

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 THU HIỀN

**NGHIÊN CỨU HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ
BÀO UNG THƯ CỦA HAI LOÀI *ARALIA DASYPHYLLA*
VÀ *ARALIA HIEPIANA* Ở TÂY NGUYÊN**

Chuyên ngành: Hóa học các Hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Đà Lạt – 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: TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan

Người hướng dẫn khoa học 2: GS.TS. Nguyễn Mạnh Cường

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Phản biện 2: PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Quang Tùng

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 14 giờ 30', ngày 23 tháng 5 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

1. Tính cấp thiết của luận án

Chi *Aralia* là chi thực vật thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) có khoảng 79 loài, phân bố chủ yếu ở khu vực châu Á và châu Mỹ. Ở Việt Nam hiện thống kê được 16 loài và 6 thứ. Nhiều loài thuộc chi này như *Aralia armata*, *A. chinensis*, *A. elata*... được dùng làm thuốc chữa các bệnh đau xương khớp, tiểu đường, chữa rắn cắn, dùng làm thuốc bổ theo học cổ truyền. Trong quá trình điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm phát triển các loài dược liệu có giá trị cao, chúng tôi phát hiện cao chiết methanol của lá loài *Aralia dasyphylla* Miq. có hoạt tính gây độc tế bào mạnh và cao chiết methanol của lá loài *Aralia hiepiana* J.Wen & Lowry có hoạt tính kháng khuẩn. Qua tổng hợp tài liệu cho thấy các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học trên hai loài này còn rất hạn chế, đặc biệt là chưa có bất cứ nghiên cứu nào về thành phần hóa học của lá hai loài này.

Vì những lý do trên tôi chọn đây là hai đối tượng để thực hiện đề tài “**Nghiên cứu hóa học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hai loài *Aralia dasyphylla* và *Aralia hiepiana* ở Tây Nguyên**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài *A. dasyphylla* và loài *A. hiepiana* phân bố tại Lâm Đồng.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Phân lập các hợp chất từ lá cây *A. dasyphylla* và *A. hiepiana*.
- Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được.
- Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất được phân lập.

Bộ cục của luận án: Luận án bao gồm 150 trang với 38 bảng, 74 hình và 155 tài liệu tham khảo. Luận án bao gồm 4 chương: Mở đầu (1 trang), Chương 1: Tổng quan (37 trang); Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (9 trang); Chương 3: Thực nghiệm (17 trang), Chương 4: Kết quả và thảo luận (75 trang); Kết luận (1 trang); Kiến nghị (1 trang); Các bài báo liên quan đến luận án (1 trang); Tài liệu tham khảo (10 trang); Phụ lục (112 trang).

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Bao gồm phần tổng quan các nghiên cứu trong nước và quốc tế về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Aralia*.

1.1. Giới thiệu chung về chi *Aralia*

1.1.1. Đặc điểm thực vật, phân bố

1.1.2. Một số loài *Aralia* được sử dụng trong y học cổ truyền

1.1.3. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Aralia*

Phần này giới thiệu về đặc điểm thực vật, phân bố, công dụng của một số loài *Aralia* theo y học cổ truyền và trình bày các nghiên cứu về thành phần hóa học. Qua việc tổng hợp tài liệu về việc phân lập các hợp chất từ chi *Aralia* cho thấy hiện có khoảng gần 300 hợp chất được phân lập từ các loài thuộc chi *Aralia* được trình bày theo các nhóm hợp chất như sau: Các hợp chất saponin (hợp chất **1-172**), triterpene (**173-180**), diterpene (**181-223**), sterol (**224-228**), phenolic (**229-266**), polyacetylen (**267-276**), alkaloid (**277-282**), glycolipid (**283-284**) polysaccharide (**285-291**).

Trong số các hợp chất đã phân lập từ chi *Aralia* các hợp chất saponin triterpene với khung oleanane chiếm phần lớn.

1.1.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi *Aralia*

Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi *Aralia* cho thấy cao chiết tổng và một số hợp chất phân lập từ chi *Aralia* thể hiện hoạt tính sinh học như: hoạt tính kháng viêm, gây độc tế bào, chống tiêu đường, giảm đau, bảo vệ tim mạch, bảo vệ gan, hệ thần kinh, hạ lipid

máu, chống oxy hóa, kháng vi sinh vật, và kháng khuẩn.

1.2. Giới thiệu hai loài nghiên cứu

1.2.1. *Giới thiệu chung về loài A. dasyphylla*: Phần này giới thiệu về tên khoa học, tên đồng danh, tên Việt Nam, đặc điểm thực vật, phân bố và tình hình nghiên cứu loài *A. dasyphylla*. Hiện mới chỉ có hai công trình nghiên cứu về thành phần hóa học của rễ loài này, trên lá hiện chưa có bất cứ nghiên cứu nào.

1.2.2. *Giới thiệu chung về loài A. hiepiana*: Phần này giới thiệu về tên khoa học, tên Việt Nam, đặc điểm thực vật, phân bố và tình hình nghiên cứu loài *A. hiepiana*. Hiện chưa có bất cứ nghiên cứu nào về thành phần hóa học loài này ở Việt Nam và trên thế giới.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu lá cây *A. dasyphylla* Miq. và *A. hiepiana* J. Wen & Lowry được thu hái tại huyện Lạc Dương và thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, tên khoa học được định danh bởi TS. Nông Văn Duy, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên. Mẫu tiêu bản (TN3/160) và (TN/129) được lưu tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. *Các phương pháp phân lập, tinh chế các hợp chất*: Sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột.

2.2.2. *Các phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất*: Sử dụng các phương pháp phổ hiện đại như: NMR, MS, IR...

2.2.3. *Các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học*

Phần này trình bày hóa chất, thiết bị và phương pháp thực hiện thử gây độc tế *in vitro* và đánh giá hoạt tính sinh học *in silico* trên protein hGLUT1.

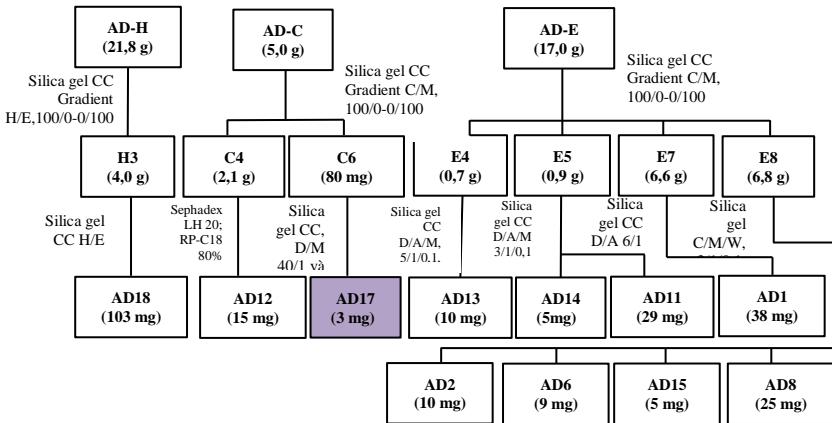
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM

3.1. Tạo các cao chiết loài *A. dasyphylla*

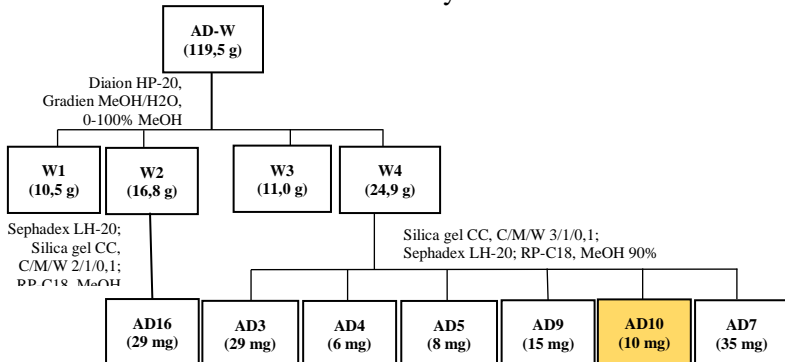
Bột lá khô cây *A. dasyphylla* (2,2 kg) ngâm chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng (10L x 3 lần) thu được 203 g cao chiết MeOH, cao chiết tái hòa tan vào nước, chiết phân bố với các dung môi *n*-hexane (H), chloroform (C), ethyl acetate (E), thu được các cấn tương ứng AD-H (21,8 g), AD-C (5,0 g), AD-E (17,0 g) và cao nước (119,5 g).

3.2. Phân lập các hợp chất loài *A. dasyphylla*

Tiến hành phân lập các phân đoạn *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate và nước của loài *A. dasyphylla* theo sơ đồ hình 3.2 và 3.3.



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ các phân đoạn *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate



Hình 3.3. Sơ đồ phân lập phân đoạn nước loài *A. dasyphylla*

3.3. Thông số vật lý và dữ kiện phổ các hợp chất phân lập từ cây

A. *dasyphylla*

3.3.1. Hợp chất AD1: *Acid ursolic*

3.3.2. Hợp chất AD2: *3-O-β-D-glucopyranosyl (1→3)-α-L-arabinopyranosyl ursolic acid*

3.3.3. Hợp chất AD3: *Matesaponin I*

3.3.4. Hợp chất AD4a: *3-O-α-L-arabinopyranosyl oleanolic acid*

3.3.5. Hợp chất AD4b: *3-O-α-L-arabinopyranosyl ursanolic acid*

3.3.6. Hợp chất AD5a: *Oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester*

3.3.7. Hợp chất AD5b: *Ursolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester*

3.3.8. Hợp chất AD6a: *Elatoside F*

3.3.9. Hợp chất AD6b: *Araliasaponin VIII*

3.3.10. Hợp chất AD7: *Elatoside E*

3.3.11. Hợp chất AD8: *Acutoside A*

3.3.12. Hợp chất AD9: *Oleanderolide*

3.3.13. Hợp chất AD10: *3-O-β-D-glucopyranosyl (1→3)-α-L-arabinopyranosyl 12α-hydroxyoleanan 28,13-olide (Hợp chất mới)*

Chất bột, màu trắng. Phổ IR (ν_{\max}) cm^{-1} : 3394, 2927, 1775, 1078.

Phổ khối ESI-MS: m/z 767,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 765,7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $\text{M} = 766$. Công thức phân tử: $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{13}$. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ ppm: 3,18 (1H, dd, $J = 8,0, 8,0$ Hz, H-3), 4,17 (1H, br s, H-12), 1,03 (3H, s, H-23), 0,84 (3H, s, H-24), 0,89 (3H, s, H-25), 0,91 (3H, s, H-26), 1,40 (3H, s, H-27), 1,00 (3H, s, H-29), 0,91 (3H, s, H-30), 4,26 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 4,53 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1").

Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ ppm: 39,0 (C-1), 26,1 (C-2), 89,3 (C-3), 39,5 (C-4), 56,0 (C-5), 17,8 (C-6), 34,8 (C-7), 42,7 (C-8), 45,2 (C-9), 36,6 (C-10), 29,6 (C-11), 65,4 (C-12), 92,0 (C-13), 43,4 (C-14), 29,2 (C-15), 21,6 (C-16), 45,6 (C-17), 52,3 (C-18), 40,1 (C-19), 31,9 (C-20), 34,2 (C-21), 27,8 (C-22), 28,1 (C-23), 16,4

(C-24), 16,8 (C-25), 19,0 (C-26), 20,3 (C-27), 179,3 (C-28), 33,3 (C-29), 23,7 (C-30), 105,7 (C-1'), 71,1 (C-2'), 83,0 (C-3'), 68,2 (C-4'), 65,7 (C-5'), 104,3 (C-1''), 74,0 (C-2''), 76,4 (C-3''), 70,0 (C-4''), 76,3 (C-5''), 61,9 (C-6'').

3.3.14. *Hợp chất AD11: Kaempferol*

3.3.15. *Hợp chất AD12: Hispidulin*

3.3.16. *Hợp chất AD13: Eupafolin*

3.3.17. *Hợp chất AD14: Kaempferol-7-O- α -L-rhamnoside*

3.3.18. *Hợp chất AD15: Kaempferitrin*

3.3.19. *Hợp chất AD16: Kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside*

3.3.20. *Hợp chất AD17: 4-O-Methyl burseneolignan (Hợp chất mới)*

Chất bột, màu trắng. HR-TOF-MS m/z 475,1964 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{23}H_{32}O_9Na$ là 475,1944). $M = 452$. Công thức phân tử: $C_{23}H_{32}O_9$. Phổ 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ ppm: 6,78 (2H, s, H-2, H-6), 5,03 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-7), 4,11 (1H, m, H-8), 3,40 (1H, dd, $J = 4,0; 12,0$ Hz, H_a-9), 3,81 (1H, dd, $J = 4,8; 12,0$ Hz, H_b-9), 6,55 (2H, s, H-2', H-6'), 2,65 (2H, t, $J = 7,8$ Hz, H-7'), 1,84 (2H, m, H-8'), 3,59 (2H, t, $J = 6,5$, H-9'), 3,86 (6H, s, 3,5-OCH₃), 3,76 (3H, s, 4-OCH₃), 3,84 (6H, s, 3',5'-OCH₃).

Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ ppm: 138,4 (C-1), 105,3 (C-2, C-6), 154,2 (C-3, C-5), 138,4 (C-4), 74,4 (C-7), 88,4 (C-8), 61,9 (C-9), 140,3 (C-1'), 106,8 (C-2', C-6'), 154,1 (C-3', C-5'), 135,3 (C-4'), 33,4 (C-7'), 35,4 (C-8'), 62,1 (C-9'), 56,6 (3,5-OCH₃), 61,1 (4-OCH₃), 56,6 (3',5'-OCH₃).

3.3.21. *Hợp chất AD18: β -sistosterol*

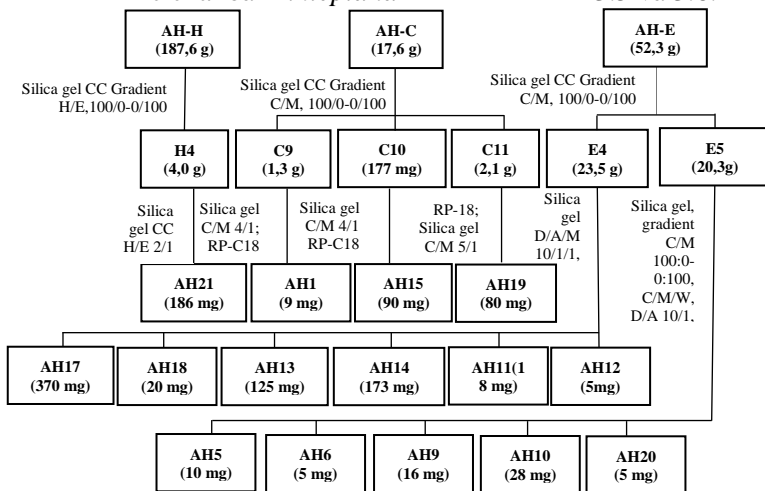
3.4. Tạo các cao chiết từ lá loài *A. hiiepiana*

Bột lá khô loài *A. hiiepiana* (2,5 kg), tiến hành tương tự như thực hiện với loài *A. dasyphylla*, thu được các căn phân đoạn tương ứng

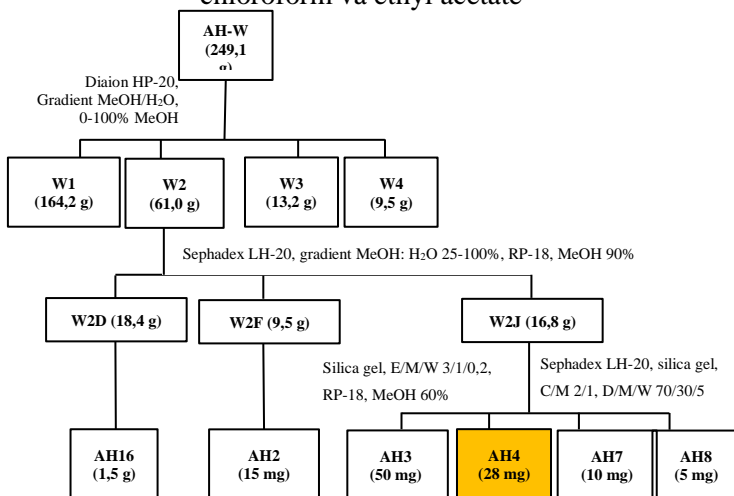
AH-H (187,6 g), AH-C (17,6 g), AH-E (52,3 g) và cặn nước (294,1g).

3.5. Phân lập các hợp chất từ loài *A. hiepiana*

Tiến hành phân lập các phân đoạn *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate và nước của loài *A.hiepiana* theo sơ đồ hình 3.5 và 3.6.



Hình 3.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ các phân đoạn *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate



Hình 3.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn nước

3.6. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài *A. hiepiana*

3.6.1. Hợp chất AH1: 3-O-(α -L-arabinopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl olean-12-en oic acid

3.6.2. Hợp chất AH2: Araliasaponin IV

3.6.3. Hợp chất AH3: Congmujingnoside B

3.6.4. Hợp chất AH4: 3-O-([β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3))- α -L-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình, màu trắng. Phổ khối HR-ESI-MS $[M+Na]^+$ m/z 1229,5934, (Tính toán lý thuyết cho công thức $C_{58}H_{94}O_{26}Na$, m/z 1229,5926). Công thức phân tử $C_{58}H_{94}O_{26}$. Phổ 1H NMR (500 MHz, pyridine- d_5) δ ppm: 3,20 (1H, dd, $J = 4,0, 11,0$ Hz, H-3), 5,37 (1H, t, H-12), 3,14 (1H, dd, $J = 3,5, 13,5$ Hz, H-18), 1,21 (3H, s, H-23), 1,03 (3H, s, H-24), 0,84 (3H, s, H-25), 1,04 (3H, s, H-26), 1,21 (3H, s, H-27), 0,84 (3H, s, H-29), 0,84 (3H, s, H-30), 4,72 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-1'), 5,32 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 5,21 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-1'''), 4,96 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'''), 6,18 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'''').

Phổ ^{13}C NMR (125 MHz, pyridine- d_5) δ ppm: 38,7 (C-1), 26,6 (C-2), 89,1 (C-3), 39,6 (C-4), 55,8 (C-5), 18,4 (C-6), 32,4 (C-7), 39,8 (C-8), 48,0 (C-9), 36,9 (C-10), 23,3 (C-11), 122,7 (C-12), 144,0 (C-13), 42,0 (C-14), 28,2 (C-15), 23,7 (C-16), 46,9 (C-17), 41,6 (C-18), 46,2 (C-19), 30,6 (C-20), 33,9 (C-21), 33,0 (C-22), 27,7 (C-23), 16,4 (C-24), 15,5 (C-25), 17,4 (C-26), 25,9 (C-27), 176,5 (C-28), 33,0 (C-29), 23,5 (C-30), 105,4 (C-1'), 77,2 (C-2'), 83,5 (C-3'), 68,7 (C-4'), 77,7 (C-5'), 62,3 (C-6'), 104,9 (C-1''), 74,0 (C-2''), 78,6 (C-3''), 71,3 (C-4''), 66,9 (C-5''), 104,9 (C-1'''), 74,9 (C-2'''), 78,3 (C-3'''), 75,7 (C-4'''), 70,6 (C-5'''), 69,1 (C-6'''), 104,9 (C-1'''), 78,3 (C-2'''),

78,2 (C-3'''''), 71,1 (C-4'''''), 65,9 (C-5'''''), 95,5 (C-1'''''), 73,6 (C-2'''''), 75,0 (C-3'''''), 71,3 (C-4'''''), 78,0 (C-5'''''), 62,4 (C-6''''').

3.6.5. *Hợp chất AH5: Quercetin*

3.6.6. *Hợp chất AH6: Apigenin 7-O-β-D-glucopyranoside*

3.6.7. *Hợp chất AH7: Quercetin-3-O-β-D-glucopyranosyl-7-O-α-L-rhamnopyranoside*

3.6.8. *Hợp chất AH8: Rutin*

3.6.9. *Hợp chất AH9: Methyl 3,4-dihydroxybenzoate*

3.6.10. *Hợp chất AH10: Methyl caffeate*

3.6.11. *Hợp chất AH11: Acid caffeic*

3.6.12. *Hợp chất AH12: 2-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid*

3.6.13. *Hợp chất AH13: Methyl-α-L-rhamnopyranoside*

3.6.14. *Hợp chất AH14: Methyl-α-D-glucopyranoside*

3.6.15. *Hợp chất AH15: Kaempferitrin*

3.6.16. *Hợp chất AH16: Matesaponin 1*

3.6.17. *Hợp chất AH17: Acid ursolic*

3.6.18. *Hợp chất AH18: Kaempferol*

3.6.19. *Hợp chất AH19: Kaempferol 3-O-β-D-glucopyranosyl-7-O-α-L-rhamnopyranoside*

3.6.20. *Hợp chất AH20: Kaempferol-7-O-α-L-rhamnoside*

3.6.21. *Hợp chất AH21: β-sistosterol*

3.7. Thủy phân xác định các gốc đường

Thủy phân các hợp chất triterpenoid saponin mới (**AD10**, **AH4**) dựa theo phương pháp của nhóm tác giả M. Haddad [122]. Mỗi saponin (2 mg) cho phản ứng với CH₃COOH 2 N (5 mL) trong 2 h ở 100⁰C. Sau đó, đem dung dịch sau thủy phân trích với CHCl₃ (3 x 5 mL). Lốp nước được loại bớt dung môi và được tiến hành chấm sắc ký TLC giải ly bằng hệ dung môi chloroform: acid acetic: nước 6:7:1 so với các đường chuẩn (L-arabinose R_f = 0,61; D-glucose R_f = 0,55; D-xylose R_f = 0,63) [123].

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

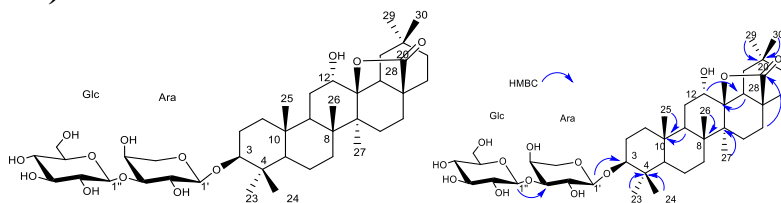
4.1. Kết quả nghiên cứu loài *A. dasyphylla*

Từ dịch chiết MeOH của lá loài *A. dasyphylla* đã phân lập được 21 hợp chất gồm:

- 01 hợp chất triterpene saponin mới: **AD10**
- 01 hợp chất lignan mới: **AD17**
- 12 hợp chất triterpene đã biết: **AD1, AD2, AD3, AD4a, AD4b, AD5a, AD5b, AD6a, AD6b, AD7, AD8, AD9**
- 06 hợp chất flavonoid: **AD11, AD12, AD13, AD14, AD15, AD16**
- 01 hợp chất sterol: **AD18**.

4.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *A. dasyphylla*

4.1.1.10. Hợp chất **AD10**: 3-O-(β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl) 12 α -hydroxyoleanan-28,13-olide (Hợp chất mới)



Hình 4.10. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **AD10**

Hợp chất **AD10** được phân lập dưới dạng bột màu trắng.

Phổ ESI-MS chế độ positive của hợp chất **AD10** xuất hiện các peak tín hiệu tại m/z 767,3 $[M+H]^+$, 605,4 $[M+H-Glc]^+$, 473,3 $[M+H-Glc-Ara]^+$, 455,3 $[M+H-Glc-Ara-H_2O]^+$, 445,3 $[M+H-Glc-Ara-CO]^+$, 427,3 $[M+H-Glc-Ara-HCOOH]^+$, do đó khối lượng phân tử của hợp chất là $M = 766$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{41}H_{66}O_{13}$.

Phân tích các phổ của hợp chất **AD10** cho thấy phần aglycone hoàn toàn tương tự với hợp chất **AD9** với cấu trúc 12 α -

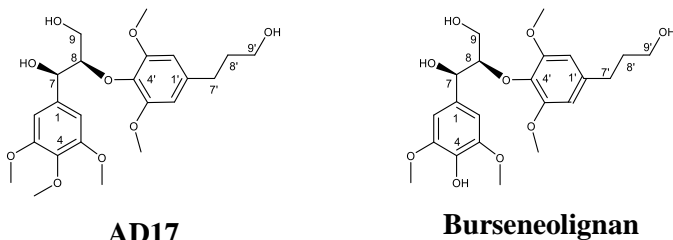
hydroxyoleanan-28,13-olide. Phổ ^1H NMR của hợp chất **AD10** xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_{H} 1,03 (s, H-23), 0,84 (s, H-24), 0,91 (s, H-25), 1,20 (s, H-26), 1,40 (s, H-27), 1,00 (s, H-29), 0,91 (s, H-30), tín hiệu của nhóm hydroxymethine xuất hiện tại δ_{H} 4,17 (t, $J = 2,0$ Hz, H-12). Đồng thời xuất hiện tín hiệu của hai proton anomer gốc đường tại δ_{H} 4,26 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1') và δ_{H} 4,53 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''). Với hằng số tương tác nhỏ ($J = 2,0$ Hz) có thể thấy nhóm hydroxymethine tại vị trí H-12 có cấu hình α .

Phổ ^{13}C NMR kết hợp với phổ DEPT xuất hiện tín hiệu của 41 carbon trong đó bao gồm: 13 carbon methine, 11 carbon methylen, 7 carbon methyl, 6 carbon bậc bốn, 1 carbon bậc ba liên kết với oxygen, 2 carbon hydroxymethine (δ_{C} 89,3 và 65,4) và 1 nhóm carboxyl (δ_{C} 179,3).

Trên phổ HMBC xuất hiện tín hiệu tương tác giữa proton anomer δ_{H} 4,26 (H-1', Ara) với khung aglycone tại vị trí C-3 (δ_{C} 89,3) và proton anomer δ_{H} 4,53 (H-1'', Glc) tương tác với vị trí C-3' (δ_{C} 83,0, Ara), từ đó cho phép xác định gốc đường Ara gắn vào vị trí C-3 của khung aglycone và gốc đường Glc gắn vào vị trí C-3' của gốc đường Ara. Như vậy, gốc đường Glc(1 \rightarrow 3)Ara gắn vào khung aglycone tại vị trí C-3. Các tương tác còn lại tương tự như hợp chất **AD9**. Ngoài ra, lớp nước của dung dịch sau thủy phân **AD10** được tiến hành chấm sắc ký bản mỏng với hệ dung môi chloroform/acetic acid/nước (6:7:1) cho thấy trùng khớp với các đường chuẩn là L-arabinose ($R_{\text{f}} = 0,61$) và D-glucose ($R_{\text{f}} = 0,55$).

Từ thông tin các phổ có thể kết luận hợp chất **AD10** là 3-*O*-(β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl)-12 α -hydroxy-oleanan-28,13-olide. Hợp chất **AD10** là một hợp chất mới và có cấu trúc như hình 4.10.

4.1.1.17. Hợp chất AD17: 4-O-Methyl burseneolignan (Hợp chất mới)



Hình 4.23. Cấu trúc hóa học của **AD17** và burseneolignan
Hợp chất **AD17** được phân lập dưới dạng chất bột màu trắng.

Phổ khối lượng phân giải cao HR-TOF-MS của hợp chất **AD17** cho peak ion giả phân tử $[M+Na]^+$ tại m/z 475,1964 (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{23}H_{32}O_9Na$ là 475,1944), $M = 452$, cho phép xác định công thức phân tử hợp chất **AD17** là $C_{23}H_{32}O_9$.

Phổ 1H NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 02 cặp proton thơm đối xứng tại δ_H 6,78 (2H, s, H-2 và H-6) và 6,55 (2H, s, H-2' và H-6'), 05 nhóm methoxy tại δ_H 3,86 (6H, s, 5-OMe), 3,76 (3H, s, 4-OMe) và 3,84 (6H, s, 3', 5'-OMe), 02 nhóm oxymethine tại δ_H 5,03 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-7) và 4,11 (1H, td, $J = 4,0, 6,5$ Hz, H-8), 02 nhóm oxymethylen tại δ_H 3,40 (1H, dd, $J = 4,0, 12,0$ Hz, H_a -9/3,81 (1H, dd, $J = 4,0, 12,0$ Hz, H_b -9) và 3,59 (2H, t, $J = 6,5$ Hz, H-9') và 02 nhóm methylen tại δ_H 2,65 (2H, t, $J = 7,8$ Hz, H-7') và 1,84 (2H, m, H-8').

Trên phổ ^{13}C NMR của **AD17** xuất hiện các tín hiệu của 23 nguyên tử carbon trong đó 12 tín hiệu thuộc về hai vòng thơm bị thế vị trí 1,3,4,5; 05 nhóm methoxy δ_C 56,6 (3, 5-OMe), 61,1 (4-OMe) và 56,6 (3', 5'-OMe); 02 nhóm oxymethine δ_C 74,4 (C-7) và 88,4 (C-8); 02 nhóm oxymethylen δ_C 61,9 (C-9) và 62,1 (C-9') và 02 nhóm methylen δ_C 33,4 (C-7') và 35,4 (C-8'). Số liệu phổ ^{13}C -NMR của **AD17** tương tự như các số liệu phổ tương ứng của burseneolignan

[140], ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_C 61,1. Đồng thời, sự xuất hiện thêm nhóm thế này cũng có tác dụng hút điện tử dẫn đến các tín hiệu tại C-1, C-3, C-4, C-5 xuất hiện vùng trường cao hơn với hợp chất so sánh buseneolignan có cấu trúc tương tự.

Trên phổ HMBC xuất hiện tín hiệu tương tác giữa proton tại δ_H 5,03 (H-7) và các carbon C-1 (δ_C 138,4), C-2 (δ_C 105,3), C-6 (δ_C 105,3), C-8 (δ_C 88,4); tương tác giữa proton của nhóm methoxyl tại δ_H 3,86 và C-3 (δ_C 154,2), C-5 (154,2); tương tác giữa proton của nhóm methoxy tại δ_H 3,76 với C-4 (δ_C 138,4) cho phép xác định tín hiệu của một vòng thơm thế 4 vị trí có dạng 3,4,5-trimethoxyphenyl. Tương tác giữa các proton H-2, H-6 (δ_H 6,78) và C-7 (δ_C 74,4) cho phép xác định nhóm 3,4,5-trimethoxyphenyl tương tác với nhóm 2-hydroxyl-hydroxymethyl-ethyl tạo thành 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl. Tương tác giữa H-8 (δ_H 4,11) và C-4' (δ_C 135,3) cho phép xác định hợp chất **AD17** là hợp chất lignan có dạng 8-*O*-4' neolignan. Hằng số tương tác giữa H-7 và H-8 là tương đối lớn $J = 6,5$ Hz, so sánh với số liệu phổ ^1H NMR [140] và ^{13}C NMR [141] của các hợp chất tương tự có cấu hình *erythro* và *threo*. Đồng thời, giá trị $\Delta\delta_{\text{H-9a-H9b}}$ đo trong CD_3OD của hợp chất **AD17** là **0,41** theo tài liệu công bố N.Hao [142], Y.N.Yang [143] chứng tỏ cấu hình vị trí H-7 và H-8 là *threo*.

Phân tích chi tiết các tương tác HMBC khác cùng với sự phù hợp về số liệu phổ ^{13}C NMR cho phép xác định chính xác cấu trúc hóa học của **AD17** như được đưa ra ở hình 4.23. Kết hợp thông tin các phổ và so sánh tài liệu tham khảo [140], hợp chất **AD17** được xác định là 4-*O*-Methyl burseneolignan. **Đây là một hợp chất mới.**

4.1.2. Kết quả thử hoạt tính sinh học loài *A. dasyphylla*

4.1.2.1. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào *in vitro*

Kết quả thử hoạt tính của cao chiết MeOH của lá cây *A.*

dasyphylla có hoạt tính gây độc tế bào trên cả hai dòng tế bào ung thư nghiên cứu HepG2 và RD với giá trị IC₅₀ lần lượt là 7,82 và 9,10 µg/mL, các cao chiết *n*-hexane và nước có hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng ung thư nghiên cứu với giá trị trong khoảng 30-37 µg/mL.

Bảng 4.17. Giá trị % tế bào còn sống sau khi thử một số hợp chất

T T	Ký hiệu mẫu	Nồng độ đầu (µg/mL)	Dòng tế bào/Giá trị CS (%)		
			HepG2	LU-1	RD
	Dung môi	-	100	100	100
	Chứng (+)	5	1,25±0,3	1,87±0,2	0
1	AD1	5	68,42±0,96	29,61±0,15	66,79±1,51
2	AD2	5	37,2±2,30	15,12±0,60	70,0±2,19
3	AD3	5	98,28±0,95	78,70±1,15	98,42±1,47
4	AD4	5	45,98±1,45	25,11±1,54	72,81±1,56
5	AD5	5	59,88±1,80	65,52±2,53	64,52±1,34
6	AD6	5	97,01±0,90	76,47±2,00	95,57±1,90
7	AD7	5	0	18,51±1,20	67,13±2,17
8	AD8	5	98,04±1,66	78,2±3,06	98,77±2,00
9	AD9	5	91,72±1,23	74,89±1,82	97,54±2,32
10	AD10	5	96,25±2,41	81,54±2,84	97,53±1,74
11	AD14	5	79,30±0,70	75,87±2,80	90,40±1,67
12	AD15	5	99,04±0,57	84,89±1,77	99,87±0,21
13	AD17	5	92,37±1,30	99,32±0,20	92,63±0,10
14	Saponin tổng	20	93,65±1,64	79,67±0,14	91,99±0,99

Chứng (+): Ellipticine

Bảng 4.18. Giá trị IC₅₀ của hợp chất có hoạt tính

TT	KH mẫu	Dòng tế bào/Giá trị IC ₅₀ (µM)		
		HepG2	LU-1	RD
	Chứng (+)	1,22	1,30	1,78
1	AD1	-	7,04	-
2	AD2	5,36	2,85	-
3	AD4	7,21	4,56	-
4	AD7	3,24	2,55	-

Chứng (+): Ellipticine

Hợp chất **AD2**, **AD4** và **AD7** biểu hiện hoạt tính gây độc với cả 2 dòng tế bào HepG2 và LU-1 với giá trị IC_{50} lần lượt là **AD2** (5,36, 2,85 μ M), **AD4** (7,21, 4,56 μ M), **AD7** (3,24, 2,55 μ M). Hợp chất **AD1** biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào LU-1 với giá trị IC_{50} là 7,04 μ M. Các mẫu thử còn lại đều không biểu hiện hoạt tính gây độc với 3 dòng tế bào HepG2, LU-1 và RD.

4.1.2.2. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học *in silico*

Kết quả docking cho thấy có 6/9 hợp chất có năng lượng tự do liên kết thấp hơn chất chứng dương **5RE** bao gồm: **AD2** (-11,54 kcal/mol), **AD3** (-10,40 kcal/mol), **AD4a** (-10,40 kcal/mol), **AD4b** (-10,03 kcal/mol), **AD5a** (-9,95kcal/mol), **AD7** (-11,61 kcal/mol), có thể thấy hai hợp chất **AD2** và **AD7** là hai hợp chất có năng lượng tự do liên kết âm nhất. Hầu hết các hợp chất đều tạo được các liên kết với các acid amin và trong số đó có hợp chất **AD5a** có các liên kết hydrophilic và hydrogen hoàn toàn tương tự với chất chuẩn **5RE**.

Đánh giá các hợp chất thử nghiệm có 5/9 hợp chất đáp ứng 2 tiêu chí hoặc nhiều hơn 2 tiêu chí của quy tắc Lipinski 5 bao gồm các hợp chất **AD1**, **AD4a**, **AD4b**, **AD5a** và **AD5b**, do đó những hợp chất này thế là những ứng cử viên tiềm năng để phát triển thuốc. Tất cả các hợp chất không có độc tính cấp tính, độc tính với gan.

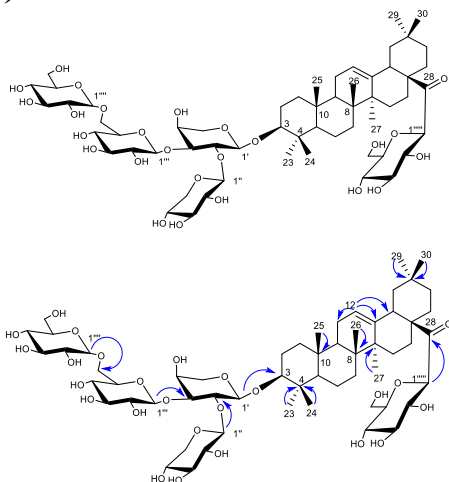
4.2. Kết quả nghiên cứu loài *A. hiepiana*

Từ lá loài *A. hiepiana* đã phân lập được **21** hợp chất gồm:

- 01 hợp chất triterpene saponin mới: **AH4**
- 05 hợp chất triterpene: **AH1**, **AH2**, **AH3**, **AH16**, **AH17**
- 08 hợp chất flavonoid: **AH5**, **AH6**, **AH7**, **AH8**, **AH15**, **AH18**, **AH19**, **AH20**
- 04 hợp chất vòng thơm: **AH9**, **AH10**, **AH11**, **AH12**
- 02 hợp chất khác: **AH13**, **AH14**, **AH21**.

4.2.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *A. hiepiana*

4.2.1.4. Hợp chất AH4: 3-O-([β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-[β-D-glucopyranosyl-(1→6)]-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-β-D-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester (Hợp chất mới)



Hình 4.35. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **AH4**

Hợp chất **AH4** được phân lập dưới dạng bột vô định hình, màu trắng. Phổ khối HR-ESI-MS của hợp chất **AH4** xuất hiện peak ion giả phân tử $[M+Na]^+$ tại m/z 1229,5934 (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{58}H_{94}O_{26}Na$ m/z 1229,5926), vì vậy công thức phân tử của **AH4** là $C_{58}H_{94}O_{26}$.

Phổ 1H NMR của hợp chất **AH4** xác nhận tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_H 1,21 (s, H-23), 1,03 (s, H-24), 0,84 (s, H-25), 1,04 (s, H-26), 1,21 (s, H-27), 0,84 (s, H-29), 0,84 (s, H-30). Tín hiệu của một proton olefinic xuất hiện tại δ_H 5,38 (t, $J = 3,5$ Hz, H-12), tín hiệu của 5 proton anomer tại δ_H 4,72 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1', Ara.), 5,33 (d, $J = 7,0$ Hz, H-1'', Xyl), 5,21 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1''', Glc I), 4,96 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1''''', Glc II), và 6,18 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1''''', Glc III).

Phổ ^{13}C NMR và phổ DEPT của hợp chất **AH4** xuất hiện tín hiệu của 7 carbon methyl tại δ_{C} 27,7 (C-23), 16,4 (C-24), 15,5 (C-25), 17,4 (C-26), 25,9 (C-27), 33,0 (C-29) và 23,5 (C-30), một cặp tín hiệu của nhóm olefinic đặc trưng cho khung triterpen olean-12-en xuất hiện tại δ_{C} 122,7 (C-12) và 144,0 (C-13). Tín hiệu của một carbon carboxyl xuất hiện tại δ_{C} 176,5. Tín hiệu của 5 carbon anomer gốc đường xuất hiện tại δ_{C} 105,4 (C-1', Ara), 104,9 (C-1'', Xyl), 104,9 (C-1''', Glc-I), 104,9 (C-1''', Glc-II), và δ_{C} 95,5 (C-1''', Glc-III).

Phân tích phổ HMBC xuất hiện tín hiệu tương tác giữa proton anomer của gốc đường tại δ_{H} 4,72 (H-1', Ara) với carbon C-3 (δ_{C} 89,1); tương tác giữa proton anomer của gốc đường tại δ_{H} 5,33 (H-1'', Xyl) với carbon C-2' (δ_{C} 77,2, Ara), tương tác giữa proton anomer của gốc đường tại δ_{H} 5,21 (H-1''', Glc-I) với carbon C-3' (δ_{C} 83,5, Ara) và tương tác giữa proton anomer của gốc đường tại δ_{H} 4,96 (H-1''', Glc II) với carbon C-6''' (δ_{C} 69,1, Glc I). Như vậy, gốc đường ([Xyl (1 \rightarrow 2)], [Glc-(1 \rightarrow 6) Glc (1 \rightarrow 3)] Ara) gắn vào khung aglycone tại vị trí C-3. Bên cạnh đó, xuất hiện tín hiệu tương tác giữa proton anomer gốc đường tại δ_{H} 6,18 (H-1''', Glc III) với vị trí C-28 (δ_{C} 176,5) cho phép xác định có một gốc đường gắn vào vị trí C-28 của khung aglycone. Ngoài ra, lớp nước của dung dịch sau thủy phân của hợp chất **AH4** được tiến hành chấm sắc ký bản mỏng với hệ dung môi chloroform: acetic acid:nước (6:7:1) cho thấy trùng khớp với các đường chuẩn là L-arabinose (R_{f} = 0,6), D-glucose (R_{f} = 0,55) và D-xylose (R_{f} = 0,63).

Phổ HSQC xác nhận các tín hiệu tương tác giữa các proton và các carbon tương ứng.

Từ thông tin các phổ kết hợp so sánh so sánh cấu trúc của các hợp chất gần tương tự có thể kết luận cấu trúc của hợp chất **AH4** là 3-O-([β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-glucopyranoside-(1 \rightarrow 6)]- β -

D-glucopyranosyl-(1→3)]- α -L-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester, đây là một hợp chất saponin triterpen mới và có cấu trúc như hình 4.35.

4.2.2. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của loài *A. hiepihana*

Dịch chiết MeOH của lá loài *A. hiepihana* không có hoạt tính gây độc tế bào trên cả hai dòng tế bào ung thư HepG2 và RD. Tiến hành thử gây độc tế bào trên các dòng ung thư HepG2, LU-1, RD và HeLa đối với các hợp chất saponin phân lập từ lá cây *A. hiepihana* cho thấy chỉ có hợp chất **AH1** có biểu hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng HeLa tại nồng độ thử nghiệm với giá trị IC_{50} là 13,19 μ M.

Bảng 4.28. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất

T T	Ký hiệu mẫu	Nồng độ đầu (μ g/mL)	Dòng tế bào/Giá trị CS (%)		
			HepG2	LU-1	HeLa
	DMSO	-	100	100	
	Chứng (+)	5	1,25\pm0,3	1,87\pm0,2	
1	AH1	10	53,65 \pm 0,27	61,30 \pm 1,18	45,85\pm1,71
2	AH2	10	99,45 \pm 0,43	99,53 \pm 0,27	99,63 \pm 0,24
3	AH3	10	98,22 \pm 1,10	97,96 \pm 1,38	99,57 \pm 0,16
4	AH4	10	99,71 \pm 0,16	98,32 \pm 0,76	98,90 \pm 0,61
5	AH15	5	98,75 \pm 0,68	99,69 \pm 0,3	

Chứng (+): Ellipticine

Bảng 4.29. Giá trị IC_{50} của mẫu có hoạt tính

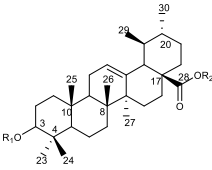
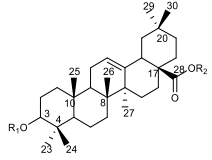
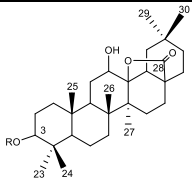
TT	KH mẫu	Giá trị IC_{50} (μ M)/Dòng tế bào HeLa
	Đối chứng (+)	0,85
1	AH1	13,19

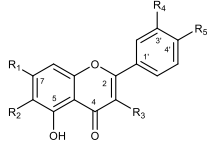
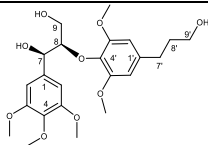
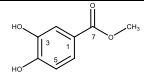
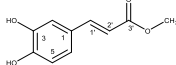
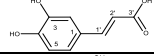
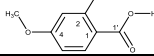
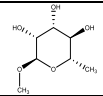
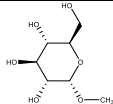
Chứng (+): Ellipticine

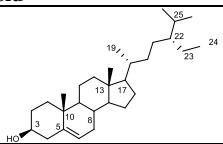
4.3. Tổng hợp các kết quả nghiên cứu

Từ lá hai loài *A. dasyphylla* và *A. hiepinana* đã phân lập được 35 hợp chất, chủ yếu thuộc các lớp chất triterpenoid, flavonoid, lignan, phenolic và sterol.

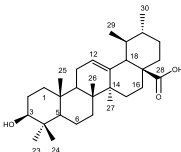
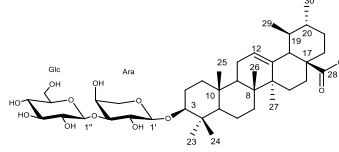
Bảng 4.30. Tổng hợp kết quả phân lập các hợp chất từ hai loài nghiên cứu

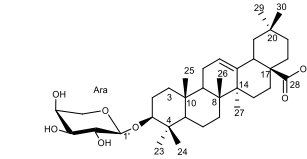
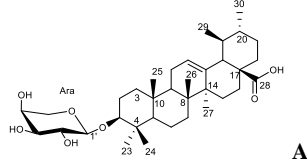
Ký hiệu	Tên hợp chất	Cấu trúc
Các hợp chất triterpene		
AD1=AH17	Acid ursolic	 <p>AD1: R₁ = H, R₂ = H AD2: R₁ = Glc (1→3) Ara, R₂ = H AD3: R₁ = Glc (1→3) Ara, R₂ = Glc AD4b: R₁ = Ara, R₂ = H AD5b: R₁ = H, R₂ = Glc AD6b: R₁ = [Xyl (1→2), Glc (1→3)] Ara, R₂ = Glc</p>
AD2	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl(1→3)-α-L-arabinopyranosyl <i>O</i> -ursanolic acid	
AD3=AH16	Matesaponin 1	
AD4b	3- <i>O</i> -α-L-arabinopyranosyl ursolic acid	
AD5b	Ursolic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl ester	
AD6b	Araliasaponin VIII	
AD4a	3- <i>O</i> -α-L-arabinopyranosyl oleanolic acid	 <p>AD4a: R₁ = Ara, R₂ = H AD5a: R₁ = H, R₂ = Glc AD6a: R₁ = [Xyl (1→2), Glc (1→3)] Ara, R₂ = Glc AD7: R₁ = [Xyl (1→2), Glc (1→3)] Ara, R₂ = H AD8: R₁ = Glc (1→2) Glc, R₂ = H AH1: R₁ = Glc (1→3) Ara, R₂ = Glc AH2: R₁ = [(Xyl (1→2)), (Glc (1→3))] Glc, R₂ = Glc AH3: R₁ = [Glc (1→6) Glc (1→3), Xyl (1→2)] Glc, R₂ = Glc AH4: R₁ = [Xyl (1→2), Glc-(1→6) Glc (1→3)] Ara, R₂ = Glc</p>
AD5a	Oleanolic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl ester	
AD6a	Elatoside F	
AD7	Elatoside E	
AD8	Acutside A	
AH1	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl (1→3)- <i>O</i> -α-L-arabinopyranosylolean-12-en-28-oic acid	
AH2	Araliasaponin IV	
AH3	Congmujingnoside B	
AH4 (Hợp chất mới)	3- <i>O</i> -[(β-D-xylopyranosyl(1→2)]-[β-D-glucopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-α-L-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl ester	
AD9 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Oleanderolide	 <p>AD9: R = H AD10: R = Glc (1→3) Ara</p>
AD10 (Hợp chất mới)	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl (1→3)-α-L-arabinopyranosyl) 12α-hydroxyolean-28 α ,13-olide	
Các hợp chất flavonoid		
AD11=AH18	Kaempferol	
AD12 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Hispidulin	
AD13	Eupafolin	

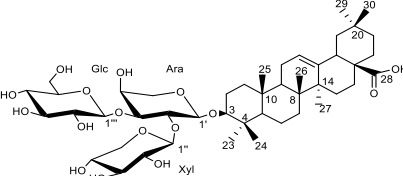
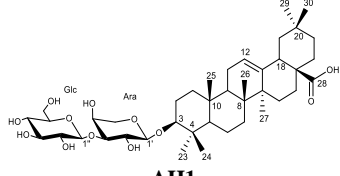
(Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)		 <p>AD11: R₁= OH, R₂= H, R₃= OH, R₄= H, R₅= OH AD12: R₁= OH, R₂= OCH₃, R₃= H, R₄= H, R₅= OH AD13: R₁= OH, R₂= OCH₃, R₃= H, R₄= OH, R₅= OH AD14: R₁= O-Rha, R₂= H, R₃= OH, R₄= H, R₅= OH AD15: R₁= O-Rha, R₂= H, R₃= O-Rha, R₄= H, R₅= OH AD16: R₁= O-Rha, R₂= H, R₃= O-Glc, R₄= H, R₅= OH AH5: R₁= OH, R₂= H, R₃= OH, R₄= OH, R₅= OH AH6: R₁= O-Glc, R₂= H, R₃= H, R₄= H, R₅= OH AH7: R₁= O-Rha, R₂= H, R₃= O-Glc, R₄= OH, R₅= OH AH8: R₁= O-Rha, R₂= H, R₃= O-Glc (6→1)Rha, R₄= OH, R₅= OH</p>
AD14=AH20	Kaempferol-7- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	
AD15=AH15	Kaempferitrin	
AD16=AH19 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Kaempferol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-7- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	
AH5	Quercetin	
AH6 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Apigenin 7- <i>O</i> - β -glucoside	
AH7	Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-7- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	
AH8 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Rutin	
Hợp chất lignan		
AD17 (Hợp chất mới)	4- <i>O</i> -Methyl burseneolignan	
Hợp chất vòng thơm		
AH9	Methyl 3,4-dihydroxybenzoate	
AH10	Methyl caffeate	
AH11	Acid caffeic	
AH12	2-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid	
Hợp chất đường		
AH13 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Methyl α -L-rhamnopyranoside	
AH14 (Lần đầu phân lập từ chi <i>Aralia</i>)	Methyl α -D-glucopyranoside	

Hợp chất steroid		
AD18=AH21	β -sistosterol	

Cao chiết MeOH từ lá *A. dasyphylla* cho thấy có hoạt tính gây độc tế bào trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và RD với giá trị IC_{50} lần lượt là **7,81** và **9,1** $\mu\text{g/mL}$. Các cao chiết phân đoạn *n*-hexane, chloroform và nước cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên hai dòng ung thư HepG2 và RD với giá trị IC_{50} trong khoảng **32-37** $\mu\text{g/mL}$.

	
AD1 Thể hiện hoạt tính gây độc trên dòng tế bào LU-1 với giá trị IC_{50} là 7,04 μM .	AD2 Thể hiện hoạt tính gây độc trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và LU-1 với giá trị IC_{50} là 5,36, 2,85 μM . Đây là hợp chất có giá trị năng lượng tự do liên kết âm đứng thứ hai (-11,54 kcal/mol) so với chất chuẩn 5RE.

	
AD4a	AD4b
Thể hiện hoạt tính gây độc trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và LU-1 với giá trị IC_{50} là 7,21, 4,56 μM .	

	
AD7 Thể hiện hoạt tính gây độc trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và LU-1 với giá trị IC_{50} là 3,24, 2,55 μM . Đây là hợp chất có giá trị năng lượng tự do liên kết âm nhất (-11,61 kcal/mol) so với chất chuẩn 5RE.	AH1 Thể hiện hoạt tính gây độc trên dòng tế bào HeLa với giá trị IC_{50} là 13,19 μM .

Hình 4.52. Tổng hợp các kết quả hoạt tính sinh học

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Đây là công bố đầu tiên ở Việt Nam cũng như trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào của lá loài *A. dasyphylla* Miq. phân bố tại huyện Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng.

Đây là công bố đầu tiên ở Việt Nam cũng như trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính gây độc tế bào của lá loài *A. hiepiana* J. Wen & Lowry.

Từ lá hai loài nghiên cứu đã phân lập, định danh được **35** hợp chất và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào, cụ thể là:

1.1. Thành phần hóa học

Từ lá loài *A. dasyphylla* đã phân lập và nhận danh được 21 hợp chất. Trong đó, có 02 hợp chất mới và 19 hợp chất đã biết:

- 02 hợp chất mới là: 3-*O*-(β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl) 12 α -hydroxyoleanolic-28,13-olide (**AD10**), 4-*O*-Methyl burseneolignan (**AD17**).

- 13 hợp chất đã biết bao gồm: acid ursolic (**AD1**), 3-*O*- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-arabinopyranosyl ursanolic acid (**AD2**), matesaponin 1 (**AD3**), elatoside E (**AD7**), acutoside A (**AD8**), oleanderolide (**AD9**), kaempferol (**AD11**), hispidulin (**AD12**), eupafolin (**AD13**), kaempferol-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**AD14**), kaempferitrin (**AD15**), kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**AD16**), β -sistosterol (**AD18**).

- 06 hợp chất ở dạng hỗn hợp gồm elatoside F (**AD6a**) và araliasaponin VIII (**AD6b**), 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl oleanolic acid (**AD4a**) và 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl ursolic acid (**AD4b**), oleanolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (**AD5a**) và ursolic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (**AD5b**).

Từ lá loài *A. hiepiana* nghiên cứu đã phân lập được 21 hợp chất,

trong đó bao gồm 1 hợp chất mới và 20 chất đã biết:

- 01 hợp chất mới là 3-O-([β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**AH4**).

- 20 hợp chất đã biết là: 3-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)-O- α -L-arabinopyranosyl-olean-12-en-28-oic acid (**AH1**), araliasaponin IV (**AH2**), congmujingnoside B (**AH3**), quercetin (**AH5**), apigenin 7-O- β -glucoside (**AH6**), quercetin-3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside (**AH7**), rutin (**AH8**), methyl 3,4-dihydroxybenzoate (**AH9**), methyl caffeate (**AH10**), acid caffeic (**AH11**), 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**AH12**), methyl α -L-rhamnopyranoside (**AH13**), methyl α -D-glucopyranoside (**AH14**), kaempferitrin (**AH15**), matesaponin 1 (**AH16**), acid ursolic (**AH17**), kaempferol (**AH18**), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside (**AH19**), kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside (**AH20**), β -sistosterol (**AH21**).

1.2. Hoạt tính sinh học

+ Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro*

Cao chiết MeOH từ lá *A. dasyphylla* cho thấy có hoạt tính gây độc tế bào trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và RD với giá trị IC₅₀ lần lượt là 7,81 và 9,1 μ g/mL.

Thử hoạt tính sinh học của một số các hợp chất chọn lọc, cho thấy ba hợp chất **AD2**, **AD4** và **AD7** biểu hiện hoạt tính gây độc với cả 2 dòng tế bào HepG2 và LU-1 với giá trị IC₅₀ lần lượt là **AD2** (5,36, 2,85 μ M), **AD4** (7,21, 4,56 μ M), **AD7** (3,24, 2,55 μ M) và hợp chất **AD1** biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào LU-1 với giá trị IC₅₀ là 7,04 μ M. Hợp chất **AH1** biểu hiện hoạt tính gây độc với dòng tế bào HeLa với giá trị IC₅₀ là 13,19 μ M.

+ Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học *in silico*

Kết quả docking cho thấy có 6 hợp chất có năng lượng tự do liên kết thấp hơn chất chứng dương bao gồm: **AD2**, **AD3**, **AD4a**, **AD4b**, **AD5a**, **AD7**, trong số đó hai hợp chất **AD2** và **AD7** là hai hợp chất có năng lượng tự do liên kết âm nhất so với chất chuẩn **5RE**. Hợp chất **AD5a** là hợp chất liên kết với acid amin hoàn toàn tương tự với chất chuẩn **5RE**. Đồng thời, các hợp chất **AD1**, **AD4a**, **AD4b**, **AD5a** và **AD5b** đều đáp ứng 2 tiêu chí hoặc nhiều hơn 2 tiêu chí của quy tắc Lipinski 5 và có các thuộc tính ADMET tốt. Do vậy, thông qua kết quả đánh giá *in silico* có thể góp phần giải thích cơ chế hoạt tính gây độc tế bào đã được đánh giá thông qua thử nghiệm *in vitro* của các hợp chất như **AD2**, **AD7**, **AD4**, **AH1**.

2. KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài khác thuộc chi *Aralia* tại Việt Nam.

- Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính gây độc tế bào trên cơ chế ức chế vận chuyển glucose *in vitro* trên protein GLUT1.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Luận án cung cấp các kết quả đầu tiên về thành phần hóa học của lá loài *A. dasyphylla* Miq. Từ lá loài *A. dasyphylla* thu hái tại huyện Lạc Dương, Lâm Đồng đã phân lập và nhận danh được 21 hợp chất, trong đó có 02 hợp chất mới và 19 hợp chất đã biết.

2. Luận án cung cấp các kết quả đầu tiên về thành phần hóa học của lá loài *A. hiepiana* J.Wen & Lowry. Từ lá loài *A. hiepiana* thu hái tại Đà Lạt đã phân lập 21 hợp chất trong đó gồm 01 hợp chất mới và 20 hợp chất đã biết.

3. Luận án cung cấp các kết quả đầu tiên về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* và các kết quả đánh giá hoạt tính sinh học *in silico* trên protein GLUT1 của các hợp chất phân lập từ lá hai loài *A. dasyphylla* và *A. hiepiana*.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyen Thi Thu Hien**, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Dieu Thuan, Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen, Hoang Thi Ngoc Anh, Nguyen Xuan Ha, Pham Ngoc Khanh, Nguyen Manh Cuong, Nguyen Huu Toan Phan, *In vitro* and *in silico* cytotoxic activities of triterpenoids from the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq. and the assessment of their ADMET properties, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **2022**, **SCI**, **Q2**. (Online).

2. **Nguyen Thi Thu Hien**, Nguyen Thi Dieu Thuan, Pham Van Huyen, Truong Thi Anh Hong, Nguyen Huu Toan Phan. Flavonoids from the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq. (Araliaceae), *Vietnam Journal of Chemistry* 56(6), **2018**, 695-699.

3. Nguyen Thi Dieu Thuan, **Nguyen Thi Thu Hien**, Tran Minh Hao, Pham Van Huyen, Nguyen Huu Toan Phan. Flavonoids from the leaves of *Aralia hiepihana*, *Vietnam Journal of Science and Technology* 56 (4A), **2018**, 259-265.

4. **Nguyen Thi Thu Hien**, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Dieu Thuan, Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen, Nguyen Huu Toan Phan, Triterpenoid saponins from the leaves of *Aralia hiepihana*, *Vietnam Journal of Science and Technology* 58(6A), **2020**, 135-141.

5. **Nguyễn Thị Thu Hiền**, Nguyễn Hữu Hương Duyên, Nguyễn Thị Diệu Thuần, Phạm Văn Huyền, Trần Thị Ngọc Hạnh, Trần Minh Hào, Lê Thị Thanh Trân, Định lượng đồng thời kaempferol và kaempferitrin trong lá cây *Aralia hiepihana* J.Wen &Lowry bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, Tập 26, Số 4A, **2021**, 57-61.

6. Nguyễn Ngọc Thùy Trang, Nguyễn Hữu Toàn Phan, **Nguyễn Thị Thu Hiền**, Nguyễn Minh Hiệp, Nghiên cứu chiết xuất, phân lập axit ursolic từ lá cây *Aralia hiepihana* và khảo sát điều kiện đóng gói vào hệ tiểu phân nano lipid, Tạp chí Khoa học Trường đại học sư phạm Tp. Hồ Chí Minh, Tập 18, Số 12, **2021**.