

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



PHẠM VĂN CÔNG

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ
ENZYME α -GLUCOSIDASE, XANTHINE OXIDASE
CỦA LOÀI *VERNONIA AMYGDALINA* VÀ *VERNONIA GRATIOSA*

LUẬN ÁN TIẾN SỸ
HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN

Hà Nội – 2024

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

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Hoàng Lê Tuấn Anh

Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Bùi Quang Minh

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại hội đồng chấm luận án Tiến sĩ cấp học viện tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Vào hồi: giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong cuộc sống hiện đại ngày nay, tỷ lệ mắc các bệnh liên quan đến chuyển hóa có xu hướng ra tăng nhanh, điển hình là bệnh tiểu đường và gout. Với sự gia tăng nhanh chóng, các bệnh này trở thành gánh nặng cho toàn xã hội. Việc nghiên cứu phát triển các thuốc mới trong điều trị luôn là vấn đề cấp thiết được ưu tiên. Trong số đó, phát triển các thuốc mới có nguồn gốc từ thực vật đang là một xu hướng thu hút các nhà khoa học tập trung nghiên cứu. Trong khi đó, Việt Nam là nước nhiệt đới, giàu tài nguyên thiên nhiên với hơn 12000 loài thực vật và khoảng hơn 4000 loài trong số đó được dùng làm thuốc trong dân gian, tuy nhiên còn rất nhiều loài vẫn chưa được nghiên cứu về cả tác dụng sinh học và thành phần hóa học. Do vậy việc tiếp tục tìm kiếm ra các thuốc có nguồn gốc từ thảo dược có hiệu quả, an toàn, giá thành rẻ vẫn là nhu cầu cần thiết, là hướng nghiên cứu đang được các nhà khoa học rất quan tâm. Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae) có khoảng 1000 loài, chúng phân bố chủ yếu ở các nước thuộc Nam Mỹ, Bắc Mỹ, Châu Phi và Đông Nam Á. Theo Từ điển cây thuốc Việt Nam (Võ Văn Chi, 2012), ở Việt Nam có 16 loài thuộc chi *Vernonia* được dùng làm thuốc chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rần cấn, bỏng lửa,...

Trên thế giới các nghiên cứu về chi *Vernonia* chủ yếu tập trung về thực vật học, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học kết quả cho thấy chúng chứa nhiều lớp chất có hoạt tính sinh học cao như steroid, flavonoid, terpenoid, polyphenol, ... Tuy nhiên, các nghiên cứu về chi *Vernonia* ở Việt Nam còn khá hạn chế. Do đó, việc nghiên cứu, phân lập và đánh giá tác dụng sinh học của các hợp chất từ các loài thuộc chi *Vernonia* có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở khoa học vững chắc cho định hướng ứng dụng, khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng này ở Việt Nam. Từ những cơ sở trên tôi lựa chọn đề tài: "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa***".

1. Đối tượng nghiên cứu và nội dung của đề tài

Đối tượng nghiên cứu là 2 loài: *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa* thu thập tại Việt Nam.

Nội dung luận án bao gồm:

- 1.1. Phân lập các hợp chất từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* thu thập tại Việt Nam sử dụng các phương pháp sắc ký;
- 1.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* bằng các phương pháp vật lý, hóa học hiện đại.
- 1.3. Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được
- 1.4. Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất sạch thu được;

2. Những đóng góp mới của luận án

- 2.1. Lần đầu tiên phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là vernonioside K (LD1), vernonioside N (LD2), vernonioside

M (**LD3**), vernonioside O (**LD4**), vernonioside L (**LD5**), vernonioside P (**LD6**), vernonioside Q (**LD7**) và 07 hợp chất mới từ loài *V. gratiosa* (**VG1 – VG7**) là: vernogratioides A (**VG1**), vernogratioides B (**VG2**), vernogratioides C (**VG3**), vernogratioides R (**VG4**), vernogratioides S (**VG5**), vernoratioides A (**VG6**), vernoratioides B (**VG7**).

2.2. Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*. Kết quả đã phát hiện được các hợp chất **LD1, LD5, LD14, LD12, LD15** phân lập từ loài *V. amygdalina* cho thấy khả năng ức chế enzyme α -glucosidase rất mạnh với giá trị IC_{50} từ ($7.42 \pm 0.95 \mu\text{M}$ đến $78.56 \pm 7.28 \mu\text{M}$) so với đối chứng dương (Acarbose $127.53 \pm 1.73 \mu\text{M}$). Bên cạnh đó, hợp chất **VG15** phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng ức chế mạnh hoạt động của enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} là ($47.08 \pm 3.98 \mu\text{M}$), trong khi đó, hợp chất **VG5** và **VG13** chỉ thể hiện tác dụng ức chế yếu đối với enzyme này với giá trị IC_{50} lần lượt là $424.79 \pm 37.83 \mu\text{M}$ và $477.52 \pm 20.84 \mu\text{M}$ so với đối chứng dương Acarbose $146.64 \pm 8.85 \mu\text{M}$.

2.3. Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*; đã tìm thấy các hợp chất **VG5, VG13** và **VG15** có tiềm năng trong ức chế enzym (XO) với $IC_{50} = (6,26 \pm 0,60) - (47,65 \pm 3,44) \mu\text{M}$; so với đối chứng dương Allopurinol là: $1,12 \pm 0,15 (\mu\text{M})$.

3. Bố cục của luận án

Luận án gồm 148 trang với 39 bảng số liệu, 94 hình. Bố cục của luận án: Mở đầu: 2 trang, Chương 1: Tổng quan tài liệu (35 trang), Chương 2: Thực nghiệm (16 trang), Chương 3: Thảo luận kết quả (86 trang), Kết luận (1 Trang), Kiến nghị và những đóng góp mới của luận án (1 Trang), Các công trình công bố (1 trang), Tài liệu tham khảo (6 trang) và Phụ lục phổ.

II. NỘI DUNG LUẬN ÁN

ĐẶT VẤN ĐỀ: Phân đặt vấn đề đề cập ý nghĩa khoa học, tính thực tiễn, đối tượng, mục tiêu và nhiệm vụ nghiên cứu của luận án.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Phần tổng quan tài liệu tập hợp các nghiên cứu trước đây về các vấn đề:

- 1.1. Giới thiệu chung về họ Cúc (Asteraceae)
- 1.2. Tổng quan về chi *Vernonia*
- 1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Vernonia*
- 1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Vernonia*
- 1.5. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước về loài *V. amygdalina*
- 1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước về loài *V. gratiosa*

CHƯƠNG II. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa* thu thập tại Việt Nam



Hình 2.1. Hình ảnh loài *V. amygdalina* thu tại Hà Nội (NCS thực hiện)



Hình 2.2. Hình ảnh loài *V. graticosa* thu tại Quảng Trị (NCS thực hiện)

2.2. Dung môi, hóa chất và thiết bị nghiên cứu

2.2.1. Dung môi và hóa chất

2.2.2. Thiết bị nghiên cứu

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất

2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất

Phân lập các hợp chất bằng sự kết hợp các phương pháp: sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký cột (CC: silica gel, RP-18 gel, LH-20 gel).

2.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất sạch

Phương pháp chung để xác định cấu trúc các hợp chất kết hợp giữa các thông số vật lý với các phương pháp phổ hiện đại bao gồm: Phổ khối (HR-ESI-MS), độ quay cực $[\alpha]_D$, phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D, 2D-NMR), phổ lưỡng sắc tròn (CD).

2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

2.3.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học ức chế enzyme α -glucosidase

2.3.4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase

2.4. Phân lập các hợp chất

Phần này trình bày cụ thể cách thức phân lập các hợp chất từ 02 mẫu *V. amygdalina* và *V. graticosa*. Việc phân tách các chất được nêu tóm tắt ở các sơ đồ dưới đây:

2.5.1.1. Hợp chất **LD1**: *vernonioside K* (hợp chất mới)

Chất bột rắn, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: + 75° (*c* 0.02, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 583.3248 [M+Na]⁺. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C NMR: quan sát bảng 3.1.

2.5.1.2. Hợp chất **LD2** : *Vernonioside N* (hợp chất mới)

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: + 55° (*c* 0.2, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 697.3385 [M+Na]⁺. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.16 (1H, m, H-1), 1.78 (1H, m, H-1), 2.10 (1H, m, H-2), 1.67 (1H, m, H-2), 3.89 (1H, m, H-3), 1.48 (1H, dd, *J* = 10.0, 20.0 Hz, H-4), 1.98 (1H, m, H-4), 1.25 (1H, m, H-5), 1.76 (1H, m, H-6), 1.80 (1H, m, H-6), 5.35 (1H, brs, H-7), 5.39 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, H-11), 2.18 (1H, m, H-12), 3.00 (1H, dd, *J* = 15.0, 5.5 Hz, H-12), 2.19 (1H, m, H-14), 1.49 (1H, m, H-15), 1.76 (1H, m, H-15), 1.70 (1H, m, H-16), 2.14 (1H, m, H-16), 2.26 (1H, m, H-17), 0.75 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, s, H-19), 2.92 (1H, m, H-20), 4.56 (1H, t, *J* = 5.5 Hz, H-22), 4.81 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H-23), 2.24 (1H, m, H-25), 1.12 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-26), 1.11 (3H, d, *J* = 5.5 Hz, H-27), 1.33 (3H, s, H-29), 3.23 (3H, s, OCH₃), 4.94 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.99 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 4.21 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3'), 4.16 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-4'), 3.92 (1H, m, H-5'), 4.30 (1H, dd, *J* = 5.0, 10.0 Hz, H-6'), 4.49 (1H, dd, *J* = 2.0, 10.0 Hz, H-6'); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 34.8 (C-1), 29.9 (C-2), 77.1 (C-3), 34.3 (C-4), 39.0 (C-5), 30.1 (C-6), 120.6 (C-7), 136.3 (C-8), 143.7 (C-9), 35.9 (C-10), 119.3 (C-11), 41.2 (C-12), 42.5 (C-13), 51.6 (C-14), 23.4 (C-15), 28.7 (C-16), 46.5 (C-17), 12.2 (C-18), 19.3 (C-19), 45.6 (C-20), 176.7 (C-21), 76.3 (C-22), 86.1 (C-23), 84.3 (C-24), 32.3 (C-25), 17.0 (C-26), 18.1 (C-27), 111.2 (C-28), 16.7 (C-29), 48.0 (OCH₃), 102.0 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.5 (C-5'), 62.5 (C-6').

2.5.1.3. Hợp chất **LD3**: *Vernonioside M* (hợp chất mới)

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: + 45° (*c* 0.02, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 697.3385 [M+Na]⁺. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.23 (1H, m, H-1), 1.85 (1H, m, H-1), 1.80 (1H, m, H-2), 3.95 (1H, m, H-3), 1.40 (1H, q, *J* = 10.0, 20.0 Hz, H-4), 2.00 (1H, m, H-4), 1.25 (1H, m, H-5), 1.14 (1H, m, H-6), 1.80 (1H, m, H-6), 5.37 (1H, brs, H-7), 5.48 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, H-11), 2.18 (1H, m, H-12), 3.22 (1H, dd, *J* = 5.5, 15.0 Hz, H-12), 2.28 (1H, m, H-14), 1.47 (1H, dd, *J* = 5.0, 10.0, H-15), 1.81 (1H, m, H-15), 1.70 (1H, m, H-16), 2.14 (1H, m, H-16), 2.16 (1H, m, H-17), 0.71 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, s, H-19), 2.85 (1H, m, H-20), 4.73 (1H, t, *J* = 5.5 Hz, H-22), 4.80 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H-23), 2.02 (1H, m, H-25), 0.92 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-26), 1.17 (3H, d, *J* = 5.5 Hz, H-27), 1.33 (3H, s, H-29), 3.23 (3H, s, OCH₃), 4.94 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.99 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 4.21 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3'), 4.16 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-4'), 3.95 (1H, m, H-5'), 4.30 (1H, dd, *J* = 5.0, 10.0 Hz, H-6'), 4.49 (1H, dd, *J* = 2.0, 10.0 Hz, H-6'); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 34.9 (C-1), 29.9 (C-2), 77.1 (C-3), 34.3 (C-4), 39.4 (C-5), 30.1 (C-6), 120.6 (C-7), 136.3 (C-8), 143.8 (C-9), 35.9 (C-10), 119.4 (C-11), 41.7 (C-12), 42.5 (C-13), 51.6 (C-14), 23.3 (C-15), 28.5 (C-16), 45.9 (C-17), 12.1 (C-18), 19.3 (C-19), 48.4 (C-20), 176.0 (C-21), 79.7 (C-22), 79.5 (C-23), 83.5 (C-24), 31.3 (C-25), 16.7 (C-26), 17.7 (C-27), 107.6 (C-28), 15.1 (C-29), 48.0 (OCH₃), 102.1 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.5 (C-6').

2.5.1.4. Hợp chất **LD4**: Vernonioidide O (hợp chất mới)

Chất bột rắn, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +48.0° (*c* 0.02, MeOH); Phổ HR-ESI-MS *m/z*: 667.3308 [M+Cl]⁻. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.23 (1H, m, H-1), 1.80 (1H, m, H-1), 1.67 (1H, m, H-2), 1.22 (1H, m, H-2), 3.93 (1H, m, H-3), 1.99 (1H, q, *J* = 10.0, 20.0 Hz, H-4 α), 2.00 (1H, m, H-4 β), 1.22 (1H, m, H-5), 1.23 (1H, m, H-6), 1.78 (1H, m, H-6), 5.43 (1H, brs, H-7), 5.48 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, H-11), 2.13 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, H-12), 3.09 (1H, dd, *J* = 5.5, 14.5 Hz, H-12), 2.22 (1H, m, H-14), 1.44 (1H, m, H-15), 1.74 (1H, m, H-15), 1.57 (1H, dd, *J* = 7.5, 20.0 Hz, H-16), 2.37 (1H, m, H-16), 2.23 (1H, m, H-17), 0.76 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, s, H-19), 2.87 (1H, m, H-20), 4.80 (1H, t, *J* = 4.0 Hz, H-22), 4.93 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-23), 2.05 (1H, m, H-25), 1.07 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-26), 1.18 (3H, d, *J* = 5.5 Hz, H-27), 4.27 (1H, m, H-28), 1.28 (3H, d, *J* = 5.5 Hz, H-29), 4.96 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-1'), 3.99 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 4.21 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3'), 4.16 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, H-4'), 3.11 (1H, m, H-5'), 4.50 (1H, dd, *J* = 12.5 Hz, H-6'), 4.49 (1H, dd, *J* = 5.0, 12.5 Hz, H-6'); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 34.8 (C-1), 29.9 (C-2), 78.1 (C-3), 35.3 (C-4), 39.0 (C-5), 30.1 (C-6), 120.6 (C-7), 136.8 (C-8), 143.8 (C-9), 35.9 (C-10), 119.3 (C-11), 41.4 (C-12), 42.5 (C-13), 51.6 (C-14), 23.3 (C-15), 28.7 (C-16), 46.8 (C-17), 14.4 (C-18), 19.9 (C-19), 46.6 (C-20), 177.1 (C-21), 79.1 (C-22), 8.29 (C-23), 82.0 (C-24), 30.7 (C-25), 17.1 (C-26), 17.8 (C-27), 81.0 (C-28), 14.0 (C-29), 102.0 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.1 (C-5'), 62.5 (C-6').

2.5.1.5. Hợp chất **LD5**: Vernonioidide L (hợp chất mới)

Chất dạng sáp, không màu; $[\alpha]_D^{25}$: +45.7° (*c* 0.02, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 669.3402 [M+Cl]⁻. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.15 (1H, m, H-1), 1.77 (1H, m, H-1), 1.84 (1H, m, H-2), 2.15 (1H, m, H-2), 3.90 (1H, m, H-3), 1.17 (1H, q, *J* = 10.0, 20.0 Hz, H-4), 1.77 (1H, m, H-4), 1.24 (1H, m, H-5), 1.65 (1H, m, H-6), 2.08 (1H, m, H-6), 5.33 (1H, s, H-7), 5.54 (1H, s, H-11), 2.47 (1H, m, H-12), 2.20 (1H, dd, *J* = 6.6, 17.4 Hz, H-12), 2.23 (1H, m, H-14), 1.52 (1H, m, H-15), 1.82 (1H, m, H-15), 1.47 (1H, m, H-16), 2.33 (1H, m, H-16), 1.99 (1H, m, H-17), 0.75 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, s, H-19), 1.97 (1H, m, H-20), 5.80 (1H, s, H-21), 4.55 (1H, m, H-22), 4.59 (1H, m, H-23), 4.53 (1H, m, H-24), 1.79 (1H, m, H-25), 1.05 (3H, d, *J* = 5.0 Hz, H-26), 1.15 (3H, d, *J* = 5.0 Hz, H-27), 4.53 (1H, m, H-28), 1.17 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-29), 4.94 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-1'), 3.96 (1H, m, H-2'), 4.22 (1H, m, H-3'), 4.18 (1H, m, H-4'), 4.22 (1H, m, H-5'), 4.31 (1H, m, H-6'), 4.57 (1H, m, H-6'); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 34.9 (C-1), 29.9 (C-2), 77.1 (C-3), 34.9 (C-4), 39.0 (C-5), 30.0 (C-6), 120.7 (C-7), 136.4 (C-8), 143.9 (C-9), 35.9 (C-10), 118.9 (C-11), 41.5 (C-12), 42.4 (C-13), 51.3 (C-14), 23.6 (C-15), 27.8 (C-16), 44.9 (C-17), 12.7 (C-18), 19.3 (C-19), 50.7 (C-20), 98.9 (C-21), 87.4 (C-22), 82.5 (C-23), 81.9 (C-24), 31.5 (C-25), 17.4 (C-26), 17.6 (C-27), 84.5 (C-28), 14.5 (C-29), 48.0 (OCH₃), 102.0 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.5 (C-6').

2.4.1.6. Hợp chất **LD6**: Vernonioidide P (hợp chất mới)

Chất dầu màu vàng.; $[\alpha]_D^{25}$: -31.6 (*c* 0.02, CHCl₃); HR-ESI-MS *m/z*: 551.3118 [M + Cl]⁻. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.33 (1H, m, H-1), 2.00 (1H, m, H-1), 1.28

(1H, m, H-2), 1.71 (1H, m, H-2), 3.35 (1H, m, H-3), 1.44 (1H, m, H-4), 1.86 (1H, brd, $J = 1.5, 10.5$ Hz, H-4), 1.41 (1H, m, H-5), 1.30 (1H, m, H-6), 1.92 (1H, m, H-6), 5.40 (1H, brs, H-7), 5.53 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-11), 2.24 (1H, m, H-12), 2.34 (1H, dd, $J = 5.5, 16.8$ Hz, H-12), 2.42 (1H, m, H-14), 1.67 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-15), 1.95 (1H, m, H-15), 5.18 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, H-16), 2.26 (1H, m, H-17), 0.59 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 1.72 (1H, m, H-20), 1.05 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-21), 0.94 (1H, m, H-22), 4.09 (1H, dd, $J = 4.0, 7.0$ Hz, H-23), 4.06 (1H, dd, $J = 4.0, 6.5$ Hz, H-24), 1.35 (3H, s, H-26), 1.37 (3H, s, H-27), 3.02 (1H, q, $J = 5.0, 9.5$ Hz, H-28), 1.56 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-29), 2.05 (3H, s, OCOCH₃), ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 35.9 (C-1), 30.9 (C-2), 71.4 (C-3), 34.7 (C-4), 40.6 (C-5), 31.0 (C-6), 122.1 (C-7), 136.3 (C-8), 145.3 (C-9), 37.0 (C-10), 119.2 (C-11), 43.7 (C-12), 43.8 (C-13), 50.1 (C-14), 38.4 (C-15), 80.9 (C-16), 64.0 (C-17), 13.0 (C-18), 19.9 (C-19), 33.0 (C-20), 20.2 (C-21), 39.9 (C-22), 71.4 (C-23), 70.4 (C-24), 72.0 (C-25), 28.4 (C-26), 26.9 (C-27), 57.0 (C-28), 14.3 (C-29), 21.5 (OCOCH₃), 172.8 (OCOCH₃).

2.5.1.7. Hợp chất **LD7**: *Vernonioside Q* (hợp chất mới)

Chất rắn vô định hình, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -37.1 (c 0.02, CHCl₃); HR-ESI-MS: m/z 713.3690 [M+Cl]⁻. ¹H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.32 (1H, m, H-1), 1.98 (1H, m, H-1), 1.30 (1H, m, H-2), 1.96 (1H, m, H-2), 3.71 (1H, m, H-3), 1.30 (1H, m, H-4), 1.96 (1H, m, H-4), 1.40 (1H, m, H-5), 1.30 (1H, m, H-6), 1.96 (1H, m, H-6), 5.38 (1H, brs, H-7), 5.50 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-11), 2.24 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-12), 2.34 (1H, dd, $J = 5.5, 16.8$ Hz, H-12), 2.39 (1H, m, H-14), 0.89 (1H, m, H-15), 1.51 (1H, m, H-15), 4.06 (1H, dd, $J = 4.0, 7.0$ Hz, H-16), 1.47 (1H, dd, $J = 5.0, 9.0$ Hz, H-17), 0.50 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-19), 1.67 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-20), 1.53 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-21), 0.91 (1H, m, H-22), 5.16 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-23), 1.34 (3H, s, H-26), 1.36 (3H, s, H-27), 3.00 (1H, q, $J = 5.0, 9.5$ Hz, H-28), 1.03 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-29), 2.03 (3H, s, OCOCH₃), 4.39 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-1'), 3.13 (1H, d, $J = 1.5, 8.0$ Hz, H-2'), 3.26 (1H, m, H-3'), 3.27 (1H, m, H-4'), 3.34 (1H, m, H-5'), 3.64 (1H, d, $J = 4.5, 10.0$ Hz, H-6'), 3.85 (1H, d, $J = 1.5, 10.0$ Hz, H-6'); ¹³C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 35.9 (C-1), 30.6 (C-2), 78.9 (C-3), 34.7 (C-4), 40.5 (C-5), 31.0 (C-6), 122.1 (C-7), 136.3 (C-8), 145.3 (C-9), 37.1 (C-10), 119.2 (C-11), 43.7 (C-12), 43.8 (C-13), 50.1 (C-14), 39.9 (C-15), 80.9 (C-16), 64.0 (C-17), 13.0 (C-18), 19.9 (C-19), 33.0 (C-20), 20.2 (C-21), 39.9 (C-22), 71.4 (C-23), 70.4 (C-24), 72.0 (C-25), 28.4 (C-26), 26.9 (C-27), 57.0 (C-28), 14.3 (C-29), 21.5 (OCOCH₃), 172.9 (OCOCH₃), 102.4 (C-1''), 75.2 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.7 (C-4''), 78.1 (C-5''), 62.8 (C-6'').

2.5.1.8. Hợp chất **LD8**: (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradehydro-3 β -16 α ,21,24-tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α -stigmastane)

2.5.1.9. Hợp chất **LD9**: *Vernoamyoside E*

2.5.1.10. Hợp chất **LD10**: *Vernonioside B₂*

2.5.1.11. Hợp chất **LD11**: *Vernoniacum B*

2.5.1.12. Hợp chất **LD12**: (23*S*,24*R*,28*S*)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetradehydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone

2.5.1.13. Hợp chất **LD13**: *Vemonioside B₁*

2.5.1.14. Hợp chất **LD14**: *Veramyoside H*

2.5.1.15. Hợp chất **LD15**: *Veramyoside J*

2.5.1.16. Hợp chất **LD16**: *Vernoamyoside A*

2.5.1.17. Hợp chất **LD17**: α -spinasterol

2.5.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài *Vernonia gratiosa*.

2.5.2.1. Hợp chất **VG1**: *Vernogratioides A* (hợp chất mới)

Chất bột rắn, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: - 28 (*c* 0.02, MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 831.3892 $[M+Cl]^-$. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR: quan sát ở bảng 4.3.

2.5.2.2. Hợp chất **VG2**: *Vernogratioides B* (hợp chất mới)

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: - 32 (*c* 0.2, MeOH); CD (*c* 5×10^{-4} , MeOH); HR-ESI-MS *m/z*: 779.4212 $[M-H]^-$ và *m/z* $[M+Cl]^-$ 815.3984. 1H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.36 (1H, m, H-1), 2.00 (1H, m, H-1), 1.60 (1H, m, H-2), 2.02 (1H, m, H-2), 3.72 (1H, m, H-3), 1.39 (1H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-4), 1.40 (1H, m, H-5), 1.95 (1H, m, H-6), 5.43 (1H, brs, H-7), 5.52 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-11), 2.02 (1H, m, H-12), 2.24 (1H, m, H-12), 2.23 (1H, m, H-14), 1.14 (1H, m, H-15), 1.64 (1H, m, H-15), 1.52 (1H, m, H-16), 1.92 (1H, m, H-16), 2.19 (1H, m, H-17), 0.63 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 2.57 (1H, m, H-20), 1.84 (1H, m, H-22), 2.10 (1H, m, H-22), 1.85 (1H, m, H-23), 2.05 (1H, m, H-23), 1.85 (1H, m, H-25), 1.00 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-26), 1.03 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-27), 3.95 (1H, q, *J* = 6.5 Hz, H-28), 1.19 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-29), 4.56 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.42 (1H, dd, *J* = 8.0, 9.0 Hz, H-2'), 3.29 (1H, m, H-3'), 3.34 (1H, m, H-4'), 3.58 (1H, m, H-5'), 3.68 (1H, d, *J* = 5.5, 12.0 Hz, H-6'), 3.87 (1H, d, *J* = 2.0, 12.0 Hz, H-6'), 4.51 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1''), 3.64 (1H, m, H-2''), 3.53 (1H, m, H-3''), 3.88 (1H, m, H-4''), 3.56 (1H, m, H-5''), 3.77 (2H, m, H-6''); ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅): δ_C 36.0 (C-1), 30.6 (C-2), 78.9 (C-3), 35.1 (C-4), 40.6 (C-5), 31.0 (C-6), 121.6 (C-7), 137.3 (C-8), 145.4 (C-9), 37.1 (C-10), 119.5 (C-11), 41.2 (C-12), 43.6 (C-13), 52.6 (C-14), 23.7 (C-15), 26.6 (C-16), 50.5 (C-17), 12.3 (C-18), 20.0 (C-19), 41.8 (C-20), 178.4 (C-21), 23.7 (C-22), 23.0 (C-23), 91.14 (C-24), 36.17 (C-25), 17.2 (C-26), 17.6 (C-27), 78.8 (C-28), 17.9 (C-29), 101.4 (C-1'), 83.6 (C-2'), 77.7 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.7 (C-5'), 62.7 (C-6'), 106.2 (C-1''), 73.5 (C-2''), 74.7 (C-3''), 70.0 (C-4''), 77.1 (C-5''), 62.1 (C-6'').

2.5.2.3. Hợp chất **VG3**: *Vernogratioides C* (hợp chất mới)

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: - 33° (*c* 0.2, MeOH); HR-ESI-MS: *m/z* $[M+H]^+$ 797.4316 và $[M+Na]^+$ 819.4140. 1H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅): δ_H 1.48 (1H, m, H-1), 1.85 (1H, m, H-1), 1.70 (1H, m, H-2), 2.09 (1H, m, H-2), 3.73 (1H, m, H-3), 1.43 (1H, m, H-4), 1.82 (1H, m, H-4), 1.48 (1H, m, H-5), 1.21 (1H, m, H-6), 2.02 (1H, m, H-6), 1.49 (1H, m, H-7), 1.84 (1H, m, H-7), 3.06 (1H, m, H-8), 5.46 (1H, m, H-11), 1.84 (1H, m, H-12), 2.17 (1H, m, H-12), 2.12 (1H, m, H-14), 2.11 (1H, m, H-15), 2.60 (1H, m, H-15), 1.82 (1H, m, H-17), 0.75 (3H, s, H-18), 1.26 (3H, s, H-19), 2.57 (1H, m, H-20), 1.65 (1H, m, H-22), 2.10 (1H, m, H-22), 1.85 (1H, m, H-23), 2.04 (1H, m, H-23),

1.94 (1H, m, H-25), 1.00 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 1.03 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 3.95 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-28), 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 4.55 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.41 (1H, dd, $J = 7.5, 9.0$ Hz, H-2'), 3.29 (1H, m, H-3'), 3.32 (1H, m, H-4'), 3.58 (1H, m, H-5'), 3.67 (2H, d, $J = 5.5, 12.0$ Hz, H-6'), 4.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 3.62 (1H, dd, $J = 8.0, 9.5$ Hz, H-2''), 3.52 (1H, dd, $J = 8.0, 9.5$ Hz, H-3''), 3.87 (1H, m, H-4''), 3.55 (1H, m, H-5''), 3.77 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine- d_5): δ_{C} 35.4 (C-1), 30.2 (C-2), 79.3 (C-3), 36.1 (C-4), 44.0 (C-5), 27.0 (C-6), 26.6 (C-7), 54.2 (C-8), 145.3 (C-9), 39.1 (C-10), 119.8 (C-11), 39.6 (C-12), 42.5 (C-13), 49.7 (C-14), 46.1 (C-15), 212.2 (C-16), 47.1 (C-17), 12.5 (C-18), 18.0 (C-19), 41.1 (C-20), 178.4 (C-21), 23.9 (C-22), 23.0 (C-23), 91.2 (C-24), 36.2 (C-25), 17.2 (C-26), 17.6 (C-27), 71.9 (C-28), 17.9 (C-29), 101.4 (C-1'), 83.7 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.7 (C-6'), 106.2 (C-1''), 73.7 (C-2''), 74.7 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.1 (C-5''), 62.3 (C-6'').

2.5.2.4. Hợp chất VG4: Vernogratioid R (hợp chất mới)

Chất bột rắn vô định hình, màu trắng; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: -35° (c 0.2, MeOH); HR-ESI-MS: m/z $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 873.4033. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 1.36 (1H, m, H-1), 2.00 (1H, m, H-1), 1.60 (1H, m, H-2), 2.02 (1H, m, H-2), 3.73 (1H, m, H-3), 1.40 (1H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-4), 1.42 (1H, m, H-5), 1.21 (1H, m, H-6), 1.95 (1H, m, H-6), 5.43 (1H, brs, H-7), 5.56 (1H, brs, H-11), 2.17 (1H, m, H-12), 2.52 (1H, m, H-14), 1.81 (1H, m, H-15), 2.04 (1H, m, H-15), 5.28 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-16), 2.62 (1H, m, H-17), 0.60 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 2.65 (1H, m, H-20), 1.85 (1H, m, H-22), 1.96 (1H, m, H-22), 1.84 (1H, m, H-23), 2.13 (1H, m, H-23), 1.87 (1H, m, H-25), 1.01 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 1.04 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 3.95 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-28), 1.15 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 4.56 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.42 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2'), 3.30 (1H, m, H-3'), 3.34 (1H, m, H-4'), 3.57 (1H, m, H-5'), 3.67 (1H, m, H-6'), 3.87 (1H, m, H-6'), 4.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 3.63 (1H, m, H-2''), 3.52 (1H, m, H-3''), 3.86 (1H, m, H-4''), 3.55 (1H, m, H-5''), 3.77 (2H, m, H-6''); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 35.9 (C-1), 30.5 (C-2), 79.8 (C-3), 35.1 (C-4), 40.5 (C-5), 30.9 (C-6), 122.2 (C-7), 136.1 (C-8), 145.4 (C-9), 37.1 (C-10), 119.0 (C-11), 41.2 (C-12), 44.3 (C-13), 49.9 (C-14), 33.4 (C-15), 77.4 (C-16), 56.7 (C-17), 13.9 (C-18), 20.0 (C-19), 10.2 (C-20), 178.3 (C-21), 23.9 (C-22), 25.2 (C-23), 90.7 (C-24), 37.2 (C-25), 16.8 (C-26), 17.5 (C-27), 71.8 (C-28), 17.8 (C-29), 101.3 (C-1'), 73.5 (C-2'), 74.7 (C-3'), 70.0 (C-4'), 77.0 (C-5'), 62.7 (C-6'), 106.2 (C-1''), 73.5 (C-2''), 74.7 (C-3''), 70.0 (C-4''), 77.0 (C-5''), 62.1 (C-6'').

2.5.2.5. Hợp chất VG5: Vernogratioid S (hợp chất mới)

Chất rắn vô định hình, màu vàng; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+45.7^\circ$ (c 0.02, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 817.4067 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 1.34 (1H, m, H-1), 2.00 (1H, m, H-1), 1.61 (1H, m, H-2), 2.01 (1H, m, H-2), 3.73 (1H, m, H-3), 1.39 (1H, m, H-4), 1.92 (1H, m, H-4), 1.40 (1H, m, H-5), 1.34 (1H, m, H-6), 1.98 (1H, m, H-6), 5.42 (1H, brs, H-7), 5.49 (1H, brs, H-11), 2.16 (1H, m, H-12), 2.12 (1H, m, H-14), 1.63 (1H, m, H-15), 2.07 (1H, m, H-15), 2.07 (1H, m, H-16), 1.40 (1H, m, H-16), 1.82 (1H, m, H-17), 0.60 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 2.24 (1H, m, H-20), 1.82 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-22), 1.16 (1H, m, H-23, H-24), 1.16 (3H, s, H-26), 1.17 (3H, s, H-27), 1.63 (1H, m, H-28),

0.99 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-29), 4.55 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.41 (1H, dd, $J = 7.5, 8.5$ Hz, H-2'), 3.30 (1H, m, H-3'), 3.36 (1H, m, H-4'), 3.57 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 3.67 (1H, dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz, H-6'), 3.87 (1H, dd, $J = 2.5, 12.0$ Hz, H-6'), 4.51 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.63 (1H, dd, $J = 8.0, 10.0$ Hz, H-2''), 3.52 (1H, dd, $J = 3.0, 10.0$ Hz, H-3''), 3.88 (1H, m, H-4''), 3.53 (1H, m, H-5''), 3.76 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 36.0 (C-1), 30.6 (C-2), 79.9 (C-3), 35.1 (C-4), 40.5 (C-5), 31.0 (C-6), 121.7 (C-7), 137.3 (C-8), 145.3 (C-9), 37.1 (C-10), 119.4 (C-11), 41.1 (C-12), 43.2 (C-13), 52.5 (C-14), 33.3 (C-15), 28.6 (C-16), 53.9 (C-17), 11.6 (C-18), 19.9 (C-19), 50.1 (C-20), 178.5 (C-21), 23.8 (C-22), 29.6 (C-23), 52.8 (C-24), 74.7 (C-25), 27.3 (C-26), 27.1 (C-27), 24.7 (C-28), 14.3 (C-29), 101.4 (C-1'), 83.7 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.7 (C-5'), 62.7 (C-6'), 106.2 (C-1''), 73.5 (C-2''), 74.5 (C-3''), 70.0 (C-4''), 77.1 (C-5''), 62.1 (C-6'').

2.5.2.6. Hợp chất VG6: Vernoratoside A (hợp chất mới)

Chất rắn vô định hình màu trắng; HR-ESI-MS: m/z 741.3583 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$.

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +44.5 (c 0.2, MeOH); ^1H NMR (600 MHz, pyridine- d_5): δ_{H} 1.38 (1H, m, H-1), 2.02 (1H, m, H-1), 1.73 (1H, m, H-2), 2.00 (1H, m, H-2), 3.73 (1H, m, H-3), 1.35 (1H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-4), 1.43 (1H, m, H-5), 1.94 (2H, m, H-6), 5.43 (1H, m, H-7), 3.06 (1H, m, H-8), 5.55 (1H, m, H-11), 2.18 (1H, m, H-12), 2.25 (1H, m, H-12), 2.52 (1H, m, H-14), 1.76 (1H, m, H-15), 5.35 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-16), 2.13 (1H, m, H-17), 0.65 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 2.25 (1H, m, H-20), 4.93 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 4.47 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, H-22), 4.39 (1H, brd, $J = 4.0$ Hz, H-23), 1.88 (1H, m, H-25), 0.97 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-26), 1.03 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 3.81 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-28), 1.18 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 2.00 (3H, s, 16- CH_3COO), 3.48 (3H, s, 21- OCH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine- d_5): δ_{C} 36.0 (C-1), 30.6 (C-2), 78.9 (C-3), 35.0 (C-4), 40.5 (C-5), 31.0 (C-6), 122.3 (C-7), 136.3 (C-8), 145.3 (C-9), 37.1 (C-10), 119.0 (C-11), 41.1 (C-12), 44.1 (C-13), 50.1 (C-14), 34.2 (C-15), 79.1 (C-16), 55.0 (C-17), 13.5 (C-18), 19.9 (C-19), 52.7 (C-20), 110.6 (C-21), 83.8 (C-22), 83.7 (C-23), 83.6 (C-24), 31.1 (C-25), 17.5 (C-26), 18.1 (C-27), 82.7 (C-28), 14.1 (C-29), 102.4 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6'), 172.3 (16- CH_3COO), 21.6 (16- CH_3COO), 56.7 (21- OCH_3).

2.5.2.7. Hợp chất VG7: Vernoratoside B (hợp chất mới)

Chất rắn vô định hình, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +30.6 (c 0.2, MeOH); HR-ESI-MS: m/z 727.3466 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$. ^1H NMR (600 MHz, pyridine- d_5): δ_{H} 1.39 (1H, m, H-1), 2.04 (1H, m, H-1), 1.63 (1H, m, H-2), 2.00 (1H, m, H-2), 3.72 (1H, m, H-3), 1.36 (1H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-4), 1.43 (1H, m, H-5), 1.95 (2H, m, H-6), 5.44 (1H, m, H-7), 5.59 (1H, brd, $J = 5.5$ Hz, H-11), 2.24 (2H, m, H-12), 2.53 (1H, m, H-14), 1.80 (1H, m, H-15), 5.30 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-16), 1.92 (1H, m, H-17), 0.64 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 1.78 (1H, m, H-20), 5.54 (1H, s, H-21), 4.31 (1H, m, H-22), 4.90 (1H, m, H-23), 1.90 (1H, m, H-25), 0.92 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 0.93 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-27), 4.10 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-28), 1.12 (3H, d, $J = 8.0$ Hz, H-29), 2.00 (3H, s, 16- CH_3COO); ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine- d_5): δ_{C} 35.9 (C-1), 30.6 (C-2), 78.9 (C-3), 35.0 (C-4),

40.5 (C-5), 31.0 (C-6), 122.3 (C-7), 136.3 (C-8), 145.2 (C-9), 37.2 (C-10), 119.2 (C-11), 41.1 (C-12), 44.1 (C-13), 50.1 (C-14), 34.3 (C-15), 79.2 (C-16), 55.1 (C-17), 14.0 (C-18), 19.9 (C-19), 53.0 (C-20), 101.7 (C-21), 77.3 (C-22), 83.6 (C-23), 91.9 (C-24), 30.6 (C-25), 17.4 (C-26), 18.0 (C-27), 81.2 (C-28), 20.1 (C-29), 102.4 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6'), 172.3 (16-CH₃COO), 21.7 (16-CH₃COO).

2.5.2.8. Hợp chất **VG8**: *VE1*

2.5.2.9. Hợp chất **VG9**: *Vernoniacum B*

2.5.2.10. Hợp chất **VG10**: *Kaempferol*

2.5.2.11. Hợp chất **VG11**: *Quercetin 3-O-methyl ether*

2.5.2.12. Hợp chất **VG12**: *Quercetin*

2.5.2.13. Hợp chất **VG13**: *Apigenin*

2.5.2.15. Hợp chất **VG14**: *Syringaresinol-β-D-glucoside*

2.5.2.16. Hợp chất **VG15**: *3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3 hydroxy-1-(E)-propenyl)-2,6-dimethoxy phenoxy]propyl-β-D-glucopyranoside*

2.5.2.17. Hợp chất **VG16**: *11β,13-dihydroveranolide*

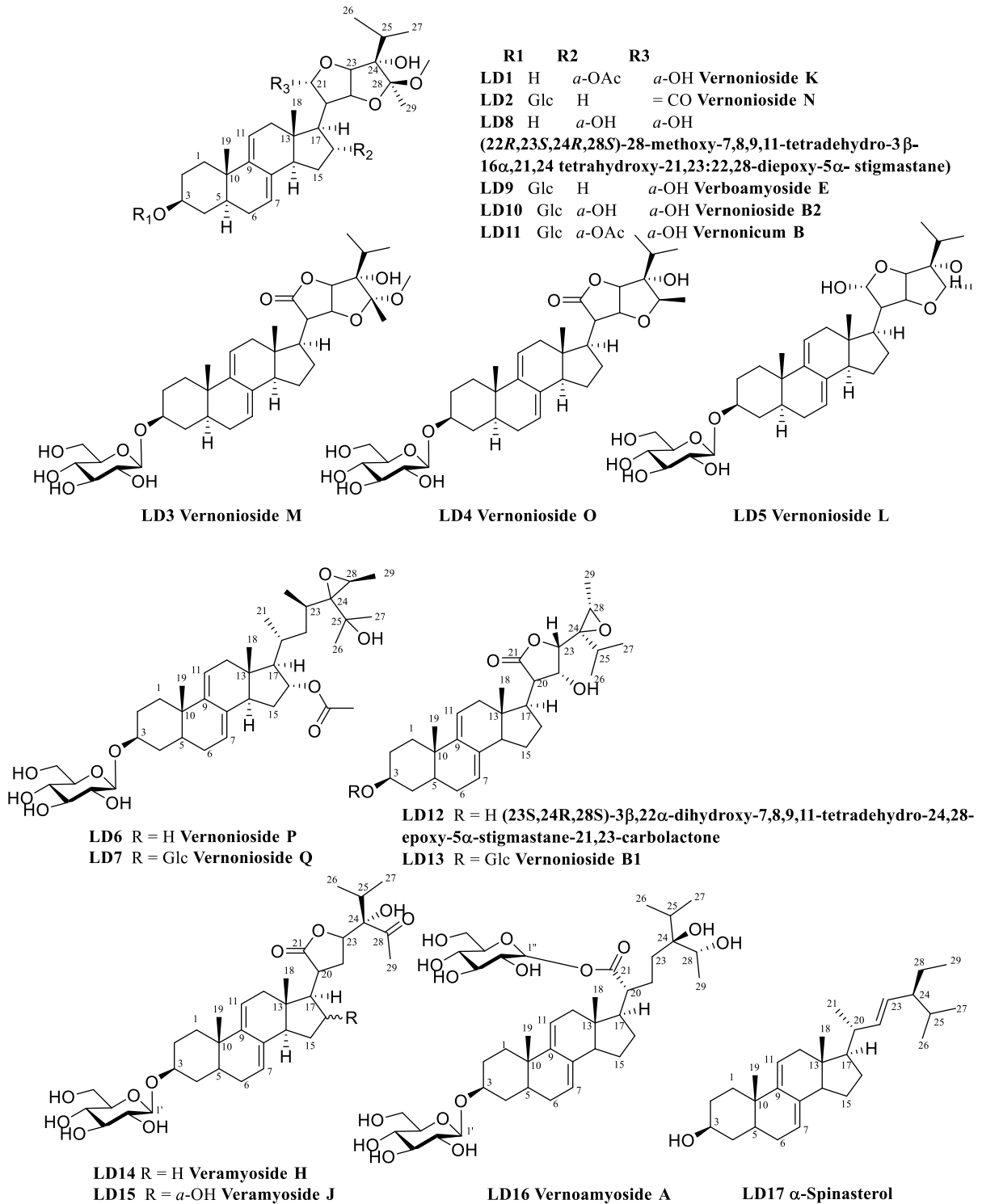
2.5.2.18. Hợp chất **VG17**: *5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde*

CHƯƠNG 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

Phần này trình bày chi tiết kết quả phân tích phổ và xác định cấu trúc của 17 hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina* và 17 hợp chất phân lập từ loài *V. gratiosa*, trong đó có 14 hợp chất mới và 20 hợp chất đã biết.

Tổng hợp cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa* được trình bày dưới đây:



Hình 3.1. Các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

3.1.1. Hợp chất **LD1**: *Vernonioside K* (hợp chất mới)

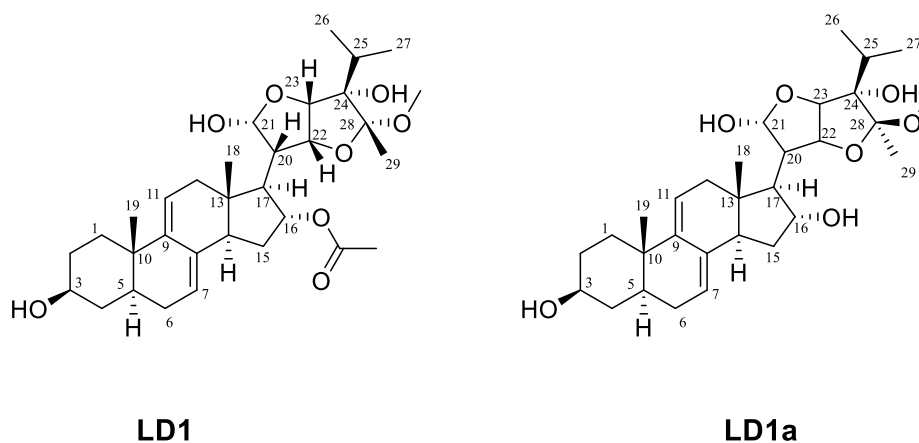
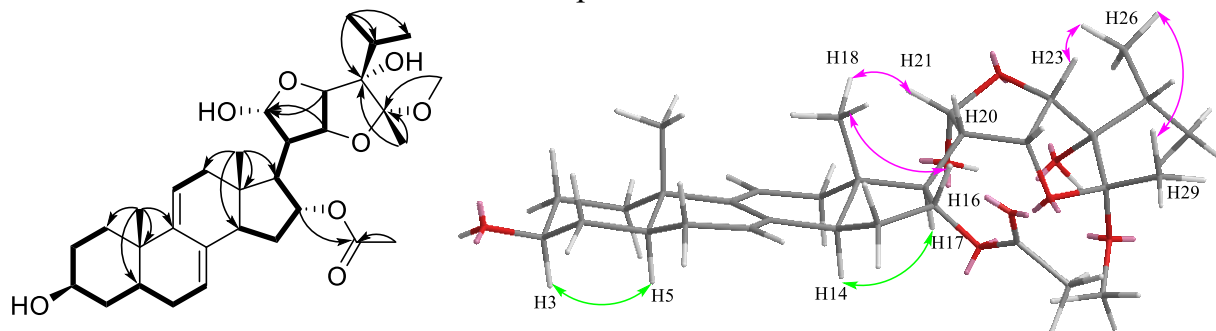
Hợp chất **LD1** phân lập được ở dạng chất rắn vô định hình, màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất **LD1** được xác định là $C_{32}H_{48}O_8$ dựa trên phổ khối HR-ESI-TOF-MS tại m/z 583,3248 $[M + Na]^+$ (tính toán cho $C_{32}H_{48}NaO_8^+$, 583.3241).

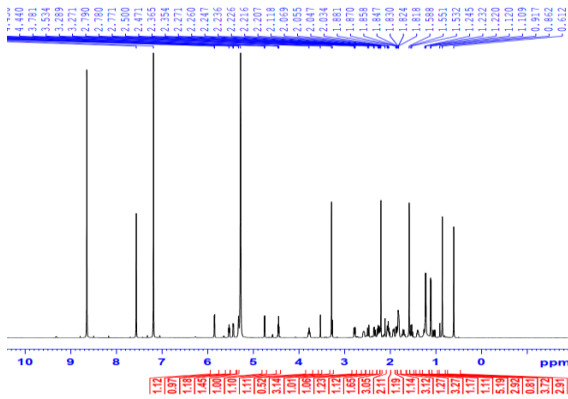
Phổ 1H và ^{13}C -NMR của hợp chất **LD1** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmastane steroid tương tự với cấu trúc của hợp chất **LD1a**. Trên phổ 1H -NMR của **LD1** quan sát thấy các tín hiệu của hai proton olefinic [δ_H 5.33 (1H, brs, H-7), 5.44 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-11)], một oxymethine đặc trưng của H-3 [δ_H 3.78 (1H, m, H-3)], một nhóm isopropyl [δ_H 2.27 (1H, m, H-25), 1.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26), 1.23 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-27)], ba proton methyl singlet [δ_H 0.61 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-29)], một nhóm methyl singlet tại δ_H 2.21 (3H, s) đặc trưng của nhóm acetyl, và một nhóm methoxyl [δ_H 3.29 (3H, s, 28-OCH₃)]. Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **LD1** cho thấy sự có mặt của 32 tín hiệu carbon, trong đó 06 cacbon không liên kết với proton, 06 nhóm methylene, 04 cacbon olefinic, 01 nhóm acetyl, 05 nhóm methyl và 01 nhóm methoxy. Thêm vào đó, các proton cạnh nhau trong cấu trúc của **LD1** được xác định dựa trên các tương tác trên phổ COSY, cụ thể là H-2/H-1 và H-3, H-4/H-3 và H-5, H-6/H-5 và H-7, H-11/H-12, H-15/H-14 và H-16, H-16/H-17, H-20/H-21 và H-22, H-22/H-23, H-25/H-26 và H-27 (Hình 12). Các tương tác này cũng cho phép xác định cấu trúc các mảnh của vòng A-D và hai vòng furan của mạch nhánh của **LD1**. Thêm vào đó, tương tác HMBC của proton H-11 với C-8/C-9/C-10/C-13; của H-7 và C-5/C-8/C-9/C-15 chỉ ra vị trí của hai liên kết đôi là ở 7(8) và 9(11). Vị trí của nhóm acetyl tại C-16 được xác định thông qua tương tác HMBC của H-16 đến δ_C 170.8 (CH₃COO). Đối với mạch nhánh của hợp chất **LD1**, phổ HMBC cho thấy sự tương tác của H-26/H-27 và C-24, cho phép xác định vị trí của nhóm isopropyl tại C-24. Ngoài ra, vị trí của các methoxy và methyl tại C-28 được xác định dựa trên các tương tác HMBC của 28-OCH₃/H-29 với C-28. Các tương tác HMBC của H-20 và C-21/C-22, của H-21 và C-22/C-23, của H-22 và C-20/C-23, của H-23 và C-21/C-24 xác nhận sự hiện diện của hai vòng furan, liên kết với nhau qua C-22 và C-23 (Hình 12). Cuối cùng, mạch nhánh này dính vào vị trí C-17 được xác định bởi liên kết HMBC của H-17 và C-20 cũng như tương tác H-17/H-20 trên phổ COSY (Hình 12). Cuối cùng, hóa lập thể của hợp chất **LD1** được xác định thông qua phổ ROESY. Phổ ROESY của **LD1** chỉ ra tương tác giữa H-3 và H-5, H-14 và H-17, H-18 và H-16 và H-19, cho phép xác định các hệ thống vòng A/B và C/D ngưng tụ với nhau theo dạng *trans*; các proton H-16, H-18 và H-19 có cấu hình β ; và H-3, H-5 và H-17 có cấu hình α (Hình 13). Hơn nữa, tương tác ROESY giữa H-17 và 28-OCH₃ chỉ ra rằng các proton này có cấu hình α , trong khi tương tác giữa H-20 và H-18/H-21/H-27, giữa H-23 và H-22/H-27/H-29 chỉ ra rằng các proton này có cấu hình β (Hình 13). Từ các dữ liệu phân tích trên, cho thấy cấu trúc của hợp chất **LD1** có độ tương đồng rất cao so với hợp chất **LD1a**, ngoại trừ việc thay thế nhóm hydroxy ở vị trí C-16 của **LD1a** bằng nhóm acetyl ở **LD1** (Hình 3.2). Do đó, cấu trúc của hợp chất **LD1** được xác định như trong Hình 3.2, tra cứu Scifider cho thấy đây là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside K.

Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H (500 MHz), ^{13}C NMR (125 MHz) của hợp chất **LD1** và **LD1a**

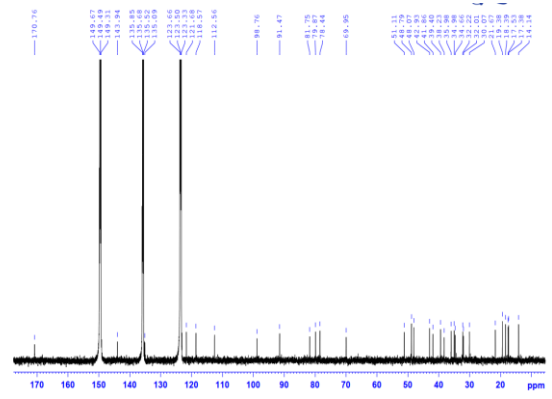
C	# $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	# $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35.2	35.0	1.23, m [*] /1.87, (m) [*]	17	56.1	51.1	2.79, dd (5.4, 11.4)
2	32.5	32.0	1.71, m [*] / 2.02, (m)	18	14.6	14.1	0.61, s
3	70.2	70.0	3.78, m	19	19.7	19.4	0.86, s
4	38.8	38.2	1.54, q (12.0)	20	48.6	48.8	2.58, m
5	39.6	39.4	1.40, m	21	99.2	98.8	2.22, m [*]
6	30.4	30.1	1.82, m [*]	22	81.0	79.9	4.45, t, (6.0)
7	121.5	121.7	5.33, br s	23	91.2	91.5	4.75, d (6.0)
8	135	135.1		24	82.0	81.8	
9	144.2	143.9		25	32.4	32.2	2.27, m [*]
10	36.2	36.0		26	17.5	17.4	1.11, d (6.6)
11	118.6	118.6	5.44, d (6.0)	27	18.5	18.4	1.23, d (6.6)
12	41.8	41.9	2.35, dd (6.6, 16.8)	28	113.4	112.	
13	43.7	42.9		29	17.5	17.5	1.59, s
14	49.2	48.8	2.58, m	OC	48.5	48.1	3.29, s
15	35.3	34.7	1.92, m [*] / 2.05 [*] , (m)	CH ₃		170.	
16	76.3	78.4	5.53, t (6.0)	CH ₃		21.7	2.21, s

^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} của **LD1a**, * Tín hiệu bị chồng lấp

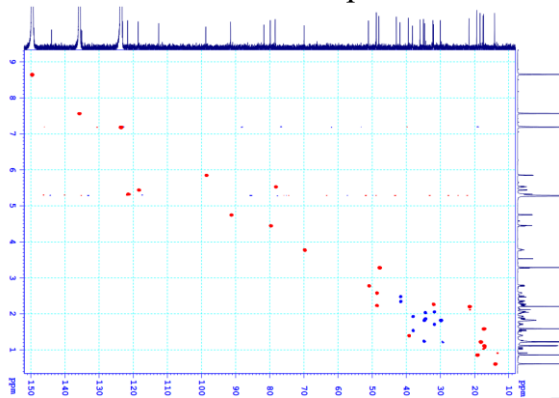
Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD1** và chất tham khảo **LD1a**Hình 3.3. Các tương tác COSY, HMBC, NOESY chính của hợp chất **LD1**



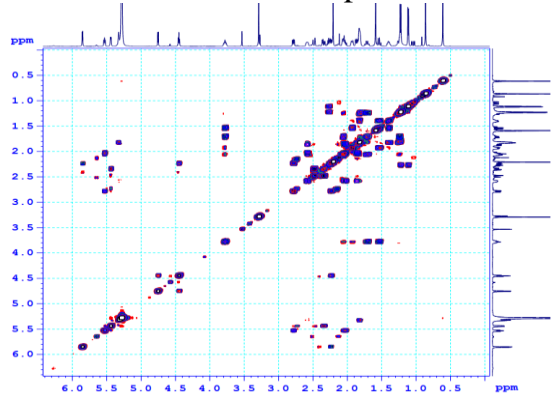
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **LD1**



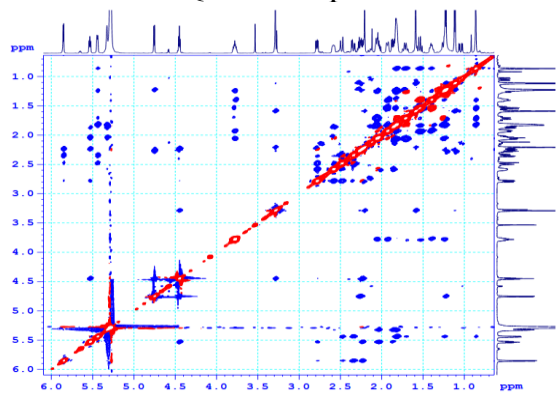
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **LD1**



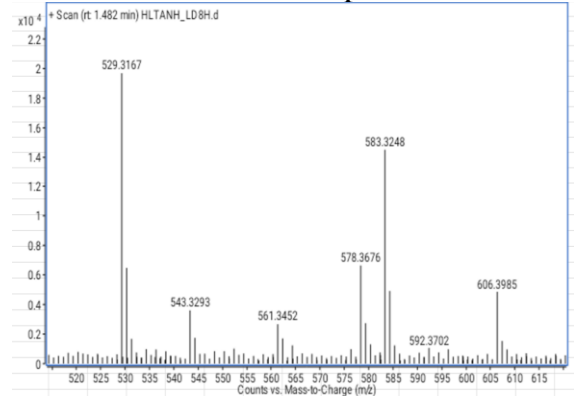
Phổ HSQC của hợp chất **LD1**



Phổ COSY của hợp chất **LD1**

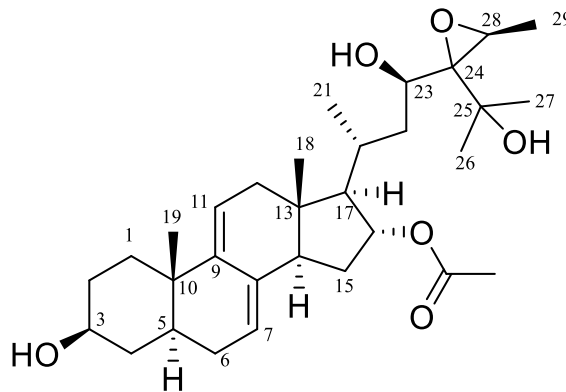


Phổ ROESY của hợp chất **LD1**



Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **LD1**

3.1.2. Hợp chất LD6; Vernonioid P (hợp chất mới)



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD6**

Hợp chất **LD6** phân lập được có dạng tinh thể màu trắng. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **LD6** xuất hiện pic ion phân tử tại m/z 551.3118 $[M+Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{29}H_{39}O_4Cl$: 551.3139). Công thức phân tử của **LD6** được xác định là $C_{31}H_{48}O_6$. Phổ 1H -NMR của **LD6** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung stigmasterane steroid và có cấu trúc tương tự các hợp chất (**LD1-LD5**) ngoại trừ cấu trúc của phần mạch nhánh. Đối với mạch nhánh, phổ 1H -NMR cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methyl doublet [δ_H 1.05 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-21), 1.56 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-29)], hai nhóm methyl bậc 4 [δ_H 1.35 (3H, s, H-26), 1.37 (3H, s, H-27)], hai nhóm oxymethine [δ_H 4.93 (1H, dd, $J = 4.0, 7.0$ Hz, H-23), 3.02 (1H, q, $J = 4.0, 9.5$ Hz, H-28)], một nhóm methine và một nhóm methylene ở vùng trường cao [1.72 (1H, m, H-20), 0.94 (2H, m, H-22)]. Cấu trúc của mạch nhánh được chứng minh bằng tương tác COSY của H-20/ H-21/ H-22/ H-23 (Hình 32) cũng như tương tác HMBC của H-21 và C-20/ C-22, H-23 với C-24/ C-28/ C-25, và H-29 với C-24/ C-28, H-26/H-27 với C-24/ C-25.

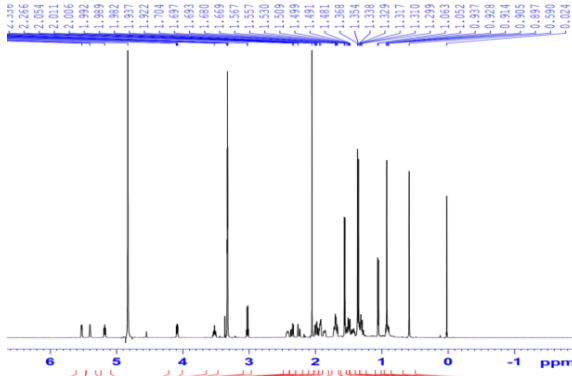
Cấu hình tương đối của **LD6** được xác định thông qua phổ ROESY. Trên phổ ROESY cho thấy các tương tác của H-16/ H-18, H-18/ H-19, H-18/ H-20 cho phép xác định cấu hình β của các proton này. Mặt khác, trên phổ ROESY cũng xuất hiện tương tác của các proton H-3 /H-5, H-14/ H-17, H-17/ H-21, H-21/ H-23, H-23/ H-28 chỉ ra cấu hình α của các proton này Hình 32. Từ các phân tích trên cấu hình của hợp chất **LD6** được xác định như trong Hình 31. Tra cứu trên hệ thống Scifinder cho thấy đây là một hợp chất mới được đặt tên là vernonioside P.

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ 1H (125 MHz) và ^{13}C NMR-(500 MHz) của hợp chất **LD6** và hợp chất tham khảo

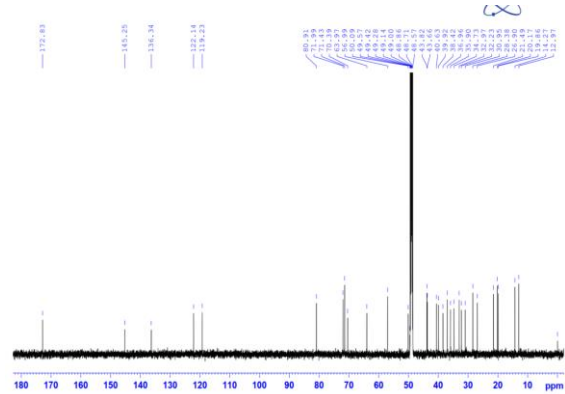
C	# δ_C^a	δ_C^a	δ_H^a (độ bội $J = \text{Hz}$)	C	# δ_C^a	δ_C^a	δ_H^a (độ bội $J = \text{Hz}$)
1	35.9	35.9	1.33, m/ 2.00,	19	19.9	19.9	0.93, s
2	30.6	30.9	1.28, m/ 1.71,	20	33.0	33.0	1.72, m
3	78.9	71.4	3.35, m	21	13.0	20.2	1.05, d (5.5)
4	34.7	34.7	1.44, m 1.86, brd (1.5,	22	47.8	39.9	0.94, m 1.52 (m)
5	39.9	40.6	1.41, m	23	80.9	71.4	4.09, dd (4.0,
6	30.6	31.0	1.30, m	24	71.0	70.4	4.06, dd (4.0,
7	122.1	122.1	5.40, brs	25	70.0	72.0	-
8	136.9	136.3	-	26	28.4	28.4	1.35, s
9	145.2	145.3	-	27	26.9	26.9	1.37, s
10	37.1	37.0	-	28	63.9	57.0	3.02, q (5.0,
11	119.2	119.2	5.53, d (5.5)	29	14.3	14.3	1.56, d (5.0)
12	40.5	43.7	2.24, d (16.8)	OCOCH ₃	21.5	21.5	2.05, s
13	43.6	43.8	-	OCOCH ₃	172.8	172.8	
14	50.1	50.1	2.42, m	1'	102.4		
15	34.7	38.4	1.67, d (5.5) 1.95, m	2'	75.1		
16	70.0	80.9	5.18, t (5.5)	3'	77.9		

17	57.0	64.0	1.49, dd (5.0,	4'	71.7
18	14.2	13.0	$\tilde{0}\tilde{5}\tilde{9}$, s	5'	78.1
				6'	62.8

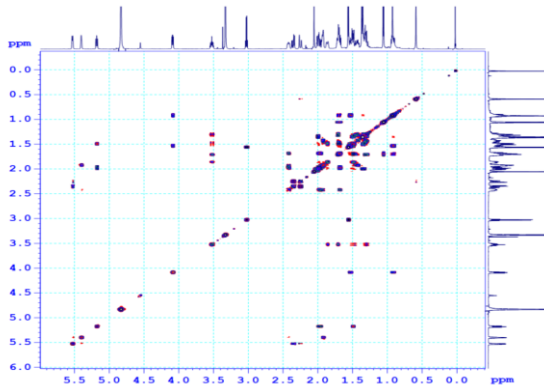
^a pyridine-d₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] δ_C của hợp chất **LD7**



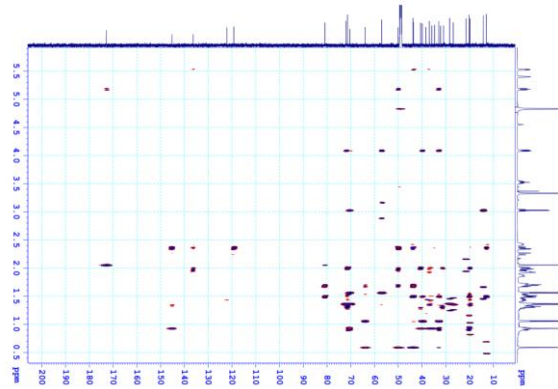
Phổ ¹H-NMR của hợp chất **LD6**



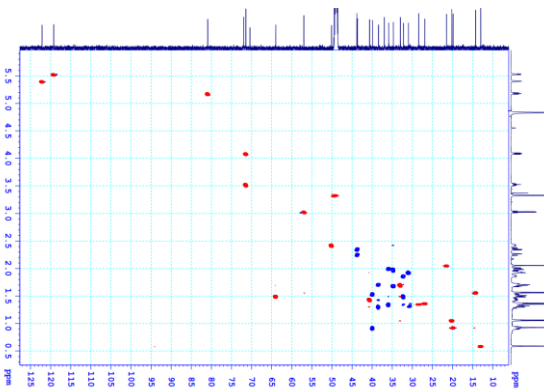
Phổ ¹³C-NMR của hợp chất **LD6**



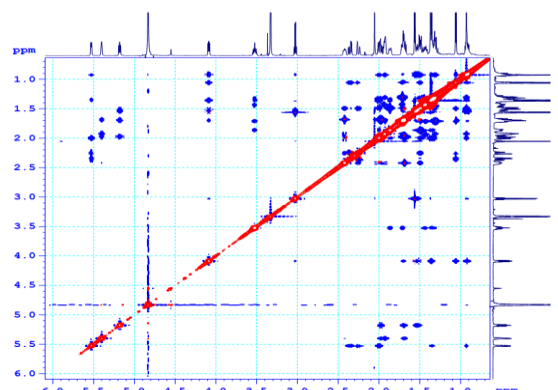
Phổ COSY-NMR của hợp chất **LD6**



Phổ HMBC của hợp chất **LD6**



Phổ HSQC của hợp chất **LD6**



Phổ ROESY của hợp chất **LD6**

3.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ loài *Vernonia gratiosa*

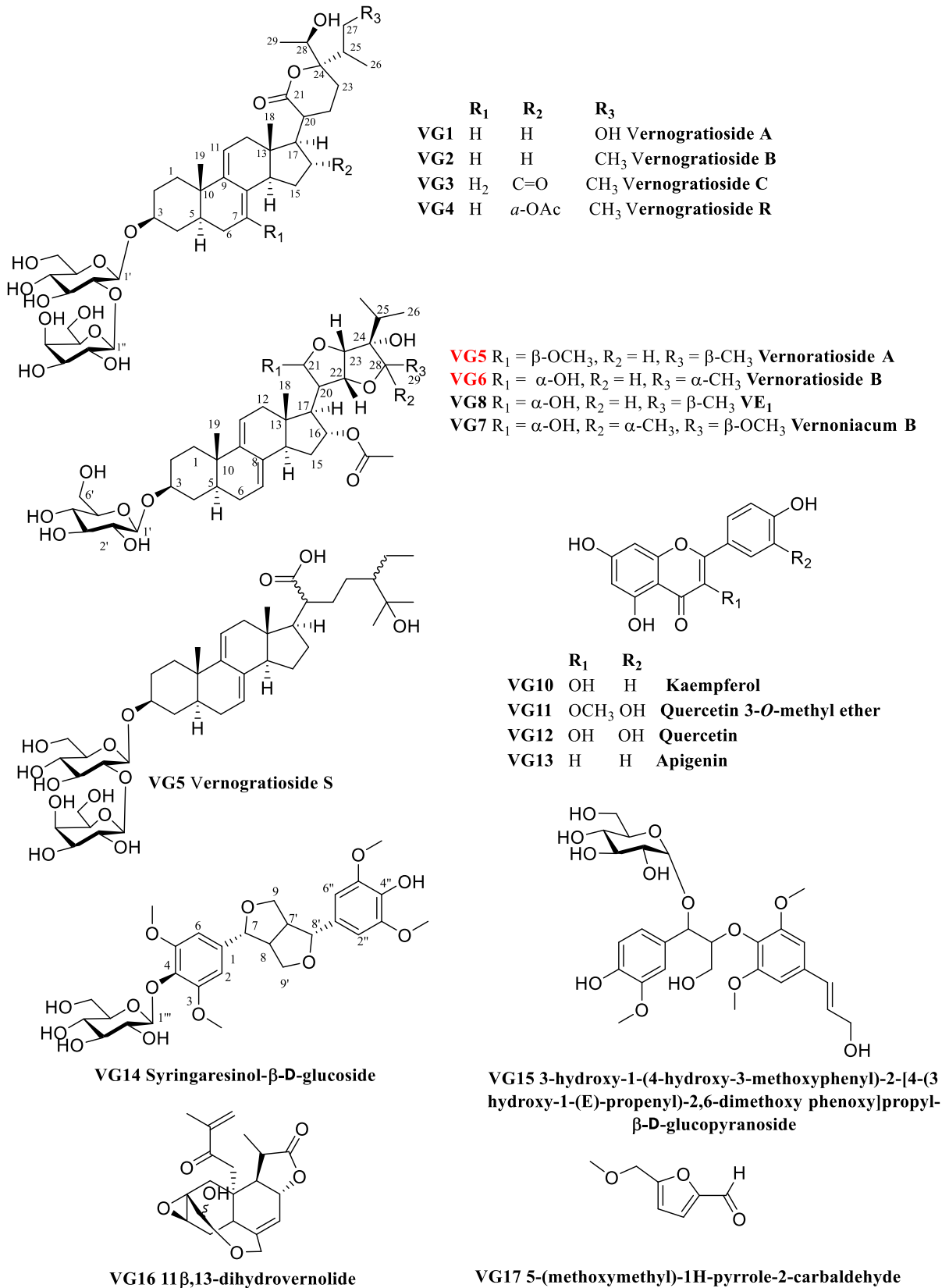


Figure 3.5. Chemical structures of isolated compounds from *V. gratiosa*

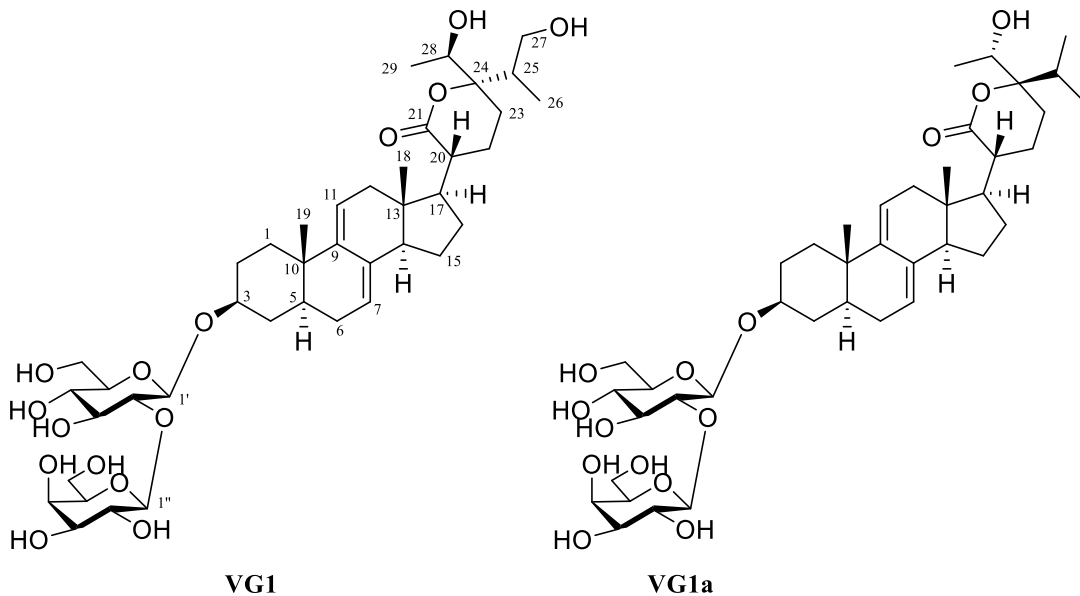
3.3.1. Hợp chất **VG1**; Vernogratioid A (hợp chất mới)

Hợp chất **VG1** phân lập được ở dạng bột vô định hình màu trắng có công thức phân tử $C_{41}H_{64}O_{15}$, được xác định từ phổ HR-ESI-MS tại m/z $[M+Cl]^-$ 831,3892; (tính toán cho $C_{41}H_{64}ClO_{15}^-$, 831,3939) (Hình 3.6).

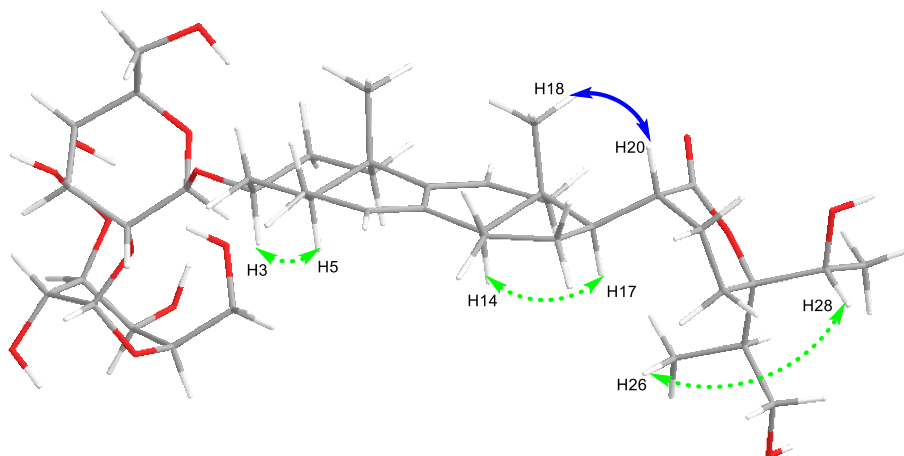
Từ dữ liệu phổ 1D, 2D-NMR của hợp chất **VG1** cũng như so sánh với dữ liệu phổ các hợp chất vernocuminoside I đã được công bố trước đây (TLTK) cho thấy **VG1** là một hợp chất saponin steroid khung stigmastane với hai nối đôi liên hợp đặc trưng $\Delta^{7,9(11)}$ với mạch nhánh là vòng δ -lactone (Bảng 23). Thật vậy, phổ 1H NMR của **VG1** hiển thị tín hiệu của hai proton olefinic [δ_H 5.43 (1H, s, H-7) và 5.50 (1H, brd, $J = 5.5$ Hz, H-11)], một methine liên kết với oxy đặc trưng của H-3 [δ_H 3.72 (1H, m, H-3)], hai nhóm methyl bậc bốn [δ_H 0.66 (3H, s, H-18) và 0.94 (3H, s, H-19)], một nhóm propanyl [δ_H 2.12 (1H, m, H-25), 1.06 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26) và 3.45 (2H, m, H-27)] và một nhóm methyl doublet khác [δ_H 1.26 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29)]. Ngoài ra, tín hiệu của các methine proton của đơn vị đường glucopyranosyl và galactopyranosyl cũng như hai proton anomeric [δ_H 4.55 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1') và 4.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'')] cũng xuất hiện trên phổ 1H -NMR. Hằng số ghép cặp lớn ($J = 7.5$ Hz giữa H-1' và H-2', $J = 8.0$ Hz giữa H-1'' và H-2'') cho phép xác định cấu hình β của các phân tử đường. Từ dữ liệu ^{13}C -NMR của **VG1** cho thấy sự xuất hiện của 42 tín hiệu cacbon, trong đó có 29 tín hiệu của aglycone và 12 tín hiệu của hai đơn vị đường. Dữ liệu ^{13}C -NMR cũng cho thấy sự tồn tại của nhóm carbonyl [δ_C 177.4 (C-21), bốn olefinic cacbon [δ_C 121.7 (C-7), 137.2 (C-8), 145.4 (C-9), 119.4 (C-11)], hai nhóm methine liên kết với oxy [δ_C 79.9 (C-3), 71.1 (C-28) và bốn methyl cacbon [δ_C 11.9 (C-18), 19.9 (C-19), 12.6 (C-26), 17.6 (C-29)] cho phần aglycone. Sự tồn tại của vòng δ -lacton ở mạch nhánh trong cấu trúc của **VG1** được xác định nhờ tương tác COSY giữa H-20/H-22/H-23, H-25/H-26/H-27 và H-28/H-29, cùng với tương tác HMBC giữa H-22 và C-21/C-24, H-26 và C-24/C-25/C-27, và H-29 và C-24/C-28 (Hình 52). Tương tác HMBC từ H-17 đến C-20/C-21 gợi ý vị trí nhánh δ -lactone tại C-17 của aglycone. Tương tác HMBC từ H-1' (δ_H 4.55) đến C-3 (δ_C 79.9) chứng tỏ rằng nhóm β -D-glucosyl liên kết với C-3. Vị trí của đường galactopyranosyl tại C-2' được nhận biết bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-2' (δ_C 83.6) so với C-2' (δ_C 75.1) của glucose trong vernocuminoside H, bên cạnh đó điều này cũng được khẳng định bởi tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 4.51) với C-2' (δ_C 83.7). So sánh dữ liệu NMR của **VG1** và dữ liệu NMR của vernocuminoside I (Ver I), cho thấy sự tương đồng rất cao. Sự khác biệt chính là việc thay thế nhóm oxymethylene tại C-27 ở **VG1** bởi nhóm methyl ở **Ver I (VG1a)**. Điều này cũng được xác nhận bởi mối tương quan HMBC của H-27 với C-24, C-25, và C-26. Như vậy, cấu trúc phẳng của **VG1** đã được xác định (Hình 3.6).

Cấu hình tương đối của **VG1** được xác định bởi phổ NOESY. Cụ thể, tương tác NOESY của H-3/H-5, H-14/H-17 và H-18/H-19 chỉ ra rằng A/B và C/D hợp nhất với nhau theo dạng trans, H-18 và H-19 có cấu hình β và H-3, H-5 và H-17 có cấu hình α . Ngoài ra, tương tác NOESY của H-18/H-20 cũng cho phép xác định cấu hình β của H-20 và cấu hình α của vòng lacton E (Hình 5). Cấu hình tương đối của C-24 và C-28 được xác định bởi tương tác NOESY từ H-26 đến H-28. Cấu hình tuyệt đối của C-24 được

xác định dựa trên phổ ECD (Hình 61). Phân tích phổ ECD của **VG1** thấy sự xuất hiện hiệu ứng Cotton dương ở bước sóng 210 nm (+2.82) và 243 nm (+10.78) đối lập với hợp chất vernocuminoside H, một saponin mới được báo cáo từ chi *Vernonia* có cấu hình 24*R*, cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG1** là *S*. Bên cạnh đó, cấu hình của C-28 đã được xác định dưới dạng *R*, như một sản phẩm của quá trình sinh tổng hợp. Cấu hình tuyệt đối của hai phân tử đường được xác định là β -D-glucopyranoside và β -D-galactopyranoside dựa trên sự thủy phân hợp chất **VG1**, sau các đường đơn sau đó được tinh chế bằng TLC điều chế với hệ dung môi EtOAc–isopropanol–acetone–H₂O: 20–10–7–6), và so sánh R_f và $[\alpha]_D^{20}$ của chúng với các phân tử đường chuẩn: β -D-glucose (R_f 0.40, $[\alpha]_D^{20} + 40$ (H₂O, c 0.5) and β -D-galactose (R_f 0.31, $[\alpha]_D^{20} + 52$ (H₂O, c 0.5). Kết quả là, chất **VG1** được xác nhận là một hợp chất mới và được đặt tên là vernogratiside A (Hình 3.6).



Hình 3.6. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG1** và chất tham khảo **VG1a**

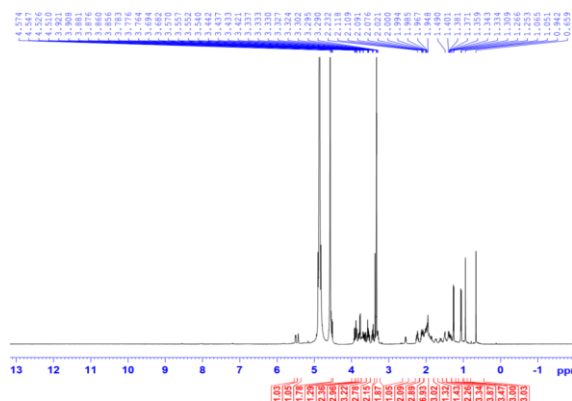
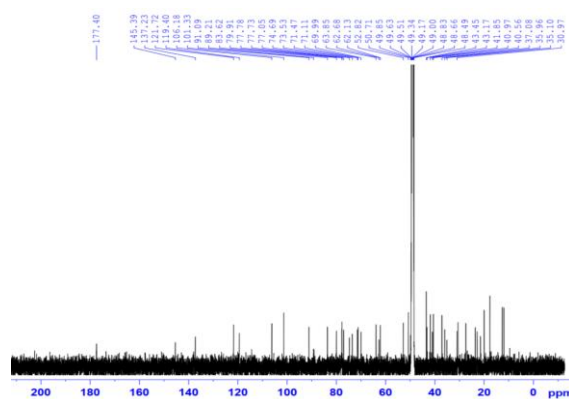


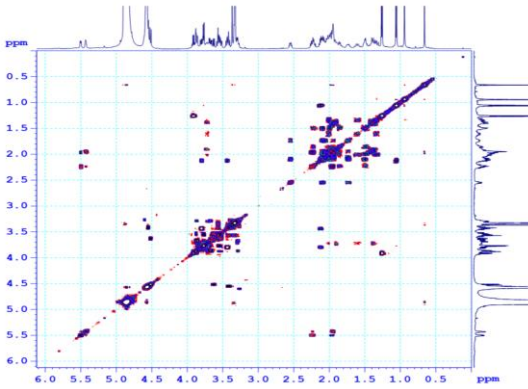
Hình 3.7. Tương tác NOESY của hợp chất **VG1**

Bảng 3.4. Dữ liệu phổ ^1H (500 MHz) và ^{13}C -NMR (125 MHz) của hợp chất **VG1**

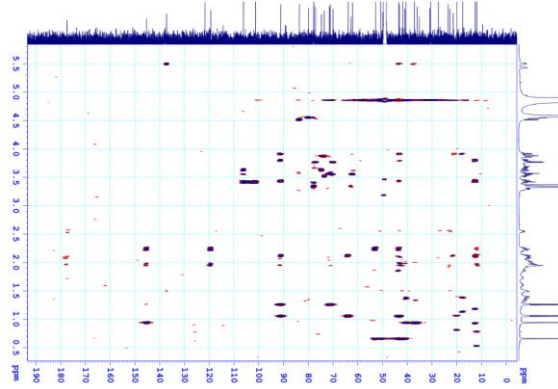
C			VG1	C		
	# $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (Độ bội $J = \text{Hz}$)	# $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (Độ bội $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36.0	1.33, m, 2.00, m	21	178.	177.
2	30,6	30.6	1.61, m, 2.02, m	22	23.7	27.4 1.14, m, 1.55, m
3	79,9	79.9	3.72, m	23	23.0	23.5 1.60, m
4	35,1	35.1	1.40, m, 1.90, m	24	91.1	91.1
5	40,6	40.6	1.39, m	25	36.2	43.4 2.12, m
6	31,0	31.0	1.96, m	26	17.2	12.6 1.06, s
7	121,6	121.7	5.43, s	27	17.6	63.9 3.45, m, 3.80, m
8	137,3	137.2		28	71.8	71.1 3.91, m
9	145,4	145.4		29	17.9	17.6 1.26, d (6.5)
10	37.1	37.1		1'	101.	101. 4.55, d (7.5)
11	119.5	119.4	5.50, d (6.5)	2'	83.7	83.6 3.42, m
12	41.2	41.0	1.96, m, 2.23, m	3'	77.7	77.7 3.29, m
13	43.6	43.2		4'	71.5	71.5 3.34, m
14	52.6	52.8	1.15, m	5'	77.7	77.8 3.60, m
15	23.7	23.7	1.81, m, 1.48, m	6'	62.7	62.7 3.68, m, 3.89, m
16	26.6	27.4	1.98, m, 1.50, m	1''	106.	106. 4.51, d (8.0)
17	50.4	50.7	1.79, m	2''	73.5	73.5 3.64, m
18	12.3	11.9	0.61, s	3''	74.7	74.7 3.53, m
19	20.0	19.9	0.95, s	4''	70.0	70.0 3.89, m
20	41.7	41.9	2.55, m	5''	77.0	77.0 3.55, m
21	178.4	177.4		6''	62.1	62.1 3,77, m

^a CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, # δ_{C} **VG1a**, *tín hiệu bị chồng lấp

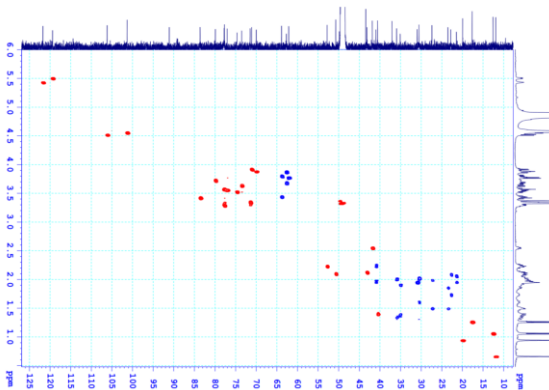
Phổ ^1H -NMR của hợp chất **VG1**Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **VG1**



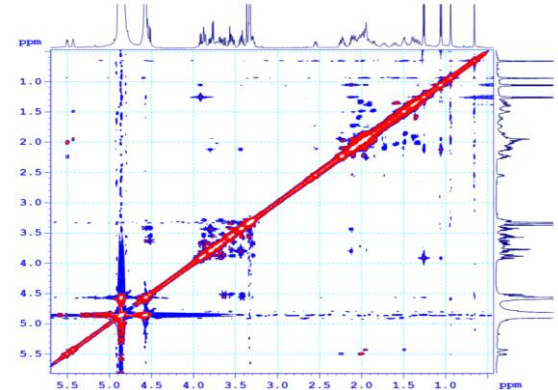
Phổ COSY của hợp chất VG1



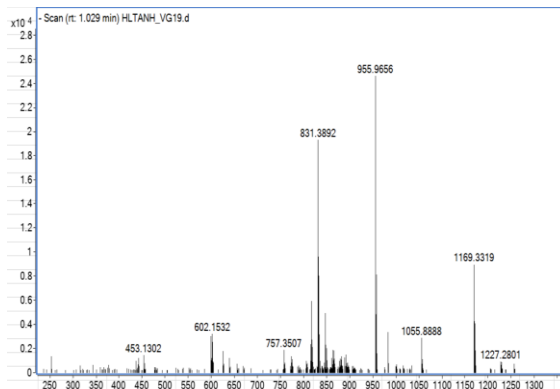
Phổ HMBC của hợp chất VG1



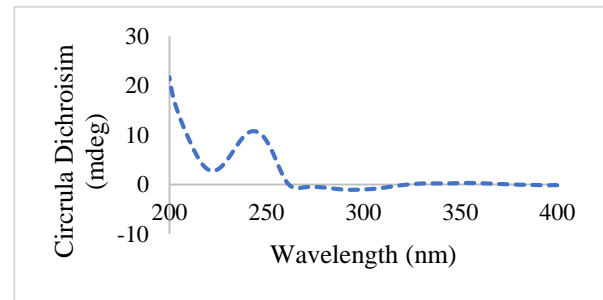
Phổ HSQC của hợp chất VG1



Phổ NOESY của hợp chất VG1



Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG1



Phổ CD thực nghiệm của hợp chất VG1

3.4. ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ LOÀI *V. AMYGDALINA* VÀ *V. GRATIOSA*

3.5.1. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina*

Các hợp chất được phân lập từ 2 loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa* được tiến hành đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, kết quả được thể hiện trong bảng dưới đây

Bảng 3.6. Tác động ức chế α -glucosidase của các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

	LD1	LD2	LD3	LD5	LD4
IC ₅₀	78,56 ± 7,28	>500	>500	14,74 ± 1,57	>500
	LD6	LD7	LD8	LD14	LD16
IC ₅₀	>500	>500	>500	48,55 ± 4,31	>500
	LD12	LD15	LD17	Acarbose	
IC ₅₀	72,41 ± 7,56	7,42 ± 0,95	>500	127,53 ± 1,73	

3.5.2. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. gratiosa***Bảng 3.7.** Tác động ức chế α -glucosidase của mẫu nghiên cứu

	VG1	VG2	VG3	VG15	VG5
IC ₅₀	>500	>500	>500	47,08 ± 3,98	424,79 ± 37,83
	VG6	VG7	VG8	VG13	VG14
IC ₅₀	>500	>500	>500	477,52 ± 20,84	>500
	VG4	VG17	Acarbose		
IC ₅₀	>500	>500	146,64 ± 8,85		

3.5.3. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina***Bảng 3.8.** Tác động ức chế enzyme XO của các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

	LD1-LD17
IC ₅₀	>500

3.5.4. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. gratiosa***Bảng 3.8.** Tác động ức chế enzyme XO của các hợp chất phân lập từ loài *V. gratiosa*

	VG1	VG2	VG3	VG4
IC ₅₀	>500	>500	>500	>500
	VG5	VG6	VG7	VG8
IC ₅₀	47,65 ± 3,44	>500	>500	>500
	VG15	VG14	VG13	Allopurinol
IC ₅₀	26,92 ± 1,04	>500	6,26 ± 0,60	1,12 ± 0,15

KẾT LUẬN

Đây là công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính tính ức chế enzyme α -glucosidase và enzyme xanthine oxidase bằng mô hình *in vitro* của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiosa* thu thập ở Việt Nam, trong đó loài *Vernonia gratiosa* là lần đầu tiên được nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học.

1. Nghiên cứu về thành phần hóa học:

- Từ loài *V. amygdalina* chúng tôi đã phân lập được 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (**LD1-LD7**) được đặt tên là: (**LD1**-vernonioside K); (**LD2**-Vernonioside N), (**LD3**-Vernonioside M); (**LD4**-Vernonioside O); (**LD5**-Vernonioside L); (**LD6**-vernonioside P); (**LD7**-Vernonioside Q) và 10 hợp chất đã biết gồm hợp chất (**LD8**-(22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetrahydro-3 β -16 α ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α - stigmastane); (**LD9**-Vernoamyoside E); (**LD10**-vernonioside **B2**); (**LD11**-Vernoniacum B); (**LD12**--(23*S*,24*R*,28*S*)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone); (**LD13**-vemonioside B₁); (**LD14**: Veramyoside H); (**LD15**- Veramyoside J); (**LD16**-Vernoamyoside A); (**LD17**- α -spinasterol).

- Từ loài *V. gratiosa* chúng tôi đã tiến hành phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (**VG1 – VG7**) được đặt tên là:

Vernogratioides A (**VG1**); Vernogratioides B (**VG2**); Vernogratioides C (**VG3**); Vernogratioides R (**VG4**); Vernogratioides S (**VG5**); Vernoratioides A (**VG6**); Vernoratioides B (**VG7**); và 10 hợp chất cũ bao gồm: VE1 (**VG8**); Vernoniacum B (**VG9**); Kaempferol (**VG10**); Quercetin 3-0-methyl ether (**VG11**); Quercetin (**VG12**); Apigenin (**VG13**); Syringaresinol- β -D-glucoside (**VG14**); 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3 hydroxy-1-(E)-propenyl)-2,6-dimethoxy phenoxy]propyl- β -D-glucopyranoside (**VG15**); 11 β ,13-dihydroveranolide (**VG16**); 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde (**VG17**).

2. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học

- Các hợp chất **LD1**, **LD5**, **LD14**, **LD12**, **LD15**, phân lập từ loài *Vernonia amygdalina* cho thấy khả năng ức chế α -glucosidase rất mạnh với IC₅₀ từ (**7.42 \pm 0.95 μ M** đến **78.56 \pm 7.28 μ M**) so với đối chứng dương (Acarbose **127.53 \pm 1.73 μ M**). Các mẫu còn lại chưa thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

- Các hợp chất **VG5**, **VG13** và **VG15** phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng cho thấy khả năng ức chế α -glucosidase, trong đó hợp chất **VG5** thể hiện tác dụng mạnh nhất với IC₅₀ là **47.08 \pm 3.98 μ M**, hợp chất **VG13** và **VG15** chỉ thể hiện khả năng ức chế rất yếu với IC₅₀ lần lượt là **424.79 \pm 37.83**, **477.52 \pm 20.84 μ M**) so với đối chứng dương Acarbose (**146.64 \pm 8.85 μ M**).

- Các hợp chất **VG5**, **VG13** và **VG15** cho thấy khả năng ức chế enzyme (XO) với IC₅₀ từ **6.26 \pm 0.60** đến **47.65 \pm 3.44 μ M**; so với đối chứng dương Allopurinol là: **1.12 \pm 0.15 (μ M)**. Các hợp chất còn lại chưa thể hiện tác dụng ở nồng độ nghiên cứu.

KIẾN NGHỊ

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy các hợp chất **LD5**, **LD14**, **LD12**, **LD1** từ *V. amygdalina* và hợp chất **VG15** từ *V. gratiosa* có thể được sử dụng để nghiên cứu phát triển thành sản phẩm để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tiểu đường. Ngoài ra, hợp chất **VG15** và **VG3** có thể là các hợp chất tiềm năng trong điều trị bệnh gút. Tuy nhiên, cần có thêm các nghiên cứu sâu hơn trên các mô hình *in vivo* và thử nghiệm lâm sàng.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Cong Pham Van**, Hieu Ngo Van, Minh Bui Quang, Nam Duong Thanh, Dan Nguyen Van, Tuan Do Thanh, Ngoc Tran Minh, Hien Nguyen Thi Thu, Trung Nguyen Quang, Thao Do Thi, Loan Pham Thanh, Hien Do Thi Thu, and Anh Hoang Le Tuan; “Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* and their α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities”; 2023; *Natural Product research*; thuộc danh mục SCIE; IF-2.488; <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2188589>
2. **Pham Van Cong**, Hoang Le Tuan Anh, Nguyen Quang Trung, Bui Quang Minh, Ngo Viet Duc, Nguyen Van Dan, Nguyen Minh Trang, Nguyen Viet Phong, Le Ba Vinh, Le Tuan Anh & Ki Yong Lee; “Isolation, structural elucidation and molecular docking studies against SARS-CoV-2 main protease of new stigmastane-type steroidal glucosides isolated from the whole plants of *Vernonia gratioiosa*”; *Natural Product research*; danh mục SCIE; IF-2.488; <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2042534>
3. **Pham Van Cong**, Hoang Le Tuan Anh, Le Ba Vinh, Yoo Kyong Han, Nguyen Quang Trung, Bui Quang Minh, Ngo Viet Duc, Tran Minh Ngoc, Nguyen Thi Thu Hien, Hoang Duc Manh, Le Thi Lien, Ki Yong Lee; “Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of Saponins Isolated from *Vernonia gratioiosa* Hance”; *Journal of Microbiology Biotechnology*. 2023; 33(6): 797-805; thuộc danh mục SCIE; IF-3.27 <https://doi.org/10.4014/jmb.2212.12040>
4. **Pham Van Cong**, Ngo Van Hieu, Bui Quang Minh, Ngo Viet Duc, Vu Thi Trang, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Viet Khanh, Tran Thi Phuong Anh, Ton That Huu Dat, Le Tuan Anh, Hoang Le Tuan Anh; “Constituents of *Vernonia gratioiosa* Hance and their α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities”; *Vietnam Journal of Chemistry*, 2022, 60(5), 653-659; thuộc danh mục Scopus, IF-0.74; doi: 10.1002/vjch.202200019