

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



TRẦN PHAN HUỲNH NHƯ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA MỘT SỐ DƯỢC LIỆU
SỬ DỤNG KHỐI PHỔ PHÂN GIẢI CAO VÀ ĐỊNH HƯỚNG PHÂN LẬP
HỢP CHẤT THEO MỤC TIÊU**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH
HÓA HỮU CƠ**

Tp.Hồ Chí Minh – 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



TRẦN PHAN HUỲNH NHƯ'

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA MỘT SỐ DƯỢC LIỆU
SỬ DỤNG KHỐI PHỔ PHÂN GIẢI CAO VÀ ĐỊNH HƯỚNG PHÂN LẬP
HỢP CHẤT THEO MỤC TIÊU**

Chuyên ngành: HÓA HỮU CƠ
Mã số: 8440114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH
HÓA HỮU CƠ**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:
TS. PHÙNG VĂN TRUNG

Tp. Hồ Chí Minh – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn

Trần Phan Huỳnh Như

LỜI CẢM ƠN

Em xin chân thành cảm ơn Thầy TS. Phùng Văn Trung đã định hướng nghiên cứu, tận tình hướng dẫn, giảng dạy và truyền đạt những kinh nghiệm quý báu, đóng góp ý kiến, tạo mọi điều kiện thuận lợi cho em trong việc học tập và nghiên cứu trong suốt quá trình hoàn thành luận văn.

Em xin chân thành cảm ơn ThS. Phạm Hồng Ngọc, ThS. Trần Chiêu Ân đã tận tình chỉ dẫn, giúp đỡ, đóng góp ý kiến cho em trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Em xin cảm ơn các Thầy, Cô bộ môn đã tận tình giảng dạy, trao đổi, cung cấp kiến thức trong quá trình học tập.

Em xin cảm ơn cơ sở Đào tạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo điều kiện thuận lợi cho em trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn. Và cuối cùng tôi muốn tỏ lòng biết ơn gia đình, bạn bè, đồng nghiệp, đã luôn bên cạnh ủng hộ, tạo mọi điều kiện thuận lợi, động viên lớn để tôi thực hiện luận văn này.

Em xin chân thành cảm ơn!

Tp.HCM, Ngày 08 tháng 09 năm 2023

Tác giả luận văn

Trần Phan Huỳnh Như

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao.....	3
1.1.1. Giới thiệu.....	3
1.1.1.1. Một số nghiên cứu phân tích thành phần hóa học của dược liệu bằng khối phổ phân giải cao.	3
1.1.2. Chiến lược “ Dereplication”	4
1.1.2.1. Một số nghiên cứu “Dereplication” trong nước và trên thế giới	4
1.2. Tổng quan về dược liệu	5
1.2.1. Cây Thường xuân.....	5
1.2.1.1. Giới thiệu chung.....	5
1.2.1.2. Hoạt tính sinh học	6
1.2.1.3. Thành phần hóa học	6
1.2.2. Cây Bá bệnh [24].....	14
1.2.2.1. Giới thiệu chung.....	14
1.2.2.2. Hoạt tính sinh học	15
1.2.2.3. Thành phần hóa học	15
1.2.3. Cây Trinh nữ hoàng cung.....	19
1.2.3.1. Giới thiệu chung.....	19
1.2.3.2. Hoạt tính sinh học	20
1.2.3.3. Thành phần hóa học	20
1.3. Quy định chất đối chiếu.....	26
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	27
2.1. Đối tượng nghiên cứu	27
2.1.1. Hóa chất.....	27
2.1.2. Dụng cụ	27
2.1.3. Thiết bị	27
2.2. Phương pháp nghiên cứu	28
2.2.1. Thu hái và xử lý mẫu.....	28
2.2.2. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao	28
2.2.3. Phương pháp phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc các hợp chất mục tiêu	29

2.2.3.1. Phương pháp chiết xuất.....	30
2.2.3.2. Sắc ký.....	30
2.2.3.3. Sắc ký lớp mỏng (TLC).....	30
2.2.3.4. Phương pháp kết tinh.....	30
2.2.3.5. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).....	31
2.2.3.6. Xác định cấu trúc hợp chất đã phân lập.....	31
CHƯƠNG 3: THỰC NGHIỆM.....	33
3.1. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng HRMS.....	33
3.1.1. Chuẩn bị mẫu.....	33
3.1.2. Chương trình phân tích mẫu:.....	33
3.1.2.1. Thường xuân.....	34
3.1.2.2. Bá bệnh.....	34
3.1.2.3. Trinh nữ hoàng cung.....	34
3.2. Phương pháp phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc hợp chất mục tiêu.....	35
3.2.1. Thường xuân (<i>Hedera helix</i>):.....	35
3.2.2. Bá bệnh (<i>Eurycoma longifolia</i>).....	37
3.2.3. Trinh nữ hoàng cung (<i>Crinum latifolium</i>).....	39
3.2.4. Xác định cấu trúc hợp chất mục tiêu.....	42
CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	43
4.1 Kết quả phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao.....	43
4.1.1. Thường xuân (<i>Hedera helix</i>).....	43
4.1.2. Bá bệnh (<i>Eurycoma longifolia</i>).....	48
4.1.3. Trinh nữ hoàng cung (<i>Crinum latifolium</i>).....	51
4.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất mục tiêu đã phân lập.....	53
4.2.1. Thường xuân.....	53
4.2.2. Bá bệnh.....	56
4.2.3. Trinh nữ hoàng cung.....	58
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	61
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ.....	63
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	64
PHỤ LỤC.....	69

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ TỪ VIẾT TẮT

NMR	Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy
HRMS	High Resolution Mass Spectrometer
ESI-MS	Electrospray Ionisation Mass Spectrometry
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
¹³ C-NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
SKC	Sắc ký cột
SKLM	Sắc ký lớp mỏng
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC	Liquid Chromatography
<i>s</i>	Mũi đơn (Singlet)
<i>d</i>	Mũi đôi (Doublet)
<i>dd</i>	Mũi đôi-đôi (Doublet- doublet)
<i>t</i>	Mũi ba (Triplet)
<i>m</i>	Mũi đa (Multiple)
ppm	Part per million
H	Hexane
EA	Ethyl acetate
C	Chloroform
M	Methanol
HH-01	α -Herderin
EL-01	Eurycomanone
CL-01	Crinamidine
TNHC	Trinh nữ hoàng cung

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 Thành phần hóa học của <i>Hedera helix</i>	7
Bảng 1.2 Một số cấu trúc đặc trưng có trong thành phần hóa học của <i>Eurycoma longifolia</i>	16
Bảng 1.3 Alcaloid của TNHC <i>Crinum latifolium</i> . [41].....	21
Bảng 1.4 Flavonoid của TNHC <i>Crinum latifolium</i> L. [41].....	25
Bảng 3. 1 Xác định cấu trúc 3 hợp chất mục tiêu bằng HRMS.....	42
Bảng 4. 1: Phân tích thành phần hóa học cây thường xuân bằng khối phổ phân giải cao và so sánh các hợp chất trong chi <i>Hedera</i>	44
Bảng 4. 2: Phân tích thành phần hóa học cây bá bệnh bằng HRMS và so sánh các hợp chất trong chi <i>Eurycoma</i>	49
Bảng 4. 3: Phân tích thành phần hóa học cây bá bệnh bằng HRMS và so sánh các hợp chất trong chi <i>Crinum</i>	52

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2. 1: Quy trình nghiên cứu thành phần hóa học của các dược liệu bằng sử dụng phương pháp khối phổ phân giải cao.....	29
Sơ đồ 2. 2: Quy trình thực hiện.....	29
Sơ đồ 3. 1: Quy trình tạo cao giàu hoạt chất dược liệu Thường xuân.....	35
Sơ đồ 3. 2: Phân lập chất mục tiêu α -Hederin	36
Sơ đồ 3. 3: Quy trình tạo cao giàu hoạt chất dược liệu Bá bệnh.....	37
Sơ đồ 3. 4: Phân lập chất mục tiêu Eurycomanone.....	39
Sơ đồ 3. 5: Quy trình tạo cao giàu hoạt chất dược liệu Trinh nữ hoàng cung	40
Sơ đồ 3. 6: Phân lập chất mục tiêu Crinamidine.....	42

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1: <i>Hedera helix</i>	6
Hình 1.2: <i>Hedera nepalensis</i>	6
Hình 2.1: Mẫu nguyên liệu thường xuân	28
Hình 2.2: Mẫu nguyên liệu bá bệnh	28
Hình 2.3: Mẫu nguyên liệu trinh nữ hoàng cung	28
Hình 3.1: Ngâm chiết nguyên liệu thường xuân	36
Hình 3.2: Hình Sắc ký cột cao MeOH	36
Hình 3.3: Thiết bị chiết siêu âm và máy cô quay cao chiết bá bệnh	36
Hình 3.4: Sắc ký trung áp cao Chloroform bá bệnh	38
Hình 3.5: Mẫu phân đoạn CC trộn silica	39
Hình 3.6: Sắc ký trung áp mẫu phân đoạn CC	39
Hình 3.7: TLC chất sạch (Eurycomanone)	39
Hình 3.8: Sắc ký trung áp cao Chloroform TNHC	40
Hình 3.9: Cao Chloroform TNHC trộn silica	40
Hình 3.10: Sắc ký trung áp phân đoạn CC TNHC	41
Hình 3.11: Phân đoạn CC TNHC trộn silica	41
Hình 3.12: Tinh thể crinamidine	41
Hình 3.13: TLC chất sạch	41
Hình 4.1: Sắc ký đồ của cao thường xuân	43
Hình 4.2: Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất α -hederin	44
Hình 4.3: Sắc ký đồ của cao bá bệnh	48
Hình 4.4: Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất eurycomanone	49
Hình 4.5: Sắc ký đồ của cao trinh nữ hoàng cung	51
Hình 4.6: Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất crinamidine	52
Hình 4.7: TLC hợp chất α -Hederin với hệ dung môi C:Me:W (70:30:3)	53
Hình 4.8: Mẫu chất (α -hederin)	53
Hình 4.9: Cấu trúc hóa học của hợp chất (α -hederin)	53
Hình 4.10: Eurycomanone kết tinh	57
Hình 4.11: TLC chất eurycomanone sạch	57
Hình 4.12: Tinh thể crinamidine	58
Hình 4.13: TLC chất crinamidine sạch	58
Hình 4.14 Cấu trúc hóa học của hợp chất (<i>Crinamidine</i>)	59

MỞ ĐẦU

Phương pháp khối phổ hay phương pháp phổ khối lượng (tiếng Anh: *Mass spectrometry* - MS) là một kỹ thuật dùng để đo đặc *tỉ lệ khối lượng trên điện tích* của ion; dùng thiết bị chuyên dụng là khối phổ kế. Kỹ thuật này có nhiều ứng dụng, bao gồm:

Xác định các hợp chất chưa biết bằng cách dựa vào khối lượng của phân tử hợp chất hay từng phần tách riêng của nó;

Xác định kết cấu chất đồng vị của các thành phần trong hợp chất. Xác định cấu trúc của một hợp chất bằng cách quan sát từng phần tách riêng của nó

Định lượng lượng hợp chất trong một mẫu dùng các phương pháp khác (phương pháp phổ khối vốn không phải là định lượng);

Nghiên cứu cơ sở của hóa học ion thể khí (ngành hóa học về ion và chất trung tính trong chân không);

Xác định các thuộc tính vật lý, hóa học hay ngay cả sinh học của hợp chất với nhiều hướng tiếp cận khác nhau.

Khối phổ phân giải cao (HRMS) là một kỹ thuật mới được sử dụng để phân tích nhanh thành phần hóa học của các hợp chất với độ chính xác và độ nhạy cao. Do khả năng đo được khối lượng các ion phân tử, phân mảnh ion với độ chính xác cao (<5ppm) nên có thể dễ dàng tính được công thức phân tử của các hợp chất và phân mảnh ion. Từ đó có thể dự đoán chính xác được cấu trúc của các hợp chất trong mẫu phân tích.

Việt Nam là một nước có nguồn thực vật phong phú với khoảng 12000 loài, trong đó đã điều tra được 3850 loài được sử dụng làm thuốc, các dược liệu quý như Thường xuân đã được sử dụng làm thuốc ho (Siro Prospan,...), Bá bệnh được sử dụng giải độc gan, chống ung thư, chống viêm..., Trinh nữ hoàng cung có công dụng giảm đau, ức chế khối u (các sản phẩm như Trinh nữ hoàng cung Cali USA,...). Hiện nay dược liệu đóng một vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực như kinh doanh các hoạt tính có trong dược liệu, các sản phẩm thuốc từ dược liệu, tuy nhiên dù đã được nghiên cứu rộng rãi nhưng dược liệu sẽ thay đổi theo vùng miền, nhiệt độ, khí hậu, điều kiện chăm sóc, ... Nên để có được một sản phẩm tốt thì cần chuẩn hóa từ khâu sản xuất nguyên liệu để tạo ra sản phẩm tốt nhất. Vì thế, để biết và đảm bảo được sản phẩm thì chúng ta cần dựa vào hoạt chất chính trong dược liệu, nên cần kiểm soát thật chặt chẽ.

Phương pháp khối phổ phân giải cao (HRMS) rất quan trọng trong việc kiểm tra các hoạt chất, chất mục tiêu, có trong dược liệu một cách khá nhanh chóng. Dựa vào khối phổ phân giải cao (HRMS) xác định được thành phần hóa học và định hướng

phân lập hợp chất mục tiêu. Vì thế, Để góp phần vào việc nghiên cứu thành phần hóa học và phân lập, tinh chế các hoạt chất có trong các loài dược liệu quý trong nước, chúng tôi chọn đề tài: “ **Nghiên cứu thành phần hóa học của một số dược liệu sử dụng khối phổ phân giải cao và định hướng phân lập hợp chất theo mục tiêu**”.

Nội dung thực hiện:

- Nghiên cứu thành phần hóa học 3 cây dược liệu Thường xuân, Bá bệnh, Trinh nữ hoàng cung bằng phương pháp phân tích khối phổ phân giải cao (HRMS).
- Phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc các hợp chất mục tiêu của thường xuân, bá bệnh, trinh nữ hoàng cung.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

1.1.1. Giới thiệu

Khối phổ phân giải cao là một kỹ thuật mới được sử dụng để phân tích nhanh thành phần hóa học của các hợp chất với độ chính xác và phân giải cao. Phương pháp này rất hữu ích trong việc xác định công thức chung và cấu trúc của các hợp chất dựa trên các phân mảnh của chúng.

1.1.1.1. Một số nghiên cứu phân tích thành phần hóa học của dược liệu bằng khối phổ phân giải cao.

Năm 2011, Lee Suan Chua và cộng sự đã sử dụng LC-MS/MS để xác định các chất chuyển hóa nhỏ) và để phát hiện các chất chuyển hóa mục tiêu như quassinoids, alkaloid, triterpene và biphenylneolignan từ chất chiết xuất từ dịch chiết nước của *Eurycoma longifolia*. [48]

Năm 2013, DK Gupta cùng các cộng sự đã xác định 2 hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học quan trọng là glycyrrhizin và acid glycyrrhetic có trong rễ cây cam thảo bằng phân tích khối phổ phân giải cao và tiến hành tinh chế 2 hợp chất này. [49]

Năm 2016, Lin Jun Yang cùng các cộng sự đã nhanh chóng xác định được 43 hợp chất, bao gồm saponin triterpenoid, glycoside flavonoid, phenylpropanoid và nucleotide từ thân và lá của cây *Hedera nepalensis* bằng phương pháp phân tích khối phổ phân giải cao (UHPLC-MS/MS) [50].

Năm 2016, Ting-Ting Sun và cộng sự đã tách và xác định 31 saponin trong nhân sâm Shizhu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao siêu nhanh, nhạy và đáng tin cậy cùng với phương pháp MS/MS (UHPLC-MS/MS) thành phần hóa học có trong nhân sâm Shizhu [51].

Năm 2017, Shuailong Jia và cộng sự đã xác định thành phần hóa học của curcuminoid trong nghệ dựa trên phân tích UHPLC-QTOF-MS/MS, 89 curcuminoid bao gồm 16 chất mới đã được xác định trong các mẫu nghệ bằng cách sử dụng phương pháp này. [52]

Năm 2018, Miao-Miao Jin và cộng sự nghiên cứu thành phần hoạt tính sinh học chính của *Pulsatilla chinensis* bằng (UPLC-QTOF-MS/MS) để xác định đặc tính và nhận dạng hiệu quả saponin triterpenoid trong dịch chiết thô từ *Pulsatilla chinensis*. Kết quả là xác định tổng số 22 saponin triterpenoid dựa trên thời gian lưu, các mẫu phân mảnh khối phổ và dữ liệu MS và MS/MS [53].

Năm 2019, Ri Na Su cùng các cộng sự đã xác định được các thành phần hóa học của cây tầm ma – (*Urtica hyperborea*) thông qua thời gian lưu, khối lượng phân tử tương đối chính xác, các đoạn phân cắt của MS/MS và dữ liệu được báo cáo, bao

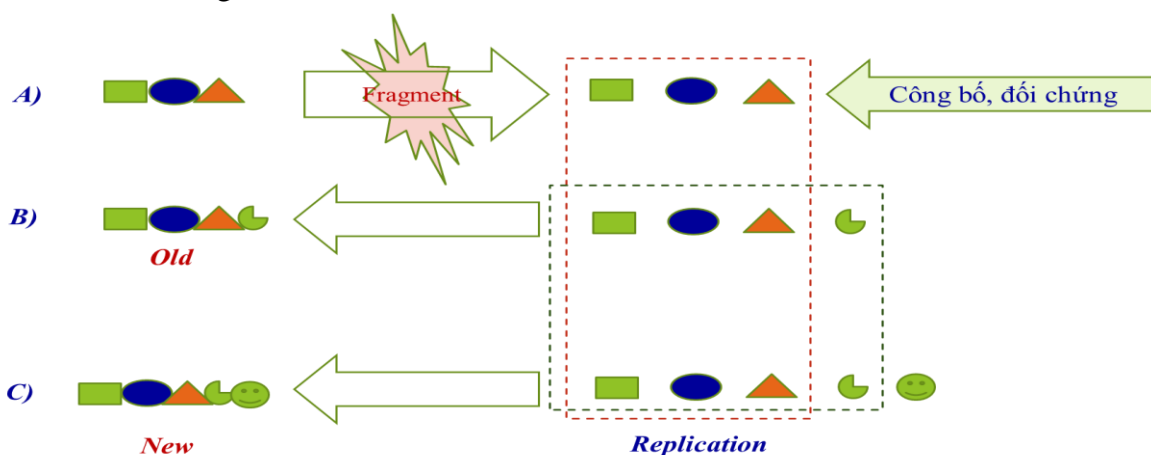
gồm 8 flavonoid, 14 hợp chất phenolic, 8 phenylpropanoid (4 coumarin và 4 lignan), và 1 hợp chất steroid bằng phương pháp khối phổ phân giải cao (UHPLC-MS/MS) [54].

Năm 2020, Ning Li và cộng sự, thiết lập một phương pháp phân loại và xác định nhanh các thành phần hóa học phức tạp của *Epimedium koreanum Nakai*, là một loại thuốc thảo dược nổi tiếng của Trung Quốc để điều trị loãng xương, ức chế miễn dịch, khối u và các bệnh tim mạch. Các mẫu được phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng siêu cao khối phổ thời gian bay (UPLC-Q-TOF-MS) và các kỹ thuật xử lý sau dữ liệu. [55]

Năm 2021, Haotian-Pei và cộng sự đã nghiên cứu sáu bộ phận của sen (hạt, lá, mầm, nhị, thụ và thân rễ) UPLC-QTOF-MS kết hợp với nền tảng UNIFI và phân tích thống kê đa biến đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả là, tổng cộng 171 hợp chất đã được phát hiện và xác định đặc điểm từ sáu bộ phận, và 23 dấu ấn sinh học mạnh mẽ đã được phát hiện. Quan trọng nhất, đây là lần đầu tiên người ta phát hiện thấy alkaloid trong nhị hoa. Phân nhị hoa là một phần đáng chú ý vì nó chứa nhiều flavonoid và terpenoit nhất, nhưng nghiên cứu về nhị hoa còn khá hạn chế. [56]

1.1.2. Chiến lược “Dereplication”

“Dereplication” là “một quá trình sàng lọc nhanh chóng giúp xác định thành phần hóa học các hợp chất đã biết”, được định nghĩa đầu tiên vào năm 1990 bởi Beutler JA và các cộng sự [57].



1.1.2.1. Một số nghiên cứu “Dereplication” trong nước và trên thế giới

Năm 2017, Jane Hubert và các cộng sự đã tổng kết những công cụ và phương pháp nghiên cứu các hợp chất tự nhiên bằng chiến lược “Dereplication”. Từ năm 1990 đến năm 2014 có hơn 358 tài liệu nghiên cứu về “Dereplication”, các nghiên cứu không chỉ liên quan đến dược lý, dược phẩm, hóa học, hoặc khoa học thực vật, mà còn cả sinh học phân tử, công nghệ sinh học-khoa học, vi sinh và công nghệ khoa học thực phẩm. [58]

Năm 2017, Tobias Kind và cộng sự đã nghiên cứu các hợp chất tự nhiên theo chiến lược “Dereplication” và bằng cách dựa vào kết quả khối phổ phân giải cao, các phần mềm Seven Golden Rules, Sirius2, MS-FINDER cùng với kho dữ liệu hợp chất thiên nhiên DNP, UNPD, ChemSpider and REAXYS, kết hợp với các dữ liệu phân mảnh như CFM-ID, CSI:FingerID and MS-FINDER để tìm ra chính xác 13 trong 18 hợp chất tự nhiên một cách hiệu quả và nhanh chóng [59].

Năm 2019, Yilin-Gao và các cộng sự đã dựa vào dữ liệu sắc ký lỏng kết hợp phân tích khối phổ làm sáng tỏ cấu trúc của các hợp chất chuyển hóa từ chiết xuất nấm dược liệu và tế bào ung thư, sau đó nhận biết những thay đổi của chúng theo cách bán định lượng và đã phát hiện ra khoảng 100 loại ion mới có mặt trong các tế bào bệnh bạch cầu [60].

Phương pháp HRMS ngày càng trở nên phổ biến và trở thành một công cụ hỗ trợ đắc lực để tiến hành các nghiên cứu về thành phần hóa học, xác định cấu trúc, và nhiều mục tiêu khác. Đối với ở nước ngoài thì các nhà khoa học đang sử dụng phương pháp HRMS rất nhiều và công bố những công trình vô vùng hữu ích, nhưng ở Việt Nam phương pháp này vẫn còn hạn chế chưa được sử dụng rộng rãi. Vì thế, việc thực hiện sử dụng phương pháp này để có kết quả nhanh, chính xác và theo kịp với tình hình phát triển khoa học của thế giới.

1.2. Tổng quan về dược liệu

1.2.1. Cây Thường xuân

1.2.1.1. Giới thiệu chung

Chi *Hedera* trong hệ thống phân loại thực vật thuộc họ Ngũ gia bì (Araliaceae). Trên thế giới, chi *Hedera* có khoảng 15 loài với đặc điểm hình thái chung dạng dây leo, phân bố chủ yếu ở châu Âu, Tây Á. [1]. Ở Việt Nam, hai loài được nghiên cứu và sử dụng làm thuốc phổ biến hơn cả là Thường xuân (*Hedera helix* L.) và dây thường xuân (*Hedera nepalensis* K Koch.) [2].

- Tên khoa học: *Hedera helix* L.
- Họ: Ngũ gia bì (Araliaceae)
- Chi: *Hedera*
- Loài *Thường xuân* (*Hedera helix* L.)

Hedera helix L. là một loài dây leo thân gỗ thường xanh, mọc cao tới 20–30 m ở những nơi có bề mặt thích hợp (cây cối, vách đá, tường). Các lá mọc so le, phiến lá có 3–5 thùy hình lòng bàn tay, dài 50–100 mm, với cuống lá dài 15–20 mm. Mặt trên của lá có màu xanh lục đậm, mặt dưới thì có màu xanh xám và đường vân nổi lên rõ rệt. Những bông hoa nhỏ màu vàng lục có đường kính từ 3–5 cm được tạo ra từ mùa hè cho đến cuối mùa thu; quả là những quả chín nhỏ màu đen, chín vào mùa đông.

Thường xuân mọc tự nhiên ở miền Tây, miền Trung và miền Nam Châu Âu nhưng cũng đã xuất hiện tại Bắc Mỹ và Châu Á. Nó là một cây cảnh phổ biến ở nhiều nước [3]. Thường xuân không phải cây bản địa ở Việt Nam, có phân bố tương đối hẹp ở Châu Á và được ghi nhận xuất hiện ở một số tỉnh vùng núi cao Việt Nam.



Hình 1.1: *Hedera helix*



Hình 1.2: *Hedera nepalensis*

1.2.1.2. Hoạt tính sinh học

Ở Việt Nam, *Hedera helix* được sử dụng cho các rối loạn về gan, lá lách và túi mật, cũng như co thắt cơ, bệnh gout, viêm phế quản mạn tính, bệnh lao phổi. Thuốc được làm từ *Hedera helix* cũng được sử dụng để làm giảm sung màng đường hô hấp và phá vỡ sự tắc nghẽn ở ngực (như là một thuốc long đờm). Một số người bôi *Hedera helix* trực tiếp lên da bị bỏng, vết chai, nhiễm trùng dưới da (viêm mô tế bào), sưng, đau dây thần kinh, nhiễm ký sinh trùng, viêm loét, đau khớp (thấp khớp) và các tĩnh mạch bị sưng (viêm tĩnh mạch). [4]

Cao chiết từ lá thường xuân đã được chứng minh có hiệu quả trong điều trị viêm phế quản cấp tính, mãn tính, và ho kéo dài ở cả người lớn và trẻ nhỏ. [5]- [8]

Các hợp chất chiết xuất từ *Hedera helix* có tính kháng khuẩn. [9]- [11]

Các hợp chất chiết xuất từ *Hedera helix* hoạt tính chống giun sán. [12]

Dịch chiết khô thu được từ cây *Hedera helix* có hoạt tính chống co thắt. [13]

α - Hederin chiết xuất từ lá cây *Hedera helix* có hoạt tính chống độc tính trên gan. [14]

Chiết xuất ethanol từ cây *Hedera helix* có khả năng kháng viêm. [15], [16]

Các hợp chất saponin cô lập từ lá *Hedera helix* có hoạt tính chống oxi hóa. [10], [17]

Các hợp chất chiết xuất từ *Hedera helix* hoạt tính trên nhu động ruột. [18]

Hederagenin chiết xuất từ *Hedera helix* có khả năng chống khối u. [19]

1.2.1.3. Thành phần hóa học

Một số nghiên cứu, Năm 2014, Miao Yu và cộng sự đã xác định saponin và flavonoid trong dịch chiết lá thường xuân bằng HPLC-DAD đã được sử dụng để điều trị các chứng rối loạn hô hấp khác nhau và là loại thuốc thảo dược trị ho bán chạy

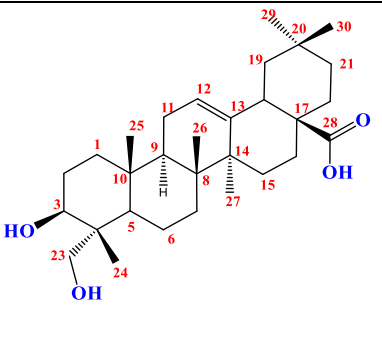
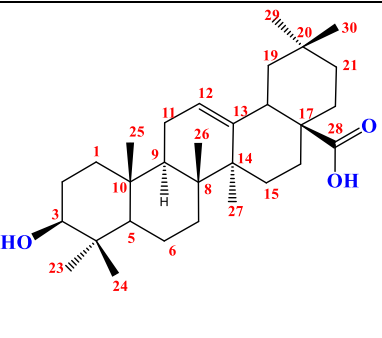
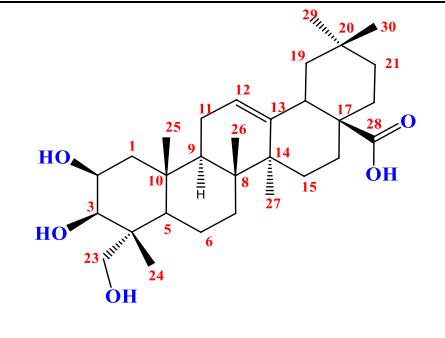
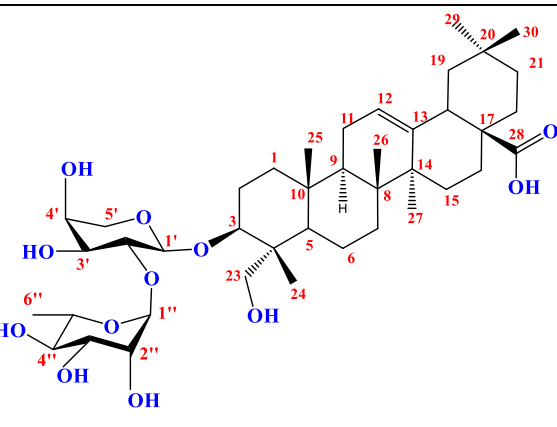
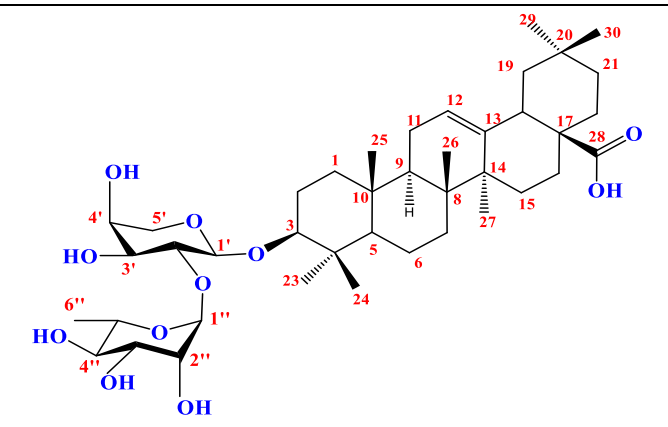
nhất ở nhiều quốc gia. Thông thường, chiết xuất lá thường xuân và các sản phẩm thuốc của nó được tiêu chuẩn hóa dựa trên hàm lượng của hederacoside C và α -hederin. Vì thuốc thảo dược bao gồm hóa chất phức tạp, có thể là các hợp chất khác cũng vì các hợp chất đánh dấu có thể góp phần vào sự an toàn và hiệu quả của thuốc thảo dược.

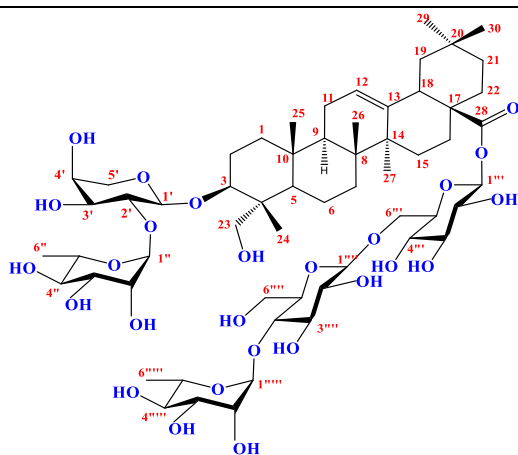
Năm 2015, Zeeshan Ahmed Sheikh và cộng sự đã dùng kỹ thuật HPLC-PAD để xác định các sản phẩm thảo dược từ thường xuân trị ho và xác định dấu ấn sinh học hederacoside C cho tính nhất quán của sản xuất trong sản phẩm siro trị ho của ba nhãn hiệu siro khác nhau. [Ivy Herbal Products for Cough and its Validation for Hederacoside C Biomarker Determination with HPLC _PAD Techniques] [21]

Năm 2015, Trịnh Thị Diệp và các cộng sự [20, 1] đã cô lập hederacosid C (1) và α -hederin (2) trong lá cây *Hedera helix* L. thu hái tại Đà Lạt.

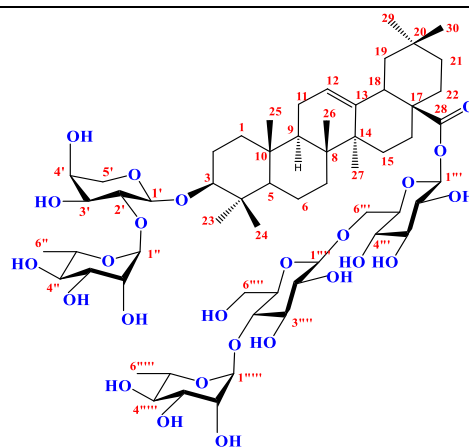
Năm 2016, Nguyễn Thị Hoàng Mai và các cộng sự [2] đã cô lập và định lượng hederacosid C (1) và α -hederin (2) trong lá cây thường xuân bằng HPLC.

Bảng 1.1 Thành phần hóa học của *Hedera helix*

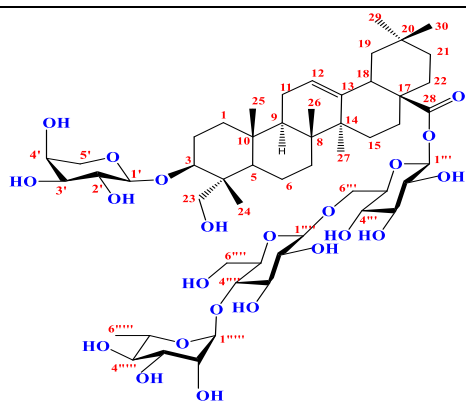
Hợp chất Triterpene	
	
Hederagenin (10)	Oleanoic acid (11)
	Bayogenin (28)
Hợp chất Triterpene saponin	
	
α -Hederin (2)	β -Hederin (13)



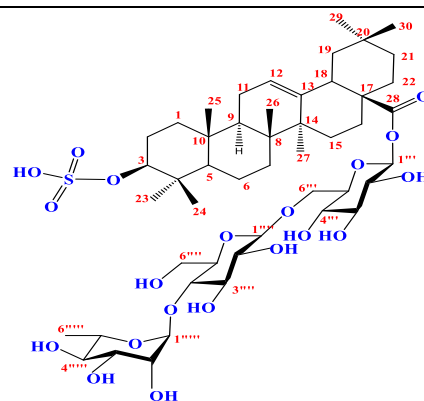
Hederasaponin C (1)



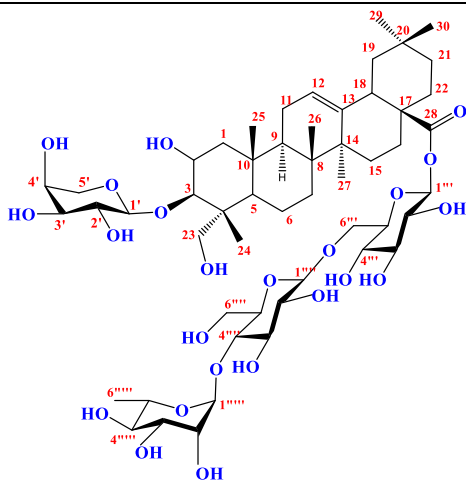
Hederasaponin B (4)



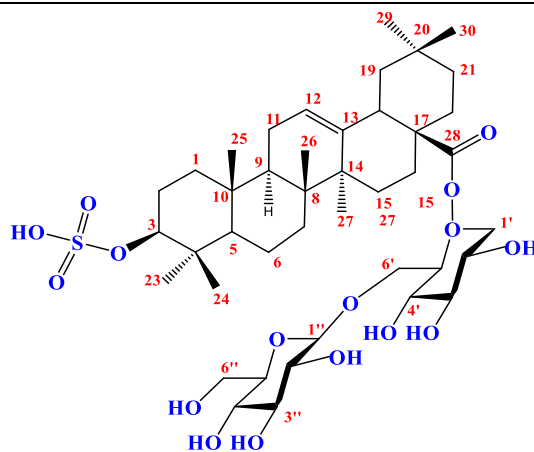
Hederasaponin D (3)

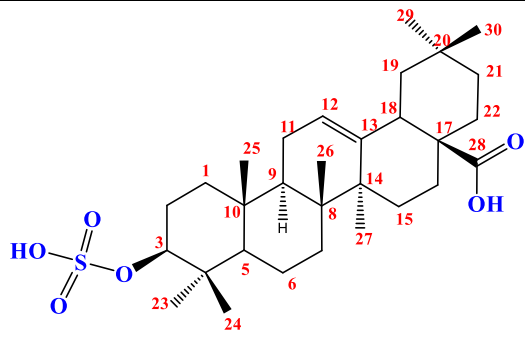
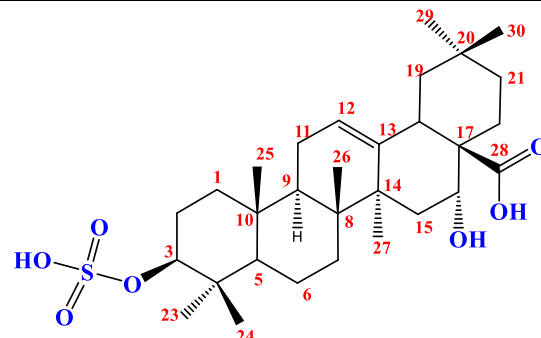
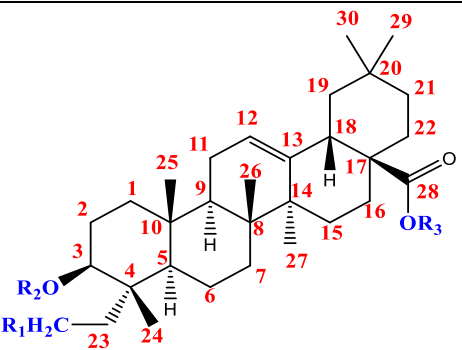


Hederasaponin F (29)



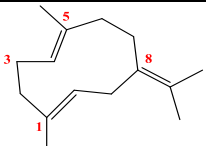
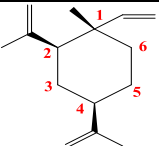
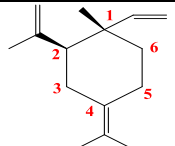
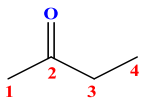
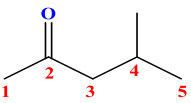
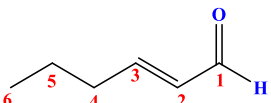
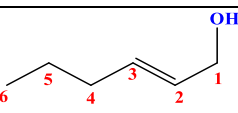
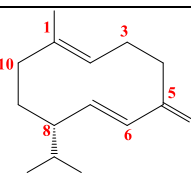
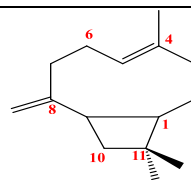
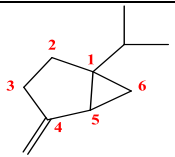
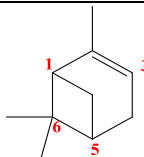
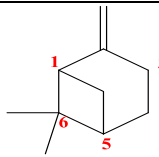
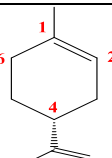
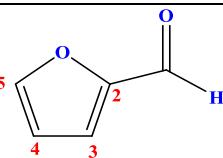
Hederasaponin E (12)

3-Sulfate của 28-O- β -gentiobiosyloleanate
(helicoside L-8a) (34)

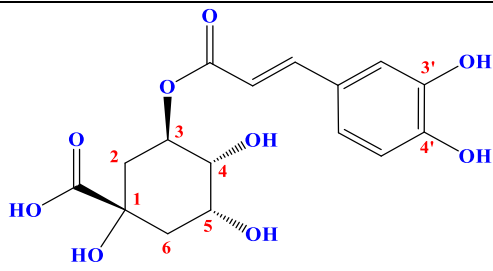
 <p>3-Sulfate của oleanolic acid (32)</p>		 <p>3-Sulfate của echinocystic acid (33)</p>		
		<p>Ara: α-L-arabinopyranosyl Xyl: β-D-xylopyranosyl Glc: β-D-glucopyranosyl Glc A: β-D-glucuronopyranosyl Rha: α-L-rhamnopyranosyl. Gal: β-D-galactopyranosyl</p>		
KH	R ₁	R ₂	R ₃	Tên
(1)	OH	Rha 1-2 Ara	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederasaponin C
(2)	OH	Rha 1-2 Ara	H	α -Hederin
(3)	OH	Ara	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederasaponin D
(4)	H	Rha 1-2 Ara	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederasaponin B
(14)	OH	Ara	H	Saponin B (δ -hederin)
(15)	OH	Glc	H	Saponin 2
(30)	H	Gal 1-4 Glc	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederasaponin H
(31)	OH	Glc	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederasaponin I
(60)	H	Glc 1-2 Glc	H	Heteroside E2
(61)	OH	Glc 1-2 Glc	H	Saponin 4
(62)	OH	Glc	Glc 1-6 Glc	Staunoside A
(63)	OH	Glc 1-2 Glc	Glc 1-6 Glc	Heteroside I (Helixosides A)

(64)	H	Glc 1-2 Glc	Glc 1-6 Glc	Helixoside B
(70)	H	Ara	H	Saponin 1
(71)	OH	Xyl	H	Colchiside A
(72)	H	Glc A	H	Saponin I
(73)	H	Glc A	Rha 1-2 Glc 1-6 Glc	Scheffleraside II
(74)	H	Rha 1-3 Glc A	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Colchiside B
(75)	H	Rha1-2 (Glc 1-4)Ara	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederacolchiside E
(76)	OH	Rha1-2 (Glc1-4)Ara	Rha 1-4 Glc 1-6 Glc	Hederacolchiside F

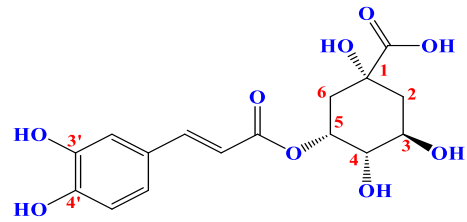
Các hợp chất tinh dầu

 <p>Germacrene B (35)</p>	 <p>β-Elemene (36)</p>	 <p>γ-Elemene (elixen) (37)</p>
 <p>Methyl ethyl ketone (38)</p>	 <p>Methylisobutyl ketone (39)</p>	 <p><i>Trans</i>-2-hexenal (40)</p>
 <p><i>Trans</i>-2-hexenol (41)</p>	 <p>Germacrene D (42)</p>	 <p>β-Caryophyllene (43)</p>
 <p>Sabinene (44)</p>	 <p>α-Pinene (45)</p>	 <p>β-Pinene (46)</p>
 <p>Limonene (47)</p>	 <p>Furfurol (48)</p>	

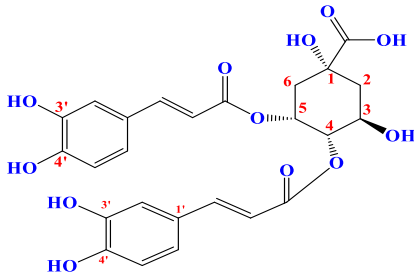
Hợp chất phenolic acid



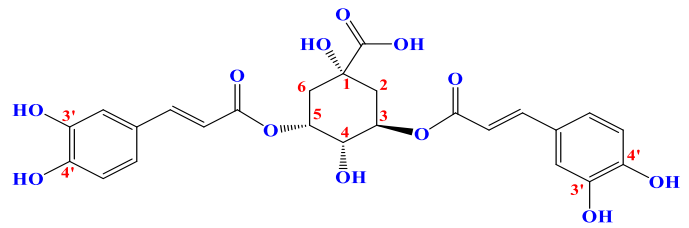
Chlorogenic acid (21)



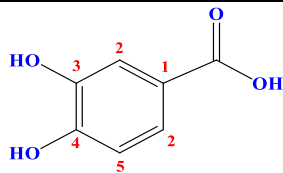
Neochlorogenic acid (22)



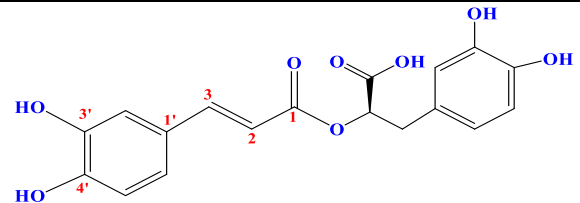
4,5-O-Dicaffeoylquinic (23)



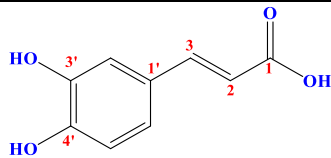
3,5-O-Dicaffeoylquinic acid (24)



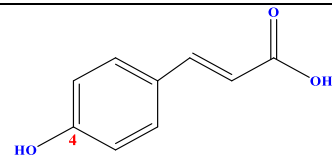
Protocatechuic acid (27)



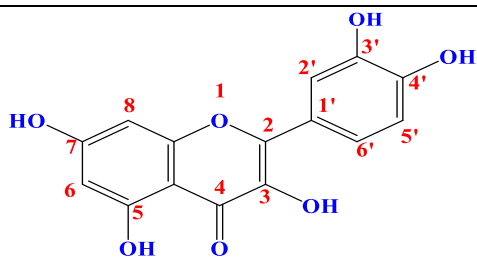
Rosmarinic acid (25)



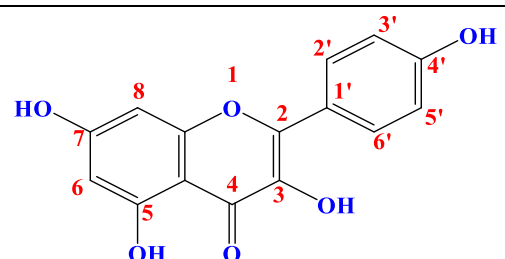
Caffeic acid (26)

*p*-Coumaric (49)

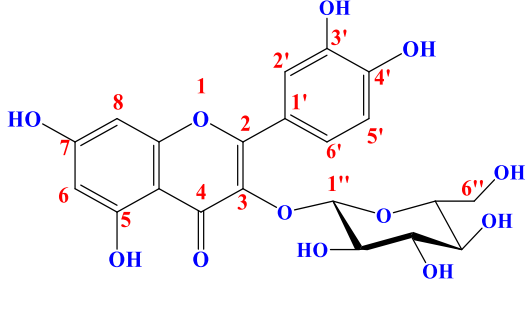
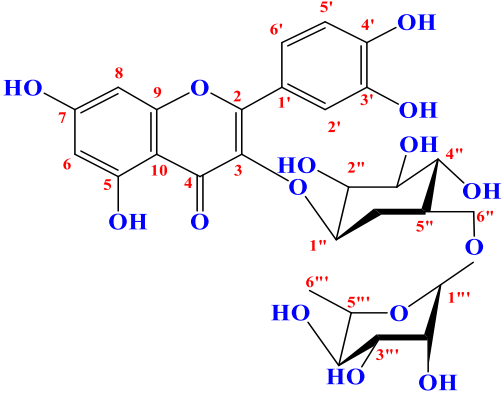
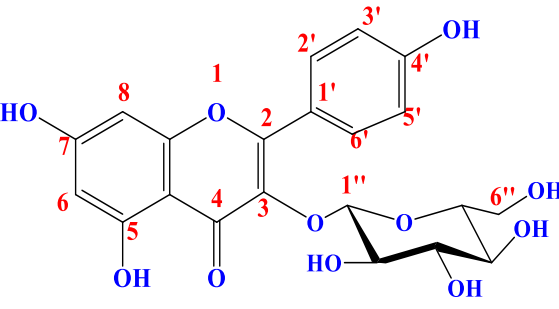
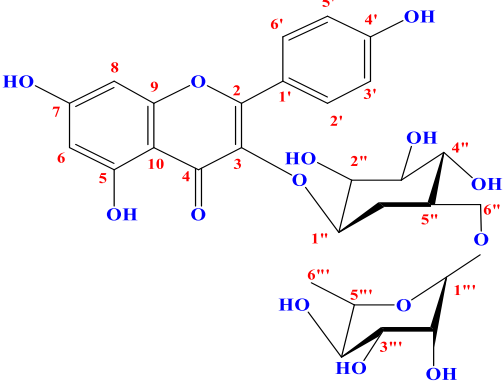
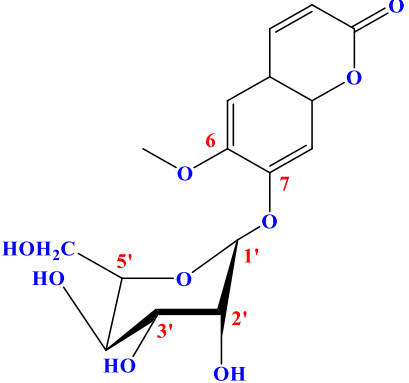
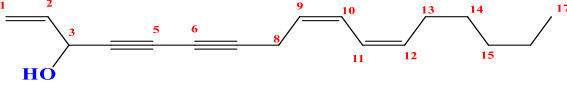
Các hợp chất flavonoid

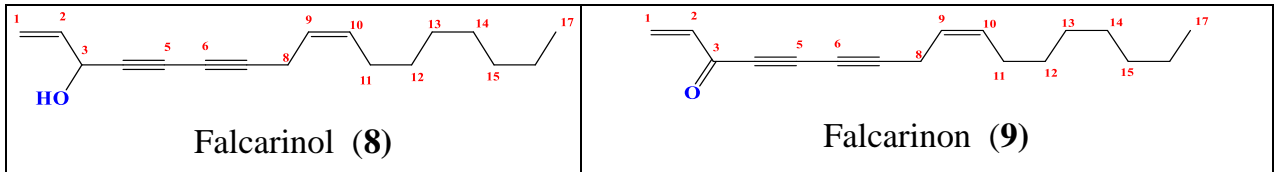


Quercetin (19)

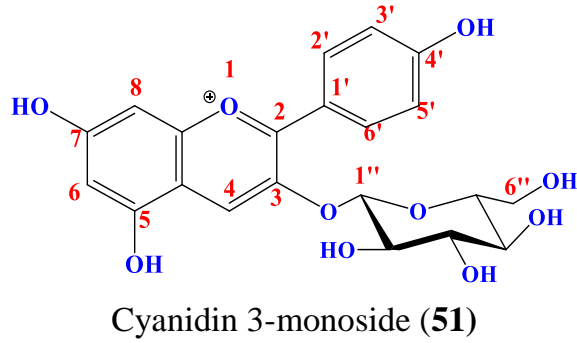


Kaempferol (20)

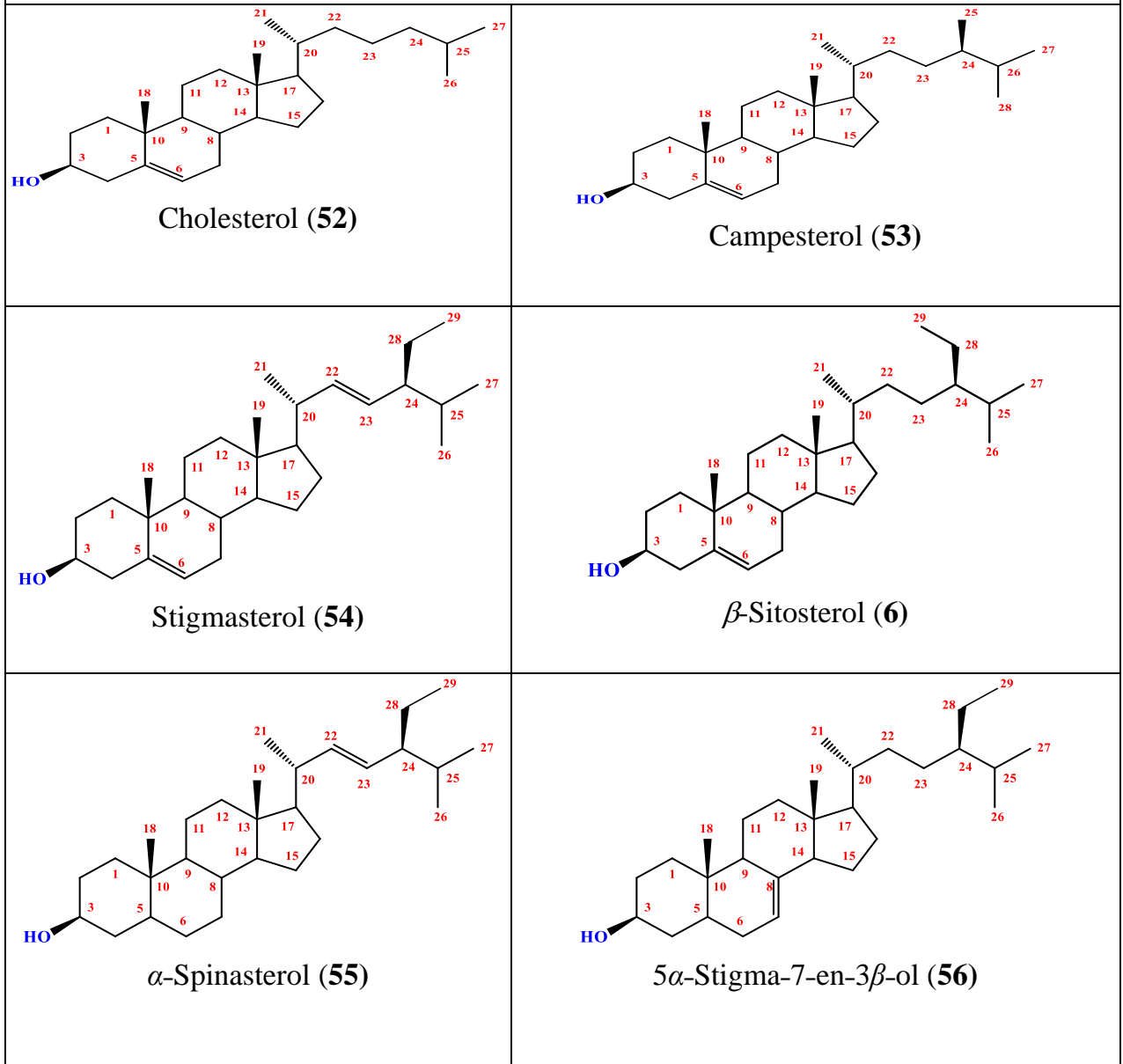
 <p style="text-align: center;">Isoquercitrin (17) Quercetin 3-<i>O</i>-glucoside</p>	 <p style="text-align: center;">Rutin (5)</p>
 <p style="text-align: center;">Astragalin (18) Kaempferol 3-<i>O</i>-glucoside</p>	 <p style="text-align: center;">Nicotiflorin (16) Kaempferol 3-<i>O</i>-rutinoside</p>
<p>Hợp chất Coumarin</p>	
 <p style="text-align: center;">Scopolin (50)</p>	
<p>Các hợp chất polyacetylene</p>	
 <p style="text-align: center;">Diacetylene -11,12-dehydrofalcarinol (7)</p>	

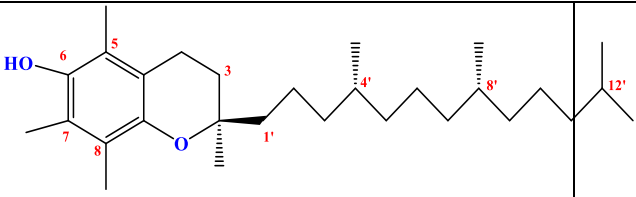
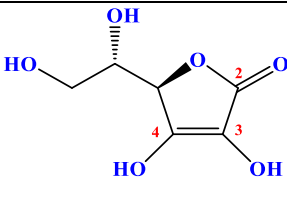
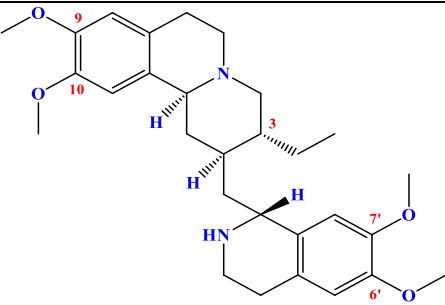
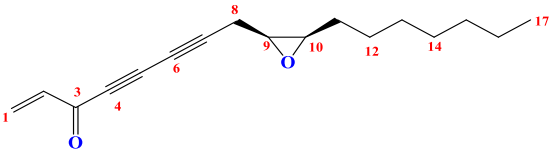
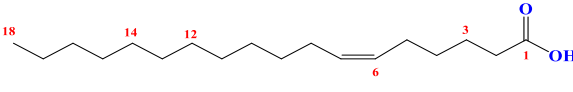
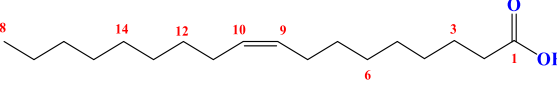
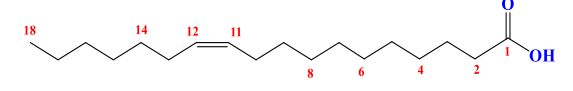
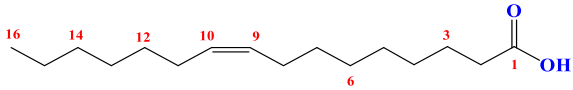


Hợp chất anthocyanin



Các hợp chất sterol



Các hợp chất vitamin	
 <p>Vitamin E (58)</p>	 <p>Vitamin C (59)</p>
Hợp chất alkaloid	
 <p>Emetin (57)</p>	
Các hợp chất acid béo	
 <p>Panaxidol (65)</p>	 <p>Petroselinic acid (66)</p>
 <p>Oleic acid (67)</p>	 <p>Cisvaccenic acid (68)</p>
 <p>Palmitoleic acid (69)</p>	

1.2.2. Cây Bá bệnh [3]

1.2.2.1. Giới thiệu chung

Cây bá bệnh hay còn gọi là bách bệnh, hậu phác, tho nan (Lào), antongsar, antoung sar (Campuchia), Tongkat ali (Mã Lai). Tên khoa học là *Eurycoma longiflora* Jack (*Crassula pinnata* Lour), Thuộc họ Thanh thất (Simaroubaceae).

- Tên khoa học: *Eurycoma longiflora* Jack
- Họ: Thanh thất (Simaroubaceae)
- Chi: *Eurycoma*
- Loài Bá bệnh (*Eurycoma longiflora* Jack)

Cây nhỏ có cành, lá kép lông chim lẻ gồm 10 đến 16 đôi lá chét, hầu như không có cuống, hình trứng dài, dày, nhẵn hoặc có lông ở mặt dưới. Cây bá bệnh là loài đơn tính khác gốc (dioecious) nên mỗi cây chỉ trổ hoa đực hoặc hoa cái. Hoa màu đỏ nâu mọc thành chùm, nở vào tháng 3-4. Mỗi hoa có 5-6 cánh rất nhỏ. Cây kết quả vào tháng 5-6. Quả non màu xanh, khi chín đổi sang màu đỏ sẫm, nhẵn, hơi thuôn dài, đầu tù và cong, mặt trong có lông thưa và ngắn, dài từ 1-2 cm, ngang 0.5-1 cm. Một hạt có nhiều lông ngắn. Cây mọc phổ biến ở khắp nước ta nhưng phổ biến nhất ở miền Trung, Tây Nguyên, Tây Ninh, đặc biệt quanh vùng Biên Hòa, Trảng Bom và Định Quán- Đồng Nai. Còn thấy ở Malaxia, Indônêsi. Người ta dùng quả, vỏ thân và vỏ rễ phơi hay sấy khô làm thuốc.

1.2.2.2. Hoạt tính sinh học

- **Hoạt tính chống ký sinh trùng sốt rét và gây độc tế bào**

Chan và cộng sự [25] đã thử nghiệm dịch chiết của *E.longifolia* cho thấy hoạt tính chống ký sinh trùng sốt rét *P.falciparum* trong điều kiện in vitro. Các hợp chất phân lập trong cây bá bệnh là: 10-hydroxycanthin-6-one, eurycomalactone, eurycomanone và eurycomanol cho tác dụng chống sốt rét.

Kardono và cộng sự [26] đã phân lập năm thành phần gây độc tế bào từ rễ của *E.Longifolia* từ Kalimantan, Indonesia. Có bốn alkaloid thuộc nhóm canthin-6-one, là 9-methoxycanthin-6-one, 9-methoxycanthin-6-one-N-oxide, 9-hydroxycanthin-6-one, và 9-hydroxycanthin-6-one-N-oxide và một quassinoid là eurycomanone có tác dụng gây độc tế bào chống một số tế bào ung thư như: Vú, đại tràng, phổi, da, các dòng tế bào kháng thuốc KB, KB-V1 và bệnh bạch cầu (P-388). Ngoài ra các hợp chất eurycomanone và 7-methoxy-P-carboline- 1-propionic acid cho thấy chống lại kí sinh trùng sốt rét *P. falciparum*.

Kuo và cộng sự [27] phân lập và xác định được gần 65 hợp chất từ rễ của *E.longifolia*. Trong đó tám hợp chất đã chứng minh khả năng gây độc mạnh đối với dòng tế bào ung thư phổi (A-549), bảy hợp chất chống lại dòng tế bào ung thư vú MCF-7. Hai trong số các hợp chất có tác dụng mạnh với ký sinh trùng sốt rét *P. falciparum*.

1.2.2.3. Thành phần hóa học

Qua kết quả thu nhận từ các công trình nghiên cứu đã được công bố, đã phân lập hơn 65 hợp chất các loại từ rễ cây bá bệnh [27], thành phần hóa học của cây bá bệnh vô cùng phong phú và đa dạng, bao gồm nhiều hợp chất như các diterpenoid, triterpenoid với 3 khung sườn cơ bản như: quassinoid, squallan và tirucallan. Ngoài ra còn có các alkaloid, steroid, flavonoid. Trong đó quassinoid, alkaloid đóng vai trò quan trọng nhất và hoạt lực chủ yếu của cây bá bệnh [28].

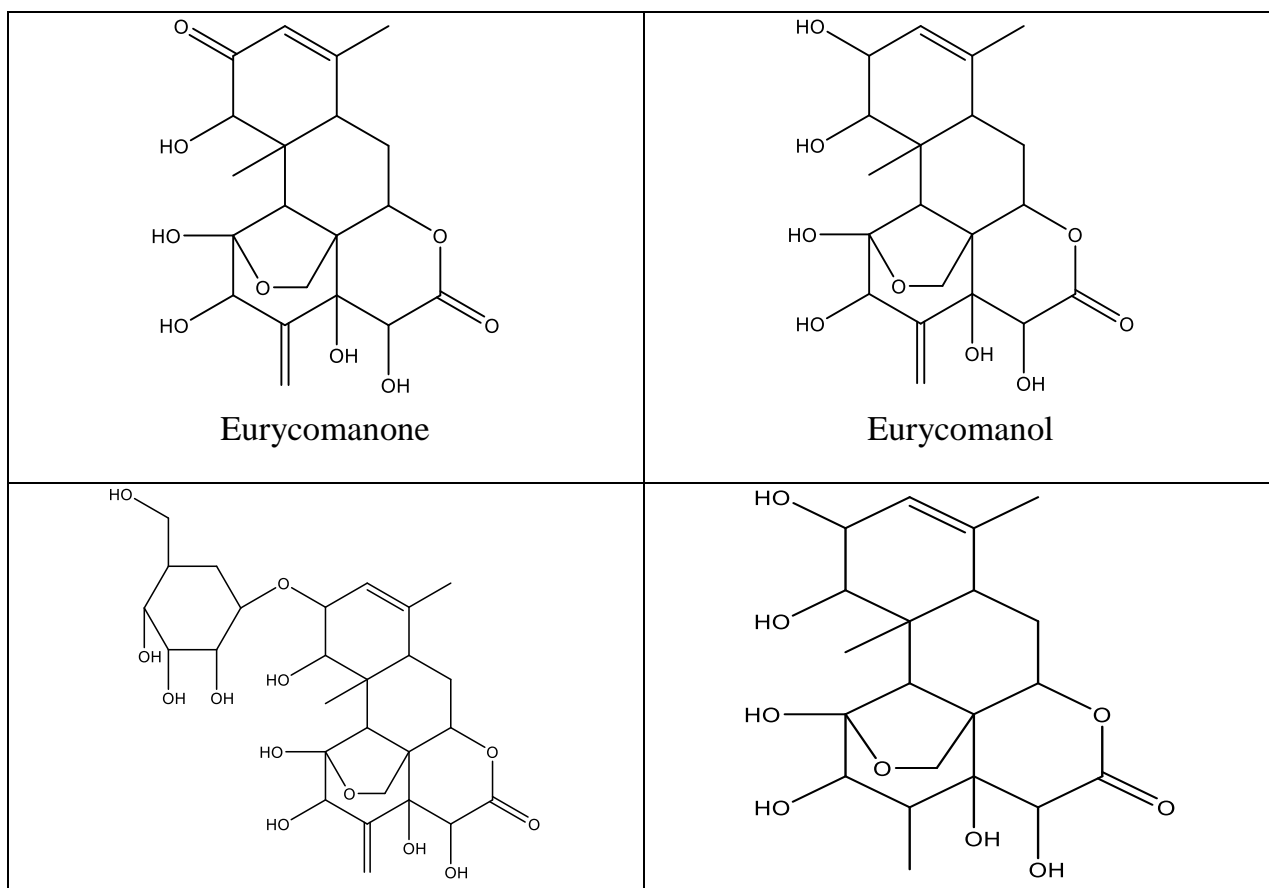
Năm 1982, các tác giả Muchsin Darise, Hiroshi Kohda, Kenji Mizutani và Osamu Tanaka [29] đã tiến hành những nghiên cứu về thành phần hóa học của rễ cây bá bệnh có hợp chất Eurycomanone, Eurycomanol và Eurycomanone-2-0- β -glycopyranoside, 9-Hydrocanthin-6-one.

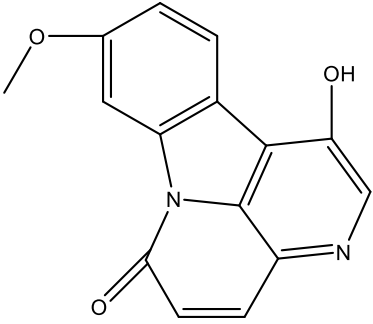
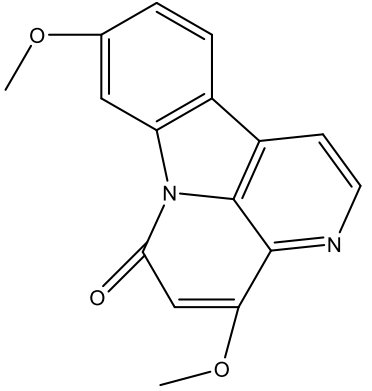
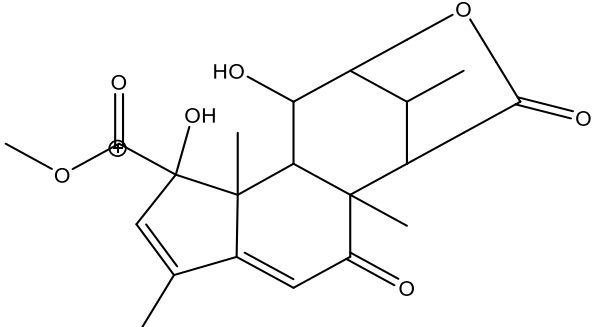
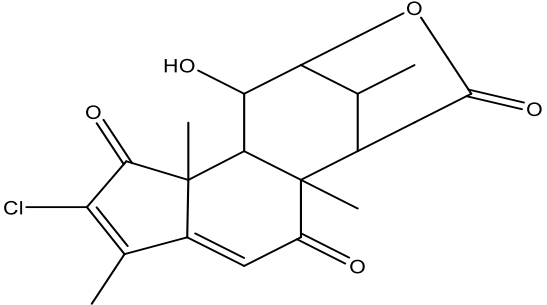
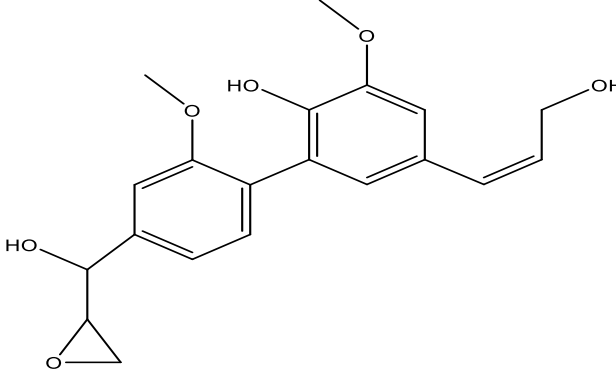
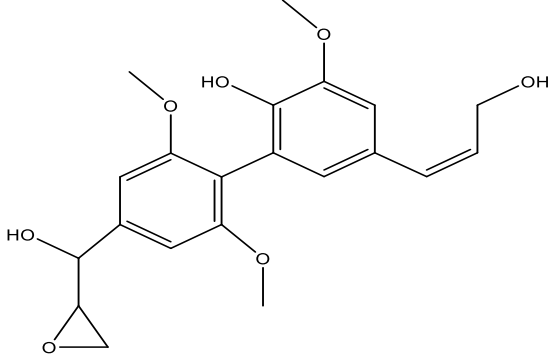
Năm 1989, nhóm tác giả K.L. Chan, S. Lee, T. W. Sam và B. H. Han [30] đã nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính chống sốt rét của cây bá bệnh, kết quả đã tìm ra các hợp chất Eurycomanol-2-0- β -glycopyranoside, Eurycomanol từ rễ cây bá bệnh thể hiện hoạt tính chống sốt rét.

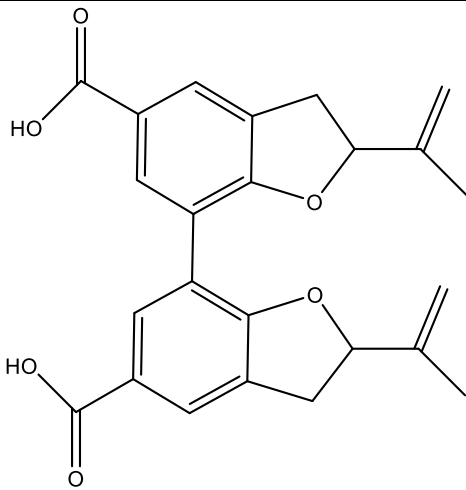
Năm 1991, hoạt tính gây độc tế bào và hoạt tính chống sốt rét của cây bá bệnh cũng được nghiên cứu bởi nhóm tác giả Leonardus B.S Karadono và cộng sự [31], đã phân lập được 4 alkaloid: 9-Methoxycanthin-6-one, 9-Methoxycanthin-6-one-N-oxid, 9-Hydroxycanthin-6-one và 9-Hydroxycanthin-6-one-N-oxid, một quassinoid Eurycomanone

Năm 2007, tác giả Trần Anh Tuấn và cộng sự [4] đã nghiên cứu thành phần hóa học cây bá bệnh và phân lập được 6 hợp chất là 9-hydroxycanthin-6-on, 13,18 dihydroeurycomanon, kaempferol -3-0- α -rhamnpyrannoiside, eurycomanone, eurylen, 9-methoxylcanthin-6-on.

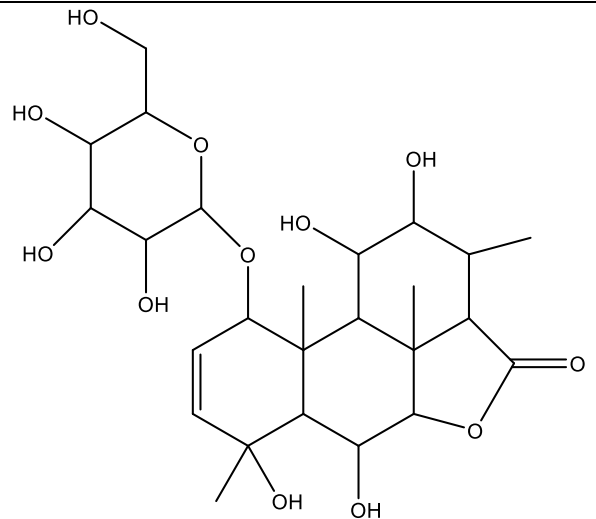
Bảng 1.2 Một số cấu trúc đặc trưng có trong thành phần hóa học của *Eurycoma longifolia*



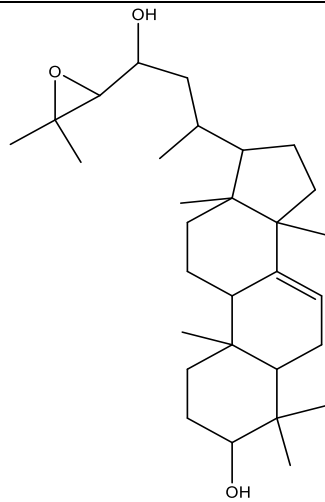
Eurycomanone-2-O- β -glycopyranoside	3 β ,18-Dihydroeurycomanol
 <p>1-Hydroxy-9-methoxycanthin-6-one</p>	 <p>5,9-Dimethoxycanthin-6-one</p>
 <p>Eurycolactone A</p>	 <p>Eurycolactone B</p>
 <p>4'-(2,3-Epoxy-1-hydroxypropyl)-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1-propenyl)-2',3-dimethoxybiphenyl</p>	 <p>4'-(2,3-Epoxy-1-hydroxypropyl)-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1-propenyl)-2',3,6'-trimethoxybiphenyl</p>



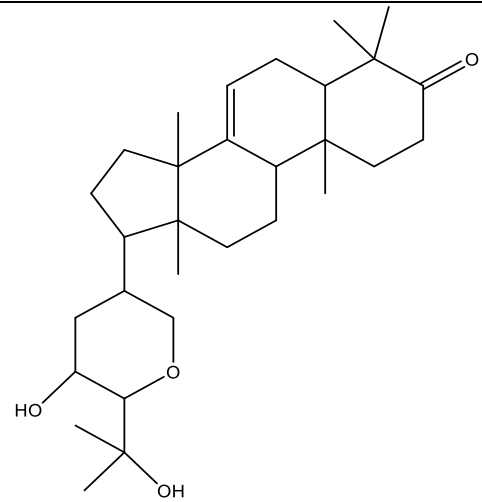
Eurycomalin A



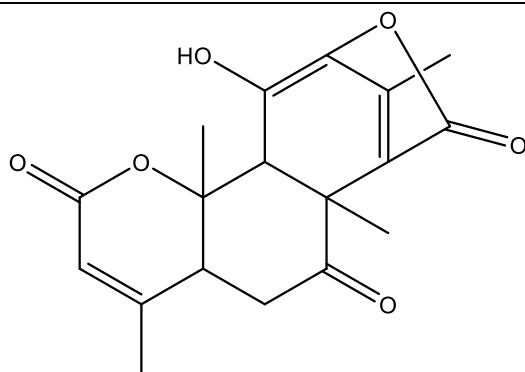
Eurycomaoside



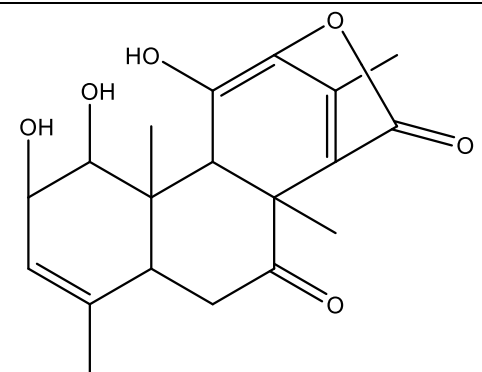
Dihydroniloticin



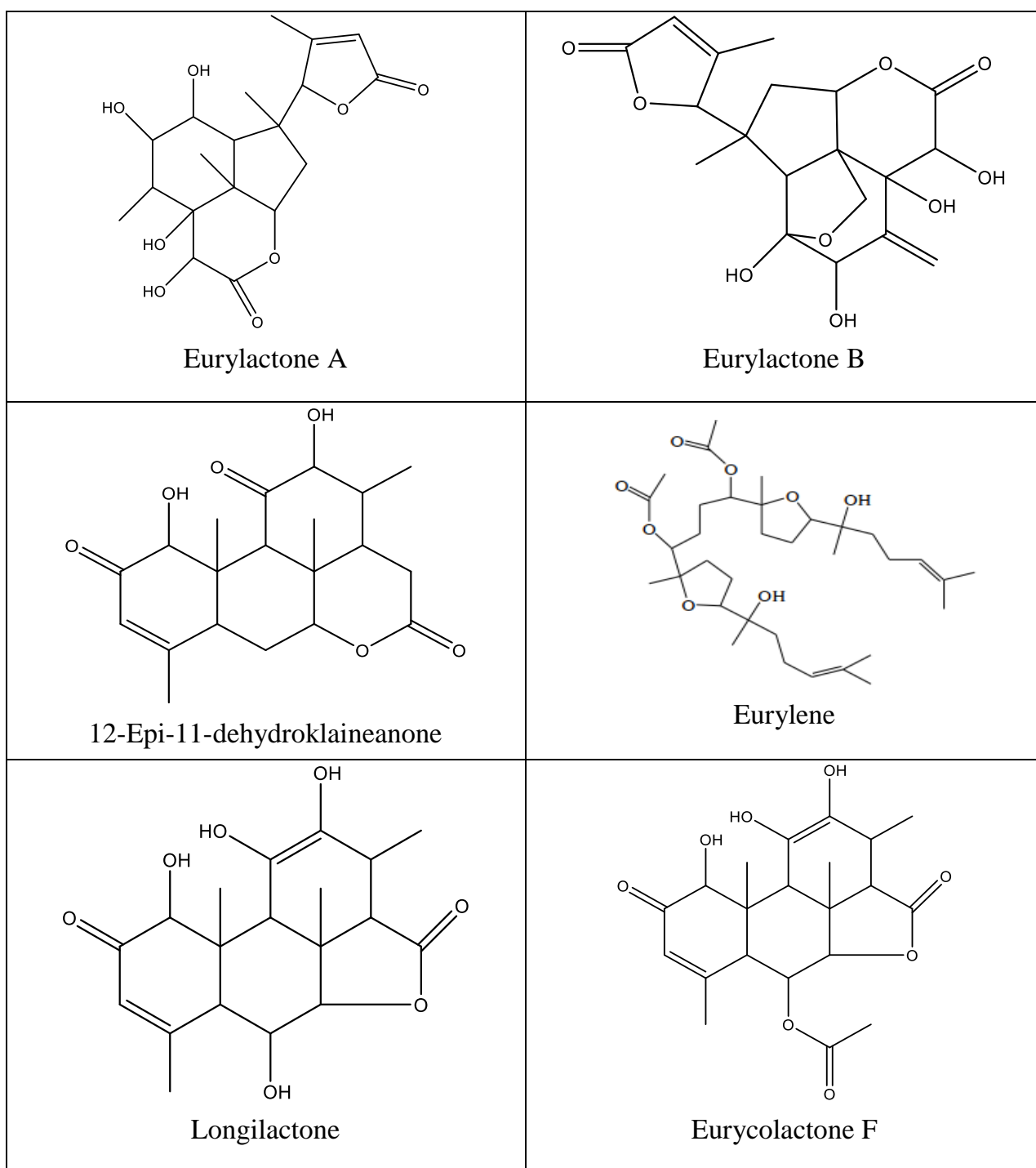
Bourjotinolone A



Eurycolactone C



Eurycolactone E



1.2.3. Cây Trinh nữ hoàng cung

1.2.3.1. Giới thiệu chung

Chi *Crinum* có khoảng 130 loài ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và vùng nóng. Ở Việt Nam, chi *Crinum* có 6 loài được trồng làm cảnh và làm thuốc: *Crinum amabile* Donn., *Crinum asiaticum* L., *Crinum defixum* ker Gawl., *Crinum giganteum* Andr., *Crinum latifolium* L., *Crinum moorei* Hook F. [5]

Chi *Crinum* được xem là đại diện cho họ Amaryllidaceae do thành phần hóa học có hầu hết các hợp chất của các chi khác trong họ. Thành phần hóa học của các

loài trong chi *Crinum* được nghiên cứu từ năm 1950. Nhóm hợp chất chính là alkaloid, kể đến là nhóm non-alkaloid, trong đó đặc biệt là hợp chất phenolic [34].

-Tên khoa học: *Crinum latifolium* L

-Họ: Thủy tiên (Amaryllidales)

-Chi: *Crinum* L.

-Loài: *Crinum latifolium* L

Lá hình dải, dài 30 cm đến 50 cm, rộng 3 cm đến 8 cm, mỏng, nhẹ, ở giữa dày, càng ra mép lá càng mỏng, mép gợn sóng, đầu nhọn hay tù, gốc phẳng. Phiến lá có màu nâu vàng hoặc nâu nhạt, có rất nhiều gân nhỏ song song với gân chính. Thê chất dai, mặt bề có nhiều sợi tơ nhỏ màu trắng. Mùi hơi chua, hắc đặc biệt, vị hơi đắng. Là loại cây ưa ẩm, sáng hoặc một phần bóng mát. Sinh trưởng và phát triển ở khí hậu nóng và ẩm của vùng nhiệt đới. Mỗi năm cây cho 6-8 lá mới và đẻ thêm 3-5 hành con. Cây ra hoa hằng năm vào tháng 6-8. Bộ phận dùng chủ yếu là lá và thân hành [6] [7]

Cây trinh nữ hoàng cung được trồng rộng rãi ở Ấn Độ, Thái Lan, Trung Quốc, Indônêsi-a, Philippin, Campuchia, Lào. Ở Việt Nam, cây được trồng chủ yếu ở các tỉnh từ Quảng Nam – Đà Nẵng trở vào. [35]

1.2.3.2. Hoạt tính sinh học

Rất nhiều công trình khoa học công bố về hoạt tính sinh học của loài này trên cả in vitro và in vivo. Được thực hiện trên cao chiết từ lá trinh nữ hoàng cung và các sản phẩm có trinh nữ hoàng cung. Các tác dụng được công bố là tính kháng khối u, kháng viêm, kháng oxi hóa và kích thích miễn dịch.

Tác dụng sinh học của một vài hợp chất tinh khiết được phân lập từ trinh nữ hoàng cung

Các thử nghiệm sàng lọc sinh học chứng tỏ crinamin và haemanthamin có hiệu quả trong thử nghiệm gây chết tế bào ung thư theo chương trình ở nồng độ μM . Cầu nối α ở vị trí C-2 và nhóm $-\text{OH}$ tự do ở C-11 là những vị trí đóng vai trò quan trọng trong tác dụng dược lý này [37].

Lycorin, crinamin và 6-hydroxycrinamin tách từ thân hành loài *Crinum delagoense* chống lại tế bào ung thư BL-6 trên chuột [38].

1.2.3.3. Thành phần hóa học

Năm 2016, Nguyễn Thị Ngọc Trâm và cộng sự đã điều chế và thiết lập chất chuẩn crinamidine trong cây trinh nữ hoàng cung và kết quả cho thấy crinamidine điều chế đạt tiêu chuẩn chuẩn gốc (primary) với hàm lượng được xác định là 99,85 % tính theo nguyên trạng ($n = 18$, $s = 0,01$, $\mu = 0,0006$). Chất chuẩn crinamidine đã

điều chế và thiết lập sẽ góp phần vào việc kiểm nghiệm chất lượng trinh nữ hoàng cung và các chế phẩm. [39]

Năm 2022, Wisuwat Thongphichai và cộng sự đã nghiên cứu nhằm tiêu chuẩn hóa và khảo sát hoạt tính chống tăng sinh của dịch chiết ethanol của lá *C. latifolium*. Các alkaloid chính được phân lập từ *C. latifolium* cũng đã được khám phá về khả năng sử dụng chúng làm chất đánh dấu hoạt tính sinh học. Kết quả của nghiên cứu này hỗ trợ hoạt động chống rầy nâu của *C. latifolium* trong y học cổ truyền và cho thấy rằng hai alkaloid phân lập này có thể thúc đẩy hiệu quả của dịch chiết *C. latifolium*. Ngoài ra, các alkaloid chính lycorin và 6 α -hydroxybuphanidrine có thể được sử dụng làm chất đánh dấu hoạt tính sinh học để tiêu chuẩn hóa các chất chiết xuất từ cây Trinh nữ hoàng cung. [40]

a. Alkaloid của trinh nữ hoàng cung

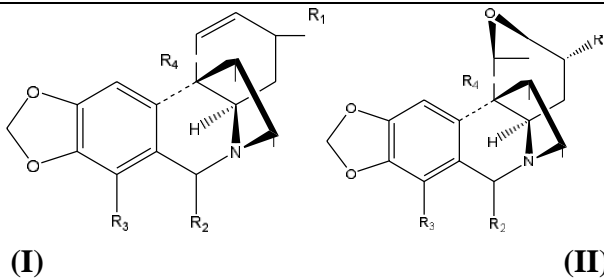
Đến nay đã có 36 alkaloid được phân lập và định danh, phần lớn thuộc khung crinin và lyorin.

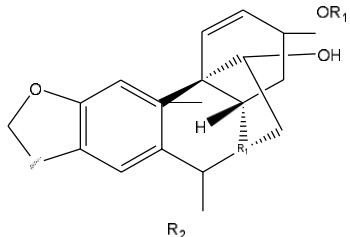
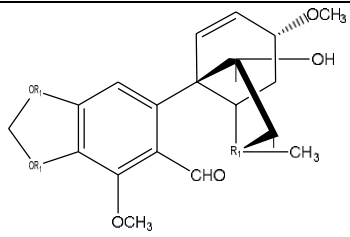
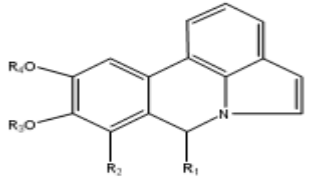
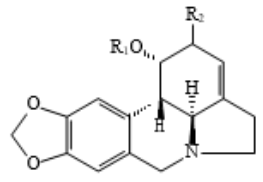
Đã có 12 alkaloid được phân lập từ trinh nữ hoàng cung trồng ở Việt Nam, Các công bố nhiều nhất với 12 alkaloid từ dịch chiết là và thân hành. Alkaloid thuộc khung crinin chiếm số lượng nhiều nhất, gồm 7 alkaloid: crinamidine, lycorin, 6-hydroxybuphanidrin, ambellin, crinin, powellin, 6-hydroxycrinamidin, 6-hydroxyundulatin, khung lycorin có pratorinin, hippadin, lycorin-1-OAc, khung augustamin có augustamin.

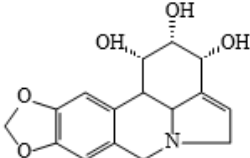
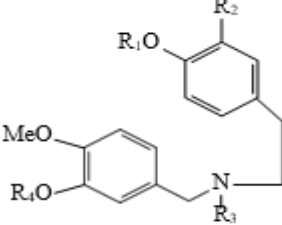
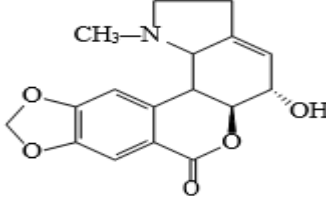
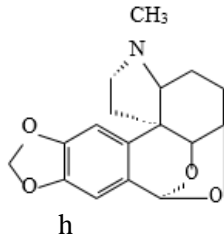
b. Flavonoid của trinh nữ hoàng cung

So với nhóm alkaloid thì flavonoid có số lượng các hợp chất được công bố ít hơn, gồm 8 flavonoid

Bảng 1.3 Alkaloid của TNHC *Crinum latifolium*. [8]

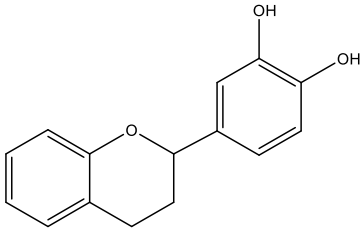
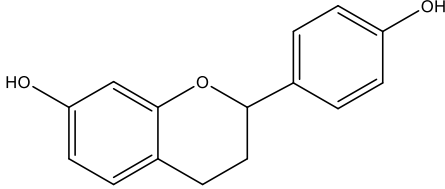
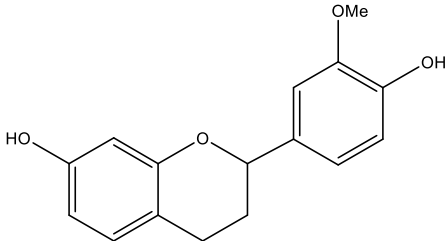
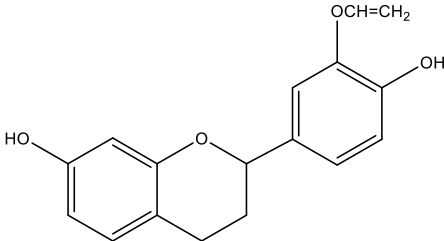
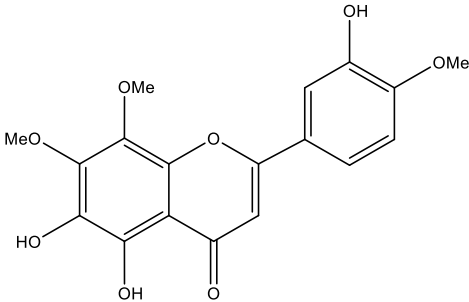
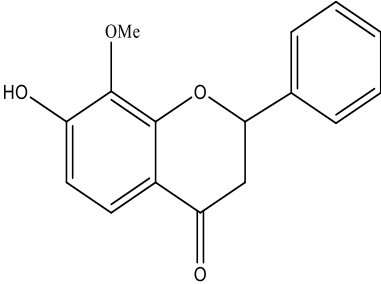
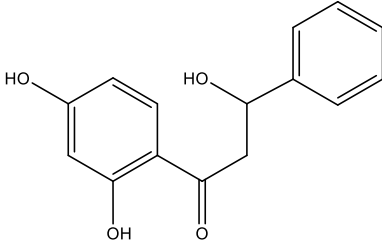
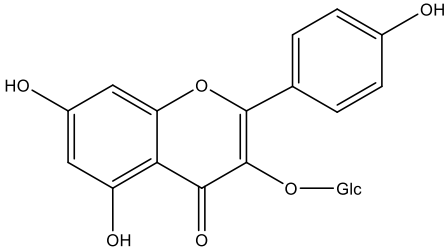
Stt	Tên alkaloid - TLTK	CTPT	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Khung crinin						
			(I)			
1	11-O-Acetylabellin	C ₂₀ H ₂₃ NO ₆	OMe	H	OMe	OAc
3	Ambellin	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	OMe	H	OMe	OH
6	Crinafolin	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	OMe	OH	OMe	OH
8	Crinin	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	OMe	H	H	H
13	Powellin	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	OH	H	OMe	H

16	6-Hydroxybuphanidrin	$C_{18}H_{21}NO_5$	OMe	OH	OMe	H
(II)						
2	11-O-Acetyl-1,2- β -epoxyambellin	$C_{20}H_{23}NO_6$	OMe	H	OMe	OAc
4	1,2- β -Epoxyambellin	$C_{18}H_{21}NO_6$	OMe	H	OMe	OH
11	Undulatin	$C_{18}H_{21}NO_5$	OMe	H	OMe	H
12	6-Hydroxyundulatin	$C_{18}H_{21}NO_6$	OMe	OH	OMe	H
14	Crinamidin	$C_{16}H_{18}NO_5$	OH	H	OMe	H
15	6-Hydroxycrinamidin	$C_{17}H_{19}NO_6$	H	OH	OMe	H
			(III)			
7	Crinamin	$C_{17}H_{19}NO_4$	Me	H		
9	Hamayn	$C_{16}H_{17}NO_4$	H	H		
10	Hamyran-3-O-acetyl	$C_{18}H_{19}NO_5$	Ac	H		
			(IV)			
5	Crinafolidin	$C_{19}H_{23}NO_6$				
Tên alkaloid - TLTK		CTPT	R₁	R₂	R₃	R₄
Khung lycorin						
			(V)			
21	Lycorin-4,5-dehydro hydro	$C_{16}H_{11}NO_2$	H	H	-CH ₂ -	
24	Pratorimin	$C_{16}H_{11}NO_3$	O	H	H	Me
25	Pratorinin	$C_{16}H_{11}NO_3$	O	H	Me	H
26	Pratosin	$C_{17}H_{13}NO_3$	O	H	Me	Me
27	Pratorin (hippadin)	$C_{16}H_9NO_3$	O	H	-CH ₂ -	
						
17	1,2-O-Diacetyl-lycorin	$C_{20}H_{21}NO_6$	Ac	β OAc		

18	Lycorin	$C_{16}H_{17}NO_4$	H	βOH	(VI)		
19	Lycorin-1-OAc	$C_{18}H_{19}NO_5$	Ac	βOH			
20	Lycorin-2-epi	$C_{16}H_{17}NO_4$	H	αOH			
23	Lycorin-1-O- β -D-glucoside	$C_{22}H_{27}NO_9$	Glc	βOH			
				(VII)			
22	2-Epipancrassidin	$C_{16}H_{17}NO_5$					
Khung belladin							
				(VIII)			
28	Belladin	$C_{19}H_{24}NO_3$	Me	H	Me	Me	
29	Ryllistin	$C_{19}H_{25}NO_4$	Me	OMe	H	Me	
30	Latisodin	$C_{17}H_{21}NO_3$	H	H	H	Me	
31	Latisolin	$C_{24}H_{31}NO_8$	Glc	H	H	Me	
							
32	Hippeastrin (khung lycorenin)	$C_{17}H_{17}NO_5$	(IX)				
							
33	Augustamin (khung augustamin)	$C_{17}H_{19}NO_4$	(X)				
Khung cheryllin							

34	Cheryllin	$C_{17}H_{19}NO_3$	OH	H	(XI)
35	Latifin	$C_{17}H_{19}NO_3$	H	OH	
36	Latindin (khung clivimin)	$C_{41}H_{31}N_3O_{10}$			(XII)

Bảng 1.4 Flavonoid của TNHC *Crinum latifolium* L. [8]

 <p>3',4'-Dihydroxyflavan</p>	 <p>4',7-Dihydroxyflavan</p>
 <p>4',7-Dihydroxy-3'-methoxyflavan</p>	 <p>4',7-Dihydroxy-3'-vinyloxyflavan</p>
 <p>5,6,3'-Trihydroxy-7,8,4'-trimethoxyflavon</p>	 <p>7-Hydroxy-8-methoxyflavanon</p>
 <p>2',4',7-Trihydroxydihydrochalcon</p>	 <p>Kaempferol-3-O-β-D-glucopyranosyl</p>

1.3. Quy định về chất đối chiếu

Thường xuân: Theo dược điển Châu Âu, Hederacoside C ($C_{59}H_{96}O_{26}$), α - Hederin ($C_{41}H_{66}O_{12}$), tinh thể không màu hoặc bột trắng hoặc gần như trắng, Hederacoside C và α - hederin được sử dụng trong sắc ký lỏng theo quy định trong chuyên khảo lá thường xuân (04/2014:2148).

Bá bệnh: Theo các tài liệu tham khảo eurycomanone được tìm thấy duy nhất ở *Eurycoma longifolia* Jack (họ Simaroubaceae), eurycomanone được báo cáo là quassinoid, MS: 2409:201 về sản xuất chiết xuất nước tiêu chuẩn đông khô của *E. longifolia* sử dụng eurycomanone làm chất đánh dấu hóa học. Các hoạt động sinh học của *E. longifolia* đã được báo cáo trước đây, chẳng hạn như chống sốt rét, gây độc tế bào, chống tăng sinh và tác dụng chống loét, phần lớn là do nhóm quassinoid, đặc biệt là eurycomanone. [42]

Trinh nữ hoàng cung: Theo dược điển Việt Nam, để định tính và định lượng hai nhóm chất alkaloid và flavonoid của cây trinh nữ hoàng cung thực hiện theo các phương pháp: Phương pháp dấu vân tay sắc ký lớp mỏng và phương pháp dấu vân tay sắc ký lỏng hiệu năng cao điều dùng dung dịch chất đối chiếu là crinamidine và lycorin để làm chất chuẩn để xác định trong cây trinh nữ hoàng cung.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Hóa chất

Methanol 98% (Malaysia), n-hexane (Malaysia), ethyl acetate (Malaysia), Chloroform (Malaysia), Thuốc thử dùng để hiện các vết hữu cơ sắc ký lớp mỏng: sulfuric acid 10% trong ethanol, silica gel sắc kí cột 230–400 mesh, Sharlau, (Án Độ), Sắc kí lớp mỏng 20x20 cm silica gel 60 F₂₅₄ hãng Merck (Đức).

2.1.2. Dụng cụ

Các dụng cụ dùng để ly trích (erlen, becher, ống nghiệm, pipet pasteur, ...).

Bình triển khai sắc ký lớp mỏng.

Bình cô quay 1000 ml.

Becher 1000 ml

Ống đong 1000 ml, 10ml.

Bình hứng mẫu sắc ký

2.1.3. Thiết bị

Máy cô quay chân không (R-300, Buchi, Thụy Sĩ)

Bơm chân không

Hệ thống sắc kí trung áp

Máy rung nhồi silica gel

Cân phân tích (MS 105DU, Mettler Toledo, Thụy Sĩ)

Thiết bị khối phổ phân giải cao (X500R, AB Sciex, Mỹ)

Thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC 1050, HP, Mỹ)

Máy cộng hưởng từ hạt nhân (AC 600 MHz, BRUKER, Đức)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu hái và xử lý mẫu

Nguyên liệu thường xuân (*Hedera helix* L.), bá bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack), trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.) được thu hái ở các nơi và nhập vào kho nguyên liệu của Trung tâm Nghiên cứu Thử nghiệm Hóa dược tại Phường Thạnh Lộc, Quận 12.

Nguyên liệu sau khi được thu hái về rửa sạch, phơi khô, làm nhỏ nguyên liệu bằng cách xay hoặc cắt nhỏ, bảo quản khô ráo, bắt đầu chiết nguyên liệu.

Đây là 3 dược liệu được nghiên cứu trong đề tài luận văn: Thường xuân, Bá bệnh, Trinh nữ hoàng cung.



Hình 2.1: Mẫu nguyên liệu thường xuân



Hình 2.2: Mẫu nguyên liệu bá bệnh



Hình 2.3: Mẫu nguyên liệu trinh nữ hoàng cung

2.2.2. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

Sử dụng phương pháp liệt kê và phương pháp dùng số liệu để lập bảng thành phần hóa học trong chi *Hedera*, *Eurycoma*, *Crinum* theo thư viện các sản phẩm thiên nhiên (Dictionary of natural products).

Phương pháp so sánh để đối chiếu kết quả đo HRMS thực tế với bảng số liệu thành phần hóa học trong chi *Hedera*, *Eurycoma*, *Crinum*.

Phương pháp phân tích và tổng hợp để từ các phân mảnh dự đoán cấu trúc của các hợp chất.

Các bước thực hiện:

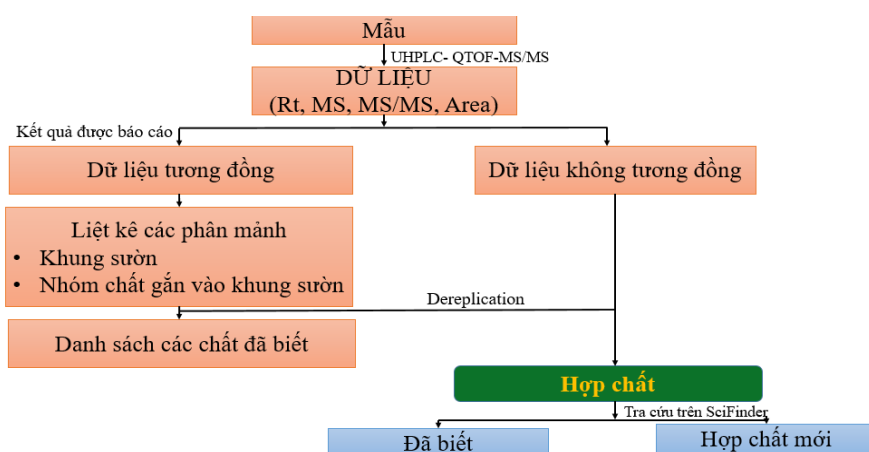
Lập danh sách thành phần hóa học (hay hồ sơ hóa học) trong chi *Hedera*, *Eurycoma*, *Crinum* đã công bố: tên hợp chất, công thức phân tử, khối lượng phân tử, (giá trị m/z của ion mẹ và phân mảnh).

Đo khối phổ phân giải cao HRMS mẫu cao tổng, thu được kết quả MS, MS/MS và thời gian lưu tương ứng

Những dữ liệu đo HRMS vào bảng thành phần hóa học trong chi *Hedera*, *Eurycoma*, *Crinum* theo mode đo phù hợp.

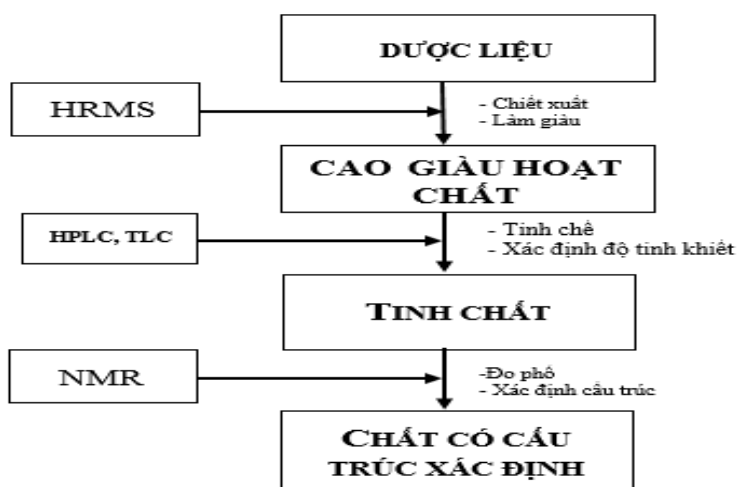
Lập danh sách các chất có m/z của ion mẹ trùng với hợp chất đã công bố (sai số nhỏ hơn 5 ppm)

Phân tích các mảnh phổ bằng phương pháp dereplication để xác nhận cấu trúc phù hợp với chất đã công bố, từ đó lập danh sách các chất có trong các dược liệu đã được công bố và danh sách các chất chưa được công bố có trong cây: chưa phát hiện trong dược liệu.



Sơ đồ 2.1 Quy trình nghiên cứu thành phần hóa học của các dược liệu bằng sử dụng phương pháp khối phổ phân giải cao

2.2.3. Phương pháp phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc các hợp chất mục tiêu



Sơ đồ 2.2 Quy trình thực hiện

2.2.3.1. Phương pháp chiết xuất

a. Phương pháp ngâm

Sau khi chuẩn bị dược liệu, đổ dung môi cho ngập dược liệu trong bình chiết xuất, sau một thời gian ngâm nhất định (qui định riêng cho từng loại dược liệu), rút lấy dịch chiết (lọc hoặc gạn) và rửa dược liệu bằng một lượng dung môi thích hợp. Để tăng cường hiệu quả chiết xuất, có thể tiến hành khuấy trộn bằng cánh khuấy hoặc rút dịch chiết ở dưới rồi lại đổ lên trên (tuần hoàn cưỡng bức dung môi).

Có nhiều cách ngâm: Có thể ngâm tĩnh hoặc ngâm động, ngâm nóng hoặc ngâm lạnh, ngâm một lần hoặc nhiều lần (còn gọi là ngâm phân đoạn hay ngâm nhiều mẻ).

b. Phương pháp chiết siêu âm

Nguyên liệu được trộn với dung môi thích hợp rồi chiết nhờ tác dụng của siêu âm. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng siêu âm có khả năng phá vỡ màng tế bào của nguyên liệu, do đó giúp cho xâm nhập của dung môi vào bên trong tế bào dễ dàng hơn. Ngoài ra, siêu âm còn có tác dụng khuấy trộn mạnh dung môi, do đó gia tăng sự tiếp xúc của dung môi với chất cần chiết và cải thiện đáng kể hiệu suất chiết.

2.2.3.2. Sắc ký

Sắc ký (chromatography) là các phương pháp vật lý để tách riêng các chất trong một hỗn hợp dựa vào sự phân bố khác nhau của chúng giữa pha động và pha tĩnh.

Sắc ký trung áp

Sắc ký trung áp là kỹ thuật phổ thông nhất trong các phòng thí nghiệm. Phương pháp này rất đơn giản và có thể phân lập các hợp chất khỏi hỗn hợp một cách nhanh chóng. Các hợp chất phân cực sẽ tương tác với silica mạnh hơn với các hợp chất không phân cực nên sẽ đi ra khỏi cột (hoặc rửa giải) sau các hợp chất không phân cực.

2.2.3.3. Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography - TLC) là một kỹ thuật sắc ký được dùng để tách các chất trong hỗn hợp [1]. Phương pháp sắc ký lớp mỏng bao gồm pha tĩnh là một lớp mỏng các chất hấp phụ, thường là silica gel, aluminium oxit, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp và được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn, tách dung dịch thí nghiệm dựa trên tính phân cực của các thành phần trong dung dịch.

2.2.3.4. Phương pháp kết tinh

Kết tinh cũng là một kỹ thuật hóa học để tách chất rắn với chất lỏng, theo đó sẽ chuyển khối lượng lớn chất tan từ dung dịch lỏng sang trạng thái tinh thể rắn nguyên chất. Quá trình này sẽ được thực hiện trong thiết bị kết tinh.

2.2.3.5. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (High performance liquid chromatograph - HPLC) là một phương pháp phân tích trong đó pha động là chất lỏng và pha tĩnh chứa trong cột là chất rắn đã được phân chia dưới dạng tiểu phân hoặc một chất lỏng phủ lên một chất mang rắn, hay một chất mang đã được biến đổi bằng liên kết hoá học với các nhóm chức hữu cơ. Quá trình sắc ký lỏng dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố, trao đổi ion hay phân loại theo kích cỡ (rây phân tử).

2.2.3.6. Xác định cấu trúc hợp chất đã phân lập.

Xác định cấu trúc các chất dựa trên phương pháp phổ bao gồm: phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, được ghi trên máy Bruker Avance-600 MHz. Khối phổ HRMS được ghi trên máy X500R QTOF.

a. Phương pháp khối phổ phân giải cao HRMS

Khối phổ là Phương pháp khối phổ hay phương pháp phổ khối lượng (Mass spectrometry - MS) là một kỹ thuật dùng để đo đặc tỉ lệ khối lượng trên điện tích của ion; dùng thiết bị chuyên dụng là khối phổ kế. Kỹ thuật này có nhiều ứng dụng, bao gồm:

- Xác định các hợp chất chưa biết bằng cách dựa vào khối lượng của phân tử hợp chất hay từng phần tách riêng của nó
- Xác định kết cấu chất đồng vị của các thành phần trong hợp chất
- Xác định cấu trúc của một hợp chất bằng cách quan sát từng phần tách riêng của nó
- Định lượng lượng hợp chất trong một mẫu dùng các phương pháp khác (phương pháp phổ khối vốn không phải là định lượng)
- Xác định các thuộc tính vật lý, hóa học hay ngay cả sinh học của hợp chất với nhiều hướng tiếp cận khác nhau.

Một khối phổ kế là một thiết bị dùng cho phương pháp phổ khối, cho ra phổ khối lượng của một mẫu để tìm ra thành phần của nó. Có thể ion hóa mẫu và tách các ion của nó với các khối lượng khác nhau và lưu lại thông tin dựa vào việc đo đặc cường độ dòng ion. Một khối phổ kế thông thường gồm 3 phần: phần nguồn ion, phần phân tích khối lượng, và phần đo đặc.

Khối phổ có độ phân giải cao (HRMS) sử dụng khối lượng quang phổ kế có độ phân giải cao, cũng như khối lượng lớn các phép đo độ chính xác. Những công cụ này có thể được sử dụng để phân biệt giữa các hợp chất có cùng khối lượng danh nghĩa, xác định thành phần nguyên tố và xác định ẩn số.

Chiến lược “Dereplication đóng một vai trò quan trọng trong việc khám phá các

sản phẩm tự nhiên và các nghiên cứu chuyển hóa thực vật. Nó cung cấp khả năng xác định nhanh chóng các chất chuyển hóa đã biết có trong hỗn hợp phức tạp bằng cách sử dụng một lượng nhỏ vật liệu thô và tránh các quy trình phân lập tốn thời gian” (Dinan, 2005).

b. Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân

Xác định cấu trúc bằng cộng hưởng từ hạt nhân (NMR-Nuclear Magnetic Resonance) là hiện tượng một hạt nhân nguyên tử nằm trong từ trường hấp thu hoặc phát xạ một bức xạ điện từ. Cộng hưởng từ hạt nhân cũng được xem là một nhóm các phương pháp khoa học áp dụng cộng hưởng từ hạt nhân vào việc nghiên cứu các phân tử.

CHƯƠNG 3: THỰC NGHIỆM

3.1. Phương pháp phân tích thành phần hóa học bằng HRMS

3.1.1. Chuẩn bị mẫu

Chuẩn bị nguyên liệu (thường xuân, bá bệnh, trinh nữ hoàng cung), chiết nguyên liệu. Do các thành phần và tính chất ở các nguyên liệu khác nhau, nên quy trình chiết mẫu cũng khác nhau.

Thường xuân: Lá được rửa sạch nhẹ nhàng, để khô trong không khí và cắt thành miếng nhỏ. Cân chính xác 100,0 mg mảnh lá cho vào ống có nắp đậy và thêm 2,0 mL dung môi methanol : nước (8 : 2). Mẫu được siêu âm trong 10 phút và sau đó được làm nóng đến 50°C trong 5 phút. Sau khi ly tâm, dịch chiết được chuyển vào bình định mức 10,0 mL. Phần cặn còn lại được tiếp tục ở bước chiết. Sau năm lần chiết, dung dịch được định tỷ lệ chính xác đến 10,0 mL bằng dung môi. Mẫu được lọc qua màng lọc 0,45 μm trước khi bơm vào để phân tích UHPLC-Q-TOF-MS/MS.

Bá bệnh: Được rửa sạch, để khô trong không khí và xay thành bột. Cân chính xác 100,0 mg mẫu bột cho vào ống có nắp đậy và thêm 2,0 mL dung môi methanol. Mẫu được siêu âm trong 10 phút. Sau khi ly tâm, dịch chiết được chuyển vào bình định mức 10,0 mL. Phần cặn còn lại được tiếp tục ở bước chiết. Sau năm lần chiết, dung dịch được định tỷ lệ chính xác đến 10,0 mL bằng dung dịch dung môi. Mẫu được lọc qua màng lọc 0,45 μm trước khi bơm vào để phân tích UHPLC-Q-TOF-MS/MS.

Trinh nữ hoàng cung: Được rửa sạch, để khô trong không khí và cắt nhỏ. Cân chính xác 2g mẫu lá đã cắt nhỏ cho vào dung dịch $\text{H}_2\text{O}/\text{HCL}$ pH=2. Mẫu được siêu âm trong 10 phút. Sau khi ly tâm, dịch chiết được kiềm hóa bằng NaOH có pH=10, tiếp tục chiết lỏng lỏng với CHCl_3 , cô đuổi dung môi. Sau năm lần cô chiết và cô được cao chiết, cân 100,0 mg cao định tỷ lệ chính xác đến 10,0 mL bằng dung dịch dung môi. Mẫu được lọc qua màng lọc 0,45 μm trước khi bơm vào để phân tích UHPLC-Q-TOF-MS/MS.

3.1.2. Chương trình phân tích mẫu:

Phân tích mẫu được thực hiện trên hệ thống ExionLC™ UHPLC (AB SCIEX, Hoa Kỳ) bao gồm bộ khử khí ExionLC, máy bơm AC, bộ lấy mẫu AC tự động, bộ điều khiển và lò cột AC. Các mẫu được phân tích trên cột Hypersil GOLD C18 (150 × 2,1 mm, 3 μ) (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ). Các điều kiện MS được đặt như sau: nhiệt độ nguồn ion, 500°C; khí rèm, 30 psi; khí phun sương (GS 1), 45 psi; khí nóng (GS 2), 45 psi. Đối với quét TOF MS, phạm vi khối lượng được đặt ở m/z 70–2000. Đối với quét TOF MS/MS, phạm vi khối lượng được đặt ở m/z 50–1500. Đối với chế độ âm, điện áp phun ion được đặt ở -4,5 kV, điện thế phân cụm (DP) là -70 V, năng lượng va chạm (CE)

được thực hiện ở -20 eV và mức lan truyền năng lượng va chạm (CES) là 10 eV . Đối với chế độ dương, điện áp phun ion được đặt ở 5,5 kV, DP là 80 V, CE là 20 eV và CES là 10 eV.

3.1.2.1. Thường xuân

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (ml/phút)	Acetonitrile 0.1% FA (%)	Water 0.1% FA (%)
1.00	0.4	2.0	98.0
30.00	0.4	98.0	2.0
36.00	0.4	98.0	2.0
36.50	0.4	2.0	98.0
40.00	0.4	2.0	98.0

3.1.2.2. Bá bệnh

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (ml/phút)	Acetonitrile 0.1% FA (%)	Water 0.1% FA (%)
1.00	0.4	2.0	98.0
20.00	0.4	98.0	2.0
25.00	0.4	98.0	2.0
25.10	0.4	2.0	98.0
29.00	0.4	2.0	98.0

3.1.2.3. Trinh nữ hoàng cung

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (ml/phút)	Acetonitrile 0.1% FA (%)	Water 0.1% FA (%)
1.00	0.4	2.0	98.0
20.00	0.4	98.0	2.0
25.00	0.4	98.0	2.0
25.10	0.4	2.0	98.0
29.00	0.4	2.0	98.0

3.2. Phương pháp phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc hợp chất mục tiêu

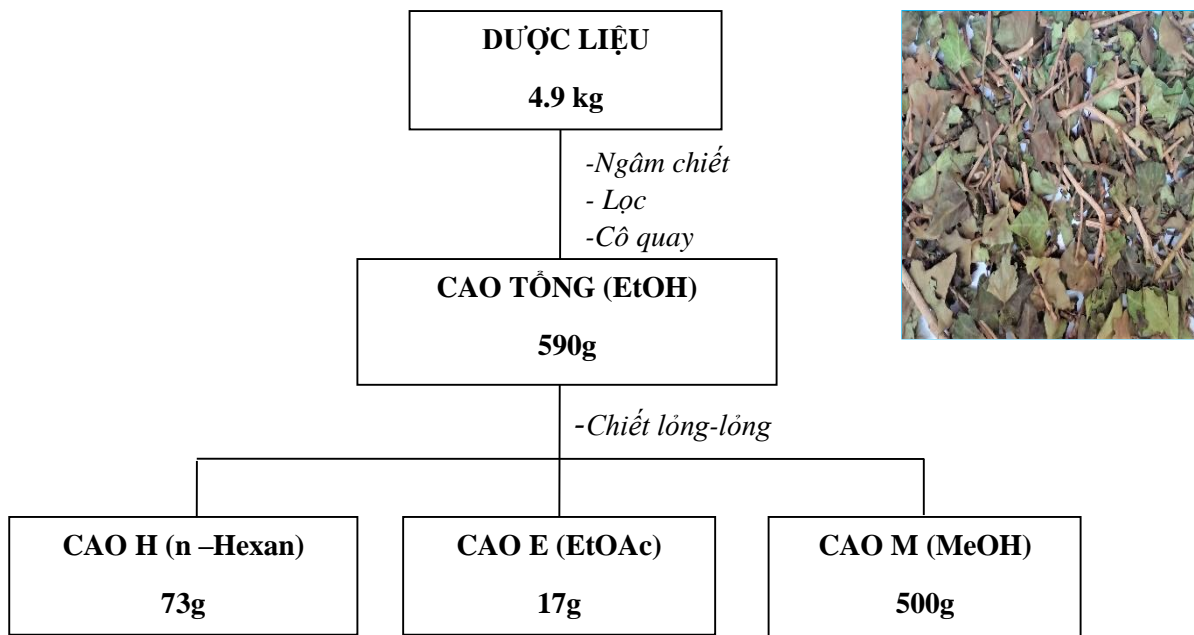
3.2.1. Thường xuân (*Hedera helix*):

3.2.1.1. Phân tích

Sau khi đo khối phổ phân giải cao HRMS mẫu cao tổng, thu được kết quả MS, MS/MS và thời gian lưu tương ứng. Xác định chất mục tiêu là α -hederin.

3.2.1.2. Tạo cao chiết

4.9 kg nguyên liệu được ngâm chiết với methanol 98% trong 24 giờ. Gạn, lọc lấy phần dịch chiết. Bã dược liệu được chiết tiếp lặp lại 2 lần. Các dịch chiết được gom lại và cất loại dung môi thu được 590 gam cao ethanol thô. Chiết lỏng lỏng với n-hexane và ethyl acetate và phần còn lại là cao methanol. Cất loại hết các dung môi thu được các phân đoạn chiết tương ứng: n-hexane (73 gam), ethyl acetate (17 gam) và cao methanol (500 gam). Cao methanol 500 gam đem phân lập và nghiên cứu cấu trúc.



Sơ đồ 3. 1 Quy trình tạo cao giàu hoạt chất dược liệu thường xuân

3.2.1.3. Phân lập hợp chất mục tiêu

Từ cao methanol (500.0 g) tiến hành sắc ký cột thường với silica gel pha thường, kích thước cột 80 cm x 12 cm, hứng 500 mL/1 tube, dung môi giải ly EA: M có độ phân cực tăng dần với tỉ lệ từ 100:0, 75:25; 50:50, 25:75, 0:100. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 3 phân đoạn: MA (15.0 g), MB (158.0 g), MC (210.0 g).



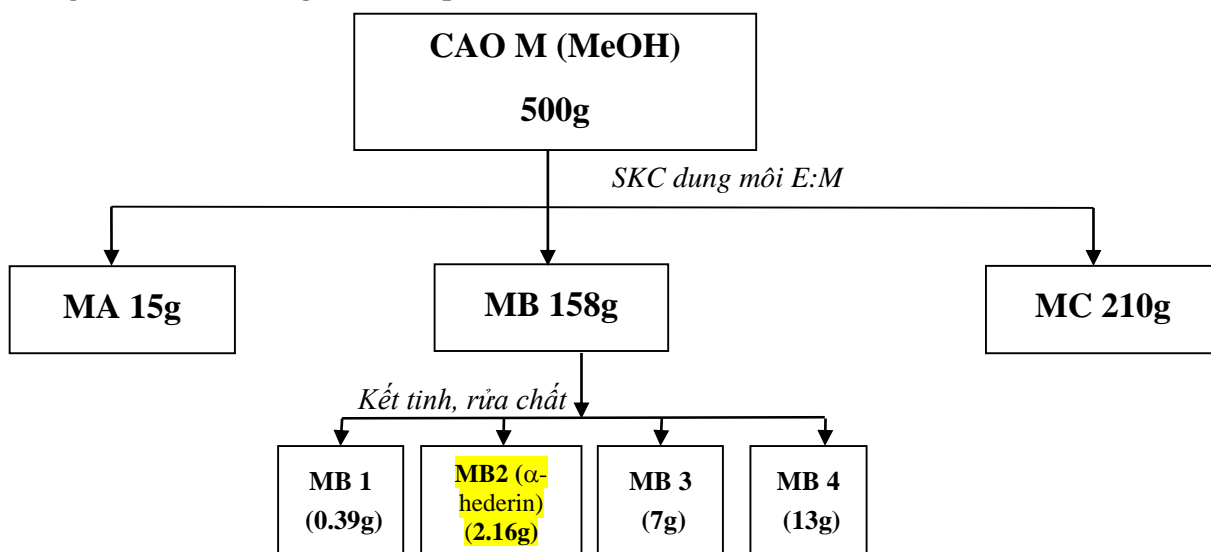
Hình 3. 1: Ngâm chiết nguyên liệu thường xuân



Hình 3. 2: Cột sắc ký cao MeOH

Cô lập các hợp chất trong phân đoạn MB: Phân lập các hợp chất bằng sắc ký trung áp và kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn pha thường silica gel 60F-254 (Merck). Thuốc thử hiện màu là dung dịch H_2SO_4 10% /EtOH. Sắc ký cột được thực hiện với chất hấp phụ là silica gel 60, 0.06-0.2mm (70-230 mesh ASTM), Scharlau.

Phân đoạn MB (158 gam) được tiến hành sắc ký trung áp với silica gel pha thường, kích thước cột 50 cm x 10 cm, tốc độ dòng 100 mL/phút, hứng 500 mL/1 tube, hệ dung môi 0:20, 75:25, 70:30, 65:35. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 4 phân đoạn: MB1 (0.39 g), MB2 (2.16g), MB3 (7.00 g) và MB4 (13.00 g). HH-01 (2.16 g) là chất sạch được rửa giải bằng dung môi n-hexan, SKLM giải li với hệ dung môi C:M:W (7:3:0.3) hiện hình vết bằng H_2SO_4 10% trong ethanol hơi nóng cho kết quả 1 vết.



Sơ đồ 3. 2: Phân lập chất mục tiêu α -hederin

3.2.2. Bá bệnh (*Eurycoma longifolia*)

3.2.2.1. Phân tích

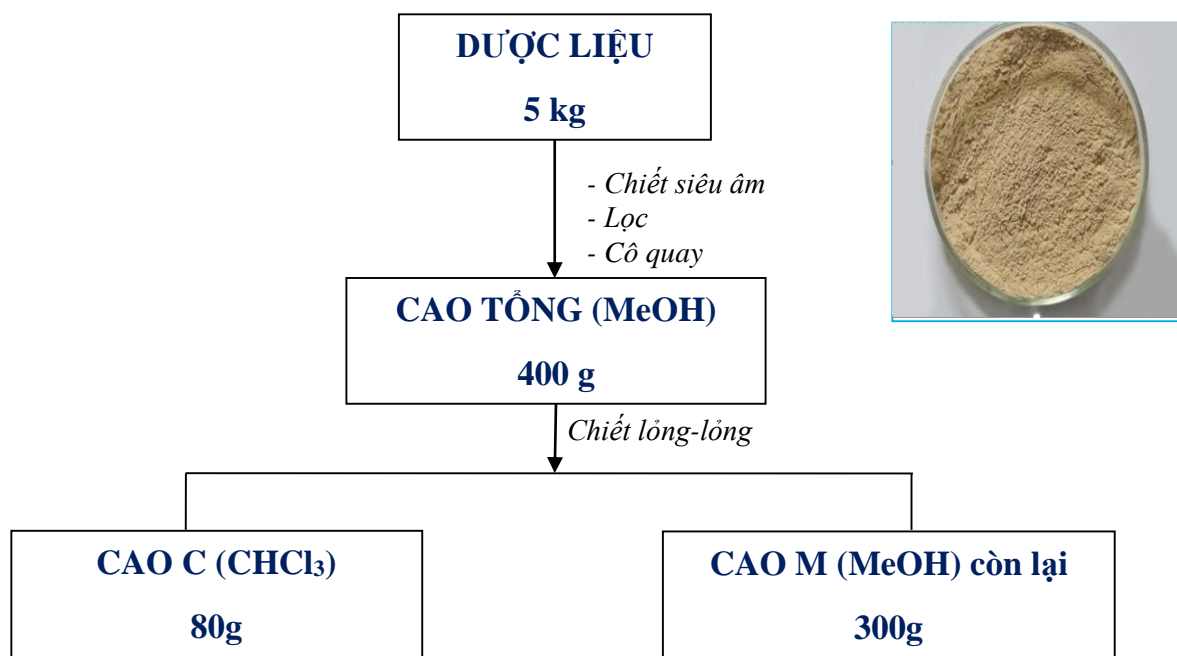
Sau khi đo khối phổ phân giải cao HRMS mẫu cao tổng, thu được kết quả MS, MS/MS và thời gian lưu tương ứng. Xác định chất mục tiêu.

3.2.2.2. Tạo cao chiết

5kg nguyên liệu Bá bệnh dạng bột được chiết với methanol 98%, bằng phương pháp chiết siêu âm. Gạn, lọc lấy phần dịch chiết. Bã dược liệu được chiết tiếp lặp lại nhiều lần. Các dịch chiết được gom lại và cất loại dung môi thu được 400 gam cao methanol thô. Chiết lỏng lỏng với Chloroform thu được cao chloroform phần không tan trong chloroform là cao methanol còn lại. Cất loại hết các dung môi thu được cao chloroform 80 gam, cao methanol còn lại 300 gam, dùng cao chloroform phân lập và nghiên cứu cấu trúc.



Hình 3. 3: Thiết bị chiết siêu âm và máy cô quay



Sơ đồ 3. 3: Quy trình tạo cao chiết dược liệu bá bệnh

3.2.2.3. Phân lập hợp chất mục tiêu

Từ cao Chloroform (80 g) tiến hành sắc ký trung áp với silica gel pha thường, kích thước cột 80 cm x 4 cm, hứng 500 mL/1 tube, dung môi giải ly C:M có độ phân cực tăng dần với tỉ lệ từ 100:0, 75:25; 50:50, 25:75, 0:100. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 5 phân đoạn: CA (10 g), CB (9.8g), CC (2.2 g), CD (19.3g), CE (17g)



Hình 3. 4: Sắc ký trung áp cao Chloroform bá bệnh

Cô lập các hợp chất trong phân đoạn CC: Phân lập các hợp chất bằng sắc ký trung áp và kiểm tra bằng sắc kí lớp mỏng. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn pha thường silica gel 60F-254 (Merck). Thuốc thử hiện màu là dung dịch H₂SO₄ 10%. Sắc ký cột được thực hiện với chất hấp phụ là silica gel 60, 0.06-0.2mm (70-230 mesh ASTM), Scharlau.

Phân đoạn CC (2.2 gam) được tiến hành sắc ký trung áp với silica gel pha thường, kích thước cột 74 cm x 1.7 cm, tốc độ dòng 10 mL/phút, hứng 20 mL/1 tube, hệ dung môi C:M 100:0, 75:25, 70:30, 65:35. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 7 phân đoạn: CC1 (13 mg), CC2 (6 mg), CC3 (8.9 mg), CC4 (32.8 mg), CC5 (350 mg), CC6 (500 mg) Eurycoma (Eurycomanone), CC7 (200 mg). Eurycoma (500 mg) là chất sạch được rửa giải bằng dung môi methanol từ phân đoạn CC, SKLM giải li với hệ dung môi C:M (9:1) hiện hình vết bằng H₂SO₄ 10% trong ethanol hơi nóng cho kết quả 1 vết.



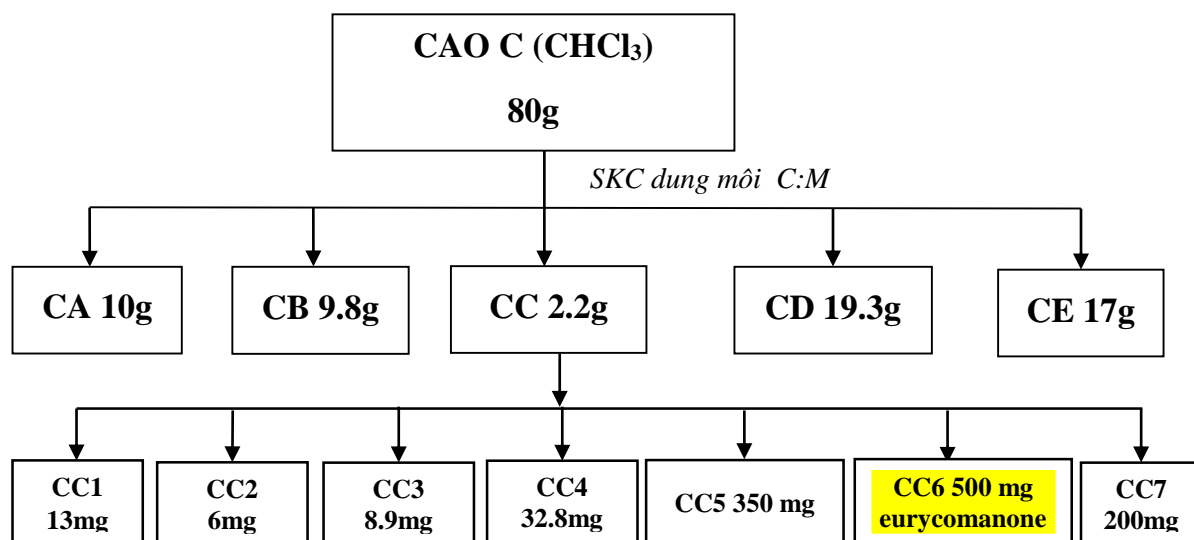
Hình 3. 5: Mẫu phân đoạn CC trộn silica



Hình 3. 6: Sắc ký trung áp mẫu phân đoạn CC



Hình 3. 7: TLC chất sạch EL-01 (eurycomanone)



Sơ đồ 3. 4: Phân lập chất mục tiêu eurycomanone

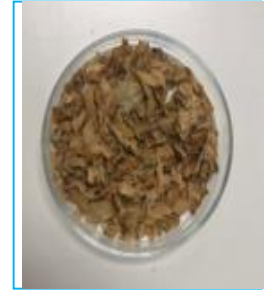
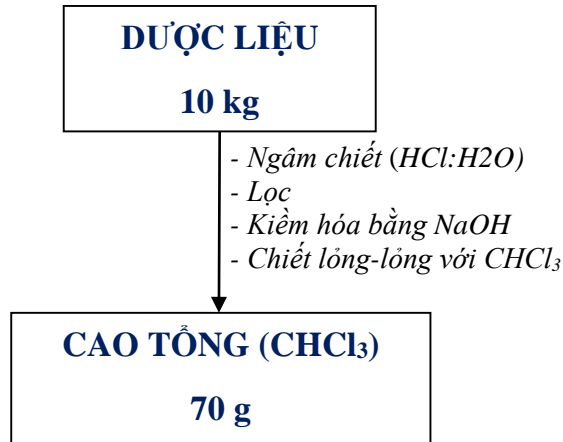
3.2.3. Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium*)

3.2.3.1. Phân tích

Sau khi đo khối phổ phân giải cao HRMS mẫu cao tổng, thu được kết quả MS, MS/MS và thời gian lưu tương ứng. Xác định chất mục tiêu.

3.2.3.2. Tạo cao chiết

10kg nguyên liệu Trinh nữ hoàng cung dạng nguyên liệu khô được chiết với HCL/H₂O, bằng phương pháp chiết ngâm. Gạn, lọc lấy phần dịch chiết. Bã dược liệu được chiết tiếp lặp lại nhiều lần. Các dịch chiết được gom lại và chiết lỏng lỏng với chloroform sau đó cất loại dung môi thu được 70 gam cao Chloroform thô. Dùng cao chloroform phân lập và nghiên cứu cấu trúc.



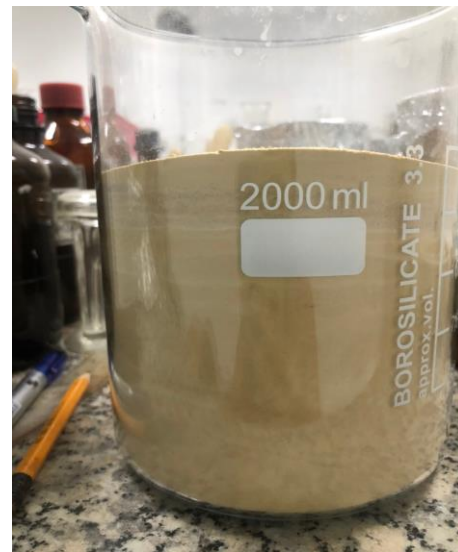
Sơ đồ 3. 5: Quy trình tạo cao chiết dược liệu trinh nữ hoàng cung

3.2.3.3. Phân lập hợp chất mục tiêu

Từ cao Chloroform (70 g) tiến hành sắc ký trung áp với silica gel pha thường, kích thước cột 80 cm x 4 cm, hứng 500 mL/1 tube, dung môi giải ly C:M có độ phân cực tăng dần với tỉ lệ từ 100:0, 95:5; 90:10, 80:20, 70:30, 0:100. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 6 phân đoạn: CA (4 g), CB (10g), CC (5 g), CD (3g), CE (4g), CF (7g).



Hình 3. 8: Sắc ký trung áp cao Chloroform TNHC



Hình 3. 9: Cao Chloroform TNHC trộn silica gel

Cô lập các hợp chất trong phân đoạn CC: Phân lập các hợp chất bằng sắc ký trung áp và kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn pha thường silica gel 60F-254 (Merck). Thuốc thử hiện màu là dung dịch

H₂SO₄ 10%. Sắc ký cột được thực hiện với chất hấp phụ là silica gel 60, 0.06-0.2mm (70-230 mesh ASTM), Scharlau.

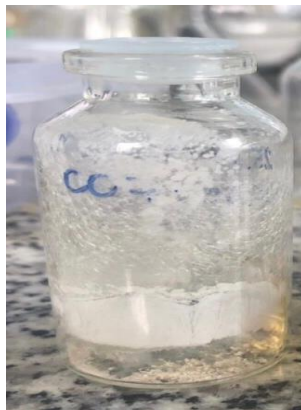
Phân đoạn CC (5 gam) được tiến hành sắc ký trung áp với silica gel pha thường, kích thước cột 74 cm x 1.7 cm, tốc độ dòng 10 mL/phút, hứng 20 mL/1 tube, hệ dung môi C: 100:0, 95:5; 90:10, 80:20, 70:30, 0:100. Dựa vào kết quả SKLM gom những phân đoạn có vết giống nhau thành một, kết quả thu được 7 phân đoạn: CC1 (5mg), CC2 (10mg), CC3 (1.5g), CC4 (1.1 g), CC5 (110 mg), CC6 (400 mg), CC7 (1.3 g), CC8 (200mg), CC7 (1.3 g) được kết tinh và rửa giải bằng dung môi methanol, SKLM giải li với hệ dung môi C:M (9:1) hiện hình vết bằng thuốc thử dragendroff cho kết quả 1 vết.



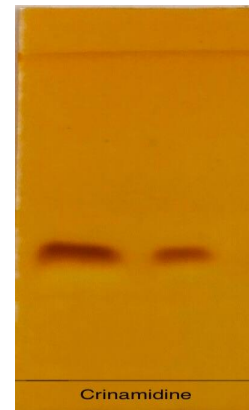
Hình 3. 10: Sắc ký trung áp phân đoạn CC TNHC



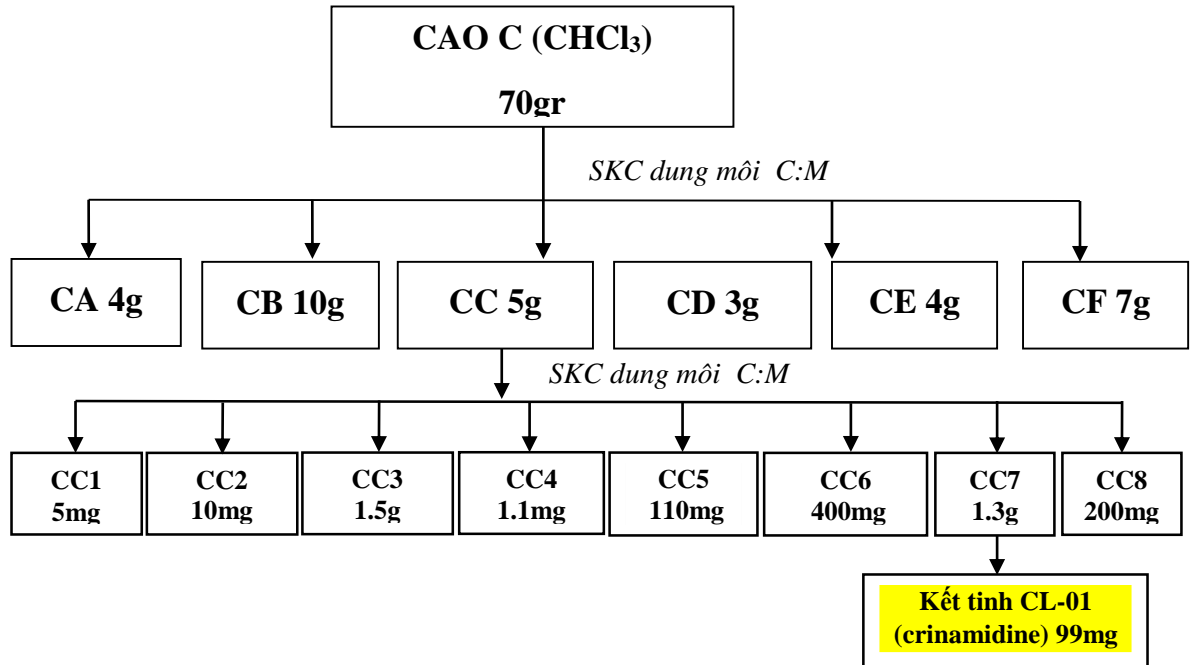
Hình 3. 11: Phân đoạn CC TNHC trộn silica gel



Hình 3. 12 :Tinh thể crinamidine



Hình 3. 13: TLC chất sạch CL-01 (crinamidine)



Sơ đồ 3. 6: Phân lập chất mục tiêu crinamidine

3.2.4. Xác định cấu trúc hợp chất mục tiêu

3.2.4.1. Xác định cấu trúc bằng khối phổ phân giải cao

Bảng 3. 1 Xác định cấu trúc 3 hợp chất mục tiêu bằng HRMS

Dược liệu	CTPT	KLPT	M/Z TT	M/Z LT	Sai số PPM	ION	Dự đoán
Thường xuân	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	750.4554	749.4476	749.4506	3.9	[M-H] ⁻	α-hederin
Bá bệnh	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.1420	409.1499	409.1497	0.3	[M+H] ⁺	Eurycomanone
Trinh nữ hoàng cung	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.1263	318.1341	318.1342	0.1	[M+H] ⁺	Crinamidine

3.2.4.2. Xác định cấu trúc bằng cộng hưởng từ hạt nhân:

Sau khi phân lập các hợp chất từ dược liệu có độ tinh khiết trên 95%, gửi chất đi đo phổ ¹H NMR và ¹³C NMR.

CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

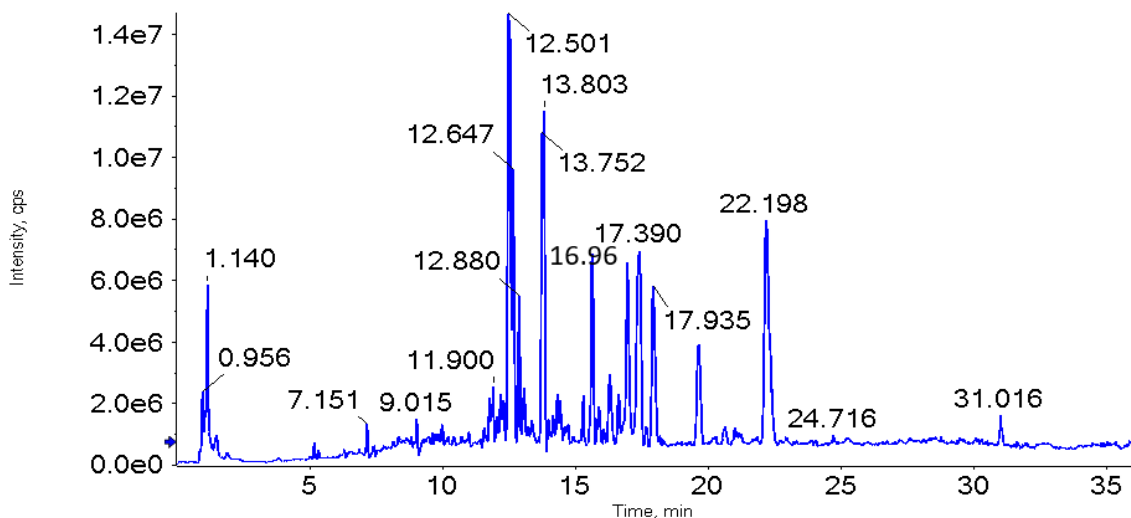
4.1 Kết quả phân tích thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

4.1.1. Thường xuân (*Hedera helix*)

Sau khi chiết cao và thực hiện phân tích mẫu bằng khối phổ phân giải cao, sắc ký đồ cho thấy trong mẫu có khá nhiều các hợp chất ở các khoảng thời gian lưu khác nhau. Từ đó có thể xác định được thành phần hóa học và hợp chất mục tiêu có trong mẫu.

4.1.1.1. Kết quả phân tích cao chiết bằng khối phổ phân giải cao.

TIC from TXX1_(-)ESI 2022-04-06-16-19-58.wiff2 (samp... TXX1_(-)ESI, Experiment 1, -IDA TOF MS (70 - 2000)

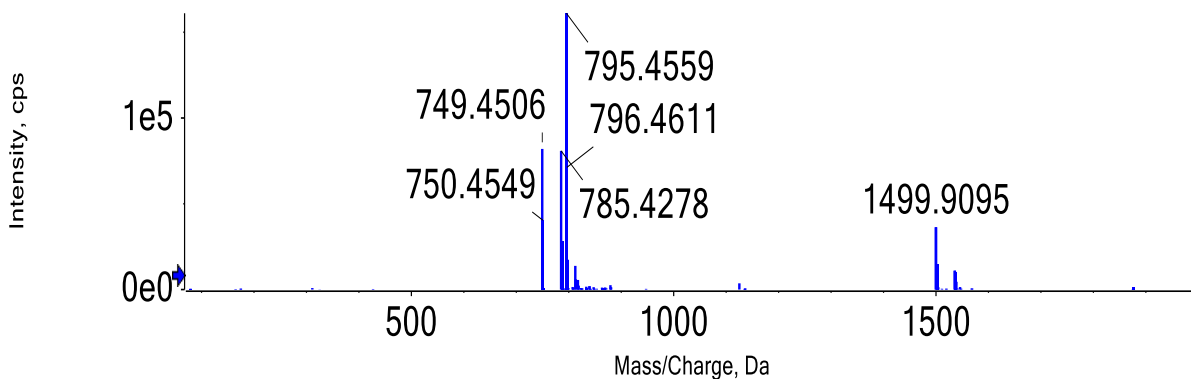


Hình 4. 1: Sắc ký đồ của cao thường xuân

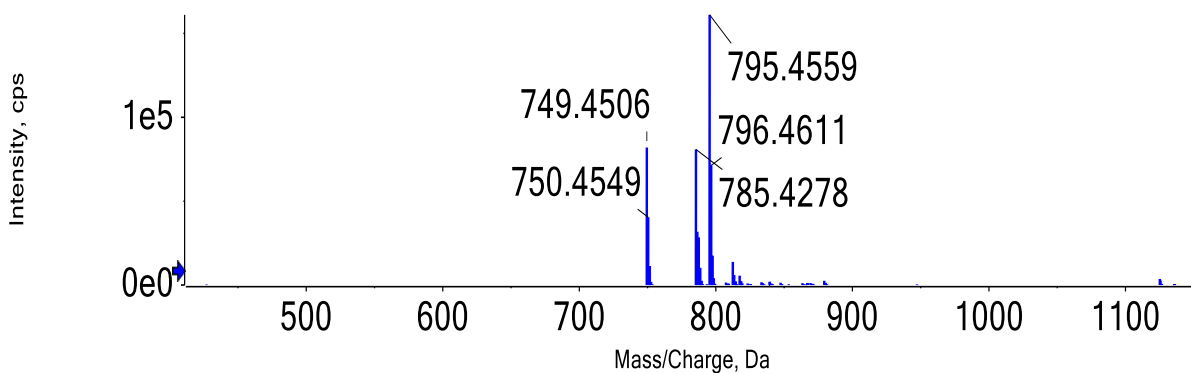
Ở $T_R = 16.96$, tạo ra ion $[M-H]^-$ ion ở m/z 749.4506 ở chế độ ion âm. So sánh thông tin MS/MS và thời gian lưu với chất chuẩn tham chiếu, hợp chất được xác định rõ ràng là α -hederin.

Hợp chất tạo ra ion $[M-H]^-$ ở m/z 749.4506 và cung cấp các ion mảnh ở m/z 603 và 471 tương ứng với việc mất chuỗi đường Rha-Glc ở C-3 của khung hederagenin, nên hợp chất được xác định là hederagenin 3-glycosides; Diglycosides,3-*O*- [α -L-Rhamnopyranosyl- (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside] (α -hederin).

Spectrum from TXX1_(-)ESI 2022-04-06-16-19-58.wiff2 (s...ise multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Spectrum from TXX1_(-)ESI 2022-04-06-16-19-58.wiff2 (s...ise multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Hình 4. 2: Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất α -hederin

4.1.1.2. Thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

Từ kết quả phân tích cao trên xác định được bảng thành phần hóa học có trong cao như sau:

Bảng 4. 1: Phân tích thành phần hóa học cây thường xuân bằng khối phổ phân giải cao và so sánh các hợp chất trong chi *Hedera*

Stt	Tên hợp chất	[M-H] ⁻ lí thuyết	[M-H] ⁻ thực tế	Thời gian lưu	Sai số (ppm)	Phân mảnh ion
1	Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3-O- β -D-Glucuronopyranoside	647.3827	647.3795	16.86	4.9	471 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻

2	Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> - [α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside] (α -Hederin)	749.4476	749.4506	16.96	3.9	471 [M-H- C ₁₁ H ₁₈ O ₈] ⁻
						603 [M-H- C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻
3	Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> - [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside]	795.4531	795.4551	16.63	2.5	471 [M-H- C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻
						633 [M-H- C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻
4	Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> - [α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> - [β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	1119.5587	1119.5634	12.88	4.1	1073 [M-H] ⁻
						749 [M-H- C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀] ⁻
						603 [M-H- C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						469 [M-H- C ₂₃ H ₄₀ O ₁₈] ⁻
5	Oleanolic acid bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> - [α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> - [α -L-rhamnopyranosyl-	1203.6163	1203.6206	13.82	3.6	733 [M-H- C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						455 [M-H- C ₂₉ H ₄₈ O ₂₂] ⁻

	(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester					
6	Hederagenin 3-glycosides; Pentaglycosides, 3-O-[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside]	1219.6112	1219.6139	12.51	2.2	1073 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻
						749 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						603 [M-H-C ₂₄ H ₄₀ O ₁₈] ⁻
						471 [M-H-C ₂₉ H ₄₈ O ₂₂] ⁻
7	Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3-O-[β-D-Glucopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	1235.6061	1235.6112	11.76	4.1	765 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						469.1597 [M-H-C ₂₉ H ₅₀ O ₂₃] ⁻
8	Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3-O-[α-L-	1261.6217	1261.6274	13.36	4.4	469 [M-H-C ₃₁ H ₅₂ O ₂₃] ⁻
						749 [M-H-C ₂₀ H ₃₂ O ₁₅] ⁻

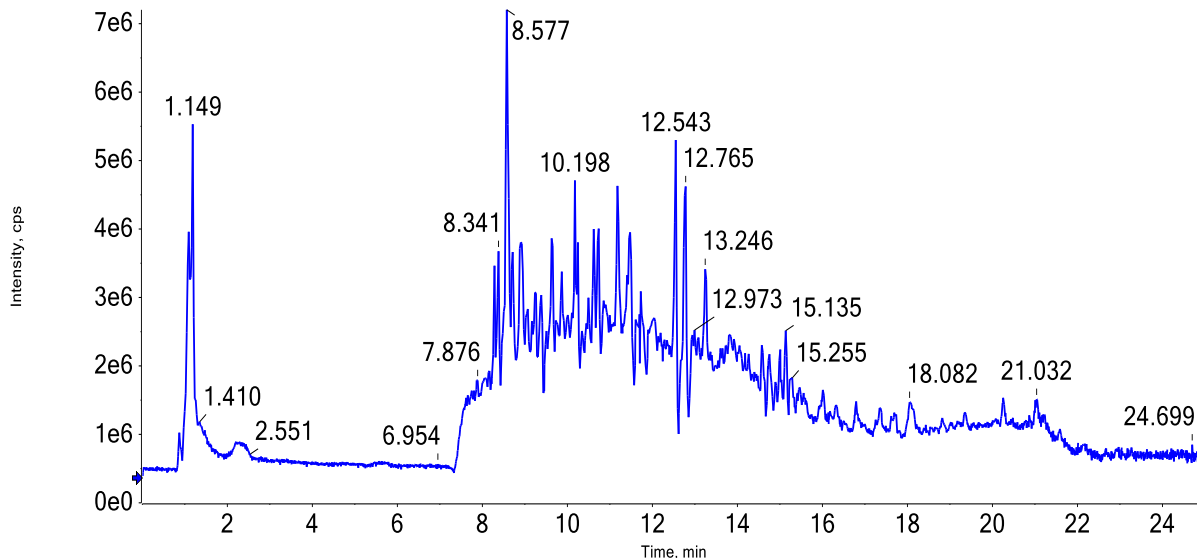
	Rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> - [α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl] ester					791 [M-H- C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						1261 [M-H] ⁻
9	Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> - [α -L-Rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside], 28- <i>O</i> - [α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl] ester	1249.6217	1249.6257	13.82	3.1	469 [M-H- C ₃₀ H ₅₂ O ₂₃] ⁻
						779 [M-H- C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						1249 [M-H] ⁻
10	Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> - β -D-Glucopyranoside, 28- <i>O</i> - [α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl] ester	1103.5638	1103.5683	14.17	4.1	469 [M-H- C ₂₄ H ₄₂ O ₁₉] ⁻
						633 [M-H- C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻
						1103 [M-H] ⁻

4.1.2. Bá bệnh (*Eurycoma longifolia*)

4.1.2.1. Kết quả phân tích cao chiết bằng khối phổ phân giải cao.

Kết quả phân tích cao chiết cho sắc ký đồ như sau:

TIC from NHU_CAO TONG BA BENH_POS.wiff2 (sample 1) - NHU_CAO TONG BA BENH_POS, Experiment 1, +IDA TOF MS (70 - 2000)

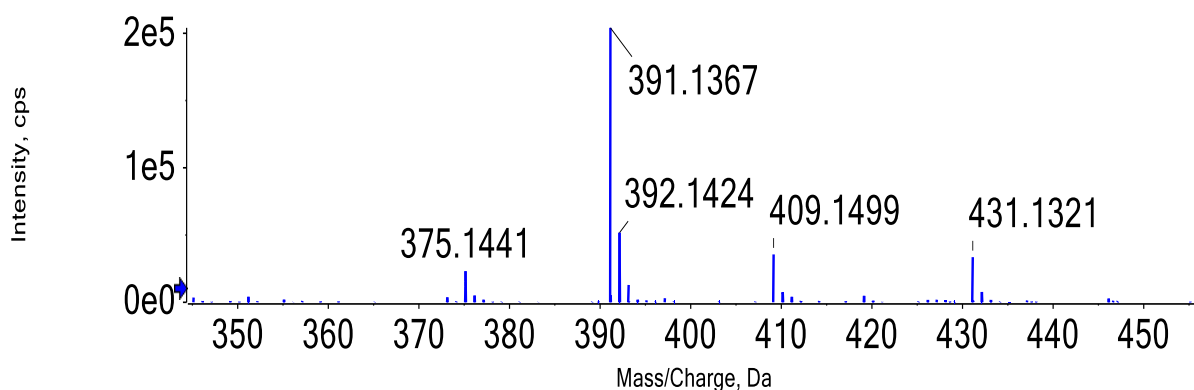


Hình 4. 3: Sắc ký đồ của cao bá bệnh

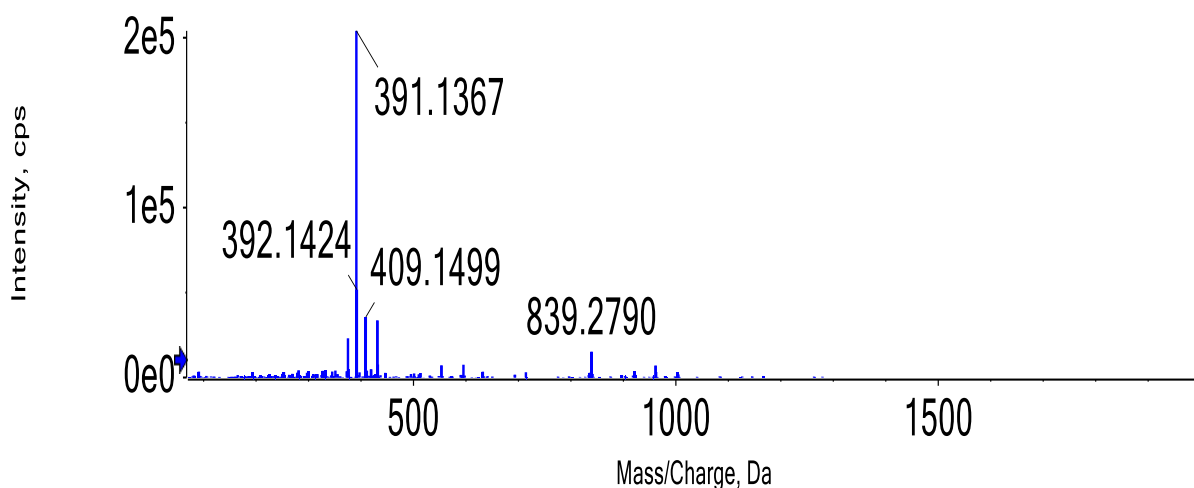
Ở $T_R = 8.577$, tạo ra ion $[M+H]^+$ ion ở m/z 409.1497 ở chế độ ion dương. So sánh thông tin MS/MS và thời gian lưu với chất chuẩn tham chiếu, hợp chất được xác định rõ ràng là Eurycomanone.

Eurycomanone thuộc khung quassinoid, Hợp chất tạo ra ion $[M+H]^+$ ở m/z 409.1497 và cung cấp các ion mảnh ở m/z 391.0750, 373.1269, 345.1317, 337.1065, 329.1368, 309.1106, 279.0997, 269.1153, 251.1047, 225.0533, 209.0946, 197.0591 giống với phân mảnh của tài liệu tham khảo 409/391 ($-H_2O$)/373 ($-2H_2O$)/345 ($-CO$)/337 ($-CH_3-CH_3O$)/329/309/279/269/251/225/209/197. Dựa vào 2 dữ kiện trên nên hợp chất được xác định là eurycomanone. [44]

Spectrum from NHU_CAO TONG BA BENH_POS 2022-10-27...multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Spectrum from NHU_CAO TONG BA BENH_POS 2022-10-27...multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Hình 4. 4: Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất eurycomanone

4.1.2.2. Thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

Bảng 4. 2 Phân tích thành phần hóa học cây bá bệnh bằng HRMS và so sánh các hợp chất trong chi *Eurycoma*

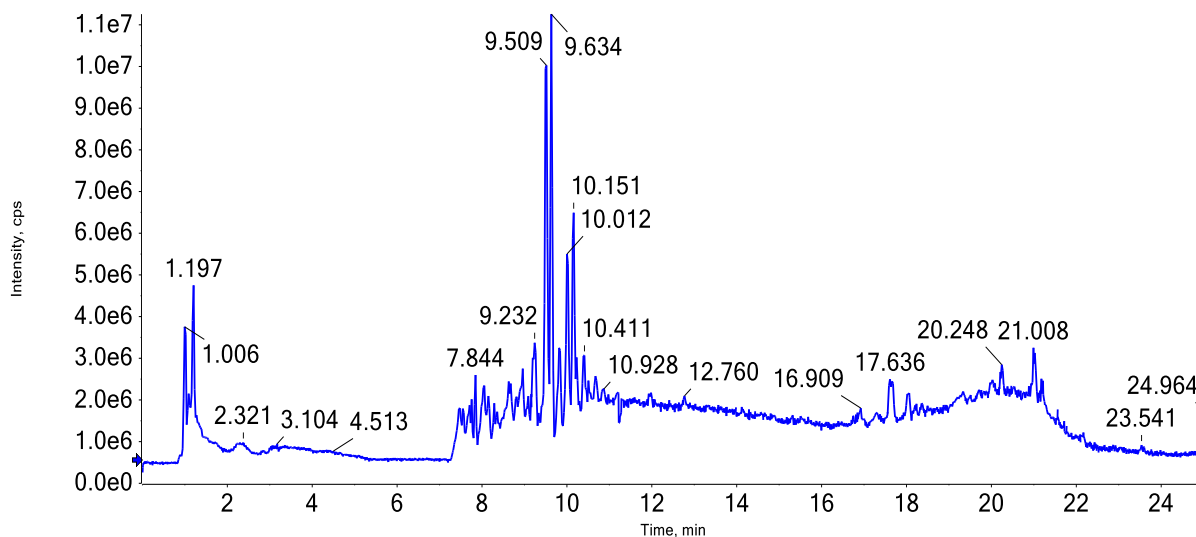
Stt	Tên hợp chất	[M+H] ⁺ lí thuyết	[M+H] ⁺ thực tế	Thời gian lưu	Sai số (ppm)	Phân mảnh ion
1	9, 10- Dihydroxycanthin- 6-one; Di-Me ether	281.0926	281.0914	10.07	4.3	281,280, 266, 264, 245, 237, 221, 204, 148, 119, 105
2	Laurycolactone A	319.1545	319.1539	11.47	2.6	319, 301, 283, 273, 259, 255, 227, 213, 197, 185, 133

3	Eurycomalactone; 6 α -Hydroxy	365.1600	356.1591	10.45	2.5	365, 347, 329, 319, 301, 283, 265, 255, 237, 207, 189, 159, 121
4	Longilactone	367.1757	367.1748	9.18	2.3	367, 349, 346, 337, 331, 319, 313, 295, 285, 267, 251, 239, 223, 211, 209, 187, 171, 159, 121
5	Eurycolactone A	377.1600	377.1590	8.95	2.7	377, 359, 331, 311, 295, 275, 237, 227, 171, 137
6	Klaineanone; 14 β ,15 β -Dihydroxy	397.1862	397.1850	9.65	3.1	397, 379, 361, 351, 315, 305, 263, 259, 189, 161
7	11-Hydroxycanthin- 6-one; O- β -D- Glucopyranoside	399.1192	399.1180	9.27	3.1	399, 381, 375, 363, 345, 335, 327, 309, 299, 291, 281, 263, 235, 223, 205, 191, 159
8	Eurycomanone	409.1499	409.1497	8.58	0.3	409, 391, 373, 345, 337, 329, 309, 279, 269, 251, 225, 209, 197
9	Eurycomanol; 13 β ,18-Dihydro	413.1812	413.1814	8.76	0.5	413, 395, 377, 359, 329, 311, 285, 255, 249, 211, 157
10	Eurycomanol	411.1655	411.1653	8.62	0.5107	411, 393, 375, 345, 339, 329, 313, 301, 281, 273, 253, 239, 225, 209, 173

4.1.3. Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium*)

4.1.3.1. Kết quả phân tích cao hoạt chất bằng khối phổ phân giải cao.

TIC from NHU_CAO TONG TNHC_POS.wiff2 (sample 1) - NHU_CAO TONG TNHC_POS, Experiment 1, +IDA TOF MS (70 - 2000)

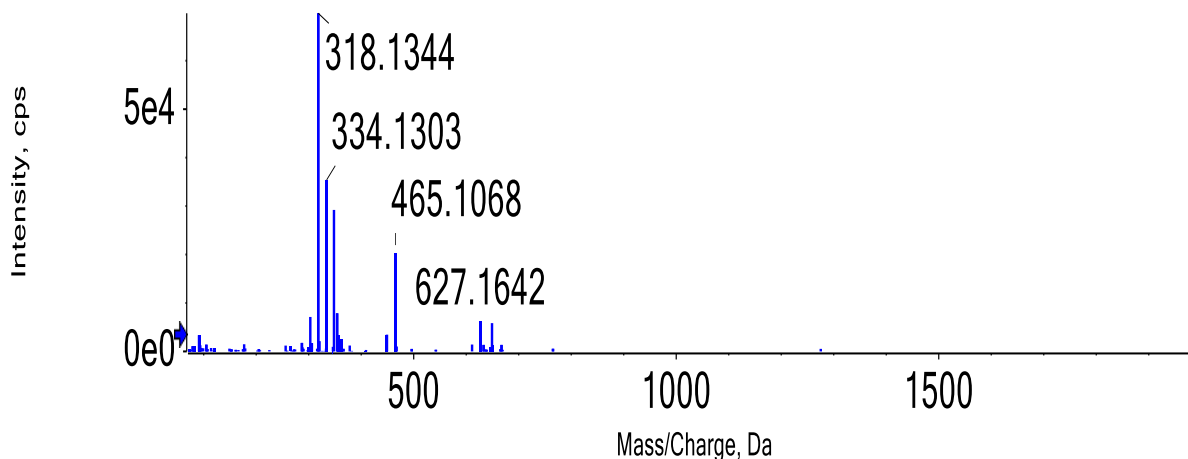


Hình 4. 5: Sắc ký đồ của cao trinh nữ hoàng cung

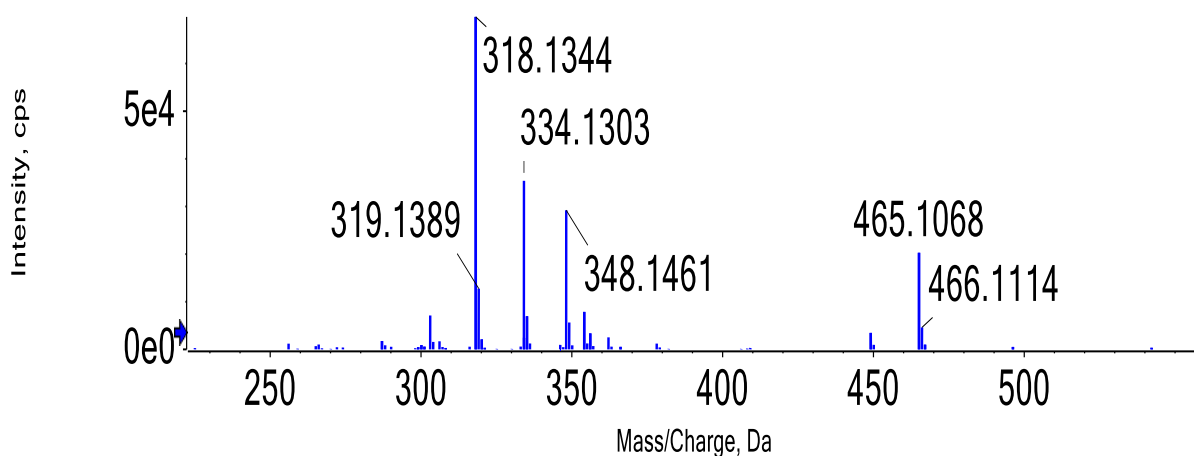
Ở $T_R = 9.232$, tạo ra ion $[M+H]^+$ ion ở m/z 318.1342 ở chế độ ion dương. So sánh thông tin MS/MS và thời gian lưu với chất chuẩn tham chiếu, hợp chất được xác định rõ ràng là Crinamide.

Crinamide thuộc khung Crinin, Hợp chất tạo ra ion $[M+H]^+$ ở m/z 318.1344 và cung cấp các ion mảnh ở m/z 300.1213, 250.1043, 240.0999, 239.0645, 238.0603, 213.0532, 211.0593, 197.0576, 175.0373, 149.0584, 147.0433 giống với phân mảnh của tài liệu tham khảo 300, 286, 250, 240, 239, 238, 213, 211, 197, 175, 149, 147, 136. Dựa vào 2 dữ kiện trên nên hợp chất được xác định là crinamide. [45]

Spectrum from NHU_CAO TONG TNHC_POS 2022-10-27-14...multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Spectrum from NHU_CAO TONG TNHC_POS 2022-10-27-14...multiplier = 1.5), Gaussian smoothed (0.5 points)



Hình 4. 6 Khối phổ ESI-HRMS của hợp chất crinamidine

4.1.3.2. Thành phần hóa học bằng khối phổ phân giải cao

Bảng 4. 3 Phân tích thành phần hóa học cây bá bệnh bằng HRMS và so sánh các hợp chất trong chi *Crinum*

Stt	Tên hợp chất, công thức phân tử, M	[M-H] ⁻ lí thuyết	[M-H] ⁻ thực tế	Thời gian lưu	Sai số (ppm)	Phân mảnh ion con
1	Lycorine	288.1236	288.1237	8.92	0.4	270, 252, 222, 177, 147, 119, 95
2	Powelline	302.1392	302.1400	8.99	2.5	302, 284, 259, 231, 229, 213, 211
3	Crinamabine	306.1341	306.1349	7.63	2.4	288, 270, 229, 189
4	Crinamidine	318.1341	318.1342	9.18	0.1	300, 286, 250, 240, 239, 238, 213, 211, 197, 175, 149, 147, 136
5	Delagoensine	332.1498	332.1496	9.28	0.5	272, 254, 224, 181

4.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất mục tiêu đã phân lập

4.2.1. Hợp chất HH-01 trong cây thường xuân

Biện luận hợp chất mục tiêu đã phân lập:

Hợp chất HH-01 phân lập từ phân đoạn MB với các đặc điểm như sau:

Trạng thái: chất bột, màu trắng, tan tốt trong methanol. (Hình 4.8)

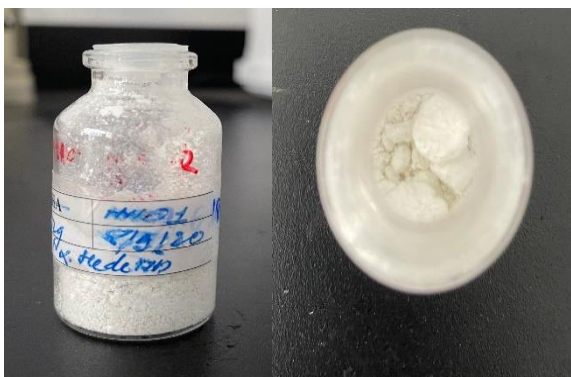
Phổ ESI-MS: Phổ MS cho mũi ion phân tử giả tại m/z 749.4506 $[M-H]^-$ tương ứng với công thức phân tử $C_{41}H_{66}O_{12}$ (750.4554 gam/mol)

Phổ 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) (phụ lục 1.1)

Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) (phụ lục 1.2)



Hình 4. 7: TLC hợp chất HH-01 với hệ dung môi C:Me:W (70:30:3)

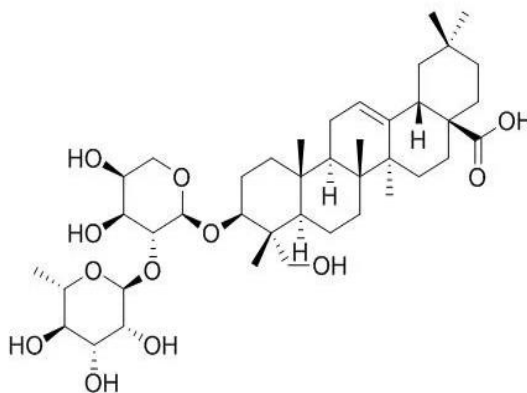


Hình 4. 8: Mẫu chất HH-01 (α -hederin)

4.2.1.1. Phân tích cấu trúc hợp chất HH-01 bằng HRMS

Trước khi kết tinh phân đoạn MB, đo HRMS cho 2 peak chính là 749.4441 và 812.4399, trong đó peak 749.4441 $[C_{41}H_{66}O_{12} - H]^-$ có phân mảnh 471.4544 $[C_{41}H_{66}O_{12} - H - C_{11}H_{18}O_8]^-$, giúp dự đoán cấu trúc của hợp chất **HH-01** là α -hederin.

4.2.1.2. Biện luận cấu trúc của hợp chất HH-01 bằng phổ NMR



Hình 4. 9: Cấu trúc hóa học của hợp chất HH-01 (α -hederin)

Hợp chất HH-01 (DMSO- <i>d</i> ₆)		α -hederin ^[21] (CD ₃ OD)	
δ_H, J (Hz)	δ_C (ppm)	δ_H, J (Hz)	δ_C (ppm)
0.83 (1H, <i>m</i>) 1.49 (1H, <i>m</i>)	38.2	1.00 (1H, <i>m</i>) 1.65 (1H, <i>m</i>)	39.6
1.58 (1H, <i>m</i>) 1.68 (1H, <i>m</i>)	25.6	1.76 (1H, <i>m</i>) 1.90 (1H, <i>m</i>)	26.4
3.49 (1H, <i>m</i>)	79.3	3.65 (1H, <i>dd</i> , 11.0; 5.0)	82.3
-	40.8	-	43.8
1.19	46.2	1.30 (1H, <i>m</i>)	48.1
1.21 1.40	17.1	1.38 (1H, <i>m</i>) 1.52 (1H, <i>m</i>)	18.8
1.18 (1H, <i>m</i>) 1.48 (1H, <i>m</i>)	32.1	1.30 (1H, <i>m</i>) 1.62 (1H, <i>m</i>)	33.3
-	38.8	-	40.6
1.53 (1H, <i>m</i>)	47.1	1.65 (1H, <i>m</i>)	49.0
-	36.0	-	37.6
2.10 (1H, <i>m</i>) 1.90 (1H, <i>m</i>)	22.9	2.10 (1H, <i>m</i>) 1.90 (1H, <i>m</i>)	24.5
5.16 (1H, <i>brs</i>)	121.5	5.27 (1H, <i>brs</i>)	123.7
-	143.8	-	144.8
-	42.2	-	42.9
0.97 (1H, <i>m</i>)	27.2	1.10 (1H, <i>m</i>)	28.8

1.63 (1H, <i>m</i>)		1.80 (1H, <i>m</i>)	
1.48 (1H, <i>m</i>) 1.90 (1H, <i>m</i>)	22.6	1.72 (1H, <i>m</i>) 1.90 (1H, <i>m</i>)	24.0
-	45.4	-	48.0
2.74 (1H, <i>dd</i> , 14.0, 4.0)	41.3	2.88 (1H, <i>dd</i> , 14.0, 4.0)	42.4
1.05 (1H, <i>m</i>) 1.61 (1H, <i>m</i>)	45.7	1.20 (1H, <i>m</i>) 1.73 (1H, <i>m</i>)	47.1
-	30.4	-	31.5
1.15 (1H, <i>m</i>) 1.31 (1H, <i>m</i>)	33.3	1.25 (1H, <i>m</i>) 1.45 (1H, <i>m</i>)	34.8
14.2 (1H, <i>m</i>) 16.1 (1H, <i>m</i>)	31.9	1.62 (1H, <i>m</i>) 1.75 (1H, <i>m</i>)	33.2
3.12 (1H, <i>m</i>) 3.28 (1H, <i>m</i>)	62.5	3.38 (1H, <i>m</i>) 3.52 (1H, <i>m</i>)	64.6
0.57 (3H, <i>s</i>)	13.0	0.72 (3H, <i>s</i>)	13.7
0.87 (3H, <i>s</i>)	15.5	1.00 (3H, <i>s</i>)	16.5
0.71 (3H, <i>s</i>)	16.9	0.81 (3H, <i>s</i>)	18.0
1.08 (3H, <i>s</i>)	25.3	1.19 (3H, <i>s</i>)	26.4
-	178.6	-	178.1
0.87 (3H, <i>s</i>)	32.8	0.93 (3H, <i>s</i>)	33.5
0.87 (3H, <i>s</i>)	23.3	0.96 (3H, <i>s</i>)	24.1
4.63 (1H, <i>d</i> , 3.0)	102.9	4.57 (1H, <i>d</i> , 4.5)	104.2

3.52 (1H, <i>m</i>)	74.2	3.74 (1H, <i>m</i>)	76.6
3.48 (1H, <i>m</i>)	72.8	3.74 (1H, <i>m</i>)	73.8
3.57 (1H, <i>m</i>)	68.1	3.81 (1H, <i>m</i>)	69.0
3.34 (1H, <i>m</i>) 3.66 (1H, <i>m</i>)	64.3	3.52 (1H, <i>m</i>) 3.87 (1H, <i>m</i>)	64.6
5.06 (1H, <i>brs</i>)	99.9	5.18 (1H, <i>brs</i>)	101.7
3.67(1H, <i>m</i>)	70.3	3.95 (1H, <i>m</i>)	71.9
3.46 (1H, <i>m</i>)	70.4	3.76 (1H, <i>m</i>)	72.0
3.18 (1H, <i>m</i>)	72.0	3.43 (1H, <i>m</i>)	73.6
3.69 (1H, <i>m</i>)	67.8	3.90 (1H, <i>m</i>)	70.1
1.07 (3H, <i>s</i>)	17.7	1.29 (3H, <i>d</i> , 6.5)	17.8

4.2.2. Hợp chất eurycoma trong cây bá bệnh

Biện luận hợp chất mục tiêu đã phân lập:

Hợp chất eurycoma cô lập từ phân đoạn CC với các đặc điểm như sau:

Trạng thái: Màu trắng, tan tốt trong methanol. (Hình 4.10)

Phổ ESI-MS: Phổ MS cho mũi ion phân tử giả tại m/z 409.1497 $[M+H]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{20}H_{24}O_9$ (408.1420 gam/mol)

Phổ 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) (phụ lục 2.1.)

Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) (phụ lục 2.2.)



Hình 4. 10: Eurycomanone kết tinh

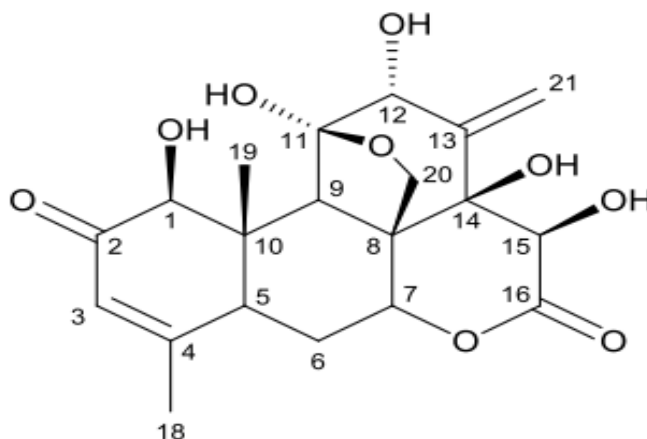


Hình 4. 11: TLC chất eurycomanone sạch

4.2.2.1. Phân tích cấu trúc hợp chất *Eurycoma* bằng HRMS

Chất sau khi kết tinh đo HRMS và thấy có m/z 409.1497 dự đoán là *Eurycoma* là *Eurycomanone*.

4.2.2.2. Biện luận cấu trúc của hợp chất *Eurycoma* bằng phổ NMR



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất *Eurycoma* (*Eurycomanone*)

Hợp chất *Eurycoma* ((500 MHz, DMSO- d_6): ^1H - NMR: 8.19 (1H, s), 7.03 (1H, d, 3Hz), 5.99 (1H, q, 1.8, 1.2, 2.7 Hz), 5.65 (1H, s), 5.37 (1H, d, 1.8 Hz), 5.20 (3H, m), 4.58 (2H, m), 4.34 (1H, d, 3Hz), 4.07 (1H, q, 15.6, 10.5Hz), 3.72 (1H, d, 3.6 Hz), 3.67 (1H, d, 8.4Hz), 3.53 (1H, d, 9Hz), 3.303, 3.174, 3.165, 3.159, 3.02 (1H, d, 12.6Hz), 2.506, 2.503, 2.500, 2.497, 2.494, 2.11-2.09 (1H, td, 6, 3, 5.4, 2.7 Hz), 1.97-1.93 (4H, d m, 3Hz), 1.052 (3H, s)

^{13}C NMR: 197.05, 172.29, 162.55, 146.05, 124.76, 118.64, 107.76, 82.34, 79.09, 77.93, 74.61, 70.40, 66.05, 51.13, 48.53, 46.04, 44.73, 40.68, 39.99, 39.83, 39.66, 39.49, 39.33, 39.16, 38.99, 24.57, 22.27, 9.49.

So sánh NMR của hợp chất *Eurycoma* và *Eurycomanone*

Tài liệu tham khảo: Eurycomanone- ^1H - NMR (500 MHz, pyridine- d_5 , rt): 1.63 (3H, s), 1.80 (3H, br s), 2.03 (1H, ddd, $J = 2.4, 13.3, 14.4$ Hz), 2.33 (1H, td, $J = 2.4, 14.4$ Hz), 3.26 (1H, br d, $J = 12.6$ Hz), 3.82 (1H, s), 4.02 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.53 (1H, s), 4.55 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.81 (1H, s), 5.26 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 5.66 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 5.67 (1H, s), 6.12 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 6.16 (1H, q, $J = 1.3$ Hz), 7.79 (1H, br s, OH), 7.85 (1H, s, OH), 8.03 (1H, br s, OH), 9.63 (1H, br s, OH), 9.78 (1H, br s, OH) ppm; ^{13}C NMR (125 MHz, pyridine- d_5 , rt): 10.77, 22.79, 26.07, 42.58, 46.30, 48.10, 52.98, 68.05, 72.17, 76.24, 79.77, 81.36, 84.89, 109.95, 119.76, 126.44, 148.36, 162.94, 174.25, 197.85 ppm. [46]

4.2.3. Hợp chất crina trong cây trinh nữ hoàng cung

Biện luận hợp chất mục tiêu đã phân lập :

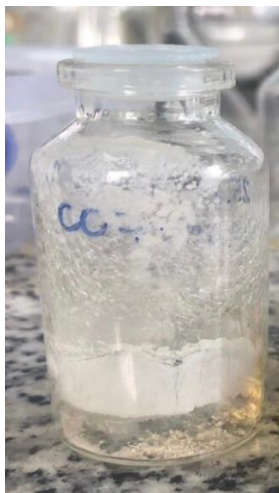
Hợp chất crina cô lập từ phân đoạn CC với các đặc điểm như sau:

Trạng thái: Chất bột, màu trắng, tan tốt trong methanol. (Hình 4.12)

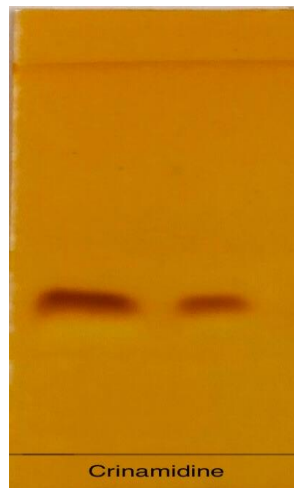
Phổ ESI-MS: Phổ MS cho mũi ion phân tử giả tại m/z 318.1342 $[\text{M}+\text{H}]^+$ tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ (317.1263 gam/mol)

Phổ ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) (phụ lục 3.1.)

Phổ ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) (phụ lục 3.2.)



Hình 4. 12: Tinh thể crinamide

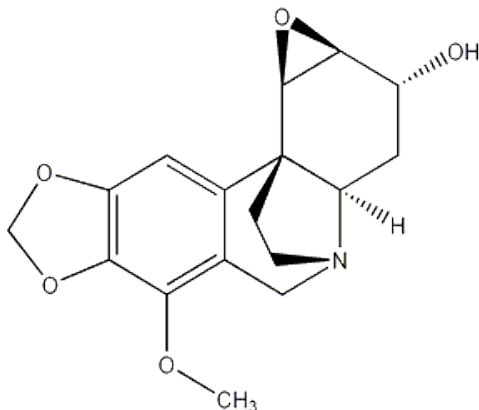


Hình 4. 13: TLC chất crinamide sạch

4.2.3.1. Phân tích cấu trúc hợp chất *Crina* bằng HRMS

Trước khi sắc ký trung áp phân đoạn CC đo HRMS và thấy có m/z 318.1342 dự đoán là có *Crinamidine*. Sau khi sắc ký trung áp phân đoạn CC, được phân đoạn CC7, đo HRMS thấy vẫn có m/z 318.1342. Thấy có hiện tượng chất kết tinh, tiếp tục cho kết tinh và rửa chất kiểm tra nhanh bằng TLC cho thấy 1 vết, đo HRMS được 1 peak chính là 318.1342 giúp dự đoán cấu trúc của hợp chất *Crina* là *Crinamidine*.

4.2.3.1. Biện luận cấu trúc của hợp chất *Crina* bằng phổ NMR



Hình 4. 14: Cấu trúc hóa học của hợp chất *Crina* (*Crinamidine*)

Hợp chất <i>Eurycoma</i> (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)		<i>Crinamidine</i> ^[47] ((500 MHz ,pyridine- <i>d</i> ₅)	
δ_H, J (Hz)	δ_C (ppm)	δ_H, J (Hz)	δ_C (ppm)
3.72 (1H, d, 3.6 Hz)	52.8	3.75 (1H, d, 4.0 Hz)	53.8 d
3.31(1H, d, 12.6Hz)	56.3	3.26 (1H, ddd, 4.0, 2.5, 1.5 Hz)	56.4 d
4.58 (1H, ddd, 3.5, 3.0, 2.5 Hz))	63.7	4.48 (1H, ddd, 3.0, 2.5, 2.0 Hz)	65.5 d
1.97 (1H, ddd, 12.5, 11.5, 2.0 Hz), 1.052 (1H, dddd, 13.5, 5.5, 2.0, 1.5 Hz)	29.1	1.56 (1H, ddd, 13.5, 12.5, 3.0 Hz) 1.61 (1H, dddd, 13.5, 5.5, 2.0, 1.5 Hz)	29.7 t
3.17((1H, dd, 12.5, 5.5 Hz)	60.7	3.17 (1H, dd, 12.5, 5.5 Hz)	61.0 d

3.58 (1H, d, 16.8 Hz)	58.2	3.71 (1H, d, 17.5 Hz)	58.6 t
4.02 (1H, d, 17.4 Hz)	118.0	4.19 (1H, d, 17.5 Hz)	117.6 s
-	140.4	-	141.1 s
-	133.2	-	133.4 s
-	147.6	-	148.1 s
6.92 (1H, s)	97.1	6.61 (1H, s)	96.4 d
-	139.4	-	137.8 s
-	41.1	-	41.6 s
2.21 (1H, ddd, 11.5, 8.0, 5.0 Hz) 1.82 (1H, ddd, 12.5, 10.5, 5.5 Hz)	39.3	2.0 (1H, ddd, 12.5, 9.0, 5.0 Hz, H-11endo) 2.37 (1H, ddd, 12.5, 10.5, 5.5 Hz, H-11exo)	39.2 t
2.66 (1H, ddd, 13.5, 9.0, 6.5 Hz) 2.98 (1H, ddd, 13.5, 10.5, 5.0 Hz)	51.9	2.77 (1H, ddd, 12.5, 9.0, 5.5 Hz, H-12endo) 3.17 (1H, ddd, 12.5, 10.5, 5.0 Hz, H-12exo)	52.5 t
5.91-5.93 (2H, dd, 10.8 Hz, 1.2 Hz)	100.5	5.85-5.86 (2H, 2d, 1.5 Hz)	100.7 t
-	-	-	-
3.89 (3H, s)	58.8	3.95 (3H, s)	59.1 q

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Lập danh sách thành phần hóa học theo thư viện trong chi *Hedera* gồm **88 hợp chất (phụ lục 4.1)** với công thức phân tử, tên gọi, m/z của ion.

Phân tích các mảnh phổ bằng phương pháp dereplication để xác nhận cấu trúc phù hợp với chất đã công bố, và lập danh sách các chất có trong cây thường xuân đã được công bố gồm **10 hợp chất** (bảng 4.1) trong đó có hợp chất mục tiêu α -Hederin.

Lập danh sách thành phần hóa học theo thư viện trong chi *Eurycoma* gồm **106 hợp chất (phụ lục 4.2)** với công thức phân tử, tên gọi, m/z của ion.

Phân tích các mảnh phổ bằng phương pháp dereplication để xác nhận cấu trúc phù hợp với chất đã công bố, và lập danh sách các chất có trong cây Bá bệnh đã được công bố gồm **11 hợp chất** (bảng 4.2) trong đó có hợp chất mục tiêu Eurycomanone

Lập danh sách thành phần hóa học theo thư viện trong chi *Crinum* gồm **168 hợp chất (phụ lục 4.3)** với công thức phân tử, tên gọi, m/z của ion.

Phân tích các mảnh phổ bằng phương pháp dereplication để xác nhận cấu trúc phù hợp với chất đã công bố, và lập danh sách các chất có trong cây Trinh nữ hoàng cung đã được công bố gồm **5 hợp chất** (bảng 4.3) trong đó có hợp chất mục tiêu Crinamidine.

Từ các dược liệu đã nghiên cứu thành phần hóa học, phân lập và tinh chế đã trình bày ở các mục trên như Thường xuân (*Hedera helix* L.), Bá bệnh (*Eurycoma longifolia*), Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium*). Mẫu sau khi thu hái được bảo quản khô ráo. Bắt đầu chiết xuất một lượng nhỏ để phân tích bằng HRMS xác định hợp chất mục tiêu, sau khi có kết quả tiếp tục chiết lượng lớn nguyên liệu để tạo cao giàu hoạt tính bằng các phương pháp theo từng loại dược liệu. Cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất thấp, lần lượt thu được khối lượng cao Thường xuân (590g), Bá bệnh (400g), Trinh nữ hoàng cung (70g). Song song với việc nghiên cứu các giá trị khối phổ, là tiến hành phân lập các hợp chất và xác định thành phần hóa học có trong các dược liệu có cấu tạo giống với dự đoán đã phân tích.

Từ cao methanol của Thường xuân (500.0 g) tiến hành sắc kí cột, sắc kí lớp mỏng đã phân lập được phân đoạn MA (15.0 g), MB (158.0 g), MC (210.0 g). Từ phân đoạn MB (158.0 gam) thấy chất có kết tinh dạng bột trắng cho kết tinh lại trong dung môi và rửa kết tinh, sắc kí lớp mỏng thấy 1 vết và đo HRMS xác định được là hợp chất **Hederin (α -Hederin)** (2.16 g)

Từ cao methanol của Bá bệnh (400.0 g), chiết lỏng lỏng với CHCl_3 được khối lượng 80g. Tiến hành sắc kí trung áp, sắc kí lớp mỏng đã phân lập được phân đoạn CA

(10.0 g), CB (9.8 g), CC (2.2 g), CD (19.3g), CE (17.0g). Từ phân đoạn CC (2.2 gam) sắc ký trung áp ra được phân đoạn CC6 thấy chất có kết tinh dạng bông trắng ngà, cho kết tinh lại trong dung môi và rửa kết tinh, sắc kí lớp mỏng thấy 1 vết và đo HRMS xác định được là hợp chất **Eurycoma (Eurycomanone)** (500mg)

Từ cao CHCl_3 của Trinh nữ hoàng cung (70.0 g). Tiến hành sắc ký trung áp, sắc kí lớp mỏng đã phân lập được phân đoạn CA (4.0 g), CB (10.0 g), CC (5.0g), CD (3.0g), CE (4.0g), CF (7g). Từ phân đoạn CC (5.0 gam) sắc ký trung áp ra được phân đoạn CC7 (1.3g) thấy chất có kết tinh dạng hình kim trắng, cho kết tinh lại trong dung môi và rửa kết tinh, sắc kí lớp mỏng thấy 1 vết và đo HRMS xác định được là hợp chất **Crina (Crinamidine)** (99mg).

Ba hợp chất **α -hederin (Hederin)**, **eurycomanone (Eurycoma)**, **crinamidine (Crina)** có cấu trúc phù hợp với bảng phân tích thành phần hóa học bằng HRMS và tuy đã được biết ba hợp chất này có hoạt tính sinh học cao, mang lại nhiều ý nghĩa trong y học và đặc biệt là các hợp chất chính có trong dược liệu và là chất đại diện trong cây nên tôi đã định hướng tách chiết và phân lập ba hợp chất này.

Cấu trúc dự đoán được bằng HRMS đã xác định được hầu hết các chất mục tiêu, nhưng để xác định lại một cách chính xác nhất cần dùng NMR. Vì vậy, để xác định chính xác cấu trúc sử dụng thêm các phương pháp khác như NMR.

KIẾN NGHỊ

Trong phạm vi của luận văn này, tôi chỉ phân lập được 3 hợp chất **α -hederin (Hederin)**, **eurycomanone (Eurycoma)**, **crinamidine (Crina)** trong 3 dược liệu Thường xuân, Bá bệnh, Trinh nữ hoàng cung, nhằm để chứng minh cho việc dựa vào khối phổ có thể định hướng được việc phân lập và tách các hợp chất đã biết, cũng như tránh sự lặp lại và tìm ra các hợp chất khác tiềm năng.

Qua kết quả của luận văn em thấy phương pháp HRMS hiệu quả, nhanh chóng và chính xác nên phương pháp này có thể tiếp tục được áp dụng để khảo sát và phân lập các hợp chất đã biết, chất đại diện trong các dược liệu quý của Việt Nam ta một cách rộng rãi và tối ưu hơn.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ

Research Article

UHPLC-Q-TOF-MS/MS Dereplication to Identify Chemical Constituents of *Hedera helix* Leaves in Vietnam

Hong Ngoc Pham,¹ Chieu An Tran,¹ Thi Diep Trinh,² Ngoc Lan Nguyen Thi,³
Huynh Nhu Tran Phan,¹ Van Nhan Le,¹ Ngoc Hung Le,¹ and Van Trung Phung¹ 

¹Center for Research and Technology Transfer, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi 100000, Vietnam

²Da Lat University, Dalat 66000, Lam Dong, Vietnam

³Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam

Correspondence should be addressed to Van Trung Phung; trung_cnhh@yahoo.com

Received 18 January 2022; Revised 1 June 2022; Accepted 30 June 2022; Published 8 August 2022

Academic Editor: Mohamed Abdel-Rehim

Copyright © 2022 Hong Ngoc Pham et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Hedera helix has been reported to contain a wide range of metabolites and produce many pharmacological effects. This research demonstrates the determination and evaluation of the phytochemical profiling of *H. helix* grown in central Vietnam. Methanolic extract of ivy had been analyzed by ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS/MS). MS, and MS/MS experiments were manipulated using both negative and positive ionization modes to provide molecular mass information and production spectra for the structural elucidation of compounds. A total of 46 compounds including 24 triterpene saponins and other compounds were successfully identified of which four established saponin structures have been reported for the first time. This study has provided a base for building a quality control of the raw materials according to the profile of triterpene saponins and assessment of pharmaceutical ingredients of *H. helix* planted in Vietnam.

1. Introduction

Hedera helix L., the common ivy, is one of the 15 species of the genus *Hedera*, Araliaceae family. As an evergreen dioecious woody liana [1], ivy has an intense vitality, even in the cold winter. The common ivy is a popular ornamental plant in many countries. The plant grows naturally in Western, Central, and Southern Europe, North America, and Asia [2]. *Hedera helix* is applied to treat overactive thyroid (hyperthyroidism), rheumatic diseases, and respiratory tract inflammation [2]. In Vietnam, ivy is grown in areas with cool climates such as Da Lat, Moc Chau, and Sapa and is mainly used for decoration. Therefore, it has been little published research on its chemical composition and pharmacological effects. Therefore, the identification of chemical constituents is significant in the phytochemistry study of *H. helix* grown in Vietnam.

Phytochemical compounds were detected in ivy leaves including flavonoids, coumarins, phenolic acids, sterols, alkaloids, anthocyanins [3–5], and, in particular, triterpene

saponins [1]. Some of the triterpene saponins and derivatives isolated from the ivy plant were as follows: helixoside A, helixoside B, 3-O- β -glucosyl hederagenin, 3-O- β -glucosyl-(1 \rightarrow 2)- β -glucosyl oleanolic acid, 3-O- β -glucosyl-(1 \rightarrow 2)- β -glucosyl hederagenin, 3-O- β -glucosyl 28-O- β -glucosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucosyl hederagenin, hederagenin, oleanolic acid, bayogenin, α -hederin, hederagenin 3-O- β -glucoside, and hederasaponins B, C, D, E, F, G, H, and I [6].

A triterpene saponin's chemical structure is composed of an aglycone and sugar chain(s). In most cases, a series of saponins can be found in the same plant, with similar skeleton but slightly varied sugar chains. Due to the strong polarity and structural similarities, isolating a single saponin compound is frequently challenging. Furthermore, even with high-resolution nuclear magnetic resonance (NMR), structural elucidation of saponin is difficult, especially when the sugar chain contains more than three sugar residues [7]. As a result, a new method for quickly identifying and characterizing existing and novel structures is required.

UHPLC-Q-TOF-MS/MS has been an increasingly powerful and important technique for elucidating chemical structures [8]. UHPLC-QTOF-MS/MS is capable of accurately measuring molecular mass by giving the elemental composition of obtained ions. The technique has been widely used in analyzing complex samples due to its high resolution and sensitivity. In some previously published research, UHPLC-QTOF-MS/MS was applied to characterize chemical constituents and metabolites in medicinal herbs, and obtained considerable results. Small metabolites profiling of the *Eurycoma longifolia* aqueous extracts were performed using LC-MS/MS [9]. An integrated approach using UHPLC-QTOF-MS/MS was developed for the systematic analysis of 46 physalins from the crude extracts of *Physalis alkekengi* calyx [10]. Sun et al. identified 31 saponins in *Shizhu ginseng* applying UPLC-MS/MS [11]. UPLC-Q-TOF-MS/MS-guided dereplication of *Pulsatilla chinensis* was conducted, which resulted in the identification of 22 triterpenoid saponins (11 pairs of isomers) with four aglycone skeletons [12].

In addition, ivy leaves extracts were noted to exhibit antimicrobial, anthelmintic, antimutagenic, antitumor, anti-leishmanial, antithrombin, antioxidant, antispasmodic, and anti-inflammatory activities [13–21]. Triterpene saponins are the bioactive compounds responsible for the medicinal use of ivy [1]. Hederagenin has potential antitumor activity [22]. Hederasaponin B has antiviral activity against Enterovirus 71 subgenotypes C3 and C4a, via inhibiting the viral VP2 protein expression and blocking viral capsid protein synthesis [23]. α -hederin has a potent inhibitory effect on breast cancer cell development and promotes apoptosis in these cells [24]. Hederacoside C was reported to have anti-inflammatory effect against induced acute lung inflammation by *Staphylococcus aureus* both in vivo and in vitro [25].

To the best of our knowledge, the UHPLC-Q-TOF-MS/MS study of phytochemicals in the *H. helix* leaves extract has not been announced. The present study aims to characterize the chemical constituents, especially triterpene saponins presented in the ivy leaves planted in Vietnam. The results of this work can assist in clarifying the metabolic profile of *H. helix*. Acceleration of finding the new compounds and assessment of the potential ingredients from this valuable species are concerned for pharmaceutical application.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals and Reagents. Deionized water for HPLC and HPLC grade acetonitrile, methanol, and analytical grade formic acid ($\geq 98\%$) were obtained from Scharlau (Barcelona, Spain).

Two reference standards including α -hederin and hederacoside C were obtained from Sigma-Aldrich Chemical Co. (Singapore). The purity of each compound was no less than 98%. The standards were stored at 4°C before being used for analysis.

2.2. Sample Preparation. *Hedera helix* was collected from Da Lat province, Vietnam, and identified by botanist Tran Huu

Dang MSc, Southern Institute of Ecology, Vietnam Academy of Science and Technology. A voucher specimen (Code: NaPro.33.1019) was deposited in the Center for Research and Technology Transfer, Vietnam Academy of Science and Technology. The leaves were gently washed, allowed to air dry, and cut into fine pieces. 100.0 mg of leaves pieces was accurately weighed into a tube with a cover, and 2.0 mL of methanol-water (8:2, v/v) solvent was added. The sample was ultrasonicated for 10 min and then heated to 50°C for 5 min. After being centrifuged, the extract was pipetted to a 10.0 mL volumetric flask. The residue was continued on the extraction step. After five times of extraction, the solution was exactly scaled up to 10.0 mL using the solvent solution. The sample was filtrated through a 0.45- μ m filter membrane before injecting it for UHPLC-Q-TOF-MS/MS analysis. Standard solutions of α -hederin and hederacoside C were prepared in methanol at a concentration of 1000 (ppm).

2.3. UHPLC-Q-TOF Analysis. Sample analysis was performed on an ExionLC™ UHPLC system (AB SCIEX, USA) consisting of an ExionLC degasser, AC pumps, AC auto-sampler, controller, and AC column oven. Samples were analyzed on a Hypersil GOLD C18 column (150 \times 2.1 mm, 3 μ) (Thermo Fisher Scientific, USA). The mobile phase, water containing 0.1% formic acid (A) and acetonitrile containing 0.1% formic acid (B), was run at a flow rate of 0.4 mL/min at 25°C. The gradient programming was as follows: 0–4 min, 2–20% B; 4–30 min, 20–68% B; 30–32 min, 68–98% B; 32–40 min, 98% B. Sample injection volume was 5.0 μ L.

An AB SCIEX X500R QTOF mass spectrometer (AB SCIEX, USA) with a Turbo V ion source was coupled with the UHPLC system. Mass data were acquired in both negative and positive electrospray ionization (ESI) modes. The MS conditions were set as follows: the ion source temperature, 500°C; curtain gas, 30 psi; nebulizer gas (GS 1), 45 psi; heater gas (GS 2), 45 psi. For the TOF MS scan, the mass range was set at m/z 70–2000. For the TOF MS/MS scan, the mass range was set at m/z 50–1500. For the negative mode, ion spray voltage was set at -4.5 kV, the declustering potential (DP) was -70 V, the collision energy (CE) was performed at -20 eV, and the collision energy spread (CES) was 10 eV. For the positive mode, the ion spray voltage was set at 5.5 kV, the DP was 80 V, the CE was 20 eV, and the CES was 10 eV.

All the obtained data were processed by SCIEX OS software version 1.2.0.4122 (AB SCIEX, USA). The total ion chromatograms (TICs) of the *Hedera helix* extract in both positive and negative modes are shown in Figure 1.

3. Results and Discussion

3.1. Triterpene Saponins

3.1.1. Aglycones. *Hedera helix* aglycones include hederagenin and oleanolic acid. A relatively abundant series of dehydrated ions and/or a small aglycone ion can readily distinguish the parent skeleton for the aglycone. In the positive mode, the diagnostic fragment ions of these two aglycones can be easily detected.

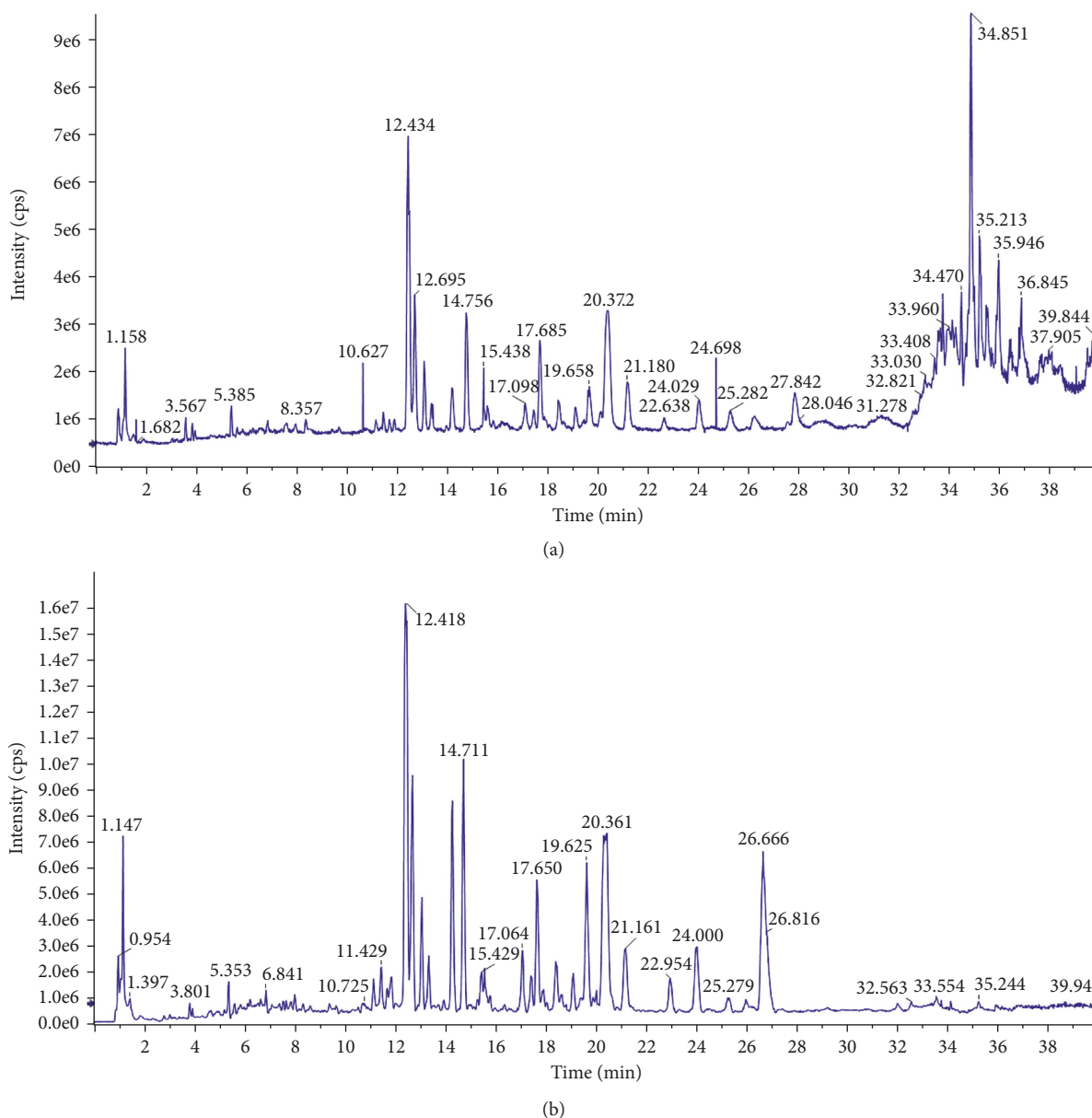


FIGURE 1: TIC of *Hedera helix* in (a) positive and (b) negative modes.

For the hederagenin-type aglycone, the precursor ion $[M+H]^+$ at m/z 473.3631 could produce two specific fragment ions at m/z 455.3525 and 437.3419 by the elimination of H_2O . In many cases, the product ions at m/z 427.3576, 409.3470, and 391.3365 were observed by the losses of $HCOOH$ from the three precursor ions mentioned earlier.

For the oleanolic-type aglycone, the precursor ion $[M+H]^+$ at m/z 457.3682 and the characteristic fragment ions at m/z 439.3576 by the neutral loss of H_2O were observed. In addition, the product ions at m/z 411.3629 and 393.3522 were presented by the losses of $HCOOH$ from the two predominant ions.

The chemical structures and fragmentation pathways of the hederagenin and oleanolic acid aglycones are illustrated in Figures 2 and 3, respectively.

3.1.2. Sugar Chains. The sugar chains of triterpenoid saponins generally substitute at C-3 and/or C-28 position(s) of an aglycone. The common monosaccharide moieties of the sugar chains were glucopyranosyl (Glc), rhamnopyranosyl (Rha), arabinopyranosyl (Ara), and glucuronopyranosyl (Glu).

The composition of sugar chains can be inferred in the positive ion mode using the characteristic fragment ions, specifically as follows: the loss of Glc is 162 Da, Rha is 146 Da, Ara is 132 Da, and Glu is 176 Da. The sugar moieties at C-3 and C-28 were eliminated successively from C-3 to C-28 and from end to inner [12].

In the negative ion mode, the typical solvent adducts ion $[M+HCOO]^-$ and deprotonated ion $[M-H]^-$ can be usually observed, which provides the molecular mass and chemical formula of a compound. Typically, the sugar chain at C-28

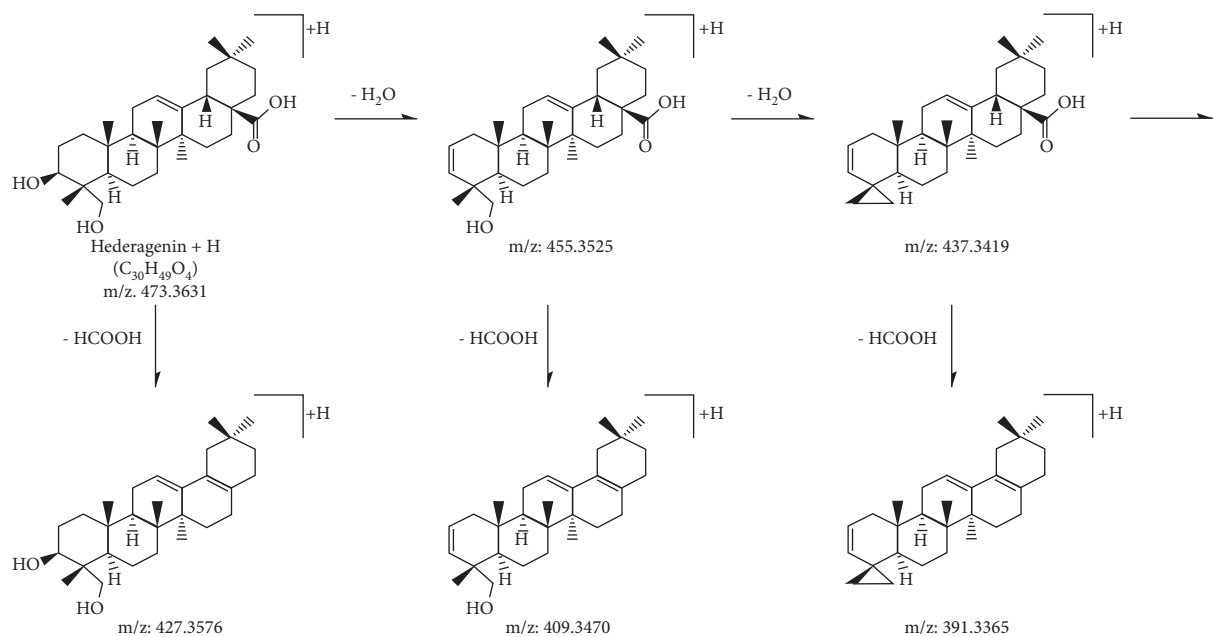


FIGURE 2: MS/MS fragmentation pathway of hederagenin aglycone in positive mode.

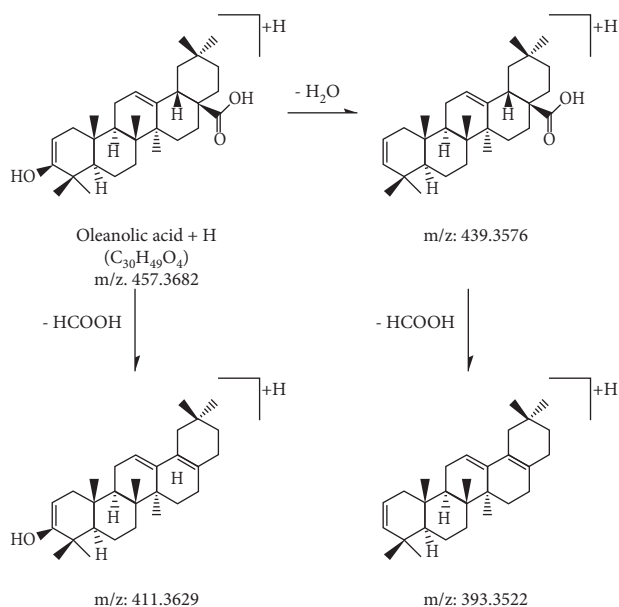


FIGURE 3: MS/MS fragmentation pathway of oleanolic acid aglycone in positive mode.

tends to be completely eliminated; then, the positions and composition of oligosaccharides chains can be readily differentiated and followed by an abundant fragment ion as a base peak [12].

3.2. Characterization of Authentic Compounds. To clarify MS fragmentation patterns of triterpene saponins, two authentic compounds including α -hederin and hederacoside C were studied by UHPLC-Q-TOF-MS/MS.

α -hederin ($T_R = 20.41$) showed a deprotonated molecular ion $[M-H]^-$ at m/z 749.4473 in the negative mode and a

pseudomolecular ion $[M+H]^+$ at m/z 751.4633 in the positive mode.

At $T_R = 12.49$, hederacoside C yielded $[M+H]^+$ ion at m/z 1221.6313 and $[M-H]^-$ ion at m/z 1219.6110 in the positive and negative modes, respectively.

The major fragment ions observed in the mass spectra of the two triterpene saponins are summarized in Table 1. The typical MS and MS/MS spectra of α -hederin and hederacoside C are shown in Figure 4.

3.3. Structural Characterization of Triterpene Saponins. Based on the earlier strategy, 24 triterpene saponins were tentatively identified and characterized from the *H. helix* extract. The chemical structures are illustrated in Figure 5, and the MS data are listed in Table 2.

At $T_R = 11.11$, in the negative mode, compound 14 yielded an $[M+HCOO]^-$ ion at m/z 1295.6279 and provided fragment ions at m/z 779 and 469 corresponding to the loss of 2 Glc and 1 Rha at C-28, and a Rha-Glc sugar chain at C-3 of the hederagenin aglycone. Hence, compound 14 was hederagenin 3-O- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside], 28-O- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester.

Compound 16 ($T_R = 11.31$ min) yielded an $[M+HCOO]^-$ ion at m/z 1149.5707 in the negative mode, primarily fragmented into ions at m/z 633 and 469, indicating hederagenin aglycone lost a Rha-Glc-Glc sugar chain at C-28, and a Glc at C-3. Thus, compound 16 was conditionally characterized as hederagenin 3-O- β -D-glucopyranoside, 28-O- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester.

In the positive mode, the MS/MS spectra of compounds 17 ($T_R = 12.43$ min) and 20 ($T_R = 13.05$ min) exhibited identical pseudomolecular ions $[M+H]^+$ at m/z 1075.5687 and 1075.5680, respectively, and produced identical

TABLE 1: The MS/MS data of standard compounds.

T_R (min)	Formula	Name	[M-H] ⁻ found at mass	[M-H] ⁻ error (ppm)	MS/MS fragment ions in negative mode	[M+H] ⁺ found at mass	[M+H] ⁺ error (ppm)	MS/MS fragment ions in positive mode
12.49	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	Hederacoside C	1219.6110	-0.40	749.4487	1221.6313	3.68	1075.5653 943.5211 797.4660 635.4156 473.3614 455.3492 437.3389 427.3564 409.3441 391.3317
20.41	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	α-hederin	749.4473	-0.16	603.3907 471.3473	751.4634	0.13	605.4065 473.3609 455.3494 437.338 427.3567 409.3457 391.3351

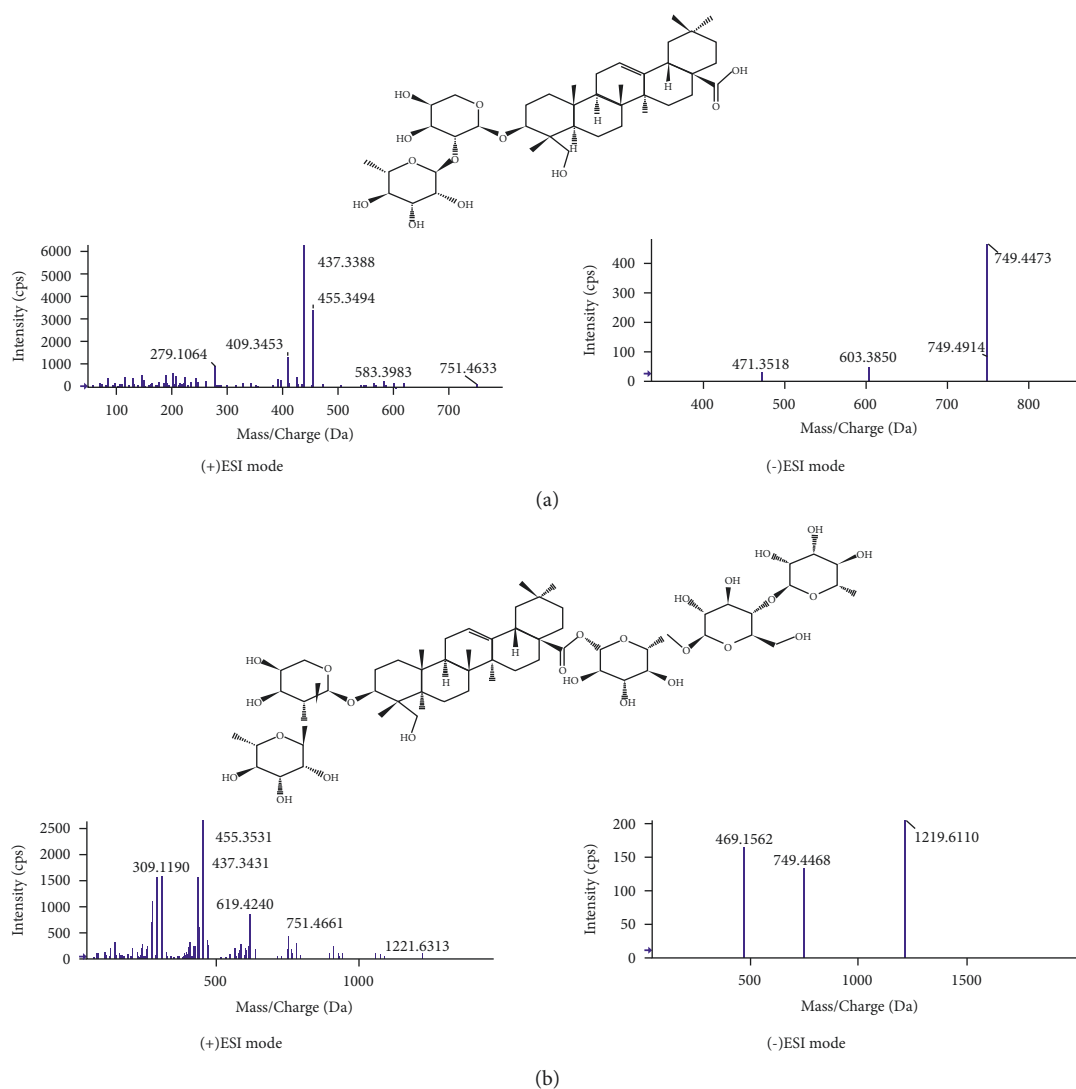
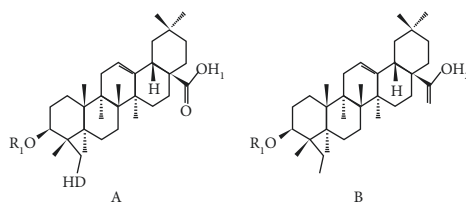


FIGURE 4: Typical MS and MS/MS spectra in positive and negative electrospray ionization modes of (a) α-hederin and (b) hederacoside C.



Peal No.	Name	Aglycones	R1	R2
14	Hederagenin 3-O-[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Rha-Glc	Rha-Glc-Glc-
15	Hederagenin 3-O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Glc-Ara-	Rha-Glc-Glc-
16	Hederagenin 3-O-[β -D-Glucopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Glc	Rha-Glc-Glc-
17-1	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl] ester	A	Ara-	Rha-Glc-Glc-
17-2	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl] ester			Glc-Rha-Glc-
18	Hederagenin C	A	Rha-Ara-	Rha-Glc-Glc-
19	Hederagenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Rha-Ara-	Glc-Glc-
20	Hederagenin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside], 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Ara-Rha	Glc-Glc-
21	Hederagenin 3-O-[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-6-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	A	Rha-Ara-	Rh-acetyl1 Glc-Glc-
22	Hederagenin B	B	Rha-Ara-	Rha-Glc-Glc-
23	Hederagenin 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside]	A	H-	Rha-Glc-Glc-
24	Hederacolehiside A	A	Rha-Ara-Glc	H-
25	Hederagenin 28-O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]	A	H-	Glc-Glc-
26	Hederagenin 3-O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	A	Glc-Ara-	H-
28-1	Hederagenin 3-O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside]	A	Glc-Glc-Rha-Rha-	H-
28-2	Hederagenin 3-O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside]			
29	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	A	Rha-Glc-Glc-Rha-Ara-	H-
30	Hederagenin 28-O- β -D-glucopyranoside	A	H-	Glc-
	Hederaside B		Glc-	H-
31	Hederagenin 3-O-[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]	A	Rha-Glc-	H-
32	Hederagenin 28-O- β -D-glucuronopyranoside	A	H-	Glu-
	Hederagenin 3-O- β -D-glucuronopyranoside		Glu-	H-
33	α -hederin	A	Rha-Ara	H-
34	Hederagenin 28-O- α -L-Rhamnopyranoside	A	H-	Rha-
	Hederagenin 3-O- α -L-Rhamnopyranoside		Rha-	H-
36	Hederagenin 28-O- α -L-arabinopyranoside	A	H-	Ara-
	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside		Ara-	H-
37	Oleanolic acid 28-O- β -D-glucuronopyranoside	B	H-	Glu-
	Oleanolic acid 3-O- β -D-glucuronopyranoside		Glu-	H-
38	Oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranoside	B	H-	Glc-
	Oleanolic acid 3-O- β -D-glucopyranoside (Hederaside A2)		Glc-	H-
40	β -hederin	B	Rha-Ara-	H-

FIGURE 5: Chemical structures of identified triterpene saponins in *H. helix*.

aglycone ions at m/z 391, 409, 437, 455, and 473, which corresponded to hederagenin. The fragmentation of compound 17 primarily yielded daughter ions at m/z 781, 619, and 473 because of the successive loss of Ara-Glc, Glc, and Rha. In addition, compound 17 produced a parent ion $[M+HCOO]^-$ at m/z 1119.5508 in the negative mode, and fragmented into 603 and 469, indicating that the C-28 position was substituted with 2 Glc and 1 Rha sugar chain. Consequently, compound 17 was characterized as hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl] ester or hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-rhamnopyranosyl] ester. These were explored as two new structures, and the MS/MS fragmentation pathways of compound 17 are illustrated in Figures 6 and 7. However, fragmentation of $[M+H]^+$ from compound 20 formed daughter ions at m/z 943, 797, 635, and 473, which corresponded to the sequential elimination of Ara, Rha, and 2 Glc, respectively. In the negative mode, $[M-H]^-$ ion at m/z 1073.5454 was fragmented to 749, indicating that the C-28 position was substituted with the 2 Glc sugar chain. Hence,

yanosyl] ester or hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-rhamnopyranosyl] ester. These were explored as two new structures, and the MS/MS fragmentation pathways of compound 17 are illustrated in Figures 6 and 7. However, fragmentation of $[M+H]^+$ from compound 20 formed daughter ions at m/z 943, 797, 635, and 473, which corresponded to the sequential elimination of Ara, Rha, and 2 Glc, respectively. In the negative mode, $[M-H]^-$ ion at m/z 1073.5454 was fragmented to 749, indicating that the C-28 position was substituted with the 2 Glc sugar chain. Hence,

TABLE 2: Chemical constituents of *Hedera helix* characterized by UHPLC-Q-TOF-MS/MS.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
1	5.20	$C_7H_{12}O_6$	(-)-Quinic acid	-	-2.43	191.0556	191.0551	173.0467 [M-H- H_2O] ⁻
2	5.21	$C_{16}H_{18}O_9$	Chlorogenic acid	-	2.38	353.0873	353.0881	191.0548 [M-H- $C_9H_6O_3$] ⁻ 179.0336 [M-H- $C_7H_{10}O_5$] ⁻ 135.0443 [M-H- $C_8H_{10}O_7$] ⁻
3	6.46	$C_{33}H_{40}O_{19}$	Kaempferol 3-O-rutinoside-7-O-rhamnoside	-	-4.82	739.2086	739.2050	593.1431 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻ 285.0409 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{13}$] ⁻
4	6.83	$C_{27}H_{30}O_{16}$	Rutin	+	1.78	611.1612	611.1623	465.1035 [M+H- $C_6H_{10}O_4$] ⁺ 303.0501 [M+H- $C_{12}H_{20}O_9$] ⁺ 147.0661 [M+H- $C_{18}H_{24}O_{14}$] ⁺ 129.0551 [M+H- $C_{18}H_{26}O_{15}$] ⁺
5	6.84	$C_{15}H_{10}O_7$	Quercetin	+	-0.25	303.0505	303.0504	257.0463 [M+H- CH_2O_2] ⁺ 229.0507 [M+H- $C_2H_2O_3$] ⁺ 201.0594 [M+H- $C_3H_2O_4$] ⁺ 165.0200 [M+H- $C_7H_6O_3$] ⁺ 153.0201 [M+H- $C_8H_6O_3$] ⁺ 137.0228 [M+H- $C_8H_6O_4$] ⁺
6	7.20	$C_{21}H_{20}O_{12}$	Isoquercitrin	-	4.42	463.0877	463.0897	301.0332 [M-H- $C_6H_{10}O_5$] ⁻ 271.0227 [M-H- $C_7H_{12}O_6$] ⁻ 255.0276 [M-H- $C_7H_{12}O_7$] ⁻ 243.0286 [M-H- $C_8H_{12}O_7$] ⁻ 151.0036 [M-H- $C_{14}H_{16}O_8$] ⁻
7	7.50	$C_{27}H_{30}O_{15}$	Kaempferol 3-O-rutinoside	+	1.18	595.1663	595.1670	449.1105 [M+H- $C_6H_{10}O_4$] ⁺ 287.0559 [M+H- $C_{12}H_{20}O_9$] ⁺ 147.0660 [M+H- $C_{18}H_{24}O_{13}$] ⁺ 129.0554 [M+H- $C_{17}H_{22}O_{15}$] ⁺
8	7.51	$C_{15}H_{10}O_6$	Kaempferol	+	0.47	287.0556	287.0557	165.0204 [M+H- $C_7H_6O_2$] ⁺ 153.0197 [M+H- $C_8H_6O_2$] ⁺ 121.0273 [M+H- $C_8H_6O_4$] ⁺

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
9	7.55	$C_{27}H_{30}O_{15}$	Kaempferol 7-O-neohesperidoside	-	1.43	593.1507	593.1515	285.0375 [M-H- $C_{12}H_{20}O_9$] ⁻ 151.0040 [M-H- $C_{20}H_{26}O_{11}$] ⁻
10	7.98	$C_{21}H_{20}O_{11}$	Astragalin	-	4.16	447.0927	447.0946	285.0378 [M-H- $C_6H_{10}O_5$] ⁻ 255.0279 [M-H- $C_7H_{12}O_6$] ⁻
11	8.01	$C_{25}H_{24}O_{12}$	Cynarin	-	-1.08	515.1190	515.1184	353.0837 [M-H- $C_9H_6O_3$] ⁻ 335.0746 [M-H- $C_9H_8O_4$] ⁻ 191.0535 [M-H- $C_{18}H_{12}O_6$] ⁻ 179.0327 [M-H- $C_{16}H_{16}O_8$] ⁻ 161.0230 [M-H- $C_{18}H_{10}O_8$] ⁻ 135.0438 [M-H- $C_{17}H_{16}O_{10}$] ⁻ 111.0441 [M-H- $C_{19}H_{16}O_{10}$] ⁻
12	8.59	$C_{25}H_{24}O_{12}$	Isochlorogenic acid b	-	0.48	515.1190	515.1192	353.0850 [M-H- $C_9H_6O_3$] ⁻ 191.0541 [M-H- $C_{18}H_{12}O_6$] ⁻ 179.0332 [M-H- $C_{16}H_{16}O_8$] ⁻ 161.0232 [M-H- $C_{18}H_{10}O_8$] ⁻ 137.0227 [M-H- $C_{17}H_{14}O_{10}$] ⁻ 135.0442 [M-H- $C_{17}H_{16}O_{10}$] ⁻
13	8.63	$C_9H_{16}O_4$	Azelaic acid	-	-0.72	187.0970	187.0969	125.0960 [M-H- CH_2O_3] ⁻ 97.0643 [M-H- $C_3H_6O_3$] ⁻
14	11.11	$C_{60}H_{98}O_{27}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	-	0.54	1295.6272	1295.6279	1249.6105 [M-H] ⁻ 779.4505 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻ 469.1492 [M-H- $C_{30}H_{52}O_{23}$] ⁻
15	11.15	$C_{59}H_{96}O_{27}$	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	-	1.05	1235.6061	1235.6074	765.4362 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻ 469.1597 [M-H- $C_{29}H_{50}O_{23}$] ⁻
16	11.31	$C_{54}H_{88}O_{23}$	Hederagenin 3-O- β -D-glucopyranoside, 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	-	1.22	1149.5693	1149.5707	1103.5582 [M-H] ⁻ 633.3921 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻ 469.1606 [M-H- $C_{24}H_{42}O_{19}$] ⁻

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
17	12.43	$C_{53}H_{86}O_{22}$	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl] ester or hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-rhamnopyranosyl] ester	+	-0.19	1075.5689	1075.5687	781.4768 [M+H- $C_{11}H_{18}O_9$] ⁺
								619.4227 [M+H- $C_{17}H_{28}O_{14}$] ⁺
								473.3664 [M+H- $C_{23}H_{38}O_{18}$] ⁺
								455.3535 [M+H- $C_{23}H_{40}O_{19}$] ⁺
								437.3428 [M+H- $C_{23}H_{42}O_{20}$] ⁺
								409.3461 [M+H- $C_{24}H_{42}O_{21}$] ⁺
								391.3356 [M+H- $C_{24}H_{44}O_{22}$] ⁺
								1075.5710 [M+H- $C_6H_{10}O_4$] ⁺
								943.5310 [M+H- $C_{11}H_{18}O_8$] ⁺
								797.4673 [M+H- $C_{17}H_{28}O_{12}$] ⁺
18	12.44	$C_{59}H_{96}O_{26}$	Hederacoside C	+	-2.89	1221.6268	-	635.4183 [M+H- $C_{23}H_{38}O_{17}$] ⁺
								473.3644 [M+H- $C_{29}H_{48}O_{22}$] ⁺
								455.3518 [M+H- $C_{29}H_{50}O_{23}$] ⁺
								437.3419 [M+H- $C_{29}H_{52}O_{24}$] ⁺
								427.3599 [M+H- $C_{30}H_{50}O_{24}$] ⁺
								409.3477 [M+H- $C_{30}H_{52}O_{25}$] ⁺
								391.3378 [M+H- $C_{30}H_{54}O_{26}$] ⁺
								1073.5461 [M-H] ⁻
								749.4439 [M-H- $C_{12}H_{20}O_{10}$] ⁻
								603.3906 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻
19	12.63	$C_{53}H_{86}O_{22}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	-	2.37	1119.5587	1119.5614	469.1536 [M-H- $C_{23}H_{40}O_{18}$] ⁻
								943.5316 [M+H- $C_5H_8O_4$] ⁺
								797.4678 [M+H- $C_{11}H_{18}O_8$] ⁺
								635.4170 [M+H- $C_{17}H_{28}O_{13}$] ⁺
								473.3622 [M+H- $C_{23}H_{38}O_{18}$] ⁺
								455.3528 [M+H- $C_{23}H_{40}O_{19}$] ⁺
								437.3424 [M+H- $C_{23}H_{42}O_{20}$] ⁺
								427.3555 [M+H- $C_{24}H_{40}O_{20}$] ⁺
								409.3468 [M+H- $C_{24}H_{42}O_{21}$] ⁺
								391.3371 [M+H- $C_{24}H_{44}O_{22}$] ⁺
20	13.05	$C_{53}H_{86}O_{22}$	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O- β -D-glucopyranosyl ester	+	-0.84	1075.5689	1075.5680	1073.5461 [M-H] ⁻
								749.4439 [M-H- $C_{12}H_{20}O_{10}$] ⁻
								603.3906 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻
								469.1536 [M-H- $C_{23}H_{40}O_{18}$] ⁻
								943.5316 [M+H- $C_5H_8O_4$] ⁺
								797.4678 [M+H- $C_{11}H_{18}O_8$] ⁺
								635.4170 [M+H- $C_{17}H_{28}O_{13}$] ⁺
								473.3622 [M+H- $C_{23}H_{38}O_{18}$] ⁺
								455.3528 [M+H- $C_{23}H_{40}O_{19}$] ⁺
								437.3424 [M+H- $C_{23}H_{42}O_{20}$] ⁺
427.3555 [M+H- $C_{24}H_{40}O_{20}$] ⁺								
409.3468 [M+H- $C_{24}H_{42}O_{21}$] ⁺								
391.3371 [M+H- $C_{24}H_{44}O_{22}$] ⁺								

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
21	13.93	$C_{61}H_{98}O_{27}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-6-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	-	-0.61	1307.6272	1307.6264	1261.6083 [M-H] ⁻ 791.4544 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻ 749.4448 [M-H-C ₂₀ H ₃₂ O ₁₅] ⁻ 469.1563 [M-H-C ₃₁ H ₅₂ O ₂₃] ⁻
22	14.72	$C_{59}H_{96}O_{25}$	Hederacoside B	-	2.20	1203.6163	1203.6189	733.4469 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻ 455.3473 [M-H-C ₂₉ H ₄₈ O ₂₂] ⁻
23	14.77	$C_{48}H_{78}O_{18}$	Hederagenin 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside]	-	4.58	987.5165	987.5210	941.5034 [M-H] ⁻ 471.3436 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻ 469.1547 [M-H-C ₁₈ H ₃₂ O ₁₄] ⁻
24	15.42	$C_{47}H_{76}O_{17}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-arabinopyranoside] (hederacolchiside A)	-	-1.25	957.5059	957.5047	911.4947 [M-H] ⁻ 749.4425 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 603.3794 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻ 471.3381 [M-H-C ₁₇ H ₂₈ O ₁₃] ⁻
25	15.55	$C_{42}H_{68}O_{14}$	Hederagenin 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside]	-	1.54	841.4586	841.4599	795.4481 [M-H] ⁻ 471.3440 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀] ⁻
26	15.78	$C_{41}H_{66}O_{13}$	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	-	0.12	811.4480	811.4481	471.2603 [M-H-C ₁₁ H ₁₈ O ₉] ⁻ 603.3852 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 765.4429 [M-H] ⁻
27	17.05	$C_{29}H_{42}O_6$	Kendomycin	-	-0.24	485.2903	485.2902	467.2769 [M-H-H ₂ O] ⁻ 439.2825 [M-H-C ₂ H ₆ O] ⁻ 423.2866 [M-H-C ₂ H ₆ O ₂] ⁻ 409.2718 [M-H-C ₃ H ₈ O ₂] ⁻
28	17.68	$C_{54}H_{88}O_{22}$	Hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside] or hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside]	+	-1.65	1089.5846	1089.5828	927.5329 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 765.4851 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀] ⁻ 619.4226 [M-H-C ₁₈ H ₃₀ O ₁₄] ⁻ 473.3637 [M-H-C ₂₄ H ₄₀ O ₁₈] ⁻ 455.3556 [M-H-C ₂₄ H ₄₂ O ₁₉] ⁻ 437.3478 [M-H-C ₂₄ H ₄₄ O ₂₀] ⁻ 409.3478 [M-H-C ₂₅ H ₄₄ O ₂₁] ⁻ 391.3277 [M-H-C ₂₅ H ₄₆ O ₂₂] ⁻

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
29	17.74	$C_{59}H_{96}O_{26}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	-	-0.87	1219.6112	1219.6101	1073.5520 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻
								749.4446 [M-H- $C_{18}H_{30}O_{14}$] ⁻
								603.3801 [M-H- $C_{24}H_{40}O_{18}$] ⁻
								471.3384 [M-H- $C_{29}H_{48}O_{22}$] ⁻
30	18.40	$C_{36}H_{58}O_9$	Hederagenin 28-O- β -D-glucopyranoside or hederagenin 3-O- β -D-glucopyranoside (hederacoside B)	-	-0.79	679.4057	679.4052	633.3950 [M-H] ⁻
								471.3433 [M-H- $C_6H_{10}O_5$] ⁻
31	18.62	$C_{42}H_{68}O_{13}$	Hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside]	-	0.51	779.4582	779.4586	633.4022 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻
								471.3355 [M-H- $C_{12}H_{20}O_9$] ⁻
32	19.50	$C_{36}H_{56}O_{10}$	Hederagenin 28-O- β -D-glucuronopyranoside or hederagenin 3-O- β -D-glucuronopyranoside (HN saponin K)	-	-0.35	647.3795	647.3793	471.3395 [M-H- $C_6H_8O_6$] ⁻
33	20.30	$C_{41}H_{66}O_{12}$	α -Hederin	-	1.73	749.4476	749.4489	603.3763 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻
								471.3498 [M-H- $C_{11}H_{18}O_8$] ⁻
34	20.38	$C_{36}H_{58}O_8$	Hederagenin 3-O- α -L-rhamnopyranoside or hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranoside	+	-2.10	619.4210	619.4197	473.3735 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻
								455.3526 [M-H- $C_6H_{12}O_5$] ⁻
								437.3413 [M-H- $C_6H_{14}O_6$] ⁻
								409.3468 [M-H- $C_7H_{14}O_7$] ⁻
								391.3366 [M-H- $C_7H_{16}O_8$] ⁻
35	20.82	$C_{30}H_{48}O_5$	Caulophyllogenin	-	-0.92	487.3424	487.3419	425.3407 [M-H- CH_2O_3] ⁻
								423.3287 [M-H- CH_4O_3] ⁻
								405.3127 [M-H- CH_6O_4] ⁻
								393.3132 [M-H- $C_2H_6O_4$] ⁻
36	21.16	$C_{35}H_{56}O_8$	Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside or hederagenin 28-O- α -L-arabinopyranoside	-	1.69	649.3952	649.3963	603.3823 [M-H] ⁻
								471.3441 [M-H- $C_5H_8O_4$] ⁻
37	22.95	$C_{36}H_{56}O_9$	Oleanolic acid 28-O- β -D-glucuronopyranoside or Oleanolic acid 3-O- β -D-glucuronopyranoside	-	3.63	631.3846	631.3869	455.3502 [M-H- $C_6H_8O_6$] ⁻
38	23.33	$C_{36}H_{58}O_8$	Oleanolic acid 28-O-glucoside or oleanolic acid 3-O-glucoside (hederacoside A2)	-	0.87	663.4108	663.4114	617.4020 [M-H] ⁻
								455.3488 [M-H- $C_6H_{10}O_5$] ⁻

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
39	23.78	$C_{18}H_{30}O_3$	9S-hydroxy-10E,12Z,15Z-octadecatrienoic acid	-	3.51	293.2117	293.2127	275.1995 [M-H- H_2O] ⁻
								231.2092 [M-H- CH_2O_3] ⁻
								221.1527 [M-H- $C_3H_4O_2$] ⁻
								183.1375 [M-H- $C_7H_{10}O$] ⁻
								121.1010 [M-H- $C_9H_{16}O_3$] ⁻
40	24.03	$C_{41}H_{66}O_{11}$	Oleanolic acid 3-O- α -L-arabinoside, 28-O- α -L-rhamnopyranosyl ester or oleanolic acid 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (β -hederin)	-	-1.21	733.4527	733.4518	587.3918 [M-H- $C_6H_{10}O_4$] ⁻
								455.3483 [M-H- $C_{11}H_{18}O_8$] ⁻
41	25.16	$C_{18}H_{28}O_3$	9-Oxo-10E,12Z,15Z-octadecatrienoic acid	-	-2.47	291.1960	291.1953	197.1171 [M-H- C_7H_{10}] ⁻
								185.1173 [M-H- C_8H_{10}] ⁻
								121.1010 [M-H- $C_9H_{14}O_3$] ⁻
42	25.24	$C_{30}H_{48}O_4$	Hederagenin	-	2.90	471.3474	471.3488	393.3153 [M-H- $C_2H_6O_3$] ⁻
43	26.31	$C_{30}H_{46}O_4$	Hederagonic acid	+	2.05	471.3474	471.3484	453.3367 [M+H- H_2O] ⁺
								407.3302 [M+H- CH_4O_3] ⁺
								389.3212 [M+H- CH_6O_4] ⁺
44	27.29	$C_{18}H_{30}O_3$	9-Oxo-10E,12Z-octadecadienoic acid	-	3.85	293.2117	293.2128	221.1532 [M-H- $C_3H_4O_2$] ⁻
								197.1171 [M-H- C_7H_{12}] ⁻
								185.1160 [M-H- C_8H_{12}] ⁻
								149.0962 [M-H- $C_8H_{16}O_2$] ⁻
								125.0958 [M-H- $C_9H_{12}O_3$] ⁻
45	32.56	$C_{16}H_{32}O_3$	2-Hydroxypalmitic acid	-	-3.76	271.2273	271.2263	225.2200 [M-H- CH_2O_2] ⁻

TABLE 2: Continued.

Peak no.	T_R (min)	Formula	Chemical name	ESI mode	Error (ppm)	Exact mass	Found at mass	MS/MS
46	35.96	$C_{39}H_{64}O_5$	Di-gamma-linolenic	+	-2.28	613.4832	613.4818	595.4736 [M+H ₂ O] ⁺
								539.4475 [M+H-C ₄ H ₁₀ O] ⁺
								521.4385 [M+H-C ₄ H ₁₂ O ₂] ⁺
								503.3767 [M+H-C ₈ H ₁₄] ⁺
								335.2586 [M+H-C ₁₈ H ₃₀ O ₂] ⁺
								299.2366 [M+H-C ₂₃ H ₃₈] ⁺
								261.2219 [M+H-C ₂₁ H ₃₆ O ₄] ⁺
								259.2075 [M+H-C ₂₆ H ₄₂] ⁺
								161.1322 [M+H-C ₃₃ H ₅₆] ⁺
								147.1164 [M+H-C ₃₃ H ₅₄ O] ⁺

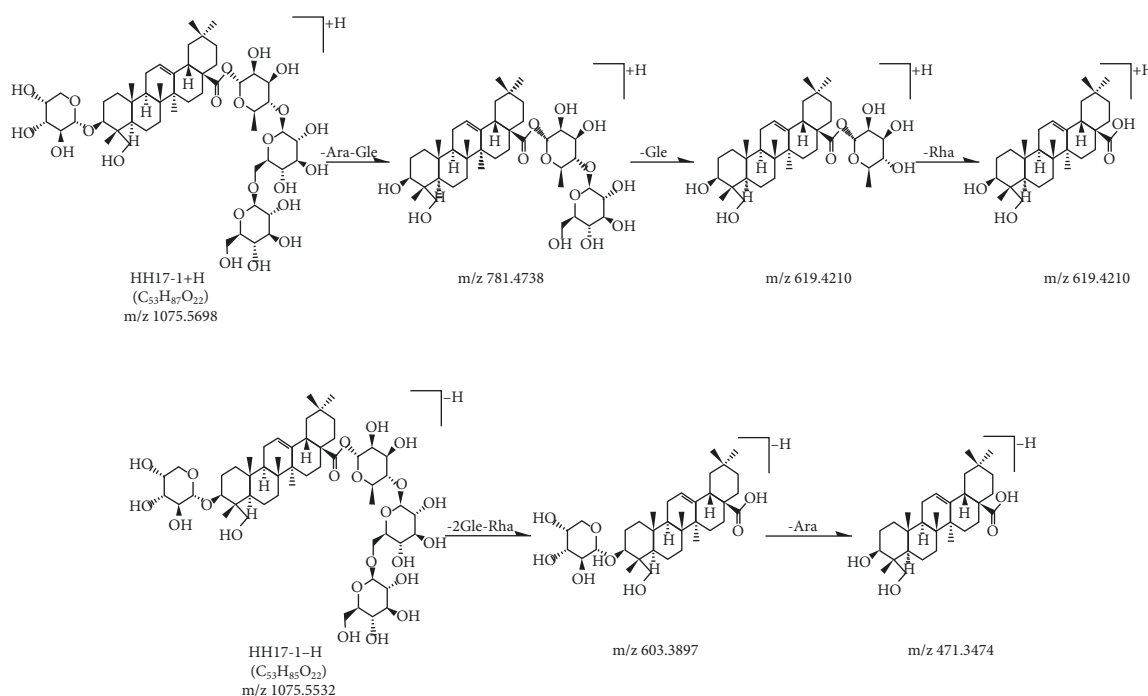


FIGURE 6: MS/MS fragmentation pathway of hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl] ester in positive and negative modes.

compound 20 was hederagenin 3-O-[[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside], 28-[[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester.

The identified compounds 18 (T_R = 12.37 min) and 29 (T_R = 17.74 min) exhibited pseudomolecular ions [M+H]⁺ at m/z 1221.6233 and 1221.6303 in the positive mode, respectively, which fragmented in different manners. The

fragmentation of these two saponins exhibited aglycone ions at m/z 473, 455, and 437, which corresponded to hederagenin. Comparing the MS/MS spectra and retention time information with the reference standards, compound 18 was undoubtedly determined as hederacoside C. Besides, under the negative mode, the parent ion of compound 29 was observed at m/z 1219.5990 and produced distinctive product

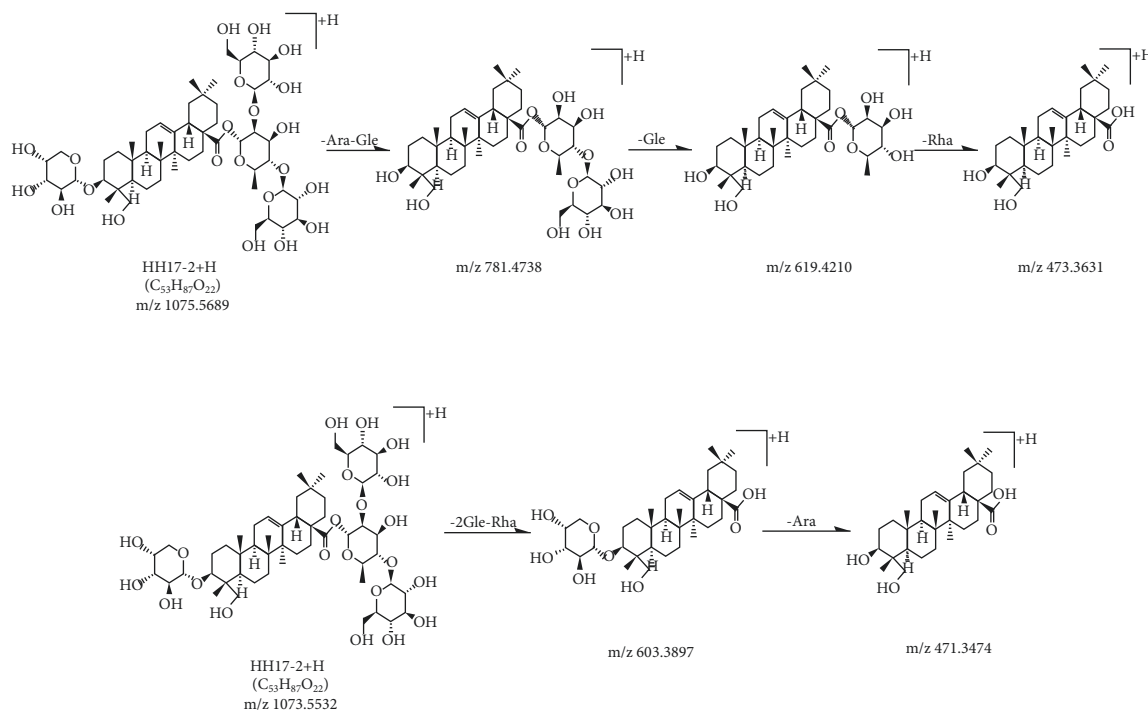


FIGURE 7: MS/MS fragmentation pathway of hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside, 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-rhamnopyranosyl] ester in positive and negative modes.

ions at m/z 1073, 911, 749, 603, and 471 by the loss of sugar chain (Rha, Rha-Glc, Rha-Glc-Glc, Rha-Glc-Glc-Rha, and Rha-Glc-Glc-Rha-Ara) at C-3 of the aglycone. Consequently, compound 29 could be characterized as hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside].

At $T_R=12.63$, in the negative mode, compound 19 yielded an $[M+HCOO]^-$ ion at m/z 1119.5482 and provided fragment ions at m/z 749, 603, and 469 corresponding to the loss of 2 Glc at C-28 and a Rha-Ara sugar chain at C-3 of the hederagenin aglycone. Therefore, compound 19 was tentatively identified as hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester.

Compound 21 ($T_R=13.93$ min) yielded an $[M+HCOO]^-$ ion at m/z 1307.6264 in the negative mode, primarily fragmented into ions at m/z 791, 749, and 469, indicating that hederagenin aglycone C-28 lost an acetyl group in the Rha-Glc-Glc sugar chain, and C-3 lost a Rha-Ara sugar chain. Therefore, compound 21 was conditionally characterized as hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-6-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester.

At $T_R=14.72$, in the negative mode, compound 22 showed the formula of C₅₉H₉₆O₂₅ ($[M-H]^-$ at m/z 1203.6189) and provided fragment ions at m/z 733 and 455, corresponding to the loss of 2 Glc and 1 Rha at C-28, and a Rha-Ara sugar chain at C-3 of the oleanolic acid aglycone. Hence, compound 22 was identified as hederacoside B.

The MS spectra of compound 23 ($T_R=14.77$ min) yielded a parent ion $[M+HCOO]^-$ at m/z 987.5210 in the negative mode, primarily fragmented into an ion at m/z 471, indicating that the C-28 sugar chain contained a Rha and 2 Glc, and the aglycone corresponded to hederagenin. Thus, compound 23 was determined as hederagenin 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside].

Compound 24 ($T_R=15.42$ min) yielded an $[M+HCOO]^-$ ion at m/z 957.5047 in the negative mode, primarily fragmented into ions at m/z 749, 603, and 471, indicating the loss of Glc-Rha-Ara sugar chain at C-3 of hederagenin. Therefore, compound 24 was conditionally identified as hederagenin 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))- α -L-arabinopyranoside] (hederacolchiside A).

Compound 25 showed the formula of C₄₂H₆₈O₁₄ ($[M+HCOO]^-$ at m/z 841.4599) and provided fragment ion at m/z 471, corresponding to the loss of 2 Glc at C-28 of the hederagenin aglycone. Hence, compound 25 was tentatively characterized as hederagenin 28-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside].

The MS spectra of compound 26 ($T_R=15.78$ min) yielded a parent ion $[M+HCOO]^-$ at m/z 811.448, primarily fragmented into ions at m/z 603 and 471, indicating that the C-3 sugar chain contained a Glc and an Ara, and the aglycone corresponded to hederagenin. Thus, compound 26 was conditionally identified as hederagenin 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside].

In the positive mode, the MS/MS spectra of compounds 28 ($T_R=17.68$ min) exhibited pseudomolecular ions $[M+H]^+$ at m/z 1089.5828, and produced aglycone ions at m/z 391, 409, 437, 455, and 473, which corresponded to

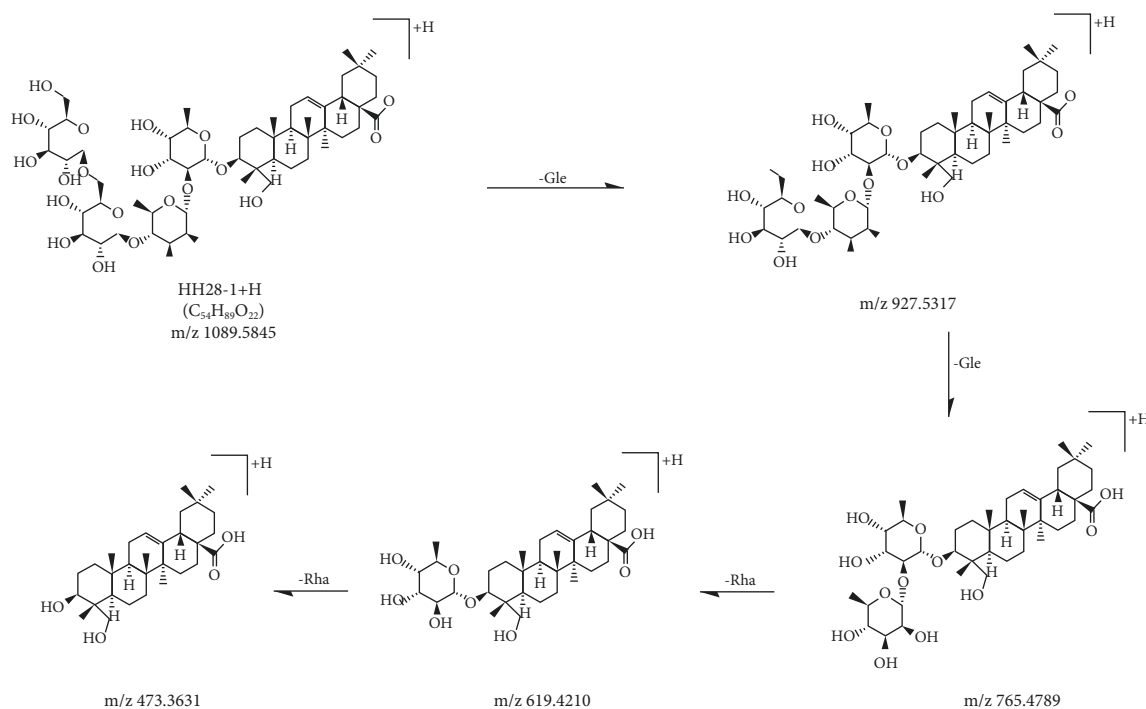


FIGURE 8: MS/MS fragmentation pathway of hederagenin 3-O-[\beta-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside] in positive mode.

hederagenin. The fragmentation of compound 28 primarily yielded daughter ions at m/z 927, 765, 619, and 473 because of the successive loss of Glc-Glc-Rha-Rha. By assembling all the fragmentation information compound 28, this compound was determined to be hederagenin 3-O-[\beta-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside] or hederagenin 3-O-[\beta-D-glucopyranosyl-(1→2)-(\beta-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside)]. They were investigated as two new saponin structures. The MS/MS fragmentation pathways of the structures of compound 28 are illustrated in Figures 8 and 9.

At $T_R=18.40$, compound 30 showed the formula of $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_9$ ($[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ at m/z 679.4052) and fragmented into ions at m/z 471, indicating that the C-28 or C-3 sugar chain contained a Glc, and the aglycone was hederagenin. Thus, compound 30 was determined as hederagenin 28-O-β-D-glucopyranoside or hederagenin 3-O-β-D-glucopyranoside (hederacoside B).

The MS spectra of compound 31 ($T_R=18.62$ min) yielded a parent ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ at m/z 779.4586, primarily fragmented into ions at m/z 633 and 471, indicating the loss of a Rha-Glc sugar chain at C-3 of hederagenin. Hence, compound 31 was conditionally identified as hederagenin 3-O-[\alpha-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside].

Compound 32 showed a deprotonated molecular ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ at m/z 647.3793 at $T_R=19.50$. The MS/MS spectra showed an ion peak at m/z 471, which indicated that at C-28 or C-3 of hederagenin contained a Glu. Therefore, compound 32 was predicted to be hederagenin 28-O-β-D-glucuronopyranoside or hederagenin 3-O-β-D-glucuronopyranoside.

Compound 33 ($T_R=20.30$ min) yielded $[\text{M}+\text{H}]^+$ ion at m/z 751.4609 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ion at m/z 749.4489 in the positive and negative modes, respectively. Comparing the MS/MS information and retention time with the reference standard, compound 33 was unambiguously identified as α-hederin.

At $T_R=20.38$, compound 34 showed the formula of $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_8$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$ at m/z 619.4197). The fragment ions at m/z 391, 437, and 473 indicated the loss of a Rha at C-3 or C-28 of hederagenin aglycone. Thus, compound 34 was characterized as hederagenin 3-O-α-L-rhamnopyranoside or hederagenin 28-O-α-L-rhamnopyranoside.

The MS spectra of compound 36 ($T_R=21.16$ min) yielded a parent ion $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ at m/z 649.4963 and fragmented into 471, indicating the loss of an Ara at C-3 or C-28 of hederagenin. Consequently, compound 36 was identified as hederagenin 3-O-α-L-arabinopyranoside or hederagenin 28-O-α-L-arabinopyranoside.

Under the negative mode, compound 37 ($T_R=22.95$ min) showed the diagnostic ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ at m/z 631.3869 and a fragment ion at m/z 455, indicating that the C-28 or C-3 position of oleanolic acid aglycone was substituted with a Glu. Thus, compound 37 was tentatively determined as oleanolic acid 28-O-β-D-glucuronopyranoside or oleanolic acid 3-O-β-D-glucuronopyranoside.

Compound 38 ($T_R=23.33$ min) yielded an $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ ion at m/z 663.4114 in the negative mode, primarily fragmented into an ion at m/z 455, meaning that the C-28 or C-3 sugar chain contained a Glc, and the aglycone corresponded to oleanolic acid. Hence, compound 38 was characterized as oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside or oleanolic acid 3-O-β-D-glucopyranoside (hederacoside A2).

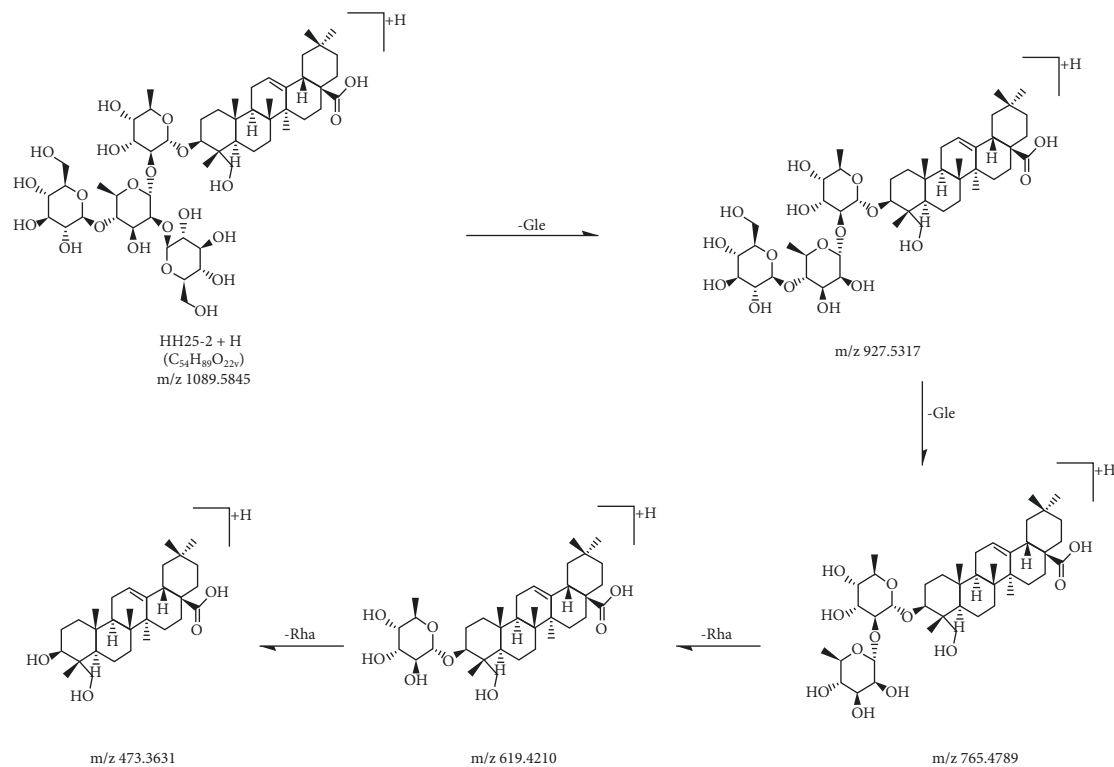
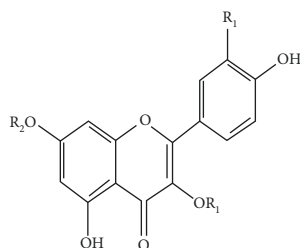


FIGURE 9: MS/MS fragmentation pathway of hederagenin 3-O-[\beta-D-glucopyranosyl-(1→2)-(\beta-D-glucopyranosyl-(1→4))-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside] in positive mode.



Peak No.	Name	R1	R2	R3
3	Kaempferol 3-O-rutinoside-7-O-rhamnoside	Rha-Glc-	Rha-	H-
4	Rutin	Rha-Glc-	H-	OH-
5	Quercetin	H-	H-	OH-
6	Isoquercitrin	Glc-	H-	OH-
7	Kaempferol 3-O-rutinoside	Rha-Glc-	H-	H-
8	Kaempferol	H-	H-	H-
9	Kaempferol 7-O-neohesperidoside	H-	Rha-Glc-	H-
10	Astragalin	Glc-	H-	H-

FIGURE 10: Chemical structures of flavonoids and flavonoid glycosides in *H. helix*.

The MS spectra of compound 40 ($T_R = 24.03$ min) yielded a pseudomolecular ion $[M-H]^-$ at m/z 733.4518. Under the negative mode, the diagnostic ions at m/z 587 and 455 indicated that in compound 40, the C-28 position of oleanolic acid was substituted with a Rha, and the C-3 position of the aglycone contained an Ara, or the product ion represented for the loss of sugar chain Rha-Ara at C-3 position only. Therefore, compound 40 was predicted to be oleanolic acid 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside (β -hederin).

At $T_R = 25.24$, compound 42 showed the formula of $C_{30}H_{48}O_4$ ($[M-H]^-$ at m/z 471.3488) and fragmented into ion at m/z 393. Comparing the MS/MS spectrum and data with the result of Hai-Long et al. [26], compound 42 was characterized as hederagenin.

3.4. Structural Characterization of Flavonoids and Flavonoid Glycosides. In the positive mode, compounds 4, 5, 7, and 8 were identified as rutin (m/z 611.1623), quercetin (m/z 303.0504), kaempferol-3-O-rutinoside (m/z 595.1670), and kaempferol (m/z 287.0557), respectively, confirmed by MS and MS/MS data comparison with the results of Renu and Brijesh [27].

In the negative mode, at $T_R = 6.46$, compound 3 exhibited an $[M-H]^-$ ion at m/z 739.2050, and fragmented into 593 and 285, due to the elimination of a rhamnosyl group and a rutinosyl group, respectively. Therefore, compound 3 was identified as kaempferol 3-O-rutinoside-7-O-rhamnoside. Compound 6 yielded $[M-H]^-$ ion at m/z 463.0897. Comparing the MS/MS data with Linling et al.'s publication [28], compound 6 was characterized as isoquercitrin. At $T_R = 7.98$, compound 10 showed deprotonated molecular ion $[M-H]^-$ at m/z 447.0946 and produced a characteristic fragment ion at m/z 285, corresponding to the characteristic loss of a glucosyl group. Hence, compound 10 was determined as astragalin. All of the chemical structures of identified flavonoids are presented in Figure 10.

4. Conclusions

In the present work, by applying UHPLC-Q-TOF-MS/MS in both positive and negative electrospray ionization modes as an efficient analytical method, the chemical constituents of *H. helix* could be rapidly discovered and identified in a single sample injection. As a result, 46 phytochemicals including 24 triterpene saponins were characterized, and four of which have yet been published before. UHPLC-Q-TOF-MS/MS serves as a powerful analytical method for finding and instructing new phytochemical structures. Furthermore, the phytochemical profile result provides a base for quality control of *H. helix* raw materials. It also propels the medicinal application of this plant base on the metabolomic profiling of triterpene saponins.

Data Availability

The data used to support the results of this study are included within the article. Any further information is available from authors upon request.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

This research was funded by the Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant no. 104.01-2019.28.

References

- [1] L. Yulia, B. Wiesława, M. Irena, and D. Roman, "Hedera helix as a medicinal plant," *Herba Polonica*, vol. 56, no. 1, pp. 83–96, 2010.
- [2] J. Gruenwald, T. Brendler, and C. Jaenicke, *PDR for Herbal Medicines*, Medical Economics Company, Montvale, NJ, USA, 2000.
- [3] G. Mahran, S. H. Hilal, and T. S. El-Alfy, "The isolation and characterisation of emetine alkaloid from *Hedera helix*," *Planta Medica*, vol. 27, no. 02, pp. 127–132, 1975.
- [4] F. Crespín, R. Elias, C. Morice, E. Ollivier, G. Balansard, and R. Faure, "Identification of 3-O- β -D-glucopyranosyl hederagenin from the leaves of *Hedera helix*," *Fitoterapia*, vol. 66, no. 5, p. 477, 1995.
- [5] A. Trute and A. Nahrstedt, "Identification and quantitative analysis of phenolic compounds from the dry extract of *Hedera helix*," *Planta Medica*, vol. 63, no. 02, pp. 177–179, 1997.
- [6] A. E. Al-Snafi, "Pharmacological and therapeutic activities of *Hedera helix* - a review," *Journal of Pharmacy*, vol. 8, no. 5, pp. 44–53, 2018.
- [7] Z. Er-Fei, L. Yun, Y. Zi, and Z. Qing, "Identification and structural characterisation of triterpene saponins," *Natural Product Research*, vol. 32, no. 8, pp. 918–923, 2018.
- [8] S. Kumari, R. Elancheran, J. Kotoky, and R. Devi, "Rapid screening and identification of phenolic antioxidants in *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam. by UPLC-ESI-MS/MS," *Food Chemistry*, vol. 203, pp. 521–529, 2016.
- [9] L. S. Chua, N. A. M. Amin, J. C. H. Neo et al., "LC-MS/MS-based metabolites of *Eurycoma longifolia* (tongkat ali) in Malaysia (perak and pahang)," *Journal of Chromatography B*, vol. 879, no. 32, pp. 3909–3919, 2011.
- [10] C. Huang, Q. Xu, C. Chen et al., "The rapid discovery and identification of physalins in the calyx of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight tandem mass spectrometry together with a novel three-step data mining strategy," *Journal of Chromatography A*, vol. 1361, pp. 139–152, 2014.
- [11] T. T. Sun, X. L. Liang, H. Y. Zhu, X. L. Peng, X. J. Guo, and L. S. Zhao, "Rapid separation and identification of 31 major saponins in *Shizhu ginseng* by ultra-high performance liquid chromatography-electron spray ionization-MS/MS," *Journal of Ginseng Research*, vol. 40, no. 3, pp. 220–228, 2016.
- [12] M. m. Jin, W. d. Zhang, H. h. Jiang et al., "UPLC-Q-TOF-MS/MS-guided dereplication of *Pulsatilla chinensis* to identify triterpenoid saponins," *Phytochemical Analysis*, vol. 29, no. 5, pp. 516–527, 2018.
- [13] C. Cioaca, C. Margineanu, and V. Cucu, "The saponins of *Hedera helix* with antibacterial activity," *Pharmazie*, vol. 33, no. 9, pp. 609–610, 1978.

- [14] J. Julien, M. Gasquet, C. Maillard, G. Balansard, and P. Timon-David, "Extracts of the Ivy Plant, *Hedera helix*, and their anthelmintic activity on liver flukes," *Planta Medica*, vol. 51, no. 03, pp. 205–208, 1985.
- [15] R. Elias, M. D. Méo, E. Vidal-Ollivier, M. Laget, G. Balansard, and G. Dumenil, "Antimutagenic activity of some saponins isolated from *Calendula officinalis* L., *C arvensis* L. and *Hedera helix* L.," *Mutagenesis*, vol. 5, no. 4, pp. 327–332, 1990.
- [16] S. Danloy, J. Quetin-Leclercq, P. Coucke et al., "Effects of alpha-hederin, a saponin extracted from *Hedera helix*, on cells cultured in vitro," *Planta Medica*, vol. 60, no. 01, pp. 45–49, 1994.
- [17] F. Delmas, C. Di Giorgio, R. Elias et al., "Antileishmanial activity of three saponins isolated from ivy, α -hederin, β -hederin and hederacolchiside A1, as compared to their action on mammalian cells cultured in vitro," *Planta Medica*, vol. 66, no. 04, pp. 343–347, 2000.
- [18] J. M. R. de Medeiros, M. Macedo, J. P. Contancia, C. Nguyen, G. Cunningham, and D. H. Miles, "Antithrombin activity of medicinal plants of the Azores," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 72, no. 1-2, pp. 157–165, 2000.
- [19] I. Gülçin, V. Mshvildadze, A. Gepdiremen, and R. Elias, "Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F," *Planta Medica*, vol. 70, no. 6, pp. 561–563, 2004.
- [20] A. Trute, J. Gross, E. Mutschler, and A. Nahrstedt, "In vitro antispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hedera helix*," *Planta Medica*, vol. 63, no. 02, pp. 125–129, 1997.
- [21] A. Gepdiremen, V. Mshvildadze, H. Süleyman, and R. Elias, "Acute anti-inflammatory activity of four saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F in carrageenan-induced rat paw edema," *Phytomedicine*, vol. 12, no. 6-7, pp. 440–444, 2005.
- [22] L. J. Zhang, J. J. Cheng, C. C. Liao et al., "Triterpene acids from *Euscaphis japonica* and assessment of their cytotoxic and anti-NO activities," *Planta Medica*, vol. 78, no. 14, pp. 1584–1590, 2012.
- [23] J. Song, S. G. Yeo, E. H. Hong et al., "Antiviral activity of hederasaponin B from *Hedera helix* against Enterovirus 71 subgenotypes C3 and C4a," *Biomolecules & Therapeutics*, vol. 22, no. 1, pp. 41–46, 2014.
- [24] L. Cheng, T. S. Xia, Y. F. Wang et al., "The anticancer effect and mechanism of α -hederin on breast cancer cells," *International Journal of Oncology*, vol. 45, no. 2, pp. 757–763, 2014.
- [25] M. Akhtar, A. Shaukat, A. Zahoor et al., "Anti-inflammatory effects of Hederacoside-C on *Staphylococcus aureus* induced inflammation via TLRs and their downstream signal pathway in vivo and in vitro," *Microbial Pathogenesis*, vol. 137, Article ID 103767, 2019.
- [26] H. L. Li, Z. M. Qin, H. D. Cai et al., "Determination of α -hederin in rat plasma using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) and its application to a pharmacokinetic study," *Analytical Methods*, vol. 7, no. 5, pp. 2155–2161, 2015.
- [27] R. Pandey and B. Kumar, "HPLC-QTOF-MS/MS based rapid screening of phenolics and triterpenic acids in leaf extracts of *Ocimum* species and their interspecies variation," *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 39, no. 4, pp. 225–238, 2016.
- [28] L. Lu, D. Qian, J. Yang et al., "Identification of isoquercitrin metabolites produced by human intestinal bacteria using UPLC-Q-TOF/MS," *Biomedical Chromatography*, vol. 27, no. 4, pp. 509–514, 2013.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trinh Thi Diep (2015). Isolation of hederacoside C and α -hederin from *Hedera helix* L., cultivated in Da Lat. *J. of Medicinal Materials*. 20. 144-149.
- [2]. Nguyễn Thị Hoàng Mai (2016). Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời Hederacoside C và α -Hederin trong lá cây thường xuân bằng HPLC. *J. of Medicinal Materials*. 21 (6). 388-397.
- [3]. Đỗ Tất Lợi (1999), những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam NXB Y học, Hà Nội, tr.412-413.
- [4]. Trần Anh Tuấn, Trần Thị Thu Hương, Trần Hồng Quang, Phan Văn Kiệm, Châu Văn Minh (2007), *Nghiên cứu thành phần hóa học cây bá bệnh “ Eurycoma Longifloria”*, Tạp chí dược học (số 378 năm 47), tr. 12-16.
- [5]. Võ Văn Chi (2004), Từ điển thực vật thông dụng, Tập I, NXB khoa học và kỹ thuật Hà Nội, tr 265, 787-789.
- [6]. Đỗ Huy Bích (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập II, NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội, tr. 1018-1020.
- [7]. Nguyễn Thị Đỏ (2007), Thực vật chí Việt Nam 8 – Bộ Hoa loa kèn, NXB Khoa học và Kỹ Thuật, Hà Nội, tr. 48-49, 55-56.
- [8]. Lê Tiến Dũng, Nguyễn Công Hào, Nguyễn Ngọc Sương (2003), *Alkaloid Từ nguyên liệu tươi trình nữ hoàng cung*, Hội nghị hóa học toàn quốc lần IV, tr. 116-119.
- [9] . Trần Thị Diệu Ái, et al. (2015). Saponin triterpenoid phân lập từ cây thường xuân thu hái tại Lâm Đồng. *J. of Medicinal Materials*. 20. 212-216.
- [10]. Carmen Elena Pop (2017). Investigation of antioxidant and antimicrobial potential of some extracts from *Hedera helix* L. *Farmacia*. 65. 624-629.
- [11]. Majester-Savornin B (1991). Saponins of the ivy plant, *Hedera helix*, and their leishmanicidal activity. *Planta Med*. 57. 260-262.
- [12]. Julien J (1985). Extracts of the ivy plant, *Hedera helix*, and their anthelmintic activity on liver flukes. *Planta Med*. 3. 205-208.
- [13]. Trute A (1997). In vitro antispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hedera helix*. *Planta Med*. 63. 125-129.
- [14]. Jeong H. G (1998). The prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice by alpha-hederin: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression. *Biochem Mol Biol Int*. 45. 163-170.
- [15]. Süleyman H (2003). Acute and chronic antiinflammatory profile of the ivy plant *Hedera helix* in rats. *Phytomedicine*. 10. 370-375.

- [16]. Rai A. (2013). The Antiinflammatory and Antiarthritic Properties of Ethanol Extract of *Hedera helix*. *Indian J Pharm Sci.* 75. 99-102.
- [17]. İlhami Gülçin (2004). Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside E and hederacolchiside F. *Planta Med.* 70. 561-563.
- [18]. Mendel M (2011). The effect of the whole extract of common ivy (*Hedera helix*) leaves and selected active substances on the motoric activity of rat isolated stomach strips. *J Ethnopharmacol.* 134. 796-802.
- [19]. Rodica Tatia (2019). Isolation and Characterization of Hederagenin from *Hedera helix* L. Extract with Antitumor Activity. *REV.CHIM. (Bucharest).* 4. 1157-1161.
- [20]. Yu M, Shin YJ, Kim N, Yoo G, Park S, Kim SH, 2015. Determination of saponins and flavonoids in ivy leaf extracts using HPLC-DAD. *J Chromatogr Sci.* Apr;53 (4):478-83.
- [21]. Zeeshan Ahmed Sheikh, Aqib Zahoor, Saleha Suleman Khan, Safila Naveed, Syed Faisal Zaidi, Khan Usmanghani, 2015. Ivy Herbal Products for Cough and its Validation for Hederacoside C Biomarker Determination with HPLC _PAD Techniques, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 3 (1).
- [22]. J. Ackerfield, J. Wen. (2002). A morphometric analysis of *Hedera helix* L. (the ivy genus, Araliaceae) and its taxonomic implications. *Adansonia Sér.* 24. 187-212.
- [23]. U.S. National Plant Germplasm System, Taxon. (2019). *Hedera nepalensis* K. Koch. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx>.
- [24]. Gruenwald J (2000). PDR for Herbal Medicines Medical. Economics Company, Montvale. 284-285.
- [25]. Chan KL, Lee S, Sam TW, Han BH (1989), Aquassinoid glycoside from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, 28:2857-9.
- [26]. Kardono LBS, Angerhofer CK, Tsauri S, Padmawinata K, Pezzuto LM, Kinghorn ADJ (1991), Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of *Eurycoma longifolia*, *J Nat Prod*, 54:1360-7
- [27]. Kuo P-C, Damu AG, Lee K-H, Wu T-S (2004), Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Bioorg Med Chem*, 12, pp. 537-544.
- [28]. Zjengming Guo, Suryanarayana Vangapandu, Robert William Sindelar, Larry Anthony Walker and Robert David Sindelar (2009), Biologically Active

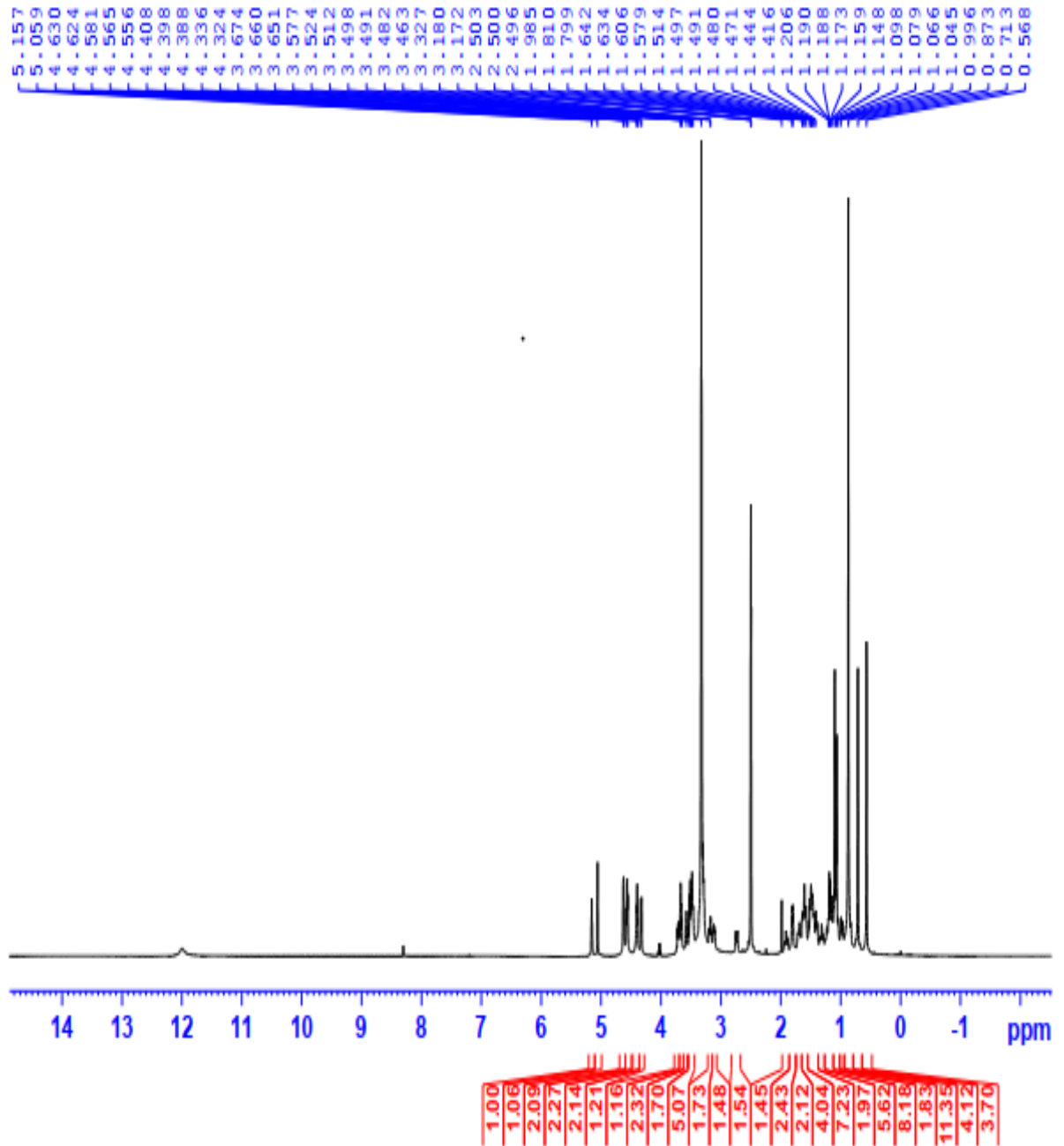
- Quassinoids and Their Chemistry: Potential Leads for Drug Design, *Frontiers in Medicinal Chemistry*, 4, pp. 285-308.
- [29]. Darise, M., Kohda, H., Mizutani, K., and Tanaka, O., 1982. Eurycomanone and eurycomanol, quassinoids from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Phytochemistry* 21, pp. 2091–2093.
- [30]. K. L. Chan, S. Lee, T. W. Sam and B. H. Han, 1989. *Phytochemistry*, Volume 28, Issue 10, Pages 2857-2859.
- [31]. Leonardus B. S. Kardono, Cindy K. Angerhofer, Soefjan Tsauri, Kosasih Padmawinata, John M. Pezzuto and A. Douglas Kinghorn. Cytotoxic and antimalarial constituents of the root of *Eurycoma longifolia*, *Journal of Natural Products*, Vol 54 (3), 1360-1367, (1991).
- [32]. Viện dược liệu. (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. NXB Khoa học và kỹ thuật. 660.
- [33]. Hofmann D (2003). Efficacy of dry extract of ivy leaves in children with bronchial asthma-a review of randomized controlled trials. *Phytomedicin*. 10. 213-220.
- [34]. Refaat J., Mohamed S.K., Ramadan M.A., Ali A.A. (2012), “ Crinum; An endless source of bioactive principles: A review, Part 1-Crium alkaloids: Lycorine- type alkaloids”, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (7), pp. 1883-1890.
- [35]. Fazio S (2009). Tolerance, safety and efficacy of *Hedera helix* extract in inflammatory bronchial diseases under clinical practice conditions: a prospective, open, multicentre postmarketing study in 9657 patients. *Phytomedicine*. 16. 17-24.
- [36]. Holzinger F. (2011). Systematic review of clinical trials assessing the effectiveness of ivy leaf (*Hedera helix*) for acute upper respiratory tract infections. *Evid Based Complement Alternat Med*. 382789.
- [37]. McNulty J., Nair J., Codina C., Bastida J., Pandey S., (2007), “Selective apoptosis-inducing activity of *Crinum*-type Amaryllidaceae alkaloids”, *Phytochemistry*, **68**, pp. 1068-1074.
- [38]. Nair J.J., Campbell W.E., Gammon D.W., Albrecht C.F., Viladomat F (1998), “Alkaloids from *Crinum delagoense*”, *Phytochemistry*, **49** (8), pp.2539-2543.
- [40]. Thongphichai W, Uttarawichien T, Chanvorachote P, Pitiporn S, Charoen-Ame T, Kwankhao P, Towiwat P, Sukrong S. Standardization of the ethanolic extract of *Crinum latifolium* leaves by two bioactive markers with antiproliferative activity

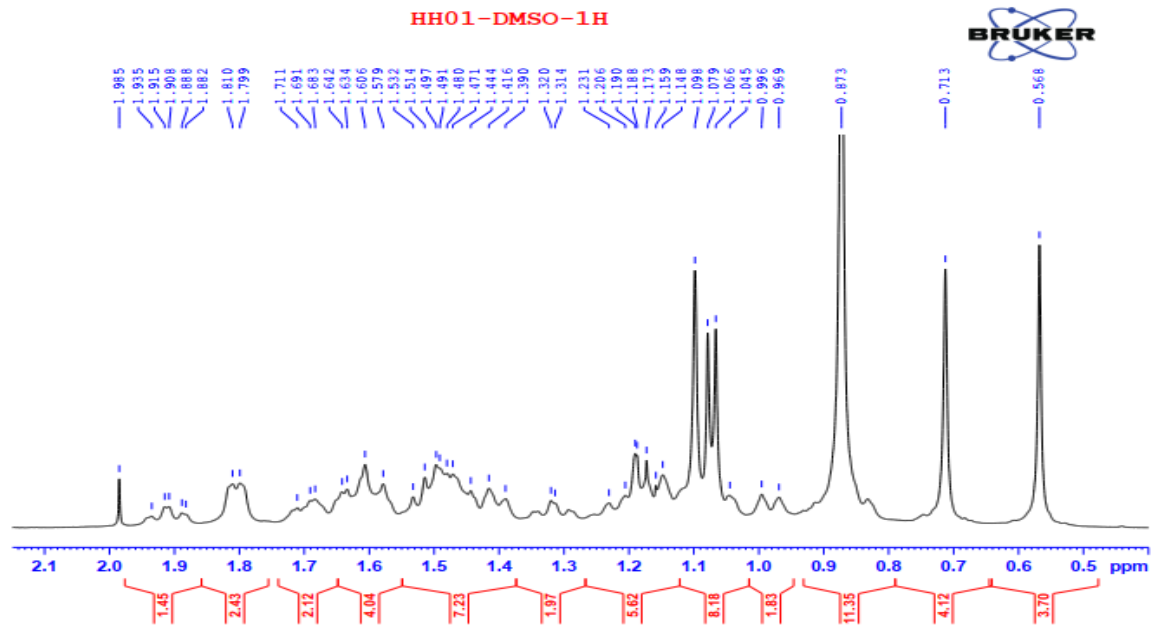
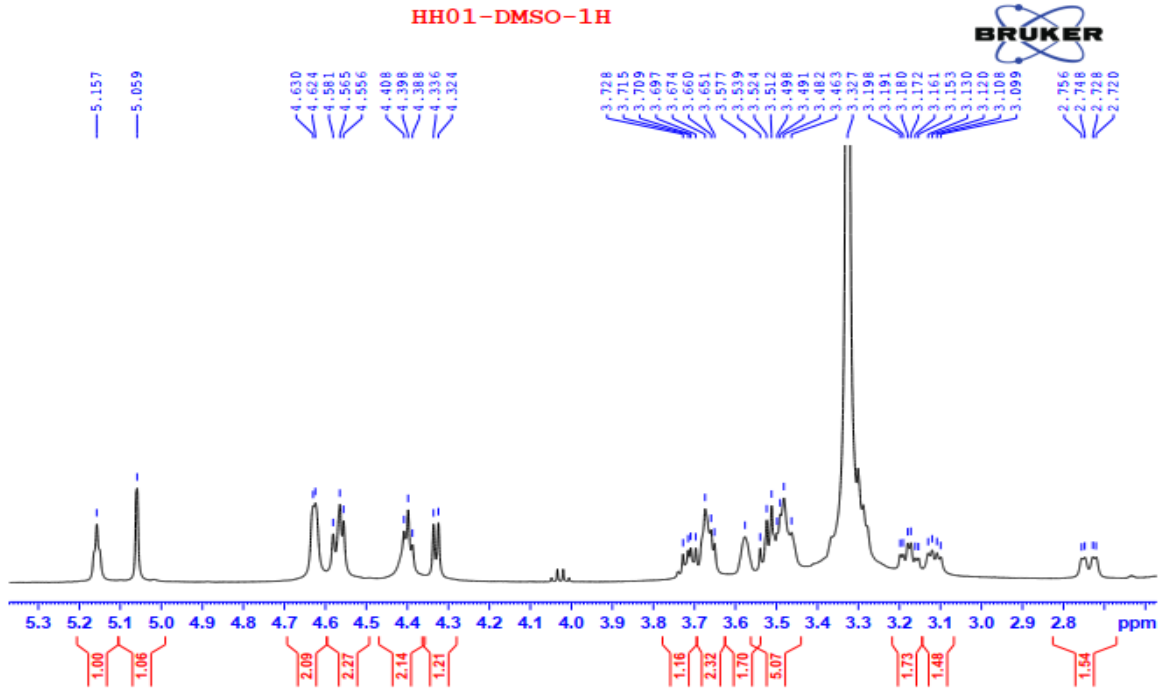
- against TGF- β -promoted prostate stromal cells (WPMY-1). *BMC Complement Med Ther*. 2022 May 18;22 (1):139.
- [41]. Christopher Lang (2015). A valuable option for the treatment of respiratory diseases: review on the clinical evidence of the Ivy leaves dry extract EA 575®. *Planta. Med.* 81. 968-974.
- [42]. Cioaca C (1978). The of *Hedera helix* with antibacterial activity. *Pharmazie*. 33. 609-610. [42]. Ahmad N, Samiulla DS, Teh BP, Zainol M, Zolkifli NA, Muhammad A, Matom E, Zulkapli A, Abdullah NR, Ismail Z, Syed Mohamed AF. Bioavailability of Eurycomanone in Its Pure Form and in a Standardised *Eurycoma longifolia* Water Extract. *Pharmaceutics*. 2018 Jul 11;10 (3):90.
- [44] Chua LS, Amin NA, Neo JC, Lee TH, Lee CT, Sarmidi MR, Aziz RA. LC-MS/MS-based metabolites of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) in Malaysia (Perak and Pahang). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011 Dec 15;879 (32):3909-19.
- [45]. Zhang X, Huang H, Liang X, Huang H, Dai W, Shen Y, Yan S, Zhang W. Analysis of Amaryllidaceae alkaloids from *Crinum* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2009 Sep;23 (18):2903-16.
- [46] Lahrita L, Hirosawa R, Kato E, Kawabata J. Isolation and lipolytic activity of eurycomanone and its epoxy derivative from *Eurycoma longifolia*. *Bioorg Med Chem*. 2017 Sep 1;25 (17):4829-4834.
- [47].Francesc Viladomat, GiovannaR. Almanza, Carles Codina, Jaume Bastida, WilliamE. Campbell, Shaheed Mathee. December 1996. Alkaloids from *Brunsvigia orientalis*. *Phytochemistry, Volume 43, Issue 6, Pages 1379-1384*
- [48]. Chua, L.S, *LC-MS/MS-based metabolites of Eurycoma longifolia (Tongkat Ali) in Malaysia (Perak and Pahang)*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011. 879 (32): p. 3909-19.
- [49]. Gupta, D., *Development of a validated UPLC–qTOF-MS/MS method for determination of bioactive constituent from Glycyrrhiza glabra*. *J Pharm Anal*. 2013. 3 (3): p. 205-210.
- [50]. YANG, L.-J.J.C.T. and H. Drugs, *Analysis on chemical constituents in Hedera nepalensis by UPLC/Q-TOF-MS/MS*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2016. 24: p. 566-572

- [51]. Sun, T.T 2016. Rapid separation and identification of 31 major saponins in Shizhu ginseng by ultra-high performance liquid chromatography-electron spray ionization-MS/MS. *J Ginseng Res*, 2016. 40 (3): p. 220-8.
- [52]. Jia, S 2019. Identification and characterization of curcuminoids in turmeric using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1521: p. 110-122.
- [53]. Celano, R, Characterisation of nutraceutical compounds from different parts of particular species of *Citrus sinensis* 'Ovale Calabrese' by UHPLC-UV-ESI-HRMS. *Nat Prod Res*. 2019. 33 (2): p. 244-251.
- [54]. Su, R.N 2019. Rapid identification of constituents of *Urtica hyperborea* using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS method. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 44 (8): p. 1607-1614.
- [55]. Li, N 2021. Rapid classification and identification of chemical constituents in *Epimedium koreanum* Nakai by UPLC-Q-TOF-MS combined with data post-processing techniques. *Phytochem Anal*, 32 (4): p. 575-591.
- [56]. Pei, H, *Comparative analysis of chemical constituents in different parts of lotus by UPLC and QToF-MS*. *Molecules*. 2021. 26 (7): p. 1855.
- [57]. Beutler JA (1990). Dereplication of phorbol bioactives-*Lyngbya majuscula* and *Croton cuneatus*. *J. of Nat Prod*. 53 (4). 867–874.
- [58]. Jane Hubert, (2017). Dereplication strategies in natural product research: How many tools and methodologies behind the same concept? *Phytochemistry Reviews*. DOI: 10.1007/s11101-015-9448-7.
- [59]. Tobias Kind (2017). Strategies for dereplication of natural compounds using high-resolution tandem mass spectrometry. *Phytochemistry letters*. 21. 313-319
- [60]. Yilin-Gao (2019). Molecular networking as a dereplication strategy for monitoring metabolites of natural product treated cancer cells. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 34 (S1). 8549.

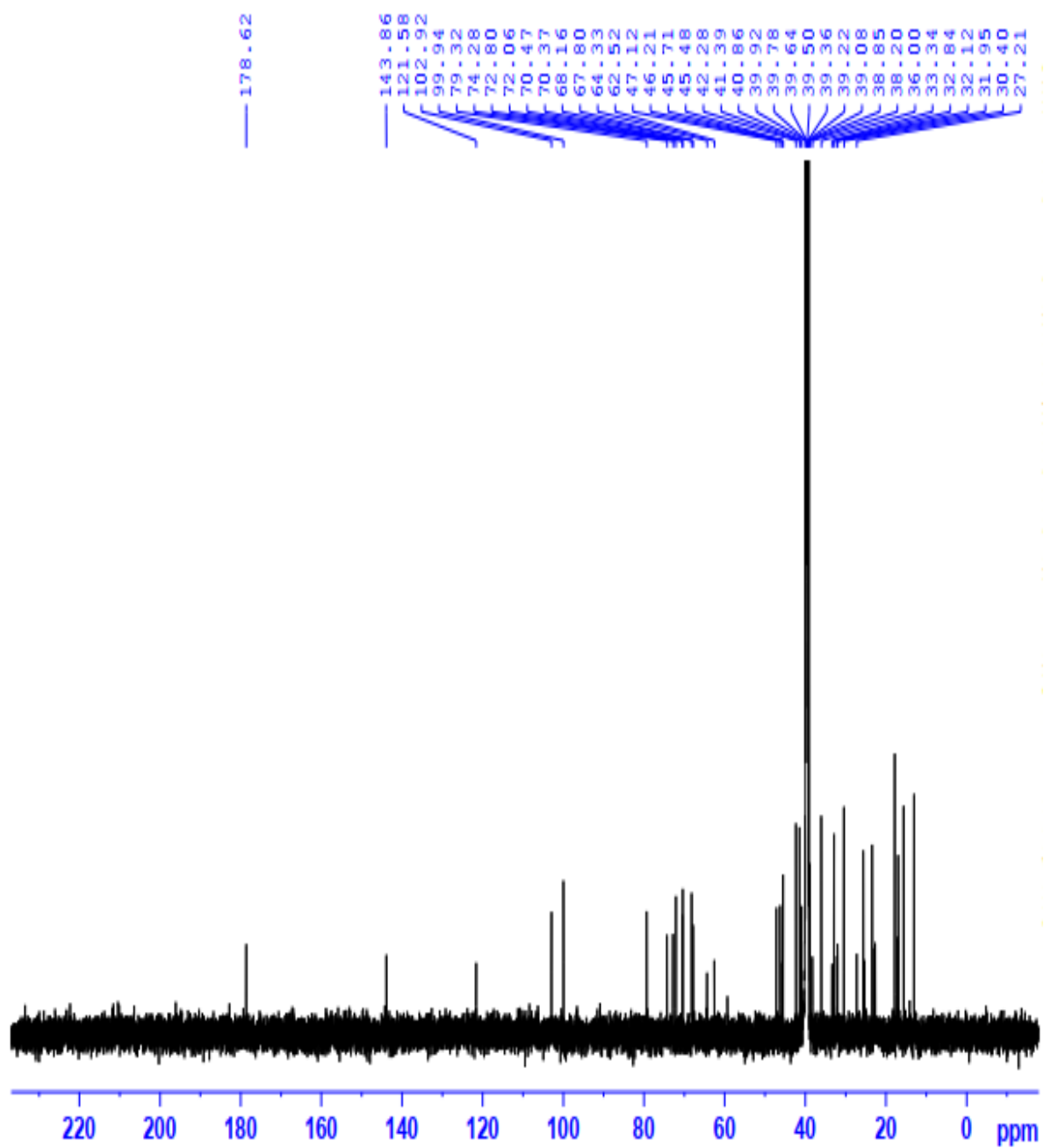
PHỤ LỤC

HH01-DMSO-1H

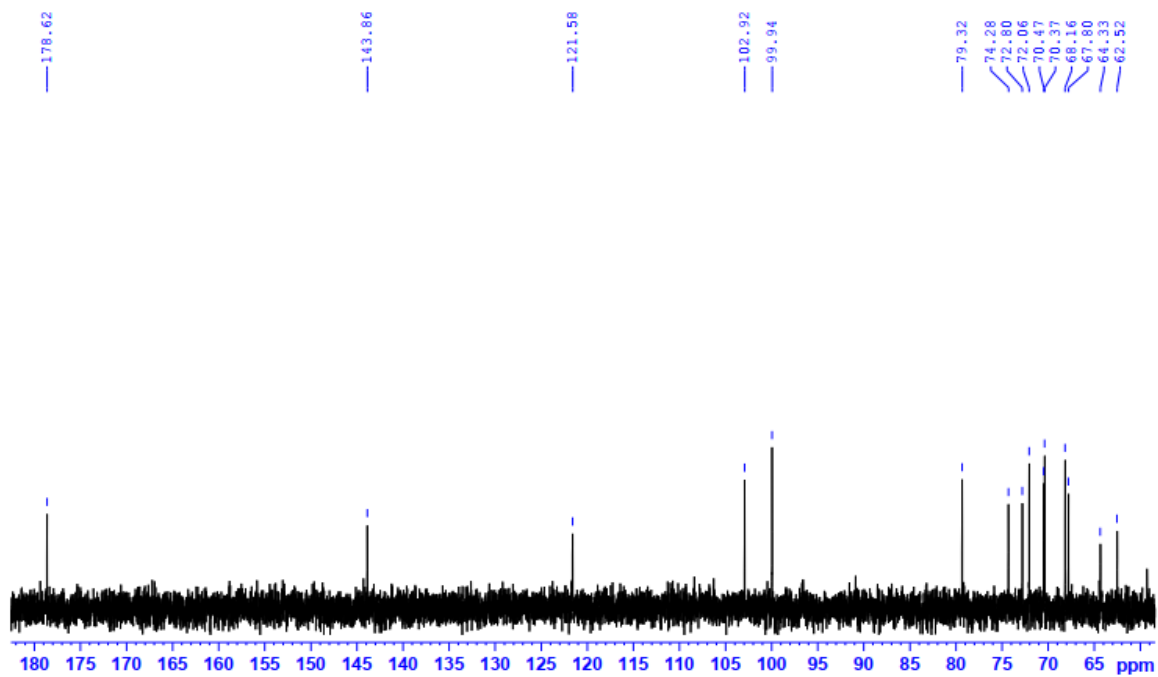
Phụ lục 1. 1. Phổ ^1H -NMR của hợp chất HH-01

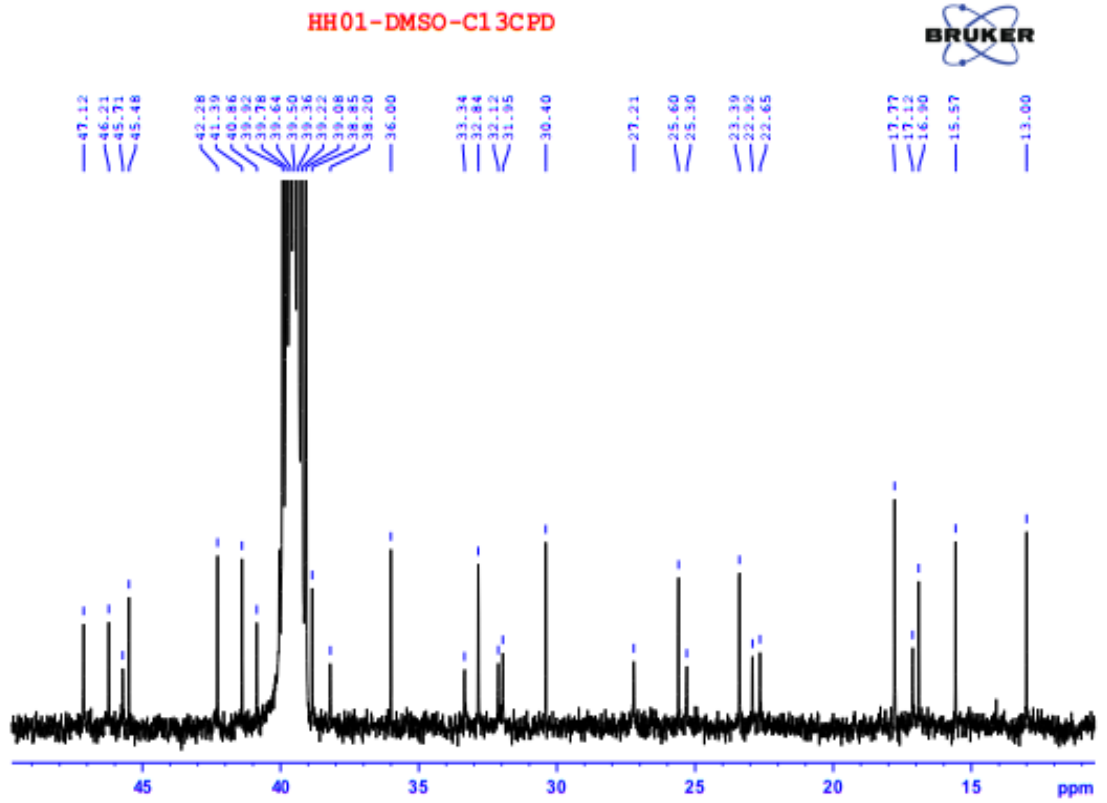


Phụ lục 1.1.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn rộng của hợp chất **HH-01**

HH01-DMSO-C13CPDPhụ lục 1. 2 Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **HH-01**

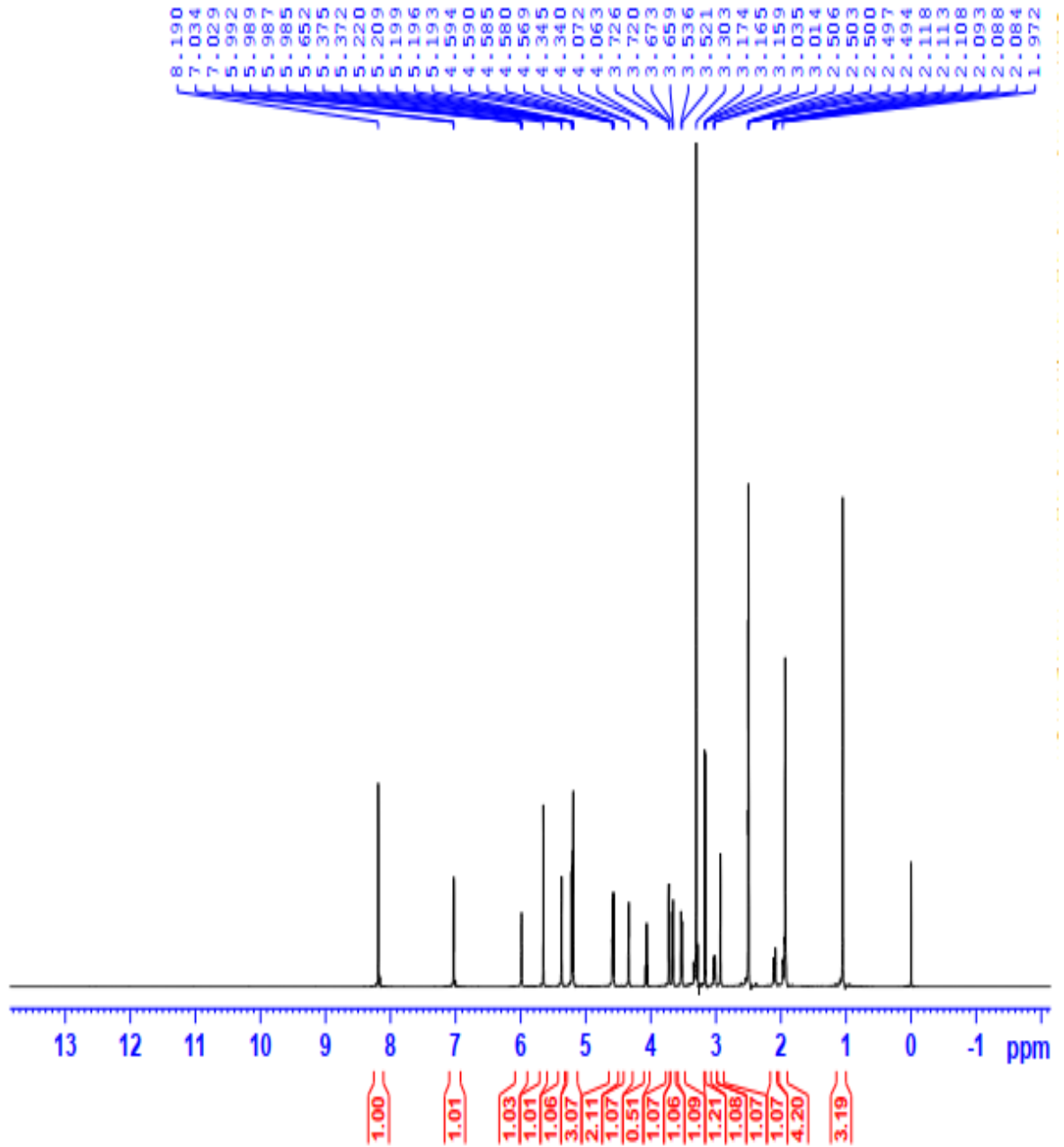
HH01-DMSO-C13CPD

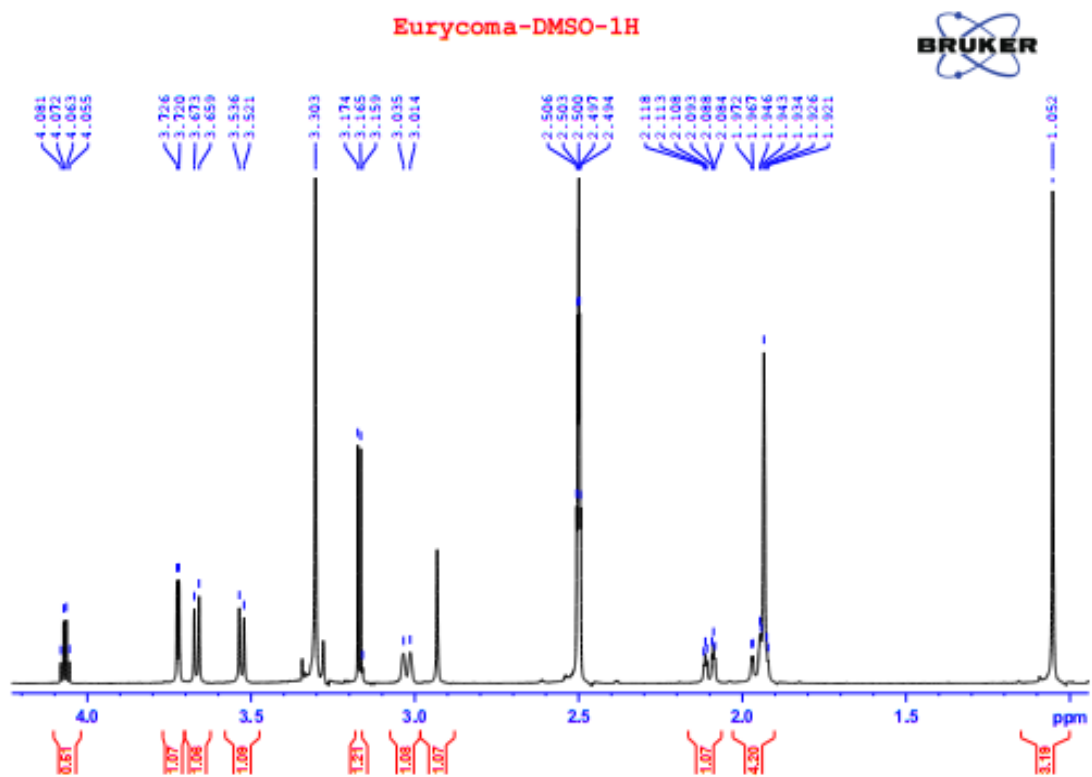
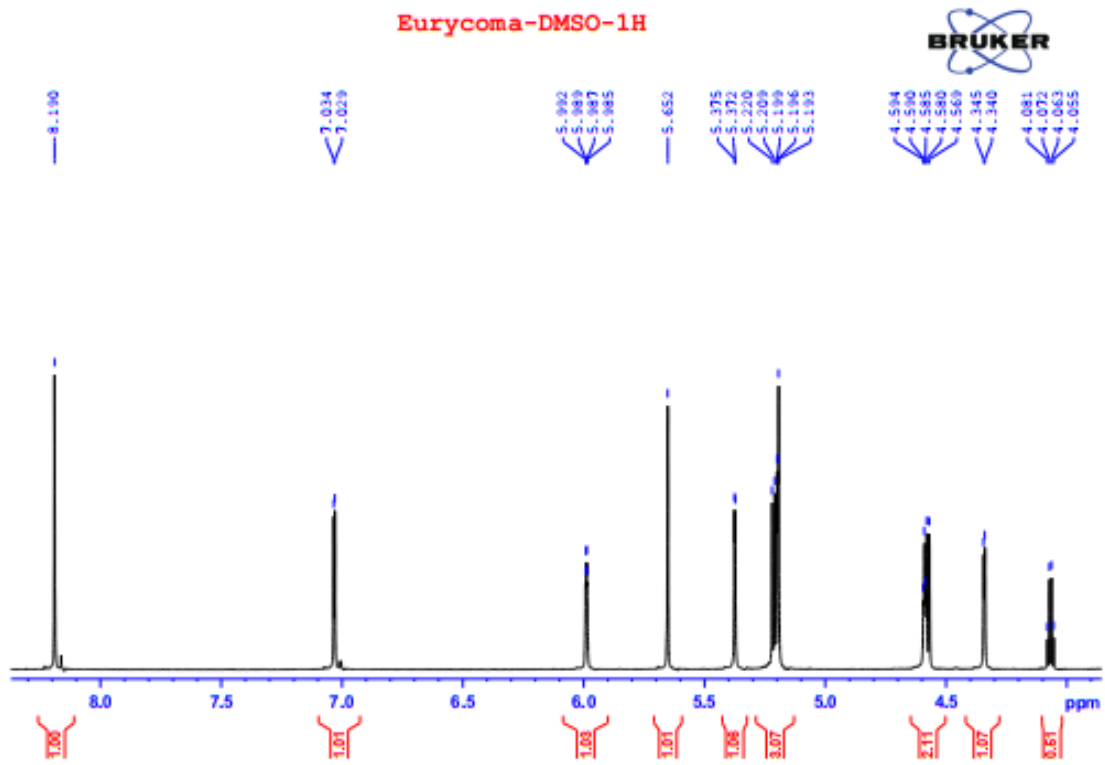




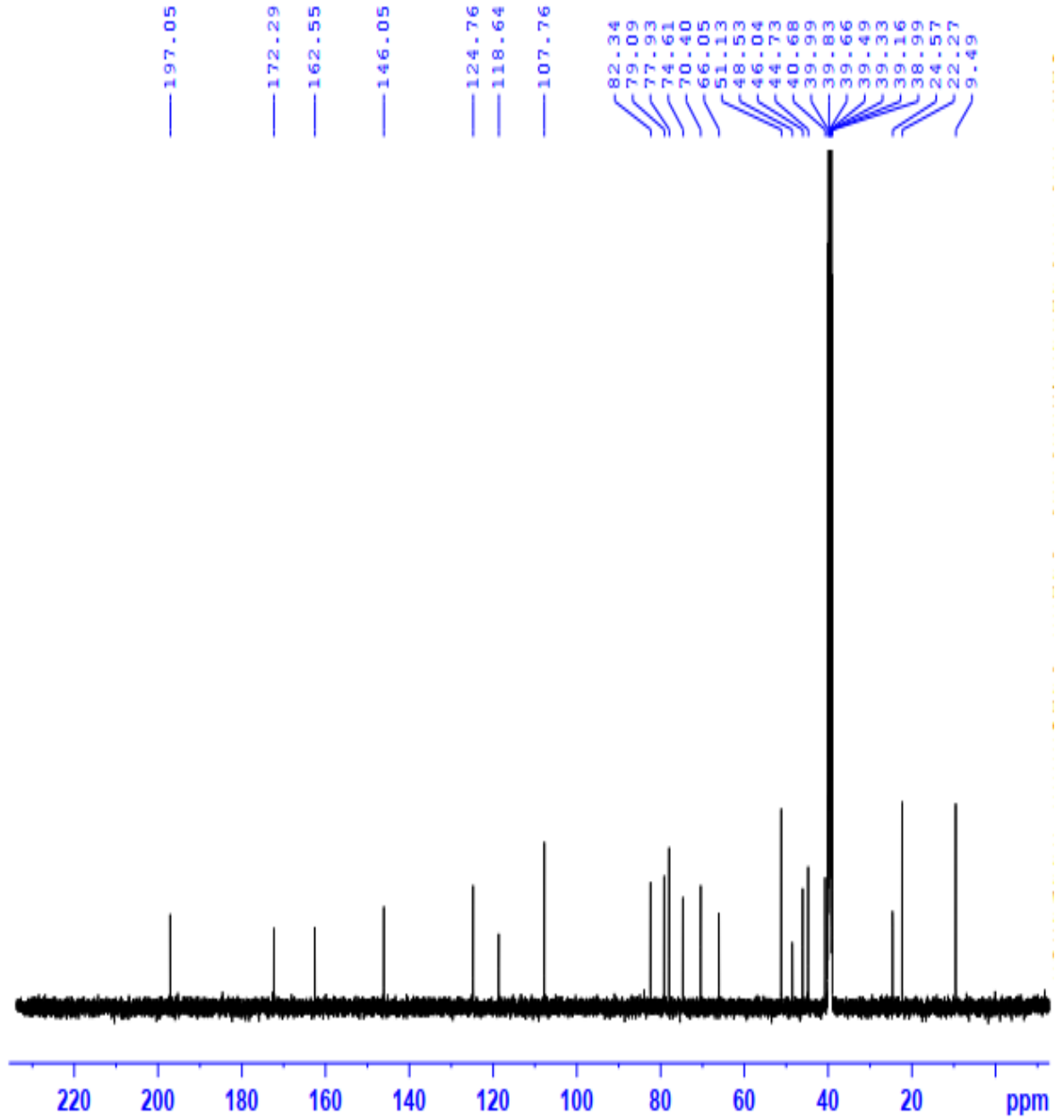
Phụ lục 1.2.1. Phổ ^{13}C -NMR giãn rộng của hợp chất HH-01

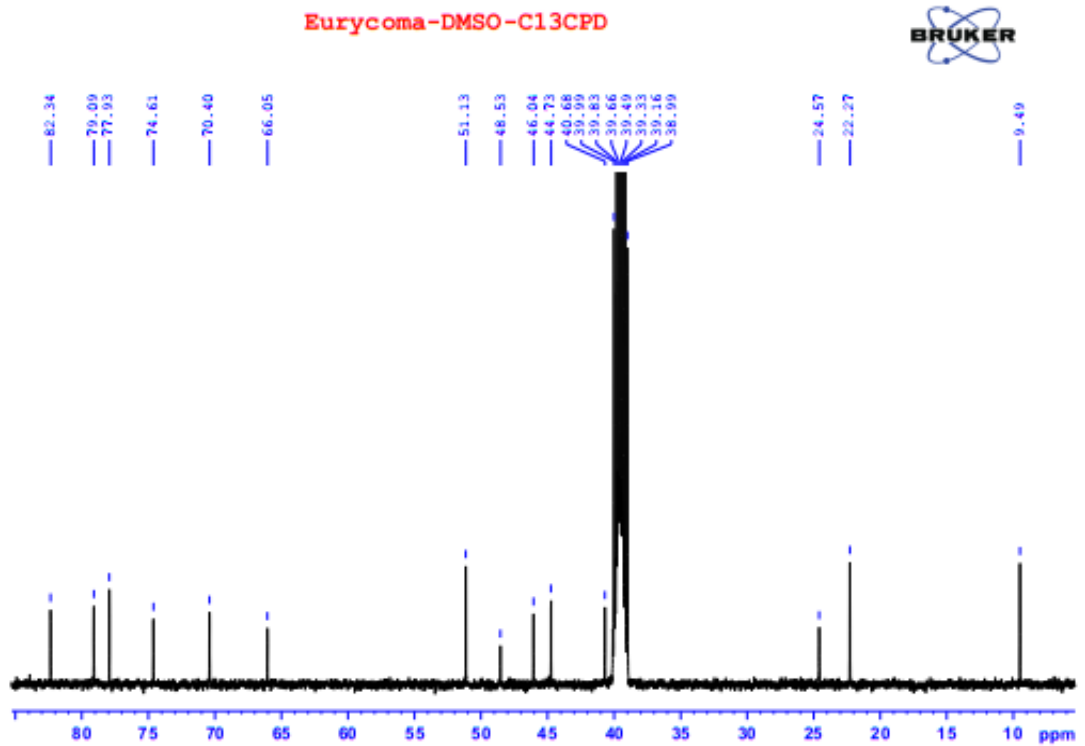
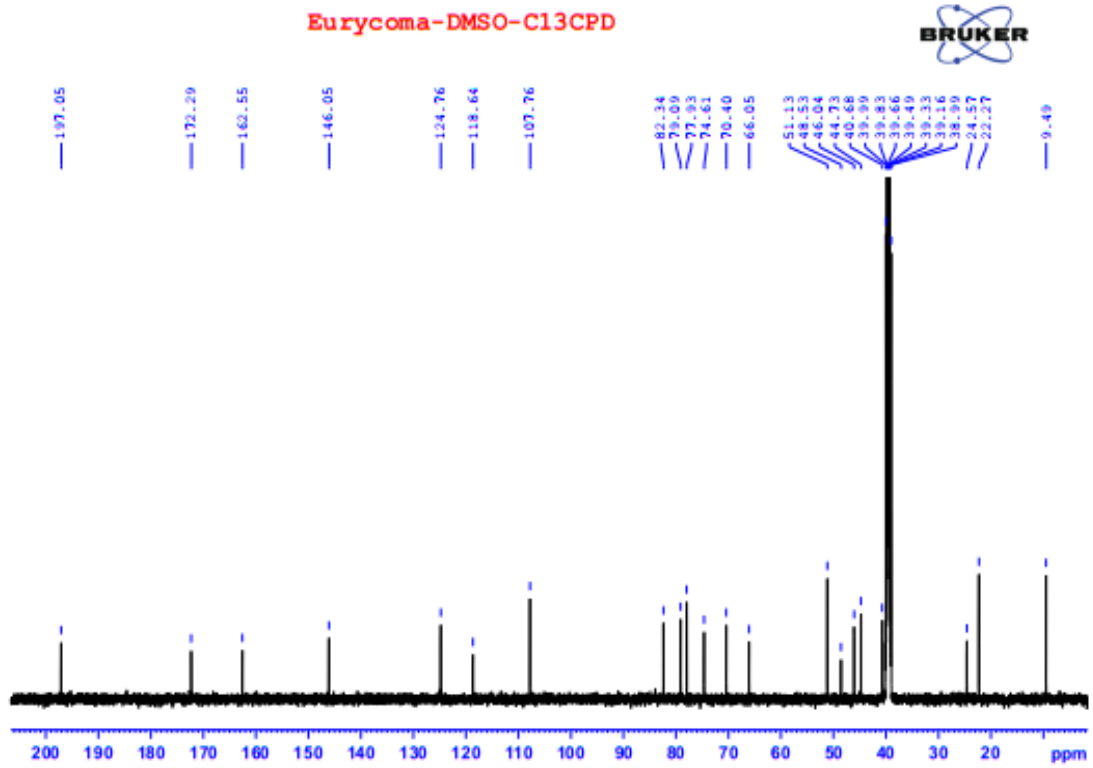
Eurycoma-DMSO-1H

Phụ lục 2.1 Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất Eurycoma

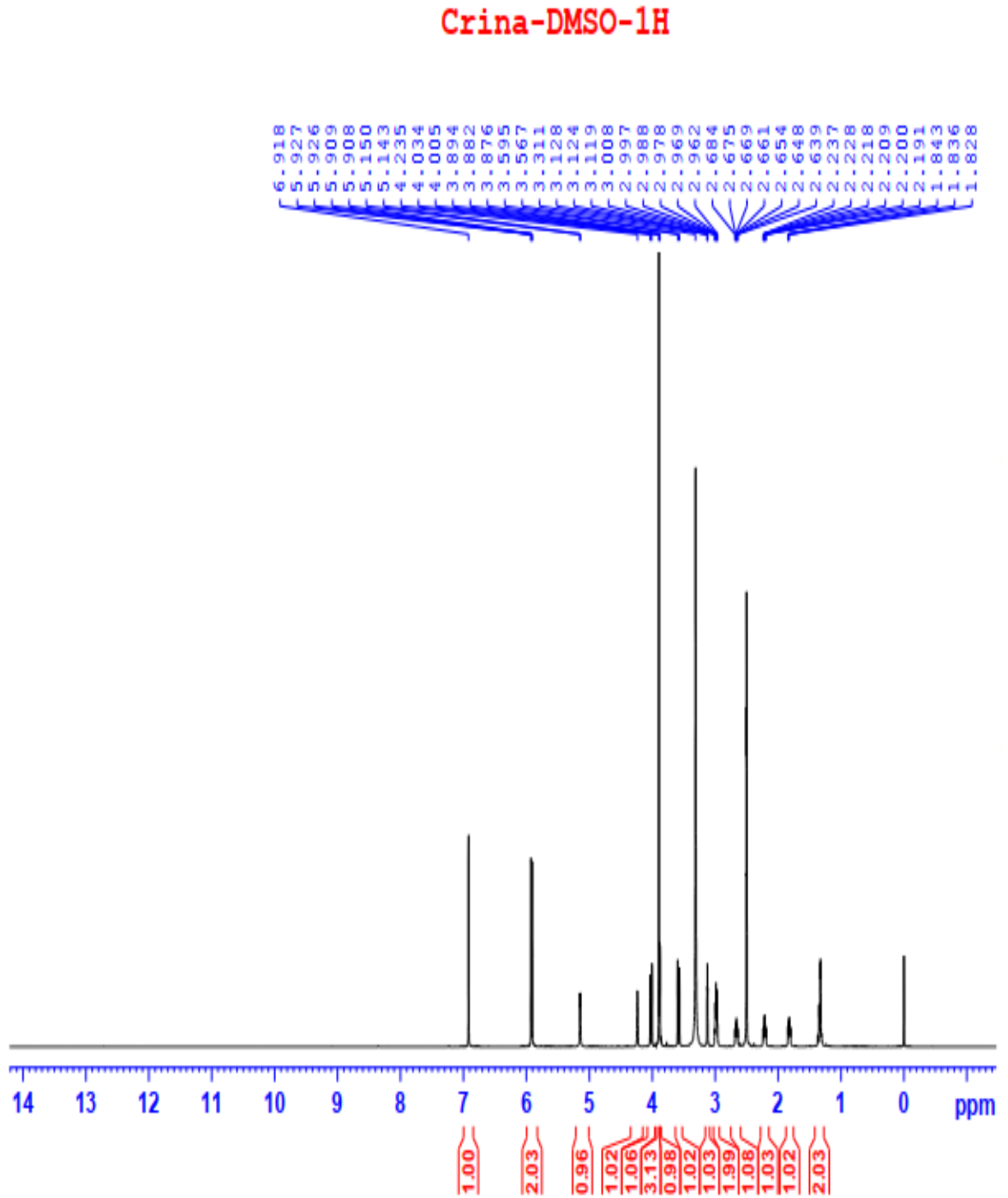


Phụ lục 2.1.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn rộng của hợp chất Eurycoma

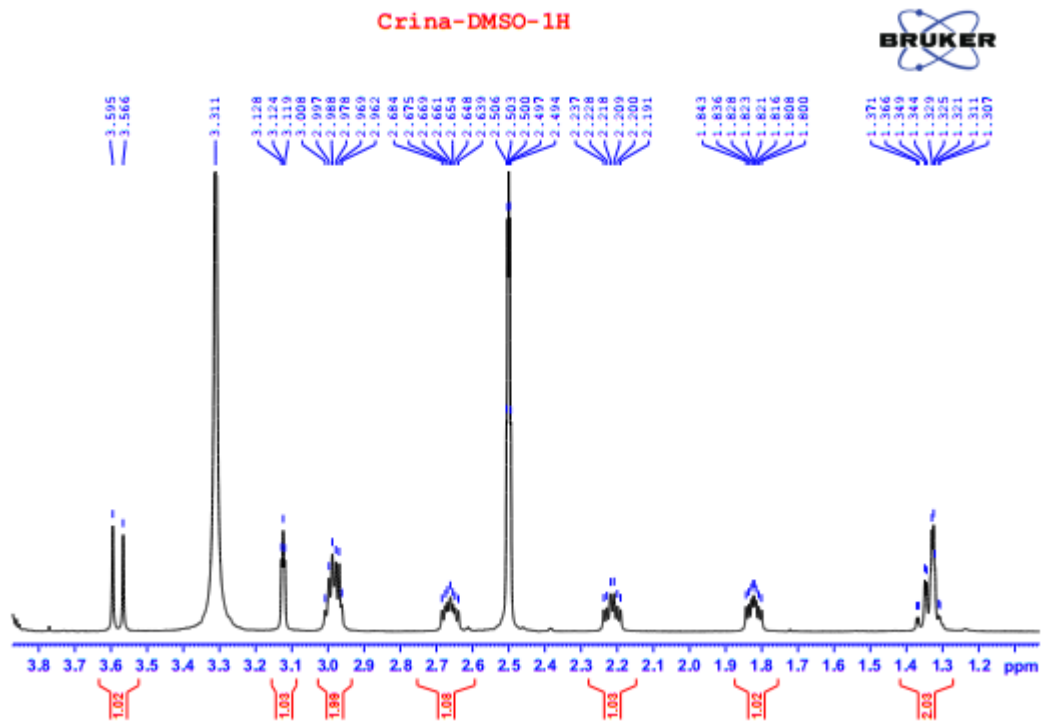
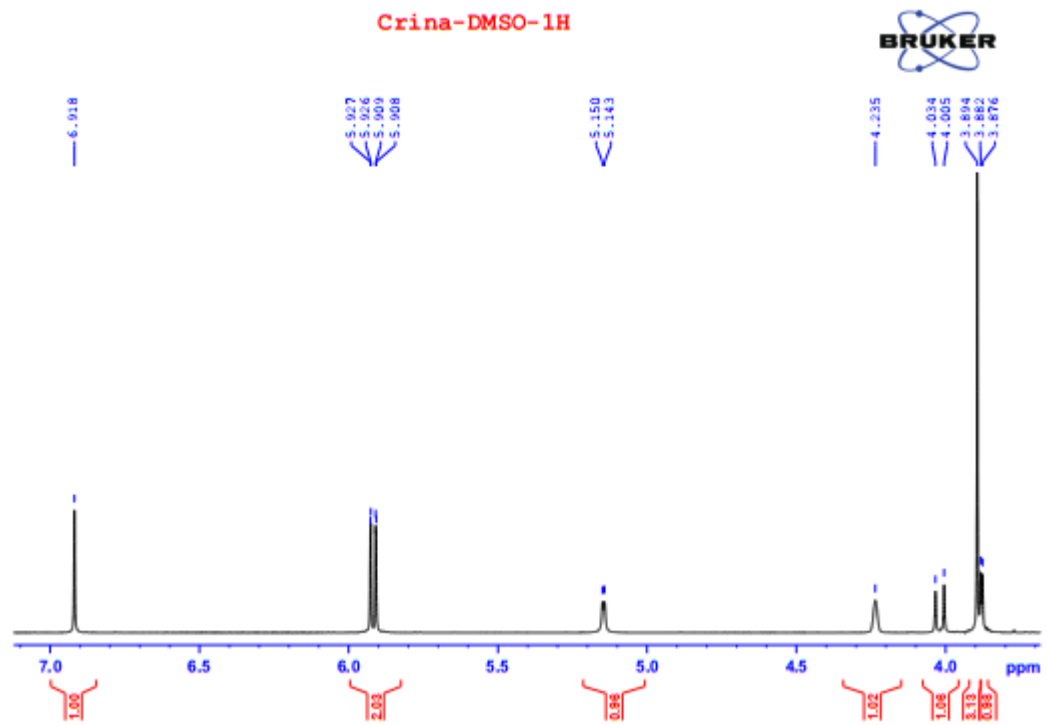
Eurycoma-DMSO-C13CPD**Phụ lục 2.2. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất Eurycoma**



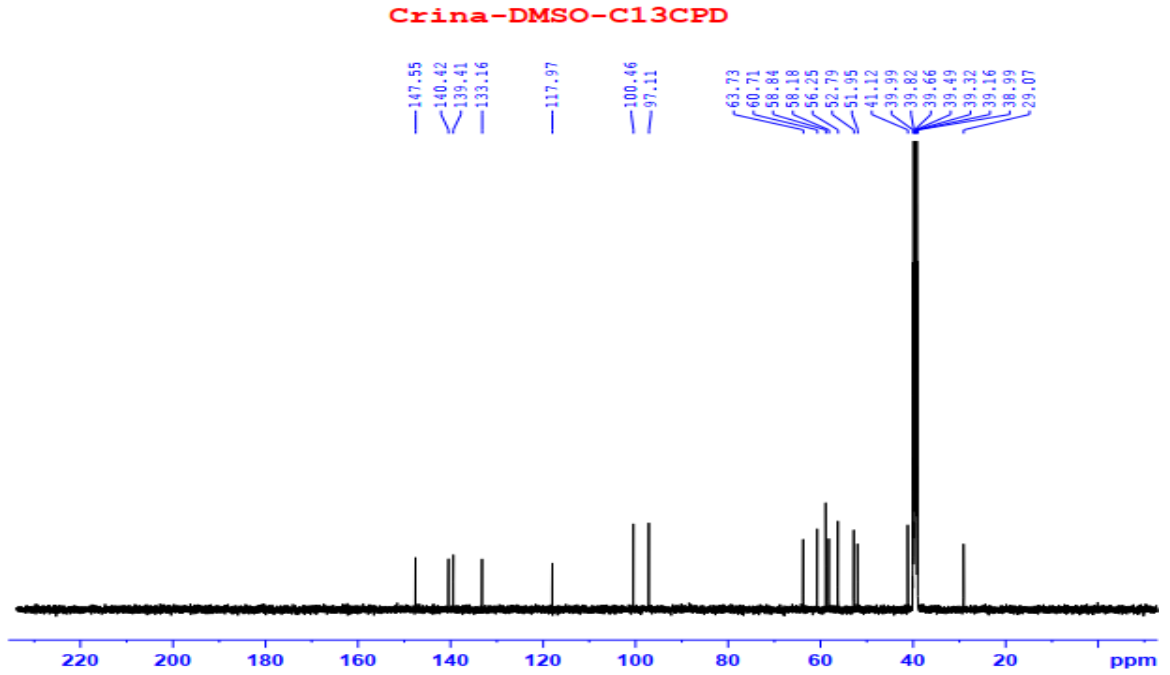
Phụ lục 2.2.1 Phổ ^{13}C -NMR giãn rộng của hợp chất Eurycoma



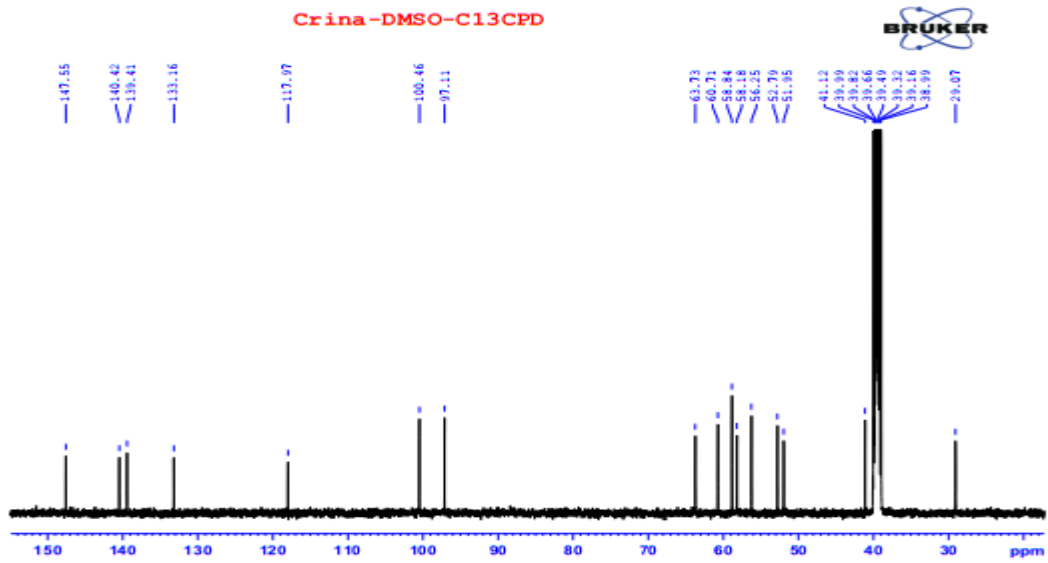
Phụ lục 3.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **Eurycoma**



Phụ lục 3.1.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ giãn rộng của hợp chất Crina



Phụ lục 3.2. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất Crina



Phụ lục 3.2.1. Phổ ^{13}C -NMR giãn rộng của hợp chất Crina

Phụ lục 4.1: Bảng kết quả thành phần hóa học cây thường xuân

NAME	CTPT	MASS	M+H	M-H	M+FA
Hamamelitol; D-form	C ₆ H ₁₄ O ₆	182.0790	183.0869	181.0712	227.0767
7-Hydroxy-6-methoxy-2 <i>H</i> -1-benzopyran-2-one; <i>O</i> -β-D-Glucopyranoside	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.0951	355.1029	353.0873	399.0927
1,9-Heptadecadiene-4,6-diyn-3-ol; (3 <i>R</i> ,9 <i>Z</i>)-form, 3-Ketone	C ₁₇ H ₂₂ O	242.1671	243.1749	241.1592	287.1647
1,9,11-Heptadecatriene-4,6-diyn-3-ol; (3 <i>R</i> ,9 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i>)-form	C ₁₇ H ₂₂ O	242.1671	243.1749	241.1592	287.1647
1,9,11-Heptadecatriene-4,6-diyne-3,8-diol; (3 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i>)-form	C ₁₇ H ₂₂ O ₂	258.1620	259.1698	257.1542	303.1596
α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-[β-D-glucopyranosyl-(1→4)]-L-arabinose	C ₁₇ H ₃₀ O ₁₄	458.1636	459.1714	457.1557	503.1612
9-Heptadecene-4,6-diyne-1,3,8-triol	C ₁₇ H ₂₆ O ₃	278.1882	279.1960	277.1804	323.1859
1,9-Heptadecadiene-4,6-diyne-3,8-diol; (3 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>Z</i>)-form, 3-Ketone, 8-Ac	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	300.1725	301.1804	299.1647	345.1702
8-Hydroxy-1,9-heptadecadiene-4,6-diyn-3-one; (8 <i>S</i> ,9 <i>Z</i>)-form, 1ξ,2ξ-Epoxy, 8-Ac	C ₁₉ H ₂₄ O ₄	316.1675	317.1753	315.1596	361.1651
8-Hydroxy-1,9-heptadecadiene-4,6-diyn-3-one; (8 <i>S</i> ,9 <i>Z</i>)-form, 1,2-Dihydro, 1-methoxy, 8-Ac	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	332.1988	333.2066	331.1909	377.1964
6,20-Dihydroxy-27-nordammar-23-ene-3,25-dione; (6α,20 <i>S</i> ,23 <i>E</i>)-form	C ₂₉ H ₄₆ O ₄	458.3396	459.3474	457.3318	503.3373
3,23-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; 3β-form	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472.3553	473.3631	471.3474	517.3529

Oleanolic acid 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - α -L- Arabinopyranoside	C ₃₅ H ₅₆ O ₇	588.4026	589.4104	587.3948	633.4003
3,16-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3 β ,16 α)-form, 3- <i>O</i> - α -L- Arabinopyranoside	C ₃₅ H ₅₆ O ₈	604.3975	605.4053	603.3897	649.3952
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - α -L- Arabinopyranoside	C ₃₅ H ₅₆ O ₈	604.3975	605.4053	603.3897	649.3952
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - β -D- Xylopyranoside	C ₃₅ H ₅₆ O ₈	604.3975	605.4053	603.3897	649.3952
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - β -D- Glucuronopyranoside	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₀	648.3874	649.3952	647.3795	693.3850
Dammar-24-ene-3,6,20,21,26-pentol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 3-Ketone, 26- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₃₆ H ₆₀ O ₁₀	652.4187	653.4265	651.4108	697.4163
Dammar-24-ene-3,6,20,21,26-pentol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 26- <i>O</i> - β -D- Glucopyranoside	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₀	654.4343	655.4421	653.4265	699.4320
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - α -L- Rhamnopyranoside	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	618.4132	619.4210	617.4053	663.4108
Oleanolic acid 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - β -D- Glucuronopyranoside	C ₃₆ H ₅₆ O ₉	632.3924	633.4003	631.3846	677.3901
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 3- <i>O</i> - β -D- Glucopyranoside	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	634.4081	635.4159	633.4003	679.4057
Dammar-24-ene-3,6,20,26-tetrol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 3-Ketone, 26- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₃₆ H ₆₀ O ₉	636.4237	637.4316	635.4159	681.4214

Dammar-24-ene-3,6,20,26-tetrol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 26- <i>O</i> - β -D- Glucopyranoside	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	638.4394	639.4472	637.4316	683.4370
Hederagenin 3-glycosides; Monoglycosides, 28-Me ester, 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₃₇ H ₆₀ O ₉	648.4237	649.4316	647.4159	693.4214
Dammar-24-ene-3,6,20,26-tetrol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 3-Ac, 26- <i>O</i> - β - D-glucopyranoside	C ₃₈ H ₆₄ O ₁₀	680.4500	681.4578	679.4421	725.4476
3,23-Dihydroxy-30-nor-12,20(29)- oleanadien-28-oic acid; 3 β -form, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α - L-arabinopyranoside]	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₂	734.4241	735.4320	733.4163	779.4218
Oleanolic acid 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L- Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L- arabinopyranoside]	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₁	734.4605	735.4683	733.4527	779.4582
3,16-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3 β ,16 α)-form, 3- <i>O</i> -[α -L- Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L- arabinopyranoside]	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	750.4554	751.4633	749.4476	795.4531
Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L- Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L- arabinopyranoside]	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	750.4554	751.4633	749.4476	795.4531
Hederagenin bisdesmosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> - α -L- Arabinopyranoside, 28- <i>O</i> - β -D- glucopyranosyl ester	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	766.4503	767.4582	765.4425	811.4480
Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D- Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 5)- α -L- arabinofuranoside]	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	766.4503	767.4582	765.4425	811.4480
3,16,23-Trihydroxy-12-oleanen-28- oic acid; (3 β ,16 α)-form, 3- <i>O</i> -[α -L-	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	766.4503	767.4582	765.4425	811.4480

Rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranoside]					
1,9-Heptadecadiene-4,6-diyne-3,8-diol; (3 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>Z</i>)-form, 8- <i>O</i> -(1 <i>H</i> -Indol-3-ylacetyl)	C ₂₇ H ₃₁ NO ₃	1027.1765	1028.1843	1026.1687	1072.1742
Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside]	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	780.4660	781.4738	779.4582	825.4637
Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside]	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₄	796.4609	797.4687	795.4531	841.4586
12-Oleanene-3,28-diol; 3 β -form, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside]	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	766.4867	767.4946	765.4789	811.4844
Dammar-24-ene-3,20,26-triol; (3 β ,20 <i>S</i> ,24 <i>Z</i>)-form, 3,26-Di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	784.4973	785.5051	783.4895	829.4950
Dammar-24-ene-3,6,20,26-tetrol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 3,26-Di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.4922	801.5000	799.4844	845.4899
Hederagenin 3-glycosides; Diglycosides, 28-Me ester, 3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside]	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₄	810.4766	811.4844	809.4687	855.4742
Emetine	C ₂₉ H ₄₀ N ₂ O ₄	480.2988	481.3066	479.2910	525.2965
Hederagenin 3-glycosides; Triglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Xylopyranosyl-(1→3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranoside]	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₆	882.4977	883.5055	881.4899	927.4953

Oleanolic acid 3-glycosides; Triglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside]	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₆	896.5133	897.5212	895.5055	941.5110
Oleanolic acid bisdesmosides; Triglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranoside], 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl ester	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	956.4981	957.5059	955.4903	1001.4957
Oleanolic acid bisdesmosides; Triglycosides, 3- <i>O</i> - β -D-Glucuronopyranoside, 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	956.4981	957.5059	955.4903	1001.4957
Oleanolic acid glycosyl esters; Triglycosides, 28- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	926.5239	927.5317	925.5161	971.5216
Hederagenin 3-glycosides; Triglycosides, 3- <i>O</i> -[α -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranoside]	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	942.5188	943.5266	941.5110	987.5165
Hederagenin 28-glycosyl esters; 28- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	942.5188	943.5266	941.5110	987.5165
Dammar-24-ene-3,6,20,26-tetrol; (3 β ,6 α ,20 <i>S</i> ,24 <i>E</i>)-form, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside], 26- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	962.5450	963.5529	961.5372	1007.5427
Hederagenin 3-glycosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₁	1044.5505	1045.5583	1043.5427	1089.5482

Oleanolic acid bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl ester	$C_{53}H_{86}O_{21}$	1058.5662	1059.5740	1057.5583	1103.5638
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> - α -L-Arabinopyranoside, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{53}H_{86}O_{22}$	1074.5611	1075.5689	1073.5533	1119.5587
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{53}H_{86}O_{22}$	1074.5611	1075.5689	1073.5533	1119.5587
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> - β -D-Xylopyranoside, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{53}H_{86}O_{22}$	1074.5611	1075.5689	1073.5533	1119.5587
2,3,23-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (2 α ,3 β)-form, 3- <i>O</i> - α -L-Arabinopyranoside, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{53}H_{86}O_{23}$	1090.5560	1091.5638	1089.5482	1135.5537
2,3,23-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (2 β ,3 β)-form, 3- <i>O</i> - α -L-Arabinopyranoside, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside]	$C_{53}H_{86}O_{23}$	1090.5560	1091.5638	1089.5482	1135.5537
Oleanolic acid bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> - β -D-Glucuronopyranoside, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{54}H_{86}O_{23}$	1102.5560	1103.5638	1101.5482	1147.5537

Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -β-D-Glucuronopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄	1118.5509	1119.5587	1117.5431	1163.5486
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -α-L-Rhamnopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₂	1088.5767	1089.5846	1087.5689	1133.5744
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -β-D-Glucopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₃	1104.5716	1105.5795	1103.5638	1149.5693
Oleanolic acid bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[β-D-Glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], 28- <i>O</i> -[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₃	1104.5716	1105.5795	1103.5638	1149.5693
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[β-D-Glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], 28- <i>O</i> -[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₄	1120.5666	1121.5744	1119.5587	1165.5642
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -α-L-Arabinopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₅ H ₈₈ O ₂₃	1116.5716	1117.5795	1115.5638	1161.5693
Oleanolic acid bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -β-D-Glucuronopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₆ H ₈₈ O ₂₄	1144.5666	1145.5744	1143.5587	1189.5642

Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -β-D-Glucuronopyranoside, 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₆ H ₈₈ O ₂₅	1160.5615	1161.5693	1159.5537	1205.5591
Hederagenin bisdesmosides; Tetraglycosides, 3- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -Ethyl-β-D-glucuronopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₆ H ₉₀ O ₂₄	1146.5822	1147.5900	1145.5744	1191.5799
3,23-Dihydroxy-30-nor-12,20(29)-oleanadien-28-oic acid; 3β-form, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₈ H ₉₂ O ₂₆	1204.5877	1205.5955	1203.5799	1249.5853
3,23-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; 3β-form, Glycoside	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₂	1156.6393	1157.6472	1155.6315	1201.6370
Oleanolic acid bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₅	1204.6241	1205.6319	1203.6163	1249.6217
3,16-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3β,16α)-form, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	1220.6190	1221.6268	1219.6112	1265.6166
Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	1220.6190	1221.6268	1219.6112	1265.6166

Hederagenin 3-glycosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside]	$C_{59}H_{96}O_{26}$	1220.6190	1221.6268	1219.6112	1265.6166
Oleanolic acid bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{59}H_{96}O_{26}$	1220.6190	1221.6268	1219.6112	1265.6166
Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{59}H_{96}O_{27}$	1236.6139	1237.6217	1235.6061	1281.6116
Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{59}H_{96}O_{27}$	1236.6139	1237.6217	1235.6061	1281.6116
3,16,23-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3 β ,16 α)-form, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{59}H_{96}O_{27}$	1236.6139	1237.6217	1235.6061	1281.6116
Oleanolic acid bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucuronopyranoside], 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{60}H_{96}O_{27}$	1248.6139	1249.6217	1247.6061	1293.6116

Oleanolic acid bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[β-D-Galactopyranosyl-(1→4)-β-D-glucuronopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₆₀ H ₉₆ O ₂₈	1264.6088	1265.6166	1263.6010	1309.6065
Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₆₀ H ₉₈ O ₂₇	1250.6296	1251.6374	1249.6217	1295.6272
3,16-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3β,16α)-form, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₆₁ H ₉₈ O ₂₇	1262.6296	1263.6374	1261.6217	1307.6272
Hederagenin bisdesmosides; Pentaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-6- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₆₁ H ₉₈ O ₂₇	1262.6296	1263.6374	1261.6217	1307.6272
Hederagenin 3-glycosides; Hexaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→6)-[α-D-glucopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside]	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₃₀	1352.6613	1353.6691	1351.6534	1397.6589
Oleanolic acid bisdesmosides; Hexaglycosides, 3- <i>O</i> -[α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2)-[β-D-glucopyranosyl-(1→4)]-α-L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	C ₆₅ H ₁₀₆ O ₃₀	1366.6769	1367.6847	1365.6691	1411.6746

Oleanolic acid bisdesmosides; Heptaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{71}H_{116}O_{34}$	1512.7348	1513.7426	1511.7270	1557.7325
Hederagenin bisdesmosides; Heptaglycosides, 3- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- α -L-arabinopyranoside], 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{71}H_{116}O_{35}$	1528.7297	1529.7376	1527.7219	1573.7274
Oleanolic acid glycosyl esters; Diglycosides, 3- <i>O</i> -Sulfate, 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{42}H_{68}O_{16}S$	860.4228	861.4306	859.4150	905.4205
Oleanolic acid glycosyl esters; Triglycosides, 3- <i>O</i> -Sulfate, 28- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester	$C_{48}H_{78}O_{20}S$	1006.4807	1007.4885	1005.4729	1051.4784
3,16-Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid; (3 β ,16 α)-form, 28- <i>O</i> -[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl] ester, 3- <i>O</i> -sulfate	$C_{48}H_{78}O_{21}S$	1022.4756	1023.4835	1021.4678	1067.4733

Phụ lục 4.2: Bảng kết quả thành phần hóa học cây bá bệnh

NAME	CTPT	MASS	M+H	M-H	M+FA
Ailanguassin A; 14 β ,15 β -Dihydroxy	C ₁₉ H ₂₄ O ₉	396.1420	397.1499	395.1342	441.1397
β -Carboline-1-propanoic acid; 7-Hydroxy	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₃	256.0848	257.0926	255.0770	301.0824
β -Carboline-1-propanoic acid; 7-Methoxy	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	270.1004	271.1083	269.0926	315.0981
β -Carboline-1-propanoic acid; 7-Methoxy, 1',2'-didehydro(<i>E</i> -)	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₃	268.0848	269.0926	267.0770	313.0824
β -Carboline-1-propanoic acid; Pentyl ester	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂	310.1681	311.1760	309.1603	355.1658
21,23:24,25-Diepoxytirucall-7-ene-3,21-diol; (3 α ,21 <i>R</i> ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470.3396	471.3474	469.3318	515.3373
1,9-Dihydroxycanthin-6-one; 9-Me ether	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	266.0691	267.0770	265.0613	311.0668
4,9-Dihydroxycanthin-6-one; Di-Me ether	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	280.0848	281.0926	279.0770	325.0824
5,9-Dihydroxycanthin-6-one; Di-Me ether	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	280.0848	281.0926	279.0770	325.0824
9,10-Dihydroxycanthin-6-one; Di-Me ether	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	280.0848	281.0926	279.0770	325.0824
9,10-Dihydroxycanthin-6-one; 9-Me ether	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	266.0691	267.0770	265.0613	311.0668
10,11-Dihydroxycanthin-6-one; 10-Me ether	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	266.0691	267.0770	265.0613	311.0668
10,11-Dihydroxycanthin-6-one; 11-Me ether	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	266.0691	267.0770	265.0613	311.0668
3,3'-Dimethoxy-4,4'-oxylygn-7'-ene-7,8,9,9'-tetrol; (7 <i>R</i> ,7' <i>E</i> ,8 <i>R</i>)-form	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	376.1522	377.1600	375.1444	421.1499
3,3'-Dimethoxy-4,4'-oxylygn-7'-ene-7,8,9,9'-tetrol; (7 <i>S</i> ,7' <i>E</i> ,8 <i>S</i>)-form	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	376.1522	377.1600	375.1444	421.1499
21,24-Epoxy-23,25-dihydroxytirucall-7-ene-3-one; (23 <i>R</i> ,24 <i>R</i>)-form	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472.3553	473.3631	471.3474	517.3529
8',9'-Epoxy-3',5'-dimethoxy-3,4'-lign-7-ene-4,7',9-triol	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	358.1416	359.1495	357.1338	403.1393
8',9'-Epoxy-3',5'-dimethoxy-3,4'-lign-7-ene-4,7',9-triol; 5'-Methoxy	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	388.1522	389.1600	387.1444	433.1499
24,25-Epoxytirucall-7-ene-3,23-diol; (3 β ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	458.3760	459.3838	457.3682	503.3737
24,25-Epoxytirucall-7-ene-3,23-diol; (3 β ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.3603	457.3682	455.3525	501.3580
24,25-Epoxytirucall-7-ene-3,23-diol; (3 β ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone, 23-Ac	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	498.3709	499.3787	497.3631	543.3686
21,24-Epoxytirucall-7-ene-3,23,25-triol; (3 β ,23 <i>R</i> ,24 <i>R</i>)-form	C ₃₀ H ₅₀ O ₄	474.3709	475.3787	473.3631	519.3686
21,25-Epoxytirucall-7-ene-3,23,24-triol; (3 α ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472.3553	473.3631	471.3474	517.3529
Eurycolactone A	C ₂₀ H ₂₄ O ₇	376.1522	377.1600	375.1444	421.1499
Eurycolactone B	C ₁₈ H ₁₉ ClO ₅	350.0921	351.0999	349.0843	395.0898
Eurycolactone C	C ₁₈ H ₂₀ O ₆	332.1260	333.1338	331.1182	377.1236
Eurycomadilactone	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.1420	409.1499	407.1342	453.1397

Eurycomadilactone; 5-Epimer	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.1420	409.1499	407.1342	453.1397
Eurycomadilactone; 13-Epimer	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.1420	409.1499	407.1342	453.1397
Eurycomalactone	C ₁₉ H ₂₄ O ₆	348.1573	349.1651	347.1495	393.1549
Eurycomalactone; 2 α -Alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalactone; 7 α -Alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalactone; 5,6-Didehydro	C ₁₉ H ₂₂ O ₆	346.1416	347.1495	345.1338	391.1393
Eurycomalactone; 5,6-Didehydro, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₄ O ₆	348.1573	349.1651	347.1495	393.1549
Eurycomalactone; 5,6-Didehydro, 3,4 α -dihydro	C ₁₉ H ₂₄ O ₆	348.1573	349.1651	347.1495	393.1549
Eurycomalactone; 5,6-Didehydro 3,4 β -dihydro, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalactone; 5,6-Didehydro, 3,4-dihydro, 4 β -hydroxy, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366.1679	367.1757	365.1600	411.1655
Eurycomalactone; 3,4 α -Dihydro	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalactone; 3,4 α -Dihydro, 6 α -hydroxy, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₈ O ₇	368.1835	369.1913	367.1757	413.1812
Eurycomalactone; 3 ξ ,4 ξ -Epoxide, 5,6-didehydro	C ₁₉ H ₂₂ O ₇	362.1366	363.1444	361.1287	407.1342
Eurycomalactone; 3 α ,4 α -Epoxide, 5,6-didehydro, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₄ O ₇	364.1522	365.1600	363.1444	409.1499
Eurycomalactone; 5 α -Hydroxy	C ₁₉ H ₂₄ O ₇	364.1522	365.1600	363.1444	409.1499
Eurycomalactone; 6 α -Hydroxy	C ₁₉ H ₂₄ O ₇	364.1522	365.1600	363.1444	409.1499
Eurycomalactone; 6 α -Hydroxy, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366.1679	367.1757	365.1600	411.1655
Eurycomalactone; 6 α -Hydroxy, 5,6-didehydro	C ₁₉ H ₂₂ O ₇	362.1366	363.1444	361.1287	407.1342
Eurycomalactone; $\Delta^{4(28)}$ -Isomer, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalactone; $\Delta^{4(28)}$ -Isomer, 6 α -hydroxy, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366.1679	367.1757	365.1600	411.1655
Eurycomalactone; Δ^4 -Isomer, 6-oxo, 2 α ,7 β -dialcohol	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366.1679	367.1757	365.1600	411.1655
Eurycomalide E	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Eurycomalide H	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Eurycomalin A	C ₂₄ H ₂₂ O ₆	406.1416	407.1495	405.1338	451.1393
Eurycomanol	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Eurycomanol; 13 β ,18-Dihydro	C ₂₀ H ₂₈ O ₉	412.1733	413.1812	411.1655	457.1710
Eurycomanol; 13,18-Dihydro, 13 β ,18-dihydroxy	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₁	444.1632	445.1710	443.1553	489.1608
Eurycomanol; 13,18-Dihydro, 13 β ,18-dihydroxy, 2-ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	442.1475	443.1553	441.1397	487.1452
Eurycomanol; 13 α ,18-Dihydro, 2-ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Eurycomanol; 13 β ,18-Dihydro, 2-ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Eurycomanol; 13 β ,18-Dihydro, 2-ketone, 12-Ac	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₀	452.1683	453.1761	451.1604	497.1659

Eurycomanol; 13 β ,18-Dihydro, 2-ketone, 12,15-di-Ac	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₁	494.1788	495.1866	493.1710	539.1765
Eurycomanol; 14-Epimer, 13 β ,18-dihydro, 2-ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Eurycomanol; 13 β ,18-Epoxy, 2-ketone	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	424.1370	425.1448	423.1291	469.1346
Eurycomanol; 13 β ,18-Epoxy, 2-ketone, 15-Ac	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₁	466.1475	467.1553	465.1397	511.1452
Eurycomanol; 13 β ,18-Epoxy, 2-ketone, 12,15-di-Ac	C ₂₄ H ₂₈ O ₁₂	508.1581	509.1659	507.1503	553.1557
Eurycomanol; 2- <i>O</i> - β -D-Glucopyranoside	C ₂₆ H ₃₆ O ₁₄	572.2105	573.2183	571.2027	617.2082
Eurycomanol; 2-Ketone	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.1420	409.1499	407.1342	453.1397
Eurycomaoside	C ₂₅ H ₃₈ O ₁₂	530.2363	531.2442	529.2285	575.2340
Eurycomaoside; <i>O</i> -Deglucosyl	C ₁₉ H ₂₈ O ₇	368.1835	369.1913	367.1757	413.1812
Eurylactone A	C ₁₉ H ₂₆ O ₈	382.1628	383.1706	381.1549	427.1604
Eurylactone B	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	394.1264	395.1342	393.1186	439.1240
Eurylactone E	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	394.1264	395.1342	393.1186	439.1240
Eurylactone E; 13,18-Didehydro	C ₁₉ H ₂₀ O ₉	392.1107	393.1186	391.1029	437.1084
Eurylactone E; 13-Epimer	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	394.1264	395.1342	393.1186	439.1240
Eurylene	C ₃₄ H ₅₈ O ₈	594.4132	595.4210	593.4053	639.4108
Eurylene; 14-De-Ac	C ₃₂ H ₅₆ O ₇	552.4026	553.4104	551.3948	597.4003
Glaucarubol; 15-Epimer, 2- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₂₆ H ₃₈ O ₁₃	558.2312	559.2391	557.2234	603.2289
Glaucarubol; Δ^4 -Isomer, 14 β -hydroxy	C ₂₀ H ₂₈ O ₉	412.1733	413.1812	411.1655	457.1710
9-Hydroxycanthin-6-one	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₂	236.0586	237.0664	235.0508	281.0562
9-Hydroxycanthin-6-one; <i>O</i> - β -D-Glucopyranoside	C ₂₀ H ₁₈ N ₂ O ₇	398.1114	399.1192	397.1036	443.1091
9-Hydroxycanthin-6-one; Me ether, <i>N</i> ³ -oxide	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	266.0691	267.0770	265.0613	311.0668
9-Hydroxycanthin-6-one; <i>N</i> ³ -Oxide	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₃	252.0535	253.0613	251.0457	297.0511
5-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-methyl-4 <i>H</i> -1-benzopyran-3-propanoic acid; (ξ)-form	C ₁₉ H ₁₈ O ₅	326.1154	327.1233	325.1076	371.1131
5-Hydroxymethylcanthin-6-one; 9-Methoxy	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	280.0848	281.0926	279.0770	325.0824
Iandonol; 2- <i>O</i> - β -D-Glucopyranoside	C ₂₆ H ₃₈ O ₁₄	574.2262	575.2340	573.2183	619.2238
Iandonol; 2-Ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	410.1577	411.1655	409.1499	455.1553
Klaineanone; 14 β ,15 β -Dihydroxy	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	396.1784	397.1862	395.1706	441.1761
Klaineanone; 6 α ,15 β -Dihydroxy, 15-Ac	C ₂₂ H ₃₀ O ₉	438.1890	439.1968	437.1812	483.1866
Klaineanone; 14 β ,15 β -Dihydroxy, 15-Ac	C ₂₂ H ₃₀ O ₉	438.1890	439.1968	437.1812	483.1866
Klaineanone; 12-Epimer, 11-ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	362.1729	363.1808	361.1651	407.1706
Klaineanone; Δ^4 -Isomer, 14 β ,15 β -dihydroxy, 2 α -alcohol	C ₂₀ H ₃₀ O ₈	398.1941	399.2019	397.1862	443.1917
Klaineanone; 11-Ketone	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	362.1729	363.1808	361.1651	407.1706
Klaineanone; 5 α ,14 β ,15 β -Trihydroxy	C ₂₀ H ₂₈ O ₉	412.1733	413.1812	411.1655	457.1710

Klaineanone; 6 α ,14 β ,15 β -Trihydroxy	C ₂₀ H ₂₈ O ₉	412.1733	413.1812	411.1655	457.1710
Klaineanone; 6 α ,14 β ,15 β -Trihydroxy, 6-Ac	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₀	454.1839	455.1917	453.1761	499.1816
Laurycolactone A	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.1467	319.1546	317.1389	363.1444
Laurycolactone A; 5,6-Didehydro	C ₁₈ H ₂₀ O ₅	316.1311	317.1389	315.1233	361.1287
Laurycolactone A; 5,6-Didehydro, 3,4 β -dihydro	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.1467	319.1546	317.1389	363.1444
Longilactone	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366.1679	367.1757	365.1600	411.1655
Longilactone; 6-Ac	C ₂₁ H ₂₈ O ₈	408.1784	409.1862	407.1706	453.1761
Longilactone; 6-Deoxy	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	350.1729	351.1808	349.1651	395.1706
Longilactone; $\Delta^{4(28)}$ -Isomer, 2 α -alcohol	C ₁₉ H ₂₈ O ₇	368.1835	369.1913	367.1757	413.1812
Longilene peroxide	C ₃₀ H ₅₂ O ₈	540.3662	541.3740	539.3584	585.3639
Picrasidine L; 9-Methoxy	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	280.0848	281.0926	279.0770	325.0824
Stigmasta-5,22-dien-3-ol; (3 β ,22 <i>E</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone	C ₂₉ H ₄₆ O	410.3549	411.3627	409.3470	455.3525
3,23,24,25-Tetrahydroxytirucall-7-en-6-one; (23 ξ ,24 ξ)-form, 3-Ketone	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	488.3502	489.3580	487.3424	533.3478
Tirucall-7-ene-3,23,24,25-tetrol; (3 β ,23 <i>R</i> ,24 <i>S</i>)-form, 3-Ketone	C ₃₀ H ₅₀ O ₄	474.3709	475.3787	473.3631	519.3686

Phụ lục 4.3: Bảng kết quả thành phần hóa học cây trinh nữ hoàng cung

NAME	CTPT	MASS	M+H	M-H	M+FA
Amabiline	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289.131409	290.139234	288.123584	334.129064
Amabiline; 1,2-Di-Ac	C ₂₀ H ₂₃ NO ₆	373.152539	374.160364	372.144714	418.150194
Amabiline; 1,2-Diepimer	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289.131409	290.139234	288.123584	334.129064
Amabiline; 1,2-Diepimer, 2-Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
Amabiline; 1,2-Diepimer, 1,2-di-Ac	C ₂₀ H ₂₃ NO ₆	373.152539	374.160364	372.144714	418.150194
Ambelline	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
Ambelline; 1 β ,2 β -Epoxide	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	347.136889	348.144714	346.129064	392.134544
Ambelline; 1 β ,2 β -Epoxide, Ac	C ₂₀ H ₂₃ NO ₇	389.147454	390.155279	388.139629	434.145109
Ambelline; 6 α -Hydroxy	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	347.136889	348.144714	346.129064	392.134544
4-Aminobenzaldehyde	C ₇ H ₇ NO	121.052764	122.060589	120.044939	166.050419
Asiaticumine A	C ₁₆ H ₁₃ NO ₄	283.084459	284.092284	282.076634	328.082114
Asiaticumine B	C ₁₆ H ₁₇ NO ₅	303.110674	304.118499	302.102849	348.108329
Augustamine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Augustamine; <i>N</i> -De-Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414

Augustamine; <i>N</i> ,4 <i>a</i> -Didehydro, <i>N</i> -de-Me	C ₁₆ H ₁₅ NO ₄	285.100109	286.107934	284.092284	330.097764
Berberine; 10-Demethoxy, 12-methoxy	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	336.123584	337.131409	335.115759	381.121239
Bowdensine	C ₂₁ H ₂₅ NO ₇	403.163104	404.170929	402.155279	448.160759
Bowdensine; Di- <i>O</i> -de-Ac	C ₁₇ H ₂₁ NO ₅	319.141974	320.149799	318.134149	364.139629
Bowdensine; 1-Epimer, <i>O</i> ¹ -de-Ac	C ₁₉ H ₂₃ NO ₆	361.152539	362.160364	360.144714	406.150194
Bowdensine; 1-Epimer, <i>O</i> ² -de-Ac	C ₁₉ H ₂₃ NO ₆	361.152539	362.160364	360.144714	406.150194
Bowdensine; 1-Epimer, <i>O</i> -de-Me	C ₂₀ H ₂₃ NO ₇	389.147454	390.155279	388.139629	434.145109
Bowdensine; 1-Epimer, di-de-Ac	C ₁₇ H ₂₁ NO ₅	319.141974	320.149799	318.134149	364.139629
Buphanamine; (-)-form	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Cherylline; (<i>S</i>)-form	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.136494	286.144319	284.128669	330.134149
Coranicine	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414
Craugsodine	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844	272.128669	270.113019	316.118499
Craugsodine; 4'- <i>O</i> -De-Me, <i>O</i> ³ -Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844	272.128669	270.113019	316.118499
Crinafolidine	C ₁₉ H ₂₃ NO ₆	361.152539	362.160364	360.144714	406.150194
Crinamabine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₅	305.126324	306.134149	304.118499	350.123979
Crinamabine; 2-Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	347.136889	348.144714	346.129064	392.134544
Crinamabine; 7-Methoxy	C ₁₇ H ₂₁ NO ₆	335.136889	336.144714	334.129064	380.134544
Crinamidine; (+)-form	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324	318.134149	316.118499	362.123979
Crinamidine; (-)-form	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324	318.134149	316.118499	362.123979
Crinamidine; (-)-form, 6ξ-Hydroxy	C ₁₇ H ₁₉ NO ₆	333.121239	334.129064	332.113414	378.118894
Crinamidine; (-)-form, 6α-Hydroxy, Me ether	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	347.136889	348.144714	346.129064	392.134544
Crinasiadine	C ₁₄ H ₉ NO ₃	239.058244	240.066069	238.050419	284.055899
Crinasiatine; (±)-form	C ₂₂ H ₁₇ NO ₄	359.115759	360.123584	358.107934	404.113414
Crinatine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₅	305.126324	306.134149	304.118499	350.123979
Crinatine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
Crinine; (+)-form, 1,2-Dihydro	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494	274.144319	272.128669	318.134149
Crinine; (+)-form, 3-Epimer	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844	272.128669	270.113019	316.118499
Crinine; (-)-form	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844	272.128669	270.113019	316.118499
Crinine; (-)-form, Ac	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.131409	314.139234	312.123584	358.129064
Crinine; (-)-form, 1β,2β-Epoxide	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414
Crinine; (-)-form, 1β,2β-Epoxide, Me ether	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Crinine; (-)-form, 1β,2β-Epoxide, Me ether, <i>N</i> -oxide	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324	318.134149	316.118499	362.123979
Crinine; (-)-form, 6-Hydroxy	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414
Crinine; (-)-form, 6-Hydroxy, <i>O</i> ³ -Me	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Crinine; (-)-form, 3-Ketone	C ₁₆ H ₁₅ NO ₃	269.105194	270.113019	268.097369	314.102849
Crinine; (-)-form, Me ether	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.136494	286.144319	284.128669	330.134149
Crinine; (-)-form, Me ether, <i>N</i> -oxide	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064

Crinisine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₆	335.136889	336.144714	334.129064	380.134544
Crinosine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.147059	304.154884	302.139234	348.144714
Cripowellin A	C ₂₅ H ₃₁ NO ₁₂	537.184629	538.192454	536.176804	582.182284
Cripowellin A; 8,9-De(methylenedioxy), 8,9-dimethoxy, 6'-deoxy	C ₂₆ H ₃₅ NO ₁₁	537.221014	538.228839	536.213189	582.218669
Cripowellin A; 6'-Deoxy	C ₂₅ H ₃₁ NO ₁₁	521.189714	522.197539	520.181889	566.187369
Cripowellin B	C ₂₅ H ₃₃ NO ₁₁	523.205364	524.213189	522.197539	568.203019
Cripowellin B; 8,9-De(methylenedioxy), 8,9-dimethoxy, 6'-deoxy	C ₂₆ H ₃₇ NO ₁₀	523.241749	524.249574	522.233924	568.239404
Cripowellin B; 8,9-De(methylenedioxy), 9-methoxy, 8-hydroxy	C ₂₅ H ₃₅ NO ₁₁	525.221014	526.228839	524.213189	570.218669
Cripowellin B; 6'-Deoxy	C ₂₅ H ₃₃ NO ₁₀	507.210449	508.218274	506.202624	552.208104
Cripowellin B; 7-Methoxy	C ₂₆ H ₃₅ NO ₁₂	553.215929	554.223754	552.208104	598.213584
Delagoenine	C ₁₉ H ₂₅ NO ₅	347.173274	348.181099	346.165449	392.170929
Delagoensine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3,11-Diepimer, 3-Ac	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅	329.126324	330.134149	328.118499	374.123979
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 1,2-Dihydro, 3-Me ether	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.147059	304.154884	302.139234	348.144714
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Epimer	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Epimer, 3-Ac	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅	329.126324	330.134149	328.118499	374.123979
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Epimer, 3- <i>O</i> -[4-(2-aminoethyl)phenyl]	C ₂₄ H ₂₆ N ₂ O ₄	394.186184	395.194009	393.178359	439.183839
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Epimer, 3-Me ether	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Epimer, 3-Me ether, <i>N</i> -oxide	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324	318.134149	316.118499	362.123979
<i>O</i> -Demethylhaemanthamine; 3-Me ether	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
1,2-Di-2-butenoylhydrazine; (<i>E,E</i>)-form	C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₂	156.086804	157.094629	155.078979	201.084459
3,4-Dihydroxybenzaldehyde; 4- <i>O</i> -β-D-Glucopyranoside	C ₁₃ H ₁₆ O ₈	300.08452	301.092345	299.076695	345.082175
3,4-Dihydroxybenzyl alcohol; 4- <i>O</i> -[3,4-Dihydroxy- <i>E</i> -cinnamoyl-(→6)-β-D-glucopyranoside]	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	464.131865	465.13969	463.12404	509.12952
4',7-Dihydroxyflavan; (<i>S</i>)-form, 4',7-Di-Me ether	C ₁₇ H ₁₈ O ₃	270.125595	271.13342	269.11777	315.12325
4',7-Dihydroxyflavan; (<i>S</i>)-form, 7-Me ether	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	256.109945	257.11777	255.10212	301.1076
6,7-Dihydroxy-4-hydroxymethyl-2 <i>H</i> -1-benzopyran-2-one; 6,7-Di-Me ether, 1'- <i>O</i> -(3-methyl-2-butenoyl)	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	318.11034	319.118165	317.102515	363.107995
1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1,2-ethanediol; (ξ)-form, 3',4'-Di-Me ether	C ₁₀ H ₁₄ O ₄	198.08921	199.097035	197.081385	243.086865
1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-propanone; 2',4'-Di-Me ether	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	286.12051	287.128335	285.112685	331.118165

4,14-Dimethyl-9,19-cycloergost-25-en-3-ol; (3 β ,4 α ,5 α ,24S)-form	C ₃₀ H ₅₀ O	426.386165	427.39399	425.37834	471.38382
Galanthamine; (-)-form, <i>N</i> -De-Me	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494	274.144319	272.128669	318.134149
Galanthamine; (-)-form, <i>O</i> -De-Me, <i>O</i> ³ -Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	315.147059	316.154884	314.139234	360.144714
Galanthamine; (-)-form, <i>N</i> -De-Me, <i>O,N</i> -di-Ac	C ₂₀ H ₂₃ NO ₅	357.157624	358.165449	356.149799	402.155279
Galanthamine; (-)-form, 1,2-Dihydro	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289.167794	290.175619	288.159969	334.165449
Haemanthidine; 3,11-Diepimer, <i>O</i> -de-Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₅	303.110674	304.118499	302.102849	348.108329
Haemanthidine; 3-Epimer	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324	318.134149	316.118499	362.123979
Haemanthidine; 3-Epimer, <i>O</i> -de-Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₅	303.110674	304.118499	302.102849	348.108329
Haemanthidine; 3-Epimer, <i>O</i> ⁶ -Me	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
Haemultine; Stereoisomer, 7-methoxy	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.147059	304.154884	302.139234	348.144714
2-Heptyl-4-hydroxyquinoline	C ₁₆ H ₂₁ NO	243.162314	244.170139	242.154489	288.159969
3',4',5,6,7,8-Hexahydroxyflavone; 4',7,8-Tri-Me ether	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	360.08452	361.092345	359.076695	405.082175
Hippadine	C ₁₆ H ₉ NO ₃	263.058244	264.066069	262.050419	308.055899
Hippadine; 4,5-Dihydro	C ₁₆ H ₁₁ NO ₃	265.073894	266.081719	264.066069	310.071549
5-Hydroxy-9-dotriacontanone	C ₃₂ H ₆₄ O ₂	480.49063	481.498455	479.482805	525.488285
9-Hydroxy-3-hentriacontanone	C ₃₁ H ₆₂ O ₂	466.47498	467.482805	465.467155	511.472635
5-Hydroxy-9-hexacosanone	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396.39673	397.404555	395.388905	441.394385
5-Hydroxyhomolycorine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
4-Hydroxy-2-nonylquinoline; 3',4'-Didehydro(<i>Z</i> -)	C ₁₈ H ₂₃ NO	269.177964	270.185789	268.170139	314.175619
5-Hydroxy-9-octacosanone	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424.42803	425.435855	423.420205	469.425685
6-Hydroxy-2 <i>H</i> -pyran-3-carboxaldehyde	C ₆ H ₆ O ₃	126.031695	127.03952	125.02387	171.02935
5-Hydroxy-9-triacontanone	C ₃₀ H ₆₀ O ₂	452.45933	453.467155	451.451505	497.456985
Ismine	C ₁₅ H ₁₅ NO ₃	257.105194	258.113019	256.097369	302.102849
Krelagine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Latifine; (<i>S</i>)-form	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.136494	286.144319	284.128669	330.134149
Latindine	C ₄₁ H ₃₉ N ₃ O ₁₀	708.257399	709.265224	707.249574	753.255054
Lycorenine; 7-Deoxy	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301.167794	302.175619	300.159969	346.165449
Lycorenine; 7-Ketone (lactone), <i>O</i> ⁹ -de-Me	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409	302.139234	300.123584	346.129064
Lycorine; (-)-form	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.115759	288.123584	286.107934	332.113414
Lycorine; (-)-form, 1-Ac	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅	329.126324	330.134149	328.118499	374.123979
Lycorine; (-)-form, Di-Ac	C ₂₀ H ₂₁ NO ₆	371.136889	372.144714	370.129064	416.134544
Lycorine; (-)-form, <i>O</i> ¹ , <i>O</i> ² -Di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	C ₂₈ H ₃₇ NO ₁₄	611.221409	612.229234	610.213584	656.219064
Lycorine; (-)-form, <i>O</i> ¹ - β -D-Glucopyranoside	C ₂₂ H ₂₇ NO ₉	449.168584	450.176409	448.160759	494.166239
Lycorine; (-)-form, <i>O</i> ¹ -Hexadecanoyl	C ₃₂ H ₄₇ NO ₅	525.345424	526.353249	524.337599	570.343079

Lycorine; (-)-form, <i>O</i> ¹ -Hexadecanoyl, <i>O</i> ² - (1- <i>O</i> -hexadecanoyl-2- <i>O</i> - octadecanoyl/octadecenoyl)glycerophosphoryl	C ₆₉ H ₁₁₆ - 118NO ₁₂ P	1063.82352		1064.83134	1062.81569	1108.82117
Lycorine; (-)-form, <i>O</i> ¹ -(6- <i>O</i> -Hexadecanoyl- β-D-glucopyranoside)	C ₃₈ H ₅₇ NO ₁₀	687.398249		688.406074	686.390424	732.395904
Lycorine; (-)-form, <i>N</i> ,7,11 <i>b</i> ,11 <i>c</i> -Tridehydro	C ₁₆ H ₁₄ NO ₄	284.092284		285.100109	283.084459	329.089939
Macranthine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₅	305.126324		306.134149	304.118499	350.123979
Macranthine; <i>O</i> -Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆	347.136889		348.144714	346.129064	392.134544
Macranthine; Di- <i>O</i> -Ac	C ₂₀ H ₂₃ NO ₇	389.147454		390.155279	388.139629	434.145109
Maritidine; (+)-form, <i>O</i> ⁸ -De-Me, 3-Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	315.147059		316.154884	314.139234	360.144714
Maritidine; (+)-form, 3-Epimer, <i>O</i> ⁸ -de-Me	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494		274.144319	272.128669	318.134149
Maritidine; (+)-form, 3-Ketone, <i>O</i> ⁸ -de-Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844		272.128669	270.113019	316.118499
Maritidine; (-)-form, <i>O</i> ⁸ -De-Me	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494		274.144319	272.128669	318.134149
8,9-Methylenedioxyphenanthridine; 3- Hydroxy	C ₁₄ H ₉ NO ₃	239.058244		240.066069	238.050419	284.055899
Mooreine	C ₁₇ H ₁₈ NO ₄	300.123584		301.131409	299.115759	345.121239
Narcicrinine	C ₁₄ H ₁₇ NO ₅	279.110674		280.118499	278.102849	324.108329
Nerbowdine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₅	319.141974		320.149799	318.134149	364.139629
Nerbowdine; Demethoxy	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	289.131409		290.139234	288.123584	334.129064
Norbelladine; 3',4'-Di-Me ether	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	287.152144		288.159969	286.144319	332.149799
Norbelladine; 3',4'-Di-Me ether, 4''- <i>O</i> -β-D- glucopyranoside	C ₂₃ H ₃₁ NO ₈	449.204969		450.212794	448.197144	494.202624
Norbelladine; 4'-Me ether	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494		274.144319	272.128669	318.134149
Oliganine	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₃	328.175619		329.183444	327.167794	373.173274
Ornazidine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494		274.144319	272.128669	318.134149
Ornazidine; <i>O</i> ¹¹ -Ac	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	315.147059		316.154884	314.139234	360.144714
Ornazidine; 3,4-Didehydro, di-Me ether	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299.152144		300.159969	298.144319	344.149799
Pluviine; Δ ^{4,12} -Isomer, <i>O</i> ⁹ -de-Me	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.136494		274.144319	272.128669	318.134149
Powellamine; (+)-form	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844		272.128669	270.113019	316.118499
Powellamine; (-)-form	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844		272.128669	270.113019	316.118499
Powellidine	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844		272.128669	270.113019	316.118499
Powelline	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301.131409		302.139234	300.123584	346.129064
Powelline; 6α-Hydroxy	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317.126324		318.134149	316.118499	362.123979
Pratorinine	C ₁₆ H ₁₁ NO ₃	265.073894		266.081719	264.066069	310.071549
Pratorinine; <i>O</i> -De-Me	C ₁₅ H ₉ NO ₃	251.058244		252.066069	250.050419	296.055899
Pratorinine; <i>O</i> -De-Me, <i>O</i> ⁹ -Me	C ₁₆ H ₁₁ NO ₃	265.073894		266.081719	264.066069	310.071549
Pratorinine; Me ether	C ₁₇ H ₁₃ NO ₃	279.089544		280.097369	278.081719	324.087199
Pretazettine; 3,8-Diepimer, <i>O</i> ⁸ -Et	C ₂₀ H ₂₅ NO ₅	359.173274		360.181099	358.165449	404.170929
Pretazettine; 3-Epimer	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974		332.149799	330.134149	376.139629

Pretazettine; 8-Epimer, <i>O</i> ⁸ -Et, <i>N</i> -de-Me	C ₁₉ H ₂₃ NO ₅	345.157624	346.165449	344.149799	390.155279
Pretazettine; 3-Epimer, 8-ketone(lactone)	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅	329.126324	330.134149	328.118499	374.123979
Pretazettine; 3-Epimer, 8-ketone(lactone), <i>N</i> -de-Me	C ₁₇ H ₁₇ NO ₅	315.110674	316.118499	314.102849	360.108329
Pretazettine; 3-Epimer, 8-ketone(lactone), <i>N</i> -de-Me, <i>N</i> -ethoxycarbonyl	C ₂₀ H ₂₁ NO ₇	387.131804	388.139629	386.123979	432.129459
Pretazettine; <i>O</i> ⁸ -Et, <i>N</i> -de-Me	C ₁₉ H ₂₃ NO ₅	345.157624	346.165449	344.149799	390.155279
Pseudolycorine; 1- <i>O</i> -β-D-Glucopyranoside	C ₂₂ H ₂₉ NO ₉	451.184234	452.192059	450.176409	496.181889
Pseudolycorine; <i>O</i> ² -(1- <i>O</i> -Hexadecanoyl-2- <i>O</i> -octadecanoylglycerophosphoryl), <i>O</i> ¹ -hexadecanoyl	C ₆₉ H ₁₂₀ NO ₁₂ P	1185.85482	1186.86264	1184.84699	1230.85247
Secoisopowellaminone	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271.120844	272.128669	270.113019	316.118499
Tazettine; <i>O</i> -De-Me, 6 <i>a</i> -Me ether	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
Tazettine; 3-Epimer	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331.141974	332.149799	330.134149	376.139629
4,4',5-Trihydroxy-2-biphenylcarboxaldehyde; 4,5-Methylene ether	C ₁₄ H ₁₀ O ₄	242.05791	243.065735	241.050085	287.055565
3,4',7-Trihydroxyflavan; (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-form, 7-Me ether	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.10486	273.112685	271.097035	317.102515
3',4',7-Trihydroxyflavan; (<i>S</i>)-form, 3'-Vinyl ether	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284.10486	285.112685	283.097035	329.102515
5,6,7-Trihydroxy-2-methyl-4 <i>H</i> -1-benzopyran-4-one; 6,7-Methylene ether	C ₁₁ H ₈ O ₅	220.037175	221.045	219.02935	265.03483
2',4,4'-Trihydroxy-3-methylchalcone	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.08921	271.097035	269.081385	315.086865
Ungeremine	C ₁₆ H ₁₁ NO ₃	265.073894	266.081719	264.066069	310.071549
Ungminorine; (-)-form, 2-Epimer, <i>O</i> -de-Me	C ₁₆ H ₁₇ NO ₅	303.110674	304.118499	302.102849	348.108329
Vasconine; <i>O</i> ⁸ -De-Me	C ₁₆ H ₁₄ NO ₂	252.102454	253.110279	251.094629	297.100109
Yemensine	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.131409	314.139234	312.123584	358.129064
Zefbetaine; 9-Me ether	C ₁₇ H ₁₅ NO ₃	281.105194	282.113019	280.097369	326.102849