

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



**BÙI THỊ THỰC**  
**TÌM KIẾM CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH HẠ ĐƯỜNG**  
**HUYẾT TỪ LOÀI RÂU DÊ (*ARUNCUS DIOICUS*)**  
**Ở VIỆT NAM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC THỰC NGHIỆM**

**Mã số: 8420114**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:**  
**TS. NGUYỄN PHI HÙNG**

**HÀ NỘI, 2024**

## LỜI CAM ĐOAN

*Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình của tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Phi Hùng. Các số liệu và kết quả nghiên cứu này chưa từng được công bố ở bất cứ một nghiên cứu nào trước đây.*

*Nếu có bất kỳ sự sao chép nào từ các kết quả của nghiên cứu khác hoặc có sai sót về các số liệu nghiên cứu, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước nhà trường, trước hội đồng, và trước pháp luật.*



Bùi Thị Thục

## LỜI CẢM ƠN

Luận văn “Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam.” được thực hiện ở Khoa Công nghệ sinh học - Học viện Khoa học và công nghệ kết hợp với Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới TS. Nguyễn Phi Hùng – người thầy đã luôn tận tình hướng dẫn, giúp đỡ, động viên, tạo điều kiện thuận lợi để tôi học tập và nghiên cứu xuyên suốt quá trình thực hiện đề tài luận văn. Không chỉ về kiến thức chuyên môn bổ ích mà còn học tập được thái độ học tập, tác phong nghiên cứu khoa học nghiêm túc, đây là điều hết sức quý giá với tôi trong quá trình công tác và học tập sau này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới các anh/chị đồng nghiệp tại Phòng Phân tích hóa học, cũng như toàn thể anh/chị tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên (INPC) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã nhiệt tình chỉ bảo, hướng dẫn, giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình làm việc, thực hiện luận văn tại Viện.

Tôi cũng chân thành cảm ơn tới Ban lãnh đạo Học viện khoa học và công nghệ, các thầy cô trong Khoa Công nghệ sinh học và Phòng Đào tạo của Học viện đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong những năm tháng học tập tại Học viện và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất để tôi hoàn thành luận văn.

Sau cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến gia đình cũng như bạn bè, đặc biệt là bố mẹ, những người đã luôn quan tâm, chia sẻ và động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành!

Học viên thực hiện

**Bùi Thị Thục**

## MỤC LỤC

### PHỤ LỤC

#### PHỤ LỤC 2: DANH MỤC BẢNG VÀ SƠ ĐỒ

#### PHỤ LỤC 3: PHỤ LỤC HÌNH ẢNH

MỞ ĐẦU .....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN .....	3
1.1 GIỚI THIỆU SƠ LƯỢC VỀ HỌ ROSACEAE.....	3
1.2 GIỚI THIỆU PHÂN HỌ SPIRAEOIDEAE .....	3
1.3 GIỚI THIỆU VỀ CHI ARUNCUS .....	3
1.4 GIỚI THIỆU VỀ CÂY RÂU DÊ - <i>ARUNCUS DIOICUS</i> .....	4
1.5 TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU QUỐC TẾ VỀ RÂU DÊ.....	6
1.5.1 Hoạt tính chống oxy hóa.....	6
1.5.2. Hoạt tính gây độc tế bào. ....	8
1.5.3. Hoạt tính chống viêm.....	12
1.5.4. Nghiên cứu ngăn ngừa thoái hóa thần kinh. ....	13
1.5.5. Hoạt tính hạ đường huyết.....	15
1.5.6. Nghiên cứu khác. ....	17
1.6. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VỀ RÂU DÊ:.....	18
1.7. TỔNG QUAN VỀ ENZYME ALPHA-GLUCOSIDASE VÀ ENZYME PTP 1B .....	19
1.7.1. Tìm hiểu về bệnh tiểu đường .....	19
1.7.2. Cơ chế, vai trò của $\alpha$ -Glucosidase .....	21
1.7.3. Tổng quan về enzyme PTP1B.....	23
1.7.3.1. Mô tả chung về enzyme PTP1B .....	23
1.7.3.2. Chức năng của enzyme PTP1B.....	24
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	26
2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU .....	26
2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	26
2.2.1 Tra cứu phân bố theo khu vực và tiến hành thu thập mẫu vật.....	26
2.2.2 Phương pháp xử lý và chiết mẫu.....	26
2.2.3 Phương pháp phân lập và tinh chế hợp chất .....	27
2.2.4 Một số phương pháp xác định cấu trúc hóa học .....	30
2.2.5 Phương pháp nghiên cứu tác dụng sinh học. ....	31

2.3 Hóa chất .....	32
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1. BÁO CÁO KẾT QUẢ THU THẬP MẪU THỰC VẬT VÀ XỬ LÝ MẪU. ....</b>	<b>33</b>
3.1.1. Thu thập mẫu.....	33
3.1.2. Xử lý mẫu thực vật.....	33
3.1.3. Xác định tên khoa học và tạo mẫu tiêu bản lưu trữ .....	33
<b>3.2. KẾT QUẢ CHIẾT XUẤT TẠO MẪU CAO CHIẾT TỔNG VÀ CHIẾT TÁCH PHÂN ĐOẠN TẠO CÁC MẪU CAO PHÂN ĐOẠN. ....</b>	<b>35</b>
3.2.1 Chiết xuất tạo cao chiết.....	35
3.2.2 Khảo sát sơ bộ các cao chiết bằng SKBM .....	37
3.3.2. Cấu trúc hóa học của các chất phân lập từ các mẫu cao chiết. ....	41
<b>3.4. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC.....</b>	<b>54</b>
3.4.1 Kết quả thử nghiệm đánh giá tác dụng ức chế enzyme PTP1B của các mẫu thử nghiệm.....	54
3.4.2 Kết quả thử nghiệm đánh giá tác dụng ức chế enzyme $\alpha$ -Glucosidase của các hợp chất. ....	57
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>62</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>63</b>

## PHỤ LỤC

### PHỤ LỤC 1: CÁC KÝ HIỆU VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Việt
$^{13}\text{C-NMR}$	Phổ Cộng hưởng từ hạt nhân Cacbon -13
$^1\text{H-NMR}$	Phổ Cộng hưởng từ hạt nhân proton
ACN	Acetonitril
CC	Sắc ký cột
HPLC	Sắc ký lỏng áp suất cao
DEPT	Phổ DEPT
DMSO	Dimethylsulfoxide
$\text{IC}_{50}$	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
$J$ (Hz)	Hằng số tương tác tính bằng Hz
MeOH	Metanol
ppm	Phần triệu
SKLM	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilan
STT	Số thứ tự
$\delta_{\text{C}}$	Độ chuyển dịch hóa học của cacbon
$\delta_{\text{H}}$	Độ chuyển dịch hóa học của proton
br s	Singlet tù
d	Doublet

dd	Doublet of doublet
m	Multiplet
s	Singlet
t	Triplet
cs	Cộng sự
Jurkat T	Tế bào bạch cầu lympho T
HeLa	Tế bào ung thư biểu mô biểu mô cổ tử cung ở người
MCF- 7	Tế bào ung thư vú ở người
HL-60	Tế bào bạch cầu ở người
PTHH	Phân tích Hóa học
INPC	Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên
VAST	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
TLTK	Tài liệu tham khảo

## PHỤ LỤC 2: DANH MỤC BẢNG VÀ SƠ ĐỒ

Bảng 3.1. Danh sách mẫu thực vật thu thập.....	34
Bảng 3.2. Danh sách các mẫu dược liệu sau khi được xử lý, lưu trữ .....	35
Bảng 3.3. Danh sách các mẫu cao chiết sau khi sấy khô, thu hồi và chiết xuất.....	39
Bảng 3.4. Danh sách các mẫu hợp chất phân lập được từ loài Râu dê.....	44
Bảng 3.5. Danh sách và tên khoa học của các hợp chất phân lập được từ Râu dê ( <i>Aruncus dioicus</i> ) .....	57
Bảng 3.6. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của các mẫu cao chiết từ loài Râu dê.....	60
Bảng 3.7. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của các mẫu hợp chất từ loài Râu dê.....	61
Bảng 3.8. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme $\alpha$ -Glucosidase của các mẫu cao chiết từ loài Râu dê .....	63
Bảng 3.9. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme $\alpha$ -Glucosidase của các mẫu hợp chất (1-11) phân lập từ loài Râu dê.....	65
Sơ đồ 3.1. Sơ đồ quy trình chiết cao tổng và các cao phân bố của mẫu thực vật ..	38
Sơ đồ 3.2. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ phân đoạn EtOAc (AD-EA) của loài Râu dê ( <i>Aruncus dioicus</i> ).....	42
Sơ đồ 3.3. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ phân đoạn EtOAc (AD-EA) của loài Râu dê ( <i>Aruncus dioicus</i> ) .....	43



### PHỤ LỤC 3: PHỤ LỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1: Hình ảnh một cây Râu dê trưởng thành .....	5
Hình 1.2: Quả và hoa cây Râu dê.....	6
Hình 1.3: Bốn hợp chất được phân lập từ dịch chiết EtOAc của rễ cây.....	8
Hình 1.4: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> và EtOAc của cây Râu dê .....	10
Hình 1.5: Các hợp chất phân lập từ phân đoạn n-hexan và EtOAc Râu dê....	11
Hình 1.6: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn n-BuOH của Râu dê ....	12
Hình 1.7: Một số hợp chất được phân lập từ phần chồi non cây Râu dê.....	13
Hình 1.8: Một số hợp chất được phân lập từ hoa cây Râu dê.....	14
Hình 1.9: Một số hợp chất được phân lập từ cây Râu dê.....	16
Hình 1.10: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn n-BuOH của Râu dê ..	19
Hình 1.11: Phản ứng thủy phân polysaccharide thành glucose .....	22
Hình 1.12: Cấu trúc hóa học của acarbose, Miglitol và Voglibos .....	23
Hình 1.13: Cấu trúc chung của các flavonoid dùng để tổng hợp dẫn xuất.....	24
Hình 1.14: Cấu trúc của enzyme PTP1B .....	25
Hình 1.15: Các chất ức chế PTP1B giai đoạn lâm sàng .....	26
Hình 2.1: Hình ảnh bản mỏng khi chạy hệ dung môi và sau khi đốt.....	28
Hình 2.2: Sắc ký cột khi tiến hành chạy hệ dung môi .....	29
Hình 2.3: Hệ thống máy HPLC tại phòng PTHH-INPC-VAST.....	30
Hình 3.1. Một số hình ảnh mẫu thực vật <i>Aruncus dioicus</i> .....	37
Hình 3.2. Cấu trúc phân tử của hợp chất 1.....	45
Hình 3.3. Cấu trúc phân tử của hợp chất 2.....	46
Hình 3.4. Cấu trúc phân tử của hợp chất 3.....	47
Hình 3.5. Cấu trúc phân tử của hợp chất 4.....	48
Hình 3.6. Cấu trúc phân tử của hợp chất 5.....	49
Hình 3.7. Cấu trúc phân tử của hợp chất 6.....	51
Hình 3.8. Cấu trúc phân tử của hợp chất 7.....	52
Hình 3.9: Cấu trúc phân tử của hợp chất 8 .....	53
Hình 3.10: Cấu trúc phân tử của hợp chất 9 .....	54
Hình 3.11: Cấu trúc phân tử của hợp chất 10 .....	55
Hình 3.11: Cấu trúc phân tử của hợp chất 11 .....	56
Hình 3.13: Cấu trúc hóa học các hợp chất 1-11 phân lập từ Râu dê .....	58

## MỞ ĐẦU

Việt Nam thuộc vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng với độ ẩm cao, có nguồn tài nguyên sinh quyển phong phú, đặc biệt có nhiều loài thực vật quý hiếm. Theo ước tính từ 2022, của cục thông tin khoa học và công nghệ quốc gia, nước ta có khoảng 10.000 loài thực vật bậc cao có mạch, 600 loài Nấm, 800 loài Rêu, trên 2000 loài Tảo, tổng số loài cây được sử dụng làm thuốc đã biết ở nước ta đã lên tới hơn 5.000 loài [1]. Nguồn dược liệu Việt Nam có tiềm năng và có giá trị cao trong phòng và chữa trị bệnh. Các cây thuốc đã và đang được sử dụng dưới nhiều hình thức, đơn độc hoặc kết hợp tạo nên nhiều bài thuốc cổ đang tồn tại và phát triển mạnh mẽ.

Xu hướng trở về với thiên nhiên nhằm tìm kiếm các nguồn nguyên liệu từ tự nhiên như là cây thuốc, động vật làm thuốc có các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học cao nhằm tận dụng và phát triển các loại thuốc hiệu quả, kinh tế, an toàn có chất lượng cao nhằm phục vụ cộng đồng và xã hội ngày càng được cả giới khoa học trong nước và quốc tế quan tâm. Đặc biệt các thảo dược luôn là đối tượng nghiên cứu đầy tiềm năng để các nhà khoa học đi sâu tìm hiểu. Với mục tiêu định hướng cho việc ứng dụng để tìm ra các loại dược chất mới để chữa trị nhiều căn bệnh đang thách thức giới y học. Các hợp chất tự nhiên của sinh vật, thực vật thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đặc biệt như là: chống viêm, diệt khuẩn, ức chế nấm, chống ung thư, kháng virus, điều hòa miễn dịch, chống sốt rét, chống oxy hóa, ... do đó, nghiên cứu các thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của thực vật có ý nghĩa khoa học và thực tế lớn [2], [3].

Cây Râu dê hay còn gọi là Cỏ đuôi chồn [4], có tên khoa học là *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald, thuộc chi *Aruncus*, phân họ Mơ trần châu (Spiraeoideae), họ Hoa hồng (Rosaceae). Chồi non của loài thực vật này được ghi nhận có công dụng diệt khuẩn, cầm máu, kháng khuẩn, ... và đôi khi được sử dụng như thực phẩm tương tự măng tây. Trên thế giới có nhiều nghiên cứu về loài Râu dê thuộc chi *Aruncus* như là về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nó. Ở Việt Nam, cây Râu dê được dùng trong dân gian để điều trị các căn bệnh như chữa đái vàng, đái mù trắng, đái đường, viêm gan vàng da, cảm mạo nhiệt độ cao, sốt, viêm gan hoàng đản. Trong một số nghiên cứu

mới đây, một số hợp chất được phân lập từ cặn chiết *n*-hexan của các phần trên mặt đất của cây Râu dê tại đảo Ulleungdo (Hàn Quốc) có tác dụng ức chế một số tế bào ung thư và có hoạt tính chống oxy hóa rất cao.

Cây Râu dê (*Aruncus dioicus*) từ trong y học cổ truyền phương Tây và tại vùng Đông Bắc Hàn Quốc, Nhật Bản biết đến là một dược liệu quý sử dụng rất nhiều trong các bài thuốc dân gian để điều trị các bệnh viêm nhiễm, sốt nóng, đau bụng, cầm máu trong sinh nở ... Các nghiên cứu về cây và quả của nó đã được các nhà nghiên cứu trên toàn thế giới quan tâm nghiên cứu từ rất lâu, tuy nhiên tại Việt Nam do điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng nên việc trồng và khai thác, sử dụng loài thực vật này vẫn còn hạn chế. Vì vậy, các nghiên cứu ở Việt Nam về cây Râu dê còn hạn chế. Đặc biệt, các công trình khoa học đã đánh giá về hoạt tính sinh học của cây này như khả năng hạ đường huyết, tác dụng ức chế enzyme PTP1B và  $\alpha$ -Glucosidase, tuy nhiên số lượng còn hạn chế và đặc biệt là chưa từng được thực hiện ở Việt Nam.

Vì vậy, tôi thực hiện đề tài: “Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam.” để làm rõ hơn về thành phần hóa học và có định hướng nghiên cứu sâu hơn tác dụng sinh học của loài này. Từ đó, có thể đưa vào khai thác và sử dụng một cách hợp lý nguồn dược liệu sẵn có trong nước để tạo ra các sản phẩm mang lại giá trị kinh tế cao.

- **Mục tiêu đề tài**

- Tìm hiểu về cây Râu dê, các phương pháp xử lý mẫu, chiết cao tổng và các cao phân đoạn.
- Nghiên cứu thành phần hóa học: sử dụng các kỹ thuật sắc ký khác nhau để phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất bằng các phương pháp phổ.
- Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme PTP1B và  $\alpha$ -Glucosidase của các hợp chất sạch đã phân lập được.

## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

### 1.1. GIỚI THIỆU SƠ LƯỢC VỀ HỌ ROSACEAE.

Họ Hoa hồng (Rosaceae), thuộc ngành Magnoliophyta, lớp Magnoliopsida, bộ Rosales với khoảng 2000 - 4000 loài trong đó có 90 - 120 chi [5]. Tại Việt Nam công nhận 115 chi, 3000 loài. Hầu hết các loài thuộc họ Hoa hồng đều là cây bụi leo, lá đơn hay lá kép. Hoa đều, lưỡng tính. Quả kép hay quả hạch đơn [6]. Hiện nay, Rosaceae được chia làm 4 phân họ chính là Rosoideae, Spiraeoideae, Maloideae, Amygdaloideae [7], [8].

- Phân họ Rosoideae: gồm các chi có quả nhỏ, là dạng quả tròn cứng hay quả hạch nhỏ và thường có phần cùi thịt quả, cuống mang các lá noãn.
- Phân họ Spiraeoideae: gồm các chi với quả không có cùi bao gồm *Spiraea* và *Sorbaria* [5].
- Phân họ Maloideae: gồm các chi với quả bao gồm 5 lá noãn, trong dày cùi thịt, bao quanh bằng mô cuống kín [5].
- Phân họ Amygdaloideae: gồm các chi với quả là quả hạch đơn [5].

### 1.2. GIỚI THIỆU PHÂN HỌ SPIRAEOIDEAE.

Phân họ Spiraeoideae (Mơ trần châu) là một phân họ tương đối lớn thuộc họ Hoa hồng (Rosaceae) [9]. Cây thân bụi, một số loài là thân thảo. Các chi *Aruncus* và *Sorbaria* thì có lá kép hình giống lông chim.

Chưa có thông tin chính xác về nguồn gốc của phân họ Mơ trần châu. Có một số loài được xác định có nguồn gốc ở Trung Quốc và Nhật Bản. Ở Việt Nam, hoa mơ trần châu không được trồng phổ biến do khí hậu. Tuy nhiên, ở nước ngoài loại hoa này lại được trồng rất phổ biến vì vẻ đẹp của nó.

### 1.3 GIỚI THIỆU VỀ CHI ARUNCUS.

*Aruncus* là chi có cây mọc thành cụm, thân thảo lâu năm thuộc họ Rosaceae trong nhóm Thực vật hạt kín [10]. Có khoảng 15 loài được biết đến thuộc chi *Aruncus* nhưng chỉ có 4 loài được chấp nhận, trong đó chỉ có *Aruncus dioicus* (Râu dê) được coi là loài duy nhất thuộc chi này còn 3 loài còn lại được biết đến như có sự tương đồng chỉ khác nhau tên gọi.

- *Aruncus dioicus* (Râu dê) xuất hiện ở các vùng có khí hậu mát mẻ của châu Âu, châu Á và Bắc Mỹ.
- *Aruncus aethusifolius* (Râu dê Hàn Quốc) chỉ có ở Hàn Quốc [11].

- *Aruncus gombalanus* (Râu dê Vân Nam) xuất hiện ở vùng núi phía tây bắc Vân Nam và giáp Tây Tạng.
- *Aruncus sylvester* (Râu dê châu Á) gồm các loại phổ biến ở châu Á.

#### 1.4 GIỚI THIỆU VỀ CÂY RÂU DÊ - *ARUNCUS DIOICUS*.

**Tên gọi:** Râu dê (còn gọi là cỏ đuôi chồn, râu quai nón), có tên khoa học *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald, tên đồng nghĩa *Aruncus gombalanus* (Hand.-Mazz.) Hand.-Mazz. [4], [12], *Aruncus sylvestris* Kostel, *Aruncus vulgaris* Rafin, *Spiraea aruncus* L, *Actaea dioica* Walter, *Aruncus asiaticus* Pojark [13], thuộc chi *Aruncus*, phân họ Mơ trần châu (Spiraeoideae), họ Hoa hồng (Rosaceae) [5]. Ban đầu tên gọi của loài thực vật này được gọi là *Linnaeus Spiraea*. Theo gợi ý của Adanson những cái tên đã được thay đổi như hiện nay [13]. Trong một số văn bản được lưu giữ từ trước vẫn sử dụng các tên cũ của loài thực vật này. Vì vậy, có thể sử dụng đồng thời tên *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald và các tên đồng nghĩa.



Hình 1.1: Hình ảnh một cây Râu dê trưởng thành [11].

**Mô tả:** Râu dê có tập tính mọc thành cụm, có răng, lá hình bầu dục. Cụm hoa rất lớn và phần cuối có một cuống dài khoảng 30 cm, về cuối là những bông hoa nhỏ màu trắng [14]. Cây râu dê có thể trồng vào mùa xuân hoặc mùa thu, tốc độ sinh trưởng vừa phải [12]. Thời kỳ ra hoa trong khoảng từ tháng 6 đến tháng 7. Cây trưởng thành có thể cao tới 1,8 mét và có các lá kép hình kim tuyến có thể dài đến 50 cm [14].

#### **Đặc điểm hình thái học:**

**Rễ:** Rễ được phát triển từ thân rễ.

**Thân cây:** Thân rễ là loại thân gỗ, màu nâu.

*Lá:* Lá dài, cuống lá dày và mọc thành cụm tạo lực nâng đỡ các cụm hoa [15].

*Cụm hoa:* Cụm hoa lớn và bông đều, cụm rủ thành chùm. Những bông hoa trắng - kem, nhỏ. Đài hoa đơn giản: các lá đài nhọn (dài 0,5 mm) trong khi các cánh hoa hình trứng và dài 1–2 mm.

*Quả:* Quả là những quả nang nhỏ hình cầu, có rãnh mở và không có lông.



Hình 1.2: Quả và hoa cây Râu dê [15].

**Môi trường sống và thu hái:** Môi trường sống lý tưởng của loài thực vật này là những khu rừng có độ ẩm cao, những hẻm núi ẩm ướt và trên hết là những vùng đất đá vôi và những khu vực ít nắng. Chồi non của cây có thể ăn được và được sử dụng tương tự măng tây. Đặc biệt là những chồi non mùa xuân có rất nhiều tác dụng như chống oxy hóa, giảm mỡ máu và hỗ trợ giảm lượng đường trong máu đối với bệnh nhân tiểu đường type II. Vào mùa hè, cây tạo ra các chất có độc tính như *Glycoside Cyanogenic* nên không thể ăn được nữa [16].

**Tính vị và công năng:** Râu dê có đặc tính khai vị, làm se và đặc biệt là thuốc bổ. Theo y học dân gian, nó được sử dụng để hạ sốt, thuốc bổ, long đờm và làm se [16]. Trong thực tế, từ thời cổ đại, rễ của nó đã được nghiền nhỏ thành bột, và sau đó được sử dụng để chữa trị cho vết chích ong bắp cày. Nó cũng đã được sử dụng để cầm máu sau khi sinh con và đặc biệt là điều trị đau dạ dày và tiêu chảy [14]. Ngoài ra, loại thảo dược này cũng có giá trị điều trị trong việc điều trị các bệnh thiếu máu cục bộ, thoái hóa não, cũng như chứng nhiễm độc và chống viêm. Cây này sở hữu nhiều tác dụng như chống oxy hóa, tác dụng chống tiểu đường, và chống AIDS. Mầm khô của loại cây này được dùng làm thực phẩm và các bộ phận trên không để điều trị giải độc và viêm amidan [16]. Chúng còn được phát hiện có tác dụng chống tăng sinh

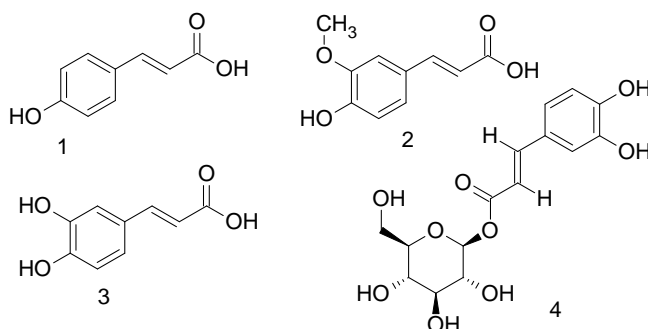
trên ba dòng tế bào ung thư bao gồm: tế bào ung thư vú ở người, tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung, tế bào bạch cầu nguyên bào nuôi ở người.

## 1.5 TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU QUỐC TẾ VỀ RÂU DÊ.

Trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu về các tác dụng của các hợp chất có trong cây Râu dê, trong đó có thể kể đến một số tác dụng đáng kể như: chống viêm, kháng khuẩn, chống đái tháo đường, chống oxy hóa, phòng và chống một số loại tế bào ung thư ở người,... Trong cây Râu dê *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald, đặc biệt là trong các bộ phận trên không (chồi non, lá, mầm, cụm hoa,...) chứa rất nhiều hợp chất thiên nhiên quan trọng, trong đó các thành phần chính làm nên những tác dụng ấy có thể kể đến như các alkaloid, nhiều loại flavonoid bao gồm quercetin và dẫn xuất kaempferol và các dẫn xuất axit caffeic, các hợp chất cyanogenic, monoterprenoids, taninin, phenol, các dẫn xuất của axit phenolic, đặc biệt là các dẫn xuất axit hydroxycinnamic, các hợp chất ưa béo bao gồm steroid, axit béo và rượu,..

### 1.5.1. Hoạt tính chống oxy hóa.

Năm 1986, M. I. Kulesh và cs đã tìm kiếm các hợp chất chống oxy hóa mới trong đại diện các loài hoa ở Viễn Đông Nga. Phần rễ tươi và vỏ ngoài của loài *Aruncus dioicus* được chiết xuất với ethanol. Sau đó, dịch chiết được chiết phân bố với các dung môi lần lượt là: *n*-hexan, Etyl axetat và Butanol để tách lấy các phân đoạn khác nhau. Bốn hợp chất đã được phân lập từ dịch chiết etyl axetat của rễ cây Râu dê bằng phương pháp sắc ký cột: *p*-loumaric (1), ferulic acid (2), caffeic acid (3), caffeoyl 8-*D*-glucopyranoside (4) [17].



Hình 1.3: Bốn hợp chất được phân lập từ dịch chiết EtOAc của rễ cây [17].

Năm 2012, loài Râu dê được sử dụng như một vị thuốc trong việc chăm sóc da, giải độc, cầm máu và giảm viêm amidan. Để phân lập các hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch chiết ethyl axetat (EtOAc), nhóm nghiên cứu tại

Hàn Quốc sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với đầu dò DAD. Mặt khác, khảo sát tác dụng của dịch chiết EtOAc lên quá trình lão hóa tế bào do tia cực tím (UV) gây ra bằng cách sử dụng nguyên bào sợi da người CCD-986sk. Trước khi xử lý bằng dịch chiết, các tế bào đã được tiếp xúc với tia cực tím loại B trong 1 phút. Một thử nghiệm khả thi đã được thiết lập để đánh giá độc tính tế bào của *Aruncus dioicus* ở nồng độ 5, 10 hoặc 50  $\mu\text{g/ml}$  thông qua tín hiệu của họ enzyme MMP (MMP1, 2, 3), các protein p-p38, c-fos về việc phá hủy các mô, collagen và ức chế hình thành collagen mới do tiếp xúc trực tiếp với tia UV. Biểu hiện protein được xác nhận qua nhuộm huỳnh quang in vivo trên tế bào CCD-968sk sau khi tiếp xúc với tia UV-B, sau đó được xử lý bởi chiết xuất EtOAc. Kết quả cho thấy tác dụng ức chế biểu hiện của họ enzyme MMP, làm giảm lão hóa da do tia UV-B gây ra, ứng dụng tiềm năng trong y học [18].

Trong năm 2017, nhóm tác giả đại học Inha [19] đã nghiên cứu tác dụng của chiết xuất etanol 75% từ chồi non của loài Nho kiwi và Râu dê (200 mg/kg) đối với quá trình oxy hóa lipid trong nhũ tương dầu đậu nành trong nước (4:6, w/w) chứa sắt (5 mg/kg) trong điều kiện tối ở 25°C. Nghiên cứu đã xác định hàm lượng oxy và hydroperoxide trong khoảng không còn lại của bình đựng mẫu, và đánh giá hàm lượng polyphenol, carotenoid và chất diệt lục bằng đo quang phổ. So với nhũ tương đối chứng không chứa chiết xuất, nhũ tương có bổ sung chiết xuất Nho kiwi và Râu dê có hàm lượng oxy cao hơn và hàm lượng hydroperoxide thấp hơn ( $p < 0,05$ ) trong khoảng không của bình, do sự phân hủy của polyphenol, carotenoids và diệt lục có vai trò như chất chống oxy hóa. Hoạt tính chống oxy hóa của chiết xuất Nho kiwi và Râu dê trong quá trình oxy hóa lipid của nhũ tương tương đương với hoạt tính của dibutylhydroxytoluene – chất chống oxy hóa phụ gia thực phẩm ở nồng độ 200 mg/kg.

Năm 2020, các nhà khoa học Hàn Quốc [20] đã nghiên cứu con đường chống tạo mỡ trong các tế bào mỡ 3T3-L1, hoạt tính chống oxy hóa và định lượng phenolic bằng cách sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao của phần chồi non loài Râu dê. Kết quả cho thấy dịch chiết loài Râu dê làm giảm sự biệt hóa tế bào mỡ (0,72 lần), nồng độ tryglyceride (0,5 lần), hàm lượng cholesterol

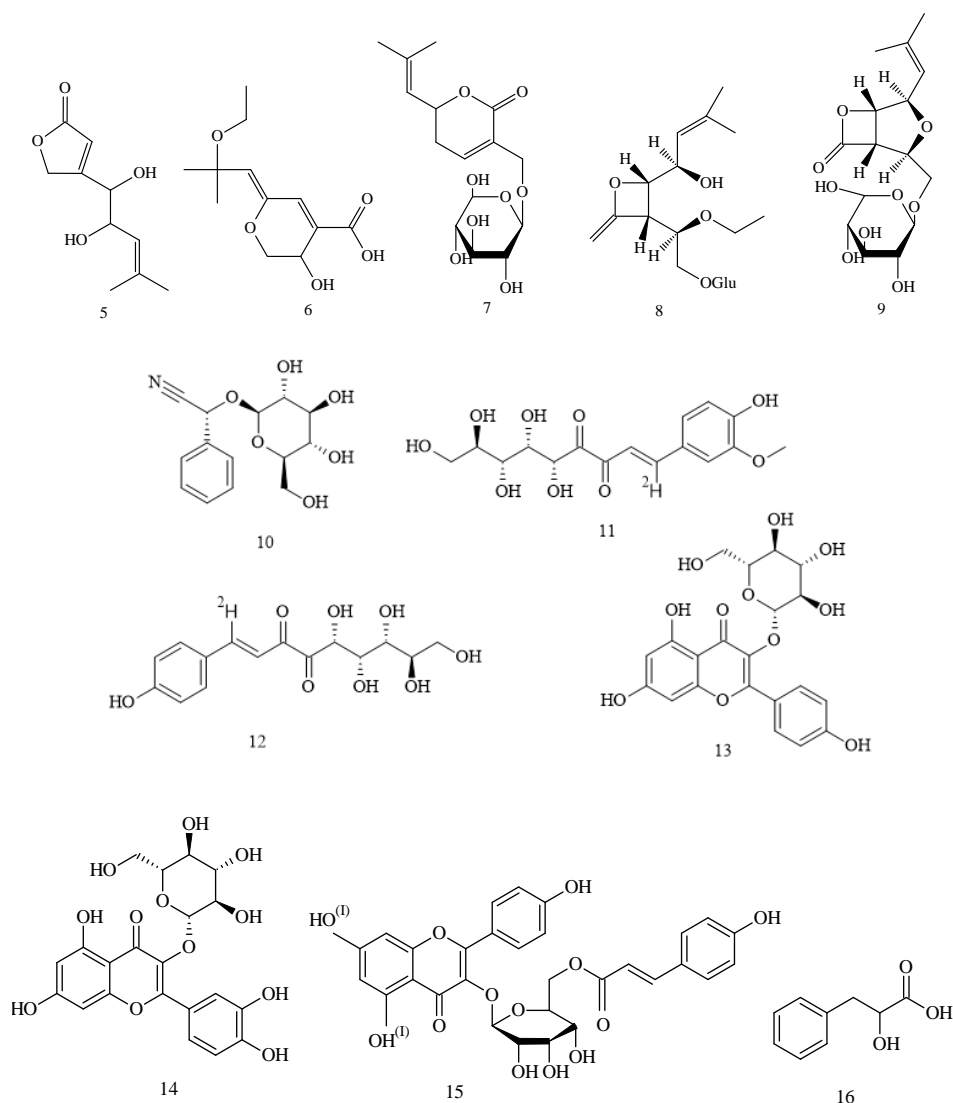


tổng (0,77 lần so với đối chứng dương). Thêm vào đó, dịch chiết có hàm lượng phenol và flavonoid tổng số cao hơn, khử gốc tự do DPPH và ABTS+. Hơn nữa, trong dịch chiết Râu dê có chứa: chlorogenic acid (7.04 mg/kg), caffeic acid (**3**) (20,14 mg/kg), ferulic acid (**2**) (1,74 mg/kg), veratric acid (29,31 mg/kg), cinnamic acid (4,70 mg/kg), và quercetin (4,18 mg/kg). Những hợp chất phenol này, đặc biệt là querecin đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát tế bào mỡ. Trong tương lai cao chiết từ loài cao chiết có tiềm năng được phát triển như một chế phẩm có tác dụng chống oxy hoá và béo phì.

### 1.5.2. Hoạt tính gây độc tế bào.

Năm 2011, Woo và cs. đã xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học trong loại cây này. Mẫu được chiết xuất bằng EtOH thu cao tổng, sau đó chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và EtOAc, *n*-BuOH và H<sub>2</sub>O. Cao tổng EtOH và các phân đoạn được kiểm tra về hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả trong các mẫu thử nghiệm, các mẫu phân đoạn CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và EtOAc có giá trị tiềm năng cao. Từ phân đoạn CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và EtOAc nhóm nghiên cứu đã phân lập và tách chiết được 12 hợp chất từ phần trên mặt đất loài *Aruncus dioicus*. Trong đó, đã xác định được cấu trúc hoá học của 5 hợp chất monoterpenoids mới: aruncin A (**5**), aruncin B (**6**), aruncide A (**7**), aruncide B (**8**), aruncide C (**9**) và 7 hợp chất khác bằng sắc ký cột RP-C18, kết hợp silicagel bao gồm: prunasin (**10**), 1-feruloyl-  $\beta$ -D-glucose (**11**), 1-p-coumaroyl-  $\beta$ -D-glucose (**12**), kaempferol 3-O-  $\beta$ -D-glucoside (**13**), quercetin-3-O-  $\beta$ -D -glucopyranoside (**14**), kaempferol 3-O-  $\beta$ -D -(6-E-p-coumarylglucoside) (**15**), 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid (**16**).

Mười hai hợp chất đã được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào Jurkat T. Hầu hết các hợp chất này đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh, hợp chất **6** thể hiện hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC<sub>50</sub> 17,15  $\mu$ g/mL ngoài ra hợp chất **11** và **14** thể hiện hoạt tính chống oxy hoá với tác dụng ức chế IC<sub>50</sub> là 46,3  $\mu$ M và 11,71  $\mu$ M [21].

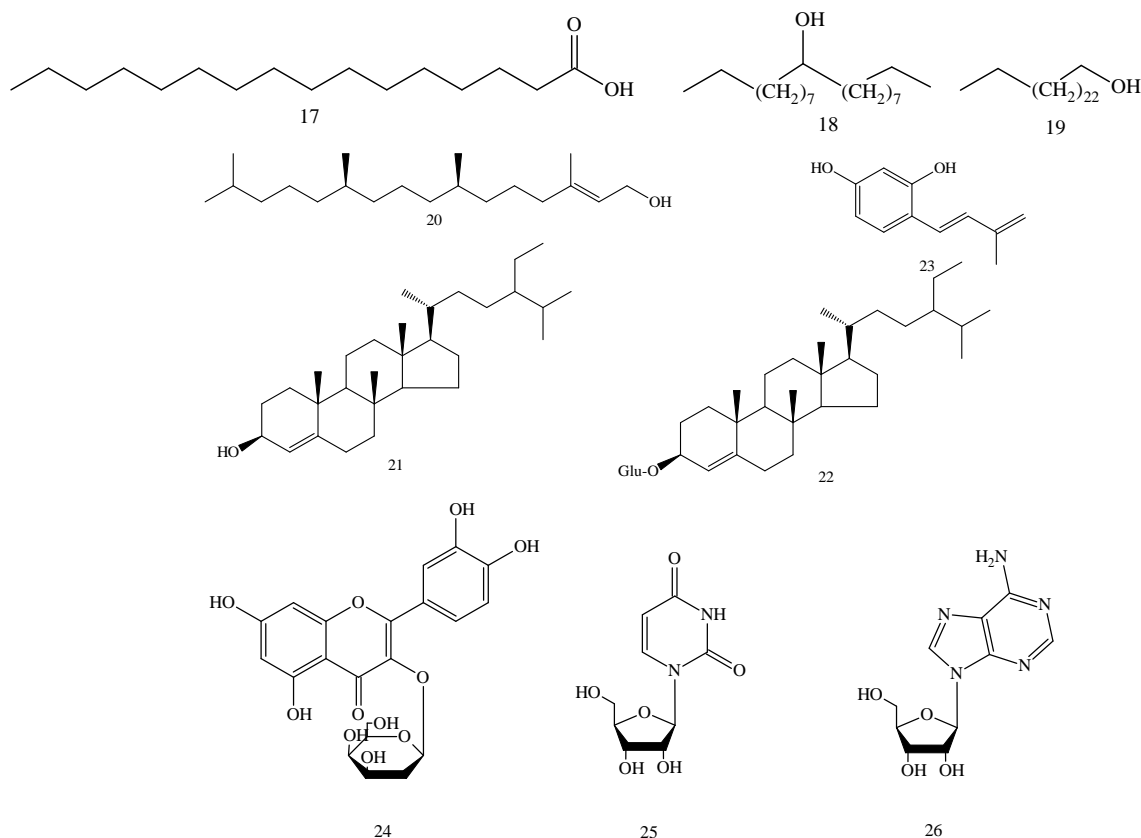


Hình 1.4: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn  $CH_2Cl_2$  và  $EtOAc$  của cây Rau dẻ [21].

Năm 2013, Woo và cs đã nghiên cứu và phân lập được cấu trúc mười hợp chất monoterpenoids từ cây Rau dẻ: acid palmitic (**17**), 10-nonacosanol (**18**), pentacosan-1-ol (**19**), phytol (**20**),  $\beta$ -sitosterol (**21**),  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**22**), 2,4-dihydroxycinnamic acid (**23**), hyperoside (**24**), uridine (**25**) và adenosine (**26**). Các hợp chất (**17-26**) đã được thử nghiệm độc tính trên các dòng tế bào Jurkat T, HeLa, MCF- 7 và HL-60 [22].

Với dòng tế bào Jurkat T, hợp chất (**23**) và (**26**) cho thấy giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 78,84 và 75,76  $\mu g / mL$ . Dòng tế bào HeLa, các hợp chất (**17**), (**21**), (**22**), (**24**) và (**26**) có giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 37,38; 48,61; 31,83; 44,45 và 54,51  $\mu g/mL$ . Dòng tế bào MCF-7, hợp chất (**17**) thể hiện hoạt tính ức chế với

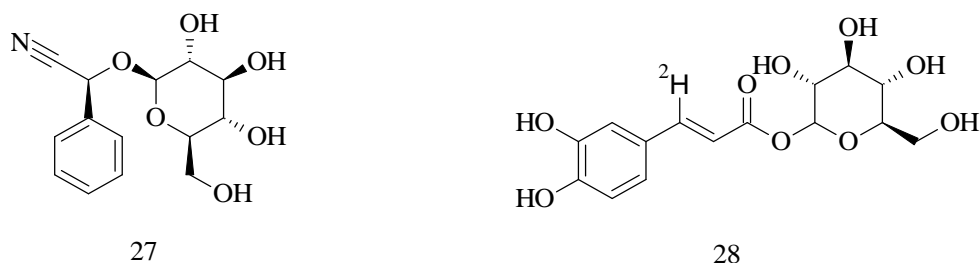
giá trị  $IC_{50}$  là 88,81  $\mu\text{g/mL}$ . Các hợp chất (17), (20), (21) và (22) biểu hiện hoạt tính ức chế với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 61,97; 88,26; 52,68 và 8,13  $\mu\text{g/mL}$  đối với dòng tế bào HL-60. Ngoài ra, hợp chất (23) và (24) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 16,30 và 12,42  $\mu\text{g/mL}$ . Điều này cho thấy hợp chất (23) và (24) có hoạt tính chống oxy hóa tương đối mạnh [22].



Hình 1.5: Các hợp chất phân lập từ phân đoạn *n*-hexan và EtOAc Râu dê [22].

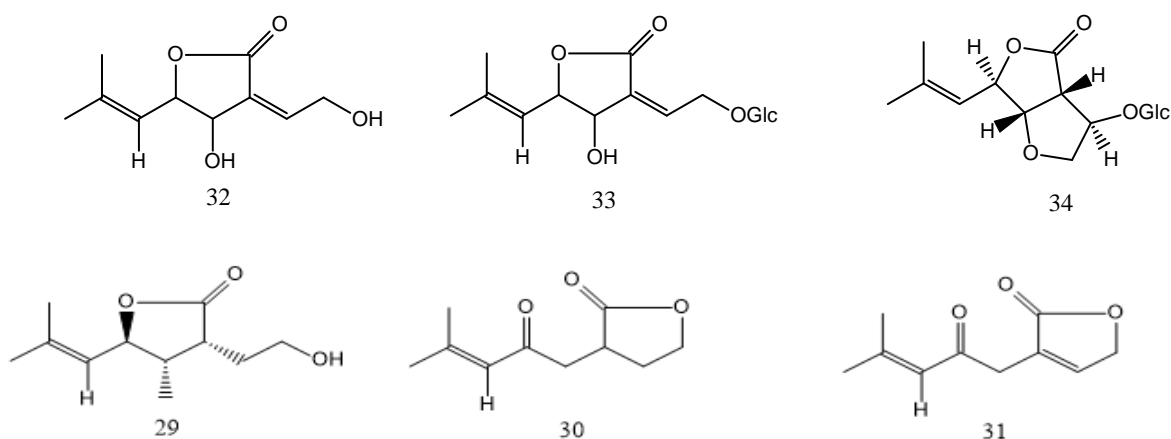
Tiếp nối các thành công, năm 2014, Woo và cs. đã phân lập sáu hợp chất từ phần cao chiết *n*-BuOH, bao gồm: sambunigrin (27), prunasin (10), aruncide A (7), aruncide C (9), 1-O-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranose (28), và caffeic acid (3). Cấu trúc hóa học của chúng đã được xác nhận bằng các phương pháp phổ, kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo. Trong đó hợp chất (27) và (28) được xác nhận lần đầu tiên được phân lập từ loài này. Sáu hợp chất này được thử nghiệm tác dụng gây độc tế bào của chúng đối với các dòng tế bào ung thư vú (MCF-7), HL-60 và HeLa, cũng như khả năng khử gốc tự do DPPH của chúng. Kết quả chỉ ra hợp chất (9) có tác dụng ức chế mạnh nhất đối với dòng tế bào HeLa với giá trị  $IC_{50}$  là  $5,38 \pm 0,92 \mu\text{M}$ . Các

hợp chất còn lại cho thấy giá trị  $IC_{50}$  nằm trong khoảng 26,82  $\mu\text{M}$  đến 69,52  $\mu\text{M}$ . Hợp chất (**28**) có giá trị  $IC_{50}$  tốt nhất trong việc ức chế sự tăng sinh tế bào HL-60 với giá trị là 2,25  $\mu\text{M}$ . Và các hợp chất khác cho thấy sự ức chế đáng kể với giá trị  $IC_{50}$  nằm trong khoảng từ 6,10 đến 11,27  $\mu\text{M}$ . Hợp chất (**28**) cũng cho thấy tác dụng gây độc tế bào mạnh nhất đối với dòng tế bào MCF-7 ( $IC_{50}$  4,32  $\pm$  0,15  $\mu\text{M}$ ). Các hợp chất khác cho thấy sự ức chế đáng kể với giá trị  $IC_{50}$  nằm trong khoảng từ 12,93 đến 61,5  $\mu\text{M}$ . Cả hợp chất (**28**) và (**3**) đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh với giá trị ức chế  $IC_{50}$  là 6,87  $\pm$  0,03 và 4,33  $\pm$  0,22  $\mu\text{M}$  [23].



Hình 1.6: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn *n*-BuOH của Râu dê [23]

Trong công bố năm 2016 của nhà khoa học người Ý Granica [24] cùng cs về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học từ phần chồi non của loài Râu dê. Bằng phương pháp tách chiết, chiết phân đoạn các dung môi theo hệ phân cực tăng dần, đã thu được các cao chiết phân đoạn: 21,7 g cao Chloroform, 40,0 g cao Etyl acetat và 45,1 g cao *n*-butanol. Sử dụng các phương pháp phân lập như chạy sắc ký cột, sắc ký lỏng hiệu năng cao đã phân lập được 8 hợp chất monoterpene, 2 hợp chất đã biết (**5**, **7**) và 6 hợp chất mới (**29-34**): Aruncin C (**29**), Aruncin D (**30**), Aruncin E (**31**), Aruncin A (**5**), Cimicifugolide A (**32**), Aruncide D (**33**), Aruncide A (**7**), Aruncide E (**34**). Cấu trúc hóa học được xác định bằng phương pháp phân tích phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  và phương pháp hóa học.



Hình 1.7: Một số hợp chất được phân lập từ phần chồi non cây Râu dê [24].

Nhóm nghiên cứu đã thử nghiệm đánh giá hoạt tính chống tăng sinh và ức chế tế bào ung thư của 8 chất phân lập được. Hầu hết các hợp chất đều thể hiện khả năng gây độc đối với dòng tế bào LNCaP (tuyến tiền liệt), với nồng độ thử nghiệm 50  $\mu\text{M}$ . Hợp chất (30) và (32) thể hiện hoạt tính ức chế tăng sinh đáng kể, tuy nhiên giá trị ức chế thấp so với đối dương sử dụng là Bicalutamide [24].

Vào năm 2017, tác giả Park và cs đã tiến hành một nghiên cứu đánh giá tác dụng của cây Râu dê đối với khả năng gây độc tế bào trong dòng thần kinh, cũng như hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ thần kinh chống lại stress oxy hóa do glucose gây ra. Bằng phương pháp chiết tách phân đoạn với dung môi ethyl acetate (EA), kết quả cho thấy mẫu EFDA (ethyl acetate fraction of *Aruncus dioicus*) có chứa hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số cao nhất. Đồng thời, bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), caffeic acid (3) đã được xác định là thành phần chính có trong mẫu EFDA. Qua thử nghiệm sử dụng 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) và tác dụng ức chế malondialdehyde, đã xác nhận được hoạt tính chống oxy hóa vượt trội của EFDA. Hơn nữa, EFDA là một mẫu có tác dụng ức chế hiệu quả đối với enzyme  $\alpha$ -glucosidase và acetylcholinesterase [25].

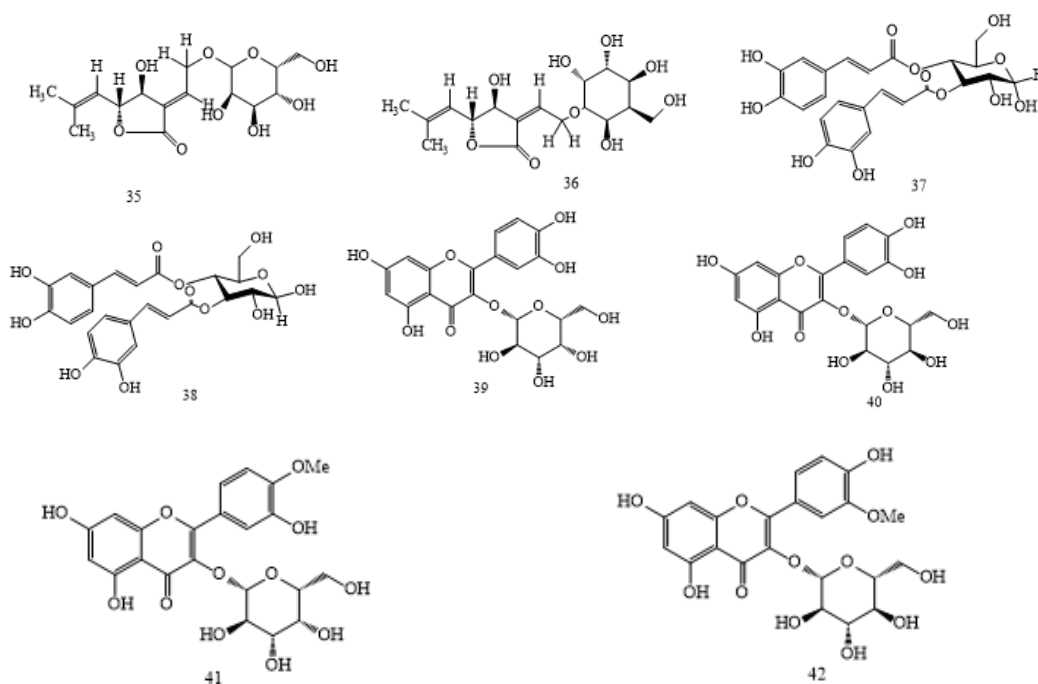
### 1.5.3. Hoạt tính chống viêm.

Vào năm 2014, Qin Zhan và Hye-Young Kim đã nghiên cứu về khả năng bảo vệ DNA và hoạt động chống viêm của các phân đoạn dung môi từ loài Râu dê bằng phương pháp chiết nước từ các phần trên mặt đất của cây. Đối với khả năng bảo vệ DNA khỏi tổn thương, dịch chiết nước cho thấy khả

năng bảo vệ mạnh mẽ nhất ở nồng độ 1 mg/ml. Đối với hoạt tính chống viêm, phân dịch chiết dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) đã thể hiện khả năng ức chế sự sản sinh nitric oxit (NO) mạnh nhất, trong khoảng từ 61% đến 19% với nồng độ từ 10-40  $\mu\text{g/ml}$ . Từ kết quả nghiên cứu, ta thấy rằng Râu dê có khả năng bảo vệ DNA khỏi tổn thương và hoạt động chống viêm đáng kể. Và là một nguồn dược liệu quan trọng trong việc bảo vệ DNA và chống viêm [26].

#### 1.5.4. Nghiên cứu ngăn ngừa thoái hóa thần kinh.

Năm 2009, các nhà khoa học thuộc Đại học Innsbruck đã nghiên cứu, phân lập và xác định các chất ức chế AchE mới từ các bộ phận khác nhau của cây Râu dê. Phương pháp sắc ký cột sephadex-LH20, phương pháp HPLC và phép đo phổ LC-MS và phổ từ NMR 1D-2D.



Hình 1.8: Một số hợp chất được phân lập từ hoa cây Râu dê [27].

Kết quả của nghiên cứu cho thấy từ hoa của cây râu dê đã được xác định tổng cộng tám chất ức chế AchE mới gồm có: aruncolactonoside (**35**); isoaruncolactonoside (**36**); 3,4-dicaffeoyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**37**); 3,4-dicaffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (**38**); quercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside(hyperin) (**39**); quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (isoquercitrin) (**40**); 4'-O-methylquercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside (tamarixetin-3-O- $\beta$ -D-galactoside) (**41**); 3'-O-methylquercetin-3-O- $\beta$ -D-

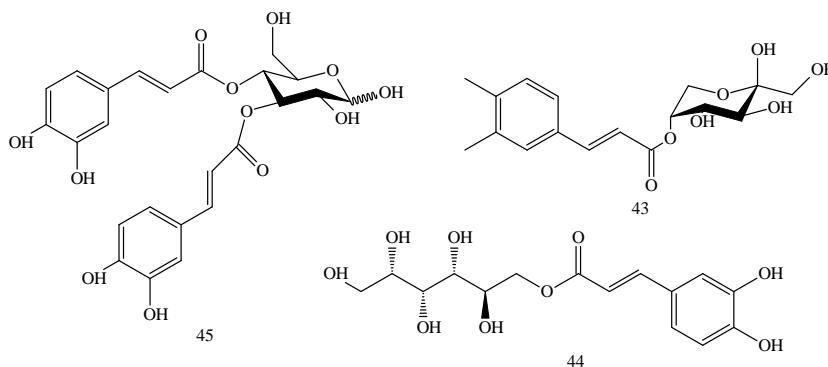
glucopyranoside (isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside) (**42**). Trong đó, hỗn hợp đồng phân của glucoside acid caffeic cho thấy hoạt tính ức chế AchE cao nhất với giá trị IC<sub>50</sub> là 67,8  $\mu$ M (CI<sub>95</sub>: 50,8 – 90,2  $\mu$ M) [27].

Theo nghiên cứu của Đại học Quốc gia Andong vào năm 2014, nhu cầu về phần trên không của loài Râu dê đã tăng nhanh do hương thơm độc đáo và hoạt tính sinh học của nó. Nhằm đánh giá tác dụng cầm máu và thúc đẩy lưu thông máu, các nhà khoa học đã thu thập mẫu cây và tiến hành chiết xuất bằng dung môi hữu cơ khác nhau từ phần trên mặt đất của cây. Kết quả cho thấy chiết xuất EtOH từ AD làm tăng thời gian đông máu, thời gian prothrombin và thời gian aPTT lên từ 1,4 đến 2,3 lần ở nồng độ 5 mg/ml. Phân đoạn EtOAc cho thấy hiệu quả ức chế mạnh mẽ chống lại các yếu tố đông máu. Phần butanol thúc đẩy mạnh quá trình đông máu. Trong thử nghiệm chống kết tập tiểu cầu, hoạt tính của chiết xuất EtOH tương đương với aspirin, và phần butanol cho thấy hoạt tính ức chế tổng hợp cao gấp đôi so với aspirin. Đối với hoạt tính tán huyết, chiết xuất EtOH và các phân đoạn hoạt tính trên có hiệu quả không đáng kể đối với tế bào hồng cầu ở nồng độ 0,5 mg/ml [28].

Vào năm 2019 tác giả Park đã nghiên cứu đánh giá khả năng sử dụng phân đoạn etyl axetat từ Râu dê (*Aruncus dioicus* - AD) trong việc ứng phó với hội chứng chuyển hóa bởi chế độ ăn nhiều chất béo (HFD). Kết quả AD có khả năng ngăn chặn sự tích tụ lipid và cải thiện tình trạng kháng insulin (IR) do yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- $\alpha$ ) gây ra trong các thí nghiệm trên tế bào 3T3-L1. Dịch chiết cũng có tác động đáng kể trong việc giảm cân và cải thiện khả năng dung nạp glucose bị suy giảm ở chuột bị béo phì. Ngoài ra, nghiên cứu chỉ ra rằng AD có tác dụng cải thiện chứng rối loạn nhận thức do béo phì thông qua các bài kiểm tra nhận thức. Tác dụng của dịch chiết phân đoạn Etyacetat thông qua cảm biến hồng ngoại đã được xác nhận bằng phân tích huyết thanh và vết rạn da trong các mô ngoại biên. AD cũng đã có tác dụng cải thiện tình trạng mất cân bằng oxy hóa, suy giảm hệ cholinergic và rối loạn chức năng của ty thể, những biểu hiện liên quan đến thoái hóa thần kinh. Từ nghiên cứu này ta thấy tiềm năng trong việc sử dụng AD để ngăn

ngừa thoái hóa thần kinh bằng cách cải thiện biến chứng chuyển hóa do chế độ ăn nhiều chất béo gây ra [29].

Một kết quả nghiên cứu mới được tác giả Li và cs công bố vào tháng 1 năm 2023. Bằng cách sử dụng phương pháp HRESIMS, phổ NMR 1D và 2D, và phổ hồng ngoại (IR), đã phân lập và xác định hai este caffeoyl mới là: 5-O-(*E*)-caffeoyl- $\beta$ -D-fructopyranose (**43**) và 6-O-(*E*)-caffeoyl-D-glucitol (**44**) và 3,4-di-O-(*E*)-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**45**) từ rễ của *Aruncus dioicus* [30].



Hình 1.9: Một số hợp chất được phân lập từ cây Râu dê [30].

Các hợp chất trên đã cải thiện tình trạng rối loạn vận động ở phôi cá ngựa vằn do MPTP gây ra. MPTP là một tetrahydropyridin, tiền thân của chất độc thần kinh MPP<sup>+</sup>, gây ra các triệu chứng vĩnh viễn của bệnh Parkinson bằng cách phá hủy các tế bào thần kinh dopaminergic trong não [30].

### 1.5.5. Hoạt tính hạ đường huyết.

Năm 2008, tác giả Mi-Hee Woo và cs đã tiến hành nghiên cứu đánh giá tác động của chất chiết xuất từ loài râu dê (AD) đối với các triệu chứng của tiểu đường gây ra bởi streptozotocin và stress oxy hóa ở chuột. Kết quả cho thấy nhóm được điều trị bằng AD (nhóm SA và SB) so với nhóm tiểu đường (nhóm DM) có sự cải thiện đáng kể về triệu chứng. Trong nhóm SA và SB, các triệu chứng của tiểu đường như giảm cân, tăng lượng thức ăn và nước uống, kích thích gan và thận đều được cải thiện. Nồng độ glucose trong máu và fructosamine huyết thanh giảm lần lượt từ 17,9% đến 27,2% và từ 25,6% đến 32,6%. Các hoạt động của alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase và tryglycerit, cholesterol toàn phần và LDL-cholesterol trong huyết thanh giảm lần lượt từ 25,6% đến 30,3%, 42,37% đến 55,51%, 26,85% đến 30,44% và 37,29% đến 39,11%. Mức độ HDL-cholesterol tăng từ 37,29% đến 39,11% và mức độ glutathione tăng lên, đồng thời hoạt động của



các hợp chất chống oxy hóa như superoxide dismutase và glutathione S-transferase tăng lần lượt từ 56,84% đến 94,90% và từ 57,14% đến 68,92%. Điều này cho thấy rằng AD có tác dụng làm giảm nồng độ đường trong máu và giúp giảm hoặc ngăn ngừa tổn thương mô do bệnh tiểu đường, đồng thời ức chế hệ thống tạo ra các loại hợp chất chống oxy hóa cùng với sự tăng cường quá trình loại bỏ ROS [31].

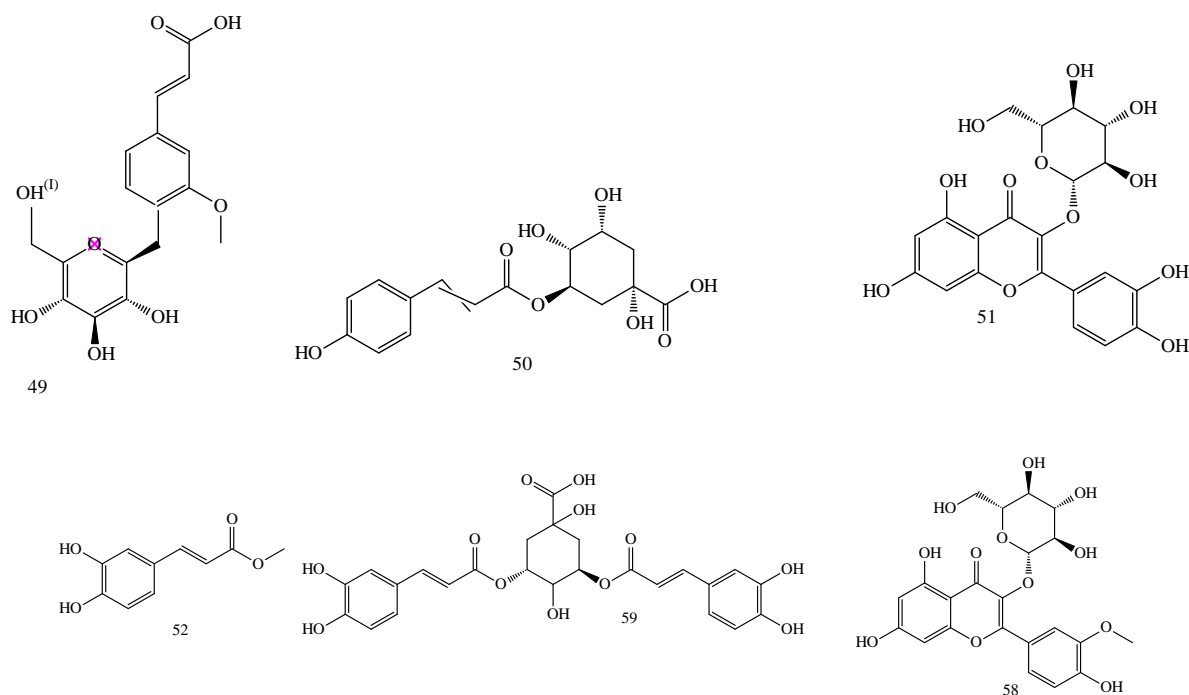
Năm 2014, Ahn và đồng nghiệp đã nghiên cứu dịch chiết Ethanol từ phần chồi non của cây Râu dê bởi quá trình bù nước (ngâm, đun sôi 30 phút và ngâm lại trong nước) và đun tiếp theo ở 180°C có/không có tinh dầu tía tô để xác định hoạt tính ức chế của nó đối với enzym lipase tuyến tụy và  $\alpha$ -glucosidase, nhằm đánh giá khả năng chống đái tháo đường và chống béo phì. Các nhà khoa học đã theo dõi hàm lượng polyphenol và flavonoid bằng phép đo quang phổ. Kết quả cho thấy việc bù nước và đun sôi phần chồi non đã làm giảm hoạt tính ức chế của  $\alpha$ -glucosidase và lipase tuyến tụy, cũng như hàm lượng polyphenol và flavonoid. Thời gian ngâm không có ảnh hưởng đáng kể. Việc đun sôi trong 30 phút được xác định là yếu tố quan trọng nhất trong việc giảm các hoạt động chống bệnh tiểu đường và chống béo phì, cũng như hàm lượng chất chống oxy hóa. Bổ sung dầu tía tô đã cải thiện hoạt động ức chế của  $\alpha$ -glucosidase, thông qua bổ sung polyphenol. Từ đó, ta có thể thấy rằng phần chồi non của cây Râu dê có khả năng giảm nguy cơ mắc bệnh tiểu đường và béo phì một cách đáng kể, đồng thời tinh dầu tía tô có thể tăng thêm hoạt tính sinh học của loài này [32].

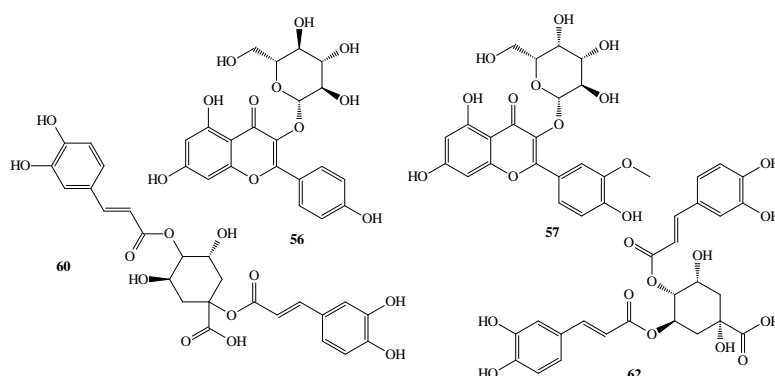
Vào năm 2016, các nhà khoa học tại Đại học Daegu đã lựa chọn phần rễ của cây Râu dê (*Aruncus dioicus*) và áp dụng phương pháp chiết 80% Methanol và các phần hòa tan trong dung môi hữu cơ. Hoạt động chống oxy hóa từ dịch chiết và các phần hòa tan trong dung môi hữu cơ được đánh giá thông qua khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH<sup>+</sup> và ABTS<sup>+</sup>. Bằng thử nghiệm ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase từ chiết xuất rễ và các phần hòa tan trong dung môi hữu cơ, các nhà khoa học đã nhận ra tác dụng chống bệnh tiểu đường. Tổng hàm lượng phenolic của sản phẩm được xác định bằng phương pháp quang phổ UV-VIS. Tất cả các mẫu thử nghiệm đều cho thấy đặc tính loại bỏ gốc tự do và ức chế  $\alpha$ -glucosidase phụ thuộc vào liều lượng. Đặc biệt, phần

hòa tan trong ethyl-acetate (EtOAc) từ rễ của loài Râu dê đã có tác dụng ức chế  $\alpha$ -glucosidase và loại bỏ gốc tự do lớn hơn so với các phân hòa tan trong dung môi khác. Từ những kết quả này, có thể đánh giá rằng loài Râu dê được coi là nguồn dược liệu tiềm năng với hoạt tính sinh học chống oxy hóa và chống bệnh tiểu đường [33].

### 1.5.6. Nghiên cứu khác.

Vào năm 2016, Fusani và đồng nghiệp đã nghiên cứu và sử dụng phương pháp sắc ký toàn diện để định lượng và xác định các hợp chất hoá học có trong chồi non của Râu dê. Kết quả là nhóm đã phát hiện: Trong phần chồi non, chủ yếu chứa polyphenol cùng với hợp chất cyanogen prunasin ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng. Đồng thời, đã phát hiện được 24 hợp chất khác nhau, có 5 dẫn xuất bán tổng hợp từ Caffeic acid (**3**), 2 hợp chất Dicafeoylglucose isomer I (**53**) và Dicafeoylglucose isomer II (**54**) được coi là dẫn xuất của 4-O-Caffeoylglucose (**47**). Hợp chất Quercetin O-mallonylhexoside (**55**) được coi là dẫn xuất của quercetin glycoside. Hợp chất Kaempferol O-mallonylhexoside (**61**) được coi là dẫn xuất của kaempferol. Dẫn xuất caffeoylglucose đã được công nhận là hợp chất chính trong mẫu chồi non của *Aruncus dioicus* [34].





Hình 1.10: Các hợp chất được phân lập từ phân đoạn *n*-BuOH của Râu dê [34].

Năm 2019, tác giả Kim và đồng nghiệp [35] đã tiến hành nghiên cứu về ảnh hưởng của việc chần nước vào phân chồi non của loài Râu dê. Các hợp chất phenolic như shanzhiside methyl ester, isoquercetin, quercetin 3-O-rhamnoside, kaempferol 3-O-glucoside và sergeolide đã được nghiên cứu để xem tác động của chúng dưới các nhiệt độ khác nhau. Kết quả việc chần nước ở nhiệt độ cao 98°C trong thời gian ngắn 30 giây có thể đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường hoặc duy trì chất lượng dinh dưỡng của phân chồi non, đồng thời giảm hoạt động của các enzyme oxy hóa và vi sinh vật.

Năm 2023, Lee Ye Bin và Hong Sun Yook đã nghiên cứu đặc tính hóa lý và hoạt động kháng khuẩn của sản phẩm lên men của chiết xuất *Aruncus dioicus* bằng cách sử dụng các vi sinh vật *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* (SC), *Lacticaseibacillus casei*, *Levilactobacillus brevis*, và *Lactiplantibacillus plantarum*. Hàm lượng Polyphenol tổng số của sản phẩm lên men *Aruncus dioicus* cao nhất trong sản phẩm lên men SC là (106,30±0,58 GAE mg/g) và hàm lượng flavonoid cũng cao hơn đáng kể trong SC với giá trị (49,23±0,78 CE mg/g). Do đó, sản phẩm *Aruncus dioicus* đã lên men được mong đợi có thể sử dụng làm nguyên liệu tự nhiên cho thực phẩm chức năng trong tương lai [36].

## 1.6. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VỀ RÂU DÊ:

Cây Râu dê được biết đến là một dược liệu quý sử dụng trong các bài thuốc dân gian để điều trị các bệnh viêm nhiễm, sốt nóng, đau bụng và cầm máu trong sinh nở. Bộ phận cây và quả của loài này đã được các nhà khoa học trên thế giới nghiên cứu từ khá lâu, tuy nhiên tại Việt Nam do điều kiện khí

hậu và thổ nhượng nên việc trồng và khai thác, sử dụng loài thực vật này vẫn còn hạn chế. Do vậy, các nghiên cứu về loài thực vật này còn rất khiêm tốn.

## **1.7. TỔNG QUAN VỀ ENZYME ALPHA-GLUCOSIDASE VÀ ENZYME PTP 1B.**

### **1.7.1. Tìm hiểu về bệnh tiểu đường.**

- Bệnh tiểu đường là một bệnh mãn tính xảy ra khi tuyến tụy không sản xuất đủ insulin hoặc khi cơ thể không thể sử dụng hiệu quả lượng insulin mà nó sản xuất. Insulin là một loại hormone điều hòa lượng đường trong máu. Tăng đường huyết, còn gọi là tăng đường huyết hoặc tăng đường huyết, là hậu quả phổ biến của bệnh tiểu đường không kiểm soát được và theo thời gian dẫn đến tổn thương nghiêm trọng cho nhiều hệ thống của cơ thể, đặc biệt là dây thần kinh và mạch máu [37].

- Tình hình trên Thế giới:

Năm 2014, có 8,5% người trưởng thành từ 18 tuổi trở lên mắc bệnh tiểu đường. Năm 2019, bệnh tiểu đường là nguyên nhân trực tiếp gây ra 1,5 triệu ca tử vong và 48% tổng số ca tử vong do bệnh tiểu đường xảy ra trước 70 tuổi. 460.000 ca tử vong do bệnh thận khác là do bệnh tiểu đường và lượng đường huyết tăng cao gây ra khoảng 20% số ca tử vong do tim mạch [37].

Từ năm 2000 đến năm 2019, tỷ lệ tử vong chuẩn hóa theo độ tuổi do bệnh tiểu đường đã tăng 3%. Ở các nước có thu nhập trung bình thấp, tỷ lệ tử vong do bệnh tiểu đường tăng 13% [37].

Theo Liên đoàn đái tháo đường Thế giới công bố, vào năm 2021 số ca mắc bệnh tiểu đường là 537 triệu ca. Dự kiến vào năm 2030 tổng số ca mắc bệnh sẽ tăng lên 634 triệu ca và 783 triệu ca vào năm 2045 [38].

- Tình hình tại Việt Nam:

Năm 2021, số ca mắc tiểu đường tại Việt Nam ước tính khoảng gần 5 triệu người. Trong đó, số ca được chẩn đoán chỉ khoảng 35% và số ca đang được điều trị tại các cơ sở y tế chiếm 23,3%. Theo dự báo, số ca mắc tại Việt Nam sẽ tiếp tục tăng lên trong những năm tiếp theo [39].

- Triệu chứng:

Các triệu chứng của bệnh tiểu đường có thể xảy ra đột ngột. Ở bệnh tiểu đường loại 2, các triệu chứng có thể nhẹ và có thể mất nhiều năm mới được

phát hiện. Các triệu chứng của bệnh tiểu đường bao gồm: cảm thấy rất khát, cần đi tiểu thường xuyên hơn bình thường, mờ mắt, cảm thấy mệt, giảm cân ngoài ý muốn. Theo thời gian, bệnh tiểu đường có thể làm tổn thương các mạch máu ở tim, mắt, thận và dây thần kinh. Những người mắc bệnh tiểu đường có nguy cơ mắc các vấn đề sức khỏe cao hơn bao gồm đau tim, đột quỵ và suy thận. Bệnh tiểu đường có thể gây mất thị lực vĩnh viễn do làm tổn thương các mạch máu trong mắt. Nhiều người mắc bệnh tiểu đường gặp vấn đề ở bàn chân do tổn thương thần kinh và lưu lượng máu kém. Điều này có thể gây loét bàn chân và có thể dẫn đến cắt cụt chi [38].

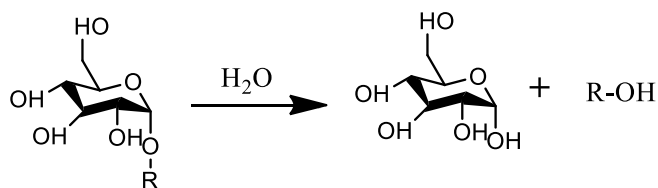
- Bệnh tiểu đường loại 1: đặc trưng bởi tình trạng sản xuất insulin bị thiếu hụt và cần phải sử dụng insulin hàng ngày. Năm 2017 có 9 triệu người mắc bệnh tiểu đường tuýp 1; phần lớn trong số họ sống ở các nước có thu nhập cao. Cả nguyên nhân lẫn phương tiện để ngăn chặn nó đều không được biết đến [38].

- Bệnh tiểu đường loại 2: ảnh hưởng đến cách cơ thể bạn sử dụng đường làm năng lượng. Nó ngăn cơ thể sử dụng insulin đúng cách, có thể dẫn đến lượng đường trong máu cao nếu không được điều trị. Theo thời gian, bệnh tiểu đường tuýp 2 có thể gây ra những tổn thương nghiêm trọng cho cơ thể, đặc biệt là dây thần kinh và mạch máu. Bệnh tiểu đường loại 2 thường có thể phòng ngừa được. Các yếu tố góp phần phát triển bệnh tiểu đường loại 2 bao gồm thừa cân, không tập thể dục đủ và di truyền. Chẩn đoán sớm là rất quan trọng để ngăn ngừa những ảnh hưởng xấu nhất của bệnh tiểu đường loại 2. Cách tốt nhất để phát hiện bệnh tiểu đường sớm là kiểm tra sức khỏe và xét nghiệm máu thường xuyên với nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe [38]. Các triệu chứng của bệnh tiểu đường loại 2 có thể nhẹ. Họ có thể mất vài năm để được chú ý. Các triệu chứng có thể tương tự như bệnh tiểu đường loại 1 nhưng thường ít rõ ràng hơn. Kết quả là bệnh có thể được chẩn đoán vài năm sau khi khởi phát, sau khi các biến chứng đã phát sinh. Hơn 95% người mắc bệnh tiểu đường mắc bệnh tiểu đường loại 2. Bệnh tiểu đường loại 2 trước đây được gọi là bệnh không phụ thuộc insulin hoặc khởi phát ở người trưởng thành. Cho đến gần đây, loại bệnh tiểu đường này chỉ gặp ở người lớn nhưng hiện nay nó cũng xảy ra ngày càng thường xuyên ở trẻ em.

- Tiểu đường thai kỳ: Bệnh tiểu đường thai kỳ là tình trạng tăng đường huyết với giá trị đường huyết trên mức bình thường nhưng thấp hơn mức được chẩn đoán mắc bệnh tiểu đường. Bệnh tiểu đường thai kỳ xảy ra trong thai kỳ. Phụ nữ mắc bệnh tiểu đường thai kỳ có nguy cơ cao bị biến chứng khi mang thai và khi sinh. Những phụ nữ này và có thể cả con cái của họ cũng có nguy cơ mắc bệnh tiểu đường loại 2 trong tương lai. Bệnh tiểu đường thai kỳ được chẩn đoán thông qua sàng lọc trước sinh, thay vì thông qua các triệu chứng được báo cáo [38].

### 1.7.2. Cơ chế, vai trò của $\alpha$ -Glucosidase.

Trong hệ tiêu hóa, những cacbonhydrat cao phân tử được thủy phân thành monosaccharid qua nhiều phản ứng để ruột non có thể hấp thu được. Khởi động của quá trình là việc bài tiết amylase (EC 3.2.1.1), enzyme này xúc tác cho phản ứng thủy phân tinh bột thành những polysaccharit ngắn hơn. Môi trường axit trong dạ dày sẽ ức chế hoạt động của enzyme amylase, làm giảm hiệu suất của thủy phân tinh bột. Khi đi vào ruột non, một phần tinh bột đã được thủy phân bởi các enzyme amylase của tuyến tụy, tạo liên kết  $\alpha$ -1,4 dextrin để giải phóng cacbohydrate. Bước cuối cùng trong quá trình chuyển hóa cacbohydrat được xúc tác bởi enzyme  $\alpha$ -Glucosidase trong thành ruột non. Các enzyme này chứa vùng glycoside hydrolase (GH31) xoắn kép, chúng xúc tác cho việc thủy phân các liên kết alpha-glucosit của disaccarit và các đường phức. Phân tử polysaccharit và monosaccarit tạo ra từ phản ứng thủy phân nhờ enzyme alpha-amylase và alpha-glucosidase được cơ thể hấp thu với tốc độ khác nhau, những monosaccarit sẽ được hấp thụ nhanh hơn những đại phân tử. Do đó, ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -Glucosidase làm giảm tốc độ thủy phân của polisaccharit, dẫn đến làm chậm tốc độ hấp thụ glucose vào máu [40].

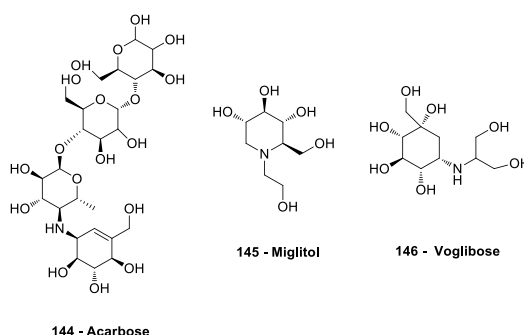


Hình 1.11: Phản ứng thủy phân polysaccharide thành glucose [41].

Chưa có phương pháp điều trị dứt điểm tình trạng rối loạn chức năng trao đổi chất liên quan đến bệnh tiểu đường. Phương pháp điều trị chính là

tiêm glucagon. Đây là hormone được sản xuất trong tuyến tụy có tác dụng kích thích gan giải phóng glucose dự trữ vào máu. Glucagon được sử dụng để điều trị khi lượng đường trong máu của người bệnh quá thấp.

Bisschoff đã tìm ra phương pháp ăn kiêng giúp làm giảm sự hấp thụ cacbohydrate ở ruột. Có 3 chất ức chế  $\alpha$ -Glucosidase được sử dụng là acarbose, miglitol và voglibose, điều đó thúc đẩy các nhà nghiên cứu tìm kiếm các chất ức chế mới được thay thế chúng với hiệu quả tương đương hoặc hơn [41].



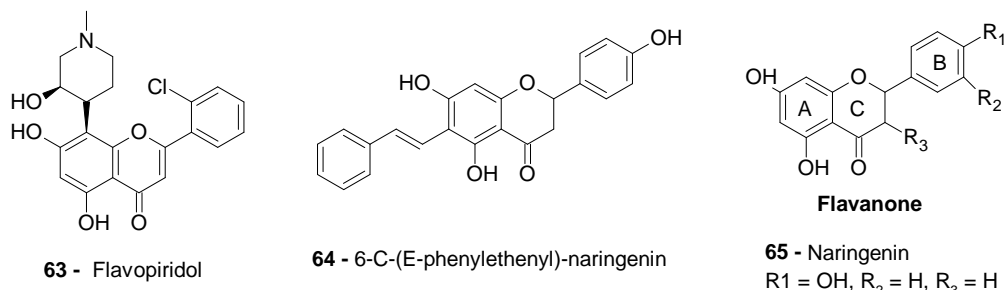
Hình 1.12: Cấu trúc hóa học của acarbose, Miglitol và Voglibos [42].

Năm 2007, Modak đã phân lập metformin từ lá cây Galê (*Galega officinalis*) tạo thành công thuốc chống tiểu đường từ loài thảo dược này [42]. Nhiều chất ức chế enzyme  $\alpha$ -Glucosidase đã được phân lập từ thực vật là các chất phytoconstituents như là flavonoid, alcaloid, terpenoid, anthocyanins, glycoside, các hợp chất phenolic,...[43]. Trong đó các chất nhóm flavonoid như luteolin, amentoflavone, luteolin 7-O-glucoside, và daizein có khả năng ức chế mạnh đối với enzyme  $\alpha$ -Glucosidase.

Đặc biệt luteolin, đạt giá trị ức chế đến 36% với nồng độ 0,5 mg/mL, mạnh hơn cả chất đối chứng dương– acarbose [44].

Vào năm 2017, Jing Zhen đã phân lập được một nhóm các flavonoid khác nhau và đánh giá hoạt tính ức chế của  $\alpha$ -Glucosidase, trong đó dẫn xuất của Flavonone (**63-65**) đạt giá trị  $IC_{50}$  thấp nhất là 4,13  $\mu$ M. Các hợp chất tổng hợp từ tiền chất Flavonone và flavone ức chế enzyme trong môi trường không cạnh tranh với giá trị  $K_i$  lần lượt là  $37,8 \pm 0,8 \mu$ M và  $13,2 \pm 0,6 \mu$ M. Nghiên cứu về quan hệ của cấu trúc hóa học và hoạt tính ức chế đã phát hiện nhóm 4'-hydroxyl và nhóm cacbonyl ở vị trí C-4 trong cấu trúc flavonoid rất

quan trọng với khả năng ức chế alpha-glucosidase. Việc bổ sung thêm liên kết hydro và các nhóm kỵ nước trên vòng A sẽ làm tăng hoạt tính ức chế [45].



Hình 1.13: Cấu trúc chung của các flavonoid dùng tổng hợp dẫn xuất [45].

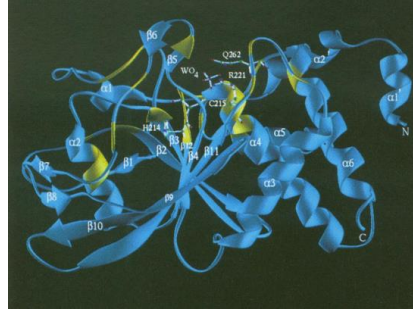
### 1.7.3. Tổng quan về enzyme PTP1B.

#### 1.7.3.1. Mô tả chung về enzyme PTP1B.

Protein tyrosine phosphatase (PTPs) là một họ gồm các enzym chuyển đổi tín hiệu giống như thụ thể và tế bào chất, chúng xúc tác cho quá trình dephosphoryl hóa tyrosine và cấu tạo bởi những domaine xúc tác có cấu trúc tương đồng. Enzyme nổi bật nhất là enzyme PTP 1B (protein tyrosine phosphatase 1B). Enzyme bao gồm một miền đơn với domaine xúc tác nằm thuộc phần ngoại biên của mặt phẳng. Nhóm photphat ở vị trí vòng lặp, nằm ở phần đầu hoặc cuối nhóm amin của chuỗi xoắn đơn. Vị trí này được hình thành từ mô-típ của trình tự 11 dư lượng axit amin để xác định rõ PTP và các phosphatase đặc hiệu kép, đồng thời chúng chứa các dư lượng cysteine và arginine cần thiết cho quá trình xúc tác. PTP1B loại 1 không thụ thể, nó là enzyme trong họ PTPs đầu tiên được phân lập ở dạng đồng nhất, là enzyme tiền đề để minh họa một số thuộc tính của các enzyme trong họ PTPs. Nó được biểu hiện nhiều trên các mô của con người như mô mỡ, gan, cơ và não. Năm 1988, Tonks cùng cộng sự tinh chế và xác định enzyme PTP1B từ nhau thai người; tiếp đến năm 1990, BrownShimer đã xác định trình tự các axit amin trong chuỗi xoắn ốc, gồm 321 amino axit (31-33); đầu N bị chặn bởi phân tử cDNA, đầu C không bị chặn, với chiều dài phân tử là 435 dư lượng (34 – 36). Tuy nhiên, sự biểu hiện quá mức của enzyme PTP1B có thể tạo ra các phản ứng đối kháng của các PTK gây ung thư, gây nên sự mất kiểm soát hoạt động của insulin; biểu hiện nhiều trên các mô đích của insulin như gan, cơ, mỡ. Trong cấu trúc của PTP1B, một phần COOH-terminal đã bị lược bỏ,



dẫn đến miền xúc tác hoạt động tự do trong môi trường, tạo sự liên kết của nhiều tiểu cầu [46].



Hình 1.14: Cấu trúc của enzyme PTP1B [46].

Các dải ruy-băng trên hình chỉ ra cấu trúc phụ các phân tử của PTP1B, vị trí xúc tác, và dư lượng không đổi được biểu thị bởi màu vàng. Chuỗi xoắn ốc và các chuỗi bên của His214, Cys215, Arg221 và Gln262 được hiển thị [46].

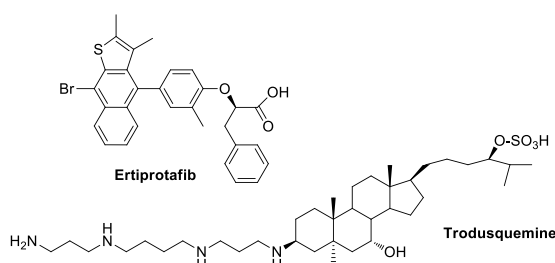
#### 1.7.3.2. Chức năng của enzyme PTP1B.

PTP1B hoạt động như bộ điều chỉnh tín hiệu quan trọng của nhiều tầng tín hiệu. Có vai trò trong việc điều hòa sự phát triển, tăng sinh và biến đổi cấu trúc tế bào. Nó xúc tác cho quá trình thủy phân phosphat của thụ thể insulin, làm giảm tín hiệu của insulin, đồng thời làm giảm tín hiệu leptin gây trạng thái béo phì hoặc rối loạn chuyển hóa. Nhiều nghiên cứu chứng minh PTP1B là nhân tố chính trong quá trình điều trị ung thư, như là chất ức chế khối u và chất thúc đẩy sự phát triển của khối u tùy thuộc vào từng tế bào [47].

Vào năm 2013, Hyeongjin Cho và cs đã chứng minh vai trò quan trọng của PTP1B liên quan đến bệnh béo phì và tiểu đường bằng cách xóa gen PTP1B ở chuột, chúng gây ra việc mất kiểm soát về cân nặng và lượng glucose dung nạp trong cơ thể. Điều này trái ngược với sự xóa bỏ enzyme đặc hiệu này trong cơ, gan và tế bào mỡ, không có tác dụng hữu ích đối với bệnh béo phì. Những kết quả này đã chỉ ra tầm quan trọng của PTP1B đối với tế bào thần kinh trong việc duy trì cân bằng nội môi năng lượng, PTP1B ngoại vi cũng đang được nghiên cứu về vai trò tiềm năng trong việc kiểm soát bằng năng lượng. Việc chứng minh PTP1B như một đích đến để điều trị bệnh béo phì và hạ đường huyết, đã thúc đẩy nỗ lực phát triển các chất ức chế mạnh và có chọn lọc của PTP1B [48]. Trong con đường truyền tải tín hiệu insulin, PTP1B đã khử phosphoryl hóa IR hoặc thụ thể insulin - chất nền 1 (IRS-1), làm giảm độ nhạy insulin hoặc vô hiệu hóa tín hiệu. Do đó, các chất ức chế

PTP1B đã nổi lên như một loại thuốc mới với tiềm năng cho điều trị béo phì và bệnh đái tháo đường típ 2. Đối với đường truyền leptin, PTP1B có chức năng dephosphoryl hóa cho thụ thể leptin (LepR) và januskinase 2 (JAK2). Cơ chế này không chỉ được sử dụng trong phòng chống bệnh béo phì mà còn trong bệnh Alzheimer. Ngoài ra, enzym PTP1B cũng tham gia vào quá trình tầm soát ung thư và viêm, kiểm soát các con đường truyền tín hiệu cytokine bằng cách dephosphoryl hóa JAK2, tyrosine kinase 2 (TYK2), chất dẫn truyền tín hiệu và chất kích hoạt phiên mã 5 (STAT5). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng PTP1B có liên quan đến các cytokine gây viêm như interleukin 4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6), yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF-a), kinase điều hòa tín hiệu ngoại bào (ErK), protein kinase B (PKB / AKT), thụ thể nhân tố tăng trưởng biểu bì 2 ở người (HER2) và nhân tố hạt nhân kappa B (NFjB) [48, 49].

Tác dụng làm giảm tín hiệu của insulin được coi là mục tiêu điều trị tiềm năng cho bệnh béo phì và bệnh đái tháo đường típ 2. Không có loại thuốc ức chế PTP1B nào được liệt kê và chỉ có một số tiền chất trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng.



Hình 1.15: Các chất ức chế PTP1B giai đoạn lâm sàng [49].

Cơ chế xúc tác, sự điều hòa và bản chất của lớp protein tyrosine phosphatase nói chung, các chất ức chế PTP1B nói riêng đã được phát hiện cho đến nay đã cho thấy một số hạn chế đáng kể. Trong hiện tại, đã có rất ít thành công trong việc đạt được độ chọn lọc cao đối với phosphatase tế bào T (TC-PTP), chất này gần giống với PTP1B. Do đó, vẫn cần có dòng PTP mạnh, có chọn lọc chất ức chế nói chung và chất ức chế PTP1B nói riêng.

## **CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.**

Đối tượng nghiên cứu bao gồm cành, lá và thân trên được thu thập tại Đảo Quan Lạn, Huyện Vân Đồn, Tỉnh Quảng Ninh.

### **2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.**

#### **2.2.1. Tra cứu phân bố theo khu vực và tiến hành thu thập mẫu vật.**

Phương pháp thu thập mẫu vật tuân thủ theo các tiêu chuẩn, phương pháp và yêu cầu về lưu trữ thực vật học, giám định và phân loại mẫu. Mẫu thu có đầy đủ các thông tin về địa điểm, tên mẫu, ảnh mẫu, bộ phận thu. Quá trình tạo tiêu bản mẫu và lưu trữ được thực hiện trong kho bảo quản. Mẫu lưu được đảm bảo không bị hỏng và mất, tiện cho việc tra cứu thông tin tiêu bản.

#### **2.2.2. Phương pháp xử lý và chiết mẫu.**

##### **2.2.2.1. Xử lý mẫu.**

Mẫu thực vật sau khi thu hái được làm sạch đất đá, loại bỏ rác, các vật lạ, loại bỏ các thành phần khác không phải cùng loại dược liệu. Tùy thuộc vào từng loài cụ thể mà có thể tiến hành rửa sạch và để ráo nước thu được mẫu dược liệu sạch.

Mẫu dược liệu sau khi đã được làm sạch, để khô, một phần được sử dụng để tiến hành tạo mẫu tiêu bản lưu trữ, và các mẫu tiêu bản này được thực hiện và lưu trữ tại Phòng phân tích hóa học – Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên – Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam.

Phần nguyên liệu thực vật sạch còn lại của các mẫu dược liệu thu thập được tiến hành xử lý bước tiếp theo:

Bước 1: Các mẫu dược liệu thu thập được đã qua công đoạn xử lý sơ bộ sau đó được đem thái nhỏ bằng dao thái dược liệu chuyên dụng thành các mẫu nhỏ có kích thước khoảng 2-5 cm.

Rồi tiến hành phơi khô trong bóng râm hoặc dưới ánh nắng nhẹ tại nhiệt độ thường, tránh ánh nắng mạnh và trực tiếp của mặt trời, ở nơi thoáng mát có luồng gió đối lưu, hoặc có thể sử dụng nguồn gió nhân tạo bằng máy hút gió hoặc sử dụng quạt công suất lớn tạo nguồn gió.

Mẫu dược phơi trong vòng khoảng 01 - 02 tuần hoặc 03 tuần cho tới khi khô kiệt tùy thuộc vào đặc điểm của loài dược liệu.

Bước 2: Các mẫu dược liệu thô sau khi đã được thái nhỏ thì đem sấy khô bằng tủ sấy đa năng công suất lớn, hoặc sấy trong phòng sấy có thiết bị gia nhiệt và quạt khí, ở nhiệt độ 40 °C, cho tới khi khô kiệt.

Các mẫu thực vật khô thu được sau đó có thể đem xay nhỏ bằng máy xay hoặc máy nghiền mẫu đa năng, thu được các mẫu nguyên liệu nghiền nhỏ, tiến hành đóng gói để bảo quản mẫu, hoặc để làm mẫu lưu, phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

Các mẫu nguyên liệu này được ghi đầy đủ nhãn mác, cân xác định khối lượng mẫu, tạo danh sách các mẫu lưu trữ theo trình tự thời gian và địa điểm thu nhận mẫu.

#### **2.2.2.2. Phương pháp chiết.**

Chiết là phương pháp sử dụng dung môi để lấy các chất tan ra khỏi các mô thực vật. Sản phẩm thu được gọi là dịch chiết. Các yếu tố ảnh hưởng lên quá trình này (bản chất của chất tan, dung môi, nhiệt độ, áp suất ...) sẽ quyết định chất lượng và hiệu quả của quá trình chiết xuất [50], [51]. Sóng siêu âm với tần số 30 KHz được sử dụng để làm tăng sự hòa tan và tăng quá trình khuếch tán của các hợp chất mong muốn vào dung môi.

Tạo dịch chiết tổng và các dịch chiết phân đoạn: mẫu thực vật sau khi đã sấy khô, được nghiền nhỏ. Sau đó sử dụng methanol (MeOH) ở nhiệt độ thích hợp (40°-60° C) kết hợp sóng siêu âm để chiết. Sau khi cô quay loại dung môi, thu được cặn chiết, cặn chiết hòa tan trong nước ấm với tỷ lệ thích hợp. Sau đó chiết phân bố lần lượt với các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần: *n*-Hexane, ethylacetate (EtOAc), Dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Các dịch chiết phân đoạn cũng được cô quay đuổi dung môi dưới áp suất giảm để thu được các cao chiết tương ứng.

#### **2.2.3. Phương pháp phân lập và tinh chế hợp chất.**

##### **2.2.3.1. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC).**

Sắc ký lớp mỏng (SKLM) là phương pháp nghiên cứu phân tích hiệu quả để xác định định tính các chất và nhóm chất có trong thành phần các thực vật hoặc các phân đoạn tách ra từ các dịch chiết thực vật. Dựa trên sự khác nhau độ phân cực của các hợp chất khác nhau nên sẽ tách ra tại những vị trí khác nhau trên bản mỏng. SKLM yêu cầu mẫu ít, cho hiệu quả tách cao và thời gian ngắn

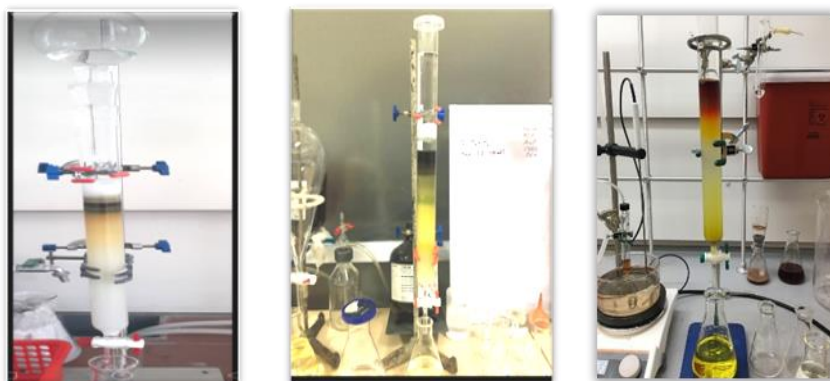
[50]. SKLM phân tích thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck), độ dày 0,2 mm; NP và RP<sub>18</sub> F<sub>254s</sub> (Merck). Phát hiện chất thử bằng đèn soi UV ở bước sóng 254 nm và 312 nm; phát hiện màu những chất có trên bản mỏng bằng cách nhúng bản mỏng vào dd axit sunfuric 10% và hơ trên bếp nhiệt đến khi hiện vạch màu.



Hình 2.1: Hình ảnh bản mỏng khi chạy hệ dung môi và sau khi đốt.

### 2.2.3.2. Sắc ký cột (CC).

Sắc ký cột dùng để tách một hỗn hợp các hợp chất thành từng đơn chất dựa trên tính chất ái lực khác nhau với hệ thống có pha tĩnh và pha động. Pha tĩnh thường là các hạt có kích thước từ 50-150  $\mu\text{m}$ , được nhồi trong cột thủy tinh với kích thước phù hợp. Mẫu cao cần phân lập được đặt ở trên pha tĩnh, bề mặt được đảm bảo không bị xáo trộn bằng cách đặt một lớp bông thủy tinh lên trên.



Hình 2.2: Sắc ký cột khi tiến hành chạy hệ dung môi

Dung môi giải ly được chạy qua cột dưới tác dụng của trọng lực hoặc lực của máy bơm tạo ra. Dung dịch được hứng vào các vật chứa có thể tích phù hợp ở dưới cột, sau đó đem đi loại dung môi dưới áp suất giảm, SKLM sử dụng để

theo dõi thành phần dung môi giải ly. CC được thực hiện với chất hấp thụ silica gel pha thường và pha đảo với cỡ hạt 40 – 63  $\mu\text{m}$ ; 63 – 200  $\mu\text{m}$  và 75  $\mu\text{m}$ . Thứ tự tăng dần tính phân cực của các hợp chất: hydrocacbon < anken < ete < hydrocacbon R-H < hợp chất thơm < xeton < andehit < ester < ancol < amin < axit cacboxylic [51], [52].

### **2.2.3.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).**

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là hình thức cải tiến của sắc ký cột. Thay vì dung môi qua cột dưới lực hấp dẫn thì chúng được qua cột bằng bơm dung môi tạo áp suất lên đến 400 lần áp suất khí quyển. Đến nay HPLC đã là một phương pháp phân tách các hợp chất thiên nhiên được sử dụng rộng rãi và phổ biến nhất hiện nay vì: có độ nhạy cao, có khả năng định tính và định lượng tốt, thích hợp cho các việc tách các chất khó bay hơi hoặc dễ phân hủy nhiệt, có phạm vi ứng dụng rộng rãi cho các lớp chất khác nhau...

Phân lập và tinh chế các hợp chất sạch bằng máy HPLC của hãng Agilent 1200 và 1260 với đầu dò UV-Vis, tại phòng Phân tích Hóa học, INPC - VAST. Dung môi sử dụng để chạy máy là các dung môi phân cực gồm nước tinh khiết, methanol (MeOH), acetonitril (ACN). Các loại cột sử dụng là cột pha đảo dùng cho HPLC RP-C18 với các kích cỡ khác nhau như: 10 x 250 mm I.D; 20 x 250 mm; 4,6 x 250 mm với kích thước hạt 10 hoặc 5  $\mu\text{m}$ .



Hình 2.3: Hệ thống máy HPLC tại phòng PTHH-INPC-VAST.

### **2.2.3.4. Phương pháp kết tinh.**

Phương pháp này dựa vào độ hòa tan khác nhau của các chất khi hòa tan hỗn hợp vào một hoặc một hỗn hợp dung môi. Các bước của quá trình kết tinh bao gồm: chọn dung môi, hòa tan, để kết tinh ở nhiệt độ thích hợp gạn hoặc lọc tinh thể ra khỏi dịch cái. Tinh thể được làm khô tự nhiên trong

1-2 giờ, sau đó cho vào bình hút ẩm dưới áp suất giảm trong 1 giờ trước khi đem đi xác định điểm chảy hay phân tích quang phổ [51], [52].

#### 2.2.4. Một số phương pháp xác định cấu trúc hóa học.

*Phổ Cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance) [53].*

Phổ Cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) là một phương pháp vật lý để nghiên cứu cấu trúc của hợp chất hữu cơ, và nó quan trọng trong việc xác định cấu tạo và thành phần các phân tử hữu cơ có cấu trúc phức tạp điển hình là các hợp chất thiên nhiên. Có hai loại phổ thường sử dụng là phổ  $^1\text{H-NMR}$  (phổ proton) và  $^{13}\text{C-NMR}$  (phổ cacbon).

*Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều [53].*

Phổ proton ( $^1\text{H-NMR}$ ) cho biết độ chuyển dịch hóa học thể hiện môi trường hóa học của hạt nhân proton trong đại phân tử. Các hạt nhân proton có độ chuyển dịch hóa học khác nhau thể hiện môi trường hóa học trong phân tử khác nhau. Ví dụ, các proton thuộc alkan thường có độ chuyển dịch hóa học từ 0 – 2 ppm, các proton thuộc liên kết với cacbon vòng thơm hay liên hợp thường có độ chuyển dịch hóa học từ 6 – 8 ppm. Một đỉnh thể hiện trên phổ proton đại diện cho một hay một nhóm proton có cùng môi trường hóa học (ví dụ 3 proton của nhóm  $\text{CH}_3$ ). Đỉnh này có thể là đỉnh đơn, đôi, ba, bốn, năm, sáu hoặc tới 7 đỉnh thành phần. Diện tích dưới đường cong (tích phân) của mỗi đỉnh tỉ lệ thuận với số lượng proton nằm trong vùng chuyển dịch hóa học đó. Hằng số ghép (J- Hz) là một thông số quan trọng khác của phổ proton.

Môi trường hóa học của cacbon trong phân tử được cung cấp thông tin bởi phổ cộng hưởng từ hạt nhân đồng vị cacbon 13 ( $^{13}\text{C-NMR}$ ). Trong khoảng 0 – 60 ppm là vùng chuyển dịch của cacbon lai hóa  $\text{sp}^3$  không liên kết với dị tố. Trong khoảng 45 – 85 ppm là vùng chuyển dịch hóa học của cacbon liên kết đơn với oxy (alcol, ether). Từ 100 -150 ppm là vùng chuyển dịch hóa học của cacbon lai hóa  $\text{sp}^2$ ; nếu có liên kết (đôi) với oxy có thể chuyển dịch tới 240 ppm. Phổ NMR của cacbon đồng vị 13 là những vạch đơn có cường độ khác nhau, mỗi vạch ứng với 1 cacbon hoặc hơn (nếu chúng có cùng môi trường hóa học của phân tử).

Bậc của cacbon được xác định bằng các kỹ thuật phổ DEPT (*detortionless enhancement by polarization transfer*). Trong phổ DEPT – 135,

cacbon bậc I và bậc III thể hiện dưới dạng các đỉnh dương, cacbon bậc II thể hiện dưới dạng các đỉnh âm, cacbon bậc IV không xuất hiện. Ở phổ DEPT – 90, chỉ còn các C bậc III thể hiện dưới dạng đỉnh dương.

*Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều.*

Phổ hai chiều cho biết thông tin về tương tác giữa H và H của C kế cận, C và H gắn trực tiếp hoặc tương tác giữa C và H của nguyên tử C kế cận. Cụ thể phổ COSY cho biết tương tác giữa proton của các cacbon kế cận nhau, phổ tương tác dị nhân (HETCOR) hay tương tác xa (*long – range* HETCOR, thường dùng HMBC); hoặc giữa các proton kế cận trong không gian (ROESY, NOESY); hoặc giữa các cacbon kế cận nhau (*incredible natural abundance double quantum transfer experiment*, NADEQUATE – ít sử dụng) [53].

Trong luận văn này, phổ  $^1\text{H-NMR}$  được đo trên máy Bruker 600 MHz, phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT, HMBC, HSQC, COSY được đo trên máy Bruker 125 MHz với mẫu chuẩn là TMS tại Viện Hóa học, VAST.

## **2.2.5. Phương pháp nghiên cứu tác dụng sinh học.**

### **2.2.5.1. Thử nghiệm tác dụng ức chế enzyme PTP1B (Protein Tyrosine Phosphatase 1B).**

Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme PTP1B (BIOMOL International LP, USA) được thực hiện như mô tả trong tài liệu của Nia [54] trong các phiên nuôi cấy tế bào 96 giếng. Cụ thể: cho 2mM *p*-NPP (*p*-nitrophenyl phosphate) và 0.05-0.1  $\mu\text{g}$  enzyme PTP1B pha trong dung dịch đệm (gồm 50 mM citrate (pH 6.0), 1 mM dithiotheritol (DTT), 1 mM EDTA, 0,1 M NaCl) vào mỗi giếng (thể tích 110  $\mu\text{L}$ ), có hoặc không có mẫu thử. Đem ủ 10 phút tại nhiệt độ 37  $^{\circ}\text{C}$ , sau đó thêm 50  $\mu\text{L}$  *p*-NPP trong dung dịch đệm. Sau ủ 20 phút ở nhiệt độ 20  $^{\circ}\text{C}$ , dừng phản ứng lại bằng cách bổ sung dung dịch NaOH 10M. Độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm bằng máy đo quang phổ được sử dụng để đo lượng *p*-nitrophenyl sinh ra bằng enzyme qua phản ứng khử phốt pho. Đo sự gia tăng hấp thụ ở 405 nm không có mặt của enzyme PTP1B được sử dụng đo quá trình thủy phân không enzyme của cơ chất *p*-NPP.

Khả năng ức chế (%) được tính bởi công thức:

$$\text{Khả năng ức chế (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$



Trong đó As là độ hấp thụ của mẫu, Ac được gọi là độ hấp thụ của chất đối chứng. Trong đó chất đối chứng dương được sử dụng là ursolic axit.

#### 2.2.5.2. Thử nghiệm tác dụng ức chế enzyme $\alpha$ -Glucosidase.

*p*-nitrophenol có màu vàng là sản phẩm của phản ứng phân cắt cơ chất *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside nhờ tác động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase (từ ruột non của chuột), chất đối chứng dương (acarbose- Sigma).

*p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside  $\xrightarrow{\alpha\text{-glucosidase}}$   $\alpha$ -D-glucose + *p*-nitrophenol (màu vàng)

Lượng sản phẩm *p*-nitrophenol sinh ra tại thời gian 30 phút sau phản ứng, nó phản ánh bằng độ hấp thụ hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm, thể hiện hoạt độ của enzyme  $\alpha$ -Glucosidase. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -Glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng (200  $\mu$ L/giếng) [55]. Cụ thể, mẫu được pha loãng bằng nước cất vô trùng hoặc dung môi DMSO 100% đến nồng độ đích là 1, 4, 16, 64, 256, 1024  $\mu$ g/mL. Đối chứng dương được sử dụng trong thí nghiệm là Acarbose. Mẫu thử thay bằng đệm phản ứng trong mẫu đối chứng âm. Mẫu thí nghiệm đem ủ với nhiệt độ 37 °C. Sau 30 phút, dừng phản ứng bằng cách bổ sung 100  $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Độ hấp thụ phản ứng đo trên máy Tecan Genios tại bước sóng 410 nm (A).

Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -Glucosidase của mẫu thử được xác định như sau:

$$\text{Độ ức chế (\%)} = \frac{A_{(\text{đối chứng âm})} - A_{(\text{mẫu thử})}}{A_{(\text{đối chứng âm})}} \times 100\%$$

Trong đó: IC<sub>50</sub> (half maximal inhibitory concentration - được tính trên phần mềm Table curve) là nồng độ chất thử tương ứng ức chế 50% hoạt độ của enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

### 2.3. Hóa chất.

Các dung môi dùng trong ngâm chiết mẫu nguyên liệu, phân tách, chạy cột hở đều dùng loại dung môi công nghiệp của Việt Nam, Đài Loan, Indonesia và Hàn Quốc.

Các dung môi dùng trong phân tích Sắc ký lớp mỏng và HPLC sử dụng dung môi tinh khiết của hãng Merck, Pháp (VWR), Hàn Quốc (Fisher).

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. BÁO CÁO KẾT QUẢ THU THẬP MẪU THỰC VẬT VÀ XỬ LÝ MẪU.

##### 3.1.1. Thu thập mẫu.

Toàn bộ mẫu thực vật được xử lý sơ bộ, làm sạch đất đá, loại bỏ các tạp chất, lá úa... sau đó tiến hành tạo mẫu tiêu bản lưu trữ. Bước tiếp theo xử lý mẫu để tạo các mẫu lưu trữ và phục vụ cho các bước nghiên cứu tiếp theo.

Các mẫu thực vật được thu thập tại hai địa điểm khác nhau là Đảo Quan Lạn và Huyện Vân Đồn, thuộc Tỉnh Quảng Ninh.

Bảng 3.1. Danh sách mẫu thực vật thu thập:

Danh sách mẫu thu thập và ký hiệu mẫu		
Ký hiệu mẫu	Khối lượng mẫu(kg)	Tình trạng mẫu
AD-QL.QN	5,4	Mẫu tươi, gồm toàn bộ phần trên mặt đất bao gồm cành lá và thân trên
AD-VĐ.QN	6,7	Mẫu tươi, gồm toàn bộ phần trên mặt đất bao gồm cành lá và thân trên

##### 3.1.2. Xử lý mẫu thực vật.

Bảng 3.2. Danh sách các mẫu dược liệu sau khi được xử lý, lưu trữ:

Ký hiệu mẫu	Khối lượng mẫu	Tình trạng mẫu
AD-QL. QN	1,1 kg	Mẫu đã sấy khô, sạch, đã được xử lý theo yêu cầu, bảo quản trong túi kín, lưu giữ trong phòng thí nghiệm
AD-VĐ. QN	1,6 kg	Mẫu đã sấy khô, sạch, đã được xử lý theo yêu cầu, bảo quản trong túi kín, lưu giữ trong phòng thí nghiệm

##### 3.1.3. Xác định tên khoa học và tạo mẫu tiêu bản lưu trữ.

Các mẫu dược liệu sau khi thu thập về được xử lý sơ bộ, làm sạch, phơi khô, sau đó được mang đi tạo tiêu bản mẫu lưu trữ và phục vụ cho quá trình so sánh xác định tên khoa học.

Người xác định tên khoa học: TS. Nguyễn Quốc Bình – Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các thông tin về quá trình xử lý mẫu thực vật tạo tiêu bản và so sánh và xác định tên khoa học:

- Mẫu thực vật ở dạng tươi, được ép phẳng, sau đó sấy thành tiêu bản khô, có đủ tiêu chuẩn để định loại.

- Ký hiệu: Được ghi ký hiệu theo ký hiệu tại nơi thu mẫu, địa danh, địa điểm và thời gian thu mẫu, bao gồm ngày thu mẫu, nơi thu mẫu;

- Người thu mẫu: TS. Nguyễn Phi Hùng – Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên (INPC) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam - VAST.

- Xác định các đặc điểm thực vật của các mẫu thực vật thu thập, nghiên cứu. Sau đó, tham khảo với các tài liệu chuyên khảo tin cậy và so sánh với mẫu lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, xác định được tên khoa học của các mẫu thực vật thu thập có tên khoa học như sau:

Tên khoa học: *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald; tên đồng nghĩa: *Aruncus sylvester* Kostel. ex Maxim. Thuộc Họ Hoa hồng (Rosaceae).

Tên Việt Nam: Cây Râu dê ở Việt Nam còn được gọi là cây Cỏ đuôi chồn. Ở Việt Nam cây xuất hiện ở một số vùng ven biển, ở những nơi ẩm ướt, khu vực đồi núi, vùng rừng thưa, ven suối...

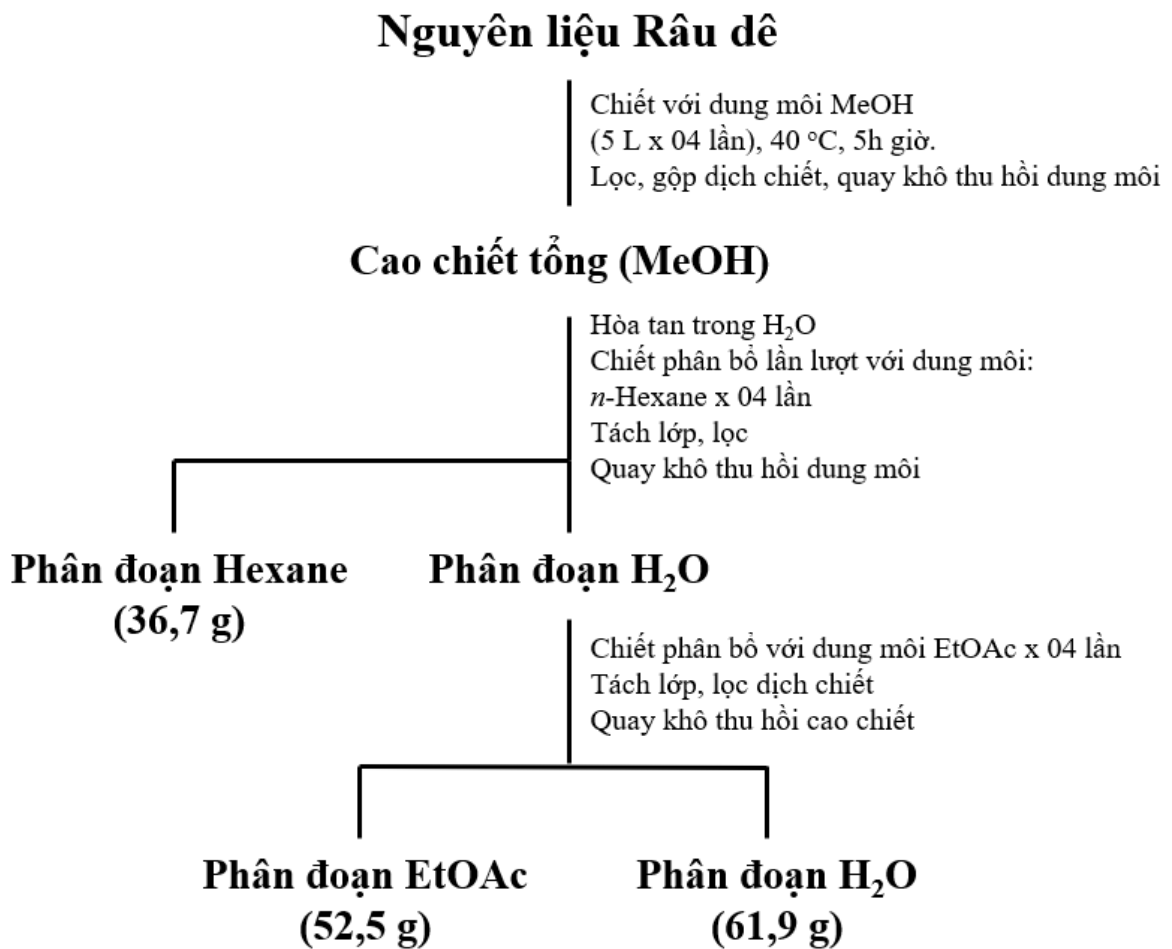


Hình 3.1: Một số hình ảnh mẫu thực vật *Aruncus dioicus*

## 3.2. KẾT QUẢ CHIẾT XUẤT TẠO MẪU CAO CHIẾT TỔNG VÀ CHIẾT TÁCH PHÂN ĐOẠN TẠO CÁC MẪU CAO PHÂN ĐOẠN.

### 3.2.1. Chiết xuất tạo cao chiết.

Từ các mẫu nguyên liệu khô thực vật cây Râu dê đã qua xử lý (**2,5 kg**) được tiến hành ngâm chiết xuất với methanol. Chiết siêu âm 4 lần, mỗi lần 5L methanol với nhiệt độ 40 °C trong 5 tiếng. Sau mỗi lần chiết tiến hành lọc thu các dịch chiết. Gộp các phân đoạn dịch chiết MeOH tiến hành cô quay đuổi dung môi để thu được mẫu cao chiết tổng methanol (kí hiệu là **AD-Me**, khối lượng là **198,5 g**).



Sơ đồ 3.1. Sơ đồ quy trình chiết cao tổng và các phân đoạn của mẫu thực vật.

Mẫu cao tổng AD-Me (150 g) được hòa tan trong 1L nước nóng, và tiến hành chiết tách phân đoạn bằng các dung môi khác nhau, sử dụng phương pháp chiết lỏng – lỏng với tỉ lệ 1/1 theo thể tích (v/v).

Hỗn hợp dịch được để tách lớp, thu được các cao chiết phân bố tương ứng lần lượt gồm *n*-Hexane (kí hiệu là AD-Hx), EtOAc (kí hiệu là AD-EA) và phân đoạn pha nước phía dưới (kí hiệu là AD-H<sub>2</sub>O). Tiến hành cô quay đuôi dung môi dưới áp suất giảm bằng hệ thống cô quay và thu hồi các cao chiết lần lượt là: cao Hexane (kí hiệu là AD-Hx: có khối lượng là **26,7 g**), EtOAc (AD-EA: **33,5 g**), và pha nước (AD-H<sub>2</sub>O: **61,9 g**).

Bảng 3.3. Danh sách các mẫu cao chiết sau khi sấy khô, thu hồi và chiết xuất:

STT	Ký hiệu mẫu	Khối lượng tổng (g)	Khối lượng còn lại (g)	Tình trạng mẫu
1	Cao chiết tổng (AD-Me)	198,5	40	Mẫu dạng cao khô được bảo quản trong lọ kín có nắp vặn, ghi thông tin bên ngoài, được lưu trữ trong điều kiện thoáng mát, tránh ẩm trong phòng thí nghiệm PTHH
2	Cao chiết <i>n</i> -Hexane (AD-Hx)	36,7	35	Mẫu dạng cao khô được bảo quản trong lọ kín có nắp vặn, ghi thông tin bên ngoài, được lưu trữ trong điều kiện thoáng mát, tránh ẩm trong phòng thí nghiệm PTHH
3	Cao chiết EtOAc (AD-EA)	52,5	50	Mẫu dạng cao khô được bảo quản trong lọ kín có nắp vặn, ghi thông tin bên ngoài, được lưu trữ trong điều kiện thoáng mát, tránh ẩm trong phòng thí nghiệm PTHH
4	Cao nước (AD-H <sub>2</sub> O)	61,9	55	Mẫu dạng cao khô được bảo quản trong lọ kín có nắp vặn, ghi thông tin bên ngoài, được lưu trữ trong điều kiện thoáng mát, tránh ẩm trong phòng thí nghiệm PTHH

### 3.2.2. Khảo sát sơ bộ các cao chiết bằng SKBM.

Sắc ký lớp mỏng là phương pháp nghiên cứu phân tích hiệu quả để xác định, định tính các chất và nhóm chất có trong thành phần các thực vật hoặc các phân đoạn tách ra từ các dịch chiết thực vật. Dựa trên sự khác nhau về độ phân cực của các hợp chất khác nhau nên sẽ tách ra tại những vị trí khác nhau trên bản mỏng. SKLM yêu cầu lượng mẫu ít, cho hiệu quả tách cao và đòi hỏi thời gian thực hiện ngắn [50].

SKLM được thực hiện trên bản nhôm hoặc thủy tinh mỏng tráng sẵn silica gel MSD 60 F<sub>254</sub> dày 0,2 mm. Hệ dung môi được lựa chọn dựa vào bản chất độ phân cực của mẫu, sau đó quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 và 312 nm. Phát hiện màu những chất có trên bản mỏng bằng cách nhúng bản mỏng vào dd axit sunfuric 10% và hơ trên bếp nhiệt đến khi hiện vạch màu.

Lấy một ít cặn dịch cho vào ống nghiệm, đem hòa tan hoàn toàn trong dung môi với nồng độ khoảng 10-50 mg/mL.

Cách tiến hành khảo sát bằng sắc ký bản mỏng tiến hành theo trình tự sau:

- *Triển khai sắc ký lớp mỏng*
- Pha hệ dung môi rồi đổ vào bình triển khai.
- Đưa các mẫu dịch chiết lên bản mỏng bằng ống mao quản, cách đáy bản mỏng 0,5 cm và cách đều hai bên mép bản mỏng, sấy để dung môi bay hết rồi đưa vào bình triển khai.
- Dung môi chạy từ dưới lên trên, chất có độ phân cực yếu hơn chạy lên trên, chất có độ phân cực cao hơn ở dưới.
- Khi dung môi chạy lên cách mép trên của bản khoảng 0,02 cm thì lấy bản mỏng ra, sấy để dung môi bay hết.
- Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường.
- Sấy bản mỏng, quan sát dưới ánh sáng thường, sau đó nhúng vào dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10%), sau đó mang đi đốt trên bếp từ hoặc sấy bằng máy sấy.
- Mỗi vết tách ra trên bản mỏng có một giá trị R<sub>f</sub> khác nhau. Khi phun thuốc thử giá trị R<sub>f</sub> không thay đổi.
- *Dựa vào các hình ảnh bản mỏng có thể đánh giá được:*
- Sơ bộ số lượng chất có trong phần mẫu dịch chiết.

- Đánh giá sơ bộ khả năng phân tách của các hợp chất trên bản mỏng tương ứng với hệ dung môi sử dụng để triển khai bản mỏng.
- Đánh giá sơ bộ các lớp chất có mặt trong các mẫu cao chiết.

### **3.3. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HÓA HỌC CỦA CÁC HỢP CHẤT TỪ CÁC MẪU CAO CHIẾT.**

#### **3.3.1. Tiến hành thực nghiệm phân lập các hợp chất.**

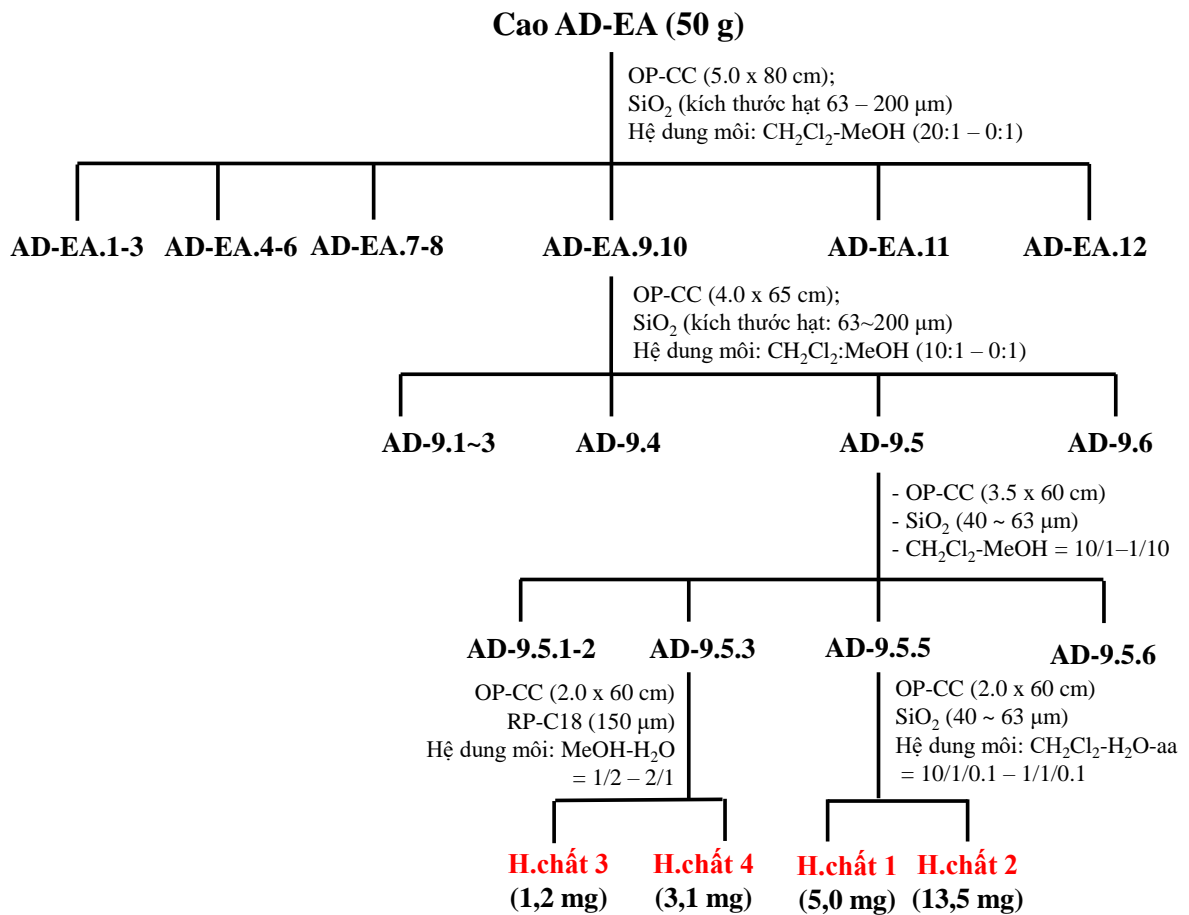
Phân đoạn AD-EA (50 g) được chạy sắc ký cột hở (OP\_CC; 5.0 x 80 cm) pha thường ( $\text{SiO}_2$ , cỡ hạt 63-200  $\mu\text{m}$ ), sử dụng hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH (từ 20:1 đến 0:1), thu được các phân đoạn lớn và ký hiệu lần lượt là AD-EA-1 đến AD-EA-12.

Phân đoạn AD-EA-9 và AD-EA-10 được gộp lại và tiến hành chạy sắc ký cột hở (OP\_CC; 4.0 x 65 cm) pha thường với  $\text{SiO}_2$  (63~200  $\mu\text{m}$ ), sử dụng hệ dung môi rửa giải là  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (10:1 – 0:1) và thu được sáu phân đoạn nhỏ ký hiệu lần lượt là AD-9.1 đến AD-9.6.

Từ phân đoạn AD-9.5 tiếp tục tiến hành chạy sắc ký cột hở (OP\_CC; 3.0 x 60 cm), sử dụng silica gel pha thường  $\text{SiO}_2$  (40~63  $\mu\text{m}$ ), với hệ dung môi rửa giải là  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH (10:1 – 1:10), thu được sáu phân đoạn nhỏ hơn ký hiệu lần lượt là AD-9.5.1 đến AD-9.5.6.

Từ phân đoạn AD-9.5.5 tiếp tục tiến hành chạy sắc ký cột hở (OP\_CC: 2.0 x 60 cm), sử dụng silica gel pha thường  $\text{SiO}_2$  (40~63  $\mu\text{m}$ ), với hệ dung môi rửa giải là  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH –  $\text{H}_2\text{O}$  (từ 10:1:0.1 – 2:1:0.1), lần lượt thu được hợp chất số **1** (5,0 mg) và **2** (13,5 mg).

Từ phân đoạn AD-9.5.3 tiếp tục tiến hành chạy sắc ký cột hở (OP\_CC: 2.0 x 60 cm), sử dụng silica gel pha đảo RP-C18 (150  $\mu\text{m}$ ), với hệ dung môi rửa giải là MeOH –  $\text{H}_2\text{O}$  (1:2 – 2:1), thu được hợp chất số **3** (1,5 mg) và **4** (3,1 mg).



Sơ đồ 3.2. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ phân đoạn EtOAc (AD-EA) của loài Râu dê (*Aruncus dioicus*).

Tương tự, hai phân đoạn AD-EA-78 được tiến hành gộp lại và tiếp tục chạy sắc ký cột hở (OP-CC; 4.0 x 65 cm) pha thường OP-CC (4.0 x 80 cm) với SiO<sub>2</sub> (63~200 μm particle size), với hệ dung môi rửa giải là CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (20:1 – 1:10) thu được sáu phân đoạn nhỏ hơn ký hiệu lần lượt là AD-7.1 đến AD-7.6.

Từ phân đoạn AD-7.5 tiếp tục tiến hành chạy sắc ký cột hở (OP-CC; 3.0 x 60 cm), sử dụng silica gel pha đảo RP-C18 (150 μm particle size), sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1 – 5:1) thu được sáu phân đoạn nhỏ hơn ký hiệu lần lượt là AD-7.5.1 đến AD-7.5.6.

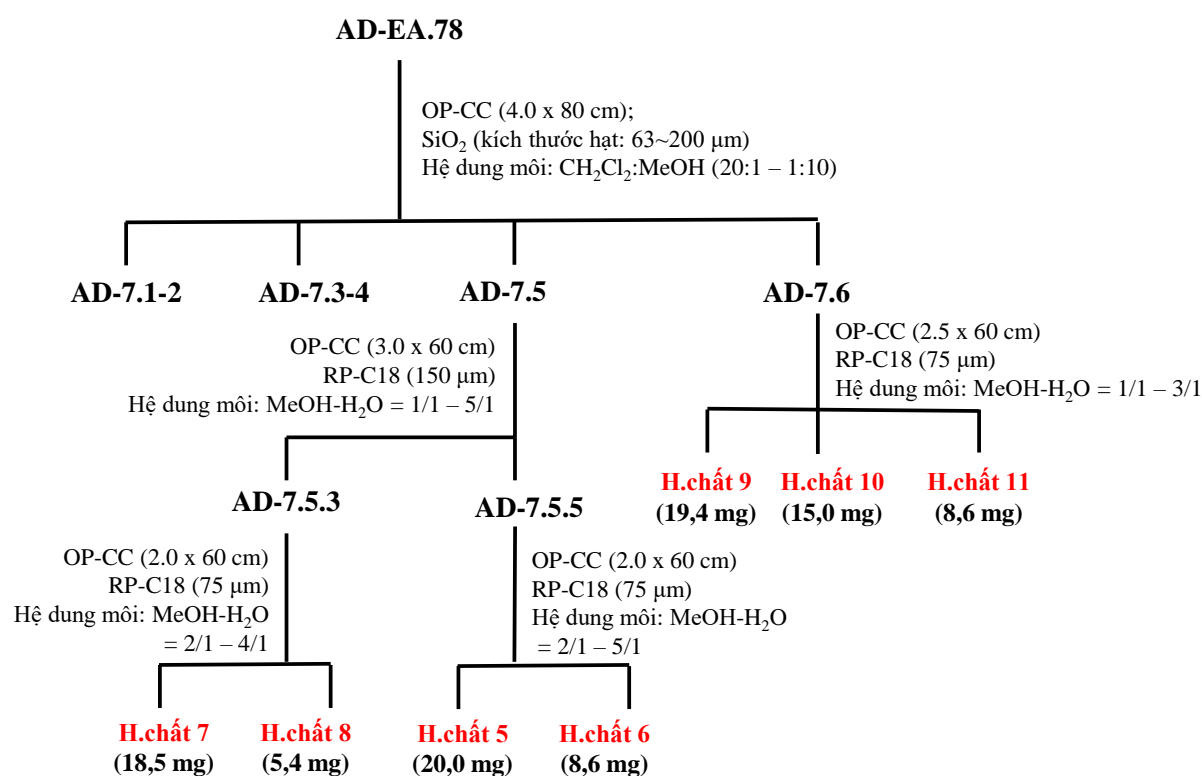
Từ phân đoạn nhỏ AD-7.5.5 cũng được chạy tinh chế bằng cột hở pha đảo OP-CC (2.0 x 60 cm) sử dụng silica gel pha đảo (RP-C18, cỡ hạt 75 μm),



rửa giải bằng hệ dung môi MeOH - H<sub>2</sub>O (từ 2:1 đến 5:1), lần lượt thu được các hợp chất số **5** (20,5 mg) và **6** (8,6 mg).

Từ phân đoạn nhỏ AD-7.5.3 tiếp tục được tinh chế bằng cột hở pha đảo OP-CC (2.0 x 60 cm) sử dụng silica gel pha đảo (RP-C18, cỡ hạt 75 μm), rửa giải bằng hệ dung môi MeOH - H<sub>2</sub>O (từ 2:1 đến 4:1), lần lượt thu được các hợp chất số **7** (18,5 mg) và **8** (5,5 mg).

Tiếp tục tinh chế Phân đoạn AD-7.6 bằng cột hở pha đảo OP-CC (2.5 x 60 cm) sử dụng silica gel pha đảo (RP-C18, cỡ hạt 75 μm), rửa giải bằng hệ dung môi MeOH - H<sub>2</sub>O (từ 1:1 đến 3:1), lần lượt thu được các hợp chất số **9** (19,0 mg), **10** (15,0 mg) và **11** (8,6 mg).



Sơ đồ 3.3. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ phân đoạn EtOAc (AD-EA) của loài Râu dê (*Aruncus dioicus*)

Bảng 3.4. Danh sách các mẫu hợp chất phân lập được từ loài Râu dê:

STT	Tên theo ký hiệu	Khối lượng (mg)	Ghi chú
1	Hợp chất <b>1</b>	5,0	Tinh thể hình kim hơi vàng
2	Hợp chất <b>2</b>	13,5	Bột màu nâu sậm
3	Hợp chất <b>3</b>	1,2	Dạng bột màu trắng ngà
4	Hợp chất <b>4</b>	3,1	Tinh thể vô định hình màu trắng
5	Hợp chất <b>5</b>	20,0	Bột màu trắng ngà
6	Hợp chất <b>6</b>	8,6	Bột màu trắng ngà
7	Hợp chất <b>7</b>	18,5	Tinh thể màu trắng hơi vàng
8	Hợp chất <b>8</b>	5,4	Bột màu vàng nhạt
9	Hợp chất <b>9</b>	19,4	Bột màu vàng hơi đỏ
10	Hợp chất <b>10</b>	15,0	Bột màu trắng ngà
11	Hợp chất <b>11</b>	8,6	Bột màu trắng hơi vàng

### 3.3.2. Cấu trúc hóa học của các chất phân lập từ các mẫu cao chiết.

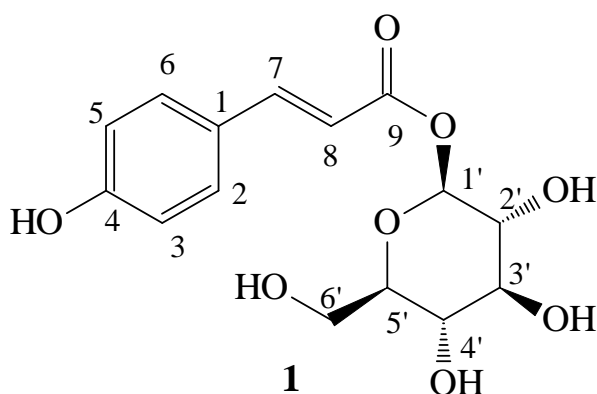
#### Hợp chất số 1.

Hợp chất số **1** thu được dưới dạng tinh thể hình kim hơi vàng [56];

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7,749 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,50 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-2/H-6), 6,83 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-3/H-5), 6,39 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8), 5,59 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1'), 3,87 (1H, dd,  $J = 12,0, 1,8$  Hz, H-6'a), 3,71 (1H, dd,  $J = 12,0, 5,4$  Hz, H-6'b), 3,38-3,49 (4H, m, H-2'/H-3'/H-4'/H-5');

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 167,7 (C-9), 161,6 (C-4), 147,9 (C-7), 131,4 (C-2/ C-6), 127,1 (C-1), 116,9 (C-3/ C-5), 114,5 (C-8), 95,8 (C-1'), 78,8 (C-5'), 78,0 (C-2'), 74,1 (C-3'), 71,1 (C-4'), 62,4 (C-6').

Công thức phân tử của hợp chất **1** là  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$ ;



Hình 3.2: Cấu trúc phân tử của hợp chất **1**.

Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hợp chất **1** cho thấy sự hiện diện của 01 hệ spin dạng AA'BB' của vòng thơm với các tín hiệu của cặp liên kết meta tại  $\delta_{\text{H}}$  7,50 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-2/H-6) và ortho tại  $\delta_{\text{H}}$  6,83 ppm (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-3/H-5) đối với một đơn vị phenyl thế 1,4.

Ngoài ra, tín hiệu của hai proton tương ứng với nhóm olefin xuất hiện lần lượt tại các vị trí  $\delta_{\text{H}}$  7,75 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7) và  $\delta_{\text{H}}$  6,39 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8) phù hợp với tín hiệu chuyển đổi liên kết đôi của đơn vị caffeoyl.

Các tín hiệu của một đơn vị đường  $\beta$ -D-glucose được quan sát thấy ở vị trí  $\delta_{\text{H}}$  5,59 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1') cho proton anomeric đặc trưng của đường và các vị trí proton còn lại tại  $\delta_{\text{H}}$  3,87 (1H, dd,  $J = 12,0, 1,8$  Hz, H-6'a), 3,71 (1H, dd,  $J = 12,0, 5,4$  Hz, H-6'b), 3,38-3,49 (4H, m, H-2'/H-3'/H-4'/H-5'), với các giá trị carbon tương ứng của đơn vị đường lần lượt xuất hiện tại các vị trí  $\delta_{\text{C}}$  95,8 (C-1'), 78,8 (C-5'), 78,0 (C-2'), 74,1 (C-3'), 71,1 (C-4'), 62,4 (C-6').

Kết hợp các thông tin phổ thu được kể trên và so sánh thông tin công bố trong TLTK [56], cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **1** là 1-O-(4-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside.

Cấu trúc được thể hiện ở hình 3.2.

## Hợp chất số 2

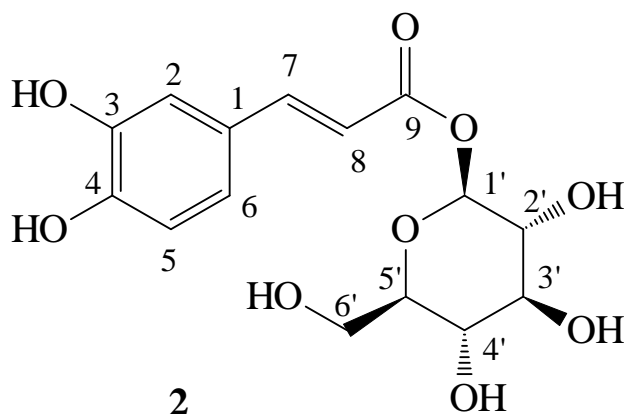
Hợp chất số **2** thu được dưới dạng bột màu nâu sậm;

Thông tin phổ  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7,66 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,08 (1H, brs, H-2), 6,96 (1H, d,  $J = 6,4$  Hz, H-6), 6,80 (1H, d,  $J = 7,6$  Hz, H-5), 6,31 (1H, d,  $J = 16,0$  Hz, H-8), 5,62 (1H, d,  $J = 6,0$

Hz, H-1'), 3,81 (1H, d, J = 12,0 Hz, H-6'a), 3,74 (1H, d, J = 11,6 Hz, H-6'b), 3,57 - 3,36 (4H, m, H-2', 3', 4', 5');

Thông tin phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 167,9 (C-9), 149,8 (C-4), 148,5 (C-7), 146,7 (C-3), 127,6 (C-1), 123,4 (C-6), 116,6 (C-5), 115,4 (C-2), 114,3 (C-8), 95,7 (C-1'), 78,6 (C-5'), 77,9 (C-3'), 74,0 (C-2'), 71,0 (C-4'), 62,3 (C-6').

Công thức phân tử của hợp chất **2** là  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_9$  [57];



Hình 3.3: Cấu trúc phân tử của hợp chất **2**.

Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hợp chất **2** cho thấy sự có mặt của 01 hệ spin ABX của vòng thơm với các tín hiệu của cặp liên kết meta tại  $\delta_{\text{H}}$  7,08 ppm (1H, brs, H-2), một tín hiệu liên kết ortho tại  $\delta_{\text{H}}$  6,80 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-5) và tín hiệu thơm ghép đôi trực giao ở  $\delta_{\text{H}}$  6,96 (1H, d, J = 6,4 Hz, H-6) đối với đơn vị 3,4-dihydroxyphenyl.

Ngoài ra, tín hiệu của hai proton của nhóm olefin xuất hiện tại  $\delta_{\text{H}}$  7,66 (1H, d, J = 15,6 Hz, H-7) và  $\delta_{\text{H}}$  6,31 (1H, d, J = 16,0 Hz, H-8) phù hợp với tín hiệu chuyển đổi liên kết đôi của đơn vị caffeoyl. Các tín hiệu của  $\beta$ -D-glucose được quan sát thấy ở vị trí  $\delta_{\text{H}}$  5,62 (1H, d, J = 6,0 Hz, H-anomeric) cho nhóm proton anomeric đặc trưng, với các giá trị carbon lần lượt xuất hiện tại các vị trí  $\delta_{\text{C}}$  95,7 (C-1'), 78,6 (C-5'), 77,9 (C-3'), 74,0 (C-2'), 71,0 (C-4'), 62,3 (C-6').

Với các thông tin phổ thu được và so sánh với tài liệu đã công bố [57], hợp chất **2** được xác định là 1-O-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside.

Cấu trúc được thể hiện ở hình 3.3.

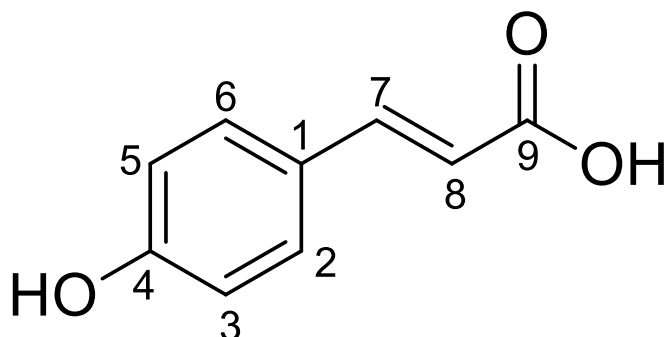
### Hợp chất số 3

Hợp chất số 3 thu được là dạng bột màu trắng ngà;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 7,62 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,45 (2H, dd,  $J = 8,4$  Hz, H-2/H-6), 6,82 (2H, dd,  $J = 8,4$  Hz, H-3/H-5), 6,29 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 171,0 (C-9), 161,1 (C-4), 146,6 (C-7), 131,1 (C-2/C-6), 127,2 (C-1), 116,8 (C-3/C-5), 115,6 (C-8).

Công thức phân tử của hợp chất 3 là  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$  [58];



Hình 3.4: Cấu trúc phân tử của hợp chất 3.

Phổ  $^1\text{H NMR}$  của hợp chất 3 cho thấy sự hiện diện của 01 hệ spin dạng AA'BB' của vòng thơm với các tín hiệu của cặp liên kết meta tại  $\delta_{\text{H}}$  7,45 (2H, dd,  $J = 8,4, 1,8$  Hz, H-2/H-6) và ortho tại  $\delta_{\text{H}}$  6,82 ppm (2H, dd,  $J = 8,4$  Hz, H-3/H-5) đối với một đơn vị phenol dạng thế 1,4.

Ngoài ra, tín hiệu của hai proton tương ứng với nhóm olefin xuất hiện lần lượt tại các vị trí  $\delta_{\text{H}}$  7,62 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7) và  $\delta_{\text{H}}$  6,29 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8) phù hợp với tín hiệu chuyển đổi liên kết đôi của đơn vị caffeoyl với hai tín hiệu carbon lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  146,6 (C-7) và 115,6 (C-8).

Hơn nữa, phổ  $^{13}\text{C}$  của hợp chất còn cho thấy tín hiệu của carbon bậc 4 của vòng thơm liên kết với nhóm oxy xuất hiện ở vị trí  $\delta_{\text{C}}$  161,1 (C-4) và một nhóm carboxylic tại 171,0 (C-9).

Kết hợp các thông tin phổ và so sánh thông tin phổ đã công bố [58], cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất 3 là coumaric acid.

Cấu trúc hóa học được mô tả ở hình 3.4.

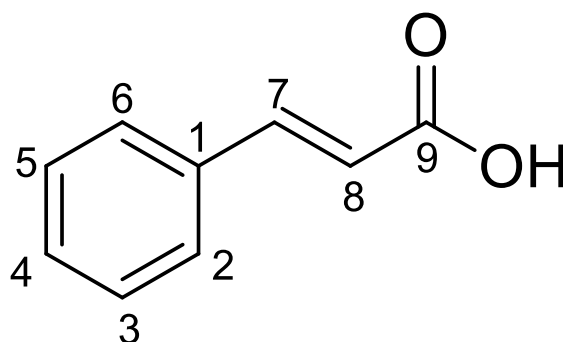
### Hợp chất số 4

Hợp chất số 4 thu được ở dạng tinh thể màu trắng;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) :  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7,69 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,58 (2H, m, H-2/H-6), 7,40 (3H, m, H-3/H-4/H-5), 6,48 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 170,3 (C-9), 146,3 (C-7), 135,8 (C-1), 131,3 (C-4), 129,9 (C-2/C-6), 129,1 (C-3/C-5), 119,3 (C-8).

Công thức phân tử của hợp chất 4 là  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$  [59];



Hình 3.5: Cấu trúc phân tử của hợp chất 4

Tương tự như hợp chất số 3, phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất 4 cho thấy có sự tương đồng, trong đó có các tín hiệu của một vòng thơm và tín hiệu của nhóm olefin phù hợp với tín hiệu chuyển đổi liên kết đôi của đơn vị caffeoyl.

Ngoài ra, trên phổ  $^{13}\text{C}$  của hợp chất này có tín hiệu của một nhóm carboxylic tại 170,3 ppm (C-9), nhưng không còn thấy tín hiệu của carbon bậc 4 của vòng thơm liên kết với nhóm oxy xuất hiện tại vị trí  $\delta_{\text{C}}$  161,1 ppm (C-4) như của hợp chất 3.

Điều này chứng tỏ rằng vòng benzen trong hợp chất 4 chỉ thế tại vị trí 1 (para). Do vậy, hợp chất 4 có thể xác định là cinnamic acid [59].

Cấu trúc được thể hiện ở hình 3.5.

### Hợp chất số 5

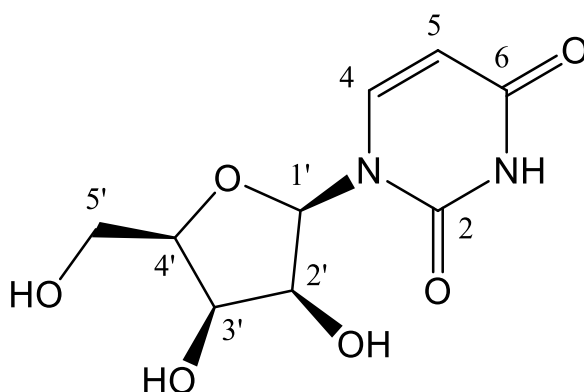
Hợp chất số 5 thu được dưới dạng bột màu trắng ngà;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 8,01 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-4), 5,92 (1H, d,  $J = 4,8$  Hz, H-1'), 5,72 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5),

4,20 (1H, t,  $J = 4,8$  Hz, H-2'), 4,17 (1H, t,  $J = 4,8$  Hz, H-3'), 4,03 (1H, m, H-4'), 3,86 (1H, dd,  $J = 3,0, 12,0$  Hz, H-5'a), 3,75 (1H, dd,  $J = 3,0, 12,0$  Hz, H-5'b);

Thông tin phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 166,2 (C-4), 152,5 (C-2), 142,7 (C-6), 102,7 (C-5), 90,7 (C-1'), 86,3 (C-4'), 75,7 (C-2'), 71,3 (C-3'), 62,3 (C-5').

Công thức phân tử của hợp chất **5** là  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$ ;



Hình 3.6: Cấu trúc phân tử của hợp chất **5**.

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất **5** cho thấy có hai tín hiệu proton của nhóm olefin có dạng *cis* xuất hiện lần lượt tại vị trí  $\delta_{\text{H}}$  8,01 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-4) và 5,72 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5)], với cùng hằng số liên kết  $J = 8,4$  Hz có thể khẳng định cho cấu hình *Z* tại vị trí H-4 và H-5 này.

Ngoài ra một tín hiệu proton rõ nét của anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5,92 (1H, d,  $J = 4,8$  Hz, H-1') thuộc về đơn vị  $\beta$ -glycoside (Hình 3.6). Các tín hiệu proton còn lại thuộc về đơn vị đường xuất hiện tại các vị trí  $\delta_{\text{H}}$  lần lượt là 4,20 (1H, t,  $J = 4,8$  Hz, H-2'), 4,17 (1H, t,  $J = 4,8$  Hz, H-3'), 4,03 (1H, m, H-4'), 3,86 (1H, dd,  $J = 3,0, 12,0$  Hz, H-5'a), 3,75 (1H, dd,  $J = 3,0, 12,0$  Hz, H-5'b).

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR hiển thị tổng cộng 09 tín hiệu cacbon, trong đó xác định có hai nhóm carbonyl [ $\delta_{\text{C}}$  142,7 (C-6) và 152,5 (C-2)], hai nguyên tử cacbon thuộc nhóm olefin tương ứng tại  $\delta_{\text{C}}$  166,2 (C-4) và 102,7 (C-5), và một đơn vị đường ribose có các tín hiệu carbon  $\delta_{\text{C}}$  lần lượt tại 90,7 (C-1'), 86,3 (C-4'), 75,7 (C-2'), 71,3 (C-3'), và 62,3 (C-5'). Các tín hiệu này chỉ ra cho một cấu trúc với một đơn vị đường ribose gắn với khung uracil thông qua liên kết  $\beta$ -N3-glycosid (Hình 3,6).

Kết hợp so sánh các thông tin phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất 5 với các thông tin phổ công bố trong TLTK [60], hợp chất 5 được xác định là uridine. Cấu trúc hóa học là hình 3.6.

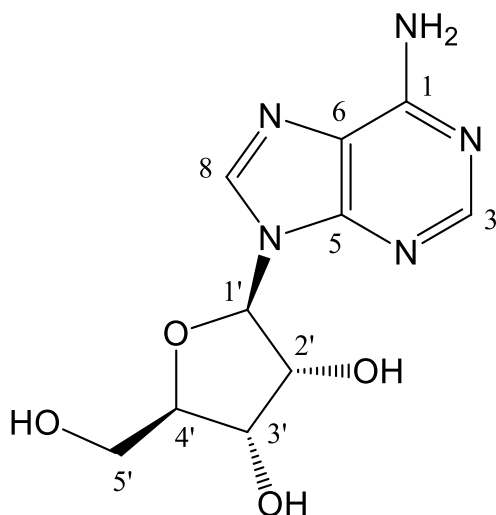
### Hợp chất số 6

Hợp chất số 6 thu được thu được dưới dạng bột màu trắng ngà.

Thông tin phổ  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 8,32 (1H, s, H-3), 8,20 (1H, s, H-8), 5,98 (1H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-1'), 4,76 (1H, dd,  $J = 4,8, 6,0$  Hz, H-2'), 4,55 (2H, br s, 1-NH $_2$ ), 4,34 (1H, dd,  $J = 3,0, 4,8$  Hz, H-3'), 4,18 (1H, q,  $J = 3,0$  Hz, H-4'), 3,90 (1H, dd,  $J = 2,4, 12,6$  Hz, H-5'a), 3,77 (1H, dd,  $J = 3,0, 12,6$  Hz, H-5'b);

Thông tin phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 157,6 (C-1), 153,5 (C-3), 150,1 (C-5), 142,0 (C-8), 121,2 (C-6), 91,3 (C-1'), 88,2 (C-4'), 75,5 (C-2'), 72,7 (C-3'), 63,5 (C-5').

Công thức phân tử của hợp chất 6 là  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_9$ ;



Hình 3.7: Cấu trúc phân tử của hợp chất 6.

Tương tự, Phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của 6 cho thấy sự có mặt của khung adenine gắn với đơn vị ribose thông qua liên kết  $\beta$ -N9-glycoside [61] với các tín hiệu của hai proton đơn olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  8,32 (1H, s, H-3)] và 8,20 (1H, s, H-8), một nhóm amin xuất hiện tại  $\delta_{\text{H}}$  4,55 (2H, br s, 1-NH $_2$ ), và một anomeric proton [ $\delta_{\text{H}}$  5.98 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-1')] của  $\beta$ -glycosyl.



Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **6** hiển thị tổng cộng 10 tín hiệu carbon bao gồm 04 tín hiệu cacbon thơm [ $\delta_{\text{C}}$  157,6 (C-1), 153,5 (C-3), 150,1 (C-5) và 121,2 (C-6)], một carbon olefin [ $\delta_{\text{C}}$  142,0 (C-8)] và một đơn vị ribose [ $\delta_{\text{C}}$  91,3 (C-1'), 88,2 (C-4'), 75,5 (C-2'), 72,7 (C-3'), 63,5 (C-5')].

Dựa vào thông tin phổ thu được và các thông tin phổ công bố trước đó, có thể xác định hợp chất số **6** là adenosine [62].

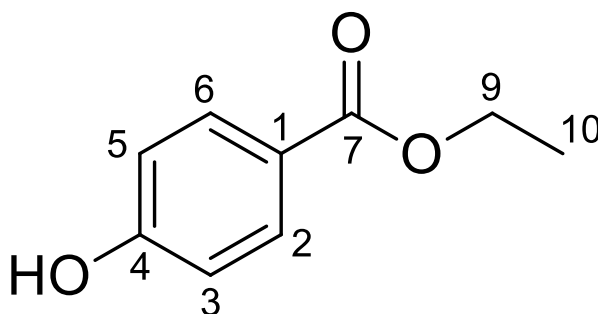
### Hợp chất số 7

Hợp chất số **7** thu được dưới dạng tinh thể màu trắng hơi vàng;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 9,19 (1H, s, 4-OH), 7,88 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-2/H-6), 6,91 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-3/H-5), 4,28 (2H, q,  $J = 7,2$  Hz, H-9), 1,33 (3H, t,  $J = 7,2$  Hz, H<sub>3</sub>-10) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 166,5 (C-7), 162,5 (C-4), 132,3 (C-2/C-6), 122,7 (C-1), 116,0 (C-3/C-5), 60,8 (C-9), 14,6 (C-10).

Công thức phân tử của hợp chất **7** là  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ ;



Hình 3.8: Cấu trúc phân tử của hợp chất **7**.

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **7** có tín hiệu đặc trưng cho proton thơm của vòng benzen tại  $\delta_{\text{H}}$  7,88 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-2/H-6) và 6,91 (2H, dd,  $J = 9,0$  Hz, H-3/H-5)] đặc trưng của dạng spin AA'BB' tương ứng với dạng thế 1,4 vòng benzen.

Ngoài ra, có thêm tín hiệu của nhóm hydroxyl tại  $\delta_{\text{H}}$  9,19 (1H, s, 4-OH)] và của nhóm etyl tại  $\delta_{\text{H}}$  4,28 (2H, q,  $J = 7,2$  Hz, H-9) và 1,33 (3H, t,  $J = 7,2$  Hz, H<sub>3</sub>-10)].

Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **7** cho thấy tín hiệu của một nhóm cacboxyl ở  $\delta_{\text{C}}$  166,5 (C-7), sáu tín hiệu carbon thơm của vòng benzen [ $\delta_{\text{C}}$  162,5 (C-4),

132,3 (C-2/C-6), 122,7 (C-1), và 116,0 (C-3/C-5)] và một nhóm ethyl [ $\delta_C$  60,8 (C-9) và 14,6 (C-10)].

Dựa vào phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **7**, và so sánh các thông tin đã công bố, cho phép khẳng định cấu trúc của hợp chất **7** là ethylparaben [63], được trình bày trong hình 3.8.

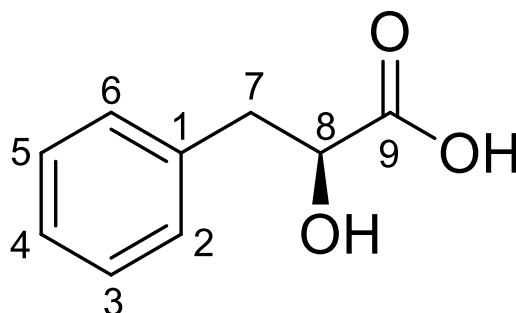
### Hợp chất số 8

Hợp chất số 8 thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt;

Thông tin phổ  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_H$  (ppm) : 7,27 (4H, m, H-2/H-3/H-5/H-6), 7,21 (1H, m, H-4), 4,34 (1H, dd,  $J = 7,8, 4,2$  Hz, H-8), 3,12 (1H, dd,  $J = 13,8, 4,2$  Hz, H-7a), 2,91 (1H, dd,  $J = 13,8, 7,8$  Hz, H-7b) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_C$  (ppm) : 177,6 (C-9), 139,0 (C-1), 130,5 (C-2/C-6), 129,2 (C-3/C-5), 127,5 (C-4), 72,9 (C-8), 14,6 (C-7).

Công thức phân tử của hợp chất **8** là  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ ;



Hình 3.9: Cấu trúc phân tử của hợp chất **8**

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **8** thể hiện 05 tín hiệu của proton thơm là [ $\delta_H$  7,27 (4H, m, H-2/H-3/H-5/H-6) và 7,21 (1H, m, H-4)] và tín hiệu của nhóm lactic là [ $\delta_H$  4,34 (1H, dd,  $J = 7,8, 4,2$  Hz, H-8), 3,12 (1H, dd,  $J = 13,8, 4,2$  Hz, H-7a) và 2,91 (1H, dd,  $J = 13,8, 7,8$  Hz, H-7b)], với các tín hiệu carbon tương ứng tại các vị trí  $\delta_C$  177,6 (C-9), 72,9 (C-8), 14,6 (C-7).

Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **8** cho thấy các tín hiệu của cacbon thơm  $\delta_C$  139,0 (C-1), 130,5 (C-2/C-6), 129,2 (C-3/C-5) và 127,5 (C-4)] tương ứng với vòng benzen (Hình 3.9).

Từ các tín hiệu phổ NMR thu được của hợp chất **8** và so sánh các thông tin công bố, hợp chất số **8** là L-Phenyllactic acid [64].

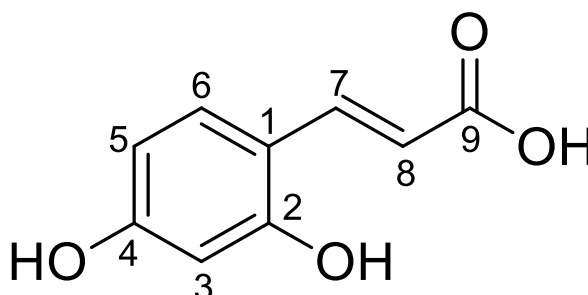
### Hợp chất số 9

Hợp chất số 9 thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 7,91 (1H, d,  $J = 16,2$  Hz, H-7), 7,34 (1H, dd,  $J = 7,8$  Hz, H-6), 6,39 (1H, d,  $J = 16,2$  Hz, H-8), 6,34 (1H, dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, H-5), 6,33 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-3) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 172,0 (C-9), 162,2 (C-4), 160,0 (C-2), 142,9 (C-7), 131,5 (C-5), 114,9 (C-1), 114,7 (C-8), 108,8 (C-6), 103,5 (C-3).

Công thức phân tử của hợp chất 9 là  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ ;



Hình 3.10: Cấu trúc phân tử của hợp chất số 9.

Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất 9 thể hiện đặc trưng của hợp chất khung phenylpropanoid với 03 pic đặc trưng của hệ vòng thơm ABX lần lượt là  $\delta_{\text{H}}$  6,34 (1H, dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, H-5), 6,33 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-3), và 7,34 (1H, dd,  $J = 7,8$  Hz, H-6).

Hai tín hiệu proton đặc trưng của cặp olefin dạng *trans* xuất hiện tại vị trí  $\delta_{\text{H}}$  7,91 (1H, d,  $J = 16,2$  Hz, H-7) và 6,39 (1H, d,  $J = 16,2$  Hz, H-8), với cùng hằng số liên kết  $J = 16,2$  Hz chứng minh cho cấu hình *E* tại vị trí C-7 và C-8.

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất 9 thể hiện 9 tín hiệu cacbon, trong đó có một nhóm cacboxylic tại  $\delta_{\text{C}}$  172,0 (COOH), một carbon bậc 4 ( $\delta_{\text{C}}$  114,9, C-1), ba 03 nhóm cacbon của hệ vòng thơm ABX, và 2 tín hiệu cacbon bậc bốn của vòng thơm gắn với nguyên tử oxy không liền kề nhau trong vòng thơm với các giá trị  $\delta_{\text{C}}$  162,2 (C-4) và 160,0 (C-2).

Từ các thông tin phổ kể trên có thể xác định hợp chất 9 có cấu trúc hóa học được trình bày ở hình 3.10 là 2,4-dihydroxycinnamic acid.

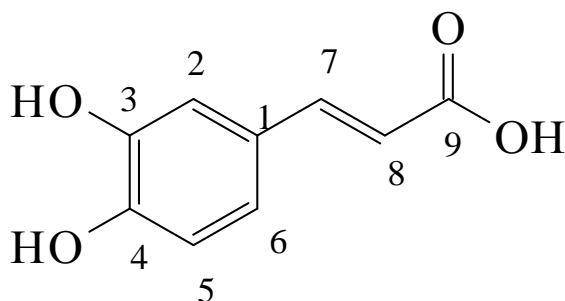
### Hợp chất số 10

Hợp chất số **10** thu được ở dạng bột màu trắng ngà;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 7,55 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,05 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-2), 6,95 (1H, dd,  $J = 8,4, 1,8$  Hz, H-6), 6,80 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5), 6,23 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 171,0 (C-9), 149,4 (C-4), 147,0 (C-7), 146,7 (C-3), 127,8 (C-1), 122,8 (C-6), 116,5 (C-5), 115,5 (C-8), 115,1 (C-2).

Công thức phân tử của hợp chất **10** là  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ ;



Hình 3.11: Cấu trúc phân tử của hợp chất số **10**.

Phổ  $^1\text{H NMR}$  của hợp chất **10** có 03 pic đặc trưng của hệ vòng thơm ABX lần lượt là  $\delta_{\text{H}}$  7,05 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-2), 6,80 (1H, d,  $J = 8,1$  Hz, H-2), và 6,93 (1H, dd,  $J = 1,8, 8,1$  Hz, H-6).

Thêm vào đó xuất hiện 02 proton olefinic ở vị trí  $\delta_{\text{H}}$  7,55 (1H, d,  $J = 5,9$  Hz, H-7) và 6,23 (1H, d,  $J = 15,9$  Hz, H-8), với  $J = 15,9$  Hz điều này chứng tỏ cấu hình *E* của vị trí C-7 và C-8.

Phổ  $^{13}\text{C NMR}$  của hợp chất **10** có 9 đơn vị carbon, trong đó có một nhóm cacboxylic tại  $\delta_{\text{C}}$  171,02 (COOH), một cacbon bậc 4 ( $\delta_{\text{C}}$  127,8, C-1), ba nhóm cacbon của vòng thơm tại các vị trí C-2 (122,83), C-6 (120,6) và C-5 (116,5), và 2 cacbon bậc bốn của vòng thơm gắn với nguyên tử oxy liền kề nhau xuất hiện ở vị trí  $\delta_{\text{C}}$  149,4 (C-4) và 146,7 (C-3).

Từ thông tin phổ kể trên và so sánh thông tin trong TLTK [65,66] có thể xác định hợp chất **10** là caffeic acid và được trình bày ở hình 3.11.

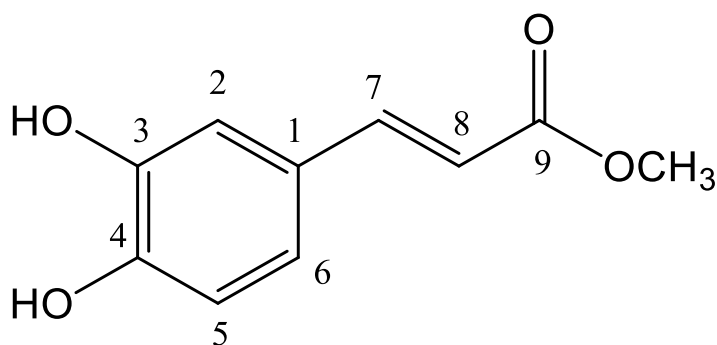
### Hợp chất số 11

Hợp chất số **11** thu được dưới dạng bột màu trắng hơi vàng;

Thông tin phổ  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) : 7,61 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-7), 7,19 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-2), 7,08 (1H, dd,  $J = 8,4, 1,8$  Hz, H-6), 6,83 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5), 6,32 (1H, d,  $J = 15,6$  Hz, H-8), 3,91 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>) ;

Thông tin phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) : 171,0 (C-9), 150,5 (C-4), 149,4 (C-3), 147,0 (C-7), 127,8 (C-1), 124,0 (C-6), 116,5 (C-5), 116,0 (C-8), 111,8 (C-2), 56,5 (3-OCH<sub>3</sub>).

Công thức phân tử của hợp chất **11** là C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>;



Hình 3.12: Cấu trúc phân tử của hợp chất **11**.

Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất **11** thấy sự tương đồng với hợp chất **10**, và có thêm một nhóm methoxy ở vị trí  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (3H, s) và  $\delta_{\text{C}}$  52,1.

Hệ ABX đặc trưng của vòng thơm ở  $\delta_{\text{H}}$  7,03 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, H-2), 6,70 (1H, d,  $J = 8,1$  Hz, H-2), và 6,93 (1H, dd,  $J = 8,1, 1,8$  Hz, H-6). Hai olefin proton tại vị trí  $\delta_{\text{H}}$  7,53 (1H, d,  $J = 15,9$  Hz, H-7) và 6,25 (1H, d,  $J = 15,9$  Hz, H-8).

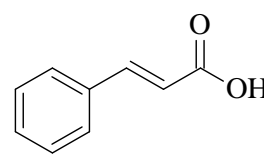
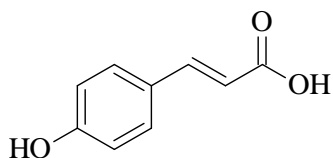
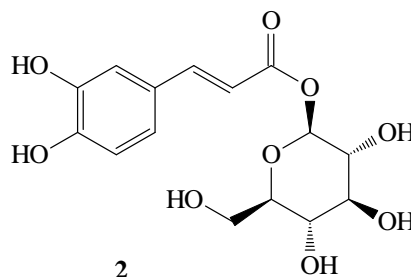
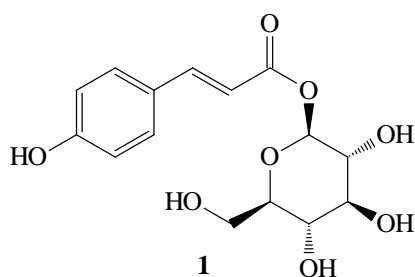
Trên phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của **11** có một nhóm cacboxylic ở  $\delta_{\text{C}}$  169,9 ppm (COOH), một cacbon bậc bốn ( $\delta_{\text{C}}$  127,8, C-1), ba nhóm cacbon vòng thơm ở C-2 (123,1), C-6 (115,3) và C-5 (115,0), 02 cacbon bậc 4 gắn nguyên tử oxy liên kề ở  $\delta_{\text{C}}$  146,9 (C-4) và 149,7 (C-3).

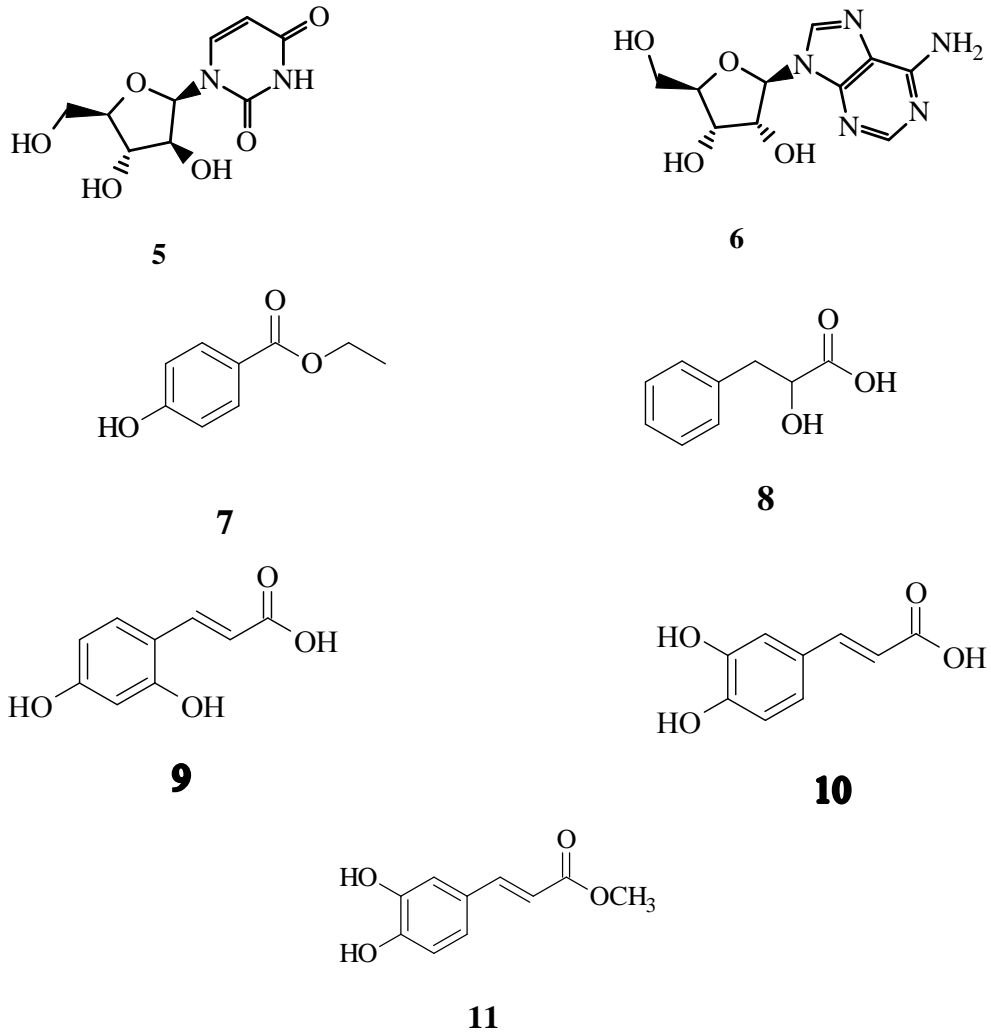
Nhóm methoxy được gắn vào vị trí oxy của nhóm cacboxylic tạo ra methyl ester (COOCH<sub>3</sub>) với  $\delta_{\text{C}}$  52,1 ppm ; các vị trí oxy của vòng thơm có độ chuyển dịch hóa học lớn hơn 55 ppm.

Từ thông tin phổ trên và các thông tin phổ trong TLTK, có thể xác định hợp chất **11** là methyl caffeate [67,68].

Bảng 3.5. Danh sách và tên khoa học của các hợp chất phân lập được từ Râu dê (*Aruncus dioicus*)

STT	Tên mẫu chất theo ký hiệu	Tên khoa học của hợp chất
1	Hợp chất 1	1- <i>O</i> -(4-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside
2	Hợp chất 2	1- <i>O</i> -caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside
3	Hợp chất 3	Coumaric acid
4	Hợp chất 4	Cinnamic acid
5	Hợp chất 5	Uridine
6	Hợp chất 6	Adenosine
7	Hợp chất 7	Ethylparaben
8	Hợp chất 8	L-(-)-Phenyllactic Acid
9	Hợp chất 9	2,4-dihydroxycinnamic acid
10	Hợp chất 10	Caffeic acid
11	Hợp chất 11	Methyl caffeate





Hình 3.13: Cấu trúc hóa học các hợp chất 1-11 phân lập từ Râu dê

### 3.4. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC.

#### 3.4.1. Kết quả thử nghiệm đánh giá tác dụng ức chế enzyme PTP1B của các mẫu thử nghiệm.

Tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B được đánh giá theo phương pháp như mô tả ở phần hai (thử nghiệm). Ở phương pháp này các hợp chất được thử nghiệm đánh giá phần trăm ức chế ở các nồng độ thích hợp khác nhau và được liệt kê trong bảng 3.7.

Các thử nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả trung bình và các sai số trung bình của các kết quả tính toán dựa trên các kết quả thí nghiệm này theo phần mềm excel.

Các mẫu thử nghiệm cho kết quả có hoạt tính khi chúng có khả năng ức chế với nồng độ dưới 200  $\mu\text{g/mL}$ . Từ đó giá trị  $\text{IC}_{50}$  của các mẫu thử nghiệm có hoạt tính được tính toán sử dụng phương pháp hồi quy.

Các mẫu thử nghiệm có giá trị  $IC_{50}$  nhỏ hơn 100  $\mu\text{g/mL}$  được đánh giá là các mẫu có hoạt tính ức chế mạnh có tiềm năng sinh học cao, các mẫu thử nghiệm cho kết quả với giá trị  $200 > IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$  thì được đánh giá là các mẫu có hoạt tính ức chế ở mức trung bình khá.

Các mẫu thử nghiệm cho kết quả có giá trị  $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$  thì được đánh giá là các mẫu có hoạt tính yếu hoặc được coi là các mẫu không có tác dụng.

Ở phương pháp này, hợp chất ursolic acid (UA) được sử dụng là chất đối chứng dương. Ursolic acid là một triterpene thiên nhiên có mặt trong nhiều loài thực vật trong đó đặc biệt chú ý như trong dược liệu Ba kích, Nhàu và cả Nhóm đông (*Morinda spp.*), dược liệu Râu mèo với hàm lượng cao, cây Hồng (*Diospyros kaki* – Persimmon)....

Trong thử nghiệm này UA có tác dụng ức chế cao với hoạt lực của enzyme PTP1B với giá trị  $IC_{50} = 3,5 \pm 0,2 \mu\text{M}$ .

Bảng 3.6. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của các mẫu cao chiết từ loài Râu dê:

STT	Tên mẫu	Nồng độ ức chế ( $IC_{50}$ , $\mu\text{g/mL}^a$ )	Loại ức chế
1.	Cao chiết tổng (AD-Me)	$157,8 \pm 1,4$	Không xác định
2.	Cao chiết <i>n</i> -Hexane (AD-Hx)	$196,3 \pm 1,7$	Không xác định
3.	Cao chiết EtOAc (AD-EA)	$133,2 \pm 0,9$	Không xác định
4.	Cao nước (AD-W)	> 200	Không xác định
5.	Ursolic acid <sup>b</sup>	$3,5 \pm 0,2$	Mixed-Competitive

Ghi chú: a). Giá trị nồng độ ức chế 50 phần trăm tính theo đơn vị  $\mu\text{g/mL}$ ;

b). Đối chứng dương dùng trong thử nghiệm.

Các mẫu cao thử nghiệm đều có tác dụng ức chế dòng enzyme này. Bảng 3.6 thống kê kết quả đánh giá tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của các mẫu cao chiết MeOH tổng chiết xuất từ dược liệu Râu dê.



Mẫu cao chiết tổng có hoạt tính ức chế với giá trị ức chế  $IC_{50} = 157,8 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$  và các mẫu cao chiết phân bổ tách từ phân đoạn cao tổng bao gồm cao chiết *n*-Hexane (AD-Hx), cao chiết EtOAc (AD-EA) và cao chiết phân đoạn nước (AD-W) biểu hiện hoạt tính ức chế với giá trị ức chế  $IC_{50}$  lần lượt là  $196,3 \pm 1,7$ ;  $133,2 \pm 0,9$ , và  $> 200 \mu\text{g/mL}$ .

Điều này chứng tỏ rằng mẫu cao chiết EtOAc (AD-EA) ức chế hoạt lực enzyme PTP1B tốt hơn cả so với các mẫu cao chiết còn lại từ nguyên liệu Râu dê nghiên cứu.

Đối với các hợp chất sạch thử nghiệm, Bảng 3.7. tổng hợp kết quả đánh giá hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của các mẫu hợp chất phân lập được từ loài Râu dê.

Bảng 3.7. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme PTP1B của các mẫu hợp chất từ loài Râu dê:

TT	Hợp chất	Nồng độ ( $\mu\text{M}$ )	% ức chế		TB ( $\pm$ stdv)	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
			1	2		
1.	Hợp chất 1	200	67,52	66,70	67,11 $\pm$ 0,43	128,89 $\pm$ 0,14
		100	43,01	42,64	42,84 $\pm$ 0,19	
		50	17,095	18,01	17,55 $\pm$ 0,47	
2.	Hợp chất 2	200	72,10	71,05	71,57 $\pm$ 0,54	116,66 $\pm$ 0,21
		100	45,65	44,77	45,21 $\pm$ 0,42	
		50	18,12	20,11	19,13 $\pm$ 0,91	
3.	Hợp chất 3	10	96,26	98,35	97,30 $\pm$ 1,01	0,25 $\pm$ 0,19
		1.0	79,87	84,74	82,31 $\pm$ 2,11	
		0.1	44,82	45,32	45,07 $\pm$ 0,24	
4.	Hợp chất 4	100	97,67	97,86	97,76 $\pm$ 0,01	1,16 $\pm$ 0,10
		10	80,14	83,87	82,00 $\pm$ 1,81	
		1	49,43	48,36	48,89 $\pm$ 0,54	
5.	Hợp chất 5	100	76,84	77,55	77,18 $\pm$ 0,32	34,26 $\pm$ 0,31
		20	44,18	43,76	43,97 $\pm$ 0,26	
		4	17,25	19,34	18,29 $\pm$ 1,01	

6.	Hợp chất <b>6</b>	100	87,34	88,36	87,85±0,51	12,25 ± 0,69
		20	64,14	62,29	63,21±0,91	
		4	34,951	33,80	34,37±0,52	
7.	Hợp chất <b>7</b>	100	65,46	65,55	65,51±0,04	47,94 ± 0,01
		20	41,70	41,67	41,68±0,02	
		4	11,75	13,29	12,51±0,71	
8.	Hợp chất <b>8</b>	200	75,88	72,10	73,99±1,89	123,09 ± 0,62
		100	42,39	42,91	42,65±0,25	
		50	18,80	21,10	19,95±1,15	
9.	Hợp chất <b>9</b>	200	70,68	71,12	70,90±0,23	115,80 ± 0,82
		100	46,13	43,50	44,81±1,31	
		50	14,78	15,48	15,13±0,31	
10.	Hợp chất <b>10</b>	100	87,57	85,55	86,55±1,10	11,08 ± 0,92
		20	61,56	63,78	62,67±1,15	
		4	40,83	39,48	40,16±0,63	
11.	Hợp chất <b>11</b>	100	91,24	95,20	93,21±1,97	7,40 ± 0,99
		20	76,64	77,16	76,90±0,25	
		4	42,77	37,70	40,24±2,51	

Trong số 11 hợp chất thì có tới 7 hợp chất có hoạt tính ức chế cao lần lượt là hợp chất **3 – 7, 10 – 11**. Đặc biệt, hai hợp chất **3** và hợp chất **4** có tác dụng ức chế cao nhất với giá trị  $IC_{50}$  thu được là 0,25 và 1,16  $\mu\text{M}$ .

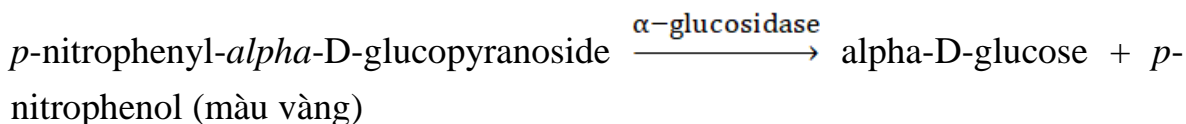
Riêng hợp chất **3** chỉ với nồng độ 10  $\mu\text{M}$  có thể đạt % ức chế hoạt lực enzyme PTP1B đến 97,30%. Các hợp chất **5, 6, 10 và 11** thể hiện tác dụng ức chế ở mức mạnh với các giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 7,40 đến 34,26  $\mu\text{M}$ .

Các hợp chất **1, 2, 8 và 9** có tác dụng ức chế vừa, do có giá trị ức chế  $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$ .

### 3.4.2. Kết quả thử nghiệm đánh giá tác dụng ức chế enzyme $\alpha$ -Glucosidase của các hợp chất.

Dựa trên phản ứng phân cắt cơ chất p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside nhờ tác động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase, qua đó giải phóng sản phẩm là p-nitrophenol có màu vàng là sản phẩm của phản ứng phân cắt cơ chất p-

nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside nhờ tác động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase (từ ruột non của chuột), chất đối chứng dương (acarbose- Sigma).



Lượng sản phẩm  $p$ -nitrophenol sinh ra tại thời gian 30 phút sau phản ứng, nó phản ánh bằng độ hấp thụ hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm, thể hiện hoạt độ của enzyme  $\alpha$ -Glucosidase. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -Glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng (200  $\mu$ L/giếng). Cụ thể, mẫu được pha loãng bằng nước cất vô trùng hoặc dung môi DMSO 100% đến nồng độ đích là 1, 4, 16, 64, 256, 1024  $\mu$ g/mL. Đối chứng dương được sử dụng trong thí nghiệm là Acarbose. Mẫu thử thay bằng đệm phản ứng trong mẫu đối chứng âm. Mẫu thí nghiệm đem ủ với nhiệt độ 37 °C. Sau 30 phút, dừng phản ứng bằng cách bổ sung 100  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Độ hấp thụ phản ứng đo trên máy Tecan Genios tại bước sóng 410 nm (A).

Bảng 3.8. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme  $\alpha$ -Glucosidase của các mẫu cao chiết từ loài Râu dê:

STT	Tên mẫu	Nồng độ ức chế (IC <sub>50</sub> , $\mu$ g/mL <sup>a</sup> )	Loại ức chế
1.	Cao chiết tổng (AD-Me)	187,6 $\pm$ 3,4	Không xác định
2.	Cao chiết <i>n</i> -Hexane (AD-Hx)	239,3 $\pm$ 2,4	Không xác định
3.	Cao chiết EtOAc (AD-EA)	198,5 $\pm$ 3,7	Không xác định
4.	Cao nước (AD-H <sub>2</sub> O)	> 250	Không xác định
5.	Acarbose <sup>b</sup>	154,5 $\pm$ 1,8	Mixed-Competitive

Ghi chú:

a). Giá trị nồng độ ức chế 50 phần trăm tính theo đơn vị  $\mu$ g/mL;

b). Đối chứng dương sử dụng trong phương pháp thử nghiệm.

Khả năng ức chế enzyme alpha-Glucosidase của mẫu thử được xác định như sau:

$$\text{Độ ức chế (\%)} = \frac{A_{(\text{đối chứng âm})} - A_{(\text{mẫu thử})}}{A_{(\text{đối chứng âm})}} \times 100\%$$

Trong đó: IC<sub>50</sub> (half maximal inhibitory concentration - được tính trên phần mềm Table curve) là nồng độ chất thử tương ứng ức chế 50% hoạt độ của enzyme alpha-glucosidase.

Tương tự như trên, ở trong thí nghiệm đánh giá hoạt tính sinh học này, hợp chất Acarbose được sử dụng là chất đối chứng dương. Đây là một hợp chất có tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -Glucosidase đã được sử dụng làm chất đối chứng dương trong rất nhiều các nghiên cứu trước đó .

Các mẫu thử nghiệm được cho là có hoạt tính khi chúng có khả năng ức chế với nồng độ <100  $\mu$ M. Từ đó giá trị IC<sub>50</sub> của các hợp chất có hoạt tính được tính toán sử dụng phương pháp hồi quy.

Các hợp chất có giá trị IC<sub>50</sub> nhỏ hơn 10  $\mu$ M được đánh giá là các chất có hoạt tính mạnh (strong activity), các chất với giá trị IC<sub>50</sub> nằm trong khoảng từ 10 - 20  $\mu$ M được coi là các chất có hoạt tính tiềm năng (potential activity).

Các hợp chất có giá trị 20 - 50  $\mu$ M được coi là các chất có hoạt tính khá (moderate activity), các hợp chất có giá trị 50 – 100  $\mu$ M thì được coi là các chất có hoạt tính yếu (weak activity). Còn lại các chất có giá trị IC<sub>50</sub> > 100  $\mu$ M thì được xem là không có hoạt tính (no activity).

Ở bảng 3.8 cho thấy kết quả ức chế của các mẫu cao chiết tổng và các mẫu cao phân đoạn của loài Râu dê thể hiện với giá trị IC<sub>50</sub>  $\mu$ g/mL. Trong đó, mẫu cao chiết tổng (AD-Me) có giá trị ức chế mạnh nhất IC<sub>50</sub> = 187,6  $\pm$  3,4  $\mu$ g/mL, tiếp đến là mẫu cao chiết phân bổ Cao chiết EtOAc (AD-EA) với giá trị IC<sub>50</sub> = 198,5  $\pm$  3,7  $\mu$ g/mL.

Đối chứng dương Acarbose có giá trị hoạt tính ức chế là IC<sub>50</sub> = 154,5  $\pm$  1,8  $\mu$ g/mL. Hai phân đoạn cao chiết còn lại là AD-Hx và AD-H<sub>2</sub>O được coi là có hoạt tính ức chế yếu với giá trị IC<sub>50</sub> tính toán được lần lượt là 239,3  $\pm$  2,4 và > 250  $\mu$ g/mL.

Đối với các mẫu hợp chất phân lập được thử nghiệm hoạt tính ức chế dòng enzyme  $\alpha$ -Glucosidase. Bảng 3.9 thống kê kết quả đánh giá tác dụng này.

Bảng 3.9. Kết quả tác dụng ức chế hoạt lực enzyme  $\alpha$ -Glucosidase của các mẫu hợp chất (1-11) phân lập từ loài Râu dê

STT	Tên hợp chất	Tác dụng ức chế (IC <sub>50</sub> , $\mu$ M <sup>a</sup> )
1	Hợp chất 1 (1- <i>O</i> -(4-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside)	> 250
2	Hợp chất 2 (1- <i>O</i> -caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside)	> 250
3	Hợp chất 3 (coumaric acid)	29,62 $\pm$ 0,96
4	Hợp chất 4 (cinnamic acid)	28,58 $\pm$ 0,01
5	Hợp chất 5 (uridine)	133,07 $\pm$ 0,96
6	Hợp chất 6 (adenosine)	183,13 $\pm$ 1,22
7	Hợp chất 7 (ethylparaben)	23,88 $\pm$ 0,47
8	Hợp chất 8 (L-(-)-Phenyllactic acid)	147,23 $\pm$ 1,03
9	Hợp chất 9 (2,4-Dihydroxycinnamic acid)	45,50 $\pm$ 0,50
10	Hợp chất 10 (caffeic acid)	-
11	Hợp chất 11 (methyl caffeate)	-

Trong số 11 hợp chất thử nghiệm thì có 06 hợp chất có hoạt tính ức chế đối với enzyme  $\alpha$ -Glucosidase, lần lượt là các hợp chất số **3** – **4**, **7** – **9**. Trong đó, bốn hợp chất **3** (coumaric acid), **4** (cinnamic acid), **7** (ethylparaben) và **9** (2,4-Dihydroxycinnamic acid) có tác dụng ức chế mạnh nhất với giá trị  $IC_{50}$  nằm trong khoảng 23,88 – 45,50  $\mu$ M.

Giá trị này cho thấy hoạt tính của các hợp chất trên mạnh hơn gấp 4-5 lần so với acarbose - đối chứng dương sử dụng trong thí nghiệm này.

Hai hợp chất số **5** (uridine) và **8** (L-(-)-Phenyllactic acid) được coi là có tác dụng ức chế mạnh với giá trị  $IC_{50}$  đạt lần lượt là 133,07 và 147,23  $\mu$ M, tương đương và có chút nhỉnh hơn so với acarbose – đối chứng dương có giá trị ức chế  $IC_{50}$  là  $154,5 \pm 1,8 \mu$ M.

Riêng hai hợp chất số **1** (1-*O*-(4-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside) và số **2** (1-*O*-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside) cho thấy có hoạt lực ức chế yếu hoặc không có tác dụng ức chế do thể hiện giá trị ức chế  $IC_{50} > 250 \mu$ M.

Các hợp chất **10** (caffeic acid) và hợp chất **11** (methyl caffeate) còn lại không được đánh giá hoạt tính trong lần thử nghiệm này.

## KẾT LUẬN

Trong quá trình thực hiện Luận văn, tôi đã thu được một số kết quả như sau :

1. Đã thu thập được mẫu nghiên cứu là mẫu thực vật cây Râu dê (*Aruncus dioicus*) thu hái tại Quảng Ninh. Bằng phương pháp chiết xuất và tách phân đoạn đã thu được các cao chiết phân đoạn n-Hexane, ethylacetate (EtOAc), và methanol (MeOH) tổng, và phân đoạn nước.
2. Từ cao chiết EtOAc, kết hợp các kỹ thuật sắc ký khác nhau đã phân lập được 11 hợp chất tinh sạch, cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định bằng phương pháp phân tích phổ NMR và so sánh với TLTK. Các hợp chất bao gồm: (1-*O*-(4-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside) (**1**), (1-*O*-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside) (**2**), coumaric acid (**3**), cinnamic acid (**4**), uridine (**5**), adenosine (**6**), Ethylparaben (**7**), L-(-)-Phenyllactic Acid (**8**), 2,4-dihydroxycinnamic acid (**9**), Caffeic acid (**10**), methyl caffeate (**11**).
3. Đánh giá được hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B:  
Trong số 11 hợp chất thì có tới 7 hợp chất có hoạt tính ức chế cao lần lượt là hợp chất **3 – 7, 10 – 11**. Đặc biệt, hai hợp chất **3** và **4** có tác dụng ức chế mạnh nhất với giá trị  $IC_{50}$  là **0,25 và 1,16**  $\mu$ M. Các hợp chất **5, 6, 10 và 11** thể hiện tác dụng ức chế ở mức tốt so với đối chứng dương. Các hợp chất **1, 2, 8** và **9** có tác dụng ức chế trung bình.
4. Đánh giá tác dụng ức chế hoạt lực enzyme  $\alpha$ -Glucosidase:  
Trong số 11 hợp chất thử nghiệm thì có 06 hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế đối với hoạt lực enzyme  $\alpha$ -Glucosidase, lần lượt là các hợp chất số **3 – 4, 7 – 9**. Các hợp chất **3, 4, 7** và **9** thể hiện tác dụng ức chế mạnh nhất ( $IC_{50} < 50$   $\mu$ M). Hai hợp chất số **5** và **8** thể hiện tác dụng ức chế mạnh với  $IC_{50} \sim 147$   $\mu$ M, tương đương đối chứng dương. Các hợp chất khác thể hiện tác dụng ức chế yếu hơn so với đối chứng dương là Acarbose.
5. Với các kết quả nghiên cứu đã đạt được, cho thấy cây Râu dê, đặc biệt là thành phần các hợp chất có trong nguyên liệu này có tiềm năng lớn trong việc nghiên cứu, tìm kiếm, tạo sản phẩm ứng dụng trong điều trị hạ đường huyết.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và công nghệ- Cục thông tin khoa học và công nghệ quốc gia, 2023, *Lưu giữ và bảo tồn nguồn gen dược liệu*, Nhà xuất bản Y học.
2. Phạm Hoàng Hộ, 1999, *Cây cỏ Việt Nam*, quyển 2, Nhà xuất bản Trẻ.
3. Đỗ Tất Lợi, 2006, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học.
4. Đỗ Huy Bích và cs, 2006 *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
5. Trung tâm thông tin thực vật Việt Nam.
6. Thông tư 40/2013/TT-BNNPTNT ban hành Danh mục các loài động vật, thực vật hoang dã quy định trong các Phụ lục của Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp.
7. Caratini, Roger, 1971, *La Vie de plantes. Encyclopédie Bordas*.
8. Lawrence G. H. M., 1960, *Taxonomy of Vascular Plants*. Macmillan.
9. Potter D. và ctv. *Phylogeny and classification of Rosaceae*. Plant Systematics and Evolution. 266(1–2): 5–43 2007.
10. Dorling Kindersley, 2008. p. 1136, *RHS A-Z encyclopedia of garden plants*.
11. Dorling Kindersley, 2020, *RHS Plant Selector – Aruncus aethusifolius*.
12. World Flora Online (2024): *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald. Published on the Internet; Accessed on: 20 Mar 2024
13. Sandro Pignatti, 1982, tr. 541, *Các loài hoa của nước Ý. Bologna, Edagricole*.
14. Đỗ Huy Bích và cs, 2004, *1000 loài động vật và thực vật làm thuốc của Việt Nam*, NXB Khoa học và Công nghệ, tập 2.
15. Wolfgang Lippert Dieter Podlech, 1980, *Hoa*, TN Tuttonatura.
16. Giacomo Nicolini, 1960, *Bách khoa toàn thư Motta Botanical*, Federico Motta
17. Kulesh, M., N. Krasovskaya, and O. Maksimov, 1986, Phenolic compounds of *Aruncus dioicus* and *Adenocaulon adhaerescens*, *Chemistry of Natural Compounds*, 22(4): p. 475-476.



18. Kim, D.-H., et al., 2012, Potent anti-aging activity of *Aruncus dioicus*, a native plant of Ulleung-do, South Korea, in CCD-986sk fibroblasts via suppression of matrix metalloproteinases, *Journal of natural medicines*, 66: p. 631-636.
19. Kim, J. and E. Choe, 2017, Improvement of the lipid oxidative stability of soybean oil-in-water emulsion by addition of daraesoon (shoot of *Actinidia arguta*) and samnamul (shoot of *Aruncus dioicus*) extract, *Food science biotechnology*, 26: p. 113-119.
20. Lee, J.Y., et al., 2020, Samnamul (Shoots of *Aruncus dioicus*) Inhibit Adipogenesis by Downregulating Adipocyte-Specific Transcription Factors in 3T3-L1 Adipocytes, *Processes*, 8(12): p. 1576.
21. Jeong, S.Y., et al., 2011, Monoterpenoids from the aerial parts of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* and their antioxidant and cytotoxic activities, *Bioorganic medicinal chemistry letters*, 21(11): p. 3252-3256.
22. Zhao, B.T., et al., 2013, Cytotoxic and anti-oxidant constituents from the aerial parts of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*. *Natural Product Sciences*, 19(1): p. 66-70.
23. Vo, Q.H., et al., 2014, Bioactive constituents from the n-butanolic fraction of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*, *Natural Product Sciences*, 20(4): p. 274-280.
24. Granica, S., et al., 2017, Monoterpenoids from the traditional North Italian vegetable *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald var. *vulgaris* (Maxim.) H. Hara (Rosaceae), *Food chemistry*, 221: p. 1851-1859.
25. Park, S.B., et al., 2017, Protective effects of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract against hyperglycemic-induced neurotoxicity, *Korean Journal of Food Science Technology*, 49(6): p. 668-675.
26. Zhang, Q. and H.-Y. Kim, 2014, DNA damage protection and anti-inflammatory activity of different solvent fractions from *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*, *Korean Journal of Plant Resources*, 27(6): p. 714-719.

27. Schwaiger, S., et al., 2009, Bioactivity-guided isolation of acetylcholinesterase inhibiting constituents of the flowers of Bride's Feathers (*Aruncus dioicus*), *Planta Med*, 75.
28. Kim, M.-S. and H.-Y. Sohn, 2014, Anti-thrombosis activity of the aerial part of *Aruncus dioicus* var *kamtschaticus*, *Journal of Life Science* 24(5): p. 515-521.
29. Park, S.B., et al., 2019, Effect of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract on neurodegeneration improvement: Ameliorating role in cognitive disorder caused by high-fat diet induced obesity, *Nutrients*, 11(6): p. 1319.
30. Li, J., et al., 2023, Caffeoyl esters from *Aruncus sylvestris* and their improvement in movement disorder of MPTP-induced zebrafish embryos, *Phytochemistry Letters*, 53: p. 111-115.
31. JW, S., 2008, Effect of ethanol extracts of goat's beard on streptozotocin induced diabetic symptoms and oxidative stress in rats, *East Asian Soc Diet Life*, 18: p. 939-948.
32. Ahn, H., et al., 2014, In vitro  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities and antioxidants of Samnamul (*Aruncus dioicus*) during rehydration and cooking, *Food Science Biotechnology*, 23: p. 1287-1293.
33. Jeong, G.H. and T.H. Kim, 2016, Free radical scavenging and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of a roots extract of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*, *Korean Journal of Food Preservation*, 23(7): p. 989-994.
34. Fusani, P., et al., 2016, Seasonal variation in secondary metabolites of edible shoots of Buck's beard [*Aruncus dioicus* (Walter) Fernald (Rosaceae)], *Food chemistry*, 202: p. 23-30.
35. Kim, A.N., et al., 2020, Effect of water blanching on phenolic compounds, antioxidant activities, enzyme inactivation, microbial reduction, and surface structure of samnamul (*Aruncus dioicus* var *kamtschaticus*), *International Journal of Food Science Technology*, 55(4): p. 1754-1762.

36. Lee, Ye-Bin, and Hong-Sun Yook, 2023, Physicochemical Properties and Antibacterial Activities of Fermented *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara Extracts, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 1065-1073.
37. WHO, 2024, Diabetes, available on the Internet.
38. The International Diabetes Federation (IDF), 2024, available on the Internet.
39. “ Ngày Thế giới phòng, chống đái tháo đường 14/11 và Ngày toàn dân mua và sử dụng muối Iốt 2/11, Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế.
40. Irfan Baig et al, 2002, Phytochemical studies on *Ferula mongolica* and other mongolian medicinal plants, PhD thesis, International Centre for Chemical Sciences, University of Karachi.
41. Amina M. Dirir, Marianne Daou, Ahmed F, Yousef, Lina F. Yousef, 2021, A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes, *Phytochem Review*, 2 – 6.
42. Samantha J. Venable; Diane S. Aschenbrenner, Drug Therapy in Nursing, *Hagerstown, MD: Lippincott Williams & Wilkins*, ISBN 0-7817- 4839-9.
43. Kumar, V., Prakash, O., Kumar, S., & Narwal, 2011,  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes, *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19.
44. Kim Jog-Sang; Kwon Chong-Suk; Son Kun Ho, 2000, Inhibition of Alpha-glucosidase and Amylase by Luteolin, a Flavonoid, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64(11), 2458-2461.
45. Jing Zhen; Yujie Dai; Tom Vallani; Daniel Giueleo; James Simon; Quigli Wu, 2017, Synthesis of novel flavonoid alkaloids as  $\alpha$  -glucosidase inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*.
46. David Barford, Andrew J.Flint, Nicholas K. Tonks, 1994, Crystal structure of human protein tyrosine phosphatase 1B, *Sciencemag*, Vol 263.
47. Mathew Feldhammer, Noriko Uetani, Dieo Miranda-Saavedra, Michel L. Tremblay, 2013, PTP1B: a simple enzyme for a complex world, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 430 – 445.

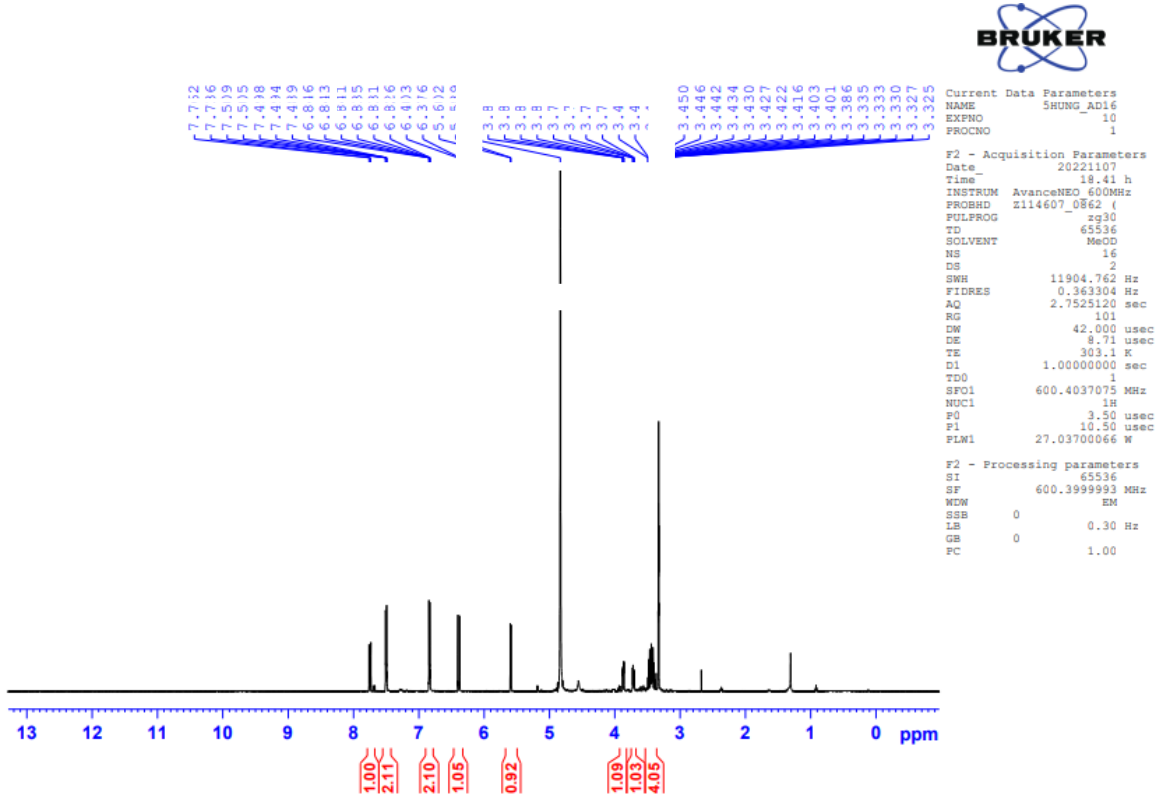
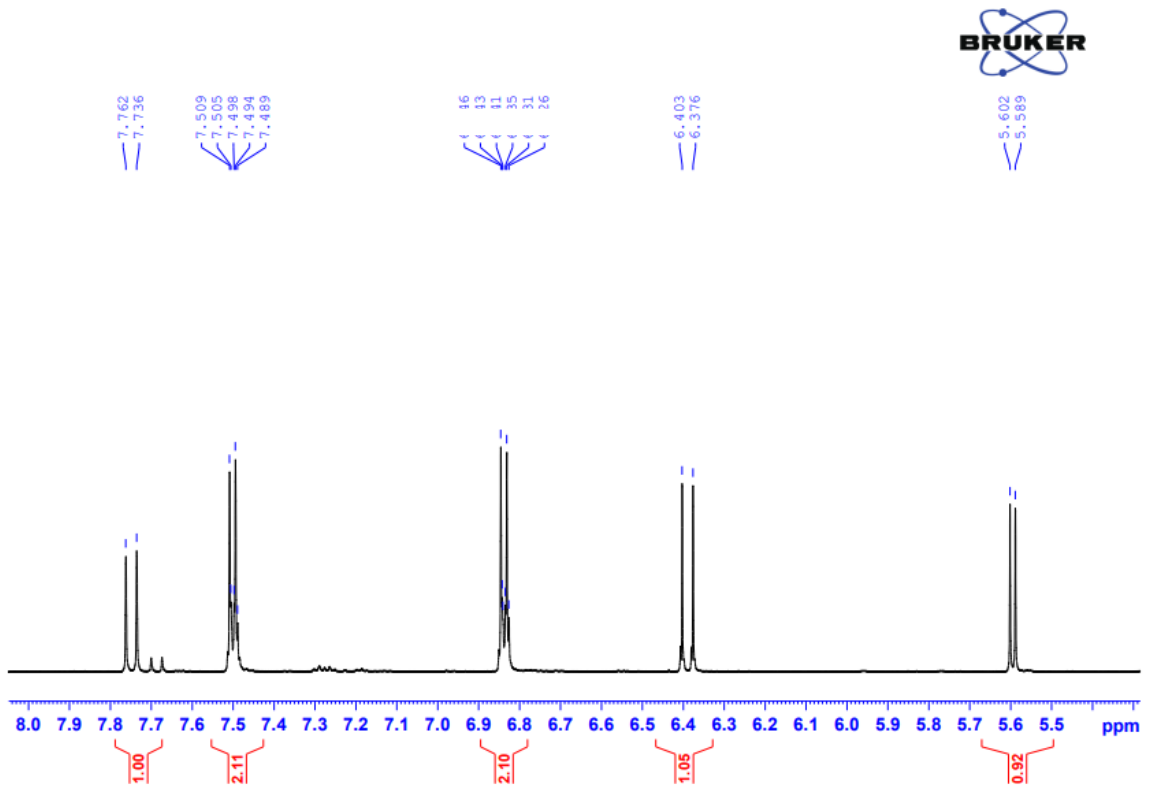
48. Hyeongjin Cho et al, 2013, Chapter seventeen: Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity, *Sciencedirect*, 91, 405 – 424.
49. Bing Tian Zhao, Duc Hung Nguyen, Duc Dat Le, Jae Sue Choi, Byung Sun Min, Mi Hee Woo, 2017, *Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from natural sources*, *Archives of Pharmacal Research*, 1-6.
50. Bộ môn dược liệu, 1998, *Bài giảng dược liệu tập I*, Trường Đại học Dược Hà Nội, 245 – 246.
51. Bộ môn dược liệu, 2011, *Bài giảng dược liệu tập II*, Trường Đại học Dược Hà Nội, 123 – 125.
52. Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007, *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hồ Chí Minh, 125 – 129.
53. Nguyễn Đình Triệu, 1999, *Các phương pháp phổ trong hóa học hữu cơ*, Đại học Quốc gia Hà Nội, 108 – 132.
54. Nguyen PH, Yang JL., Uddin MN, Park SL, Lim SI, Jung DW, Williams DR, Oh WK, 2013, *Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors from Morinda citrifolia (Noni) and their insulin mimetic activity*, *Journal of Natural Products*, 76 (11), 2080 – 2087.
55. Dao-Cuong To, Nguyen Thi Ai Nhung, Quoc-Toan Tran, Thi-Thuy Do, Manh-Hung Tran, Phan-Phuoc Hien, Truong-Nhan Ngu, Phan-Tu Quy, The-Hung Nguyen, Huu-Tho Nguyen, Tien-Dung Nguyen and Phi-Hung Nguyen, 2021, *On the Inhibitability of Natural Products Isolated from Tetradium ruticarpum towards Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) and  $\alpha$ -Glucosidase (3W37): An In Vitro and In Silico Study*. *Molecules*, 26, 3691 – 3709.
56. Du Q, , Li L, Zhao Y, Jerz G, Winterhalter P, 2006, Antioxidant constituents in the fruits of *Luffa cylindrica* (L.) Roem. *J Agric Food Chem*, 54(12) :4186-4190.
57. Teng, R. ; Wang, D. ; Yang, C. 2000, *Acta Botanica Yunnanica*, 22, 225-233
58. Swisłocka R, Kowczyk-Sadowy M, Kalinowska M, Lewandowski W., 2012, Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR) and theoretical studies of *p*-coumaric acid and alkali metal *p*-coumarates. *Spectroscopy*, 27 : 35-48.

59. Kim SM, Kim YS, Kim DW, Yang JW, 2012, Transition metal-free, NaOt Bu-O<sub>2</sub>-mediated one-pot cascade oxidation of allylic alcohols to  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated carboxylic acids. *Green Chem*, 14(11) : 2996-2998.
60. H. Jiang, L. Yang, and X. D. Xing, 2017, "Chemical constituents from fruits of *Uanthium Sibiricum*," *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, vol. 48, no. 01, pp. 47–51.
61. Kun Ho Son I, Jae Chul Do z and Sam Sik Kang, 1991, Isolation of Adenosine from the Rhizomes of *Polygonatum sibiricum*, *Arch. Pharm. Res*, 14(2), 193-194.
62. Eduardo Fuentes, Ricardo Castro, Luis Astudillo, Gilda Carrasco, Marcelo Alarcon, Margarita Gutierrez, and Ivan Palomo, 2012, Bioassay-Guided Isolation and HPLC Determination of Bioactive Compound That Relate to the Antiplatelet Activity (Adhesion, Secretion, and Aggregation) from *Solanum lycopersicum*, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume*, Article ID 147031, 10 pages.
63. Yang M, Wang M, Zhou J, Song Y, Wang T, 2016, Characterization and uncertainty assessment of a certified reference material of chloramphenicol in methanol (GBW(E)082557), *Int J Anal Chem*, Article ID 2348257, 1-8.
64. Gubiani JR, Habeck TR, Chapla VM, Silva GH, Bolzani VS, Araujo AR, 2016, One strain-many compounds (Osmac) method for production of phenolic compounds using *Camarops* sp., an endophytic fungus from *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae). *Quim Nova*. 39(10):1221-1224.
65. R. C. Dhakal, M. Rajbhandari, S. K. Kalauni, S. Awale, M. B. Gewali, 2009, Phytochemical Constituents of the Bark of *Vitex negundo* L. *J. Nepal Chem. Soc*, 23, 89–92.
66. C. B. Faulds, G. Williamson, 1994, Purification and characterization of a ferulic acid esterase (FAE-III) from *Aspergillus niger* : Specificity for the phenolic moiety and binding to microcrystal I in cellulose. *Microbiology*, 140, 779–787.

67. E. Pretsch, P. Buhlmann, C. Afolter, 2000, *Structure determination of organic compounds*. Third completely revised and enlarged English edition, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*.
68. K. Ogihara, R. Iraha, M. Higa, S. Yogi, 1997, Studies on Constituents from the Twigs of *Messerschmidia argentea* II. *Bull. Coll. Sci., Univ. Ryukyus.*, 64, 53–59.

**PHỤ LỤC PHỔ CÁC HOẠT CHẤT**

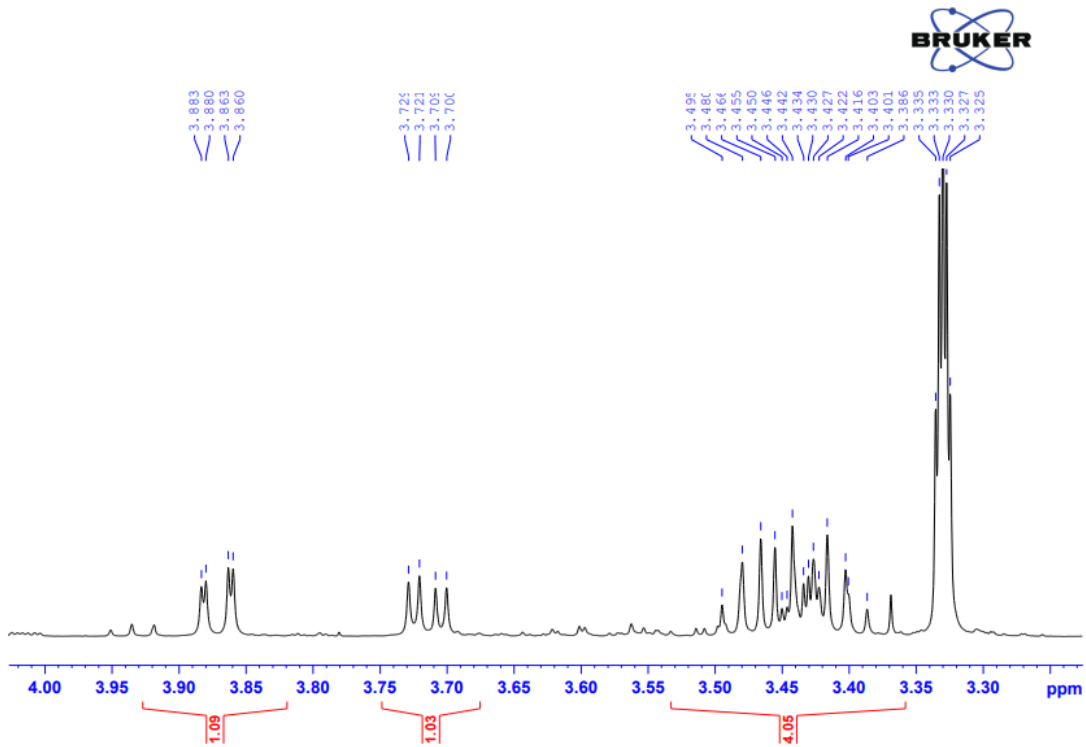
<b>Hoạt chất</b>	<b>Phổ</b>	<b>Trang</b>
Hoạt chất 1	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 1	I - II
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 1	II - III
Hoạt chất 2	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 2	III - IV
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 2	IV - V
Hoạt chất 3	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 3	V - VI
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 3	VI -VII
Hoạt chất 4	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 4	VII - VIII
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 4	VIII-IX
Hoạt chất 5	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 5	IX - X
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 5	X - XI
Hoạt chất 6	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 6	XI - XII
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 6	XII - XIII
Hoạt chất 7	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 7	XIII - XIV
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 7	XIV- XV
Hoạt chất 8	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 8	XV - XVI
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 8	XVI - XVII
Hoạt chất 9	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 9	XVII - XVIII
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 9	XVIII - XIX
Hoạt chất 10	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 10	XIX - XX
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 10	XX - XXI
Hoạt chất 11	Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 11	XXI - XXII
	Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 11	XXII - XXIII

1. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 1.Phụ lục 1. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 1 (600 MHz, MeOD)Phụ lục 2. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 1 (600 MHz, MeOD)



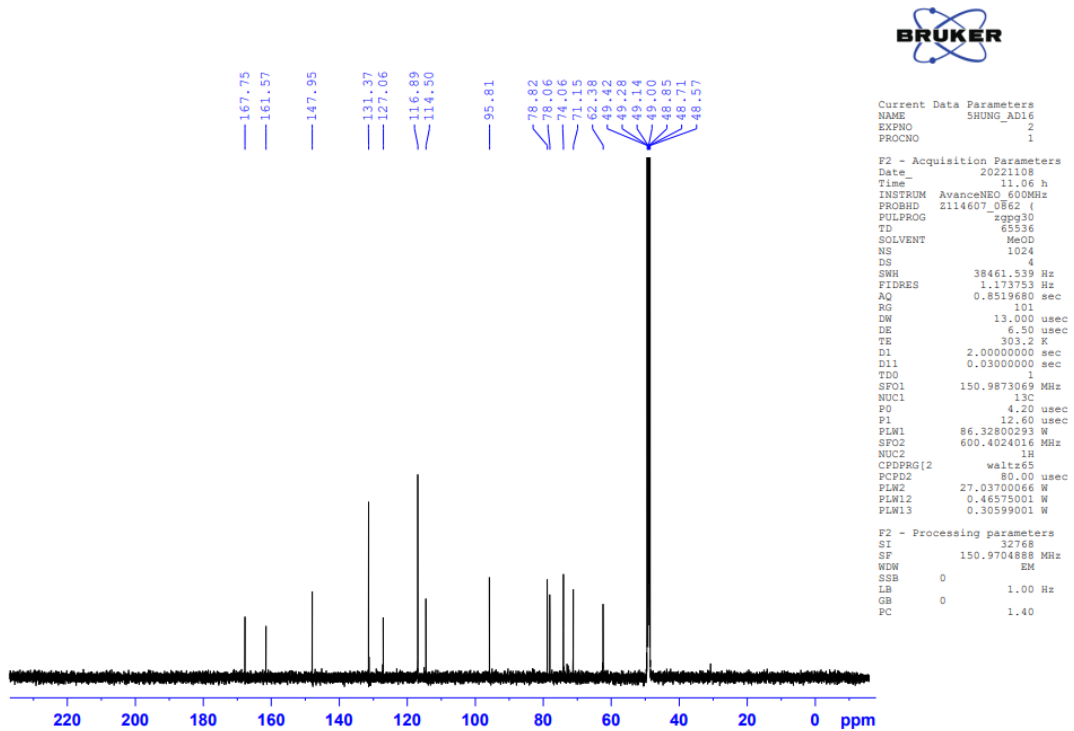
## II

### 1. Phụ lục Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 1



Phụ lục 3. Phổ  $^1\text{H}$  NMR (phổ giãn) của hoạt chất 1 (600 MHz, MeOD)

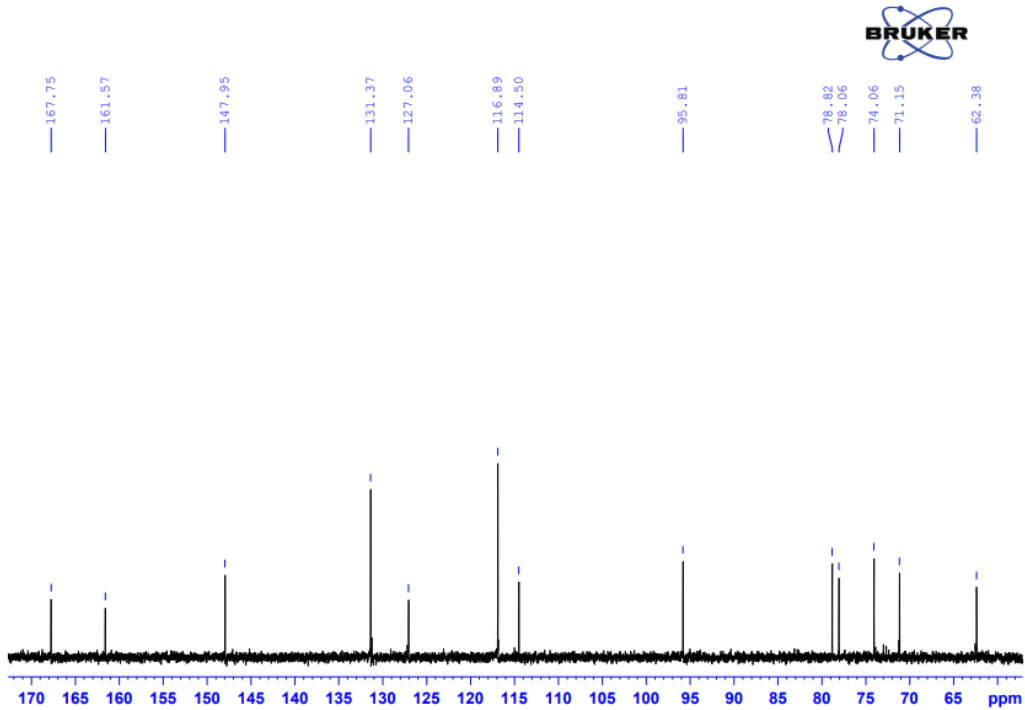
### 2. Phụ lục Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 1



Phụ lục 4. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 1 (150 MHz, MeOD)

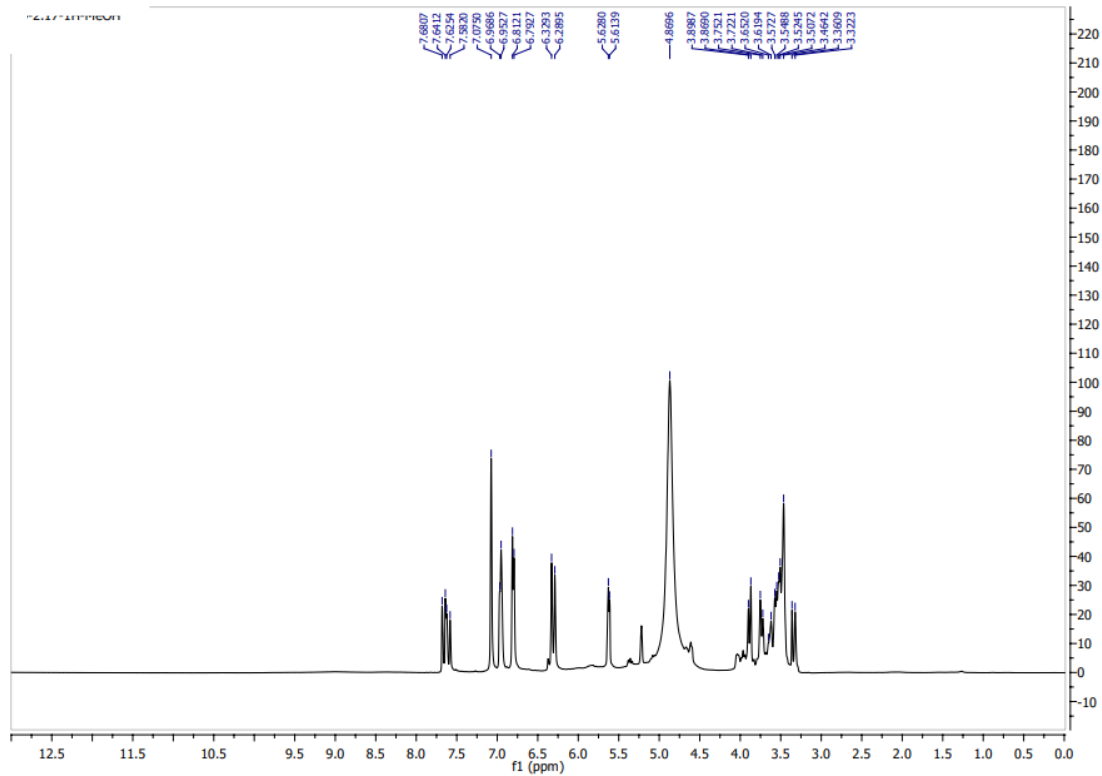
### III

## 2. Phụ lục Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 1

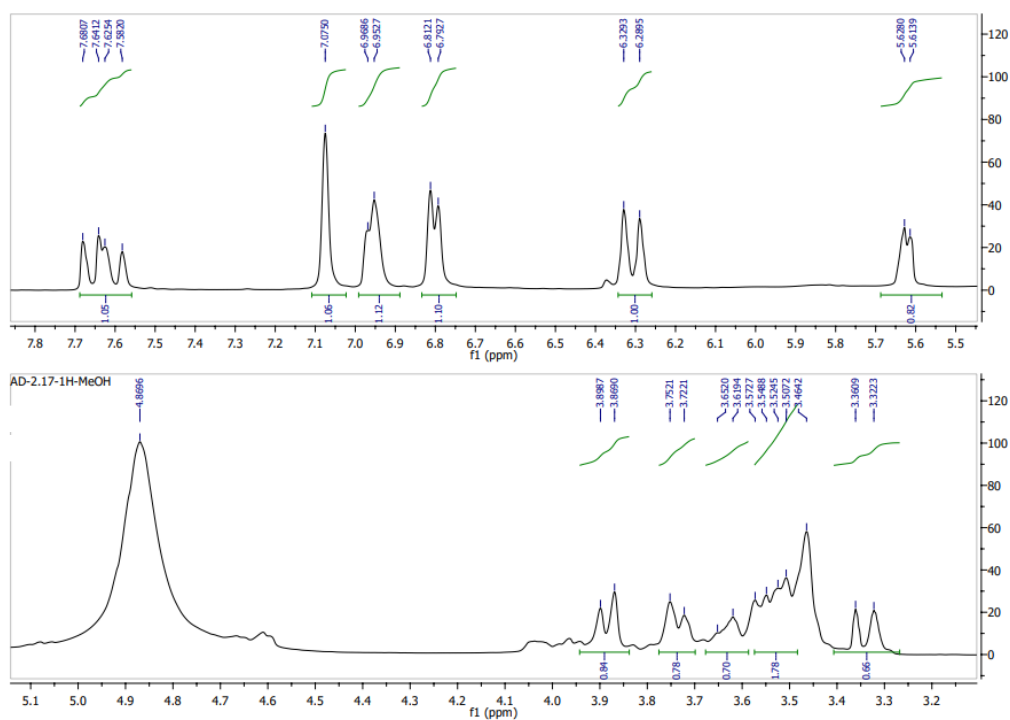
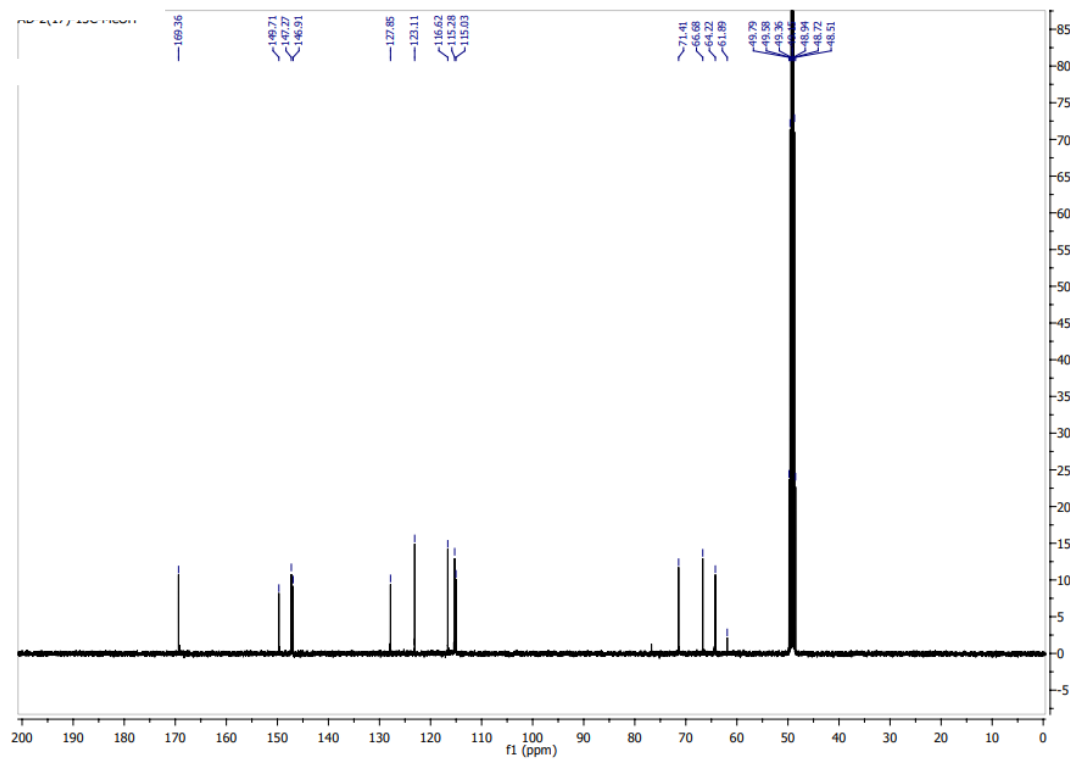


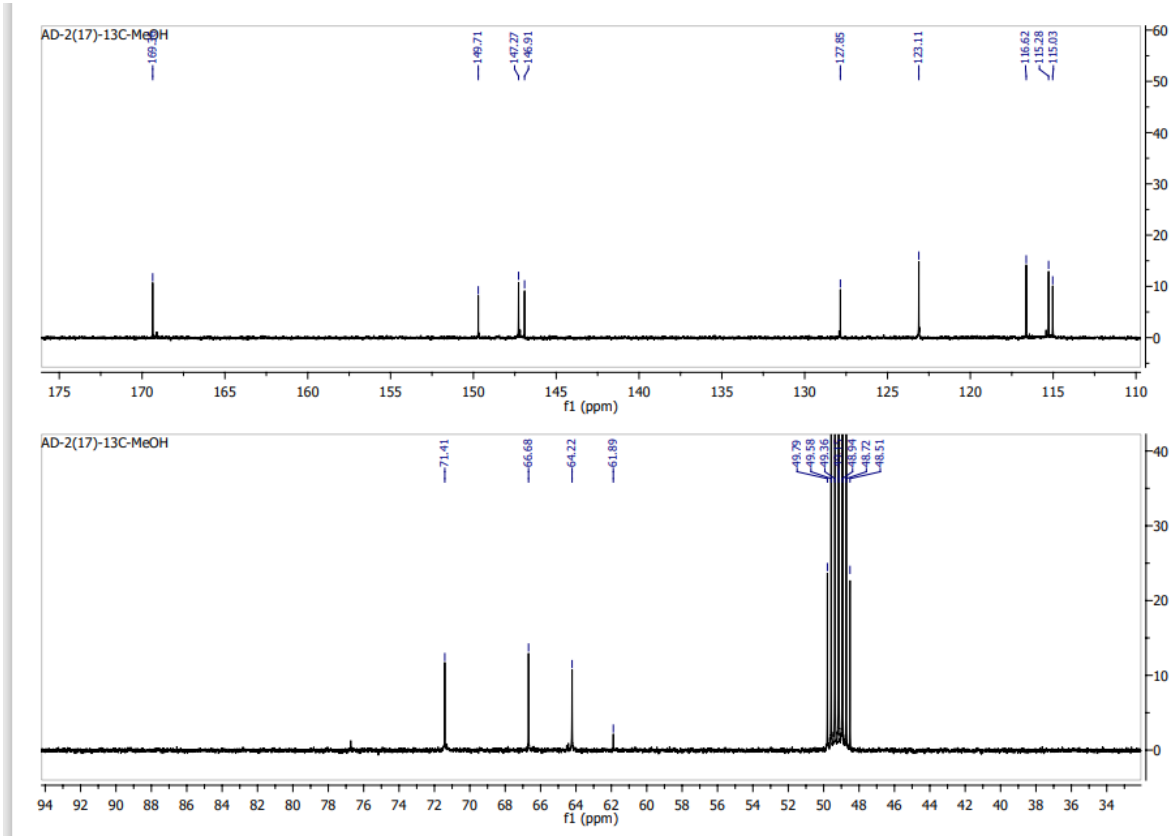
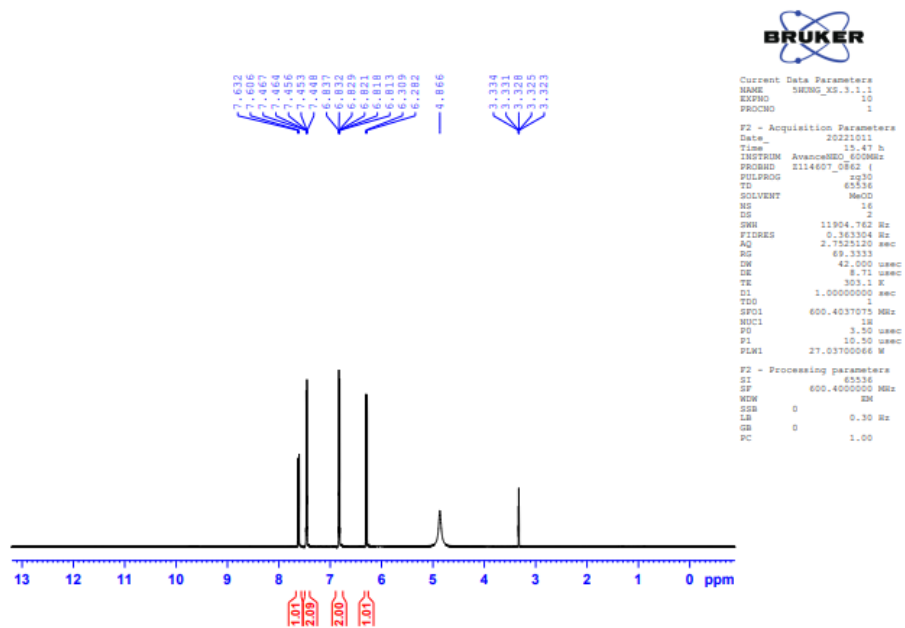
**Phụ lục 5.** Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 1 (150 MHz, MeOD)

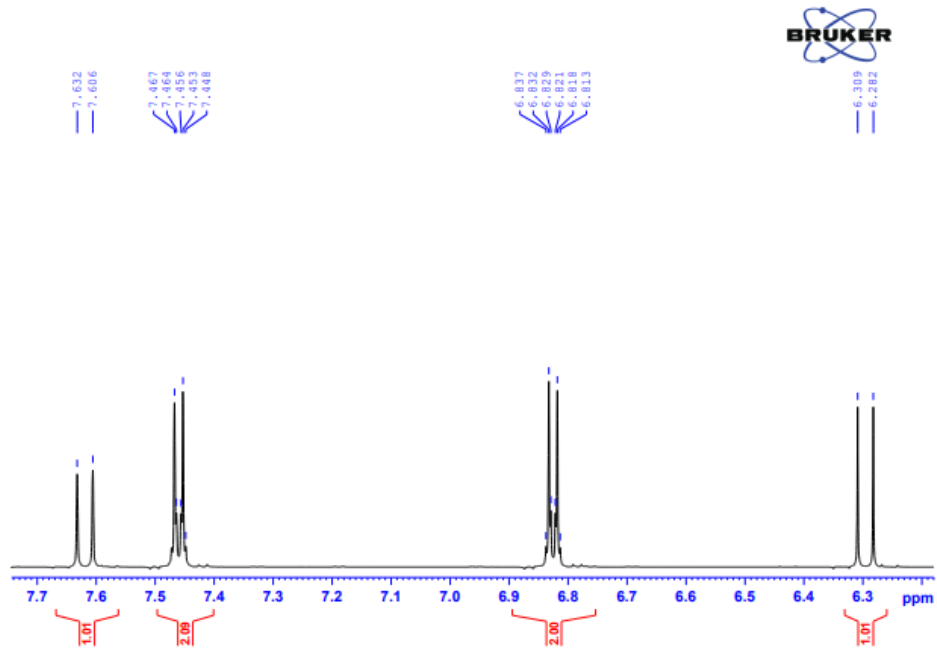
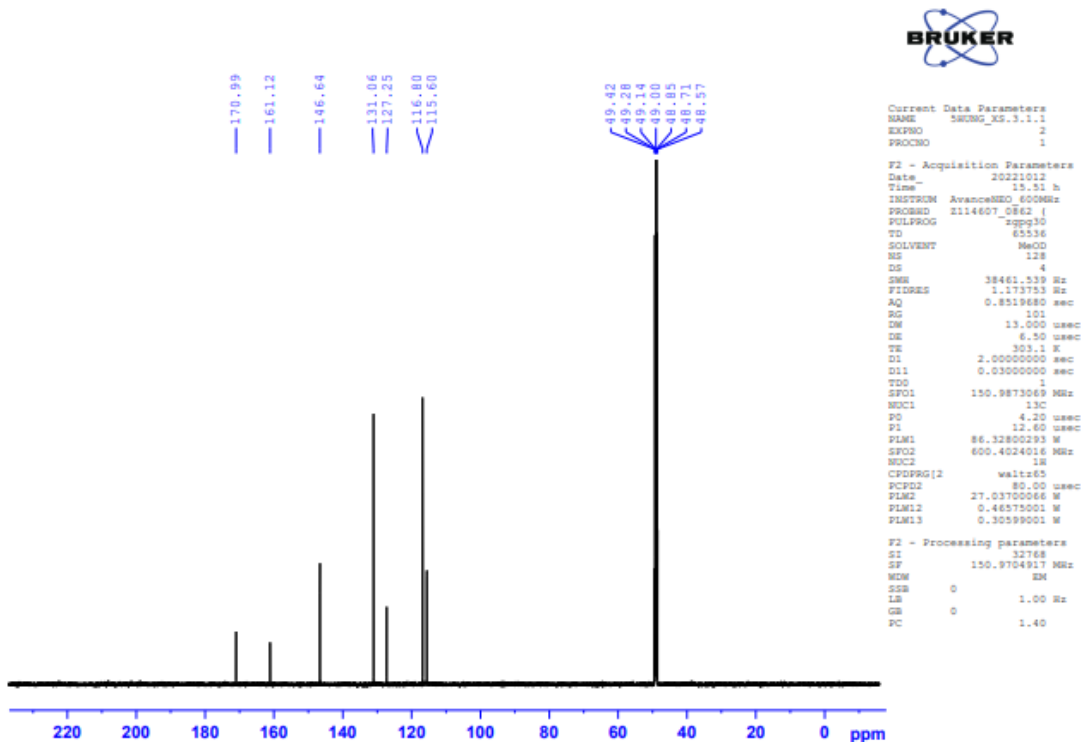
## 3. Phụ lục Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 2



**Phụ lục 6.** Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 2 (600 MHz, MeOD)

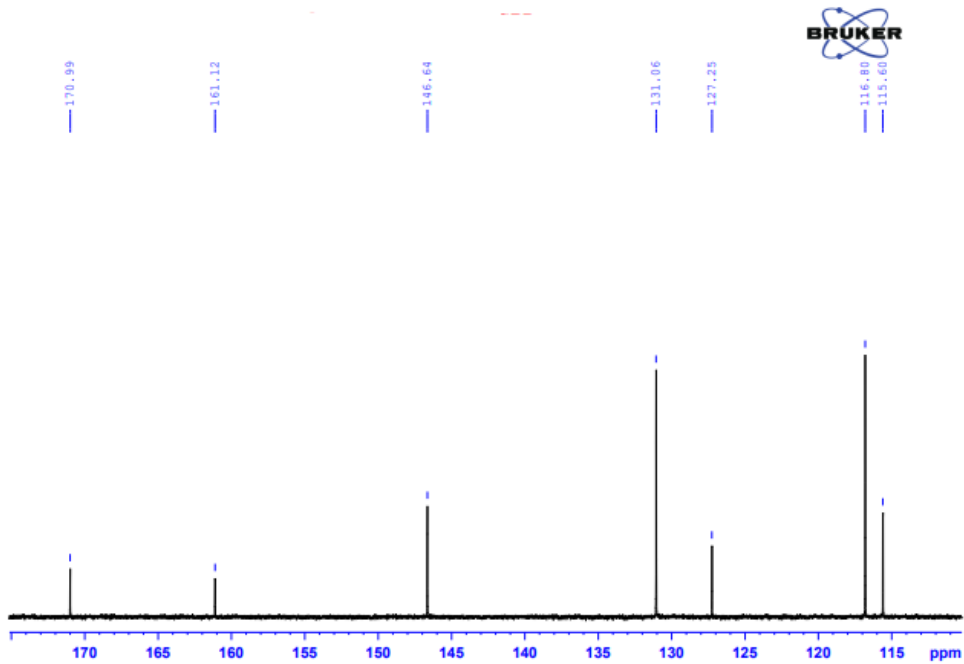
3. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 2Phụ lục 7. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 2 (600 MHz, MeOD)4. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 2 :Phụ lục 8. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 2 (150 MHz, MeOD)

4. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 2 :Phụ lục 9. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 2 (150 MHz, MeOD)5. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 3Phụ lục 10. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 3 (600 MHz, MeOD)

5. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 3Phụ lục 11. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 3 (600 MHz, MeOD)6. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 3Phụ lục 12. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 3 (150 MHz, MeOD)

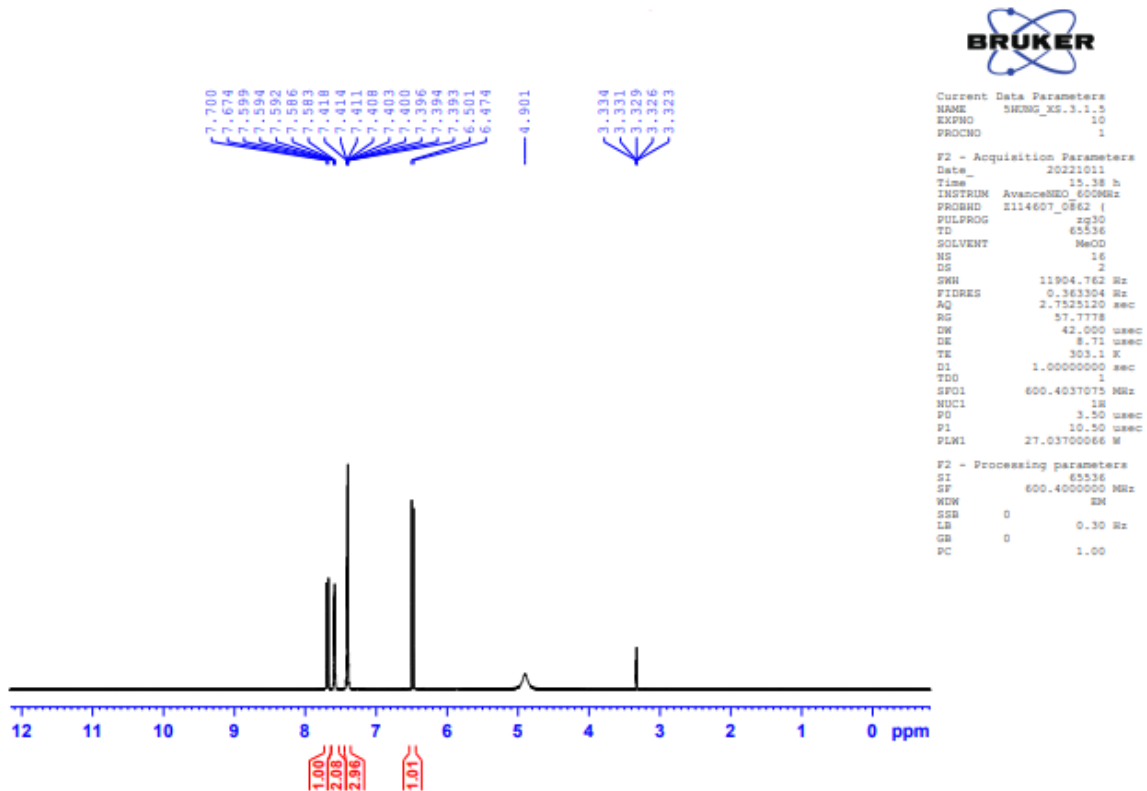
## VII

### 6. Phụ lục Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất 3



Phụ lục 13. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 3 (150 MHz, MeOD)

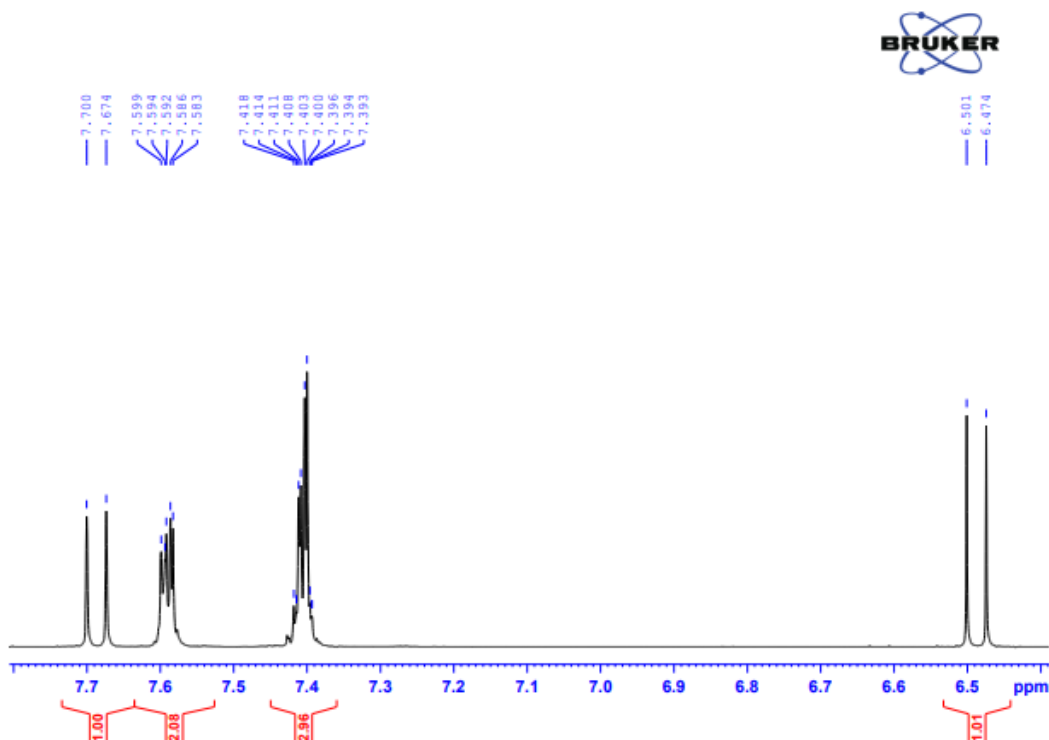
### 7. Phụ lục Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất 4



Phụ lục 14. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 4 (600 MHz, MeOD)

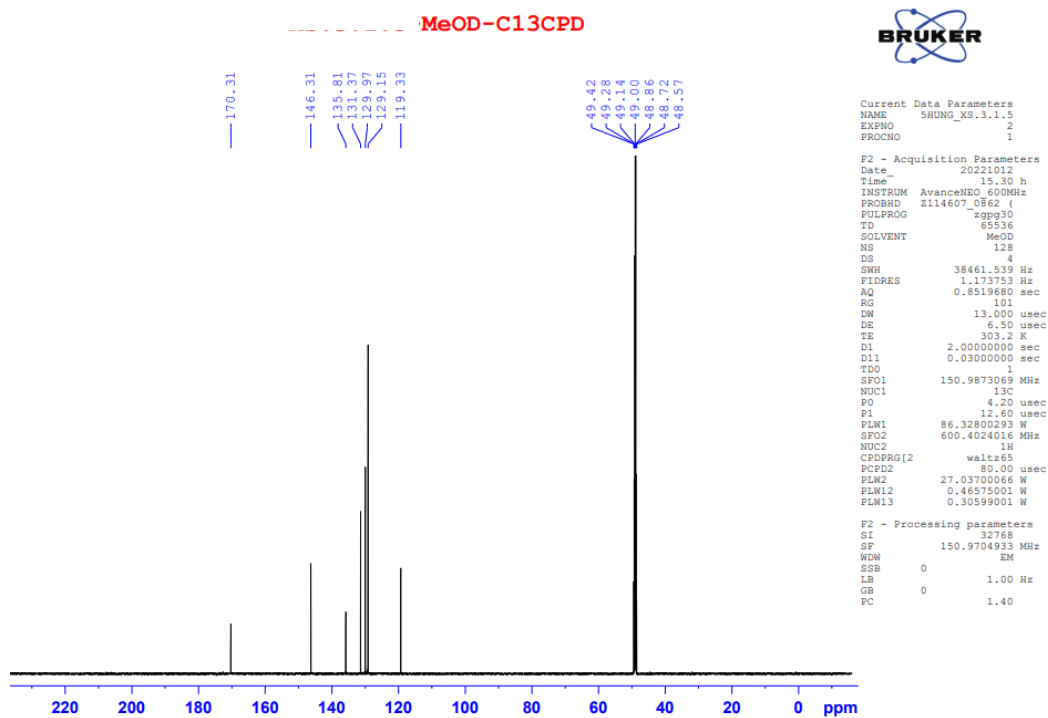
## VIII

### 7. Phụ lục Phổ $^1\text{H}$ NMR của hoạt chất **4**

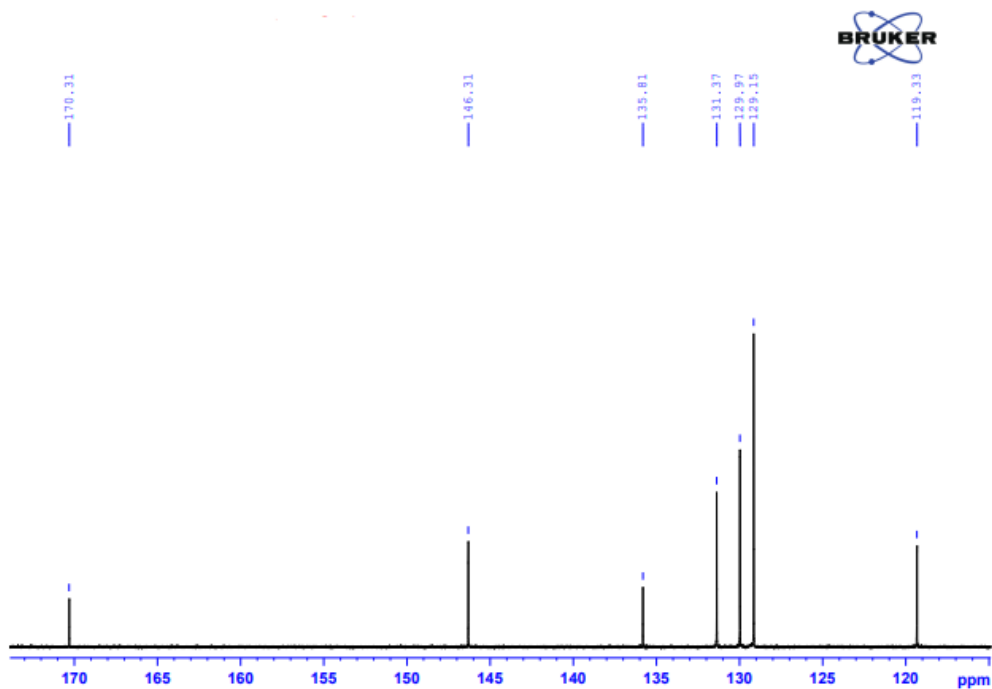
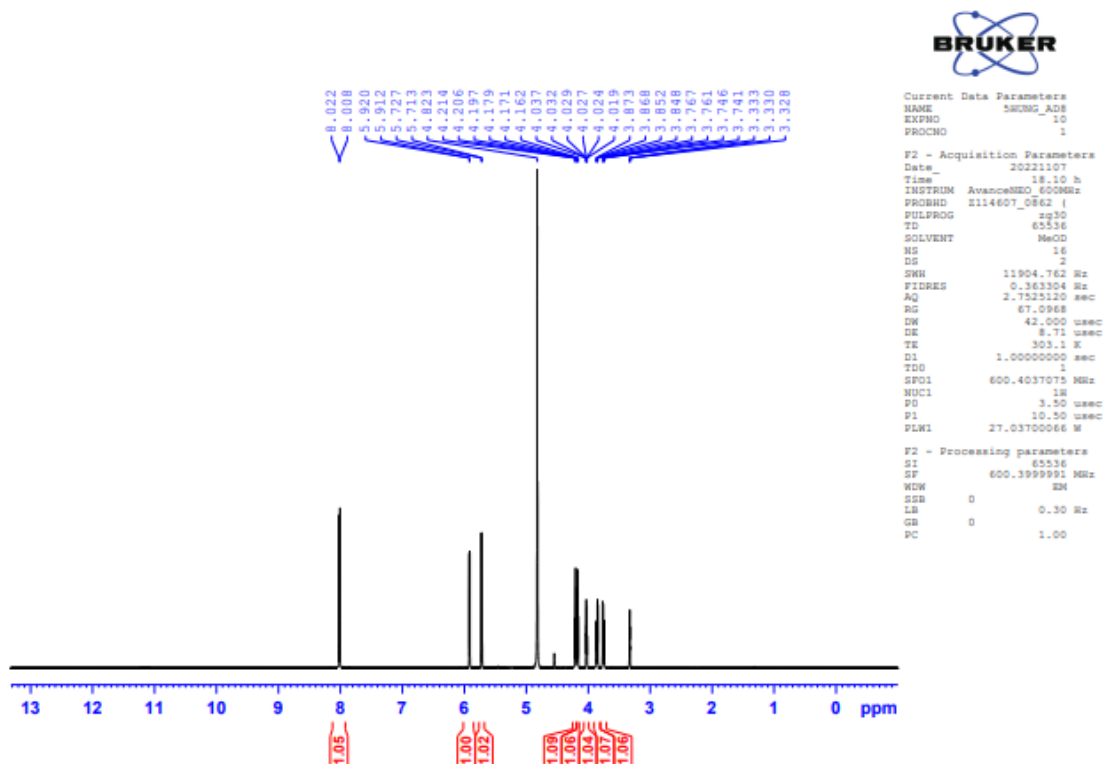


**Phụ lục 15.** Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **4** (600 MHz, MeOD)

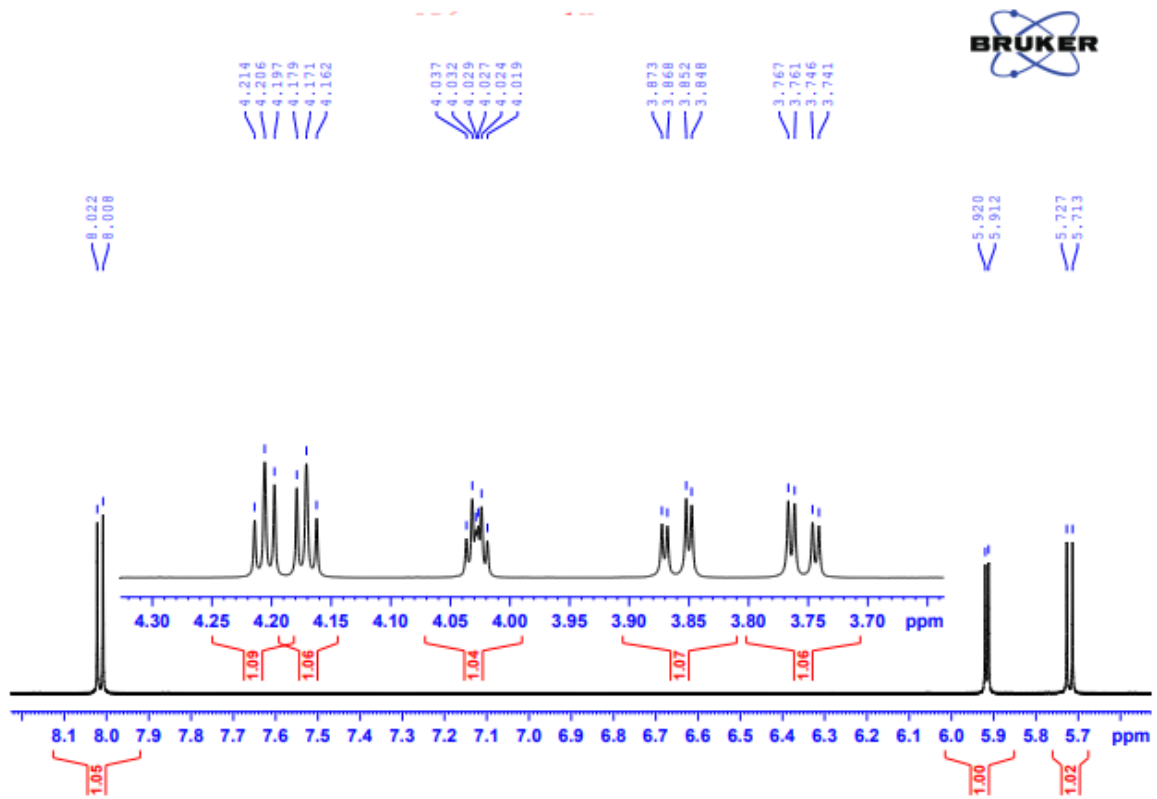
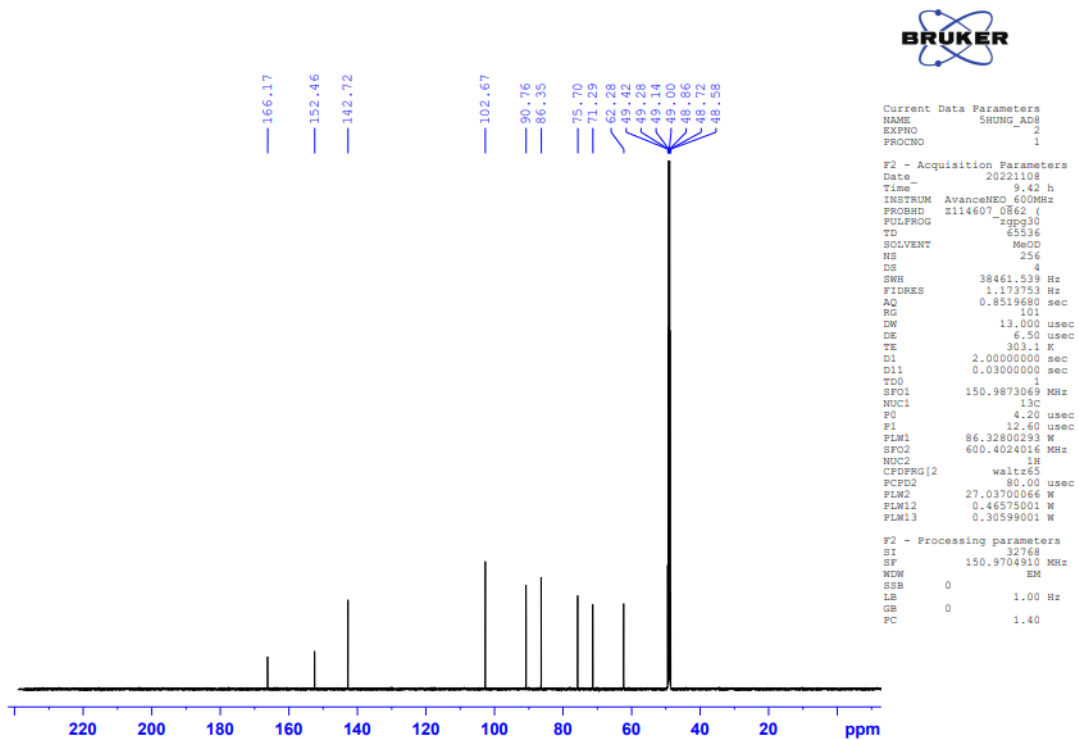
### 8. Phụ lục Phổ $^{13}\text{C}$ NMR của hoạt chất **4**:



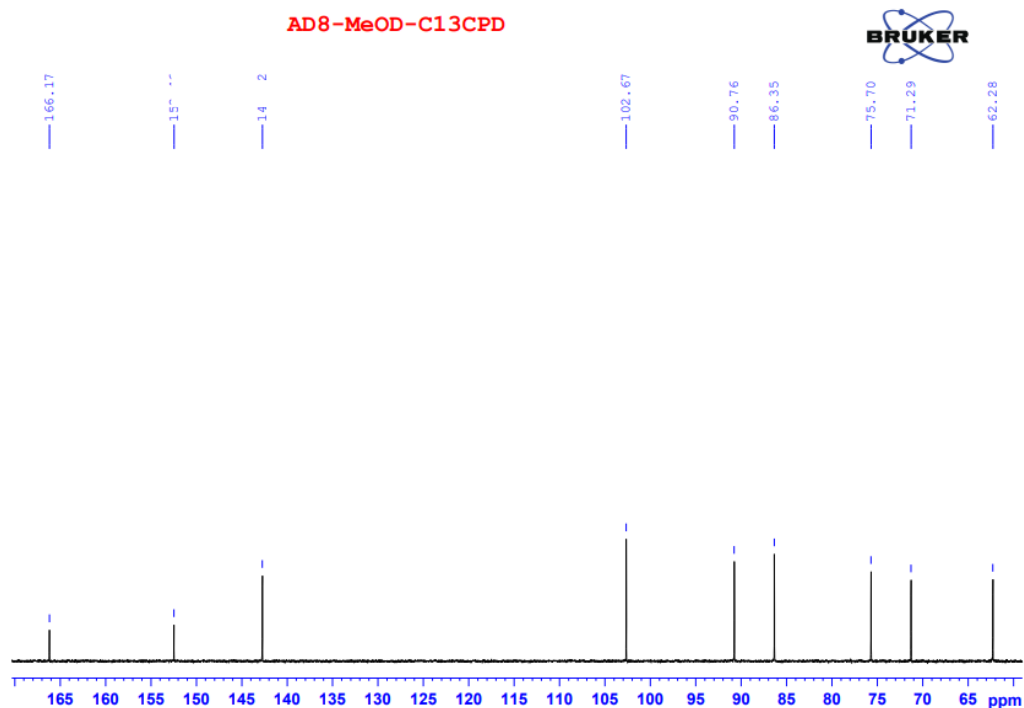
**Phụ lục 16.** Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **4** (150 MHz, MeOD)

8. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 4Phụ lục 17. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 4 (150 MHz, MeOD)9. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 5Phụ lục 18. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 5 (600 MHz, MeOD)



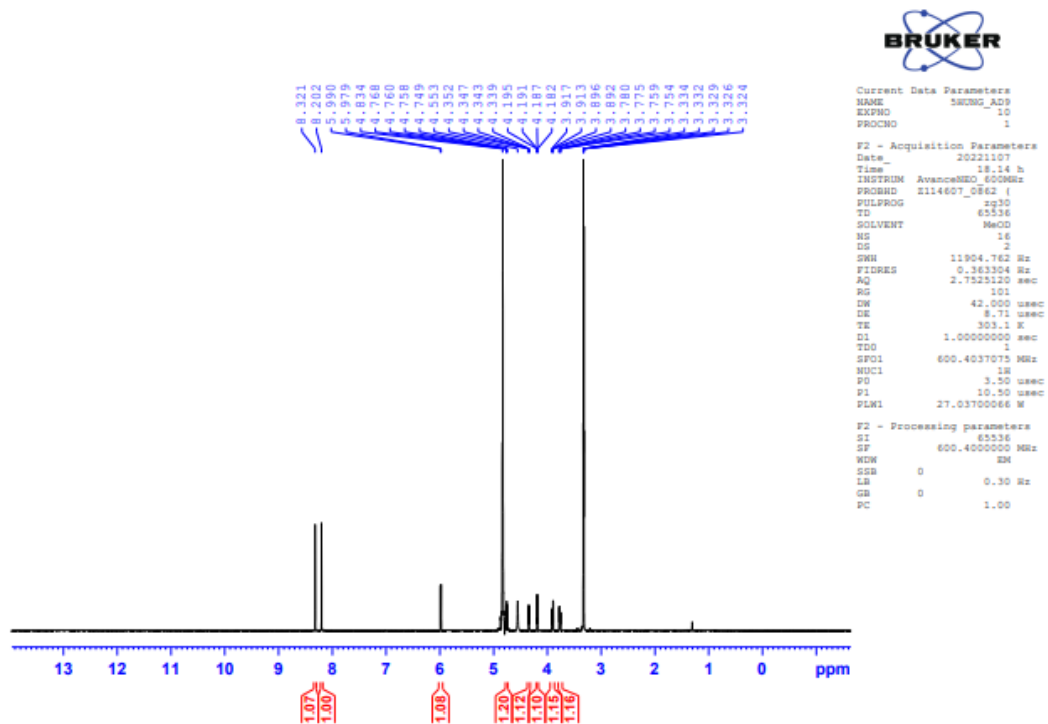
9. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **5**Phụ lục 19. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **5** (600 MHz, MeOD)10. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **5**Phụ lục 20. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **5** (150 MHz, MeOD)

10. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 5

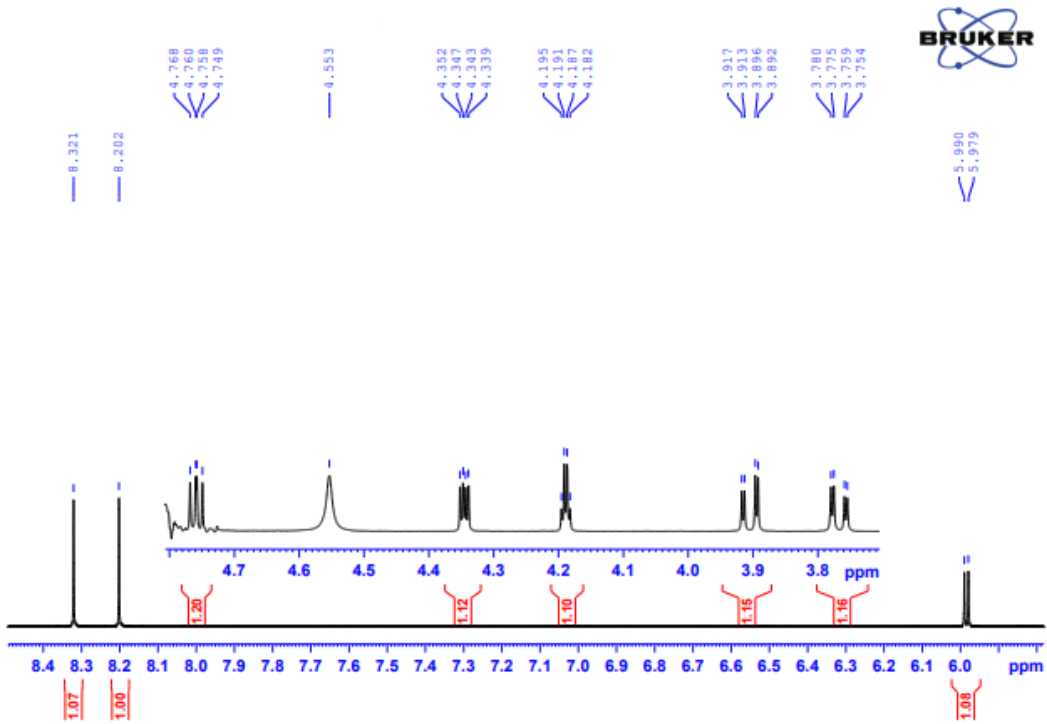
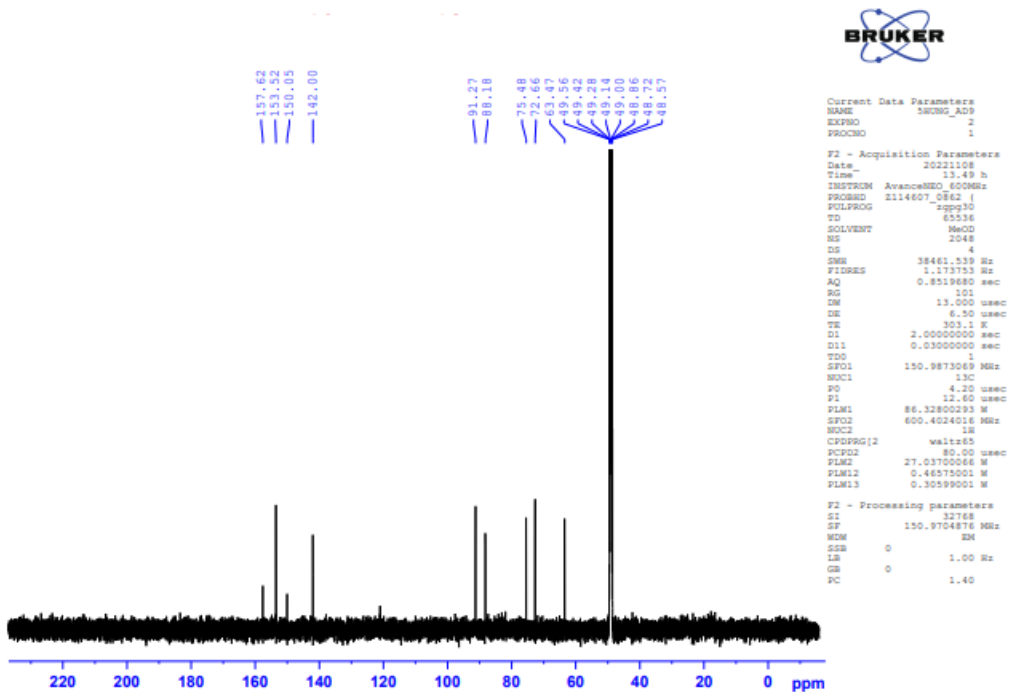


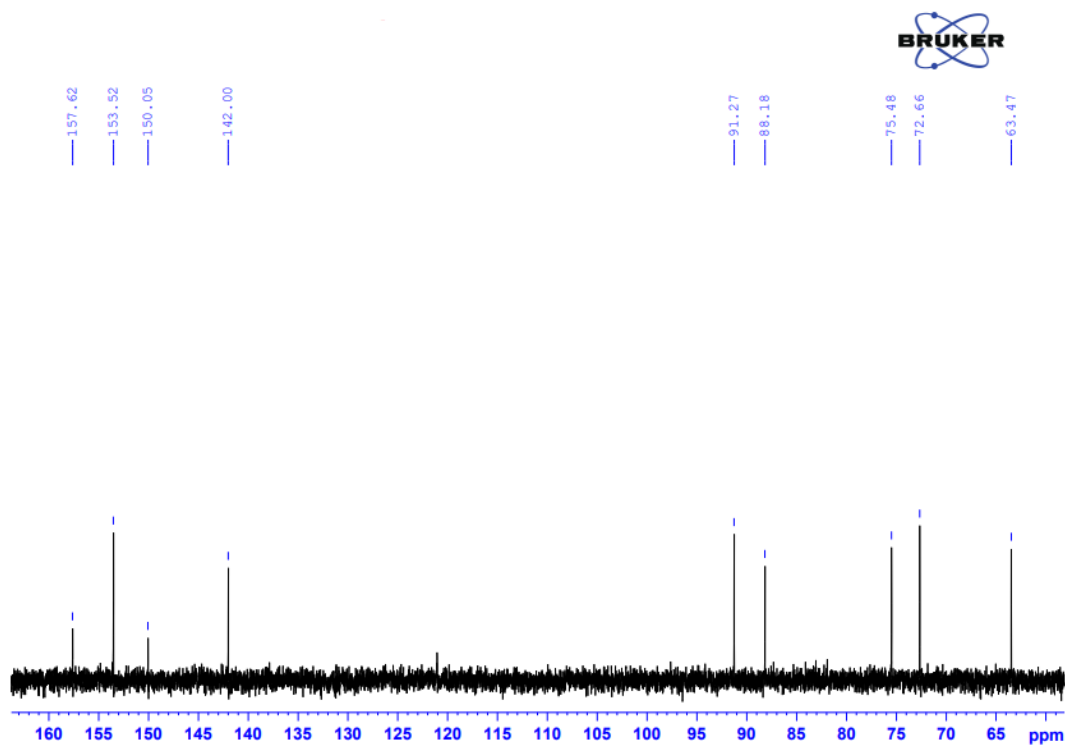
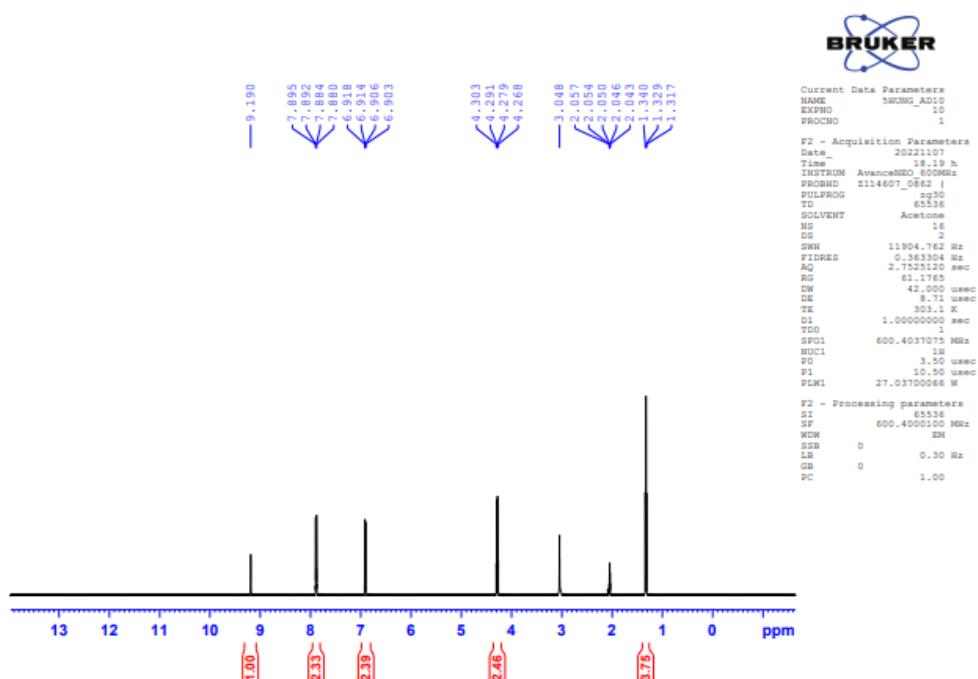
Phụ lục 21. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 5 (150 MHz, MeOD)

11. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 6

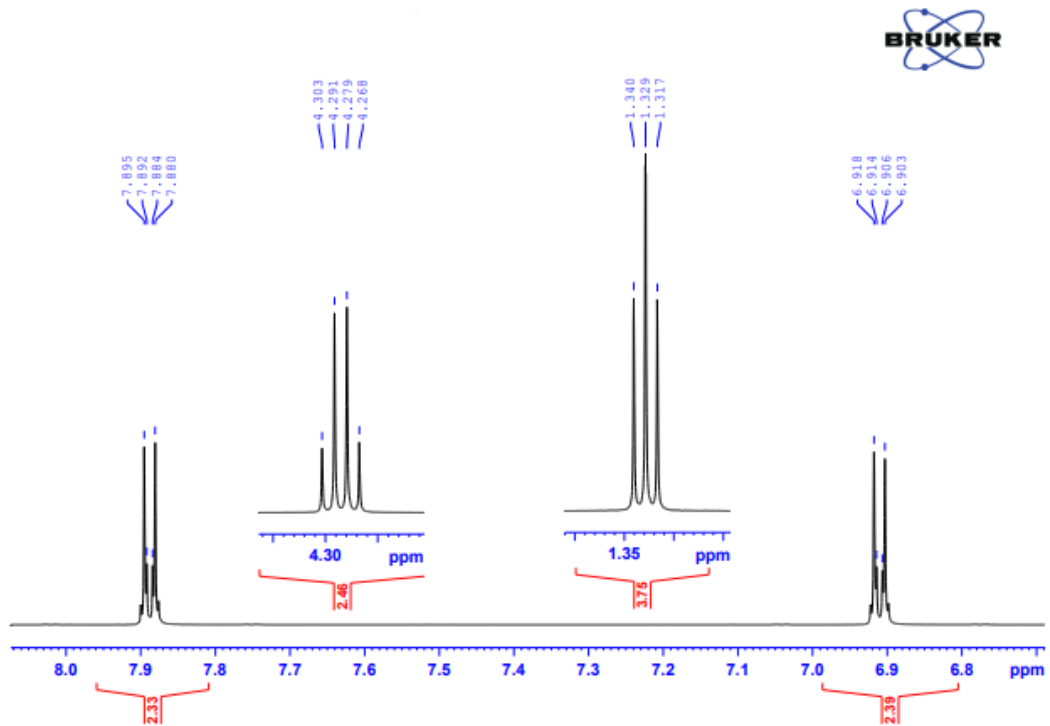


Phụ lục 22. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 6 (600 MHz, MeOD)

11. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **6**Phụ lục 23. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **6** (600 MHz, MeOD)12. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **6**Phụ lục 24. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **6** (150 MHz, MeOD)

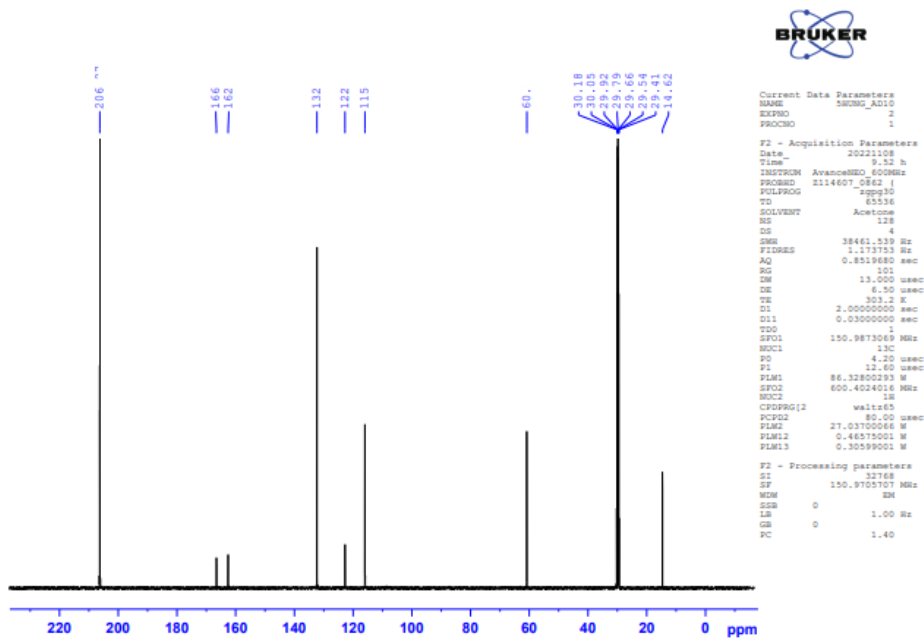
12. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **6**Phụ lục 25. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **6** (150 MHz, MeOD)13. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **7**Phụ lục 26. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **7** (600 MHz, MeOD)

13. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 7



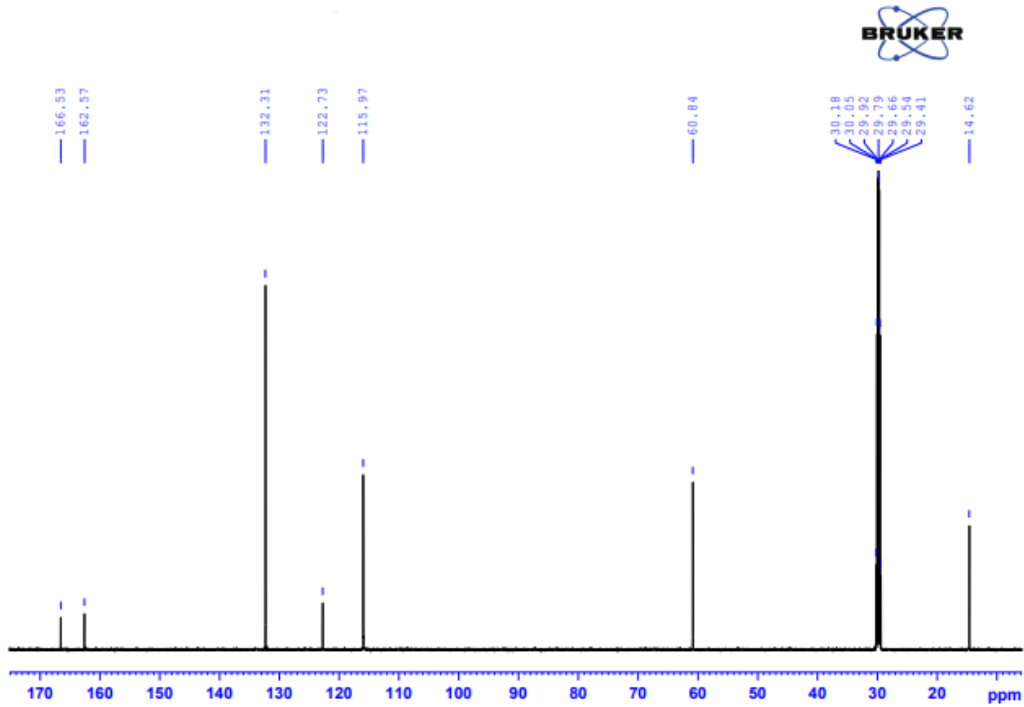
Phụ lục 27. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 7 (600 MHz, Acetone)

14. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 7



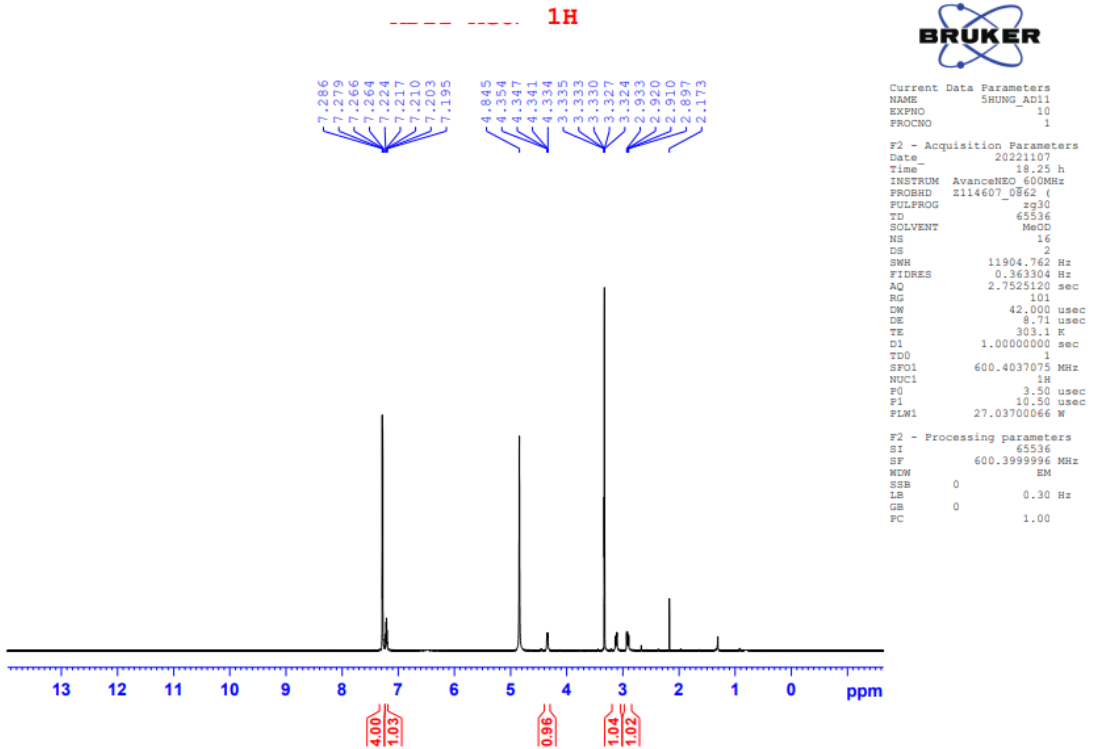
Phụ lục 28. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 7 (150 MHz, Acetone)

14. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 7

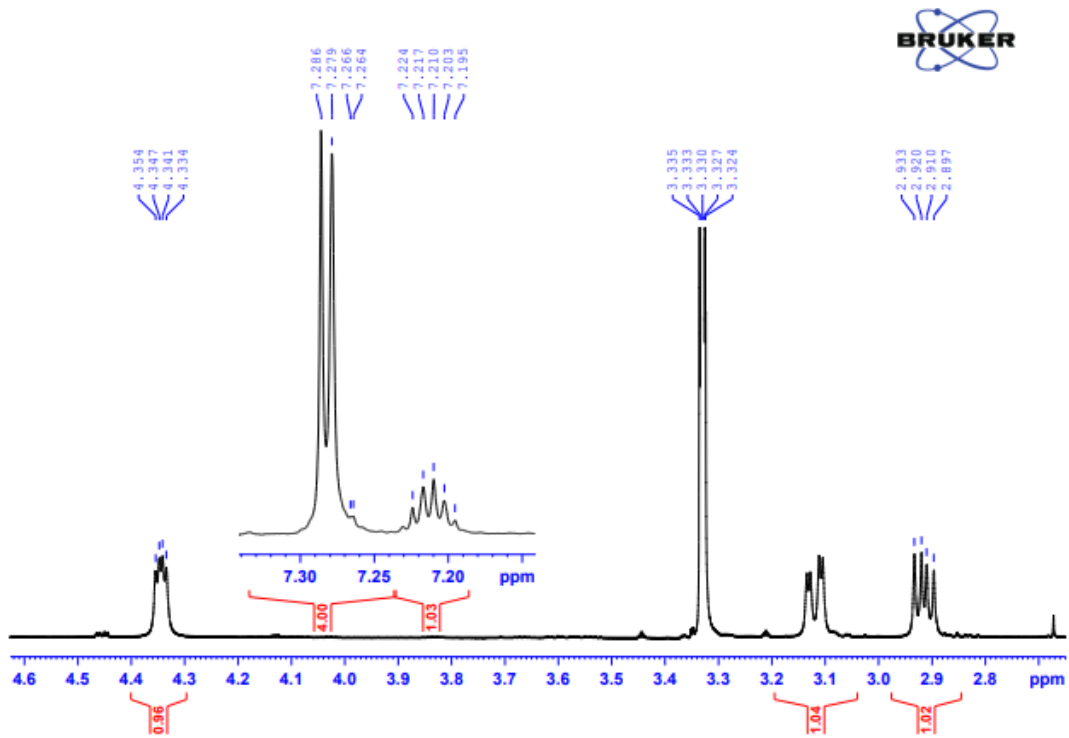


Phụ lục 29. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 7 (150 MHz, Acetone)

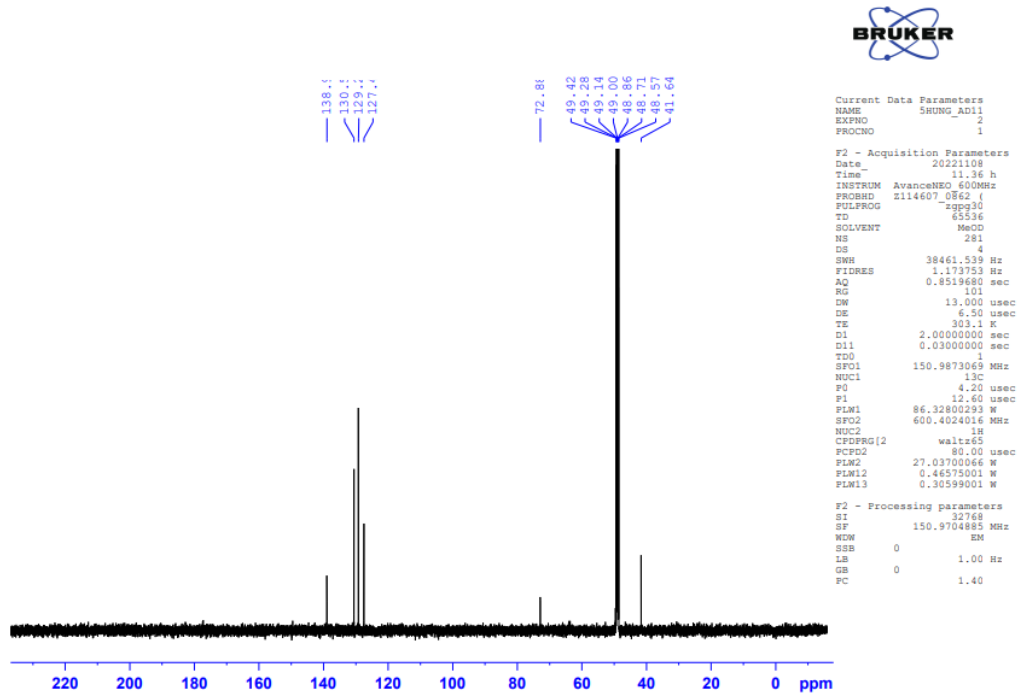
15. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 8

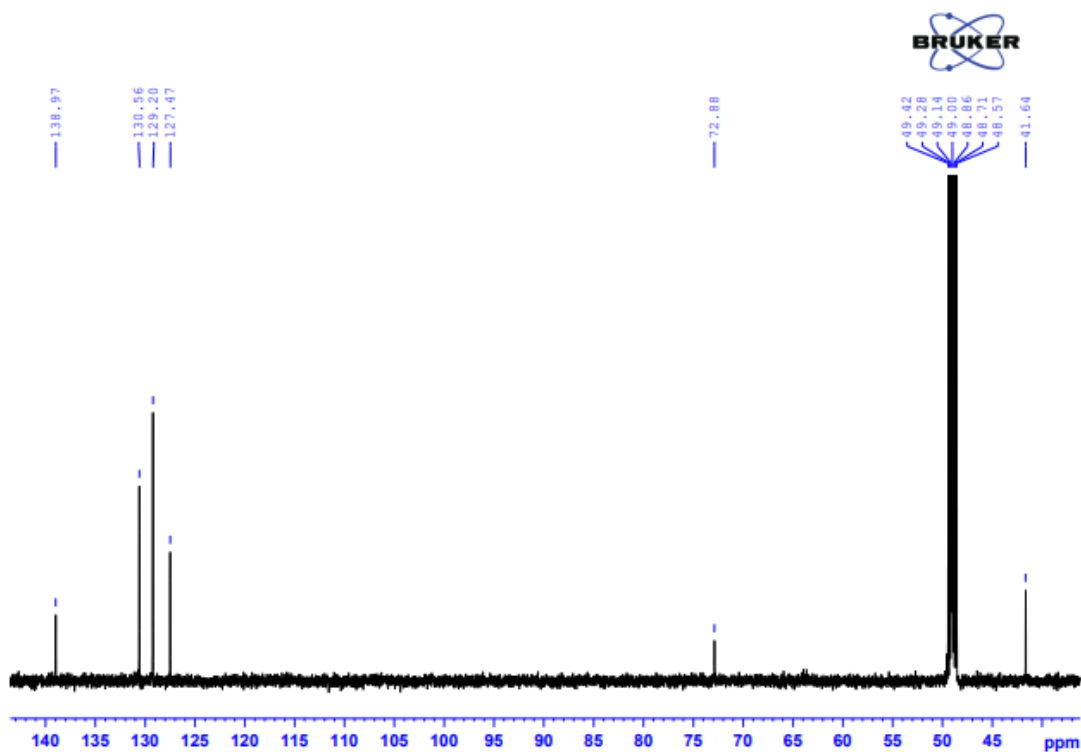
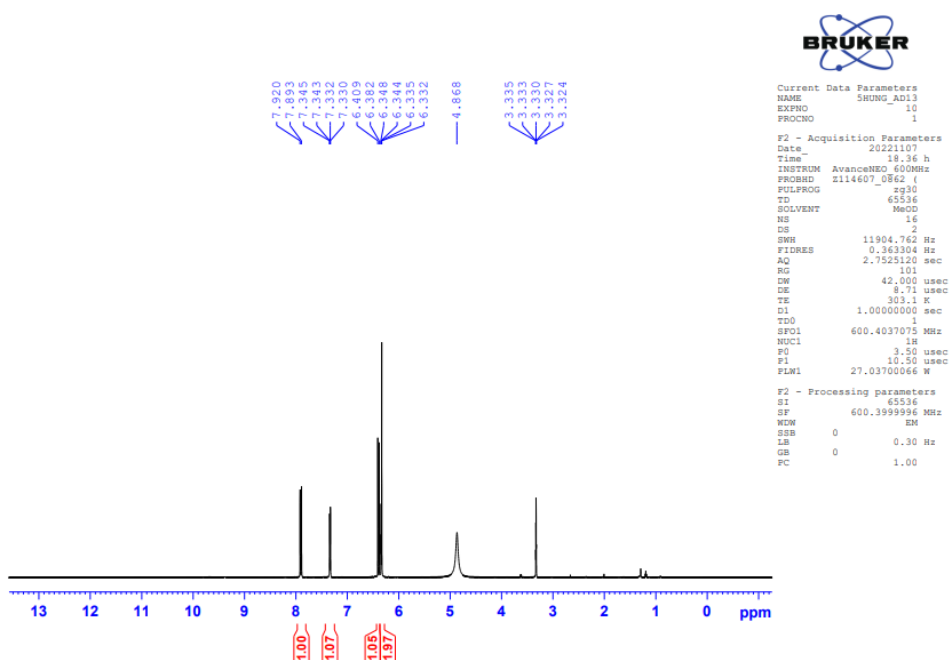


Phụ lục 30. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 8 (600 MHz, MeOD)

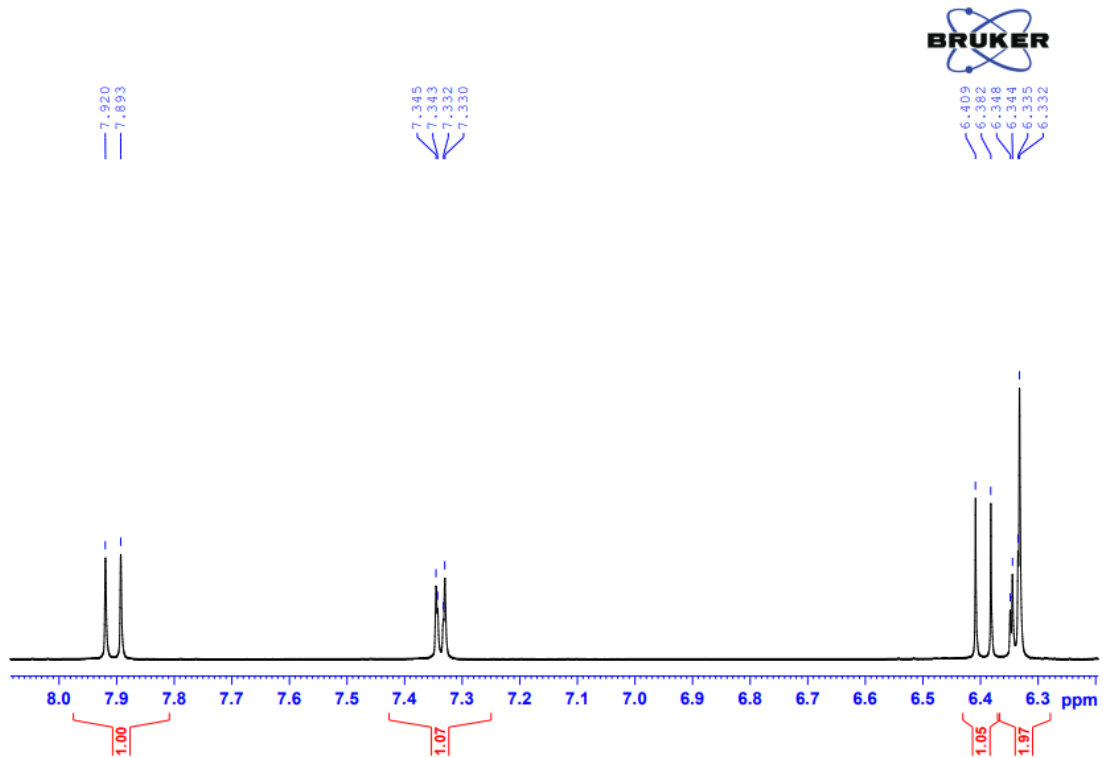
15. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 8

Phụ

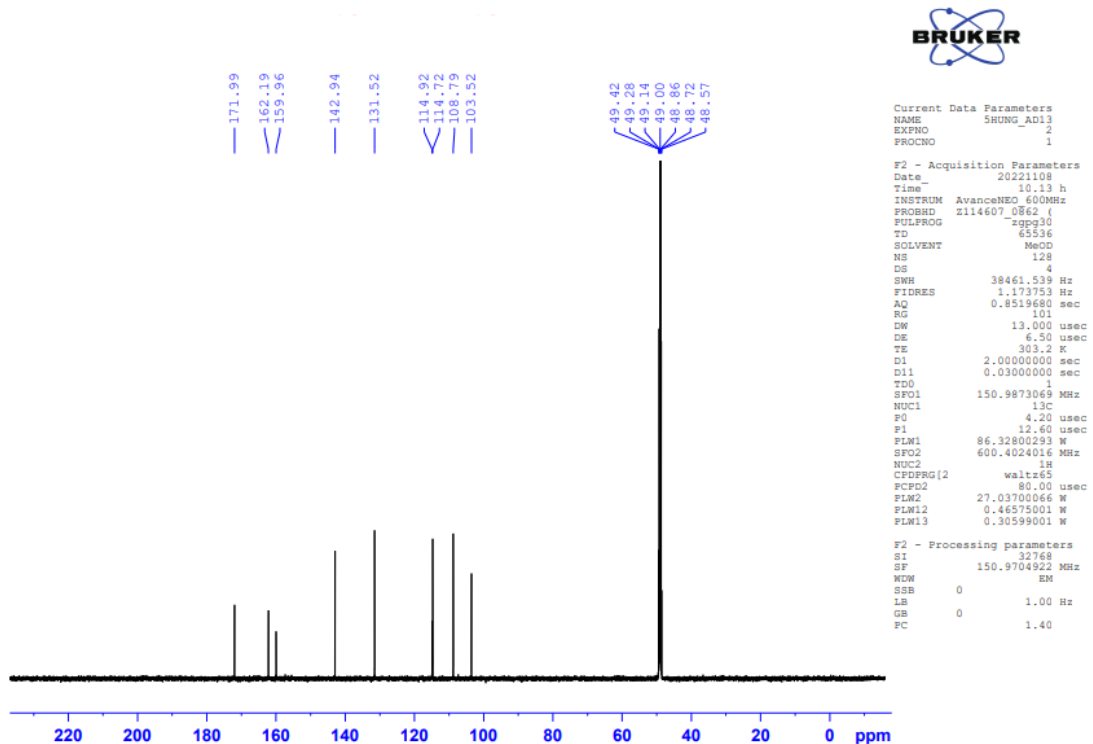
lục 31. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 8 (600 MHz, MeOD)16. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 8Phụ lục 32. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 8 (150 MHz, MeOD)

16. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 8Phụ lục 33. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 8 (150 MHz, MeOD)17. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 9Phụ lục 34. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 9 (600 MHz, MeOD)



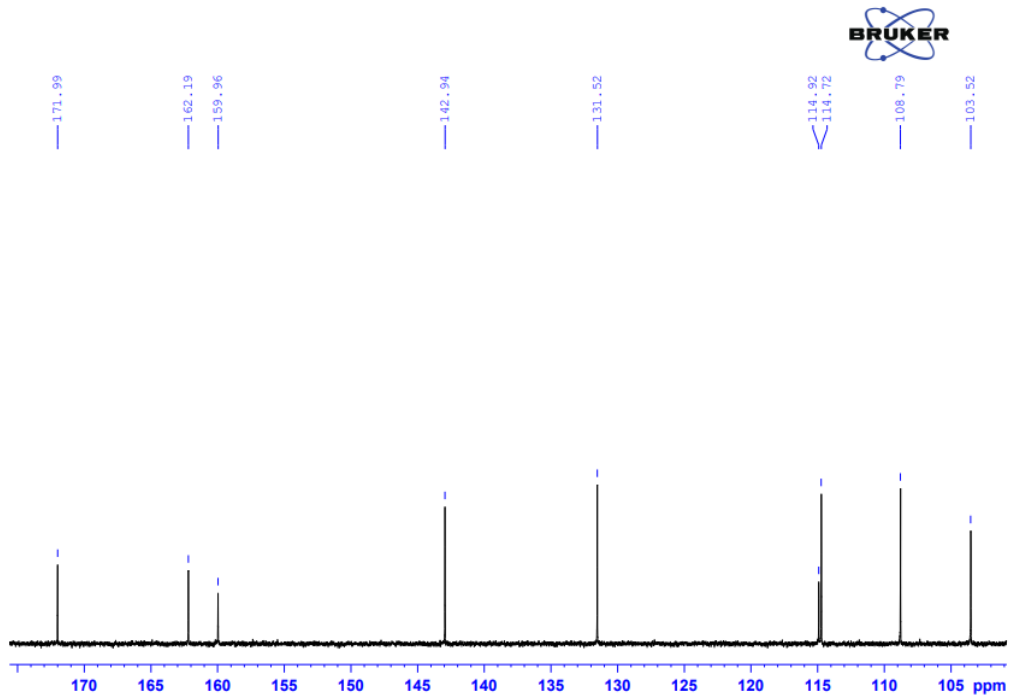
17. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 9

Ph

Phụ lục 35. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 9 (600 MHz, MeOD)18. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 9Phụ lục 36. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 9 (150 MHz, MeOD)

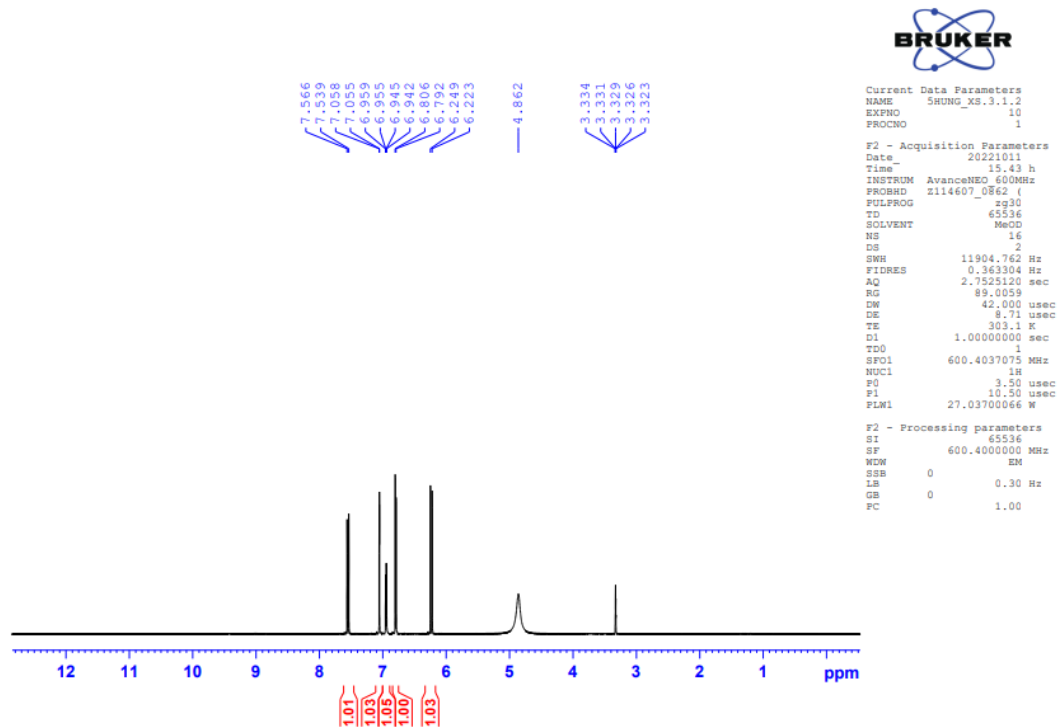
XIX

18. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 9

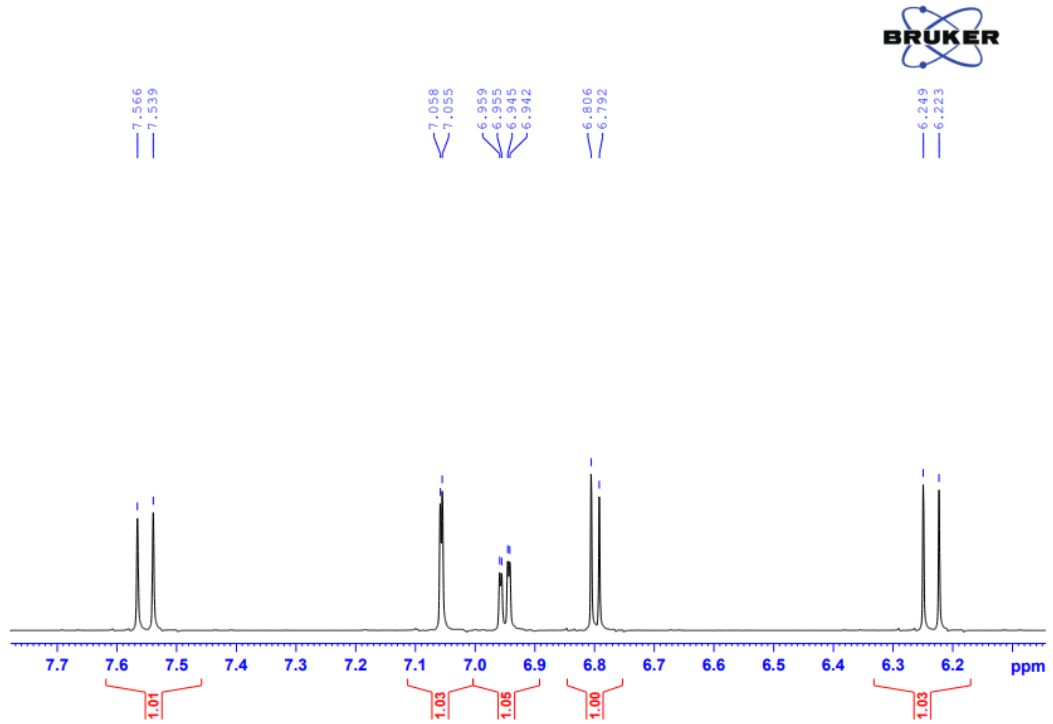
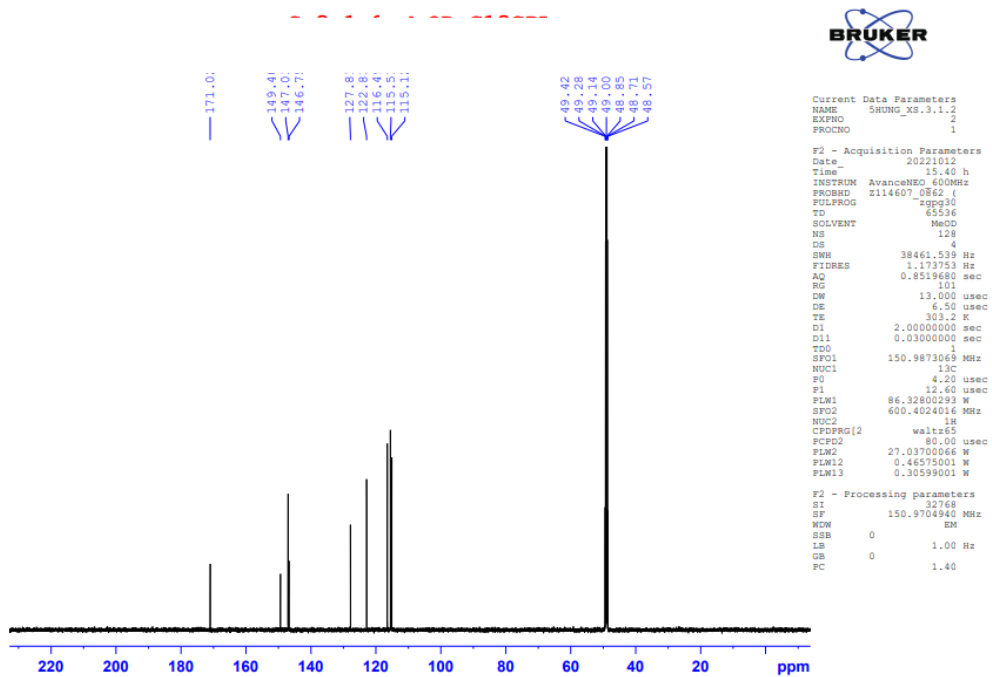


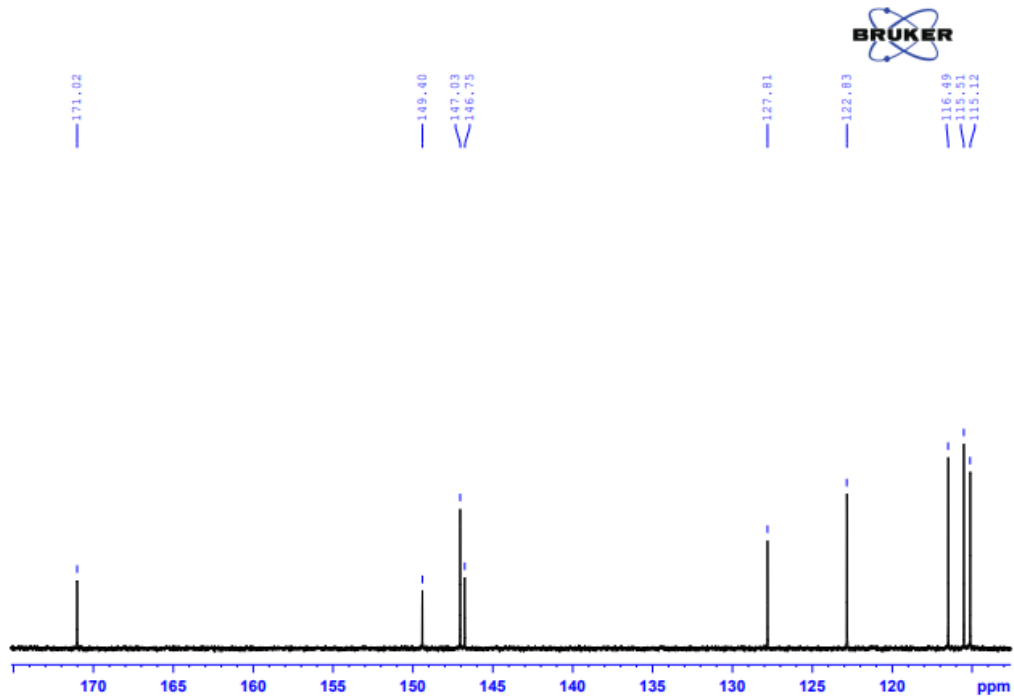
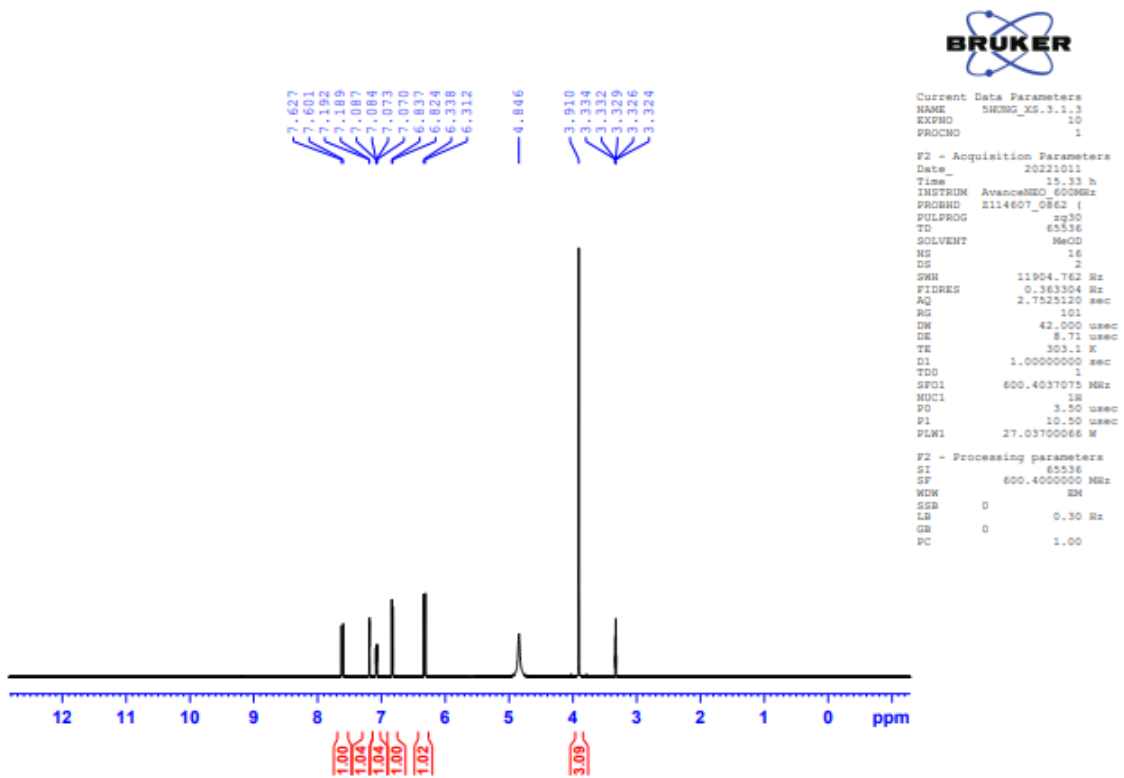
Phụ lục 37. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất 9 (150 MHz, MeOD)

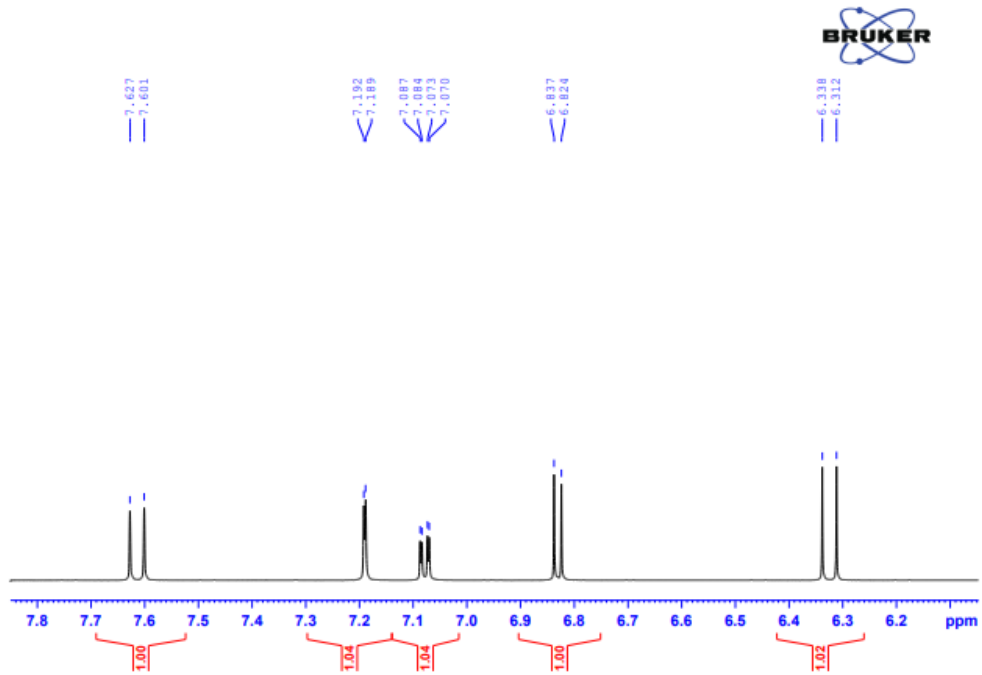
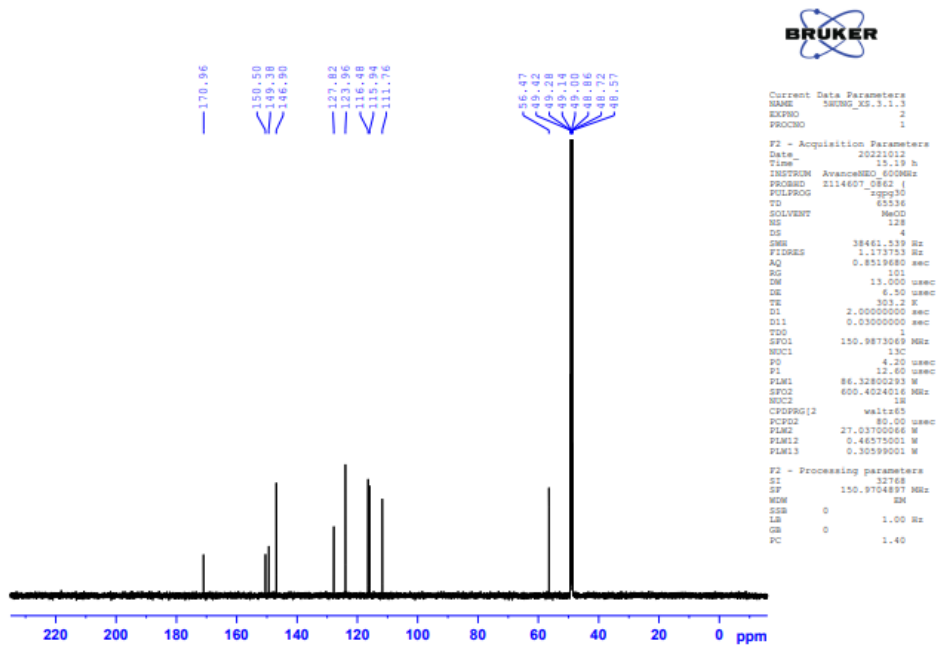
19. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 10

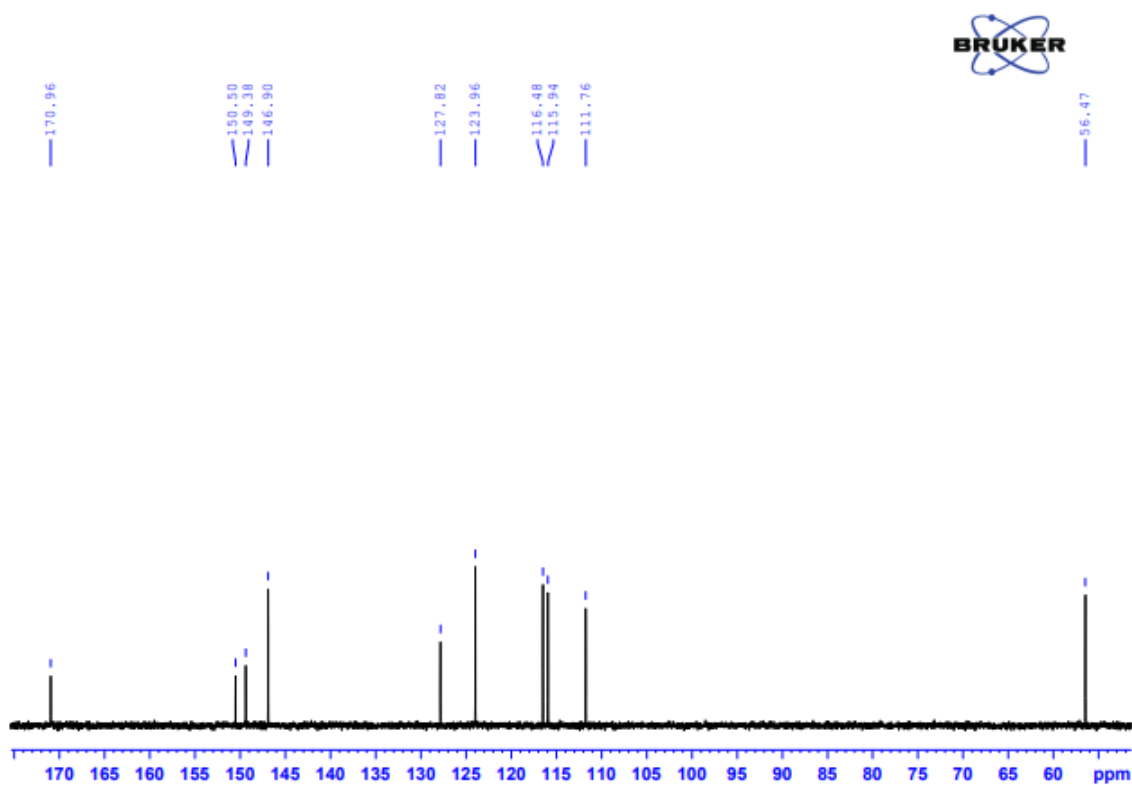


Phụ lục 38. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 10 (600 MHz, MeOD)

19. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **10**Phụ lục 39. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **10** (600 MHz, MeOD)20. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **10**Phụ lục 40. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **10** (150 MHz, MeOD)

20. Phụ lục Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **10**Phụ lục 41. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **10** (150 MHz, MeOD)21. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **11**Phụ lục 42. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **11** (600 MHz, MeOD)

21. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **11**Phụ lục 43. Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **11** (150 MHz, MeOD)22. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất **11**Phụ lục 43. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **11** (150 MHz, MeOD)

22. Phụ lục Phổ  $^1\text{H}$  NMR của hoạt chất 11

**Phụ lục 43.** Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của hoạt chất **11** (150 MHz, MeOD)

Số: 320 /QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 08 tháng 04 năm 2024

**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 01/03/2023 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 30/08/2021 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 25/05/2022 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 1093/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Công nghệ sinh học, Trưởng phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Bùi Thị Thực với đề tài: “Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam”.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 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.

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 Công nghệ sinh 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, MT.14.

**GIÁM ĐỐC**



GS.TS. Vũ Đình Lâm

# DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 320/QĐ-HVKHCN ngày 08/04/2024  
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Chợ luận văn của học viên: Bùi Thị Thục

Tên đề tài: Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê  
(*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Phi Hùng

- Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Chu Hoàng Hà	Công nghệ sinh học	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Đỗ Thị Thảo	Sinh lý học người và động vật	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Vũ Đình Hoàng	Hóa hữu cơ	Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách Khoa Hà Nội	Phản biện 2
4.	TS. Đinh Thị Thu Hằng	Hóa sinh học	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5.	TS. Nguyễn Trung Nam	Miễn dịch học	Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên

(Hội đồng gồm 05 thành viên)./.



Hà Nội, ngày 18 tháng 05 năm 2024

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 320/QĐ-HVKHCN ngày 08/04/2024 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 Bùi Thị Thực

Tên đề tài: Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam

Ngành/Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Hôm nay, ngày 18/05/2024 Hội đồng đã họp tại phòng họp 1710, A28, Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 09 giờ 00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

- |                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| 1. GS.TS. Chu Hoàng Hà    | Chủ tịch hội đồng |
| 2. TS. Đinh Thị Thu Hằng  | Thư ký hội đồng   |
| 3. PGS. TS. Đỗ Thị Thảo   | Phản biện 1       |
| 4. PGS. TS. Vũ Đình Hoàng | Phản biện 2       |
| 5. TS. Nguyễn Trung Nam   | Ủy viên hội đồng  |

Thành viên vắng mặt: ..... (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ).

### 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

5. Phản biện 1: *Đề tài nghiên cứu, làm rõ nội dung nghiên cứu, kết luận... cần... nghiên cứu... thảo luận... kết quả... cần... thiết kế... với... những... chất... không... cần... làm... rõ... trong... quan... về... đã... được... và... và... P.T.P.B... trong... của... để... tập... 2... lưu... ý... cần... chú... cần... lưu... ý... Hoạt... động... enzyme... ở... mức... nào... tại... sao...?*

6. Phản biên 2: Luận văn có nhiều kết quả, nên dùng hộp chất thay cho thuật chất, kiểm tra... phần của các hộp chất, thuật ngữ kinh tế...  
no. định hình.  
Câu hỏi: chất số 1, 7. trả sao ở vị trí para là doublet kép

7. Học viên trả lời:

Đáp ứng yêu cầu

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

T.S. Nguyễn Công Nam: Muc 2.2... nên bỏ song trích dẫn TLTK  
trong phần phương pháp

9. Học viên trả lời

10. Hội đồng họp kín và cho điểm

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

Trưởng ban: T.S. Nguyễn Công Nam

Ủy viên: PGS.TS. Lê Chí Thảo

Ủy viên: TS. Đinh Thị Thu Hằng

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 49,7

Điểm trung bình: 8,5

Điểm thưởng công trình công bố: ... 0 .....

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: ... 8,5 .....

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn ... Đạt .....

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

..... Đề tài không trùng lặp .....

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

..... Nội dung và hình thức đáp ứng yêu cầu của một luận văn khác là sinh học thực nghiệm .....

..... Chính là về cơ sở của các góp ý của Hội đồng .....

Buổi họp đã kết thúc vào ... 11 ... giờ ... 20 ... phút, ngày 18/05/2024

Hà Nội, ngày 18 tháng 05 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

*[Handwritten signature]*  
Đinh Thị Thu Hằng

*[Handwritten signature]*  
Châu Hồng Tú



XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

GIÁM ĐỐC



Vũ Đình Lâm

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: ...Đỗ Thị Thảo..... Học hàm, học vị: PGS-TS  
Chức danh trong Hội đồng: ...NX 1.....  
Cơ quan công tác: ...Viện Cây Nho, Ninh Hòa.....  
Họ và tên học viên: ...Bùi Thị Thu.....  
Tên đề tài: ...Tìm kiếm các chất hoạt tính hạ đường huyết từ loài Rau Dã (Arunurus dioscorea).....  
Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm. Mã số: 8 42 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

- Tổng quan tài liệu đã cho thấy tiềm năng dược liệu của loài Rau Dã, nhất là hoạt tính ức chế PTP1B và  $\alpha$ -glucosidase, định hướng sử dụng hạ đường huyết cho bệnh tiểu đường type 2.

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:

- Không trùng lặp  
- Trích dẫn đầy đủ đầy đủ và rõ ràng (66 TLTK)

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

- Tên đề tài và nội dung nghiên cứu phù hợp  
- Có sự phù hợp giữa đề tài với chuyên ngành và mã số đào tạo

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

- Các phương pháp nghiên cứu là thống qui, hiện đại có độ tin cậy.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

+ Đã thu thập được mẫu thực vật cây Rau Dê  
+ Từ các chiết EtOAc đã phân lập và xác định các  
mùi hoa' hơ' ua' 11 chất tinh sals.  
+ Đã định giá hoạt tính ức chế PTPB của các  
chiết và 11 hợp chất.  
+ Đã định giá hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của  
các chiết và 11 hợp chất.

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

- Còn nhiều lỗi in ấn.  
- Làm rõ lại mục tiêu nghiên cứu.  
- Viết lại một số luận văn gộp.  
- Bị sự phỏng thảo luận kết quả thảo luận.

7. 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?

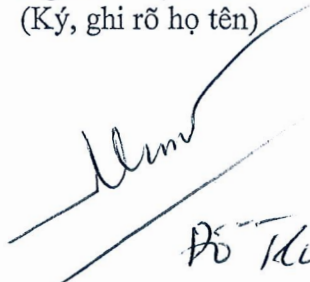
- Chưa có bài báo.

8. 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?):

Đáp ứng mức độ của một luận văn Thạc sĩ

H.N., ngày 16 tháng 05 năm 2024

Người nhận xét  
(Ký, ghi rõ họ tên)

  
Đỗ Hải Thảo

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: CV. Nguyễn Thị Minh Tâm phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT02438689977- 0946082099

**BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ và tên người phản biện: Vũ Đình Hoàng

Học hàm, học vị: PGS. TS

Chuyên ngành: Hoá hữu cơ – Hoá hợp chất thiên nhiên

Cơ quan công tác: Trường Hoá và Khoa học Sự sống – Đại học Bách khoa Hà Nội

Họ và tên học viên: Bùi Thị Thực

Tên đề tài: Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam.

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

**NỘI DUNG NHẬN XÉT**

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

Cây râu dê (*Aruncus dioicus*) là vị thuốc nam, được sử dụng từ lâu trong y học dân gian. Cây này có thành phần hoá học và hoạt tính sinh học phong phú, được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Cây được nghiên cứu nhiều ở nước ngoài, tuy nhiên ở Việt Nam chưa có nhiều báo cáo về loài cây này. Đề tài thạc sĩ “Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam” có tính khoa học và thực tiễn.

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 nghiên cứu không trùng lặp với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; Các tài liệu tham khảo trong luận văn là trung thực, rõ ràng và tương đối đầy đủ, cập nhật.

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

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu, với chuyên ngành sinh học thực nghiệm, và với mã số đào tạo 8420114.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Để thực hiện nghiên cứu, tác giả đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại, tin cậy khoa học, bao gồm các phương pháp chiết tách hợp chất thiên nhiên, các phương pháp phổ xác định cấu trúc hợp chất, và các phương pháp thử nghiệm hoạt tính sinh học hạ đường huyết đối với các chất phân lập.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

- Đã phân lập được 11 hợp chất từ mẫu bẫy lá một hoa.
- Đã xác định cấu trúc hoá học của 11 chất phân lập.

- Đã tiến hành thử nghiệm hoạt tính hạ đường huyết của các cặn chiết và các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy có nhiều hợp chất có hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme PTP1B và enzyme alpha-glucosidase đáng quan tâm.

6. Đóng góp mới của luận văn:

Tác giả nên nêu trong kết luận rõ hơn về tính mới trong thành phần hoá học và hoạt tính hạ đường huyết của nghiên cứu so với các kết quả đã công bố.

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

Luận văn có nội dung khoa học phong phú, khối lượng nghiên cứu lớn, đáp ứng yêu cầu luận văn thạc sĩ. Quyền được trình bày rõ ràng, bố cục cân đối, ít lỗi.

Một số câu hỏi và góp ý:

- Nên dung từ “hợp chất” thay cho “hoạt chất” khi nhắc đến chất phân lập được nói chung.
- Kiểm tra lại số liệu phổ chất 7 (trang 50). Về lý thuyết, vòng thơm thế para sẽ chỉ có 2 tín hiệu doublet, chứ không phải double doublet.
- Các dung môi đo phổ sửa lại chính xác hơn là detori hoá.

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?

Luận văn có nội dung khoa học tốt, có thể đăng báo hoặc báo cáo hội thảo.


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

- Luận văn đáp ứng các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận văn
- Luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ

Hà Nội, ngày 12 tháng 5 năm 2024

**Người phản biện**

(Ký, ghi rõ họ tên)



Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368



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

Họ tên học viên: Bùi Thị Thục

Lớp: BIO2022A

Tên đề tài luận văn: “Tìm kiếm các chất có hoạt tính hạ đường huyết từ loài Râu dê (*Aruncus dioicus*) ở Việt Nam.”

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Phi Hùng.

Ngày bảo vệ luận văn: 18/05/2024

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	Trong phần mở đầu trang số 2 cần làm rõ mục tiêu nghiên cứu	Đã chỉnh sửa và viết lại mục tiêu nghiên cứu theo ý kiến hội đồng.
2	Trong phần tổng quan, nội dung 1.7 trang 19 cần chỉnh sửa phần tìm hiểu về bệnh hạ đường huyết thành tìm hiểu về bệnh tiểu đường.	Đã chỉnh sửa bổ sung về bệnh tiểu đường theo ý kiến hội đồng.
3	Trong Chương 2, nội dung 2.2.5.2 Thử nghiệm tác dụng ức chế enzyme alpha-glucosidase cần bổ sung tài liệu tham khảo.	Đã chỉnh sửa, bổ sung thêm tài liệu tham khảo nội dung 2.2.5.2 theo ý kiến hội đồng.
4	Trong luận văn, thay từ “hoạt chất” thành “hợp chất”	Đã chỉnh sửa và viết lại theo ý kiến hội đồng.



5	Chương 3, phần 3.3.2 Cấu trúc hóa học của các chất phân lập từ các mẫu cao chiết cần kiểm tra, chỉnh sửa dữ liệu phổ.	Đã chỉnh sửa và viết lại dữ liệu phổ theo ý kiến hội đồng.
6	Phần kết luận cần viết gọn lại cho xúc tích, nêu bật được kết quả nghiên cứu.	Đã chỉnh sửa và viết ngắn gọn lại kết luận.
7	Chỉnh sửa lại nhiều lỗi chính tả, đánh máy, câu từ.	Đã chỉnh sửa lại toàn bộ trong luận văn.

Hà Nội, ngày 25 tháng 5 năm 2024

**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG**

**TẬP THỂ HƯỚNG DẪN**

**HỌC VIÊN**

**GS.TS. Chu Hoàng Hà**

**TS. Nguyễn Phi Hùng**

**Bùi Thị Thục**

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**KT. GIÁM ĐỐC**

**PHÓ GIÁM ĐỐC**



**Nguyễn Thị Trung**

