

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ THÚY HÒA

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ
THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC CÁC HỢP CHẤT
FLAVONOID TỪ CÂY RIỀNG VIỆT NAM
(*ALPINIA VIETNAMICA*)**

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



NGUYỄN THỊ THÚY HÒA

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ
THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC CÁC HỢP CHẤT
FLAVONOID TỪ CÂY RIỀNG VIỆT NAM
(*ALPINIA VIETNAMICA*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Ninh Thế Sơn 

2. TS. Nguyễn Thanh Trà 

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



Nguyễn Thị Thúy Hòa

LỜI CẢM ƠN

Luận văn “**Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)**” được thực hiện tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tôi xin chân thành cảm ơn đề tài thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số VAST04.04/22-23 vì sự hỗ trợ quý báu trong quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn TS. Ninh Thế Sơn và TS. Nguyễn Thanh Trà - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình hướng dẫn tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn tốt nghiệp.

Tôi xin cảm ơn Ban Lãnh đạo Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, các cán bộ phòng Hóa sinh ứng dụng đã tạo mọi điều kiện thuận lợi và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện luận văn.

Tôi xin cảm ơn Ban Lãnh đạo, Phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập.

Cuối cùng, tôi muốn dành lời cảm ơn chân thành tới gia đình, bạn bè đã luôn động viên tinh thần, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Học viên



Nguyễn Thị Thúy Hòa

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT	v
DANH MỤC CÁC BẢNG	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH	vii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1. Giới thiệu về chi <i>Alpinia</i>	3
1.1.1. Đặc điểm thực vật và công dụng chi <i>Alpinia</i>	3
1.1.1.1. Đặc điểm thực vật	3
1.1.1.2. Công dụng	4
1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước và trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi <i>Alpinia</i>	5
1.1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi <i>Alpinia</i>	5
1.1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi <i>Alpinia</i>	15
1.2. Giới thiệu về loài Riêng Việt Nam (<i>Alpinia vietnamica</i>)	18
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	20
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	20
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	20
2.2.1. Phương pháp ngâm chiết	20
2.2.2. Các phương pháp phân tích sắc ký	21
2.2.2.1. Phương pháp sắc ký lớp mỏng	21
2.2.2.2. Phương pháp sắc ký cột.....	22
2.2.3. Các phương lý hóa và quang phổ xác định cấu trúc.....	23
2.2.4. Các phương pháp thử hoạt tính sinh học	24

2.2.4.1. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào.....	24
2.2.4.2. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.....	26
2.2.4.3. Phương pháp thử hoạt tính DPPH.....	27
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	28
3.1. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ cây Riềng Việt Nam	28
3.1.1. Thu nhận các cao chiết từ cây Riềng Việt Nam	28
3.1.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ cao chiết EtOAc cây Riềng Việt Nam.....	28
3.2. Cấu trúc và các thông số vật lý của các hợp chất được phân lập	30
3.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được bằng phương pháp quang phổ.....	31
3.3.1. Hợp chất A1	31
3.3.2. Hợp chất A2	35
3.3.3. Hợp chất A3	39
3.3.4. Hợp chất A4	42
3.3.5. Hợp chất A5	45
3.3.6. Hợp chất A6	47
3.3.7. Hợp chất A7	49
3.4. Đánh giá hoạt tính sinh học các hợp chất phân lập từ cây Riềng Việt Nam.....	52
3.4.1. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất	52
3.4.2. Đánh giá hoạt tính bắt gốc tự do DPPH	53
3.4.3. Đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase.....	53
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	55
1. Kết luận	55
2. Kiến nghị	55
CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN ...	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	57

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
$^1\text{H-NMR}$	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon-13
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
MS	Mass spectrometry	Phổ khối lượng
δ (ppm)	Độ chuyển dịch hóa học (parts per million)	Độ chuyển dịch hóa học (phần triệu)
EtOAc	Ethyl acetate	Etyl acetat
EtOH	Ethanol	Etanol
MeOH	Methanol	Metanol
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Dimetyl sunfoxit
CD_3OD	Deuterated methanol	Deuterated metanol
CDCl_3	Deuterated chloroform	Deuterated chloroform
δ_{H}	Proton chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton
δ_{C}	Carbon chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của cacbon
TLC	Thin-layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
CC	Column chromatography	Sắc ký cột
IC_{50}	50% inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Một số tác dụng trong y học cổ truyền của các loài <i>Alpinia</i>	4
Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A1	32
Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A2	35
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A3	39
Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A4	42
Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A5	45
Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A6	47
Bảng 3.7. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A7	50
Bảng 3.8. Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất được thử nghiệm	52
Bảng 3.9. Hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất được thử nghiệm	53
Bảng 3.10. Hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất được thử nghiệm	53

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh một số loài <i>Alpinia</i>	3
Hình 1.2. Các hợp chất phân lập từ cao chiết n-hexan của thân rễ loài <i>A. galanga</i>	6
Hình 1.3. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của thân rễ loài <i>A. mutica</i>	6
Hình 1.4. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của phần rễ, thân và lá loài <i>A. aquatica</i>	7
Hình 1.5. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của phần thân rễ khô loài <i>A. galanga</i>	8
Hình 1.6. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethanol của rễ loài <i>A. coriandriodora</i>	9
Hình 1.7. Các hợp chất phân lập từ cao chiết n-hexane và dichloromethane của rễ và thân loài <i>A. conchigera</i>	10
Hình 1.8. Các hợp chất phân lập từ cao chiết n-hexan, ethyl acetate và butanol của lá loài <i>A. zerumbet</i>	11
Hình 1.9. Các hợp chất phân lập từ cao chiết methanol của quả loài <i>A. rafflesiana</i>	11
Hình 1.10. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethanol của quả loài <i>A. oxyphylla</i>	12
Hình 1.11. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài <i>A. mutica</i>	12
Hình 1.12. Các hợp chất phân lập từ cao chiết dichloromethane và ethanol của lá loài <i>A. zerumbet</i>	13
Hình 1.13. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của hạt loài <i>A. mutica</i>	13
Hình 1.14. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của quả khô loài <i>A. oxyphylla</i>	15
Hình 1.15. Các hợp chất phân lập từ cao chiết methanol của thân rễ tươi loài <i>A. officinarum</i>	16
Hình 1.16. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài <i>A. kwangsiensis</i>	17
Hình 1.17. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate và butanol của hạt loài <i>A. blepharocalyx</i>	17

Hình 1.18. Các hợp chất phân lập từ cao chiết chloroform và butanol của rễ loài <i>A. blepharocalyx</i>	18
Hình 1.19. Cây Riềng Việt Nam (<i>Alpinia vietnamica</i>).....	19
Hình 2.1. Sắc khí bản mỏng khi chấm và chạy trong dung môi	22
Hình 2.2. Sắc ký cột	23
Hình 3.1. Sơ đồ ngâm chiết cây Riềng Việt Nam.....	28
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cao chiết EtOAc cây Riềng Việt Nam.....	29
Hình 3.3. Các hợp chất A1 - A7 phân lập từ cây Riềng Việt Nam.....	30
Hình 3.4. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất A1	31
Hình 3.5. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A1	33
Hình 3.6. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A1	33
Hình 3.7. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A1	34
Hình 3.8. Phổ HSQC của hợp chất A1	34
Hình 3.9. Phổ HMBC của hợp chất A1	35
Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất A2	35
Hình 3.11. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A2	36
Hình 3.12. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A2	37
Hình 3.13. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A2	37
Hình 3.14. Phổ HSQC của hợp chất A2	38
Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất A2	38
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất A3	39
Hình 3.17. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A3	40
Hình 3.18. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A3	40
Hình 3.19. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A3	41
Hình 3.20. Phổ HSQC của hợp chất A3	41
Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất A4	42
Hình 3.22. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A4	43
Hình 3.23. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A4	43
Hình 3.24. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A4	44
Hình 3.25. Phổ HSQC của hợp chất A4	44

Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất A5	45
Hình 3.27. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A5	46
Hình 3.28. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A5	46
Hình 3.29. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A5	47
Hình 3.30. Cấu trúc hóa học của hợp chất A6	47
Hình 3.31. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A6	48
Hình 3.32. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A6	48
Hình 3.33. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A6	49
Hình 3.34. Phổ HSQC của hợp chất A6	49
Hình 3.35. Cấu trúc hóa học của hợp chất A7	49
Hình 3.36. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A7	50
Hình 3.37. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A7	51
Hình 3.38. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A7	51

MỞ ĐẦU

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, điều này đã tạo điều kiện cho hệ thực vật của nước ta trở nên đa dạng và phong phú. Nhiều loài thực vật đã được sử dụng cho mục đích khác nhau trong đời sống, đặc biệt là để điều trị bệnh. Nhờ vào sự đa dạng về thành phần và nguồn dược liệu, Việt Nam từ lâu đã được biết đến với việc sử dụng các loại thảo dược để chữa bệnh và nhiều hoạt chất từ thực vật đã được phát triển thành các loại thuốc. Việc nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính của các loại cây thuốc đã trở thành một lĩnh vực được cộng đồng khoa học ở nhiều quốc gia quan tâm.

Trên thế giới, các loài thực vật thuộc chi Riềng (*Alpinia*) được sử dụng rất phổ biến trong y học dân gian. Chi *Alpinia*, thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), bao gồm khoảng 250 loài chủ yếu phân bố ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của châu Á, một số ít loài cũng được tìm thấy ở Australia và các đảo Thái Bình Dương. Tuy nhiên, tại Việt Nam chỉ ghi nhận được 37 loài. Các thực vật chi *Alpinia* được sử dụng trong y học cổ truyền dân tộc để chữa trị nhiều bệnh lý khác nhau như loài *Alpinia officinarum* Hance, *Alpinia galanga* (L.) Willd., và nhiều loài khác.

Ở nước ta, các loài *Alpinia* phân bố rộng rãi từ Bắc vào Nam. Tuy nhiên, nhiều loài mới chỉ được biết đến trong những năm gần đây hoặc được sử dụng trong y học dân gian mà chưa được nghiên cứu đầy đủ về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Trong số các loài thuộc chi *Alpinia*, Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) là một loài mới được tìm thấy ở miền Trung Việt Nam. Bên cạnh đó, các nghiên cứu về cây Riềng Việt Nam tập trung chủ yếu vào việc liệt kê, mô tả hoặc tổng hợp các kinh nghiệm dân gian, chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Vì vậy, cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) đã được chọn lựa làm đối tượng nghiên cứu cho đề tài **"Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)"** với mục tiêu:

- Nghiên cứu quy trình chiết, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*).
- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư KB, A549, Hep-G2 và MCF-7.

- Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.
- Đánh giá hoạt tính chống oxi hóa.

Nội dung nghiên cứu:

- Thu hái và xử lý mẫu cây Riềng Việt Nam;
- Tiến hành tách chiết, phân lập các chất sạch bằng những phương pháp thích hợp;
- Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được bằng phương pháp phổ;
- Thử hoạt tính gây độc tế bào, hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase và hoạt tính chống oxi hóa *in vitro* của các hợp chất sạch thu được từ cây Riềng Việt Nam.

Những đóng góp của luận văn:

Bảy hợp chất thuộc nhóm flavonoid gồm 02 hợp chất flavone quercetin-3-O- α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside (**A1**) và diosmetin (**A2**), 03 hợp chất flavanone pinocembrin (**A3**), alpinetin (**A4**) và 5-O-methylnaringenin (**A5**), 02 hợp chất chalcone cardamonin (**A6**) và helichrysetin (**A7**) đã được phân lập và xác định cấu trúc từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) ở Thừa Thiên Huế.

Các hợp chất phân lập từ cây Riềng Việt Nam đã được thử nghiệm về hoạt tính gây độc tế bào, ức chế enzyme α -glucosidase và chống oxi hóa. Kết quả cho biết:

- Hai hợp chất chalcone **A6**, **A7** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng tế bào ung thư biểu mô (KB), ung thư vú (MCF7), ung thư phổi (A549) và ung thư gan (HepG2). Đặc biệt, hợp chất **A7** ức chế mạnh tế bào ung thư A549.
- Hợp chất **A1** bắt mạnh gốc DPPH, bên cạnh đó hợp chất **A2** có hoạt tính chống oxi hóa ở mức độ trung bình.
- Hai hợp chất **A2** và **A4** có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về chi *Alpinia*

Chi Riềng (danh pháp khoa học: *Alpinia*) là một chi lớn thuộc họ Gừng (Zingiberaceae). Tính tới thời điểm hiện tại, có khoảng 250 loài được tìm thấy ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của châu Á, một số ít loài cũng được tìm thấy ở Australia và các đảo Thái Bình Dương [1]. Tại Việt Nam chỉ có 37 loài được ghi nhận [2].



Alpinia galanga



Alpinia zerumbet



Alpinia katsumadai



Alpinia shimadai



Alpinia purpurata



Alpinia caerulea

Hình 1.1. Hình ảnh một số loài *Alpinia*

1.1.1. Đặc điểm thực vật và công dụng chi *Alpinia*

1.1.1.1. Đặc điểm thực vật [3]

Cây thân thảo cao 1-3 (4) m, thân rễ bò, dày. Lá nhiều, phiến lá hình bầu dục dài hay dạng mác, có hoặc không có cuống. Cụm hoa dạng chùy hoặc bông, có lá ở phần trên ngọn thân, hoa thưa hoặc dày. Khi còn non, cụm hoa thường được bao bởi 1-3 lá bắc (nhưng sớm rụng). Phần dưới của đài hoa có dạng ống, phần trên chia thành 1 hoặc 3 thùy nhỏ dạng răng. Tràng hoa có phần

dưới dạng ống, phía trên chia thành 3 thùy, thùy lưng thường to hơn hai thùy bên. Cây có cánh môi to, nhiều màu, thường lớn và rộng hơn các thùy tràng, phần đầu chia thành 2-3 thùy hoặc giữ nguyên. Cây có chỉ nhị ngắn hoặc dài, có dạng bản; 2 ô bao phấn. Nhị của cây có dạng lép. Bầu hoa có hình cầu hoặc gần hình cầu. Vòi nhụy mảnh, lép ngắn, dạng bản hay dùi. Núm nhụy thường loe hình phễu hoặc dạng chùy. Quả nang, hình cầu, bầu dục hoặc hình thoi, tự mở hoặc mở không đều. Cây có nhiều hạt, thường có góc cạnh, có áo hạt.

Hầu hết các loài thực vật chi *Alpinia* ưa bóng, ẩm, phát triển dưới tán rừng, dưới bóng các cây khác, tuy nhiên một số ít loài có thể phát triển tốt ở ven đường lớn hay ở trống cỏ.

1.1.1.2. Công dụng

Các loài thực vật trong chi *Alpinia* được sử dụng nhiều trong thực vật học dân tộc như chữa tiêu hóa, đau dạ dày, nôn mửa và nhiễm trùng đường ruột [4, 5].

Bảng 1.1. Một số tác dụng trong y học cổ truyền của các loài Alpinia

TT	Loài	Tên riêng của loài	Bộ phận	Công dụng
1	<i>A. officinarum</i>	Riềng thuốc	Thân rễ	Đau thượng vị, nôn mửa, tiêu hóa kém. Loét dạ dày, tá tràng, đau dạ dày mãn tính. Viêm dạ dày-ruột cấp. Dùng ngoài trị lang ben.
2	<i>A. zerumbet</i>	Riềng ấm	Thân rễ, hạt	Đau dạ dày, trướng bụng. Khó tiêu hóa, nôn mửa.
3	<i>A. tonkinensis</i>	Riềng Bắc bộ	Thân rễ, hạt, quả	Phong thấp tê đau. Ngực bụng đau tức. Dạ dày ẩu thổ và ăn uống không tiêu.
4	<i>A. blepharocalyx</i>	Riềng bẹ	Hạt	Ngực bụng lạnh đau, đầy bụng, nôn mửa.
5	<i>A. henryi</i>	Riềng Henry	Quả	Dạ lạnh bụng đau vì đầy bụng.
6	<i>A. breviligulata</i>	Riềng lưỡi ngắn	Thân rễ	Đau bụng.

7	<i>A. malaccensis</i>	Riềng Malacca	Thân rễ, quả, hạt	Ngực bụng trướng đau, ầu thở, ăn uống không tiêu. Đau, loét.
8	<i>A. galanga</i>	Riềng nếp	Thân rễ, quả	Đầy bụng, khó tiêu. Nôn mửa. Thấp khớp, sốt, bệnh xuất tiết. Ngực bụng lạnh đau, khó tiêu hóa. Khoang bụng lạnh đau, ầu thở.
9	<i>A. strobiliformis</i>	Riềng bông tròn	Hạt	Thuốc cảm.
10	<i>A. maclurei</i>	Riềng Maclure	Thân rễ, quả	Trướng bụng và ầu thở.

1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước và trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Alpinia*

Các loài thuộc chi *Alpinia* (Zingiberaceae) mọc phổ biến ở các nước nhiệt đới châu Á, trong đó có một số loài đã được nghiên cứu trong nước cũng như trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Theo các nghiên cứu đã công bố, từ các bộ phận khác nhau của các loài *Alpinia* như lá, hoa, thân rễ và rễ con..., người ta đã thu nhận được tinh dầu và phân lập được nhiều hợp chất thuộc các lớp terpenoid, diarylheptanoid, flavonoid,...

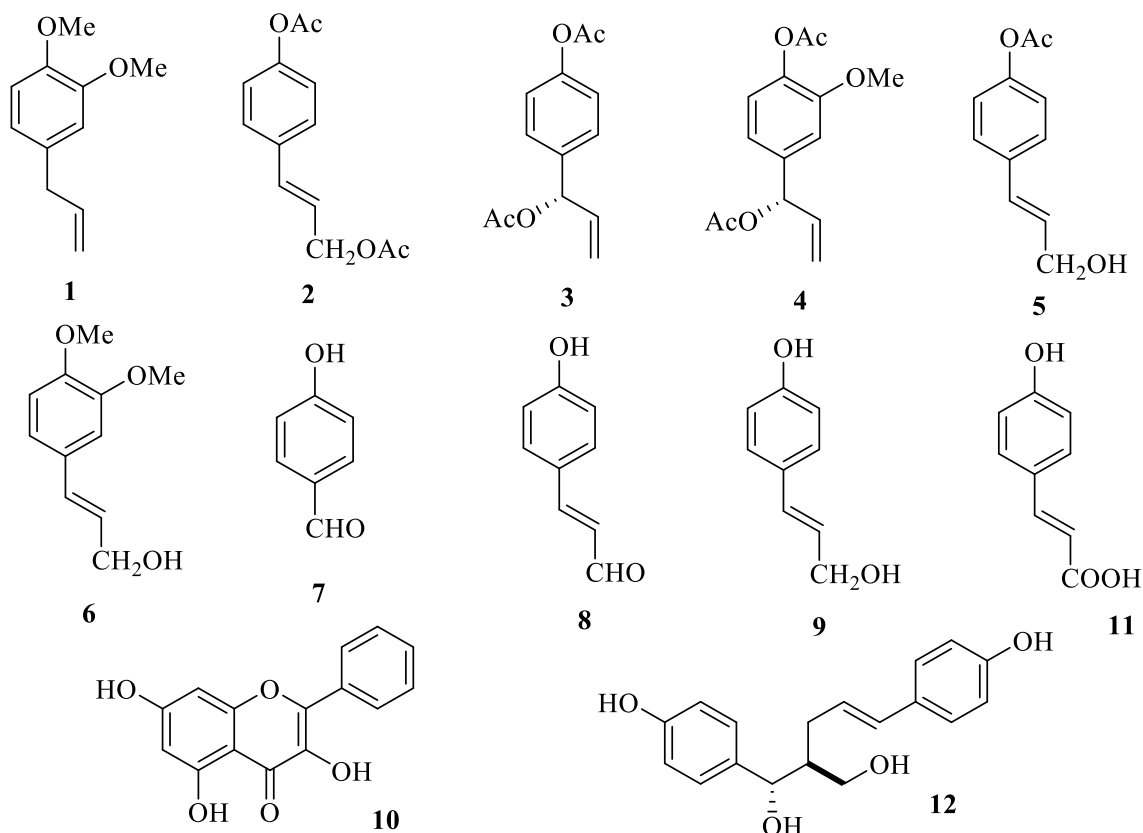
1.1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Alpinia*

Tính đến thời điểm hiện tại đã có rất nhiều nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc từ các loài *Alpinia* trên thế giới, trong đó flavonoid, terpenoid, diarylheptanoid, steroid... là các lớp chất chính.

Các lớp chất này được phân lập từ dịch chiết của các bộ phận như thân rễ, lá, hoa, hạt... của các loài *Alpinia*. Cấu trúc của các hợp chất phân lập được đã được xác định chủ yếu thông qua việc sử dụng kết hợp các phương pháp phổ.

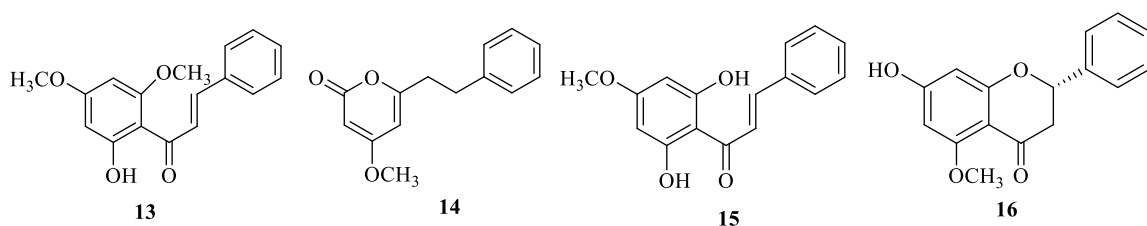
Năm 2010, 12 hợp chất được Amandeep Kaur và cộng sự phân lập từ cao chiết n-hexan của phần thân rễ loài *A. galanga* bao gồm methyleugenol (**1**), p-coumaryl diacetate (**2**), 1'-acetoxychavicol acetate (**3**), 1'-acetoxyeugenol acetate (**4**), *trans*-p-acetoxycinnamyl alcohol (**5**), *trans*-3,4-dimethoxycinnamyl alcohol

(6), *p*-hydroxybenzaldehyde (7), *p*-hydroxycinnamaldehyde (8), *trans-p*-coumaryl alcohol (9), galangin (10), *trans-p*-coumaric acid (11) và galanganol B (12) [6]. Trong đó, các hợp chất 2-5 có hoạt tính mạnh chống lại sự phát triển của ký sinh trùng *Leishmania donovani* promastigote với các giá trị IC_{50} lần lượt là 39,3, 32,9, 18,9 và 79,9 μ M [6].



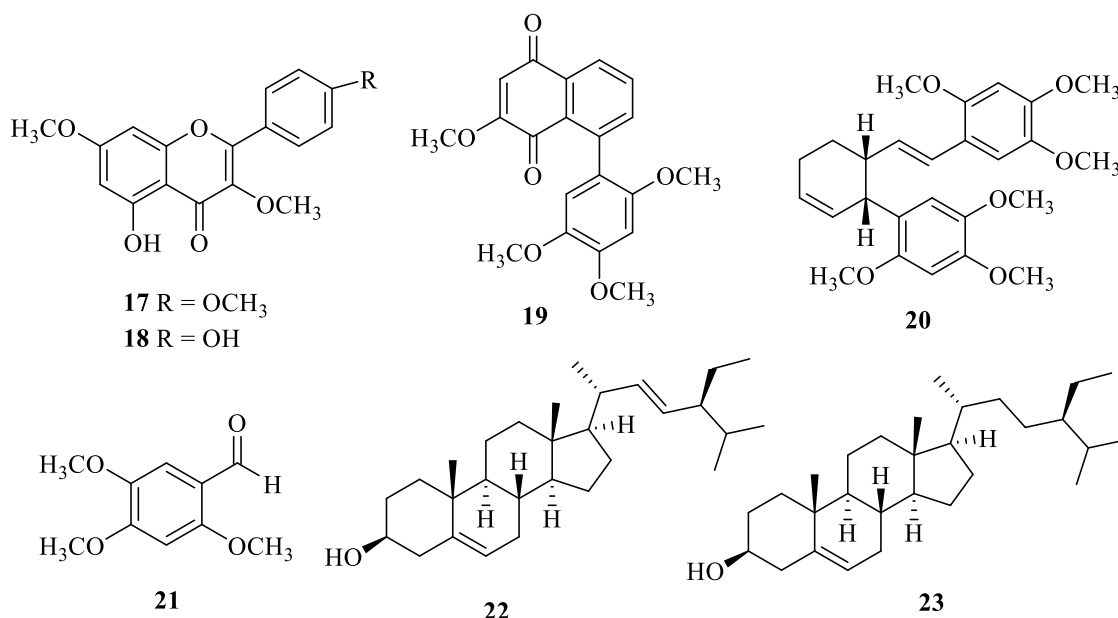
Hình 1.2. Các hợp chất phân lập từ cao chiết *n*-hexan của thân rễ loài *A. galanga*

Năm 2011, 4 hợp chất flavonoid flavokawin B (13), 5,6-dehydrokawain (14), pinostrobin chalcone (15) và alpinetin (16) đã được phân lập từ cao chiết ethyl acetate của phần thân rễ loài *A. mutica*. Trong đó, hợp chất 15-16 lần đầu tiên được phân lập từ loài này [7]. Cao chiết EtOAc có tác dụng gây độc tế bào ung thư KB, MCF7 và Caski với giá trị IC_{50} lần lượt là 9,4, 19,7 và 19,8 μ g/mL. Bên cạnh đó, hợp chất 15 cũng thể hiện hoạt tính gây độc đối với 3 dòng tế bào ung thư trên với giá trị IC_{50} lần lượt là 6,2, 7,3 và 7,7 μ g/mL [7].



Hình 1.3. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của thân rễ loài *A. mutica*

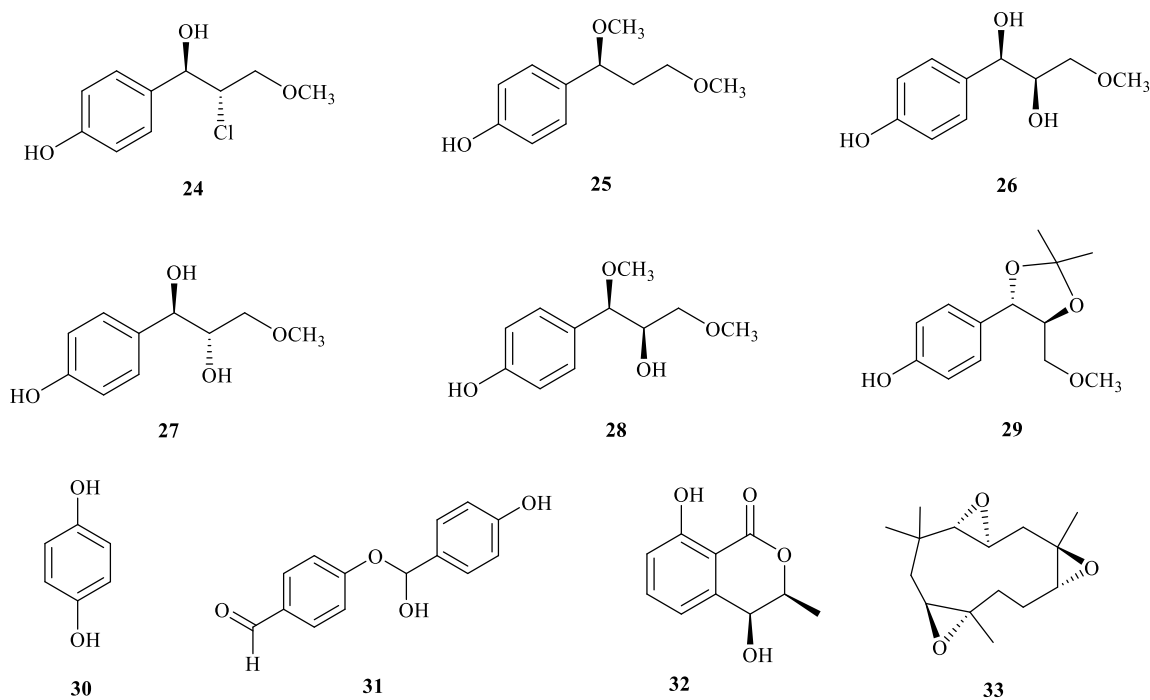
Năm 2020, Romes và cộng sự đã phân lập được 7 hợp chất từ cao chiết ethyl acetate của phần rễ, thân và lá loài *A. aquatica* bao gồm: 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone (**17**), 4',5-dihydroxy-3,7-dimethoxyflavone (**18**), 2-methoxy-8-(2',4',5'-trimethoxyphenyl)-1,4-naphthaquinone (**19**), *cis*-3*S*-(2',4',5'-trimethoxyphenyl)-4*S*-[(*E*)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl] cyclohexene (**20**), 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde (**21**), stigmasterol (**22**) và β -sitosterol (**23**). Hợp chất **19-20** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. aquatica*. Cao chiết ethyl acetate của phần thân cành có khả năng ức chế tyrosinase cao nhất là 31,0%, trong khi đó khả năng ức chế của hợp chất **17** là 48,0% [8].



Hình 1.4. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của phần rễ, thân và lá loài *A. aquatica*

Tác giả Sulistyowaty và cộng sự năm 2021 đã phân lập được 10 hợp chất từ cao chiết ethyl acetate của phần thân rễ khô của loài *A. galanga* bao gồm 4-[threo-2-chloro-1-hydroxy-3-methoxypropyl] phenol (**24**), 4-(1,3-dimethoxypropyl) phenol (**25**), threo-1-(4-hydroxyphenyl)-1-methoxy-2,3-propanediol (**26**), erythro-1-(4-hydroxyphenyl)-1-methoxy-2,3-propanediol (**27**), 4-[threo-2-hydroxy-1,3-dimethoxypropyl] phenol (**28**), 4-[threo-5-(methoxymethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl] phenol (**29**), hydroquinone (**30**), 4-hydroxy(4-hydroxyphenyl)methoxy benzaldehyde (**31**), isocoumarin *cis* 4-hydroxymelein (**32**) và (2*S*,3*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*S*)-humulene triepoxide (**33**) [9]. Thử nghiệm hoạt tính chống ký sinh trùng cho thấy hợp chất **25** có hoạt tính chống lại *Leishmania major* với IC₅₀ = 27,8 μ g/mL so với Miltefosine là chất đối chứng dương (IC₅₀ = 7,47 μ g/mL). Hoạt tính của các hợp chất phân

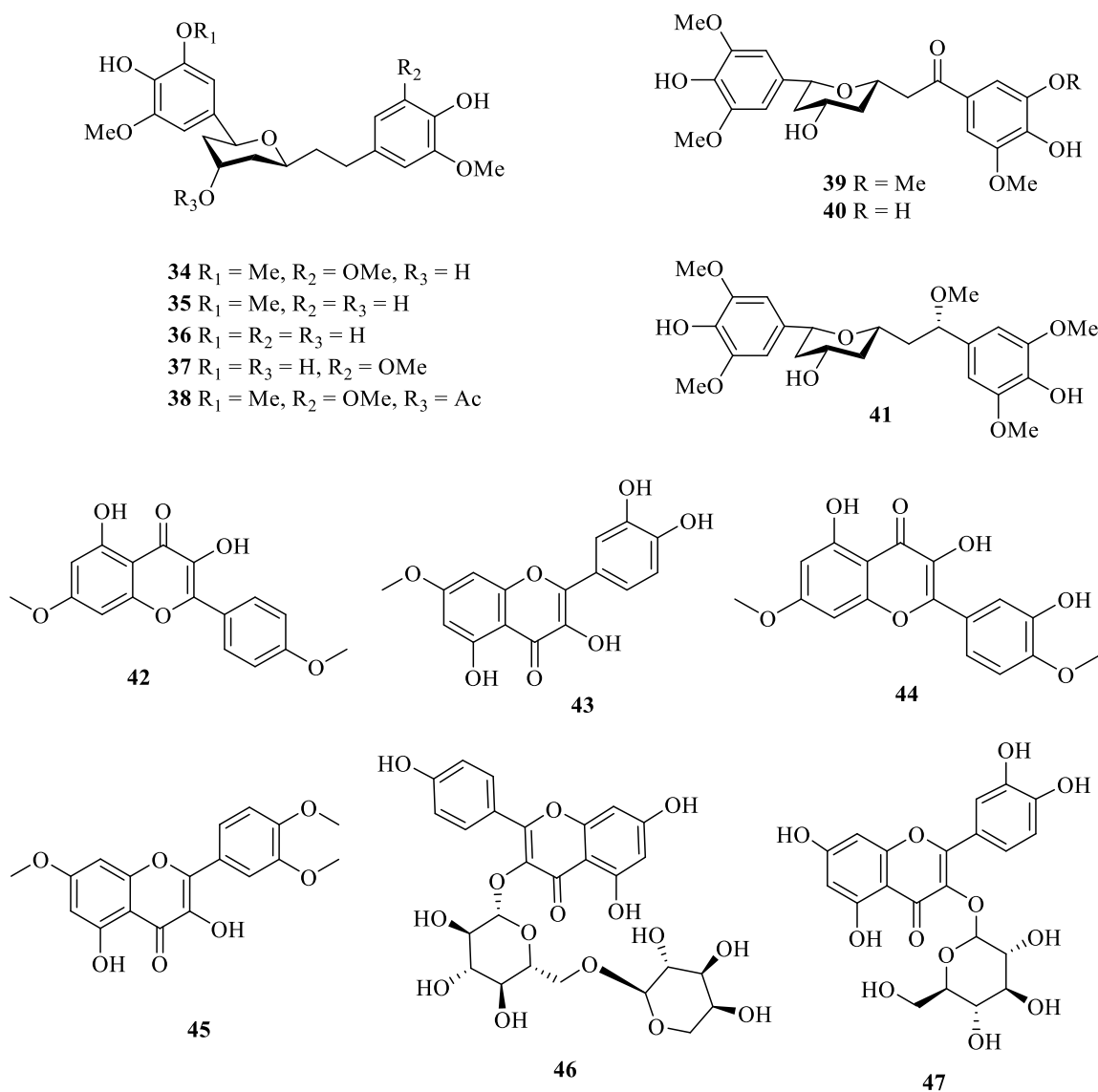
lập cũng được đánh giá chống lại *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei gambisense* và *Trypanosoma brucei rhodeisense*. Bên cạnh đó, hợp chất **25** có hoạt tính mạnh chống lại trypanosome [9].



Hình 1.5. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của phần thân rễ khô loài *A. galanga*

Năm 2021, 14 hợp chất được Xiao-Li Cheng và cộng sự phân lập từ cao chiết ethanol của rễ loài *A. coriandriodora* bao gồm (1*S*,3*R*,5*S*)-1,5-epoxy-1,7-bis(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)heptan-3-ol (**34**), (1*S*,3*R*,5*S*)-1,5-epoxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)heptan-3-ol (**35**), (1*S*,3*R*,5*S*)-1,5-epoxy-1-(3,4 dihydroxy-5-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) heptan-3-ol (**36**), (1*S*,3*R*,5*S*)-1,5-epoxy-1-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) heptan-3-ol (**37**), (1*S*,3*R*,5*S*)-3-*O*-aceyl-1,5-epoxy-1,7-bis(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)heptan-3-ol (**38**), (1*R*,3*S*,5*S*)-1,5-epoxy-3-hydroxy-1,7-bis(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)heptan-7-one (**39**), (1*R*,3*S*,5*S*)-1,5-epoxy-3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)heptan-7-one (**40**), (1*R*,3*S*,5*S*,7*S*)-1,5-epoxy-7-methoxy-1,7-bis(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) heptan-3-ol (**41**), 7,4'-di-*O*-methylkaempferol (**42**), 7-*O*-methylquercetin (**43**), 7,4'-di-*O*-methylquercetin (**44**), 7,3',4'-tri-*O*-methyl-quercetin (**45**), kaempferol 3-*O*- β -D-(6-*O*- α -L-

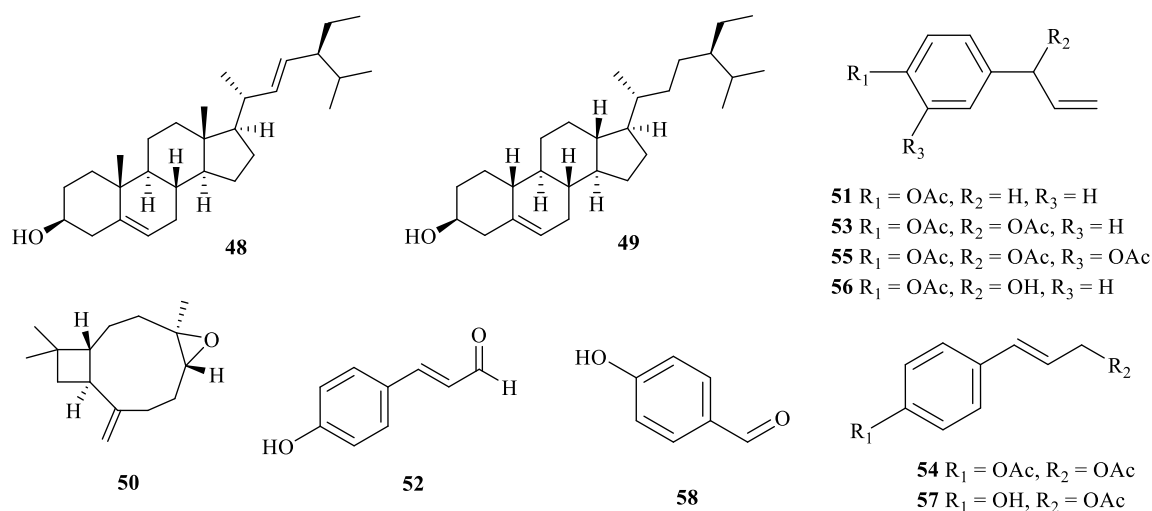
rhamnopyranosyl)glucopyranoside (**46**) và 3-*O*- β -D-glucopyranuronosylquercetin (**47**). Hợp chất **34-41** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. coriandriodora* [10]. Hoạt tính chống viêm của các hợp chất **34-41** được đánh giá thông qua khả năng ức chế sản sinh oxit nitric (NO) khi lipopolysaccharide kích thích tế bào do RAW 264,7. Hợp chất **36** và **38** thể hiện ức chế NO với các giá trị IC₅₀ lần lượt 36,9 và 34,1 μ M so với đối chứng dương dexamethasone có IC₅₀ = 33,6 μ M [10].



Hình 1.6. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethanol của rễ loài *A. coriandriodora*

Năm 2013, nhóm nghiên cứu Aziz và cộng sự đã phân lập được 11 hợp chất từ cao chiết *n*-hexane và dichloromethane của rễ và thân loài *A. conchigera* bao gồm 2 steroid: stigmasterol (**48**) và β -sitosterol (**49**), 1 sesquiterpene: caryophyllene oxide (**50**), 7 phenyl propanoid: chavicol acetate (**51**), *p*-hydroxy cinnamaldehyde (**52**), 1'S-1'-acetoxychavicol acetate (**53**), *trans*-*p*-coumaryl diacetate (**54**), 1'S-1'-acetoxyeugenol acetate (**55**), 1'-hydroxychavicol acetate

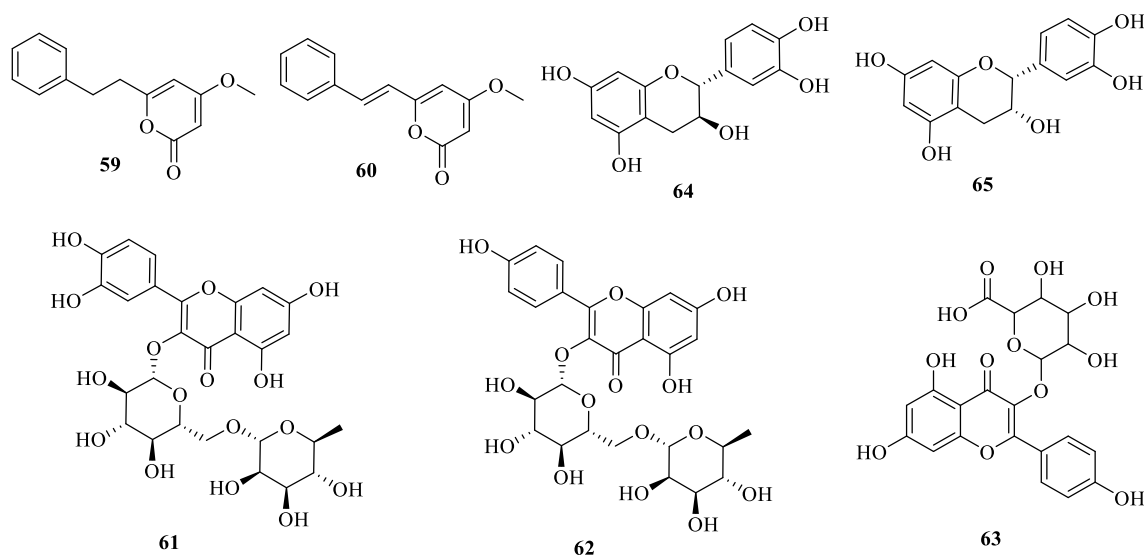
(56), *p*-hydroxycinnamyl acetate (57) và 1 phenolic: 4-hydroxybenzaldehyde (58) [11]. Dịch chiết dichloromethane của rễ loài *A. conchigera* có hoạt tính kháng nấm mạnh đối với *Candida albicans*, *Microsporum canis* và *Trycophyton rubrum* với giá trị MIC lần lượt là 625 mg/mL, 156 mg/mL và 156 mg/mL. Trong số các hợp chất phân lập được, hợp chất 55 ức chế vi khuẩn ngoài da với MIC = 313 mg/mL, hợp chất 54 ức chế cả vi khuẩn ngoài da và nấm candida (MIC = 625 mg/mL). Hợp chất 57 ức chế mạnh chủng *Staphylococcus aureus* VISA 24 (MIC = 39 mg/mL), hợp chất 54 và 56 ức chế trung bình với giá trị MIC là 156 mg/mL [11].



Hình 1.7. Các hợp chất phân lập từ cao chiết *n*-hexane và dichloromethane của rễ và thân loài *A. conchigera*

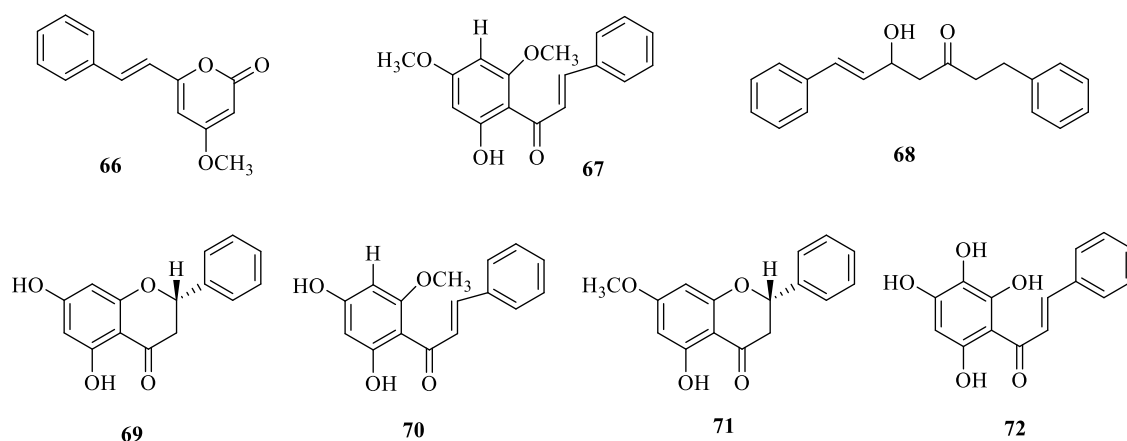
Trong các công trình nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của các loài *Alpinia*, flavonoid và diarylheptanoid là các lớp chất thiên nhiên có các hoạt tính sinh học thú vị, đặc biệt là tác dụng chống oxy hóa và ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase.

Năm 1998 nhóm nghiên cứu Mpalantinos và cộng sự đã phân lập được 7 hợp chất từ cao chiết *n*-hexan, ethyl acetate và butanol của lá loài *A. zerumbet*. Hợp chất pyrone dihydro-5,6-dehydrokawain (59) và 5,6-dehydrokawain (60) được phân lập từ cao chiết *n*-hexan, thể hiện hoạt tính chống ung thư và huyết khối. Khi phân lập từ cao chiết ethyl acetate và butanol thu được một số hợp chất flavonoid như rutin (61), kaempferol-3-*O*-rutinoside (62), kaempferol-3-*O*-glucuronide (63), (+)-catechin (64) và (-)-epicatechin (65) có hoạt tính chống ung thư và hạ huyết áp [12].



Hình 1.8. Các hợp chất phân lập từ cao chiết *n*-hexan, ethyl acetate và butanol của lá loài *A. zerumbet*

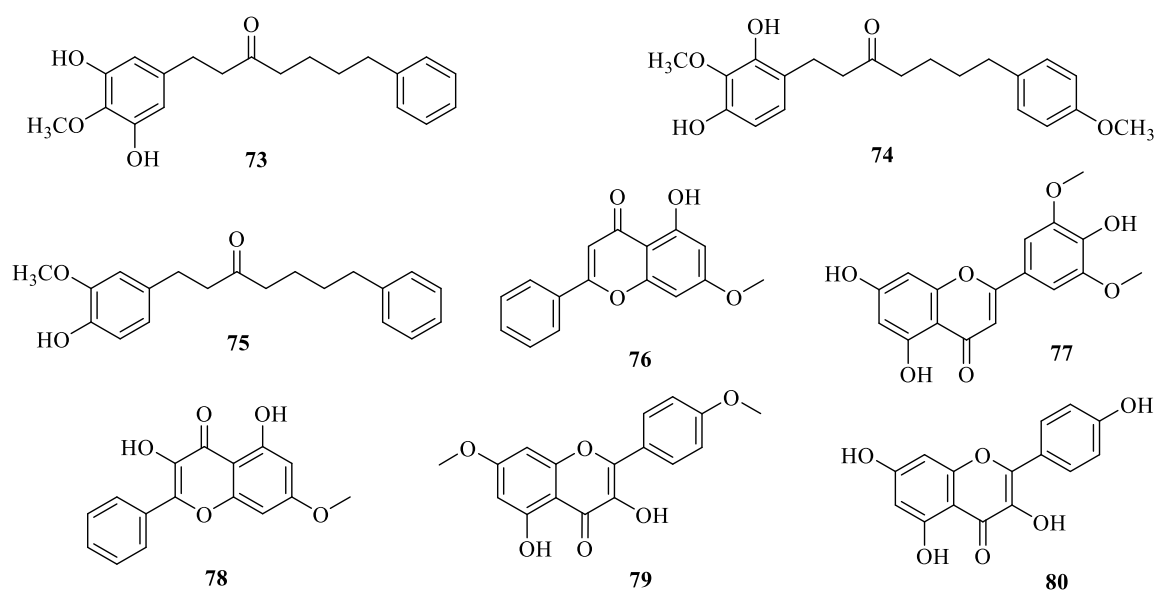
Năm 2004, từ cao chiết methanol của quả loài *A. rafflesiana* nhóm tác giả Habsah Mohamad và cộng sự đã phân lập được 7 hợp chất gồm 5,6-dehydrokawain (**66**), flavokawin B (**67**), 1,7-diphenyl 5-hydroxy-6-hepten-3-one (**68**), (-)-pinocembrin (**69**), cardamonin (**70**), (-)-pinostrobin (**71**) và 2',3',4',6'-tetrahydroxychalcone (**72**). Hợp chất **72** có hoạt tính chống oxi hóa bắt gốc tự do DPPH ($IC_{50} = 55 \mu M$) cao hơn vitamin C ($IC_{50} = 91 \mu M$) và α -tocopherol ($IC_{50} = 96 \mu M$) nhưng yếu hơn so với quercetin ($IC_{50} = 15,8 \mu M$) [13].



Hình 1.9. Các hợp chất phân lập từ cao chiết methanol của quả loài *A. rafflesiana*

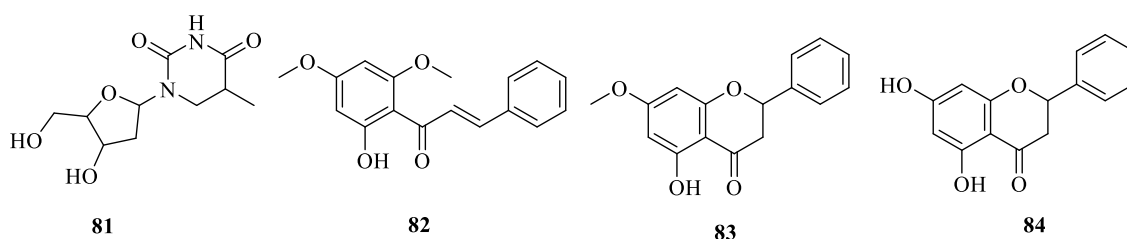
Năm 2013, khi nghiên cứu về quả loài *A. oxyphylla* nhóm tác giả Qing-Ya Bian và cộng sự đã phân lập được 8 hợp chất từ cao chiết ethanol bao gồm 1-

(3',5'-dihydroxy-4'-methoxyphenyl)-7-phenyl-3-heptanone (**73**), 1-(2',4'-dihydroxy-3'-methoxyphenyl)-7-(4"-methoxyphenyl)-3-heptanone (**74**), yakuchinone A (**75**), tectochrysin (**76**), chrysin (**77**), izalpinin (**78**), kaempferol 7, 4'-dimethyl ether (**79**) và kaempferide (**80**). Hợp chất **73-74** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. oxyphylla* [14]. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất phân lập được bằng phương pháp DPPH, hợp chất **73-75** và **78-80** thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh với các giá trị IC_{50} trong khoảng 39,64–192,71 mg/mL [14].



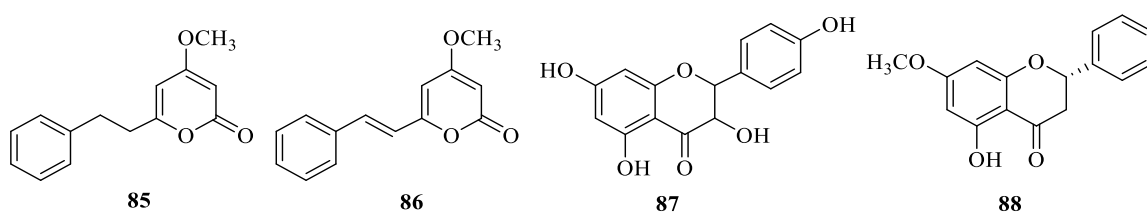
Hình 1.10. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethanol của quả loài *A. oxyphylla*

Năm 2013, khi nghiên cứu thành phần hóa học từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài *A. mutica*, nhóm nghiên cứu Mustahil và cộng sự đã phân lập được 4 hợp chất flavonoid gồm 5,6-dehydrokawain (**81**), flavokawin B (**82**), pinostrobin (**83**) và pinocembrin (**84**). Các hợp chất phân lập từ loài *A. mutica* đều cho thấy khả năng gây độc tế bào đối với tế bào ung thư CEMss trong đó hợp chất **82** có hoạt tính gây độc tế bào mạnh với giá trị IC_{50} là 1,86 μ g/mL [15].



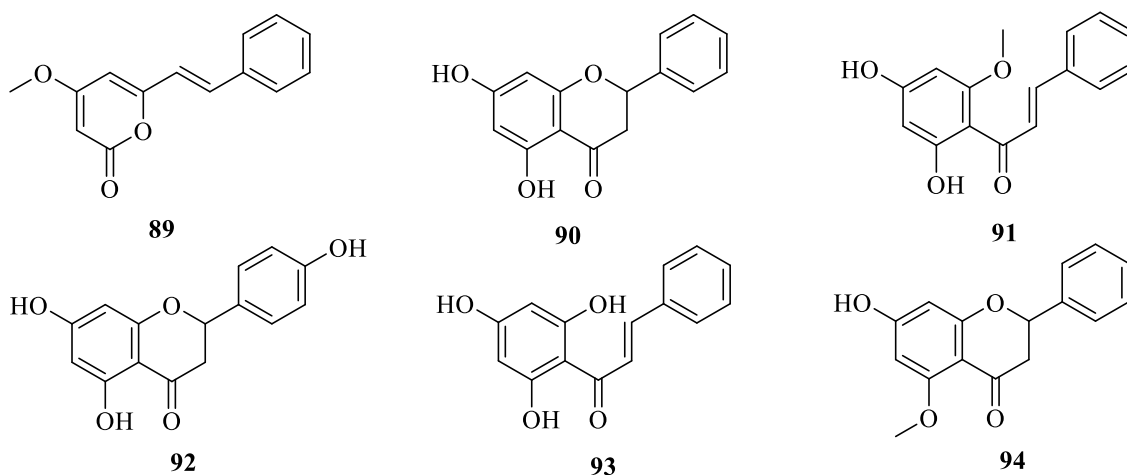
Hình 1.11. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài *A. mutica*

Năm 2017, nhóm nghiên cứu Junior và cộng sự đã phân lập được 4 hợp chất flavonoid từ cao chiết dichloromethane và ethanol của lá loài *A. zerumbet* bao gồm didro-5,6-dehydrokavain (**85**), 5,6-dehydrokavain (**86**), 3,4',5,7-tetrahydroxyflavone (**87**), 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenyl-2,3-dihydrochromen-4-one (**88**). Trong đó, hợp chất **87-88** lần đầu tiên phân lập từ loài *A. zerumbet* [16]. Trong số các hợp chất phân lập được, hợp chất **86** có tác dụng chống tăng sinh mạnh đối với các tế bào u nguyên bào thần kinh đệm (U-251) với giá trị TGI = 4,43 $\mu\text{g/mL}$. Hợp chất **88** có tác dụng kìm hãm tế bào ($\text{GI}_{50} < 0,25 \mu\text{g/mL}$) đối với các tế bào ung thư biểu mô vú (MCF-7) [16].



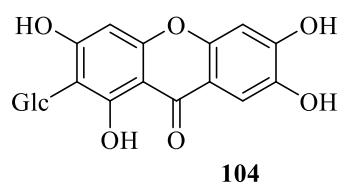
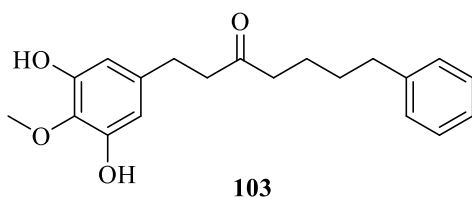
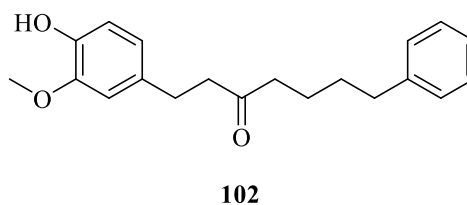
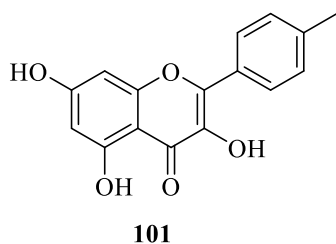
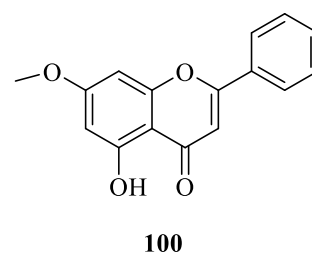
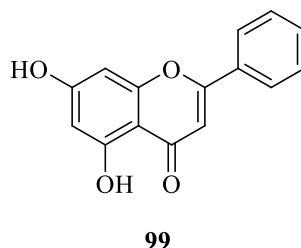
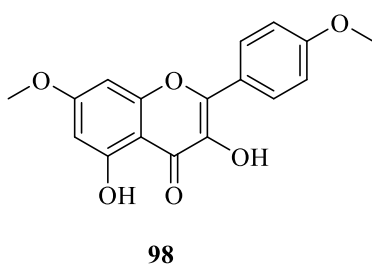
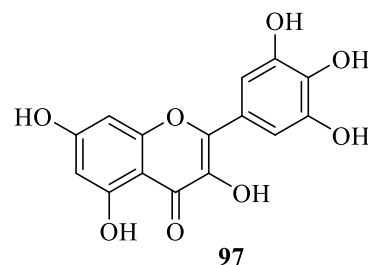
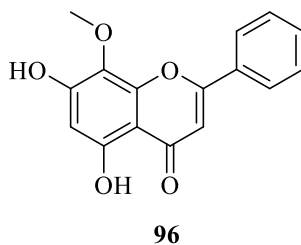
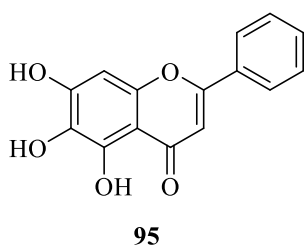
Hình 1.12. Các hợp chất phân lập từ cao chiết dichloromethane và ethanol của lá loài *A. zerumbet*

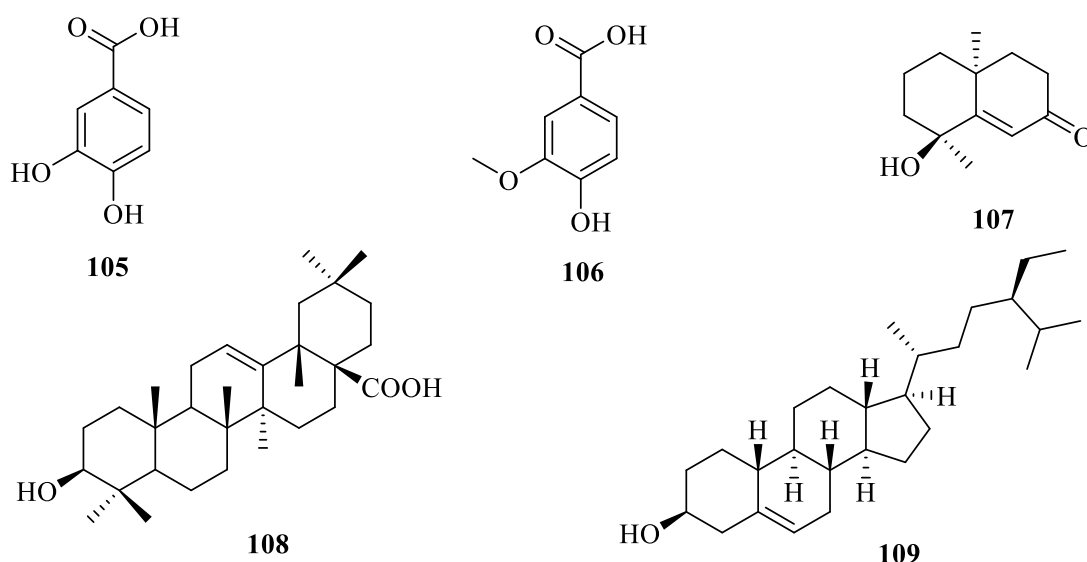
Năm 2022, 6 hợp chất flavonoid bao gồm 5,6-dehydrokawain (**89**), pinocembrin (**90**), cardamomin (**91**), naringenin (**92**), pinocembrin chalcone (**93**) và alpinetin (**94**) đã được phân lập từ cao chiết ethyl acetate của hạt loài *A. mutica*. Hợp chất **92** có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 8,77 μM và hợp chất **90** cũng cho thấy hoạt tính với giá trị IC_{50} là 62,77 μM [17].



Hình 1.13. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của hạt loài *A. mutica*

Nhóm nghiên cứu Shuyu Xu và cộng sự đã phân lập được 15 hợp chất từ cao chiết ethyl acetate của quả khô loài *A. oxyphylla* bao gồm baicalein (**95**), wogonin (**96**), myricetin (**97**), 3,5-dihydroxy-7,4' dimethoxyflavone (**98**), chrysin (**99**), tectochrysin (**100**), kaempferol (**101**), yakuchinone A (**102**), 1-(3-5-dihydroxy-4-methoxy-phenyl)-7-phenyl-3-heptanone (**103**), mangiferin (**104**), protocatechuic acid (**105**), vanillic acid (**106**), teuhetenone A (**107**), oleanolic acid (**108**) và β -sitosterol (**109**). Hợp chất **95-97** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. oxyphylla* [18]. Các hợp chất phân lập từ loài *A. oxyphylla* được đánh giá hoạt tính bảo vệ thần kinh. Hợp chất **99** thể hiện hoạt tính bảo vệ thần kinh tốt. Kết quả MTT cho thấy các nồng độ chrysin có tác dụng khác nhau: tác dụng cực kỳ rõ rệt ở 5-10 μ M và tác dụng rõ ở 20-30 μ M trên các tế bào PC12 được kích thích bằng glutamate mà không gây độc tế bào trên các tế bào PC12 ở trạng thái bình thường [18].





Hình 1.14. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của quả khô loài *A. oxyphylla*

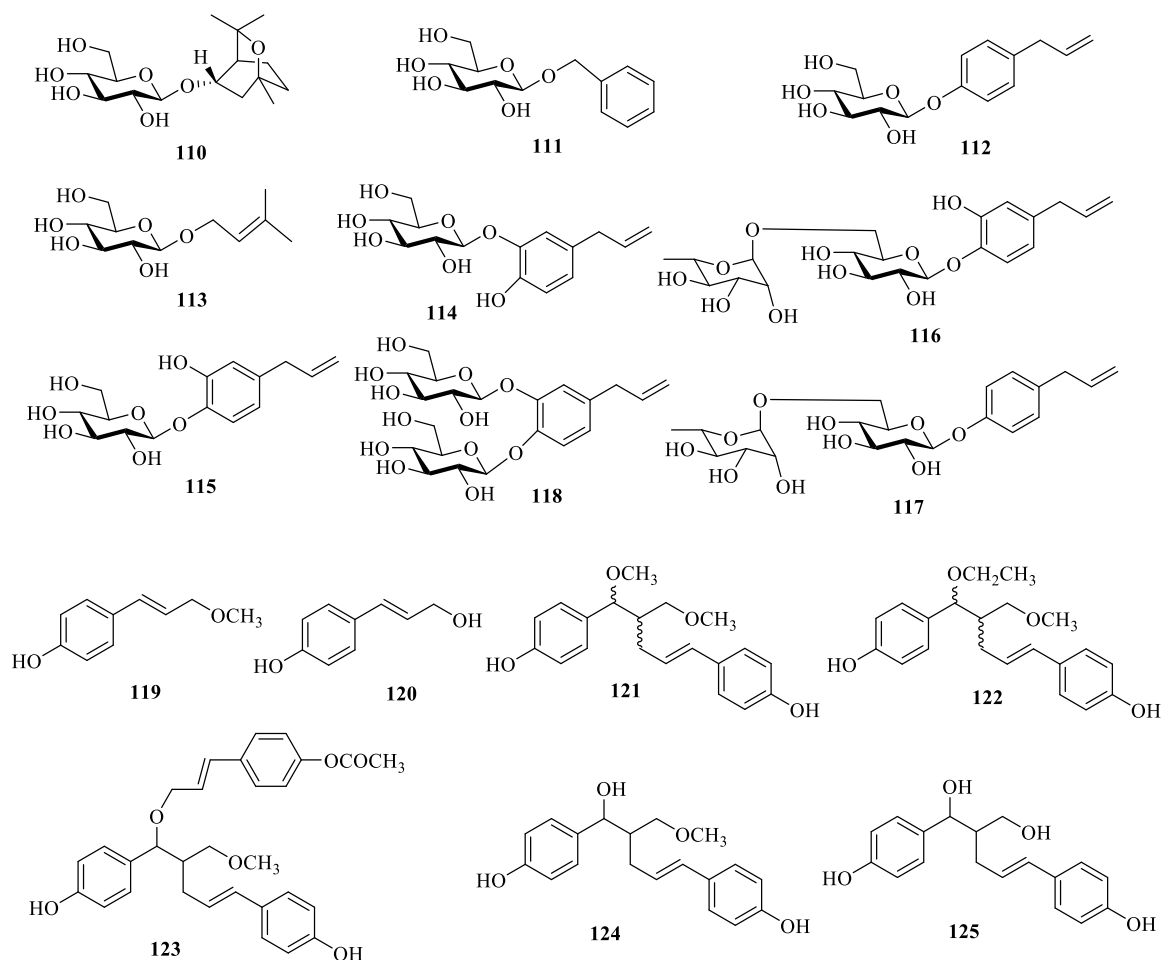
1.1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Alpinia*

Tại Việt Nam, việc nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Alpinia* đã đạt được một số kết quả đáng quan tâm.

Năm 2002, từ cao chiết methanol của thân rễ tươi loài *A. officinarum*, nhóm nghiên cứu Lý Ngọc Trâm và cộng sự đã phân lập được 9 hợp chất glycoside bao gồm (1*R*,3*S*,4*S*)-*trans*-3-hydroxy-1,8-cineole- β -D-glucopyranoside (**110**), benzyl- β -D-glucopyranoside (**111**), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-4-allylbenzene (**112**), 3-methyl-but-2-en-1-yl- β -D-glucopyranoside (**113**), 1-hydroxy-2-*O*- β -D-glucopyranosyl-4-allylbenzene (**114**), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-2-hydroxy-4-allylbenzene (**115**), 1-*O*-(6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosyl)-2-hydroxy-4-allylbenzene (**116**), 1-*O*-(6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosyl)-4-allylbenzene (**117**) và 1,2-di-*O*- β -D-glucopyranosyl-4-allylbenzene (**118**) [19]. Trong đó, hợp chất **113-118** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. officinaru* [19].

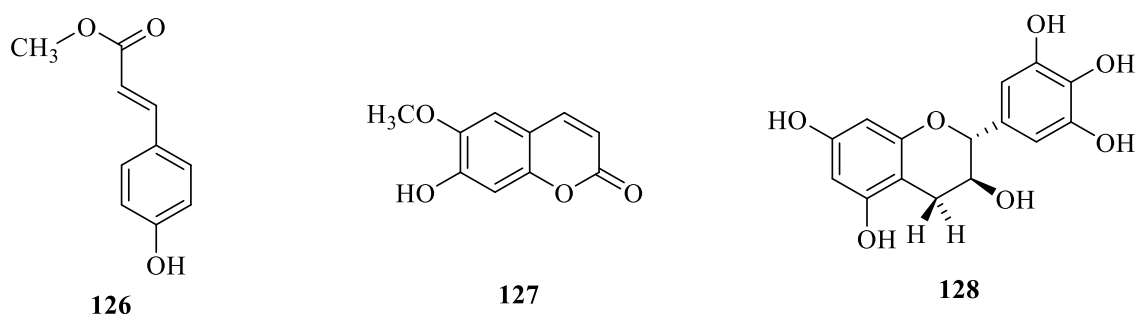
Năm 2003, tác giả Lý Ngọc Trâm và các cộng sự tiếp tục phân lập được 7 hợp chất phenylpropanoid từ cao chiết methanol của thân rễ tươi loài *A. officinarum* bao gồm (*E*)-*p*-coumaryl alcohol γ -*O*-methyl ether (**119**) và (*E*)-*p*-coumaryl alcohol (**120**), (4*E*)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-methoxy-2-(methoxy-methyl)-4-pentene (**121**), (4*E*)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-ethoxy-

2-(methoxymethyl)-4-pentene (**122**), (4*E*)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-[(2*E*)-3-(4-acetoxyphenyl)-2-propenoxy]-2 (methoxymethyl)-4-pentene (**123**), (4*E*)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-2-(methoxymethyl)-4-penten-1-ol (**124**) và (4*E*)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-4-penten-1-ol (**125**). Hợp chất **121-125** lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. officinaru* [20]. Các hợp chất **119-125** thể hiện hoạt tính chống lại quá trình tự oxy hóa của methyl linoleate trong pha khối [20].



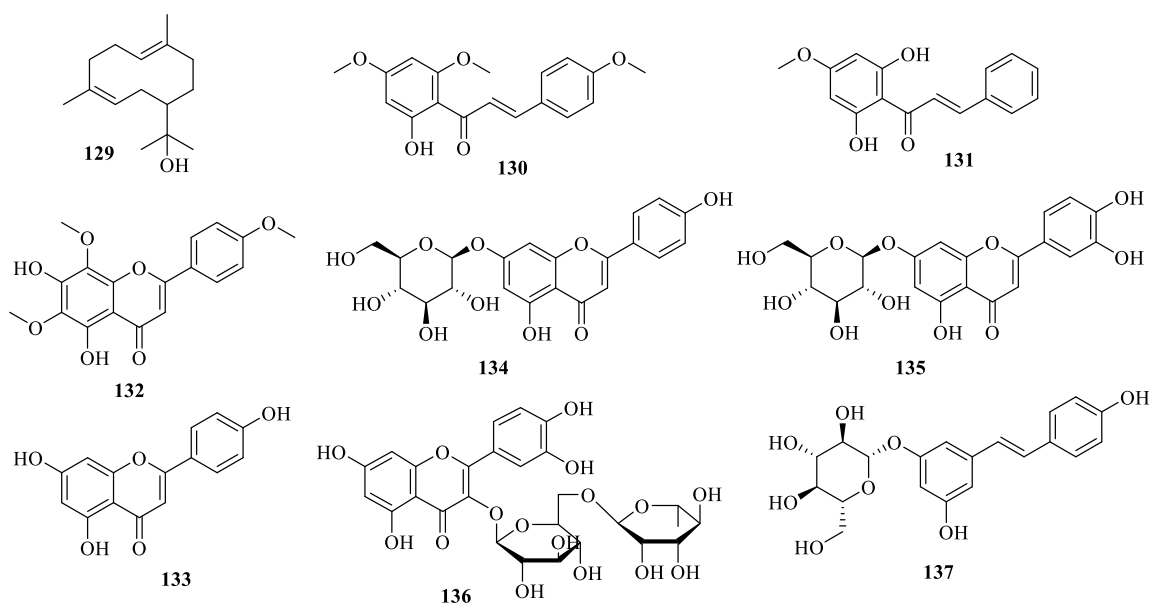
Hình 1.15. Các hợp chất phân lập từ cao chiết methanol của thân rễ tươi loài *A. officinarum*

Năm 2018, ba hợp chất gồm methyl-*trans-p*-coumarate (**126**), scopoletin (**127**) và (+)-galocatechin (**128**) đã được phân lập từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài *A. kwangsiensis* [21]. Cao chiết ethyl acetate có hoạt tính chống lại hai vi khuẩn Gram dương (*Staphylococcus aureus* và *Bacillus subtilis*) với giá trị IC_{50} lần lượt là 74,65 và 80,54 g/mL. Cao chiết này cũng cho thấy hoạt tính chống oxy hóa trong hoạt động bắt gốc tự do DPPH với giá trị EC_{50} là 87,98 g/mL [21].



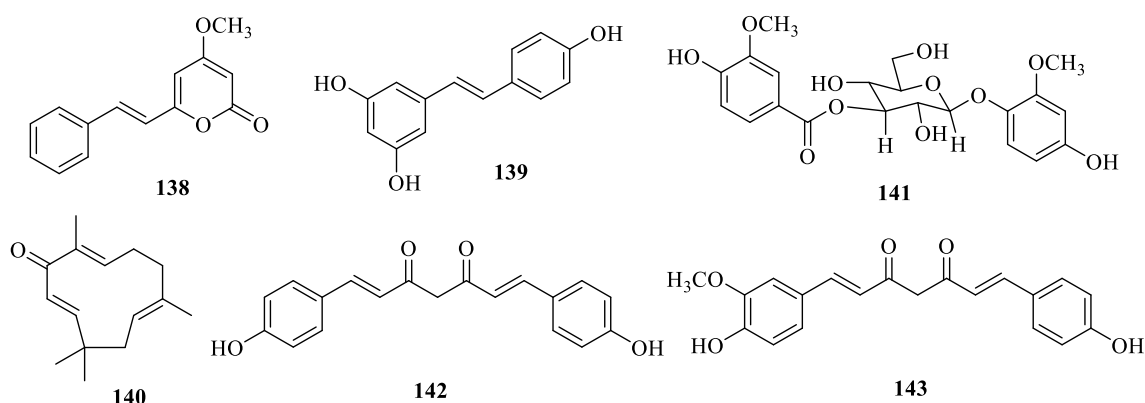
Hình 1.16. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate của rễ loài *A. kwangsiensis*

Nguyễn Ngọc Tuấn và các cộng sự năm 2020 đã phân lập được chín hợp chất từ cao chiết ethyl acetate và butanol của hạt loài *A. blepharocalyx* [22]. Trong đó, cao chiết ethyl acetate thu được 1 hợp chất sesquiterpene là alpiblepharin A (**129**) và 4 hợp chất flavonoid gồm flavokawain A (**130**), 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone (**131**), nevadensin (**132**), apigenin (**133**); 4 hợp chất flavonoid khác gồm apigetrin (**134**), cynaroside (**135**), rutin (**136**) và polydatin (**137**) được phân lập từ cao chiết butanol. Hợp chất **129** thể hiện sự ức chế đáng kể nhất đối với việc tạo ra anion superoxide và giải phóng elastase với giá trị IC_{50} lần lượt là 4,3 và 6,3 μ M. Các hợp chất **129-137** được đánh giá về khả năng gây độc tế bào *in vitro* đối với tế bào dòng ung thư KB, HepG2, SK-LU-1 và MCF7. Các hợp chất **130-137** thể hiện hoạt tính trung bình ức chế các dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} là 37,00 đến 55,41 μ g/mL. Hợp chất **129** thể hiện khả năng gây độc tế bào đáng kể đối với các dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} từ 15,23 đến 25,81 μ g/mL [22].



Hình 1.17. Các hợp chất phân lập từ cao chiết ethyl acetate và butanol của hạt loài *A. blepharocalyx*

Gần đây nhất, năm 2022 nhóm nghiên cứu Nguyễn Ngọc Tuấn và cộng sự tiếp tục phân lập được 6 hợp chất từ cao chiết chloroform và butanol của rễ loài *A. blepharocalyx* bao gồm desmethoxyyangonin (**138**), resveratrol (**139**), zerumbone (**140**), 4-hydroxy-2-methoxyphenoxy- β -D-{3''-O-[4'-hydroxy-3'-methoxy (benzoate)]}-glucopyranoside (**141**), bisdemethoxycurcumin (**142**), demethoxycurcumin (**143**). Các hợp chất phân lập được có hoạt tính chống viêm. Hợp chất **138-143** thể hiện ức chế vừa phải với giá trị IC_{50} 7,66 - 14,06 μ M [23].



Hình 1.18. Các hợp chất phân lập từ cao chiết chloroform và butanol của rễ loài *A. blepharocalyx*

Như vậy, các hợp chất đặc trưng của các loài thuộc chi *Alpinia* là flavonoid, terpenoid, diarylheptanoid, steroid,... được tìm thấy có tiềm năng rất lớn cho y học như có tác dụng chống viêm, chống oxi hóa... Tuy nhiên, cho đến nay số lượng nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài *Alpinia* ở Việt Nam vẫn còn ở mức độ sơ khai. Vì vậy, việc tiếp tục lựa chọn và nghiên cứu sâu các loài *Alpinia* ở Việt Nam là cần thiết.

1.2. Giới thiệu về loài Riêng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) [24]

Loài Riêng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) là một loài thực vật mới thuộc họ Zingiberaceae và chi *Alpinia* được tìm thấy tại miền Trung Việt Nam.

Đặc điểm: Cây thảo, mọc thành cụm 3-9(16) cây, cao 1-1,2(-1,5) m. Lưỡi lá nguyên hay xẻ 2 thùy, phiến lá thuôn, 22-42×6-8 cm, nhẵn. Cụm hoa trên ngọn, thẳng, dài 15-25 cm. Lá bắc 1, dài đến 7 cm, màu nâu đỏ, sớm rụng; lá bắc con tồn tại. Hoa dài 5,8-6,2 cm, đài hình ống, màu đỏ sẫm, 24-27×7-9 cm, xẻ sâu xuống 1,4-1,5 cm, đầu 2 thùy; ống tràng dài 1,8-2 cm, thùy tràng lưng

hình trứng ngược, màu trắng, lõm, $3,2-3,6 \times 1,9-2,2$ cm, đôi khi màu hồng đỏ phía đầu, thùy tràng bên thuôn, $32-37 \times 10-11$ cm. Cánh môi hình trứng rộng, 3 thùy, $4,2-4,8 \times 4-4,3$ cm (ở gốc) - $22-29$ (ở đầu cánh môi), từ gốc cánh môi có các sọc đỏ xếp sát nhau tỏa ra 2 bên và thưa hơn ở phía trên, mép 2 bên phía dưới màu vàng; nhị lép bên dạng dùi, 3-5 mm, đỏ vàng ở đầu; chỉ nhị dài đến 2 cm, đỏ ở gốc, màu kem phía đầu, bao phấn 2 ô, dài 1,8-1,9 cm, trung đới màu vàng. Vòi nhụy lép 2, màu kem, dài 2,5-3 mm; bầu hình trứng, $5,5-6,5 \times 4,5-5$ mm, xanh, có lông; vòi nhụy dài đến 6 cm, núm nhụy dạng cốc, mép có lông mi ngắn. Quả hình tròn, đường kính 1,8-2,4 cm, dài tồn tại trên đầu quả.

Sinh học và sinh thái: Mùa hoa từ tháng 2 đến tháng 6, mùa quả khoảng từ tháng 4 đến tháng 8. Loài mọc ở nơi ẩm thấp ven suối trong rừng thường xanh, độ cao từ 160 m đến 1100 m so với mặt nước biển. Loài này rất hiếm tại địa phương và thường mọc thành một hoặc một số cụm nhỏ và hiếm khi mọc thành cụm lớn hơn với tối đa 20 chồi.

Phân bố: Loài *Alpinia vietnamica* xuất hiện chủ yếu ở miền Trung Việt Nam, đặc biệt từ Thừa Thiên Huế (Vườn quốc gia A Lưới và Bạch Mã) đến phía nam tỉnh Quảng Nam. Nó cũng được tìm thấy ở Kon Plông và Măng Đen, tỉnh Kon Tum.



Hình 1.19. Cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)

Hiện nay chưa có bất kỳ công trình nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *Alpinia vietnamica*. Như vậy, việc nghiên cứu về loài *Alpinia vietnamica* sẽ góp phần khám phá rõ hơn những tác dụng dược lý chữa bệnh của cây chưa được đề cập trong y học cổ truyền và phát hiện các hoạt chất tiềm năng có ứng dụng trong y học hiện đại.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Riềng Việt Nam (*A. vietnamica*) được thu hái tại Thượng Quảng, Nam Đông, Thừa Thiên Huế, Việt Nam vào tháng 8 năm 2021. Mẫu thực vật được xác định bởi nhà thực vật học Vũ Tiến Chính, Bảo tàng Thiên nhiên Quốc gia Việt Nam. Tiêu bản mẫu AV-2021 đã được lưu trữ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp ngâm chiết [25]

Phương pháp chiết xuất đòi hỏi sự lựa chọn cẩn thận về dung môi, dụng cụ và quy trình chiết. Do đó, không thể áp dụng một phương pháp chiết xuất chung cho tất cả các loại dược liệu.

Hiện nay có hai phương pháp ngâm chiết phổ biến:

Phương pháp 1: Phương pháp ngâm chiết xuất được áp dụng để khảo sát sơ bộ khi chưa biết rõ thành phần hóa học của dược liệu. Phương pháp này sử dụng một chuỗi dung môi từ không phân cực đến phân cực mạnh để tách các hợp chất từ dược liệu. Ví dụ, chuỗi dung môi bao gồm: *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol và cuối cùng là nước.

Phương pháp 2: Khi muốn chiết xuất toàn bộ thành phần từ dược liệu, phương pháp ngâm thường sử dụng dung môi như methanol hoặc ethanol (80-100%). Đặc biệt, methanol được coi là dung môi đa dụng, có khả năng tan chất không phân cực và tạo liên kết hydrogen với các nhóm phân cực khác. Sau khi chiết với methanol, tiến hành loại hết dung môi thu được cao chiết toàn phần, chứa hầu hết các hợp chất từ dược liệu. Khi cần tách phân đoạn các hợp chất từ cao chiết thì sử dụng dung môi không hòa tan trong nước và có độ phân cực từ yếu đến mạnh. Ví dụ như chuỗi dung môi gồm: ether dầu, ether, chloroform, ethyl acetate, *n*-buthanol.

Phương pháp chiết ngâm lạnh là phương pháp đơn giản nhất và đã được sử dụng từ lâu. Sau khi chuẩn bị dược liệu, đổ dung môi vào bình chiết xuất sao cho dược liệu được ngập trong dung môi. Sau một khoảng thời gian nhất định để dược liệu ngâm trong dung môi, thực hiện rút lấy dịch chiết. Để tăng cường hiệu quả chiết xuất, có thể khuấy trộn hoặc rút dịch chiết ở phía dưới và đổ lên phía trên. Quy trình này có thể được lặp lại một hoặc nhiều lần.

2.2.2. Các phương pháp phân tích sắc ký [26]

2.2.2.1. Phương pháp sắc ký lớp mỏng

Sắc ký lớp mỏng là một phương pháp phân tích lý - hóa, trong đó các chất được tách ra khỏi một hỗn dựa trên sự "phân bố" liên tục giữa hai pha: pha tĩnh (thường là silica gel, aluminium oxit được phủ trên một mặt phẳng chất trơ) và pha động (bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp, được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn).

Chuẩn bị sắc ký:

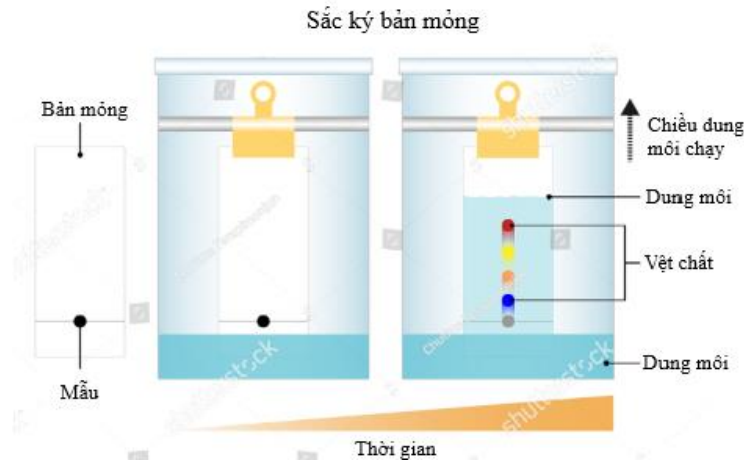
Bản sắc ký được tạo ra bằng cách trộn chất hấp phụ như silica gel với một lượng nhỏ chất kết dính như canxi sunfat (thạch cao) và nước. Hỗn hợp này sau đó được trải đều trên một bề mặt chất trơ như thủy tinh, nhôm, hoặc nhựa. Bản sắc ký này sau đó sẽ được để khô và kích hoạt bằng cách nung nóng trong lò ở nhiệt độ 110°C trong 30 phút. Độ dày của lớp hấp phụ thường là 0.1 - 0.25 mm cho mục đích hóa học phân tích và khoảng 1-2 mm cho sắc ký lớp mỏng dự bị. Mọi kỹ thuật sắc ký đều bao gồm một pha động và một pha tĩnh.

Kỹ thuật:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng thực hiện tương tự như sắc ký giấy nhưng có lợi thế là nhanh chóng hơn, hiệu quả trong việc tách hỗn hợp và có sự lựa chọn giữa các "pha tĩnh" khác nhau. Bằng cách này, sắc ký lớp mỏng thường được sử dụng để giám sát các phản ứng hóa học và phân tích chất lượng sản phẩm của các phản ứng.

Trong phương pháp này, một vệt nhỏ của dung dịch chứa mẫu thử được đặt lên bản sắc ký, khoảng cách 1 cm từ phía dưới. Bản sắc ký sau đó được ngâm vào một dung môi thích hợp như ethanol hoặc nước và đặt vào một vật chứa nắp đậy. Dung môi di chuyển lên bản sắc ký bởi mao dẫn, tiếp xúc với mẫu thử và dịch chuyển nó lên trên bản sắc ký. Các hợp chất trong mẫu thử dịch chuyển với các tốc độ khác nhau tùy thuộc vào tính chất phân cực và khả năng hòa tan trong dung môi.

Trong sắc ký lớp mỏng, dung môi phải khác với pha tĩnh về tính chất phân cực. Nếu một dung môi có tính phân cực được sử dụng để hòa tan mẫu thử trên một pha tĩnh phân cực, vệt mẫu thử sẽ lan tròn do mao dẫn và các vệt có thể trộn lẫn vào nhau. Để tránh hiện tượng này, dung môi phải không phân cực hoặc chỉ có tính phân cực một phần, phù hợp với pha tĩnh.



Hình 2.1. Sắc ký bản mỏng khi chấm và chạy trong dung môi

Phân tích:

Một số chất hóa học sau khi được tách ra có thể trở thành không màu, và có một số phương pháp để quan sát những vết này:

- Một lượng nhỏ chất huỳnh quang, thường là maganese-activated zinc silicate được thêm vào chất hấp phụ để có thể quan sát được những vết này dưới ánh sáng đen (tia cực tím UV254). Lớp hấp phụ sẽ tự phát ra ánh sáng lục, nhưng các vết mẫu sẽ làm tắt ánh sáng này.

- Hơi iodine cũng là một loại thuốc thử cho màu giống nhau.

- Một số thuốc thử có màu riêng biệt được dùng để nhúng bản sắc ký vào hoặc phun lên bản sắc ký.

- Đối với các chất béo, sắc phổ có thể được chuyển qua màng polyvinylidene fluorua (PVDF) và sau đó được phân tích chi tiết hơn, ví dụ như khối phổ.

Khi đã quan sát được, hệ số lưu R_f của mỗi vết mẫu sẽ được xác định bằng cách chia khoảng cách di chuyển được của hợp chất cho khoảng cách di chuyển được của dung môi. Những con số này phụ thuộc vào các loại dung môi và bản sắc ký được sử dụng và không phải là hằng số.

2.2.2.2. Phương pháp sắc ký cột

Sắc ký cột là một dạng của sắc ký bản mỏng. Trong sắc ký cột, chất hấp phụ pha tĩnh được nhồi trong các ống hình trụ gọi là “cột”. Nhờ vậy mà có thể triển khai nhiều hệ dung môi khác nhau từ phân cực yếu đến mạnh. Dựa vào độ phân cực của các chất, những chất có ái lực lớn hơn đối với chất hấp phụ sẽ ra

khỏi cột chậm hơn và những chất có ái lực yếu hơn sẽ ra khỏi cột nhanh hơn trong 15 quá trình sắc ký. Sự tách trong cột xảy ra chủ yếu theo cơ chế hấp phụ hoặc phân bố tùy theo tính chất của chất được sử dụng làm cột.

Chuẩn bị chất hấp phụ và cột: Silicagel phải được hoạt hóa ở 120°C trong 4 giờ trước khi đưa lên cột. Cột sắc ký phải là một khối đồng nhất, phải được làm khô hoàn toàn và lắp thẳng đứng trên một giá cố định, vững chắc.

Nhồi cột: Chất hấp phụ cần được phân tán đều trong cột. Có hai phương pháp nhồi cột: nhồi khô và nhồi ướt với dung môi. Sau khi chất hấp phụ được đưa vào cột, dung môi được rót vào cột và cho chạy một khoảng thời gian liên tục để ổn định cột, không để dung môi khô trong cột.

Đưa chất cần phân tách lên cột: Chất cần tách phải được đưa vào cột sao cho chúng phân tán một cách đồng đều trên mặt cột.

Rửa cột: Có thể rửa cột bằng áp suất thường hoặc áp lực nén, tùy thuộc vào loại chất hấp phụ và tốc độ chảy cần thiết của cột. Dịch chảy ra từ cột có thể được thu ở đáy cột theo từng phân đoạn, theo thời gian hoặc thông qua ống nghiệm có thể chứa dung tích giống nhau.



Hình 2.2. Sắc ký cột

2.2.3. Các phương lý hóa và quang phổ xác định cấu trúc [27]

Các hợp chất phân lập được được xác định thông qua việc kết hợp giữa các dữ kiện phổ khối lượng phân giải cao, phổ NMR 1 chiều ^1H và ^{13}C ; phổ NMR 2 chiều HSQC và HMBC.

Phổ khối lượng (Mass spectrometry - MS)

Phương pháp phổ khối thường được dùng để xác định khối lượng phân tử của chất nghiên cứu dựa trên việc phát hiện các ion phân tử như $[M]^+$, $[M+H]^+$..., từ đó hỗ trợ trong việc xác định công thức phân tử. Phổ HR-ESIMS được đo trên máy quang phổ kế Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL (Hoa Kỳ) tại Viện Hóa sinh Biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Phổ NMR là một công cụ phân tích cấu trúc của các hợp chất hóa học, dựa trên nguyên lý cộng hưởng của các hạt nhân trong từ trường. Trong phổ NMR, có hai thông số quan trọng là độ dịch chuyển hóa học δ và hằng số tương tác spin - spin J. Thông qua phân tích dữ liệu từ các phổ 1D và 2D NMR có thể xây dựng cấu trúc phân tử của mẫu đo.

Sau khi các hợp chất được tinh chế bằng các phương pháp sắc ký sẽ thực hiện đo phổ NMR. Ban đầu, phổ proton ^1H -NMR sẽ được thực hiện trên các hợp chất. Nếu chất đạt được độ tinh khiết, tiếp theo sẽ đo phổ cacbon ^{13}C -NMR. Đối với các hợp chất có cấu trúc đơn giản, thông tin từ các phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR có thể đủ để xác định cấu trúc. Tuy nhiên, đối với các hợp chất phức tạp hơn, cần thêm các phổ NMR hai chiều (HSQC, HMBC) để cung cấp thông tin bổ sung cho việc xác định cấu trúc.

Dữ liệu NMR đã được thu thập ở tần số 600 MHz cho ^1H NMR và 150 MHz cho ^{13}C NMR trên máy quang phổ Bruker 600 MHz tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.4. Các phương pháp thử hoạt tính sinh học

2.2.4.1. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào

* Nguyên lí

Phương pháp MTT lần đầu tiên được Tim Mosman sử dụng để đánh giá hoạt tính gây độc tế bào. Phương pháp này dựa trên khả năng khử MTT (màu vàng) thành formazan (màu tím) do hoạt động của enzym dehydrogenase trong ty thể. Sau đó, hòa tan formazan bằng DMSO và đo mật độ quang tại bước sóng 540 nm. Giá trị hoạt tính được biểu diễn bằng IC_{50} (nồng độ chất thử làm giảm 50% sự phát triển của tế bào) [28].

** Chuẩn bị thí nghiệm*

Các dòng tế bào có nguồn gốc từ Bảo tàng giống chuẩn Hoa kỳ (ATCC) gồm: ung thư biểu mô biểu mô KB (CCL -17TM), ung thư gan Hep G2 (HB - 8065TM), ung thư phổi A549 (HTB - 57TM), ung thư vú MCF-7 (HTB - 22TM).

Dòng tế bào được lưu giữ trong nitơ lỏng, hoạt hóa và duy trì trong các môi trường dinh dưỡng như DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle salt) có bổ sung 7-10% FBS (Fetal Bovine Serum) và một số thành phần thiết yếu khác. Tế bào được nuôi trong các điều kiện tiêu chuẩn (5% CO₂, độ ẩm 98%, nhiệt độ 37°C, vô trùng tuyệt đối). Tế bào phát triển ở pha lỏng sẽ được sử dụng để thử độc tính.

Mẫu thử được hòa tan bằng dung môi DMSO với nồng độ ban đầu là 20 mg/mL. Tiến hành pha loãng 2 bước trên đĩa 96 giếng thành 5 dãy nồng độ từ cao xuống thấp lần lượt là 2564, 640, 160, 40 và 10 µg/mL. Nồng độ chất thử trong đĩa thử nghiệm tương ứng là 128, 32, 8, 2 và 0,5 µg/mL. Chất tham chiếu Ellipticine pha trong DMSO với nồng độ 0,01 mM.

** Tiến hành thí nghiệm*

Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm tế bào. Tiếp đó, pha tế bào bằng môi trường sạch và điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm (khoảng 1-3x10⁴ tế bào/mL tùy theo từng dòng tế bào).

Lấy vào mỗi giếng 10 µL chất thử đã chuẩn bị ở trên và 190 µL dung dịch tế bào. Đối chứng dương của thí nghiệm là môi trường có chứa tế bào, đối chứng âm chỉ có môi trường nuôi cấy.

Đĩa thí nghiệm được ủ ở điều kiện tiêu chuẩn.

Sau 72 giờ mỗi giếng thí nghiệm được tiếp tục ủ với 10 µL MTT (5 mg/mL) trong 4h. Sau khi loại bỏ môi trường, tinh thể formaran được hòa tan bằng 100 µL DMSO 100%.

Kết quả thí nghiệm được xác định bằng giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm trên máy quang phổ Biotek. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

** Xử lý kết quả thực nghiệm*

Giá trị IC₅₀ được xác định thông qua giá trị % ức chế tế bào phát triển và phần mềm máy tính Rawdata.

$$\% \text{ ức chế tế bào} = (\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{mẫu thử}}) / (\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{chứng (-)}}) \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \text{High}_{\text{Conc}} - \frac{(\text{High}_{\text{Inh}\%} - 50) \times (\text{High}_{\text{Conc}} - \text{Low}_{\text{Conc}})}{\text{High}_{\text{Inh}\%} - \text{Low}_{\text{Inh}\%}}$$

(Trong đó, $\text{High}_{\text{Conc}}/\text{Low}_{\text{Conc}}$: chất thử ở nồng độ cao/chất thử thấp ở nồng độ thấp; $\text{High}_{\text{Inh}\%}/\text{Low}_{\text{Inh}\%}$: % ức chế ở nồng độ cao/% ức chế ở nồng độ thấp).

* Đánh giá hoạt tính

Để đánh giá một cao chiết/chất có hoạt tính gây độc tế bào mạnh dựa vào giá trị IC_{50} . Đối với cao chiết: $\text{IC}_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$, với chất sạch: $\text{IC}_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$.

2.2.4.2. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase [29]

Enzyme α -glucosidase là một enzyme quan trọng do quá trình thủy phân carbohydrate tạo glucose trong cơ thể. Các chất ức chế α -glucosidase như Acarbose và Miglitol có thể làm chậm quá trình giải phóng và hấp thụ glucose, qua đó không làm tăng đường huyết sau ăn.

Nguyên lý: Dựa trên phản ứng phân cắt cơ chất *p*-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside nhờ tác dụng của enzyme α -glucosidase, giải phóng *p*-Nitrophenol là sản phẩm có màu vàng.

Sau phản ứng, độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm ở thời điểm 30 phút, phản ánh lượng sản phẩm *p*-Nitrophenol sinh ra và hoạt độ của enzyme α -glucosidase.

Phương pháp: Xác định hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng với tổng thể tích phản ứng là 200 μL /giếng.

Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO 100% hoặc nước cất vô trùng đến nồng độ cuối cùng trong phản ứng lần lượt 1024, 256; 64; 16; 4; 1 $\mu\text{g/mL}$. Acarbose được sử dụng làm chất đối chứng dương.

Các thành phần phản ứng bao gồm: Phosphate buffer 100 mM pH 6,8: 40 μL α -glucosidase 0,4 U/mL: 25 μL ; mẫu thử: 10 μL ; *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside 2,5 mM: 25 μL .

Ở mẫu đối chứng âm, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Thí nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37° C. Sau 30 phút, thêm 100 μL Na_2CO_3 cho đến khi phản ứng dừng. Độ hấp thụ của phản ứng được xác định trên máy BIOTEK với bước sóng 410 nm (A).

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

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

IC_{50} là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của enzyme α -glucosidase, được tính bằng phần mềm Tablecurve.

2.2.4.3. Phương pháp thử hoạt tính DPPH [30]

Chất tạo ra gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) được dùng thực hiện sàng lọc tác dụng chống oxy hóa của các hợp chất cần nghiên cứu. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua việc làm giảm màu của DPPH, xác định bằng phương pháp đo quang ở bước sóng $\lambda = 517 \text{ nm}$.

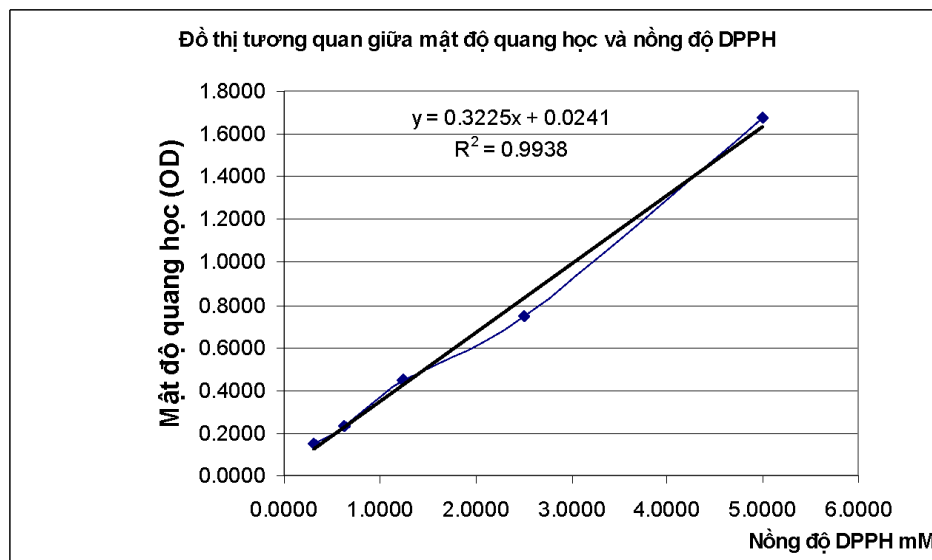
Pha dung dịch DPPH có nồng độ 1 mM trong methanol. Chất thử được pha trong DMSO 100% sao cho nồng độ cuối cùng đạt được lần lượt là 256; 64; 16; 4 và 1 $\mu\text{g/mL}$. Thời gian phản ứng 30 phút ở 37°C , đọc mật độ hấp phụ của DPPH chưa phản ứng bằng máy đọc Biotek ở bước sóng 517 nm.

% bẫy gốc tự do DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$\text{SC\%} = (\text{OD}_{\text{trắng}} - \text{OD}_{\text{mẫu thử}}) / \text{OD}_{\text{trắng}} (\%).$$

EC_{50} được tính theo giá trị SC tương quan với các nồng độ khác nhau của chất thử, thí nghiệm được lặp lại với $n = 3$.

Đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ DPPH và mật độ quang học:

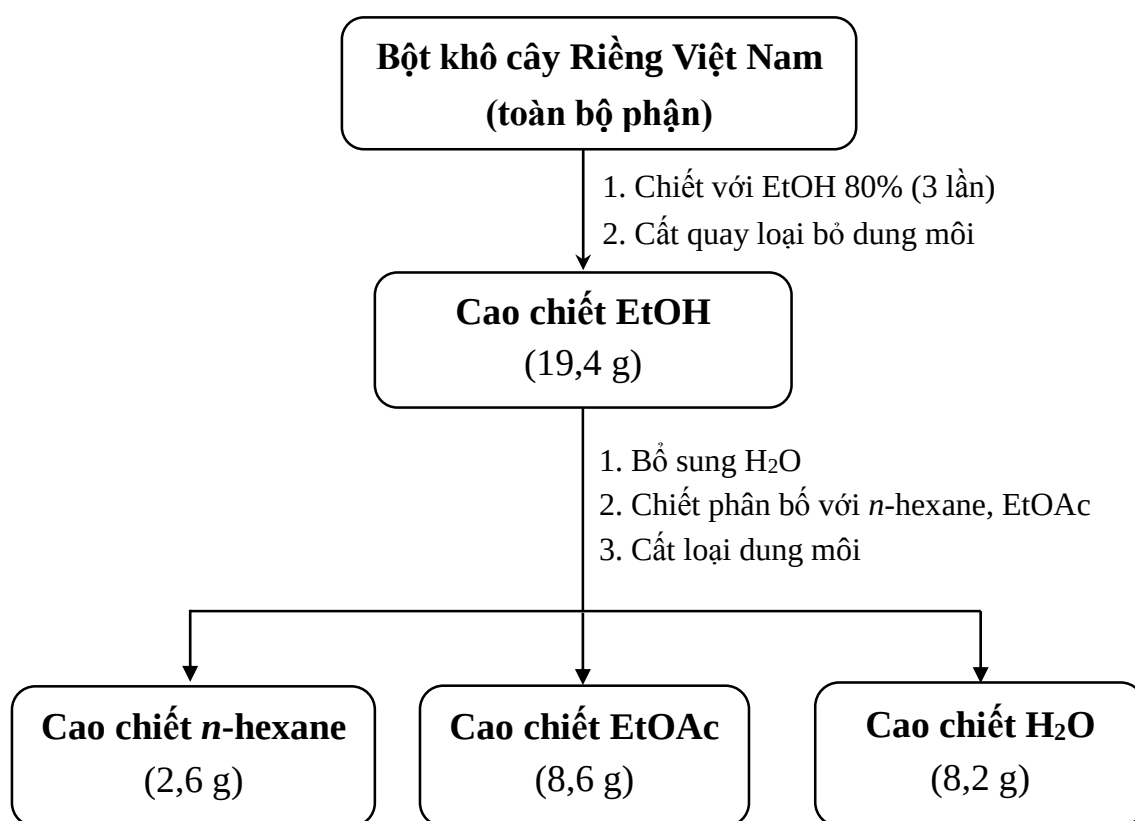


CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ cây Riềng Việt Nam

3.1.1. Thu nhận các cao chiết từ cây *Riềng Việt Nam*

Bột khô cây *Riềng Việt Nam* (toàn bộ phận, 2,0 kg) được ngâm với EtOH 80% (3 L x 3 lần, 48 giờ). Sau khi cất quay dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết EtOH (19,4 g), cao chiết EtOH sau đó được bổ sung thêm H₂O và chiết phân bố với dung môi *n*-hexane, EtOAc thu được các cao chiết phân đoạn tương ứng lần lượt là *n*-hexane (2,6 g), EtOAc (8,6 g) và H₂O (8,2 g).



Hình 3.1. Sơ đồ ngâm chiết cây *Riềng Việt Nam*

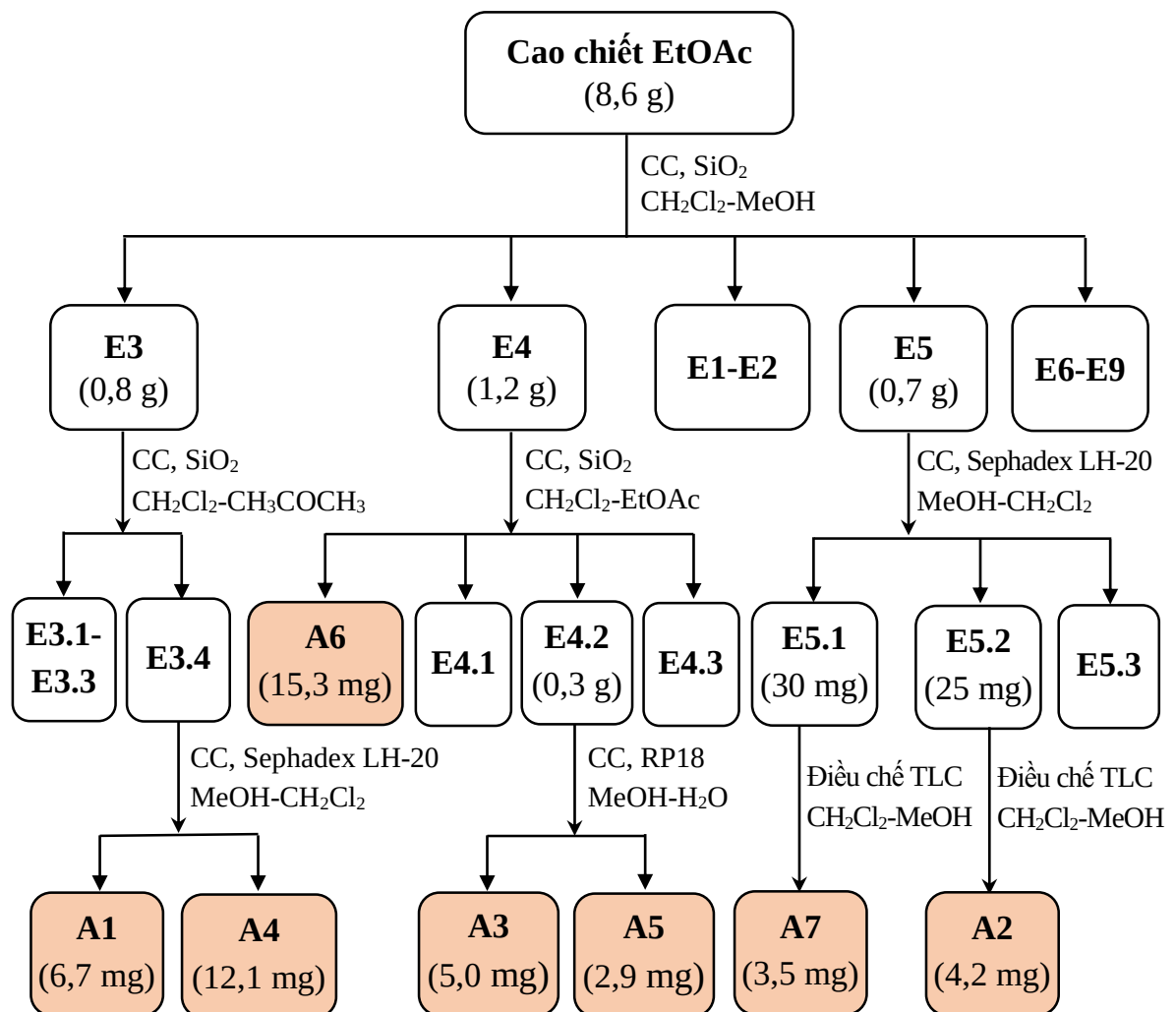
3.1.2. Phân lập và tinh chế các hợp chất từ cao chiết EtOAc cây *Riềng Việt Nam*

Cao chiết EtOAc được phân tách trên sắc ký cột silica gel (CC) rửa giải với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH (1:0 đến 0:1, v/v) thu được chín phân đoạn ký hiệu lần lượt từ E1-E9.

Phân đoạn E3 (0,8 g) được sắc ký cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi CH_2Cl_2 - CH_3COCH_3 (1:0 đến 0:1, v/v), thu được bốn phân đoạn nhỏ E3.1-E3.4. Phân đoạn nhỏ E3.4 tiếp tục được phân tách trên cột Sephadex LH-20 CC [$\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (9:1, v/v)] thu được hợp chất **A1** (6,7 mg) và **A4** (12,1 mg).

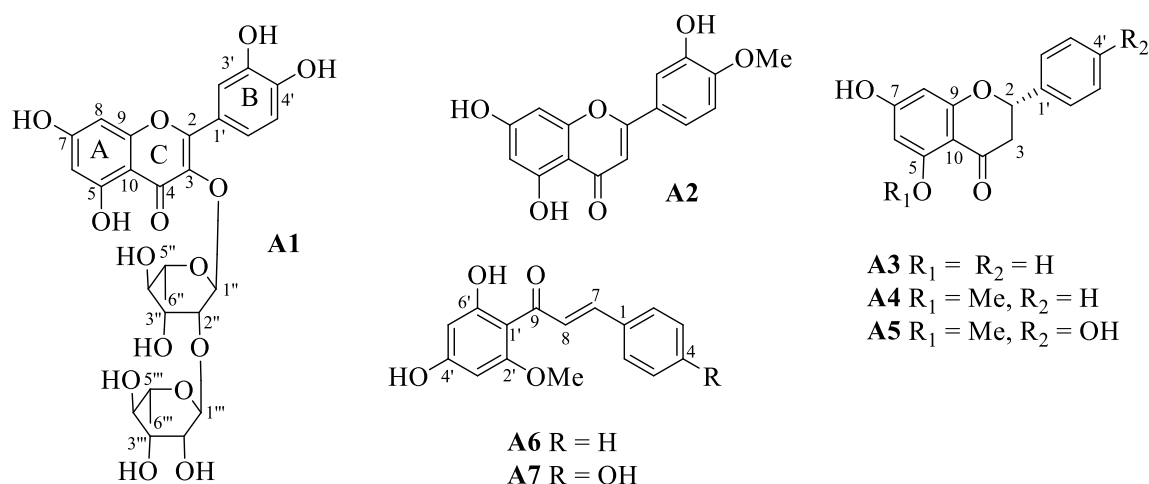
Phân đoạn E4 (1,2 g) được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi [CH_2Cl_2 -EtOAc (9:1, v/v)] để tạo ra hợp chất **A6** (15,3 mg) và ba phân đoạn nhỏ E4.1-E4.3. Phân đoạn E4.2 (0,3 g) được sắc ký trên cột pha đảo RP-18 [MeOH - H_2O (1:1, v/v)] thu được hợp chất **A5** (2,9 mg) và hợp chất **A3** (5,0 mg).

Phân đoạn E5 (0,7 g) được phân tách trên cột Sephadex LH-20 [MeOH - CH_2Cl_2 (9:1, v/v)] thu được ba phân đoạn nhỏ E5.1-E5.3. Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng điều chế sử dụng hệ dung môi rửa giải [CH_2Cl_2 - MeOH (95:5, v/v)], các hợp chất **A7** (3,5 mg) và **A2** (4,2 mg) được phân lập lần lượt từ các phân đoạn E5.1 và E5.2.



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cao chiết EtOAc cây *Riêng Việt Nam*

3.2. Cấu trúc và các thông số vật lý của các hợp chất được phân lập



Hình 3.3. Các hợp chất A1 - A7 phân lập từ cây Riềng Việt Nam

Hợp chất **A1**: Quercetin-3-O- α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{27}H_{31}O_{15}$, HR-ESIMS (+): m/z 595,1648 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{27}H_{31}O_{15}$: 595,1649), 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.1.

Hợp chất **A2**: Diosmetin

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{16}H_{13}O_6$, HR-ESIMS (+): m/z 301,0705 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{13}O_6$: 301,0712), 1H -NMR (DMSO, 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (DMSO, 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.2.

Hợp chất **A3**: Pinocembrin

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{15}H_{13}O_4$, HR-ESIMS (+): m/z 257,0800 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{15}H_{13}O_4$: 257,0803), 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.3.

Hợp chất **A4**: Alpinetin

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{16}H_{15}O_4$, HR-ESIMS (+): m/z 271,0960 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{15}O_4$: 271,0967), 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.4.

Hợp chất **A5**: 5-O-Methylnaringenin

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{16}H_{15}O_5$, HR-ESIMS (+): m/z 287,0906 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{15}O_5$: 287,0913), 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.5.

Hợp chất **A6**: Cardamonin

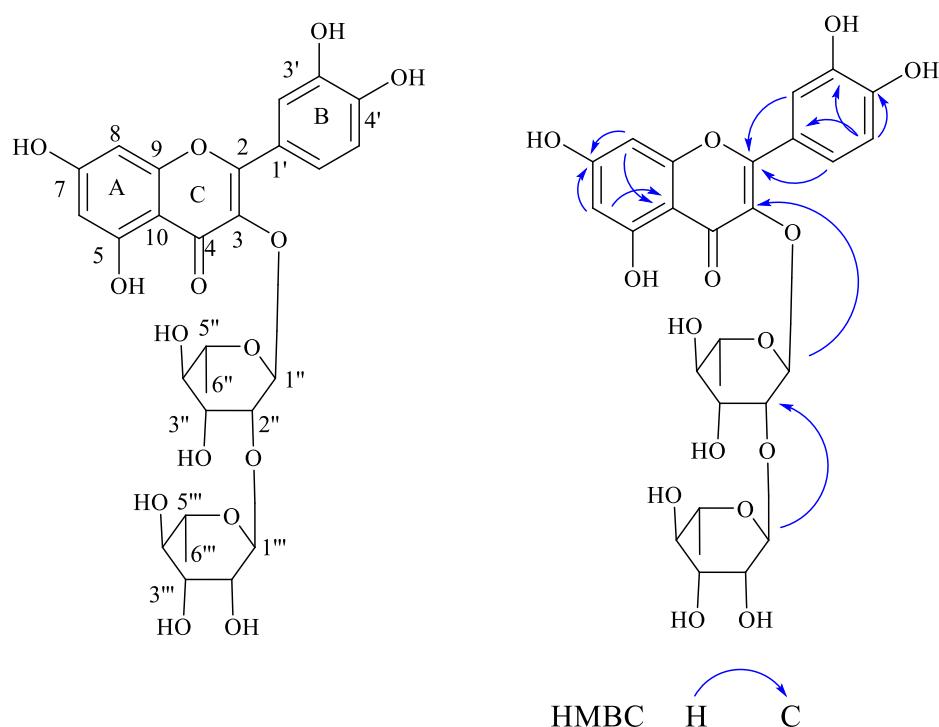
Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{16}H_{15}O_4$, HR-ESIMS (+): m/z 271,0962 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{15}O_4$: 271,0970), 1H -NMR (DMSO, 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (DMSO, 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.6.

Hợp chất **A7**: Helichrysetin.

Dạng bột màu vàng nhạt; $R_f = 0.5$ (n -Hexan/EtOAc = 1/1), công thức phân tử $C_{16}H_{15}O_5$, HR-ESIMS (+): m/z 287,0906 $[M+H]^+$ (được tính cho $C_{16}H_{15}O_5$: 287,0913), 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz, δ_H ppm) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz, δ_C ppm): Bảng 3.7.

3.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được bằng phương pháp quang phổ

3.3.1. Hợp chất **A1**



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **A1**

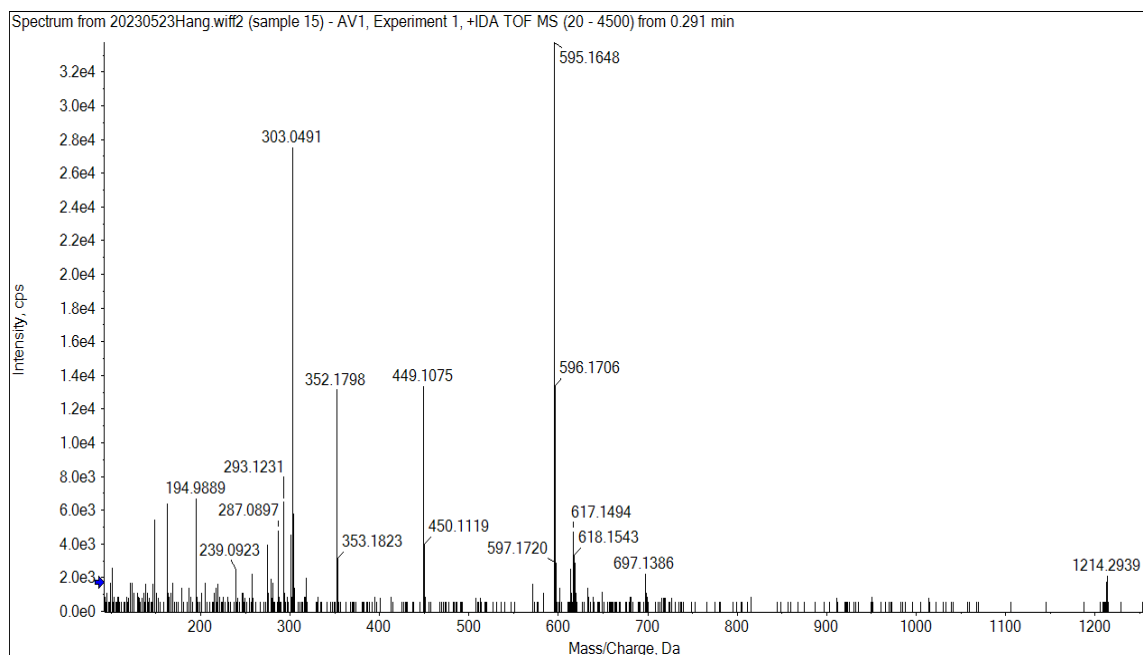
Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **A1**

Hợp chất A1					
C	δ_{H} (mult., J Hz) CD₃OD	δ_{C} CD₃OD	C	δ_{H} (mult., J Hz) CD₃OD	δ_{C} CD₃OD
2	-	159.2	6'	7.34 (dd, 2.0, 7.0)	122.9
3	-	136.3	1''	5.51 (d, 1.0)	102.4
4	-	179.5	2''	4.30 (dd, 1.5, 3.0)	79.0
5	-	163.2	3''	3.89 (dd, 2.5, 8.0)	72.0
6	6.22 (d, 1.5)	99.8	4''	3.39-3.34 (m)	73.9
7	-	165.9	5''	3.63-3.60 (m)	72.2
8	6.40 (d, 1.5)	94.7	6''	1.23 (d, 5.0)	17.8
9	-	158.5	1'''	5.01 (d, 1.5)	103.7
10	-	105.9	2'''	3.96 (dd, 1.5, 3.0)	70.3
1'	-	122.8	3'''	3.63-3.60 (m)	71.9
2'	7.36 (d, 2.0)	116.9	4'''	3.39-3.34 (m)	73.5
3'	-	146.4	5'''	3.45 (dd, 5.0, 8.5)	71.9
4'	-	149.8	6'''	0.97 (d, 5.0)	17.7
5'	6.94 (d, 7.0)	116.4			

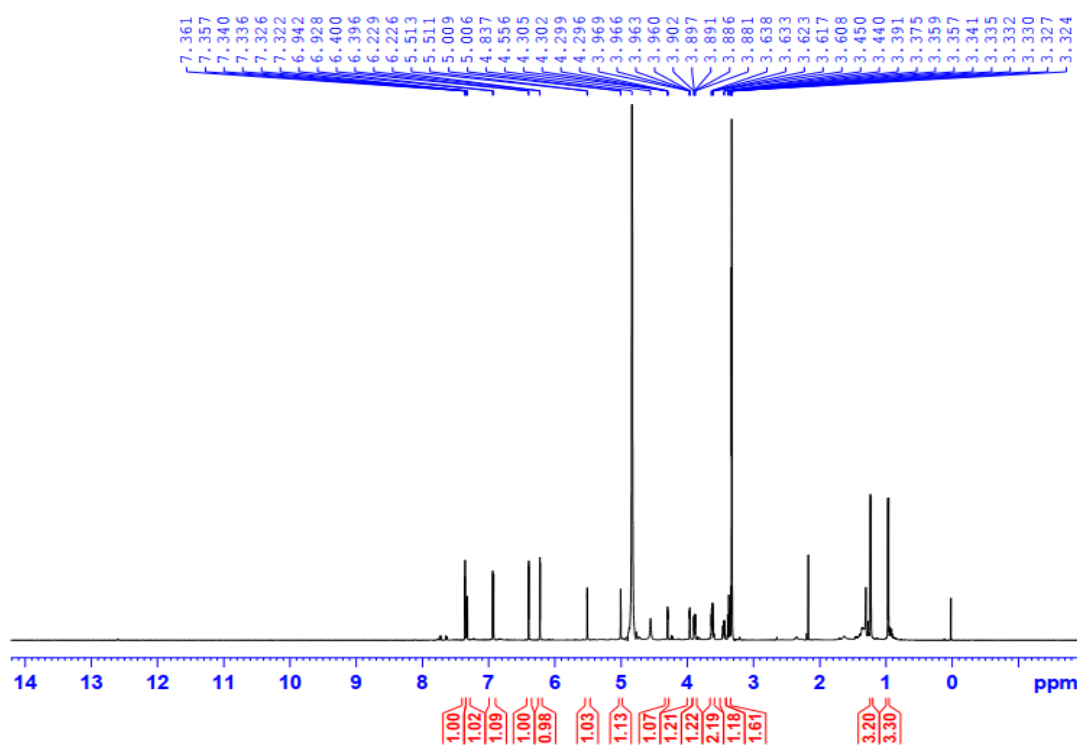
Hợp chất **A1** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử của **A1** được xác định là $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$ được suy ra từ peak ion giả phân tử ở m/z 595,1648 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán cho $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_{15}$: 595,1649) trong phổ HR-ESIMS (+).

Dữ liệu 1D, 2D-NMR chỉ ra rằng hợp chất **A1** là quercetin glycoside (Hình 3.4). ^1H NMR của nhân quercetin được đặc trưng bởi các tín hiệu của vòng AC [H-6 (1H, δ_{H} 6,22, d, 1,5 Hz) và H-8 (1H, δ_{H} 6,40, d, 1,5 Hz)] và các tín hiệu của vòng B [hệ spin ABX H-2' (δ_{H} 7,36, 1H, d, 2,0 Hz), H-6' (δ_{H} 7,34, 1H, dd, 2,0, 7,0 Hz) và H-5' (δ_{H} 6,94, 1H, d, 7,0 Hz)]. Glycone được tạo thành cấu trúc bởi hai đơn vị α -L-rhamnosyl với hai anomeric proton đặc trưng H-1'' (δ_{H} 5,51, 1H, d, 1,0 Hz)/C-1'' (δ_{C} 102,4) và H-1''' (δ_{H} 5,01, 1H, d, 1,5 Hz)/C-1''' (δ_{C} 103,7) và hai nhóm methyl 6'' (δ_{H} 1,23, 3H, d, 5,0 Hz)/(δ_{C} 17,8) và 6''' (δ_{H} 0,97, 3H, d, 5,0 Hz)/ δ_{C} 17,7. Mỗi tương quan HMBC H-1'''/C-2'' chỉ ra rằng liên kết giữa hai đơn vị đường là liên kết (1 $\rightarrow$ 2). Ngoài ra, tương tác H-1''/C-3 trong phổ HMBC chỉ ra rằng hợp phần glycone liên kết với aglycone ở vị trí carbon C-3.

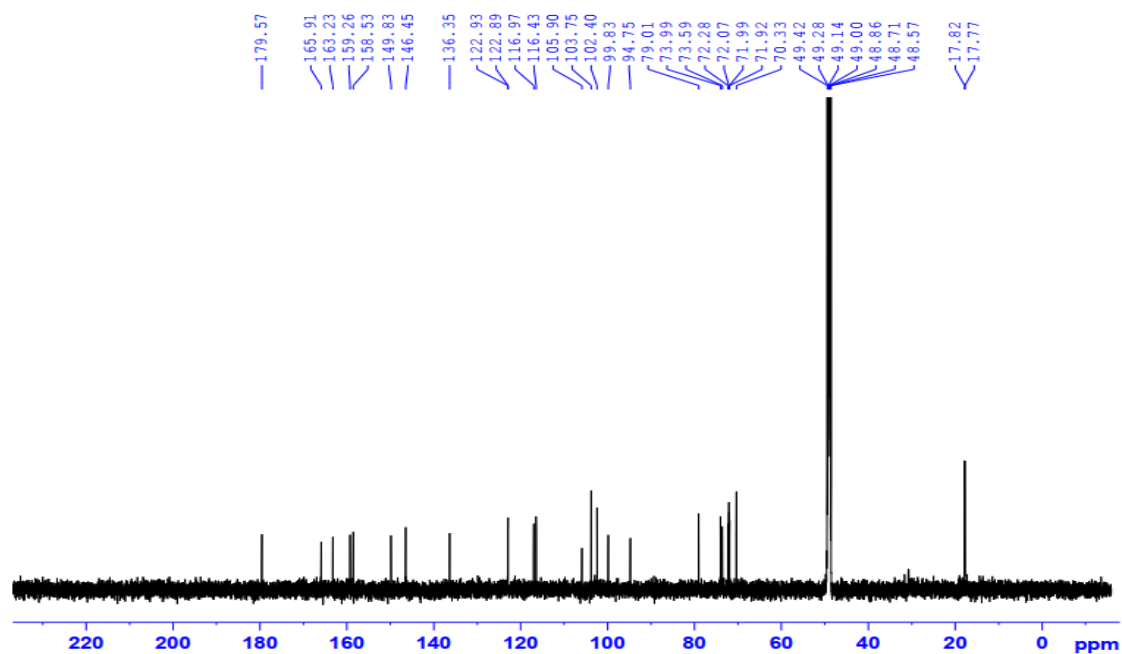
Dựa trên kết quả phân tích phổ và kết hợp với so sánh tài liệu đã công bố [31], hợp chất **A1** được xác định là quercetin-3-*O*- α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside.



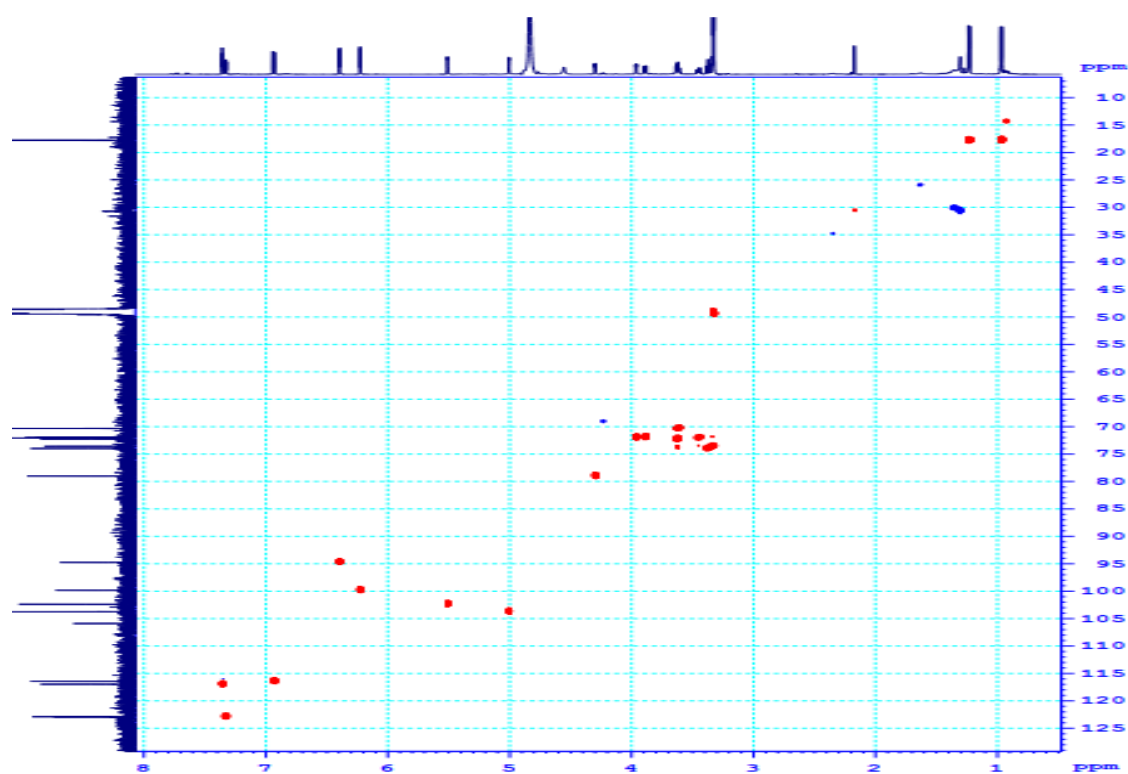
Hình 3.5. Phổ HR-ESIMS của hợp chất **A1**



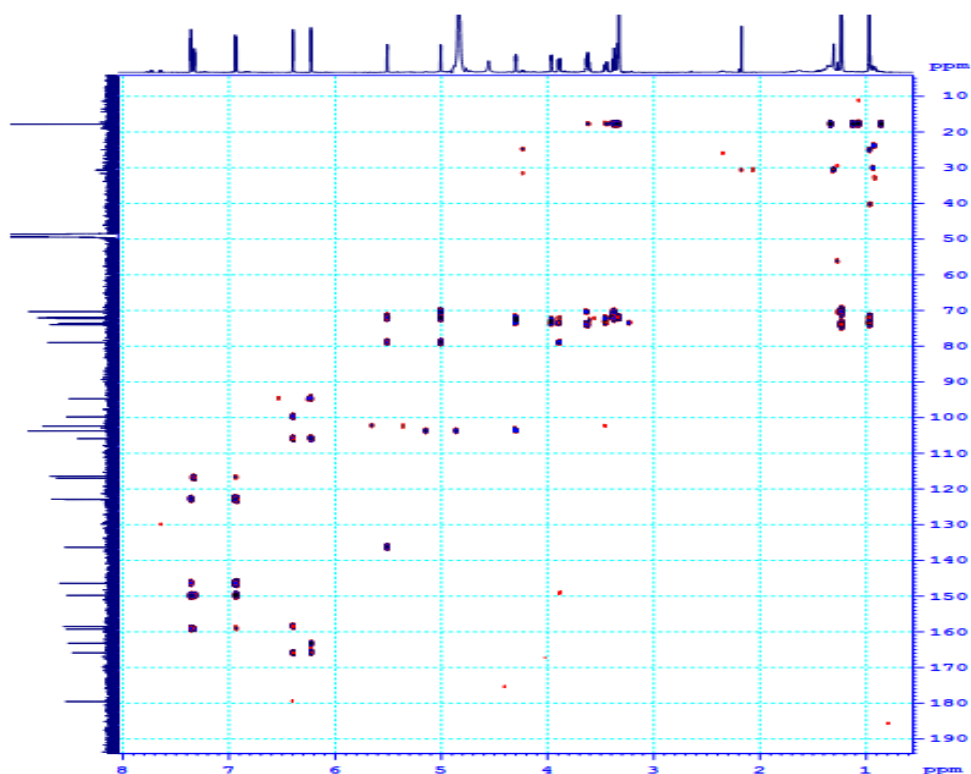
Hình 3.6. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **A1**



Hình 3.7. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A1

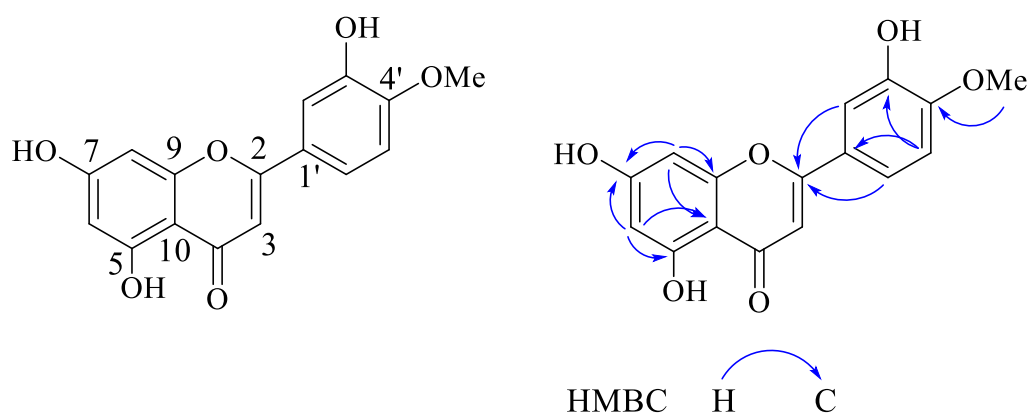


Hình 3.8. Phổ HSQC của hợp chất A1



Hình 3.9. Phổ HMBC của hợp chất A1

3.3.2. Hợp chất A2



Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất A2

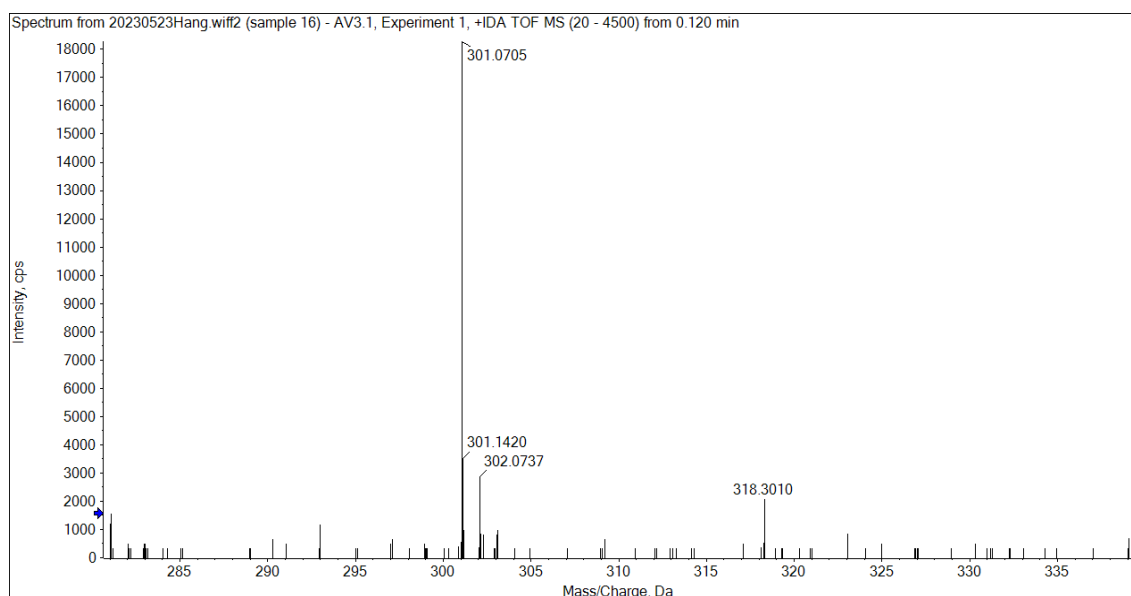
Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A2

Hợp chất A2					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (DMSO)	δ_{C} (DMSO)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (DMSO)	δ_{C} (DMSO)
2	-	163.5	2'	7.40 (d, 2.4)	112.9
3	6.70 (s)	103.5	3'	-	146.8

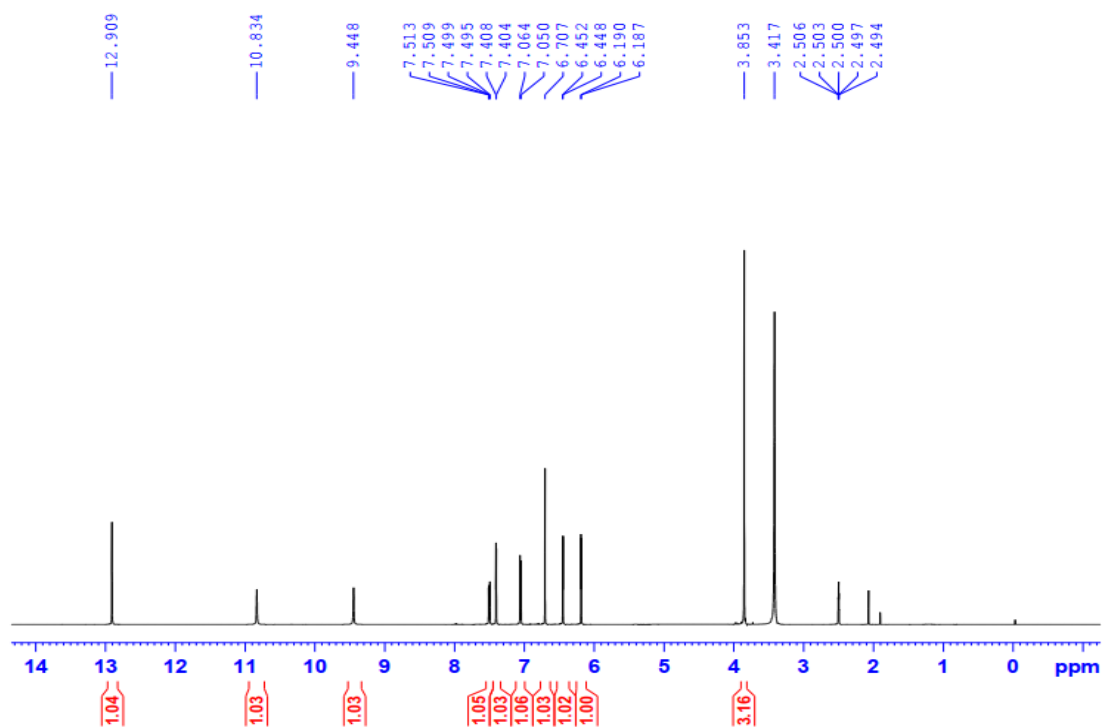
4	-	181.6	4'	-	151.1
5		161.5	5'	7.06 (d, 8.4)	112.1
6	6.19 (d, 1.8)	98.8	6'	7.51 (dd, 2.4, 8.4)	118.6
7	-	164.1	4'-OMe	3.85 (s)	55.7
8	6.45 (d, 1.8)	93.9	5-OH	12.90 (s)	-
9	-	157.3	7-OH	10,83 (s)	-
10	-	103.7	3'-OH	9.45 (s)	-
1'	-	123.0			

Hợp chất **A2** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử của **A2** được xác định là $C_{16}H_{12}O_6$ được suy ra từ peak ion giả phân tử ở m/z 301,0705 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{13}O_6$: 301,0712) trong phổ HR-ESIMS (+).

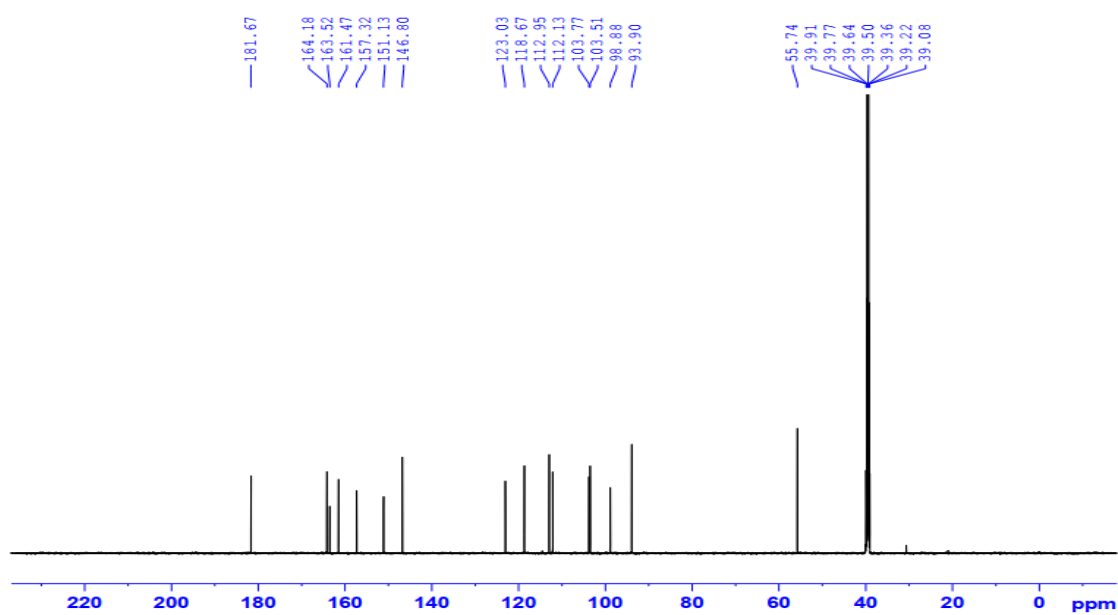
Dữ liệu 1H NMR của hợp chất **A2** bao gồm các tín hiệu của vòng AC [H-3 (1H, δ_H 6,70, s), H-6 (1H, δ_H 6,19, d, 1,8 Hz) và H-8 (1H, δ_H 6,45, d, 1,8 Hz)] và tín hiệu của vòng B [hệ thống spin ABX H-2' (δ_H 7,40, 1H, d, 2,4 Hz), H-6' (δ_H 7,51, 1H, dd, 2,4, 8,4 Hz) và H-5' (δ_H 7,06, 1H, d, 8,4 Hz) và 4'-OMe (δ_H 3,85, 3H, s)]. Dữ liệu ^{13}C NMR của hợp chất **A2** bao gồm tín hiệu của sáu nhóm CH, chín cacbon và một nhóm OMe. Tương tác HMBC 4'-OMe/C-4' cho thấy rằng nhóm methoxy nằm ở C-4'. Dựa vào dữ kiện phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [32], hợp chất **A2** được xác định là một flavone, đặt tên là diosmetin.



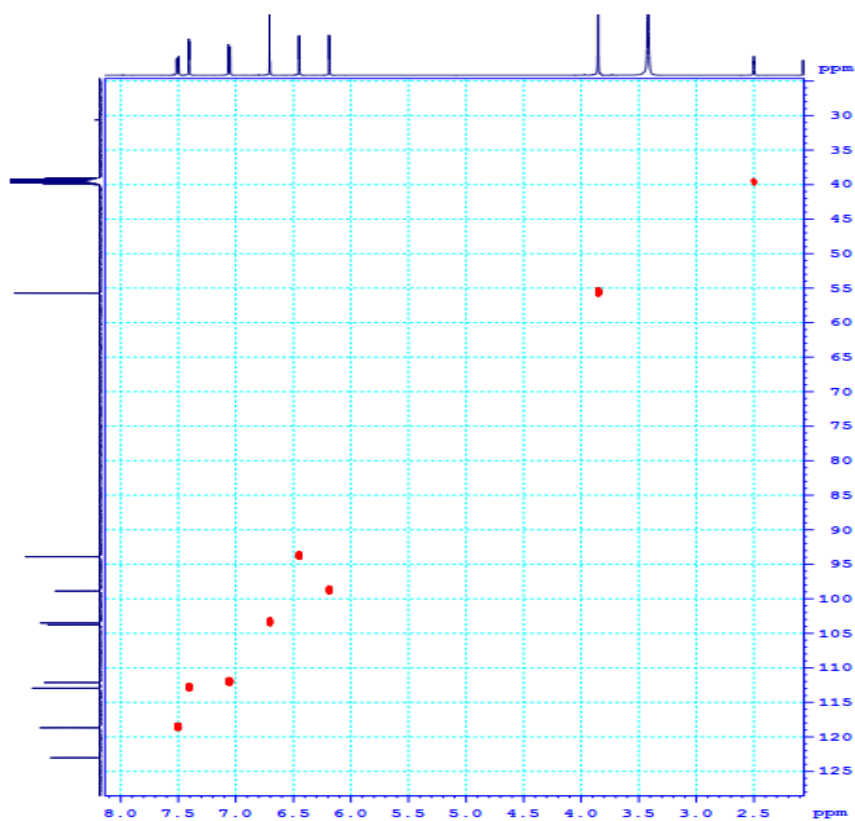
Hình 3.11. Phổ HR-ESIMS của hợp chất **A2**



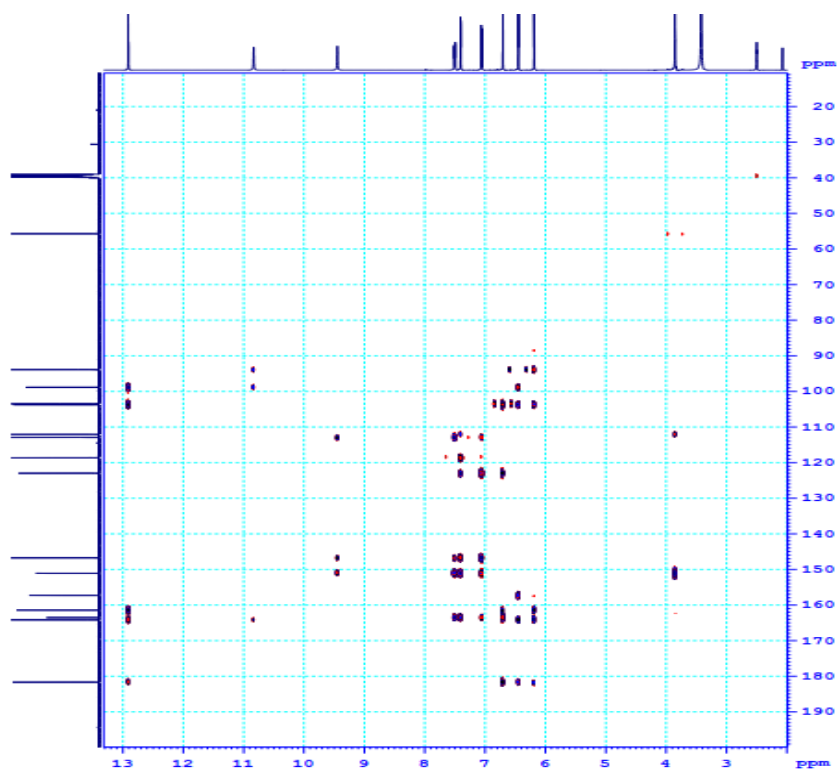
Hình 3.12. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất A2



Hình 3.13. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất A2

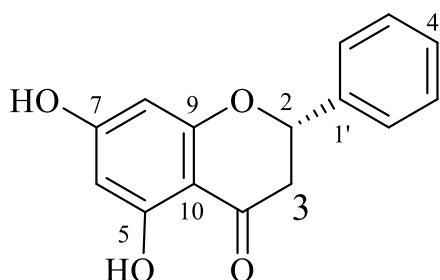


Hình 3.14. Phổ HSQC của hợp chất A2



Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất A2

3.3.3. Hợp chất A3

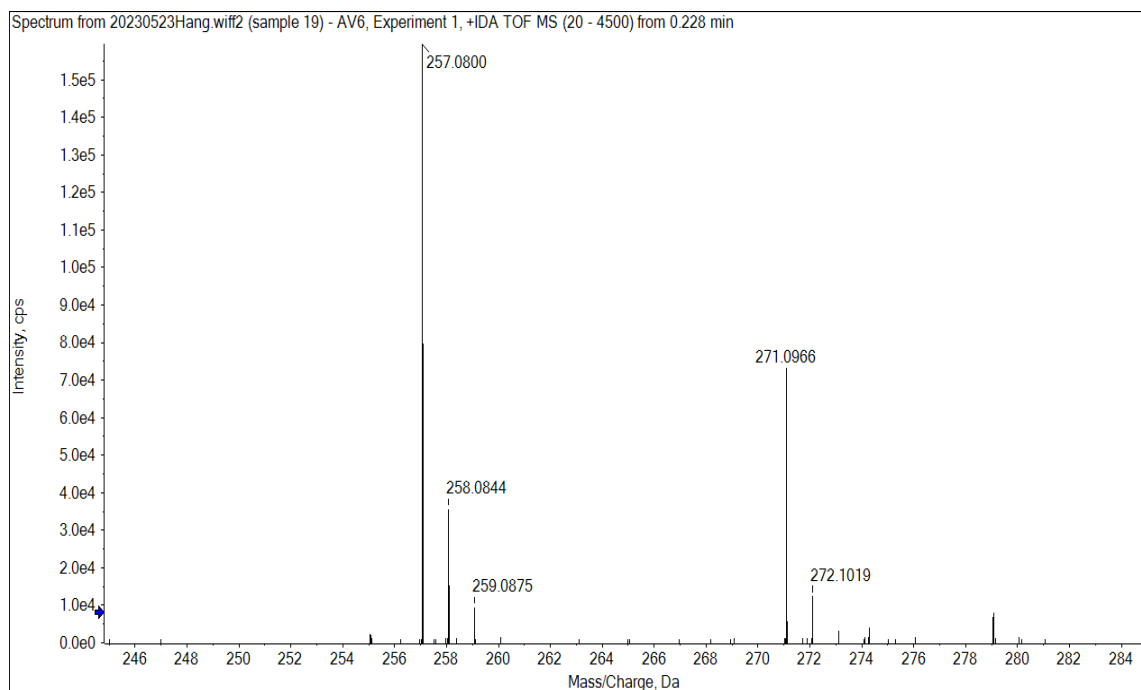


Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất A3

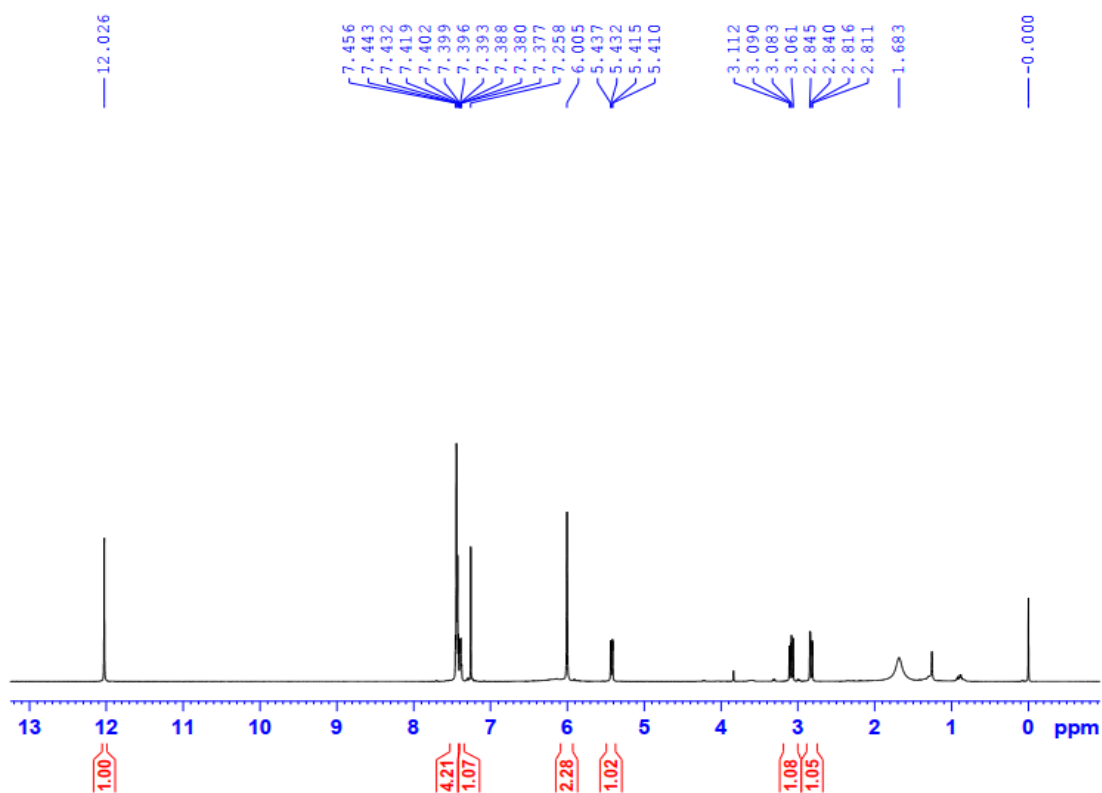
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A3

Hợp chất A3					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (CDCl_3)	δ_{C} (CDCl_3)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (CDCl_3)	δ_{C} (CDCl_3)
2	5.43 (dd, 3.0, 13.2)	79.2	10	-	103.2
3	3.09 (dd, 13.2, 17.4) 2.84 (dd, 3.0, 17.4)	43.3	1'	-	138.3
4	-	195.7	2'	7.37-7.45 (m)	126.1
5	-	164.3	3'	7.37-7.45 (m)	128.9
6	6.00 (s)	96.7	4'	7.37-7.45 (m)	128.9
7	-	164.7	5'	7.37-7.45 (m)	128.9
8	6.00 (s)	95.5	6'	7.37-7.45 (m)	126.1
9	-	163.1	5-OH	12.03 (s)	-

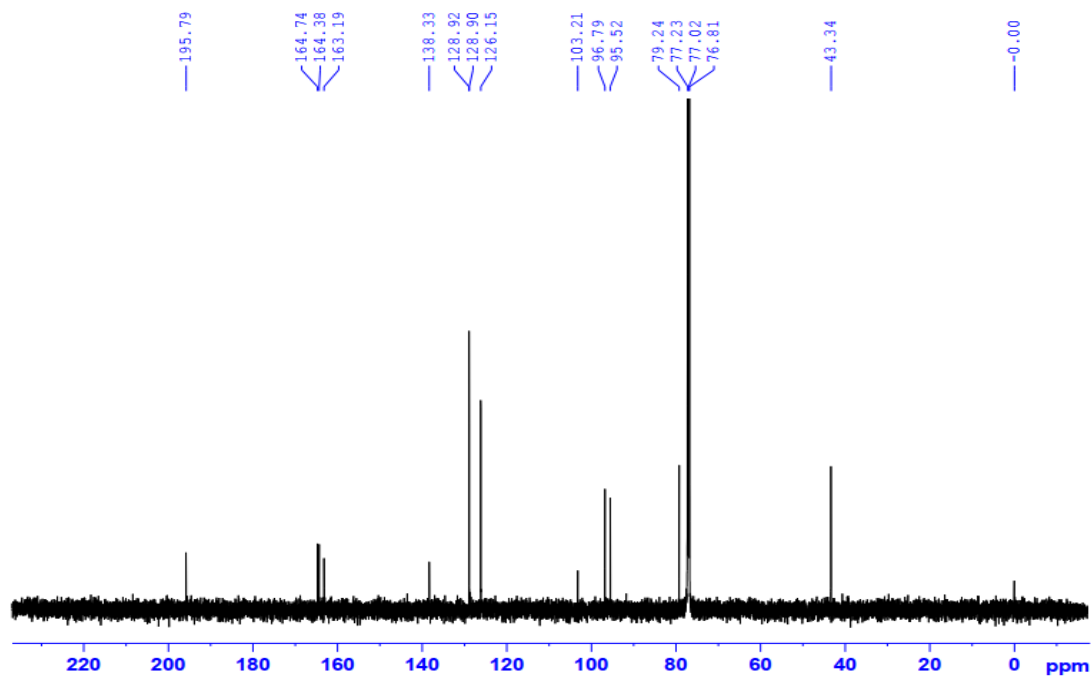
Hợp chất A3 được tinh chế dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Trong phổ HR-ESIMS (+), peak ion giả phân tử ở m/z 257,0800 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán cho $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_4$: 257,0803), cho thấy công thức hóa học của hợp chất này là $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Dữ liệu ^1H NMR cho phép xác định A3 là một flavanone. Tín hiệu singlet ở δ_{H} 6,00 được gán cho H-6 và H-8. Các proton methine và methylene của vòng C cộng hưởng ở mức 2,84–5,43 ppm. Tín hiệu ở δ_{H} 7,37–7,45 thuộc về vòng B. Dữ liệu ^{13}C NMR phù hợp với dữ liệu ^1H NMR, bao gồm các tín hiệu của tám nhóm CH, một nhóm CH_2 và sáu cacbon. Dựa vào dữ kiện phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [33], cấu hình của hợp chất A3 được xác định là 2S. Do đó, hợp chất A3 được xác định là (2S)-pinocembrin.



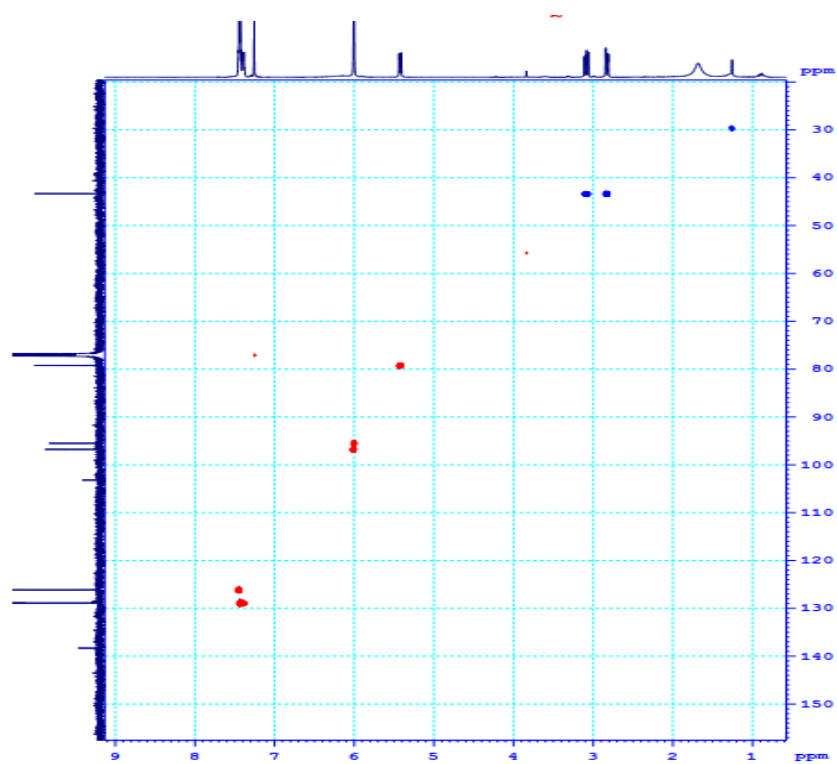
Hình 3.17. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A3



Hình 3.18. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A3

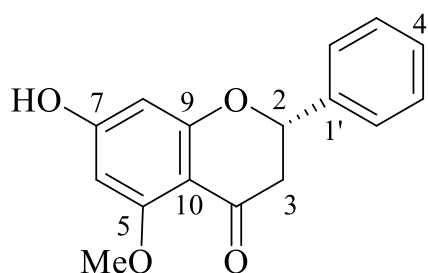


Hình 3.19. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A3



Hình 3.20. Phổ HSQC của hợp chất A3

3.3.4. Hợp chất A4

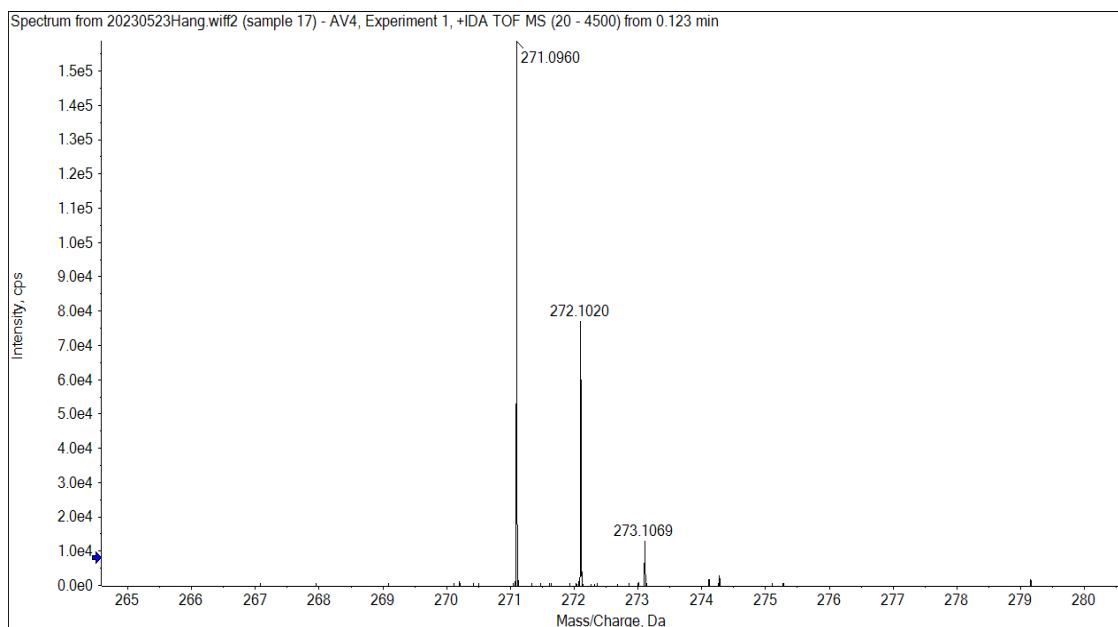


Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất A4

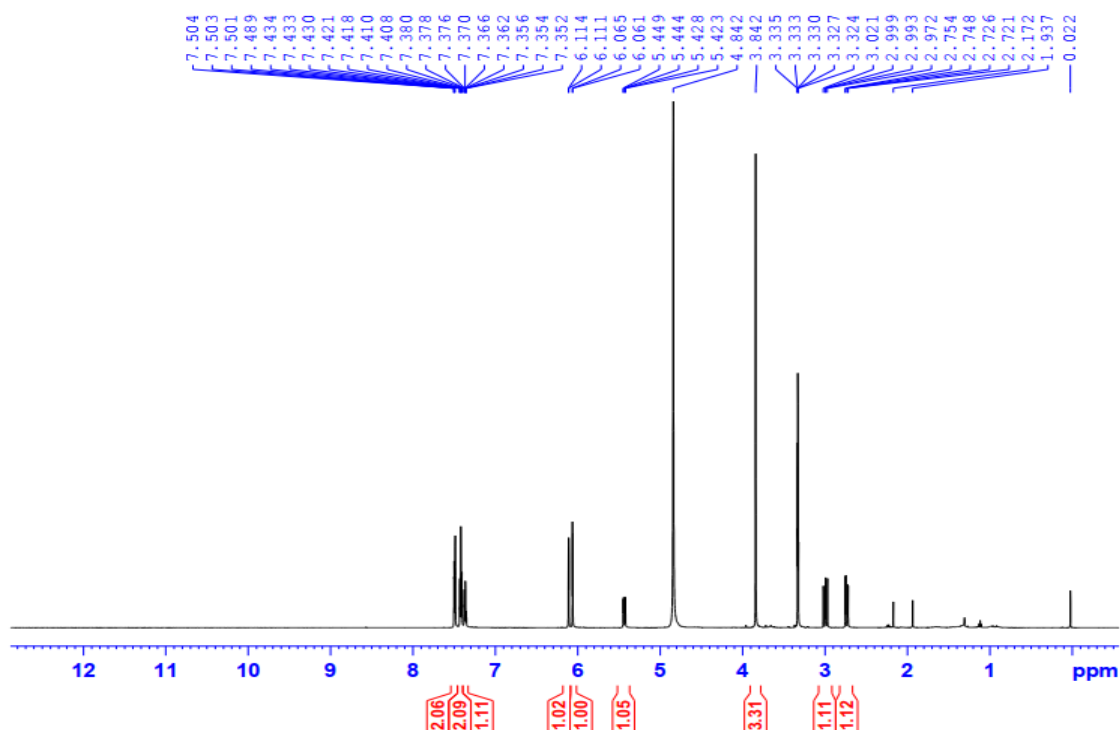
Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A4

Hợp chất A4					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)
2	5.44 (dd, 3.0, 13.2)	80.1	9	-	164.3
3	2.99 (dd, 13.2, 16.8) 2.77 (dd, 3.0, 16.8)	46.4	10	-	105.7
4	-	191.6	1'	-	140.6
5	-	164.5	2' & 6'	7.50 (m)	127.2
6	6.11 (d, 1.8)	94.4	3' & 5'	7.43 (m)	129.6
7	-	167.4	4'	7.37 (m)	129.4
8	6.06 (d, 1.8)	97.2	5-OMe	3.84 (s)	56.1

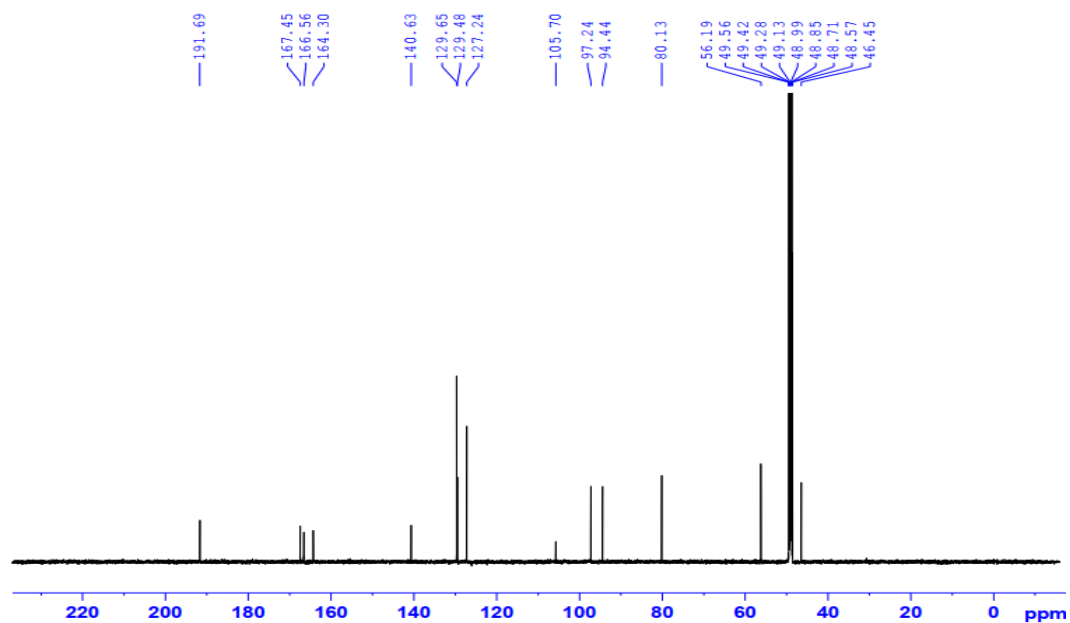
Hợp chất **A4** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt với peak ion giả phân tử ở m/z 271,0960 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán cho $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_4$: 271,0967) trong phổ HR-ESIMS (+), cho thấy công thức hóa học của hợp chất này là $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$. Dữ liệu NMR ^1H và ^{13}C của hợp chất **A4** rất giống với dữ liệu của hợp chất **A3**. Tuy nhiên, nhóm 5-OH trong hợp chất **A3** đã được thay thế bằng 5-OMe [δ_{H} 3,84 (3H, s) và δ_{C} 56,1] trong hợp chất **A4**. Dựa trên kết quả phân tích phổ và kết hợp với so sánh tài liệu đã công bố [34], cấu hình của hợp chất **A4** tương tự như cấu hình của hợp chất **A3**. Do đó, hợp chất **A4** được xác định là (2S)-alpinetin.



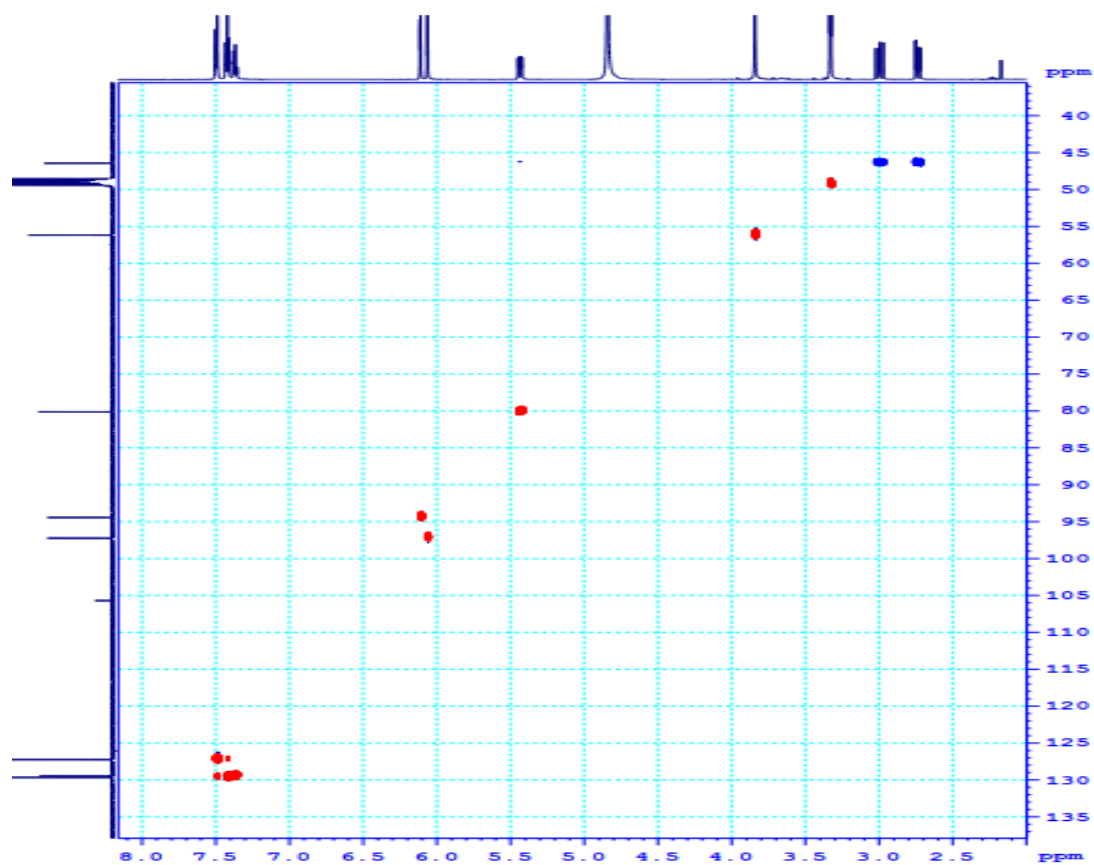
Hình 3.22. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A4



Hình 3.23. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A4

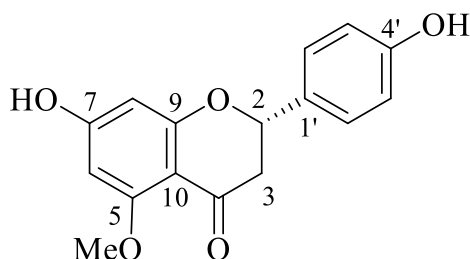


Hình 3.24. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A4



Hình 3.25. Phổ HSQC của hợp chất A4

3.3.5. Hợp chất A5

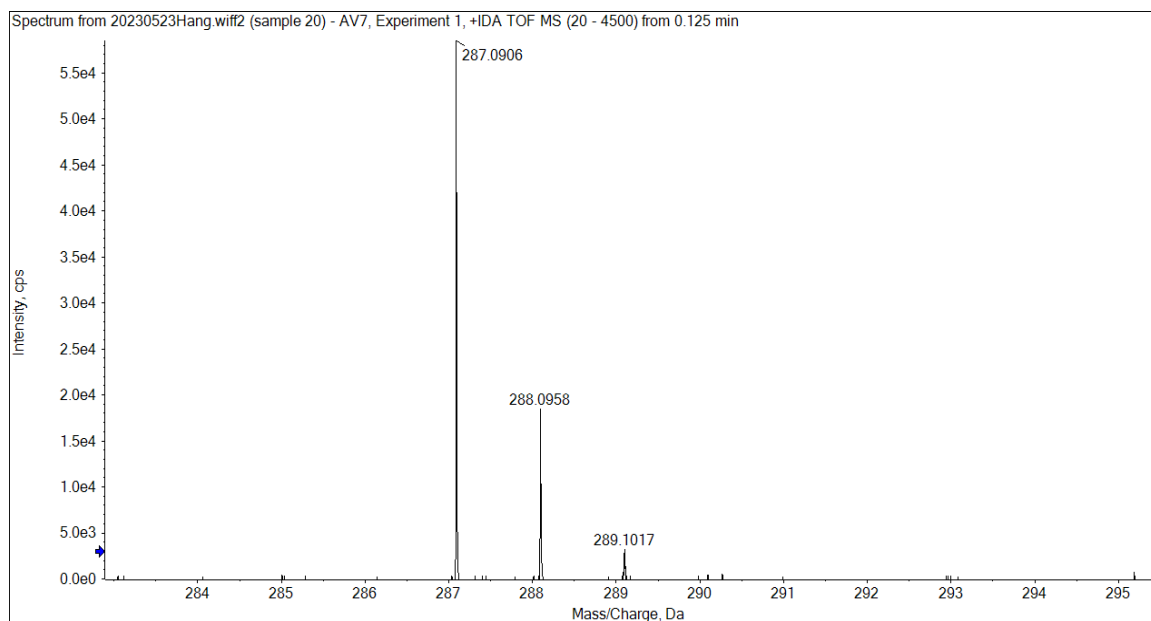


Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất A5

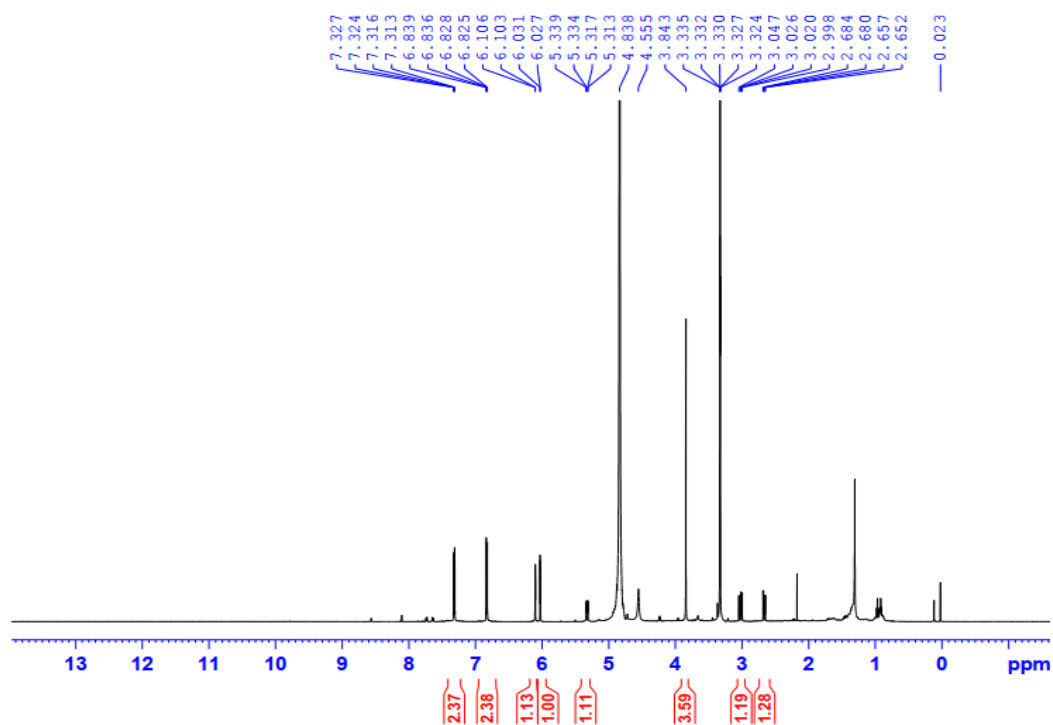
Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A5

Hợp chất A5					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)
2	5.33 (dd, 3.0, 13.2)	80.1	9	-	164.3
3	3.04 (dd, 13.2, 16.2) 2.68 (dd, 3.0, 16.2)	46.3	10	-	105.7
4	-	192.2	1'	-	131.3
5	-	166.7	2' & 6'	7.32 (d, 8.4)	128.9
6	6.10 (d, 2.4)	94.2	3' & 5'	6.83 (d, 8.4)	116.3
7	-	167.2	4'	-	158.9
8	6.03 (d, 2.4)	97.1	5-OMe	3.84 (s)	56.1

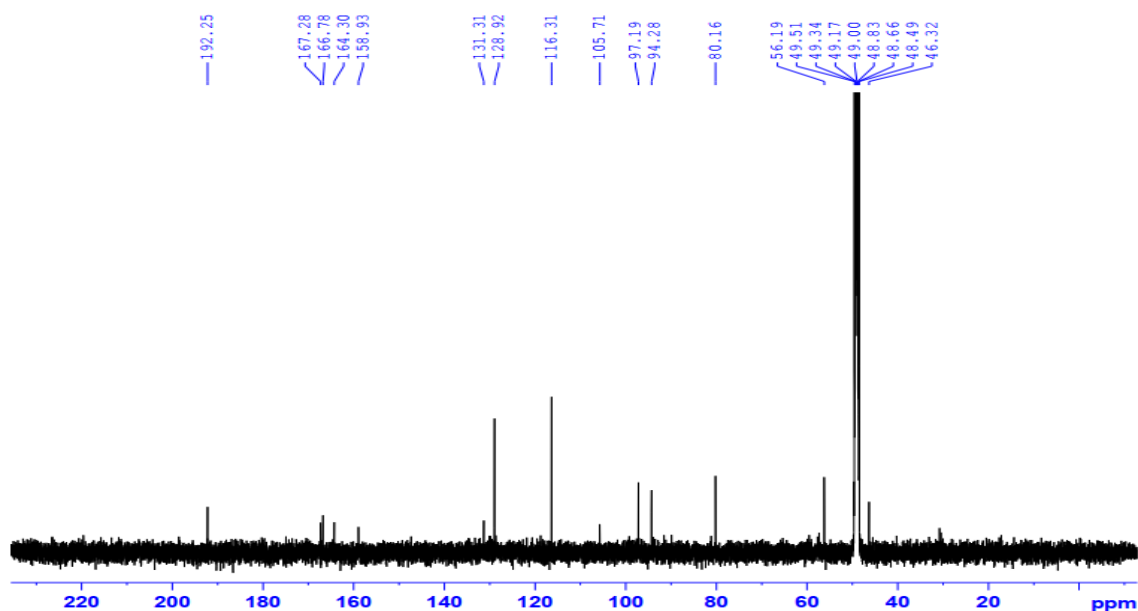
Hợp chất **A5** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_5$ được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ NMR. Cấu trúc của nó là dẫn xuất của các hợp chất **A3-A4** (Hình 3.8). So với hợp chất **A4**, vòng B của hợp chất **A5** được thay thế bằng nhóm 4'-OH [δ_{H} 7,32 (2H, d, 8,4 Hz, H-2', H-6'), δ_{H} 6,83 (2H, d, 8,4 Hz, H-3', H-5'), δ_{C} 128,9 (C-2', C-6') và δ_{C} 116,3 (C-3', C-5')]. Phù hợp với dữ liệu NMR, peak ion giả phân tử ở m/z 287,0906 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán cho $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_5$: 287,0913) trong phổ HR-ESIMS (+) chỉ ra rằng công thức hóa học của hợp chất này là $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$. Dựa trên kết quả phân tích phổ và kết hợp với so sánh tài liệu đã công bố [35], cấu hình của hợp chất **A5** tương tự như cấu hình của hợp chất **A3** và **A4**. Do đó, hợp chất **A5** đã được xác định là (2*S*)-5-*O*-methylnaringenin.



Hình 3.27. Phổ HR-ESIMS của hợp chất A5

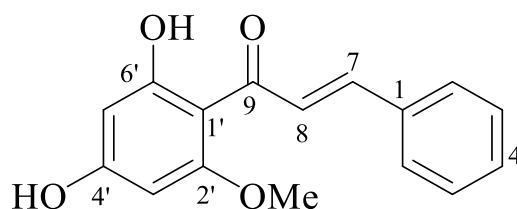


Hình 3.28. Phổ ¹H-NMR của hợp chất A5



Hình 3.29. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A5

3.3.6. Hợp chất A6

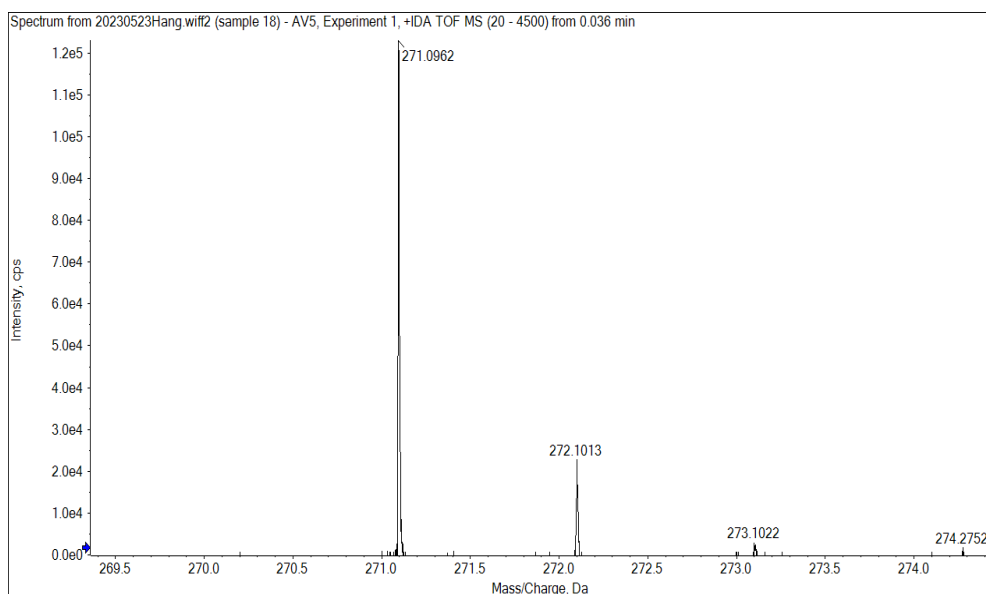


Hình 3.30. Cấu trúc hóa học của hợp chất A6

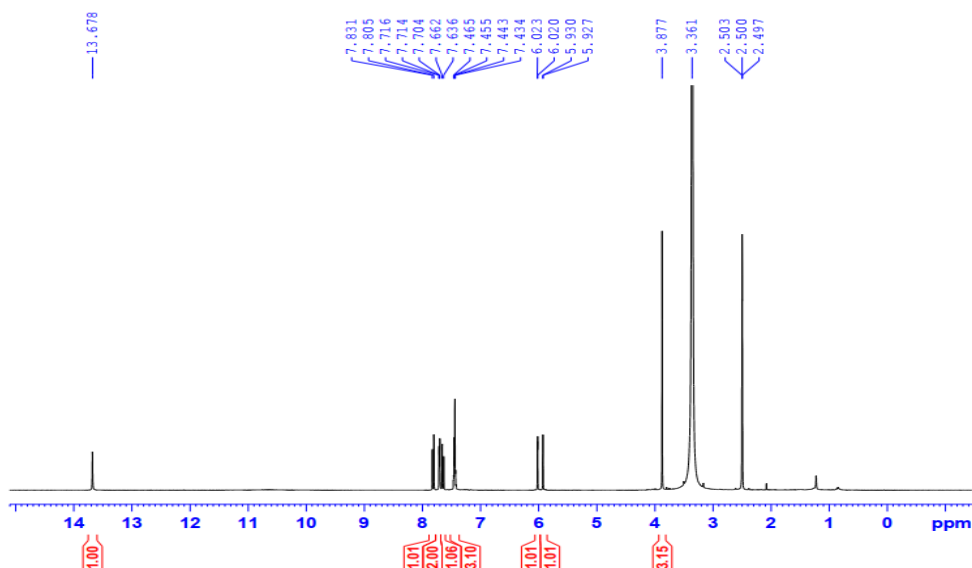
Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất A6

Hợp chất A6					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (DMSO)	δ_{C} DMSO)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (DMSO)	δ_{C} (DMSO)
1	-	134.9	2'	-	162.7
2 & 6	7.72 (m)	128.3	3'	6.02 (d, 1.8)	91.7
3 & 5	7.44 (m)	129.0	4'	-	166.2
4	7.44 (m)	130.3	5'	5.93 (d, 1.8)	95.8
7	7.66 (d, 15.6)	141.7	6'	-	165.0
8	7.83 (d, 15.6)	127.5	2'-OMe	3.87 (s)	56.0
9	-	191.7	6'-OH	13.68 (s)	-
1'	-	105.1			

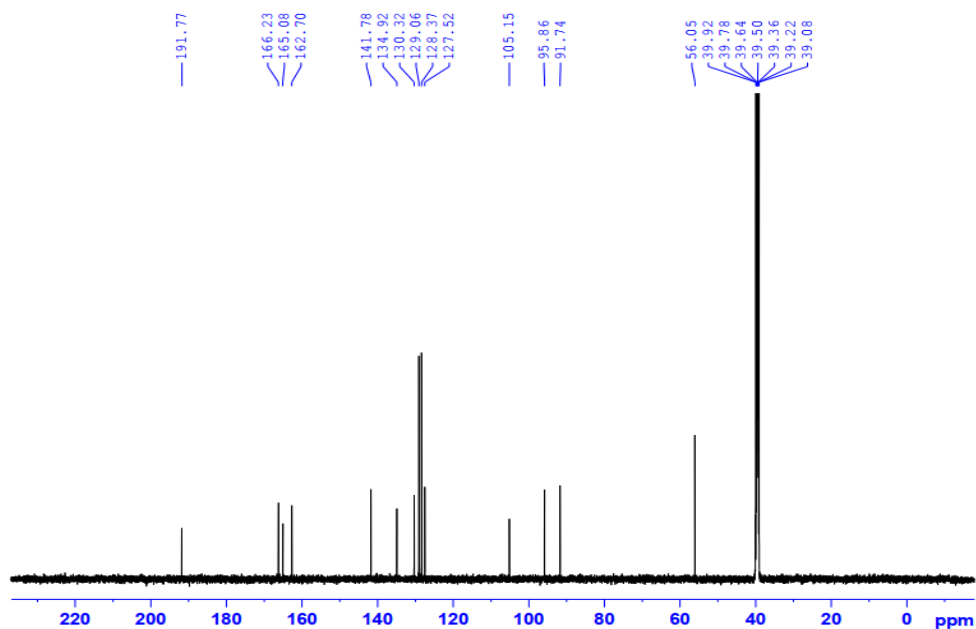
Hợp chất **A6** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Trong phổ HR-ESIMS (+), peak ion giả phân tử tại m/z 271,0962 $[M+H]^+$ (tính toán cho $C_{16}H_{15}O_4$: 271,0970) cho thấy công thức hóa học của hợp chất **A6** là $C_{16}H_{14}O_4$. Dữ liệu 1H -NMR của hợp chất **A6** thể hiện dạng chalcone, bao gồm một vòng phenyl được thế $[\delta_H$ 7,72 (2H, m, H-2, H-6) và δ_H 7,44 (3H, m, H-3 đến H-5)], một vòng phenyl bốn thế $[\delta_H$ 6,02 (1H, d, 1,8 Hz, H-3') và δ_H 5,93 (1H, d, 1,8 Hz, H-5')], một liên kết đôi $[\delta_H$ 7,66 (1H, d, 15,6 Hz, H-7) và δ_H 7,83 (1H, d, 15,6 Hz, H-8)] và một methoxy $[\delta_H$ 3,87 (3H, s, 2'-OMe)]. Phổ ^{13}C NMR cho thấy chứa chín nhóm CH, năm cacbon và một nhóm OCH_3 . Dựa trên dữ kiện phân tích phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [34], hợp chất **A6** đã được xác định là cardamonin.



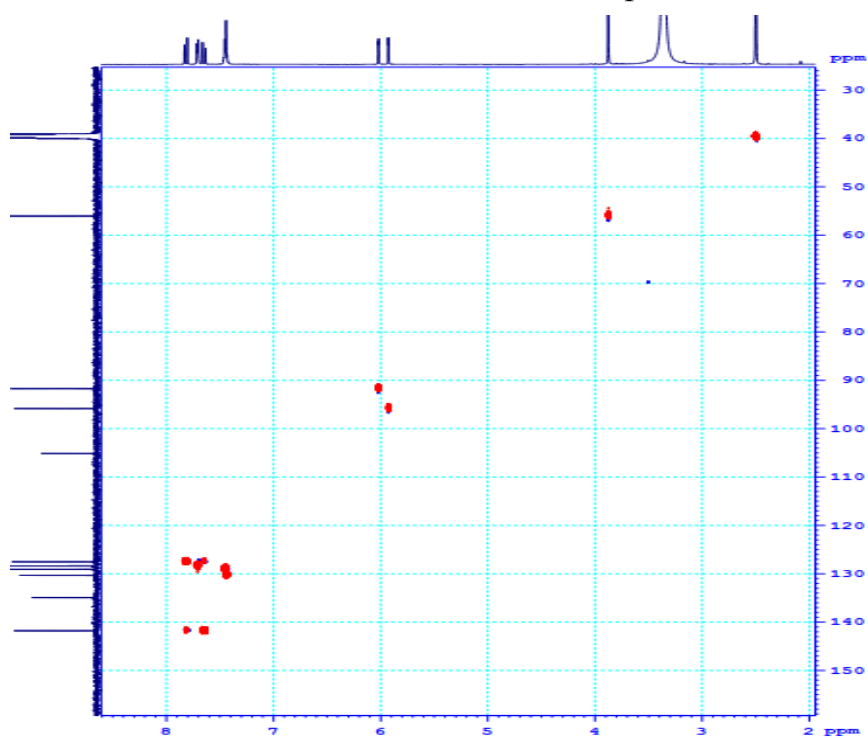
Hình 3.31. Phổ HR-ESIMS của hợp chất **A6**



Hình 3.32. Phổ 1H -NMR của hợp chất **A6**

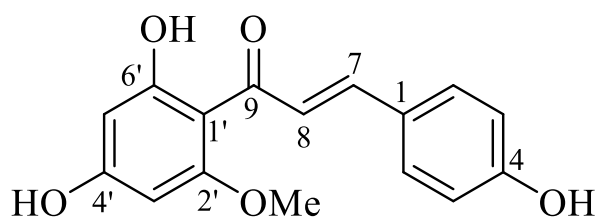


Hình 3.33. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A6



Hình 3.34. Phổ HSQC của hợp chất A6

3.3.7. Hợp chất A7

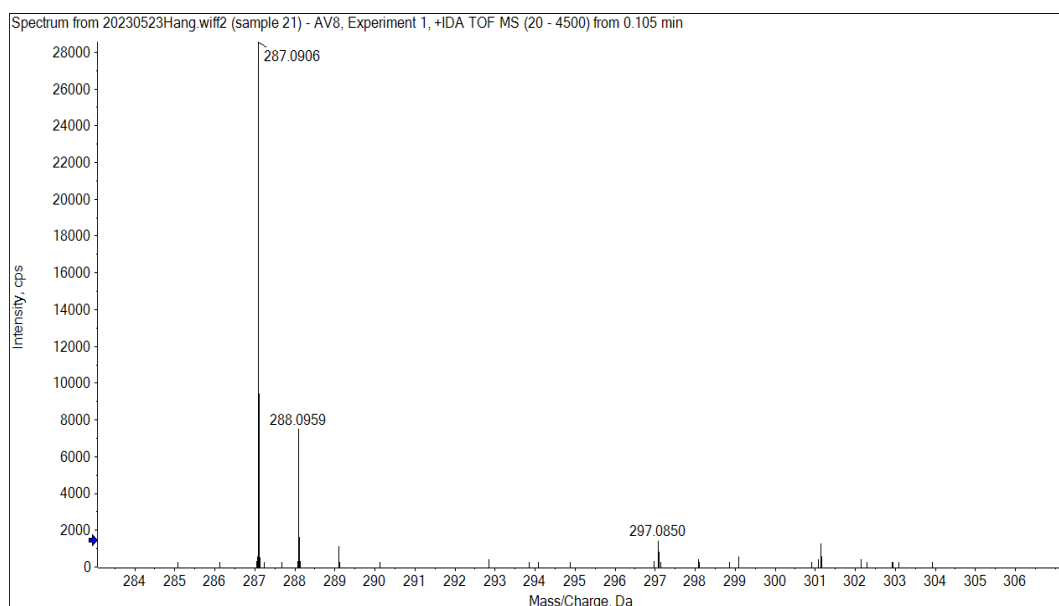


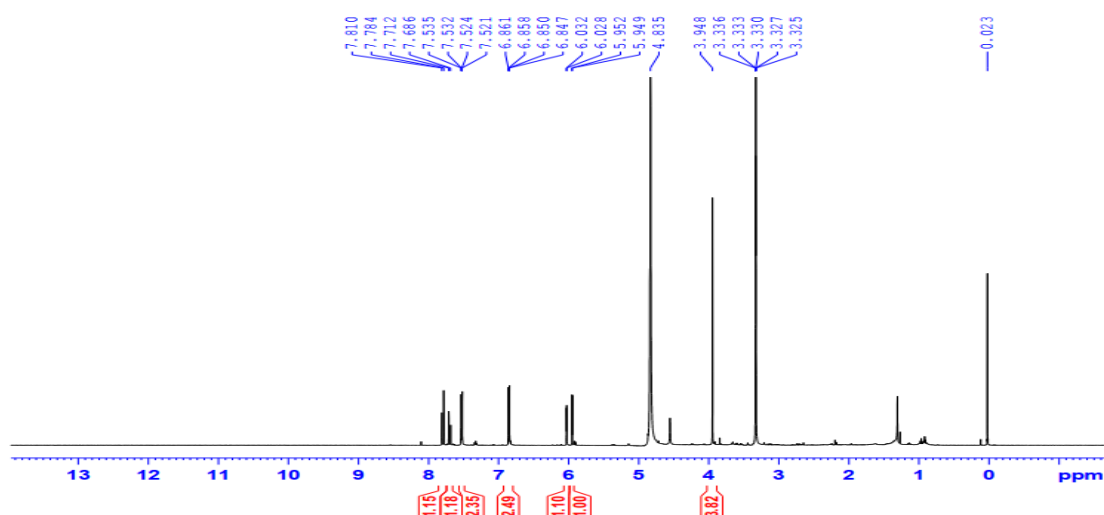
Hình 3.35. Cấu trúc hóa học của hợp chất A7

Bảng 3.7. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **A7**

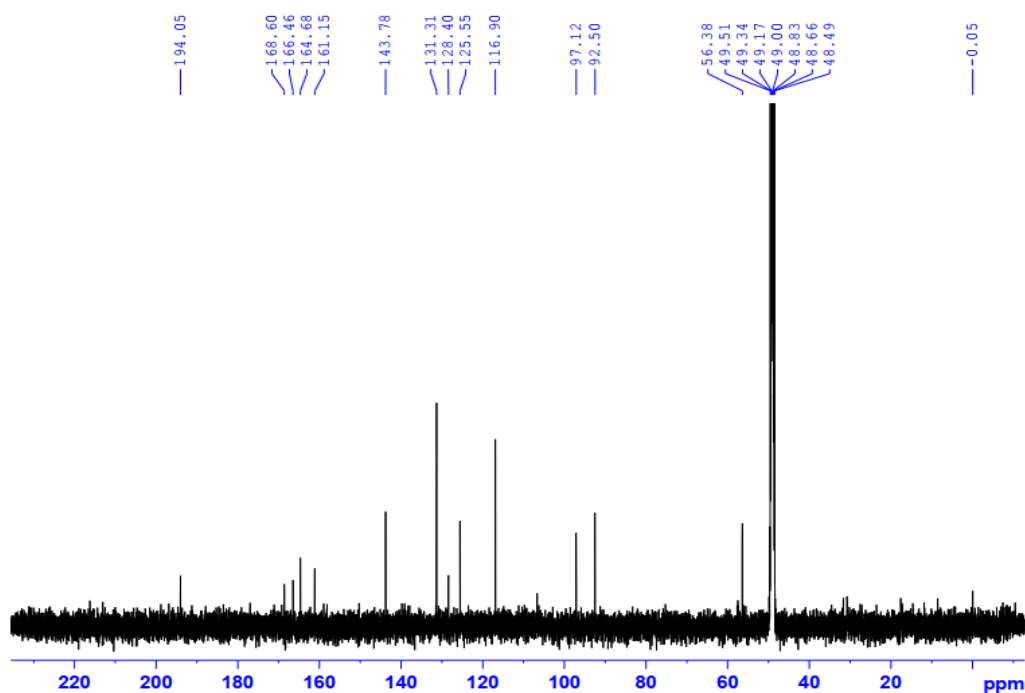
Hợp chất A7					
C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)	C	δ_{H} (mult., J Hz) (CD_3OD)	δ_{C} (CD_3OD)
1	-	128.4	1'	-	104.0
2 & 6	7.53 (d, 8.4)	131.3	2'	-	164.6
3 & 5	6.85 (d, 8.4)	116.9	3'	6.03 (d, 2.4)	92.5
4	-	161.1	4'	-	168.6
7	7.70 (d, 15.6)	143.7	5'	5.95 (d, 2.4)	97.1
8	7.80 (d, 15.6)	125.5	6'	-	166.4
9	-	194.0	2' – OMe	3.94 (s)	56.3

Hợp chất **A7** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Dữ liệu NMR của hợp chất **A7** tương tự như dữ liệu của hợp chất **A6**, ngoại trừ việc thay thế proton H-4' trong hợp chất **A6** bằng OH trong hợp chất **A7**. Điều này còn được xác nhận thêm bởi peak ion giả phân tử ở m/z 287,0906 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (được tính cho $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_5$: 287,0913) trong phổ HR-ESIMS (+) của nó. Dữ liệu NMR của **A7** phù hợp với dữ liệu của helichrysetin [36].

Hình 3.36. Phổ HR-ESIMS của hợp chất **A7**



Hình 3.37. Phổ ^1H -NMR của hợp chất A7



Hình 3.38. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất A7

Như vậy, từ cao chiết ethyl acetate của cây Riêng Việt Nam đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 7 hợp chất. Các hợp chất thuộc nhóm flavonoid gồm 02 hợp chất flavone quercetin-3- O - α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside (**A1**) và diosmetin (**A2**), 03 hợp chất flavanone pinocembrin (**A3**), alpinetin (**A4**) và 5- O -methylnaringenin (**A5**), 02 hợp chất chalcone cardamonin (**A6**) và helichrysetin (**A7**).

3.4. Đánh giá hoạt tính sinh học các hợp chất phân lập từ cây Riềng Việt Nam

Các hợp chất phân lập từ cây Riềng Việt Nam gồm **A1 - A7** được đánh giá các hoạt tính gây độc tế bào, bắt gốc tự do DPPH và ức chế α -glucosidase.

3.4.1. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất

Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **A1 - A7** thu được từ cây Riềng Việt Nam được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất được thử nghiệm (IC_{50} μ M)

TT	Hoạt tính gây độc tế bào			
	KB	MCF7	A549	HepG2
A1	-	138.37 $\pm$ 13.65	43.48 $\pm$ 6.35	-
A2	-	-	293.07 $\pm$ 26.60	-
A3	-	315.71 $\pm$ 28.30	177.59 $\pm$ 14.0	-
A4	390.74 $\pm$ 33.40	-	-	-
A5	-	-	-	-
A6	223.62 $\pm$ 18.50	236.79 $\pm$ 21.40	409.02 $\pm$ 36.10	306.42 $\pm$ 28.30
A7	69.86 $\pm$ 6.62	23.02 $\pm$ 2.73	6.81 $\pm$ 0.60	89.98 $\pm$ 9.38
Ellipticine	1.66 $\pm$ 0.08	1.58 $\pm$ 0.16	1.62 $\pm$ 0.12	1.66 $\pm$ 0.16

Hai hợp chất chalcone **A6, A7** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng tế bào ung thư ung thư biểu mô (KB), ung thư vú (MCF7), ung thư phổi (A549) và ung thư gan (HepG2). Đặc biệt, hợp chất **A7** kiểm soát mạnh tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 6.81 μ M khi sử dụng Ellipticine làm chất đối chứng dương ($I_{50} = 1.62$ μ M). Hai hợp chất **A1** và **A3** đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào ung thư MCF7 và A549, bên cạnh đó hợp chất **A2** chỉ có hoạt tính với tế bào ung thư A549 và **A4** có hoạt tính với tế bào ung thư KB. Cơ chế chống ung thư của các hợp chất phân lập được cũng được tìm thấy ở các báo cáo trước đây. Ví dụ, hợp chất helichrysetin kích hoạt cơ chế apoptosis đối với dòng tế bào Ca Ski thông qua việc gây tổn thương ADN [37]. Hay như theo báo cáo của Ho và các cộng sự năm 2013, hợp chất này bắt giữ và gây rụng chết tế bào A549 thông qua việc làm suy yếu màng tế bào [38].

3.4.2. Đánh giá hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Kết quả thử hoạt tính bắt gốc tự do của các hợp chất **A1** - **A7** thu được từ cây Riềng Việt Nam được trình bày ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất được thử nghiệm (IC_{50} μ M)

TT	Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH
A1	51.68 $\pm$ 2.16
A2	250.97 $\pm$ 4.43
A3	-
A4	-
A5	-
A6	-
A7	-
Quercetin	32.99 $\pm$ 0.83

Đối với thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa, hợp chất **A1** bắt mạnh gốc DPPH với giá trị IC_{50} là 51.68 μ M, bên cạnh đó hợp chất **A2** có hoạt tính ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} là 250.97 μ M khi sử dụng Quercetin làm chất đối chứng (IC_{50} = 32.99 μ M). Các hợp chất còn lại không có hoạt tính. Đây là lần đầu tiên, hợp chất **A1** được thử nghiệm trên mô hình chống gốc tự do DPPH. Các dẫn xuất của quercetin thể hiện tính ưu việt trong các thử nghiệm chống oxy hóa. Ví dụ, các hợp chất flavonoid saponarin, rutin, epicatechin, gallocatechin thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH ở mức độ tốt với các giá trị IC_{50} lần lượt là 211, 11.1, 11.7 và 6.9 μ M [39].

3.4.3. Đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase

Kết quả thử hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất **A1** - **A7** thu được từ cây Riềng Việt Nam được trình bày ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Hoạt tính ức chế α -glucosidase của các hợp chất được thử nghiệm (IC_{50} μ M)

TT	Hoạt tính ức chế α -glucosidase
A1	-
A2	324.64 $\pm$ 14.52

A3	-
A4	296.34 ± 3.74
A5	-
A6	-
A7	-
Acarbose	208.43 ± 4.68

Khi đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase, hợp chất **A2** và **A4** có các giá trị IC_{50} lần lượt là 324.64 và 296.34 μ M, các hợp chất còn lại không có hoạt tính. Acarbose được sử dụng làm chất đối chứng với giá trị IC_{50} là 208.43 μ M. Kết quả nghiên cứu thể hiện tính tương đồng với các kết quả nghiên cứu trước đây. Ví dụ, theo báo cáo của Cheng và cộng sự năm 2014, diosmetin có hoạt tính α -glucosidase với giá trị IC_{50} là 77.73 μ M [40].

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu hóa thực vật và một số hoạt tính sinh học cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) thu hái tại Thừa Thiên Huế, tôi rút ra được những kết luận chính như sau:

1. Lần đầu tiên đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 7 hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam bao gồm 02 hợp chất flavone quercetin-3-*O*- α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside (**A1**) và diosmetin (**A2**), 03 hợp chất flavanone pinocembrin (**A3**), alpinetin (**A4**) và 5-*O*-methylnaringenin (**A5**), 02 hợp chất chalcone cardamonin (**A6**) và helichrysetin (**A7**).

2. Hai hợp chất chalcone **A6**, **A7** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng tế bào ung thư ung thư biểu mô (KB), ung thư vú (MCF7), ung thư phổi (A549) và ung thư gan (HepG2). Đặc biệt, hợp chất **A7** ức chế mạnh tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 6.81 μ M.

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa cho thấy hợp chất **A1** bắt mạnh gốc DPPH với giá trị IC_{50} là 51.68 μ M, bên cạnh đó hợp chất **A2** có hoạt tính ở mức độ trung bình, giá trị IC_{50} là 250.97 μ M.

Hai hợp chất **A2** và **A4** ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 324.64 và 296.34 μ M.

2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất khác từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*).

Tiếp tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về các hoạt tính gây độc tế bào, hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của các hợp chất sạch phân lập được, tiếp tục tiến hành thử nghiệm các hoạt tính sinh học dạng mô hình *in vivo*, *in vitro*, góp phần làm sáng tỏ tác dụng dược học của loài này.

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

Nguyen Thanh Tra, Nguyen Thi Thuy Hoa, Nguyen Thi Thuy Linh, Nguyen Thi Thu Ha, Ba Thi Cham, Le Thi Tu Anh, Ninh The Son, 2024, Flavonoids from *Alpinia vietnamica*, and their cytotoxic, antioxidative, and α -glucosidase inhibitory activities, *Vietnam Journal of Chemistry*, 62(1), 98-102.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Quốc Bình, Nguyễn Phương Hạnh, Nghiêm Đức Trọng, Đỗ Hoàng Chung, Nguyễn Trung Thành, 2019, Bổ sung một loài thực vật ở miền Bắc Việt Nam thuộc chi Riềng (*Alpinia* Roxb.) họ Gừng (Zingiberaceae) cho hệ thực vật Việt Nam, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 35(3), 102-107.
- [2] Lê Chí Toàn, 2021, Phát sinh loài phân tử của Chi Riềng *Alpinia* roxb. (Zingiberaceae): Góc nhìn tổng quan về phát sinh loài của Chi Riềng Việt Nam, *TNU Journal of Science and Technology*, 226(5), 104-109.
- [3] Nguyễn Quốc Bình, Nguyễn Phương Hạnh, Hoàng Lê Tuấn Anh, 2017, Chi riềng - *Alpinia* Roxb. (Họ gừng - Zingiberaceae) ở Việt Nam, *Báo cáo Khoa học về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [4] Thien V.H., Thang T.D., Nguyen L.T., Dat D.V., 2021, An overview of the chemical composition and biological activities of essential oils from *Alpinia* genus (Zingiberaceae), *Royal Society of Chemistry*, 11, 37767-37783.
- [5] Võ Văn Chi, 2019, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
- [6] Kaur A., Singh R., Dey C.S., Sharma S.S., Bhutani K.K., Singh I.P., 2010, Antileishmanial phenylpropanoids from *Alpinia galanga* (Linn.) Willd, *Indian Journal of Experimental Biology*, 48(3), 314-317.
- [7] Malek S.N.A., Phang C.W., Ibrahim H., Wahab N.A., Sim K.S., 2011, Phytochemical and cytotoxic investigations of *Alpinia mutica* rhizomes, *Molecules*, 16(1), 583-589.
- [8] Romes N.B., Salleh W.M.N.H.W., Sirat H.M., Assim Z., 2020, antityrosinase inhibitory activity of phytochemicals from *Alpinia aquatica* Roscoe, *Pharmaceutical Sciences*, 26(2), 209-213.
- [9] Sulistyowaty M.I., Uyen N.H., Suganuma K., Chitama B.Y.A., Yahata K., Kaneko O., Sugimoto S., Yamano Y., Kawakami S., Otsuka H., Matsunami K., 2021, Six new phenylpropanoid derivatives from chemically converted extract of *Alpinia galanga* (L.) and their antiparasitic activities, *Molecules*, 26(6), 1756-1767.

- [10] Cheng X.L., Li H.X., Chen J., Wu P., Xue J.H., Zhou Z.Y., Xia N.H., Wei X.-Y., 2021, Bioactive diarylheptanoids from *Alpinia coriandriodora*, *Natural Products and Bioprospecting*, 11(1), 63-72.
- [11] Aziz A.N. Ibrahim H., Syamsir D.R., Mohtar M., Vejayan J., Awang K., 2013, Antimicrobial compounds from *Alpinia conchigera*, *Journal of Ethnopharmacology*, 145(3), 798-802.
- [12] Mpalantinos M.A., Soares de Moura R., Parente J.P., Kuster R.M., 1998, Biologically active flavonoids and kava pyrones from the aqueous extract of *Alpinia zerumbet*, *Phytotherapy Research*, 12(6), 442-444.
- [13] Mohamad H., Abas F., Permana D., Lajis N.H., Ali A.M., Sukari M.A., Hin T.Y.Y., Kikuzaki H., Nakatani N., 2004, DPPH free radical scavenger components from the fruits of *Alpinia rafflesiana* Wall. ex. Bak. (Zingiberaceae), *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(11), 811-815.
- [14] Bian Q.Y., Wang S.Y., Xu L.J., Chan C.O., Mok D.K.W., Chen S.B., 2013, Two new antioxidant diarylheptanoids from the fruits of *Alpinia oxyphylla*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 15(10), 1094-1099.
- [15] Mustahil N.A., Sukari M.A., Abdul A.B., Ali N.A., Lian G.E.C., 2013, Evaluation of biological activities of *Alpinia mutica* Roxb. and its chemical constituents, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26(2), 391-395.
- [16] Junior W.A.R., Gomes D.B., Zanchet B., Schönell A.P., Diel K.A.P., Banzato T.P., Ruizc A.L.T.G., Carvalho J.E., Neppel A., Barisson A., Santos C.A.M., 2017, Antiproliferative effects of pinostrobin and 5,6-dehydrokavain isolated from leaves of *Alpinia zerumbet*, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(5), 592-598.
- [17] Kidruangphokin M., Suphrom N., Thanyawasit P., Thammasorn P., Boonphong S., 2022, α -glucosidase inhibitory activity of styrylpyrone and flavonoids isolated from *Alpinia mutica* Roxb. seed, *Medicinal Plants*, 14(3), 441-447.
- [18] Xu S., Ji X., Shi Z., Chen X., Tan R., Jiang H., 2023, Chemical composition of *Alpinia oxyphylla* Miq. and chrysin protective activity on neuron cells, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56(11), 1477-1482.

- [19] Tram N.L., Ryo Y., Makoto S., Koji K., 2002, Isolation and structural elucidation of some glycosides from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4919-4924.
- [20] Tram N.L., Makoto S., Koji K., Ryo Y., 2003, Isolation and characterization of some antioxidative compounds from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4924-4929.
- [21] Minh T.T., Thuong N.T.M., Huong T.T., 2018, Study on chemical constituents and biological activities of *Alpinia Kwangsiensis* collected in Vietnam, *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56(4A), 273-278.
- [22] Tuan N.N., Huong N.T., Hieu T.T., Huyen M.T.T., Trinh N.T.N., Hai T.X., Hai H.V., Buu T.G., Thang T.D., 2020, Chemical constituents from the seeds of *Alpinia blepharocalyx* K. Schum in Vietnam and their bioactives, *Pharmacophore*, 11(6), 108-111.
- [23] Tuan N.N., Huong N.T., Hieu T.T., Huyen M.T.T., Hai T.X., Hieu T.T., Huyen N.T., Thanh N.T., Thang T.D., 2023, Chemical constituents obtained from rhizomes of *Alpinia blepharocalyx* K. Schum. and their anti-inflammatory properties, *Herba Polonica*, 69(1), 31-36.
- [24] Truong L.H., Dang T.H., Luc N.T., Binh N.Q., Leong-Škorničková J., 2019, *Alpinia vietnamica* (Zingiberaceae), a new species from central Vietnam, *Annales Botanici Fennici*, 56(4), 221-226.
- [25] Phạm Trương Thị Thọ, 1980, *Hóa học các hợp chất tự nhiên*, Nhà Xuất bản Giáo dục.
- [26] Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007, *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [27] Nguyễn Đình Triệu, 2010, *Các phương pháp phổ trong hóa học hữu cơ*, Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [28] Tim M., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay, *Journal of immunological methods*, 65, 55-63.

- [29] Hakamata W., Kurihara M., Okuda H., Nishio T., Oku T., 2009, Design and screening strategies for α -glucosidase inhibitors based on enzymological information, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(1), 3-12.
- [30] Kai M., Klaus H.V., Sebastian L., Ralf H., Andreas R., Ulf-Peter H., 2007, Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements, *Sensors*, 7(10), 2080-2095.
- [31] Rao K.V., Damu A.G., Jayaprakasam B., Gunasekar D., 1999, Flavonol Glycosides from *Cassia hirsuta*, *Journal of Natural Products*, 62(2), 305-306
- [32] Mauricio M.V., Jorge M.D., Maria V.M.C., Juliana L.L., Gálber S.B.S., 2020, A High-Yield process for extraction of hesperidin from orange (*Citrus sinensis* L. *osbeck*) peels waste, and its transformation to diosmetin, a valuable and bioactive flavonoid, *Waste and Biomass Valorization*, 12(1), 313-320.
- [33] Khong H.Y., Nyotia N., Clifford J.K., Ahmad S.H., Isabel F.L., 2017, Chemical constituents of *Artocarpus odoratissimus* from Sarawak, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7 (8), 137-141.
- [34] Lu H.T., Zou Y.L., Deng R., Shan H., 2013, Extraction, purification and antiradical activities of alpinetin and cardamomin from *Alpinia katsumadai* Hayata, *Asian Journal of Chemistry*, 25(17), 9503-9507.
- [35] Kim J.G., Linh L.T.P, Hong H.R., Han J.S., Ko J.H., Lee S.H., Lee M.K., Hwang B.Y, 2019, Nitric Oxide inhibitory constituents from the fruits of *Amomum tsao-ko*, *Natural Product Sciences*, 25(1), 76-80.
- [36] Malolo F.-A.E., Nougá A.B., Kakam A., Franke K., Ngah L., Jr O.F., Mpondo E.M., Kang F.N., Ndom J.C., Bolzani V.D.S., Wessjohann L., 2015, Protease-inhibiting, molecular modeling and antimicrobial activities of extracts and constituents from *Helichrysum foetidum* and *Helichrysum mechowianum* (compositae), *Chemistry Central Journal*, 9(1), 32-42.

- [37] Ho Y. F., Sri N. A. M., Hui S. Y., Saiful A. K., 2017, Helichrysetin induces DNA damage that triggers JNK-mediated apoptosis in Ca Ski Cells, *Pharmacognosy Magazine*, 13(52), 607-612.
- [38] Ho Y. F., Saiful A. K., Wai K. Y., Sri N. A. M., 2013, Induction of apoptosis and cell cycle blockade by helichrysetin in A549 human lung adenocarcinoma cells, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 13(3), 1-11.
- [39] Masafumi O., Junei K., Toshihiro N., Masateru O., 2001, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(10) 1202-1205.
- [40] Carina P., Daniela R., Marisa F., Eduarda F., 2022, Flavonoids as potential agents in the management of type 2 diabetes through the modulation of α -amylase and α -glucosidase activity: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(12), 3137-3207.

Hà Nội, ngày 07 tháng 5 năm 2024

Số: 423/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 1178/QĐ-HVKHCN ngày 17/10/2023 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 Nguyễn Thị Thúy Hòa với đề tài: “Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)”

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 Lâm



DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số **423** /QĐ-HVKHCN ngày **07/5/2024**
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Nguyễn Thị Thúy Hòa

Tên đề tài: “Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)”

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn 1: TS. Ninh Thế Sơn - Viện Hóa học

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: TS. Nguyễn Thanh Trà - Viện Hóa học

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Phan Văn Kiệm	Hóa hữu cơ	Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Lê Thị Huyền	Hóa hữu cơ	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội	Phản biện 2
4.	TS. Lê Ngọc Hùng	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	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 15 tháng 5 năm 2024

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 423/QĐ-HVKHCN ngày 07/5/2024 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 Nguyễn Thị Thúy Hòa

Tên đề tài: Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 15/5/2024 Hội đồng đã họp tại phòng 1513 Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 9h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Phan Văn Kiệm	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Lê Thị Huyền	Phản biện 2
4.	TS. Lê Ngọc Hùng	Ủy viên
5.	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	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:

Bản phân tích của cây riềng... nghiên cứu...
...phân lập... xác định... dựa trên...
...yếu tố nào...
...Đã có B.B. để... đưa vào... DM80?

Học viên trả lời

- Đô phân: Trăm cây (tên và điều mặt đất)
- Đô phân? CD
- Hợp chất đơn do dư mà độ tan

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

Câu hỏi:

- Các hợp chất fluorid có OH trong phân tử, có nhóm OH cuối
- Hiện có nhóm phân tử gì?
- Hoạt tính chống oxy hóa là gì?

Học viên trả lời

- Hợp chất đơn phân và tên hiệu thêm
- Một số phương pháp xét nghiệm từ là PPH, APT, H₂
- Khử ion kẽm (ion)

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

Câu hỏi:

Chống

Học viên trả lời

8. Hội đồng họp kín và cho điểm



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

Trưởng ban: PGS.TS Phạm Văn Kiểm

Ủy viên: PGS.TS. Lê Thị Huyền

Ủy viên: TS. Lê Ngọc Hùng.

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 49,3

Điểm trung bình: 9,86

Điểm thưởng công trình công bố:

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

- 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:

Đã tra không trùng lặp với các công bố khác:

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

- Chỉnh sửa, tham góp ý của các thành viên:

- Chỉnh sửa các lỗi in, ấn:

Buổi họp đã kết thúc vào 11 giờ 00 phút ngày 15/5/2024

Hà Nội, ngày 15 tháng 5 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CTHưu
Nguyễn Xuân Nhiệm.

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Truy
GS.Đ. Nguyễn Văn Trung

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

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: Phan Văn Kiêm
Học hàm, học vị: PGS. TS
Chuyên ngành: Hoa' Huyết' Cỏ'
Cơ quan công tác: Viện' Hoa' Sinh' Hữu'
Họ và tên học viên: Nguyễn Thị Thúy Hoa
Tên đề tài: Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và tính chất hoạt tính sinh học của hợp chất flavonoid từ cây rừng Việt Nam
Chuyên ngành: Hoa' Huyết' Cỏ' (Alpinia Vietnamica)
Mã số: 84 4. 0114

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Cây Huyết' Cỏ' rừng, trong đó có cây Alpinia Vietnamica thường được sử dụng để chữa các bệnh viêm nhiễm, làm giảm đau, chữa ho, xoa bóp v.v... Rễ cây A. Vietnamica còn chứa một lượng lớn alkaloid. Nghiên cứu này góp phần bổ sung thêm thông tin về cấu trúc phân tử và hoạt tính sinh học của cây này, tạo thêm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo.

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:

Đề tài không trùng lặp với các nghiên cứu trước đây.

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

Tên gọi của đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và mã số đào tạo.

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

Luận văn còn có một số sai sót về cấu trúc logic của nhiều ý kiến
vẫn tiếp tục quan trọng, 10, 15, 17, 18. Chỉ ý kiến tiếp theo D/L.
Hầu hết các luận cứ chất lượng A3, A4, A5 chưa được trình bày.
Giải thích thời gian của A2 còn sai sót tại C1 và C6.
Hàng chữ 14.1. tại 18. Thiếu ký hiệu glucose, nếu là bộ phận
đang có glucose và đường của tuần hoàn vận chuyển (UNPAC) nào?

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?

Bài báo có chất lượng và phân, cả nội dung phân hệ
luận văn.

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 đạt yêu cầu của một luận văn Thạc sĩ khoa học
học viên Nguyễn Thị Thanh Hoa xứng đáng được nhận học vị Thạc sĩ.
Với ý kiến chấp thuận luận văn theo nghị quyết của Hội đồng.

Hà Nội, ngày 14 tháng 5 năm 2024

Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)


PGS TS Phan Văn Kiên

BẢN NHẬN XÉT LUẬN VĂN THẠC SĨ

Người phản biện: **PGS.TS. Lê Thị Huyền**

Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ.

Cơ quan công tác: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội.

Học viên: Nguyễn Thị Thúy Hòa

Đề tài luận văn: Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*).

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 8440114

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Trong vài thập kỉ qua, y học cổ truyền đã cung cấp công nghiệp Hóa dược với hơn 40% tổng các loại thuốc. Do đó, ngày càng nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc đánh giá khoa học của các loại thuốc truyền thống có nguồn gốc thực vật. Các loài thực vật thuộc chi Riềng (*Alpinia*) được sử dụng rất phổ biến trong y học dân gian. Chi *Alpinia*, thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*), bao gồm khoảng 250 loài chủ yếu phân bố ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của châu Á, một số ít loài cũng được tìm thấy ở Australia và các đảo Thái Bình Dương. Tuy nhiên, tại Việt Nam chỉ ghi nhận được 35 loài. Các thực vật chi *Alpinia* được sử dụng trong y học cổ truyền dân tộc để chữa trị nhiều bệnh lý khác nhau như loài *Alpinia officinarum* Hance, *Alpinia galanga* (L.) Willd., và nhiều loài khác. Ở nước ta, các loài *Alpinia* phân bố rộng rãi từ Bắc vào Nam. Tuy nhiên, nhiều loài mới chỉ được biết đến trong những năm gần đây hoặc được sử dụng trong y học dân gian mà chưa được nghiên cứu đầy đủ về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Trong số các loài thuộc chi *Alpinia*, Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*) là một loài mới được tìm thấy ở miền Trung Việt Nam. Vì vậy, ở trên thế giới và Việt Nam chưa có công trình nghiên cứu nào về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài này. Do vậy, đề tài có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

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

Các kết quả công bố trong luận văn không trùng lặp với bất kì công trình nào của Việt Nam và trên thế giới. Các kết quả nghiên cứu, các số liệu phân tích là trung thực,



đáng tin cậy dựa trên các phương pháp nghiên cứu khoa học đúng đắn và được trình bày rõ ràng, mạch lạc.

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

Tên đề tài và nội dung, giữa nội dung và chuyên ngành là hoàn toàn phù hợp.

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

Luận văn đã sử dụng các phương pháp sắc ký bao gồm: sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký lớp mỏng điều chế và sắc ký cột (CC) để phân lập và tinh chế các hợp chất từ phần chiết ethyl acetate của riềng Việt Nam. Cấu trúc của các hợp chất được nhận dạng thông qua các phương pháp phổ hiện đại bao gồm: phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối phân giải cao. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT, hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH, hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.

Đây đều là các phương pháp hiện đại. Do đó, các số liệu đưa ra là chính xác và có độ tin cậy cao, phù hợp với các nội dung nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của luận văn

Lần đầu tiên đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 7 hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam bao gồm 02 hợp chất flavone quercetin-3-*O*- α -L-rhamnosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnoside (**A1**) và diosmetin (**A2**), 03 hợp chất flavanone pinocembrin (**A3**), alpinetin (**A4**) và 5-*O*-methylnaringenin (**A5**), 02 hợp chất chalcone cardamonin (**A6**) và helichrysetin (**A7**).

Hai hợp chất chalcone **A6**, **A7** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng tế bào ung thư ung thư biểu mô (KB), ung thư vú (MCF7), ung thư phổi (A549) và ung thư gan (HepG2). Đặc biệt, hợp chất **A7** ức chế mạnh tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 6.81 μ M. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa cho thấy hợp chất **A1** bắt mạnh gốc DPPH với giá trị IC_{50} là 51.68 μ M, bên cạnh đó hợp chất **A2** có hoạt tính ở mức độ trung bình, giá trị IC_{50} là 250.97 μ M. Hai hợp chất **A2** và **A4** ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 324.64 và 296.34 μ M.

Đóng góp mới của luận văn

Tác giả đã nghiên cứu thành phần hóa học các hợp chất flavonoid và hoạt tính hoạt tính gây độc tế bào, hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do DPPH, hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất flavonoid phân lập từ loài riềng Việt Nam. Đây là 1 đối tượng nghiên cứu mới lần đầu tiên được nghiên cứu ở Việt Nam và trên thế giới. Các kết quả nghiên cứu của luận văn đã góp phần đóng góp vào sự phát triển của ngành Hóa học các hợp chất thiên của Việt Nam.

Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu luận văn. Chỉ ra các vấn đề cần phải điều chỉnh, làm rõ.

Luận văn được viết ngắn gọn, logic và hợp lí. Các lập luận, biện giải các chất rõ ràng và khoa học. Các bảng số liệu, hình được căn chỉnh rõ ràng, phù hợp với báo cáo khoa học; ký hiệu viết tắt được tổng hợp trong bản viết tắt.

Tác giả cần xem và sửa lại một số các lỗi in ấn như *J, R, S, o, m, p* cần được viết nghiêng. Một số danh pháp hóa học cần được thống nhất: metoxy, lipopolysacaride,...

Phần tổng quan cấu trúc của hợp chất **128**, gallocatechin trang 17 vẽ chưa chính xác.

Phần chương 2, phương pháp nghiên cứu tác giả nên chỉ trình bày đúng phương pháp chiết luận văn sử dụng là ngâm lạnh, ko cần đưa phương pháp chiết siêu âm vào. Phần phương pháp cũng cần viết ngắn gọn lại, chủ yếu tập trung máy đo trên thiết bị nào, model, ở đâu,... Cũng cần lưu ý về khối lượng cạn chiết tổng và các cạn chiết phân đoạn thu được.

Phần chương 3, mục 3.2 nên được sửa thành cấu trúc và các thông số vật lý của các hợp chất được phân lập, và bổ sung thông số phổ HR-ESI-MS. Các hình 3.4 (chất A1), 3.10 (chất A2) cần bổ sung tên cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của... và cần vẽ bổ sung thêm một số tương tác HMBC (chất A1, A2).

Một số chất cần bổ sung số liệu NMR của các nhóm OH (chất A2, A3, A6)

Các kí hiệu ^1H NMR trong đầu mỗi bảng 3.1 đến 3.7 nên bổ sung độ bội.

Bảng 3.6 của hợp chất A6, thiếu tín hiệu của proton H-4

Phần hoạt tính viết hơi ngắn, mới mang tính chất thông báo chứ chưa bàn luận và so sánh với các nghiên cứu trước đây.

Kết luận chung cần 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

Các kết quả nêu trong luận văn cho thấy đây là một luận văn có khối lượng công việc và chất lượng tốt và có mục tiêu rõ ràng. Tác giả đã công bố được 1 công trình trên các tạp chí hóa học. Vì vậy, Tôi đồng ý cho học viên Nguyễn Thị Thúy Hòa được bảo vệ luận văn trước Hội đồng để Học viện nhận học vị thạc sĩ.

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN XÁC NHẬN:

Chữ ký của ông bà

PGS. TS. Lê Thị Huyền.....

Hà Nội, Ngày 15 tháng 5 năm 2024

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

TRƯỜNG PHÒNG TCCB - FCC.....



Ths. Nguyễn Tuấn Khanh

Hà Nội, ngày 13 tháng 5 năm 2024

NGƯỜI VIẾT NHẬN XÉT

PGS. TS. Lê Thị Huyền

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

Họ tên học viên: Nguyễn Thị Thúy Hòa

Lớp: Hóa hữu cơ 2022A

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid từ cây Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*).

Ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn khoa học: TS. Ninh Thế Sơn, TS. Nguyễn Thanh Trà

Ngày bảo vệ luận văn: 15/5/2024

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

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Luận văn còn có một số sai sót về cấu trúc hóa học của nhiều hợp chất nêu trong tổng quan (trang 7, 10, 15, 17, 18). Chú ý cấu hình đường D, L.	Đã sửa lại cấu trúc hóa học các hợp chất ở trang 7, 10, 15, 17, 18.
2	Hóa học lập thể các hợp chất flavan A3 , A4 , A5 chưa được làm rõ.	Cấu hình của các hợp chất A3 , A4 , A5 được xác định dựa trên việc so sánh với tài liệu tham khảo.
3	Gán giá trị δ_C của A2 còn sai sót tại C-1' và C-6'.	Đã sửa lại giá trị δ_C của A2 tại C-1' và C-6'.
4	Hợp chất 141 trang 18 thiếu oxy của đường glucose.	Đã bổ sung oxy của đường glucose của hợp chất 141 (trang 18).
5	Nêu rõ bộ phận nào của cây	Đã bổ sung “toàn bộ phận” cây Riềng Việt Nam”.
6	Đánh số flavone và đường cần tuân theo quy tắc chung (IUPAC)	Đã đánh số flavone và đường tuân theo quy tắc chung (IUPAC).
7	Xem xét và sửa lại một số các lỗi in ấn như <i>J</i> , <i>R</i> , <i>S</i> , <i>o</i> , <i>m</i> , <i>p</i>	Đã rà soát và sửa lại một số lỗi in ấn và thống nhất về mặt danh pháp.



	cần được viết nghiêng. Một số danh pháp hóa học cần được thống nhất: metoxy, lipopolysacaride,...	
8	Phân tổng quan cấu trúc của hợp chất 128 , gallocatechin trang 17 vẽ chưa chính xác.	Đã sửa lại cấu trúc hợp chất 128 (trang 17).
9	Phân chương 2, phương pháp nghiên cứu tác giả nên chỉ trình bày đúng phương pháp chiết luận văn sử dụng là ngâm lạnh, không cần đưa phương pháp chiết siêu âm vào. Phần phương pháp cũng cần viết ngắn gọn lại, chủ yếu tập trung máy đo trên thiết bị nào, model, ở đâu,... Cũng cần lưu ý về khối lượng cần chiết tổng và các cần chiết phân đoạn thu được.	- Đã lược bỏ nội dung phương pháp chiết siêu âm. - Đã viết ngắn gọn lại nội dung phần phương pháp và bổ sung thông tin thiết bị.
10	Phân chương 3, mục 3.2 nên được sửa thành cấu trúc và các thông số vật lý của các hợp chất được phân lập, và bổ sung thông số phổ HR-ESI-MS. Các hình 3.4 (chất A1), 3.10 (chất A2) cần bổ sung tên cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của... và cần vẽ bổ sung thêm một số tương tác HMBC (chất A1 , A2).	- Đã sửa lại tên đầu mục 3.2 thành Cấu trúc và các thông số vật lý của các hợp chất được phân lập. - Đã bổ sung thông số phổ HR-ESI-MS. - Đã bổ sung tên cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất A1 và A2.
11	Một số chất cần bổ sung số liệu NMR của các nhóm OH (chất A2 , A3 , A6).	Số liệu NMR của các nhóm OH (chất A2 , A3 , A6) đã được bổ sung vào bảng 3.2, 3.3, 3.6
12	Các kí hiệu ^1H NMR trong đầu mỗi bảng 3.1 đến 3.7 nên bổ sung độ bội.	Đã bổ sung độ bội vào các kí hiệu ^1H NMR trong đầu mỗi bảng 3.1 đến 3.7.

13	Bảng 3.6 của hợp chất A6, thiếu tín hiệu của proton H-4.	Đã bổ sung tín hiệu proton H-4 của hợp chất A6 (Bảng 3.6)
14	Phần hoạt tính viết hơi ngắn, mới mang tính chất thông báo, chưa bàn luận và so sánh với các nghiên cứu trước đây.	Đã bổ sung một số nghiên cứu trước đây về hoạt tính sinh học các hợp chất flavonoid.
15	7 hợp chất đã phân lập và có trong các cây chi Riềng nhưng tác giả chưa chỉ rõ đã được nghiên cứu các hoạt tính gây độc tế bào, kháng oxi hóa và ức chế enzyme chưa	Một số hợp chất trong nhóm chất từ A1 - A7 đã được nghiên cứu trước đây. Việc so sánh đã được trình bày ở phần biện luận kết quả thử nghiệm hoạt tính sinh học.
16	Chỉnh sửa cấu trúc	Đã chỉnh sửa cấu trúc hóa học theo góp ý.

Hà Nội, ngày 21 tháng 5 năm 2024

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN



GS. TS. Nguyễn Văn Tuyền



TS. Ninh Thế Sơn



TS. Nguyễn Thanh Trà



Nguyễn Thị Thúy Hòa

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung