

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ LUYẾN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ
MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ HAI LOÀI
WEDELIA CHINENSIS VÀ *WEDELIA TRILOBATA*, Họ
CÚC (ASTERACEAE)**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội - 2023

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ
- Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Nguyễn Hải Đăng

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học Viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ , ngày tháng năm 2023.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ

Thư viện Quốc gia Việt Nam

Mở Đầu

Việc sử dụng cây cỏ làm thuốc luôn gắn liền với lịch sử tồn tại và phát triển của xã hội loài người, với nhiều ưu điểm như cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học đa dạng, dễ được hấp thụ và chuyển hóa trong cơ thể cũng như độc tính thấp. Đây là một lợi thế để chúng ta khai thác nguồn dược liệu phục vụ cho cuộc sống. Các nghiên cứu hoá học theo định hướng hoạt tính sinh học được cho là con đường ngắn nhất và hiệu quả nhất để tìm kiếm có chọn lọc các hoạt chất từ nguồn tài nguyên thiên nhiên. Việt Nam là một quốc gia được thiên nhiên ưu đãi và sở hữu hệ thực vật vô cùng phong phú với trên 12.000 loài thực vật bậc cao có mạch, trong đó ước tính có tới 5.000 loài được sử dụng trong y học cổ truyền. Các hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên đã và đang nhận được rất nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học trong và ngoài nước trong nghiên cứu và phát triển thành các dược phẩm chữa bệnh cho người.

Chi *Wedelia* đã và đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu, một số cây trong chi này được sử dụng như thảo dược truyền thống khắp thế giới, thể hiện nhiều hoạt tính quý báu như gây độc tế bào, bảo vệ gan, hạ sốt, giảm đau, diệt khuẩn, kháng sinh, chống oxy hóa, hạ đường huyết, và hen suyễn. Mở rộng nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Wedelia* đã xác định bao gồm sesquiterpene, diterpene, triterpene, saponin triterpene, flavonoid, v/v. Trong nghiên cứu sàng lọc của chúng tôi cho thấy cao chiết methanol của cây Sài đất (*W. chinensis*) có hoạt tính diệt tế bào ung thư (trong đó có dòng tế bào ung thư phổi A549, H1975), tác dụng ức chế sản sinh NO liên quan bệnh viêm. Kết quả sơ bộ này cho thấy cây Sài đất nói riêng và các loài khác thuộc chi *Wedelia* nói chung có thể chứa các thành phần hoạt chất sinh học quan trọng, tiềm tàng cho nghiên cứu phát triển thuốc. Đây là những tiền đề góp phần phát hiện các hoạt

chất có hoạt tính sinh học tốt như: chống ung thư, kháng viêm và nghiên cứu cơ chế hoạt động của chúng. Việc nghiên cứu thành phần hoá học kết hợp với thử nghiệm hoạt tính sinh học dẫn đường sẽ cho phép thu được các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt với độ chọn lọc cao. Đây là phương pháp được các nhóm nghiên cứu tiên tiến trên thế giới áp dụng thành công.

Xuất phát từ những luận điểm trên, NCS đã lựa chọn đề tài **“Nghiên cứu thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học từ hai loài *Wedelia chinensis* và *Wedelia trilobata*, họ Cúc (*Asteraceae*)”**.

Mục tiêu của luận án:

- Nghiên cứu xác định thành phần hóa học từ hai loài *W. chinensis* và *W. trilobata* thuộc chi *Wedelia*.

- Đánh giá hoạt tính kháng viêm, hoạt tính ức chế α -amylase, α -glucosidase và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất để làm cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

Nội dung của luận án bao gồm:

- Phân lập các hợp chất từ hai loài *W. chinensis* và *W. trilobata* bằng các phương pháp sắc ký.

- Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp vật lý, hóa học.

- Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro*, hoạt tính ức chế α -amylase, α -glucosidase và hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các hợp chất phân lập được.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu chung về chi *Wedelia*

1.1.1. Tổng quan về loài Sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* (L.) Hitchc.)

Sài đất ba thùy hay còn được gọi là Sài đất kiềng, Sài đất ba thùy và có tên khoa học: *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc., tên đồng nghĩa là *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy thành phần chính của *W. trilobata* bao gồm: *ent*-kaurane diterpene, eudesmane sesquiterpene lactone, và triterpene với nhiều hoạt tính như kháng khuẩn, chống khối u, bảo vệ gan, và hoạt động ức chế hệ thần kinh trung ương [7, 8].

1.1.2. Tổng quan về loài Sài đất (Wedelia chinensis (Osbeck) Merr.)

Sài đất hay còn gọi là húng trám, cúc nháp, ngổ đất có tên khoa học là *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr, tên đồng nghĩa là *Shagmeticola calendulacea* (L.) Pruski thuộc họ Cúc – Asteraceae.

Sài đất chứa rất nhiều thành phần hóa học tốt cho cơ bao gồm tanin, saponin, saponin, flavonoid, terpenoid, các hợp chất triterpenoid và phenolic. Các phân tích ở Ấn Độ về thảo mộc *W. chinensis* không thấy sự xuất hiện của các alkaloid, tuy nhiên các cuộc điều tra về thành phần hóa học của Trung Quốc về loài này cho thấy sự hiện diện của alkaloid trong thân, lá và hoa [13]. Các nghiên cứu mở rộng về hoạt tính sinh học thực hiện trên *W. chinensis* được cho là có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, giảm đau, kháng khuẩn, bảo vệ gan, chống trầm cảm, chống co giật, chữa lành vết thương, an thần và chống ung thư [10].

1.2. Tình hình nghiên cứu về chi *Wedelia*

1.2.1. Các nghiên cứu về thành phần hóa học

1.2.1.1. Thành phần sesquiterpene

1.2.1.2. Thành phần diterpene

1.2.1.3. Thành phần triterpene và triterpene saponin

1.2.1.4. Thành phần flavonoid

1.2.1.5. Các thành phần khác

1.2.2. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học về các loài thuộc chi *Wedelia*.

1.2.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

1.2.2.2. Hoạt tính phòng và hỗ trợ bệnh tiểu đường

1.2.2.3. Hoạt tính chống oxy hóa

1.2.2.4. Kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm.

1.2.2.5. Tác động ức chế hệ thần kinh trung ương

1.2.2.6. Các hoạt tính sinh học khác

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* (L.) Hitchc).

Mẫu Sài đất ba thùy (*W. trilobata*) được thu hái tại Thái Bình vào tháng 9 năm 2017. Tên khoa học của mẫu được xác định bởi TS. Đỗ Văn Hải, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản 2016.55-W2 được lưu trữ tại Trung tâm Nghiên cứu nông dược, Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ.

2.1.2. Sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.).

Mẫu Sài đất (*W. chinensis*) được thu hái tại Hà Nội vào tháng 9 năm 2017. Tên khoa học của mẫu được xác định bởi TS. Đỗ Văn Hải, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản 2016.55-W1 được lưu trữ tại Trung tâm Nghiên cứu nông dược, Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập chất

Phối hợp các phương pháp sắc ký bao gồm: sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký lớp mỏng điều chế và sắc ký cột (C.C)

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

Phương pháp chung để xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất là sự kết hợp xác định giữa các thông số vật lý với các phương pháp phổ hiện đại bao gồm:

2.2.2.1. Phổ khối lượng (MS).

2.2.2.2. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS.

2.2.2.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR.

2.2.2.4. Độ quay cực $[\alpha]_D$

2.2.2.5. Phương pháp xác định đường.

2.2.2.6. Xác định cấu hình tuyệt đối theo phương pháp

Mosher.

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học.

2.2.3.1. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm

2.2.3.2. Phương pháp đánh giá ức chế α -glucosidase

2.2.3.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế α -amylase

2.2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào

2.3. Thực nghiệm.

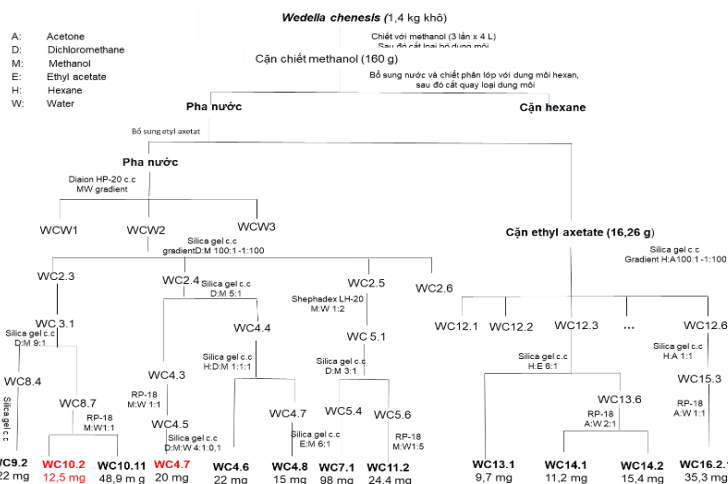
2.3.1. Phân lập các hợp chất từ Sài đất ba thùy (*W.*

trilobata)



Hình 2.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *W. trilobata*

2.3.2. Phân lập các hợp chất từ mẫu Sài đất (*W. chinensis*)



Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *W. chinensis*

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

2.4.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được từ Sài đất ba thùy (*W. trilobata*)

2.4.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được từ Sài đất (*W. chinensis*)

2.5. Hoạt tính của các hợp chất phân lập loài *W. chinensis* và *W. trilobata*

2.5.1. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm các hợp chất phân lập từ loài *W. chinensis* và *W. trilobata*

Các hợp chất phân lập WC1-WC12 và WT1-WT8 được thử nghiệm cho khả năng ức chế sản sinh NO, thực hiện theo phương pháp như mục 2.2.3.1. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 3.21.

2.5.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế α -amylase, α -glucosidase các hợp chất phân lập từ loài *W. trilobata* và *W. chinensis*

Các hợp chất **WT1-WT8**, **WC1-WC12** được đánh giá hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase theo phương pháp mô tả ở 2.2.3.3 và 2.2.3.2. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.22.

2.5.3. Hoạt tính ức chế gây độc tế bào của các hợp chất phân lập từ *W. chinensis* và *W. trilobata*

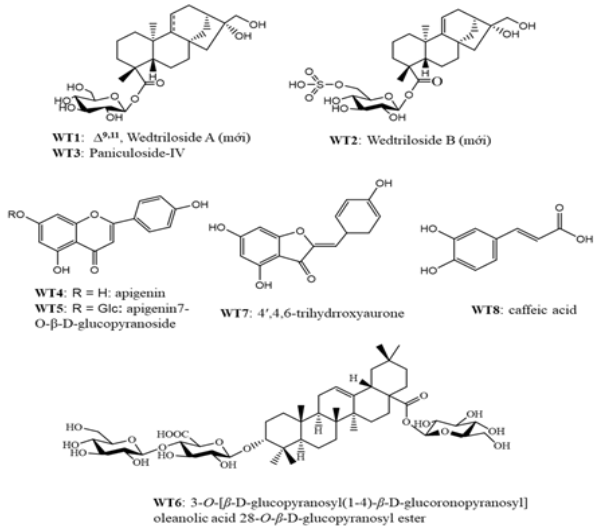
Các phép thử hoạt tính gây độc tế bào được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong mục 2.2.3.4. Kết quả thử hoạt tính thể hiện ở bảng 3.23.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

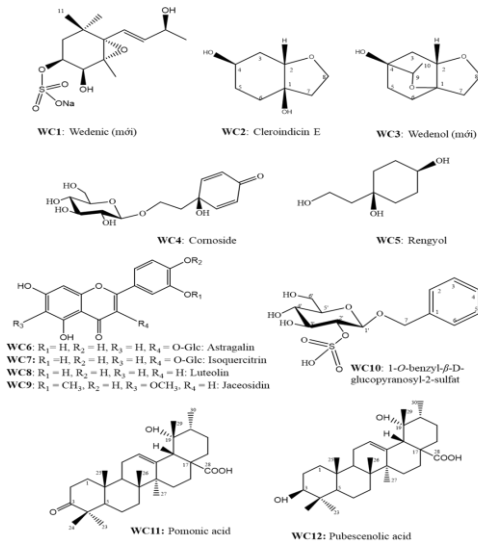
Từ hai loài *W. trilobata* và *W. chinensis* đã phân lập và xác định được cấu trúc của 20 hợp chất trong đó có 4 hợp chất mới. Cụ thể:

❖ 8 hợp chất phân lập từ loài *W. trilobata* (Hình 3.47): 2 hợp chất mới là wedtriloside A (**WT1**) và wedtriloside B (**WT2**) và 6 hợp chất đã biết gồm: paniculoside-IV (**WT3**), apigenin (**WT4**), apigenin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**WT5**), 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1-4)- β -D-glucoronopyranosyl] oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (**WT6**), 4',4,6-trihydroxyaurone (**WT7**), caffeic acid (**WT8**)

❖ 12 hợp chất phân lập từ *W. chinensis* (Hình 3.48): 2 hợp chất mới được đặt tên là wednenic (**WC1**) và wednenol (**WC3**) và 10 hợp chất đã biết gồm: Cleroindicin E (**WC2**), cornoside (**WC4**), rengyol (**WC5**), kaempferol-3-*O*-D-glucoside (**WC6**), quercetin-3-*O*- β -D-glucoside (**WC7**), luteolin (**WC8**), jaceosidin (**WC9**), 1-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl-2-sulfat (**WC10**), pomonic acid (**WC11**), ilexgenin B (**WC12**).



Hình 3.47. Các hợp chất **WT1-WT8** phân lập từ *W. trilobata*



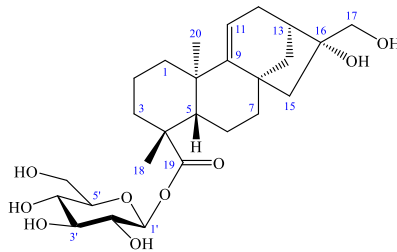
Hình 3.48. Các hợp chất **WC1-WC9** phân lập từ *W. chinensis*

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập

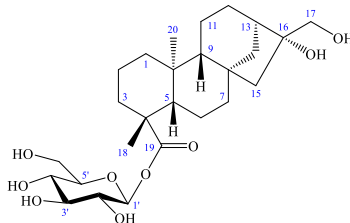
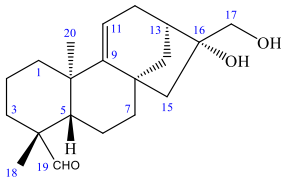
3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ Sài đất ba thùy (*W. trilobata*)

3.1.1.1. Hợp chất **WT1**: Wedtriloside A.

Hợp chất **WT1** thu được dưới dạng chất bột vô màu trắng, độ quay cực là $[\alpha]_D^{24} - 61,6$ (c 0,15, MeOH). Trên phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **WT1** xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 541,2659 $[M + HCOO]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử là $C_{27}H_{41}O_{11}$, $M = 541,2649$) cho phép xác định công thức phân tử của **WT1** là $C_{26}H_{40}O_9$.



WT1



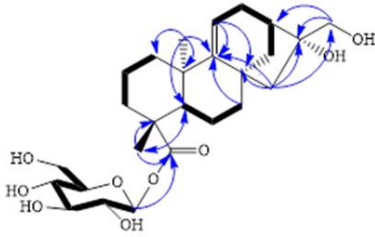
16a,17-dihydroxy-ent-9(11)-kaurene-19-al

Paniculoside-IV

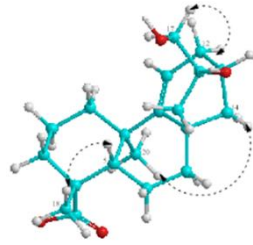
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **WT1** và các hợp chất tham khảo

Trên phổ hồng ngoại của **WT1** cho thấy một liên kết đôi (1630 cm^{-1}), một nhóm carbonyl (1727 cm^{-1}), và nhóm hydroxyl (3423 cm^{-1}). Trên phổ $^1\text{H NMR}$ của **WT1** xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methyl tại $\delta_{\text{H}} 1,24$ (3H, s, H-18) và $1,02$ (3H, s, H-20), cùng tín hiệu của một proton olefinic tại $\delta_{\text{H}} 5,20$ (1H, t, $J = 3,0\text{ Hz}$, H-11). Bên cạnh đó tín hiệu của proton oxymethylene được xác định tại $\delta_{\text{H}} 3,51$ (1H, d, $J = 11,5\text{ Hz}$, H_a-17), $3,55$ (1H, d, $J = 11,0\text{ Hz}$, H_b-17). Ngoài ra, phổ proton của **WT1** còn cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một proton anome tại $\delta_{\text{H}} 5,47$ (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$, H-1') cùng 6 tín hiệu khác của một phân tử đường tại $\delta_{\text{H}} 3,36$ (1H, dd, $J = 8,0, 9,0\text{ Hz}$, H-2'), $\delta_{\text{H}} 3,43$ (1H, dd, $J = 9,0, 9,0\text{ Hz}$, H-3'), $\delta_{\text{H}} 3,38$ (1H, t, $J = 9,0\text{ Hz}$, H-4'), $\delta_{\text{H}} 3,40$ (1H, m, H-5'), $3,83$ (1H, dd, $J = 2,0, 11,5\text{ Hz}$, H_a-6') và $3,71$ (1H, dd, $J = 4,5, 11,5\text{ Hz}$, H_b-6'). Từ các dữ liệu trên cùng với giá trị của các hằng số tương tác J ($J_{1',2'} = 8,0\text{ Hz}$, $J_{2',3'} = 9,0\text{ Hz}$, và $J_{3',4'} = 9,0\text{ Hz}$) cho phép dự đoán sự có mặt của một phân tử đường β -glucopyranose.

Phân tích phổ $^{13}\text{C NMR}$ của **WT1** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử carbon, trong đó có 2 tín hiệu của nhóm methyl, 9 tín hiệu nhóm methylene với 2 nhóm methylene đính trực tiếp với oxi tại $\delta_{\text{C}} 68,9$ (C-17) và $62,4$ (C-6'), 9 nhóm methine cộng hưởng trong vùng từ $45,0$ đến $114,9\text{ ppm}$, và 6 tín hiệu carbon không liên kết hydro. Trên phổ $^{13}\text{C NMR}$ cho thấy sự xuất hiện của một nhóm methine cộng hưởng tại $\delta_{\text{C}} 114,9$ và một carbon không liên kết hidro tại $\delta_{\text{C}} 159,0\text{ ppm}$, gợi ý sự xuất hiện một nối đôi C=C. Từ các dữ kiện phổ thu được và các phân tích trên gợi ý hợp chất **WT1** là một diterpenoid có khung *ent*-kaurane. Điều này hoàn toàn phù hợp với đặc điểm sinh tổng hợp của các hợp chất diterpeneoid phát hiện từ chi *Wedelia* trước đó [99].



Hình 3.9. Các tương tác chính trên phổ HMBC (H→C), COSY (H—H) của **WT1**



Hình 3.11. Các tương tác NOESY (H←...→H) chính của **WT1**

Các liên kết trực tiếp giữa các proton và carbon của **WT1** được xác định dựa trên việc phân tích phổ HSQC. Vị trí của phân tử đường được xác định dựa trên phổ HMBC giữa tương tác H-1' của phân tử đường ($\delta_{\text{H}} 5,47$, $J = 8,0$ Hz) với C-19 ($\delta_{\text{C}} 177,7$) của phần *ent*-kaurane aglycon, điều này cho phép ta xác định vị trí của phân tử đường được đính trực tiếp tại vị trí C-19 (Hình 3.9).

Bên cạnh đó trên phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H-20 ($\delta_{\text{H}} 1,02$) và C-1 ($\delta_{\text{C}} 42,2$), C-5 ($\delta_{\text{C}} 48,1$), C-9 ($\delta_{\text{C}} 159,0$), C-10 ($\delta_{\text{C}} 39,9$); giữa H-18 ($\delta_{\text{H}} 1,28$) với C-4, C-5, và C-19 cho phép ta xác định vị trí của hai nhóm methyl được đính trực tiếp tại C-10 và C-4 của phần *ent*-kaurane aglycon (Hình 3.9). Tương tác giữa H-17 ($\delta_{\text{H}} 3,51$) và C-16 ($\delta_{\text{C}} 85,6$), C-15 ($\delta_{\text{C}} 55,8$), C-13 ($\delta_{\text{C}} 45,0$) cho phép xác định vị trí của nhóm CH₂-17 được gắn tại C-16. Một số các tương tác của proton cạnh nhau được quan sát trên phổ COSY như: H-11 ($\delta_{\text{H}} 5,20$)/H-12 ($\delta_{\text{H}} 2,22$, $\delta_{\text{H}} 1,48$)/H-13 ($\delta_{\text{H}} 2,16$); H-5 ($\delta_{\text{H}} 1,66$)/H-6 ($\delta_{\text{H}} 2,56$, $\delta_{\text{H}} 1,98$)/H-7 ($\delta_{\text{H}} 2,03$, $\delta_{\text{H}} 1,51$); H-1 ($\delta_{\text{H}} 1,20$, $1,95$)/H-2 ($\delta_{\text{H}} 1,93$, $1,50$)/H-3 ($\delta_{\text{H}} 2,23$, $1,07$) (Hình 3.9).

Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của WT1 và hợp chất tham khảo

C	$\# \delta_{\text{C}}^{\text{d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b,c}}$ mult. (J in Hz)
1	39,9	42,2	1,20 m/1,95 m
2	19,2	21,2	1,93 m/1,50 m
3	35,1	39,4	2,23 m/1,07 m
4	48,3	46,2	-
5	45,9	48,1	1,66 dd (8,5, 11,0)
6	17,5	19,6	2,56 m/1,98 m
7	29,6	31,3	2,03 m/1,51 m
8	42,6	43,9	-
9	156,6	159,0	-
10	38,3	39,9	-
11	113,8	114,9	5,20 t (3,0)
12	30,1	31,2	2,22 m/1,48 m
13	44,2	45,0	2,16 m
14	42,9	44,2	2,06 m/1,45 m
15	55,0	55,8	1,96 m/1,54 m
16	84,6	85,6	-
17	68,4	68,9	3,51 d (11,0) 3,55 d (11,0)
18	24,2	28,4	1,24 s
19	206,6	177,7	-
20	23,7	24,5	1,02 s
1'		95,4	5,47 d (8,0)
2'		74,0	3,36 dd (8,0, 9,0)
3'		78,5	3,43 dd (9,0, 9,0)
4'		71,1	3,38 t (9,0)
5'		78,7	3,40 m
6'		62,4	3,83 dd (2,0, 11,5) 3,71 dd (4,5, 11,5)

^a125MHz, ^b500 MHz, ^cCD₃OD, ^d75 MHz [#] δ_{C} : Số liệu của 16 α ,17-dihydroxy-ent-9(11)-kaurene-19-al đo trong CD₃Cl₃ [90].

Cấu hình α của nhóm methylene ở vị trí C-14 được xác định bằng tương tác trên phổ NOESY của H_a -14 (δ_H 1,45) và H_3 -20 (δ_H 1,02). Bên cạnh đó phổ NOESY xuất hiện tín hiệu tương tác giữa H_3 -18 (δ_H 1,28) và H-5 (δ_H 1,66), tuy nhiên không có tương tác giữa δ_H 1,28 (H_3 -18)/ δ_H 1,66 (H-5) với H_3 -20 (δ_H 1,02), từ đó kết luận cấu hình β cho H_3 -18 và H-5. Phân tích các tương tác trên phổ NOESY của **WT1** cho thấy tương tác giữa H_β -12 và H_a -17 gợi ý cho ta cấu hình α của nhóm hydroxyl tại vị trí C-16. Bên cạnh đó khi so sánh độ dịch chuyển hóa học tại C-16 (δ_C 85,6) và C-17 (δ_C 68,9) của **WT1** với các giá trị phổ ^{13}C NMR tại 84,6 (C-16) và 68,4 (C-17) của 16 α ,17-dihydroxy-*ent*-9(11)-kaurene-19-al [100] cho thấy sự phù hợp ở hai vị trí trên, trong khi hợp chất 16 β ,17-hydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid- β -D-glucopyranosyl ester có độ dịch chuyển hóa học tương ứng tại hai vị trí trên là δ_C 79,8 (C-16) và 70,3 (C-17) [99, 100].

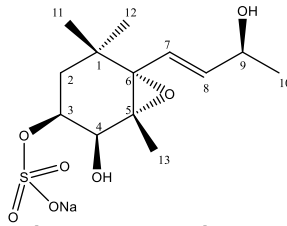
Từ những thông tin trên cho thấy cấu trúc hợp chất **WT1** tương tự như 16 α ,17-dihydroxy-*ent*-9(11)-kaurene-19-al, ngoại trừ sự xuất hiện của nhóm carbonyl trong **WT1** thay vì nhóm aldehyde trong 16 α ,17-dihydroxy-*ent*-9(11)-kaurene-19-al và sự xuất hiện của một gốc đường glucose tại vị trí C-19. Tiến hành thủy phân hợp chất **WT1** trong môi trường kiềm để thu được đường đơn. Nhóm đường trong **WT1** được xác định là D-glucose với góc quay cực $[\alpha]^{24}_D = +10,5$ (c 0,15, H₂O) phù hợp với giá trị độ quay cực riêng của đường D-glucose đã công bố trước đó [90, 99]. Kết hợp so sánh dữ liệu phổ của **WT1** với hợp chất 16 α ,17-dihydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid- β -D-glucopyranosyl ester (Paniculoside-IV) [99] cho thấy sự tương đồng ở hầu hết các vị trí ngoại trừ sự xuất hiện thêm một nối đôi tại vị trí C-9/C-11 trong hợp chất **WT1**. Từ tất cả những phân tích dữ liệu phổ trên cho phép xác định được hợp chất **WT1** là 16 α ,17-dihydroxy-*ent*-

9(11)-kaurene-19-oic acid- β -D-glucopyranosyl ester, đây là hợp chất mới và được đặt tên riêng là wedtriloside A.

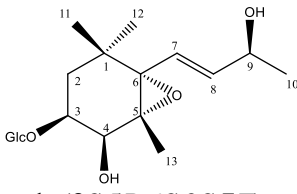
3.1.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ Sài đất *W. chinensis*

3.1.2.1. Hợp chất **WC1**: Wednenic (Hợp chất mới)

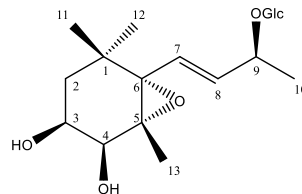
Hợp chất **WC1** thu được dưới dạng chất bột màu trắng với độ quay cực $[\alpha]_D^{24}$: -26,5 (c 0,25, MeOH). Phổ phân giải cao HR-ESI-MS của **WC1** xuất hiện các pic ion giả phân tử tại m/z 345,0987 $[M+H]^+$, tại m/z 367,0801 $[M+Na]^+$ và phân mảnh tại m/z 225,1482 $[M-SO_4Na]^+$ gợi ý sự xuất hiện của một nhóm sulfate trong cấu trúc của **WC1** với công thức phân tử của **WC1** là $C_{13}H_{22}O_7SNa$.



Cấu trúc hợp chất **WC1**



1: (3*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside



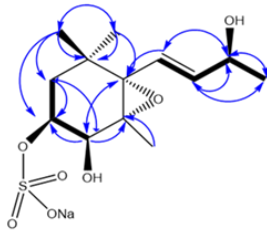
2: (3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,4,9-triol 9-*O*- β -D-glucopyranoside

Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất **WC1** và các hợp chất so sánh

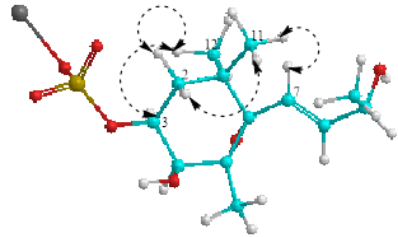
Trên phổ 1H NMR của **WC1** xuất hiện tín hiệu của 4 nhóm methyl tại δ_H 1,24 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-10), δ_H 1,03 (3H, s, H-12), δ_H

1,13 (3H, s, H-11) và δ_{H} 1,28 (3H, s, H-13). Bên cạnh đó tín hiệu của một cặp proton methylene được xác định tại δ_{H} 1,47 (1H, dd, $J = 3,5, 12,5$ Hz, H_a-2) và δ_{H} 1,84 (1H, t, $J = 12,5$ Hz, H_b-2).

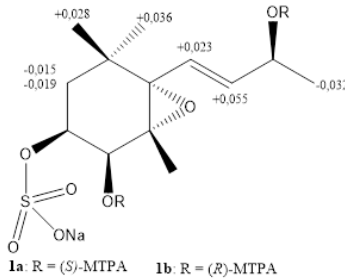
Ngoài ra trên phổ proton của **WC1** còn cho thấy sự hiện diện của 3 nhóm oxi methine tại δ_{H} 4,40 (1H, ddd, $J = 3,0, 3,5, 12,5$ Hz, H-3), δ_{H} 4,27 (1H, dd, $J = 1,0, 3,0$ Hz, H-4) và δ_{H} 4,31 (1H, dd, $J = 6,0, 12,5$ Hz, H-9). Tín hiệu của 2 proton olefin được xác định tại δ_{H} 5,92 (1H, dd, $J = 1,0, 16,5$ Hz, H-7) và δ_{H} 5,69 (1H, dd, $J = 6,0, 16,5$ Hz, H-8). Hằng số ghép cặp lớn ($J = 16,5$ Hz) giữa H-7 và H-8 chứng minh cấu hình *E* của nối đôi giữa C-7 và C-8. Trên phổ ^{13}C NMR và DEPT của **WC1** xuất hiện tín hiệu của 13 nguyên tử carbon bao gồm tín hiệu của 4 nhóm methyl được xác định tại δ_{C} 23,7 (C-10), 24,8 (C-11), 29,5 (C-12) và 17,1 (C-13), một nhóm methylene tại δ_{C} 37,9 (C-2), hai nhóm oxi methine tại δ_{C} 71,6 (C-4), 68,5 (C-9) và một nhóm oxi methine liên kết với một gốc sunfate được xác định tại δ_{C} 75,5 (C-3), tín hiệu của 3 nguyên tử carbon không mang hydro được xác định tại δ_{C} 35,5 (C-1), 69,4 (C-5), 71,3 (C-6), cùng một cặp nguyên tử carbon *trans*-olefin tại δ_{C} 125,6 (C-7), và 139,3 (C-8). Từ các dữ liệu phổ trên gợi ý hợp chất **WC1** là một megastigmane. Liên kết giữa C-2/C-3/C-4 và C-7/C-8/C-9 được xác định dựa trên phổ HSQC và COSY với các tương tác giữa các proton liền kề nhau như: H-2 (δ_{H} 1,47, 1,84)/H-3 (δ_{H} 4,64)/H-4 (δ_{H} 4,27) và H-7 (δ_{H} 5,92)/H-8 (δ_{H} 5,69)/H-9 (δ_{H} 4,31)/H-10 (δ_{H} 1,24) (Hình 3.21). Tương tác giữa H-4, H-7, H-8, H-12 và H-13 với C-6 cho phép xác định vị trí liên kết của C-7 và các nhóm methyl. Các tín hiệu phổ của hợp chất **WC1** tương đồng với dữ liệu của hợp chất (3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,4,9-triol 9-*O*- β -D-glucopyranoside nhưng có đôi chút khác biệt ở vị trí C-3 và C-4 do có thêm liên kết với nhóm natri sulfonate và hydroxy được xác định thông qua các tương tác trên phổ HMBC.



Hình 3.26. Các tương tác chính trên phổ HMBC (H→C), COSY (H—H) của hợp chất WC1



Hình 3.31. Tương tác chính trên phổ NOESY (←---→) của hợp chất WC1



Hình 3.32. Giá trị $\Delta\delta_{\text{H}(S-R)}$ của các este MTPA của hợp chất WC1

Cấu hình α của H-3 được xác định thông qua tương tác giữa H-3 với H_a-2, H-12 và tương tác của H-7, H_b-2 với H-11 và H-8 trên phổ NOESY. Ngoài ra, hằng số ghép cặp $J = 12,5$ Hz của H-3 với H_a-2 cũng cho phép xác định vị trí axial của proton H-3. Bên cạnh đó, tương tác trên phổ NOESY giữa H-4 và H-3 cũng chứng minh cho liên kết dạng equatorial của H-4 cũng như cấu dạng α ở các vị trí này. Hằng số ghép cặp của H-3 [δ_{H} 4,60 (1H, ddd, $J = 3,0, 3,5, 12,5$ Hz)] và H-4 [δ_{H} 4,27 (1H, dd, $J = 1,0, 3,0$ Hz)] trùng khớp với các thông số

trương ứng của hợp chất (3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,4,9-triol 9-*O*- β -D glucopyranoside đo trong cùng dung môi [δ_{H} 3,79 (1H, ddd, $J = 3,0, 3,0, 12,0$ Hz, H-3) và 3.88 (1 H, dd, $J = 1,0, 3,0$ Hz, H-4)]. Những điều này cho phép kết luận hai hợp chất có cấu hình tương tự nhau tại C-3 và C-4 [111].

Bảng 3.9. Số liệu phổ NMR của WC1 và các hợp chất tham khảo

C	$^1\delta_{\text{C}}^{\text{d,c}}$	$^2\delta_{\text{C}}^{\text{d,c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)
1	35,9	35,5	35,5	-
2	45,5	40,5	37,9	1,47 dd (3,5, 12,5) 1,84 t (12,5)
3	73,0	66,7	75,5	4,60 ddd (3,0, 3,5, 12,5)
4	38,5	73,3	71,6	4,27 d (3,0)
5	67,8	69,7	69,4	-
6	71,3	71,6	71,3	-
7	125,7	129,6	125,6	5,92 dd (1,0, 16,5)
8	139,0	136,2	139,3	5,69 dd (6,0, 12,5)
9	68,7	74,4	68,5	4,31 dd (6,0, 12,5)
10	23,9	22,4	23,7	1,24 d (6,0)
11	29,8	29,8	29,5	1,13 s
12	25,2	24,9	24,8	1,03 s
13	20,3	17,8	17,1	1,28 s

$^{\text{a}}$ 125MHz, $^{\text{b}}$ 500 MHz, $^{\text{d}}$ 100 MHz, $^{\text{c}}$ CD₃OD, $^1\delta_{\text{C}}$ của (3*S*,5*R*,6*S*,7*E*,9*S*) megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside đo trong CD₃OD [101], $^2\delta_{\text{C}}$ của (3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,4,9-triol 9-*O*- β -D-glucopyranoside đo trong CD₃OD [96].

Độ chuyển dịch hóa học của C-5 (δ_{C} 69,4) và C-6 (δ_{C} 71,3) cũng tương tự số liệu phổ ^{13}C NMR (đo trong CD₃OD) của

(3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-7-ene-5,6-epoxy-3,4,9-triol 9-*O*- β -D-glucopyranoside [δ_C 69,7 (C-5) và 71,6 (C-6)] [111] và khác biệt so với số liệu phổ của một hợp chất có cấu hình 5*S*,6*R* là (3*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*E*,9*S*)-5,6-epoxy-3,4,9-trihydroxy-7-megastigmen-3-*O*- β -D-glucopyranoside (komaroveside C) [δ_C 68.2 (C-5) và 70.4 (C-6)] [112]. Do đó, có thể xác định cấu hình 5*R*, 6*S* của hợp chất **WC1**. Để xác định cấu hình tuyệt đối tại C-9 ta tiến hành điều chế hai dẫn xuất (*S*)- và (*R*)-MTPA ester của **WC1** (xem mục 2.2.2.6), thông qua giá trị $\Delta\delta$ của hai dẫn xuất (*S*)- và (*R*)-MTPA ester (Hình 3.32). Theo quy tắc của Mosher cấu hình tại C-9 của **WC1** được xác định là cấu hình *S* [92, 110, 113, 114].

Từ các phân tích dữ liệu phổ nói trên, cấu trúc của hợp chất **WC1** được xác định là (3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,9*S*,7*E*)-megastigman-5,6-epoxy-7-ene-4,9-diol-3-natri sulfonate, một hợp chất mới đặt tên là wedenic.

3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học các hợp chất phân lập được từ *W. trilobata* và *W. chinensis*

3.2.1. Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất

Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất phân lập từ *W. trilobata* và *W. chinensis* cho thấy hợp chất **WC9**, **WC11** thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 khá mạnh với giá trị IC_{50} tương ứng là $10,72 \pm 1,06$ và $10,91 \pm 0,67$ μ M (bảng 3.21). Bên cạnh đó hợp chất **WC12** và **WT4** cho kết quả ức chế sản sinh NO trong đại thực bào RAW264.7 đáng chú ý với các giá trị IC_{50} tương ứng là $26,92 \pm 1,12$ và $21,9 \pm 0,90$ μ M. Hợp chất **WT6** thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 yếu với giá trị $IC_{50} = 78,5 \pm 0,97$ μ M trong khi đó các hợp chất còn lại không thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7.

Bảng 3.21. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 của các hợp chất phân lập từ *W. chinensis* và *W. trilobata*

Mẫu	Giá trị IC ₅₀ (μM)
WC9	10,72 ± 1,06
WC11	10,91 ± 0,67
WC12	26,92 ± 1,12
WT4	21,9 ± 0,90
WT6	78,5 ± 0,97
Cardamonin *	2,12 ± 0,05

* Cardamonin được sử dụng làm chất đối chứng

3.2.2. Hoạt tính ức chế α -amylase, α -glucosidase

Kết quả đánh giá khả năng *ức chế* α -amylase, α -glucosidase được hiển thị trong bảng 3.22 cho thấy hầu hết các hợp chất đều có khả năng *ức chế* α -amylase và α -glucosidase, trong đó ấn tượng nhất là khả năng *ức chế* α -amylase và α -glucosidase của hợp chất **WT6** với giá trị giá trị IC₅₀ tương ứng là 52,08 và 190,4 μM mạnh hơn so với đối chứng dương acarbose (IC₅₀ = 67,8 và 450,56 μM) (Bảng 3.22).

Hai hợp chất mới **WT1** và **WT2** phân lập từ *W. trilobata* cho thấy khả năng *ức chế* đáng kể đối với enzyme α -amylase với giá trị IC₅₀ tương ứng là 112,20 và 87,10 μM. Hợp chất **WT8** có khả năng *ức chế* α -amylase ở mức trung bình với giá trị IC₅₀ là 181,97 μM, nhưng lại có khả năng *ức chế* tốt enzyme α -glucosidase với giá trị IC₅₀ = 173,8 μM mạnh hơn đối chứng dương acarbose (IC₅₀ = 450,56 μM). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hợp chất **WT4** có khả năng *ức chế* α -glucosidase mạnh với IC₅₀ tương ứng là 27,54 μM, mạnh hơn chất đối chứng acarbose (IC₅₀ = 450,56 μM). Trong khi đó các chất phân

lập từ *W. chinensis* cho thấy hầu hết các hợp chất đều có khả năng ức chế α -glucosidase, α -amylase ở mức độ trung bình và yếu.

Bảng 3.22. Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α glucosidase của các hợp chất phân lập từ *W. trilobata* và *W. chinensis*

Hợp chất	IC ₅₀ (μ M)	
	α -amylase	α -glucosidase
WT1	112,20 \pm 2,87	-
WT2	87,10 \pm 1,89	-
WT4	-	27,54 \pm 1,12
WT6	52,08 \pm 0,56	190,40 \pm 2,01
WT8	181,97 \pm 2,62	173,78 \pm 2,37
WC1	436,8 \pm 28,6	915,6 \pm 36,5
WC9	112,8 \pm 15,1	785,9 \pm 12,7
WC11	420,7 \pm 25,2	-
WC12	395,6 \pm 18,3	821,4 \pm 55,2
Acabose*	67,80 \pm 0,32	450,56 \pm 2,31

(-): Không ức chế, (*): chất đối chứng.

3.2.3. Hoạt tính gây độc tế bào

Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất cho thấy hai hợp chất **WT3** và **WT4** phân lập từ *W. trilobata* đều thể hiện khả năng gây độc tế bào ở mức trung bình đối với dòng ung thư phổi và ung thư gan với giá trị IC₅₀ tương ứng là 36,31 \pm 1,15; 49,3 \pm 1,03 μ M và 31,77 \pm 1,34; 34,6 \pm 0,74 μ M và gây độc yếu đối các dòng tế bào còn lại. Các hợp chất **WC11**, **WC9** phân lập từ *W. chinensis* thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ở mức độ trung bình với dòng ung thư tuyến tiền liệt với giá trị IC₅₀ tương ứng là 25,12 \pm 1,07 μ M và 30,20 \pm 1,23 μ M so với chất đối chứng dương camptothecin (IC₅₀ = 4,65 μ M), bên cạnh đó **WC9** thể hiện hoạt tính gây độc yếu với 3 dòng tế

bào ung thư thử nghiệm còn lại với giá trị IC_{50} trong khoảng 45,71-78,89 μM , trong khi **WC11** lại thể hiện khả năng gây độc trung bình với dòng tế bào A-549 với giá trị IC_{50} là $36,31 \pm 1,15 \mu\text{M}$, tuy nhiên hợp chất này chỉ thể hiện gây độc yếu đến không gây độc với 2 dòng tế bào ung thư thử nghiệm Hep3B và MCF-7. Hợp chất **WC12** thể hiện khả năng gây độc ở mức độ trung bình yếu trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm với giá trị IC_{50} trong khoảng 31,77-53,70 μM , trong khi các hợp chất còn lại không thể hiện hoạt tính gây độc ở các nồng độ nghiên cứu trên cả 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm.

*Bảng 3.23. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập từ *W. chinensis* và *W. trilobata**

Mẫu	IC_{50} (μM)			
	A549	Hep3B	MCF-7	PC3
WC9	$78,89 \pm 2,11$	$79,43 \pm 1,19$	$45,71 \pm 1,32$	$30,20 \pm 1,23$
WC11	$36,31 \pm 1,15$	$69,18 \pm 1,45$	$67,61 \pm 2,08$	$25,12 \pm 1,07$
WC12	$31,77 \pm 1,34$	$53,70 \pm 1,23$	$37,15 \pm 1,18$	$53,70 \pm 2,36$
WT3	$36,31 \pm 1,15$	$49,3 \pm 1,03$	$87,61 \pm 1,08$	$55,6 \pm 1,17$
WT4	$31,77 \pm 1,34$	$34,6 \pm 0,74$	$79,8 \pm 1,18$	$61,0 \pm 1,94$
Camptothecin *	$4,65 \pm 0,14$	$0,34 \pm 0,014$	$0,80 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,008$

(*): chất đối chứng dương

KẾT LUẬN

Bằng phương pháp sắc ký kết hợp và các phương pháp phổ hiện đại, có sự so sánh với số liệu phổ các hợp chất tương tự trong tài liệu tham khảo, từ hai loài *Wedelia trilobata* và *Wedelia chinensis* NCS đã phân lập và xác định được cấu trúc của 20 hợp chất và đánh giá một số hoạt tính sinh học của các hợp chất này. Cụ thể:

1. Từ loài *W. trilobata* đã phân lập và xác định cấu trúc 8 hợp chất (**WT1-WT8**) trong đó có 2 hợp chất mới và 6 hợp chất đã biết. Hai hợp chất mới được đặt tên là: wedtriloside A (**WT1**) và wedtriloside B (**WT2**) và 6 hợp chất đã biết gồm: Paniculose-IV (**WT3**), apigenin (**WT4**), apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**WT5**), 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1-4)- β -D-glucuronopyranosyl] oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (**WT6**), 4',4,6-trihydroxyaurone (**WT7**), caffeic acid (**WT8**)

2. Từ loài *W. chinensis* đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất trong đó có 2 hợp chất mới và 10 hợp chất đã biết. Hai hợp chất mới được đặt tên là: wednenic (**WC1**) và wednenol (**WC3**) và 10 hợp chất đã biết gồm: Cleroindicin E (**WC2**), cornoside (**WC4**), rengyol (**WC5**), kaempferol-3-*O*-D-glucoside (**WC6**), quercetin-3-*O*- β -D-glucoside (**WC7**), luteolin (**WC8**), jaceosidin (**WC9**), 1-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl-2-sulfat (**WC10**), pomonic acid (**WC11**), ilexgenin B (**WC12**).

3. Đã nghiên cứu hoạt tính ức chế sản sinh NO trong đại thực bào RAW264.7 của các hợp chất phân lập từ hai loài *W. trilobata* và *W. chinensis*. Kết quả cho thấy: **WC9** và **WC11** thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 tương đối tốt với giá trị IC_{50} tương ứng là $10,72 \pm 1,06$ và $10,91 \pm 0,67$ μ M trong khi các hợp chất còn lại chỉ thể hiện khả năng ức chế yếu.

4. Đã nghiên cứu hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *W. chinensis* và *W. trilobata*. Kết quả cho thấy: Hầu hết các hợp chất phân lập từ *W. trilobata* đều cho thấy khả năng ức chế enzym α -amylase và α -glucosidase. Đặc biệt hợp chất **WT4**, **WT6** có khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC_{50} tương ứng là $27,54 \pm 1,12$ μ M và $190,40 \pm 2,01$ μ M, mạnh hơn so với đối chứng dương acarbose ($IC_{50} = 67,8$ μ M

và 450,56 μM). Bên cạnh đó hợp chất **WT6** còn ức chế mạnh enzyme α -amylase với IC_{50} là 52,08 μM . Tuy nhiên các hợp chất phân lập từ *W. chinensis* chỉ thể hiện khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase ở mức trung bình đến không ức chế.

5. Đã tiến hành đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp **WC1-WC12** và **WT1-WT8** trên các dòng tế bào thử nghiệm kết quả cho thấy: Các hợp **WC9, WC11, WC12** thể hiện khả năng gây độc cả trên 4 dòng tế bào thử nghiệm ở mức độ trung bình trong khi hai hợp chất **WT3** và **WT4** phân lập từ *W. trilobata* chỉ thể hiện hoạt tính gây độc trên hai dòng tế bào Hep3B và PC3 ở mức trung bình với các giá trị IC_{50} tương ứng là 49,3; 55,6 và 34,6; 61,0 μM , các hợp chất còn lại không thể hiện hoạt tính.

KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu của luận án cho thấy hợp chất **WT4** phân lập từ *W. trilobata* có khả năng ức chế α -glucosidase mạnh có thể tiếp tục tiến hành đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase *in vivo* để định hướng về khả năng ứng dụng của hợp chất này.

Một số hợp chất phân lập từ *W. trilobata* thể hiện khả năng ức chế tốt cả hai loại enzyme α -amylase và α -glucosidase, có thể nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính hạ đường huyết của loài này.

Hợp chất **WC9** phân lập từ *W. chinensis* cho hoạt tính ức chế sản sinh NO tương đối tốt với giá trị $\text{IC}_{50} = 10,72 \pm 1,06 \mu\text{M}$ so với đối chứng dương cardamonin ($\text{IC}_{50} = 2,12 \pm 0,05 \mu\text{M}$), cần có nghiên cứu sâu hơn về cơ chế ức chế sản sinh NO đối với hợp chất này.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Về thành phần hóa học

Từ hai loài *Wedelia trilobata* (L.) Hitch và *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr đã phân lập và xác định cấu trúc được 20 hợp chất,

trong đó có 4 hợp chất mới và 5 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Wedelia*.

Bốn hợp chất mới là: wedtriloside A, wedtriloside B, wednenic và wednenol

Năm hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Wedelia* gồm: 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1-4)- β -D-glucuronopyranosyl] oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester, cornoside, rengyol và 1-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl-2-sulfate

2. Về tác dụng sinh học

Lần đầu tiên tại Việt Nam tiến hành thử nghiệm *in vitro* khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của các hợp chất phân lập từ 2 loài *Wedelia trilobata* (L.) Hitch và *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr. Kết quả cho thấy hợp chất apigenin, 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1-4)- β -D-glucuronopyranosyl] oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester có khả năng ức chế α -glucosidase mạnh hơn so với đối chứng dương acarbose và hợp chất 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1-4)- β -D-glucuronopyranosyl] oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester còn ức chế enzyme α -amylase mạnh hơn đối chứng dương acarbose.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyen Thi Luyen**, Pham Thanh Binh, Pham Thi Tham, Ta Manh Hung, Nguyen Hai Dang, Nguyen Tien Dat, Nguyen Phuong Thao. Wedrilosides A and B, two new diterpenoid glycosides from the leaves of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. with α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities. *Bioorganic Chemistry*, **2019** (85), 319 -324; IF: 5.3

2. Nguyen Phuong Thao, Pham Thanh Binh, **Nguyen Thi Luyen**, Ta Manh Hung, Nguyen Hai Dang, Nguyen Tien Dat. α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Chemical Constituents from *Wedelia chinensis* (Osbeck.) Merr. Leaves. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, **2018**, ID: 2794904; IF: 2.594

3. Nguyen Phuong Thao, Pham Thanh Binh, **Nguyen Thi Luyen**, Nguyen Duy Cong, Nguyen Hai Dang, Nguyen Tien Dat. Anti-inflammatory and cytotoxic activities of constituents from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Vietnam J. Chem*, **2019**, 57 (1), 121-127.

4. **Nguyễn Thị Luyên**, Phạm Thanh Bình, Nguyễn Duy Công, Bùi Thị Thúy Luyện, Nguyễn Hải Đăng, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Phương Thảo. Nghiên cứu thành phần hóa học cây Sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck.) Merr.). *Tạp chí dược học*, **2018**, 510, 25-29.