

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 THÙY LINH

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC  
CỦA HAI LOÀI THỰC VẬT *IMPATIENS CHAPAENSIS* VÀ  
*IMPATIENS PARVISEPALA*

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ

NGUYỄN THỊ THÙY LINH

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ

NĂM 2023

*Hà Nội - 2023*

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN THỊ THÙY LINH

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA  
HAI LOÀI THỰC VẬT *IMPATIENS CHAPAENSIS* VÀ *IMPATIENS  
PARVISEPALA*

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ

Mã số: 9 44 01 14

Xác nhận của Học viện <sup>ghe</sup> Người hướng dẫn 1

Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 2



PHÓ GIÁM ĐỐC  
Nguyễn Thị Trung

PGS.TS. Nguyễn Thị  
Hoàng Anh

PGS.TS. Trịnh Thị Thủy

Hà Nội - 2023

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài thực vật *Impatiens chapaensis* và *Impatiens parvisepala*" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 20 tháng 09 năm 2023

**Tác giả luận án**



**Nguyễn Thị Thùy Linh**

## LỜI CẢM ƠN

*Luận án này được hoàn thành tại viện Hóa học, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.*

*Với lòng biết ơn chân thành, tôi xin cảm ơn PGS.TS. Nguyễn Thị Hoàng Anh và PGS. TS. Trịnh Thị Thủy – những người thầy đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, tận tình hướng dẫn giúp đỡ và có nhiều góp ý quý báu trong thời gian tôi thực hiện luận án.*

*Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể phòng Hóa sinh ứng dụng và phòng Nghiên cứu các Hợp chất thiên nhiên đã đồng viên, giúp đỡ tôi trong quá trình làm thực nghiệm cũng như thời gian hoàn thành luận án.*

*Tôi xin cảm ơn ban lãnh đạo viện Hóa học và Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo mọi điều kiện cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.*

*Tôi xin cảm ơn Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn đã hỗ trợ về mặt tài chính cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu theo chương trình học bổng thạc sĩ, tiến sĩ trong nước (VINIF.2022.TS065).*

*Tôi xin chân thành cảm ơn các anh chị Nghiên cứu sinh, bạn bè cùng gia đình đã luôn đồng viên tôi hoàn thành tốt luận án.*

***Tôi xin trân trọng cảm ơn !***

*Hà Nội, ngày 20 tháng 09 năm 2023*

**Tác giả luận án**

  
**Nguyễn Thị Thùy Linh**



## MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Tổng quan về chi <i>Impatiens</i> .....	3
1.1.1. Đặc điểm thực vật chi <i>Impatiens</i> .....	3
1.1.2. Sử dụng chi <i>Impatiens</i> trong y học cổ truyền.....	4
1.1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi <i>Impatiens</i> .....	4
1.1.3.1. Nhóm chất flavonoid.....	5
1.1.3.2. Nhóm chất triterpenoid.....	11
1.1.3.3. Nhóm chất steroid.....	16
1.1.3.4. Một số nhóm chất khác.....	17
1.1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi <i>Impatiens</i> .....	17
1.1.4.1. Hoạt tính kháng viêm.....	17
1.1.4.2. Hoạt tính hạ đường huyết.....	19
1.1.4.3. Một số hoạt tính sinh học khác.....	20
1.2. Tổng quan về 2 loài: Móc tai Sapa ( <i>Impatiens chapaensis</i> ) và Bóng nước đài hoa nhỏ ( <i>Impatiens parvisepala</i> ).....	21
1.2.1. Loài Móc tai Sapa ( <i>I. chapaensis</i> ).....	21
1.2.2. Loài Bóng nước đài hoa nhỏ ( <i>I. parvisepala</i> ).....	22
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	23
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	23
2.1.1. Nguyên liệu.....	23
2.1.2. Hóa chất.....	24
2.1.3. Thiết bị.....	25
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	25
2.2.1. Phương pháp chiết tách.....	25
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc.....	25
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học.....	26
2.2.3.1. Hoạt tính kháng viêm.....	26
2.2.3.2. Hoạt tính hạ đường huyết.....	28
2.3. Chiết tách và tinh chế các hợp chất từ 2 loài nghiên cứu.....	29
2.3.1. Loài Móc tai Sapa ( <i>I. chapaensis</i> ).....	29
2.3.1.1. Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết.....	29
2.3.1.2. Quy trình phân lập chất.....	30
2.3.1.3. Dữ liệu phổ các chất sạch phân lập được.....	33
2.3.2. Loài Bóng nước đài hoa nhỏ ( <i>I. parvisepala</i> ).....	36
2.3.2.1. Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết.....	36
2.3.2.2. Quy trình phân lập chất.....	37
2.3.2.3. Dữ liệu phổ các chất sạch phân lập được.....	39

<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>42</b>
<b>3.1. Phân tích, xác định cấu trúc các chất phân lập từ loài Móc tai Sapa</b>	
<b>(<i>I. chapaensis</i>).....</b>	<b>42</b>
<b>3.1.1. Các hợp chất flavonoid.....</b>	<b>42</b>
<b>3.1.2. Các hợp chất monophenol.....</b>	<b>61</b>
<b>3.1.3. Các hợp chất khác.....</b>	<b>68</b>
<b>3.2. Phân tích, xác định cấu trúc các chất phân lập từ loài Bóng nước đài</b>	
<b>hoa nhỏ (<i>I. parvisepala</i>) .....</b>	<b>82</b>
<b>3.2.1. Các hợp chất flavonoid.....</b>	<b>83</b>
<b>3.2.2. Các hợp chất triterpenoid.....</b>	<b>90</b>
<b>3.2.3. Các hợp chất khác.....</b>	<b>105</b>
<b>3.3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính sinh học .....</b>	<b>115</b>
<b>3.3.1. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm .....</b>	<b>115</b>
<b>3.3.2. Kết quả thử hoạt tính hạ đường huyết.....</b>	<b>117</b>
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>120</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>123</b>

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

$^1\text{H-NMR}$	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence	Phổ 2 chiều thể hiện tương tác giữa proton và các carbon qua 2, 3, hoặc 4 liên kết
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ 2 chiều thể hiện tương tác giữa carbon và proton gắn trực tiếp trên nó
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ 2 chiều thể hiện tương tác giữa proton của các carbon kế cận nhau
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ 2 chiều thể hiện tương tác giữa các proton gần nhau trong không gian
ESI-MS	Electron Spray Ionization-Mass Spectroscopy	Phổ khối ion hóa bằng phun mù điện tử
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization-Mass Spectroscopy	Phổ khối phân giải cao ion hóa bằng phun mù điện tử
s	Singlet	
d	Doublet	
t	Triplet	
q	Quartet	
quin	quintet	
dd	Doublet of doublet	
dt	Doublet of triplet	
br	Broad	
m	Multiplet	
J (Hz)		Hằng số tương tác giữa các proton, tính bằng Hz
$\delta$ (ppm)	Part per million	Độ dịch chuyển hóa học
CC	Column Chromatography	Sắc ký cột
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký bản mỏng
IC <sub>50</sub>	Inhibitory concentration 50%	Nồng độ ức chế 50%
<i>n</i> -hexane	<i>n</i> -C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	<i>n</i> -Hexane
EtOAc	CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Ethyl acetate
DMSO	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS	Dimethyl sulfoxide
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		Dichloromethane
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH	<i>n</i> -Butanol

## DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 1.1.</i> Các hợp chất flavonoid phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	7
<i>Bảng 1.2.</i> Các hợp chất triterpenoid phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	14
<i>Bảng 1.3.</i> Các hợp chất steroid phân lập từ các loài <i>Impatiens</i> .....	16
<i>Bảng 3.1.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC1</b> được so sánh với ( <i>S</i> )-naringenin...	43
<i>Bảng 3.2.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC2</b> được so sánh với ( <i>S</i> )-pinocembrin).....	45
<i>Bảng 3.3.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC3</b> được so sánh với kaempferol ...	48
<i>Bảng 3.4.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC4</b> được so sánh với quercetin .....	50
<i>Bảng 3.5.</i> Phổ <sup>1</sup> H-, <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC5</b> được so sánh với (±)-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone.....	52
<i>Bảng 3.6.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC6</b> được so sánh với phlorizin.....	55
<i>Bảng 3.7.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC7</b> được so sánh với hợp chất <b>IC6</b>	58
<i>Bảng 3.8.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC8</b> được so sánh với isoquercitrin .	61
<i>Bảng 3.9.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC9</b> được so sánh với methyl 4-hydroxybenzoate .....	63
<i>Bảng 3.10.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC10</b> được so sánh với methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate.....	65
<i>Bảng 3.11.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC11</b> được so sánh với isotachioside .....	68
<i>Bảng 3.12.</i> phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC12</b> được so sánh với uridine .....	69
<i>Bảng 3.13.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC13</b> được so sánh với spinasterol	71
<i>Bảng 3.14.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC14</b> được so sánh với isofraxidin	75
<i>Bảng 3.15.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC15</b> được so sánh với (7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-yemuoside YM1 .....	77
<i>Bảng 3.16.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IC16</b> được so sánh với ( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol.....	80
<i>Bảng 3.17.</i> Các chất phân lập từ loài Móc tai Sapa ( <i>I. chapaensis</i> ) .....	80
<i>Bảng 3.18.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP1</b> được so sánh với kaempferol- 3- <i>O</i> -rutinoside .....	85
<i>Bảng 3.19.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP2</b> được so sánh với apigenin-7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside.....	87

<i>Bảng 3.20.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP3</b> được so sánh với hợp chất isoquercitrin ( <b>IC8</b> ).....	88
<i>Bảng 3.21.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP4</b> được so sánh với hợp chất phlorizin ( <b>IC6</b> ) .....	89
<i>Bảng 3.22.</i> Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất <b>IP5</b> được so sánh với lupeol.....	93
<i>Bảng 3.23.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP6</b> được so sánh với ginsenoside Rg1.....	97
<i>Bảng 3.24.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của phần glycon hợp chất <b>IP7</b> được so sánh với hợp chất pittangretoside G.....	100
<i>Bảng 3.25.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP7</b> so sánh với hợp chất IPS-1 ...	102
<i>Bảng 3.26.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP8</b> được so sánh với $\alpha$ -tocopherylquinone.....	106
<i>Bảng 3.27.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP9</b> được so sánh với phytol .....	109
<i>Bảng 3.28.</i> Phổ <sup>1</sup> H- và <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>IP10</b> được so sánh với 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-sn-glycerol .....	111
<i>Bảng 3.29.</i> Các chất phân lập từ cây Bóng nước đài hoa nhỏ ( <i>I. parvisepala</i> ).....	113
<i>Bảng 3.30.</i> Khả năng ức chế sản sinh NO của một số hợp chất tách từ loài <i>I. chapaensis</i> .....	116
<i>Bảng 3.31.</i> Khả năng ức chế enzym $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất tách từ loài <i>I. chapaensis</i> .....	117
<i>Bảng 3.32.</i> Khả năng ức chế enzym $\alpha$ -glucosidase của các mẫu thử tách từ loài <i>I. parvisepala</i> .....	119
<i>Bảng 3.33.</i> Khả năng ức chế enzym $\alpha$ -glucosidase của chất mới Iparvisepala-1 ( <b>IP7</b> ).....	119



## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1. 1. Một số loài thuộc chi <i>Impatiens</i> được tìm thấy ở Việt Nam.....	3
Hình 1.2. Các hợp chất flavone mới được phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	5
Hình 1.3. Các hợp chất flavanone được phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	6
Hình 1.4. Hợp chất anthocyanin mới được phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	7
Hình 1.5. Các hợp chất flavonoid khác tìm thấy trong chi <i>Impatiens</i> .....	7
Hình 1.6. Một số hợp chất oleanane triterpenoid mới được phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	12
Hình 1.7. Baccharane triterpenoid phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	13
Hình 1.8. Ursane triterpenoid phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	13
Hình 1.9. Lupane triterpenoid phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	14
Hình 1.10. Hai hợp chất steroid mới được phân lập từ chi <i>Impatiens</i> .....	16
Hình 1.11. Một số hợp chất điển hình trong chi <i>Impatiens</i> có hoạt tính kháng viêm trong mô hình thử nghiệm <i>in vitro</i> .....	18
Hình 1.12. Một số hợp chất điển hình trong chi <i>Impatiens</i> cho hoạt tính kháng viêm trong mô hình thử nghiệm <i>in vivo</i> .....	19
Hình 1.13. Một số hợp chất điển hình trong chi có hoạt tính hạ đường huyết.....	20
Hình 2.1. Đặc điểm hình thái loài <i>I. chapaensis</i> .....	23
Hình 2.2. Đặc điểm hình thái loài <i>I. parvisepala</i> .....	24
Hình 2.3. Sơ đồ xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài <i>I. chapaensis</i> .....	30
Hình 2.4. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết <i>n</i> -hexane của loài <i>I. chapaensis</i> .....	31
Hình 2.5. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> của loài <i>I. chapaensis</i> .....	32
Hình 2.6. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết <i>n</i> -BuOH của loài <i>I. chapaensis</i> .....	33
Hình 2.7. Sơ đồ xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài <i>I. parvisepala</i> .....	37
Hình 2.8. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết <i>n</i> -hexane của loài <i>I. parvisepala</i> .....	38
Hình 2.9. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết <i>n</i> -BuOH của loài <i>I. parvisepala</i> .....	39
Hình 3.1. Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất ( <i>S</i> )-naringenin ( <b>IC1</b> )....	43
Hình 3.2. Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất ( <i>S</i> )-naringenin ( <b>IC1</b> )...	43
Hình 3.3. Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất ( <i>S</i> )- pinocembrin ( <b>IC2</b> )	45
Hình 3.4. Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất ( <i>S</i> )- pinocembrin ( <b>IC2</b> ) .....	45
Hình 3.5. Phổ CD của hợp chất ( <i>S</i> )-pinocembrin ( <b>IC2</b> ) .....	46

<i>Hình 3.6.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol ( <b>IC3</b> ) .....	47
<i>Hình 3.7.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol ( <b>IC3</b> ) .....	48
<i>Hình 3.8.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin ( <b>IC4</b> ) .....	50
<i>Hình 3.9.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin ( <b>IC4</b> ) .....	50
<i>Hình 3.10.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone ( <b>IC5</b> ) .....	51
<i>Hình 3.11.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone ( <b>IC5</b> ) .....	52
<i>Hình 3.12.</i> Phổ CD của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone ( <b>IC5</b> ) .....	52
<i>Hình 3.13.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất phlorizin ( <b>IC6</b> ) .....	54
<i>Hình 3.14.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất phlorizin ( <b>IC6</b> ) .....	54
<i>Hình 3.15.</i> Phổ HMBC của hợp chất phlorizin ( <b>IC6</b> ) .....	55
<i>Hình 3.16.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IC7</b> ) .....	56
<i>Hình 3.17.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IC7</b> ) .....	57
<i>Hình 3.18.</i> Tương tác HMBC của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IC7</b> ) .....	58
<i>Hình 3.19.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin ( <b>IC8</b> ) ....	59
<i>Hình 3.20.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin ( <b>IC8</b> ) ...	60
<i>Hình 3.21.</i> Phổ HMBC của hợp chất isoquercitrin ( <b>IC8</b> ) .....	60
<i>Hình 3.22.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate ( <b>IC9</b> ) .....	62
<i>Hình 3.23.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate ( <b>IC9</b> ) .....	63
<i>Hình 3.24.</i> Phổ HMBC của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate ( <b>IC9</b> ) .....	63
<i>Hình 3.25.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate ( <b>IC10</b> ) .....	64
<i>Hình 3.26.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate ( <b>IC10</b> ) .....	65
<i>Hình 3.27.</i> Phổ HMBC của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate ( <b>IC10</b> ) .....	65

<i>Hình 3.28.</i> Phổ (+)-ESI-MS của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate ( <b>IC10</b> )	66
<i>Hình 3.29.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hỗn hợp hai chất isotachioside ( <b>IC11</b> ) và uridine ( <b>IC12</b> )	67
<i>Hình 3.30.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hỗn hợp hai chất isotachioside ( <b>IC11</b> ) và uridine ( <b>IC12</b> )	68
<i>Hình 3.31.</i> Tương tác HMBC của hợp chất isotachioside ( <b>IC11</b> )	68
<i>Hình 3.32.</i> Tương tác HMBC của hợp chất uridine ( <b>IC12</b> )	69
<i>Hình 3.33.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) của hợp chất spinasterol ( <b>IC13</b> )	71
<i>Hình 3.34.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) của hợp chất spinasterol ( <b>IC13</b> )	71
<i>Hình 3.35.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất isofraxidin ( <b>IC14</b> )	73
<i>Hình 3.36.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất isofraxidin ( <b>IC14</b> )	74
<i>Hình 3.37.</i> Tương tác HMBC của hợp chất isofraxidin ( <b>IC14</b> )	74
<i>Hình 3.38.</i> Phổ HMBC của hợp chất isofraxidin ( <b>IC14</b> )	74
<i>Hình 3.39.</i> Tương tác HMBC của hợp chất (7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> )-yemuoside YM1 ( <b>IC15</b> )	76
<i>Hình 3.40.</i> Phổ CD của hợp chất (7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> )-yemuoside YM1 ( <b>IC15</b> )	77
<i>Hình 3.41.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) của hợp chất ( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol ( <b>IC16</b> )	78
<i>Hình 3.42.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) của hợp chất ( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol ( <b>IC16</b> )	79
<i>Hình 3.43.</i> Tương tác HMBC của hợp chất ( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol ( <b>IC16</b> )	79
<i>Hình 3.44.</i> Tương tác HMBC của hợp chất kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IP1</b> )	85
<i>Hình 3.45.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) của hợp chất apigenin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IP2</b> )	87
<i>Hình 3.46.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) của hợp chất apigenin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside ( <b>IP2</b> )	87
<i>Hình 3.47.</i> Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất phlorizin ( <b>IP4</b> )	90
<i>Hình 3.48.</i> Phổ <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất lupeol ( <b>IP5</b> )	92
<i>Hình 3.49.</i> Phổ <sup>13</sup> C NMR (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) của hợp chất lupeol ( <b>IP5</b> )	92
<i>Hình 3.50.</i> Tương tác HMBC của hợp chất lupeol ( <b>IP5</b> )	93
<i>Hình 3.51.</i> Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất lupeol ( <b>IP5</b> )	94

<i>Hình 3.52.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 ( <b>IP6</b> )	95
<i>Hình 3.53.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 ( <b>IP6</b> )	96
<i>Hình 3.54.</i> Tương tác HMBC của hợp chất ginsenoside Rg1 ( <b>IP6</b> )	97
<i>Hình 3.55.</i> Cấu trúc của hợp chất <b>IP7</b> và hợp chất pittangretoside G trong tài liệu	100
<i>Hình 3.56.</i> Tương tác COSY và HMBC của hợp chất Iparvisepala-1 ( <b>IP7</b> )	101
<i>Hình 3.57.</i> Cấu trúc của hợp chất <b>IP7</b> và hợp chất IPS-1 trong tài liệu	102
<i>Hình 3.58.</i> Phổ COSY của hợp chất Iparvisepala-1 ( <b>IP7</b> )	104
<i>Hình 3.59.</i> Phổ NOESY của hợp chất Iparvisepala-1 ( <b>IP7</b> )	104
<i>Hình 3.60.</i> Phổ HR-ESI-MS của hợp chất Iparvisepala-1 ( <b>IP7</b> )	105
<i>Hình 3.61.</i> Tương tác HMBC của hợp chất $\alpha$ -tocopherylquinone ( <b>IP8</b> )	106
<i>Hình 3.62.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất phytol ( <b>IP9</b> )	108
<i>Hình 3.63.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất phytol ( <b>IP9</b> )	108
<i>Hình 3.64.</i> Phổ HSQC của hợp chất phytol ( <b>IP9</b> )	109
<i>Hình 3.65.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (600 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]- <i>sn</i> -glycerol ( <b>IP10</b> )	111
<i>Hình 3.66.</i> Phổ $^{13}\text{C}$ NMR (150 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]- <i>sn</i> -glycerol ( <b>IP10</b> )	111
<i>Hình 3.67.</i> Phổ $^1\text{H}$ NMR (600 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất uracil ( <b>IP11</b> )	112
<i>Hình 3.68.</i> Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất uracil ( <b>IP11</b> )	113

## MỞ ĐẦU

Nằm trong khu vực có khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm, Việt Nam được thiên nhiên ưu đãi với thảm thực vật phong phú và đa dạng. Nước ta có nền y học cổ truyền với bề dày hàng nghìn năm lịch sử, nền y học dân tộc cũng không ngừng phát triển qua các thời kỳ đó. Nhiều bài thuốc, vị thuốc có tác dụng tốt trên lâm sàng nhưng chưa được nghiên cứu sâu về thành phần hóa học, tác dụng dược lý và độc tính. Nghiên cứu để khai thác, kế thừa, ứng dụng và phát triển nguồn thực vật làm thuốc đã, đang và sẽ là vấn đề có ý nghĩa khoa học, kinh tế và xã hội rất lớn ở nước ta.

Sự phát triển của nền khoa học hiện đại giúp chúng ta có thể phân tích sâu hơn về dược liệu, thành phần hóa học và tác dụng dược lý liên quan qua những nghiên cứu thực nghiệm. Ngày nay, việc tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính dược lý cao để làm thuốc là một xu thế được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm. Rất nhiều công bố được đưa ra hằng năm trên các tạp chí khoa học quốc gia cũng như quốc tế đề cập đến vấn đề phân lập và chiết tách các chất có hoạt tính sinh học từ các loài thực vật khác nhau tạo cơ sở khoa học trong việc sử dụng các bài thuốc dân gian chữa bệnh một cách hiệu quả, đồng thời đẩy mạnh phát triển lĩnh vực y dược nâng cao sức khỏe, phục vụ đời sống nhân dân. Giá trị của nhiều hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học không chỉ ở công dụng trực tiếp làm thuốc chữa bệnh, mà còn vì chúng có thể dùng làm các nguyên mẫu hoặc các cấu trúc dẫn đường cho sự phát triển và phát hiện nhiều dược phẩm mới. Nghiên cứu hoá học theo định hướng hoạt tính sinh học là con đường ngắn và hiệu quả nhất để tìm kiếm các hoạt chất từ nguồn tài nguyên tái tạo này.

Các loài thực vật thuộc chi Bóng nước (*Impatiens*), họ Balsaminaceae được biết đến trong y học dân gian ở nhiều vùng trên thế giới trong việc điều trị các bệnh khác nhau nhưng chủ yếu tập trung vào các bệnh liên quan đến viêm nhiễm và tiêu đường. Kết quả nghiên cứu hóa học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi Bóng nước cho thấy có nhiều hợp chất mới có cấu trúc thú vị thể hiện những hoạt tính sinh học quý báu như kháng viêm, hạ đường huyết, chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, ... Ở Việt Nam, một số loài thuộc chi *Impatiens* đã được sử dụng trong dân gian trong việc chữa trị nhiều bệnh, tuy nhiên chưa có



ngiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài này được thực hiện.

Vì vậy luận án đã lựa chọn 2 loài thuộc chi *Impatiens* phân bố ở Việt Nam gồm Móc tai Sapa (*Impatiens chapaensis*) và Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala*) làm đối tượng nghiên cứu với mục tiêu làm sáng tỏ thành phần hoá học và hoạt tính sinh học (đặc biệt là hoạt tính kháng viêm, hạ đường huyết), nhằm tạo cơ sở khoa học để có thể sử dụng, khai thác có hiệu quả nguồn hoạt chất từ hai cây này. Đây là lần đầu tiên 2 loài nêu trên được nghiên cứu về hóa học và khảo sát hoạt tính kháng viêm (thông qua khả năng ức chế sản sinh NO) và hạ đường huyết (thông qua khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase) của một số hợp chất phân lập được.

Luận án “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài thực vật *Impatiens chapaensis* và *Impatiens parvisepala*” được thực hiện với mục tiêu sau:

- Nghiên cứu thành phần hóa học của 2 loài thuộc chi *Impatiens*, gồm: loài Móc tai Sapa (*Impatiens chapaensis*) và loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala*);
- Tìm kiếm các chất kháng viêm (thông qua khả năng ức chế sản sinh NO) và hạ đường huyết (thông qua khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase) trong số các chất phân lập được.

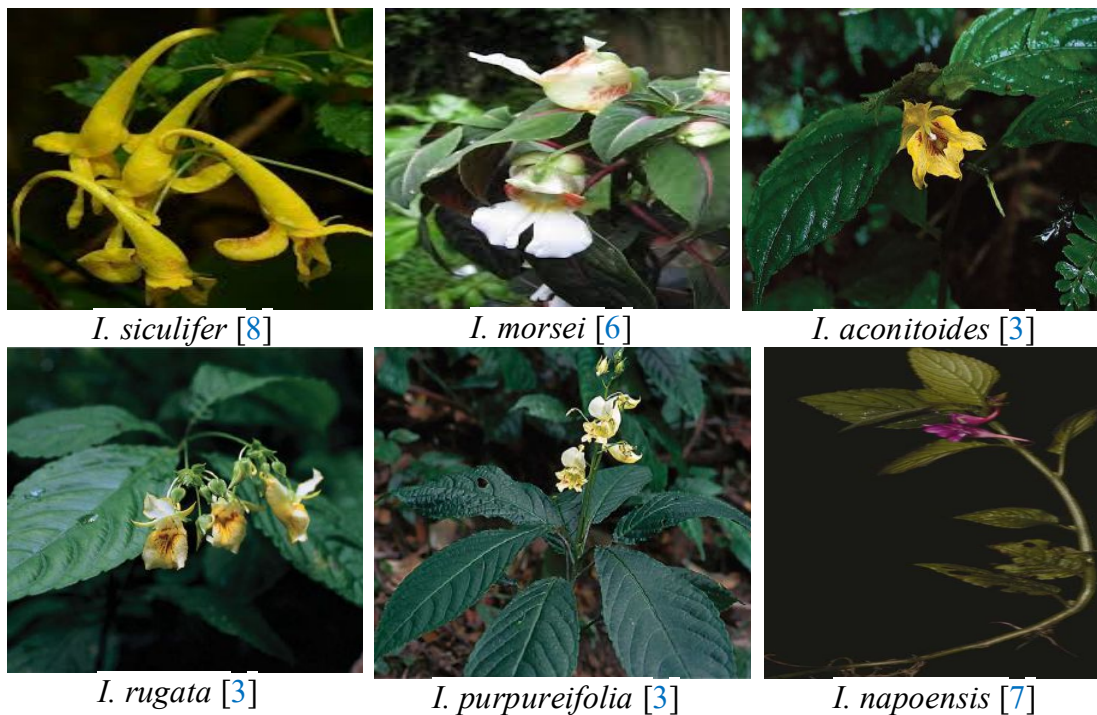
## Chương 1. TỔNG QUAN

### 1.1. Tổng quan về chi *Impatiens*

#### 1.1.1. Đặc điểm thực vật chi *Impatiens*

Họ Bóng nước (Balsaminaceae) là một họ thực vật hai lá mầm, đặc trưng bởi hoa lưỡng tính, rất không đều. Các loài thuộc họ Bóng nước được xếp vào 2 chi, chi Bóng nước (*Impatiens*) có hơn 1000 loài, trong khi chỉ có duy nhất loài *Hydrocera triflora* thuộc chi *Hydrocera* [1].

Trong số hơn 1000 loài *Impatiens* phân bố trên toàn thế giới, có 43 loài được tìm thấy tại Việt Nam, trong đó 34 loài được ghi chép trong sách của GS. Phạm Hoàng Hộ [2] và 9 loài khác được phát hiện thêm sau đó gồm *I. aconitoides* [3], *I. purpureifolia* [3], *I. rugata* [3], *I. kamtilongensis* [4], *I. parvisepala* [5], *I. morsei* [6], *I. napoensis* [7], *I. siculifer* [8] và *I. monticola* [9]. Các loài thuộc chi *Impatiens* hầu hết sinh trưởng và phát triển trong môi trường ẩm ướt như ven rừng, trong thung lũng, và dọc theo suối, trong khi chi *Hydrocera* lại sống dưới nước với thân cây nổi [1].



Hình 1. 1. Một số loài thuộc chi *Impatiens* được tìm thấy ở Việt Nam

Chi *Impatiens* phân bố rộng rãi ở châu Á, châu Phi và Bắc Mỹ [10], và một vài cây trong số chúng là những cây trồng phổ biến trong vườn. Vùng Đông Dương

được xem là trung tâm đa dạng của chi này ở Đông Nam Á. Chi *Impatiens* gồm những loại cây mọc nước, sống một hoặc hai năm, với chiều cao từ 50 đến 250 cm. Lá mọc so le, có cuống, hình mác, đầu nhọn, mép có răng cưa rất rõ, dài 7–8 cm, rộng 2–2,5 cm. Hoa mọc ở nách lá, có thể có màu trắng, đỏ hay hồng. Quả nang, hình quả trám, có lông tơ. Khi dùng tay bóp nhẹ quả già thì quả co nhanh và vỏ nứt thành 4-5 mảnh có hình dáng giống như móng tay bị co lại [11].

### **1.1.2. Sử dụng chi *Impatiens* trong y học cổ truyền**

Các loài thuộc chi *Impatiens* ở Việt Nam nói riêng và trên thế giới nói chung được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền với nhiều công dụng chữa bệnh khác nhau như điều hòa miễn dịch, kháng khuẩn, viêm khớp, chống oxy hóa, dị ứng, mãn ngứa và nhiễm trùng [11]. Ở Việt Nam, lá *I. balsamina* dùng làm nước sắc để uống cho lợi tiểu, trị ung thư, gội đầu cho tóc mọc, hạt *I. balsamina* trị mắt kinh; lá *I. chinensis* dùng đắp phỏng, trị lậu [2]. Ở Trung Quốc, hạt của *I. balsamina* đã được sử dụng để long đờm, giảm đau hậu sản, và được xem như thuốc an thai; Toàn cây *I. balsamina* dùng chữa phong thấp, bị thương sưng đau, rắn rết cắn; *I. pallida* và *I. capensis* được dùng làm thuốc lợi tiểu và nước sắc của chúng được dùng để chữa trị bệnh vàng da, viêm gan [12]. Ở một số nơi tại Nhật Bản, nước ép hoa *I. balsamina* được dùng bôi ngoài da để điều trị viêm da, ngứa do nổi mề đay [13], và dùng làm thuốc chống dị ứng [14]. Ngoài ra, loài thảo dược này còn được người dân Trung Quốc sử dụng trong kháng viêm và giảm huyết áp [15]. *I. parviflora* đã được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền ở châu Á để điều trị bệnh thấp khớp, gãy xương, nhiễm trùng và ở một số khu vực của Trung Quốc, nó được sử dụng như một loại thảo dược chống ung thư [16].

### **1.1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Impatiens***

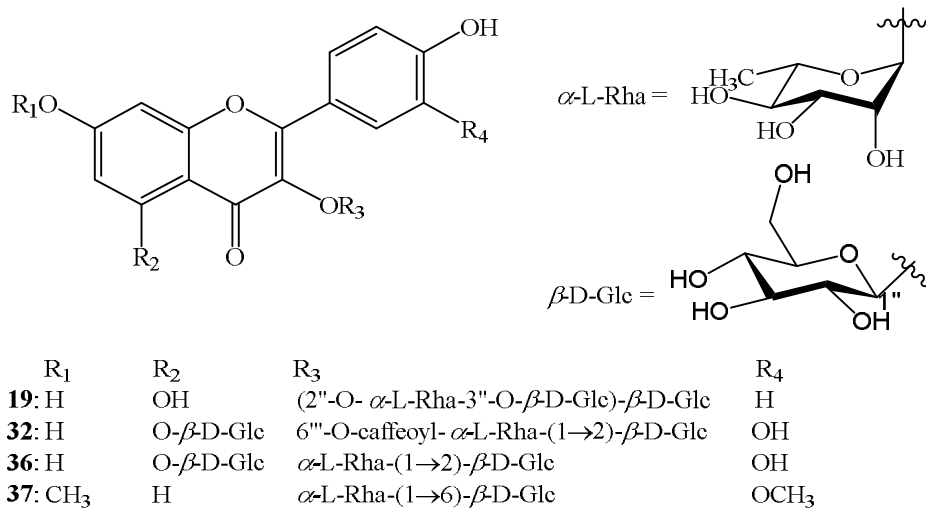
Theo khảo sát tài liệu, các nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Impatiens* được thực hiện từ năm 1958 cho đến nay [17-21], đã phân lập và xác định cấu trúc của hơn 300 hợp chất từ 28 loài thuộc chi *Impatiens*. Các hợp chất này thuộc lớp chất flavonoid, triterpenoid, steroid, acid phenolic, coumarin, quinone, acid béo, các hợp chất chứa nitơ và một số hợp chất khác. Trong đó, flavonoid và triterpenoid được đánh giá là 2 lớp chất chính của chi với nhiều hoạt tính sinh học quan trọng.

### 1.1.3.1. Nhóm chất flavonoid

Đến nay, có tổng số 66 flavonoid được phân lập từ chi *Impatiens* (Bảng 1.1). Các hợp chất này thuộc các phân nhóm như flavone, flavanone, anthocyanidin và một số dạng khác. Trong đó, flavone là phân nhóm phổ biến nhất của nhóm chất flavonoid.

#### - Flavone:

Tổng số 38 flavone (1-38) được tách ra từ chi *Impatiens* theo tài liệu công bố cho đến nay (Bảng 1.1). Các flavone này được phân lập từ 12 loài *Impatiens* gồm *I. noli-tangera*, *I. textori*, *I. balsamina*, *I. parviflora*, *I. glandulifera*, *I. balfourii*, *I. walleriana*, *I. bicolor*, *I. capensis*, *I. holstii*, *I. hypophylla* và *I. sultani*. Các hợp chất flavone trong chi tồn tại ở cả dạng tự do và dạng glycoside. 4 flavone gồm kaempferol-3-O-[2''-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-3''-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside (19) [14, 22], quercetin 3-O-[(6'''-O-caffeoyl)- $\alpha$ -L-rhamnose-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (32) [23], quercetin 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnose-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (36) [23] và quercetin 7,3',4'-trimethylether-3-O-rutinoside (37) [24] được xác định cấu trúc lần đầu tiên khi nghiên cứu thành phần hóa học của các loài *Impatiens* (Hình 1.2).

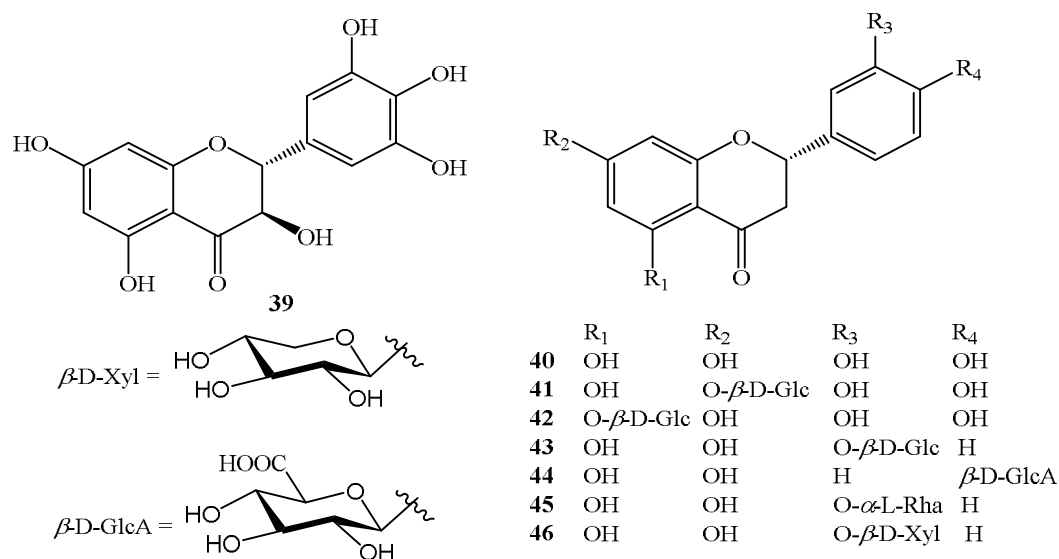


Hình 1.2. Các hợp chất flavone điển hình được phân lập từ chi *Impatiens*

#### - Flavanone:

8 flavanone (39-46) được tìm thấy từ chi *Impatiens* cho đến nay (Hình 1.3, Bảng 1.1). Flavanone chỉ được phát hiện trong thành phần hóa học của 3 loài *Impatiens* gồm *I. balsamina*, *I. glandulifera* và *I. bicolor*. Trong số chúng, có 2

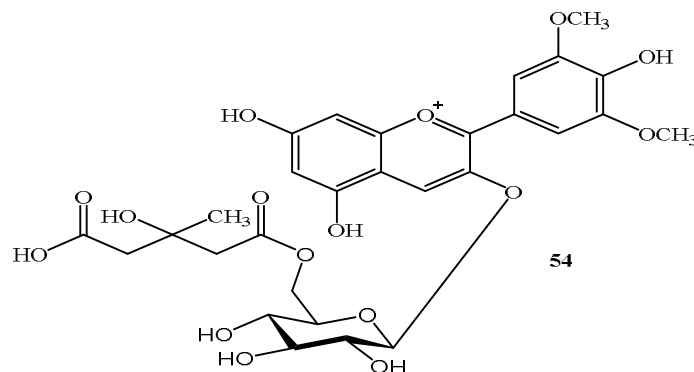
flavanone tồn tại dạng tự do là ampelopsin (39) [25] và eriodictyol (40) [26], 6 flavanone còn lại gồm eriodictyol 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (41) [27], eriodictyol 5-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (42) [26], naringenin 4'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (43), naringenin 4'-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (44), naringenin 4'-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (45) và naringenin 4'-*O*- $\beta$ -D-xylopyranoside (46) [28] tồn tại ở dạng glycoside.



Hình 1.3. Các hợp chất flavanone được phân lập từ chi *Impatiens*

#### - Anthocyanidin

Có thể nói anthocyanidin và dạng glycoside của nó (anthocyanin) là phân nhóm chính thứ 2 của nhóm chất flavonoid trong chi *Impatiens*. Tổng số 15 hợp chất (47-61) thuộc phân nhóm này được tìm thấy trong chi với hợp chất malvidin 3-*O*-[6-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside] (54) được xác định cấu trúc lần đầu tiên [29] (Hình 1.4). Cyanidin (47) [30], cyanidin 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (48) [31] và malvidin (50) [30] là những hợp chất khá phổ biến trong chi *Impatiens* khi chúng được tìm thấy trong nhiều loài khác nhau của chi.

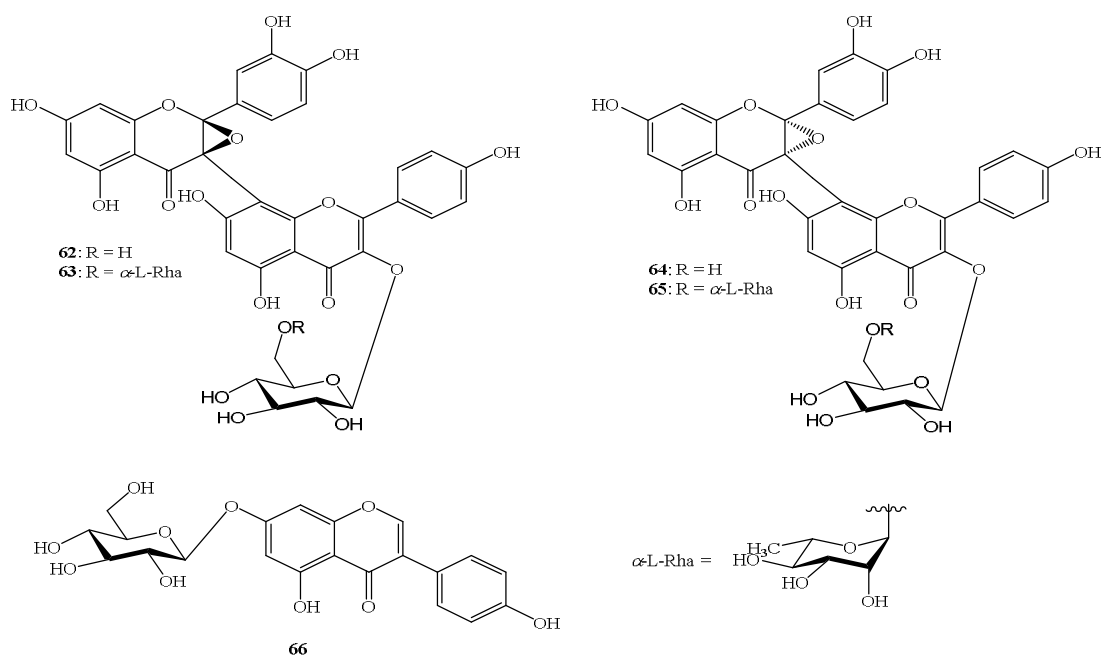




Hình 1.4. Hợp chất anthocyanin được phân lập từ chi *Impatiens*

- Các hợp chất flavonoid khác:

Ngoài các phân nhóm flavone, flavanone và anthocyanidin kể trên thì isoflavone và biflavonoid cũng được tìm thấy trong chi *Impatiens* (Hình 1.5). Bốn biflavonoid mới gồm balsamiside A (62), B (63), C (64) và D (65) phân lập từ hoa loài *I. balsamina* đều có khung flavanone dạng flavone glycoside qua liên kết C3-C8", chúng chỉ khác nhau về cấu hình tại vị trí C-2, C-3, và sự hiện diện của đường rhamnose [25]. Chỉ duy nhất một isoflavone được tìm thấy trong chi *Impatiens* cho đến nay là genistin (66) [30].



Hình 1.5. Các hợp chất flavonoid khác tìm thấy trong chi *Impatiens*

Bảng 1.1. Các hợp chất flavonoid phân lập từ chi *Impatiens*

STT	Tên chất	Loài	Tài liệu
<b>Flavone</b>			
1	Apigenin	<i>I. noli-tangera</i>	[30]
		<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. hypophylla</i>	[18]
2	Apigenin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. hypophylla</i>	[18]
3	Astragalín (hoặc kaempferol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)	<i>I. balsamina</i>	[31, 32]
		<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. glandulifera</i>	[27]
		<i>I. balfourii</i> , <i>I. noli-rangere</i> , <i>I. parviflora</i> , <i>I. walleriana</i>	[26, 33]

		<i>I. hypophylla</i>	[18]
4	Chrysoeriol	<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. hypophylla</i>	[18]
5	Hyperoside (Quercetin 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-galactopyranoside)	<i>I. balfourii</i> , <i>I. noli-tangere</i> , <i>I. parviflora</i>	[27]
		<i>I. glandulifera</i>	[27, 34]
6	Isoquercitrin	<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. bicolor</i>	[28]
		<i>I. balsamina</i>	[25, 31]
		<i>I. balfourii</i> , <i>I. glandulifera</i> , <i>I. parviflora</i> , <i>I. walleriana</i>	[26]
		<i>I. noli-tangera</i>	[30]
7	Kaempferol	<i>I. capensis</i>	[35]
		<i>I. holstii</i> , <i>I. sultani</i> , <i>I. parviflora</i>	[36]
		<i>I. balsamina</i>	[35, 37]
		<i>I. noli-tangere</i>	[24]
		<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. glandulifera</i>	[27, 36]
8	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-allopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[25]
9	Kaempferol 3-( <i>p</i> -coumaroyl)-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[38]
10	Kaempferol 3,7-di- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balfourii</i>	[26]
11	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. walleriana</i>	[26]
12	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-galactopyranoside (triforlin)	<i>I. glandulifera</i>	[34]
		<i>I. bicolor</i>	[28]
13	Kaempferol 7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
14	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-7- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[38]
15	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-7- <i>O</i> -malloyl glucopyranoside	<i>I. balfourii</i>	[26]
16	Kaempferol 3- <i>O</i> -6"-malonyl-glucopyranoside	<i>I. glandulifera</i>	[27]
17	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>I. balfourii</i>	[26]
18	Kaempferol 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7,4-di- <i>O</i> - $\beta$ -D-	<i>I. balsamina</i>	[32]

	galactopyranoside		
19	Kaempferol-3-O-[2''-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-3''-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[14]
		<i>I. textori</i>	[15]
20	Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[25]
21	Kaempferol 7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[25]
22	Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-7-O- $\beta$ -D-mallonylglucopyranoside	<i>I. balfourii</i>	[26]
23	Kaempferol 7-O- $\beta$ -D-xylopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
24	Kaempferol 5-O- $\beta$ -D-xylopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
25	Kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-diglucoside	<i>I. glandulifera</i>	[25, 27]
26	Luteolin	<i>I. noli-tangera</i>	[30]
		<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. balsamina</i>	[39]
		<i>I. hypophylla</i>	[18]
27	6-Methoxykaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1' $\rightarrow$ 2'')- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(6'''-(E)-caffeoyl)-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[32]
28	Myricetin	<i>I. balsamina</i>	[32, 35]
29	Myricetin 3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside	<i>I. glandulifera</i>	[27]
30	Nicotiflorin (hoặc Kaempferol 3-O- $\beta$ -D-rutinoside)	<i>I. balsamina</i>	[14, 32]
		<i>I. glandulifera</i>	[34]
31	Quercetin	<i>I. balsamina</i>	[22, 37]
		<i>I. parviflora</i> ,	[36]
		<i>I. noli-tangere</i>	[24, 30]
		<i>I. textori</i>	[15]
		<i>I. glandulifera</i>	[27]
32	Quercetin 3-O-[(6'''-O-caffeoyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[23]
33	Quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. parviflora</i>	[36]
34	Quercetin 3-O- $\beta$ -D-6''-O-malonyl)-glucopyranoside	<i>I. glandulifera</i>	[27]
35	Quercetin 3-O- $\beta$ -D-rhamnopyranoside (Quercitrin)	<i>I. glandulifera</i>	[34]
		<i>I. balsamina</i>	[25]

36	Quercetin 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[23]
37	Quercetin 7,3',4'-trimethylether-3-O-rutinoside	<i>I. noli-tangera</i>	[24]
38	Rutin (hoặc Quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside)	<i>I. balsamina</i>	[14, 25]
		<i>I. noli-tangere</i>	[30]
<b>Flavanone</b>			
39	Ampelopsin (Dihydromyricetin)	<i>I. balsamina</i>	[30]
		<i>I. glandulifera</i>	[27]
40	Eriodictyol	<i>I. glandulifera</i>	[34]
41	Eriodictyol 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. glandulifera</i>	[27]
42	Eriodictyol 5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. glandulifera</i>	[26]
43	Naringenin 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
44	Naringenin 4'-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
45	Naringenin 4'-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
46	Naringenin 4'-O- $\beta$ -D-xylopyranoside	<i>I. bicolor</i>	[28]
<b>Anthocyanidin</b>			
47	Cyanidin	<i>I. noli-tangera</i>	[30]
		<i>I. capensis</i>	[35]
		<i>I. balsamina</i>	[40]
		<i>I. holstii</i>	[41]
48	Cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. balsamina</i>	[31]
		<i>I. platypetala</i>	[42]
49	Delphinidin	<i>I. balsamina</i>	[43]
50	Malvidin	<i>I. noli-tangera</i> , <i>I. schlecteri</i> – <i>Linearifolia</i> , <i>I. hawkeri</i> – <i>mooreana</i> – <i>nivea</i>	[30]
		<i>I. holstii</i>	[41]
51	Malvidin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. textori</i>	[44]
52	Malvidin 3,5-di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. textori</i>	[44]
53	Malvidin 3-O-[6''-O-malonyl- $\beta$ -D-glucopyranoside]	<i>I. textori</i>	[29]
54	Malvidin 3-O-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside]	<i>I. textori</i>	[29]
55	Leucodelphinidin	<i>I. parviflora</i>	[36]
56	Pelargonidin	<i>I. balsamina</i>	[43]

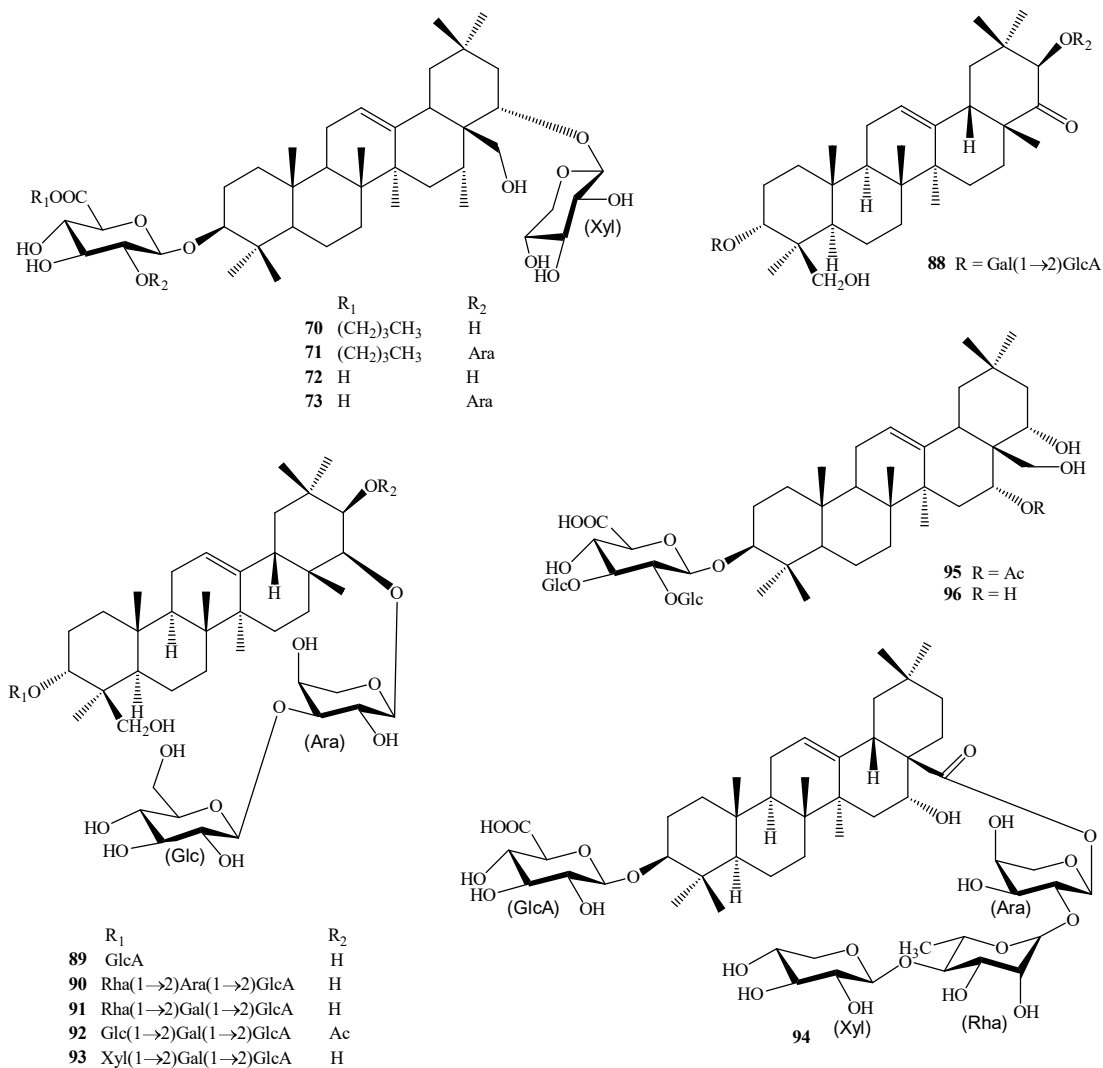
57	Pelargonidin glucopyranoside	3-O-β-D-	<i>I. balsamina</i>	[31]
58	Pelargonidin glucopyranoside	3,5-di-O-β-D-	<i>I. balsamina</i>	[31]
59	Pelargonidin glucopyranosyl-5-O-β-D- acetylglucopyranoside	3-O-β-D-	<i>I. balsamina</i>	[31]
60	Peonidin		<i>I. balsamina</i>	[40]
61	Peonidin	3-O-β-D- glucopyranoside	<i>I. noli-tangera</i>	[30]
<b>Dạng flavonoid khác</b>				
62	Balsamiside A		<i>I. balsamina</i>	[25]
63	Balsamiside B		<i>I. balsamina</i>	[25]
64	Balsamiside C		<i>I. balsamina</i>	[25]
65	Balsamiside D		<i>I. balsamina</i>	[25]
66	Genistin		<i>I. noli-tangera</i>	[30]

### 1.1.3.2. Nhóm chất triterpenoid

Có tổng số 59 hợp chất triterpene (**67-125**) được phân lập và xác định cấu trúc từ các loài *Impatiens* khác nhau (Bảng 1.2). Chúng thuộc 4 khung cơ bản gồm oleanane, baccharane, ursane và lupane. Trong đó, khung oleanane là khung chính.

#### - *Oleanane triterpenoid*:

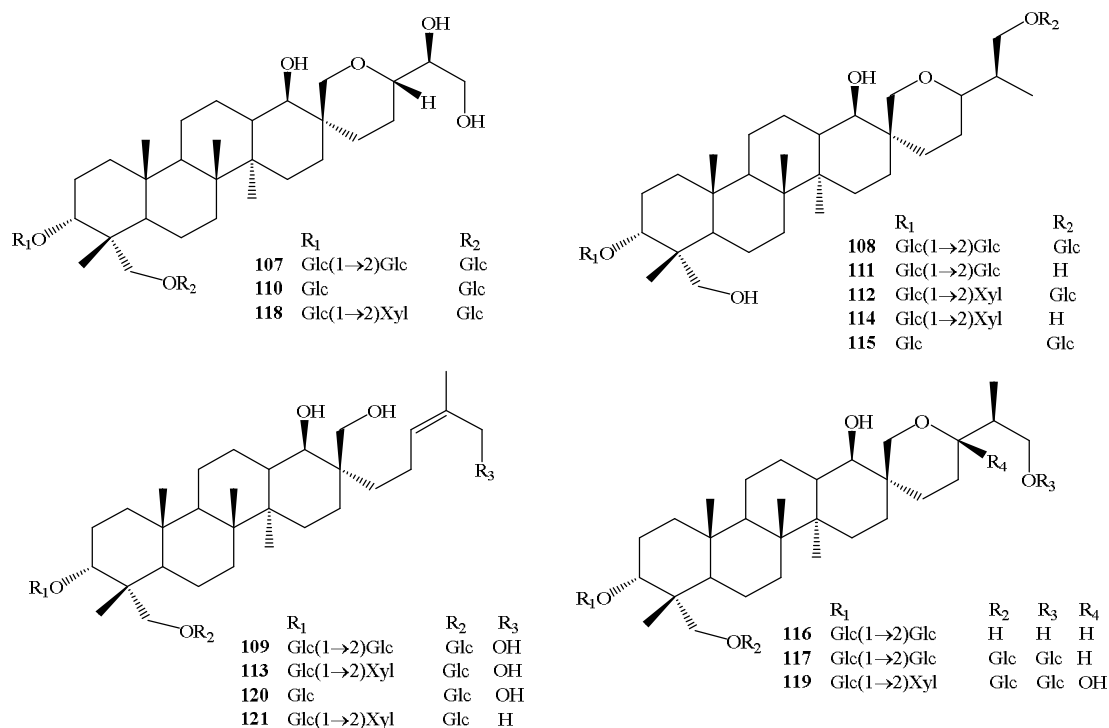
40 hợp chất oleanane triterpenoid (**67-106**) được phân lập từ 4 loài *Impatiens* gồm *I. sicutifer*, *I. balsamina*, *I. pritzellii* và *I. parviflora*. Các hợp chất này tồn tại ở cả dạng tự do (aglycon) và dạng glycoside (saponin). Điển hình như oleanane triterpenoid balsaminside A (**70**), B (**71**), C (**72**) và D (**73**), 3-O-β-D-glucuronopyranosyl-echinocystic acid-28-O-β-D-apiofuranosyl- (1→3) [*O*-β-D-xylopyranosyl (1→4)]-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside (**83**), 3-O-β-D-glucuronopyranosyl-echinocystic acid-28-O-β-D-apiofuranosyl-(1→3) [*O*-β-D-xylopyranosyl- (1→4)]-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranoside (**84**), imbaloside A (**85**), B (**86**), và C (**87**), impatienoside A (**88**), B (**89**), C (**90**), D (**91**), E (**92**), F (**93**) và G (**94**), IPS-1 (**95**) và IPS-2 (**96**) (Hình 1.6) [20-21, 45, 50, 53].



Hình 1.6. Một số hợp chất oleanane triterpenoid được phân lập từ chi *Impatiens*

- Baccharane triterpenoid:

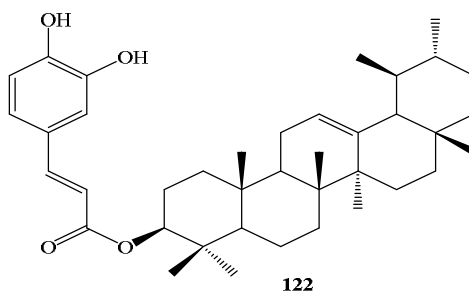
Cho đến nay, tổng số 15 hợp chất baccharane triterpenoid gồm hosenkoside A-O (107-121) được phát hiện trong một loài duy nhất của chi *Impatiens*, đó là loài *I. balsamina* (Hình 1.7) [46-48]. Các hợp chất baccharane triterpenoid này đều tồn tại ở dạng glycoside.



Hình 1.7. Baccharane triterpenoid phân lập từ chi *Impatiens*

- Ursane triterpenoid:

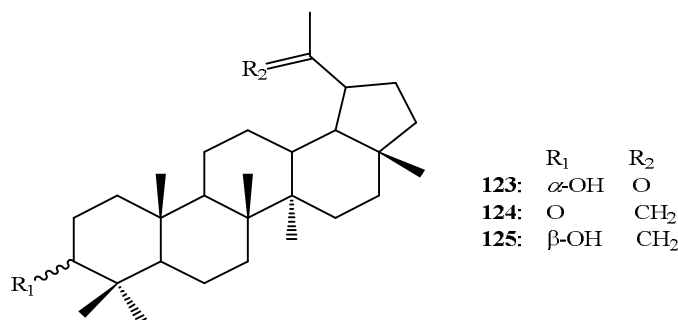
Chỉ duy nhất 1 hợp chất triterpenoid khung ursane được tìm thấy trong chi *Impatiens* cho đến nay là  $\alpha$ -amyrin caffeate (**122**) (Hình 1.8) [49]. Hợp chất này được tìm thấy trong hạt của loài *I. balsamina*.



Hình 1.8. Ursane triterpenoid phân lập từ chi *Impatiens*

- Lupane triterpenoid:

Cho đến nay, lupane triterpenoid chỉ được phát hiện có trong loài *I. balsamina* với 3 hợp chất (**123-125**) được phân lập và xác định cấu trúc gồm: 29-nor-20-oxolupeol (**123**), lupenone (**124**) và lupeol (**125**) (Hình 1.9) [19].



Hình 1.9. Lupane triterpenoid phân lập từ chi *Impatiens*

Bảng 1.2. Các hợp chất triterpenoid phân lập từ chi *Impatiens*

STT	Tên chất	Loài	Tài liệu
<b>Oleanane triterpenoid</b>			
67	$\beta$ -amyrin	<i>I. balsamina</i>	[19]
68	3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-Arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl-22- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-soyasapogenol A	<i>I. siculifer</i>	[50]
69	3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-Arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl-soyasapogenol E	<i>I. siculifer</i>	[50]
		<i>I. pritzellii</i>	[51-52]
70	Balsaminside A	<i>I. balsamina</i>	[53]
71	Balsaminside B	<i>I. balsamina</i>	[53]
72	Balsaminside C	<i>I. balsamina</i>	[53]
73	Balsaminside D	<i>I. balsamina</i>	[53]
74	Dehydrosoyasaponin I	<i>I. siculifer</i>	[50]
75	Echinocystic acid	<i>I. balsamina</i>	[39]
		<i>I. pritzellii</i>	[52]
76	22- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-soyasapogenol A	<i>I. siculifer</i>	[50]
77	$\beta$ -D-Glucopyranosiduronic acid, (3 $\beta$ )-norolean-3-yl- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- <i>O</i> -[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]	<i>I. balsamina</i>	[53]
78	3- <i>O</i> - $\beta$ -D-Glucuronopyranosyl echinocystic acid	<i>I. pritzellii</i>	[52]
79	3- <i>O</i> -[(6- <i>O</i> -Methyl)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl] echinocystic acid	<i>I. pritzellii</i>	[52]
80	3- <i>O</i> -[(6- <i>O</i> -Ethyl)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl] echinocystic acid	<i>I. pritzellii</i>	[52]
81	3- <i>O</i> -[(6- <i>O</i> - <i>n</i> -Butyl)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl] echinocystic acid	<i>I. pritzellii</i>	[52]
82	3- <i>O</i> -[(6- <i>O</i> - <i>n</i> -Butyl)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-28- <i>O</i> -[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl] echinocystic acid	<i>I. pritzellii</i>	[52]
83	3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucuronopyranosyl-	<i>I. pritzellii</i>	[21]

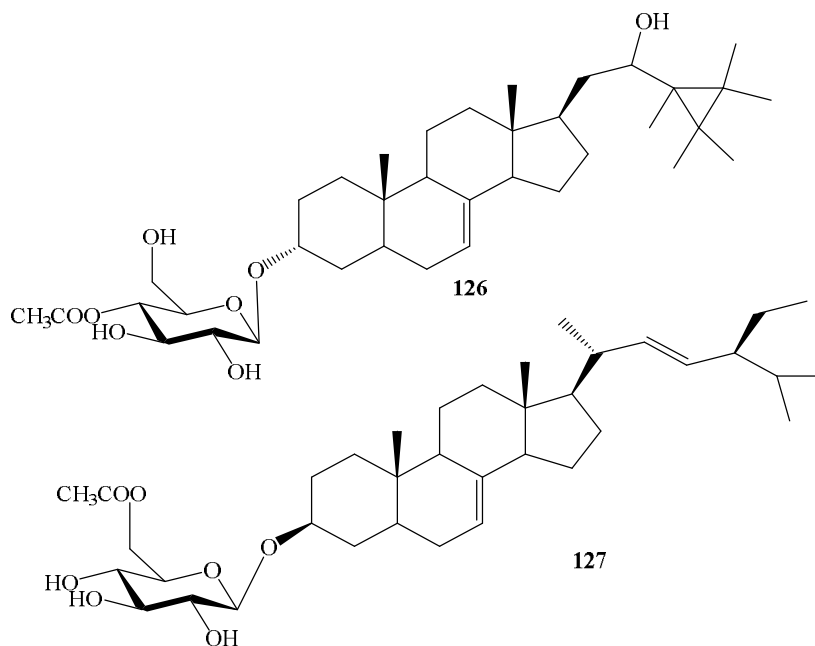


	echinocystic acid-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 3) [ <i>O</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -L-arabinopyranoside		
<b>84</b>	3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucuronopyranosyl-echinocystic acid-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 3) [ <i>O</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranoside	<i>I. pritzellii</i>	[21]
<b>85</b>	Imbaloside A	<i>I. balsamina</i>	[20]
<b>86</b>	Imbaloside B	<i>I. balsamina</i>	[20]
<b>87</b>	Imbaloside C	<i>I. balsamina</i>	[20]
<b>88</b>	Impatienoside A	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>89</b>	Impatienoside B	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>90</b>	Impatienoside C	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>91</b>	Impatienoside D	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>92</b>	Impatienoside E	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>93</b>	Impatienoside F	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>94</b>	Impatienoside G	<i>I. siculifer</i>	[50]
		<i>I. pritzellii</i>	[21]
<b>95</b>	IPS-1	<i>I. parvifora</i>	[45]
<b>96</b>	IPS-2	<i>I. parvifora</i>	[45]
<b>97</b>	Scarberoside A2	<i>I. pritzellii</i>	[21]
<b>98</b>	Soyasapogenol B monoglucuronide	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>99</b>	Sandosaponin A	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>100</b>	Soyasaponin Bg	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>101</b>	Soyasaponin IV	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>102</b>	Soyasaponin I	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>103</b>	Soyasaponin I methyl ester	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>104</b>	Soyasaponin II	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>105</b>	Soyasaponin A1	<i>I. siculifer</i>	[50]
<b>106</b>	3- <i>O</i> - $\beta$ -D-Xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl oleanolic acid	<i>I. balsamina</i>	[53]
<b>Baccharane triterpenoid</b>			
<b>107</b>	Hosenkoside A	<i>I. balsamina</i>	[46, 48]
<b>108</b>	Hosenkoside B	<i>I. balsamina</i>	[46, 48]
<b>109</b>	Hosenkoside C	<i>I. balsamina</i>	[46, 48]
<b>110</b>	Hosenkoside D	<i>I. balsamina</i>	[46, 48]
<b>111</b>	Hosenkoside E	<i>I. balsamina</i>	[46]
<b>112</b>	Hosenkoside F	<i>I. balsamina</i>	[47-48]
<b>113</b>	Hosenkoside G	<i>I. balsamina</i>	[47-48]
<b>114</b>	Hosenkoside H	<i>I. balsamina</i>	[47]
<b>115</b>	Hosenkoside I	<i>I. balsamina</i>	[47]
<b>116</b>	Hosenkoside J	<i>I. balsamina</i>	[47]
<b>117</b>	Hosenkoside K	<i>I. balsamina</i>	[47-48]
<b>118</b>	Hosenkoside L	<i>I. balsamina</i>	[48, 54]

119	Hosenkoside M	<i>I. balsamina</i>	[48, 54]
120	Hosenkoside N	<i>I. balsamina</i>	[54]
121	Hosenkoside O	<i>I. balsamina</i>	[54]
<b>Ursane triterpenoid</b>			
122	$\alpha$ -Amyrin caffeate	<i>I. balsamina</i>	[49]
<b>Lupane triterpenoid</b>			
123	29-nor-20-Oxolupeol	<i>I. balsamina</i>	[19]
124	Lupenone	<i>I. balsamina</i>	[19]
125	Lupeol	<i>I. balsamina</i>	[19]

### 1.1.3.3. Nhóm chất steroid

Nhóm chất steroid được tìm thấy trong một số loài khác nhau của chi *Impatiens* gồm *I. glandulifera*, *I. balsamina*, *I. pritzellii* và *I. noli-tangere* (Hình 1.10, Bảng 1.3). Tổng số 7 hợp chất steroid (126-132) được tìm thấy trong chi, trong đó,  $\alpha$ -spinasterol (130) được xác định có trong thành phần hóa học của nhiều loài khác nhau, còn 2 steroid glycoside: glanduliferin A (126) và B (127) lần đầu tiên được xác định cấu trúc [55].



Hình 1.10. Hai hợp chất steroid được phân lập từ chi *Impatiens*

Bảng 1.3. Các hợp chất steroid phân lập từ các loài *Impatiens*

STT	Tên chất	Loài	Tài liệu
126	Glanduliferin A	<i>I. glandulifera</i>	[55]
127	Glanduliferin B	<i>I. glandulifera</i>	[55]
128	3-O-[6'-O-palmitoyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl]-spinasta-7,22(23)-diene	<i>I. pritzellii</i>	[56]
129	Spinasta-7,22(23)-dien-3 $\beta$ -O-palmitate	<i>I. pritzellii</i>	[56-57]

130	$\alpha$ -Spinasterol	<i>I. balsamina</i>	[19, 39, 58]
		<i>I. glandulifera</i>	[55]
		<i>I. pritzellii</i>	[56-57]
131	$\alpha$ -Spinasterol-3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>I. noli-tangere</i>	[24]
132	Stigmast-7,22-dien-3-one	<i>I. pritzellii</i>	[57]

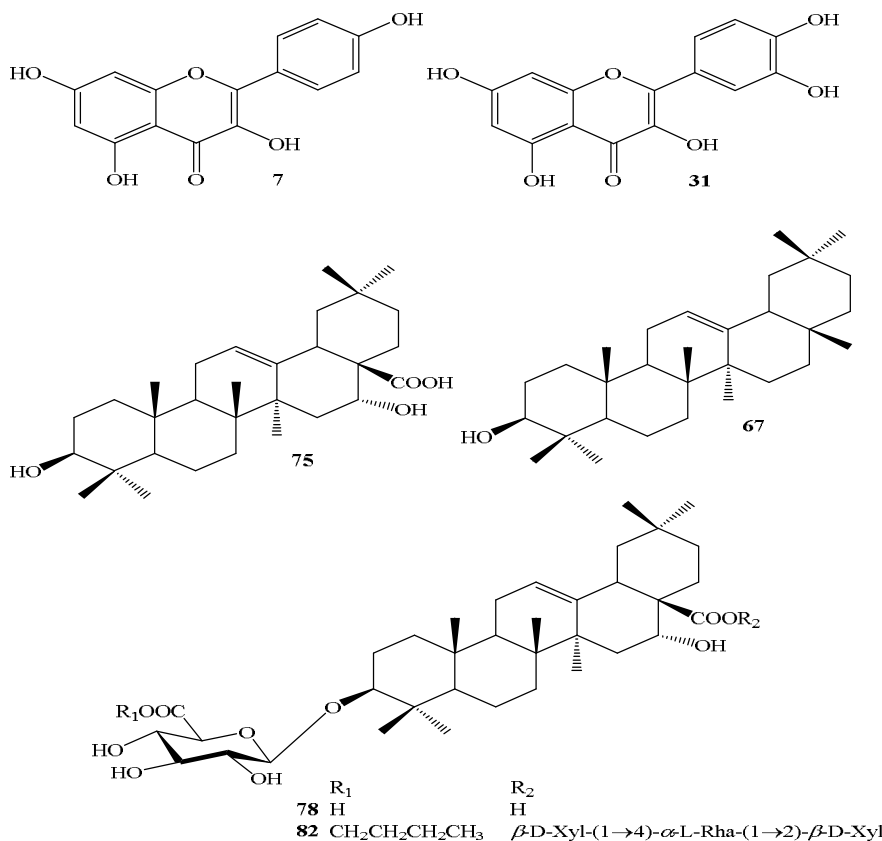
#### 1.1.3.4. Một số nhóm chất khác

Ngoài các nhóm chất nêu trên, trong thành phần hóa học của các loài *Impatiens* còn xác định được hơn 170 hợp chất khác thuộc các nhóm chất khác nhau như monophenol, coumarin, naphthoquinon, acid béo và các hợp chất chứa nito, điển hình như vanillic acid, scopoletin, isofraxidin, 2-methoxy-1,4-naphthaquinone... [17-19, 39, 53, 59-60].

#### 1.1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Impatiens*

##### 1.1.4.1. Hoạt tính kháng viêm

Để tìm kiếm hoạt chất kháng viêm từ các loài *Impatiens*, các hợp chất triterpenoid khung oleanane phân lập từ loài *I. pritzelli* được khảo sát khả năng ức chế sản xuất IL-18 trong mô hình phòng thí nghiệm *in vitro*. Kết quả cho thấy, triterpene 3-*O*-[(6-*O*-*n*-butyl)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-28-*O*-[ $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl] echinocystic acid (**82**) được đánh giá cho tiềm năng ức chế IL-18 khá mạnh tại nồng độ 1  $\mu$ M. Ngoài ra, hợp chất echinocystic acid (**75**) và 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl echinocystic acid (**78**) cũng cho thấy khả năng ức chế đáng kể ở nồng độ 100 và 10  $\mu$ M [52]. Thêm 2 triterpene khác trong chi gồm  $\beta$ -amyrin (**67**) và 29-nor-20-oxolupeol (**123**) cũng được chứng minh cho tiềm năng kháng viêm với khả năng ức chế đáng kể sản sinh NO với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 25.59 và 44.21  $\mu$ M [19]. Không chỉ các hợp chất triterpene được chú ý đến trong quá trình sàng lọc tìm kiếm hoạt chất kháng viêm mà các hợp chất flavonoid cũng cho tiềm năng rất cao trong hoạt tính này. Điển hình là 2 flavonoid kaempferol (**7**) và quercetin (**31**) cho khả năng ức chế NO rất tốt khi đạt giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 8.86 và 19.11  $\mu$ M, mạnh hơn cả chất chuẩn N-monomethyl- L-arginine (L-NMMA (IC<sub>50</sub> = 21.25  $\mu$ M) [25].



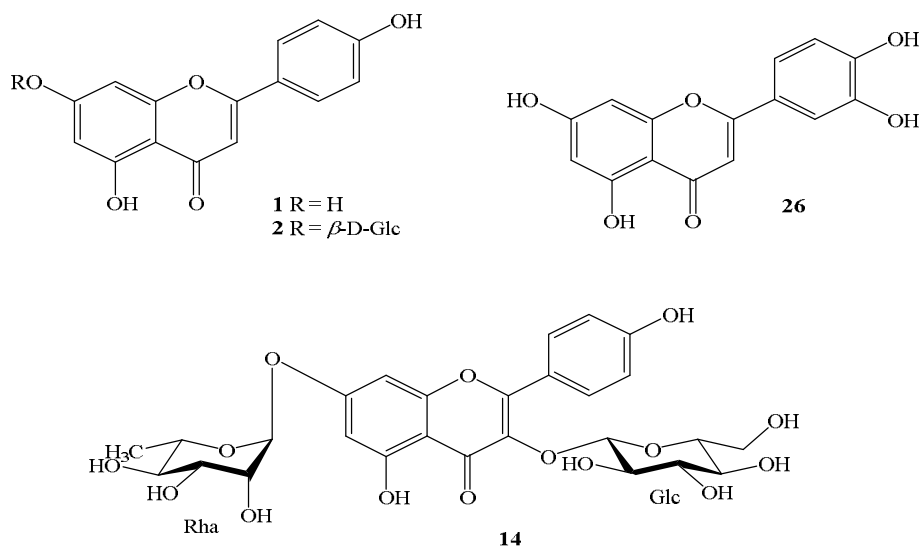
Hình 1.11. Một số hợp chất điển hình trong chi *Impatiens* có hoạt tính kháng viêm trong mô hình thử nghiệm *in vitro*

Viêm khớp dạng thấp là một bệnh lý mãn tính do sự rối loạn tự miễn trong cơ thể và xảy ra khi hệ thống miễn dịch tấn công nhầm vào các mô trong chính cơ thể dẫn đến đau, xơ cứng và sưng khớp. Loài *I. pritzellii* được sử dụng rộng rãi ở Trung Quốc trong điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp. Để chứng minh về mặt khoa học cho điều này, nhóm nghiên cứu của Zhou và cộng sự đã tiến hành thử nghiệm đánh giá hoạt tính của các chiết xuất khác nhau của loài *I. pritzellii* trên mô hình chuột bị viêm khớp do collagen gây ra. Kết quả cho thấy, cao chiết BuOH với liều 0.53 mg/kg trọng lượng cơ thể chuột được đánh giá cho hiệu quả cao nhất, trong khi đó với liều 0.13 và 0.27 g/kg trọng lượng cơ thể lại không thể hiện hoạt tính [61].

Cao chiết của một số loài *Impatiens* cũng được chứng minh có hiệu quả chữa trị đối với các bệnh về da liên quan đến viêm nhiễm. Điển hình là, chiết xuất ethanol 35% của hoa *I. balsamina* và các hoạt chất phân lập từ nó được đưa vào nghiên cứu thử nghiệm với phản ứng gây ngứa trên chuột bị viêm da dị ứng. Kết quả cho thấy, dịch chiết ở liều 100 mg/kg trọng lượng cơ thể ức chế đáng kể hành vi gãi của chuột sau 1 giờ sử dụng. Trong khi đó, hoạt chất kaempferol 3-*O*-rutinoside

(14) phân lập được từ dịch chiết này lại cho hoạt tính ức chế hành vi gãi của chuột tại liều 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [13].

Các hợp chất flavonoid phân lập từ vỏ quả *I. balsamina* gồm kaempferol (7) (Hình 1.11) và quercetin (31) (Hình 1.11) đều cho hoạt tính chống mẫn ngứa khá mạnh trên mô hình chuột thử nghiệm [13, 59]. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethanol hoa loài *I. textori* cũng được thử nghiệm hoạt tính chống mẫn ngứa trên mô hình thử nghiệm *in vivo*. Kết quả cho thấy apigenin (1), apigenin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (2) và luteolin (26) là những hoạt chất chính cho hoạt tính chống mẫn ngứa của dịch chiết. Từ kết quả nghiên cứu này, hoa của loài *I. textori* được sử dụng như một thành phần chống mẫn ngứa trong các bài thuốc Đông y [15].

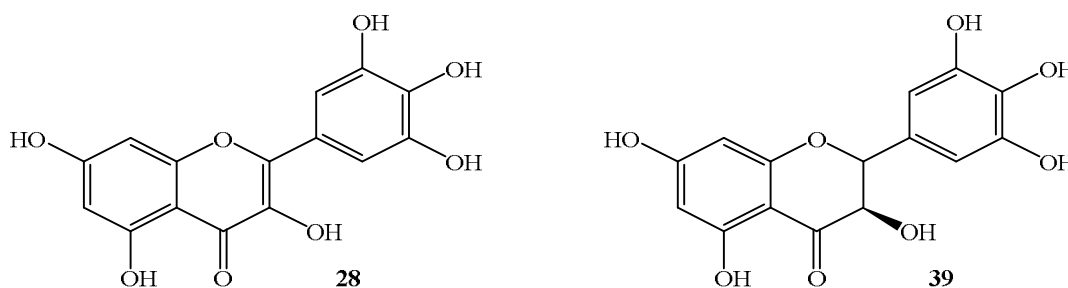


Hình 1.12. Một số hợp chất điển hình trong chi *Impatiens* cho hoạt tính kháng viêm trong mô hình thử nghiệm *in vivo*

#### 1.1.4.2. Hoạt tính hạ đường huyết

Để chứng minh khoa học công dụng hạ đường huyết của các loài *Impatiens*, nghiên cứu về hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase được thực hiện trên các cận chiết của loài trong chi. Theo đó, dịch chiết methanol, nước và ethyl acetate của loài *I. textori* được tiến hành khảo sát hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase bởi nhóm nghiên cứu của Yang và cộng sự vào năm 2012. Theo kết quả thử nghiệm cho thấy, dịch chiết ethyl acetate thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất với giá trị  $\text{IC}_{50} = 8.56 \pm 0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$ , tiếp đến là dịch chiết methanol với  $\text{IC}_{50} = 21.64 \pm 0.32 \mu\text{g}/\text{mL}$  [62]. Trong một nghiên cứu khác, dịch chiết rễ của loài *I. balsamina* được đánh giá hoạt

tính chống tiêu đường thông qua khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -amylase. Kết quả cho thấy dịch chiết cho khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -amylase rất tốt, với nồng độ ức chế 50% là  $IC_{50} = 0.316 \pm 0.002$  mg/mL, trong khi đó chất chuẩn acarbose có giá trị  $IC_{50} = 0.206 \pm 0.001$  mg/mL [63]. Không chỉ dịch chiết, mà chất sạch phân lập được từ loài *I. balsamina* cũng cho hoạt tính chống tiêu đường rất tốt. Trong đó phải kể đến kết quả nghiên cứu của Li và cộng sự vào năm 2015. Theo công bố cho thấy, 4 flavonoid thử nghiệm kaempferol (7) (Hình 1.11), myricetin (28), quercetin (31) (Hình 1.11) và ampelopsin (39) thể hiện khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase khá tốt so thuốc chuẩn acarbose với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng 1.65 đến 5.20 ( $\mu$ g/mL) [32].



Hình 1.13. Một số hợp chất điển hình trong chi có hoạt tính hạ đường huyết

#### 1.1.4.3. Một số hoạt tính sinh học khác

##### ❖ Hoạt tính chống oxy hóa

Dịch chiết tổng ethanol cùng các dịch chiết phân lớp dichloromethane, ethyl acetate và *n*-butanol của loài *I. bicolor* được thử nghiệm khả năng quét gốc tự do DPPH nhằm đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả cho thấy, dịch chiết dichlorometan có hoạt tính cao nhất với khả năng quét gốc tự do lên đến 82%, dịch chiết ethyl acetate đạt 50%, *n*-butanol 34%, trong khi đó dịch chiết tổng được đánh giá gần như không có hoạt tính với hiệu quả chỉ là 1.75% [64].

##### ❖ Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Các dịch chiết *n*-hexane,  $CHCl_3$ , EtOAc và MeOH của phần trên mặt đất loài *I. bicolor* được tiến hành thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp đĩa thạch. Đối với khuẩn *Escherichia coli*, dịch chiết MeOH cho hoạt tính cao nhất, tiếp đến là dịch chiết EtOAc,  $CHCl_3$  và *n*-hexane. Đối với khuẩn *Proteus micabilus*, dịch chiết *n*-hexane lại thể hiện hoạt tính tốt nhất, còn dịch chiết EtOAc thì chống lại khuẩn *Salmonella typhimorium* với hiệu quả tương đương với

chất chuẩn fluconazole [65]. Trong công bố gần đây nhất, dịch chiết nước, ethanol và ethyl acetate của rễ cây *I. tinctoria* được chứng minh có tiềm năng kháng lại các khuẩn gram dương tốt hơn so với khuẩn gram âm, điển hình là trên khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus epidermidis* [66]. Trong khi đó, dịch chiết ethanol của loài *I. balsamina* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm mạnh tại nồng độ 100 µg/mL đối với khuẩn *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter faecalis* và đối với nấm *Aspergillus niger*, *Candida albicans* và *Aspergillus fumigates* [67]. Sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của hoạt chất có trong loài *I. balsamina*, 2 flavonoid kaempferol (7) (Hình 1.11) và quercetin (31) (Hình 1.11) được chứng minh chống lại khuẩn *Propionibacterium acnes* với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC ≤ 64 µg/mL) [68].

## 1.2. Tổng quan về 2 loài: Móc tai Sapa (*Impatiens chapaensis*) và Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala*)

### 1.2.1. Loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

Móc tai Sapa (tên khoa học là *Impatiens chapaensis* Tard.) là một loại cây thân thảo, cao đến 60 cm, có nhánh. Lá mọc xen, khít nhau ở ngọn, phiến lá dài 7-8 cm, gân phụ 7-8 cặp, bìa có răng tròn, kẽ răng có tơ, cuống lá 1.5-2.5 cm, lá đài 2 xoan, cao 3mm, rộng 2 mm, mong 1.5 cm, cong; Chùm đứng 4-5 hoa, cọng 2cm, lá hoa mau rụng; Hoa màu vàng, cánh hoa có thùy đáy cao 7 mm; Nang cao 3 cm, không lông. Loài này phân bố chủ yếu ở khu vực phía Bắc nước ta như dọc bờ suối vùng núi Sapa [2].

Phân loại khoa học:

Giới thực vật: Plantae

Ngành: Magnoliophyta

Lớp: Magnoliopsida

Bộ: Geraniales

Họ: Balsaminaceae

Chi: *Impatiens*

### 1.2.2. Loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

Loài Bóng nước đài hoa nhỏ (tên khoa học là *Impatiens parvisepala* S. X. Yu & Y. T. Hou) trước đây chỉ được biết đến ở Trung Quốc. Năm 2015, loài này được Hoàng Thanh Sơn cùng cộng sự tìm thấy tại Việt Nam [5]. *I. parvisepala* được tìm thấy trong khu rừng nguyên sinh núi đá ở Khu bảo tồn thiên nhiên Na Hang, tỉnh Tuyên Quang, là một loài mới của khu hệ thực vật Việt Nam.

*I. parvisepala* thuộc dạng cây bụi, nhẵn, cao 35 - 50cm. Thân cây mọc thẳng, đơn giản, hạch dưới phình to. Lá đơn, mọc so le, không cuống; phiến lá dài 12 - 18 cm, rộng 3,5 - 5 cm, gân trục màu xanh lục nhạt, hình trứng ngược hoặc hình mác, gốc thuôn nhọn, mép khía răng cưa về phía gốc, đỉnh nhọn; Hoa màu trắng hoặc vàng. Cánh hoa ở lưng dài 1,4 - 2cm, rộng 1,2 - 1,8cm, đỉnh hơi thuôn. Hạt vuông - hình elip, bề mặt có trang trí dạng lưới. Cây hay mọc ở rừng thường xanh độ cao tầm 250 m. Ở Việt Nam, cây được tìm thấy ở các khu vực miền núi phía Bắc như Tuyên Quang, Cao Bằng.

Phân loại khoa học:

Giới thực vật: Equisetopsida

Ngành: Magnoliidae

Lớp: Magnoliopsida

Bộ: Asteranae

Họ: Balsaminaceae

Chi: *Impatiens*

➤ **Nhận xét chung:** Cho đến hiện tại chưa có thông tin về việc người dân sử dụng 2 loài này trong chữa bệnh theo các bài thuốc dân gian, chưa có nghiên cứu khoa học nào về mặt hóa học cũng như hoạt tính sinh học của 2 loài ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Chính vì thế mà 2 loài này được chọn làm mẫu nghiên cứu trong khuôn khổ của luận án, nhằm nghiên cứu về các hợp chất có trong cây và khảo sát hoạt tính sinh học của nó để làm cơ sở khoa học cho việc sử dụng chúng.



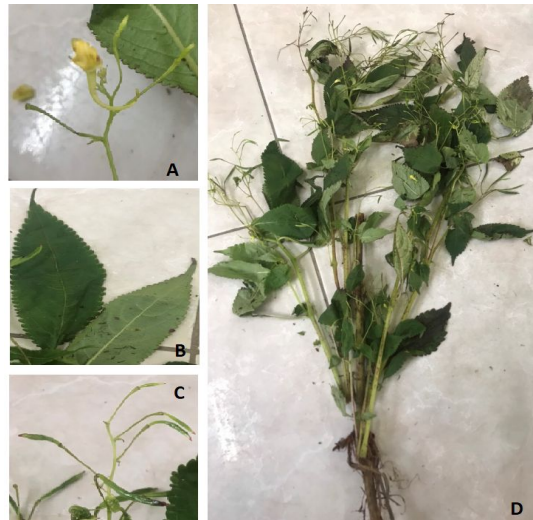
## Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.1.1. Nguyên liệu

Trong khuôn khổ của luận án, nguyên liệu được sử dụng cho quá trình nghiên cứu là 2 mẫu thực vật:

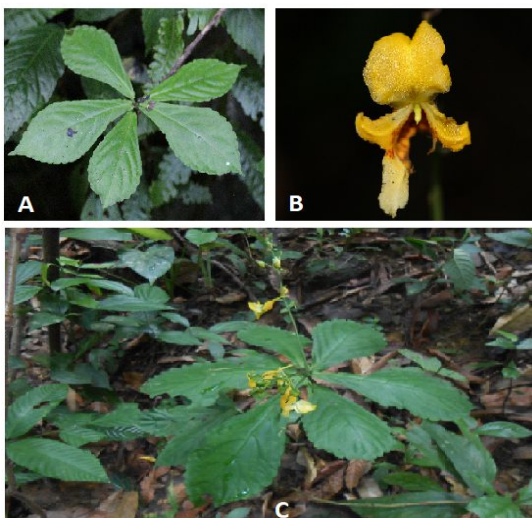
❖ Mẫu 1: Toàn cây loài Móc tai Sapa (*Impatiens chapaensis* Tard.) thu hái tại vườn Quốc gia Hoàng Liên, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai, Việt Nam vào tháng 10 năm 2019. Mẫu tiêu bản số VHH.SP 10.2019.1 được lưu giữ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).



Hình 2.1. Đặc điểm hình thái loài *I. chapaensis*

[- A: hoa; - B: lá; - C: quả; -D: toàn cây]

❖ Mẫu 2: Toàn cây loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala* S. X. Yu & Y. T. Hou) thu hái tại vườn Quốc gia Pịa Oắc-Pịa Đén, huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng, Việt Nam vào tháng 5 năm 2020. Mẫu tiêu bản số VHH.CB 05.2020.1 được lưu giữ tại Viện Hóa học, VAST, Việt Nam.



Hình 2.2. Đặc điểm hình thái loài *I. parvisepala*

[- A: lá; - B: hoa; - C: toàn cây]

Tên khoa học của cả hai loài được xác định bởi PGS. TS. Vũ Tiến Chính – Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, VAST (Kết quả giám định tên khoa học của 2 mẫu thực vật được đính kèm ở phần Phụ lục).

### 2.1.2. Hóa chất

- Sắc ký bản mỏng phân tích (TLC): sử dụng bản mỏng pha thường TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>, dày 0.2 mm; hệ dung môi chạy bản mỏng được lấy theo tỷ lệ thích hợp của 2 loại trong số các dung môi: *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, acetone, MeOH đã được cất lại qua cột Vigreux trước khi sử dụng; bản mỏng được kiểm tra bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm, sau đó hiện màu bằng thuốc thử vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (vanillin 1.2 g + MeOH 200 ml + CH<sub>3</sub>COOH 25 ml + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 11 ml);

- Sắc ký cột pha thường (CC): silica gel 60, cỡ hạt 60-200 $\mu$ m (Merck), hệ dung môi chạy cột silica gel được lấy theo tỷ lệ thích hợp của 2 loại trong số các dung môi: *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, acetone, MeOH;

- Sắc ký cột Sephadex LH-20: sephadex LH-20, cỡ hạt 25-100 $\mu$ m (Sigma Aldrich-Mỹ), dung môi dùng chạy cột là MeOH và CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (không quá 10%);

- Sắc ký cột pha đảo RP-18: RP18 F<sub>254</sub>, cỡ hạt 5 $\mu$ m, dung môi dùng chạy cột là MeOH/H<sub>2</sub>O theo tỷ lệ thích hợp.

### 2.1.3. Thiết bị

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều: được đo bằng máy Bruker Avance 500 (hoặc 600 MHz) cho  $^1\text{H-NMR}$ , và 125 (hoặc 150 MHz) cho  $^{13}\text{C-NMR}$  tại viện Hóa học, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (HSQC, HMBC, COSY, NOESY): được ghi bằng cách sử dụng chương trình Bruker Pulse ở nhiệt độ phòng tại viện Hóa học, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

- Phổ khối ESI-MS: được đo trên máy Agilent LC-MSD-Trap SL tại viện Hóa học, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

- Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS: được đo trên máy Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS, Santan Clara (USA) tại viện Hóa sinh biển, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

- Phổ CD: được đo trên máy Chirascan tại viện Hóa sinh biển, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ : được đo trên máy Jasco P-2000 Polarimeter serial A060161232 tại viện Hóa sinh biển, viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp chiết tách

- Phương pháp chiết: Mẫu thực vật được ngâm chiết với hệ dung môi MeOH:H<sub>2</sub>O (95:5). Dịch chiết tổng được quay cất chân không ở áp suất giảm để loại bỏ dung môi MeOH. Dịch nước còn lại được chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và *n*-BuOH bằng phương pháp chiết phân bố lỏng-lỏng. Các loại dung môi thu được từng cặn chiết với khối lượng tương ứng.

- Phương pháp tách: Các chất sạch được phân lập từ các cao chiết bằng phương pháp sắc ký cột với các chất hấp phụ khác nhau như silica gel, sephadex LH-20 và RP-18 với các hệ dung môi thích hợp.

### 2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng cách kết hợp các phương pháp phổ hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ( $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-}$

NMR), hai chiều (HSQC, HMBC, COSY và NOESY), phổ khối (ESI-MS, HR-ESI-MS) và phổ CD.

### 2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

Các chất phân lập được từ các mẫu thực vật được chọn lọc để tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học gồm: hoạt tính kháng viêm (dựa trên khả năng ức chế sản sinh nitric oxide NO) và hoạt tính hạ đường huyết (thông qua khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase).

#### 2.2.3.1. Hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm được tiến hành thử nghiệm tại viện Công nghệ sinh học, VAST. Hoạt tính kháng viêm được đánh giá theo phương pháp Griess dựa trên khả năng ức chế sản sinh NO của dòng tế bào RAW 264.7, sử dụng N<sup>G</sup>-methyl- L-arginine acetate (L-NMMA) làm chất đối chứng [69].

#### ❖ Vật liệu

- Lipopolysaccharides (LPS) từ *Escherichia coli* của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) were from Life Technologies, Inc., (Gaithersburg, MD, USA). Sodium nitrite, sulfanilamide, N-1-napthylethylenediamine dihydrochloride và dimethyl sulphoxide (DMSO) của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) cùng các hóa chất cần thiết khác của các hãng Sigma, GIBCO, Invitrogen, Promega v.v.

Dòng tế bào: RAW 264.7 do GS. TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italia cung cấp.

#### Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro* [69]

Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO).

Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

Phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7 [69]

Tế bào RAW 274.7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ  $2 \times 10^5$  tb/giếng và nuôi trong tủ ấm ở  $37^\circ\text{C}$  và 5%  $\text{CO}_2$  trong 24h.

Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h.

Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS ( $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ) trong 24h.

Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là  $\text{N}^G$ -Methyl-  $\text{L}$ -arginine acetate ( $\text{L}$ -NMMA) (Sigma) ở các nồng độ 100, 20, 4 và  $0.8\mu\text{g}/\text{mL}$ .

- Nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Cụ thể là,  $100\mu\text{L}$  môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào  $100\mu\text{L}$  Griess reagent:  $50\mu\text{L}$  of 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và  $50\mu\text{L}$  0.1% (w/v) N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha trong nước.

- Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank).

- Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn  $\text{NaNO}_2$  và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

- Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức :

$$\% \text{ức chế} = 100\% - [\text{hàm lượng NO}_{\text{mẫu}} / \text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}] * 100$$

- Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ ức chế 50% sự sản sinh NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

#### ❖ Phép thử sinh học xác định khả năng gây độc tế bào bằng MTT

- Chất thử ( $20\mu\text{L}$ ) được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ tương tự nồng độ của thí nghiệm NO.

- Sau khi điều chỉnh để có mật độ tế bào phù hợp, hút  $180\mu\text{L}$  tế bào vào các giếng của khay 96 giếng đã có chất thử. Trên cùng một đĩa thử, bố trí một số giếng để làm đối chứng không có mẫu thử, chỉ có dung môi pha mẫu là DMSO 10%.

- Đĩa nuôi cấy vào trong tủ ấm  $\text{CO}_2$  ở điều kiện  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nuôi trong thời gian 72 giờ.

- Sau 72 giờ, 10 $\mu$ L MTT (nồng độ cuối cùng là 5 mg/mL) được cho vào mỗi giếng.
- Sau 4h, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50  $\mu$ L (DMSO) 100%.
- Giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ.
- Lượng tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$\% \text{ Tế bào sống sót} = \frac{[(\text{OD}_{\text{chất thử}} - \text{OD}_{\text{đối chứng trắng}}) / (\text{OD}_{\text{DMSO}} - \text{OD}_{\text{đối chứng trắng}})] * 100}$$

#### 2.2.3.2. Hoạt tính hạ đường huyết

Hoạt tính hạ đường huyết được tiến hành thử nghiệm tại viện Công nghệ sinh học, VAST. Hoạt tính hạ đường huyết được đánh giá dựa trên khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase, sử dụng acarbose làm chất đối chứng [70].

##### ❖ Vật liệu

Hóa chất: enzym Yeast  $\alpha$ -glucosidase; *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG), 4-Nitrophenol (Sigma).

##### ❖ Phương pháp

Hoạt tính hạ đường huyết của hoạt chất nghiên cứu được đánh giá dựa trên khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase theo phương pháp của Moradi-Afrapoli F và cộng sự. Cụ thể như sau:

- Chất thử (sample) được hòa tan trong DMSO và pha loãng trong phosphate buffer saline (PBS) 10 mM (pH 6.8) và 50  $\mu$ L được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ phù hợp;
- 20  $\mu$ L  $\alpha$ -glucosidase (0,5 U/mL) và 130  $\mu$ L phosphate buffer saline 100 mM (pH 6.8) được thêm vào mỗi giếng, trộn đều và ủ ở 37°C trong 15 phút. Chú ý điều chỉnh nồng độ mẫu thử đạt được cuối cùng trong giếng lần lượt là 500-100-20-4  $\mu$ g/mL;
- Cơ chất *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm rồi ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.
- Giếng thí nghiệm chỉ có mẫu thử, phosphate buffer và pNPG được sử dụng làm đối chứng trắng (blank). Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzym và pNPG được sử dụng làm đối chứng (control). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác cao.

- Dùng thí nghiệm bằng cách thêm vào 80  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,2M và đo OD ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).
- Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$\text{Khả năng ức chế (\%)} = [1 - (\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{sampleblank}}) : (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank}})] \times 100$$

$$\text{Trong đó: } \text{OD}_{\text{sample}} = \text{PBS} + \text{enzym} + \text{sample} + p\text{NPG}$$

$$\text{OD}_{\text{sampleblank}} = \text{PBS} + p\text{NPG} + \text{sample}$$

$$\text{OD}_{\text{control}} = \text{PBS} + \text{enzym} + p\text{NPG} + \text{DMSO } 10\%$$

$$\text{OD}_{\text{blank}} = \text{PBS} + p\text{NPG}$$

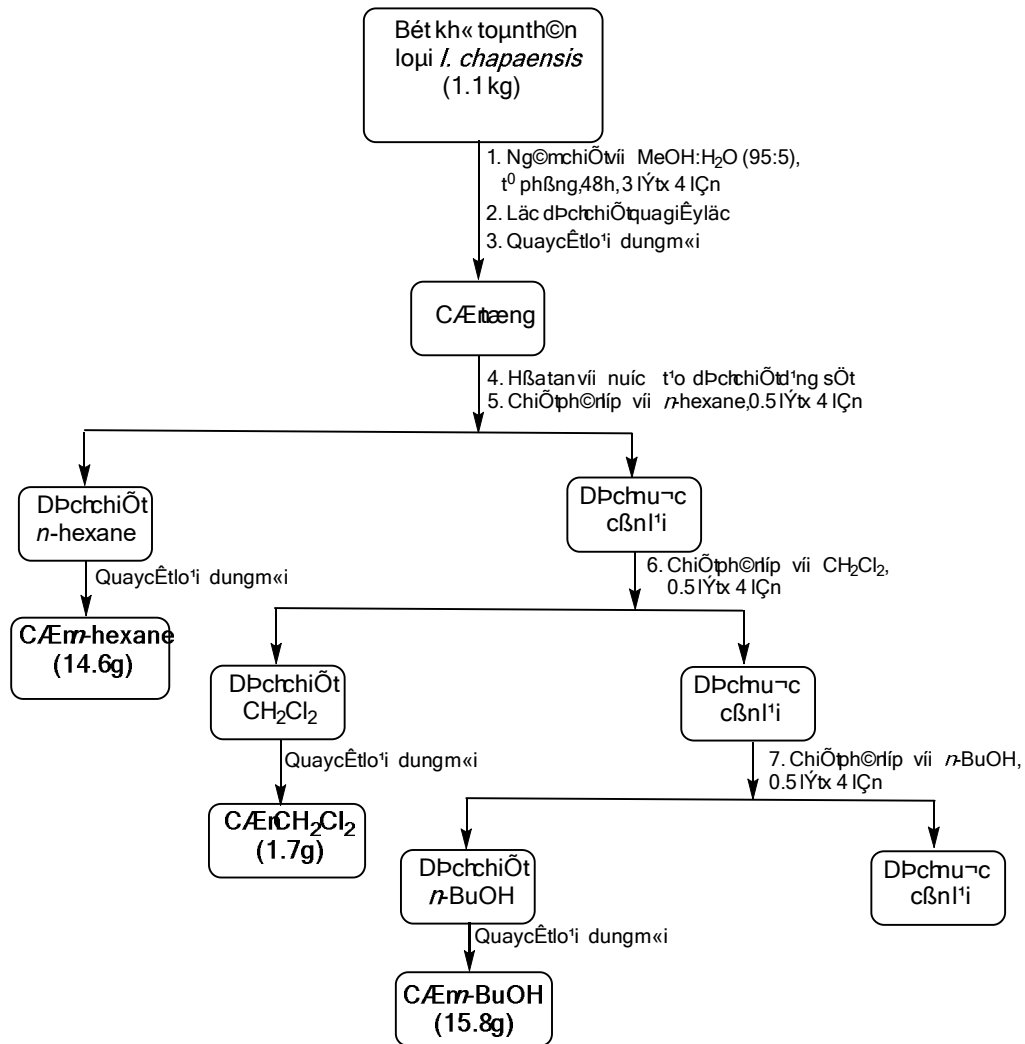
- Giá trị  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ ức chế 50%) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

### 2.3. Chiết tách và tinh chế các hợp chất từ 2 loài nghiên cứu

#### 2.3.1. Loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

##### 2.3.1.1. Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết

Toàn cây (gồm rễ và phần trên mặt đất) loài Móc tai Sapa được thái nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 45°C đến khô thu được lượng mẫu (1.1 kg). Mẫu khô được nghiền nhỏ, ngâm chiết với  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (95:5) (3 lít x 4 lần) ở nhiệt độ phòng trong vòng 48 giờ. Dịch chiết tổng thu được sau đây được lọc qua giấy lọc, loại dung môi bằng máy quay cất ( $t^\circ < 55^\circ\text{C}$ ) dưới áp suất giảm, thu được cặn chiết tổng. Tiến hành hòa tan cặn chiết tổng với một lượng nước vừa đủ để tạo dịch chiết dạng sệt và tiến hành chiết phân bố lần lượt với các loại dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexane,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và *n*-BuOH), chiết tại nhiệt độ phòng, thể tích dung môi chiết (0.5 lít x 4 lần). Dịch chiết của các lần được gộp lại, tiến hành quay cất dưới điều kiện áp suất giảm thu được các cặn chiết với khối lượng lần lượt là *n*-hexane (14.6 g), dichloromethane  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.7 g) và *n*-BuOH (15.8 g). Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài Móc tai Sapa được tóm lược theo sơ đồ sau (Hình 2.3).



Hình 2.3. Sơ đồ xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài *I. chapaensis*

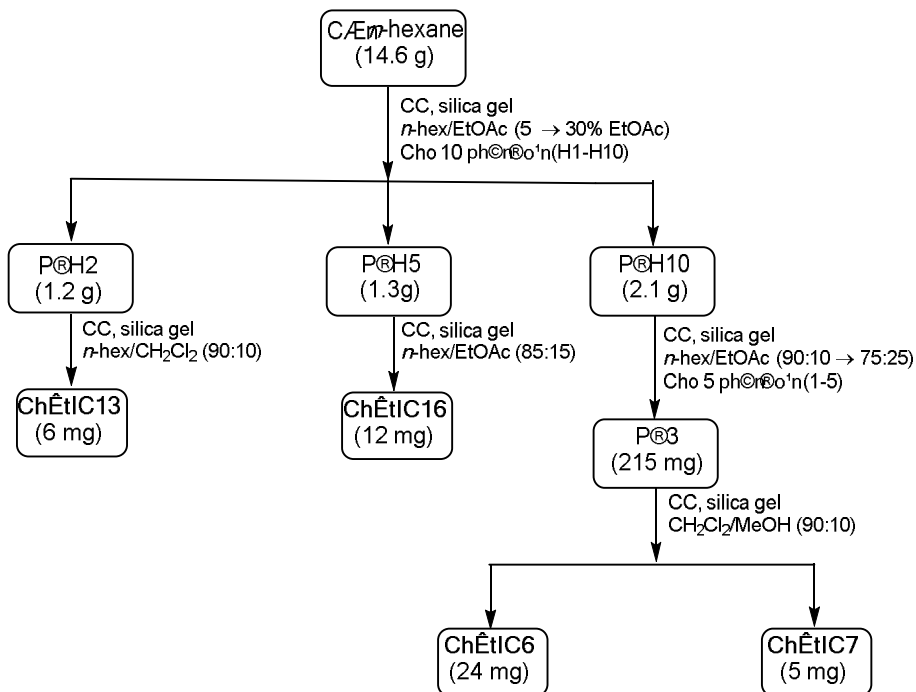
### 2.3.1.2. Quy trình phân lập chất

#### ❖ Phân lập chất từ căn chiết *n*-hexane:

Căn chiết *n*-hexane (14.6 g) được tiến hành phân lập trên sắc ký cột (CC) với chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi chạy cột *n*-hexane:EtOAc (với EtOAc tăng dần từ 5–30%) cho 10 phân đoạn (H1 – H10). Pd H2 (1.2 g) tiếp tục được tinh chế trên sắc ký cột với chất hấp phụ silica gel, hệ dung môi rửa giải là *n*-hexane:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (90:10) thu được hợp chất **IC13** (6 mg). Hợp chất **IC16** (12 mg) thu được từ Pd H5 (1.3 g) sau khi chạy cột silica gel với hệ rửa giải *n*-hexane:EtOAc (85:15). Pd H10 (2.1 g) ban đầu được tiến hành tách trên cột silical gel với hệ dung môi chạy cột là *n*-hexane:EtOAc (90:10 → 65:35) thu được 5 phân đoạn (pđ 1–5). Tiếp sau đó, pđ 3 (215 mg) được tiếp tục làm sạch trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi



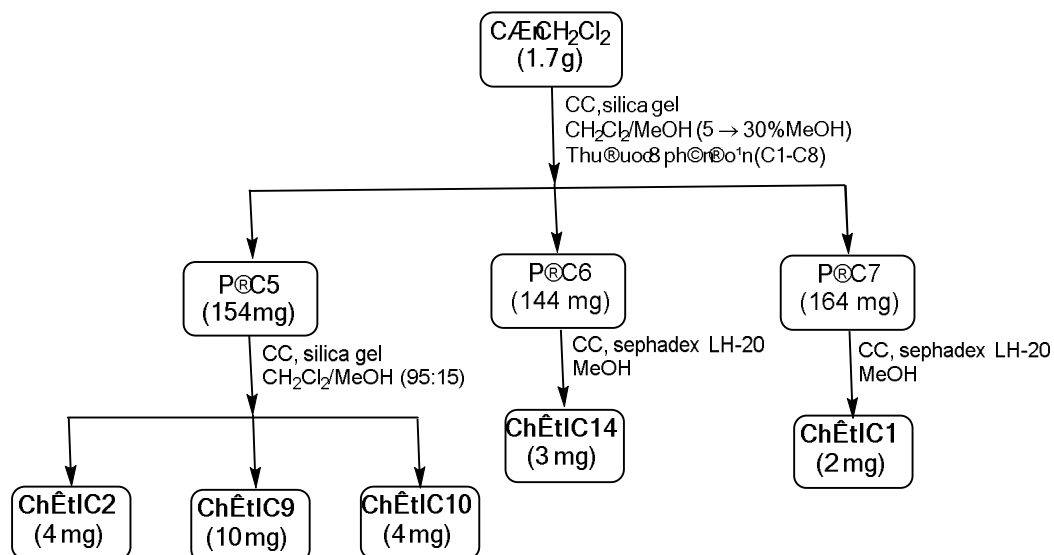
$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (95:5  $\rightarrow$  75:25) thu được hợp chất **IC6** (24 mg), và hợp chất **IC7** (5 mg) (Hình 2.4).



Hình 2.4. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết *n*-hexane của loài *I. chapaensis*

❖ Phân lập chất từ cặn chiết dichloromethane  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :

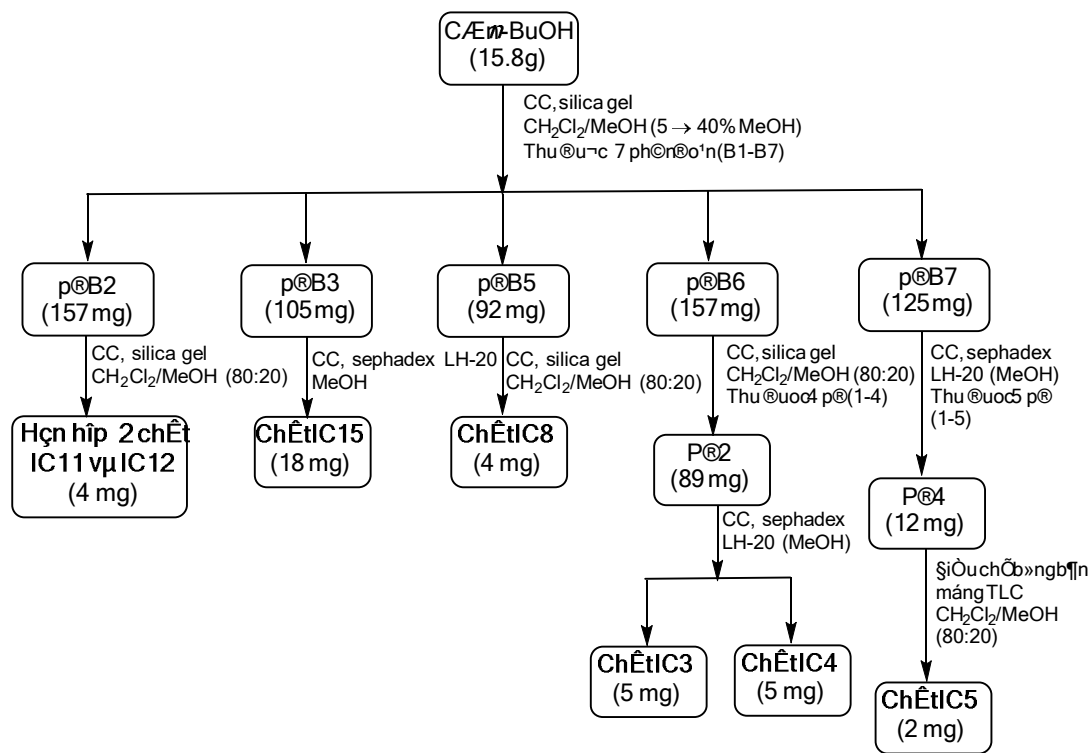
Cặn chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.7 g) được tiến hành tách chất trên sắc ký cột với chất hấp phụ silica gel, hệ dung môi chạy cột  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (95:5  $\rightarrow$  70:30) cho 8 phân đoạn (C1–C8). Phân đoạn C5 (154 mg) được làm sạch trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (85:15) thu được 3 hợp chất **IC2** (4 mg), **IC9** (10 mg) và **IC10** (4 mg). Phân đoạn C6 (144 mg) và C7 (164 mg) được tinh chế bằng cột Sephadex LH-20 (MeOH) lần lượt thu được chất **IC14** (3 mg) và **IC1** (2 mg) (Hình 2.5).



Hình 2.5. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  của loài *I. chapaensis*

❖ Phân lập chất từ cặn chiết *n*-BuOH:

Cặn chiết *n*-BuOH (15.8 g) được tiến hành chạy cột silica gel với hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (95:5 → 60:40) để thu được 7 phân đoạn (B1–B7). Phân đoạn B2 (157 mg) được tiếp tục làm sạch bằng cột silica gel sử dụng hệ rửa giải  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (80:20) thu được hỗn hợp (4 mg) của 2 chất **IC11** và **IC12**. Việc phân lập chất từ phân đoạn B3 (105 mg) được thực hiện trên cột Sephadex LH-20 (MeOH) thu được hợp chất **IC15** (18 mg). Trong khi đó, hợp chất **IC8** (4 mg) được phân lập từ phân đoạn B5 (92 mg) bằng cách sử dụng sắc ký cột silica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ , 80:20). Phân đoạn B6 (157 mg) được tách trên cột silica gel với hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  (80:20) cho 4 phân đoạn (pđ 1–4). Pđ 2 (89 mg) được tiếp tục làm sạch bằng cột Sephadex LH-20 (MeOH) thu được hợp chất **IC3** (5 mg) và **IC4** (5 mg). Phân đoạn B7 (125 mg) trước tiên được đưa lên cột Sephadex LH-20 (MeOH), thu được 5 phân đoạn (pđ 1–5). Pđ 4 (12 mg) được tiến hành điều chế trên bản mỏng (TLC) bằng hệ dung môi chạy bản mỏng ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ , 80:20) để thu được hợp chất **IC5** (2 mg) (Hình 2.6).



Hình 2.6. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết *n*-BuOH của loài *I. chapaensis*

### 2.3.1.3. Dữ liệu phổ các chất sạch phân lập được

❖ Hợp chất (**S**)-**naringenin (IC1)**: dạng keo không màu, 2 mg (0.0002% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.5$  (*n*-hexane/EtOAc = 1/1), (–)-ESI-MS:  $m/z$  271.8 [M–H]<sup>–</sup>, công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> (M = 272.0);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, *J*/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.1).

❖ Hợp chất (**S**)-**pinocembrin (IC2)**: dạng tinh thể màu vàng, 4 mg (0.0004% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.5$  (*n*-hexane/EtOAc = 3/1), công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (M = 256.0);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, *J*/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.2).

❖ Hợp chất **kaempferol (IC3)**: dạng bột màu vàng, 5 mg (0.0005% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.45$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 95/5), công thức phân tử C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub> (M = 286.0);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, *J*/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.3).

❖ Hợp chất **quercetin (IC4)**: dạng bột màu vàng, 5 mg (0.0005% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.35$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95/5$ ), công thức phân tử  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$  ( $M = 302.0$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.4)

❖ Hợp chất **(±)-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (IC5)**: dạng bột màu vàng, 2 mg (0.0002% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.40$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95/5$ ), công thức phân tử  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$  ( $M = 286.0$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.5).

❖ Hợp chất **phlorizin (IC6)**: dạng dầu màu vàng, 24 mg (0.0022% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.60$  ( $\text{EtOAc}/\text{MeOH} = 4/1$ ), công thức phân tử  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$  ( $M = 436.1$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.6).

❖ Hợp chất **2,4-dihydroxydihydrochalcone-6-O-β-D-glucopyranoside (IC7)**: dạng dầu màu vàng, 5 mg (0.0005% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.65$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 6/1$ ), (-)-ESI-MS:  $m/z$  418.9  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , công thức phân tử  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9$  ( $M = 420.1$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.7).

❖ Hợp chất **isoquercitrin (IC8)**: dạng rắn màu vàng, 4 mg (0.0004% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.50$  ( $\text{EtOAc}/\text{MeOH} = 4/1$ ), công thức phân tử  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$  ( $M = 464.1$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.8)

❖ Hợp chất **methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)**: dạng rắn màu trắng, 10 mg (0.0009% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.35$  ( $n\text{-hexane}/\text{EtOAc} = 3/1$ ), công thức phân tử  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$  ( $M = 152.2$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.9).

❖ Hợp chất **methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (IC10)**: dạng rắn màu vàng, 4 mg (0.0004% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.25$  (*n*-hexane/EtOAc = 3/1), (+)-ESI-MS:  $m/z$ : 222.7  $[M+K]^+$ , công thức phân tử  $C_8H_8O_5$  ( $M = 184.0$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.10).

❖ Hợp chất **isotachioside (IC11)**: dạng bột màu trắng, khoảng 1.8 mg (0.0002% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.55$  (EtOAc/MeOH = 4/1), công thức phân tử  $C_{13}H_{18}O_8$  ( $M = 302.0$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.11).

❖ Hợp chất **uridine (IC12)**: dạng bột màu trắng, khoảng 2.2 mg (0.0002% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.55$  (EtOAc/MeOH = 4/1), công thức phân tử  $C_9H_{12}N_2O_6$  ( $M = 244.1$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.12).

❖ Hợp chất **spinasterol (IC13)**: dạng bột màu trắng, 6 mg (0.0006% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.50$  (*n*-hexane/EtOAc = 75/25), công thức phân tử  $C_{29}H_{48}O$  ( $M = 412.3$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.13).

❖ Hợp chất **isofraxidin (IC14)**: chất rắn màu trắng, 3 mg (0.0003% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.50$  (*n*-hexane/acetone = 2/1), (+)-ESI-MS:  $m/z$  222.8  $[M+H]^+$ , công thức phân tử  $C_{11}H_{10}O_5$  ( $M = 222.0$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz, MeOD,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.14).

❖ Hợp chất **(7R,8S)-yemuoside YM1 (IC15)**: dạng bột màu trắng, 18 mg (0.0016% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.60$  (EtOAc/MeOH = 4/1), (-)-ESI-MS:  $m/z$  505  $[M-H]^-$ , công thức phân tử  $C_{25}H_{30}O_{11}$  ( $M = 506.1$ );

Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_H$ , ppm,  $J/Hz$ ) và phổ  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.15).

❖ Hợp chất **(S)-dehydrovomifoliol (IC16)**: dạng dầu không màu, 12 mg (0.0011% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.25$  (*n*-hexane/EtOAc = 4/1),  $[\alpha]_D^{25} = +135.8$

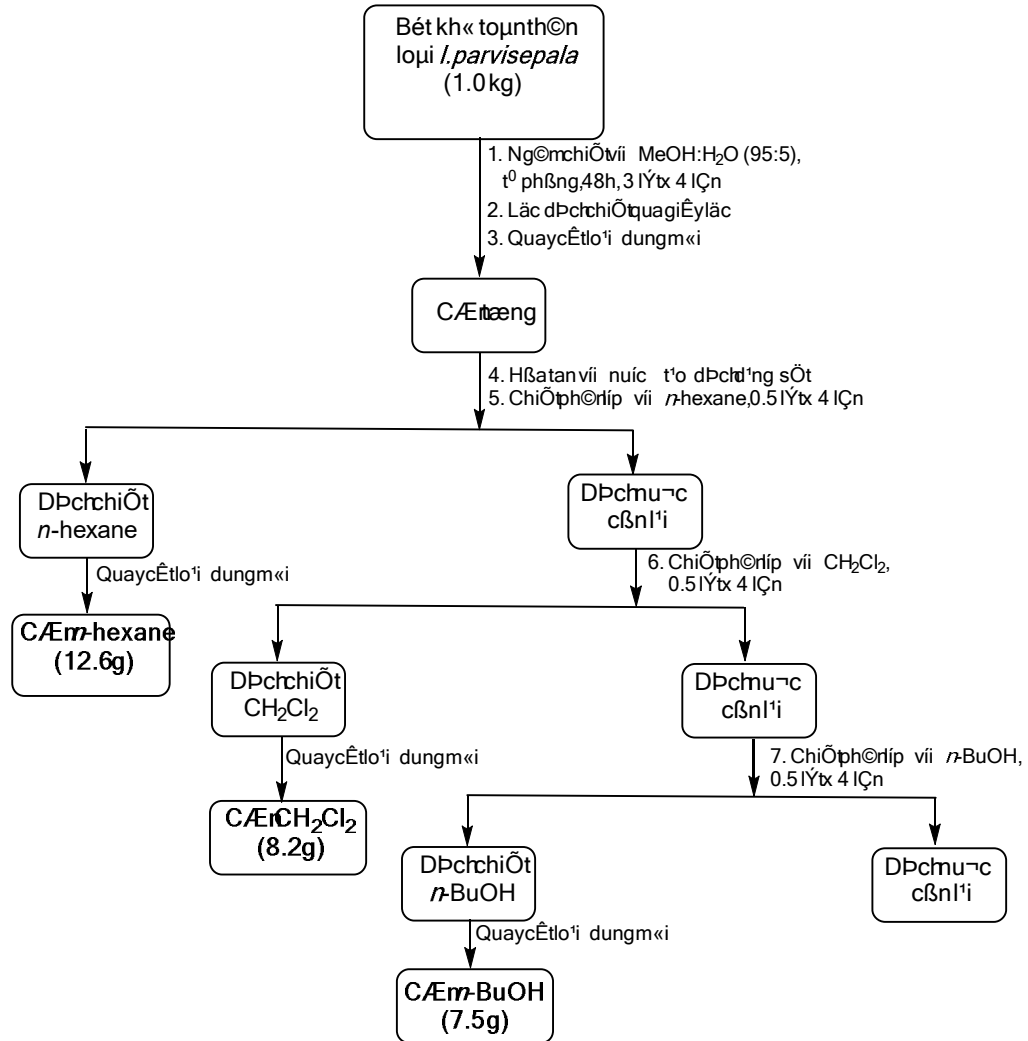
( $c = 0.1$ , MeOH), (-)-ESI-MS:  $m/z$ : 220.7 [M-H]<sup>-</sup>, công thức phân tử C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> (M = 222.0);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.16).

### 2.3.2. Loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

#### 2.3.2.1. Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết

Bằng cách xử lý tương tự như trên, mẫu thực vật *I. parvisepala* được thái nhỏ sau khi thu hái, sấy khô ở nhiệt độ 45°C đến khô thu được lượng mẫu (1.0 kg). Mẫu khô được nghiền nhỏ và ngâm chiết với MeOH:H<sub>2</sub>O (95:5) (3 lít x 4 lần) ở nhiệt độ phòng trong vòng 48 giờ. Sau đó tiến hành lọc dịch chiết tổng thu được qua giấy lọc, loại dung môi bằng máy quay cất ( $t^{\circ} < 55^{\circ}\text{C}$ ) dưới áp suất giảm, thu được cặn chiết tổng. Cặn chiết tổng được bổ sung một lượng nước vừa đủ để tạo dịch dạng sệt và chiết phân bố dịch nước thu được lần lượt với các loại dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và *n*-BuOH), chiết tại nhiệt độ phòng, thể tích dung môi chiết (0.5 lít x 4 lần). Dịch chiết của các lần được gộp lại, tiến hành quay cất dưới điều kiện áp suất giảm được các cặn chiết với khối lượng lần lượt là *n*-hexane (12.6 g), dichloromethane CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8.2 g) và *n*-BuOH (7.5 g). Quy trình xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài *I. parvisepala* được tóm tắt theo sơ đồ sau (Hình 2.7).



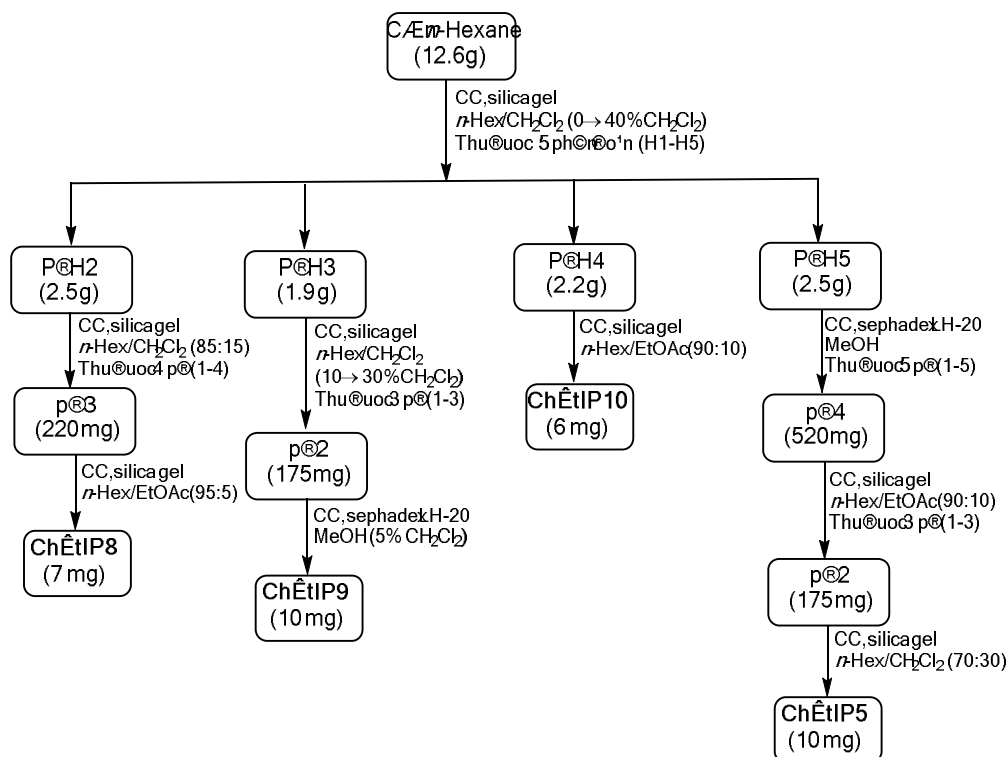
Hình 2.7. Sơ đồ xử lý mẫu thực vật và tạo cao chiết của loài *I. parvisepala*

### 2.3.2.2. Quy trình phân lập chất

#### ❖ Phân lập chất từ căn chiết *n*-hexane:

Căn chiết *n*-hexane (12.6 g) được tiến hành tinh chế trước tiên trên cột sắc ký thường, với chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi chạy cột *n*-hexane:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> tăng dần từ 0 đến 40%) thu được 5 phân đoạn (H1-H5). Phân đoạn H2 (2.5 g) được đưa lên cột silica gel (*n*-hexane:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 85:15) thu được 4 phân đoạn (pđ 1-4). Pđ 3 (220 mg), tiến hành làm sạch tiếp trên cột silica gel (*n*-hexane:EtOAc, 95:5) thu được hợp chất **IP8** (7 mg). Phân đoạn H3 (1.9 g) trước tiên được tinh chế trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ *n*-hexane:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> tăng từ 10-30%), các phân đoạn chọn lọc thu được tiếp tục được làm sạch trên cột sephadex LH-20 MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (95:5) để cho hợp chất **IP9** (10 mg). Hợp chất **IP10** (6 mg) thu được chỉ sau một bước tinh chế phân đoạn H4 (2.2 g) bằng cột silica gel (*n*-

hexane:EtOAc, 90:10). Việc tách phân đoạn H5 (2.5 g) được thực hiện trước tiên trên cột sephadex LH-20 (MeOH), tiếp sau sử dụng cột silica gel với hệ rửa giải (*n*-hexane:EtOAc, 85:15) và cuối cùng làm sạch lại các phân đoạn chọn lọc bằng cột silical gel (*n*-hexane:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 70:30) thu được hợp chất **IP5** (10 mg) (Hình 2.8).



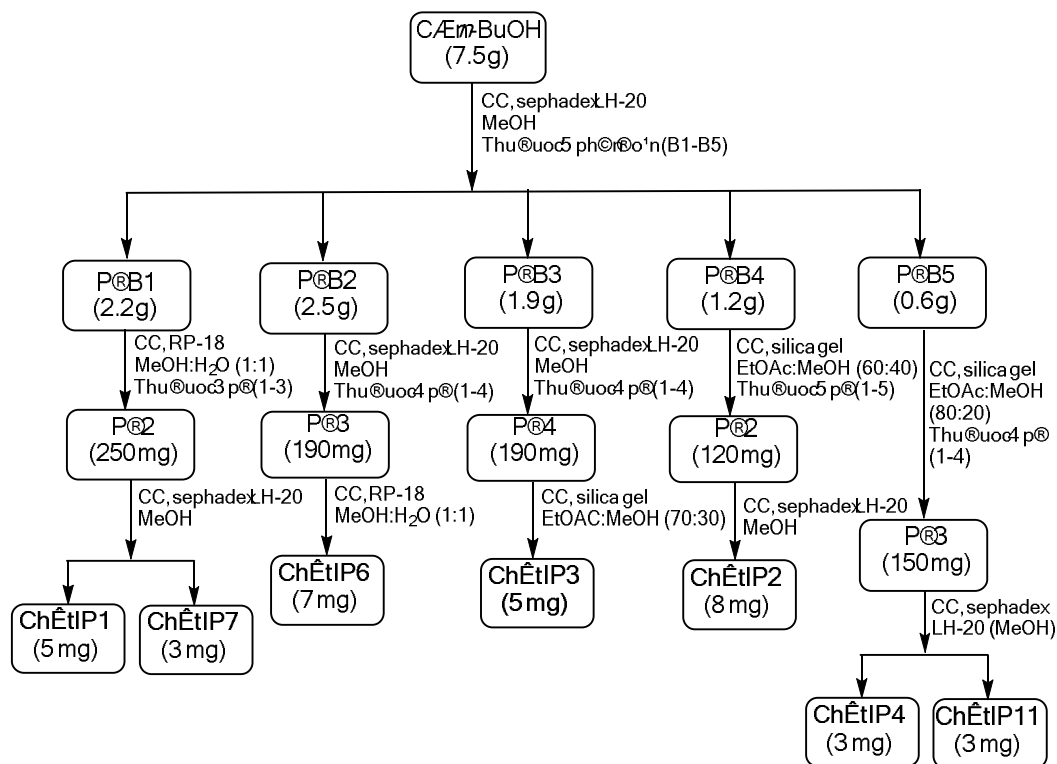
Hình 2.8. Sơ đồ phân lập chất từ căn chiết *n*-hexane của loài *I. parvisepala*

❖ Phân lập chất từ căn chiết *n*-BuOH:

Căn chiết *n*-BuOH (7.5 g) được cho lên cột sắc ký, chất hấp phụ là sephadex LH-20 (MeOH), thu được 5 phân đoạn (B1-B5). Phân đoạn B1 (2.3 g) được tiếp tục làm sạch bằng cột pha đảo RP-18, sử dụng hệ dung môi chạy cột (MeOH:H<sub>2</sub>O, 1:1), thu được 3 phân đoạn (pđ 1-3). Pđ 2 (250 mg) được làm sạch tiếp theo trên cột sephadex LH-20 (MeOH) thu được 2 chất **IP1** (5 mg) và **IP7** (3 mg). Phân đoạn B2 (2.5 g) được tinh chế lần lượt trên cột sephadex LH-20 (MeOH) và cột pha đảo RP-18 (MeOH:H<sub>2</sub>O, 1:1) thu được 7 mg chất **IP6**. Hợp chất **IP3** (5 mg) được tách ra từ phân đoạn B3 (1.9 g) sau khi làm sạch phân đoạn này lần lượt trên cột sephadex LH-20 (MeOH) và cột silica gel (EtOAc:MeOH, 70:30). Việc phân lập chất sạch từ phân đoạn B4 (1.2 g) được thực hiện trước tiên trên cột silica gel (EtOAc:MeOH, 60:40), tiếp theo là cột sephadex LH-20 (MeOH) thu được hợp chất **IP2** (8 mg). Cũng sử dụng phương pháp sắc ký cột, hai hợp chất **IP4** và **IP11** (3 mg mỗi chất)



được tách ra từ phân đoạn B5 (0.6 g) sau khi cho phân đoạn này lên cột silica gel, rửa giải bằng hệ (EtOAc:MeOH, 80:20) và làm sạch lại bằng cột sephadex LH-20 (MeOH) (Hình 2.9).



Hình 2.9. Sơ đồ phân lập chất từ cặn chiết *n*-BuOH của loài *I. parvisepala*

### 2.3.2.3. Dữ liệu phổ các chất sạch phân lập được

❖ Hợp chất **kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (IP1)**: dạng rắn màu vàng, 5 mg (0.0005% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.35$  (MeOH/H<sub>2</sub>O = 1/1, bản mỏng pha đảo RP-18), (-)-ESI-MS:  $m/z$  593.0 [M-H]<sup>-</sup>; (+)-ESI-MS:  $m/z$  617.1 [M+Na]<sup>+</sup>, công thức phân tử C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub> (M = 594.0);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_H$ , ppm, *J*/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.18).

❖ Hợp chất **apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (IP2)**: dạng rắn màu vàng, 8 mg (0.0008% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.5$  (EtOAc/MeOH = 4/1), (-)-ESI-MS:  $m/z$  430.9 [M-H]<sup>-</sup>, công thức phân tử C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub> (M = 432.1);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta_H$ , ppm, *J*/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta_C$ , ppm) (Bảng 3.19).

❖ Hợp chất **isoquercitrin (IP3)**: dạng bột màu vàng, 4 mg (0.0004% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.5$  (EtOAc/MeOH = 6/4), (-)-ESI-MS:  $m/z$  462.9 [M-H]<sup>-</sup>; (+)-ESI-MS:  $m/z$  487.0 [M+Na]<sup>+</sup>, công thức phân tử C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub> (M = 464.1);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.20).

❖ Hợp chất **phlorizin (IP4)**: dạng dầu màu vàng, 3 mg (0.0003% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.6$  (EtOAc/MeOH = 4/1), (-)-ESI-MS:  $m/z$  435.0 [M-H]<sup>-</sup>, công thức phân tử C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (M = 436.1);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.21).

❖ Hợp chất **lupeol (IP5)**: dạng rắn màu trắng, 10 mg (0.001% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.40$  (*n*-hexane/EtOAc = 85/15), (+)-ESI-MS:  $m/z$  427.2 [M+H]<sup>+</sup>, công thức phân tử C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O (M = 426.3);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.22).

❖ Hợp chất **ginsenoside Rg1 (IP6)**: dạng rắn không màu, 7 mg (0.0007% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.55$  (EtOAc/MeOH = 7/3, HR-ESI-MS:  $m/z$  835.4609 [M-Cl]<sup>-</sup> (tính toán lý thuyết cho [C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>Cl]<sup>-</sup>, 835.4616), công thức phân tử C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub> (M = 800.5);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.23).

❖ **Chất mới: 3-O-{[α-L-arabinopyranosyl-(1→3)]-β-D-glucopyranosyl-(1→2)}-β-D-glucuronopyranoside 16α-O-acetyl-3β,22α,28β-trihydroxy-olean-12-ene** (đặt tên là **iparvisepala-1 (IP7)**: dạng rắn màu trắng, 3 mg (0.0003% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.50$  (EtOAc/MeOH = 6/4, HR-ESI-MS:  $m/z$  1021.4789 [M+Cl]<sup>-</sup> (tính toán lý thuyết cho [C<sub>49</sub>H<sub>78</sub>O<sub>20</sub>Cl]<sup>-</sup>, 1021.4780), công thức phân tử C<sub>49</sub>H<sub>78</sub>O<sub>20</sub> (M = 986.5);

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>, ppm, J/Hz) và phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>, ppm) (Bảng 3.25).

❖ Hợp chất **α-tocopherylquinone (IP8)**: dạng dầu màu vàng, 7 mg (0.0007% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.35$  (*n*-hexane/EtOAc = 85/15), (-)-ESI-MS:  $m/z$  445.0 [M - H]<sup>-</sup>, công thức phân tử C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub> (M = 446.3);

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.26).

❖ Hợp chất **phytol (IP9)**: dạng dầu màu vàng, 10 mg (0.001% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.45$  ( $n$ -hexane/EtOAc = 85/15), (-)-ESI-MS:  $m/z$  295.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , công thức phân tử  $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$  ( $M = 296.3$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.27).

❖ Hợp chất **1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-sn-glycerol (IP10)**: dạng dầu không màu, 6 mg (0.0006% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.35$  ( $n$ -hexane/acetone = 2/1), (-)-ESI-MS:  $m/z$  367.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , công thức phân tử  $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_4$  ( $M = 368.3$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ) và phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , ppm) (Bảng 3.28).

❖ Hợp chất **uracil (IP11)**: dạng rắn không màu, 3 mg (0.0003% khối lượng mẫu khô),  $R_f = 0.30$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9/1$ ), (+)-ESI-MS:  $m/z$  112.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , công thức phân tử  $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$  ( $M = 112.0$ );

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ , ppm,  $J/\text{Hz}$ ): 5.63 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-5), 7.41 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-6).

### Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

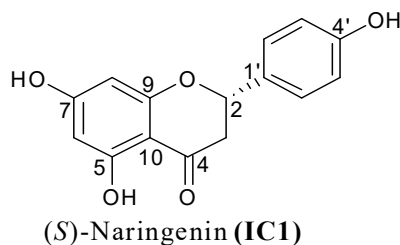
#### 3.1. Phân tích, xác định cấu trúc các chất phân lập từ loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

Kết quả nghiên cứu hóa học cho thấy, có tổng số 16 hợp chất (IC1 – IC16) được phân lập từ loài *I. chapaensis*, gồm tám flavonoid (IC1 – IC8), ba hợp chất monophenol (IC9 – IC11) và năm hợp chất khác (IC12 – IC16). Cấu trúc của các hợp chất phân lập được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ 1D, 2D-NMR, phổ khối (HR-ESI-MS, ESI-MS, MS/MS) và kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo.

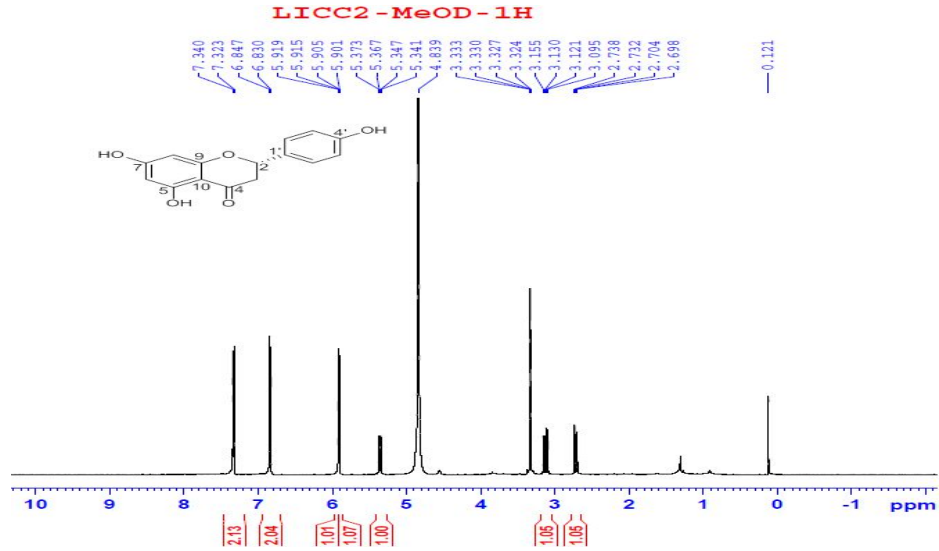
##### 3.1.1. Các hợp chất flavonoid

8 flavonoid (IC1 – IC8) phân lập từ loài *I. chapaensis* được chia thành 3 phân nhóm gồm: 3 flavanone (IC1, IC2 và IC5), 3 flavonol (IC3, IC4 và IC8) và 2 dihydrochalcone (IC6 và IC7). Trong đó, 4 hợp chất (IC1 và IC5 – IC7) là lần đầu tiên phát hiện trong chi.

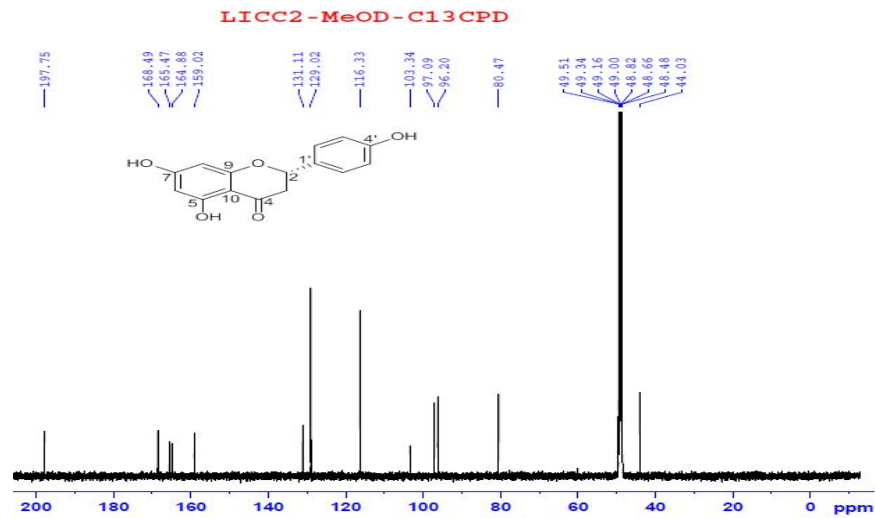
##### ❖ Hợp chất IC1:



Hợp chất IC1 được phân lập ở dạng keo không màu từ cao chiết CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Công thức phân tử của chất IC1 được xác định là C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> dựa trên việc phân tích phổ 1D-NMR kết hợp với phổ khối (–)-ESI-MS: *m/z* 271.8 [M-H]<sup>–</sup> (Phụ lục phổ). Phổ <sup>13</sup>C-NMR (Hình 3.2) cho các tín hiệu đặc trưng của một flavanone với tổng số 15 tín hiệu carbon, trong đó 12 carbon thuộc hai vòng thơm trong khoảng δ<sub>C</sub> 96.1 - 168.5 ppm, 1 carbon của nhóm carbonyl tại δ<sub>C</sub> 197.8 (C-4), 1 nhóm oxymethine tại δ<sub>C</sub> 80.5 (C-2), và 1 nhóm methylene tại δ<sub>C</sub> 44.0 (C-3). Phổ <sup>1</sup>H-NMR (Hình 3.1) cho hai tín hiệu proton doublet với hằng số tương tác *J* nhỏ tại δ<sub>H</sub> 5.90 (d, *J* = 2.0 Hz, H-6) và 5.92 (d, *J* = 2.0 Hz, H-8) chứng minh vòng thơm A thế ở 2 vị trí 5,7; hai tín hiệu proton doublet tại δ<sub>H</sub> 7.33 (d, *J* = 8.5 Hz, H-2'/6') và 6.84 (d, *J* = 8.5 Hz, H-3'/5') cho thấy vòng thơm B đặc trưng của hệ A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>.



Hình 3.1. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)-naringenin (IC1)



Hình 3.2. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)-naringenin (IC1)

Ngoài ra, phổ CD (phụ lục phổ) của hợp chất IC1 cho hiệu ứng Cotton giá trị âm tại bước sóng 289 nm chứng minh cấu hình (*S*) tại carbon bất đối C-2 khi so sánh với tài liệu [71]. Dựa trên kết quả phân tích phổ và kết hợp so sánh với tài liệu đã công bố [72], hợp chất IC1 được xác định là (*S*)-naringenin.

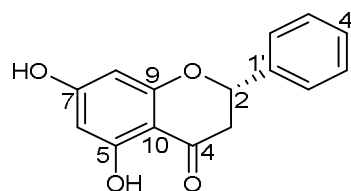
Bảng 3.1. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất IC1 được so sánh với (*S*)-naringenin

C	Hợp chất IC1		( <i>S</i> )-naringenin [72]	
	$\delta_{\text{H}}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	$\delta_{\text{C}}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	$\delta_{\text{H}}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	$\delta_{\text{C}}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

2	5.36 (dd, $J = 3.0, 13.0$ Hz)	80.5, CH	5.36 (dd, $J = 3.0, 17.0$ Hz)	80.5, CH
3	3.13 (dd, $J = 12.5, 17.0$ Hz) 2.72 (dd, $J = 3.0, 17.0$ Hz)	44.0, CH <sub>2</sub>	3.14 (dd, $J = 13.0, 17.0$ Hz) 2.71 (dd, $J = 3.0, 17.0$ Hz)	44.1, CH <sub>2</sub>
4	-	197.8, C	-	197.8, C
5	-	165.5, C	-	165.5, C
6	5.90 (d, $J = 2.0$ Hz)	97.1, CH	5.89 (d, $J = 2.1$ Hz)	97.1, CH
7	-	168.5, C	-	168.6, C
8	5.92 (d, $J = 2.0$ Hz)	96.2, CH	5.88 (d, $J = 2.1$ Hz)	96.2, CH
9	-	164.9, C	-	164.9, C
10	-	103.3, C	-	103.3, C
1'	-	131.1, C	-	131.1, C
2'/6'	7.33 (d, $J = 8.5$ Hz)	129.0, (CH x 2)	7.32 (d, $J = 8.6$ Hz)	129.0, (CH x 2)
3'/5'	6.84 (d, $J = 8.5$ Hz)	116.3, (CH x 2)	6.82 (d, $J = 8.6$ Hz)	116.3, (CH x 2)
4'	-	159.0, C	-	159.1, C

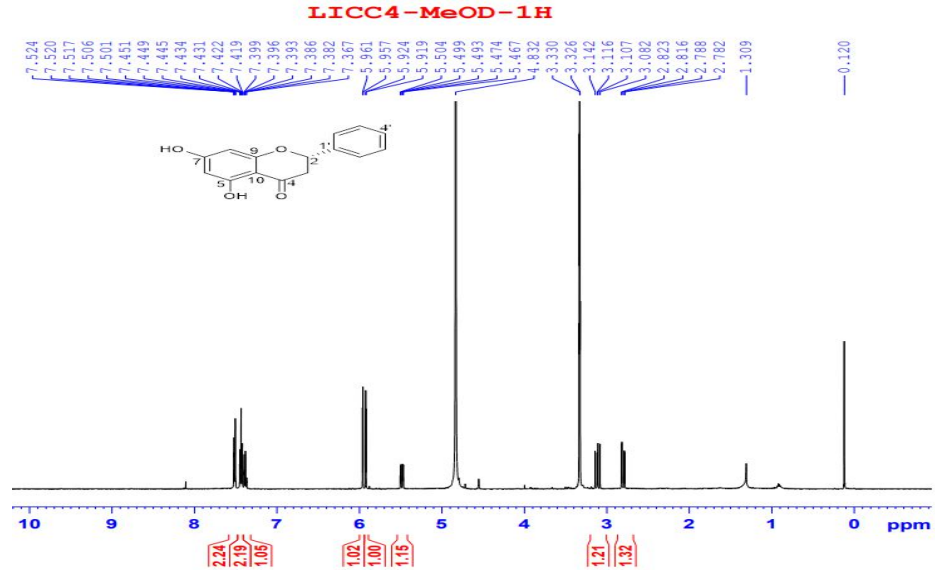
(*S*)-naringenin (**IC1**) được đánh giá là một flavonoid khá phổ biến trong thành phần hóa học của các loài thực vật, tuy nhiên đây là lần đầu tiên hợp chất này được tìm thấy trong chi *Impatiens* dựa trên kết quả khảo sát tài liệu công bố về thành phần hóa học của chi này. Nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học đã cho các kết quả đầy tiềm năng của hợp chất **IC1** trong kháng viêm, chống oxy hóa, chống tiểu đường và chống ung thư [73].

❖ Hợp chất **IC2**:

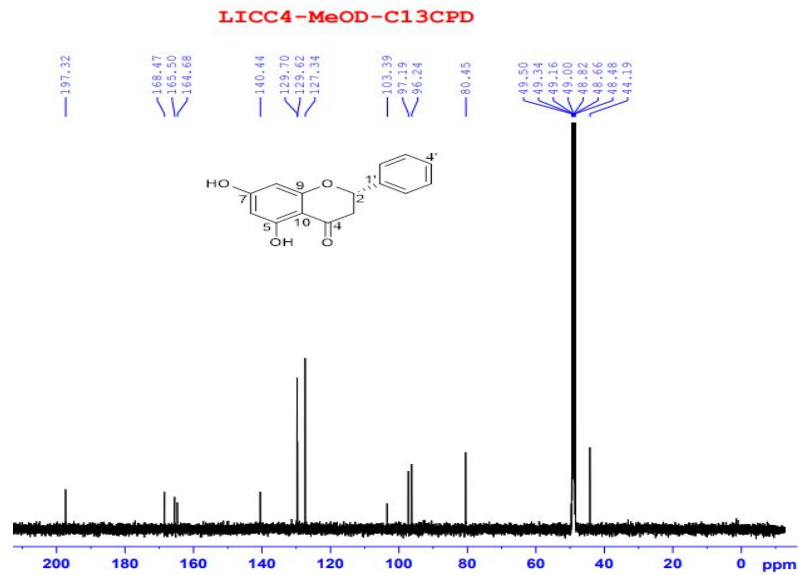


(*S*)-Pinocembrin (**IC2**)

Hợp chất **IC2** được phân lập dưới dạng rắn màu vàng với công thức phân tử được xác định là C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> dựa trên kết quả phân tích dữ liệu phổ đo được. Phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR (Hình 3.3, 3.4) của **IC2** cũng cho dấu hiệu đặc trưng của một flavanone tương tự như hợp chất **IC1**. Tuy nhiên, so với hợp chất **IC1**, hợp chất **IC2** thiếu nhóm hydroxyl tại vị trí C-4' khi phổ <sup>1</sup>H-NMR cho 5 tín hiệu proton trong khoảng δ<sub>H</sub> 7.39 - 7.51ppm (H-2' → H-6') của vòng thơm B.



Hình 3.3. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)- pinocembrin (IC2)



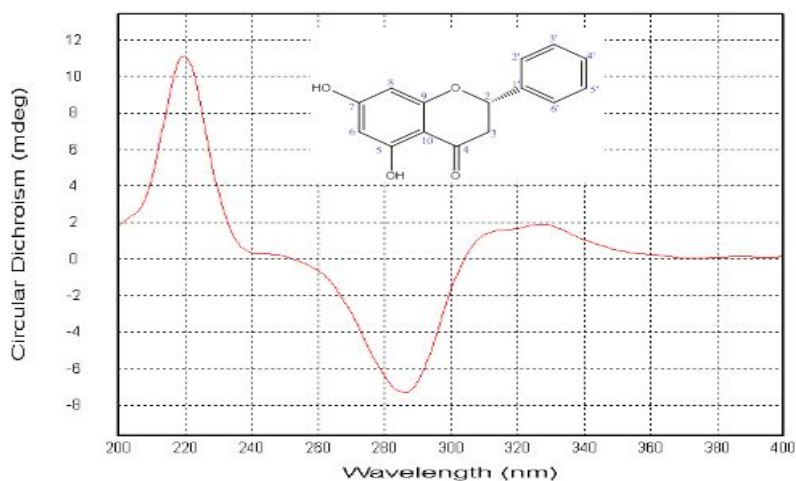
Hình 3.4. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)- pinocembrin (IC2)

Bảng 3.2. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất IC2 được so sánh với (*S*)-pinocembrin)

C	IC2 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		( <i>S</i> )-pinocembrin) [12] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	5.49 (dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz)	80.5, CH	5.33 (dd, $J = 12.8, 3.7$ Hz)	80.4, CH
3	3.11 (dd, $J = 17.5, 13.0$ Hz) 2.80 (dd, $J = 17.5, 3.0$ Hz)	44.2, $\text{CH}_2$	2.98 (dd, $J = 17.4, 12.8$ Hz) 2.67 (dd, $J = 17.0, 3.7$ Hz)	44.1, $\text{CH}_2$
4	-	197.3, C	-	197.3, C

5	-	165.5, C	-	165.4, C
6	5.96 (d, $J=2.0$ Hz)	96.2, CH	5.87 (d, $J=1.8$ Hz)	96.2, CH
7	-	168.5, C	-	168.3, C
8	5.92 (d, $J=2.0$ Hz)	97.2, CH	5.87 (d, $J=1.8$ Hz)	97.2, CH
9	-	164.7, C	-	164.6, C
10	-	103.4, C	-	103.3, C
1'	-	140.4, C	-	140.3, C
2'/6'	7.51 (m)	127.3, (CH x 2)	7.34 (m)	127.3, (CH x 2)
3'/5'	7.44 (m)	129.6, (CH x 2)	7.34 (m)	129.6, (CH x 2)
4'	7.39 (m)	129.7, CH	7.34 (m)	129.7, CH

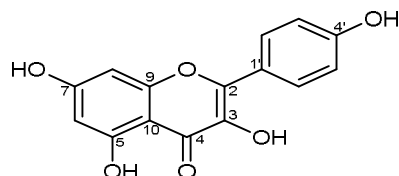
Ngoài ra, phổ CD (Hình 3.5) của hợp chất **IC2** cho hiệu ứng Cotton giá trị âm tại bước sóng 286 nm chứng minh cấu hình (*S*) tại carbon bất đối C-2 khi so sánh với tài liệu [74]. Từ kết quả phân tích dữ liệu phổ phía trên kết hợp so sánh với tài liệu công bố [12], hợp chất **IC2** được xác định là (*S*)-pinocembrin. Theo tài liệu công bố trước đây về chi *Impatiens*, (*S*)-pinocembrin (**IC2**) đã được phân lập từ loài *I. balsamina* [75]. (*S*)-pinocembrin là hợp chất khá phổ biến trong thành phần hóa học của các loài thực vật và được đánh giá là nguồn tiềm năng trong hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm, chống ung thư và kháng khuẩn [76].



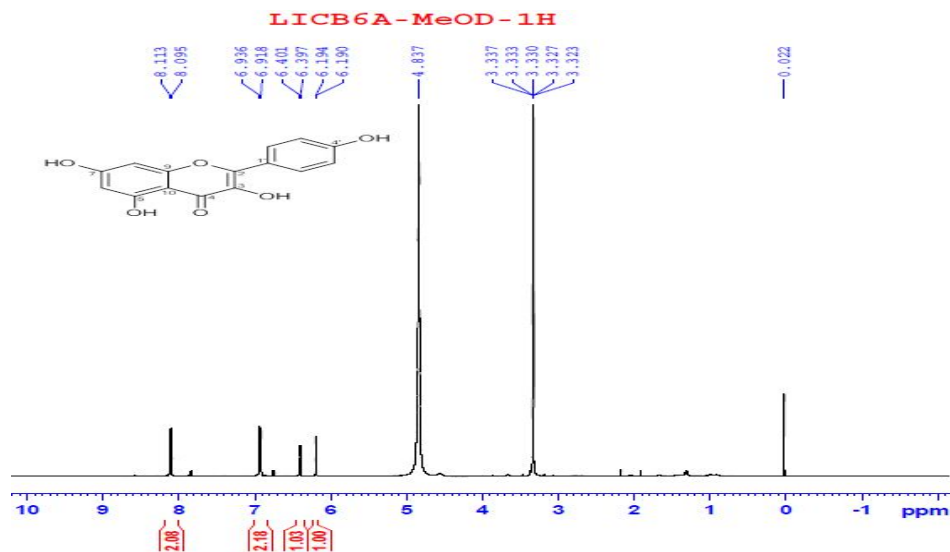
Hình 3.5. Phổ CD của hợp chất (*S*)-pinocembrin (**IC2**)

❖ Hợp chất **IC3**:



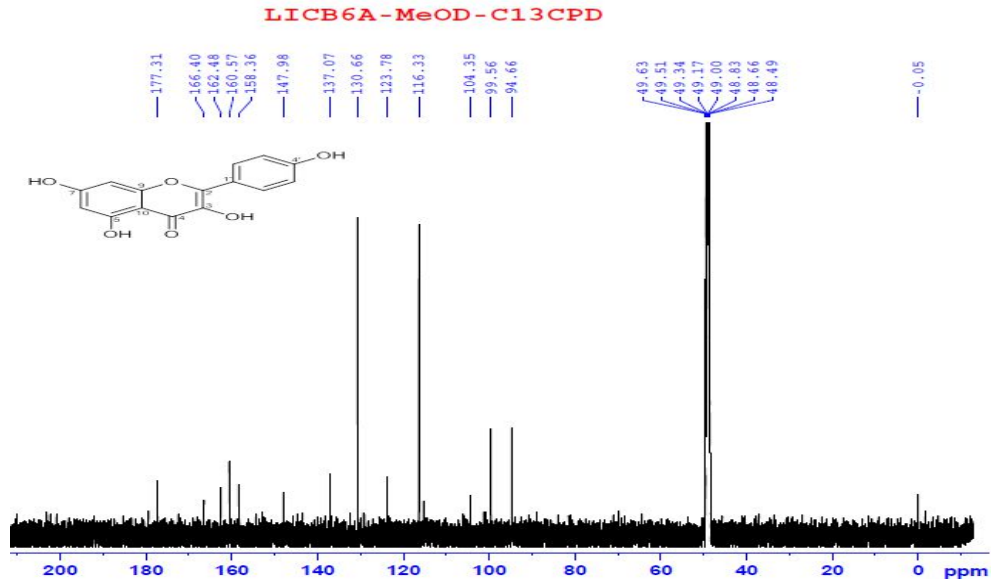
Kaempferol (**IC3**)

Công thức phân tử của hợp chất **IC3** là  $C_{15}H_{10}O_6$  dựa trên kết quả phân tích phổ 1D, 2D-NMR của nó. Việc kết hợp phân tích phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.6, 3.7) và HSQC (phụ lục phổ) nhận thấy được các dấu hiệu đặc trưng của một flavonol với một cặp tín hiệu doublet proton thơm tại  $\delta_H$  6.19 (d,  $J = 2.0$  Hz, H-6) và 6.40 (d,  $J = 2.0$  Hz, H-8) của vòng A; cặp tín hiệu proton vòng thơm thế kiểu  $A_2B_2$  tại  $\delta_H$  8.10 (d,  $J = 9.0$  Hz, H-2'/6') và 6.93 (d,  $J = 9.0$  Hz, H-3'/5') của vòng B.



Hình 3.6. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ) của hợp chất kaempferol (**IC3**)

Phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.7) cho 15 tín hiệu carbon đặc trưng của khung flavonol gồm 1 carbon của nhóm carbonyl tại  $\delta_C$  177.3 (C-4), 6 carbon vòng thơm đính oxy trong khoảng  $\delta_C$  137.1 – 166.4 ppm và 8 carbon vòng thơm khác trong khoảng  $\delta_C$  94.7 – 130.7 ppm. Từ dữ liệu phân tích trên, hợp chất **IC3** được xác định là 4',5,7-trihydroxyflavonol (còn gọi là kaempferol) khi đối chiếu dữ liệu phổ với tài liệu tham khảo [77].



Hình 3.7. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol (**IC3**)

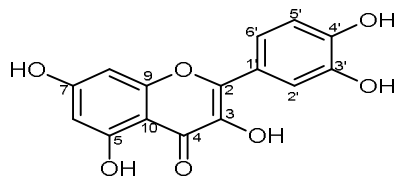
Bảng 3.3. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC3** được so sánh với kaempferol

Hợp chất <b>IC3</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )			Kaempferol [77] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	148.0, C	-	146.8, C
3	-	137.1, C	-	136.6, C
4	-	177.3, C	-	176.6, C
5	-	162.5, C	-	162.3, C
6	6.19 (d, $J = 2.0$ Hz)	96.6, CH	6.28 (d, $J = 2.0$ Hz)	99.2, CH
7	-	166.4, C	-	164.9, C
8	6.40 (d, $J = 2.0$ Hz)	94.7, CH	6.52 (d, $J = 2.0$ Hz)	94.4, CH
9	-	158.4, C	-	157.7, C
10	-	104.4, C	-	104.1, C
1'	-	123.8, C	-	123.3, C
2'/6'	8.10 (d, $J = 9.0$ Hz)	130.7, (CH x 2)	8.04 (dd, $J = 11.5, 2.8$ Hz)	125.9, (CH x 2)
3'/5'	6.93 (d, $J = 9.0$ Hz)	116.3, (CH x 2)	6.95 (dd, $J = 9.8, 2.7$ Hz)	116.3, (CH x 2)
4'	-	160.6, C	-	160.1, C

Kaempferol (**IC3**) là một trong số những hợp chất phát hiện sớm nhất trong chi *Impatiens*, lần đầu tiên vào năm 1958 từ loài *I. capensis* [35]. Cho đến nay hợp chất này còn được phát hiện ở một số loài khác trong chi như *I. glandulifera*, *I. holstii*, *I. sultani*, *I. parviflora*, *I. balsamina*, *I. nolitangere* và *I. textori* [15, 24, 36, 68]. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm chứng minh hoạt tính chống oxy

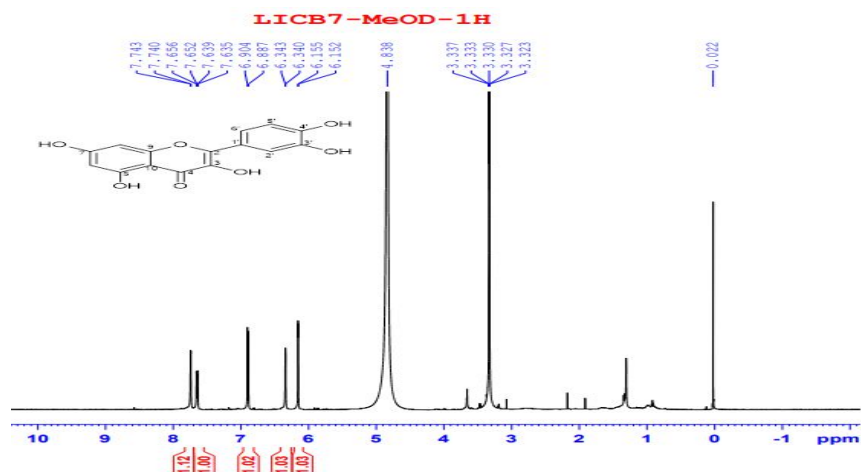
hóa, kháng khuẩn, chống ung thư, bảo vệ hệ thần kinh và bảo vệ gan của hợp chất kaempferol [78].

❖ Hợp chất **IC4**:

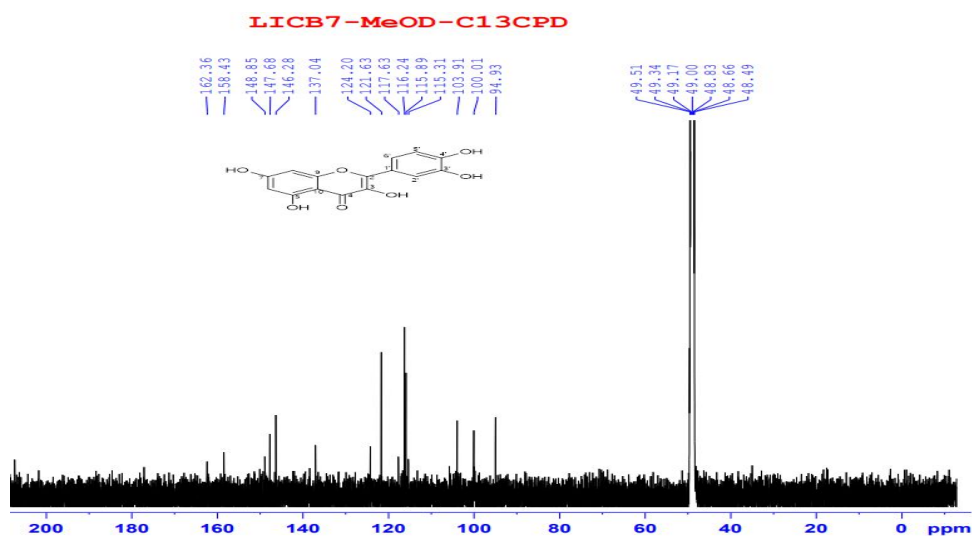


Quercetin (**IC4**)

Là hợp chất dạng bột màu vàng và cũng được phân lập từ căn *n*-BuOH của loài *I. chapaensis* như hợp chất **IC3**. Chất **IC4** được xác định cũng có cấu trúc của một flavonol với công thức phân tử là  $C_{15}H_{10}O_7$  dựa trên kết quả phân tích phổ. So sánh phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$  NMR (Hình 3.8, 3.9) của hai chất **IC4** và **IC3** chỉ thấy sự khác nhau tại vị trí thế của vòng B. Theo đó, hợp chất **IC4** cho vòng B thế dạng ABX khi phổ  $^1\text{H}$ -NMR có sự xuất hiện của 3 proton thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  7.74 (d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.90 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), và 7.65 (dd,  $J = 8.0, 1.8$  Hz, H-6'). Phân tích phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **IC4** cho 15 tín hiệu carbon đặc trưng của khung flavonol gồm 1 carbon của nhóm carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  177.2 (C-4), 7 carbon thơm đính oxy:  $\delta_{\text{C}}$  147.7 (C-2), 137.0 (C-3), 162.4 (C-5), 165.5 (C-7), 158.4 (C-9), 146.3 (C-3') và 148.9 (C-4') và 7 carbon thơm khác:  $\delta_{\text{C}}$  100.0 (C-6), 94.9 (C-8), 103.9 (C-10), 124.2 (C-1'), 115.9 (C-2'), 116.2 (C-5') và 121.6 (C-6'). Từ kết quả phân tích dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [77], hợp chất **IC4** được xác định là 4',5',5,7-tetrahydroxyflavonol (còn gọi là quercetin). Quercetin trước đây đã được công bố có trong một số loài khác của chi *Impatiens* như *I. balsamina*, *I. parviflora*, *I. nolitangere*, *I. textori* và *I. glandulifera* và được thử nghiệm nhiều hoạt tính sinh học quan trọng [15, 27, 30].



Hình 3.8. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC4)



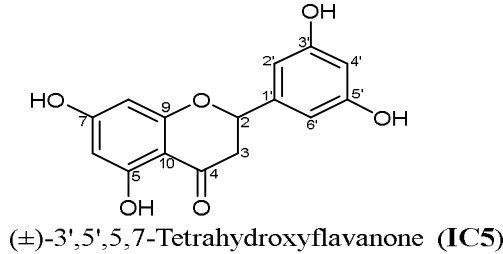
Hình 3.9. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC4)

Bảng 3.4. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất IC4 được so sánh với quercetin

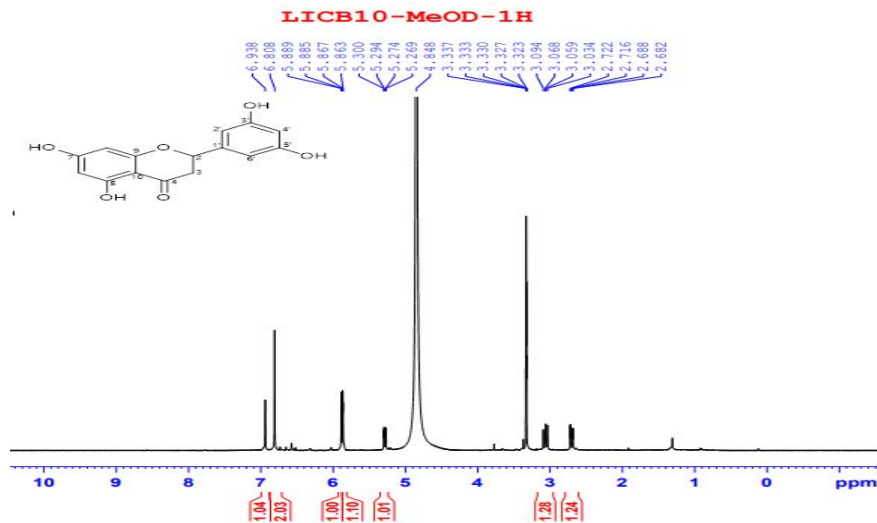
C	IC4 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Quercetin [77] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	147.7, C	-	147.7, C
3	-	137.0, C	-	135.7, C
4	-	177.2, C	-	176.8, C
5	-	162.4, C	-	160.7, C
6	6.15 (d, $J = 1.5$ Hz)	100.0, CH	6.20 (d, $J = 2.0$ Hz)	98.2, CH
7	-	165.5, C	-	163.9, C
8	6.34 (d, $J = 1.5$ Hz)	94.9, CH	6.40 (d, $J = 2.0$ Hz)	94.5, CH
9	-	158.4, C	-	156.1, C
10	-	103.9, C	-	103.0, C
1'	-	124.2, C	-	121.9, C
2'	7.74 (d, $J = 1.8$ Hz)	115.9, CH	7.65 (d, $J = 2.1$ Hz)	115.0, CH
3'	-	146.3, C	-	145.0, C
4'	-	148.9, C	-	145.8, C

5'	6.90 (d, $J = 8.5$ Hz)	116.2, CH	6.85 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.6, CH
6'	7.65 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz)	121.6, CH	7.50 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz)	124.5, CH

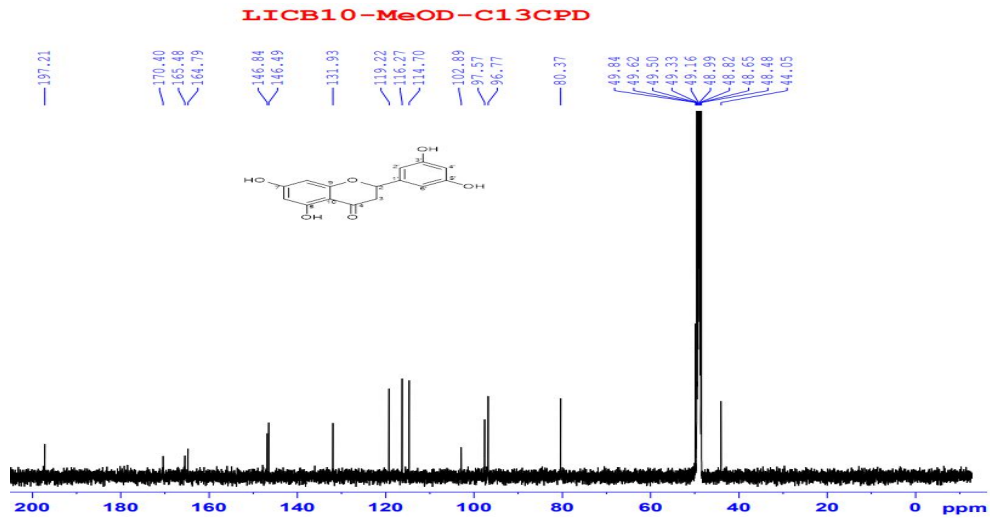
❖ Hợp chất **IC5**:



Hợp chất **IC5** được phân lập dưới dạng bột màu vàng. Công thức phân tử được xác định là  $C_{15}H_{10}O_6$ . So sánh phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ - NMR của hợp chất **IC5** với **IC1**, ta thấy **IC5** cũng cho các dấu hiệu đặc trưng của một flavanone tương tự như hợp chất **IC1**. Tuy nhiên, phổ  $^1H$ -NMR (Hình 3.10) của **IC5** cho 3 tín hiệu proton tại  $\delta_H$  6.81 (brs, H-2'), 6.94 (brs, H-4') và 6.81 (brs, H-6') của vòng thơm B chứng minh vị trí thế tại 1', 3', 5'. Phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.11) của **IC5** cho 15 tín hiệu carbon đặc trưng của khung flavanone gồm 1 carbon của nhóm carbonyl tại  $\delta_C$  197.2 (C-4); 2 carbon của vòng pyran:  $\delta_C$  80.4 (C-2) và 44.1 (C-3); 5 carbon thơm đính oxy:  $\delta_C$  165.5 (C-5), 170.4 (C-7), 164.8 (C-9), 146.5 (C-3') và 146.5 (C-5') và 6 carbon thơm khác:  $\delta_C$  97.6 (C-6), 96.8 (C-8), 102.9 (C-10), 131.9 (C-1'), 116.3 (C-2'), 114.7 (C-4') và 119.2 (C-6').

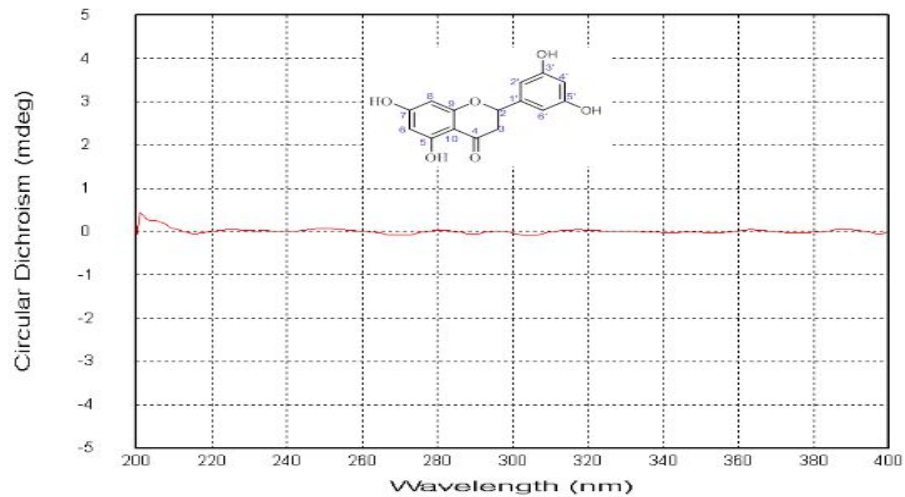


Hình 3.10. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ) của hợp chất (±)-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**)



Hình 3.11. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**)

Ngoài ra, phổ CD (Hình 3.12) của hợp chất **IC5** không thể hiện giá trị âm hoặc dương của hiệu ứng Cotton tại vị trí carbon bất đối C-2. Từ việc phân tích phổ trên kết hợp với so sánh tài liệu đã công bố, hợp chất **IC5** được xác định là ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone [79]. Hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**) được xác định lần đầu tiên phân lập từ chi *Impatiens*, và cho đến nay, vẫn chưa có công bố nào về hoạt tính sinh học của hợp chất này.



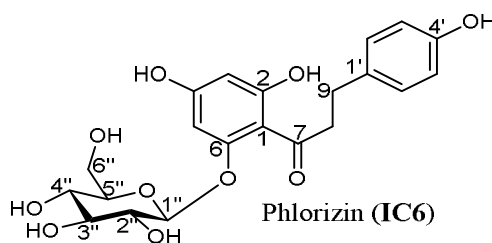
Hình 3.12. Phổ CD của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**)

Bảng 3.5. Phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC5** được so sánh với ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone

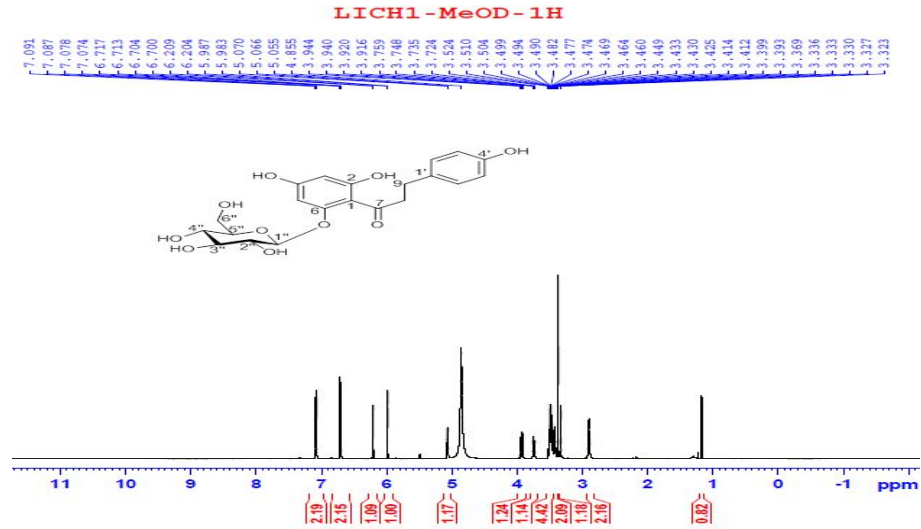
	<b>IC5</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone [79] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$

2	5.28 (dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz)	80.4, CH	5.28 (dd, $J = 12.6, 3.0$ Hz)
3	3.06 (dd, $J = 17.0, 13.0$ Hz) 2.70 (dd, $J = 17.0, 3.0$ Hz)	44.1, CH <sub>2</sub>	3.06 (dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz) 2.69 (dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz)
4	-	197.2, C	-
5	-	165.5, C	-
6	5.86 (d, $J = 2.0$ Hz)	97.6, CH	5.87 (d, $J = 2.4$ Hz)
7	-	170.4, C	-
8	5.89 (d, $J = 2.0$ Hz)	96.8, CH	5.89 (d, $J = 2.4$ Hz)
9	-	164.8, C	-
10	-	102.9, C	-
1'	-	131.9, C	-
2'	6.81 (brs)	116.3, CH	6.79 (brs)
3'	-	146.5, C	-
4'	6.94 (brs)	114.7, CH	6.91 (brs)
5'	-	146.8, C	-
6'	6.81 (brs)	119.2, CH	6.79 (brs)

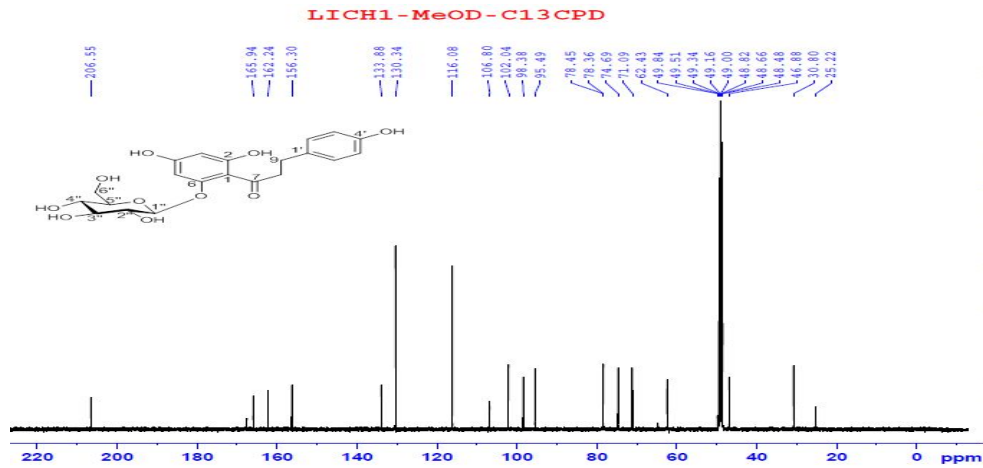
❖ Hợp chất **IC6**:



Sự kết hợp phân tích phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR và HSQC (phụ lục phổ) của hợp chất **IC6** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một dihydrochalcone khi có 2 tín hiệu proton vòng thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  5.98 (d,  $J = 2.0$  Hz, H-3) và 6.20 (d,  $J = 2.0$  Hz, H-5) của vòng A; 2 tín hiệu proton doublet tại  $\delta_{\text{H}}$  6.71 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-2'/6') và 7.08 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-3'/5') đặc trưng vị trí thế para vòng thơm B; một multiplet tại  $\delta_{\text{H}}$  3.42 (m, H<sub>2</sub>-8), và một triplet tại  $\delta_{\text{H}}$  2.89 (t,  $J = 7.5$  Hz, H-9) của một nhóm ethylene liên kết với nhóm carbonyl  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ . Ngoài ra, trong phổ  $^1\text{H}$ -NMR (Hình 3.13) còn cho 6 tín hiệu proton của đơn vị đường  $\beta$ -D-glucopyranosyl, gồm 1 proton anomer tại  $\delta_{\text{H}}$  5.07 (d, H-1'') với hằng số tương tác  $J$  lớn ( $J = 7.5$  Hz) đặc trưng của cấu hình  $\beta$ ; 4 nhóm oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.48 (m, H-2''), 3.52 (m, H-3''), 3.46 (m, H-4'') và 3.50 (m, H-5''); và 1 nhóm oxymethylene tại  $\delta_{\text{H}}$  3.75 (dd,  $J = 5.5, 12.0$  Hz, H-6''a) và 3.93 (dd,  $J = 2.0, 12.0$  Hz, H-6''b). Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (Hình 3.14) cho 21 tín hiệu, gồm 15 carbon của phần aglycon khung dihydrochalcon ( $\delta_{\text{C}}$  30.8 – 206.6) và 6 carbon của gốc đường glucopyranosyl ( $\delta_{\text{C}}$  62.4 – 102.0).



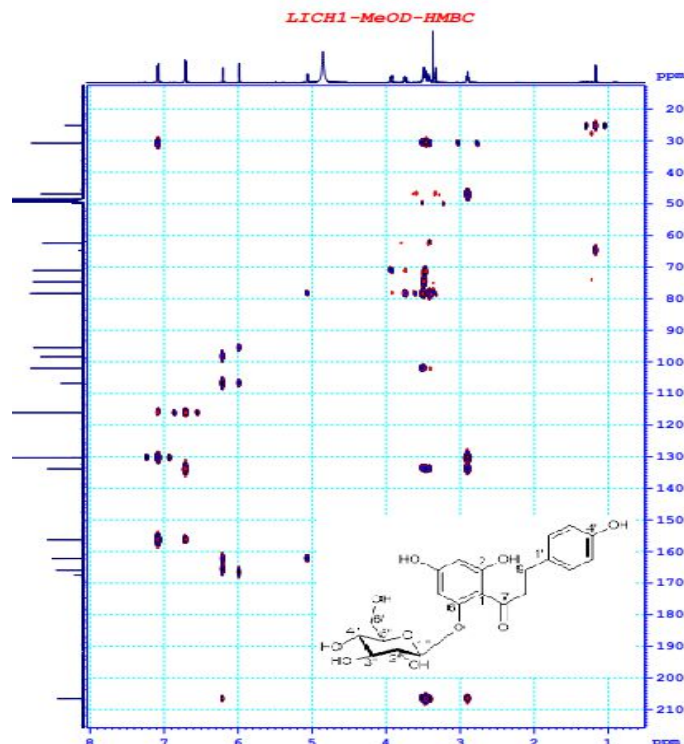
Hình 3.13. Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) của hợp chất phlorizin (**IC6**)



Hình 3.14. Phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) của hợp chất phlorizin (**IC6**)

Kết quả phân tích phổ 2 chiều HMBC (Hình 3.15) cho thấy phần đường gắn với phần aglycon tại vị trí C-6 khi xuất hiện tương tác giữa proton anomer tại  $\delta_{\text{H}}$  5.07 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'') với carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  165.9 (C-6). Dựa vào kết quả phân tích phổ phía trên, kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo, hợp chất **IC6** được xác định là 2,4,4'-trihydroxydihydrochalcone-6-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (còn gọi là phlorizin), công thức phân tử C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> [80]. Đây là lần đầu tiên hợp chất phlorizin (**IC6**) được tìm thấy trong chi *Impatiens*. Phlorizin là hợp chất được các nhà khoa học chú ý đến nhiều trong việc khảo sát các hoạt tính sinh học, trong đó hoạt tính hạ đường huyết được nghiên cứu cả trên mô hình phòng thí nghiệm *in vitro* và mô hình động vật *in vivo* [81].





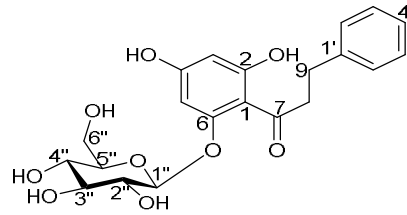
Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất phlorizin (IC6)

Bảng 3.6. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất IC6 được so sánh với phlorizin

C	IC6 (CD <sub>3</sub> OD)		Phlorizin [80] (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	106.8, C	-	106.8, C
2	-	167.7, C	-	167.5, C
3	5.98 (d, $J = 2.0$ Hz)	98.4, CH	5.95 (d, $J = 1.9$ Hz)	98.3, CH
4	-	162.2, C	-	162.2, C
5	6.20 (d, $J = 2.0$ Hz)	95.5, CH	6.15 (d, $J = 1.9$ Hz)	95.2, CH
6	-	165.9, C	-	165.5, C
7	-	206.6, C	-	206.5, C
8	3.42 (m)	46.9, CH <sub>2</sub>	3.41 (m)	46.9, CH <sub>2</sub>
9	2.89 (t, $J = 7.5$ Hz)	30.8, CH <sub>2</sub>	2.85 (t, $J = 7.6$ Hz)	30.8, CH <sub>2</sub>
1'	-	133.9, C	-	133.6, C
2'/6'	6.71 (d, $J = 8.5$ Hz)	116.1, (CH x 2)	6.65 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.8, (CH x 2)
3'/5'	7.08 (d, $J = 8.5$ Hz)	130.3, (CH x 2)	7.01 (d, $J = 8.4$ Hz)	130.2, (CH x 2)
4'	-	156.3, C	-	156.3, C
1''	5.07 (d, $J = 7.5$ Hz)	102.0, CH	5.01 (d, $J = 7.0$ Hz)	102.1, CH
2''	3.52 (m)	74.7, CH	3.15 (m)	74.6, CH
3''	3.48 (m)	78.5, CH	3.17 (m)	78.3, CH
4''	3.41 (m)	71.1, CH	3.08 (m)	71.3, CH
5''	3.50 (m)	78.4, CH	3.10 (m)	78.1, CH
6''	3.75 (dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz)	62.4, CH <sub>2</sub>	3.71 (d, $J = 11.9$ Hz)	62.2, CH <sub>2</sub>

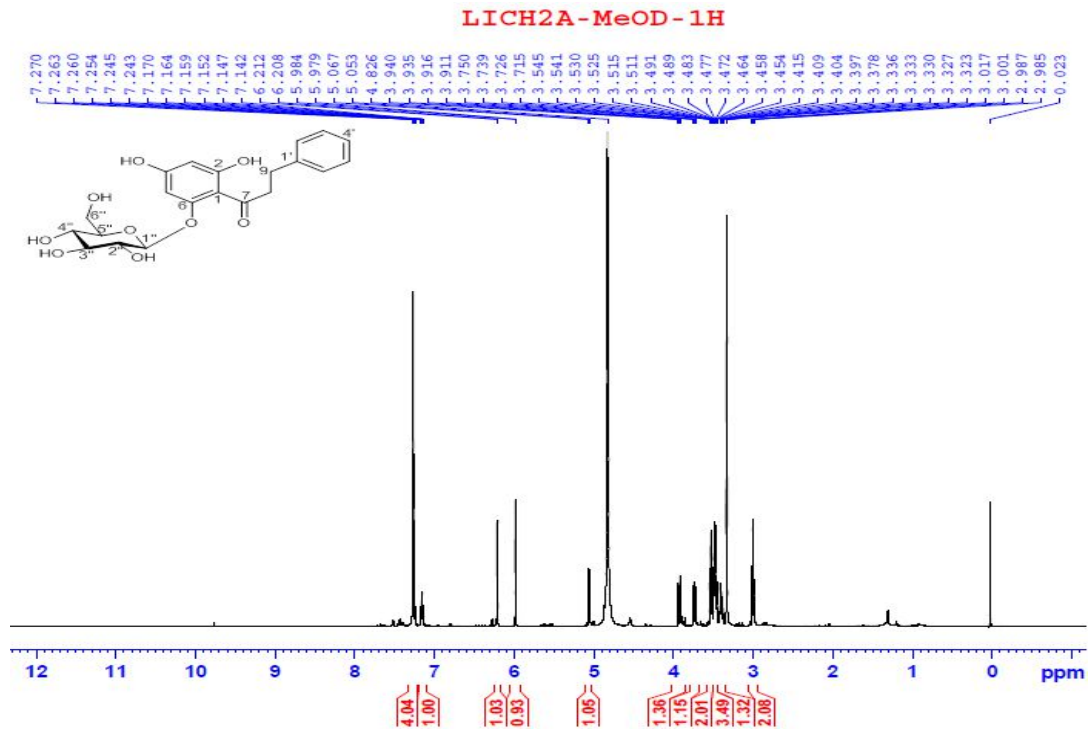
3.93 (dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz)	3.50 (dd, $J = 5.1, 11.9$ Hz)
-------------------------------	-------------------------------

❖ Hợp chất **IC7**:

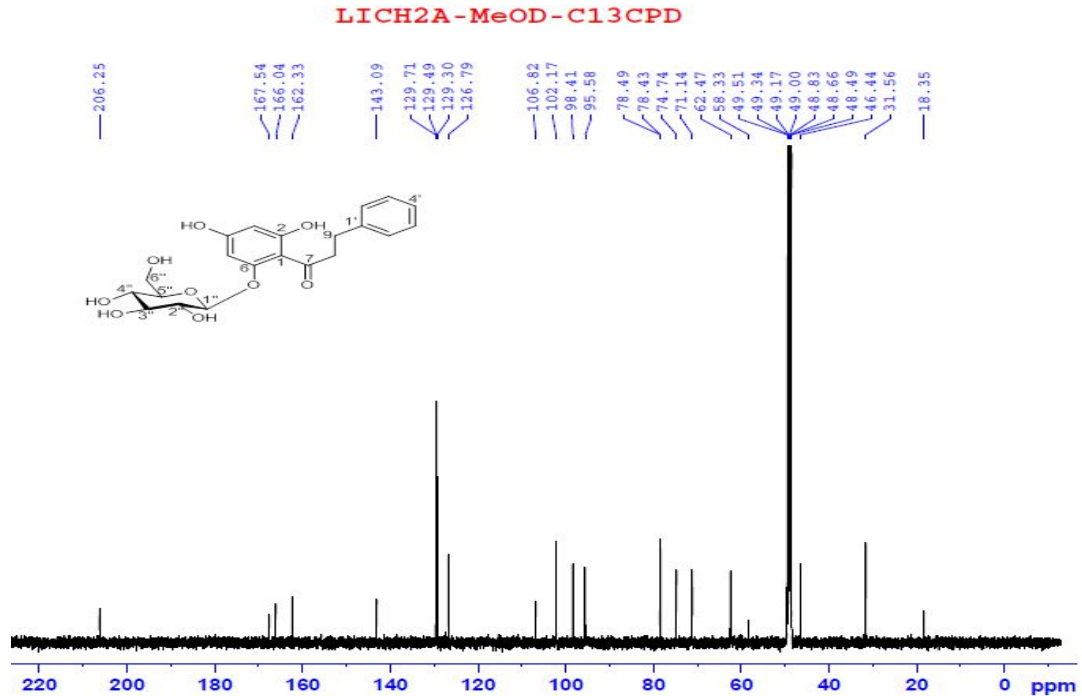


2,4-Dihydroxydihydrochalcone-6- *O*- $\beta$ -D-glucoside (**IC7**)

Dihydrochalcone glucoside thứ hai được tìm thấy trong thành phần hóa học của loài *I. chapaensis* là hợp chất **IC7**. Công thức phân tử  $C_{21}H_{24}O_9$  được xác định dựa trên phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  418.9  $[M-H]^-$  (phụ lục phổ). So sánh phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.16, 3.17, Bảng 3.7) giữa hợp chất **IC7** với **IC6** cho thấy duy nhất sự khác biệt trong vị trí thế của vòng thơm B khi cho 5 tín hiệu proton trong khoảng  $\delta_H$  7.26 – 7.16 (H-2'  $\rightarrow$  6').

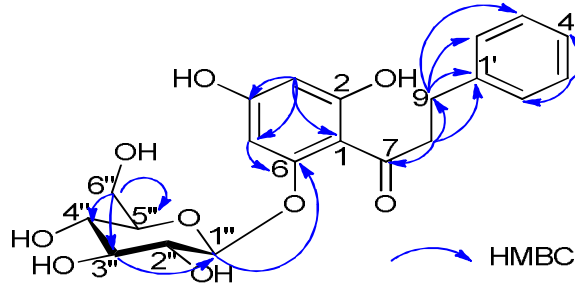


Hình 3.16. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)



Hình 3.17. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)

Tương tự hợp chất **IC6**, hợp chất **IC7** cũng cho cấu trúc của một đơn vị đường  $\beta$ -D-glucopyranosyl nối với phần aglycon tại vị trí C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  166.0 ppm) được chứng minh qua tương tác giữa proton H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  5.06) với carbon C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  166.0) trong phổ HMBC (Hình 3.18). Ngoài ra, cấu trúc của hợp chất **IC7** còn được khẳng định thêm qua các tương tác HMBC khác như: giữa proton H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  5.98) với carbon C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  106.8), C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  166.0) và C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  95.6); giữa proton H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  6.21) với carbon C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  106.8), C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  98.4) và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  162.3); giữa proton H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  3.53) với carbon C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  206.6), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  31.6) và C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  143.1); giữa proton H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  3.00) với carbon C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  206.6), C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  143.1), C-2'/6' ( $\delta_{\text{C}}$  129.3) và C-3'/5' ( $\delta_{\text{C}}$  129.5). Từ việc phân tích dữ liệu phổ đo được, kết hợp đối chiếu với hợp chất **IC6**, cấu trúc **IC7** được xác định hoàn toàn phù hợp với 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside. Dihydrochalcone này được phân lập lần đầu tiên từ thực vật vào năm 1979 [82]. Theo khảo sát tài liệu, hợp chất **IC7** được xác định là lần đầu tiên phân lập từ chi *Impatiens* và cho đến nay vẫn chưa có công bố nào được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính sinh học của hợp chất này.

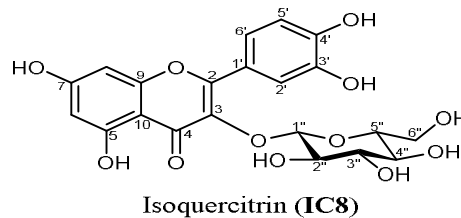


Hình 3.18. Tương tác HMBC của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6-  
*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)

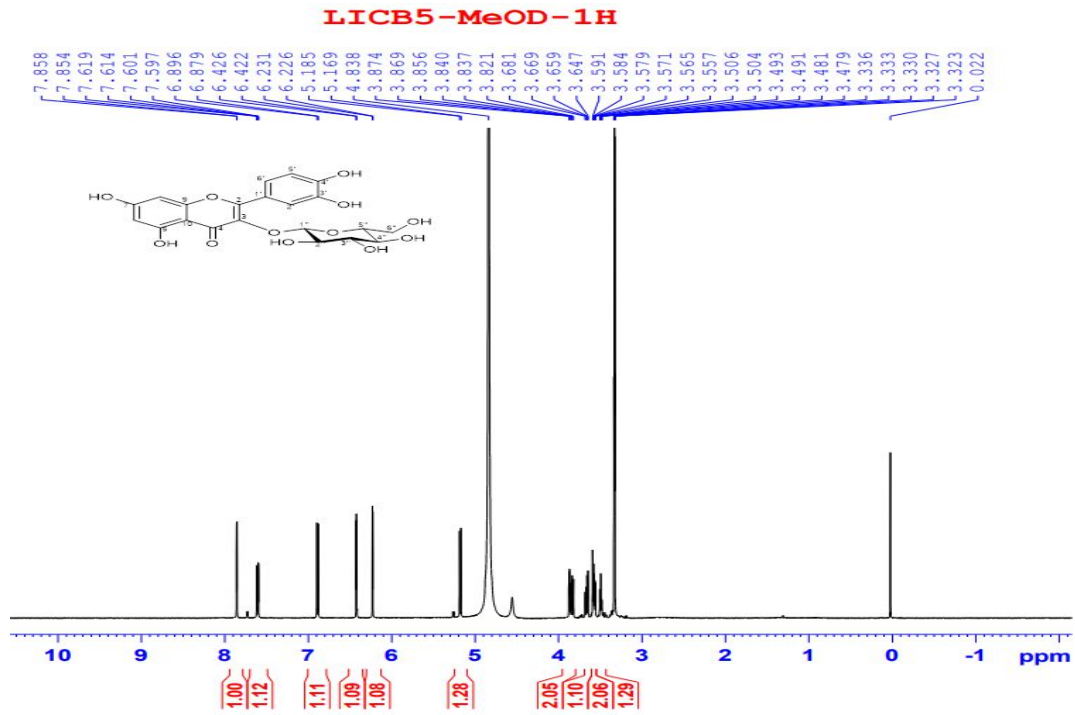
Bảng 3.7. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC7** được so sánh với hợp chất **IC6**

C	<b>IC7</b> (CD <sub>3</sub> OD)		<b>IC6</b> (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	106.8, C	-	106.8, C
2	-	167.5, C	-	167.7, C
3	5.98 (d, $J=2.0$ Hz)	98.4, CH	5.98 (d, $J=2.0$ Hz)	98.4, CH
4	-	166.0, C	-	162.2, C
5	6.21 (d, $J=2.0$ Hz)	95.6, CH	6.20 (d, $J=2.0$ Hz)	95.5, CH
6	-	162.3, C	-	165.9, C
7	-	206.6, C	-	206.6, C
8	3.53 (m)	46.4, CH <sub>2</sub>	3.42 (m)	46.9, CH <sub>2</sub>
9	3.00 (t, $J=8.0$ Hz)	31.6, CH <sub>2</sub>	2.89 (t, $J=7.5$ Hz)	30.8, CH <sub>2</sub>
1'	-	143.1, C	-	133.9, C
2'/6'	7.26 (m)	129.3, CH	6.71 (dd, $J=2.0, 6.5$ Hz)	116.1, CH
3'/5'	7.26 (m)	129.5, CH	7.08 (dd, $J=2.0, 6.5$ Hz)	130.3, CH
4'	7.16 (m)	126.8, CH	-	156.3, C
1''	5.06 (d, $J=7.0$ Hz)	102.2, CH	5.07 (d, $J=7.5$ Hz)	102.0, CH
2''	3.49 (m)	74.7, CH	3.48 (m)	74.7, CH
3''	3.46 (m)	78.5, CH	3.52 (m)	78.5, CH
4''	3.40 (m)	71.1, CH	3.46 (m)	71.1, CH
5''	3.47 (m)	78.4, CH	3.50 (m)	78.4, CH
6''	3.73 (dd, $J=6.5, 12.0$ Hz) 3.93 (dd, $J=2.5, 12.0$ Hz)	62.5, CH <sub>2</sub>	3.75 (dd, $J=5.5, 12.0$ Hz) 3.93 (dd, $J=2.0, 12.0$ Hz)	62.4, CH <sub>2</sub>

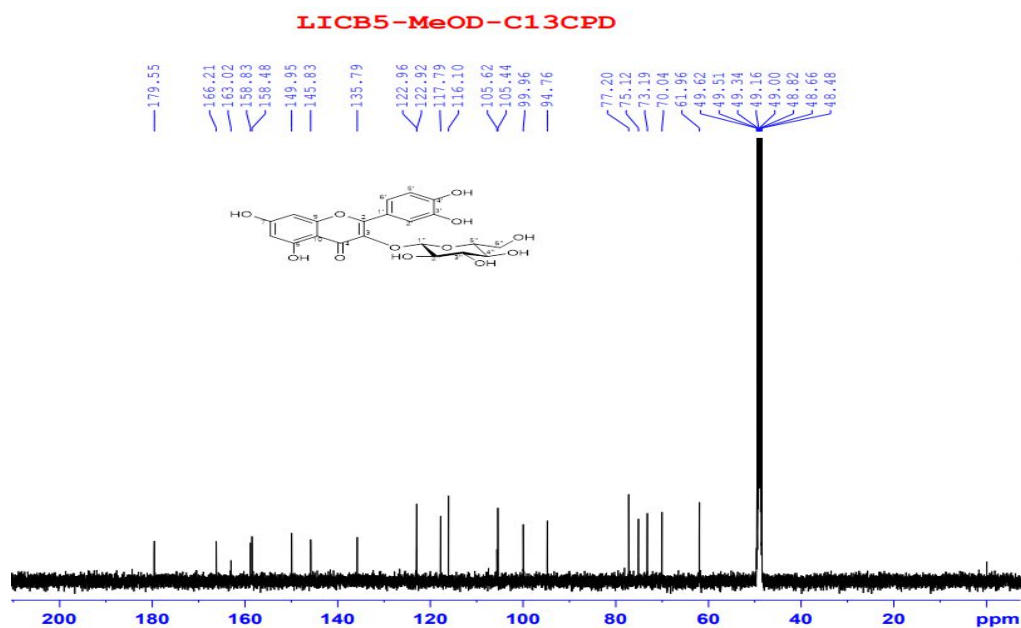
❖ Hợp chất **IC8**:



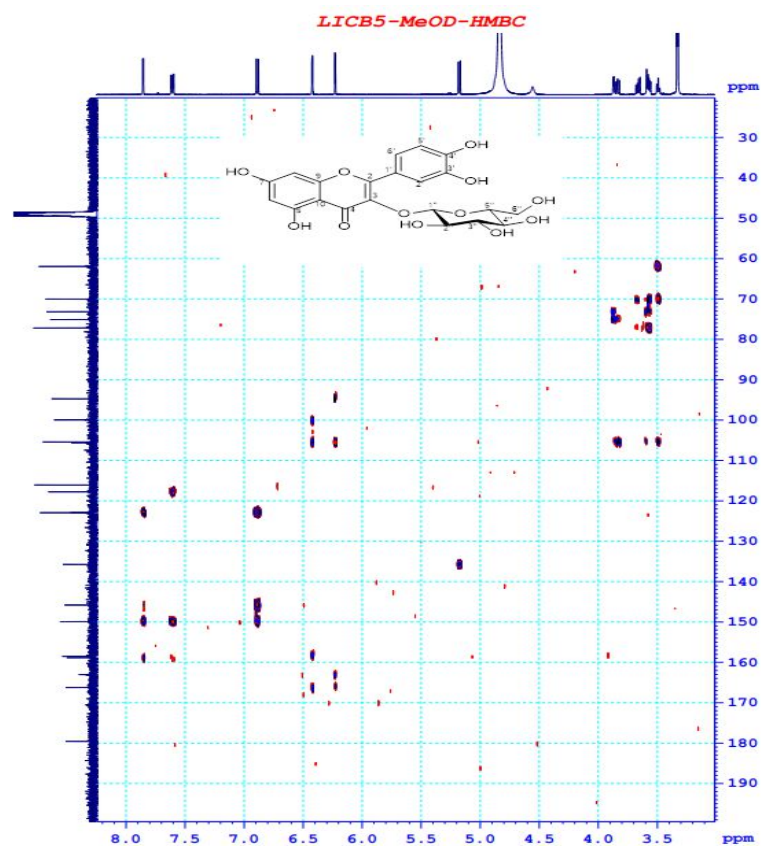
Hợp chất **IC8** được phân lập dạng rắn màu vàng, được xác định có cấu trúc của một flavonol glucoside với công thức phân tử là  $C_{21}H_{20}O_{12}$  dựa trên kết quả phân tích phổ 1D, 2D-NMR. So sánh phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$  NMR (Hình 3.19, 3.20) của hợp chất **IC8** với hợp chất **IC4**, phần aglycon của hợp chất **IC8** có cấu trúc trùng khớp với cấu trúc của quercetin (**IC4**), phần đường của **IC8** cho tín hiệu của một đơn vị glucose bao gồm một carbon anomer tại  $\delta_C$  105.4 (C-1''), 4 nhóm oxymethine tại  $\delta_C$  73.2 (C-2''), 75.1 (C-3''), 70.0 (C-4''), và 77.2 (C-5''), và 1 nhóm oxymethylene tại  $\delta_C$  62.0 (C-6''). Cấu hình  $\beta$  của gốc đường glucopyranosyl được xác định dựa trên hằng số tương tác  $J$  lớn ( $J = 8.0$  Hz) của proton anomer  $\delta_H$  5.18 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'').



Hình 3.19. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ) của hợp chất isoquercitrin (**IC8**)



Hình 3.20. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin (IC8)



Hình 3.21. Phổ HMBC của hợp chất isoquercitrin (IC8)

Ngoài ra, phổ HMBC (Hình 3.21) cho thấy tương tác giữa proton H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  5.18 ppm) với carbon tại vị trí C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  135.8 ppm) chứng tỏ đơn vị đường glucose

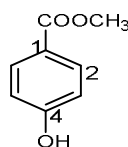
đỉnh với phần aglycon tại vị trí C-3. Từ kết quả phân tích dữ liệu phổ phía trên, hợp chất **IC8** được xác định là quercetin-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (hay còn gọi là isoquercitrin), kết quả được so sánh với tài liệu công bố trước đây [83]. Isoquercitrin là hợp chất thứ cấp tiềm năng thể hiện nhiều hoạt tính sinh học quan trọng như chống oxy hóa, chống ung thư, rối loạn tim mạch và cả chống tiểu đường và kháng viêm [126, 84]

*Bảng 3.8.* Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC8** được so sánh với isoquercitrin

C	IC8 (CD <sub>3</sub> OD)		Isoquercitrin [83] (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	158.5, C	-	158.8, C
3	-	135.8, C	-	135.8, C
4	-	179.6, C	-	179.5, C
5	-	163.0, C	-	163.0, C
6	6.23 (d, $J=2.0$ Hz)	100.0, CH	6.20 (d, $J=2.0$ Hz)	100.0, CH
7	-	166.2, C	-	166.3, C
8	6.42 (d, $J=2.0$ Hz)	94.8, CH	6.40 (d, $J=2.4$ Hz)	94.8, CH
9	-	158.8, C	-	158.5, C
10	-	105.6, C	-	105.6, C
1'	-	122.9, C	-	122.9, C
2'	7.86 (d, $J=2.0$ Hz)	117.8, CH	7.84 (d, $J=2.0$ Hz)	117.8, CH
3'	-	145.8, C	-	145.8, C
4'	-	150.0, C	-	150.0, C
5'	6.89 (d, $J=8.5$ Hz)	116.1, CH	6.86 (d, $J=8.4$ Hz)	116.1, CH
6'	7.61 (dd, $J=8.5, 2.0$ Hz)	123.0, CH	7.59 (dd, $J=8.4, 2.0$ Hz)	123.0, CH
1''	5.18 (d, $J=8.0$ Hz)	105.4, CH	5.16 (d, $J=7.9$ Hz)	105.4, CH
2''	3.84 (dd, $J=9.0, 8.0$ Hz)	73.2, CH	3.87-3.44 (6H)	73.2, CH
3''	3.56 (t, $J=9.0$ Hz)	75.1, CH		75.1, CH
4''	3.87 (dd, $J=9.6, 9.0$ Hz)	70.0, CH		70.0, CH
5''	3.49 (ddd, $J=9.6, 5.3, 2.5$ Hz)	77.2, CH		77.2, CH
6''	3.66 (d, $J=2.5$ Hz) 3.58 (d, $J=5.3$ Hz)	62.0, CH <sub>2</sub>		62.0, CH <sub>2</sub>

### 3.1.2. Các hợp chất monophenol

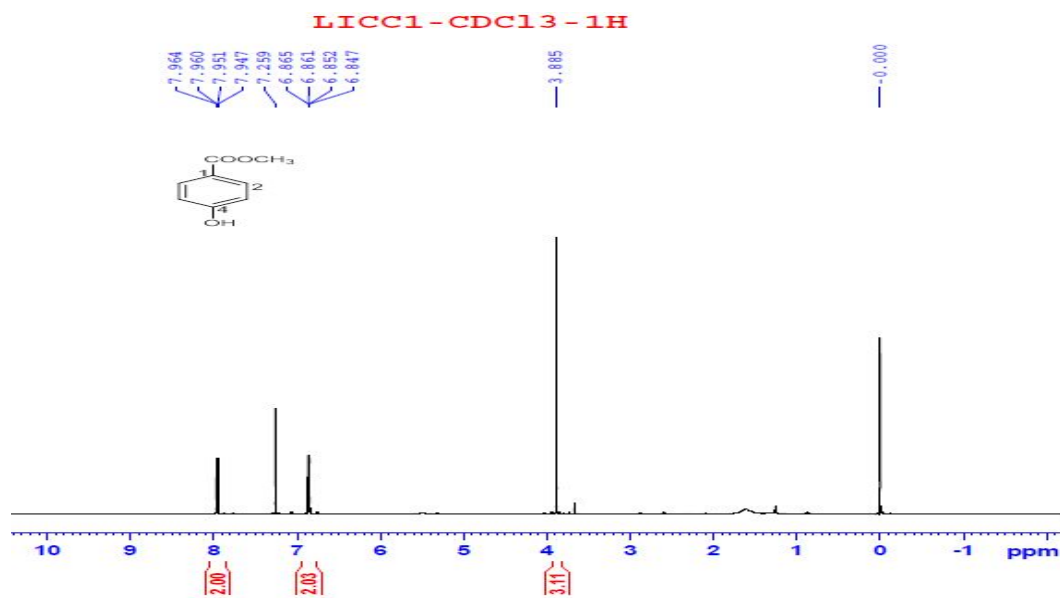
❖ Hợp chất **IC9**:



Methyl 4-hydroxybenzoate (**IC9**)

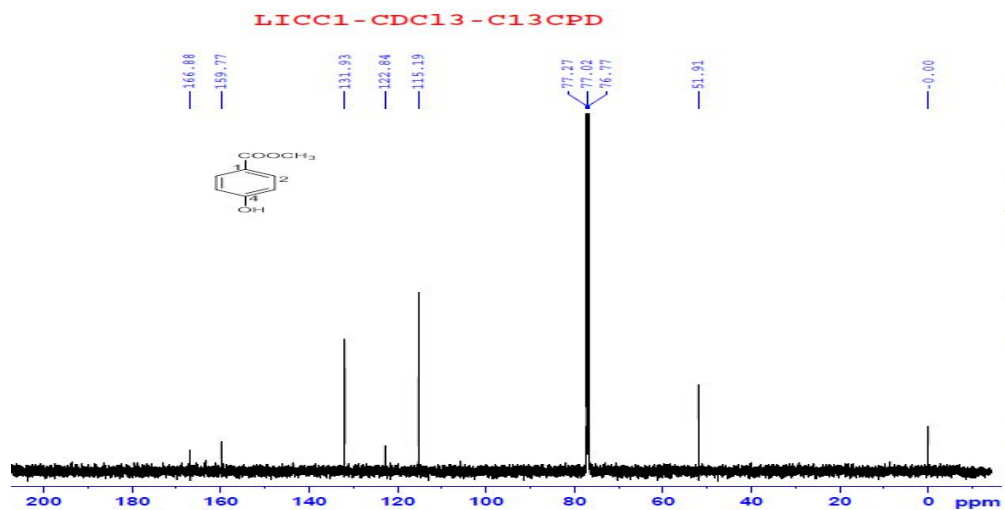


Hợp chất **IC9** được phân lập ở dạng rắn màu trắng từ cao chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Qua phân tích phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR, hợp chất **IC9** được xác định là monophenol với công thức phân tử  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ . Phổ  $^1\text{H}$ -NMR (Hình 3.22) cho cặp tín hiệu doublet doublet tại  $\delta_{\text{H}}$  7.96 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-2/6), 6.86 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-3/5) gợi ý vòng thơm thế 1,4. Ngoài ra còn quan sát được tín hiệu proton của nhóm methoxy ở  $\delta_{\text{H}}$  3.89 (s). Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (Hình 3.23) cho tín hiệu carbonyl ester tại  $\delta_{\text{C}}$  166.9 ppm. Bên cạnh đó, nhóm methoxy liên kết với nhóm carbonyl mà không phải đính vào vòng thơm được khẳng định qua tương tác HMBC giữa  $\delta_{\text{H}}$  3.89 ( $\text{OCH}_3$ ) với  $\delta_{\text{C}}$  166.9 (CO) (Hình 3.24). Các kết quả cho thấy **IC9** là dẫn xuất của methyl benzoate. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR khẳng định lại vị trí thế para của vòng thơm khi cho 2 tín hiệu carbon bậc bốn ở  $\delta_{\text{C}}$  122.8 (C-1) và 159.8 (C-4); và 2 tín hiệu của 4 carbon bậc ba đối xứng ở  $\delta_{\text{C}}$  131.9 (C-2/6) và 115.2 (C-3/5). Kết hợp giữa kết quả phân tích phổ và so sánh tài liệu công bố, hợp chất **IC9** được xác định là methyl 4-hydroxybenzoate [85]. Methyl 4-hydroxybenzoate còn được biết đến với tên gọi methyl paraben, là một chất kháng khuẩn được sử dụng phổ biến trong công nghiệp mỹ phẩm và là chất bảo vệ thực phẩm. Tuy nhiên, hợp chất này chưa được khảo sát thêm về bất kỳ hoạt tính nào khác [86].

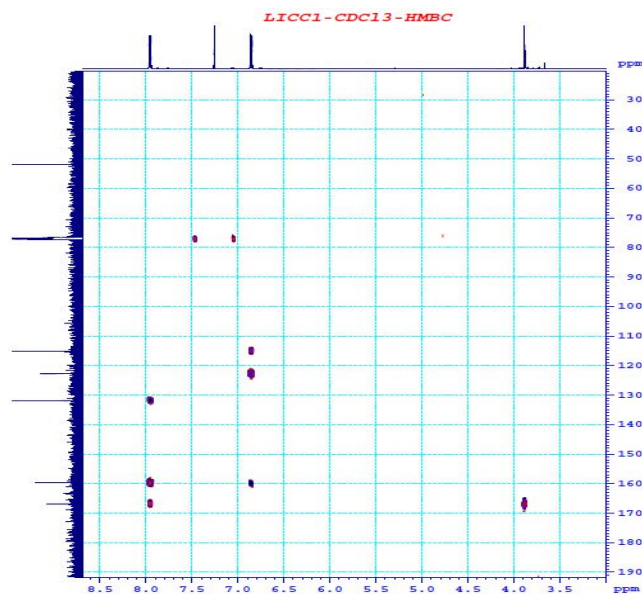


Hình 3.22. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (**IC9**)





Hình 3.23. Phổ <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)



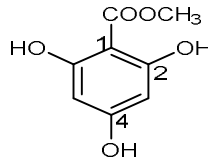
Hình 3.24. Phổ HMBC của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)

Bảng 3.9. Phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất IC9 được so sánh với methyl 4-hydroxybenzoate

C	IC9 (CDCl <sub>3</sub> )		methyl 4- hydroxybenzoate [85] (CDCl <sub>3</sub> )
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>
1	-	122.8, C	-
2/6	7.96 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz)	131.9, (CH x 2)	7.96 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz)
3/5	6.86 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz)	115.2, (CH x 2)	6.86 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz)
4	-	159.8, C	-
COOMe	-	166.9, C	-

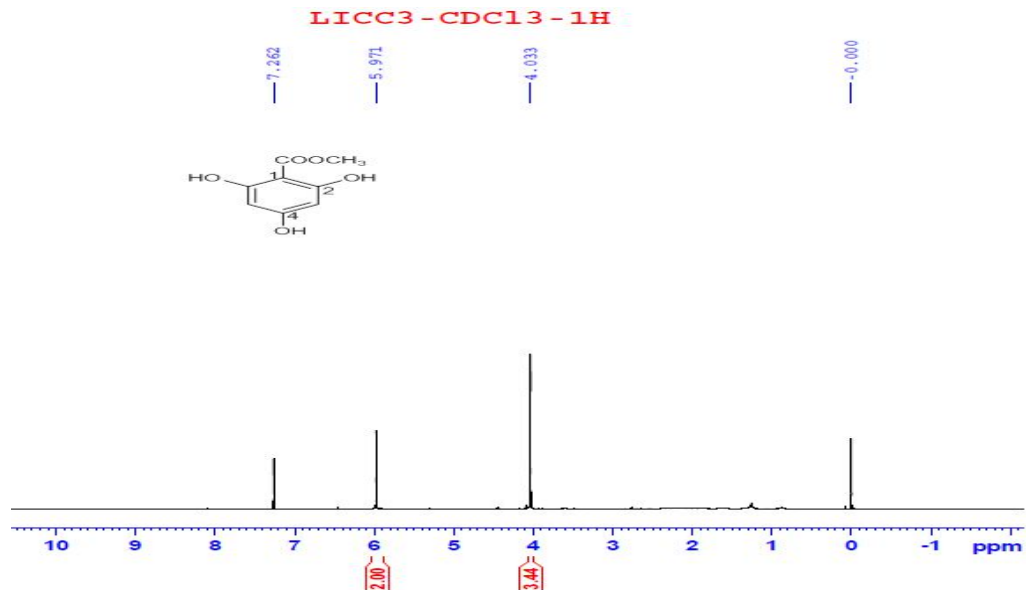
OMe	3.89 (s)	51.9, CH <sub>3</sub>	3.89 (s)
-----	----------	-----------------------	----------

❖ Hợp chất **IC10**:

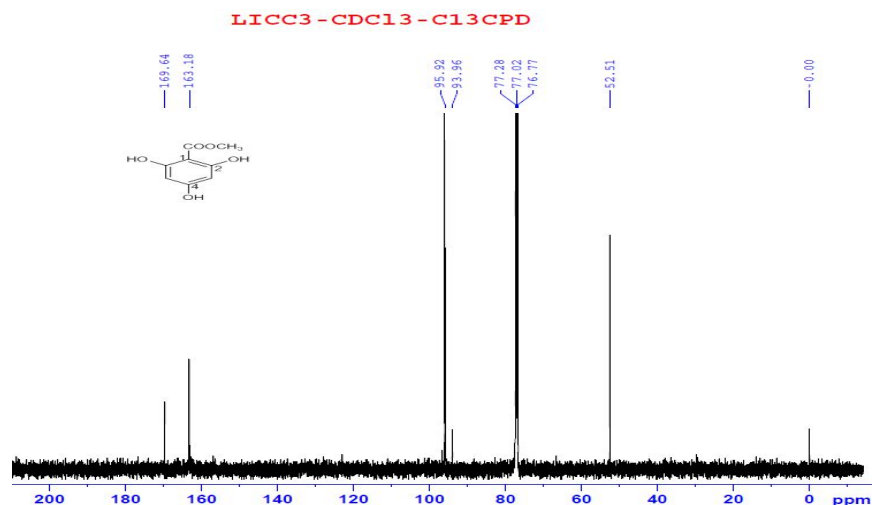


Methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)

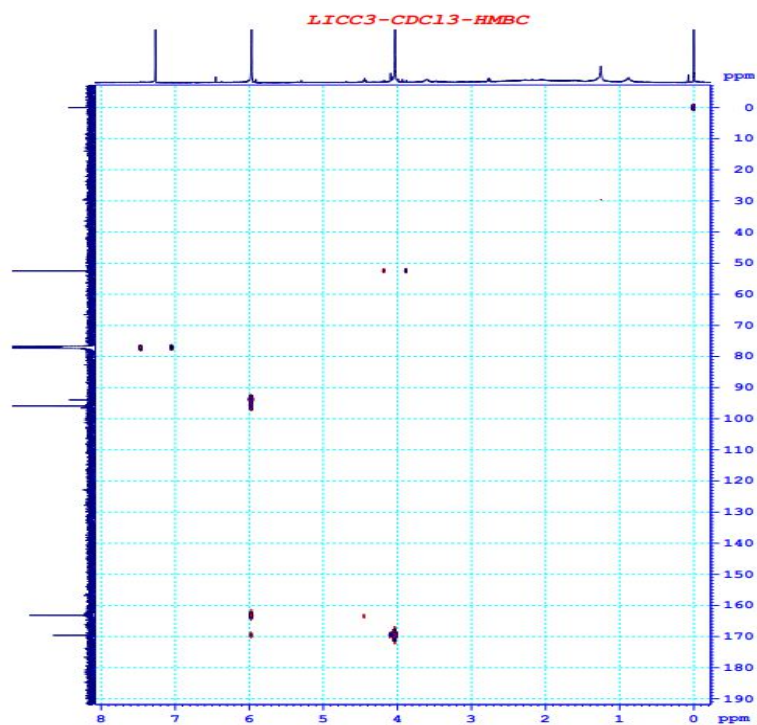
Tương tự hợp chất **IC9**, hợp chất **IC10** cũng được xác định có cấu trúc của một monophenol với công thức phân tử C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub> dựa trên phổ khối (+)-ESI-MS:  $m/z$ : 222.7 [M+K]<sup>+</sup> (Hình 3.28). Phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR (Hình 3.25, 3.26) của **IC10** xuất hiện 2 proton thơm ở δ<sub>H</sub> 5.97 (s, H-3/5) ứng với 2 carbon bậc ba đối xứng tại δ<sub>C</sub> 95.9 (C-3/5), 1 proton của nhóm methoxy tại δ<sub>H</sub> 4.03 (s) ứng với carbon tại δ<sub>C</sub> 52.5 ppm được xác định dựa trên phổ HSQC (Phụ lục phổ). Ngoài ra, nhóm methyl ester còn được khẳng định qua tương tác giữa δ<sub>H</sub> 4.03 (OCH<sub>3</sub>) với δ<sub>C</sub> 169.6 (CO) trong phổ HMBC (Hình 3.27). Vị trí thế của 3 nhóm hydroxy trong phân tử được xác định ở các vị trí 2,4,6 khi số liệu phổ NMR của **IC10** hoàn toàn phù hợp với số liệu đã công bố của methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate [87]. Đây là lần đầu tiên methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**) được phân lập từ chi *Impatiens*, và vẫn chưa có công bố nào nghiên cứu về hoạt tính sinh học của hợp chất này.



Hình 3.25. Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)



Hình 3.26. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)



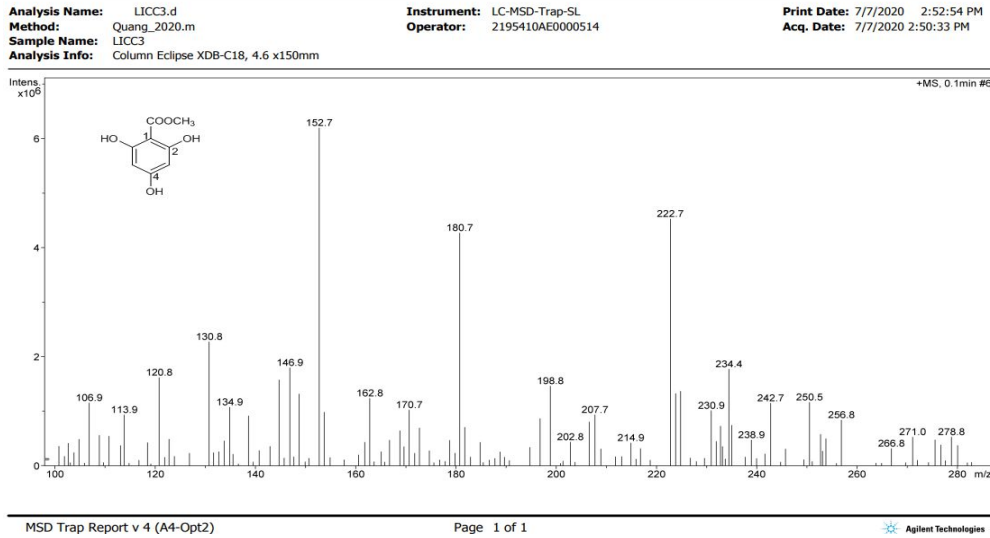
Hình 3.27. Phổ HMBC của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)

Bảng 3.10. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC10** được so sánh với methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate

C	<b>IC10</b> ( $\text{CDCl}_3$ )		methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate [87] ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	93.8, C	-	92.3, C
2/6	-	163.5, C	-	164.4, C

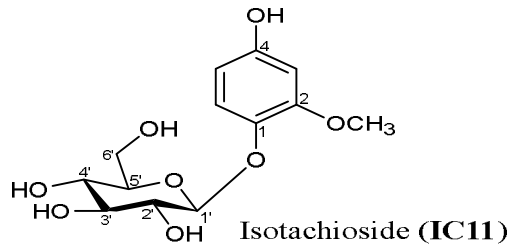
3/5	5.97 (s)	95.9, (CH x 2)	5.95 (s)	95.3, (CH x 2)
4	-	*	-	162.1, C
COOMe	-	169.6, C	-	169.3, C
OMe	4.03 (s)	52.5, CH <sub>3</sub>	4.02 (s)	51.8, CH <sub>3</sub>

(\*) không phát hiện tín hiệu



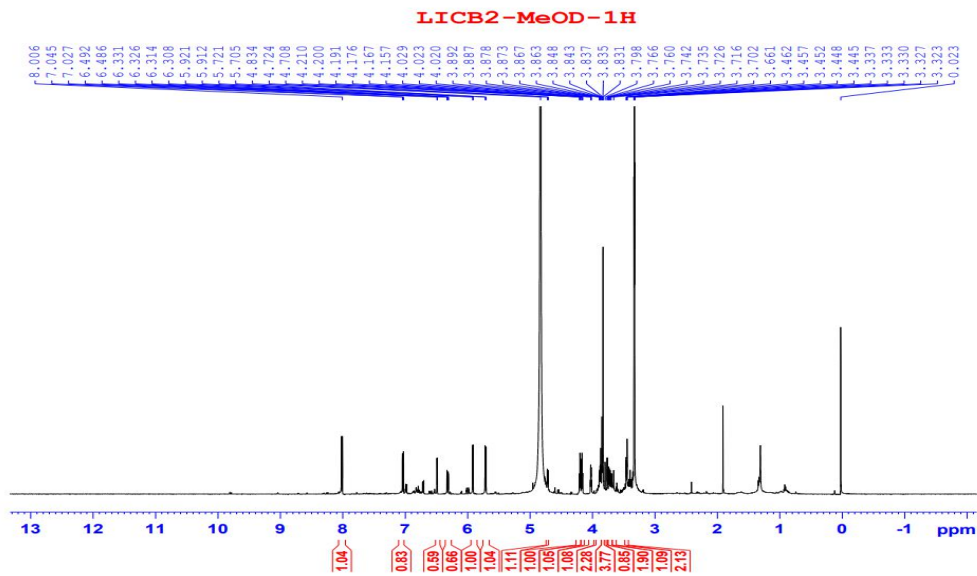
Hình 3.28. Phổ (+)-ESI-MS của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (IC10)

❖ Hợp chất IC11:

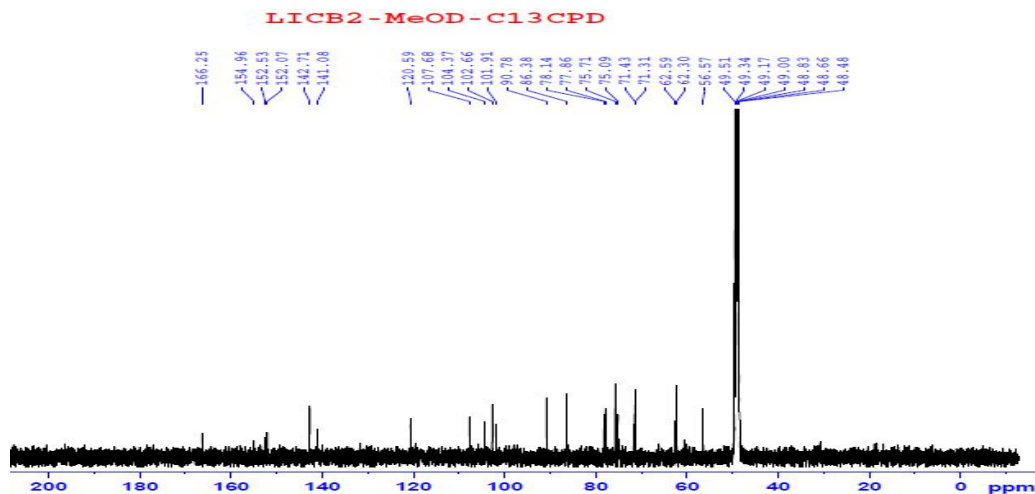


Hợp chất IC11 được phân lập dưới dạng hỗn hợp với hợp chất IC12 ở dạng bột không màu. Tỷ lệ giữa 2 chất IC11 và IC12 được xác định là 0.8:1 dựa trên kết quả phân tích phổ <sup>1</sup>H-NMR. Phổ 1D-NMR (Hình 3.29, 3.30) của hợp chất IC11 cho các tín hiệu đặc trưng của monophenol glucoside với vòng thơm thể kiểu ABX khi cho tín hiệu 3 nhóm methine tại  $\delta_H$  6.49 (d,  $J = 3.0$  Hz, H-3),  $\delta_C$  101.9 (C-3);  $\delta_H$  6.31 (dd,  $J = 3.0, 9.0$  Hz, H-5)  $\delta_C$  107.7 (C-5) và  $\delta_H$  7.04 (d,  $J = 9.0$  Hz, H-6);  $\delta_C$  120.6 (C-6) một nhóm thế methoxy ( $\delta_H$  3.84,  $\delta_C$  56.6) và một gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranosyl gồm anomer methine ( $\delta_H$  4.72 d,  $J = 8.0$  Hz, H-1';  $\delta_C$  104.4), 4 oxymethine và 1 oxymethylene trong khoảng  $\delta_C$  62.6 – 78.1. Phổ HMBC cho thấy tương tác giữa proton  $\delta_H$  4.72 (H-1') với carbon tại  $\delta_C$  141.1 (C-1) chứng minh gốc đường thế tại vị trí C-1 của vòng thơm; nhóm methoxy đính vào vị trí C-2 được thể

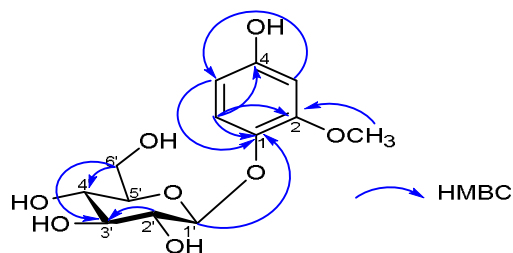
hiện qua tương tác giữa  $\delta_H$  3.84 (s, OCH<sub>3</sub>) với carbon  $\delta_C$  152.1 (C-2) (Hình 3.31). Vị trí liên kết của nhóm methoxy vào C-2 của vòng monophenol được khẳng định lại lần nữa khi xuất hiện tương tác HMBC giữa  $\delta_H$  6.49 (H-3) với carbon  $\delta_C$  107.7 (C-5), giữa  $\delta_H$  7.04 (H-6) với carbon  $\delta_C$  152.1 (C-2) kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ với tài liệu đã công bố [88]. Do đó, hợp chất **IC11** được xác định là methoxyhydroquinone-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (còn gọi là isotachioside). Isotachioside (**IC11**) được xác định là chất đại diện cho nhóm monophenol glycoside của chi *Impatiens* [17]. Isotachioside đã được đánh giá hoạt tính kháng viêm trên cả 2 mô hình *in vitro* và *in vivo* đều cho kết quả đầy triển vọng [89].



Hình 3.29. Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) của hỗn hợp hai chất isotachioside (**IC11**) và uridine (**IC12**)



Hình 3.30. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hỗn hợp hai chất isotachioside (**IC11**) và uridine (**IC12**)



Hình 3.31. Tương tác HMBC của hợp chất isotachioside (**IC11**)

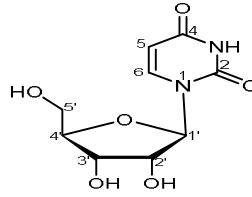
Bảng 3.11. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC11** được so sánh với isotachioside

C	<b>IC11</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Isotachioside [88] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	141.1, C	-	139.9, C
2	-	152.1, C	-	150.9, C
3	6.49 (d, $J = 3.0$ Hz)	101.9, CH	6.50 (d, $J = 3.0$ Hz)	100.7, CH
4	-	155.0, C	-	153.8, C
5	6.31 (dd, $J = 3.0, 9.0$ Hz)	107.7, CH	6.28 (dd, $J = 9.0, 3.0$ Hz)	106.5, CH
6	7.04 (d, $J = 9.0$ Hz)	120.6, CH	7.02 (d, $J = 9.0$ Hz)	119.4, CH
OCH <sub>3</sub>	3.84 (s)	56.6, CH <sub>3</sub>	3.70 (s)	55.4, CH <sub>3</sub>
1'	4.72 (d, $J = 8.0$ Hz)	104.4, CH	4.80 (d, $J = 7.5$ Hz)	103.2, CH
2'	3.46 (m)	75.1, CH	-	73.9, CH
3'	3.34 (m)	78.1, CH	-	76.9, CH
4'	3.40 (m)	71.4, CH	-	70.3, CH
5'	3.44 (m)	77.9, CH	-	76.6, CH
6'	3.89 (m) 3.75 (dd, $J = 3.5, 12.0$ Hz)	62.6, CH	-	61.4, CH

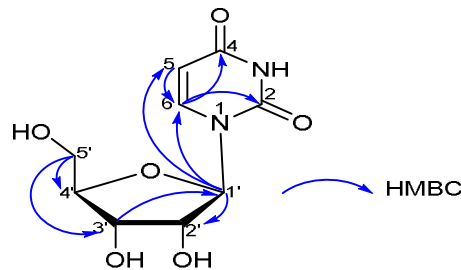
### 3.1.5. Các hợp chất khác

Ngoài các nhóm chất nêu trên, một nucleoside (**IC12**), một steroid (**IC13**), một coumarin (**IC14**), một neolignan glycoside (**IC15**) và một megastigman (**IC16**) cũng được tìm thấy trong loài *I. chapaensis*.

#### ❖ Hợp chất **IC12**:

Uridine (**IC12**)

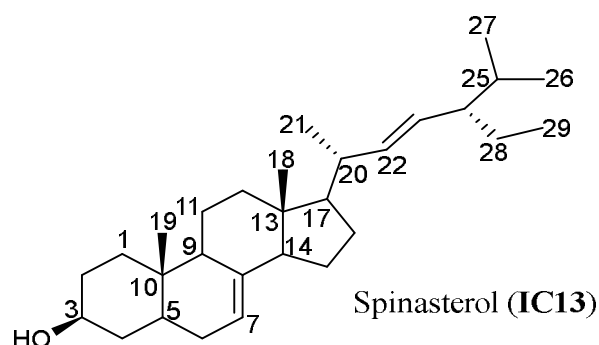
Phân lập ở dạng hỗn hợp bột màu trắng với hợp chất **IC11**, hợp chất **IC12** được xác định chiếm tỷ lệ cao hơn trong hỗn hợp với tỷ lệ mol 0.8:1 dựa trên việc phân tích phổ  $^1\text{H-NMR}$ . Sau khi loại các tín hiệu phổ của hợp chất **IC11**, các tín hiệu phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (Hình 3.29, 3.30) của hợp chất **IC12** cho thấy sự có mặt của một nối đôi ở  $\delta_{\text{H}}$  5.71 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-5) và 8.01 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-6), anomer proton  $\delta_{\text{H}}$  5.92 (d,  $J = 4.5$  Hz, H-1'), 3 nhóm oxymethine ( $\delta_{\text{H}}$  4.03, 4.17 và 4.20) và 1 nhóm oxymethylene  $\delta_{\text{H}}$  3.88 (dd,  $J = 2.5, 12.0$  Hz) và 3.76 (dd,  $J = 3.0, 12.0$  Hz) lần lượt ứng với  $\delta_{\text{C}}$  86.4 (C-4'), 71.3 (C-3'), 75.7 (C-2') và 62.3 (C-5') của gốc đường ribose. Ngoài ra, phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho thấy sự tồn tại của 2 nhóm carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  166.3 (C-4) và 152.5 (C-2), cùng với 5 tín hiệu carbon của đường ribose trong khoảng 62.3 - 90.8 ppm. Khung cấu trúc của **IC12** còn được khẳng định thêm bởi các tương tác HMBC: giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  5.92 (H-1') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  102.7 (C-5), 142.7 (C-6), và 75.7 (C-2'); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  8.01 (H-6) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  152.5 (C-2) và 163.3 (C-4); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  3.88 (H-5') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  71.3 (C-3') và 86.4 (C-4'); và giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  4.17 (H-3') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  90.8 (C-1') (Hình 3.32). Từ kết quả phân tích phổ trên, hợp chất **IC12** được xác định là nucleoside uridine khi dữ liệu phổ được so sánh khớp với chất đã được công bố trong tài liệu [90]. Cho đến hiện tại, uridine chưa được tìm thấy trong loài khác của chi *Impatiens*, mặc dù hợp chất này khá phổ biến trong thực vật và được khảo sát rất nhiều về hoạt tính sinh học như chống co giật, chống ung thư và bảo vệ hệ thần kinh [91].

Hình 3.32. Tương tác HMBC của hợp chất uridine (**IC12**)

Bảng 3.12. phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **IC12** được so sánh với uridine

C	IC12 (CD <sub>3</sub> OD)		Uridine [90] (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1	-	-	-	-
2	-	152.5, C	-	152.6, C
3	-	-	-	-
4	-	166.3, C	-	166.3, C
5	5.71 (d, $J = 8.0$ Hz)	102.7, CH	5.71 (d, $J = 8.3$ Hz)	102.7, CH
6	8.01 (d, $J = 8.0$ Hz)	142.7, CH	8.02 (d, $J = 8.3$ Hz)	142.7, CH
1'	5.92 (d, $J = 4.5$ Hz)	90.8, CH	5.92 (d, $J = 4.5$ Hz)	90.8, CH
2'	4.20 (dd, $J = 4.5, 9.5$ Hz)	75.7, CH	4.20 (dd, $J = 5.0, 10.0$ Hz)	75.7, CH
3'	4.17 (dd, $J = 4.5, 9.5$ Hz)	71.3, CH	4.18 (dd, $J = 5.0, 10.0$ Hz)	71.3, CH
4'	4.03 (m)	86.4, CH	4.00 (m)	86.4, CH
5'	3.88 (dd, $J = 2.5, 12.0$ Hz) 3.76 (dd, $J = 3.0, 12.0$ Hz)	62.3, CH <sub>2</sub>	3.86 (dd, $J = 3.0, 12.5$ Hz) 3.75 (dd, $J = 3.5, 12.5$ Hz)	62.3, CH <sub>2</sub>

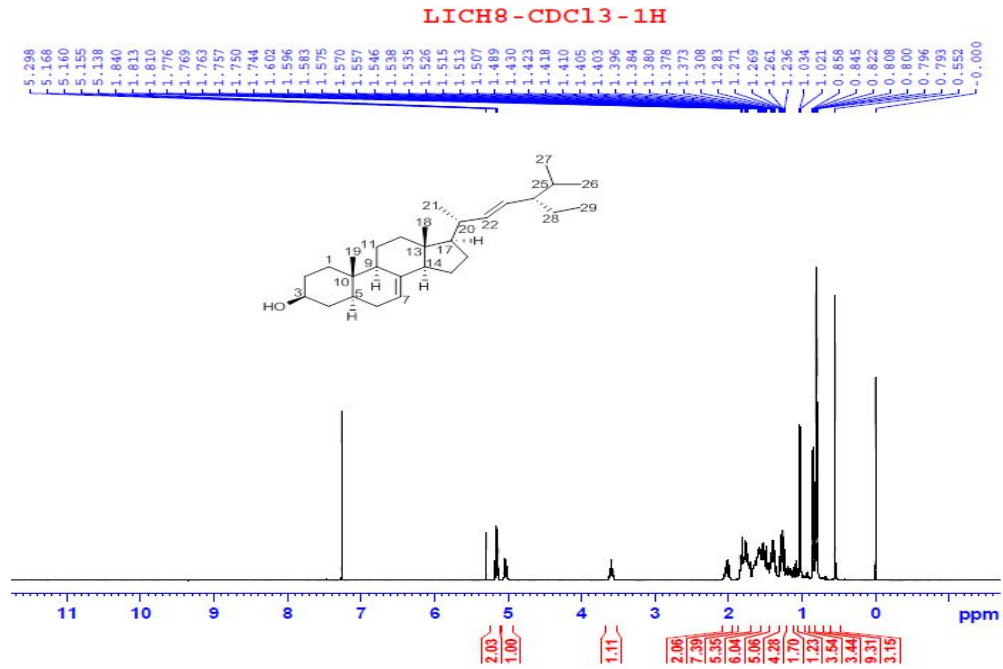
❖ Hợp chất **IC13**:



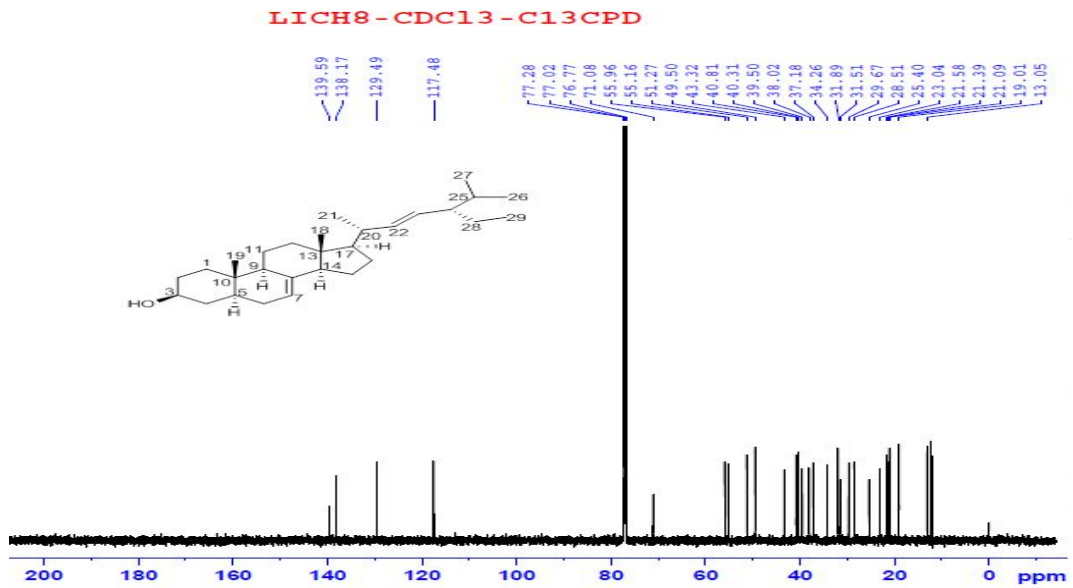
Phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C- NMR (Hình 3.33, 3.34) của chất **IC13** cho các tín hiệu đặc trưng của một sterol với 29 tín hiệu carbon. Kết hợp với phổ 2 chiều HSQC (Phụ lục phổ) ta nhận thấy có 6 nhóm methyl (2 singlet, 3 doublet và 1 triplet - methyl) trong vùng từ 12 đến 20 ppm, 9 nhóm methylene trong vùng từ 20 đến 40 ppm, một nhóm oxymethine tại  $\delta_H$  3.59 (m, H-3),  $\delta_C$  71.1 (C-3). Bên cạnh đó, sự có mặt của nối đôi dạng đồng phân *trans* ở vị trí C-22 thể hiện qua tín hiệu  $\delta_H$  5.03 (dd,  $J = 7.5, 15.0$  Hz, H-22) và 5.18 (dd,  $J = 8.5, 15.0$  Hz, H-23). Nối đôi tại vị trí C-7 ( $\delta_C$  117.5) được xác định thông qua sự dịch chuyển về trường thấp của proton tại  $\delta_H$  5.15 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-7). Các số liệu phổ của chất **IC13** hoàn toàn phù hợp với spinasterol, công thức phân tử C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O trong tài liệu [92]. Spinasterol lần đầu tiên phát hiện trong chi *Impatiens* vào năm 2005 từ loài *I. pritzellii* [56, 57]. Về sau, hợp chất này còn được tìm thấy trong loài *I. balsamina* vào năm 2011 [58]. Spinasterol là một



steroid phổ biến trong thực vật và được đánh giá là hoạt chất đầy triển vọng với nhiều hoạt tính sinh học như chống oxy hóa và kháng nấm [93].



Hình 3.33. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất spinasterol (IC13)



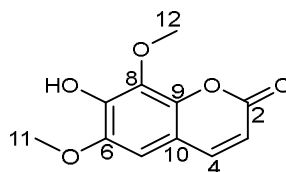
Hình 3.34. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất spinasterol (IC13)

Bảng 3.13. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất IC13 được so sánh với spinasterol

C	IC13	Spinasterol [92]
---	------	------------------

	(CDCl <sub>3</sub> )		(CDCl <sub>3</sub> )	
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
1	-	37.2, CH <sub>2</sub>	-	37.3, CH <sub>2</sub>
2	-	31.5, CH <sub>2</sub>	-	31.6, CH <sub>2</sub>
3	3.59 (m)	71.1, CH	3.61-3.58	71.2, CH
4	-	38.0, CH <sub>2</sub>	-	38.1, CH <sub>2</sub>
5	-	40.3, CH	-	40.4, CH
6	-	29.7, CH <sub>2</sub>	-	29.8, CH <sub>2</sub>
7	5.15 (dd, <i>J</i> = 6.5, 4.0 Hz)	117.5, CH	5.15	117.6, CH
8	-	139.6, C	-	139.7, C
9	-	49.5, CH	-	49.6, CH
10	-	34.3, C	-	34.4, C
11	-	21.6, CH <sub>2</sub>	-	21.7, CH <sub>2</sub>
12	-	39.5, CH <sub>2</sub>	-	39.6, CH <sub>2</sub>
13	-	43.3, C	-	43.5, C
14	-	55.2, CH	-	55.3, CH
15	-	23.0, CH <sub>2</sub>	-	23.2, CH <sub>2</sub>
16	-	28.5, CH <sub>2</sub>	-	28.7, CH <sub>2</sub>
17	-	56.0, CH	-	56.0, CH
18	0.55 (s)	12.1, CH <sub>3</sub>	0.55	12.2, CH <sub>3</sub>
19	0.81 (s)	13.1, CH <sub>3</sub>	0.80	13.2, CH <sub>3</sub>
20	-	40.8, CH	-	41.0, CH
21	1.03 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz)	21.4, CH <sub>3</sub>	1.02	21.6, CH <sub>3</sub>
22	5.18 (dd, <i>J</i> = 7.5, 15.0 Hz)	129.5, CH	5.17	129.6, CH
23	5.03 (dd, <i>J</i> = 8.5, 15.0 Hz)	138.2, CH	5.02	138.4, CH
24	-	51.3, CH	-	51.4, CH
25	-	31.9, CH	-	32.0, CH
26	0.85 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz)	21.1, CH <sub>3</sub>	0.85	21.3, CH <sub>3</sub>
27	0.80 (d, <i>J</i> = 4.0 Hz)	19.0, CH <sub>3</sub>	0.79	19.2, CH <sub>3</sub>
28	-	25.4, CH <sub>2</sub>	-	25.4, CH <sub>2</sub>
29	0.82 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz)	12.2, CH <sub>3</sub>	0.82	12.2, CH <sub>3</sub>

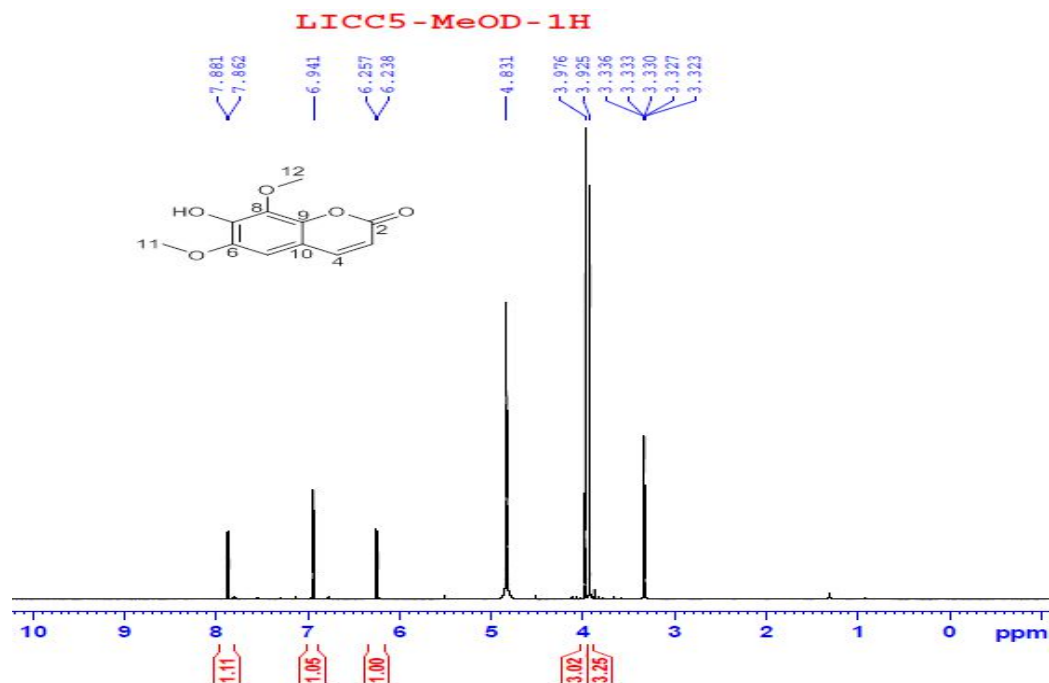
❖ Hợp chất **IC14**:



Isofraxidin (**14**)

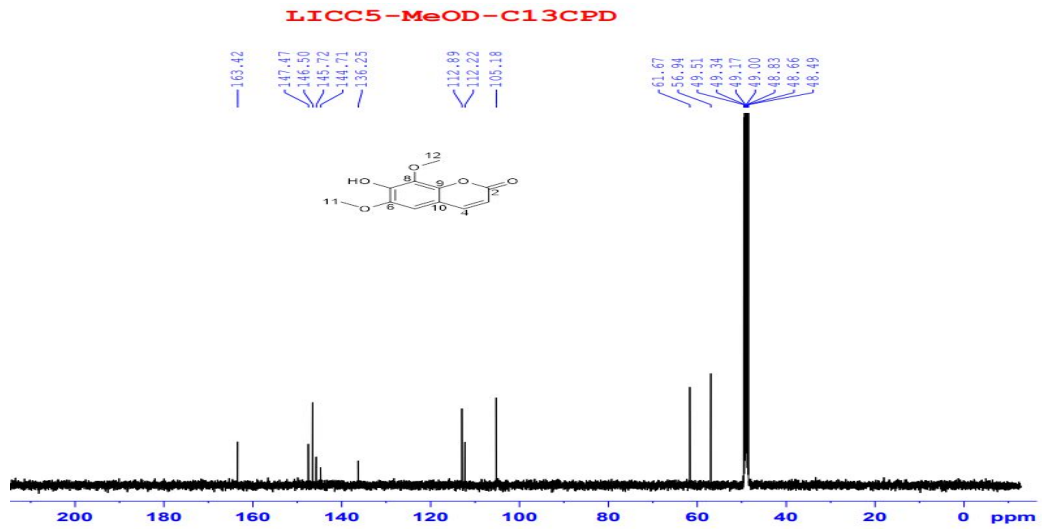
Hợp chất **IC14** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng, công thức phân tử được xác định là C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> thông qua việc phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và phổ (+)-ESI-MS: *m/z* 222.8 [M+H]<sup>+</sup> (phụ lục phổ). Kết hợp phân tích dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR và HSQC cho thấy **IC14** có cấu trúc của một coumarin khi cho một nhóm carbonyl tại δ<sub>C</sub> 163.4 (C-2), 1 tín hiệu proton vòng thơm tại δ<sub>H</sub> 6.94 (brs, H-5), và 2

proton của dị vòng pyron tại  $\delta_H$  6.25 (d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 7.87 (d,  $J = 9.5$  Hz H-4). Ngoài ra, hai nhóm methoxy cũng được phát hiện tại  $\delta_H$  3.93 (s, H-11) và 3.98 (s, H-12) trong phổ  $^1H$ -NMR (Hình 3.35).



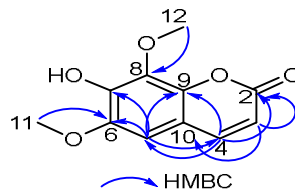
Hình 3.35. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ) của hợp chất isofraxidin (IC14)

Vị trí thế của 2 nhóm methoxy được xác định tại C-6 và C-8 thông qua tương tác HMBC tương ứng giữa proton  $\delta_H$  3.93 (s, H-11) với carbon  $\delta_C$  147.5 (C-6) và giữa proton  $\delta_H$  3.98 (s, H-12) với carbon  $\delta_C$  136.3 (C-8) (Hình 3.37). Hợp chất **IC14** được xác định là isofraxidin khi đối chiếu dữ liệu phổ phân tích được với tài liệu đã công bố [94]. Năm 1995, isofraxidin đã được phân lập từ rễ của loài *I. balsamina* [95]. Mặc dù đã có nhiều công bố chứng minh các hoạt tính sinh học quan trọng của isofraxidin như kháng viêm, chống oxy hóa, bảo vệ tim mạch, bảo vệ hệ thần kinh, nhưng vẫn chưa có nghiên cứu nào được thực hiện nhằm khảo sát khả năng hạ đường huyết của hợp chất này [96].

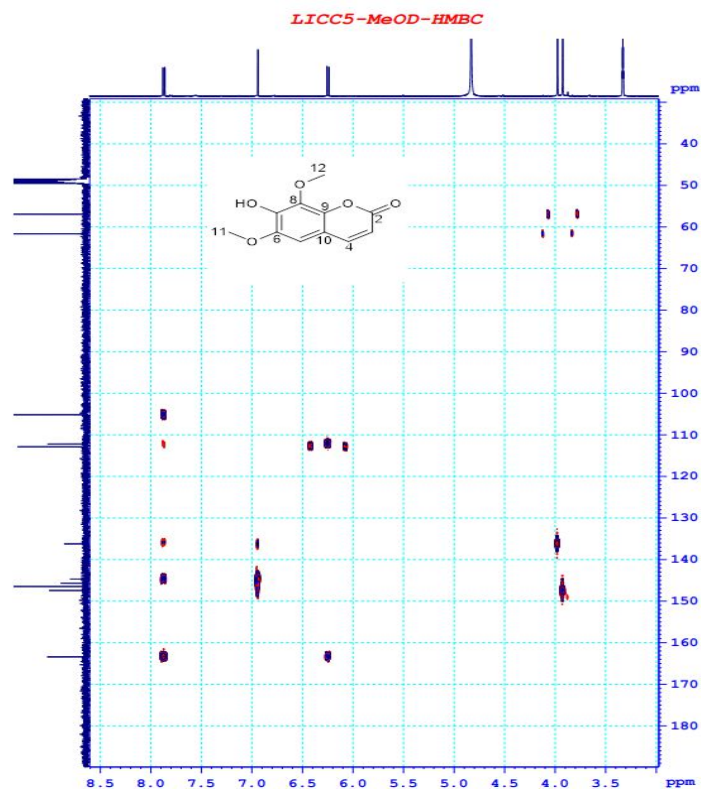


Hình 3.36. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isofraxidin

(IC14)



Hình 3.37. Tương tác HMBC của hợp chất isofraxidin (IC14)

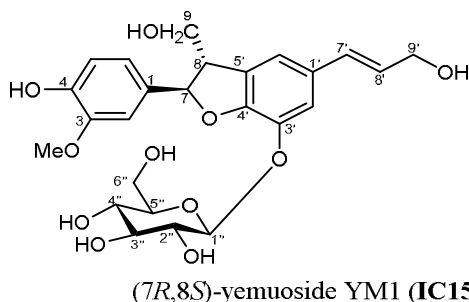


Hình 3.38. Phổ HMBC của hợp chất isofraxidin (IC14)

Bảng 3.14. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC14** được so sánh với isofraxidin

C	<b>IC14</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Isofraxidin [94] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	163.4, C	-	163.6, C
3	6.25 (d, $J = 9.5$ Hz)	112.9, CH	6.21 (d, $J = 9.6$ Hz)	112.8, C
4	7.87 (d, $J = 9.5$ Hz)	146.5, CH	7.84 (d, $J = 9.6$ Hz)	146.7, CH
5	6.94 (brs)	105.2, CH	6.90 (s)	105.2, CH
6	-	136.3, C	-	136.3, C
7	-	145.7, C	-	144.9, C
8	-	147.5, C	-	147.7, C
9	-	144.7, C	-	146.2, C
10	-	112.2, C	-	112.1, C
11	3.93 (s)	56.9, $\text{CH}_3$	3.90 (s)	57.0, C
12	3.98 (s)	61.7, $\text{CH}_3$	3.94 (s)	61.8

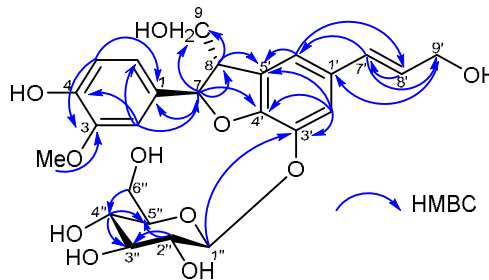
❖ Hợp chất **IC15**:



Hợp chất **IC15** được phân lập ở dạng bột màu trắng với công thức phân tử là  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$  dựa trên kết quả phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  505  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (Phụ lục phổ). Phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR (Bảng 3.15) của **IC15** đặc trưng khung 7-aryl-dihydrobenzofuran neolignan khi cho 12 tín hiệu carbon của 2 vòng thơm (116.2 – 149.2 ppm) với 2 tín hiệu proton tại  $\delta_{\text{H}}$  7.17 (d,  $J = 1.5$  Hz, H-2'), 7.05 (brs, H-6') của vòng thơm nhân benzofuran, và 3 proton tại  $\delta_{\text{H}}$  6.96 (d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.78 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.85 (dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-6) của vòng thơm thế tại vị trí 1,3,4 được liên kết với nhân dihydrobenzofuran tại vị trí C-7. Nhân dihydrobenzofuran còn cho tín hiệu của 1 proton nhóm oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  5.55 (d,  $J = 6.0$  Hz, H-7), và 1 proton nhóm methine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.52 (dd,  $J = 6.0$  Hz, 11.5, H-8). Ngoài ra, đính với khung 7-aryl-dihydrobenzofuran neolignan có 1 nhóm oxymethylene tại  $\delta_{\text{H}}$  3.78 (m, H-9),  $\delta_{\text{C}}$  64.7 (C-9), 1 nhóm 3-hydroxyprop-1-ene với các tín hiệu  $\delta_{\text{H}}$  6.53 (d,  $J = 16.0$  Hz, H-7'), 6.24 (dt,  $J = 16.0, 6.0$  Hz, H-8'),

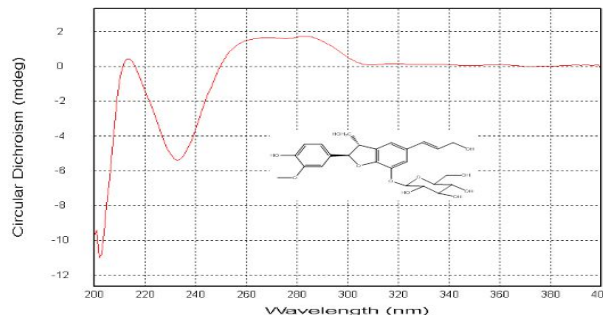
4.19 (dd,  $J = 1.5, 6.0$  Hz, H-9'), và 1 gốc đường  $\beta$ -D-glucopyranosyl với 6 tín hiệu carbon trong khoảng  $\delta_C$  (62.6 – 103.0 ppm) và các tín hiệu proton tại 4.99 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 3.46 (m, H-2''), 3.43 (m, H-3''), 3.41 (m, H-4''), 3.45 (m, H-5''), 3.89 (m, H-6''a), 3.68 (m, H-6''b) trong đó cấu hình  $\beta$  của đường glucose được chứng minh qua hằng số tương tác  $J$  lớn (7.5 Hz) của anomer proton tại  $\delta_H$  4.99 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'').

Vị trí liên kết của các nhóm thế với nhân dihydrobenzofuran được chứng minh qua phổ HMBC (Hình 3.39). Theo đó, tương tác giữa proton H-7 ( $\delta_H$  5.55) với các tín hiệu carbon tại  $\delta_C$  134.1 (C-1), 110.7 (C-2), 120.1 (C-6), 54.9 (C-8), 64.7 (C-9) và 149.2 (C-4') chứng minh vòng thơm gắn với khung dihydrobenzofuran tại vị trí C-7; nhóm hydroxymethylene đính vào vị trí C-8 của khung dihydrobenzofuran thông qua tương tác giữa H-9 ( $\delta_H$  3.78) với carbon tại  $\delta_C$  89.7 (C-7), 149.2 (C-4') và 131.7 (C-5'); nhánh đường glucose đính vào vị trí C-3' qua tương tác giữa proton anomer H-1'' ( $\delta_H$  4.99) với C-3' ( $\delta_C$  142.8).



Hình 3.39. Tương tác HMBC của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 (IC15)

Cấu hình (7*R*,8*S*) của IC15 được xác định dựa trên giá trị dương nhận được từ phổ CD tại 275 nm (Hình 3.40) khi so sánh với giá trị âm nhận được từ phổ CD tại 275 nm của hợp chất (7*S*,8*R*)-yemuoside YM1 đã được công bố trong tài liệu [97]. Đây là lần đầu tiên (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 được phân lập từ chi *Impatiens* và cho đến nay vẫn chưa có công bố nào về hoạt tính sinh học của hợp chất này.

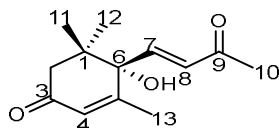


Hình 3.40. Phổ CD của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 (**IC15**)

Bảng 3.15. Phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất **IC15** được so sánh với (7*S*,8*R*)-yemuoside YM1

Hợp chất <b>IC15</b> (CD <sub>3</sub> OD)			(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-yemuoside YM1 [97] (CD <sub>3</sub> OD)	
C	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
1	-	134.1, C	-	134.1, C
2	6.96 (d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	110.7, CH	6.95 (d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	110.8, CH
3	-	149.3, C	-	149.2, C
4	-	147.8, C	-	147.9, C
5	6.78 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	116.5, CH	6.79 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz)	116.4, CH
6	6.85 (dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	120.1, CH	6.86 (dd, <i>J</i> = 8.0, 2.0 Hz)	120.1, CH
7	5.55 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz)	89.7, CH	5.55 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz)	89.8, CH
8	3.52 (dd, <i>J</i> = 5.5, 11.5 Hz)	54.9, CH	3.44 (dd, <i>J</i> = 6.0, 12.0 Hz)	54.8, CH
9	3.78 (m)	64.7, CH <sub>2</sub>	3.73 (m)	64.8, CH <sub>2</sub>
OCH <sub>3</sub>	3.82 (s)	56.5, CH <sub>3</sub>	3.82 (s)	56.5, CH <sub>3</sub>
1'	-	131.1, C	-	131.1, C
2'	7.17 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz)	116.2, CH	7.15 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz)	116.3, CH
3'	-	142.8, C	-	142.8, C
4'	-	149.2, C	-	149.2, C
5'	-	131.7, C	-	131.7, C
6'	7.05 (s)	118.0, CH	7.05 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz)	118.0, CH
7'	6.53 (d, <i>J</i> = 16.0 Hz)	132.8, CH	6.53 (d, <i>J</i> = 16.0 Hz)	132.8, CH
8'	6.24 (dt, <i>J</i> = 16.0, 6.0 Hz)	128.0, CH	6.23 (dt, <i>J</i> = 16.0, 6.0 Hz)	127.9, CH
9'	4.19 (dd, <i>J</i> = 1.5, 5.5 Hz)	63.8, CH <sub>2</sub>	4.18 (dd, <i>J</i> = 1.5, 5.8 Hz)	63.8, CH <sub>2</sub>
1''	4.99 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz)	103.0, CH	5.04 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz)	102.9, CH
2''	3.46 (m)	75.0, CH	-	74.9, CH
3''	3.43 (m)	78.2, CH	-	78.2, CH
4''	3.41 (m)	71.4, CH	-	71.3, CH
5''	3.45 (m)	77.8, CH	-	77.8, CH
6''	3.89 (m) 3.68 (m)	62.6, CH <sub>2</sub>	-	62.4, CH <sub>2</sub>

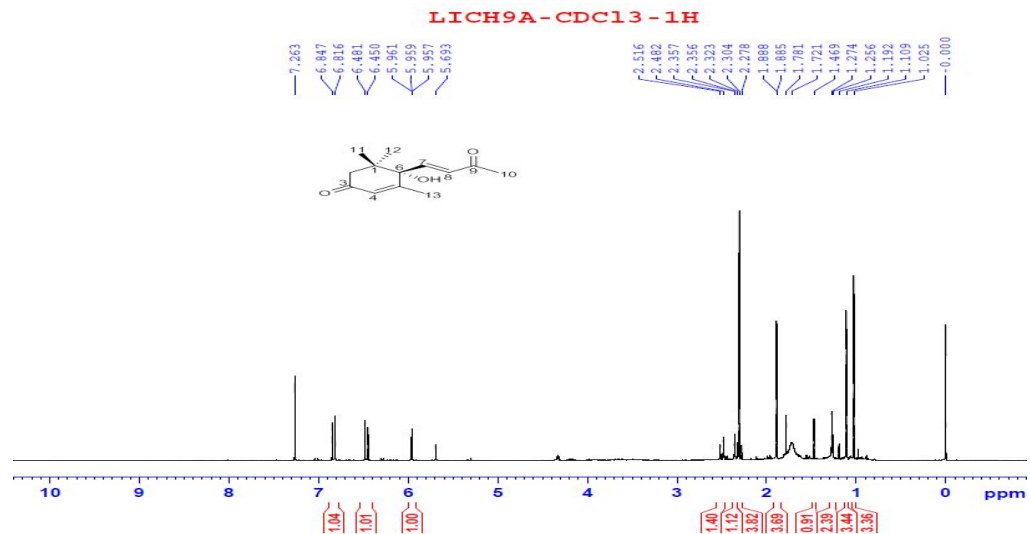
❖ Hợp chất **IC16**:



Dehydrovomifoliol (**IC16**)

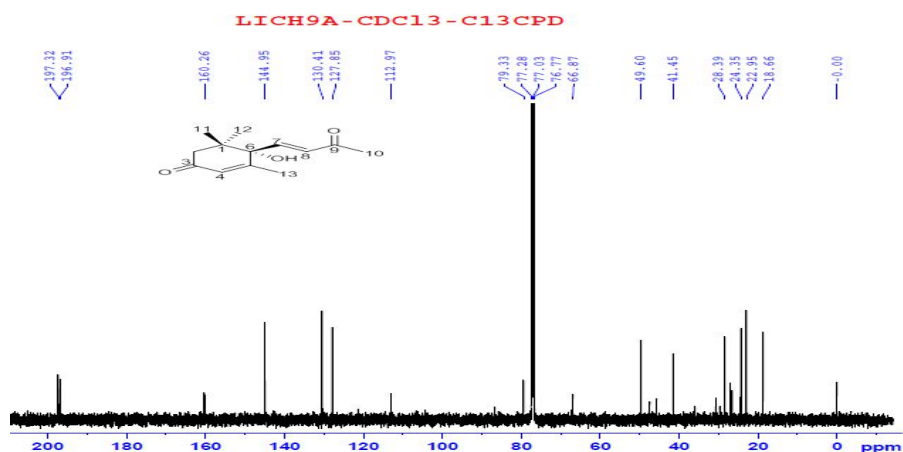
Được phân lập dưới dạng dầu không màu, hợp chất **IC16** được xác định có công thức phân tử là C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> dựa trên việc phân tích phổ NMR và phổ khối (–)-ESI-MS: *m/z* 220.7 [M-H]<sup>–</sup> (phụ lục phổ). Phổ 1D- và 2D-NMR cho thấy hợp chất **IC16** có cấu trúc của một dẫn xuất megastigman. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (Hình 3.41) của hợp

chất **IC16** cho 2 tín hiệu proton doublet của olefin dạng đồng phân *trans* tại  $\delta_H$  6.83 (d,  $J = 15.0$  Hz, H-7) và 6.47 (d,  $J = 15.0$  Hz, H-8) và 1 tín hiệu singlet methine tại  $\delta_H$  5.96 (s, H-4). Quan sát phổ  $^1H$ -NMR vùng trường cao cho 1 tín hiệu methylene proton tại  $\delta_H$  2.50 (d,  $J = 17.0$  Hz, H-2a) và 2.36 (d,  $J = 17.0$  Hz, H-2b); 4 tín hiệu singlet methyl tại  $\delta_H$  2.30 (s, H-10), 1.11 (s, H-11), 1.03 (s, H-12) và 1.89 (s, H-13). Phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.42) cho 13 tín hiệu carbon gồm 2 ketone ở  $\delta_C$  196.9 (C-3) và 197.3 (C-9), 1 carbon bậc bốn  $\delta_C$  160.3 (C-5) và 3 carbon bậc ba  $\delta_C$  127.9 (C-4), 145.0 (C-7) và 130.4 (C-8). Ngoài ra trong phổ  $^{13}C$ -NMR còn cho các tín hiệu của 1 carbon bậc 3 liên kết với nhóm hydroxy tại  $\delta_C$  79.3 (C-6), 1 methylene carbon tại  $\delta_C$  49.6 (C-2), 1 carbon bậc bốn tại  $\delta_C$  41.6 (C-1) và 4 methyl carbon tại  $\delta_C$  28.4 (C-10), 23.0 (C-11), 24.4 (C-12) và 18.7 (C-13). Từ kết quả phân tích phổ 1D-NMR, hợp chất **IC16** được xác định là một megastigman với 4 nhóm methyl, 1 nhóm hydroxyl, 2 liên kết đôi và 2 nhóm ketone.



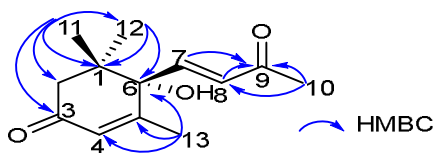
Hình 3.41. Phổ  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ) của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (**IC16**)





Hình 3.42. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (**IC16**)

Phổ 2D-NMR gồm HSQC và HMBC (phụ lục phổ) được phân tích thêm nhằm khẳng định cấu trúc cũng như vị trí của các nhóm chức trong hợp chất **IC16**. Quan sát phổ HMBC (Hình 3.43) nhận thấy, tương tác giữa 2 methyl proton tại  $\delta_{\text{H}}$  1.11 (H-11) và 1.03 (H-12) với các carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  41.6 (C-1), 49.6 (C-2), 196.9 (C-3), 79.3 (C-6), 160.3 (C-5) và 79.3 (C-6) chứng minh 2 nhóm methyl tại C-11 và C-12 đính tại vị trí C-1. Trong khi đó, proton của nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.89 (H-13) lại thể hiện tương tác với các tín hiệu carbon tại 127.9 (C-4), 160.3 (C-5) và 79.3 (C-6) cho thấy nhóm methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  19.21 (C-13) đính tại vị trí C-5. Nhóm methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  28.4 (C-10) đính vào vị trí C-9 thông qua tương tác giữa proton tại  $\delta_{\text{H}}$  2.30 (H-10) với carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  130.4 (C-8), 145.0 (C-7) và 197.3 (C-9). Trong phổ HMBC còn cho thấy tương tác giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  6.83 (H-7), 6.47 (H-8) và 2.30 (H-10) với tín hiệu carbon của nhóm ketone tại  $\delta_{\text{C}}$  197.3 (C-9).



Hình 3.43. Tương tác HMBC của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (**IC16**)

Dữ liệu phổ của hợp chất **IC16** được so sánh giống với hợp chất dehydrovomifoliol. Thông qua việc so sánh phổ NMR và độ quay cực  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +135.8$  ( $c = 0.1$ , MeOH) với hợp chất công bố trong tài liệu [98], hợp chất **IC16** được xác định là (*S*)-dehydrovomifoliol. Theo khảo sát tài liệu, hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol được xác định lần đầu tìm thấy trong chi *Impatiens* và chỉ duy

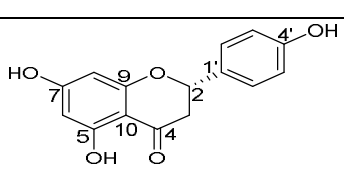
nhất một công bố về hoạt tính sinh học của nó là khả năng làm giảm tình trạng gan nhiễm mỡ [99].

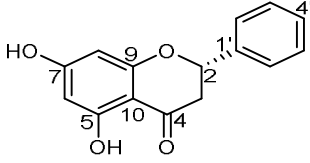
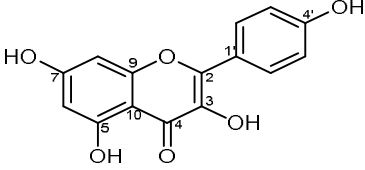
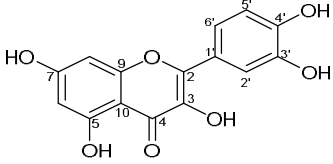
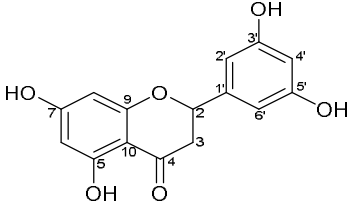
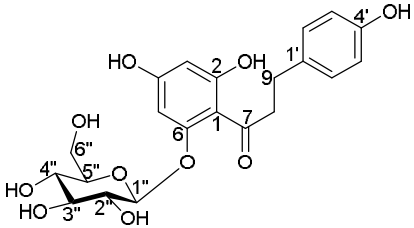
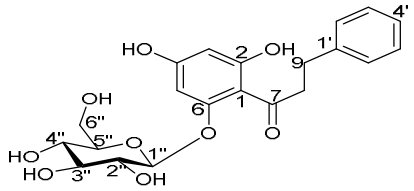
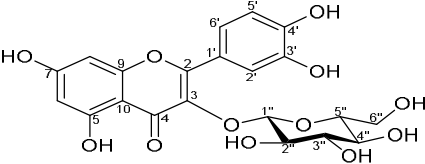
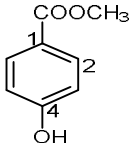
Bảng 3.16. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IC16** được so sánh với (*S*)-dehydrovomifoliol

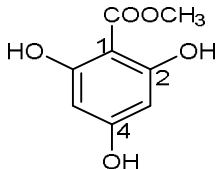
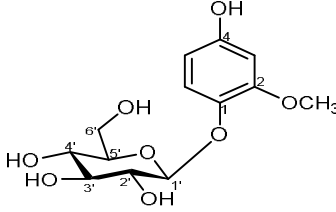
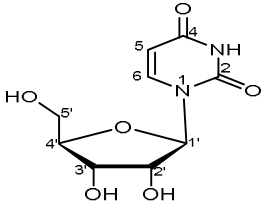
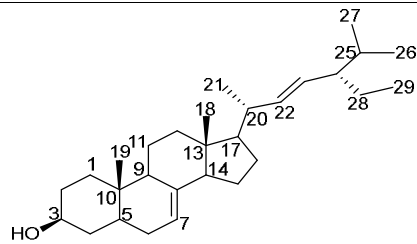
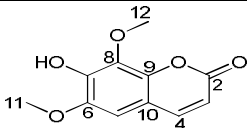
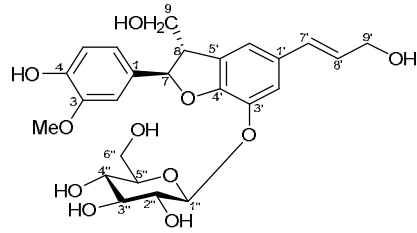
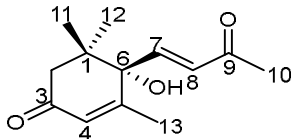
Hợp chất <b>IC16</b> ( $\text{CDCl}_3$ )			( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol [98] ( $\text{CDCl}_3$ )	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	41.6, C	-	41.4 C
2	2.50 (d, $J = 17.0$ Hz) 2.36 (d, $J = 17.0$ Hz)	49.6, $\text{CH}_2$	2.49 (d, $J = 17.1$ Hz) 2.34 (d, $J = 17.1$ Hz)	49.6, $\text{CH}_2$
3	-	196.9, C	-	197.0, C
4	5.96 (s)	127.9, CH	5.97–5.94 (m)	127.7, CH
5	-	160.3, C	-	160.5, C
6	-	79.3, C	-	79.2, C
7	6.83 (d, $J = 15.0$ Hz)	145.0, CH	6.84 (d, $J = 15.7$ Hz)	145.1, CH
8	6.47 (d, $J = 15.0$ Hz)	130.4, CH	6.47 (d, $J = 15.7$ Hz)	130.4, CH
9	-	197.3, C	-	197.4, C
10	2.30 (s)	28.4, $\text{CH}_3$	2.30 (s)	28.2, $\text{CH}_3$
11	1.11 (s)	23.0, $\text{CH}_3$	1.11 (s)	22.9, $\text{CH}_3$
12	1.03 (s)	24.4, $\text{CH}_3$	1.03 (s)	24.3, $\text{CH}_3$
13	1.89 (s)	18.7, $\text{CH}_3$	1.89 (d, $J = 1.5$ Hz)	18.6, $\text{CH}_3$

Tổng kết lại, 16 hợp chất (**IC1-IC16**) phân lập từ loài *I. chapaensis* và được chứng minh về mặt cấu trúc dựa trên kết quả phân tích dữ liệu phổ. Cấu trúc hóa học của 16 chất được tổng hợp trong Bảng 3.17 dưới đây. Tính mới của các hợp chất phân lập được xác định dựa trên kết quả khảo sát tài liệu đã công bố về thành phần hóa học của chi *Impatiens*.

Bảng 3.17. Các chất phân lập từ loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

ST T	Chất (Ký hiệu)	Cấu trúc	Tên gọi	Tính mới
1	<b>IC1</b> (LICC2)		( <i>S</i> )-naringenin	Lần đầu tiên phân lập trong chi

2	<b>IC2</b> (LICC4)		( <i>S</i> )-pinocembrin	-
3	<b>IC3</b> (LICB6a)		kaempferol	-
4	<b>IC4</b> (LICB7)		quercetin	-
5	<b>IC5</b> (LICB10)		(±)-3',5',5',7-tetrahydroxyflavone	Lần đầu tiên phân lập trong chi
6	<b>IC6</b> (LICH1)		phlorizidin	Lần đầu tiên phân lập trong chi
7	<b>IC7</b> (LICH2a)		2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside	Lần đầu tiên phân lập trong chi
8	<b>IC8</b> (LICB5)		isoquercitrin	-
9	<b>IC9</b> (LICC1)		methyl 4-hydroxybenzoate	-

10	<b>IC10</b> (LICC3)		methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate	Lần đầu tiên phân lập trong chi
11	<b>IC11</b> (LICB2)		isotachioside	Lần đầu tiên phân lập trong chi
12	<b>IC12</b> (LICB2)		uridine	Lần đầu tiên phân lập trong chi
13	<b>IC13</b> (LICH8)		spinasterol	-
14	<b>IC14</b> (LICC5)		isofraxidin	-
15	<b>IC15</b> (LICB1)		(7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> )-yemuoside YM1	Lần đầu tiên phân lập trong chi
16	<b>IC16</b> (LICH9A)		( <i>S</i> )-dehydrovomifoliol	Lần đầu tiên phân lập trong chi

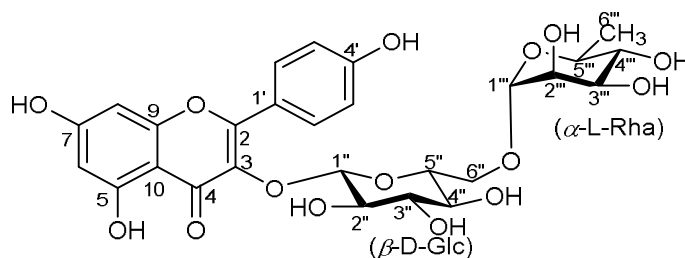
### 3.2. Phân tích, xác định cấu trúc các chất phân lập từ loài Bống nước dài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

Cùng với loài Móc tai Sa pa (*Impatiens chapaensis*), loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala*) được lựa chọn nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trong khuôn khổ luận án. Phân tích thành phần hóa học của loài này xác định được 11 hợp chất (**IP1 – IP11**), gồm bốn flavonoid: kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP1**), apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**), isoquercitrin (**IP3**) và phlorizin (**IP4**); ba triterpenoid: lupeol (**IP5**), ginsenoside Rg1 (**IP6**) và iparvisepala-1 (**IP7**); và bốn hợp chất khác:  $\alpha$ -tocopherylquinone (**IP8**), phytol (**IP9**), 1-[nonadeca-(9*Z*,12*Z*)-dienoyl]-sn-glycerol (**IP10**) và uracil (**IP11**). Trong đó, saponin **IP7** được xác định là chất mới và 6 hợp chất (**IP2**, **IP5**, **IP6** và **IP8 – IP10**) lần đầu tiên phân lập từ chi *Impatiens*.

### 3.2.1. Các hợp chất flavonoid

4 flavonoid phân lập được từ loài *I. parvisepala* được chia thành 2 phân nhóm, gồm 3 flavone: kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP1**), apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**) và isoquercitrin (**IP3**); và 1 dihydrochalcon: phlorizin (**IP4**). Điều đáng chú ý là cả 4 flavonoid đều tồn tại ở dạng glycoside.

#### ❖ Hợp chất **IP1**:

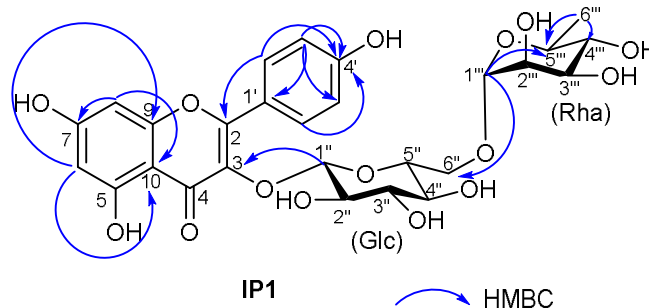


Kaempferol-3-*O*-rutinoside (**IP1**)

Hợp chất **IP1** được phân lập ở dạng rắn màu vàng từ cao chiết *n*-BuOH. Công thức phân tử được dự đoán là  $C_{27}H_{30}O_{15}$  ( $M = 594.0$ ) dựa trên pic ion giả phân tử trong phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  593.0  $[M-H]^-$  (**Phụ lục phổ**). Dựa trên các tín hiệu đặc trưng trong phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR (**Bảng 3.18**) cho thấy **IP1** có cấu trúc của một flavonoid glycoside. Phổ  $^1H$ -NMR cho 2 tín hiệu singlet ở vùng trường thấp tại  $\delta_H$  6.38 (brs, H-6), và 6.19 (brs, H-8) chứng minh vòng thơm A của khung flavonoid thể tại vị trí 5,7. Ngoài ra, ở vùng trường thấp còn có 2 tín hiệu doublet tại  $\delta_H$  8.08 (d,  $J = 8.4$  Hz, H-2'/6'), và 6.91 (d,  $J = 8.4$  Hz, H-3'/5') đặc trưng cho vòng

thơm B thế tại vị trí 1, 4. Trong phổ  $^{13}\text{C}$  NMR ngoài các tín hiệu của vùng đường thì phần aglycon của **IP1** cho 15 tín hiệu carbon, gồm 1 nhóm carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  179.2 (C-4); 2 carbon của vòng pyran tại  $\delta_{\text{C}}$  158.7 (C-2) và 135.5 (C-3); 4 carbon thơm liên kết với oxy tại  $\delta_{\text{C}}$  162.9 (C-5), 168.1 (C-7), 159.2 (C-9), và 161.5 (C-4'); 2 carbon thơm không liên kết với oxy ở  $\delta_{\text{C}}$  105.1 (C-10), và 122.8 (C-1'); 6 nhóm methine tại  $\delta_{\text{C}}$  100.7 (C-6), 95.4 (C-8), 132.3 (C-2'/6'), và 116.2 (C-3'/5'). Do đó, phần aglycon của **IP1** có cấu trúc của 5,7,4'-trihydroxyflavonol (còn gọi là kaempferol). Phần đường của **IP1** thể hiện trong phổ  $^1\text{H}$ -, và  $^{13}\text{C}$ -NMR qua 2 tín hiệu anomer proton:  $\delta_{\text{H}}$  5.11 (d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), và 4.54 (s, H-1''') ứng với 2 tín hiệu carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  104.8 (C-1''), và 102.4 (C-1'''); một nhóm methyl:  $\delta_{\text{H}}$  1.15 (d,  $J = 6.6$  Hz, H-6''') ứng với  $\delta_{\text{C}}$  17.9 (C-6'''); một nhóm oxymethylene tại  $\delta_{\text{H}}$  3.82 (d,  $J = 9.6$  Hz, H-6''a), và 3.55 (dd,  $J = 3.0, 9.0$  Hz, H-6''b) ứng với  $\delta_{\text{C}}$  68.6 (C-6''); cùng với 8 nhóm methine trong khoảng  $\delta_{\text{H}}$  3.26-3.66 ppm ứng với carbon trong khoảng  $\delta_{\text{C}}$  68.6 - 78.2 ppm. Dữ liệu phổ phân tích được cho thấy phần đường của **IP1** có 1 đơn vị glucose và 1 đơn vị rhamnose liên kết với nhau. Tín hiệu doublet của proton anomer  $\delta_{\text{H}}$  5.11 xác nhận cấu hình  $\beta$  của đường  $\beta$ -D-glucopyranose, trong khi, tín hiệu singlet proton anomer  $\delta_{\text{H}}$  4.54 xác nhận cấu hình  $\alpha$  của đường  $\alpha$ -L-rhamnopyranose.

Vị trí liên kết giữa hai đơn vị đường và giữa phần đường với phần aglycon trong hợp chất **IP1** được chứng minh qua các tương tác HMBC (Hình 3.44). Theo đó, tương tác giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  5.11 (H-1'') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  135.5 (C-3) cho thấy phần đường liên kết với phần aglycon tại vị trí C-3; tương tác giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  4.54 (H-1''') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  68.6 cho thấy đơn vị đường rhamnose liên kết với đường glucose tại vị trí C-6''. Ngoài ra, trong phổ HMBC còn thể hiện nhiều tương tác khác giữa proton và carbon chứng minh lần nữa khung cấu trúc của **IP1** (Hình 3.44).



Hình 3.44. Tương tác HMBC của hợp chất kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP1**)

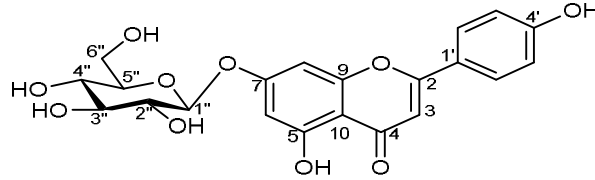
Tổng hợp tất cả kết quả phân tích dữ liệu phổ phía trên, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **IP1** được xác định là kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (còn gọi là kaempferol-3-*O*-rutinoside) [100]. Hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside được tìm thấy nhiều trong thành phần hóa học của cây thảo dược và được chứng minh cho nhiều hoạt tính quan trọng điển hình là giúp ngăn ngừa và điều trị các bệnh liên quan đến hệ thần kinh trung ương [101]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên hợp chất này được phát hiện có trong chi *Impatiens*.

Bảng 3.18. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP1** được so sánh với kaempferol- 3-*O*-rutinoside

STT	Hợp chất <b>IP1</b> (CD <sub>3</sub> OD)		kaempferol- 3- <i>O</i> -rutinoside [100] (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	158.7, C	-	158.7, C
3	-	135.5, C	-	135.7, C
4	-	179.2, C	-	179.4, C
5	-	162.9, C	-	163.1, C
6	6.38 (brs)	100.7, CH	6.40 (d, $J = 2.4$ Hz)	100.3, CH
7	-	168.1, C	-	168.3, C
8	6.19 (brs)	95.4, CH	6.25 (d, $J = 2.3$ Hz)	95.2, CH
9	-	159.2, C	-	159.7, C
10	-	105.1, C	-	105.8, C
1'	-	122.8, C	-	123.0, C
2'/6'	8.08 (d, $J = 7.0$ Hz)	132.3, CH x2	8.06 (d, $J = 9.0$ Hz)	132.6, CH x 2
3'/5'	6.91 (d, $J = 7.0$ Hz)	116.2, CH x 2	6.88 (d, $J = 8.7$ Hz)	116.4, CH x 2
4'	-	161.5, C	-	161.6, C
1''	5.11 (d, $J = 6.0$ Hz)	104.8, CH	5.12 (d, $J = 7.3$ Hz)	104.7, CH
2''	3.26-3.50 (m)	75.8, CH	3.20-3.40 (m)	75.9, CH
3''		78.2, CH		78.1, CH
4''		71.4, CH		71.6, CH
5''		77.2, CH		77.3, CH
6''	3.82 (d, $J = 8.0$ Hz) 3.55 (dd, $J = 2.5, 8.0$ Hz)	68.6, CH <sub>2</sub>	3.80 (dd, $J = 1.0, 9.6$ Hz) 3.53 (dd, $J = 3.6, 9.5$ Hz)	68.8, CH <sub>2</sub>
1'''	4.54 (s)	102.4, CH	4.57 (d, $J = 6.1$ Hz)	102.6, CH
2'''	3.66 (s)	72.1, CH	3.61 (dd, $J = 1.7$ Hz, 3.4 Hz)	72.3, CH
3'''	-	72.3, CH	-	72.5, CH
4'''	-	73.9, CH	-	74.1, CH

5'''	-	69.7, CH	-	70.0, CH
6'''	1.15 (d, $J = 5.5$ Hz)	17.9, CH <sub>3</sub>	1.12 (d, $J = 6.1$ Hz)	18.1, CH <sub>3</sub>

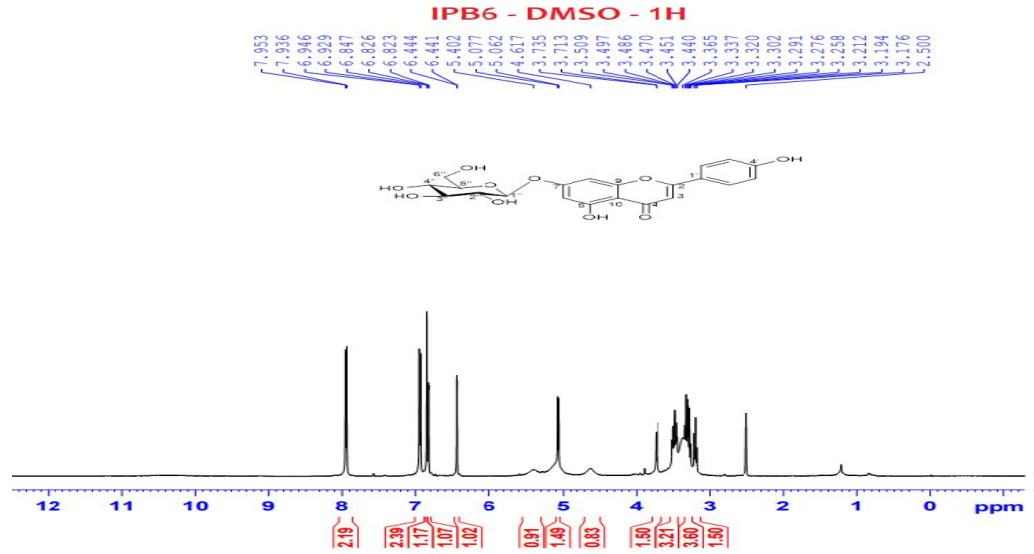
❖ Hợp chất **IP2**:



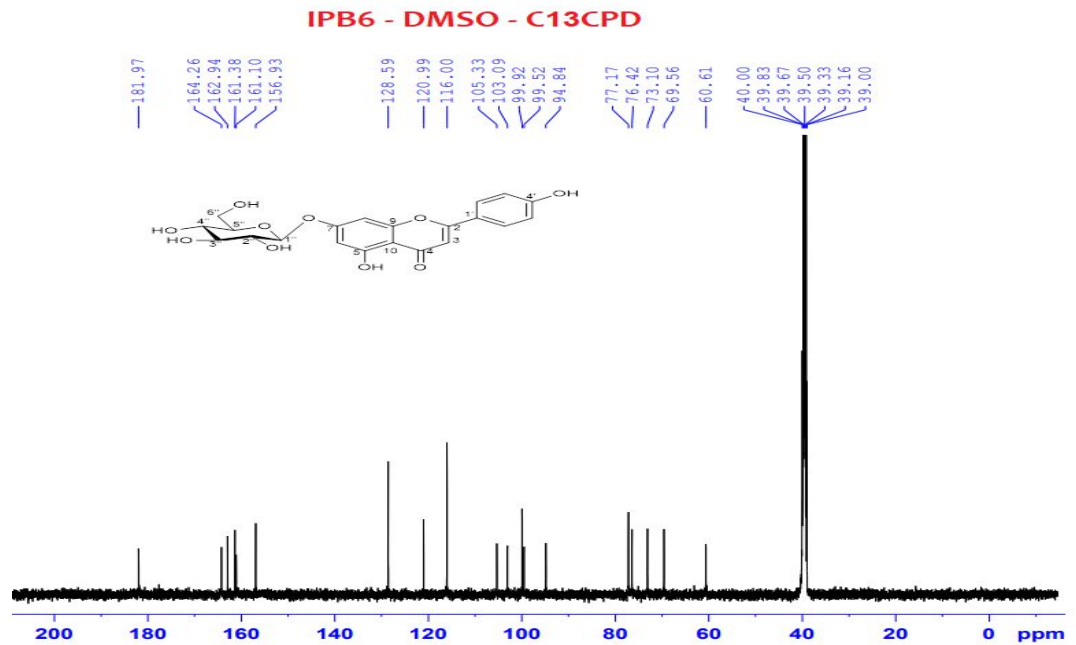
Apigenin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)

Hợp chất **IP2** cũng được phân lập ở dạng rắn màu vàng từ cao chiết *n*-BuOH. Công thức phân tử của **IP2** được dự đoán là C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub> (M = 432.1) dựa trên pic ion giả phân tử đạt được từ phổ khối (-)ESI-MS:  $m/z$  430.9 [M-H]<sup>-</sup> (**Phụ lục phổ**) kết hợp với việc phân tích phổ 1D, 2D-NMR. So sánh phổ <sup>1</sup>H-NMR của **IP1** và **IP2**, cho thấy **IP2** cũng có khung cấu trúc của 1 flavonoid glucoside. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR của **IP2** (**Hình 3.45**), vòng thơm A và B cho 4 tín hiệu tại  $\delta_H$  6.44 (d,  $J = 1.5$  Hz, H-6), 6.82 (d,  $J = 1.5$  Hz, H-8), 7.95 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-2'/6') và 6.94 (d,  $J = 8.5$  Hz, H-3'/5'), riêng vòng C có sự khác biệt khi **IP2** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu proton của nhóm methine tại  $\delta_H$  6.85 (s, H-3). Sự kết hợp giữa phổ <sup>13</sup>C-NMR (**Hình 3.46**) và HSQC (**Phụ lục phổ**) khẳng định cấu trúc phần aglycon của **IP2** với 7 nhóm methine tại  $\delta_C$  103.0 (C-3), 99.9 (C-6), 94.8 (C-8), 128.5 (C-2'/6') và 116.0 (C-3'/5'). Từ đó có thể kết luận, phần aglycon của **IP2** có cấu trúc của 5,7,4'-trihydroxy flavone (còn gọi là apigenin). Khác với **IP1**, phần đường của hợp chất **IP2** chỉ cho 1 đơn vị đường glucose, thể hiện qua tín hiệu anomer proton tại  $\delta_H$  5.27 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 4 nhóm oxymethine và 1 nhóm oxymethylene trong khoảng 3.17-3.50 ppm. Cấu hình  $\beta$  của đơn vị đường glucose được xác định dựa trên hằng số tương tác  $J$  lớn ( $J = 7.5$  Hz) của proton anomer H-1''. Từ kết quả phân tích phổ trên, hợp chất **IP2** được xác định là apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside khi so sánh với tài liệu [102]. Theo khảo sát tài liệu, apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside đã được phân lập từ loài *I. textori* và *I. hypophylla* trước đây [15, 18]. Hợp chất này đã được chứng minh cho khả năng gây độc tế bào và chống oxy hóa tốt, tuy nhiên vẫn chưa có nghiên cứu nào được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính kháng viêm và hạ đường huyết của nó [103, 104].





Hình 3.45. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)



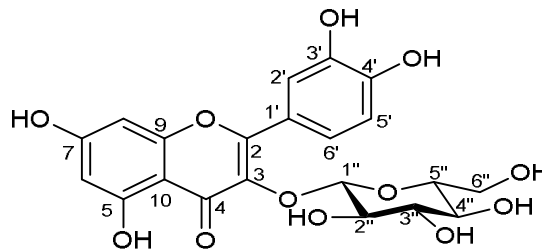
Hình 3.46. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)

Bảng 3.19. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP2** được so sánh với apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside

C	Hợp chất <b>IP2</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ )		apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside [102] ( $\text{DMSO-}d_6$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	162.9, C	-	163.4, C
3	6.85 (s)	103.0, CH	6.87 (s)	103.5, CH

4	-	181.9, C	-	182.5, C
5	-	156.9, C	-	157.4, C
6	6.44 (d, $J = 1.5$ Hz)	99.9, CH	6.43 (d, $J = 2.2$ Hz)	100.3, CH
7	-	164.2, C	-	164.7, C
8	6.82 (d, $J = 1.5$ Hz)	94.8, CH	6.82 (d, $J = 2.2$ Hz)	95.3, CH
9	-	161.3, C	-	161.9, C
10	-	105.3, C	-	105.8, C
1'	-	120.9, C	-	121.4, C
2'/6'	7.95 (d, $J = 8.5$ Hz)	128.5, CH x 2	7.95 (d, $J = 8.9$ Hz)	129.1, CH x 2
3'/5'	6.94 (d, $J = 8.5$ Hz)	116.0, CH x 2	6.93 (d, $J = 8.9$ Hz)	116.5, CH x 2
4'	-	161.1, C	-	161.6, C
1''	5.27 (d, $J = 7.5$ Hz)	99.5, CH	5.44 (d, $J = 7.4$ Hz)	99.9, CH
2''	3.73 (d, $J = 11.0$ Hz)	73.1, CH	3.71 (d, $J = 10.3$ Hz)	73.5, CH
3''	3.17-3.50 (m)	77.1, CH	3.27-3.47 (m)	77.6, CH
4''		69.5, CH		69.9, CH
5''		76.4, CH		76.9, CH
6''		60.6, CH <sub>2</sub>		63.5, CH <sub>2</sub>

❖ Hợp chất **IP3**:



Isoquercitrin (**IP3**)

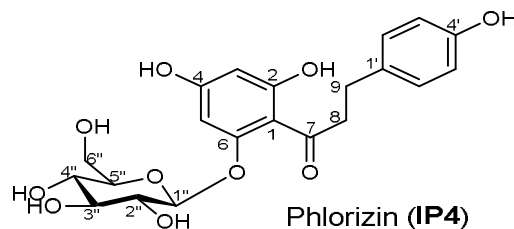
Hợp chất **IP3** được phân lập ở dạng bột màu vàng. Cấu trúc hóa học của hợp chất **IP3** được xác định bằng cách phân tích phổ  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -NMR (Phụ lục phổ) kết hợp so sánh dữ liệu phổ với chất chuẩn isoquercitrin (**IC8**) phân lập từ cây Móc tại Sapa (*I. chapaensis*) (Bảng 3.20).

Bảng 3.20. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP3** được so sánh với hợp chất isoquercitrin (**IC8**)

C	Hợp chất isoquercitrin ( <b>IC8</b> ) (CD <sub>3</sub> OD)		<b>IP3</b> (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	158.5, C	-	158.4, C
3	-	135.8, C	-	135.7, C
4	-	179.6, C	-	179.5, C
5	-	163.0, C	-	163.0, C
6	6.23 (d, $J = 2.0$ Hz)	100.0, CH	6.23 (d, $J = 2.4$ Hz)	99.9, CH
7	-	166.2, C	-	166.1, C
8	6.42 (d, $J = 2.0$ Hz)	94.8, CH	6.43 (d, $J = 2.4$ Hz)	94.7, CH

9	-	158.8, C	-	158.8, C
10	-	105.6, C	-	105.6, C
1'	-	122.9, C	-	122.9, C
2'	7.86 (d, $J=2.0$ Hz)	117.8, CH	7.86 (d, $J=2.4$ Hz)	117.7, CH
3'	-	145.8, C	-	145.8, C
4'	-	150.0, C	-	149.9, C
5'	6.89 (d, $J=8.5$ Hz)	116.1, CH	6.89 (d, $J=8.4$ Hz)	116.1, CH
6'	7.61 (dd, $J=8.5, 2.0$ Hz)	123.0, CH	7.61 (dd, $J=8.4, 2.4$ Hz)	123.0, CH
1''	5.18 (d, $J=8.0$ Hz)	105.4, CH	5.18 (d, $J=7.8$ Hz)	105.4, CH
2''	3.84 (dd, $J=9.0, 8.0$ Hz)	73.2, CH	3.84 (dd, $J=7.8, 9.6$ Hz)	73.1, CH
3''	3.56 (t, $J=9.0$ Hz)	75.1, CH	3.56 (t, $J=9.0$ Hz)	75.1, CH
4''	3.87 (dd, $J=9.6, 9.0$ Hz)	70.0, CH	3.87 (d, $J=3.0$ Hz)	70.0, CH
5''	3.49 (ddd, $J=9.6, 5.3, 2.5$ Hz)	77.2, CH	3.49 (ddd, $J=0.6, 6.0, 12.0$ Hz)	77.2, CH
6''	3.66 (d, $J=2.5$ Hz) 3.58 (d, $J=5.3$ Hz)	62.0, CH <sub>2</sub>	3.66 (dd, $J=6.0, 11.4$ Hz), 3.58 (d, $J=5.3$ Hz)	61.9, CH <sub>2</sub>

❖ Hợp chất **IP4**:



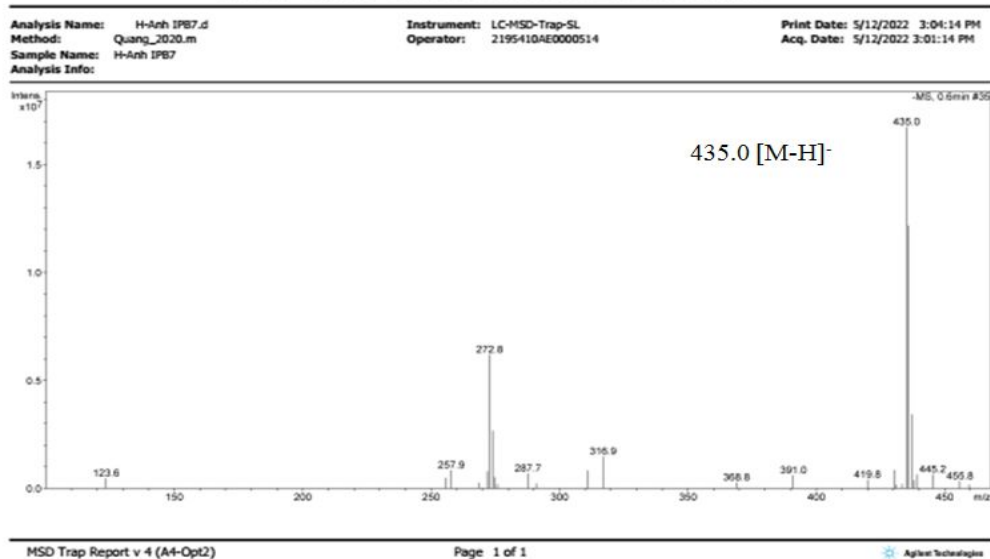
Hợp chất **IP4** được phân lập ở dạng dầu màu vàng, được xác định là phlorizin khi so sánh với chất chuẩn là hợp chất **IC6** bằng phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC),  $R_f = 0.6$  (EtOAc/MeOH = 4/1), chất hiện màu xanh lam dưới đèn UV bước sóng 254 nm, phun thuốc thử  $H_2SO_4$ /vanillin cho vết màu vàng. Công thức phân tử  $C_{21}H_{24}O_{10}$  của **IP4** được khẳng định thêm dựa trên kết quả so sánh phổ  $^1H$ - $^{13}C$ -NMR với hợp chất **IC6** (Bảng 3.21) và pic ion giả phân tử nhận được từ phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  435.0  $[M-H]^-$  (Hình 3.47).

Bảng 3.21. Phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **IP4** được so sánh với hợp chất phlorizin (**IC6**)

STT	Hợp chất phlorizin ( <b>IC6</b> ) (CD <sub>3</sub> OD)		Hợp chất <b>IP4</b> (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1	-	106.8, C	-	106.1, C
2	-	167.7, C	-	167.8, C
3	5.98 (d, $J=2.0$ Hz)	98.4, CH	5.92 (d, $J=2.4$ Hz)	99.0, CH
4	-	162.2, C	-	162.4, C

5	6.20 (d, $J = 2.0$ Hz)	95.5, CH	6.15 (d, $J = 2.4$ Hz)	96.4, CH
6	-	165.9, C	-	165.9, C
7	-	206.6, C	-	206.0, C
8	3.42 (m)	46.9, CH <sub>2</sub>	3.40 (m)	46.8, CH <sub>2</sub>
9	2.89 (t, $J = 7.5$ Hz)	30.8, CH <sub>2</sub>	2.89 (m)	31.0, CH <sub>2</sub>
1'	-	133.9, C	-	134.0, C
2'/6'	6.71 (dd, $J = 8.5$ Hz)	116.1, CH x 2	6.71 (d, $J = 8.4$ Hz)	116.1, CH x 2
3'/5'	7.08 (dd, $J = 8.5$ Hz)	130.3, CH x 2	7.09 (d, $J = 8.4$ Hz)	130.4, CH x 2
4'	-	156.3, C	-	156.4, C
1''	5.07 (d, $J = 7.5$ Hz)	102.0, CH	5.17 (d, $J = 7.2$ Hz)	102.0, CH
2''	3.48 (m)	74.7, CH	3.38-3.50 (m)	74.8, CH
3''	3.52 (m)	78.5, CH	3.38-3.50 (m)	78.5, CH
4''	3.46 (m)	71.1, CH	3.38-3.50 (m)	71.1, CH
5''	3.50 (m)	78.4, CH	3.38-3.50 (m)	78.4, CH
6''	3.75 (dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz) 3.93 (dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz)	62.4, CH <sub>2</sub>	3.75 (dd, $J = 5.4, 12.0$ Hz) 3.92 (dd, $J = 2.4, 12.0$ Hz)	62.4, CH <sub>2</sub>

## Display Report - Selected Window Selected Analysis

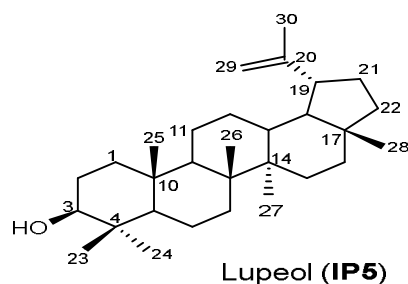


Hình 3.47. Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất phlorizin (IP4)

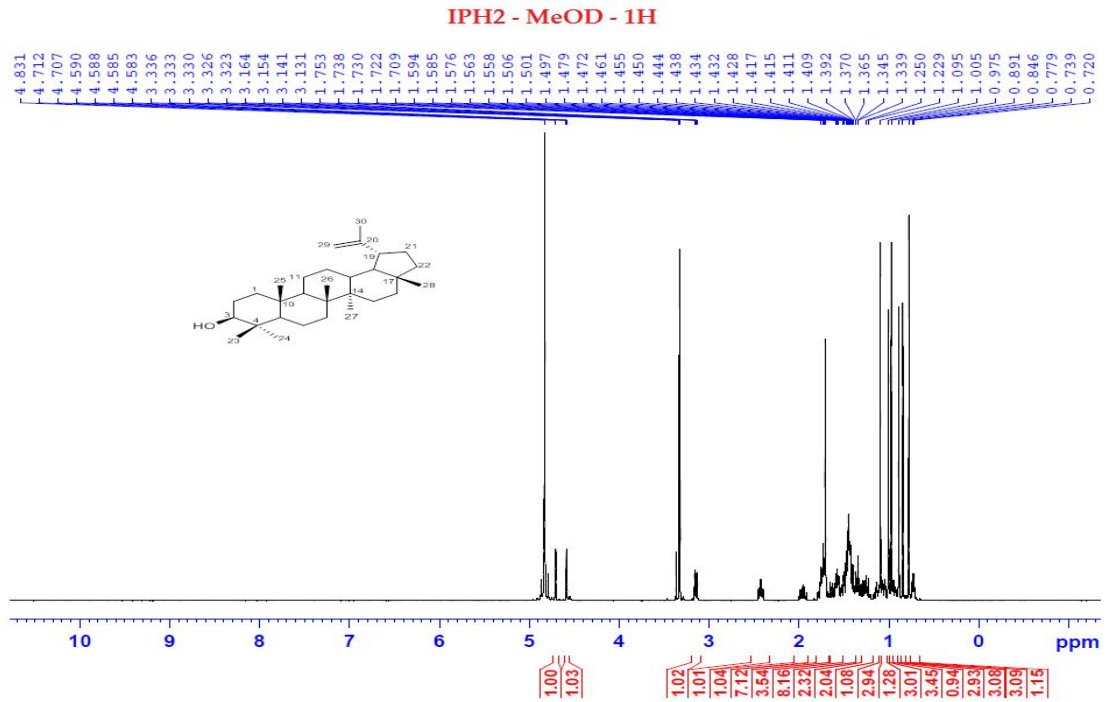
### 3.2.2. Các hợp chất triterpenoid

Triterpenoid phân lập từ loài *I. parvisepala* được tìm thấy ở cả dạng aglycon (hợp chất IP5) và dạng glycoside hay còn gọi là saponin (hợp chất IP6 và IP7).

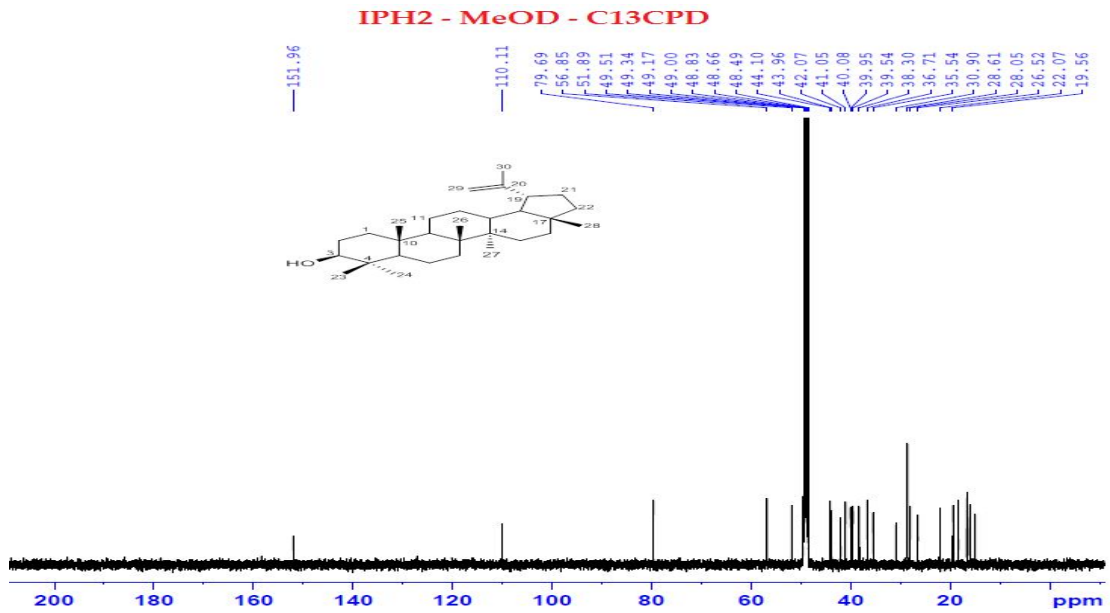
❖ Hợp chất IP5:



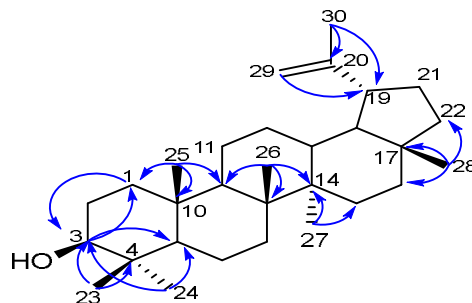
Hợp chất **IP5** được phân lập ở dạng hình kim màu trắng. Công thức phân tử của **IP5** là  $C_{30}H_{50}O$  dựa trên pic ion giả phân tử nhận được từ phổ (+)-ESI-MS:  $m/z$  427.2  $[M+H]^+$  (Hình 3.51) và kết quả phân tích, so sánh phổ NMR với tài liệu công bố (Bảng 3.22). Từ các tín hiệu quan sát được trong phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR, cho thấy **IP5** có khung cấu trúc của một lupane triterpene. Phổ  $^1H$ -NMR (Hình 3.48) cho 7 tín hiệu singlet methyl từ 0.77 – 1.70 ppm. Việc dịch chuyển về trường thấp của 2 pic tín hiệu tại  $\delta_H$  4.70 (d,  $J = 3.0$  Hz, H-29a) và 4.58 (dd,  $J = 1.2, 3.0$  Hz, H-29b) cho thấy sự tồn tại của một nối đôi tại C-29. Ngoài ra, trong phổ  $^1H$ -NMR còn cho một nhóm oxymethine tại  $\delta_H$  3.15 (dd,  $J = 6.0, 13.8$  Hz, H-3) cùng nhiều nhóm methine và methylene khác trong vùng trường cao khoảng 1.02 – 1.97 ppm. Phổ  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.49) cho 1 nhóm hydroxymethine tại  $\delta_C$  79.7 (C-3), 1 nối đôi dạng  $>C=CH_2$  tại  $\delta_C$  152.0 (C-20) và 110.1 (C-29), và 6 nhóm methyl trong khoảng  $\delta_C$  15.0 – 28.6 ppm. Ngoài ra, vị trí các nhóm thế trong khung cấu trúc được khẳng định lại qua các tương tác HMBC (phụ lục phổ) giữa  $\delta_H$  3.14 (H-3) với 40.8 (C-1), 56.9 (C-5); giữa  $\delta_H$  0.78 (H-23) với 79.7 (C-3), 39.9 (C-4); giữa  $\delta_H$  0.97 (H-24) với 79.7 (C-3), 56.9 (C-5); giữa  $\delta_H$  0.89 (H-25) với 40.8 (C-1), 51.9 (C-9), 38.0 (C-10); giữa  $\delta_H$  1.09 (H-26) với 42.1 (C-8), 51.9 (C-9), 44.0 (C-14); giữa  $\delta_H$  1.00 (H-27) với 44.0 (C-14), 28.6 (C-15); giữa  $\delta_H$  0.85 (H-28) với 36.7 (C-16), 44.1 (C-17), 41.1 (C-22); giữa  $\delta_H$  4.71 (H-29) với 48.5 (C-19); và giữa  $\delta_H$  1.69 (H-30) với 48.5 (C-19), 152.0 (C-20) (Hình 3.50). Từ dữ liệu phổ phân tích được, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **IP5** được xác định là lupeol [105]. Tuy là một triterpene khung lupane khá phổ biến trong thành phần hóa học của các loài thực vật và được nghiên cứu rất nhiều về hoạt tính sinh học, đây là lần đầu tiên lupeol được tìm thấy trong chi *Impatiens* [106].



Hình 3.48. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất lupeol (IP5)



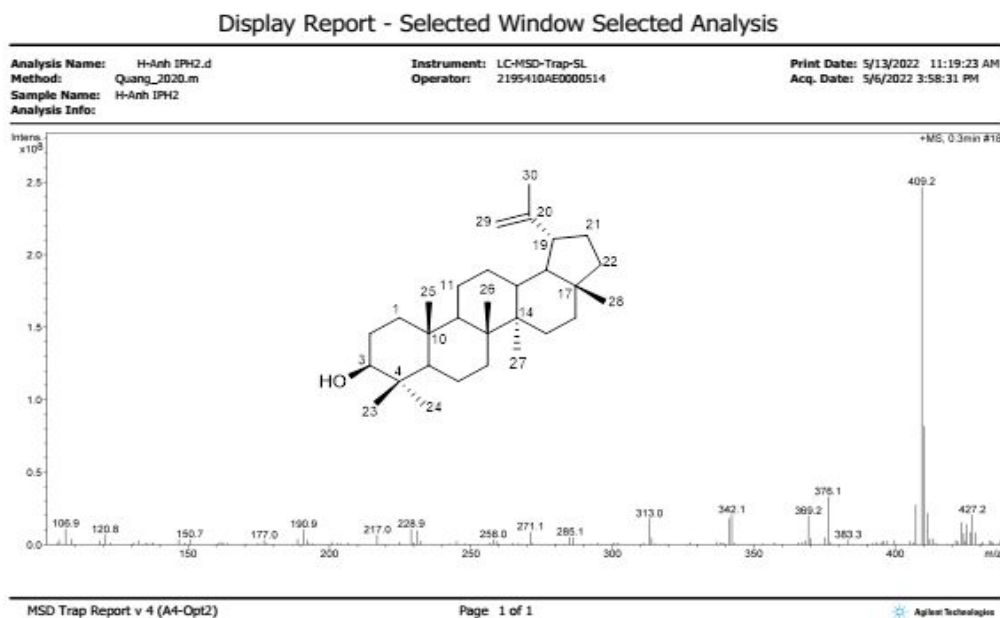
Hình 3.49. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất lupeol (IP5)



## Hình 3.50. Tương tác HMBC của hợp chất lupeol (IP5)

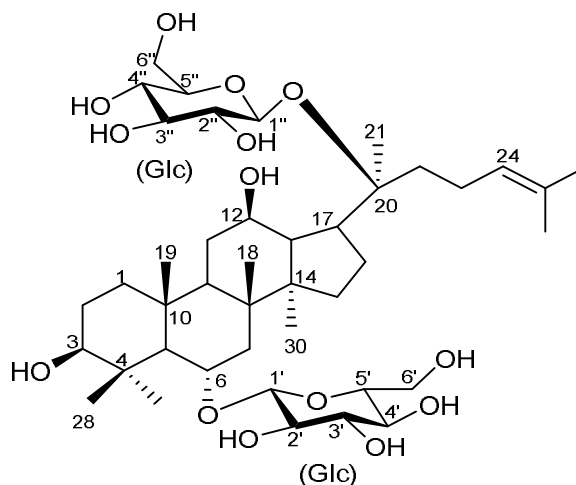
Bảng 3.22. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất IP5 được so sánh với lupeol

STT	Hợp chất IP5 (CD <sub>3</sub> OD)		lupeol [105] (CD <sub>3</sub> OD)	
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
1	1.71 (m) 0.96 (dd, <i>J</i> = 5.0, 9.0 Hz)	40.8, CH <sub>2</sub>	1.65 (m) 0.90 (m)	38.7, CH <sub>2</sub>
2	1.65 (m) 1.59 (m)	28.1, CH <sub>2</sub>	1.67 (m) 1.59 (m)	27.4, CH <sub>2</sub>
3	3.14 (dd, <i>J</i> = 5.0, 11.5 Hz)	79.7, CH	3.20 (dd, <i>J</i> = 5.0, 11.5 Hz)	79.0, CH
4	-	39.9, C	-	38.8, C
5	0.72 (t, <i>J</i> = 9.5 Hz)	56.9, CH	0.68 (m)	55.3, CH
6	1.56 (m) 1.44 (m)	19.5, CH <sub>2</sub>	1.50 (m) 1.40 (m)	18.3, CH <sub>2</sub>
7	1.47 (m) 1.45 (m)	35.5, CH <sub>2</sub>	1.42 (m) 1.32 (m)	34.3, CH <sub>2</sub>
8	-	42.1, C	-	40.8, C
9	1.32 (m)	51.9, CH	1.29 (m)	50.4, CH
10	-	38.0, C	-	37.1, C
11	1.43 (m) 1.27 (m)	22.1, CH <sub>2</sub>	1.40 (m) 1.20 (m)	20.9, CH <sub>2</sub>
12	1.72 (m) 1.14 (m)	26.5, CH <sub>2</sub>	1.68 (m) 1.07 (m)	25.1, CH <sub>2</sub>
13	1.74 (m)	39.5, CH	1.68 (m)	38.1, CH
14	-	44.0, C	-	42.8, C
15	1.74 (m) 1.04 (m)	28.6, CH <sub>2</sub>	1.68 (m) 1.00 (m)	27.4, CH <sub>2</sub>
16	1.50 (m) 1.41 (m)	36.7, CH <sub>2</sub>	1.48 (m) 1.37 (m)	35.6, CH <sub>2</sub>
17	-	44.1, C	-	42.9, C
18	1.42 (m)	49.5, CH	1.37 (m)	48.3, CH
19	2.42 (m)	48.5, CH	2.38 (ddd, <i>J</i> = 5.6, 11.0, 11.0 Hz)	47.9, CH
20	-	152.0, C	-	150.9, C
21	1.96 (m) 1.37 (m)	31.0, CH <sub>2</sub>	1.92 (m) 1.37 (m)	29.8, CH <sub>2</sub>
22	1.40 (m) 1.23 (m)	41.1, CH <sub>2</sub>	1.37 (m) 1.19 (m)	39.9, CH <sub>2</sub>
23	0.78 (s)	16.1, CH <sub>3</sub>	0.76 (s)	15.4, CH <sub>3</sub>
24	0.97 (s)	28.6, CH <sub>3</sub>	0.97 (s)	27.9, CH <sub>3</sub>
25	0.89 (s)	16.7, CH <sub>3</sub>	0.83 (s)	16.1, CH <sub>3</sub>
26	1.09 (s)	16.6, CH <sub>3</sub>	1.03 (s)	15.9, CH <sub>3</sub>
27	1.00 (s)	15.0, CH <sub>3</sub>	0.94 (s)	14.5, CH <sub>3</sub>
28	0.85 (s)	18.4, CH <sub>3</sub>	0.79 (s)	17.9, CH <sub>3</sub>
29	4.71 (d, <i>J</i> = 2.5 Hz) 4.59 (dd, <i>J</i> = 1.0, 2.5 Hz)	110.1, CH <sub>2</sub>	4.67 (brs) 4.54 (brs)	109.3, CH <sub>2</sub>
30	1.69 (s)	19.6, CH <sub>3</sub>	1.68 (s)	19.3, CH <sub>3</sub>



Hình 3.51. Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất lupeol (IP5)

❖ Hợp chất IP6:

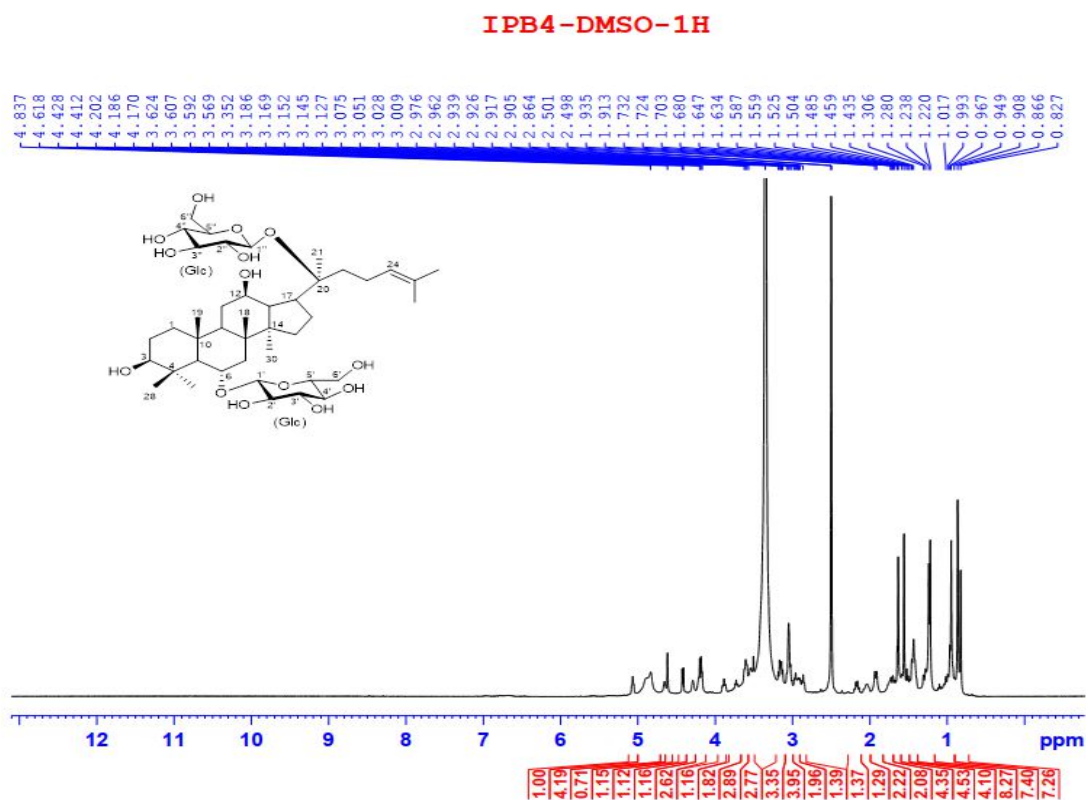


Ginsenoside Rg1 (IP6)

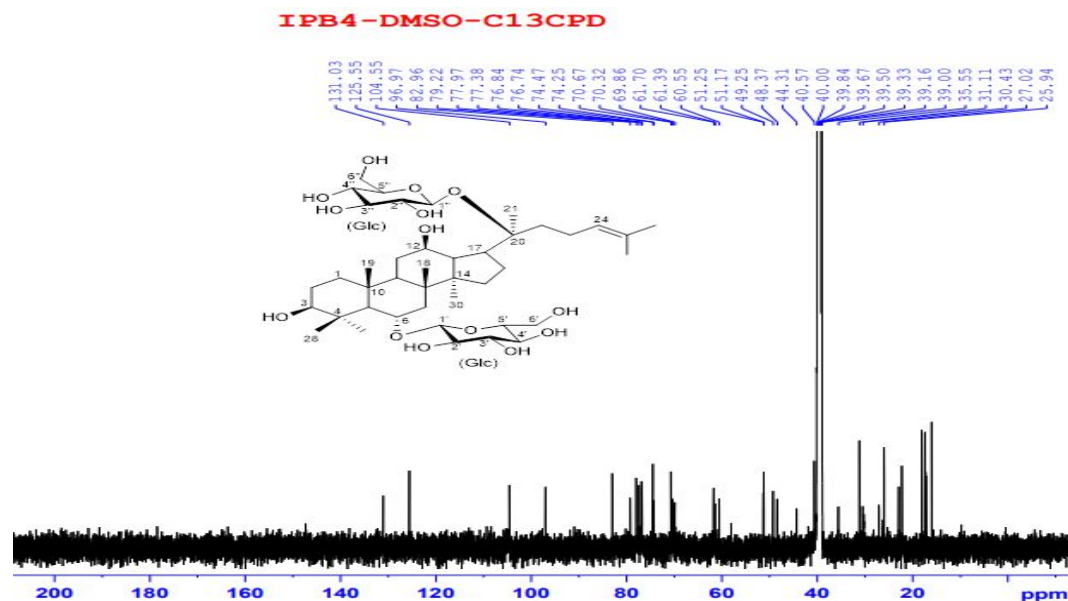
Được phân lập ở dạng tinh thể, hợp chất **IP6** có công thức phân tử  $C_{42}H_{72}O_{14}$  dựa trên các tín hiệu nhận được từ phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS:  $m/z$  835.4609  $[M+Cl]^-$  (tính toán lý thuyết cho  $[C_{42}H_{72}O_{14}Cl]^-$ , 835.4616 (**Phụ lục phổ**)). Phân tích phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **IP6** cho các dấu hiệu đặc trưng của cấu trúc triterpene saponin. Phần aglycon được xác định là một triterpene khung 4 vòng dammaran khi cho 30 tín hiệu carbon trong phổ  $^{13}C$ -NMR (**Hình 3.53**), trong đó có 8 nhóm methyl ( $\delta_c$  15.9 – 31.1 ppm) tương ứng với 8 tín hiệu singlet proton



trong khoảng ( $\delta_H$  0.82 – 1.63) trong phổ  $^1H$ -NMR (Hình 3.52). Kết hợp phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR và phổ HSQC (Phụ lục phổ) còn cho 2 tín hiệu carbon của một nối đôi tại C-24 ở trường thấp tại  $\delta_C$  125.5 (C-24) và 131.0 (C-25) ứng với proton tại  $\delta_H$  5.06 (t,  $J = 6.5$  Hz, H-24); 3 nhóm oxymethine cũng được phát hiện tại  $\delta_C$  82.9 (C-3), 79.2 (C-6) và 69.8 (C-12) ứng với 3 tín hiệu proton tại  $\delta_H$  3.73 (m, H-3), 3.88 (m, H-6) và 3.60 (m, H-12); và 1 carbon liên kết với oxy tại 82.9 (C-20). Ngoài những tín hiệu trên, phổ  $^{13}C$ -NMR của **IP6** còn cho 4 carbon bậc bốn ở  $\delta_C$  40.5 (C-4), 40.5 (C-8), 39.6 (C-10) và 51.2 (C-14); 4 carbon bậc ba ở  $\delta_C$  60.2 (C-5), 49.2 (C-9), 48.3 (C-13) và 51.7 (C-17); và 8 carbon bậc hai ở  $\delta_C$  39.6 (C-1), 27.0 (C-2), 44.3 (C-7), 30.4 (C-11), 30.4 (C-15), 27.0 (C-16), 35.5 (C-22) và 22.8 (C-23).

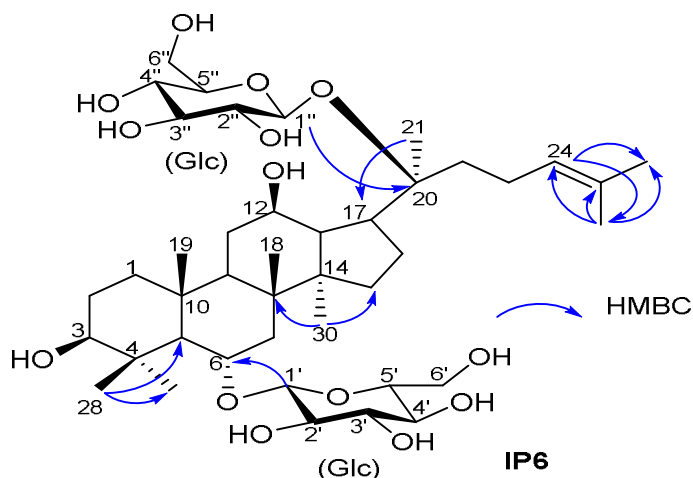


Hình 3.52. Phổ  $^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 (**IP6**)



Hình 3.53. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

Ngoài những pic tín hiệu của phần aglycon, phần đường của hợp chất **IP6** được xác định chứa 12 tín hiệu carbon, trong đó có 2 carbon của 2 nhóm anomer tại  $\delta_{\text{C}}$  104.5 (C-1') và 96.9 (C-1'"); 8 nhóm oxymethine trong khoảng  $\delta_{\text{C}}$  70.3 – 76.8 ppm và 2 nhóm oxymethylene tại  $\delta_{\text{C}}$  61.7 (C-6') và 61.3 (C-6''). 2 tín hiệu proton tại  $\delta_{\text{H}}$  4.20 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-1') và 4.42 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'') cho hằng số tương tác  $J$  lớn chứng minh cấu hình  $\beta$  của 2 đơn vị đường. Từ kết quả phân tích, có thể thấy 2 đơn vị đường của hợp chất **IP6** là 2 gốc  $\beta$ -D-glucopyranosyl. 2 đơn vị đường  $\beta$ -D-glucopyranosyl được xác định liên kết với C-6 và C-20 thông qua tương tác HMBC giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  4.20 (H-1') với carbon  $\delta_{\text{C}}$  79.2 (C-6), và giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  4.42 (H-1'') với carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  82.9 (C-20) (Hình 3.54). Ngoài ra, cấu trúc của **IP6** còn được khẳng định thêm qua các tương tác HMBC như: giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  1.23 (H-21) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  51.1 (C-17); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  5.06 (H-24) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  25.9 (C-26) và 18.0 (C-27); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  1.63 (H-26) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  125.5 (C-24),  $\delta_{\text{C}}$  131.0 (C-25) và 18.0 (C-27); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  1.56 (H-27) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  125.5 (C-24),  $\delta_{\text{C}}$  131.0 (C-25) và 25.9 (C-26); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  1.22 (H-28) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  60.5 (C-5) và 15.9 (C-29); giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  0.86 (H-29) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  60.5 (C-5) và 31.1 (C-28); và giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  0.82 (H-30) với carbon  $\delta_{\text{C}}$  40.5 (C-8) và 30.4 (C-15) (Hình 3.54).



Hình 3.54. Tương tác HMBC của hợp chất ginsenoside Rg1 (**IP6**)

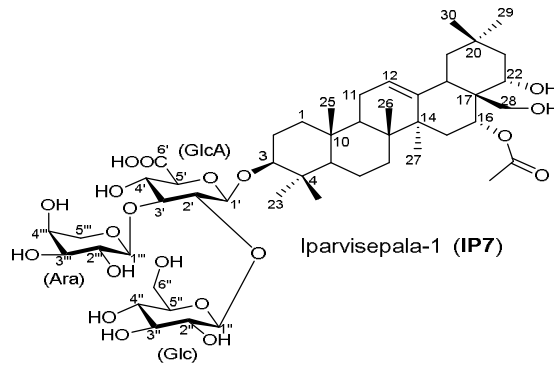
Tổng hợp dữ liệu phổ phân tích được, hợp chất **IP6** được xác định là ginsenoside Rg1. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **IP6** được đo lại trong dung môi pyridin- $d_5$  để so sánh với tài liệu cùng dung môi đã công bố (Bảng 3.23) [107, 108]. Đây là công bố đầu tiên về sự hiện diện của hợp chất ginsenoside Rg1 trong chi *Impatiens*. Trong các công bố trước đây, ginsenoside Rg1 đã được chứng minh là hoạt chất kháng viêm và chống tiêu đường đầy tiềm năng [109, 110].

Bảng 3.23. Phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **IP6** được so sánh với Ginsenoside Rg1

C	Hợp chất <b>IP6</b> (DMSO- $d_6$ )		Hợp chất <b>IP6</b> (pyridin- $d_5$ )		Ginsenoside Rg1 (pyridin- $d_5$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ [108]	$\delta_{\text{C}}$ [107]
1	1.59 (m) 0.97 (m)	39.6, CH <sub>2</sub>	1.67 (m) 0.95 (m)	39.3, CH <sub>2</sub>	1.68 (m) 0.96 (m)	39.5, CH <sub>2</sub>
2	1.44 (m)	27.0, CH <sub>2</sub>	1.88 (m) 1.83 (m)	27.5, CH <sub>2</sub>	1.89 (m) 1.83 (m)	28.0, CH <sub>2</sub>
3	3.73 (m)	82.9, CH	3.44 (dd, $J=$ 5.0, 11.0 Hz)	78.6, CH	3.49 (brd, $J=$ 10.0 Hz)	78.8, CH
4	-	40.5, C	-	40.1, C	-	40.4, C
5	0.91 (brs)	60.5, CH	1.32 (d, $J=$ 10.0 Hz)	61.2, CH	1.38 (d, $J=$ 11.0 Hz)	61.5, CH
6	3.88 (m)	79.2, CH	4.36 (m)	79.9, CH	4.37 (m)	80.2, CH
7	1.03 (m) 1.44 (m)	44.3, CH <sub>2</sub>	1.90 (m) 2.41 (m)	44.9, CH <sub>2</sub>	1.88 (m) 2.45 (m)	45.2, CH <sub>2</sub>
8	-	40.5, C	-	40.9, C	-	41.2, C
9	1.30 (m)	49.2, CH	1.44 (m)	49.7, CH	1.49 (m)	50.1, CH
10	-	39.6, C	-	39.6, C	-	39.8, C
11	1.44 (m) 1.65 (m)	30.4, CH <sub>2</sub>	1.42 (m) 2.00 (m)	30.5, CH <sub>2</sub>	2.04 (dd, $J=$ 4.7, 9.0 hz) 1.47 (m)	31.0, CH <sub>2</sub>

12	3.60 (m)	69.8, CH	4.11 (m)	70.2, CH	4.09 (m)	70.4, CH
13	1.53 (t, $J=10.5$ Hz)	48.3, CH	1.90 (t, $J=10.5$ Hz)	48.7, CH	1.94 (t, $J=10.7$ Hz)	49.2, CH
14	-	51.2, C	-	51.2, C	-	51.5, C
15	1.60 (m) 1.02 (m)	30.4, CH <sub>2</sub>	1.60 (m) 1.02 (m)	30.5, CH <sub>2</sub>	1.60 (m) 1.04 (m)	30.8, CH <sub>2</sub>
16	1.65 (m) 1.44 (m)	27.0, CH <sub>2</sub>	1.23 (m) 1.77 (m)	26.4, CH <sub>2</sub>	1.72 (m) 1.26 (m)	26.7, CH <sub>2</sub>
17	2.18 (m)	51.1, CH	2.41 (m)	51.7, CH	2.44 (m)	51.8, CH
18	0.86 (s)	17.3, CH <sub>3</sub>	1.07 (s)	17.3, CH <sub>3</sub>	1.13 (s)	17.6, CH <sub>3</sub>
19	0.95 (s)	17.2, CH <sub>3</sub>	0.92 (s)	17.3, CH <sub>3</sub>	1.00 (s)	17.6, CH <sub>3</sub>
20	-	82.9, C	-	83.3, C	-	83.5, C
21	1.23 (s)	22.2, CH <sub>3</sub>	1.56 (s)	22.3, CH <sub>3</sub>	1.59 (s)	22.5, CH <sub>3</sub>
22	1.70 (m) 1.44 (m)	35.5, CH <sub>2</sub>	1.62 (m) 2.20 (m)	35.7, CH <sub>2</sub>	2.33 (m) 1.79 (m)	36.2, CH <sub>2</sub>
23	2.04 (m) 1.03 (m)	22.8, CH <sub>2</sub>	2.20 (m) 2.41 (m)	23.2, CH <sub>2</sub>	2.44 (m) 2.21 (m)	23.4, CH <sub>2</sub>
24	5.06 (t, $J=6.5$ Hz)	125.5, CH	5.23 (t, $J=6.5$ Hz)	125.7, CH	5.24 (t, $J=6.6$ Hz)	126.0, CH
25	-	131.0, C	-	130.9, C	-	131.1, C
26	1.63 (s)	25.9, CH <sub>3</sub>	1.57 (s)	25.6, CH <sub>3</sub>	1.59 (s)	25.9, CH <sub>3</sub>
27	1.56 (s)	18.0, CH <sub>3</sub>	1.52 (s)	17.6, CH <sub>3</sub>	1.59 (s)	17.9, CH <sub>3</sub>
28	1.22 (s)	31.1, CH <sub>3</sub>	2.00 (s)	31.5, CH <sub>3</sub>	2.03 (s)	31.8, CH <sub>3</sub>
29	0.86 (s)	15.9, CH <sub>3</sub>	1.52 (s)	16.1, CH <sub>3</sub>	1.57 (s)	16.5, CH <sub>3</sub>
30	0.82 (s)	17.1, CH <sub>3</sub>	0.74 (s)	16.9, CH <sub>3</sub>	0.79 (s)	17.2, CH <sub>3</sub>
1'	4.20 (d, $J=8.0$ Hz)	104.5, CH	4.92 (d, $J=7.8$ Hz)	105.6, CH	4.98 (d, $J=7.7$ Hz)	106.0, CH
2'	2.93 (m)	74.4, CH	4.06 (m)	75.1, CH	4.04 (m)	75.5, CH
3'	3.05 (m)	76.8, CH	4.17 (m)	79.1, CH	4.22 (m)	79.7, CH
4'	3.05 (m)	70.6, CH	4.13 (m)	71.5, CH	4.17 (m)	71.9, CH
5'	3.05 (m)	77.3, CH	3.92 (m)	78.4, CH	3.90 (m)	78.3, CH
6'	3.60 (m)	61.7, CH <sub>2</sub>	4.40 (dd, $J=2.4, 12.0$ Hz) 4.39 (dd, $J=2.0, 12.0$ Hz)	62.7, CH <sub>2</sub>	4.49 (dd, $J=2.0, 11.5$ Hz) 4.39 (dd, $J=3.0, 11.5$ Hz)	63.2, CH <sub>2</sub>
1''	4.42 (d, $J=8.0$ Hz)	96.9, CH	5.08 (d, $J=7.2$ Hz)	98.2, CH	5.12 (d, $J=7.5$ Hz)	98.3, CH
2''	2.86 (m)	74.2, CH	3.95 (m)	74.9, CH	3.95 (m)	75.2, CH
3''	3.05 (m)	76.7, CH	4.17 (m)	79.1, CH	4.20 (m)	79.2, CH
4''	3.05 (m)	70.3, CH	4.13 (m)	71.0, CH	4.14 (m)	71.6, CH
5''	2.90 (m)	77.9, CH	3.89 (m)	78.0, CH	3.88 (m)	78.2, CH
6''	3.59 (m)	61.3, CH <sub>2</sub>	4.41 (dd, $J=2.5, 10.8$ Hz) 4.34 (dd, $J=3.3, 10.8$ Hz)	62.3, CH <sub>2</sub>	4.45 (dd, $J=2.5, 11.8$ Hz) 4.35 (dd, $J=3.3, 11.8$ Hz)	63.2, CH <sub>2</sub>

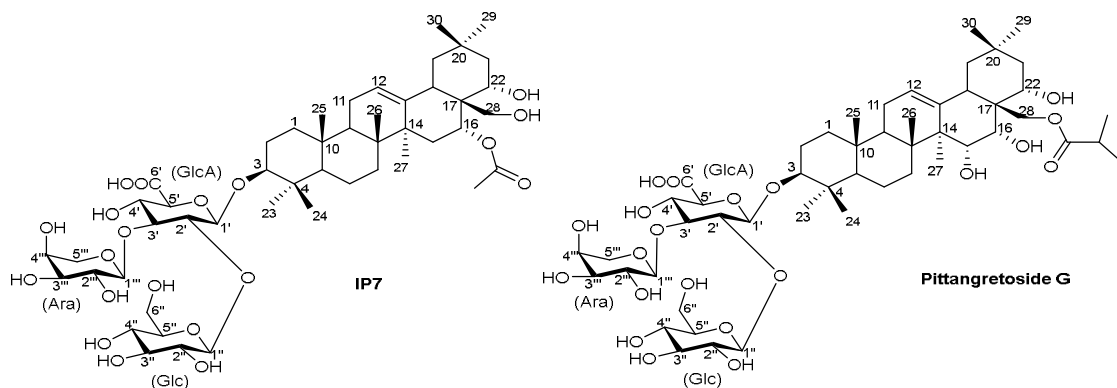
❖ **Chất mới: IP7**



Hợp chất **IP7** được phân lập ở dạng bột màu trắng. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS cho pic ion giả phân tử tại  $m/z$  1021.4789  $[M+Cl]^-$  (tính toán lý thuyết cho  $[C_{49}H_{78}O_{20}^{35}Cl]^-$ , 1021.4780) và tại  $m/z$  1023.4778  $[M+Cl]^-$  (tính toán lý thuyết cho  $[C_{49}H_{78}O_{20}^{37}Cl]^-$ , 1023.4751) (**Hình 3.60**). Trong khi đó, phổ phân mảnh MS/MS cho các pic tín hiệu tại  $m/z$  985.4992  $[M-H]^-$  ( $[C_{49}H_{77}O_{20}]^-$ ) khi phân tử mất đi 1 hydro, tại  $m/z$  805.4418  $[(M-H)-C_6H_{12}O_6]^-$  khi phân tử tiếp tục mất đi 1 đơn vị đường hexose, tại  $m/z$  655.3882  $[(M-H)-C_6H_{12}O_6-C_5H_{10}O_5]^-$  khi phân tử tiếp tục mất đi 1 đơn vị đường pentose, và tại 515.3740  $[(M-H)-C_6H_{12}O_6-C_5H_{10}O_5-C_6H_4O_4]^-$  khi phân tử tiếp tục mất đi gốc glucuronic acid (**Phụ lục phổ**). Từ đó có thể xác định được công thức phân tử của **IP7** là  $C_{49}H_{78}O_{20}$ . Phổ 1D-NMR (**Bảng 3.25**) của **IP7** cho dấu hiệu đặc trưng của khung triterpene saponin. Phần aglycon được xác định là khung olean-12-ene khi cho tín hiệu proton của nối đôi tại  $\delta_H$  5.37 (t, 3.6 Hz (H-12)) tương ứng với carbon liên kết đôi tại  $\delta_C$  125.3 (C-12), 142.6 (C-13); 7 singlet methyl trong khoảng  $\delta_H$  0.9 - 1.1 ppm; 3 nhóm oxymethine và 1 nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3.23 (d,  $J = 4.2, 12.0$  Hz, H-3), 5.48 (m, H-16), 4.07 (dd,  $J = 5.5, 12.0$  Hz, H-22), 3.30 (m, H-28a) và 3.60 (m, H-28b) ứng với carbon tại  $\delta_C$  91.8 (C-3), 72.7 (C-16), 73.9 (C-22) và 69.8 (C-28). Phổ COSY cho thấy tương tác giữa  $\delta_H$  5.48 (H-16)/1.95 (H<sub>2</sub>-15);  $\delta_H$  4.07 (H-22) với  $\delta_H$  1.48, 1.66 (H-21);  $\delta_H$  5.37 (H-12)/1.91 (H-11);  $\delta_H$  4.48 (H-1')/3.82 (H-2'); và  $\delta_H$  3.82 (H-2')/3.77 (H-3') (**Hình 3.58**), và các tương tác trong phổ HMBC: giữa  $\delta_H$  4.07 (H-22) với  $\delta_C$  72.7 (C-16); giữa  $\delta_H$  3.30 và 3.60 (H-28) với  $\delta_C$  72.7 (C-16), 44.4 (C-17), 42.5 (C-18) và 73.9 (C-22); và giữa  $\delta_H$  3.62 (H-5') với  $\delta_C$  176.1 (COOH) (**Hình 3.56**). Các tín hiệu tại  $\delta_H$  2.03 (s) ứng với  $\delta_C$  22.2 (CH<sub>3</sub>) và tín hiệu tại  $\delta_C$  171.8 (COO) xác định sự có mặt của 1 nhóm acetyl trong phân tử. Việc dịch chuyển về trường thấp  $\delta_H$  5.48 (m, H-16) cho thấy sự tồn tại của nhóm thế acetyl đính tại vị trí C-16 của khung triterpene.

Cấu hình  $3\beta$ ,  $16\alpha$ ,  $22\alpha$ ,  $28\beta$  được xác định dựa trên tương tác của các proton giữa  $\delta_H$  3.23 (H-3)/0.8 (H-5), 1.09 (H-23);  $\delta_H$  5.48 (H-16)/3.6 (H-28);  $\delta_H$  4.07 (H-22)/1.01 (H-30) trong phổ NOESY (Hình 3.59). Từ dữ liệu phổ phân tích được, kết hợp đối chiếu với tài liệu tham khảo, phần aglycon của hợp chất **IP7** được xác định là  $16\alpha$ - $O$ -acetyl- $3\beta$ , $22\alpha$ , $28\beta$ -trihydroxy-olean-12-ene [45].

Ngoài những tín hiệu nhận được từ phổ phân mảnh MS/MS phân tích phía trên, cấu trúc phần đường của **IP7** còn được khẳng định lại qua phân tích phổ NMR. Sự tồn tại của 3 đơn vị đường thể hiện bởi 3 methine tại  $\delta_H$  4.48 (d, 7.8),  $\delta_C$  105.7;  $\delta_H$  4.98 (d, 7.8),  $\delta_C$  103.2 và  $\delta_H$  4.64 (d, 7.2),  $\delta_C$  104.7. Vị trí liên kết của phần đường với phần aglycon, cũng như giữa các đơn vị đường với nhau được xác định qua các tương tác HMBC (Hình 3.56): giữa H-1' ( $\delta_H$  4.48) của đường glucuronopyranose với C-3 (91.8 ppm) của aglycon, giữa H-1'' ( $\delta_H$  4.98) của đơn vị đường glucopyranose với C-2' ( $\delta_C$  78.8) của đường glucuronopyranose, và giữa H-1''' ( $\delta_H$  4.64) của đơn vị đường arabinopyranose với C-3' ( $\delta_C$  86.3) của đường glucuronopyranose. Phần đường của hợp chất **IP7** được xác định giống với phần đường của saponin pittangretoside G trong tài liệu (Hình 3.55, Bảng 3.24) [111].

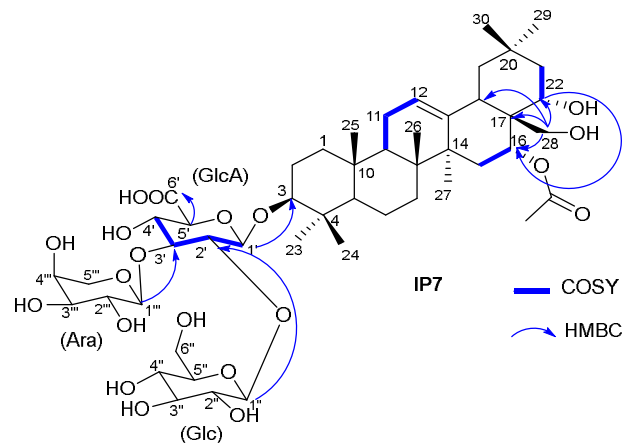


Hình 3.55. Cấu trúc của hợp chất **IP7** và hợp chất pittangretoside G trong tài liệu

Bảng 3.24. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của phần glycon hợp chất **IP7** được so sánh với hợp chất pittangretoside G

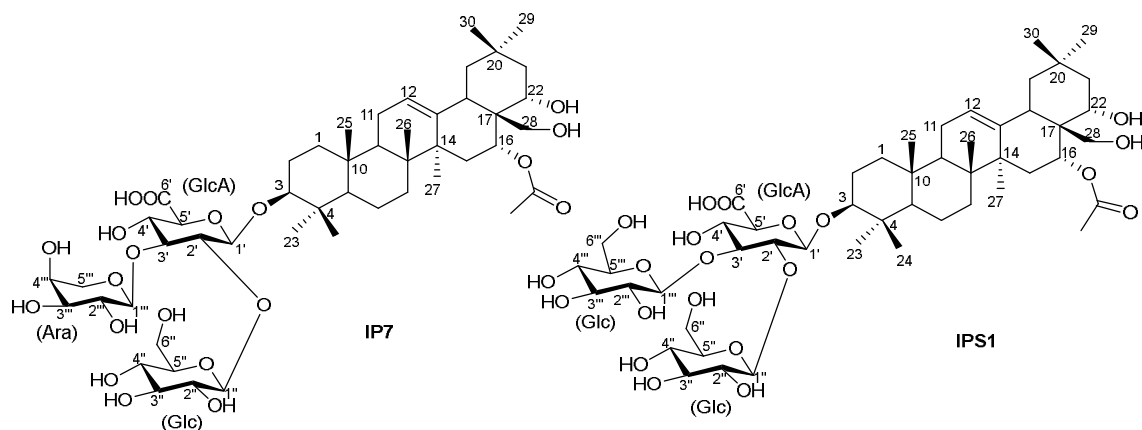
C	Hợp chất <b>IP7</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Pittangretoside G [111] ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
<b>3-OGlcA</b>			<b>3-OGlcA</b>	
1'	4.48 (d, $J = 7.8$ Hz)	105.7, CH	4.55 (d, $J = 7.5$ Hz)	104.8, CH
2'	3.82 (m)	78.8, CH	3.84	77.3, CH
3'	3.77 (t, $J = 8.4$ )	86.3, CH	3.77	85.5, CH

4'	3.64 (m)	72.9, CH	3.65	71.5, CH
5'	3.62 (m)	78.3, CH	3.77	76.2, CH
6'	-	176.1, C	-	172.5
<b>2'-OGlc</b>			<b>2'-OGlc</b>	
1''	4.98 (d, $J = 7.8$ Hz)	103.2, CH	4.99 (d, $J = 7.5$ Hz)	102.0, CH
2''	3.19 (m)	76.2, CH	3.16 (t, $J = 8.0$ Hz)	75.4, CH
3''	3.37 (m)	78.2, CH	3.38 (t, $J = 8.0$ Hz)	77.2, CH
4''	3.10 (m)	72.6, CH	3.10 (t, $J = 9.0$ Hz)	71.7, CH
5''	3.37 (m)	78.2, CH	3.33	77.4, CH
6''	3.57 (dd, $J = 7.2, 12.0$ Hz) 3.84 (dd, $J = 1.8, 10.2$ Hz)	63.6, CH <sub>2</sub>	3.59 3.85	62.6, CH <sub>2</sub>
<b>3'-O Ara</b>			<b>3'- O Ara</b>	
1'''	4.64 (d, $J = 7.2$ Hz)	104.7, CH	4.61 (d, $J = 7.0$ Hz)	104.1, CH
2'''	3.62 (m)	72.1, CH	3.64	71.5, CH
3'''	3.57 (m)	74.6, CH	3.52	73.6, CH
4'''	3.80 (m)	70.1, CH	3.84	69.1, CH
5'''	3.94 (dd, $J = 2.4, 12.6$ Hz) 3.61 (m)	67.7, CH <sub>2</sub>	3.94 3.63	66.6, CH



Hình 3.56. Tương tác COSY và HMBC của hợp chất Iparvisepala-1 (**IP7**)

Tổng hợp tất cả các dữ liệu phổ phân tích phía trên, cấu trúc của hợp chất **IP7** được xác định là 3-*O*-{[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1-3)-] $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-2)]} $\beta$ -D-glucuronopyranoside 16*O*-acetyl-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,28 $\beta$ -trihydroxy-olean-12-ene (đặt tên là Iparvisepala-1). Một triterpene saponin tương tự hợp chất **IP7** chỉ khác đơn vị đường liên kết với vị trí C-3' của đường glucuronopyranose, có tên là 3-*O*-{[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-3)-] $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-2)]} $\beta$ -D-glucuronopyranoside 16-*O*-acetyl-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,28 $\beta$ -trihydroxy-olean-12-ene (IPS-1) cũng đã được tìm thấy từ loài *I. parviflora* (Hình 3.57, Bảng 3.25) [45].



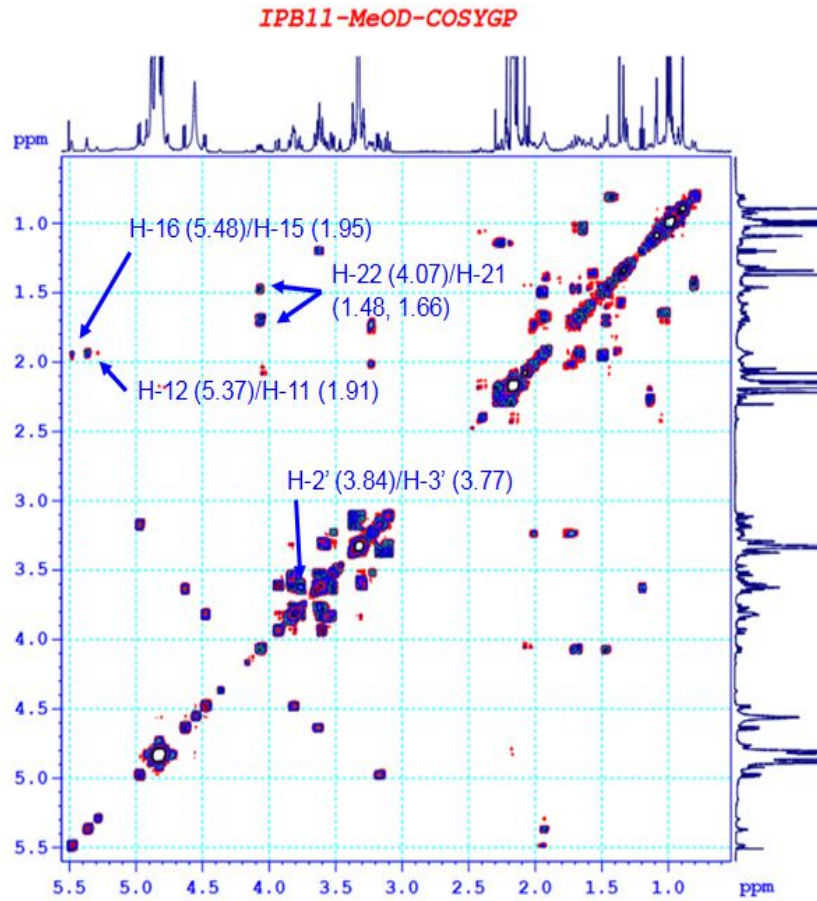
Hình 3.57. Cấu trúc của hợp chất **IP7** và hợp chất **IPS-1** trong tài liệu

Bảng 3.25. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP7** so sánh với hợp chất **IPS-1**

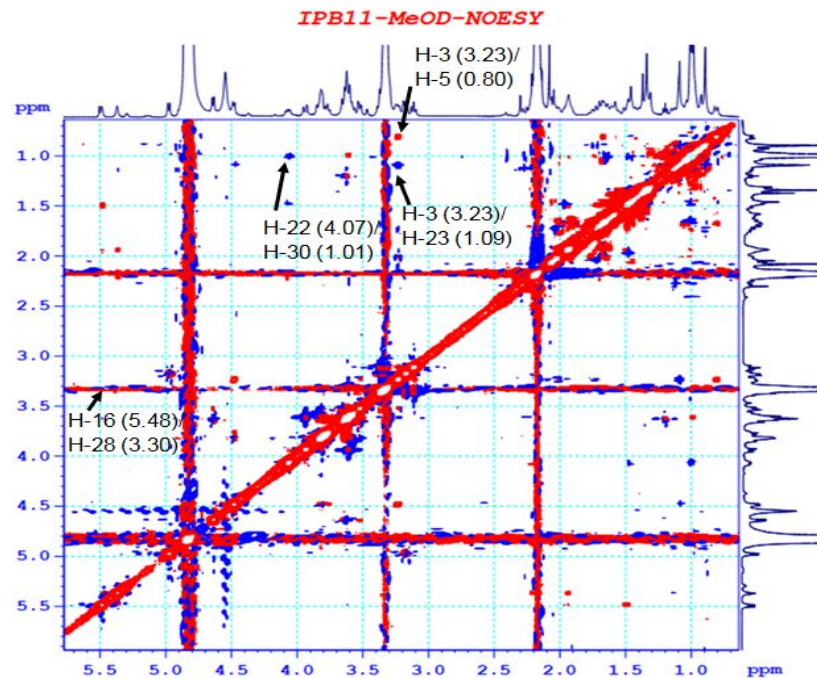
C	Hợp chất <b>IP7</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		IPS-1 [45] ( $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$ (95:5))	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	1.02 (m) 1.63 (m)	39.9, $\text{CH}_2$	1.00 1.64	41.33, $\text{CH}_2$
2	2.01 (m) 1.73 (m)	27.4, $\text{CH}_2$	1.74 1.96	28.28, $\text{CH}_2$
3	3.23 (dd, $J = 4.2, 12.0$ Hz)	91.8, CH	3.22 (dd, $J = 5.4, 13.3$ Hz)	93.49, CH
4	-	41.1, C	-	41.81, C
5	0.80 (d, $J = 12.0$ Hz)	56.9, CH	0.78 (d, $J = 11.9$ Hz)	58.31, CH
6	1.57 (m) 1.40 (m)	19.2, $\text{CH}_2$	1.42 1.56	20.52, $\text{CH}_2$
7	1.57 (m) 1.35 (m)	33.9, $\text{CH}_2$	1.35 1.57	35.21, $\text{CH}_2$
8	-	40.5, C	-	42.48, C
9	1.68 (m)	48.0, CH	1.65	49.37, CH
10	-	37.8 C	-	39.1, C
11	1.91 (m)	24.5, $\text{CH}_2$	1.92	25.87, $\text{CH}_2$
12	5.37 (t, $J = 3.6$ Hz)	125.3, CH	5.35 (t, $J = 3.6$ Hz)	126.6, CH
13	-	142.6, C	-	143.6, C
14	-	42.8, C	-	43.86, C
15	1.51 (m) 1.95 (m)	31.5, $\text{CH}_2$	1.48 1.95	32.91, $\text{CH}_2$
16	5.48 (m)	72.7, CH	5.47 (m)	74.36, CH
17	-	44.4, C	-	45.78, C
18	2.20 (dd, $J = 3.6, 13.8$ Hz)	42.5, CH	2.20 (dd, $J = 3.53, 14.0$ Hz)	44.05, CH
19	2.25 (m) 1.13 (m)	48.0, $\text{CH}_2$	2.26 1.11	49.47, $\text{CH}_2$
20	-	32.2, C	-	33.4, C
21	1.48 (m) 1.7 (m)	45.0, $\text{CH}_2$	1.48 1.66	46.39, $\text{CH}_2$



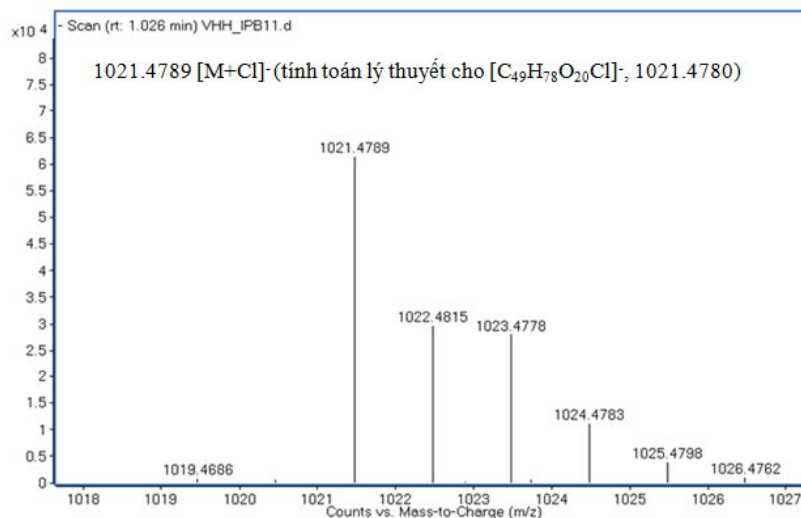
22	4.07 (dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz)	73.9, CH	4.06 (dd, $J = 5.6; 12.13$ Hz)	75.29, CH
23	1.09 (s)	28.2, CH <sub>3</sub>	1.07 (s)	29.69, CH <sub>3</sub>
24	0.89 (s)	16.9, CH <sub>3</sub>	0.89 (s)	18.31, CH <sub>3</sub>
25	1.00 (s)	16.2, CH <sub>3</sub>	0.98 (s)	17.49, CH <sub>3</sub>
26	1.01 (s)	17.3, CH <sub>3</sub>	0.96 (s)	18.64, CH <sub>3</sub>
27	1.34 (s)	27.4, CH <sub>3</sub>	1.31 (s)	28.79, CH <sub>3</sub>
28	3.30 (m) 3.60 (m)	69.8, CH <sub>2</sub>	3.30 3.60	71.3, CH <sub>2</sub>
29	0.98 (s)	33.9, CH <sub>3</sub>	0.96 (s)	35.25, CH <sub>3</sub>
30	1.01 (s)	25.4, CH <sub>3</sub>	0.99 (s)	26.73, CH <sub>3</sub>
CH <sub>3</sub> COO	-	171.8, C	-	173.91, C
CH <sub>2</sub> COO	2.03 (s)	22.2, CH <sub>3</sub>	-	23.67, CH <sub>3</sub>
<b>3-OGlcA</b>			<b>3-OGlcA</b>	
1'	4.48 (d, $J = 7.8$ Hz)	105.7, CH	4.50 (d, $J = 7.2$ Hz)	106.73, CH
2'	3.82 (m)	78.8, CH	3.85 (m)	80.01, CH
3'	3.77 (t, $J = 8.4$ )	86.3, CH	3.84 (m)	87.77, CH
4'	3.64 (m)	72.9, CH	3.65 (m)	73.79, CH
5'	3.62 (m)	78.3, CH	3.65 (m)	79.37, CH
6'	-	176.1, C	-	-
<b>2'-OGlc</b>			<b>2'-OGlc</b>	
1''	4.98 (d, $J = 7.8$ Hz)	103.2, CH	4.98 (d, $J = 7.8$ Hz)	104.43, CH
2''	3.19 (m)	76.2, CH	3.21	77.4, CH
3''	3.37 (m)	78.2, CH	3.42	79.37, CH
4''	3.10 (m)	72.6, CH	3.15	73.79, CH
5''	3.37 (m)	78.2, CH	3.34	79.54, CH
6''	3.57 (dd, $J = 7.2, 12.0$ Hz) 3.84 (dd, $J = 1.8, 10.2$ Hz)	63.6, CH <sub>2</sub>	3.59 3.86	64.74, CH <sub>2</sub>
<b>3'-OAra</b>			<b>3'-OGlc</b>	
1'''	4.64 (d, $J = 7.2$ Hz)	104.7, CH	4.77 (d, $J = 7.8$ Hz)	105.19, CH
2'''	3.62 (m)	72.1, CH	3.32	76.71, CH
3'''	3.57 (m)	74.6, CH	3.42	79.37, CH
4'''	3.80 (m)	70.1, CH	3.38	72.8, CH
5'''	3.94 (dd, $J = 2.4, 12.6$ Hz) 3.61 (m)	67.7, CH <sub>2</sub>	3.34	79.54, CH
6'''	-	-	3.69 3.89	63.7, CH <sub>2</sub>



Hình 3.58. Phổ COSY của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



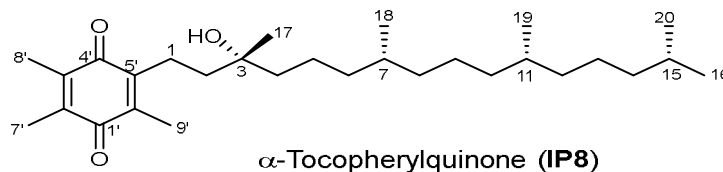
Hình 3.59. Phổ NOESY của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



Hình 3.60. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

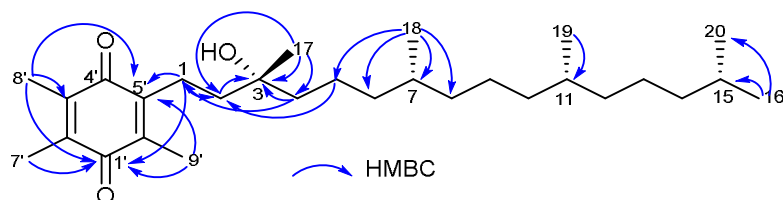
### 3.2.3. Các hợp chất khác

#### ❖ Hợp chất IP8:



Hợp chất **IP8** được xác định có công thức phân tử  $C_{29}H_{50}O_3$  dựa trên kết quả phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và pic ion giả phân tử trong phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  445.0  $[M-H]^-$ . Phổ  $^1H$  NMR (Bảng 3.26) của **IP8** cho các tín hiệu singlet của 4 nhóm methyl tại  $\delta_H$  1.21 (s, H-17), 2.01 (s, H-7'), 2.01 (s, H-8') và 2.04 (s, H-9'); 4 doublet của nhóm methyl tại  $\delta_H$  0.87 (d,  $J = 1.2$  Hz, H-16), 0.86 (d,  $J = 1.2$  Hz, H-18), 0.84 (d,  $J = 6.6$  Hz, H-19) và 0.87 (d,  $J = 6.6$  Hz, H-20) và nhiều tín hiệu trùng lấp nhau của hydrocarbon no. Phổ  $^{13}C$  NMR (Bảng 3.26) kết hợp với phổ HSQC (Phụ lục phổ) cho 29 tín hiệu carbon, trong đó có 2 nhóm keton tại  $\delta_C$  187.7 (C-1'), và 187.2 (C-4'); 1 carbon bậc ba đính với oxy tại  $\delta_C$  72.6 (C-3); 4 carbon bậc bốn tại  $\delta_C$  140.2 (C-2'), 140.5 (C-3'), 144.4 (C-5') và 140.4 (C-6'); 3 nhóm methine tại  $\delta_C$  32.8 (C-7), 32.8 (C-11) và 28.0 (C-15); cùng với 11 nhóm methylene và 8 nhóm methyl. Sự dịch chuyển về trường thấp của carbon  $\delta_C$  72.6 (C-3) cho thấy tại vị trí này có gắn nhóm hydroxy. Vị trí các nhóm chức trong cấu trúc của **IP8** được xác minh qua các tương tác HMBC: giữa  $\delta_H$  2.01 (H-8') với  $\delta_C$  187.7 (C-1'), 140.5 (C-3') và 144.4 (C-5'); giữa  $\delta_H$  2.01 (H-1) với  $\delta_C$  187.7 (C-1') và 144.4 (C-5'); giữa  $\delta_H$

1.21 (H-17) với  $\delta_C$  40.3 (C-2), 72.6 (C-3) và 42.3 (C-4); và giữa  $\delta_H$  0.86 (H-18) với  $\delta_C$  21.4 (C-5), 37.6 (C-6), 32.8 (C-7) và 37.4 (C-8) (Hình 3.61). Từ kết quả phổ phân tích được, cùng với so sánh tài liệu công bố [112], hợp chất **IP8** được xác định là  $\alpha$ -tocopherylquinone. Đây là công bố đầu tiên về sự hiện diện của hợp chất này trong chi *Impatiens*.  $\alpha$ -tocopherylquinone được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa tương đương với vitamin E [113].



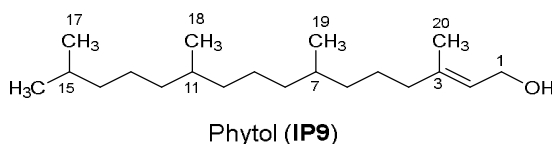
Hình 3.61. Tương tác HMBC của hợp chất  $\alpha$ -tocopherylquinone (**IP8**)

Bảng 3.26. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP8** được so sánh với  $\alpha$ -tocopherylquinone

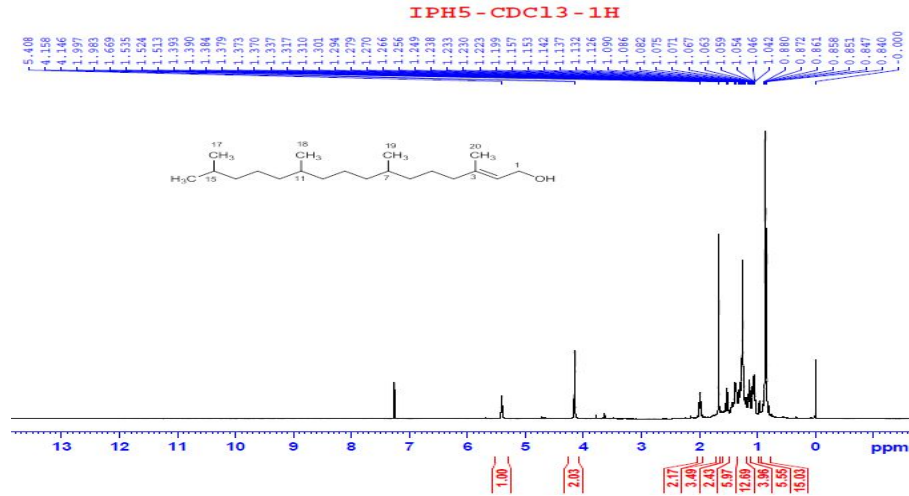
STT	Hợp chất <b>IP8</b> ( $\text{CDCl}_3$ )		$\alpha$ -tocopherylquinone [112] ( $\text{CDCl}_3$ )	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1	2.54 (d, $J = 7.0$ Hz)	21.3, $\text{CH}_2$	2.54 (m)	21.4, $\text{CH}_2$
2	1.50 (m)	40.3, $\text{CH}_2$	-	40.3, $\text{CH}_2$
3	-	72.6, C	-	72.8, C
4	1.48 (m)	42.3, $\text{CH}_2$	-	42.4, $\text{CH}_2$
5	2.55 (d, $J = 7.0$ Hz) 1.35 (m)	21.4, $\text{CH}_2$	-	21.5, $\text{CH}_2$
6	1.05 (m)	37.6, $\text{CH}_2$	-	37.7, $\text{CH}_2$
7	1.38 (m)	32.8, CH	-	32.7, CH
8	1.28 (m)	37.4, $\text{CH}_2$	-	37.5, $\text{CH}_2$
9	1.27 (m)	24.5, $\text{CH}_2$	-	24.6, $\text{CH}_2$
10	1.28 (m)	37.4, $\text{CH}_2$	-	37.5, $\text{CH}_2$
11	1.38 (m)	32.8, CH	-	32.7, CH
12	1.28 (m)	37.3, $\text{CH}_2$	-	37.4, $\text{CH}_2$
13	1.27 (m)	24.8, $\text{CH}_2$	-	24.9, $\text{CH}_2$
14	1.11 (m)	39.4, $\text{CH}_2$	-	39.4, $\text{CH}_2$
15	1.48 (m)	28.0, CH	-	27.9, CH
16	0.87 (d, $J = 1.0$ Hz)	22.6, $\text{CH}_3$	0.87-0.83 (12H, m)	22.7, $\text{CH}_3$
17	1.21 (s)	26.6, $\text{CH}_3$	1.22 (s)	26.7, $\text{CH}_3$
18	0.86 (d, $J = 1.0$ Hz)	19.8, $\text{CH}_3$	0.87-0.83 (12H, m)	19.8, $\text{CH}_3$
19	0.84 (d, $J = 5.5$ Hz)	19.7, $\text{CH}_3$	0.87-0.83 (12H, m)	19.8, $\text{CH}_3$
20	0.87 (d, $J = 5.5$ Hz)	22.7, $\text{CH}_3$	0.87-0.83 (12H, m)	22.8, $\text{CH}_3$
1'	-	187.7, C	-	187.8, C
2'	-	140.2, C	-	140.5, C
3'	-	140.5, C	-	140.6, C
4'	-	187.2, C	-	187.3, C

5'	-	144.4, C	-	144.5, C
6'	-	140.4, C	-	140.3, C
7'	2.01 (s)	12.3, CH <sub>3</sub>	2.00 (s)	12.4, CH <sub>3</sub>
8'	2.01 (s)	12.4, CH <sub>3</sub>	2.00 (s)	12.5, CH <sub>3</sub>
9'	2.01 (s)	12.0, CH <sub>3</sub>	2.00 (s)	11.9, CH <sub>3</sub>

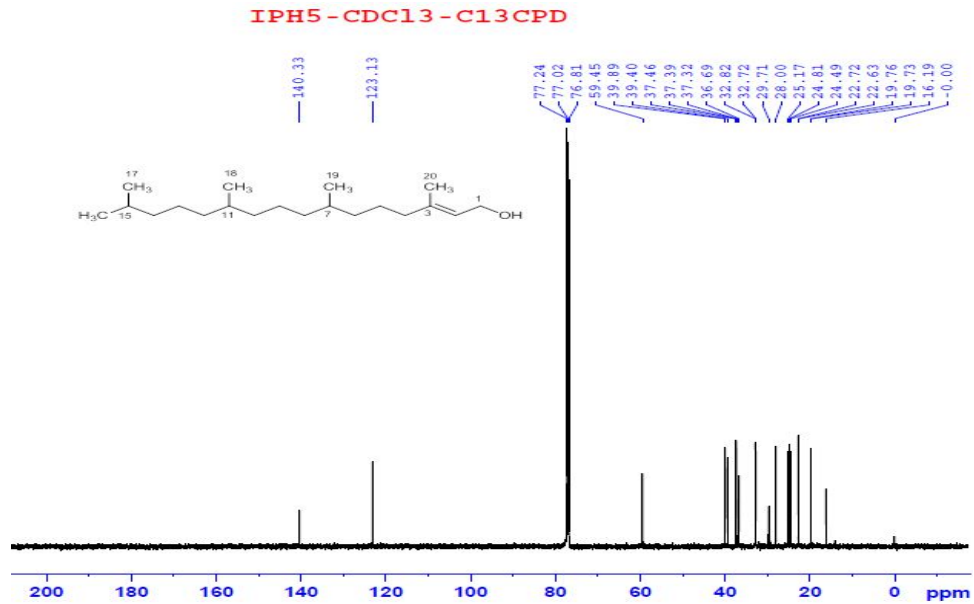
❖ Hợp chất **IP9**:



Hợp chất **IP9** được phân lập ở dạng dầu màu vàng, công thức phân tử C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và pic ion giả phân tử trong phổ khối (-)-ESI-MS: *m/z* 295.1 [M-H]<sup>-</sup> (**Phụ lục phổ**). Phổ <sup>13</sup>C-NMR (**Hình 3.63**) của **IP9** cho dấu hiệu của khung diterpen khi có tổng 20 tín hiệu carbon, trong đó có 1 carbon bậc bốn tại δ<sub>C</sub> 140.3 (C-3); 4 carbon bậc ba tại δ<sub>C</sub> 123.1 (C-2), 32.7 (C-7), 32.7 (C-11), và 28.0 (C-15); 10 carbon bậc hai tại δ<sub>C</sub> 59.4 (C-1), 39.9 (C-4), 25.2 (C-5), 36.7 (C-6), 37.5 (C-8), 24.5 (C-9), 37.4 (C-10), 37.3 (C-12), 24.8 (C-13), và 39.4 (C-14); và 5 carbon bậc một tại δ<sub>C</sub> 22.6 (C-16), 22.7 (C-17), 19.7 (C-18), 19.8 (C-19), và 16.2 (C-20). Việc dịch chuyển về trường thấp của 2 tín hiệu carbon δ<sub>C</sub> 123.1 (C-2) và 140.3 (C-3) ứng với giá trị proton trường thấp δ<sub>H</sub> 5.41 (t, *J* = 7.2 Hz, H-2) qua phân tích phổ HSQC (**Hình 3.64**) chứng minh sự tồn tại của một nối đôi. Sự hiện diện của một nhóm oxymethylene được xác định qua pic tín hiệu proton δ<sub>H</sub> 4.15 (d, *J* = 7.2 Hz, H-1) ứng với carbon δ<sub>C</sub> 59.4 (C-1). Ngoài ra, trong phổ <sup>1</sup>H-NMR (**Hình 3.62**) còn cho 4 tín hiệu doublet methyl tại δ<sub>H</sub> 0.86 (d, *J* = 4.2 Hz, H-16), 0.86 (d, *J* = 4.2 Hz, H-17), 0.85 (d, *J* = 4.2 Hz, H-18) và 0.84 (d, *J* = 4.2 Hz, H-19) và 1 tín hiệu singlet methyl tại δ<sub>H</sub> 1.67 (s, H-20). Kết quả phân tích phổ trên đây hoàn toàn phù hợp với dữ liệu phổ của phytol trong tài liệu [94]. Phytol được phân lập lần đầu tiên trong chi *Impatiens*, mặc dù hợp chất này khá phổ biến trong thực vật và được nghiên cứu rất nhiều về hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, gây độc tế bào, chống oxy hóa, kháng viêm và điều hòa miễn dịch [115].

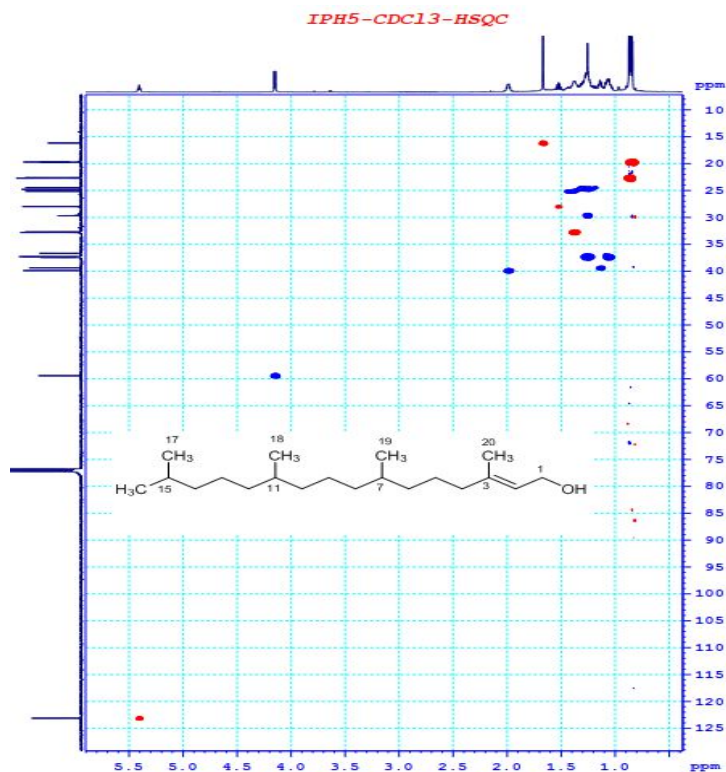


Hình 3.62. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất phytol (IP9)



Hình 3.63. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất phytol (IP9)

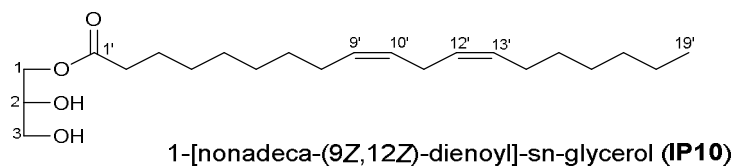




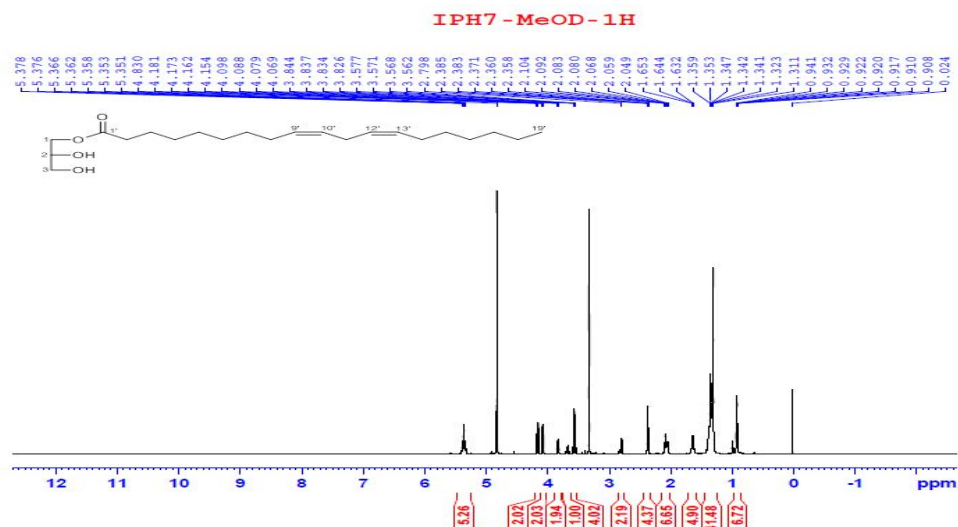
Hình 3.64. Phổ HSQC của hợp chất phytol (**IP9**)

Bảng 3.27. Phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất **IP9** được so sánh với phytol

C	Hợp chất <b>IP9</b> (CDCl <sub>3</sub> )		Phytol [114] (CDCl <sub>3</sub> )		
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	
1	4.15 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz)	59.4, CH <sub>2</sub>	4.14	59.39, CH <sub>2</sub>	
2	5.41 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz)	123.1, CH	5.39	123.09, CH	
3	-	140.3, C	-	140.23, C	
4	1.98 (m)	39.9, CH <sub>2</sub>	1.97	39.85, CH <sub>2</sub>	
5	1.04 – 1.39 (m)	25.2, CH <sub>2</sub>	1.40/1.36	25.12, CH <sub>2</sub>	
6		36.7, CH <sub>2</sub>	1.24/1.05	36.65, CH <sub>2</sub>	
7		32.7 CH	1.35	32.67, CH	
8		37.5, CH <sub>2</sub>	1.23/1.03	37.35, CH <sub>2</sub>	
9		24.5, CH <sub>2</sub>	1.29/1.15	24.45, CH <sub>2</sub>	
10		37.4, CH <sub>2</sub>	1.23/1.03	37.41, CH <sub>2</sub>	
11		32.7, CH	1.35	32.77, CH	
12		37.3, CH <sub>2</sub>	1.23/1.03	37.28, CH <sub>2</sub>	
13		24.8, CH <sub>2</sub>	1.25	24.79, CH <sub>2</sub>	
14		39.4, CH <sub>2</sub>	1.11/1.03	39.35, CH <sub>2</sub>	
15		1.52 (m)	28.0, CH	1.51	27.95, CH
16		0.86 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz)	22.6, CH <sub>3</sub>	0.84	22.60, CH <sub>3</sub>
17		0.86 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz)	22.7, CH <sub>3</sub>	0.84	22.69, CH <sub>3</sub>
18		0.85 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz)	19.7, CH <sub>3</sub>	0.83	19.69, CH <sub>3</sub>
19	0.84 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz)	19.8, CH <sub>3</sub>	0.82	19.72, CH <sub>3</sub>	
20	1.67 (s)	16.2, CH <sub>3</sub>	1.65	16.14, CH <sub>3</sub>	

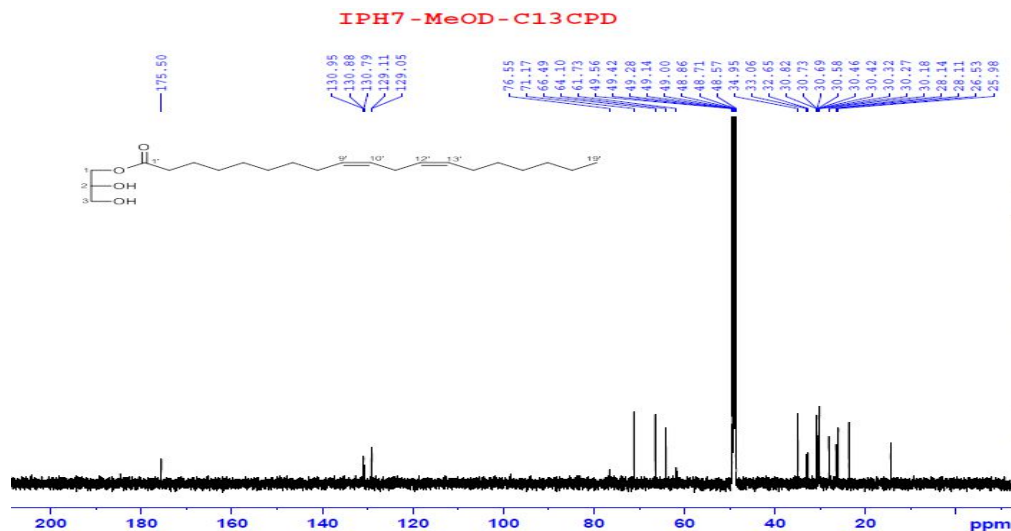
❖ Hợp chất **IP10**:

Hợp chất **IP10** được phân lập ở dạng rắn màu trắng. Công thức phân tử  $C_{22}H_{40}O_4$  được xác định dựa trên pic ion giả phân tử trong phổ khối (-)-ESI-MS:  $m/z$  367.1  $[M-H]^-$  (Phụ lục phổ). Phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR (Hình 3.65, 3.66) cho các dấu hiệu đặc trưng của một ester R-COO-R' với nhóm COO được xác định qua pic carbon tại  $\delta_C$  175.5 (C-1'). R được xác định là alkyl mạch dài chứa 2 nối đôi đồng phân Z thể hiện qua tín hiệu của 4 proton tại  $\delta_H$  5.37 (m, H-9'/10') và 5.37 (m, H-12'/13') ứng với 4 tín hiệu carbon vùng trường thấp tại  $\delta_C$  130.9 (C-9'), 129.1 (C-10'), 129.0 (C-12') và 130.8 (C-13'); một nhóm methyl đầu mạch tại  $\delta_H$  0.92 (t,  $J = 7.2$  Hz, H-19') và  $\delta_C$  14.4 (C-19'); cùng với nhiều nhóm methylene trong khoảng  $\delta_H$  1.31- 2.37,  $\delta_C$  23.6 – 35.0. R' được xác định là glycerol khi cho 3 nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  4.17 (dd,  $J = 4.8, 11.4$  Hz, H-1), 3.83 (m, H-2), và 3.68 (m, H-3) ứng với carbon tại  $\delta_C$  66.5 (C-1), 71.2 (C-2) và 64.1 (C-3). Từ việc phân tích phổ nêu trên, kết hợp với đối chiếu tài liệu, hợp chất **IP10** được khẳng định là 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-sn-glycerol [116]. Theo khảo sát tài liệu công bố, hợp chất này được xác định là lần đầu tiên tìm thấy trong chi *Impatiens* và nó chưa được nghiên cứu về hoạt tính sinh học.





Hình 3.65. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (**IP10**)



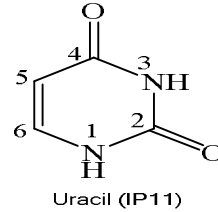
Hình 3.66. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (**IP10**)

Bảng 3.28. Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **IP10** được so sánh với 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol

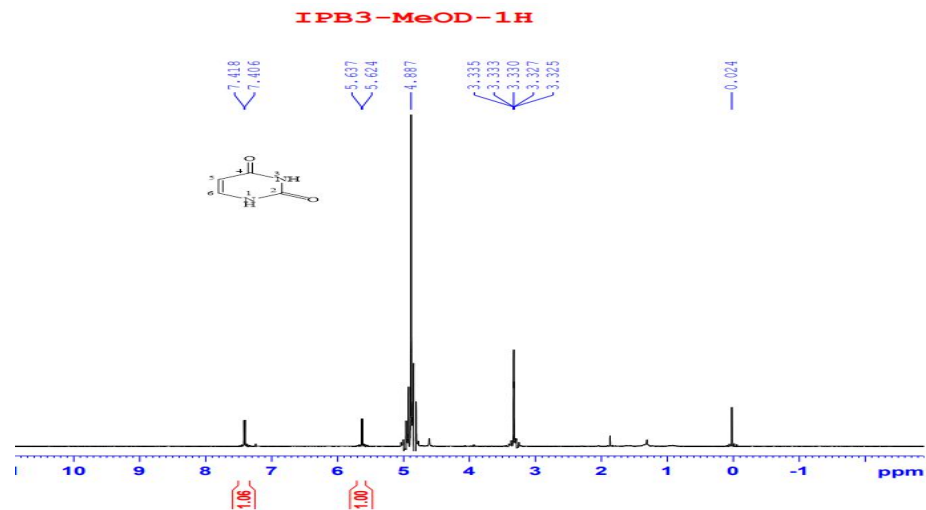
C	Hợp chất <b>IP10</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]- <i>sn</i> - glycerol [116] ( $\text{CDCl}_3$ )	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	4.08 (dd, $J = 6.0, 11.4$ Hz) 4.17 (dd, $J = 5.4$ Hz)	66.5, $\text{CH}_2$	4.11 (m)	64.9, $\text{CH}_2$
2	3.83 (m)	71.2, CH	3.98 (t, $J = 7.0$ Hz)	68.3, CH
3	3.58 (dd, $J = 6.6, 3.6$ Hz)	64.1, $\text{CH}_2$	3.57 (t, $J = 6.6$ Hz)	63.0, $\text{CH}_2$
1'	-	175.5, C	-	174.0, CH
2'	2.37 (t, $J = 7.2$ Hz)	35.0, $\text{CH}_2$	1.99 (m)	34.1, $\text{CH}_2$
3'	1.64 (m)	26.0, $\text{CH}_2$	1.47–1.57 (m)	24.9, $\text{CH}_2$
4'	1.31 – 1.35 (m)	30.8, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
5'	1.31 – 1.35 (m)	30.7, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
6'	1.31 – 1.35 (m)	30.7, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
7'	1.31 – 1.35 (m)	30.6, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
8'	1.31 – 1.35 (m)	32.6, $\text{CH}_2$	1.93–2.01 (m)	27.2, $\text{CH}_2$
9'	5.37 (m)	130.9, CH	5.28 (m)	130.2, CH
10'	5.37 (m)	129.1, CH	5.28 (m)	128.1, CH
11'	2.79 (t, $J = 6.6$ Hz)	30.3, $\text{CH}_2$	2.70 (t, $J = 6.6$ Hz)	28.6, $\text{CH}_2$
12'	5.37 (m)	129.0, CH	5.28 (m)	127.9, CH
13'	5.37 (m)	130.8, CH	5.28 (m)	130.2, CH
14'	2.04 – 2.10 (m)	28.1, $\text{CH}_2$	1.93–2.01 (m)	27.2, $\text{CH}_2$
15'	1.31 – 1.35 (m)	30.5, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
16'	1.31 – 1.35 (m)	30.4, $\text{CH}_2$	1.18–1.23	29.1–29.7, $\text{CH}_2$
17'	1.31 – 1.35 (m)	33.1, $\text{CH}_2$	1.47–1.57 (m)	31.9, $\text{CH}_2$

18'	1.31 – 1.35 (m)	23.6, CH <sub>2</sub>	1.47–1.57 (m)	22.7, CH <sub>2</sub>
19'	0.92 (t, $J = 7.2$ Hz)	14.4, CH <sub>3</sub>	0.81 (t, $J = 6.8$ Hz)	14.1, CH <sub>3</sub>

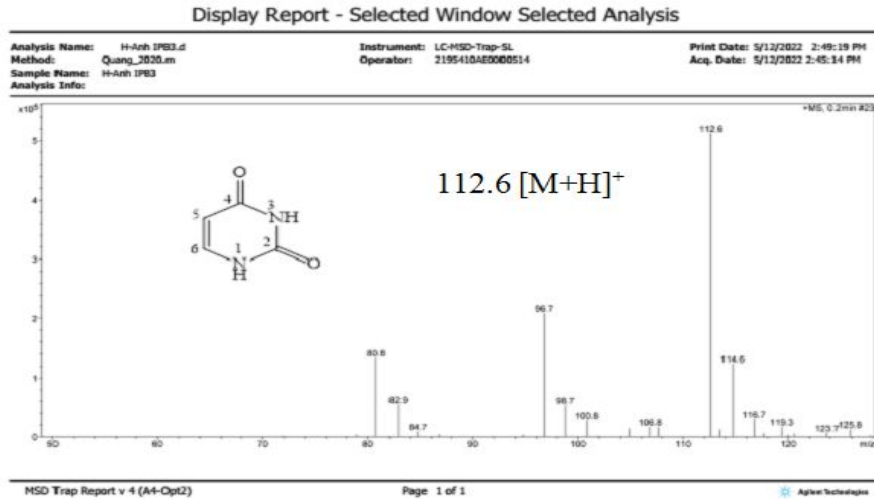
❖ Hợp chất **IP11**:



Hợp chất **IP11** phân lập dạng tinh thể không màu. Công thức phân tử của **IP11** được xác định là C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dựa trên kết quả phân tích phổ 1D-, 2D-NMR và giá trị pic ion giả phân tử trong phổ khối (+)-ESI-MS:  $m/z$  112.6 [M+H]<sup>+</sup> (Hình 3.68). Phổ <sup>1</sup>H-NMR (Hình 3.67) cho các tín hiệu đặc trưng của dị vòng chứa nitơ khung pyrimidin với 2 tín hiệu proton trường thấp tại  $\delta_H$  5.63 (d,  $J = 7.2$  Hz, H-5) và 7.41 (d,  $J = 7.2$  Hz, H-6). Dữ liệu phổ phân tích cho thấy **IP11** có cấu trúc của hợp chất uracil đã được công bố trong tài liệu trước đây [117]. Đã có nhiều hợp chất chứa ni tơ phân lập từ chi *Impatiens* như glutamic acid, tyrosine, leucine và glycine, tuy nhiên, đây là lần đầu tiên hợp chất uracil được phát hiện có trong chi này [118]. Uracil được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng, trong đó kháng vi rút và chống ung thư là điển hình hơn cả [119].



Hình 3.67. Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) của hợp chất uracil (**IP11**)

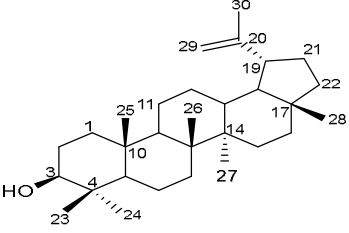
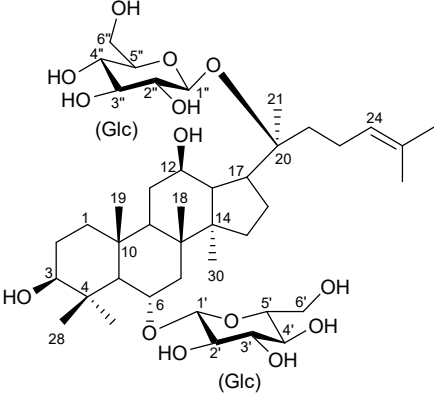
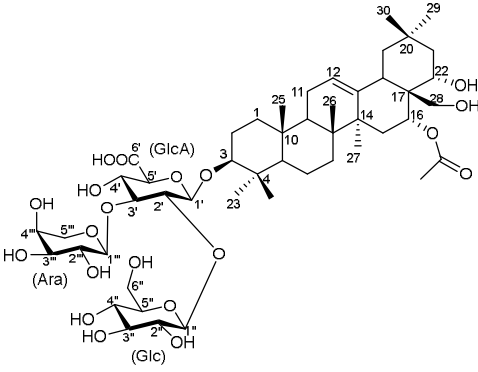
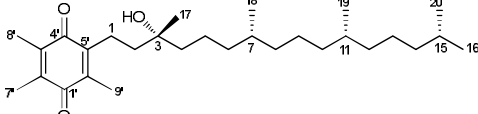
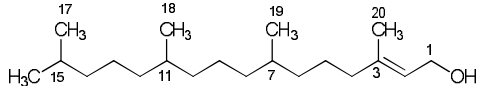
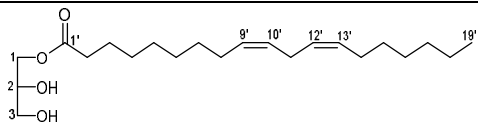
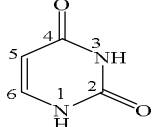


Hình 3.68. Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất uracil (IP11)

Tổng kết lại, 11 hợp chất (IP1 - IP11) phân lập từ loài *I. parvisepala* và được chứng minh về mặt cấu trúc dựa trên kết quả phân tích dữ liệu phổ được tổng hợp lại trong [Bảng 3.29](#) dưới đây. Chất mới IP7 được khẳng định dựa trên kết quả tra cứu trên scifinder, các chất lần đầu tiên phân lập trong chi được xác định dựa vào tra cứu tài liệu công bố về thành phần hóa học chi *Impatiens*.

Bảng 3.29. Các chất phân lập từ cây Bóng nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

ST T	Chất (Ký hiệu)	Cấu trúc	Tên gọi	Tính mới
1	<b>IP1</b> (IPB2)		kaempferol-3-O- $\alpha$ -L- rhamnopyranosyl -(1→6)- $\beta$ -D- glucopyranoside	Lần đầu tiên phân lập trong chi
2	<b>IP2</b> (IPB6)		apigenin 7-O- $\beta$ - D- glucopyranoside	-
3	<b>IP3</b> (IPB8)		isoquercitrin	-
4	<b>IP4</b> (IPB7)		phlorizin	-

5	<b>IP5</b> (IPH2)		lupeol	Lần đầu tiên phân lập trong chi
6	<b>IP6</b> (IPB4)		ginsenoside Rg1	Lần đầu tiên phân lập trong chi
7	<b>IP7</b> (IPB11)		3- <i>O</i> -{[ $\alpha$ -L- arabinopyranosyl -(1-3)-]- $\beta$ -D- glucopyranosyl- (1-2)}]- $\beta$ -D- glucuronopyrano- side 16 $\alpha$ - <i>O</i> - acetyl- 3 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,28 $\beta$ - trihydroxy-olean- 12-ene (đặt tên là iparvisepala-1)	<b>Chất mới</b>
8	<b>IP8</b> (IPH3)		$\alpha$ - tocopherylquinon e	Lần đầu tiên phân lập trong chi
9	<b>IP9</b> (IPH5)		phytol	Lần đầu tiên phân lập trong chi
10	<b>IP10</b> (IPH7)		1-[nonadeca- (9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> )- dienoyl]- <i>sn</i> - glycerol	Lần đầu tiên phân lập trong chi
11	<b>IP11</b> (IPB3)		uracil	Lần đầu tiên phân lập trong chi

### **Nhận xét chung về thành phần hóa học của 2 loài nghiên cứu :**

Từ việc nghiên cứu về thành phần hóa học của 2 loài thuộc chi Bóng nước (*I. chapaensis* và *I. parvisepala*), có thể rút ra nhận xét chung như sau về sự giống nhau và khác nhau giữa chúng.

- Cả hai loài đều cho thấy flavonoid là nhóm chất chính trong cây, điều này tương khớp với phân tổng quan tài liệu về thành phần hóa học của các loài thuộc chi Bóng nước.

- Ngoài nhóm chất chính, các hợp chất khác phân lập từ 2 loài cũng thuộc các nhóm chất đã được tìm thấy từ các loài khác trong chi trước đây như steroid, triterpenoid, monophenol và các hợp chất chứa Nitơ.

- Trong khi loài *I. chapaensis* có chứa các hợp chất thuộc nhóm steroid, monophenol, coumarin, neolignan và megastigman, thì trong loài *I. parvisepala* lại chứa các nhóm chất khác như quinone, terpene và glycerol.

### **3.3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính sinh học**

#### **3.3.1. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm**

Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm chỉ ra mối quan hệ hoạt tính-cấu trúc giữa các hợp chất phenolic với nhiều cơ chế kháng viêm khác nhau [120]. Theo khảo sát tài liệu cho thấy, cho đến hiện tại, 5 hợp chất phenolic (**IC5**, **IC7**, **IC9**, **IC10** và **IC15**) phân lập từ loài Móc tai Sapa vẫn chưa được nghiên cứu về khả năng kháng viêm. Trong khi đó, 11 hợp chất còn lại (**IC1-IC4**, **IC6**, **IC8**, **IC12-IC14** và **IC16**) đã được khảo sát hoạt tính kháng viêm thông qua nhiều cơ chế khác nhau và cho nhiều kết quả triển vọng. Điển hình như, naringenin (**IC1**) được đánh giá là hoạt chất đầy hứa hẹn trong việc điều trị các bệnh viêm nhiễm khi kết quả thử nghiệm cho thấy nó có hoạt tính kháng viêm mạnh thông qua việc làm giảm đáng kể tiết ra cytokin tiền viêm IL-6 tại nồng độ 25 và 50  $\mu\text{g/mL}$  [121]. Cùng cơ chế ức chế cytokin tiền viêm như naringenin (**IC1**), kaempferol (**IC3**) tại nồng độ 12.5 và 25  $\mu\text{g/mL}$  làm giảm viêm nguyên bào sợi thông qua khả năng ức chế đáng kể việc giải phóng các cytokin tiền viêm TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 và IL-18 và gây ức chế hoạt động của NF- $\kappa$ B và Akt [122]. Trong khi đó, (*S*)-pinocembrin (**IC2**) và quercetin (**IC4**) lại thể hiện hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế chất trung gian gây viêm COX-2 trong tế bào RAW264.7 [123-124]. Hợp chất phlorizin (**IC6**) cũng được khảo sát hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế các cytokin tiền

viêm như NO, PGE2, IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS và COX-2 nhưng lại không thể hiện hoạt tính [125]. Hoạt tính kháng viêm của isoquercitrin (**IC8**) lại được thể hiện qua khả năng làm giảm mức PGE2 gây ra bởi LPS trong tế bào RAW264.7 tại khoảng nồng độ 5-20  $\mu\text{M}$  [126]. Ngoài các hợp chất flavonoid, steroid spinasterol (**IC13**) và coumarin isofraxidin (**IC14**) cũng đã được báo cáo về tiềm năng kháng viêm thông qua khả năng ức chế mạnh việc sản sinh các tiền chất và cytokin tiền viêm như NO, PGE2, TNF- $\alpha$  và IL-1 $\beta$  [127-128].

Do đó, trong khuôn khổ của luận án, 5 hợp chất (**IC5**, **IC7**, **IC9**, **IC10** và **IC15**) được chọn nghiên cứu về tiềm năng kháng viêm thông qua khả năng ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trong tế bào RAW264.7 theo phương pháp Griess [69]. Phương pháp Griess được thực hiện theo quy trình được mô tả trong mục 2.2.3.1 với chất chuẩn được sử dụng là N<sup>G</sup>-methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma). Vì phép thử kháng viêm (thông qua khả năng ức chế sản sinh NO) được thực hiện trên tế bào RAW264.7, cho nên trước khi thực hiện, 5 mẫu thử được tiến hành thử gây độc tế bào theo phương pháp MTT (mục 2.2.3.1) để loại trừ khả năng mẫu thử cho dương tính giả với tế bào thử. Tại 5 nồng độ thử (200, 100, 20, 4 và 0.8  $\mu\text{g/mL}$ ) cả 5 mẫu chất thử nghiệm đều cho khả năng gây độc tế bào không đáng kể (với khả năng sống sót của tế bào thu được > 88%). Kết quả thử kháng viêm cho thấy, mẫu chất **IC9** cho hoạt tính ức chế NO yếu, với nồng độ ức chế 50% là  $\text{IC}_{50} = 704.23 \pm 42.92 \mu\text{M}$ , được đối chiếu so sánh với chất chuẩn L-NMMA với  $\text{IC}_{50} = 27.75 \pm 1.61 \mu\text{M}$ . Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO ở các nồng độ nghiên cứu ( $\text{IC}_{50} > 200 (\mu\text{g/mL})$ ) (Bảng 3.30).

Bảng 3.30. Khả năng ức chế sản sinh NO của một số hợp chất tách từ loài *I. chapaensis*

Chất thử	IC <sub>50</sub>
<b>IC5</b>	>200 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>IC7</b>	>200 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>IC9</b>	107.15 $\pm$ 6.53 ( $\mu\text{g/mL}$ ) (704.23 $\pm$ 42.92 $\mu\text{M}$ )
<b>IC10</b>	>200 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>IC15</b>	>200 ( $\mu\text{g/mL}$ )
L-NMMA	6.89 $\pm$ 0.40 ( $\mu\text{g/mL}$ ) (27.75 $\pm$ 1.61 $\mu\text{M}$ )

### 3.3.2. Kết quả thử hoạt tính hạ đường huyết

#### ❖ Loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

Trong số 16 hợp chất phân lập được từ loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*), 9 hợp chất (**IC1-IC4**, **IC6**, **IC8** và **IC11-IC13**) đã được khảo sát về hoạt tính hạ đường huyết, chống tiểu đường trong nhiều công bố trước đây. Điển hình là naringenin (**IC1**) thể hiện hoạt tính hạ đường huyết thông qua khả năng ức chế hấp thu carbohydrat từ ruột, do đó làm giảm sự gia tăng nồng độ glucose trong máu sau bữa ăn [129]. Trong khi đó, pinocembrin (**IC2**) cho tiềm năng hạ đường huyết thông qua khả năng ức chế lên enzym  $\alpha$ -glucosidase thử nghiệm với giá trị  $IC_{50}$   $0.35 \pm 0.021$  mM [130]. Kaempferol (**IC3**) được đánh giá có tác dụng hạ lipid máu ở bệnh tiểu đường khi kết quả nghiên cứu trên mô hình thử nghiệm *in vivo* cho thấy ở liều 100 mg hợp chất **IC3** làm giảm đáng kể mức glucose và tăng mức insulin trên chuột thử nghiệm sau 45 ngày điều trị [131].

Chính vì thế mà 7 hợp chất còn lại (**IC5**, **IC7**, **IC9**, **IC10** và **IC14-IC16**) được chọn để nghiên cứu hoạt tính hạ đường huyết thông qua khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase trong khuôn khổ luận án theo phương pháp được mô tả ở mục 2.2.3.2 [70]. Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được nghiên cứu về khả năng ức chế hoạt động của enzym  $\alpha$ -glucosidase. Kết quả thử cho thấy, flavanone **IC5** thể hiện hoạt tính hạ đường huyết rất cao thông qua khả năng ức chế mạnh lên enzym  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50} = 101.38 \pm 8.96$   $\mu$ M, được so sánh với chất chuẩn acarbose ( $IC_{50}$   $227.14 \pm 13.71$   $\mu$ M). Bên cạnh đó, hợp chất **IC14** chỉ cho khả năng ức chế yếu lên enzym thử nghiệm với giá trị  $IC_{50} = 1656.5 \pm 39.68$   $\mu$ M. 5 hợp chất thử còn lại (**IC7**, **IC9**, **IC10**, **IC15** và **IC16**) chưa thể hiện hoạt tính ức chế lên enzym  $\alpha$ -glucosidase tại các nồng độ thử nghiệm 4, 20, 100 và 500  $\mu$ g/mL (với  $IC_{50} > 500$  ( $\mu$ g/mL)) (Bảng 3.31). Từ kết quả thử nghiệm, kết hợp với mối liên hệ hoạt tính-cấu trúc, cho thấy khung flavanone là khung cấu trúc tiềm năng trong hoạt tính hạ đường huyết so với các khung cấu trúc như dihydrochalcone, quinone, monophenol, coumarin và neolignan glycoside.

*Bảng 3.31.* Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất tách từ loài *I. chapaensis*

Chất thử	IC <sub>50</sub>
<b>IC5</b>	28.91 ± 2.58 (µg/mL) (100.38 ± 8.96 µM)
<b>IC7</b>	>500 (µg/mL)
<b>IC9</b>	>500 (µg/mL)
<b>IC10</b>	>500 (µg/mL)
<b>IC14</b>	367.74 ± 8.81 (µg/mL) (1656.5 ± 39.68 µM)
<b>IC15</b>	>500 (µg/mL)
<b>IC16</b>	>500 (µg/mL)
Acarbose	146.64 ± 8.85 (µg/mL) (227.14 ± 13.71 µM)

#### ❖ Loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

Theo khảo sát tài liệu, 7 hợp chất (**IP1**, **IP3-IP6** và **IP9**) phân lập từ loài *I. parvisepala* đã được nghiên cứu và công bố về hoạt tính hạ đường huyết. Nổi bật trong số đó, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP1**) ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase mạnh gấp 8 lần so với chất chuẩn acarbose khi cho giá trị IC<sub>50</sub> = 19.36 ± 2.43 µM trong khi IC<sub>50</sub> của acarbose là 177.5 ± 27.5 µM [132]. Trong khi đó, isoquercitrin (**IP3**) được chứng minh khả năng hạ đường huyết trên cả mô hình phòng thí nghiệm *in vitro* và mô hình động vật *in vivo*. Trong mô hình phòng thí nghiệm, hợp chất **IP3** ức chế lên enzym DPP-IV (một loại enzym làm phân giải incretin, tăng insulin, giảm glucagon và làm giảm lượng đường trong máu) với giá trị IC<sub>50</sub> = 96,8 µM. Trên mô hình *in vivo*, hợp chất **IP3** được dùng điều trị cho chuột mắc bệnh tiểu đường loại 2 bằng đường uống và làm giảm đáng kể mức đường huyết lúc đói sau 8 tuần điều trị [133].

Chính vì thế, để tiếp tục tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết trong các loài thuộc chi *Impatiens*, 3 hợp chất (**IP2**, **IP8** và **IP10**) phân lập từ loài *I. parvisepala* được chọn cho phép thử khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase. Phương pháp thử được mô tả ở mục 2.3.1.2. Kết quả cho thấy, flavonoid glucoside **IP2** thể hiện hoạt tính hạ đường huyết đầy hứa hẹn với khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase rất mạnh (IC<sub>50</sub> = 12.53 ± 0.39 µM), trong khi chất chuẩn acarbose cho hoạt tính yếu hơn với giá trị IC<sub>50</sub> = 197.53 ± 2.68 µM). Trái ngược với flavonoid glucoside **IP2**, dẫn xuất quinone và glycerol (**IP8** và **IP10**) lại không thể hiện hoạt tính ức chế lên



enzym thử tại các nồng độ thử nghiệm 4, 20, 100 và 500  $\mu\text{g/mL}$  (với giá trị  $\text{IC}_{50} > 500$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) (Bảng 3.32).

Bảng 3.32. Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu thử tách từ loài *I. parvisepala*

Chất thử	$\text{IC}_{50}$
<b>IP2</b>	$5.42 \pm 0.17$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $12.53 \pm 0.39$ $\mu\text{M}$ )
<b>IP8</b>	$> 500$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>IP10</b>	$> 500$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Acarbose	$127.53 \pm 1.73$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $197.53 \pm 2.68$ $\mu\text{M}$ )

❖ **Đánh giá khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase của chất mới Iparvisepala-1 (IP7)**

Theo tổng quan tài liệu cho thấy, các hợp chất triterpene saponin cho tiềm năng cao trong hoạt tính hạ đường huyết. Chính vì thế mà triterpene saponin mới iparvisepala-1 (IP7) được phân lập từ loài *I. parvisepala* được tiến hành thử nghiệm *in vitro* khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase với acarbose được sử dụng làm chất đối chứng. Tuy nhiên, kết quả lại không thể hiện hoạt tính ức chế lên enzym thử tại các nồng độ thử nghiệm 0.39, 1.56, 6.25, 25 và 100  $\mu\text{g/mL}$  (cho giá trị  $\text{IC}_{50} > 100$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) (Bảng 3.33).

Bảng 3.33. Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của chất mới Iparvisepala-1 (IP7)

Chất thử	$\text{IC}_{50}$
<b>IP7</b>	$> 100$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Acarbose	$134.56 \pm 3.02$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $208.74 \pm 4.67$ $\mu\text{M}$ )

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### ➤ Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã thực hiện được mục tiêu mà luận án đề ra: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài thực vật *Impatiens chapaensis* và *Impatiens parvisepala*”.

### 1. Nghiên cứu về thành phần hóa học của 2 loài *Impatiens* (*I. chapaensis* và *I. parvisepala*)

Lần đầu tiên 2 loài (*I. chapaensis* và *I. parvisepala*) được nghiên cứu về thành phần hóa học.

Tổng số 27 hợp chất được phân lập và xác định cấu trúc từ toàn cây 2 loài thực vật nghiên cứu. Trong đó có một chất mới Iparvisepala-1 (**IP7**) và 16 chất được xác định là lần đầu tiên tìm thấy trong chi *Impatiens*. Cụ thể như sau:

- 16 hợp chất (**IC1 – IC16**) được phân lập và xác định cấu trúc từ loài *I. chapaensis*, gồm tám flavonoid: (*S*)-naringenin (**IC1**), (*S*)-pinocembrin (**IC2**), kaempferol (**IC3**), quercetin (**IC4**), ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**), phlorizin (**IC6**), 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**) và isoquercitrin (**IC8**); ba monophenol: methyl 4-hydroxybenzoate (**IC9**), methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**) và isotachioside (**IC11**); và năm hợp chất khác: uridine (**IC12**), spinasterol (**IC13**), isofraxidin (**IC14**), (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 (**IC15**) và (*S*)-dehydrovomifoliol (**IC16**). Trong đó, 9 hợp chất (**IC1, IC5, IC6, IC7, IC10, IC11, IC12, IC15** và **IC16**) được xác định là lần đầu tiên phân lập trong chi *Impatiens*.
- 11 hợp chất (**IP1 – IP11**) được phân lập và xác định cấu trúc từ loài *I. parvisepala*, gồm bốn flavonoid: kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP1**), apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**), isoquercitrin (**IP3**) và phlorizin (**IP4**); ba triterpenoid: lupeol (**IP5**), ginsenoside Rg1 (**IP6**) và iparvisepala-1 (**IP7**); và bốn hợp chất khác:  $\alpha$ -tocopherylquinone (**IP8**), phytol (**IP9**), 1-[nonadeca-(9*Z*,12*Z*)-dienoyl]-*sn*-glycerol (**IP10**) và uracil (**IP11**). Trong đó, hợp chất **IP7** được xác định là một triterpene saponin mới, 7

hợp chất (**IP1**, **IP5**, **IP6**, **IP8**, **IP9**, **IP10** và **IP11**) lần đầu tiên tìm thấy trong chi *Impatiens*.

## 2. Đánh giá về hoạt tính kháng viêm, hạ đường huyết của 2 loài *Impatiens* nghiên cứu

5 hợp chất (**IC5**, **IC7**, **IC9**, **IC10** và **IC15**) được sàng lọc hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế sản sinh NO với kết quả cho thấy hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (**IC9**) có hoạt tính ức chế NO yếu, với nồng độ ức chế 50% là  $IC_{50} = 704.23 \pm 42.92 \mu\text{M}$ .

Kết quả đánh giá hoạt tính hạ đường huyết của 11 hợp chất (**IC5**, **IC7**, **IC9**, **IC10**, **IC14**, **IC15**, **IC16**, **IP2**, **IP7**, **IP8** và **IP10**) phân lập từ 2 loài nghiên cứu cho thấy 2 hợp chất flavonoid gồm ( $\pm$ )-3',5',5,7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**) và apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**) ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase mạnh hơn cả chất đối chứng acarbose với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $101.38 \pm 8.96 \mu\text{M}$  và  $IC_{50} = 12.53 \pm 0.39 \mu\text{M}$ .

### ➤ Kiến nghị

1. Tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học một số loài thuộc chi *Impatiens* ở Việt Nam và tìm kiếm các hoạt chất có tiềm năng kháng viêm, hạ đường huyết từ các loài thuộc chi này.
2. Từ kết quả thử nghiệm hoạt tính cho thấy 2 flavonoid **IC5** và **IP2** cho hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase rất tốt, cần tiếp tục tiến hành các nghiên cứu sâu hơn để có thể sử dụng chúng trong lĩnh vực bảo vệ sức khỏe.

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

1. **Nguyen Thi Thuy Linh**, Trinh Thi Thuy, Nguyen Thanh Tam, Ba Thi Cham, Khieu Thi Tam, Nguyen Hoang Sa, Do Thi Thao, Vu Tien Chinh, Nguyen Thi Hoang Anh. *Chemical constituents of Impatiens chapaensis Tard. and their  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities*, Natural product research, 2021, 36 (12), 3229-3233. Doi: 10.1080/14786419.2021.1956923.
2. **Nguyen Thi Thuy Linh**, Trinh Thi Thuy, Nguyen Thanh Tam, Ba Thi Cham, Bui Huu Tai, Do Thi Thao, Dinh Gia Thien, Vu Tien Chinh, Nguyen Thi Hoang Anh. *Chemical constituents of Impatiens parvisepala and their  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity*, Natural product research, 2023, 37 (16), 2647-2652. Doi: 10.1080/14786419.2022.2127705.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yu S.X., Janssens S.B., Zhu X.Y., Liden M., Gao T.G., Wang W., 2016, Phylogeny of *Impatiens* (Balsaminaceae): integrating molecular and morphological evidence into a new classification, *Cladistics*, 32, pp. 179-197.
2. P. H. Hộ, 2000, *Cây cỏ Việt Nam*, NXB trẻ thành phố Hồ Chí Minh, tr. 1-951.
3. Shui Y.M., Janssens S., Huang S.H., Chen W.H., Yang Z.G., 2011, Three new species of *Impatiens* L. from China and Vietnam: Preparation of flowers and morphology of pollen and seeds, *Systematic Botany*, 36, pp. 428-439.
4. Chinh V.T., Huong N.T.T., Quang B.H., Suksathan P., 2015, A new record of *Impatiens kamtilongensis* Toppin (Balsaminaceae) for Vietnam flora, *Journal of Biology*, 37, pp. 332-335.
5. Son H.T., Bon T.N., Anh N.T.V., 2015, *Impatiens parvisepala* (Balsaminaceae): A newly recorded from Vietnam, *Vietnam Journal of Forest Science*, 4, pp. 4018-4020.
6. Son H.T., Bon T.N., Hung N.Q., Vinh P.V., Lang C.V., 2016, *Impatiens morsei* (Balsaminaceae): A newly recorded from Vietnam, *Science Research Reporter*, 6, pp. 1-3.
7. Nguyen K.S., Hua T.Y., He X.N., 2018, *Impatiens napoensis* Y. L. Chen, a newly recorded species for the flora of Vietnam, *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 26, pp. 545-548.
8. Trang P.T., Truong D.V., Thu N.T., Tuyen P.T., The P.V., 2019, *Impatiens siculifer* (Balsaminaceae): a New record for the flora of Vietnam, *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 70, pp. 63-66.
9. Cuong N.H., Averyanov L.V., Egorov A.A., Van N.L., 2021, *Impatiens monticola* (Balsaminaceae), a newly recorded species for the flora of Vietnam, *Botanicheskii Zhurnal*, 106, pp. 1036-1040.
10. Utami N., 2012, Three new species of *Impatiens* (Balsaminaceae) from Sumatra, Indonesia, *Kew Bulletin*, 67, pp. 731-737.

11. Singh P., Singh R., Sati N., Ahluwalia V., Sati O.P., 2017, Phytochemical and pharmacological significance of genus: *Impatiens*, *International Journal of Life Sciences Research*, 3, pp. 868-881.
12. Ching A.Y.L., Wah T.S., Sukari M.A., Lian G.E.C., Rahmani M., Khalid K., 2007, Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbegia rotunda* (L.), *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 11, pp. 154-159.
13. Oku H., Ishiguro K., 2001, Antipruritic and antidermatitic effect of extract and compounds of *Impatiens balsamina* L. in atopic dermatitis model NC mice, *Phytotherapy Research*, 15, pp. 506-510.
14. Fukumoto H., Ishiguro K., Murashima T., Yamaki M., Isoi K., 1994, Structure determination of a kaempferol 3-rhamnosyldiglucoside from *Impatiens balsamina*, *Phytochemistry*, 36, pp. 1486-1488.
15. Ueda Y., Oku H., Inuma M., Ishiguro K., 2003, Effects on blood pressure decrease in response to PAF of *Impatiens textori* MIQ., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26, pp. 1505-1507.
16. Ding Z.S., Jiang F.S., Chen N.P., Lv G.Y., Zhu C.G., 2008, Isolation and identification of an anti-tumor component from leaves of *Impatiens balsamina*, *Molecules*, 13, pp. 220-229.
17. Szewczyk K., 2018, Phytochemistry of the genus *Impatiens* (Balsaminaceae): A review, *Biochemical Systematics and Ecology*, 80, pp. 94-121.
18. Tsushiro K., Kurizaki A., Watanabe T., Devkota H.P., Chemical constituents from the aerial parts of *Impatiens hypophylla* Makino var. *hypophylla*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 83, pp. 10-12.
19. Kim D.H., Lee T.H., Subedi K., Kim S.Y., Lee K.R., 2019, Chemical constituents of *Impatiens balsamina* stems and their biological activities, *Natural Product Sciences*, 25, pp. 130-135.
20. Lee T.H., Suh W.S., Subedi L., Kim S.Y., Choi S.U., Lee K.R., Kim C.S., 2020, Three new oleanane-type triterpenoidal glycosides from *Impatiens balsamina* and their biological activity, *Plants*, 9, pp. 1083-1092.
21. Sui Y., Huang X., Qader M., You P., Gan G., Xi X., Cao S., 2021, Triterpenoid saponins from the rhizome of *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis*, *Phytochemistry Letter*, 41, pp. 175-179.

22. Fukumoto H., Yamaki M., Isoi I., Ishiguro K., 1996, Antianaphylactic effects of the principal compounds from the white petals of *Impatiens balsamina* L., *Phytotherapy Research*, 10, pp. 202-206.
23. Lei J., Qian S.H., Jiang J.Q., 2010, Two new flavone glycosides from the seeds of *Impatiens balsamina* L., *Journal of Asian Natural Product Research*, 12, pp. 1033-1037.
24. Choi B.J., Kim C.W., 2002, Studies of the constituents of *Impatiens noli-tangere* L., *Korean Journal of Pharmacognosy*, 33, pp. 263-266.
25. Kim C.S., Bae M., Oh J., Subedi L., Suh W.S., Choi S.Z., Son M.W., Kom S.Y., Choi S.U., Oh D.C., Lee K.R., 2017, Anti-neurodegenerative biflavonoid glycosides from *Impatiens balsamina*, *Journal of Natural Products*, 80, pp. 471-478.
26. Szewczyk K., Zidorn C., Biernasiuk A., Komsta L., Granica S., 2016, Polyphenols from *Impatiens* (Balsaminaceae) and their antioxidant and antimicrobial activities, *Industrial Crops and Products*, 86, pp. 262-272.
27. Vieira M.N., Winterhalter P., Jerz G., 2016, Flavonoids from the flowers of *Impatiens glandulifera* Royle isolated by high performance countercurrent chromatography, *Phytochemical Analysis*, 27, pp. 116-125.
28. Hasan A., Tahir M.N., 2005, Flavonoids from leaves of *Impatiens bicolor*, *Turkish Journal of Chemistry*, 1, pp. 65-70.
29. Tatsuzawa F., Saito N., Mikanagi Y., Shinoda K., Toki K., Shigihara A., Honda T., 2009, An unusual acylated malvidin 3-glucoside from flowers of *Impatiens textori* Miq. (Balsaminaceae), *Phytochemistry*, 70, pp. 672-674.
30. Paun G., Neagu E., Moroeanu V., Albu C., Ursu T.M., Zanfirescu A., Negres S., Chirita C., Radu G.L., 2018, Anti-inflammatory and antioxidant activities of the *Impatiens noli-tangere* and *Stachys ocinalis* polyphenolic-rich extracts, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28, pp. 57-64.
31. Hagen C.W., 1966, The differentiation of pigmentation in flower parts. I. The flavonoid pigments of *Impatiens balsamina*, genotype IIIHHP<sup>r</sup>P<sup>r</sup> and their distribution within the plant, *American Journal of Botany*, 53, pp. 46-54.

32. Li Q., Zhang X., Cao Z., Lou Y., Ding M., Zhao Y., 2015, Depside derivatives with anti-hepatic fibrosis and anti-diabetic activities from *Impatiens balsamina* L. flowers, *Fitoterapia*, 105, pp. 234-239.
33. Szewczyk K., Cicek S.S., Zidorn C., Granica S., 2018, Phenolic constituents of the aerial parts of *Impatiens glandulifera* Royle (Balsaminaceae) and their antioxidant activities, *Natural Product Research*, 7, pp. 1-5.
34. Szewczyk K., Heise E.M., Piwowarski J.P., 2018, Preliminary characterization and bioactivities of some *Impatiens* L. water-soluble polysaccharides, *Molecules*, 23, pp. 631-635.
35. Clevenger S., 1958, The flavonols of *Impatiens balsamina* L., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 76, pp. 131-138.
36. Bathe-Smith E.C., 1962, The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance, I. Dicotyledons, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 58, pp. 95-173.
37. Jiang H.F., Zhuang Z.H., Hou B.W., Shi B.J., Shu C.J., Chen L., Shi G.X., Zhang W.M., 2017, Adverse effects of hydroalcoholic extracts and the major components in the stems of *Impatiens balsamina* L. on *Caenorhabditis elegans*, *Evidence-Based. Complementary and Alternative Medicine*, 2017, pp. 1-10.
38. Hua L., Peng Z., Chia L.S., Goh N.K., Tan S.N., 2001, Separation of kaempferol in *Impatiens balsamina* flowers by capillary electrophoresis with electrochemical detection, *Journal of Chromatography A*, 909, pp. 297-303.
39. Sakunphueak A., Tansakul P., Umehara K., Noguchi H., Panichayupakaranant P., 2013, Effect of methionine on production of naphthoquinones in *Impatiens balsamina* root cultures and detection of some secondary metabolites, *Pharmaceutical Biology*, 51, pp. 36-41.
40. Klein A.O., Hagen C.W., 1961, Anthocyanin production in detached petals of *Impatiens balsamina* L., *Plant Physiology*, 36, pp. 1-9.
41. Klozova E., Rokosava K., 1961, Anthocyanins of *Impatiens holstii*, *Biologia Plantarum*, 3, pp. 291-296.
42. Thakur M., Nozzolillo C., 1978, Anthocyanin pigmentation in roots of *Impatiens* species, *Canadian Journal of Botany*, 56, pp. 2898-2903.



43. Alston R.E., Hagen C.U., 1958, Chemical aspects of the inheritance of flower color in *Impatiens balsamina* L., *Genetics*, 43, pp. 35-47.
44. Ueno N., Takemura E., Hayashi K., Additional data for the paper chromatographic survey of anthocyanins in the flora of Japan (IV) studies on anthocyanins, *The Botanical Magazine Tokyo*, 82, pp. 155-161.
45. Grabowska K., Podolak I., Galanty A., Zmudzki P., Koczurkiewicz P., Piska K., Pekala E., Janeczko Z., 2017, Two new triterpenoid saponins from the leaves of *Impatiens parviflora* DC. and their cytotoxic activity, *Industrial Crops and Products*, 96, pp. 71-79.
46. Shoji N., Umeyama A., Saitou N., Yoshikawa K., Kan Y., Arihara S., 1994, Hosenkosides A, B, C, D, and E, novel baccharane glycosides from the seeds of *Impatiens balsamina*, *Tetrahedron*, 50, pp. 4973-4986.
47. Shoji N., Umeyama A., Saitou N., Yoshikawa K., Nagai M., Arihara S., 1994, Hosenkosides F, G, H, I, J, and K, novel baccharane glycosides from the seeds of *Impatiens balsamina*, *Chemical and pharmaceutical Bulletin*, 42, pp. 1422-1426.
48. Fu Y., Gao W., Yu J., Chen J., Li H., Li P., 2012, Characterization and identification of baccharane glycosides in *Impatiens* semen by rapid-resolution liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 7, pp. 64-65.
49. Lei J., Qian S.H., Jiang J.Q., 2010, A new ursane coffeoyl ester from the seeds of *Impatiens balsamina* L., *Journal of China Pharmaceutical University*, 41, pp. 118-119.
50. Li W., Bi X., Wang K., Li D., Satou T., Koike K., 2009, Triterpenoid saponins from *Impatiens siculifer*, *Phytochemistry*, 70, pp. 816-821.
51. Zhou X., Tang L., Liu Y., 2009, An isomeric mixture of novel cerebrosides isolated from *Impatiens pritzellii* reduces lipopolysaccharide-induced release of IL-18 from human peripheral blood mononuclear cells, *Lipids*, 44, pp. 759-763.
52. Zhou X., Tang L., Zhang P., Zhao X.Y., Pi H.F., Zhang Y.H., Ruan H.L., Liu Y., Wu J.Z., 2009, The interleukin-18 inhibitory activities of echinocystic acid and its saponins from *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis*, *Zeitschrift fur Naturforschung C Journal of Biosciences*, 64, pp. 369-372.

53. Li Q., Cao J., Yuan W., Li M., Yang L., Sun Y., Wang X., Zhao Y., 2017, New triterpene saponins from flowers of *Impatiens balsamina* L. and their anti-hepatic fibrosis activity, *Journal of Functional Foods*, 33, pp. 188-193.
54. Shoji N., Umeyama A., Yoshikawa K., Nagai M., Arihara S., 1994, Baccharane glycosides from seeds of *Impatiens balsamina*, *Phytochemistry*, 37, pp. 1437-1441.
55. Cimmino A., Mathieu V., Evidente M., Ferderin M., Banuls L.M.Y., Masi M., Carvalho A., Kiss R., Evidente A., 2016, Glanduliferins A and B, two new glucosylated steroids from *Impatiens glandulifera*, with *in vitro* growth inhibitory activity in human cancer cells, *Fitoterapia*, 109, pp. 138-145.
56. Zhao X.Y., Zhou X.F., Ruan H.L., Zhang Y.H., Pi H.F., Sun H.D., Wu J.Z., Chemical constituents of *Impatiens pritzellii*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 3, pp. 354-356.
57. Zhao X.Y., Sun H.D., Wu J.Z., 2005, Studies on chemical constituents from rhizome of *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis*, *Chinal Journal of Chinese Materia Medica*, 30, pp. 584-586.
58. Wang Y.C., Li W.Y., Wu D.C., Wang J.J., Wu C.H., Liao J.J., Lin C.K., 2011, *In vitro* activity of 2-methoxy-1,4-naphthoquinone and stigmasta-7,22-diene-3 $\beta$ -ol from *Impatiens balsamina* L. against multiple antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*, *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, 11, pp. 125-129.
59. Ishiguro K., Ohira Y., Oku H., 1998, Antipruritic dinaphthofuran-7,12-dione derivatives from the pericarp of *Impatiens balsamina*, *Journal of Natural Products*, 61, pp. 1126-1129.
60. Szewczyk K., Olech M., 2017, Optimization of extraction method for LC-MS based determination of phenolic acid profiles in different *Impatiens* species, *Phytochemistry Letter*, 20, pp. 322-330.
61. Zhou X., Zhao X., Tang L., Zhang Y., Ruan H., Pi H., Qiu H., Wu J., 2007, Immunomodulatory activity of the rhizomes of *Impatiens pritzellii* var. *hupehensis* on collagen-induced arthritis mice, *Journal of Ethanopharmacology*, 109, pp. 505-509.

62. Yang J., Kim J.S., Kim M.J., 2012, Antioxidant, antiproliferative and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of extracts from *Impatiens textori* Miq., *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, pp. 391-397.
63. Yasodha M., Tandrima G., Swapna M., Ankitha T., Vishal S.P., Bhagya M., 2021, *In vitro* antidiabetic and anthelmintic activity of hydroalcoholic extract of *Impatiens balsamina* roots, *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3, pp. 38-44.
64. Qayum M., Nisar M., Shah M.R., Kaleem W.A., Wahab A., Abbas S., Rehman B., 2013, Antioxidant potential and chemical constituents of *Impatiens bicolor* Royle, *International Journal of Basis Sciences in Medicine*, 3, pp. 19-22.
65. Anwer N., Waqa M. A., Iqbal M., Mushtaq M., Sobia A., 2013, Phytochemical analysis, free radical scavenging capacity and antimicrobial properties of *Impatiens bicolor* plant, *International Food Research Journal*, 20, pp. 99-103.
66. Degu S., Abebe A., Gemada N., Bitew A., 2021, Evaluation of antibacterial and acute oral toxicity of *Impatiens tinctoria* A. Rich root extracts, *PloS One*, 16, pp. e0255932.
67. Baskar N., 2019, Antimicrobial activity and phytochemical analysis of whole plant *Impatiens balsamina* linn, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 3, pp. 9-11.
68. Lim Y.H., Kim I.H., Seo J.J., 2007, *In vitro* activity of kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*, *Journal of Microbiology*, 45, pp. 473-477.
69. Cheenpracha S., Park E.J., Rostama B., Pezzuto J.M., Chang L.C., 2010, Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesquiterpene peroxide, epimuqubilin A, *Marine drugs*, 8, pp. 429-437.
70. Liu S., Yu Z., Zhu H., Zhang W., Chen Y., 2016, *In vitro*  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhuan dark tea, *BMC Complementary Alternative Medicine*, 16, pp. 378 -385.
71. Gaggeri R., Rossi D., Christodoulou M.S., Passarella D., Leoni F., Azzolina O., Collina S., 2012. Chiral flavanones from *Amygdalus lycioides* Spach: Structural

- elucidation and identification of TNF- $\alpha$  inhibitors by bioactivity-guided fractionation, *Molecules*, 17, pp. 1665–1674.
72. Kim J.G., Le T.P.L., Hong H.R., Han J.S., Ko J.H., Lee S.H., Lee M.K., Hwang B.Y., 2019, Nitric oxide inhibitory constituents from the fruits of *Amomum tsao-ko*, *Natural Product Sciences*, 25, pp. 76-80.
73. Hartogh D., Danja J., Evangelia T., 2019, Antidiabetic properties of naringenin: A citrus fruit polyphenol, *Biomolecules*, 9, pp. 99-102.
74. Guo L., Chen X., Li L.N., Tang W., Pan Y.T., Kong J.Q., 2016, Transcriptome-enabled discovery and functional characterization of enzymes related to (2S)-pinocembrin biosynthesis from *Ornithogalum caudatum* and their application for metabolic engineering, *Microbial Cell Factories*, 15, pp. 1-19.
75. Paoletta S., Steventon G.B., Wildeboer D., Ehrman T.M., Hylands P.J., Barlow D.J., 2008, Screening of herbal constituents for aromatase inhibitory activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, pp. 8466-8470.
76. Rasul A., Millimouno F.M., Eltay W.A., Ali M., Li J., Li X., 2013, Pinocembrin: A novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities, *BioMed Research International*, 2013, pp. 1–9.
77. Aisyah L.S., Yun Y.F., Herlina T., Julaeha E., Zainuddin A., Nurfarida I., Shiono Y., 2017, Flavonoid compounds from the leaves of *Kalanchoe prolifera* and their cytotoxic activity against P-388 murine leukimia cells, *Natural Product Sciences*, 23, pp. 139-145.
78. Bangar S.P., Vandana C., Sharma N., Bansal V., Ozogul F., Lorenzo J.M., 2022, Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25, pp. 1-25.
79. Gao L., Xu X., Yang J., 2013, Chemical constituents of the roots of *Rheum officinale*, *Chemistry of Natural Compounds*, 49, pp. 603-605.
80. Choi H.R., Nam K.M., Lee H.S., Yang S.H., Kim Y.S., Lee J., Park K.C., 2016, Phlorizin, an active ingredient of *Eleutherococcus senticosus*, increases proliferative potential of keratinocytes with inhibition of MiR135b and increased expression of type IV collagen, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, pp. 1-8.

81. Ehrenkranz J.R.L., Lewis N.G., Ronald K.C., Roth J., 2005, Phlorizin: a review, *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 21, pp. 31–38.
82. Williams A.H., 1979, Dibenzoylmethanes and flavones of *Malus*, *Phytochemistry*, 18, pp. 1897-1898.
83. Omar H.S., El-Beshbishy H.A., Moussa Z., Taha K.F., Singab A.N.B., 2011, Antioxidant activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jack fruit) leaf extracts: remarkable attenuations of hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-diabetic rats, *The Scientific World Journal*, 11, pp. 788–800.
84. Valentov A.K., Vrba J., Bancirova M., Ulrichova J., Kren V., 2014, Isoquercitrin: Pharmacology, toxicology, and metabolism, *Food and Chemical Toxicology*, 68, pp. 267–282.
85. Chen C.Y., Wang Y.D., Wang H.M., 2010, Chemical constituents from the roots of *Synsepalum dulcificum*, *Chemistry of Natural Compounds*, 46, pp. 448-449.
86. Sharfalddin A., Davaasuren B., Emwas A.H., Jaremko M., Jaremko L., Hussien M., 2020, Single crystal, hirshfeld surface and theoretical analysis of methyl 4-hydroxybenzoate, a common cosmetic, drug and food preservative-experiment versus theory, *PloS One*, 6, pp. e0239200.
87. Lee Y.R., Wang X., 2007, First concise synthesis of biologically interesting nigrolineabenzopyran A, ( $\pm$ )-Blandachromene II and ( $\pm$ )-Daurichromene, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 28, pp. 2061-2064.
88. Woo K.W., Sim M.O., Park E.J., Kim M.S., Suh W.S., Cho H.W., Kwon H.C., Park J.C., Lee K.R., 2016, Chemical constituents from the stems of *Lagerstreomia indica* and their antioxidant effect, *Korean Journal of Pharmacognosy.*, 47, pp. 204-210.
89. Gao H., Cui Y., Kang N., Liu X., Liu Y., Zou Y., Chen X., 2017, Isoacteoside, a dihydroxyphenylethyl glycoside, exhibits anti-inflammatory effects through blocking toll-like receptor 4 dimerization, *British Journal of Pharmacology*, 174, pp. 2880–2896.
90. Linh N.T.T., Cham B.T., Anh N.T.H., Hung N.P., Thao D.T., Loan N.T., Nhung L.T.H., Delfino D.V., Thuy T.T., 2022, Investigation of chemical

- constituents of *Cardiospermum halicacabum* L. and their biological activities, *Journal of Medicinal Materials*, 27, pp. 213-218.
91. Connolly G.P., Duley J.A., 1999, Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potentials, *Trends in Pharmacological Sciences*, 20, pp. 218–225.
92. Muthia A., Santoni A., Darwis D., 2015, Spinasterol: steroids from *Filicium decipiens* stem bark, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, pp. 1-5.
93. Ahmed M., Sajid A.R., Javeed A., 2022, Antioxidant, antifungal, and aphicidal activity of the triterpenoids spinasterol and 22,23-dihydrospinasterol from leaves of *Citrullus colocynthis* L., *Scientific Reports*, 12, pp. 4910-4917.
94. Zhang T., Piao J.H., Yuan L., Li X.F., 2012, Chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* and their free radical scavenging activities, *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 6, pp. 1057-1060.
95. Panichayupakaranant P., Noguchi H., De-Eknamkul W., Sankawa U., 1995, Naphthoquinones and coumarins from *Impatiens balsamina* root cultures, *Phytochemistry*, 40, pp. 1141–1143.
96. Majnooni M.B., Fakhri S., Shokoohinia Y., Mojarrab M., Afrakoti S.K., Farzaei M.H., 2020, Isofraxidin: synthesis, biosynthesis, isolation, pharmacokinetic and pharmacological properties, *Molecules*, 25, pp. 2040-2063.
97. Wang H.B., Yu D.Q., Liang X.T., 1992, The structure of a new neolignan glycoside from *Stauntonia chinensis*, *Journal of Natural Products*, 55, pp. 214-216.
98. Serra S., Barakat A., Fuganti C., 2007, Chemoenzymatic resolution of cis- and trans-3,6-dihydroxy-a-ionone. Synthesis of the enantiomeric forms of dehydrovomifoliol and 8,9-dehydrotheaspirone, *Tetrahedron Asymmetry*, 18, pp. 2573-2580.
99. Xi Y., Zheng J., Xie W., Xu X., Cho N., Zhou X., Yu X., 2021, (+)-Dehydrovomifoliol alleviates oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells via the PPAR $\alpha$ -FGF21 pathway, *Frontiers in Pharmacology*, 19, pp. e750147.

100. Hassan G.E., Omera M.A., Babadoust S., Najat D.D., 2014, Flavonoids from *Euphorbia condylocarpa* roots, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6, pp. 56-60.
101. Ma Y., Liu Y., Sun A., Du Y., Ye M., Pu X., Qi X., 2017, Intestinal absorption and neuroprotective effects of kaempferol-3-*O*-rutinoside, *RSC Journal*, 7, pp. 31408-31416
102. Peng H., Zhang X., Xu J., 2016, Apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glycoside isolation from the highly copper-tolerant plant *Elsholtzia splendens*, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 17, pp. 447-454.
103. Samet I., 2015, Olive leaf components apigenin 7-glucoside and luteolin 7-glucoside direct human hematopoietic stem cell differentiation towards erythroid lineage, *Differentiation*, 89, pp. 146-55.
104. Bouzaiene N., 2016, Effect of apigenin-7-glucoside, genkwanin and naringenin on tyrosinase activity and melanin synthesis in B16F10 melanoma cells, *Life Sciences*, 144, pp. 80-85.
105. Aratanechemuge Y., Hibasami H., Sanpin K., Katsuzaki H., Imai K., Komiya T., 2004, Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells, *Oncology Reports*, 11, pp. 289-292.
106. Wal A., Rai A., Wal P., Sharma G., 2011, Biological activities of lupeol, *Systematic Reviews in Pharmacy*, 2, pp. 96-105.
107. Kim D.S., Chang Y.J., Zedk U., Zhao P., Liu Y.Q., Yang C.R., 1995, Dammarane saponins from *Panax ginseng*, *Phytochemistry*, 40, pp. 1493-1497.
108. Teng R., Li H., Chen J., Wang D., He Y., Yang C., 2002, Spectral assignments and reference data. Complete assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data for nine protopanaxatriol glycosides, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 40, pp. 483-488.
109. Gao X.Q., Du Z.R., Yuan L.J., Zhang W.D., Chen L., Teng J.J., Chen W.F., 2019, Ginsenoside Rg1 exerts anti-inflammatory effects via G protein-coupled estrogen receptor in lipopolysaccharide-induced microglia activation, *Frontiers in Neuroscience*, 7, pp. 13-18.
110. Chen W., Xinyan J., Wang T., Bai R., Shi J., Jiang Y., Tan S., Wu R., Zeng S., Zheng H., Jia H., Li S., 2022, Ginsenoside Rg1 interferes with the progression

- of diabetic osteoporosis by promoting type H angiogenesis modulating vasculogenic and osteogenic coupling, *Frontiers in Pharmacology*, 13, pp. e1010937.
111. Backer C., Jenett-Siems K., Siems K., Wurster M., Bodtke A., Chamseddin C., Crusemann M., Lindequist U., 2013, Triterpene glycosides from the leaves of *Pittosporum angustifolium*, *Planta Medica*, 79, pp. 1461-1469.
112. Ling T.J., Ling W.W., Chen Y.J., Wan X.C., Xia T., Du X.F., Zhang Z.Z., 2010, Antiseptic activity and phenolic constituents of the aerial parts of *Vitex negundo* var. *cannabifolia*, *Molecules*, 15, pp. 8469-8477.
113. Bunyan J., McHale D., Green J., 1063, The vitamin E activity of  $\alpha$ -tocopherylquinone and  $\alpha$ -tocopheryhydroquinone in the rat, *British Journal of Nutrition*, 17, pp. 391-398.
114. Gunawan A.C., Anamy P., 2013, Structure elucidation of two new phytol derivatives, a new phenolic compound and other metabolites of *Averrhoa bilimbi*, *DLSU Research Congress*, 20, pp. 7-9.
115. Islam M.T., Ali E.S., Uddin S.J., Shaw S., Islam M.A., Ahmed M.I., Atanasov A.G., 2018, Phytol: A review of biomedical activities, *Food and Chemical Toxicology*, 121, pp. 82-94.
116. Zeng X., Xiang L., Li C. Y., Wang Y., Qiu G., Zhang Z., He X., 2012, Cytotoxic ceramides and glycerides from the roots of *Livistona chinensis*. *Fitoterapia*, 83, pp. 609-616.
117. Hurd R.E., Reid B.R., 1977, NMR spectroscopy of the ring nitrogen protons of uracil and substituted uracils; relevance to A psi base pairing in the solution structure of transfer RNA, *Nucleic Acids Research*, 4, pp. 2747-2755.
118. Pal M., Biswas S., 1994, A novel protein accumulated during maturation of the pods of the plant *Impatiens balsamina*, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 130, pp. 111–120.
119. Palasz A., Ciez D., 2-15, In search of uracil derivatives as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, pp. 582–611.



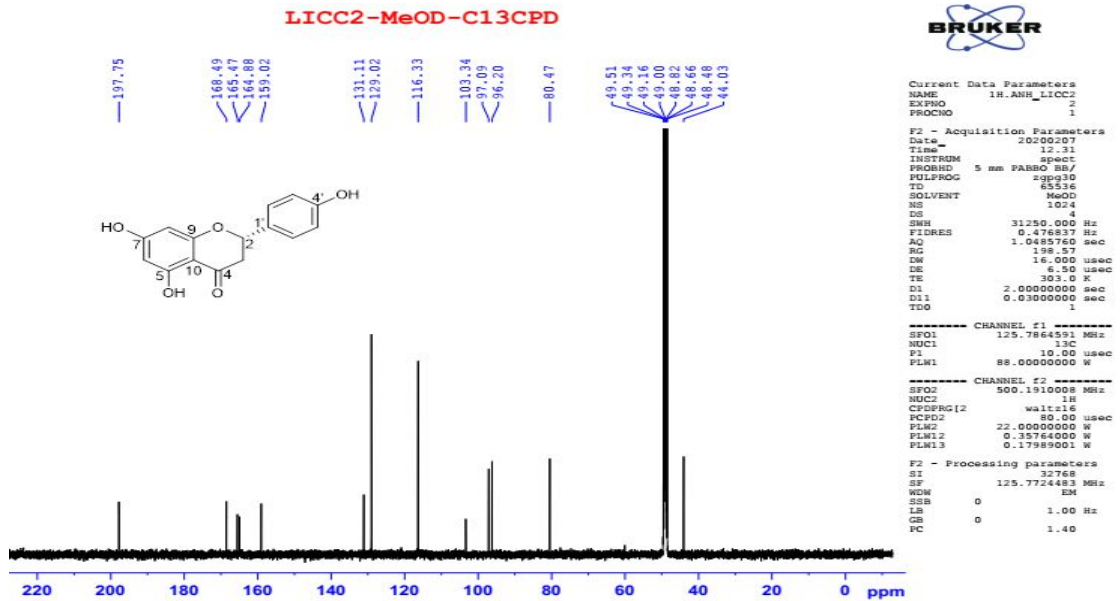
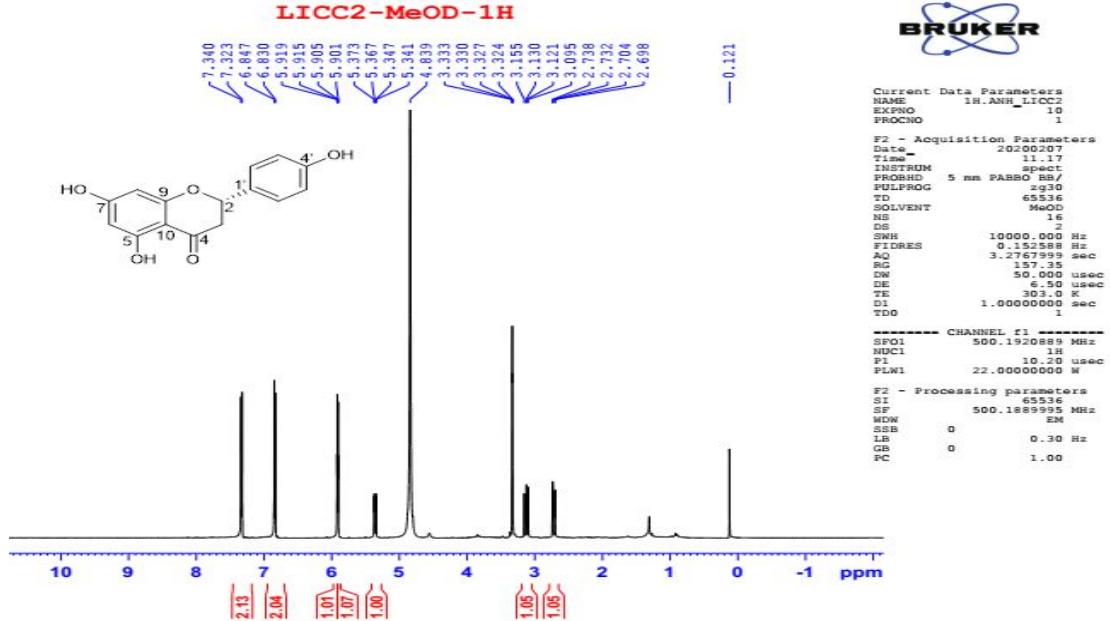
120. Ambriz-Perez D.L., Leyva-Lopez N., Gutierrez-Grijalva E.P., Heredia J.B., 2016, Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review, *Cogent Food & Agriculture*, 2, pp. 1-14.
121. Bodet C., La V. D., Epifano F., Grenier D., 2008, Naringenin has anti-inflammatory properties in macrophage and ex vivo human whole-blood models., *Journal of Periodontal Research*, 43, pp. 400-407.
122. Tang X.L., Liu J.X., Dong W., Li P., Li L., Hou J.C., 2015, Protective effect of kaempferol on LPS plus ATP-induced inflammatory response in cardiac fibroblasts, *Inflammation*, 38, pp. 94-101.
123. Yu Y.S., Hsu C.L., Yen G.C., 2009, Anti-inflammatory effects of the roots of *Alpinia pricei* Hayata and its phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp. 7673-7680.
124. Xiao X.S., Shi D.B., Liu L., Wang J., Xie X., Kang T., Deng W., Tao Q., 2011, Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling, *PloS One*, 6, pp. 22934-22937.
125. Chang W.T., Huang W.C., Liou C.J., 2012, Evaluation of the anti-inflammatory effects of phloretin and phlorizin in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages, *Food Chemistry*, 134, pp. 972-979.
126. Hammer K.D.P., Hillwig M.L., Solco A.K.S., Dixon P.M., Delate K., Murphy P.A., Wurtele E.S., Birt D.F., 2007, Inhibition of prostaglandin E2 production by anti-inflammatory *Hypericum perforatum* extracts and constituents in RAW264.7 mouse macrophage cells, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, pp. 7323-7331.
127. Jeong G.S., Li B., Lee D.S., Kim K.H., Lee K., Lee K.R., Kim Y.C., 2010, Cytoprotective and anti-inflammatory effects of spinasterol via the induction of heme oxygenase-1 in murine hippocampal and microglial cell lines, *International Immunopharmacology*, 10, pp. 1587-1594.
128. Su X., Liu B., Gong F., Yin J., Sun Q., Gao Y., Lv Z., Wang X., 2019, Isofraxidin attenuates IL-1 $\beta$ -induced inflammatory response in human nucleus pulposus cells, *Journal of Cellular Biochemistry*, 8, pp. 28604-28608.
129. Ortiz-Andrade R.R., Sanchez-Salgado J.C., Navarrete-Vazquez G., Webster S.P., Binnie M., Garcia-Jimenez S., Leon-Rivera I., Cigarroa-Vazquez P.,

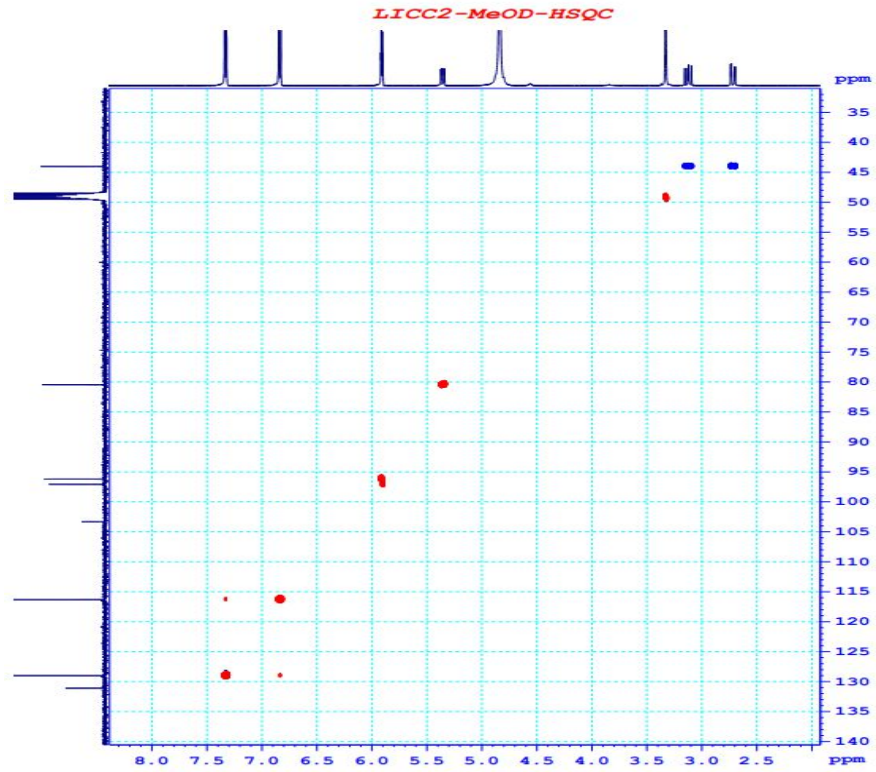
- Villalobos-Molina R., Estrada-Soto S., 2008, Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation, *Diabetes Obesity and Metabolism*, 10, pp. 1097-1104.
130. Potipiranun T., Adisakwattana S., Worawalai W., Ramadhan R., Phuwapraisirisan P., 2018, Identification of pinocembrin as an anti-glycation agent and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from fingerroot (*Boesenbergia rotunda*): The tentative structure-activity relationship towards MG-trapping activity, *Molecules*, 23, pp. 3365-3370.
131. Govindasamy C., Khalid S.A., Mohammed A.A., Chinnadurai V., 2015, Antidiabetic effect of kaempferol a flavonoid compound, on streptozotocin-induced diabetic rats with special reference to glycoprotein components, *Progress in Nutrition*, 17, pp. 50-57.
132. Habtemariam S., 2011,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of kaempferol-3-O-rutinoside, *Natural Product Communication*, 6, pp. 201-203.
133. Zhang L., Zhang A.T., Yin Y.C., Xing S., Li W.N., Fu X.Q., 2018, Hypoglycemic effect and mechanism of isoquercitrin as an inhibitor of dipeptidyl peptidase-4 in type 2 diabetic mice, *RSC Advances*, 8, pp. 14967-1497.

## PHỤ LỤC

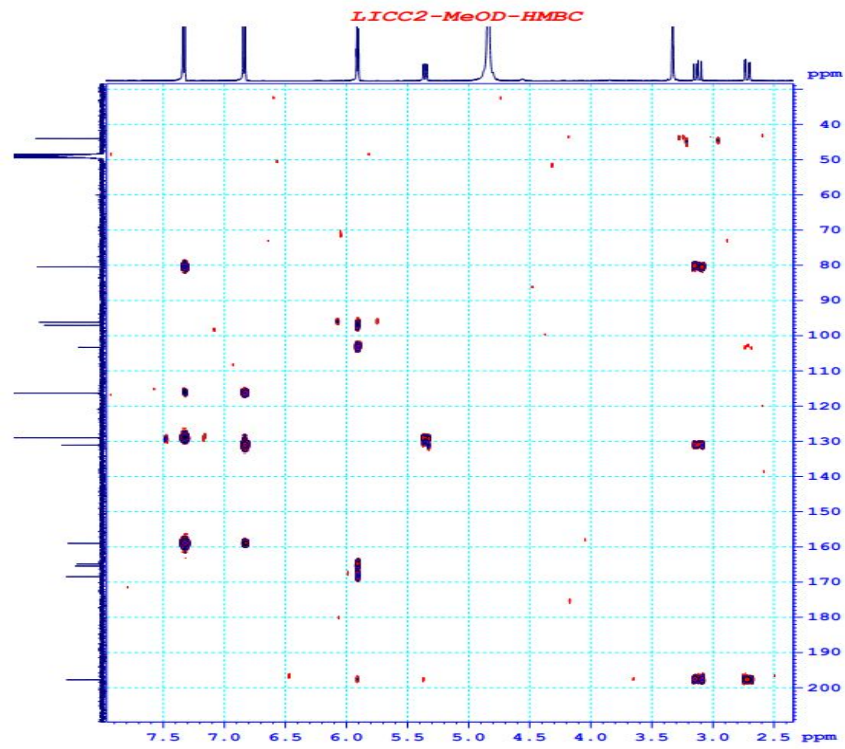
1. Phụ lục phổ các chất phân lập từ loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)

## ❖ Phụ lục phổ chất IC1

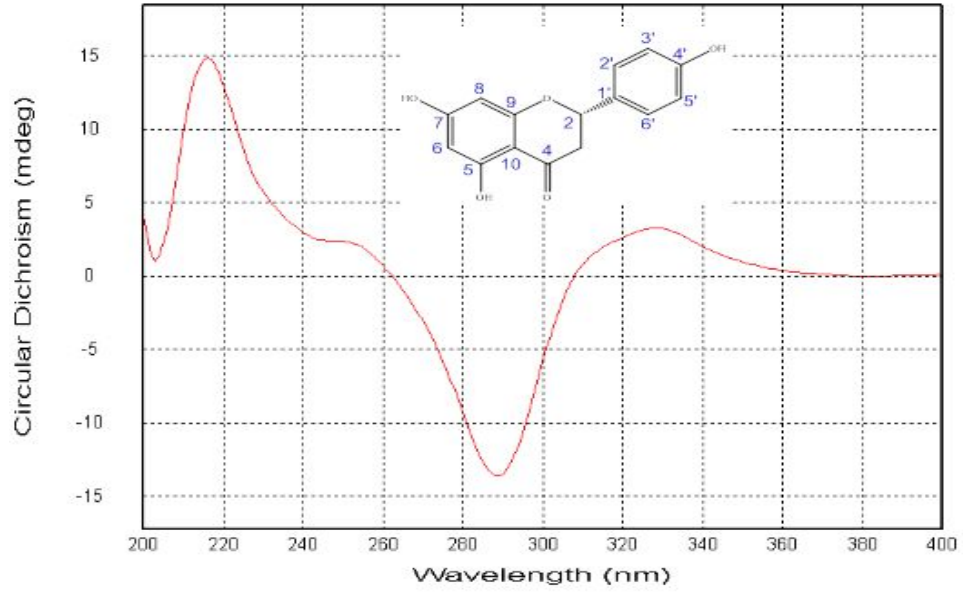




Phổ HSQC của hợp chất (S)-naringenin (IC1)



Phổ HMBC của hợp chất (S)-naringenin (IC1)

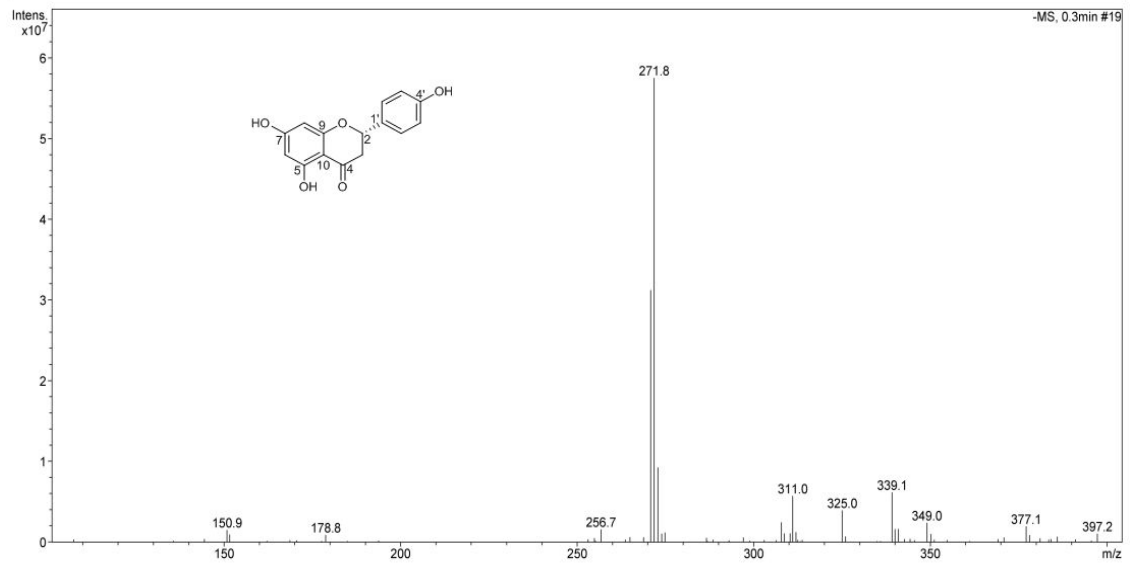


Phổ CD của hợp chất (*S*)-naringenin (IC1)

**Analysis Name:** LICC2.d  
**Method:** Quang\_2020.m  
**Sample Name:** LICC2  
**Analysis Info:** Column Eclipse XDB-C18, 4.6 x150mm

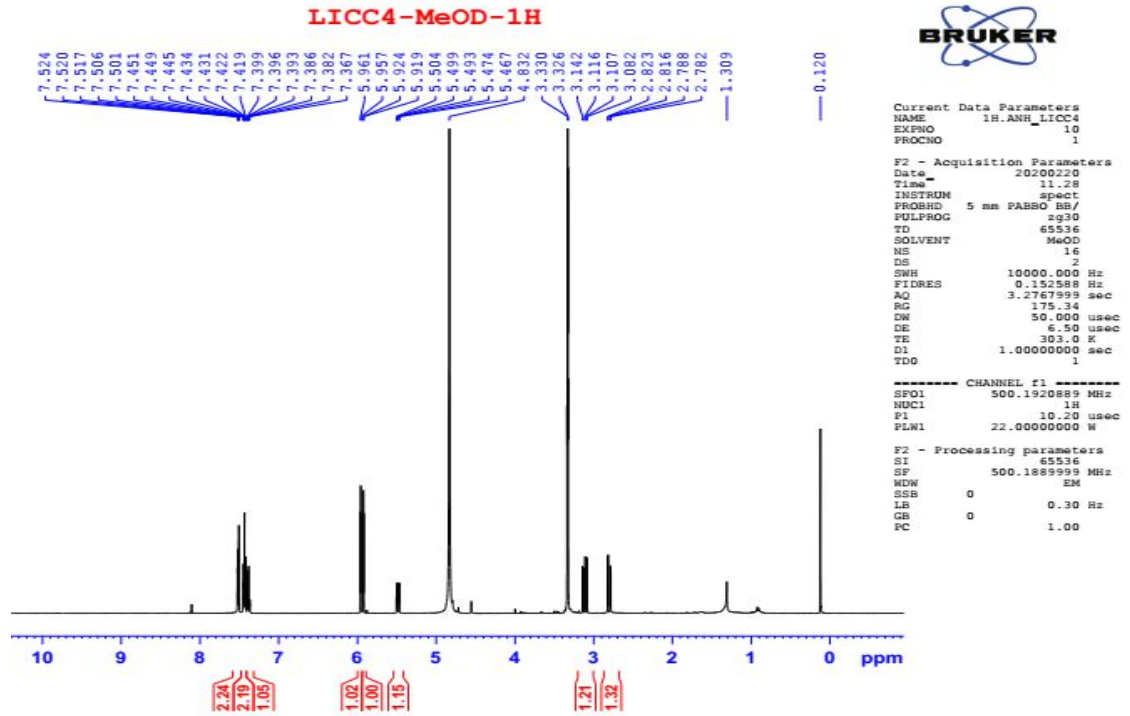
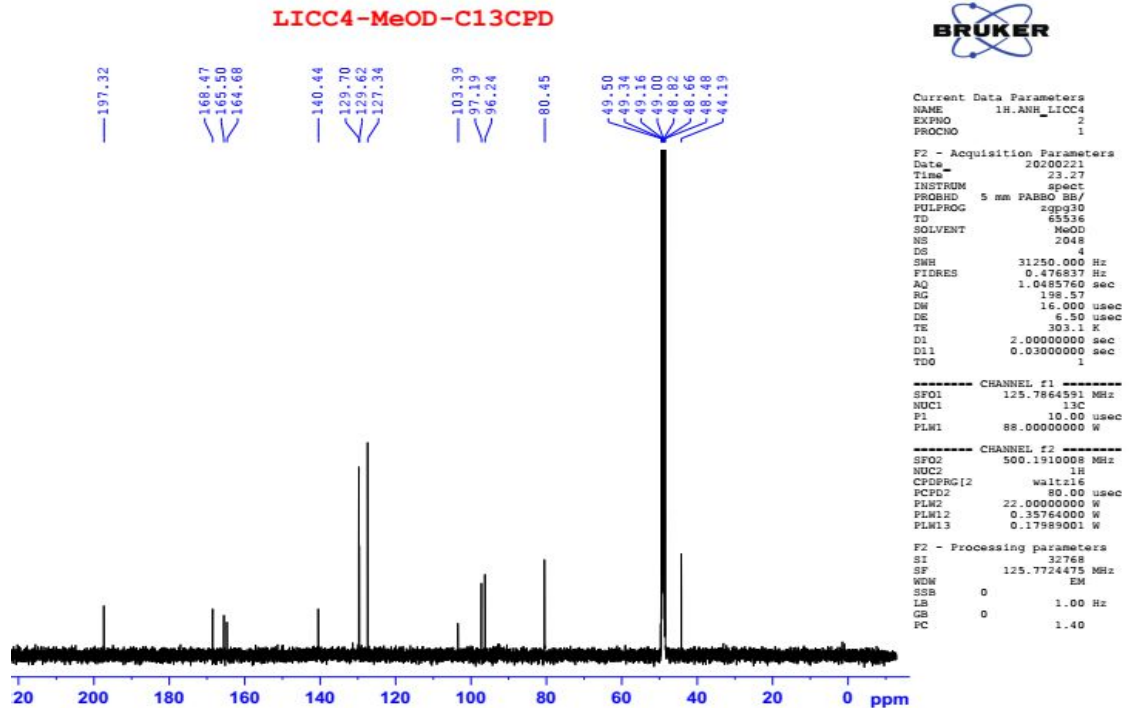
**Instrument:** LC-MSD-Trap-SL  
**Operator:** 2195410AE0000514

**Print Date:** 7/7/2020 3:02:05 PM  
**Acq. Date:** 7/7/2020 2:59:40 PM

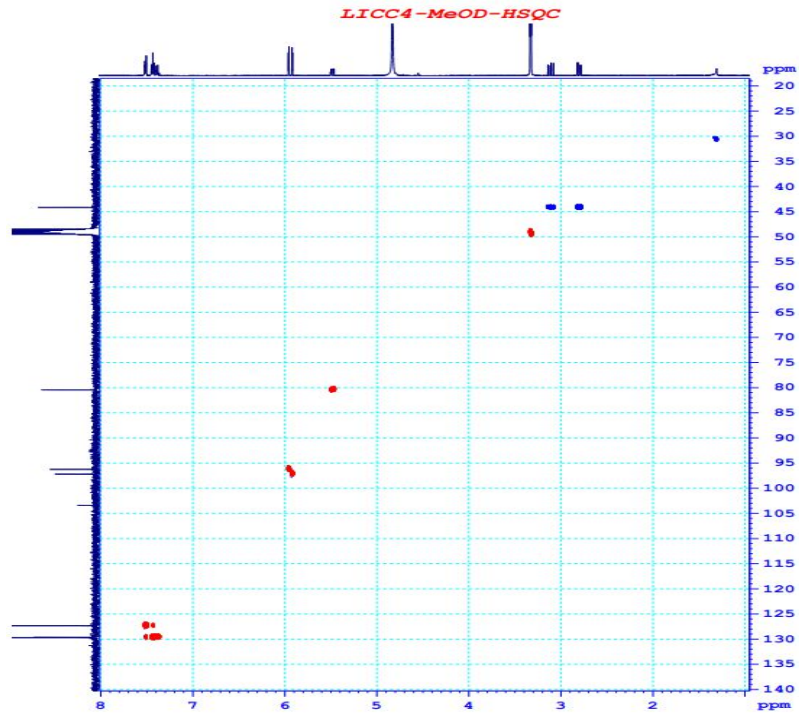
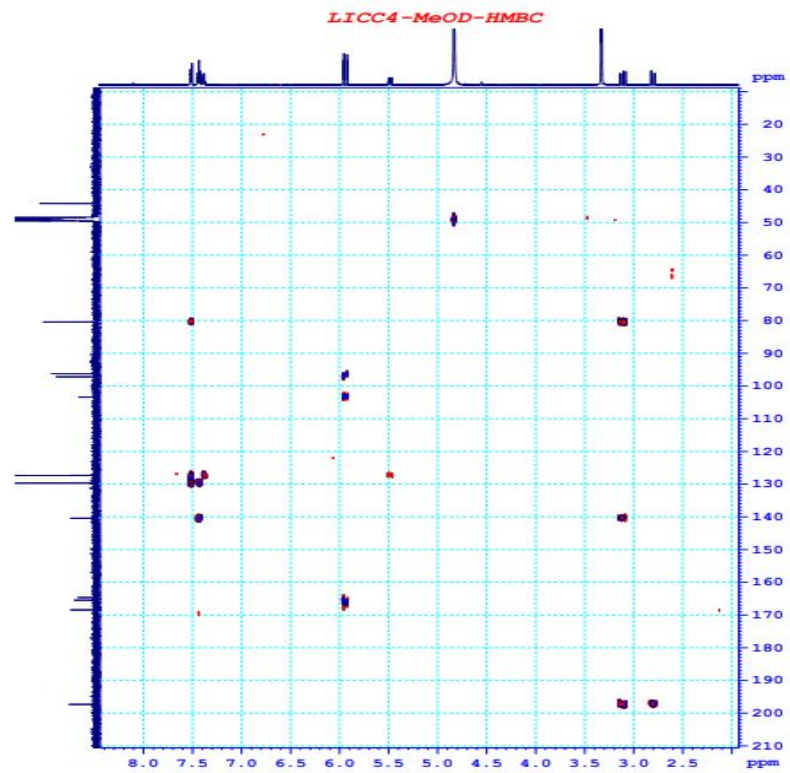


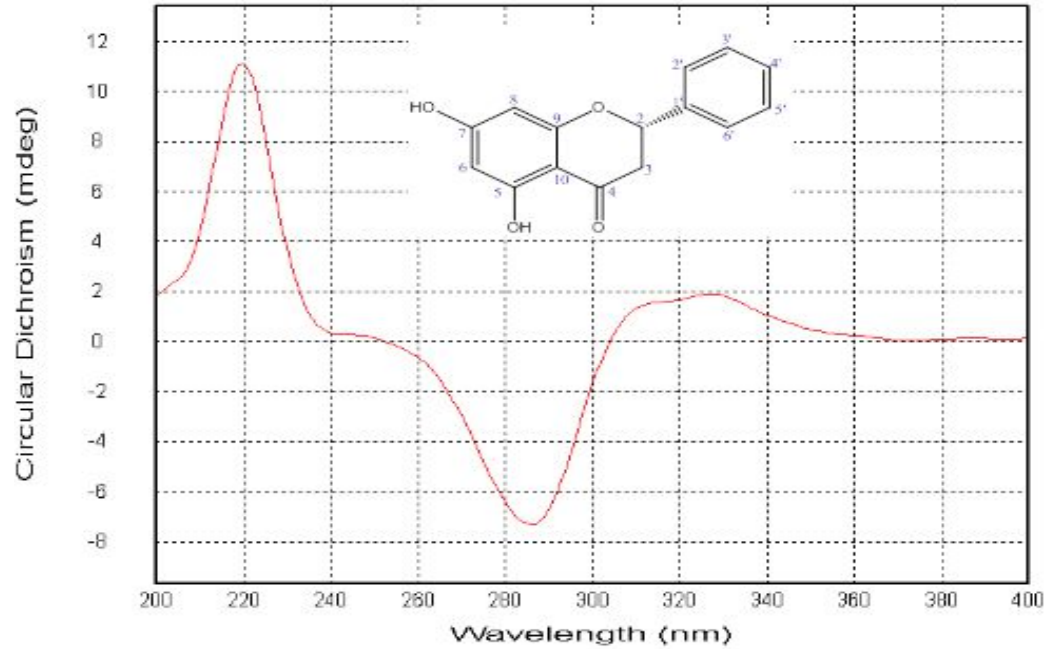
Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất (*S*)-naringenin (IC1)

❖ Phụ lục phổ chất IC2

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)-pinocembrin (IC2)Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (*S*)-pinocembrin (IC2)

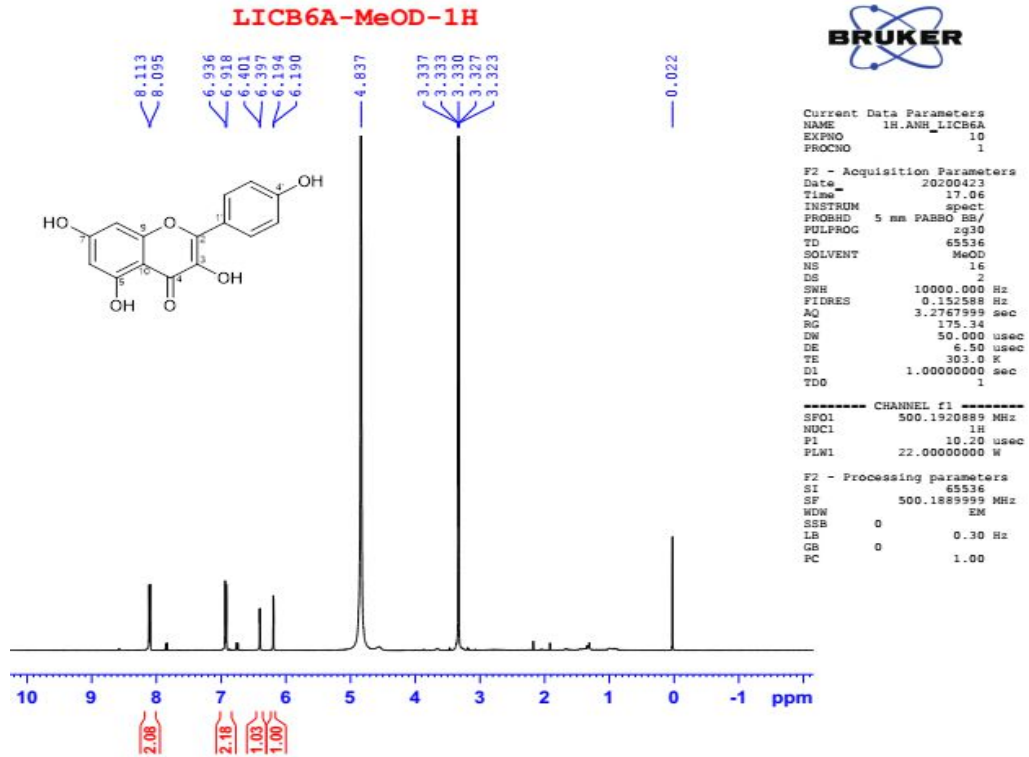


Phổ HSQC của hợp chất (*S*)-pinocembrin (IC2)Phổ HMBC của hợp chất (*S*)-pinocembrin (IC2)

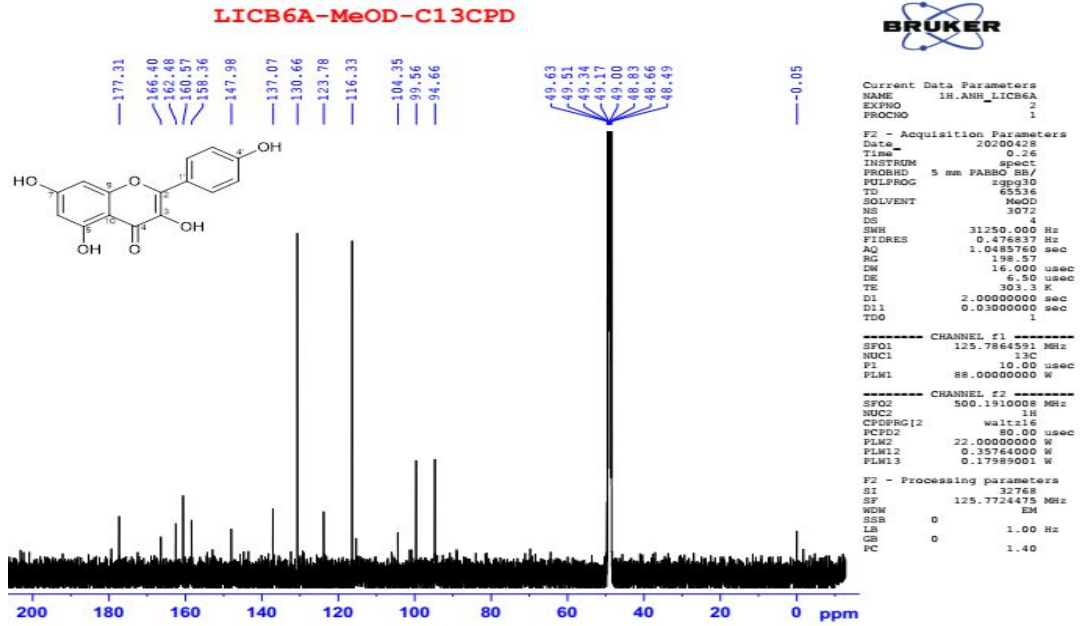


Phổ CD của hợp chất (S)-pinocembrin (IC2)

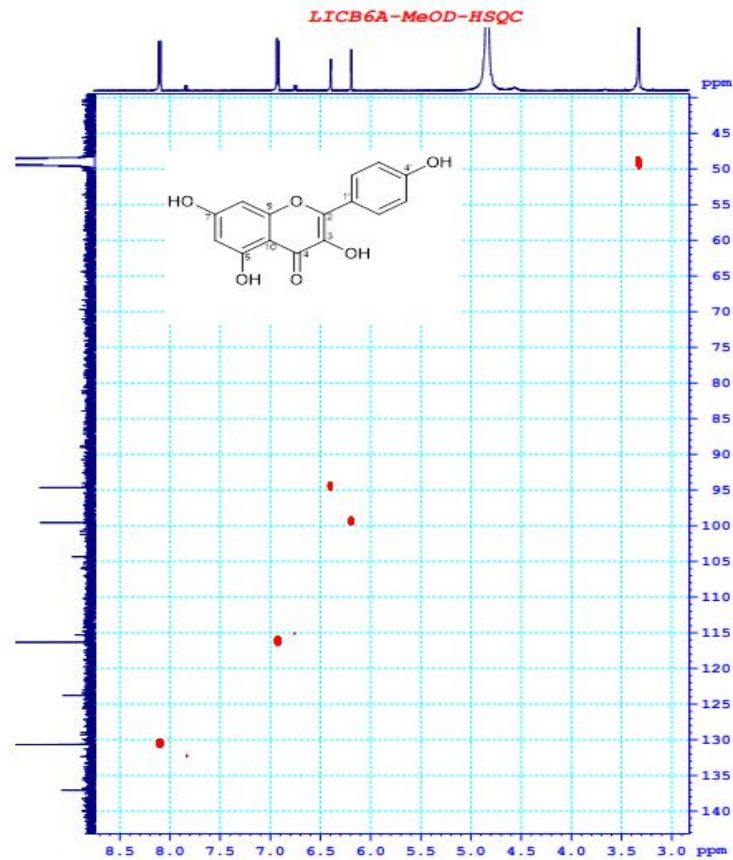
## ❖ Phụ lục phổ chất IC3

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol (IC3)



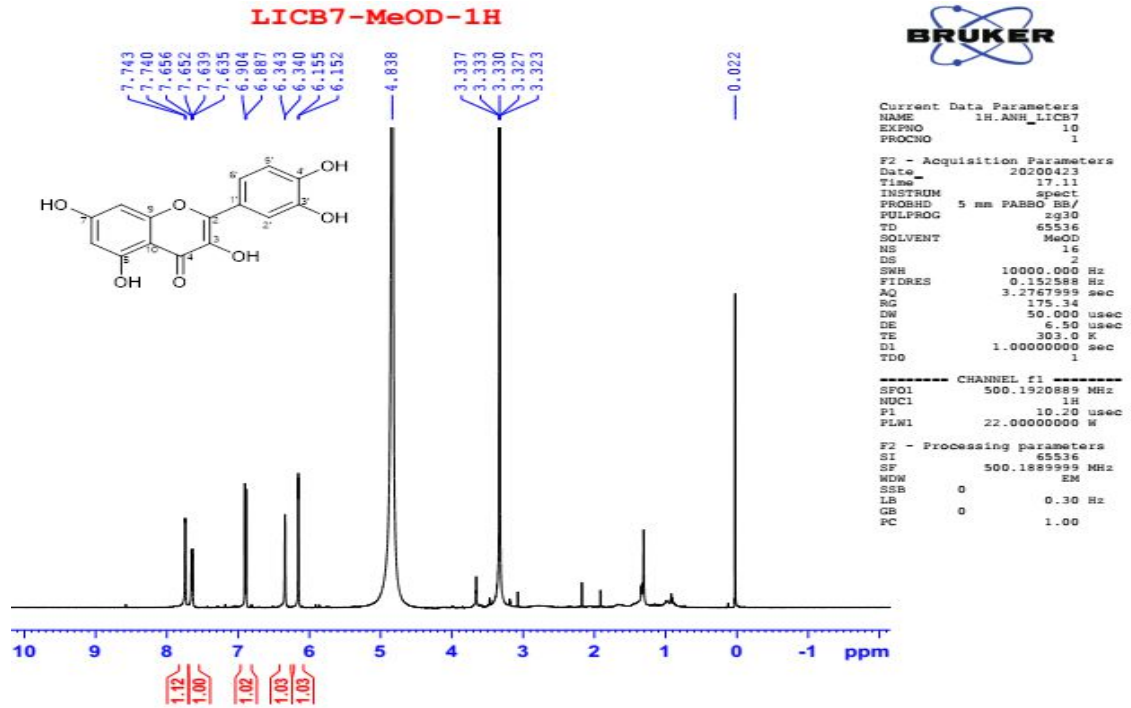


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol (IC3)

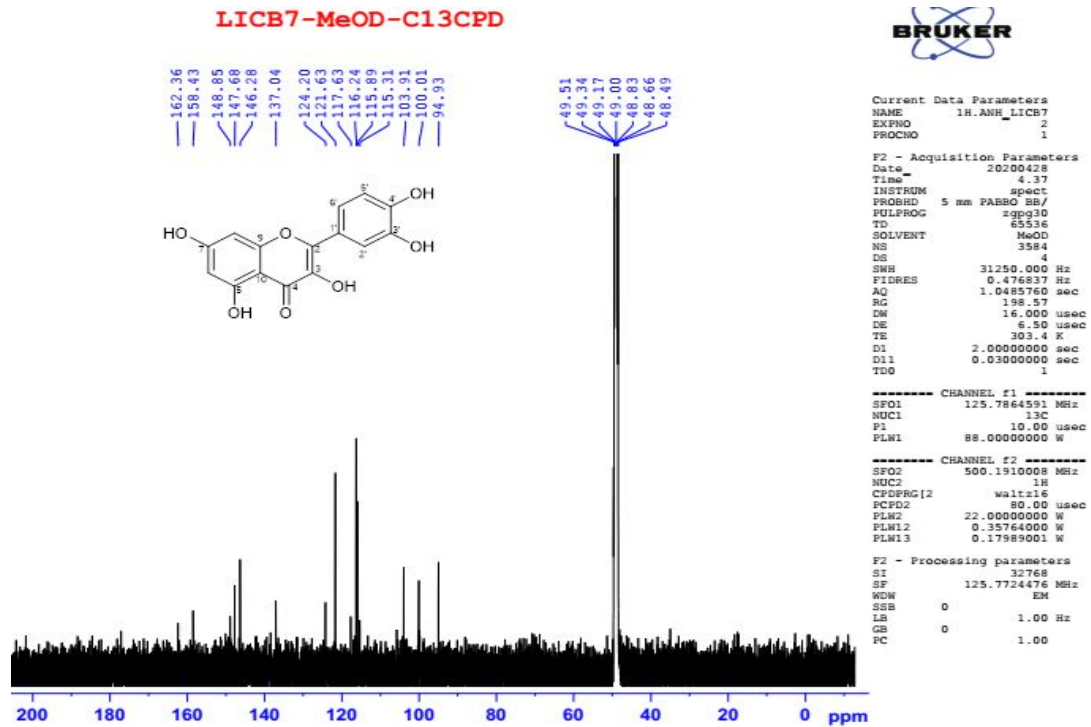


Phổ HSQC của hợp chất kaempferol (IC3)

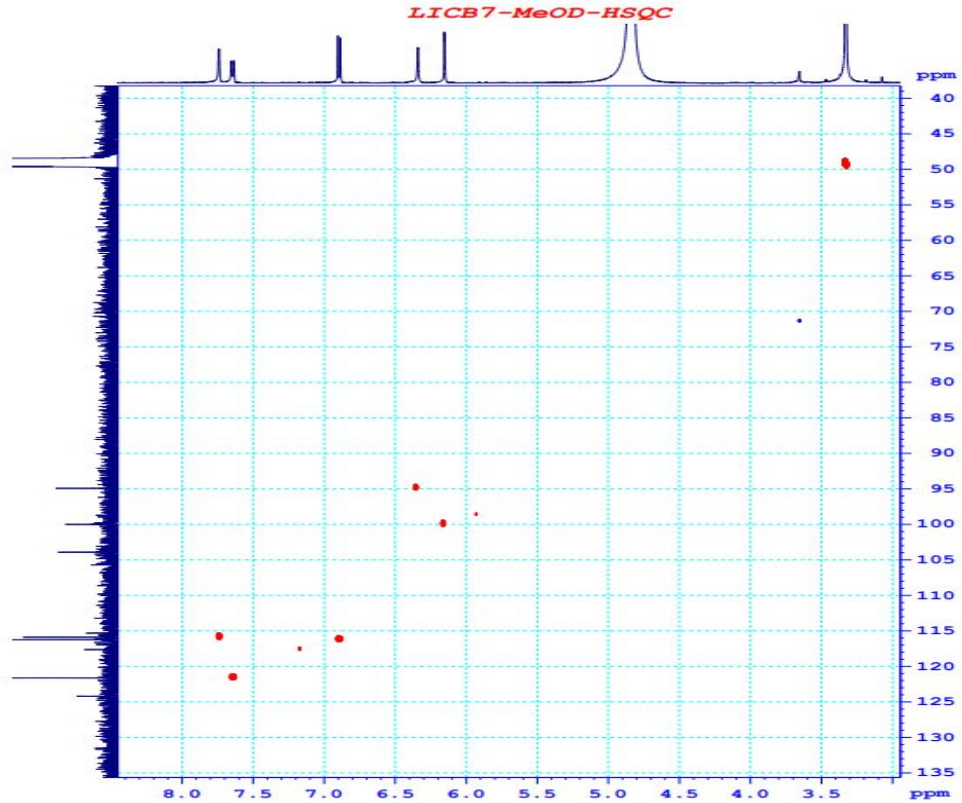
❖ Phụ lục phổ chất IC4



Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC3)

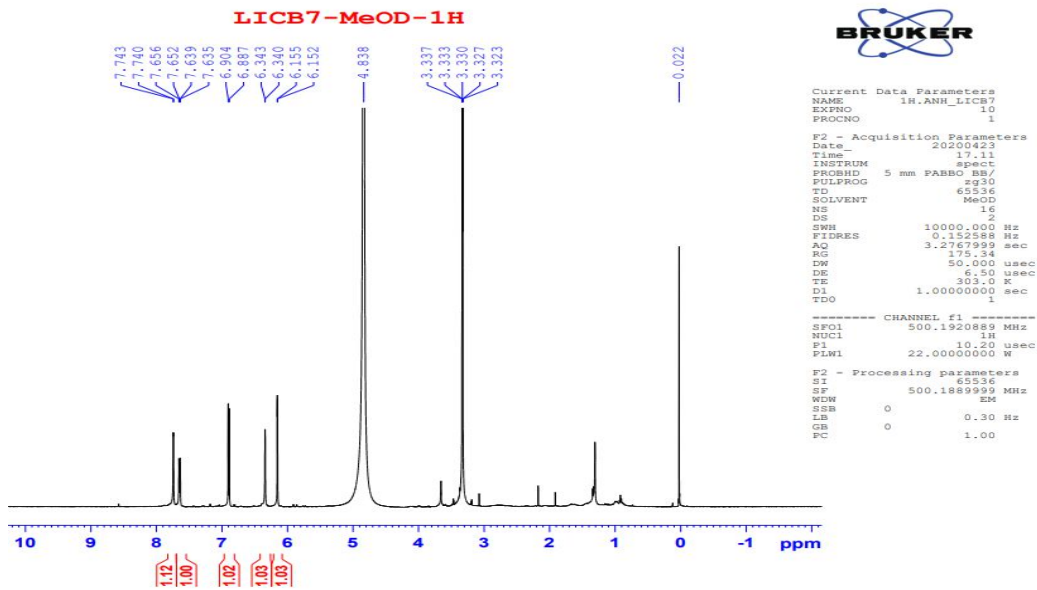


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC3)

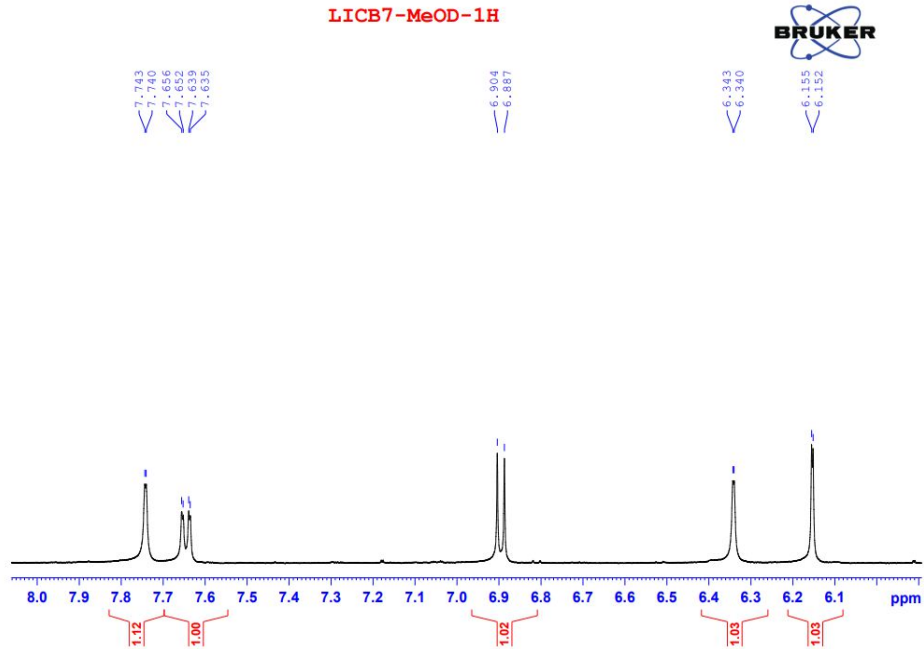


Phổ HSQC của hợp chất quercetin (IC3)

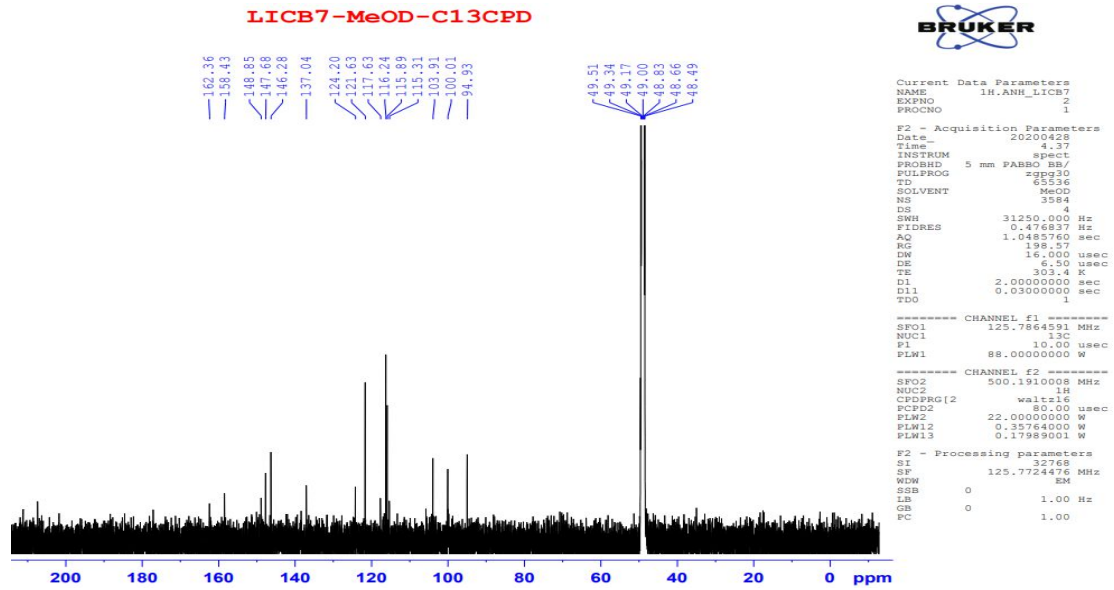
❖ Phụ lục phổ chất IC4



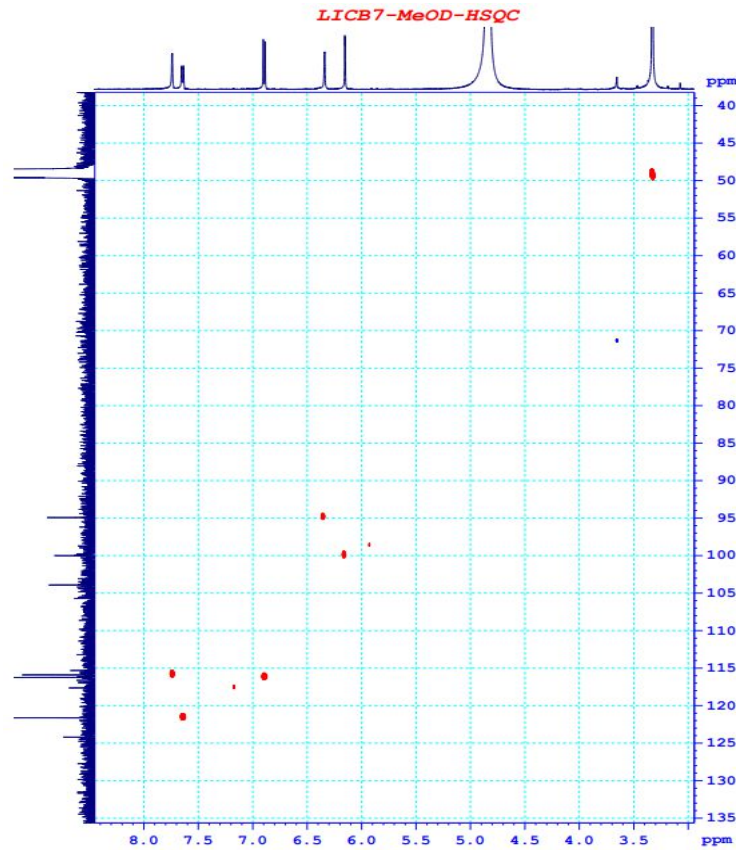
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC4)



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất quercetin (IC4)

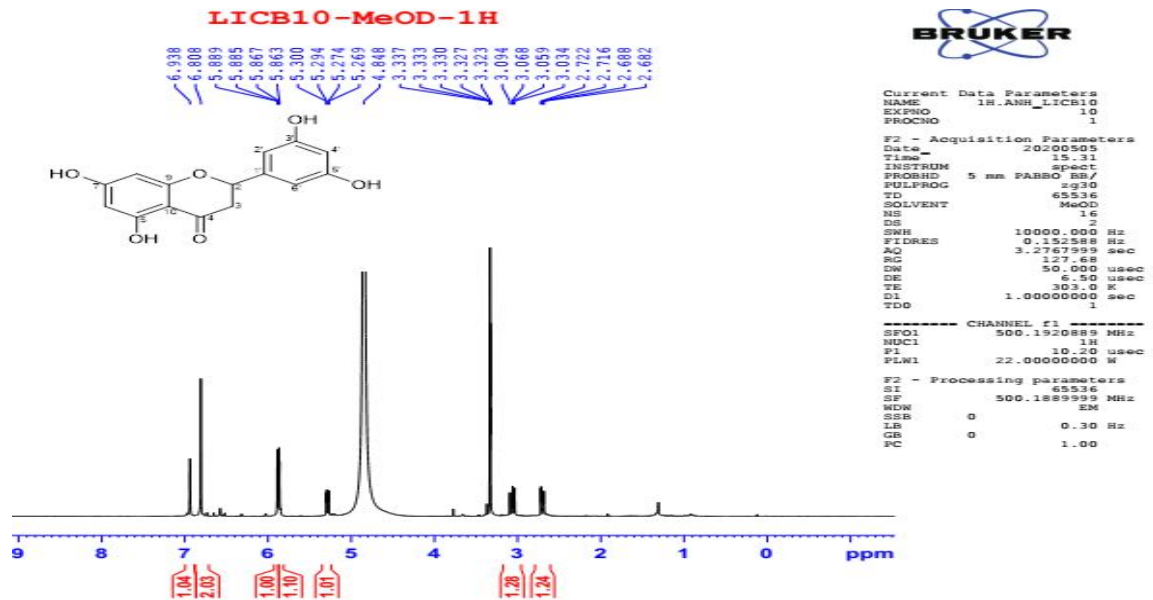


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất quercetin (IC4)



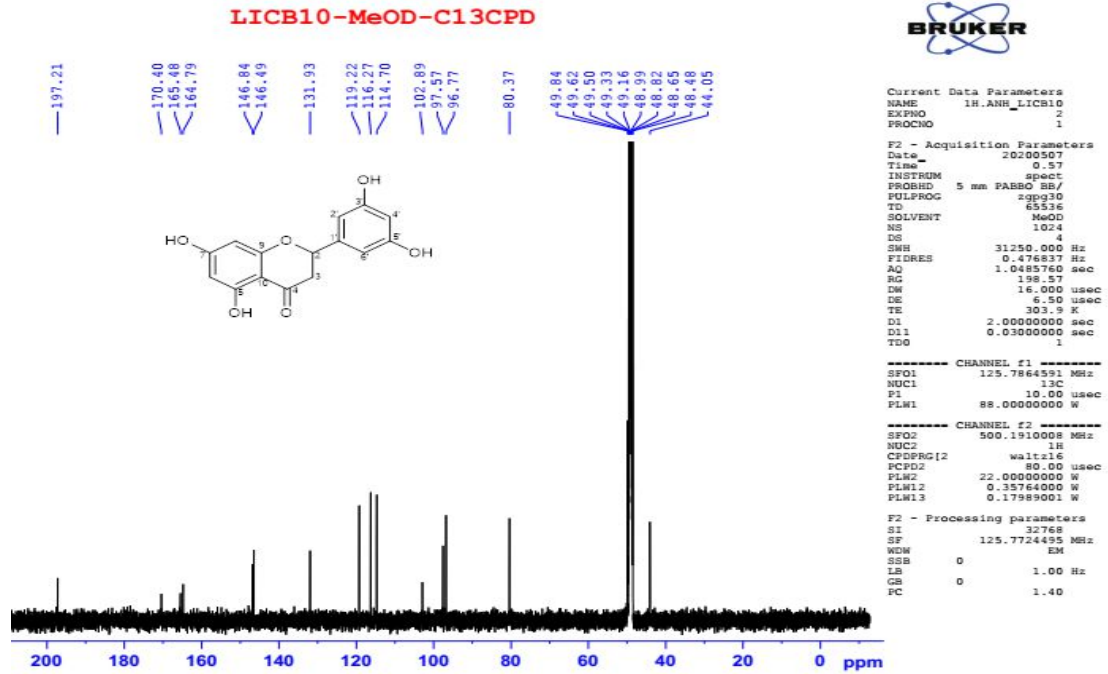
Phổ HSQC của hợp chất quercetin (IC4)

❖ Phụ lục phổ chất IC5

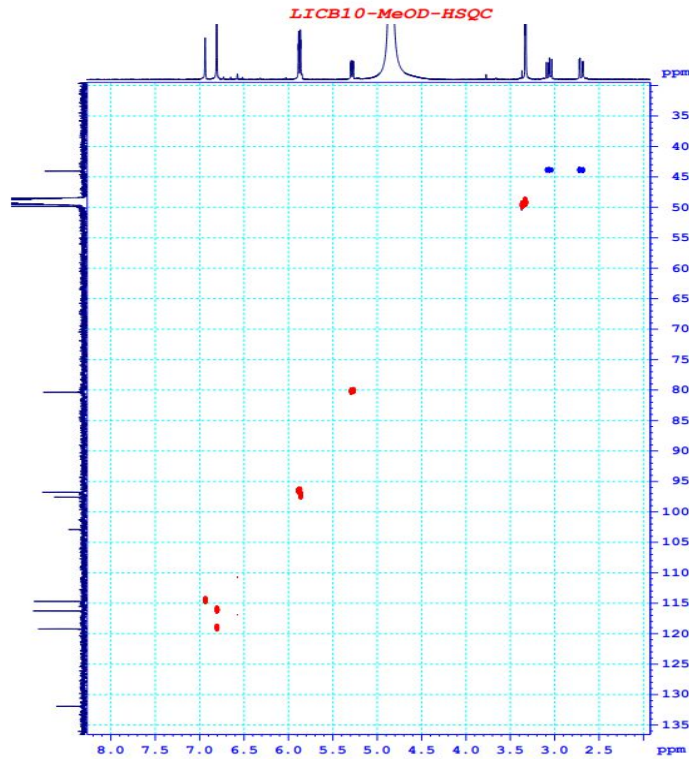


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5',7-tetrahydroxyflavanone (IC5)

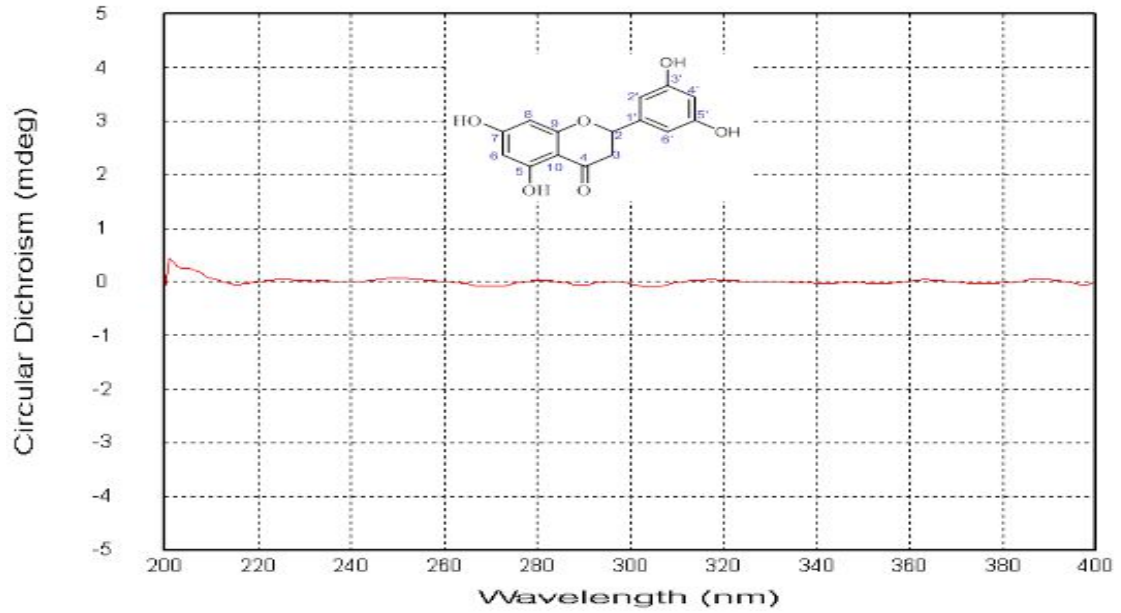




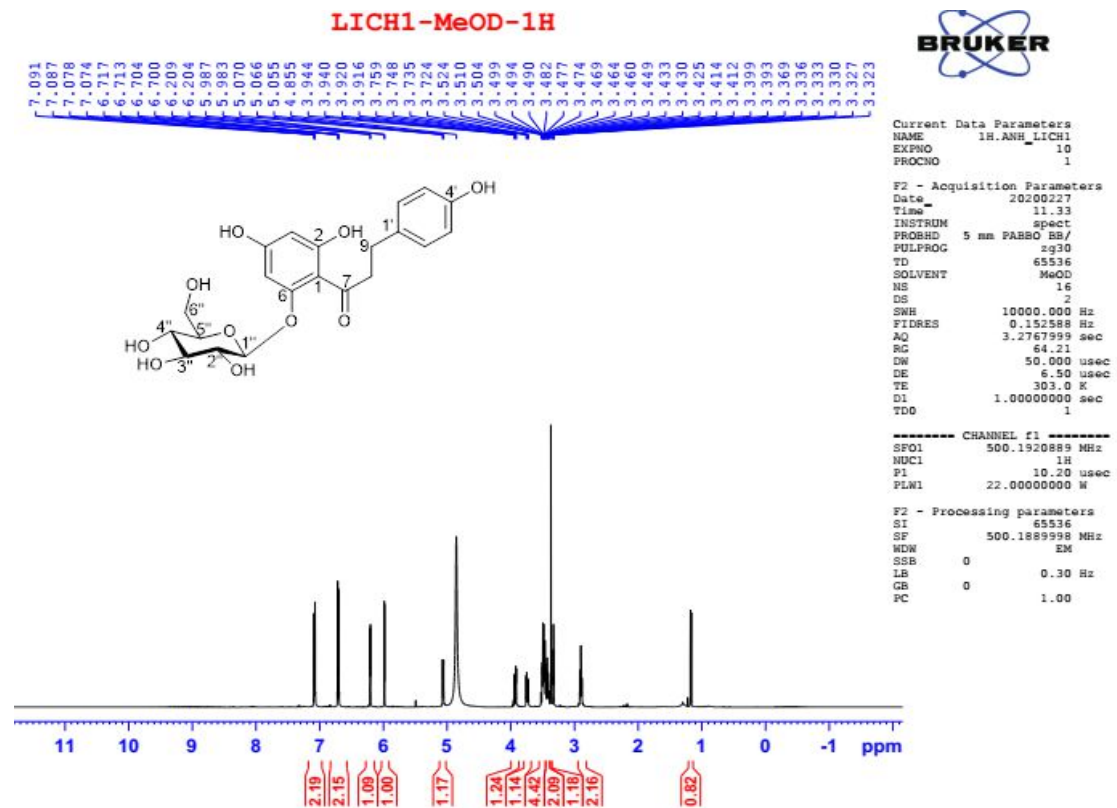
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5',7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**)



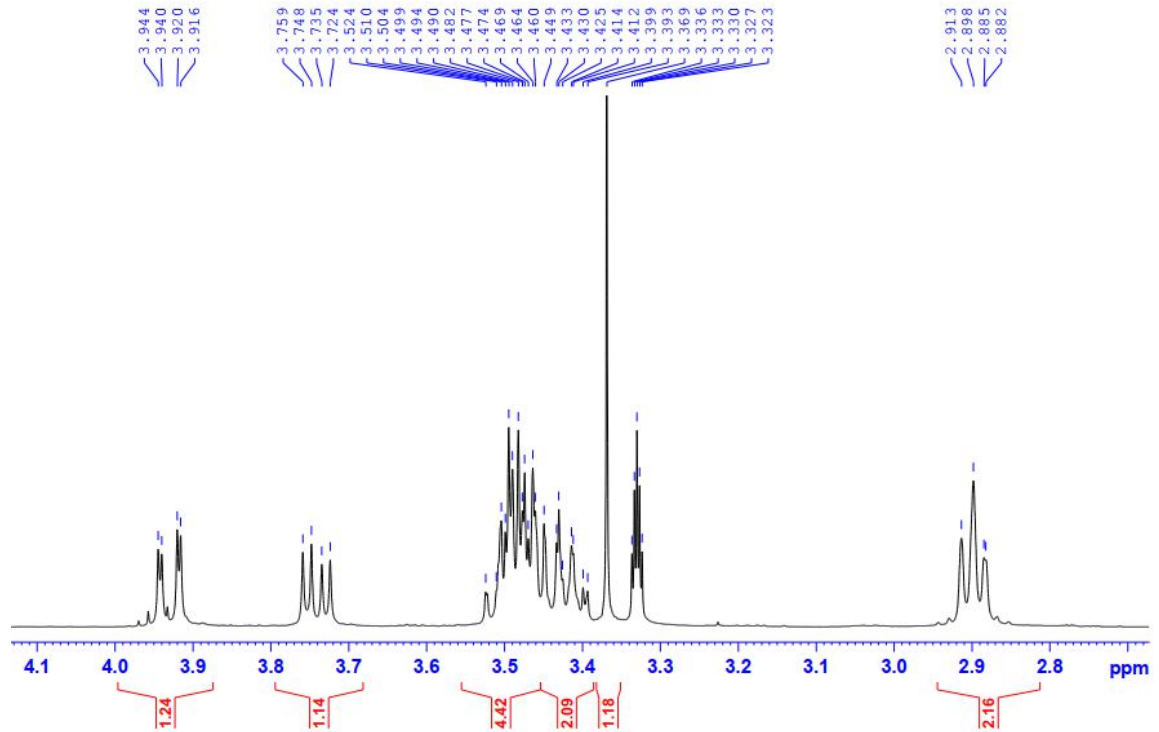
Phổ HSQC của hợp chất ( $\pm$ )-3',5',5',7-tetrahydroxyflavanone (**IC5**)



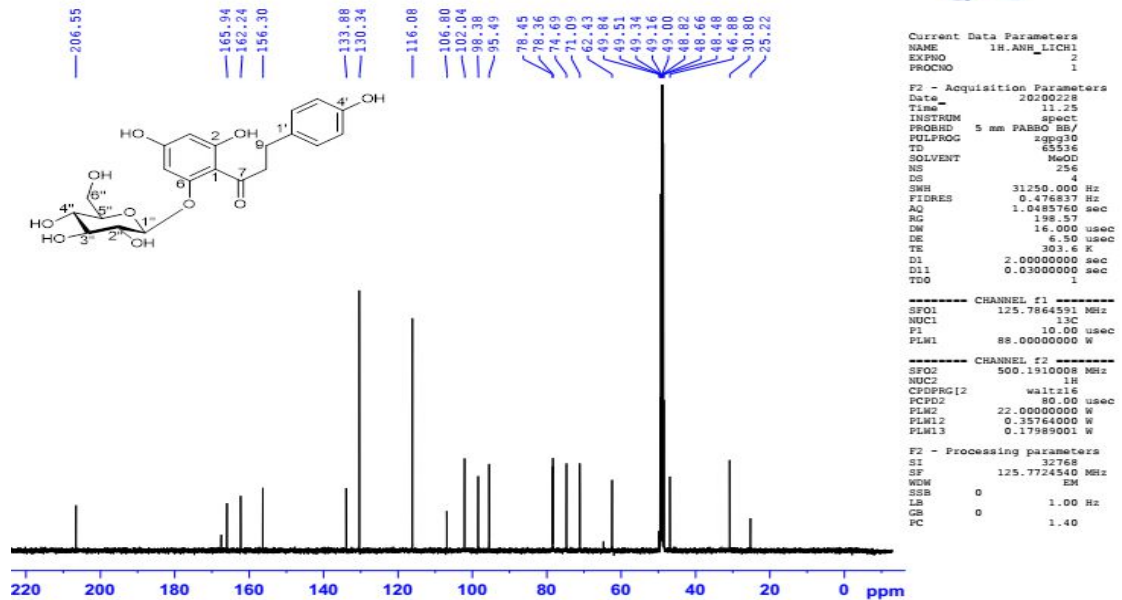
❖ Phụ lục phổ chất IC6



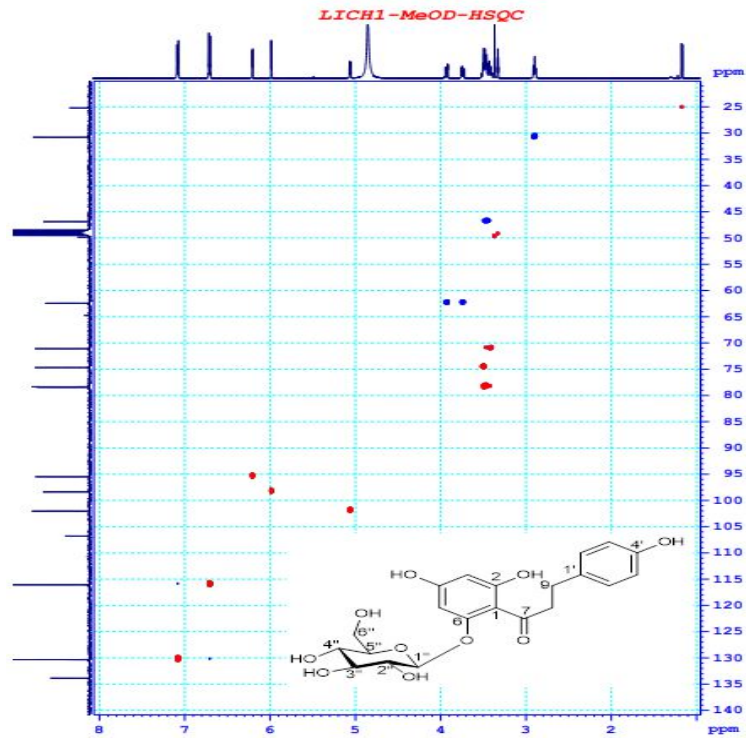
## LICH1-MeOD-1H

Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất phlorizin (IC6)

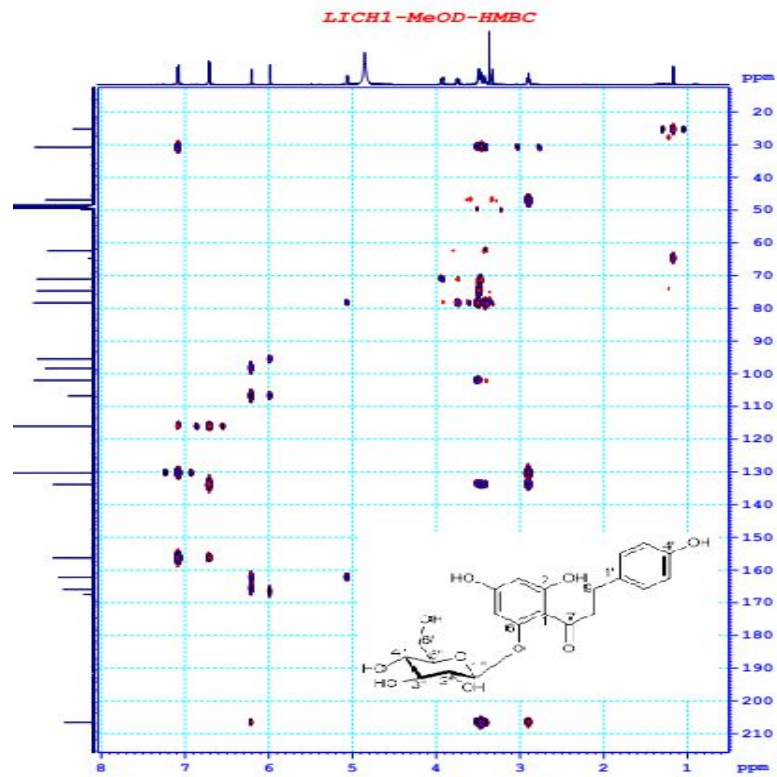
## LICH1-MeOD-C13CPD

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất phlorizin (IC6)



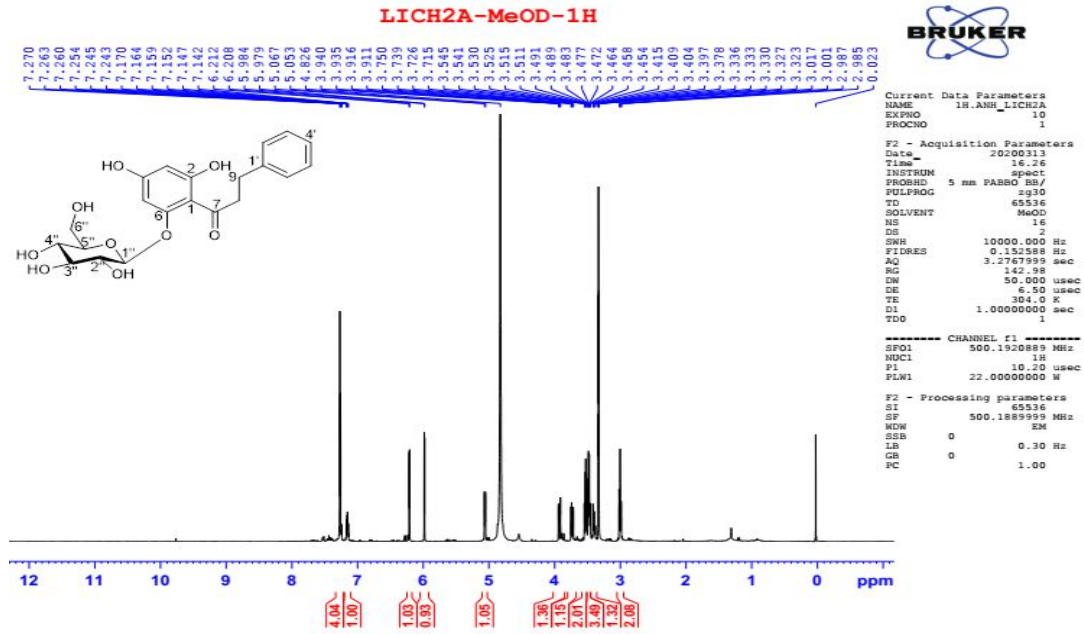


Phổ HSQC của hợp chất phlorizin (IC6)

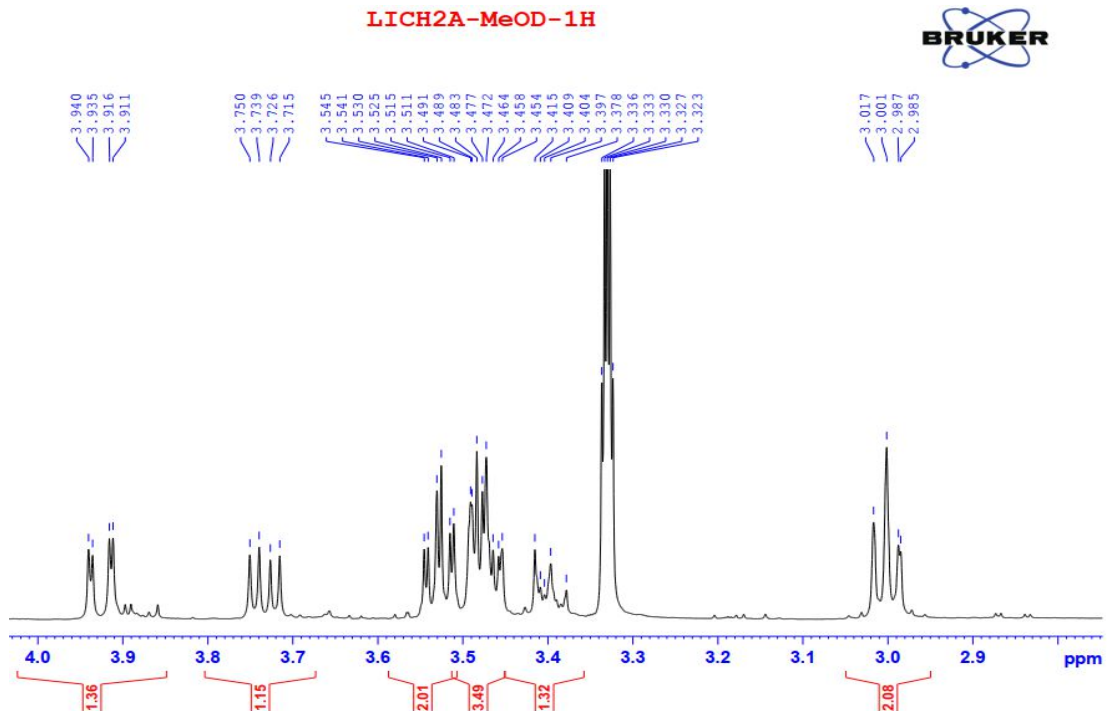


Phổ HMBC của hợp chất phlorizin (IC6)

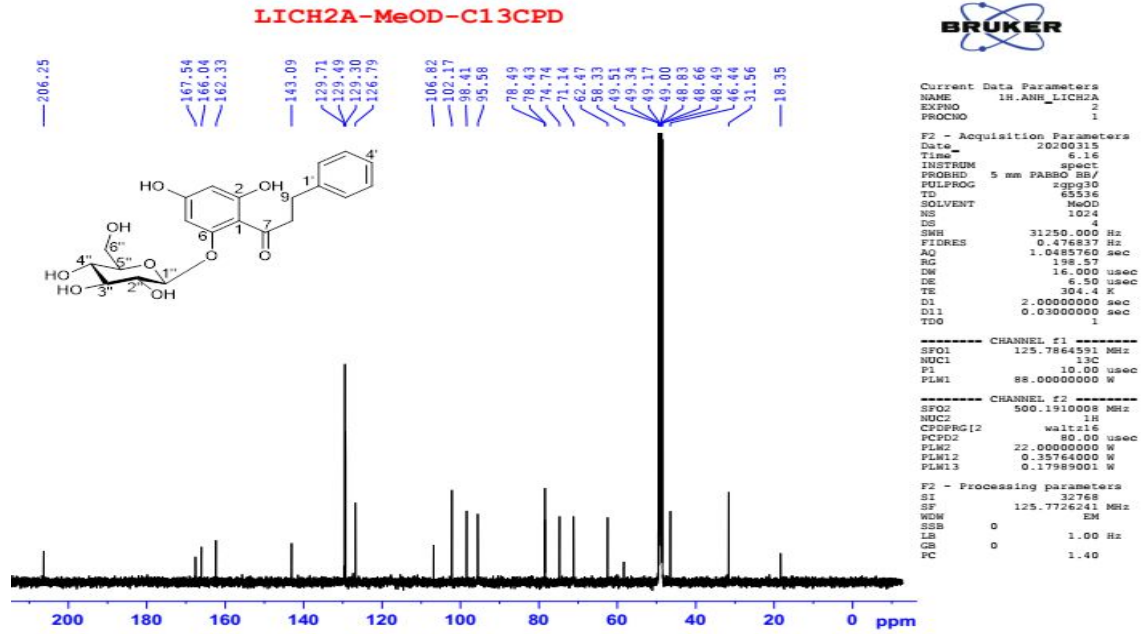
❖ Phụ lục phổ chất IC7



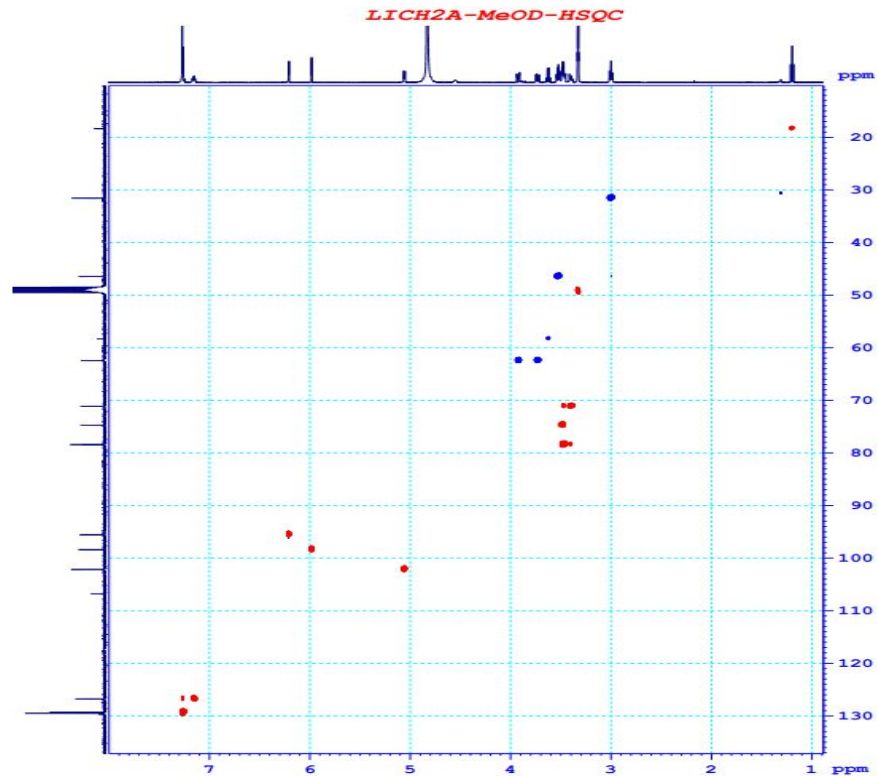
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)



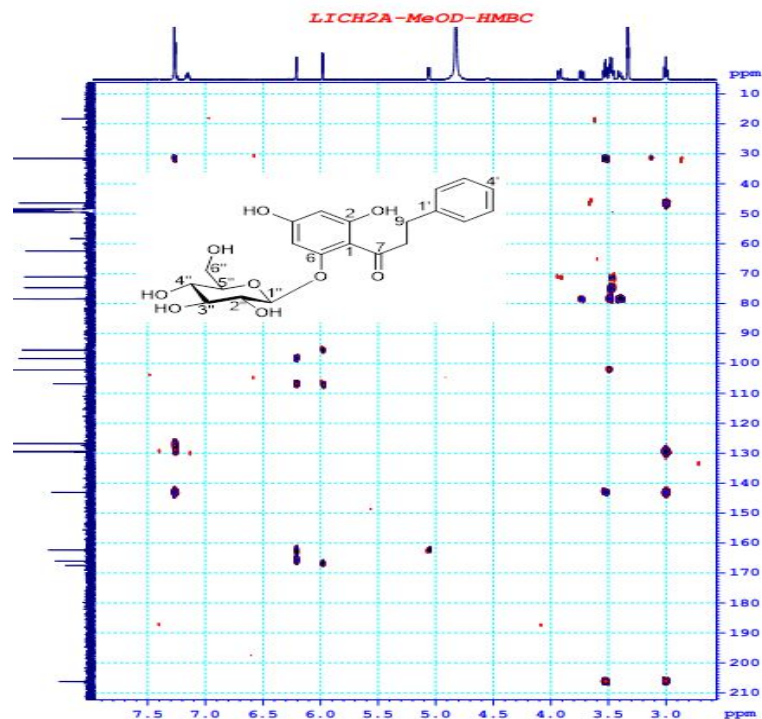
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)



Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**1C7**)



Phổ HSQC của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**1C7**)

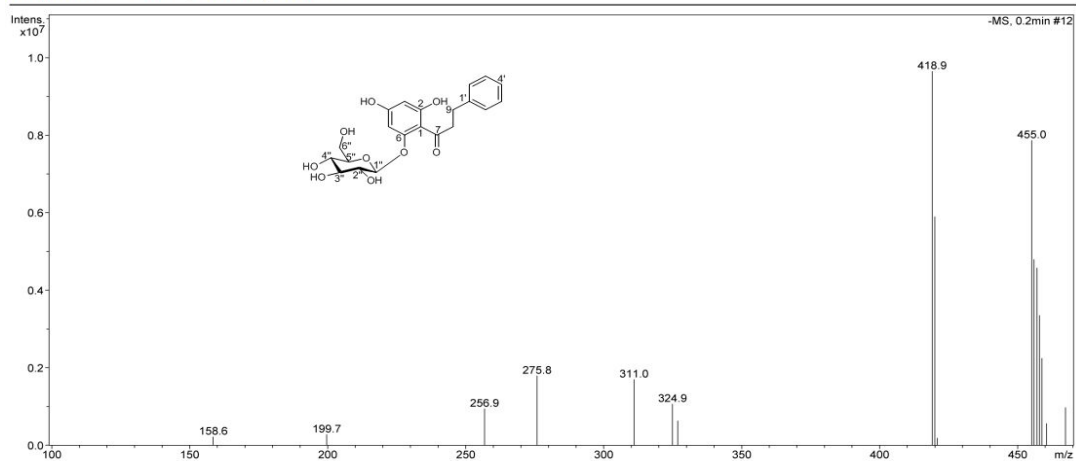


Phổ HMBC của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)

**Analysis Name:** LICH2a.d  
**Method:** Quang\_2020.m  
**Sample Name:** LICH2a  
**Analysis Info:** Column Eclipse XDB-C18, 4.6 x150mm

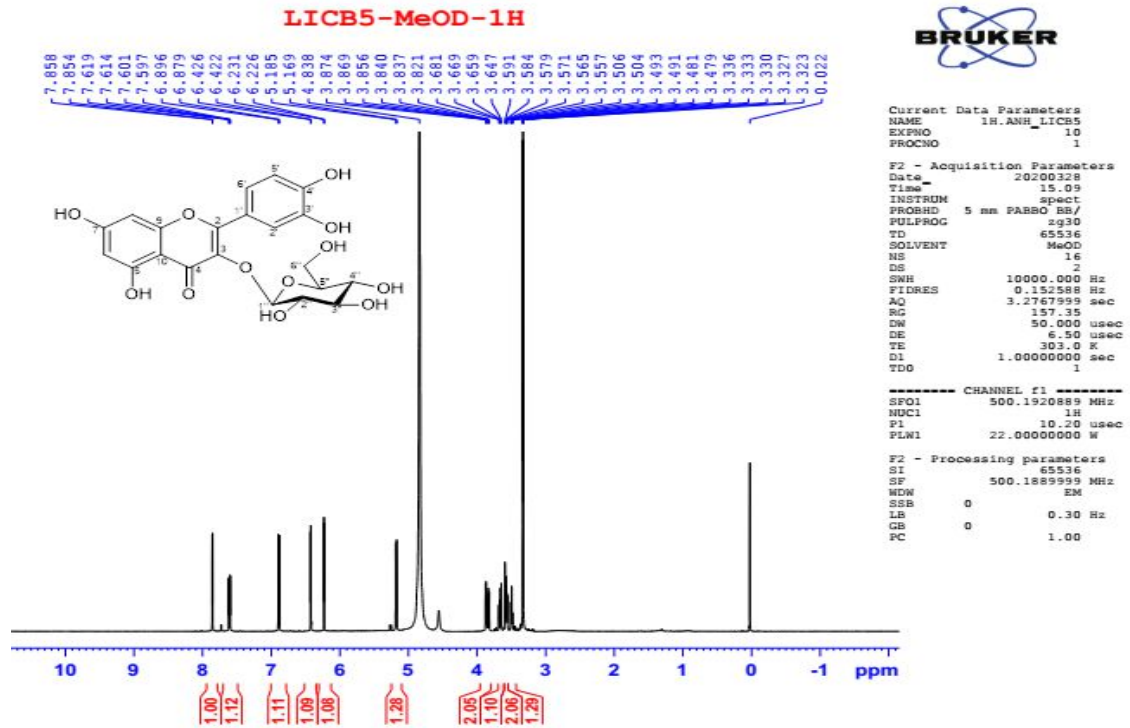
**Instrument:** LC-MSD-Trap-SL  
**Operator:** 2195410AE0000514

**Print Date:** 7/7/2020 3:14:30 PM  
**Acq. Date:** 7/7/2020 3:11:30 PM

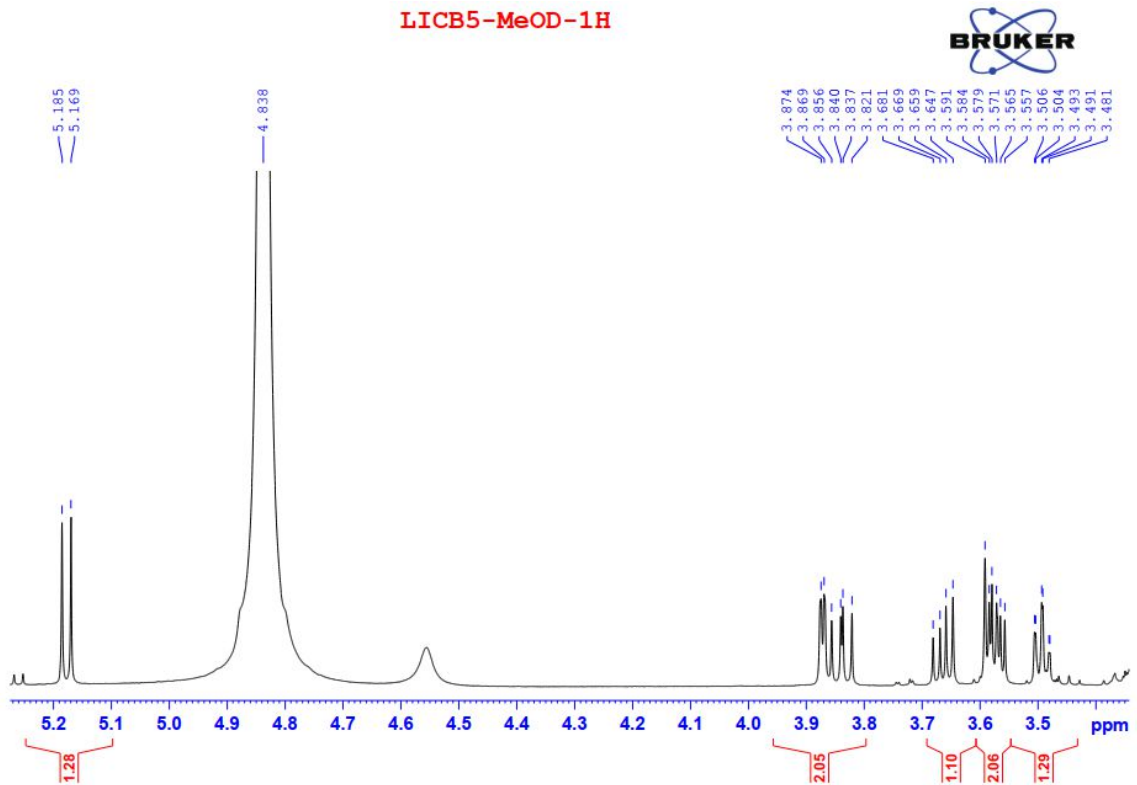


Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất 2,4-dihydroxydihydrochalcone-6- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IC7**)

❖ Phụ lục phổ chất **IC8**

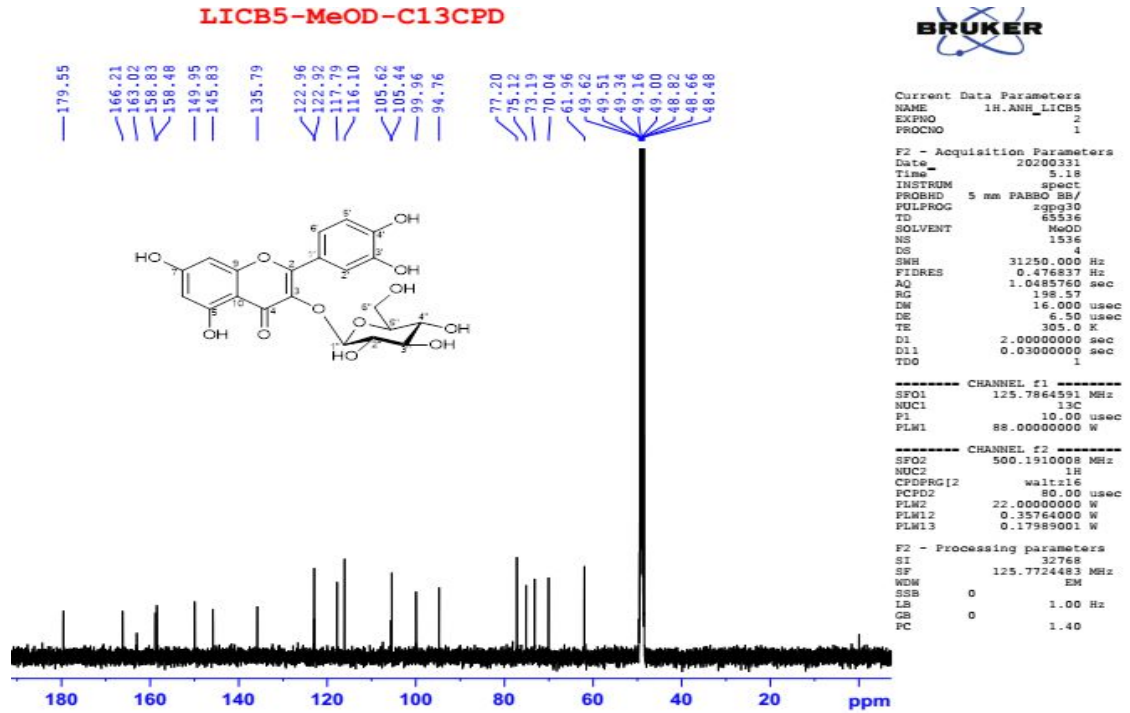


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin (IC8)

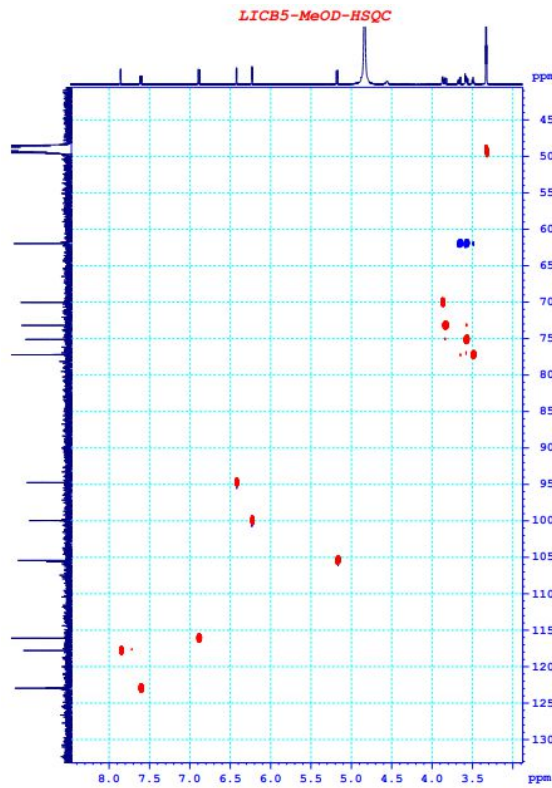


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất isoquercitrin (IC8)

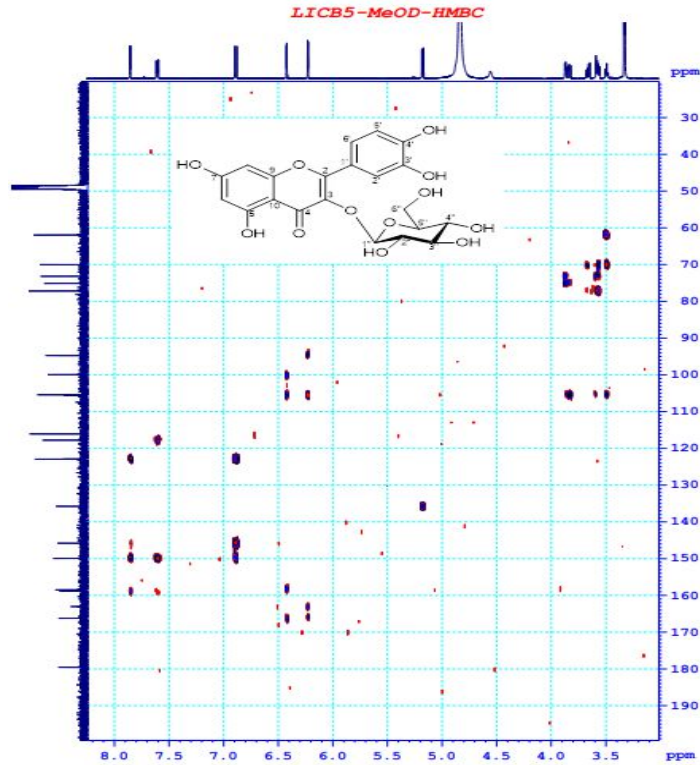




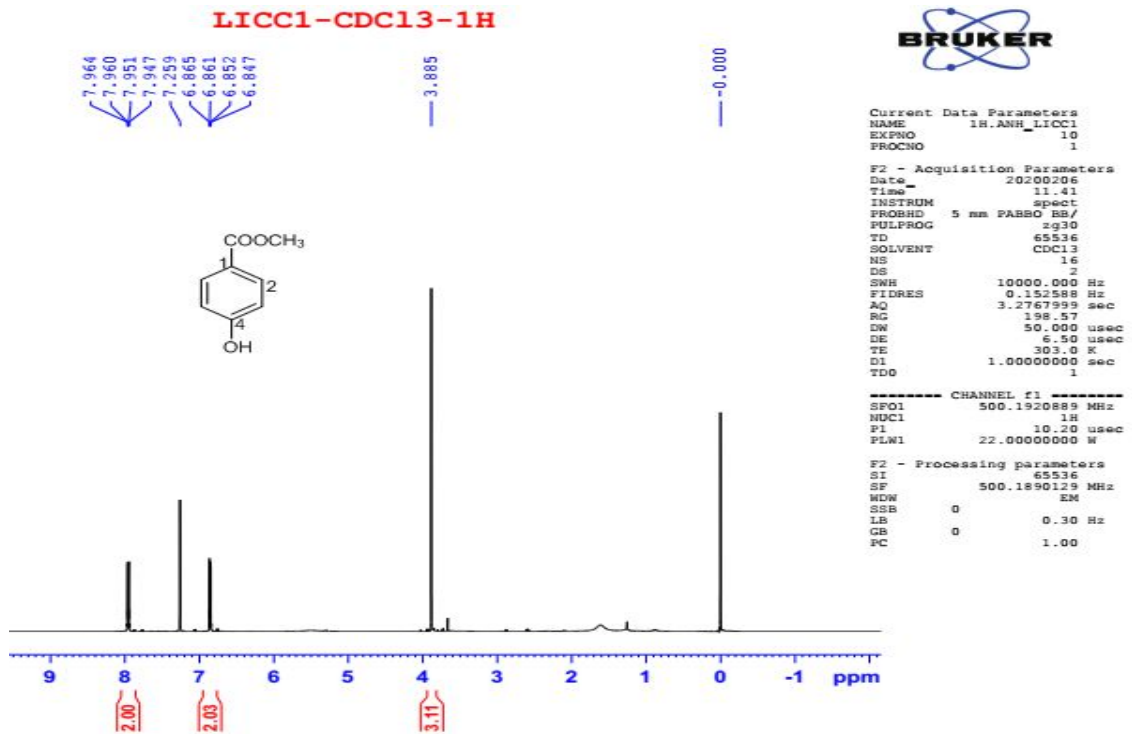
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin (IC8)

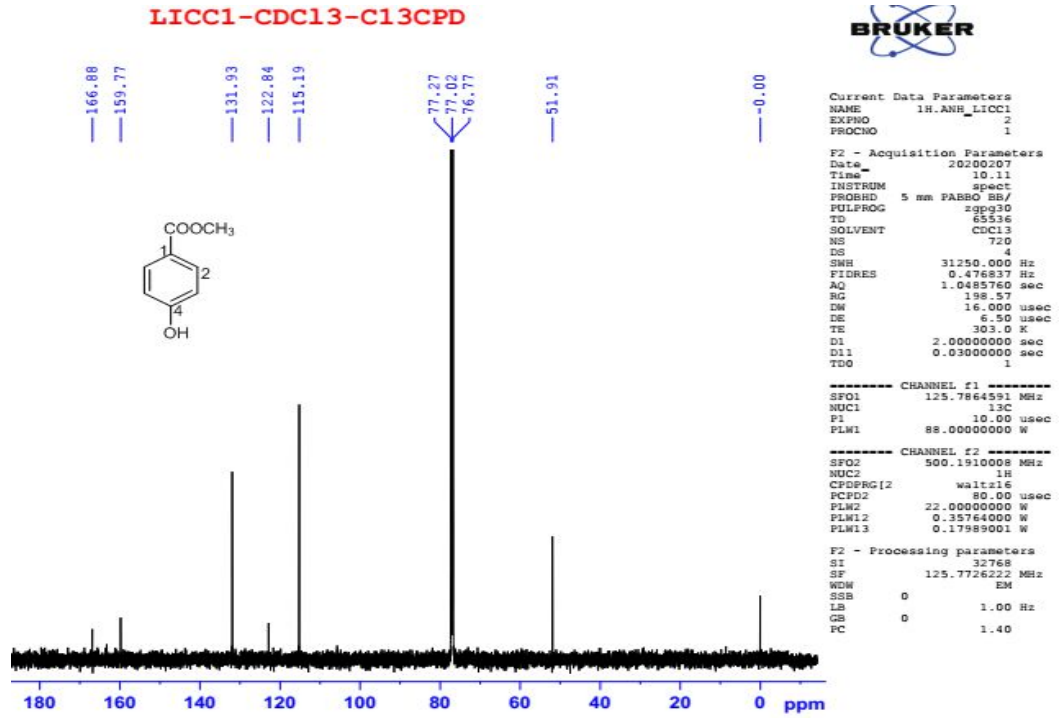


Phổ HSQC của hợp chất isoquercitrin (IC8)

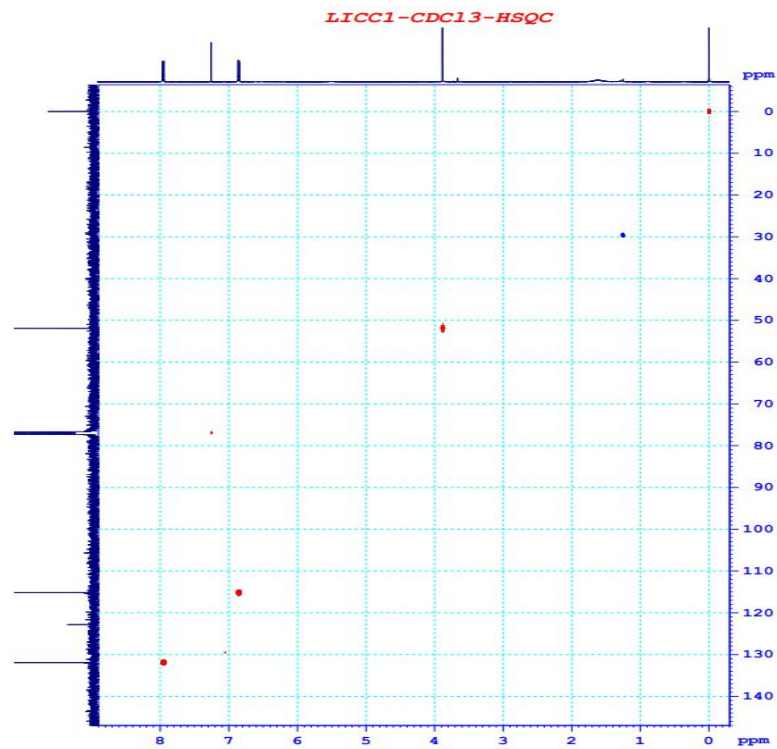


❖ Phụ lục phổ chất IC9



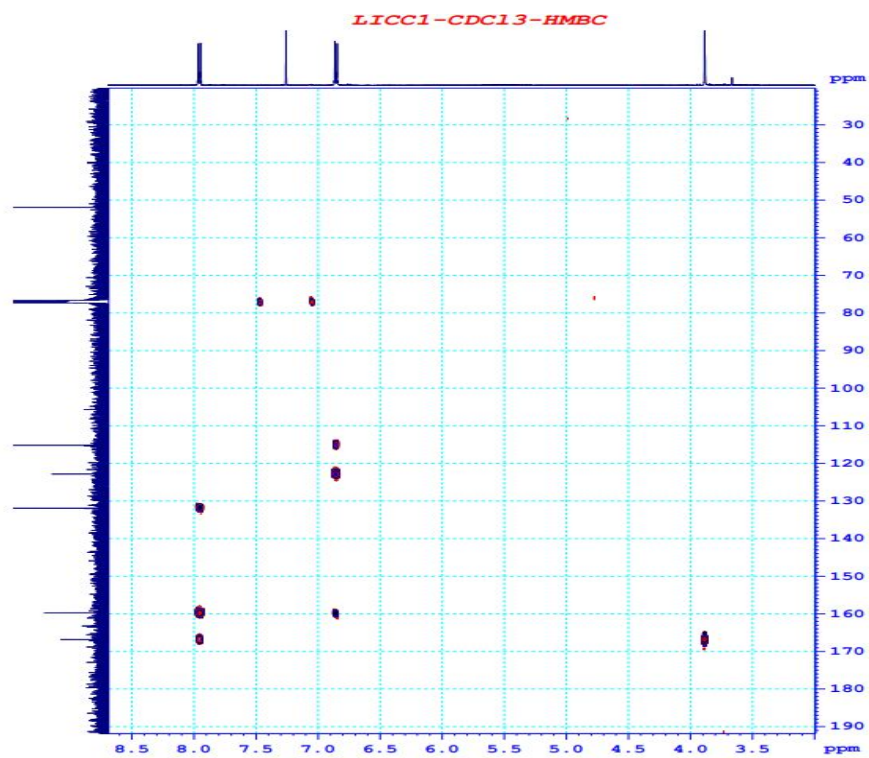


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)



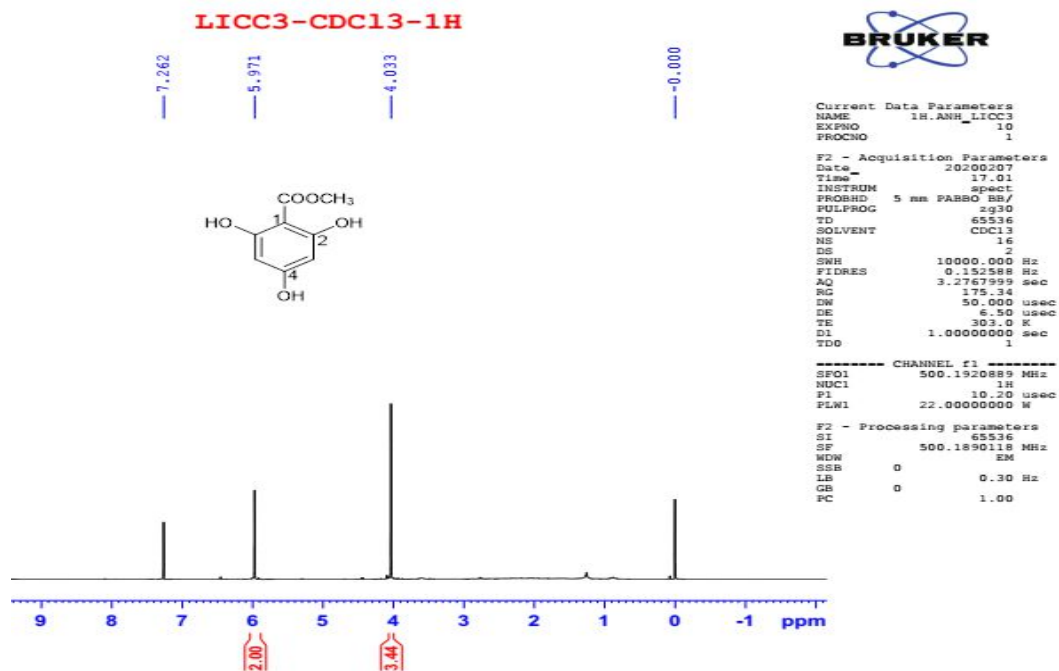
Phổ HSQC của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)



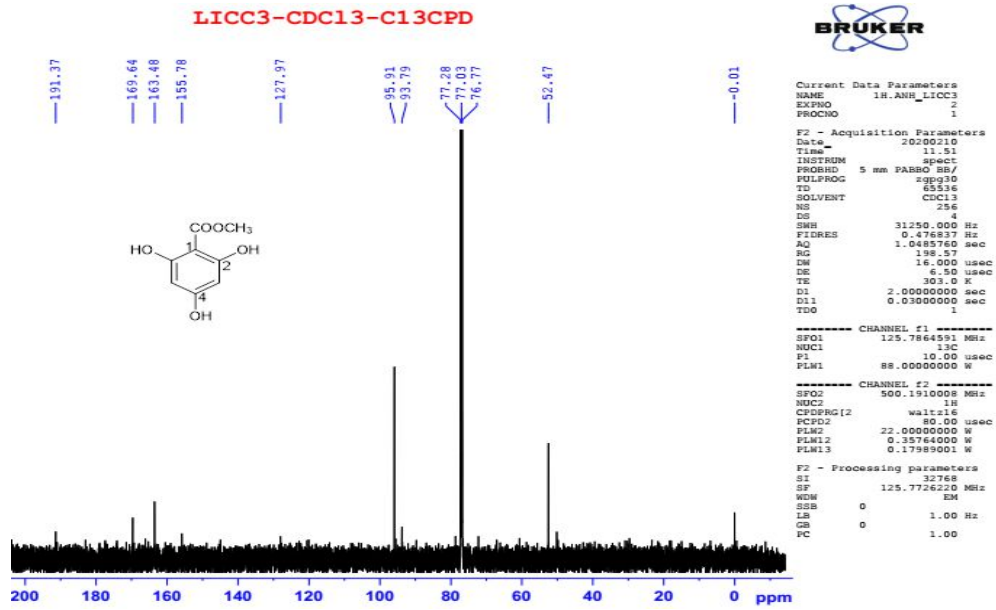


Phổ HMBC của hợp chất methyl 4-hydroxybenzoate (IC9)

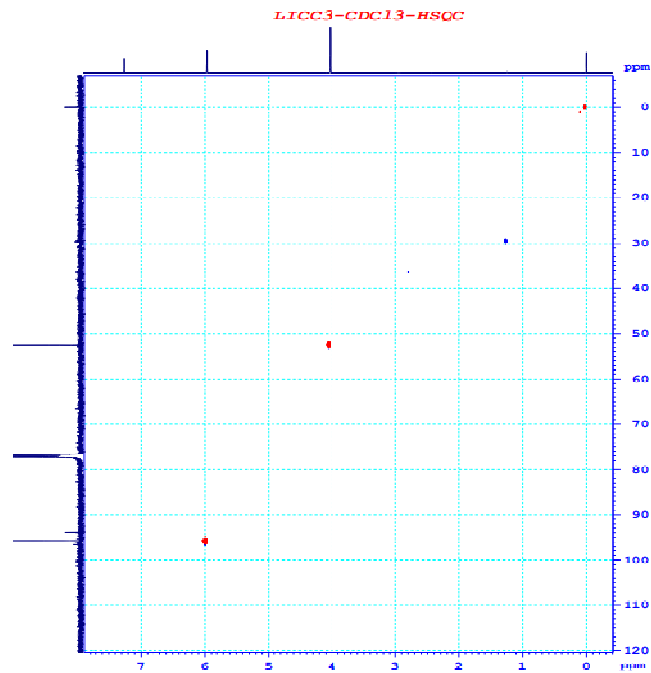
❖ Phụ lục phổ chất IC10



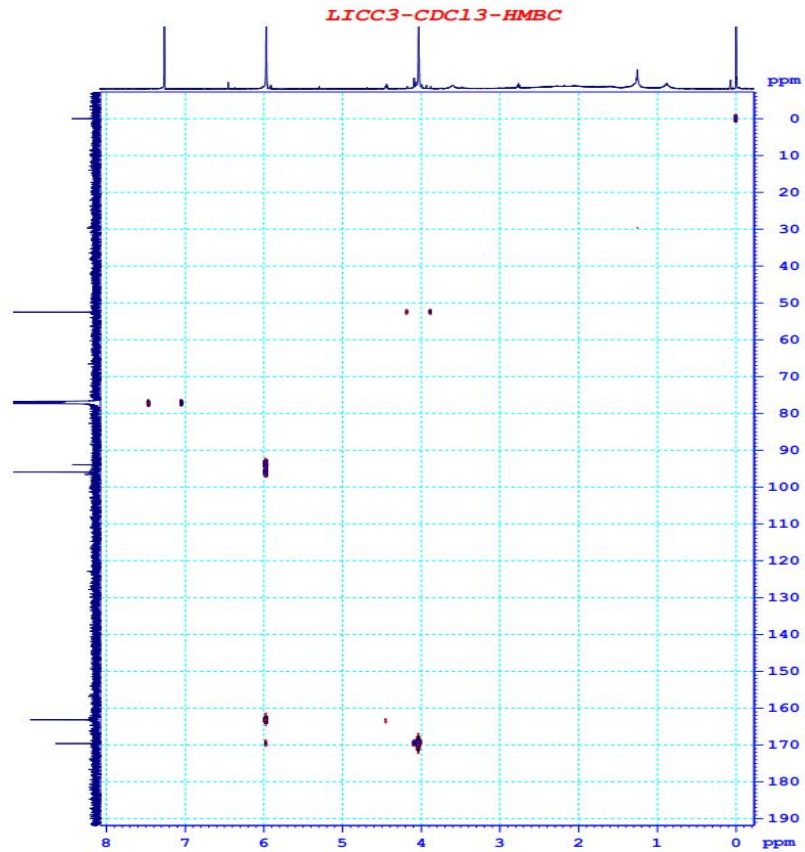
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (IC10)



Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)

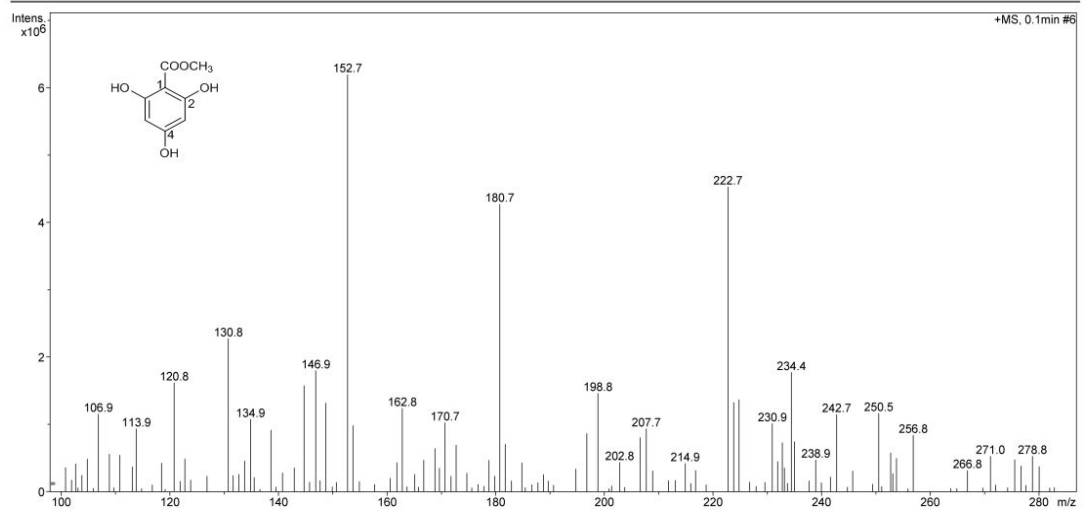


Phổ HSQC của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (**IC10**)



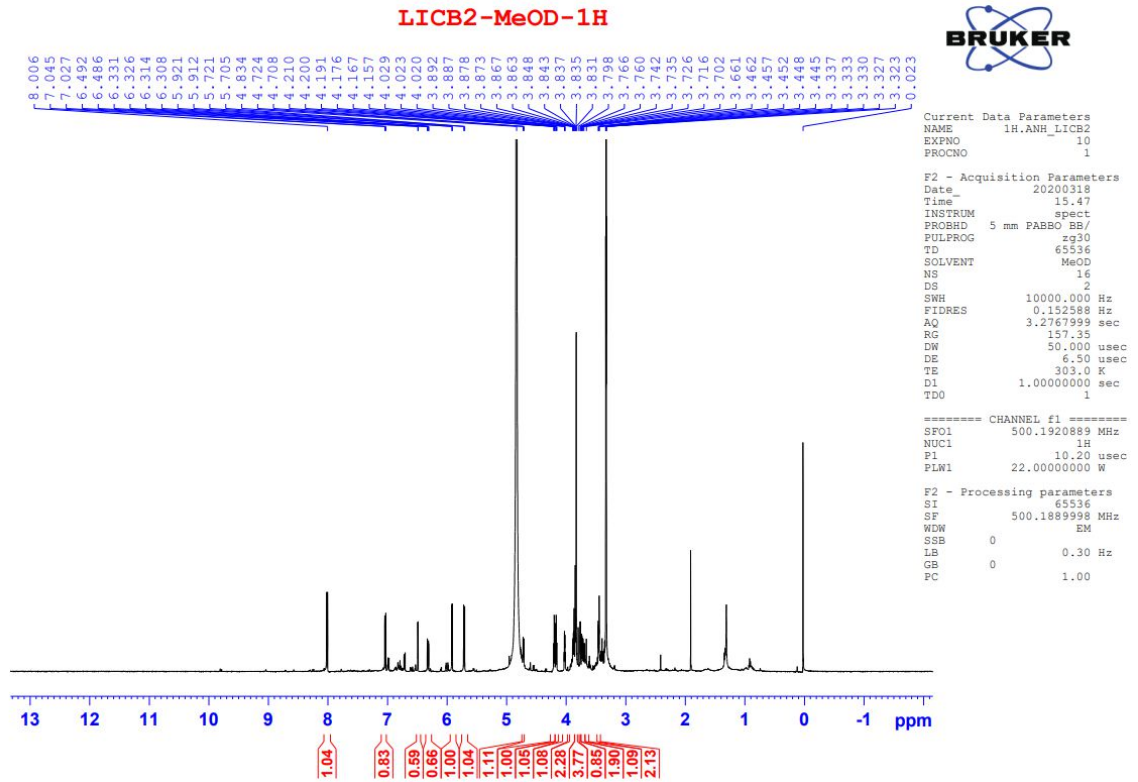
Phổ HMBC của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (IC10)

<b>Analysis Name:</b> LICC3.d	<b>Instrument:</b> LC-MSD-Trap-SL	<b>Print Date:</b> 7/7/2020 2:52:54 PM
<b>Method:</b> Quang_2020.m	<b>Operator:</b> 2195410AE0000514	<b>Acq. Date:</b> 7/7/2020 2:50:33 PM
<b>Sample Name:</b> LICC3		
<b>Analysis Info:</b> Column Eclipse XDB-C18, 4.6 x150mm		

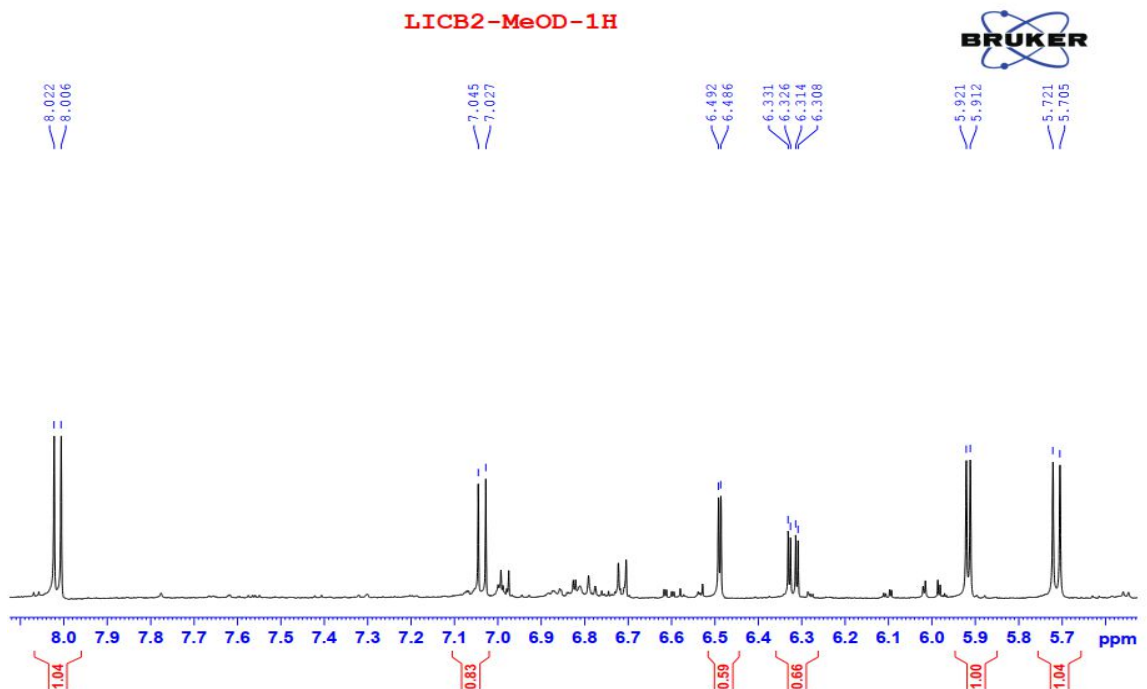


Phổ (+)-ESI-MS của hợp chất methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate (IC10)

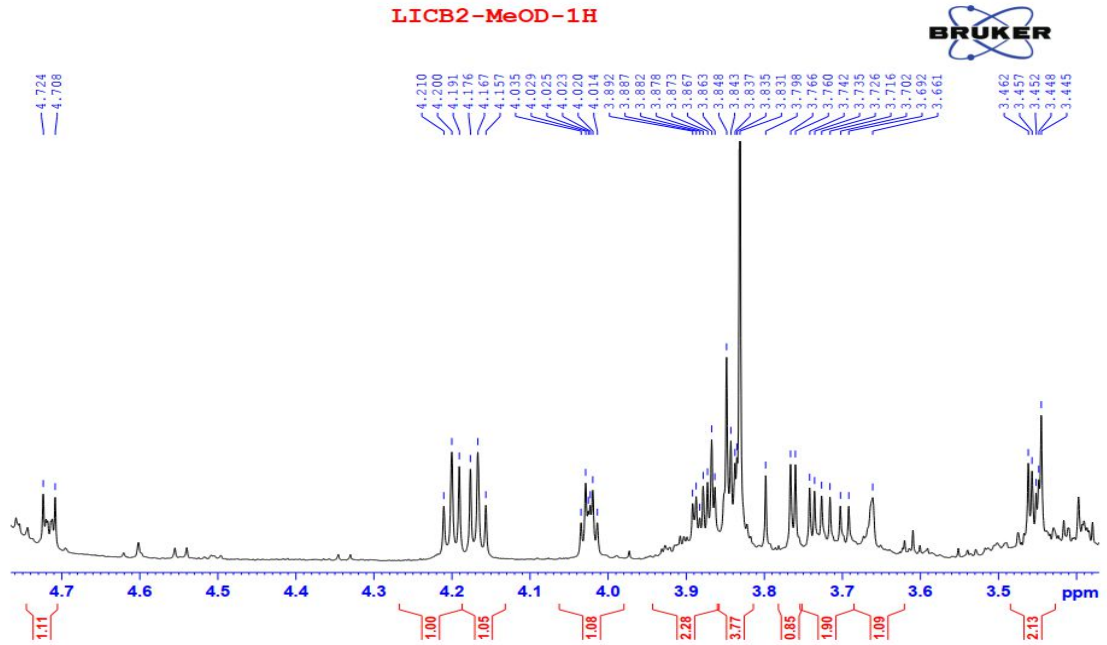
❖ Phụ lục phổ hỗn hợp 2 chất IC11 và IC12



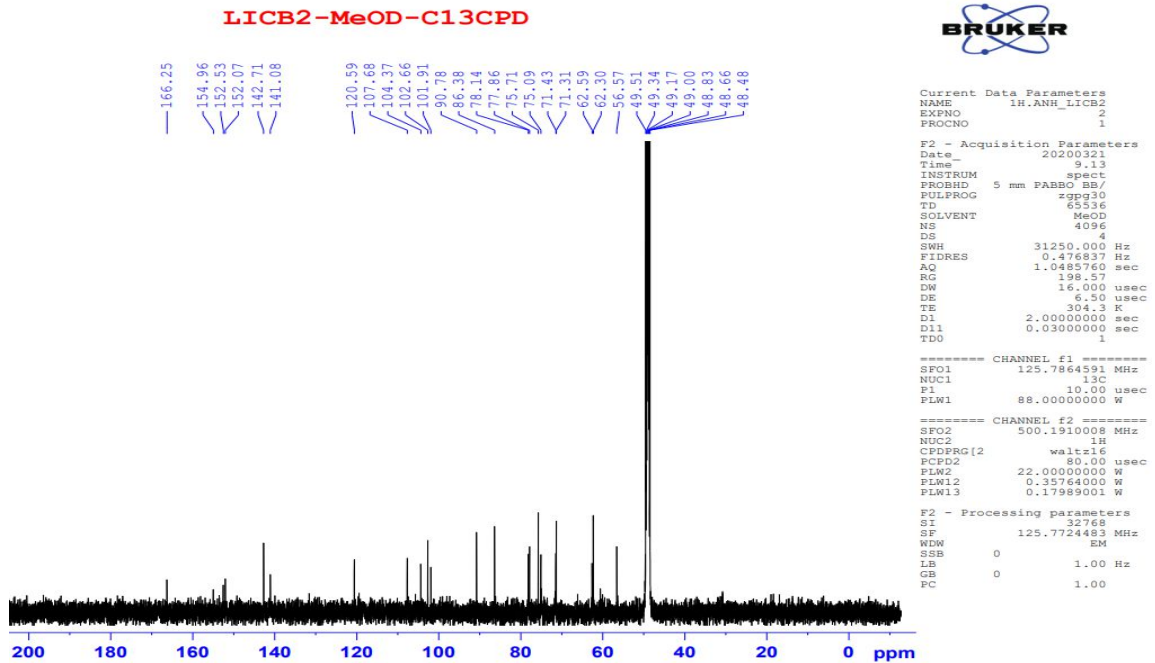
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

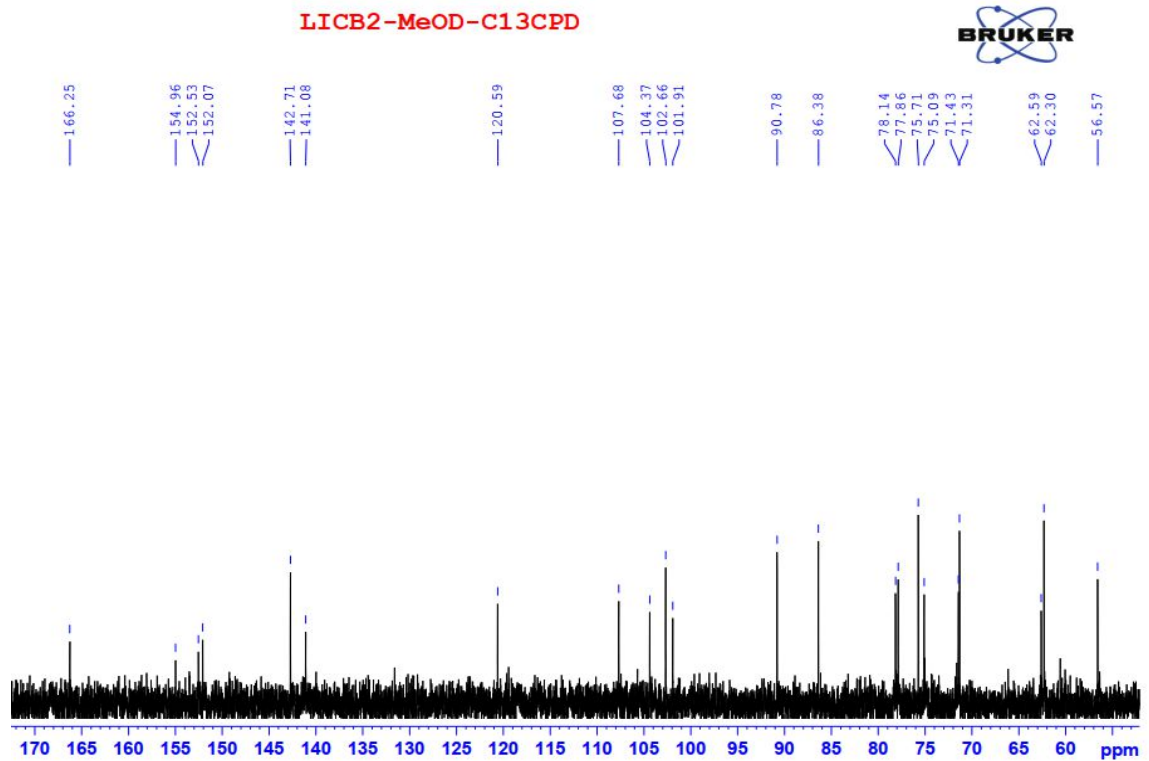


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

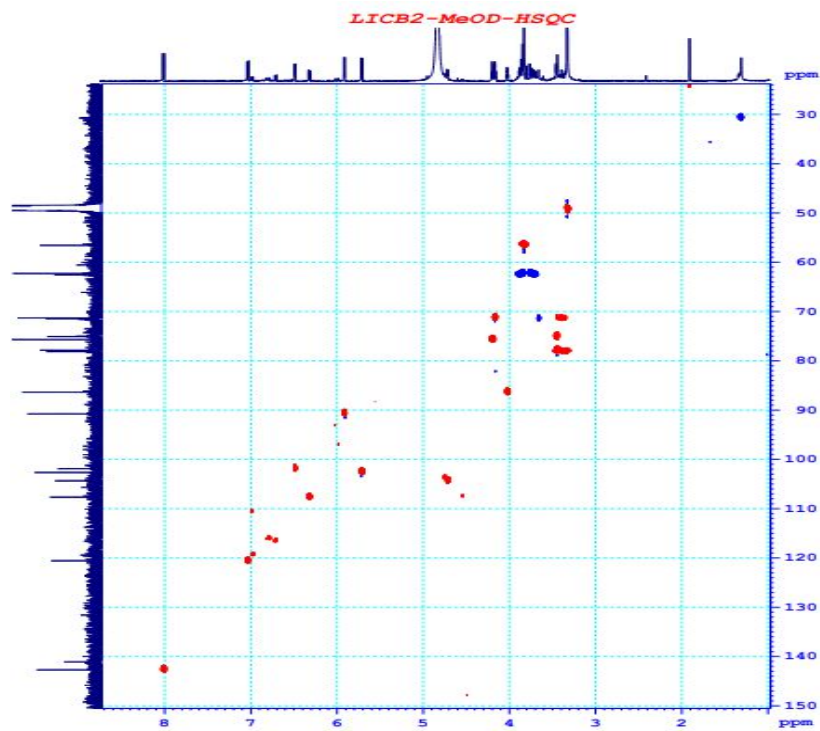


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

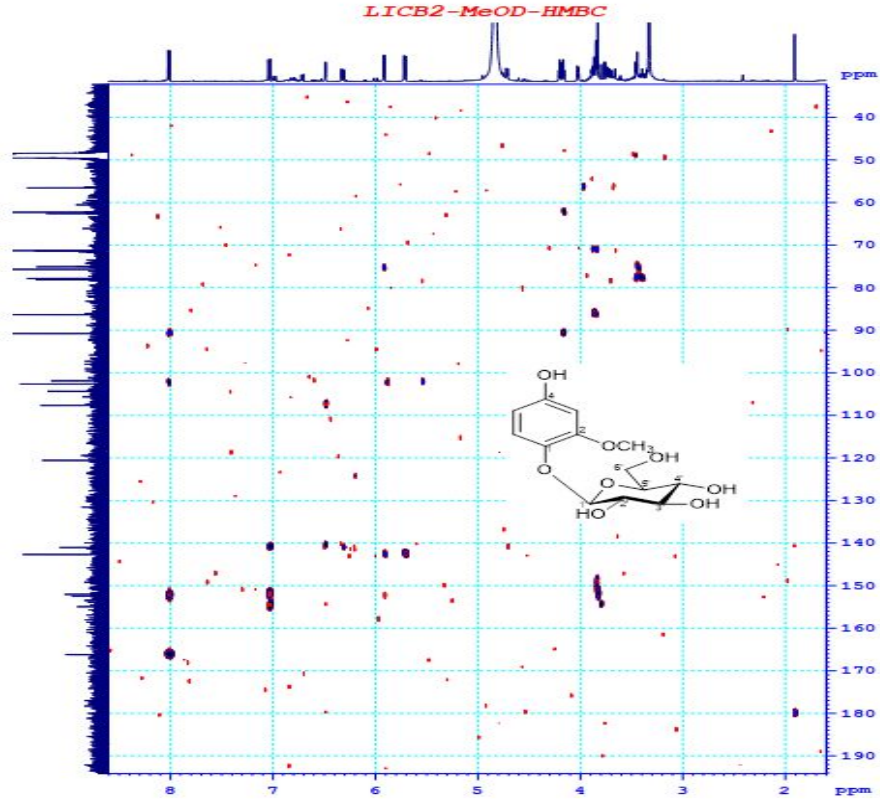




Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

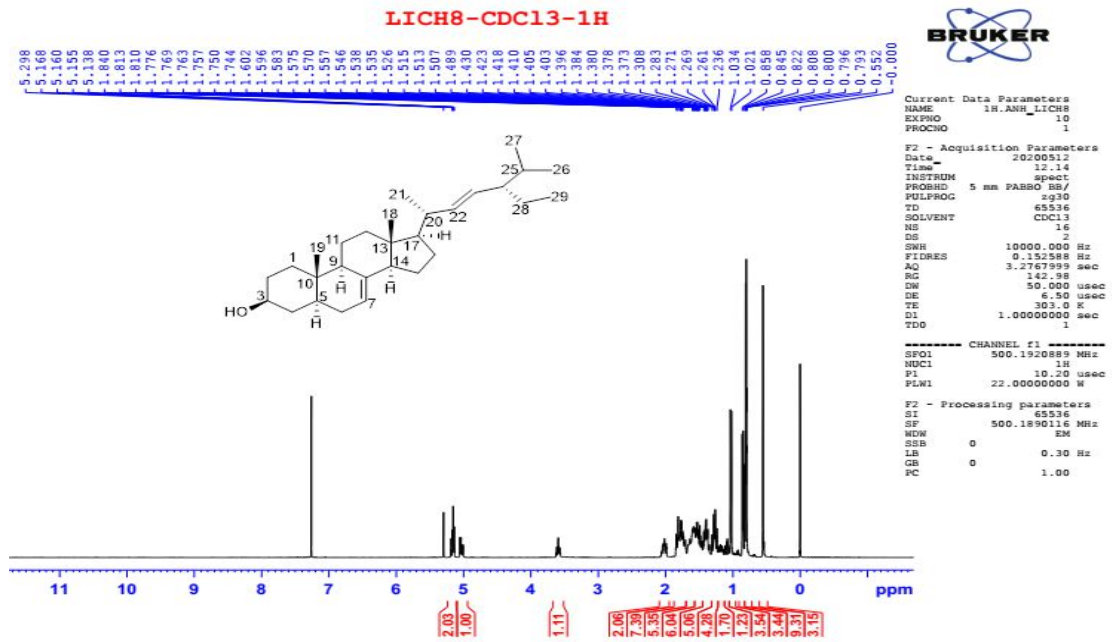


Phổ HSQC của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

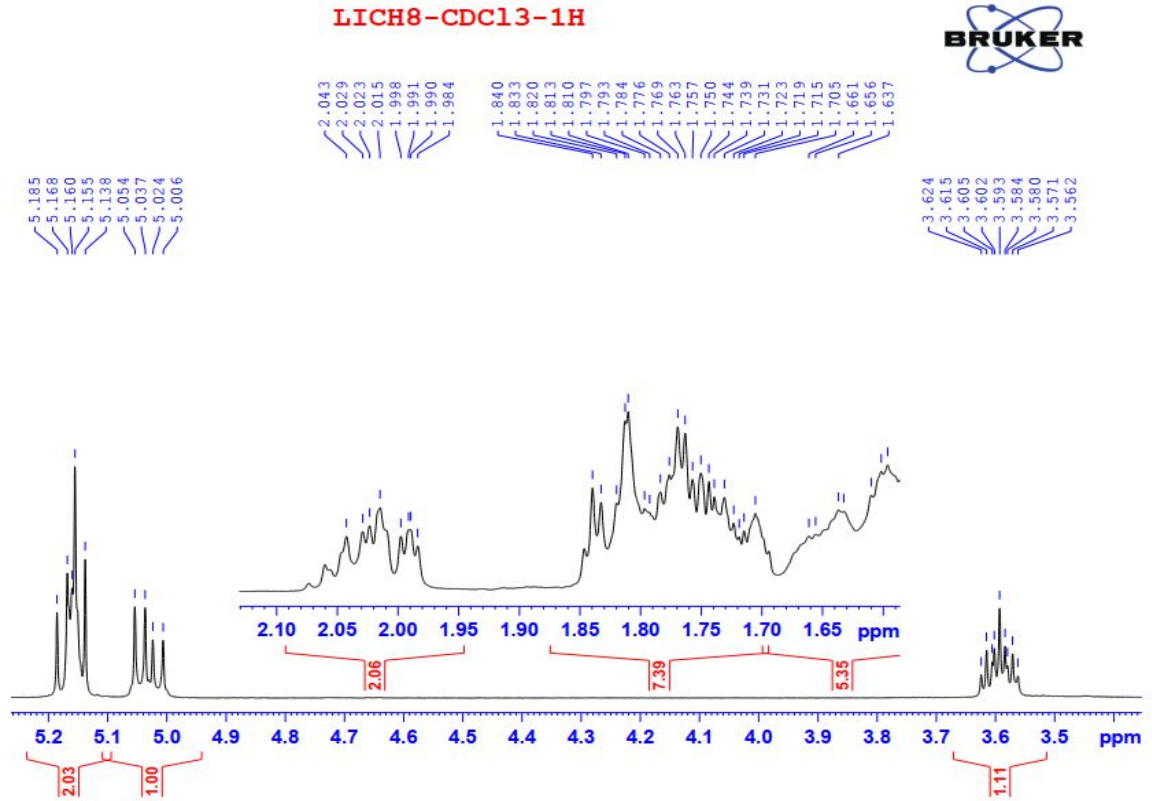


Phổ HMBC của hỗn hợp hai chất isotachioside (IC11) và uridin (IC12)

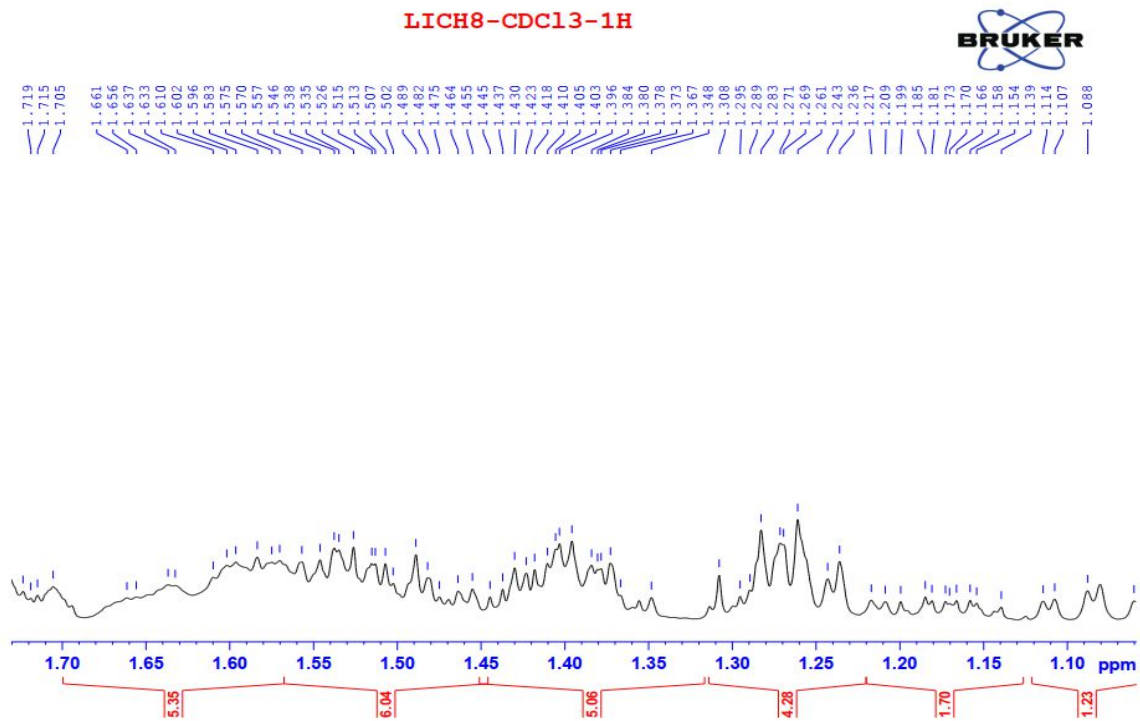
❖ Phụ lục phổ chất IC13



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất spinasterol (IC13)



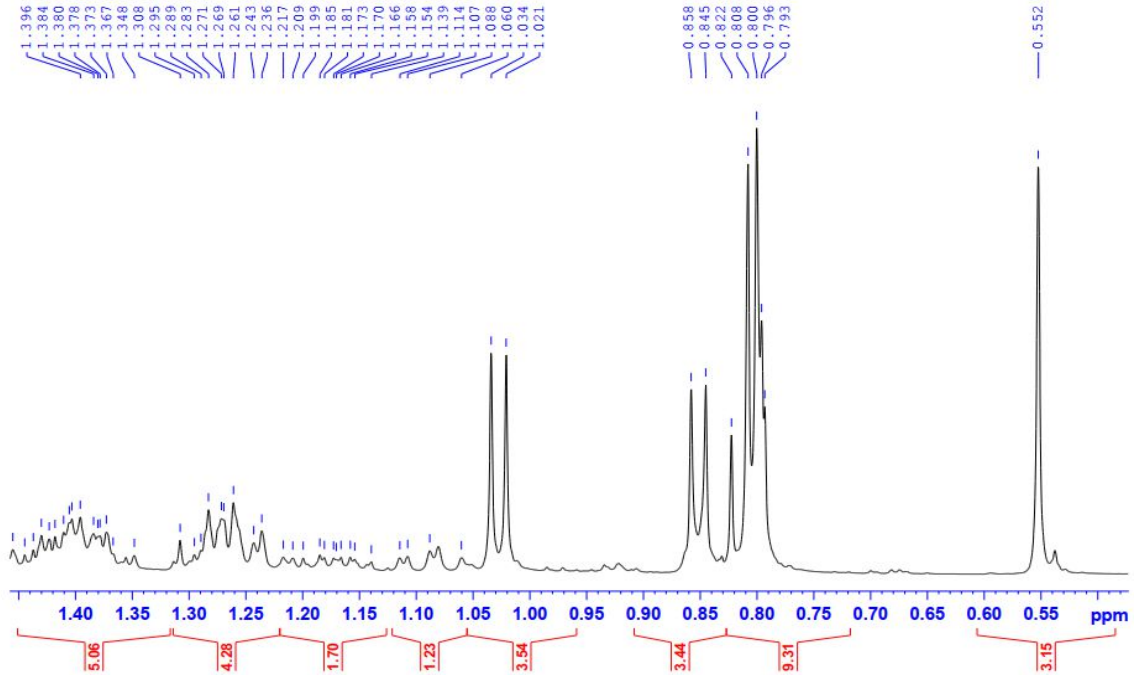
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) giãn của hợp chất spinasterol (IC13)



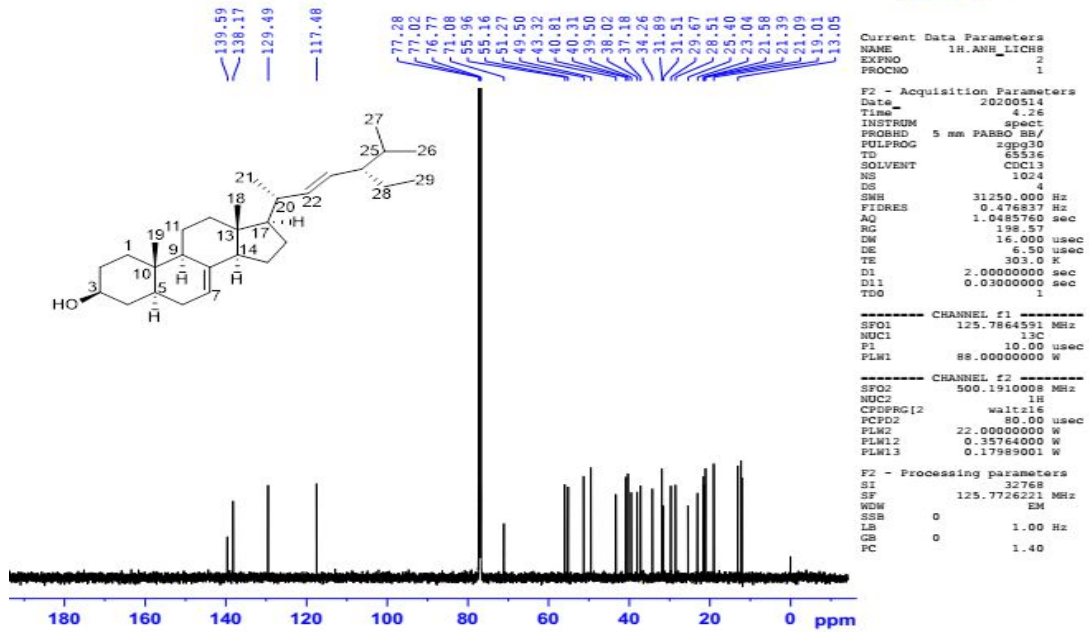
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) giãn của hợp chất spinasterol (IC13)

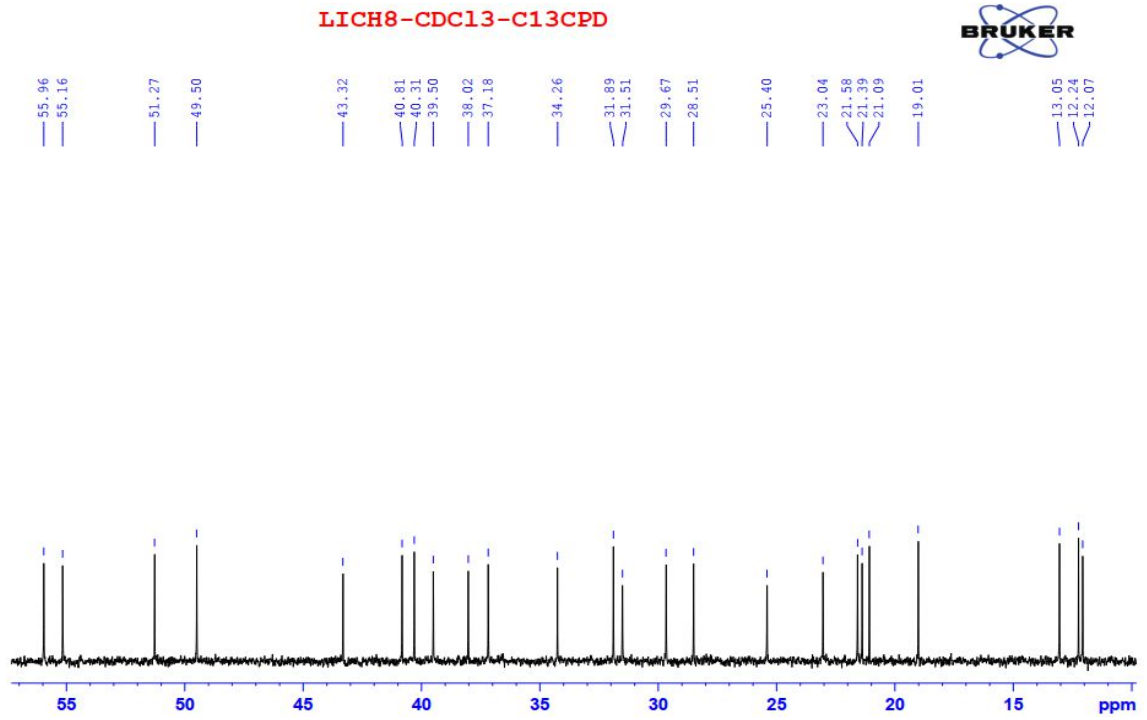


LICH8-CDC13-1H

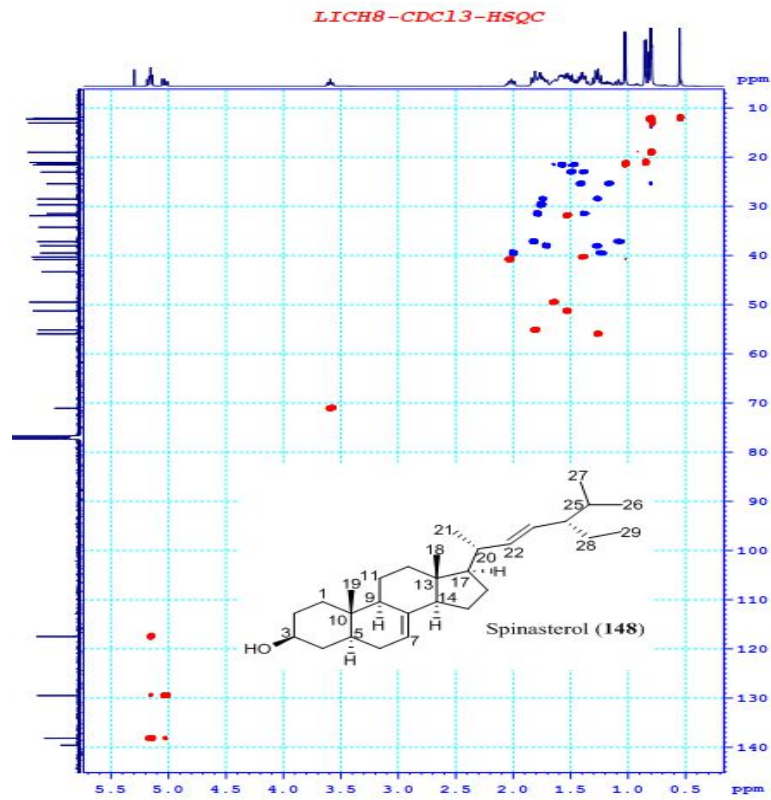
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) giản của hợp chất spinasterol (IC13)

LICH8-CDC13-C13CPD

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất spinasterol (IC13)

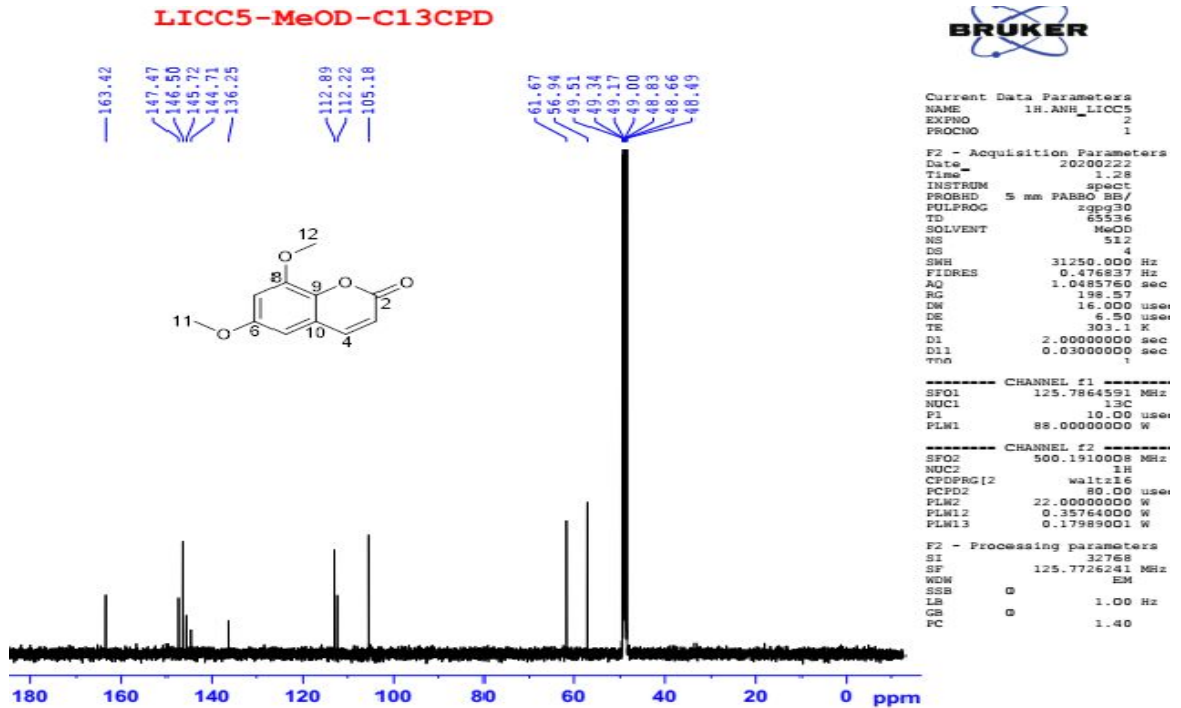
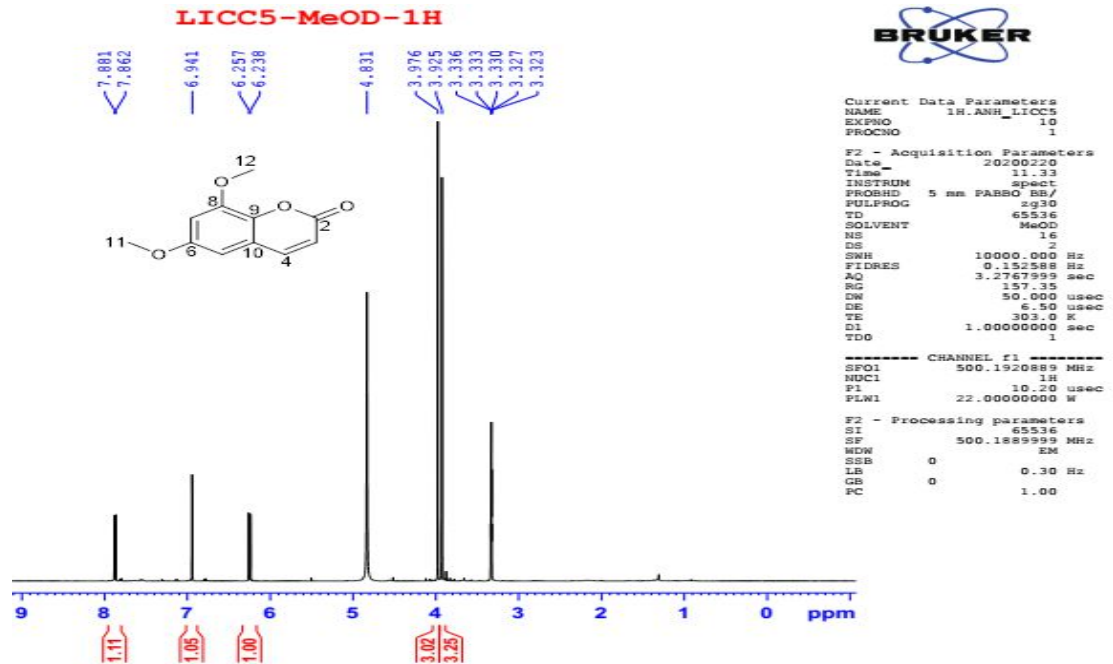


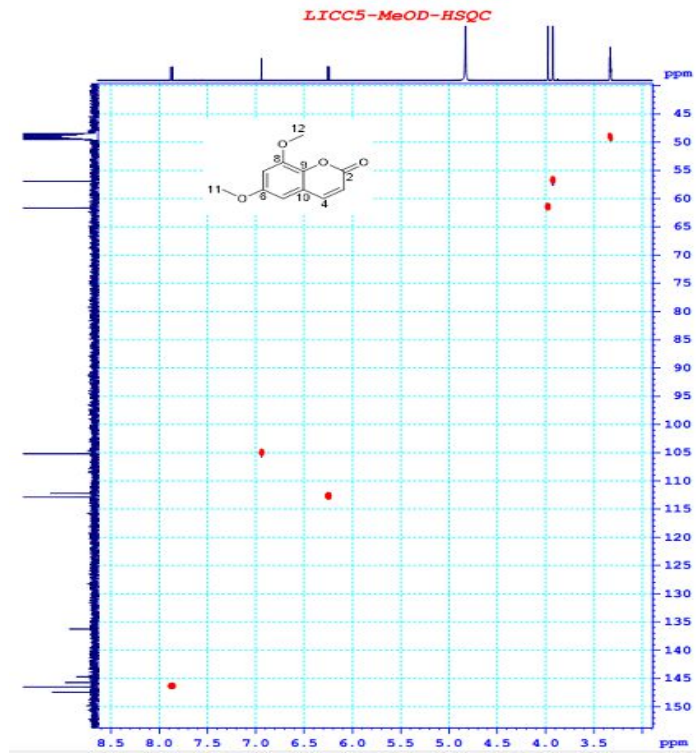
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) giản của hợp chất spinasterol (IC13)



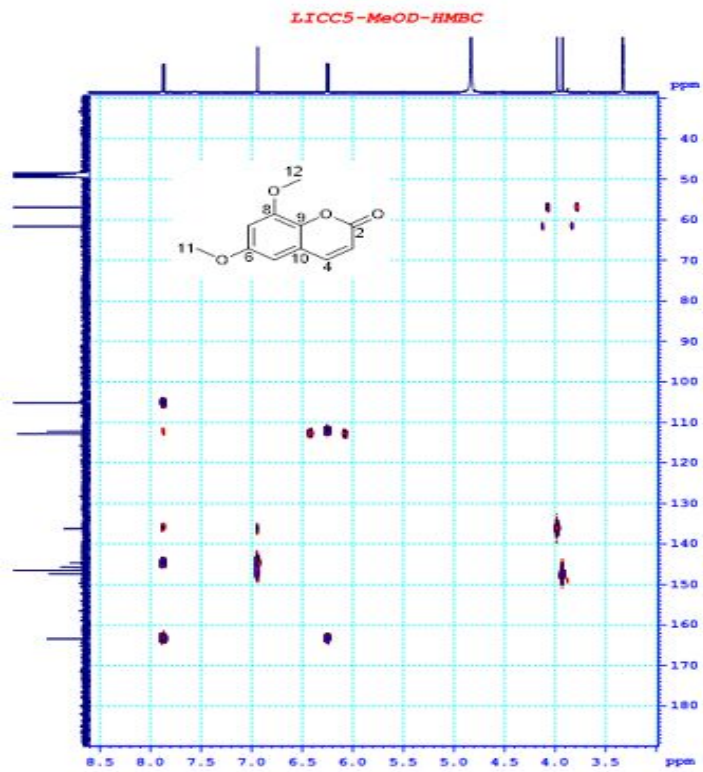
Phổ HSQC của hợp chất spinasterol (IC13)

❖ Phụ lục phổ chất IC14

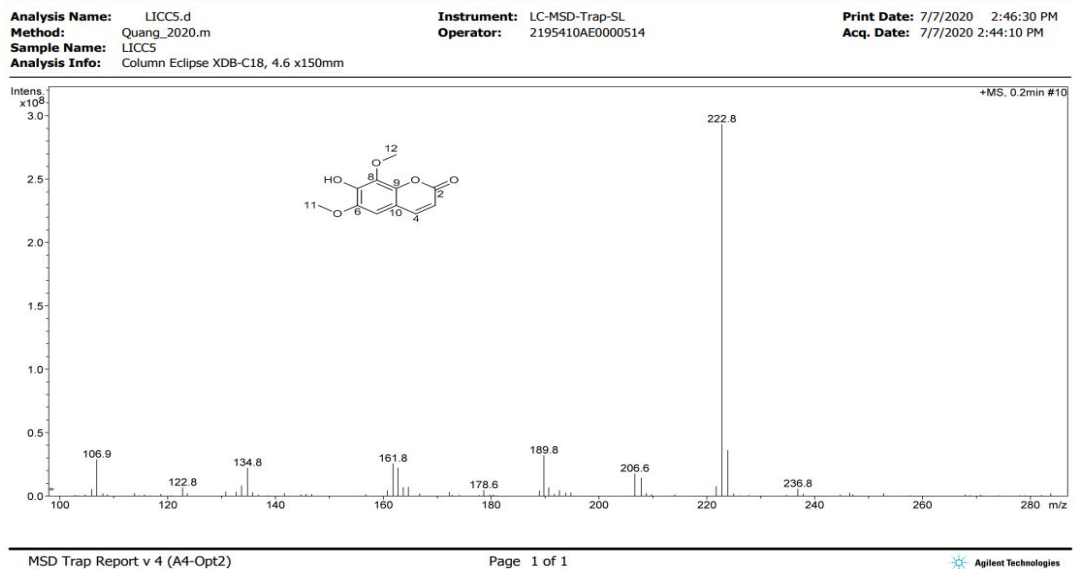




Phổ HSQC của hợp chất isofraxidin (IC14)

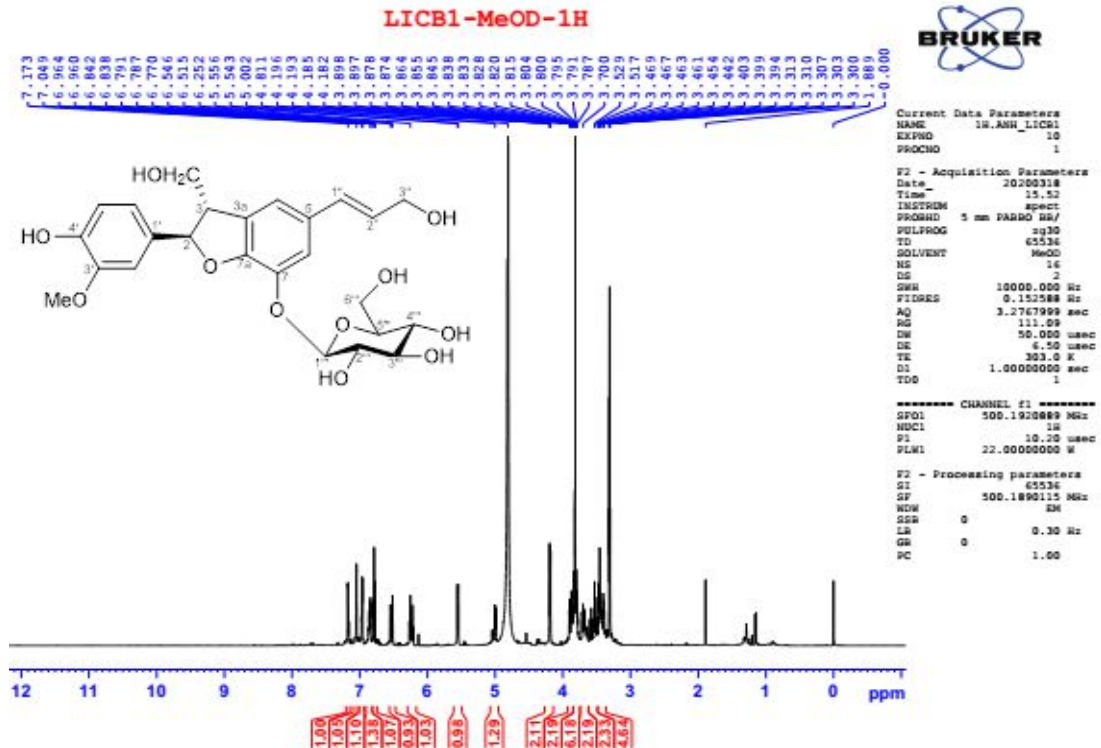


Phổ HMBC của hợp chất isofraxidin (IC14)



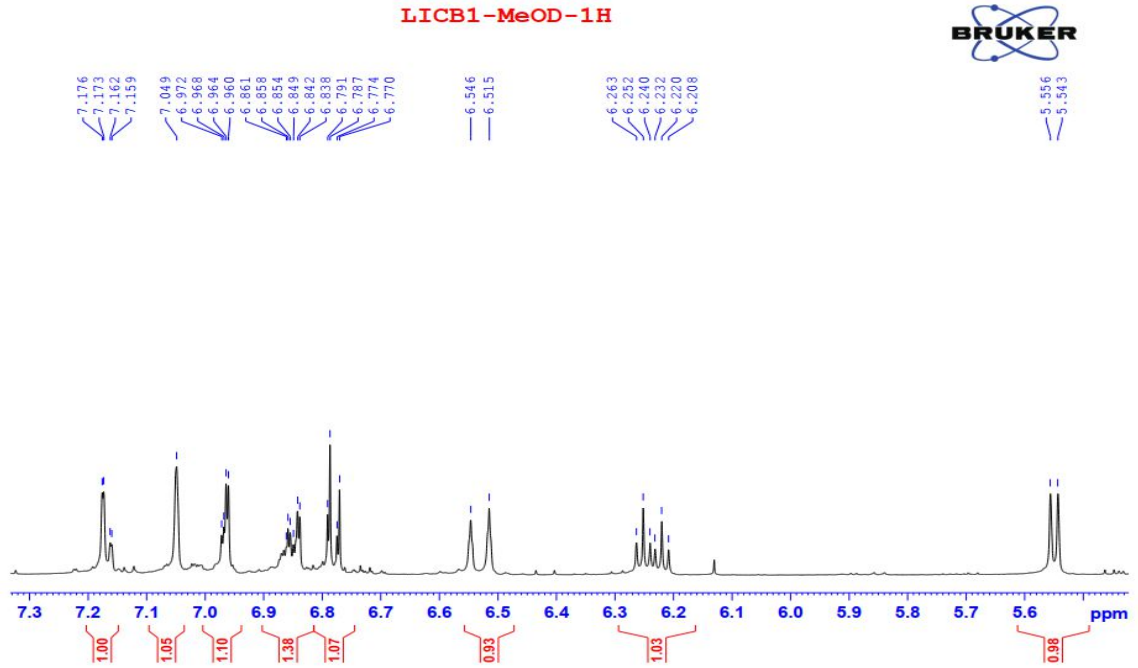
### Phổ (+)-ESI-MS của hợp chất isofraxidin (IC14)

#### ❖ Phụ lục phổ chất IC15

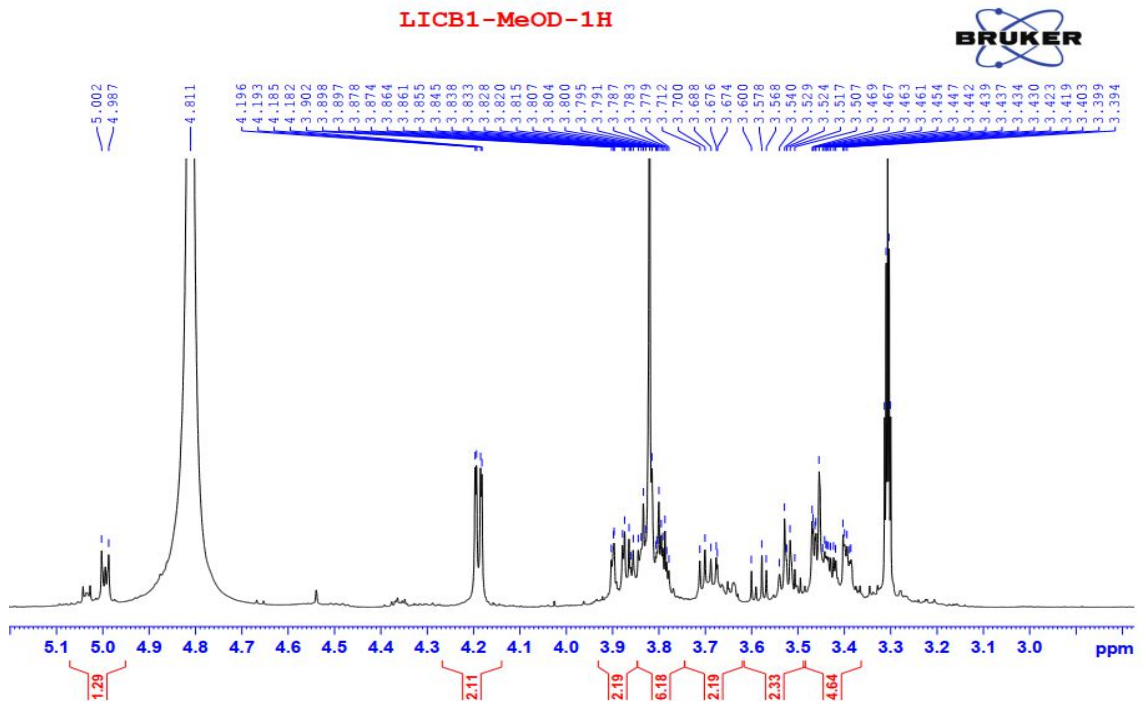


### Phổ $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (7R,8S)-yemuoside YM1 (IC15)

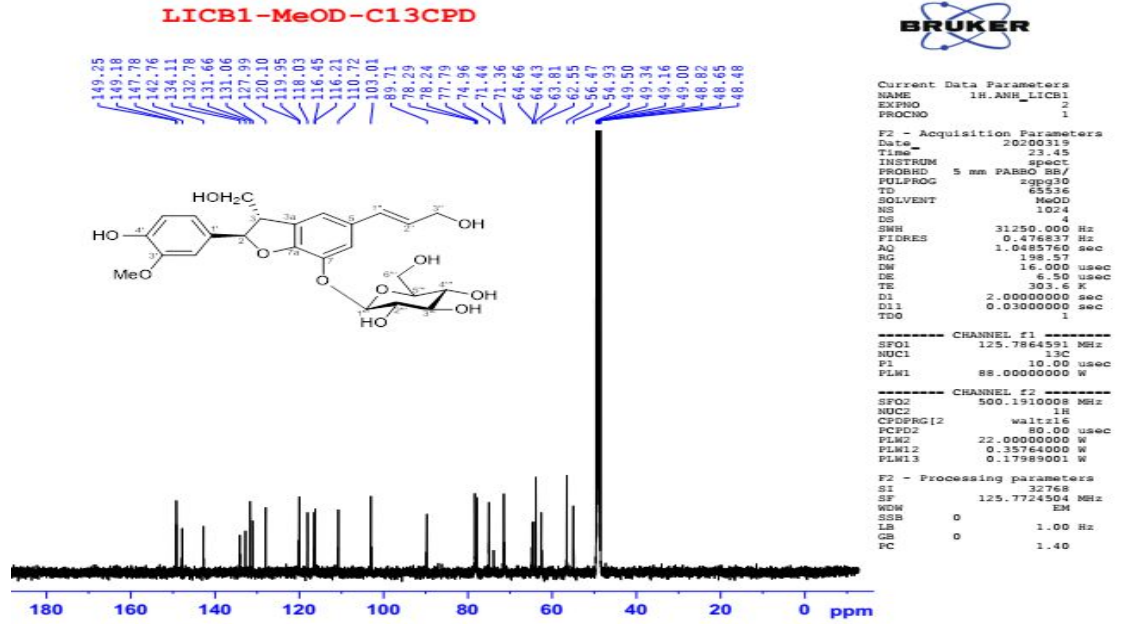




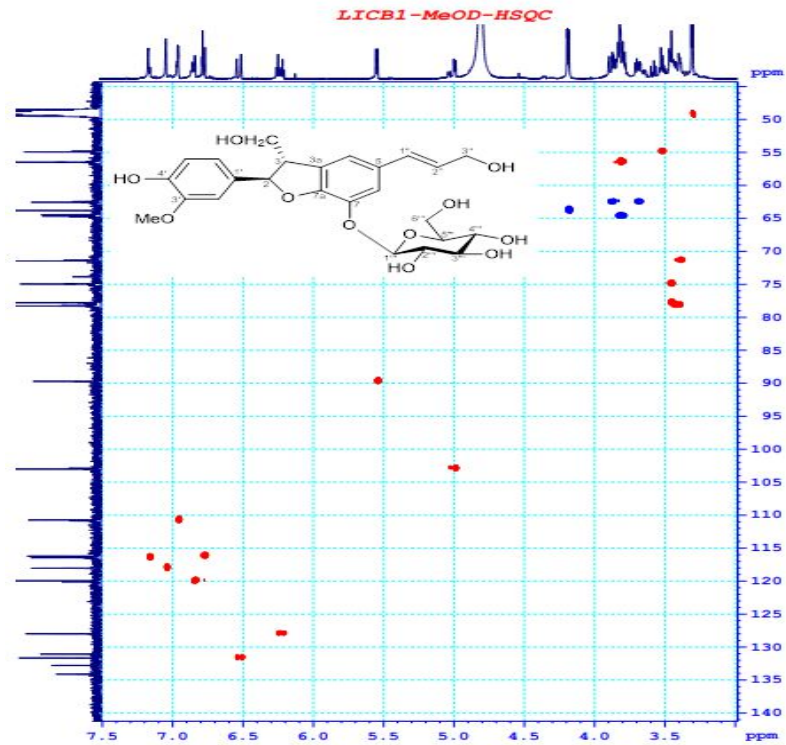
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside  
YM1 (IC15)



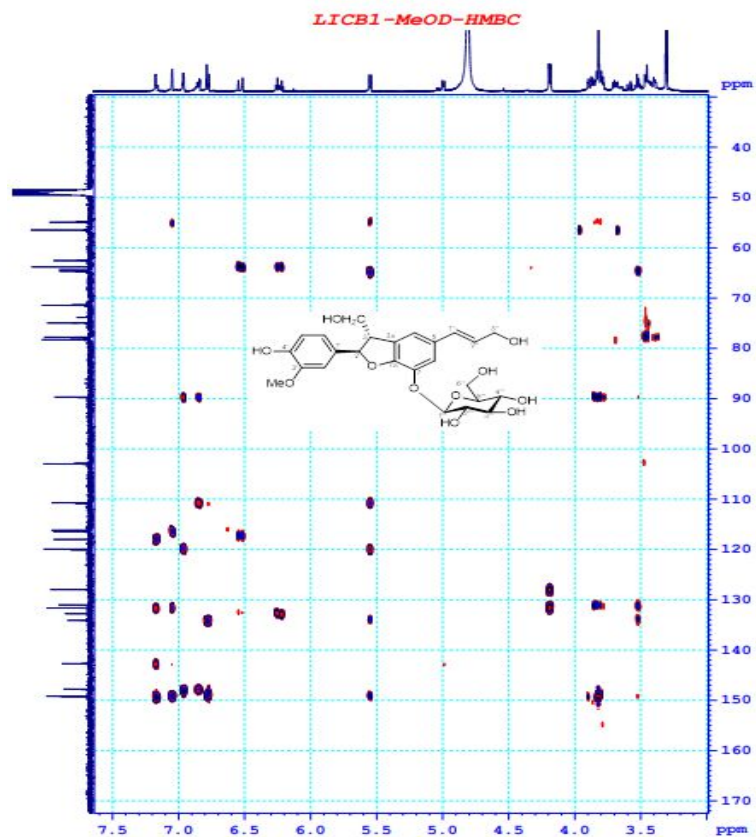
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside  
YM1 (IC15)



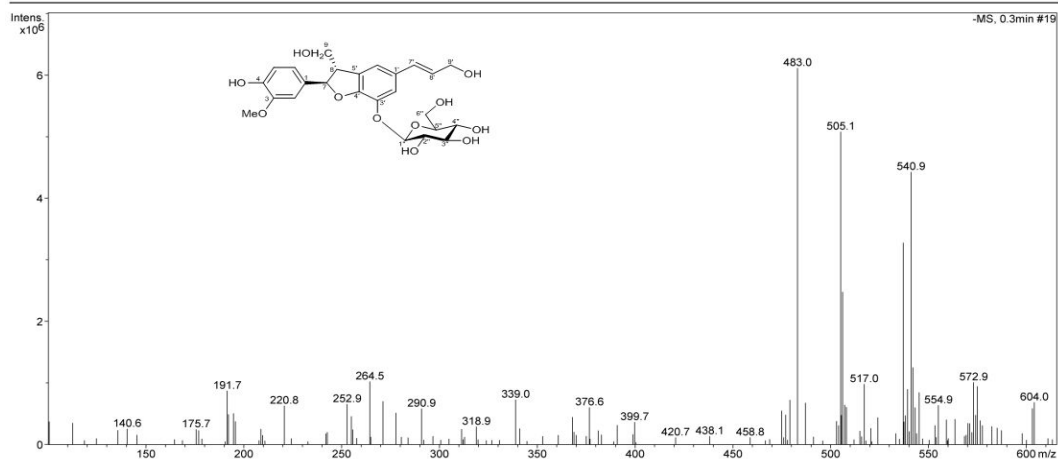
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 (IC15)



Phổ HSQC của hợp chất (7*R*,8*S*)-yemuoside YM1 (IC15)

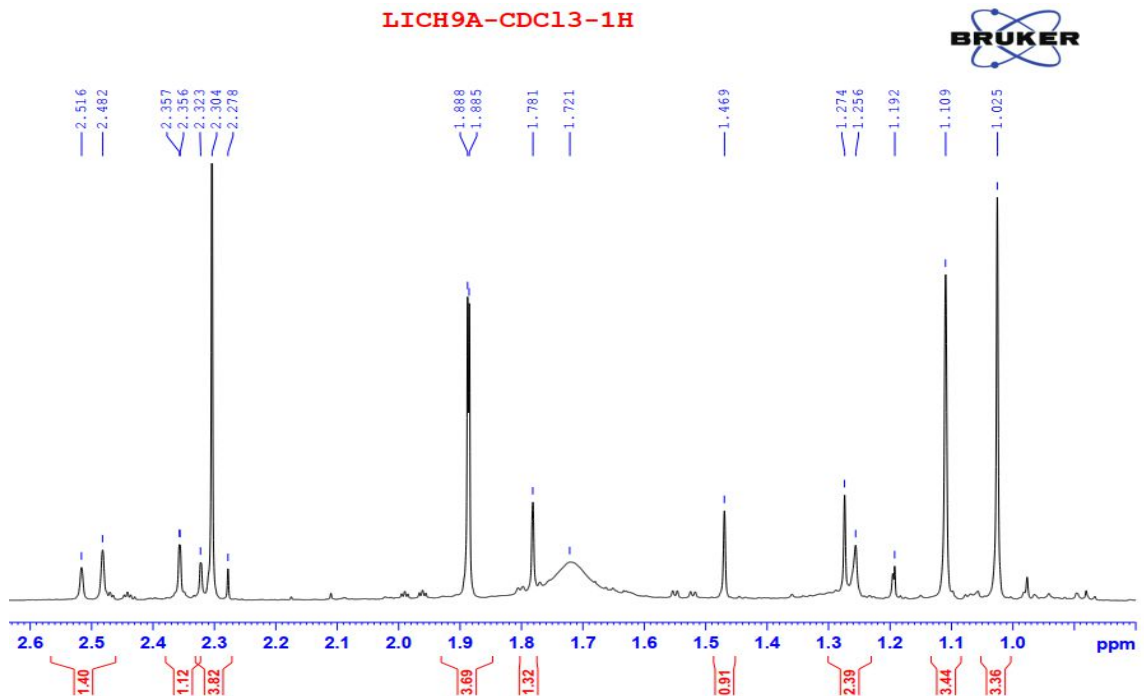
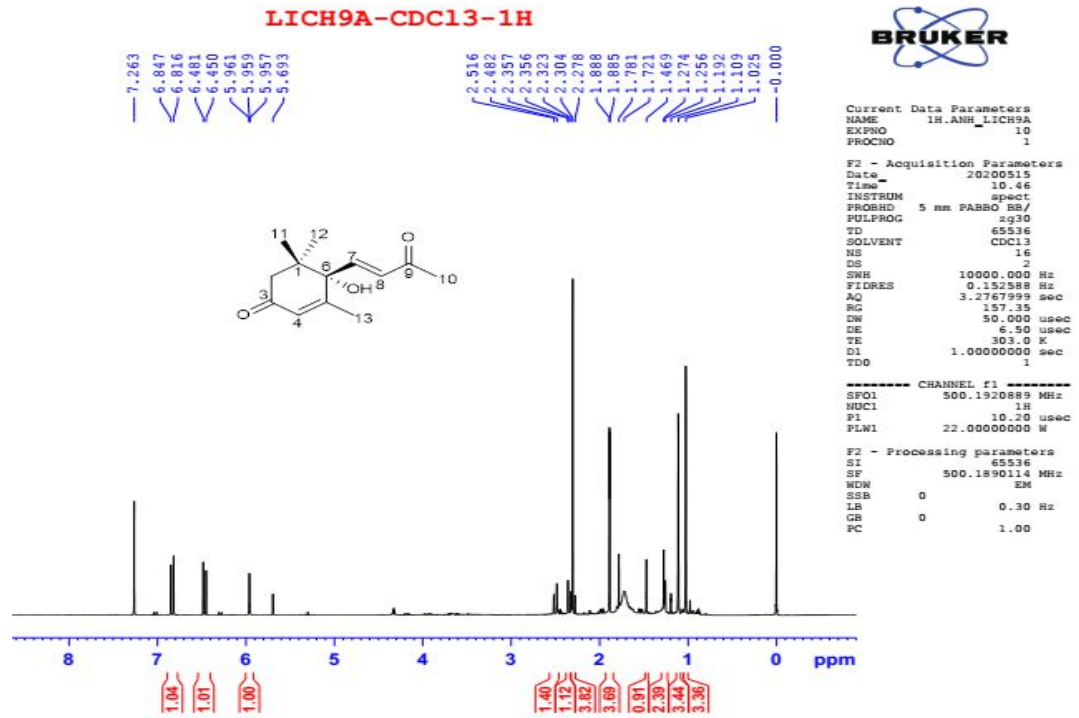


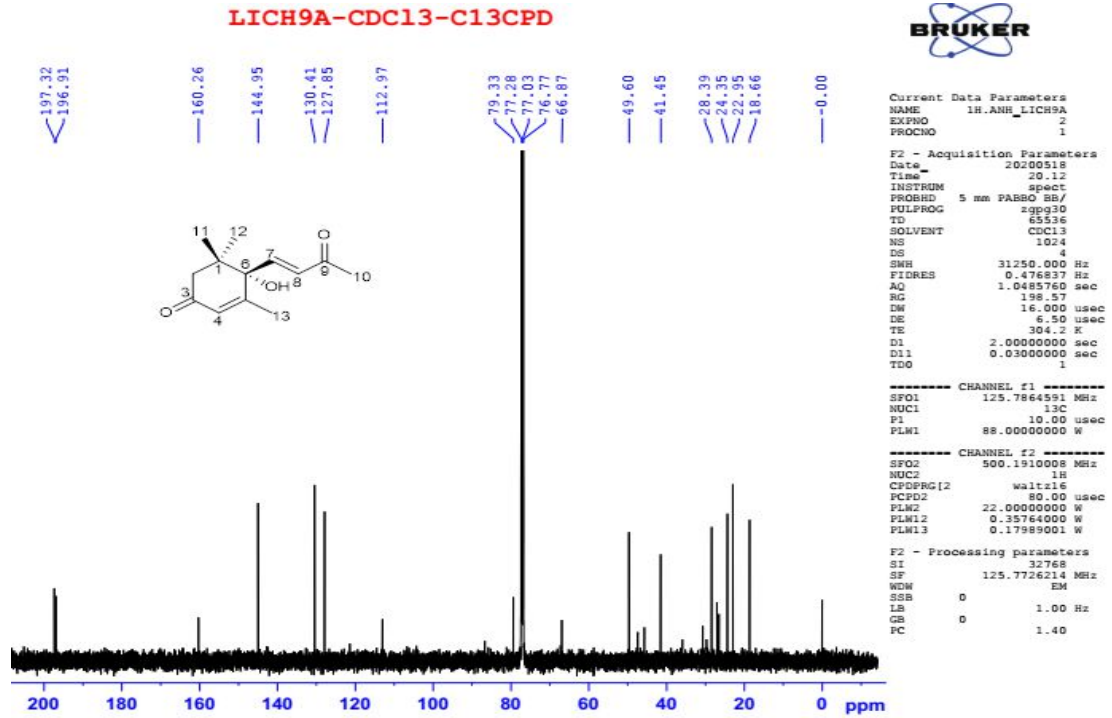
<b>Analysis Name:</b> LICB1.d	<b>Instrument:</b> LC-MSD-Trap-SL	<b>Print Date:</b> 7/7/2020 3:20:01 PM
<b>Method:</b> Quang_2020.m	<b>Operator:</b> 2195410AE0000514	<b>Acq. Date:</b> 7/7/2020 3:17:04 PM
<b>Sample Name:</b> LICB1		
<b>Analysis Info:</b> Column Eclipse XDB-C18, 4.6 x150mm		



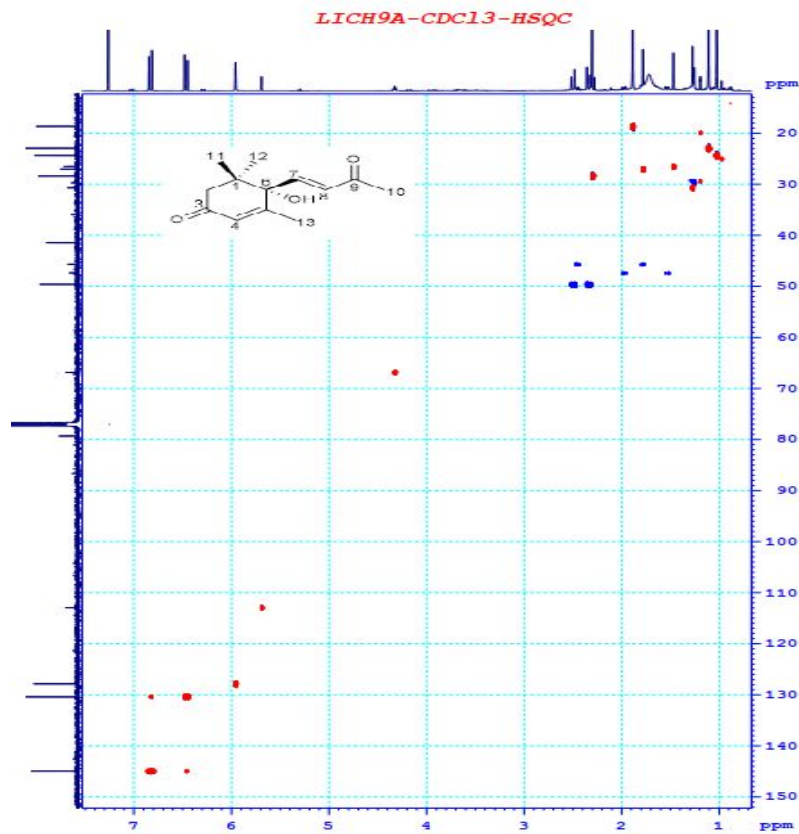
❖ Phụ lục phổ chất IC16



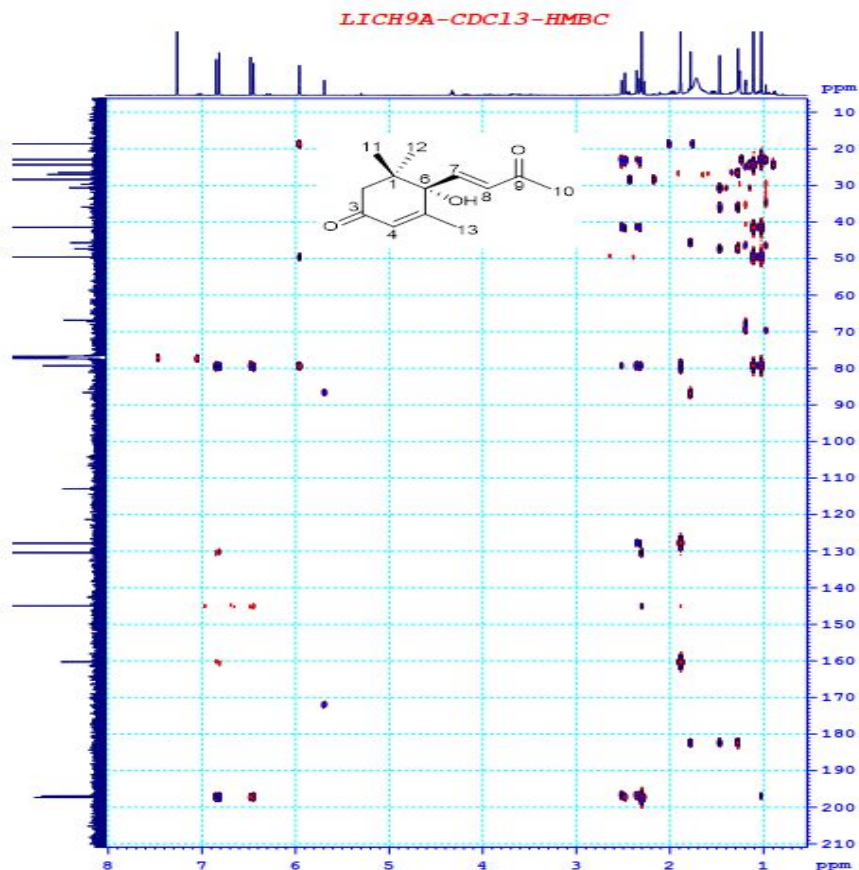




Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (IC16)

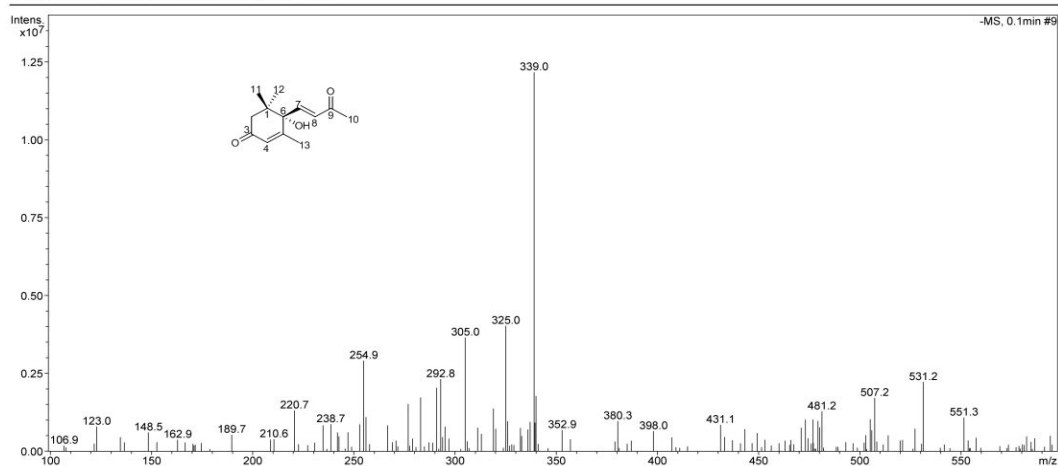


Phổ HSQC của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (IC16)



Phổ HMBC của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (IC16)

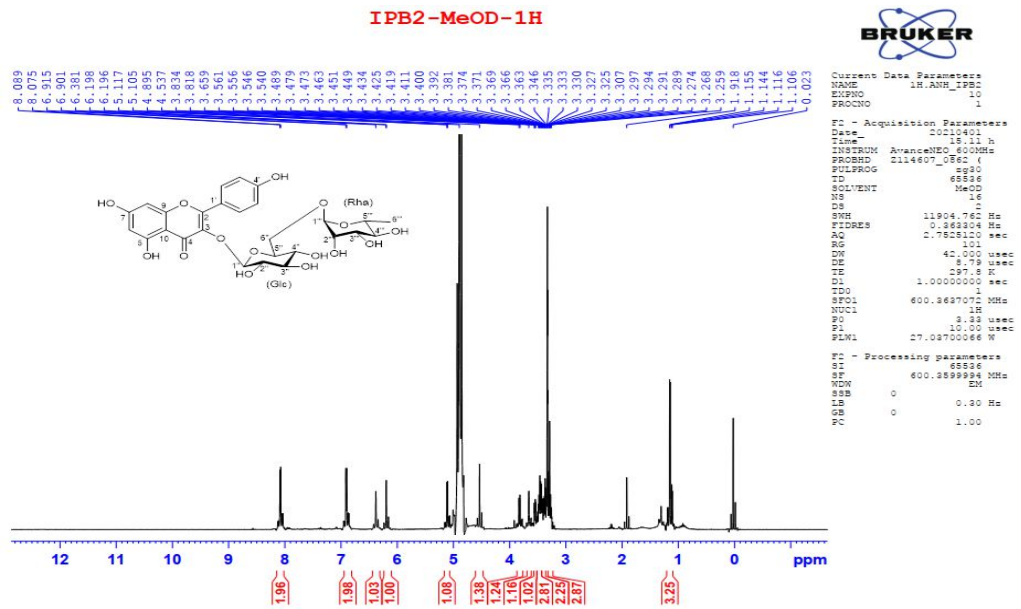
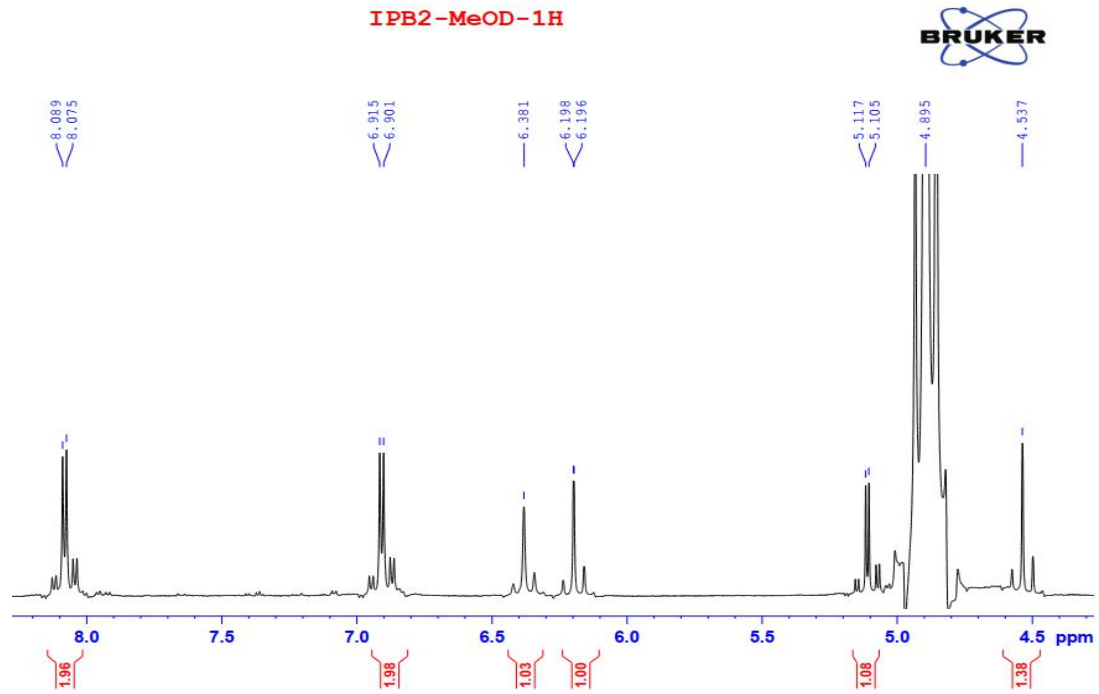
<b>Analysis Name:</b> LICH9a.d	<b>Instrument:</b> LC-MSD-Trap-SL	<b>Print Date:</b> 7/7/2020 3:08:12 PM
<b>Method:</b> Quang_2020.m	<b>Operator:</b> 2195410AE0000514	<b>Acq. Date:</b> 7/7/2020 3:05:51 PM
<b>Sample Name:</b> LICH9a		
<b>Analysis Info:</b> Column Eclipse XDB-C18, 4.6 x150mm		



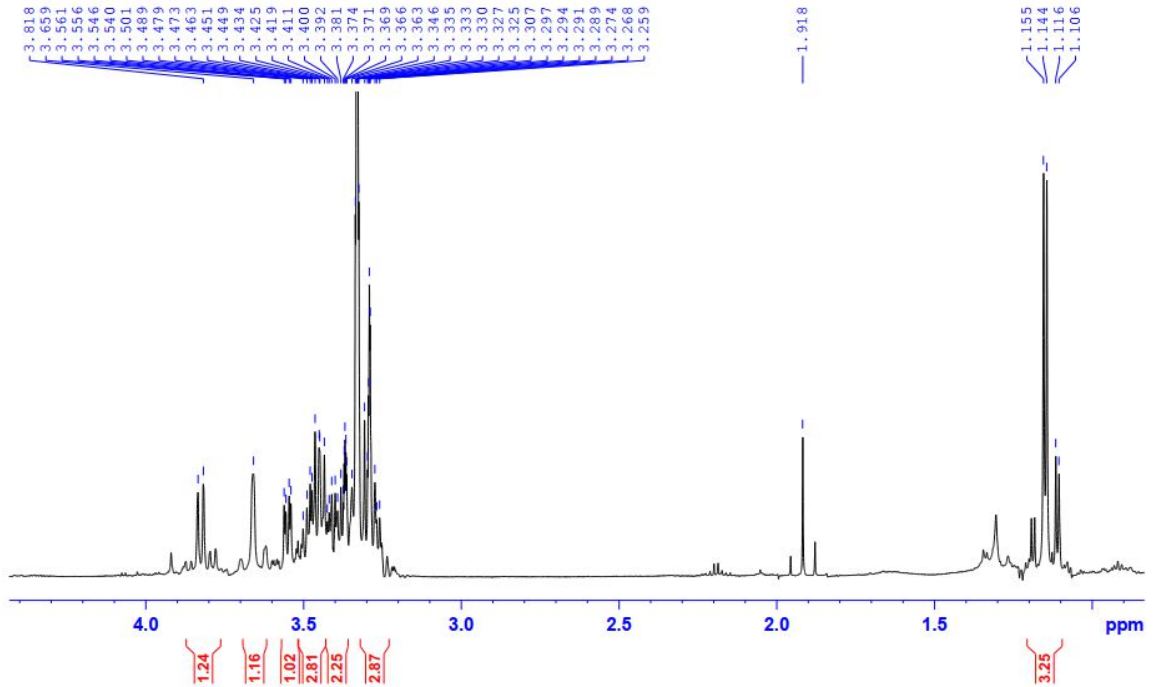
Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất (*S*)-dehydrovomifoliol (IC16)

## 2. Phụ lục phổ các chất phân lập từ loài Bóng nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)

## ❖ Phụ lục phổ chất IP1

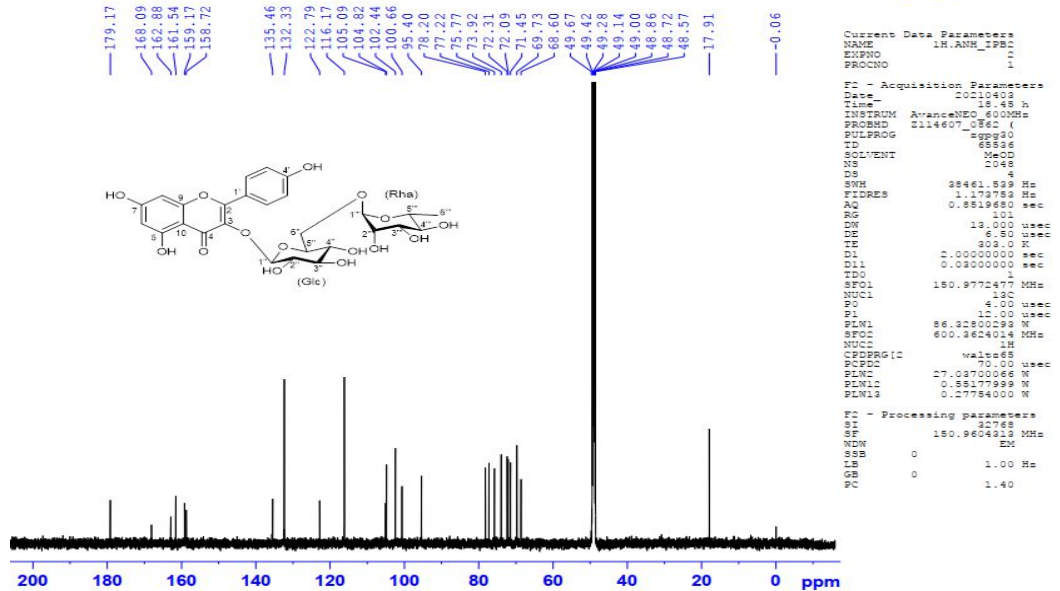
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)

## IPB2-MeOD-1H



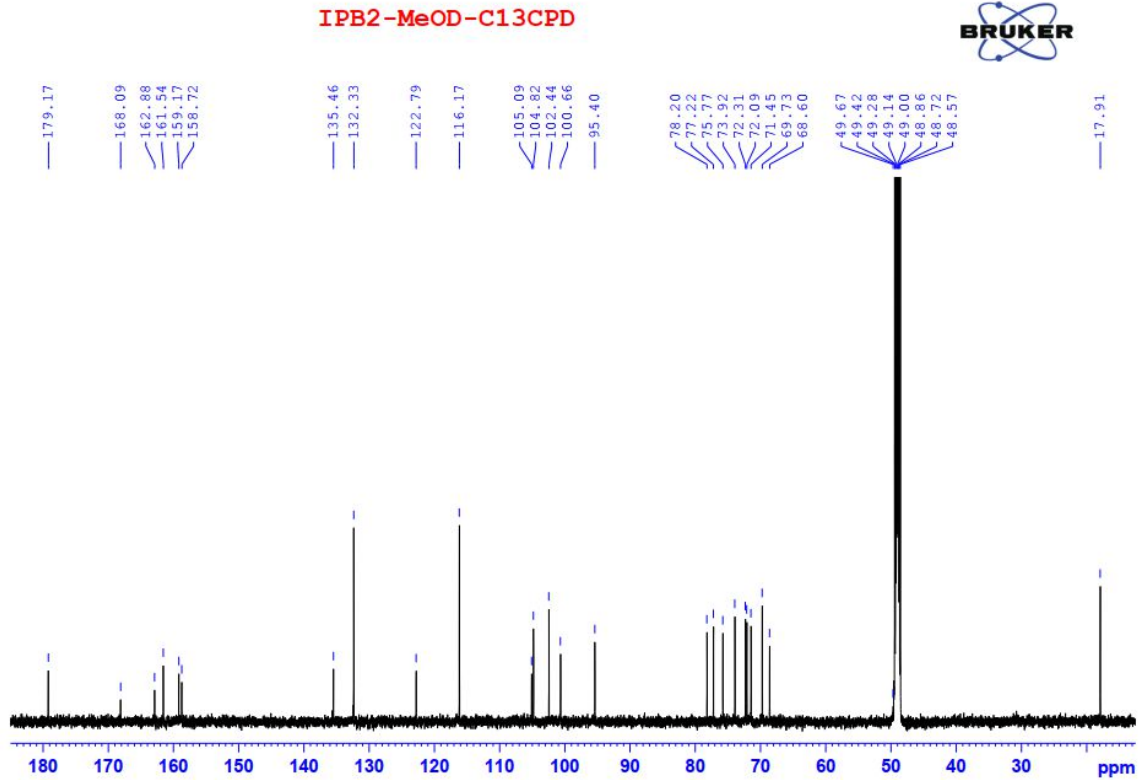
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)

## IPB2-MeOD-C13CPD

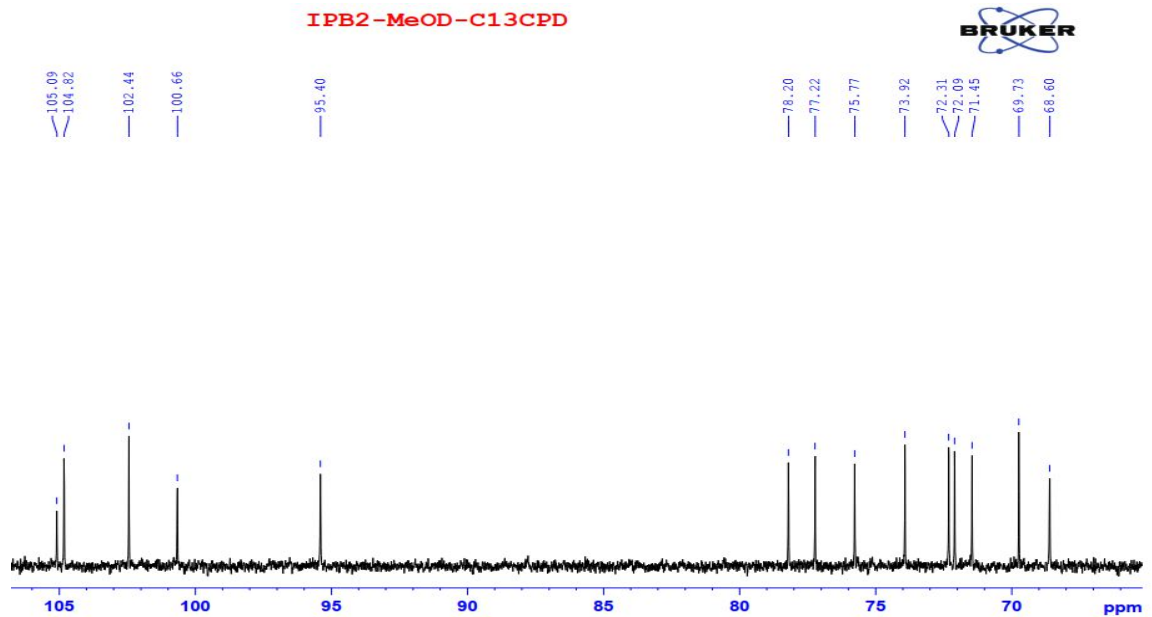


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)

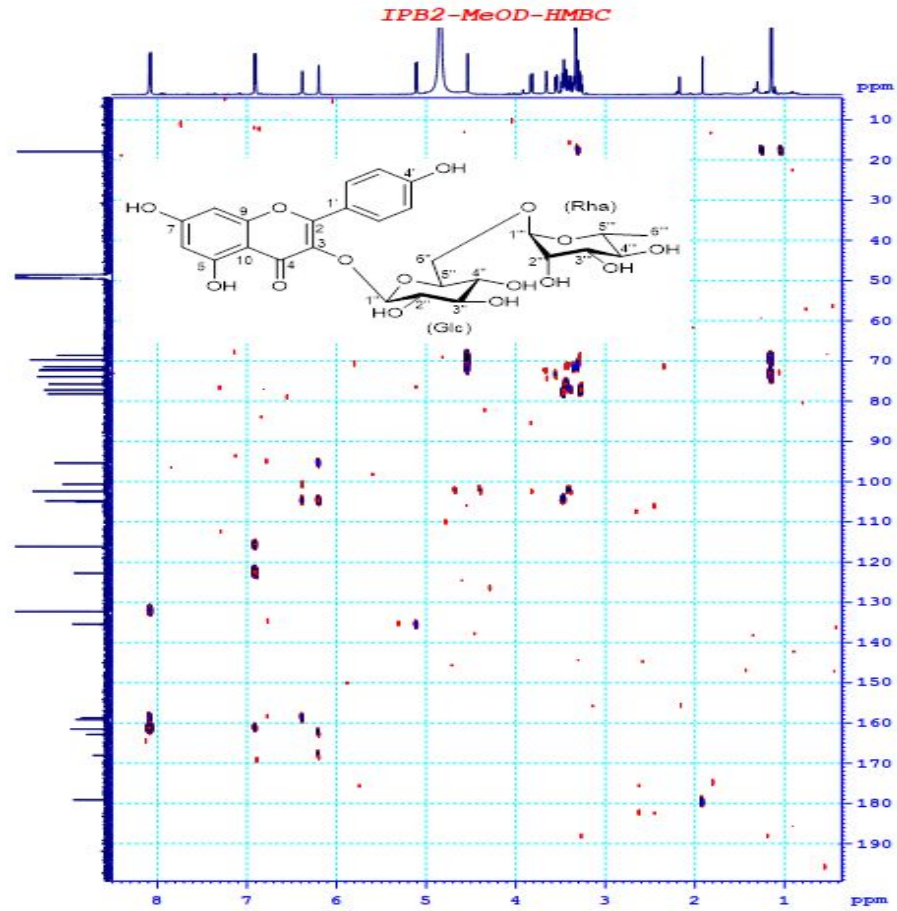




Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)

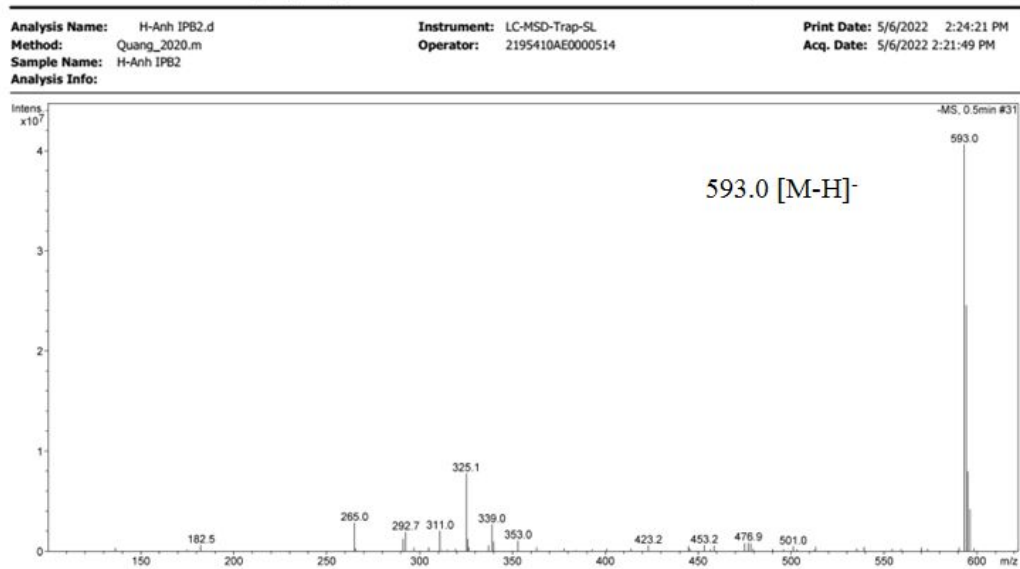


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (IP1)



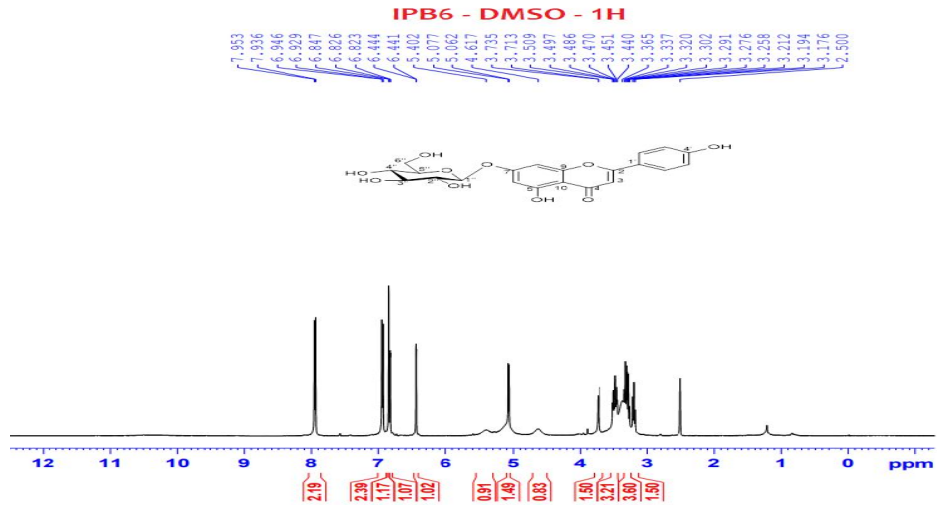
Phổ HMBC của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (**IP1**)

Display Report - Selected Window Selected Analysis

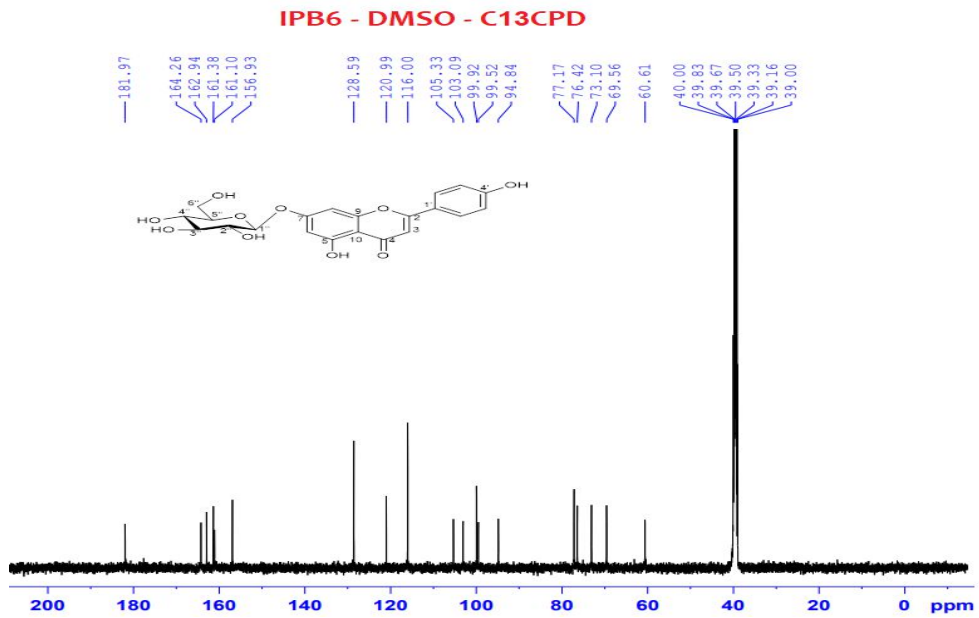


Phổ khối (-)-ESI-MS của hợp chất kaempferol-3-*O*-rutinoside (**IP1**)

❖ Phụ lục phổ chất **IP2**

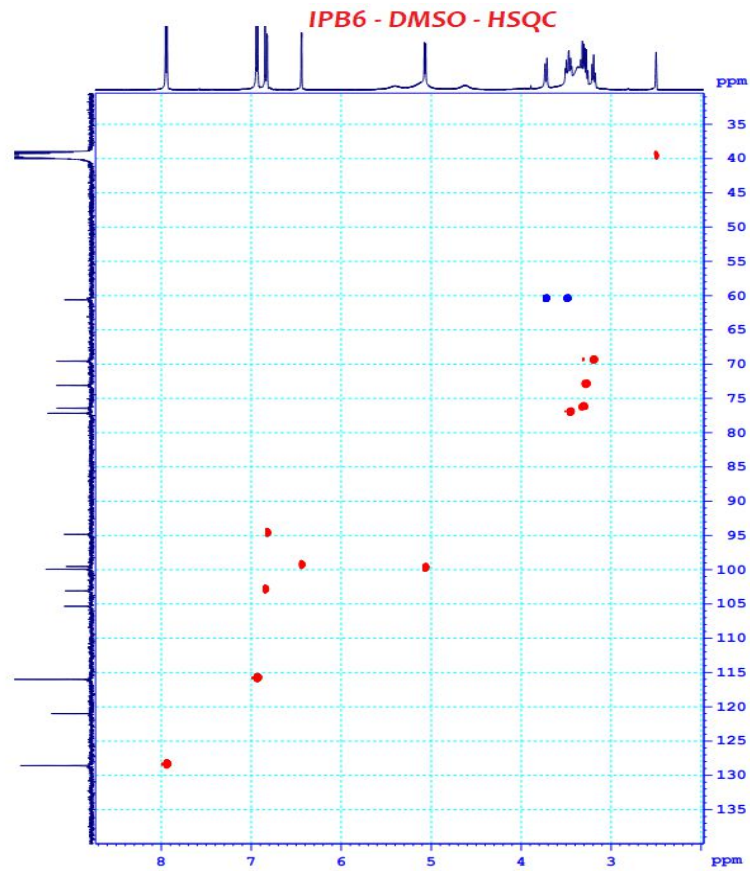


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)



Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất apigenin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)

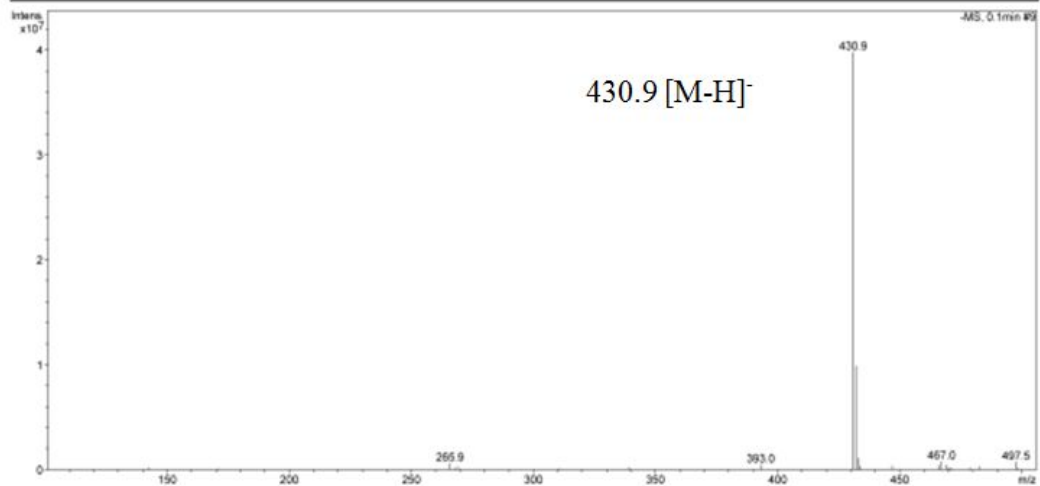




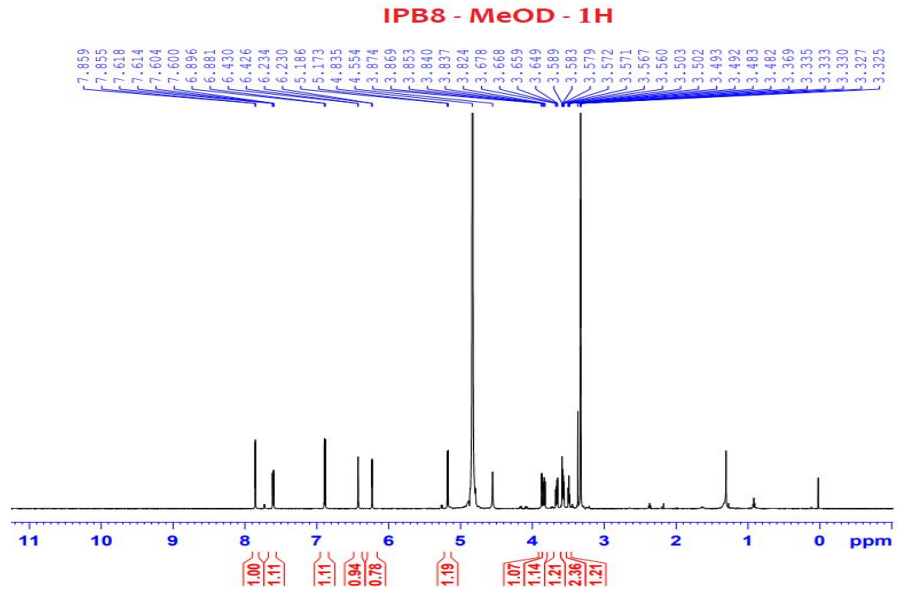
Phổ HSQC của hợp chất apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)

Display Report - Selected Window Selected Analysis

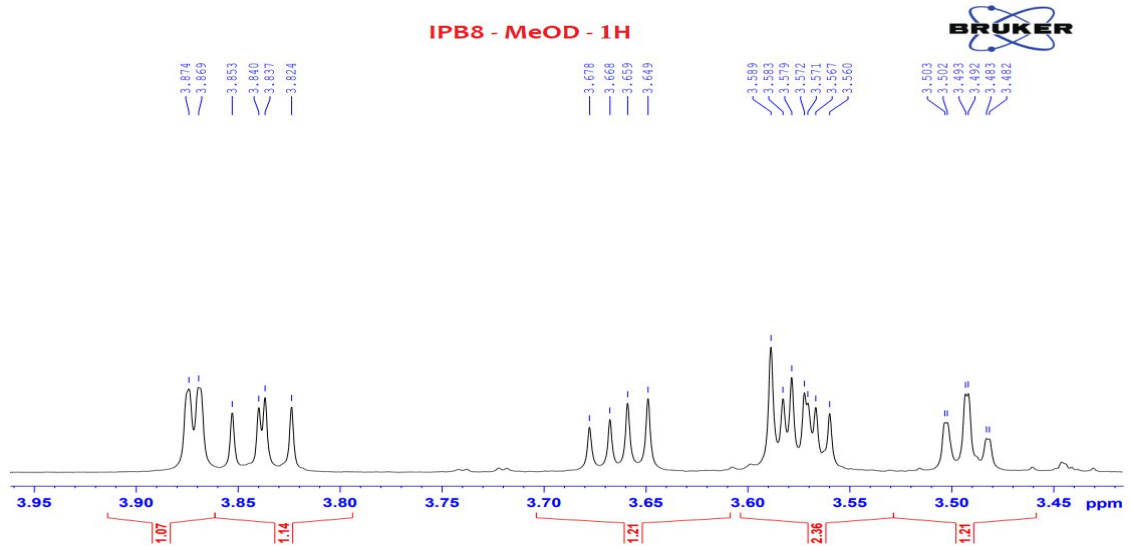
Analysis Name: H-Anh IPB6.d	Instrument: LC-MSD-Trap-SL	Print Date: 5/12/2022 2:57:18 PM
Method: Quang_2020.m	Operator: 2195410AE0000514	Acq. Date: 5/12/2022 2:55:11 PM
Sample Name: H-Anh IPB6		
Analysis Info:		



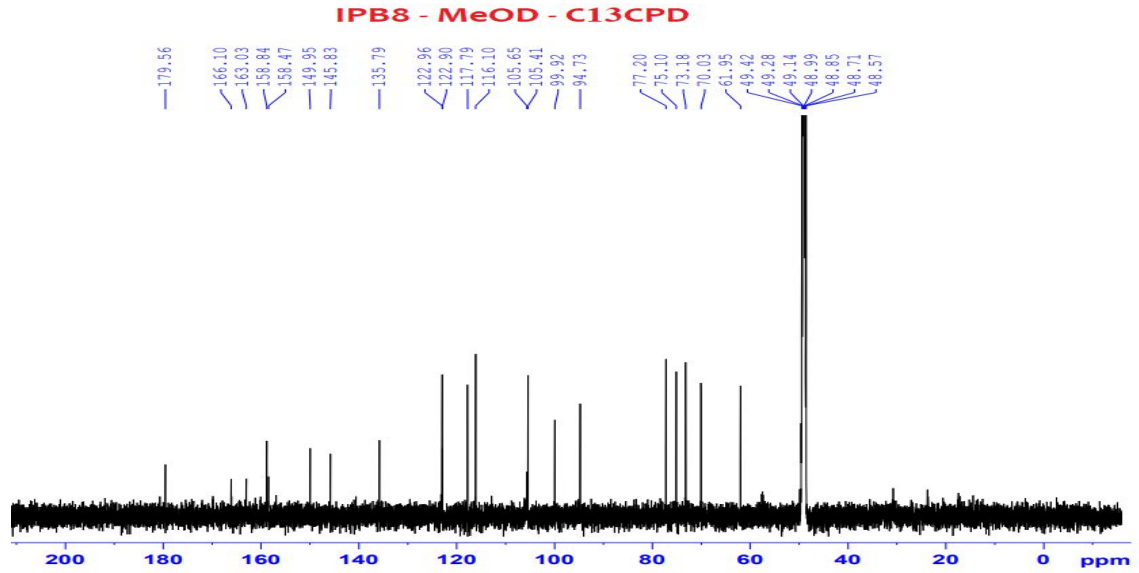
Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**IP2**)



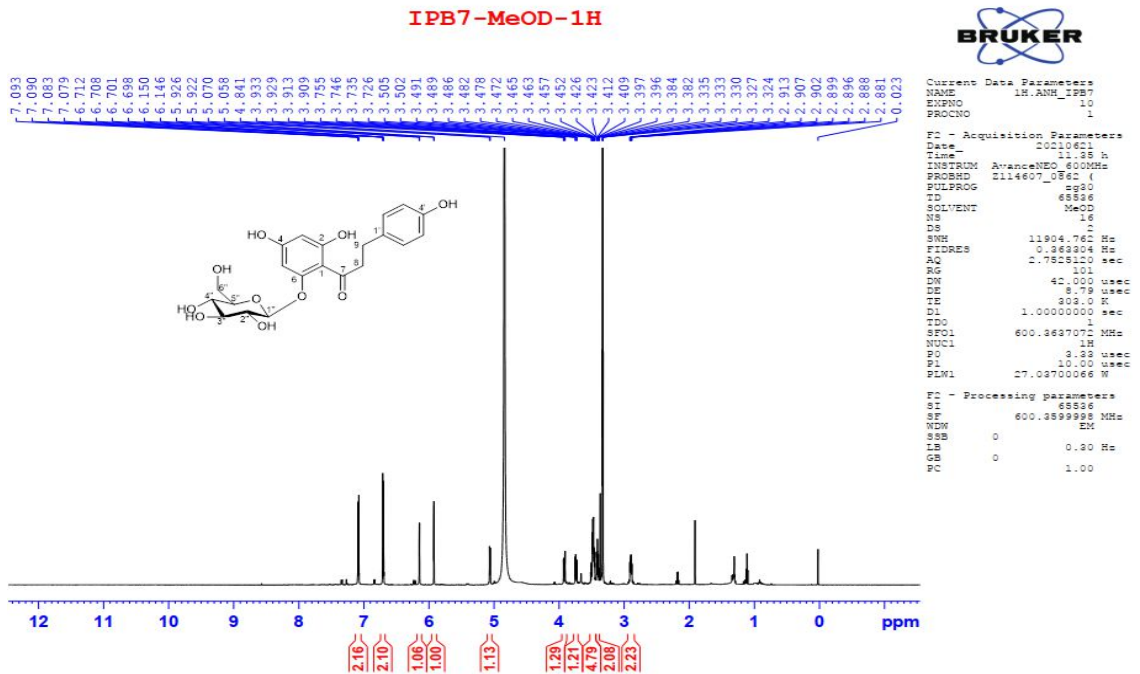
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất isoquercitrin (IP3)

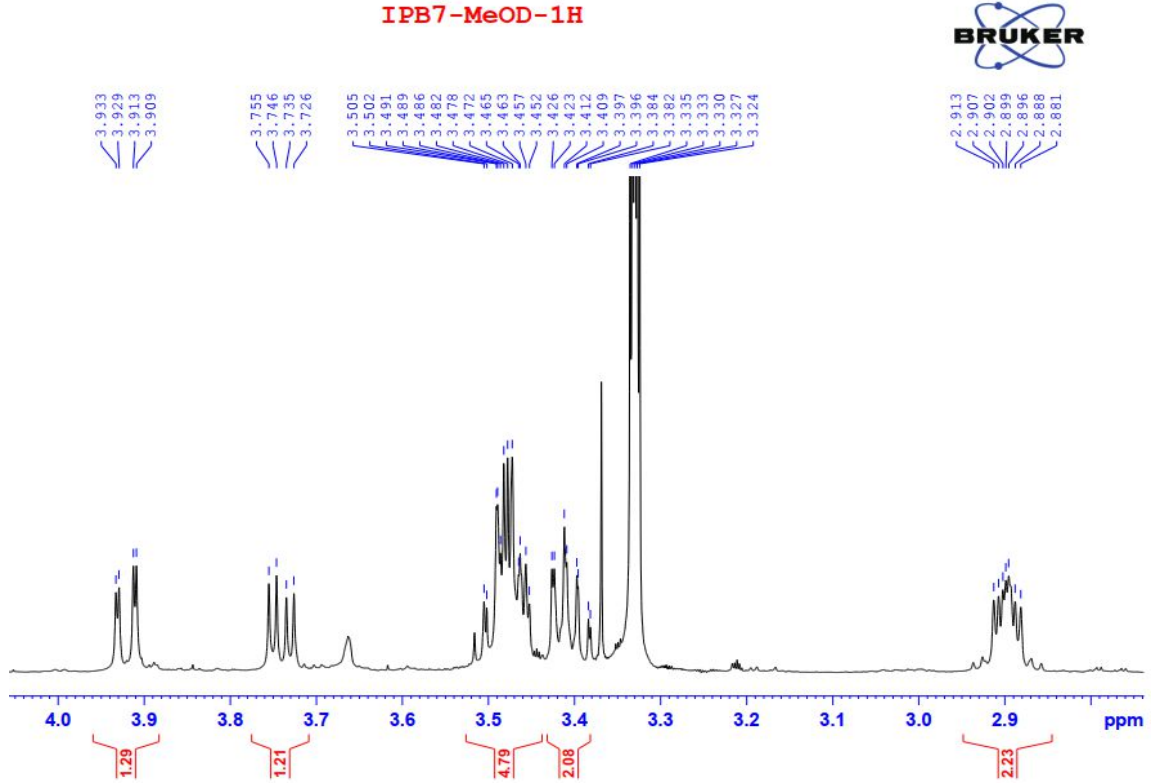


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất isoquercitrin (IP3)

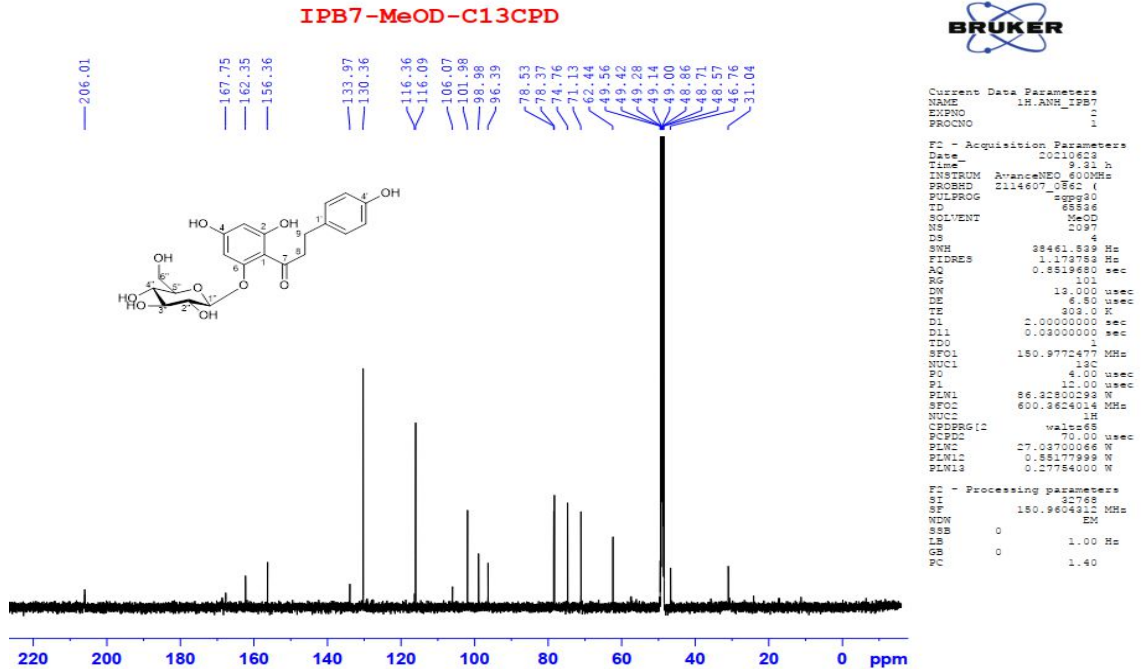


❖ Phụ lục phổ chất IP4





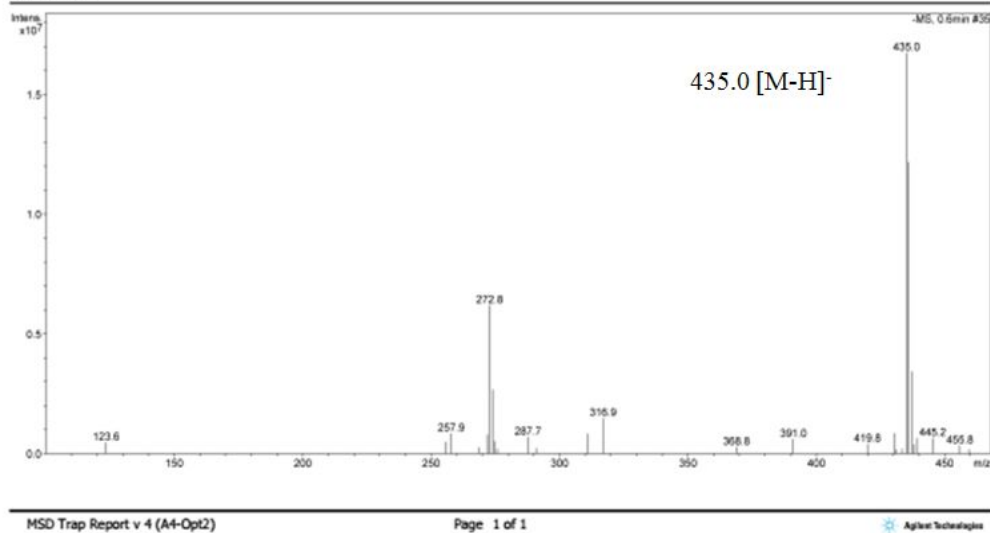
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất phlorizin (IP4)



Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất phlorizin (IP4)

## Display Report - Selected Window Selected Analysis

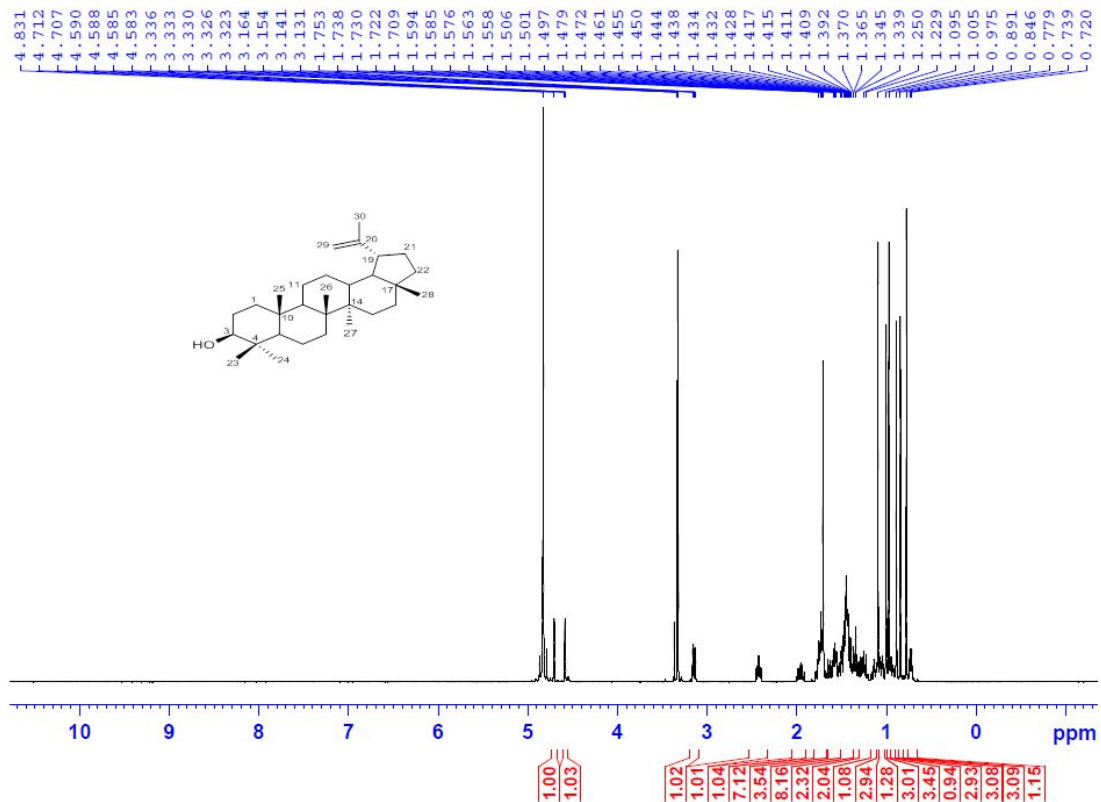
Analysis Name: H-Anh IPB7.d      Instrument: LC-MSD-Trap-SL      Print Date: 5/12/2022 3:04:14 PM  
 Method: Quang\_2020.m      Operator: 2195410AE0000514      Acq. Date: 5/12/2022 3:01:14 PM  
 Sample Name: H-Anh IPB7  
 Analysis Info:



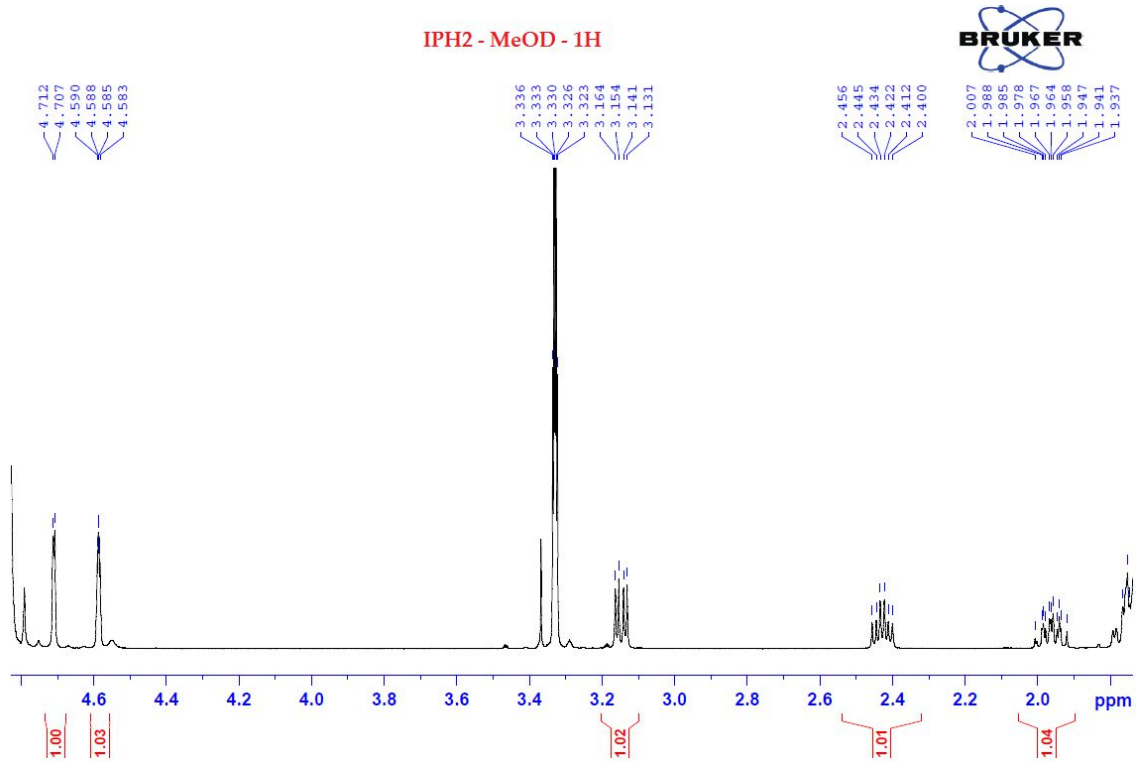
Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất phlorizin (IP4)

❖ Phụ lục phổ chất IP5

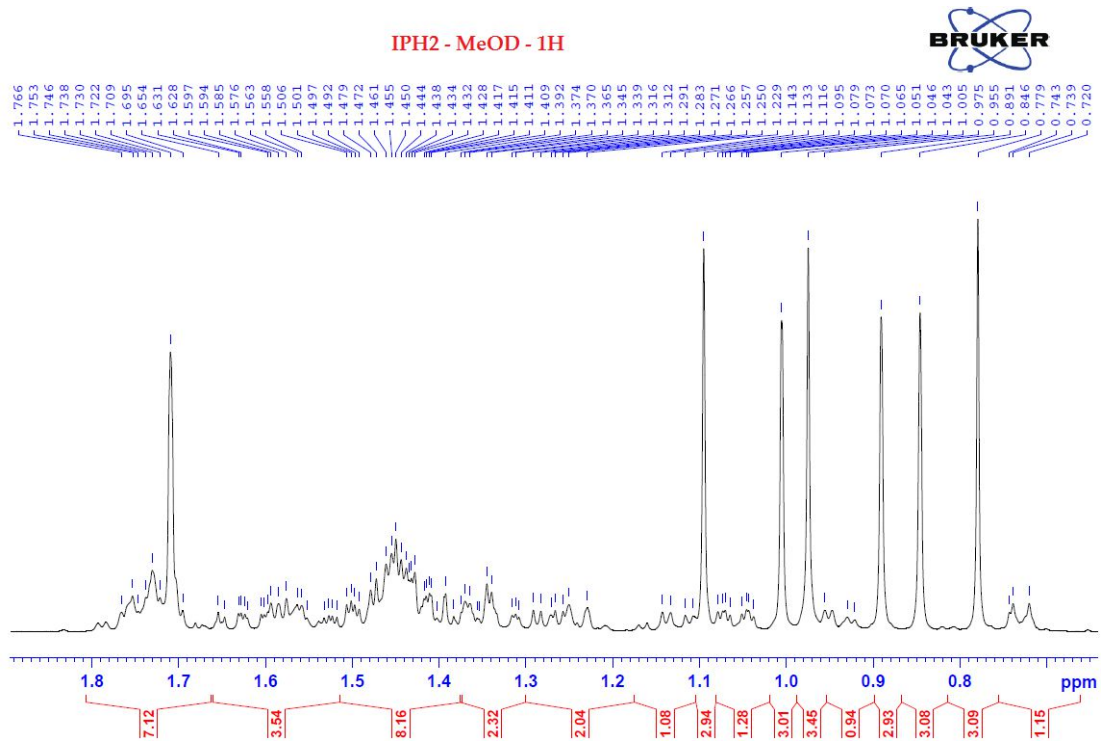
IPH2 - MeOD - 1H



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất lupeol (IP5)



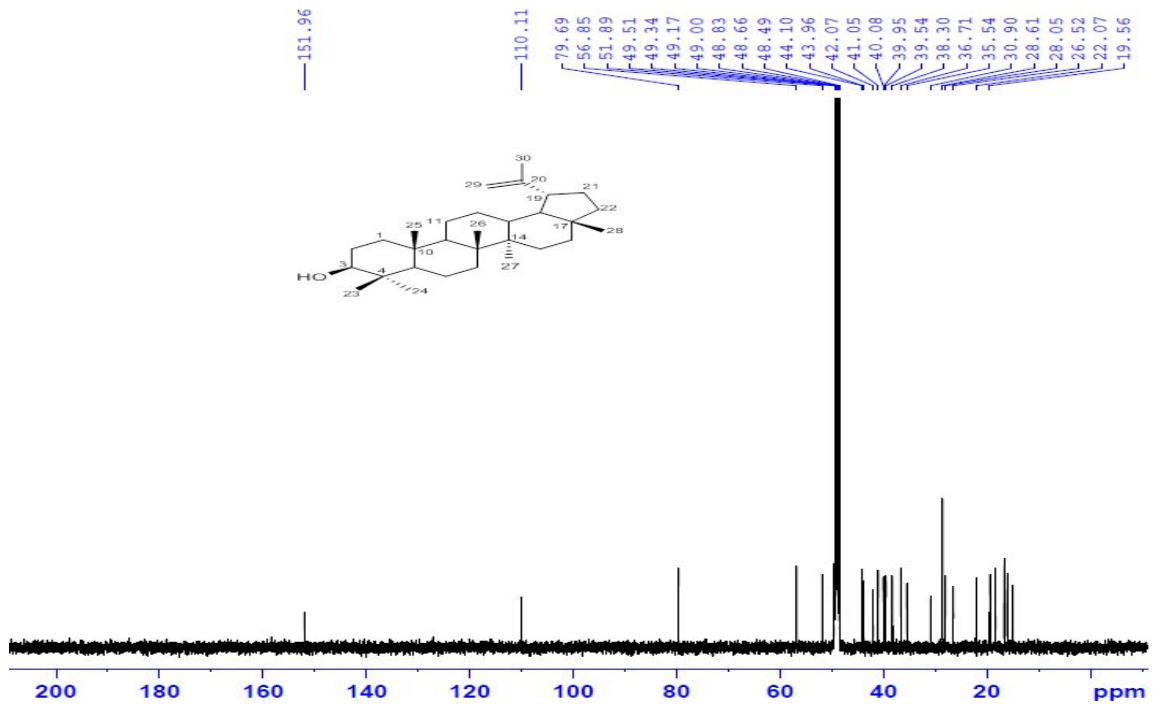
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất lupeol (IP5)



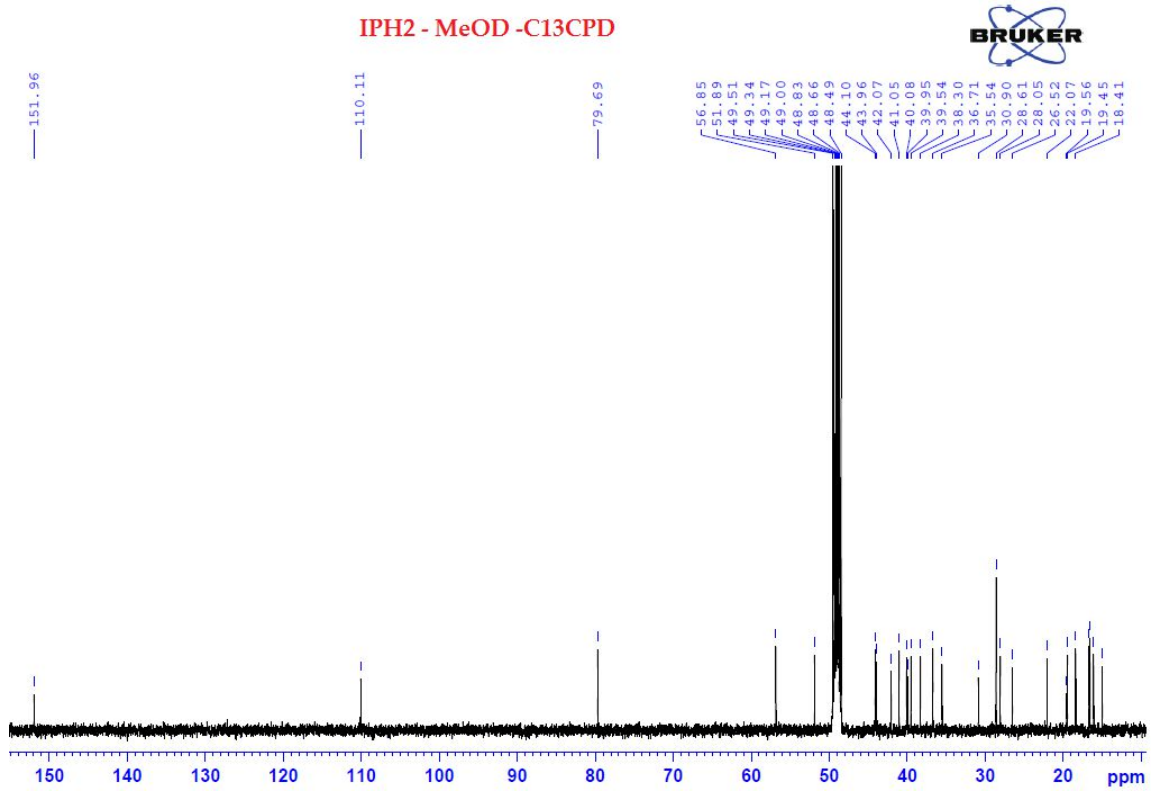
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất lupeol (IP5)

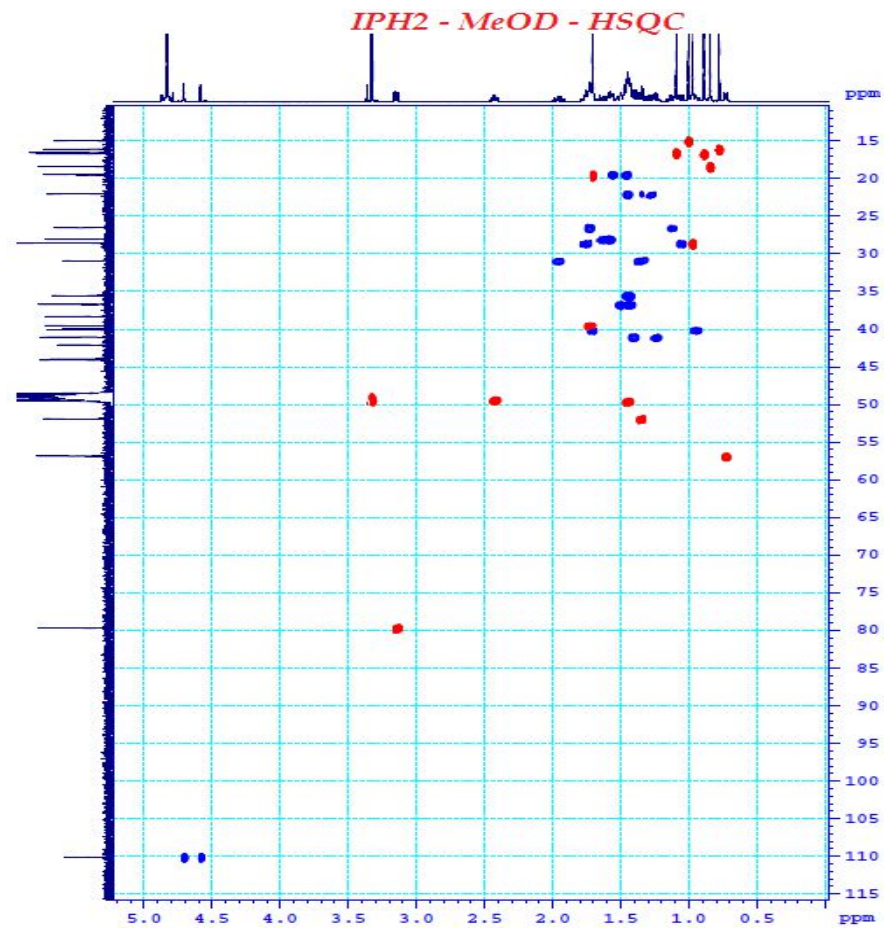
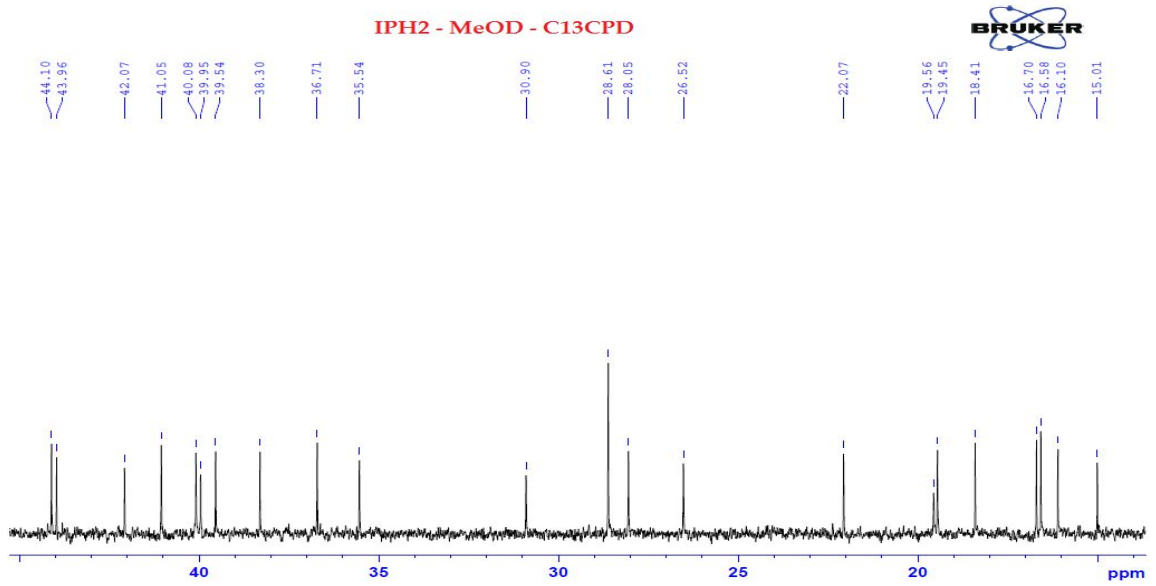


## IPH2 - MeOD - C13CPD

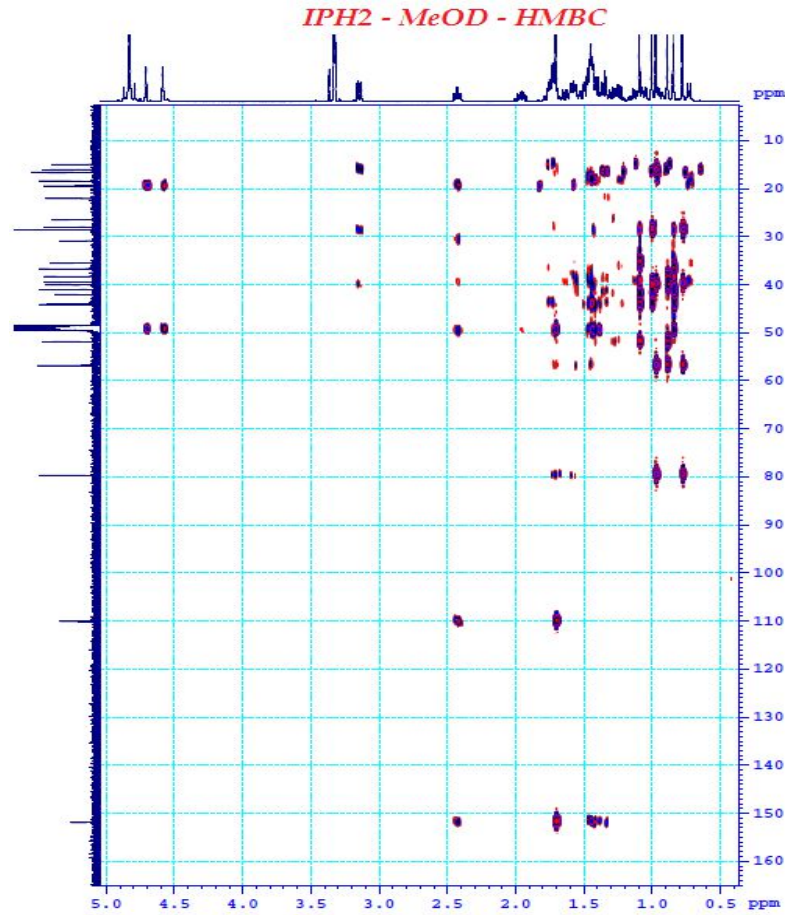
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất lupeol (IP5)

## IPH2 - MeOD - C13CPD

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất lupeol (IP5)

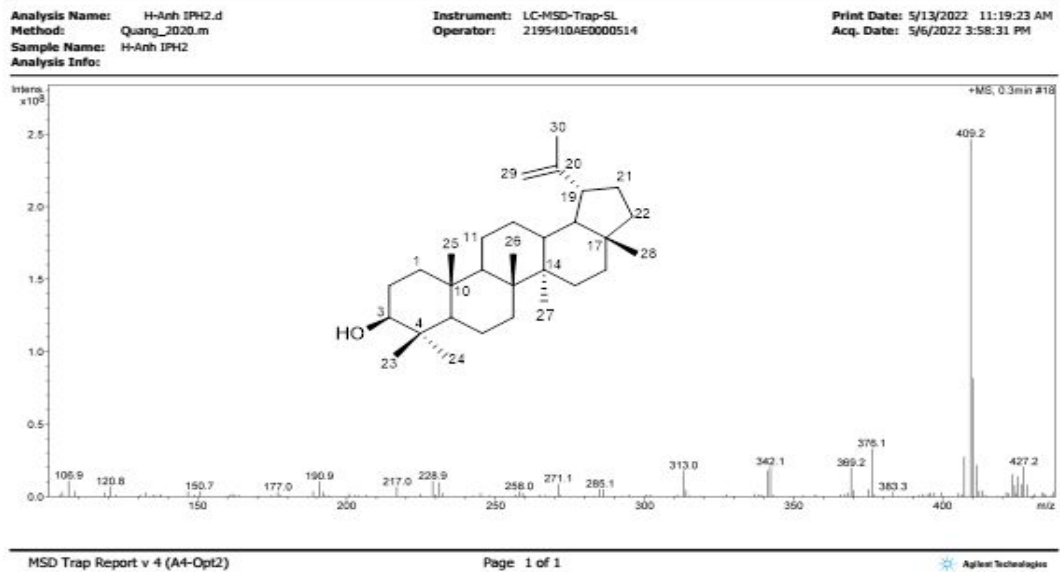






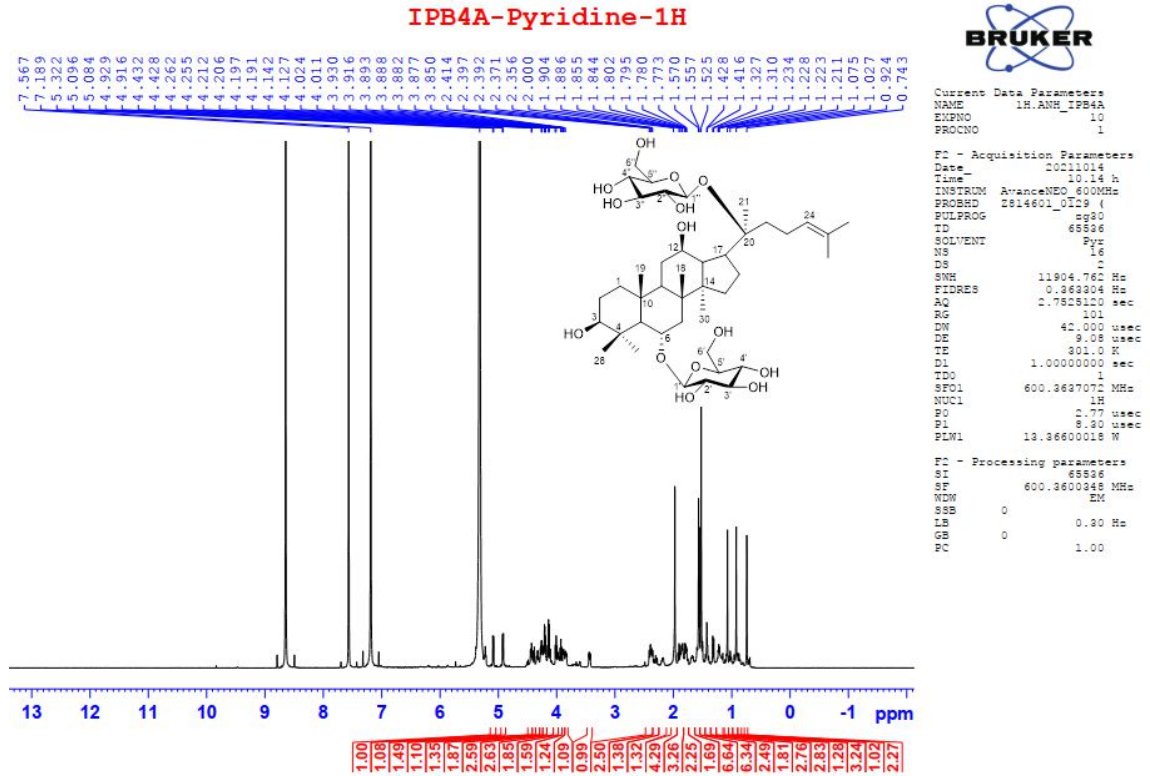
Phổ HMBC của hợp chất lupeol (IP5)

Display Report - Selected Window Selected Analysis

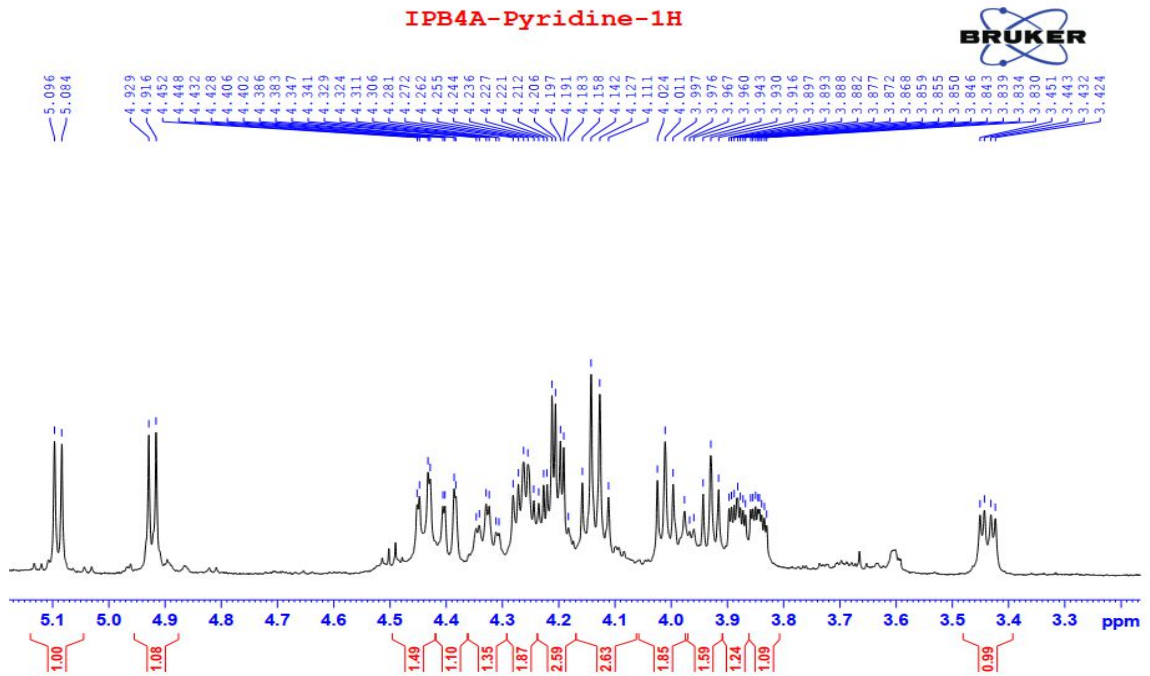


Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất lupeol (IP5)

❖ Phụ lục phổ chất IP6



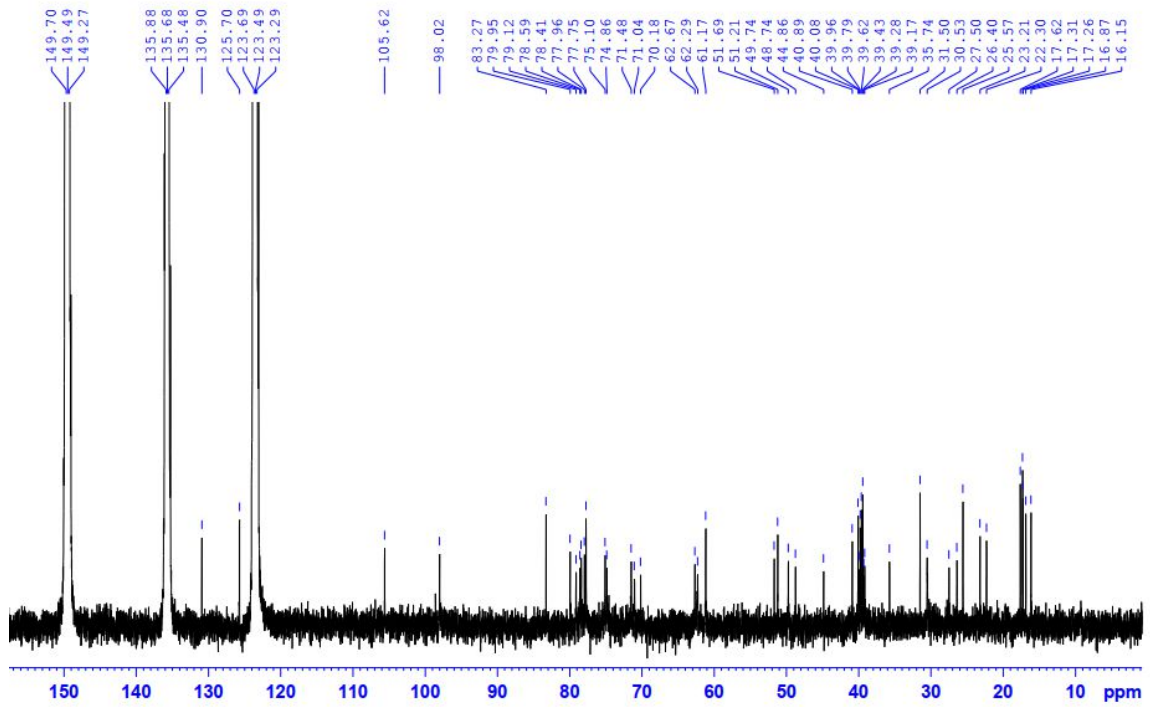
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, pyridine- $d_5$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, pyridine- $d_5$ ) giãn của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

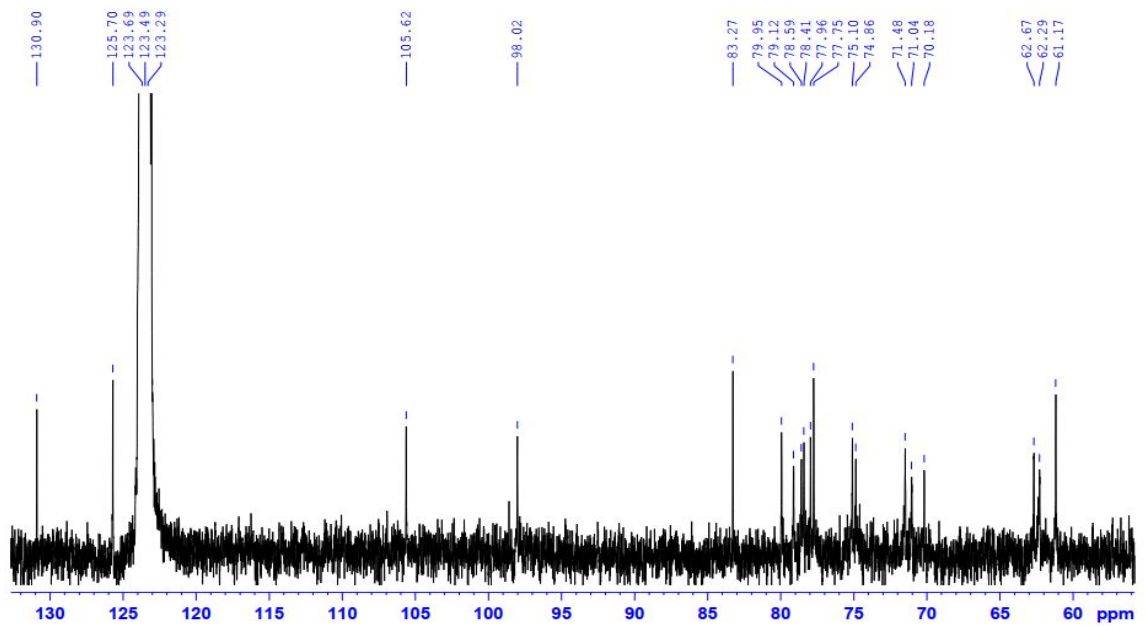


## IPB4A-Pyridine-C13CPD



Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, pyridine- $d_5$ ) giãn của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

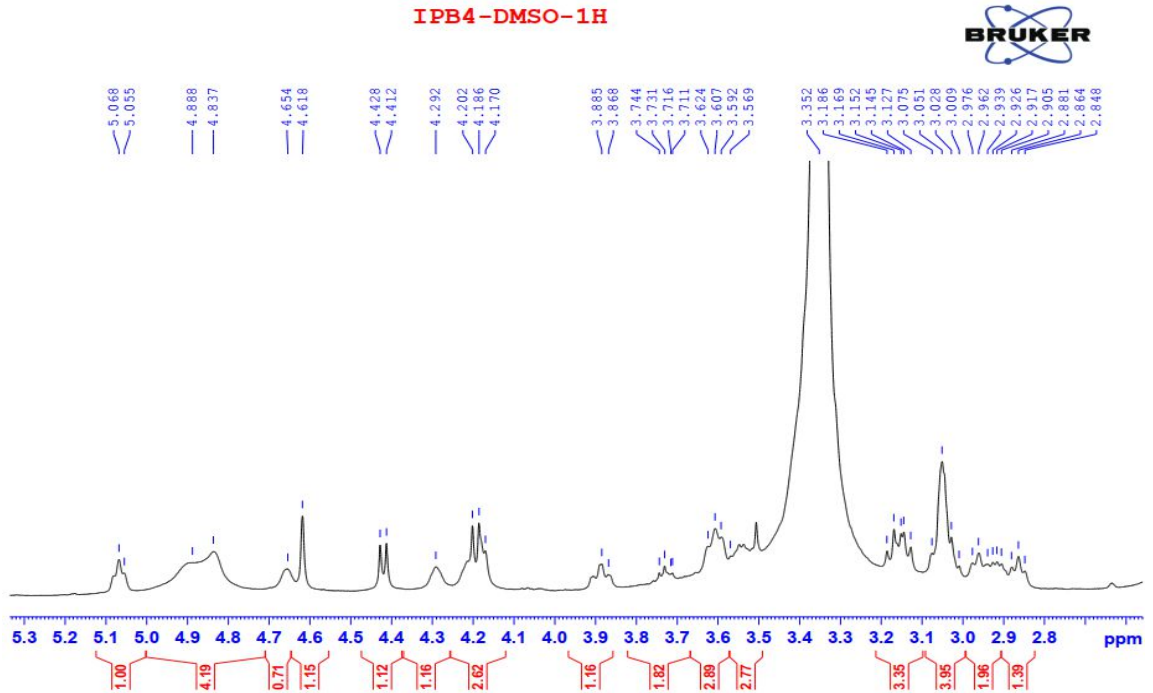
## IPB4A-Pyridine-C13CPD



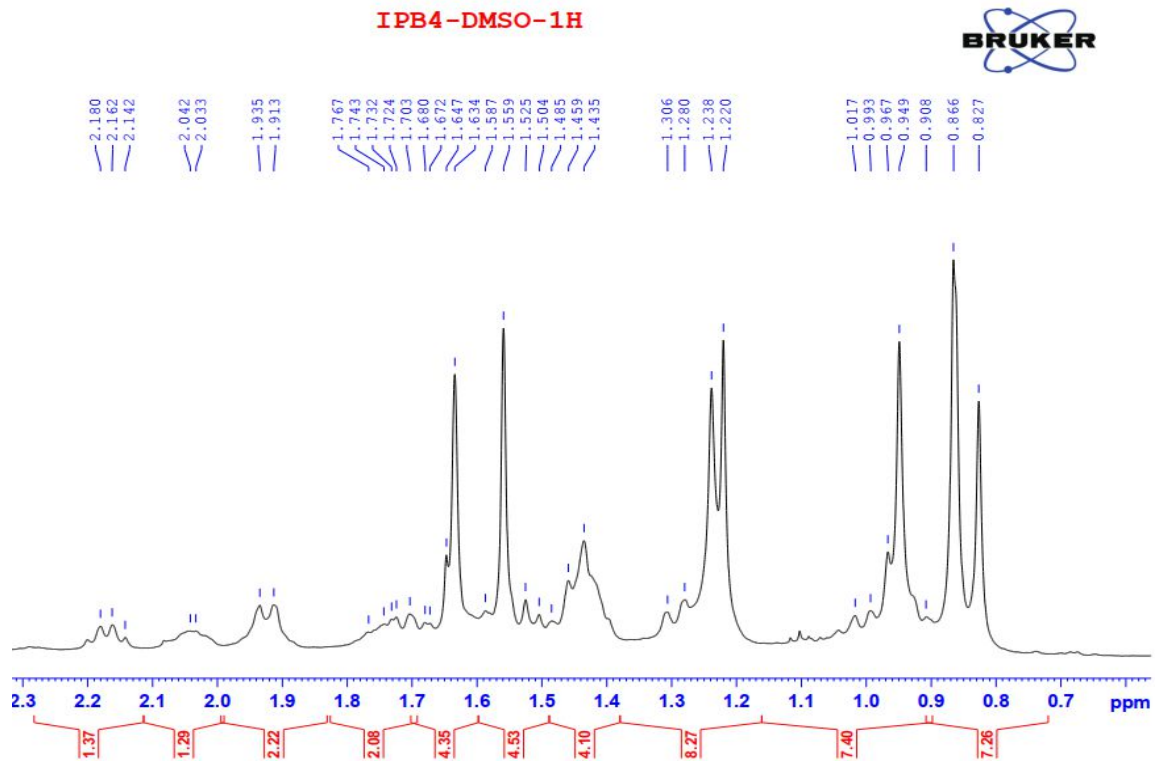
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, pyridine- $d_5$ ) giãn của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)



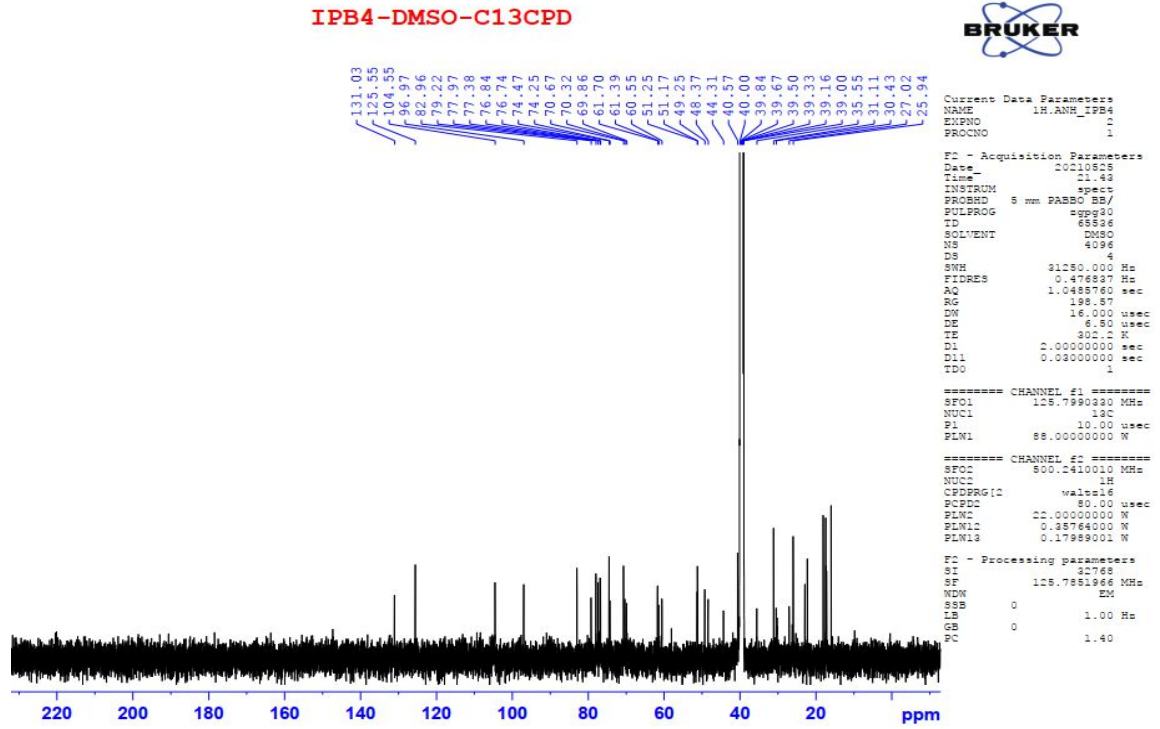




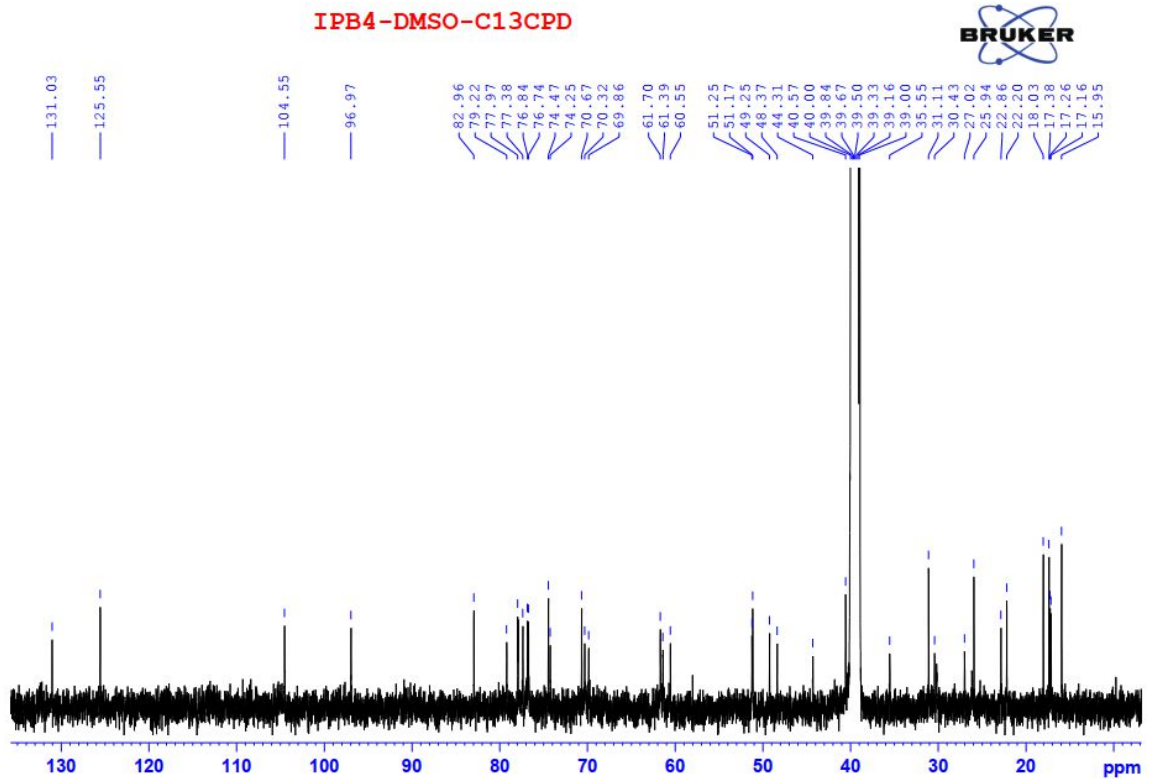
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) giản của hợp chất ginsenoside Rg1  
(IP6)



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) giản của hợp chất ginsenoside Rg1  
(IP6)



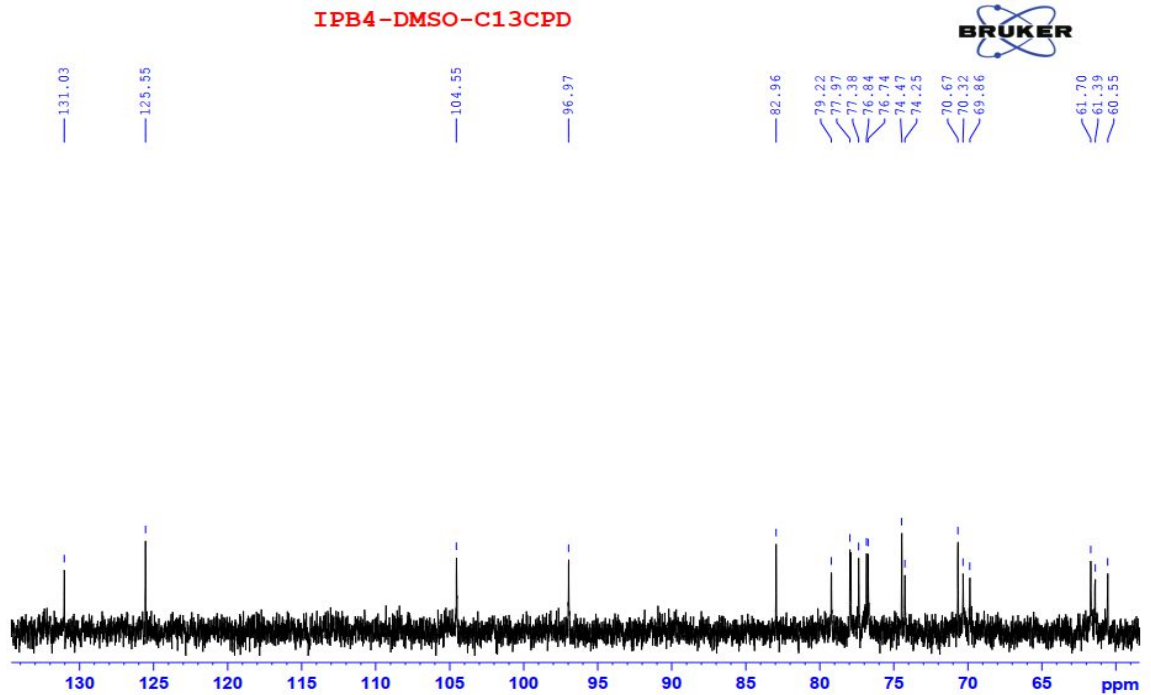
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)



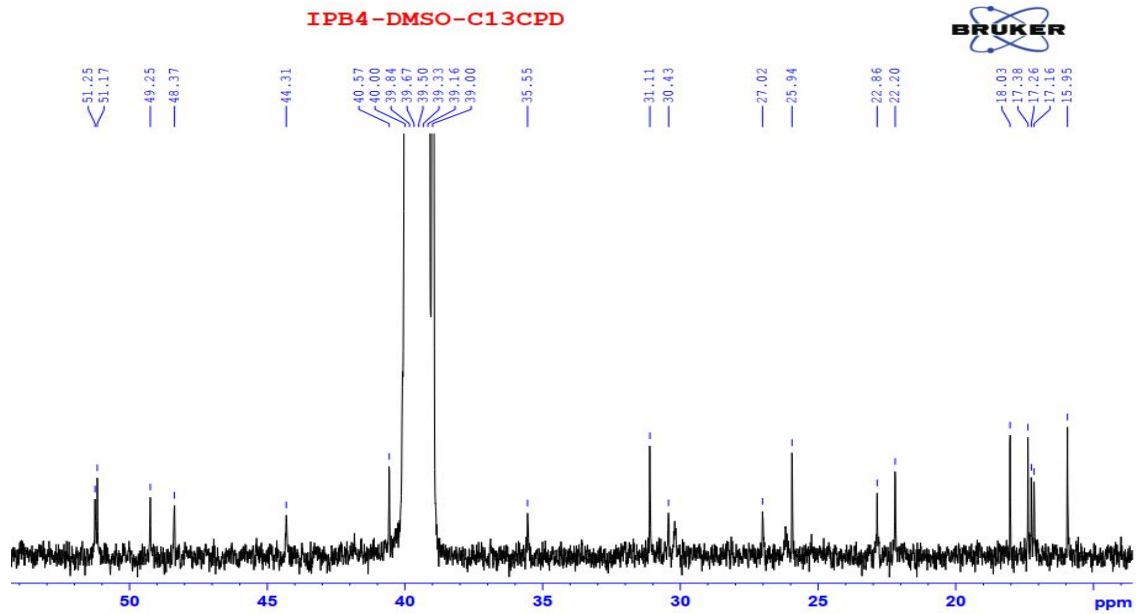
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) giãn của hợp chất ginsenoside Rg1

(IP6)

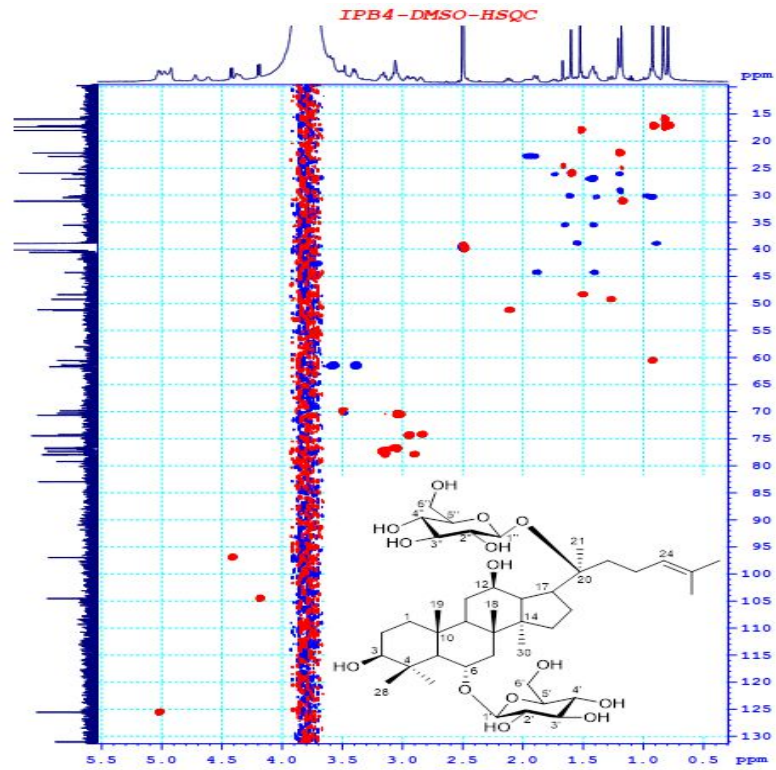




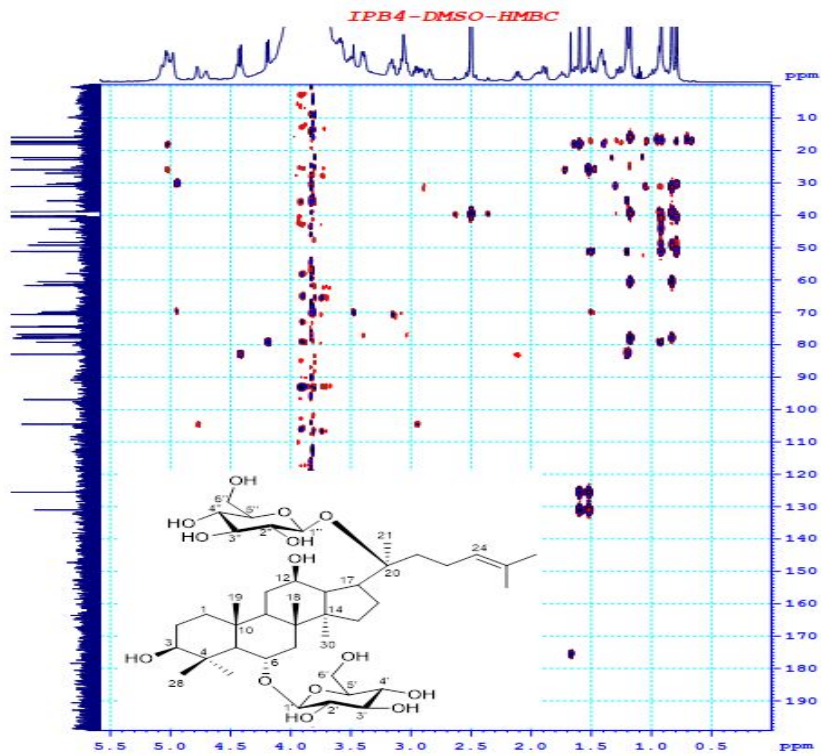
(IP6)



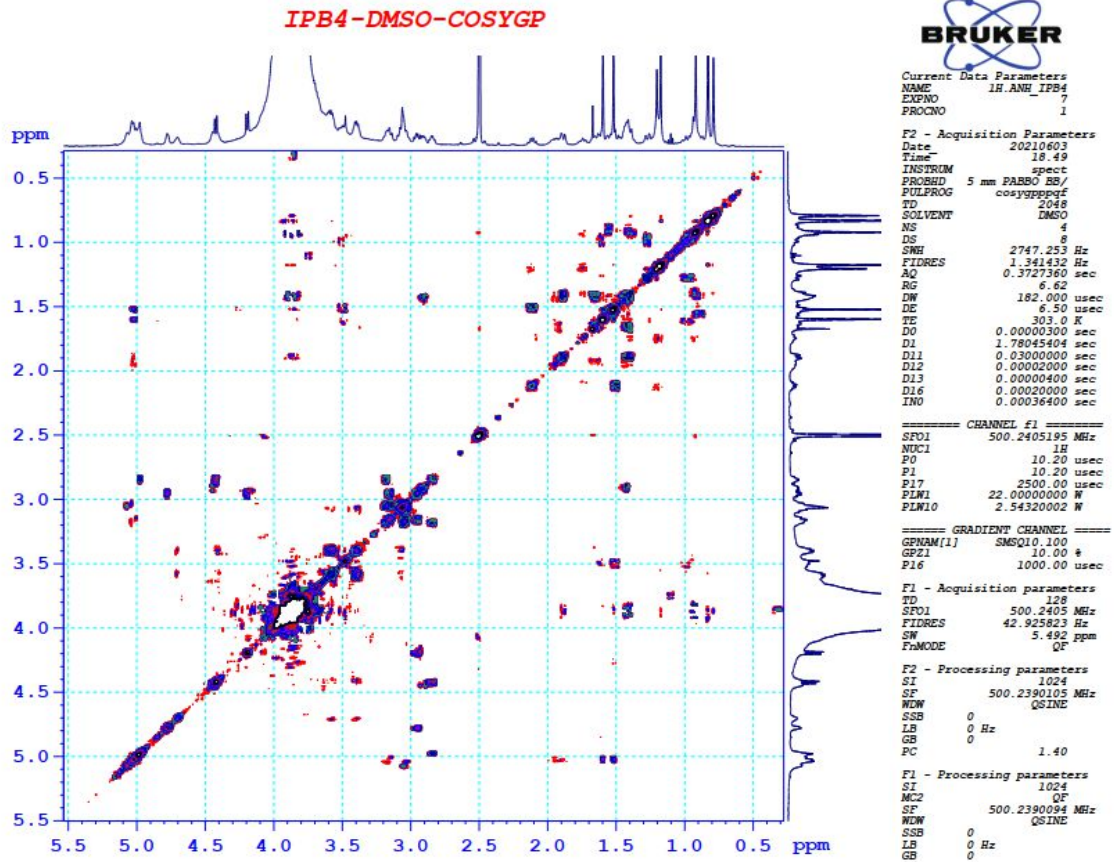
(IP6)



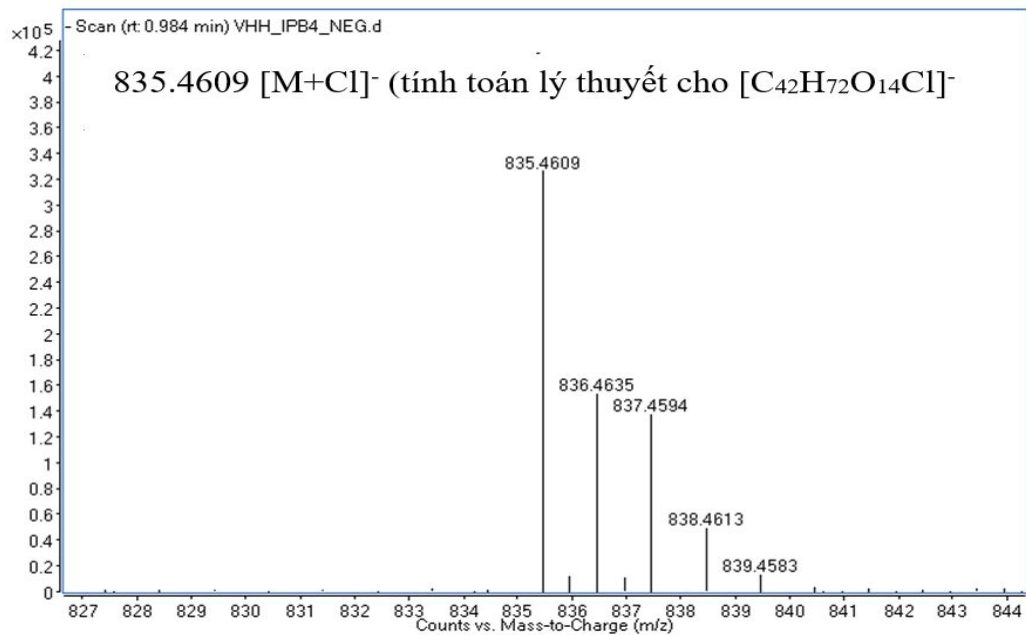
Phổ HSQC của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)



Phổ HMBC của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

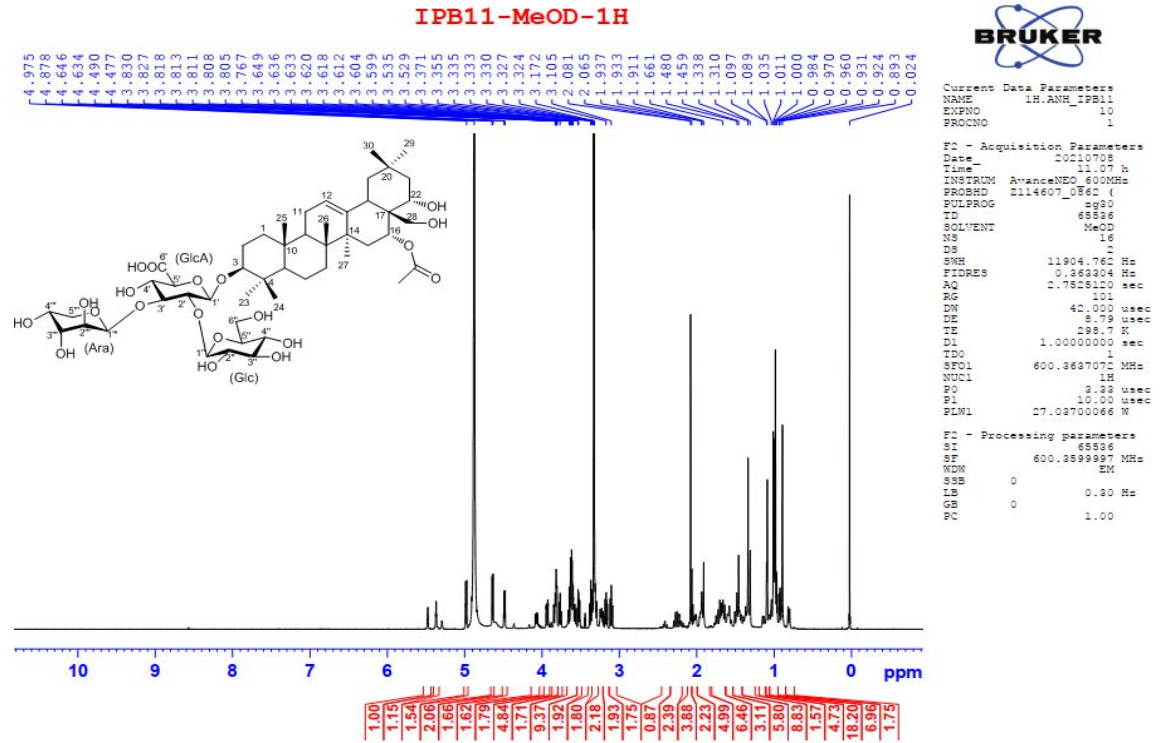


Phổ COSY của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

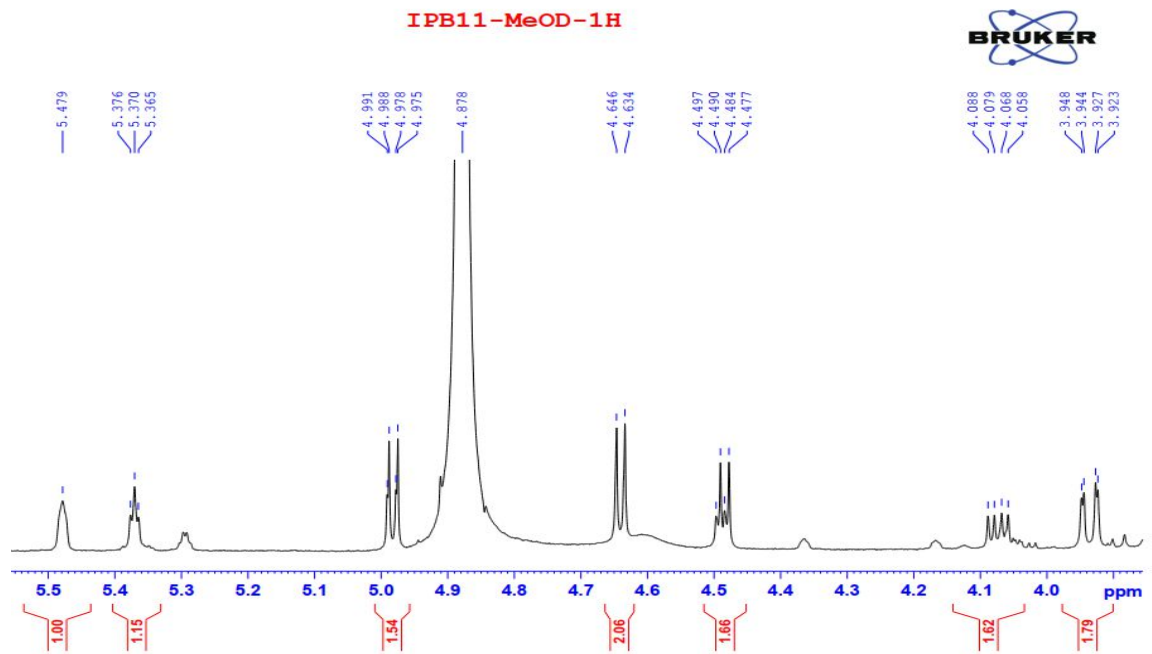


Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất ginsenoside Rg1 (IP6)

❖ Phụ lục phổ chất IP7

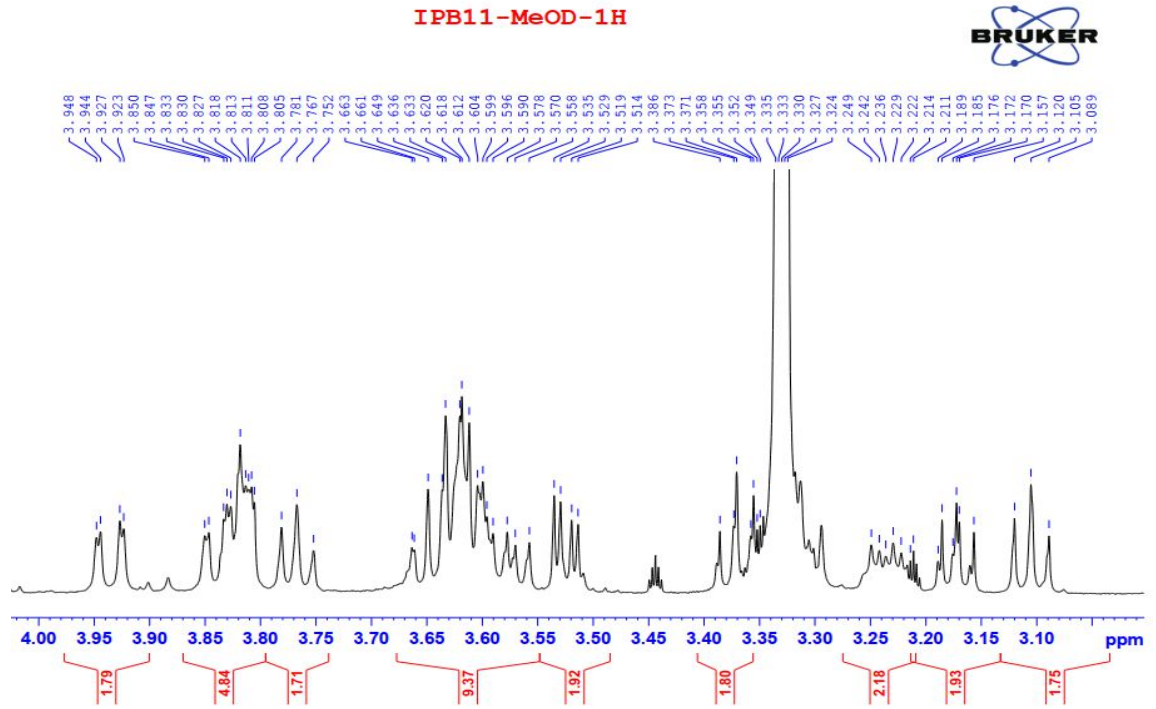


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

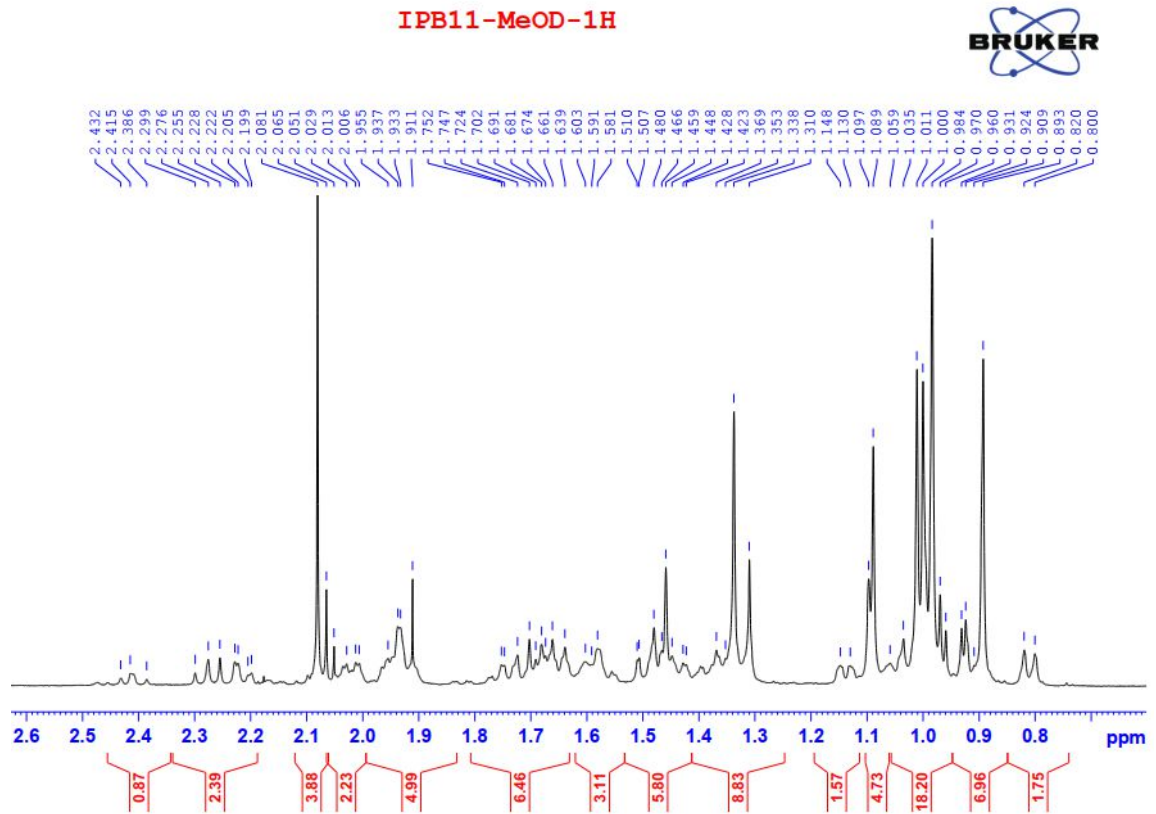


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



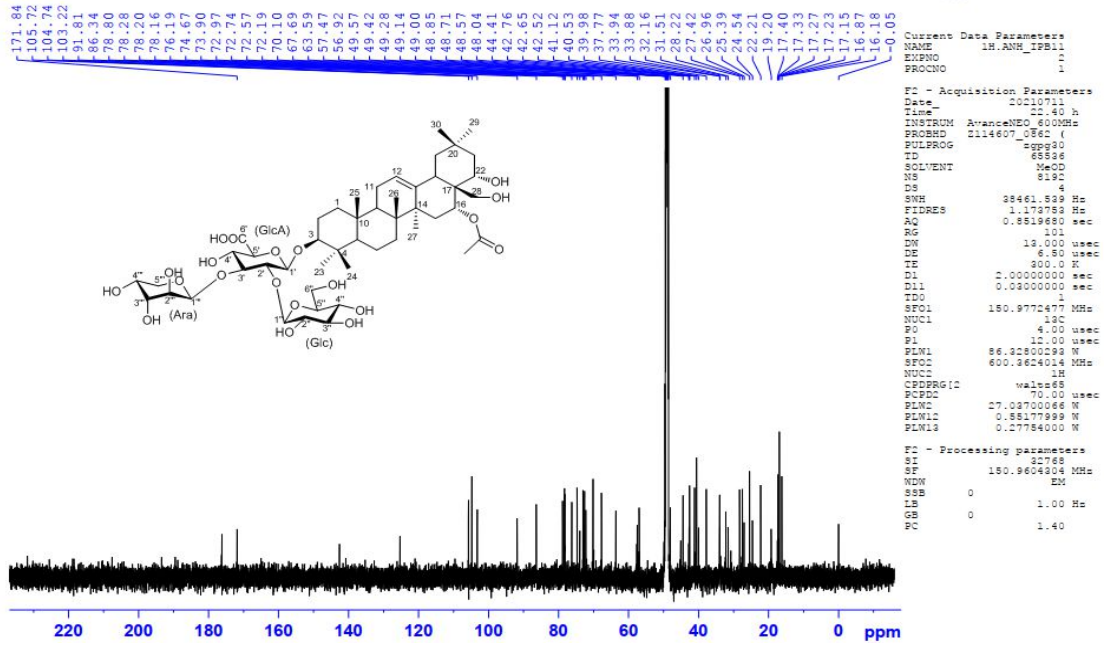


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

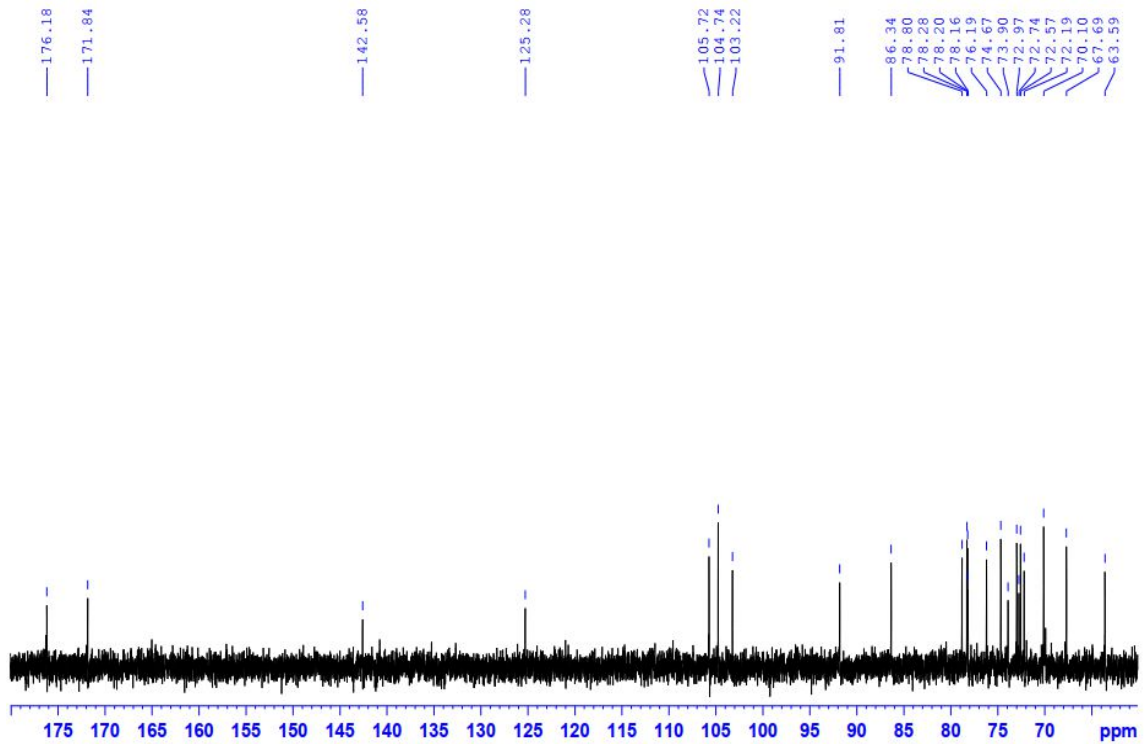


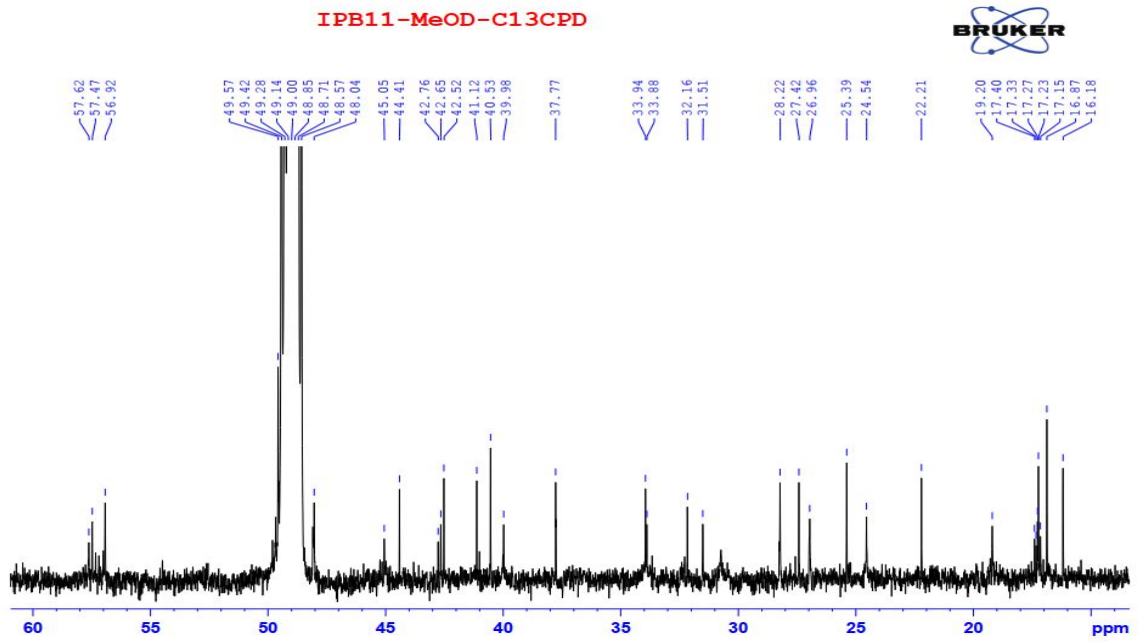
Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

## IPB11-MeOD-C13CPD

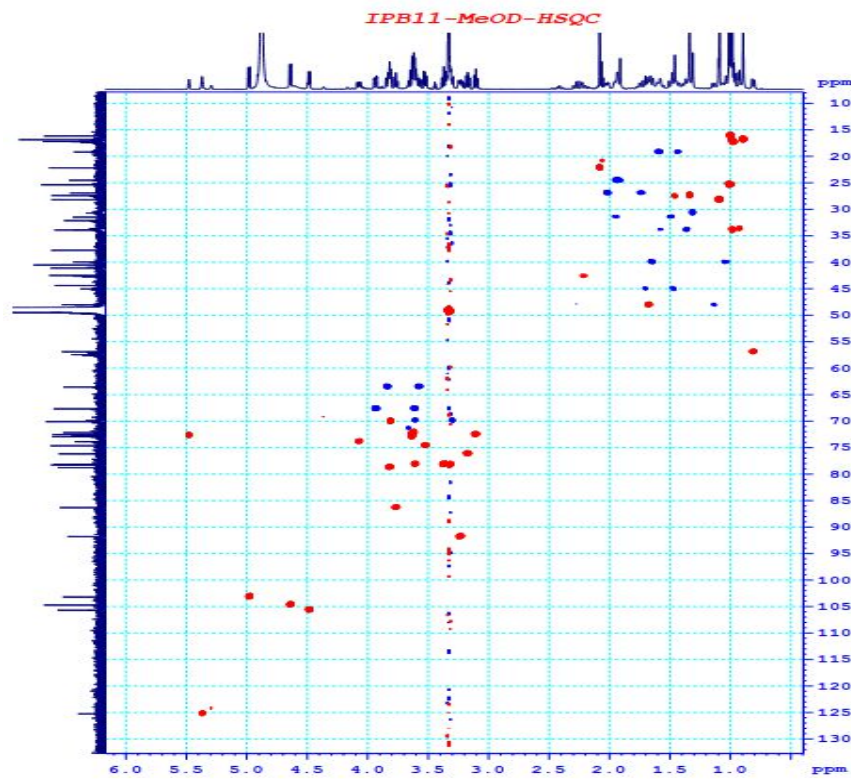
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

## IPB11-MeOD-C13CPD

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

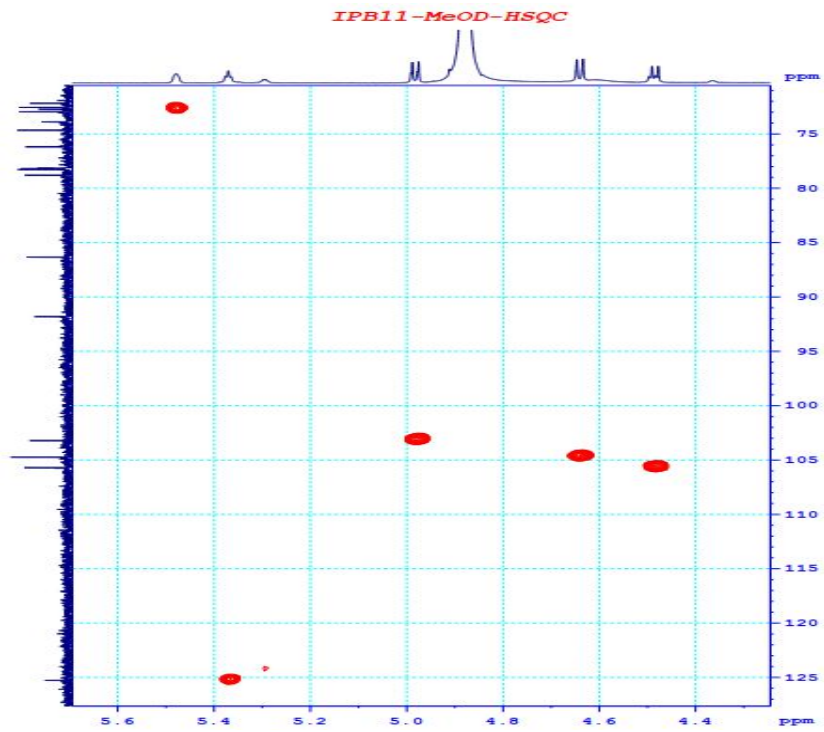


Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

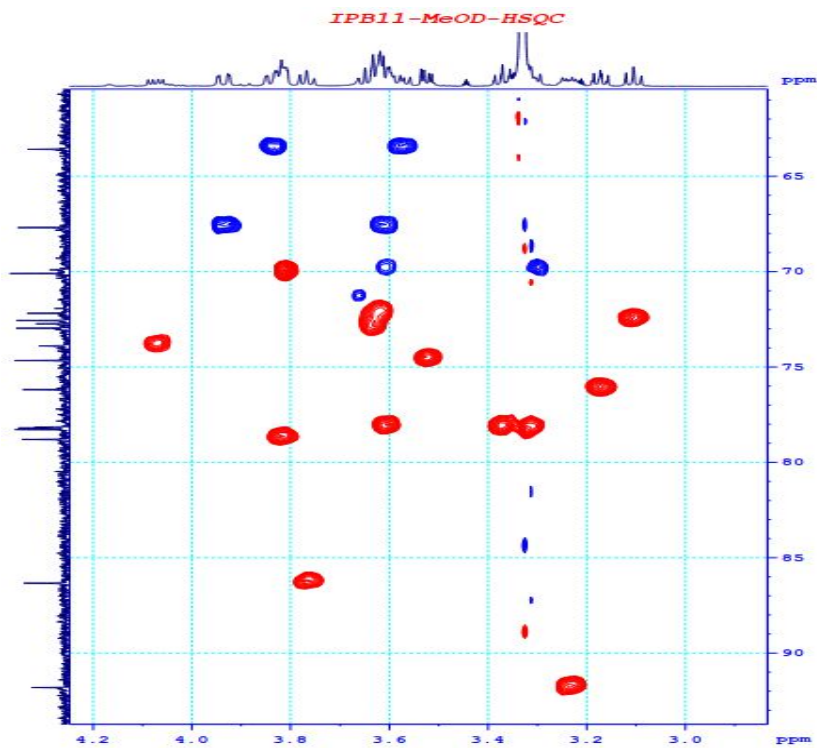


Phổ HSQC của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

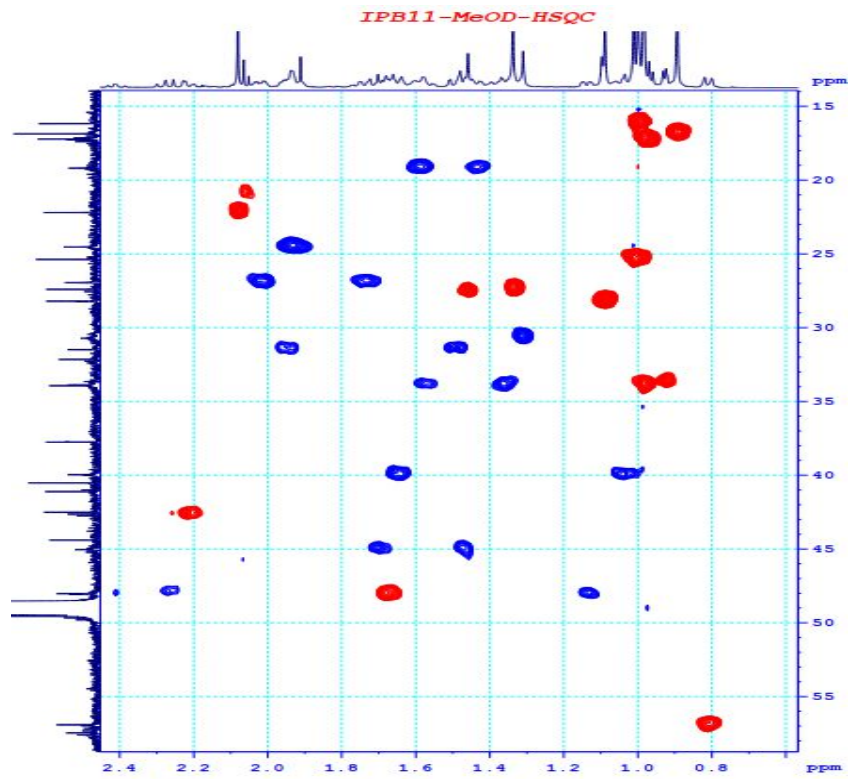




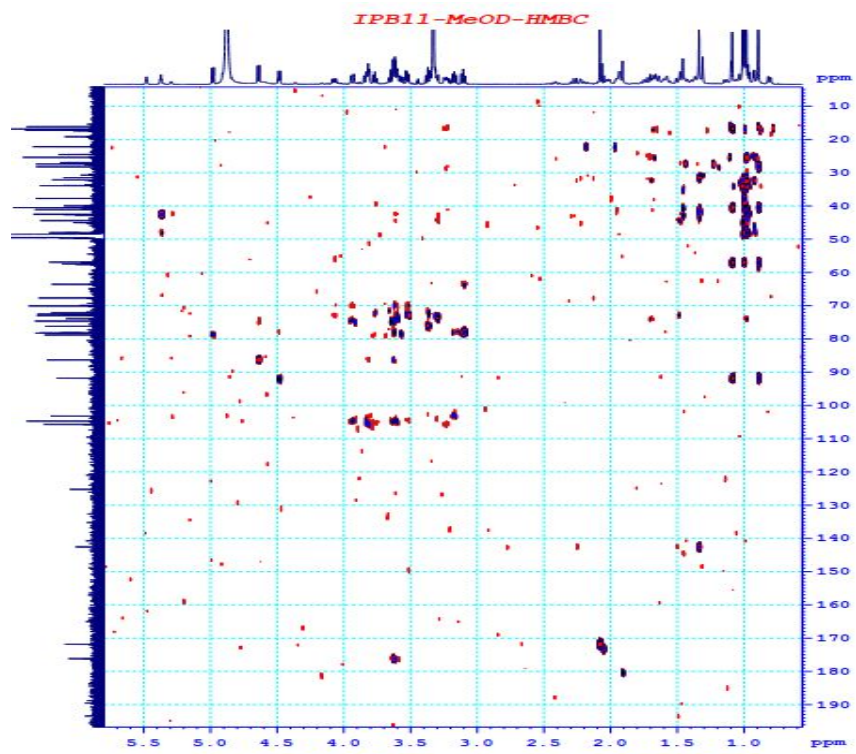
Phổ HSQC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



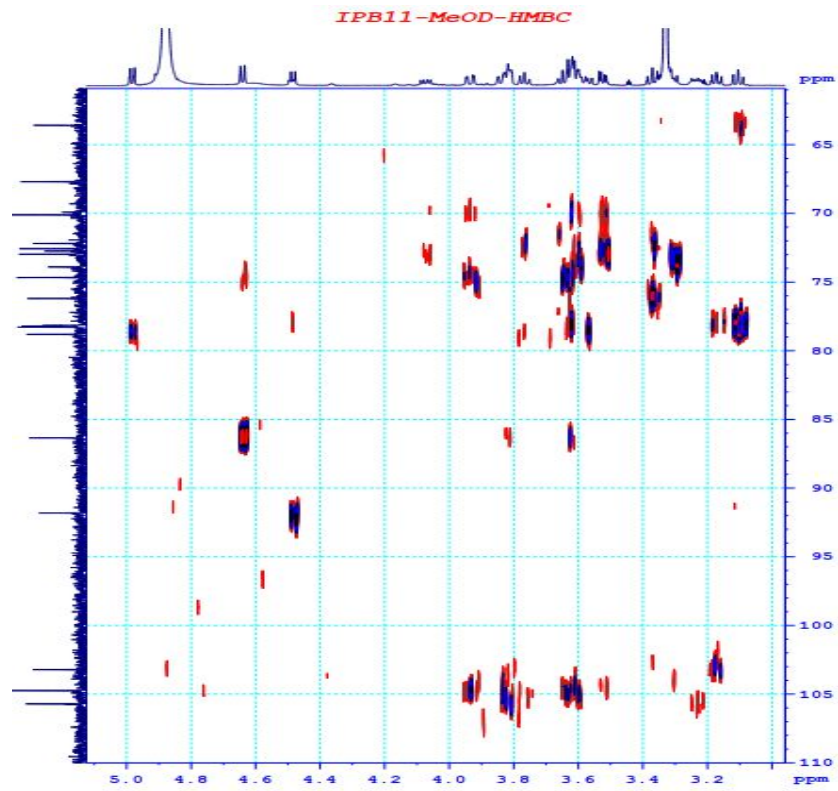
Phổ HSQC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



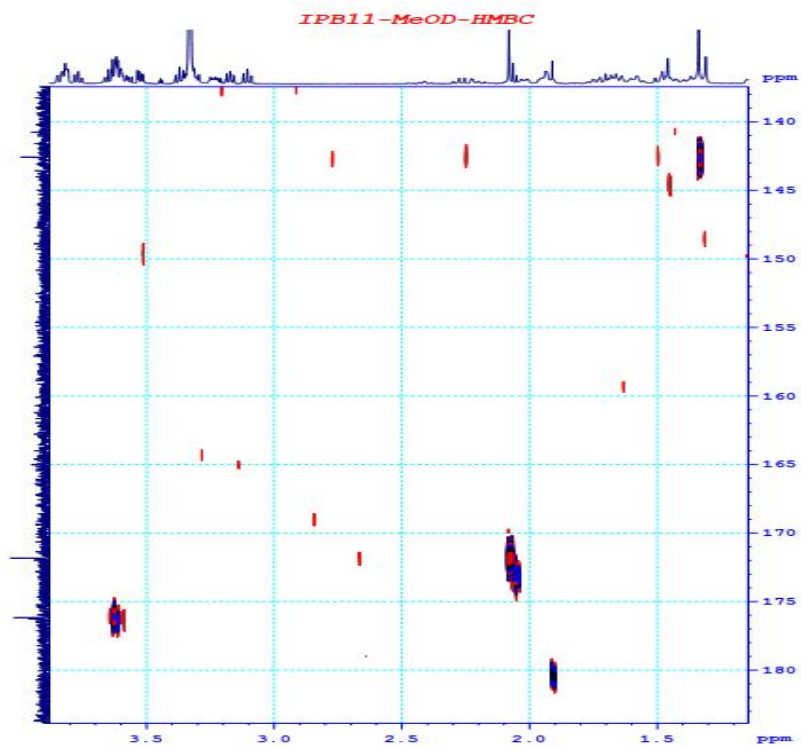
Phổ HSQC giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



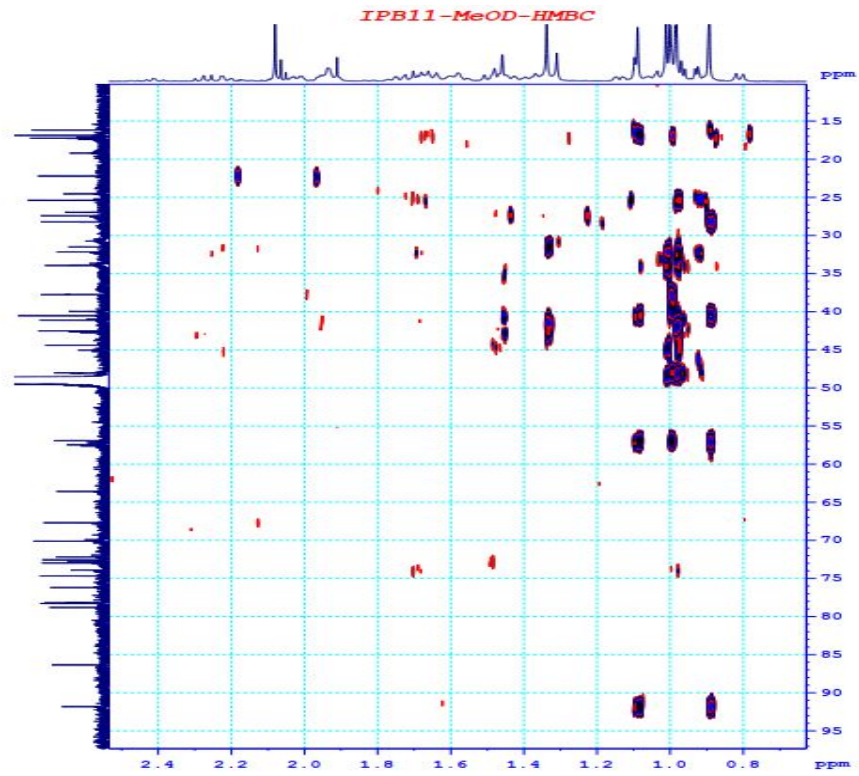
Phổ HMBC của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



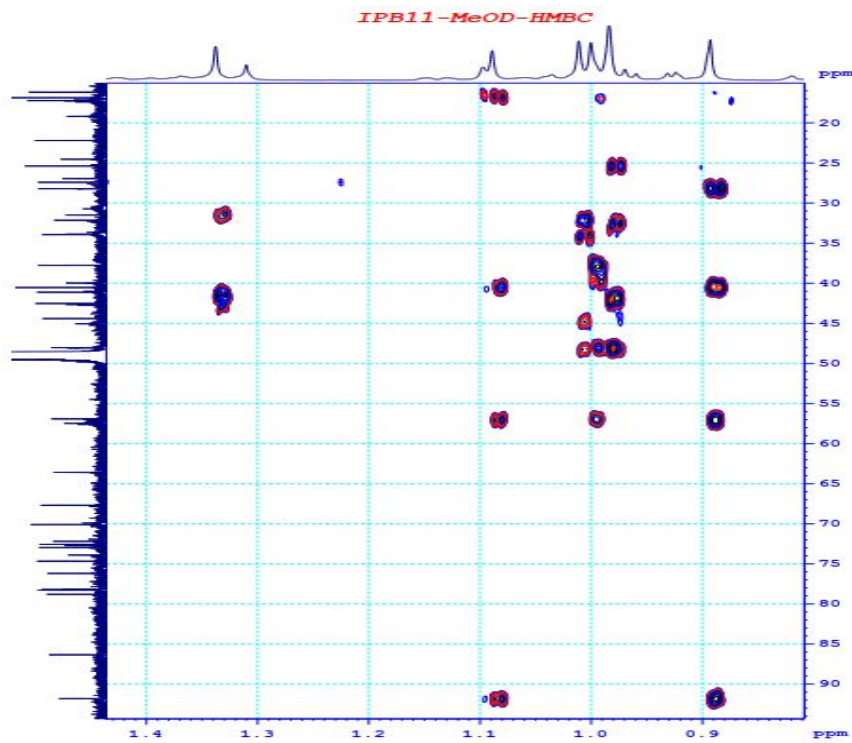
Phổ HMBC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



Phổ HMBC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

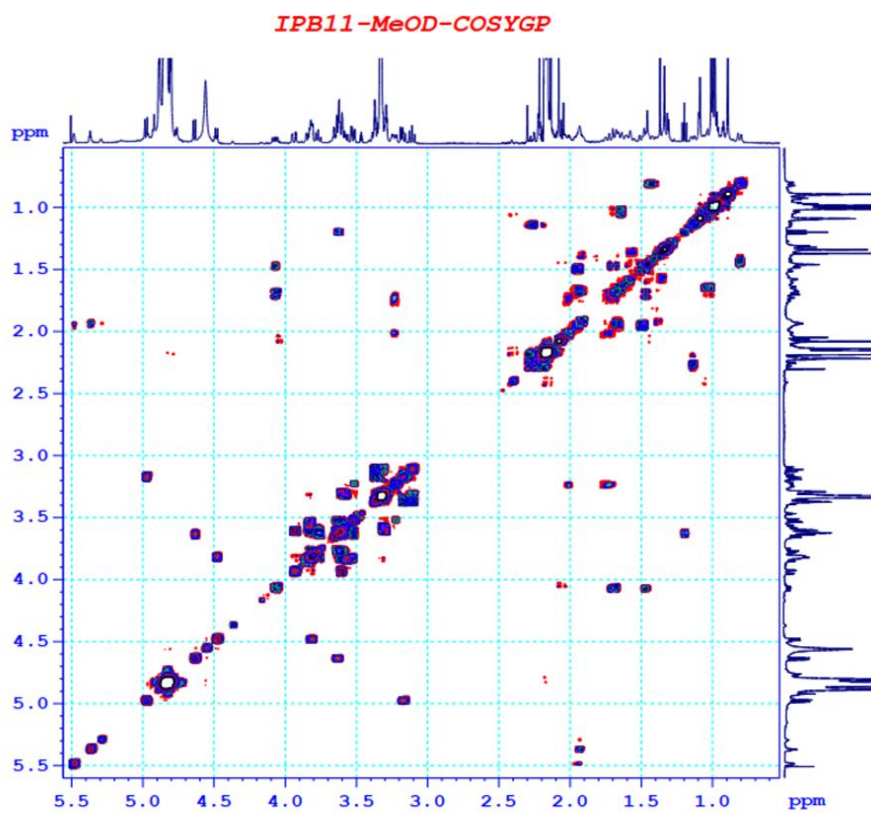


Phổ HMBC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

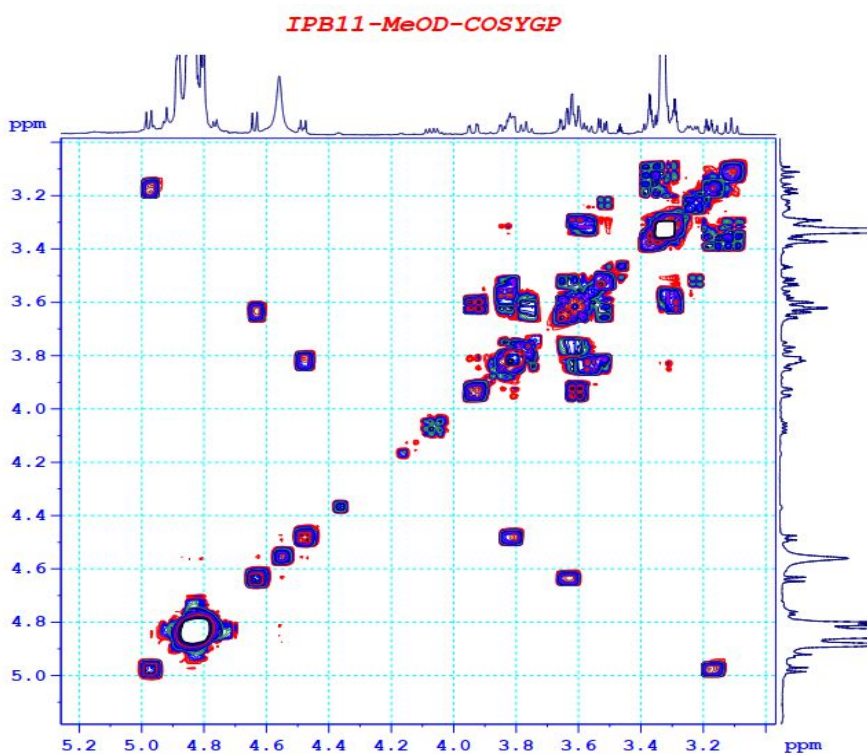


Phổ HMBC giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

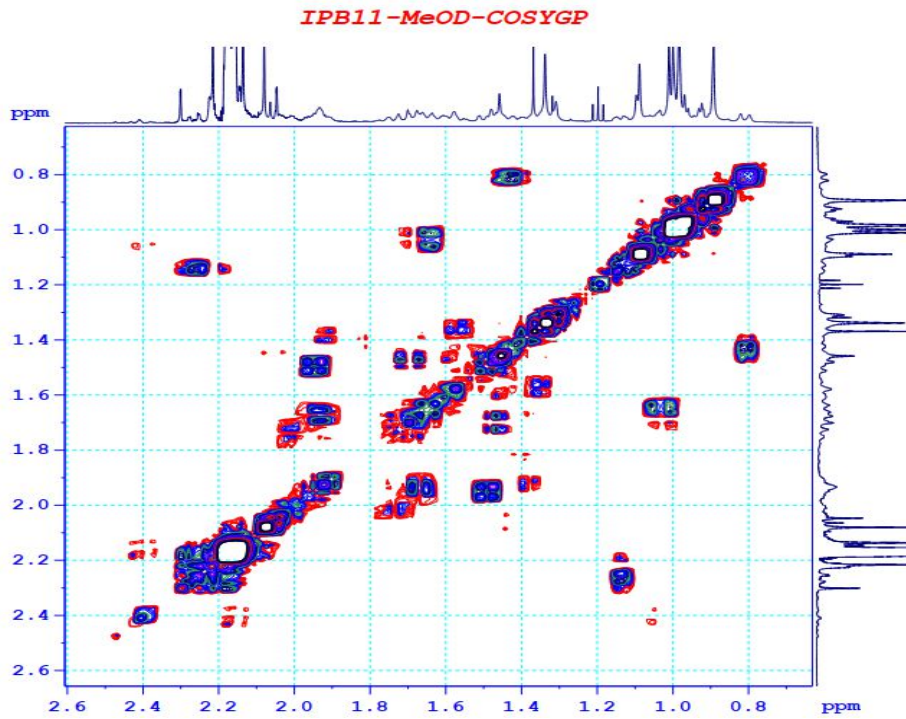




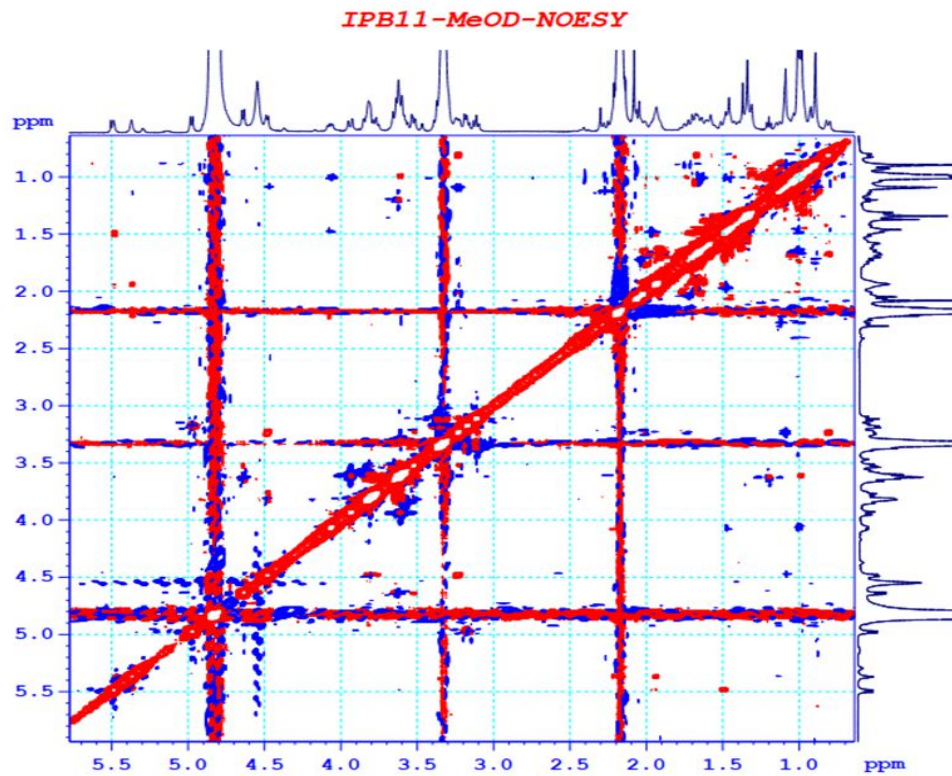
Phổ COSY của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



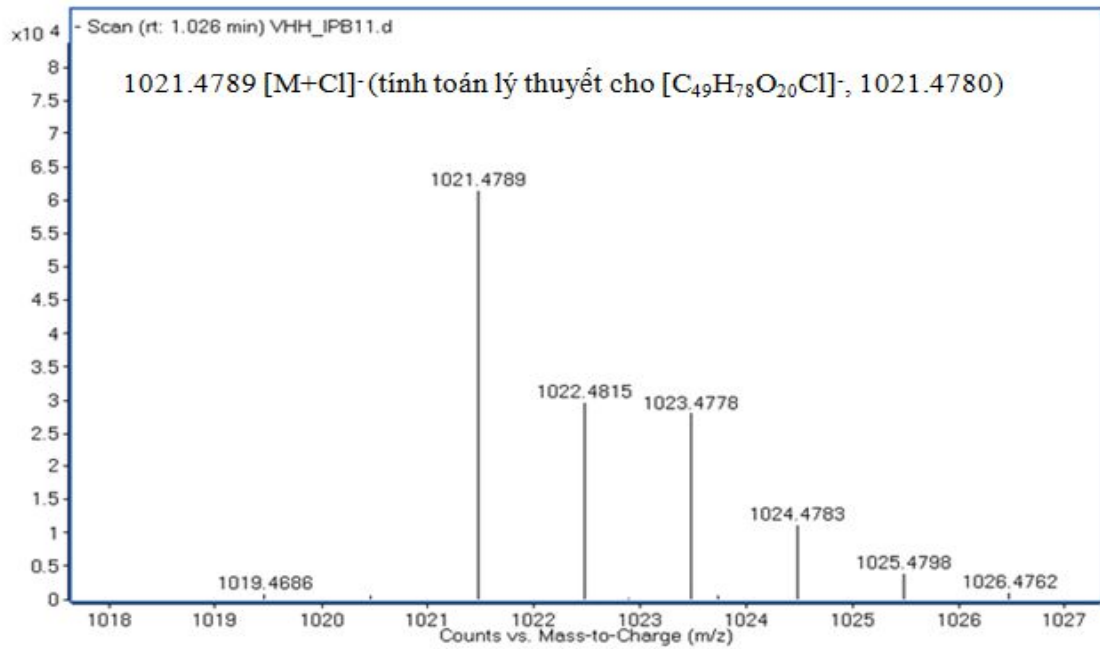
Phổ COSY giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



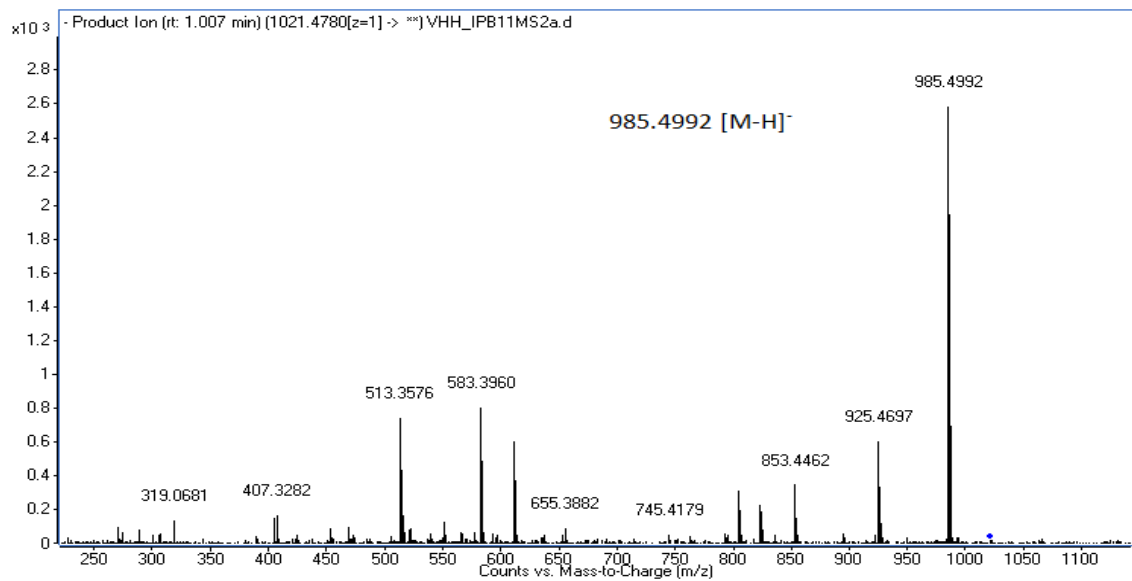
Phổ COSY giãn của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)



Phổ NOESY của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

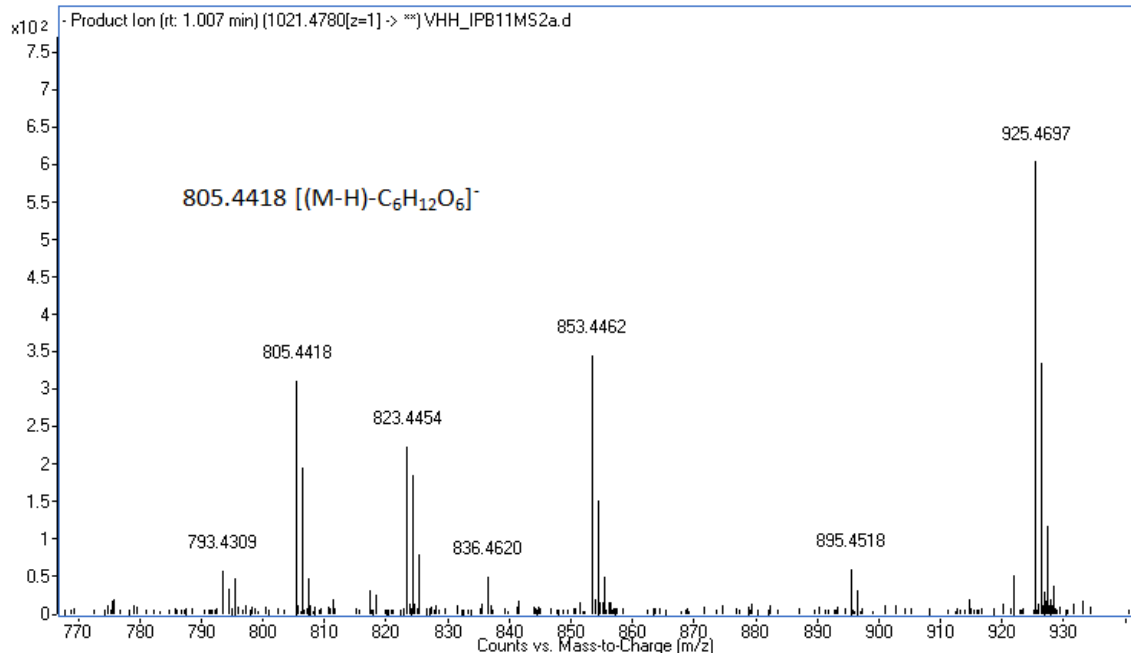


Phổ HR-ESI-MS của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

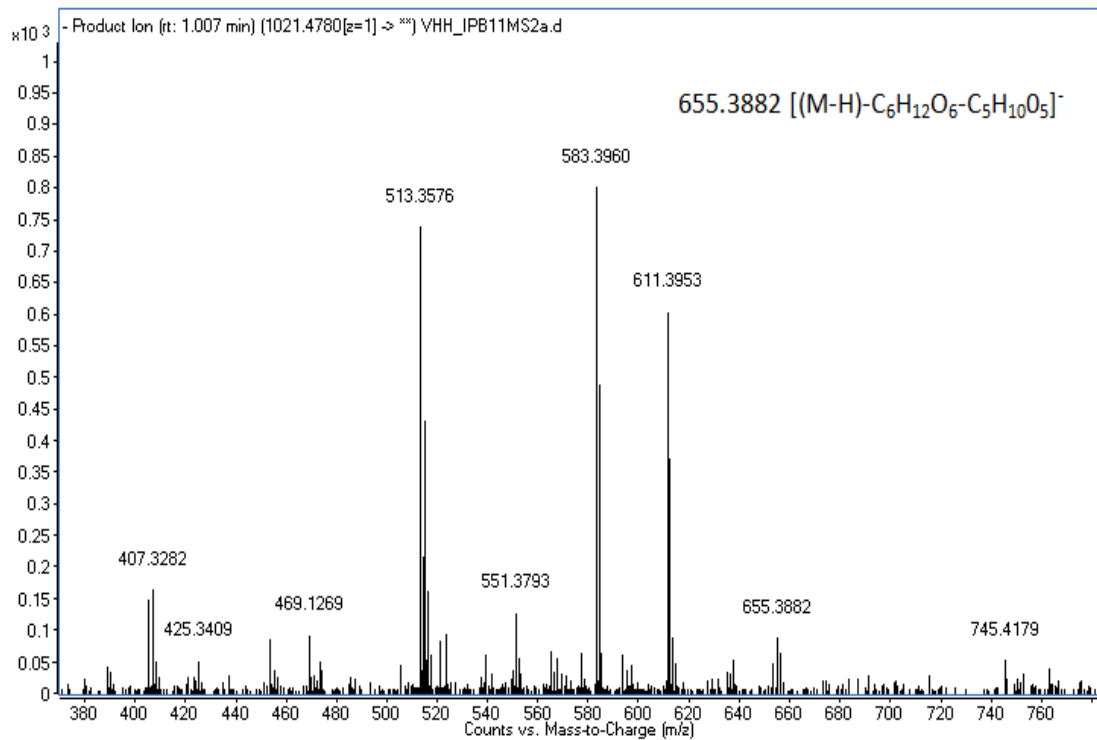


Phổ phân mảnh MS-MS giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

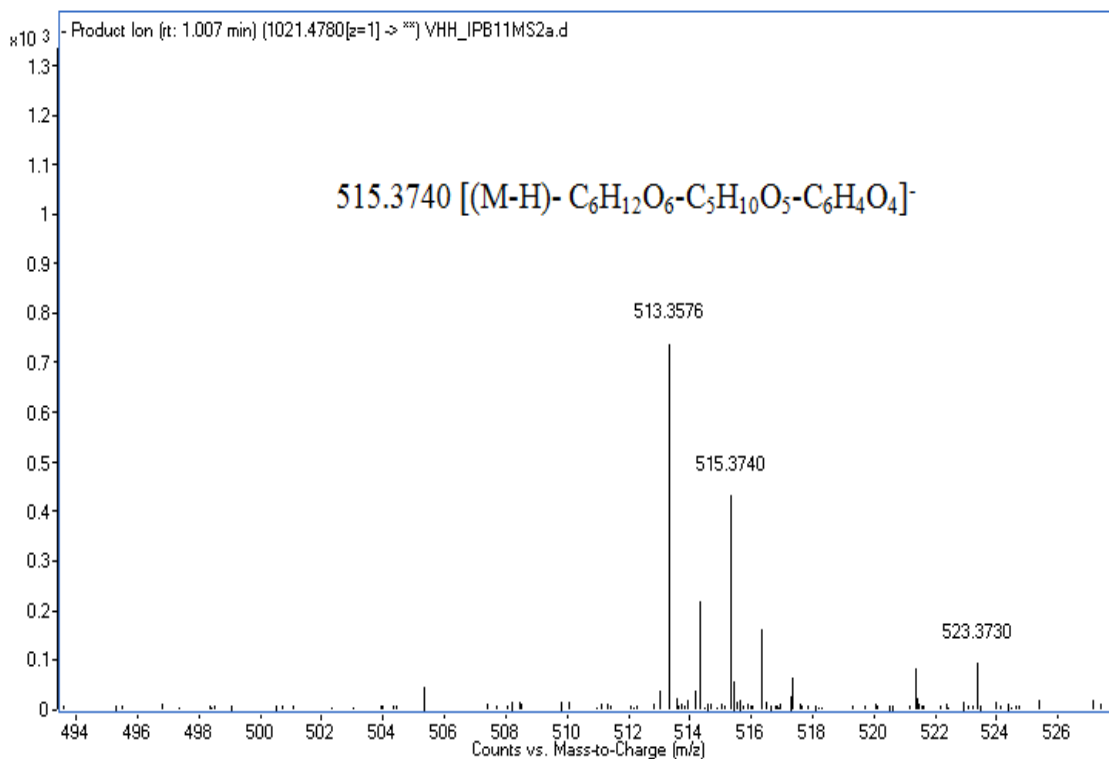




Phổ phân mảnh MS-MS giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

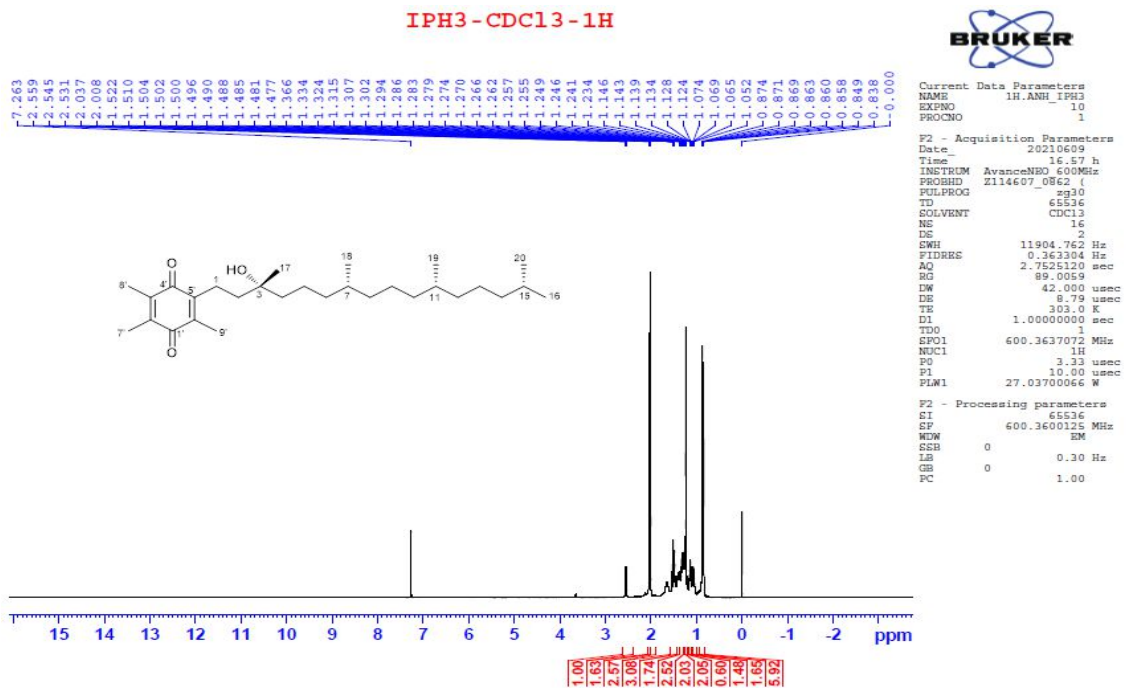


Phổ phân mảnh MS-MS giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

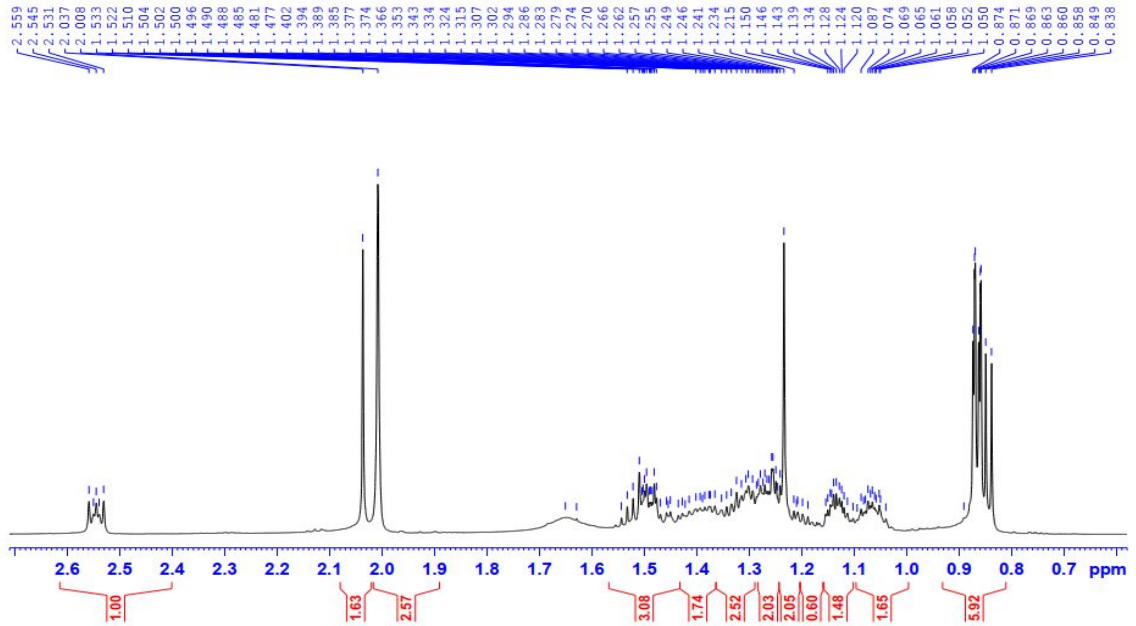


Phổ phân mảnh MS-MS giản của hợp chất Iparvisepala-1 (IP7)

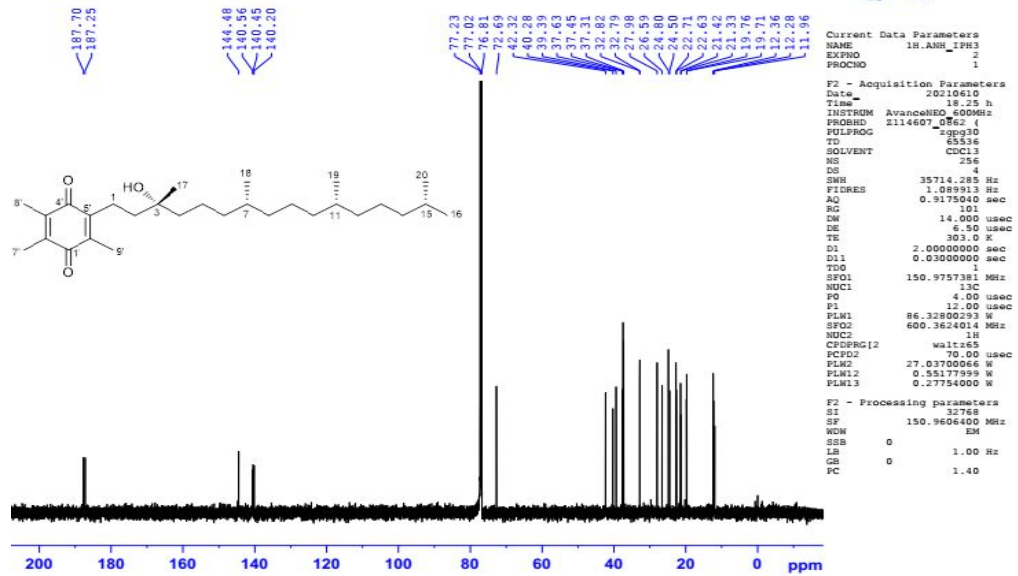
❖ Phụ lục phổ chất IP8



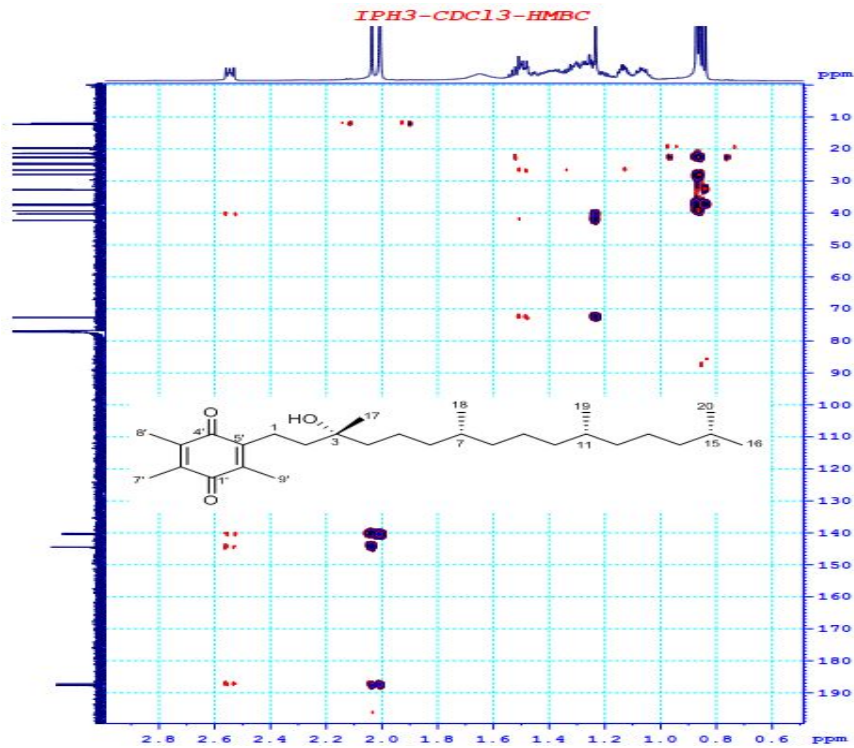
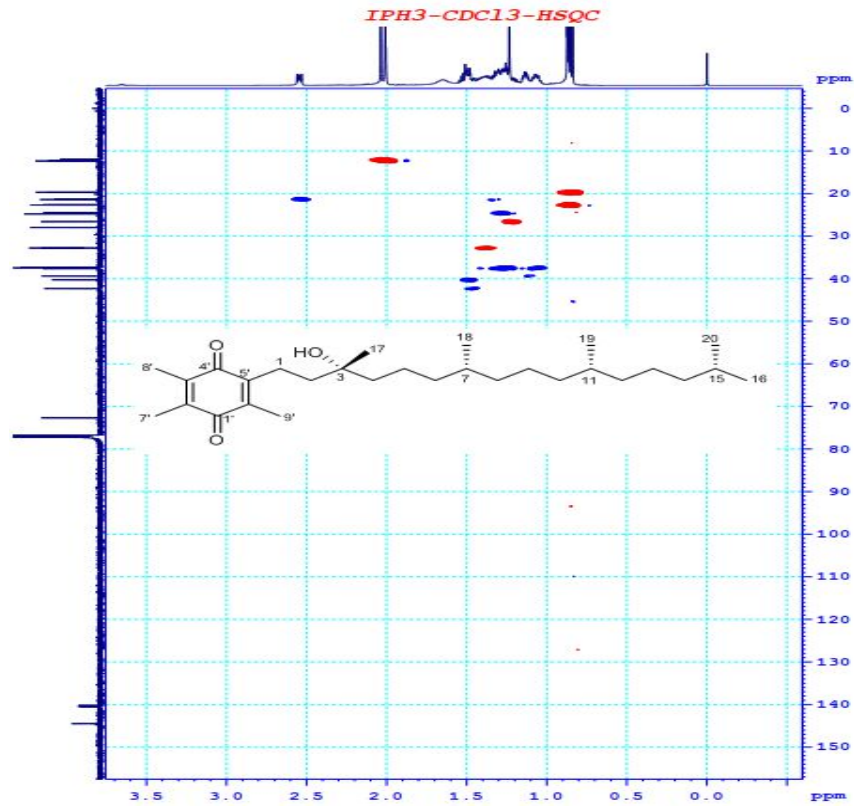
Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất α-tocopherylquinone (IP8)

IPH3-CDCl<sub>3</sub>-1H

Phổ <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) giản của hợp chất  $\alpha$ -tocopherylquinone (IP8)

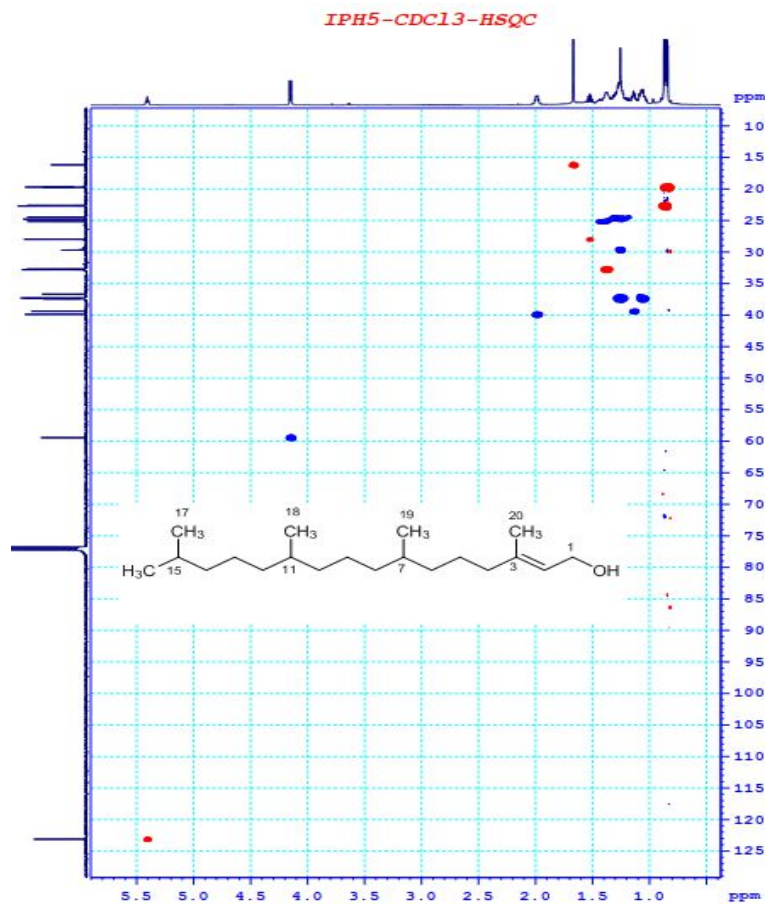
IPH3-CDCl<sub>3</sub>-C13CPD

Phổ <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất  $\alpha$ -tocopherylquinone (IP8)



❖ Phụ lục phổ chất IP9

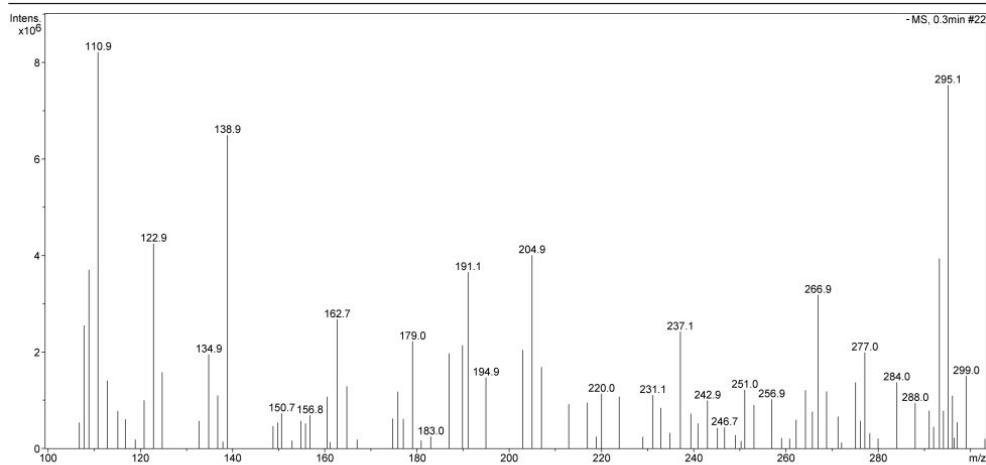




### Phổ HSQC của hợp chất phytol (IP9)

Display Report - Selected Window Selected Analysis

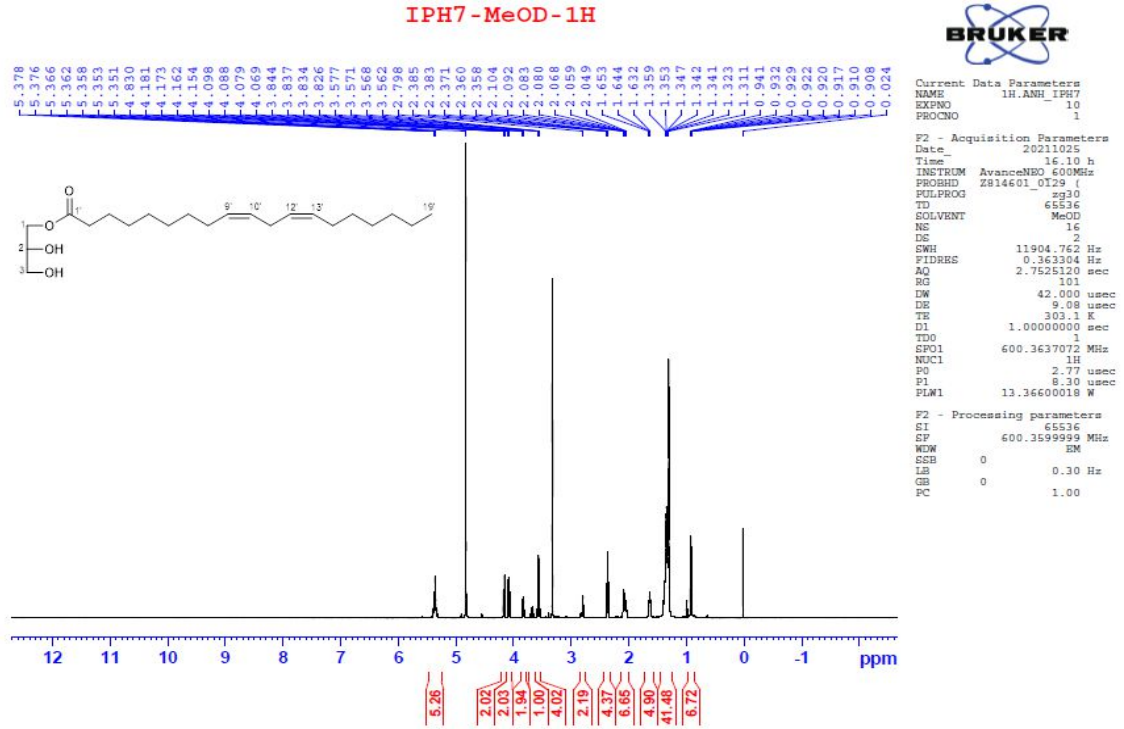
<b>Analysis Name:</b> H-Anh_IPH5.d	<b>Instrument:</b> LC-MSD-Trap-SL	<b>Print Date:</b> 1/14/2022 2:52:14 PM
<b>Method:</b> Quang_2020.m	<b>Operator:</b> 2195410AE0000514	<b>Acq. Date:</b> 1/14/2022 2:49:42 PM
<b>Sample Name:</b> H-Anh_IPH5		
<b>Analysis Info:</b>		



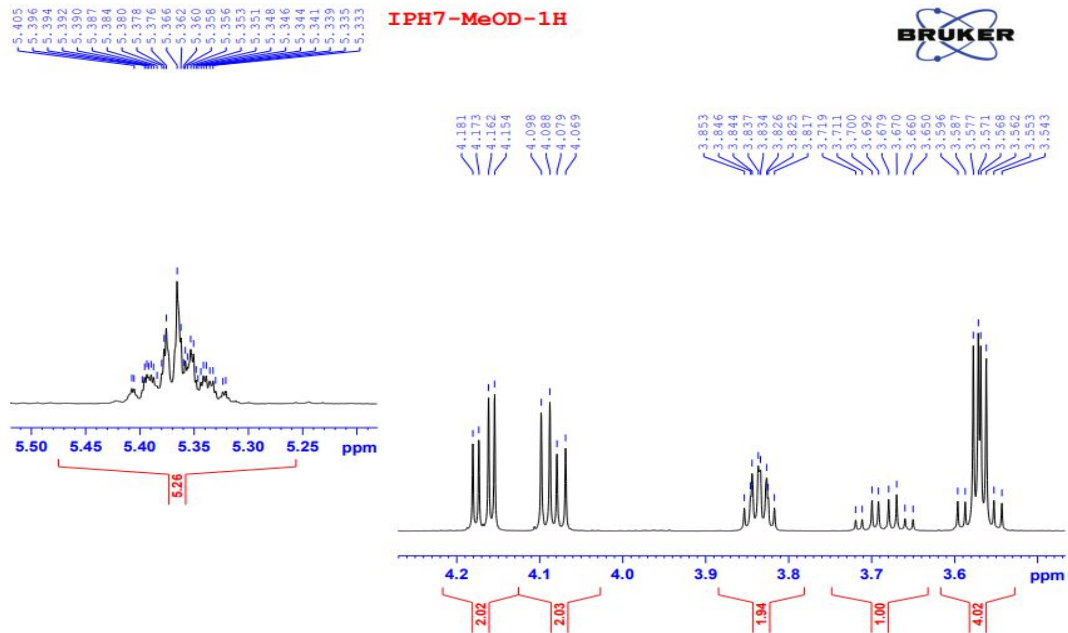
### Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất phytol (IP9)

❖ Phụ lục phổ chất **IP10**



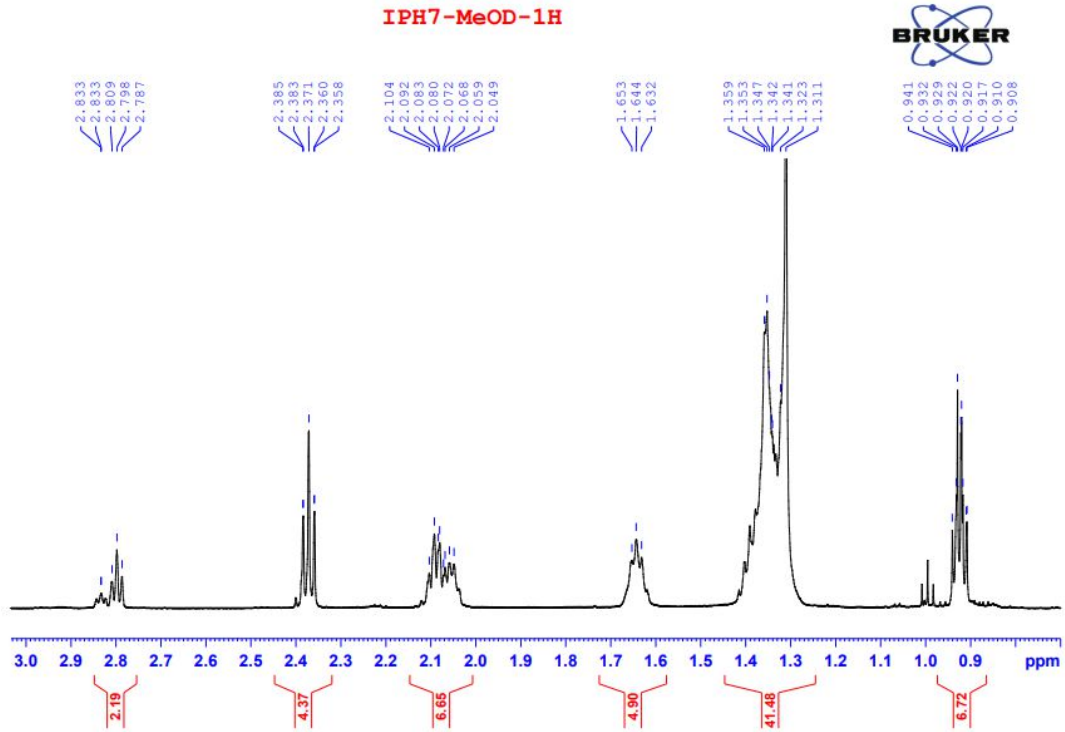


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (IP10)

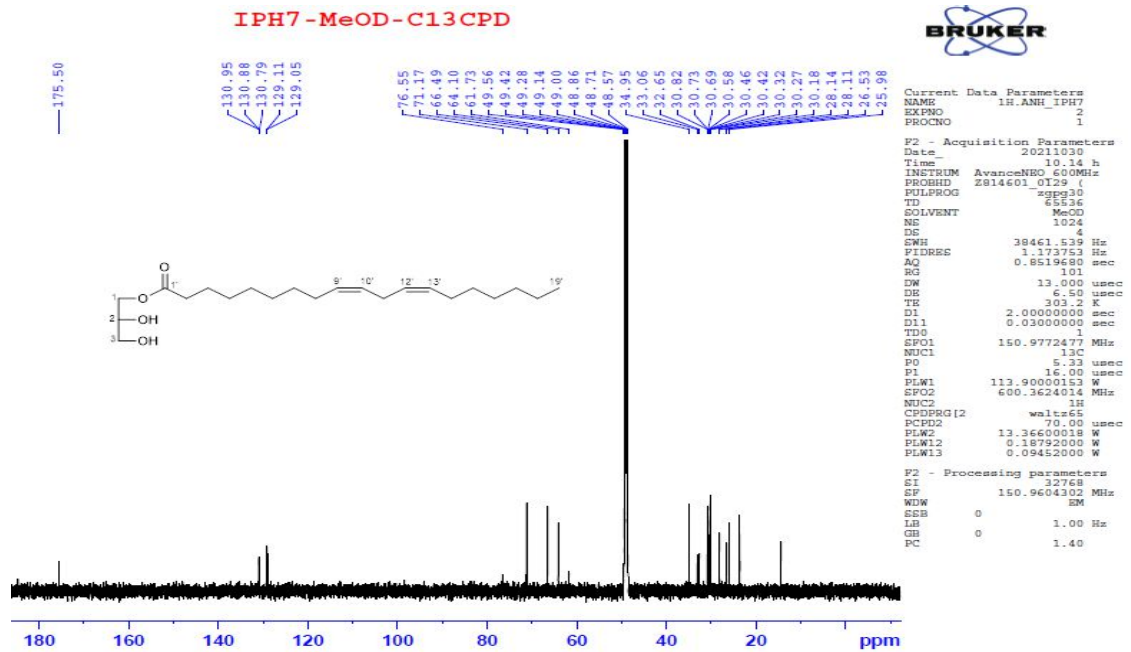


Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giãn của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (IP10)

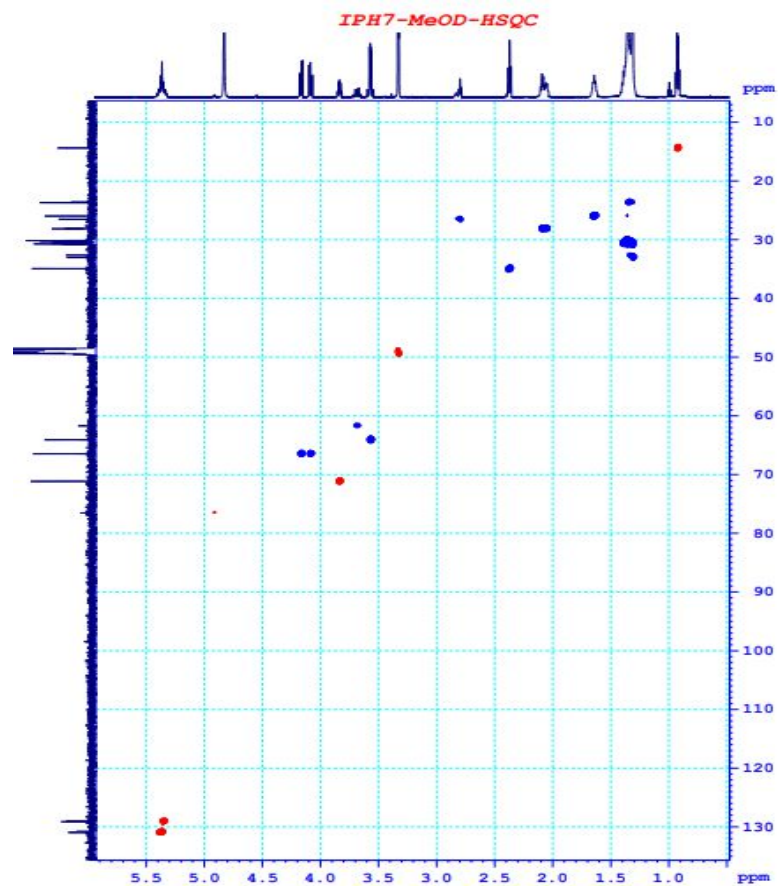




Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) giản của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (IP10)



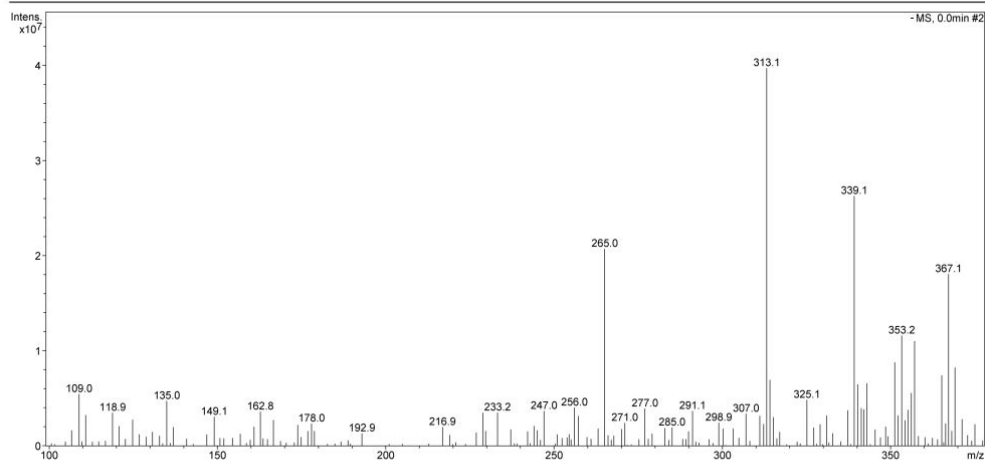
Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (IP10)



Phổ HSQC của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol (**IP10**)

Display Report - Selected Window Selected Analysis

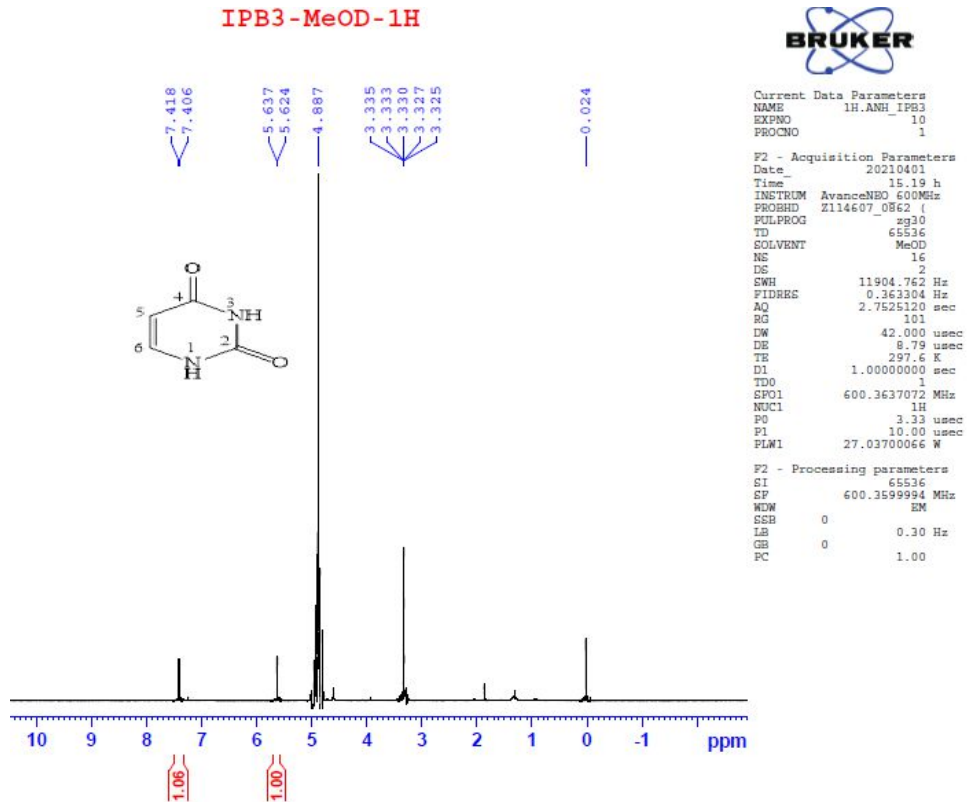
<b>Analysis Name:</b> H-Anh_IPH7.d	<b>Instrument:</b> LC-MSD-Trap-SL	<b>Print Date:</b> 1/14/2022 2:46:39 PM
<b>Method:</b> Quang_2020.m	<b>Operator:</b> 2195410AE0000514	<b>Acq. Date:</b> 1/14/2022 2:44:30 PM
<b>Sample Name:</b> H-Anh_IPH7		
<b>Analysis Info:</b>		



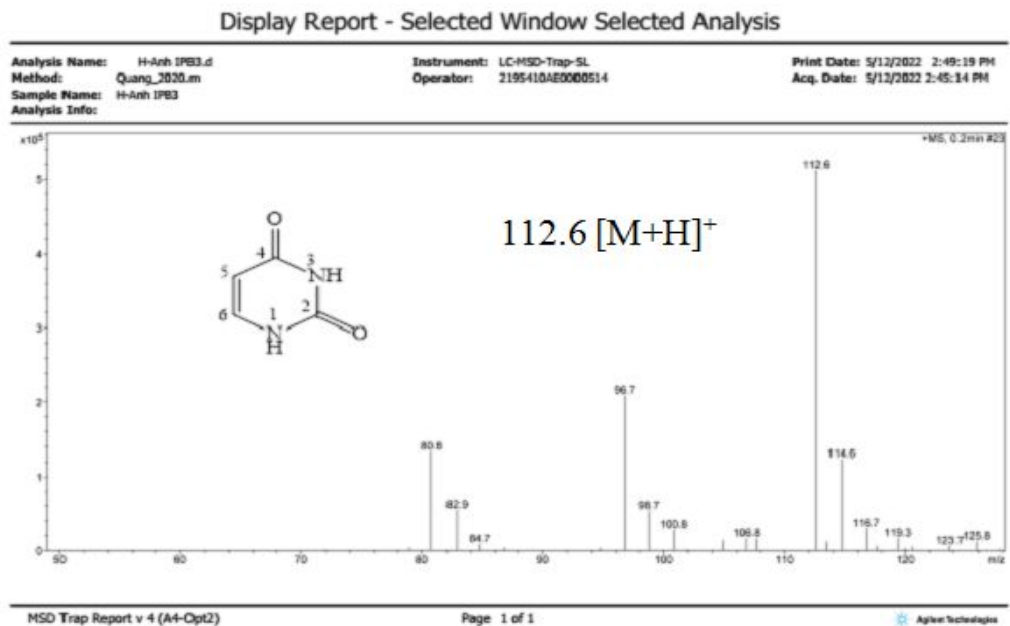
Phổ (-)-ESI-MS của hợp chất 1-[nonadeca-(9Z,12Z)-dienoyl]-*sn*-glycerol

**(IP10)**

❖ Phụ lục phổ chất **IP11**



Phổ  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của hợp chất uracil (IP11)



Phổ khối (+)-ESI-MS của hợp chất uracil (IP11)

### 3. Kết quả giám định tên khoa học mẫu thực vật Móc tai Sa pa (*Impatiens chapaensis*)

BẢO TÀNG THIÊN NHIÊN VIỆT NAM  
TRUNG TÂM BẢO TỒN TÀI NGUYÊN THIÊN  
NHIÊN VIỆT NAM VÀ CỨU HỘ ĐỘNG THỰC VẬT

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 06 tháng 01 năm 2020

#### KẾT QUẢ ĐỊNH TÊN KHOA HỌC THỰC VẬT

*Kính gửi:* NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viên Hóa học, Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam

Chúng tôi nhận được đề nghị giám định tên khoa học cho mẫu tiêu bản của NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, vào ngày 11/11/2019. Chúng tôi đã tiến hành giám định

Người giám định: PGS. TS. Vũ Tiến Chính

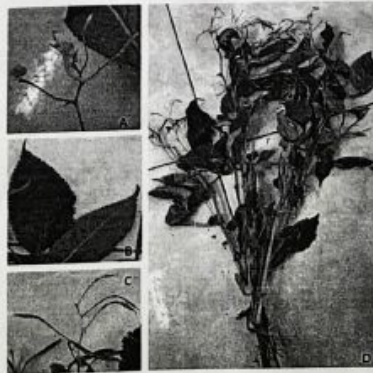
#### Các thông tin về mẫu vật:

Toàn thân cây thu hái tại vườn Quốc gia Hoàng Liên, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai, Việt Nam vào tháng 10 năm 2019. Mẫu tiêu bản số VHH.SP 10.2019.1 được lưu giữ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).

#### Kết quả giám định tên khoa học:

- *Impatiens chapaensis* Tard.: Cây cao đến 60 cm, phiến lá 7-8cm, mép lá có răng cưa. Cum hoa 4-5 hoa, hoa màu vàng; lá đài 2; móng 1,5cm. Quả nang không lông.

Trên cơ sở các đặc điểm đã phân tích, chúng tôi xác định mẫu thuộc họ Bóng nước (Balsaminaceae), có tên khoa học *Impatiens chapaensis* Tard. hiện được biết có phân bố ở Việt Nam.



Chúng tôi xin gửi tới NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam kết quả giám định trên.

**Xác nhận của đơn vị**

**Người giám định**



**KT. TỔNG GIÁM ĐỐC  
PHÓ TỔNG GIÁM ĐỐC**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Vũ Văn Liên".

**PGS. TS. Vũ Tiến Chính**

**Vũ Văn Liên**





#### 4. Kết quả giám định tên khoa học mẫu thực vật Bóng nước đài hoa nhỏ (*Impatiens parvisepala*)

BẢO TÀNG THIÊN NHIÊN VIỆT NAM  
 TRUNG TÂM BẢO TỒN TÀI NGUYÊN THIÊN  
 NHIÊN VIỆT NAM VÀ CỨU HỘ ĐỘNG THỰC VẬT

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
 Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 20 tháng 06 năm 2020

**KẾT QUẢ ĐỊNH TÊN KHOA HỌC THỰC VẬT**

Kính gửi: NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viên Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Chúng tôi nhận được đề nghị giám định tên khoa học cho mẫu tiêu bản của NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viên Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, vào ngày 09/06/2020. Chúng tôi đã tiến hành giám định

Người giám định: PGS. TS. Vũ Tiến Chính


**Các thông tin về mẫu vật:**

Toàn thân cây thu hái tại vườn Quốc gia Phia Oắc-Phia Đén, huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng, Việt Nam, vào tháng 5 năm 2020. Mẫu tiêu bản số VHH.CB 05.2020.1 được lưu giữ tại Viện Hóa học, VAST, Việt Nam.

**Kết quả giám định tên khoa học:**

- *Impatiens parvisepala* S. X. Yu & Y. T. Hou; Cây cao 30-50cm, phiến lá 12-18cm; mét lá có răng cưa thưa. Cụm hoa 6-8 hoa, hoa màu vàng; lá dài 4; móng 1-2cm. Quả nang hình thoi

Trên cơ sở các đặc điểm đã phân tích, chúng tôi xác định mẫu thuộc họ Bóng nước (Balsaminaceae), có tên khoa học *Impatiens parvisepala* S. X. Yu & Y. T. Hou, hiện được biết có phân bố ở Việt Nam.



*Impatiens parvisepala* S. X. Yu & Y. T. Hou

Chúng tôi xin gửi tới NCS. Nguyễn Thị Thùy Linh, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam kết quả giám định trên.

**Xác nhận của đơn vị**

**Người giám định**



**KT. TỔNG GIÁM ĐỐC  
PHÓ TỔNG GIÁM ĐỐC**


**Vũ Văn Liên**

**PGS. TS. Vũ Tiến Chính**





## 5. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)



**VIỆN HAN LAM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**  
**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**  
 Địa chỉ: 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Vietnam  
 Tel: 844-38361774; Fax: 844-38363144; Email: thaodo@ibt.ac.vn

**KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH ỨC CHẾ  
 NITRIC OXIDE (NOs INHIBITION)**  
*(Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị với mẫu đem thử)*

- **Mẫu thử: 05 mẫu LIC**
- **Người gửi mẫu: PGS.TS. Nguyễn Hoàng Anh, Viện Hóa học**
- **Tài liệu tham khảo:**
  - Liao H, Banbury L, Liang H, Wang X, Lü X, Hu L, Wu J (2014) Effect of Honghua (Flos Carthami) on nitric oxide production in RAW 264.7 cells and  $\alpha$ -glucosidase activity. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 34(3): 362-368
  - Combet S, Balligand JL, Lameire N, Goffin E, Devuyst O (2000) A specific method for measurement of nitric oxide synthase enzymatic activity in peritoneal biopsies. *Kidney International* 57(1):332-8
  - Tsai PJ, Tsai TH, Yu CH, Ho SC (2007). Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea. *Food Chemistry*, 103(1), 181-187.
  - Bernardes NR, Heggdorne-Araújo M, Borges IF, Almeida FM, Amaral EP, Lasunskaja EB, Muzitano MF, Oliveira DB (2014). Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(6), 644-650.
  - Cheenpracha S, Park EJ, Rostama B, Pezzuto JM, Chang LC (2010) Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesquiterpene peroxide, epimuquibilin A. *Marine drugs*, 8(3), 429-437.

**I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**1.1. Vật liệu**

- Lipopolysaccharides (LPS) từ *Escherichia- coli* của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) were from Life Technologies, Inc., (Gaithersburg, MD, USA). Sodium nitrite, sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride and dimethyl sulphoxide (DMSO) của Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

các hóa chất cần thiết khác của các hãng Sigma, GIBCO, Invitrogen, Promega v.v.

- Dòng tế bào: RAW 264.7 do GS. TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italia cung cấp.

### 1.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

- Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO).
- Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

### 1.3. Phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7

- Tế bào RAW 264.7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ  $2 \times 10^5$  tb/giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong 24h.
- Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h.
- Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (1µg/mL) trong 24h.
- Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là N<sup>G</sup>-Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0.8 µg/ml.
- Nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Cụ thể là, 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào 100 µL Griess reagent: 50 µL of 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 µL 0.1% (w/v) N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha trong nước.
- Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank).
- Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO<sub>2</sub> và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).
- Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức :

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - [\text{hàm lượng NO}_{\text{sample}} / \text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}] * 100$$

- Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4

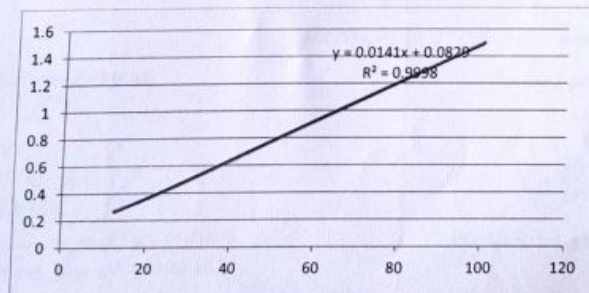
#### 1.4. Phép thử sinh học xác định khả năng gây độc tế bào bằng MTT

- Chất thử (20 µl) được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ tương tự nồng độ của thí nghiệm NO.
- Sau khi điều chỉnh để có mật độ tế bào phù hợp, hút 180 µl tế bào vào các giếng của khay 96 giếng đã có chất thử. Trên cùng một đĩa thử, bố trí một số giếng để làm đối chứng không có mẫu thử, chỉ có dung môi pha mẫu là DMSO 10%.
- Để đĩa nuôi cấy vào trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, nuôi trong thời gian 72 giờ.
- Sau 72 giờ, 10 µl MTT (nồng độ cuối cùng là 5 mg/ml) được cho vào mỗi giếng.
- Sau 4h, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50 µL (DMSO) 100%.
- Giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ.
- Lượng tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$\% \text{ tế bào sống sót} = \frac{\text{OD (chất thử)} - \text{OD (đối chứng trắng)}}{\text{OD (DMSO)} - \text{OD (đối chứng trắng)}} \times 100\%$$

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở hình 1 và bảng 1.



Hình 1. Đường chuẩn NaNO<sub>2</sub>



Khả năng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu được thể hiện ở bảng sau:

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Inhibition			
	L-NMMA	LICBI		LICC1
	% NO inhibition	% NO inhibition		% NO inhibition
200	-	37.41		57.24
100	83.59	24.32		46.46
20	79.03	19.76		39.95
4	38.84	11.94		26.27
0.8	15.22	-7.60		14.55
IC <sub>50</sub>	6.89±0.40	>200		107.15±6.53

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Inhibition			
	LICB10	LICH2a		LICC3
	% NO inhibition	% NO inhibition		% NO inhibition
200	48.27	42.00		34.19
100	43.20	32.78		24.97
20	38.65	15.20		18.45
4	30.18	9.34		11.29
0.8	23.66	-4.99		-8.25
IC <sub>50</sub>	>200	>200		>200

Kết quả trên cho thấy mẫu LICC1 có thể hiện hoạt tính ức chế NO với giá trị IC<sub>50</sub> là 107.15±6.53  $\mu\text{g/m}$ . Các mẫu còn lại không gây chết tế bào và chưa thể hiện hoạt tính ức chế sinh NO ở các nồng độ nghiên cứu. Mẫu đối chứng dương L-NMMA hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

#### KẾT LUẬN

- Mẫu LICC1 có thể hiện hoạt tính ức chế NO với giá trị IC<sub>50</sub> là 107.15±6.53  $\mu\text{g/m}$ .
- Các mẫu chưa thể hiện hoạt tính ức chế sinh NO ở các nồng độ nghiên cứu.

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

Xác nhận chữ kí

Trưởng phòng




PHÓ TRƯỞNG PHÒNG  
QUẢN LÝ TỔNG HỢP

Lương Thị Lan Anh

PGS.TS. Đỗ Thị Thảo

## 6. Kết quả thử hoạt tính hạ đường huyết loài Móc tai Sapa (*I. chapaensis*)



**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**  
**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**  
**Phòng Thử nghiệm sinh học**

Địa chỉ: 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Vietnam  
 Tel: 844-38362774; Email: thaodo@ibt.ac.vn

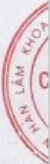
**KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH ỨC CHẾ**  
**ENZYME ALPHA-GLUCOSIDASE**  
*(Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị với mẫu đem thử)*

- **Mẫu thử: 07 mẫu**
- **Đơn vị gửi mẫu: PGS.TS. Nguyễn Hoàng Anh, Viện Hóa học**
- **Tài liệu tham khảo:**
  1. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn Rev.* 2011 Jan;5(9):19-29.
  2. Li T., Zhang X. D., Song Y. W., Liu J. W. (2005), "A Microplate-Based Screening Method for  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors", *Nat. Prod. Res. Dev.*, 10, 1128–1134.
  3. Elya B, Basah K, Mun'im A, Yulastuti W, Bangun A, Septiana EK. Screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from some plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:281078. doi:10.1155/2012/281078
  4. Haimin Chen, Xiaojun Yan, Wei Lin, Li Zheng, Weiwei Zhang (2004), "A New Method for Screening  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms", *Pharmaceutical Biology*, 42 (6), 416–421.
  5. Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. (2009), "Design and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information", *Curr. Top. Med. Chem.*, 9 (1), 3-12.

**I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**1.1. Vật liệu**  
 Hóa chất: enzyme Yeast  $\alpha$ -glucosidase; p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG), 4-Nitrophenol (Sigma).

**1.2. Phương pháp**  
 Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của hoạt chất nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp của Moradi-Afrapoli F và cộng sự. Cụ thể như sau:



1

- Chất thử được hòa tan trong DMSO và pha loãng trong phosphate buffer 10 mM (pH 6.8) và 50  $\mu$ l được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ phù hợp;
- 20  $\mu$ l  $\alpha$ -glucosidase (0,5U/ml) và 130  $\mu$ l phosphate buffer 100 mM (pH 6.8) được thêm vào mỗi giếng, trộn đều và ủ ở 37°C trong 15 phút. Chú ý điều chỉnh nồng độ mẫu thử đạt được cuối cùng trong giếng lần lượt là 500-100-20-4  $\mu$ g/mL;
- Cơ chất p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm rồi ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.
- Giếng thí nghiệm chỉ có mẫu thử, phosphate buffer và pNPG được sử dụng làm đối chứng trắng (blank). Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzyme và pNPG được sử dụng làm đối chứng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo sự chính xác.
- Dung thí nghiệm bằng cách thêm vào 80  $\mu$ l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,2M và đo OD ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).
- Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = 100 - \left[ \frac{\text{OD}_{\text{mẫu thử}}}{\text{OD}_{\text{đối chứng}}} \times 100 \right]$$

$$\text{Trong đó: } \text{OD}_{\text{đối chứng}} = \text{OD}_{\text{đối chứng}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

$$\text{OD}_{\text{mẫu thử}} = \text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

- Giá trị  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ ức chế 50%) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

*Bảng 1. Tác động ức chế alpha-glucosidase của mẫu nghiên cứu*

nồng độ ( $\mu$ g/mL)	% ức chế			
	LICC1	LICC5	LICC3	LICH9A
500	14.57	55.26	16.30	13.80
100	4.85	31.53	6.85	6.85
20	1.63	18.10	2.51	2.64
4	-0.50	6.28	1.02	-0.45
<b>IC50</b>	<b>&gt;500</b>	<b>367.74 <math>\pm</math> 8.81</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>
nồng độ ( $\mu$ g/mL)	% ức chế			
	LICB1	LICB10	LICH2A	Acarbose
500	8.50	99.28	16.19	81.70
100	3.98	99.12	6.02	43.98



20	1.04	33.46	2.49	18.80
4	-0.80	7.18	0.27	9.70
<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>&gt;500</b>	<b>28.91 ± 2.58</b>	<b>&gt;500</b>	<b>146.64 ± 8.85</b>

Kết quả trên cho thấy:

- Mẫu LICC5 và LICB10 cho thấy khả năng ức chế alpha glucosidase với IC<sub>50</sub> từ 28.91 – 367.74 µg/mL;
- Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.
- Chất đối chứng dương acarbose hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

#### IV. KẾT LUẬN

1. Mẫu LICC5 và LICB10 cho thấy khả năng ức chế alpha glucosidase với IC<sub>50</sub> từ 28.91 – 367.74 µg/mL;
2. Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

Hà Nội, ngày 5 tháng 4 năm 2021

Xác nhận chữ kí



PHÓ TRƯỞNG PHÒNG  
QUẢN LÝ TỔNG HỢP  
**Lương Thị Lan Anh**


Trưởng phòng

PGS.TS. Đỗ Thị Thảo





**7. Kết quả thử hoạt tính hạ đường huyết loài Bống nước đài hoa nhỏ (*I. parvisepala*)**



**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM  
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC  
Phòng Thử nghiệm sinh học**

Địa chỉ: 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Vietnam  
Tel: 844-38362774; Email: thaodo@ibt.ac.vn

**KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH ỨC CHẾ  
ENZYME ALPHA-GLUCOSIDASE**  
(Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị với mẫu đem thử)

- **Mẫu thử: 3 mẫu, trên nhãn ghi tên rõ ràng**
- **Đơn vị gửi mẫu: PGS.TS. Nguyễn Thị Hoàng Anh, Viện Hóa học**
- **Tài liệu tham khảo:**
  1. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn Rev.* 2011 Jan;5(9):19-29.
  2. Li T., Zhang X. D., Song Y. W., Liu J. W. (2005), "A Microplate-Based Screening Method for  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors", *Nat. Prod. Res. Dev.*, 10, 1128–1134.
  3. Elya B, Basah K, Mun'im A, Yuliastuti W, Bangun A, Septiana EK. Screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from some plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:281078. doi:10.1155/2012/281078
  4. Haimin Chen, Xiaojun Yan, Wei Lin, Li Zheng, Weiwei Zhang (2004), "A New Method for Screening  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms", *Pharmaceutical Biology*, 42 (6), 416–421.
  5. Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. (2009), "Design and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information", *Curr. Top. Med. Chem.*, 9 (1), 3-12.
  6. Moradi-Afrapoli F, Asghari B, Saeidnia S, et al. In vitro  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of phenolic constituents from aerial parts of *Polygonum hyrcanicum*. *Daru.* 2012;20(1):37. Published 2012 Sep 10. doi:10.1186/2008-2231-20-37

**I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**1.1. Vật liệu**  
Hóa chất: enzym Yeast  $\alpha$ -glucosidase; p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG), 4-Nitrophenol (Sigma).

**1.2. Phương pháp**

Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của hoạt chất nghiên cứu được thực hiện như sau:

- Chất thử được hòa tan trong DMSO 100% để có dung dịch gốc (20 mg/mL) và pha loãng trong phosphate buffer 10 mM (pH 6.8) để tạo dải nồng độ. Tiếp theo, 50  $\mu$ L mẫu đã pha loãng được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để chuẩn bị thử nghiệm;
- 20  $\mu$ L  $\alpha$ -glucosidase (0,5U/mL) và 130  $\mu$ L phosphate buffer 100 mM (pH 6.8) được thêm vào mỗi giếng, trộn đều và ủ ở 37°C trong 15 phút. Như vậy, nồng độ mẫu thử đạt được cuối cùng trong giếng lần lượt là 500-100-20-4  $\mu$ g/mL;
- Cơ chất p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm rồi ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.
- Giếng thí nghiệm chỉ có mẫu thử, phosphate buffer và pNPG được sử dụng làm đối chứng trắng (blank). Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzyme và pNPG được sử dụng làm đối chứng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần/khay để đảm bảo sự chính xác.
- Dùng thí nghiệm bằng cách thêm vào 80  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,2M và đo OD ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).
- Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = 100 - \left[ \frac{\text{OD}_{\text{mẫu thử}}}{\text{OD}_{\text{đối chứng}}} \times 100 \right]$$

$$\text{Trong đó: } \text{OD}_{\text{đối chứng}} = \text{OD}_{\text{đối chứng}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

$$\text{OD}_{\text{mẫu thử}} = \text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

- Giá trị  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ ức chế 50%) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

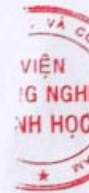
## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Tác động ức chế  $\alpha$ -glucosidase của mẫu nghiên cứu**

Nồng độ ( $\mu$ g/mL)	% Ức chế			
	IPB6	IPH3	IPH7	Acarbose
500	99.89	26.92	10.31	75.20
100	99.84	23.11	2.05	48.57
20	95.71	9.98	-1.80	20.64
4	32.34	3.87	-1.84	8.32
<b>IC50</b>	<b>5.42 <math>\pm</math> 0.17</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>	<b>127.53 <math>\pm</math> 1.73</b>

Kết quả trên cho thấy:



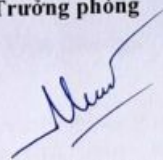
- Mẫu IPB6 cho thấy khả năng ức chế alpha glucosidase mạnh với  $IC_{50} = 5.42 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ ;
- Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.
- Chất đối chứng dương acarbose hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

#### IV. KẾT LUẬN

1. Mẫu IPB6 cho thấy khả năng ức chế alpha glucosidase mạnh với  $IC_{50} = 5.42 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ ;
2. Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

Hà Nội, ngày 17 tháng 1 năm 2022

Trưởng phòng

  
PGS.TS. Đỗ Thị Thảo

Xác nhận chữ kí

PHÓ TRƯỞNG PHÒNG  
QUẢN LÝ TỔNG HỢP




Lương Thị Lan Anh

VIỆN HẠNG LAM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



## 8. Kết quả thử hoạt tính hạ đường huyết của chất mới Iparvisepala-1 (IP7)


 VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM  
 VIỆN HÓA HỌC  
**PHÒNG HÓA SINH ỨNG DỤNG**  
 Tel: (+84) 4. 37914586  
 Phòng 601- Nhà A18 - 18 Hoàng Quốc Việt - Cầu Giấy - Hà Nội

**PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ THỬ HOẠT TÍNH**  
**ỨC CHẾ ENZYM  $\alpha$ -GLUCOSIDASE**

Người gửi mẫu: Nguyễn Thị Thùy Linh  
 Ngày gửi mẫu: 01/2023  
 Số lượng: 01 mẫu

**1. Nguyên lí của phép thử**

Dựa trên phản ứng phân cắt cơ chất *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside nhờ tác động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase, qua đó giải phóng sản phẩm là *p*-Nitrophenol có màu vàng.

$$p\text{-Nitrophenyl } \alpha\text{-D-Glucoside} \xrightarrow{\alpha\text{-glucosidase}} \alpha\text{-D-Glucose} + p\text{-Nitrophenol}$$

Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm ở thời điểm 30 phút sau phản ứng. Lượng sản phẩm *p*-Nitrophenol sinh ra phản ánh hoạt độ của enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

**2. Hóa chất, thiết bị:**

Hóa chất: enzym  $\alpha$ -glucosidase (CAS No 9001-42-7, Sigma), *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (CAS No 3767-28-0, Sigma), 4-Nitrophenol (CAS No 100-02-7, Sigma), Dimethyl sulfoxide (CAS No 67-68-5, Sigma).

Thiết bị: máy quang phổ BIOTEK - USA

**3. Phương pháp**

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng. Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO và nước deion thành 1 dãy các nồng độ, nồng độ lần lượt trong phản ứng là 256; 64; 16 và 4  $\mu$ g/ml hoặc pha loãng tiếp với mẫu có hoạt tính nhỏ hơn. Acarbose được sử dụng làm chất tham khảo.

Các thành phần phản ứng bao gồm: Phosphate buffer 100 mM pH 6,8;  $\alpha$ -glucosidase 0,2 U/ml, mẫu thử và *p*-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside 2,5 mM. Ở mẫu đối chứng, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Thí nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37° C. Sau 30 phút, phản ứng được dừng bằng Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Độ hấp thụ của phản ứng được xác định trên máy BIOTEK với bước sóng 410 nm (A).

Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử được xác định bằng công thức:

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

IC<sub>50</sub> (half maximal inhibitory concentration) là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase, được tính bằng phần mềm Tablecurve.

#### 4. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

TT	Tên mẫu	Nồng độ thử ( $\mu\text{g/ml}$ )	Phần trăm ức chế (%)	Giá trị IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
	IPB11	100	3	>100
		25	0	
		6.25	0	
		1.56	0	
		0.39	0	
Chất tham khảo	Acarbose	256	93	134.56 $\pm$ 3.02
		64	26	
		16	0	
		4	0	

#### 5. Tài liệu tham khảo

- (1) Kim Y. M., Wang M. H., Rhee H. I. (2004), "A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from pine bark", *Carbohydr. Res.*, 339, 715–717.
- (2) Li T., Zhang X. D., Song Y. W., Liu J. W. (2005), "A Microplate-Based Screening Method for  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors", *Nat. Prod. Res. Dev.*, 10, 1128–1134.
- (3) Haimin Chen, Xiaojun Yan, Wei Lin, Li Zheng, Weiwei Zhang (2004), "A New Method for Screening  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms", *Pharmaceutical Biology*, 42 (6), 416–421.
- (4) Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. (2009), "Design and screening strategies for  $\alpha$ -glucosidase inhibitors based on enzymological information", *Curr. Top. Med. Chem.*, 9 (1), 3-12.

Hà Nội, ngày 05 tháng 01 năm 2023

Viện Hóa học xác nhận bà Nguyễn Thị Thu Hà là trưởng phòng HSUD

Trưởng phòng

Người trả kết quả

TL. VIỆN TRƯỞNG  
KT. TRƯỞNG PHÒNG QLTH  
PHÓ TRƯỞNG PHÒNG

VIỆN  
HÓA HỌC  
Nguyễn Thị Thu Quyên

Nguyễn Thị Thu Hà

Nguyễn Thanh Trà

