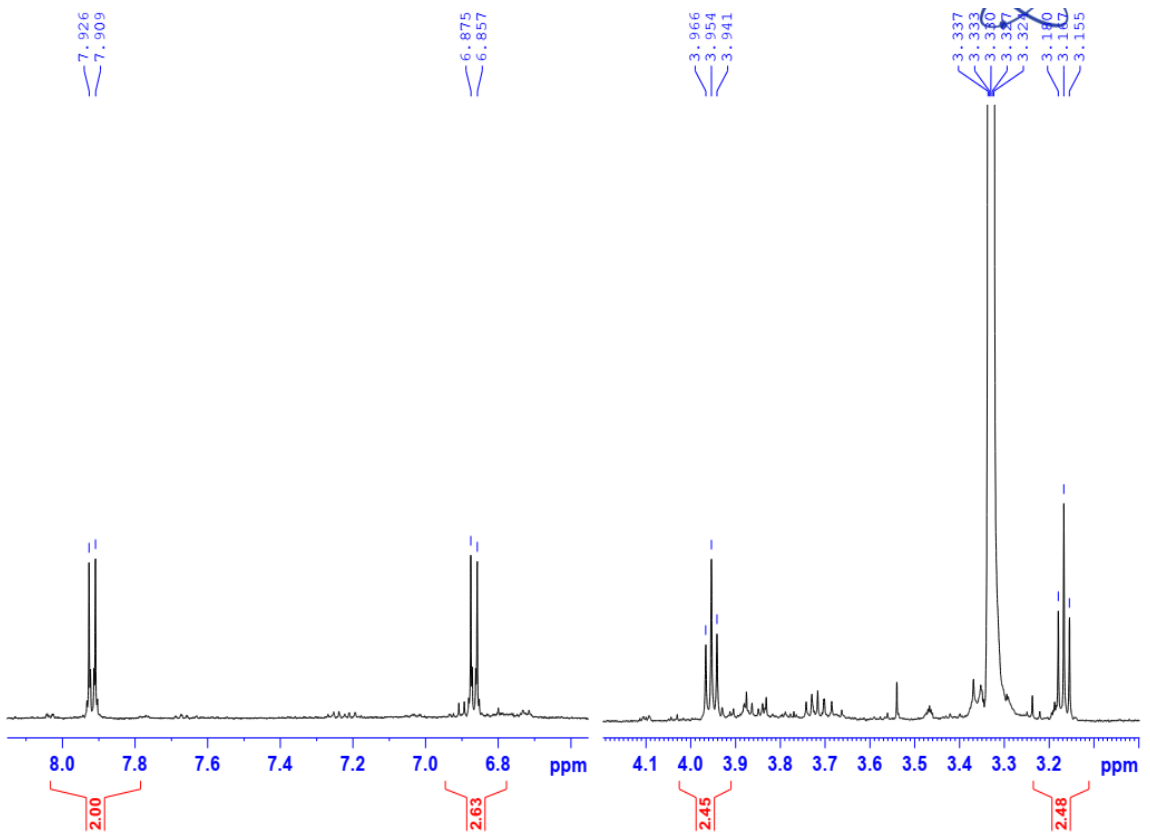


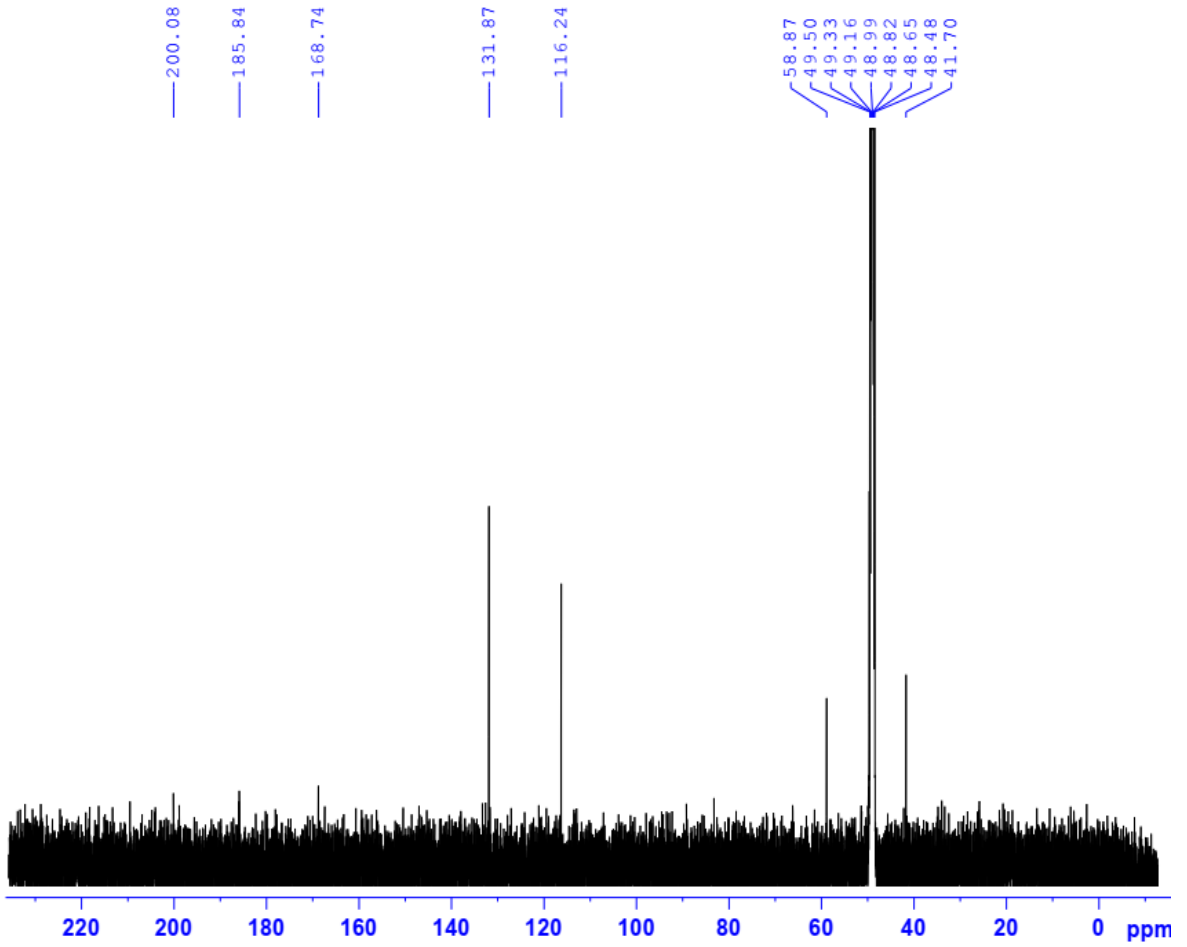
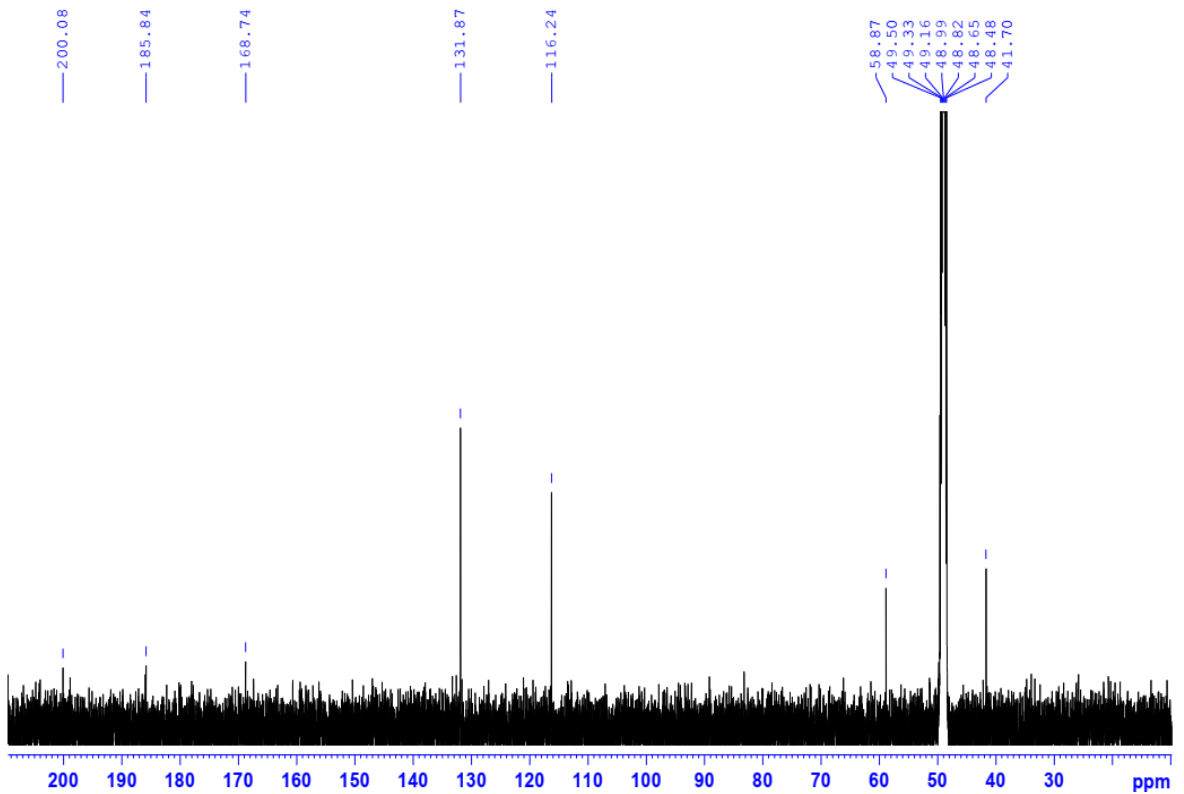
Hình S15. Phổ HSQC của HT4

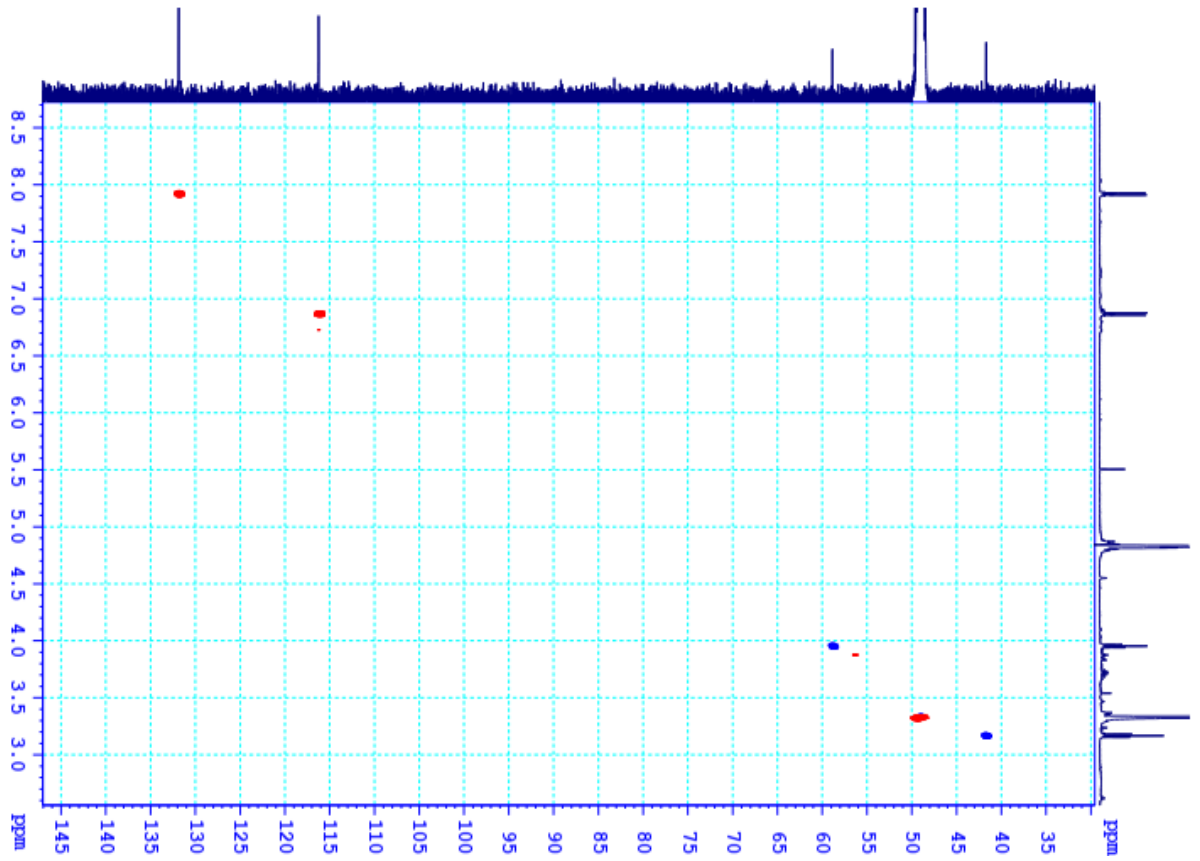
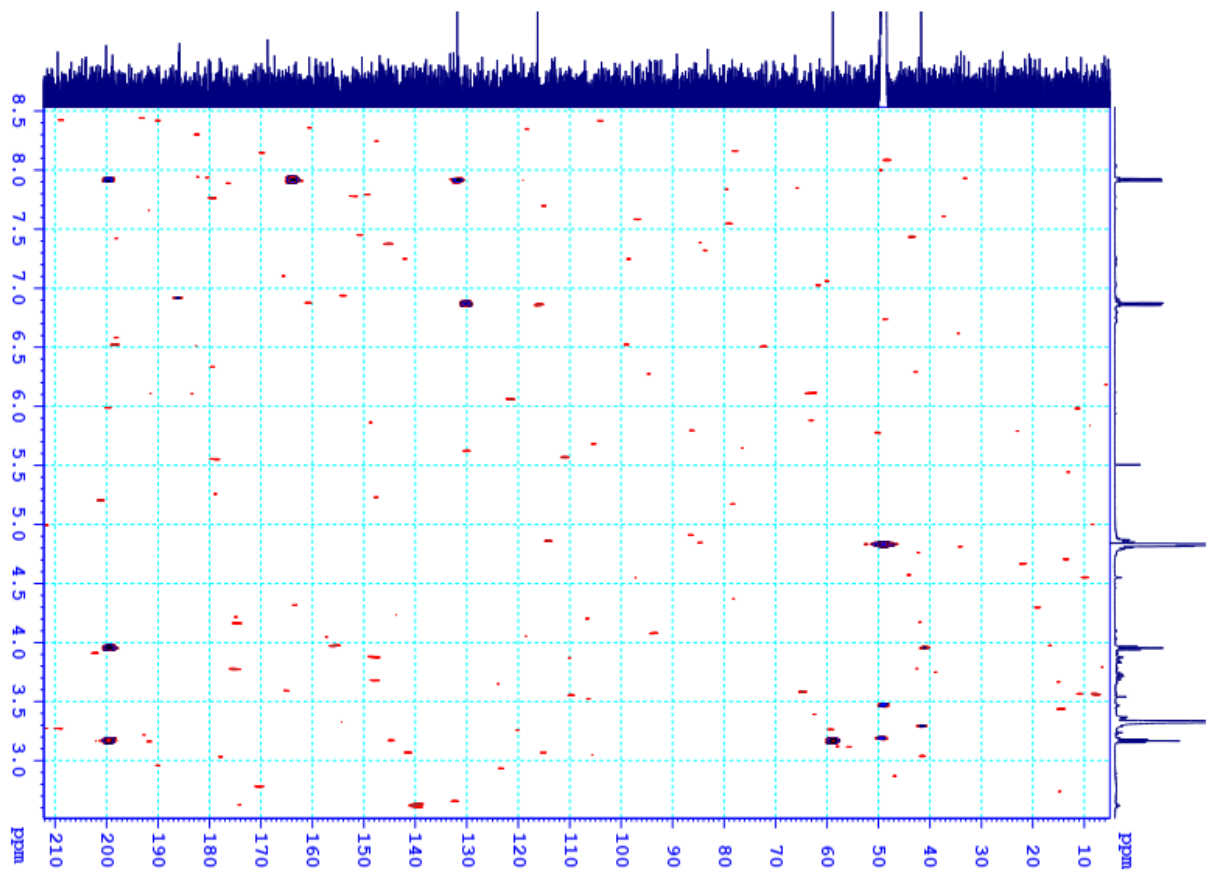


Hình S16. Phổ HMBC của HT4

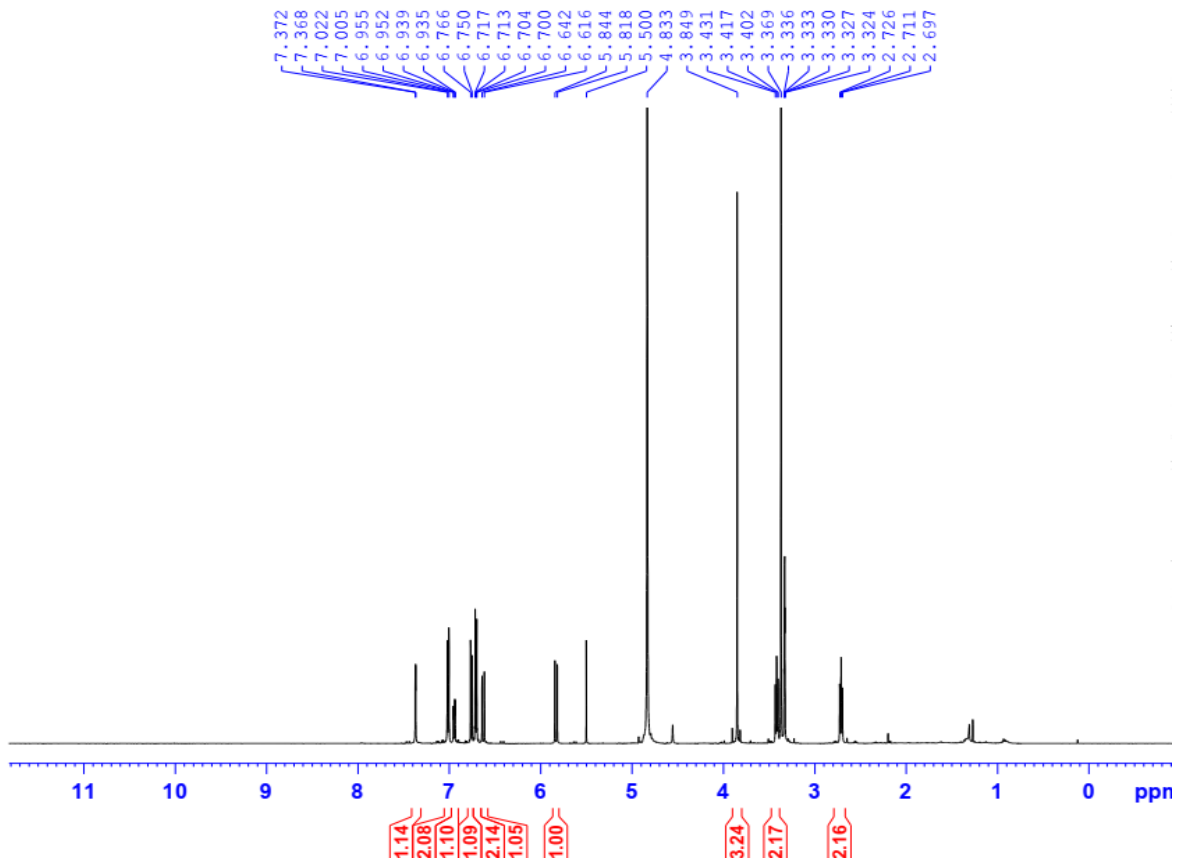
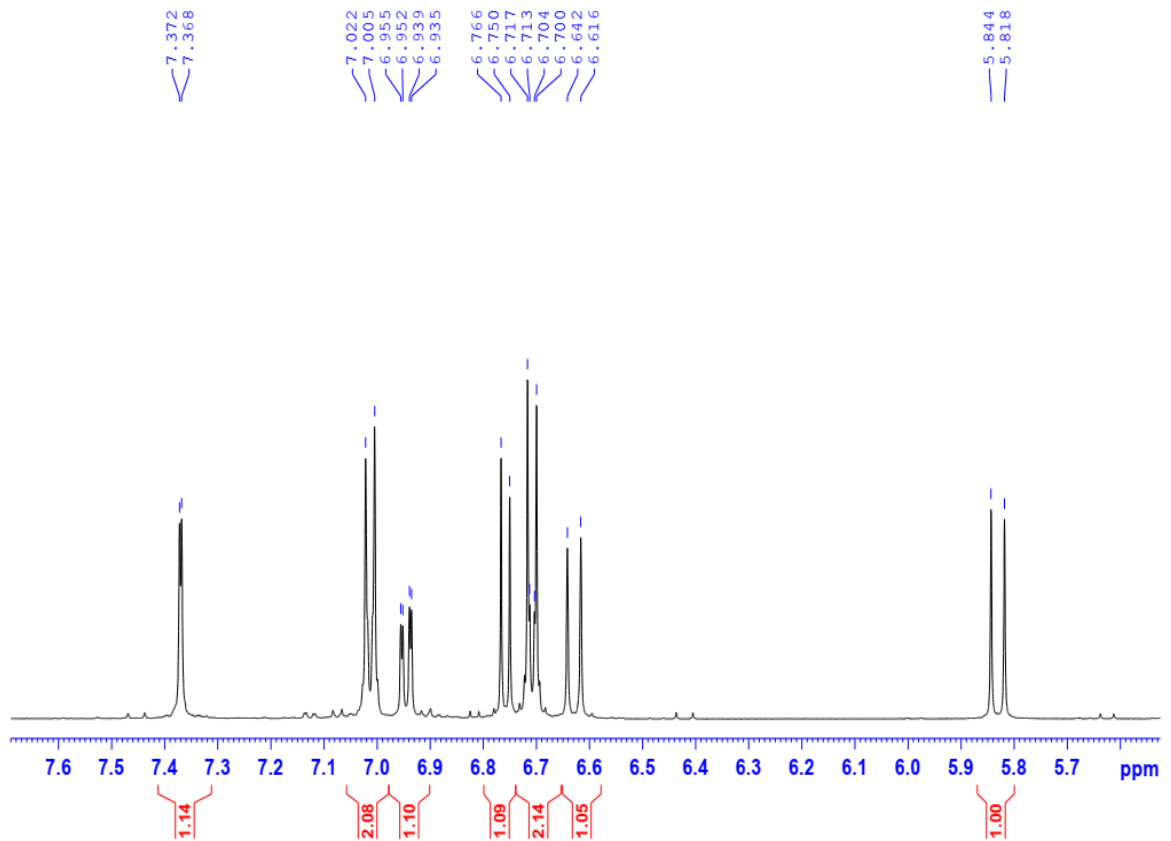
PHỤ LỤC 3. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT5

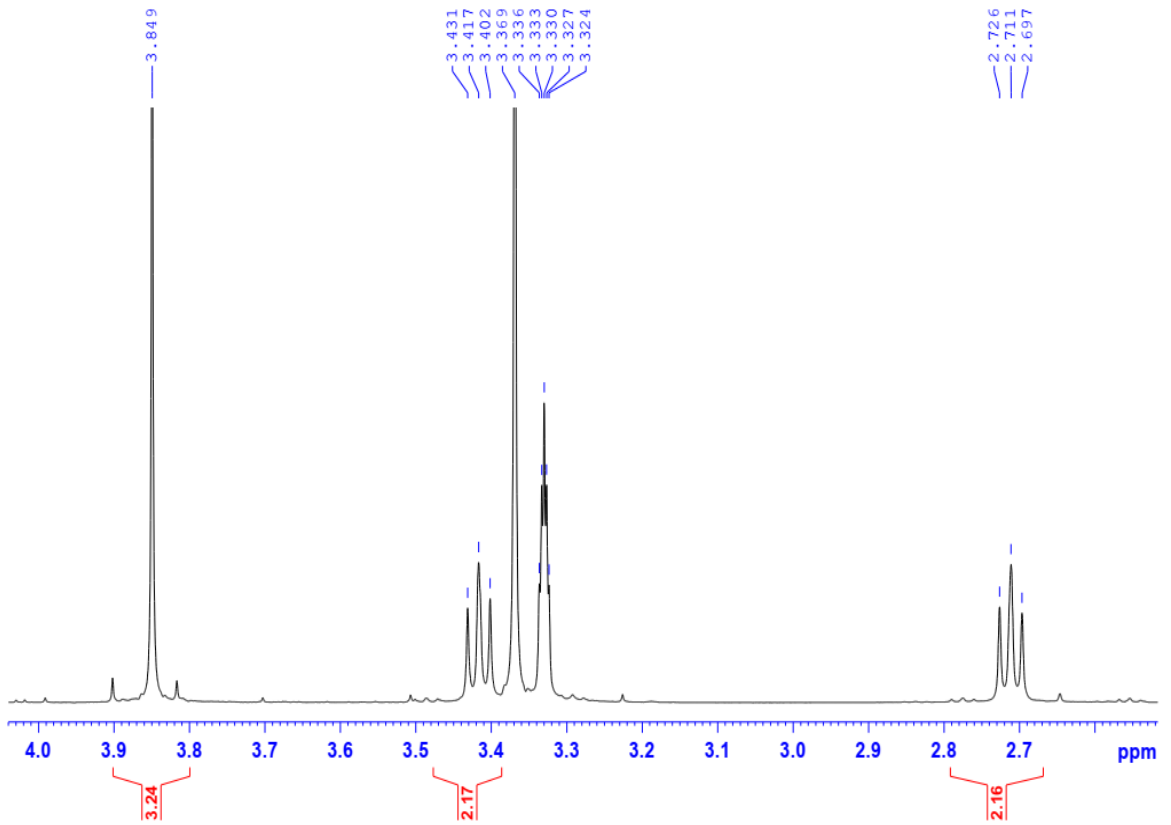
Hình S17. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT5Hình S18. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT5

Hình S19. Phổ ^{13}C -NMR của HT5Hình S20. Phổ ^{13}C -NMR giản của HT5

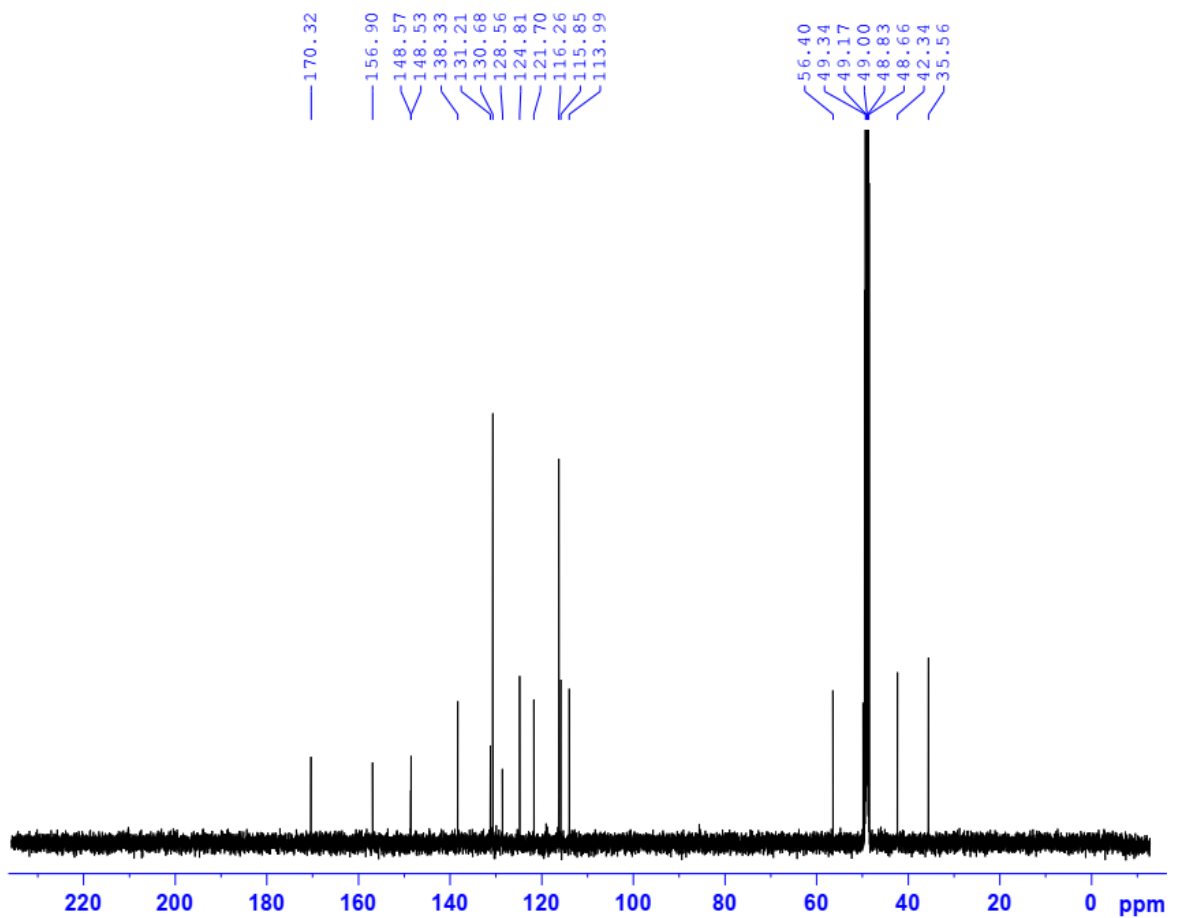
Hình S21. Phổ HSQC của **HT5**Hình S22. Phổ HMBC của **HT5**

PHỤ LỤC 4. CÁC PHỔ CỦA HỢP CHẤT HT6

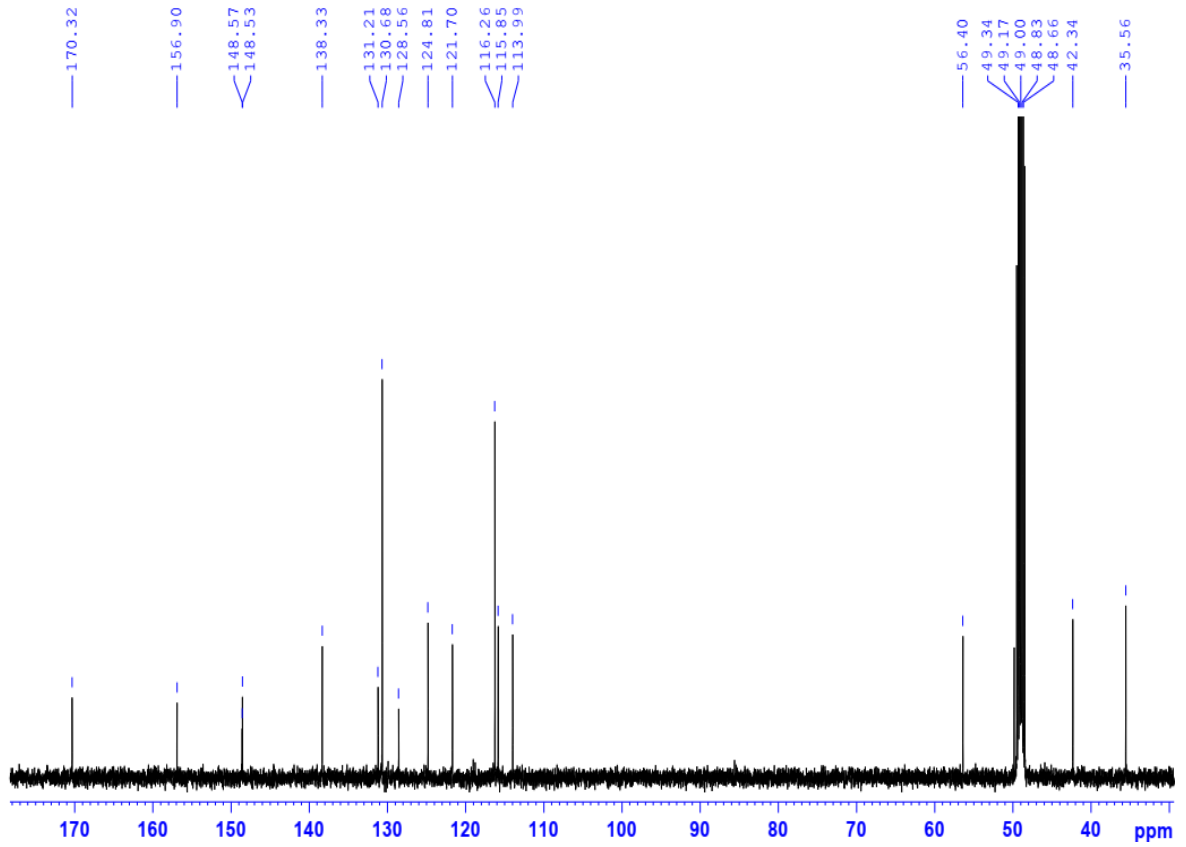
Hình S23. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của HT6Hình S24. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn của HT6



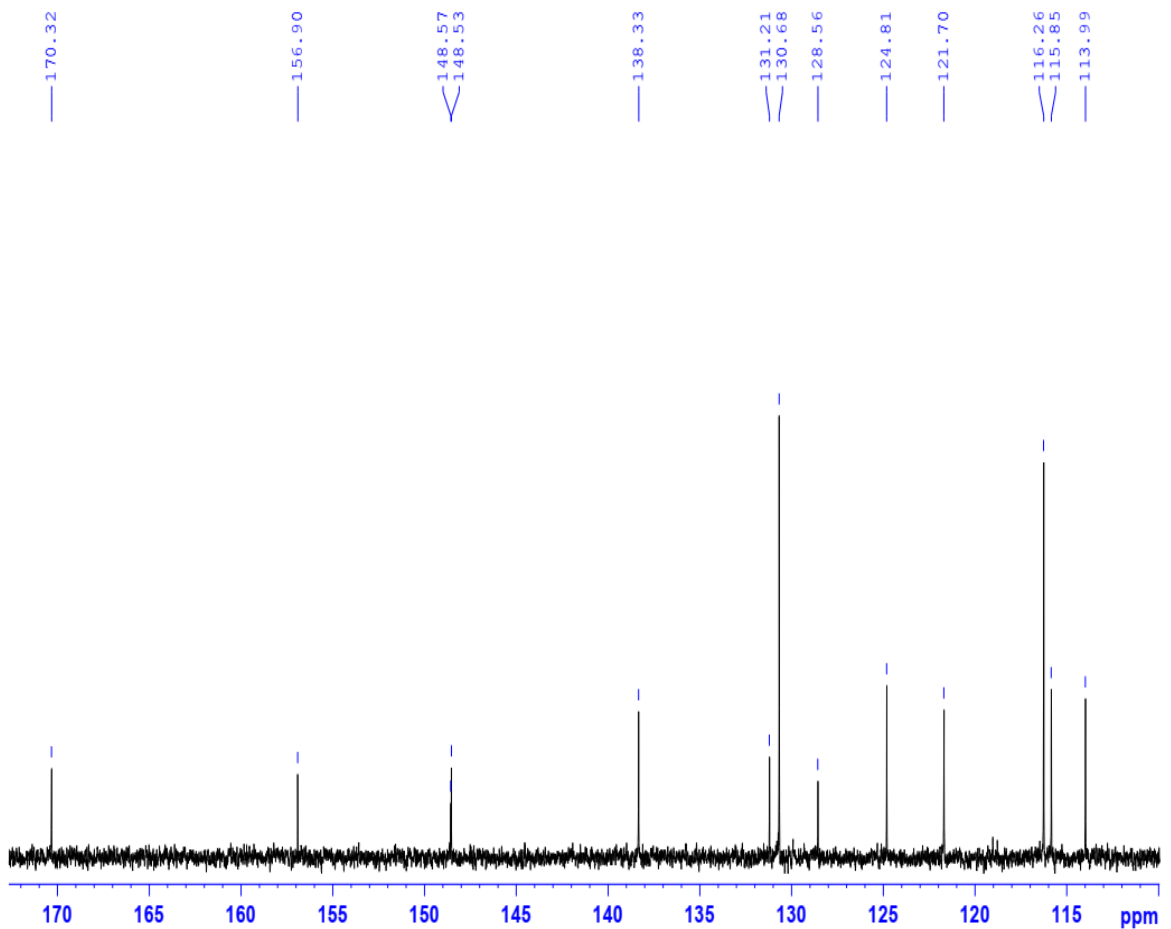
Hình S25. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giản của **HT6**



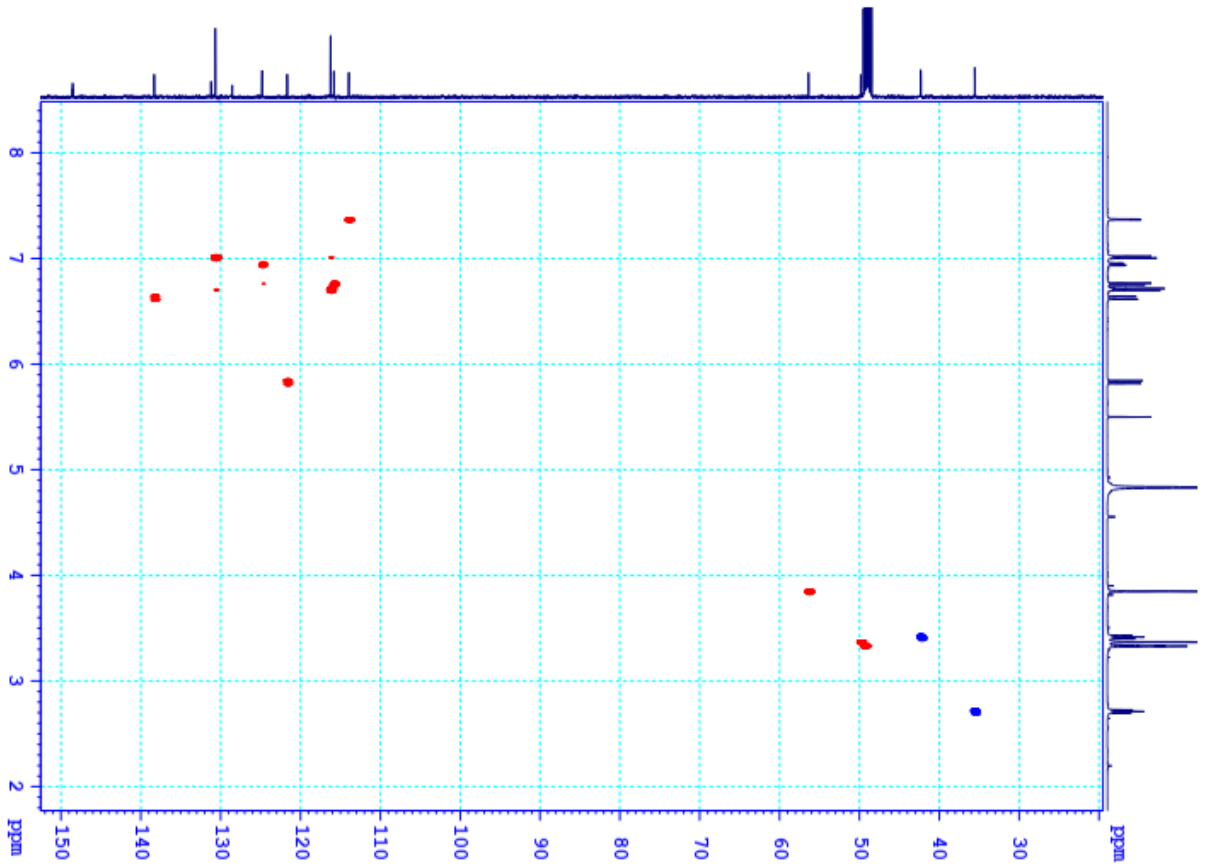
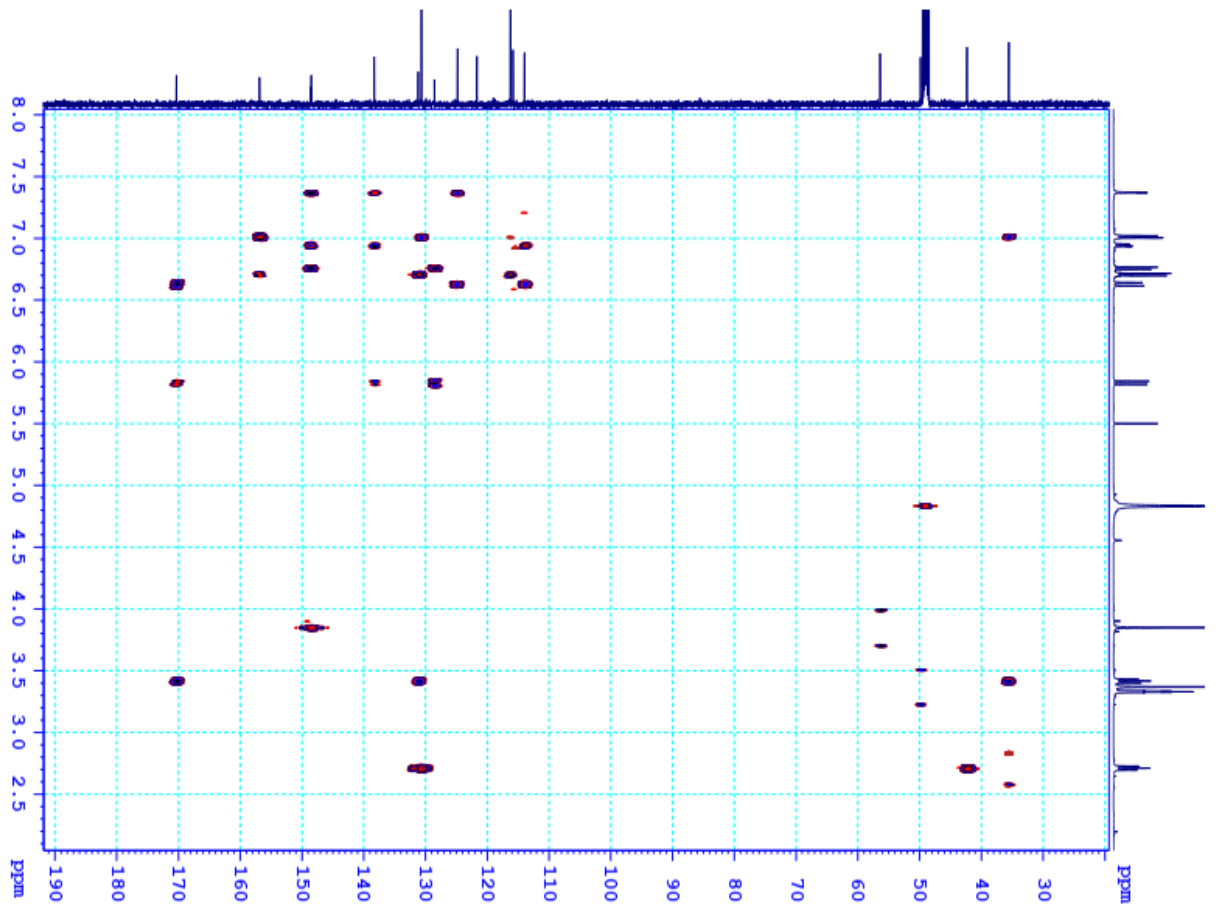
Hình S26. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **HT6**



Hình S27. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT6



Hình S28. Phổ ^{13}C -NMR giãn của HT6

Hình S29. Phổ HSQC của **HT6**Hình S30. Phổ HMBC của **HT6**