

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



BÙI HẢI NINH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ NO
CỦA BA LOÀI *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry, *Syzygium
bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và *Syzygium attopeuense* (Gagnep.) Merr. &
L.M.Perry Ở VIỆT NAM**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ HÓA HỌC

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

BÙI HẢI NINH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ NO
CỦA BA LOÀI *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry, *Syzygium
bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và *Syzygium attoupeuense* (Gagnep.) Merr. &
L.M.Perry Ở VIỆT NAM**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

LUẬN ÁN TIẾN SỸ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. GS. TS. Nguyễn Văn Tuyên
2. PGS. TS. Phan Văn Kiệt

Hà Nội – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế NO của ba loài *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry, *Syzygium bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và *Syzygium attopeuense* (Gagnep.) Merr. & L.M.Perry ở Việt Nam” là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của GS.TS. Nguyễn Văn Tuyển và PGS.TS. Phan Văn Kiệm. 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 tháng năm 2023

Tác giả luận án
(Ký và ghi rõ họ tên)

Bùi Hải Ninh

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài "Nhóm nghiên cứu xuất sắc" của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được nhiều sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, các nhà khoa học, đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc và kính trọng nhất tới GS. TS. Nguyễn Văn Tuyền và PGS. TS. Phan Văn Kiệm - những người Thầy đã tận tâm hướng dẫn chỉ dạy cho tôi về mặt chuyên môn và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo và các cán bộ phòng Nghiên cứu cấu trúc - Viện Hóa Sinh biển đã luôn hỗ trợ tôi trong quá trình làm thực nghiệm cũng như đóng góp quý báu, giúp đỡ tôi trong quá trình hoàn thiện luận án. Đồng thời cảm ơn tới ban lãnh đạo, ban quản lý học viên Viện Hóa học đã giúp đỡ tôi về mặt hành chính trong suốt quá trình học tập.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám Hiệu, Khoa Dược học và các bạn đồng nghiệp Trường Đại học Y Dược Hải Phòng đã tạo điều kiện thuận lợi, hỗ trợ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn, Phòng Thử nghiệm sinh học - Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ tôi trong việc thử hoạt tính.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể gia đình, bạn bè và những người thân đã luôn luôn quan tâm, động viên và khích lệ tôi trong suốt quá trình hoàn thành luận án.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Tác giả luận án
(Ký và ghi rõ họ tên)

Bùi Hải Ninh

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	I
LỜI CẢM ƠN	II
MỤC LỤC.....	III
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	V
DANH MỤC BẢNG.....	VII
DANH MỤC HÌNH	IX
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	3
1.1. Giới thiệu về chi <i>Syzygium</i>	3
1.1.1. Thực vật học chi <i>Syzygium</i>	3
1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học chi <i>Syzygium</i>	3
1.1.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi <i>Syzygium</i>	9
1.1.4. Tình hình nghiên cứu về chi <i>Syzygium</i> ở Việt Nam.....	12
1.2. Giới thiệu về loài <i>S. cerasiforme</i>, <i>S. bullockii</i> và <i>S. attopeuense</i>	14
1.2.1. Loài <i>S. cerasiforme</i>	14
1.2.2. Loài <i>S. bullockii</i>	15
1.2.3. Loài <i>S. attopeuense</i>	15
1.3. Giới thiệu về hoạt tính kháng viêm	16
1.3.1. Sơ lược về viêm	16
1.3.2. Các thuốc kháng viêm.....	21
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	22
2.1. Đối tượng nghiên cứu	22
2.1.1. Loài <i>S. cerasiforme</i>	22
2.1.2. Loài <i>S. bullockii</i>	22
2.1.3. Loài <i>S. attopeuense</i>	23
2.2. Phương pháp nghiên cứu	23
2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	23
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất	24
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO.....	25
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ	28

3.1. Phân lập các hợp chất.....	28
3.1.1. Phân lập các hợp chất từ loài <i>S. cerasiforme</i>	28
3.1.2. Phân lập các hợp chất từ loài <i>S. bullockii</i>	31
3.1.3. Phân lập các hợp chất từ loài <i>S. attopuense</i>	34
3.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được.....	37
3.2.1. Loài <i>S. cerasiforme</i>	37
3.2.2. Loài <i>S. bullockii</i>	41
3.2.3. Loài <i>S. attopuense</i>	43
3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được .	46
3.3.1. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. cerasiforme</i>	46
3.3.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. bullockii</i>	47
3.3.3. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. attopuense</i>	48
CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ.....	49
4.1. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài <i>S. cerasiforme</i>	49
4.1.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài <i>S. cerasiforme</i>	49
4.1.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. cerasiforme</i>	82
4.2. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài <i>S. bullockii</i> ..	82
4.2.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài <i>S. bullockii</i>	82
4.2.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. bullockii</i>	113
4.3. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài <i>S. attopuense</i>	113
4.3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài <i>S. attopuense</i>	113
4.3.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài <i>S. attopuense</i>	137
KẾT LUẬN	139
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....	142
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	143

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C -NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CD	Circular Dichroism Spectroscopy	Phổ lưỡng sắc tròn
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer Spectroscopy	Phổ DEPT
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
DPPH	1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
FBS	Fetal Bovine Serum	Huyết thanh thai bò
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC ₅₀	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide
ROESY	Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy	Phổ ROESY
NO	Nitric oxide	Nitơ monoxit
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	enzyme tổng hợp nitơ monoxit
OD	Optical Density	Mật độ quang
RAW264.7	Macrophage cell line	Dòng tế bào đại thực bào
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's	Môi trường nuôi cấy tế bào

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
	Medium	
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	(CH ₃) ₄ Si
LOX	Lipoxygenase	Enzym oxy hóa chất béo
COX	Cyclooxygenase	Enzym xúc tác cho sự chuyển đổi acid arachidonic thành prostaglandin
COX-1, COX-2	Cyclooxygenase-1 Cyclooxygenase -2	
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
IR	Infrared spectroscopy	Phổ hồng ngoại
CTPT	-	Công thức phân tử
M	-	Khối lượng phân tử
L-NMMA	N ^G monomethyl-L-arginine acetate	
VAST	Vietnam Academy of Science and Technology	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SL1-SL20	47
Bảng 3.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SP1-SP17	47
Bảng 3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SA1-SA17	48
Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL1	50
Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL2	54
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL3 và hợp chất tham khảo	59
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL4, SL5 và hợp chất tham khảo	60
Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL6 và hợp chất tham khảo	62
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL7, SL8 và hợp chất tham khảo	64
Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL9 và hợp chất tham khảo	66
Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL10 và hợp chất tham khảo endoperoxide 7a	67
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL11 và hợp chất tham khảo	68
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL12 và hợp chất tham khảo	70
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL13 và hợp chất tham khảo	71
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL14 và hợp chất tham khảo	73
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL15 và hợp chất tham khảo	74
Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL16 và hợp chất tham khảo	75
Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL17 và hợp chất tham khảo	77
Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL18, SL19 và hợp chất tham khảo	78
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất SL20	80
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP1	84
Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP2	89
Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP3	94
Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP4 và hợp chất tham khảo	97
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP5 và hợp chất tham khảo	99
Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP6	100
Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP7 và hợp chất tham khảo	102
Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP8, SP9 và hợp chất tham khảo.....	103
Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP10 và hợp chất tham khảo	104
Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP11 và hợp chất tham khảo	106
Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP12, SP13 và hợp chất tham khảo...107	107
Bảng 4.29. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP14 và hợp chất tham khảo	108
Bảng 4.30. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP15, SP16 và các hợp chất tham khảo	110
Bảng 4.31. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP17 và hợp chất tham khảo	111

Bảng 4.32. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA1	114
Bảng 4.33. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA2, SA3	120
Bảng 4.34. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA4	123
Bảng 4.35. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA5, SA6 và hợp chất tham khảo	125
Bảng 4.36. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA7, SA8 và hợp chất tham khảo	127
Bảng 4.37. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA9 và hợp chất tham khảo	129
Bảng 4.38. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA10	130
Bảng 4.39. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA11, SA12 và hợp chất tham khảo ..	131
Bảng 4.40. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA13, SA14 và các hợp chất tham khảo	132
Bảng 4.41. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA15, SA16 và hợp chất tham khảo ..	134
Bảng 4.42. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA17 và hợp chất tham khảo	136

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất flavonoid	6
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các hợp chất flavonoid glycoside	7
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của các hợp chất chromone glycoside	7
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất terpenoid và dẫn xuất glycoside.....	8
Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của các hợp chất steroid và steroid glycoside.....	8
Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phenolic	9
Hình 1.7. Cấu trúc hóa học của các hợp chất dẫn xuất của acylphloroglucinol	9
Hình 2.1. Hình ảnh mẫu lá <i>S. cerasiforme</i>	22
Hình 2.2. Hình ảnh mẫu loài <i>S. bullockii</i>	22
Hình 2.3. Hình ảnh mẫu <i>S. attopuense</i>	23
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài <i>S. cerasiforme</i>	30
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài <i>S. bullockii</i>	33
Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài <i>S. attopuense</i>	36
Hình 4.1. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL1 và hợp chất tham khảo	49
Hình 4.2. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SL1	50
Hình 4.3. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SL1	50
Hình 4.4. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SL1	51
Hình 4.5. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SL1	51
Hình 4.6. Phổ HSQC của hợp chất SL1	52
Hình 4.7. Phổ HMBC của hợp chất SL1	52
Hình 4.8. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SL2	53
Hình 4.9. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SL2	55
Hình 4.10. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SL2	55
Hình 4.11. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SL2	55
Hình 4.12. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SL2	56
Hình 4.13. Phổ HSQC của hợp chất SL2	56
Hình 4.14. Phổ HMBC của hợp chất SL2	57
Hình 4.15. Phổ ¹ H- ¹ H COSY của hợp chất SL2	57
Hình 4.16. Phổ CD của hợp chất SL2	58
Hình 4.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL3	58
Hình 4.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL4 và SL5	60
Hình 4.19. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL6	62
Hình 4.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL7	63
Hình 4.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL8	65
Hình 4.22. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SL9	65
Hình 4.23. Cấu trúc hóa học của SL10 và chất tham khảo endoperoxide 7a	67

Hình 4.24. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL11	68
Hình 4.25. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL12	69
Hình 4.26. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL13	71
Hình 4.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL14	72
Hình 4.28. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL15	73
Hình 4.29. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL16	75
Hình 4.30. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL17	76
Hình 4.31. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL18	78
Hình 4.32. Cấu trúc hóa học của hợp chất SL19	79
Hình 4.33. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SL20	80
Hình 4.34. Cấu trúc hoá học của các hợp chất SL1-SL20	81
Hình 4.35. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SP1	83
Hình 4.36. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SP1	83
Hình 4.37. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SP1	84
Hình 4.38. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SP1	85
Hình 4.39. Phổ HSQC của hợp chất SP1	86
Hình 4.40. Phổ HMBC của hợp chất SP1	87
Hình 4.41. Phổ ¹ H- ¹ H COSY của hợp chất SP1	87
Hình 4.42. Phổ ROESY và các tương tác chính của hợp chất SP1	88
Hình 4.43. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SP2	89
Hình 4.44. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SP2	90
Hình 4.45. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SP2	90
Hình 4.46. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SP2	91
Hình 4.47. Phổ HSQC của hợp chất SP2	91
Hình 4.48. Phổ HMBC của hợp chất SP2	92
Hình 4.49. Phổ ¹ H- ¹ H COSY của hợp chất SP2	92
Hình 4.50. Phổ ROESY và các tương tác chính của hợp chất SP2	93
Hình 4.51. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SP3	94
Hình 4.52. Các tương tác ROESY chính của hợp chất SP3	96
Hình 4.53. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SP4	96
Hình 4.54. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP5	98
Hình 4.55. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP6	100
Hình 4.56. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SP7	101
Hình 4.57. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP8, SP9	102
Hình 4.58. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP10	104
Hình 4.59. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP11, SP12, SP13	105
Hình 4.60. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP14	108

Hình 4.61. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP15, SP16	109
Hình 4.62. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP17	111
Hình 4.63. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP1-SP17	112
Hình 4.64. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SA1, SA5 và SA6	114
Hình 4.65. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SA1	114
Hình 4.66. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SA1	115
Hình 4.67. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SA1	116
Hình 4.68. Phổ HSQC của hợp chất SA1	116
Hình 4.69. Phổ HMBC của hợp chất SA1	117
Hình 4.70. Phổ ¹ H- ¹ H COSY của hợp chất SA1	117
Hình 4.71. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SA2, SA3	118
Hình 4.72. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SA2	118
Hình 4.73. Phổ ¹³ C NMR của hợp chất SA2	119
Hình 4.74. Phổ ¹ H NMR của hợp chất SA2	119
Hình 4.75. Phổ HSQC của hợp chất SA2	121
Hình 4.76. Phổ HMBC của hợp chất SA2	121
Hình 4.77. Phổ ¹ H- ¹ H COSY của hợp chất SA2	122
Hình 4.78. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SA4	123
Hình 4.79. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SA7	126
Hình 4.80. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất SA8	127
Hình 4.81. Cấu trúc hóa học của hợp chất SA9, SA10, SA11 và SA12	128
Hình 4.82. Cấu trúc hóa học của hợp chất SA13, SA14	132
Hình 4.83. Cấu trúc hóa học của hợp chất SA15, SA16	134
Hình 4.84. Cấu trúc của hợp chất SA17	135
Hình 4.85. Cấu trúc của các hợp chất SA1-SA17	137

MỞ ĐẦU

Ngày nay, mặc dù y học hiện đại phát triển mạnh mẽ song y học cổ truyền vẫn có vai trò quan trọng, là phương thức chữa bệnh được nhiều người tìm đến. Nghiên cứu tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học đã và đang nhận được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới. Trong những năm gần đây, rất nhiều công trình nghiên cứu về cây thuốc của hệ thực vật Việt Nam đã được thực hiện và có những đóng góp quan trọng vào việc chăm sóc và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Chi *Syzygium* thuộc họ Sim (Myrtaceae) được biết đến là một chi thực vật có hoa. Chi này bao gồm trên một nghìn loài, trải rộng từ Châu Phi, Madagascar, Đông Nam Á, và Thái Bình Dương. Chi này có độ đa dạng sinh học cao, có những loài còn chưa được mô tả về mặt phân loại thực vật. Hầu hết các loài là cây thường xanh và cây bụi. Một số loài được trồng làm cảnh với tán lá bóng đẹp, hấp dẫn. Một số ít loài cho quả ăn được. Loài quan trọng nhất về kinh tế là cây đinh hương *Syzygium aromaticum*, trong đó nụ hoa chưa nở là một loại gia vị quan trọng. Một số loài *Syzygium* ăn được được trồng ở khắp các vùng nhiệt đới trên toàn thế giới.

Các loài thuộc chi *Syzygium* đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới tập trung nghiên cứu. Đặc biệt, các nhà khoa học chủ yếu tập trung vào loài *Syzygium aromaticum*. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này đã chỉ ra sự có mặt của các phenolic, terpenoid, flavonoid, sterol v.v... Các hợp chất này thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, kháng nấm, kháng khuẩn và tăng cường miễn dịch mạnh. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học về chi này ở Việt Nam.

Vì vậy, chúng tôi đề xuất đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế NO của ba loài *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry, *Syzygium bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và *Syzygium attopeuense* (Gagnep.) Merr. & L.M.Perry ở Việt Nam”. Đây là một đề tài nghiên cứu có hệ thống để tạo ra cơ sở dữ liệu khoa học về các hợp chất và tác dụng sinh học từ một số loài thuộc chi *Syzygium*. Kết quả nghiên cứu còn đóng góp vào kho tàng hóa hợp chất thiên nhiên Việt Nam, một lĩnh vực vẫn còn mới mẻ và đầy tiềm năng ở nước ta.

Mục tiêu của luận án:

- Nghiên cứu để làm rõ thành phần hóa học chủ yếu của ba loài: *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry, *Syzygium bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và *Syzygium attopuense* (Gagnep.) Merr. & L.M.Perry thu hái ở Việt Nam.

- Đánh giá được hoạt tính ức chế sản sinh NO đối với tế bào RAW264.7 được kích thích bởi LPS trên mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được.

Nội dung luận án bao gồm:

1. Phân lập các hợp chất chính từ ba loài *Syzygium cerasiforme*, *Syzygium bullockii* và *Syzygium attopuense*.
2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập được.
3. Đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu về chi *Syzygium*

1.1.1. Thực vật học chi *Syzygium*

Chi *Syzygium* (Trâm) thuộc họ Myrtaceae (Sim, Đào Kim nương hay Hương Đào), bộ Myrtales (Đào Kim nương), lớp Magnoliopsida (Hai lá mầm), ngành Magnoliophyta (Mộc lan).

Phần lớn các loài *Syzygium* là cây thân gỗ và cây bụi thường xanh. Một vài loài được trồng làm cây cảnh vì chúng có tán lá đẹp và một số loài được trồng để lấy quả ăn ở dạng quả tươi hay làm mứt hoặc thạch, trong đó loài quan trọng nhất là đinh hương (*Syzygium aromaticum*) với các chồi hoa chưa nở là một loại đồ gia vị quan trọng.

Trên thế giới, theo thống kê của trang World Flora Online, chi *Syzygium* có tới 1217 loài. Ở Việt Nam, theo Nguyễn Tiến Bân và cộng sự [1], chi *Syzygium* có 70 loài, trong đó ba loài Trâm khế *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry. (synonym: *Syzygium lineatum* (DC.) Merr. & L.M.Perry); Trâm bullock *Syzygium bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry và Rù rì lá lớn *Syzygium attopeuense* (Gagnep.) Merr. & L.M.Perry phân bố nhiều ở các tỉnh miền Bắc và miền Trung nước ta nhất là ở Vĩnh Phúc, Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế.

1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học chi *Syzygium*

Hiện nay, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Syzygium* nhất là các loài *S. aqueum*, *S. aromaticum*, *S. cumini*, *S. guineense* và *S. samarangense*. Kết quả cho thấy các loài thuộc chi *Syzygium* rất giàu các chất chuyển hóa thứ cấp bao gồm flavonoid, terpenoid, lignan, alkyl phloroglucinol, tanin, và dẫn chất chromne [2]. Chính những thành phần này đã tạo nên các hoạt tính sinh học như hoạt tính kháng viêm, kháng nấm, kháng vi khuẩn, chống oxy hóa, chống bệnh tiểu đường, gây độc tế bào [3], kháng HIV, chống tiêu chảy, chống giun sán và kháng virus [4]. Với số lượng loài *Syzygium* khá lớn (trên 1000 loài) thì đây chính là một kho tàng thiên nhiên phong phú được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm.

* Các hợp chất flavonoid và dẫn xuất glycoside (Hình 1.1, Hình 1.2)

Flavonoid là một trong những nhóm chất phân bố rộng nhất trong tự nhiên, có mặt không những ở thực vật bậc cao mà còn ở một số thực vật bậc thấp và các loài tảo. Nhóm hợp chất này và dẫn chất glycoside của chúng cũng được phân lập nhiều nhất trong các loài thuộc chi *Syzygium*. Trong đó các hợp chất phân lập chủ yếu từ các loài *S. samarangense*, *S. guineense*, *S. aqueum*, *S. aromaticum* và *S. cumini*.

Các hợp chất flavonoid bao gồm phloretin (1), myrigalone-G (2), myrigalone B (3) [5], 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3'-methyldihydrochalcone (4), 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-methyldihydrochalcone (5), 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethyldihydrochalcone (6), stercurensin (7), 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-methylchalcone (8), [6, 7], 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone (9)[8], 2',4'-dihydroxy-3',5'-dimethyl-6'-methoxychalcone (10), 2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone or cardamonin (11) [9], pinocembrin (12), (-)-strobopinin (13), 8-methylpinocembrin (14), demethoxymatteuticino (15), 7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavanone (16) [10], 7,8,3',4'-tetrahydroxy-3,5-dimethoxyflavone (17) [11], 7-hydroxy-3,5-methoxy-6,8-dimethylflavone (18), quercetin (19)[10, 12], kaempferol (20) [13], galocatechin (21), myricetin (22) [9], (-)-epigallocatechin (23), (-)-epigallocatechin 3-*O*-gallate (24), samarangenin A (25), samarangenin B (26), prodelphinidin B-2 3''-*O*-gallate (27), prodelphinidin B-2 3,3''-*di-O*-gallate (28) [14].

Dẫn xuất glycoside của flavonoid có thể kể đến là myricetin-3-*O*-rhamnoside (29) [5, 11], europetin-3-rhamnoside (30) [5], mearnsitrin (31) [15], quercitrin (32), hyperin (33), reynoutrin (34), guaijaverin (35) [10], tamarixetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (36), ombutin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (37) [12], kaempferol 3-*O*- β -D-glucuronopyranoside (38), myricetin 3-*O*- β -D-glucuronopyranoside (39), mearnsetin 3-*O*-(4''-*O*-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside (40), myricetin 3-*O*-(4''-*O*-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside (41), 4'-methoxymyricetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (42), myricetrin 4''-*O*-acetyl-2''-*O*-gallate (43) [13] myricetin-3-*O*-glucoside (44), myricetin-3-*O*- β -D-(6''-galloyl)galactoside (45) [9].

* Các hợp chất Chromone glycoside (Hình 1.3)

Từ loài đinh hương (*S. aromaticum*), Ruy B. và cộng sự [16] đã phân lập được các hợp chất chromone glycoside biflorin (**46**), isobiflorin (**47**), 6-*C*- β -D-(6'-*O*-galloyl) glucosylnoreugenin (**48**), và 8-*C*- β -D-(6'-*O*-galloyl) glucosylnoreugenin (**49**).

* Các hợp chất terpenoid (Hình 1.4)

Nhóm chất này cũng chiếm số lượng khá lớn chỉ sau flavonoid trong các hợp chất phân lập được từ chi *Syzygium* nói chung và một số loài phổ biến đã được nêu trên. Từ loài *S. samarangense* phân lập được các hợp chất syamarin A-E (**53-54**) [17], lupenyl stearate (**55**), lupeol (**56**) [18], botulin (**57**), betulinic acid (**58**) [6, 19]. Từ loài *S. aromaticum* phân lập được oleanolic acid (**59**), arjunolic acid (**60**), corosolic acid (**61**), asiatic acid (**62**), maslinic acid (**63**) [20]; limonin (**69**) [12]; caryolane-1,9 β -diol (**70**), clovane-2,9 β -diol (**71**), α -humulene (**72**), humulene epoxide II (**73**), β -caryophyllene (**74**), β -caryophyllene oxide (**75**) [16]. Từ loài *S. guineense* thu được các hợp chất 2-hydroxyloleanolic acid (**65**), 2-hydroxylursolic acid (**66**), terminolic acid (**67**), 6-hydroxyasiatic acid (**68**), arjunolic acid 28-*O*- β -glucopyranosyl ester (**76**), asiatic acid 28-*O*- β -glucopyranosyl ester (**77**) [21] và từ loài *S. cumini* thu được hợp chất olean-12-en-3-ol-3 β -acetate **64** [22].

* Các hợp chất steroid (Hình 1.5)

Một số hợp chất steroid phân lập từ loài *S. samarangense* [18] bao gồm cycloartenyl stearate (**78**), β -sitosteryl stearate (**79**), 24-methylenecycloartenyl stearate (**80**), sitosterol (**81**) stigmasterol (**82**) và từ loài *S. aromaticum* phân lập được β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucoside (**83**) [16].

* Các hợp chất tanin

Các hợp chất tanin bao gồm 3,3',4'-tri-*O*-methylellagic acid (**84**) [16], ellagic acid (**85**) [10, 23], ellagitannin-3-*O*-methylellagic acid 3'-*O*- β -D-glucopyranoside (**86**) [19], ellagic acid 4-*O*- α -L-2''-acetylramnopyranoside (**87**), 3-*O*-methylellagic acid 3'-*O*- α -L-ramnopyranoside (**88**) [23], gallotannins 1,2,3,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucoside (**89**), 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucoside (**90**), casuarictin (**91**), casuarinin (**92**) [9].

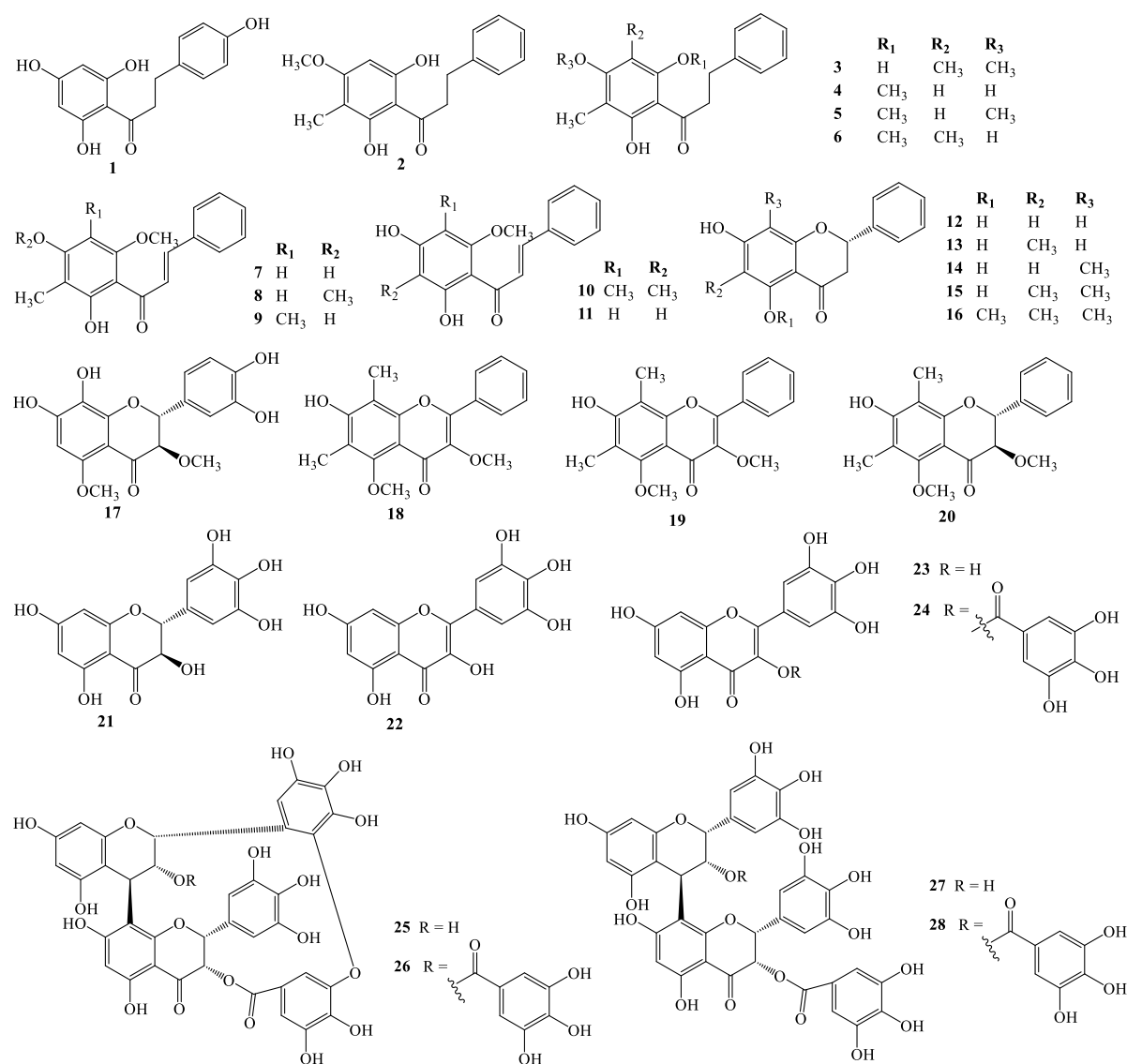
* Các hợp chất phenolic (Hình 1.6)

Từ loài *S. aromaticum* đã phân lập được ferulic aldehyde (**95**), eugenol (**96**), eugenyl acetate (**97**), *trans*-coniferylaldehyde (**98**), 3-(4-hydroxy-3-methoxy-

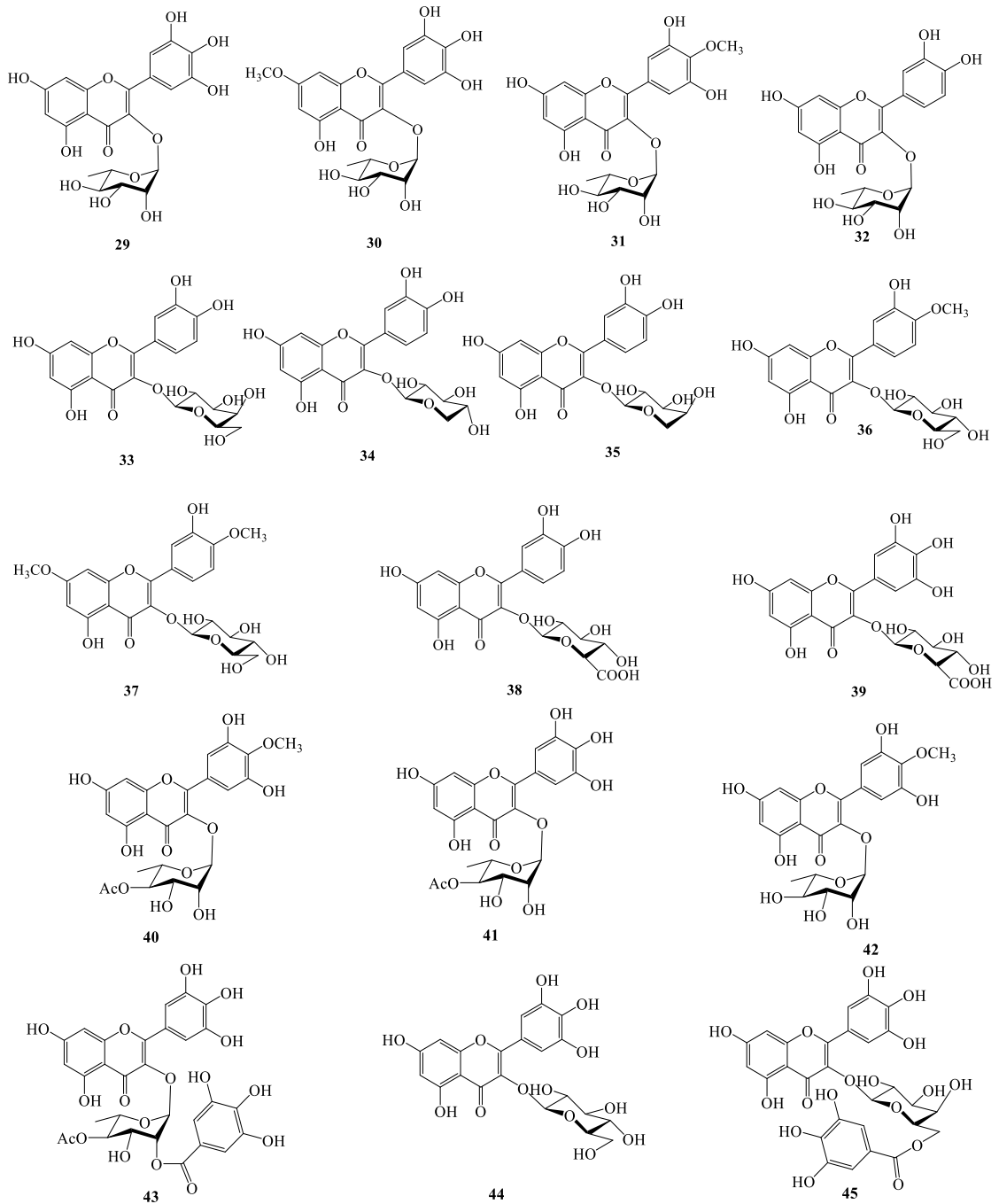
phenyl) propane-1,2-diol (**99**), 1-*O*-methylguaiacylglycerol (**100**), epoxiconiferyl alcohol (**101**) [16]. Từ loài *S. cumini* [24] đã phân lập được 7-hydroxycalamenene (**102**), methyl- β -orsellinate (**103**). Từ loài *S. aqueum* đã phân lập được 4-hydroxybenzaldehyde (**93**) [5] và từ loài *S. cumini* phân lập được gallic acid (**94**) [23].

* *Dẫn chất của acylphloroglucinol (Hình 1.7)*

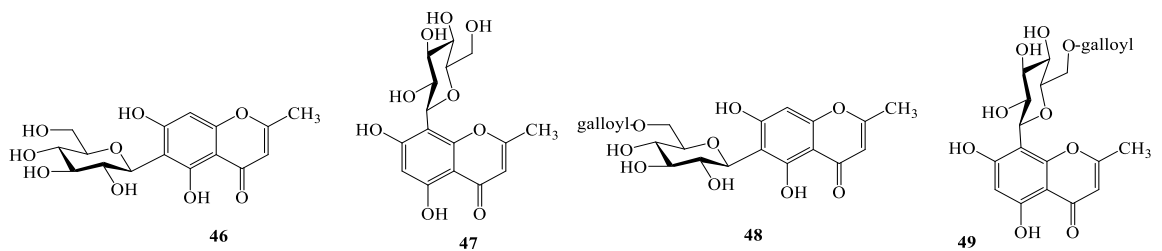
Năm 2018, Yanga [25] đã phân lập được 9 hợp chất là dẫn xuất của acylphloroglucinol: Samarone A-D (**104-106, 108**) và jambone B (**107**), jambone E (**109**), jambone F (**110**), jambone B (**111**) và 2-pentadecyl-5,7-dihydroxychromone (**112**) từ lá của loài *S. samarangense*.



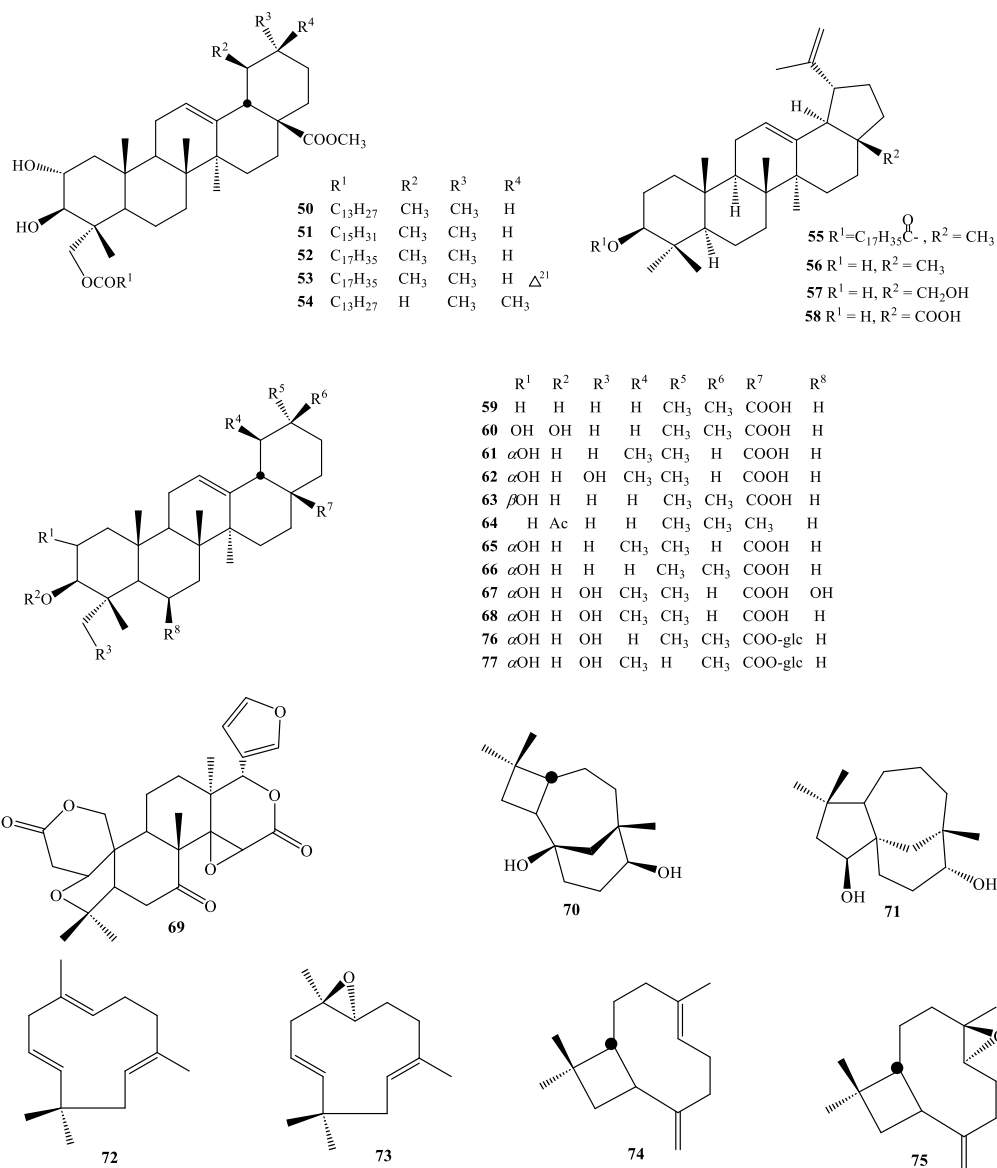
Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất flavonoid



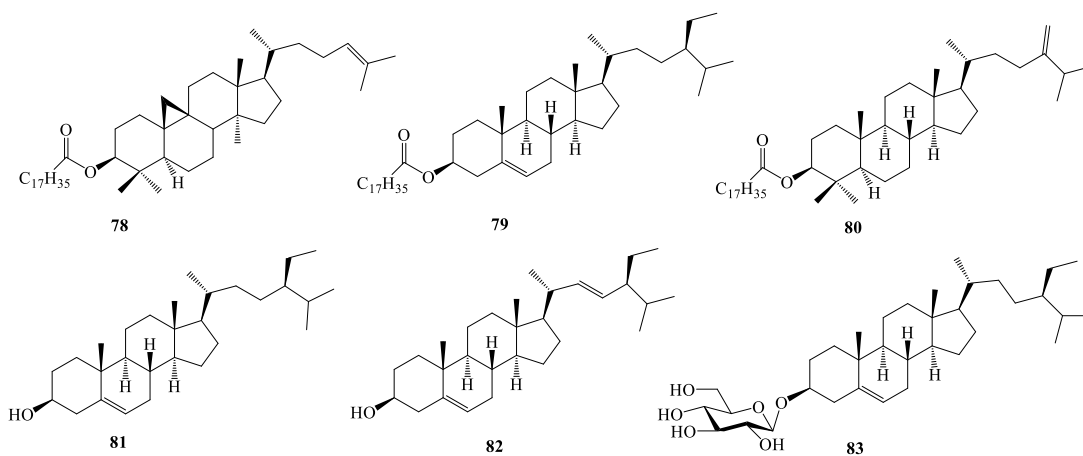
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các hợp chất flavonoid glycoside



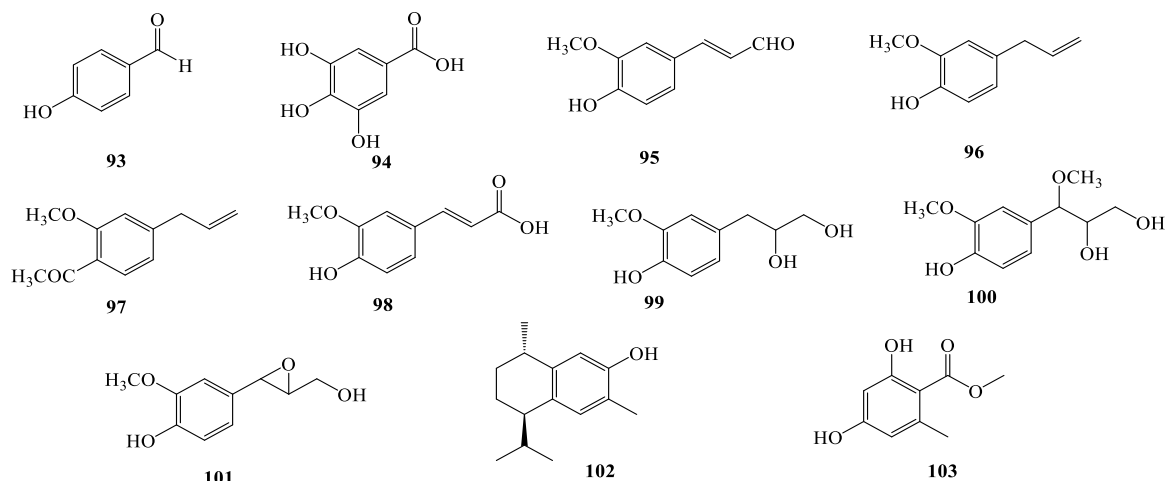
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của các hợp chất chromone glycoside



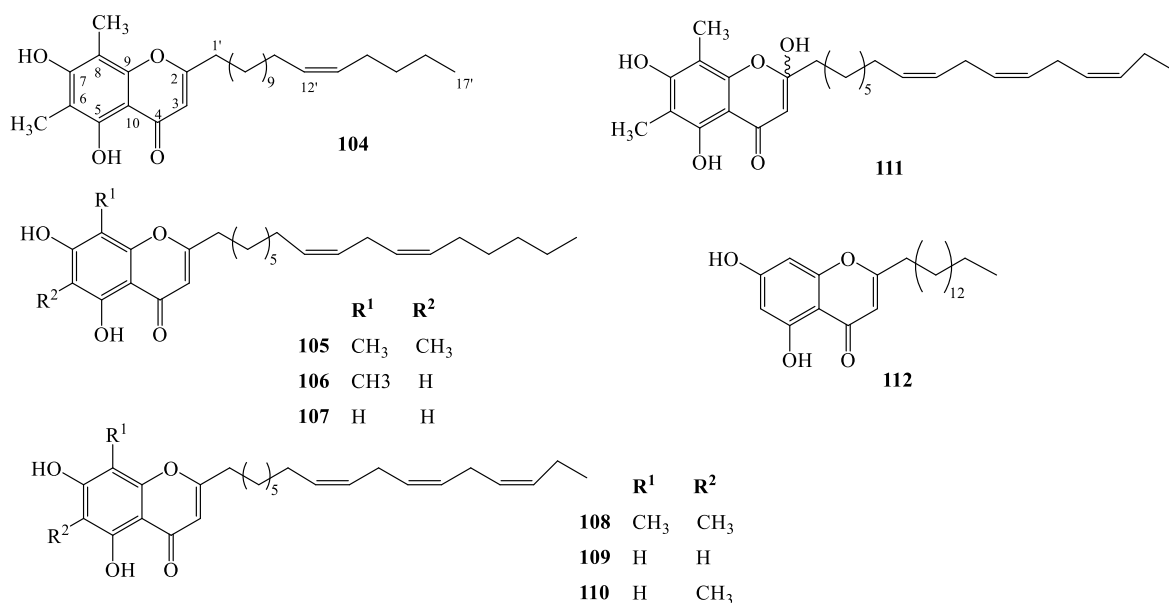
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất terpenoid và dẫn xuất glycoside



Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của các hợp chất steroid và steroid glycoside



Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phenolic



Hình 1.7. Cấu trúc hóa học của các hợp chất dẫn xuất của acylphloroglucinol

1.1.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi *Syzygium*

Các nghiên cứu cho thấy một số loài thuộc chi *Syzygium* đã thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, gây độc tế bào ung thư, chống đái tháo đường, và hoạt tính kháng viêm đáng chú ý.

1.1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Dịch chiết methanol từ lá của loài *S. aqueum* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng thu dọn gốc tự do ABTS [26]. Dịch chiết nước từ quả của loài này trong môi trường acid pH 4,2 có hoạt tính chống oxy hóa mạnh với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 50 µg / mL [27].

Dịch chiết methanol của loài *S. samarangense* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa ở mức trung bình với cả 2 thử nghiệm DPPH và FRAP [10]. Trong khi đó, dịch chiết methanol của rễ cây này có khả năng chống oxy hóa tốt hơn [28].

Dịch chiết methanol và nước của lá loài *S. aromaticum* cũng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa trên mô hình thử nghiệm khả năng thu dọn gốc tự do DPPH [29]. Dịch chiết ethanol từ nụ hoa của loài này có khả năng ức chế quá trình oxy hóa tốt nhất với giá trị EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) tương tự như chất chuẩn, acid ascorbic [30].

Dịch chiết ethanol lá của loài *S. cumini* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị $IC_{50} = 9,85 \mu\text{g/mL}$ [31]. Dịch chiết methanol từ lá cũng có hoạt tính chống oxy hóa khá tốt khi so sánh với BTH và acid ascorbic là các chất đối chứng. Dịch chiết methanol từ hạt thể hiện hoạt tính chống oxy hóa khá tốt, theo đó hàm lượng các hợp chất tannin là yếu tố quyết định đến hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết methanol này [32].

Dịch chiết methanol từ lá của loài *S. guineense* không thể hiện hoạt tính chống oxy hóa [33] thông qua hoạt động thu dọn gốc tự do DPPH, tuy nhiên tinh dầu lá của loài này lại có hoạt tính chống oxy hóa cao [34].

Các hợp chất 2',4'-dihydroxy-3',5'-dimethyl-6'-methoxychalcone [10], 7,8,3',4'-tetrahydroxy-3,5-dimethoxyflavon [11], galocatechin, myricetin, europetin-3-rhamnoside, 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose, casuarictin, casuarinin [9], 2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone, pinocembrin [10, 35] có hoạt tính chống oxy hóa thông qua thử nghiệm thu dọn gốc tự do DPPH.

1.1.3.2. Hoạt tính chống ung thư

Dịch chiết methanol từ lá của *S. aqueum* thể hiện độc tính thấp trên dòng tế bào ung thư vú người (MDA-MB-231) với giá trị $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ [36].

Dịch chiết methanol từ thân của loài *S. samarangense* gây độc tính mạnh trên dòng tế bào ung thư ruột kết của người SW-480 được đánh giá bằng phương pháp so màu MTT [10]. Hợp chất flavopiridol phân lập từ loài *S. cumini* được thử nghiệm độc tính trên các dòng tế bào ung thư MCF7, A2780, PC-3 và H460 cho thấy khả năng gây độc mạnh nhất trên dòng tế bào A2780 với giá trị $IC_{50} = 49 \mu\text{g/ml}$ và yếu nhất trên dòng tế bào H460 [37].

Hợp chất 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone [6-8] có khả năng ức chế sự gia tăng số lượng dòng tế bào ung thư vú (MCF-7).

1.1.3.3. Hoạt tính kháng khuẩn

Dịch chiết ether dầu hoả, ethyl acetate và methanol từ quả của loài *S. samarangense* đều có khả năng chống lại vi khuẩn Gram (+) và Gram (-). Tuy nhiên, dịch chiết methanol có hoạt tính chống vi khuẩn cao hơn các dịch chiết còn lại [38]. Dịch chiết methanol từ lá của loài này có khả năng ức chế mạnh hơn đối với sự phát triển của vi khuẩn *B. cereus* và *S. enterica* hơn cả kháng sinh chloramphenicol [39] và dịch chiết ethanol từ lá của loài này thể hiện khả năng kháng khuẩn cao hơn dịch chiết methanol [40]. Dịch chiết ethyl acetate từ rễ của loài *S. samarangense* thể hiện khả năng ức chế mạnh trên các vi khuẩn *P. aeruginosa* còn dịch chiết nước và methanol từ rễ loài này lại ức chế hiệu quả trên vi khuẩn *S. typhi* [28].

Tinh dầu *S. aromaticum* có tác dụng ức chế cao vi khuẩn và nấm như *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Aspergillus flavus* và *Penicillium* khi so sánh đối chứng dương là kháng sinh ciprofloxacin và ketoconazole [29]. Ngoài ra, dịch chiết ethanol và methanol của loài *S. aromaticum* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao chống lại vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa* [41].

1.1.3.4. Hoạt tính trị bệnh tiểu đường

Dịch chiết nước từ rễ loài *S. samarangense* thể hiện hoạt tính chống đái tháo đường thông qua hoạt động ức chế alpha-amylase tốt hơn so với dịch chiết methanol và ethyl acetate [28].

Dịch chiết methanol từ hạt *S. cumini* cũng thể hiện hoạt tính chống đái tháo đường đáng kể [42].

Dịch chiết methanol từ lá của *S. guineense* thể hiện khả năng ức chế hiệu quả enzym α -amylase ($IC_{50} = 6,15 \mu\text{g/mL}$) đối với hoạt động chống đái tháo đường [33].

Các hợp chất phân lập từ lá của loài *S. aqueum* [5] bao gồm phloretin, myrigalone-G, myrigalone B, europetin-3-rhamnoside đều có khả năng chống đái tháo đường hiệu quả.

1.1.3.5 Hoạt tính kháng viêm

Dịch chiết methanol từ lá của *S. aqueum* thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt thông qua khả năng ức chế enzyme lipoxygenase (LOX) và khả năng ức chế COX-1 và COX-2. Dịch chiết này thể hiện khả năng ức chế COX-2 và LOX mạnh hơn diclofenac và ức chế COX-1 mạnh hơn celecoxib [43]. Dịch chiết ethyl acetate, methanol và nước từ rễ của loài *S. samarangense*, thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt thông qua thử nghiệm biến tính albumin. Dịch chiết methanol có tỷ lệ phần trăm biến tính albumin cao nhất sau đó đến dịch chiết nước và ethyl acetate [28].

1.1.4. Tình hình nghiên cứu về chi *Syzygium* ở Việt Nam

Ở Việt Nam chi *Syzygium* có các loài sau được sử dụng trong y học cổ truyền: *S. aromaticum* (L.) Merr.et Perry (đinh hương), *S. cuminii* (L.) Skeels (trâm mốc); *S. jambolanum* (Lamk.) DC, *S. jambos* (L.) Alston, *S. polyanthum* (Wight) Walp. (sản thuyền), *S. resinosum* (Gagnep.) Merr.et Perry, *S. bullockii* (Hance) Merr. & L.M. Perry (Trâm Bullock), *S. cerasiforme* (Blume) Merr. & L. M. Perry (Myrtaceae) (trâm khế), *S. myrsinifolium* (Hance) Merr. & L. M. Perry (Myrtaceae) (trâm mùi), *S. samarangense* (Blume) Merr. & L.M.Perry (cây roi) [44].

Loài *S. cumini* (trâm mốc hay trâm vôi) được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian để chữa bệnh tiểu đường. Loại thảo dược này cũng có khả năng điều trị rối loạn tiêu hóa bao gồm đầy hơi, co thắt ruột, các vấn đề về dạ dày, tiêu chảy nặng và kiết lỵ. Ngoài ra, trâm mốc cũng hỗ trợ giảm nhẹ các vấn đề về phổi như viêm phế quản và hen. Một số người sử dụng cây trâm như thuốc kích thích và thuốc bổ. Khi kết hợp với các loại thảo mộc khác, hạt trâm sẽ có khả năng điều trị táo bón, các bệnh về tuyến tụy, các vấn đề về dạ dày, rối loạn thần kinh, trầm cảm và kiệt sức. Trâm mốc đôi khi được dùng trực tiếp qua đường miệng và cổ họng để giảm đau do viêm sưng. Trâm vôi cũng được áp dụng trực tiếp cho da để chữa loét da, viêm da. Chiết xuất hạt trâm vôi và vỏ có thể làm giảm lượng đường trong máu [44].

Loài *S. aromaticum* (đinh hương) có vị cay ngọt, mùi thơm, làm ấm bụng, sát trùng. Nước sắc nụ đinh hương có tác dụng diệt một số loại vi khuẩn đường ruột thuộc chi *Shigella*. Tinh dầu của nó cũng có tác dụng diệt khuẩn mạnh đối với nhiều loại vi khuẩn. Từ lâu, người ta đã biết dùng đinh hương để làm thơm hơi thở. Trong y học Đông phương, đinh hương đã được sử dụng từ lâu ở Trung Quốc làm chất kích thích thơm. Công dụng phổ biến của nó là dùng chế bột cary. Nó thuộc loại gia

vị rất quý, kích thích tiêu hoá. Đinh hương được dùng làm thuốc chữa đau bụng, nấc cụt, kích thích tiêu hoá (sắc uống hoặc mài với các vị thuốc khác). Dùng ngoài để xoa bóp và nắn bó gãy xương. Cũng dùng chữa phong thấp, đau xương, nhức mỏi, lạnh tay chân. Chữa phong thấp, đau xương, nhức mỏi, lạnh tay chân với đơn thuốc gồm: đinh hương 20g, long não 12g, cồn 90 độ 250ml, ngâm 7 ngày đêm, lọc bỏ bã, khi dùng lấy bông chấm thuốc, nắn bóp nơi đau nhức, mỗi ngày 1-2 lần [45].

Loài *S. polyanthum* (sắn thuyền hay sắn vỏ) được người dân sử dụng lá non để ăn gỏi và lá có thể giã nát đắp chữa vết thương chảy mủ dai dẳng, vết mổ nhiễm khuẩn, vết bỏng, gãy xương hở. Bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp- Hải Phòng đã dùng lá sắn thuyền chữa có kết quả những vết thương nhiễm khuẩn, làm cho vết thương chóng khô và lên da non, đặc biệt là không bị sẹo lồi. Trạm nghiên cứu dược liệu Thái Bình đã bào chế thuốc mỡ sắn thuyền để bôi ngoài chàm có kết quả tốt. Thuốc gồm sắn thuyền 10g, nghệ rậm 6g, tràu không 2g, phèn phi 2g, vazelin đánh nhuyễn thành thuốc mỡ. Để chữa kiết lỵ mãn tính, lấy vỏ sắn thuyền khô 12g, thân rễ cây seo gà 30g, cám gạo nếp rang cho thật vàng thơm 30g, sắc với 400ml nước còn 100ml, uống làm 2 lần trong ngày. Vỏ sắn thuyền sấy khô, tán bột cho uống mỗi lần 2g với nước cơm lại chữa tiêu chảy ở trẻ em [44].

Loài *S. jambos* (cây roi) có vị ngọt, chát, tính bình. Vỏ rễ có tác dụng lương huyết, tiêu thũng, sát trùng. Các hợp chất chiết từ lá cây có tác dụng với nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, đặc biệt là các loại liên cầu khuẩn, vi khuẩn bạch hầu và vi khuẩn phế cầu. Như vậy lá roi có tác dụng chống lại vi khuẩn sinh mủ và vi khuẩn gây ra bệnh về đường hô hấp [45].

Loài *S. bullockii* (trâm bullock): Rễ của loài này được người dân sử dụng để chữa ho lao, thổ huyết, đau răng, viêm gan, ỉa chảy, phong thấp [45]. Cho đến nay, chỉ có tác giả TH Khánh và cộng sự nghiên cứu về thành phần tinh dầu từ lá của loài trâm bullock (*S. bullockii*) và lá trâm quả trắng (*S. tsoogii*) bằng GC-MS [46]. Trong tinh dầu lá trâm bullock có sesquiterpene hydrocarbon (60,67%), sesquiterpenes có chứa oxy (9,40%), monoterpene có chứa oxy (6,27%), monoterpene hydrocarbon (0,41%) và các thành phần chưa xác định tên chiếm (15,72%). Trong đó phần chính của tinh dầu là *E*-caryophyllene (49,65%), spathulenol (4,29%), caryophyllene oxide (4,14%), bicyclogermacrene (3,35%), 2-

tridecanone (3,25%), α -humulene (2,78%), 9-*epi*-(E)-caryophyllene (1,03%) và aromadendrene (1,01%). Lá loài trâm quả trắng (*S. tsoongii*) đã xác định được 46 hợp chất chiếm 99,71% tổng lượng tinh dầu. Thành phần chính là sesquiterpene hydrocarbon (71,51%), monoterpene hydrocarbon (18,25%), sesquiterpenes có chứa oxy (9,58%), monoterpene có chứa oxy (0,37%). Các hợp chất chính bao gồm *E*-caryophyllene (23,40%), bicyclogermacrene (21,23%), (*Z*)- β -ocimene (10,61%), α -humulene (6,33%), (*E*)- β -ocimene (4,99%), δ -cadinene (2,77%), (*E,E*)- α -farnesene (3,59%), germacrene D (2,52%), α -amorphene (2,34%), α -cadinol (2,31%) và *cis*- β -elemene (2,15%).

Như vậy, chi *Syzygium* là một chi đa dạng về loài và có nhiều hoạt tính sinh học thú vị. Tuy nhiên, ở Việt Nam việc nghiên cứu thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học về các loài thuộc chi này còn rất hạn chế.

1.2. Giới thiệu về loài *S. cerasiforme*, *S. bullockii* và *S. attopeuense*

Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào trên thế giới cũng như ở Việt Nam về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của của ba loài *S. cerasiforme*, *S. bullockii* và *S. attopeuense*. Chỉ có nhóm tác giả TH Khanh [46] nghiên cứu thành phần phần trăm các chất có trong tinh dầu từ lá của loài *S. bullockii* và tác giả LT Huong [47] nghiên cứu thành phần phần trăm các chất từ tinh dầu lá của loài *S. attopeuense* và hoạt tính kháng khuẩn của chúng.

1.2.1. Loài *S. cerasiforme*

Loài *S. cerasiforme* (trâm khê) có chiều cao cây lên tới 20m. Cành mảnh, nhọn, vỏ nhẵn hoặc bong vảy, màu xám trắng hoặc nâu sẫm. Lá có cuống dài 4–8 mm; phiến lá 5,3–11,2 x 2,4–4,7 cm, hình elip, hình thuôn dài hoặc hình trứng; gân giữa nổi rõ ở mặt trên, gân phụ có từ 16–20 đôi. Cụm hoa 2–10 cm, cả tận cùng và ở nách trên, với một số nhánh từ gốc, đôi khi đơn lẻ; cuống dài đến 20 mm; lá bắc 1,2 x 0,7 mm, hình tam giác. Hoa màu trắng, trắng lục hoặc vàng nhạt, hai hoa bên ngoài của một bộ ba, cuống 1 mm, đài hoa 5,4–8,4 mm, hình phễu. Cuống giả 2 mm. Lá đài 4, 1,4–2,1 mm, hình thuôn, đôi khi có hình lông chim, bền chắc. Cánh hoa dài 4,4–5,7 mm, hình trứng hoặc hình trứng thuôn dài, có hơn 100 chấm tuyến trên mỗi cánh hoa. Nhị ngoài dài 10–15 mm; bao phấn 0,7 mm, hình trứng thuôn dài. Quả hình trứng thuôn, dài 1–1,3 cm, đường kính 1 cm [45, 48].

Phân bố và sinh thái: Cây mọc ở rừng nguyên sinh hoặc thứ sinh, ven đường, thảo nguyên, bờ sông, đồi núi đá vôi, ở độ cao lên đến 850 m. Phân bố rộng ở các nước Trung Quốc, Thái Lan, Campuchia, Lào, Việt Nam, Malaysia, Philipin. Ở Việt Nam, loài *S. cerasiforme* phân bố của yếu ở các tỉnh Thanh Hóa, Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, Vĩnh Phúc. Cây mọc tự nhiên trên đụn cát ven biển, chịu được khô hạn. Rễ của loài này được người dân sử dụng để chữa ho lao, thổ huyết, đau răng, viêm gan, ỉa chảy, phong thấp [45, 48].

1.2.2. Loài *S. bullockii*

Loài *S. bullockii* (trâm bullock) là cây bụi cao đến 5 m, cành con có màu trắng xám khi khô, hơi dẹt, lá có cuống rất ngắn đến gần như không cuống; phiến lá hình elip đến hình trứng thuôn dài, có kích thước 5-10 × 2,5-5,5 cm, lá có lông, mặt ngoài hơi nhạt khi khô, phía trên có màu nâu sẫm và bóng khi khô, các gân phụ nhiều và ở góc. Cụm hoa ở đầu, có hình chùy, cụm có nhiều hoa và phân nhánh, cuống hoa nhỏ hơn 1 cm. Đài hoa hình nón ngược có các thùy hình gợn sóng. Cánh hoa màu trắng, phân cánh rõ ràng. Quả màu đỏ đến đen, hình elip có kích thước 10 x 8 mm [48].

Phân bố và sinh thái: Cây sinh trưởng và phát triển trong thảm thực vật mở, trên đất sét hoặc đất cát. Loài này chủ yếu mọc ở Trung Quốc, Lào và Việt Nam. Ở nước ta, cây này đã được ghi nhận ở các tỉnh Bắc Giang, Đồng Nai, Quảng Bình, Quảng Trị, Quảng Nam. Quả có thể ăn được.

1.2.3. Loài *S. atlopeuense*

Loài *S. atlopeuense* (rù rì lá lớn) là cây bụi hay cây gỗ cao 3-8 m, đường kính tới 45 cm, thân nhẵn. Cành cây tạo thành góc, đường kính cỡ 2,0-2,5 mm, mảnh, bề mặt nhẵn, trắng, tương phản với màu lá. Lá mọc vòng (thường ở cuối cành) hoặc đối phụ, màu nâu nhạt, kích thước 5-11,5 x 1-2 cm, dài gấp 5-8 lần chiều rộng, thường hình mũi mác, đôi khi hình elip thuôn dài, đáy đậm, đỉnh nhọn hoặc tròn không có độ nhọn rõ rệt; gân giữa trên trũng, dưới nhô; gân phụ 15-20 mỗi bên, khoảng cách hẹp hoặc rộng, cách nhau 2-4 mm, dốc lên 35 độ so với gân giữa; gân phụ thứ ba mờ nhạt, hình lưới; cận biên bên trong 1 mm từ mép lá, thẳng; cuống lá dài 5 mm, bằng 1/10-1/15 chiều dài phiến lá, đường kính 1-1,5 mm, mảnh, màu nâu sẫm, không tương phản với màu phiến lá. Cụm hoa ở phần cuối hoặc nách

trên cành lá gần cuối cành, dài 7-17 cm, xếp thành chùy, phân nhánh bậc 3, xòe rộng, hoa nhiều, 45 đến 153; trục dài 8-15 cm; lá bắc và lá bắc liên tục, hình tam giác. Hoa nhỏ, không cuống, cụm hoa kín rộng không phân, không có sợi, kích thước 2-3 × 1-1,5 mm, hình nón; đài hoa 4, tự do, 0,3 × 1 mm, hình bán nguyệt; cánh hoa 4, liền nhau, 2 × 2 mm, hình cầu; nhị ngoài dài 1,5 mm, bao phấn song song, tuyến liên kết dễ thấy. Quả hình cầu lõm, kích thước 0,6 x 0,75 cm, bề mặt nhẵn [48].

Phân bố và sinh thái: Cây mọc ở rừng thứ sinh hoặc nguyên sinh, ven sông trên địa hình đá từ 300-1500m, phân bố chủ yếu ở Thái Lan, Lào và Việt Nam. Ở Việt Nam cây được phát hiện ở các tỉnh Gia Lai, Lâm Đồng, Ninh Thuận, Quảng Trị v.v... Quả có thể ăn được, rễ được ngâm rượu để sử dụng như thuốc.

1.3. Giới thiệu về hoạt tính kháng viêm

1.3.1. Sơ lược về viêm

1.3.1.1. Giới thiệu về quá trình viêm

Viêm là một phản ứng phức tạp của hệ thống miễn dịch trong cơ thể đối với chất gây kích ứng. Chất gây kích ứng có thể là mầm bệnh, tế bào bị tổn thương và các hợp chất độc hại. Phản ứng viêm một mặt nói lên tác động phá hoại, gây tổn thương của nhân tố bệnh lý, nhưng mặt khác cũng nói lên sức đề kháng chống đỡ của cơ thể nhằm tiêu diệt nguyên nhân gây bệnh, hạn chế tổn thương, phục hồi các chức năng cơ thể bị rối loạn. Phản ứng viêm được đặc trưng nhất với các bệnh nhiễm trùng do vi sinh vật (nhiễm trùng do vi khuẩn đặc biệt là ấu trùng). Sự nhận biết ban đầu về bệnh nhiễm trùng là các đại thực bào và tế bào mast cư trú trong mô, dẫn đến việc sản xuất nhiều chất trung gian gây viêm, bao gồm chemokine, cytokine, các amin hoạt tính...[49]. Khi có phản ứng viêm diễn ra, tùy theo tình trạng viêm cấp hay mạn tính mà biểu hiện mức độ nặng hay nhẹ. Tình trạng viêm cấp tính sẽ gây ra năm triệu chứng điển hình, đó là: đỏ, nhiệt, sưng tấy, đau và mất chức năng cơ quan. Khác với viêm cấp tính, các triệu chứng viêm mạn tính có thể khó phát hiện hơn các triệu chứng viêm cấp tính. Các dấu hiệu của viêm mạn tính có thể bao gồm: đau bụng, đau tức ngực, mệt mỏi, đau hoặc cứng khớp, xuất hiện các vết loét ở miệng hoặc phát ban trên da. Các tác nhân gây ra tình trạng viêm có thể đến từ nội sinh hoặc ngoại sinh. Tác nhân gây viêm ngoại sinh bao gồm các yếu

tổ cơ học (chấn thương, áp lực, ma sát, dị vật), vật lý (nhiệt, tia phóng xạ, bức xạ), hoá học (hoá chất gây kích ứng, chất độc, thuốc), sinh học (sự kết hợp kháng nguyên – kháng thể), vi sinh vật (vi khuẩn, virus, một số loại nấm, các vi sinh vật đơn bào), ký sinh trùng và côn trùng. Tác nhân gây viêm nội sinh bao gồm sản phẩm chuyển hoá (ure máu tăng gây viêm màng phổi, màng tim hay acid uric máu tăng gây viêm khớp), hoại tử kín gây viêm vô trùng, phản ứng tự miễn (bệnh thấp khớp, viêm cầu thận), viêm xung quanh tổ chức ung thư [49].

Có nhiều cách phân loại viêm bao gồm phân loại theo nguyên nhân (viêm nhiễm khuẩn và viêm vô khuẩn), theo vị trí (viêm nông, viêm sâu), theo dịch rỉ viêm (viêm thanh dịch, viêm tơ huyết, viêm mủ). Tuy nhiên, cách phân loại phổ biến nhất là phân loại theo diễn biến quá trình viêm, bao gồm: viêm cấp tính và viêm mạn tính. Viêm cấp là tình trạng viêm có thời gian diễn biến ngắn, kéo dài từ vài phút đến vài ngày và có đặc điểm tiết dịch chứa nhiều protein huyết tương cũng như nhiều bạch cầu đa nhân trung tính. Trong viêm cấp có đáp ứng tức thời và sớm với tổn thương thông qua quá trình huy động bạch cầu tới vị trí tổn thương giúp làm sạch vi khuẩn và các tác nhân gây viêm khác, đồng thời làm tiêu huỷ các mô hoại tử do viêm gây ra. Tuy nhiên, chính bạch cầu lại có thể kéo dài viêm và cảm ứng sự tổn thương mô do giải phóng các enzym, chất trung gian hóa học và các gốc oxy có độc tính gây sưng, nóng và đỏ. Viêm mạn là tình trạng viêm có diễn biến từ vài ngày đến vài tháng hoặc kéo dài theo năm.

1.3.1.2. Những biến đổi chủ yếu trong viêm

Tại ổ viêm, sẽ xảy ra biến đổi chủ yếu là rối loạn tuần hoàn, rối loạn chuyển hóa, tổn thương mô và tăng sinh tế bào. Trên thực tế, các quá trình trên đan xen và liên quan chặt chẽ với nhau.

Rối loạn tuần hoàn tại ổ viêm: Những rối loạn này thường diễn ra sớm, dễ thấy nhất, xảy ra ngay khi yếu tố gây viêm tác động lên cơ thể. Bốn hiện tượng xảy ra trong khi có rối loạn tuần hoàn đó là rối loạn vận mạch, tạo dịch rỉ viêm, bạch cầu xuyên mạch, hiện tượng thực bào [50]. Ngay khi yếu tố gây viêm tác động, tại vị trí viêm lần lượt có các hiện tượng co mạch, sung huyết động mạch, sung huyết tĩnh mạch và tụ máu. Đây là những biểu hiện chính của rối loạn vận mạch. Đặc biệt,

hiện tượng ứ máu có vai trò cô lập ổ viêm, khiến yếu tố gây bệnh không thể lan rộng, đồng thời tăng cường quá trình sửa chữa [51].

Rối loạn chuyển hóa: Do rối loạn chuyển hóa và tổn thương mô đã thúc đẩy việc tạo ra các chất trung gian gây viêm như histamin, serotonin, acetylcholin; các kinin huyết tương; leucotrien, sản phẩm chuyển hóa của acid arachidonic; các cytokin Interleukin-1, -6, -8 (IL-1, IL-6, IL-8), từ đại thực bào và tế bào nội mô hoạt hóa. Ngoài ra, trong dịch rỉ viêm còn có thể xuất hiện các acid nhân và các enzym.

Tổn thương mô: Để bạch cầu tới được ổ viêm còn cần có vai trò của đại thực bào. Dưới tác dụng của yếu tố gây viêm, đại thực bào được hoạt hóa, tiết ra TNF, IL-1 và IL-6 làm cho nguyên bào xơ và tế bào nội mô cũng tiết ra TNF, IL-1, IL-8, monocyte chemoattractan protein (MCP) dẫn đến việc kéo đại thực bào, bạch cầu trung tính tới những mạch quanh ổ viêm [52]. Sau khi bạch cầu tới được ổ viêm, bạch cầu sẽ bắt giữ và tiêu hóa yếu tố gây viêm – đây là hiện tượng bạch cầu thực bào. Lysosom tiêu diệt yếu tố gây viêm bằng các enzym như hydrolase acid. Bên cạnh đó, quá trình oxy hóa các chất gây viêm nhờ enzym oxydase cũng giúp tiêu diệt các vi sinh vật ngoại bào, enzym NO-synthetase giúp tiêu diệt các vi khuẩn nội bào. Ngoài ra, khi quá trình oxy hóa tại ổ viêm tăng sẽ tăng nhu cầu oxy, nhưng sự sung huyết động mạch chưa đáp ứng kịp dẫn đến sung huyết tĩnh mạch, từ đó kéo theo hàng loạt những rối loạn chuyển hóa của glucid, lipid và protid.

Tăng sinh tế bào để chữa lành vết thương: Hiện tượng viêm kết thúc bằng quá trình tái tạo mô xơ và các mạch máu. Đây là cơ sở hình thành mô sẹo thay thế cho nhu mô tổn thương, làm lành vết thương [52].

1.3.1.3 Ảnh hưởng của phản ứng viêm đối với cơ thể

Viêm là một cơ chế bảo vệ quan trọng của cơ thể. Thông thường, trong các phản ứng viêm cấp tính, các phản ứng và tương tác tế bào-phân tử sẽ giúp giảm thiểu hậu quả tổn thương hoặc nhiễm trùng xảy ra. Quá trình này góp phần phục hồi cân bằng nội môi của mô và giải quyết tình trạng viêm cấp tính. Tuy nhiên, tình trạng viêm cấp tính không thể kiểm soát được có thể trở thành mạn tính và lâu dần dẫn đến tổn thương mô cùng một loạt bệnh như: bệnh tim mạch, xơ vữa động mạch, tiểu đường type 2, viêm khớp dạng thấp và ung thư [52]. Để ngăn chặn sự tiến triển của viêm cấp tính thành mạn tính, phản ứng viêm cần được ngăn chặn để tránh tổn

thương thêm mô ở các cơ quan bao gồm: tim (xơ vữa động mạch), gan (viêm gan), thận (viêm cầu thận, bệnh thận cấp và mạn tính), phổi (xơ phổi, xơ nang, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính COPD, hen suyễn), ruột (viêm ruột), não (viêm não), tuyến tụy và hệ thống sinh sản. Viêm là một phản ứng giúp bảo vệ cơ thể con người. Tuy nhiên, đây cũng là một nguyên nhân chính gây ra sự tiến triển quá mức các bệnh lý nội tạng. Cytokine là một trong những nguyên nhân có thể gây ra sự rối loạn điều hòa trong viêm. Vì vậy, tác động vào cytokine cũng là một trong những biện pháp hiệu quả để phòng ngừa và điều trị các bệnh viêm nhiễm.

1.3.1.4 Vai trò của interleukin-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factors- α (TNF- α), nitric monoxide (NO) và cyclooxygenase -2 (COX-2) trong hiện tượng viêm

** Interleukin-6 (IL-6)*

Interleukin-6 (IL-6) là một chất trung gian tiền viêm được sản xuất bởi một số tế bào như tế bào khối u, tế bào mỡ, nguyên bào sợi, đại thực bào, tế bào gan và tế bào nội mô. Chúng sử dụng gp130 như là một thụ thể truyền tín hiệu [53, 54]. IL-6 có tác dụng toàn thân đối với tình trạng viêm, phản ứng miễn dịch [54]. Nó được tạo ra tại vị trí viêm do nhiễm trùng hoặc tổn thương mô. IL-6 cảm ứng sản xuất các protein giai đoạn cấp tính như protein phản ứng C, amyloid A trong huyết thanh, fibrinogen và hepcidin trong gan [55]. IL-6 cũng đóng một vai trò quan trọng trong phản ứng miễn dịch do tạo ra sự biệt hóa của các tế bào B đã hoạt hóa thành các tế bào sản xuất kháng thể (Ab) và kéo dài thời gian sống sót của các tế bào nguyên bào. Đồng thời, IL-6 thúc đẩy sự phát triển của các tế bào Th17 và tế bào T cũng như ức chế sự biệt hóa của tế bào điều hòa T (Treg) [56]. Khi tình trạng viêm cấp tính bắt đầu xảy ra, IL-6 sẽ làm trung gian cho các phản ứng trong giai đoạn này. Sau khi kết thúc viêm cấp tính, nếu IL-6 vẫn hoạt động như một cytokine tiền viêm thì tình trạng viêm cấp tính chuyển thành viêm mãn tính. Trong tình trạng viêm mãn tính, IL-6 hỗ trợ quá trình tích tụ tế bào đơn nhân tại vị trí tổn thương, thông qua việc tiết MCP-1 liên tục và tăng sinh mạch. Điều này có thể làm tăng nồng độ IL-6 trong huyết thanh và tạo cơ sở cho bước khuếch đại của quá trình tăng sinh viêm mãn tính. Trong các bệnh tự miễn, IL-6 không chỉ duy trì tình trạng viêm mà còn điều chỉnh các phản ứng miễn dịch.

** Yếu tố nhân TNF- α*

TNF- α là một yếu tố nhân đóng một vai trò quan trọng trong miễn dịch, quá trình viêm và kiểm soát chu kỳ tế bào (tăng sinh, biệt hóa và apoptosis) [57]. Một số loại tế bào có thể sản xuất TNF- α , bao gồm đại thực bào đã hoạt hóa, tế bào đuôi gai, bạch cầu đơn nhân, tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK), tế bào CD4⁺ T, tế bào T CD8⁺, tiểu thần kinh đệm (microglia) và tế bào hình sao [54, 57]. Về mặt chức năng, nó được biết là có khả năng kích hoạt một loạt các phân tử gây viêm khác nhau, bao gồm các cytokine và chemokine khác. TNF- α tồn tại ở dạng hòa tan và xuyên màng. TNF- α xuyên màng (tmTNF- α) là dạng tiền chất được tổng hợp ban đầu và được xử lý bởi enzyme chuyển TNF- α (TACE) để được giải phóng dưới dạng TNF- α hòa tan (sTNF- α) [58, 59]. Do sự tham gia của TNF- α trong cơ chế bệnh sinh của các bệnh tự miễn, các chất ức chế TNF- α đã được phát triển và ứng dụng thành công trong điều trị lâm sàng các bệnh tự miễn như bệnh Crohn [60]. Thuốc điều trị hoạt động như chất đối kháng bằng cách ngăn chặn sự tương tác của TNF- α với TNFR1/2 hoặc trong một số trường hợp là chất chủ vận bằng cách kích thích tín hiệu ngược, gây ra quá trình apoptosis của các tế bào miễn dịch sản xuất TNF- α [61, 62].

* Nitơ monoxit (NO)

Trong tế bào của loài động vật có vú, nitơ monoxit (NO) được tạo ra với số lượng lớn bởi enzyme tổng hợp nitric oxit (iNOS). NO chịu trách nhiệm với sự giãn mạch máu và tăng huyết áp biểu hiện trong sốc nhiễm khuẩn và quá trình viêm [63]. Quá trình sản sinh NO là một trong các phản ứng tự bảo vệ của cơ thể tuy nhiên sự sản sinh quá mức lượng NO lại là nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương của các tế bào và mô, thúc đẩy quá trình viêm và gây ra các bệnh viêm cấp và mãn tính. Do vậy mức độ sản sinh NO có thể phản ánh mức độ gây viêm và được coi là một trong những yếu tố chỉ thị cho quá trình viêm xảy ra. Các hợp chất ức chế sự sản sinh NO có thể được coi là các tác nhân chống viêm.

* Cyclooxygenase -2 (COX-2)

Các enzyme cyclooxygenase (COX) có vai trò xúc tác cho quá trình chuyển acid arachidonic thành PGH₂ là chất cơ bản cho việc tạo thành các prostaglandin dưới xúc tác của enzyme tổng hợp prostaglandin và thromboxane. Prostaglandin có vai trò vô cùng quan trọng trong vô số các quá trình sinh học liên quan đến quá trình điều chỉnh chức năng miễn dịch, sự phát triển thận, sinh học sinh sản, và khả

năng bảo vệ đường tiêu hóa. Có hai dạng của COX liên quan với nhau được gọi là COX-1 và COX-2. COX-1, dạng chủ yếu của enzyme, có mặt ở khắp cơ thể và cung cấp một số chức năng cân bằng nội môi, chẳng hạn như duy trì niêm mạc dạ dày bình thường, ảnh hưởng đến lưu lượng máu trong thận và hỗ trợ quá trình đông máu thông qua quá trình kết tập tiểu cầu. Ngược lại, COX-2, dạng cảm ứng, được biểu hiện trong đáp ứng với tình trạng viêm và các yếu tố kích thích sinh lý và tăng trưởng khác và tham gia vào quá trình sản xuất các prostaglandin vốn là trung gian gây đau và đáp ứng quá trình viêm. Bình thường nồng độ COX-2 trong tế bào rất thấp. Tuy nhiên trong các mô viêm, nồng độ COX-2 có thể tăng cao gấp 80 lần. Do đó việc sản xuất các PG cũng tăng, khi các PG tăng làm tăng tính thấm thành mạch, gây sốt và kích thích thần kinh cảm giác làm tăng cảm giác đau, đặc biệt các PGE₂ gây phù nề, đỏ.

1.3.2. Các thuốc kháng viêm

Các chất hay thuốc kháng viêm không đảo ngược được quá trình viêm mà chỉ giới hạn hoặc làm chậm quá trình viêm bằng cách ức chế việc sản xuất các chất trung gian gây viêm. Các thuốc kháng viêm hiện nay được chia làm hai loại: Loại steroid và loại không steroid. Trên thị trường hiện nay chủ yếu là các thuốc kháng viêm không steroid (NSAIDs-Nonsteroidal anti-inflammatory drugs), đa số là các thuốc tổng hợp và có tác dụng hầu hết trên các loại viêm không phân biệt nguyên nhân. Cơ chế hoạt động của các thuốc này là kìm hãm hoạt động của các enzyme cyclooxygenase COX-1 và COX-2, làm giảm tổng hợp các prostaglandin (PG-yếu tố trung gian quan trọng nhất gây nên phản ứng viêm) [64]. Sự ức chế tổng hợp các PG của thuốc một mặt là yếu tố quyết định tác dụng kháng viêm của thuốc nhưng lại có tác dụng bất lợi ở đường tiêu hóa và thận khi sử dụng thuốc kéo dài. Hiện nay, các thuốc ức chế chọn lọc COX-2 được xem là ít tác dụng phụ trên dạ dày. Tuy nhiên, đối với các thuốc này, không có thuốc nào hoàn toàn ức chế COX-2 mà không tác động trên COX-1 [65]. Do đó, bên cạnh các thuốc tổng hợp thì xu hướng tìm kiếm các thuốc kháng viêm có nguồn gốc từ thiên nhiên đang được đẩy mạnh bởi những tác dụng ưu việt của nó như: tác dụng nhanh, an toàn và ít gây ra các phản ứng phụ.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Loài *S. cerasiforme*

Mẫu lá cây *Syzygium cerasiforme* (Blume) Merr. & L.M.Perry (Trâm khế) được thu hái ở Vĩnh Phúc, Việt Nam vào tháng 4 năm 2022 và được xác định tên khoa học bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST. Mẫu tiêu bản (NCCT-P101) được lưu tại Viện Hóa sinh biển, VAST, Việt Nam.



Hình 2.1. Hình ảnh mẫu lá *S. cerasiforme*

2.1.2. Loài *S. bullockii*

Mẫu lá và cành cây *Syzygium bullockii* (Hance) Merr. & L.M.Perry (Trâm bullock) được thu hái ở Vĩnh Linh, Quảng Trị, Việt Nam vào tháng 7 năm 2022 và được giám định bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung, VAST. Mẫu tiêu bản (NCCT-P100) được lưu tại Viện Hóa sinh biển, VAST, Việt Nam.



Hình 2.2. Hình ảnh mẫu loài *S. bullockii*

2.1.3. Loài *S. attopuense*

Mẫu lá và cành cây *Syzygium attopuense* (Gagnep.) Merr. & L.M.Perry (Rù rì lá lớn) được thu hái ở Vĩnh Linh, Quảng Trị, Việt Nam vào tháng 9 năm 2022 và được giám định bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung, VAST. Mẫu tiêu bản (NCCT-P158) được lưu tại Viện Hóa sinh biển, VAST, Việt Nam.



Hình 2.3. Hình ảnh mẫu *S. attopuense*

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

2.2.1.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254S (Merck). Chất sau khi tiến hành sắc ký được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H_2SO_4 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

2.2.1.2. Sắc ký cột (CC)

Sắc ký cột được tiến hành với pha tĩnh là các chất hấp phụ pha thuận Silica gel và pha đảo RP-18. Silica gel có kích cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Pha đảo RP-18 (150 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.). Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

2.2.1.3. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Sắc ký lỏng hiệu năng cao bán điều chế (HPLC) được thực hiện trên máy AGILENT 1100, phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa sinh biển, VAST. Cột sử dụng J'sphere ODS-H80 kích thước 250 mm \times 20 mm ID. Mẫu bơm tự động, tốc

độ dòng 3ml/phút. Chất được phát hiện bằng kỹ thuật quang phổ tử ngoại (DAD), sử dụng 4 bước sóng 205, 230, 254 và 280 nm. Dung môi sử dụng chính acetonitrile, methanol và nước.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được xác định bằng cách sử dụng các phép xác định thông số vật lý và các phương pháp phổ hiện đại kết hợp với phân tích sự tương thích với các dữ liệu trong tài liệu tham khảo tra cứu được. Các phương pháp phổ hiện đại bao gồm:

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

Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass QTOF LC/MS của Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR

Phổ NMR đo trên máy Bruker 600 MHz và Bruker AM500 FT-NMR của Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chất nội chuẩn là TMS (Tetrametyl Silan). Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều: $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$; phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC, HMBC, COSY và NOESY. Dung môi đo là CD_3OD , CDCl_3 và $\text{DMSO-}d_6$. Việc lựa chọn dung môi đo phụ thuộc vào bản chất của từng mẫu chất dựa trên nguyên tắc: dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu đo và không che khuất các tín hiệu phân tích.

2.2.2.3. Phổ lưỡng sắc tròn (CD)

Phổ CD được đo trên máy ChirascanTM CD spectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK) tại Viện Hóa sinh biển, VAST. Phổ CD được dùng để xác định cấu hình tuyệt đối của các hợp chất quang hoạt.

2.2.2.4. Phổ hồng ngoại (IR) và UV:

Phổ IR đo trên máy Spectrum Two FT-IR spectrometer tại Viện Hóa học, VAST. Phổ UV đo trên máy JASCO V-630 spectrophotometer tại Viện Hóa sinh biển, VAST.

2.2.2.5. Độ quay cực $[\alpha]_D$:

Độ quay cực được đo trên máy JASCO P-2000 Polarimeter của Viện Hóa sinh biển, VAST.

2.2.2.6. Đo điểm nóng chảy

Điểm nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage của Viện Hoá sinh biển, VAST.

2.2.2.7. Phương pháp xác định đường

Nguyên tắc: Trước hết các hợp chất được tiến hành thủy phân cắt đứt mạch đường thành các đường đơn trong môi trường acid. Sau khi thủy phân, phần đường tách ra được tinh chế bằng sắc ký sau đó tiến hành đo độ quay cực rồi so sánh với độ quay cực riêng tương ứng của chất chuẩn. Từ đó xác định được cấu hình D/L của đường. Các bước tiến hành như sau:

Các hợp chất **SL2, SP1-SP4, SA1-SA5**. Cân mỗi mẫu 3,5 mg hòa tan trong 0,5 ml dung dịch HCl 2M (HCl trong dioxane/nước tỉ lệ 1/1, v/v) và gia nhiệt ở 60°C trong 1,5 giờ. Sau đó để nguội dung dịch, rồi tiến hành đuổi loại dung môi bằng khí nitơ. Cặn thu được đem hòa tan trong 1 ml nước và chiết với ethylacetate (3 lần, mỗi lần 1ml), thu lấy lớp nước. Lớp nước sau đó được trung hòa bằng bạc carbonat rồi loại bỏ phần kết tủa và để khô. Đường đơn được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng và so sánh với mẫu chuẩn, sử dụng hệ dung môi MeCOEt/isoPrOH/Me₂CO/H₂O (20/10/7/6, v/v/v/v) thu được vết sắc ký của đường glucose (mỗi vết sau khi xử lý thu hồi được khoảng 0,9 mg, R_f 0,42) [66]. Sau đó tiến hành đo độ quay cực của các mẫu đường glucose tinh khiết thu được giá trị + 48,0 (c 0,08, H₂O), đây là tín hiệu tương ứng với góc quay cực của đường D-glucose chuẩn. Vì vậy, có thể kết luận phần đường trong các hợp chất **SL2, SP1-SP4, SA1-SA5** là đường D-glucose.

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO được thực hiện tại Phòng thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ sinh học, VAST.

Nguyên tắc: Hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua tác dụng ức chế của các hợp chất phân lập được đối với sự sản sinh NO trong những tế bào RAW264.7 được kích thích với LPS [67, 68]. Nồng độ NO trong môi trường thực nghiệm được xác định thông qua phản ứng Griess. Phản ứng dựa trên sự tạo phức màu của NO trong thí nghiệm ở dạng nitrite với thuốc thử Griess (sulfanilamide và *n*-1-

naphthylethylenediamine dihydrochloride trong môi trường acid). Sử dụng thiết bị đo sự thay đổi mật độ quang tại bước sóng 540nm. Hoạt tính kháng viêm được tiến hành sau khi kiểm tra độc tính đối với tế bào bằng phương pháp so màu MTT [69, 70].

Các bước tiến hành đánh giá khả năng ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được bao gồm:

Bước 1: Chuẩn bị

Các tế bào RAW264.7 được cung cấp từ Đại học Perugia, Ý và được nuôi trong DMEM chứa 10% FBS, 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1 mM natri pyruvate. Các tế bào được cấy chuyển vào đĩa 96 giếng (2×10^5 tế bào/giếng) và ủ ở 37°C trong môi trường ẩm (5% CO₂ và 95% không khí). Sau 24 giờ ủ, môi trường nuôi cấy được thay thế bằng DMEM không có FBS và ủ liên tục trong 3 giờ.

Bước 2: Kiểm tra độc tính của các chất thử đối với tế bào RAW264.7 theo phương pháp so màu MTT.

Các mẫu thử được pha trong DMSO và pha loãng bằng môi trường nuôi cấy tế bào đến nồng độ phù hợp. Chất thử (10 µl) được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ tương tự nồng độ của thí nghiệm NO. Sau đó, điều chỉnh để có mật độ tế bào phù hợp, hút 190 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 1%.

Đĩa nuôi cấy vào trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂ nuôi trong 24h. Sau 24 giờ, dung dịch 10µl MTT (nồng độ cuối cùng là 5mg/ml) được cho vào mỗi giếng. Sau 24 giờ, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50µl (DMSO) 100% và đo giá trị độ hấp thụ (OD) bằng máy quang phổ (540 nm).

Phần trăm tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

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

Bước 3: Đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO

Các tế bào được chuyển vào trong đĩa 96 giếng (2×10^5 tế bào/giếng) và được ủ ở 37°C trong môi trường ẩm (5% CO₂ và 95% không khí). Sau 24 giờ ủ, môi trường nuôi cấy được thay thế bằng DMEM không có FBS và ủ liên tục trong 3

giờ. 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 (10 µg/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^G-Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) và các chất thử được thực hiện ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0,8 µg/mL.

Nitrite (NO₂⁻), 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 NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

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

$$\% \text{ức chế} = \frac{\text{hàm lượng NO (mẫu)}}{\text{hàm lượng NO (LPS)}} \times 100\%$$

Bước 4: Phương pháp xử lý số liệu.

Các thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các hợp chất phân lập được đến sự sản sinh NO trong tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

3.1. Phân lập các hợp chất

3.1.1. Phân lập các hợp chất từ loài *S. cerasiforme*

Mẫu lá tươi loài *S. cerasiforme* (34,0 kg) được sấy khô và tán thành bột thu được 9,0 kg bột khô. Bột khô được siêu âm với methanol (3 lần \times 20 lít) trong 10 giờ thu được dịch chiết methanol. Dịch chiết này được cất loại dung môi ở áp suất thấp thu được 430 g cặn MeOH. Cặn chiết MeOH được hòa tan với nước và sau đó được chiết phân lớp bằng các dung môi *n*-hexane, diclormethane và ethyl acetate. Các dịch chiết này được cất quay để loại bỏ dung môi thu được các thành phần cặn tương ứng SLH (130 g), SLD (75 g), SLE (90 g) và lớp nước.

Sau khi kiểm tra bằng TLC, cặn SLD (75 g) được phân tách trên sắc ký cột silica gel, rửa giải gradient bằng hệ dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexane/ethyl acetate (20/1, 10/1, 2/1, 1/1, v/v) thu được bốn phân đoạn, SLD1-SLD4 tương ứng. Phân đoạn SLD3 (15,2 g) tiếp tục được sắc ký trên cột silica gel rửa giải bằng dichloromethane/methanol/nước (5/1/0,1) thu được sáu phân đoạn, SLD3A- SLD3F. Phần SLD3A (246 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitril 65 % trong nước, thu được hợp chất **SL13** (16,7 mg, $t_R = 30,4$ phút) và **SL5** (9,5 mg, $t_R = 47,9$ phút). Phân đoạn SLD1C (321 mg) được phân lập trên HPLC bằng cách sử dụng ACN 65% thu được các hợp chất **SL10** (43,8 mg, $t_R = 30,8$ phút), **SL4** (48,8 mg $t_R = 38,9$ phút), và **SL1** (14,7 mg, $t_R = 43,7$ phút). Phân đoạn SLD1D (1,2 g) được sắc ký trên cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (4/1, v/v) thu được hợp chất **SL8** (35,0 mg). Phân đoạn SLD1E được phân lập bằng cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/ethyl acetate (7/1, v/v) thu được hợp chất **SL16** (14,8 mg). Phân đoạn SLD1F cũng được phân lập trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải tương tự SLD1E (H/E: 7/1, v/v) thu được hợp chất **SL15** (8,7 mg) và hợp chất **SL14** (15,6 mg).

Phần cặn SLE (89,0 g) được phân tách trên cột silica gel, rửa giải gradient với hệ dung môi có độ phân cực tăng dần CH₂Cl₂/MeOH (100/0, 50/1, 10/1, 1/1) thu được bốn phân đoạn, SLE1- SLE4, tương ứng. Phân đoạn SLE2 được phân đoạn trên cột silica gel với hệ dung môi chạy cột CH₂Cl₂/MeOH (30/1) thu được 4 phân đoạn nhỏ SLE2A- SLE2D. Phân đoạn SLE2A (167mg) được tinh chế trên cột

HPLC bằng cách sử dụng dung môi ACN 35% trong nước thu được các hợp chất **SL3** (30,2 mg, $t_R = 38,6$ phút) và **SL2** (8,9 mg, $t_R = 41,3$ phút). Phân đoạn SLE2C (128 mg) được phân lập trên cột HPLC điều chế sử dụng dung môi ACN 27% thu được hợp chất **SL18** (52,3 mg, $t_R = 35,6$ phút) và **SL7** (5,3 mg, $t_R = 40,3$ phút). Phân đoạn SLE2D (156 mg) được tách trên cột HPLC bằng cách sử dụng ACN 25% thu được hợp chất **SL9** (6,2 mg, $t_R = 31,7$ phút).

Phần cặn nước được sắc ký trên cột Diaion HP-20 rửa giải bằng methanol/nước (gradient) với tỷ lệ % methanol lần lượt là 25%, 50%, 75% và 100% thu được 4 phân đoạn là SLW1 (29,0 g), SLW2 (42,0 g) và SLW3 (18,0 g) và SLW4 (21,0 g). Phân đoạn SLW2 (42,0 g) được phân lập trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/methanol (20/1, 5/1, 1/1 và 0/1, v/v, mỗi lần 2,5 lít) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn, SLW2A- SLW2D. Phân đoạn SLW2A (154 mg) được phân tách trên cột HPLC bằng cách sử dụng dung môi ACN 22% trong nước thu được hợp chất **SL17** (16,6 mg, $t_R = 37,7$ phút) và **SL12** (23,9 mg, $t_R = 40,2$ phút). Phân đoạn SLW2C (135 mg) được phân tách trên cột HPLC với dung môi ACN 30% trong nước thu được hợp chất **SL20** (13,6 mg, $t_R = 36,2$ phút) và **SL11** (9,9 mg, $t_R = 43,4$ phút). Phân đoạn SLW2D (176 mg) được tinh chế trên cột HPLC với dung môi ACN 16% trong nước thu được hợp chất **SL6** (10,0 mg, $t_R = 25,2$ phút) và hợp chất **SL19** (9,5 mg, $t_R = 27,7$ phút).

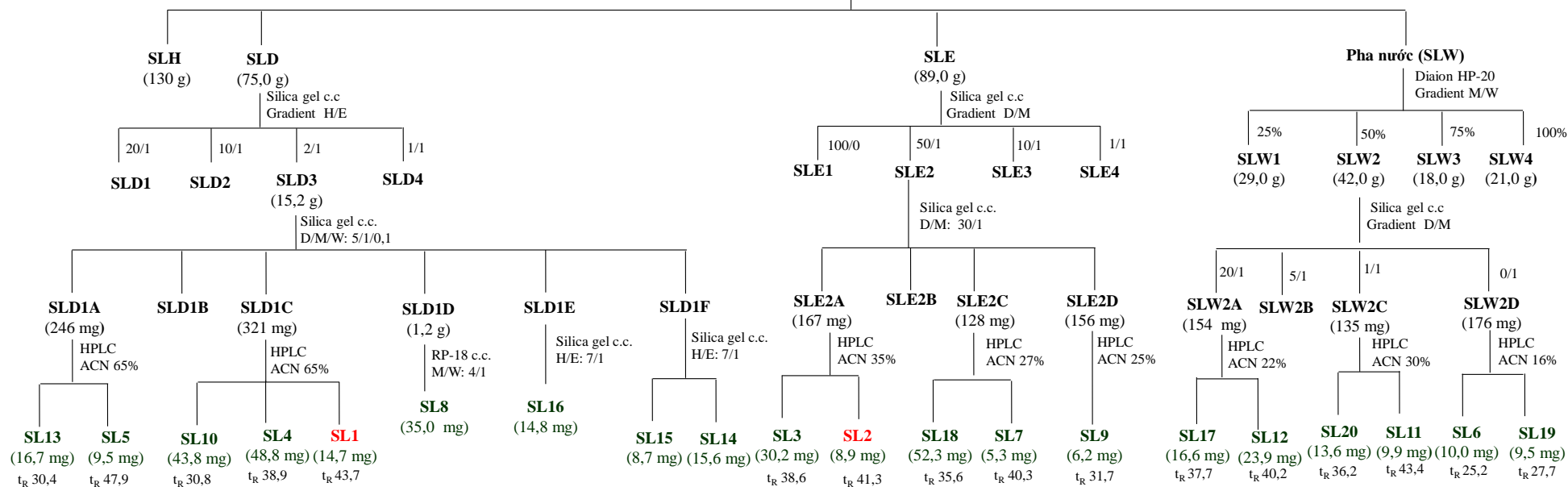
Syzygium cerasiforme (SL) (9 kg cành lá khô, nghiền nhỏ)

ACN : Acetonitrile E : Ethyl acetate
 D : Dichloromethane H : *n*-Hexane
 c.c : column chromatography M : Methanol
 HPLC : J'sphere ODS-H80, 250 x 20,0 mm I.D, 3ml/min. W : Nước

Chiết với methanol (3 lần × 20 L, 10h),
sau đó cất loại bỏ dung môi

Cặn chiết methanol (430,0 g)

Bổ sung nước và chiết phân lớp lần lượt với H, D, E
Sau đó cất quay thu hồi dung môi



Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *S. cerasiforme*

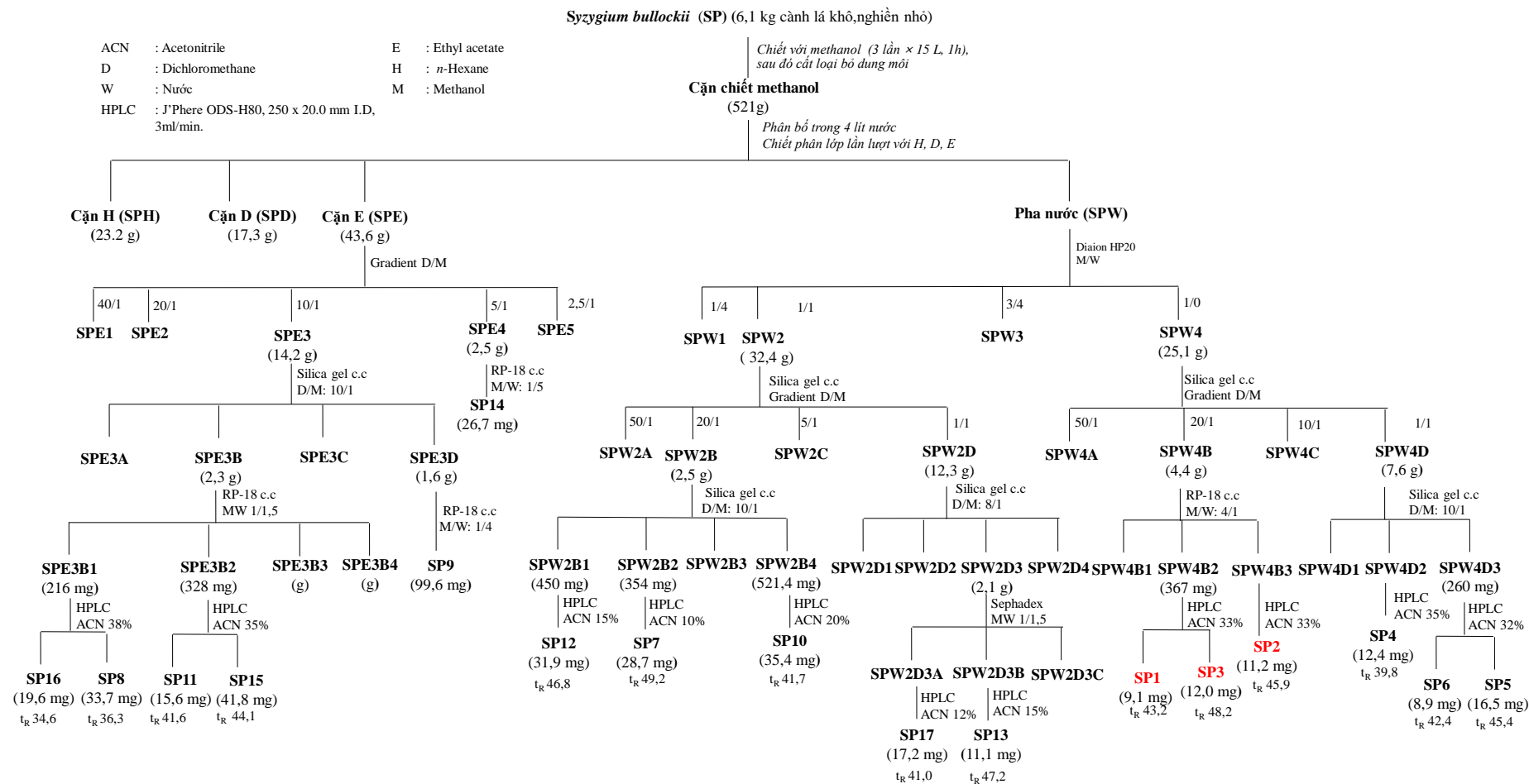
3.1.2. Phân lập các hợp chất từ loài *S. bullockii*

Mẫu cành, lá của loài *S. bullockii* được phơi khô và nghiền thành dạng bột (6,1 kg) được chiết xuất bằng siêu âm với methanol (3 lần x 15 lít) trong 1 giờ, sau đó cất loại dung môi thu được cạn chiết methanol (521 g). Cạn chiết này được hòa tan trong H₂O và chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate rồi tiến hành cô quay ở áp suất giảm thu được các cạn tương ứng, SPH (23,2 g), SPD (17,3 g), SPE (43,6 g) và lớp nước (SPW).

Phần cạn SPE (43,6 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải gradient bằng hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH (40/1, 20/1, 10/1, 5/1 và 2,5/1, v/v, mỗi lần 1,3 lít) thu được năm phân đoạn tương ứng SPE1-SPE5. Phân đoạn SPE3 (14,2 g) được phân lập trên cột silica gel rửa giải bằng hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH (10/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn, SPE3A-SPE3D. Phân đoạn SPE3B (2,3 g) tiếp tục được phân lập trên cột pha đảo R-18, rửa giải bằng MeOH/H₂O (1/1,5, v/v) thu được bốn phân đoạn, SPE3B1-SPE3B4. Phân đoạn SPE3B1 (216 mg) được phân tách trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 38% trong nước thu được các hợp chất **SP16** (19,6 mg, *t_R* = 34,6 phút) và **SP8** (33,7 mg, *t_R* = 36,2 phút). Phân đoạn SPE3B2 (328 mg) cũng được phân tách trên cột HPLC với dung môi ACN 35% trong nước thu được hai hợp chất **SP11** (15,6 mg, *t_R* = 41,6 phút) và **SP15** (41,8 mg, *t_R* = 44,1 phút). Phân đoạn SPE3D (1,6 g) được phân lập trên cột sắc ký pha đảo RP-18 rửa giải bằng MeOH/H₂O (1/4, v/v) thu được hợp chất **SP9** (99,6 mg). Phân đoạn SPE4 (2,5 g) được phân lập trên cột pha đảo RP-18 rửa giải bằng hệ dung môi MeOH/H₂O (1/5, v/v) thu được hợp chất **SP14** (26,7 mg).

Phần cạn SPW được rửa giải trên cột Diaion (HP-20) bằng MeOH/H₂O với tỷ lệ tăng dần của dung môi MeOH (1/4, 1/1, 3/4 và 1/0, v/v, mỗi lần 3 lít) thu được bốn phân đoạn tương ứng là SPW1-SPW4. Phân đoạn SPW2 (32,4 g) được phân lập trên cột silica gel rửa giải gradient bằng hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH (50/1, 20/1, 5/1, 1/1, v/v; mỗi lần 1,0 lít) thu được bốn phân đoạn, SPW2A-SPW2D. Phân đoạn SPW2B (2,5g) được phân lập trên cột silica gel rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (10/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn, SPW2B1-SPW2B4. Phân đoạn SPW2B1 (450 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, dung môi ACN 15% trong nước thu được hợp chất **SP12** (31,9 mg, *t_R* = 46,8 phút). Phân đoạn SPW2B2

(354 mg) được tinh chế trên HPLC (ACN 10%) thu được hợp chất **SP7** (28,7 mg, $t_R = 49,2$ phút). Phân đoạn SPW2B4 (521,4 mg) được tinh chế trên HPLC (ACN 20%) thu được hợp chất **SP10** (35,4 mg, $t_R = 41,7$ phút). Phân đoạn SPW2D (12,3 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải bằng hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (8/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ, SPW2D1-SPW2D4. Phân đoạn SPW2D3 (2,1 g) được phân tách trên cột sephadex, rửa giải bằng hệ dung môi $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1,5, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn, SPW2D3A-SPW2D3C. Phân đoạn nhỏ SPW2D3A được tinh chế trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 12% trong nước thu được hợp chất **SP17** (17,2 mg, $t_R = 41,0$ phút), còn phân đoạn nhỏ SPW2D3B được tinh chế trên cột HPLC với ACN 15% trong nước thu được hợp chất **SP13** (11,1 mg, $t_R = 47,2$ phút). Phân đoạn SPW4 (25,1 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải gradient bằng hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (50/1, 20/1, 10/1, 5/1; mỗi lần 1,0 lít) thu được bốn phân, SPW4A-SPW4D. Phần SPW4B (4,4 g) được phân lập trên cột pha đảo RP-18, rửa giải bằng hệ dung môi $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4/1, v/v) thu được ba phân đoạn SPW4B1-SPW4B3. Phân đoạn SPW4B2 (367 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế với dung môi ACN 33% trong nước thu được hai hợp chất **SP1** (9,1 mg, $t_R = 43,2$ phút) và **SP3** (12,0 mg, $t_R = 48,2$ phút). Phân đoạn SPW4B3 được phân tách trên cột HPLC với dung môi ACN 33% trong nước thu được hợp chất **SP2** (11,2 mg, $t_R = 45,9$ phút). Phần SPW4D (7,6 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải bằng hệ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1, v/v) thu được ba phân đoạn, SPW4D1-SPW4D3. Hợp chất **SP4** (12,4 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn SPW4D2 trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 35% trong nước với $t_R = 39,8$ phút. Phân đoạn SPW4D3 (260 mg) được phân tách trên HPLC (ACN 32%) thu được hợp chất **SP6** (8,9 mg, $t_R = 42,4$ phút) và **SP5** (16,5 mg, $t_R = 45,4$ phút).



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *S. bullockii*

3.1.3. Phân lập các hợp chất từ loài *S. attopeuense*

Mẫu lá và cành tươi loài *S. attopeuense* đem sấy khô thu được 6,8 kg, sau đó được nghiền và siêu âm với methanol (3 lần \times 10 lít) trong 4 giờ. Dịch chiết methanol này đem cất loại bỏ dung môi ở áp suất thấp thu được 550 gam cặn MeOH. Cặn chiết MeOH được hòa tan vào nước và chiết phân lớp bằng các dung môi *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate. Các dịch chiết sau khi cất quay dưới áp suất giảm thu được các cặn tương ứng SAH, SAD, SAE và cặn lớp nước (SAW).

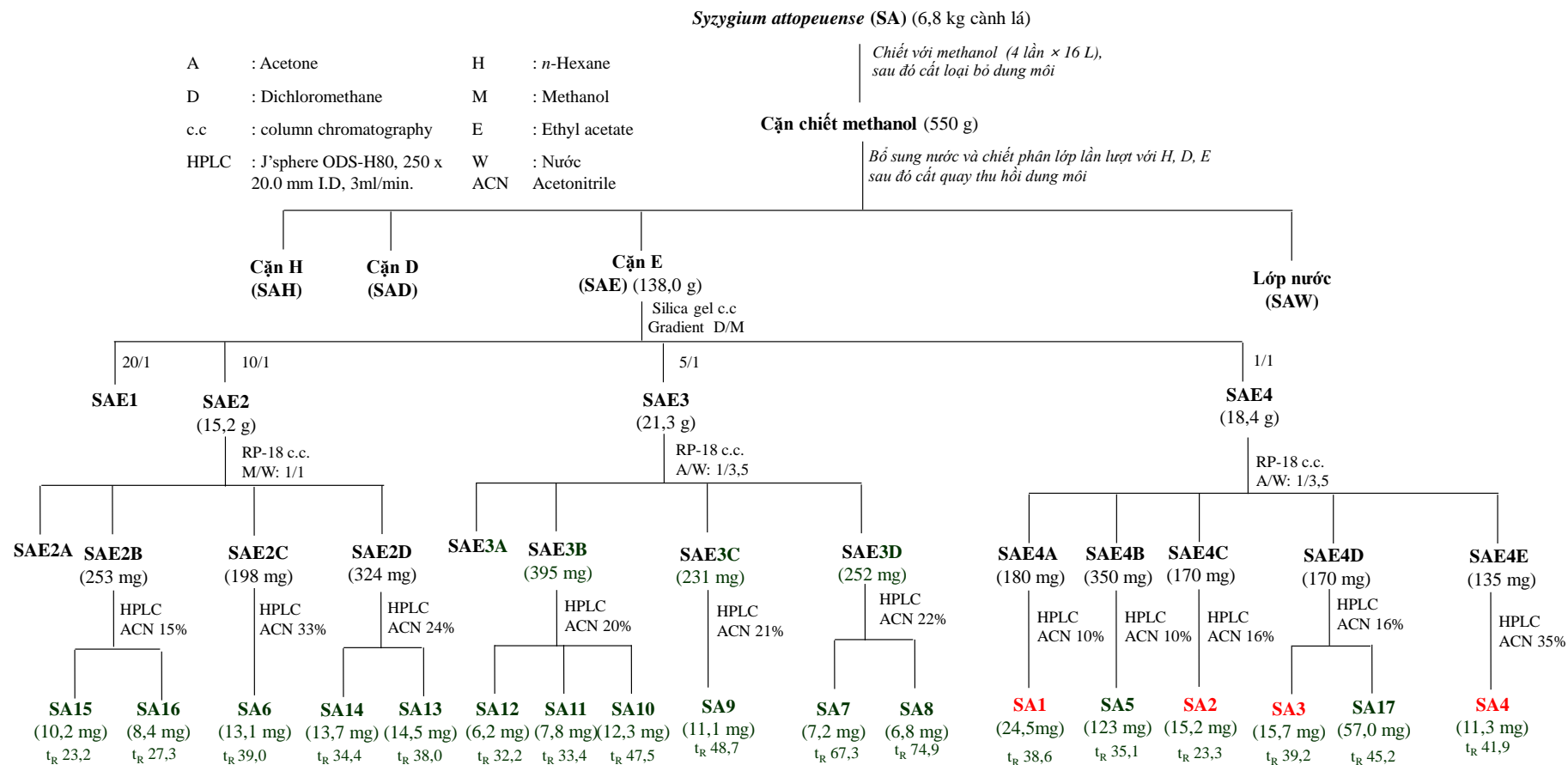
Cặn ethyl acetate SAE (138,0 g) được tiến hành phân tách trên cột silica gel, rửa giải gradient với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20/1, 10/1, 5/1 và 1/1, v/v) thu được 4 phân đoạn SAE1-SAE4.

Phân đoạn SAE2 (15,2 g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo RP-18 hệ dung môi rửa giải $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1, v/v) thu được 4 phân đoạn SAE2A-SAE2D. Phân đoạn SAE2B (253 mg) tiếp tục được tinh chế trên cột HPLC điều chế sử dụng dung môi ACN 15% trong nước thu được hợp chất **SA15** (10,2 mg, $t_R = 23,2$ phút) và **SA16** (8,4 mg, $t_R = 27,3$ phút). Phân đoạn SAE2C (198 mg) được tinh sạch trên cột HPLC với dung môi ACN 33% thu được hợp chất tinh khiết **SA6** (13,1 mg, $t_R = 39,0$ phút). Phân đoạn SAE2D (324 mg) cũng được phân tách trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 24% thu được hai hợp chất **SA14** (13,7 mg, $t_R = 34,4$ phút) và **SA13** (14,5 mg, $t_R = 38,0$ phút).

Phân đoạn SAE3 (21,3 g) được phân tách trên cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/ H_2O (1/3,5, v/v) thu được 4 phân đoạn nhỏ hơn, SAE3A-SAE3D. Tiếp theo, tiến hành phân tách phân đoạn SAE3B (395 mg) trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 20% thu được hợp chất **SA12** (6,2 mg, $t_R = 32,2$ phút), **SA11** (7,8 mg, $t_R = 33,4$ phút) và **SA10** (12,3 mg, $t_R = 47,5$ phút). Phân đoạn SAE3C (231 mg) được điều chế bằng cột HPLC với dung môi ACN 21% trong nước thu được hợp chất **SA9** (11,1 mg, $t_R = 48,7$ phút). Còn phân đoạn SAE3D (252 mg) được phân tách trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 22% trong nước thu được hợp chất **SA7** (7,2 mg, $t_R = 67,3$ phút) và **SA8** (6,8 mg, $t_R = 74,9$ phút).

Phân đoạn SAE4 (18,4 g) được phân lập trên cột sắc ký pha đảo RP-18, rửa giải với hệ dung môi acetone/ H_2O (1/3,5, v/v) thu được 5 phân đoạn nhỏ SAE4A-SAE4E. Phân đoạn SAE4A (180 mg) được phân tách trên cột HPLC sử dụng dung

môi ACN 10% trong nước thu được hợp chất **SA1** (24,5 mg, $t_R = 23,9$ phút). Phân đoạn SAE4B (350 mg) cũng được phân tách trên cột HPLC với dung môi ACN 10% trong nước thu được chất **SA5** (123 mg, $t_R = 35,1$ phút). Phân đoạn SAE4C (170 mg) được tinh chế trên cột HPLC với ACN 16% trong nước thu được hợp chất **SA2** (15,2 mg, $t_R = 23,3$ phút). Phân đoạn SAE4 (170 mg) được tinh chế trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 16% trong nước thu được hợp chất **SA3** (15,7 mg, $t_R = 39,2$ phút) và **SA17** (57,0 mg, $t_R 45,2$ phút). Phân đoạn SAE4E (135 mg) được tinh chế trên cột HPLC sử dụng dung môi ACN 35% trong nước thu được hợp chất **SA4** (11,3 mg, $t_R 41,9$ phút).



Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *S. attopeuense*

3.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được

3.2.1. Loài *S. cerasiforme*

3.2.1.1. Hợp chất **SL1**: 5,7-Dihydroxy-2-isopropyl-6,8-dimethyl-4H-chromen-4-one (hợp chất mới).

Chất có dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt, nhiệt độ nóng chảy: 178-179 °C. Phổ UV (MeOH): λ_{\max} 262, 300 nm. Phổ IR (KBr): ν_{\max} 3424 (píc rộng), 2970, 1660, 1624, 1566, 1248, 1142 cm^{-1} . Phổ (+)-HR-ESI-MS m/z : 249,1123 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_4]^+$: 249,1121 ($\Delta = + 2,8$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS m/z : 247,0975 $[\text{M}-\text{H}]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_4]^-$: 247,0976 ($\Delta = - 0,4$ ppm). Công thức phân tử (CTPT): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4$. M = 248. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.1.

3.2.1.2. Hợp chất **SL2**: 5,7-Dihydroxyflavanone 7-O- β -D-(6''-galloyl glucopyranoside) (hợp chất mới)

Chất có dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt, nhiệt độ nóng chảy: 223-225 °C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -37,8 (c 0,1, MeOH). Phổ UV (MeOH): λ_{\max} 280 nm. Phổ IR (KBr): ν_{\max} 3376 (píc rộng), 1639, 1075 cm^{-1} . Phổ CD (MeOH) θ (λ nm): -7,1 (290), + 1,25 (314) mdeg. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 571,1443 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_{13}]^+$: 571,1446 ($\Delta = + 0,5$ ppm); m/z 593,1292 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_{13}\text{Na}]^+$: 593,1266 ($\Delta = - 4,4$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 569,1301 $[\text{M}-\text{H}]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{O}_{13}]^-$: 569,1301 ($\Delta = -1,0$ ppm); m/z 605,1068 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_{13}\text{Cl}]^-$: 605,1067 ($\Delta = - 0,1$ ppm). CTPT: $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$. M = 570. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.2.

3.2.1.3. Hợp chất **SL3**: Pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside

Chất rắn màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -35 (c = 0,01, MeOH). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 419,1340 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_9]^+$: 419,1337 ($\Delta = - 0,7$ ppm). CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$. M = 418. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.3.

3.2.1.4. Hợp chất **SL4**: Strobopinin

Chất rắn không màu. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 271,0964 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{16}H_{15}O_4]^+$: 271,0965 ($\Delta = + 0,3$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 305,0575 $[M+Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{16}H_{14}O_4Cl]^-$: 305,0586 ($\Delta = + 3,6$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 269,0819 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{16}H_{13}O_4]^-$: 269,0819 ($\Delta = 0$ ppm). CTPT: $C_{16}H_{14}O_4$. $M = 270$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.4.

3.2.1.5. Hợp chất **SL5**: *Demethoxymatteucinol*

Chất có dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -45,7 ($c = 0,1$, MeOH). Nhiệt nóng chảy 202-210 °C. UV: λ_{max} 210, 295, 360 nm. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 285,1125 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{17}H_{17}O_4]^+$: 285,1121 ($\Delta = - 1,4$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 569,1301 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{17}H_{15}O_4]^-$: 569,1301 ($\Delta = 0$ ppm). CTPT: $C_{17}H_{16}O_4$. $M = 284$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.4.

3.2.1.6. Hợp chất **SL6**: *(2S)-Hydroxynaringenin-7-O- β -D-glucopyranoside*

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 451,1232 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{23}O_{11}]^+$ 451,1235 ($\Delta = - 0,7$ ppm); m/z : 473,1074 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{22}O_{11}Na]^+$: 473,1054 ($\Delta = - 4,2$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 449,1088 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{21}O_{11}]^-$: 449,1089 ($\Delta = - 0,2$ ppm). CTPT: $C_{21}H_{22}O_{11}$. $M = 450$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.5.

3.2.1.7. Hợp chất **SL7**: *Afzelin*

Chất dạng bột màu vàng. Nhiệt nóng chảy 170-175 °C. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 433,1131 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{21}O_{10}]^+$: 433,1129 ($\Delta = - 0,4$ ppm). CTPT: $C_{21}H_{20}O_{10}$. $M = 432$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.6.

3.2.1.8. Hợp chất **SL8**: *Quercetin*

Chất dạng bột tinh thể màu vàng. Nhiệt nóng chảy 310-315 °C. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 303,0500 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{15}H_{11}O_7]^+$: 303,0499 ($\Delta = - 0,3$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 301,0356 $[M-H]^-$, tính toán lý

thuyết cho công thức $[C_{15}H_9O_7]^-$: 301,0354 ($\Delta = -0,7$ ppm). CTPT: $C_{15}H_{10}O_7$. $M = 302$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.6.

3.2.1.9. Hợp chất **SL9**: Kaplanin

Chất dạng tinh thể hình kim màu vàng. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 431,1338 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{22}H_{23}O_9]^+$: 431,1337 ($\Delta = -0,2$ ppm). CTPT: $C_{22}H_{22}O_9$. $M = 430$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.7.

3.2.1.10. Hợp chất **SL10**: Endoperoxide G3

Chất dạng dạng dầu không màu. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 267,1241 $[M-H]^-$. Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{14}H_{19}O_5]^-$: 267,1237 ($\Delta = +1,5$ ppm). CTPT: $C_{14}H_{20}O_5$. $M = 268$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.8.

3.2.1.11. Hợp chất **SL11**: Grasshopper ketone

Chất dạng bột vô định hình. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: $-62,7$ ($c = 0,8$, MeOH). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 225,1485 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{13}H_{21}O_3]^+$: 225,1485 ($\Delta = 0$ ppm); m/z 247,1302 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{13}H_{20}O_3Na]^+$: 247,1305 ($\Delta = +1,2$ ppm). CTPT: $C_{13}H_{20}O_3$. $M = 224$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.9.

3.2.1.12. Hợp chất **SL12**: Vomifoliol

Chất rắn màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: $+218$ ($c = 0,1$ MeOH). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 225,1484 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{13}H_{21}O_3]^+$: 225,1485 ($\Delta = +0,4$ ppm); m/z 247,1307 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{13}H_{20}O_3Na]^+$: 247,1305 ($\Delta = -0,8$ ppm). CTPT: $C_{13}H_{20}O_3$. $M = 224$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.10.

3.2.1.13. Hợp chất **SL13**: Litseagermacrane

Chất dạng keo không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: $+10,7$ ($c = 0,1$, $CHCl_3$). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 237,1849 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{15}H_{25}O_2]^+$: 237,1849 ($\Delta = -0$ ppm); m/z 259,1671 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{15}H_{24}O_2Na]^+$: 259,1669 ($\Delta = -0,7$ ppm). CTPT: $C_{15}H_{24}O_2$. $M = 236$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.11.

3.2.1.14. Hợp chất **SL14**: Betulonic acid

Chất có dạng tinh thể không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +43,6 ($c = 0,1$, MeOH). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 455,3521 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{30}H_{47}O_3]^+$: 455,3520 ($\Delta = -0,2$ ppm); m/z 472,3768 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{30}H_{50}O_3N]^+$: 472,3785 ($\Delta = +3,6$ ppm). CTPT: $C_{30}H_{46}O_3$. $M = 454$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.12.

3.2.1.15. Hợp chất **SL15**: 3-Epibetulinic acid

Chất có dạng tinh thể không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +41,7 ($c = 0,1$, MeOH). CTPT: $C_{30}H_{48}O_3$. $M = 456$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.13.

3.2.1.16. Hợp chất **SL16**: 7 α -Methoxy-stigmast-5-en-3 β -ol (Schleicheol 2)

Chất có dạng tinh thể hình kim. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -45,0 ($c = 0,1$, MeOH). CTPT: $C_{30}H_{52}O_2$. $M = 444$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.14.

3.2.1.17. Hợp chất **SL17**: (7S,8R)-Dihydrodehydrodiconiferyl alcohol

Chất có dạng tinh thể không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -18,4 ($c = 0,1$, MeOH). Phổ ECD (MeOH) $\theta_{(\lambda, nm)}$ mdeg: +0,78₍₂₄₃₎, +0,43₍₂₉₁₎. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 361,1659 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{25}O_6]^+$: 361,1646 ($\Delta = -3,6$ ppm); m/z 383,1465 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{24}O_6Na]^+$: 383,1465 ($\Delta = 0$ ppm); m/z 378,1918 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{28}O_6N]^+$: 378,1911 ($\Delta = 1,8$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 359,1502 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{23}O_6]^-$: 359,1500 ($\Delta = -0,6$ ppm). CTPT: $C_{20}H_{24}O_6$. $M = 360$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.15.

3.2.1.18. Hợp chất **SL18**: Benzyl-6'-O-galloyl- β -D-glucopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -24,8 ($c = 0,1$, MeOH). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 421,1140 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{21}O_{10}]^-$: 421,1140 ($\Delta = 0$ ppm); m/z 457,0894 $[M+Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{22}O_{10}Cl]^-$: 457,0907 ($\Delta = -2,8$ ppm). CTPT: $C_{20}H_{22}O_{10}$. $M = 422$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.16.

3.2.1.19. *Hợp chất SL19: 3-Methoxy-4-hydroxyphenol 1-O-β-D-(6'-O-galloyl)-glucopyranoside*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -29,3 ($c = 0,1$, MeOH). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 453,1029 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{21}O_{12}]^-$: 453,1028 ($\Delta = + 0,2$ ppm). CTPT: $C_{20}H_{22}O_{12}$. $M = 454$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.16.

3.2.1.20. *Hợp chất SL20: Secoisolariciresinol*

Chất dạng bột vô định hình. Phổ ECD không cho hiệu ứng Cotton. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 363,1803 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{27}O_6]^+$: 363,1802 ($\Delta = - 0,3$ ppm); m/z 380,2066 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{30}O_6N$: 380,2068 ($\Delta = + 0,5$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 361,1657 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{25}O_6$: 361,1657 ($\Delta = 0$ ppm); m/z 397,1412 $[M+Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{26}O_6Cl]^-$: 397,1423 ($\Delta = - 2,8$ ppm). CTPT: $C_{20}H_{26}O_6$. $M = 362$. Số liệu phổ 1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.17.

3.2.2. *Loài S.bullockii*

3.2.2.1. *Hợp chất SP1: Syzybulloside A (2α,3β,6α-trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester) (hợp chất mới)*

Chất dạng bột không màu, nhiệt độ nóng chảy: 221-223 °C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +27,6 ($c = 0,05$, MeOH). IR (KBr): ν_{max} (cm^{-1}) 3404, 2927, 1734, 1646, 1070. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 683,3563 $[M + Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{36}H_{56}O_{10}Cl]^-$: 683,3567 ($\Delta = + 0,6$ ppm). CTPT: $C_{36}H_{56}O_{10}$. $M = 648$. Số liệu phổ 1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): Bảng 4.18.

3.2.2.2. *Hợp chất SP2: Syzybulloside B (2α,3β,6α-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester) (hợp chất mới)*

Chất dạng bột không màu, nhiệt độ nóng chảy: 217-219 °C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +28,3 ($c = 0,05$, MeOH). Phổ IR (KBr): ν_{max} (cm^{-1}) 3416, 2924, 1733, 1658, 1069. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 685,3726 $[M + Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{36}H_{58}O_{10}Cl]^-$: 685,3714 ($\Delta = - 1,7$ ppm). CTPT: $C_{36}H_{58}O_{10}$. $M = 650$. Số liệu phổ 1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.19.

3.2.2.3. *Hợp chất SP3: Syzybulloside C (2 α ,3 β ,6 α -trihydroxylup-20(29)-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester) (hợp chất mới)*

Chất dạng bột không màu, nhiệt độ nóng chảy: 218-220 °C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +7,5 ($c = 0,05$, MeOH). Phổ IR (KBr): ν_{\max} (cm^{-1}) 3395, 2931, 1734, 1645, 1070. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 685,3716 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}\text{Cl}]^-$: 685,3714 ($\Delta = - 0,3$ ppm). CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$. $M = 650$. Số liệu phổ ^1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.20.

3.2.3.2. *Hợp chất SP4: Syzygiumursanolide D (2 α ,3 β ,6 β ,23-tetrahydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester)*

Chất dạng bột không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +23,4 ($c = 0,05$, MeOH). Phổ IR (KBr): ν_{\max} 3412, 1732, 1732, 1646, 1071 cm^{-1} . Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 699,3511 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{11}\text{Cl}]^-$: 699,3517 ($\Delta = + 0,8$ ppm). CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{11}$. $M = 664$. Số liệu phổ ^1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.21.

3.2.2.5. *Hợp chất SP5: Chebuloside II*

Chất dạng bột vô định hình không màu. CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. $M = 666$. Số liệu phổ ^1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.22.

3.2.2.6. *Hợp chất SP6: 2 α ,3 β ,6 β ,23-Tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester*

Chất dạng bột màu trắng. CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. $M = 666$. Số liệu phổ ^1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.23.

3.2.2.7. *Hợp chất SP7: Amarusine A*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. CTPT: $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$. $M = 384$. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.24.

3.2.2.8. *Hợp chất SP8: Bergenin*

Chất có dạng tinh thể không màu. CTPT: $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_9$. $M = 328$. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.25.

3.2.2.9. *Hợp chất SP9: 11-O-Galloylbergenin*

Chất có dạng tinh thể hình kim. CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{13}$. $M = 480$. Số liệu phổ ^1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.25.

3.2.2.10. Hợp chất **SP10**: *Icariside B2*

Chất có dạng tinh thể hình kim không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -101,4 ($c = 1,0$, MeOH). Nhiệt độ nóng chảy: 171-175 °C. CTPT: $C_{19}H_{30}O_8$. $M = 386$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.26.

3.2.2.11. Hợp chất **SP11**: *Megastigman-7-ene-3 β ,5 α ,6 α ,9-tetraol*.

Chất dạng bột vô định hình.. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -24,6 ($c = 1,0$, MeOH). CTPT: $C_{13}H_{24}O_4$. $M = 244$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.27.

3.2.2.12. Hợp chất **SP12**: *Actinidioionoside*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. CTPT: $C_{19}H_{34}O_9$. $M = 406$. Số liệu phổ 1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.28.

3.2.2.13. Hợp chất **SP13**: *Actinidioionoside 6'-O-gallate*

Chất dạng bột vô định hình. CTPT: $C_{26}H_{38}O_{13}$. $M = 558$. Số liệu phổ 1H NMR (500 MHz) và ^{13}C NMR (125 MHz): xem Bảng 4.28.

3.2.2.14. Hợp chất **SP14**: *Phloridzosid*

Chất dạng bột. CTPT: $C_{21}H_{24}O_{10}$. $M = 436$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.29.

3.2.2.15. Hợp chất **SP15**: (+)-*Catechin*

Chất có dạng tinh thể hình kim màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +18,2 ($c = 1,0$, MeOH). Nhiệt độ nóng chảy: 90-95 °C CTPT: $C_{15}H_{14}O_6$. $M = 290$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.30.

3.2.2.16. Hợp chất **SP16**: (+)-*Gallocatechin*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +16,3 ($c = 1,0$, MeOH). Nhiệt độ nóng chảy: 188-192 °C. CTPT: $C_{15}H_{14}O_7$. $M = 306$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.30.

3.2.2.17. Hợp chất **SP17**: *Methyl gallate*

Chất có dạng tinh thể hình kim màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy: 155-157 °C CTPT: $C_8H_8O_5$. $M = 184$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.31.

3.2.3. Loài *S. attpopeuense*

3.2.3.1. *Hợp chất SA1: Syzyceroside A (1-[(Z)-styryl]-resorcin-2-carboxylic acid 5-O-β-D-glucopyranoside) (hợp chất mới)*

Chất dạng bột vô định hình không màu. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 419,1337 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{23}O_9]^+$: 419,1337 ($\Delta = 0$ ppm); m/z 441,1158 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{22}O_9Na]^+$: 441,1156 ($\Delta = -0,5$ ppm). CTPT: $C_{21}H_{22}O_9$. $M = 418$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.32.

3.2.3.2. *Hợp chất SA2: Syzyceroside B (muối natri của 6''-galloylglucopyranosylpinosylvic acid) (hợp chất mới).*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 615,1091 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{25}Na_2O_{13}]^+$: 615,1085, $\Delta = +0,5$ ppm). CTPT: $C_{28}H_{25}O_{13}Na$. $M = 592$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.33.

3.2.3.3. *Hợp chất SA3: Syzyceroside C (6''-O-galloylglucopyranosylpinosylvic acid) (hợp chất mới).*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng ngà. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 571,1462 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{28}H_{27}O_{13}$: 571,1446 ($\Delta = +0,7$ ppm); m/z 593,1271 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{26}O_{13}Na]^+$: 593,1266 ($\Delta = -0,8$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 569,1304 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{25}O_{13}]^-$: 569,1301 ($\Delta = -0,5$ ppm). CTPT: $C_{28}H_{26}O_{13}$. $M = 570$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.33.

3.2.3.4. *Hợp chất SA4: Syzyceroside D (4'-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-glucopyranosyl]oxy-2'-hydroxy-6'-methoxydihydrochalcone) (hợp chất mới).*

Chất dạng bột vô định hình không màu. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 595,1995 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{35}O_{14}]^-$: 595,2032; m/z 631,1778 $[M+Cl]^-$ tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{36}O_{14}Cl]^-$: 631,1799. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 614,2438 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{40}O_{14}N]^+$: 614,2435. CTPT: $C_{28}H_{36}O_{14}$. $M = 596$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.34.

3.2.3.5. *Hợp chất SA5: Gaylussacin (pinosylvic acid 5-O-β-D-glucopyranoside)-*

Chất dạng bột vô định hình màu trắng ngà. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -96,7 ($c = 0,8$, MeOH). Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 419,1337 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức: $[C_{21}H_{23}O_9]^+$: 419,1337 ($\Delta = 0$ ppm). CTPT: $C_{21}H_{22}O_9$. $M = 418$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.35.

3.2.3.6. Hợp chất SA6: Pinosilvin 3-O- β -D-glucopyranoside.

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 373,1294 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{21}O_7]^-$: 373,1293 ($\Delta = -0,2$ ppm); m/z 409,1060 $[M+Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{20}H_{22}O_7Cl]^-$: 409,1060 ($\Delta = 0$ ppm). CTPT: $C_{20}H_{22}O_7$. $M = 374$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.35.

3.2.3.7. Hợp chất SA7: Myricetin-3-O-(2''-O-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. CTPT: $C_{28}H_{24}O_{16}$. $M = 616$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.36.

3.2.3.8. Hợp chất SA8: Myricetin-3-O-(3''-O-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. CTPT: $C_{28}H_{24}O_{16}$. $M = 616$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.36.

3.2.3.9. Hợp chất SA9: Myricetin 3-O-(2''-O-galloyl)- α -arabinopyranoside.

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 603,0971 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức: $[C_{27}H_{23}O_{16}]^+$: 603,0981 ($\Delta = +1,6$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 601,0837 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{21}O_{16}]^-$: 601,0835 ($\Delta = -0,3$ ppm). CTPT: $C_{27}H_{22}O_{16}$. $M = 602$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.37.

3.2.3.10. Hợp chất SA10: Myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{12}$. $M = 464$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.38.

3.2.3.11. Hợp chất SA11: Myricetin-3-O- β -D-glucopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{13}$. $M = 480$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.39.

3.2.3.12. Hợp chất SA12: Myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside

Chất dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{13}$. $M = 480$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.39.

3.2.3.13. Hợp chất SA13: Quercetin-3-O- α -rhamnopyranoside (Quercitrin)

Chất dạng bột vô định hình màu vàng. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{11}$. $M = 448$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.40.

3.2.3.14. Hợp chất SA14: Quercetin 3-O- α -L-arabinopyranoside (Guaijaverin)

Chất dạng bột vô định hình màu vàng. CTPT: $C_{20}H_{18}O_{11}$. $M = 434$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.40.

3.2.3.15. Hợp chất SA15: (+)-Gallocatechin

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +16,3 ($c = 1,0$, MeOH). Nhiệt độ nóng chảy: 188-192 °C CTPT: $C_{15}H_{14}O_7$. $M = 306$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.41.

3.2.3.16. Hợp chất SA16: (-)-Epigallocatechin

Chất dạng bột vô định hình màu trắng. CTPT: $C_{15}H_{14}O_7$. $M = 306$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.41.

3.2.3.17. Hợp chất SA17: Ellagic acid 3,3',4'-tri-O-methyl ether 4-O- β -D-glucopyranoside.

Chất dạng tinh thể màu trắng. Phổ (+)-HR-ESI-MS: m/z 507,1134 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{23}H_{23}O_{13}$: 507,1133 ($\Delta = - 0,2$ ppm); m/z 524,1395 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{23}H_{26}O_{13}N]^+$: 524,1399 ($\Delta = + 0,7$ ppm); m/z 529,0972 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{23}H_{22}O_{13}Na$: 529,0953 ($\Delta = - 3,6$ ppm). Phổ (-)-HR-ESI-MS: m/z 541,0753 $[M+Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $C_{23}H_{22}O_{13}Cl$: 541,0754 ($\Delta = + 0,2$ ppm). CTPT: $C_{23}H_{22}O_{13}$. $M = 506$. Số liệu phổ 1H NMR (600 MHz) và ^{13}C NMR (150 MHz): xem Bảng 4.42.

3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được

Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được trên dòng tế bào RAW264.7 được kích thích với LPS được thực hiện theo phương pháp mô tả trong mục 2.2.3. Nồng độ NO trong môi trường thực nghiệm được xác định thông qua phản ứng Griess.

3.3.1. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. cerasiforme*

Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được từ loài *S. cerasiforme* thể hiện ở Bảng 3.1:

Bảng 3.1. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SL1-SL20

Hợp chất	% tế bào sống sót [#]	IC ₅₀ (μM)	Hợp chất	% tế bào sống sót [#]	IC ₅₀ (μM)
SL1	100,00	12,28 ± 1,15	SL11	98,27	51,72 ± 2,85
SL2	99,25	8,52 ± 1,62	SL12	98,67	45,28 ± 2,18
SL3	97,09	7,68 ± 0,87	SL13	99,12	33,38 ± 0,78
SL4	99,56	42,27 ± 1,29	SL14	98,13	51,09 ± 2,13
SL5	99,11	45,13 ± 2,16	SL15	97,66	54,17 ± 2,34
SL6	99,25	9,67 ± 0,57	SL16	96,03	39,54 ± 1,32
SL7	99,24	86,52 ± 2,98	SL17	95,77	6,98 ± 0,57
SL8	99,12	53,71 ± 1,23	SL18	95,11	33,17 ± 0,78
SL9	98,26	45,12 ± 0,98	SL19	95,23	25,51 ± 1,02
SL10	98,67	6,69 ± 0,34	SL20	98,12	58,12 ± 2,34
L-NMMA ^a	90,83	32,5 ± 1,00			

^aĐối chứng dương, [#] ở nồng độ 100 μM

3.3.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. bullockii*

Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được từ loài *S. bullockii* thể hiện ở Bảng 3.2:

Bảng 3.2. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SP1-SP17

Hợp chất	% tế bào sống sót [#]	IC ₅₀ (μM)	Hợp chất	% tế bào sống sót [#]	IC ₅₀ (μM)
SP1	94,32	11,58 ± 0,71	SP10	95,78	1,42 ± 0,19
SP2	94,85	13,61 ± 2,55	SP11	91,25	58,08 ± 2,38
SP3	96,04	6,93 ± 0,41	SP12	94,85	13,70 ± 1,25
SP4	97,85	7,09 ± 0,62	SP13	97,58	8,59 ± 0,68
SP5	98,86	7,20 ± 0,51	SP14	94,46	5,71 ± 0,61
SP6	97,41	7,91 ± 0,95	SP15	98,98	6,47 ± 0,69
SP7	81,57	1,89 ± 0,29	SP16	94,15	4,23 ± 0,66
SP8	92,39	9,06 ± 0,55	SP17	94,32	11,30 ± 0,14
SP9	97,43	11,95 ± 0,82	L-NMMA ^a	86,76	33,8 ± 2,6

^a đối chứng dương, [#] ở nồng độ 100 μM

3.3.3. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. attopeuense*

Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất phân lập được từ loài *S. attopeuense* thể hiện ở Bảng 3.3:

Bảng 3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất SA1-SA17

Hợp chất	% tế bào sống sót #	IC ₅₀ (μM)	Hợp chất	% tế bào sống sót #	IC ₅₀ (μM)
SA1	94,21	18,37 ± 1,38	SA10	97,01	95,14 ± 3,67
SA2	89,68	31,23 ± 2,18	SA11	99,12	> 100
SA3	88,38	35,12 ± 2,53	SA12	97,22	> 100
SA4	93,67	>100	SA13	95,71	98,46 ± 3,51
SA5	87,17	34,89 ± 2,13	SA14	99,26	> 100
SA6	77,22	28,24 ± 1,79	SA15	97,72	78,35 ± 1,66
SA7	94,59	88,55 ± 1,78	SA16	97,72	76,39 ± 2,41
SA8	98,21	89,85 ± 2,08	SA17	98,32	> 100
SA9	99,72	> 100	Dexamethasone*	97,88	15,37 ± 1,42

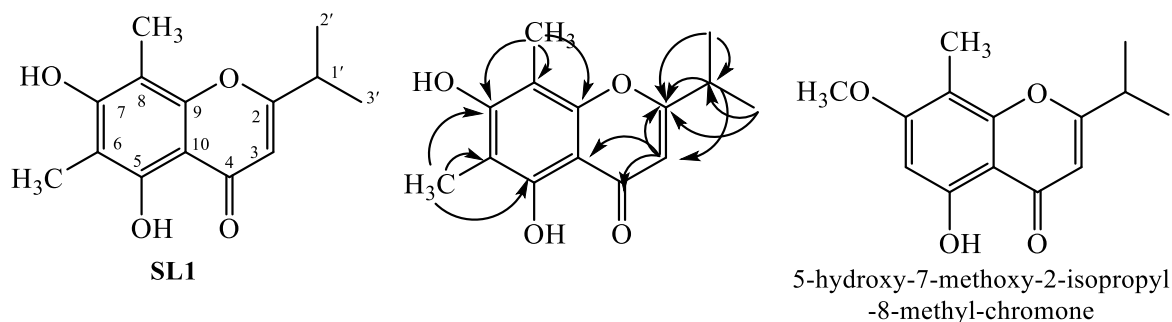
* Đối chứng dương, # nồng độ chất thử xác định ở 100 μM

CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

4.1. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài *S. cerasiforme*

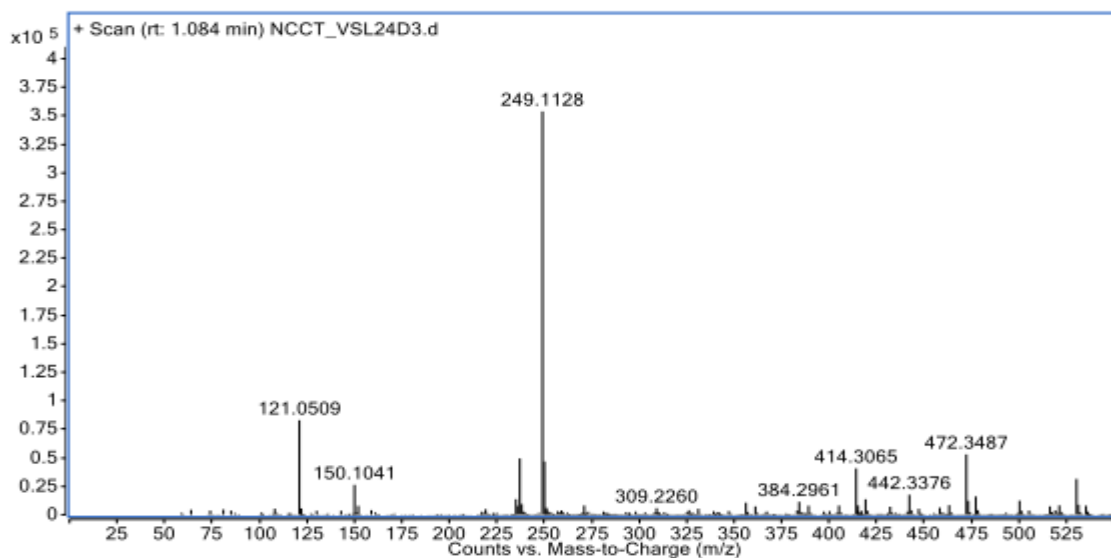
4.1.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *S. cerasiforme*

4.1.1.1. Hợp chất **SL1**: 5,7-Dihydroxy-2-isopropyl-6,8-dimethyl-4H-chromen-4-one (hợp chất mới)

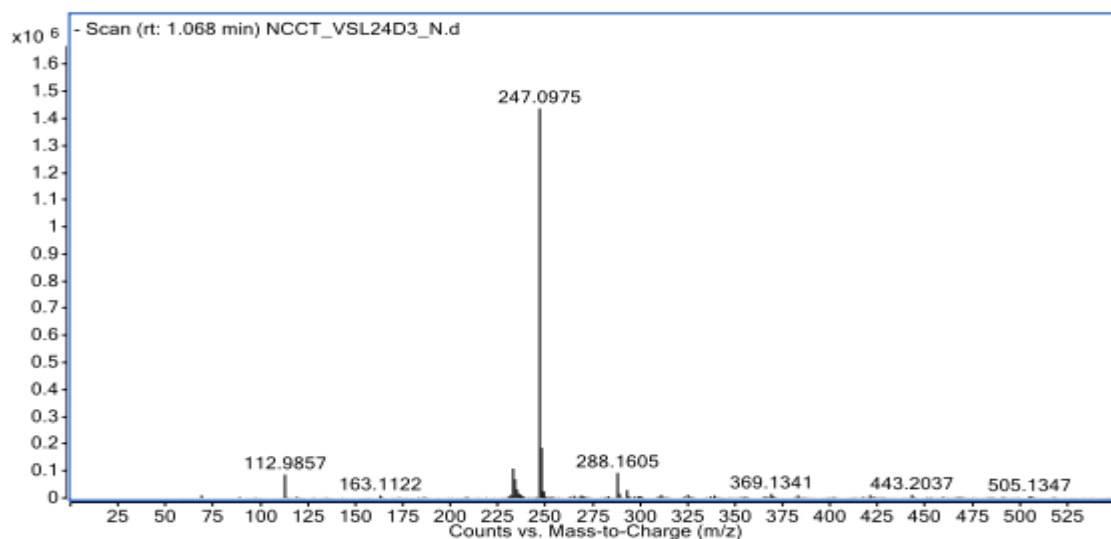


Hình 4.1. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL1** và hợp chất tham khảo

Hợp chất **SL1** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **SL1** xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 249,1128 $[M+H]^+$ (phổ ion dương) và m/z 247,0975 $[M-H]^-$ (phổ ion âm), kết hợp với dữ kiện phổ ^{13}C NMR và HSQC cho phép xác định công thức phân tử $C_{14}H_{16}O_4$. Phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy có tín hiệu cộng hưởng của 14 nguyên tử carbon trong đó có 4 nhóm methyl (tại δ_C 20,5 x 2, 8,0, và 7,8), 2 nhóm methine (δ_C 34,6 và 105,8) và 8 carbon bậc 4 (1 nhóm carbonyl, δ_C 184,8), 6 carbon vòng thơm (δ_C 161,6, 157,7, 154,9, 108,5, 105,0, và 103,2) và 1 carbon olefin tại δ_C 176,4. Trên phổ HSQC, tín hiệu proton của các nhóm methyl tại δ_H 1,36 (6H, H-2' và H-3'), 2,11 (6-CH₃) và 2,24 (8-CH₃) tương tác với carbon tương ứng tại δ_C 20,5, 7,8 và 8,0. Hai proton methine tại δ_H 6,07 (H-3) và δ_H 2,96 (H-1') có tương tác HSQC với carbon tương ứng là δ_C 105,8 và 34,6. Hai nhóm methyl xuất hiện dưới dạng tín hiệu đôi tại δ_H 1,36 (6H, d, $J = 6,6$ Hz) cùng với tín hiệu nhóm methine (δ_H 2,96, sept.) cho thấy sự có mặt của nhóm isopropyl [71]. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL1** (Bảng 4.1) cho thấy có sự tương đồng với dữ liệu của hợp chất 5-hydroxy-7-methoxy-2-isopropyl-8-methylchromone. Do đó, có thể dự đoán hợp chất **SL1** có khung chromen-4-one [71].



Hình 4.2. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SLI

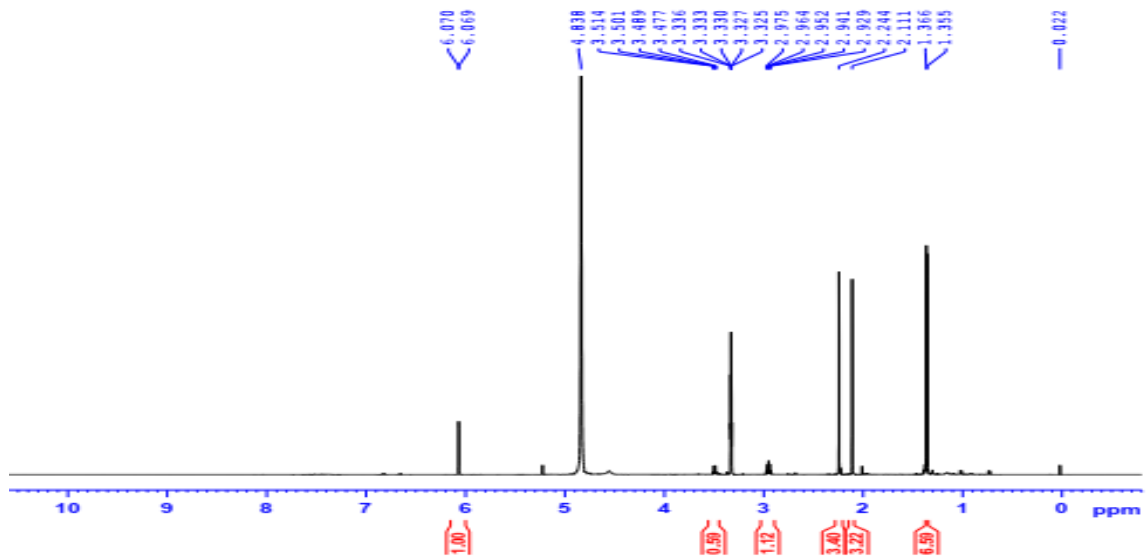


Hình 4.3. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SLI

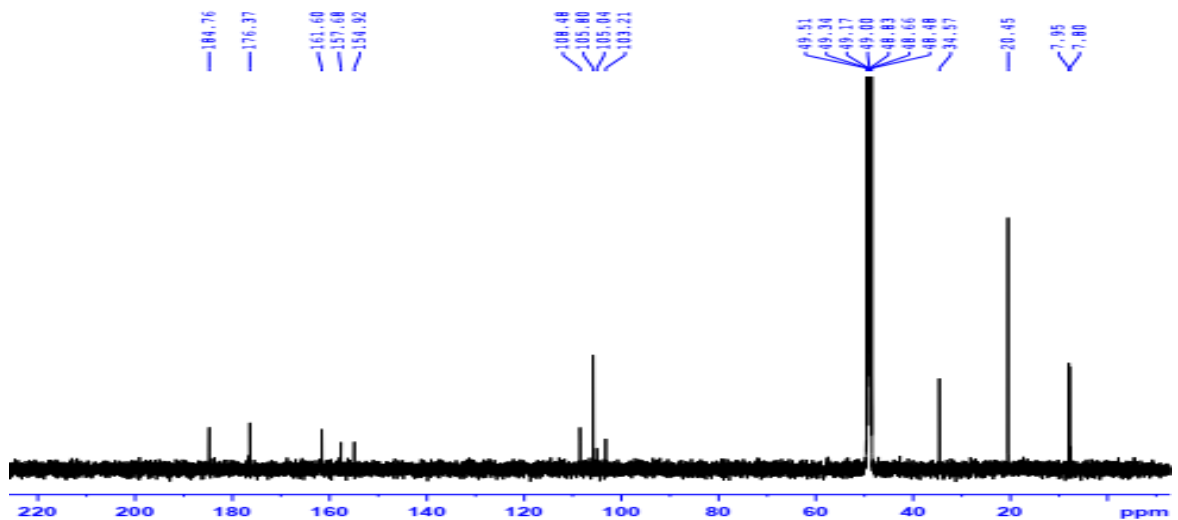
Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất SLI

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	176,4	-	9	154,9	-
3	105,8	6,07 (s)	10	105,0	-
4	184,8	-	1'	34,6	2,96 (sept, 6,6)
5	157,7	-	2'	20,5	1,36 (d, 6,6)
6	108,5	-	3'	20,5	1,36 (d, 6,6)
7	161,6	-	6-CH ₃	7,8	2,11 (s)
8	103,2	-	8-CH ₃	8,0	2,24 (s)

^aĐo trong CD₃OD, ^b150MHz, ^c600MHz.

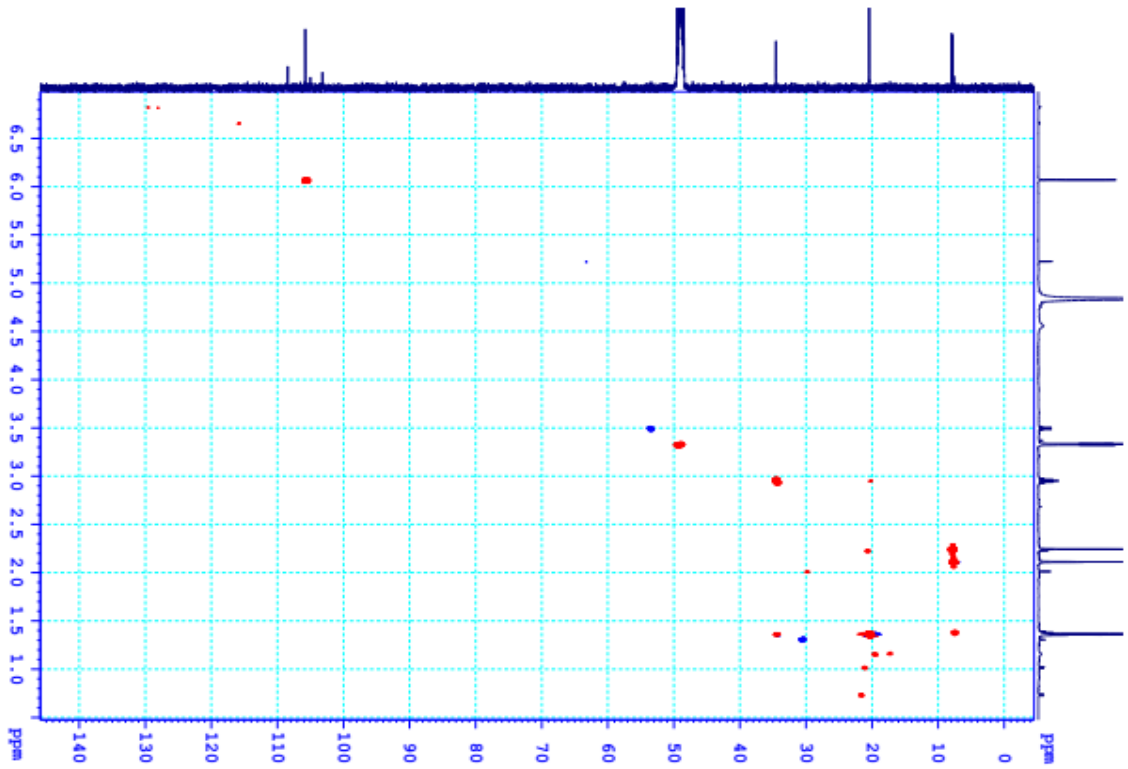


Hình 4.4. Phổ ^1H NMR của hợp chất **SL1**

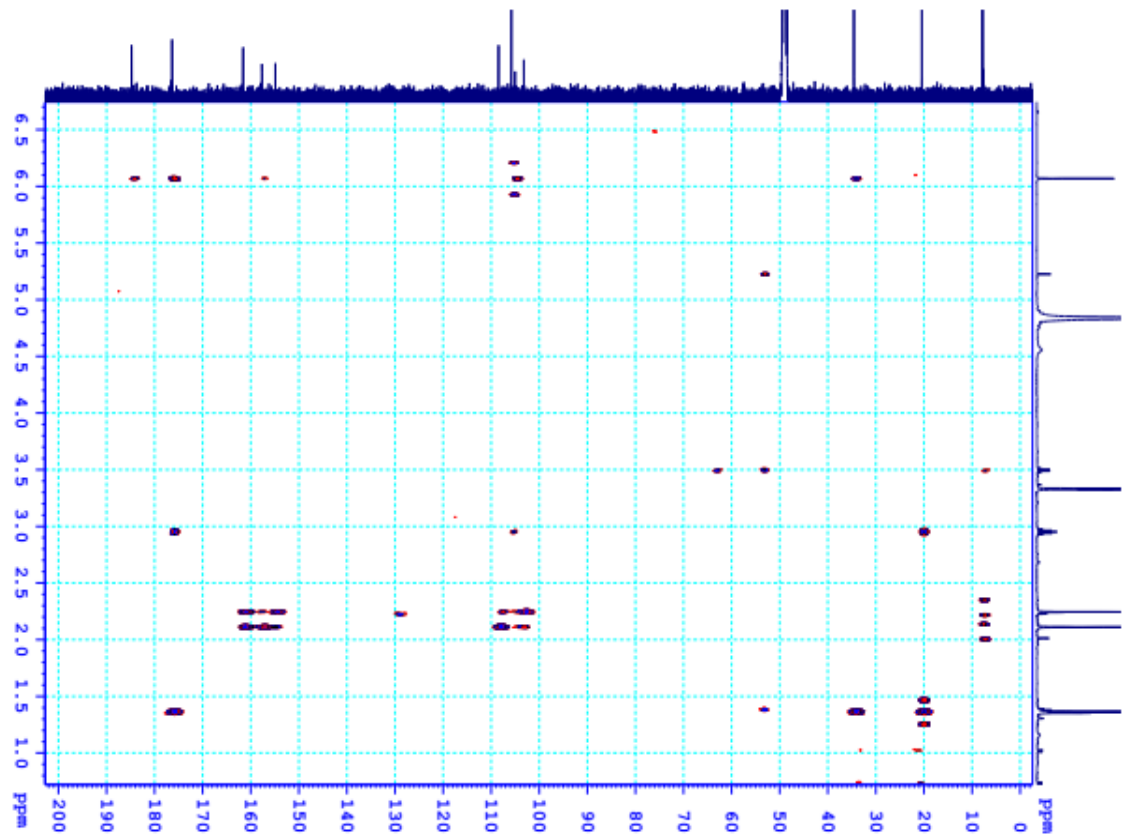


Hình 4.5. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **SL1**

Phân nhánh isopropyl được xác định liên kết với C-2 thông qua phân tích dữ liệu phổ HMBC, với sự xuất hiện tương tác giữa proton H-2' và H-3' (δ_{H} 1,36) với C-2 (δ_{C} 176,4)/C-1' (δ_{C} 34,6), giữa H-1' (δ_{H} 2,96) với C-2 và C-3 (δ_{C} 105,8), và giữa H-3 (δ_{H} 6,07) với C-4 (δ_{C} 184,8)/C-2/C-1'. Hai nhóm methyl được xác định gắn với carbon C-6, C-8 và hai nhóm hydroxyl gắn vào C-5 và C-7 bằng các tín hiệu tương tác HMBC giữa các proton 6-CH₃ (δ_{H} 2,11) với C-5 (δ_{C} 157,7)/C-6 (δ_{C} 108,5)/C-7 (δ_{C} 161,6) và giữa proton của 8-CH₃ (δ_{H} 2,24) với C-7/C-8 (δ_{C} 103,2)/C-9 (δ_{C} 154,9). Từ những phân tích dữ liệu phổ ở trên, hợp chất **SL1** được xác định là 5,7-dihydroxy-2-isopropyl-6,8-dimethyl-4*H* chromen-4-one. Đây là một hợp chất mới.

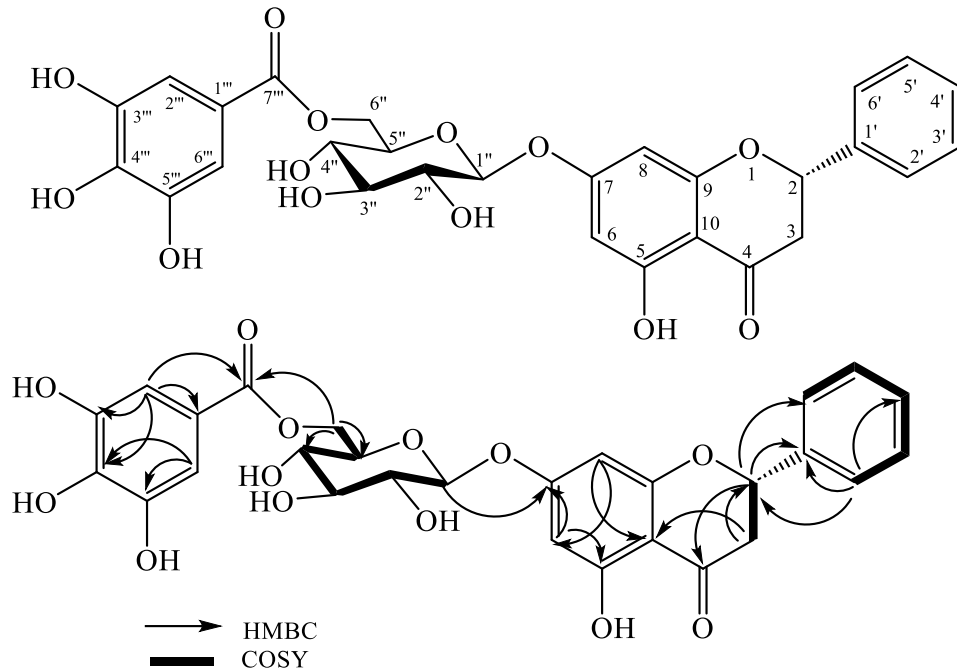


Hình 4.6. Phổ HSQC của hợp chất SL1



Hình 4.7. Phổ HMBC của hợp chất SL1

4.1.1.2. Hợp chất **SL2**: 5,7-Dihydroxyflavanone 7-O- β -D-(6''-O-galloyl glucopyranoside) (hợp chất mới)



Hình 4.8. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất **SL2**

Hợp chất **SL2** thu được cũng ở dạng tinh thể hình kim, màu vàng nhạt. Công thức phân tử của hợp chất **SL2** là $C_{28}H_{26}O_{13}$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa trên sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 571,1443 $[M+H]^+$ và m/z 569,1307 $[M-H]^-$. Phổ 1H NMR của **SL2** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một vòng benzene thế mono [δ_H 7,50 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,42 (2H, t, $J = 8,4$ Hz), 7,37 (1H, t, $J = 8,4$ Hz)], hai tín hiệu doublet tại δ_H 6,15 và 6,20 (mỗi tín hiệu 1H, d, $J_{meta} = 1,8$ Hz) tương ứng với H-6 và H-8, một tín hiệu proton của nhóm methine có nối với nguyên tử oxy có dạng doublet doublet tại δ_H 5,63 (dd, $J = 11,4, 3,0$ Hz, H-2), và hai proton của nhóm methylene lai hoá sp^3 tại δ_H 2,83 (dd, $J = 16,8, 3,0$ Hz, H_{eq} -3) và 3,32 (dd, $J = 16,8, 11,4$ Hz, H_{ax} -3). Ngoài ra còn có các tín hiệu của một phân tử đường glucose và một vòng benzene thế 4 vị trí có tính đối xứng trục bậc hai (nhánh galloyl). Proton anomer được nhận biết tại δ_H 5,09 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), hai proton vòng thơm của nhánh galloyl tại δ_H 6,94 (2H, s). Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC của **SL2** xuất hiện tín hiệu của 28 carbon, bao gồm 15 carbon của flavanone aglycon, 6 carbon của đường glucose và 7 carbon của nhánh galloyl. Nhóm carbonyl (C=O) tại δ_C 197,0 và nhóm cacboxylate tại δ_C 165,8 tương ứng với

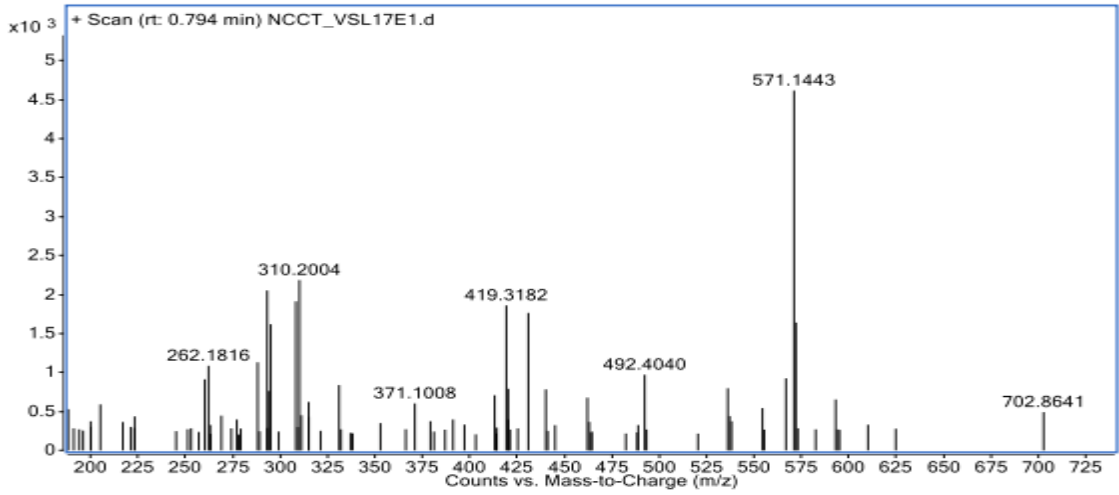
C-4 của flavanone aglycone và C-7''' của phần galloyl. Dữ liệu phổ NMR của **SL2** (Bảng 4.2) gần giống với dữ liệu của hợp chất pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside (**SL3**) chỉ khác là hợp chất **SL2** có thêm nhóm galloyl. Do đó, có thể dự đoán hợp chất **SL2** có cùng khung aglycone với hợp chất **SL3** [72].

Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL2**

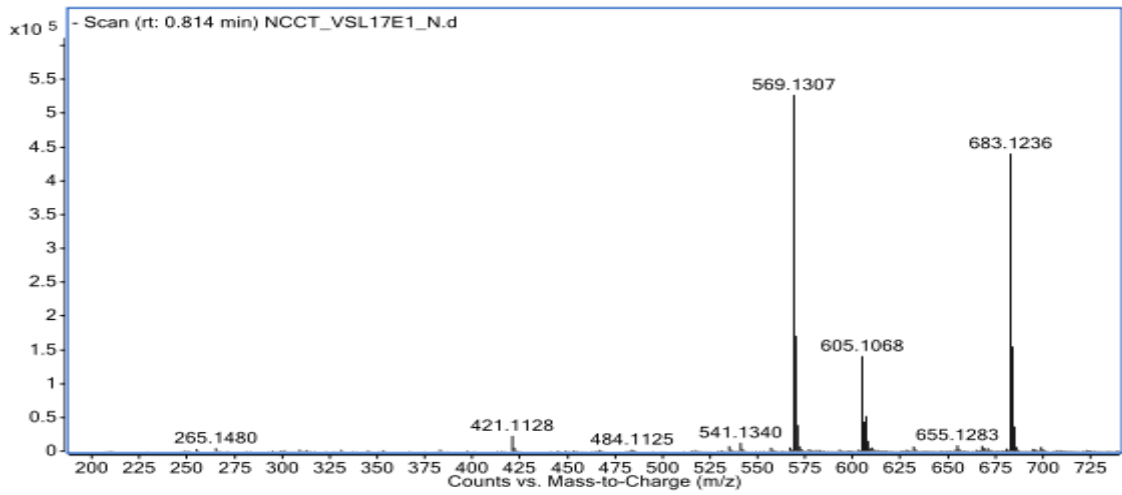
C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	78,5	5,63 (dd, 11,4, 3,0)	Glucosyl		
3	42,0	2,83 (dd, 16,8, 3,0) 3,32 (dd, 16,8, 11,4)	1''	99,2	5,09 (d, 7,8)
4	197,0*	-	2''	72,9	3,28 (dd, 9,0, 7,8)
5	162,6	-	3''	76,0	3,33 (t, 9,0)
6	96,5	6,15 (d, 1,8)	4''	69,2	3,35 (t, 9,0)
7	165,1	-	5''	73,7	3,77 (m)
8	95,1	6,20 (d, 1,8)	6''	62,9	4,23 (dd, 12,0, 6,0) 4,42 (dd, 12,0, 1,8)
9	162,6	-	Galloyl		
10	103,4	-	1'''	119,0	-
1'	138,7	-	2''', 6'''	108,6	6,94 (s)
2', 6'	128,6	7,50 (d, 8,4)	3''', 5'''	145,5	-
3', 5'	126,7	7,42 (t, 8,4)	4'''	138,4	-
4'	126,6	7,37 (t, 8,4)	7'''	165,8	-

^aĐo trong DMSO- d_6 , ^b150MHz, ^c600MHz * xác định thông qua phổ HMBC

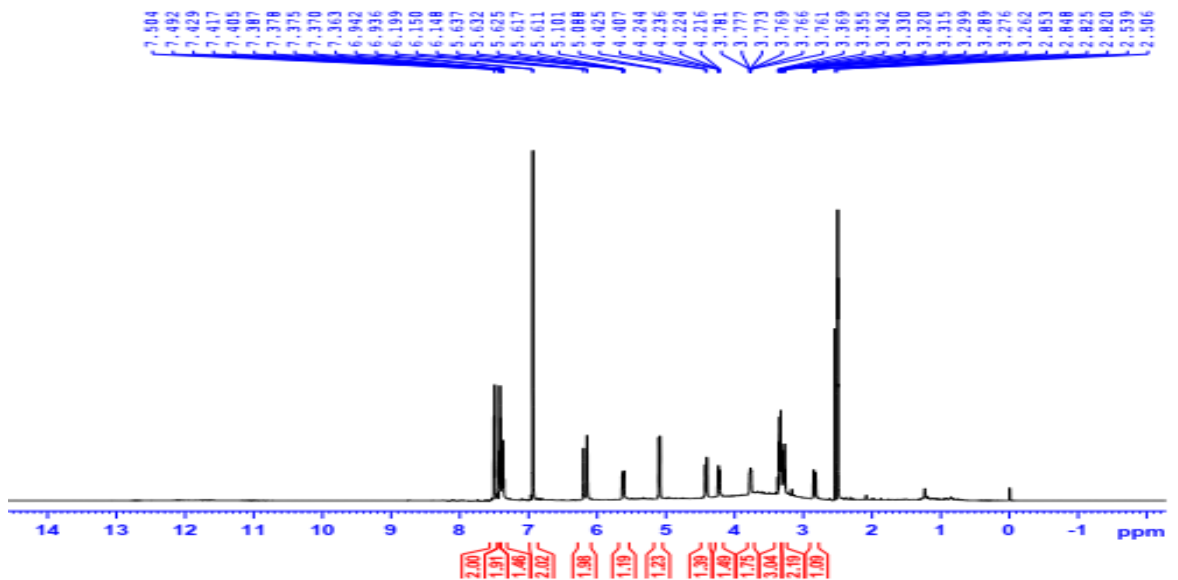
Phần aglycone có dạng khung của một flavanone được xác định bởi các tín hiệu tương tác trên phổ HMBC giữa H-2 (δ_H 5,63) với C-3 (δ_C 42,0)/C-4 (δ_C 197,0)/C-1' (δ_C 138,7)/C-2' (δ_C 128,6), giữa H-3 (δ_H 2,83/3,32) với C-4/C-10 (δ_C 103,4), giữa H-6 (δ_H 6,15) với C-7 (δ_C 165,1)/C-5 (δ_C 162,6)/C-8 (δ_C 95,1)/C-10 (δ_C 103,4), và giữa H-8 (δ_H 6,20) với C-6 (δ_C 96,5)/C-10. Hằng số tương tác lớn ($J_{2,3} = 11,4 \text{ Hz}$) giữa H-2 và H- α_x -3 cho thấy H-2 phải chiếm vị trí *axial*, tức là vòng B liên kết với C-2 theo hướng *equatorial* [73, 74]. Trong tự nhiên phần lớn các flavanone có nhóm phenyl liên kết với C-2 định hướng *α /equatorial* [75], do đó cấu hình tuyệt đối của trung tâm lập thể C-2 được dự đoán là 2S. Điều này được khẳng định chính xác nhờ phân tích phổ CD. Phổ CD của **SL2** xuất hiện hiệu ứng Cotton âm tại 290 nm (-7,10 mdeg) và dương tại 314 nm (+1,25 mdeg) đã một lần nữa khẳng định cấu hình 2S [76]. Phân tử đường glucose liên kết với C-7 được xác định bởi tương tác HMBC giữa proton anomer H-1'' (δ_H 5,09) với C-7 (δ_C 165,1).



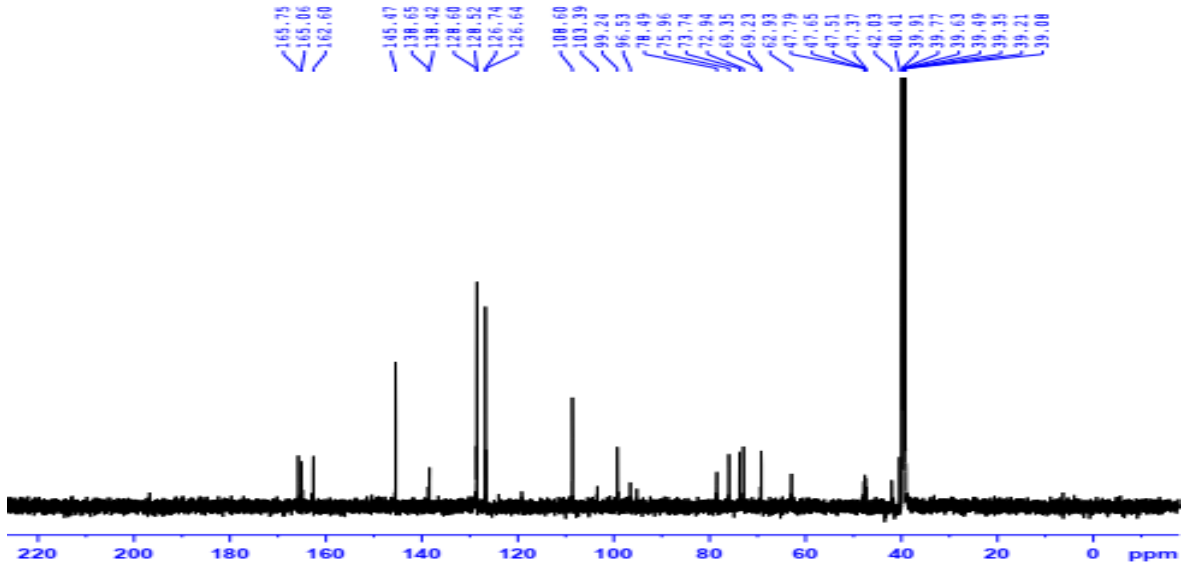
Hình 4.9. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SL2



Hình 4.10. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất SL2

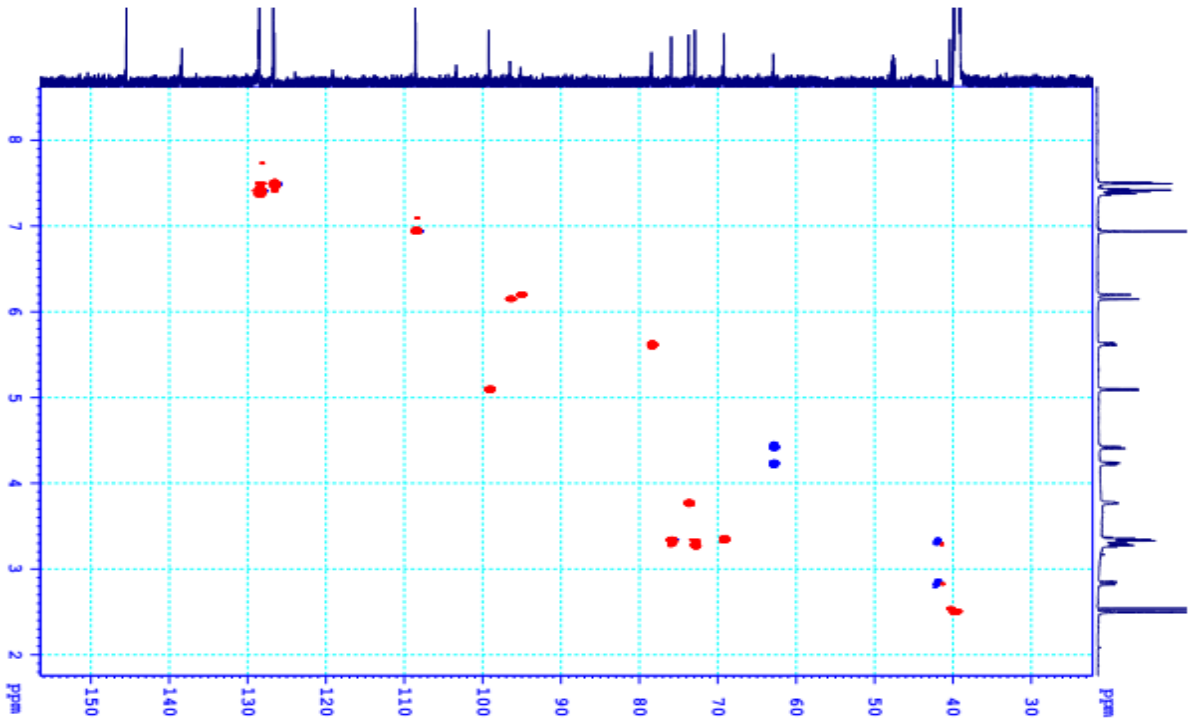


Hình 4.11. Phổ ¹H NMR của hợp chất SL2

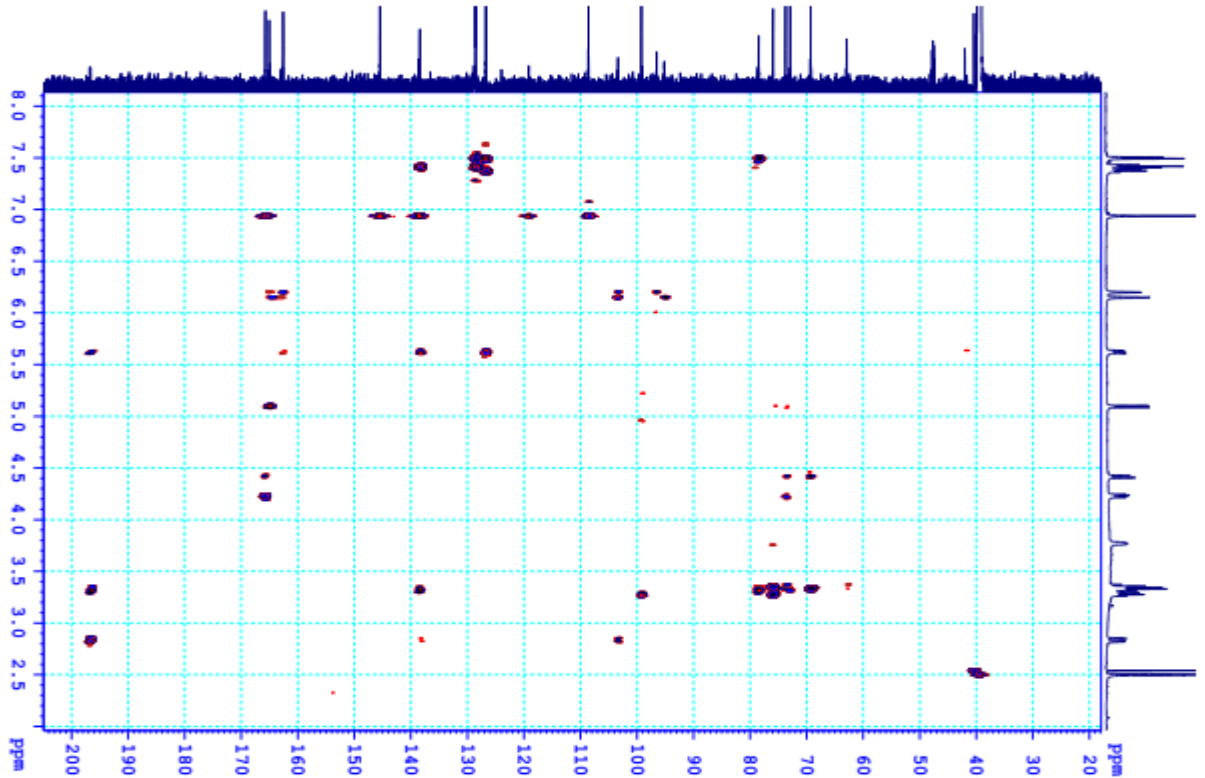


Hình 4.12. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **SL2**

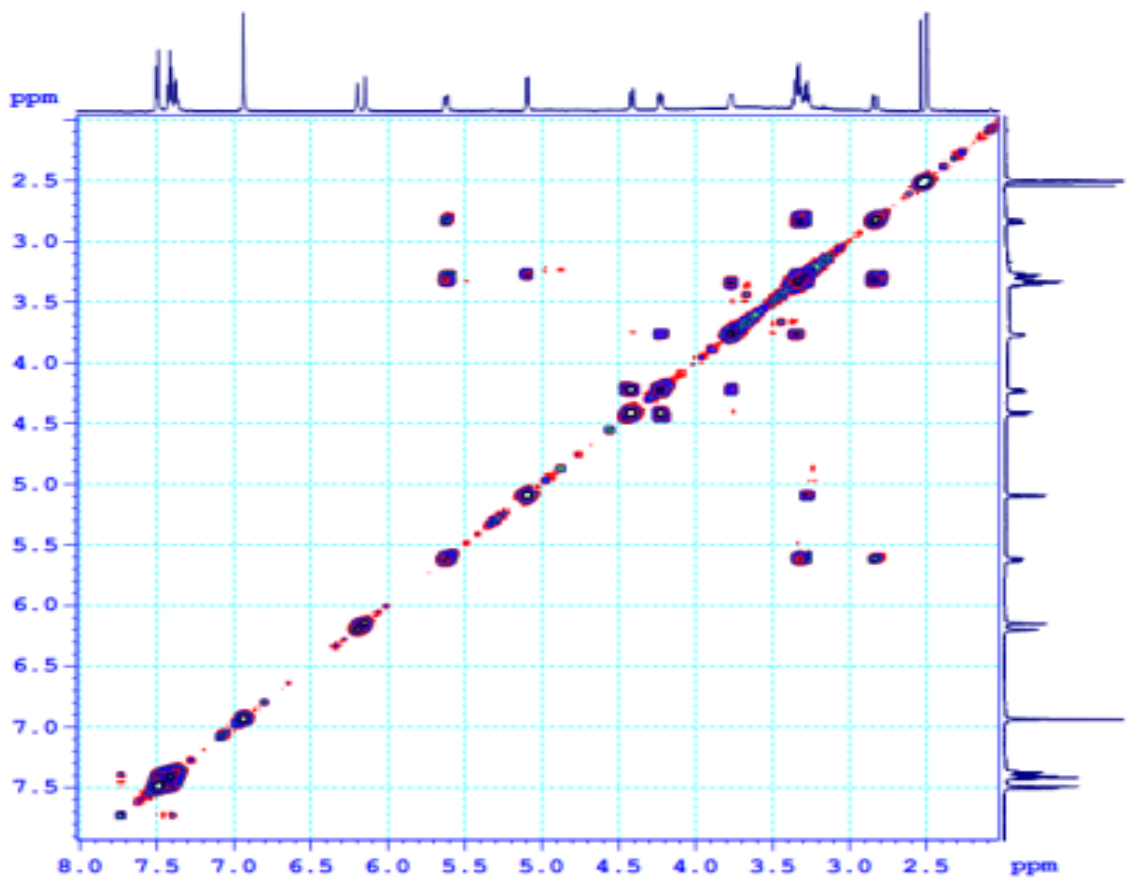
Nhánh galloyl gắn với C-6'' (δ_{C} 62,9) của đường glucose được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-6'' (δ_{H} 4,42/4,23) với C-7''' (δ_{C} 165,8). Việc gán các giá trị phổ NMR của hợp chất **SL2** được thực hiện một cách chính xác nhờ phân tích phổ ^1H - ^1H COSY. Trên phổ ^1H - ^1H COSY cho thấy tương tác của các proton gắn với hai carbon cạnh nhau ($^3J_{\text{HH}}$) như H-1'' (δ_{H} 5,09)/H-2'' (δ_{H} 3,28)/H-3'' (δ_{H} 3,33)/H-4'' (δ_{H} 3,25)/H-5'' (δ_{H} 3,77)/H-6'' (δ_{H} 4,42/4,23).



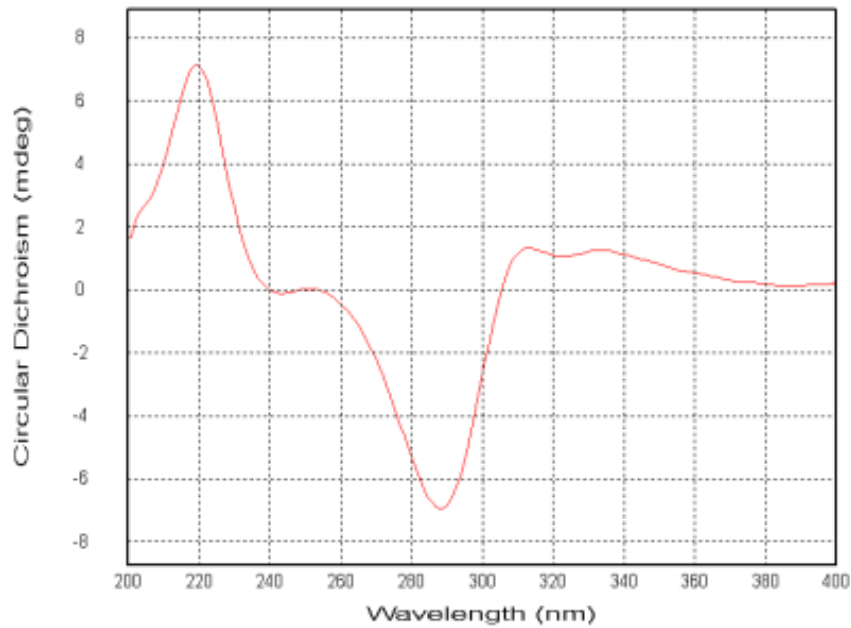
Hình 4.13. Phổ HSQC của hợp chất **SL2**



Hình 4.14. Phổ HMBC của hợp chất SL2



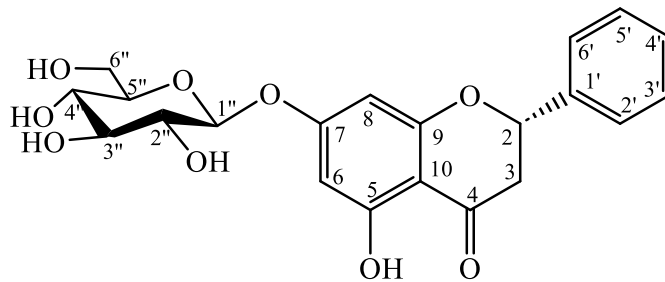
Hình 4.15. Phổ ^1H - ^1H COSY của hợp chất SL2



Hình 4.16. Phổ CD của hợp chất **SL2**

Những phân tích nêu trên cho thấy nhánh đường glucose đã bị thế tại C-6'' [77]. Chính liên kết ester tại đây đã làm cho hai proton H₂-6'' cũng như carbon C-6'' đã cộng hưởng về phía trường thấp hơn (độ dịch chuyển hóa học cao hơn). Liên kết glycoside giữa đường glucose với C-7 có dạng β được xác định dựa vào hằng số tương tác lớn ($J_{1'',2''} = 7,8$ Hz) của proton anomer tại δ_H 5,09. Thêm vào đó, sự có mặt của đường D-glucose trong hợp chất **SL2** cũng được xác định bằng cách thủy phân acid [66], sản phẩm thủy phân sau khi điều chế bằng sắc ký lớp mỏng được đem đo góc quay cực cho thấy có giá trị dương (xem mục 2.2.2.7). Do đó, hợp chất **SL2** được xác định là 5,7-dihydroxyflavanone 7-O- β -D-(6''-O-galloyl glucopyranoside). Đây là hợp chất mới.

4.1.1.3. Hợp chất **SL3**: Pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside



Hình 4.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL3**

Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL3** và hợp chất tham khảo

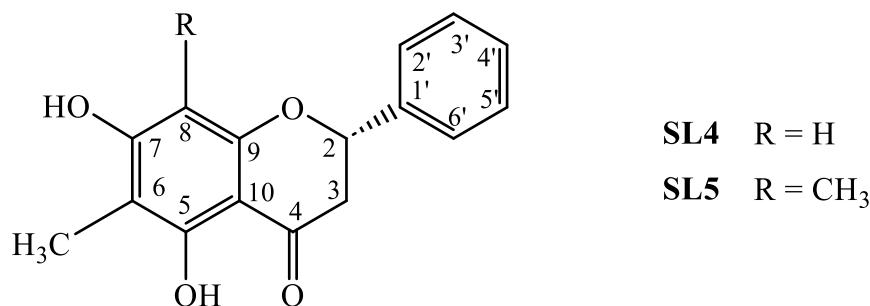
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)
2	79,3	78,6	5,65 (dd, 12,0, 3,0)	1'	138,3	138,4	-
3	43,2	42,2	2,85 (dd, 17,4, 3,0) 3,32 (dd, 17,4, 12,0)	2', 6'	126,0	128,6	7,53 (d, 8,4)
4	196,5	196,7	-	3',5'	129,6	126,7	7,42 (t, 8,4)
5	162,9	162,9	-	4'	128,6	128,6	7,39 (t, 8,4)
6	97,0	96,6	6,15 (d, 2,4)	1''	101,0	99,6	4,98 (d, 7,2)
7	165,6	165,3	-	2''		73,0	3,23 (dd, 9,0, 7,2)
8	95,8	95,5	6,20 (d, 2,4)	3''		77,1	3,28 (t, 9,0)
9	162,8	162,5	-	4''		69,5	3,15 (t, 9,0)
10	105,0	103,3	-	5''		76,3	3,39 (m)
				6''	61,1	60,6	3,66 (dd, 12,0, 5,4) 3,45 (dd, 12,0, 1,8)

^ađo trong DMSO-d₆, ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside đo trong hỗn hợp CDCl₃ và CD₃OD [72].

Hợp chất **SL3** thu được dưới dạng chất rắn, màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất **SL3** là C₂₁H₂₂O₉ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa trên sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 419,1340 [M+H]⁺. Phổ ¹H NMR của **SL3** cũng cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của một vòng benzene thế mono [δ_H 7,53 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2', H-6'), 7,42 (2H, t, $J = 8,4$ Hz, H-3', H-5'), 7,39 (1H, t, $J = 8,4$ Hz, H-4')], hai tín hiệu doublet tại δ_H 6,15 và 6,20 tương ứng với 2 proton của nhóm methine thuộc vòng thơm thứ 2 (H-6 và H-8), một tín hiệu proton của nhóm methine liên kết với oxy dạng doublet doublet tại δ_H 5,65 (dd, $J = 11,4$ Hz, 3,0 Hz, H-2) và hai proton lai hóa sp^3 của nhóm methylene tại δ_H 2,85 (dd, $J = 17,4$, 3,0 Hz, H_{eq}-3) và 3,32 (dd, $J = 17,4$, 12,0 Hz, H_{ax}-3). Tương tự **SL2**, tín hiệu của đường được xác định bởi một proton anomer tại δ_H 4,98 (1H, d, $J = 7,2$ Hz). Hằng số tương tác lớn $J = 7,2$ Hz khẳng định liên kết β của đường glucose. Hơn nữa trên phổ ¹³C NMR của **SL3** cũng xuất hiện tín hiệu của 21 carbon, bao gồm 15 carbon đặt trung của flavanone aglycone, 6 carbon của đường hexose và 1 nhóm carbonyl (C=O) tại δ_C 196,7. Cũng giống như hợp chất **SL2**, hằng số tương tác $J_{2,3}$ lớn (12,0 Hz) giữa proton H-2 (δ_H 5,65) và H_{ax}-3 (δ_H 3,32) cho thấy H-2 định hướng *axial*. Từ dữ liệu NMR của **SL3** (Bảng 4.3) kết hợp so sánh với dữ liệu của hợp chất đã biết pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside (phân lập từ loài cây *Echiochilon fruticosum*

năm 2004) [72] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy hợp chất **SL3** được xác định là pinocembrin-7-*O*- β -D-glucopyranoside.

4.1.1.4. Hợp chất **SL4**: Strobopinin



Hình 4.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL4** và **SL5**

Hợp chất **SL4** thu được dưới dạng chất rắn. Công thức phân tử của hợp chất **SL4** là C₁₆H₁₄O₄ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa trên sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 271,0964 [M+H]⁺, 269,0819 [M-H]⁻ và 305,0575 [M+Cl]⁻.

Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL4**, **SL5** và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SL4			Hợp chất SL5		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{a,d}$ (độ bội, J Hz)	δ_C^*	$\delta_C^{b,c}$	$\delta_H^{b,d}$ (độ bội, J Hz)
2	78,4	80,4	5,41 (dd, 13,8, 3,6)	77,96	78,7	5,40 (dd, 13,2, 3,0)
3	42,3	44,3	3,06 (dd, 17,4, 13,8) 2,76 (dd, 17,4, 3,6)	42,26	43,4	3,03 (dd, 16,8, 13,2) 2,86 (dd, 16,8, 3,6)
4	196,0	197,4	-	196,33	196,3	-
5	161,0	162,6	-	158,57	159,3	-
6	103,6	105,5	-	103,53	103,1	-
7	164,7	166,2	-	162,58	160,9	-
8	94,4	95,3	6,00 (s)	102,72	102,9	-
9	160,3	162,2	-	157,22	157,7	-
10	101,7	103,1	-	101,80	102,1	-
1'	139,0	140,6	-	139,23	139,0	-
2', 6'	126,6	127,3	7,50 (d, 8,0)	126,23	125,9	7,43 (t, 7,2)
3', 5'	128,6	129,8	7,42 (t, 8,0)	128,34	128,8	7,47
4'	128,6	129,6	7,37 (t, 8,0)	128,62	128,6	7,25
6-CH ₃	6,9	7,0	1,97 (s)	8,30	7,6	2,07 (s)
8-CH ₃	-	-	-	7,65	6,9	2,07 (s)

^ađo trong CD₃OD, ^bđo trong CDCl₃ ^c150MHz, ^d600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất (\pm)-strobopinin đo trong DMSO-*d*₆ [78], δ_C^* số liệu của hợp chất demethoxymatteucinol đo trong CDCl₃ [79].

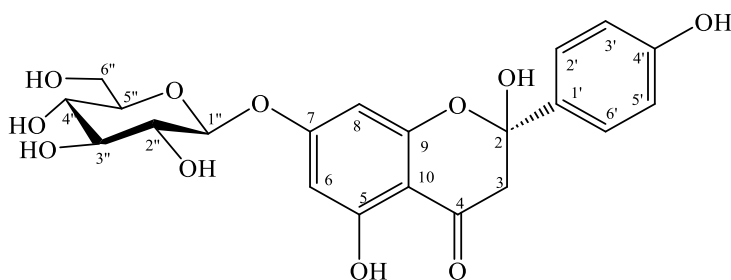
Phổ ¹H NMR của **SL4** cho thấy sự xuất hiện của các tín hiệu vòng thơm thể mono tại δ_H 7,50 (2H, d, J = 8,0 Hz, H-2', H-6'), 7,42 (2H, t, J = 8,0 Hz, H-3', H-5'), 7,37 (1H, t, J = 8,0 Hz, H-4') (vòng B), một tín hiệu singlet của proton ở vòng thơm

thứ 2 tại δ_H 6,0 (H-8) (vòng A), một tín hiệu proton của nhóm methine liên kết với oxy dạng doublet doublet tại δ_H 5,65 (dd, $J = 11,4, 3,0$ Hz, H-2) và hai proton lai hóa sp^3 của nhóm methylene tại δ_H 2,85 (dd, $J = 17,4, 3,0$ Hz, H_{eq-3}) và 3,32 (dd, $J = 17,4, 12,0$ Hz, H_{ax-3}) (vòng C). Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm C=O tại δ_C 197,4, do đó hợp chất **SL4** có khung flavanone giống như **SL3**. Tuy nhiên, trên phổ NMR của hợp chất **SL4** không thấy xuất hiện tín hiệu của đường như **SL3**, thay vào đó là sự xuất hiện thêm một tín hiệu singlet tại δ_H 1,97/ δ_C 7,0 đặc trưng của nhóm methyl gắn vào vòng thom. Từ dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR (Bảng 4.4) của hợp chất **SL4** kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất strobopinin [78] cho thấy có sự tương đồng. Do đó có thể khẳng định cấu trúc của hợp chất **SL4** phân lập được chính là hợp chất strobopinin, hợp chất đã được phân lập từ loài *S. samarangense* năm 2004 [35].

3.1.1.5. Hợp chất **SL5**: Demethoxymatteucinol

Hợp chất **SL5** thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu vàng nhạt. Công thức phân tử của hợp chất **SL5** là $C_{17}H_{16}O_4$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa trên sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 285,1125 $[M+H]^+$, m/z 283,0977 $[M-H]^-$. Trên phổ 1H NMR của **SL5** tương tự **SL4** cũng xuất hiện tín hiệu bộ 5 proton của vòng thom thế mono tại δ_H 7,47 (2H), 7,43 (2H), 7,25 (1H), tín hiệu doublet doublet của nhóm methine liên kết với oxy tại δ_H 5,41 (dd, $J = 13,8, 3,6$ Hz) và 2 tín hiệu của 2 proton germinal tại δ_H 3,03 (1H, dd, $J = 16,8, 13,2$ Hz) và 2,86 (1H, dd, $J = 16,8, 3,6$ Hz). Bên cạnh đó là sự xuất hiện của 2 tín hiệu đơn của nhóm methyl tại δ_H 2,07 ($3H \times 2$, s). Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **SL5** chỉ rõ tín hiệu của 15 carbon đặc trưng cho khung flavanone với 1 tín hiệu carbon ở vùng trường rất thấp đặc trưng cho nhóm carbonyl tại δ_C 196,3 và 1 tín hiệu của carbon lai hóa sp^3 liên kết với oxy tại δ_C 78,7; 1 carbon nhóm methylene tại δ_C 43,4 và hai carbon nhóm methyl ở trường cao δ_C 7,6 và 6,9. Khi so sánh phổ ^{13}C NMR của **SL5** (Bảng 4.4) với phổ của hợp chất demethoxymatteucinol đã được báo cáo trong [79] cho thấy sự tương đồng về giá trị. Hơn nữa tín hiệu phổ 1H NMR cũng tương đối giống nhau về độ dịch chuyển hóa học cũng như hằng số tương tác J . Từ kết quả phân tích phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [79], hợp chất **SL5** được xác định là demethoxymatteucinol.

4.1.1.6. Hợp chất **SL6**: 2-Hydroxynaringenin-7-O- β -D-glucopyranoside



Hình 4.19. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL6**

Hợp chất **SL6** thu được dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử của hợp chất **SL6** $C_{21}H_{22}O_{11}$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa trên sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 451,1232 $[M+H]^+$, m/z 449,1088 $[M-H]^-$, m/z 473,1074 $[M+Na]^+$.

Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL6** và hợp chất tham khảo

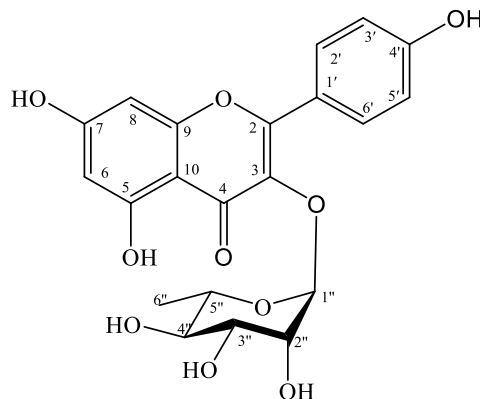
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	107,6	107,6	-
3	42,2	42,1	3,10 (s)
4	196,8	196,6	-
5	174,6	174,6	-
6	93,5	93,4	5,92 (d, 1,2)
7	172,2	172,6	-
8	98,1	98,0	6,04 (d, 1,2)
9	158,1	158,3	-
10	103,5	103,3	-
1'	125,7	125,6	-
2', 6'	132,5	132,5	7,01 (d, 7,8)
3', 5'	115,8	115,8	6,58 (t, 7,8)
4'	157,3	157,2	-
1''	101,8	101,7	4,84 (d, 7,8)
2''	74,1	74,0	3,56 (dd, 7,8, 9,0)
3''	77,4	77,3	3,48 (t, 9,0)
4''	71,2	71,2	3,47 (t, 9,0)
5''	78,4	78,3	3,70 (m)
6''	62,1	62,3	3,88 (d, 11,4), 3,55 (d, 11,4)

^ađo trong CD_3OD ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất 2-hydroxyaringenin 7-O- β glucoside đo trong CD_3OD [80].

Trên phổ 1H NMR của **SL6** xuất hiện tín hiệu đặc trưng của vòng thơm thế 2 nhóm thế có tính đối xứng tại δ_H 7,01 (2H, d, $J = 7,8$ Hz) và 6,58 (2H, t, $J = 7,8$ Hz), tín hiệu singlet của 2 proton methylene lai hoá sp^3 tại δ_H 3,10 (2H, s), hai tín hiệu tại δ_H 5,92 (d, $J = 1,2$ Hz) và 6,04 (d, $J = 1,2$ Hz) được cho là của 2 proton (H-6 và H-8) ở vị trí meta so với nhau do hằng số tương tác nhỏ $J_{meta} = 1,2$ Hz, tín hiệu tại δ_H 4,84

là của proton anomer xác định sự có mặt của đơn vị đường. Khác với 3 hợp chất flavanone **SL3-SL5**, hợp chất **SL6** không còn xuất hiện tín hiệu proton của nhóm methine tại C-2 và trên phổ ^{13}C NMR tín hiệu của carbon này xuất hiện ở trường δ_{C} 107,6, thấp hơn hẳn so với khoảng δ_{C} 77,6 – 80,4 ppm chứng tỏ C-2 là carbon bậc 4 và đã gắn thêm 1 nhóm hydroxyl. Trên phổ carbon của **SL6** xuất hiện tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl tại vùng trường rất thấp δ_{C} 196,6, tín hiệu của carbon anomer tại δ_{C} 101,7 ppm và các tín hiệu của phần đường glucose trong khoảng δ_{C} 62,3-78,3 ppm. Từ dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL6** (Bảng 4.5) kết hợp với so sánh dữ liệu phổ của hợp chất 2-hydroxynaringenin-7-O- β -D-glucoside [81] cho thấy có sự trùng khớp. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SL6** là 2-hydroxynaringenin-7-O- β -D-glucoside, hợp chất này cũng đã được phân lập từ rễ và cành loài *Berchemia formosana* năm 1995 [81] và từ quả của loài *Chaenomeles sinensis* [80].

4.1.1.7. Hợp chất **SL7**: Afzenlin



Hình 4.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL7**

Hợp chất **SL7** thu được dạng bột màu vàng. Công thức phân tử của hợp chất **SL7** $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại m/z 433,1131 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Trên phổ ^1H NMR của hợp chất **SL7** cho thấy sự có mặt các tín hiệu đặc trưng của vòng thơm thể đối xứng 2 nhóm thể giống **SL6** tại δ_{H} 7,78 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,95 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 2 tín hiệu doublet khác tại δ_{H} 6,22 (1H, d, $J = 1,8$ Hz) và 6,39 (1H, d, $J = 1,2$ Hz) của vòng thơm thể meta khác và 1 tín hiệu của proton anomer tại δ_{H} 5,40 (d, $J = 1,2$ Hz). Trên phổ ^{13}C NMR của **SL7** có sự xuất hiện của 15 tín hiệu đặc trưng cho 15 carbon của khung flavonol gồm 1 carbon carbonyl C=O tại δ_{C} 179,6 (C-4), 2 carbon lai hoá

sp^2 liên kết oxy tại δ_C 159,2(C-2), 136,2 (C-3). Trên phổ NMR của hợp chất **SL7** tín hiệu của đường rhamnoside đặc trưng bởi nhóm methyl tại δ_C/δ_H 17,6/0,95 (3H, t, $J = 6,0$ Hz) và bộ 5 nhóm methine liên kết với hydroxy tại δ_C/δ_H 122,7/5,4 (anomer), 72,0/4,24, 72,2/3,35, 73,2/3,35, 71,9/3,72.

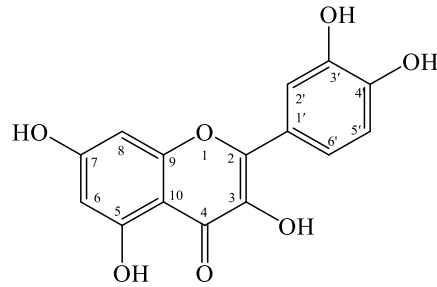
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL7**, **SL8** và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SL7			Hợp chất SL8		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,c}}$	$\delta_H^{a,d}$ (độ bội, $J =$ Hz)	δ_C^*	$\delta_{C^{b,c}}$	$\delta_H^{b,d}$ (độ bội, $J =$ Hz)
2	159,5	159,2	-	146,8	146,9	-
3	135,1	136,2	-	135,6	135,8	-
4	178,6	179,6	-	175,7	175,9	-
5	163,1	161,6	-	160,6	160,8	-
6	100,4	100,0	6,22 (d, 1,8)	98,1	98,3	6,18 (d, 1,8)
7	166,4	166,2	-	163,8	164,1	-
8	95,2	94,8	6,39 (d, 1,2)	93,3	93,5	6,40 (d, 1,8)
9	158,9	158,6	-	156,1	156,3	-
10	105,0	105,9	-	103,0	103,1	-
1'	123,0	122,7	-	121,9	122,1	-
2'	132,3	131,9	7,78 (d, 8,4)	115,1	115,2	7,67 (d, 1,8)
3'	116,0	116,5	6,95 (d, 8,4)	145,0	145,2	-
4'	161,5	161,6	-	147,6	147,8	-
5'	116,0	116,5	6,95 (d, 8,4)	115,5	115,7	6,88 (d, 8,4)
6'	132,3	131,9	7,78 (d, 8,4)	119,9	120,1	7,54 (dd, 8,4, 1,8)
1''	104,5	103,5	5,40 (d, 1,2)	-	-	-
2''	72,2	72,0	4,24 (dd, 2,4, 1,2)	-	-	-
3''	72,0	72,2	3,35 (dd, 7,8, 2,4)	-	-	-
4''	73,3	73,2	3,35 (t, 7,8)	-	-	-
5''	71,9	71,9	3,72 (m)	-	-	-
6''	17,6	17,6	0,95 (t, 6,0)	-	-	-

^ađo trong CD_3OD , ^bđo trong $DMSO-d_6$, ^c150MHz, ^d600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất kaempferol 3-O-rhamnoside đo trong CD_3OD [82], δ_C^* số liệu của hợp chất quercetin đo trong $DMSO-d_6$ [83].

Vị trí nhóm thế đường trên khung flavonol được xác định là ở vị trí C-3 do độ dịch chuyển hóa học trường cao hơn δ_C 136,2 (C-3) so với δ_C 161,6 (C-5), 166,2 (C-7), 161,6 (C-1'). Định hướng liên kết của phần đường này là α -rhamnoside do hằng số tương tác của proton anomer nhỏ ($J = 1,2$ Hz). Dữ liệu phổ của hợp chất **SL7** (Bảng 4.6) hoàn toàn phù hợp dữ liệu phổ của hợp chất kaempferol 3-O-rhamnoside [82]. Vì vậy, hợp chất **SL7** được xác định là kaempferol 3-O-rhamnoside (hay còn gọi là afzelin [84]). Hợp chất này cũng đã được phân lập từ cây Giao (*Euphorbia tircucalli* L.) ở Việt Nam [85].

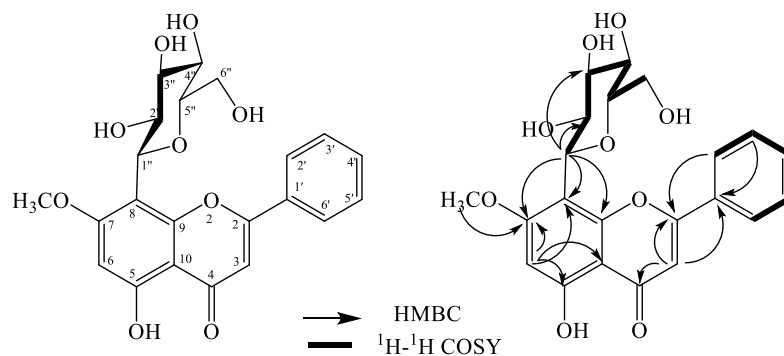
4.1.1.8. Hợp chất **SL8**: Quercetin



Hình 4.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL8**

Hợp chất **SL8** phân lập được có dạng bột tinh thể màu vàng, công thức phân tử là $C_{15}H_{10}O_7$ được xác định bằng khối phổ phân giải cao HR-ESI-MS với pic ion giả phân tử tại m/z 303,0500 $[M+H]^+$, m/z 301,0356 $[M-H]^-$. Phổ 1H NMR của **SL8** xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 5 proton vòng thơm từ δ_H 6,18-7,67. Trong đó, tín hiệu của 2 proton tại δ_H 6,18 (1H, d, $J_{meta} = 1,8$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J_{meta} = 1,8$ Hz, H-8) vòng thơm A thể 2 nhóm thể giống với hợp chất **SL7**; 3 tín hiệu tại δ_H 7,67 (1H, d, $J = 1,8$ Hz), 6,88 (1H, d, $J_{ortho} = 8,4$ Hz), 7,54 (1H, dd, $J = 1,8, 8,4$ Hz) của 1 vòng thơm khác (vòng B); 1 tín hiệu proton hydroxyl xuất hiện tại δ_H 12,48 được cho là gắn với C-5 và 1 tín hiệu yếu, rộng tại δ_H 9,34 là của 3 nhóm hydroxyl C-7, C-3', C-4' [86, 87]. Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện 15 tín hiệu đặc trưng của flavonol giống như hợp chất **SL7** với 1 tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 175,9, 2 tín hiệu của carbon bậc 4 lai hoá sp^2 liên kết với oxy tại δ_C 146,9 và 135,8. Trên phổ NMR của hợp chất **SL8** không quan sát thấy tín hiệu của đường như hợp chất **SL7**, vì vậy hợp chất **SL8** thuộc nhóm hợp chất flavonol không thể glycoside. Dữ liệu phổ của **SL8** (Bảng 4.6) được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất quercetin [83] cho thấy sự tương đồng. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SL8** chính là quercetin.

4.1.1.9. Hợp chất **SL9**: Kaplanin



Hình 4.22. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC và COSY của hợp chất **SL9**

Hợp chất **SL9** thu được ở dạng tinh thể hình kim màu vàng, công thức phân tử của nó là $C_{22}H_{22}O_9$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS với mảnh ion giả phân tử tại m/z 431,1338 $[M+H]^+$. Trên phổ 1H NMR của hợp chất **SL9** xuất hiện tín hiệu của một vòng thơm thế mono tại δ_H 8,19 (2H, d, $J = 7,8$ Hz), 7,56 (2H, d, $J = 7,8$ Hz) và 7,64 (1H, t, $J = 7,8$ Hz) (vòng B), một tín hiệu đơn tại δ_H 6,56 (1H, s) của proton vòng thơm thế 5 nhóm thế (vòng A), tín hiệu của proton nhóm methoxy tại δ_H 3,89 (3H, s), một proton olefin tại δ_H 7,02 (1H, s, H-3) và proton anomer tại δ_H 4,75 (d, $J = 9,6$ Hz). Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy các tín hiệu đặc trưng của đường glucose với bộ tín hiệu trong khoảng δ_C (61,3- 82,0)/ δ_H (3,27-4,75) và tín hiệu của proton anomer tại δ_H 4,75 tương ứng với carbon tại δ_C 73,2 cho thấy hợp chất **SL9** này là dẫn chất C-monosaccharide. Điều này được giải thích là do độ dịch chuyển hóa học của tín hiệu trên phổ carbon của **SL9** nằm ở phía trường cao δ_C 73,2, khác so với hợp chất **SL6** thế O-glycoside có độ dịch chuyển hóa học nằm ở vùng trường thấp δ_C 101,7. Hằng số tương tác lớn $J_{1'',2''} = 9,6$ Hz của proton anomer δ_H 4,75 chứng tỏ liên kết của đường là dạng β . Vị trí thế của phần tử đường này được xác định là gắn với C-8 dựa vào tương tác trên phổ HMBC giữa H-1'' (δ_H 4,75) với C-8 (δ_C 105,9)/C-7 (δ_C 163,9)/C-9 (δ_C 155,4) và giữa H-2'' (δ_H 3,86) với C-8.

Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL9** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)
2	165,0	163,7	-	1'	132,3	131,0	-
3	105,5	104,8	7,02 (s)	2'	127,9	127,0	8,19 (d, 7,8)
4	183,6	182,6	-	3'	129,9	129,1	7,56 (d, 7,8)
5	163,2	161,4	-	4'	132,8	132,2	-
6	95,3	95,3	6,56 (s)	5'	129,9	129,1	7,56 (d, 7,8)
7	165,2	163,9	-	6'	127,9	127,0	8,19 (d, 7,8)
8	105,9	105,9	-	1''	72,0	73,2	4,75 (d, 9,6)
9	156,8	155,4	-	2''	74,5,	70,9	3,86 (dd, 9,6, 9,0)
10	106,5	104,8	-	3''	80,3	78,7	3,27 (t, 9,0)
OCH ₃	56,9	56,7	3,89 (s)	4''	72,5	70,6	3,42 (t, 9,0)
5-OH	-	-	13,2 (s)	5''	82,5	82,0	3,26 (m)
				6''	62,9	61,3	3,57 (dd, 12,0, 6,0) 3,79 (dd, 12,0, 1,8)

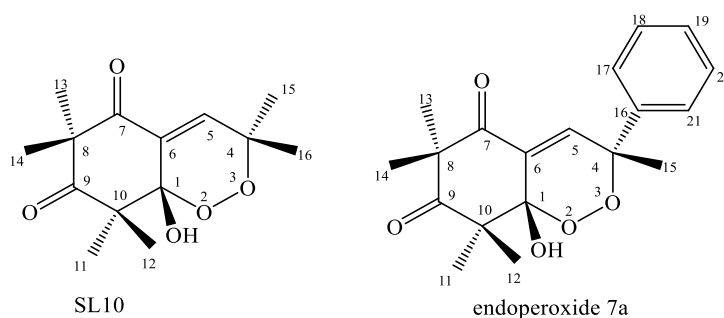
^ađo trong DMSO-d₆, ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất kaplanin đo trong $(CD_3)_2CO$ [88].

Nhóm methoxy được xác định là thế tại C-7 do xuất hiện tương tác trên phổ HMBC giữa proton của methoxy δ_H 3,89 (3H, s) với C-7 (δ_C 163,9), còn nhóm

hydroxy vì vậy được cho là thế tại vị trí C-5. Điều này được khẳng định nhờ tương tác trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ_H 6,56) với C-5 (δ_C 161,4)/ C-7 (δ_C 163,9)/ C-8 (δ_C 105,9)/ C-10 (δ_C 104,8). Trên phổ 1H - 1H COSY cho thấy tương tác giữa các proton cạnh nhau như H-1'' (δ_H 4,75)/H-2'' (δ_H 3,86)/H-3'' (δ_H 3,27)/H-4'' (δ_H 3,42)/H-5'' (δ_H 3,26)/H-6'' (δ_H 3,57/3,79) của phân đường glucose và H-2', H-6' (δ_H 8,19)/H-3', H5' (δ_H 7,56)/H-4' (δ_H 7,64) của vòng B trong phần flavonone aglycone. Dữ liệu phổ của hợp chất **SL9** (Bảng 4.7) được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất kaplanin [88] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SL9** chính là kaplanin.

4.1.1.10. Hợp chất **SL10**: Endoperoxide G3

Hợp chất **SL10** thu được ở dạng dầu không màu, công thức phân tử là $C_{14}H_{20}O_5$ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào mảnh ion giả phân tử m/z 267,1241 $[M-H]^-$.



Hình 4.23. Cấu trúc hóa học của **SL10** và chất tham khảo endoperoxide 7a

Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL10** và hợp chất tham khảo endoperoxide 7a

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	97,5	97,8	-	12	15,0	15,8	1,28 (s)
4	82,3	80,0	-	13	24,3	24,7	1,38 (s)
5	141,6	144,4	7,21 (s)	14	26,7	27,0	1,49 (s)
6	132,4	133,1	-	15	26,2	24,2	1,33 (s)
7	198,6	200,0	-	16	141,4	23,5	1,35 (s)
8	55,0	55,7	-	17, 21	128,1	-	-
9	210,7	212,9	-	18, 20	128,6	-	-
10	51,9	53,2	-	19	125,6	-	-
11	20,6	21,7	1,05 (s)				

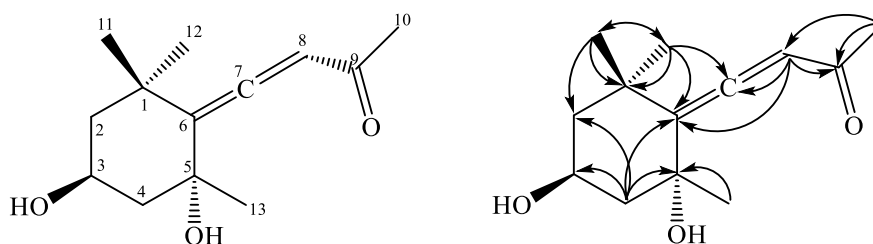
^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, [#] δ_C số liệu của hợp chất endoperoxide 7a đo trong $CDCl_3$ [89].

Trên phổ 1H NMR của **SL10** xuất hiện 6 tín hiệu singlet tại vùng trường cao trong khoảng δ_H 1,05-1,49 ppm là của các proton nhóm methyl, một tín hiệu singlet của proton nhóm olefin xuất hiện tại δ_H 7,21 (s). Trên phổ ^{13}C NMR cũng cho thấy 2

tín hiệu ở vùng trường rất thấp δ_C 212,9 và 200,0 là của 2 nhóm carbonyl, 2 tín hiệu của carbon olefin (C=C) tại δ_C 131,1 và 144,4; 2 carbon lai hóa sp^3 liên kết với oxy tại δ_C 80,0 và 97,8; 6 carbon nhóm methyl tại vùng trường cao (δ_C 15,8-27,0). Khi so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL10** với dữ liệu phổ NMR của hợp chất tổng hợp endoperoxide **7a** [89] cho thấy có sự tương đồng ở 1 phần cấu trúc. Điểm khác biệt ở đây là hợp chất endoperoxide **7a** có 1 nhóm phenyl [δ_C 125,6, 128,1 (2C), 128,6 (2C), 141,4] và 1 nhóm methyl δ_C 26,2 gắn với C-4 thay vì 2 nhóm methyl như trong hợp chất **SL10**, Từ kết quả phổ NMR của **SL10** và so sánh với hợp chất endoperoxide **7a** [89] có thể xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **SL10** là endoperoxide G3 [90]. Theo tra cứu của chúng tôi, đây là lần đầu tiên số liệu phổ NMR của hợp chất endoperoxide G3 được công bố.

4.1.1.11. Hợp chất **SL11**: Grasshopper ketone

Hợp chất **SL11** thu được dạng bột vô định hình, công thức phân tử $C_{13}H_{20}O_3$ được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 225,1485 $[M+H]^+$ và m/z 247,1302 $[M+Na]^+$.



Hình 4.24. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL11**

Trên phổ 1H NMR xuất hiện 4 tín hiệu singlet tại vùng trường cao δ_H 1,17 (3H, s), 1,40 ($2 \times 3H$, s), 2,21 (3H, s). Trong đó nhóm methyl tại δ_H 2,21 liên kết với nhóm hút điện tử làm giảm mật độ che chắn nên cộng hưởng từ dịch về phía trường thấp hơn so với 3 nhóm còn lại. Tín hiệu singlet của proton xuất hiện tại vùng trường thấp δ_H 5,85 (s) là của proton nhóm methine olefin. Trên phổ HSQC và ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 5 carbon bậc 4 tại δ_C 200,8 (C=O), δ_C 211,5, 120,0 (carbon olefin), δ_C 72,4 (carbon liên kết oxy) và δ_C 37,0; 2 nhóm methylene (CH_2) tại δ_C 49,9 và 49,7; 4 nhóm methyl (CH_3) tại δ_C 26,5, 29,3, 30,8, 32,3 và 1 nhóm methine tại δ_C 101,1 (Bảng 4.9).

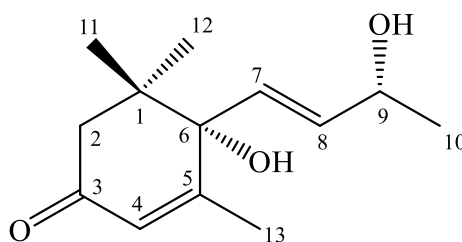
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL11** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	37,0	37,0	-
2	49,9	49,9	1,95 (ddd, 12,6, 4,2, 2,4) 1,42 (dd, 12,6, 11,4)
3	64,4	64,4	4,24 (m)
4	49,7	49,7	2,22 (ddd, 12,0, 4,2, 1,8) 1,36 (dd, 12,0, 11,4)
5	72,4	72,4	-
6	119,9	120,0	-
7	211,5	211,5	-
8	101,1	101,1	5,85 (s)
9	200,9	200,8	-
10	26,5	26,5	2,21 (s)
11	29,3	29,3	1,17 (s)
12	32,3	32,3	1,40 (s)
13	30,8	30,8	1,40 (s)

^ađo trong CD_3OD ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất grasshopper ketone đo trong CD_3OD [91].

Trên phổ HMBC xuất hiện tương tác giữa δ_H 2,21 (H-10) với δ_C 101,1 (C-8)/ 200,8 (C-9) đã xác định nhóm methyl liên kết với C=O (C-9), tương tác giữa H-12 (δ_H 1,40)/H-11 (δ_H 1,17) với C-1 (δ_C 37,0)/ C-6 (δ_C 120,0)/ C-2 (δ_C 49,9) xác định 2 nhóm methyl cùng gắn trên 1 carbon (C-1) và tương tác giữa H-13 (δ_H 1,40) với C-5 (δ_C 72,4)/ C-4 (δ_C 49,7)/ C-6 (δ_C 120,0) xác định nhóm methyl gắn với carbon bị oxy hóa (C-5). Tương tác giữa H-8 (δ_H 5,85) với C-7 (δ_C 211,5)/ C-9 (δ_C 200,8)/ C-6 (δ_C 120,0)/ C-5 (δ_C 72,4)/ C-1 (δ_C 37,0)/ C-11 (δ_C 29,3)/ C-10 (δ_C 26,5), giữa H-3 (δ_H 4,24) với C-2 (δ_C 49,9)/ C-4 (δ_C 49,7)/ C-1/C-5 đã xác định vị trí liên kết của carbon olefin C-6/C-7 và 2 nhóm hydroxyl tại C-3 và C-5. Dữ liệu phổ NMR của **SL11** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất grasshopper ketone [91] cho thấy sự trùng khớp. Vì vậy, hợp chất **SL11** được xác định là grasshopper ketone.

4.1.1.12. Hợp chất **SL12**: Vomifoliol



Hình 4.25. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL12**

Hợp chất **SL12** thu được ở dạng bột màu trắng, công thức phân tử là $C_{13}H_{20}O_3$ được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 225,1484 $[M+H]^+$ và m/z 247,1307 $[M+Na]^+$. Trên phổ 1H NMR xuất hiện tín hiệu của proton 2 nhóm methyl geminal tại δ_H 1,03 (3H, s, H-11) và 1,06 (3H, s, H-12), 2 nhóm methyl khác tại δ_H 1,26/1,27, 1,94/1,93, các proton olefin tại δ_H 5,82 (1H, t, $J = 4,8, 2,4$ Hz, H-7), 5,81 (1H, t, $J = 4,2, 2,4$ Hz, H-8), 5,89 (1H, s).

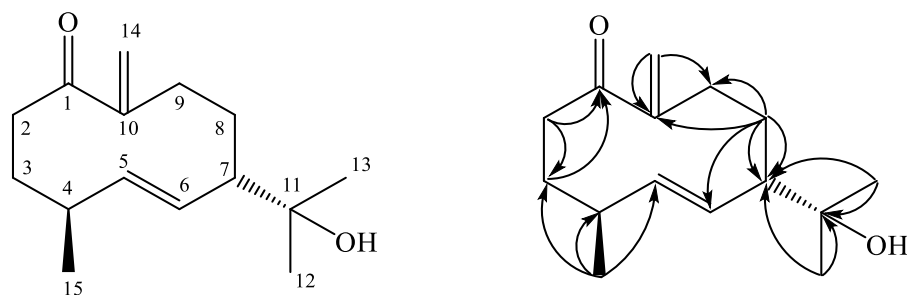
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL12** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	42,4	41,1	-
2	50,7	49,4	2,51 (16,8) 2,19 (16,8)
3	201,2	199,9	-
4	127,1	125,7	5,89 (s)
5	167,4	166,1	-
6	79,9	78,6	-
7	129,9	128,7	5,82 (16,0)
8	136,9	135,57	5,81 (t, 16,0, 6,5)
9	68,6	67,3	4,34 (m)
10	23,4	22,1	1,26 (d, 6,0)
11	23,8	22,46	1,03 (s)
12	24,5	23,12	1,06 (s)
13	19,6	18,2	1,93 (s)

^ađo trong CD_3OD ^b150MHz, ^c600MHz, [#] δ_C số liệu của hợp chất vomifoliol đo trong CD_3OD [91].

Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 199,9 (C-3); 4 carbon của nhóm methyl tại δ_C 18,20, 22,10, 22,46, 23,12; 4 nhóm methine tại δ_C 128,7, 135,57, 125,7, 166,1 cho thấy trong hợp chất có chứa 2 liên kết đôi. Bên cạnh đó cũng xuất hiện tín hiệu của carbon lai hóa sp^3 liên kết oxy tại δ_C 78,59 và 67,3. Nối đôi C-7/C-8 có cấu hình *trans* do hằng số tương tác $^3J_{HH} = 16,0$ Hz. Độ quay cực dương của hợp chất **SL12** ($[\alpha]_D^{25} : +218$) phù hợp với giá trị tương ứng của (+)-vomifoliol ($[\alpha]_D^{25} : +197,8$) [92]. Từ những phân tích phổ NMR, phổ khối lượng và các thông số vật lý nêu trên của hợp chất **SL12** kết hợp so sánh dữ liệu tương ứng của hợp chất (+)-vomifoliol [91] có thể kết luận hợp chất **SL12** chính là (+)-vomifoliol (Bảng 4.10).

4.1.1.13. Hợp chất **SL13**: Litseagermacrane



Hình 4.26. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL13**

Hợp chất **SL13** thu được ở dạng keo không màu, công thức phân tử là $C_{15}H_{24}O_2$ được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao dựa HR-ESI-MS vào pic ion giả phân tử m/z 237,1849 $[M+H]^+$ và m/z 259,1671 $[M+Na]^+$. Cấu trúc của hợp chất **SL13** được xác định bằng phổ 1H , ^{13}C NMR, HSQC, HMBC. Phổ HSQC đã xác định các carbon liên kết trực tiếp với hydro (Bảng 4.11).

Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL13** và hợp chất tham khảo

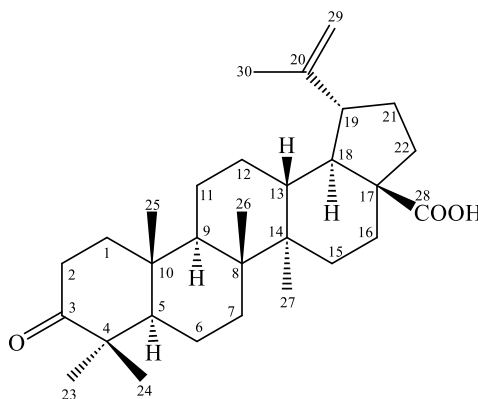
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	206,1	206,1	-
2	37,7	37,7	2,86 (ddd, 15,6, 15,6, 2,4) 2,30 (ddd, 15,6, 6,0, 2,4)
3	37,2	37,2	1,80 (m) 2,04 (ddd, 15,6, 15,6, 1,2)
4	41,0	40,9	2,1 (m)
5	142,9	142,8	4,99 (dd, 15,6, 6,0)
6	130,3	130,4	5,04 (dd, 15,6, 6,0)
7	56,9	56,9	1,93
8	32,8	32,8	1,34 (ddd, 15,6, 15,6, 2,4)/2,18 (m)
9	28,9	28,9	2,55 (dd 13,2, 13,0) 2,26 (m)
10	155,4	155,4	-
11	71,7	71,7	-
12	27,1	26,8	1,13 (s)
13	26,8	27,2	1,09 (s)
14	119,7	119,7	5,49 (s) 5,64 (s)
15	20,6	20,6	0,98 (d, 6,0)

^ađo trong $CDCl_3$, ^b150MHz, ^c600MHz, [#] δ_C số liệu của hợp chất listeagermacran đo trong $CDCl_3$ [93].

Trên phổ 1H NMR xuất hiện 2 tín hiệu singlet của nhóm methyl tại δ_H 1,13 (3H, s), 1,09 (3H, s), 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl δ_H 0,98 (3H, d, $J = 6,0$ Hz) liên kết với carbon chứa 1 hydro; 4 tín hiệu của proton olefin tại δ_H 5,49 (s)/5,64 (s), 4,99 (m), 5,04 (m); tín hiệu của 4 nhóm methylene tại δ_H (2,86/2,30), (2,04/1,80), (2,18/ 1,34), (2,55/2,26). Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu tại δ_C 206,1 là của

nhóm carbonyl, 3 nhóm methyl tại δ_C 26,8, 27,2, 20,6, 4 carbon olefin tại 119,7, 155,4, 142,8 và 130,4, 1 carbon bị oxy hóa tại δ_C 71,7. Trên phổ HMBC xuất hiện tương tác giữa H-2 (δ_H 2,86, 2,30) với C-1 (206 δ_C ,1)/C-3 (δ_C 37,2), H-14 (δ_H 5,49, 5,64) với C-1/C-10 (δ_C 155,4)/ C-9 (δ_C 28,9), xác định vị trí nhóm methylene olefin liên kết với C-10 và nhóm carbonyl ở C-1. Ngoài ra còn có tương tác HMBC giữa H-8 (δ_H 1,34, 2,18) với C-9 (δ_C 28,9)/C-10 (δ_C 155,4)/ C-7 (δ_C 56,9)/ C-6 (130,4). Các tương tác HMBC này đã gợi ý cấu trúc vòng 10 cạnh của hợp chất **SL13**. Vị trí của các nhóm thế cũng được xác định bằng phổ tương tác HMBC giữa H-13 (δ_H 1,09)/H-12 (δ_H 1,13) với C-11 (δ_C 71,7)/C-7 (δ_C 56,9) cho thấy 2 nhóm methyl gắn trực tiếp với C-11 tạo thành nhóm 1- hydroxyl-methylethyl và nhóm này liên kết với C-7 của vòng. Nhóm methyl (CH₃-15) được xác định gắn với C-4 do tương tác HMBC giữa H-15 (δ_H 0,98) với C-4 (δ_C 40,9)/C-5 (δ_C 142,8)/C-3 (δ_C 37,2). Các dữ liệu phổ của **SL13** được so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất listeagermacrane cho thấy sự phù hợp[93]. Vì vậy, hợp chất **SL13** được xác định là listeagermacrane, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Litsea vericillata* năm 2003.

4.1.1.14. Hợp chất **SL14**: Betulonic acid



Hình 4.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL14**

Hợp chất **SL14** thu được dạng tinh thể không màu, công thức hóa học là C₃₀H₄₆O₃ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 455,3521 [M+H]⁺, m/z 472,3768 [M+NH₄]⁺ và m/z 477,3398 [M+Na]⁺. Trên phổ ¹H NMR của **SL14** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một triterpene thuộc nhóm lupane, bao gồm: 6 nhóm methyl với các tín hiệu singlet tại δ_H 0,93, 0,98, 0,99, 1,02, 1,07 và 1,69; 2 tín hiệu singlet của các proton olefin tại δ_H 4,61 và 4,74 được gán cho H₂-29 của hợp chất lup-20,29-en [94, 95]. Phổ ¹³C NMR cũng

cho tín hiệu của 30 carbon đặc trưng của hợp chất lupane. Liên kết đôi C-20/C-29 được xác định tại δ_C 150,4 và 109,7, nhóm carboxyl xác định tại δ_C 179,5 và carbon ketone tại δ_C 218,2 (C-3).

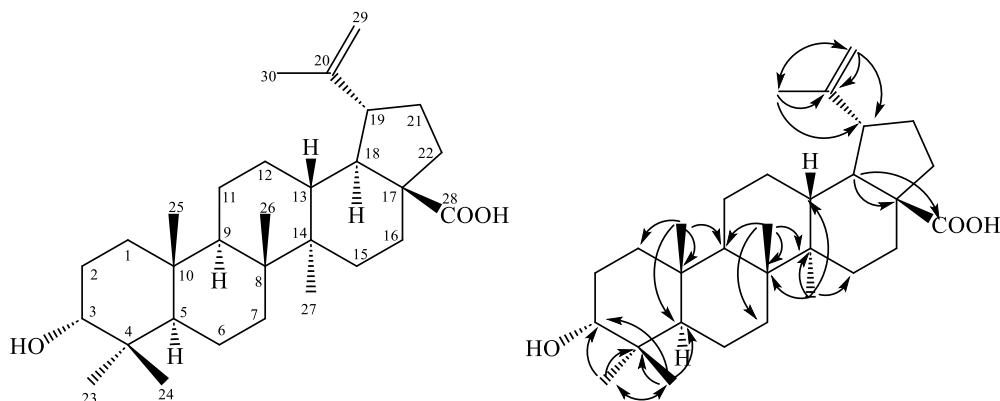
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL14** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, J = Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, J = Hz)
1	39,5	39,6	1,22 (m), 1,52 (m)	16	32,0	32,1	1,41 (m), 2,28 (m)
2	34,0	34,0	2,38 (m), 2,50 (m)	17	56,3	56,3	-
3	218,0	218,2	-	18	49,1	49,2	1,63 (dd, 11,4)
4	47,2	47,3	-	19	46,8	46,9	3,00 (m)
5	54,9	55,0	-	20	150,2	150,4	-
6	19,5	19,7	1,36 (m), 1,38 (m)	21	29,6	29,7	1,18 (m), 1,53 (m)
7	33,5	33,7	1,34 (m), 1,44 (m)	22	36,8	36,9	1,47 (m), 1,96 (m)
8	40,6	40,7	-	23	26,5	26,7	1,07 (s)
9	49,8	49,9	1,40 (m)	24	20,9	21,0	0,98 (s)
10	36,8	37,0	-	25	15,8	16,0	1,02 (s)
11	21,3	21,4	1,25 (m), 1,40 (m)	26	15,7	15,8	0,93 (s)
12	25,4	25,5	1,70 (m), 1,90 (m)	27	14,5	14,6	0,99 (s)
13	38,4	38,4	2,24 (ddd, 12,6, 12,6, 3,0)	28	181,7	179,5	-
14	42,4	42,5	-	29	109,6	109,7	4,61 (s), 4,74 (s)
15	30,5	30,6	1,39 (m), 1,98 (m)	30	19,2	19,4	1,69 (s)

^ađo trong $CDCl_3$, ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất betulonic acid đo trong $CDCl_3$ [94].

Các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL14** (Bảng 4.12) được so sánh với dữ liệu phổ NMR của hợp chất betulonic acid [94] cho thấy sự phù hợp. Do đó có thể kết luận hợp chất **SL14** chính là betulonic acid, hợp chất đã được phân lập từ loài *Viburnum awabuki* [96].

4.1.1.15. Hợp chất **SL15**: 3-Epi-betulonic acid



Hình 4.28. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL15**

Hợp chất **SL15** thu được ở dạng tinh thể, không màu. Phổ ^1H và ^{13}C NMR của **SL15** cũng giống với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất **SL14** ngoại trừ carbon ketone trong hợp chất **SL14** được thay thế bằng carbon carbinol δ_{C} 76,3 (C-3) (Bảng 4.13). Điều này được khẳng định bằng phổ HSQC và HMBC. Trên phổ HMBC xuất hiện tương tác giữa H_3 -23 và H_3 -24 và C-3(δ_{C} 76,3)/C-4 (δ_{C} 37,5)/C-5 (δ_{C} 49,1) (Hình 4.28).

Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL15** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	34,0	33,3	1,21 (m), 1,39 (m)	16	32,8	32,3	1,40 (m), 2,27 (m)
2	23,2	25,4	1,53 (m), 1,05 (dd, 13,2, 3,5)	17	56,6	56,4	-
3	75,5	76,3	3,39 (dd, 3,0, 2,4)	18	47,7	47,3	1,61 (dd, 11,4, 11,4)
4	39,0	37,5	-	19	49,7	47,0	3,00 (m)
5	49,3	49,1	1,20 (m)	20	151,2	150,6	-
6	18,6	18,3	1,35 (m), 1,39 (m)	21	29,9	29,7	1,18 (m), 1,53 (m)
7	34,8	34,2	1,33 (m), 1,44 (m)	22	35,7	37,1	1,47 (m), 1,96 (m)
8	41,3	40,9	-	23	29,2	28,2	0,93 (s)
9	50,7	50,3	1,40 (m)	24	22,5	22,1	0,82 (s)
10	37,7	37,4	-	25	16,4	15,9	0,84 (s)
11	21,0	20,7	1,24 (m), 1,39 (m)	26	16,4	16,1	0,94 (s)
12	26,1	25,5	1,70 (m), 1,93 (m)	27	14,9	14,8	0,99 (s)
13	38,5	38,4	2,20 (ddd, 12,6, 12,6, 3,0)	28	178,7	181,0	-
14	42,9	42,5	-	29	109,8	109,6	4,61 (s), 4,74 (s)
15	31,2	30,6	1,39 (m), 1,98 (m)	30	19,4	19,4	1,69 (s)

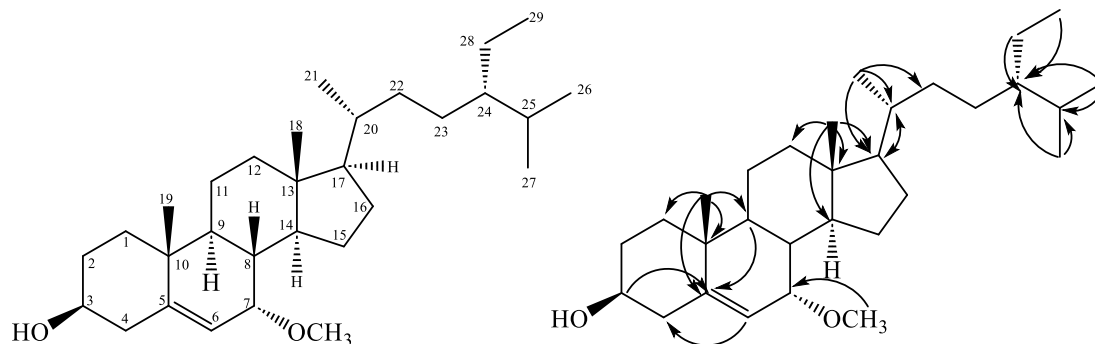
^ađo trong CDCl_3 , ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của hợp chất 3-epibetulinic acid đo trong $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ [97].

Hơn nữa, độ dịch chuyển hoá học của C-3 về phía trường cao hơn (δ_{C} 76,3) và hằng số tương tác nhỏ ($J = 2,4$ -3,0 Hz) đã xác định định hướng α /axial của nhóm hydroxy tại C-3 (hay định hướng H-3 là β /equatorial). Định hướng liên kết này khác với định hướng β -OH tại carbon C-3 có độ dịch chuyển hoá học về phía trường thấp hơn $\delta \sim 79.0$ ppm) [97]. Từ dữ liệu phổ của hợp chất **SL15** kết hợp so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất 3-*epi*-betulinic acid [97] có thể kết luận hợp chất **SL15** chính là 3-*epi*-betulinic acid.

4.1.1.16. Hợp chất **SL16**: 7 α -Methoxy-stigmast-5-en-3 β -ol (Schleicheol 2)

Hợp chất **SL16** thu được dạng tinh thể hình kim. Trên phổ ^1H NMR xuất hiện 6 tín hiệu đặc trưng của nhóm methyl từ 0,66-0,99 trong đó 2 tín hiệu singlet tại δ_{H} 0,66 (3H, s) và 0,99 (3H, s) là đặc trưng của nhóm methyl liên kết với carbon bậc 4, 3 tín hiệu kép của nhóm methyl tại δ_{H} 0,93, 0,82, 0,84 (mỗi tín hiệu của 3H, d, $J =$

6,0 Hz) liên kết với carbon bậc 3, và 1 tín hiệu triplet của nhóm methyl tại δ_H 0,85 (3H, t, $J = 6,0$ Hz) liên kết với carbon bậc 2.



Hình 4.29. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL16**

Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL16** và hợp chất tham khảo

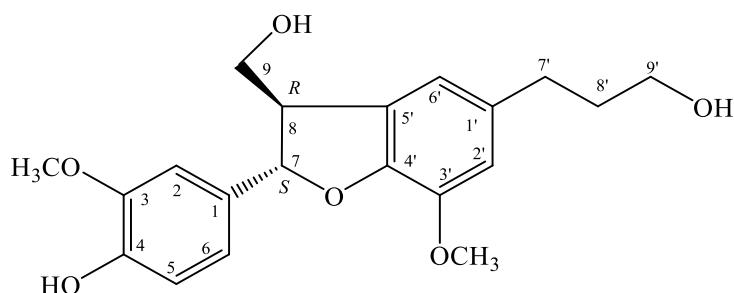
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,7	36,8	1,16, 1,82	16	28,3	28,3	1,25 (m), 1,89 (m)
2	31,5	31,5	1,52, 1,83	17	55,7	55,7	1,18
3	71,4	71,4	3,62 (m)	18	11,5	11,5	0,66 (s)
4	42,3	42,3	2,92 (dd, 12,6, 10,8) 2,35(ddd, 12,6, 4,8, 2,4)	19	18,3	18,3	0,99 (s)
5	146,1	146,1	-	20	36,2	36,2	1,36 (m)
6	120,8	120,8	5,73 (dd, 5,4, 1,8)	21	18,8	18,8	0,93 (d, 6,0)
7	73,9	73,9	3,30 (br s)	22	33,9	34,0	1,03, 1,33
8	37,2	37,2	1,49 (m)	23	26,0	26,1	1,27, 1,88
9	42,7	42,8	1,32	24	45,8	45,9	0,92
10	37,4	37,5	-	25	29,1	29,2	1,67 (m)
11	20,8	20,8	1,45, 1,50	26	19,0	19,0	0,82 (d, 6,0)
12	39,0	39,1	1,28 (m), 1,96 (ddd, 12,0, 6,6, 3,0)	27	19,8	19,8	0,84 (d, 6,0)
13	42,1	42,1	-	28	23,1	23,1	1,22 (m), 1,31 (m)
14	49,1	49,1	1,50	29	12,0	12,0	0,85 (t, 6,0)
15	24,3	24,3	1,08, 1,62	OCH ₃	56,8	56,3	3,36 (s)

^ađo trong CDCl₃, ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất schleicheols 2 đo trong CDCl₃ [98].

Ngoài ra, trên phổ proton còn xuất hiện tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_H 3,36 (3H, s), một proton nhóm olefin tại δ_H 5,73 (1H, dd, $J = 5,4, 1,8$ Hz), một nhóm methine carbinol tại δ_H 3,62 (1H, m). Trên phổ ¹³C NMR cũng thấy xuất hiện tín hiệu của 30 carbon bao gồm tín hiệu của 2 carbon liên kết đôi tại δ_C 146,1 và 120,8, 2 carbon liên kết với oxy tại δ_C 71,4 và 73,9 và một tín hiệu của nhóm methoxy tại δ_C 56,3. Dữ liệu phổ proton, carbon và HSQC (Bảng 4.14) đã gợi ý **SL16** là hợp chất

sterol [98]. Vị trí của nhóm methoxy liên kết với carbon C-7 được xác định bằng tương tác trên phổ HMBC giữa proton của nhóm methoxy δ_{H} 3,36 với C-7 (δ_{C} 73,9). Proton $\text{H}_{\alpha\text{-}4}$ xuất hiện dưới dạng tín hiệu doublet doublet tại 2,92 ($J = 12,6, 10,8$ Hz) xác định hằng số tương tác giữa H-3 và $\text{H}_{\alpha\text{-}4}$ $J_{\text{H-3/H-4ax}} = 10,8$ Hz chứng tỏ H-3 định hướng α/axial . Proton H-7 xuất hiện dưới dạng tín hiệu broad singlet tại δ_{H} 3,30 cho thấy proton này định hướng $\beta/\text{equatorial}$ và do đó nhóm methoxy định hướng α . Dữ liệu phổ NMR của **SL16** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất $7\alpha\text{-methoxy-stigmast-5-en-3}\beta\text{-ol}$ (hay schleicheols 2) [98] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SL16** chính là $7\alpha\text{-methoxy-stigmast-5-en-3}\beta\text{-ol}$.

4.1.1.17. Hợp chất **SL17**: (7*S*,8*R*)-Dihydrodehydrodiconiferyl alcohol



Hình 4.30. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL17**

Hợp chất **SL17** thu được dạng tinh thể không màu, công thức phân tử là $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ được xác định bằng phương pháp phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS với các pic ion giả phân tử m/z 361,1659 $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 378,1918 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, m/z 383,1465 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 359,1502 $[\text{M}-\text{H}]^-$, m/z 395,1267 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$. Phổ ^1H NMR của hợp chất **SL17** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của hệ proton vòng thơm thể kiểu ABX [δ_{H} 6,78 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5), 6,85 (1H, dd, $J = 8,4, 1,8$ Hz, H-6), 6,97 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2)] và 1 tín hiệu singlet tại δ_{H} 6,75 (2H, s, H-2', H-6') của vòng benzene thế 4 nhóm ở vị trí 1', 3', 4', 5' [99]. Ngoài ra, trên phổ proton còn xuất hiện tín hiệu của 2 nhóm methoxy tại δ_{H} 3,83 và 3,87 (mỗi tín hiệu của 3H, s), 2 nhóm methylene liên kết với oxy tại δ_{H} 3,77/3,85 và δ_{H} 3,59 (2H, t, $J = 6,0$ Hz). Phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **SL17** cũng cho thấy tín hiệu của 20 carbon bao gồm 12 carbon của 2 vòng thơm trong khoảng δ_{C} 110,6-149,1, 2 nhóm methoxy tại δ_{C} 56,4 và 56,8, 1 nhánh propanol ở vùng trường cao tại δ_{C} 32,9, 35,8 và 62,2, và 1 nhóm

methylene liên kết oxy tại δ_C 65,0. Những dữ liệu phổ này gợi ý cấu trúc của hợp chất **SL17** là một neolignan.

Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL17** và hợp chất tham khảo

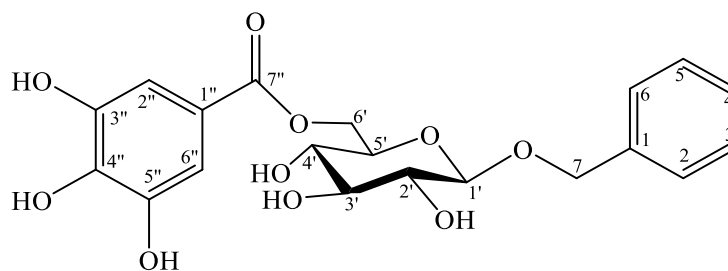
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)
1	134,8	134,8	-	1'	136,9	136,9	-
2	110,4	110,6	6,97 (d, 1,8)	2'	114,0	114,2	6,75 (s)
3	149,1	149,1	-	3'	145,2	145,2	-
4	147,5	147,6	-	4'	147,5	147,5	-
5	116,1	116,1	6,78 (d, 8,4)	5'	129,8	129,9	-
6	119,7	119,7	6,85 (dd, 8,4, 1,8)	6'	117,9	117,9	6,75 (s)
7	89,0	89,0	5,51 (d, 6,0)	7'	32,9	32,9	2,65 (2H, t, 7,0)
8	55,5	55,4	3,49 (m)	8'	35,8	35,8	1,84 (2H, m)
9	65,0	65,0	3,85 (dd 11,4, 5,0) 3,77 (dd, 11,4, 5,0)	9'	62,2	62,2	3,59 (2H, t, 7,0)
3-OCH ₃	56,4	56,4	3,83 (3H, s)	3'-OCH ₃	56,8	56,8	3,87 (3H, s)

^ađo trong CD₃OD ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất (7S,8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol đo trong CD₃OD [99].

Bên cạnh đó hằng số tương tác lớn $J_{7,8} = 6,0$ Hz xác định vị trí giữa 2 proton H-7 và H-8 là *trans*. Phổ ECD của **SL17** có hiệu ứng Cotton dương (+0,78 mdeg) tại 243nm và (+0,43 mdeg) tại 291 nm phù hợp hiệu ứng Cotton dương tại 242 nm và 293 nm của hợp chất (7S,8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9'-O- β -glucoside [100] nhưng ngược hiệu ứng Cotton âm tại 242 nm và 294 nm của hợp chất (7R, 8S)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol trong [101] đã khẳng định cấu hình (7S,8R) của **SL17**. Từ dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL17** kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất dihydrodehydrodiconiferyl alcohol [99] có thể kết luận hợp chất **SL17** chính là (7S,8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol, hợp chất đã được phân lập từ loài *Viburnum awabuki* năm 1996 [102].

4.1.1.18. Hợp chất **SL18**: Benzyl-6'-O-galloyl- β -D-glucopyraniside

Hợp chất **SL18** thu được có dạng bột vô định hình màu trắng, công thức phân tử C₂₀H₂₂O₁₀ được xác định bằng phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào píc ion giả phân tử m/z 421,1140 [M-H]⁻ và m/z 457,0894 [M+Cl]⁻.



Hình 4.31. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL18**

Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL18**, **SL19** và hợp chất tham khảo

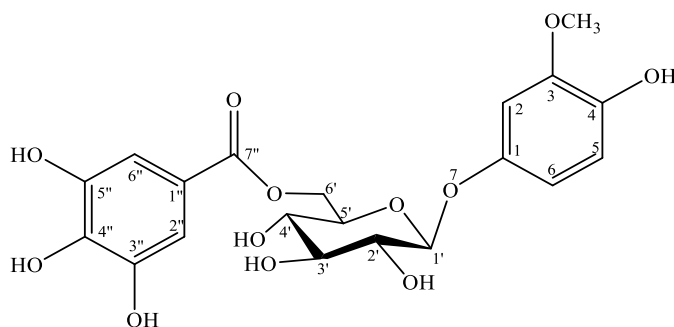
C	Hợp chất SL18			Hợp chất SL19		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^*	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	138,9	138,6	-	151,9	152,7	-
2	128,7	129,3	7,35 (d, 8,4)	102,7	104,0	6,72 (d, 2,4)
3	128,9	129,2	7,28 (d, 8,4)	148,4	149,2	-
4	128,2	128,7	7,23 (t, 8,4)	142,3	143,1	-
5	128,9	129,2	7,28 (d, 8,4)	115,7	116,1	6,64 (d, 8,4)
6	128,7	129,3	7,35 (d, 8,4)	109,2	110,2	6,59 (dd, 8,4, 2,4)
7	70,9	71,8	4,62 (d, 12,0) 4,81 (d, 12,0)	-	-	-
1'	102,9	103,0	4,36 (d, 7,2)	103,3	104,0	4,75 (d, 7,8)
2'	74,7	75,0	3,30 (dd, 9,0, 7,2)	74,2	75,0	3,45 (dd, 9,0, 7,8)
3'	77,0	77,9	3,39 (t, 9,0)	77,1	77,9	3,46 (t, 9,0)
4'	71,2	71,7	3,42 (t, 9,0)	71,1	71,8	3,49 (t, 9,0)
5'	75,0	75,5	3,55 (m)	74,6	75,7	3,72 (ddd, 9,0, 6,6, 1,8)
6'	64,5	64,8	4,45 (dd, 12,0, 6,0) 4,57 (dd, 12,0, 1,8)	64,6	65,0	4,45 (dd, 12,0, 6,6) 4,61 (dd, 12,0, 1,8)
1''	121,6	121,5	-	121,1	121,4	-
2''	109,8	110,3	7,14 (s)	110,0	110,3	7,12 (s)
3''	146,0	146,5	-	145,9	146,6	-
4''	138,8	139,8	-	139,0	139,9	-
5''	146,0	146,5	-	145,9	146,6	-
6''	109,8	110,3	7,14 (s)	110,0	110,3	7,12 (s)
7''	167,0	168,3	-	167,3	168,3	-
OCH ₃	-	-	-	56,2	56,4	3,72 (s)

^ađo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ số liệu của hợp chất Benzyl-6'-O-galloyl- β -D-glucopyraniside đo trong (CD₃)₂CO + D₂O [103], δ_C^* số liệu của hợp chất 3-methoxy-4-hydroxyphenol 1-O- β -D-(6'-O-galloyl)-glucopyranoside đo trong (CD₃)₂CO + D₂O [104].

Trên phổ ¹H NMR của hợp chất **SL18** xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 1 vòng benzen thế mono tại δ_H 7,35 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,28 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,23 (1H, t, $J = 8,4$ Hz), một vòng thơm của nhánh galloyl tại δ_H 7,14 (2H, s), và một proton anomer của đơn vị đường glucose tại δ_H 4,36 (d, $J = 7,2$ Hz), 2 tín hiệu oxy methylene tại δ_H 4,62/4,81 và δ_H 4,45/4,57. Trên phổ ¹³C NMR cũng cho thấy các tín

hiệu đặc trưng của vòng thơm δ_C 128,7-138,6, của đường glucose δ_C 64,8-77,9 với carbon anomer δ_C 103,0, tín hiệu nhóm carbonyl tại δ_C 168,3. Sự dịch chuyển về phía trường thấp trên phổ ^{13}C NMR của C-6' (δ_C 64,8) của phần đường glucose và C-7 (δ_C 71,8) đã gợi ý nhánh galloyl liên kết với C-6' của phần đường và phần đường liên kết với C-7 bằng liên kết ether [103]. Hằng số tương tác lớn $J = 7,2$ Hz của proton anomer tại δ_H 4,36 đã xác định liên kết của đường glucose là dạng liên kết β . Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL18** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất benzyl-6'-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside [103] cho thấy sự tương đồng. Do đó, có thể kết luận hợp chất **SL18** chính là benzyl-6'-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside.

4.1.1.19. Hợp chất **SL19**: 3-Methoxy-4-hydroxyphenol 1-*O*- β -D-(6'-*O*-galloyl)-glucopyranoside

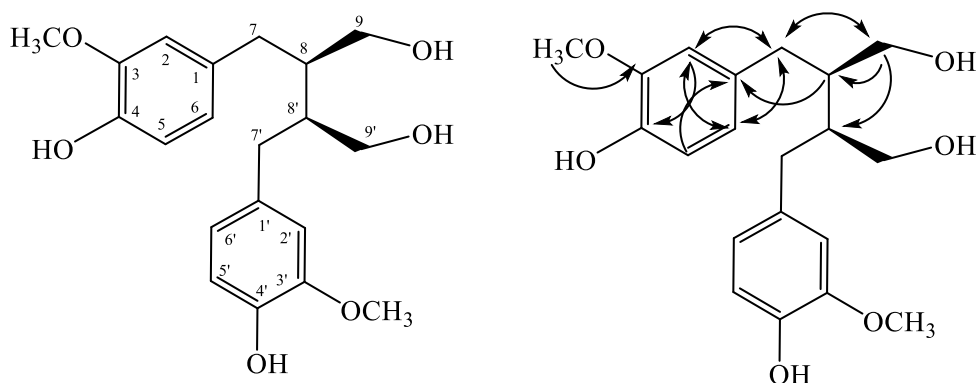


Hình 4.32. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SL19**

Hợp chất **SL19** phân lập được có dạng bột vô định hình, màu trắng. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL19** cũng giống với dữ liệu phổ tương ứng của **SL18** (Bảng 4.16) với các tín hiệu đặc trưng của một đường glucose, một nhánh galloyl và một vòng thơm. Trên phổ ^1H NMR của **SL19** xuất hiện tín hiệu của 1 vòng thơm tương tác kiểu ABX tại δ_H 6,72 (1H, d, $J_{\text{meta}} = 2,4$ Hz), 6,64 (1H, d, $J_{\text{ortho}} = 8,4$ Hz), 6,59 (1H, dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz), một nhóm methoxy với tín hiệu singlet tại δ_H 3,72 (3H, s) đã chỉ rõ sự có mặt của nhánh 3-methoxy-4-hydroxyphenol thay thế cho vòng benzene thế mono trong hợp chất **SL18**. Do đó công thức phân tử của **SL19** dự đoán là $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$, công thức này được khẳng định thông qua phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 453,1029 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Hằng số tương tác lớn $J = 7,8$ Hz của proton anomer (H-1') tại δ_H 4,75 cho phép xác định liên kết của đường là dạng β . Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SL19** (Bảng 4.16) được so sánh với dữ liệu phổ tương ứng 3-methoxy-4-hydroxyphenol 1-*O*- β -D-(6'-*O*-

galloyl)-glucopyranoside [104] cho thấy có sự tương đồng. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SL19** chính là 3-methoxy-4-hydroxyphenol 1-*O*- β -D-(6'-*O*-galloyl)-glucopyranoside.

4.1.1.20. Hợp chất **SL20**: Secoisolariciresinol



Hình 4.33. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SL20**

Hợp chất **SL20** thu được dạng bột vô định hình. Trên phổ ^1H và ^{13}C NMR của **SL20** cũng xuất hiện tín hiệu proton vòng thơm tương tác kiểu ABX tại δ_{H} 6,68 (1H, d, $J_{\text{ortho}} = 7,8$ Hz), 6,57 (1H, dd, $J = 7,8, 1,8$ Hz) và 6,61 (d, $J = 1,8$ Hz), 1 tín hiệu tại δ_{C} 56,2/ δ_{H} 3,76 (3H, s) được cho là của nhóm methoxy. Hơn nữa, các tín hiệu của nhóm oxy methylene tại δ_{C} 62,2/ δ_{H} 3,60 (2H, t, $J = 7,0$ Hz), tín hiệu của methylene [δ_{C} 36,1/ δ_{H} 2,57 (1H, dd, $J = 11,8, 7,8$ Hz) và 2,68 (1H, dd, $J = 11,8, 7,0$ Hz)] và nhóm methine lai hóa sp^3 tại δ_{C} 44,2/ δ_{H} 1,93 (m) cho thấy trong cấu trúc phân tử của **SL20** có nhánh propanol.

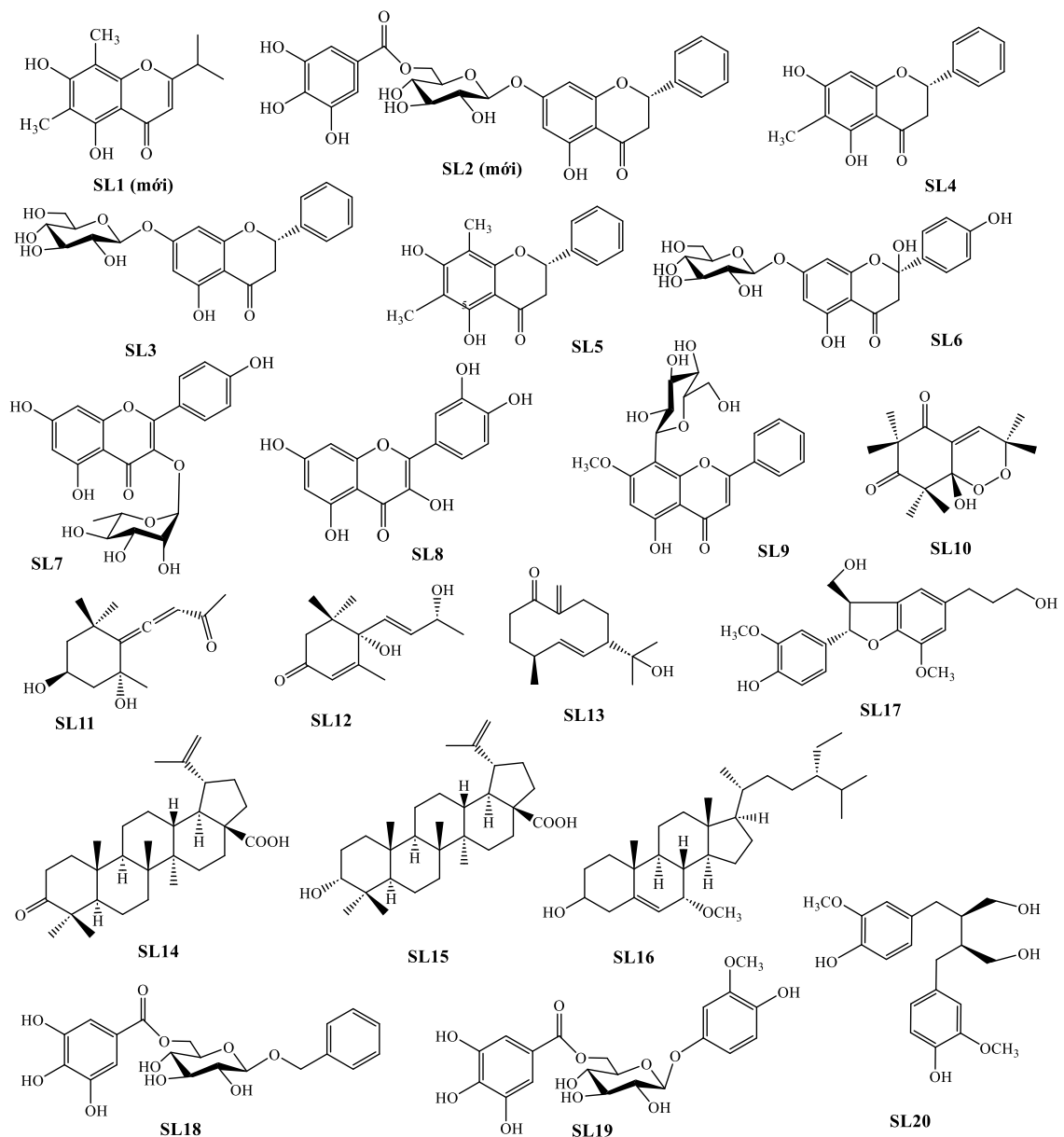
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SL20**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1, 1'	133,9	-
2, 2'	113,4	6,61 (d, 1,8)
3, 3'	145,5	-
4, 4'	148,8	-
5, 5'	115,8	6,68 (d, 7,8)
6, 6'	122,7	6,57 (dd, 7,8, 1,8)
7, 7'	36,1	2,56 (dd, 11,8, 7,0)
		2,68 (dd, 11,8, 7,0)
8, 8'	44,2	1,93 (m)
9, 9'	62,2	3,60 (t, 7,0)
3-OCH ₃ , 3'-OCH ₃	56,2	3,76 (s)

^ađo trong CD₃OD ^b125MHz, ^c500MHz

Dữ liệu phổ NMR của **SL20** nêu trên khá giống với dữ liệu tương ứng của hợp chất secoisolariciresinol [105]. Điều này được khẳng định thông qua tương tác trên phổ HMBC (Hình 4.33). Hơn nữa, khi phân tích phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **SL20** lại thấy xuất hiện các pic ion giả phân tử m/z 361,1657 $[M-H]^-$ ($\Delta = 0$ ppm) và m/z 397,1412 $[M+Cl]^-$ ($\Delta = -2,8$ ppm) đã cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất **SL20** là $C_{20}H_{26}O_6$. Phổ ECD của **SL20** không cho thấy xuất hiện hiệu ứng Cotton do đó đã gợi ý cấu hình (8*R*, 8'*S*) hoặc (8*S*, 8'*R*). Như vậy có thể kết luận hợp chất **SL20** chính là secoisolariciresinol [105].

Cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ loài *S. cerasiforme* thể hiện ở Hình 4.34



Hình 4.34. Cấu trúc hoá học của các hợp chất **SL1-SL20**

Từ kết quả tổng hợp trên cho thấy, cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ lá loài *S. cerasiforme* chủ yếu là các hợp chất flavonoid (flavanone và flavone), ngoài ra còn có một số các triterpene 5 vòng và các hợp chất phenolic khác.

4.1.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. cerasiforme*

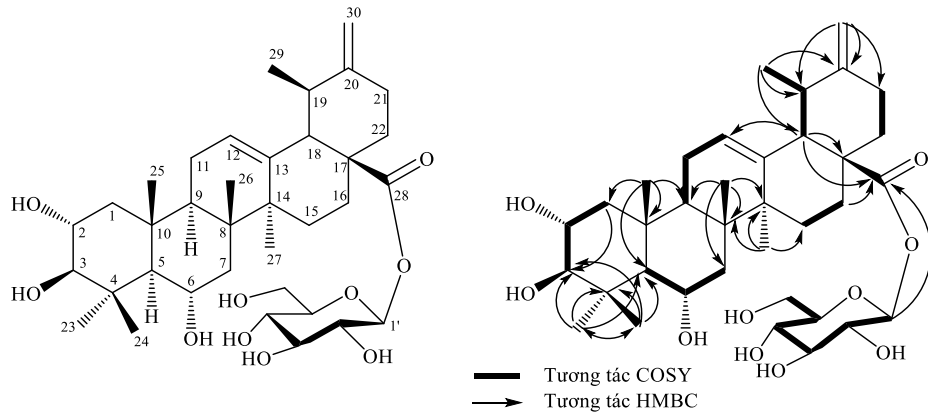
Hai mươi hợp chất phân lập được từ loài *S. cerasiforme* được thử hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế quá trình sản xuất nitơ monoxit (NO) trên dòng tế bào RAW264.7 đã được kích thích bằng Lipopolysaccharide (LPS 1µg/ml). Kết quả Bảng 3.1 cho thấy, tất cả các hợp chất đều không thể hiện độc tính đáng kể trong thử nghiệm bằng phương pháp so màu MTT. Do đó, mức độ sản sinh NO trong tế bào đã được xác định trong sự có mặt của các hợp chất **SL1-SL20** ở các nồng độ pha loãng (từ 0-100µM). Hợp chất **SL1, SL2, SL3, SL6, SL10, SL17** có khả năng ức chế hiệu quả quá trình sản xuất NO trên dòng tế bào đã được hoạt hóa bằng LPS với nồng độ ức chế IC₅₀ tương ứng là 12,28 ± 1,15, 8,52 ± 1,62, 7,68 ± 0,87, 9,67 ± 0,57, 6,69 ± 0,34, 6,98 ± 0,57 µM. Các hợp chất **SL13, SL18** và **SL19** ức chế mức trung bình IC₅₀ 25,51 đến 33,38 µM so với chất đối chứng dương N^G-monomethyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (IC₅₀ 32,50 ± 1,00 µM). Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính ức chế yếu hơn với giá trị IC₅₀ trong khoảng từ 33,17 ± 0,78 đến 86,51 ± 2,98 µM. Xét về sự liên quan giữa cấu trúc và tác dụng kháng viêm của các hợp chất phân lập được có thể đưa ra nhận định rằng những hợp chất flavanone (**SL2, SL3** và **SL6**) có hoạt tính ức chế sự sản xuất NO đáng kể hơn so với các hợp chất flavone.

4.2. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài *S. bullockii*

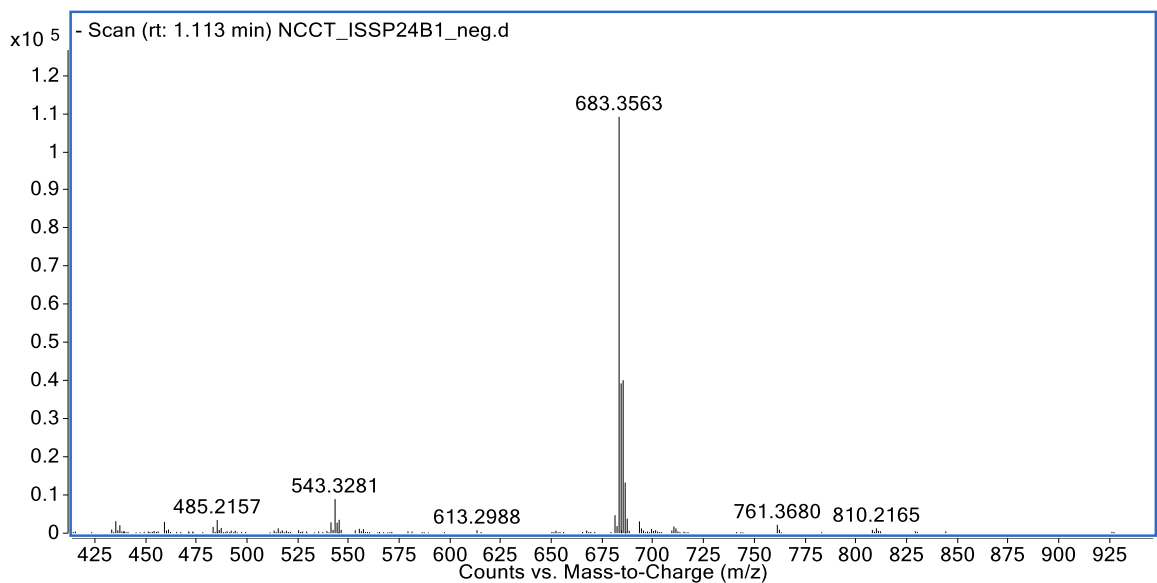
4.2.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *S. bullockii*

4.2.1.2. Hợp chất **SP1: Syzybulloside A (2α,3β,6α-trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester) (hợp chất mới)**

Hợp chất **SP1** thu được có dạng bột không màu. Phổ IR của hợp chất **SP1** đã cho thấy sự có mặt của các nhóm chức hydroxy (3401 cm⁻¹), carboxyl (1734 cm⁻¹), olefin (1646 cm⁻¹) và ether (1070 cm⁻¹). Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **SP1** xuất hiện pic ion giả phân tử *m/z* 683,3563 [M+Cl]⁻ (Δ = - 0,6 ppm) kết hợp với dữ liệu phổ ¹³C NMR và HSQC cho phép xác định công thức phân tử của **SP1** là C₃₆H₅₆O₁₀.



Hình 4.35. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SP1**



Hình 4.36. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất **SP1**

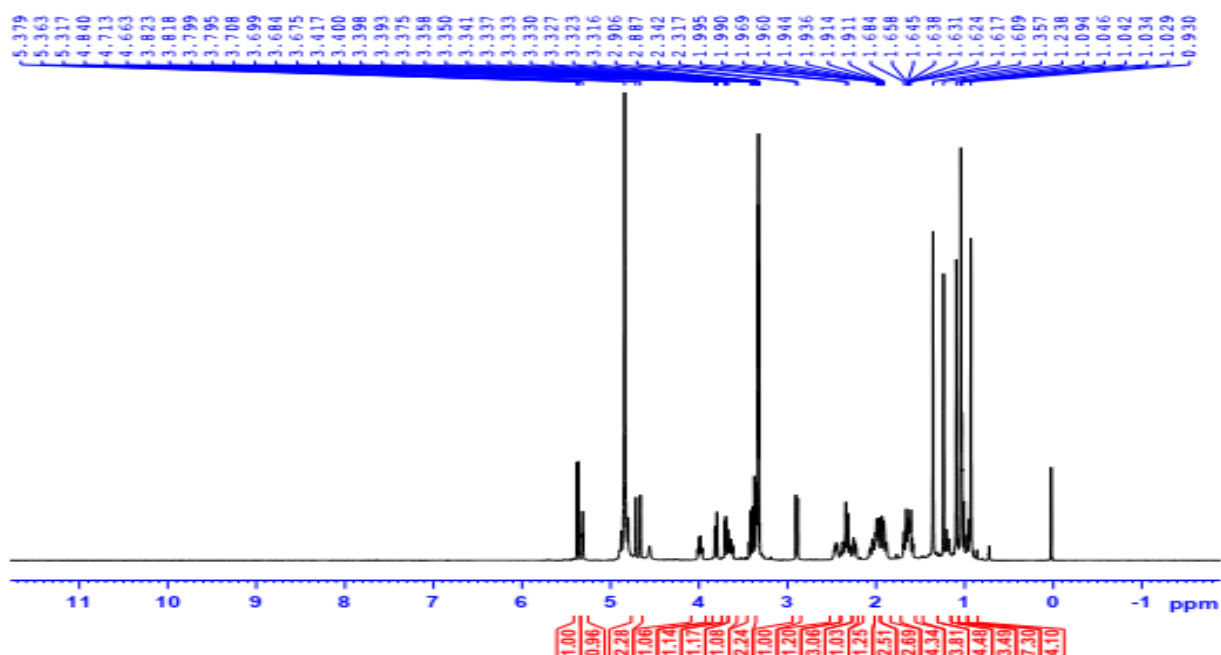
Trên phổ ^1H NMR của **SP1** xuất hiện 5 tín hiệu singlet của nhóm methyl tại δ_{H} 1,35, 1,24, 1,09, 1,04, 0,93; 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl tại δ_{H} 1,05 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 3 tín hiệu proton olefin bao gồm 2 tín hiệu đơn (δ_{H} 4,71 và 4,66, s, H₂-30) và 1 tín hiệu triplet là của proton methine trong vòng tại δ_{H} 5,31 (1H, t, $J = 3,5$ Hz, H-12), 3 tín hiệu của proton nhóm methine carboniol tại δ_{H} 3,63 (ddd, $J = 10,0, 9,5, 4,5$ Hz, H-2), 2,89 (d, $J = 9,5$ Hz, H-3) và 3,99 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 4,0$ Hz, H-6), 1 tín hiệu của proton anomer tại δ_{H} 5,37 (d, $J = 7,5$ Hz) và tín hiệu của 7 nhóm methylene tại δ_{H} 0,94/1,93, 1,60/1,64, 1,97/2,00, 1,18/2,03, 1,90/2,31, 1,60/1,92, 2,25/2,37. Phổ ^{13}C NMR và HSQC của **SP1** đã cho thấy tín hiệu cộng hưởng của 36 carbon trong đó 30 carbon đặc trưng của một triterpene 5 vòng 6 cạnh và 6 carbon của một đơn vị đường hexose (Bảng 4.18). Phần khung triterpen aglycone có một

nhóm carbonyl (δ_C 177,2), 2 liên kết đôi [δ_C 127,7 (CH)/138,8 (C) và 154,2 (C)/105,5 (CH₂)] và 3 tín hiệu của carbon methine carbinol (δ_C 69,1, 84,6, và 68,8) trong khi carbon đặc trưng của phần đường glucose (từ C-1' đến C-6') cũng được xác định lần lượt tại δ_C 95,8, 73,9, 78,3, 71,2, 78,6, và 62,4

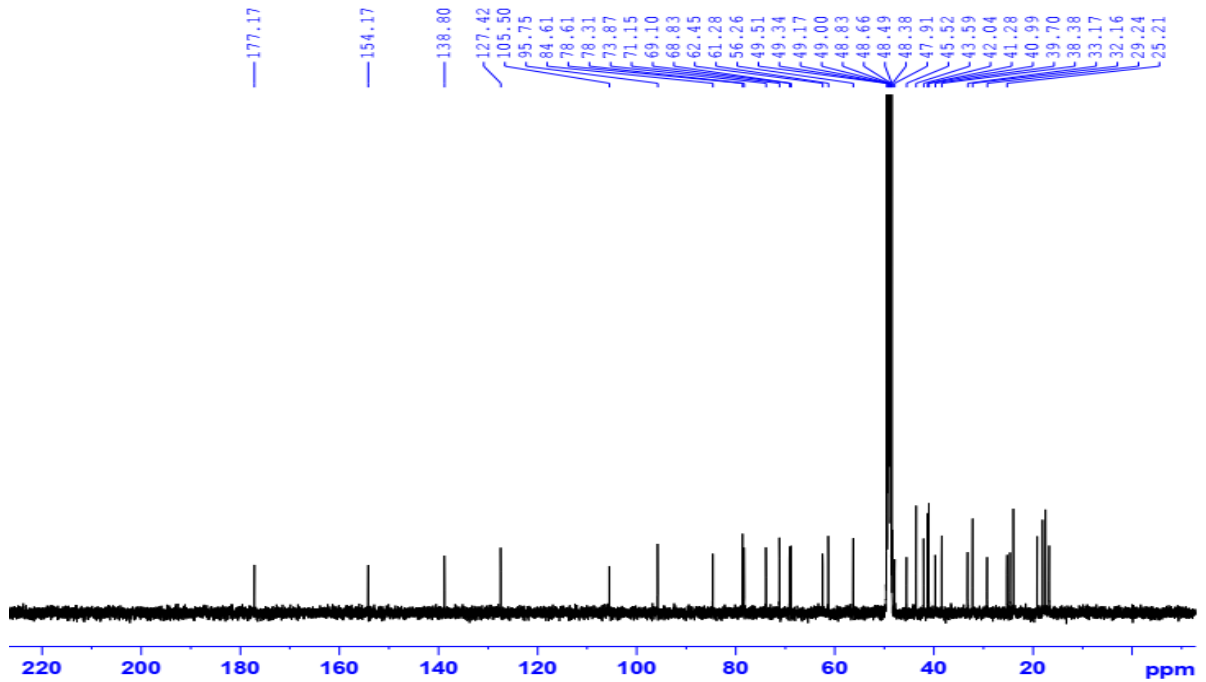
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất SPI

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	47,9	0,94 (dd, 14,4, 9,5) <i>axial</i> 1,93 (dd, 14,4, 4,5) <i>equatorial</i>	19	38,4	2,46 (m)
2	69,1	3,63 (ddd, 10,0, 9,5, 4,5) <i>axial</i>	20	154,2	-
3	84,6	2,89 (d, 10,0) <i>axial</i>	21	33,2	2,25 (m), 2,37 (m)
4	41,0		22	39,7	1,67 (m), 1,92 (m)
5	61,3	1,01 (d, 10,5) <i>axial</i>	23	32,2	1,35 (s)
6	68,8	3,99 (ddd, 10,5, 10,5, 4,0) <i>axial</i>	24	17,5	1,04 (s)
7	45,5	1,60 (m), 1,64 (m)	25	18,0	1,09 (s)
8	42,0	-	26	19,1	0,93 (s)
9	48,4	1,61 (dd, 9,5, 5,5)	27	23,9	1,24 (s)
10	41,3	-	28	177,2	-
11	25,4	1,98 (m), 2,00 (m)	29	16,7	1,05 (d, 7,0)
12	127,4	5,31 (br t, 3,5)	30	105,5	4,71 (br s), 4,66 (br s)
13	138,8	-	1'	95,8	5,37 (d, 7,5)
14	43,6	-	2'	73,9	3,32 (dd, 9,0, 7,5)
15	29,2	1,18 (m), 2,03 (m)	3'	78,3	3,42 (t, 9,0)
16	25,2	1,90 (m), 2,31 (m)	4'	71,2	3,37 (t, 9,0)
17	49,5	-	5'	78,6	3,34 (m)
18	56,3	2,33 (d, 11,0)	6'	62,4	3,67 (dd, 12,0, 5,0) 3,81 (dd, 12,0, 2,0)

^ađo trong CD₃OD, ^b125MHz, ^c500M



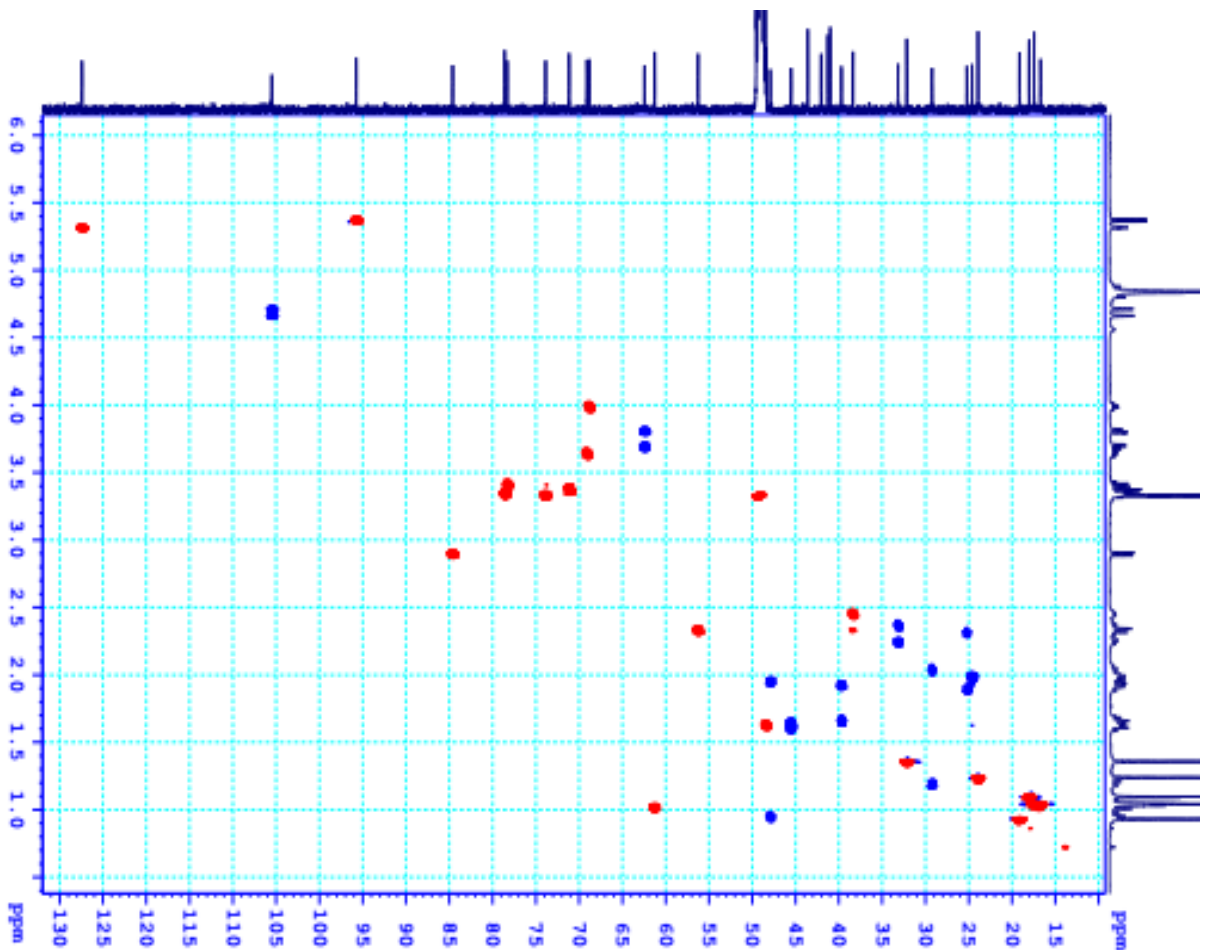
Hình 4.37. Phổ ¹H NMR của hợp chất SPI



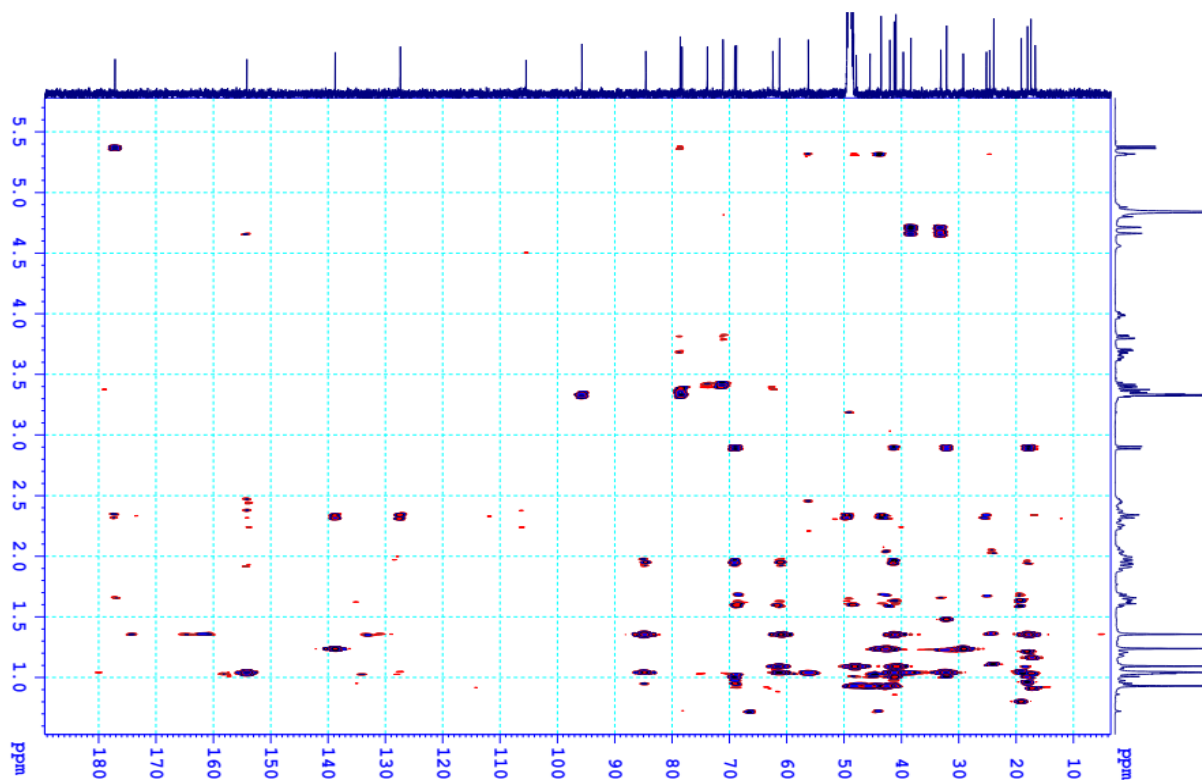
Hình 4.38. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **SP1**

Dữ liệu phổ NMR của **SP1** khá giống với dữ liệu tương ứng của hợp chất *Syzygium*ursanolide C (**SP4**) ngoại trừ sự xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl thay thế cho nhóm hydroxymethylene tại C-23 [106]. Phần đường glucose liên kết với aglycone ở vị trí của carbon ketone (C-28) được xác định dựa vào tương tác trên phổ HMBC giữa proton anomer H-1' (δ_{H} 5,37) với C-28 (δ_{C} 177,2). Ba nhóm hydroxy được xác định là gắn với carbon ở C-2, C-3 và C-6 dựa vào tương tác HMBC giữa H-23 (δ_{H} 1,35)/H-24 (δ_{H} 1,04) với C-3 (δ_{C} 84,6)/C-4 (δ_{C} 41,0)/ C-5 (δ_{C} 61,3) và tương tác COSY giữa các proton H-3 (δ_{H} 2,89)/H-2 (δ_{H} 3,63) và H-5 (δ_{H} 1,01)/H-6 (δ_{H} 3,99). Định hướng liên kết của các nhóm hydroxy được xác định thông qua hằng số tương tác và tương tác trong không gian giữa các proton trên phổ ROESY. Hằng số tương tác lớn $^3J_{\text{HH}} = 9,5$ Hz của H-2/H-3 và $^3J_{\text{HH}} = 10,5$ Hz của H-5/H-6 cho thấy các proton H-2/H-3 và H-5/H-6_{ax} có định hướng *trans/axial*. Tương tác trong không gian của các proton trên phổ ROESY giữa H_{ax}-2 (δ_{H} 3,63)/H₃-24 (δ_{H} 1,04), H-3 (δ_{H} 2,89)/H₃-23 (δ_{H} 1,35), H-3/H-5 (δ_{H} 1,01), H-6 (δ_{H} 3,99)/H₃-25 (δ_{H} 1,35) và H-6/H₃-26 (δ_{H} 0,93) đã xác định cấu hình β của H-2 và H-6 và cấu hình α của H-3. Các tương tác trên phổ ROESY nêu trên cho thấy liên kết *trans* giữa các vòng A/B, B/C của khung triterpene 5 vòng của khung ursane. Tương tác giữa H₃-27 (δ_{H} 1,24) với H-19 (δ_{H} 2,46) đã xác định 2 vòng D/E ghép với nhau kiểu *cis* và định hướng liên kết của 2

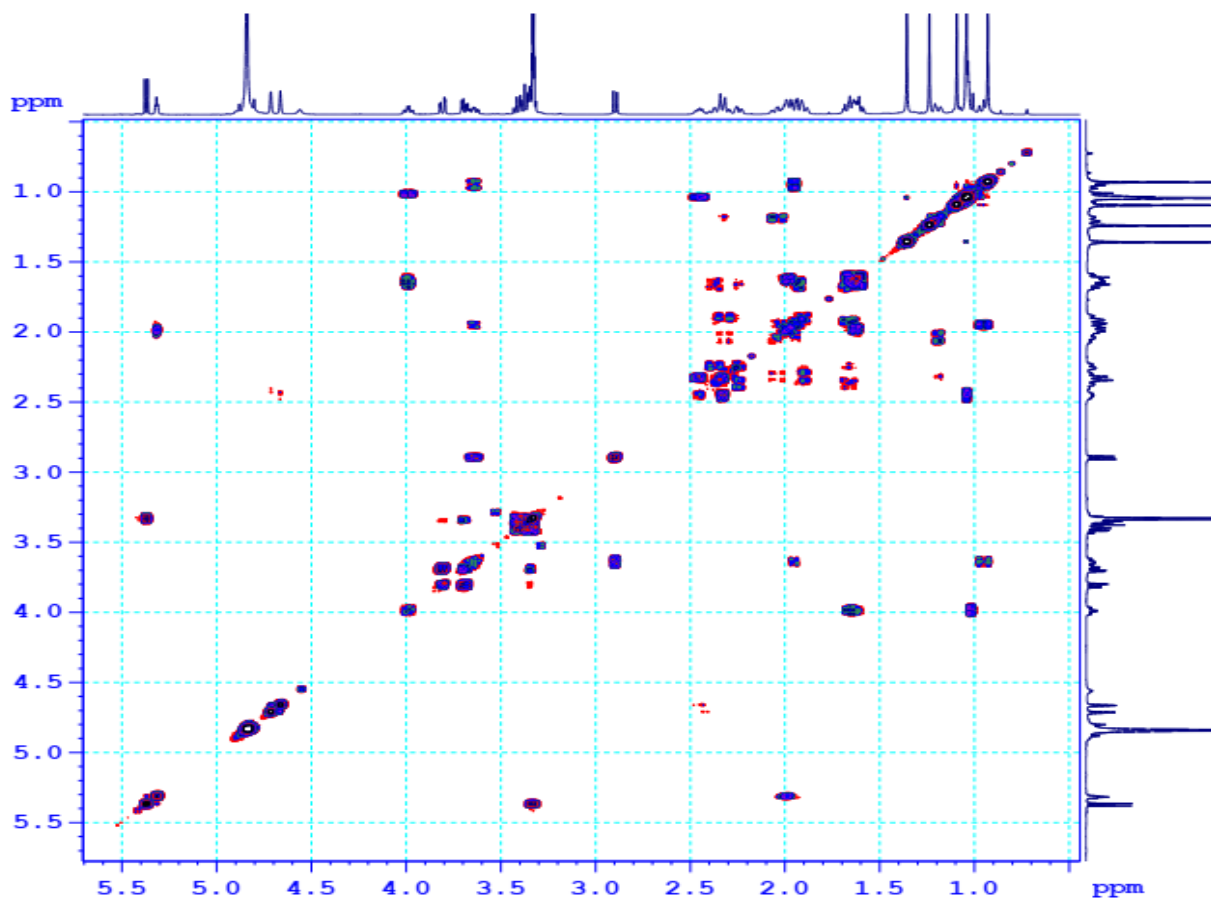
proton H-27 và H-19 là $\alpha/axial$. Dựa vào định hướng liên kết của của H-19 ($\alpha/axial$), proton H₃-29 được xác định là $\beta-equatorial$. Khi đó tương tác ROESY giữa H₃-29 với H-18 đã xác định H-18 định hướng β . Liên kết đường glycoside cũng được xác định là dạng β thông qua hằng số tương tác lớn $J = 7,5$ Hz của proton anomer tại δ_H 5,37 và hằng số tương tác giữa các proton carbinol trong phần đường bao gồm $J_{H-1'/H-2'} = 7,5$ Hz, $J_{H-2'/H-3'} = 9,0$ Hz, $J_{H-3'/H-4'} = 9,0$ Hz và $J_{H-4'/H-5'} = 9,0$ Hz đã xác định các proton H-1', H-2', H-3', H-4', H-5' đều chiếm vị trí $axial$, đặc trưng cho một nhánh β -glucopyranosyl. Phần đường được xác định là D-glucose bằng phương pháp thủy phân acid hợp chất **SP1** thu được đường glucose và xác định độ quay cực riêng của đường này. Tín hiệu góc quay cực dương của phân tử đường thu được khẳng định cấu hình đường D-glucose [66]. Từ dữ liệu phổ NMR, hợp chất **SP1** được xác định là $2\alpha,3\beta,6\alpha$ -trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28- O - β -D-glucopyranosyl ester. Đây là hợp chất mới và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzybulloside A.



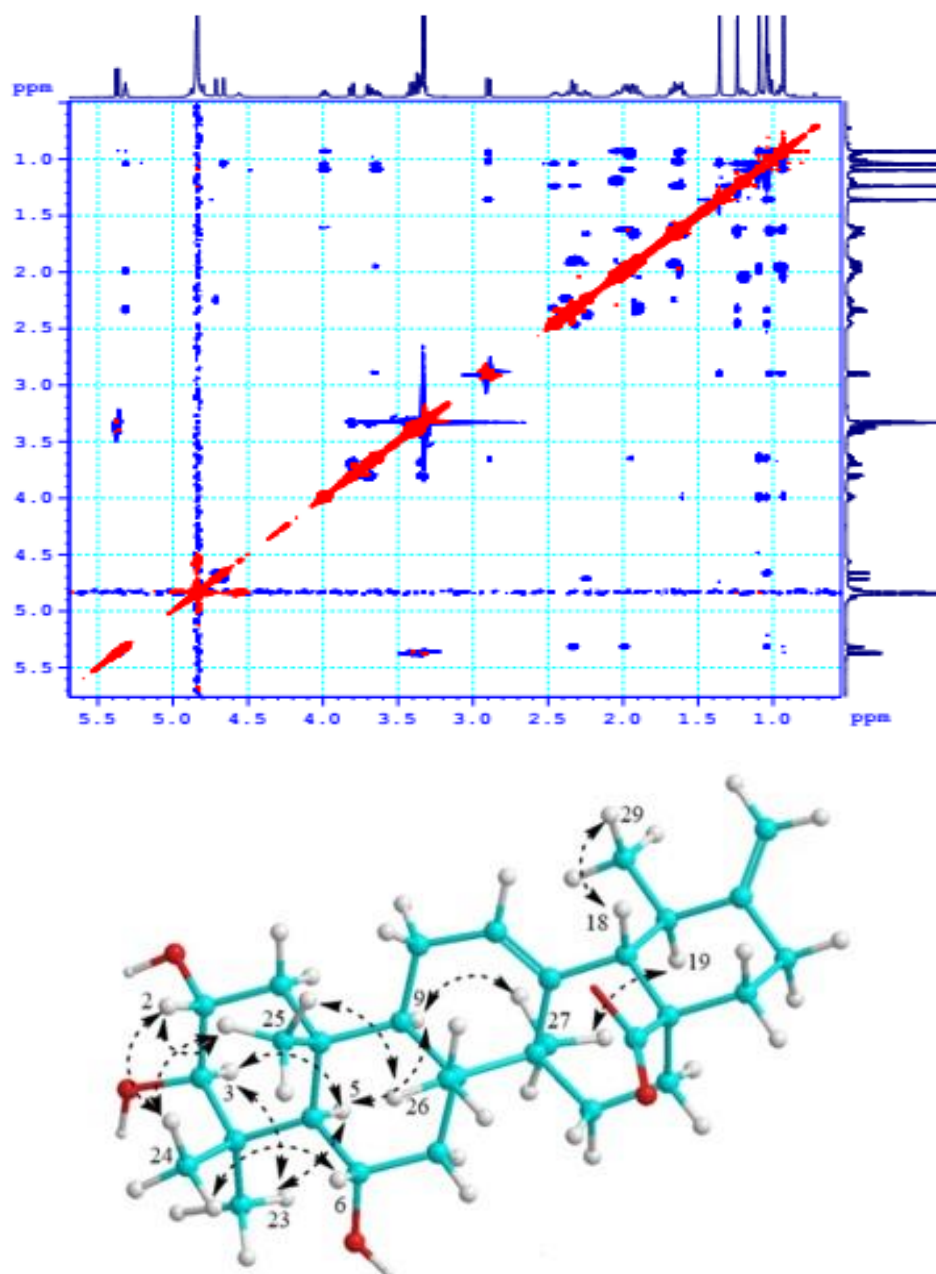
Hình 4.39. Phổ HSQC của hợp chất **SP1**



Hình 4.40. Phổ HMBC của hợp chất SPI



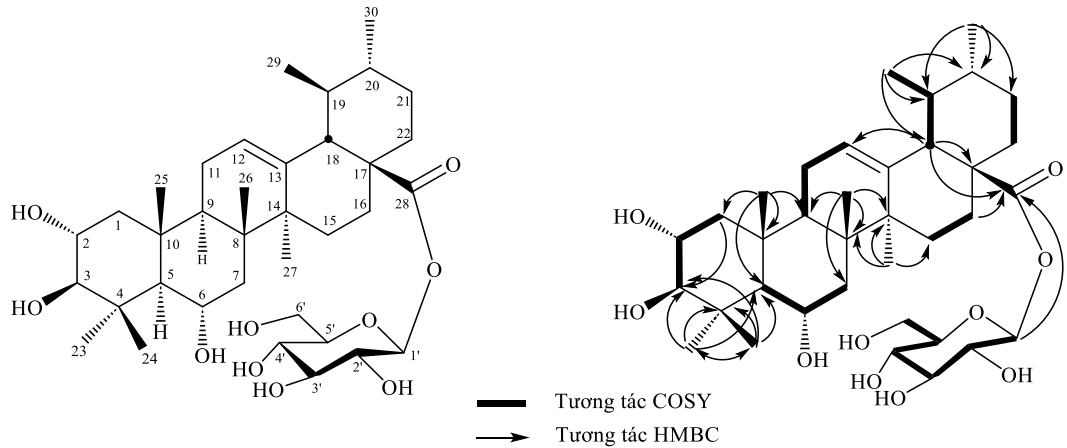
Hình 4.41. Phổ ^1H - ^1H COSY của hợp chất SPI



Hình 4.42. Phổ ROESY và các tương tác chính của hợp chất **SP1**

4.2.1.2. Hợp chất **SP2**: Syzybulloside B (*2 α ,3 β ,6 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester*) (hợp chất mới)

Hợp chất **SP2** thu được cũng có dạng bột không màu, công thức phân tử là $C_{36}H_{58}O_{10}$ được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 685,3726 $[M+Cl]^-$ ($\Delta = -1,7$ ppm). Phổ IR của **SP2** cũng cho thấy sự có mặt của các nhóm chức hydroxy (3416 cm^{-1}), carbonyl (1733 cm^{-1}), olefin (1658 cm^{-1}) và ether (1069 cm^{-1}).



Hình 4.43. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SP2**

Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C NMR và HSQC của **SP2** có đặc trưng của một ursane glycoside giống **SP1** ngoại trừ sự biến mất của tín hiệu liên kết đôi C-20/C-30 và thay vào đó là sự xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl tại δ_{H} 1,00 (d, $J = 6,5$ Hz) / δ_{C} 21,5 (C-30) trong **SP2** (Bảng 4.19).

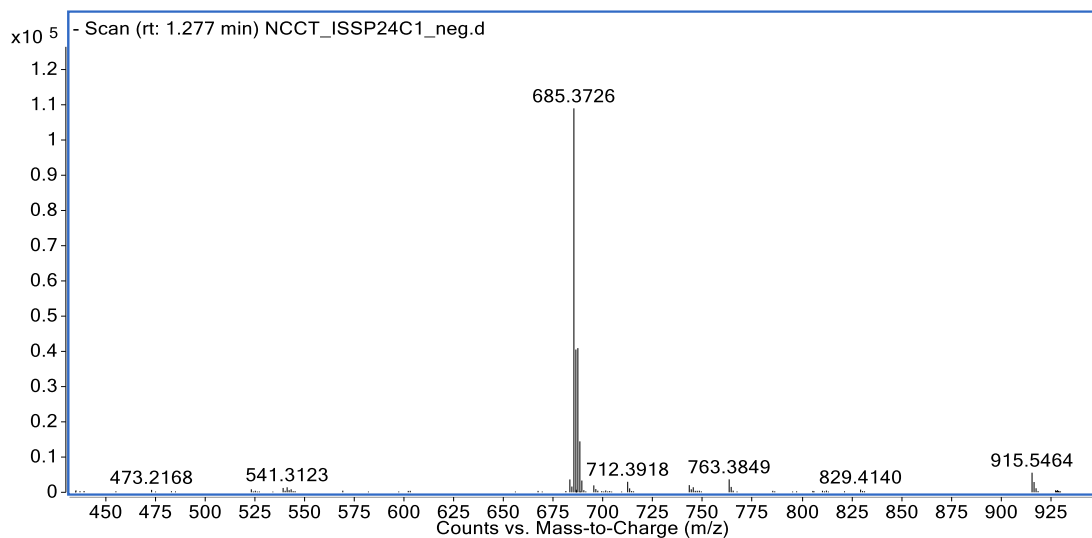
Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP2**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	48,0	0,94 (dd, 14,4, 9,5) <i>ax</i>	19	40,3	1,00 (m)
		1,93 (dd, 14,4, 4,5) <i>eq</i>			
2	69,1	3,64 (ddd, 10,0, 9,5, 4,5) <i>ax</i>	20	40,2	1,40 (m)
3	84,6	2,89 (d, 10,0) <i>ax</i>	21	31,7	1,45 (m), 1,54 (m)
4	41,0	-	22	37,5	1,68 (m), 1,78 (m)
5	61,3	1,00 (d, 10,5) <i>ax</i>	23	32,2	1,35 (s)
6	68,9	3,98 (ddd, 10,5, 10,5, 4,0) <i>ax</i>	24	17,6	1,04 (s)
7	45,6	1,58 (m), 1,63 (m)	25	18,0	1,09 (s)
8	42,1	-	26	19,2	0,93 (s)
9	48,4	1,60 (dd, 9,5, 5,5)	27	24,0	1,18 (s)
10	41,3	-	28	177,9	-
11	24,6	1,96 (m), 2,04 (m)	29	17,5	0,92 (d, 6,5)
12	127,1	5,29 (br t, 3,5)	30	21,5	1,00 (s)
13	139,1	-	1'	95,7	5,37 (d, 7,5)
14	43,5	-	2'	73,9	3,33 (dd, 9,0, 7,5)
15	29,3	1,12 (m), 2,00 (m)	3'	78,3	3,42 (t, 9,0)
16	25,2	1,80 (m), 2,40 (m)	4'	71,2	3,38 (t, 9,0)
17	49,5	-	5'	78,6	3,35 (m)
18	54,1	2,28 (d, 11,0)	6'	62,5	3,70 (dd, 12,0, 5,0)
					3,81 (dd, 12,0, 2,0)

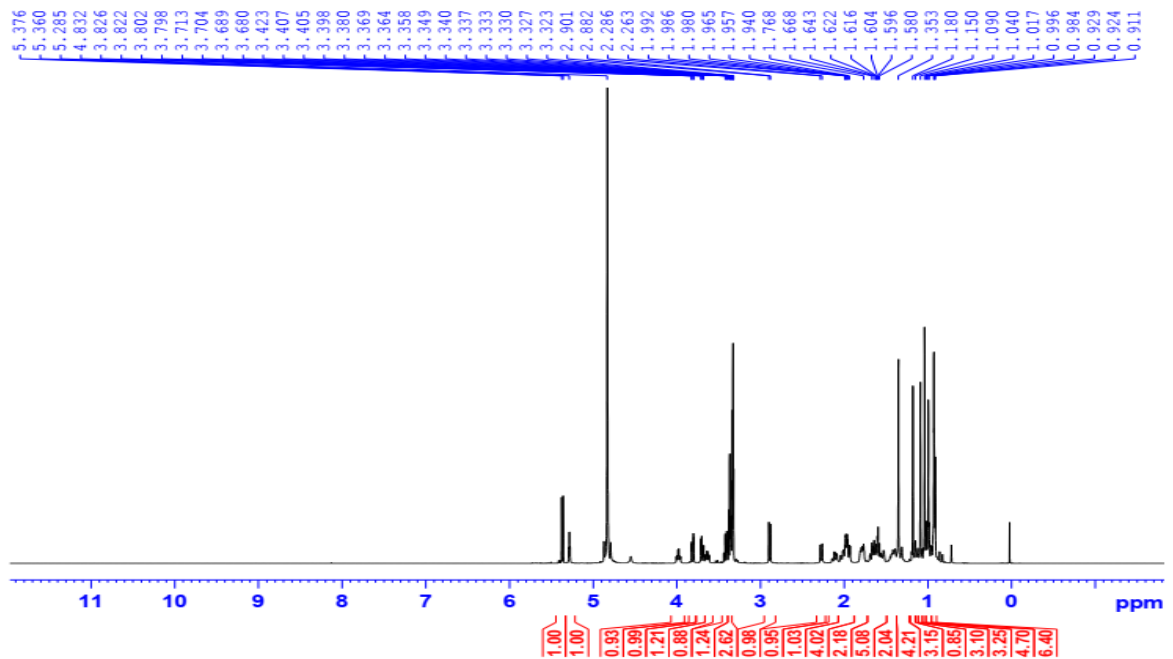
^ađo trong CD_3OD , ^b125MHz, ^c500MHz

Ba nhóm hydroxy gắn vào C-2, C-3, C-6 được xác định thông qua tương tác trên phổ HMBC giữa $\text{H}_3\text{-23}$ (δ_{H} 1,35) và $\text{H}_3\text{-24}$ (δ_{H} 1,04) với C-3 (δ_{C} 84,6)/C-4 (δ_{C} 41,0)/C-5 (δ_{C} 61,3) cũng như tương tác trên phổ COSY giữa H-1 (δ_{H} 0,94 và

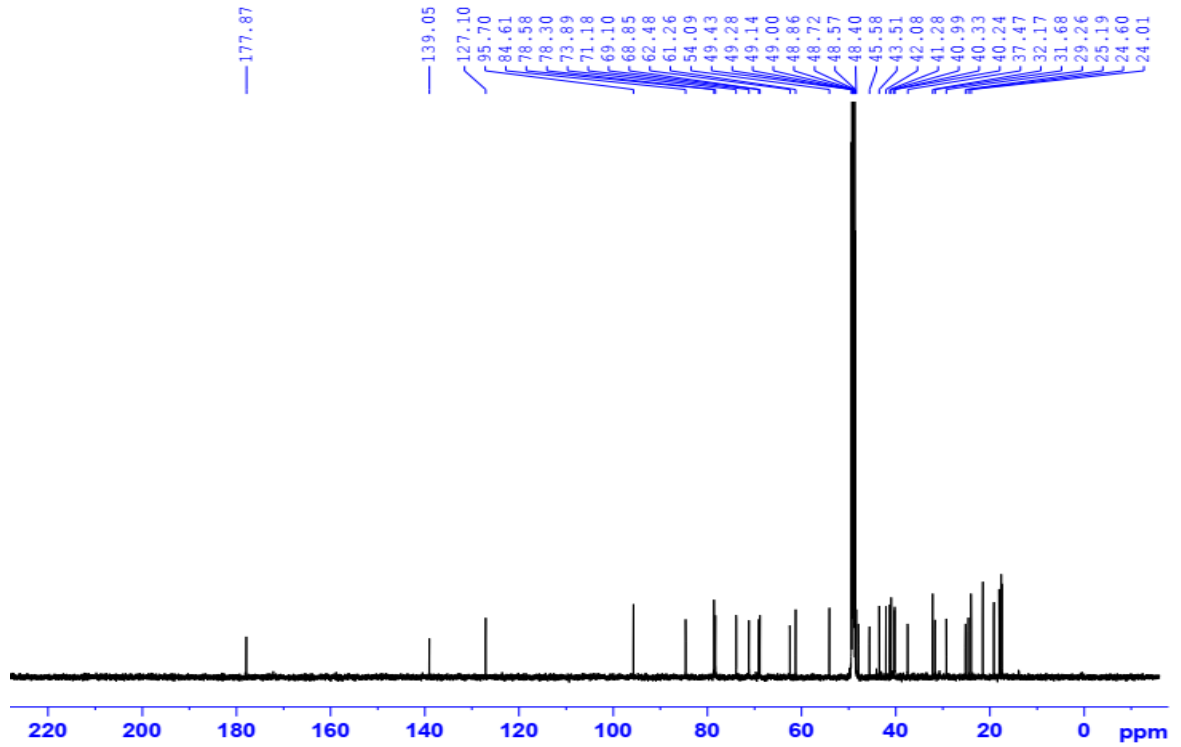
1,93)/H-2 (δ_H 3,64)/H-3 (δ_H 2,89) và H-5 (δ_H 1,00)/H-6 (δ_H 3,98)/H-7 (δ_H 1,58, 1,63). Tương tác trên phổ HMBC giữa proton anomer tại δ_H 5,37 với C-28 (δ_C 177,9) đã chỉ ra liên kết ester của phần đường glucose với phần aglycone tại C-28. Hằng số tương tác lớn giữa 2 proton H-5/H-6 ($J = 10,5$ Hz) xác định định hướng của hai proton H-5 và H-6 là *trans-axial* và do đó xác định cấu hình α của nhóm OH tại C-6. Hóa học lập thể của vòng A/B/C/D của **SP2** cũng giống như **SP1** dựa vào tương tác giống nhau trên phổ ROESY.



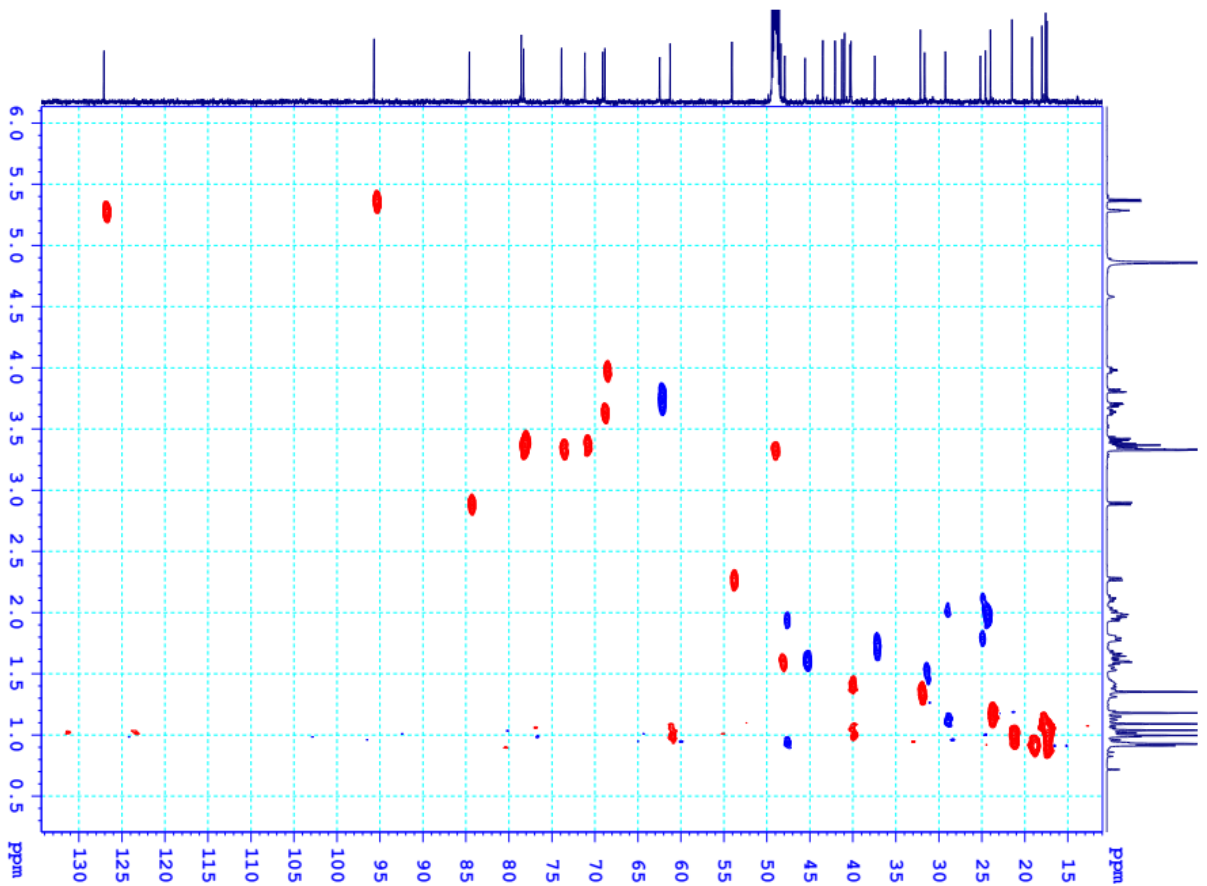
Hình 4.44. Phổ (-)-HR-ESI-MS của hợp chất **SP2**



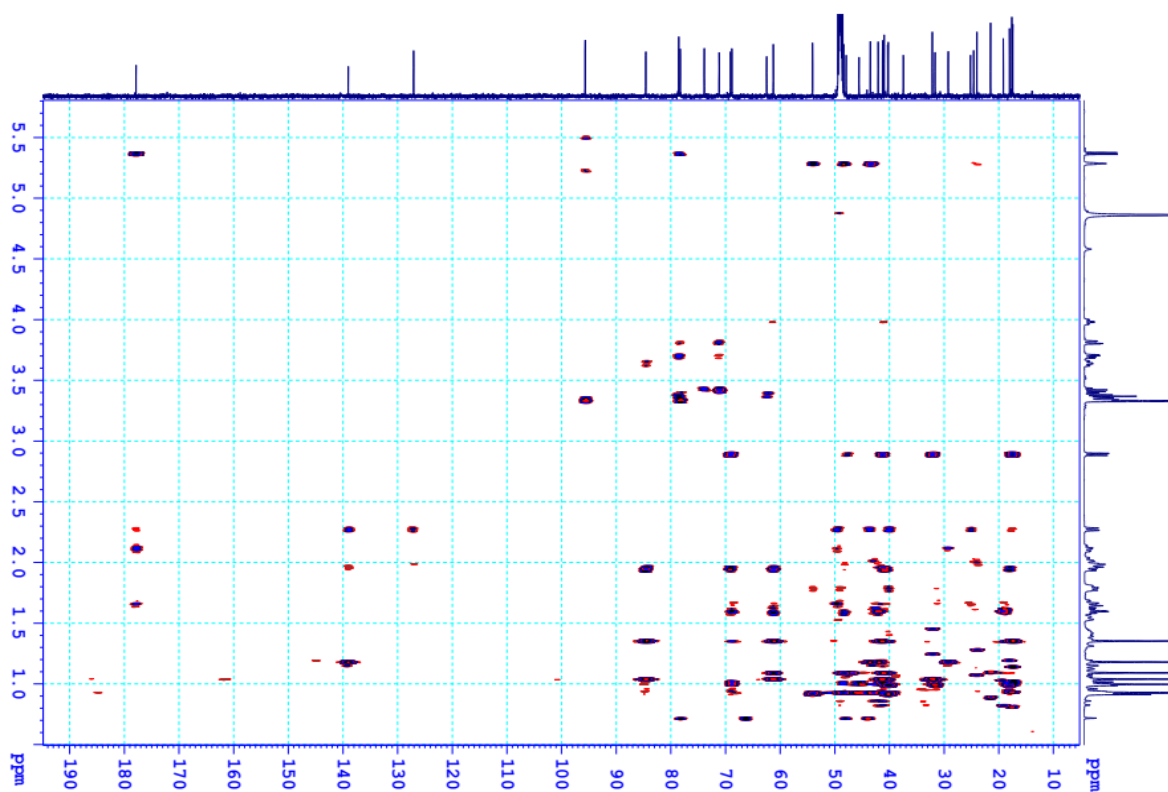
Hình 4.45. Phổ 1H NMR của hợp chất **SP2**



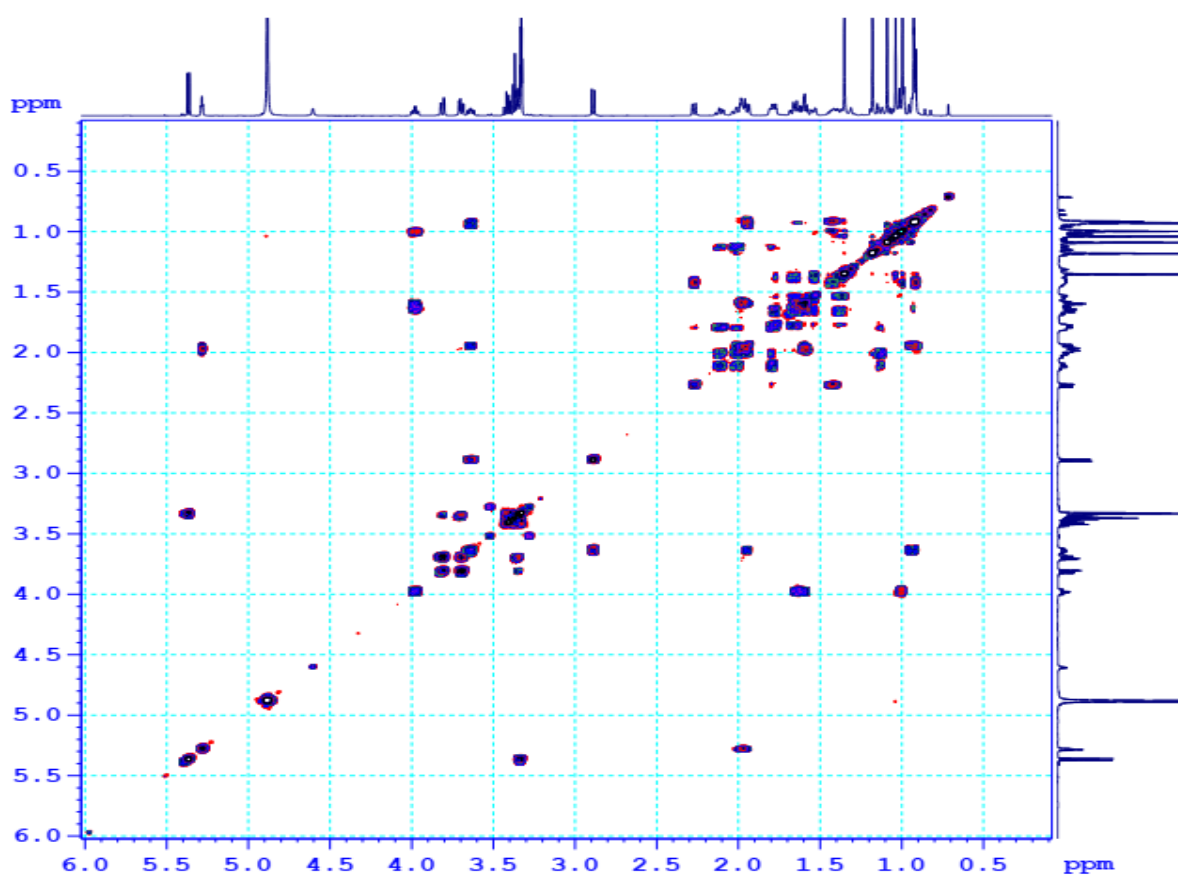
Hình 4.46. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất SP2



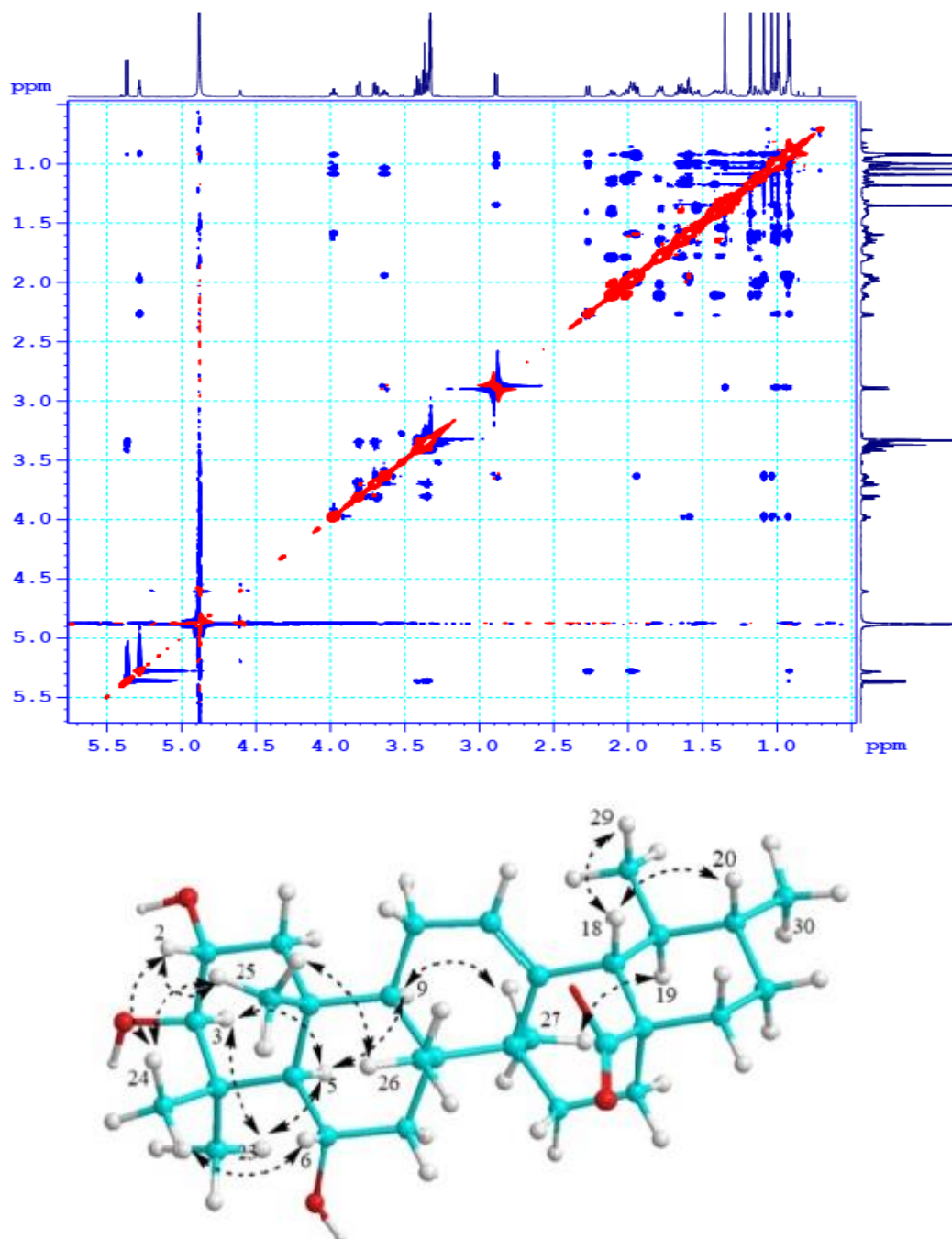
Hình 4.47. Phổ HSQC của hợp chất SP2



Hình 4.48. Phổ HMBC của hợp chất SP2



Hình 4.49. Phổ ^1H - ^1H COSY của hợp chất SP2

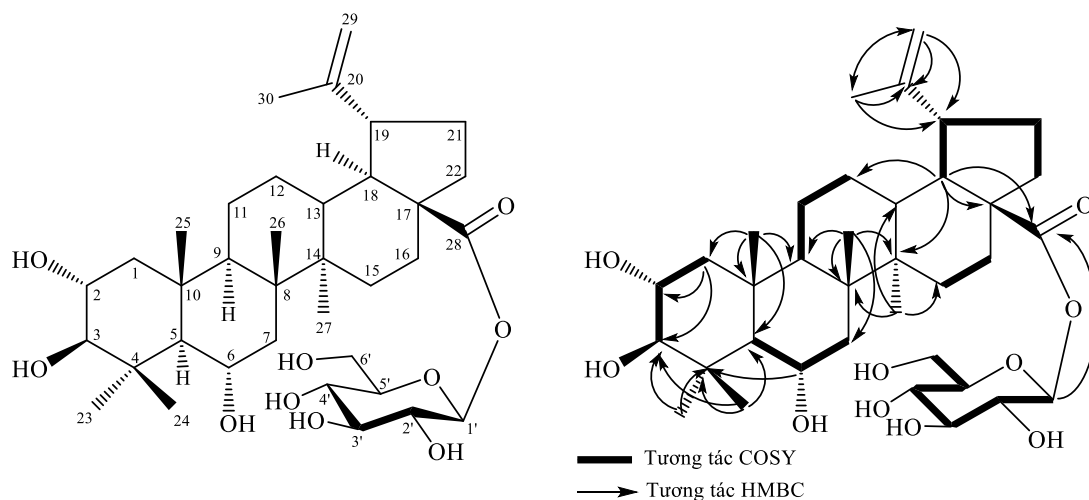


Hình 4.50. Phổ ROESY và các tương tác chính của hợp chất **SP2**

Ở vòng E tương tác ROESY giữa H-18 với H-20/H₃-29 đã xác định cấu hình β của H-18, H-20 và H₃-29 và do đó H-19 và H₃-30 có cấu hình α . Hằng số tương tác $J = 7,5$ Hz của proton anomer H-1' cùng với giá trị góc quay cực riêng dương của phần đường glucose thu được từ sự thủy phân acid đã xác định cấu trúc phần đường là β -D-glucopyranoside [66]. Do đó, hợp chất **SP2** được xác định là $2\alpha,3\beta,6\alpha$ -

trihydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester. Đây là hợp chất mới và được đặt tên là syzybulloside B.

4.2.1.3. Hợp chất **SP3**: Syzybulloside C (2 α ,3 β ,6 α -trihydroxyup-20(29)-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester) (hợp chất mới)



Hình 4.51. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SP3**

Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP3**

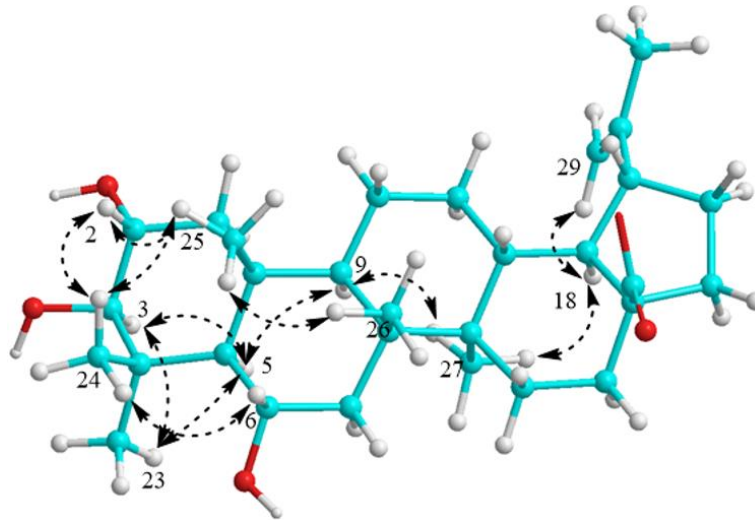
C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	47,5	0,87 (dd, 14,4, 9,5) <i>axial</i> 1,97 (dd, 14,4, 4,5) <i>equatorial</i>	19	48,0	3,02 (ddd, 11,0, 11,0, 4,5)
2	69,4	3,62 (ddd, 10,0, 10,0, 4,0) <i>axial</i>	20	151,7	-
3	84,5	2,87 (d, 10,0) <i>axial</i>	21	31,4	1,40 (m), 1,94 (m)
4	41,3	-	22	37,5	1,50 (m), 2,00 (m)
5	61,7	0,98 (d, 10,5)	23	32,4	1,34 (s)
6	68,8	3,98 (ddd, 10,5, 10,5, 4,0) <i>axial</i>	24	17,2	1,00 (s)
7	46,9	1,52 (m), 1,63 (m)	25	18,8	0,98 (s)
8	43,0	-	26	18,1	1,05 (s)
9	51,3	1,40 (dd, 9,5, 5,5)	27	15,0	1,06 (m)
10	41,2	-	28	176,1	-
11	22,1	1,30 (m), 1,51 (m)	29	110,4	4,63 (d, 1,0), 4,74 (d, 1,0)
12	26,7	1,10 (m), 1,76 (m)	30	19,5	1,72 (s)
13	38,9	2,34 (dd, 12,5, 3,5)	1'	95,3	5,52 (d, 7,5)
14	43,7	-	2'	74,1	3,33 (dd, 9,0, 7,5)
15	30,8	1,19 (m), 1,77 (m)	3'	78,4	3,42 (t, 9,0)
16	32,8	1,50 (m), 2,39 (m)	4'	71,2	3,37 (t, 9,0)
17	48,5	-	5'	78,6	3,35 (m)
18	50,6	1,68 (dd, 11,0, 3,5)	6'	62,4	3,73 (dd, 12,0, 5,0) 3,85 (dd, 12,0, 2,0)

^ađo trong CD₃OD, ^b125MHz, ^c500MHz

Hợp chất **SP3** thu được có dạng bột không màu. Phổ IR cho thấy sự có mặt của các nhóm chức hydroxy, olefin, carbonyl và ether, giống như các hợp chất **SP1**

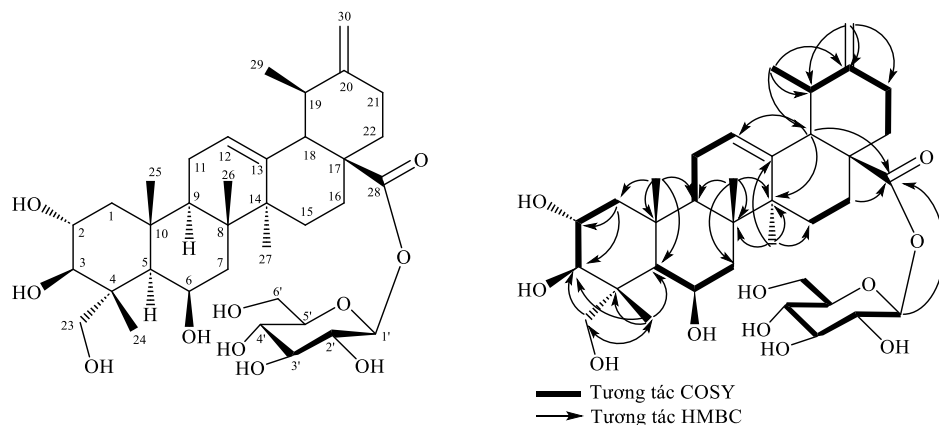
và **SP2**. Công thức phân tử của hợp chất **SP3** là $C_{36}H_{58}O_{10}$ được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào sự xuất hiện của píc ion giả phân tử m/z 685,3716 $[M+Cl]^-$ ($\Delta=+0,3$ ppm). Phổ ^{13}C NMR của **SP3** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 36 carbon, bao gồm 30 tín hiệu carbon đặc trưng của triterpene 5 vòng và tín hiệu của 6 carbon của đường glucose. Tuy nhiên khác với 2 hợp chất **SP1** và **SP2**, sự xuất hiện của bộ tín hiệu tại δ_C 151,7 (C, C-20), δ_C 110,4 (CH_2 , C-29) và 19,5 (CH_3 , C-30) cùng với tương tác HMBC giữa H_2 -29 (δ_H 4,63/4,74) và H_3 -30 (δ_H 1,72) với C-20 (δ_C 151,7)/C-19 (δ_C 48,0)/C-29/2-30 đã gợi ý hợp chất **SP3** là dẫn chất glycoside của một triterpene khung lup-20(29)-ene [107]. Tín hiệu của nhóm carboxylat (δ_C 176,1, C-28), 3 nhóm methine liên kết oxy (δ_C 69,4, 84,5 và 68,8), và một carbon anomer (δ_C 95,3) cũng được xác định trên phổ carbon. Dữ liệu phổ của **SP3** được giới thiệu ở Bảng 4.20 có được là dựa vào việc phân tích phổ HSQC, COSY và HMBC. Hợp chất **SP3** cũng có 3 nhóm hydroxy tại các vị trí C-2, C-3 và C-6 giống như hợp chất **SP1** và **SP2**, được xác định bằng tương tác trên phổ HMBC giữa H_3 -23 (δ_H 1,34)/ H_3 -24 (δ_H 1,00) với C-3 (δ_C 84,5)/C-4 (δ_C 41,3)/C-5 (δ_C 61,7) và tương tác trên phổ COSY của H-2 (δ_H 3,62)/H-3 (δ_H 2,87) và H-5 (δ_H 0,98)/H-6 (δ_H 3,98). Liên kết đường glucose được xác định tại C-28 dựa vào tương tác HMBC giữa H-1' (δ_H 5,52) với C-28 (δ_C 176,1). Cấu hình giữa proton H-2 và H-3 là *trans-axial* được xác định bởi hằng số tương tác lớn $J_{H-2/H-3} = 10,0$ Hz và tương tác COSY giữa H-2/H-24, H-3/H-5 và H-3/ H_3 -23 (Hình 4.51). Hơn nữa, hằng số tương tác lớn $J_{H-5/H-6} = 10,5$ Hz đã xác định định hướng của H-5 và H-6 là *trans-axial* và cấu hình α của nhóm hydroxy tại vị trí C-6. Khác với triterpene loại ursane trong hợp chất **SP1** và **SP2**, tương tác trên phổ ROESY của **SP3** giữa H_3 -27 (δ_H 1,06) và H-18 (δ_H 1,68) đã xác định định hướng α -axial của H_3 -27 và H-18 trong vòng D. Hằng số tương tác lớn $J = 11,0$ Hz giữa H-18 và H-19 cũng chỉ rõ 2 proton này định hướng *axial-axial* trong vòng E. Proton H-18 ở vị trí *axial* đối với cả hai vòng D và E đã xác định cấu hình hai vòng D/E là *trans* trong khung lupane của hợp chất **SP3** này. Hơn nữa, tương tác ROESY giữa H_α -22 với H-18/ H_α -16 đã khẳng định thêm cấu dạng của 2 vòng D/E chính xác là *trans*. Do H-18 định hướng liên kết α và cấu dạng *trans* của hai vòng D và E nên định hướng của C-28 (tại vị trí C-17) được xác định là β . Tương tác ROESY giữa H-18 và H_2 -29 cũng xác định định hướng liên kết dạng α của nhóm

isopropene tại C-19 (do định hướng của H-19 là β -axial). Tín hiệu doublet của proton anomer xuất hiện tại δ_H 5,52 với hằng số tương tác lớn $J = 7,5$ Hz đã xác định dạng liên kết β của đường glucose. Cấu hình tuyệt đối của phân tử đường glucose được xác định là D bằng phương pháp thủy phân acid [66] thu được đường đơn và đo góc quay cực thu được giá trị góc quay cực dương. Từ phân tích những dữ liệu trên, hợp chất **SP3** được xác định là $2\alpha,3\beta,6\alpha$ -trihydroxyup-20(29)-en-28-oic acid 28-O- β -glucopyranosyl ester, đây là hợp chất mới và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzybulloside C.



Hình 4.52. Các tương tác ROESY chính của hợp chất **SP3**

4.2.1.1. Hợp chất **SP4**: Syzygiumursanolide C ($2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester



Hình 4.53. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SP4**

Hợp chất **SP4** thu được dạng bột không màu. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **SP4** cho thấy tín hiệu của pic ion giả phân tử m/z 699,3511 $[M+Cl]^-$ ($\Delta = -0,9$ ppm), kết hợp với dữ kiện phổ ^{13}C NMR và HSQC cho phép xác định công thức phân tử của **SP4** là $C_{36}H_{56}O_{11}$.

Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP4** và hợp chất tham khảo

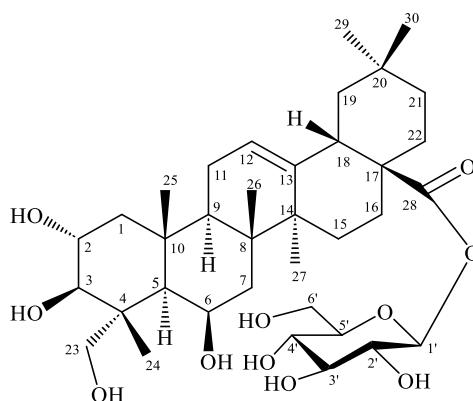
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)
1	49,3	50,3	0,90 (dd, 14,4, 9,5) <i>ax</i> , 1,95 (dd, 14,4, 4,5) <i>eq</i>	19	36,6	38,5	2,46 (m)
2	67,5	69,7	3,76 (ddd, 10,0, 9,5, 4,5) <i>ax</i>	20	152,8	154,3	-
3	75,5	78,2	3,31 (d, 10,0) <i>ax</i>	21	33,6	33,2	2,25 (m), 2,36 (m)
4	43,1	44,8	-	22	38,0	39,7	1,67 (m), 1,92 (m)
5	46,5	48,8	1,32 (br s) <i>ax</i>	23	63,7	65,9	3,60 (d, 11,0) 3,46 (d, 11,0)
6	65,8	68,4	4,40 (br s) <i>eq</i>	24	15,0	15,2	1,06 (s)
7	40,1	41,2	1,53 (dd, 14,5, 2,0) <i>eq</i> 1,82 (dd, 14,5, 3,5) <i>ax</i>	25	18,3	19,2	1,42 (s)
8	38,4	40,1	-	26	18,2	19,2	1,11 (s)
9	47,5	49,2	1,71 (dd, 9,5, 5,5)	27	23,1	24,0	1,18 (s)
10	36,8	38,5	-	28	174,4	177,2	-
11	23,1	24,5	2,04 (m), 2,12 (m)	29	16,1	16,7	1,05 (d, 6,5)
12	125,6	127,7	5,35 (br t, 3,5)	30	104,8	105,4	4,71 (br s), 4,66 (br s)
13	136,7	138,3	-	1'	94,3	95,8	5,37 (d, 7,5)
14	42,3	44,0	-	2'	72,3	73,9	3,30 (dd, 9,0, 7,5)
15	27,5	29,2	1,18 (m), 2,04 (m)	3'	77,6	78,3	3,42 (t, 9,0)
16	23,9	25,3	1,89 (m), 2,30 (m)	4'	69,6	71,2	3,37 (t, 9,0)
17	47,5	49,6	-	5'	76,6	78,6	3,35 (m)
18	54,6	56,5	2,33 (d, 11,0)	6'	60,7	62,5	3,70 (dd, 12,0, 5,0) 3,81 (dd, 12,0, 2,0)

^ađo trong CD_3OD , ^b125MHz, ^c500M, $\delta_C^{\#}$ của *syzygiumursanolide C* đo trong $DMSO-d_6$ [106].

Dữ liệu phổ NMR (Bảng 4.21) của **SP4** cũng tương tự như **SP1** với đặc trưng của một ursane glycoside. Điểm khác nhau là ở hợp chất **SP4** có xuất hiện tín hiệu nhóm oxy methylene δ_C 65,9/ δ_H 3,36 và 3,46, $J = 11,0$ Hz, H₂-23) thay cho nhóm methyl δ_C 32,2/ δ_H 1,35 (3H, s) trong **SP1**. Tương tác HMBC giữa H₂-23 (δ_H 3,36 và 3,46) với C-4 (δ_C 44,8)/ C-5 (δ_C 48,8)/ C-3 (δ_C 78,2)/C-24 (δ_C 15,2) đã khẳng định oxy methylene liên kết với C-4 trong hợp chất **SP4**. Vị trí liên kết của đường với aglycone được xác định là C-28 dựa vào HMBC giữa proton anomer H-1' (δ_H 5,37) với C-28 (δ_C 177,2). Giá trị hằng số tương tác lớn $J_{H-2/H-3} = 10$ Hz xác định định hướng của 2 proton H-2 và H-3 là *trans-axial* và hằng số tương tác nhỏ $J_{H-5/H-6}$ (br s)

đã xác định proton H-6 định hướng α -equatorial, đồng thời tương tác trên phổ ROESY H-3 (δ_H 3,31)/H-6 (δ_H 4,40) đã định hướng của 3 nhóm thế hydroxy trên khung ursane của **SP4** là 2α , 3β , 6β [108]. Giá trị hằng số tương tác lớn $J_{1',2'} = 7,5$ Hz của proton anomer tại δ_H 5,37 cho thấy liên kết của phần đường là dạng β . Quá trình thủy phân acid của hợp chất **SP4** thu được D-glucose được xác định bằng sắc ký lớp mỏng TLC khi so sánh với mẫu chuẩn, cũng như tín hiệu góc quay cực dương [66]. Dữ liệu phổ NMR của **SP4** được so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất *Syzygiumursanolide C* [106] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy, hợp chất **SP4** được xác định là $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (còn gọi là *Syzygiumursanolide C*) [106].

4.2.1.5. Hợp chất **SP5**: $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -Tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl] ester (*chebuloside II*)



Hình 4.54. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP5**

Hợp chất **SP5** thu được ở dạng bột vô định hình không màu. Phổ ^1H NMR của hợp chất **SP5** cho biết sự có mặt của 6 nhóm methyl với 6 tín hiệu đơn tại δ_H 0,93, 0,96, 1,08, 1,09, 1,16 và 1,40; 1 tín hiệu triplet rộng của proton olefin tại δ_H 5,33 (1H, br t, $J = 3,5$ Hz) và 1 tín hiệu của proton anomer tại δ_H 5,39. Phổ ^{13}C NMR và HSQC cũng cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 36 carbon trong đó có 30 carbon đặc trưng cho triterpene khung olean-12-ene [109] gồm tín hiệu của 7 carbon bậc 4 (1 olefin δ_C 144,3, 1 carbon nhóm carboxylat δ_C 178,1), 6 nhóm methine (1 olefin, 3 oxymethine), 8 methylene (1 oxymethylene tại δ_C 65,9), 2 nhóm methyl. Các nhóm thế hydroxy của **SP5** được xác định định hướng liên kết tại C-2, C-3, C-6 giống như các hợp chất **SP4** lần lượt là $2\alpha,3\beta,6\beta$. Tín hiệu của đường liên kết với phần aglycone

cũng được xác định là tại vị trí C-28 (δ_C 178,1) bởi sự dịch chuyển về phía trường cao hơn so với triterpen oleanane acid δ_C 181,2 [110]. Hằng số tương tác lớn $J = 7,5$ Hz của proton anomer H-1' tại δ_H 5,39 đã xác định liên kết của đường glucose dạng β . Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP5** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-O-[β -D-glucopyranosyl] ester (hay chebuloside II) [111] thấy có sự phù hợp. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SP5** chính là chebuloside II.

Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP5** và hợp chất tham khảo

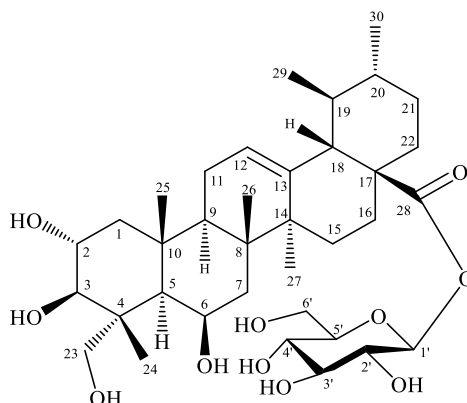
C	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)	C	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)
1	50,0	50,1	0,89 (dd, 12,0, 12,0) <i>ax</i> 1,93 (dd, 12,0, 4,5) <i>eq</i>	19	47,0	47,2	1,18 (m), 1,75 (m)
2	69,0	69,8	3,76 (ddd, 10,0, 9,5, 4,5) <i>ax</i>	20	30,7	31,5	-
3	78,3	78,2	3,31 (d, 10,0) <i>ax</i>	21	34,0	34,9	1,24 (m), 1,41 (m)
4	42,8	43,5	-	22	32,5	33,1	1,64 (dt, 12,0, 3,0), 1,78 dd, 12,0, 3,0)
5	48,8	48,8	1,30 (br s) <i>ax</i>	23	66,1	65,9	3,60 (d, 11,0), 3,46 (d, 11,0)
6	67,6	68,5	4,39 (br s) <i>eq</i>	24	15,9	15,2	1,08 (s)
7	41,0	41,1	1,51 (dd, 14,5, 2,0) <i>eq</i> 1,78 (dd, 14,5, 3,5) <i>ax</i>	25	18,8	18,9	1,40 (s)
8	41,0	39,9	-	26	19,0	19,1	1,09 (s)
9	48,8	49,2	1,92 (dd, 9,5, 5,5)	27	26,1	26,4	1,16 (s)
10	38,1	38,6	-	28	178,4	178,1	-
11	22,6	24,6	1,98 (m), 2,10 (m)	29	33,1	33,5	0,93 (s)
12	123,5	123,9	5,33 (br t, 3,5)	30	23,6	24,0	0,96 (s)
13	143,5	144,3	-	1'	95,6	95,8	5,39 (d, 7,5)
14	42,8	44,8	-	2'	74,0	74,0	3,33 (dd, 9,0, 7,5)
15	28,2	28,8	1,10 (m), 1,86 (m)	3'	79,1	78,3	3,42 (t, 9,0)
16	24,0	24,0	1,73 (m), 2,07 (m)	4'	71,1	71,2	3,38 (t, 9,0)
17	47,0	48,0	-	5'	78,6	78,6	3,35 (m)
18	41,8	42,6	2,90 (dd, 14,0, 3,5)	6'	62,1	62,1	3,61 (dd, 12,0, 5,0) 3,8 (dd, 12,0, 2,0)

^ađo trong CD_3OD , ^b125MHz, ^c500MHz, δ_C^* của chebuloside II đo trong pyridine- d_6 [111].

4.2.1.6. Hợp chất **SP6**: $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -Tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (centelloside C).

Hợp chất **SP6** thu được dạng bột màu trắng. Phổ NMR của hợp chất **SP6** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một triterpene 5 vòng 6 cạnh khung ursane và một phần đường glucose tương tự như hợp chất **SP4** với các tín hiệu của 1 liên kết

đôi $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5,32 (br t, 3,5)/127,4 và δ_{C} 138,6; 6 nhóm methyl tại δ_{C} 15,2, 17,6, 19,3 x 2, 21,5 24,0) và đường glucose tại δ_{C} 95,8/ δ_{H} 5,37 (d, $J = 7,5$ Hz).



Hình 4.55. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP6

Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất SP6

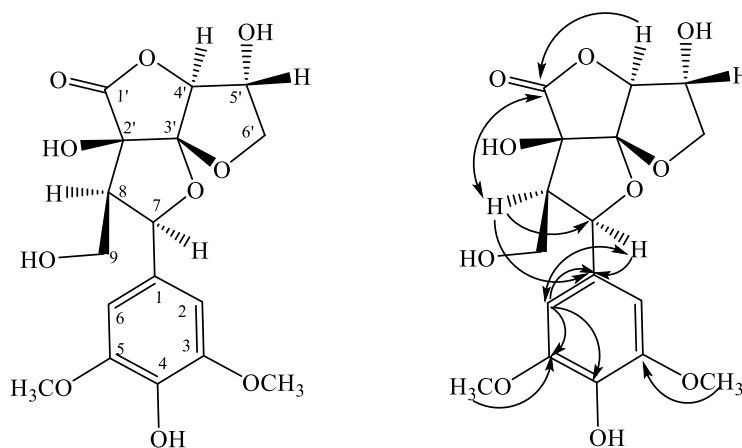
C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	50,3	0,89 (dd, 14,4, 9,5) <i>ax</i> 1,94 (dd, 14,4, 4,5) <i>eq</i>	19	40,4	1,00 (m)
2	69,7	3,76 (ddd, 10,0, 9,5, 4,5) <i>ax</i>	20	40,3	1,42 (m)
3	78,2	3,31 (d, 10,0) <i>ax</i>	21	31,7	1,37 (m), 1,53 (m)
4	44,8	-	22	37,5	1,66 (m), 1,77 (m)
5	48,8	1,32 (br s) <i>ax</i>	23	65,9	3,60 (d, 11,0) 3,46 (d, 11,0)
6	68,5	4,39 (br s) <i>eq</i>	24	15,2	1,08 (s)
7	41,3	1,53 (dd, 14,5, 2,0) <i>eq</i> 1,80 (dd, 14,5, 3,5) <i>ax</i>	25	19,3	1,43 (s)
8	40,2	-	26	19,3	1,12 (s)
9	49,2	1,71 (dd, 9,5, 5,5)	27	24,1	1,10 (s)
10	38,5	-	28	177,9	-
11	24,5	2,00 (m), 2,12 (m)	29	17,6	0,91 (d, 11,0)
12	127,4	5,32 (br t, 3,5)	30	21,5	0,99 (d, 7,5)
13	138,6	-	1'	95,8	5,37 (d, 7,5)
14	43,9	-	2'	73,9	3,34 (dd, 9,0, 7,5)
15	29,3	1,12 (m), 2,01 (m)	3'	78,3	3,42 (t, 9,0)
16	25,3	1,78 (m), 2,09 (m)	4'	71,3	3,38 (t, 9,0)
17	48,7	-	5'	78,5	3,35 (m)
18	54,3	2,28 (d, 11,0)	6'	62,5	3,71 (dd, 12,0, 5,0) 3,82 (dd, 12,0, 2,0)

^ađo trong CD_3OD , ^b125MHz, ^c500MHz

Vị trí và định hướng của các nhóm thế hydroxy cũng tương tự như hợp chất SP4 được xác định là 2α , 3β , 6β . Phần đường glucose cũng được xác định gắn với C-28 (δ_{C} 177,9) và liên kết đường là β do hằng số tương tác $J = 7,5$ Hz của proton anomer tại δ_{H} 5,37. Từ dữ liệu phổ NMR của SP6 (Bảng 4.23) kết hợp so sánh với dữ

liệu phổ tương ứng của hợp chất madecassic [112] cho thấy **SP6** là dạng ester glycosyl của medecassic. Vì vậy, có thể xác định hợp chất **SP6** là $2\alpha,3\beta,6\beta,23$ -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester.

4.2.1.7. Hợp chất **SP7**: Amarusine A



Hình 4.56. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SP7**

Hợp chất **SP7** thu được dạng bột vô định hình màu trắng. Trên phổ ^1H NMR của **SP7** xuất hiện tín hiệu đặc trưng của vòng thiom thể đối xứng 4 nhóm thế tại δ_{H} 6,72 (2H, s, H-2, H-6), tín hiệu singlet của 2 nhóm methoxy tại δ_{H} 3,87 (6H, s), tín hiệu của 3 nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,85 (H-4'), 4,34 (H-5') và 5,21 (H-7), tín hiệu của 2 nhóm oxymethylene tại δ_{H} 3,68/3,92 (H₂-9), 4,10/4,13 (H₂-6') và một tín hiệu nhóm methine tại δ_{H} 2,55 (H-8). Phổ ^{13}C NMR và HSQC của **SP7** cho tín hiệu cộng hưởng của 17 carbon bao gồm 2 nhóm methoxy, 2 methylene, 6 nhóm methine và 7 carbon bậc 4. Tương tác trên phổ HMBC giữa proton của nhóm methoxy tại δ_{H} 3,87 với C-3/C-5 (δ_{C} 56,8) và giữa H-2/H-6 (δ_{H} 6,72) với C-1 (δ_{C} 130,2)/C-5 (δ_{C} 149,3)/C-4 (δ_{C} 137,0) đã gợi ý sự có mặt của nhóm 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl. Tương tác giữa H-8 (δ_{H} 2,55) với C-1' (δ_{C} 175,6), giữa H-7 (δ_{H} 5,21)/H-9 (δ_{H} 3,68, 3,92) với C-2' (δ_{C} 81,6) và giữa H-4' (δ_{H} 4,85) với C-1' (δ_{C} 175,6)/C-3' (δ_{C} 117,9) dự đoán sự có mặt của một vòng butyrolactone (vòng B). Tương tác trên phổ HMBC giữa H-4' với C-5' (δ_{C} 75,2)/C-6' (δ_{C} 75,2), giữa H-6' (δ_{H} 4,10, 4,13) với C-3' gợi ý sự xuất hiện của vòng tetrahydrofuran (vòng C) ghép với vòng B. Sự có mặt của carbon bậc 4 (C-3') tại δ_{C} 117,9 xác định sự tồn tại của một vòng tetrahydrofuran khác (vòng A). Do đó, cấu trúc của hợp chất **SP7** dự đoán có chứa 2 vòng tetrahydrofuran và 1 vòng butyrolactone với C-3' là trung tâm của cả 3 vòng. Từ dữ

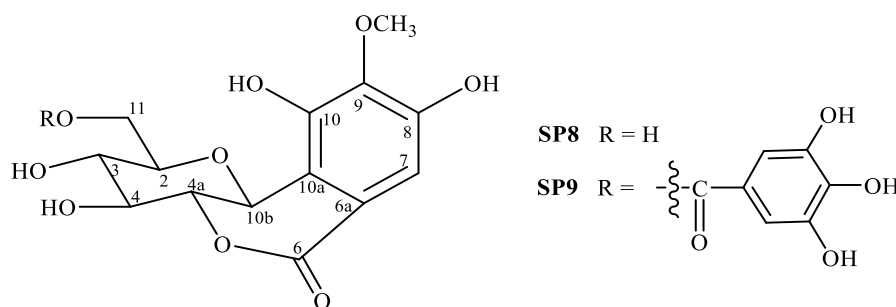
liệu phổ NMR của hợp chất **SP7** (Bảng 4.24) kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất amarusine A [113] có thể kết luận hợp chất **SP7** chính là amarusine A.

Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP7** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J Hz)
1	129,1	130,2		1'	174,2	175,6	-
2	105,3	105,2	6,72 (s)	2'	80,1	81,6	-
3	148,2	149,3	-	3'	117,0	117,9	-
4	136,0	137,0	-	4'	89,0	90,6	4,85 (d, 1,8)
5	148,2	149,3	-	5'	73,7	75,2	4,34 (m)
6	105,3	105,2	6,72 (s)	6'	74,1	75,2	4,13 (dd, 9,6, 4,8) 4,10 (dd, 9,6, 3,6)
7	85,5	86,6	5,20 (d, 10,2)	OCH ₃	56,5	56,8	3,87 (s)
8	55,6	57,6	2,55 (m)				
9	56,7	58,1	3,68 (dd, 12,0, 4,2) 3,92 (dd, 12,0, 6,0)				

^ađo trong CD₃OD, ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của hợp chất amarusine A đo trong DMSO-d₆ [113].

4.2.1.8. Hợp chất **SP8**: Bergenin



Hình 4.57. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP8**, **SP9**

Hợp chất **SP8** thu được dạng tinh thể không màu. Trên phổ ¹H NMR xuất hiện tín hiệu singlet của proton vòng thơm thế 5 nhóm thế tại δ_H 7,10 (1H, s), tín hiệu singlet của một nhóm methoxy tại δ_H 3,92 (3H,s). Phổ ¹³C NMR xuất hiện tín hiệu của 6 carbon vòng thơm tại δ_C 111,1-152,3 (3 carbon bị oxy hóa tại 142,26, 149,4, 152,3), 1 carbon của nhóm carbonyl tại δ_C 165,8, 1 tín hiệu của nhóm methoxy tại δ_C 60,9. Các tín hiệu trong **SP8** đặc trưng của acid gallic [114] ngoại trừ nhóm hydroxy của acid gallic được thay bằng nhóm methoxy trong hợp chất **SP8**. Ngoài ra, trên phổ NMR còn cho thấy bộ tín hiệu của đường glucose tại δ_H (3,46-4,08)/ δ_C (62,6-83,0). Từ các dữ kiện phổ NMR có thể dự đoán cấu trúc của hợp chất **SP8** là một dẫn chất glucoside của acid gallic với 1 tín hiệu của đường glucose bị dịch chuyển về phía

trường thấp hơn δ_C 81,4 (C-4a) so với thông thường của đường glucose (δ_C 73-75) là do liên kết với 1 nhóm hút điện tử (C=O). Dữ liệu phổ của hợp chất **SP8** (Bảng 4.25) được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất bergenin [115] cho thấy có sự tương đồng. Vì vậy, có thể xác định hợp chất **SP8** chính là bergenin.

Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP8**, **SP9** và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SP8			Hợp chất SP9		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)	δ_C^*	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
2	82,3	83,0	3,68 (ddd, 8,4, 4,8, 1,8)	80,1	80,7	3,97 (m)
3	71,3	71,9	3,46 (dd, 9,6, 9,0)	71,5	71,8	3,57 (t, 9,0)
4	74,7	75,6	3,83 (dd, 9,0, 9,0)	75,2	75,4	3,88 (t, 9,0)
4a	80,7	81,4	4,08 (dd, 10,8, 9,6)	80,6	81,3	4,12 (t, 10,2)
6	165,2	165,8	-	163,8	165,7	-
6a	118,9	119,4	-	119,3	119,4	-
7	110,6	111,1	7,10 (s)	110,4	111,2	7,10 (br s)
8	151,7	152,3	-	151,8	152,3	-
9	141,7	142,3	-	141,3	142,3	-
10	149,0	149,4	-	148,9	149,2	-
10a	116,9	117,3	-	116,6	117,0	-
10b	73,4	74,2	4,96 (d, 10,2)	73,9	74,4	5,04 (dd, 10,2, 3,0)
11	62,0	62,6	4,03 (dd, 11,4, 1,2) 3,73 (dd, 11,4, 5,4)	64,3	64,7	4,86 (dd, 12,0, 3,0) 4,41 (dd, 12,0, 6,6)
OCH ₃	60,8	60,9	3,92 (s)	60,7	61,0	3,91 (s)
1'	-	-	-	121,2	121,1	-
2', 6'	-	-	-	109,9	110,3	7,13 (s)
3', 5'	-	-	-	146,1	146,5	-
4'	-	-	-	139,1	140,0	-
7'	-	-	-	166,8	168,2	-

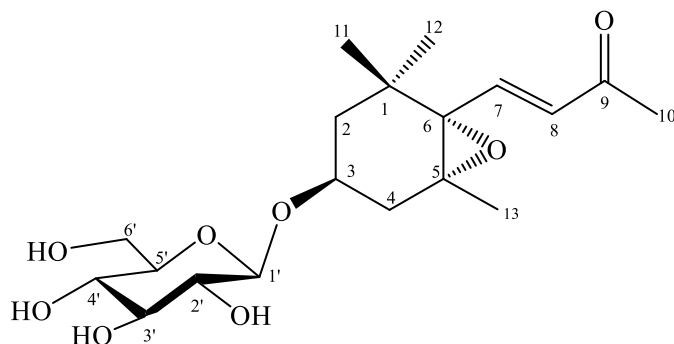
^ađo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của bergenin đo trong Me₂CO-d₆+D₂O [115], δ_C^* của hợp chất 11-O-galloylbergenin [115] đo trong Me₂CO-d₆

4.2.1.9. Hợp chất **SP9**: 11-O-Galloylbergenin

Hợp chất **SP9** thu được dạng tinh thể hình kim. Trên phổ NMR của hợp chất **SP9** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của bergenin giống như hợp chất **SP8** ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu đặc trưng của nhánh galloyl với 1 vòng thơm thế đối xứng 4 nhóm thế tại δ_H 7,13 (2H, s), δ_C 110,3-121,1 và 1 nhóm carbonyl tại δ_C 166,8. Vì vậy, có thể dự đoán **SP9** là dẫn chất galloyl của bergenin. Độ dịch chuyển hóa học của C-2 (δ_C 80,7) và C-11 (δ_C 64,7) về phía trường thấp hơn khoảng 2 ppm so với bergenin tương ứng δ_C 83,0 và 62,6 đã gợi ý phần galloyl thế ở vị trí C-11. Từ suy đoán này, kết hợp so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP9** (Bảng 4.25) với

11-*O*-galloylbergenin [115] có thể kết luận hợp chất **SP9** chính là 11-*O*-galloylbergenin có cấu trúc hoá học như Hình 4.57. Hợp chất này đã được phân lập từ loài *Mallotus japonicas* lần đầu tiên năm 1982 [116].

4.2.1.10. Hợp chất **SP10**: Icariside B2



Hình 4.58. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP10**

Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP10** và hợp chất tham khảo

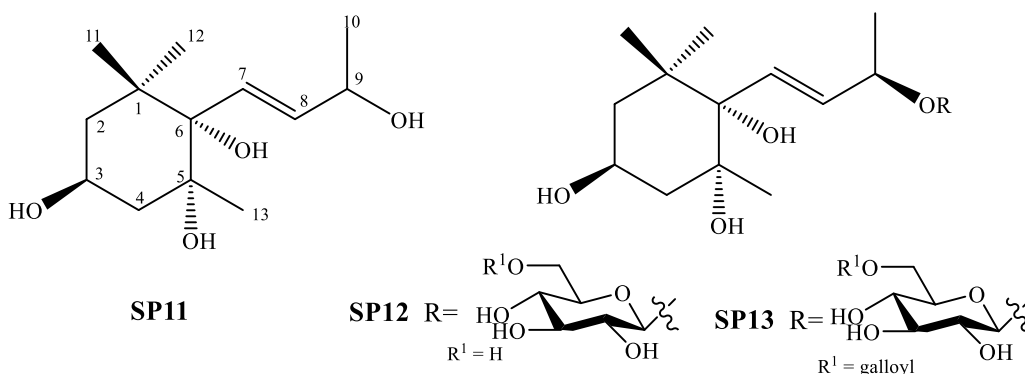
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,1	36,0	-
2	44,8	45,2	1,77 (ddd, 13,2, 3,0, 1,2) 1,43 (dd, 13,2, 3,6)
3	71,5	72,7	3,94 (m)
4	37,8	38,2	1,83 (dd, 14,4, 8,4)/2,44 (ddd, 14,4, 4,8, 1,2)
5	67,1	68,4	-
6	69,9	71,1	-
7	143,0	145,3	7,19 (d, 15,6)
8	133,0	133,8	6,20 (d, 15,6)
9	197,1	200,2	-
10	27,7	27,4	2,31 (s)
11	29,0	29,5	1,23 (s)
12	22,5	25,5	0,98 (s)
13	20,0	20,2	1,21 (s)
3- <i>O</i> - β -D-Glc			
1'	103,2	102,9	4,36 (d, 7,8)
2'	75,3	75,1	3,14 (dd, 7,8, 9,0)
3'	78,7	78,1	3,37 (t, 9,0)
4'	71,8	71,6	3,31 (dd, 7,8, 9,0)
5'	78,4	77,9	3,28 (m)
6'	62,8	62,7	3,69 (dd, 5,4, 12,0)/3,87 (dd, 2,4, 12,0)

^ađo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của icariside B₂ đo trong pyridine-*d*₆ [117]

Hợp chất **SP10** thu được dưới dạng tinh thể hình kim không màu. Trên phổ ¹H NMR của **SP10** xuất hiện 4 tín hiệu singlet của 4 nhóm methyl tại δ_H 0,98, 1,21, 1,23 và 2,31. Trong đó tín hiệu δ_H 2,31 được cho là liên kết với 1 nhóm hút điện tử làm

cho độ dịch chuyển hóa học của proton nhóm này về phía trường thấp hơn so với các nhóm còn lại, tín hiệu của proton anomer cũng xuất hiện tại δ_H 4,36 (1H,d, $J = 7,8$ Hz) cùng với tín hiệu của đường glucose tại δ_H 3,14-3,87. Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của 2 proton olefin tại δ_H 6,20 (H-8) và 7,19 (H-7). Hai proton H-7 và H-8 định hướng *trans* so với nhau do hằng số tương tác lớn $J = 15,6$ Hz. Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 200,2; 2 nhóm methine olefin tại 133,8, 145,3; 2 tín hiệu của carbon bậc 4 liên kết với oxy tại δ_C 68,4, 71,1 là 2 carbon epoxy; 1 tín hiệu của nhóm oxymethine tại δ_C 72,7 và 2 nhóm methylene tại δ_C 38,2, 45,2. Tín hiệu của proton anomer tại δ_H 4,36 và δ_C trong khoảng 62,7-78,1 đặc trưng của đường glucose. Từ dữ liệu phổ của hợp chất **SP10** (Bảng 4.26) và so sánh với dữ liệu phổ NMR của hợp chất icariside B₂ [117] có thể xác định hợp chất **SP10** chính là icariside B₂.

4.2.1.11. Hợp chất **SP11**: *Megastigman-7-ene-3 β ,5 α ,6 α ,9-tetraol*.



Hình 4.59. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP11**, **SP12**, **SP13**

Hợp chất **SP11** thu được dạng bột vô định hình. Trên phổ proton xuất hiện 3 tín hiệu singlet tại δ_H 0,86, 1,16 và 1,22 của 3 nhóm methyl; 1 tín hiệu doublet của methyl tại δ_H 1,29 (3H, d, $J = 6,6$ Hz); tín hiệu của 2 nhóm methylene tại δ_H 1,46/1,67 và 1,78/1,81; tín hiệu của 2 oxy methine tại δ_H 4,06 và 4,36. Tín hiệu doublet của 2 proton H-7, H-8 của nhóm methine olefin tại δ_H 5,80 (H-8) và 6,10 (H-7) định hướng *trans* so với nhau do hằng số tương tác lớn $J = 16,2$ Hz. Phổ ^{13}C NMR của **SP11** cũng cho thấy sự có mặt của các nhóm chức tương ứng với tín hiệu đặc trưng trên phổ proton, đó là 4 nhóm methyl tại δ_C 26,2, 27,1, 27,5 và 24,2, 2 carbon methylene tại δ_C 46,4 và 45,7, 2 carbon methine liên kết oxy tại δ_C 65,3 và 69,6 và tín hiệu của 2 carbon olefin tại δ_C 136,1 và 131,2. Dữ liệu phổ NMR của **SP11** được so

sánh dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất megastigman-7-ene trong tài liệu [118] thấy có sự tương đồng, hợp chất **SP11** có thể xác định là megastigman-7-ene-3 β ,5 α ,6 α ,9-tetraol.

Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP11** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_H^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	40,6	-	40,7	-
2	46,3	1,45 (ddd, 12,2, 4,0, 2,0) 1,64 (t, 12,2)	46,4	1,46 (ddd, 12,0, 4,2, 1,8) 1,67 (t, 12,0)
3	65,1	4,06 (m)	65,3	4,06 (m)
4	45,5	1,76 (2H, m)	45,7	1,81 (ddd, 12,0, 4,8, 1,8) 1,78 (dd, 12,0, 11,0)
5	77,7	-	77,8	-
6	78,8	-	78,9	-
7	130,9	6,07 (dd, 16,0, 1,2)	131,2	6,10 (d, 16,2)
8	135,9	5,79 (dd, 16,0, 6,4)	136,1	5,80 (dd, 16,2, 6,0)
9	69,4	4,34 (qd, 6,4, 1,2)	69,6	4,36 (qd, 6,0, 1,2)
10	24,0	1,27 (d, 6,4)	24,2	1,29 (d, 6,6)
11	27,5	1,22 (s)	27,5	1,22 (s)
12	26,1	0,87 (s)	26,2	0,86 (s)
13	27,1	1,10 (s)	27,1	1,16 (s)

^ađo trong CD_3OD , ^b 150MHz, ^c 600MHz, $\delta_C^{\#}$ của hợp chất megastigman-7-ene-3,5,6,9-tetraol đo trong CD_3OD [118].

4.2.1.12. Hợp chất **SP12**: Actinidioionoside

Hợp chất **SP12** thu được dạng bột vô định hình màu trắng. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP12** rất giống với hợp chất **SP11** ở khung megastigmanes (Bảng 4.28). Điểm khác giữa **SP11** và **SP12** là trên phổ NMR của hợp chất **SP12** có thêm tín hiệu proton anomer của đường tại δ_H 4,37 (d, $J = 8,0$ Hz) thay thế cho tín hiệu của nhóm hydroxymethine của hợp chất **SP11**. Hằng số tương tác lớn của proton anomer chứng tỏ liên kết đường là dạng β . Vị trí liên kết của đường với phần aglycone megastigmane được dự đoán là liên kết dạng *O*-glucose ở C-9 do độ dịch chuyển hóa học của C-9 về phía trường thấp hơn δ_H/δ_C 4,43/78,8 so với **SP11** tại C-9 có δ_H/δ_C 4,36/69,6. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-9 là 78.8 cho thấy cấu hình tuyệt đối tại C-9 là (9*R*) [119]. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP12** (Bảng 4.28) so sánh với hợp chất actinidioionoside [119] thấy có sự phù hợp. Vì vậy có thể kết luận hợp chất **SP12** chính là actinidioionoside có cấu trúc hoá học như Hình 4.59.

Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP12**, **SP13** và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SP12			Hợp chất SP13		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	40,7	40,6	-	40,7	40,7	-
2	46,4	46,3	1,66 (t, 12,0) 1,45 (ddd, 12,5, 4,0, 1,5)	46,4	46,3	1,64 (dd, 12,0) 1,46 (ddd, 12,0, 4,0, 1,5)
3	65,3	65,3	4,06 (m)	65,3	65,2	4,06 (m)
4	45,6	45,6	1,76 (m), 1,78 (m)	45,7	45,5	1,74 (m), 1,79 (m)
5	77,8	77,7	-	77,8	77,7	-
6	78,9	78,9	-	79,2	79,2	-
7	133,0	132,9	6,12 (d, 16,0)	132,8	132,7	6,11 (dd, 16,2)
8	134,7	134,6	5,88 (dd, 16,0, 7,5)	134,2	134,1	5,85 (dd, 16,2, 6,5)
9	78,8	78,8	4,43 (qin, 6,5)	78,4	78,4	4,43 (qin, 6,5)
10	21,8	21,8	1,35 (d, 6,5)	21,7	21,7	1,34 (d, 6,5)
11	27,6	27,6	1,18 (s)	26,2	26,2	1,15 (s)
12	26,2	26,2	0,86 (s)	27,4	27,4	0,82 (s)
13	27,5	27,5	1,18 (s)	27,5	27,5	1,18 (s)
1'	102,6	102,6	4,37 (d, 8,0)	102,7	102,6	4,45 (d, 8,0)
2'	75,3	75,3	3,20 (dd, 9,0, 8,0)	75,4	75,3	3,25 (dd, 9,0, 8,0)
3'	78,2	78,1	3,32 (t, 9,0)	78,0	77,9	3,42 (t, 9,0)
4'	71,8	71,8	3,21 (t, 9,0)	71,5	71,4	3,47 (t, 9,0)
5'	78,0	77,9	3,24 (m)	75,6	75,5	3,51 (m)
6'	62,8	62,8	3,62 (dd, 11,5, 6,0) 3,87 (dd, 11,5, 1,5)	64,7	64,6	4,37 (dd, 12,0, 5,0) 4,53 (dd, 12,0, 2,0)
1''				121,5	121,4	-
2''				110,3	110,3	7,12 (s)
3''				146,5	146,4	-
4''				139,9	139,8	-
5''				146,5	146,4	-
6''				110,3	110,3	7,12 (s)
7''				168,5	168,4	-

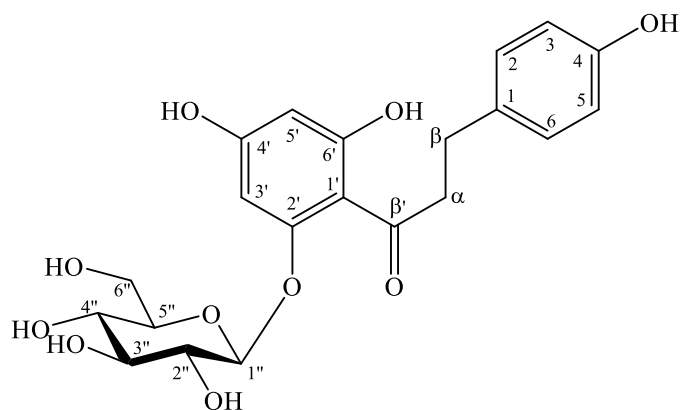
^ađo trong CD_3OD , ^b125MHz, ^c500MHz, $\delta_C^{\#}$ của actinidioionoside đo trong CD_3OD [119], δ_C^* của hợp chất actinidioionoside 6'-O-gallate đo trong CD_3OD [120].

4.2.1.13. Hợp chất **SP13**: Actinidioionoside 6'-O-gallate

Hợp chất **SP13** thu được dạng bột vô định hình. Dữ liệu phổ NMR của **SP13** đặc trưng của một megastigmane glucoside giống hợp chất **SP12** (Bảng 4.28). Hằng số tương tác lớn $J = 8,0$ Hz xác định liên kết đường là dạng β . Điểm khác của **SP13** so với **SP12** đó là sự xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của nhóm galloyl với tín hiệu singlet của 2 proton vòng thơm thế đối xứng tại δ_H 7,12 (2H, s) và một nhóm carbonyl tại δ_C 168,4. Do đó hợp chất **SP13** dự đoán là dẫn chất galloyl hợp chất **SP12**. Vị trí nhóm galloyl được xác định là liên kết ester với C-6' do độ dịch chuyển hóa học của C-6' trong **SP13** về phía trường thấp hơn [δ_H/δ_C (4,37, 4,53)/64,6] so với

SP12 [δ_H/δ_C (3,62, 3,87)/62,8]. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-9 là 78.4 cho thấy cấu hình tuyệt đối tại C-9 là (9*R*) [119]. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP13** đem so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất actinidioionoside 6'-*O*-gallate [120] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy có thể kết luận, hợp chất **SP13** là actinidioionoside 6'-*O*-gallate có cấu trúc hoá học như Hình 4.59.

4.2.1.14. Hợp chất **SP14**: Phloridzosid



Hình 4.60. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP14**

Bảng 4.29. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP14** và hợp chất tham khảo

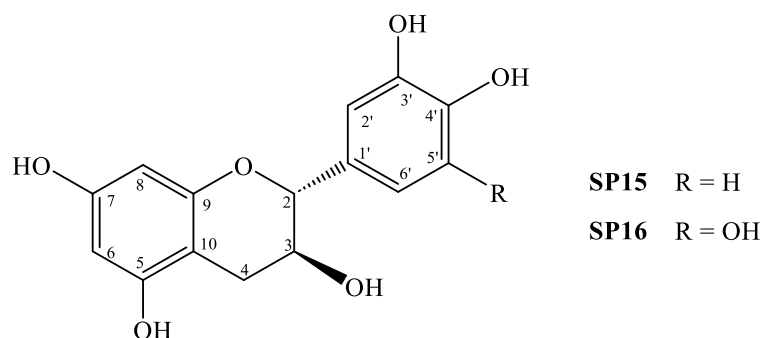
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	133,84	133,9	-
2	130,31	130,4	7,09 (d, 8,4)
3	116,03	116,1	6,69 (d, 8,4)
4	156,14	156,4	-
5	116,03	116,1	6,69 (d, 8,4)
6	130,31	130,4	7,09 (d, 8,4)
α	46,83	46,9	3,40 (t, 6,6)
β	30,73	30,9	2,89 (t, 6,6)
β'	206,48	206,4	-
1'	106,73	106,6	-
2'	167,18	nd	-
3'	95,40	95,7	6,13 (d, 2,4)
4'	165,77	nd	-
5'	98,33	98,5	5,91 (d, 2,4)
6'	162,15	162,3	-
1''	101,90	102,1	5,06 (d, 7,2)
2''	74,62	74,7	3,46 (m)
3''	78,24	78,4	3,48 (m)
4''	70,98	71,1	3,45 (m)
5''	78,36	78,5	3,48 (m)
6''	62,34	62,5	3,93 dd (12,0, 2,5), 3,74 dd (12,0, 5,5)

^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, ndkhông phát hiện trên phổ, $\delta_C^{\#}$ của phloridzosid đo trong CD_3OD [121].

Hợp chất **SP14** thu được dạng bột. Trên phổ ^1H NMR của **SP14** xuất hiện tín hiệu đặc trưng của một dihydrochalcone. Đó là tín hiệu của 2 nhóm methylene tại δ_{H} 2,89 (2H, t, $J = 6,6$ Hz) và 3,40 (2H, t, $J = 6,6$ Hz), 2 tín hiệu doublet của proton vòng thơm thế đối xứng 2 nhóm thế tại δ_{H} 6,69 (2H, d, $J = 8,4$ Hz) và 7,09 (2H, d, $J = 8,4$ Hz) và tín hiệu của 2 proton vòng thơm khác tại δ_{H} 6,13 (1H, d, $J = 2,4$ Hz), 5,91 (1H, d, $J = 2,4$ Hz). Tín hiệu đặc trưng của đường glucose được xác định bởi anomer tại δ_{C} 62,5/ δ_{H} 5,06 (d, $J = 7,2$ Hz) và 6 tín hiệu khác xuất hiện trong khoảng δ_{H} 3,45-3,93. Phổ ^{13}C NMR cũng cho thấy sự có mặt của các tín hiệu carbon bị oxy hóa hoặc không bị oxy hóa của 2 vòng thơm tại δ_{C} 116,1-156,4 (vòng B) và δ_{C} 95,7-162,3 (vòng A), tín hiệu của 2 nhóm methylene tại δ_{C} 30,9 và 46,9, và tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl tại δ_{C} 206,8. Liên kết đường glucose là dạng β do hằng số tương tác $J = 7,2$ Hz. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP14** (Bảng 4.29) được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất phloridzozid [121] thấy có sự tương đồng. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SP14** chính là phloridzozid.

4.2.1.15. Hợp chất **SP15**: (+)-Catechin

Hợp chất **SP15** thu được dạng tinh thể hình kim màu trắng. Trên phổ ^1H NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của vòng thơm thế 3 nhóm thế tại δ_{H} 6,75 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,80 (1H, d, $J = 8,4$ Hz) và 6,88 (s) (vòng B), tín hiệu của vòng thơm thế 4 nhóm thế khác tại δ_{H} 5,92 (1H, s) và 5,99 (1H, s) (vòng A), tín hiệu của nhóm methylene tại δ_{H} 2,56 (dd, $J = 16,2, 8,4$ Hz) và 2,88 (dd, $J = 16,2, 5,4$ Hz) và tín hiệu của 2 nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,04 (dd, $J = 13,8, 7,8$ Hz) và 4,62 (d, $J = 7,8$ Hz).



Hình 4.61. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP15**, **SP16**

Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 15 carbon đặc trưng của khung flavanol với 12 carbon thơm bị oxy hóa hoặc không bị oxy hóa tại δ_{C} 95,6– 146,3, 1

carbon nhóm methylene tại δ_C 28,5 và 2 carbon nhóm methine bị oxy hóa tại δ_C 68,8 và 82,9. Hằng số tương tác $J_{H-2/H-3} = 7,8$ Hz đã xác định 2 proton H-2 và H-3 chiếm vị trí *trans* so với nhau. Từ dữ liệu phổ NMR của **SP15** (Bảng 4.30) và so sánh với dữ liệu phổ của (+)-catechin [122] có thể xác định hợp chất **SP15** chính là (+)-catechin.

Bảng 4.30. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP15**, **SP16** và các hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SP15			Hợp chất SP16		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	82,71	82,9	4,63 (d, 7,8)	82,62	82,8	4,56 (d, 7,2)
3	68,36	68,8	4,04 (dd, 13,8, 7,8)	68,22	68,7	3,99 (ddd, 7,8, 7,2, 5,4)
4	28,81	28,5	2,56 (dd, 16,2, 8,4) 2,88 (dd, 16,2, 5,4)	28,33	28,1	2,53 (dd, 16,2, 7,8) 2,84 (dd, 16,2, 5,4)
5	157,17	157,6	-	156,72	156,8	-
6	95,47	96,4	5,92 (s)	95,33	95,5	5,95 (s)
7	156,86	157,9	-	157,08	157,8	-
8	96,20	95,6	5,99 (s)	96,00	96,3	5,89 (s)
9	155,7	156,9	-	157,55	157,5	-
10	100,65	100,9	-	100,47	100,7	-
1'	132,20	132,3	-	131,39	131,5	-
2'	115,68	115,3	6,88 (s)	107,20	107,2	6,43 (s)
3'	145,69	146,3	-	146,14	146,8	-
4'	145,63	146,3	-	133,19	134,0	-
5'	115,23	116,1	6,75 (d, 8,4)	146,14	146,8	-
6'	120,02	120,0	6,80 (d, 8,4)	107,20	107,2	6,43 (s)

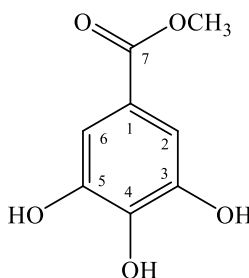
^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của (+)-catechin và δ_C^* của (+)-gallocatechin đo trong $(CD_3)_2CO-d_6$ [122].

4.2.1.16. Hợp chất **SP16**: (+)-Gallocatechin

Hợp chất **SP16** thu được dạng bột vô định hình màu trắng. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SP16** giống với hợp chất **SP15** với các tín hiệu đặc trưng của một flavanol (Bảng 4.30). Điểm khác giữa **SP16** so với **SP15** là ở vòng thơm B của hợp chất **SP16** có thêm 1 nhóm thế hydroxyl tại C'-5 làm cho độ dịch chuyển hoá học dịch chuyển về phía trường thấp δ_C 146,8 so với hợp chất **SP15** (δ_C 116,1, C-5') và sự

biến mất của tín hiệu của proton H-5' trên phổ ^1H NMR. Hằng số tương tác giữa 2 proton H-2 và H-3 ($J_{\text{H-2/H-3}} = 7,2$ Hz) xác định định hướng *trans* của 2 proton này. Từ dữ liệu phổ của **SP16** kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất (+)-gallo catechin [122] có thể kết luận hợp chất **SP16** là (+)-gallo catechin (Hình 4.61).

4.2.1.17. Hợp chất **SP17**: Methyl gallate



Hình 4.62. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SP17**

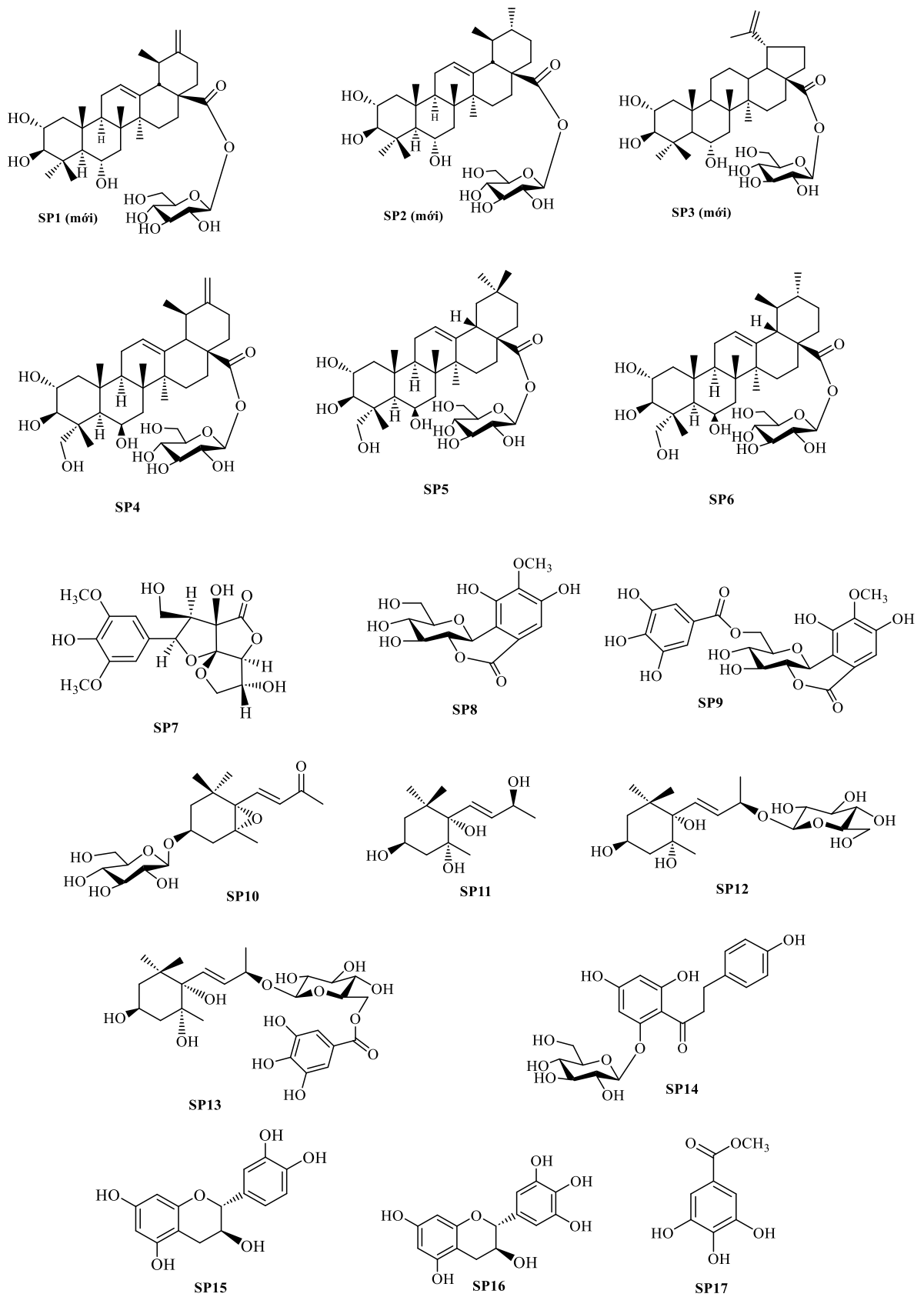
Bảng 4.31. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SP17** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	121,93	121,4	-
2, 6	110,51	110,1	7,18 (s)
3, 5	146,94	146,3	-
4	142,20	139,6	-
7	169,49	169,1	-
OCH ₃	52,66	52,3	3,92 (s)

^aCD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của methyl gallate đo trong CD₃OD [123].

Hợp chất **SP17** thu được dạng tinh thể hình kim màu trắng. Trên phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu đặc trưng của một vòng thơm thế đối xứng 4 nhóm thế tại δ_{H} 7,07 (2H, s) và nhóm methoxy tại δ_{H} 3,92. Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 3 carbon thơm bậc 4 bị oxy hóa tại δ_{C} 146,3 (2C), 139,6, 1 carbon thơm bậc 4 tại 121,4, 2 carbon methine thơm tại δ_{C} 110,1 và tín hiệu nhóm carbonyl tại δ_{C} 169,1. Dữ liệu phổ NMR của **SP17** được so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của methyl gallate [123] cho thấy có sự tương đồng. Do đó, có thể kết luận hợp chất **SP17** là methyl gallate.

Các hợp chất phân lập được từ loài *S. bullockii* được tổng hợp ở Hình 4.63. Có thể nhận thấy, các hợp chất phân lập được từ loài *S. bullockii* cũng chủ yếu bao gồm các chất khung triterpene 5 vòng (6 hợp chất) và khung megastigmane ngoài ra còn có một số hợp chất flavonoid (chalcone và flavanol).



Hình 4.63. Cấu trúc hóa học của hợp chất SP1-SP17

4.2.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. bullockii*

Mười bảy hợp chất phân lập từ loài *S. bullockii* được thử hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS (Bảng 3.2). Trong thử nghiệm MTT, tại nồng độ 100 μM , các hợp chất **SP1-SP17** không gây độc tính tế bào. Do đó, mức độ sản sinh NO trong môi trường nuôi cấy tế bào được xác định trong sự có mặt của các chất phân lập được **SP1-SP17** tại dãy nồng độ được pha loãng dần trong khoảng 0-100 μM . Từ kết quả ở bảng 3.2, cho thấy các hợp chất phân lập được (trừ hợp chất **SP11** có hoạt tính yếu) đều thể hiện khả năng ức chế hiệu quả sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 được hoạt hóa Lipopolysaccharide với nồng độ ức chế trung bình IC_{50} trong khoảng 1,42 đến 13,70 μM , thấp hơn nhiều so với đối chứng dương là L-NMMA ($\text{IC}_{50} = 33,8 \mu\text{M}$). Các hợp chất triterpene 5 vòng thể hiện hoạt tính tốt trong việc ức chế sản sinh NO. Hợp chất megastigmane (**SP11**) thể hiện hoạt tính trung bình tuy nhiên dẫn chất glycoside (**SP12**) và galloyl glycoside (**SP13**) của nó lại thể hiện hoạt tính tốt. Hợp chất flavanol (**SP14, SP15**) thể hiện hoạt tính rất tốt. Đặc biệt 2 hợp chất **SP7** và **SP10** trong cấu trúc có nhóm epoxy thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất với giá trị IC_{50} tương ứng là 1,89 và 1,42 μM . Như vậy hợp chất triterpene 5 vòng thể hiện hoạt tính ức chế sự sản sinh NO hiệu quả và do đó đóng vai trò quan trọng trong hoạt động chống viêm.

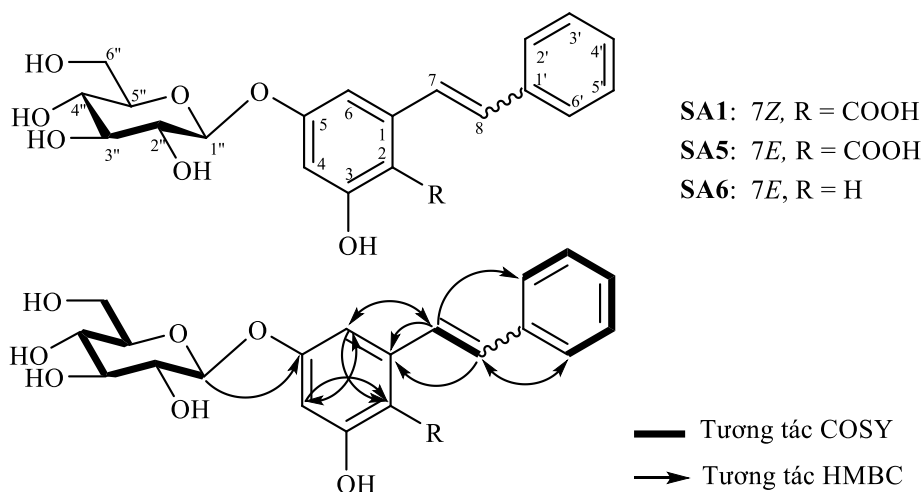
4.3. Thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài *S. attopuense*

4.3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *S. attopuense*

4.3.1.1. Hợp chất **SA1**: Syzyceroside A (1-[(Z)-styryl]-resorcin-2-carboxylic acid 5-O- β -D-glucopyranoside)(hợp chất mới)

Hợp chất **SA1** thu được có dạng bột vô định hình màu trắng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **SA1** xuất hiện pic ion giả phân tử m/z : 631,3451 $[\text{M}-\text{H}]^-$ và m/z 667,3241 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, kết hợp với dữ liệu phổ ^{13}C NMR và HSQC cho phép xác định công thức phân tử của **SA1** là $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_{10}$. Trên phổ ^1H NMR của **SA1** xuất hiện tín hiệu của một vòng thơm thế mono tại δ_{H} 7,09 (1H, m) và 7,15 (4H), 2 tín hiệu doublet của 2 proton vòng thơm khác ở vị trí meta so với nhau tại δ_{H} 6,43 và 6,31 ($J_{\text{meta}} = 2,4 \text{ Hz}$), 2 tín hiệu doublet của proton olefin tại δ_{H} 7,22 và

6,47, tín hiệu của proton anomer tại δ_H 4,52 (d, $J = 7,8$ Hz) và 6 proton khác trong khoảng δ_H 3,32-3,71.

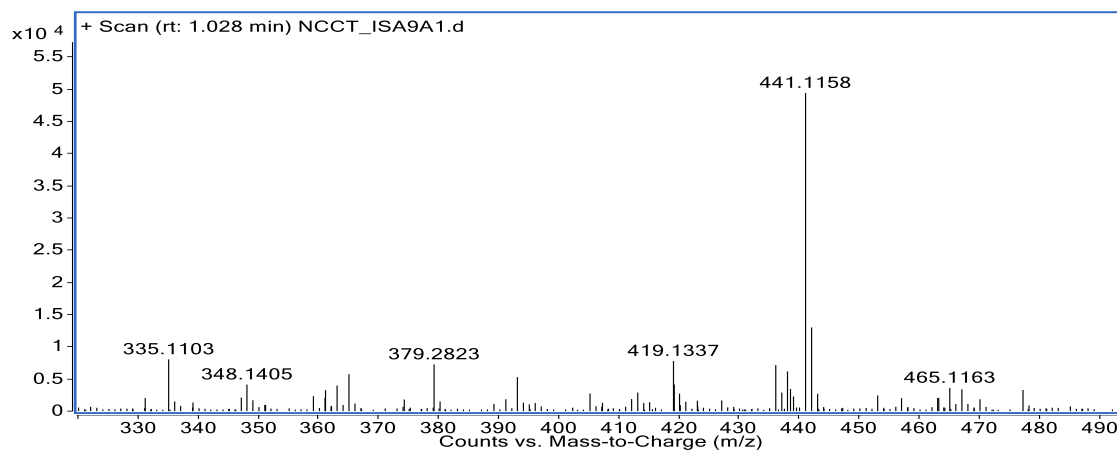


Hình 4.64. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất SA1, SA5 và SA6

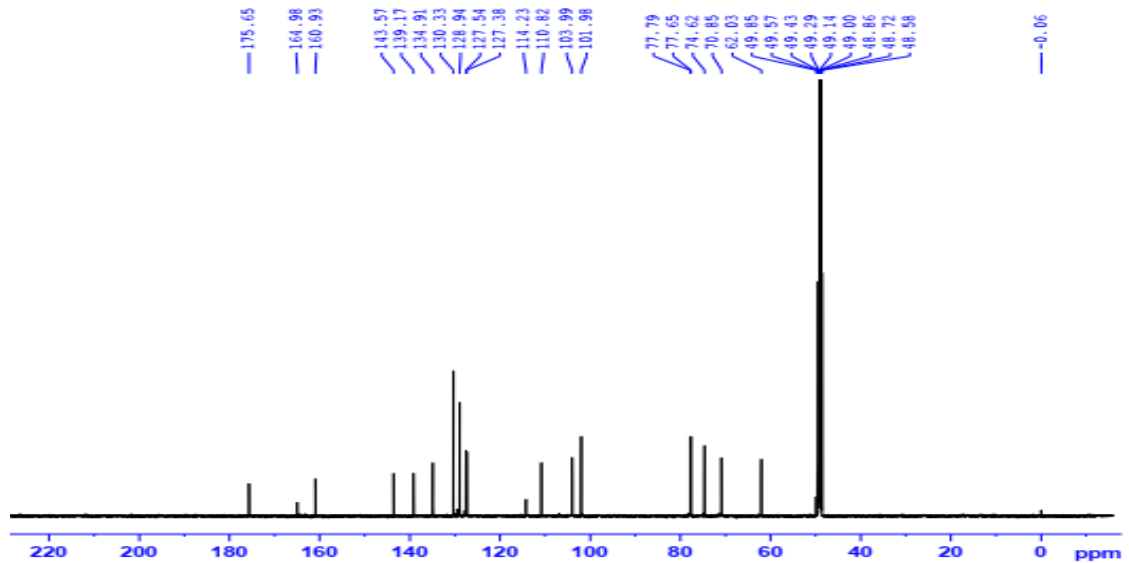
Bảng 4.32. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA1

C	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	143,6	-	1'	139,2	-
2	114,1	-	2', 6'	130,3	7,15*
3	165,0	-	3', 5'	128,9	7,15*
4	104,0	6,43 (d, 2,4)	4'	127,5	7,09 (m)
5	160,9	-	1''	102,0	4,52 (d, 7,8)
6	110,8	6,31 (d, 2,4)	2''	74,6	3,32*
7	134,9	7,22 (d, 12,0)	3''	78,0	3,33*
8	127,4	6,47 (d, 12,0)	4''	70,9	3,40 (t, 9,0)
COOH (1)	175,7	-	5''	77,7	3,11 (ddd, 9,0, 5,4, 1,8)
			6''	62,0	3,66 (dd, 12,0, 5,4)
					3,71 (dd, 12,0, 1,8)

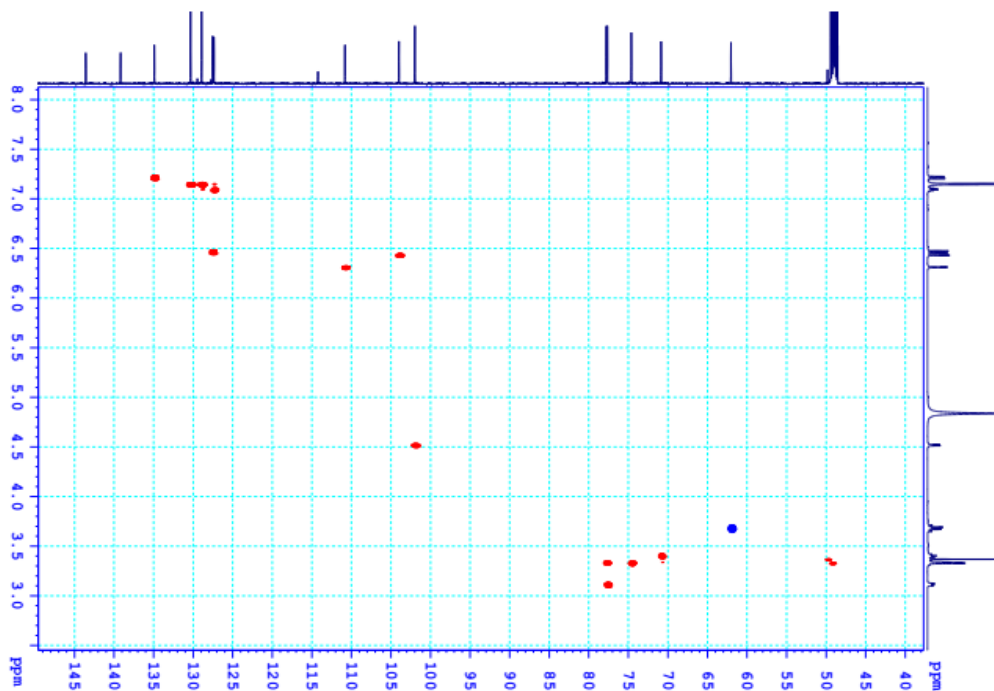
^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600MHz, * tín hiệu bị che lấp.



Hình 4.65. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất SA1

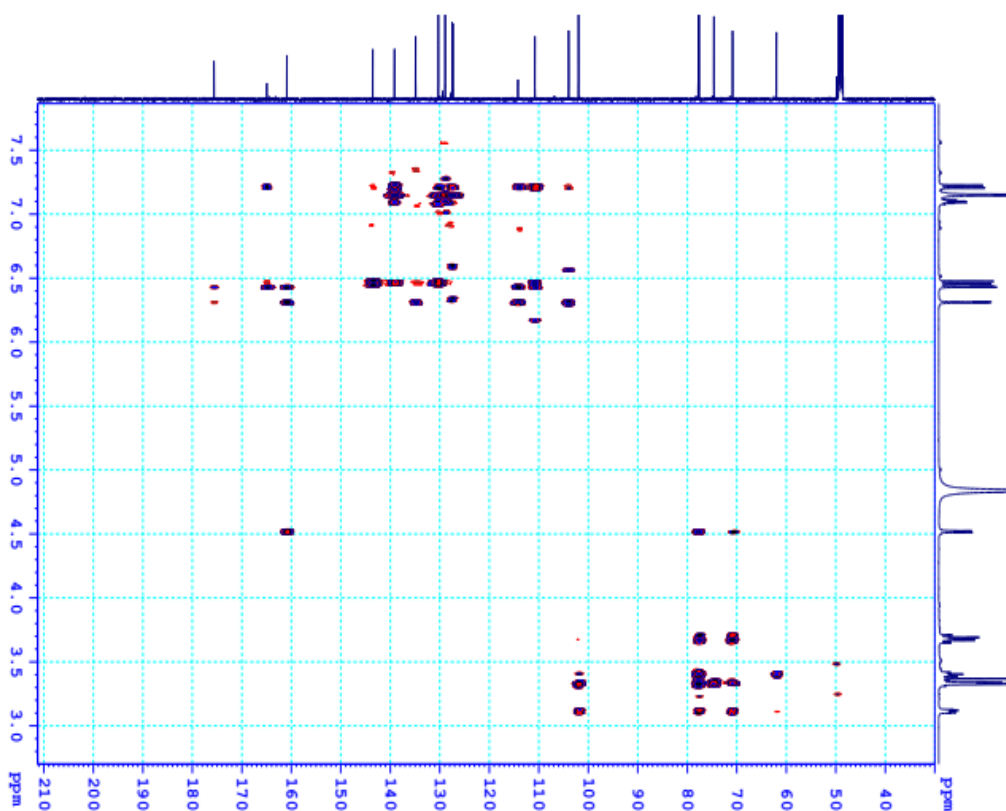


Hình 4.67. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất SA1

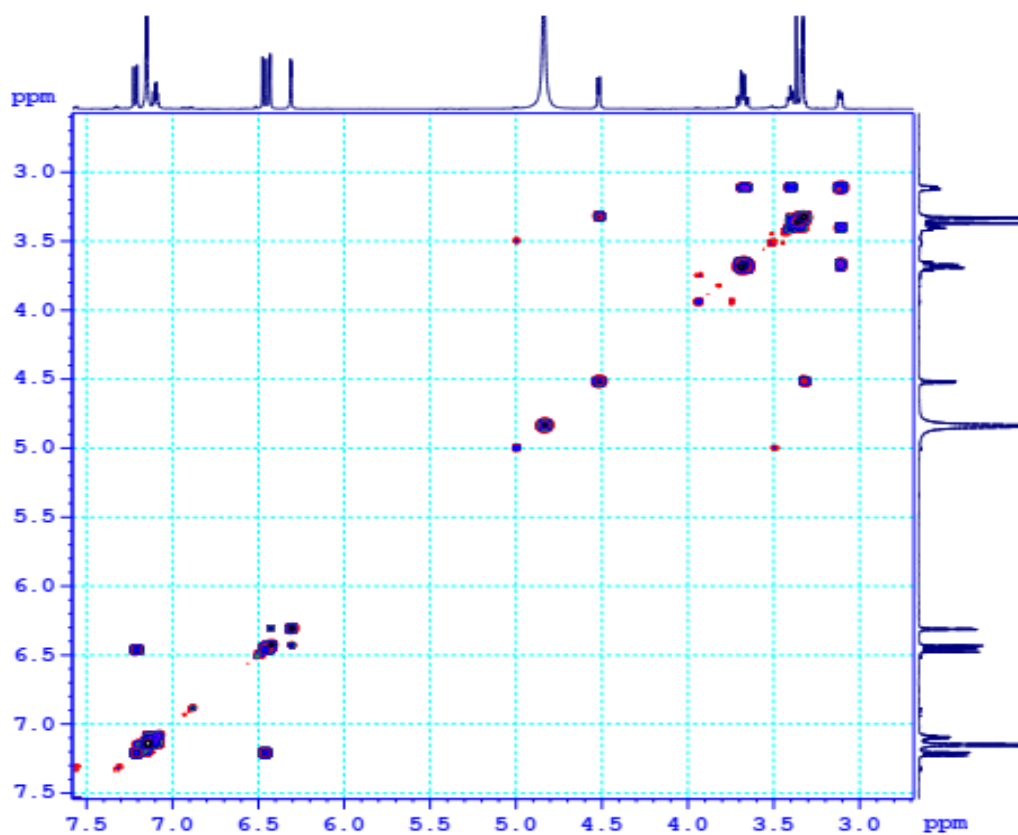


Hình 4.68. Phổ HSQC của hợp chất SA1

Hằng số tương tác lớn $J_{1'',2''} = 7,8$ Hz của proton anomer tại δ_{H} 4,52 đã xác định liên kết của đường glucose là dạng β . Phần đường trong phân tử SA1 được xác định bằng phương pháp thủy phân acid kết hợp với sắc ký lớp mỏng TLC và so sánh với chất chuẩn [66, 125]. Kết quả cho thấy phần đường được xác định là D-glucose. Do đó, hợp chất SA1 được xác định là 1-[(Z)-styryl]-resorcin-2-carboxylic acid 5-O- β -D-glucopyranoside và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzyceroside A.

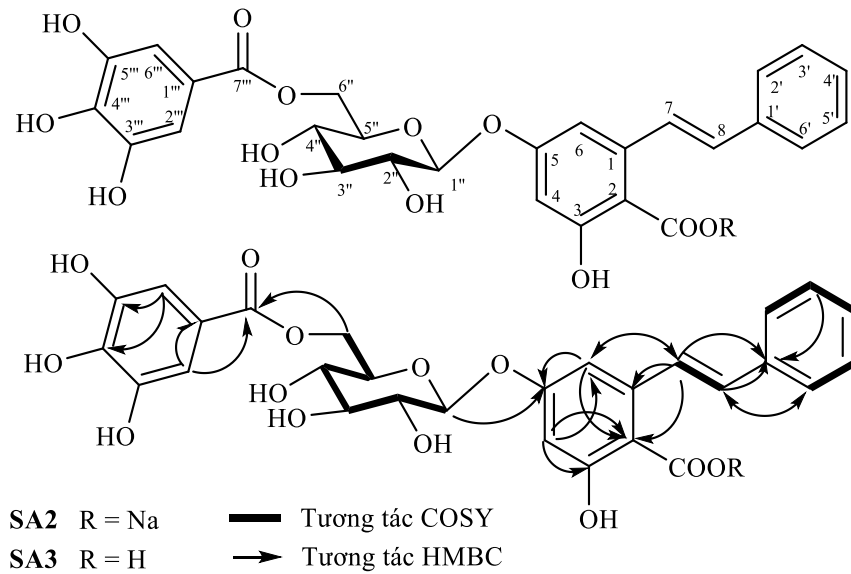


Hình 4.69. Phổ HMBC của hợp chất SA1

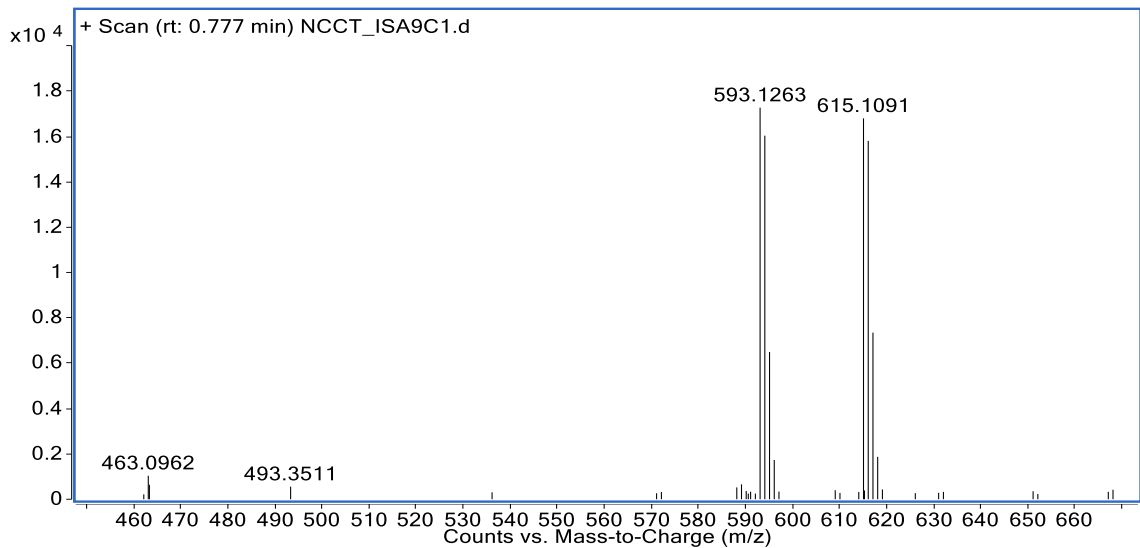


Hình 4.70. Phổ ¹H-¹H COSY của hợp chất SA1

4.3.1.2. Hợp chất **SA2**: Syzyceroside B (muối natri của 6''-galloylglucopyranosylpinosylvic acid) (hợp chất mới).

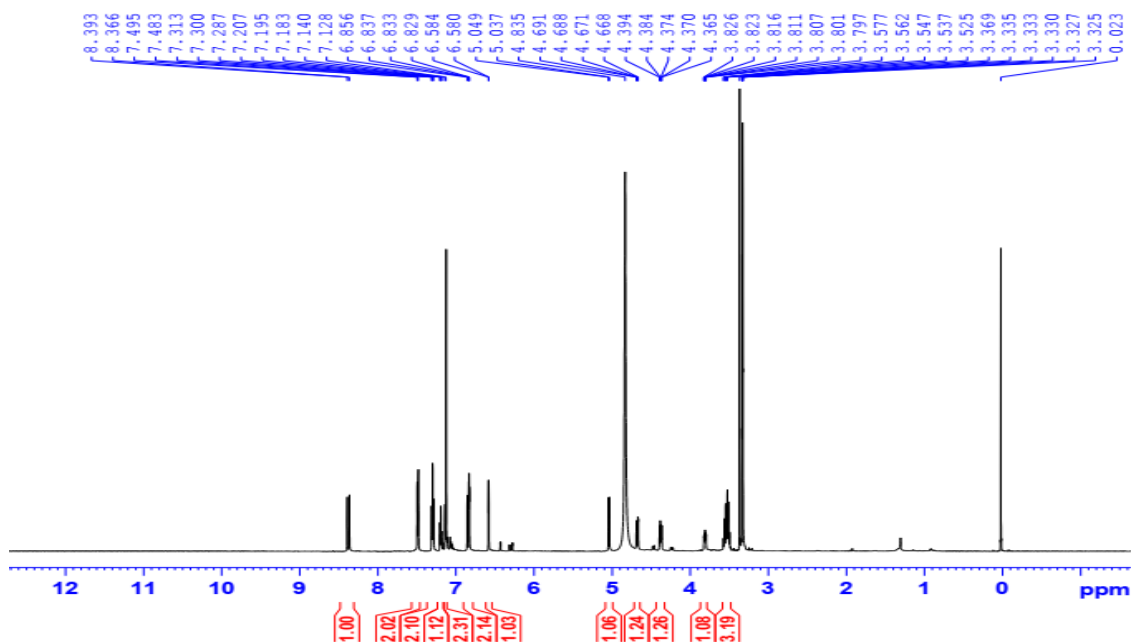


Hình 4.71. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SA2**, **SA3**

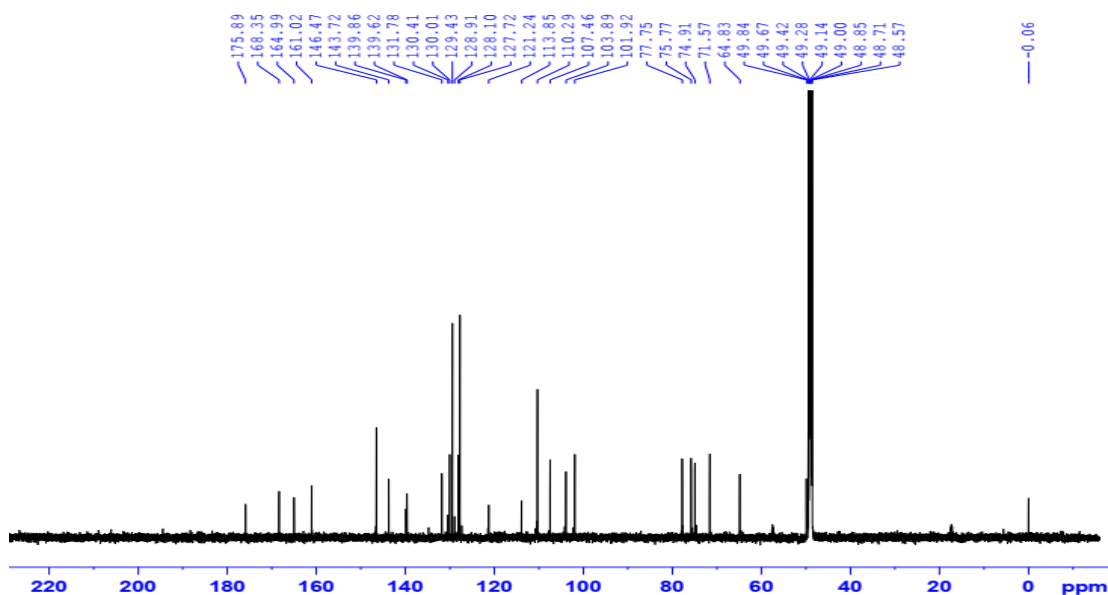


Hình 4.72. Phổ (+)-HR-ESI-MS của hợp chất **SA2**

Hợp chất **SA2** thu được dạng bột vô định hình màu trắng. Công thức phân tử của **SA2** được xác định là $C_{28}H_{25}O_{13}Na$ bằng phương pháp phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 615,1091 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{25}O_{13}Na_2]^+$: 615,1085, $\Delta = +0,5$ ppm). Điều này đã gợi ý sự có mặt của nguyên tử natri trong phân tử của hợp chất **SA2**.



Hình 4.73. Phổ ^1H NMR của hợp chất SA2



Hình 4.74. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất SA2

Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SA2** (Bảng 4.33) khá giống với hợp chất **SA1** và **SA5** ngoại trừ việc xuất hiện thêm tín hiệu của nhánh galloyl trên phổ NMR của **SA2**. Đó là tín hiệu singlet trên phổ ^1H NMR của 2 proton của vòng thơm thế tetra tại δ_{H} 7,13 (2H) và trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu vòng thơm với 3 carbon bậc 4 liên kết với oxy tại δ_{C} 134,5, 146,5 (2C), 2 carbon methine tại δ_{C} 110,3 (2CH), 1 carbon bậc 4 tại δ_{C} 121,2, và 1 tín hiệu của carbon carbonyl tại δ_{C} 168,4. Tín hiệu của nhóm oxy methylene của phân đường glucose bị dịch chuyển về phía trường thấp từ

δ_C 62,0/ δ_H 3,66 và 3,71 trong hợp chất **SA1** xuống δ_C 64,8/ δ_H 4,38 và 4,68 trong hợp chất **SA2** đã gợi ý nhánh galloyl liên kết ester với phân đường tại C-6''.

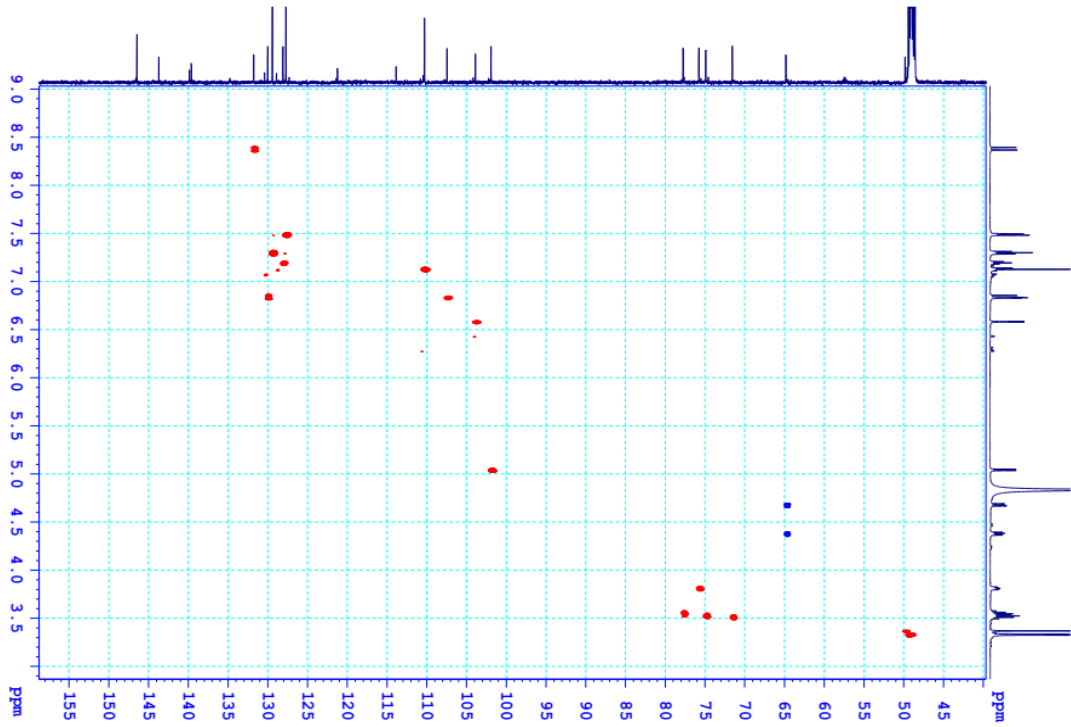
Bảng 4.33. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA2**, **SA3**

C	Hợp chất SA2		Hợp chất SA3	
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	143,7	-	144,0	-
2	113,9	-	112,4 ^d	-
3	165,0	-	164,9	-
4	103,9	6,58 (d, 2,4)	103,9	6,58 (d, 1,8)
5	161,0	-	161,4	-
6	107,5	6,83 (d, 2,4)	107,9	6,83 (d, 1,8)
7	131,8	8,38 (d, 16,2)	131,6	8,33 (d, 16,2)
8	130,0	6,84 (d, 11,4)	130,5	6,83 (d, 16,2)
COOH	175,9	-	nd	-
1'	139,6	-	139,4	-
2', 6'	127,7	7,49 (d, 7,2)	127,7	7,46 (d, 7,8)
3', 5'	129,4	7,30 (t, 7,8)	129,5	7,28 (t, 7,8)
4'	128,1	7,19 (t, 7,2)	128,3	7,19 (t, 7,8)
1''	101,9	5,04 (d, 7,2)	101,8	5,05 (d, 7,8)
2''	74,9	3,53	75,0	3,53*
3''	77,6	3,56 (t, 9,0)	77,8	3,54*
4''	71,6	3,52	71,5	3,53*
5''	75,7	3,81 (m)	75,8	3,80 (ddd, 9,0, 5,4, 1,8)
6''	64,8	4,38 (dd, 12,0, 6,0)	64,7	4,41 (dd, 11,4, 5,4)
		4,68 (dd, 12,0, 1,8)		4,65 (brd, 11,4)
1'''	121,2	-	121,4	-
2''', 6'''	110,3	7,13 (s)	110,2	7,13 (s)
3''', 5'''	146,5	-	146,5	-
4'''	139,9	-	139,9	-
7'''	168,4	-	168,4	-

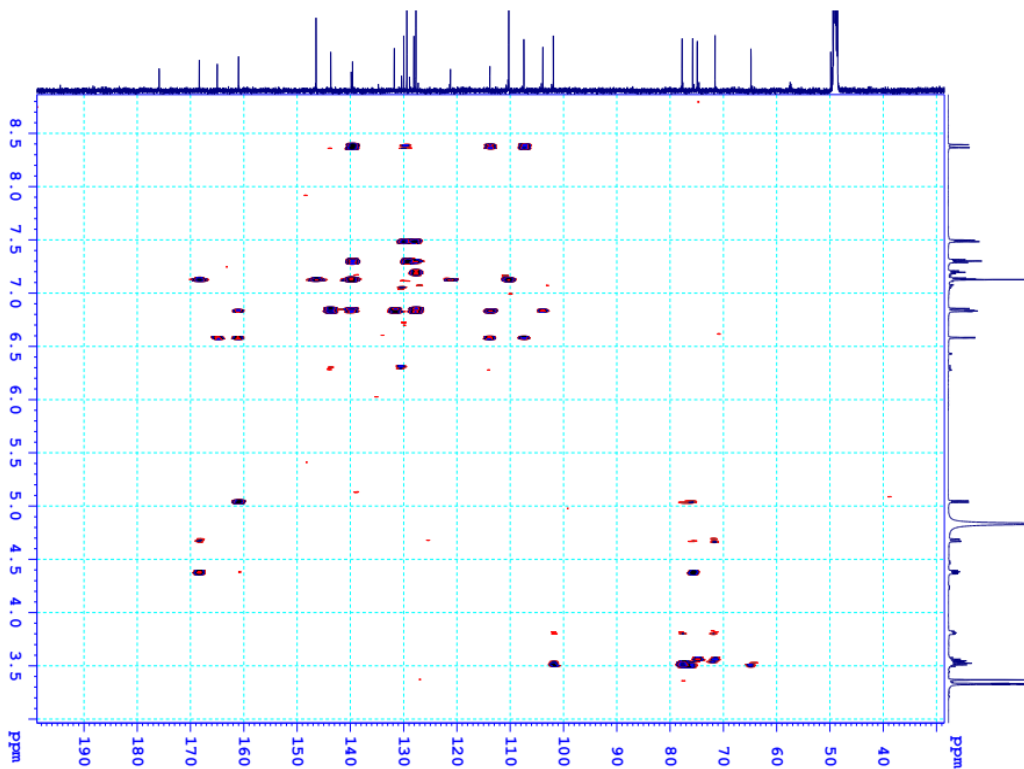
^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, * tín hiệu bị che lấp, nd tín hiệu không xác định được

Điều này được khẳng định thông qua tương tác HMBC giữa H-6'' (δ_H 4,38) với carbon carbonyl (δ_C 168,4). Hằng số tương tác $J_{H-7/H-8} = 16,2$ Hz đã xác định cấu hình *E* của liên kết đôi giữa C-7/C-8 [124] và $J_{H-1''/H-2''} = 7,8$ Hz xác định liên kết đường là dạng β . Tương tác giữa proton anomer H-1'' (δ_H 5,04)/H-4/H-6 (δ_H 6,83) với C-5 (δ_C 161,0) đã xác định vị trí liên kết của đường với khung stilbene tại C-5. Hơn nữa quá trình thủy phân acid đã thu được đường D-glucose được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) so sánh với chất chuẩn [66, 125]. Từ dữ liệu phổ NMR 1 chiều và 2 chiều đã xác định hợp chất **SA2** là muối natri của 6''-O-galloylglucopyranosylpinosylvic acid hay muối natri của 6''-O-galloylglaylussacin.

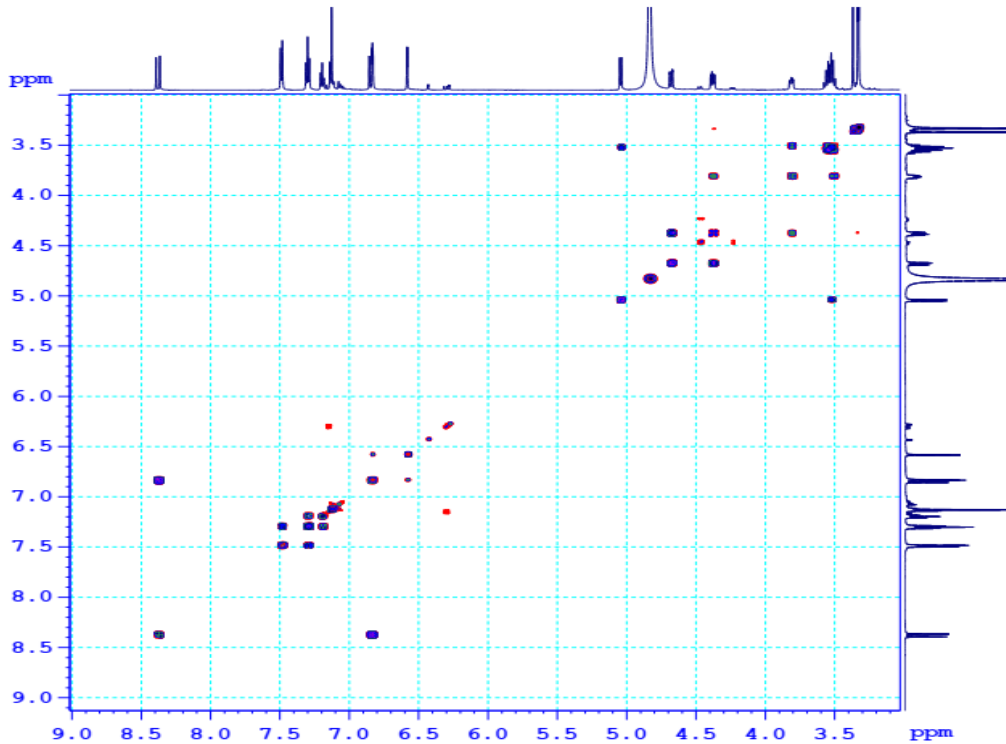
Đây là hợp chất mới lần đầu tiên phân lập và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzyceroside B.



Hình 4.75. Phổ HSQC của hợp chất SA2



Hình 4.76. Phổ HMBC của hợp chất SA2



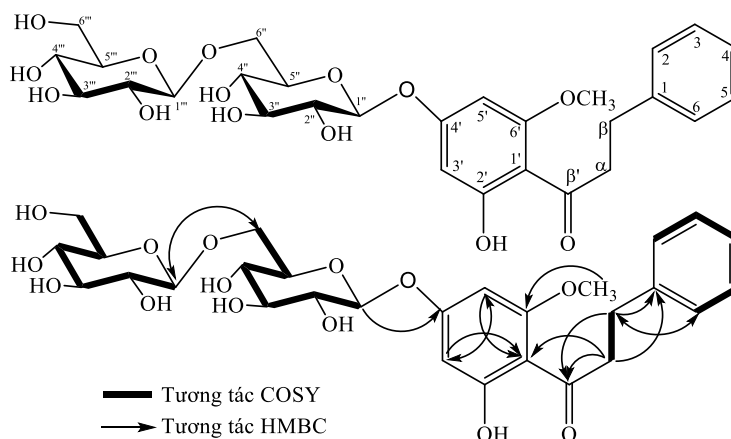
Hình 4.77. Phổ ^1H - ^1H COSY của hợp chất **SA2**

4.3.1.3. Hợp chất **SA3**: Syzyceroside C (6''-O-galloylglucopyranosylpinosylvic acid) (hợp chất mới)

Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SA3** rất giống với dữ liệu phổ của hợp chất **SA2** (Bảng 4.33) vì vậy chúng có cấu trúc hóa học giống nhau và điều này được khẳng định chắc chắn hơn dựa vào phổ 2 chiều HSQC, HMBC và COSY. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử m/z 569,1304 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{O}_{13}]^-$: 569,1301, $\Delta = -0,5$ ppm), m/z 571,1462 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_{13}]^+$: 571,1446, $\Delta = +0,7$ ppm), m/z 593,1271 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_{13}\text{Na}]^+$: 569,1300, $\Delta = -0,8$ ppm), điều này đã cho phép xác định công thức phân tử của **SA3** là $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$. Như vậy, điểm khác biệt duy nhất giữa hợp chất **SA3** so với **SA2** là về khối lượng phân tử và hợp chất **SA2** là dạng muối natri của hợp chất **SA3**. Hằng số tương tác $^3J_{\text{H-7}/\text{H-8}} = 16,2$ Hz giữa 2 proton H-7 (δ_{H} 8,33), H-8 (δ_{H} 6,83) và $J_{1'',2''} = 7,8$ Hz của proton anomer tại δ_{H} 5,05 đã xác định cấu hình *E* của liên kết đôi C-7/C-8 và dạng liên kết β của đường glycoside. Bởi vậy, hợp chất **SA3** được xác định là 6''-O-galloylglucopyranosylpinosylvic acid hay 6''-O-galloylgaylussacin. Đây là hợp chất

mới và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzyceroside C có cấu trúc hoá học như Hình 4.71.

4.3.1.4. Hợp chất **SA4**: Syzyceroside D (4'-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-glucopyranosyl]oxy-2'-hydroxy-6'-methoxydihydrochalcone).



Hình 4.78. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **SA4**

Hợp chất **SA4** thu được có dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử của **SA4** là $C_{28}H_{36}O_{14}$ được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào mảnh ion giả phân tử m/z 595,1995 $[M-H]^-$, m/z 631,1778 $[M+Cl]^-$ và m/z 614,2438 $[M+NH_4]^+$, đã xác định độ bất bão hòa là 11.

Bảng 4.34. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA4**

C	δ_C^*	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	δ_C^*	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	142,9	143,0	-	1''	101,1	101,3	5,02 (d, 7,8)
2, 6	129,4	129,4	7,25 (dd, 11,4, 7,2)	2''	74,7	74,7	3,48
3, 5	129,4	129,4	7,29 (dd, 11,4, 4,8)	3''	78,1	77,8	3,49
4	127,0	127,0	7,17 (m)	4''	71,2	71,4	3,41
α	47,4	47,2	3,32 (m)	5''	77,6	77,4	3,78 (m)
β	31,7	31,9	2,97(d, 7,8)	6''	70,3	70,4	3,84 (dd, 12,0, 5,4) 4,19 (dd, 12,0, 2,4)
β'	207,0	206,4	-	1'''	105,1	105,1	4,37 (d, 7,8)
1'	108,3	107,8	-	2'''	75,1	75,1	3,24
2'	162,8	165,2	-	3'''	78,0	78,0	3,26
3'	132,3	98,0	6,34 (d, 2,4)	4'''	71,5	71,6	3,36
4'	157,3	164,3	-	5'''	77,8	78,0	3,36 (m)
5'	91,3	93,2	6,26 (d, 2,4)	6'''	62,7	62,8	3,69 (dd, 12,6, 5,4) 3,88 (dd, 12,0, 1,8)
6'	159,9	167,6	-	3'-OMe	61,5	-	-
				6'-OMe	56,8	56,5	3,91 (s)

^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, δ_C^* của salicifolioside A đo trong CD_3OD [126]

Trên phổ ^1H NMR của **SA4** xuất hiện tín hiệu của proton vòng thơm thể mono [δ_{H} 7,25 (2H, dd, $J = 11,4, 7,2$ Hz), 7,29 (2H, dd, $J = 11,4, 4,8$ Hz) và 7,17 (1H, m)], 2 tín hiệu triplet của 2 nhóm methylene lai hóa sp^3 [δ_{H} 2,97 (2H, t, $J = 7,8$ Hz) và 3,32 (2H, m)], tín hiệu của 2 proton ở vị trí meta của vòng thơm khác [δ_{H} 6,34 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) và 6,26 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)], và tín hiệu của 1 nhóm methoxy tại δ_{H} 3,91 (3H, s). Ngoài ra, trên phổ NMR còn xuất hiện tín hiệu của 2 proton anomer tại δ_{H} 5,02 (d, $J = 7,8$ Hz) và 4,37 (d, $J = 7,8$ Hz) đồng thời là tín hiệu của 12 proton của 2 đường sáu. Phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy sự xuất hiện của 28 carbon trong đó 12 carbon của 2 vòng thơm, 2 carbon nhóm methylene (δ_{C} 47,2 và 31,9), 1 carbon carbonyl (δ_{C} 206,4), 1 carbon methoxy (δ_{C} 56,5) và các tín hiệu của 2 phân tử đường glucose. Dữ liệu NMR của **SA4** (Bảng 4.34) đặc trưng của một dẫn chất glycoside của chalcone và được so sánh với hợp chất salicifolioside A [126] cho thấy sự tương đồng ngoại trừ sự biến mất của nhóm methoxy ở vị trí C-3' trong **SA4** so với salicifolioside A. Tương tác HMBC giữa proton anomer H-1'' (δ_{H} 5,02) với C-4' (δ_{C} 164,3) xác định vị trí đường liên kết với phần aglycone tại C-4'. Đường glucose thứ 2 liên kết với đường thứ nhất tại C-6'' do xuất hiện tương tác trên phổ HMBC giữa proton anomer H-1''' (δ_{H} 4,37) với C-6'' (δ_{C} 70,4). Hằng số tương tác lớn ($J = 7,8$ Hz) của 2 proton anomer δ_{H} 5,02 và 4,37 cho thấy cả 2 đường đều liên kết dạng β . Đường glucose được xác định là D-glucose nhờ phương pháp thủy phân acid và xác định góc quay cực dương [66]. Từ dữ liệu phổ NMR 1 chiều và 2 chiều của **SA4** phân tích ở trên kết hợp so sánh với dữ liệu tương ứng của hợp chất salicifolioside A [126] có thể xác định hợp chất **SA4** là 4'-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-glucopyranosyl]oxy-2'-hydroxy-6'-methoxydihydrochalcone. Đây là hợp chất mới và được nhóm nghiên cứu đặt tên là syzyceroside D.

4.3.1.5. Hợp chất **SA5**: Pinosylvic acid 5-O- β -D-glucoside (Gaylussacin)

Hợp chất **SA5** thu được dạng bột vô định hình màu trắng ngà. Công thức phân tử của **SA5** là $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$ được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với pic ion giả phân tử m/z 419,1337 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\Delta = 0$ ppm). Dữ liệu phổ NMR của **SA5** (Bảng 4.35) có những giá trị đặc trưng giống với hợp chất **SA1** với 2 vòng thơm, liên kết đôi (C7/C-8), 1 phân tử đường glucose và nhóm carboxyl. Phân tử đường gắn với phần aglycone tại C-5 dựa vào tương tác HMBC giữa proton anomer

H-1'' (δ_{H} 5,01) với C-5 (δ_{C} 160,9). Hằng số tương tác lớn của proton anomer $J = 7,2$ Hz xác định liên kết đường glucose là dạng β . Dữ liệu phổ NMR của **SA5** được so sánh dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất gaylussacin [124] cho thấy sự tương đồng. Vì vậy, hợp chất **SA5** được xác định là gaylussacin có cấu trúc như Hình 4.64.

Bảng 4.35. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA5**, **SA6** và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SA5			Hợp chất SA6		
	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)	δ_{C}^*	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	139,8	143,5	-	140,89	140,9	6,86 (t, 1,8)
2	110,1	113,9	-	107,32	107,4	-
3	161,0	164,6	-	160,52	160,5	-
4	103,0	104,1	6,53 (d, 2,4)	104,65	104,7	6,52 (t, 1,8)
5	160,2	160,9	-	159,68	159,7	-
6	105,7	106,9	6,89 (d, 2,4)	108,71	108,7	6,69 (t, 1,8)
7 (α)	127,9	131,7	8,42 (d, 16,2)	129,60	129,6	7,06 (d, 16,2)
8 (β)	130,5	130,0	6,92 (d, 16,2)	130,06	130,1	7,12 (d, 16,2)
COOH	171,3	176,1	-	-	-	-
1'	137,0	139,6	-	138,71	138,7	-
2', 6'	126,6	127,7	7,56 (d, 7,2)	127,59	127,6	7,54 (d, 7,2)
3', 5'	128,8	129,5	7,32 (t, 7,8)	129,70	129,6	7,36 (dd, 7,2, 1,8)
4'	127,8	128,1	7,21 (t, 7,8)	128,66	128,6	7,25 (m)
1''	100,0	101,8	5,01 (d, 7,2)	102,40	102,4	4,93 (d, 7,8)
2''	73,2	74,9	3,53	74,95	75,0	3,48 (dd, 9,0, 7,8)
3''	76,6	77,9	3,54 (t, 9,0)	78,04	78,2	3,49 (dd, 9,0, 9,6)
4''	69,8	71,4	3,46 (t, 9,0)	71,48	71,5	3,41 (dd, 9,6, 8,4)
5''	77,3	78,2	3,50 (m)	78,27	78,1	3,50 (m)
6''	60,7	62,5	3,76 (dd, 12,0, 5,4) 3,94 (dd, 12,0, 1,8)	62,59	62,6	3,96 (dd, 12,0, 2,4) 3,74 (dd, 12,0, 6,0)

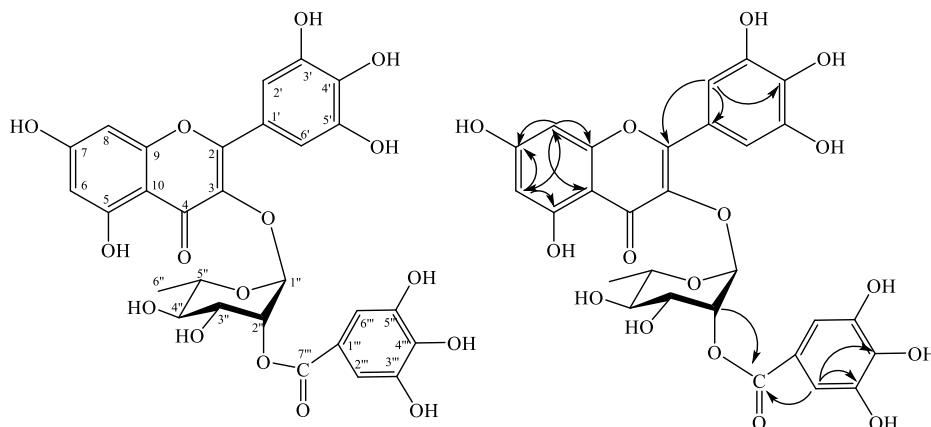
^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của gaylussacin đo trong $\text{DMSO}-d_6$ [124], δ_{C}^* của 3,5-dihydroxy-stilbene-3-O- β -D-glucoside đo trong CD_3OD [127].

4.3.1.6. Hợp chất **SA6**: Pinosilvin 3-O- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **SA6** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử là $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7$ được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 373,1294 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\Delta = -0,2$ ppm) và m/z 409,1060 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ ($\Delta = 0$ ppm). Dữ liệu phổ NMR của **SA6** giống với hợp chất **SA5** ngoại trừ việc biến mất của nhóm carboxyl trong hợp chất **SA6** so với **SA5**. Hằng số tương tác $J = 7,8$ Hz của proton anomer đã xác định liên kết dạng β của đường glucopyranose. Vị trí liên kết của đường với phần aglycone được xác định là liên kết O-glycopyranosyl ở vị trí C-3 do tương tác HMBC giữa proton anomer H-1'' (δ_{H} 4,93) với C-3 (δ_{C} 160,5). Dữ liệu phổ NMR của **SA6** (Bảng 4.35) được so sánh với

dữ liệu phổ của hợp chất 3,5-dihydroxy-stilbene-3-*O*- β -D-glucoside [127] thấy có sự tương đồng. Vì vậy có thể kết luận hợp chất **SA6** phân lập được chính là pinosilvin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (hay 3,5-dihydroxy-stilbene-3-*O*- β -D-glucoside) [127] có cấu trúc hoá học thể hiện trên Hình 4.64.

4.3.1.7. Hợp chất **SA7**: Myricetin-3-*O*-(2''-*O*-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside



Hình 4.79. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SA7**

Hợp chất **SA7** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Trên phổ proton của **SA7** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 3 vòng thơm, bao gồm 2 tín hiệu doublet tại δ_H 6,21 và 6,38 ở vị trí *meta* với hằng số tương tác nhỏ $J = 1,8$ Hz đặc trưng cho 1 vòng thơm thế tetra (vòng A), tín hiệu singlet tại δ_H 7,02 (2H) (vòng B) và δ_H 7,10 (2H) là của vòng thơm thế đối xứng khác. Tín hiệu của proton anomer tại δ_H 5,53 (d, $J = 1,2$ Hz) và 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl tại δ_H 1,07 đặc trưng cho đường rhamnose. Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện 28 tín hiệu của carbon trong đó 15 tín hiệu đặc trưng của flavonol với đặc trưng là 2 vòng thơm, 1 nhóm carbonyl tại δ_C 179,4, 2 carbon olefin bậc 4 liên kết oxy tại δ_C 159,4 và 137,5. Ngoài ra, trên phổ carbon còn xuất hiện tín hiệu 6 carbon của đường rhamnose đặc trưng bởi nhóm methyl tại δ_C 17,8 và 7 carbon của nhánh galloyl đặc trưng bởi nhóm carbonyl (δ_C 167,5) và vòng thơm thế đối xứng (δ_C 110,4-146,4). Tương tác HMBC giữa proton anomer H-1'' (δ_H 5,53) với C-3 (δ_C 135,7) đã xác định đường liên kết với phần aglycone tại C-3, tương tác giữa H-2'' (δ_H 5,65) với C-7''' (δ_C 167,5) xác định vị trí liên kết của phần galloyl với phần đường tại C-2'' bằng liên kết ester. Hằng số tương tác nhỏ $J = 1,2$ Hz của proton anomer đã xác định liên kết của đường là dạng α . Dữ liệu phổ NMR của **SA7** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất 2''-gallic ester của

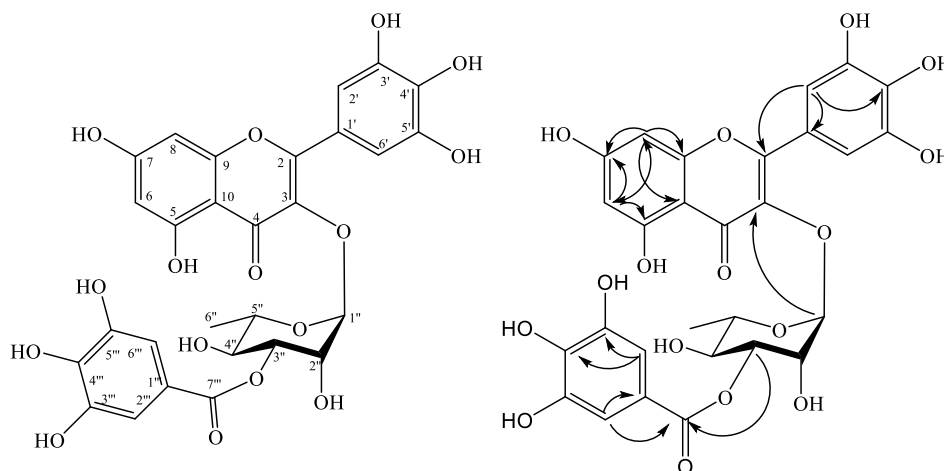
myricitrin (flavonoid F) [128] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy hợp chất **SA7** được xác định là myricetin-3-*O*-(2''-*O*-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside [128, 129].

Bảng 4.36. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA7**, **SA8** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	Hợp chất SA7		Hợp chất SA8	
		$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	-	-	-	-	-
2	159,71	159,4	-	159,4	-
3	135,03	135,7	-	136,4	-
4	178,03	179,4	-	179,6	-
5	162,37	163,2	-	163,2	-
6	99,20	99,9	6,21 (d, 1,8)	99,8	6,23 (d, 1,8)
7	165,03	165,9	-	165,9	-
8	94,14	94,7	6,38 (d, 1,8)	94,7	6,39 (d, 1,8)
9	157,76	158,5	-	158,5	-
10	105,20	105,8	-	105,9	-
1'	121,25	121,8	-	121,9	-
2', 6'	109,88	109,6	7,02 (s)	109,6	7,03 (s)
3', 5'	146,14	146,9	-	146,9	-
4'	137,23	138,0	-	137,9	-
1''	99,29	100,5	5,53 (d, 1,2)	103,7	5,32 (d, 1,2)
2''	72,91	73,5	5,65 (dd, 3,0, 1,8)	70,9	4,51 (dd, 3,0, 1,2)
3''	70,10	72,2	4,07 (d, 3,0, 9,0)	72,3	5,28 (dd 9,0, 3,0)
4''	73,23	73,9	3,50	75,4	3,71 (t, 9,0)
5''	71,60	70,8	3,54 (m)	70,0	3,73 (m)
6''	17,01	17,8	1,07 (d, 6,0)	17,7	1,04 (d, 6,0)
1'''	121,25	121,3	-	121,7	-
2''', 6'''	109,11	110,4	7,10 (s)	110,5	7,20 (s)
3''', 5'''	145,70	146,4	-	146,4	-
4'''	139,28	140,0	-	139,9	-
7'''	166,83	167,5	-	168,4	-

^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của 2''-gallic ester của myricitrin đo trong CD_3OD [128].

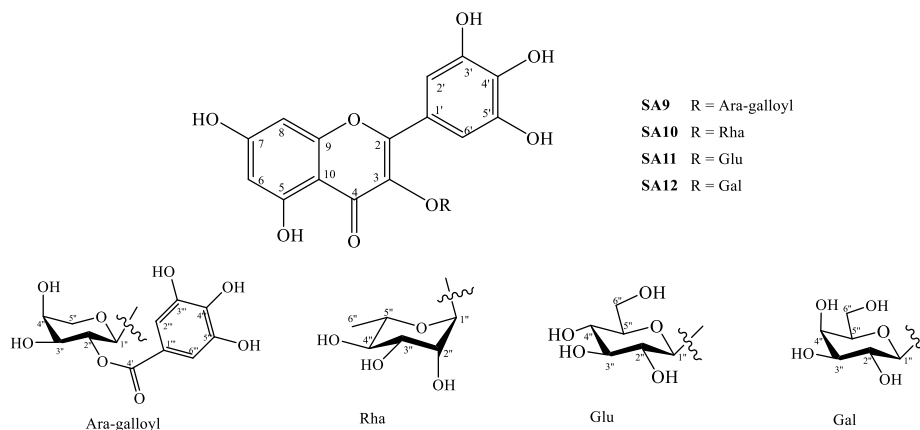
4.3.1.8. Hợp chất **SA8**: Myricetin-3-*O*-(3''-*O*-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside



Hình 4.80. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **SA8**

Hợp chất **SA8** thu được cũng có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SA8** (Bảng 4.36) rất giống với hợp chất **SA7** với những tín hiệu đặc trưng của flavonol thể, một phân tử đường rhamnose và 1 nhánh galloyl. Vị trí liên kết của đường rhamnose với phần aglycone được xác định cũng là C-3 giống hợp chất **SA7** thông qua tương tác HMBC giữa proton anomer H-1'' (δ_H 5,32) với C-3 (δ_C 136,4). Hằng số tương tác của proton anomer $J = 1,2$ Hz xác định liên kết của đường là dạng α . Điểm khác của **SA8** so với **SA7** là vị trí của nhánh galloy của **SA8** được xác định là liên kết với phần đường rhamnose ở vị trí C-3''' thông qua tương tác HMBC giữa H-3'' (δ_H 5,28) với C-7''' (δ_C 168,4) thay vì gắn ở C-2''' như trong **SA7**. Từ dữ liệu phổ của hợp chất **SA8** kết hợp so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất myricetin-3-*O*-(3''-*O*-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside [128, 129] có thể xác định **SA8** chính là myricetin-3-*O*-(3''-*O*-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside.

4.3.1.9. Hợp chất **SA9**: Myricetin 3-*O*-(2''-*O*-galloyl)- α -arabinopyranoside.



Hình 4.81. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SA9**, **SA10**, **SA11** và **SA12**

Hợp chất **SA9** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử là $C_{27}H_{22}O_{16}$ được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với pic ion giả phân tử m/z 603,0971 $[M+H]^+$ ($\Delta = + 1,6$ ppm), m/z 601,0837 $[M-H]^-$ ($\Delta = - 0,3$ ppm). Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SA9** (Bảng 4.37) cũng có những đặc trưng của myricetin, nhánh galloyl giống như 2 hợp chất **SA7**, **SA8**. Điểm khác biệt của **SA9** so với 2 hợp chất **SA7** và **SA8** là ở phân tử đường. Tín hiệu của proton anomer xuất hiện tại δ_H 5,61 (d, $J = 6,0$ Hz, H-1'') cùng với tín hiệu của 5 carbon trên phổ ^{13}C -NMR trong đó 4 carbon oxymethine tại δ_C 100,9, 74,0, 71,8, 68,9 và 1 carbon oxymethylene tại δ_C 66,1 đặc trưng của đường arabinose. Đồng thời

dữ liệu phổ NMR của phần đường này được so sánh với dữ liệu phần đường trong hợp chất kaempferol 3-*O*- α -arabinopyranoside-2''-gallate [130] và quercetin 3-*O*- α -arabinopyranoside-2''-gallate [131] cho thấy sự tương đồng. Do đó có thể xác định phần đường này là arabinopyranose. Với đường năm arabinopyranose thì hằng số tương tác $J = 7,2$ Hz xác định là liên kết dạng α , khác so với các đường sáu khác. Phần đường arabinose liên kết với phần aglycone tại C-3 do độ dịch chuyển hóa học của carbon olefin C-3 này về phía trường thấp hơn δ_C 135,2 so với C-3 không bị thế ở hợp chất **SL8** (kaplanin) có δ_C 104,8.

Bảng 4.37. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA9** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	-	-	-	1''	101,82	100,9	5,61 (d, 6,0)
2	156,38	158,5	-	2''	71,89	74,0	5,47 (dd, 7,2, 6,0)
3	131,02	135,2	-	3''	66,31	71,8	3,92
4	177,60	179,0	-	4''	70,78	68,9	3,93
5	161,30	163,1	-	5''	64,57	66,1	3,52 (13,2, 3,6) 3,92
6	98,81	99,7	6,17 (d, 1,2)	1'''	120,71	121,4	-
7	164,35	165,7	-	2''', 6'''	108,87	110,6	7,23 (s)
8	93,57	94,5	6,34 (d, 1,2)	3''', 5'''	145,64	146,4	-
9	156,53	158,3	-	4'''	138,07	140,0	-
10	103,99	105,8	-	7'''	167,67	167,9	-
1'	119,97	121,9	-				
2', 6'	108,59	109,9	7,14 (s)				
3', 5'	145,48	146,4	-				
4'	136,91	138,0	-				

^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của hợp chất myricetin 3-*O*- β -D-(2''-galloyl) arabinopyranoside đo trong $DMSO-d_6$ [132].

Phần galloyl liên kết ester với phần đường tại C-2'' giống như hợp chất **SA7** và được xác định bởi độ dịch chuyển hóa học về phía trường thấp trong phổ proton của H-2'' (δ_H 5,47) trong **SA9** so với không thế (δ_H 3 - 4). Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **SA9** (Bảng 4.37) được so sánh với hợp chất myricetin 3-*O*- β -D-(2''-galloyl) arabinopyranoside [132] thấy tương đồng về độ dịch chuyển hóa học nhưng về định hướng liên kết đường thì ngược lại. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SA9** là myricetin 3-*O*-(2''-galloyl)- α -arabinopyranoside.

4.3.1.10. Hợp chất **SA10**: Myricetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside

Hợp chất **SA10** phân lập được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ NMR của hợp chất **SA10** cũng có các tín hiệu đặc trưng của myricetin aglycone và

phần đường rhamnose giống hợp chất **SA7** và **SA8**. Tín hiệu của anomer tại δ_C 103,6 / δ_H 5,34 (d, $J = 1,2$ Hz) và nhóm methyl tại δ_C 17,6 / δ_H 0,99 (3H, d, $J = 6,0$ Hz) đặc trưng cho đường rhamnose. Tuy nhiên, khác với hợp chất **SA7**, **SA8**, trên phổ của hợp chất **SA10** không xuất hiện tín hiệu của nhánh galloyl. Liên kết của đường rhamnose với aglycone là ở vị trí C-3 giống **SA7**, **SA8** vì khi so sánh dữ liệu phổ của **SA10** với **SA7** và **SA8** thấy có sự phù hợp. Hằng số tương tác nhỏ $J = 1,2$ Hz của proton anomer tại δ_H 5,34 đã xác định liên kết đường rhamnose là dạng α . Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SA10** là myricetin-3- O - α -L-rhamnopyranoside [129] có cấu trúc hoá học như Hình 4.81.

Bảng 4.38. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA10**

C	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)	C	$\delta_{C^{a,b}}$	$\delta_{H^{a,c}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	-	-	1'	121,9	-
2	159,4	-	2', 6'	109,6	6,97 (s)
3	136,3	-	3', 5'	146,8	-
4	179,6	-	4'	137,9	-
5	163,1	-	1''	103,6	5,34 (d, 1,2)
6	99,8	6,21 (d, 1,8)	2''	72,0	4,25 (dd, 3,0, 1,2)
7	165,8	-	3''	72,1	3,82 (dd, 9,0, 3,0)
8	94,7	6,37 (d, 2,4)	4''	73,4	5,46 (t, 9,0)
9	158,5	-	5''	71,9	3,53 (m)
10	105,9	-	6''	17,6	0,99 (d, 6,0)

^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600MHz

4.3.1.11. Hợp chất **SA11**: Myricetin-3- O - β -D-glucopyranoside

Hợp chất **SA11** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ NMR của **SA11** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của myricetin bao gồm tín hiệu của 2 vòng thơm thế tetra tại δ_H/δ_C 6,25 (d, $J = 2,4$ Hz)/100,0, 6,44 (d, $J = 1,8$ Hz)/94,8 và 7,34 (2H, s)/110,0, 2 carbon olefinic tại δ_C 135,7 và 158,7, 1 carbonyl tại δ_C 179,3. Tín hiệu của đường glucose đặc trưng bởi proton anomer tại δ_H 5,39 (d, $J = 7,8$ Hz), carbon anomer tương ứng tại δ_C 104,0 và nhóm oxymethylene tại δ_C 62,5 / δ_H 3,64 (dd, $J = 11,4, 5,4$ Hz)/3,76 (dd, $J = 11,4, 2,4$ Hz). Vị trí liên kết của đường với aglycone tại C-3 do cũng tương đồng về độ dịch chuyển hóa học giống với **SA7** đã phân tích ở trên. Hằng số tương tác của proton anomer $J = 7,8$ Hz xác định dạng liên kết của đường glucose là β . Dữ liệu phổ NMR của **SA11** (Bảng 4.39) được so sánh với dữ liệu phổ

của hợp chất myricetin 3-glucoside [133] thấy có sự tương đồng. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SA11** chính là myricetin 3-*O*- β -glucopyranoside (Hình 4.81).

Bảng 4.39. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA11, SA12 và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SA11			Hợp chất SA12		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	158,97	158,7	-	156,6	158,7	-
3	135,79	135,7	-	134,1	136,0	-
4	179,44	179,3	-	177,7	177,4	-
5	163,03	163,0	-	161,6	163,0	-
6	99,89	100,0	6,25 (d, 2,4)	99,1	99,9	6,22 (d, 1,8)
7	165,98	166,1	-	164,7	166,1	-
8	94,67	94,8	6,44 (d, 1,8)	93,7	94,7	6,40 (d, 2,4)
9	158,41	158,3	-	156,6	158,4	-
10	105,70	105,6	-	104,2	105,6	-
1'	121,97	122,0	-	120,3	121,7	-
2', 6'	110,02	110,0	7,34 (s)	108,9	110,0	7,40 (s)
3', 5'	146,47	146,5	-	145,7	146,4	-
4'	138,06	138,0	-	137,0	138,1	-
1''	104,38	104,0	5,39 (d, 7,8)	102,4	105,6	5,21 (d, 7,8)
2''	75,72	75,7	3,52 (dd, 9,0, 7,8)	71,6	73,3	3,85 (dd, 9,0, 7,8)
3''	78,40	78,5	3,40 (t, 9,0)	73,7	75,1	3,63 (dd, 9,0, 3,0)
4''	71,11	71,1	3,46 (t, 9,0)	68,3	70,1	3,89 (brd, 3,0)
5''	78,20	78,2	3,28 (ddd, 9,0, 5,4, 2,4)	76,3	77,2	3,5 (dd, 6,6, 6,0)
6''	62,47	62,5	3,64 (d, 11,4, 5,4)	60,4	62,0	3,62
			3,76 (d, 11,4, 2,4)			3,68 (dd, 11,4, 6,0)

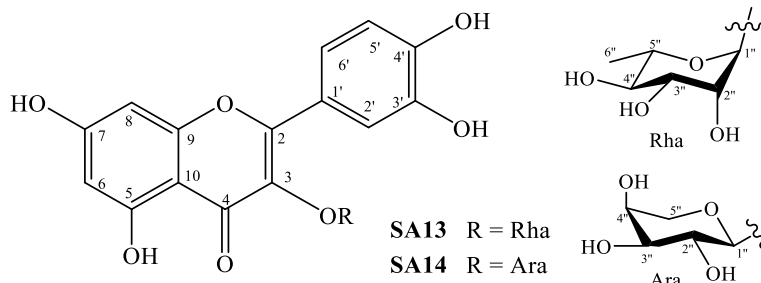
^ađo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của myricetin 3-glucoside đo trong CD_3OD (5% DMSO- d_6) [133], δ_C^* của myricetin 3-*O*- β -D-galactopyranoside đo trong DMSO- d_6 [134].

4.3.1.12. Hợp chất SA12: Myricetin-3-*O*- β -D-galactopyranoside

Hợp chất **SA12** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ NMR của hợp chất **SA12** giống với **SA11** (Bảng 4.39) với các tín hiệu đặc trưng của phần aglycone là myricetin và đường hexose. Điểm khác biệt giữa **SA12** so với **SA11** là hằng số tương tác J của proton H-4'' trong phần đường. Trong hợp chất **SA12** hằng số tương tác $J_{H-3/H-4} = 3,0$ Hz nhỏ hơn nhiều so với hằng số tương tác $J_{H-3/H-4} = 9,0$ Hz của **SA11** vì vậy định hướng của proton H-4'' trong hợp chất **SA12** sẽ ngược lại so với **SA11**. Hơn nữa, kết hợp so sánh hằng số tương tác $J_{H-1/H-2} = 7,8$ Hz và $J_{H-3/H-4} = 3,0$ Hz của hợp chất **SA12** với đường β -D-galactopyranose ($J_{H-1/H-2} = 7,8$ Hz và $J_{H-3/H-4} = 3,0$ Hz) [135] cho thấy sự trùng khớp. Vì vậy có thể xác định phân tử đường trong **SA12** chính là β -D-galactopyranoside. Từ dữ liệu phổ NMR của **SA12** kết hợp so

sánh với dữ liệu phổ hợp chất myricetin-3-*O*- β -galactopyranoside [134] có thể kết luận hợp chất **SA12** chính là myricetin-3-*O*- β -D-galactopyranoside (Hình 4.81).

4.3.1.13. Hợp chất **SA13**: quercetin-3-*O*- α -rhamnopyranoside (*Quercitrin*)



Hình 4.82. Cấu trúc hóa học của hợp chất **SA13**, **SA14**

Bảng 4.40. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA13**, **SA14** và các hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SA13			Hợp chất SA14		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{a,d}$ (độ bội, $J =$ Hz)	δ_C^*	$\delta_C^{b,c}$	$\delta_H^{b,d}$ (độ bội, $J =$ Hz)
2	156,4	157,3	-	159,4	158,6	-
3	134,4	134,2	-	136,4	135,7	-
4	177,7	177,7	-	180,2	179,4	-
5	161,2	161,3	-	163,8	163,0	-
6	98,6	98,8	6,21 (s)	100,8	99,9	6,20 (s)
7	164,0	164,4	-	167,0	166,1	-
8	93,5	93,7	6,38 (s)	95,6	94,8	6,39 (s)
9	157,0	157,3	-	159,2	158,4	-
10	104,2	104,1	-	106,4	105,6	-
1'	121,0	121,1	-	123,7	122,9	-
2'	115,4	115,5	7,35 (s)	118,2	117,5	7,76 (s)
3'	145,1	145,2	-	146,7	145,9	-
4'	148,3	148,5	-	150,7	149,9	-
5'	115,8	115,7	6,92 (d, 7,8)	116,9	116,2	6,88 (d, 7,8)
6'	121,0	120,8	7,30 (d, 7,8)	123,8	123,0	7,58 (d, 7,8)
1''	101,9	101,9	5,37 (d, 1,8)	105,5	104,7	5,16 (d, 6,0)
2''	70,4	70,4	4,24 (dd, 3,0, 1,8)	73,7	72,9	3,92 (dd, 8,5, 6,0)
3''	70,6	70,6	3,77 (dd, 9,0, 3,0)	74,9	74,2	3,66 (brd, 8,5)
4''	71,5	71,2	3,44 (t, 9,0)	69,9	69,1	3,83 (br s)
5''	70,1	70,1	3,36 (m)	67,7	67,0	3,46 (d, 11,4) 3,84 (d, 11,4)
6''	17,3	17,5	0,96 (d, 6,6)	-	-	-

^ađo trong DMSO-*d*₆, ^bCD₃OD, ^c150 MHz, ^d600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của quercetin-3-*O*-rhamnopyranoside đo trong DMSO-*d*₆ [136], δ_C^* của guajaverin đo trong CD₃OD [137].

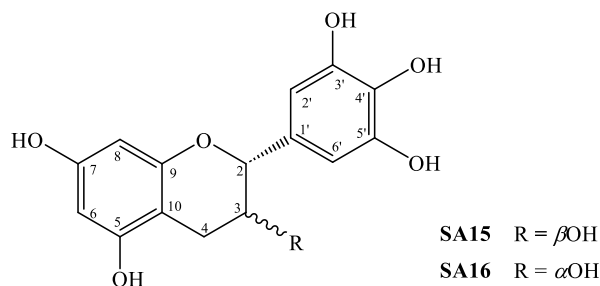
Hợp chất **SA13** thu được có dạng bột vô định hình màu vàng. Phổ NMR của hợp chất **SA13** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của quercetin. Trên phổ ¹H NMR xuất hiện tín hiệu của 1 vòng thơm thế tetra tại δ_H 6,21 (s, H-6) và 6,38 (s, H-8), 1 vòng

thơm thế 3 nhóm thế tại δ_{H} 6,92 (d, $J = 7,8$ Hz, H-5'), 7,30 (d, $J = 7,8$ Hz, H-6') và 7,35 (s, H-2'). Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu tương ứng của 5 carbon thơm bị oxy hóa tại δ_{C} 161,3 (C-5), 164,4 (C-7), 158,4 (C-9) (vòng A) và δ_{C} 145,2 (C-3'), 148,5 (C-4'); 2 carbon olefin bị oxy hóa tại δ_{C} 157,3 (C-2), 134,2 (C-3); 1 carbon carbonyl tại δ_{C} 177,7 (C-4). Phần đường rhamnose của **SA13** được xác định bởi tín hiệu anomer tại δ_{C} 101,9/ δ_{H} 5,37 (s) và tín hiệu của 1 nhóm methyl tại δ_{C} 17,5/ δ_{H} 0,96 (d, $J = 6,6$ Hz). Vị trí liên kết của đường với phần aglycone quercetin được cho là ở C-3 do độ dịch chuyển hóa học trên phổ ^{13}C NMR của **SA13** tại δ_{C} giống với các hợp chất **SA7-SA12** đã phân tích ở trên. Hằng số tương tác J nhỏ (singlet) của proton anomer đã xác định liên kết của đường là dạng α -glycoside. Dữ liệu phổ NMR của **SA13** (Bảng 4.40) được với so sánh dữ liệu phổ của hợp chất quercitrin [136] cho thấy sự phù hợp. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SA13** là quercitrin.

4.3.1.14. Hợp chất **SA14**: *Quercetin-3-O- α -L-arabinopyrannoside* (Guaijaverin)

Hợp chất **SA14** có dạng bột vô định hình màu vàng. Dữ liệu phổ NMR phần aglycone quercetin của **SA14** cũng giống với hợp chất **SA13** (Bảng 4.40). Điểm khác biệt giữa 2 hợp chất này là ở phần đường. Phần đường của **SA14** có những đặc trưng của arbinopyranosid giống với **SA9** với tín hiệu của 6 proton (1 proton anomer tại δ_{H} 5,16 (d, $J = 6,0$ Hz) và 2 proton nhóm methylene tại δ_{H} 3,46 (d, $J = 11,4$ Hz), 3,84 (d, $J = 11,4$ Hz) và 3 proton nhóm oxy methine tại δ_{H} 3,66, 3,83 và 3,92) và tín hiệu cộng hưởng của 5 carbon (1 carbon anomer tại δ_{C} 104,7, 1 carbon methylene tại δ_{C} 67,0 và 3 carbon nhóm oxymethine tại δ_{C} 69,1, 72,9 và 74,2). Đường arabinose liên kết với phần aglycone ở C-3 giống như **SA13** và hằng số $J = 6,0$ Hz xác định liên kết của đường là dạng α , khác với định hướng của các đường hexose khác. Dữ liệu phổ NMR của **SA14** (Bảng 4.40) được so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất quercetin 3-*O- α -L-arabinopyrannoside* [137] cho thấy có sự tương đồng. Vì vậy, có thể kết luận hợp chất **SA14** chính là quercetin 3-*O- α -L-arabinopyrannoside* (guaijaverin) (Hình 4.82).

3.1.1.15. Hợp chất **SA15**: (+)-*Gallocatechin*



Hình 4.83. Cấu trúc hóa học của hợp chất SA15, SA16

Bảng 4.41. Số liệu phổ NMR của hợp chất SA15, SA16 và hợp chất tham khảo

C	Hợp chất SA15			Hợp chất SA16		
	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{b,e}$ (độ bội, J = Hz)	δ_C^*	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{b,e}$ (độ bội, J = Hz)
2	82,62	82,8	4,55 (d, 7,2)	79,46	79,9	4,78 (s)
3	68,22	68,7	3,99 (ddd, 7,8, 7,2, 5,4)	67,03	67,5	4,19 (dd, 4,2, 3,0)
4	28,33	28,1	2,53 (dd, 16,2, 7,8) 2,84 (dd, 16,2, 5,4)	28,82	29,2	2,74 (dd, 16,2, 3,0) 2,87 (dd, 16,2, 4,2)
5	156,72	156,8	-	157,09	157,7	-
6	95,33	95,3	5,94 (d, 2,4)	95,76	95,9	5,93 (d, 2,4)
7	157,08	157,8	-	157,52	158,0	-
8	96,00	95,5	5,89 (d, 2,4)	96,25	96,4	5,95 (d, 2,4)
9	157,55	157,5	-	157,52	157,3	-
10	100,47	100,7	-	99,93	100,1	-
1'	131,39	131,5	-	131,56	131,5	-
2', 6'	107,20	107,2	6,42 (s)	106,77	107,0	6,54 (s)
3', 5'	146,14	146,8	-	146,14	146,7	-
4'	133,19	134,0	-	132,94	133,6	-

^ađo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của (+)-gallocatechin và δ_C^* của (-)-epigallocatechin đo trong (CD₃)₂CO [122].

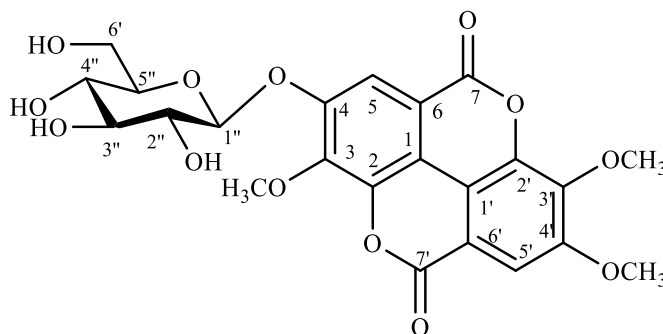
Hợp chất SA15 thu được dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ NMR của hợp chất SA15 trùng khớp với hợp chất SP14 phân lập được từ loài *S.bullockii* với các tín hiệu đặc trưng của một flavanol. Trên phổ proton xuất hiện tín hiệu của 2 vòng thơm tại δ_H 5,94, 5,89 (mỗi tín hiệu của 1H, d, J = 2,4 Hz) (vòng A) và δ_H 6,42 (2H, s) (vòng B); 1 nhóm methylene tại δ_H/δ_C (2,53, 2,84)/28,1; 2 nhóm methine oxy của carbon lai hóa sp^3 tại δ_H/δ_C 3,99 (ddd, J = 7,8, 7,2, 5,4 Hz)/68,7, 4,56 (d, J = 7,4 Hz)/82,8. Hằng số tương tác giữa 2 proton H-2 và H-3 ($J_{H-2/H-3} = 7,2$ Hz) xác định cấu hình *trans* của 2 proton trong vòng này. Từ dữ liệu phổ của SA15 kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của

hợp chất (+)-gallocatechin [122] có thể kết luận, hợp chất **SA15** chính là (+)-gallocatechin.

3.1.1.16. Hợp chất **SA16**: (-)-Epigallocatechin

Hợp chất **SA16** thu được cũng có dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ NMR của hợp chất **SA16** khá tương đồng với hợp chất **SA15** về giá trị cộng hưởng carbon và proton đặc trưng của gallocatechin (Bảng 4.41). Điểm khác biệt của hai hợp chất là ở hằng số tương tác giữa 2 proton H-2 và H-3. Ở hợp chất **SA16**, hằng số tương tác $J_{H-2/H-3} \sim 0$ Hz rất nhỏ so với hợp chất **SA15** $J_{H-2/H-3} = 7,2$ Hz đã xác định cấu hình *cis* của 2 proton này trong hợp chất **SA16**. Dữ liệu phổ NMR của **SA16** được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất (-)-epigallocatechin [122] cho thấy sự phù hợp. Do đó, hợp chất **SA16** được xác định là (-)-epigallocatechin (Hình 4.83).

3.1.1.17. Hợp chất **SA17**: Ellagic acid 3,3',4'-tri-O-methyl ether-4-O- β -D-glucospyranoside.



Hình 4.84. Cấu trúc của hợp chất **SA17**

Hợp chất **SA17** thu được ở dạng tinh thể màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất **SA17** là $C_{23}H_{22}O_{13}$ được xác định bằng phương pháp phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS dựa vào pic ion giả phân tử m/z 507,1134 $[M+H]^+$ ($\Delta = -0,2$ ppm), m/z 524,1395 $[M+NH_4]^+$ ($\Delta = +0,7$ ppm), m/z 529,0972 $[M+Na]^+$ ($\Delta = -3,6$ ppm), m/z 541,0753 $[M+Cl]^-$ ($\Delta = +0,2$ ppm). Trên phổ NMR của **SA17** xuất hiện 2 tín hiệu singlet của proton thơm tại δ_H 7,66 (1H, s) và δ_H 7,85 (1H, s), 3 tín hiệu singlet của nhóm 3 nhóm methoxy tại δ_H 4,02 (3H, s), 4,06 (3H, s) và 4,11 (3H, s), tín hiệu của proton anomer tại δ_H 5,17 (d, $J = 7,2$ Hz) và 6 proton khác của đường sáu tại δ_H 3,70, 3,51, 3,43, 3,30 ($\times 2$) và 3,22. Phổ carbon xuất hiện tín hiệu của 23 carbon, trong đó 12 carbon thơm của 2 vòng benzene và 2 carbon carbonyl tại δ_C

158,2 và 158,4 của 2 vòng lactone là đặc trưng cho acid gallic [138], 6 tín hiệu của đường glucose tại δ_C 60,5, 69,5, 73,3, 76,5, 77,3 và 101,3 (C anomer), 3 tín hiệu của nhóm methoxy tại δ_C 56,8, 61,3 và 61,7. Dữ liệu phổ NMR phần aglycone của hợp chất **SA17** được so sánh với phần aglycone của hợp chất 4-*O*-[β -D-glucopyranosyl-tetraacetate]-3,3',4'-tri-*O*-methylellagic acid [139] thấy có sự tương đồng ngoại trừ 4 nhóm thế acetate ở phần đường không có mặt trong **SA17**. Phần đường của **SA17** được so sánh với đường sáu của hợp chất **SA13** (gallactose) và **SA12** (glucose) thấy tương đồng với đường glucose của **SA12**. Hằng số tương tác $J = 7,2$ Hz của proton anomer tại 5,17 đã xác định dạng liên kết của đường là β . Từ dữ liệu phổ NMR của **SA17** (Bảng 4.42) có thể kết luận hợp chất này là ellagic acid 3,3',4'-tri-*O*-methyl ether-4-*O*- β -D-glucospyranoside.

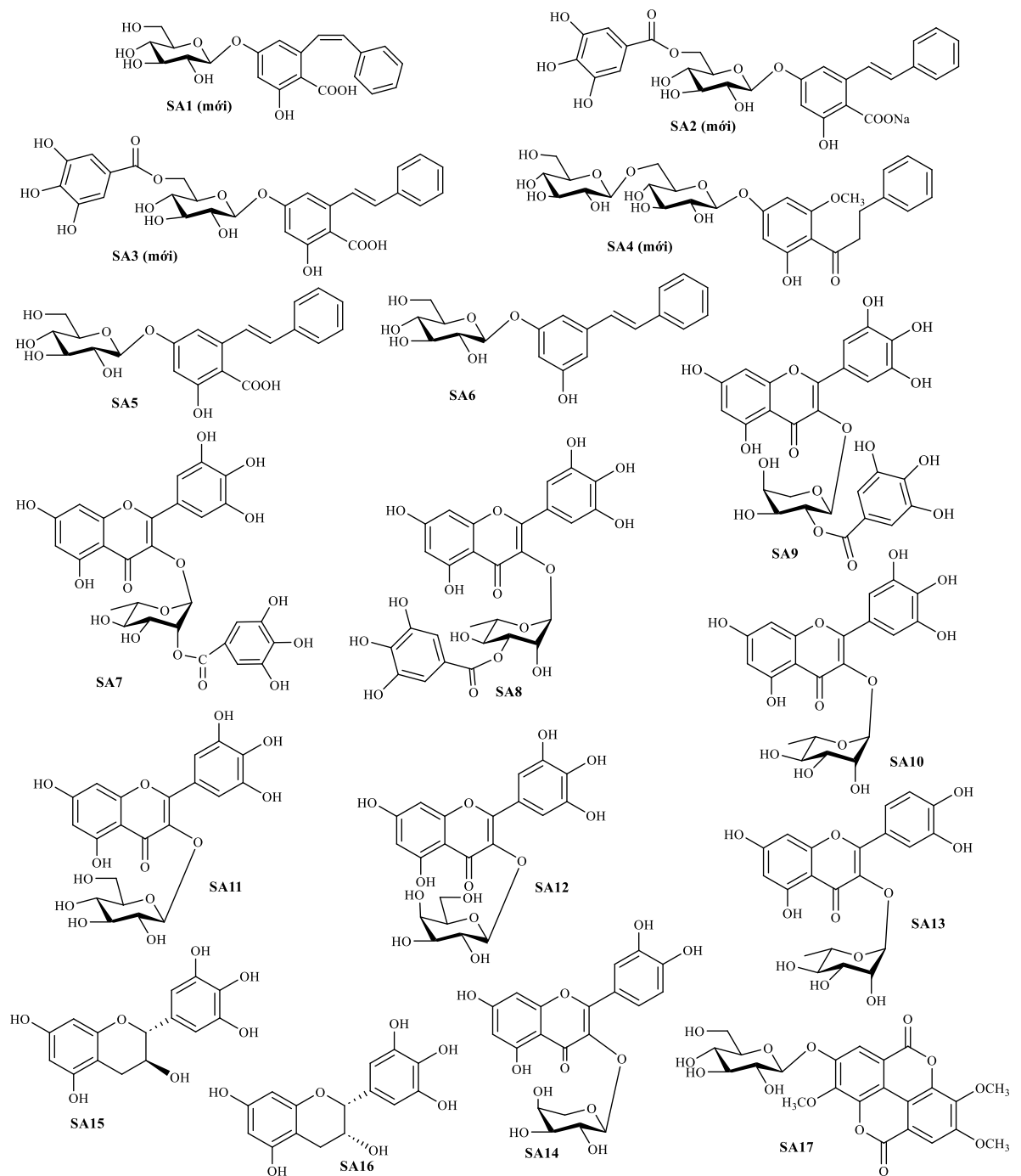
Bảng 4.42. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SA17** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	114,98	112,9	-	7'	158,10	158,2	-
2	141,30	141,2	-	3-OCH ₃	62,06	61,7	4,02 (s)
3	141,56	141,7	-	3'-OCH ₃	61,80	61,3	4,06 (s)
4	151,28	151,9	-	4'-OCH ₃	56,64	56,8	4,11 (s)
5	113,34	112,7	7,85 (s)	1''	98,80	101,3	5,17 (d, 7,2)
6	112,36	112,3	-	2''	70,50	73,3	3,43
7	158,10	158,4	-	3''	72,40	77,3	3,45 (d, 1,8)
1'	112,17	112,0	-	4''	67,90	69,5	3,42 (d, 5,4)
2'	141,23	141,2	-	5''	72,00	76,5	3,23 (d, 5,4)
3'	140,90	140,9	-	6''	61,85	60,5	3,71 (dd, 12,0, 3,0) 3,51 (dd, 12,0, 5,4)
4'	154,60	154,3	-	-C=O(Ac)	169,2-170,80		
5'	107,65	107,6	7,66 (s)	- Me (Ac)	20,30-20,47		
6'	114,98	113,7	-				

^aĐo trong DMSO-*d*₆, ^b150 MHz, ^c600MHz, $\delta_C^{\#}$ của 4-*O*-[β -D-glucopyranosyl-tetraacetate]-3,3',4'-tri-*O*-methylellagic acid đo trong CDCl₃ [139].

Trong số 17 hợp chất phân lập được từ cặn nước của loài *S. attopeuense* có cấu trúc điển hình là khung flavonoid (12 hợp chất), còn lại là khung stilbene (6 hợp chất). Điểm đặc biệt là các hợp chất flavonoid đều ở dạng dẫn chất đường glycoside (với các loại đường phổ biến là glucose, ngoài ra còn có rhamnose, arbinose và gallactose) và hợp chất stilbene có sự tồn tại cả cấu hình *Z/E* và đa phần là các dẫn xuất glucoside của cấu hình *E*.

Cấu trúc hoá học của các hợp chất phân lập được từ loài *S. attopeuense* được tổng hợp ở Hình 4.85.



Hình 4.85. Cấu trúc của các hợp chất SA1-SA17

4.3.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *S. atopeuense*

Các hợp chất SA1-SA17 được tiến hành thử hoạt tính ức chế quá trình sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 đã được kích hoạt bởi LPS theo phương pháp đã được mô tả trong mục 2.2.3. Tại nồng độ 100 μ M của các chất phân lập từ loài *S. atopeuense* không thể hiện độc tính tế bào đáng kể trong thử nghiệm theo phương

pháp MTT. Do đó, mức độ sản sinh NO trong môi trường tế bào được đo trong sự có mặt của các hợp chất tại dãy nồng độ (0,8, 4,0, 20,0 và 100 μM). Kết quả thử hoạt tính kháng viêm ở Bảng 3.3 cho thấy các hợp chất **SA1-SA3**, **SA5** và **SA6** là những dẫn chất khung stilbene có khả năng ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 đã được kích hoạt bởi LPS với các giá trị IC_{50} tương ứng: $18,37 \pm 1,38$, $31,23 \pm 2,18$, $35,12 \pm 2,53$, $28,24 \pm 1,79$ và $34,89 \pm 2,13\mu\text{M}$ so với đối chứng dương (dexamethasone) có IC_{50} là $15,37 \pm 1,42 \mu\text{M}$. Hợp chất mới **SA1** có cấu hình *Z* (*cis*) tại liên kết đôi C7/C8 thể hiện hoạt tính tốt hơn hẳn các hợp chất **SA2**, **SA3**, **SA5** và **SA6** có cấu hình *E* (*trans*). Các hợp chất **SA7**, **SA8**, **SA10**, **SA15**, **SA16** ức chế rất yếu sự sản sinh NO với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 76,39 đến 95,14. Các hợp chất còn lại được cho là không có hoạt tính kháng viêm do IC_{50} lớn hơn 100 μM . Kết quả này cho thấy hợp chất khung stilbene đóng vai trò quan trọng trong việc ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS, đặc biệt là hợp chất có cấu hình *Z* (*cis*) có hoạt tính được cải thiện rõ.

KẾT LUẬN

Đây là công trình nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 của 3 loài *S. cersiforme* thu hái ở tỉnh Vĩnh Phúc, *S. bullockii* và *S. attopeuense* thu hái tỉnh Quảng Trị. Bằng cách sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và xác định cấu trúc 54 hợp chất trong đó có 9 hợp chất mới từ 3 loài: *S. cersiforme*, *S. bullockii* và *S. attopeuense*.

1. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học

- Từ lá của loài *S. cersiforme* đã phân lập và xác định cấu trúc 20 hợp chất (**SL1-SL20**), bao gồm 2 hợp chất mới **SL1** (5,7-dihydroxy-2-isopropyl-6,8-dimethyl-4H-chromen-4-one), **SL2** (5,7-dihydroxyflavanone 7-O- β -D-(6''-O-galloyl)glucopyranoside) và 18 hợp chất đã biết (**SL3-SL20**): pinocembrin-7-O- β -D-glucopyranoside, strobopinin, demethoxymatteucinol, (2S)-hydroxynaringenin-7-O- β -D-glucopyranoside, afzelin, quercetin, kaplanin, endoperoxide G3, vomifoliol, litseagermacrane, 3-epibetulinic acid, betulonic acid, schleicheol 2, (7S,8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol, benzyl-6'-O-galloyl- β -D-glucopyranoside, 3-methoxy-4-hydroxyphenol 1-O- β -D-(6'-O-galloyl)-glucopyranoside, secoisolariciresinol.

- Từ lá và cành của loài *S. bullockii* đã phân lập và xác định cấu trúc 17 hợp chất (**SP1-SP17**), bao gồm 3 hợp chất mới (**SP1-SP3**) được đặt tên là syzybulloside (A-C) và 14 hợp chất đã biết (**SP4-SP17**): chebuloside II, 2 α ,3 β ,6 β ,23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester, amarusine A, bergenin, 11-O-galloylbergenin, icariside B2, (3S,5R,6S,7E,9S)-megastigman-7-ene-3,5,6,9-tetraol, actinidioionoside, actinidioionoside 6'-O-gallate, phloridzoid, (+)-catechin, (+)-gallocatechin, methyl gallate.

- Từ lá và cành của loài *S. attopeuense* đã phân lập và xác định cấu trúc 17 hợp chất (**SA1-SA17**), bao gồm 4 chất mới (**SA1-SA4**) được đặt tên là syzyceroside A-D và 13 hợp chất đã biết (**SA5-SA17**): quadranoside IV, pinosilvin 3-O- β -D-glucopyranoside, gaylussacin, myricetin-3-O-(2''-O-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside, myricetin-3-O-(3''-O-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside, myricetin 3-O- β -D-(2''-galloyl)- α -arabinopyranoside, myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside, myricetin-3-O-

β -D-glucopyranoside, myricetin-3-*O*- β -D-galactopyranoside, quercitrin, guaijaverin, (+)-gallocatechin, ellagic acid 3,3',4'-tri-*O*-methyl ether 4-*O*- β -D-glucopyranoside.

2. Kết quả nghiên cứu về hoạt tính ức chế sự sản sinh NO

Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của dòng tế bào RAW264.7 bị kích thích bởi LPS của 54 hợp chất phân lập được từ 3 loài *S. cerasiforme*, *S. bullockii*, *S. attopeuense*. Kết quả cho thấy những hợp chất flavanone có hoạt tính ức chế tốt hơn so với các hợp chất flavone, các hợp chất terpenoid thể hiện hoạt tính tốt và các dẫn chất glycosidic của stilbene đóng vai trò quan trọng trong việc ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS.

- Trong số 20 hợp chất từ loài *S. cerasiforme*, hợp chất **SL1**, **SL2**, **SL5**, **SL6**, **SL10**, **SL17** có hoạt tính khá tốt với giá trị IC_{50} từ 6,69 đến 12,28 μ M, **SL19** ức chế mức trung bình (IC_{50} 25,51 μ M) so với chất đối chứng dương L-NMMA (IC_{50} = 32,50 μ M). Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu hơn với giá trị IC_{50} =33,17 ~ 86,51 μ M.

- Trong số 17 hợp chất phân lập từ loài *S. bullockii*, trừ hợp chất **SP11** có hoạt tính yếu, các hợp chất còn lại đều thể hiện hoạt tính mạnh với giá trị IC_{50} = 1,42 ~ 13,70 μ M, thấp hơn so với đối chứng dương L-NMMA (IC_{50} = 33,8 μ M).

- Trong số 17 hợp chất phân lập từ loài *S. attopeuense*, hợp chất **SA1-SA3**, **SA5** và **SA6** có khả năng ức chế trung bình đối với sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 được kích hoạt LPS với IC_{50} từ 18,37 đến 35,12 μ M so với đối chứng dương dexamethasone (IC_{50} 15,37 μ M). Các hợp chất **SA7**, **SA8**, **SA10**, **SA15**, **SA16** ức chế rất yếu với IC_{50} = 76,39 ~ 95,14 μ M. Các hợp chất còn lại không thể hiện khả năng ức chế sự sản sinh NO với IC_{50} > 100 μ M.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 của 3 loài *S. cerasiforme*, *S. bullockii*, *S. attopeuse*.

- Đã phân lập và xác định được 2 hợp chất mới từ loài *S. cerasiforme*: **SL1** (5,7-dihydroxy-2-isopropyl-6,8-dimethyl-4*H* chromen-4-one) và **SL2** (5,7-dihydroxyflavanone 7-*O*- β -D-(6''-*O*-galloyl glucopyranoside). Cả hai hợp chất này đều thể hiện hoạt tính tốt với giá trị IC₅₀ tương ứng là 12,28 và 8,52 μ M.

- Đã phân lập và xác định được 3 hợp chất mới từ loài *S. bullockii* (syzybulloside A-C). Các hợp chất mới này đều thể hiện hoạt tính ức chế NO khá tốt với giá trị IC₅₀ tương ứng là 11,58, 13,61 và 6,93, μ M. Ngoài ra, hợp chất **SP4** cũng thể hiện hoạt tính ức chế NO tốt với IC₅₀ = 7,09 μ M.

- Đã phân lập và xác định được 4 hợp chất mới từ loài *S. attopeuense* (syzyceroside A-D). Trong đó 3 hợp chất **SA1** (syzyceroside A), **SA2** (syzyceroside B), **SA3** (syzyceroside C) thể hiện hoạt tính trung bình còn **SA4** (syzyceroside D) không thể hiện hoạt tính ức chế sự sản sinh NO.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Bui Hai Ninh**, Duong Thi Dung, Bui Huu Tai, Pham Hai Yen, Nguyen Xuan Nhiem, Truong Thi Thu Hien, Do Thi Trang, Nguyen Van Tuyen, Le Tuan Anh, Nguyen Thi Hoai, Phan Van Kiem. *New isopropyl chromone and flavanone glucoside compounds from the leaves of Syzygium cerasiforme (Blume) Merr. & L.M.Perry and their inhibition of nitric oxide production*. Chemistry & Biodiversity, 2023, doi.org/10.1002/cbdv.202201048.
2. Bui Huu Tai, **Bui Hai Ninh**, Pham Hai Yen, Duong Thi Dung, Nguyen Huy Hoang, Nguyen Xuan Nhiem, Nguyen Van Tuyen, Le Tuan Anh, Phan Van Kiem. *New nitric oxide production inhibitors from Syzygium bullockii*. Journal of Natural Medicines, 2023, doi: 10.1007/s11418-023-01725-7.
3. Phan Van Kiem, **Bui Hai Ninh**, Bui Huu Tai, Nguyen Xuan Nhiem, Pham Thi Hai Yen, Nguyen Huy Hoang, Do Thi Trang, Duong Thi Dung, Nguyen Van Tuyen, Le Tuan Anh. *Undescribed phenolic glycoside from Syzygium attopeuense and their inhibition of nitric oxide production*. Chemistry & Biodiversity, 2023, doi: 10.1002/cbdv.202301037.
4. **Bui Hai Ninh**, Duong Thi Dung, Nguyen Van Tuyen, Bui Huu Tai, Phan Van Kiem. *Chemical constituents of Syzygium cerasiforme leaves and their nitric oxide inhibitory activity in LPS-activated RAW264.7 cells*. Vietnam Journal of Chemistry, 2023, doi: 10.1002/vjch.202300107.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tiên Bân, Nguyễn Khắc Khôi, V.X. Phương, *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2005, Hà Nội.
2. A.H. Memon, Z. Ismail, F.S. Al Suede, A.F. Aisha, M.S. Hamil, M.A. Saeed, M. Laghari, A.M. Majid, *Isolation, characterization, crystal structure elucidation of two flavanones and simultaneous RP-HPLC determination of five major compounds from Syzygium campanulatum Korth*, *Molecules*, 2015, 20, 14212-14233.
3. G. Annadurai, B.R.P. Masilla, S. Jothiramshekar, E. Palanisami, S. Puthiyapurayil, A.K. Parida, *Antimicrobial, antioxidant, anticancer activities of Syzygium caryophyllatum (L.) Alston*, *International Journal of Green Pharmacy*, 2012, 6, 285-288.
4. B. Abera, L. Adane, F. Mamo, *Phytochemical investigation the root extract of Syzygium guineense and isolation of 2, 3, 23-trihydroxy methyl oleanate*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2018, 7, 3104-3111.
5. T. Manaharan, D. Appleton, H.M. Cheng, U.D. Palanisamy, *Flavonoids isolated from Syzygium aqueum leaf extract as potential antihyperglycaemic agents*, *Food Chemistry*, 2012, 132, 1802-1807.
6. E.C. Amor, I.M. Villaseñor, A. Yasin, M.I. Choudhary, *Prolyl Endopeptidase Inhibitors from Syzygium samarangense (Blume) Merr. & L. M. Perry*, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2004, 59, 86-92.
7. E.C. Amor, I.M. Villaseñor, S.A. Nawaz, M.S. Hussain, I. Choudhar, *A dihydrochalcone from Syzygium samarangense with anticholinesterase activity*, *Philippine Journal of Science*, 2005, 134, 105.
8. A. Subarnas, A. Diantini, R. Abdulah, A. Zuhrotun, Y.E. Hadisaputri, I.M. Puspitasari, C. Yamazaki, H. Kuwano, H. Koyama, *Apoptosis induced in MCF-7 human breast cancer cells by 2', 4'-dihydroxy-6-methoxy-3, 5-dimethylchalcone isolated from Eugenia aquea Burm f. leaves*, *Oncology letters*, 2015, 9, 2303-2306.
9. T.L. Nguyen, A. Rusten, M.S. Bugge, K.E. Malterud, D. Diallo, B.S. Paulsen, H. Wangensteen, *Flavonoids, gallotannins and ellagitannins in Syzygium guineense and the traditional use among Malian healers*, *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 192, 450-458.
10. M.J. Simirgiotis, S. Adachi, S. To, H. Yang, K.A. Reynertson, M.J. Basile, R.R. Gil, I.B. Weinstein, E.J. Kennelly, *Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of Syzygium samarangense (Wax Jambu)*, *Food Chemistry*, 2008, 107, 813-819.
11. M. Sobeh, G. Petruk, S. Osman, M.A. El Raey, P. Imbimbo, D.M. Monti, M. Wink, *Isolation of myricitrin and 3, 5-di-O-methyl gossypetin from Syzygium samarangense and evaluation of their involvement in protecting keratinocytes against oxidative stress via activation of the Nrf-2 pathway*, *Molecules*, 2019, 24, 1-14.
12. M.I. Nassar, A.H. Gaara, A.H. El Ghorab, A. Farrag, H. Shen, E. Huq, T.J. Mabry, *Chemical constituents of clove (Syzygium aromaticum, Fam. Myrtaceae) and their antioxidant activity*, *Revista Latinoamericana de Química*, 2007, 35, 47-57.
13. I.I. Mahmoud, M.S. Marzouk, F.A. Moharram, M.R. El Gindi, A.M.P. Hassan, *Acylated flavonol glycosides from Eugenia jambolana leaves*, *Phytochemistry*, 2001, 58, 1239-1244.
14. G.I. Nonaka, Y. AiKo, K. Aritake, I. Nishioka, *Tannins and related compounds. CXIX. Samarangenins a and b, novel proanthocyanidins with doubly bonded structures, from Syzygium samarangens and S. aqueum*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1992, 40, 2671-2673.
15. A. Nair, S. Krishnan, C. Ravikrishna, K. Madhusudanan, *New and rare flavonol glycosides from leaves of Syzygium samarangense*, *Fitoterapia*, 1999, 70, 148-151.
16. B. Ryu, H.M. Kim, J.H. Woo, J.H. Choi, D.S. Jang, *A new acetophenone glycoside from the flower buds of Syzygium aromaticum (cloves)*, *Fitoterapia*, 2016, 115, 46-51.

17. Y.K. Hu, L. Wang, Y.Y. Li, M.J. Li, W. Xu, Y. Zhao, F. Li, Y. Zhao, *Five new triterpenoids from Syzygium samarangense (Bl.) Merr. et Perry*, *Phytochemistry Letters*, 2018, 25, 147-151.
18. C.Y. Ragasa, F.C. Franco Jr, D.D. Raga, C.C. Shen, *Chemical constituents of Syzygium samarangense*, *Der Pharma Chemica*, 2014, 6, 256-260.
19. I. Oladosu, L. Lawson, O. Aiyelaagbe, N. Emenyonu, O. Afieroho, *Anti-tuberculosis lupane-type isoprenoids from Syzygium guineense Wild DC.(Myrtaceae) stem bark*, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 3, 148-152.
20. M. Kuroda, Y. Mimaki, T. Ohtomo, J. Yamada, T. Nishiyama, T. Mae, H. Kishida, T. Kawada, *Hypoglycemic effects of clove (Syzygium aromaticum flower buds) on genetically diabetic KK-A y mice and identification of the active ingredients*, *Journal of Natural Medicines*, 2012, 66, 394-399.
21. J. Djoukeng, E. Abou-Mansour, R. Tabacchi, A. Tapondjou, H. Bouda, D. Lontsi, *Antibacterial triterpenes from Syzygium guineense (Myrtaceae)*, *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 101, 283-286.
22. M.R. Alam, A.B. Rahman, M. Moniruzzaman, M.F. Kadir, M.A. Haque, M.R.U.H. Alvi, M. Ratan, *Evaluation of antidiabetic phytochemicals in Syzygium cumini (L.) Skeels (Family: Myrtaceae)*, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2012, 2, 094-098.
23. C.A. Simões Pires, S. Vargas, A. Marston, J.R. Ioset, M.Q. Paulo, A. Matheussen, L. Maes, *Ellagic acid derivatives from Syzygium cumini stem bark: investigation of their antiplasmodial activity*, *Natural Product Communications*, 2009, 4, 1371-1376.
24. M.A.A. Sikder, M.A. Kaiser, M.S. Rahman, C.M. Hasan, A.J. Al Rehaily, M.A. Rashid, *Secondary metabolites from seed extracts of Syzygium cumini (L.)*, *Physical Science*, 2012, 23, 83-87.
25. J. Yang, J.C. Su, X.P. Lei, X.J. Huang, D.M. Zhang, W.C. Ye, Y. Wang, *Acylphloroglucinol derivatives from the leaves of Syzygium samarangense and their cytotoxic activities*, *Fitoterapia*, 2018, 129, 1-6.
26. H. Osman, A.A. Rahim, N.M. Isa, N.M. Bakhir, *Antioxidant activity and phenolic content of Paederia foetida and Syzygium aqueum*, *Molecules*, 2009, 14, 970-978.
27. N. Saptarini, I.E. Herawati, *Antioxidant activity of water apple (Syzygium aqueum) fruit and fragrant mango (mangifera odorata) fruit*, *Asian Journal of Pharmaceutical & Clinical Research*, 2017, 10, 54-56.
28. M. Madhavi, M.R. Ram, *Phytochemical screening and evaluation of biological activity of root extracts of Syzygium samarangense*, *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, 5, 753-763.
29. S.O. Jimoh, L.A. Arowolo, K.A. Alabi, *Phytochemical screening and antimicrobial evaluation of Syzygium aromaticum extract and essential oil*, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, 6, 4557-4567.
30. V. Singh, C. Pahuja, M. Ali, S. Sultana, *Analysis and bioactivities of essential oil of the flower buds of Syzygium aromaticum (L.) Merr. et LM Perry*, *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2018, 6, 79-83.
31. R.M. Lima, H.C. Polonini, M.A. Brandão, F.J. Raposo, N.R. Raposo, R.C. Dutra, *In vitro assessment of anti-aging properties of Syzygium cumini (L.) leaves extract*, *Biomedical Journal of Scientific Technical Research*, 2019, 13, 10185-10191.
32. R. Rohadi, U. Santoso, S. Raharjo, I.I. Falah, *Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Methanolic Extract of Java Plum (Syzygium cumini Linn.(Skeel) Seed*, *Indonesian Food Nutrition Progress*, 2017, 14, 9-20.

33. I.C. Ezenyi, O.N. Mbamalu, L. Balogun, L. Omorogbe, F. Ameh, O. Salawu, *Antidiabetic potentials of Syzygium guineense methanol leaf extract*, Journal of Phytopharmacology, 2016, 5, 150-156.
34. S.E. Okhale, C.I. Buba, P. Oladosu, G.E. Ugbabe, J.A. Ibrahim, H.O. Egharevba, O.F. Kunle, *Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activities of the leaf essential oil of Syzygium guineense (Willd.) DC. var. Guineense (Myrtaceae) from Nigeria*, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2018, 10, 41-349.
35. Y.C. Kuo, L.M. Yang, L.C. Lin, *Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from Syzygium samarangense*, Planta Medica, 2004, 70, 1237-1239.
36. G. Rocchetti, L. Lucini, S.R. Ahmed, F.R. Saber, *In vitro cytotoxic activity of six Syzygium leaf extracts as related to their phenolic profiles: An untargeted UHPLC-QTOF-MS approach*, Food Research International, 2019, 126, 108715.
37. S.S. Yadav, G. Meshram, D. Shinde, R. Patil, S.M. Manohar, M.V. Upadhye, *Antibacterial and anticancer activity of bioactive fraction of Syzygium cumini L. seeds*, Hayati Journal of Biosciences, 2011, 18, 118-122.
38. K.V. Ratnam, R.V. Raju, *In vitro antimicrobial screening of the fruit extracts of two Syzygium species (Myrtaceae)*, Advances in Biological Research, 2008, 2, 17-20.
39. N.A. Choironi, M.S. Fareza, *Phytochemical screening and antibacterial activity of ethanolic extract of Syzygium samarangense leaves*, Jurnal Kartika Kimia, 2018, 1, 1-4.
40. M. Moneruzzaman Khandaker, J.S. Md, N. Mat, A. Boyce, *Bioactive constituents, antioxidant and antimicrobial activities of three cultivars of wax apple (Syzygium samarangense L.) fruits*, Research Journal of Biotechnology Vol, 2015, 10, 1.
41. A. Pandey, P. Singh, *Antibacterial activity of Syzygium aromaticum (clove) with metal ion effect against food borne pathogens*, Asian Journal of Plant Science & Research, 2011, 1, 69-80.
42. K. Prabakaran, G. Shanmugavel, *Antidiabetic activity and phytochemical constituents of Syzygium cumini seeds in Puducherry region, South India*, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 2017, 9, 985-989.
43. M. Sobeh, M.F. Mahmoud, G. Petruk, S. Rezaq, M.L. Ashour, F.S. Youssef, A.M. El Shazly, D.M. Monti, A.B. Abdel Naim, M. Wink, *Syzygium aqueum: A polyphenol-rich leaf extract exhibits antioxidant, hepatoprotective, pain-killing and anti-inflammatory activities in animal models*, Frontiers in Pharmacology, 2018, 9, 566.
44. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Huy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, T. Toàn., *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập II, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2004.
45. Đ.H. Bích, Đặng Quang Chung, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Huy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, T. Toàn., *Cây thuốc và động vật làm thuốc*, Tập I, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 2004.
46. T.H. Khanh, P.H. Ban, T.M. Hoi, *Chemical Composition of Essential Oils from the Leaves of Syzygium Bullockii and Syzygium Tsoongii in Ke Go Nature Reserve, Ha Tinh Province*, VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology, 2021, 37, 18-23.
47. L.T. Huong, B.B. Thinh, N.H. Hung, H.V. Phu, N.C. Hieu, D.N. Dai, *Chemical composition, antimicrobial and larvicidal activities of essential oils of two Syzygium species from Vietnam*, Brazilian Journal of Biology, 2023, 84.
48. W.K. Soh, J. Parnell, *A revision of Syzygium Gaertn.(Myrtaceae) in Indochina (Cambodia, Laos and Vietnam)*, Adansonia, 2015, 37, 179-275.
49. R. Medzhitov, *Origin and physiological roles of inflammation*, Nature, 2008, 454, 428-435.
50. T. Williams, *Prostaglandin E2, prostaglandin I2 and the vascular changes of inflammation*, British Journal of Pharmacology, 1979, 65, 517.

51. D. Granger, E. Senchenkova, *Inflammation and the Microcirculation*, Morgan & Claypool Life Sciences, 2010.
52. N.N. Lanh, V.Đ. Hoa, P.T.T. Anh, T.T. Chính, *Sinh lý bệnh học*, Nhà xuất bản Y học, 2012, Hà Nội.
53. C. Gerhartz, B. Heesel, J. Sasse, U. Hemmann, C. Landgraf, J. Schneider-Mergener, F. Horn, P.C. Heinrich, L. Graeve, *Differential activation of acute phase response factor/STAT3 and STAT1 via the cytoplasmic domain of the interleukin 6 signal transducer gp130: I. Definition of a novel phosphotyrosine motif mediating STAT1 activation*, Journal of Biological Chemistry, 1996, 271, 12991-12998.
54. Y. Yin, S. Yao, Y. Hu, Y. Feng, M. Li, Z. Bian, J. Zhang, Y. Qin, X. Qi, L. Zhou, *The immune-microenvironment confers chemoresistance of colorectal cancer through macrophage-derived IL6*, Clinical Cancer Research, 2017, 23, 7375-7387.
55. P.C. Heinrich, J.V. Castell, T. Andus, *Interleukin-6 and the acute phase response*, Biochemical journal, 1990, 265, 621.
56. T.A.R.I. Kishimoto, *Interleukin-6: from basic science to medicine - 40 years in immunology*, Annual Review Immunology, 2005, 23, 1-21.
57. T. Horiuchi, H. Mitoma, S.-i. Harashima, H. Tsukamoto, T. Shimoda, *Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents*, Rheumatology, 2010, 49, 1215-1228.
58. Y. Jiang, M. Yu, X. Hu, L. Han, K. Yang, H. Ba, Z. Zhang, B. Yin, X.P. Yang, Z. Li, *STAT1 mediates transmembrane TNF-alpha-induced formation of death-inducing signaling complex and apoptotic signaling via TNFR1*, Cell Death Differentiation, 2017, 24, 660-671.
59. M.L. Moss, S.-L.C. Jin, M.E. Milla, W. Burkhardt, H.L. Carter, W.J. Chen, W.C. Clay, J.R. Didsbury, D. Hassler, C.R. Hoffman, *Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor- α* , Letters to Nature, 1997, 385, 733-736.
60. L. Chen, H. Deng, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, L. Zhao, *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs*, Oncotarget, 2018, 9, 7204 - 7218.
61. S. Yang, J. Wang, D.D. Brand, S.G. Zheng, *Role of TNF-TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications*, Frontiers in Immunology, 2018, 9, 784.
62. S. Steeland, C. Libert, R.E. Vandenbroucke, *A new venue of TNF targeting*, International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19, 1442.
63. A.R. Amin, M. Attur, S.B. Abramson, *Nitric oxide synthase and cyclooxygenases: distribution, regulation, and intervention in arthritis*, Current Opinion in Rheumatology, 1999, 11, 202-209.
64. K. Seibert, Y. Zhang, K. Leahy, S. Hauser, J. Masferrer, W. Perkins, L. Lee, P. Isakson, *Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994, 91, 12013-12017.
65. L. Jackson, K. Wu, Y. Mahida, D. Jenkins, M. Donnelly, C. Hawkey, *COX-1 expression in human gastric mucosa infected with Helicobacter pylori: constitutive or induced?*, Gastroenterology, 1998, A160.
66. L. Voutquenne Nazabadioko, R. Gevrenova, N. Borie, D. Harakat, C. Sayagh, A. Weng, M. Thakur, M. Zaharieva, M. Henry, *Triterpenoid saponins from the roots of Gypsophila trichotoma Wender*, Phytochemistry, 2013, 90, 114-127.
67. P.J. Tsai, T.H. Tsai, C.H. Yu, S.-C. Ho, *Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea*, Food Chemistry, 2007, 103, 181-187.
68. N.R. Bernardes, M. Heggdorne-Araújo, I.F. Borges, F.M. Almeida, E.P. Amaral, E.B. Lasunskaja, M.F. Muzitano, D.B. Oliveira, *Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant*

- and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2014, 24, 644-650.
69. R.V. Marques, S.E. Sestito, F. Bourgaud, S. Miguel, F. Cailotto, P. Reboul, J.Y. Jouzeau, S. Rahuel Clermont, S. Boschi Muller, H.T. Simonsen, *Anti-inflammatory activity of bryophytes extracts in LPS-stimulated RAW264. 7 murine macrophages*, *Molecules*, 2022, 27, 1940.
 70. S. Cheenpracha, E.J. Park, B. Rostama, J.M. Pezzuto, L.C. Chang, *Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesiterterpene peroxide, epimuqubilin A*, *Marine Drugs*, 2010, 8, 429-437.
 71. W.Y. Tsui, G.D.P. Brown, *Chromones and chromanones from Baeckea frutescens*, *Phytochemistry*, 1996, 43, 871-876.
 72. S. Hammami, H.B. Jannet, A. Bergaoui, L. Ciavatta, G. Cimino, Z. Mighri, *Isolation and structure elucidation of a flavanone, a flavanone glycoside and vomifoliol from Echiochilon fruticosum growing in Tunisia*, *Molecules*, 2004, 9, 602-608.
 73. S. Antus, E. Baitz Gács, J. Kajtár, G. Snatzke, A.L. Tőkés, *Circular dichroism and absolute configuration of Aza-and Thiaflavanones*, *Liebigs Annalen der Chemie*, 1994, 1994, 497-502.
 74. E. Garo, J.L. Wolfender, K. Hostettmann, W. Hiller, S. Antus, S. Mavi, *Prenylated flavanones from Monotes engleri: On-line structure elucidation by LC/UV/NMR*, *Helvetica Chimica Acta*, 1998, 81, 754-763.
 75. B.A. Bohm, *Introduction to flavonoids*, Harwood Academic Publishers, 1998.
 76. D. Slade, D. Ferreira, J.P. Marais, *Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids*, *Phytochemistry*, 2005, 66, 2177-2215.
 77. H.H. Barakat, A.M. Souleman, S.A. Hussein, O.A. Ibrahiem, M.A. Nawwar, *Flavonoid galloyl glucosides from the pods of Acaciafarnesiana*, *Phytochemistry*, 1999, 51, 139-142.
 78. L. Byrne, J. Cannon, D. Gawad, B. Joshi, B. Skelton, R. Toia, *The crystal structure of (S)-(-)-6-Bromo-5, 7-dihydroxy-8-methyl-2-phenyl-2, 3-dihydro-4H-1-benzopyran-4-one [(-)-6-bromocryptostrobin] and a ¹³C NMR study of (±)-cryptostrobin and related substances. Revision of the structures of the natural products (±)-lawinal, unonal, 7-O-methylunonal and isounonal*, *Australian Journal of Chemistry*, 1982, 35, 1851-1858.
 79. P. Basnet, S. Kadota, M. Shimizu, H.-X. Xu, T. Namba, *2'-Hydroxymatteucinol, a new C-methyl flavanone derivative from Matteucia orientalis; potent hypoglycemic activity in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1993, 41, 1790-1795.
 80. H.K. Kim, W.K. Jeon, B.S. Ko, *Flavanone glycoside from the fruits of Chaenomeles sinensis*, *Natural Product Sciences*, 2000, 6, 79-81.
 81. S.S. Lee, F.Y. Tsai, I.S. Chen, *Chemical constituents from Berchemia formosana*, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 1995, 42, 101-105.
 82. M. Kaouadji, *Acylated and non-acylated kaempferol monoglycosides from Platanus acerifolia buds*, *Phytochemistry*, 1990, 29, 2295-2297.
 83. C.C. Shen, Y.S. Chang, L.K. Ho, *Nuclear-magnetic-resonance studies of 5, 7-dihydroxyflavonoids*, *Phytochemistry*, 1993, 34, 843-845.
 84. S.Y. Lee, Y.J. So, M.S. Shin, J.Y. Cho, J. Lee, *Antibacterial effects of afzelin isolated from Cornus macrophylla on Pseudomonas aeruginosa, a leading cause of illness in immunocompromised individuals*, *Molecules*, 2014, 19, 3173-3180.
 85. N.Đ. Duy, N.T.K. Thúy, M.T.N. Trang, N.K. Bầy, Q.T.T. Vân, Q.C. Thúy, *Một số hợp chất falvonol từ cây Giao (Euphorbia tirucalli L.) ở tỉnh Phú Thọ*, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Hùng Vương*, 2021, 22, 86-91.
 86. H. Liu, Y. Mou, J. Zhao, J. Wang, L. Zhou, M. Wang, D. Wang, J. Han, Z. Yu, F. Yang, *Flavonoids from Halostachys caspica and their antimicrobial and antioxidant activities*, *Molecules*, 2010, 15, 7933-7945.

87. J. Wang, H. Gao, J. Zhao, Q. Wang, L. Zhou, J. Han, Z. Yu, F. Yang, *Preparative separation of phenolic compounds from Halimodendron halodendron by high-speed counter-current chromatography*, *Molecules*, 2010, 15, 5998-6007.
88. D. de L Moreira, E.F. Guimarães, M.A.C. Kaplan, *A C-glucosylflavone from leaves of Piper lhotzkyanum*, *Phytochemistry*, 2000, 55, 783-786.
89. M. Gavrilan, C. André Barrès, M. Baltas, T. Tzedakis, L. Gorrichon, *Bicyclic peroxides in the G factors series: synthesis and electrochemical studies*, *Tetrahedron Letters*, 2001, 42, 2465-2468.
90. D. Luo, Y.B. Zhang, J. Huang, L.F. Chen, L.J. He, G.K. Kuang, J. Qin, Q.G. Li, G.C. Wang, Y.-L. Li, *One new sesquiterpene from the leaves of Rhodomyrtus tomentosa*, *Chemistry Letters*, 2019, 48, 55-57.
91. H. Kuang, B.Y. Yang, Y.G. Xia, W.-s. Feng, *Chemical constituents from the flower of Datura metel L*, *Archives of Pharmacal Research*, 2008, 31, 1094-1097.
92. Y. Yamano, M. Ito, *Synthesis of optically active vomifoliol and roseoside stereoisomers*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 53, 541-546.
93. H.J. Zhang, G.T. Tan, B.D. Santarsiero, A.D. Mesecar, N.V. Hung, N.M. Cuong, D. Doel Soejarto, J.M. Pezzuto, H.H. Fong, *New Sesquiterpenes from Litsea verticillata*, *Journal of Natural Products*, 2003, 66, 609-615.
94. A. Patra, S.K. Chaudhuri, S.K. Panda, *Betulin-3-caffeate from Quercus suber, 13C-nmr spectra of some lupenes*, *Journal of Natural Products*, 1988, 51, 217-220.
95. A. Barthel, S. Stark, R. Csuk, *Oxidative transformations of betulinol*, *Tetrahedron Letters*, 2008, 64, 9225-9229.
96. M. Kuroyanagi, M. Shiotsu, T. Ebihara, H. Kawai, A. Ueno, S. Fukushima, *Chemical studies on Viburnum awabuki K. Koch*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1986, 34, 4012-4017.
97. J. Kitajima, M. Shindo, Y. Tanaka, *Two new triterpenoid sulfates from the leaves of Schefflera octophylla*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1990, 38, 714-716.
98. G.R. Pettit, A. Numata, G.M. Cragg, D.L. Herald, T. Takada, C. Iwamoto, R. Riesen, J.M. Schmidt, D.L. Doubek, A. Goswami, *Isolation and structures of schleicherastatins 1- 7 and schleicheols 1 and 2 from the teak forest medicinal tree Schleicheria oleosa*, *Journal of Natural Products*, 2000, 63, 72-78.
99. H.X. Kuang, Y.G. Xia, B.Y. Yang, Q.H. Wang, S.W. Lü, *Lignan constituents from Chloranthus japonicus Sieb*, *Archives of Pharmacal Research*, 2009, 32, 329-334.
100. Y. Takeda, C. Mima, T. Masuda, E. Hirata, A. Takushi, H. Otsuka, *Glochidioboside, a glucoside of (7S, 8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol from leaves of Glochidion obovatum*, *Phytochemistry*, 1998, 49, 2137-2139.
101. F. Hanawa, M. Shiro, Y. Hayashi, *Heartwood constituents of Betula maximowicziana*, *Phytochemistry*, 1997, 45, 589-595.
102. Y. Fukuyama, M. Nakahara, H. Minami, M. Kodama, *Two new benzofuran-type lignans from the wood of Viburnum awabuki*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1996, 44, 1418-1420.
103. J.H. Isaza, H. Ito, T. Yoshida, *A flavonol glycoside-lignan ester and accompanying acylated glucosides from Monochaetum multiflorum*, *Phytochemistry*, 2001, 58, 321-327.
104. K. Ishimaru, G.I. Nonaka, I. Nishioka, *Phenolic glucoside gallates from Quercus mongolica and Q. acutissima*, *Phytochemistry*, 1987, 26, 1147-1152.
105. S.F. Fonseca, J. de Paiva Campello, L.E. Barata, E.A. Rúveda, *13C NMR spectral analysis of lignans from Araucaria angustifolia*, *Phytochemistry*, 1978, 17, 499-502.
106. W. Xu, J. Tan, Y. Mu, D. Zheng, X. Huang, L. Li, *New antimicrobial terpenoids and phloroglucinol glucosides from Syzygium szemaense*, *Bioorganic Chemistry*, 2020, 103, 104242.

107. I.K. Adnyana, Y. Tezuka, A.H. Banskota, Q. Xiong, K.Q. Tran, S. Kadota, *Quadransides I–V, New Triterpene Glucosides from the Seeds of Combretum quadrangulare*, Journal of Natural Products, 2000, 63, 496-500.
108. I.K. Adnyana, Y. Tezuka, A.H. Banskota, K.Q. Tran, S. Kadota, *Three new triterpenes from the seeds of Combretum quadrangulare and their hepatoprotective activity*, Journal of Natural Products, 2001, 64, 360-363.
109. V.U. Ahmad, *Handbook of natural products data. Volume 2: pentacyclic triterpenoids*, Elsevier Science, 1994.
110. A. García Granados, P.E. López, E. Melguizo, A. Parra, Y. Simeó, *Remote hydroxylation of methyl groups by regioselective cyclopalladation. Partial synthesis of hyptatic acid-A*, The Journal of Organic Chemistry, 2007, 72, 3500-3509.
111. A.P. Kundu, S.B. Mahato, *Triterpenoids and their glycosides from Terminalia chebula*, Phytochemistry, 1993, 32, 999-1002.
112. M.B. Gallo, F.C.d. Silva, P.C. Vieira, J.B. Fernandes, M.F.d.G.J.J.o.t.B.C.S. da Silva, *New natural products from Siphoneugena densiflora Berg (Myrtaceae) and their chemotaxonomic significance*, 2006, 17, 279-288.
113. J. Sun, P. Zhang, Q. Wei, H. Xun, F. Tang, Y. Yue, L. Li, X. Guo, R. Zhang, *Amarusine A, a new dioxaspiro [4.4] nonane derivative with a butyrolactone ring from Pleioblastus amarus*, Tetrahedron Letters, 2014, 55, 4529-4531.
114. T. Tukiran, F. Mahmudah, N. Hidayati, K. Shimizu, *A phenolic acid and its antioxidant activity from stem bark of chloroform fraction of Syzygium littorale (blume) amshoff (Myrtaceae)*, Molekul, 2016, 11, 180-189.
115. R. Saijo, G.I. Nonaka, I. Nishioka, *Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from Mallotus japonicus*, Phytochemistry, 1990, 29, 267-270.
116. T. Yoshida, K. Seno, Y. Takama, T. Okuda, *Bergenin derivatives from Mallotus japonicus*, Phytochemistry, 1982, 21, 1180-1182.
117. T. Miyase, A. Ueno, N. Takizawa, H. Kobayashi, H. KARASAWA, *Studies on the glycosides of Epimedium grandiflorum Morr. var. thunbergianum (Miq.) Nakai. I*, Chemical Pharmaceutical Bulletin, 1987, 35, 1109-1117.
118. Y. Takeda, Y. Okada, T. Masuda, E. Hirata, T. Shinzato, A. Takushi, Q. Yu, H. Otsuka, *New megastigmane and tetraketide from the leaves of Euscaphis japonica*, Chemical Pharmaceutical Bulletin, 2000, 48, 752-754.
119. S. Schwindl, B. Kraus, J. Heilmann, *Phytochemical study of Juglans regia L. leaves*, Phytochemistry, 2017, 144, 58-70.
120. N.S. Mamdouh, S. Sugimoto, K. Matsunami, H. Otsuka, M.S. Kamel, *Taxiphyllin 6'-O-gallate, actinidioionoside 6'-O-gallate and myricetrin 2''-O-sulfate from the leaves of Syzygium samarangense and their biological activities*, Chemical Pharmaceutical Bulletin, 2014, 62, 1013-1018.
121. M. Cuendet, O. Potterat, A. Salvi, B. Testa, K. Hostettmann, *A stilbene and dihydrochalcones with radical scavenging activities from Loiseleuria procumbens*, Phytochemistry, 2000, 54, 871-874.
122. Y. Cai, F. Evans, M. Roberts, J. Phillipson, M. Zenk, Y. Gleba, *Polyphenolic compounds from Croton lechleri*, Phytochemistry, 1991, 30, 2033-2040.
123. S.C. Lee, Y.S. Kwon, K.H. Son, H.P. Kim, M.Y. Heo, *Antioxidative constituents from Paeonia lactiflora*, Archives of Pharmacal Research, 2005, 28, 775-783.
124. I. Song, H. Lim, S. Chun, S.B. Lee, J. Huh, D.C. Oh, S. Hong, *First Total Synthesis of Gaylussacin and Its Stilbene Derivatives*, Journal of Natural Products, 2021, 84, 1366-1372.
125. N. Trung Thanh, L. Thi Thuy, D. Thi Xuyen, L. Quynh Mai, D. Van Hai, N. Sinh Khang, D.T. Trang, B. Huu Tai, P.V. Kiem, *Amenyunnaosides A-C, three new neolignans isolated*

- from *Amentotaxus yunnanensis* and their anti-inflammatory activities, *Chemistry Biodiversity*, 2023, e202300604.
126. I. Calis, A. Kuruüzüm, L.Ö. Demirezer, O. Sticher, W. Ganci, P. Rüedi, *Phenylvaleric Acid and Flavonoid Glycosides from Polygonum s alicifolium*, *Journal of Natural Products*, 1999, 62, 1101-1105.
 127. F. Wei Shengi, *A new stilbene glycoside from Dryopteris sublaeta*, *Yao Xue Xue Bao*, 2005, 40, 1131-1134.
 128. G. Nicollier, A. Thompson, *Flavonoids of Desmanthus illinoensis*, *Journal of Natural Products*, 1983, 46, 112-117.
 129. N.N. Kong, S.T. Fang, J.H. Wang, Z.H. Wang, C.H. Xia, *Two new flavonoid glycosides from the halophyte Limonium franchetii*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 2014, 16, 370-375.
 130. H. Okamura, A. Mimura, M. Niwano, Y. Takahara, H. Yasuda, H. Yoshida, *Two acylated flavonol glycosides from Eucalyptus rostrata*, *Phytochemistry*, 1993, 33, 512-514.
 131. T. Iwagawa, J.I. Kawasaki, T. Hase, S. Sako, T. Ōkubo, M. Ishida, M. Kim, *An acylated flavonol glycoside from Lasiobema japonica*, *Phytochemistry*, 1990, 29, 1013-1014.
 132. L. Korul'Kina, E. Shul'ts, G. Zhusupova, Z.A. Abilov, K. Erzhanov, M. Chaudri, *Biologically active compounds from Limonium gmelinii and L. popovii I*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2004, 40, 465-471.
 133. K. Kazuma, N. Noda, M. Suzuki, *Malonylated flavonol glycosides from the petals of Clitoria ternatea*, *Phytochemistry*, 2003, 62, 229-237.
 134. L.Y. Foo, Y. Lu, A. Molan, D. Woodfield, W. McNabb, *The phenols and prodelphinidins of white clover flowers*, *Phytochemistry*, 2000, 54, 539-548.
 135. I. Kuniyoshi, *NMR spectra of some monosaccharides of galactopyranose series in deuterium oxide*, *Agricultural Biological Chemistry*, 1971, 35, 1816-1818.
 136. K. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger, T. Mabry, *Carbon-13 NMR studies of flavonoids—III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives*, *Tetrahedron Letters*, 1978, 34, 1389-1397.
 137. S. Kadota, Y. Takamori, K.N. Nyein, T. Kikuchi, K. Tanaka, H. Ekimoto, *Constituents of the leaves of Woodfordia fruticosa KURZ. I: Isolation, structure, and proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance signal assignments of Woodfruticosin (Woodfordin C), an inhibitor of deoxyribonucleic acid topoisomerase II*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1990, 38, 2687-2697.
 138. X. Gao, J. Wu, W. Zou, Y. Dai, *Two ellagic acids isolated from roots of Sanguisorba officinalis L. promote hematopoietic progenitor cell proliferation and megakaryocyte differentiation*, *Molecules*, 2014, 19, 5448-5458.
 139. D.K. Duc, T.V. Sung, A.M. Campos, J.Y. Lallemand, M. Fetizon, *Ellagic compounds from Diplopanax stachyanthus*, *Phytochemistry*, 1990, 29, 251-256.