

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



VŨ THÀNH ĐẠT

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
KHÁNG VIÊM CỦA LOÀI CUÔNG VIỆT NAM
(*ARALIA VIETNAMENSIS* HA)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

HÀ NỘI - 2024

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 THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
KHÁNG VIÊM CỦA LOÀI CUÔNG VIỆT NAM
(*ARALIA VIETNAMENSIS* HA)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

MÃ SỐ: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. Đỗ Tiến Lâm *lau*

HÀ NỘI - 2024

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 toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn



Vũ Thành Đạt

LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên và Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

*Tôi bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc, cảm phục và kính trọng nhất tới **TS. Đỗ Tiến Lâm**, người thầy đã hướng dẫn tận tình, chu đáo và tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong thời gian thực hiện luận văn.*

Tôi chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Học viện Khoa học và Công nghệ và cán bộ các phòng ban đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành các thủ tục trong quá trình thực hiện và bảo vệ luận văn.

Tôi trân trọng cảm ơn các cán bộ Trung tâm Ứng dụng Tin Hóa học và Y-Sinh-Dược, Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên đã nhiệt tình giúp đỡ và tạo mọi điều kiện cho tôi trong quá trình làm thực nghiệm và hoàn thành luận văn.

Cuối cùng, tôi bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới gia đình, bạn bè và người thân đã luôn quan tâm, động viên, khích lệ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận văn



Vũ Thành Đạt

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....	vii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Giới thiệu về các thực vật chi Cuồng (<i>Aralia</i>).....	3
1.2. Thành phần hóa học các thực vật chi <i>Aralia</i>	3
1.2.1. Triterpenoid.....	3
1.2.2. Diterpenoid.....	8
1.2.3. Flavonoid.....	8
1.2.4. Sterol	9
1.2.5. Acetylenic lipid.....	10
1.2.6. Các hợp chất khác	11
1.3. Hoạt tính sinh học của các thực vật chi <i>Aralia</i>	11
1.3.1. Hoạt tính kháng viêm.....	11
1.3.6. Hoạt tính chống ký sinh trùng.....	18
1.3.7. Hoạt tính tim mạch.....	18
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ THỰC NGHIỆM.....	20
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	20
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	20
2.2.1. Phương pháp xử lý mẫu	20
2.2.2. Phương pháp chiết xuất.....	21
2.2.3. Phương pháp phân tích, phân lập các hợp chất.....	21
2.2.4. Phương pháp khảo sát và xác định cấu trúc hợp chất	22

2.2.5. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm	23
2.3. Thực nghiệm	24
2.3.1. Tạo cao chiết	24
2.3.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất	24
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	27
A. Về thành phần hóa học	27
3.1. Các hợp chất flavonoid	27
3.1.1. Hợp chất kaempferol (1)	27
3.1.2. Hợp chất 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (2)	29
3.1.3. Hợp chất 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5)	31
3.2. Các hợp chất triterpenoid	33
3.2.1. Hợp chất oleanolic acid (3)	33
3.2.2. Hợp chất ursolic acid (4)	36
3.2.3. Hợp chất betulinic acid (6)	39
B. Về hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i>	43
3.1. Hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i> của các cao chiết	43
3.2. Hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i> của các hợp chất phân lập	43
KẾT LUẬN	46
KIẾN NGHỊ	47
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ	48
TÀI LIỆU THAM KHẢO	48

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
^{13}C -NMR	Carbon 13- Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết H-C
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân trực tiếp H-C
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetat
EtOH	Ethanol	Ethanol
MeOH	Methanol	Methanol
δ_{H}	Proton chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton
δ_{C}	Carbon chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của cacbon
ppm	Part per million	Phần triệu
TMS	Tetramethylsilane	
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký bản mỏng
CC	Colum Chromatography	Sắc ký cột

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 1 và chất tham khảo.....</i>	<i>28</i>
<i>Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 2 và chất tham khảo</i>	<i>30</i>
<i>Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 5 và chất tham khảo</i>	<i>32</i>
<i>Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 3 và chất tham khảo</i>	<i>34</i>
<i>Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 4 và chất tham khảo</i>	<i>37</i>
<i>Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H- và ^{13}C-NMR của 6 và chất tham khảo</i>	<i>40</i>
<i>Bảng 3.7. Kết quả ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 in vitro</i>	<i>44</i>

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

<i>Hình 2.1. Cây Cuồng Việt Nam (Aralia vietnamensis)</i>	<i>20</i>
<i>Hình 2.1. Sơ đồ xử lý và chiết mẫu Cuồng Việt Nam (Aralia vietnamensis)..</i>	<i>24</i>
<i>Hình 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài Cuồng Việt Nam (Aralia vietnamensis).....</i>	<i>25</i>
<i>Hình 3.1. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 1.....</i>	<i>27</i>
<i>Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của tương tác HMBC (H→C) chính của 2</i>	<i>29</i>
<i>Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của tương tác HMBC (H→C) chính của 5</i>	<i>31</i>
<i>Hình 3.4. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 3.....</i>	<i>34</i>
<i>Hình 3.5. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 4</i>	<i>37</i>
<i>Hình 3.6. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của 6.....</i>	<i>40</i>
<i>Hình 3.7. Các hợp chất được phân lập từ cây Cuồng Việt Nam (Aralia vietnamensis).....</i>	<i>43</i>

MỞ ĐẦU

Viêm là quá trình sinh lý quan trọng của hệ miễn dịch, bảo vệ cơ thể khỏi sự xâm nhập của sinh vật gây hại (vi khuẩn, virus, nấm), tổn thương hoặc tiếp xúc với các tác nhân hóa học độc hại. Tình trạng viêm giúp nhận biết và loại bỏ các tác nhân có hại và thúc đẩy quá trình chữa lành vết thương. Tuy nhiên, nếu tình trạng viêm kéo dài thành mãn tính dẫn đến bệnh như đau cơ thể, trầm cảm, rối loạn tâm lý, mệt mỏi, mất ngủ, tiêu chảy hoặc táo bón,... [1-4]. Do đó, trong một số tình huống, việc sử dụng thuốc kháng viêm là cần thiết, đặc biệt là các thuốc kháng viêm có nguồn gốc thiên nhiên với những ưu điểm vượt trội hơn so với thuốc tây y như có hiệu quả tốt, ít tác dụng phụ, giá thành thấp... [5].

Trong số các loài thực vật được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền, các loài thuộc chi Cuồng (*Aralia*) trong họ Nhân sâm (*Araliaceae*) được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học đáng lưu ý, đặc biệt là trong việc điều trị các bệnh liên quan đến viêm như viêm loét dạ dày, viêm gan, viêm thận, viêm họng, viêm khớp,... [6-13]. Các nghiên cứu hóa học về các loài thuộc chi Cuồng (*Aralia*) đã chỉ ra rằng chúng chủ yếu chứa các hợp chất triterpen, cùng với một số hợp chất khác như flavonoid, terpenoid [14-15]. Đây là các thành phần có tác dụng kháng viêm, kháng sinh mạnh. Điều đó cho biết một số thực vật chi *Aralia* (Cuồng) có thể được nghiên cứu định hướng tạo chế phẩm có tác dụng kháng viêm tốt.

Trong số đó, Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) là một loài đặc hữu của Việt Nam và đã trở thành một phần quan trọng trong y học dân gian, đặc biệt trong việc điều trị các vấn đề liên quan đến bệnh thấp khớp [6-8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây về loài này chủ yếu tập trung vào việc mô tả và tổng hợp kinh nghiệm sử dụng trong y học dân gian, chưa có nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nó. Chính vì vậy, đề tài "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)**" được thực hiện nhằm mục đích khám phá thêm về thành phần hóa học và tác dụng kháng viêm của loài thực vật này.

Mục tiêu nghiên cứu:

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 3-4 hợp chất từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).
- Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất được phân lập từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).

Nội dung nghiên cứu:

- Thu thập và xử lý mẫu loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).
- Sử dụng các phương pháp phù hợp để chiết tách và phân lập hợp chất từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).
- Sử dụng phương pháp phổ NMR để ghi và xác định cấu trúc của các hợp chất được phân lập từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).
- Thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết tổng, phân đoạn và các hợp chất thu được từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).

Những đóng góp của luận văn:

Lần đầu tiên, 6 hợp chất, gồm có 3 hợp chất flavonoid như kaempferol (1), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (2) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5); 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (3), ursolic acid (4) và betulinic acid (6) đã được xác định từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) ở Hà Giang, phù hợp với thành phần hóa học các loài chi Cuồng (*Aralia*) đã được nghiên cứu.

Lần đầu tiên, đã đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất phân lập được từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*). Kết quả cho biết, cao ethyl acetate (AVE) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 88,46 $\mu\text{g/ml}$. Hợp chất betulinic acid (6) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 66,87 μM .

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu về các thực vật chi Cuồng (*Aralia*)

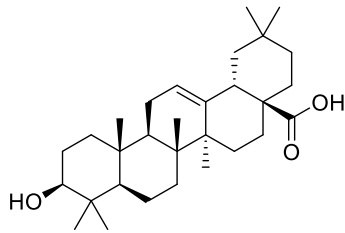
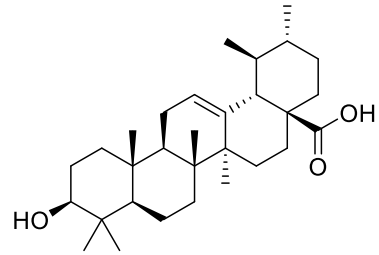
Aralia là một chi thực vật có hoa thuộc họ Araliaceae, gồm khoảng 80 loài, được phân bố rộng khắp trên thế giới như Châu Á, Bắc Mỹ và Nam Mỹ. Ở Việt Nam, chi Cuồng (*Aralia*) có khoảng 15 loài [6-8]. Các loài chi Cuồng (*Aralia*) thường có đặc điểm là lá kép lớn và cụm hoa nhỏ được phát triển thành quả nhỏ, thường được trồng làm cây cảnh do có tán lá đẹp.

Ngoài ra, một số loài được sử dụng trong y học cổ truyền, là nguồn dược liệu giá trị như Đơn châu chấu (*Aralia armata*) được dùng chữa viêm gan, viêm loét dạ dày, viêm họng, sưng đau, tiểu đường,... [9]; Thổ đương quy (*Aralia cordata*) và Bạch chỉ (*Aralia elata*) chữa viêm gan, đau lưng,... [10-12]; Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*), một loài đặc hữu của Việt Nam, và Cuồng thomson (*Aralia thomsonii*) được dùng chữa viêm gan, dị ứng, tiểu đường [13]. Các loài chi Cuồng (*Aralia*) khác như Cuồng planchon (*Aralia planchoniana*), Cuồng lá nhám (*Aralia dasyphylla*) và Cuồng Trung quốc (*Aralia chinensis*) cũng đã được sử dụng để điều trị nhiều bệnh lý khác nhau, bao gồm cả thấp khớp, đau lưng, viêm gan hoàng đản, cổ trướng, đau thượng vị, viêm thận và viêm hạch [6-8].

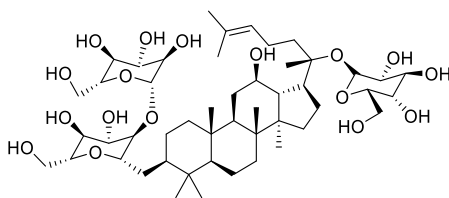
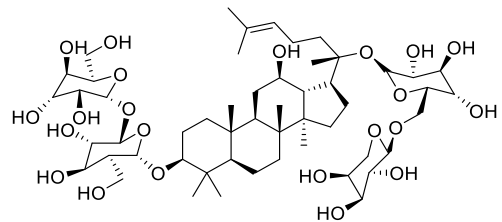
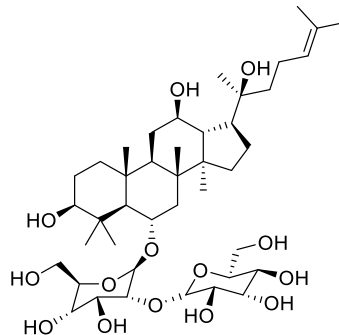
1.2. Thành phần hóa học các thực vật chi *Aralia*

1.2.1. Triterpenoid

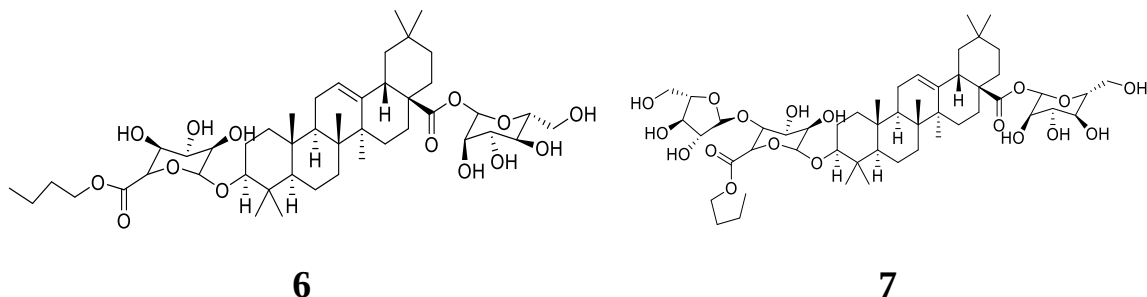
Hợp chất oleanolic acid (**1**) và ursolic acid (**2**), hai triterpenoid đã được phân lập từ các loài thuộc chi Cuồng (*Aralia*), đã được chứng minh là có khả năng gây độc tế bào ung thư biểu mô gan người HuH7 [16]. Hợp chất **1** cũng đã được biết đến với tác dụng bảo vệ gan, ngăn ngừa tổn thương gan do CCl₄ gây ra ở chuột [17]. Trong khi đó, hợp chất **2** đã được chứng minh có tác dụng gây độc đối với tế bào ung thư biểu mô gan Hep-G2, nhưng không ảnh hưởng đến các tế bào gan nguyên phát của chuột bình thường. Thêm vào đó, hợp chất **2** cũng đã thể hiện hoạt tính bảo vệ gan trong thử nghiệm *in vivo* trên chuột nhắt [17].

**1****2**

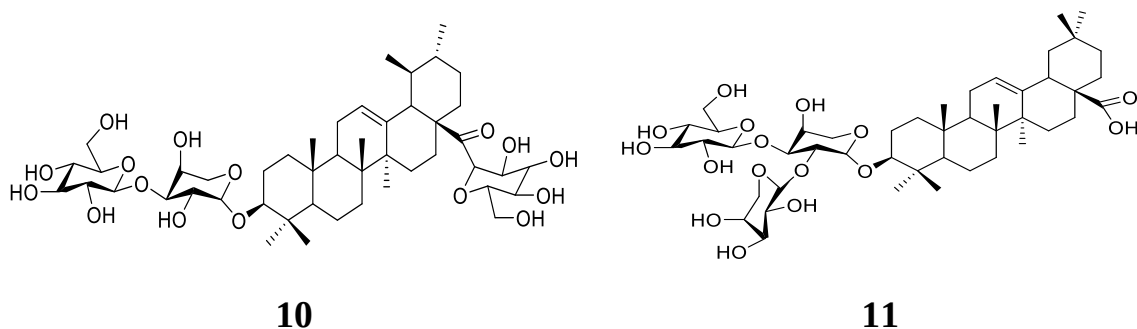
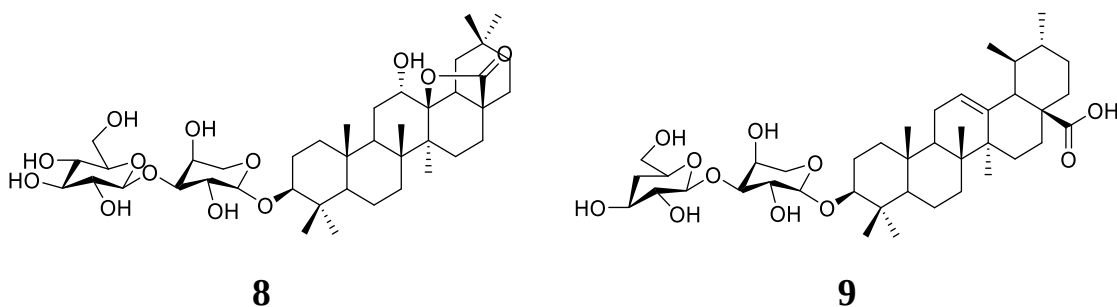
Nhiều saponin triterpenoid có hoạt tính sinh học thú vị đã được báo cáo từ chi Cuồng (*Aralia*). Phần aglycone phổ biến của chúng là oleanolic acid có glucuronic acid ở vị trí C-28 và được gắn với nhiều đơn vị đường khác nhau. Đáng chú ý, hai nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng nấm nội sinh từ cả Nhân sâm (*Panax ginseng*) và Bạch chỉ (*Aralia elata*) đều có khả năng tổng hợp các ginsenoside Rd (**3**), ginsenoside Rb2 (**4**) và ginsenoside Rf (**5**). Nghiên cứu này mở ra cơ hội cho việc tổng hợp nhiều loại saponin khác nhau thông qua quá trình lên men, tiềm năng này có thể là một phương pháp hữu ích để sản xuất ginsenoside quy mô lớn mà không cần mở rộng diện tích trồng trọt và gây ra hậu quả xấu cho môi trường [18,19].

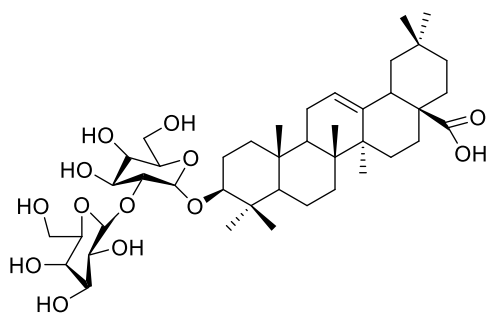
**3****4****5**

Hợp chất taibaienoside IV (**6**) và taibaienoside I (**7**) có nhóm *n*-butyl este gắn với nhóm carboxyl của glucuronic acid gọi ý đến khả năng các hợp chất này cũng có thể được tổng hợp từ tự nhiên [20].

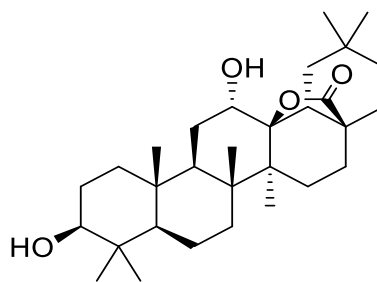


Từ lá loài Cuồng lá nhám (*Aralia dasyphylla*) đã phân lập được các hợp chất: 3-O-(β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- α -L-arabinopyranosyl) 12 α -hydroxyoleanolic-28,13-olide (**8**), ursolic acid (**2**), 3-O- α -L-arabinopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)-O- β -D-glucopyranosyl ursanolic acid (**9**), matesaponin 1 (**10**), elatoside E (**11**), acutoside A (**12**), oleanderolide (**13**), elatoside F (**14**), araliasaponin VIII (**15**), 3-O- α -L-arabinopyranosyl oleanolic acid (**16**), 3-O- α -L-arabinopyranosyl ursolic acid (**17**), oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**18**) và ursolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**19**) [15].

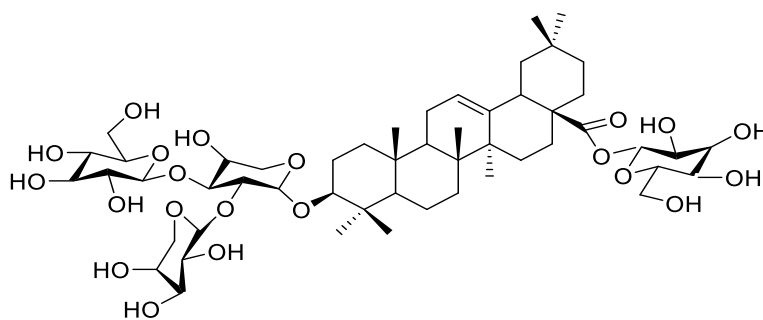




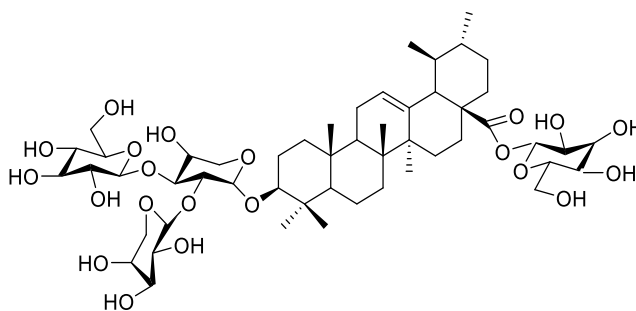
12



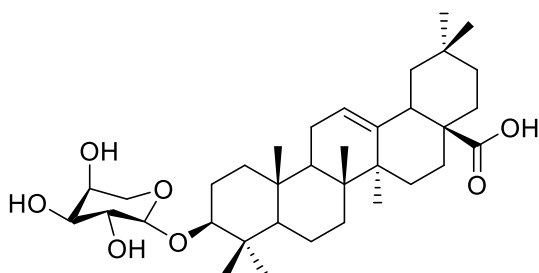
13



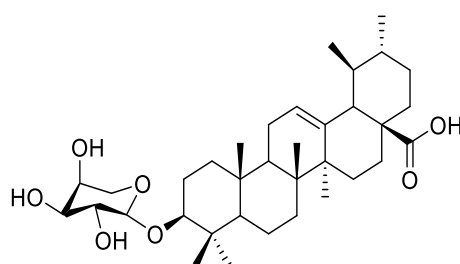
14



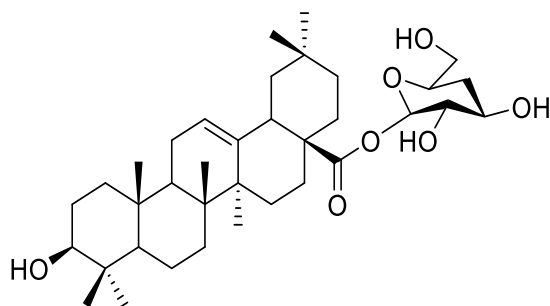
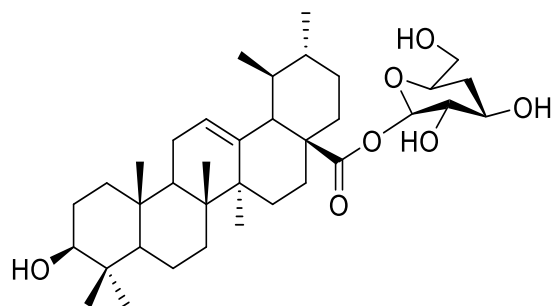
15



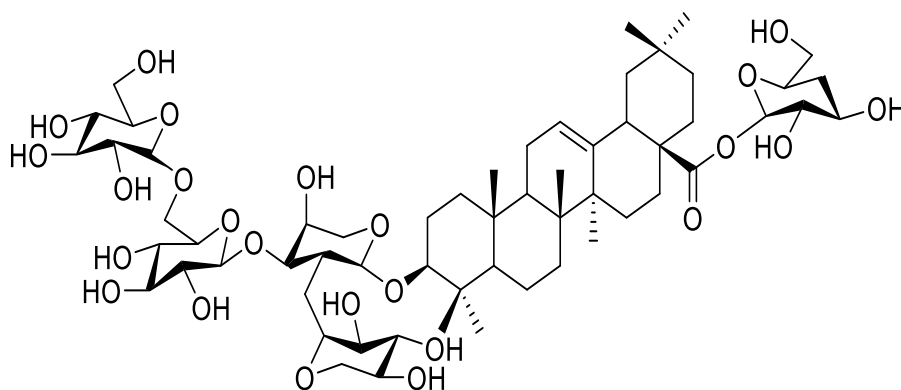
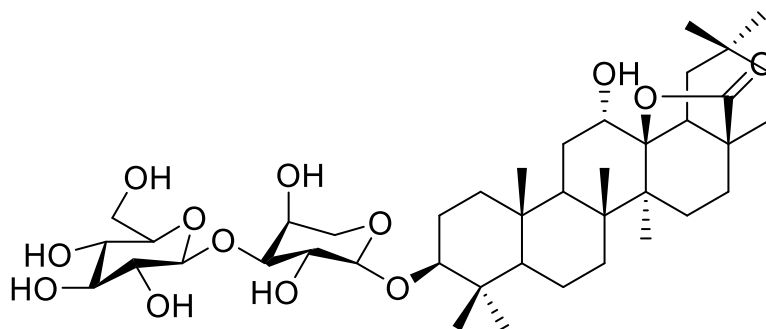
16

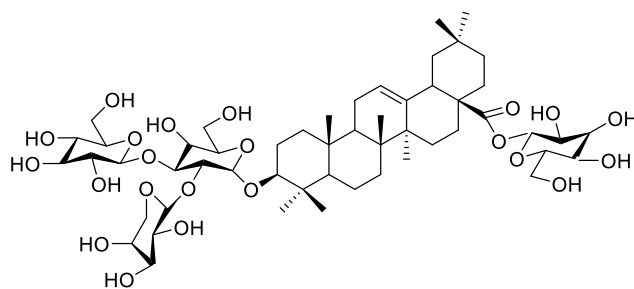


17

**18****19**

Từ lá loài Cuồng hiệp (*Aralia hiepiana*), 1 hợp chất mới được phân lập là 3-O-([β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-[β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)]- α -L-arabinopyranosyl) oleanolic acid 28-O- β -D-glucopyranosyl ester (**20**) và các hợp chất đã biết: 3-O-(β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- α -L-arabinopyranosyl)-12 α -hydroxyolean-28,13-olide (**21**), araliasaponin IV (**22**), matesaponin 1 (**10**), ursolic acid (**2**) và hoạt tính gây độc với cả các dòng tế bào HepG2 và LU-1 và HeLa đã được thử nghiệm [15].

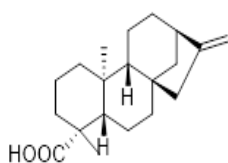
**20****21**



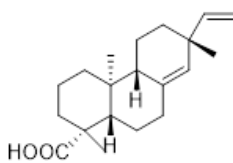
22

1.2.2. Diterpenoid

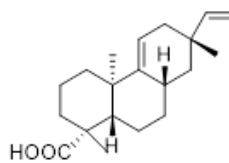
Một loại hợp chất diterpenoid được phân lập từ chi Cuồng (*Aralia*) thuộc lớp *ent*-kaurane và *pi*-marane, bao gồm *ent*-kaurenoic acid (23), continentalic acid (24), acanthoic acid (25), và *ent*-pimaric acid (26) [21].



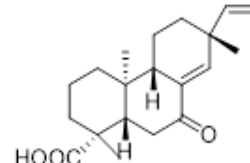
23



24



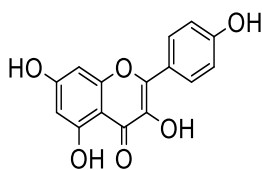
25



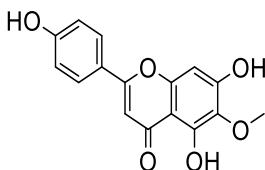
26

1.2.3. Flavonoid

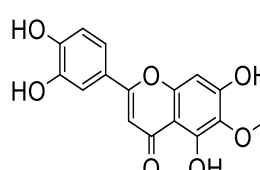
Các hợp chất flavonoid như kaempferol (27), hispidulin (28), eupafolin (29), kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside (30), kaempferitrin (31) và kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside (32) được phân lập từ lá loài Cuồng lá nhám (*Aralia dasyphylla*) [15]. Ngoài ra, rutin (33), quercetin (34), apigenin 7-O- β -glucoside (35), quercetin-3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside (36), quercetin-3-sophoroside (37), kaempferol 3-O-sophoroside (38), kaempferol (27), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside (32) và kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside (30) được phân lập từ lá loài Cuồng Hiệp (*Aralia hiepiana*) [15].



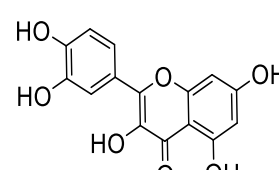
27



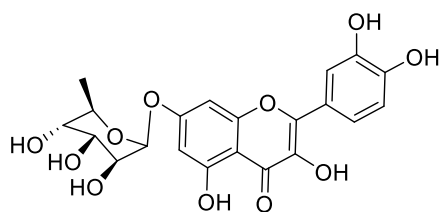
28



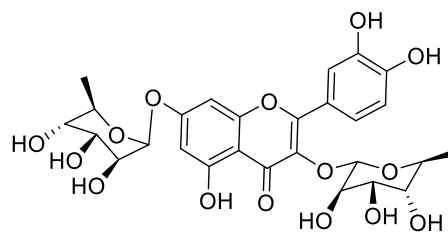
29



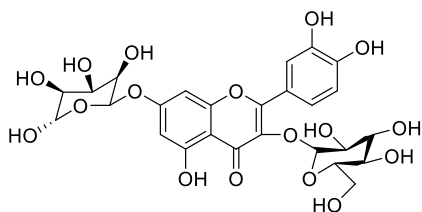
34



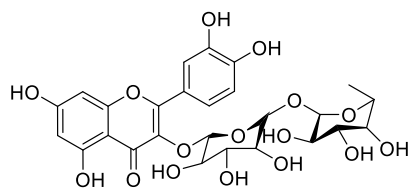
30



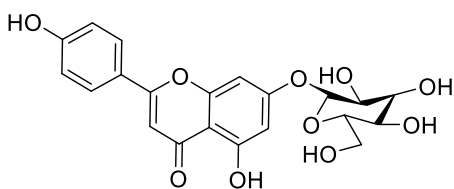
31



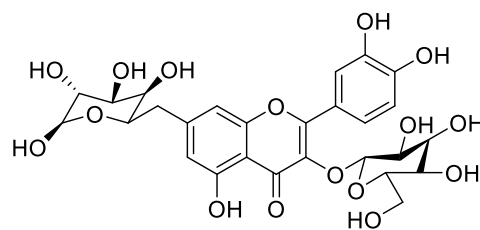
32



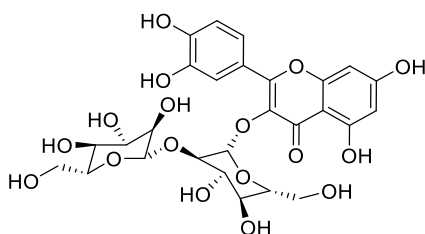
33



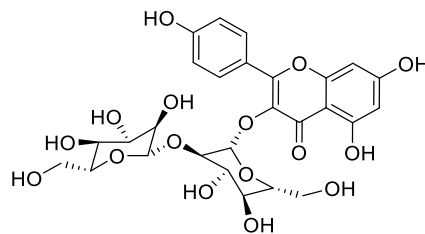
35



36



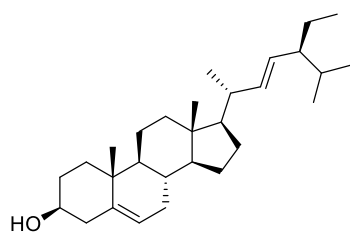
37



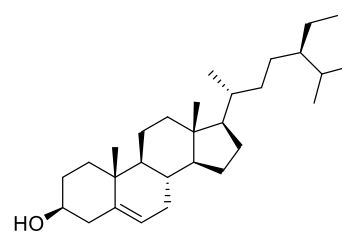
38

1.2.4. Sterol

Hợp chất stigmasterol (**39**) và β -sistosterol (**40**) phổ biến trong chi Cuồng (*Aralia*). Những sterol thực vật này có tác dụng giảm cholesterol, điều trị tăng sinh tuyến tiền liệt lành tính (BPH) [21].



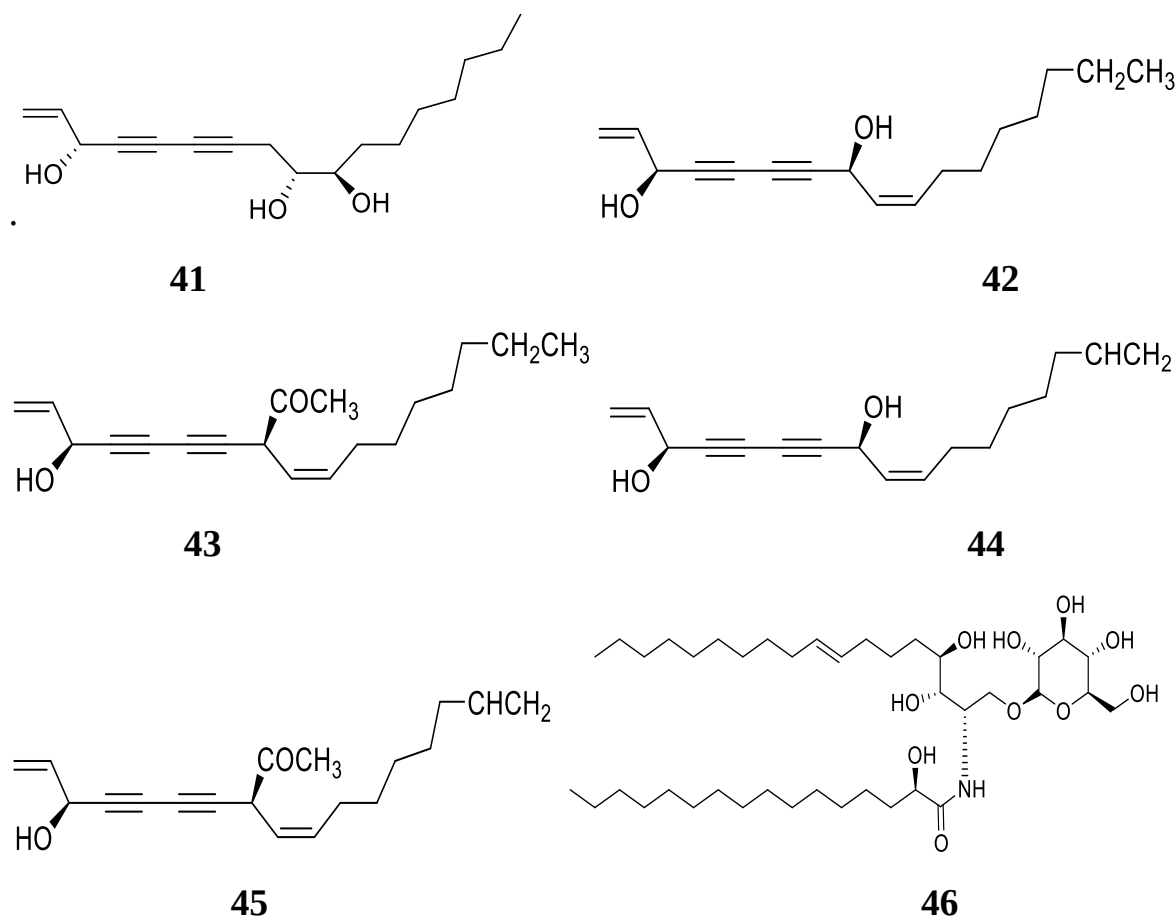
39



40

1.2.5. Acetylenic lipid

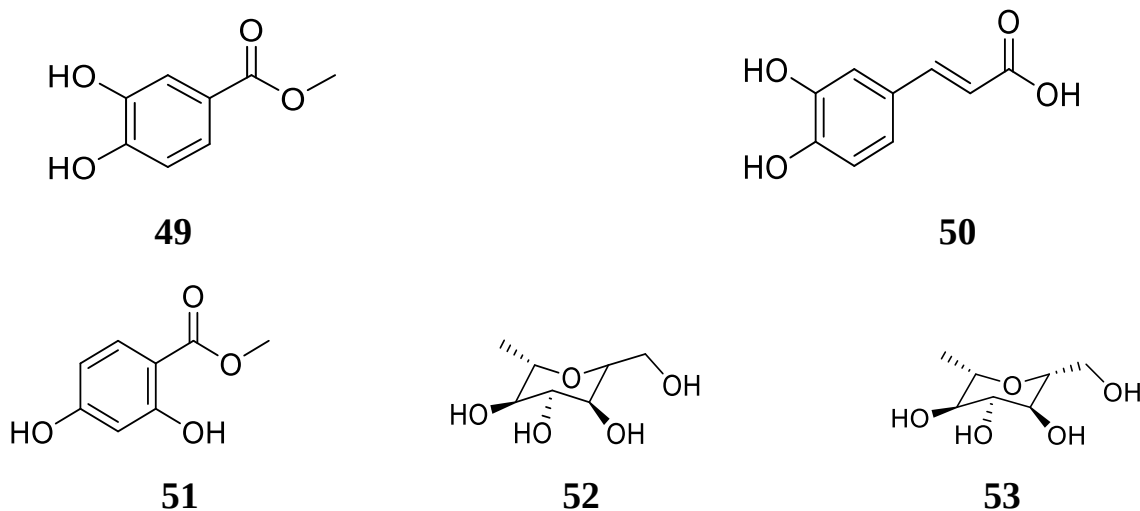
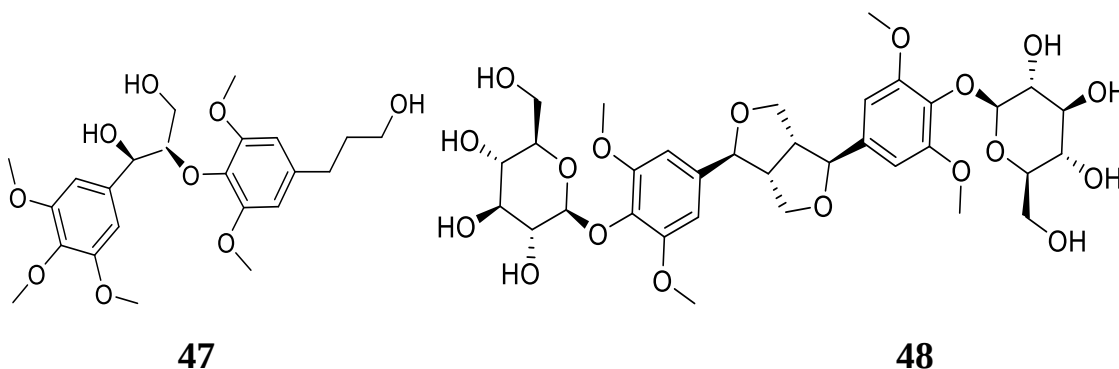
Acetylenic lipid là một nhóm chất phổ biến được phát hiện trong họ Araliaceae. Trong chi Cuồng (*Aralia*), acetylenic lipid đã được ghi nhận từ các loài như *Aralia racemosa*, *Aralia cordata* và *Aralia nudicaulis*. Sự phát sinh sinh học đã chỉ ra mối quan hệ giữa họ Apiaceae và Araliaceae, với tiềm năng chống ung thư tốt [22]. Đáng chú ý, panaxytriol (**41**) đã mở đường cho việc phát triển các loại thuốc hỗ trợ trong điều trị ung thư và giảm tác dụng phụ. Falcarindiol (**42**) và các dẫn xuất của nó như falcarindiol acetate (**43**), dehydrofalcarindiol (**44**) và dehydrofalcarindiol acetate (**45**) là các loại acetylenic lipid được tìm thấy trong các loài của chi Cuồng (*Aralia*). Hoạt tính sinh học của các acetylenic lipid như **42** và **43** được biết đến với khả năng ngăn ngừa bệnh tim và ung thư [21].



Ngoài ra, sphingolipid, aralia cerebroside (**46**) đã được phân lập từ loài *Aralia continentalis* [23] và *Aralia elata* [24]. Hợp chất này đã được tìm thấy là một chất ức chế aldol reductase (RLAR) chuột [23].

1.2.6. Các hợp chất khác

Hai hợp chất lignan, 4-O-Methyl burseneolignan (**47**) được phân lập từ lá loài Cuồng lá nhám (*Aralia dasyphylla*) và liriiodendrin (**48**) được phân lập từ loài Đơn châu châu (*Aralia armata*) [25]. Ngoài ra, các phenolic như methyl 3,4-dihydroxybenzoate (**49**), caffeic acid (**50**), methyl 2,4-dihydroxybenzoate (**51**), methyl α -L-rhamnopyranoside (**52**) và methyl α -D-glucopyranoside (**53**) được phân lập từ lá loài Cuồng Hiệp (*Aralia hiepiana*) [15].

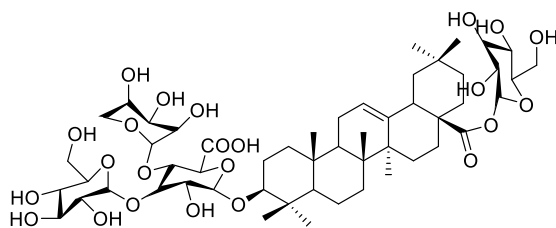


1.3. Hoạt tính sinh học của các thực vật chi *Aralia*

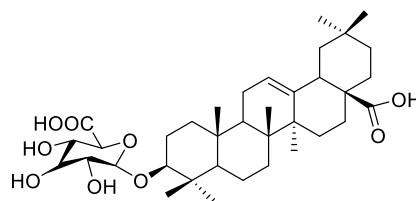
1.3.1. Hoạt tính kháng viêm

Một số loại saponin từ chi Cuồng (*Aralia*) cho thấy tác dụng *in vitro* lên sự biểu hiện của cytokine, dẫn đến hiệu quả chống viêm. Các chemokine thu hút bạch cầu trung tính do cytokine tạo ra, như CINC-1, có khả năng thu hút bạch cầu đến các khu vực bị viêm và kích hoạt bạch cầu trung tính, đây là một bước sớm trong quá trình viêm cấp tính. Stipuleanoside R2 (**54**) và calendulose E (**55**) đã cho thấy tác dụng ức chế (khoảng 20% ở nồng độ 1

μM) đối với sự tạo ra CINC-1 do interleukin 1 (IL-1) kích thích trong các tế bào sợi chuột [26,27].

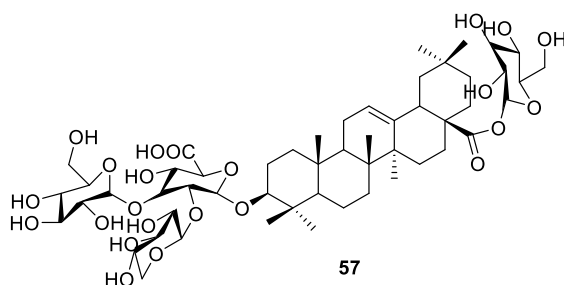


54

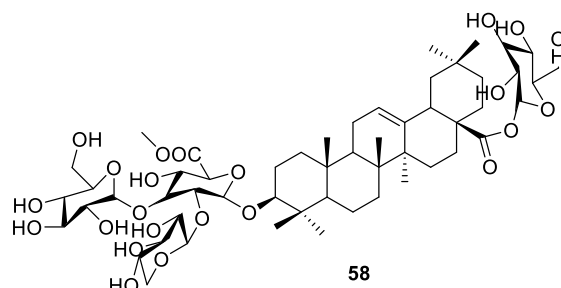


55

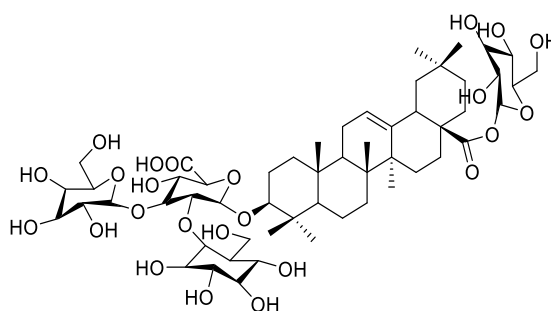
Hợp chất **54** và **56** (kalopanax saponin F) đã được chứng minh là làm giảm hoạt động của NF- κ B do TNF- α gây ra trong các tế bào ung thư gan HepG2 theo cách phụ thuộc liều. Hợp chất **54** làm giảm đáng kể sự biểu hiện của các gen iNOS và COX-2 do TNF- α kích thích. Hợp chất **56**, kalopanax saponin F methyl ester (**57**) và elatoside D (**58**), ức chế sự kích hoạt của PPAR- γ , mặc dù chúng không ảnh hưởng đến sự biểu hiện của các loại PPAR khác [28]. Chikusetsusaponin IVa (**59**) được xác định là ức chế hoạt động của NF- κ B do TNF- α kích thích [29].



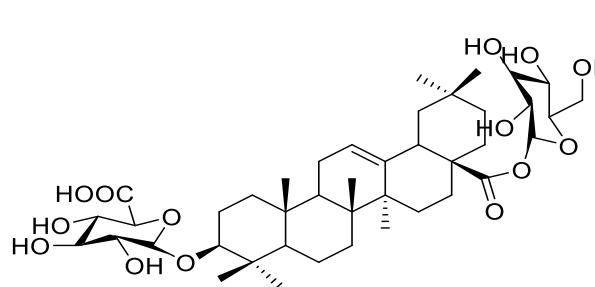
56



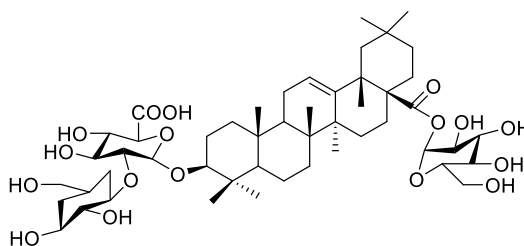
57



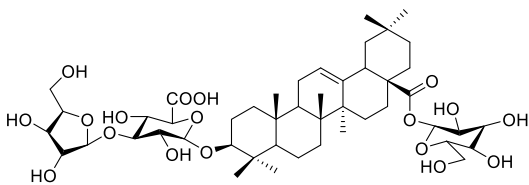
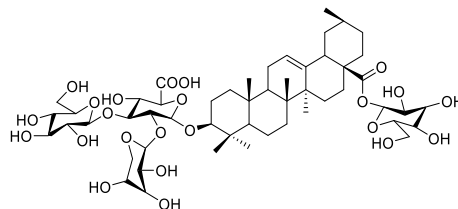
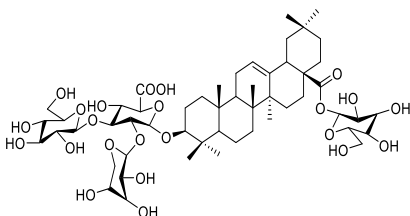
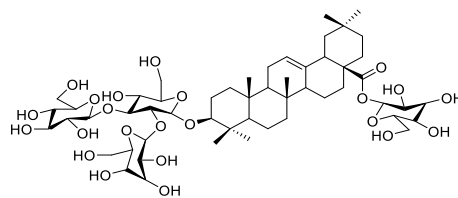
58



59

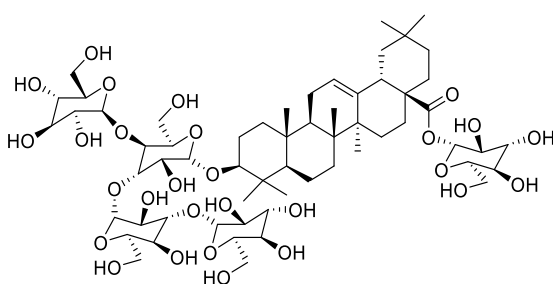
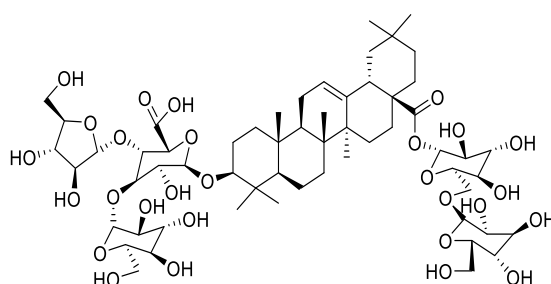
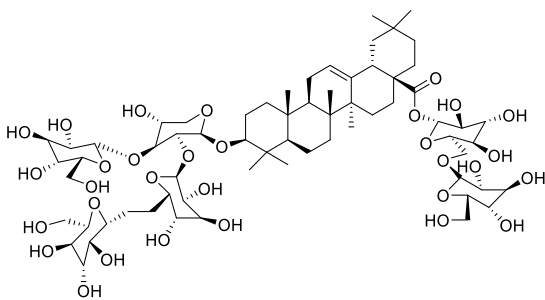
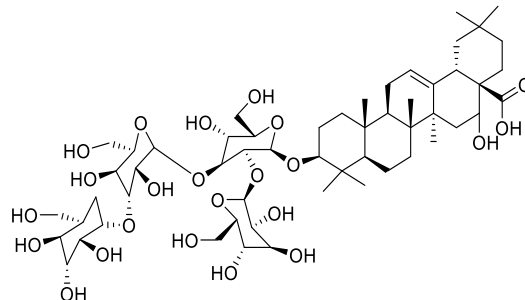
**60**

Thụ thể Fas với phối tử của Fas (FasL) là một yếu tố tăng trưởng thuộc họ $\text{TNF-}\alpha$, thúc đẩy quá trình chết tế bào theo chương trình. Các hợp chất ginsenoside R0 (**60**), araloside A (**61**) và **59** đã được phát hiện có hoạt tính kìm hãm quá trình chết tế bào theo chương trình trong các tế bào sừng của người (HaCaT) và chuột (Pam212). Các hợp chất này ức chế chết tế bào theo chương trình qua trung gian Fas do FasL gây ra trong các tế bào sừng đồng thời cũng ức chế chết tế bào theo chương trình do actinomycin D gây ra trong các tế bào ung thư hạch bạch huyết của người [30].

**61****62****63****64**

Bạch cầu đa nhân trung tính là các tế bào bạch cầu có nhiệm vụ tuần tra, tìm kiếm vi khuẩn xâm nhập và nuốt các hạt ngoại lai qua quá trình thực bào để chuẩn bị cho sự tiêu diệt chúng. Bạch cầu đa nhân trung tính sản xuất superoxide để phá hủy các vật liệu đã nuốt. Mặc dù superoxide cần thiết để tiêu

diệt vi khuẩn xâm nhập, nó cũng có thể gây hại cho các mô xung quanh. Các hợp chất elatoside C (**62**) và elatoside K (**63**) được phát hiện có khả năng ức chế sản xuất superoxide trong bạch cầu đa nhân trung tính của người. Các tác giả cho rằng sản xuất superoxide bị giảm là do sự ức chế protein tyrosine kinase trong bạch cầu đa nhân trung tính. Việc ức chế protein tyrosine kinase ngăn chặn sự di chuyển của p47phox và p67phox đến màng tế bào của bạch cầu đa nhân trung tính, giảm sản xuất superoxide do N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) gây ra [31].

**65****66****67****68**

Congmunoside V (**64**), X (**65**), XI (**66**), XII (**67**) và XV (**68**), cũng được phát hiện có các hoạt tính tương tự. Các protein p47phox và p67phox trong tế bào chất là hai trong số sáu tiểu đơn vị của NADPH oxidase có trong bạch cầu trung tính, di chuyển đến màng tế bào để tạo ra superoxide từ NADPH [31]. Các hợp chất **64-68** cũng ức chế quá trình peroxid hóa lipid bởi bạch cầu đa nhân trung tính xảy ra sau khi sản xuất superoxide. Vì các saponin này là các

chất quét gốc tự do kém, các tác giả đề xuất rằng việc ức chế peroxid hóa lipid là do ức chế sự tạo ra superoxide [32].

Tương tự như các triterpenoid của chi Cuồng (*Aralia*), nhiều nghiên cứu về diterpenoid liên quan đến chi này đã tập trung vào hoạt tính chống viêm của chúng. *Ent*-Kaurenoic acid (**23**) là tiền chất sinh tổng hợp của steviol glycoside (các chất tạo ngọt tự nhiên), và nó đã thu hút sự quan tâm nhờ tác dụng chống viêm [34]. Hợp chất **23** ức chế sản xuất malondialdehyde (MDA) trong tiểu cầu của chuột. Sự hiện diện của MDA là một dấu hiệu của quá trình peroxid hóa lipid, và giảm nồng độ MDA là chỉ báo hiệu của hoạt tính chống viêm [35]. Hợp chất **23** dường như không phải là chất ức chế mạnh của các enzyme COX [36], nhưng có bằng chứng cho thấy hợp chất **23** có thể ảnh hưởng đến biểu hiện của enzyme COX. Hợp chất **23** ức chế sự tạo ra NO, PGE₂, iNOS và COX-2 do LPS gây ra trong các đại thực bào RAW264.7. Hợp chất **23** cũng ngăn chặn sự liên kết của NF- κ B với DNA trong các đại thực bào, nhưng liều lượng cần thiết ở mức cao khoảng 100 μ M [37].

Acanthoic acid (**25**) khá phổ biến trong các loài thuộc chi *Acanthopanax* (Araliaceae), nhưng trong chi Cuồng (*Aralia*), nó chỉ được báo cáo từ loài *Aralia racemosa*. Sự quan tâm đến acanthoic acid chủ yếu tập trung vào hoạt động chống viêm của nó. Hợp chất **25** ức chế sản xuất TNF- α và IL-1 trong các đại thực bào của con người [38,39]. Ngoài ra, hợp chất **25** còn được phát hiện làm giảm sản xuất collagen và xơ hóa *in vivo* ở chuột bị bệnh bụi phổi silic, một loại tổn thương phế nang do bột silica gây ra [40]. Hơn nữa, hợp chất **51** còn làm giảm biểu hiện của TNF- α , COX-2 và NF- κ B *in vivo* trong mô hình viêm loét đại tràng ở chuột, với hiệu quả tốt nhất ở liều 300 mg/kg [41].

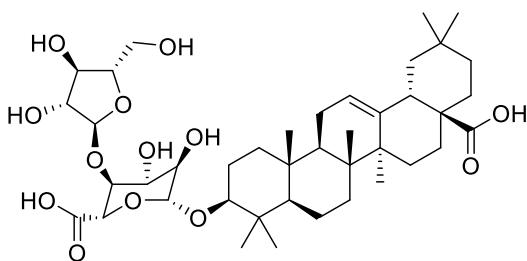
Hợp chất continentalic acid (**24**) có hoạt tính giảm đau vừa phải trong mô hình thử nghiệm trên chuột [42], và đã được phát hiện có tác dụng chống viêm trong mô hình phù chân chuột. Hợp chất **24** cũng được báo cáo là ức chế yếu enzyme COX-1 [43]. Hợp chất **24** được phát hiện làm giảm biểu hiện của iNOS, COX-2 và IL-6, cũng như giảm sản xuất prostaglandin E₂ để phản ứng với LPS trong các đại thực bào [44].

1.3.2. Hoạt tính chống loãng xương

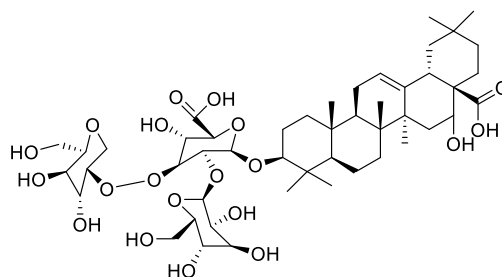
Loãng xương là sự mất mật độ xương do giảm estrogen ở phụ nữ sau mãn kinh. Sự mất mật độ xương này đã được chứng minh là do các cytokine tiền viêm thuộc họ TNF- α gây ra [33]. Taibaienoside IV (**6**) và hợp chất chikusetsusaponin Iva (**59**) đã được phát hiện có khả năng ức chế sự hình thành các tế bào hủy xương đa nhân thông qua một cơ chế không liên quan đến độc tính không thể đảo ngược [32]. Mặc dù cơ chế chính xác của tác dụng này chưa được làm rõ, nhưng có khả năng nó liên quan đến việc giảm biểu hiện của các cytokine tham gia vào quá trình tiêu xương. Tác dụng này có thể gợi ý rằng hợp chất **6** có hoạt tính hữu ích trong việc ngăn ngừa loãng xương.

1.3.3. Hoạt tính chống loét dạ dày

Hợp chất **54**, **55** và tarasaponin VI (**69**) có tác dụng bảo vệ dạ dày chống lại các tổn thương do ethanol hoặc indomethacin gây ra [34]. Tác dụng chống loét của chúng có thể giải thích việc sử dụng loài *Aralia elata* trong y học cổ truyền để điều trị các triệu chứng viêm loét dạ dày.



69



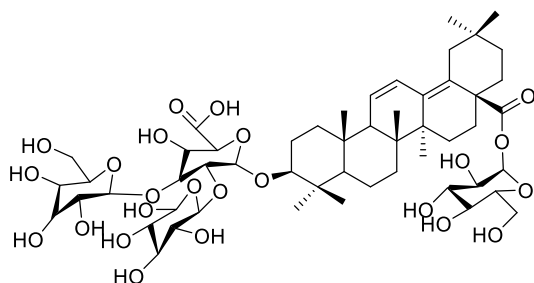
70

1.3.4. Hoạt tính chống tiểu đường

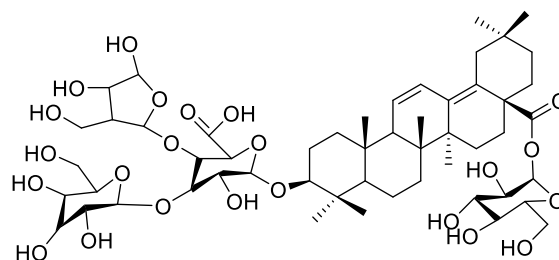
Các hợp chất elatoside E (**11**), elatoside F (**14**) và elatoside I (**70**) đã được xác định là thành phần có tác dụng hạ đường huyết từ loài *Aralia elata*, bằng thử nghiệm trên chuột Wistar nhện ăn, được tiêm glucose, làm tăng lượng đường trong máu ở chuột [45,46].

Các hợp chất elatoside K (**63**), tarasaponin VI (**69**), Elatoside E (**11**), elatoside F (**14**) và elatoside I (**70**) đã được phát hiện ức chế α -amylase và α -

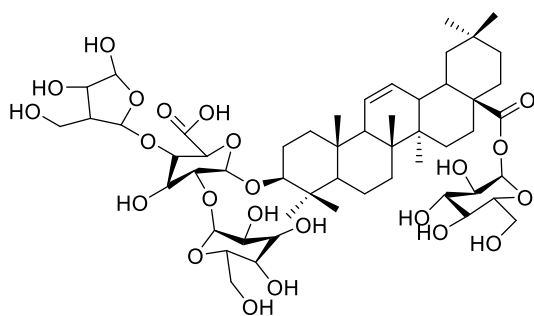
glucosidase. Việc ức chế α -amylase và α -glucosidase trong quá trình tiêu hóa có thể giúp giảm biến động của nồng độ glucose trong máu, điều này có thể hỗ trợ trong việc điều trị tiểu đường [47].



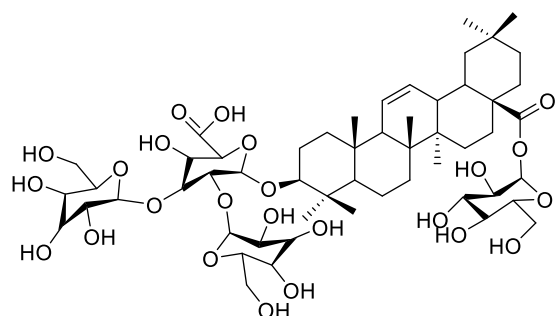
71



72



73



74

Các hợp chất elatoside K (**63**), tarasaponin VI (**69**) và bốn saponin mới **71-74** đã được tìm thấy ức chế quá trình peroxid hóa lipid trong các vi thể gan của chuột gây ra bởi ascorbate/ Fe^{2+} , cumene hydroperoxide và $\text{CCl}_4/\text{NADPH}$ [48].

1.3.5. Hoạt tính chống béo phì

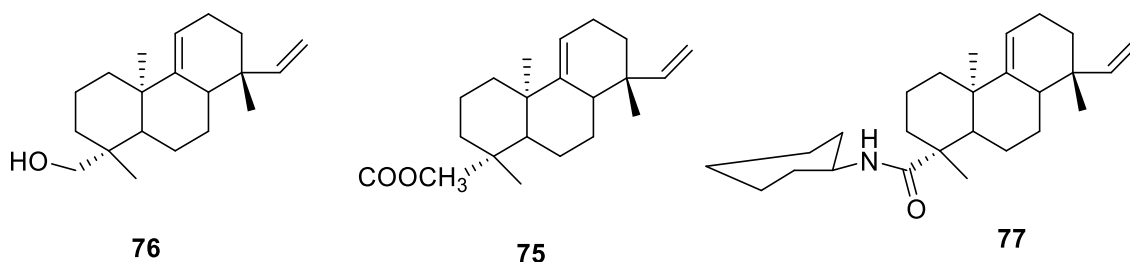
Các hợp chất *ent*-kaurenoic acid (**23**) và continentalic acid (**24**) là những chất ức chế protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) [49]. Điều này có thể hữu ích khi kết hợp với chất ức chế aldol reductase để điều trị bệnh tiểu đường [50]. Ngoài ra, một nghiên cứu gần đây cho thấy hợp chất **23** là chất ức chế chọn lọc enzyme 11-HSD1 (11-hydroxysteroid dehydrogenase 1). Enzyme 11-HSD1 tham gia vào quá trình chuyển đổi cortisone thành cortisol, và có bằng chứng từ các nghiên cứu trên chuột cho thấy rằng việc ức chế 11-HSD1 có thể giảm quá trình tạo đường trong gan và tăng độ nhạy insulin. Do đó, 11-HSD1 có thể là một mục tiêu quan trọng để điều trị bệnh tiểu đường và béo phì.

1.3.6. Hoạt tính chống ký sinh trùng

Hợp chất continentalic acid (**24**) đã được chứng minh là có khả năng ức chế sự phát triển của *Trypanosoma cruzi* [51] và trứng của *Schistosoma* [52]. Việc nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính sinh học của các hợp chất này có thể giúp làm rõ hơn về tác dụng của một số loại thuốc cổ truyền.

1.3.7. Hoạt tính tim mạch

Hợp chất **24** được tìm thấy ức chế co thắt mạch gốc KCl trong mô hình chuột. Hiệu ứng này được cho là do sự giải phóng NO gây ra bởi **24** [53]. Nghiên cứu sâu hơn về tác dụng làm giảm co thắt mạch ở chuột của **24** cho thấy rằng hydroxylation tại C-3 và sự chuyển đổi từ COOH thành CH₃ không có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động làm giảm co thắt mạch của **24** [54]. Cả **23** và **24** cũng được tìm thấy là các chất ức chế renin vừa phải, cho thấy chúng có thể làm thuốc hạ huyết áp [55].



Hợp chất **25** được xác định là một chất kích hoạt thụ thể LXR (liver X receptor) ở dưới mức độ micromol, các thụ thể này đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh mức độ cholesterol trong tế bào gan. LXR tham gia vào việc điều chỉnh một số quá trình chuyển hóa lipid có thể dẫn đến việc thoát cholesterol ra khỏi tế bào, và việc kích hoạt LXR có thể dẫn đến tăng mức độ HDL và giảm mức độ LDL trong máu [56]. Nghiên cứu tiếp theo của Traves và đồng nghiệp đã phát hiện ra rằng các hợp chất **75**, **76**, và **77** là các chất kích hoạt mạnh của các LXR trong đại thực bào chuột [57]. Vì vậy, có tiềm năng để tiếp tục nghiên cứu các dẫn xuất của hợp chất **25** như các biện pháp can thiệp tiềm năng để kiểm soát mức độ cholesterol trong máu.

1.4. Giới thiệu về loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) [10]

Aralia vietnamensis, còn được gọi là Cuồng Việt Nam hoặc Pắc thông sét, là một loài thực vật có hoa thuộc chi *Aralia*, đóng một vai trò quan trọng trong hệ sinh thái thực vật của Việt Nam.

Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) là một loại cây nổi bật với cấu trúc lá và hình dáng độc đáo, tạo nên đặc điểm đặc trưng trong họ Nhân sâm (Araliaceae). Cây này thường cao từ 4 đến 7 mét và có gai. Lá của nó lớn, dài từ 1,5 đến 3 mét, hai lần kép, có gai nhọn và lông cứng. Lá chét mang 4-5 lá chét bậc hai, với độ dài từ 8 đến 26 cm và chiều rộng từ 5 đến 14 cm. Chúng có gốc hình tim, đầu nhọn, dai, mép răng, và được phủ lông tơ cứng. Gân lá bên thường có 8-10 đôi, và cuống lá chét ngắn dưới 8 mm. Cụm hoa của cây to, cao từ 1,5 đến 2,2 m, với nhánh dài từ 1 đến 1,7 m, cùng với nhánh phụ mang 12-23 tán to 15-27 mm. Số lượng hoa trên mỗi cụm thường từ 13 đến 25, mỗi bông hoa có 5 cánh dài 2 mm, 5 nhị, và 5 ô trên quả có chiều rộng khoảng 4 mm, được hình thành từ 5 cánh. Mùa hoa quả tháng 6-7.

Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) phát triển và thích ứng linh hoạt với môi trường núi cao của Việt Nam. Thường xuất hiện ở rìa rừng và theo các đường mòn trong rừng miền núi, loài cây này thường mọc ở độ cao khoảng 500m, tạo nên một phong cảnh độc đáo trong tự nhiên. Với khả năng thích nghi và phát triển tốt trong điều kiện địa hình phức tạp của vùng núi, Cuồng Việt Nam đóng góp vào sự đa dạng sinh học của khu vực và là một phần quan trọng của cộng đồng thực vật động. Loài này phân bố rộng rãi tại các tỉnh như Hà Giang, Thái Nguyên, Sơn La (Mường Khoa), Vĩnh Phúc (Tam Đảo), Ninh Bình (Cúc Phương),... Cuồng Việt Nam có những ứng dụng quan trọng trong y học cổ truyền của Việt Nam, bao gồm việc điều trị bệnh bạch hầu, đái đường, dị ứng, thấp khớp và viêm tuyến sữa.

Nghiên cứu về hóa thực vật đối với loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) không chỉ giúp hiểu rõ hơn về các tác dụng dược lý của cây trong y học cổ truyền, mà còn mở ra cánh cửa khám phá thêm về các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể áp dụng trong y học hiện đại

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu Cuồng Việt Nam thu hái tại Bắc Quang - Hà Giang vào tháng 10 năm 2023, được TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên - VAST xác định tên khoa học là *Aralia vietnamensis* Ha, họ Nhân sâm (Araliaceae), mẫu tiêu bản AV2310HG được lưu giữ tại Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam - VAST.



Hình 2.1. Cây Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý mẫu

Các nhóm chất khác nhau có các đặc tính riêng biệt, việc xử lý mẫu thực vật đòi hỏi sự cẩn thận để tránh hỏng và mất đi hoạt tính trong quá trình này. Dựa trên các tài liệu tham khảo, nhóm nghiên cứu đã phát triển một quy trình xử lý tiên tiến, bao gồm quy trình tạo dịch chiết và bảo quản mẫu, nhằm phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Các quy trình này đã được tuân thủ một cách nghiêm ngặt trong suốt quá trình thực hiện đề tài. Quy trình xử lý mẫu bao gồm các bước sau:

- Tiến hành rửa mẫu thực vật một số lần bằng nước để loại bỏ chất đất cát và bụi bẩn.
- Để mẫu ráo nước ở nhiệt độ phòng và để khô tự nhiên ở nơi thoáng mát.
- Đặt từng mẫu vào túi lưới chuyên dụng để tránh sự lẫn lộn và mất mẫu. Mỗi túi lưới chứa mẫu cần được gắn nhãn rõ ràng với thông tin chi tiết bằng bút chì trên giấy, đảm bảo bảo quản trong túi nylon để tránh hiện

tượng mờ hoặc rách nát khi tiếp xúc. Mẫu cần được lưu trữ tại nơi khô ráo.

- Lấy mẫu đã khô từ túi lưới, sau đó sấy mẫu ở nhiệt độ 50-60°C cho đến khi khô và giòn.
- Xay mẫu thành dạng bột (không nên xay quá mịn để dễ xử lý trong quá trình chiết mẫu), sau đó đóng gói kín trong túi nilon. Nếu mẫu đã được xay và hút ẩm hoặc mốc, điều này có thể ảnh hưởng đến hàm lượng hoạt chất trong mẫu thực vật.
- Lập danh sách mẫu thực vật với mã số mẫu thu thập tương ứng.
- Lưu trữ các túi mẫu để đảm bảo không bị phân hủy do hoạt động của vi sinh vật.

2.2.2. Phương pháp chiết xuất

Sau khi thu hái, mẫu nghiên cứu được tiến hành chế biến thông qua các bước sau đây:

- Mẫu được thái nhỏ và phơi trong môi trường bóng mát.
- Tiến hành sấy khô mẫu ở nhiệt độ 60°C cho đến khi khối lượng không thay đổi.
- Mẫu được nghiền nhỏ.
- Mẫu được ngâm chiết ba lần trong ethanol sử dụng thiết bị siêu âm, ở nhiệt độ phòng.
- Thu nhật dịch chiết từ các lần chiết và cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ dưới 50°C, để thu được cao cô ethanol.
- Cao cô ethanol được pha loãng bằng nước và tiếp tục chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần.
- Sau khi loại bỏ dung môi, thu được các cao chiết tương ứng.

2.2.3. Phương pháp phân tích, phân lập các hợp chất

Các dịch chiết từ cây được phân tích và tách bằng cách sử dụng các phương pháp sắc ký khác nhau, bao gồm sắc ký lớp mỏng (TLC) và sắc ký cột (CC), với việc sử dụng các loại pha tĩnh và dung môi tương ứng.

Sắc ký lớp mỏng (TLC) được áp dụng để phân tích thành phần, thực hiện trên các bản mỏng tráng sẵn như DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (0,25 mm; Merck) và RP-18 F_{254S} (0,25 mm; Merck). Phương pháp này thường sử dụng ánh sáng tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm để phát hiện các chất, hoặc sử dụng thuốc thử như dung dịch vanilin - H₂SO₄ 5% trong methanol.

Sắc ký cột (CC) được thực hiện bằng cách sử dụng silica gel 60 với kích thước hạt 0,040 - 0,063 mm (230 - 400 mesh) của Merck làm pha tĩnh. Dung môi giải ly chủ yếu sử dụng các dung môi phân tích và công nghiệp tương ứng.

2.2.4. Phương pháp khảo sát và xác định cấu trúc hợp chất

Các hợp chất sau khi được phân lập dưới dạng tinh khiết được sử dụng để tiến hành khảo sát các đặc trưng vật lý như màu sắc, hình dạng, hệ số di chuyển (R_f), điểm nóng chảy và các đặc điểm khác. Khi hợp chất đã được tinh chế hoàn toàn, chúng được sử dụng để thực hiện các phân tích quang phổ như phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) một chiều như proton (¹H-NMR), cacbon (¹³C-NMR), phổ DEPT cũng như các phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều như HSQC và HMBC, tùy thuộc vào đối tượng cụ thể.

Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất được thực hiện bằng các thiết bị hiện đại và phương pháp tiên tiến. Cụ thể, các thiết bị và phương pháp được sử dụng bao gồm:

Điểm nóng chảy (mp): Trên máy Kofler micro-hotstage tại Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Sử dụng máy Bruker avance 500 MHz (sử dụng TMS làm chất chuẩn nội), tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các kỹ thuật NMR bao gồm phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều như ¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT, cũng như phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều như HSQC, HMBC, COSY và NOESY.

Dung môi sử dụng bao gồm DMSO-*d*₆, CD₃OD và CDCl₃, được lựa chọn dựa trên tính chất của từng mẫu để đảm bảo dung môi hoàn toàn hòa tan mẫu đo.

2.2.5. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm

Phương pháp thử nghiệm hoạt tính kháng viêm được tiến hành tại Phòng Sinh học Thực nghiệm của Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Mẫu thử nghiệm được sử dụng là các cao chiết và một số hợp chất tinh phân lập từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).

Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm được thực hiện bằng cách ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7, một phương pháp được thực hiện theo phương pháp mô tả trong tài liệu của Fumio Amano và cộng sự [58]. Hoạt tính kháng viêm trên dòng tế bào RAW264.7 được xác định thông qua phương pháp phân tích Griess, như được mô tả trong công trình của Verena M. Dirsch và cộng sự [59]. Việc nuôi cấy tế bào RAW264.7 trong môi trường nuôi cấy Dulbecco cải tiến (DMEM-Dulbecco's Modified Eagle Medium) trong 48 giờ, ở điều kiện 37°C và 5% CO₂, với sự bổ sung của 10% huyết thanh phôi bò (FBS-Fetal Bovine Serum). Sau đó, tế bào được chuyển lên giếng phiên 96 với mật độ 2,5x10⁵ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với mẫu đối chứng (-) LPS (0,1 mg/ml) trong 24 giờ và được bổ sung với các chất thử ở các nồng độ khác nhau. Cardamonin được sử dụng làm mẫu đối chứng (+). Dịch huyền phù của tế bào sau đó được ủ với thuốc thử Griess và NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Sự hấp thụ quang của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng $\lambda = 570$ nm. Hàm lượng NO được xác định dựa trên đường chuẩn NaNO₂ và được so sánh với mẫu đối chứng (-) LPS. Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được đánh giá dựa trên công thức sau:

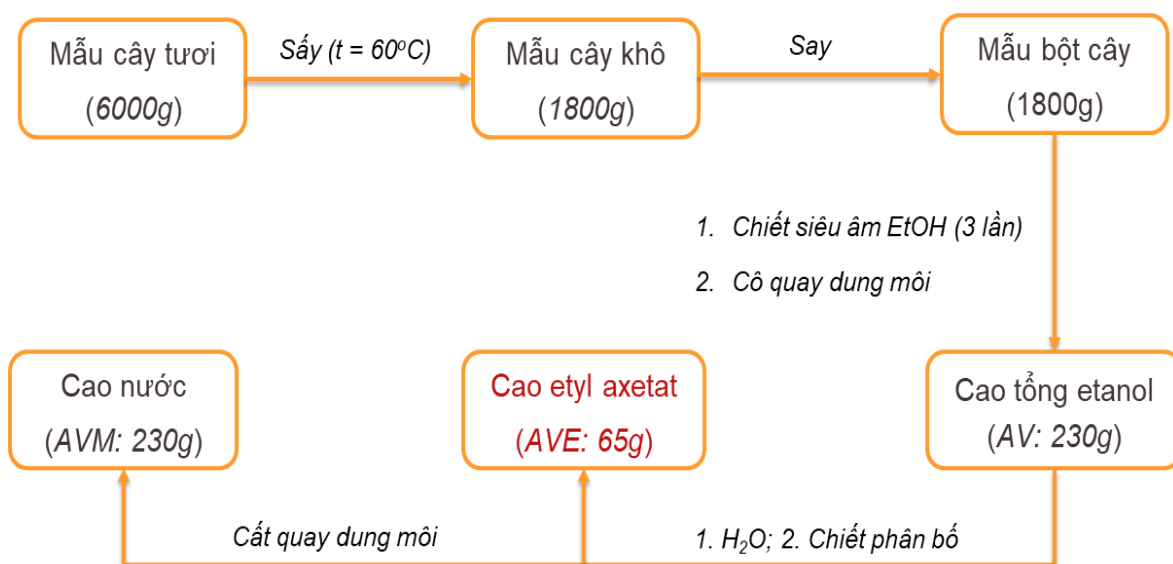
$$\% \text{ Ức chế} = 100 - \frac{\text{Hàm lượng NO mẫu thử}}{\text{Hàm lượng NOLPS}} \times 100$$

Đo mật độ quang ở bước sóng $\lambda = 540/720$ nm bằng thiết bị Infinite F₅₀ của hãng Tecan (Thụy Sĩ). Các chất thô và tinh ở nồng độ thử nghiệm cao nhất 256 $\mu\text{g/ml}$ có khả năng ức chế từ 50% trở lên có ý nghĩa tính giá trị IC₅₀.

2.3. Thực nghiệm

2.3.1. Tạo cao chiết

Thân cành Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) tươi (6kg) sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi được 1800g, đem say nhỏ và ngâm chiết 3 lần với ethanol (EtOH) trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50°C thu được cao EtOH (230g). Cao EtOH được thêm nước và chiết lần lượt với các dung môi ethyl acetate (EtOAc), sau đó cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm thu được các cao tương ứng như Cao ethyl acetate (**AVE**) 65 (g) và cao nước (**AVW**) 165 (g). Việc thu nhận các dịch chiết từ thân cành Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) được tóm tắt trong sơ đồ sau:



Hình 2.2. Sơ đồ xử lý và chiết mẫu Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*)

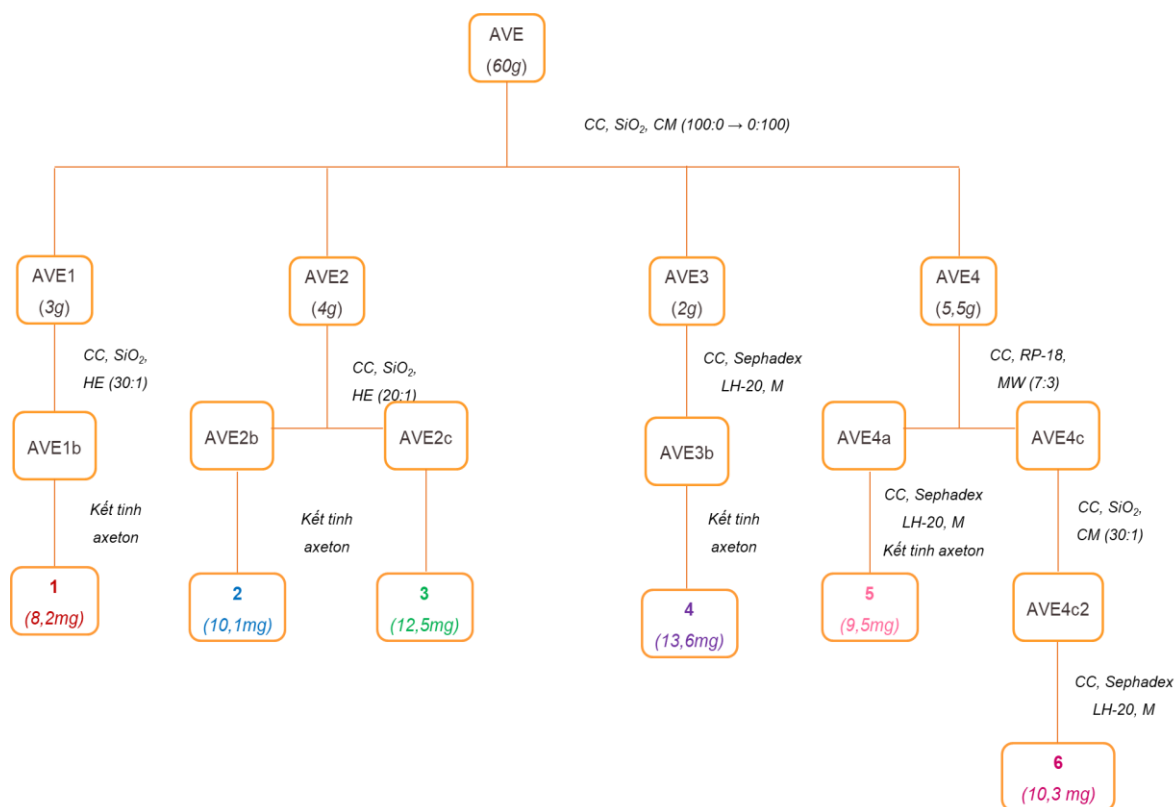
2.3.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất

Lấy 60g cao ethyl acetate (**AVE**) được tách trên cột silica gel pha thường bằng hệ dung môi chloroform-methanol (0→100% methanol) thu được 8 phân đoạn (**AVE1**→**AVE8**).

Phân đoạn **AVE1** (3,0g) được tách lại trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/EtOAc (30:1) được 4 phân đoạn nhỏ (**AVE1a**→**AVE1d**). Kết tinh phân đoạn **AVE1b** trong dung môi acetone thu được hợp chất kaempferol (8,2 mg: **1**), dạng vô định hình, màu vàng.

Phân đoạn **AVE2** (4,0g) được tách lại trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/EtOAc (20:1) được 3 phân đoạn nhỏ (**AVE2a**→**AVE2c**). Kết tinh phân đoạn **AVE2b** trong dung môi acetone thu được hợp chất 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (10,1mg: **2**), dạng vô định hình, màu vàng. Kết tinh phân đoạn **AVE2c** trong dung môi acetone thu được hợp chất oleanolic acid (12,5mg: **3**), dạng hình kim, màu trắng.

Phân đoạn **AVE3** (2,0 g) được tinh chế lại bằng Sephadex LH-20 với dung môi methanol sau đó kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất ursolic acid (13,6mg: **4**), dạng hình kim, màu trắng.



Hình 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *Cuồng Việt Nam* (*Aralia vietnamensis*)

Phân đoạn **AVE4** (5,5g) được tách lại bằng cột RP-18, với hệ dung môi MeOH/H₂O (7:3) thu được 3 phân đoạn (**AVE4a**→**AVE4c**). Từ phân đoạn **AVE4a** tinh chế lại bằng Sephadex LH-20 với dung môi methanol sau đó kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L rhamnopyranoside (9,5 mg: **5**), dạng vô định hình, màu vàng. Từ phân đoạn **AVE4c** được tinh chế lại trên cột silica gel với hệ dung môi chlorofom-

methanol (30:1) được 3 phân đoạn (**AVE4c1**→**AVE4c3**). Phân đoạn **AVE4c2** được triển khai qua cột Sephadex LH-20 với dung môi methanol, thu được hợp chất betulinic acid (10,3 mg: **6**), dạng hình kim, màu trắng.

Dữ liệu phổ của các hợp chất:

❖ **Hợp chất kaempferol (1)**

Hợp chất **1** thu được dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 277-278°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **1** xem bảng 3.1.

❖ **Hợp chất 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (2)**

Hợp chất **2** thu được dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy ở 278-280°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **2** xem bảng 3.2.

❖ **Hợp chất oleanolic acid (3)**

Hợp chất **3** thu được dạng hình kim màu trắng, nhiệt độ nóng chảy ở 306-308°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **3** xem bảng 3.4.

❖ **Hợp chất ursolic acid (4)**

Hợp chất **4** thu được dạng hình kim màu trắng, nhiệt độ nóng chảy ở 245-246°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **4** xem bảng 3.5.

❖ **Hợp chất 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L rhamnopyranoside (5)**

Hợp chất **5** thu được dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy ở 178-180°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **5** xem bảng 3.3.

❖ **Hợp chất betulinic acid (6)**

Hợp chất **6** thu được hình kim màu trắng, nhiệt độ nóng chảy ở 282-284°C. Dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **6** xem bảng 3.6.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Về thành phần hóa học

3.1. Các hợp chất flavonoid

3.1.1. Hợp chất kaempferol (1)

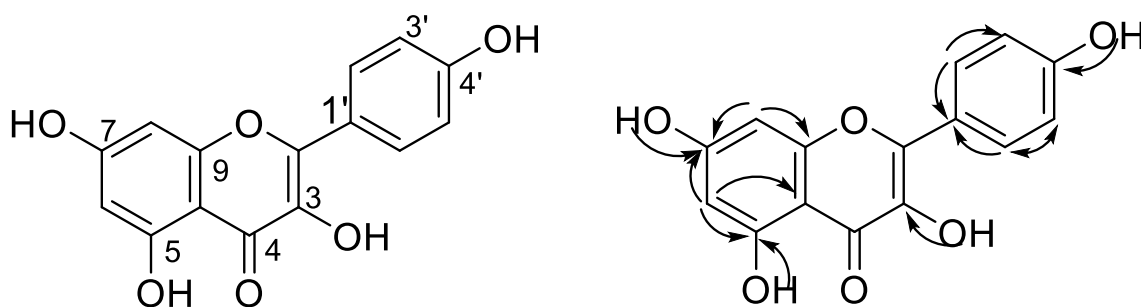
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** quan sát được tín hiệu của 2 proton dạng doublet thế *meta* tại δ_{H} 6,45 (H-8) và 6,20 (H-6) và 2 proton dạng doublet thế *ortho* tại δ_{H} 8,06 (H-2',6') và 6,95 (H-3',5').

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **1** cho biết tín hiệu đặc trưng của nhóm C=O tại δ_{C} 175,8 (C-4), tín hiệu của 2 nhóm carbon olefin chứa oxy tại δ_{C} 135,7 (C-3) và δ_{C} 146,8 (C-2); các tín hiệu carbon thuộc vòng thơm trong khoảng δ_{C} 93,5 - 163,9 ppm, trong đó có 2 tín hiệu carbon có cường độ cao gấp đôi tại δ_{C} 129,6 (C-2',6') và 115,5 (C-3',5')

Phổ DEPT kết hợp $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy hợp chất **1** có 6 nhóm $-\text{CH=}$ và 9 nhóm C tứ cấp. Phổ HMBC cho biết tương tác chính giữa H-2',6' (δ_{H} 8,05) với C-1' (δ_{C} 121,7), C-3',6' (δ_{C} 115,5); tương tác giữa H-3',5' (δ_{H} 6,93) với C-2',6' (δ_{C} 129,5) và C-4' (δ_{C} 177,3 ppm), H-5' tương tác xa với C-4' (δ_{C} 159,2) và C-2',6' (δ_{C} 129,5); H-6 với C-5 (δ_{C} 160,7) và C-7 (δ_{C} 163,9) và H-8 (δ_{H} 6,44) với C-7 (δ_{C} 163,9) và C-9 (δ_{C} 156,2).

Từ các biện luận trên, kết hợp với tài liệu tham khảo [60], hợp chất **1** được xác định với tên gọi là kaempferol.

Kaempferol có tác dụng tích cực trong việc chống ung thư và bệnh tim mạch chống viêm...



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) chính của **1**

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **1** và chất tham khảo

Vị trí	1		[60]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$	$\# \delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
2	146,9	-	146,7	-
3	135,7	-	135,5	-
4	175,9	-	175,8	-
5	156,2	-	156,1	-
6	98,2	6,44 (d, 1,5)	98,1	6,19 (d, 2,0)
7	163,9	-	163,9	-
8	93,5	6,44 (d, 1,5)	93,4	6,43 (d, 2,0)
9	160,7	-	160,6	-
10	103,1	-	103,0	-
1'	121,7	-	121,5	-
2'/6'	129,5	8,05 (d, 7,0)	129,4	8,04 (d, 8,8)
3'/5'	115,5	6,93 (d, 7,0)	115,3	6,92 (d, 8,8)
4'	159,2	-	159,1	-
5-OH	-	12,47 (s)	-	12,48 (s)
7-OH	-	10,76 (s)	-	10,77 (s)
3-OH	-	10,01 (s)	-	10,09 (s)
4'-OH	-	9,35 (s)	-	9,38 (s)

$\# \delta_{\text{H}}$ và $\# \delta_{\text{C}}$ của kaempferol (^1H : 200 MHz, ^{13}C : 50 MHz, DMSO) [60]

3.1.2. Hợp chất 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (2)

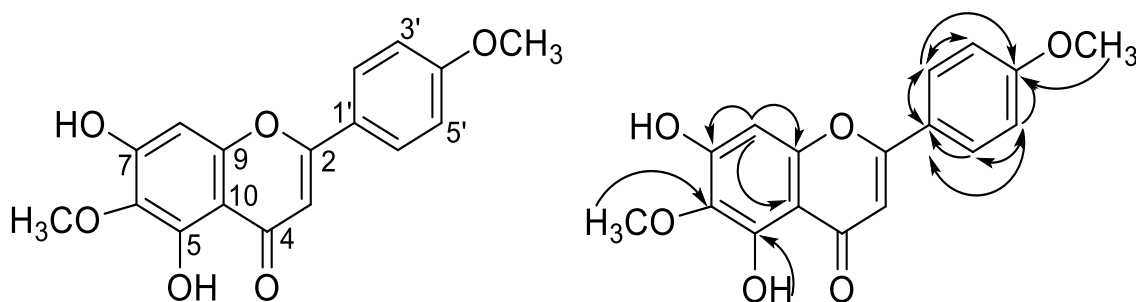
Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** chỉ ra sự có mặt của các proton thơm dưới dạng singlet ở vùng trường thấp tại $\delta_{\text{H}} = 7,86$ (d, $J = 9,0$ Hz, H-2',6') ứng với $\delta_{\text{C}} 128,3$ (C-2',6'), $\delta_{\text{H}} 7,03$ (d, $J = 9,0$ Hz, H-3',5') ứng với $\delta_{\text{C}} 114,7$ (C-3',5').

Ngoài ra vùng trường thấp còn có tín hiệu của các proton CH ở độ dịch chuyển $\delta_{\text{H}} 6,55$ (H-3; H-8) với δ_{C} lần lượt là 103,6 (C-3) và 94,5 (C-8) ở vùng trường cao $\delta_{\text{H}} 3,95$ ppm và $\delta_{\text{H}} 3,89$ ppm cho thấy có 2 tín hiệu singlet đặc trưng cho sự có mặt của proton thuộc nhóm O-methyl $\delta_{\text{H}} 3,95$ (s, 6-OCH₃), 3,89 (s, 4'-OCH₃).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của **2** cho biết có tổng số 17 cacbon, trong đó có 9 nguyên tử cacbon bậc 4, 6 nhóm methin (CH) và 2 nhóm methyl (CH₃). Đặc biệt trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ quan sát thấy tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl C=O tại $\delta_{\text{C}} 183,1$ và tín hiệu của 2 nhóm OCH₃ tại $\delta_{\text{C}} 60,8$ và $\delta_{\text{C}} 55,7$ ppm. Những dữ liệu phổ trên cho phép xác định **2** là một flavonoid.

Trong các phổ HSQC và HMBC của **2** chỉ ra sự tương tác của cacbon tại $\delta_{\text{C}} 131,5$ ppm (C-6) với proton tại $\delta_{\text{H}} = 3,95$ ppm (6-OCH₃) và cacbon tại $\delta_{\text{C}} 162,9$ ppm (C-4') với proton $\delta_{\text{H}} 3,89$ ppm (4'-OCH₃).

Kết hợp các số liệu phổ thực nghiệm **2** với tài liệu thu thập được đều cho thấy **2** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone [61].



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) chính của **2**

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **2** và chất tham khảo

Vị trí	2		[61]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\#\delta_{\text{C}}$	$\#\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
2	164,6	-	163,0	-
3	103,6	6,56 (s)	102,5	6,86 (s)
4	183,2	-	181,3	-
5	153,5	-	153,4	-
6	131,6	-	131,2	-
7	156,9	-	157,0	-
8	94,5	6,56 (s)	94,0 (d)	6,63 (s)
9	152,7	-	152,1	-
10	105,4	-	103,9	-
1'	12,7	-	122,7	-
2'/6'	128,3	7,86 (d, 9,0)	127,9	8,03 (d, 9,0)
4'	162,9	-	162,0	-
3'/5'	114,7	7,03 (d, 9,0)	114,3	7,12 (d, 9,0)
6-OCH ₃	60,8	3,95 (s)	59,6 (q)	3,86 (s)
4'-OCH ₃	55,7	3,89 (s)	55,3 (q)	3,77 (s)
5-OH	-	-	-	13,00 (s)

δ_{H} và # δ_{C} 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone(^1H : 200 MHz, ^{13}C : 50 MHz, DMSO) [61]

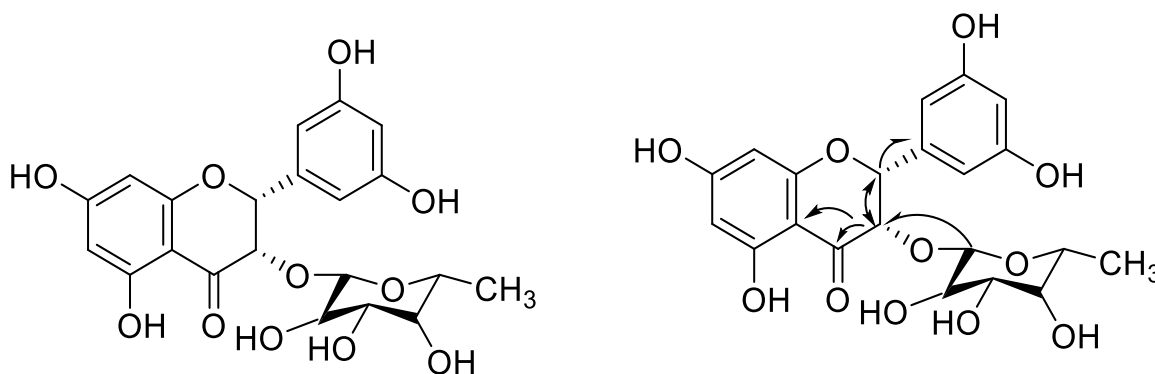
3.1.3. Hợp chất 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5)

Phổ ^1H -NMR của **5** cho biết sự có mặt của các nhóm hydroxyl tại δ_{H} 11,74 (5-OH) và δ_{H} 8,85 (3',5'-OH). Các dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR cũng chỉ ra sự có mặt của 5 proton thơm dưới dạng singlet ở vùng trường thấp tại δ_{H} 6,84 (H-2), 6,74 (1H, s, H-4'), 6,72 (1H, s, H-6'), 5,94 (H-8), và 5,92 (H-6) với δ_{C} lần lượt là 114,1 (C-2'), 117,6 (C-4'), 115,1 (C-6'), 95,2 (C-8) và 96,2 (C-6). Ngoài ra ở vùng trường thấp còn nhận thấy đặc trưng cho dấu hiệu proton CH liên kết với vòng B trong cấu trúc flavonoid ở độ dịch chuyển δ_{H} 5,54 (H-2) và 4,21 (H-3) với cacbon tương ứng δ_{C} 79,9 (C-2) và 73,3 (C-3). Đặc biệt còn quan sát thấy tín hiệu của proton anomer CH phản đường tại δ_{H} 4,76 (brs, H-1'') với cacbon tương ứng δ_{C} 98,8 (C-1'').

Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của **5** cho biết có tổng số 21 cacbon trong đó có 8 cacbon bậc 4, 12 nhóm methin (CH) và 1 nhóm methyl (CH_3). Đặc biệt trên phổ ^{13}C -NMR còn quan sát thấy tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl ($\text{C}=\text{O}$) ở δ_{C} 193,1 ppm và tín hiệu của 2 nhóm methin tại δ_{C} 79,9 (C-2) và 73,3 (C-3).

Phân tích các phổ HSQC và HMBC của **5** đã chỉ ra sự tương tác của proton δ_{H} 3,05 (H-4'') và 2,46 (H-5'') với carbon methyl tại δ_{C} 17,6 (C-6''). Như vậy khẳng định phần đường gắn với flavonoid của **5** là rhamnopyranoside.

Kết hợp và so sánh các số liệu phổ thực nghiệm của **5** với các tài liệu thu nhận được đều cho thấy **5** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside) [62].



Hình 3.3. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$) chính của **5**

Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của 5 và chất tham khảo

Vị trí	5		[62]	
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$	δ_{H} (mult., J Hz)
2	79,9	5,54 (d, 2,5)	80,8	5,43 (d, 2,0)
3	73,3	4,21 (d, 2,5)	74,4	4,15 (d, 2,0)
4	193,0	-	193,6	-
5	163,9	-	163,9	-
6	96,2	5,92 (d, 2,0)	97,3	5,90 (brs)
7	167,1	-	167,8	-
8	95,2	5,94 (d, 2,0)	96,2	5,92 (brs)
9	162,4	-	163,3	-
10	100,3	-	101,2	-
1'	126,3	-	127,4	-
2'	114,1	6,84 (d, 1,2)	115,0	6,81 (brs)
3'	145,1	-	145,9	-
4'	117,6	6,72 (s)	118,9	6,70 (brs)
5'	144,9	-	145,6	-
6'	115,1	6,74 (s)	118,9	6,70 (brs)

1"	98,8	4,76 (s)	99,6	4,74 (s)
2"	70,2	3,47 (brs)	71,1	3,47 (brs)
3"	70,2	3,19 (dd, 8,9 và 10,9)	71,1	3,20 (dd, 9,5 và 2,9)
4"	71,2	3,05 (t, 9,1)	72,1	3,04 (t, 9,5)
5"	69,1	2,46 (dd, 6,4 và 9,4)	69,8	2,37 (m)
6"	17,6	0,84 (d, 6,2)	18,1	0,79 (d, 6,0)
5-OH		11,74 (s)		11,63 (s)
3',5'-OH		8,85 (s)		

δ_H và # δ_C của 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside
(1H : 200 MHz, ^{13}C : 50 MHz, DMSO) [62]

3.2. Các hợp chất triterpenoid

3.2.1. Hợp chất *oleanolic acid* (3)

Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT đã cho biết trong phân tử của hợp chất **3** có 30 nguyên tử carbon. Trong đó có 07 nhóm methyl (CH_3), 10 nhóm methylene (CH_2), 5 nhóm methine (CH) và 8 nguyên tử carbon bậc 4, đặc biệt có 1 carbon đặc trưng cho $C=O$ của carboxylic acid.

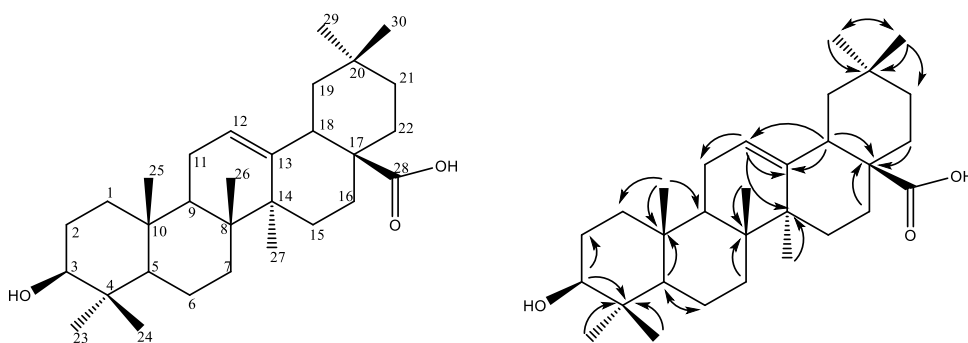
Trên phổ ^{13}C -NMR quan sát thấy đặc trưng của nhóm $C=O$ tại δ_C 183,2 ppm. Các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR kết hợp với các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho phép xác định công thức phân tử là $C_{30}H_{48}O_3$. Đây là một triterpen có 5 vòng, có 1 liên kết đôi.

Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR ở vùng trường thấp có tín hiệu cộng hưởng của proton olephinic (δ_H 5,27 ppm, H-12) với carbon tương ứng δ_C 122,6 ppm. Ngoài ra ở độ dịch chuyển δ_H 3,23 (1H, dd, J = 12,5 và 4,0 Hz, H-3) của proton

thuộc nhóm hydroxymethine là H-3 β với carbon tương ứng δ_C 79,05ppm. Tín hiệu doublet tại δ_H 2,83 (1H, dd, $J = 13,5$ và $4,0$ Hz, H-18) là của proton methine H-18 với carbon tương ứng δ_C 41,02 ppm. Các tín hiệu của 7 nhóm methyl đều xuất hiện dưới dạng singlet trong vùng 1,13 (3H, s, 27-CH₃); 0,98 (3H, s, 25-CH₃); 0,92 (3H, s, 30-CH₃); 0,91 (3H, s, 29-CH₃); 0,90 (3H, s, 23-CH₃); 0,77 (3H, s, 24-CH₃); 0,75 (3H, s, 26-CH₃).

Trên phổ ^{13}C -NMR quan sát thấy tín hiệu đặc trưng của liên kết đôi ở δ_C 122,6 ppm và 143,6 ppm ứng với C-12 và C-13. Tất cả các dữ liệu phổ trên đã cho phép khẳng định **3** là một triterpen kiểu khung oleanane. Phân tích các dữ kiện phổ HSQC và phổ HMBC cho thấy tín hiệu δ_C 183,0 ppm của gốc carboxylic acid có tương tác với δ_H 2,83 (H-18) ppm và H-16, H-22.

Kết hợp so sánh các dữ liệu phổ thu được với tài liệu phổ của oleanolic acid [63] đã cho thấy hoàn toàn phù hợp. Điều này cho phép khẳng định cấu trúc của chất **3** là oleanolic acid với tên gọi 3 β -hydroxy-12-ene-28-oic acid với cấu trúc hóa học như sau:



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($H \rightarrow C$) chính của **3**

Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **3** và chất tham khảo

Vị trí	3		[63]	
	δ_C	δ_H (mult, J Hz)	# δ_C	δ_H (mult, J Hz)
1	38,4	1,60 m 0,97 m	38,9	1,03 1,59
2	27,2	1,59 m	28,1	1,82

		1,58 m		1,82
3	79,1	3,22 (dd, $J = 11,0$; 4,0)	78,1	3,47 dd
4	38,8	-	39,4	-
5	55,2	0,72 brs	55,8	0,89 d
6	18,3	1,56 m 1,37 m	18,8	1,58 1,39
7	32,6	1,53 m 1,38 m	33,3	1,58 1,39
8	39,3	-	39,8	-
9	47,7	1,59 m	48,2	1,70 tr
10	37,1	-	37,4	-
11	22,9	1,91m 1,91 m	23,8	1,96 1,96
12	122,6	5,27 s	122,6	5,49 s
13	143,6	-	144,8	-
14	41,6	-	42,2	-
15	27,7	1,71 m 1,07 m	28,4	1,22 2,19
16	22,8	1,98 m 161 m	23,8	2,12 1,96
17	46,5	-	46,7	-
18	41,0	2,82 (dd, $J = 8,5$; 4,0)	42,1	3,30 dd
19	45,9	1,62 m 1,13 m	46,6	1,83 1,32
20	30,7	-	31,0	-
21	33,8	1, 32 m 1,21 m	34,3	1,46 1,23
22	32,5	1,80 m 1,54 m	33,2	1,82 2,04
23	28,1	0,90 s	28,8	1,24 s

24	15,6	0,77 s	16,5	1,02 s
25	15,33	0,98 s	15,6	0,93 s
26	17,1	0,75 s	17,5	1,04 s
27	25,9	1,13 s	26,2	1,30 s
28	183,2	-	180,0	-
29	33,1	0,91 s	33,4	0,97 s
30	23,4	0,92 s	23,8	1,02 s

δ_H và # δ_C của oleanolic acid (1H : 200 MHz, ^{13}C : 50 MHz, $CDCl_3$) [63]

3.2.2. Hợp chất ursolic acid (4)

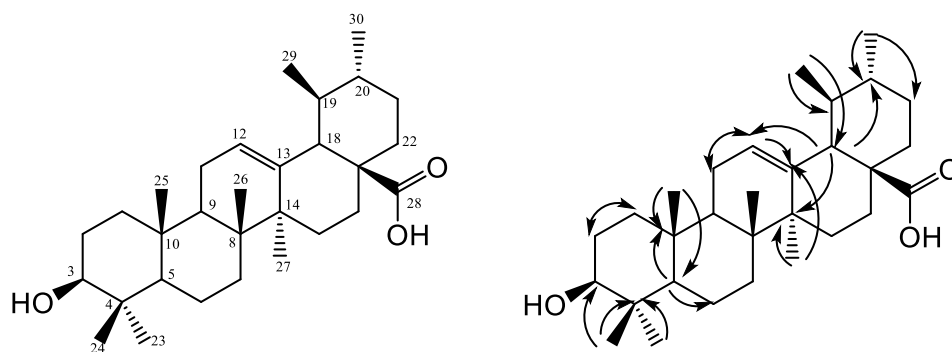
Phổ 1H -NMR của **4** cho biết có 7 tín hiệu của nhóm CH_3 ở độ dịch chuyển δ_H 0,78 (3H, s, 24- CH_3); 0,85 (3H, s, 26- CH_3); 0,89 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, 30- CH_3); 0,95 (3H, s, 25- CH_3); 0,97 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, 29- CH_3); 0,98 (3H, s, 23- CH_3); 1,12 (3H, s, 27- CH_3), trong đó tín hiệu của 2 nhóm methyl dạng doublet. Ngoài ra, trên phổ cũng cho biết có tín hiệu của proton thuộc nhóm CH gắn trực tiếp với nhóm OH tại δ_H 3,17 (1H, dd, $J = 5,5$, Hz và 11,5 Hz, H-3) và một proton cũng thuộc nhóm CH tại δ_H 0,76 (1H, d, $J = 11,3$ Hz, H-5).

Tín hiệu proton thuộc nhóm CH tại độ dịch chuyển δ_H 2,20 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-18) có tương tác xa với nhóm CH_3 là đặc trưng cho các triterpen thuộc kiểu khung ursan. Tín hiệu cộng hưởng tại δ_H 5,24 (1H, td, $J = 3,5$ Hz và 7,5 Hz) là tín hiệu của proton H-12, thuộc nhóm CH nối đôi với carbon tương ứng là δ_C 126,9 (C-12). Tất cả những dữ liệu trên cho phép kết luận **4** là một triterpene thuộc kiểu khung ursane.

Kết hợp các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho biết trong phân tử có 30 nguyên tử carbon, gồm 7 nhóm CH_3 , 9 nhóm CH_2 , 7 nhóm CH, và 7 carbon bậc 4.

Trên phổ carbon cho biết có 1 tín hiệu cộng hưởng đặc trưng cho carbon thuộc nhóm carbonyl ($C=O$) của cacboxylic acid tại δ_C 180,6, một nối đôi ($>C=CH$) tại δ_C 139,6 (C-13) và 126,9 (C-12) với proton δ_H 5,24 (H-12), cùng

với tín hiệu của carbon methin tương tác trực tiếp với oxy (CH-OH) ở δ_C 379,0 với proton tương ứng δ_H 3,17. Căn cứ vào các số liệu phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$, và $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC của **4**, kết hợp các dữ kiện phổ thu được và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định **4** chính là 3 β -hydroxy-urs-12en-28-oic hay ursolic acid [63].



Hình 3.5. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($H \rightarrow C$) chính của **4**

Bảng 3.5. Dữ liệu phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của **4** và chất tham khảo

TT	4		[63]	
	δ_C	δ_H (mult., J Hz)	# δ_C	# δ_H (mult., J Hz)
1	40,0	1,64 m 1,63 m	40,2	1,41
2	27,9	1,56 m 1,52 m	28,8	1,41
3	79,7	3,17 (dd, $J = 5,0; 11,5$)	80,1	3,01
4	39,8		40,3	
5	56,8	0,76 (d, $J = 11,5$).	56,8	0,54
6	19,5	1,94 (dd, $J = 3,5; 8,5$)	19,9	1,42

7	34,3	1,54 m 1,32 m	34,3	1,50
8	40,8	-	41,1	-
9	49,2	1,58 m	49,1	1,32
10	38,1	-	38,1	-
11	24,3	1,95 m 1,90 m	24,8	1,70
12	126,9	5,23 (td, $J = 3,5; 7,5$)	126,9	5,05
13	139,7	-	139,9	-
14	43,3	-	43,6	-
15	29,2	1,90 m 1,08 m	29,8	1,71
16	25,3	2,05 m 1,60 m	25,8	1,78
17	49,2	-	49,1	-
18	54,3	2,20 (d, $J = 11,5$)	54,3	2,01
19	40,4	1,40 m	40,6	1,14
20	40,4	0,95 m	40,4	0,83
21	31,8	1,52 m 1,34 m	32,3	1,30

22	38,1	1,50 m 1,42 m	38,3	1,54
23	28,8	0,98 s	29,6	0,80
24	16,4	0,78 s	17,4	0,59
25	16,0	0,95 s	17,0	0,73
26	17,8	0,85 s	18,6	0,64
27	24,1	1,12 s	25,1	0,90
28	181,7	-	181,5	-
29	21,5	0,97 (d, $J = 6,5$)	22,8	0,75
30	17,6	0,89 (d, $J = 6,5$)	18,7	0,70

δ_H và # δ_C của ursolic acid (1H : 200 MHz, ^{13}C : 50 MHz, $CDCl_3$) [63]

3.2.3. Hợp chất betulinic acid (6)

Trong các phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT đã cho biết trong phân tử của chất **6** có 30 nguyên tử cacbon trong đó có 07 nhóm CH_3 , 11 nhóm methylen (CH_2), 6 nhóm metilen (CH) và 6 nguyên tử cacbon bậc 4.

Các dữ liệu phổ NMR của **6** cho phép xác định công thức phân tử chất này là $C_{30}H_{50}O$. Đây là một triterpen có 5 vòng cùng với một liên kết đôi và một nhóm hydroxy trong phân tử.

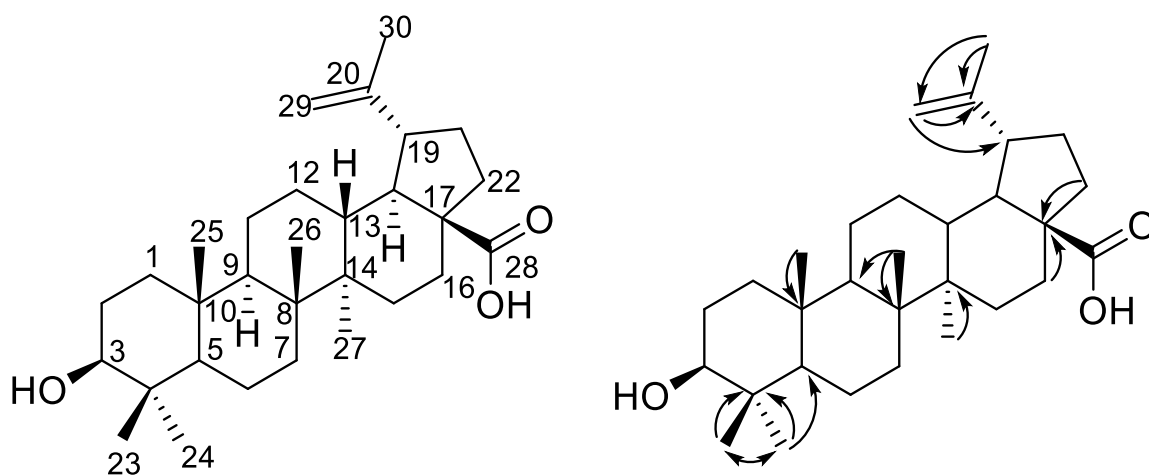
Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR ở vùng trường thấp có tín hiệu cộng hưởng của hai proton olephinic (δ_H 4,73 ppm và 4,60 ppm, H-29a và H-29b) với cacbon tương ứng δ_C 109,7ppm.

Khi phân tích phổ HSQC (Hình 3.6) là phổ tương tác trực tiếp giữa cacbon và hydro cho biết 2 proton này thuộc nhóm methylen olephin, đây là tương tác rất đặc trưng của các triterpen thuộc kiểu khung lupan.

Ngoài ra ở vùng trường cao còn có tín hiệu ở δ_H 3,19ppm (1H, dd, $J = 4,8$ và $1,4$ Hz) của một proton thuộc nhóm hydroxymetin là H-3 α với cacbon tương ứng là δ_C 79,10ppm. Tín hiệu doublet triplet ở δ_H 2,98 ppm (1H, dt, $J = 4,7$ và $5,8$ Hz) là của một proton metin H-19 với cacbon tương ứng δ_C 46,98 ppm. Các tín hiệu của 7 nhóm methyl đều xuất hiện dưới dạng singlet trong vùng (δ_H 0,68 - 1,69ppm).

Trên phổ ^{13}C -NMR quan sát thấy tín hiệu đặc trưng của liên kết đôi ở δ_C 109,70ppm và 150,44ppm ứng với C-30 và C-20.

Kết hợp các dữ liệu phổ với tài liệu thu thập được [64] đã cho phép khẳng định cấu trúc của chất **6** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc hoá học của chất 3 α -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid hay betulinic acid.



Hình 3.6. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC ($H \rightarrow C$) chính của **6**

Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **6** và chất tham khảo

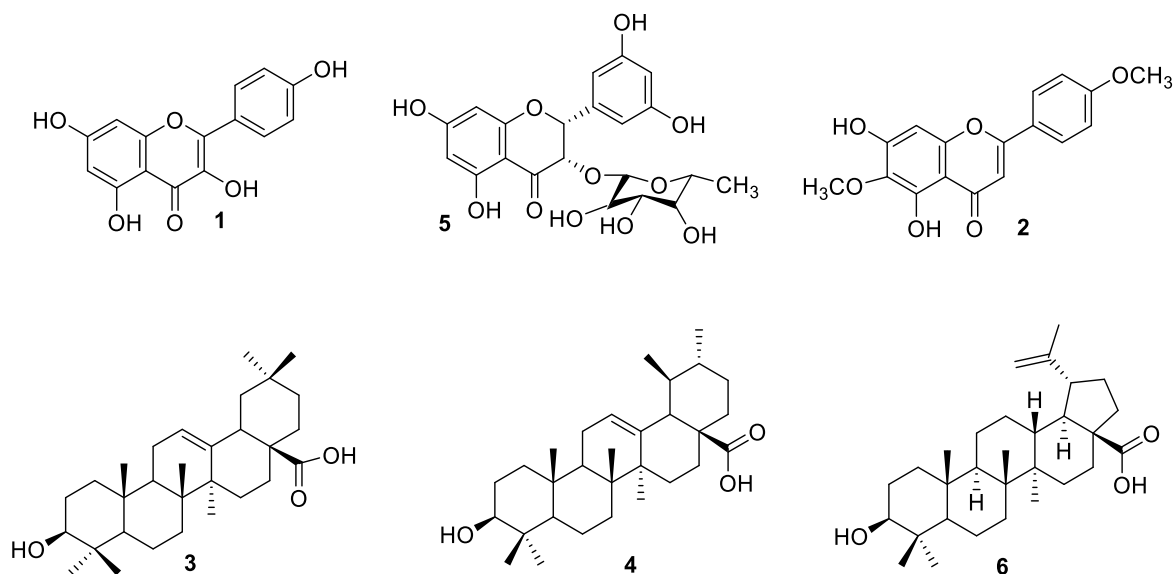
TT	6		Betulinic acid [64]
	δ_C	δ_H (mult, J Hz)	# δ_C
1	38,5	0,91 m 1,58 m	39,3
2	27,5	1,50 m	28,3

		1,58 m	
3	76,8	3,19 (dd, 4,8 ; 1,4)	78,1
4	39,0	-	39,5
5	54,9	0,68 (d, 9,3)	55,2
6	18,4	1,37 m 1,53 m	18,8
7	34,2	1,41 m 1,49 m	34,9
8	40,3	-	41,1
9	49,9	1,26 m	51,0
10	37,2	-	37,6
11	21,0	1,39 m	21,7
12	25,6	1,05 m 1,81m	26,2
13	38,5	2,21 m	38,7
14	42,0	-	42,9
15	29,8	1,12 m 1,58 m	30,3
16	31,7	1,25 m	32,9
17	55,4	-	56,6
18	48,5	1,65 m	49,8

19	46,6	2,98 (dd, 4,7 ; 1,5)	47,8
20	150,3	-	151,3
21	30,1	1,45 m 1,86 m	31,2
22	37,6	1,56 m 2,01 m	37,6
23	28,1	0,96 s	28,7
24	14,8	0,75 s	16,3
25	16,1	0,94 s	16,4
26	15,4	0,82 s	16,4
27	14,1	0,97 s	14,9
28	177,2	-	178,8
29	109,6	4,73 s 4,60 s	109,9
30	19,1	1,69 s	19,5

δ_C của betulinic acid (^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) [64]

Như vậy, từ cao chiết ethyl acetate của cây Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất. Trong đó có 3 hợp chất thuộc nhóm flavonoid: kaempferol (**1**), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (**2**) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (**5**) và 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (**3**), ursolic acid (**4**) và betulinic acid (**6**). Đặc trưng cho thành phần hóa học các loài thực vật thuộc chi Cuồng (*Aralia*).



Hình 3.7. Các hợp chất được phân lập từ cây Cuồng Việt Nam
(*Aralia vietnamensis*)

B. Về hoạt tính kháng viêm *in vitro*

3.1. Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* bằng cách ức chế sinh ra NO trên tế bào RAW 264.7 của các cao chiết: cao tổng methanol (**AV**), ethyl acetate (**AVE**) và nước (**AVW**) từ thân cành cây Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) được thể hiện như bảng 3.7.

Kết quả cho biết, trong các cao chiết thô, cao **AVE** và **AV** thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* tốt và ít gây độc cho tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 88,46 $\mu\text{g/ml}$ và 96,81 $\mu\text{g/ml}$. Cao chiết **AVW** hầu như không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm. Điều đó gợi ý đến hoạt tính kháng viêm của thân cành cây Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) chủ yếu tập trung vào cao chiết ethyl acetat (**AVE**). Vì vậy, định hướng các nghiên cứu tiếp theo về thành phần hóa học được tập trung vào trong cao chiết này nhằm tìm các hoạt chất kháng viêm tốt.

3.2. Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các hợp chất phân lập

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* bằng cách ức chế sinh ra NO trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất sạch: kaempferol (**1**), 5,7-dihydroxy-6,4'-

dimethoxyflavone (2), oleanolic acid (3), ursolic acid (4), 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5) và betulinic acid (6) từ thân cành cây Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*). Các cao chiết và hợp chất ở nồng độ < 250 µg/ml có khả năng ức chế từ 50% trở lên có hoạt tính được thể hiện như bảng 3.7.

Bảng 3.7. Kết quả ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 in vitro

Mẫu	Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%)	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)	IC ₅₀
Đối chứng (+) [Cardamonin]	83,32 ± 1,1	69,54 ± 2,0	3,02 µM
LPS	0,00 ± 1,02	-	-
AV	55,09 ± 2,1	71,23 ± 1,6	96,81 µg/ml
AVE	60,87 ± 1,9	65,36 ± 2,2	88,46 µg/ml
AVW	24,32 ± 1,23	77,43 ± 0,8	-
1	30,21 ± 1,6	53,12 ± 0,7	-
2	26,45 ± 0,8	56,34 ± 1,3	-
3	39,61 ± 1,7	66,87 ± 1,8	-
4	62,75 ± 1,8	60,65 ± 0,9	72,45 µM
5	43,12 ± 1,2	59,52 ± 1,2	-
6	70,32 ± 1,6	74,21 ± 1,1	66,87 µM

Kết quả cho biết, hợp chất ursolic acid (4) và betulinic acid (6) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất và ít gây độc tế bào với giá trị IC₅₀ lần lượt là 66,87 µM và 72,45 µM. Còn lại, các hợp chất kaempferol (1), 5,7-dihydroxy-

6,4'-dimethoxyflavone (2), oleanolic acid (3) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5) hầu như không thể hiện hoạt tính. Hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sự sản sinh NO chủ yếu tập trung vào các hợp chất triterpenoid. Kết quả nghiên cứu tương đồng với các nghiên cứu về các hoạt tính kháng viêm tốt của các ca chiết và dịch chiết của các loài thuộc chi Cuồng (*Aralia*) [21]. Kết quả nghiên cứu đã góp phần giải thích được tác dụng kháng viêm tốt của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) nói riêng và chi Cuồng (*Aralia*) nói chung.

KẾT LUẬN

1. Từ cao chiết ethyl acetate thân cành Cuồng Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất, gồm 3 hợp chất flavonoid: kaempferol (**1**), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (**2**) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (**5**); và 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (**3**), ursolic acid (**4**) và betulinic acid (**6**)

2. Khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất phân lập được thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7. Kết quả chỉ ra rằng cao chiết ethyl acetate (**AVE**) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* tốt và ít gây độc cho tế bào với giá trị IC_{50} là 88,46 $\mu\text{g/ml}$. Hợp chất betulinic acid (**6**) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất và ít gây độc tế bào với giá trị IC_{50} là 66,87 μM .

KIẾN NGHỊ

1. Tiếp tục nghiên cứu phân lập các phân đoạn còn lại nhằm bổ sung và hoàn thiện hiểu biết về thành phần hóa học của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).
2. Mở rộng nghiên cứu về hoạt tính kháng viêm và thực hiện các thử nghiệm sinh học mở rộng hơn để hiểu rõ hơn về kinh nghiệm sử dụng dân gian và tác dụng dược lý của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*).

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ

Vũ Thành Đạt, Hoàng Thị Bích, Đỗ Khắc Hùng, Nguyễn Thị Hoa, Phạm Thị Thủy, Đỗ Tiến Lâm, Thành phần hóa học cao ethyl acetate của loài Cuồng việt nam (*Aralia vietnamensis*) ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 2024, 226, 1-8.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Megumi Matsuda, Yul Huh, Ru-Rong Ji, Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain, *Journal of Anesthesia*, 2019, 33, 131-139.
2. Medzhitov R, Origin and physiological roles of inflammation, *Nature*, 2016, 454, 428-435.
3. Hanoch Kumar K., Elavarasi P, Definition of pain and classification of pain disorders, *Journal of Advanced Clinical & Research Insights*, 2015, 3, 87-90.
4. Nathan D. Zasler, Rita Formisano, Marta Aloisi, Pain in Persons with Disorders of Consciousness, *Brain Sci*, 2022, 12(3), 300.
5. Vũ Việt Hằng, Phạm Thị Vân Anh, Tác dụng giảm đau và chống viêm cấp của viên nang mềm Tecan trên thực nghiệm, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 2022, 157(9), 140-146.
6. Đỗ Tất Lợi, “*Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*”, NXB Hồng Đức, 2000, tr. 469.
7. Võ Văn Chi, “*Từ điển cây thuốc Việt Nam*”, NXB Y học - TPHCM, 1997, tr. 268.
8. Nguyễn Tiến Bân và cs, “*Danh lục các loài thực vật Việt Nam*”, NXB Nông nghiệp, 2003, Tập II, tr. 135.
9. Shigeru Sakai, Masumi Katsumata (Nee Ohtsuka), Yohko Satoh, Miki Nagasao, Masazumi Miyakoshi, Yoshiteru Ida and Junzo Shoji, Oleanolic acid saponins from root bark of *Aralia elata*, *Phytochemistry*, 1994, 35(5), 1319-1324.
10. Mei Hu, Kazunori Ogawa, Yutaka Sashida and Pei-Gen Xiao, Triterpenoid glucuronide saponins from root bark of *Aralia armata*, *Phytochemistry*, 1995, 39 (1), 179-184.
11. Mi Kyoung Lee, Tran Manh Hung, Byung-Sun Min, IkSoo Lee1, MinKyun Na, Mi Hee Woo, Jong Keun Son, Young Ho Kim, Jae Sue Choi, and KiHwan Bae. Quantitative Determination of Diterpenoids from the Roots of *Aralia cordata*, *Natural Product Sciences*, 2009, 15(1), 50-54.
12. Rong-Chang Chen, Jian Wang, Ying-Li Yu, Gui-Bo Sun and Xiao-Bo Sun. Protective effect of total saponins of *Aralia elata* (Miq) Seem on

lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction via down-regulation of inflammatory signaling in mice, *RSC Advances*, 2015, 5, 22560-22569.

13. Yan Wenga, Lu Yub, Jia Cuia, Yan-Rong Zhua, Chao Guoa, Guo Weia, Jia-Lin Duana, Ying Yina, Yue Guana, Yan-Hua Wanga, Zhi-Fu Yanga, Miao-Miao Xi, Ai-Dong Wen, Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of total saponins extracted from *Aralia taibaiensis* in experimental type 2 diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 152(3), 553-560.

14. Jason A. Clement and Ella S.H. Clement, The Medicinal Chemistry of Genus *Aralia*, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2014, 14, 2783-2801.

15. Nguyễn Thị Thu Hiền, Nghiên cứu hóa học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hai loài *Aralia dasyphylla* và *Aralia hiepiana* ở Tây Nguyên, *Luận án Tiến sĩ hóa học*, Học viện Khoa học và Công nghệ, VAST, 2022.

16. Shyu, M.H., Kao, T.C., Yen, G.C. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in huh7 human hepatocellular carcinoma cells through a mitochondrial-dependent pathway and downregulation of XIAP, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 6110-6118.

17. Tang, X.H, Gao, J., Fang, F., Chen, J., Xu, L.Z., Zhao, X.N., Xu, Q. Hepatoprotection of oleanolic acid is related to its inhibition on mitochondrial permeability transition, *Am. J. Chin. Med.*, 2005, 33, 627-637.

18. Wu, H., Yang, H., You, X., Li, Y, Isolation and characterization of saponin-producing fungal endophytes from *Aralia elata* in North east China, *Int. J. Mol. Sci.*, 2012, 13, 16255.

19. Wu, H., Yang, H., You, X., Li, Y, Diversity of endophytic fungi from roots of *Panax ginseng* and their saponin yield capacities. *Springer Plus*, 2013, 2, 107.

20. Chan, H.-H., Hwang, T.-L., Reddy, M.V.B., Li, D.-T., Qian, K., Bastow, K.F., Lee, K.-H., Wu, T.-S, Bioactive constituents from the roots of *Panax japonicus* var. *major* and development of a lc-ms/ms method for distinguishing between natural and artifactual compounds, *J. Nat. Prod.*, 2011, 74, 796-802.

21. Jason A, Clement and Ella S.H. Clement, The Medicinal Chemistry of Genus *Aralia*, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2014, 14, 2783-2801.

22. Siddiq A., Dembitsky V, Acetylenic Anticancer agents. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2008, 8, 132-170.

23. Jung, H.J., Jung, H.A., Kang, S.S., Lee, J.-H., Cho, Y.S., Moon, K.H., Choi, J.S, Inhibitory activity of *Aralia continentalis* Roots on Protein Tyrosine

- Phosphatase 1B and Rat Lens Aldose Reductase, *Arch. Pharmacol. Res.*, 2012, 35, 1771-1777.
24. Lee, I.S., Jin, W. Y, Zhang, X., Hung, T.M., Song, K.S., Seong, Y.H., Bae, K.H, Cytotoxic and COX-2 Inhibitory Constituents from the Aerial Parts of *Aralia cordata*, *Arch. Pharmacol. Res.*, 2006, 29, 548-555,
 25. Đỗ Tiến Lâm, Vũ Thị Thu Lê, Trần Thị Hoài Vân, Luân Thị Thu, Nguyễn Thị Ngân, Đoàn Lan Phương, Lành Thị Ngọc, Phạm Quốc Long, Phạm Thị Hồng Minh, Các kết quả nghiên cứu ban đầu về thành phần hóa học của thân cây Đơn châu chấu (*Aralia armata*) ở Thái nguyên. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Trường ĐH Thái Nguyên, KHTN-KT, 2016, 150(05), 9-14.
 26. Kang, S.S., Kim, J.S., Xu, Y.N., Kim, Y.H, Isolation of a New Cerebroside from the Root Bark of *Aralia elata*, *J. Nat. Prod.*, 1999, 62, 1059-1060.
 27. Ha, Y.J., Min, K.R., Kang, S.-H., Kim, J.S., Lee, G.-I., Kang, S.S., Kim, Y, Suppressive Effects of Triterpenoids on CINC-1 Induction in Interleukin-113-Stimulated Rat Fibroblast NRK-49F Cells, *Arch. Pharmacol Res.*, 1997, 20, 234-238.
 28. Nguyen, X.N., Lim, H.Y., Kiem, P.V., Minh, C.V., Thu, V.K., Tai, B.H., Quang, T.H., Song, S.B., Kim, Y.H, Oleanane-type triterpene saponins from the bark of *Aralia elata* and their NF-kB inhibition and PPAR activation signal pathway, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, 21, 6143-6147.
 29. Liang, C., Ding, Y., Song, S.B., Jeong Ah Kim, J.A., Cuong, N.M., Ma, J.Y., Kim, Y.H, Oleanane-triterpenoids from *Panax stipuleanatus* inhibit NF-kB, *J. Ginseng Res.*, 2013, 37, 74-79.
 30. Hosono-Nishiyama, K., Matsumoto, T., Kiyohara, H., Nishizawa, A., Atsumi, T, Yamada, H, Suppression of fas-mediated apoptosis of keratinocyte cells by chikusetsusaponins isolated from the roots of *Panax japonicus*, *Planta Med.*, 2006, 72, 193-198.
 31. Ediz S., Calay, E.S., Hotamisligil, G.S. Turning off the inflammatory, but not the metabolic, flames, *Nat. Med.*, 2013, 19, 265.
 32. Wang, Z.-G., Song, S.-J., Lu, H.-W., Chena, G., Xua, S.-X., Sagarad, Y., Kitaoka, N., Manabe, M., Kodama, H, Effect of three triterpenoid compounds isolated from root bark of *Aralia elata* on stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation and translocation of p47phox and p67phox to cell membrane in human neutrophil, *Clin. Chim. Acta*, 2003, 336, 65-72.

33. Mundy, G.R, Osteoporosis and inflammation, *Nutr. Rev.*, 2007, 65, S147-S151.
34. Brahmachari, G., Mandal, L.C., Roy, R., Mondal, S., Brahmachari, A.K, Stevioside and Related Compounds - Molecules of Pharmaceutical Promise: A Critical Overview. *Arch. Pharm.(Weinheim)*, 2011, 1, 5-19.
35. Kosela, S., Rasad, A., Achmad, S.J., Wicaksonon, W., Baik, S.K., Han, Y.N., Han, B. H, Effects of diterpene acids on malondialdehyde generation during thrombin induced aggregation of rat platelets, *Arch. Pharmacol Res.*, 1986, 9, 189-191.
36. Dang, N.H., Zhang, X.F., Zheng, M., Son, K.H., Chang, H.W., Kim, H.P., Bae, K., Kang, S.S, Inhibitory constituents against cyclooxygenases from *Aralia cordata* Thunb, *Arch. Pharmacol Res.*, 2005, 28, 28-33.
37. Choi, R.J., Shin, E.M., Jung, H.A., Choi, J.S., Kim, Y.S, Inhibitory effects of kaurenoic acid from *Aralia continentalis* on LPS induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages, *Phytomedicine*, 2011, 18, 677-682.
38. Suh, Y.-G., Kim, Y.-H., Park, M.-H., Choi, Y.-H., Lee, H.-K., Moon, J.-Y., Min, K.-H., Shin, D.-Y., Jung, J.-K., Park, O.-H., Jeon, R.-O., Park, H.-S., Kang, S.-A, Pimarane cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitor and its structure-activity relationship, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001, 11, 559-562.
39. Suh, Y.-G., Lee, K.-O., Moon, S.-H., Seo, S.-Y., Lee, Y.-S., Kim, S.-H., Paek, S.-M., Kim, Y.-H., Lee, Y.-S., Jeong, J.M., Lee, S.J., Kim, S.G, Synthesis and anti-inflammatory effects of novel pimarane diterpenoid analogs, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, 3487-3490.
40. Kang, H.-S., Kim, Y.-H., Lee, C.-S, Lee, J.-J., Choi, I., Pyun, K.-H. Suppression of interleukin-1 and tumor necrosis factor- production by acanthoic acid, (-)-pimara-9(11),15-dien-19-oic acid, and its antifibrotic effects *in vivo*, *Cell. Immunol.*, 1996, 170, 212-221.
41. Kang, O.-H. Kim, D.-K., Cai, X.-F., Kim, Y.-H., Lee, Y.-M. Attenuation of Experimental Murine Colitis by acanthoic acid from *Acanthopanax koreanum*, *Arch. Pharmacol Res.*, 2010, 33, 87-93.
42. Okuyama, E., Nishimura, S., Yamazaki, M, Analgesic Principles from *Aralia cordata* THUNB, *Chem. Pharm. Bull.*, 1991, 39, 405-407.
43. Lim, H., Jung, H.A., Choi, J.S., Kim, Y.S., Kang, S.S., Kim, H.P, Anti-inflammatory Activity of the Constituents of the Roots of *Aralia continentalis*, *Arch. Pharmacol. Res.*, 2009, 32, 1237-1243.

44. Kang, O.-H., Chae, H.-S., Choi, J.-G., Oh, Y.-C., Lee, Y.-S., Kim, J.-H., Seung, M.-J., Jang, H.-J., Bae, K.-H., Lee, J.-H., Shin, D.-W., Kwon, D.-Y. ent-pimara-8(14), 15-dien-19-oic acid isolated from the roots of *Aralia cordata* inhibits induction of inflammatory mediators by blocking NF-kB activation and mitogenactivated protein kinase pathways, *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, 601, 179-185.
45. Yoshikawa, M., Murakami, T., Harada, E., Murakami, N., Yamahara, J., Matsuda, H, Bioactive Saponins and Glycosides. VII. On the hypoglycemic principles from the root cortex of *Aralia elata* SEEM.: Structure Related Hypoglycemic Activity of Oleanolic Acid Oligoglycoside, *Chem. Pharm. Bull.*, 1996, 44, 1923-1927.
46. Yoshikawa, M., Yoshizumi, S., Ueno, T., Matsuda, H., Murakami, T., Yamahara, J.-J., Murakami, N. Medicina Foodstuffs. I. Hypoglycemic constituents from a garnish foodstuff "taranome," the young shoot of *Aralia elata* SEEM.: Elatosides G, H, I, J, and K, *Chem. Pharm. Bull.*, 1995, 43, 1878-1882
47. Dou, F., Xi, M.-M., Junxian Wang, J.-X., Tian, X.-G., Liangjian Hong, L.-G., Haifeng Tang, H.-F., Wen, A.-D, α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of saponins from traditional Chinese medicines in the treatment of diabetes mellitus, *Pharmazie*, 2013, 68, 300-304.
48. Bi, L., Tian, X., Dou, F., Hong, L., Tang, H., Wang, S, New antioxidant and antiglycation active triterpenoid saponins from the root bark of *Aralia taibaiensis*, *Fitoterapia*, 2012, 83, 234-240.
49. Jung, H.J., Jung, H.A., Kang, S.S., Lee, J.-H., Cho, Y.S., Moon, K.H., Choi, J.S, Inhibitory activity of aralia continentalis Roots on Protein Tyrosine Phosphatase 1B and Rat Lens Aldose Reductase, *Arch. Pharmacol. Res.*, 2012, 35, 1771-1777.
50. Jung, H.A., Cho, Y.S., Oh, S.H., Lee, S., Min, B.-S., Moon, K.H., Choi, J.S, Kinetics and molecular docking studies of pimarane-type diterpenes as protein tyrosine phosphatase (PTP1B) inhibitors from *Aralia continentalis* roots. *Arch. Pharmacol. Res.*, 2013, 36, 957-965.
51. Venezian, R.C.S., de Oliveira, D.C.R., Albuquerque, S., Cunha, W.R. *In Vitro* trypanocidal activity and chemical constituents of *Aspilia platyphylla* (baker) Blake, *J. Chil. Chem. Soc.*, 2007, 52, 1092-1094.

52. Porto, T.S., da Silva Filho, A.A., Magalhaes, L.G., dos Santos, R.A., Furtado, N.A.J. C., Arakawa, N.S.; Said, S., de Oliveira, D.C.R., Gregorio, L.E., Rodrigues, V., Veneziani, R.C.S., Ambrosio, S.R, Fungal transformation and schistosomicidal effects of pimaradienoic acid, *Chem. Biodivers*, 2012, 9, 1465-1474.
53. Tirapelli, C.R., Ambrosio, S.R., Coutinho, S.T., de Oliveira, D.C.R., da Costa, F.B., de Oliveira, A.M, Pharmacological comparison of the vasorelaxant action displayed by kaurenoic acid and pimaradienoic acid, *J. Pharm. Pharmacol.*, 2005, 57, 997-1004.
54. Hipólito, U.V., Rodrigues, G.J., Lunardi, C.N., Bonaventura, D., Ambrosio, S.R., de Oliveira, A.M., Bendhack, L.M., da Costa, F.B., Tirapelli, C.R. Mechanisms underlying the vasorelaxant action of the pimarane *ent*-8(14),15-pimaradien-3-ol in the isolated rat aorta, *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 616, 183-191.
55. Takahashi, S., Tokiwano, T., Hata, K., Hokari, M., Yoshizawa, Y., Gotoh, T. Isolation and identification of human renin inhibitor from *Aralia cordata*, *J. Biol. Macromol.*, 2011, 11, 83-89.
56. Jayasuriya, H., Herath, K.B., Ondeyka, J.G., Guan, Z., Borris, R.P., Tiwari, S., De Jong, W., Chavez, F., Moss, J., Stevenson, D.W., Beck, H.T., Slattey, M., Zamora, N., Schulman, M., Ali, A., Sharma, N., MacNaul, K., Hayes, N., Menke, J.G., Singh, S.B, Diterpenoid, steroid, and triterpenoid agonists of liver x receptors from diversified terrestrial plants and marine sources, *J. Nat. Prod.*, 2005, 68, 1247-1252.
57. Traves, P.G., Hortelano, S., Zeini, M., Chao, T.-H., Lam, T., Neuteboom, S.T., Theodorakis, E.A., Palladino, M.A., Castrillo, A., Bosca, L. Selective activation of liver x receptors by acanthoic acid-related diterpenes. *Mol. Pharmacol.*, 2007, 71, 1545-1553.
58. Rie ISHII, Koichi SAITO, Masakazu HORIE, Takeshi SHIBANO, Susumu KITANAKA, Fumio AMANO, Inhibitory Effects of Hydrolyzable Tannins from *Melastoma dodecandrum* LOUR. on Nitric Oxide Production by a Murine Macrophage-Like Cell Line, RAW264.7, Activated with Lipopolysaccharide and Interferon- γ . *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1999, 22(6), 647-653.
59. Verena M. Dirsch, Hermann Stuppner, Angelika M. Vollmar, The Griess Assay: Suitable for a Bio-Guided Fractionation of Anti-Inflammatory Plant Extracts, *Planta Med*, 1998, 64(5), 423-426.

60. Leonardo A. De Souza, Wagner M.G. Tavares, Ana Paula M. Lopes, Malucia M. Soeiro, Wagner B. De Almeida, Structural analysis of flavonoids in solution through DFT ^1H -NMR chemical shift calculations: Epigallocatechin, Kaempferol and Quercetin, *Chemical Physics Letters*, 2017, 676, 46-52.
61. Abdul Majid Ayatollahi, Mustafa Ghanadian, Rahman Att-ur-Rahman, M. Ahmed Mesaik, Ahmad Shukralla Khalid, and Fateme Adelb, Methoxylated Flavones from *Salvia Mirzayanii* Rech. f. and Esfand with Immunosuppressive Properties, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, 14(3), 955-960.
62. Ali, A.H, Hassan, N.M, Shukor, N.I, Embi, N, Latip, J & Mohd Sidek, H.M, Anti-plasmodial activity of engeletin isolated from *Artocarpus scortechinii*, *Malays. Appl. Biol.*, 2014, 43(1), 73-80.
63. Werner Seebacher, Nebojsa Simic, Robert Weis, Robert Saf and Olaf Kunert, Complete assignments of ^1H and ^{13}C -NMR resonances of oleanolic acid, 18α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives, *Magn. Reson. Chem.*, 2003, 41(8), 636-638.
64. Noviany, H Osman, Structure Elucidation of Betulinic Acid from *Sesbania grandiflora* Root, *Journal of Physics: Conference Series.*, 2021, 1751.

Hà Nội, ngày 10 tháng 7 năm 2024

Số: 438/QĐ-HVKHCN

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/3/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 896/QĐ-HVKHCN ngày 25/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 1 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 1112/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Vũ Thành Đạt với đề tài: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài *Cuồng Việt Nam (Aralia vietnamensis Ha)*”

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, TN.14.

GIÁM ĐỐC



GS.TS. Vũ Đình Lãm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ



(Kèm theo Quyết định số 438 /QĐ-HVKHCN ngày 10 / 5 /2024
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Vũ Thành Đạt

Tên đề tài: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của
loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)”.

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn 1: TS. Đỗ Tiến Lâm - Viện Hóa học các HCTN,
Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS.TS. Phạm Thị Hồng Minh	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học các HCTN, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Hóa hữu cơ	Trường Đại học giao thông vận tải, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3.	TS. Vũ Thị Thu Lê	Hóa học các HCTN	Trường Đại học Nông lâm, Đại học Thái Nguyên	Phản biện 2
4.	TS. Phạm Ngọc Khanh	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Lê Anh	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên./

Hà Nội, ngày 17 tháng 5 năm 2024

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 438/QĐ-HVKHCN ngày 10/5/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Vũ Thành Đạt

Tên đề tài: **Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 17/5/2024 Hội đồng đã họp tại phòng 1513 Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 14h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	PGS.TS. Phạm Thị Hồng Minh	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Phản biện 1
3.	TS. Vũ Thị Thu Lê	Phản biện 2
4.	TS. Phạm Ngọc Khanh	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Lê Anh	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt:

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

Câu hỏi:

- 1) Lý do chọn dạng bào chế... làm dịch chiết?
- 2) Nhận xét các chất phản ứng... thời gian...
đồng... so với chỉ và làm được gì nữa?

Học viên trả lời

1. Hoà tan tất cả hợp chất dưới liệm, an toàn...
2. Cần có phân lập mẫu phân tích... Chỉ được
1 mẫu mỗi...

6. Phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

Câu hỏi:

...phần nghiên cứu tiếp theo?

Học viên trả lời

...Đời già gây độc tế bào, đến bị ung thư...

7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

Câu hỏi:

TS. Khanh: Kết quả nghiên cứu lợi ích bị nhận
rớt của cây?

Học viên trả lời

...Thần, cảnh của cây...

8. Hội đồng họp kín và cho điểm

À CO
VIÊN
HOC
3 NGH
*

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

Ủy viên: TS. Phạm Ngọc Khanh

Ủy viên: TS. Nguyễn Lê Anh

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 47,5 45

Điểm trung bình: 9,5

Điểm thưởng công trình công bố: 0,5

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 9,5

- Kết luận của Hội đồng: Luận văn Đạt (đạt/không đạt yêu cầu)

- Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công bố:

..... Không trùng lặp
.....

8. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

.....
.....
.....
.....

Buổi họp đã kết thúc vào 16 giờ 30 phút ngày 17/5/2024

Hà Nội, ngày 17 tháng 5 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

Nguyễn Lê Anh

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Phạm Thị Hồng Mỹ

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



Vũ Đình Lâm

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SỸ

Họ và tên người nhận xét: PGS. TS Nguyễn Thị Mai

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Cơ quan công tác: Trường Đại học Giao thông Vận tải

Họ và tên học viên: Vũ Thành Đạt

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)

Chuyên ngành: Hóa học hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Viêm là quá trình sinh lý quan trọng của hệ miễn dịch, bảo vệ cơ thể khỏi sự xâm nhập của sinh vật gây hại (vi khuẩn, virus, nấm), tổn thương hoặc tiếp xúc với các tác nhân hóa học độc hại. Tình trạng viêm giúp nhận biết và loại bỏ các tác nhân có hại và thúc đẩy quá trình chữa lành vết thương. Tuy nhiên, nếu tình trạng viêm kéo dài thành mãn tính dẫn đến bệnh như đau cơ thể, trầm cảm, rối loạn tâm lý, mệt mỏi, mất ngủ, tiêu chảy hoặc táo bón,... . Do đó, trong một số tình huống, việc sử dụng thuốc kháng viêm là cần thiết, đặc biệt là các thuốc kháng viêm có nguồn gốc thiên nhiên với những ưu điểm vượt trội hơn so với thuốc tây y như có hiệu quả tốt, ít tác dụng phụ, giá thành thấp,....

Trong số các loài thực vật được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền, các loài thuộc chi Cuồng (*Aralia*) trong họ Nhân sâm (*Araliaceae*) được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học đáng lưu ý, đặc biệt là trong việc điều trị các bệnh

liên quan đến viêm như viêm loét dạ dày, viêm gan, viêm thận, viêm họng, viêm khớp, ...[6-13]. Các nghiên cứu hóa học về các loài thuộc chi *Aralia* đã chỉ ra rằng chúng chủ yếu chứa các hợp chất triterpen, cùng với một số hợp chất khác như flavonoid, terpenoid. Đây là các thành phần có tác dụng kháng viêm, kháng sinh mạnh. Điều đó cho biết một số thực vật chi *Aralia* có thể được nghiên cứu định hướng tạo chế phẩm có tác dụng kháng viêm tốt.

Trong số đó, Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) là một loài đặc hữu của Việt Nam và đã trở thành một phần quan trọng trong y học dân gian, đặc biệt trong việc điều trị các vấn đề liên quan đến bệnh thấp khớp.

Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây về loài này chủ yếu tập trung vào việc mô tả và tổng hợp kinh nghiệm sử dụng trong y học dân gian, chưa có nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nó. Chính vì vậy, đề tài "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)" được thực hiện nhằm mục đích khám phá thêm về thành phần hóa học và tác dụng kháng viêm của loài thực vật này là một đề tài có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước, tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Trong phạm vi tra cứu của bản thân thì nội dung của Luận văn không trùng lặp với các công trình đã công bố trong và ngoài nước.

Học viên đã thực hiện đầy đủ và trung thực việc trích dẫn các tài liệu tham khảo.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Nội dung đề tài nghiên cứu phù hợp với tên của luận văn. Nội dung nghiên cứu tập trung về xác định thành phần hóa học một số hoạt chất chính và tác dụng kháng viêm từ loài Cuồng Việt Nam nên phù hợp với chuyên ngành hóa hữu cơ (Mã số: 8 44 01 14).

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để nghiên cứu

Luận văn đã sử dụng nhiều phương pháp hiện đại trong quá trình tách các hợp chất từ các cặn chiết tương ứng như các phương pháp sắc ký cột, sắc ký bản mỏng điều chế... Các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại mà hiện nay thế giới và Việt Nam đang dùng (HR-MS, 1D-NMR, 2D-NMR, ...) đã được sử dụng để xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất. Vì vậy các số liệu thực nghiệm trong luận văn có độ tin cậy cao, đảm bảo tính chính xác và khoa học.

5. Kết quả nghiên cứu của tác giả

Kết quả nghiên cứu của luận văn đã có nhiều đóng góp mới cho sự phát triển ngành hóa học nói chung và chuyên ngành hóa học hữu cơ nói riêng. Từ cao chiết ethyl acetate thân cành Cuồng Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất, gồm 3 hợp chất flavonoid: kaempferol (**1**), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (**2**) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (**5**); và 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (**3**), ursolic acid (**4**) và betulinic acid (**6**)

Khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất phân lập được thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7. Kết quả chỉ ra rằng cao chiết ethyl acetate (AVE) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* tốt và ít gây độc cho tế bào với giá trị IC₅₀ là 88,46 µg/ml. Hợp chất ursolic acid (**4**) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất và ít gây độc tế bào với giá trị IC₅₀ là 66,87 µM.

6. Đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành

Từ cao chiết ethyl acetate thân cành Cuồng Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất, gồm 3 hợp chất flavonoid: kaempferol (**1**), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (**2**) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (**5**); và 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (**3**), ursolic acid (**4**) và betulinic acid (**6**). Sáu hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ loài Cuồng Việt Nam.

7. Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu luận văn

Luận văn đã xác định được các thành phần hóa học từ cao chiết ethyl acetate thân cành Cuồng Việt Nam thu hái tại Hà Giang và đánh giá tác dụng kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất phân lập được thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW264.7.

Luận văn có bố cục hợp lý, học viên viết cô đọng, dễ hiểu.

Tuy nhiên cần sửa một số lỗi in ấn.

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học chuyên ngành trong nước, quốc tế hay không?

Học viên đã đăng được 01 bài trên tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên

9. Kết luận chung

Nội dung luận văn được học viên trình bày mạch lạc, cô đọng, đầy đủ thông tin. Đây là một luận văn có mục đích rõ ràng, nội dung nghiên cứu đáp ứng tốt các mục tiêu đề ra, khối lượng công việc lớn, kết quả thu được có độ tin cậy khoa học cao. Luận văn đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận văn thạc sĩ hóa học. Học viên Vũ Thành Đạt xứng đáng được bảo vệ luận văn trước Hội đồng chấm luận văn để nhận được học vị thạc sĩ hóa học.

Câu hỏi:

1. Tại sao ngâm chiết trong dung môi ethanol mà không phải là methanol
2. Nhận xét về các lớp chất phân lập được so với các lớp chất mà tìm thấy từ loài này

Hà Nội, ngày 16 tháng 05 năm 2024

NGƯỜI VIẾT NHẬN XÉT


PGS.TS Nguyễn Thị Mai

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Vũ Thị Thu Lê

Học hàm, học vị: TS

Chuyên ngành: Hóa học các Hợp chất thiên nhiên

Cơ quan công tác: Khoa Khoa học Cơ Bản – Trường Đại học Nông Lâm

Họ và tên học viên: Vũ Thành Đạt

Tên đề tài: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* ha)

Chuyên ngành: Hóa Hữu Cơ

Mã số: 8440114

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*) là một loài đặc hữu của Việt Nam và đã trở thành một phần quan trọng trong y học dân gian, đặc biệt trong việc điều trị các vấn đề liên quan đến bệnh thấp khớp [6-8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây về loài này chủ yếu tập trung vào việc mô tả và tổng hợp kinh nghiệm sử dụng trong y học dân gian, chưa có nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nó. Chính vì vậy, đề tài "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)" được thực hiện nhằm mục đích khám phá thêm về thành phần hóa học và tác dụng kháng viêm của loài thực vật này.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Luận văn trình bày có tính khoa học và logic. Đề tài của luận văn không trùng lặp với bất cứ công trình nghiên cứu hiện có trong và ngoài nước.

Luận văn được bố cục bao gồm 55 trang, được kết cấu: Phần mở đầu, 1 trang, Chương 1. Tổng quan tài liệu 21 trang, Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (7 trang), Chương 3. Thực nghiệm (18 trang), Phần kết luận và kiến nghị 1 trang. Tác giả của luận văn đã tham khảo 63 tài liệu tham khảo gồm tiếng Việt, tiếng nước ngoài. Các tài liệu được cập nhật đến năm 2022, phù hợp nội dung luận văn

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Các nội dung nghiên cứu của luận văn phù hợp với tên đề tài, đáp ứng được mục tiêu và nhiệm vụ đặt ra cần giải quyết của đề tài luận văn và hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành đào tạo Hóa Hữu Cơ, Mã số: 8440114.

4. Phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Để giải quyết vấn đề đặt ra trong nghiên cứu, tác giả đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hợp lý và tin cậy: thu thập và định danh các mẫu thực vật; xây dựng quy trình chiết tách các chất; khảo sát hoạt tính sinh học. Các phương pháp sử dụng trong nghiên cứu bao gồm các phương pháp phân lập chất, bao gồm các phương pháp sắc ký đa dạng, các phương pháp quang phổ xác định cấu trúc hóa học của các chất, các phương pháp sinh học thử nghiệm hoạt tính sinh học. Đây là các phương pháp hiện đại, tin cậy, phù hợp với nội dung nghiên cứu.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Qua quá trình nghiên cứu về hóa thực vật và hoạt tính kháng viêm *in vitro* của loài *Aralia vietnamensis* ở Hà Giang, luận văn đã thu được các kết quả chính như sau:

Từ cao chiết ethyl acetate thân cành Cuồng Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất, gồm 3 hợp chất flavonoid và 3 hợp chất triterpenoid:

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vitro* chỉ ra rằng cao chiết ethyl acetate (AVE) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* tốt và ít gây độc cho tế bào với giá trị IC_{50} là 88,46 $\mu\text{g/ml}$. Hợp chất ursolic acid (4) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất và ít gây độc tế bào với giá trị IC_{50} là 66,87 μM .

6. Đóng góp mới của luận văn:

Lần đầu tiên, 6 hợp chất, gồm có 3 hợp chất flavonoid như kaempferol (1), 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (2) và 3,3',5,5',7-pentahydroxyflavanone-3-O-L-rhamnopyranoside (5); và 3 hợp chất triterpenoid: oleanolic acid (3), ursolic acid (4) và betulinic acid (6) đã được xác định từ loài *Aralia vietnamensis* ở Hà Giang, phù hợp với thành phần hóa học các loài chi *Aralia* đã được nghiên cứu.

Lần đầu tiên, đã đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và chất sạch phân lập được từ loài Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis*). Kết quả cho biết, cao ethyl acetate (AVE) thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 88,46 $\mu\text{g/ml}$. Hợp chất ursolic acid (4) biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 66,87 μM .

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- Bổ sung hình ảnh mẫu cuồng Việt Nam thu hái tại Bắc Quang, Hà Giang.
- Bổ sung giấy xác nhận định danh loài đã được TS. Nguyễn Quốc Bình xác định tên khoa học là *Aralia vietnamensis*
- T26 phân đoạn AVE2(4,0 g) tách ra thành 3 phân đoạn (AVE2a- AVE2c). Nhưng kết luận lại là AVE 1b, tương tự trong bài báo tác giả công bố cũng có sự nhầm lẫn ở phân đoạn này.
- Chỉnh sửa một số lỗi chính tả trong luận văn

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Tác giả có 1 công trình công bố(được chấp nhận đăng) trên tạp chí Khoa học và Công nghệ của ĐH Thái Nguyên. Công trình trên có hàm lượng khoa học tốt và là kết quả chính của luận văn. Đây là các Tạp chí chuyên ngành trong nước có uy tín.

9 . Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Luận văn đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận văn thạc sĩ. Tuy còn một số điểm cần lưu ý, nhìn chung luận văn có nội dung phong phú, khối lượng công việc lớn, chất lượng tốt, bố cục hợp lý, nhiều dẫn liệu là mới có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, công bố tốt, đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức của luận văn ThS theo qui chế của Bộ Giáo dục và Đào tạo. Kính đề nghị HĐ thông qua để học viên Vũ Thành Đạt nhận bằng thạc sĩ Hóa hữu cơ.

Câu hỏi: Nếu tiếp tục hướng nghiên cứu về loài Cuồng Việt Nam, hướng nghiên cứu tiếp theo em sẽ làm gì?

Thái Nguyên, ngày 18 tháng 5 năm 2024

Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)



Vũ Thị Thu Lê

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Vũ Thành Đạt

Lớp: Hóa Hữu cơ 2022A

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm của loài
Cuồng Việt Nam (*Aralia vietnamensis* Ha)

Ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 8440114

Người hướng dẫn khoa học: TS. Đỗ Tiến Lâm

Ngày bảo vệ luận văn: 17/05/2024

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

TT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1. PGS. TS. Phạm Thị Hồng Minh - Chủ tịch		
1	Một số lỗi in ấn và chính tả trong luận văn cần được chỉnh sửa	Học viên xin cảm ơn và đã chỉnh sửa các lỗi in ấn, chính tả trong toàn bộ luận văn
2	Bổ sung hình ảnh minh họa về mẫu thực vật thu thập tại Bắc Quang, Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu của nội dung luận văn	Học viên xin tiếp thu và đã bổ sung ảnh về mẫu thu tại Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu theo góp ý của chủ tịch hội đồng (trang 20)
3	Đề đánh giá hoạt tính kháng viêm của mẫu, phương pháp thử nghiệm cần xác định giá trị % ức chế tương ứng với cao	Học viên xin tiếp thu và đã bổ sung theo góp ý của chủ tịch hội đồng trong phần phương pháp

	chiết, và tương tự với hợp chất tinh khiết từ mẫu thực vật	(trang 23)
4	Kết luận cần gắn số thứ tự 1, 2, 3 cho các kết quả thu được	Học viên đã chỉnh sửa theo góp ý của chủ tịch hội đồng (trang 44)
5	Cần ghi chú dưới các bảng thử hoạt tính kháng viêm để xác định giá trị % ức chế mẫu được coi là có hoạt tính	Trong bảng thử hoạt tính kháng viêm của cao chiết và hợp chất tinh khiết, đã ghi chú các mẫu bị ức chế, với giá trị % ức chế để thể hiện mức độ ức chế đối với hoạt tính kháng viêm (trang 42)
6	Bổ sung phiếu kết quả thử nghiệm hoạt tính của các cao chiết và hợp chất tinh khiết	Học viên xin tiếp thu và đã bổ sung theo góp ý của chủ tịch hội đồng trong phần phương pháp (trang 55)

2. PGS. TS. Nguyễn Thị Mai - Phản biện 1

7	Một số lỗi in ấn và chính tả trong luận văn cần được chỉnh sửa	Học viên đã chỉnh sửa các lỗi in ấn, chính tả trong luận văn
---	--	--

3. TS. Vũ Thị Thu Lê - Phản biện 2

8	Một số lỗi in ấn và chính tả trong luận văn cần được chỉnh sửa	Học viên đã chỉnh sửa các lỗi in ấn, chính tả trong luận văn
9	Bổ sung hình ảnh minh họa về mẫu thực vật thu thập tại Bắc Quang, Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu của nội dung luận văn	Học viên đã bổ sung ảnh về mẫu thu tại Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu theo góp ý phản biện (trang 20)
10	Bổ sung giấy xác nhận định danh loài thực vật	Học viên đã bổ sung theo góp ý của Phản biện (trang 56)
11	T26 phân đoạn AVE2 (4,0g) đã được phân chia thành 3 phân đoạn (AVE2a - AVE2c). Tuy nhiên, kết luận lại là AVE1b, tương tự như trong bài báo mà	Học viên xin tiếp thu và đã bổ sung theo góp ý của phản biện. Phân đoạn đã ghi AVE1b đã được điều chỉnh thành phân đoạn

	tác giả công bố, cũng có sự nhầm lẫn ở phân đoạn này	AVE2b (trang 25)
4. TS. Phạm Ngọc Khanh - Ủy viên		
12	Bổ sung hình ảnh minh họa về mẫu thực vật thu thập tại Bắc Quang, Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu của nội dung luận văn	Học viên đã bổ sung ảnh về mẫu thực vật thu tại Hà Giang vào phần đối tượng nghiên cứu theo góp ý của ủy viên hội đồng (trang 20)
13	Mẫu nghiên cứu là một phần của đối tượng thực vật. Tuy nhiên, tác giả chỉ nghiên cứu trên thân cành mà không đề cập đến lá	Phụ thuộc vào số lượng bộ phận mẫu thu thập được và trong khuôn khổ giới hạn đề tài học viên định hướng nghiên cứu tập trung vào bộ phận riêng thân cành để làm đối tượng nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm. Học viên mong muốn sẽ tiếp tục được nghiên cứu các bộ phận khác nhau sau này
14	Vẽ lại công thức hóa học của hợp chất để đảm bảo tính thống nhất và kích thước tiêu chuẩn	Học viên đã vẽ lại các công thức theo định dạng ACS document 1996 trong Chemdraw và thống nhất cấu hình của phân tử đường trong toàn bộ luận văn
15	Các công thức cấu trúc hóa học của các hợp chất đường cần được chuẩn hóa về dạng ghế hoặc dạng vòng trong toàn bộ luận văn	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa lại theo góp ý của ủy viên hội đồng. Cấu hình của đường đã được thống nhất trong toàn bộ luận văn
16	Một số công thức hóa học của hợp chất bị méo, lệch chữ, và sai dòng.	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa lại theo góp ý của ủy viên hội

		đồng
17	Cao chiết etyl axetat	Học viên xin đã chỉnh sửa tên của một số dung môi, cao chiết thống nhất theo tên quốc tế như Cao chiết etyl axetat → thành Cao chiết ethyl acetate
18	Quá trình chết rụng tế bào là gì, kiểm tra lại chương trình do D gây ra bằng actinomycin	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa: Quá trình chết rụng tế bào là gì, kiểm tra lại chương trình do D gây ra bằng actinomycin thành Quá trình tế bào chết theo chương trình - Apoptosis do actinomycin D gây ra (trang 13)
19	Các điểm lưu ý khác đã được ghi chú trong luận văn bao gồm: hoạt tính viêm da, hoạt tính chống loãng xương,... và các hoạt tính sinh học khác cần được điều chỉnh và bổ sung trong nội dung luận văn	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa, bổ sung theo góp ý của ủy viên hội đồng trong toàn bộ luận văn (trang 15 và 16)
20	Nên phân loại riêng hai hoạt tính: Hoạt tính chống ký sinh trùng và hoạt tính liên quan đến tim mạch. Đồng thời, cần xem xét lại cách dịch từ ngữ và cấu trúc câu trong đoạn văn trên trang 20, để điều chỉnh và cải thiện tính chính xác và mạch lạc của văn phong	Học viên đã tách mục 1.3.3. Hoạt tính chống ký sinh trùng và tim mạch thành mục 1.3.3. Hoạt tính chống ký sinh trùng và mục 1.3.4. Hoạt tính tim mạch. Đoạn văn trang 20 đã được chỉnh sửa lại theo góp ý của ủy viên hội đồng (trang 17 và 18)
21	Xem lại kết quả bảng 3.7	Bảng 3.7 đã được chỉnh sửa theo góp ý của ủy viên hội đồng (trang 42)

22	Để đánh giá tác dụng kháng viêm dựa trên khả năng ức chế sản sinh NO của các dịch chiết và hoạt chất từ mẫu thực vật, cần so sánh với các dịch chiết và hợp chất khác để đánh giá mức độ hiệu quả của tác dụng kháng viêm	Học viên xin tiếp thu và đã bổ sung so sánh kết quả thử hoạt tính khoáng viêm <i>in vitro</i> của luận văn so với các nghiên cứu của các đối tượng khác cùng chi theo góp ý của ủy viên Hội đồng (trang 42)
5. TS. Nguyễn Lê Anh - Ủy viên, Thư ký		
23	Một số lỗi in ấn và chính tả trong luận văn cần được chỉnh sửa	Các lỗi in ấn và chính tả trong luận văn đã được chỉnh sửa
24	Vẽ lại công thức hóa học của hợp chất để đảm bảo tính thống nhất và kích thước tiêu chuẩn	Học viên đã vẽ lại các công thức theo định dạng ACS document 1996 trong Chemdraw và thống nhất cấu hình của phân tử đường trong toàn bộ luận văn.
25	Biện luận phổ của các hợp chất 1, 2, 3, 4 và 6 đã được chỉnh sửa lại	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa, bổ sung về biện luận phổ của các hợp chất 1, 2, 3, 4 và 6 theo góp ý của ủy viên Hội đồng (27,28,33,34 và 38)
26	Đánh lại số thứ tự các hợp chất trong luận văn cho đúng	Học viên xin tiếp thu và đã chỉnh sửa theo góp ý của ủy viên hội đồng

NGHỆ VIẾT

Hà Nội, ngày 24 tháng 05 năm 2024

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN

Mu

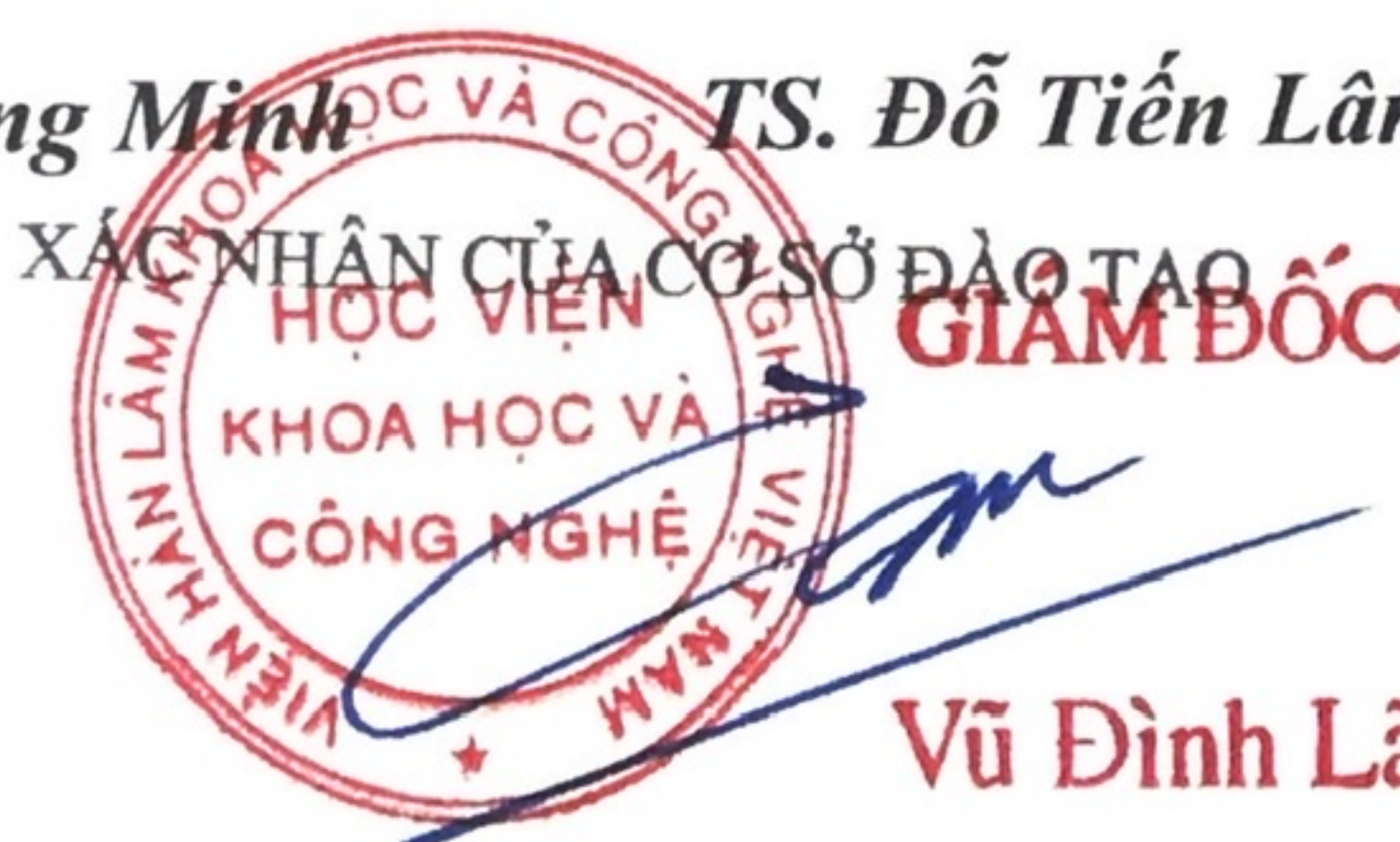
Lau

R

PGS. TS. Phạm Thị Hồng Minh

TS. Đỗ Tiến Lâm

Vũ Thành Đạt



Vũ Đình Lâm