

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

-----

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TÁCH CHIẾT MỘT SỐ  
HỢP CHẤT PHENOLIC TỪ BA LOÀI ĐẠI HOÀNG (*RHEUM  
TANGUTICUM* MAXIM. EX BALF), LỬỖI BÒ (*RUMEX  
TRISÉTIFER* STOKES), MUÔNG TRÁU (*SENNÁ ALATA* (L.)  
ROXB.), HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH  
THỰC VẬT

Chuyên ngành: Kỹ thuật Hóa học  
Mã số: 9.52.03.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT HÓA HỌC

Hà Nội – 2024

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

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Vũ Đình Hoàng

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS. TS. Lê Đăng Quang

Phản biện 1: PGS. TS. Phạm Minh Quân

Phản biện 2: PGS. TS. Trần Thu Hương

Phản biện 3: TS. Lương Xuân Huy

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp  
Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm  
Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ ..', ngày ... tháng  
... năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của luận án

Việt Nam là một nước nông nghiệp, khí hậu nhiệt đới, có tổng diện tích đất nông nghiệp và lâm nghiệp vào khoảng 20 triệu ha, trong đó diện tích gieo trồng khoảng 14 triệu ha. Thời tiết nóng ẩm quanh năm, mưa nhiều là điều kiện thuận lợi để cây trồng phát triển, nhưng đồng thời cũng là điều kiện để côn trùng gây hại, nấm bệnh và cỏ dại nảy nở sinh sôi.

Trong các dịch hại gây hại cây trồng thì bệnh hại do nấm gây ra chiếm tới 80%. Phổ biến là các loại bệnh nấm đa thực gây hại mạnh trên nhiều loại cây trồng khác nhau như *Botrytis cineria*, *Erysiphe graminis*, *Phytophthora infestans* và *Rhizoctonia solani*.

Trước tình hình đó, người dân đã dùng thuốc bảo vệ thực vật tổng hợp để phòng trừ dịch hại. Tuy nhiên, hiện tượng sử dụng tràn lan, sai mục đích, không tuân thủ các quy trình sử dụng an toàn và gây nên tình trạng ô nhiễm môi trường đất, nước, không khí với thời gian tồn dư lâu dài, ảnh hưởng đến hệ sinh thái nông nghiệp và sức khỏe cộng đồng. Nhiều thuốc BVTV nguồn gốc tổng hợp hóa học có khả năng gây ung thư, biến đột gen, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và môi trường. Một số loại thuốc BVTV bị cấm sử dụng như carbendazim, diifenoconazole, tubeconazole, cabofuran, azodrin,... Vì vậy phải chú trọng sử dụng hoạt chất mới, ít độc hại, thân thiện môi trường, có nguồn gốc vi sinh và được chiết tách từ thảo mộc.

Xuất phát từ tính cấp thiết trong thực tiễn cuộc sống cần phải tạo ra các thuốc BVTV có nguồn gốc sinh học, chúng tôi lựa chọn đề tài

ngiên cứu: “*Nghiên cứu quá trình tách chiết một số hợp chất phenolic từ ba loài đại hoàng (Rheum tanguticum Maxim. ex Balf), lưỡi bò (Rumex trisetifer Stokes), muồng trâu (Senna alata (L.) Roxb.), hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh thực vật*”.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án**

-Nghiên cứu một số thành phần hóa học từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes) , cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

- Đánh giá hoạt tính *in vivo* kháng một số nấm gây bệnh cho cây trồng của cao chiết và chất tách được từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes), cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

- Đánh giá hoạt tính *in vitro* kháng một số vi khuẩn gây bệnh cho cây trồng của cao chiết và chất tách được từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes) , cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

-Xây dựng tối ưu hóa các quy trình công nghệ chiết xuất tạo cao MeOH từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

## **3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án**

-Nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc một số thành phần hóa học từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes) , cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb): Điều chế cặn chiết, tách các hợp chất bằng phương pháp sắc ký, xác định cấu trúc hóa học bằng các phương pháp hóa lý hiện đại

-Thử nghiệm hoạt tính *in vivo* kháng một số nấm gây bệnh cho cây trồng của cao chiết và chất tách được từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes) , cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

-Thử nghiệm hoạt tính *in vitro* kháng một số vi khuẩn gây bệnh cho cây trồng của cao chiết và chất tách được từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf) cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes) , cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

- Phân tích định lượng các hoạt chất bằng phương pháp HPLC

-Nghiên cứu, tối ưu hóa các quy trình công nghệ chiết xuất cao MeOH từ cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Phần tổng quan tóm tắt các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính của cây đại hoàng *Rheum tanguticum*, chi *Rumex* và cây muồng trâu *Senna alata* (Phần 1.1-1.3).

Giới thiệu về phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) và tối ưu hóa quy trình công nghệ hóa học (Phần 1.4).

Giới thiệu tổng quan về thuốc bảo vệ thực vật nguồn gốc thảo mộc (Phần 1.5).

## CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Mẫu thực vật

Cây đại hoàng (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf), cây lưỡi bò (*Rumex trisetifer* Stokes), cây muồng trâu (*Senna alata* (L.) Roxb).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý, chiết xuất và phân lập các thành phần hóa học

2.2.2. Phương pháp xác định tính chất hóa lý và cấu trúc hóa học

2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

2.2.3.1. Phương pháp đánh giá hoạt tính in vivo kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới.

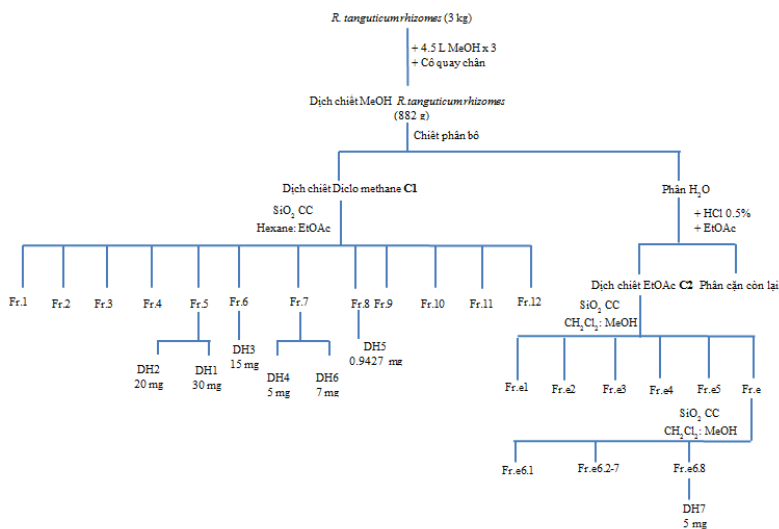
2.2.3.2. Phương pháp đánh giá hoạt tính in vitro kháng vi khuẩn hại cây trồng trong phòng thí nghiệm.

2.2.4. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa quy trình công nghệ

## CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM

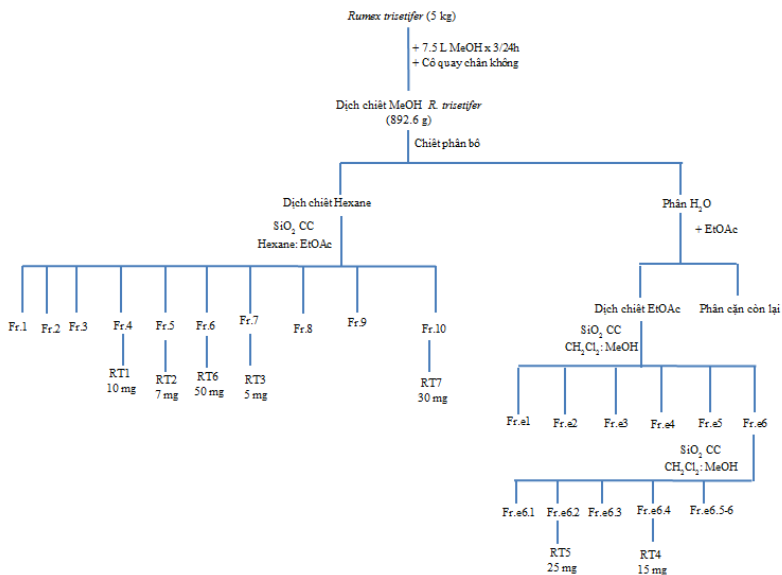
### 3.1. Phân lập các chất từ cây đại hoàng – *R. tanguticum*.

Hình 3.1. Sơ đồ phân lập chất từ cây đại hoàng - *R.tanguticum*



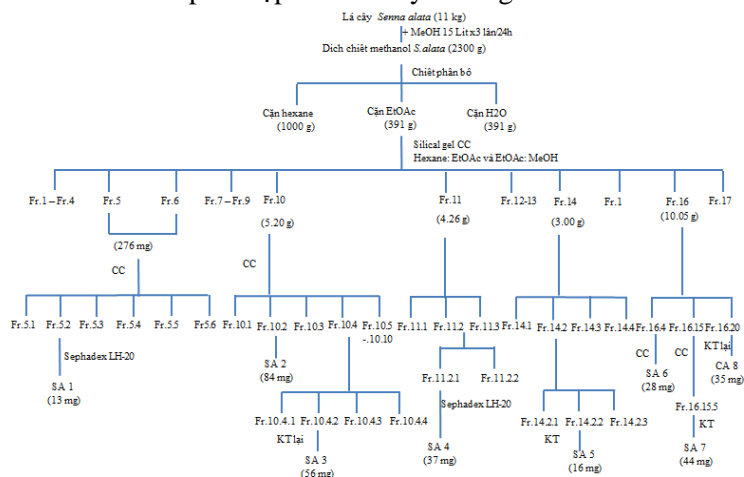
### 3.2. Phân lập các chất từ cây lưõi bò *R. trisetifer*

Hình 3.2. Sơ đồ phân lập chất từ cây lưõi bò - *R. trisetifer*



### 3.3. Phân lập các chất từ cây muồng trâu *S. alata*

Hình 3.3. Sơ đồ phân lập chất từ cây muồng trâu *S. alata*



## CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 4.1. Cấu trúc các chất phân lập được từ cây đại hoàng – *R. tanguticum*.

#### 4.1.1. Hợp chất *DH1* (*chrysophanol*)

Chất bột màu vàng.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): 12.00 (OH-1), 12.11 (OH-8), 7.82 (1H, d, *J*= 7.0 Hz, H-5), 7.68 (1H, m, H-6), 7.64 (1H, brs, H-4), 7.29 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-7), 7.09 (1H, brs, H-2), 2.47 (3H, s, CH<sub>3</sub>-3).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub> 125 MHz): 192.5 (C-9), 182.0 (C-10), 162.7 (C-1), 162.4 (C-8), 149.3 (C-3), 136.9 (C-6), 133.6 (C-10a), 133.1 (C-4a), 124.5 (C-7), 124.3 (C-2), 121.3 (C-4), 119.9 (C-5), 115.9 (C-8a), 113.7 (C-9a).

#### 4.1.2. Hợp chất *DH2* (*physcion*)

Chất bột màu vàng.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): 12.30 (OH-8), 12.10 (OH-1), 7.61 (1H, brs, H-5), 7.35 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, H-4), 7.07 (1H, brs, H-7), 6.67 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, H-2), 3.93 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.44 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub> 125 MHz): 190.80 (C-9), 182.01 (C-10), 166.56 (C-3), 165.20 (C-1), 162.52 (C-8), 148.45 (C-6), 135.27 (C-10a), 133.23 (C-4a), 124.51 (C-7), 121.29 (C-5), 113.69 (C-9a), 110.27 (C-8a), 108.22 (C-4), 106.78 (C-2), 56.09 (-OCH<sub>3</sub>), 22.17 (3-CH<sub>3</sub>).

#### 4.1.3. Hợp chất *DH3* (*emodin*)

Chất bột màu vàng

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): 12.09 (OH-1), 12.02 (OH-8), 7.49 (1H, brs, H-5), 7.17 (1H, brs, H-7), 7.12 (1H, d, *J*= 2.0 Hz, H-4), 6.59 (1H, d, *J*= 2.0 Hz, H-2) 2.47 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>).



**$^{13}\text{C-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz): 190.18 (C-9), 181.88 (C-10), 166.08 (C-3), 164.93 (C-1), 161.89 (C-8), 148.72 (C-6), 135.60 (C-10a), 133.31 (C-4a), 124.61 (C-7), 120.95 (C-5), 113.86 (C-9a), 109.42 (C-8a), 109.27 (C-4), 108.41 (C-2), 21.99 (3- $\text{CH}_3$ ).

#### 4.1.4. Hợp chất **DH4** (*alo-emodin*)

Chất bột màu vàng.

**ESI-MS**:  $m/z$  269 [M-H]<sup>-</sup>

**$^1\text{H-NMR}$**  (Aceton- $d_6$ , 500 MHz): .781 (1H, t-like,  $J = 8.0, 7.5$  Hz, H-6), 7.77 (1H, d,  $J = 6$  br Hz, H-5), 7.76 (1H, s, H-4), 7.34 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-7), 7.33 (1H, s, H-2), 4.75 (2H, s,  $-\text{CH}_2-$ ).

#### 4.1.5. Hợp chất **DH5** (*rhapotigenin*)

Chất rắn màu nâu nhạt.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  (ppm): 6.99 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-2'), 6.90 (1H, d,  $J = 14.5$  Hz, H- $\alpha$ ), 6.87 (2H, m, H-5', H-6'), 6.78 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H- $\beta$ ), 6.44 (2H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2, 6), 6.16 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-4), 3.83 (3H, s, 4'- $\text{OCH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  (ppm): 158.3 (C-3, 5), 147.6 (C-4'), 146.3 (C-3'), 139.1 (C-1), 130.8 (C-1'), 127.9 (C- $\alpha$ ), 126.5 (C- $\beta$ ), 118.7 (C-2), 112.2 (C-5'), 111.3 (C-6'), 104.5 (C-2, 6), 101.4 (C-4), 55.0 (4'- $\text{OCH}_3$ ).

#### 4.1.6. Hợp chất **DH6** (*deoxyrhapotigenin*)

Chất rắn màu nâu.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  (ppm): 7.43 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-2',6') 6.98 (1H, d,  $J = 16.5$  Hz, H- $\alpha$ ), 6.89 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3',5'), 6.83 (1H, d,  $J = 16.5$  Hz, H- $\beta$ ), 6.45 (2H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2,6), 6.16 (1H, t,  $J = 2.0$  Hz, H-4), 3.80 (3H, s, 4'- $\text{OCH}_3$ ),

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  (ppm): 160.8 (C-4'), 159.7 (C-3,5), 141.2 (C-1), 131.5 (C-1'), 129.1 (C- $\alpha$ ), 128.8 (C-2',6'), 127.8 (C- $\beta$ ),

115.1 (C-3',5'), 105.8 (C-2,6), 102.8 (C-4),55.7(4'-OCH<sub>3</sub>).

4.1.7. *Hợp chất DH7 (rhaponticin và isorhapontin)*

Xem bảng 4.2.7

**4.2. Đặc tính vật lý và dữ liệu phổ các chất phân lập từ cây lười bò**

***R.trisetifer***

4.2.1. *Hợp chất RT1 (chrysophanol)*

Xem **DH1**

4.2.2. *Hợp chất RT2 (physcion)*

Xem **DH2**

4.2.3. *Hợp chất RT3 (emodin)*

Xem **DH3**

4.2.4. *Hợp chất RT4 (emodin-8-O-β-D-glucoside)*

Chất bột màu vàng cam

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>H</sub> (ppm): 7.46 (1H, brs, H-4), 7.28 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-5), 7.16 (1H, brs, H-7), 7.00 (1H, brs, H-2), 5.10 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.17-3.75 (5H, m, H-2'-6'), 2.41 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>C</sub> (ppm): 186.39 (C-9), 182.08 (C-10), 164.15 (C-6), 161.54 (C-8), 161.03 (C-1), 146.86 (C-4), 136.47 (C-10a), 132.06 (C-4a), 124.14 (C-2), 119.21 (C-4), 114.43 (C-9a), 113.31 (C-8a), 108.29 (C-7,5), 100.81 (C-1'), 77.27 (C-2''), 76.36 (C-3'), 73.24 (C-2''), 69.45 (C-4'), 60.57 (C-6'), 21.35 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>).

4.2.5. *Hợp chất RT5 (chrysophanol -8-O-β-D-glucoside và physcion -8-O-β-D-glucoside)*

Chất bột màu vàng cam

Xem bảng 4.3.5

#### 4.2.6. Hợp chất **RT6** ( $\beta$ -sitosterol)

Chất bột màu trắng

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 5.31 (1H, m, H-6), 3.51 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19) 0.92 (3H, d,  $J=6.2$   $\text{CH}_3$ -21), 0.84 (3H, t,  $J=7.0$   $\text{CH}_3$ -29), 0.83 (3H, d,  $J=6.5$   $\text{CH}_3$ -26), 0.81 (3H, d,  $J=6.5$   $\text{CH}_3$ -27), 0.68 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18).

#### 4.2.7. Hợp chất **RT7** (daucosterol)

Chất bột màu trắng.

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 5.83 (1H, m, H-6), 5.03 (1H, d,  $J=7.0$  Hz, H-1'), 4.05-4.60 (5H, m, H-2'-H-6'). 3.93 (1H, m, H-3), 3.98 (1H, m, H-5'), 1.00 (3H, d,  $J=6.5$   $\text{CH}_3$ -21), 0.94 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0.90 (3H, t,  $J=7.0$   $\text{CH}_3$ -29), 0.89 (3H, d,  $J=6.5$   $\text{CH}_3$ -26), 0.89 (3H, d,  $J=6.5$   $\text{CH}_3$ -27), 0.67 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 140.6 (C-5), 121.3 (C-6), 100.9 (C-1'), 77.1 (C-3'), 76.8 (C-5'), 76.8 (C-3), 73.6 (C-2'), 70.2 (C-4'), 61.2 (C-6'), 56.3 (C-140), 55.5 (C-17), 50.7 (C-9), 49.7 (C-24), 45.2 (C-13), 38.4 (C-4), 36.9 (C-12), 36.3 (C-1), 35.6 (C10), 33.4 (C-20), 31.5 (C080), 29.4 (C-7), 27.7 (C-16), 28.8 (C-23), 27.9 (C-2), 25.5 (C-25), 24.0 (C-15), 22.7 (C-28), 22.10 (C-11), 20.7 (C-27), 19.8 (C-19), 19.0 (C-26), 18.9 (C-21), 12.2 (C-29). 11.9 (C-18).

### 4.3. Đặc tính vật lý và dữ liệu phổ các chất phân lập từ cây muồng trâu *C.alata* L

#### 4.3.1 Hợp chất **SA1**

Chất bột màu vàng nhạt

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ),  $\delta$  (ppm): 9.99 (2H, s, 2-OH, 6-OH), 9.93 (4-OH), 5.93 (2H, s, H-3, H-6), 4.04 (3H, brs,  $-\text{CH}_3$ ),

$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ),  $\delta$ (ppm): 170.22 ( $-\text{COO}-$ ), 162.90 (C-4), 164.75 (C-2, C-6), 95.42 (C-3, C-5), 93.23 (C-1), 52.05(-

CH<sub>3</sub>).

#### 4.3.2 Hợp chất SA2 (*kaempferol*)

Chất bột màu vàng

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 8.08 (2H, d, *J*=7.0 Hz, H-2', -6'), 6.91 (2H, d, *J*=7.0 Hz, H-3', -5'), 6.40 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 177.39 (C-4), 165.58 (C-7), 162.53 (C-5), 160.57 (C-4'), 158.28 (C-8a), 148.06 (C-2), 137.14 (C-3), 130.68 (C-2', C-6'), 123.74 (C-1'), 116.31 (C-3', C-5'), 104.56 (C-4a), 99.26 (C-6), 94.46 (C-8).

#### 4.3.3 Hợp chất SA3 ((-)*epiafzelechin*)

Chất bột màu trắng

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO), δ<sub>H</sub> (ppm): 8.28 (1H, brs, 4'-OH), 8.16 (1H, brs, 5-OH), 7.99 (1H, brs, 7-OH), 7.38 (2H, d, *J*= 8.5 Hz, H-2', -6'), 6.83 (2H, d, *J*=8.5 Hz, H-3', -5'), 6.04 (1H, d, *J*= 2.5 Hz, H-6), 5.94 (1H, d, *J*= 2.5 Hz, H-8), 4.95 (1H, s, H-2), 4.24 (1H, m, H-3), 3.65 (1H, d, *J*=5.5 Hz, 3-OH), 2.89 (1H, dd, *J*= 16.5, 4.5 Hz, H-4β), 2.76 (1H, dd, *J*= 16.5, 3.0 Hz, H-4α).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO), δ<sub>C</sub> (ppm): 157.63 (C-4'), 157.62 (C-7), 157.57 (C-5), 157.19 (C-8a), 131.49 (C-1'), 129.13 (C-2', C-6'), 115.46 (C-3', C-5'), 99.74 (C-4a), 96.19 (C-6), 95.72 (C-8), 79.47(C-2), 66.85 (C-3), 29.13 (C-4).

#### 4.3.4 Hợp chất SA4(*rhein*)

Chất bột màu vàng

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>H</sub> (ppm): 8.11 (1H, brs, H-4), 7.78 (1H, dd, *J*=8.0,7.5Hz, H-6), 7.71 (1H, brs, H-2), 7.69 (1H, d, *J*=8.0Hz, H-5), 7.37 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-7).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>C</sub> (ppm): 191.23 (C-9), 181.27 (C-

10), 166.27 (3-COOH), 161.46 (C-1,8), 137.33 (C-6,3), 133.31 (C-4a, 10a), 124.20 (C-2,7), 119.23 (C-5,4), 117.52(C-9a) ,116.14 (C-8a).

#### 4.3.5 Hợp chất SA5

Xem hợp chất **DH4**

#### 4.3.6 Hợp chất SA6 (*aloe-emdodin-8-O-glucoside*)

Chất bột màu vàng

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>H</sub> (ppm): 7.89 (1H, dd, *J*= 8.5, 1.5 Hz, H-5), 7.85 (1H, t, *J*= 8.0Hz, H-6), 7.71 (1H, dd, *J*= 8.5, 1.5 Hz, H-7), 7.67 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, H-4), 7.29 (1H, d, *J*= 1.5 Hz, H-2), 5.56 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-1'), 4.60 (2H, m, 3 CH<sub>2</sub>OH).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>C</sub> (ppm): 187.58 (C-9), 182.11 (C-10), 161.62 (C-1), 158.23 (C-8), 152.26 (C-3), 135.95 (C-6), 134.48 (C-4a), 132.26 (C-10a), 122.44 (C-7), 120.72 (C-2), 120.59 (C-5), 116.01 (C-4), 115.47 (C-8a,9a), 100.49 (C-1'), 77.26 (C-5'), 76.52 (C-3'), 73.28 (C-2'), 69.51 (C-4'), 62.0 (3-CH<sub>2</sub>OH), 60.06 (C-6').

#### 4.3.7 Hợp chất SA7 (*kaempferol-3-O-glucoside*)

Chất bột màu vàng nhạt

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 8.07 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-2', H-6'), 6.90 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-3',-5'), 6.42 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.26 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.27 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-1''), 3.70 (1H, dd, *J*= 12.0, 2.0, H-6''<sub>a</sub>), 3.52 (1H, dd, *J*= 12.0, 2.0, H-6''<sub>b</sub>), 3.44 (1H, m, H-2''), 3.41 (1H, m, H-3''), 3.20 (1H, m, H-5'').

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 179.53 (C-4), 166.26 (C-7), 163.11 (C-5), 161.59 (C-4'), 159.07 (C-8a), 158.56 (C-2), 135.47 (C-3), 132.28 (C-2', C-6'), 122.83 (C-1'), 116.32 (C-3', C-5'), 105.70 (C-4a), 104.11 (C-1''), 99.97 (C-6), 94.80 (C-8), 78.44 (C-5''), 78.07 (C-3''), 75.75 (C-2''), 71.38 (C-4''), 62.65 (C-6'').

#### 4.3.8 Hợp chất SA8 (*kaempferol-3-O-gentiobioside*)

Chất bột màu vàng nhạt

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 8.11 (2H, d, *J*=8.5 Hz, H-2', H-6'), 6.90 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-3', H-5'), 6.42 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.25 (1H, d, *J*=7.4, H-1''), 4.16 (1H, d, *J*= 7.5 Hz, H-1'''), 3.96 (1H, dd, *J*= 12.0, 1.5 Hz, H-6''<sub>b</sub>), 3.65 (dd *J*=12.0, 7.0, H-6''<sub>a</sub>) 3.74 (1H, dd *J*= 12.0, 2.0, H-6'''<sub>b</sub>), 3.58 (dd *J*=, 12.0, 5.5, H-6'''<sub>a</sub>), 3.49 – 3.37 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5''), 3.25 (1H, dd, *J*= 9.0, 9.0 Hz, H-4'''), 3.20 (1H, t, *J*=9.0 Hz, H-3'''), 3.09 (1H, dd, *J*= 8.0, 8.5 Hz, H-2'''), 3.04 (1H, ddd, *J*= 9.5, 7.0, 3.5 H-5''')

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ (ppm): 179.41 (C-4), 166.20 (C-7), 161.56 (C-5), 161.56 (C-4'), 158.55 (C-8a), 158.99 (C-2), 135.52 (C-3), 132.37 (C-2', C-6'), 122.70 (C-1'), 116.23 (C-3', C-5'), 105.75 (C-4a), 104.56 (C-1''), 104.08 (C-1'''), 100.05 (C-6), 94.93 (C-8), 77.93 (C-5''), 77.81 (C-3'''), 77.78 (C-3''), 77.64 (C-5'''), 75.74 (C-2'''), 75.08 (C-2''), 71.25 (C-4''), 71.35 (C-4'''), 69.53 (C-6''), 62.54 (C-6''').

### 4.4. Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật của cao chiết và các hợp chất phân lập

#### 4.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học của cao chiết và các hợp chất phân lập được từ nguyên liệu đại hoàng– *R. Tanguticum*

4.4.1.1. Hoạt tính kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của các cao chiết và các hợp chất từ nguyên liệu đại hoàng– *R. tanguticum*

4.4.1.1.a. Hoạt tính *in vivo* kháng nấm của các cao chiết từ nguyên liệu đại hoàng– *R. tanguticum*

Bảng 4.1. Hoạt tính sinh học của cao chiết dichloromethane và cao chiết ethyl acetate kháng lại 7 loại nấm gây hại cây trồng

Dịch chiết	Nồng độ (µg/mL)	Hiệu quả (%)						
		RCB*	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM	PAN
Ethyl acetate*	500	25±0	11±10	0	7±7.1	3±3.3	95±1.7	0
	1000	75±0	16±15	21±7.1	21±7.1	43±10	100±0	93±2.5
	3000	91±3.7	0	14±0.7	96±3.3	83±0	100±0	92±0
Dichloromethane	500	50±12.5	11±0.5	7±7.1	7±7.1	3±3.3	97±0	64±3.3
	1000	88±0	16±12.5	29±0	64±7.1	60±0	100±0	94±3.3
	3000	93±0	5±5	21±7.1	100±0	100±0	100±0	96±0.8
Blasticidin-S	50	100±0	-	-	-	-	-	-
	1	90±2.5	-	-	-	-	-	-
Tricyclazole	10	100±0	-	-	-	-	-	-
	0.5	98±0	-	-	-	-	-	-
Validamycin	5	-	100±0	-	-	-	-	-
	5	-	8±5	-	-	-	-	-
Flutolanil	50	-	100±0	-	-	-	-	-
	20	-	100±0	-	-	-	-	-
Fludioxonil	50	-	100±0	-	-	-	-	-
	5	-	-	88±2.1	-	-	-	-
Fenheximide	100	-	-	100±0	-	-	-	-
	20	-	-	91±1.4	-	-	-	-
Dimethomorph	10	-	-	-	100±0	-	-	-
	2	-	-	-	88±2.1	-	-	-
Chlorothaloni	100	-	-	-	100±0	-	-	-
	20	-	-	-	100±0	-	-	-
Flusilazole	10	-	-	-	-	87±0	-	-
	2	-	-	-	-	43±10	-	-
Pyraclostrobin	0.3	-	-	-	-	93±0	-	-
	0.1	-	-	-	-	87±0	-	-
Flusilazole	10	-	-	-	-	-	100±0	-
	0.5	-	-	-	-	-	95±1.7	-
Benomyl	100	-	-	-	-	-	100±0	-
	1	-	-	-	-	-	87±2.3	-
Dithianon	50	-	-	-	-	-	-	83±3
	10	-	-	-	-	-	-	20±0

4.4.1.1.b. Hoạt tính *in vivo* kháng nấm của các hợp chất anthraquinone từ nguyên liệu đại hoàng– *R. tanguticum*

4.4.1.1.c. Hoạt tính *in vitro* kháng nấm của các hợp chất anthraquinone từ nguyên liệu đại hoàng– *R. tanguticum*

Bảng 4.18. Hiệu quả các chế phẩm đối với một số loại nấm gây hại cây trồng trong điều kiện phòng thí nghiệm

Tên anthraquinone	Nồng độ (ppm)	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Phytophthora infestans</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
		ĐK	HL %	ĐK	HL %	ĐK	HL %	ĐK	HL %
DH1 (chrysophanol)	100	5.7	34.5	5.3	19.7	6.3	14.9	5.7	16.2
	ĐC	8.7		6.6		7.4		6.8	
	200	5.1	37.8	4.6	31.3	5.8	24.7	4.6	27.0
	ĐC	8.2		6.7		7.7		6.3	
DH2 (physcion)	100	4.1	53.9	5.8	15	6.7	11.8	5.7	13.0
	ĐC	8.9		6.8		7.6		6.5	
	200	3.4	63.4	5.5	17	6.3	18.2	5.0	26.5
	ĐC	9.3		6.6		7.7		6.8	
DH3 (emodin)	200	2.6	71.1	2.2	65.1	4.6	42.5	4.1	37.9
	ĐC	9.0		6.3		8.0		6.6	
	300	1.7	79.5	0.7	88.5	2.2	71.8	2.4	67.1
	ĐC	8.3		6.1		7.8		7.3	

4.4.1.2. Hoạt tính *in vitro* kháng vi khuẩn hại cây trồng trong phòng thí nghiệm của các cao chiết và các hợp chất được phân lập từ nguyên liệu đại hoàng– *R. tanguticum*.

Bảng 4.2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, µg/mL) của các hợp chất có trong cây đại hoàng– *R. tanguticum*

Chủng nấm	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )										
	DH1 chrysophanol	DH2 physcion	DH3 <sup>a</sup> emodin	DH5 rhapontigenin	DH06 desoxyrhapontigenin	DH7	EA	DCM	SS	Chi	
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>caulifae</i>	-	-	18	150	38	-	125	125	nt <sup>d</sup>	1.25	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	-	-	150	75	-	-	-	nt	20	
<i>Burkholderia glumae</i>	600	600	300	75	38	-	-	500	nt	2.5	
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	600	600	600	150	75	-	500	250	nt	2.5	
<i>Pectobacterium carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	-	-	-	300	-	-	-	-	nt	2.5	
<i>Pectobacterium chrysanthemi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	nt	1.25	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	nt	Inhibit	
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	-	-	-	75	-	-	500	250	nt	2.5	
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinifolia</i> KW11	-	-	-	-	38	-	250	500	1.25	nt	
<i>Ralstonia solanacearum</i>	-	-	-	150	-	600	500	500	5	nt	

#### 4.4.2. Đánh giá hoạt tính của các cao chiết và các hợp chất từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*

4.4.2.1. Hoạt tính kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của các cao chiết và các hợp chất từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*

Bảng 4.3. Hoạt tính sinh học *in vivo* của cao chiết methanol *R. trisetifer*, cao chiết n-hexane và cao chiết ethyl acetate kháng lại 7 loại nấm gây hại cây trồng

Dịch chiết	Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Hiệu quả (%) <sup>a</sup>						
		RCB <sup>b</sup>	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM	PAN
RC-Hex <sup>a</sup>	3000	61.3	0.0 $\pm$ 0	89.6 $\pm$ 1.4	94.6	90.0	100.0	88.5
	1000	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	50.0	42.9	53.3	100.0	79.0
	333	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	7.1	7.1	3.3	95.0	10.0
RC-EtOAc	3000	40.0	0.0 $\pm$ 0	7.1	7.1	60.0	100.0	85.0
	1000	20.0	0.0 $\pm$ 0	0.0	0.0 $\pm$ 0	60.0	96.7	30.0
	333	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	0.0	0.0 $\pm$ 0	0.0	93.3	0.0
RC-MeOH	3000	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	14.3	0.0 $\pm$ 0	26.7	100.0	83.0
	1000	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	7.1	0.0 $\pm$ 0	3.3	96.7	10.0
	333	0.0 $\pm$ 0	0.0 $\pm$ 0	7.1	0.0 $\pm$ 0	3.3	93.3	0.0 $\pm$ 0
Blasticidin-S	50	100 $\pm$ 0	- <sup>c</sup>	-	-	-	-	-
	1	90 $\pm$ 2.5	-	-	-	-	-	-
Validamycin	50	-	100 $\pm$ 0	-	-	-	-	-
	5	-	85 $\pm$ 5	-	-	-	-	-
Fludioxonil	50	-	-	100 $\pm$ 0	-	-	-	-
	5	-	-	88 $\pm$ 2.1	-	-	-	-
Dimethomorph	10	-	-	-	100 $\pm$ 0	-	-	-
	2	-	-	-	88 $\pm$ 2.1	-	-	-
Flusilazole	10	-	-	-	-	87 $\pm$ 0	-	-
	2	-	-	-	-	43 $\pm$ 10	-	-
Benomyl	100	-	-	-	-	-	100 $\pm$ 0	-
	1	-	-	-	-	-	87 $\pm$ 2.3	-
Dithianon	50	-	-	-	-	-	-	83 $\pm$ 3
	10	-	-	-	-	-	-	20 $\pm$ 0

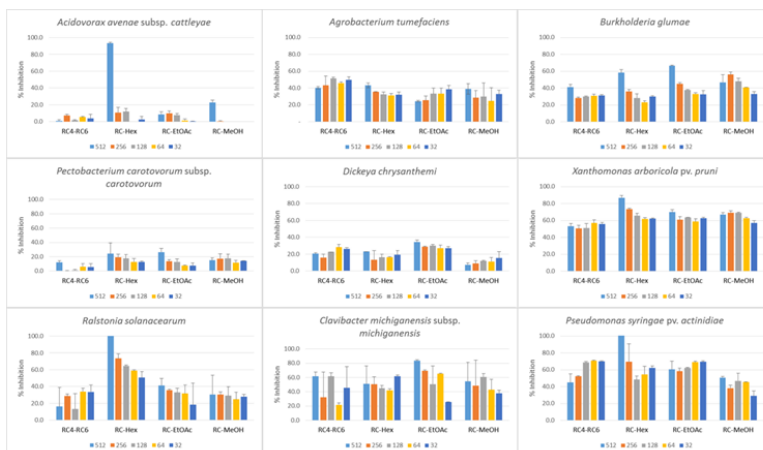


#### 4.4.2.2. Hoạt tính kháng vi khuẩn hại cây trồng của các cao chiết và các hợp chất được phân lập từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*

4.4.2.2.a. Hoạt tính *in vitro* kháng vi khuẩn hại cây trồng trong phòng thí nghiệm của các cao chiết từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*

4.4.2.2.b. Hoạt tính *in vitro* kháng vi khuẩn hại cây trồng trong phòng thí nghiệm của các hợp chất được phân lập từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*

Hình 4.25. Hoạt tính kháng vi khuẩn của các cao chiết và các hợp chất được phân lập từ nguyên liệu *R. trisetifer*



4.4.2.2.c. Hoạt tính *in vivo* kháng vi khuẩn hại cây trồng trong nhà kính của cặn n-hexane từ nguyên liệu lõi bò - *R. trisetifer*.

Bảng 4.4. Hiệu quả kiểm soát *in vivo* của cặn n-hexane từ cây *R. chinesis* đối với vi khuẩn gây bệnh héo xanh.

Vật liệu	Nồng độ	Chỉ số bệnh (%) <sup>a</sup>		Hiệu quả kiểm soát
		7DAT <sup>c</sup>	14DAT	
RT-Hex	5000 µg/mL	29.25 <sup>b</sup>	47.25 <sup>b</sup>	25.0 <sup>b</sup>
	2500 µg/mL	31.5 <sup>b</sup>	38.25 <sup>c</sup>	39.3 <sup>a</sup>
Probiocol 200WP	500-fold dilution	31.5 <sup>b</sup>	40.5 <sup>bc</sup>	35.7 <sup>a</sup>
Control		45.0 <sup>a</sup>	63.0 <sup>a</sup>	

### 4.4.3. Đánh giá hoạt tính của các cao chiết và các hợp chất từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

4.4.3.1. Hoạt tính kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của các cao chiết và các hợp chất từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

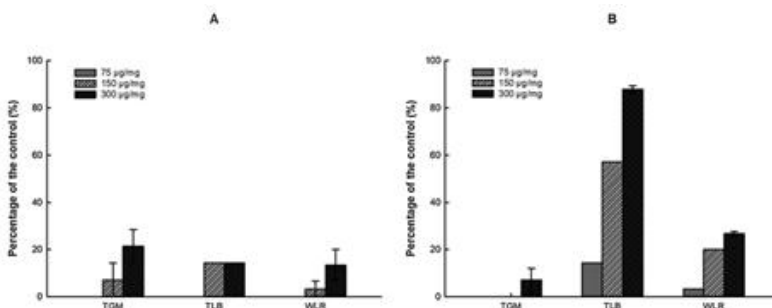
4.4.3.1.a. Hoạt tính *in vivo* kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của các cao chiết từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

Bảng 4.23. Kết quả thử hoạt tính kháng nấm của cao chiết ethyl acetate và cao n-hexane ở nồng độ 3000 µg/ml đối với 7 loại nấm

Mẫu thử	RCB	RSB	TGM	TLB	WLR	BPM	PAN
Cao chiết n-hexane	25	0	0	64.29	26.67	0	58.33
Cao chiết ethyl acetate	93.75	0	28.57	95.71	90.00	0	93.33

4.4.3.1.b. Hoạt tính *in vivo* kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của các hợp chất từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

Hình 4.1. Thử nghiệm *in vivo* hiệu quả kiểm soát của hợp chất SA4 (rhein) (B) và SA5 (aloe-emodin) (A) đối với các bệnh TGM, TLB, WLR gây bởi nấm *B.cinerea*, *P.infestans*, *P.recondita*.



4.4.3.1.c. Hoạt tính *in vitro* kháng nấm hại cây trồng trong nhà lưới của ethyl acetate và các hợp chất từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

Bảng 4.5. Hoạt tính *in vitro* của dịch chiết ethyl acetate và các hợp chất phân lập từ cây muồng trâu- *S. alata*

Sample	<i>Phytophthora</i> sp. SK5		<i>Phytophthora capsici</i> TVH		<i>Magnaporthe oryzae</i>	
	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>90</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>90</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>90</sub> (µg/mL)
EtOAc <sup>3</sup>	675.9 ± 56.3	1215 ± 56.1	< 250	> 2000	737.1 ± 94.0	1305.6 ± 255.2
SA1 (methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate)	nt	nt	297.4 ± 34.2	> 300	nt	nt
SA2 (kaempferol)	196.0 ± 57.9	473.4 ± 64.1	341.8 ± 39.3	> 600	> 600	> 600
SA3 ((-)-epiafzelechin)	189.5 ± 71.0	479.2 ± 79.9	350.5 ± 58.7	> 600	455.5 ± 50.9	> 600
SA4 (thein)	85.1 ± 17.4	233.1 ± 19.8	127.5 ± 21.3	329.2 ± 27.7	> 600	> 600
SA5 (aloe- amodin)	413.7 ± 89.4	> 600	> 600	> 600	nt	nt
SA6 (aloe- amodin-8-O-β-D-glucoside)	77.0 ± 26.6	194.3 ± 33.8	137.7 ± 26.0	> 200	nt	nt
SA7 (kaempferol-3-O-glycoside)	> 600	> 600	> 600	> 600	nt	nt
SA8 (kaempferol-3-O-gentiobiside)	359.2 ± 38.3	> 600	> 600	> 600	nt	nt

4.4.3.2. Hoạt tính *in vitro* kháng vi khuẩn hại cây trồng trong phòng thí nghiệm của các cao chiết và các hợp chất được phân lập từ nguyên liệu muồng trâu- *S. alata*

Bảng 4.6. Nồng độ ức chế tối thiểu MIC (µg/mL) của cao dịch chiết và hợp chất kháng vi khuẩn

	Tên vi khuẩn	MIC <sup>a</sup> (µg/mL)											
		SA1 (methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate)	SA2 (kaempferol)	SA3 ((-)-epiafzelechin)	SA4 (thein)	SA5 (aloe- amodin)	SA6 (aloe- amodin-8-O-β-D-glucoside)	SA7 (kaempferol-3-O-glycoside)	SA8 (kaempferol-3-O-gentiobiside)	Hex	EtOAc	SS	Chl
1	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>caulium</i>	nt	> 512	nt	<19	150	> 512	> 512	> 512	-	125	nt	1.25
2	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	nt	> 512	nt	-	-	> 512	> 512	> 512	-	-	nt	20
3	<i>Burkholderia glumae</i>	nt	> 512	nt	-	> 512	> 512	> 512	> 512	2000	500	nt	2.5
4	<i>Citrobacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	nt	> 512	nt	> 512	> 512	> 512	512	> 512	500	500	nt	2.5
5	<i>Pectobacterium carotinarum</i> subsp. <i>carotinarum</i>	nt	> 512	nt	-	-	> 512	> 512	> 512	-	-	nt	2.5
6	<i>Dickeya chlorocaulum</i>	nt	> 512	nt	nt	nt	> 512	> 512	> 512	nt	nt	nt	nt
7	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabacina</i>	nt	> 512	nt	-	-	> 512	> 512	> 512	-	-	nt	nt
8	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	nt	> 512	nt	512	-	> 512	> 512	> 512	-	250	nt	2.5
9	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> AT11	nt	> 512	nt	-	-	> 512	> 512	> 512	-	500	1.25	nt
10	<i>Ralstonia solanacearum</i>	nt	> 512	nt	> 512	512	> 512	> 512	> 512	-	500	5	nt

## 4.5. Phân tích định lượng các hoạt chất bằng phương pháp HPLC

### 4.5.1. Phân tích định lượng các hoạt chất trong cao chiết cây đại hoàng – *R. tanguticum* bằng phương pháp HPLC

Bảng 4.28. Một số thông số về DHS, DHS, DH01, DH1, DH6

Tham số	Emodin (DHS)	Rapapogonin (DHS)	Physcion (DH2)	Chrysoaphanol (DH1)	Desoxyrapapogonin (DH6)	Tổng cộng
Thời gian lưu	16,554	5,350	27,504	18,945	4,246	
Nồng độ giới hạn (mg/mL)	0,0318-0,318	0,0266-0,26	0,0294-0,392	0,0344-0,344	0,013-0,13	
Phương trình hồi quy	$27211,2374x - 14,327762$	$2640,28289x - 286,23187$	$8153,75966x + 12,125033$	$28243,4252x + 687,48645$	$9672,59322x + 5,0837478$	
Góc chặn	14,327762	286,23187	15,125033	687,48645	5,0837478	
Độ dốc	27211,2374	2640,28289	8153,75966	28243,4253	9672,5932	
Hệ số tương quan	0,99999	0,99992	0,99933	0,99116	0,99995	
Hàm lượng các chất trong cao chiết dichloromethane (mg/g)	27,92	12	260,06	386,039	36,7	
Hàm lượng các antraquinone trong cao chiết dichloromethane (%)	2,792		26,006	38,6039		67,4019

#### 4.5.2. Phân tích định lượng các hoạt chất trong cao chiết cây lưỡng bì *R. trisetifer* bằng phương pháp HPLC

Bảng 4.29. Một số thông số về RC1, RC1, RC3, RC4, RC5, RC6

Tham số	RC1 (chrysoaphanol)	RC2 (physcion)	RC3 (emodin)	RC4 (emodin- $\beta$ -D-glucoside)	RC5 (chrysoaphanol- $\beta$ -D-glucoside)	RC6 (physcion- $\beta$ -D-glucoside)	Tổng cộng
Thời gian lưu	40,251 ± 0,003	41,827 ± 0,009	39,138 ± 0,018	27,244 ± 0,023	26,713 ± 0,018	29,239 ± 0,008	
Phương trình hồi quy	$y = 2,7214x + 8,9142$	$y = 0,4958x + 1,0714$	$y = 2,9208x + -1,459$	$y = 1,2239x + 74,778$	$y = 0,8519x + 18,033$	$y = 0,8524x + 4,515$	
Góc chặn	8,9142	1,0714	-1,459	74,778	18,033	4,515	
Độ dốc	2,7214	0,4958	2,9208	1,2239	0,8519	0,8524	
Hệ số tương quan	0,9998	0,9993	0,9934	0,9945	0,9982	0,9982	
RC-Hex ( $\mu$ g/ml)	66,86	119,62	11,72	-	-	-	
Hàm lượng các antraquinone trong cao chiết RC-Hex (%)	6,68	11,96	1,72				20,36
RC-EA ( $\mu$ g/ml)	32,61	111,38	81,37	125,789	168,23	92,989	
Hàm lượng các antraquinone trong cao chiết RC-EA (%)	3,26	11,13	8,13	12,56	16,82	9,39	61,66
RC-MeOH ( $\mu$ g/ml)	11,85	31,08	11,25	14,204	20,26	15,745	
Hàm lượng các antraquinone trong cao chiết RC-MeOH (%)	1,18	3,10	1,12	1,42	2,20	1,57	10,39

#### 4.5.3. Phân tích định lượng các hoạt chất trong cao chiết muồng trâu *S. alata* bằng phương pháp HPLC

Bảng 4.30. Một số thông số về CA4 (rhein), CA5 (aloe-emodin) và CA6 (aloe-emodin glucoside)

Tham số	Rhein (CA4)	Aloe-emodin (CA5)	Aloe-emodin glucoside (CA6)	Tổng cộng
Thời gian lưu	34,661	30,748	27,177	
Nồng độ giới hạn (mg/mL)	0,25-4 mg/mL	0,5-8 mg/mL	0,5-16	
Phương trình hồi quy	$y = 2287,2x - 81,406$	$y = 2287,2x - 81,406$	$y = 3431,9x + 9,75$	
Góc chặn	81,406	81,406	9,75	
Độ dốc	2287,2	2287,2	3431,9	
Hệ số tương quan	$R^2 = 0,9995$	$R^2 = 0,999$	$R^2 = 0,9998$	
Cao sinh chế DCM	6,38	10,97	32,75	50,10
Cao EA1	3,77	12,51	55,98	74,26
Cao MeOH	0,90	2,40	9,37	12,67

### 4. 6. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa quy trình công nghệ

#### 4.6.1. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa quy trình công nghệ áp dụng đối với cây đại hoàng – *R. tanguticum*.

##### 4.6.1.1. Khảo sát dung môi chiết

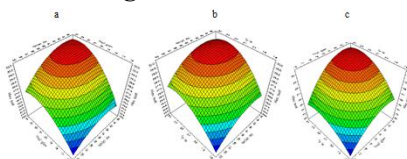
4.6.1.2. *Khảo sát nhiệt độ chiết*

4.6.1.3. *Khảo sát thời gian chiết*

4.6.1.4. *Khảo sát tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (mL/g)*

4.6.1.5. *Tối ưu hóa các điều kiện công nghệ tạo cao chiết MeOH đại hoàng theo quy hoạch thực nghiệm*

4.6.1.6. *Tối ưu hóa thực nghiệm*



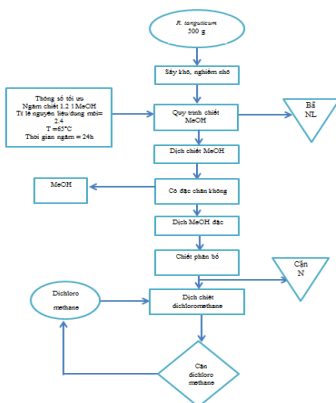
Hình 4.2. Các bề mặt đáp ứng biểu diễn tương quan các thông số công nghệ với quá trình chiết cây đại hoàng

a: Tương quan giữa thời gian chiết và nhiệt độ chiết; b: Tương quan giữa tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu và nhiệt độ; c: Tương quan giữa tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian

4.6.1.7. *Kiểm tra lại mô hình tối ưu hóa ứng với các giá trị của thông số tại điểm tối ưu*

4.6.1.8. *Thuyết minh quy trình công nghệ tạo cao chiết dichloromethane cây đại hoàng – *R. tanguticum**

4.6.2. *Quy trình công nghệ tạo cao chiết dichloromethane cây đại hoàng – *R. tanguticum**



### 4.6.3. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa quy trình công nghệ tạo cao chiết MeOH áp dụng đối với cây muồng trâu *S. alata*

4.6.3.1. Khảo sát dung môi chiết

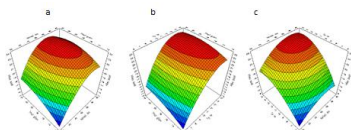
4.6.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

4.6.3.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết

4.6.3.4. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu

4.6.3.5. Tối ưu hóa các điều kiện công nghệ tạo cao chiết MeOH muồng trâu theo quy hoạch thực nghiệm

4.6.3.6. Tối ưu hóa thực nghiệm



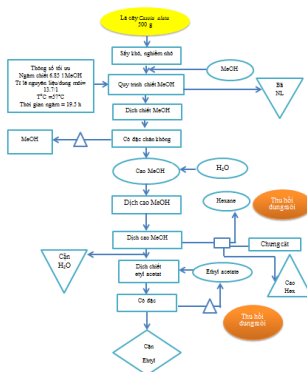
Hình 4.3. Các bề mặt đáp ứng biểu diễn tương quan các thông số công nghệ với quá trình chiết muồng trâu

a: Tương quan giữa thời gian chiết và nhiệt độ chiết; b: Tương quan giữa thời gian và tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu; c: Tương quan giữa nhiệt độ và tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu

4.6.3.7. Kiểm tra lại mô hình tối ưu hóa ứng với các giá trị của thông số tại điểm tối ưu

4.6.3.8. Thuyết minh quy trình công nghệ tạo cao chiết ethyl acetate cây muồng trâu *S.alata*

### 4.6.4. Quy trình công nghệ tạo cao chiết ethyl acetate cây muồng trâu - *S.alata*



## KẾT LUẬN

### 1. Nghiên cứu thành phần hóa học

- Phân lập và xác định cấu trúc của 7 hợp chất gồm 4 anthraquinone gồm: **DH1** (chrysophanol), **DH2** (physcion), **DH3** (emodin), **DH4** (alo-emodin), 2 stilbene: **DH5** (rhapontigenin), **DH6** (deoxyrhapontigenin) từ cặn dichloromethane và 1 hỗn hợp 2 stilbene **DH7** (rhaponticin và isorhapontin) từ cặn ethyl acetate củ cây đại hoàng *R. tanguticum*.

- Phân lập và xác định cấu trúc của 7 hợp chất gồm 3 anthraquinone gồm: **RT1** (chrysophanol), **RT2** (physcion), **RT3** (emodin), 2 hợp chất sterol gồm: **RT6** ( $\beta$ -sitosterol), **RT7** (daucosterol) từ cặn n-hexane và 2 anthraquinone glycoiside gồm: **RT4** (emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside), và 1 hỗn hợp anthraquinone glycoiside **RT5** 2 chất (chrysophanol -8-*O*- $\beta$ -D-glucoside và physcion -8-*O*- $\beta$ -D-glucoside) từ cặn ethyl acetate của cây lưỡi bò *R. trisetifer*.

- Phân lập và xác định cấu trúc của 8 hợp chất gồm 2 anthraquinone **SA4** (rhein), **SA5** (aloe-emdodin) và 1 anthraquinone glycoiside **SA6** (aloe-emdodin-8-*O*-glucoside) 3 hợp chất phenol gồm **SA1** (methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate), **SA2** (kaempferol), **SA3** (-) epiafzelechin) và 2 hợp chất phenolic glycoside **SA7** (kaempferol-3-*O*-glucoside), **SA8** (kaempferol-3-*O*-gentiobioside) từ cặn ethyl acetate của cây muồng trâu - *S. alata*.

### 2. Nghiên cứu hoạt tính sinh học

+ Cao chiết dichloromethane và cao chiết ethyl acetate của cây đại hoàng *R. tanguticum* có hoạt tính *in vivo* mạnh đối với 5 chủng nấm gây bệnh: *M. oryzae* (**RCB**), *P. infestans* (**TLB**), *P. recondita* (**WLR**), *B. graminis* f.sp. *hordei* (**BPM**) và *C. coccodes* (**PAN**) ở

nồng độ 3000 µg/mL. Đối với nấm *B. graminis* f.sp. *hordei* (**BPM**), 2 cao chiết dichloromethane và cao chiết ethyl acetate có hiệu quả 95-97% ngay cả ở nồng độ thấp 500 µg/mL.

Cao chiết dichloromethane và cao chiết ethyl acetate của cây đại hoàng *R. tanguticum* có khả năng ức chế *in vitro* mạnh đối với 4 chủng vi khuẩn *Acidovorax avenae* subsp. *cattlyae* (Aac), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Xap), và *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) với giá trị MIC từ 125 đến 250 µg/mL. Trong đó, đối với chủng *Acidovorax avenae* subsp. *cattlyae* 2 cao chiết có giá trị IC<sub>90</sub> lần lượt là 63.4 µg/mL và 118.6 µg/mL; giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 30.8 µg/mL và 46.0 µg/mL.

Các chất thử nghiệm **DH1** (chrsophanol), **DH2** (phycion) và **DH3** (emodin) đều có hiệu quả ức chế lại các nấm *B. cinerea*, *C. gloesporioides*, *R. solani*, *P. infestans* ở nồng độ 100-300 ppm. Đối với **DH3** (emodin), hiệu quả tăng từ 65-88% so chất đối chứng tùy nồng độ khác nhau.

+ Cao chiết methanol của *R. trisetifer* có hoạt tính *in vivo* với 2 chủng nấm *B. graminis* f.sp. *hordei* (**BPM**) và *C. coccodes* (**PAN**). Cao chiết n-hexane, cao chiết ethyl acetate thu được từ cao chiết methanol cho hiệu quả kiểm soát đối với các chủng nấm gây bệnh này với hiệu quả từ 93 đến 100% ở nồng độ 3000 µg/mL.

Cao chiết n-hexane của *R. trisetifer* thể hiện hoạt tính *in vitro* kìm hãm 4 chủng vi khuẩn *Acidovorax avenae* subsp. *cattlyae* (92.0%) và *X. pruni* (86.0%) và thể hiện sự kìm hãm mạnh *R. solanacearum* (100%) và *P. actinidiae* (100%) ở nồng độ 512 µg/mL.



+ Cao chiết ethyl acetate từ cây muồng trâu *S. alata* thể hiện hoạt tính *in vivo* đối với 4 chủng nấm *M. grisea* (RCB), *P. infestans* (TLB), *P. recondita* (WLR), *C. gloeosporioides* (PAN) với hiệu quả kháng nấm cao (hơn 90%) ở nồng độ 3000 µg/mL.

Cao chiết ethyl acetate thể hiện hoạt tính *in vitro* kìm hãm 6 chủng vi khuẩn: *A. avenae* subsp. *cattlyae*, *B. glumae*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *actinidiae*, *R. solanacearum* và *X. arboricola pruni* với giá trị MIC từ 125 đến 600 µg/mL. Trong đó, đối với chủng *Acidovorax avenae* subsp. *cattlyae* cao dịch chiết ethyl acetate có hoạt tính *in vitro* mạnh ở nồng độ MIC 125 µg/mL.

Hợp chất CA4 (rhein), CA5 (aloe- emodin) có hoạt tính *in vitro* đối với vi khuẩn *Acidovorax avenae* subsp. *cattlyae* gây bệnh cháy lá trên cây hoa Lan, trong đó hợp chất CA4 (rhein) thể hiện hoạt tính mạnh nhất (MIC <19 µg/mL) (ở nồng độ 10 µg/mL).

### 3. Nghiên cứu tối ưu hóa và đề xuất quy trình công nghệ

- Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình công nghệ tạo cao chiết từ rễ cây đại hoàng *R. tanguticum* điều kiện tối ưu là: nhiệt độ chiết: 65°C, tỉ lệ dung môi methanol /nguyên liệu: 2.4/1, thời gian chiết: 24h.
- Đề xuất quy trình công nghệ tạo cao chiết dichloromethane cây đại hoàng *R. tanguticum*.
- Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình công nghệ tạo cao chiết lá cây muồng trâu *S. alata* điều kiện tối ưu là: nhiệt độ chiết: 57°C, tỉ lệ dung môi methanol /nguyên liệu: 13.7/1, thời gian chiết: 19.5 h.
- Đề xuất quy trình công nghệ tạo cao chiết ethyl acetate cây muồng trâu *S. alata*.

## KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu mối quan hệ giữa cấu trúc và hoạt tính của các hợp chất phenolic đối với hoạt tính *in vivo* kháng một số nấm gây bệnh và hoạt tính *in vitro* kháng một số vi khuẩn gây bệnh cho cây trồng.
- Tiếp tục nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chiết có sử dụng siêu âm hay vi sóng đối với cây đại hoàng *R. tanguticum*
- Tiếp tục nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chiết có sử dụng siêu âm hay vi sóng đối với cây muồng trâu *S. alata*.

## NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Lần đầu tiên công bố các hoạt tính mới về ức chế nấm và vi khuẩn gây bệnh cây trồng của các hoạt chất nguồn gốc thực vật như *R. tanguticum*, *C. alata*, *R. trisetifer*, chỉ ra cấu trúc của các hoạt chất chính mang có tác dụng mạnh và tiềm năng ứng dụng của các chất này trong phát triển thuốc BVTV mới thân thiện môi trường.
- Thành phần các cao có hoạt tính đã được nghiên cứu định lượng bằng phương pháp HPLC, từ đó làm rõ cơ sở khoa học và hiệu lực tác dụng đối với vi sinh vật gây bệnh thực vật của các cao chiết từ thực vật đang nghiên cứu.
- Luận án công bố về các quy trình chiết cao mang hoạt tính với các điều kiện chiết được khảo sát và nghiên cứu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Hai mô hình công nghệ xây dựng cho các đối tượng *R. tanguticum* và *S. alata* đã mô tả được bản chất của các quá trình đang nghiên cứu. Các giá trị tối ưu của các điều kiện công nghệ đã được chỉ ra từ các mô hình thiết lập.

## CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Extracts and metabolites derived from the leaves of *Cassia alata* L. exhibit *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activities against fungal and bacterial plant pathogens. *Industrial Crops & Products* 166 (2021) 113465

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113465>

*In vitro* and *in vivo* antimicrobial potential against various phytopathogens and chemical constituents of the aerial part of *Rumex chinensis* Campd. *South African Journal of Botany* 133 (2020) 73-82.

<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.006>

Antimicrobial efficacy of extracts and constituents fractionated from *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. rhizomes against phytopathogenic fungi and bacteria. *Industrial Crops & Products* 108 (2017) 442–450.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.067>

Isolation and identification of phenolic compounds from the leaf extract of *Cassia alata* L. *Vietnam Journal of Chemistry, International Edition*, 55(5): 589-594, 2017.

<https://doi.org/10.15625/2525-2321.2017-00513>

Stilbene constituents of rhizomes of *Rheum tanguticum* Maxim. Ex Balf. (Polygonaceae). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. (2016), 54(2B), 230-234