

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 SĨ
HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN**

Hà Nội - 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

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 SĨ
HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN**

Mã số: 9.44.01.17

**Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ**

Người hướng dẫn 1
(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 2
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh TS. Bùi Quang Minh

Hà Nội - 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa***" là công trình nghiên cứu của Nghiên cứu sinh và nhóm nghiên cứu dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Tác giả luận án

Phạm Văn Công

LỜI CẢM ƠN

Luận án của tôi được thực hiện tại Học viện Khoa học và Công nghệ (GUST) - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST). Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, tập thể thầy cô giáo đã giúp đỡ và chỉ dạy tận tình trong toàn bộ thời gian tôi học tập và thực hiện đề tài.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo cùng toàn thể thể cán bộ của đạo Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao (VAST) đã luôn quan tâm giúp đỡ tôi, cũng như tạo điều kiện tốt, thuận lợi nhất cho tôi học tập và nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc nhất tới PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh và TS. Bùi Quang Minh đã tận tình hướng dẫn, luôn quan tâm, động viên, nhắc nhở kịp thời để tôi có thể hoàn thành luận án đúng tiến độ.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới PGS.TS. Đỗ Thị Thảo Viện Công nghệ sinh học (VAST) đã hỗ trợ tôi thực hiện các đánh giá về tác dụng sinh học. Tôi xin chân thành cảm ơn TS. Lê Tuấn Anh, Viện nghiên cứu khoa học miền Trung (VAST) đã giúp tôi giám định tên khoa học của đối tượng nghiên cứu. Tôi xin cảm ơn Thạc sỹ Đặng Vũ Lương Viện Hóa học Việt Nam (VAST) đã giúp đỡ tôi về những phép đo liên quan trong luận án.

Tôi muốn bày tỏ lòng biết ơn tới Trung tâm phát triển Công nghệ và Dịch vụ đo lường luôn động viên, hỗ trợ, tạo điều kiện cho tôi trong thời gian tôi thực hiện luận án.

Luận án này được hỗ trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED) mã số tài trợ 104.01-2020.11. “NCS. Phạm Văn Công được tài trợ bởi Tập đoàn Vingroup – Công ty CP và hỗ trợ bởi chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn (VinBigdata), mã số VINIF.2022.TS.017”.

Sau cùng tôi chân thành bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Bố Mẹ tôi, Vợ, Con và gia đình, bạn bè và người thân đã luôn luôn quan tâm, khích lệ tôi trong suốt thời gian tôi học tập và nghiên cứu.

Xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận án

Phạm Văn Công

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC BẢNG	vii
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	3
1.1. Giới thiệu chung về họ Cúc (Asteraceae)	3
1.2. Tổng quan về chi <i>Vernonia</i>	4
1.2.1. Vài nét về chi <i>Vernonia</i>	4
1.2.1.1. Giới thiệu về thực vật loài <i>V. amygdalina</i>	5
1.2.1.2. Giới thiệu về loài <i>Vernonia gratioiosa</i>	6
1.2.2. Tác dụng của chi <i>Vernonia</i> trong y học cổ truyền	7
1.3. Nghiên cứu về thành phần hóa học của chi <i>Vernonia</i>	8
1.3.1. Các hợp chất sesquiterpene	8
1.3.2. Các hợp chất sesquiterpene lactone khác:	17
1.3.3. Các sesquiterpene khác	19
1.3.4. Các hợp chất stigmastane steroid	20
1.3.5. Các hợp chất triterpenoid	26
1.3.6. Các hợp chất flavonoid và phenolic	27
1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi <i>Vernonia</i>	31
1.4.1. Tác dụng kháng viêm	31
1.4.2. Tác dụng chống tiểu đường	32
1.4.3. Tác dụng gây độc tế bào ung thư	33
1.4.4. Tác dụng chống sốt rét	35
1.4.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật	36
1.5. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước về loài <i>V. amygdalina</i> ...	36
Tình hình nghiên cứu trên thế giới:	36
1.6. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước của loài <i>V. gratioiosa</i>	37
CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM	38
2.1. Đối tượng nghiên cứu	38
2.1.1. Loài <i>Vernonia amygdalina</i>	38
2.1.2. Loài <i>Vernonia gratioiosa</i>	38
2.2. Dung môi, hóa chất và thiết bị nghiên cứu	38
2.2.1. Dung môi và hóa chất	38
2.3. Phương pháp nghiên cứu	39
2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất	39
2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất	39

2.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất sạch	40
2.3.4 Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học	40
2.3.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học ức chế enzyme α -glucosidase	40
2.3.4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase.....	41
2.4. Phân lập các hợp chất	42
2.4.1. Phân lập các hợp chất từ loài <i>V. amygdalina</i>	42
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài <i>V. gratiiosa</i>	45
2.5. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được	48
2.5.1. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i>	48
2.5.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài <i>Vernonia gratiiosa</i>	51
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	54
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> ..	54
3.1.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i>	54
3.1.1.1. Hợp chất LD1: Vernonioside K.....	54
3.1.1.2. Hợp chất LD2: Vernonioside L	60
3.1.1.3. Hợp chất LD3 Vernonioside M.....	62
3.1.1.4. Hợp chất LD4: Vernonioside O	64
3.1.1.5. Hợp chất LD5; Vernonioside N	66
3.1.1.6. Hợp chất LD6; Vernonioside P	69
3.1.1.7. Hợp chất LD7; Vernonioside Q	74
3.1.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất đã biết từ loài <i>V. gratiiosa</i>	76
3.1.2.1. Hợp chất LD8; (22R,23S,24R,28S)-28-methoxy- 7,8,9,11 tetrahydro-3 β -16 α ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α - stigmastane.	76
3.1.2.2. Hợp chất LD9; Vernoamyoside E	77
3.1.2.3. Hợp chất LD10; Vernonioside B ₂	79
3.1.2.4. Hợp chất LD11; Vernoniacum B.....	81
3.1.2.5. Hợp chất LD12; (23S,24R,28S)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone	82
3.1.2.6. Hợp chất LD13; Vernonioside B ₁	83
3.1.2.7. Hợp chất LD14; Veramyoside H.....	85
3.1.2.8. Hợp chất LD15; Veramyoside J	86
3.1.2.9. Hợp chất LD16; Vernoamyoside A	87
3.1.2.10. Hợp chất LD17; α -spinasterol	89
3.1.3. Đặc trưng phổ ¹³C-NMR của các hợp chất stigmastane steroid phân lập được từ loài <i>V. amygdalina</i>.	91

3.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ loài <i>V. gratiosa</i>.....	94
3.2.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i>	94
3.2.1.1. Hợp chất VG1; Verniagratiolide C.....	94
3.2.1.2. Hợp chất VG2; Vernogratiolide D.....	101
3.2.1.3. Hợp chất VG3; Vernogratiolide E	103
3.2.1.4. Hợp chất VG4; Vernogratiolide K.....	109
3.2.1.5. Hợp chất VG5; vernogratiolide S.....	111
3.2.1.6. Hợp chất VG6; Vernogratiolide A	113
3.2.1.7. Hợp chất VG7; Vernogratiolide F	120
3.2.2. Cấu trúc của các hợp chất đã biết được phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i>	122
3.2.2.1. Hợp chất VG8; VE1	122
3.2.2.2. Hợp chất VG9; Vernoniacum B	124
3.2.2.3. Hợp chất VG 10; Kaempferol	125
3.2.2.4. Hợp chất VG11; Quercetin 3-O-methyl ether.....	126
3.2.2.5. Hợp chất VG12; Quercetin	127
3.2.2.6. Hợp chất VG13; Hợp chất Apigenin.....	128
3.2.2.8. Hợp chất VG15; Threo-guaiacylglycerol-8-O-4'-sinapylete-7-O- β -D-glucopyranoside	130
3.2.2.9. Hợp chất VG16: 11 β ,13-dihydroveranolide.....	132
3.2.2.10. Hợp chất VG17: 5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde.	133
3.3. Đặc trưng phổ ¹³C-NMR của một số hợp chất stigmastane steroid phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i>.	134
3.4. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được từ loài <i>V. amygdalina</i> và <i>V. gratiosa</i>	136
3.4.1. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất LD1 – LD17	137
3.4.2. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất (VG1 – VG17).....	138
3.4.3. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất (LD1 – LD17).....	138
3.4.4. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất sạch phân lập được từ loài <i>V. gratiosa</i>	138
KẾT LUẬN	140
KIẾN NGHỊ.....	141
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....	141
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	142
TÀI LIỆU THAM KHẢO	143

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C -NMR	Carbon -13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon ^{13}C
^1H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CD	Circular dichroism Spectroscopy	Phổ lưỡng sắc tròn
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer Spectroscopy	Phổ DEPT
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity Spectroscopy	Phổ tương hạt nhân qua nhiều liên kết
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ thể hiện tương tác trực tiếp của liên kết C-H
IC_{50}	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% trên mẫu thử
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy	Phổ NOESY thể hiện tương tác không gian của hợp chất
ROESY	Rotating-frame Nuclear Overhauser	Phổ ROESY thể hiện tương tác không gian của hợp chất
UV-VIS	Ultraviolet-visible spectroscopy	Quang phổ tia cực tím
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$
XO	Xanthine oxidase	Enzym Xanthine oxidase
pNG	<i>p</i> -Nitrophenyl Glucopyranoside	Hóa chất <i>p</i> -nitrophenyl glucopyranoside
OD	Optical Density	Chỉ số đo lường sự hấp thụ ánh sáng

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. Một số loài thực vật chi <i>Vernonia</i> tìm thấy ở Việt Nam.....	5
Bảng 3. 1. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C NMR của LD1	56
Bảng 3. 2. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD2	61
Bảng 3. 3. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của LD3 và LD2	63
Bảng 3. 4. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD4	65
Bảng 3. 5. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD5	68
Bảng 3. 6. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD6	70
Bảng 3. 7. So sánh dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD7 và LD6	75
Bảng 3. 8. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD8	77
Bảng 3. 9. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD9	78
Bảng 3. 10. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD10	80
Bảng 3. 11. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD11	81
Bảng 3. 12. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD12	83
Bảng 3. 13. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD13	84
Bảng 3. 14. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD14	85
Bảng 3. 15. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD15	87
Bảng 3. 16. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD16	88
Bảng 3. 17. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của LD17	89
Bảng 3. 18. Dữ liệu phổ ^{13}C NMR của các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i>	92
Bảng 3. 19. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG1	97
Bảng 3. 20. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG2 và hợp chất tham khảo.....	102
Bảng 3. 21. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG3	108
Bảng 3. 22. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG4	110
Bảng 3. 23. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG5	112
Bảng 3. 24. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG6	115
Bảng 3. 25. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG7	121
Bảng 3. 26. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG8	123
Bảng 3. 27. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG9	124
Bảng 3. 28. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG10	126
Bảng 3. 29. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG11	127
Bảng 3. 30. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG12	127
Bảng 3. 31. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG13	128
Bảng 3. 32. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất VG14 và tài liệu tham khảo.....	130
Bảng 3. 33. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của số VG15	131

Bảng 3. 34. Dữ liệu phổ NMR của VG16 và tài liệu tham khảo	133
Bảng 3. 35. Dữ liệu phổ của VG17	134
Bảng 3. 36. Dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của các hợp chất VG1 – VG9	135
Bảng 3. 37. Tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase của LD1 -LD17	138
Bảng 3. 38 Tác động ức chế α -glucosidase của VG1 – VG17	138
Bảng 3. 39. Tác động ức chế enzym xanthine oxidase của VG1 – VG17	139

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1. Hình ảnh một số loài thuộc chi <i>Vernonia</i> tại Việt Nam	4
Hình 1. 2. Hình ảnh của cây <i>Vernonia amygdalina</i>	6
Hình 1. 3. Hình ảnh của cây <i>Vernonia gratiosa</i>	7
Hình 1. 4. Phân loại các hợp chất sesquiterpene lactone.....	8
Hình 1. 5. Quá trình sinh tổng hợp dimer 74	15
Hình 1. 6. Quá trình sinh tổng hợp dimer (76 -78).....	16
Hình 1. 1. Hình ảnh ba loài thuộc chi <i>Vernonia</i> tại Việt Nam	4
Hình 1. 2. Hình ảnh của cây <i>Vernonia amygdalina</i>	6
Hình 1. 3. Hình ảnh của cây <i>Vernonia gratiosa</i>	7
Hình 1. 4. Phân loại các hợp chất sesquiterpene lactone.....	8
Hình 1. 5. Quá trình sinh tổng hợp dimer 74	15
Hình 1. 6. Quá trình sinh tổng hợp dimer (76 -78).....	16
Hình 2. 1. Hình ảnh loài <i>V. amygdalina</i> thu tại Hà Nội.....	38
Hình 2. 2. Hình ảnh loài <i>V. gratiosa</i> thu tại Quảng Trị	38
Hình 2. 3. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ <i>V. amygdalina</i> ở Việt Nam.....	44
Hình 2. 4. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ <i>V. gratiosa</i> ở Việt Nam	47
Hình 3. 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất LD1 và hợp chất tham khảo LD1a	54
Hình 3. 2. Các tương tác COSY và HMBC chính của LD1	55
Hình 3. 3. Các tương tác ROESY chính của LD1	55
Hình 3. 4. Phổ HR-ESI-MS của LD1	57
Hình 3. 5. Phổ ^1H -NMR của LD1	57
Hình 3. 6 Phổ ^{13}C -NMR của LD1	58
Hình 3. 7. Phổ HSQC của LD1	58
Hình 3. 8. Phổ ^1H - ^1H COSY của LD1	59
Hình 3. 9. Phổ ROESY của LD1	59

Hình 3. 10.	Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất LD2	60
Hình 3. 11.	Các tương tác ROESY chính của LD2	62
Hình 3. 12.	Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất LD3	62
Hình 3. 13.	Các tương tác ROESY chính của LD3	64
Hình 3. 14.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD4 và hợp chất LD4a	64
Hình 3. 15.	Các tương tác COSY và HMBC chính của LD4	66
Hình 3. 16.	Các tương tác ROESY chính của LD4	66
Hình 3. 17.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD5	66
Hình 3. 18.	Phổ HR-ESI-MS của LD5	67
Hình 3. 19.	Các tương tác COSY và HMBC chính của LD5	67
Hình 3. 20.	Các tương tác ROESY chính của LD4	69
Hình 3. 21.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD6	69
Hình 3. 22.	Các tương tác COSY, HMBC, và NOESY chính của LD6	71
Hình 3. 23.	Phổ ¹ H-NMR của LD6	71
Hình 3. 24.	Phổ ¹³ C-NMR của LD6	72
Hình 3. 25.	Phổ ¹ H- ¹ H COSY của LD6	72
Hình 3. 26.	Phổ HMBC của LD6	73
Hình 3. 27.	Phổ HSQC của LD6	73
Hình 3. 28.	Phổ ROESY của LD6	74
Hình 3. 29.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD7 và hợp chất LD6	76
Hình 3. 30.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD8	76
Hình 3. 31.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD9	79
Hình 3. 32.	Cấu trúc hóa học của của hợp chất LD10	79
Hình 3. 33.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD11	82
Hình 3. 34.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD12	82
Hình 3. 35.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD13	83
Hình 3. 36.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD14	85
Hình 3. 37.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD15	86
Hình 3. 38	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD16	87
Hình 3. 39.	Cấu trúc hóa học của hợp chất LD17	89
Hình 3. 40.	Cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> .	90
Hình 3. 41.	Cấu trúc hóa học của hợp chất VG1 và hợp chất tham khảo VG1a	94
Hình 3. 42.	Tương tác COSY và HMBC chính của VG1	95
Hình 3. 43.	Tương tác NOESY của VG1	96
Hình 3. 44.	Phổ HR-ESI-MS của VG1	96
Hình 3. 45.	Phổ ¹ H-NMR của VG1	98

Hình 3. 46. Phổ ^{13}C -NMR của VG1	98
Hình 3. 47. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG1	99
Hình 3. 48. Phổ HMBC của VG1	99
Hình 3. 49. Phổ HSQC của VG1	100
Hình 3. 50. Phổ NOESY của VG1	100
Hình 3. 51. Phổ CD thực nghiệm của VG1	101
Hình 3. 52. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG2 ; hợp chất VG1 và hợp chất VG1a	101
Hình 3. 53. Tương tác NOESY chính của VG2	102
Hình 3. 54. Phổ CD của VG2 và Verocuminoside H	102
Hình 3. 55. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG3	103
Hình 3. 56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG3	104
Hình 3. 57. Phổ ^1H -NMR của VG3	104
Hình 3. 58. Phổ ^{13}C -NMR của VG3	105
Hình 3. 59. Phổ HSQC của VG3	105
Hình 3. 60. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG3	106
Hình 3. 61. Phổ HMBC của VG3	106
Hình 3. 62. Phổ NOESY của VG3	107
Hình 3. 63. Phổ ECD của VG3	107
Hình 3. 64. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG4	109
Hình 3. 65. Phổ CD của VG4	109
Hình 3. 66. Cấu trúc hóa học của các hợp chất VG1-VG4	110
Hình 3. 67. Phổ so sánh phổ ECD của VG1-VG4	111
Hình 3. 68. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG5	113
Hình 3. 69. Tương tác HMBC của VG5	113
Hình 3. 70. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG6 và hợp chất VE1	113
Hình 3. 71. Phổ HR-ESI-MS của VG6	114
Hình 3. 72. Tương tác COSY và HMBC của VG6	116
Hình 3. 73. Tương tác phổ NOESY của VG6	116
Hình 3. 74. Phổ ^1H -NMR của VG6	117
Hình 3. 75. Phổ ^{13}C -NMR của VG6	117
Hình 3. 76. Phổ HSQC của VG6	118
Hình 3. 77. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG6	118
Hình 3. 78. Phổ HMBC của VG6	119
Hình 3. 79. Phổ NOESY của VG6	119
Hình 3. 80. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG7	120

Hình 3. 81. Tương tác COSY và HMBC chính của hợp chất VG7	120
Hình 3. 82. Tương tác NOESY của VG7	122
Hình 3. 83. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG8	122
Hình 3. 84. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG9	125
Hình 3. 85. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG10	125
Hình 3. 86. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG11	126
Hình 3. 87. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG12	127
Hình 3. 88. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG13	128
Hình 3. 89. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG14	129
Hình 3. 90. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG15	130
Hình 3. 91. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG16	132
Hình 3. 92. Tương tác HMBC và NOESY chính của VG16	133
Hình 3. 93. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG17	133
Hình 3. 94. Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ <i>V. gratiosa</i>	136

MỞ ĐẦU

Trong lịch sử phát triển từ ngàn xưa con người đã biết đến việc sử dụng cây cỏ trong việc phòng và điều trị bệnh. Cùng với sự phát triển của Y học hiện đại, ngày nay, các nhà khoa học đã xác định được chính xác nguồn gốc của các hoạt chất trong các bài thuốc dân gian thông qua quá trình chiết xuất, phân tách và xác định cấu trúc cũng như chứng minh các hoạt tính sinh học của chúng. Bên cạnh đó, Việt Nam là quốc gia có khí hậu nhiệt đới gió mùa với địa hình đa dạng, rất phù hợp cho quá trình sinh trưởng và phát triển của các loài thực vật. Điều đó được thể hiện qua sự phong phú về hệ thực vật với nhiều loại dược liệu quý, nhiều loài đặc hữu chỉ có ở Việt Nam. Tuy nhiên hiện nay phần lớn các loài dược liệu quý của Việt Nam chưa được nghiên cứu toàn diện, bài bản và có hệ thống, mà chủ yếu xuất phát từ những kinh nghiệm cũng như những bài thuốc dân gian. Bên cạnh đó, xu hướng sử dụng dược liệu và các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt từ tự nhiên cho việc chăm sóc sức khỏe và chữa trị các bệnh hiểm nghèo ngày càng phổ biến ở cả Việt Nam và thế giới. Do đó, việc nghiên cứu nhằm phát hiện các hoạt chất từ thảo dược để chăm sóc sức khỏe cho xã hội là nhu cầu cần thiết và cấp bách đang được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm.

Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae) với xấp xỉ 1000 loài, chúng có mặt chủ yếu ở các nước thuộc Nam Mỹ, Bắc Mỹ, Châu Phi và Đông Nam Á. Nghiên cứu thành phần hóa học của chi *Vernonia* có chứa nhiều khung chất thể hiện đa dạng các hoạt tính sinh học tốt như steroid, flavonoid, terpenoid, polyphenol, ... Trong đó, loài *V. amygdalina* là một trong số các loài được tập trung nghiên cứu, các nghiên cứu bước đầu chỉ ra dịch chiết và một số hợp chất tinh khiết của loài này có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase trên mô hình *in vitro* và có khả năng làm giảm hàm lượng đường trong máu ở mô hình *in vivo*. Bên cạnh đó, theo y học cổ truyền, *V. amygdalina* cũng dùng để điều trị bệnh gút. Mặt khác, loài *V. gratiosa* chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học cũng như các hoạt tính sinh học.

Đái tháo đường type 2 là tình trạng rối loạn chuyển hóa đa nguyên nhân, không kiểm soát được, gây ra những biến chứng nguy hiểm. Kiểm soát bệnh đái tháo đường type 2 bằng việc ức chế enzyme α -glucosidase là một trong những liệu pháp đang được sử dụng góp phần ổn định đường huyết sau bữa ăn. Trong thập niên trở lại đây, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để tìm kiếm các hoạt chất ức chế α -glucosidase hiệu quả từ các nguồn tự nhiên mục đích phát triển các thuốc mới để điều trị bệnh tiểu đường.

Bên cạnh tiểu đường, bệnh gút cũng là một bệnh lý chuyển hóa có liên quan đến tăng nồng độ acid uric trong máu. Theo thống kê năm 2020, ước tính có khoảng 55,8

triệu người mắc bệnh gút trên toàn thế giới, tăng 22,5% so với năm 1990. Tổng số trường hợp mắc bệnh gút được dự đoán sẽ đạt 95,8 triệu người vào năm 2050. Căn bệnh này là đặc trưng bởi các giai đoạn viêm khớp cấp tính hoặc mãn tính do lắng đọng tinh thể mononatri urate trong khớp và mô liên kết. Xanthine oxyase (XO) xúc tác quá trình oxy hóa hypoxanthine thành xanthine và xanthine thành acid uric. Acid uric đã được xác định là dấu hiệu của bệnh gút và một số bất thường về chuyển hóa. Các chất ức chế xanthine oxidase tổng hợp như allopurinol, febuxostat và dẫn xuất phenylpyrazol Y-700, đã được sử dụng rộng rãi để điều trị chứng tăng acid uric máu và bệnh gút, nhưng có thể có tác dụng phụ. Thuốc allopurinol được kê đơn rộng rãi đã được báo cáo là gây ra hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử biểu bì nhiễm độc, rối loạn gan và rối loạn chức năng thận. Do đó, cần có những lựa chọn thay thế có nguồn gốc tự nhiên với ít tác dụng phụ hơn [1].

Do đó, việc nghiên cứu, phân lập và đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất từ *V. amygdalina* và *V. gratiosa* 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 gratiosa***".

Mục tiêu của luận án trên bao gồm:

1. Phân lập, xác định được cấu trúc hóa học của 20-30 hợp chất từ loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiosa* thu thập tại Việt Nam.
2. Đánh giá được tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được trên mô hình *in vitro*.

Nội dung luận án bao gồm:

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

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu chung về họ Cúc (Asteraceae)

Họ Cúc (Asteraceae hay Compositae), một trong những họ lớn nhất của ngành thực vật hạt kín, bao gồm cây bụi, cây thân cỏ hoặc một số ít là thân gỗ. Họ Cúc là một trong số những họ thực vật quan trọng nhất trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Theo thống kê của vườn thực vật Hoàng gia Kew, họ Cúc (Asteraceae) có khoảng 1620 chi và hơn 23600 loài trong đó các chi lớn nhất là *Senecio* (1500 loài), *Vernonia* (1000 loài), *Cousinia* (600 loài), *Centaurea* (600 loài) được phân bố rộng khắp trên toàn cầu nhưng tập trung nhiều nhất là các vùng ôn đới và miền núi nhiệt đới.

Theo “*Thực Vật Chí Việt Nam*” của tác giả Lê Kim Biên (2007) [2] họ Cúc Việt Nam có khoảng 126 chi với 374 loài với 181 loài đã biết giá trị sử dụng và chiếm gần 50% trong số loài. Cũng theo đó ở Việt Nam họ Cúc được chia làm 2 phân họ và 12 tông với phân họ *Carduoideae* (gồm 11 tông) là phân họ hoa ống và *Cichorioideae* (gồm 1 tông) là phân họ hoa lưỡi nhỏ. Chúng được chia thành các loại theo giá trị sử dụng như sau:

- Cây thuốc: hoang dại 85 loài, nhập trồng 16 loài
- Cây cảnh: 30 loài
- Cây tinh dầu và dầu béo: 12 loài
- Cây rau ăn: 31 loài mọc tự nhiên, 4 loài trồng
- Cây làm thuốc trừ sâu: 3 loài
- Cây phân xanh: 2 loài

Họ Cúc chủ yếu là cây thân cỏ, sống hằng năm hoặc lâu năm, số ít là cây bụi, cây thân gỗ nhỏ hoặc gỗ leo với những đặc điểm chung như:

Lá: Lá của họ Cúc thường mọc ở nách và mọc so le, đôi khi cũng gặp một số loài thuộc tông (*Heliantheae* và *Eupatorieae*) là có lá mọc đối. Phiến lá ít khi nguyên, thường khía răng hay chia thùy. Hình dạng và kích thước lá thay đổi nhiều theo từng khu vực. Ở nước ta chủ yếu có các dạng lá đơn nguyên, có thùy, xẻ thùy và lá kép. Do lá thuộc họ Cúc khá đa dạng nên không thể phân biệt các chi bằng hình thái lá được.

Cụm hoa: Hoa của họ Cúc luôn tập hợp thành cụm hoa đầu hoặc rủ, các cụm hoa đầu thường nằm đơn độc như trong chi (*Helianthus*) hoặc tập hợp thành chùm đối với chi (*Vernonia*, *Rhynchospermum*). Phía dưới cụm hoa được gọi là đế hoa với hình dạng thường lồi hay phẳng, đôi khi cũng gặp hình cầu, chúng thường có bề mặt nhẵn hoặc có lông hay dạng tổ ong. Số lượng hoa ở họ Cúc cũng đa dạng và khác nhau rất lớn nhưng thường 3-5 hoa trong một cụm [2].

Bộ nhị: gồm năm nhị bằng nhau trừ loài (*Blumeopsis* có 2-4 nhị), chỉ nhị luôn dính vào ống tràng và rời nhau còn bao phấn thì dính với nhau thành một ống và mở dọc theo kẽ nứt bên trong. Trừ 2 loài *Blumeopsis* và *Xanthium* là có bao phấn rời [2]. Bộ nhụy: gồm 3 noãn luôn dính lại thành bầu dưới 1 ô, trong chứa 1 noãn đảo dính ở đáy, vòi nhụy, gốc vòi có triển tuyến mật, đầu nhụy xẻ 2 thùy sâu, phía trong có chứa núp, phía ngoài không có. Nhụy có nhiều hình dạng khác nhau như hình trụ, hình dùi hơi dẹt, hình dải hẹp,[2]

Quả: Quả ở họ Cúc thường là quả bé chỉ có 1 hạt với vỏ hạt mỏng và phôi lớn, không có nội nhũ, đỉnh quả có thể dạng tròn hoặc tồn tại dưới dạng đài. Các dạng quả bé, dạng đài trên đỉnh quả bé là đặc điểm đặc trưng cho từng taxon nên dùng làm tiêu chuẩn để phân loại họ Cúc [2].

1.2. Tổng quan về chi *Vernonia*

1.2.1. Vài nét về chi *Vernonia*

Chi *Vernonia* là một trong những chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae). Là dạng cây cỏ, bụi, cây gỗ nhỏ, lá mọc xen kẽ hiếm khi mọc đối, viền có răng cưa, gân lá hình lông chim, cụm hoa hình đầu, đơn độc thường mọc thành dạng gù hay chùy, mỗi cụm hoa thường có 2 hoặc nhiều hơn hai hoa, tất cả là hoa hình ống, đồng hình, lưỡng thụ. Lá bắc ở tổng bao thường nhiều hàng với đặc trưng là hàng ngoài ngắn hơn hàng trong, đôi khi cũng có khi gặp 2 hàng. Đế hoa bằng hoặc hơi nhô lên dạng tổ ong hoặc lỗ nông, không có vảy nhỏ, không có lông hoặc có lông ngắn, có hoa lưỡng tính, hoa có màu tím, tím hồng hoặc trắng nhạt, trắng. Quả bé hình trụ, trụ tròn hoặc hơi bị ép dẹt, vỏ quả có 5-10 gờ hoặc 4-5 cạnh. Tính đến nay đã có khoảng 1000 loài được báo cáo, những báo cáo đã chỉ ra rằng chi *Vernonia* được phân bố ở nhiều nơi với nhiều loại hình điều kiện sinh thái khác nhau như: rừng nhiệt đới, đầm lầy, các khu vực ẩm ướt, hoang mạc hay sa mạc thậm chí là những khu vực hàn đới ở Bắc Mỹ. Các loài thuộc chi *Vernonia* theo kinh nghiệm dân gian cũng như theo Y học cổ truyền thường được dùng để chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rắn cắn, bỏng lửa [3]...



V. gratiosa

V. amygdalina

V. patula

Hình 1. 1. Hình ảnh một số loài thuộc chi *Vernonia* tại Việt Nam

(Tác giả thực hiện)

Tại Việt Nam theo danh mục từ điển cây thuốc [4], chi *Vernonia* đã có 16 loài được dùng làm thuốc gồm:

Bảng 1. Một số loài thực vật chi *Vernonia* tìm thấy ở Việt Nam

STT	Tên khoa học	Tên thường gọi
1	<i>V. squarrosa</i>	Bạch đầu gai
2	<i>V. saligna</i>	Bạch đầu lá liễu
3	<i>V. volkameriaefolia</i>	Bạch đầu lá lớn
4	<i>V. parishii</i>	Bạch đầu lông
5	<i>V. aspera</i>	Bạch đầu nhám
6	<i>V. paluta</i>	Bạch đầu nhỏ
7	<i>V. cinerea</i>	Bạch đầu ông
8	<i>V. esculenta</i>	Bạch đầu rau
9	<i>V. anthelmintica</i>	Bạch đầu sát trùng
10	<i>V. spirei</i>	Bạch đầu spire
11	<i>V. aborea</i>	Bông bạc
12	<i>V. macrachaenia</i>	Cu bung
13	<i>V. solanifolia</i>	Cúc lá cà
14	<i>V. cumingiana</i>	Dây chè
15	<i>V. elliptica</i>	Dây dọi tên
16	<i>V. amygdalina</i>	Lá đắng

1.2.1.1. Giới thiệu về thực vật loài *V. amygdalina*

Trên hệ thống phân loại, vị trí loài *V. amygdalina* Del. được thể hiện như sau:

Ngành Ngọc Lan (Magnoliophyta)

Lớp Ngọc Lan (Magnoliopsida)

Phân lớp Cúc (Asteridae)

Bộ Cúc (Asterales)

Họ Cúc (Asteraceae)

Chi *Vernonia*

Loài *Vernonia amygdalina* Del.

V. amygdalina hay còn được gọi là cây lá đắng là cây thân gỗ nhỏ sống lâu năm, mọc thẳng, tiết diện tròn, cao 1-3 m. Thân, cành khi non có màu xanh, nhiều lông bao phủ bên ngoài, khi già có màu xám, nhám, có nốt sần, không có lông. Lá đơn chủ yếu mọc so le; Cuống lá màu xanh, dài khoảng 1-4 cm, có nhiều lông; Phiến lá hình trứng hoặc bầu dục, kích thước 3-22 x 1,5-9,5 cm, đỉnh lá nhọn, mặt trên màu sẫm có nhiều lông, mặt dưới và gân có màu nhạt hơn, có lông; lông mềm, ngắn, màu trắng; gân lá hình lông chim, gân chính nổi rõ; viền lá có khía răng cưa nhỏ. Cụm hoa mọc thành chùm. Hoa màu trắng ngà, mọc ở nách lá hoặc đầu ngọn cành; hoa đều, lưỡng tính, mẫu 5; cuống hoa ngắn, hình trụ, màu xanh, có lông; tràng hoa phía dưới dính với nhau tạo thành ống, dài khoảng 5-6 mm, phía trên hơi loe ra và chia thành 5 thùy,

hình tam giác, dài khoảng 3 mm. Bộ nhị gồm 5 nhị đều, bộ nhị một bó. Bầu nhụy màu trắng, hình trụ dài khoảng 2-4 mm. Trên đỉnh bầu có đĩa mật hình mâm màu vàng nhạt. Vòi nhụy dạng sợi, màu trắng, dài 8 mm [5].

V. amygdalina có nguồn gốc từ Châu Phi, ngoài ra cũng được tìm thấy ở một vài nơi ở Châu Á như : Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia.... Loài này được di thực vào Việt Nam gần đây và được trồng phổ biến khắp nơi từ vùng cao đến vùng đồng bằng. *V. amygdalina* thường được dùng để chữa bệnh cao huyết áp, dạ dày, viêm gan,... ở Việt Nam theo kinh nghiệm cũng như bài thuốc dân gian thì loài này dùng để chữa đái tháo đường. Ngoài ra, rễ cây được dùng làm que ngậm giúp làm sạch răng miệng, làm thức uống như rượu, có tác dụng trên các bệnh về dạ dày – ruột [5]..



Hình 1. 2. Hình ảnh của cây *Vernonia amygdalina*

(Tác giả thực hiện)

1.2.1.2. Giới thiệu về loài *Vernonia gratiosa*

Theo hệ thống phân loại thực vật vị trí loài *V. gratiosa* Del. được thể hiện dưới đây:

Ngành Ngọc Lan (Magnoliophyta)

Lớp Ngọc Lan (Magnoliopsida)

Phân lớp Cúc (Asteridae)

Bộ Cúc (Asterales)

Họ Cúc (Asteraceae)

Chi *Vernonia*

Loài *Vernonia gratiosa* Del.

V. gratiosa hay còn được gọi là cây bạch đầu thôn là cây bụi thưa, cao khoảng 1,5-2,5 m. Thân hình trụ dài phân thành nhiều nhánh, có vân, lông tơ dày đặc màu nâu xám. Cuống lá 4-10 mm, có lông tơ; phiến lá thuôn dài hoặc hình mũi mác thuôn dài, 6-12 × 1,5-4 cm, mỏng, mặt dưới có lông thưa hoặc gần nhẵn, mặt trên có lông dày đặc màu xanh xám hoặc nâu xám, gân bên có 6-12 cặp, gân dọc nổi không rõ

ràng, gân nhỏ có lưới, gốc hình nôm tròn, mép lá phủ toàn bộ bởi lông hoặc có lông tơ thưa, đỉnh nhọn ngắn. Cụm hoa ở đầu hoặc nách lá, hình chùy. Một số đài hoa, đường kính 10-15 mm; cuống 2-12 mm có lông dày đặc màu nâu, đỉnh nhọn, giữa và bên trong thuôn. Hoa: tràng hoa màu tím, hình ống, thùy tuyến tính, nhọn [2].

Tổng quan tài liệu nghiên cứu về loài *V. gratiosa* chỉ ra rằng loài *V. gratiosa* này chưa có công trình nào về hóa thực vật cũng như về hoạt tính sinh học mà chủ yếu là về những mô tả về thực vật.



Hình 1. 3. Hình ảnh của cây *Vernonia gratiosa*
(Tác giả thực hiện)

1.2.2. Tác dụng của chi *Vernonia* trong y học cổ truyền

Chi *Vernonia* đã thể hiện phong phú về số lượng cũng như chủng loại với hơn 1000 loài đã được sử dụng sâu, rộng trong y học dân gian và y học cổ truyền trên toàn thế giới trong phòng và điều trị bệnh, ngoại trừ Antartica, Australia, và châu Âu Trong đó, có năm loài thường xuyên được sử dụng là: *V. amygdalina*, *V. cinerea*, *V. colorata*, *V. guineensis* và *V. kotschyana*.

Tại Việt Nam, chi *Vernonia* có 16 loài dùng làm thuốc để chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rần cắn, bỏng lửa...[4]. Loài *V. amygdalina* được biết đến trong việc chữa các bệnh về đường tiêu hóa như tiêu chảy, táo bón, đau dạ dày, giun sán, và nhiễm khuẩn. Bên cạnh đó, loài này cũng được dùng để điều trị bệnh đường tiết niệu, tiểu đường, giải độc gan, và sốt rét,... [9]

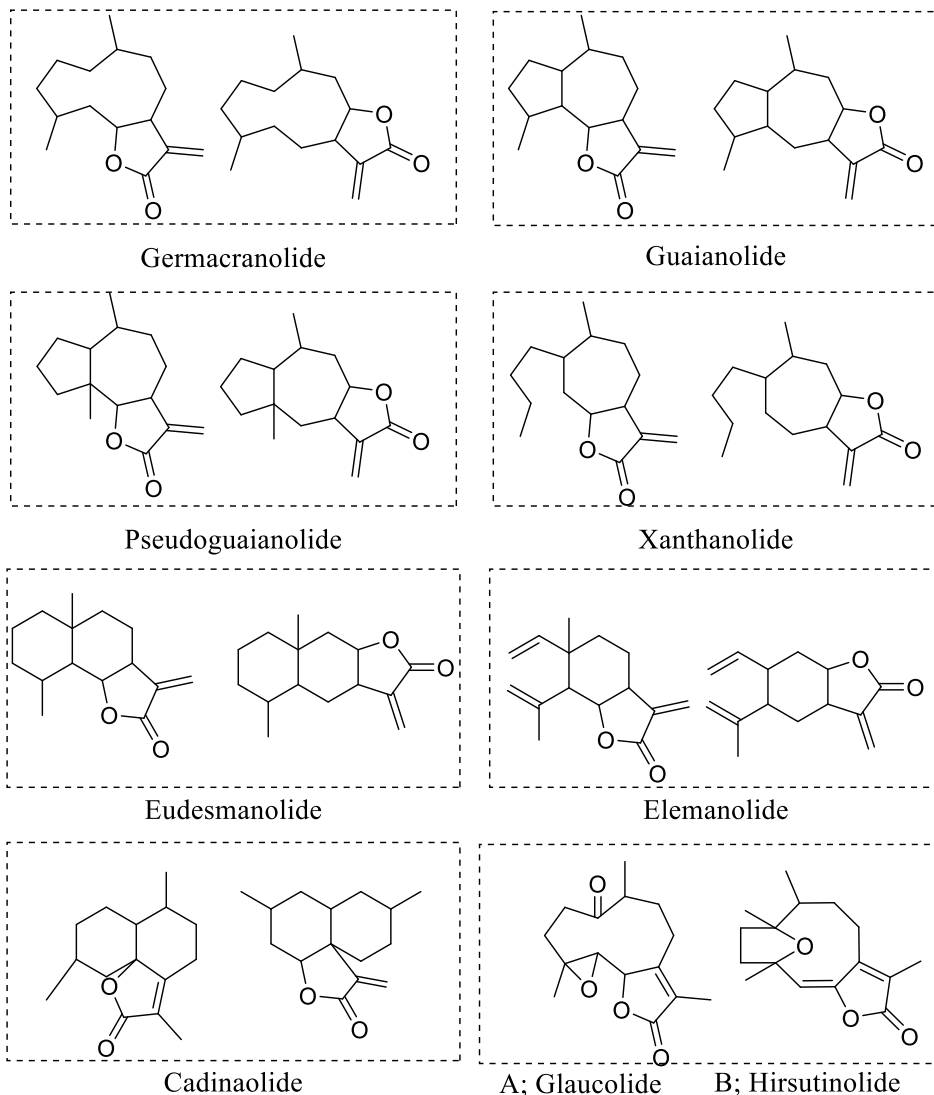
Một trong số các loài thuộc chi *Vernonia* được sử dụng để làm thuốc ở Việt Nam thì loài *V. cinerea* được sự quan tâm nghiên cứu nhiều nhất của các nhà khoa. Theo y học cổ truyền cho thấy loài *V. cinerea* (loài bạch đầu ống) thường được dùng trị các bệnh như sốt, ho, đau dạ dày, chàm, rần cắn, tiêu chảy, viêm gan, các bệnh về da... [3].

Ngoài ra loài *V. colorata* cũng đã được sử dụng nhiều trong điều trị chống co thắt và kháng khuẩn ở khắp châu Phi. Ở Trung Phi và Cameroon, *V. colorata* được sử dụng để ức chế sự phát triển ký sinh trùng, chống lại ung thư tiền liệt tuyến. Ngoài ra loài *V. kotschyana* được sử dụng từ lâu trong dân gian để điều trị viêm loét dạ dày, tá tràng, hỗ trợ cải thiện hệ tiêu hóa, chữa lành vết thương, cũng như kháng khuẩn và điều hòa miễn dịch [3].

1.3. Nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Vernonia*

Tổng quan các nghiên cứu về chi *Vernonia* từ năm 1982 đến nay, đã có hơn 350 hợp chất đã được báo cáo từ chi *Vernonia*, bao gồm sesquiterpene (đặc biệt là sesquiterpene lactone), stigmastane-steroid, triterpenoid, flavonoid và các phenolic. Trong đó, hai lớp chất điển hình, đặc trưng, quyết định hoạt tính cho chi *Vernonia* là sesquiterpene lactone và stigmastane steroid [3].

1.3.1. Các hợp chất sesquiterpene



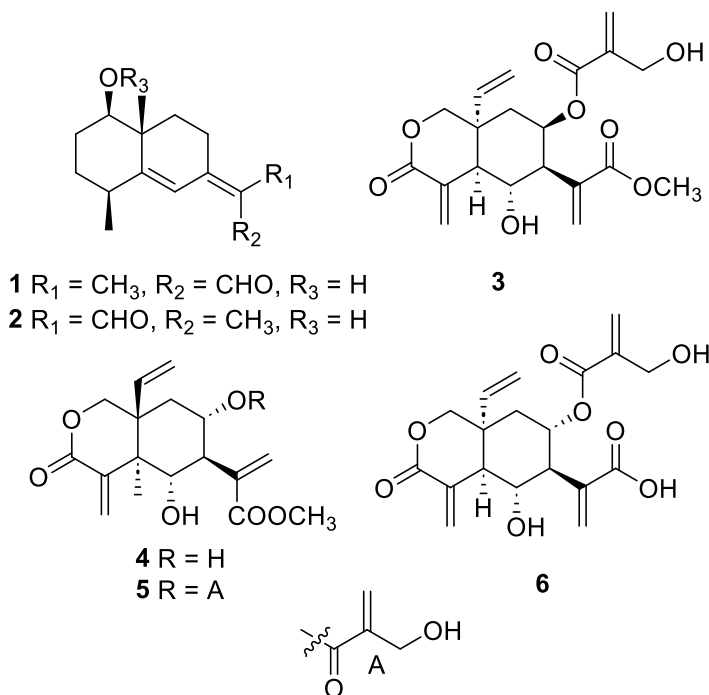
Hình 1. 4. Phân loại các hợp chất sesquiterpene lactone

Sesquiterpene lactone (SL) là các hợp chất chuyển hóa thứ cấp phổ biến được tìm thấy ở một số họ thực vật như Acanthaceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Euphorbiaceae, Cactaceae, Solanaceae, Araceae, Lauraceae, Rutaceae, Hepatideae, và Asteraceae, phổ biến nhất là ở họ Asteraceae (họ Cúc). Các sesquiterpene lactone thể hiện nhiều hoạt tính sinh học nổi bật như: kháng vi sinh vật, kháng viêm, chống ung thư, kháng sốt rét,... Hoạt tính sinh học của các sesquiterpene lactone phần lớn do có sự hiện diện của α -methylene- γ -lactone trong cấu trúc của chúng. Dựa theo sự cấu trúc vòng carbon, sesquiterpene lacton được chia thành các nhóm nhóm chất chính: germacranolide, guaianolides, pseudoguaianolides, xanthanolides, eudesmanolides, elemanolides, cadinanolides, glaucolide, hirsutinolide (Hình 1.4) [6].

Các nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất sesquiterpene lactone từ các loài thuộc chi *Vernonia* được tiến hành từ những năm 1982. Tổng quan tài liệu, tính đến nay đã có 101 hợp chất được báo cáo:

1.3.1.1. Nhóm chất eudesmane

Năm 1982, nhóm tác giả Bohlmma đã phân lập được từ rễ của loài *V. stipulacea* hai hợp chất eudesman đầu tiên là vernostipulal A (**1**), vernostipulal B (**2**) [7]. Các nghiên cứu tiếp theo ở loài *V. amygdalina*, đã phân lập thêm một hợp chất và được xác định là vernodalol (**3**) [8]. Các công bố khác chỉ ra rằng hợp chất này cũng được phát hiện ở loài *V. anthelmintica* và *V. cinerascens* [9] [10].



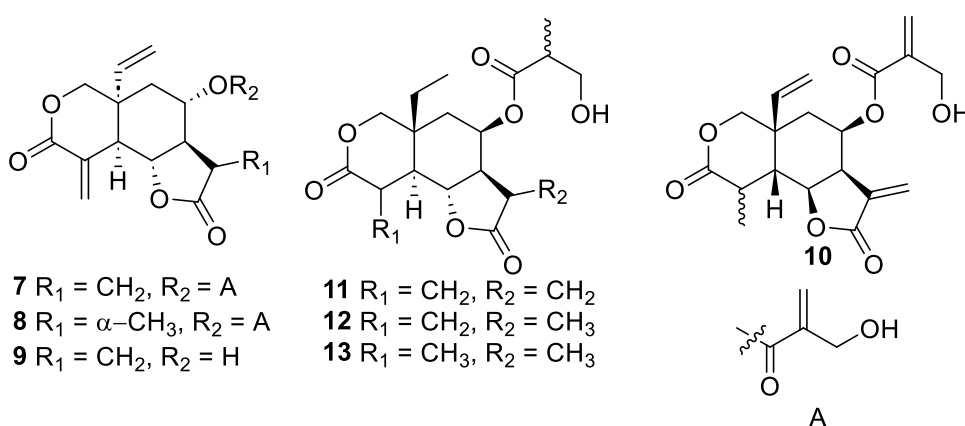
Sau đó đến năm 2006, hai hợp chất mới thuộc khung eudesmane, lasiopulide (**4**), epivernodalol (**5**) được báo cáo từ thân, cành, lá của loài *V. lasiopus*. Các hợp chất này là các epimer tại vị trí C-10 của vernodalol và demethylacroyl vernodalol. Trong

cấu trúc của vernodalol, hai vòng sáu cạnh liên kết với nhau ở dạng *cis* trong khi ở epivernodalol là dạng *trans* [11].

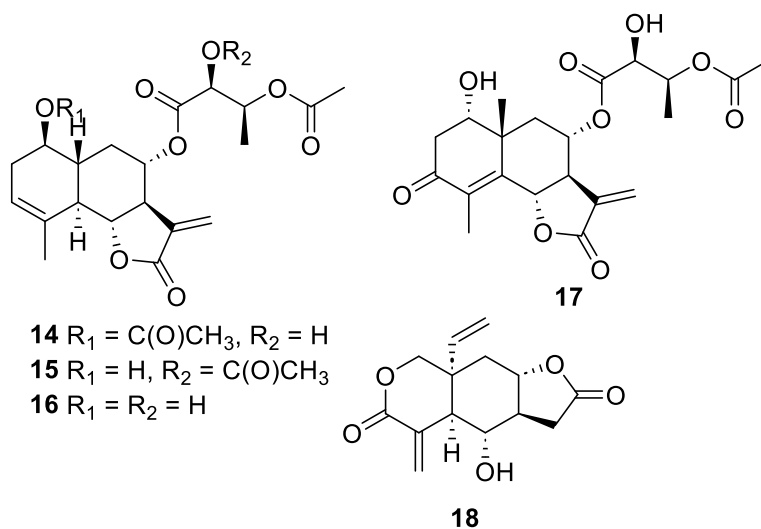
Từ loài *V. anthelmintica* năm 2015, cộng sự và Turak đã phân lập được ba hợp chất lasiopulide (4), epivernodalol (5), và vernodalinol (6) [12]. Đây là các hợp chất chứa các nhánh 4-hydroxytigloyl, tygloyl, 2-methylacryloyl đặc trưng của các sesquiterpene lactone phân lập từ chi *Vernonia*.

1.3.1.2 Nhóm chất eudesmanolide

Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Kimani, Thụy Sỹ đã phân lập và báo cáo hai hợp chất sesquiterpene lactone khung eudesmanolide bao gồm vernodalin (7), 11 β ,13-dihydrovernodalin (8) [10].



Từ loài *V. amygdalina*, đã tìm thấy sáu hợp chất thuộc nhóm eudesmanolide là: vernoleptin (9), 4,15-dihydrovernodalin (10), 1,2,2',3'-tetrahydrovernodalin (11), 1,2,11,13,2',3'-hexahydrovernodalin (12), 1,2,3,15,11,13,2',3'-octahydrovernodalin (13), vernomenin (18) [13].



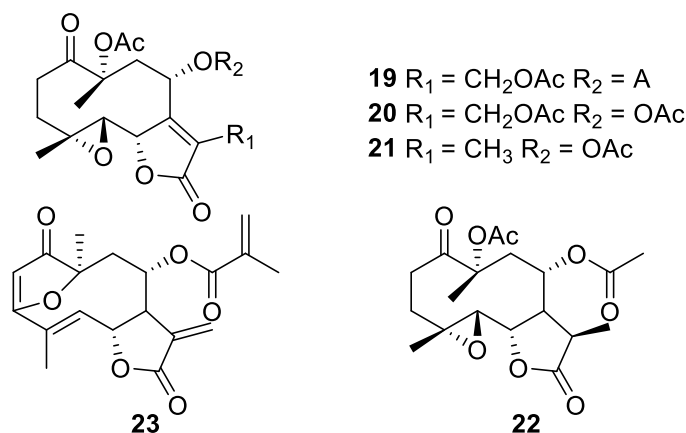
Toàn bộ các bộ phận trên mặt đất của loài *V. blumeoides* thu tại Nigeria, các nhà khoa học thuộc nhóm của Aliyu đã xác định được bốn hợp chất mới có khung

eudesmanolide sesquiterpene lacton blumeoidolide A-D (**14 -17**). Đây là các hợp chất hiếm gặp ở chi *Vernonia* phân bố ở châu Phi [14].

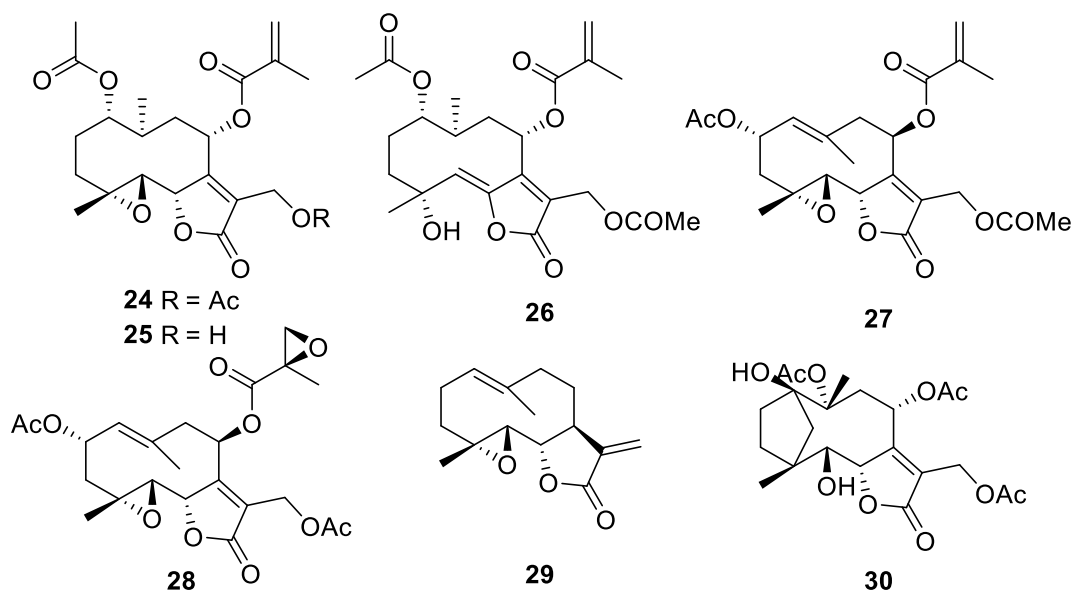
1.3.1.3. Nhóm chất glaucolide

Khung chất glaucolide được đề cập đến lần đầu tiên từ chi *Vernonia* được tiến hành bởi Watson và Beth Wu, họ đã tiến hành phân lập các hợp chất chính từ loài *V. glauca* và 25 loài khác thuộc chi *Vernonia* thu ở Nam Mỹ và Bắc Mỹ. Hai hợp chất glaucolide sesquiterpene lactone mới được xác định là glaucolide A (**19**) và glaucolide B (**20**) được phân lập từ loài *V. baldwinii* [15]. Ngoài ra, hợp chất (**20**) cũng được tìm thấy từ loài *V. eremophila* và *V. fruticulosa* [16, 17].

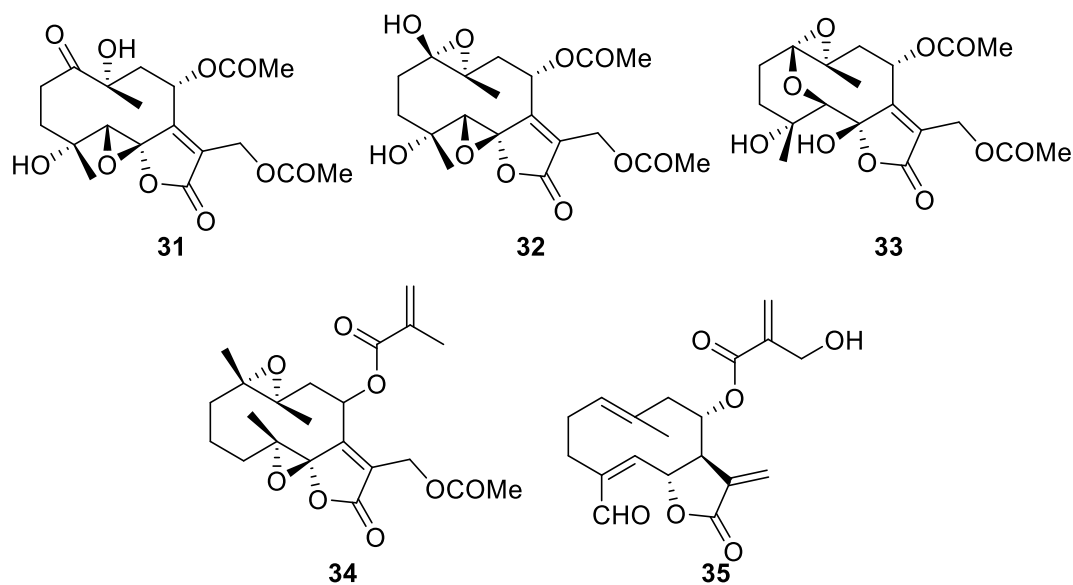
Năm 1991, các nhà khoa học của Brasil đã báo cáo các hợp chất sesquiterpene lactone thuộc khung glaucolide phân lập từ một số loài thuộc chi *Vernonia*. Cụ thể là, hợp chất (**21, 22**) được tìm thấy ở loài *V. fruticulosa*, và hợp chất (**23**) được tìm thấy từ loài *V. pedunculata*.



Ở một nghiên cứu khác, nhóm nghiên cứu Williams đã tách chiết và xác định cấu trúc của ba hợp chất glaucolide mới từ loài *V. pachyclada* và đặt tên là glaucolide K-M (**24 -26**). Các hợp chất này là các sesquiterpene lactone có khung germacra-1(10)-diene-4-epoxide [18].

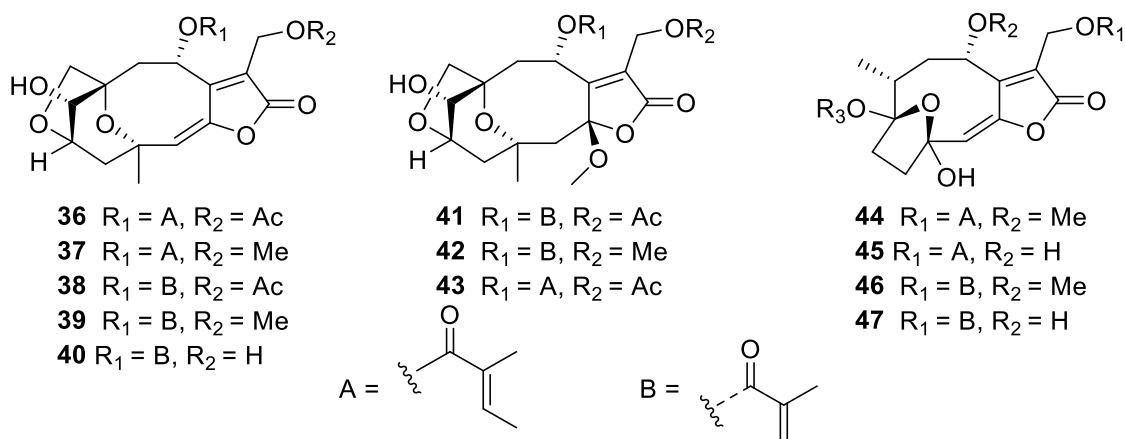


Từ loài *V. liatroides*, Campos và cộng sự đã thành công phát hiện và làm sáng tỏ được cấu trúc của bốn hợp chất thuộc khung glaucolide, gồm glaucolide D và E (**27**, **28**), (1*R*,4*S*,5*R*,6*S*,8*S*,10*R*)-8,10,13-triacetoxy-1(4)-epoxy-1,5-dihydroxy germacr-7(11)-en-6(12)-olide (**29**) và hợp chất parthenolide (**30**). Sự khác biệt trong cấu trúc của nhóm chất này chủ yếu là sự khác nhau về nhóm thế và sự dehydro hóa tạo các thành các liên kết đôi [19].

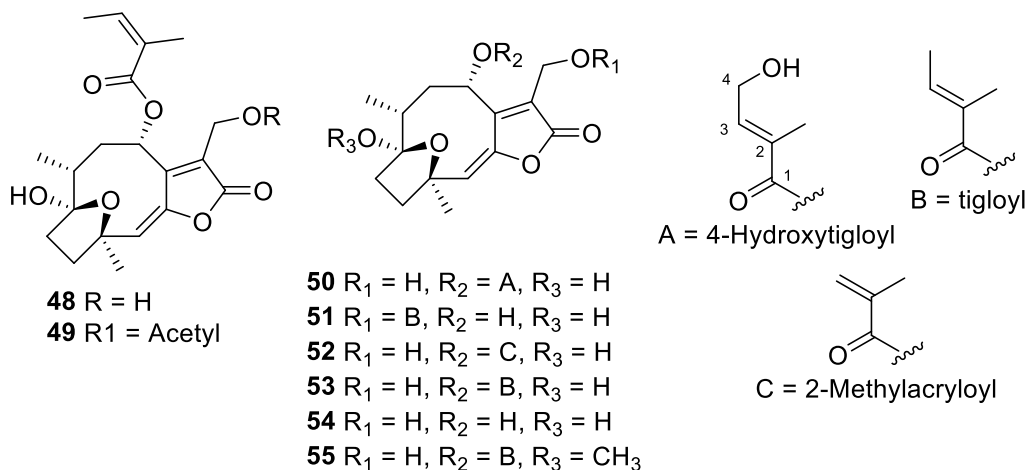


Ngoài ra, một số hợp chất sesquiterpene lactone khác thuộc khung này cũng được phát hiện ở một số loài thuộc chi *Vernonia* như: 8*α*,13-diacetoxy-1*α*,10*α*, -5*β*,6*β*-diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**31**), 10*α*,4*α* -dihydroxy-5*β*,6*β*-isoglaucolide B (**32**), 8*α*,13-diacetoxy-1*α*,10*α*,-1*β*,5*β*-diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**33**), glaucolide C (**34**), glaucolide G (**35**) [20].

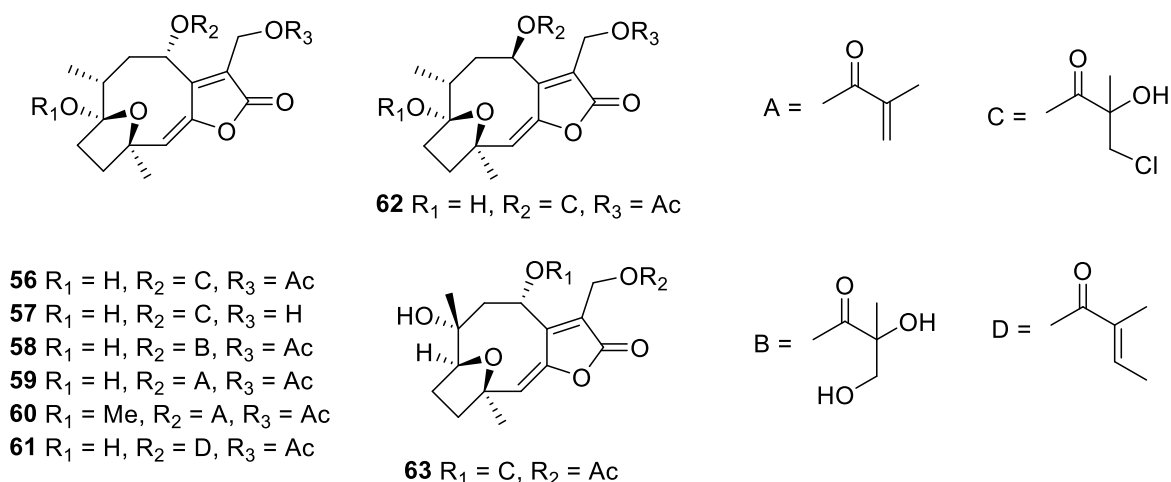
1.3.1.4. Nhóm chất hirsutinolide



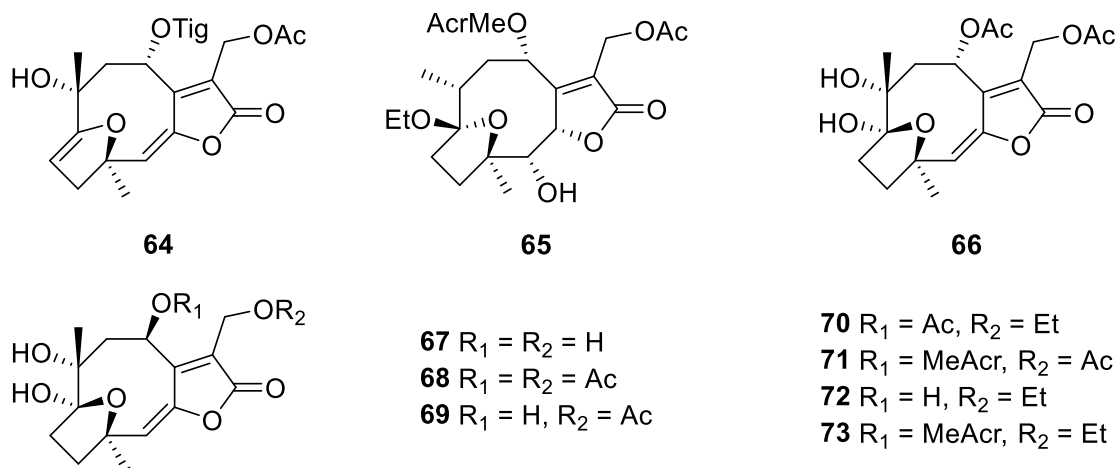
Từ loài *V. cinerea*, tám hợp chất mới thuộc khung hirsutinolide đã được phân tách và làm rõ về cấu trúc là vercinolide A-H (**36 – 43**) và bốn hợp chất cũ: vernolide B (**44**), 8 α -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**), 8 α -(2-methylacryloyloxy)-1 α -methoxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**46**), and 8 α -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**47**). Trong đó, hợp chất (**36 – 43**) là những hợp chất được xác định lần đầu tiên với cấu trúc bao gồm cả vòng ether hiêm ở vị trí 4 α , 10 α và vòng ether ở vị trí 2,4. Các hợp chất (**44 – 47**) được báo cáo với cấu trúc thuộc khung hirsutinolide chứa vòng γ -lactone chứa nối đôi không no ở vị trí α và β kết hợp với vòng ether ở vị trí 1 β , 4 β . Các hợp chất (**44, 45, 47**) sau đó cũng được báo cáo ở loài *V. cinerea* bởi nhóm tác giả Zang và cộng sự năm 2018 [21].



Cũng từ loài này, một nhóm tác giả khác cũng báo cáo sự phân lập của 11 hợp chất hirsutinolide, trong đó bao gồm 4 hợp chất mới 8 α -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide (**48**), 8 α -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**), 8 α -(4-hydroxytigloyloxy)-hirsutinolide (**50**), và 8 α -hydroxy13-*O*-tigloyl-hirsutinolide (**51**). Các hợp chất cũ được xác định cấu trúc là 8 α -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide (**52**), 8 α -tigloyloxyhirsutinolide (**53**), 8 α -hydroxyhirsutinolide (**54**), và vernolide-A (**55**) [22].



Bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel, C-18 gel, MCI gel, nhóm tác giả Xin Chen và cộng sự của ông đã báo cáo phân lập từ loài *V. chinensis* được năm hợp chất mới thuộc khung hirsutinolide sesquiterpene lactone vernchinilide A-E (**56** – **60**) và năm hợp chất cũ, 8β -(2-methylacryloyloxy)hirsutinolide 13-*O*-acetate (**61**), 8α -(2-methylacryloyloxy)- $1\beta,4\beta$ -epoxy- 1α -methoxy-13-*O*-acetate- 10β -*H*-germacra- $5E,7(11)$ -dien-12,6-olide (**62**), 8β -(2-hydroxymethylacryloyloxy)hirsutinolide 13-*O*-acetate (**63**), 8α -tigloyloxyhirsutinolide 13-*O*-acetate (**45**) và vernolide-B (**44**). Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên việc phân tích dữ liệu phổ NMR, đặc biệt là phổ 2D-NMR [23].



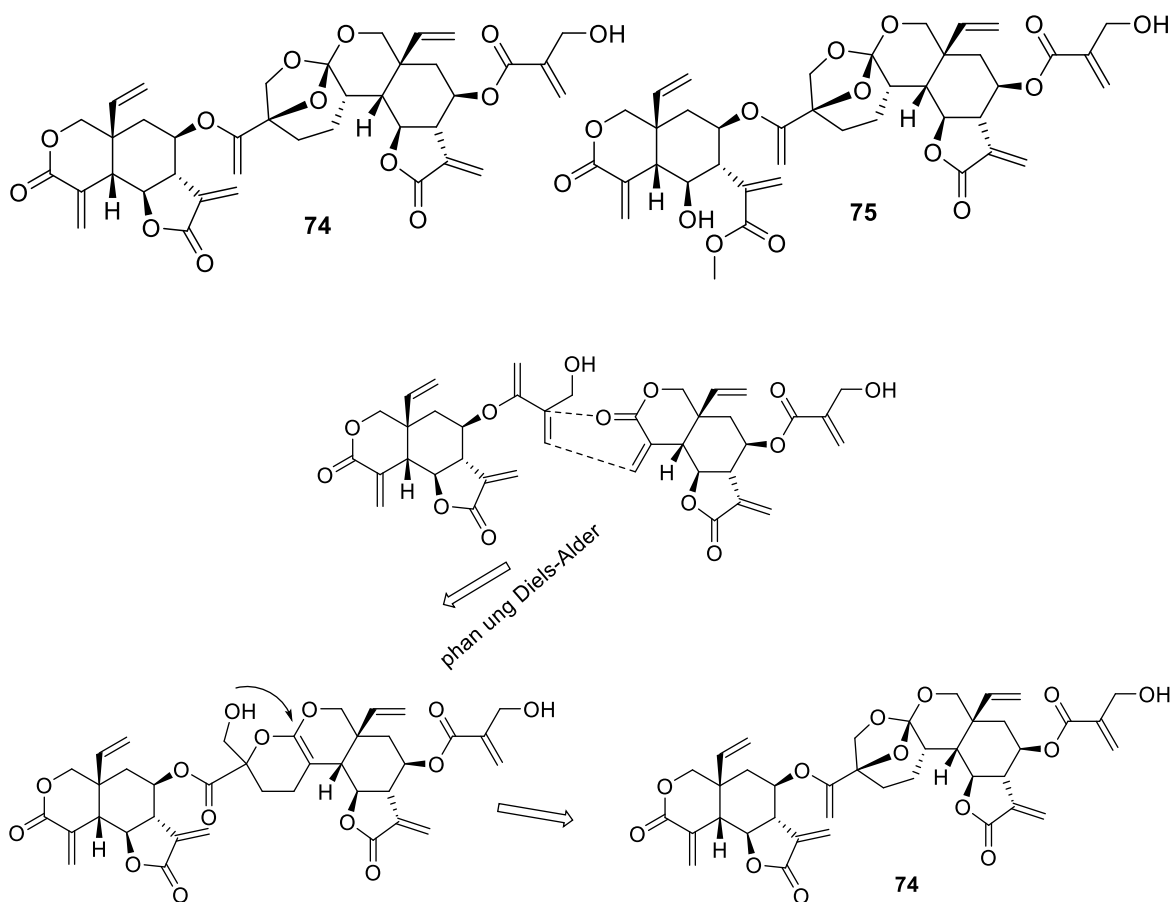
Nhóm tác giả người Mỹ, Bardon cũng đã tìm thấy ba hợp chất là dẫn xuất của hirsutinolide từ loài *V. nudiflora*: ($4R^*,8S^*,10R^*$)-1,4-epoxy-8-tiglyloxy-13-acetoxygermacra- $5E,7(13)$ -dien-6,12-olide (**64**), ($1R^*,4R^*,5R^*,8S^*,10R^*$)-1,4-epoxy-1-ethoxy-5-hydroxy-8-methacryloxy-13-acetoxygermacra- $5E,7(11)$ -dien-6,12-olide (**65**), ($1S^*,4R^*,8S^*,10R^*$)-1,4-Epoxy-8,10-diacetoxy-1-formyloxy-13-hydroxygermacra- $5E,7(11)$ -dien-6,12-olide (**66**) [24].

Tiếp tục nghiên cứu về hai loài, *V. mollissima* và *V. squamulosa*, nhóm tác giả Catalan và cộng sự đã phát hiện và phân lập được bảy hợp chất có khung hirsutinolide.

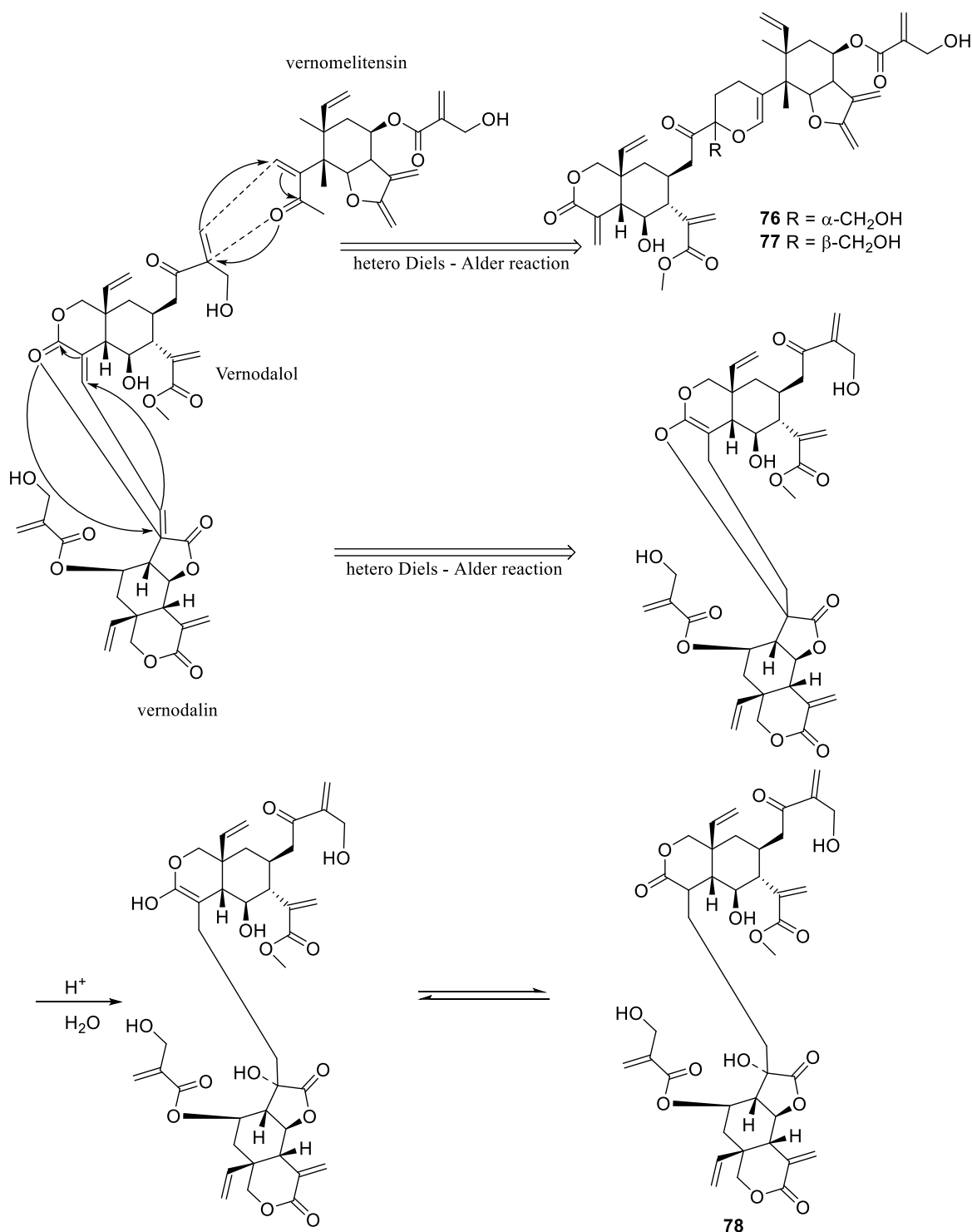
Cấu trúc của các hợp chất được xác định là: piptocarphol (**67**), diacetylpiptocarphol (**68**), piptocarphin D (**69**), 8-acetyl-13-ethoxypiptocarphol (**70**), piptocarphin A (**71**), piptocarphin F (**72**). Các hợp chất **70** – **72** được tìm thấy từ loài *V. bockiana* thu hái tại tỉnh Quizhau, Trung Quốc. Bên cạnh đây, các nhà khoa học Trung Quốc cũng phát hiện thêm một dẫn xuất hirsutinolide mới từ loài *V. bockiana*, và đặt tên là vernobockolide B (**73**) [20].

1.3.1.4. Nhóm chất dimer sesquiterpene lactone

Các dimer sesquiterpene elemanolide mới, vernodalidimers A (**74**) và B (**75**), được phân lập từ hạt của *V. anthelmintica* bởi các nhà khoa học Nhật Bản. Các hợp chất này sở hữu một vòng *ortho* ester tricyclic hiếm gặp. Hợp chất (**74**) là một dimer của vernodalin, trong khi (**75**) là dimer của vernodalin và vernodalol. Sự hình thành hợp chất (**74**) được dự đoán có nguồn gốc từ việc cộng vòng region và stereo Diels-Alder giữa nhóm enone (C-15', C-4', C-3', và O-3') của vernodalin này và methylene C-17, C-18 của vernodalin kia. Sự hình thành dimer (**75**) cũng được dự đoán là tương tự như dimer **74** [25].



Hình 1. 5. Quá trình sinh tổng hợp dimer **74**

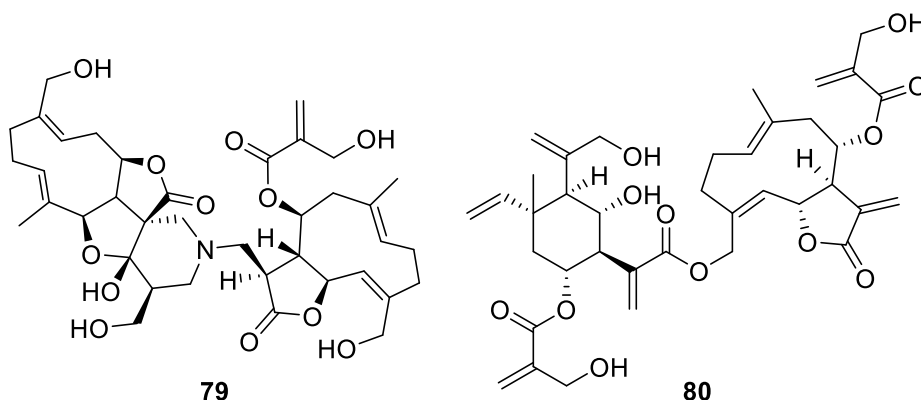


Hình 1. 6. Quá trình sinh tổng hợp dimer (76 -78).

Cũng từ loài này, năm 2015 nhóm tác giả Turak và cộng sự đã phân lập được ba hợp chất Elemanolide dimer, đặt tên là vernodalidimer C, D, E (76-78) cùng bốn hợp chất đã biết là vernodalinol, epivernodalol, lasiopulide, và elemacaranin. Quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất dimer (76, 77) được dự đoán có thể là sự kết hợp bởi tiền chất vernodalol và vernomelitensin thông qua phản ứng cộng vòng Diels-Alder giữa nối đôi ở vị trí C-17, C-18 của vernodalol và nhóm enone (C-4', C-15' và O-3')

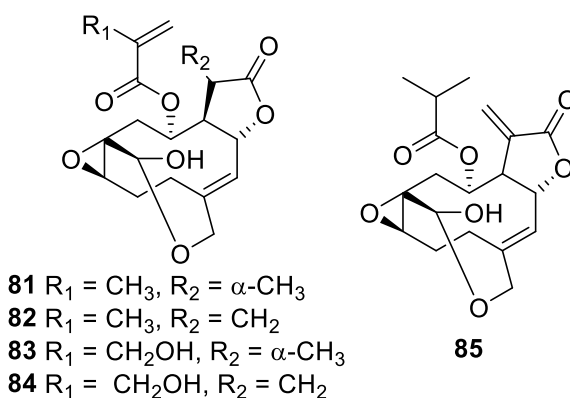
của vernomelitensin. Trong khi đó, hợp chất (**78**) được cho là hình thành từ phản ứng Diels-Alder giữa nhóm methylene (C-11', C-13') của vernolalin và C-4, C-15, C-3 và gốc O-3 của vernodalol, sau đó là phản ứng mở vòng và tautomer keto-enol.

Gần đây, hai hợp chất dimer thuộc khung germacranolide sesquiterpene – alkaloid tufnelactone A (**79**), tufnelactone B (**80**) được báo cáo từ loài *V. tufnelliae*. Trong đó, hợp chất **79** là dimer bốn vòng nhưng tụ 10/5/5/6-tetracyclic germacranolide với nhóm hexahydro-1*H*,3*H*,7*H*-furo [3',4':3,4] furo [3,2-c] pyridin-1-one là kết quả của quá trình đóng vòng của nhóm methacrylate và nhóm amin. Hợp chất (**80**) là một hợp chất dimer elemene-germacranolide [26].

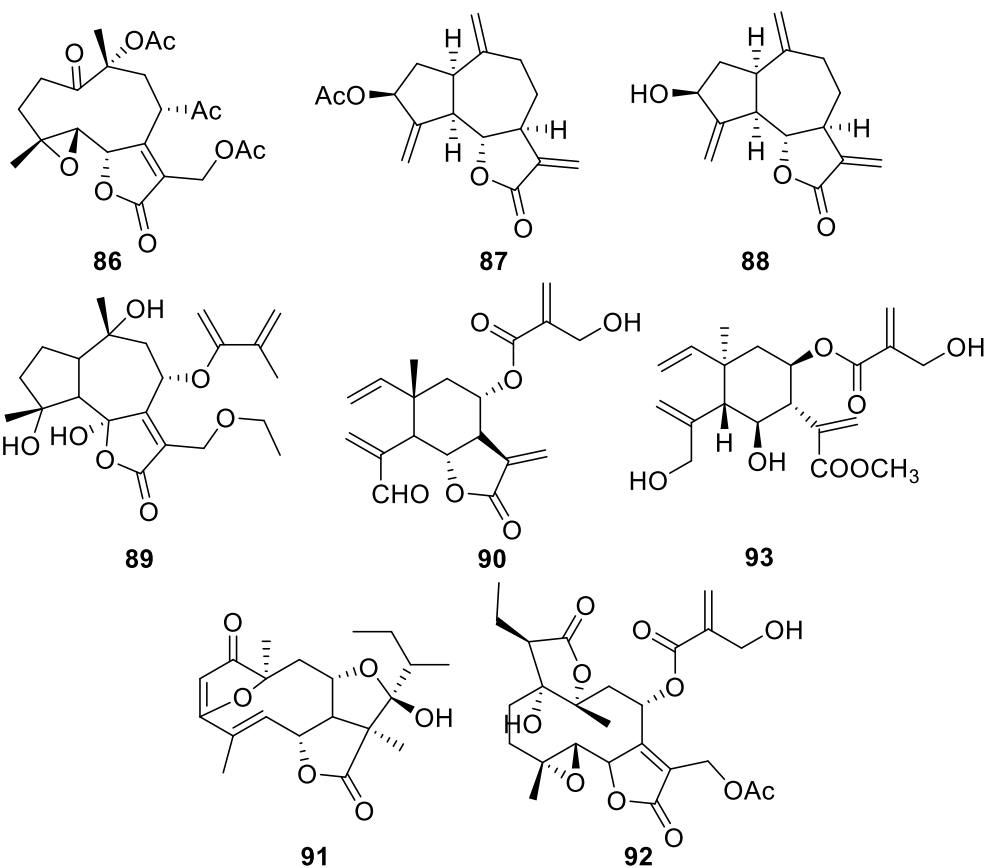


1.3.2. Các hợp chất sesquiterpene lactone khác:

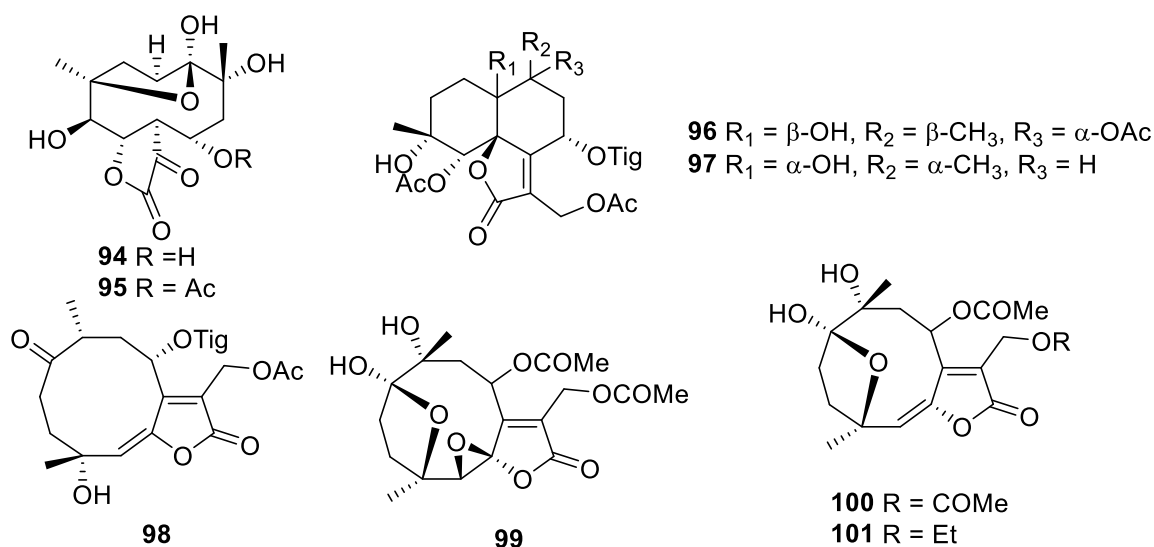
Từ chi *Vernonia*, các nhà khoa học cũng phân lập được một số sesquiterpene lactone khác như: 11 β ,13-dihydrovernolide (**81**), vernolide (**82**), 11 β ,13-dihydrohydroxyvernolide (**83**), hydroxyvernolide (**84**), vernomydin (**85**) [12].



Ngoài ra, các hợp chất khác cũng được báo cáo như glaucolide B (**86**), zaluzanin C (**87**), blumeoidolide-A (**88**), vernobockolide A (**89**), vernomelitensin (**90**), eremantholide B (**91**), 16,17-dihydrobrachycalixolide (**92**), vernodalinol (**93**) [14, 16].

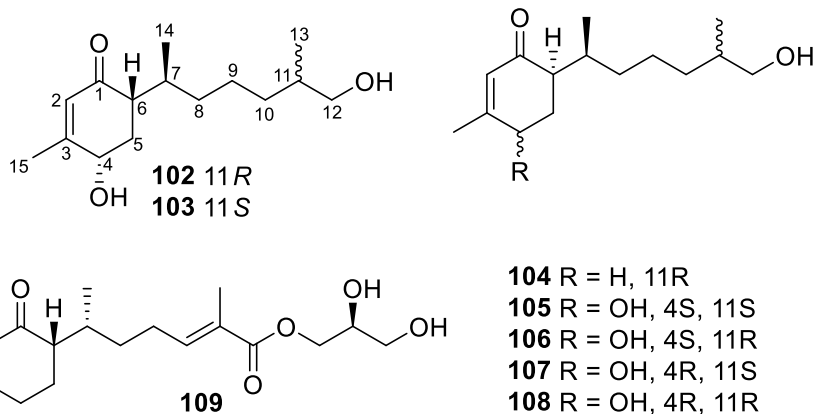


8 α -acetoxy-2-*epi*-vernomargolide-1,4-cyclohemiacetal (**94**), 8 α -hydroxy-2-*epi*-vernomargolide-1,4-cyclohemiacetal (**95**), (1*S*,4*R*,5*S*,6*S*,8*S*,10*R*)-1,4-dihydroxy-5,10,13-triaceroxy-8-tiglyloxy-cadin-7(11)-en-6,12-olide (**96**), (1*R*,4*R*,5*R*,6*R*,8*S*,10*R*)-1,4-dihydroxy-5,13-diacetoxy-8-tiglyloxy-cadin-7(11)-en-6,12-elide (**97**), 4*R*,8*S*,10*R*)-1-oxo-4-hydroxy-8-tiglyloxy-10-acetoxygermucra-5*E*,7(13)-trien-6,12-olide (**98**), 10 α ,4 α -dihydroxy-5 β ,6 β -isoglaucolide B (**99**), 8 α ,13-diacetoxy-1 α ,10 α ,-1 β ,5 β -diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**100**), 8 α ,13-diacetoxy-1 α ,10 α -hydroxy-5,6-epoxy-hirsutinolide (**101**) [27-31].

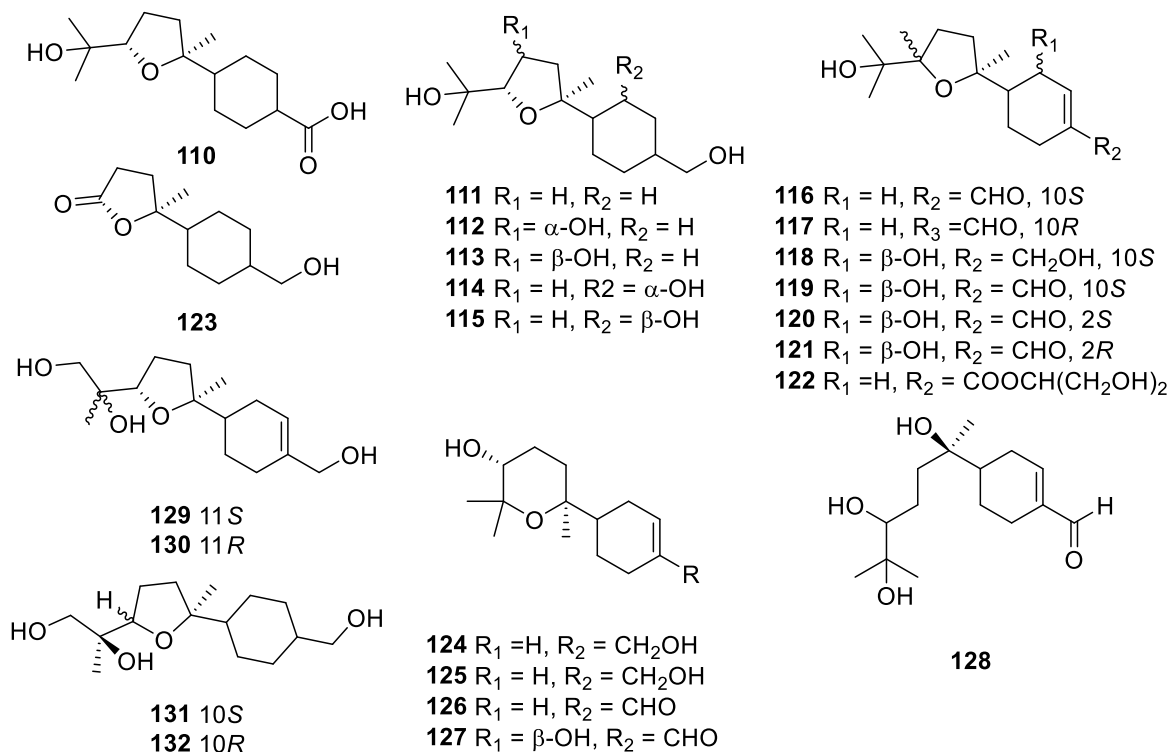


1.3.3. Các sesquiterpene khác

Ngoài các hợp chất sesquiterpene lactone, Liu và cộng sự năm 2022 đã báo cáo xác định được cấu trúc của 7 hợp chất mới amygdanoid A-G (**102** – **108**) và 1 hợp chất cũ ptilosteminol (**109**) từ loài *V. amygdalina*. Các hợp chất (**102** – **108**) là các hợp chất thuộc khung bisabolane-type sesquiterpenes [32].



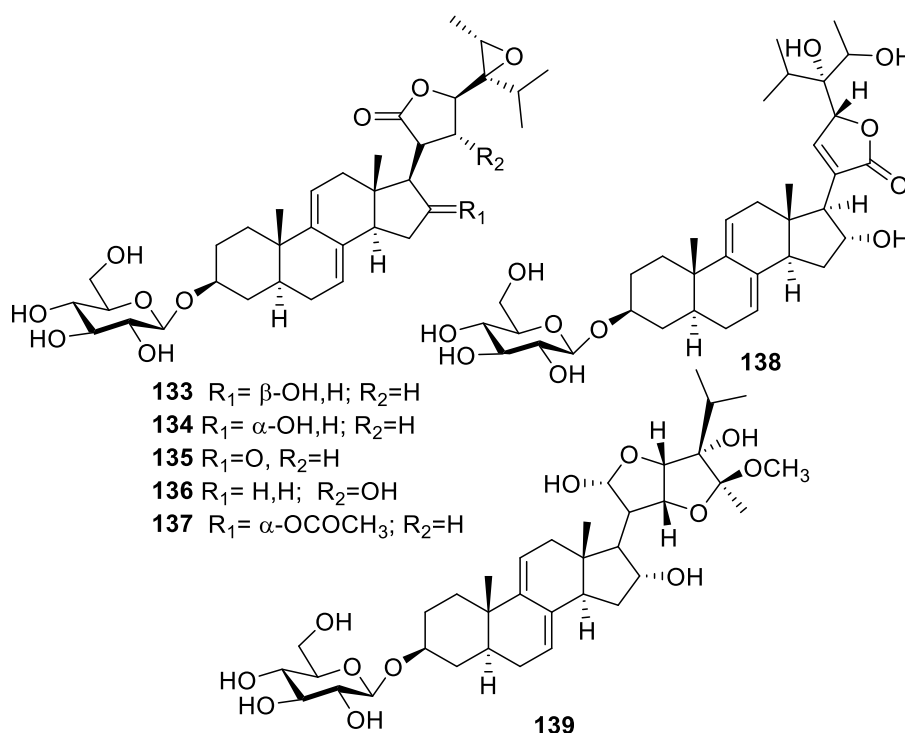
Đến năm 2023, nhóm nghiên cứu của các nhà khoa học Trung Quốc cũng phân lập được 23 hợp chất bisanolane sesquiterpene mới, đặt tên là vernonifolin (A–Q) và vernonifolinic acid (A–F) trong đó các hợp chất (**110** – **123**, **129** – **132**) là các hợp chất chứa vòng tetrahydrofuran hiếm gặp, còn các hợp chất (**124** – **128**) là các hợp chất có vòng tetrahydropyran. Hợp chất **116/117**, **131/132** là các cặp đồng phân epimer tại vị trí C-10, còn các chất **129/130**, **120/121** là các cặp đồng phân tại vị trí C-11 và C-2 [33].



1.3.4. Các hợp chất stigmastane steroid

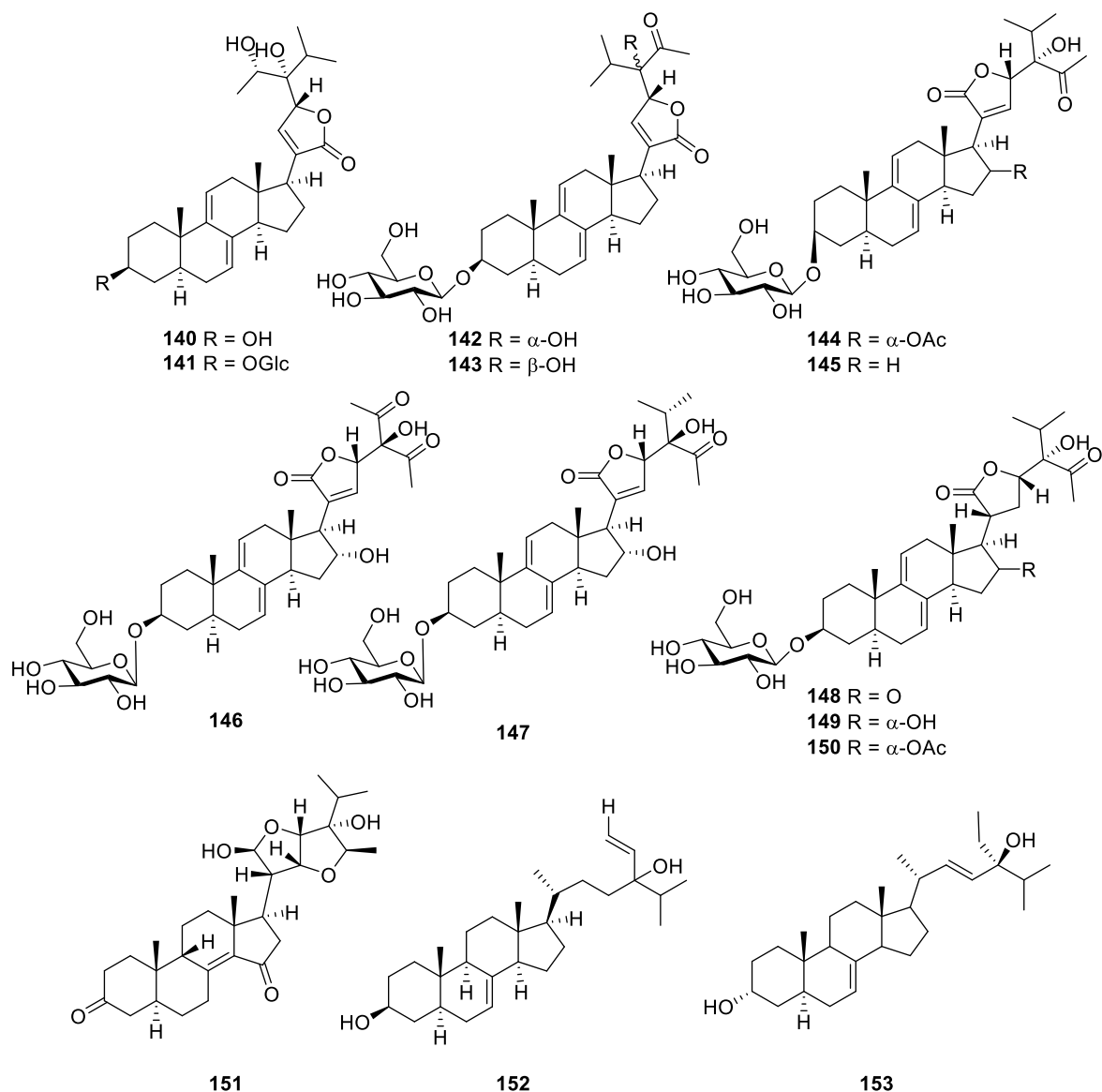
Các hợp chất stigmastane steroid phân lập được từ chi *Vernonia* thường có cấu trúc bốn vòng ngưng tụ 6/6/6/5 với hai nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7,9(11)}$, một số ít hợp chất có chứa nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7,9(14)}$. Trong cấu trúc mạch nhánh thường là vòng γ -lactone, hoặc vòng lactone năm cạnh có chứa nối đôi tại vị trí C-20, C-21, hoặc hai vòng furan hợp nhất tại vị trí C-22, C-23, đôi khi ở dạng mạch thẳng.

Năm 1992, nhóm nghiên cứu của Jisaka và cộng sự tại Nhật Bản, đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học của loài *V. amygdalina*. Kết quả, đã phân lập được các hợp chất vernonioside (A₁ – A₄) bao gồm (133 – 136) và vernonioside (B₁ – B₃) gồm các chất (137 – 139).



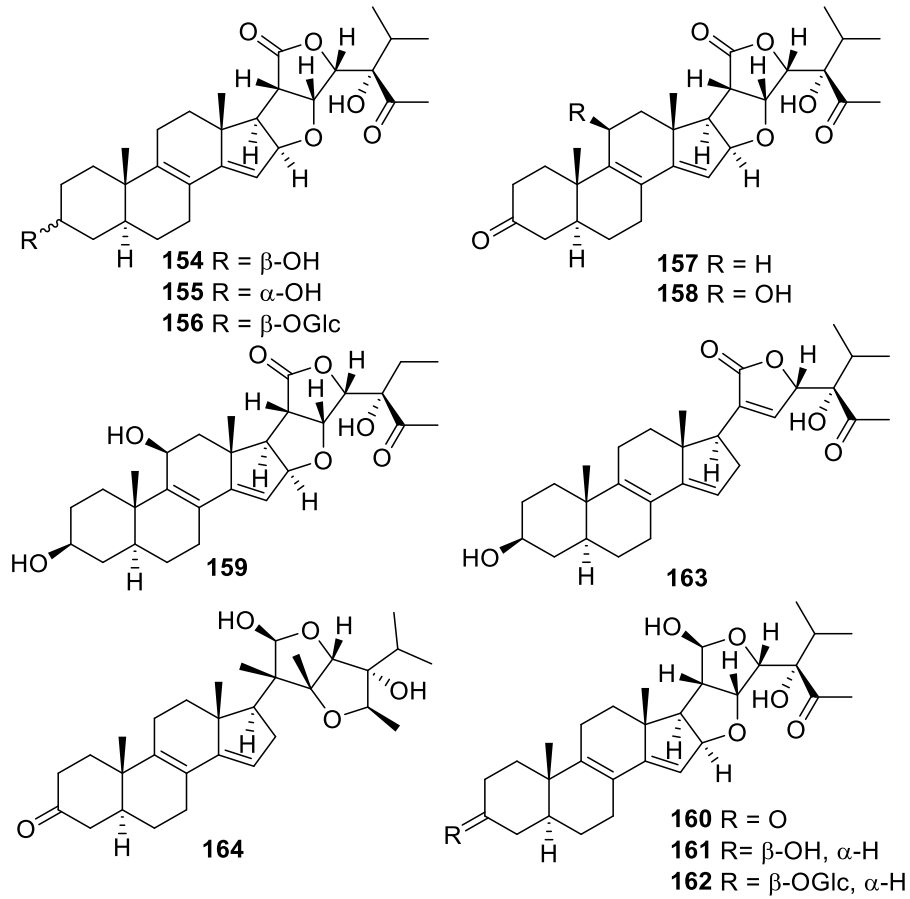
Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Liu và cộng sự, đã phân lập được 11 hợp chất mới trong đó có 1 aglycone và 10 glycoside veramyoside A-J (140 – 150) cũng như 3 hợp chất đã biết (151 – 153) từ cành của loài *V. amygdalina*. Các hợp chất này đều có cấu trúc thuộc khung stigmastane steroid với hai nối đôi liên hợp $\Delta^{7,9(11)}$ và mạch nhánh là vòng γ -lactone hoặc vòng lactone 5 cạnh với vị trí α, β không bão hòa [34].

Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Liu và cộng sự, đã phân lập được 11 hợp chất mới trong đó có 1 aglycone và 10 glycoside veramyoside A-J (140 – 150) cũng như 3 hợp chất đã biết (151 – 153) từ cành của loài *V. amygdalina*. Các hợp chất này đều có cấu trúc thuộc khung stigmastane steroid với hai nối đôi liên hợp $\Delta^{7,9(11)}$ và mạch nhánh là vòng γ -lactone hoặc vòng lactone 5 cạnh với vị trí α, β không bão hòa [34].

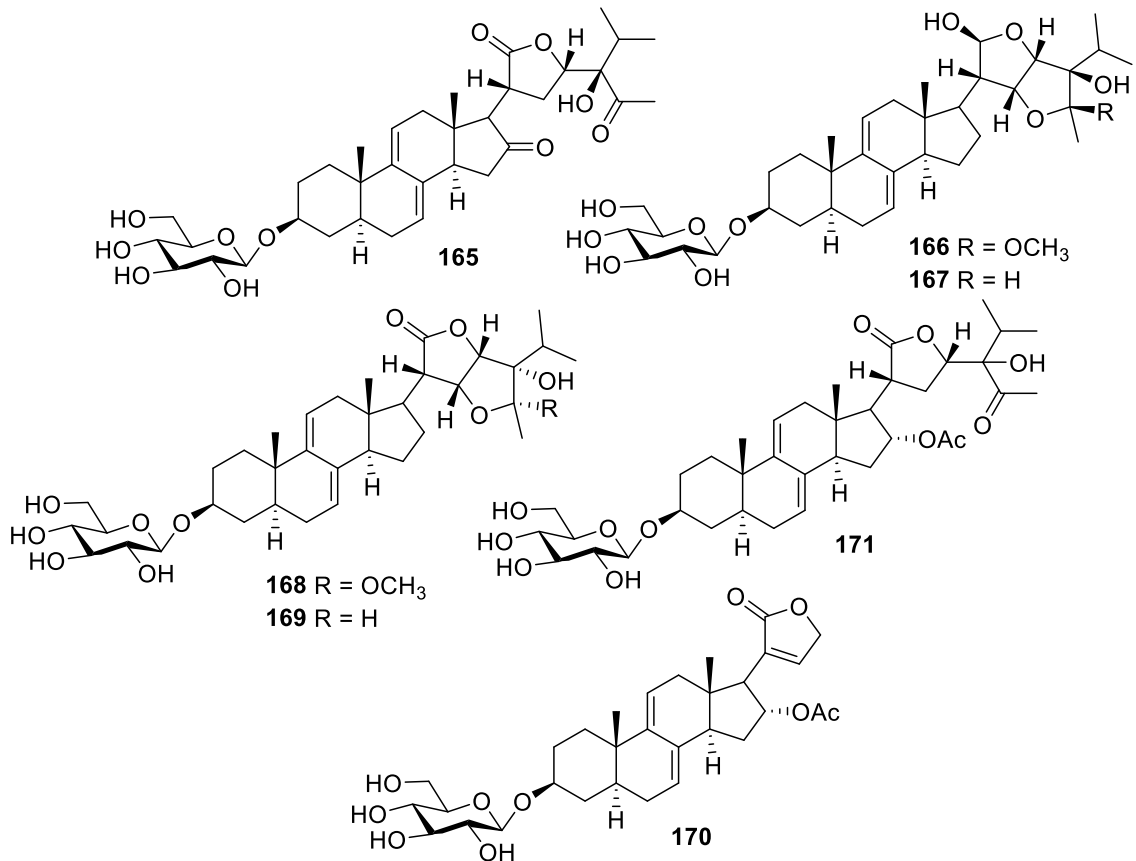


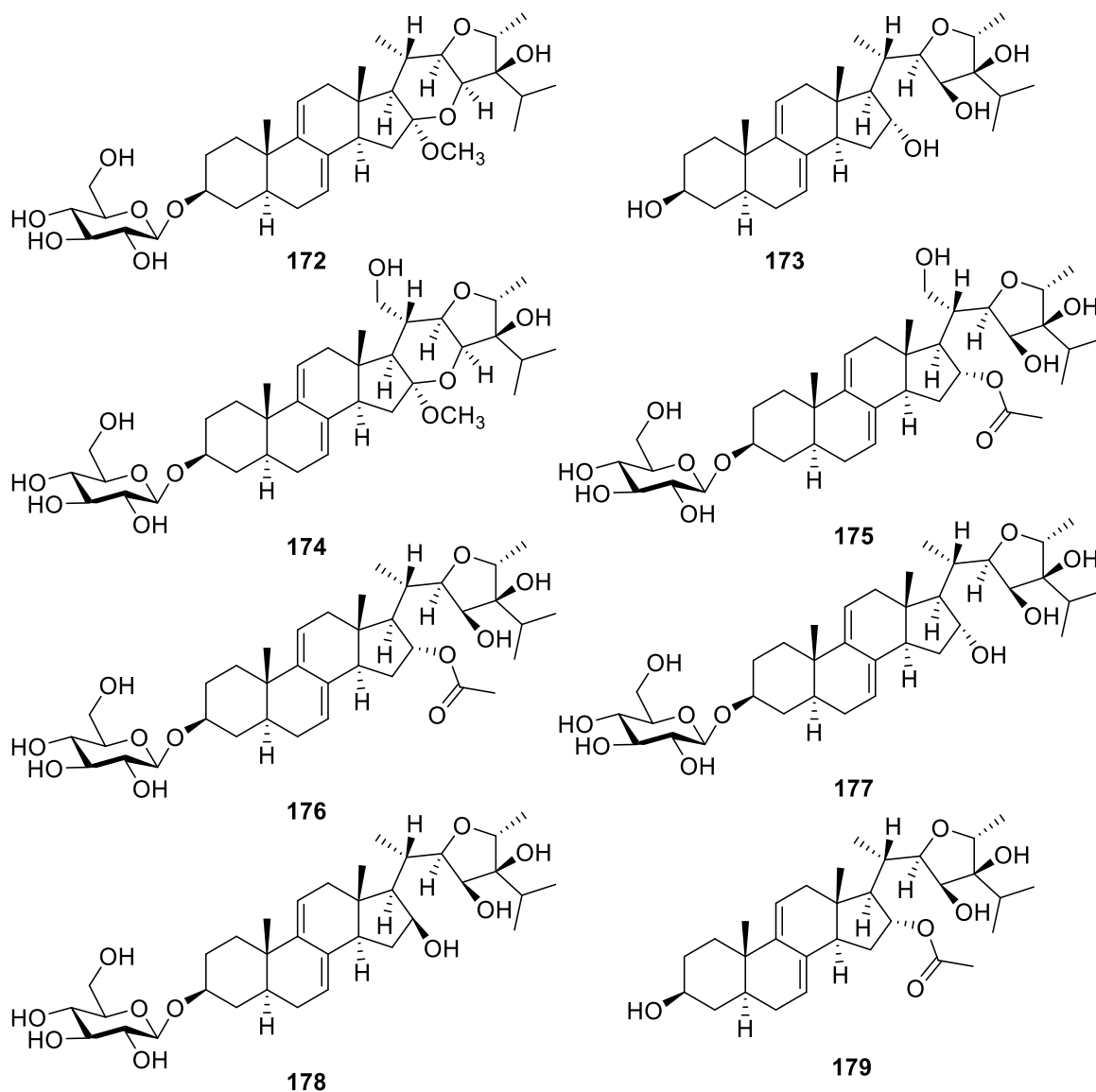
Chín hợp chất mới có khung stigmasterane steroid, vernoanthelein A-I (**154** – **162**) và hai hợp chất stigmasterane steroid glycoside vernoantheleoside A (**163**) và B (**164**) được tìm thấy từ loài *V. anthelmintica*. Cấu trúc của các hợp chất này được làm sáng tỏ dựa trên các phổ IR, MS, 1D-NMR, 2D-NMR. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất này được xác định bởi phổ CD và X-ray [35].

Sáu hợp chất lần đầu tiên công bố thuộc khung stigmasterane steroid vernoramysides A-F (**165** – **170**) và một hợp chất đã biết (**171**) cũng được tìm thấy từ loài *V. amygdalina* bởi nhóm các nhà khoa học Trung Quốc [36]



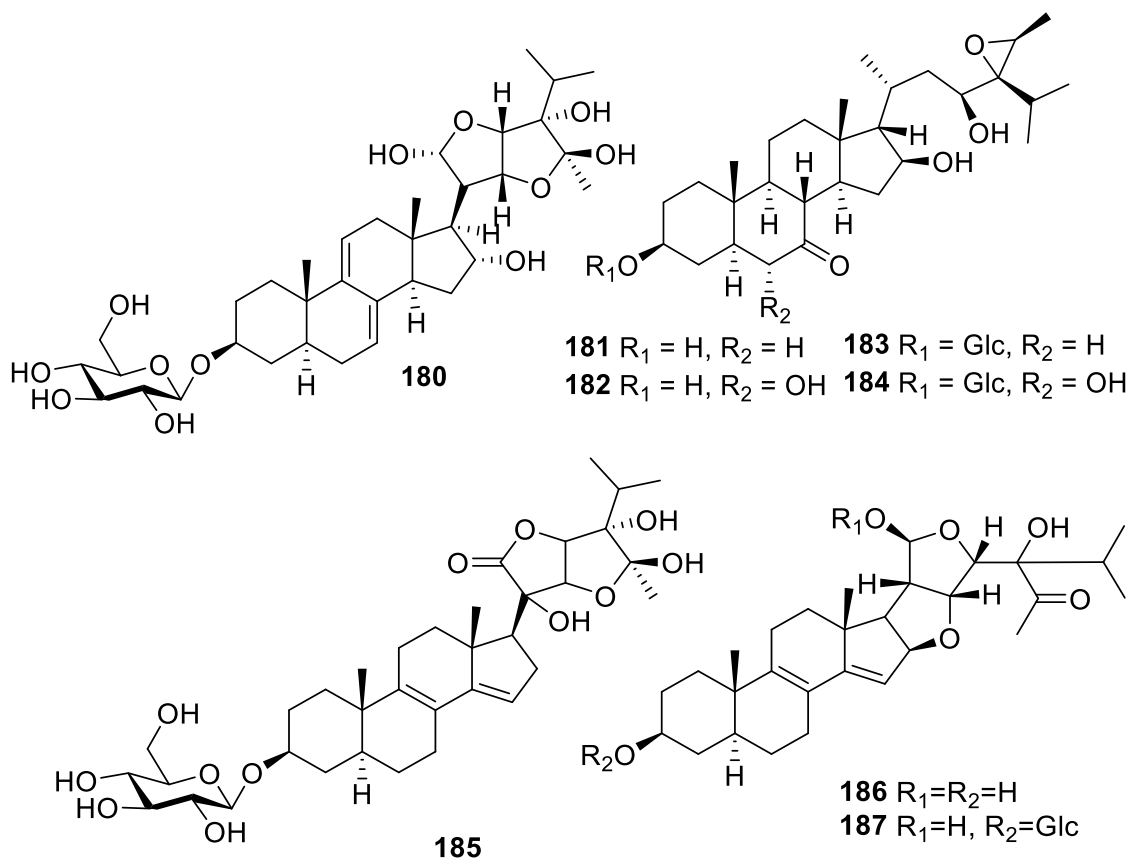
Nhóm tác giả Liu và cộng sự, năm 2022, báo cáo tám hợp chất thuộc khung stigmastane-steroid là vernonin M-T (**172-179**) [37].



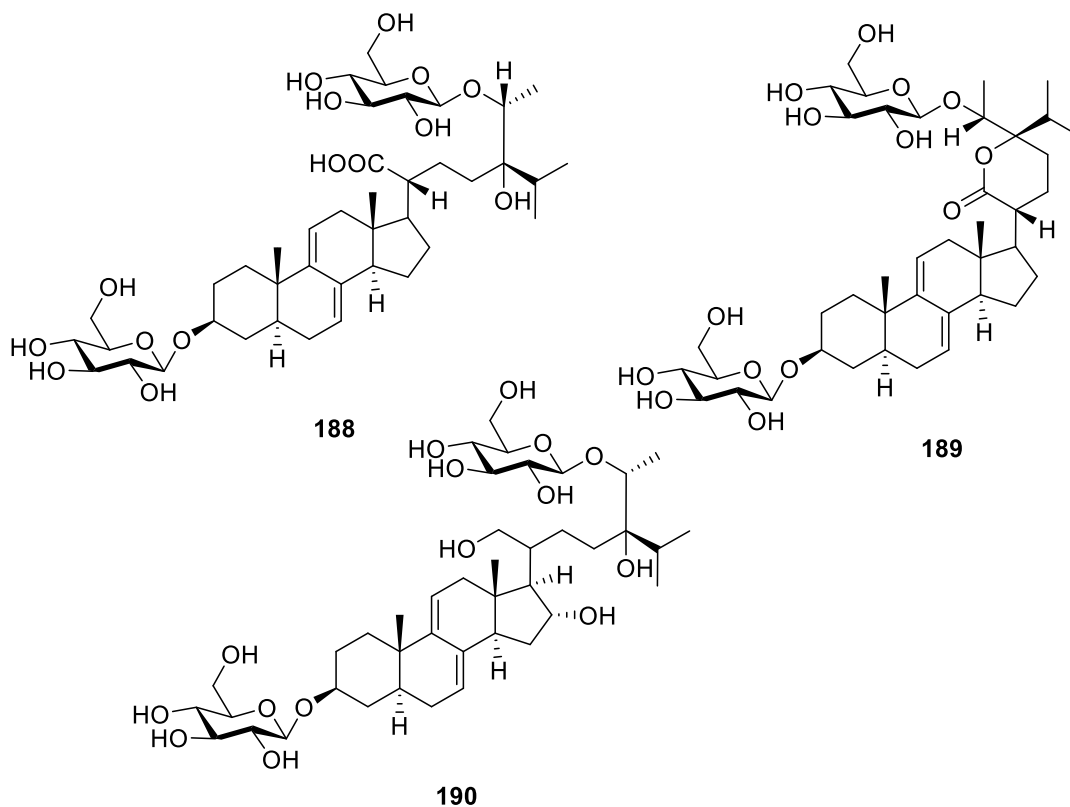


Nhóm nghiên cứu của các nhà khoa học Việt Nam, cũng báo cáo một hợp chất stigmastane steroid mới từ loài *V. amygdalina* và đặt tên là vernioside V (**180**) [38]. Đến gần đây, tháng 2/2023 nhóm nghiên cứu tại Cameroon đã báo cáo 4 hợp chất lần đầu tiên công bố và hai hợp chất đã biết từ loài *V. kotschyana* (**181 - 184**) [39].

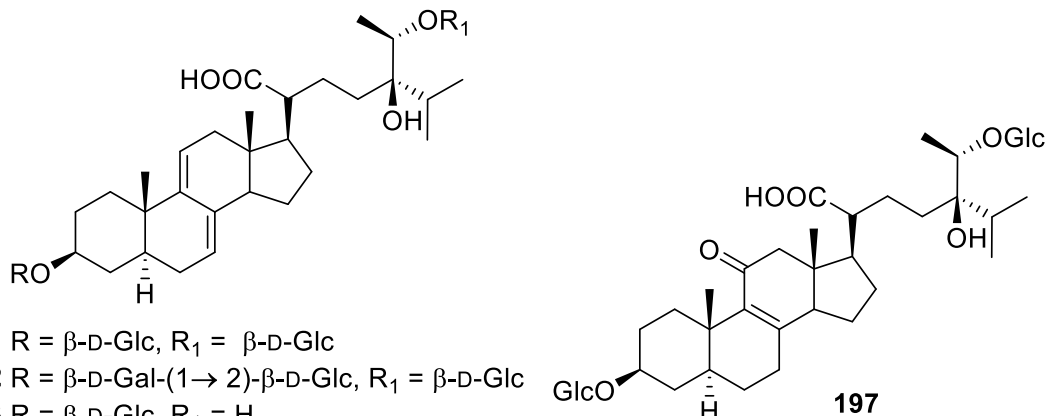
Ở một nghiên cứu khác, nhóm tác giả Donfack cũng đã tìm thấy từ loài *V. guineensis*, một hợp chất mới, đặt tên vernoguinoside A (**186**) và hợp chất đã tìm thấy trước đó vernoguinoside (**187**) [40].



Ba hợp chất mới, là dẫn xuất của stigamstane steroid saponin: vernoniosides **S1** (**188**), vernoniosides **S2** (**189**) và vernoniosides **S3** (**190**) cũng được báo cáo từ cành của loài *V. cumingian* [41].

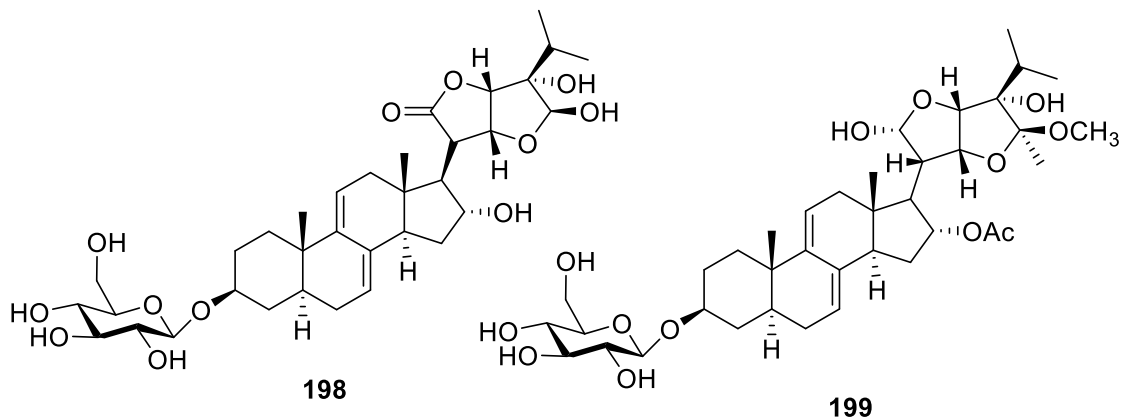


Trong nghiên cứu của Liu và cộng sự ở Trung Quốc đã tiến hành nghiên cứu về vỏ của loài *V. cumingiana* đã phân tách được 07 hợp chất stigmastane steroid glycoside mới đặt tên là vernocuminosides A–G (**191** - **197**). Trong đó, cấu trúc của các hợp chất (**191-196**) gồm 29 carbon và chứa nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7(9),11}$, tuy nhiên cấu trúc của hợp chất (**197**) lại chỉ chứa một nối đôi tại vị trí $\Delta^{8,9}$ và một nhóm keton tại vòng C, cùng với hai đường ở vị trí C-3 và C-28 [42].

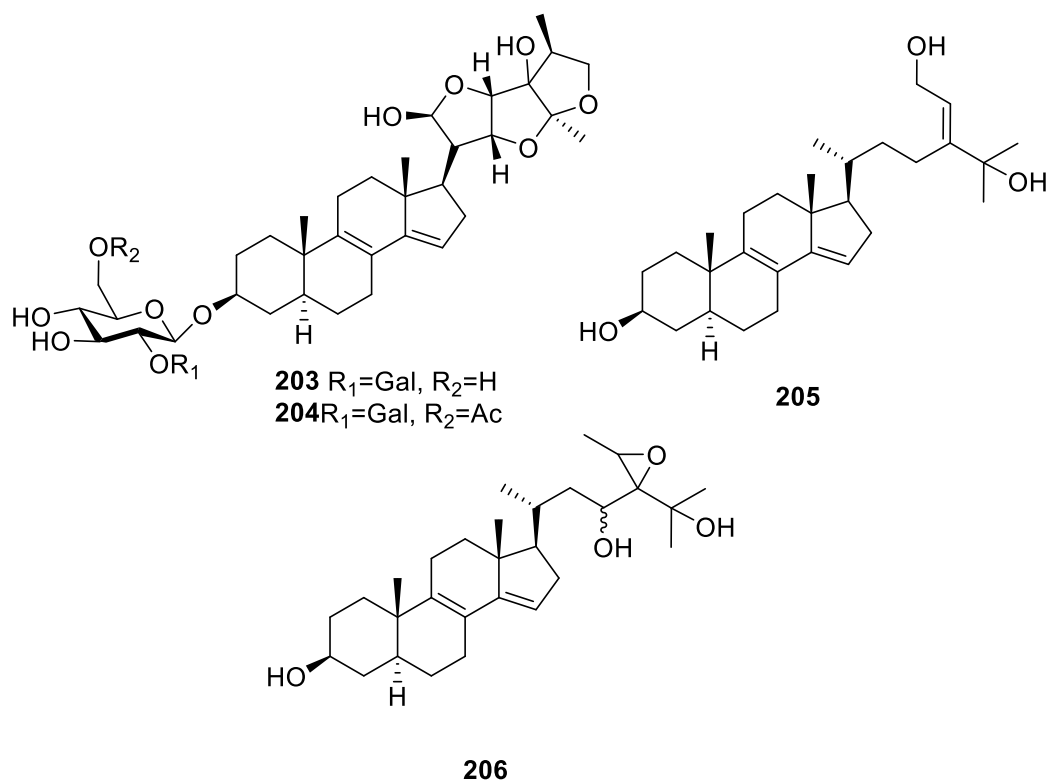


- 191** R = β -D-Glc, R₁ = β -D-Glc
192 R = β -D-Gal-(1→2)- β -D-Glc, R₁ = β -D-Glc
193 R = β -D-Glc, R₁ = H
194 R = β -D-Gal-(1→2)- β -D-Glc, R₁ = H
195 R = α -L-Ara-(1→2)- β -D-Glc, R₁ = H
196 R = α -L-Ara-(1→2)- β -D-Glc, R₁ = β -D-Glc

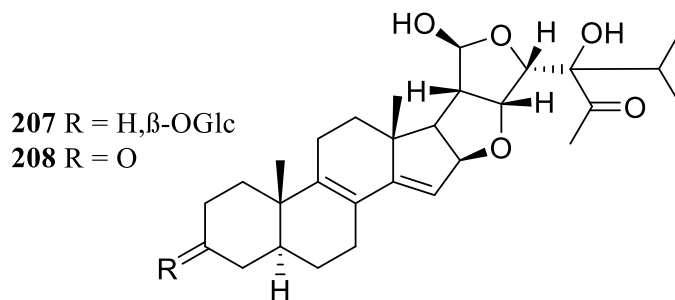
Cũng từ rễ loài này, năm 2016, hai hợp chất mới vernoniacum A (**198**) và B (**199**) cũng được báo cáo [43].



Bốn hợp chất stigmastane steroid lần đầu tiên báo cáo được tìm thấy từ lá của loài *V. colorata* bởi các tác giả Italy, chúng lần lượt được xác định là: $3\beta,21,24$ -trihydroxy-21,23;22,28;26,28-triepoxy- 5α -stigmasta-8(9),14(15)-dien-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside (**203**), $3\beta,21,24$ -trihydroxy-21,23;22,28;26,28-triepoxy- 5α -stigmasta-8(9),14(15)-dien-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1→2)- β -D-(6-acetyl)glucose (**204**), $3\beta,25,29$ -trihydroxy- 5α -stigmasta-8(9),14(15),24Z(28)-triene (**205**), $3\beta,23,25$ -trihydroxy-24,28-epoxy- 5α -stigmasta-8(9),14(15)-diene (**206**) [44].



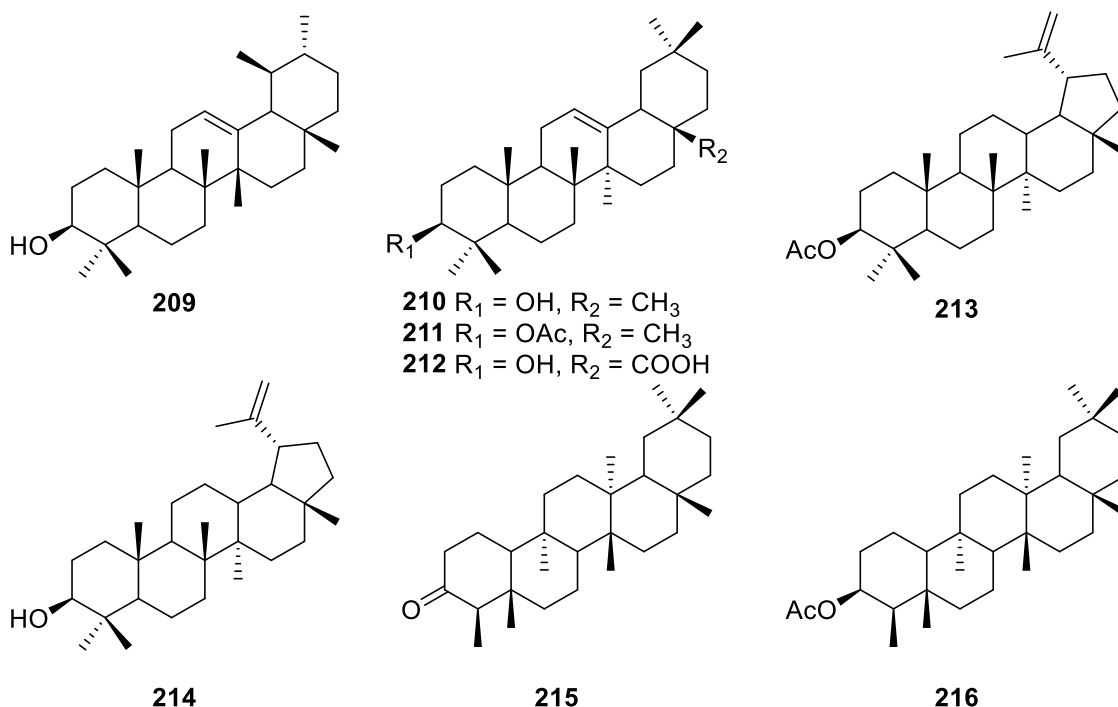
Tiếp tục Tchinda và cộng sự đã tìm thấy hai hợp chất mới thuộc nhóm chất stigmastane steroid bao gồm: $6\beta,22R;21,23S$ -diepoxy- 3β - O - β -D-glucopyranosyloxy- $21S,24$ -dihydroxy- 5α -stigmasta- $8,14$ -dien- 28 -one (**207**), $16\beta,22R;21,23S$ -diepoxy- $21S,24$ -dihydroxy- 5α -stigmasta- $8,14$ -diene- $3,28$ -dione (**208**) khi tiến hành nghiên cứu về thân vỏ của loài *V. guineensis* [45].



1.3.5. Các hợp chất triterpenoid

Bên cạnh các khung chất stigmasteroid, một số triterpene phổ biến cũng được phân lập và báo cáo từ chi *Vernonia*: Từ loài *V. auriculifera*, đã phân lập được 5 hợp chất triterpenoid thuộc khung ursane: α -amyrin (**209**); oleanane: β -amyrin (**210**), β -amyrin acetate (**211**), oleanolic acid (**212**); lupane: lupenyl acetate (**213**), lupeol (**214**) [46]. bên cạnh đó, hợp chất **210** được báo cáo từ loài *V. brasiliiana* [47].

Ở một nghiên cứu khác trên loài *V. brasiliiana*, nhóm tác giả Alves và cộng sự đã tìm thấy ba hợp chất lupeol (**214**), friedelanone (**215**), friedelin acetate (**216**) [47].

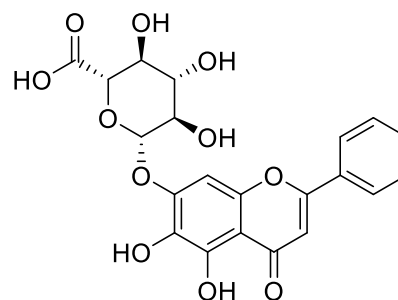
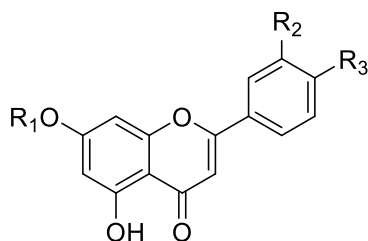


1.3.6. Các hợp chất flavonoid và phenolic

Flavonoid là một trong hai lớp chất phổ biến nhất của chi *Vernonia*. Hầu hết các flavone và các hợp chất phenolic được phân lập từ hai loài *V. amygdalina*, *V. cinerea* và *V. cinerascens*.

Báo cáo về sự phân lập của các hợp chất flavonoid từ chi *Vernonia* được tiến hành từ năm 1977. Ở thời điểm này, từ loài *V. fasciculata*, nhóm tác giả Narain (Mỹ) đã phân lập được hai hợp chất flavone diglycoside: genkwainin (**217**), fasciculatin (**218**) [48].

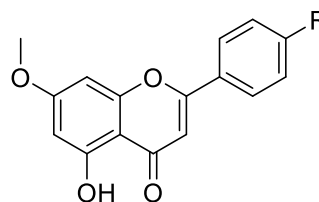
Trong nghiên cứu của nhóm tác giả Alabi và Adeyemi (2021) đã phát hiện được các flavonoid chính từ loài *V. amygdalina* bao gồm luteolin (**219**), luteolin 7-*O*- β -glucuronide (**220**), luteolin 7-*O*- β -glucoside (**221**), các hợp chất này thể hiện hoạt tính chống oxi hóa rất mạnh đặc biệt là hợp chất luteolin. Ngoài ra, sử dụng phương pháp LC-MS/MS nhóm tác giả cũng phát hiện được thêm bảy flavonoid khác là: apigetrin (**222**), apigenin (**223**), diosmetin (**224**), baicalin (**225**), rhoifolin (**226**) [49].



225

- 219** R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = OH
220 R₁ = GlcA, R₂ = OH, R₃ = OH
221 R₁ = Glc, R₂ = OH, R₃ = OH
222 R₁ = H, R₂ = H, R₃ = OH
223 R₁ = Glc, R₂ = H, R₃ = OH
224 R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = OCH₃
226 R₁ = Rut, R₂ = H, R₃ = OH

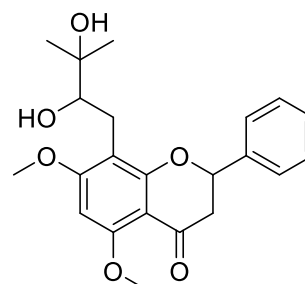
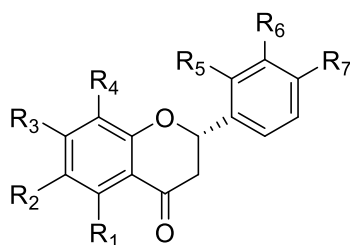
GlcA = glucuronic acid
Rut = rutinose



217 R = H
218 R = Rut

Năm 2009, nhóm nghiên cứu người Ý phân lập được bốn hợp chất flavonoid glycoside mới từ lá của loài *V. ferruginea*. Các hợp chất này được xác định là quercetin 3-*O*-β-D-xylopyranosyl-(1-4)-β-D-glucopyranoside (**227**), quercetin 3-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1-4)-β-D-glucopyranoside (**228**), kaempferol 3-*O*-β-D-apiofuranosyl-(1-4)-β-D-glucopyranoside (**229**), kaempferol 4'-methyl ether 3-*O*-β-D-xylopyranoside (**230**). Bên cạnh đó, các tác giả này cũng báo cáo cấu trúc của các flavone đã biết là: astragalin (**231**), quercetin 3-*O*-β-D-glucopyranoside (**232**), roseoside, 7,8-dihydro-6α-hydroxy-α-ionol 9-*O*-β-D-glucopyranoside (**233**) [50].

Năm 2021, nhóm tác giả Ugboogu đã thống kê lại các hợp chất flavonoid và phenolic được tìm thấy từ loài *V. amygdalina* [49]. Các hợp chất được báo cáo bao gồm:



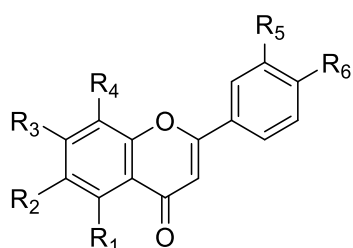
239

- 234** R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = H
235 R₁ = OH, R₂ = H, R₃ = OH, R₄ = R₅ = R₆ = H, R₇ = OH
236 R₁ = OH, R₂ = H, R₃ = OH, R₄ = Prenyl, R₅ = R₆ = H, R₇ = OH
237 R₁ = OH, R₂ = H, R₃ = OH, R₄ = R₅ = H, R₆ = R₇ = OH
238 R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = H, R₅ = OH, R₆ = R₇ = H

Flavanone: 6-hydroxyflavanone (**234**), naringenin (**235**), 6,8-diprenylnaringenin (**236**), eriodictyol (**237**), 2' – hydroxyflavanone (**238**), 8-(2,3-

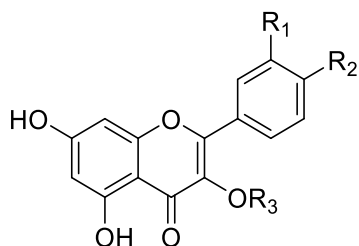
dihydroxy-3-methylbutyl)-5,7-dimethoxy-2-phenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-one (239) [49].

Flavone: 7-hydroxyflavone (240), 3'-hydroxyflavone (241), pratol (242), baicalein (243), apigenin (244), diosmetin (245), nepetin (246), orientin (247) [49].

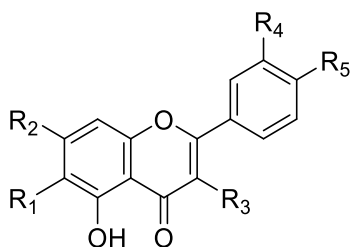


- 240 $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H, R_3 = OH$
 241 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_6 = H, R_5 = OH$
 242 $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H, R_3 = OH, R_6 = OCH_3$
 243 $R_1 = R_2 = R_3 = OH, R_4 = R_5 = R_6 = H$
 244 $R_1 = R_3 = OH, R_2 = R_4 = R_5 = H, R_6 = OH$
 245 $R_1 = R_3 = R_5 = OH, R_2 = R_4 = H, R_6 = OCH_3$
 246 $R_1 = R_3 = R_5 = R_6, R_2 = OCH_3, R_4 = H$
 247 $R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = OH, R_2 = H, R_4 = Glc$

Flavonol: kaempferide (248), bonanzin (249), kaempferol 7-*O*- β -D-glucopyranoside (250), tiliroside (251), isorhamnetin (252), kaempferol-3-glucuronide (253), 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4-oxo-4*H*-chromen-3-yl- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside (254) [49]:

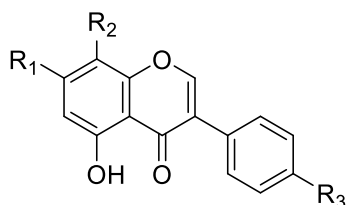


- 227 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Xyl-(1\rightarrow4)-Glc$
 228 $R_1 = R_2 = OH, R_3 = Api-(1\rightarrow4)-Glc$
 229 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Api-(1\rightarrow4)-Glc$
 230 $R_1 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = Xyl$
 231 $R_1 = R_2 = OH, R_3 = Glc$
 232 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Glc$
 233 $R_1 = R_2 = OH, R_3 = Rha-(1\rightarrow6)-Glc$
- Xyl: Xylose
 Glc: Glucose
 GlcA: Glucuronic
 Api: Apiose
 Rha: Rhamnose



- 248 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = OCH_3$
 249 $R_1 = CH_2OH, R_2 = OH, R_3 = OCH_3, R_4 = R_5 = OCH_3$
 250 $R_1 = H, R_2 = OGlc, R_3 = OH, R_4 = H, R_5 = OH$
 251 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = 6-p-courma-Glc, R_4 = H, R_5 = OH$
 252 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH, R_4 = OCH_3, R_5 = OH$
 253 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = GlcA, R_4 = H, R_5 = OH$
 254 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OXyl, R_4 = OH, R_5 = OH$

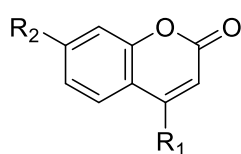
Isoflavone: genistein (255), ononin (256), biochanin α - β -D-glucoside (257), tectorigenin (258), malonyldaidzin (259).



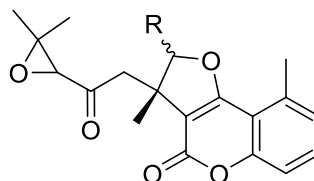
- 255 $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH$
 256 $R_1 = OGlc, R_2 = H, R_3 = OCH_3$
 257 $R_1 = OGlc, R_2 = H, R_3 = OCH_3$
 258 $R_1 = OH, R_2 = OCH_3, R_3 = OH$
 259 $R_1 = 6-malonic-Glc, R_2 = H, R_3 = OH$

Các hợp chất phenolic: methyl gallate (260), vanillic acid (261), 2-hydroxy-3-methoxy-5-(2-propenyl)-phenol (262), *trans*-cinnamic acid (263), *p*-coumaric acid (264), methyl caffeate (265), caffeic acid (266), methoxycinnamic acid (267), naringenin chalcone (268), 5-*O*-caffeoyl quinic (274), 3,4-dicaffeoyl quinic acid

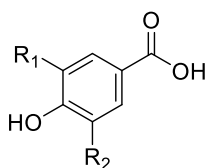
(275), chlorogenic acid (276), 1,5-dicaffeoyl quinic acid (277), 3,5-dicaffeoyl quinic acid (278), 4,5-dicaffeoyl quinic acid (279).



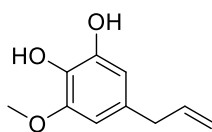
269 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$
270 $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{OH}$
271 $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{GlcA}$



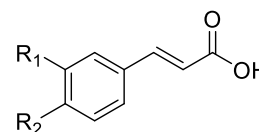
272 $R = \alpha\text{-CH}_3$
273 $R = \beta\text{-CH}_3$



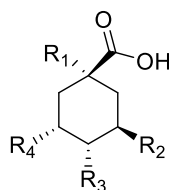
260 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$
261 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$



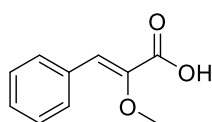
262



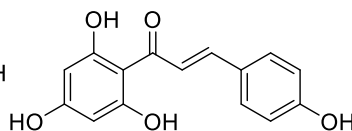
263 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}$
264 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$
265 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3$
266 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$



274 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{caffeoyl}$
275 $R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = R_4 = \text{caffeoyl}$
276 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{caffeoyl}, R_3 = R_4 = \text{OH}$
277 $R_1 = \text{caffeoyl}, R_2 = R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{caffeoyl}$
278 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{caffeoyl}, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{caffeoyl}$
279 $R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = R_4 = \text{caffeoyl}$

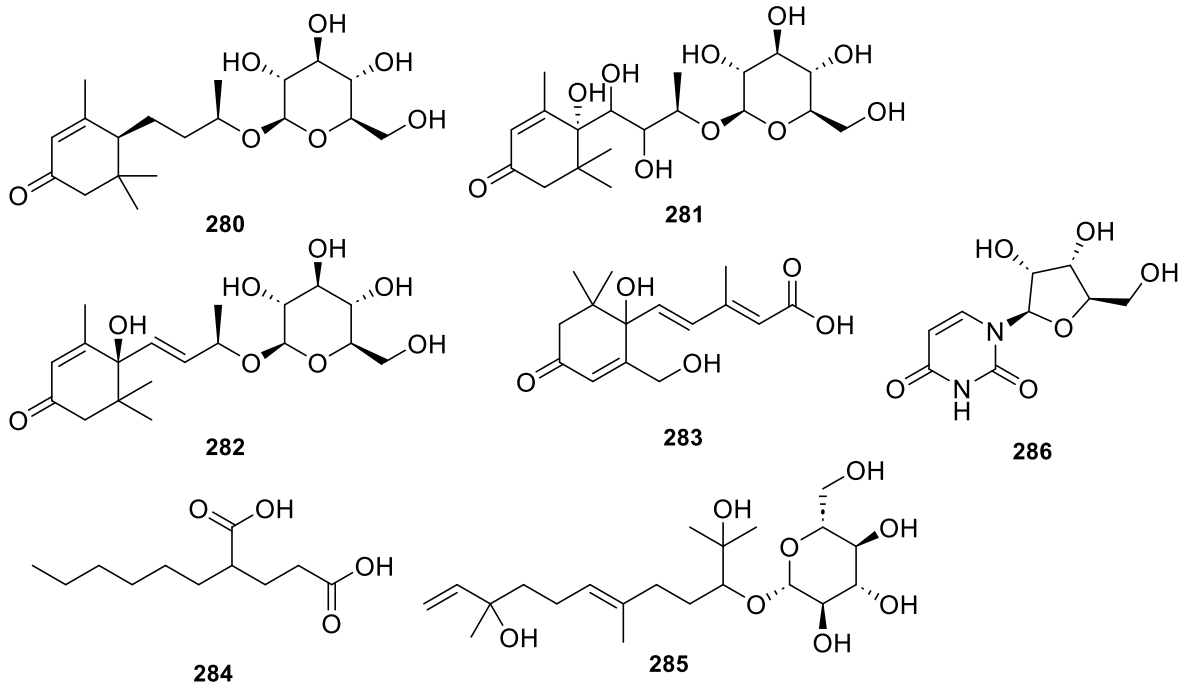


267



268

Courmarin: 7-hydroxycoumarinone (269), 4-methylumbelliferone (270), 4-methylumbelliferyl glucuronide (271), 2'-epicycloisobrachy (272), cycloisobrachycoumarinone epoxide (273). 3,5,5-trimethyl-4-(3,3,4,5-trihydroxy-6-hydroxymethyl)oxan-1-yl-oxybutyl-cyclohex-2-en-1-one (280), 7,8-dihydro-6 α -hydroxy- α -ionol-9-*O*- β -D-glucospyranoside (281), roseoside(282), (2*E*,4*E*)-5-1-hydroxy-2,6-dimethyl-4-oxo-6-(3,4,5-trihydroxy-6-hydroxymethyl)oxan-2-ylloxymethyl cyclohex-2-en-1-yl-3-methylpenta-2,4-dienoic acid (283), 2-hexylpentanedioic acid (284), 2-(6*E*)-2,10-dihydroxy-2,6,10-trimethyldodeca-6,11-dien-3-yl oxy-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol (285), uridine (286).



1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Vernonia*

Từ những nghiên cứu về tác dụng sinh học của cao chiết và các hợp chất tách phân lập được từ chi *Vernonia* trên các mô hình *in vitro* và *in vivo* đã cho thấy rằng các loài thuộc chi *Vernonia* có công dụng trong việc kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, chống sốt rét, chống tiểu đường, gây độc tế bào, bảo vệ gan,... Trong đó, các tác dụng kháng viêm, gây độc tế bào, tiểu đường, và chống sốt rét được tập trung nghiên cứu nhiều nhất.

1.4.1. Tác dụng kháng viêm

Nhóm nghiên cứu của Asante và cộng sự năm (2019) đã tiến hành thử nghiệm khả năng ức chế viêm, đau và sốt trong mô hình gây viêm bởi carrageenan ở chuột bởi các cao chiết lá non và lá già của *V. amygdalina*. Cao chiết ethanol của *V. amygdalina* được sử dụng ở mức 50-200 mg/kg, cùng với diclofenac (10 mg/kg). Kết quả cho thấy các đặc tính của quá trình viêm khi chuột được uống cao *V. amygdalina* tương tự như thuốc đối chứng diclofenac [3].

Ở một nghiên cứu khác, hợp chất vernonioside V (**180**) phân lập loài *V. amygdalina* cho thấy hợp chất này thể hiện được tác dụng ức chế mạnh hoạt động của yếu tố hoại tử TNF α , interleukin-6 (IL-6) và quá trình sản xuất cytokine gây viêm interleukin-8 (IL-8) với nồng độ 30 $\mu\text{g/mL}$ [3].

Năm 1994, để tiến hành đánh giá về hoạt tính kháng viêm của loài *V. cinerea* nhóm tác giả của Abeysekera đã tiến hành kiểm tra tác dụng kháng viêm của các hợp chất luteolin (**219**), methyl caffeate (**265**), luteolin 7-*O*-glucoside (**221**), 3,5-dicaffeoylquinic acid (**278**), chlorogenic acid (**276**), 4,5-dicaffeoylquinic acid (**279**), 3,4-dicaffeoylquinic acid (**275**), kết quả đã cho thấy rằng các hợp chất này thể hiện

tác dụng ở IC_{50} trong khoảng (9 – 56 μ M). Đặc biệt, hợp chất luteolin thể hiện được tác dụng mạnh nhất trong khoảng giá trị ($IC_{50} = 9 \pm 2 \mu$ M) [3].

Đánh giá tác dụng kháng viêm của các sesquiterpene lactone cho thấy các hợp chất 8α -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**), 8α -(2-methylacryloyloxy)-1 α -methoxy hirsutinolide-13-*O*-acetate (**46**), vernolide-B (**44**), vernolide-A (**55**) ức chế đáng kể quá trình sản sinh NO với giá trị IC_{50} lần lượt là 2,0; 1,5; 1,2 và 2,4 μ M. Ngoài ra, các hợp chất 8α -tigloyloxyhirsutinolide (**53**), 8α -hydroxyhirsutinolide (**54**), 8α -tigloyloxy-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**43**), 8α -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**47**), vernolide-A (**55**) cũng thể hiện sự ức chế mạnh TNF- α thông qua ức chế hoạt động của NF- κ B với giá trị IC_{50} trong khoảng nồng độ (3,1; 1,9; 0,6; 5,2 và 1,6 μ M) [3].

Gần đây các nhà khoa học Trung Quốc cũng chứng minh được các hợp chất amygdanoid A-G phân lập từ loài *V. amygdalina* có khả năng kháng viêm đáng kể và hợp chất amygdanoid E thể hiện được hoạt tính kháng viêm thông qua việc ức chế sự biểu hiện của iNOS và COX-2 cũng như thông qua con đường PI3K/AKT/NF- κ B [32]. Nhóm tác giả Zeng và cộng sự cũng chỉ ra rằng hợp chất veramyoside J (**150**) có khả năng ức chế quá trình sản sinh NO ở nồng độ 80 μ M và ức chế sự hoạt hóa con đường NF- κ B [34].

Bên cạnh đó, hợp chất vernonin M (**172**) cũng thể hiện khả năng chống viêm thần kinh đáng kể thông qua việc ức chế sự suy thoái của I κ B và hạn chế kích hoạt con đường PI3K/AKT và p38 MAPK [37].

1.4.2. Tác dụng chống tiểu đường

Các nghiên cứu về khả năng chống lại bệnh tiểu đường từ các loài thực vật thuộc chi *Vernonia* chủ yếu được báo cáo từ loài *V. amygdalina*. Các nghiên cứu chỉ ra rằng ở các liều sử dụng cho chuột uống từ (100 - 400 mg/kg) cao chiết có tác dụng giảm nồng độ đường trong máu cũng như tăng sản xuất insulin ở tế bào beta. Cụ thể là trong nghiên cứu được báo cáo bởi Tekou (2018) đã chỉ ra rằng việc sử dụng cao chiết nước từ *V. amygdalina* bằng đường uống với liều 500 mg/kg trong 4 tuần đã cải thiện bệnh tiểu đường type 2 ở chuột được gây ra bởi STZ (một chất chống ung thư kiềm hóa tự nhiên, đặc biệt độc hại đối với các tế bào beta sản xuất insulin ở tuyến tụy ở động vật có vú). Đường huyết của chuột giảm đến 75,7% sau khi uống cao chiết nước so với chuột không uống cao là (61,2%). Erukainure và cộng sự (2019) cũng báo cáo cao chiết nước từ lá *V. amygdalina* có hoạt tính ức chế α -glucosidase, giảm hấp thu glucose ở ruột. Ở một nghiên cứu khác, Wu và cộng sự, 2018 đã kiểm tra tác dụng trị đái tháo đường của *V. amygdalina* đối với bệnh đái tháo đường do STZ ở chuột. Sau 6 tuần điều trị với các liều dùng 50, 100, 150 mg/kg cao chiết *V.*

amygdalina cho thấy giảm hàm lượng đường trong máu lúc đói và cũng cải thiện tình trạng kháng glucose và insulin. Cao chiết này cũng có tác dụng trong việc làm tăng hoạt động của các enzyme adenosine-5'-monophosphate kinase và ức chế hoạt động của phosphoenolpyruvate carboxykinase và glucose-6-phosphatase [3].

Ở trong nước, năm 2019, Hoàng Lê Tuấn Anh và cộng sự ở Viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung đã tìm thấy được một steroid mới từ lá loài *V. amygdalina* thu thập ở Thừa Thiên Huế, đặt tên là vernoamyoside E (**36**). Kết quả đánh giá tác dụng ức chế enzym α -amylase và α -glucosidase cho thấy, hợp chất vernoamyoside E có tác dụng làm giảm hoạt động của các enzym α -glucosidase và α -amylase với nồng độ IC_{50} lần lượt là 50,17 và 102,23 mg/mL [51].

Kiểm tra khả năng chống tiểu đường của dịch chiết từ hạt loài *V. anthelmintica*, nhóm nghiên cứu của Fatima đã báo cáo, ở liều thử 0,50 g/kg trọng lượng cơ thể (sau 6 giờ), dịch chiết loài này có tác dụng làm giảm 82% lượng glucose trong máu ở chuột thử nghiệm [3].

1.4.3. Tác dụng gây độc tế bào ung thư

Năm 2003, Koul và cộng sự đã chứng minh được khả năng gây độc tế bào ung thư đáng kể của hợp chất lasiopulide (**4**) và epivernodalol (**5**) từ loài *V. lasiopus* trên dòng tế bào HT-29, T47-D, HTC-15 và SiHa. Hoạt tính ức chế của hợp chất (**4**) được thể hiện theo thứ tự lần lượt đối với các dòng tế bào là HT-29 (IC_{50} $21,9 \pm 0,77 \mu\text{M}$), T47-D (IC_{50} $22,5 \pm 0,65 \mu\text{M}$), HTC-15 (IC_{50} $39,3 \pm 1,77 \mu\text{M}$), SiHa (IC_{50} $43,3 \pm 1,82 \mu\text{M}$). Trong khi đó, hợp chất (**5**) thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất đối với dòng tế bào HT-29 (IC_{50} $6,5 \pm 0,27 \mu\text{M}$), tiếp đến là T47-D (IC_{50} $43,5 \pm 1,65 \mu\text{M}$), HTC-15 (IC_{50} $109,79 \pm 4,06 \mu\text{M}$) [3].

Hợp chất sesquiterpene lactone từ loài *V. cinerea*: $8\alpha,13$ -diacetoxy- $1\alpha,10\alpha$ -hydroxy-5,6-epoxy-hirsutinolide (**31**) và $10\alpha,4\alpha$ -dihydroxy- $5\alpha,6\alpha$ -isoglaucolide B (**32**) thể hiện khả năng ức chế mạnh sự phát triển của dòng tế bào Hela với giá trị IC_{50} là ($2,1 \pm 1,8 \mu\text{M}$) và ($3,3 \pm 4,0 \mu\text{M}$), so với đối chứng paclitaxel (IC_{50} là $2,5 \pm 2,2 \mu\text{M}$), trong khi đó, hợp chất $1\alpha,4\beta$ -epoxyl-3-etoxy- $1\alpha,10\alpha$ -dihydroxy-8-acetoxy-germacra- $5E,7(11)$ -dien-6,12-olide (**64**) lại có tác dụng yếu với giá trị IC_{50} là $58,5 \pm 15 \mu\text{M}$. Thêm vào đó, hợp chất hirsutinolide từ loài *V. scorpioides* cũng ức chế quá trình tăng sinh của dòng tế bào này ở nồng độ IC_{50} $3,3 \mu\text{M}$ [3].

Trong nghiên cứu của nhóm tác giả Williams năm 2005, các hợp chất glaucolide K-L (**24**, **25**) đã thể hiện được khả năng gây độc tế bào ung thư buồng trứng (A2780) ở giá trị IC_{50} lần lượt là $5,8 \mu\text{M}$; $24,5 \mu\text{M}$ và $3,3 \mu\text{M}$ (đối chứng dương actinomycin D; $8-24 \times 10^{-4}$) [3].

Bên cạnh đó, hợp chất 8α -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**) và 8α -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**) có tác dụng ức chế các tế bào ung thư phổi MDA-MB-231 theo cơ chế apoptosis thông qua ức chế hoạt động của STAT3. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các hợp chất 8α -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**), 8α -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**47**) có tác dụng gây độc với cả 3 dòng tế bào ung thư thử nghiệm gồm MDA-MB-231, U251MG, và NIH-3T3. Trong khi hợp chất 8α -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**), 8α -hydroxy-13-*O*-tigloyl-hirsutinolide (**51**), và vernolide B (**44**) có tác dụng ức chế chọn lọc đối với dòng tế bào U251MG [22].

Trên mô hình *in vivo*, hợp chất piptocarphin A (**71**) thể hiện được sự ức chế phát triển của dòng tế bào ung thư P-388 với liều 4,6 mg/kg và IC₅₀ là 0,77 μ M. Tuy nhiên, hợp chất này cũng gây độc đối với dòng tế bào HL-60 với IC₅₀ = 3,87 μ M, cũng trong nghiên cứu này, hợp chất piptocarphin F (**72**) cũng thể hiện sự ức chế trên hai dòng tế bào P-388 và HL-60 với IC₅₀ là 1,32 μ M và 5,69 μ M [3].

Nhà khoa học Jisaka và cộng sự tại Nhật Bản đã chứng minh được các hợp chất vernodalin (**7**), vernomenin (**18**), vernodalinol (**6**), epivernodalol (**5**), 4,15-dihydrovernodalol (**10**) có khả năng gây độc tế bào ung thư trong khoảng giá trị IC₅₀ từ 0,07 – 75 μ g/ml [3].

Đánh giá tác dụng gây độc đối với dòng tế bào ung thư biểu mô tế bào biểu bì vòm miệng (KB), ung thư biểu mô ruột kết, ung thư biểu mô phổi tế bào lớn (NCI-661), và ung thư biểu mô cổ tử cung (Hela), kết quả là hợp chất vernolide-A (**55**) thể hiện tác dụng mạnh với các dòng tế bào này ở ED₅₀ lần lượt là (0,02; 0,05; 0,53, 0,04 μ g/ml) trong khi hợp chất vernolide-B (**44**) chỉ thể hiện tác dụng ở mức trung bình với giá trị ED₅₀ 3,78; 5,88 và 6,42 μ g/ml. Trong nghiên cứu này, các tác giả cũng nhận thấy sự thay thế nhóm hydroxy bằng nhóm acetyl ở vị trí C-13 của các hợp chất hirsutinolide sesquiterpene có vai trò quan trọng đối với hoạt tính gây độc tế bào của chúng [54].

Đối với hai dòng tế bào HT-29 và HepG2, hợp chất 8α -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**) thể hiện được khả năng ức chế ở nồng độ IC₅₀ lần lượt là 3,50 μ M; 4,27 μ M. Các hợp chất tìm thấy từ loài *V. chinensis* trong nghiên cứu của nhóm tác giả Trung Quốc đã được đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư P388, A549, HL-60. Nồng độ IC₅₀ của các hợp chất được xác định là: vernchinilide A (**56**): 4,0 μ M (P388), vernchinilide B (**57**): 0,51 μ M (P388); 2,7 μ M (A-549), vernchinilide E (**60**); 0,23 μ M (P388); 3,1 μ M (A-549); 8β -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**61**): 0,23 μ M (P388); 3,1 μ M (A-549); 8β -(2-hydroxymethyl-acryloyloxy)hirsutinolide 13-*O*-acetate (**62**): 4,0 μ M

(P388); 6,0 μM (A-549). Cũng trên dòng tế bào HL-60, hai hợp chất vernodalidimer A (**74**), vernodalidimer B (**75**) cũng thể hiện khả năng ức chế sự phát triển ở IC_{50} 0,72 μM và 0,47 μM [54].

1.4.4. Tác dụng chống sốt rét

Tổng quan các tài liệu cho thấy, các nghiên cứu về tác dụng chống sốt rét của chi *Vernonia* chủ yếu được nghiên cứu trên loài *V. amygdalina*.

Abosi và Raseroka (2003) đã tiến hành đánh giá tác dụng chống sốt rét đối với *P. berghei* ở chuột của cặn chiết từ lá và vỏ rễ của *V. amygdalina* với các liều 125, 250 hoặc 500 mg/kg trong 4 ngày. Kết quả chứng minh rằng dịch chiết này có khả năng ức chế lần lượt là 67% và 53,5% số lượng ký sinh trùng. Nghiên cứu này chứng minh rằng việc sử dụng cao chiết ethanol của *V. amygdalina* trong giai đoạn nhiễm bệnh sớm có thể làm giảm số lượng ký sinh trùng trong máu [3].

Bihonegn và cộng sự (2019) đã đánh giá hoạt tính chống sốt rét của cao chiết methanol 80% và các cao phân đoạn từ lá *V. amygdalina* đối với chuột nhiễm *P. berghei*. Dịch chiết *V. amygdalina* thể hiện tác dụng ức chế ký sinh trùng trong thời gian thí nghiệm kéo dài 4 ngày lần lượt là 200 mg/kg; 32,47% ($\pm 2,65$); 400mg/kg; 35,40% ($\pm 3,14$) và 600 mg/kg; 37,67% ($\pm 2,50$). Một nghiên cứu khác trước đó cũng đã phát hiện ra sự gia tăng các tế bào hồng cầu trong các nhóm chuột bị nhiễm *Plasmodium* được uống cao chiết từ loài *V. amygdalina* [52].

Challand và Willcox (2009) đã kiểm tra tác dụng của dịch chiết lá loài *V. amygdalina* về hiệu quả của chúng trong điều trị bệnh sốt rét ở bệnh nhân từ 12 tuổi trở lên. Theo kết quả của nghiên cứu này, 67% bệnh nhân có đáp ứng lâm sàng khả quan vào ngày thứ 14. Trong số đó, có 32% bệnh nhân không phát hiện có ký sinh trùng trong máu, tuy nhiên 71% bệnh nhân bị tái phát lại. Quan trọng hơn, không có tác dụng phụ nào được ghi nhận. Trên mô hình *in vitro* ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ Ver-EtOH đã cho thấy cặn chiết ethanol ức chế đáng kể sự hình thành bào tử ở giai đoạn sớm (ESS) ($> 90\%$). Trong đó, cao phân đoạn ethylacetate đã ức chế $>90\%$ ESS [52].

Vernodalin (**7**) có hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 0,16 μM và chỉ số chọn lọc (SI) là 35. Dẫn xuất 11 β ,13-dihydro của vernodalin là **8**, có hoạt tính ức chế giảm với giá trị IC_{50} là 1,1 μM . Việc giảm hoạt tính có thể là do hydro hóa nhóm exomethylene C-11 và C-13. Sự đóng góp của các nhóm này vào hoạt tính sinh học của các sesquiterpen lactone được chứng minh thêm bằng cách so sánh tác dụng của vernolide (**82**) và 11 β ,13-dihydrovernalide (**81**), có giá trị IC_{50} lần lượt là 0,50 và 17 μM . Tương tự, hydroxyvernalide (**84**) và đồng loại của nó 11 β ,13-dihydrohydroxyvernalide (**83**) đăng ký giá trị IC_{50} lần lượt là 5,0 và 15 μM [10].

1.4.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Hợp chất vernodalol (**3**) và vernolide (**82**) thể hiện khả năng ức chế mạnh đối với các vi khuẩn Gram dương. Hợp chất vernodalol kháng mạnh các chủng *Penicillium notatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, và *Mucor hiemalis* với LC₅₀ lần lượt là 0,2; 0,3, và 0,4 mg/mL, trong khi đó, vernolide có LC₅₀ lần lượt là 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL.

Trong nghiên cứu của nhóm tác giả Nadine (2023) đã chứng minh được khả năng kháng khuẩn của các dịch chiết cũng như các hợp chất tinh khiết từ loài *V. kotschyana*. Cụ thể là cao chiết tổng cho thấy khả năng ức chế yếu với MIC > 500 µg/mL trên chủng trên *S.ureus* ATCC25923, *P. aeruginosa* HM801, *K. pneumonia* trên lâm sàng (MIC = 500 µg/mL). Hợp chất kotschyanoside A và kotschyanoside B thể hiện khả năng ức chế trung bình đối với các chủng này (125 < MIC < 500 µg/mL) [39].

Nghiên cứu về khả năng kháng vi sinh vật của các stigmastane, Donfact và cộng sự đã chỉ ra hợp chất vernoguinolide A và vernoguinolide có khả năng ức chế cả vi khuẩn và nấm với MIC = 7,81 – 125 µg/mL [40].

Bên cạnh đó, một số triterpene phân lập từ loài *V. auriculifera* cũng cho thấy khả năng ức chế các chủng *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *E. faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* với nồng độ ức chế tối thiểu MIC 0,25 mg/mL [46].

1.5. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước về loài *V. amygdalina*

Tình hình nghiên cứu trên thế giới:

Trên thế giới, các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *V. amygdalina* được tiến hành tập trung từ năm 2009. Kết quả chi tiết đã được chỉ ra trong mục 1.4.

Tình hình nghiên cứu trong nước:

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về loài *V. amygdalina* còn hạn chế, đến nay chỉ có các nghiên cứu sơ bộ về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Năm 2016, nhóm nghiên cứu của tác giả Lê Thị Mi Chi đã tiến hành khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, đặc điểm vi phẫu và hình thái của cây lá đắng [53]. Đến năm 2018, tác giả Hồ Thị Dung và cộng sự tiếp tục nghiên cứu về đặc điểm thực vật của loài *V. amygdalina* nhằm khẳng định và nâng cao giá trị sử dụng của loài lá đắng.

Gần đây, nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Hạnh và cộng sự đã chứng minh được tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết *V. amygdalina* trên chuột trắng. Kết quả là nồng độ glucose giảm dần giảm về gần mức đường huyết ban đầu sau đợt điều

trị đối với lô chuột được uống dịch chiết *V. amygdalina*. Mức liều 200 mg/kg cho kết quả giảm đường huyết mạnh nhất (50,3%) và gần tương đương mức giảm của lô dùng insulin (52,7%) [54].

Năm 2018, nhóm tác giả Hoàng Lê Tuấn Anh và cộng sự đã phân lập và báo cáo hai hợp chất sterol và một hợp chất flavone: (23*S*,24*R*,28*S*)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetradecahydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone, (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradecahydro-3 β ,16 α ,21,24-tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α -stigmastane, và luteolin. Đến năm 2021, nhóm nghiên cứu này tiếp tục tiến hành nghiên cứu về hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase *in vitro* của stigmastane-type steroid saponin mới được chiết xuất từ lá cây *V. amygdalina*. Sử dụng các phương pháp phân tách sắc ký khác nhau, đã phân lập được 4 hợp chất steroid saponin từ lá cây *Vernonia amygdalina* Delile gồm vernoamyoside E, vernoniacums B, vernonioside B₁ và vernonioside B₂. Trong đó, hợp chất vernoamyoside E là hợp chất mới. Nghiên cứu hoạt tính ức chế α -glucosidase và α -amylase của các hợp chất phân lập được cho biết hợp chất vernoamyoside E ức chế đáng kể cả hoạt động chống lại α -amylase và α -glucosidase [51].

Năm 2022, hai hợp chất flavone khác: luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranoside, kaempferol cũng được nhóm nghiên cứu báo cáo phân lập từ loài *V. amygdalina* đồng thời các hợp chất này cũng được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa [55].

1.6. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước của loài *V. gratiosa*

Cho đến nay, chưa có nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *V. gratiosa* trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Loài *Vernonia amygdalina*

Các bộ phận phía mặt đất của loài *V. amygdalina* được thu thập ở Hà Nội, Việt Nam vào tháng 4 năm 2021 và được định danh bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung (VAST). Mẫu tiêu bản (VA-2021) được lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, (VAST).



Hình 2. 1. Hình ảnh loài *V. amygdalina* thu tại Hà Nội (NCS thực hiện)

2.1.2 Loài *Vernonia gratiosa*

Loài *V. gratiosa* được thu hái tại Hướng Hóa, Quảng Trị vào tháng 4/2019 và được định danh bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện nghiên cứu khoa học miền Trung (VAST). Mẫu tiêu bản được ký hiệu là VG-2020 và lưu tại phòng Tiêu bản, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, (VAST).



Hình 2. 2. Hình ảnh loài *V. gratiosa* thu tại Quảng Trị

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

2.2.1. Dung môi và hóa chất

Dung môi: *n*-hexane (Hex), methylene chloride (MC), etyl acetat (EtOAc), methanol (MeOH), aceton, *n*-butanol (BuOH) được làm khan bằng Na₂SO₄, Trung Quốc/ Malaysia/ Merck.

- Thuốc thử: Phun xịt H₂SO₄ 5%, soi đèn UV 2 bước sóng 365nm và 254nm
- Silica gel 60 H loại dùng cho sắc kí lớp mỏng, Merck.
- Silica gel 60 (0,040 – 0,063mm), Sephadex LH-20, Diaon HP-20 Merck
- Silica gel RP-18, Merck dùng cho cột đảo.
- Sắc kí lớp mỏng loại 25DC – Alufolien 20x20, Kiesel gel 60 F254, Merck.
- Enzyme Yeast α -glucosidase, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG), 4-Nitrophenol, Sigma-Aldrich.
- Enzyme xanthine oxidase, DMSO, phosphate buffer (pH 7,5), HCl 1N, Sigma-Aldrich.
- Đối chứng dương Acabose, Merck, độ tinh khiết (HPLC) \geq 95%.
- Đối chứng dương Allopurinol, Sigma-Aldrich, độ tinh khiết (TLC) \geq 99%.

2.2.2. Thiết bị nghiên cứu

- Cân phân tích AY-129, Shimadzu, Nhật Bản.
- Máy cắt quay chân không Hei-VAP Expert Control/G3 ML, Đức.
- Thiết bị siêu âm Elmasonic select 500, Đức.
- Cột sắc ký với các kích thước khác nhau, Việt Nam.
- Máy hứng tự động Eyela –DC-1500C, Nhật Bản.
- Máy đo độ quay cực máy JASCO P-2000 Polarimeter, Nhật Bản
- Máy đo UV-VIS 2 chùm tia, Nhật Bản.
- Máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân: Bruker AM 500 (600) FT-NMR spectrometer với chất chuẩn nội là TMS, Mỹ.
- Phổ CD được đo trên máy ChirascanTM CD spectrometer, Anh.
- Phổ khối (HR-ESI-MS): máy Agilent Technologies 6120 Quadrupole, Mỹ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất

Mẫu nghiên cứu được thu hái và giám định tên khoa học, lập tiêu bản. Mẫu được loại bỏ các tạp chất cơ học và mẫu được tiến hành cắt nhỏ, sấy hoặc phơi khô ở nhiệt độ 40-45°C, tiếp tục nghiền thành bột và tiến hành chiết xuất với methanol dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Gộp các dịch chiết và tiến hành thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết methanol toàn phần, phân bố cao methanol trong nước rồi chiết lỏng-lỏng với *n*-hexane, dichloromethan, ethyl acetate, *n*-butanol..., tiếp tục loại bỏ dung môi để được các cặn chiết tương ứng với mỗi phân đoạn

2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất

Phương pháp chung được áp dụng để phân lập các hợp chất chủ yếu là các phương pháp kết tinh và sắc ký thường quy được sử dụng như:

- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC), TLC điều chế

- Phương pháp sắc ký cột: Là phương pháp thường quy. Pha tĩnh được sử dụng là các chất hấp phụ như: silica gel, silica gel pha đảo, Sephadex LH-20, Diaion HP-20,... Pha động là các dung môi như *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol, nước... và các hỗn hợp của chúng.

Các thí nghiệm về nghiên cứu chiết xuất và phân lập, tinh chế các hợp chất được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao (VAST).

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

Cấu trúc hoá học các hợp chất sạch được xác định thông qua phương pháp chung bao gồm phương pháp vật lý và phương pháp phổ hiện đại. Bao gồm:

Phổ $^1\text{H-NMR}$, phổ $^{13}\text{C-NMR}$, phổ HSQC, phổ COSY, phổ HMBC, phổ NOESY/ ROESY, phổ CD,.... Các phổ này được thực hiện đo tại Trung tâm phổ cộng hưởng từ hạt nhân, Viện Hóa học, VAST.

Phương pháp xác định đường: Mỗi hợp chất (2,0 mg) được thủy phân bằng CF_3COOH 2N (hồi lưu, 5 ml, 3h, 95°C). Sau đó, được chiết lỏng – lỏng với EtOAc, pha nước được làm khô bằng máy cô quay chân không, áp suất giảm, sau đó được tiến hành sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi CHCl_3 : MeOH: H_2O ; 8:5:1 và so sánh với mẫu chuẩn. Các monosaccharide được tinh chế bằng TLC điều chế với hệ dung môi tương tự và đo độ quay cực riêng.

Phương pháp đo ECD: Phổ ECD được đo bằng máy quang phổ ECD, hoạt động trong vùng phổ UV-Visible (~190-600 nm). Phổ ECD thường được biểu thị dưới dạng $\Delta\epsilon$, tính theo đơn vị $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, trong đó M là nồng độ mol (mol L^{-1}), $\Delta\epsilon$ là hàm của bước sóng.

2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

Các thí nghiệm đánh giá hoạt tính sinh học được thực hiện tại Viện Công nghệ sinh học, VAST.

2.3.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học ức chế enzyme α -glucosidase [54]

- Hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase được thực hiện như sau:
 - Chất thử được hòa tan trong DMSO 100% để có dung dịch gốc (20 μM) và pha loãng trong phosphate buffer 10 mM (pH 6,8) để tạo dải nồng độ. Tiếp theo, 50 μL mẫu đã pha loãng và chuyển vào các giếng của đĩa 96 giếng để chuẩn bị thử nghiệm.

- 20 μL α -glucosidase (0,5U/mL) và 130 μL phosphate buffer 100 mM (pH 6,8) được thêm vào mỗi giếng, sau đó trộn đều và ủ ở 37°C trong thời gian 15 phút. Như vậy, nồng độ mẫu thử đạt được cuối cùng trong giếng lần lượt là 500-100-20-4 $\mu\text{g/ml}$. Cơ chất p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm rồi ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.

- Giếng thí nghiệm chỉ có mẫu thử, đối chứng trắng (blank) được sử dụng là phosphate buffer và pNPG. Đối chứng là giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzyme và pNPG.

- Thí nghiệm được lặp lại 3 lần/khay để đảm bảo sự chính xác kết quả được so với chất đối chứng dương là Acarbose

- Dừng thí nghiệm bằng cách thêm vào 80 μL Na_2CO_3 (0,2M) và đo OD ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).

Kết quả của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

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

- Trong đó: $\text{OD}_{\text{đối chứng}} = \text{OD}_{\text{đối chứng}} - \text{OD}_{\text{blank}}$

$$\text{OD}_{\text{mẫu thử}} = \text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

- Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50%) sẽ được xác định dựa trên phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

2.3.4.2. **Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase [54]**

Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase (XO) của mẫu nghiên cứu được tiến hành dựa theo phương pháp của Abu-Gharbieh. Các bước thực hiện được thể hiện cụ thể như dưới đây:

- Chất thử được hòa tan trong DMSO và pha loãng trong phosphate buffer (pH 7,5) và 50 μL được chuyển vào các giếng của đĩa 96 giếng để có nồng độ phù hợp;

- Thêm vào các giếng có mẫu 35 μL đệm photphat và 30 μL dung dịch xanthin oxidase (0,1 IU/ml) được ủ trước trong 15 phút ở 37°C. Chú ý điều chỉnh nồng độ mẫu thử đạt được cuối cùng trong giếng lần lượt là 500-100-20-4 $\mu\text{g}/\text{mL}$;

- Cơ chất xanthine (750 μM) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm (60 μL) rồi ủ tiếp ở 37°C trong 30 phút.

- Dừng thí nghiệm bằng cách thêm vào 25 μL HCl (1N) và đo OD tại bước sóng 290 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).

- Giếng thí nghiệm chỉ có phosphate buffer dùng làm đối chứng trắng (blank).

- Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzyme và xanthine được sử dụng làm đối chứng âm. Allopurinol được sử dụng làm đối chứng tham khảo.

Quá trình lặp lại 3 lần để đảm bảo sự chính xác.

- Khả năng ức chế enzyme XO của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

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

- Trong đó: $\text{OD}_{\text{đối chứng}} = \text{OD}_{\text{đối chứng âm}} - \text{OD}_{\text{blank}}$

$$\text{OD}_{\text{mẫu thử}} = \text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{blank}}$$

- Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50%) sẽ được tính toán trên phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

2.4. Phân lập các hợp chất

2.4.1. Phân lập các hợp chất từ loài *V. amygdalina*

Phần trên mặt đất của mẫu Lá đắng (*V. amygdalina*) (5,0 kg bột khô) được chiết xuất bằng methanol (CH₃OH), (7,5 L × 3 lần × 2,5 giờ) kết hợp với máy siêu âm ở 50°C. Sau đó gộp các dịch chiết lại tiến hành lọc bỏ tạp chất bằng bông lọc và tiến hành loại bỏ dung môi thu được phần cặn MeOH (700,0 g). Hòa tan hoàn toàn cặn chiết này trong nước (2L) và chiết lỏng-lỏng lần lượt với *n*-hexan và ethyl acetate, thu được ba phân đoạn gồm *n*-hexan (162,0 g), ethyl axetat (EtOAc, 153,0 g) và nước (W, 380,0 g), tương ứng. Cặn EtOAc sau đó được phân tách trên cột silica gel, rửa giải bằng hỗn hợp gradient của (CH₂Cl₂: CH₃OH; 80/1 - 1/2, v/v) tiến hành kiểm tra trên TLC ta thu được tám phân đoạn nhỏ (LD1A–LD1H).

Sử dụng sắc ký cột pha tĩnh là silica gel cho đoạn LD1B (7,5 g), hệ pha động gồm (CH₂Cl₂: CH₃OH; 100/1-1/1, v/v) được 4 phân đoạn (LDE5A-LDE5D). Phân đoạn LDE5A (150,2 mg) được cho lên cột silica gel rửa giải với (CH₂Cl₂: CH₃OH; 20/1-1/1, v/v) ta thu được **LD13** (5,0 mg). Phân tách đoạn LDE5B (2,1 g) dùng cột sephadex-LH20 với dung môi (CH₃OH/ H₂O: 1/1, v/v) được hai phân đoạn (LDE6A và LDE6B). Phân đoạn LDE6A (300,2 mg) được tinh chế trên cột với pha tĩnh là hạt C-18 rửa giải bằng hệ (CH₃OH/H₂O; 2,5/1, v/v) thu được **LD11** (4,0 mg). Tương tự phân đoạn LDE6B với pha tĩnh là C18 và pha động là hỗn hợp (CH₃OH/H₂O; 2,5/1, v/v) ta thu được **LD16** (3,0 mg). Với cùng điều kiện sắc ký, hợp chất **LD7** (5,0 mg) thu được từ phân đoạn LDE5C (80,0 mg). Tiếp tục phân đoạn LDE5D chạy trên cột silica gel với hệ pha động (CH₂Cl₂/ CH₃OH; 20/1 → 1/1, v/v) ta được 2 phân đoạn (LDE7A và LDE7B) sau đó từ phân đoạn nhỏ LDE7A được phân tách trên cột C18 bằng dung môi chạy cột (CH₃OH: H₂O; 3/1, v/v) ta đạt được chất sạch là **LD10** (5,2 mg). Một cách tương tự LDE7B tiếp tục được chạy qua cột pha đảo với pha động (CH₃OH/ H₂O: 3/1, v/v) ta thu được **LD5** (3,0 mg).

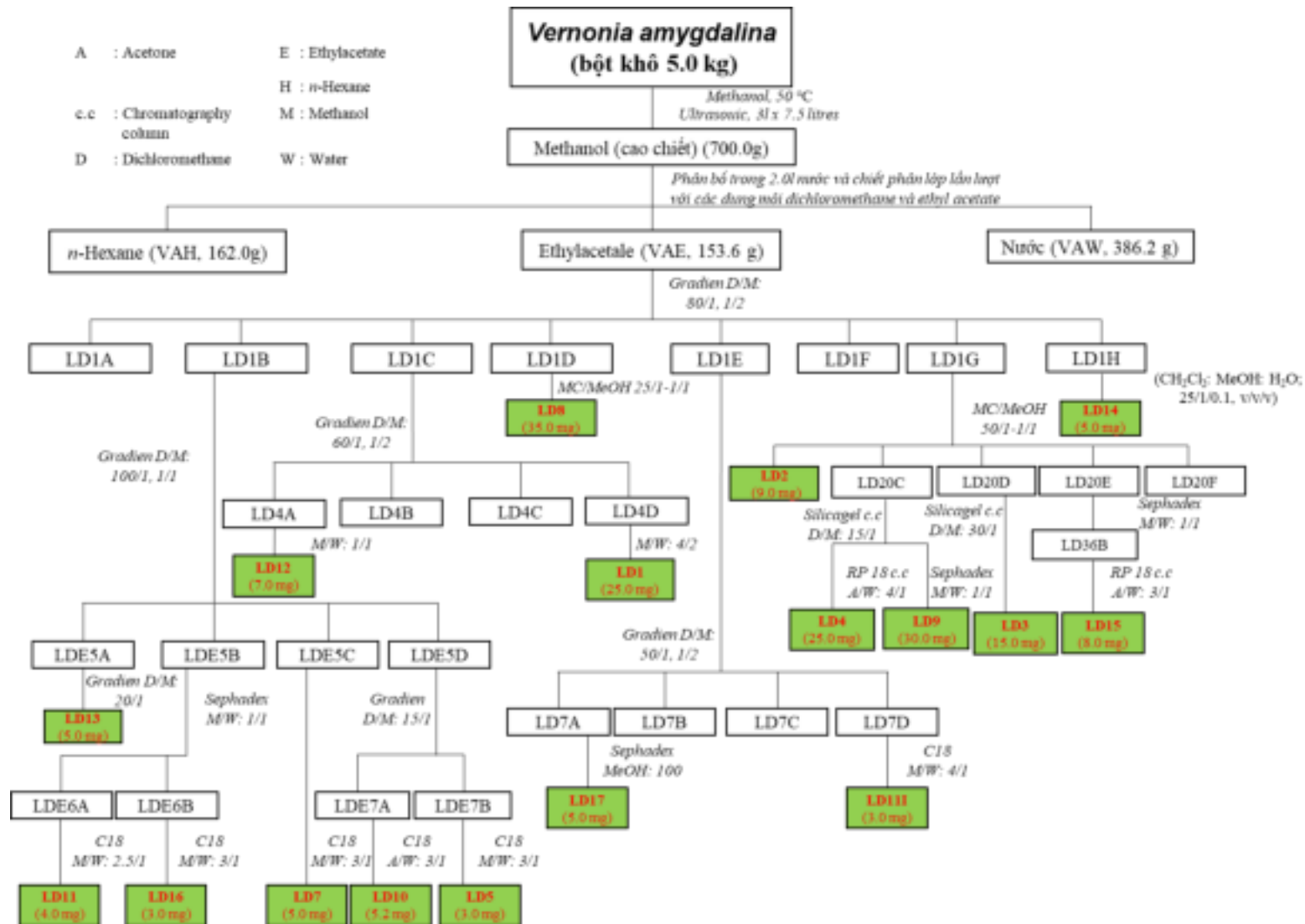
Từ cặn LD1C (5,2 g) được chia tách trên cột pha thường và rửa giải với pha động (CH₂Cl₂/ CH₃OH; 60/1 → 1/2; v/v) thu được bốn phân đoạn gồm (LD4A-LD4D). Từ phân đoạn nhỏ LD4B (500,0 mg) chạy qua cột Sephadex-LH20 và giải hấp phụ bởi hệ (CH₃OH/ H₂O; 1/1, v/v) thu được **LD12** (7,0 mg). Hợp chất **LD1** (25,0 mg) được phân tách từ đoạn LD4D (600,0 mg) bằng việc sử dụng cột C18 với đẳng hệ dung môi (CH₃OH/ H₂O; 4/2, v/v). Từ LD1D (550,2 mg) được phân tách trên cột sắc ký silica gel sử dụng hệ pha động (CH₂Cl₂: CH₃OH; 25/1 → 1/1, v/v) ta thu được sạch **LD8** (35,0 mg).

Phân đoạn LD1E (7,0 g) được đưa lên cột với pha tĩnh là silica gel sử dụng pha động là (CH₂Cl₂/CH₃OH; 50/1 → 1/1, v/v) ta được 4 phân đoạn kí hiệu (LD7A-

LD7D). Từ phân đoạn nhỏ LD7A sử dụng cột Sephadex LH20 với 100% CH₃OH ta thu được chất sạch **LD17** (5,0 mg). Một cách tương tự **LD6** (3,5 mg) đạt được khi phân tách LD7D trên C-18 với pha động (CH₃OH/ H₂O; 4/1, v/v).

Từ phân đoạn LD1G (15,2 g) được sử dụng sắc ký cột dùng hệ giải hấp phụ (CH₂Cl₂/ CH₃OH; 50/1 → 1/1, v/v) thu được được **LD2** (9,0 mg) và 4 phân đoạn (LD20C-LD20F). Từ phân đoạn nhỏ hơn LD20C (400,0 mg) được làm sạch bằng cột silica gel với dung môi (CH₂Cl₂: CH₃OH; 15/1, v/v) và tinh chế trên cột đảo pha tĩnh là hạt C18 giải hấp bằng (CH₃OH/ H₂O; 4/1-1/1, v/v) ta thu được là **LD4** (25,0 mg) và **LD9** (30,0 mg). **LD3** (15,0 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn LD20D (300,3 mg) bằng sắc ký cột thường silica gel sử dụng đẳng hệ dung môi (CH₂Cl₂: CH₃OH; 30/1, v/v). Phân đoạn LD20E (1,5 g) được chia tách trên cột Sephadex LH20 với hệ dung môi (CH₃OH/H₂O; 1/1, v/v) sau đó được làm sạch tiếp trên sắc ký C18 dùng pha động rửa giải (CH₃OH/H₂O; 3/1, v/v) ta thu được **LD15** (8,0 mg).

Từ phân đoạn LD1H (500,0 mg) tinh chế bằng cột silica gel, hệ dung môi (CH₂Cl₂: MeOH: H₂O; 25/1/0,1, v/v/v) ta được **LD14** (5,0 mg).



Hình 2. 3. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ *V. amygdalina* ở Việt Nam

2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài *V. gratiosa*

Phần trên mặt đất của loài *V. gratiosa* được chặt nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 50°C, tiếp tục tiến hành xay mẫu thành bột được (5,0 kg). Tiếp tục được liệu này được chiết với MeOH trong bể chiết siêu âm ở 50°C trong 2,5h; 10 lít MeOH/ lần (lặp lại 3 lần). Thu hồi dịch MeOH lọc qua bông lọc và loại bỏ dung môi thu được (400,0 g) cao MeOH. Cao chiết được phân tán trong 2,0L nước cất. Chiết lỏng/ lỏng với dung môi *n*-hexane, CH₂Cl₂ và EtOAc. Dịch chiết các phân đoạn được loại bỏ dung môi thu được cạn *n*-hexane (**VGH**; 70,0 g), cạn dichloromethane (**VGD**; 40,0 g), cạn ethyl acetate (**VGE**; 42,0 g) còn lại phần nước (**VGW**; 200,0 g).

Dung dịch nước sau khi loại bỏ hết dung môi được đưa lên cột diaion HP-20 rửa giải bằng hệ dung môi CH₃OH/ H₂O theo các tỉ lệ (25/75, 50/50, 75/25, 100/1; v/ v) ta được 4 phân đoạn ký hiệu là (VGW1 – VGW4). Phân đoạn VGW4 (31,0 g) được phân tách bằng cột silica gel với hệ dung môi gradient (CH₂Cl₂/ CH₃OH; 20/1 - 1/1, v/v), ta thu được 5 phân đoạn nhỏ hơn là (VGW4A – VGW4E). Phân đoạn VGW4A (3,0 g), tiếp tục sử dụng cột sắc ký silica gel pha đảo (C-18) với hệ dung môi (CH₃OH/ H₂O; 2/1, v/v) thu được 3 phân đoạn nhỏ hơn (VGW4A1 – VGW4A3). Tinh chế phân đoạn VGW4A1 trên cột sắc ký C-18 với hệ dung môi (acetone/ H₂O; 1/1, v/v) thu được **VG5** (8,0 mg). **VG15** (3,0 mg) và **VG4** (13,0 mg) được tách từ phân đoạn VGW4A2 trên cột pha thường với pha động (CH₂Cl₂/ CH₃OH/ H₂O; 12/1/0,01; v/v/v) và trên cột sắc ký pha đảo C-18 với hệ dung môi pha động (acetone/ H₂O; 1/1; v/v). Sử dụng sắc ký với pha tĩnh là silica gel cho phân đoạn VGW4A3 với hệ pha động giải ly (CH₂Cl₂/ CH₃OH/ H₂O; 10/1/0,02; v/v/v), tiếp tục tinh chế trên cột LH-20 với pha động (MeOH/ H₂O; 1/1, v/v) ta thu được **VG2** (5,0 mg). Phân tách phân đoạn VGW4C bằng sắc ký cột pha đảo C-18 sử dụng đẳng hệ dung môi giải hấp (acetone/ H₂O; 1/1, v/v) ta thu được 3 phân đoạn nhỏ hơn (VGW4C1-VGW4C3). **VG8** (50,0 mg) thu được làm sạch từ phân đoạn VGW4C1 bằng cột LH-20 với dung môi giải hấp (CH₃OH/ H₂O; 1/1, v/v). Tiếp tục từ phân đoạn VGW4C2 được đưa lên cột sephadex sử dụng pha động (CH₃OH/ H₂O; 1/1, v/v), sau đó tiếp tục tinh chế bằng sắc ký silica gel pha đảo C-18 giải hấp bằng hệ dung môi (acetone/ H₂O; 1/1, v/v) ta thu được **VG1** (10,0 mg). hợp chất **VG3** (8,0 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn VGW4C3 trên cột sắc ký trong đó pha tĩnh là hạt silica gel với hệ dung môi pha động (CH₂Cl₂/CH₃OH/ H₂O; 9/1/0,01, v/v/v) tiếp tục tinh chế bằng cột sắc ký với pha tĩnh là hạt C-18 hệ dung môi rửa giải đẳng dòng (CH₃OH/ H₂O; 1,5/1; v/v).

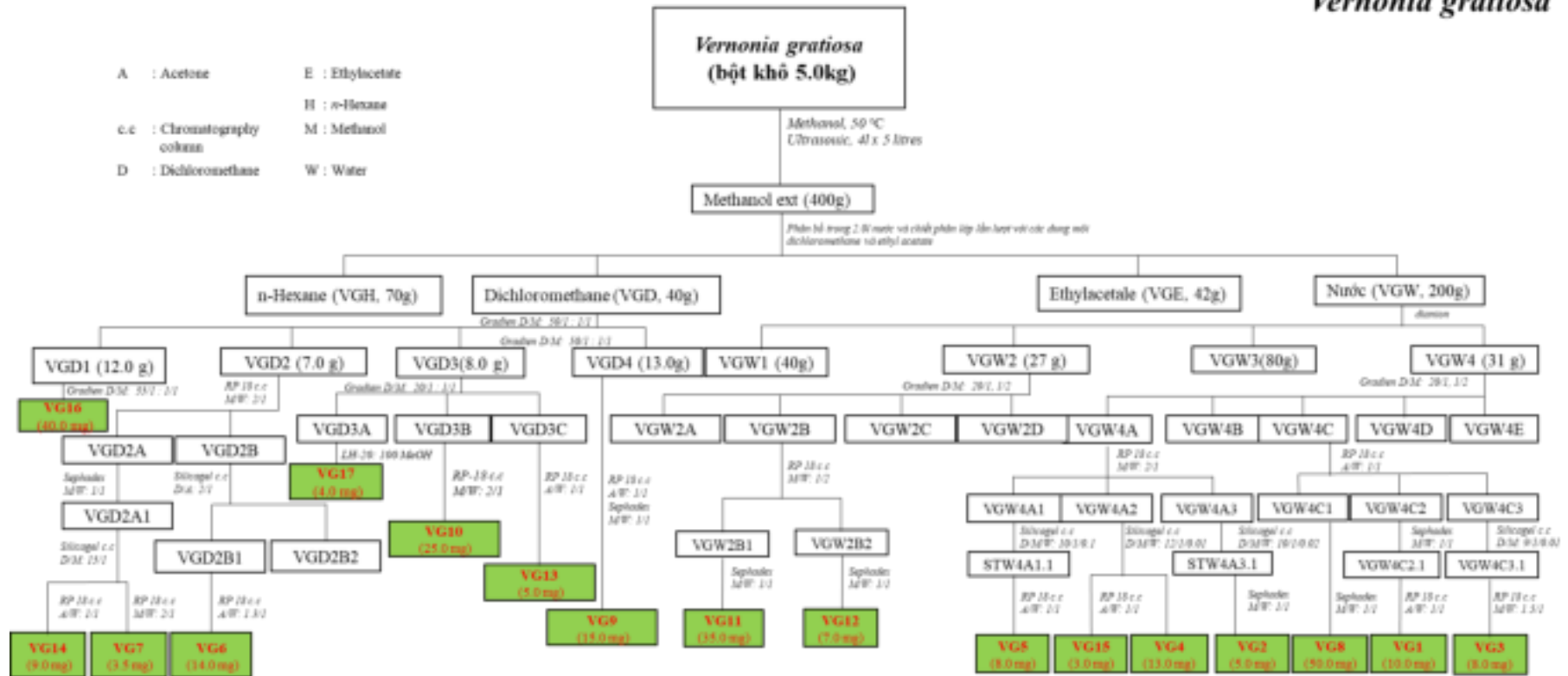
Từ phân đoạn VGW2, được đưa lên trên cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi gradien (CH₂Cl₂/ CH₃OH; 20/1-1/2, v/v) thu được 4 phân đoạn nhỏ hơn (VGW2A - VGW2D). Phân đoạn VGW2B được đưa tiến hành cột sắc ký silica gel pha đảo C18 rửa giải với đẳng hệ dung môi (CH₃OH/ H₂O; 1/2, v/v) ta thu được 2 phân đoạn

(VGW2B1-VGW2B2). Từ phân đoạn nhỏ VGW2B1 được tinh chế bằng cột sắc ký rây phân tử sephadex với hệ pha động ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 1/1, v/v) thu được **VG11** (35,0 mg). Bằng một cách tương tự hợp chất **VG12** (7,0 mg) thu được từ phân đoạn VGW2B2 với cột sephadex và hệ dung môi giải ly ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 1/1, v/v).

Cặn dichloromethane (VGD; 40,0 g), được phân tách bởi cột sắc ký silicagel pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$; 50/1 - 1/1, v/v), thu được 4 phân đoạn nhỏ hơn kí hiệu là (VGD1-VGD4). Phân đoạn VGD1 (12,0 g) được đưa lên trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi triển khai ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$; 35/1-1/1, v/v) ta thu được chất sạch **VG16** (40,0 mg).

Phân đoạn VGD2 (7,0 g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo C18 với hệ pha động ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 2/1, v/v) thu được 2 phân đoạn (VGD2A và VGD2B). Từ phân đoạn VGD2A (2,0 g) được tiếp tục được đưa lên cột sắc ký sephadex dùng hệ dung môi ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 1/1, v/v) sau đó được tinh chế lại trên cột sắc ký silica gel dùng hệ dung môi rửa giải là ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$; 15/1, v/v) ta thu được là **VG14** (9,0 mg) và **VG7** (3,5 mg). Phân đoạn VGD2B (4,5 g) được rửa giải trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$; 2/1, v/v) thu được 2 phân đoạn (VGD2B1 và VGD2B2). Phân đoạn VGD2B1 được tiếp tục đưa lên trên cột sắc ký silica gel pha đảo sử dụng hệ dung môi giải hấp phụ ($\text{acetone}/\text{H}_2\text{O}$; 1,3/1; v/v) thu được **VG6** (14,0 mg). Từ phân đoạn VGD3A tiến hành tinh chế trên cột-LH20 sử dụng 100% CH_3OH ta thu được **VG17** (4,0 mg). Phân đoạn VG3B được phân tách trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; 2/1; v/v) ta thu được **VG10** (30,0 mg). Bằng phương pháp sắc ký tương tự trên cột pha đảo C18 rửa giải với hệ dung môi ($\text{acetone}/\text{H}_2\text{O}$; 1/1; v/v) ta thu được chất sạch **VG13** (5,0 mg).

Vernonia gratiiosa



Hình 2. 4. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ loài *V. gratiiosa* ở Việt Nam

2.5. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được

2.5.1. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

2.5.1.1. Hợp chất **LD1**: *Vernonioside K*

Chất bột rắn, màu trắng. $[\alpha]_D^{25}$: + 75° (c 0,2; CH₃OH)

Công thức phân tử (CTPT): C₃₂H₄₈O₈

Khối lượng phân tử (KLPT): 560,3349

Phổ HR-ESI-MS *m/z*: 583,3248 [M+Na]⁺

Tính toán lý thuyết (TTLT): C₃₂H₄₈O₈Na (M = 583,3247)

Dữ liệu phổ ¹H NMR, ¹³C NMR xem ở *Bảng 3.1*

2.5.1.2. Hợp chất **LD2**: *Vernonioside N*

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: + 55° (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₃₆H₅₄O₁₁

KLPT: 662,3666

HR-ESI-MS *m/z*: 697,3385 [M+Cl]⁻

TTLT: C₃₆H₅₄O₁₁Cl⁻ (M = 697,3360)

Dữ liệu phổ ¹H NMR, ¹³C NMR xem ở *Bảng 3.2*

2.5.1.3. Hợp chất **LD3**: *Vernonioside M*

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +45° (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₃₆H₅₄O₁₁

KLPT: 662,3666

HR-ESI-MS *m/z*: 697,3355 [M+Cl]

TTLT: C₃₆H₅₄O₁₁Cl⁻ (M= 697,3360)

Dữ liệu phổ ¹H, ¹³C NMR xem ở *Bảng 3.3*.

2.5.1.4. Hợp chất **LD4**: *Vernonioside O*

Chất bột rắn, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +48,0° (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₃₅H₅₂O₁₀

KLPT: 632,3560

Phổ HR-ESI-MS *m/z*: 667,3308 [M+Cl]⁻

TTLT: C₃₅H₅₂O₁₀Cl⁻, (M = 667,3254)

Phổ ¹H, ¹³C NMR xem *Bảng 3.4*.

2.5.1.5. Hợp chất **LD5**: *Vernonioside L*

Chất dạng sáp, không màu, $[\alpha]_D^{25}$: +45,7° (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₃₅H₅₄O₁₀, KLPT: 634,3717

Phổ HR-ESI-MS *m/z*: 669,3402 [M+Cl]⁻

TTLT: C₃₅H₅₄O₁₀Cl⁻, (M = 669,3411)

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.5*.

2.5.1.6. *Hợp chất LD6: Vernonioside P*

Chất dầu màu vàng, $[\alpha]_D^{25} : -31,6$ (*c* 0,2; CHCl_3)

CTPT: $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6$

CTPT: 516,3451

Phổ HR-ESI-MS *m/z*: 551,3118 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$

TTLT: $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{Cl}^-$ (*M* = 551,3139)

Dữ liệu phổ ^1H NMR, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.6*.

2.5.1.7. *Hợp chất LD7: Vernonioside Q*

Chất rắn vô định hình, màu trắng; $[\alpha]_D^{25} : -37,1$ (*c* 0,2; CHCl_3);

CTPT: $\text{C}_{37}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$;

KLPT: 678,3979

Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 713,3690 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$

TTLT: $\text{C}_{37}\text{H}_{58}\text{O}_{11}\text{Cl}^-$ (*M* = 731,3668)

Dữ liệu phổ ^1H NMR, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.7*.

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

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25} : +75$ (*c* 0,2; CH_3OH).

CTPT: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$; KTPT: 518,3244

ESI-MS *m/z*: 541,3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

TTLT: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7\text{Na}$ (*M* = 541,3)

Dữ liệu phổ ^1H NMR, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.8*.

2.5.1.9. *Hợp chất LD9: Vernoamyoside E*

Chất dạng dầu không màu; $[\alpha]_D^{25} : + 42,5$ (*c* 0,2; CH_3OH).

CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{11}$, KTPT: 664,4

Phổ ESI-MS ,Neg *m/z*: 699,4 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$

TTLT: $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{11}\text{Cl}^-$ (*M* = 669,4)

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.9*.

2.5.1.10. *Hợp chất LD10: Vernonioside B₂*

Là chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25} : + 42,5$ (*c* 0,2; CH_3OH).

CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{12}$

KLPT: 680,3772

Dữ liệu phổ ^1H NMR, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.10*.

2.5.1.11. *Hợp chất LD11: Vernoniacum B*

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25} : +37,5$ (*c* 0,2; CH_3OH).

CTPT: C₃₈H₅₈O₁₃

KLPT: 722,3877

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.11*.

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

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +17,1 (c 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₂₉H₄₂O₅

KLPT: 470,3032

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.12*.

2.5.1.13. *Hợp chất LD13: Venonioside B₁*

Chất rắn màu trắng vô định hình, $[\alpha]_D^{25}$: +33,5 (c 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₃₅H₅₂O₁₀

KLPT: 632,3560

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR trên *Bảng 3.13*.

2.5.1.14. *Hợp chất LD14: Veramyoside H*

Chất bột màu trắng, vô định hình; $[\alpha]_D^{25}$: -17,98 (c 0,2; CHCl₃).

CTPT: C₃₅H₅₀O₁₁

KLPT: 646,3353

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.14*.

2.5.1.15. *Hợp chất LD15: Veramyoside J*

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +24,0 (c 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₃₅H₅₀O₁₁

KLPT: 646,3353

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.15*.

2.5.1.16. *Hợp chất LD16: Vernoamyoside A*

Chất rắn màu trắng, $[\alpha]_D^{25}$: +0,27 (c 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₄₁H₆₆O₁₅

KLPT: 798,4402

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem ở *Bảng 3.16*.

2.5.1.17. *Hợp chất LD17: α-Spinasterol*

Bột rắn màu trắng

CTPT: C₂₉H₄O₄

KLPT: 416,0110

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem ở *Bảng 3.17*.

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

2.5.2.1. Hợp chất VG1: Vernogratioides A

Chất bột rắn, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -28 (c 0,1; CH₃OH)

CD (c $5,0 \times 10^{-4}$, CH₃OH) λ_{\max} (mdeg) 221 (+2,82), và 243 (+10,78) nm

CTPT: C₄₁H₆₄O₁₅

LKPT: 796,4245

HR-ESI-MS m/z : 831,3892 [M+Cl]⁻; TTLT: C₄₁H₆₄O₁₅Cl⁻ (M = 831,3939)

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem ở Bảng 3.19.

2.5.2.2. Hợp chất VG2: Vernogratioides B

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -32 (c 0,1; CH₃OH)

CD (c $5,0 \times 10^{-4}$, CH₃OH) λ_{\max} (mdeg) 220 (+3,74), và 243 (+8,10) nm

CTPT: C₄₁H₆₄O₁₄

LKPT: 780,4296

HR-ESI-MS m/z : 815,3984 [M+Cl]⁻; TTLT: C₄₁H₆₄O₁₄Cl⁻ (815,3990).

Dữ liệu ¹H-, ¹³C NMR xem ở Bảng 3.20.

2.5.2.3. Hợp chất VG3: Vernogratioides C

Chất bột rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -33° (c 0,1; CH₃OH)

CD (c $5,0 \times 10^{-4}$, CH₃OH) λ_{\max} (mdeg) 221 (+3,17), và 243 (+9,18) nm

CTPT: C₄₁H₆₂O₁₅

KLPT: 794,4089

Phổ HR-ESI-MS: m/z [M+Na]⁺ 819,4140; TTLT: C₄₁H₆₄O₁₅Na⁺ (819,4137)

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem ở Bảng 3.21.

2.5.2.4. Hợp chất VG4: Vernogratioides R

Thu được dưới dạng bột màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -35° (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₄₃H₆₆O₁₆

KLPT: 838,4351

Phổ HR-ESI-MS: m/z [M+Cl]⁻ 873,4033; TTLT: C₄₈H₆₆ClO₁₆⁻ 873,4039).

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem Bảng 3.22.

2.5.2.5. Hợp chất VG5: Vernogratioides S

Dạng rắn màu vàng, không xác định hình dạng; $[\alpha]_D^{25}$: $+45,7^\circ$ (c 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₄₁H₆₆O₁₄

KLPT: 782,4453

Phổ HR-ESI-MS m/z : 817,4067 [M+Cl]⁻; TTLT: C₄₁H₆₆ClO₁₄⁻ 817,4141

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem Bảng 3.23.

2.5.2.6. *Hợp chất VG6: Vernoratoside A*

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +44,5 (*c* 0,2; CH₃OH)

CTPT: C₃₈H₅₈O₁₂

KLPT: 706,3928

HR-ESI-MS *m/z*: 741,3583 [M + Cl]⁻; TTLT: C₃₈H₅₈O₁₂Cl⁻ (M = 741,3617)

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.24*.

2.5.2.7. *Hợp chất VG7: Vernoratoside B*

Chất rắn màu trắng, không xác định hình dạng; $[\alpha]_D^{25}$: + 30,6 (*c* 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₃₇H₅₆O₁₂

KLPT: 692,3772

Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 727,3466 [M+Cl]⁻: TTLT: C₃₇H₅₆O₁₂Cl⁻, (M = 727,3460)

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.25*.

2.5.2.8. *Hợp chất VG8: VE1*

Dạng bột màu trắng: $[\alpha]_D^{25}$: +75 (*c* 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₃₇H₅₆O₁₁

KLPT: 676,3823

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.26*.

2.5.2.9. *Hợp chất VG9: Vernoniacum B*

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +37,5 (*c* 0,2; CH₃OH).

CTPT: C₃₈H₅₈O₁₃

KLPT: 722,3877

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.27*.

2.5.2.10. *Hợp chất VG10: Kaempferol*

Chất rắn vô định hình, màu vàng

CTPT: C₁₅H₁₀O₆

KLPT: 286,0477

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.28*.

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

Chất rắn, màu vàng chanh

CTPT: C₁₆H₁₂O₆

KLPT: 300,0634

Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR xem *Bảng 3.29*.

2.5.2.12. *Hợp chất VG12: Quercetin*

Chất rắn vô định hình, màu vàng

CTPT: C₁₅H₁₀O₇

KLPT: 302,0427

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem trên *Bảng 3.30*.

2.5.2.13. *Hợp chất VG13: Apigenin*

Chất rắn dạng bột, màu vàng nhạt.

CTPT: $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$

KLPT: 270,0528

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.31*.

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

Chất bột màu trắng, vô định hình.

CTPT: $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{12}$

KLPT: 550,2050

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.32*.

2.5.2.15. *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*

Chất rắn màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: -24 (c 0,2; CH_3OH).

CTPT: $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$

KLPT: 558,1373

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.33*.

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

Chất rắn dạng tinh thể, màu trắng; $[\alpha]_D^{25}$: +0,27 (c 0,2; CH_3OH).

CTPT: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_7$

KLPT: 364,1522

Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.34*.

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

Chất rắn vô định hình, màu trắng

CTPT: $\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2$; KLPT: 139,0633

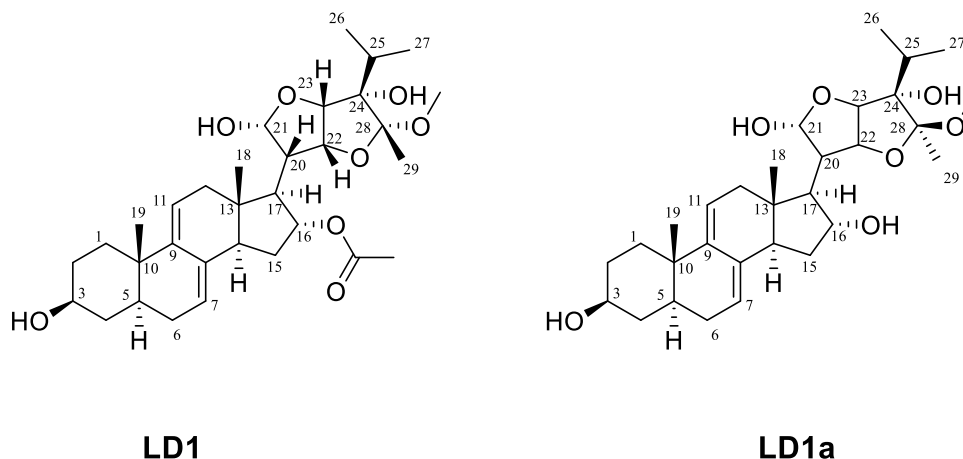
Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR xem *Bảng 3.35*.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

3.1.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài *V. amygdalina*

3.1.1.1. Hợp chất **LD1**: *Vernonioside K*

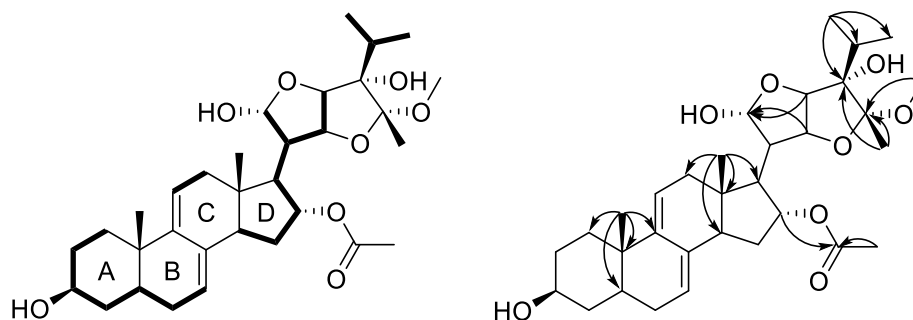


Hình 3. 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD1** và hợp chất tham khảo **LD1a**

Hợp chất **LD1** phân lập được ở dạng rắn, màu trắng. Công thức phân tử của **LD1** được xác định là $C_{32}H_{48}O_8$ dựa trên phổ khối lượng HR-ESI-MS tại m/z 583,3248 [$M + Na$]⁺ (tính toán cho công thức $C_{32}H_{48}NaO_8^+$; 583,3241) (Hình 3.4).

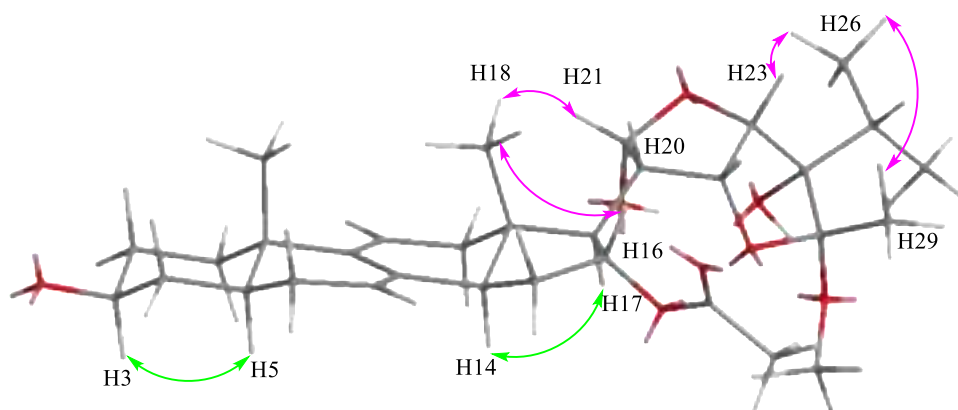
Phổ 1H - và ^{13}C -NMR của **LD1** (Bảng 3.1) xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmastane steroid tương tự với cấu trúc của **LD1a**. Trên phổ 1H -NMR của **LD1** (Bảng 3.1) xuất hiện các tín hiệu của hai proton olefinic [δ_H 5,44 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11; 5,33 (1H, br s, H-7)], 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); 1,23 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-27); 1,11 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-26)], ba proton methyl (CH_3) singlet [δ_H 1,59 (3H, s, H-29); 0,86 (3H, s, H-19); 0,61 (3H, s, H-18)], một nhóm CH_3 singlet tại δ_H 2,21 (3H, s) đặc trưng của nhóm acetyl, và một nhóm methoxyl [δ_H 3,29 (3H, s, 28- OCH_3)]. Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **LD1** cho thấy sự có mặt của 32 tín hiệu carbon, trong đó 06 carbon không liên kết với proton, 06 nhóm methylene, 04 carbon olefinic, 01 nhóm acetyl, 05 nhóm methyl và 01 methoxy. Thêm vào đó, vị trí cạnh nhau của các proton trong cấu trúc của **LD1** được xác định thông qua các tương tác 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 3.2). 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**. Ngoài ra, các tương tác HMBC của proton tại [δ_H 5,44 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, 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). Nhóm acetyl được xác định vị trí tại C-16 thông qua tương tác HMBC của H-16 (δ_H 5,53; t; $J = 6,0$ Hz) đến δ_C 170,8 (CH_3COO). Đối với

mạch nhánh của **LD1**, trên 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 3.2). Cuối cùng, mạch nhánh này đính 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 3.2).



Hình 3. 2. Các tương tác COSY và HMBC chính của **LD1**

Cuối cùng, hóa lập thể của **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, H-14 và H-17 có cấu hình α (Hình 3.3). Hơn nữa, tương tác ROESY giữa H-20 và H-18/H-21/H-27, giữa H-23 và H-22/H-26 chỉ ra rằng các proton này có cấu hình β (Hình 3.3). Trên phổ ROESY cũng chỉ ra tương tác của H-29 và H-26 điều đó chỉ ra rằng nhóm methyl tại vị trí C-28 này có cấu hình β . Từ các dữ liệu phân tích trên, cho thấy cấu trúc của **LD1** có độ tương đồng rất cao so với **LD1a**, ngoại trừ việc thay thế nhóm hydroxy tại C-16 của **LD1a** bằng nhóm acetyl ở **LD1** [56]. Do đó, cấu trúc hóa học của **LD1** được xác định như trong (Hình 3.1), tra cứu Scifider cho thấy **LD1** là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside K.

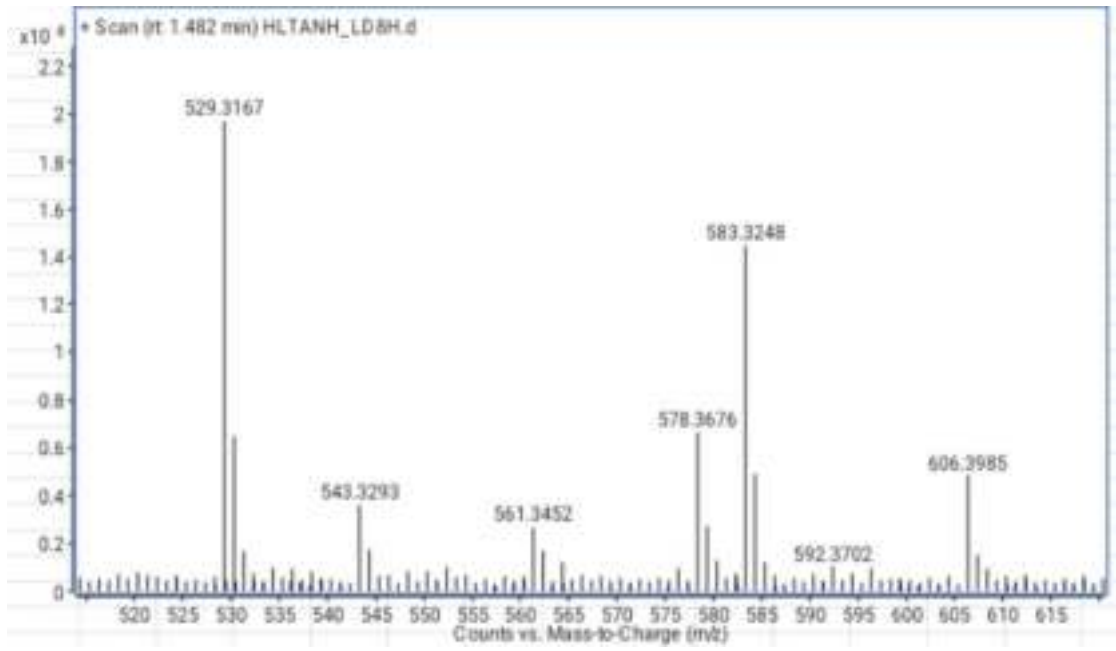


Hình 3. 3. Các tương tác ROESY chính của **LD1**

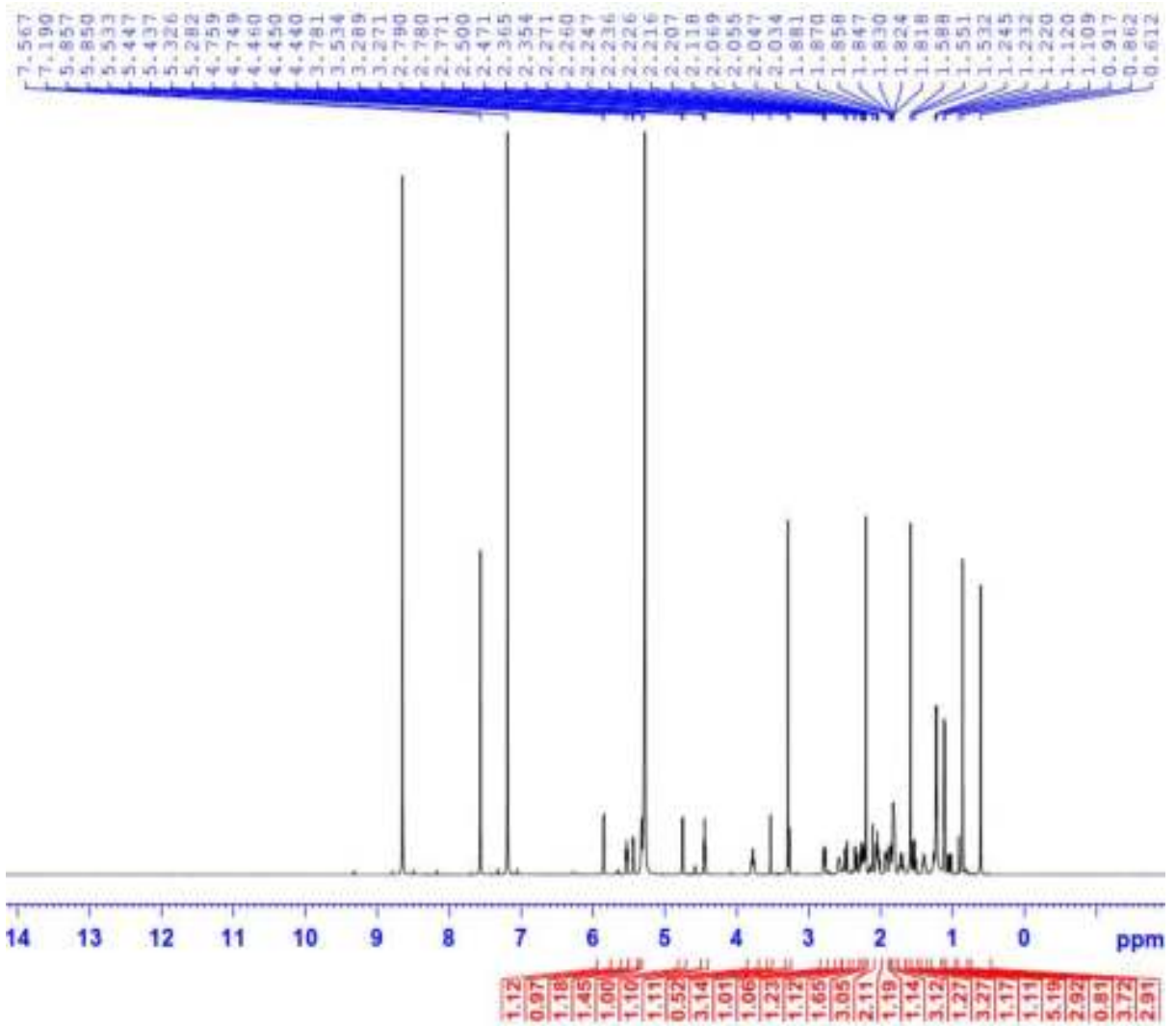
Bảng 3. 1. Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của **LD1**

C	# δ_{C}	δ_{C} ^{a,b}	δ_{H} ^{a,c} (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,2	35,0	1,23* (m)/ 1,87*(m)
2	32,5	32,0	1,71* (m)/ 2,02(m)
3	70,2	70,0	3,78 (m)
4	38,8	38,2	1,54 (q; 12,0)
5	39,6	39,4	1,40 (m)
6	30,4	30,1	1,82* (m)
7	121,5	121,7	5,33 (br s)
8	135,0	135,1	
9	144,2	143,9	
10	36,2	36,0	
11	118,6	118,6	5,44 (d; 6,0)
12	41,8	41,9	2,35 (dd; 16,8; 6.8)
13	43,7	42,9	
14	49,2	48,8	2,58 (m)
15	35,3	34,7	1,92* (m)/ 2,05* (m)
16	76,3	78,4	5,53 (t; 6,0)
17	56,1	51,1	2,79 (dd; 11,4; 5,4)
18	14,6	14,1	0,61 (s)
19	19,7	19,4	0,86 (s)
20	48,6	48,8	2,58 (m)
21	99,2	98,8	5,86 (d; 4.2)
22	81,0	79,9	4,45 (t; 6,0)
23	91,2	91,5	4,75 (d; 6,0)
24	82,0	81,8	
25	32,4	32,2	2,27* (m)
26	17,5	17,4	1,11 (d; 6,6)
27	18,5	18,4	1,23 (d; 6,6)
28	113,4	112,7	
29	17,5	17,5	1,59 (s)
28-OCH ₃	48,5	48,1	
CH ₃ C <u>OO</u>		170,8	
<u>CH</u> ₃ OO		21,7	2,21 (s)

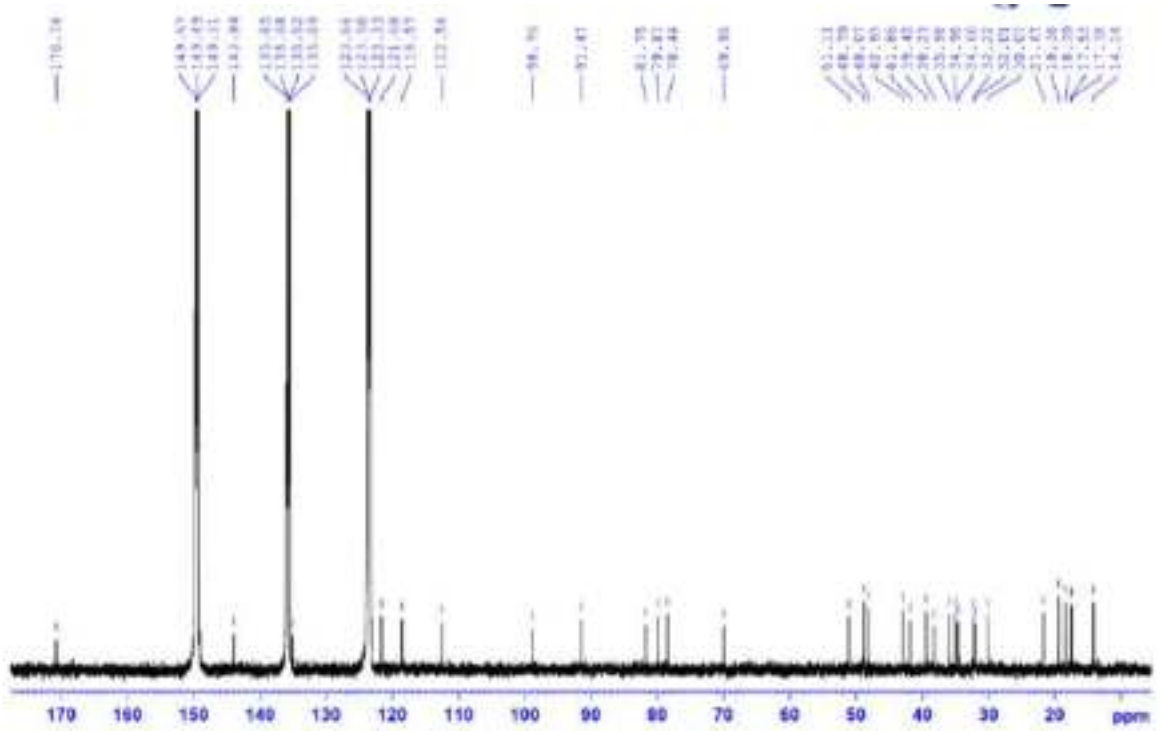
^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} của **LD1a**, * Tín hiệu bị chồng lấp



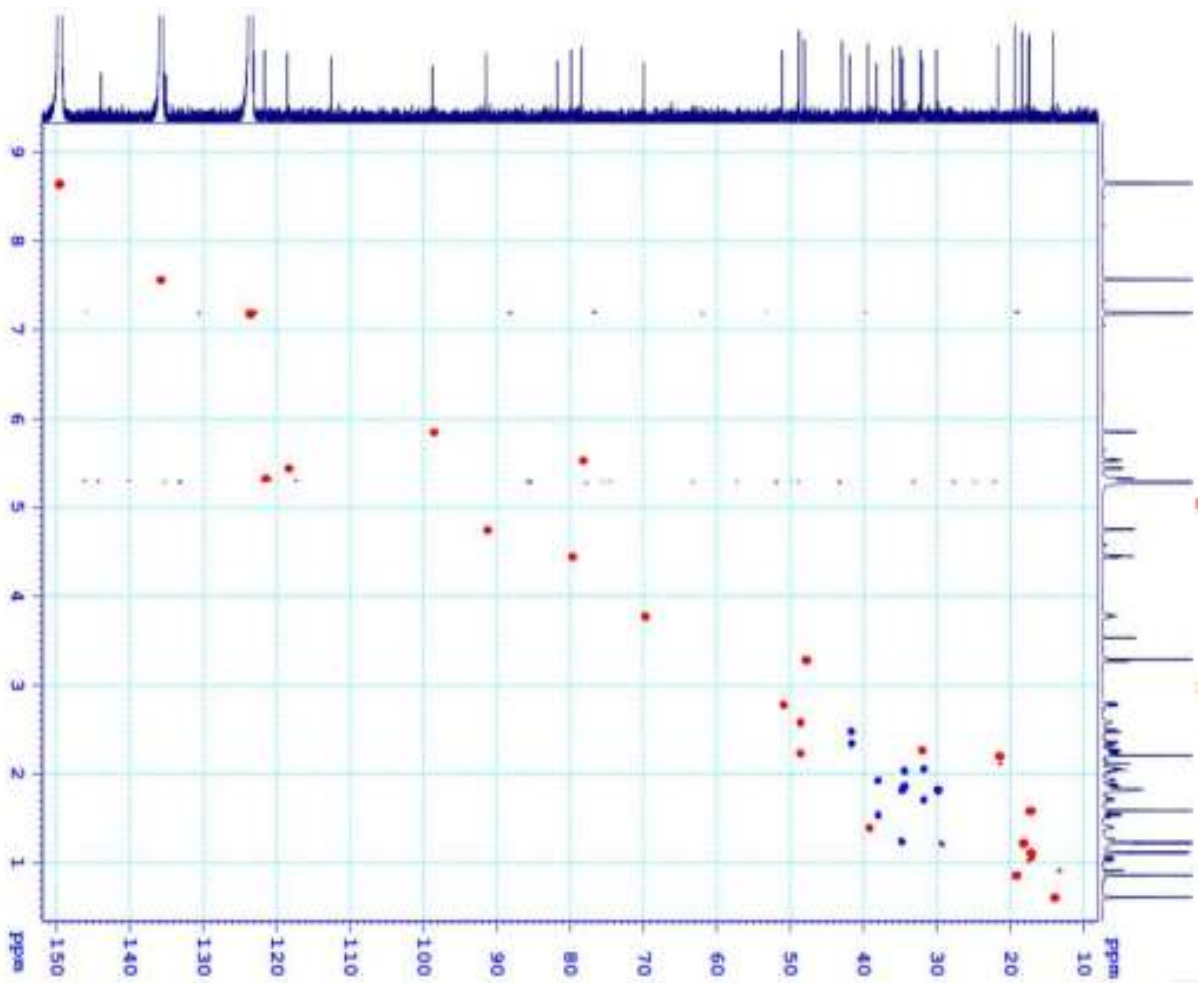
Hình 3. 4. Phổ HR-ESI-MS của LD1



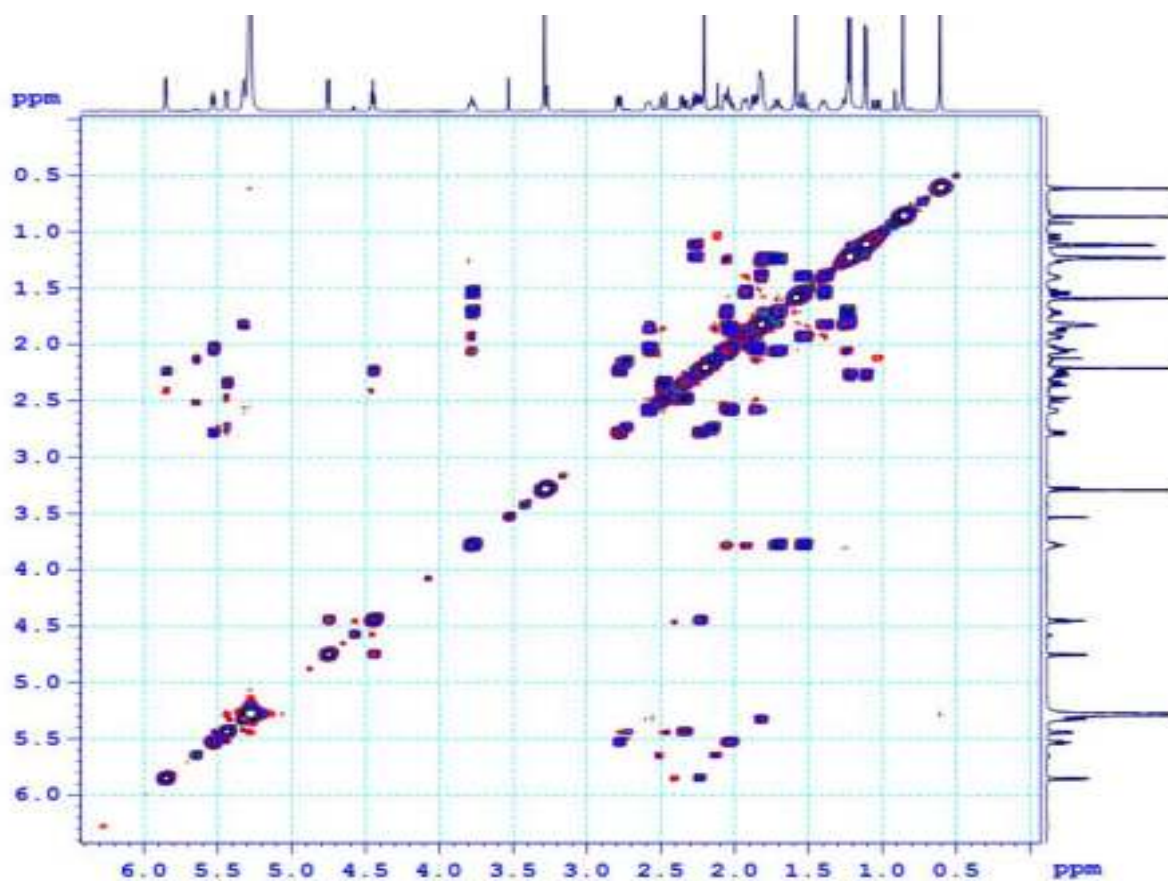
Hình 3. 5. Phổ ¹H-NMR của LD1



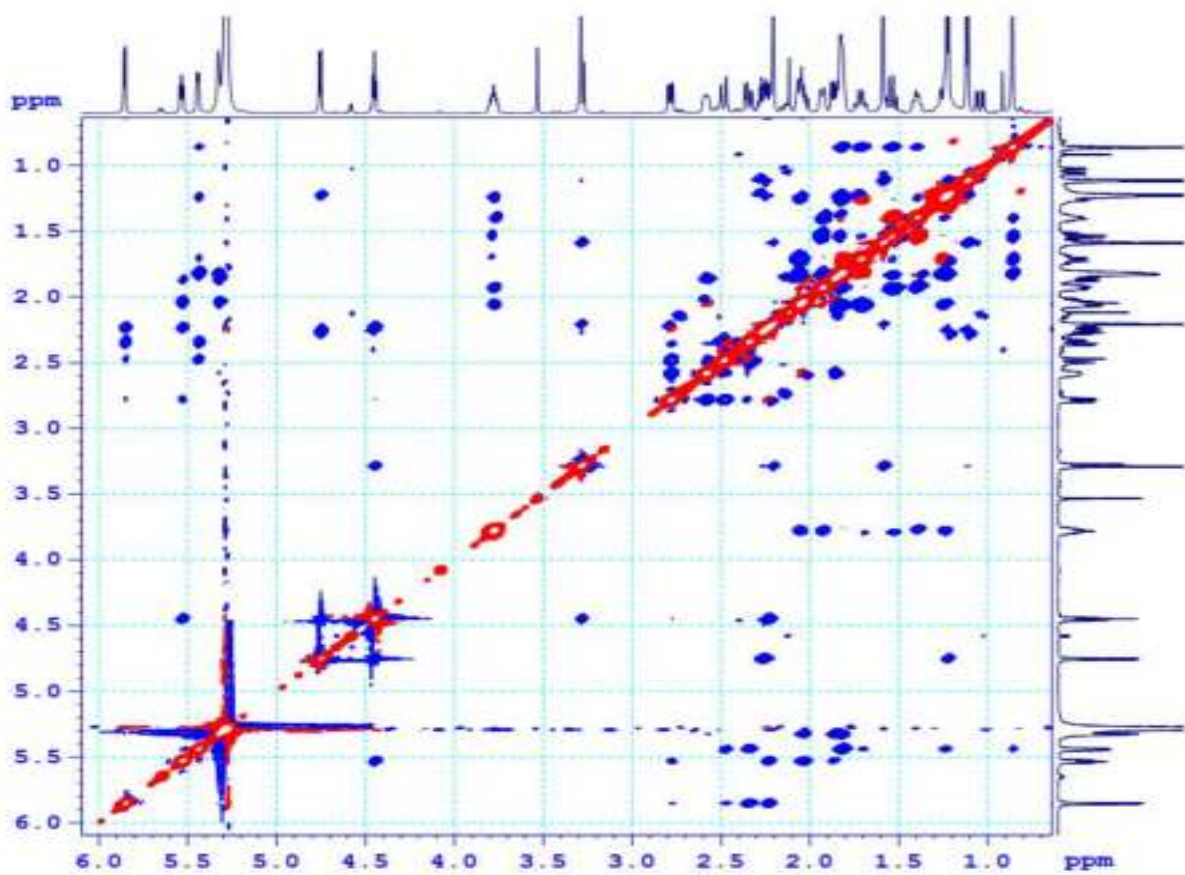
Hình 3. 6 Phổ ^{13}C -NMR của LD1



Hình 3. 7. Phổ HSQC của LD1

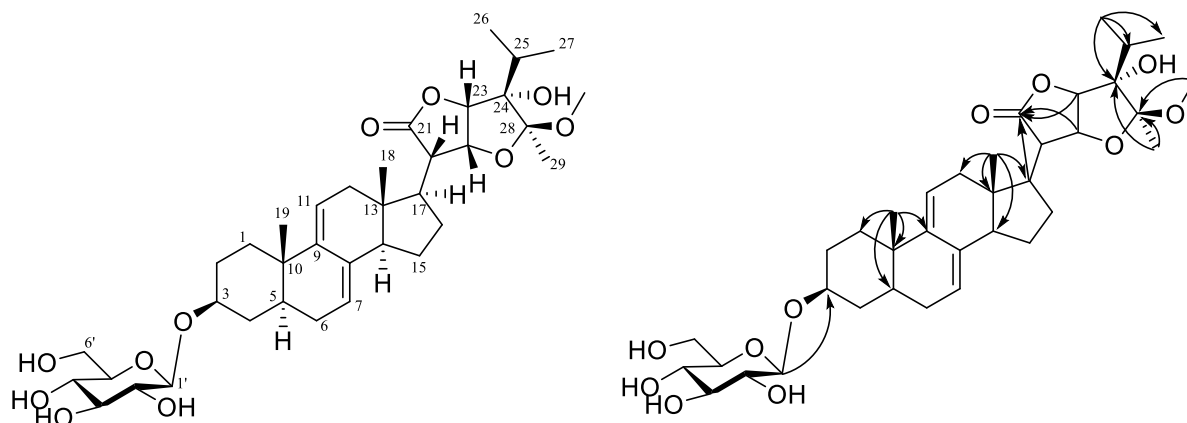


Hình 3. 8. Phổ ¹H-¹H COSY của LD1



Hình 3. 9. Phổ ROESY của LD1

3.1.1.2. Hợp chất LD2: Vernonioside N



Hình 3. 10. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **LD2**

Hợp chất **LD2** thu được ở dạng chất rắn không màu, $[\alpha]_D^{25} : +55^\circ$ (c 0,2; CH_3OH). Hợp chất **LD2** có công thức là $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}$ dựa trên phổ HR-ESI-MS m/z : 697,3385 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ tính toán cho công thức: $[\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}\text{Cl}]^-$ ($M = 697,3355$).

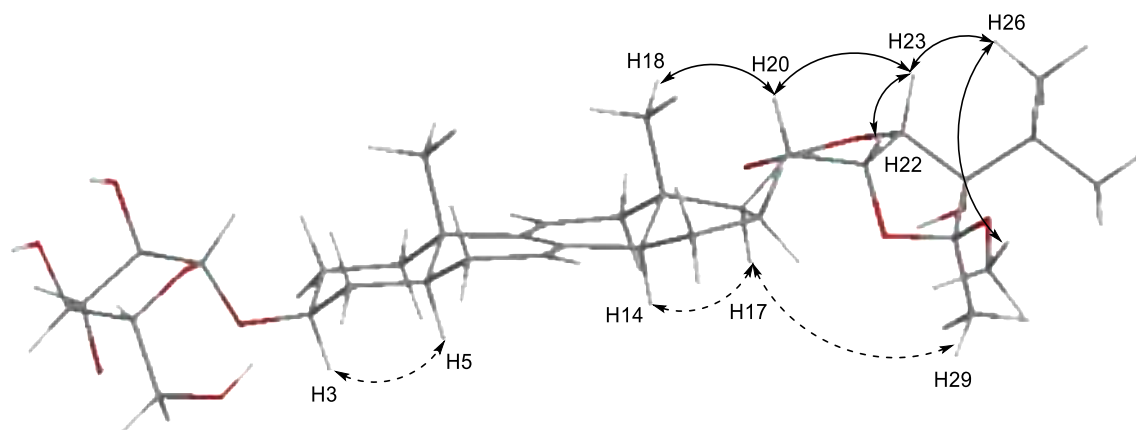
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **LD2** (Bảng 3.2) cho thấy tín hiệu của hai nhóm *tert*-methyl [δ_{H} 0,80 (3H, s, H-19) và 0,75 (3H, s, H-18)], một nhóm isopropyl [δ_{H} 1,11 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-27); 1,12 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-26)], một nhóm methyl khác tại [δ_{H} 1,61 (3H, s, H-29)] và hai proton olefinic [δ_{H} 5,35 (1H, br s, H-7); 5,40 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11)]. Bên cạnh đó, một proton anomeric của đường glucopyranosyl [δ_{H} 4,94 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1')] cũng xuất hiện trên phổ $^1\text{H-NMR}$. Cấu hình β của proton này là được xác định bởi hằng số ghép cặp $J_{1',2'}$ lớn ($J = 7,8$ Hz). Cấu hình tuyệt đối của đường được xác định là β -D-glucose thông qua so sánh độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ của đường này sau khi thủy phân [(TLC, EtOAc–isopropanol–acetone– H_2O : 20–10–7–6), v/v/v/v, $R_f = 0,3$; $[\alpha]_D^{25} +40,1$ (c 0,2; H_2O)] với đường chuẩn ($[\alpha]_D^{25} +50,8$ (c 0,2; H_2O)). Vị trí của đường tại C-3 được thiết lập dựa trên tương tác HMBC giữa proton H-1' (δ_{H} 4,94) và C-3 (δ_{C} 77,1). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **LD2** xuất hiện tín hiệu của 36 carbon trong đó bao gồm một nhóm methoxy, một đơn vị đường và 29 carbon của aglycone. Dữ liệu ^1H -, $^{13}\text{C-NMR}$ của **LD2** (Bảng 3.2) cho thấy đặc trưng của khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmastane steroid saponin và phù hợp với hợp chất **vernoamyoside E** [57] ngoại trừ nhóm hydroxy ở vị trí C-21 của hợp chất **vernoamyoside E** bị thay thế bởi nhóm carboxyl ở δ_{C} 176,7 (C-21) trong **LD2**. Điều này được chứng minh bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-21 (δ_{C} 176,7) của **LD2** khi so sánh với hợp chất đã biết **vernoamyoside E** có δ_{C} 100,0 (C-21). Điều này cũng được khẳng định bằng tương tác trên HMBC giữa H-17, H-22, H-23 và C-21. Cấu hình tương đối của **LD2** được thiết lập dựa trên phổ ROESY tương tự như ở **LD1**. Tương tác ROESY giữa H-3 và H-5, H-14 và H-17, giữa H-18 và H-20, cho phép xác định các vòng A/B và C/D liên kết với nhau theo dạng *trans*; các proton H-18 và H-19 có cấu

hình β ; và H-3, H-5, H-14 và H-17 có cấu hình α (Hình 3.11). Bên cạnh đó, các tương tác ROESY giữa H-17 và H-29 chỉ ra rằng nhóm CH₃-29 này có cấu hình α , giữa H-20 và H-18/H-23, giữa H-23 và H-22, giữa nhóm 29-OCH₃ và H-26 chỉ ra rằng các proton H-18, H-22, H-23 và nhóm methoxy có cấu hình β (Hình 3.11). Do đó, cấu trúc của **LD2** được xác định như trong (Hình 3.10). Kiểm tra trên hệ thống Scifinder nhận thấy đây là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside N.

Bảng 3. 2. Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR của **LD2**

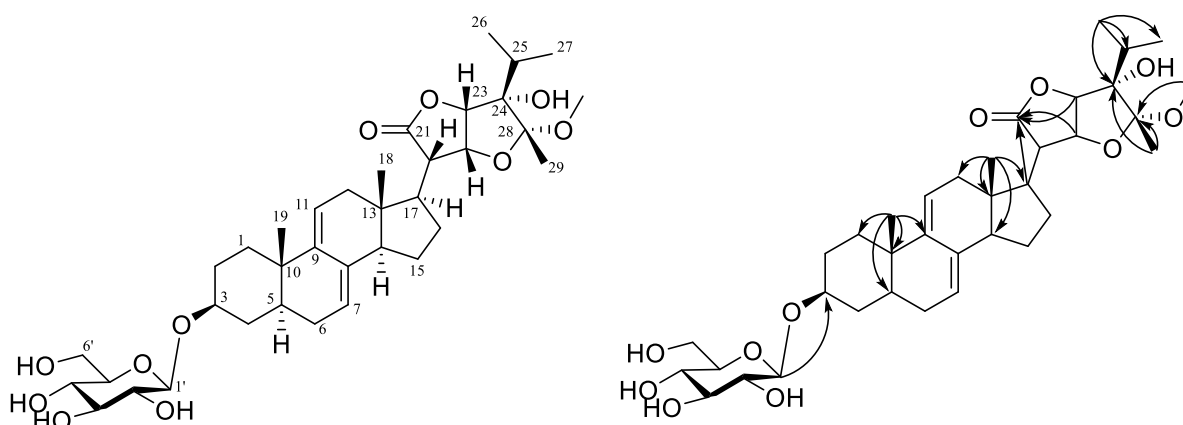
C	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ sôi, $J = \text{Hz}$)
1	35,8	34,8	1,16* (m)/ 1,78* (m)
2	30,8	29,9	2,10 (d; 11,5)/ 1,67 (m)
3	78,9	77,1	3,89 (m)
4	34,4	34,3	1,48 (dd; 20,0; 10,0)/ 1,98* (m)
5	40,1	39,0	1,25 (m)
6	30,3	30,1	1,76 m*/ 1,80 (m)
7	121,4	120,6	5,35 (br s)
8	137,2	136,3	-
9	144,8	143,7	-
10	36,8	35,9	-
11	119,5	119,3	5,39 (d; 5,0)
12	41,9	41,2	2,18 (m)*/ 3,00; (dd; 15,0; 5,5)
13	42,7	42,5	-
14	51,9	51,6	2,19 (m)
15	24,2	23,4	1,49 (m)/ 1,76* (m)
16	28,0	28,7	1,70 (m)/ 2,14 (m)
17	45,4	46,5	2,26 (m)
18	12,9	12,2	0,75 (s)
19	19,8	19,3	0,80 (s)
20	50,2	45,6	2,92 (m)
21	100,0	176,7	-
22	81,0	76,3	4,56 (t; 5,5)
23	83,2	86,1	4,81 (d; 4,5)
24	91,3	84,3	-
25	32,7	32,3	2,24*(m)
26	17,4	17,0	1,12 (d; 6,0)
27	18,1	18,1	1,11 (d; 5,5)
28	112,9	111,2	-
29	17,4	16,7	1,61 (s)
OCH ₃	48,3	48,0	3,28 (s)
1'	102,6	102,0	4,94 (d; 7,8)
2'	74,8	74,9	3,98 (t; 7,5)
3'	77,3	78,2	4,26 (t; 7,5)
4'	71,4	71,4	4,15 (t; 7,5)
5'	77,5	78,1	3,92* (m)
6'	62,6	62,5	4,30 (dd; 10,0; 5,0)
			4,49 (dd; 10,0; 2,0)

^{a)} pyridine-d₅, ^{b)} 150 MHz, ^{c)} 600 MHz, # δ_C của **vernoamyoside E**, * tín hiệu chồng lấp



Hình 3. 11. Các tương tác ROESY chính của **LD2**

3.1.1.3. Hợp chất **LD3** *Vernonioside M*



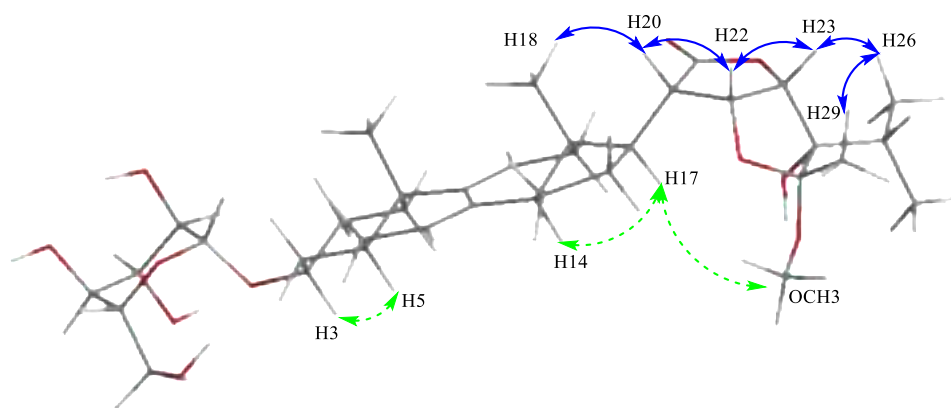
Hình 3. 12. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **LD3**

Hợp chất **LD3** có dạng bột rắn, màu trắng $[\alpha]_D^{25} : +45^\circ$ (c 0,2; CH_3OH). Công thức phân tử của **LD3** được xác định là $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}$ dựa trên phổ HR-ESI-MS m/z : 697,3385 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ tính toán lý thuyết cho công thức: $[\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}\text{Cl}]^-$ ($M = 697,3355$). Tín hiệu phổ 1D-NMR của **LD3** (Bảng 3.3) xuất hiện các tín hiệu của hợp chất thuộc khung $\Delta^{7,9(11)}$ dienestigmanstane glycoside - stigmanstane steroid saponin, các tín hiệu phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ của **LD3** thể hiện sự tương đồng rất cao so với **LD2**. Điểm khác biệt duy nhất là sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-28 (δ_C 107,6 ở **LD3** và δ_C 111,2 ở **LD2**) gợi ý sự khác biệt ở cấu hình tại vị trí C-28. Điều này được minh chứng bởi các tương tác trên phổ ROESY từ H-18/H-20, H-20/H-22, H-23/H-20, H-23/H-26, H-29/H-26 cho phép xác định cấu hình β của các proton này, đồng thời, trên phổ ROESY cũng thể hiện các tương tác giữa nhóm OCH_3 tại vị trí δ_C 107,6 (C-28) và H-17, điều này gợi ý rằng nhóm methoxy (OCH_3) có cấu hình α (Hình 3.13). Từ các phân tích dữ liệu phổ trên cho phép xác định cấu trúc của **LD3** như (Hình 3.12). Đây cũng là một hợp chất mới được đặt tên là vernonioside M.

Bảng 3. 3. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của **LD3** và **LD2**

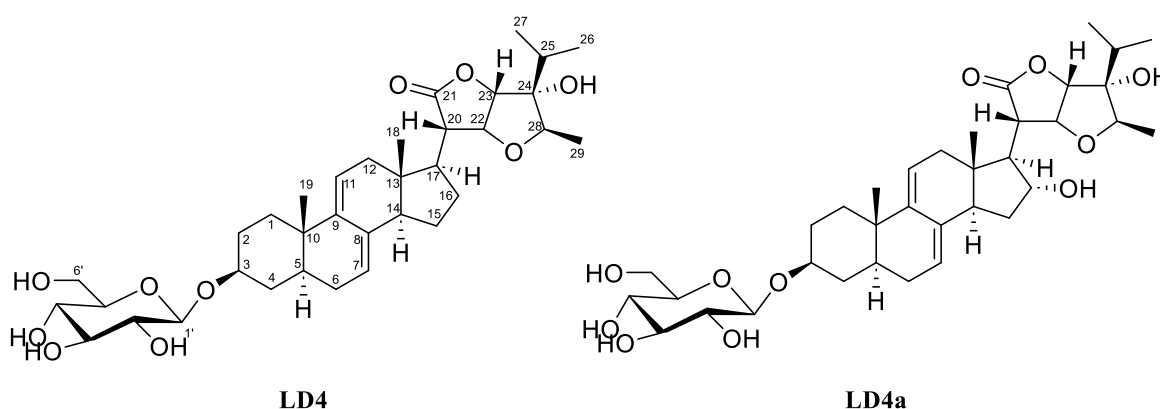
C	#$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	34,8	34,9	1,25 (m)/ 1,85 (dt; 11,0; 2,5)
2	29,9	29,9	1,71 (m)/ 2,13 (d; 8,0)
3	77,1	77,1	3,93 (m)
4	34,3	34,3	1,40 (q; 10,0)/ 2,00* (m)
5	39,0	39,4	1,31 (m)
6	30,1	30,1*	1,80* (m)
7	120,6	120,6	5,37 (br s)
8	136,3	136,3	-
9	143,7	143,8	-
10	35,9	35,9	-
11	119,3	119,4	5,48 (d; 5,0)
12	41,2	41,7	2,23 (m)/ 3,23 (dd; 15,0; 5,5)
13	42,5	42,5	-
14	51,6	51,6	2,28* (m)
15	23,4	23,3	1,47 (dd; 10,0; 5,0)/ 1,81 (m)
16	28,7	28,5	1,70 (m)/ 2,14 (m)
17	46,5	45,9	2,16 (m)
18	12,2	12,1	0,72 (s)
19	19,3	19,3	0,82 (s)
20	45,6	48,4	2,85 (dd; 9,0; 5,5)
21	176,7	176,0	-
22	76,3	79,7	4,73 (t; 5,5)
23	86,1	79,5	4,80 (d; 4,5)
24	84,3	83,5	-
25	32,3	31,3	2,02 (m)
26	17,0	16,7	0,92 (d; 6,0)
27	18,1	17,7	1,17 (d; 5,5)
28	111,9	107,6	-
29	16,7	15,1	1,33 (s)
OCH ₃	48,0	48,0	3,23 (s)
1'	102,1	102,1	4,96 (d; 7,8)
2'	74,9	74,9	3,99 (t; 7,5)
3'	78,2	78,1	4,21 (t; 7,5)
4'	71,4	71,4	4,16 (t; 7,5)
5'	78,1	78,1	3,95* (m)
6'	62,5	62,5	4,30 (dd; 10,0; 5,0)
			4,49 (dd; 10,0; 2,0)

^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} **LD2**, * tín hiệu bị chồng lấp



Hình 3. 13. Các tương tác ROESY chính của **LD3**

3.1.1.4. Hợp chất **LD4**: *Vernonioside O*



Hình 3. 14. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD4** và hợp chất **LD4a**

Hợp chất **LD4** thu được dưới dạng chất bột màu trắng vô định hình. Trên phổ HR-ESI-MS của **LD4** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa tại m/z 667,3308 $[M+Cl]^-$ tính toán cho công thức phân tử $C_{35}H_{52}O_{10}Cl^-$ (tính toán lí thuyết cho công thức phân tử $C_{35}H_{52}O_{10}$: 632,3560). Phổ 1D-NMR (Bảng 3.4) của **LD4** chỉ ra rằng cấu trúc **LD4** cũng thuộc khung stigmastane steroid saponin tương tự như hợp chất (**LD1-LD3**). Trên phổ 1H -NMR của **LD4** thể hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl (CH_3) trong đó bao gồm 2 nhóm (CH_3) singlet [δ_H 0,76 (H-18); 0,80 (H-19)] đặc trưng cho khung stigmastane steroid và 3 nhóm methyl doublet [δ_H 1,07 (d, $J = 7,2$ Hz, H-26); 1,18 (d, $J = 7,2$ Hz, H-27) và 1,28 (d, $J = 6,6$ Hz, H-29)]. So sánh về dữ liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR gợi ý rằng **LD4** có cấu trúc tương tự như hợp chất vernoniacum A đã công bố trước đây (**LD4a**) [43] ngoại trừ việc thay thế nhóm hydroxy tại vị trí C-16 (δ_C 72,1) của hợp chất **LD4a** bằng nhóm methylene (CH_2) tại (δ_C 28,7; C-16) trong hợp chất **LD4** điều này được khẳng định trên phổ COSY và HMBC cũng như sự chuyển dịch (ppm) của C-16 từ trường thấp δ_C 72,1 (ppm) về trường cao δ_C 28,7 (ppm).

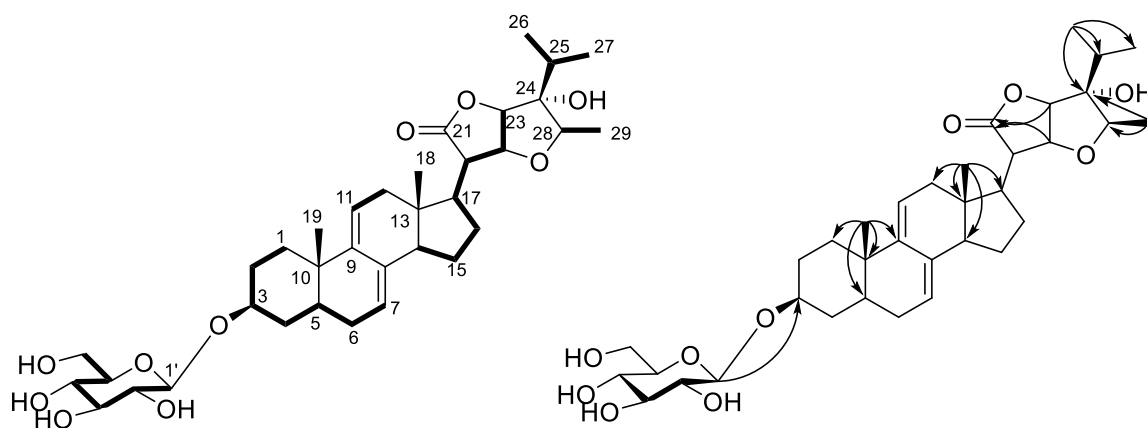
Cấu hình của **LD4** được chứng minh qua tương tác giữa H-H trên phổ ROESY (Hình 3.16). Phổ ROESY của **LD4** chỉ ra các tương tác từ H-3 đến H-5, từ H-14 đến H-17 và từ H-18 đến H-19/H-20 cho phép xác định sự ngưng tụ của các vòng A/B và C/D

theo dạng *trans*; cấu hình α của H-3, H-5, H-14, và H-17; và cấu hình β của H-18, H-19 và H-20. Bên cạnh đó, tương tác trên phổ ROESY từ H-18 đến H-20, từ H-22, H-23/H-20, và từ H-26 đến H-22/H-23/H-29 chỉ ra rằng các proton này có cấu hình β . Do đó, cho phép xác định cấu trúc của **LD4** như trong (Hình 3.14). Kết quả tìm kiếm cấu trúc của trên Scifinder cho thấy **LD4** là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside O.

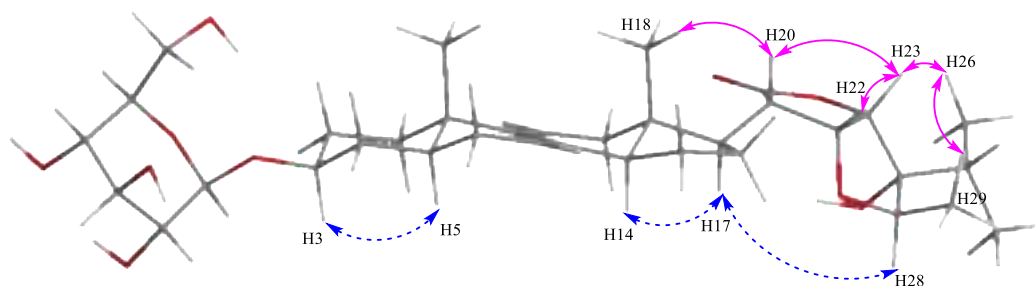
Bảng 3. 4. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD4**

C	$\# \delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,0	34,8	1,80 (m)/ 1,23 (m)
2	30,3	29,9	1,67 (m)/ 1,22 (m)
3	77,1	78,1	3,93 (m)
4	34,5	34,3	1,39 (q; 12,0)/ 1,99 (m)
5	39,3	39,0	1,22 (m)
6	30,2	30,1	1,23 (m)/ 1,78 (m)
7	120,4	120,6	5,29* (s)
8	136,4	135,8	-
9	144,1	143,8	-
10	36,2	35,9	-
11	119,8	119,3	5,43 (d; 5,5)
12	42,3	41,4	3,09 (dd; 14,5; 5,5)/ 2,13 (m)
13	42,6	42,5	-
14	50,4	51,6	2,22 (m)
15	37,1	23,3	1,44 (m)/ 1,74* (m)
16	72,1	28,7	1,57 (d; 20,0; 7,5)/ 2,37 (m)
17	45,2	46,8	2,23* (m)
18	13,6	12,2	0,76 (s)
19	19,6	19,9	0,80 (s)
20	52,8	46,6	2,87 (dd; 9,0; 6,0)
21	178,2	177,1	-
22	81,1	79,1	4,80 (t; 4,0)
23	86,8	82,9	4,93 (d; 4,0)
24	85,1	82,0	-
25	28,7	30,7	2,05 (m)
26	17,0	17,1	1,07 (d; 7,2)
27	18,0	17,8	1,18 (d; 7,2)
28	85,0	81,0	4,27* (m)
29	15,9	14,0	1,28 (d; 6,6)
1'	102,3	102,0	4,96 (d; 6,5)
2'	75,7	74,9	3,99 (t; 7,5)
3'	78,9	78,1	4,25 (t; 7,5)
4'	72,1	71,4	4,16 (t, 7,5)
5'	78,5	77,1	3,90* (m)
6'	63,3	62,5	4,50 (br d; 12,5)
			4,49 (dd; 12,5; 5,5)

^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] δ_{C} **LD4a**, * tín hiệu bị chồng lấp

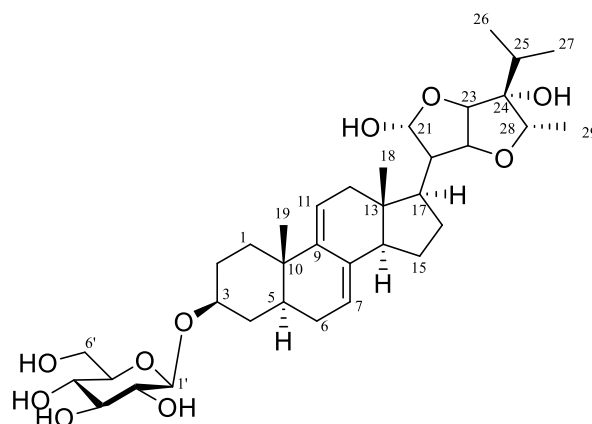


Hình 3.15. Các tương tác COSY và HMBC chính của LD4



Hình 3.16. Các tương tác ROESY chính của LD4

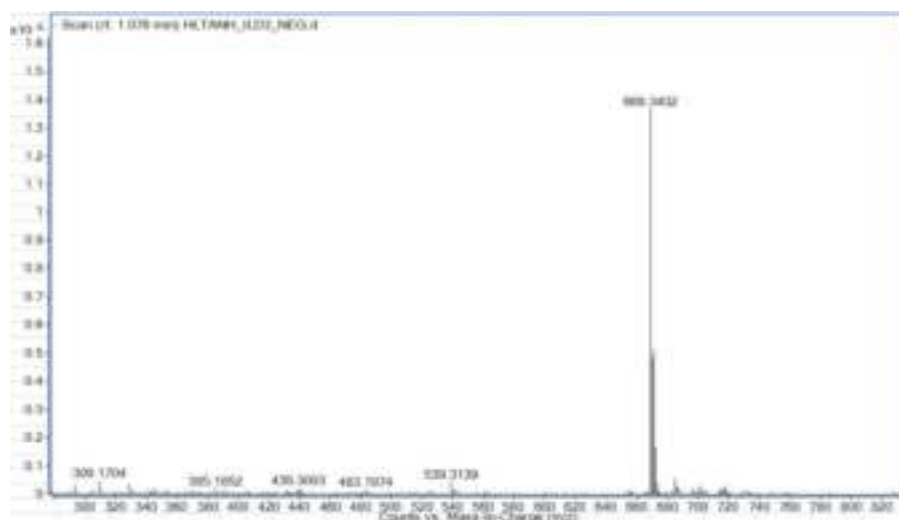
3.1.1.5. Hợp chất LD5; Vernonioside L



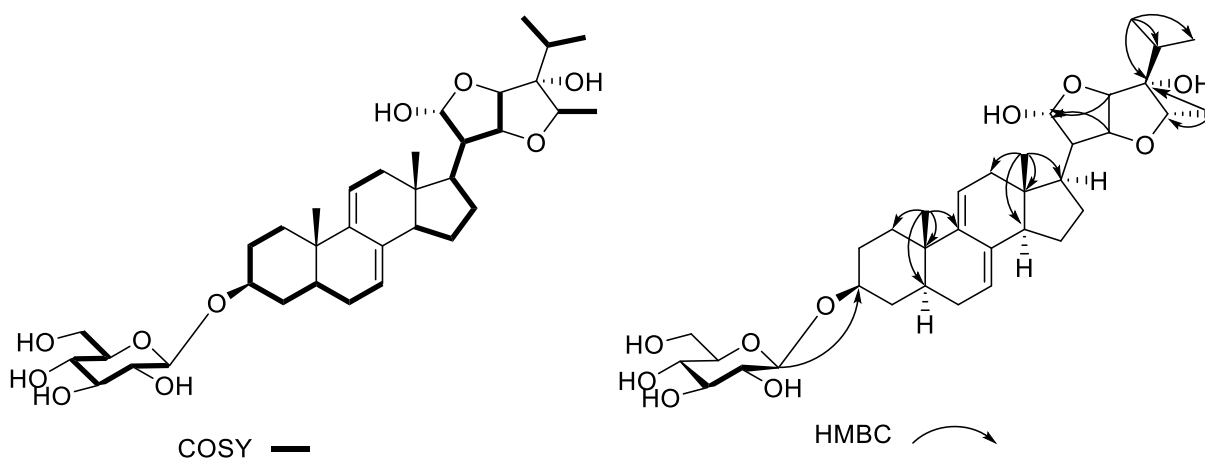
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất LD5

Hợp chất **LD5** được phân lập dưới dạng bột vô định hình, không màu. Công thức phân tử ($C_{35}H_{54}O_{10}$) được xác định bằng phổ HR-ESI-MS với pic ion phân tử chloro hóa ở m/z 669,3402 [$M + Cl$] $^-$ (tính toán lý thuyết cho $C_{35}H_{54}ClO_{10}^-$, 669,3406) (Hình 3.18). Từ số liệu phổ-NMR của **LD5** (Bảng 3.5) cho thấy cấu trúc phẳng của hợp chất **LD5** thuộc lớp chất đặc trưng của khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmasteroid và có độ tương đồng rất cao so với **LD2**. Điểm khác biệt chính là sự vắng mặt của tín hiệu OCH_3 tại vị trí C-28 trong cấu trúc của **LD5**, điều này thể hiện ở sự chuyển dịch hóa học của C-28 (δ_C 84,7) trong **LD5** thay vì δ_C 107,6 (C-28) ở **LD2**. Bên cạnh đó, trên phổ ^{13}C NMR của **LD5** cho thấy sự vắng mặt của nhóm carbonyl tại vị trí C-21 đồng thời hiện diện tín hiệu của một carbon

oxymethine tại (δ_C 99,1-C21), chứng tỏ rằng nhóm carbonyl trong cấu trúc của **LD2** đã được thay thế bằng nhóm hydroxy trong cấu trúc của **LD5**. Điều này cũng được chứng minh dựa trên tương tác trong phổ HMBC giữa δ_H 5,88 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, H-21) với δ_C (45,1; C-17), (87,6; C-22) và (82,7; C-23). Ngoài ra, cấu trúc của **LD5** cũng được khẳng định lại bằng việc so sánh dữ liệu phổ hợp chất đã biết vernonioside B₂ [56] (Bảng 3.5).



Hình 3. 18. Phổ HR-ESI-MS của **LD5**



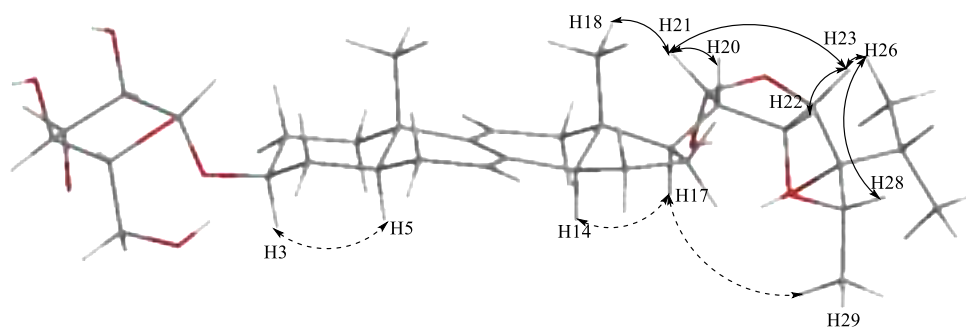
Hình 3. 19. Các tương tác COSY và HMBC chính của **LD5**

Hóa lập thể của **LD5** xác định dựa thông qua phổ ROESY. Trên phổ ROESY cho thấy tương tác từ H-3 đến H-5, từ H-14 đến H-17 và từ H-18 đến H-19/H-20 cho phép xác định liên kết của các vòng A/B và C/D theo dạng *trans*; cấu hình α của H-3, H-5, H-14, và H-17; và cấu hình β của H-18, H-19 và H-20. Tương tác ROESY từ H-20 đến H-18/H-21, từ H-21 đến H-18/H-26, và từ H-26 đến H-22/H-23/H-28 chỉ ra rằng các proton có cấu hình β . Bên cạnh đó, tương tác ROESY giữa H-17 và H-14/H-29 cho thấy nhóm methyl H-29 có cấu hình α . Do đó, cho phép xác định cấu trúc của **LD5** như trong (Hình 3.17). Kết quả tìm kiếm trên Scifinder cho thấy **LD5** là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside L.

Bảng 3. 5. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD5**

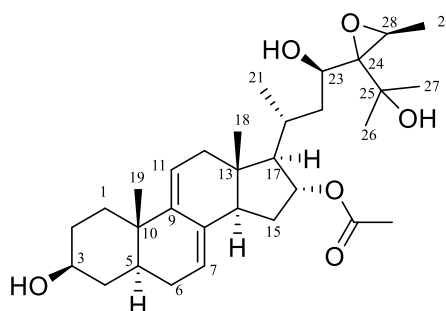
C	#δ_{C}	LD2	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	34,9	34,8	35,1	1,24*(m)/ 1,85 (m)
2	30,1	29,9	30,2	1,84* (m)/ 2,15 (m)
3	77,0	77,1	77,3	3,98* (m)
4	34,5	34,3	34,5	1,43 (m)/ 2,08* (m)
5	39,1	39,0	39,2	1,32* (m)
6	30,2	30,1	30,1	2,16* (m)
7	121,3	120,6	120,9	5,41 (s)
8	135,8	136,3	136,6	
9	144,1	143,7	144,1	
10	36,2	35,9	36,2	
11	118,6	119,3	119,2	5,52 (s)
12	41,7	41,2	41,7	2,28 (dd; 17,4; 6,7)
13	43,6	42,5	42,3	
14	49,1	51,6	51,5	2,36 (m)
15	35,2	23,4	23,8	1,52 (m)
16	76,3	28,7	27,7	1,61 (m)/ 2,41* (m)
17	56,0	46,5	45,1	2,55* (m)
18	14,5	12,2	12,9	0,65 (s)
19	19,5	19,3	19,5	0,88 (s)
20	48,5	45,6	50,9	2,07* (m)
21	99,1	176,7	99,1	5,88 (d, 4,2)
22	81,0	76,3	87,6	4,61* (m)
23	90,0	86,1	82,7	4,61* (m)
24	82,0	84,3	82,1	4,61* (m)
25	32,4	32,3	31,7	1,90 (dd; 13,4; 6,6)
26	17,4	17,0	17,6	1,13 (d; 6,7)
27	18,5	18,1	17,8	1,23 (d; 6,7)
28	113,3	111,2	84,7	4,57* (m)
29	17,4	16,7	14,7	1,25 (d; 6,8)
1'	102,3	102,0	102,2	5,02 (d; 7,7)
2'	75,3	74,9	75,1	4,04 (t; 8,1)
3'	78,6	78,2	78,3	3,95 (m)
4'	71,8	71,4	71,6	4,26 (m)
5'	78,4	78,1	78,3	4,30* (m)
6'	62,9	62,5	62,7	4,31* (m)
				4,39* (m)
OCH ₃	48,5			

^a *pyridine-d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} vernonioside B₂, * Tín hiệu chồng lấp



Hình 3. 20. Các tương tác ROESY chính của **LD4**

3.1.1.6. Hợp chất **LD6**; *Vernonioside P*



Hình 3. 21. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD6**

Hợp chất **LD6** thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **LD6** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa 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** (Bảng 3.6) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung stigmastane steroid và có cấu trúc tương tự các (**LD1-LD5**) ngoại trừ cấu trúc của phần mạch nhánh. Đối với mạch nhánh, phổ 1H -NMR thể 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 (CH_3) đính với carbon bậc 4 tại δ_C 72,0 (C-25) lần lượt là [δ_H 1,35 (3H, s, H-26) và 1,37 (3H, s, H-27)], hai nhóm oxymethine [δ_H 4,09 (1H, dd, 7,0; 4,0 Hz, H-23) và δ_H 3,02 (1H, dd, $J = 9,5$; 5,0 Hz, H-28)], một nhóm methine và một nhóm methylene ở vùng trường cao tại [δ_H 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 3.22) 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.

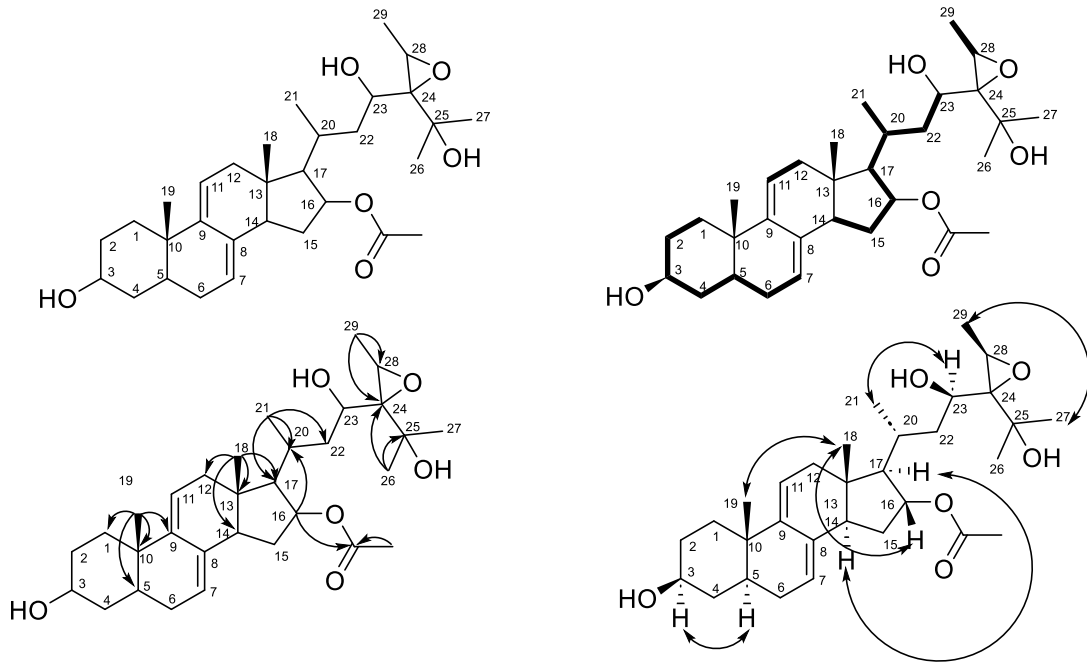
Cấu hình tương đối của **LD6** được thiết lập dựa trên phổ ROESY. Trên phổ ROESY thể hiện các tương tác của H-16/ H-18, H-18/ H-19, H-18/ H-20 cho phép xác định cấu hình β của các proton này. Mặt khác, trên phổ ROESY cũng xuất hiện tương tác của các proton H-3 /H-5, H-14/ H-17, H-17/ H-21, H-21/ H-23, H-23/ H-28 chỉ ra cấu hình α của các proton này (Hình 3.22). Do đó, cấu hình của **LD6** được xác định như

trong (Hình 3.21). Qua tra cứu tài liệu cho thấy đây là một hợp chất mới và đặt tên là vernonioside P (Hình 3.21).

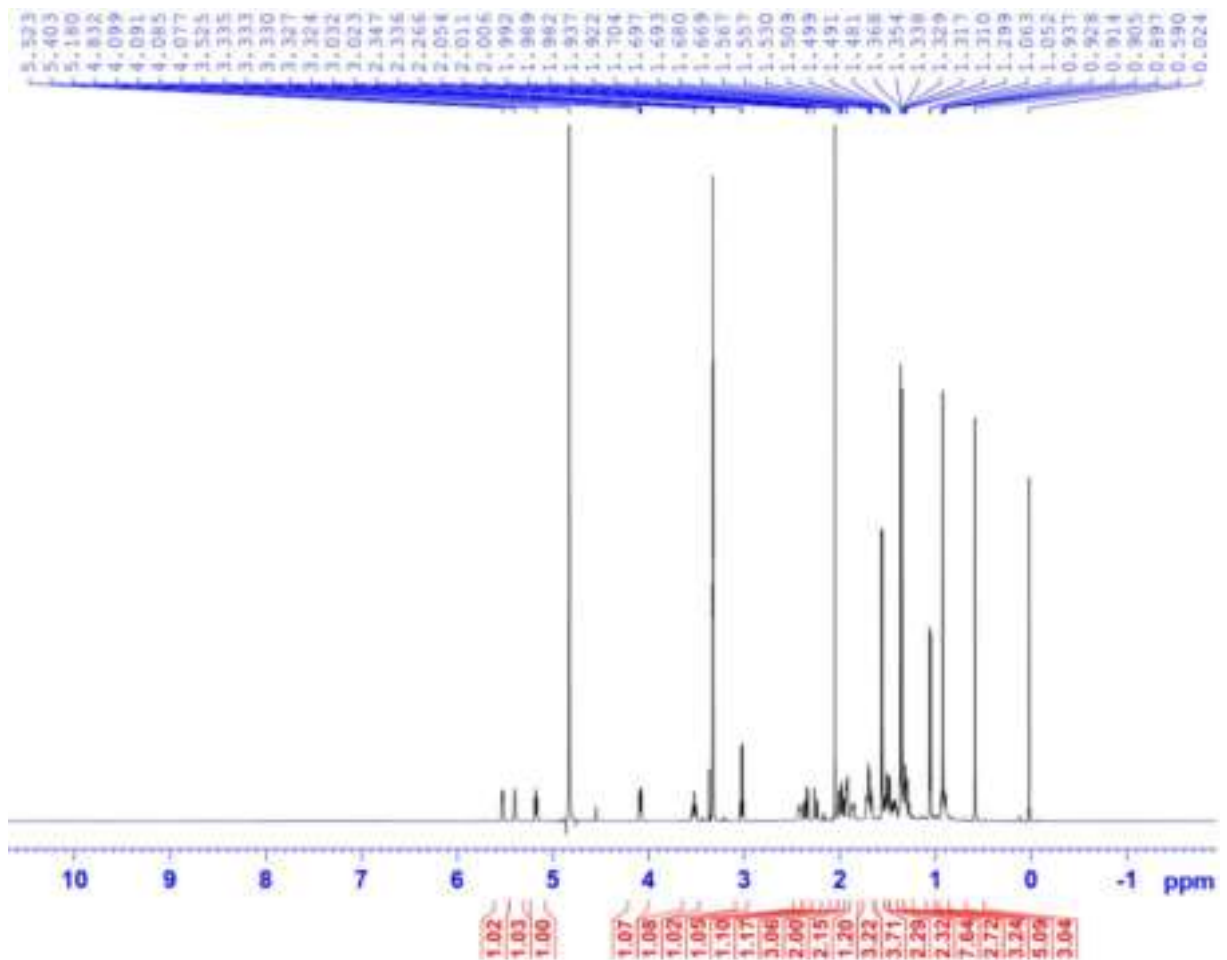
Bảng 3. 6. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD6**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,9	35,9	1,33 (m)/ 2,00 (m)
2	30,6	30,9	1,28 (m)/ 1,71 (m)
3	78,9	71,4	3,35 (m)
4	34,7	34,7	1,44 (m)
5	39,9	40,6	1,41 (m)
6	30,6	31,0	1,30 (m)/ 1,92 (m)
7	122,1	122,1	5,40 (br s)
8	136,9	136,3	-
9	145,2	145,3	-
10	37,1	37,0	-
11	119,2	119,2	5,53 (d, 5,5)
12	40,5	43,7	2,24 (d, 16,8)
13	43,6	43,8	-
14	50,1	50,1	2,42 (m)
15	34,7	38,4	1,67 (d; 5,5)/ 1,95 (m)
16	70,0	80,9	5,18 (t; 5,5)
17	57,0	64,0	1,49 (dd; 9,0; 5,0)
18	14,2	13,0	0,59 (s)
19	19,9	19,9	0,93 (s)
20	33,0	33,0	1,72 (m)
21	13,0	20,2	1,05 (d; 5,5)
22	47,8	39,9	0,94 (m)
23	80,9	71,4	4,09 (dd; 7,0; 4,0)
24	71,0	70,4	4,06 (dd; 6,5; 4,0)
25	70,0	72,0	-
26	28,4	28,4	1,35 (s)
27	26,9	26,9	1,37 (s)
28	63,9	57,0	3,02 (d; 9,5; 5,0)
29	14,3	14,3	1,56 (d; 5,0)
OCOCH ₃	21,5	21,5	2,05 (s)
OC ₂ CH ₃	172,8	172,8	
1'	102,4		
2'	75,1		
3'	77,9		
4'	71,7		
5'	78,1		
6'	62,8		

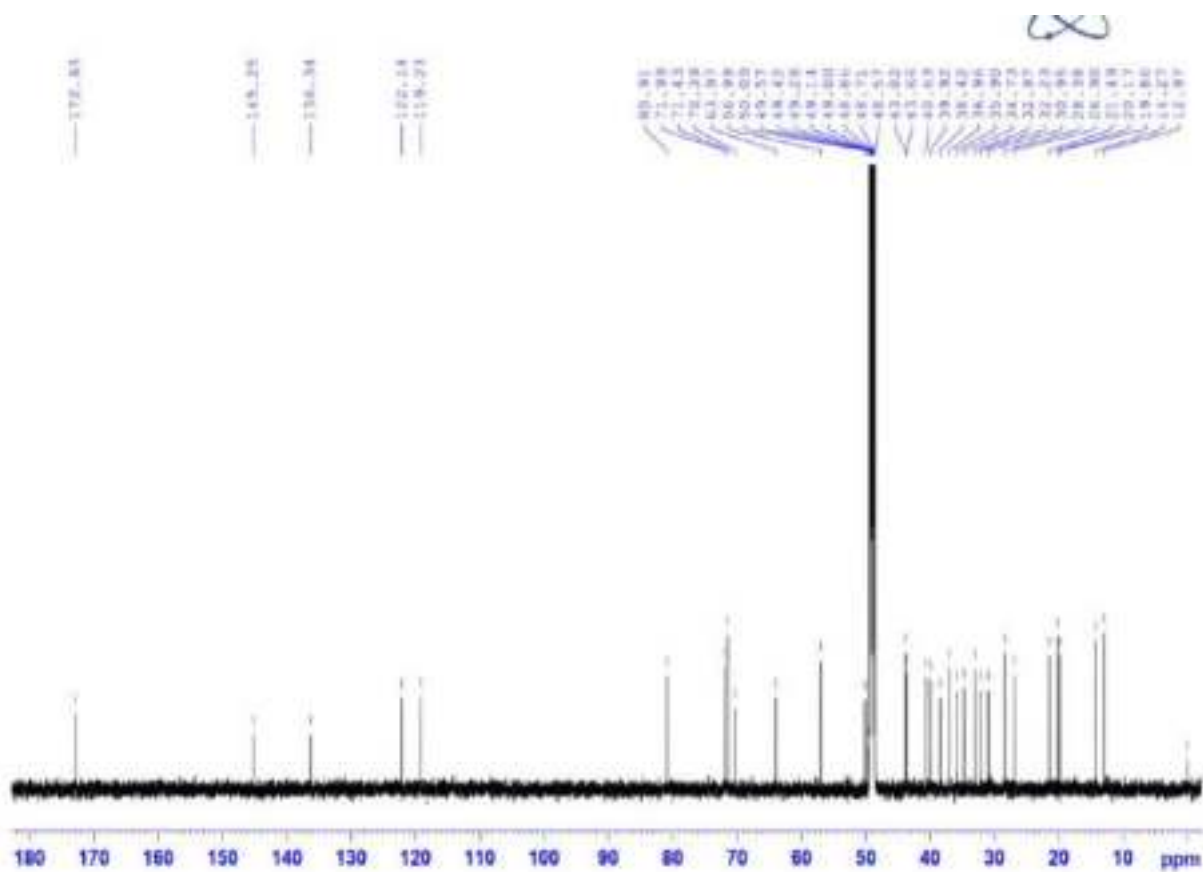
^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} của hợp chất **LD7**



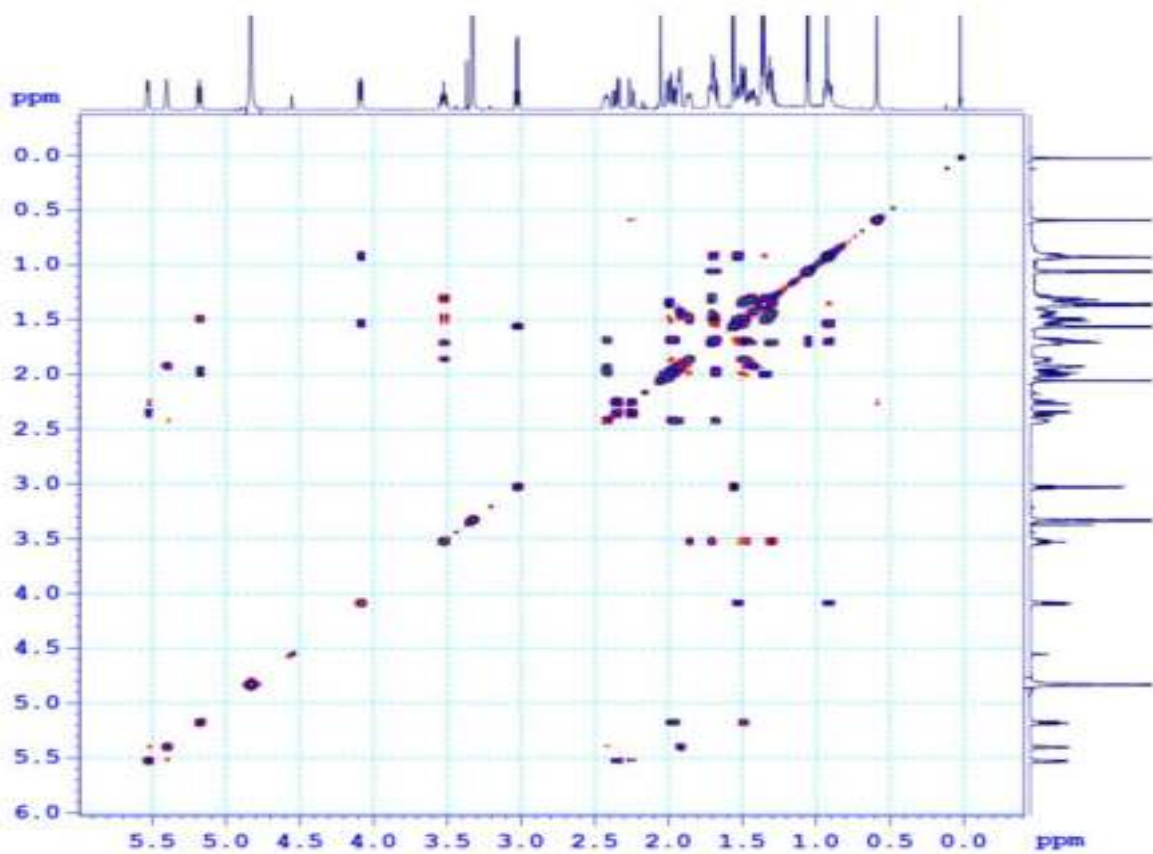
Hình 3. 22. Các tương tác COSY, HMBC, và NOESY chính của LD6



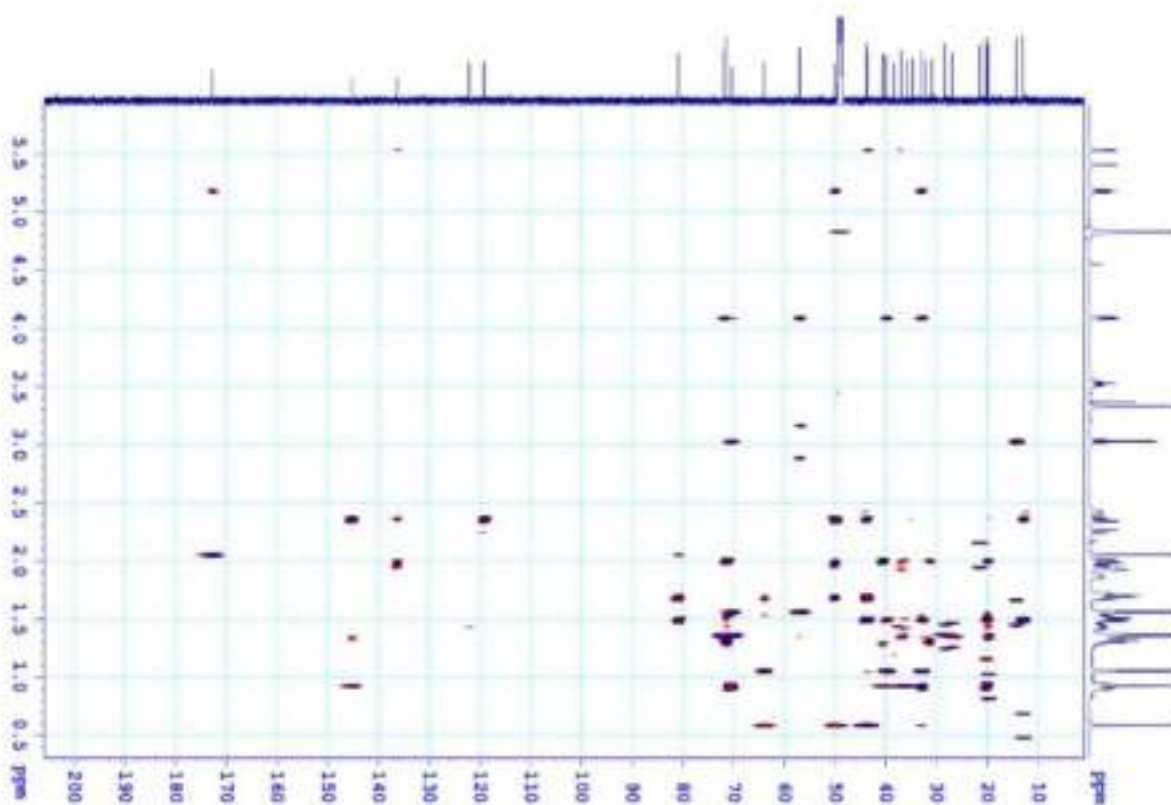
Hình 3. 23. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của LD6



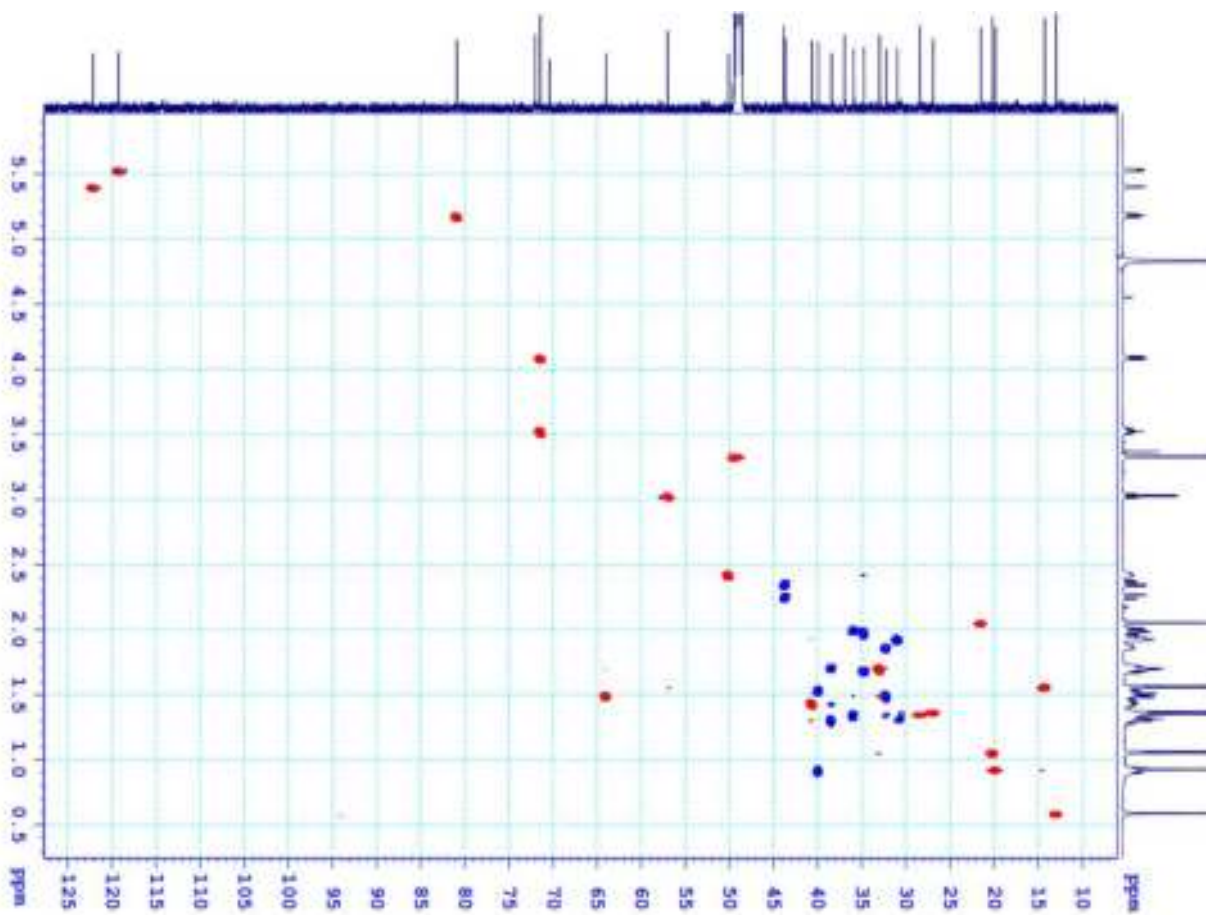
Hình 3. 24. Phổ ^{13}C -NMR của LD6



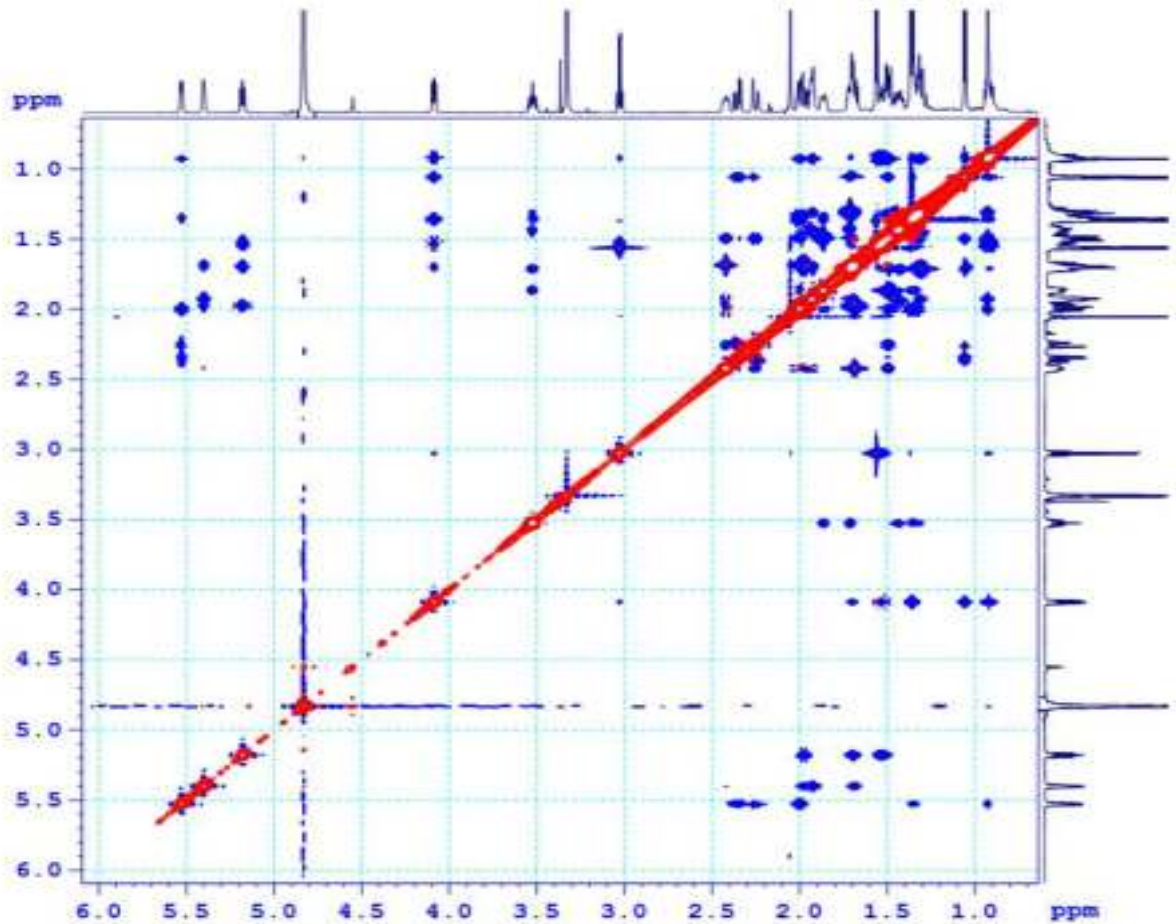
Hình 3. 25. Phổ ^1H - ^1H COSY của LD6



Hình 3. 26. Phổ HMBC của LD6



Hình 3. 27. Phổ HSQC của LD6



Hình 3. 28. Phổ ROESY của LD6

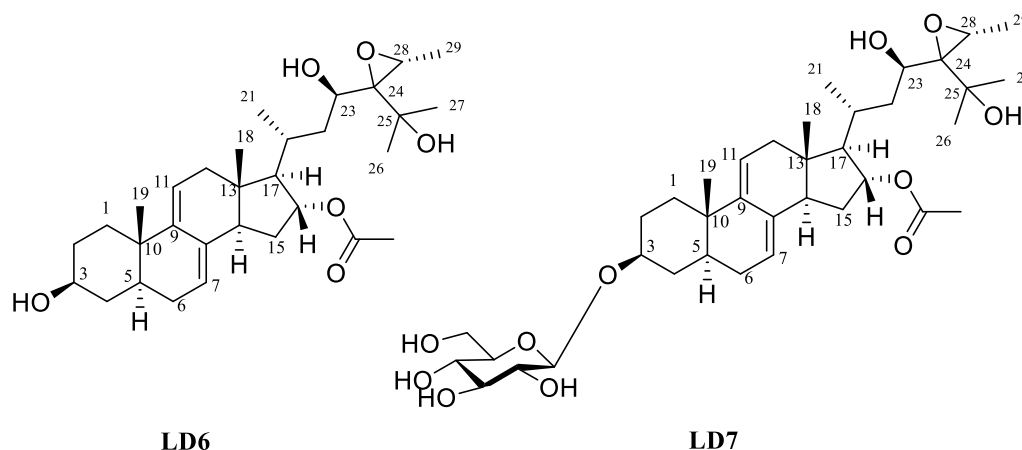
3.1.1.7. Hợp chất LD7; Vernonioside Q

Hợp chất **LD7** thu được có dạng rắn màu trắng. Trên phổ HR-ESI-MS của **LD7** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa tại m/z : 713,3690 $[M+Cl]^-$ (cho công thức phân tử dự kiến $C_{37}H_{58}O_{11}Cl$: 713,3668). Từ đó ta xác định được công thức phân tử của **LD7** là $C_{37}H_{58}O_{11}$. Đối chiếu dữ liệu phổ của **LD7** với **LD6** nhận thấy có sự tương đồng hoàn toàn về phần aglycon (Bảng 3.7). Điểm khác biệt duy nhất là trong cấu trúc của **LD7** có thêm các dấu hiệu đặc trưng của một phân tử đường glucopyranoside [δ_H 4,39 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), δ_C 102,4 (C-1'); 75,2 (C-2'); 77,9 (C-3'); 71,4 (C-4'); 78,1 (C-5'); 62,8 (C-6')]. Cấu hình β -D-glucopyranoside được chứng minh bằng hằng số ghép cặp lớn của proton anomeric ($J = 7,8$ Hz) kết hợp so sánh giá trị góc quay cực của đơn vị đường này ($[\alpha]_D^{25} +20,5$ (c 0,2; H_2O) với đường chuẩn ($[\alpha]_D^{25} +50,4$ (c 0,2; H_2O) sau phản ứng thủy phân. Trên phổ HMBC cho thấy sự tương tác giữa H-1' của phân tử đường với C-3, điều đó chứng tỏ rằng vị trí của phân tử đường glucopyranoside tại C-3 của aglycone. Do đó, cấu trúc của **LD7** được làm sáng tỏ như trong (Hình 3.29) tra cứu hợp chất **LD7** trên hệ thống Scifinder thì chưa thấy có công bố nào về hợp chất này do đó **LD7** được xác định là hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside Q (Hình 3.29).

Bảng 3. 7. So sánh dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD7** và **LD6**

C	# $\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,9	35,9	1,98* (m)/1,32* (m)
2	31,0	30,6	1,96* (m)/ 1,30* (m)
3	71,4	78,9	3,71 (m)
4	34,7	34,7	1,96* (m)/ 1,30* (m)
5	39,9	40,5	1,40 (m)
6	32,2	31,0	1,96* (m)/ 1,30* (m)
7	122,1	122,1	5,38 (br s)
8	136,3	136,3	-
9	145,3	145,3	-
10	37,0	37,1	-
11	119,2	119,2	5,50 (d; 5,5)
12	43,7	43,7	2,24 (d; 16,8)
13	43,8	43,8	-
14	50,1	50,1	2,39* (m)
15	38,4	39,9	0,89* (m)/ 1,51 (m)
16	80,9	80,9	4,06 (dd; 7,0; 4,0)
17	64,0	64,0	1,47 (dd; 9,0; 5,0)
18	13,0	13,0	0,50 (s)
19	19,9	19,9	0,90 (s)
20	33,0	33,0	1,67 (d; 6,0)
21	20,2	20,2	1,53 (d; 5,0)
22	39,9	39,9	0,91 (m)
23	71,4	71,4	5,16 (t; 6,0)
24	70,4	70,4	-
25	72,0	72,0	-
26	28,4	28,4	1,34 (s)
27	26,9	26,9	1,36 (s)
28	57,0	57,0	3,00 (q; 9,5; 5,0)
29	14,3	14,3	1,03 (d; 5,5)
OCOCH ₃	21,5	21,5	2,03 (s)
OCOCH ₃	172,8	172,9	-
1'		102,4	4,39 (d; 7,8)
2'		75,2	3,13 (dd; 8,0; 1,5)
3'		77,9	3,26* (m)
4'		71,7	3,27 * (m)
5'		78,1	3,34 * (m)
6'		62,8	3,64 (dd; $J = 10,0$; 4,5)
			3,85 (dd; $J = 10,0$; 1,5)

^a đo trong *pyridine-d*₅, ^b 150MHz, ^c 600 MHz # δ_{C} **LD6**, ^{*} Tín hiệu bị chồng lấp

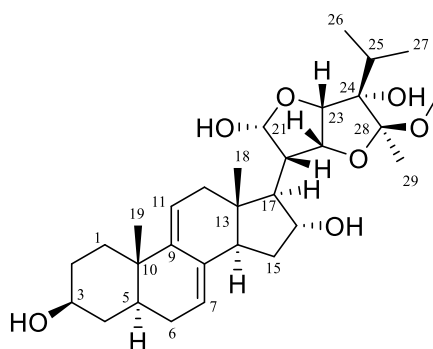


Hình 3. 29. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD7** và hợp chất **LD6**

3.1.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất đã biết từ loài *V. gratiota*

Bằng việc phân tích số liệu phổ NMR kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ NMR của các công bố trước đây, tác giả đã xác định được 10 hợp chất đã biết cụ thể là (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradecydro-3 β -16 α ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α -stigmastane (**LD8**), vernoamyoside E (**LD9**), vernonioside B₂ (**LD10**), veroniacum B (**LD11**), (23*S*,24*R*,28*S*)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetradecydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone (**LD12**), vernonioside B₁ (**LD13**), veramyoside H (**LD14**), veramyoside J (**LD15**), vernoamyoside A (**LD16**); spinasterol (**LD17**).

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



Hình 3. 30. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD8**

Hợp chất **LD8** là chất rắn màu trắng. Trên phổ HR-ESI-MS của **LD8** có sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại; m/z 541,3 $[M+Na]^+$ kết hợp với phổ ^{13}C -NMR cho phép khẳng định công thức phân tử của **LD8** là $C_{30}H_{46}O_7$. Phổ 1H NMR (Bảng 3.8) của **LD8** cho thấy tín hiệu của hai olefinic proton [δ_H 5,45 (1H, d, $J = 5,0$ Hz, H-7) và 5,56 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-11)], ba nhóm (CH_3) singlet [δ_H 0,61 (3H, s, H-18); 0,93 (3H, s, H-19); 1,45 (3H, s, H-29)], một nhóm isopropyl [δ_H 2,06 (1H, m, H-25); 0,95 (6H, d, $J = 6,5$ Hz, H-26, H-27)], và một nhóm (OCH_3) [δ_H 3,22 (3H, s, 28- OCH_3)]. Phân tích phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ HSQC ta có thể xác định được **LD8** có cấu trúc dạng khung $\Delta^{7,9(11)}$

dienstigmanstane. Trên phổ ^{13}C cũng cho thấy sự có mặt tín hiệu của 30 carbon bao gồm một nhóm isopropyl [δ_{C} 33,1 (C-25); 17,4 (C-26); 18,1 (C-27)], ba hydroxy carbon [δ_{C} 81,6 (C-22); 91,9 (C-23); 83,1 (C-24)], một nhóm hemiacetal carbon δ_{C} 100,0 (C-21) và một nhóm acetal tại 114,1 (C-28), một nhóm methoxy [δ_{C} 48,5 (28-OCH₃)]. Kết hợp với công bố trước đây hợp chất **LD8** được xác định là (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 (Hình 3.30) [54].

Bảng 3. 8. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD8**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,3*	1,81 (m)/ 1,93(m)
2	32,2	1,50 (m)/ 1,87 (m)
3	71,4	3,54 (m)
4	38,4	1,31(m)/1,72 (br d; 12,0)
5	40,6	1,45 (m)
6	31,0	1,92 (m)
7	122,1	5,45 (d; 5,0)
8	136,7	-
9	145,1	-
10	37,0	-
11	119,4	5,56 (d; 6,5)
12	42,5	2,04 (m)/ 2,28 (dd; 10,0; 4,0)
13	44,2	-
14	49,7	2,58 (m)
15	36,0	1,37 (dd; 13,5; 3,0)
16	77,3	4,34 (t; 7,0)
17	56,3	2,07 (dd; 6,5; 2,5)
18	14,5	0,61 (s)
19	19,8	0,93 (s)
20	48,7	2,23 (t; 5,0)
21	100,0	5,46* (m)
22	81,6	4,57 (t; 5,5)
23	91,9	4,58 (br s)
24	83,1	-
25	33,1	2,06 (m)
26	17,4	0,95 (d; 6,5)
27	18,1	0,95 (d; 6,5)
28	114,1	-
29	17,4	1,45 (s)
OCH ₃	48,5	3,22 (s)

^a CD₃OD, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz *tín hiệu bị chồng lấp

3.1.2.2. Hợp chất **LD9**; *Vernoamyoside E*

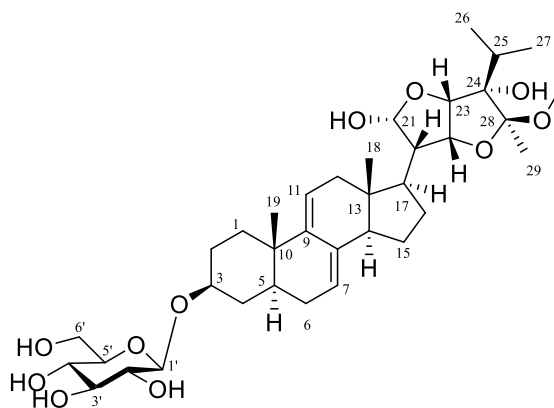
Hợp chất **LD9** thu được dưới dạng bột rắn màu trắng. Phổ ^1H -NMR (Bảng 3.9) của **LD9** có mặt của 3 tín hiệu của proton *tert*-methyl [δ_{H} 0,57 (3H, s, H-18); 0,81 (3H, s, H-19) và 1,61 (3H, s, H-29)] đồng thời cũng xuất hiện 2 nhóm methyl doublet [δ_{H} 1,12 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H - 26); 1,22 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H- 27)] và một nhóm methoxy [δ_{H}

3,30 (3H, s, OCH₃)]. Ngoài ra phổ ¹H-NMR của hợp chất **LD9** cũng cho thấy sự hiện diện của 2 proton olefin [δ_{H} 5,36 (1H, br s, H-7) và 5,41 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11)], một proton multiflet [δ_{H} 3,94 (m)] đặc trưng cho vị trí H-3, và một proton anomeric [δ_{H} 4,95 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-1')].

Bảng 3. 9. Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR của **LD9**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,8	34,9	1,16/ 1,76 (dd; 7,5; 3,0)
2	30,8	29,9	1,78 (m)
3	78,9	78,1	3,94 (m)
4	34,8	34,3	1,38 (q; 12,6)/1,99* (m)
5	40,1	38,9	1,23 (m)
6	30,3	30,0*	1,14 (m)/ 1,80 (m)
7	121,4	120,8	5,36 (br s)
8	137,2	136,3	-
9	144,8	143,9	-
10	36,8	35,9	-
11	119,5	118,8	5,41 (d; 5,5)
12	41,9	41,3	2,22 (dd; 14,5; 5,5)
13	42,7	42,1	-
14	51,9	51,3	2,22 (d; 15,0)
15	24,2	23,6	1,50 (dd; 10,0; 5,0)/ 1,83 (m)
16	28,0	27,4	1,54 (m)/ 2,29 (m)
17	45,4	44,9	2,48 (q; 10,8)
18	12,9	12,6	0,57 (s)
19	19,8	19,3	0,81 (s)
20	50,2	49,6	2,02 (dd; 10,0; 5,0)
21	100,0	98,9	5,84 (d; 4,0)
22	81,0	80,5	4,35 (d; 5,0)
23	91,3	90,8	4,70 (d; 5,0)
24	83,2	82,1	-
25	32,7	32,2	2,28 (m)
26	17,4	17,5	1,12 (d; 5,5)
27	18,1	18,4	1,22 (d; 5,5)
28	112,9	112,3	-
29	17,4	17,4	1,61 (s)
OCH ₃	43,8	48,0	3,30 (s)
1'	102,6	102,0	4,95 (d; 7,8)
2'	74,8	74,9	3,99 (t; 7,5)
3'	77,4	78,1	4,24 (t; 7,5)
4'	71,4	71,5	4,15 (t; 7,5)
5'	77,7	77,1	3,93* (m)
6'	62,6	62,5	4,29 (dd; 10; 5,0)
			4,49 (dd; 10,0; 2,0)

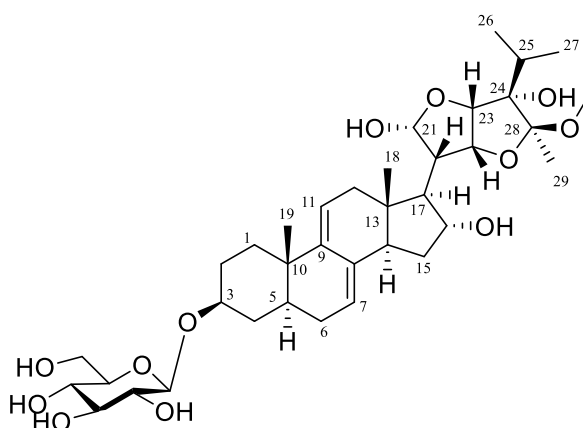
^a pyridine-d₅, ^b150 MHz, ^c600 MHz # δ_{C} vernoamyoside E *Tín hiệu bị chồng chập



Hình 3. 31. Cấu trúc hóa học của hợp chất LD9

Phân tích kết hợp đồng thời phổ ^{13}C -NMR (Bảng 3.9) với phổ HSQC của hợp chất **LD9** cho thấy sự có mặt của 36 tín hiệu carbon bao gồm 29 carbon phần khung steroid khung chất đặc trưng của loài *V. amygdalina* cùng với sáu carbon của một phân tử đường glucose và một nhóm methoxy (Hình 3.31). Cụ thể là, phổ ^{13}C NMR cho thấy tín hiệu của hai nối đôi [δ_{C} 120,4 (C-7); 136,3 (C-8); 143,9 (C-9); 118,8 (C-11)], ba nhóm hydroxycarbon [δ_{C} 80,5 (C-22); 90,8 (C-23); 83,2 (C-24)], một nhóm hemiacetal carbon δ_{C} 98,9 (C-21), một nhóm acetal tại 112,3 (C-28), một nhóm isoproyl [δ_{C} 32,2 (C-25); 17,5 (C-26); 18,4 (C-27)], một nhóm methoxy tại [48,0 (28-OCH₃)], và một nhóm methyl [δ_{C} 17,4 (C-29)]. Bên cạnh đó, tín hiệu của sáu carbon của phân tử đường glucose cũng xuất hiện trên phổ ^{13}C -NMR [δ_{C} 102,0 (C-1'); 74,9 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,5 (C-4'); 77,7 (C-5'); 62,5 (C-6')]. Cấu trúc của **LD9** cũng được khẳng định bởi các tương tác trên phổ COSY, HMBC. So sánh với tài liệu tham khảo cho phép ta xác định được **LD9** là vernoamyoside E [57].

3.1.2.3. Hợp chất LD10; Vernonioside B₂



Hình 3. 32. Cấu trúc hóa học của của hợp chất LD10

Hợp chất **LD10** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phân tích tín hiệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR (Bảng 3.10) của **LD10** nhận thấy các tín hiệu đặc trưng của một stigmastane steroid saponin, với hai olefinic proton [δ_{H} 5,46 (1H, d, $J = 5,0$ Hz, H-7); 5,56 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11), năm tín hiệu methyl [δ_{H} 0,60 (3H, s, H-18); 0,94

(3H, s, H-19); 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 0,98 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27); 0,95 (3H, s, H-29)], một anomeric proton [δ_{H} 4,43; (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1')], và một nhóm methoxy [δ_{H} 3,24 (3H, s, OCH₃)]. Phổ ¹³C-NMR cũng cho thấy tín hiệu của 36 carbon (Bảng 3.10). So sánh số liệu phổ NMR của **LD10** cho thấy khá giống với **LD9** ngoại trừ trong hợp chất **LD10** có sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-16 từ (δ_{C} 27,4) ở **LD9** về trường thấp hơn (δ_{C} 77,3) trong hợp chất **LD10**. Điều này chỉ ra rằng, có sự xuất hiện của nhóm hydroxy tại vị trí C-16 trong cấu trúc của **LD10**. So sánh dữ liệu phổ của **LD10** và vernonioside B₂ nhận thấy sự trùng khớp hoàn toàn, do đó, **LD10** được xác định là vernonioside B₂ (Hình 3.32) [54].

Bảng 3. 10. Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR của **LD10**

C	# $\delta_{\text{C}}^{\text{d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	34,9	35,0	1,34 (m)/ 1,91 (m)
2	30,1	30,6	1,62 (m)/ 2,00 (m)
3	77,0	78,9	3,73 (m)
4	34,5	35,3	1,82 (m)/ 1,96 (m)
5	39,1	40,5	1,43 (m)
6	30,2	31,0	1,30 (m)/ 1,95 (m)
7	121,3	122,1	5,46 (d; 5,0)
8	135,8	136,7	-
9	144,1	145,1	-
10	36,2	37,1	-
11	118,6	119,4	5,56 (d; 6,0)
12	41,7	42,5	2,05 (m)/ 2,28 (m)
13	43,6	44,3	-
14	49,1	49,5	2,57 (m)
15	35,2	36,0	1,37 (m)
16	76,2	77,3	4,43 (t; 7,0)
17	56,0	56,3	2,08 (m)
18	14,5	14,6	0,60 (s)
19	19,5	19,8	0,94 (s)
20	48,5	49,0	2,23 (m)
21	99,1	100,0	5,46 (d; 5,0)
22	81,0	81,6	4,56 (dd; 6,5; 6,0)
23	90,1	91,8	4,58 (d; 6,5)
24	82,0	83,1	-
25	32,4	33,1	2,07 (m)
26	17,4	17,4	0,95 (d; 7,0)
27	18,5	18,1	0,98 (d; 6,5)
28	113,3	114,1	-
29	17,4	17,4	1,45 (s)
1'	102,3	102,4	4,43 (d; 8,0)
2'	75,3	75,2	3,17 (dd; 9,0; 8,0)
3'	78,6	78,1	3,38 (t; 9,0)
4'	71,8	71,7	3,30 (m)
5'	78,4	77,9	3,31 (m)
6'	62,9	62,8	3,68 (dd; 12,0; 5,0)/ 3,88 (dd; 12,0; 2,5)

28-OCH ₃	48,5	48,5	3,24 (s)
---------------------	------	------	----------

^aCD₃OD, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^dĐo trong *pyridine-d*₅

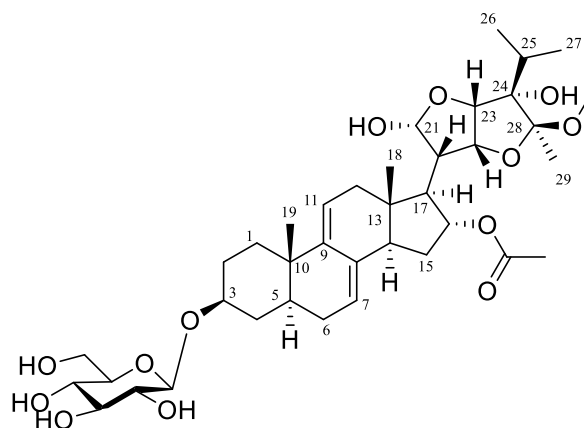
3.1.2.4. Hợp chất **LD11**; *Vernoniacum B*

Hợp chất **LD11** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ ¹H-NMR (Bảng 3.11) của **LD11** hiển thị các tín hiệu của hai nhóm methyl [δ_{H} 0,64 (3H, s, H-18) và 0,94 (3H, s, H-19)], hai tín hiệu proton olefinic [δ_{H} 5,34 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H-7) và 5,47 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11)] và một proton anomeric [δ_{H} 4,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, Glc-1')], tương ứng với khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmastane steroid glycoside là khung chất chính trong loài *V. amygdalina* cũng như các hợp chất đã phân lập được (**LD1-LD10**). Dữ liệu phổ ¹³C-NMR (Bảng 3.11) của **LD11** hiển thị 38 tín hiệu carbon bao gồm: một phân tử đường, năm nhóm methyl tại [δ_{C} 14,5 (C-18); 19,8 (C-19); 17,5 (C-26); 18,2 (C-27) và 17,4 (C-29)], một nhóm acetyl (δ_{C} 21,9; 172,7), một nhóm methoxy [δ_{C} 51,6] tại vị trí C-28, hai liên kết đôi [δ_{C} 122,4 (C-7); 136,3 (C-8); 145,0 (C-9); 119,6 (C-11)] và 20 nguyên tử carbon khác. So sánh phổ NMR của hợp chất **LD11** cho thấy có độ tương đồng rất cao với **LD9** ngoại trừ **LD11** xuất hiện thêm một nhóm acetyl (OCOCH₃) tại vị trí C-16. Vị trí chính xác của nhóm này được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa proton H-16 (5,27; m) với nhóm acetyl (δ_{C} 172,7). Kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo cho thấy sự trùng khớp về dữ liệu phổ với *vernoniacum B* đã được công bố tìm thấy từ loài *V. amygdalina* này [43], từ đó xác định được **LD11** là *vernoniacum B* (Hình 3.33).

Bảng 3. 11. Dữ liệu phổ ¹H-, ¹³C NMR của **LD11**

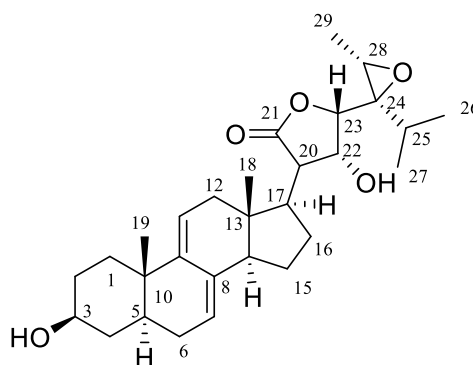
C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,4	1,35 (m)/ 2,01 (m)	20	49,5*	2,51 (m)
2	30,6	1,53 (m)/ 1,99 (m)	21	91,0	5,44 (d; 4,5)
3	77,9	3,53 (m)	22	80,7	4,31 (t; 6,0)
4	35,0	1,33 (m)	23	92,4	4,53 (t; 6,0)
5	40,5	1,41 (m)	24	83,0	-
6	31,0	1,31 (m)/ 1,95 (m)	25	33,1	2,02 (m)
7	122,	5,44 (d; 4,5)	26	17,5	0,93 (d; 4,0)
8	136,	-	27	18,2	0,96 (d; 6,5)
9	145,	-	28	113,4	-
10	37,1	-	29	17,5	1,42 (s)
11	119,	5,57 (d; 5,5)	1'	102,4	4,42 (d; 8,0)
12	42,8	2.03 (m)/ 2.15 (m)	2'	75,2	3,17 (m)
13	43,8	-	3'	78,1	3,34 (m)
14	49,5	2,19 (m)	4'	71,7	3,38 (m)
15	36,0	1,38 (m)/ 2,01 (m)	5'	78,9	3,29 (m)
16	79,8	5,27 (m)	6'	62,8	3,57 (dd; 11,5; 5,0)
17	48,6	3,17 (m)	16-OCOCH ₃	172,7	-
18	14,5	0,64 (s)	16-OCOCH ₃	21,9	2,06 (s)
19	19,8	0,94 (s)	OCH ₃	48,5	3,16 (s)

^aCD₃OD, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz *Xác định trên phổ HSQC



Hình 3. 33. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD11**

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



Hình 3. 34. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD12**

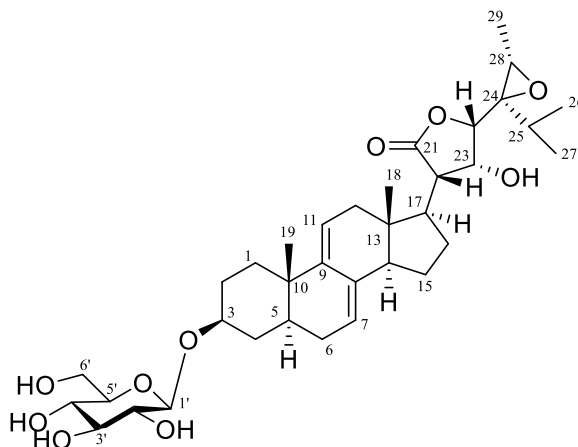
Hợp chất **LD12** thu được có dạng chất bột màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} : +17,1$ (c 0,2; CH₃OH). Phân tích tín hiệu phổ proton (Bảng 3.12) của **LD12** xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methyl singlet [δ_H 0,61 (3H, s, H-18), 0,94 (3H, s, H-19)], ba nhóm methyl doublet [δ_H 1,20 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 1,15 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27) và 1,37 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-29)]; hai proton nối đôi [δ_H 5,44 (1H, br s, H-7) và 5,58 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-11)] và một proton đặc trưng của H-3 [δ_H 3,53 (m)]. Trên phổ ¹³C-NMR (Bảng 3.12) và phổ HSQC của **LD12** thể hiện tín hiệu tổng số 29 carbon trong đó bao gồm năm carbon methyl, bảy nhóm carbonmethylene, 11 carbon methine và sáu carbon bậc 4. Kết hợp so sánh dữ liệu phổ của **LD12** với vernonioside B₁ [36] cho thấy sự tương đồng về cấu trúc của phần aglycon, tuy nhiên, trên phổ 1D-NMR của **LD12** thiếu vắng các tín hiệu của phần đường, và độ dịch chuyển hóa học của C-3 cũng thay đổi về vùng trường cao (δ_C 71,5 so với δ_C 79,1) của vernonioside B₁. Điều đó thể hiện rằng **LD12** là aglycon của vernonioside B₁. Do đó, kết hợp với tài liệu tham khảo [36], cấu trúc hợp chất **LD12** được xác định là (23S,24R,28S)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetradehydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone (Hình 3.34).

Bảng 3. 12. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD12**

C	$\# \delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,3	36,0	1,35 (m)/ 2,00 (m)
2	32,6	32,3	1,50 (m)
3	70,3	71,5	3,53 (m)
4	38,9	38,8	1,31 (m)/ 1,71 (m)
5	39,7	40,7	1,43 (m)
6	30,4	31,0	1,30 (m)/ 1,93 (m)
7	120,9	121,3	5,44 (br s)
8	136,6	137,6	-
9	144,1	144,9	-
10	36,2	36,9	-
11	119,7	120,5	5,58 (d; 6,5)
12	42,2	42,8	2,13 (m)/ 2,82 (m)
13	42,7	43,3	-
14	51,0	51,4	2,86 (dd; 10,5; 4,0)
15	23,6	24,2	1,52 (m)
16	28,1	28,5	1,52 (m)/ 1,80 (m)
17	45,8	46,3	2,00 (m)
18	12,7	12,6	0,61 (m)
19	19,7	19,9	0,94 (m)
20	52,0	52,8	2,28 (m)
21	176,4	177,8	-
22	73,1	73,8	4,42 (dd; 4,0; 2,5)
23	80,1	80,5	4,77 (d; 2,5)
24	63,8	65,2	-
25	30,3	31,0	1,83 (m)
26	18,5	18,4	1,20 (s)
27	18,7	18,6	1,15 (s)
28	56,2	57,6	2,29 (s)
29	13,2	13,1	1,37 (d; 5,5)

^a CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c MHz $\# \delta_{\text{C}}$ hợp chất tham khảo

3.1.2.6. Hợp chất **LD13**; *Vernonioside B₁*



Hình 3. 35. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD13**

Bảng 3. 13. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD13**

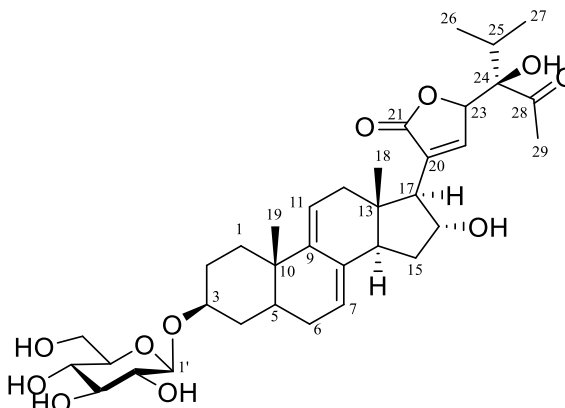
C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,0	35,9	1,35 (m)/ 2,00 (m)
2	30,2	30,5	1,61 (m)/ 1,99 (m)
3	78,7	79,1	3,67 (m)
4	34,5	35,1	1,35 (m)
5	39,3	40,4	1,42 (m)
6	30,3	30,9	1,92 (m)
7	120,7	121,1	5,41 (br s)
8	136,5	137,5	-
9	143,8	144,8	-
10	36,1	36,9	-
11	119,8	120,4	5,55 (d; 6,5)
12	41,2	42,6	2,17 (m)/ 2,76 (m)
13	42,6	43,2	-
14	51,9	52,6	2,29 (br s)
15	23,5	24,1	1,50 (m)
16	28,1	28,4	1,51 (m)
17	45,8	46,2	2,02 (m)
18	12,7	12,6	0,60 (s)
19	19,5	19,8	0,93 (s)
20	51,0	51,3	2,74 (dd; 8,0; 4,0)
21	176,4	177,6	-
22	77,0	73,7	4,44 (dd; 4,0; 2,5)
23	80,1	80,4	4,69 (d; 2,5)
24	63,8	65,4	-
25	30,3	30,8	1,87 (m)
26	18,5	18,4	1,20 (d; 7,0)
27	18,7	18,5	1,14 (d; 7,5)
28	56,2	57,5	3,38 (m)
29	13,2	13,1	1,37 (d; 5,5)
1'	102,3	102,3	4,42 (d; 8,0)
2'	75,3	75,0	3,20 (dd; 9,0; 8,0)
3'	78,6	78,6	3,70 (m)
4'	71,7	71,8	3,35 (m)
5'	77,1	78,1	3,37 (m)
6'	62,9	62,9	3,71 (dd; 12,0; 5,0)/ 3,86 (dd; 12,0; 2,5)

^aCD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz # hợp chất vernonioside B₁ đo trong *pyridine-d*₅

Hợp chất **LD13** thu được dưới dạng chất bột, màu trắng. Phân tích dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR (Bảng 3.13) của **LD13** xuất hiện tín hiệu của năm nhóm methyl [δ_{H} 0,60 (3H, s, H-18); 0,93 (3H, s, H-19); 1,20 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 1,14 (3H, d, $J = 7,5$

Hz, H-27); 1,37 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-29)], hai proton olefin [δ_{H} 5,41 (1H, br s, H-7); 5,55 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-11)], tín hiệu của một proton anomeric [δ_{H} 4,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1')] và tín hiệu multiplet đặc trưng của H-3 [δ_{H} 3,67 ppm)]. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **LD13** xuất hiện tín hiệu của 35 carbon bao gồm 29 carbon của phần khung chất và sáu carbon của phần đường (Bảng 3.13). Từ những phân tích trên kết hợp với so sánh với phổ NMR của hợp chất vernonioside B₁ [36] cho thấy số liệu phổ hoàn toàn phù hợp. Điều này cho phép khẳng định hợp chất **LD13** là vernonioside B₁.

3.1.2.7. Hợp chất **LD14**; *Veramyoside H*



Hình 3. 36. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD14**

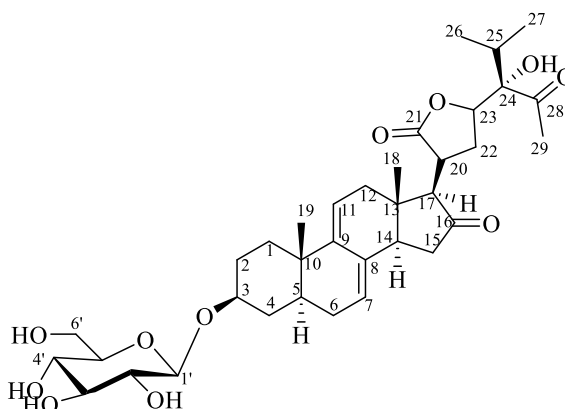
Bảng 3. 14. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD14**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,2	35,1	2,20* (m)	19	19,7	19,2	0,72 (s)
2	30,5	30,0	1,74* (m)	20	136,0	135,4	
3	77,3	77,0	3,91(m)	21	174,4	174,0	-
4	34,8	34,4	1,37 (q; 12,6) 1,98 (d; 10,0)	22	147,5	147,1	7,75 (s)
5	39,4	38,9	1,22(m)	23	84,0	86,3	5,36 (d; 1,5)
6	30,4	29,9	1,68(m)/ 2,11(m)	24	84,8	84,2	-
7	121,7	120,6	5,33*(s)	25	33,9	33,4	2,42 (m)
8	135,8	136,3	-	26	17,3	16,8	0,92 (d; 6,0)
9	144,6	144,1	-	27	17,4	16,9	1,12 (d; 6,0)
10	36,5	36,0	-	28	211,3	211,2	-
11	118,7	118,2	5,32* (s)	29	28,2	27,8	2,29 (s)
12	40,9	40,4	2,05 (d; 5,5) 2,50 (dd; 15,5; 5,5)	1'	102,6	102,0	4,96 (d; 7,8)
13	44,9	44,3	-	2'	75,7	75,0	3,99 (t; 8,4)
14	50,2	49,6	2,87 (t; 15,0)	3'	79,0	78,2	4,26 (t; 8,4)
15	35,9	34,7	1,53 (m)/ 1,73* (m)	4'	72,1	71,4	4,16 (t; 8,4)
16	76,0	75,3	4,98 (m)	5'	78,9	78,1	3,95 (m)
17	58,5	57,8	3,15 (d; 6,5)	6'	63,2	62,5	4,30 (dd; 10,0; 5,0)
18	14,2	13,7	0,60 (s)				

^a pyridine- d_5 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # δ_{C} veramyoside H, * tín hiệu bị chồng lấp

Hợp chất **LD14** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình, màu trắng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của ba nhóm methyl singlet [δ_{H} 0,60 (3H, s, H-18); 0,72 (3H, s, H-19) và 2,29 (3H, s, H-29)], ngoài ra còn xuất hiện 3 nhóm olefinic proton tại [δ_{H} 5,33 (1H, s, H-7); 5,32 (1H, s, H-11) và 7,75 (1H, s, H-22)] đặc trưng cho khung steroid, đồng thời cũng xuất hiện tín hiệu của 2 nhóm methyl doublet tại [δ_{H} 0,92 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-26); 1,12 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-27)]. Ngoài ra trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của một phân tử đường glucopyranoside [δ_{H} 4,96 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'). Phổ ^{13}C kết hợp với HSQC của **LD14** xuất hiện tín hiệu của 35 carbon trong đó 29 carbon của khung aglycon và 6 carbon của 1 phân tử đường. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cũng thể hiện các pic keton đặc trưng của nhóm carbonyl [δ_{C} 174,0 (C-21)] và nhóm keton [δ_{C} 211,2 (C-28)] và 6 carbon của phân tử đường [δ_{C} 102,0 (C-1'); 75,0 (C-2'); 78,2 (C-3'); 71,4 (C-4'); 78,1 (C-5') và 62,5 (C-6')]. Từ những phân tích dữ liệu trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo của veramyoside H [34], ta nhận thấy rằng dữ liệu phổ có sự trùng khớp hoàn toàn. Từ đó xác định được **LD14** là veramyoside H.

3.1.2.8. Hợp chất **LD15**; Veramyoside **J**



Hình 3. 37. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD15**

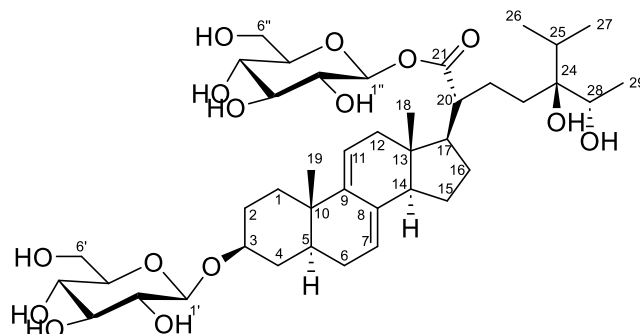
Phân tích và so sánh dữ liệu phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ của **LD15** với **LD14** cho thấy sự tương đồng rất cao được thể hiện trên bảng so sánh (Bảng 3.15), điểm khác biệt duy nhất trong cấu trúc của hai hợp chất này là sự thay thế của một nhóm hydroxy tại vị trí C-16 trong hợp chất **LD14** được thay bằng nhóm keton ($\text{C} = \text{O}$) ở hợp chất **LD15**. Điều này được chứng minh bằng sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-16 từ trường cao δ_{C} 75,3 trong (**LD14**) về trường thấp tại δ_{C} 214,4 đối với chất (**LD15**). Sau khi phân tích dữ liệu phổ trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [34], ta có thể xác định được **LD15** là veramyoside **J** (Hình 3.37).

Bảng 3. 15. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD15**

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	35,1	35,8	2,06 (m)/ 1,38* (m)	18	13,7	14,4	0,65 (s)
2	30,0	30,9	2,00 (m)	19	19,2	19,9	0,98 (s)
3	77,0	78,9	3,73 (m)	20	135,4	38,3	
4	34,4	34,9	1,37 (m)/ 1,92 (m)	21	174,0	179,9	-
5	38,9	40,5	1,49 (m)	22	147,1	27,7	2,31 (m)
6	29,9	30,5	1,63 (m)/ 2,01 (m)	23	86,3	82,7	4,81 (m)
7	120,6	123,5	5,49 (s)	24	84,2	85,1	-
8	136,3	134,5	-	25	33,4	35,3	1,19 (m)
9	144,1	145,9	-	26	16,8	17,6	0,94 (d; 6,0)
10	36,0	37,4	-	27	16,9	17,4	1,02 (d; 6,0)
11	118,2	118,8	5,67 (d; 6,0)	28	211,2	216,9	-
12	40,4	40,8	2,36 (m)	29	27,8	29,4	2,21 (s)
13	44,3	41,9	-	1'	102,0	102,4	4,43 (d; 8,0)
14	49,6	47,2	2,69 (m)	2'	75,0	75,2	3,17 (t; 9,0)
15	34,7	38,3	1,45 (m)/ 2,12 (m)	3'	78,2	78,1	3,36 (m)
16	75,3	214,4		4'	71,4	71,7	3,29 (m)
17	57,8	63,7	2,75 (d; 3,5)	5'	78,1	77,9	3,31* (m)
				6'	62,5	62,8	3,89 (d; 11,0)
							3,68 (m)

^a pyridine-*d*₅, ^b 150 MHz, ^c đo tại 600 MHz, * tín hiệu bị chồng lấp, # dữ liệu của **LD14**

3.1.2.9. Hợp chất **LD16**; *Vernoamyoside A*



Hình 3. 38 Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD16**

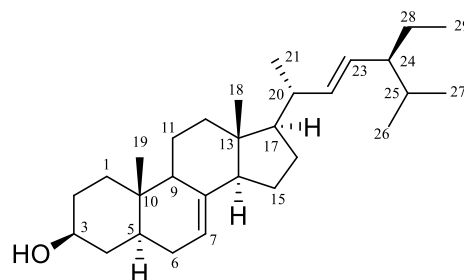
Hợp chất **LD16** phân lập được ở dạng chất bột màu vàng, vô định hình, độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +0,27$ (c 0,2; CH_3OH). Dữ liệu phổ ^1H -NMR (Bảng 3.16) của **LD16** thể hiện sự xuất hiện của 5 nhóm methyl trong đó bao gồm 2 nhóm methyl singlet [δ_{H} 0,61 (3H, s, H-18); 0,92 (3H, s, H-19)] và 3 nhóm methyl doublet [δ_{H} 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 0,97 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27); 1,74 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-29)]. Từ dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR (Bảng 3.16) của **LD16** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 41 carbon trong đó 29 carbon thuộc khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmastance-type steroid và 12 tín hiệu carbon của 2 đơn vị đường. Vị trí của đường tại C-3 và C-21 được xác định dựa trên tương tác trên phổ HMBC giữa proton δ_{H} 4,41 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1') và δ_{C} 79,0 (C-3), giữa δ_{H} 5,56 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'') với δ_{C} 176,8 (C-21). Từ những phân tích dữ liệu phổ trên kết hợp

so sánh với tài liệu tham khảo về dữ liệu phổ của vernoamyoside A [36], ta nhận thấy có sự tương đồng rất cao về các thông số phổ ^1H và ^{13}C -NMR từ đó có thể xác định được **LD16** là vernoamyoside A (Hình 3.38). Bảng so sánh về dữ liệu phổ của 2 hợp chất trên được thể hiện dưới (Bảng 3.16):

Bảng 3. 16. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD16**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,1	35,1	1,32-1,85* (m)
2	30,9	31,0	1,55-1,93* (m)
3	79,0	79,0	3,70 (m)
4	36,0	36,0	1,54 (m)
5	40,5	40,5	1,42 (m)
6	30,6	30,6	1,54 (m)
7	121,4	121,5	5,41 (br s)
8	137,3	137,3	-
9	144,9	144,9	-
10	37,1	37,1	-
11	119,9	119,9	5,50 (d; 5,5)
12	41,1	41,1	2,00 (m)
13	43,3	44,3	-
14	52,4	52,4	2,20 (m)
15	23,8	2,8	1,46 (m)
16	31,0	31,0	1,92 (m)
17	53,6	53,6	1,86 (m)
18	11,9	11,9	0,61 (s)
19	19,8	19,8	0,92 (s)
20	49,7	49,6	2,31 (m)
21	176,8	176,8	
22	27,5	27,2	1,73 (m)
23	28,4	28,5	1,45 (m)
24	78,3	78,3	-
25	34,4	34,5	1,95 (m)
26	18,2	18,2	0,95 (d; 7,0)
27	18,2	18,2	0,97 (d; 6,5)
28	71,3	71,2	3,79 (m)
29	18,0	17,9	1,17 (d; 6,5)
1'	102,4	102,3	4,41 (d; 8,0)
2'	75,1	75,2	3,17 (dd; 9,0; 8,0)
3'	78,1	78,1	3,35* (m)
4'	71,3	71,2	3,34* (m)
5'	78,5	78,5	3,33* (m)
6'	62,8	62,8	3,67 (m)
1''	95,7	95,6	5,56 (d; 8,0)
2''	74,0	73,9	3,35* (m)
3''	78,6	78,6	3,40* (m)
4''	71,6	71,7	3,30* (m)
5''	77,8	77,9	3,29* (m)
6''	62,6	62,5	3,72 (m)/ 3,88 (m)

^a CD_3OD , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] δ_{C} vernoamyoside A, *tín hiệu bị chồng lấp

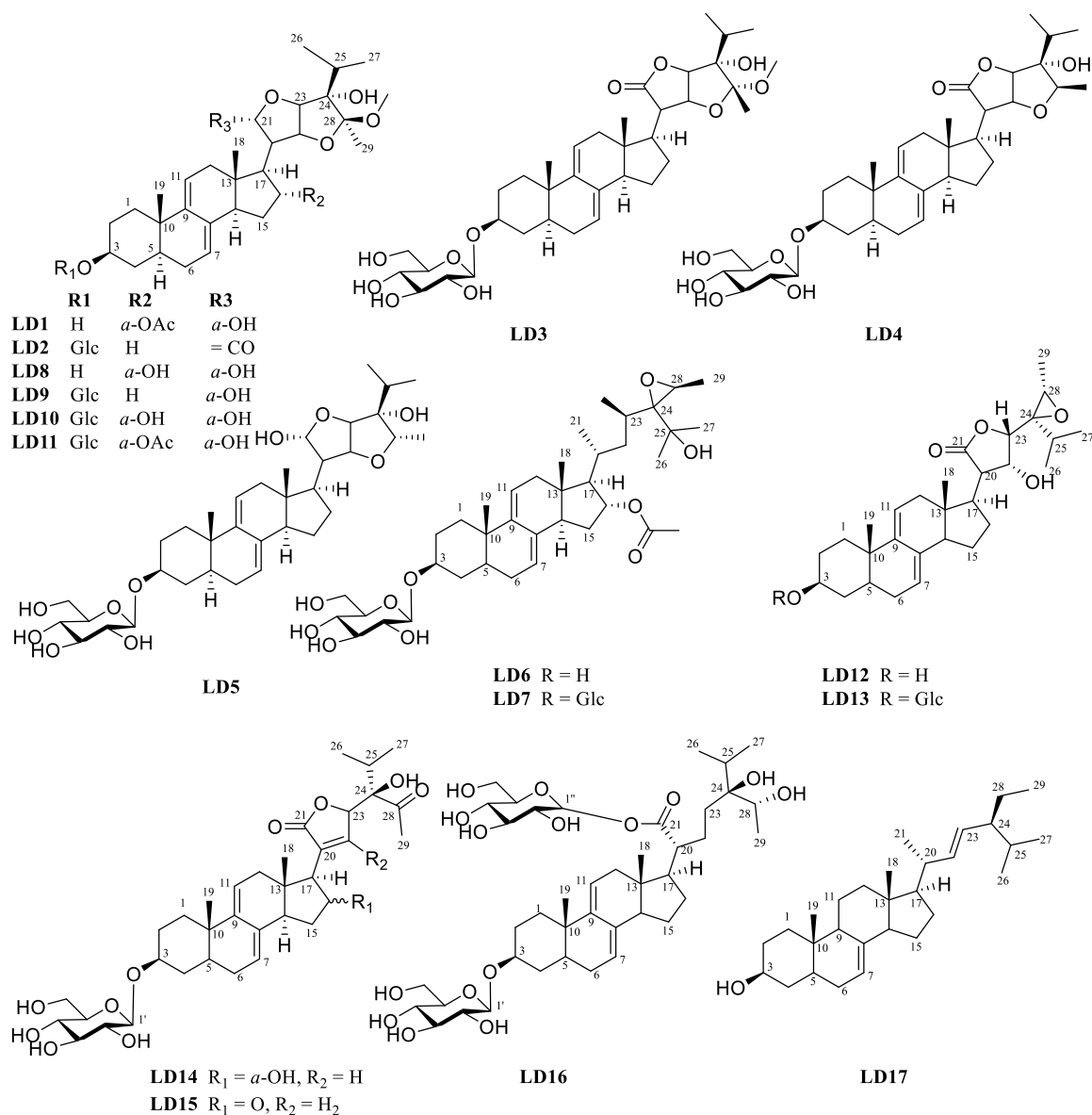
3.1.2.10. Hợp chất **LD17**; α -spinasterolHình 3. 39. Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD17**Bảng 3. 17. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **LD17**

C	# δ_{C}	δ_{C} ^{a,b}	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	# δ_{C}	δ_{C} ^{a,b}	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	31,4	37,2	1,09 (m)/ 1,82* (m)	16	28,5	28,5	1,26* (m)/ 1,77* (m)
2	31,8	31,5	1,80* (m)/ 1,39* (m)	17	55,9	55,9	1,26* (m)
3	71,1	71,1	3,59 (m)	18	12,0	12,1	0,54 (s)
4	38,1	38,0	1,27* (m)/ 1,71* (m)	19	13,0	13,0	0,81 (s)
5	40,3	40,3	1,39* (m)	20	40,8	40,8	2,03 (m)
6	29,7	29,7	1,97* (m)	21	21,0	21,4	1,03 (d; 5,5)
7	117,5	117,5	5,15* (m)	22	138,2	138,2	5,16* (m)
8	139,6	139,6		23	129,5	129,5	5,03 (dd; 12,5; 7,0)
9	49,5	49,5	1,66 (m)	24	51,3	51,3	1,55* (m)
10	34,2	34,2		25	31,9	31,9	1,55* (m)
11	21,6	21,6	1,38* (m)/ 1,58* (m)	26	21,6	21,1	0,80 (d; 5,5)
12	39,5	39,5	1,22 (m)/ 1,99 (m)	27	19,0	19,0	0,80 (d; 5,5)
13	43,3	43,3	1,58* (m)	28	25,4	25,4	1,41 (m)/ 1,98 (m)
14	55,1	55,1	1,80* (m)	29	12,2	12,2	0,82* (m)
15	23,0	23,0	1,38* (m)/ 1,49* (m)				

^a CD_3OD , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] α -spinasterol đo trong CDCl_3 , * tín hiệu bị chồng lấp

Hợp chất **LD17** phân lập được dạng bột rắn màu trắng. Phổ ^1H -NMR (Bảng 3.17) cho thấy tín hiệu của sáu nhóm methyl trong đó có hai methyl dưới dạng singlet [δ_{H} 0,54 (3H, s, H-18); 0,81 (3H, s, H-19)], một nhóm methyl triplet [δ_{H} 0,80 (3H, H-26)], và ba nhóm methyl doublet [δ_{H} 0,83 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-28); 0,81 (3H, H-27), 1,03 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-21)]. Về phía trường thấp, tín hiệu của ba olefinic proton [δ_{H} 5,03 (1H, dd, $J = 12,5; 7,0$ Hz, H-23); 5,15 (1H, H-7); 5,16 (1H, H-22)], và tín hiệu của một nhóm oxymethine [δ_{H} 3,59 (1H, m, H-3)] cũng được quan sát thấy trên phổ ^1H -NMR. Phổ ^{13}C -NMR của **LD17** xuất hiện 29 tín hiệu carbon bao gồm 6 nhóm methyl, 9 nhóm methylen, 11 nhóm methine, và ba carbon bậc 4 (Bảng 3.17). Kết hợp phổ ^1H , ^{13}C -NMR và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định **LD17** là α -spinasterol (Hình 3.39).

Từ loài *Vernonia amygdalina* đã phân lập được 17 hợp chất gồm 7 hợp chất mới (**LD1-LD7**) được đặt tên là; (**LD1-vernionioside K**); (**LD2-vernionioside N**), (**LD3-vernionioside M**); (**LD4-vernionioside O**); (**LD5-vernionioside L**); (**LD6-vernionioside P**); (**LD7-vernionioside Q**) và 10 hợp chất đã biết bao gồm: (**LD8-(22R,23S,24R,28S)-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-vernionioside B₂**); (**LD11-vernioniacum B**); (**LD12-(23S,24R,28S)-3 β ,22 α -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 α -stigmastane-21,23-carbolactone**); (**LD13 vernionioside B₁**); (**LD14-veramyoside G**); (**LD15-vernoramioside A**); (**LD16-vernoamyoside A**); (**LD17- α -spinasterol**). Công thức hóa học của các hợp chất phân lập được thể hiện dưới bảng sau



Hình 3. 40. Cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập từ loài *V. amygdalina*

3.1.3. Đặc trưng phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các hợp chất stigmastane steroid phân lập được từ loài *V. amygdalina*.

Tổng hợp dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các hợp chất stigmastane steroid đã phân lập được từ loài *V. amygdalina* nhận thấy có các sự thay đổi trong cấu trúc hóa học giữa các hợp chất được thể hiện qua: sự có mặt của các nhóm thế, cấu trúc mạch nhánh, hay các đồng phân hình học được thể hiện rõ nét qua độ chuyển dịch hóa học của các tín hiệu carbon trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$. Do đó, việc tổng hợp lại các dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^{13}\text{C-NMR}$ sẽ giúp dễ dàng xác định được cấu trúc của các hợp chất khung stigmastane steroid từ loài *V. amygdalina*. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của 16 hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* được trình bày trong bảng dưới đây:

Dựa vào dữ liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các hợp chất trên (Bảng 3.18) ta nhận thấy: trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của 16 hợp chất xuất hiện tín hiệu của 29 carbon đặc trưng cho lớp chất steroid. Bên cạnh đó, tùy thuộc vào sự có mặt của các nhóm thế khác nhau sẽ xuất hiện thêm các tín hiệu carbon của nhóm thế, các nhóm thế thường xuất hiện trong cấu trúc của các hợp chất từ loài *V. amygdalina* là nhóm acetoxy, methoxy, và các phân tử đường. Với các đặc điểm về mặt cấu trúc nêu trên, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ sẽ quan sát được các tín hiệu như sau:

Sự xuất hiện của hai nối đôi liên hợp tại các vị trí C-7, C-8, C-9, C-11 đặc trưng cho các dẫn xuất dienestigmastane steroid. Các giá trị độ chuyển dịch của carbon olefinic này tại các vị trí δ_{C} : C-7 (120,6 – 123,5); C-8 (134,5 – 137,6); C-9 (143,7 – 145,9) và C-11 (118,6 – 120,5) ppm. Sự thay đổi tín hiệu của các tín này về vùng trường cao hoặc thấp có thể gợi sự có mặt của các nhóm thế ở các vị trí lân cận. Ví dụ như, tín hiệu của δ_{C} C-9 ở khoảng 143,7 ppm ở các (**LD2 – LD5, LD9, LD12, LD13** và **DL16**), thì có thể dự đoán vị trí C-16 không xuất hiện các nhóm thế và mạch nhánh là hai vòng furan, trong khi vị trí C-16 bị thế bởi nhóm acetyl (OCOCH_3) hoặc nhóm hydroxy (OH) thì tín hiệu của C-9 sẽ di chuyển về vùng trường thấp khoảng 145,9 ppm trong các hợp chất **LD6, LD7, LD9, LD10**.

Tương tự, tín hiệu carbon của C-16 cũng cho phép xác định sự có mặt của các nhóm thế tại vị trí này. Khi không chứa nhóm thế, độ chuyển dịch hóa học của C-16 khoảng δ_{C} (27,4 – 28,7 ppm) ở các (**LD2 – LD5**), **LD8, LD11, LD12**, khi có nhóm thế keton δ_{C} : 216,9 ppm (**LD15**), hydroxy δ_{C} : (75,3 – 77,3 ppm) trong các **LD10, LD14**, acetoxy δ_{C} : (78,4 -80,9, ppm) ở các **LD1, LD6, LD7** và **LD11**. Sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-3 từ δ_{C} (70,0 - 71,5) ppm trong các (**LD1, LD6, LD8, LD12**) thể hiện sự vắng mặt của phân tử đường tại vị trí C-3. Và ngược lại, độ chuyển dịch hóa học của C-3 từ δ_{C} (77,0 – 78,9, ppm) cho phép xác định sự có mặt của phân tử đường tại vị trí C-3.

Cấu trúc mạch nhánh của các hợp chất stigmastane steroid của các hợp chất phân lập được từ *V. amygdalina* thường tồn tại ở dạng đóng vòng với hai vòng furan hợp nhất với nhau tại C-22, C-23, trong các hợp chất (**LD1 – LD5, LD9 – LD11**); cầu 22, 23 epoxy kết hợp với vòng γ -lactone (**LD12, LD13, LD15**) hay vòng lacton 5 cạnh với liên kết đôi ở vị trí α, β của (**LD14**) hay với mạch thẳng chứa các nhóm hydroxy tự do trong (**LD6, LD7**) hoặc mở vòng hoàn toàn đôi với (**LD16**). Đối với các hợp chất có mạch nhánh là với hai vòng furan, các tín hiệu thể hiện ở vùng trường thấp khoảng (δ_C , 176,0 ppm) cho phép xác định nhóm thế tại C-21 là nhóm carbonyl, trong khi nếu vị trí C-21 là nhóm hydroxy là δ_C (98,0 – 100,0) ppm. Bên cạnh đó, phổ ^{13}C -NMR cũng cho thấy tín hiệu carbon C-28 khi có sự xuất hiện của các nhóm thế nhóm methyl (CH_3), methoxy (OCH_3), hydroxy (OH). Độ chuyển dịch hóa học của C-28 là δ_C (111,2 – 112,1 ppm) khi có nhóm β - OCH_3 và α - CH_3 gắn trực tiếp với C-28, ở cấu hình ngược lại độ chuyển dịch của C-28 là (δ_C 107,6 ppm). Ngoài ra, khi không có sự xuất hiện của nhóm methoxy tại C-28, tín hiệu carbon của C-28 sẽ di chuyển đến vùng trường cao δ_C (81,0 – 84,0 ppm). Đối với mạch nhánh là cầu epoxy kết hợp với vòng γ -lactone, phổ ^{13}C -NMR sẽ thể hiện các tín hiệu carbon tại δ_C 177,1 (C-21); 73,0 (C-22); 80,0 (C-23); 65,4 (C-24). Trên phổ ^{13}C -NMR sẽ thấy sự có mặt của các tín hiệu tại δ_C , 174,0; 147,0; 86,3; 84,2 sẽ gợi ý sự xác định mạch nhánh chứa cầu epoxy là vòng lacton 5 cạnh với liên kết đôi ở vị trí α, β . Nếu mạch nhánh mở vòng hoàn toàn sẽ xuất hiện các tín hiệu với độ chuyển dịch trong khoảng δ_C (176,0; 27,2; 28,5 và 78,3) ppm tương ứng với các vị trí (C-21 – C-24).

Bảng 3. 18. Dữ liệu phổ ^{13}C NMR của các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

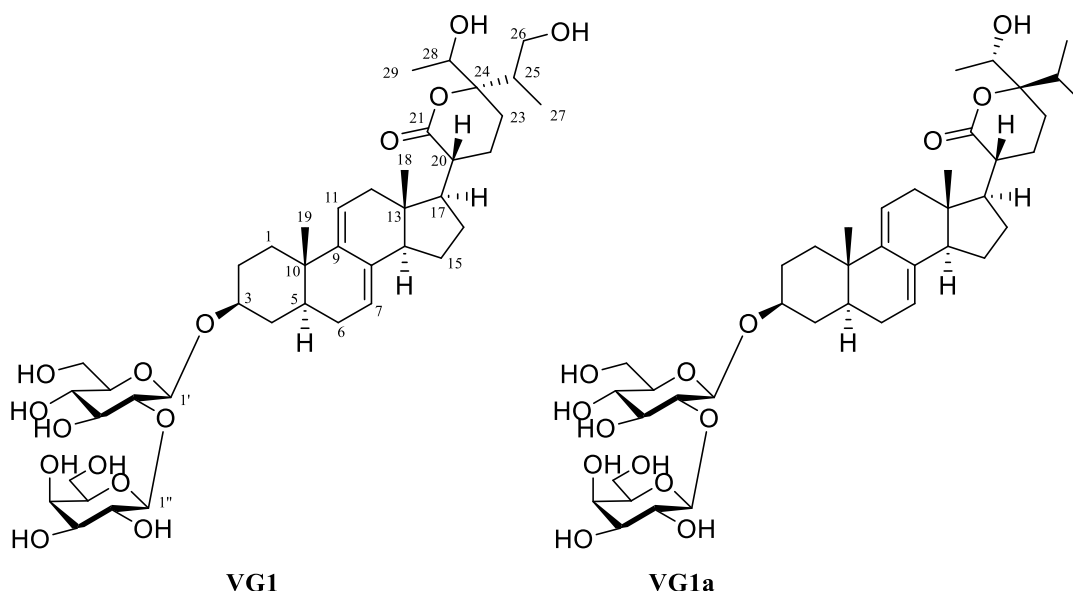
	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5	LD6	LD7	LD8	LD9	LD10	LD11	LD12	LD13	LD14	LD15	LD16
1	35,0	34,8	34,9	34,8	34,9	35,9	35,9	35,3	34,9	35,0	35,4	36,0	35,9	35,1	35,8	35,1
2	32,0	29,9	29,9	29,9	29,9	30,9	30,6	32,4	29,9	30,6	30,6	32,3	30,5	30,0	30,9	31,0
3	70,0	77,1	77,1	78,1	77,1	71,4	78,9	71,4	78,1	78,9	77,9	71,5	79,1	77,0	78,9	79,0
4	38,2	34,3	34,3	35,3	34,9	34,7	34,7	38,5	34,3	35,3	35,0	38,8	35,1	34,4	34,9	36,0
5	39,4	39,0	39,4	39,0	39,0	40,6	40,5	40,6	38,9	40,5	40,5	40,7	40,4	38,9	40,5	40,5
6	30,1	30,1	30,1	30,1	30,0	31,0	31,0	31,0	30,0	31,0	31,0	31,0	30,9	29,9	30,5	30,6
7	121,7	120,6	120,6	120,6	120,7	122,1	122,1	122,1	120,8	122,1	122,4	121,3	121,1	120,6	123,5	121,5
8	135,1	136,3	136,3	135,8	136,4	136,3	136,3	136,7	136,3	136,7	136,3	137,6	137,5	136,3	134,5	137,3
9	143,9	143,7	143,8	143,8	143,9	145,3	145,3	145,1	143,9	145,1	145,0	144,9	144,8	144,1	145,9	144,9
10	36,0	35,9	35,9	35,9	35,9	37,0	37,1	37,0	35,9	37,1	37,1	16,9	36,9	36,0	37,4	37,1
11	118,6	119,3	119,4	119,3	118,9	119,2	119,2	119,4	118,8	119,4	119,6	120,5	120,4	118,2	118,8	119,9
12	41,9	41,2	41,7	41,4	41,5	43,7	43,7	42,5	41,3	42,5	42,8	42,8	42,6	40,4	40,8	41,1
13	42,9	42,5	42,5	42,5	42,4	43,8	43,8	44,3	42,1	44,3	43,8	43,3	43,2	44,3	41,9	44,3
14	48,8	51,6	51,6	51,6	51,3	50,1	50,1	49,7	51,3	49,5	49,5	51,4	52,6	49,6	47,2	52,4
15	34,7	23,4	23,3	23,3	23,6	38,4	39,9	36,0	23,6	36,0	36,0	24,2	24,1	34,7	38,3	23,8
16	78,4	28,7	28,5	28,7	27,8	80,9	80,9	77,3	27,4	77,3	79,8	28,5	28,4	75,3	216,9	31,0
17	51,1	46,5	45,9	46,8	44,9	64,0	64,0	56,3	44,9	56,3	48,6	46,3	46,2	57,8	63,7	53,6
18	14,1	12,2	12,1	14,4	12,7	13,0	13,0	14,5	12,6	14,6	14,5	12,6	12,6	13,7	14,4	11,9
19	19,4	19,3	19,3	19,9	19,3	19,9	19,9	19,8	19,3	19,8	19,8	19,9	19,8	19,2	19,9	19,8
20	48,8	45,6	48,4	46,6	50,7	33,0	33,0	48,8	49,6	49,0	49,5	52,8	51,3	135,4	38,3	49,6
21	98,8	176,7	176,0	177,1	98,9	20,2	20,2	100,0	98,9	100,0	91,0	177,8	177,6	174,0	179,9	176,8
22	79,9	76,3	79,7	79,1	87,4	39,9	39,9	81,6	80,5	81,6	80,7	73,8	73,7	147,1	27,7	27,2
23	91,5	86,1	79,5	82,9	82,5	71,4	71,4	91,9	90,8	91,8	92,4	80,5	80,4	86,3	82,7	28,5
24	81,8	84,3	83,5	82,0	81,9	70,4	70,4	83,1	82,1	83,1	83,0	65,2	65,4	84,2	85,1	78,3
25	32,2	32,3	31,3	30,7	31,5	72,0	72,0	33,1	32,2	33,1	33,1	31,0	30,8	33,4	35,3	34,5
26	17,4	17,0	16,7	17,1	17,4	28,4	28,4	17,4	17,5	17,4	17,5	18,4	18,4	16,8	17,6	18,2
27	18,4	18,1	17,7	17,8	17,6	26,9	26,9	18,1	18,4	18,1	18,2	18,6	18,5	16,9	17,4	18,2
28	112,7	111,2	107,6	81,0	84,5	57,0	57,0	114,1	112,3	114,1	113,4	57,6	57,5	211,2	216,9	71,2
29	17,5	16,7	15,1	14,0	14,5	14,3	14,3	17,4	17,4	17,4	17,5	13,1	13,1	27,8	29,4	17,9
1'1"		102,0	102,1	102,0	102,0		102,4		102,0	102,4	102,4		102,3	102,0	102,4	102,3/ 95,6
2'2"		74,9	74,9	74,9	74,9		75,2		74,9	75,2	75,2		75,0	75,0	75,2	75,2/ 73,9
3'3"		78,2	78,1	78,1	78,1		77,9		78,1	78,1	78,1		78,6	78,2	78,1	78,1/ 78,6
4'4"		71,4	71,4	71,4	71,4		71,7		71,5	71,7	71,7		71,8	71,4	71,7	71,2/ 71,7
5'5"		78,1	78,1	77,1	78,1		78,1		77,1	77,9	78,9		78,1	78,1	77,9	78,5/ 77,9
6'6"		62,5	62,5	62,5	62,5		62,8		62,5	62,8	62,8		62,9	62,5	62,8	62,8/ 62,5
OCH ₃	48,1	48,0	48,0					48,5	48,0	48,5	48,52					
OAc	170,8					21,5	21,5				172,7					
	21,7					172,8	172,9				21,9					

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

Sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký pha thường, pha đảo, sephadex,... đã phân lập 17 hợp chất từ lá của loài *V. gratioiosa*, trong đó bao gồm 07 hợp chất được báo cáo lần đầu tiên (VG1 – VG7) và 10 hợp chất cũ (VG8 – VG17). Cấu trúc của các hợp chất được xác định dưới đây:

3.2.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài *V. gratioiosa*

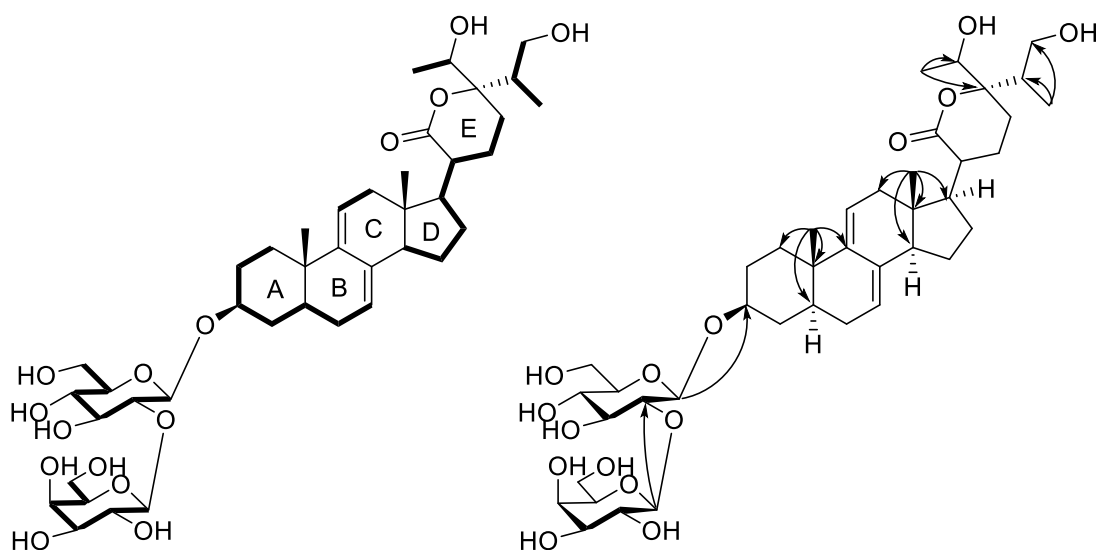
3.2.1.1. Hợp chất VG1; *Vernoniagratioides A*



Hình 3. 41. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG1** và hợp chất tham khảo **VG1a**

Hợp chất **VG1** phân lập được ở dạng bột màu trắng, có công thức phân tử $C_{41}H_{64}O_{15}$, được thiết lập dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z $[M+Cl]^-$ 831,3892; (tính toán cho công thức $C_{41}H_{64}ClO_{15}^-$; 831,3939) (Hình 3.41). Từ dữ liệu phổ 1D-NMR, 2D-NMR của **VG1** kết hợp với việc so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất Vernocuminoside I đã được công bố trước đây [58] cho thấy **VG1** là một hợp chất stigmastane saponin steroid với hai nối đôi liên hợp đặc trưng $\Delta^{7,9(11)}$ với mạch nhánh là vòng δ -lactone (Bảng 3.19). Thật vậy, dữ liệu phổ proton của **VG1** cho thấy sự có mặt của hai proton olefinic [δ_H 5,43 (1H, s, H-7) và 5,50 (1H, br d; $J = 5,5$ Hz, H-11)], một methine liên kết với oxy của H-3 [δ_H 3,72 (1H, m, H-3)], hai nhóm methyl bậc bốn [δ_H 0,94 (3H, s, H-19) và 0,66 (3H, s, H-18)], một nhóm propanyl [δ_H 3,45 (2H, m, H-27); 2,12 (1H, m, H-25), 1,06 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27)] và một nhóm methyl doublet khác [δ_H 1,26 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-29)]. Ngoài ra, các tín hiệu methine proton của 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 ($J_{1',2'} = 7,5$ Hz, $J_{1'',2''} = 8,0$ Hz) cho phép xác định cấu hình tương đối của các phân tử đường là β . Từ dữ liệu ^{13}C -NMR của **VG1** cho thấy sự xuất hiện của 42 tín hiệu carbon, trong đó có 29 tín hiệu của aglycone và 12 tín hiệu của hai đơn vị đường. Dữ liệu ^{13}C -

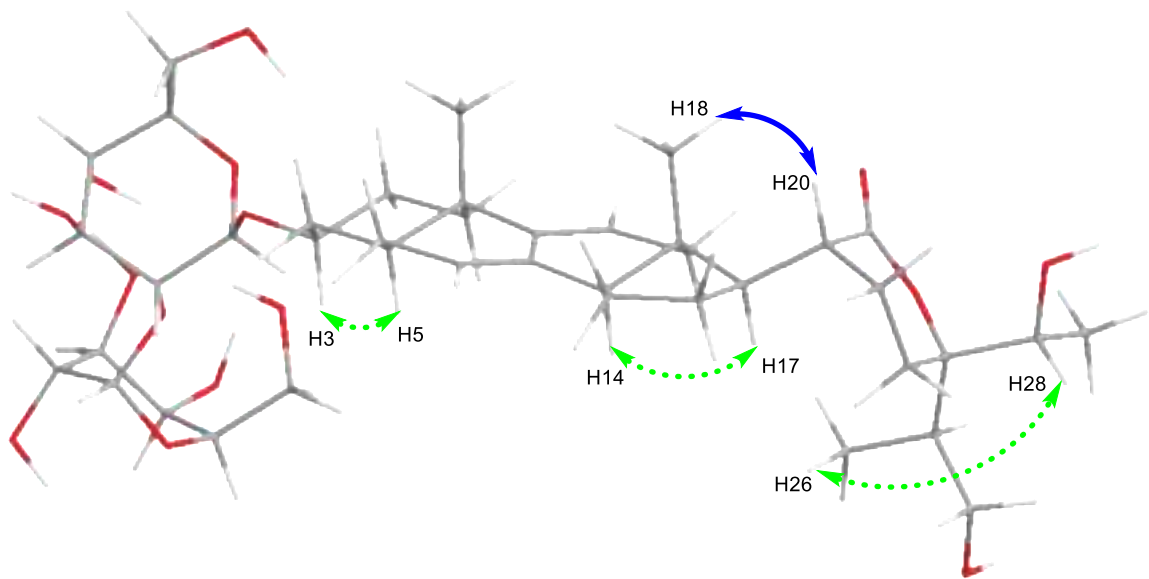
NMR cũng cho thấy sự tồn tại của nhóm carbonyl [δ_C 177,4 (C-21), bốn olefinic carbon [δ_C 121,7 (C-7); 137,2 (C-8); 145,4 (C-9); 119,4 (C-11)], hai nhóm methine liên kết với oxy tại [δ_C 79,9 (C-3); 71,1 (C-28) và bốn methyl carbon [δ_C 11,9 (C-18); 19,9 (C-19); 12,6 (C-26); 17,6 (C-29)] cho phần aglycone. 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-27 và C-24/C-25/C-26, và H-29 và C-24/C-28 (Hình 3.42). 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 hợp chất Vernocuminoside H [59], 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) [59], cho thấy sự tương đồng rất cao. Sự khác biệt chính là việc thay thế nhóm oxymethylene tại C-26 ở **VG1** bởi nhóm methyl ở **Ver I (VG1a)**. Điều này cũng được xác nhận bởi mối tương quan HMBC của H-26 với C-24, C-25, và C-26. Như vậy, cấu trúc phẳng của **VG1** đã được xác định (Hình 3.41).



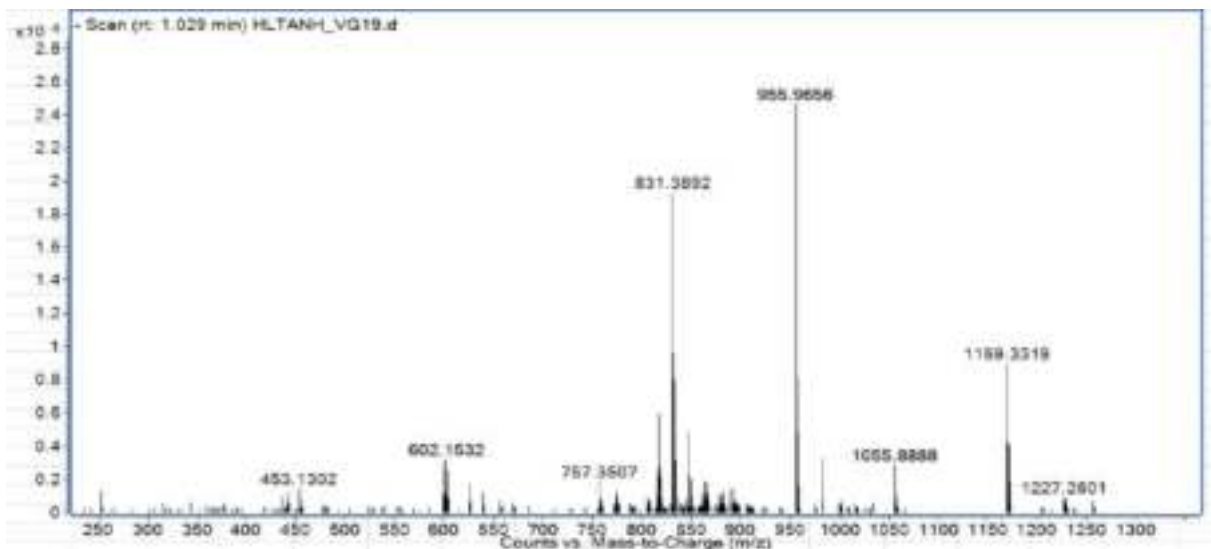
Hình 3. 42. Tương tác COSY và HMBC chính của **VG1**

Cấu hình tương đối của **VG1** được xác định bởi phổ NOESY (Hình 3.43). 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 3.43). Cấu hình tuyệt đối của C-24 được xác định dựa trên phổ ECD (Hình 3.51). Phân tích phổ ECD của **VG1** thấy sự xuất hiện hiệu ứng Cotton dương ở bước sóng 221nm (+2,82) và 243 nm (+10,78) đối lập với vernocuminoside H, một saponin mới được báo cáo từ chi *Vernonia* có cấu hình

24R, cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG1** là *S*. Do hợp chất **VG1** phân lập được với khối lượng nhỏ, cấu hình tuyệt đối tại vị trí C-25 và C-28 chưa xác định được. 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 **VG1**, 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 $[\alpha]_D^{25}$ của chúng với các phân tử đường chuẩn: β -D-glucose (R_f 0,40; $[\alpha]_D^{25} + 40$ (H₂O; c 0,05) and β -D-galactose (R_f 0,31, $[\alpha]_D^{25} + 52$ (H₂O; c 0,05). Kết quả là, chất **VG1** được xác nhận là một mới và được đặt tên là vernogratiside A (Hình 3.41).



Hình 3. 43. Tương tác NOESY của **VG1**

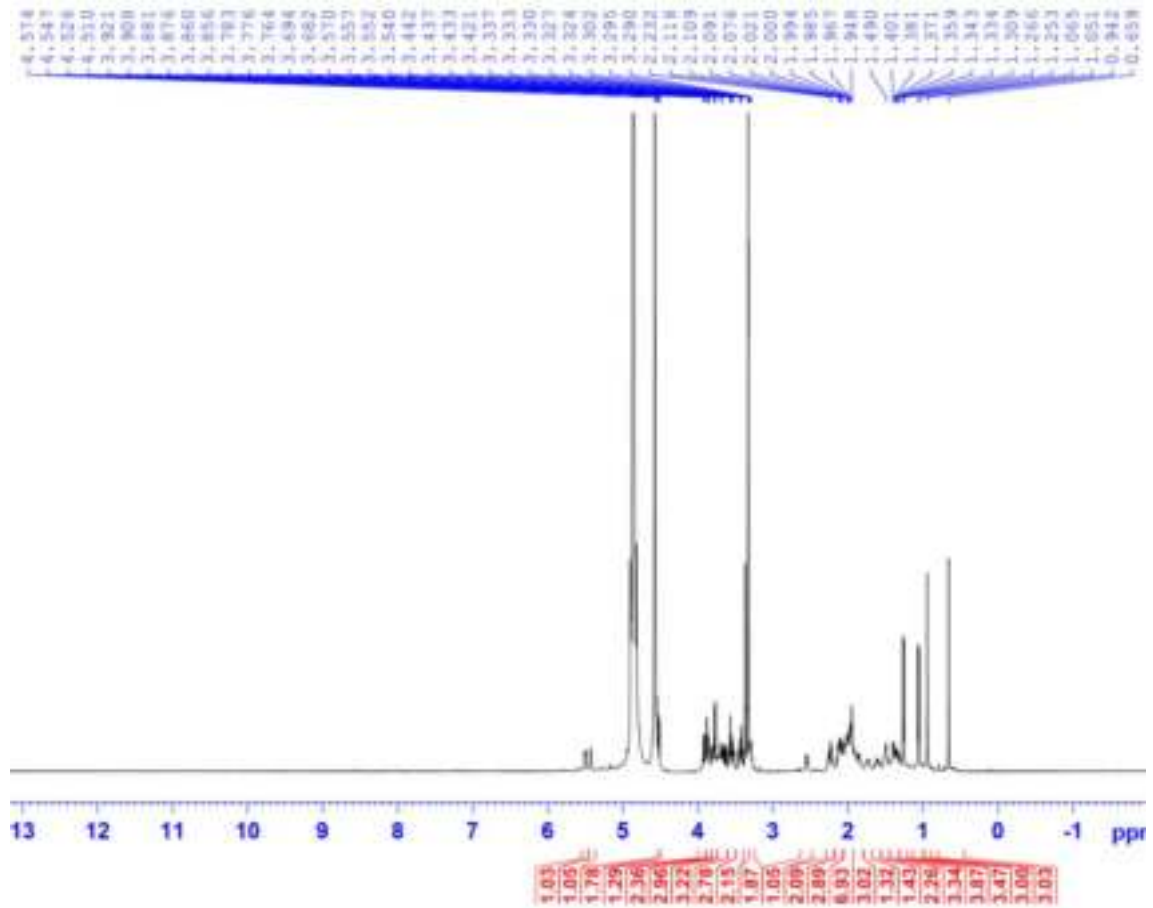


Hình 3. 44. Phổ HR-ESI-MS của **VG1**

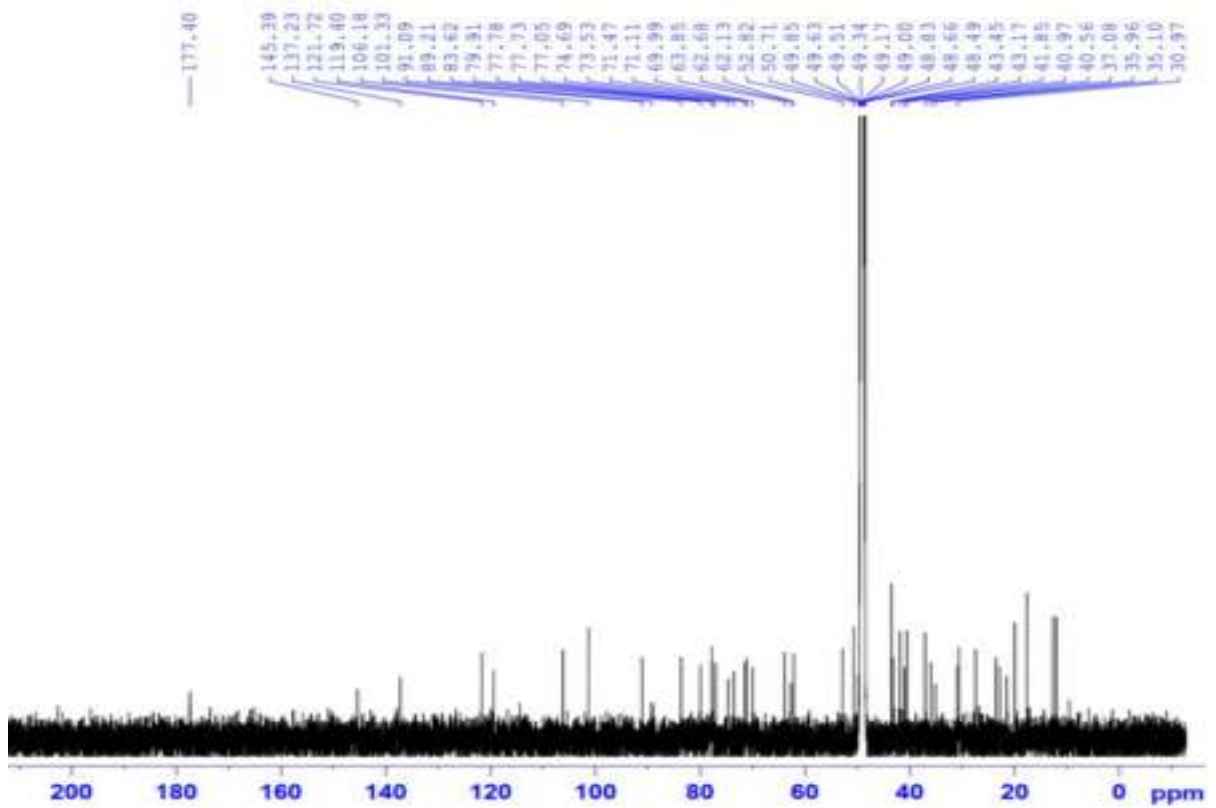
Bảng 3. 19. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG1**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36,0	1,33 (m)/ 2,00 (m)
2	30,6	30,6	1,61 (m)/ 2,02 (m)
3	79,9	79,9	3,72 (m)
4	35,1	35,1	1,40 (m)/ 1,90 (m)
5	40,6	40,6	1,39/ (m)
6	31,0	31,0	1,96/ (m)
7	121,6	121,7	5,43/ (br s)
8	137,3	137,2	
9	145,4	145,4	
10	37,1	37,1	
11	119,5	119,4	5,50 (d; 6,5)
12	41,2	41,0	1,96 (m)/ 2,23 (m)
13	43,6	43,2	
14	52,6	52,8	1,15 (m)
15	23,7	23,7	1,81 (m)/ 1,48 (m)
16	26,6	27,4	1,98 (m)/ 1,50 (m)
17	50,4	50,7	1,79 (m)
18	12,3	11,9	0,61 (s)
19	20,0	19,9	0,95 (s)
20	41,7	41,9	2,55 (m)
21	178,4	177,4	
22	23,7	27,4	1,14 (m)/ 1,55 (m)
23	23,0	23,5	1,60 (m)
24	91,1	91,1	
25	36,2	43,4	2,12 (m)
26	17,2	63,9	3,45 (m)/ 3,80 (m)
27	17,6	12,6	1,06 (s)
28	71,8	71,1	3,91 (m)
29	17,9	17,6	1,26 (d; 6,5)
1'	101,4	101,3	4,55 (d; 7,5)
2'	83,7	83,6	3,42 (m)
3'	77,7	77,7	3,29 (m)
4'	71,5	71,5	3,34 (m)
5'	77,7	77,8	3,60 (m)
6'	62,7	62,7	3,68 (m)/ 3,89 (m)
1''	106,2	106,2	4,51 (d; 8,0)
2''	73,5	73,5	3,64 (m)
3''	74,7	74,7	3,53 (m)
4''	70,0	70,0	3,89 (m)
5''	77,0	77,0	3,55 (m)
6''	62,1	62,1	3,77 (m)

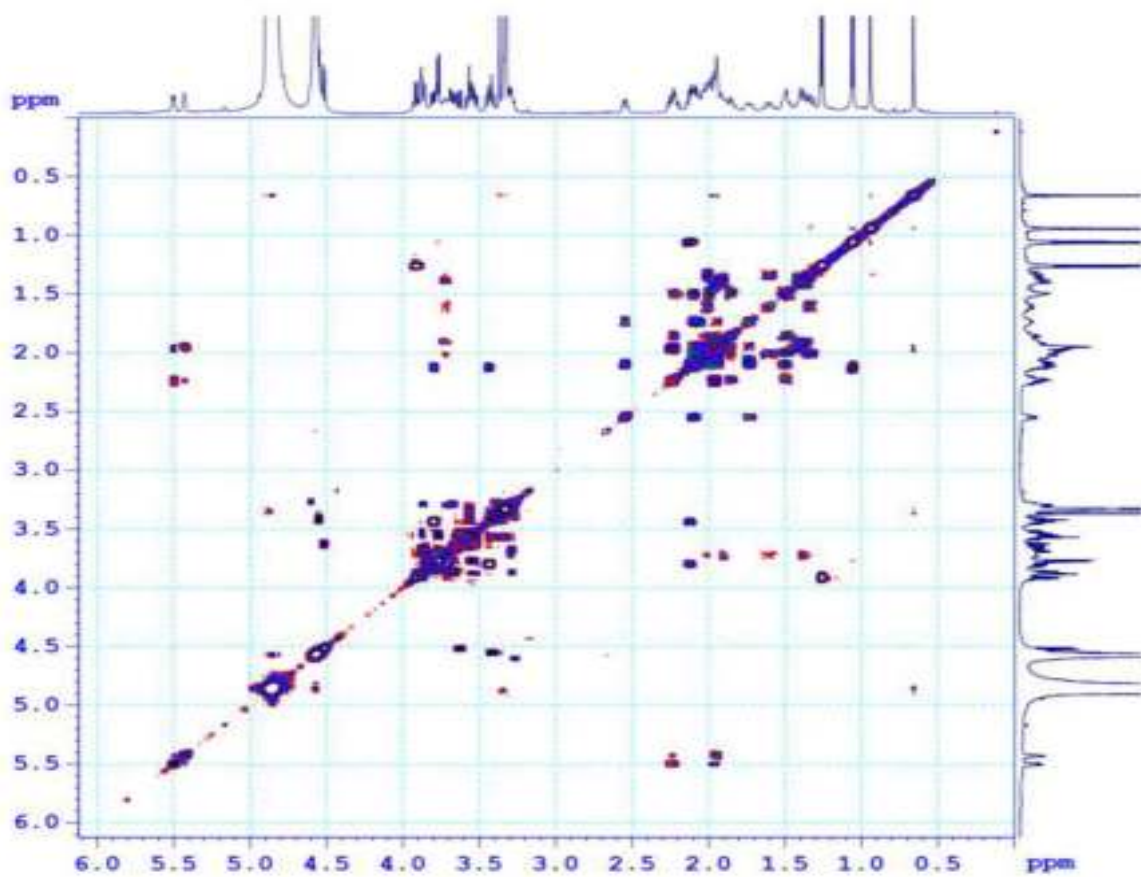
^a CD_3OD , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, # δ_{C} **VG1a**, *tín hiệu bị chồng lấp



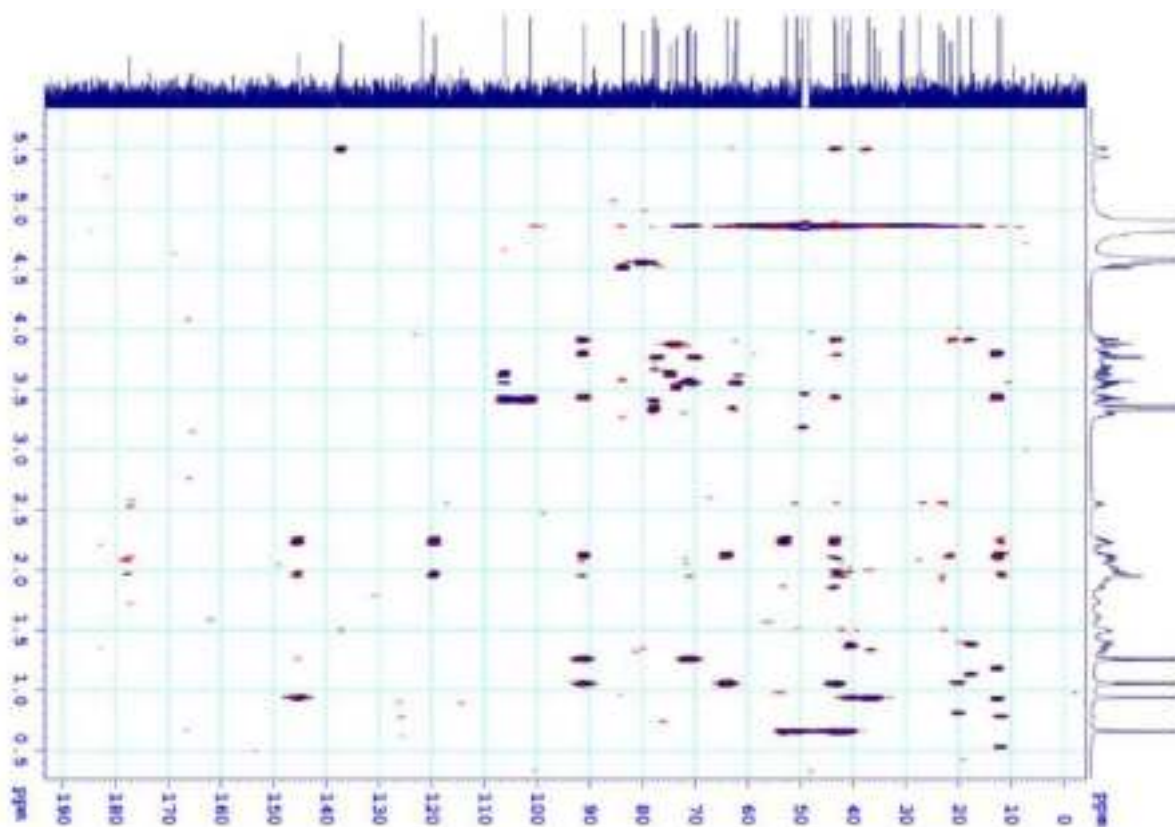
Hình 3. 45. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của VG1



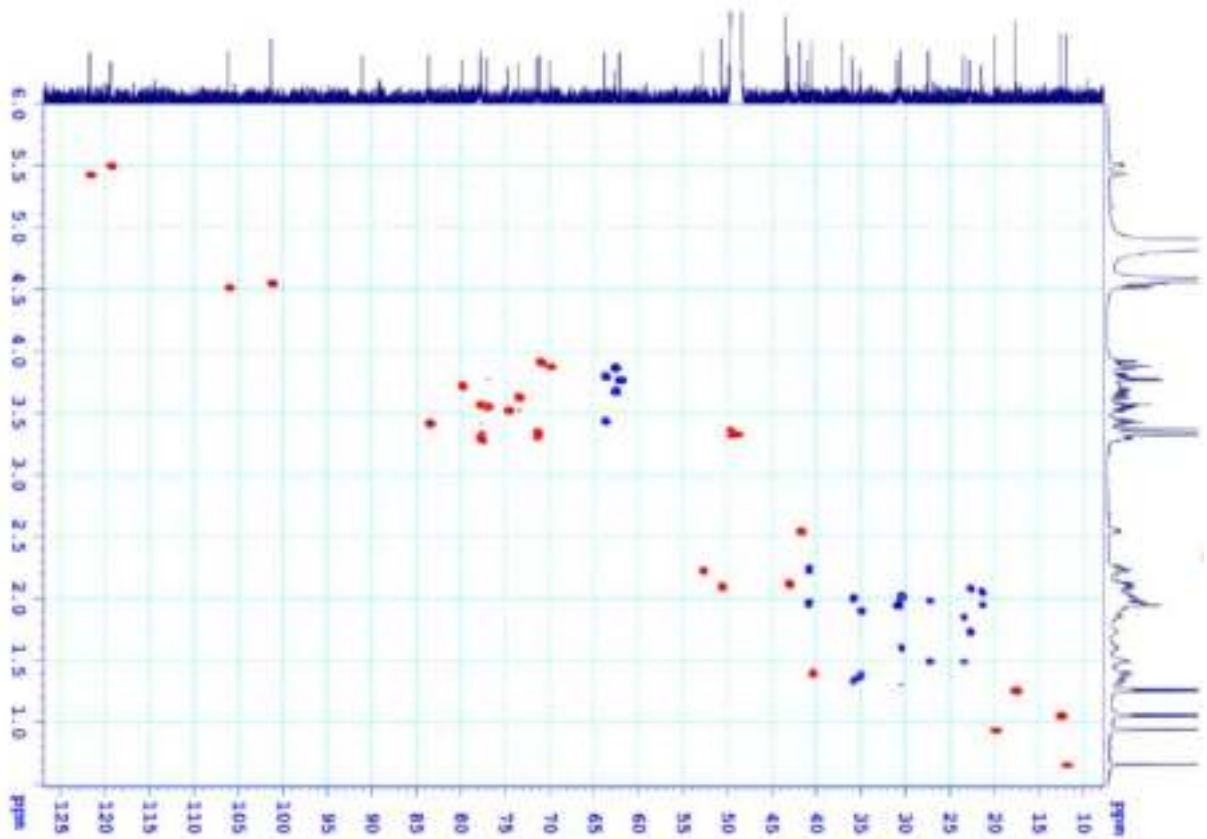
Hình 3. 46. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của VG1



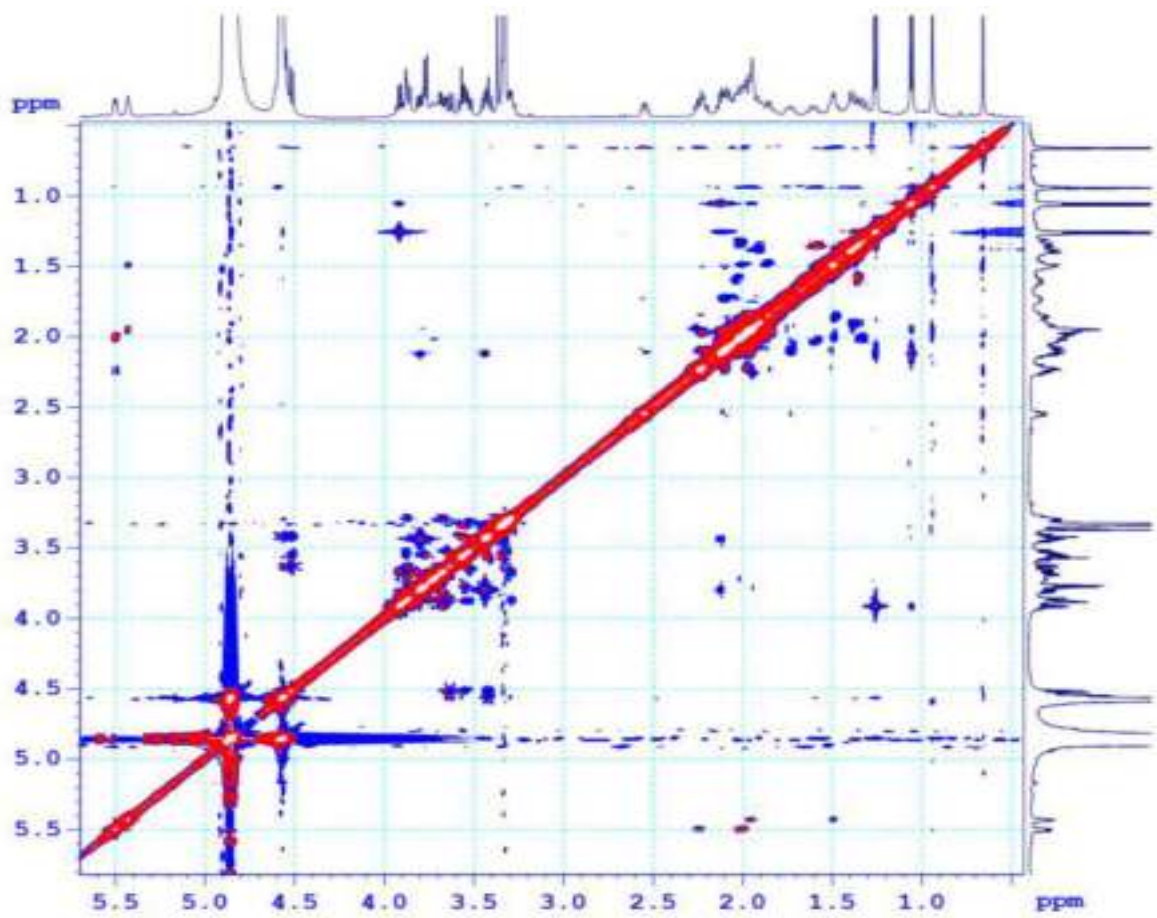
Hình 3. 47. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG1



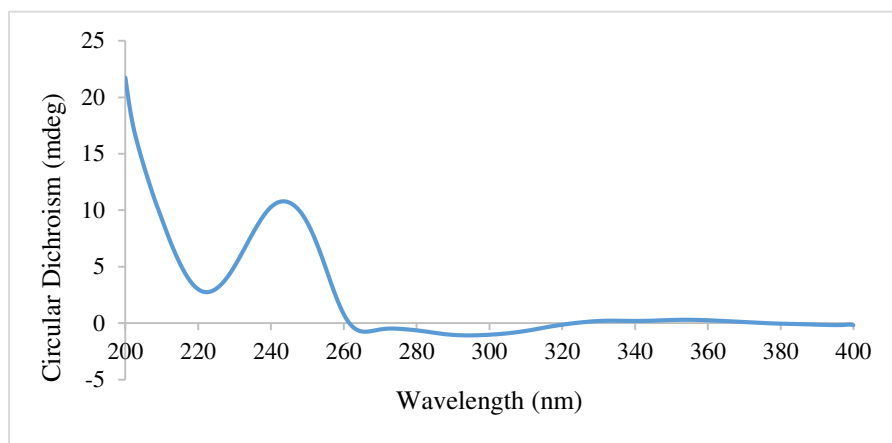
Hình 3. 48. Phổ HMBC của VG1



Hình 3. 49. Phổ HSQC của VG1

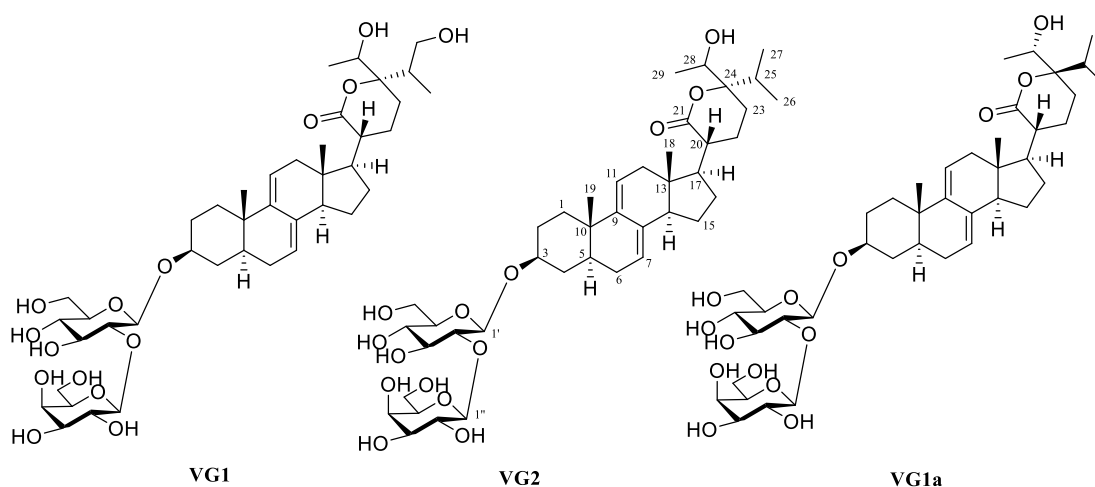


Hình 3. 50. Phổ NOESY của VG1



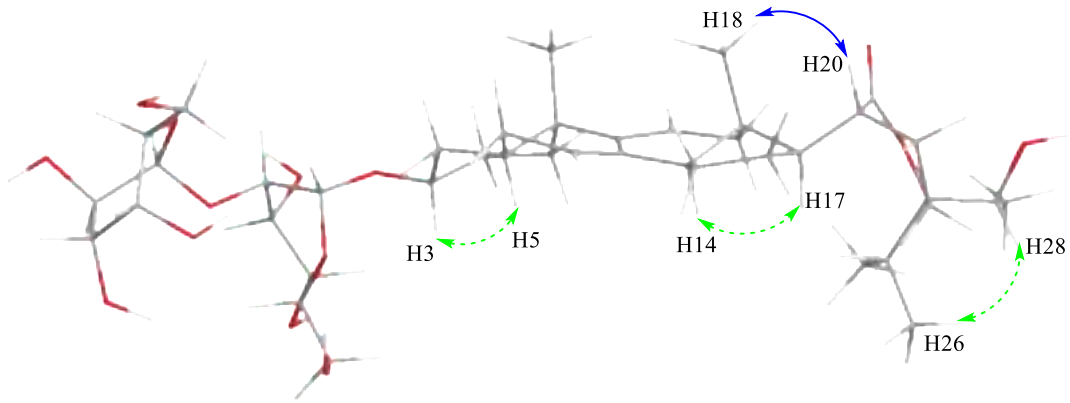
Hình 3. 51. Phổ CD thực nghiệm của **VG1**

3.2.1.2. Hợp chất **VG2**; *Vernogratoside B*

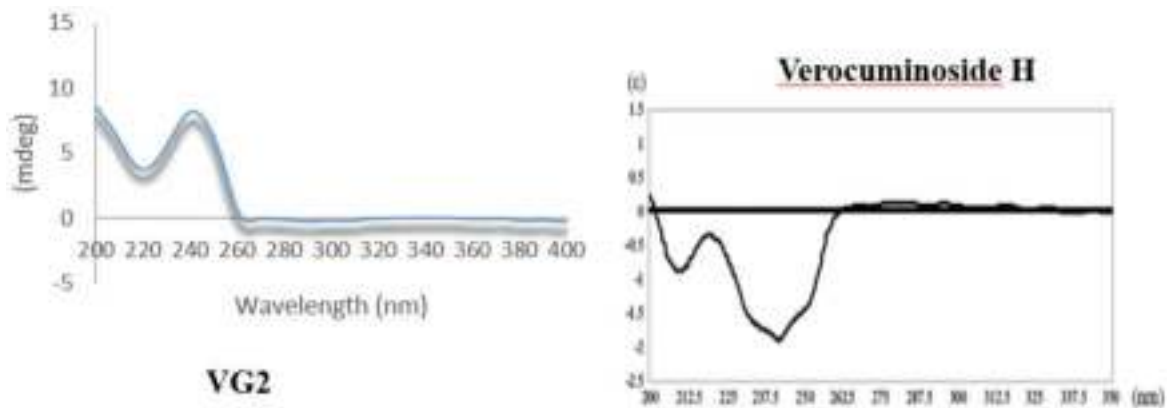


Hình 3. 52. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG2**; hợp chất **VG1** và hợp chất **VG1a**

Hợp chất **VG2** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu trắng, có công thức phân tử $C_{41}H_{64}O_{14}$ được xác định dựa trên phổ HR-ESI-MS với mảnh ion giả phân tử tại m/z 779,4212 $[M-H]^-$ (tính toán lý thuyết cho $C_{41}H_{63}O_{14}^-$, 779,4223). Dữ liệu phổ NMR của **VG2** (Bảng 3.20) chỉ ra cấu trúc phẳng tương tự hợp chất **VG1**, ngoại trừ việc thay thế nhóm oxymethylene ở vị trí C-27 của **VG1** bằng nhóm methyl trong **VG2**. Điều này được thể hiện ở sự thay đổi độ dịch chuyển hóa học của C-27 từ δ_C 63,9 (trong **VG1**) xuống δ_C 17,6 (trong **VG2**). Ngoài ra, dữ liệu NMR của **VG2** cũng tương đồng cao với hợp chất Ver I (**VG1a**) [59], khác biệt duy nhất là cấu hình tại vị trí C-24. Cấu hình tương đối của **VG2** được thiết lập từ các tương tác NOESY, giống như được mô tả ở **VG1**. Phổ ECD của **VG2** và **VG1** xuất hiện các hiệu ứng Cotton giống hệt nhau như trong (Hình 3.54) và đối lập với phổ ECD của Vernocuminoside H. Điều này cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG2** là 24*S*. Tương tự hợp chất **VG1**, cấu hình tuyệt đối của C-28 ở **VG2** cũng chưa xác định được. Như vậy, cấu trúc hóa học của **VG2** được xác định là một hợp chất mới như ở (Hình 3.52) và được đặt tên là Vernogratoside B.



Hình 3. 53. Tương tác NOESY chính của VG2



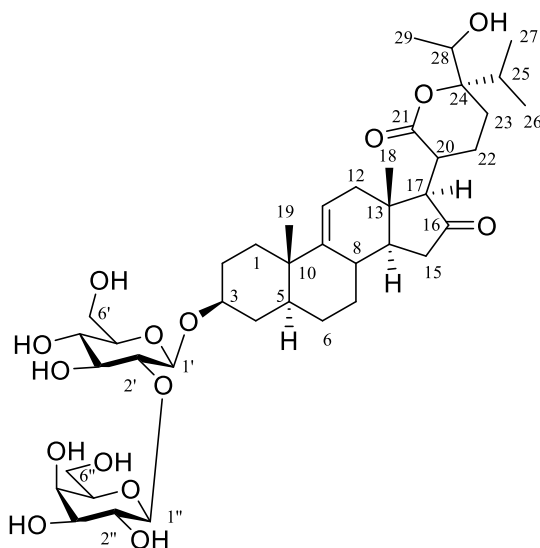
Hình 3. 54. Phổ CD của VG2 và Verocuminoside H

Bảng 3. 20. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG2 và hợp chất tham khảo

C	# δ^a_{C}	$\delta_{\text{C}}^{a,b}$	$\delta_{\text{H}}^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	# δ^a_{C}	$\delta_{\text{C}}^{a,b}$	$\delta_{\text{H}}^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36,0	1,36 (m)/ 2,00 (m)	178,4	178,4	-	
2	30,6	30,6	1,60 (m)/ 2,02 (m)	23,7	23,7	1,84 (m)/ 2,10 (m)	
3	79,9	80,0	3,72 (m)	23	23,0	23,0	1,85 (m)/ 2,05 (m)
4	35,1	35,1	1,39 (m)/ 1,90 (m)	24	91,1	91,1	-
5	40,6	40,6	1,40 (m)	25	36,2	36,2	1,85 (m)
6	31,0	31,0	1,95 (m)	26	17,2	17,2	1,00 (d; 7,0)
7	121,6	121,6	5,43 (s)	27	17,6	17,6	1,03 (d; 7,0)
8	137,3	137,3	-	28	71,8	71,8	3,95 (d; 6,5)
9	145,4	145,4	-	29	17,9	17,9	1,19 (d; 6,5)
10	37,1	37,1	-	1'	101,4	101,4	4,56 (d; 7,5)
11	119,5	119,5	5,52	2'	83,7	83,7	3,42 (dd; 9,0; 8,0)
12	41,2	41,2	2,02 (m)/ 2,24 (m)	3'	77,7	77,7	3,29 (m)
13	43,6	43,6	-	4'	71,5	71,5	3,34 (m)
14	52,6	52,6	2,23 (m)	5'	77,7	77,7	3,58 (m)
15	23,7	23,7	1,14 (m)/ 1,64 (m)	6'	62,7	62,7	3,68 (dd; 12,0; 5,5)
16	26,6	26,6	1,52 (m)/ 1,92 (m)	1''	106,2	106,2	4,51 (d; 8,0)
17	50,4	50,5	2,19 (m)	2''	73,5	73,5	3,64 (m)
18	12,3	12,3	0,63 (s)	3''	74,7	74,7	3,53 (m)
19	20,0	20,0	0,94 (s)	4''	70,0	70,0	3,88 (m)
20	41,7	41,8	2,57 (m)	5''	77,0	77,0	3,56 (m)
				6''	62,1	62,1	3,77 (m)

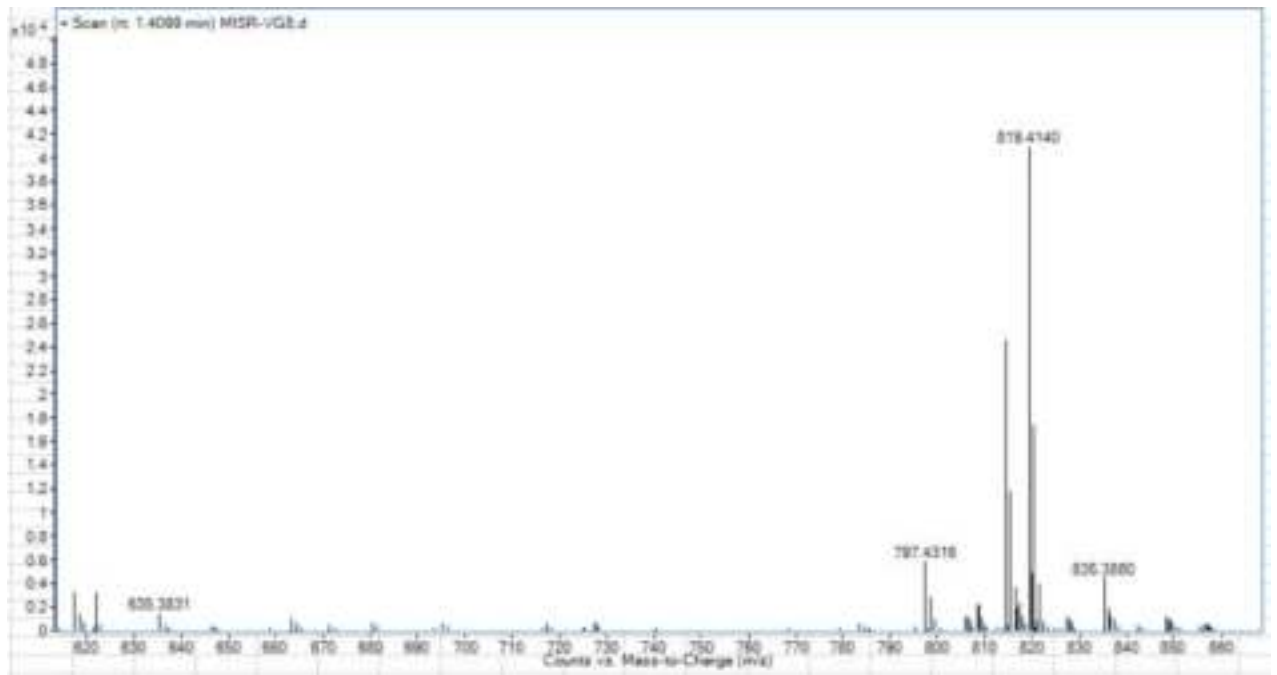
^a CD_3OD , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] δ_{C} chất tham khảo * tín hiệu bị chồng lấp

3.2.1.3. Hợp chất VG3; Vernogratiocide C

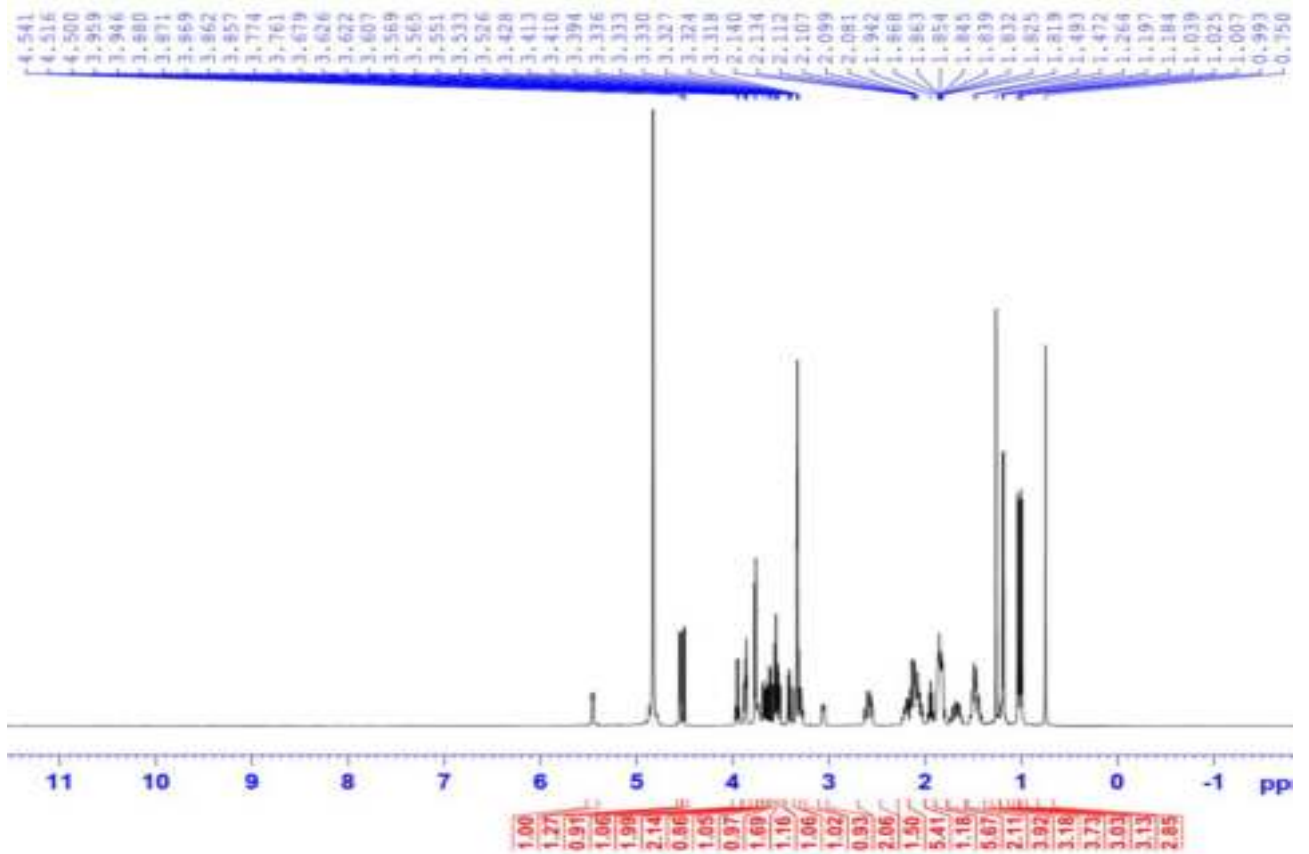


Hình 3. 55. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG3**

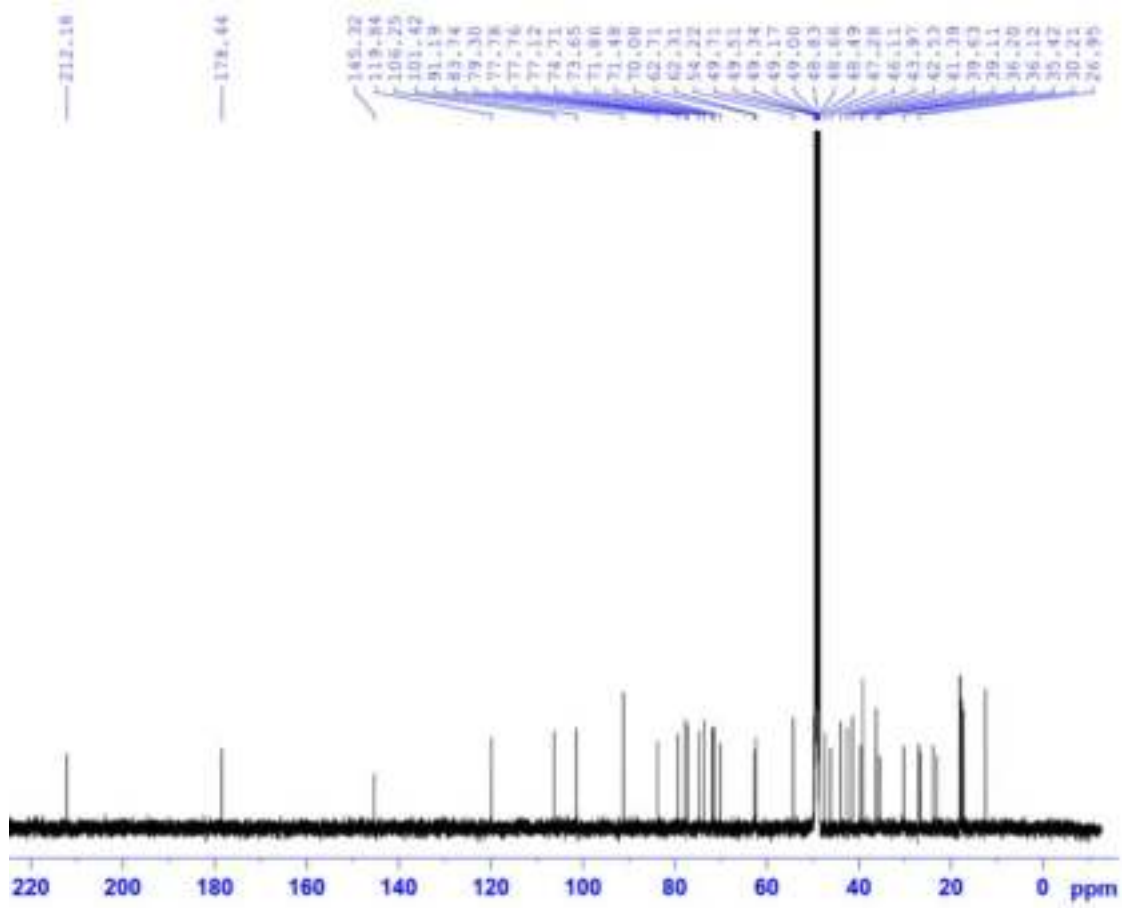
Hợp chất **VG3** phân lập được dưới dạng bột, có công thức phân tử $C_{41}H_{64}O_{15}$ được xác định dựa trên peak ion giả phân tử ở m/z : 797,4316 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho $C_{41}H_{65}O_{15}^+$ 797,4318) ở phổ HR-ESI-MS. So sánh của dữ liệu 1H và ^{13}C -NMR (Bảng 3.21) của **VG3** với dữ liệu của **VG2** chỉ ra sự giống nhau trong cấu trúc của hai hợp chất. Tuy nhiên, sự khác biệt ở **VG3** là sự vắng mặt của hai tín hiệu carbon olefinic ở C-7 và C-8. Điều này được chứng minh bằng sự thay đổi dịch chuyển hóa học đến vùng trường cao của C-7 (δ_C 26,6) và C-8 (δ_C 54,2) so với δ_C 121,6 và 137,3 trong **VG2**. Ngoài ra, so sánh dữ liệu phổ của hai hợp chất **VG3** và **VG2** cho thấy sự xuất hiện của một nhóm keton (δ_C 212,2) tại vị trí C-16 ở **VG3** thay thế cho nhóm methylene (δ_C 26,6) ở **VG2**. Điều này đã được xác định bởi tương tác HMBC của H-14 (δ_H 2,12)/H-15 (δ_H 2,11; 2,60) và C-16 (δ_C 212,2). Cấu hình tuyệt đối của **VG3** được xác định dựa trên phổ NOESY và ECD tương tự hợp chất (**VG1** và **VG2**). Từ đó, cấu trúc của **VG3** được xác định là hợp chất mới với cấu trúc như được biểu diễn trong (Hình 3.55) và được đặt tên là Vernogratiocide C.



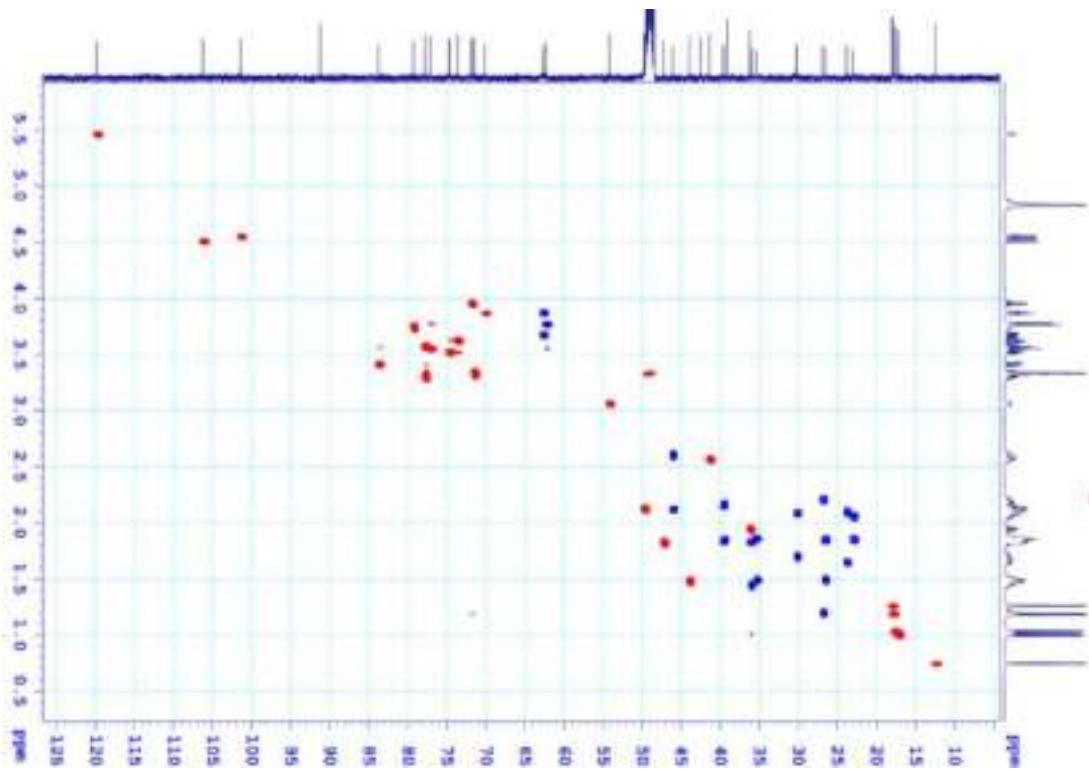
Hình 3. 56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **VG3**



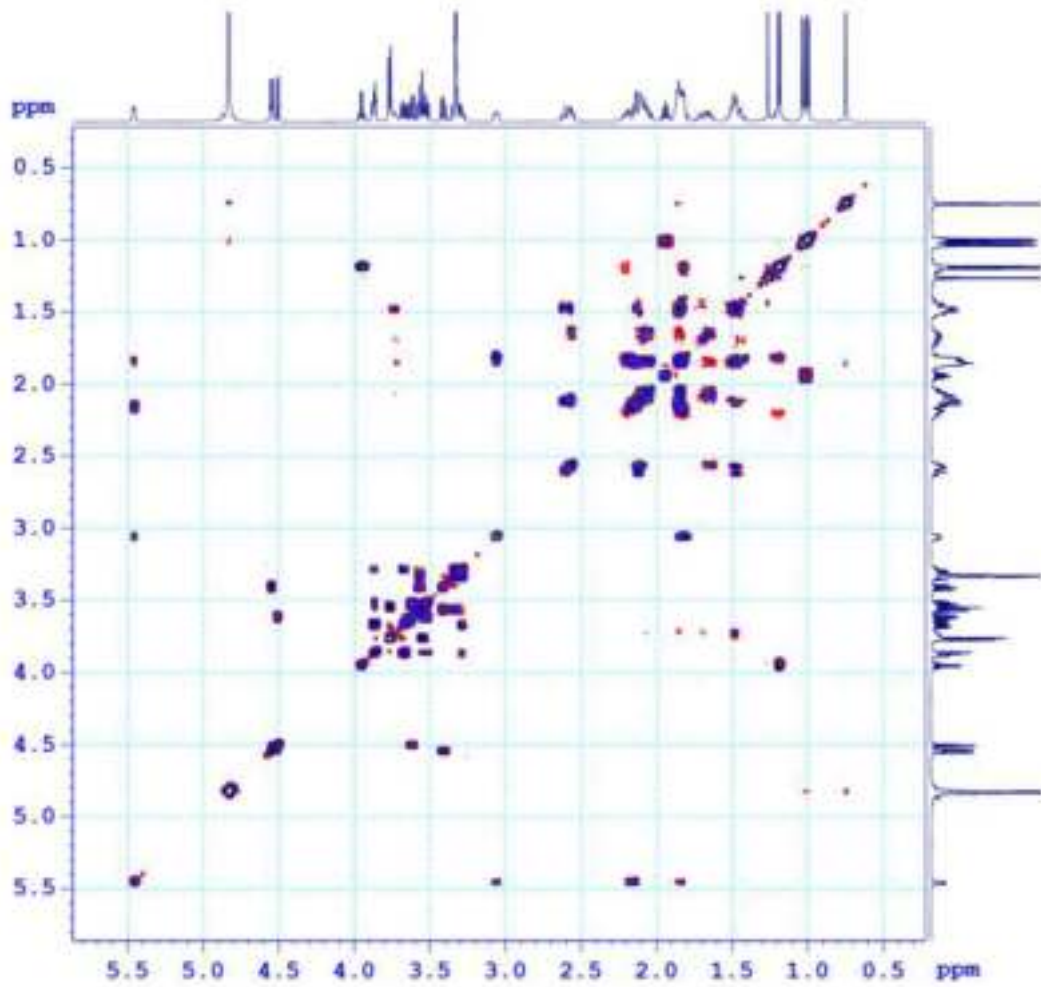
Hình 3. 57. Phổ ¹H-NMR của **VG3**



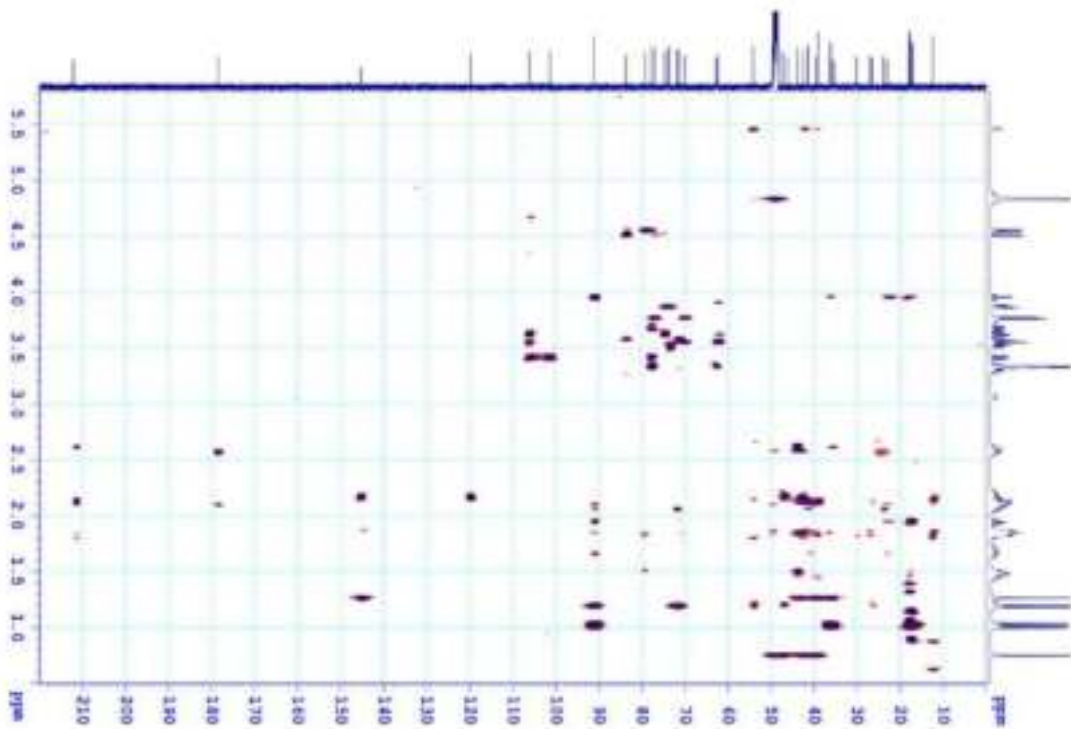
Hình 3. 58. Phổ ^{13}C -NMR của VG3



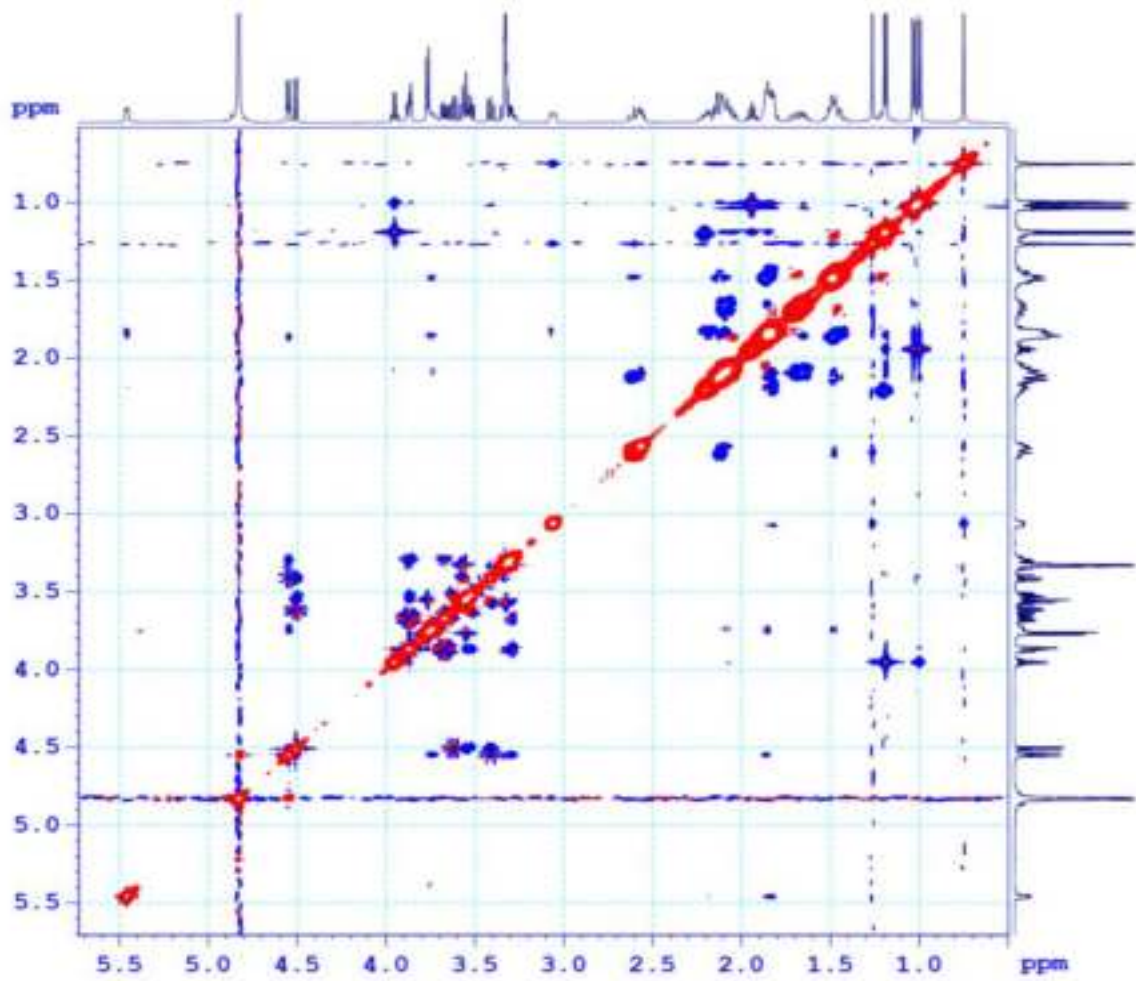
Hình 3. 59. Phổ HSQC của VG3



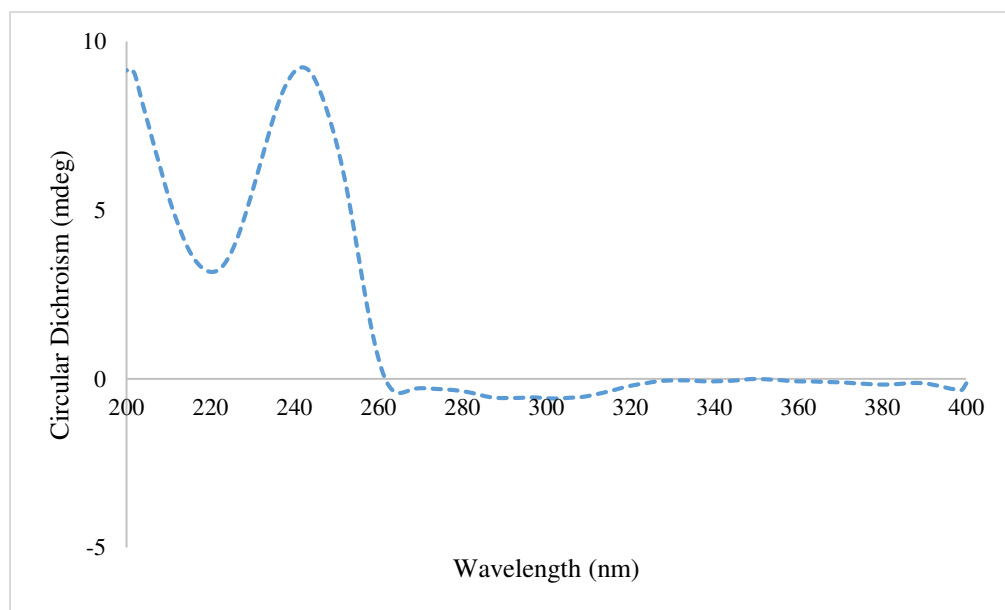
Hình 3. 60. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG3



Hình 3. 61. Phổ HMBC của VG3



Hình 3. 62. Phổ NOESY của VG3



Hình 3. 63. Phổ ECD của VG3

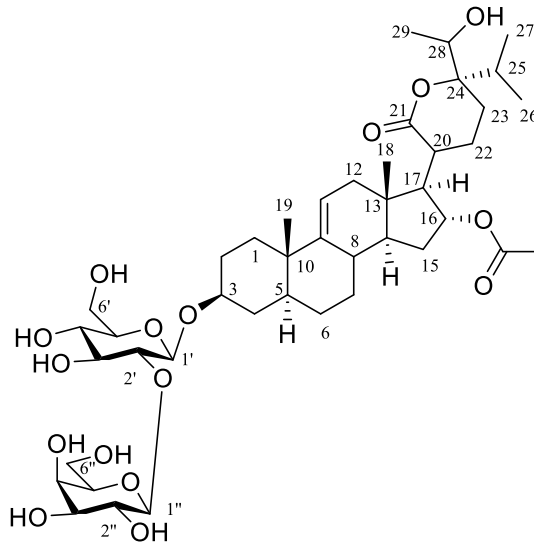
Bảng 3. 21. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG3**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ -VG2	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ -VG3	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36,0	35,4	1,48 (m)/ 1,85 (m)
2	30,6	30,6	30,2	1,70 (m)/ 2,09 (m)
3	79,9	80,0	79,3	3,73 (m)
4	35,1	35,1	36,1	1,43 (m)/ 1,82 (m)
5	40,6	40,6	44,0	1,48 (m)
6	31,0	31,0	27,0	1,21 (m)/ 2,02 (m)
7	121,6	121,6	26,6	1,49 (m)/ 1,84 (m)
8	137,3	137,3	54,2	3,06 (d; 10,0)
9	145,4	145,4	145,3	
10	37,1	37,1	39,1	
11	119,5	119,5	119,8	5,46 (m)
12	41,2	41,2	39,6	1,84 (m)/ 2,17 (m)
13	43,6	43,6	42,5	
14	52,6	52,6	49,7	2,12 (m)
15	23,7	23,7	46,1	2,11 (m)/ 2,60 (m)
16	26,6	26,6	212,2	
17	50,4	50,5	47,1	1,82 (m)
18	12,3	12,3	12,5	0,75 (s)
19	20,0	20,0	18,0	1,26 (s)
20	41,7	41,8	41,1	2,57 (m)
21	178,4	178,4	178,4	
22	23,7	23,7	23,9	1,65 (m)/ 2,10 (m)
23	23,0	23,0	23,0	1,85 (m)/ 2,04 (m)
24	91,1	91,1	91,2	
25	36,2	36,2	36,2	1,94 (m)
26	17,2	17,2	17,2	1,00 (d; 7,0)
27	17,6	17,6	17,6	1,03 (d; 7,0)
28	71,8	71,8	71,9	3,95 (d; 6,5)
29	17,9	17,9	17,9	1,19 (d; 6,5)
1'	101,4	101,4	101,4	4,55 (d; 7,5)
2'	83,7	83,7	83,7	3,41 (dd; 9,0; 7,5)
3'	77,7	77,7	77,8	3,29 (m)
4'	71,5	71,5	71,5	3,32 (m)
5'	77,7	77,7	77,9	3,58 (m)
6'	62,7	62,7	62,7	3,67 (dd; 12,0; 5,5)
1''	106,2	106,2	106,3	4,51 (d; 8,0)
2''	73,5	73,5	73,7	3,62 (dd; 9,5; 8,0)
3''	74,7	74,7	74,7	3,52 (dd; 9,0; 8,0)
4''	70,0	70,0	70,1	3,87 (m)
5''	77,0	77,0	77,1	3,55 (m)
6''	62,1	62,1	62,3	3,77 (d; 6,5)

^a CD₃OD, ^b125 MHz, ^a500 MHz, # δ_{C} Vernocuminoside I đo trong CDCl₃,

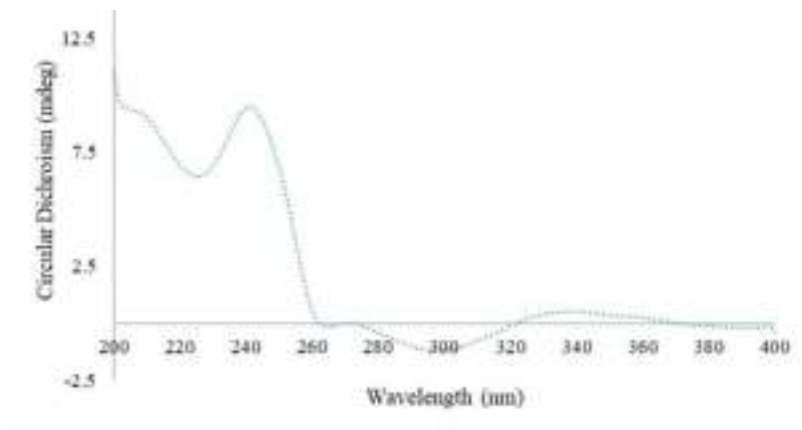
* tín hiệu bị chồng lấp

3.2.1.4. Hợp chất VG4; Vernogratioides R



Hình 3. 64. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG4**

Hợp chất **VG4** phân lập được có dạng chất rắn, màu trắng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **VG4** xuất hiện picion phân tử chloro hóa tại m/z 873,4033 $[M+Cl]^-$ tính toán lí thuyết cho công thức phân tử ($C_{43}H_{66}O_{16}Cl$: 873,4039). Từ đó cho phép xác định công thức phân tử $C_{43}H_{66}O_{16}$. Phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR (Bảng 3.22) của **VG4** và **VG2** cho thấy sự giống nhau về độ chuyển dịch hóa học, ngoại trừ **VG4** xuất hiện thêm một tín hiệu của một nhóm acetyl ($OCOCH_3$) tại vị trí C-16 thay cho nhóm methylene trong **VG2** đã biết ở trên. Điều này được chứng minh bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-16 từ δ_C 26,6 ở **VG2** đến δ_C 77,5 trong **VG4**. Bên cạnh đó, dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của **VG4** cũng tương đồng cao với hợp chất Vernocuminoside K [59], từ đó có thể xác định được cấu trúc phẳng của **VG4** tương tự như Vernocuminoside K đã được công bố trước đây. Dữ liệu phổ ECD của **VG4** và **VG2** xuất hiện các hiệu ứng Cotton giống hệt nhau như (Hình 3.67), cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG4** là 24*S*. Như vậy, cấu trúc hóa học của **VG4** được xác định là một hợp chất mới như ở (Hình 3.64) và được đặt tên vernogratioides R.

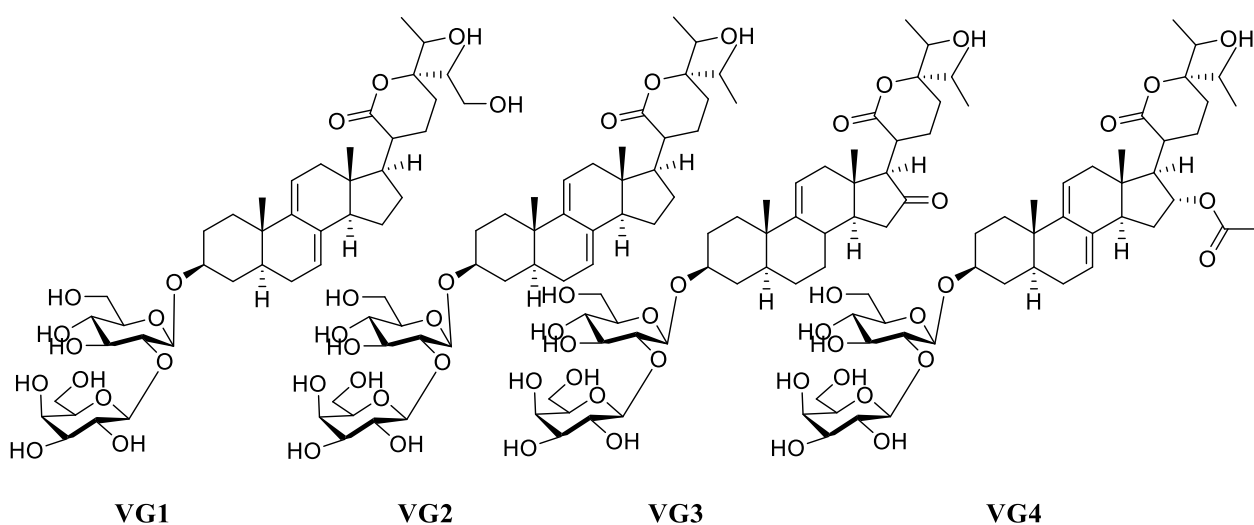


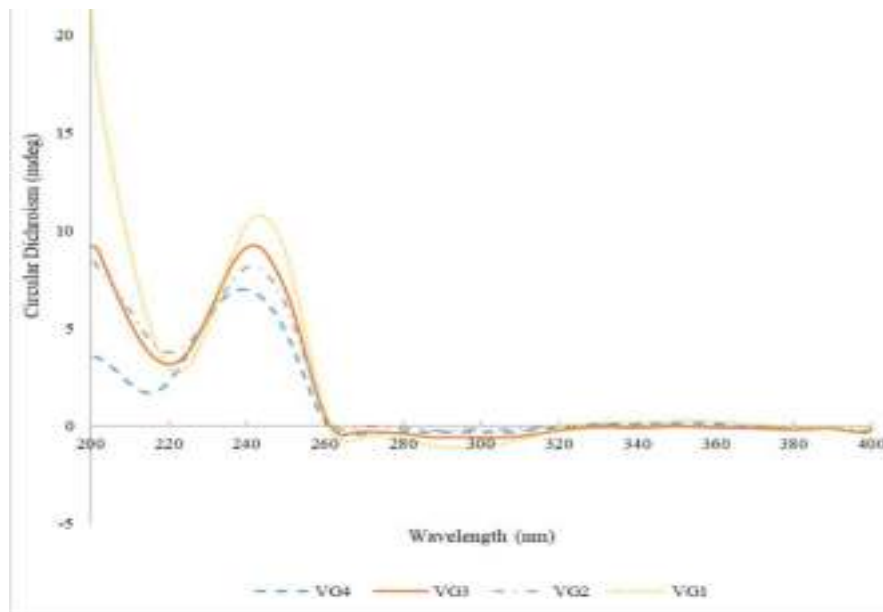
Hình 3. 65. Phổ CD của **VG4**

Bảng 3. 22. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG4**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$^{\text{a,c}}\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$^{\text{a,c}}\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	34,9	35,9	1,36 (m)/ 2,00 (m)	22	23,5	23,9	1,85 (m)/ 1,96 (m)
2	30,1	30,5	1,60, (m)/ 2,02 (m)	23	24,3	25,2	1,84 (m)/ 2,13 (m)
3	78,4	79,8	3,73 (m)	24	89,1	90,7	-
4	34,5	35,1	1,40 (m)/ 1,90 (m)	25	36,1	37,2	1,87 (m)
5	39,3	40,5	1,42 (m)	26	16,7	16,8	1,01 (d; 7,0)
6	30,1	30,9	1,21 (m)/ 1,95 (m)	27	17,4	17,5	1,04 (d; 6,5)
7	121,5	122,2	5,43 (br s)	28	70,5	71,8	3,95 (q; 6,5)
8	135,7	136,1	-	29	18,3	17,8	1,15 (d; 6,5)
9	144,3	145,4	-	1'	101,3	101,3	4,56 (d; 7,5)
10	36,1	37,1	-	2'	85,1	83,6	3,42 (t; 8,5)
11	118,1	119,0	5,56 (br s)	3'	77,9	77,7	3,30 (m)
12	40,5	41,2	2,17 (m)	4'	71,4	71,5	3,34 (m)
13	43,4	44,3	-	5'	78,2	77,8	3,57 (m)
14	49,0	49,9	2,52 (m)	6'	62,6	62,7	3,67 (m)
15	33,0	33,4	1,81 (m)	1''	107,4	106,2	4,52 (d; 8,0)
16	76,8	77,5	5,28 (t; 7,5)	2''	74,6	73,5	3,63 (m)
17	56,0	56,7	2,62 (m)	3''	75,0	74,7	3,52 (m)
18	13,5	13,9	0,60 (s)	4''	69,9	70,0	3,86 (m)
19	19,6	20,0	0,94 (s)	5''	77,2	77,0	3,55 (m)
20	39,6	40,2	2,65 (m)	6''	61,9	62,1	3,77 m
21	175,3	178,3	-	CH ₃ COO	170,6	172,6	-
				CH ₃ COO	21,2	21,2	2,00 (s)

^aCD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_{C} vernocuminoside K đo trong pyridine - *ds*

**Hình 3. 66.** Cấu trúc hóa học của các hợp chất **VG1-VG4**



Hình 3. 67. Phổ so sánh phổ ECD của (VG1-VG4)

3.2.1.5. Hợp chất VG5; Vernogratioid S

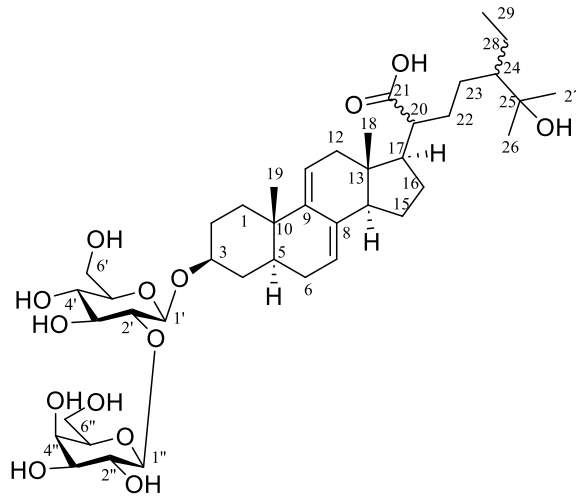
Hợp chất **VG5** thu được dưới dạng bột màu trắng có công thức phân tử $C_{41}H_{66}O_{14}$, được xác định từ phổ khối HR-ESI-MS pic ion phân tử chloro hóa tại m/z $[M+Cl]^-$ 817,4067 (tính toán lý thuyết cho $C_{41}H_{66}ClO_{14}^-$). Dữ liệu 1H và ^{13}C -NMR (Bảng 3.23) của **VG5** cho thấy cấu trúc của hợp chất **VG5** thuộc khung stigmane steroid với hai nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7,9(11)}$ và hai phân tử đường. Phân tích phổ 1H -NMR của hợp chất **VG5** cho thấy tín hiệu của hai proton olefinic [δ_H 5,42 (1H, br s, H-7); 5,49 (1H, br s, H-11)], hai nhóm methyl bậc 4 tại [δ_H 0,60 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19)] và hai proton anomeric [δ_H 4,55 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'); 4,51 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''). Hai đường này được xác định là đơn vị β -D-glucopyranosyl và β -D-galactopyranosyl thông qua hằng số ghép lớn ($J = 7,5$ Hz giữa H-1' và H-2', $J = 7,5$ Hz giữa H-1'' và H-2'') kết hợp với phản ứng thủy phân. Sau khi thủy phân, monosacarit được tinh chế bằng TLC điều chế (EtOAc–isopropanol–acetone–H₂O: 20–10–7–6), sau đó so sánh với giá trị R_f và $[\alpha]_D^{25}$ của chúng với các mẫu chuẩn: : β -D-glucose (R_f 0,40; $[\alpha]_D^{25} + 40$ (H₂O; c 0,5) and β -D-galactose (R_f 0,31; $[\alpha]_D^{25} + 52$ (H₂O; c 0,5). Ngoài ra, ba nhóm methyl [δ_H 1,16 (1H, s, H-26); 1,17 (1H, s, H-27); 0,99 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, H-29)] của mạch nhánh cũng được quan sát thấy ở phổ 1H -NMR. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu của 41 carbon, bao gồm 29 tín hiệu của aglycone và 12 tín hiệu của hai đơn vị đường. Cấu trúc phẳng của **VG5** được xác định bởi phổ HMBC (Hình 3.69). Sự có mặt của bốn vòng A-D được xác định như đã đề cập trong **VG1**. Mạch nhánh của **VG5** được chứng minh bằng tương tác HMBC giữa H-26/H-27 và C-24/C-25, giữa H-29 và C-24/C-28, và giữa H-24 và C-22/C-23. Bên cạnh đó, tương tác HMBC từ H-17 đến C-20 chỉ ra vị trí của mạch nhánh này tại C-17 (Hình 3.69). Cấu hình tuyệt đối của C-20 và C-24 trong **VG5** vẫn chưa

được xác định do hợp chất này phân lập được với khối lượng nhỏ. Từ các dữ liệu phân tích trên cho thấy **VG5** là một hợp chất mới và được đặt tên là Vernogratoside S (Hình 3.68).

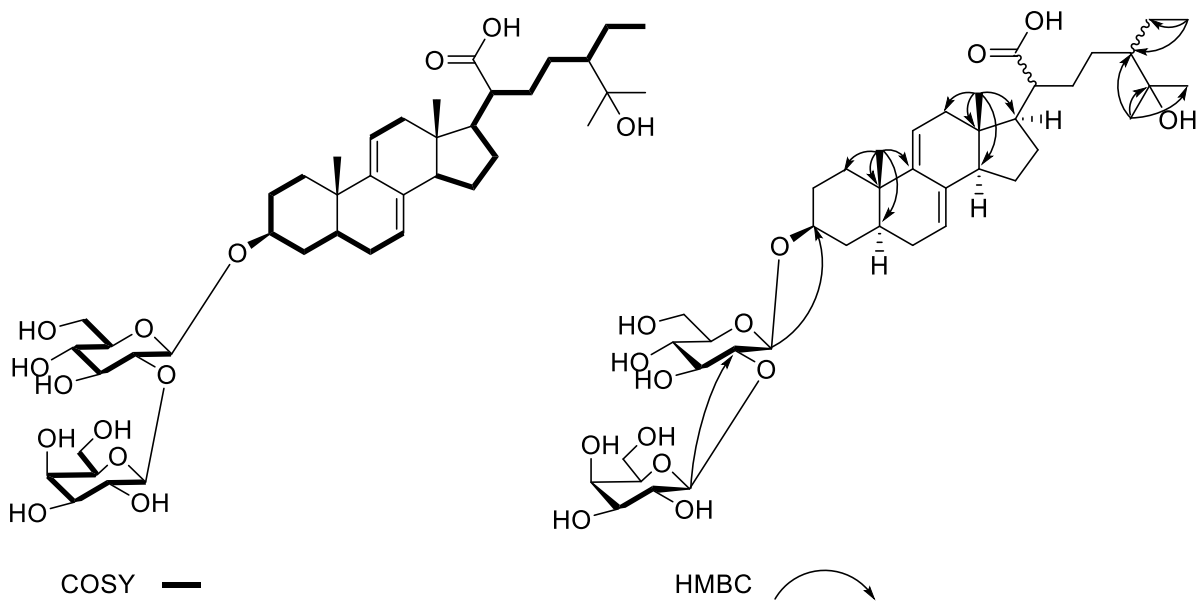
Bảng 3. 23. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG5**

C	# δ_{C} ^{a,b}	δ_{C} ^{a,b}	δ_{H} ^{a,c} (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36,0	1,34 (m)
2	30,6	30,6	1,61 (m)/ 2,01 (m)
3	79,9	79,9	3,73 (m)
4	35,1	35,1	1,39 (m)/ 1,92 (m)
5	40,6	40,5	1,40 (m)
6	31,0	31,0	1,34 (m)/ 1,98 (m)
7	121,6	121,7	5,43 (br s)
8	137,3	137,3	
9	145,4	145,3	
10	37,1	37,1	
11	119,5	119,4	5,49 (d; 5,0)
12	41,2	41,1	2,16* (m)
13	43,6	43,2	
14	52,6	52,5	2,12 (m)
15	23,7	33,3	1,63 (m)
16	26,6	28,6	2,07 (m)/ 1,40 (m)
17	50,5	53,9	1,82 (m)
18	12,3	11,6	0,60 (s)
19	20,0	19,9	0,94 (s)
20	41,8	50,1	2,24 (m)
21	178,4	178,5	
22	23,7	23,8	1,84* (m)/ 1,45 (m)
23	23,0	29,6	1,16 (m)
24	91,1	52,8	1,16 (m)
25	36,2	74,7	
26	17,2	27,3	1,16 (s)
27	17,6	27,1	1,17 (s)
28	71,8	24,7	1,63 (m)
29	17,9	14,3	0,99 (t; 7,2)
1'	101,4	101,4	4,55 (d; 7,5)
2'	83,7	83,7	3,41 (dd; 8,5; 7,5)
3'	77,7	77,8	3,30 (m)
4'	71,5	71,5	3,36 (m)
5'	77,7	77,7	3,57 (t; 8,5)
6'	62,7	62,7	3,67 (dd; 12,0; 5,5)
			3,86 (dd; 12,0; 2,5)
1''	106,2	106,2	4,51 (d; 7,5)
2''	73,5	73,5	3,63 (dd; 10,0; 8,0)
3''	74,7	74,5	3,52 (dd; 10,0; 3,0)
4''	70,0	70,0	3,88 (m)
5''	77,0	77,1	3,53 (m)
6''	62,1	62,1	3,76 (d; 6,0)

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

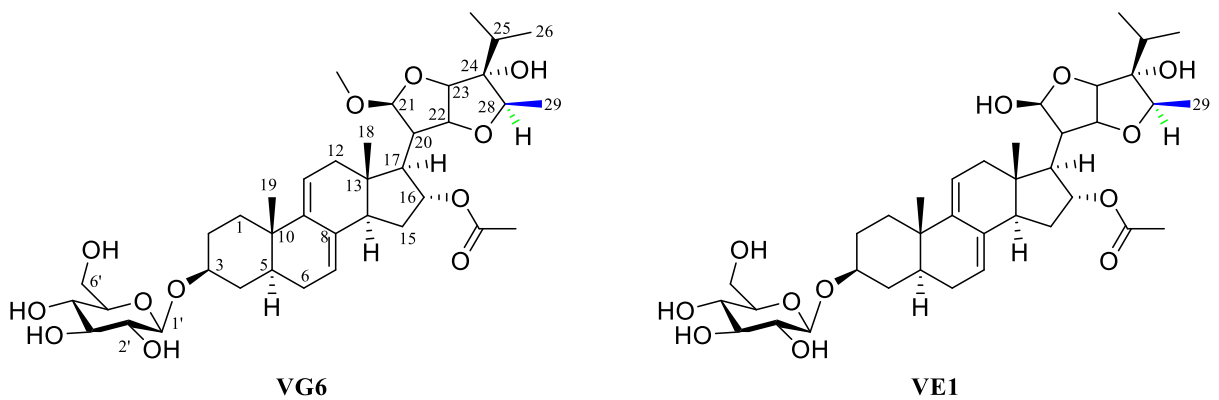


Hình 3. 68. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG5**



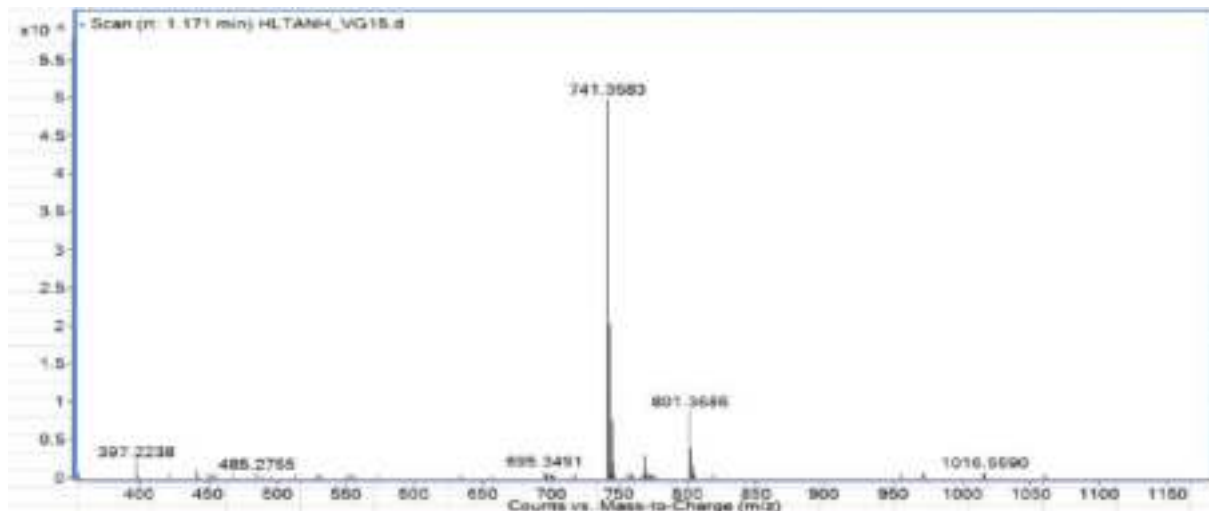
Hình 3. 69. Tương tác HMBC của **VG5**

3.2.1.6. Hợp chất **VG6**; Vernoratoside A



Hình 3. 70. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG6** và hợp chất **VE1**

Hợp chất **VG6** thu được dưới dạng rắn màu trắng. Công thức phân tử $C_{38}H_{58}O_{12}$ của **VG6** được xác định bằng phổ HR-ESI-MS với pic ion phân tử chloro hóa ở m/z 741,3583 $[M + Cl]^-$ (tính toán cho $C_{38}H_{58}ClO_{12}^-$, 741,3617) (Hình 3.71).



Hình 3. 71. Phổ HR-ESI-MS của **VG6**

Phổ 1D-NMR (Bảng 3.24) của **VG6** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho khung saponin steroid với tín hiệu của hai nhóm *tert*-methyl ở δ_H 0,65 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19), ba nhóm methhyl doublet ở δ_H 0,97 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-26); 1,03 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27) và 1,18 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-29), một nhóm methoxy ở δ_H 3,48 (3H, s, 21-OCH₃), một nhóm acetyl ở δ_H 2,00 (3H, s) và hai olefinic proton δ_H 5,43 (1H, br s, H-7); 5,55 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11), cũng như một proton anomeric ở δ_H 4,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'). Phổ ^{13}C -NMR của **VG6** (Bảng 3.24) cho thấy sự xuất hiện của 38 tín hiệu carbon, gồm 6 nguyên tử carbon của đường glucopyranosyl ở δ_C 102,4 (C-1'); 75,1 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,7 (CH, C-4'); 77,9 (C-5') và 62,8 (C-6'). Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu carbon của nhóm isopropyl ở δ_C 31,1 (C-25), 17,5 (C-26); 18,1 (C-27), nhóm acetal ở δ_C 110,6 (C-21), sáu oxymethine carbon δ_C 78,9 (C-3); 79,1 (C-16); 83,8 (C-22); 83,7 (C-23); 83,6 (C-24); 82,7 (C-28), một nhóm methoxy ở δ_C 56,7 (21-OCH₃) và một nhóm methyl ở δ_C 14,0 (C-29). Các phân tích trên cho thấy cấu trúc của **VG6** có khung là một $\Delta^{7,9(11)}$ dienstigmastane glycoside [36]. Điều này cũng được xác nhận bởi tương tác 1H - 1H COSY của H-1/H-2/H-3/H-4/H-5/H-6/H-7 và H-14/H-15/H-16/H-17/H-20/H-21/H-22/H-23; cũng như các tương tác HMBC của H-19 với C-1, C-5, C-9 và C-10, H-18 với C-12, C-13, C-14 và C-17, và H-21, H-28 với C-22 và C-23 (Hình 3.72). Dữ liệu 1H và ^{13}C -NMR của **VG6** có độ tương đồng cao với **VE1** một hợp chất stigmastane glucoside steroid chính được phân lập từ chi *Vernonia* đã được công bố trước đây, điểm khác biệt của **VG6** so với **VE1** là sự xuất hiện thêm một nhóm methoxy tại vị trí C-21. Vị trí của methoxy nhóm tại C-21 được xác định chính xác bằng các tương tác trên HMBC từ 21-OCH₃ (δ_H 3,48) đến C-21 (δ_C 110,58) (Hình 3.72).

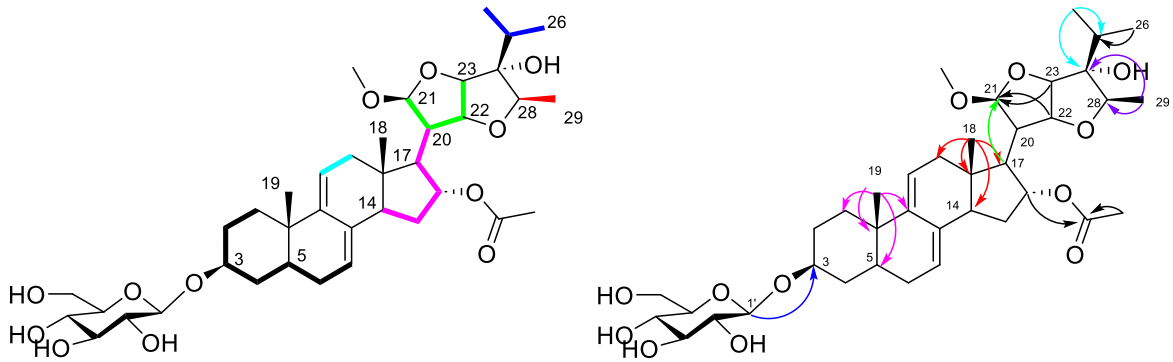
Bảng 3. 24. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG6**

C	VE1 $^{\#}\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,3	36,0	1,38 (m)/ 2,02* (m)
2	30,5	30,6	1,73 (m)/ 2,00* (m)
3	79,0	78,9	3,73 (m)
4	34,8	35,0	1,35 (m)/ 1,90 (m)
5	39,5	40,5	1,43 (m)
6	32,2	31,0	1,94 (m)
7	122,0	122,3	5,43 (br s)
8	135,5	136,3	-
9	144,2	145,3	-
10	36,5	37,1	-
11	119,1	119,0	5,55 (d; 5,5)
12	42,3	41,1	2,18 (m) 2,25 (m)
13	43,6	44,1	-
14	49,6	50,1	2,52 (m)
15	34,1	34,2	1,76 (m)
16	78,9	79,1	5,35 (t; 7,0)
17	52,6	55,0	2,13 (m)
18	14,5	13,5	0,65 (s)
19	19,8	19,9	0,94 (s)
20	50,0	52,7	2,25 (m)
21	99,4	110,6	4,93 (d; 6,5)
22	82,4	83,8	4,47 (t; 4,5)
23	88,8	83,7	4,39 (br d; 4,0)
24	85,4	83,6	-
25	30,5	31,1	1,88 (m)
26	17,6	17,5	0,97 (d; 6,0)
27	18,0	18,1	1,03 (d; 6,5)
28	82,7	82,7	3,81 (q; 6,5)
29	14,6	14,0	1,18 (d; 6,5)
1'	102,7	102,4	4,42 (d; 8,0)
2'	75,7	75,1	3,17 (dd; 8,0; 9,0)
3'	79,7	78,1	3,38 (m)
4'	72,1	71,7	3,30 (m)
5'	78,9	77,9	3,28 (m)
6'	63,3	62,8	3,68 (dd; 2,0; 12,0)
16-COCH ₃	170,4	172,3	-
16-COCH ₃	22,4	21,6	2,00 (s)
21-OCH ₃		56,7	3,48 (s)

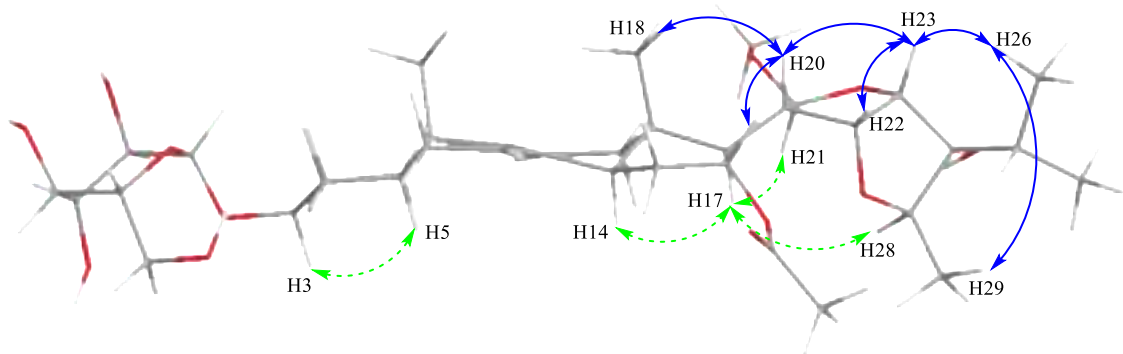
^a CD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] δ_{C} VE1 đo trong *pyridine* -*d*₅, * tín hiệu bị chồng lấp

Cấu hình tương đối của các carbon bất đối trong mạch nhánh của **VG6** được thiết lập dựa trên phổ NOESY. Tín hiệu phổ NOESY của **VG6** cho thấy tương tác của H-20/H-18, H-22/H-20, H-23/H-20, H-26/H23 và H-29/H-26 chỉ ra rằng H-20, H-22, H-23 và H-29 đều có cấu hình β . Ngoài ra, phổ NOESY cũng thể hiện tương tác giữa H-

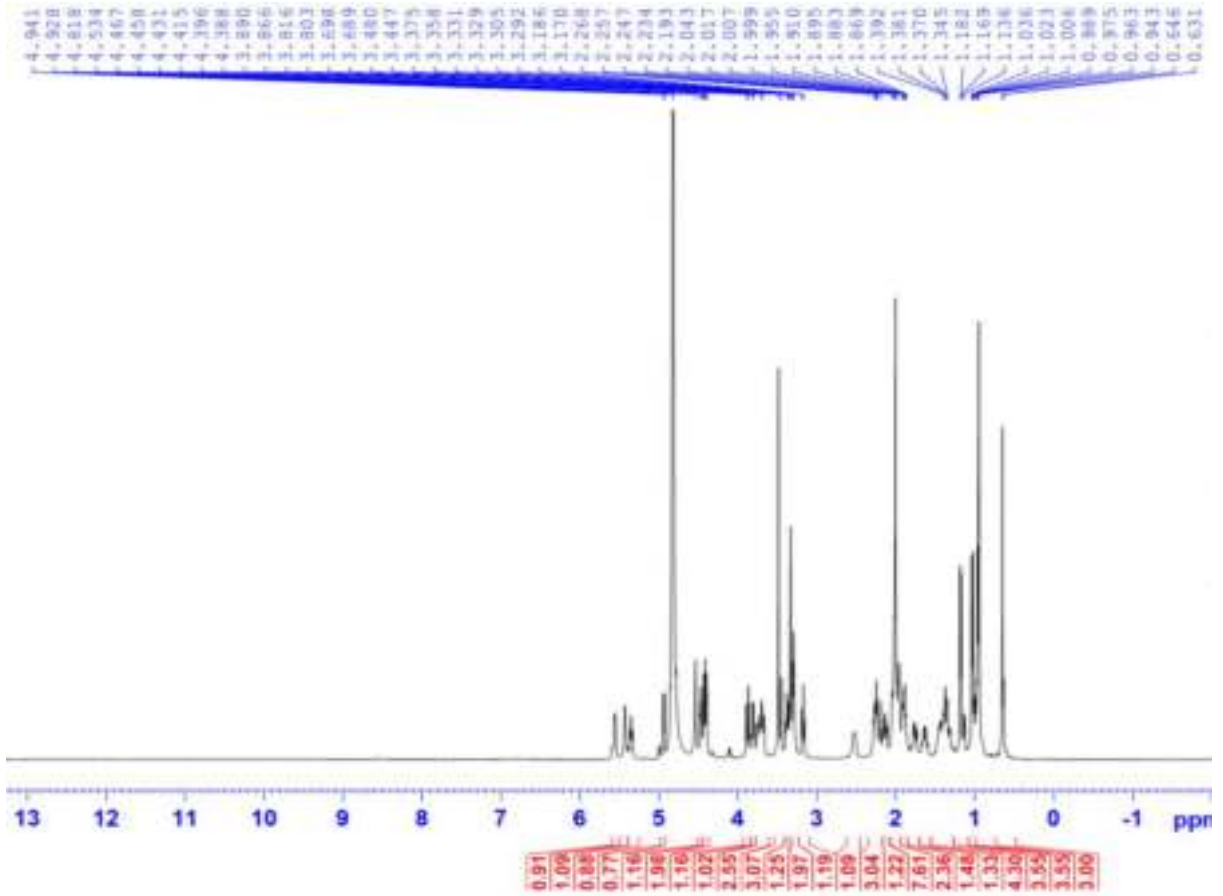
16/H-18 cho thấy nhóm acetyl tại vị trí C-16 là nhóm α . Trên phổ NOESY cũng thể hiện tương tác giữa H-3 và H-5, giữa H-14 và H-17 điều đó cho phép xác định cấu hình α của các proton này (Hình 3.73). Ngoài ra, so sánh giá trị của hằng số ghép cặp của proton H-21 ($J = 6,5$ Hz) có sự tương đồng so với hợp chất VE-1-Ac ($J = 6,6$ Hz), điều này cho phép xác định cấu hình của H-21 là β . Cấu hình β của đường cũng được xác định dựa trên hằng số ghép cặp lớn của H-1' và H-2'. Bằng phương pháp thủy phân kết hợp so sánh với đường chuẩn, cấu hình tuyệt đối của đường được xác định là D-glucose sử dụng hệ dung môi TLC: EtOAc–isopropanol–acetone–H₂O: 20–10–7–6, R_f 0,30, $[\alpha]_D^{25} +50,1$ (c 0,05; H₂O). Vị trí của đơn vị đường β -D-glucose liên kết tại C-3 của aglycone được xác định thông qua tương tác trên phổ HMBC giữa proton anomeric H-1' (δ_H 4,42) và C-3 (δ_C 78,9). Từ các dữ liệu trên, cấu trúc của **VG6** được xác định là 16 α -acetoxy-21 β -methoxy-24 α -hydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α -stigmastane-7(8),9(11)-dien-3-O- β -D-glucopyranoside và được đặt tên là vernoratoside A.



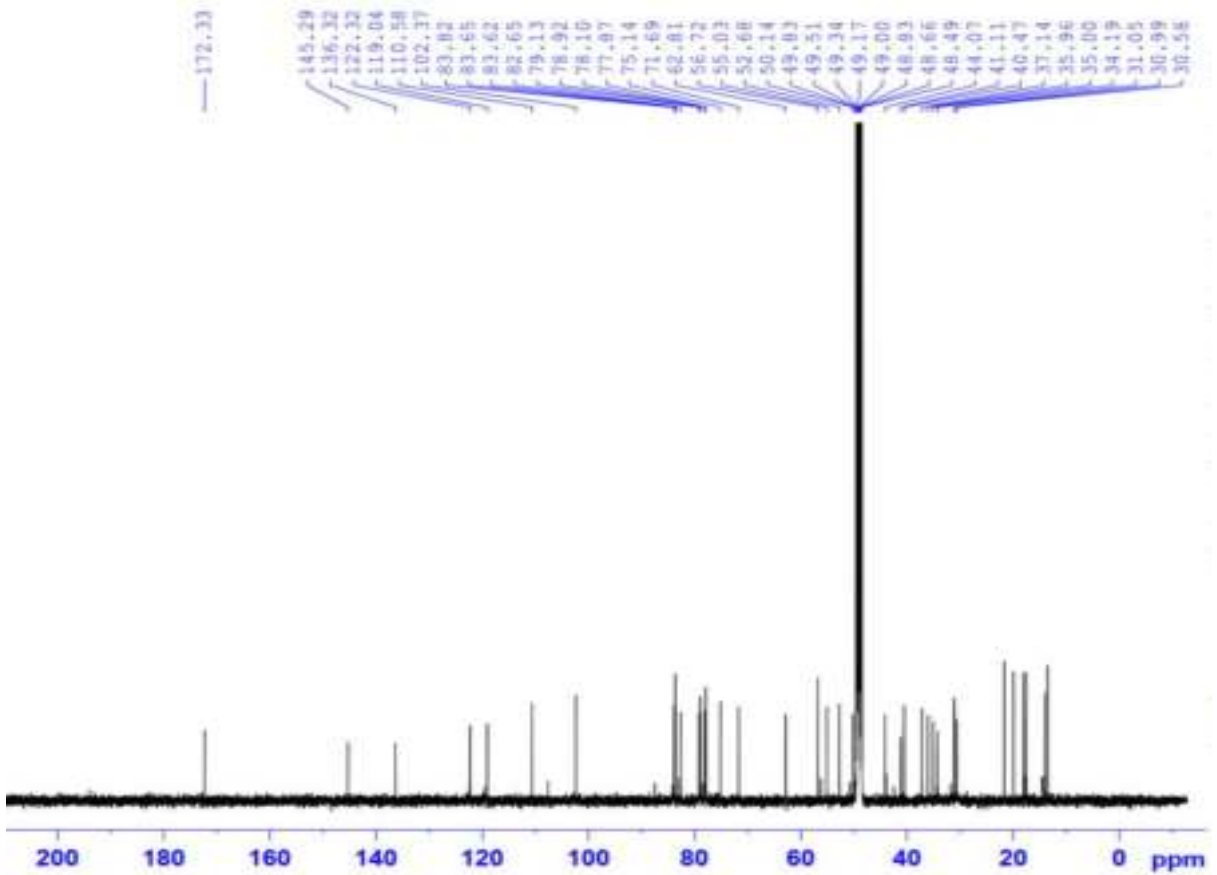
Hình 3. 72. Tương tác COSY và HMBC của **VG6**



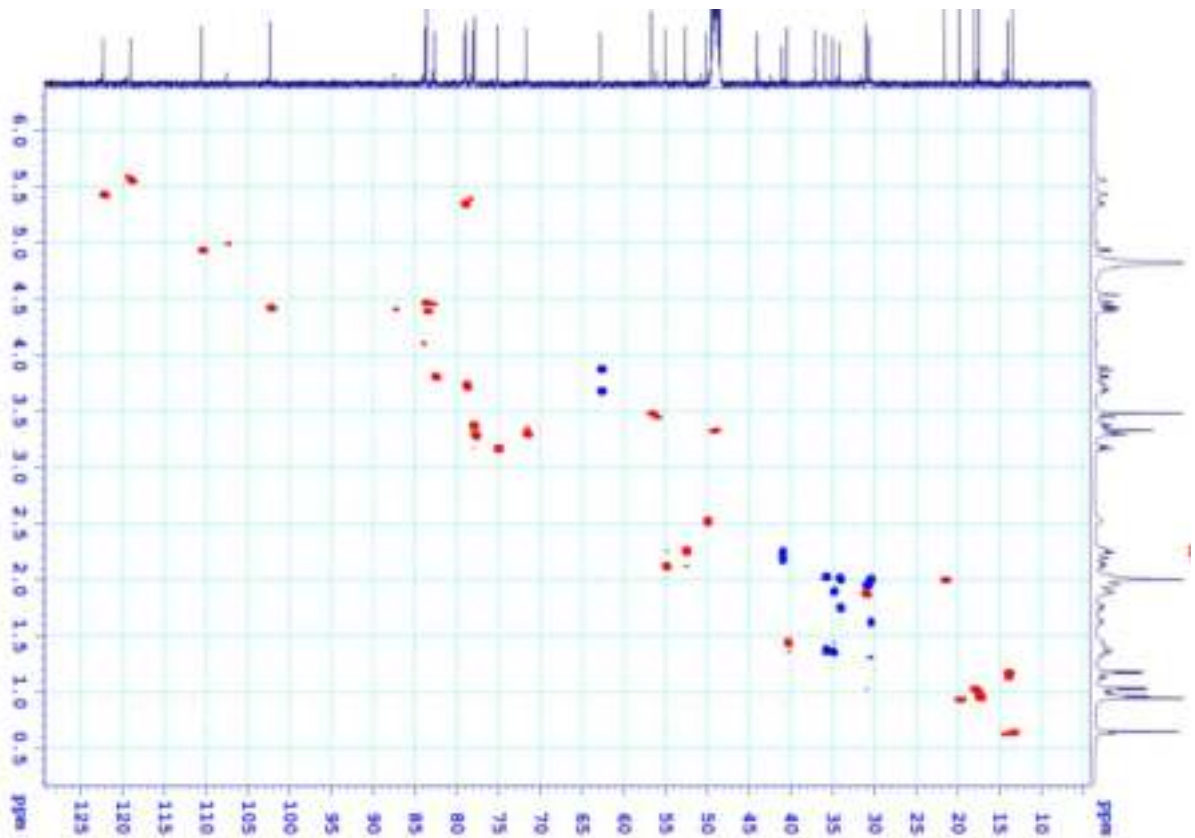
Hình 3. 73. Tương tác phổ NOESY của **VG6**



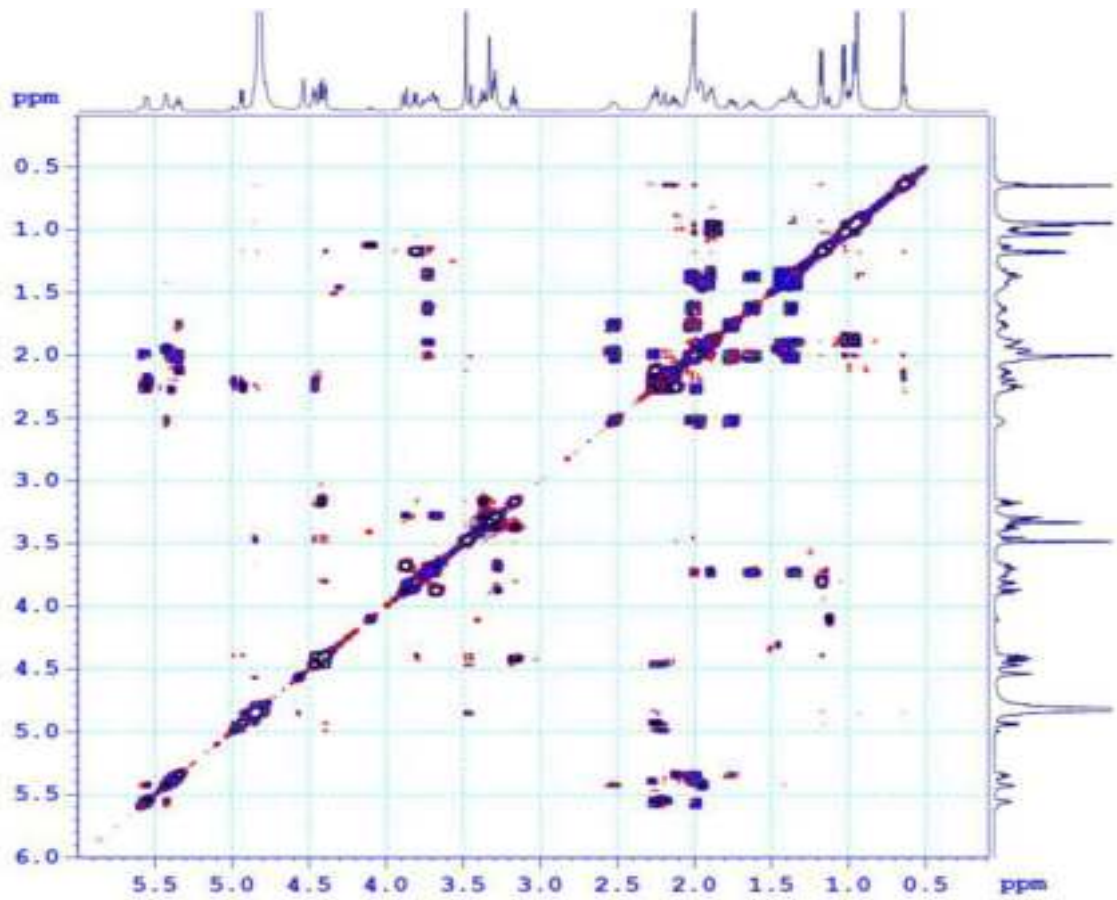
Hình 3. 74. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của VG6



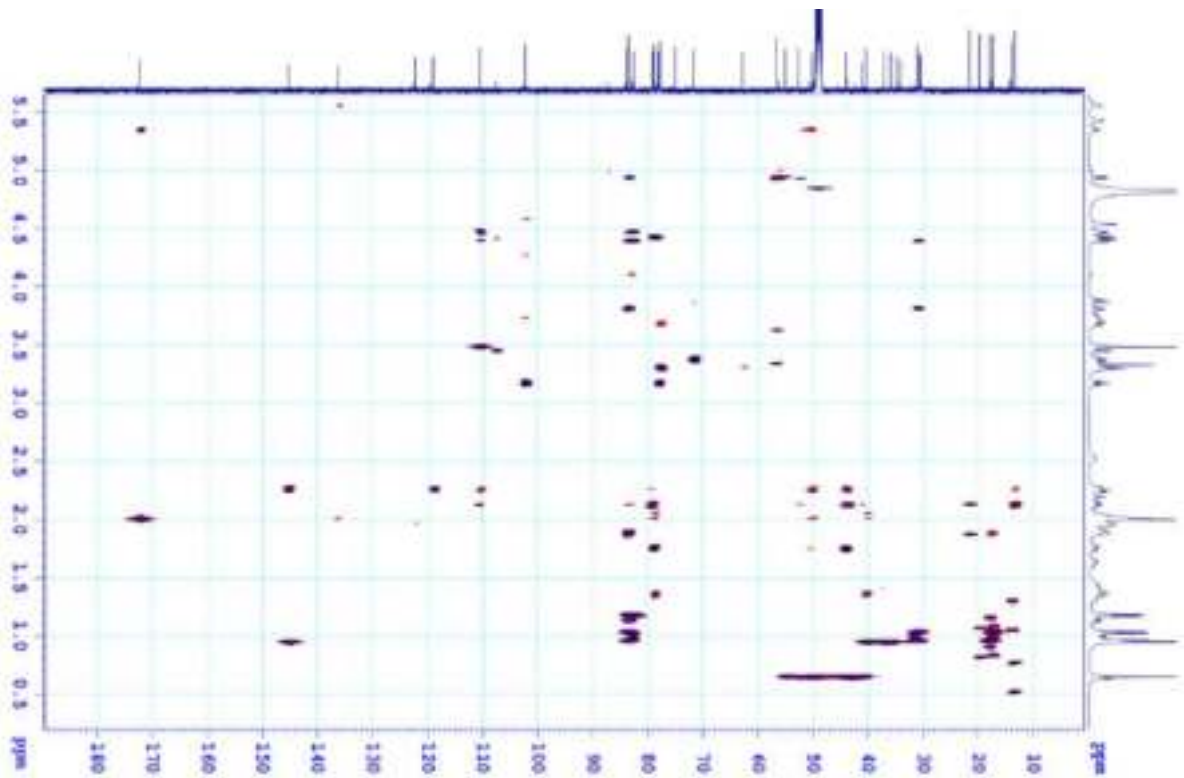
Hình 3. 75. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của VG6



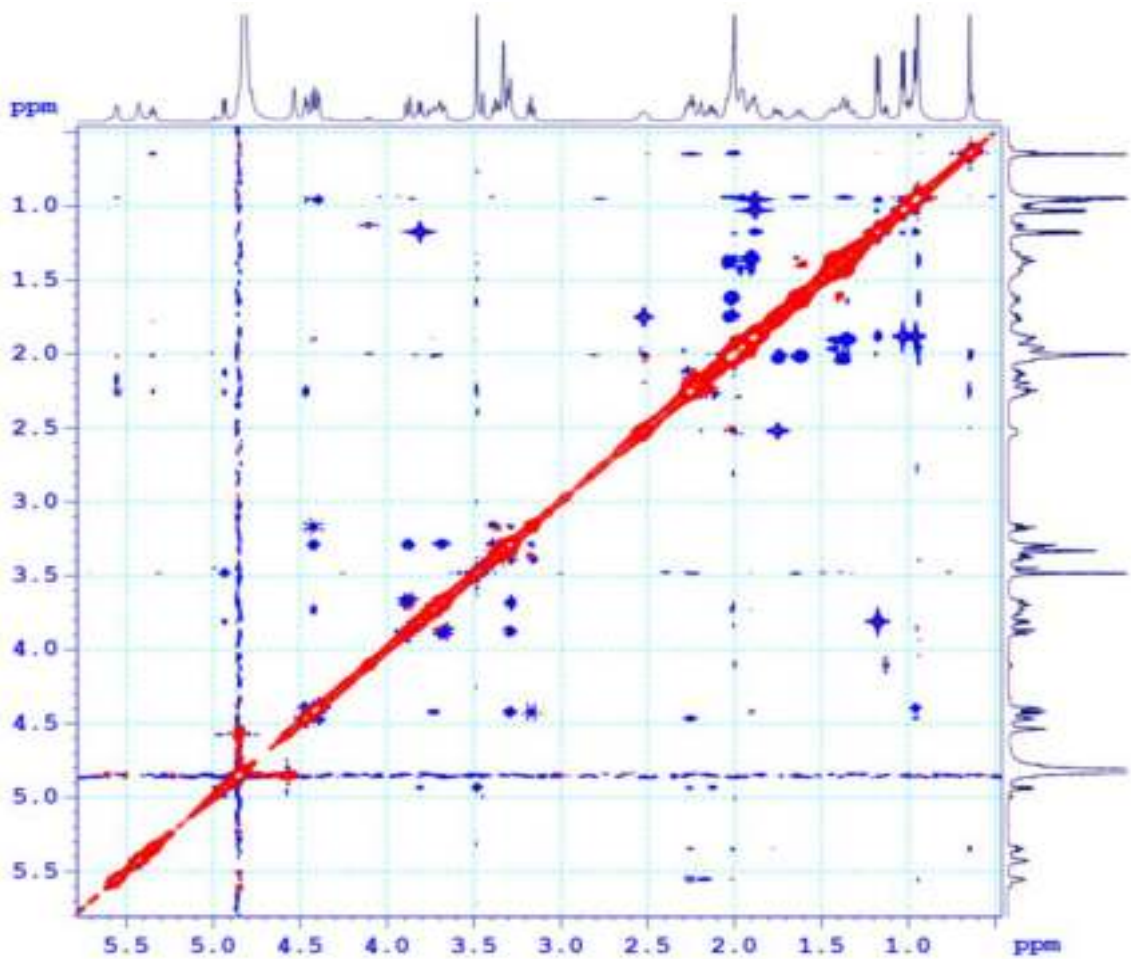
Hình 3. 76. Phổ HSQC của VG6



Hình 3. 77. Phổ ^1H - ^1H COSY của VG6

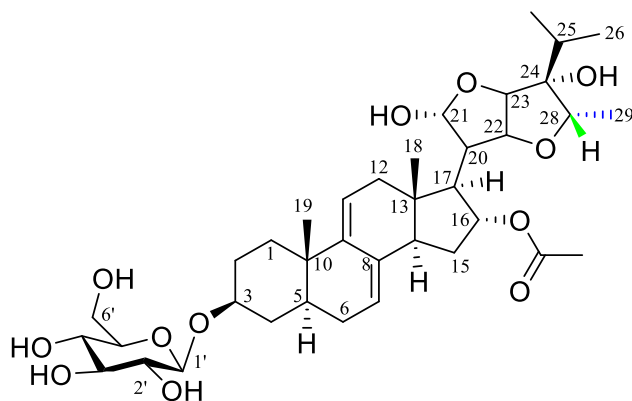


Hình 3. 78. Phổ HMBC của VG6



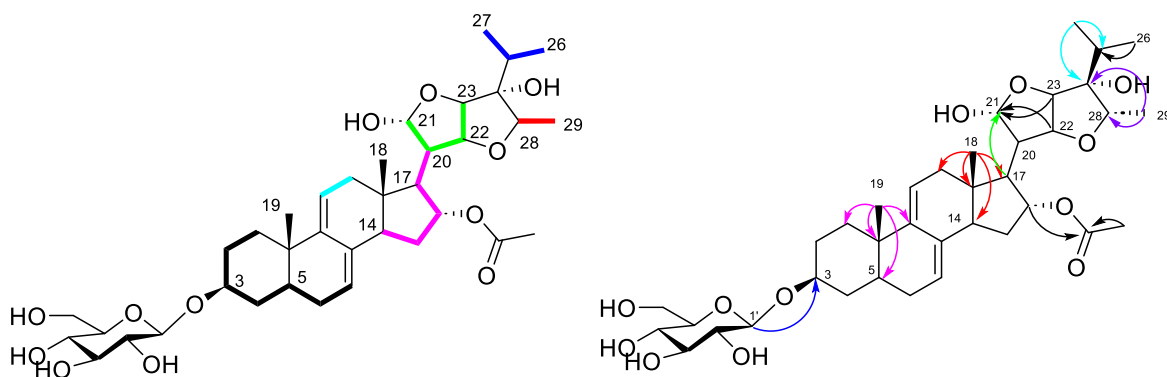
Hình 3. 79. Phổ NOESY của VG6

3.2.1.7. Hợp chất VG7; Vernoratoside B



Hình 3. 80. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG7**

Hợp chất **VG7** phân lập được dưới dạng bột rắn. Công thức phân tử của **VG7** được xác định là $C_{37}H_{56}O_{12}$ dựa trên phổ HR-ESI-TOF-MS với pic ion phân tử chloro hóa ở m/z 727,3466 $[M + Cl]^-$ (tính toán cho $C_{37}H_{56}ClO_{12}^-$; 727,3460). Phổ 1H -NMR (Bảng 3.25) cho thấy sự xuất hiện của hai tín hiệu proton *tert*-methyl ở δ_H 0,64 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19), ba tín hiệu methyl doublet ở δ_H 0,92 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 0,93 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, H-27) và 1,12 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-29), tín hiệu nhóm acetyl ở δ_H 2,00 (3H, s), hai proton olefinic ở δ_H 3,54 (1H, br s, H-7); 5,59 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11) và một proton anomeric ở δ_H 4,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'). Phổ ^{13}C -NMR của **VG7** cho thấy 38 tín hiệu carbon, bao gồm sáu carbon của đường glucopyranosyl ở δ_C 102,4 (C-1'); 75,2 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,7 (C-4'); 78,0 (C-5') và 62,8 (C-6'). Phân tích phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy tín hiệu của nhóm isopropyl δ_C 30,6 (C-25); 17,4 (C-26); 18,0 (C-27), carbon hemiacet ở δ_C 101,7 (C-21), sáu nguyên tử oxymethine carbon ở δ_C 78,9 (C-3); 79,2 (C-16); 77,3 (C-22); 83,6 (C-23); 91,9 (C-24); 81,2 (C-28) và nhóm methyl ở δ_C 20,1 (C-29). Phân tích tín hiệu phổ 1H và ^{13}C -NMR cũng như so sánh với tài liệu tham khảo, cấu trúc của **VG7** được xác định có khung của một $\Delta^{7,9(11)}$ dienstigmastane glycoside.



Hình 3. 81. Tương tác COSY và HMBC chính của hợp chất **VG7**

Bảng 3. 25. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG7**

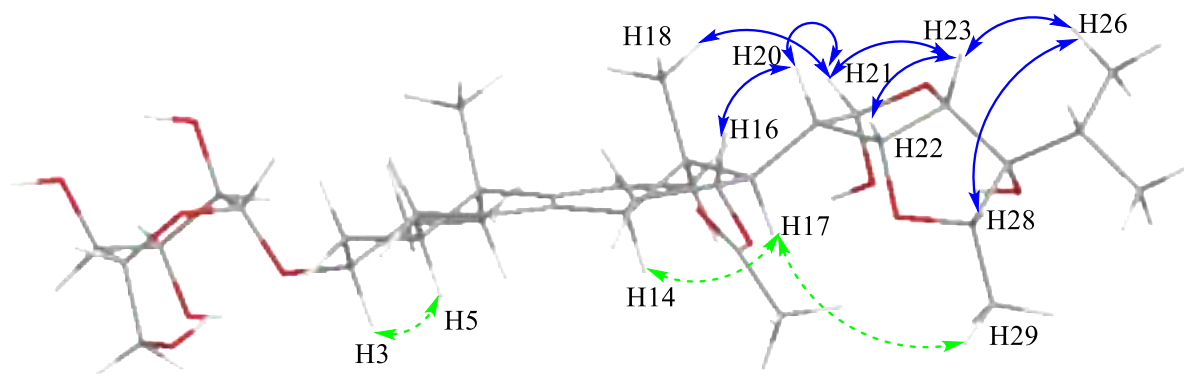
C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,0	36,0	1,39 (m)/ 2,04 (m)
2	30,6	30,6	1,63 (m)/ 2,00 (m)
3	78,9	78,9	3,72 (m)
4	35,0	35,0	1,36 (m)/ 1,90 (m)
5	40,5	40,5	1,43 (m)
6	31,0	31,0	1,31 (m)/ 1,95 (m)
7	122,3	122,3	5,44 (br s)
8	136,3	136,2	-
9	145,3	145,2	-
10	37,1	37,2	-
11	119,0	119,3	5,59 (br d, 5,5)
12	41,1	42,6	2,24 (m)
13	44,1	44,1	-
14	50,1	50,1	2,53 (m)
15	34,2	34,3	1,80 (m)
16	79,1	79,2	5,30 (m)
17	55,0	53,1	1,92 (m)
18	13,5	14,0	0,64 (s)
19	19,9	19,9	0,94 (s)
20	52,7	53,1	1,78 (m)
21	110,6	101,7	5,54 (s)
22	83,8	77,3	4,31 (m)
23	83,7	83,6	4,90 (m)
24	83,6	91,9	-
25	31,1	30,6	1,90 (m)
26	17,5	17,4	0,92 (d; 7,0)
27	18,1	18,0	0,93 (d; 7,5)
28	82,7	81,2	4,10 (q; 6,5)
29	14,0	20,1	1,12 (d; 6,5)
1'	102,4	102,4	4,42 (d; 8,0)
2'	75,1	75,2	3,17 (dd; 9,0; 8,0)
3'	78,1	78,1	3,36 (m)
4'	71,7	71,7	3,30 (m)
5'	77,9	78,0	3,28 (m)
6'	62,8	62,8	3,68 (m)/ 3,88 (dd; 12,5; 2,0)
16-COCH ₃	172,3	172,8	-
16-COCH ₃	21,6	21,7	2,00 (s)
21-OCH ₃	56,7		

^a CD₃OD, ^b 125 MHz, ^a 500 MHz, [#] δ_{C} -**VG6**, * tín hiệu bị chồng lấp

Cấu trúc phẳng của **VG7** được chứng minh dựa trên các tương tác COSY của H-1/H-2/H-3/H-4/H-5/H-6/H-7 và H-14/H-15/H-16/H-17/H-20/H-21/H-22/H-23; và các tương tác HMBC của H-19 với C-1, C-5, C-9 và C-10, của H-18 với C-12, C-13, C-14 và C-17, và của H-21, H-28 với C-22 và C-23. Các tương tác trên phổ COSY và HMBC chỉ ra rằng cấu trúc phẳng của **VG7** và **VG6** có sự tương đồng rất cao, ngoại trừ việc thay thế nhóm methoxy ở vị trí C-21 trong **VG6** được thay bằng nhóm hydroxy trong

VG7. Điều này cũng được chứng minh bằng việc so sánh độ chuyển dịch hóa học của C-21 (δ_C 101,7 trong **VG7** chuyển dịch về δ_C 110,6 ở **VG6**).

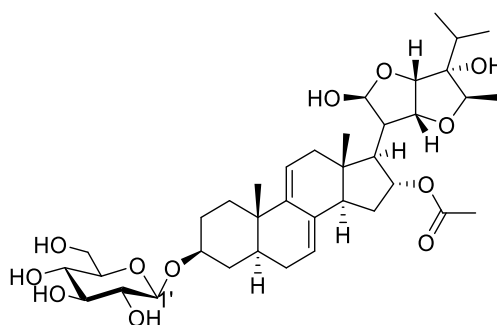
Bên cạnh đó, cấu hình α của **H-21** trong **VG7** được xác định dựa trên hằng số ghép (giá trị J) của H-21 ở **VG7** [δ_H 5,54 (br s)] khi so sánh với giá trị J của **VG6** [δ_H 4,93 (d, $J = 6,5$ Hz)]. Ngoài ra, cấu hình tương đối của các trung tâm bất đối khác trong cấu trúc của **VG7** được chứng minh bởi các tương tác trên phổ NOESY. Các tương tác của H-16/H-20, H-16/H-18, H-18/H-21, H-21/H-26 và H-28/H-26 thể hiện trên phổ NOESY đã chỉ ra rằng các vị trí (16-OAc, 21-OH, 24-OH và H-29) đều có cấu hình α (Hình 3.82). Vì vậy, cấu trúc của **VG7** được xác định là: 16 α -acetoxy-21 α ,24 α -dihydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 α -stigmastane-7(8),9(11)-dien-3-*O*- β -D-glucopyranoside, đây là một hợp chất mới và được đặt tên là Vernoratoside B.



Hình 3. 82. Tương tác NOESY của **VG7**

3.2.2. Cấu trúc của các hợp chất đã biết được phân lập từ loài *V. gratioiosa*

3.2.2.1. Hợp chất **VG8**; **VE1**



Hình 3. 83. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG8**

Hợp chất **VG8** phân lập được có dạng bột không màu. Tín hiệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của **VG8** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của khung $\Delta^{7,9(11)}$ dienstigmastane glycoside (Bảng 3.26). Trên phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của hai olefinic proton tại δ_H 5,41 (1H, m, H-7); 5,57 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-11), 2 nhóm *tert*-methyl tại δ_H 0,63 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19), ba nhóm methyl doublet tại δ_H 0,98 (3H, d, $J = 6,5$

Hz, H-26); 1,00 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27); 1,12 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-29), và một anomeric proton tại δ_{H} 4,43 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'). Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu của 37 carbon, bao gồm 31 tín hiệu của aglycone và sáu tín hiệu của một đơn vị đường (Bảng 3.26). So sánh dữ liệu của **VG8** và **VE1** [60] nhận thấy sự trùng khớp hoàn toàn, do đó, **VG8** được xác định là **VE1** (Hình 3.83).

Bảng 3. 26. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG8**

C	VE-1		VG8
	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,3	35,9	1,37 (m)/ 2,01 (m)
2	30,5	30,6	1,63 (m)/ 2,00 (m)
3	79,0	78,6	3,73 (m)
4	34,8	35,0	1,35 (m)/ 1,90 (m)
5	39,5	40,4	1,44 (m)
6	32,2	31,0	1,86 (m)
7	121,9	122,3	5,41 (m)
8	135,5	136,3	-
9	144,2	144,9	-
10	36,5	37,1	-
11	119,1	119,5	5,57 (d; 6,5)
12	42,3	42,7	2,14 (m)/ 2,32 (m)
13	43,6	43,8	-
14	49,6	49,9	2,54 (m)
15	34,1	34,5	1,78 (m)/ 2,02 (m)
16	78,9	78,9	5,40 (m)
17	52,6	52,7	2,27
18	14,5	14,4	0,63 (s)
19	19,8	19,7	0,94 (s)
20	50,0	50,2	2,13 (m)
21	99,4	99,8	5,47 (d; 5,0)
22	82,4	82,8	4,51 (t; 5,5)
23	88,8	88,9	4,44 (d; 5,0)
24	85,4	83,4	-
25	30,5	32,4	1,82 (m)
26	17,6	17,5	0,98 (d; 6,5)
27	17,9	17,7	1,00 (d; 7,0)
28	82,7	85,7	4,15 (q; 7,0)
29	14,6	14,4	1,12 (d; 7,0)
1'	102,7	102,3	4,43 (d; 8,0)
2'	75,7	75,1	3,17 (dd; 9,0; 8,0)
3'	79,7	78,1	3,37 (m)
4'	72,1	71,7	3,30 (m)
5'	78,9	77,8	3,28 (m)
6'	63,3	62,8	3,68 (dd; 11,5; 5,0)
			3,88 (dd; 11,5; 1,5)
OCOCH ₃	170,4	172,3	-
OCOCH ₃	22,0	21,7	2,03 (s)

^a CD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz. # δ_{C} **VE1**

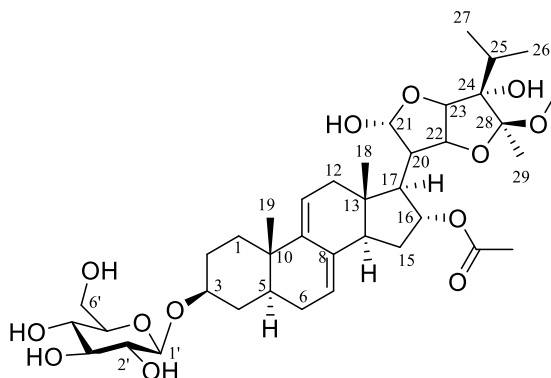
3.2.2.2. *Hợp chất VG9; Vernoniacum B*Bảng 3. 27. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của VG9

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	35,3	35,4	1,35 (m)/ 2,01 (m)
2	30,5	30,6	1,53 (m)/ 1,99 (m)
3	77,4	78,9	3,53 (m)
4	38,4	35,0	1,33 (m)/ 1,88 (m)
5	39,5	40,5	1,41 (m)
6	30,5	31,0	1,31 (m)/1,95 (m)
7	122,1	122,4	5,44 (d; 4,5)
8	135,4	136,3	-
9	144,3	145,0	-
10	36,5	37,1	-
11	119,1	119,6	5,57 (d; 5,5)
12	42,4	42,8	2,03 (m)/ 2,15 (m)
13	43,5	43,8	-
14	49,3	49,5*	2,19 (m)
15	35,2	36,0	1,38 (m)/ 2,01 (m)
16	78,8	79,8	5,27 (m)
17	48,6	48,6*	3,17 (m)
18	14,7	14,5	0,64 (s)
19	19,8	19,8	0,94 (s)
20	49,4	49,5*	2,51 (m)
21	99,4	100,0	5,44 (d; 4,5)
22	80,4	80,7	4,31 (t; 6,0)
23	92,1	92,4	4,53 (d; 6,0)
24	82,3	83,0	-
25	32,8	33,1	2,02 (m)
26	17,7	17,5	0,93 (d; 4,0)
27	18,9	18,2	0,96 (d; 6,5)
28	113,1	113,4	-
29	17,9	17,4	1,42 (s)
1'	102,7	102,4	4,42 (d; 8,0)
2'	75,7	75,2	3,17 (m)
3'	79,0	78,1	3,34 (m)
4'	72,1	71,7	3,38 (m)
5'	78,9	77,9	3,29 (m)
6'	63,3	62,8	3,57 (dd; 11,5; 5,0), 3,88 (d; 11,5)
16-OCOCH ₃	170,9	172,7	-
16-OCOCH ₃	22,2	21,9	2,06 (s)
OCH ₃	51,6	48,5	3,16 (s)

^aCD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz. # δ_{C} vernoniacum B, * tín hiệu bị chồng lấp

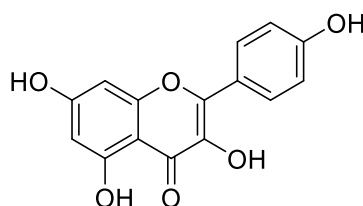
Hợp chất **VG9** phân lập được dưới dạng bột màu trắng. Phổ ^1H -NMR của **VG9** hiển thị các tín hiệu của hai nhóm methyl ở δ_{H} 0,64 (3H, s, H-18) và 0,94 (3H, s, H-19), hai tín hiệu proton olefinic ở δ_{H} 5,44 (2H, d, $J = 4,5$ Hz, H-7, H-21) và 5,57 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, H-11) và một proton anomeric ở δ_{H} 4,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, Glc-1'), tương ứng

với khung $\Delta^{7,9(11)}$ stigmasterane steroid glycoside. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (Bảng 3.27) của **VG9** hiển thị 38 tín hiệu carbon của một đường, năm nhóm methyl [$(\delta_{\text{C}} 14,5 (\text{C-18}); 19,8 (\text{C-19}); 17,5 (\text{C-26}); 18,2 (\text{C-27})$ và $17,4 (\text{C-29})$], một nhóm acetyl tại C-16 ($\delta_{\text{C}} 22,2; 170,9$), một nhóm methoxy ($\delta_{\text{C}} 51,6$), hai liên kết đôi ($\delta_{\text{C}} 122,4 (\text{C-7}); 136,3 (\text{C-8}), 145,0 (\text{C-9}); 119,6 (\text{C-11})$) và 20 nguyên tử carbon khác. Từ những phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR của hợp chất **VG9** kết hợp với tài liệu tham khảo [43], ta thấy dữ liệu phổ thể hiện độ tương đồng cao từ đó cấu trúc của hợp chất **VG9** được xác định là vernoniacum B (Hình 3.84).



Hình 3. 84. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG9**

3.2.2.3. Hợp chất **VG 10**; *Kaempferol*



Hình 3. 85. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG10**

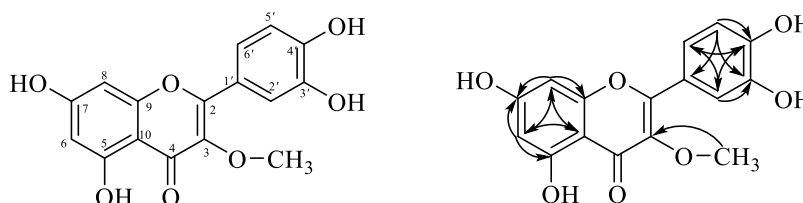
Hợp chất **VG10** phân lập được có dạng bột rắn màu vàng. Tín hiệu phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ của **VG10** (Bảng 3.28) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất flavonoid điển hình. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VG10** cho thấy sự xuất hiện các cặp doublet của 04 proton thơm có hệ tương tác spin AA'BB' ở $\delta_{\text{H}} 8,04$ (H-2' và H-6') và $6,93$ (H-3' và H-5') cho thấy vòng B có nhóm thế ở C-4'. Hai proton doublet ở $\delta_{\text{H}} 6,19$ (H-6) và $6,44$ (H-8) có cùng hằng số tương tác ($J = 1,82 \text{ Hz}$) chứng tỏ vòng A có hai nhóm thế ở vị trí meta với nhau. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **VG10** xuất hiện tín hiệu của 15 carbon, bao gồm 06 carbon methine và 09 carbon bậc 4 trong đó có 01 nhóm carbonyl tại $\delta_{\text{C}} 177,4$ (C-4). Từ dữ liệu phân tích ở trên và so sánh với số liệu phổ của kaempferol đã công bố trước đây cho thấy phổ của chúng hoàn toàn phù hợp với các vị trí tương ứng [61]. Do đó, **VG10** được xác định là kaempferol (Hình 3.85).

Bảng 3. 28. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG10**

C	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	147,6	146,9	
3	147,9	135,7	
4	177,4	176,0	
5	162,5	160,8	
6	99,3	98,3	6,19 (d; 1,8)
7	165,6	164,0	
8	99,4	93,5	6,44 (d; 1,8)
9	157,5	156,2	-
10	104,5	103,1	
1'	123,3	121,7	
2'	130,6	129,6	8,04 (d; 8,8)
3'	116,4	115,6	6,93 (d; 8,8)
4'	160,7	159,2	
5'	116,4	115,6	6,93 (d; 8,8)
6'	130,7	129,6	8,04 (d; 8,8)

^a DMSO, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz. # δ_{C} kaempferol, pyridine – d_5

3.2.2.4. Hợp chất **VG11**; Quercetin 3-*O*-methyl ether



Hình 3. 86. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG11**

Hợp chất **VG11** được phân lập dưới dạng rắn màu vàng. Phổ ^1H -NMR cho thấy tín hiệu của hai aromatic proton doublet thể ở vị trí meta ở δ_{H} 6,21 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6) và 6,41 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8) thuộc vòng A, ba tín hiệu proton của hệ ABX tại δ_{H} 7,63 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'); 6,92 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5') và 7,54 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz, 2,0 Hz, H-6') thuộc vòng B, và một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,80 (3H, s). Phổ ^{13}C -NMR của **VG11** xuất hiện tín hiệu của 16 carbon, trong đó bao gồm một carbonyl carbon (δ_{C} 180,0 C-4), năm methine [δ_{C} 99,7 (C-6); 94,7 (C-8); 116,4 (C-2'); 116,5 (C-5'); 122,3 (C-6')] và chín carbon không liên kết trực tiếp với nguyên tử hydro bao gồm: (δ_{C} 158,0 (C-2); 139,5 (C-3); 163,1 (C-5); 165,9 (C-7); 158,4 (C-9); 105,9 (C-10); 123,0 (C-1'); 146,6 (C-3'); 149,9 (C-4')) và một carbon của nhóm methoxy tại (δ_{C} 60,5 OCH₃). Các kết quả phân tích của **VG11** phù hợp với dữ liệu phổ của quercetin 3-*O*-methyl ether

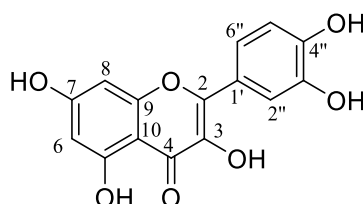
báo cáo trước đây trong tài liệu [62]. Vì vậy, **VG11** được xác định là quercetin 3-*O*-methyl ether (Hình 3.86).

Bảng 3. 29. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG11**

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	149,5	158,0	-
3	139,6	139,5	-
4	179,9	180,0	-
5	163,6	163,1	-
6	99,7	99,7	6,21 (d; 2,0)
7	165,2	165,9	-
8	94,8	94,7	6,41 (d; 2,0)
9	158,2	158,4	-
10	106,2	105,9	-
1'	123,4	123,0	-
2'	116,6	116,4	7,63 (d; 2,0)
3'	145,2	146,6	-
4'	157,1	149,9	-
5'	116,7	116,5	6,92 (d; 8,5)
6'	122,5	122,3	7,54 (dd; 8,5; 2,0)
3-OCH ₃	60,5	60,5	3,80 (s)

^a CD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz. [#] δ_{C} quercetine-3-methyl ether trong (CH₃)₂CO-*d*₆ [63]

3.2.2.5. Hợp chất **VG12**; *Quercetin*



Hình 3. 87. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG12**

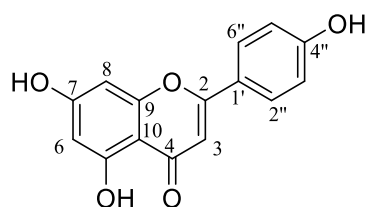
Bảng 3. 30. Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C NMR của **VG12**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,\#}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	146,8	146,8	-
3	135,6	135,8	-
4	175,7	175,9	-
5	160,6	160,8	-
6	98,1	98,2	6,18 (d; 2,0)
7	163,8	163,9	-
8	93,3	93,4	6,40 (d; 1,5)
9	156,1	156,2	-
10	103,0	103,1	-
1'	121,9	122,0	-
2'	115,1	115,1	7,67 (d; 2,0)
3'	145,0	145,1	-
4'	147,6	147,6	-
5'	115,5	115,6	6,90 (d; 8,5)
6'	119,9	120,1	7,55 (dd; 8,5; 2,0)

^aDMSO, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz. [#] δ_{C} quercetine

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VG12** cho thấy các tín hiệu của 03 proton thơm có hệ tương tác spin ABX ở δ_{H} 6,90 (1H; d; $J = 8,5$ Hz; H-5'); 7,55 (1H; br d; $J = 7,5$ Hz; H-6') và 7,69 (1H; s; H-2') cho thấy vòng B có nhóm thế ở vị trí C-3' và C-4'. Hai proton ở vị trí meta với nhau được thể hiện ở sự có mặt của hai tín hiệu δ_{H} 6,20 (1H; s; H-6) và δ_{H} 6,40 (1H; s; H-8). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **VG12** kết hợp với phổ DEPT cho thấy **VG12** có 15 tín hiệu của tổng số 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid gồm: 1 carbon carbonyl ở δ_{C} 175,9 (C-4); 7 carbon bậc 4 của vòng thơm mang oxygen ở các δ_{C} 146,8 (C-2); 135,8 (C-3); 160,8 (C-5); 163,9 (C-7); 156,2 (C-9); 145,1 (C-3') và 147,6 (C-4'); 2 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen ở δ_{C} 103,1 (C-10); 122,0 (C-1'); 5 carbon methine vòng thơm tại 93,4 (C-8); 98,2 (C-6); 115,1 (C-2'); 115,6 (C-5') và 120,1 (C-6'). Từ các dữ liệu phổ đã phân tích kết hợp so sánh với việc so sánh các dữ liệu phổ NMR của Quercetin [62] ta xác định được **VG12** là Quercetin (Hình 3.87).

3.2.2.6. Hợp chất VG13; Hợp chất Apigenin



Hình 3. 88. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG13**

Bảng 3. 31. Dữ liệu phổ $^1\text{H-}$, ^{13}C NMR của **VG13**

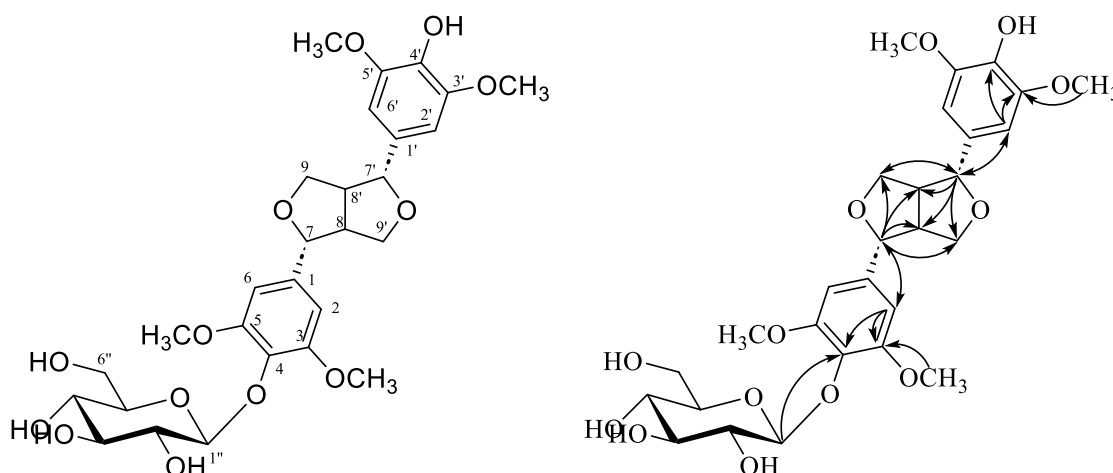
C	δ_{C} ^{#,a}	δ_{C} ^{a,b}	δ_{H} ^{a,c} (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	163,93	166,1	-
3	103,06	103,9	6,61 (s)
4	181,94	183,9	-
5	161,69	163,2	-
6	99,07	100,2	6,23 (d; 1,5)
7	164,34	166,3	-
8	94,18	95,1	6,47 (d; 1,5)
9	157,48	159,5	-
10	103,94	105,3	-
1'	121,41	123,3	-
2'	128,64	129,5	7,86 (d; 7,5)
3'	116,17	117,0	6,95 (d; 7,5)
4'	161,37	162,8	-
5'	116,17	117,0	6,95 (d; 7,5)
6'	128,64	129,5	7,86 (d; 7,5)

^a CD_3OD , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] δ_{C} Apigenin

Hợp chất **VG13** được phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VG13** (Bảng 3.31) thể hiện sự có mặt của bốn proton thuộc hệ AA'BB' tại δ_{H} 7,86 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-2', H-6') và 6,95 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-3', H-5'), hai proton thuộc hệ AX ở δ_{H} 6,47 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8) và 6,23 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-6) và một proton singlet tại 6,61 (1H, s, H-3). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **VG13** (Bảng 3.31)

xuất hiện 15 tín hiệu carbon trong đó có 1 carbonyl carbon ở δ_C 183,9 (C-4), 6 carbonate thơm được oxy hóa tại δ_C 166,1 (C-2), 163,2 (C-5), 166,3 (C-7), 159,5 (C-9), và 162,8 (C-4'), hai nguyên tử carbon thơm bậc bốn, và bảy methine carbon, Các phân tích trên cho thấy tính hiệu đặc trưng của một hợp chất flavone và được chứng minh là apigenin khi kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [64] (Hình 3.88).

3.2.2.7. Hợp chất VG14; Syringaresinol- β -D-glucoside



Hình 3. 89. Cấu trúc hóa học của hợp chất VG14

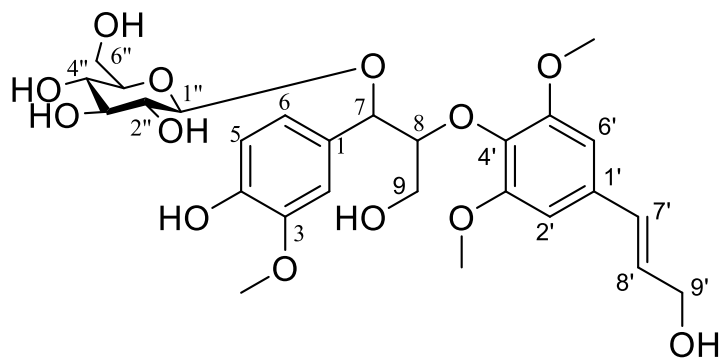
Hợp chất VG14 thu được ở dạng rắn, màu trắng. Tín hiệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR của VG14 cho thấy đặc trưng của khung dihydrofuran lignan glycoside. Phổ ^1H -NMR của VG14 cho thấy sự hiện diện của bốn proton thơm ở δ_H 6,74 (2H, s, H-2, H-6); 6,67 (2H, s, H-2', H-6') cùng với hai methine proton ở δ_H 3,16 (2H, m, H-8, H-8'), hai nhóm oxymethylene ở δ_H 3,94 (1H, m, H-9a); 4,31 (1H, m, H-9b); 3,94 (1H, m, H-9'a); 4,31 (1H, m, H-9'b), và bốn nhóm methoxy ở δ_H 3,88 (6H, s, 3-, 5-OCH₃); 3,86 (6H, s, 3', 5'-OCH₃) và hai nhóm oxymethine ở δ_H 4,79 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H-7) và 4,74 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H-7'). Ngoài ra, một proton anomeric ở δ_H 4,88 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') với hằng số ghép lớn ($J = 7,5$ Hz) cũng được quan sát thấy trên phổ ^1H -NMR, cho thấy sự hiện diện của đường β -glucopyranosyl. Trên phổ ^{13}C -NMR của VG14 cũng cho thấy sự xuất hiện các tín hiệu của 21 carbon, bao gồm 12 carbon thơm, hai oxymethylene carbon, bốn methine carbon và sáu carbon của phần đường. Dựa trên những bằng chứng phân tích trên kết hợp với tài liệu tham khảo [65], VG14 được xác định là syringaresinol- β -D-glucoside (Hình 3.89).

Bảng 3. 32. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **VG14** và tài liệu tham khảo

C	# δ_C	^{a,c} δ_H (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{a,b}$	^{a,c} δ_H (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	139,62	-	139,55	-
2	104,96	6,72 (s)	104,89	6,74 (s)
3	154,49	-	154,43	-
4	135,72	-	135,65	-
5	154,49	-	154,43	-
6	104,96	6,72 (s)	104,98	6,74 (s)
7	87,26	4,77 (d, 4,6)	87,20	4,79 (d; 4,5)
8	55,57	3,14 (m)	55,50	3,16 (m)
9	72,93	3,91 (m)	72,87	3,94 (dd; 9,5; 3,5)
		4,28 (m)		4,31 (m)
1'	133,17	-	133,10	-
2'	104,66	6,65 (s)	104,59	6,67 (s)
3'	149,44	-	149,38	-
4'	136,35	-	136,28	-
5'	149,44	-	149,38	-
6'	104,66	6,65 (s)	104,59	6,67 (s)
7'	87,65	4,72 (d, 4,5)	87,60	4,74 (d; 4,5)
8'	55,78	3,14 (m)	55,71	3,16 (m)
9'	72,99	3,91 (m)	72,93	3,94 (dd; 9,5; 3,5)
1''	105,43	4,85(d; 7,5)	105,36	4,88 (d; 7,5)
2''	75,78	3,47 (m)	75,72	3,50 (m)
3''	77,90	3,43 (m)	77,83	3,44 (m)
4''	71,43	3,40 (m)	71,35	3,43 (m)
5''	78,40	3,20 (m)	78,34	3,22 (m)
6''	62,67	3,65 (dd; 12,0;5,5)	62,59	3,68 (dd; 12,0; 5,5)
		3,76 (m)		3,79 (dd; 2,0; 2,0)
3,5-OCH ₃	56,90	3,86 (s)	56,85	3,86 (s)
3',5'-OCH ₃	57,16	3,84 (s)	57,10	3,88 (s)

^a CD₃OD, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] δ_C syringaresinol- β -D-glucoside.

3.2.2.8. Hợp chất **VG15**; *Threo-guaiacylglycerol-8-O-4'-sinapylete-7-O- β -D-glucopyranoside*



Hình 3. 90. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG15**

Hợp chất **VG15** được phân lập dưới dạng bột vô định hình. Dữ liệu ¹H và ¹³C-NMR của **VG15** chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của khung 8-O-4'-neolignan glycoside.

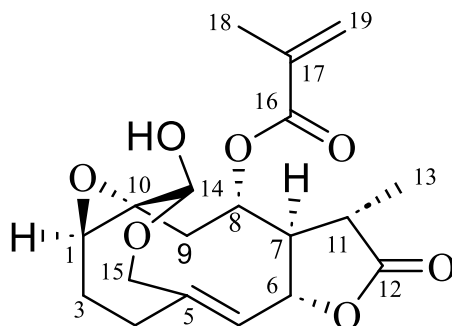
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VG15** hiển thị tín hiệu của vòng benzen thế ở vị trí 1,3,4 [δ_{H} 7,11 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2); 6,95 (1H, dd, $J = 9,0; 2,0$ Hz; H-6); 6,78 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5), vòng benzen thế 1,3,4,5 ở δ_{H} 6,79 (2H, s, H-2', H-6'), một nối đôi dạng *trans* ở δ_{H} 6,36 (1H, dt, $J = 16,0; 5,5$ Hz, H-8') và 6,58 (1H, br d, $J = 5,5$ Hz, H-7'), hai oxymethine ở δ_{H} 4,33 (1H, m, H-8) và 5,16 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-7), hai oxymethylene ở δ_{H} 3,76 (1H, dd, $J = 11,4; 3,0$ Hz, H-6''); 3,62 (1H, m, H-6'') và 4,25 (2H, dd, $J = 6,6; 2,0$ Hz, H-9') và ba nhóm methoxy ở δ_{H} 3,89 (3H, s, 3-OCH₃); 3,90 (6H, s, 3'-, 5'-OCH₃). Ngoài ra, một phân tử glucopyranosyl cũng được gợi ý từ tín hiệu của proton anomeric ở δ_{H} 4,61 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') trong phổ $^1\text{H-NMR}$ cùng với các tín hiệu đặc trưng ở δ_{C} 105,2 (C-1''); 78,0 (C-5''); 77,8 (C-3''); 75,6 (C-2'') và 62,5 (C-6'') trên phổ $^{13}\text{C NMR}$. Hơn nữa, hằng số ghép cặp lớn $J = 7,5$ Hz của proton anomeric cho phép xác định cấu hình β của glucopyranosyl. Vị trí của đường này tại C-7 được xác định dựa trên tương tác HMBC của H-1'' và C-7. Cấu hình *threo* của **VG15** được xác định bằng $J_{7,8}$ (6,5 Hz) trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VG15**. Bằng cách so sánh dữ liệu NMR của **VG15** với dữ liệu được báo cáo trong tài liệu [66], cấu trúc của **VG15** được xác định là *threo*-guaiacylglycerol-8-*O*-4'-sinapyl ete 7-*O*- β -D-glucopyranoside (Hình 3.90).

Bảng 3. 33. Dữ liệu phổ $^1\text{H-}, ^{13}\text{C-NMR}$ của số **VG15**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$^{\text{a,c}}\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$^{\text{a,c}}\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	131,3	-	5'	154,6	-
2	112,6	7,11 (d; 2,0)	6'	104,9	6,79 (s)
3	148,6	-	7'	131,9	6,58 (d; 19,0)
4	147,2	-	8'	130,8	6,36 (dt; 19,0; 6,6)
5	115,7	6,78 (d; 9,0)	9'	61,2	4,25 (dd; 6,6; 2,0)
6	121,4	6,95 (dd; 9,0; 2,0)	1''	105,2	4,61 (d; 7,5)
7	82,3	5,16 (d; 6,5)	2''	75,6	3,21-3,41 (m)*
8	87,0	4,33 (m)	3''	77,8	3,21-3,41 (m)*
9	63,6	3,62 (m)	4''	71,4	3,21-3,41 (m)*
1'	135,1	-	5''	78,0	3,21-3,41 (m)*
2'	104,9	6,79 (s)	6''	62,5	3,76 (dd; 11,4; 3,0)
3'	154,6	-	3-OCH ₃	56,5	3,89 (s)
4'	136,2	-	3',5'-OCH ₃	56,7	3,90 (s)

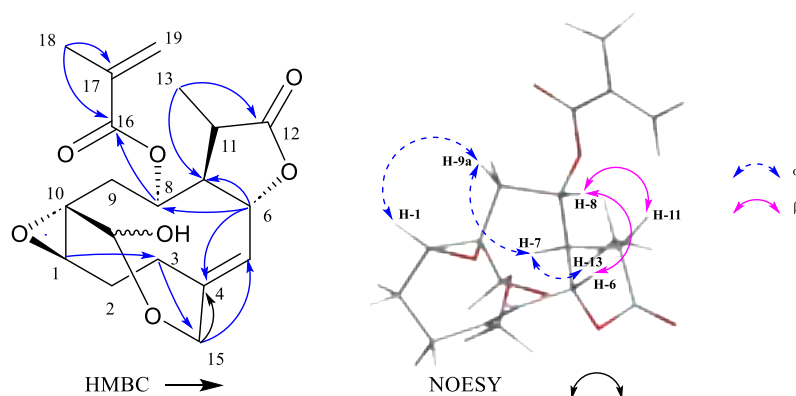
^a CD₃OD; ^b 500 MHz, ^c 125 MHz. *) tín hiệu bị chồng lấp

3.2.2.9. Hợp chất VG16: 11 β ,13-dihydroveranolide



Hình 3. 91. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG16**

Hợp chất **VG16** thu được dưới dạng tinh thể không màu. Phổ proton của **VG16** cho thấy sự xuất hiện của 3 proton olefinic ở δ_H 5,56 (1H, d, $J = 10,2$ Hz, H-5); 5,71 (1H, br s, H-19) và 6,14 (1H, br s, H-19). Bên cạnh đó, bốn nhóm oxymethin ở δ_H 2,86 (1H, dd, $J = 11,4; 4,8$ Hz, H-1); 5,33 (1H, t, $J = 19,8; 10,2$ Hz, H-6); 5,98 (1H, t, $J = 13,6; 6,2$ Hz, H-8) và 4,60 (1H, s, H-14); hai proton oxymethylene ở δ_H 3,74 (1H, d, $J = 13,2$ Hz, H-15); 4,56 (1H, d, $J = 13,2$ Hz, H-15); và sáu proton methyl ở δ_H 1,30 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, H-13) và 1,99 (3H, s, H-18) cũng xuất hiện trên phổ 1H NMR. Phổ ^{13}C NMR bao gồm hai mươi tín hiệu carbon tương ứng với khung sesquiterpene có gắn nhóm methylacryloyl. Các tín hiệu ở δ_C 180,7 (C-12) và 167,8 (C-16) tương ứng với hai nhóm carbonyl trong cấu trúc của **VG16**. Phổ ^{13}C -NMR của **VG16** cũng thể hiện tín hiệu của carbon etylenic ở δ_C 144,4 (C-4); 130,8 (C-5); 137,8 (C-17); 126,9 (C-19) và carbon bậc 4 liên kết với oxy ở δ_C 60,7 (C-10). Tín hiệu ở δ_C 67,0 (C-1); 78,8 (C-6), 72,9 (C-8); 100,0 (C-14) được xác định là các carbon oxymethine, ngoài ra các oxymethylene carbon cũng được quan sát thấy ở δ_C 64,9 (C-15). Tương tác COSY của H-1/H-2/H-4, H-5/H-6/H-7/H-8/H-9, và H-7/H-11/H-13 chỉ ra sự hiện diện của ba hệ thống spin chính trong **VG16** tương ứng với CH-CH₂-CH₂, CH-CH-CH-CH₂, và CH-CH-CH₃. Tương tác HMBC giữa H-8 và C-16 chỉ ra vị trí của nhóm methylacryloyl là tại C-8. Phổ NOESY của **VG16** cho thấy tương tác giữa H-9 α và H-1/H-7, giữa H-7 và H-13 cho thấy những proton này có cùng cấu hình tương đối α , bên cạnh đó, cấu hình β của các proton H-11, H-8, H-6 được thiết lập dựa trên tương tác NOESY từ H-8 đến H-6 và H-11. Phổ 1D- và 2D-NMR cho phép xác định **VG16** là 11 β ,13-dihydroveranolide (Hình 3.91) [67].



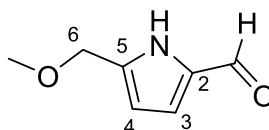
Hình 3. 92. Tương tác HMBC và NOESY chính của **VG16**

Bảng 3. 34. Dữ liệu phổ NMR của **VG16** và tài liệu tham khảo

C	^[68] δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	66,32	67,0	2,86 (dd; 9,5; 4,0)
2	22,74	23,9	2,23 (m)/ 1,75 (m)
3	33,56	34,1	2,46 (m)/ 2,38 (m)
4	142,85	144,4	-
5	129,23	130,8	5,56 (d; 8,5)
6	77,31	78,8	5,33 (t; 8,0)
7	57,11	58,0	2,33 (t; 8,0)
8	71,50	72,9	5,98 (t; 8,0)
9	40,79	41,9	2,62 (d; 11,0)
10	58,89	60,7	-
11	39,93	41,2	2,68 (m)
12	177,54	180,7	-
13	16,72	16,9	1,30 (d; 6,0)
14	99,47	100,0	4,60 (br s)
15	64,30	64,9	4,56 (d; 13,0)
16	167,96	167,8	-
17	135,62	137,8	-
18	18,28	18,5	1,99 (s)
19	127,44	126,9	6,14 (br s; H-19a) 5,71 (br s; H-19b)

^aCD₃OD; ^b 500 MHz, ^c 125 MHz.

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



Hình 3. 93. Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG17**

Hợp chất **VG17** phân lập được dưới dạng dầu màu nâu nhạt. Phổ ¹H-NMR cho thấy sự có mặt của một proton aldehyde ở δ_H 9,47 (1H, s, CHO), hai proton thơm ở δ_H 6,90 (1H, dd, $J = 3,6; 2,4$ Hz, H-3) và 6,21 (1H, dd, $J = 3,0; 2,4$ Hz, H-4), một nhóm

oxymethylene ở δ_H 4,49 (2H, s, OCH₂), và một nhóm methoxy ở δ_H 3,40 (3H, s, OCH₃). Phổ ¹³C-NMR cho thấy tín hiệu của bảy nguyên tử carbon, trong đó có một nguyên tử carbon aldehyde ở δ_C 178,9 (CHO), bốn nguyên tử carbon thơm ở δ_C 137,4 (C-5); 132,7 (C-2); 121,3 (C-3) và 109,6 (C-4), một oxymethylene carbon ở δ_C 67,1 (OCH₂), và một nhóm methoxy ở δ_C 58,5 (OCH₃). Dữ liệu ¹H- và ¹³C-NMR của hợp chất VG17 phù hợp với hợp chất của 5-(hydroxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde [69]. Như vậy, cấu trúc của **VG17** là được xác định là 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde.

Bảng 3. 35. Dữ liệu phổ của **VG17**

	# $\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	178,8	178,9	9,47 (s)
2	132,7	132,7	
3	121,5	121,3	6,90 (dd; 3,6; 2,4)
4	109,8	109,6	6,21 (dd; 3,0; 2,4)
5	137,6	137,4	
6	67,0	67,1	4,49 (s)
OCH ₃	58,4	58,5	3,40 (s)

^a CDCl₃; ^b 500 MHz, ^c 125 MHz.

Từ loài *V. gratiosa* đã phân lập được **17** hợp chất sạch (**VG1-VG17**) trong đó **09** hợp chất thuộc nhóm thuộc khung stigmastane steroid với hai nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7,9(11)}$ đặc trưng cho các loài thuộc chi *Vernonia* (**VG1-VG9**), **04** hợp chất thuộc nhóm flavonoid (**VG10-VG13**), **2** hợp chất thuộc nhóm lignan (**VG14, VG15**), một hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene (**VG16**) và **1** hợp chất thuộc alkaloid (**VG17**). Trong **17** hợp chất sạch phân lập được thì có **07** hợp chất mới bao gồm: Vernogratioides A (**VG1**), Vernogratioides B (**VG2**), Vernogratioides C (**VG3**), Vernogratioides R (**VG4**), Vernogratioides S (**VG5**), Vernoratioides A (**VG6**), Vernoratioides B (**VG7**). Các hợp chất mới được xác định cấu trúc hóa lập thể dựa trên tín hiệu phổ NOESY, phổ HMBC, phổ CD. Các hợp chất cũ được xác định dựa trên dữ liệu phổ kết hợp với tài liệu tham khảo đã công bố trước đây của các hợp chất.

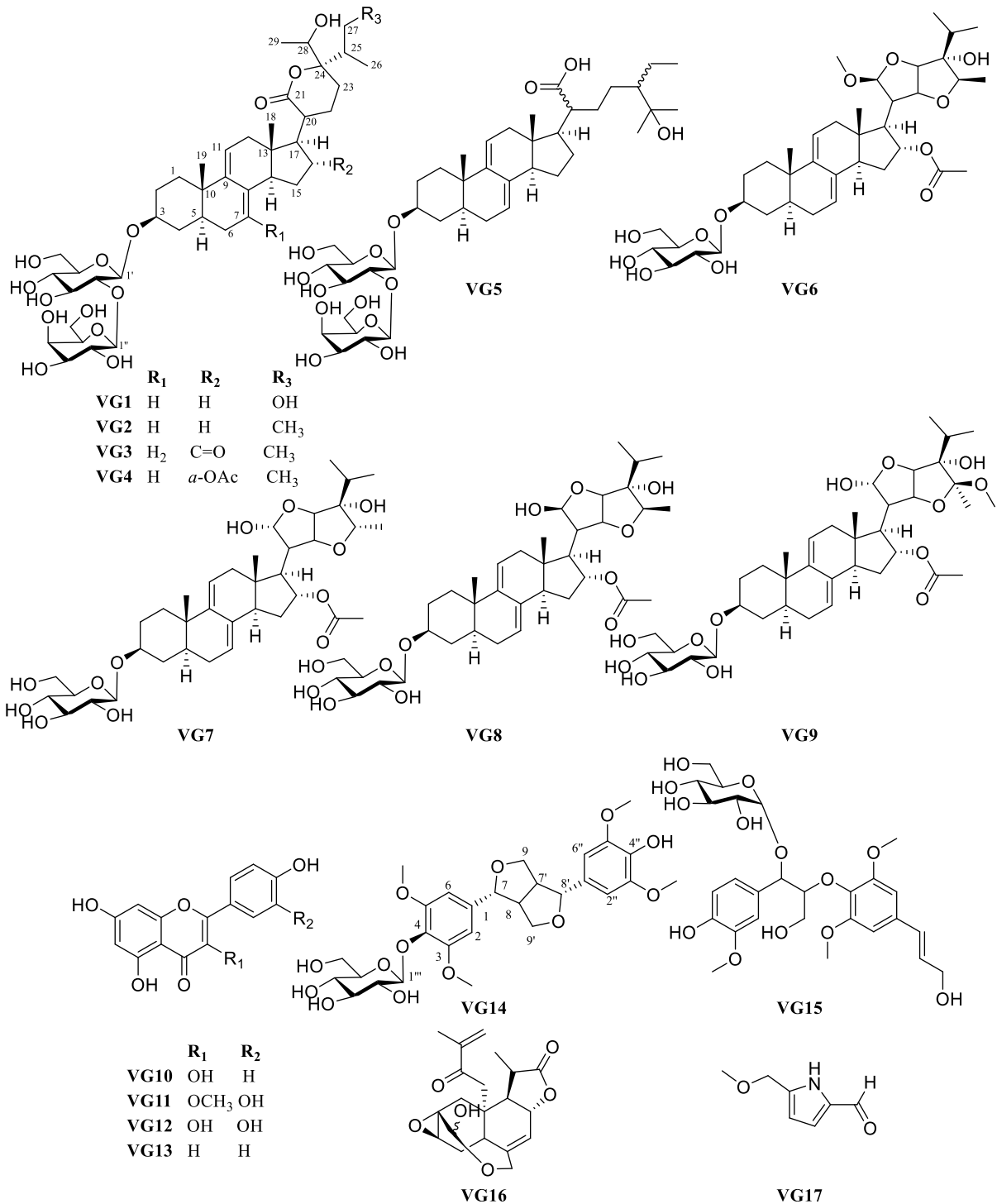
3.3. Đặc trưng phổ ¹³C-NMR của một số hợp chất stigmastane steroid phân lập từ loài *V. gratiosa*.

Phân tích các dữ liệu phổ ¹³C-NMR cho thấy cấu trúc của các hợp chất stigmastane phân lập được từ loài *V. gratiosa* đều có chứa hai nối đôi liên hợp tại vị trí $\Delta^{7,9(11)}$, không có hoặc có 1 đến 2 đường liên kết với C-3 và có chứa mạch nhánh là vòng δ -lactone hoặc hai vòng furan hợp nhất. Chi tiết được trình bày trong (Bảng 3.36). Tín hiệu của carbon thuộc hai nối đôi liên hợp sẽ xuất hiện ở vùng trường thấp trong khoảng δ_C (119,1 – 145,4) ppm. Tín hiệu tại (101,3-106,2) ppm cho phép xác định sự có mặt của carbon anomeric trong các đơn vị đường. Đối với mạch nhánh, các tín hiệu carbon δ_C [(177,4 – 178,4); (23,9; 23,0 – 25,2); 91,1] ppm tương ứng với carbon (C-21) – (C-24) cho phép xác định cấu trúc δ -lactone của mạch nhánh, trong khi hai vòng furan được

xác định dựa trên các tín hiệu của các carbon oxymethine hoặc hemiacet trong vùng trường thấp δ_C (77,3 – 110,6 ppm).

Bảng 3. 36. Dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của các hợp chất (VG1 – VG9)

C	VG1	VG2	VG3	VG4	VG5	VG6	VG7	VG8	VG9
1	36,0	36,0	35,4	35,9	36,0	36,0	35,9	35,9	35,4
2	30,6	30,6	30,2	30,5	30,6	30,6	30,6	30,6	30,6
3	79,9	79,9	79,3	79,8	79,9	78,9	78,9	78,6	78,9
4	35,1	35,1	36,1	35,1	35,1	35,0	35,0	35,0	35,0
5	40,6	40,6	44,0	40,5	40,5	40,5	40,5	40,4	40,5
6	31,0	31,0	27,0	30,9	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0
7	121,7	121,6	26,6	122,2	121,7	122,3	122,3	122,3	122,4
8	137,2	137,3	54,2	136,1	137,3	136,3	136,2	136,3	136,3
9	145,4	145,4	145,3	145,4	145,3	145,3	145,2	144,9	145,0
10	37,1	37,1	39,1	37,1	37,1	37,1	37,2	37,1	37,1
11	119,4	119,5	119,8	119,0	119,4	119,0	119,3	119,5	119,6
12	41,0	41,2	39,6	41,2	41,1	41,1	42,6	42,7	42,8
13	43,2	43,6	42,5	44,3	43,2	44,1	44,1	43,8	43,8
14	52,8	52,6	49,7	49,9	52,5	50,1	50,1	49,9	49,5
15	23,7	23,7	46,1	33,4	33,3	34,2	34,3	34,5	36,0
16	27,4	26,6	212,2	77,5	28,6	79,1	79,2	78,9	79,8
17	50,7	50,5	47,1	56,7	53,9	55,0	53,1	52,7	48,6
18	11,9	12,3	12,5	13,9	11,6	13,5	14,0	14,4	14,5
19	19,9	20,0	18,0	20,0	19,9	19,9	19,9	19,9	19,8
20	41,9	41,8	41,1	40,2	50,1	52,7	53,1	50,2	49,5
21	177,4	178,4	178,4	178,3	178,5	110,6	101,7	99,8	100,0
22	27,4	23,7	23,9	23,9	23,8	83,8	77,3	82,8	80,7
23	23,5	23,0	23,0	25,2	29,6	83,7	83,6	88,9	92,4
24	91,1	91,1	91,2	90,7	52,8	83,6	91,9	83,4	83,0
25	43,4	36,2	36,2	37,2	74,7	31,1	30,6	32,4	33,1
26	12,6	17,2	17,2	16,8	27,3	17,5	17,4	17,5	17,5
27	63,9	17,6	17,6	17,5	27,1	18,1	18,0	17,7	18,2
28	71,1	71,8	71,9	71,8	24,7	82,7	81,2	85,7	113,4
29	17,6	17,9	17,9	17,8	14,3	14,0	20,1	14,4	17,4
1'	101,3	101,4	101,4	101,3	101,4	102,4	102,4	102,3	102,4
2'	83,6	83,7	83,7	83,6	83,7	75,1	75,2	75,1	75,2
3'	77,7	77,7	77,8	77,7	77,8	78,1	78,1	78,1	78,1
4'	71,5	71,5	71,5	71,5	71,5	71,7	71,7	71,7	71,7
5'	77,8	77,7	77,9	77,8	77,7	77,9	77,9	77,8	77,9
6'	62,7	62,7	62,7	62,7	62,7	62,8	62,8	62,8	62,8
1''	106,2	106,2	106,3	106,2	106,2				
2''	73,5	73,5	73,7	73,5	73,5				
3''	74,7	74,9	74,7	74,7	74,5				
4''	70,0	70,0	70,1	70,0	70,0				
5''	77,0	77,0	77,1	77,0	77,1				
6''	62,1	62,1	62,3	62,1	62,1				
$\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$				172,6		172,3	172,3	172,3	172,7
$\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$				21,2		21,6	21,7	21,7	21,9
$\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$						56,7			48,5



Hình 3. 94. Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ *V. gratiosa*

3.4. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*

α -glucosidase là enzyme chính xúc tác bước cuối cùng trong quá trình chuyển hóa carbohydrate. Do đó, việc ức chế enzyme này sẽ làm chậm quá trình tăng lượng đường trong máu sau bữa ăn chứa carbohydrate [4]. Chất ức chế enzym α -glucosidase (α -glucosidase inhibitors-AGIs) là các chất làm chậm quá trình hấp thụ carbohydrate từ ruột non, do đó có tác dụng làm giảm lượng đường trong máu sau bữa ăn. Theo các

nghiên cứu trước, các loại thuốc AGIs điển hình như miglitol và acarbose. Trong đó, Acarbose làm chậm quá trình tiêu hóa carbohydrate bằng cách ức chế cạnh tranh với enzyme α -glucosidase ở ruột non, dẫn đến làm giảm đường huyết sau ăn. Do đó, acarbose được sử dụng là đối chứng dương trong nghiên cứu này.

3.4.1. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất LD1 – LD17

Kết quả đánh giá sự khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của 17 hợp chất (**LD1 – LD17**) với đối chứng dương là Acarbose cho thấy: Hợp chất **LD15** thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị ($IC_{50} = 7,42 \pm 0,95 \mu M$) tốt hơn so với đối chứng dương acarbose ($IC_{50} 127,53 \pm 1,73 \mu M$), tiếp đến là các hợp chất (**LD5, LD14, LD12, LD1**) cũng có tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là ($14,74 \pm 1,57$; $48,55 \pm 4,31$; $72,41 \pm 7,56$; $78,56 \pm 7,28 \mu M$). Bên cạnh đó, các hợp chất còn lại chưa thể hiện được khả năng ức chế ở các nồng độ nghiên cứu.

Tổng quan tài liệu tham khảo chỉ ra rằng cho đến nay chỉ có nghiên cứu của nhóm tác giả Hoàng Lê Tuấn Anh về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina*. Trong nghiên cứu này tác giả đã tìm ra được hợp chất vernoamyoside E ức chế đáng kể đối với enzyme này, các hợp chất còn lại vernoniacums B, vernonioside B₁ và vernonioside B₂ không thể hiện được tác dụng ức chế đối với enzyme này. Nghiên cứu này có thể làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế hoạt động của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* đối với enzyme α -glucosidase.

Kết quả trong (Bảng 3.37) đã cho thấy được mối tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc một cách tương đối. Cụ thể là, các hợp chất stigmastane steroid có mạch nhánh là vòng lactone 5 cạnh có chứa một liên kết đôi tại vị trí α, β (**LD15, LD14**) hoặc vòng γ -lactone (**LD12**) sẽ thể hiện hoạt tính nổi bật hơn so với các dạng mạch nhánh đóng vòng với 2 vòng furan liên kết với nhau tại vị trí C-22, C-23 (ngoại trừ **LD5, LD1**), trong khi các hợp chất có mạch nhánh ở dạng mở vòng hoàn toàn không thể hiện được khả năng ức chế enzyme α -glucosidase. So sánh tác dụng của hợp chất **LD15** ($IC_{50} = 7,42 \pm 0,95 \mu M$) và **LD12**, ($72,41 \pm 7,56 \mu M$) chỉ ra rằng sự hình thành vòng epoxy ở vị trí C-24, C-28 đã làm giảm hoạt tính của hợp chất stigmastane với mạch nhánh là vòng γ -lactone. Bên cạnh đó, sự dehydrate hóa ở vị trí C-16 của **LD14** so với **LD15** cũng làm giảm tác dụng. Đối với mạch nhánh ở dạng đóng vòng với hai vòng furan, nhóm thế α -CH₃ tại vị trí C-28 và OH tại C-21 đóng vai trò quyết định hoạt tính của các hợp chất steroid. Cụ thể là, hợp chất **LD5** với vị trí C-28 có gắn một nhóm α -CH₃ thể hiện khả năng ức chế rất mạnh ở giá trị IC_{50} là $14,74 \pm 1,57 \mu M$, tuy nhiên ở hợp chất **LD1** có gắn thêm một nhóm β -OCH₃ hoạt tính giảm mạnh xuống và giá trị IC_{50} là $78,56 \pm 7,28 \mu M$. Ngoài ra, các hợp chất **LD2, LD3, LD4, LD8** không thể hiện được hoạt tính do cấu trúc mạch nhánh không chứa nhóm thế α -CH₃ tại vị trí C-28 và OH tại C-21.

Bảng 3. 37. Tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase của (LD1 -LD17)

Hợp chất	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5
IC ₅₀ (μ M)	78,56 \pm 7,28	>500	>500	>500	14,74 \pm 1,57
Hợp chất	LD6	LD7	LD8	LD12	LD14
IC ₅₀ (μ M)	>500	>500	292,14 \pm 19,38	72,41 \pm 7,56	48,55 \pm 4,31
Hợp chất	LD15	LD16	LD17	Acarbose	
IC ₅₀ (μ M)	7,42 \pm 0,95	>500	>500	127,53 \pm 1,73	

3.4.2. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất (VG1 – VG17)

Kết quả đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ *V. gratiosa* (Bảng 3.38) cho thấy chỉ có hợp chất **VG15** thể hiện được tác dụng hiệu quả với giá trị (IC₅₀ = 47,08 \pm 3,98 μ M) so với đối chứng dương Acarbose có giá trị IC₅₀ (146,64 \pm 8,85 μ M) ngoài ra 2 hợp chất **VG5** và **VG13** cũng thể hiện tác dụng sinh học yếu hơn ở giá trị IC₅₀ = (424,79 \pm 37,83; 477,52 \pm 20,84. μ M). Các hợp chất còn lại phân lập từ loài *V. gratiosa* không cho thấy khả năng ức chế ở các nồng độ nghiên cứu. Tổng quan các tài liệu đến thời điểm hiện tại, chưa có nghiên cứu nào về tác động ức chế α -glucosidase từ các hợp chất phân lập được của loài *V. gratiosa*. Đây là nghiên cứu đầu tiên cung cấp tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính sinh học của loài *V. gratiosa*.

Bảng 3. 38 Tác động ức chế α -glucosidase của (VG1 – VG17)

Hợp chất	VG1	VG2	VG3	VG4	VG5
IC ₅₀ (μ M)	>500	>500	>500	>500	424,79 \pm 37,83
Hợp chất	VG6	VG7	VG8	VG13	
IC ₅₀ (μ M)	>500	>500	>500	477,52 \pm 20,84	
Hợp chất	VG14	VG15	VG17	Acarbose	
IC ₅₀ (μ M)	>500	47,08 \pm 3,98	>500	146,64 \pm 8,85	

3.4.3. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất (LD1 – LD17)

Kết quả đánh giá khả năng ức chế hoạt động của enzyme xanthine oxidase bởi các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* cho thấy, không có hợp chất nào thể hiện được tác dụng ức chế đáng. Tất cả các hợp chất **LD1 – LD17** đều thể hiện giá trị IC₅₀ >500 μ M.

3.4.4. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất sạch phân lập được từ loài *V. gratiosa*

Khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất (**VG1-VG8; VG13-VG15**) phân lập từ loài *V. gratiosa* được thể hiện trong bảng dưới đây:

Bảng 3. 39. Tác động ức chế enzym xanthine oxidase của (VG1 – VG17)

Hợp chất	VG1	VG2	VG3	VG4
IC₅₀ (μM)	>500	>500	>500	>500
Hợp chất	VG5	VG6	VG7	VG8
IC₅₀ (μM)	47,65 ± 3,44	>500	>500	>500
Hợp chất	VG13	VG14	VG15	Allopurinol
IC₅₀ (μM)	6,26 ± 0,60	>500	26,92 ± 1,04	1,12 ± 0,15

Kết quả trên chỉ ra rằng các hợp chất **VG13** và **VG15** có khả năng ức chế enzym xanthine oxidase ở IC₅₀ là (**6,26 ± 0,60 μM** và **26,92 ± 1,04 μM**) so với đối chứng dương Allopurinol (**1,12 ± 0,15 μM**); Các mẫu còn lại không thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

Từ kết quả đánh giá khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* cho thấy các hợp chất stigmastane steroid không thể hiện được tác dụng ức chế ở nồng độ nghiên cứu. Hợp chất chất lignan **VG15** và flavone **VG13** từ *V. gratioiosa* có tiềm năng ức chế enzyme này. Đây là nghiên cứu đầu tiên về tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase bởi các hợp chất phân lập từ chi *Vernonia*.

KẾT LUẬN

1. Về thành phần hóa học:

Đã phân lập và xác định cấu trúc của 34 hợp chất, trong đó 17 hợp chất từ loài *V. amygdalina* và 17 hợp chất từ *V. gratiosa*. Cụ thể bao gồm:

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

- Từ loài *V. Gratiosa*, 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-*O*-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-dihydrovernonolide (**VG16**); 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde (**VG17**).

2. Về hoạt tính sinh học

- Các hợp chất **LD1, LD5, LD14, LD12, LD15**, phân lập từ loài *V. amygdalina* thể hiện được khả năng ức chế α -glucosidase hiệu quả 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**). Trong khi đó, các hợp chất **VG5, VG13** và **VG15** phân lập từ loài *V. gratiosa* cho thấy khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC₅₀ là (**47,08 \pm 3,98 μ M** và **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 enzym xanthine oxidase với (IC₅₀ = **6,26 \pm 0,60 – 47,65 \pm 3,44 μ M**); so với đối chứng dương Allopurinol là: (**47,65 \pm 3,44; 26,92 \pm 1,04 μ M**).

KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu toàn diện và chuyên sâu hơn về cơ chế phân tử đích enzyme α -glucosidase của các hợp chất **LD5, LD14, LD12, LD1, VG15**, cũng như các thử nghiệm trên mô hình *in vivo* và thử nghiệm lâm sàng. Đồng thời cũng cần tiến hành thêm các nghiên cứu đánh giá độc tính của các hợp chất này trên cả mô hình *in vitro* và *in vivo*.

- Tiến hành các nghiên cứu lặp lại để khẳng định tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất **VG15** và **VG3**, cũng như tìm ra cơ chế đích tác động của chúng. Bên cạnh đó, cần tiến hành thêm các nghiên cứu trên mô hình *in vivo* để có thể phát triển các sản phẩm điều trị gout.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

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**).
2. Phát hiện và công bố 07 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng như trong tự nhiên (**VG1-VG7**) bao gồm: vernogratioides A (**VG1**), vernogratioides B (**VG2**), vernogratioides C (**VG3**), vernogratioides R (**VG4**), vernogratioides S (**VG5**), vernoratioides A (**VG6**), vernoratioides B (**VG7**).
3. 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 μ M** đến **78,56 \pm 7,28 μ M**) so với đối chứng dương (Acarbose **127,53 \pm 1,73 μ 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 μ 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 μ M** và **477,52 \pm 20,84 μ M** so với đối chứng dương Acarbose **146,64 \pm 8,85 μ M**.
4. 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 μ M**; so với đối chứng dương Allopurinol là: (**1,12 \pm 0,15 μ M**).

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

- 1.** Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* and their α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Natural Product Research*, 2024, 38 (4): 601-606; thuộc danh mục SCIE; IF-2.488.
- 2.** 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 gratiosa*. *Natural Product Research*, 2023, 37 (14): 2342-2350; danh mục SCIE; IF-2.488.
- 3.** Alpha-glucosidase inhibitory activity of saponins isolated from *Vernonia gratiosa* Hance. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33.6: 797.; thuộc danh mục SCIE; IF-3.27.
- 4.** Constituents of *Vernonia gratiosa* Hance and their α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Vietnam Journal of Chemistry*, 2022, 60.5: 653-659; thuộc danh mục ESCI, IF-0.74.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aladdin N.A., Husain K., Jalil J., Sabandar C.W., Jamal J.A., 2020, Xanthine oxidase inhibitory activity of a new isocoumarin obtained from *Marantodes pumilum* var. *pumila* leaves, *BMC Complement Med Ther*, 20(1): pp. 324.
2. Biên L.K., 2007, Thực vật chí Việt Nam, *Nhà xuất bản Khoa học Kỹ Thuật*, tr.7.
3. Toyang N.J., Verpoorte R., 2013, A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae), *Journal of Ethnopharmacology*, 146(3): pp. 681-723.
4. Chi V.V., 2012, Từ điển cây Thuốc Việt Nam, *Nhà xuất bản Y học*.
5. Lợi Đ.T., *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. 1962: Nhà xuất bản Y học.
6. Lemos Da Silva L.A., Biavatti M.W., Sandjo L.P., Chapter 6 - Centrifugal partition chromatography isolation of glaucolides sesquiterpenes and LC-ESIMS/MS technique for differentiation the mass spectrometry behavior of hirsutinolide and glaucolide skeletons, in *Studies in Natural Products Chemistry*, R. Atta ur, Editor. 2022, Elsevier. p. 201-223.
7. Bohlmann F., Zdero C., 1982, Glaucolides and other constituents from South African *Vernonia* species, *Phytochemistry*, 21(9): pp. 2263-2267.
8. Kazyoba P., Grierson D., Afolayan A., 2006, Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Journal of Ethnopharmacology*, 106: pp. 117-20.
9. Manvar M., Desai T.R., 2012, *Vernonia anthelmintica* Willd.: An Overview on Phytopharmacological Properties, *Inventi Impact: Ethnopharmacology*, pp. 1-4.
10. Kimani N.M., Matasyoh J.C., Kaiser M., Brun R., Schmidt T.J., 2018, Sesquiterpene lactones from *Vernonia cinerascens* Sch. Bip. and their *in vitro* antitrypanosomal activity, *Molecules*, 23(2).
11. Koul J.L., Koul S., Singh C., Taneja S.C., Shanmugavel M., Kampasi H., Saxena A.K., Qazi G.N., 2003, *In vitro* cytotoxic elemanolides from *Vernonia lasiopus*, *Planta Med*, 69(2): pp. 164-166.
12. Dogra N.K., Kumar S., Kumar D., 2020, *Vernonia anthelmintica* (L.) Willd.: An ethnomedicinal, phytochemical, pharmacological and toxicological review, *Journal of Ethnopharmacology*, 256: pp. 112777.
13. Hul M., Bov K., Bun P., Keo S., 2021, The antidiabetic activity of *Vernonia amygdalina* Delile native to Cambodia, *Asian Journal of Pharmacognosy*, 4(1): pp 5-7.
14. Aliyu A.B., Moodley B., Chenia H., Koorbanally N.A., 2015, Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Vernonia blumeoides* growing in Nigeria, *Phytochemistry*, 111: pp. 163-168.
15. Padolina W.G., Yoshioka H., Nakatani N., Mabry T.J., Monti S.A., Davis R.E., Cox P.J., Sim O.A., Watson W.H., Beth Wu I., 1974, Glaucolide-A and -B, new

- germacranolide-type sesquiterpene lactones from *Vernonia* (Compositae), *Tetrahedron*, 30(10): pp. 1161-1170.
16. Alarcon M.C., Callegari Lopes J.L., Herz W., 1990, Glaucolide B, A molluscicidal sesquiterpene lactone, and other constituents of *Vernonia eremophila*, *Planta Medica*, 56(3): pp. 271-3.
17. Barbosa L.C.d.A., Costa A.V., Piló-Veloso D., Lopes J.L.C., Hernandez-Terrones M.G., King-Diaz B., Lotina-Hennsen B., 2004, Phytogrowth-inhibitory lactones derivatives of glaucolide B, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(11-12): pp. 803-810.
18. Williams R.B., Norris A., Slebodnick C., Merola J., Miller J.S., Andriantsiferana R., Rasamison V.E., Kingston D.G.I., 2005, Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the Madagascar Rainforest, *Journal of Natural Products*, 68(9): pp. 1371-1374.
19. Campos M., Oropeza M., Ponce H., Fernández J., Jimenez-Estrada M., Torres H., Reyes-Chilpa R., 2003, Relaxation of uterine and aortic smooth muscle by glaucolides D and E from *Vernonia liatroides*, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(1): pp. 112-115.
20. Catalán C.A.N., de Iglesias D.I.A., Kavka J., Sosa V.E., Herz W., 1986, Sesquiterpene lactones and other constituents of *Vernonia mollissima* and *Vernonia squamulosa*, *Journal of Natural Products*, 49(2): pp. 351-353.
21. Zhang M., Yang X., Wei Y., Wall M., Songsak T., Wongwiwatthananut S., Chang L.C., 2019, Bioactive sesquiterpene lactones isolated from the whole plants of *Vernonia cinerea*, *Journal of Natural Products*, 82(8): pp. 2124-2131.
22. Youn U.J., Miklossy G., Chai X., Wongwiwatthananut S., Toyama O., Songsak T., Turkson J., Chang L.C., 2014, Bioactive sesquiterpene lactones and other compounds isolated from *Vernonia cinerea*, *Fitoterapia*, 93: pp. 194-200.
23. Chen X., Zhan Z. J., Zhang X. W., Ding J., Yue J. M., 2005, Sesquiterpene lactones with potent cytotoxic activities from *Vernonia chinensis* *Planta Medica*, 71: pp. 1178-1178.
24. Bardón A., Kamiya N.I., De Ponce De León C.A., Catalán C.A.N., Díaz J.G., Herz W., 1992, Glaucolides and related sesquiterpene lactones from *Vernonia nudiflora* and *Chrysolaena propinqua*, *Phytochemistry*, 31(2): pp. 609-613.
25. Liu Y., Nugroho A.E., Hirasawa Y., Nakata A., Kaneda T., Uchiyama N., Goda Y., Shirota O., Morita H., Aisa H.A., 2010, Vernodalidimers A and B, novel orthoester elemanolide dimers from seeds of *Vernonia anthelmintica*, *Tetrahedron Letters*, 51(50): pp. 6584-6587.

26. Bitchagno G.T.M., Schüffler A., Gross J., Krumb M., Tane P., Opatz T., 2022, Sesquiterpene lactones from *Vernonia tufnelliae*: Structural characterization and biological evaluation, *Journal of Natural Products*, 85(7): pp. 1681-1690.
27. Valkute T.R., Aratikatla E.K., Gupta N.A., Ganga S., Santra M.K., Bhattacharya A.K., 2018, Synthesis and anticancer studies of Michael adducts and Heck arylation products of sesquiterpene lactones, zaluzanin D and zaluzanin C from *Vernonia arborea*, *RSC Advances*, 8(67): pp. 38289-38304.
28. Huo J., Yang S. P., Xie B. J., Liao S. G., Lin L. P., Ding J., Yue J. M., 2008, Cytotoxic sesquiterpenoids from *Vernonia bockiana*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 10(6): pp. 571-575.
29. Toyang N.J., Wabo H.K., Ateh E.N., Davis H., Tane P., Sondengam L.B., Bryant J., Verpoorte R., 2013, Cytotoxic sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia guineensis* Benth. (Asteraceae), *Journal Ethnopharmacol*, 146(2): pp. 552-556.
30. Lopes J.L., 1991, Sesquiterpene lactones from *Vernonia*, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 86(2): pp. 227-230.
31. Buskuhl H., de Oliveira F., Carrenho L., de Freitas R., Barison A., Campos F., Corilo Y., Eberlin M., Caramori G., Biavatti M., 2010, Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their *in vitro* cytotoxicity, *Phytochemistry*, 71: pp. 1539-1544.
32. Liu X., Tian W., Zhou M., Xu Q., Feng J., Yang R., He S., Wang G., Lin T., Chen H., 2022, Bisabolane-type sesquiterpenes from *Vernonia amygdalina*: Absolute configuration and anti-inflammatory activity, *Phytochemistry*, 201: pp. 113283.
33. Li Z., Yang Y., Chen C., Lin L., Tang C., Ye Y., 2023, Bisabolane-type sesquiterpenoids with a tetrahydrofuran or tetrahydropyran ring from *Vernonia solanifolia*, *Journal of Natural Products*, 86(6): pp. 1550-1563.
34. Liu X., Tian W., Wang G., Xu Q., Zhou M., Gao S., Qiu D., Jiang X., Sun C., Ding R., Lin T., Chen H., 2019, Stigmastane-type steroids with unique conjugated $\Delta^{7,9(11)}$ diene and highly oxygenated side chains from the twigs of *Vernonia amygdalina*, *Phytochemistry*, 158: pp. 67-76.
35. Hua L., Qi W.Y., Hussain S.H., Gao K., Arfan M., 2012, Highly oxygenated stigmastane-type steroids from the aerial parts of *Vernonia anthelmintica* Willd, *Steroids*, 77(7): pp. 811-818.
36. Zhao M.L., Shan S.J., Tao R., Cui L.T., Li Q.R., Luo J., Li Y., 2021, Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* Del, *Fitoterapia*, 150: pp. 104838.
37. Liu X., Zhou M., He S., Xu Q., Du C., Zhu H., Lin T., Wang G., Tian W., Chen H., 2022, Polyhydric stigmastane-type steroids derivative from *Vernonia amygdalina* and their anti-neuroinflammatory activity, *Pharmaceuticals (Basel)*, 15(9): pp. 1160.

38. Nguyen T.X.T., Dang D.L., Ngo V.Q., Trinh T.C., Trinh Q.N., Do T.D., Thanh T.T.T., 2021, Anti-inflammatory activity of a new compound from *Vernonia amygdalina*, *Natuural Product Research*, 35(23): pp. 5160-5165.
39. Tseme Wandji N., Bitchagno G.T.M., Mawabo Kamga I., Tchamgoue J., Nkenfou C.N., Lenta B.N., Sewald N., Kouam S.F., 2023, Polyoxygenated stigmastane-type steroids from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. and their chemophenetic significance, *Molecules*, 28(13): pp. 5278.
40. Donfack A.R.N., Toyang N.J., Wabo H.K., Tane P., Awouafack M.D., Kikuchi H., Tamokou J.D.D., Kuate J.R., Oshima Y., 2012, Stigmastane derivatives from the roots of *Vernonia guineensis* and their antimicrobial activity, *Phytochemistry Letters*, 5(3): pp. 596-599.
41. Suo M., Yang J., 2009, Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data for three new stigmastane glycosides from *Vernonia cumingiana*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 47(2): pp. 179-183.
42. Liu J., Liu Y., Si Y., Yu S., Qu J., Xu S., Hu Y., Ma S.G., 2008, New vernocuminosides from the stem barks of *Vernonia cumingiana* Benth, *Steroids*, 74: pp. 51-61.
43. Ma G.X., Feng W., Sun Z.H., Li P.F., Zhu N.L., Yang J.S., Xu X.D., Wu H.F., 2016, New stigmastane type of steroidal glycosides from the roots of *Vernonia cumingiana*, *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 35(3): pp. 172-179.
44. Cioffi G., Sanogo R., Diallo D., Romussi G., De Tommasi N., 2004, New compounds from an extract of *Vernonia colorata* leaves with anti-inflammatory activity, *Journal of Natural Products*, 67(3): pp. 389-394.
45. Tchinda A.T., Tane P., Ayafor J.F., Connolly J.D., 2003, Stigmastane derivatives and isovaleryl sucrose esters from *Vernonia guineensis* (Asteraceae), *Phytochemistry*, 63(7): pp. 841-846.
46. Kiplimo J., Koorbanally N., Chenia H., 2011, Triterpenoids from *Vernonia auriculifera* Hiern exhibit antimicrobial activity, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5: pp. 1150-1156.
47. Alves T.M., Nagem T.J., de Carvalho L.H., Krettli A.U., Zani C.L., 1997, Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliiana*, *Planta Med*, 63(6): pp. 554-5.
48. Narain N.K., 1977, Flavonoids from *Vernonia fasciculata* Michx. Isolation of genkwain and a new flavone disaccharide, fasciculatin, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (9): pp. 1018-1020.
49. Ugbogu E.A., Emmanuel O., Dike E.D., Agi G.O., Ugbogu O.C., Ibe C., Iweala E.J., 2021, The phytochemistry, ethnobotanical, and pharmacological potentials of the

- medicinal plant-*Vernonia amygdalina* L. (bitter Leaf), *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 1(1): pp. 100006.
50. Malafronte N., Pesca M.S., Bisio A., Morales Escobar L., De Tommasi N., 2009, New flavonoid glycosides from *Vernonia ferruginea*, *Nat Prod Commun*, 4(12): pp. 1639-1642.
51. Anh H.L.T., Vinh L.B., Lien L.T., Cuong P.V., Arai M., Ha T.P., Lin H.N., Dat T.T.H., Cuong L.C.V., Kim Y.H., 2021, In vitro study on α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of a new stigmastane-type steroid saponin from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Natural Product Research*, 35(5): pp. 873-879.
52. Degu S., Meresa A., Animaw Z., Jegnie M., Asfaw A., Tegegn G., 2024, *Vernonia amygdalina*: a comprehensive review of the nutritional makeup, traditional medicinal use, and pharmacology of isolated phytochemicals and compounds, *Frontiers in Natural Products*, 3: pp. 1347855.
53. Lê Thị Mi Chi K.L., Lê Thị Đại Phương, 2016, Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, đặc điểm vi phẫu và hình thái của cây Lá đắng., *Tạp chí Khoa học và công nghệ Đại học Đà Nẵng*, 11(08): pp. 78-81.
54. Nguyễn Thị Hồng Hạnh Đ.T.H., Trần Thị Hồng, 2019, Tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết lá đắng *Vernonia amygdalina* Del trên chuột nhắt trắng, *TNU Journal of Science and Technology*, 225(01): pp. 144-149.
55. Tuan N.T., Van L.T., Tien T.K., Trung D.M., Hieu D.T., Ngoc T.H.K., Dung Q.T.H., Phuong P.T.K., 2022, Antioxidative activity of some isolated flavonoids from *Vernonia amygdalina* Del, 4(1): pp. 194-199.
56. Jisaka M., Ohigashi H., Takegawa K., Hirota M., Irie R., Huffman M.A., Koshimizu K., 1993, Steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*, a possible chimpanzee medicinal plant, *Phytochemistry*, 34(2): pp. 409-413.
57. Anh H.L.T., Vinh L.B., Lien L.T., Cuong P.V., Arai M., Ha T.P., Lin H.N., Dat T.T.H., Cuong L.C.V., Kim Y.H., 2021, In vitro study on α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of a new stigmastane-type steroid saponin from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Natural Product Research*, 35(5): pp. 873-879.
58. Liu J., Ma S.-G., Yu S., Lv H., Li Y., Wu X., Liu Y., 2010, Seven new vernocuminosides from the stem bark of *Vernonia cumingiana* Benth, *Carbohydrate Research*, 345: pp. 1156-1162.
59. Liu J., Ma S., Yu S., Lv H., Li Y., Wu X., Liu Y., 2010, Seven new vernocuminosides from the stem bark of *Vernonia cumingiana* Benth, *Carbohydrate Research*, 345(9): pp. 1156-1162.
60. Ponglux, D., Wongseripipatana, S., Aimi, N., Oya, N., Hosokawa, H., Haginiwa, J., & Sakai, S. I. (1992). Structures of two new bitter principles isolated from a Thai

- medicinal plant, *Vernonia extensa* DC, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40(2): pp. 553-555.
61. Choi S.Z., Choi S.U., Lee K.R., 2004, Phytochemical constituents of the aerial parts from *Solidago virgaurea* var. *gigantea*, *Archives of Pharmacal Research*, 27(2): pp. 164-168.
62. Lee E.H., Kim H.J., Song Y.S., Jin C., Lee K.T., Cho J., Lee Y.S., 2003, Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*, *Archives of Pharmacal Research*, 26(12): pp. 1018-1023.
63. Shen C.-C., Chang Y.-S., Hott L.-K., 1993, Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids, *Phytochemistry*, 34(3): pp. 843-845.
64. Kim J.S., Kim J.C., Shim S.H., Lee E.J., Jin W., Bae K., Son K.H., Kim H.P., Kang S.S., Chang H.W., 2006, Chemical constituents of the root of *Dystaenia takeshimana* and their anti-inflammatory activity, *Archives of Pharmacal Research*, 29(8): pp. 617-623.
65. Shahat A.A., Abdel-Azim N.S., Pieters L., Vlietinck A.J., 2004, Isolation and NMR spectra of syringaresinol- β -D-glucoside from *Cressa cretica*, *Fitoterapia*, 75(7-8): pp. 771-773.
66. Takara K., Matsui D., Wada K., Ichiba T., Nakasone Y., 2002, New antioxidative phenolic glycosides isolated from Kokuto non-centrifuged cane sugar, *Biosci Biotechnol Biochem*, 66(1): pp. 29-35.
67. Rabe T., Mullholland D., van Staden J., 2002, Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves, *Journal of Ethnopharmacology*, 80(1): pp. 91-94.
68. Jisaka M., Ohigashi H., Takagaki T., Nozaki H., Tada T., Hirota M., Irie R., Huffman M.A., Nishida T., Kaji M., Koshimizu K., 1992, Bitter steroid glucosides, vernoniosides A1, A2, and A3, and related B1 from a possible medicinal plant, *Vernonia amygdalina*, used by wild chimpanzees, *Tetrahedron*, 48(4): pp. 625-632.
69. Don M.J., Shen C.C., Lin Y.L., Syu W.J., Ding Y.H., Sun C.M., 2005, Nitrogen-containing compounds from *Salvia miltiorrhiza*, *J Nat Prod*, 68(7): pp. 1066-1070.

PL1
PHỤ LỤC

PHỤ LỤC	1
I. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD1.....	8
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD1	9
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD1	9
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD1	10
Phổ HSQC của hợp chất LD1.....	10
Phổ HMBC của hợp chất LD1	11
Phổ COSY của hợp chất LD1.....	11
Phổ ROESY của hợp chất LD1	12
II. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD2	13
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD2	14
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD2.....	14
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD2	15
Phổ HSQC của hợp chất LD2.....	15
Phổ HMBC của hợp chất LD2	16
Phổ ROESY của hợp chất LD2	16
III. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD3.....	17
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD3	18
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD3.....	18
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD3	19
Phổ HSQC của hợp chất LD3.....	19
Phổ HMBC của hợp chất LD3	20
Phổ COSY của hợp chất LD3.....	20
Phổ ROESY của hợp chất LD3	21
IV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD4.....	22
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD4	23
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD4.....	23
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD4	24
Phổ COSY của hợp chất LD4.....	24
Phổ HSQC của hợp chất LD4.....	25
Phổ HMBC của hợp chất LD4	25

Phổ ROESY của hợp chất LD4	26
V. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD5.....	27
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD5	28
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD5.....	28
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD5	29
Phổ COSY của hợp chất LD5.....	29
Phổ HSQC của hợp chất LD5.....	30
Phổ HMBC của hợp chất LD5	30
Phổ NOESY của hợp chất LD5	31
VI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD6.....	32
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD6	33
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD6.....	33
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD6	34
Phổ HSQC của hợp chất LD6.....	34
Phổ HMBC của hợp chất LD6	35
Phổ COSY của hợp chất LD6.....	35
Phổ NOESY của hợp chất LD6.....	36
VII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD7	37
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD7	38
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD7.....	38
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD7	39
Phổ HSQC của hợp chất LD7.....	39
Phổ HMBC của hợp chất LD7	40
VIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD8.....	41
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD8	42
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD8.....	42
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD8	43
Phổ HSQC của hợp chất LD8.....	43
Phổ HMBC của hợp chất LD8	44
IX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD9	45
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD9	46
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD9.....	46

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD9	47
Phổ COSY của hợp chất LD9.....	47
Phổ HSQC của hợp chất LD9.....	48
Phổ HMBC của hợp chất LD9	48
Phổ ROESY của hợp chất LD9	49
X. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD10.....	50
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD10.....	51
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD10	51
Phổ HSQC của hợp chất LD10.....	52
Phổ HMBC của hợp chất LD10	52
XI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD11	53
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD11	53
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD11.....	54
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất RP11	54
XII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD12	55
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD12.....	56
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD12	56
Phổ HSQC của hợp chất LD12.....	57
Phổ HMBC của hợp chất LD12	57
XIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD13	58
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD13	58
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD13.....	59
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD13	59
XIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD14	60
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD14.....	61
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD14	61
Phổ HSQC của hợp chất LD14.....	62
Phổ HMBC của hợp chất LD14	62
XV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD15.....	63
Phổ ^1H -NMR của hợp chất LD15.....	64
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD15	64
Phổ HSQC của hợp chất LD15.....	65

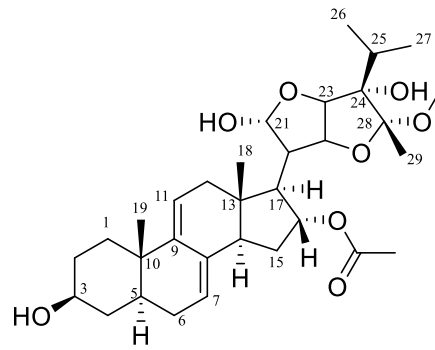
Phổ HMBC của hợp chất LD15	65
XVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD16	66
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD16.....	67
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD16	67
Phổ HSQC của hợp chất LD16.....	68
Phổ HMBC của hợp chất LD16	68
XVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD17.....	69
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất LD17.....	70
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất LD17	70
Phổ HSQC-NMR của hợp chất LD17	71
Phổ HMBC-NMR của hợp chất LD17	71
PHỤ LỤC CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ LOÀI <i>V.GRATIOSA</i> ...	72
XVIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG1.....	72
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG1	73
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG1	73
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG1	74
Phổ HSQC của hợp chất VG1	74
Phổ HMBC của hợp chất VG1	75
Phổ COSY của hợp chất VG1	75
Phổ NOESY của hợp chất VG1	76
Phổ ECD của hợp chất VG1	76
XIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG2.....	77
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG2.....	78
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG2	78
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG2	79
Phổ HSQC của hợp chất VG2	79
Phổ HMBC của hợp chất VG2	80
Phổ CD của hợp chất VG2	80
XX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG3	81
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG3.....	82
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG3	82
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG3	83

Phổ HSQC của hợp chất VG3	83
Phổ HMBC của hợp chất VG3	84
Phổ COSY của hợp chất VG3	84
Phổ NOESY của hợp chất VG3	85
Phổ CD của hợp chất VG3	85
XXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG4.....	86
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG4.....	87
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG4	87
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG4	88
Phổ HSQC của hợp chất VG4	88
Phổ HMBC của hợp chất VG4	89
Phổ CD của hợp chất VG4	89
XXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG5	90
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG5.....	90
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG5	91
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG5	91
Phổ HSQC của hợp chất VG5	92
Phổ HMBC của hợp chất VG5	92
XXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG6.....	93
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG6.....	93
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG6	94
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG6	94
Phổ HSQC của hợp chất VG6	95
Phổ HMBC của hợp chất VG6	95
Phổ COSY của hợp chất VG6	96
Phổ NOESY của hợp chất VG6	96
XXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG7.....	97
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG7.....	97
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG7	98
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG7	98
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG7.....	99
Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG7.....	99

Phổ COSY-NMR của hợp chất VG7.....	100
Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG7.....	100
XXV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG8	101
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG8	102
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG8	102
Phổ HSQC của hợp chất VG8	103
Phổ HMBC của hợp chất VG8	103
Phổ NOESY của hợp chất VG8	104
XXVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG9.....	105
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG9.....	106
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG9	107
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG9	107
Phổ HSQC của hợp chất VG9	108
Phổ HMBC của hợp chất VG9	108
XXVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG10	109
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG10	110
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG10	110
XXVIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG11.....	111
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG11	112
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG11	112
Phổ HSQC của hợp chất VG11	113
Phổ HMBC của hợp chất VG11	113
XXIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG12.....	114
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG12	115
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG12	115
XXX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG13	116
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG13	117
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG13	117
XXXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG14.....	118
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG14	119
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG14	119
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG14.....	120

Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG14.....	120
XXXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG15.....	121
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG15	122
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG15	122
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG15.....	123
Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG15.....	123
XXXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG16.....	124
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG16.....	124
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG16	125
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG16.....	125
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG16.....	126
Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG16.....	126
Phổ COSY-NMR của hợp chất VG16.....	127
Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG16	127
XXXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG17	128
Phổ ¹ H-NMR của hợp chất VG17	128
Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất VG17	128
XXXV. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG1	129
XXXVI. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG5 ...	130
XXXVII. PHIẾU GIÁM ĐỊNH TÊN KHOA HỌC CỦA LOÀI <i>V.GRATIOSA</i>	131
VÀ LOÀI <i>V. AMYGDALINA</i>.....	131

I. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD1



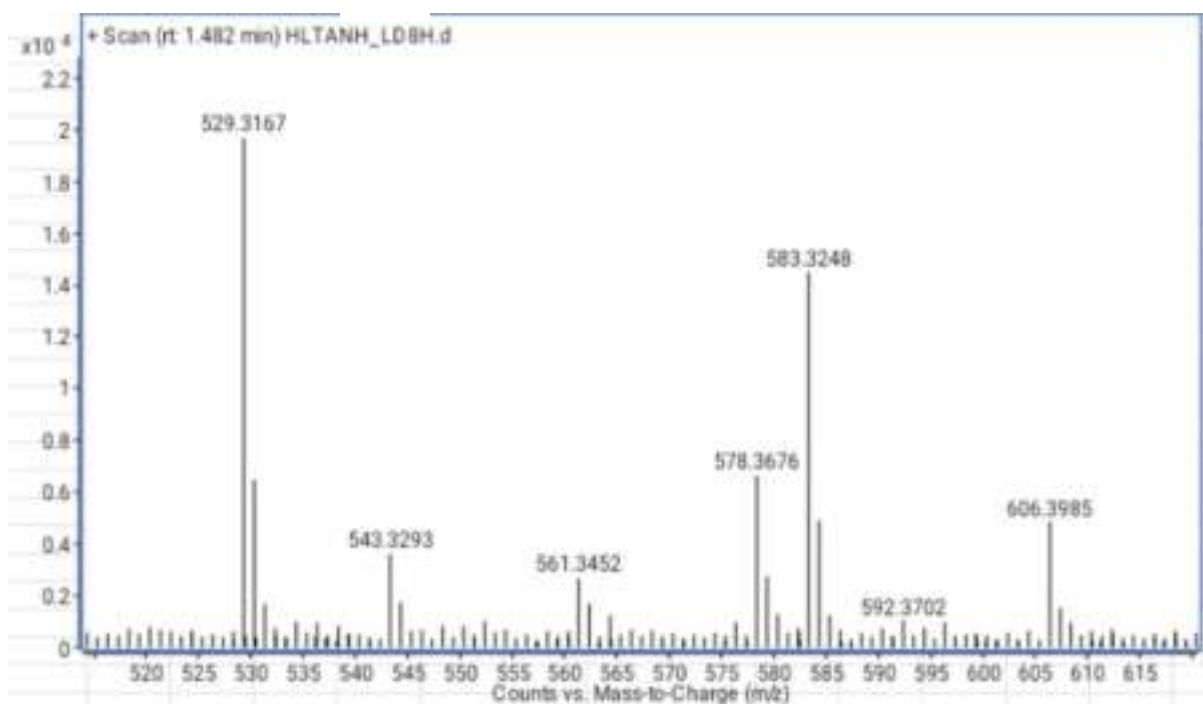
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{32}H_{48}O_8$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 560,3

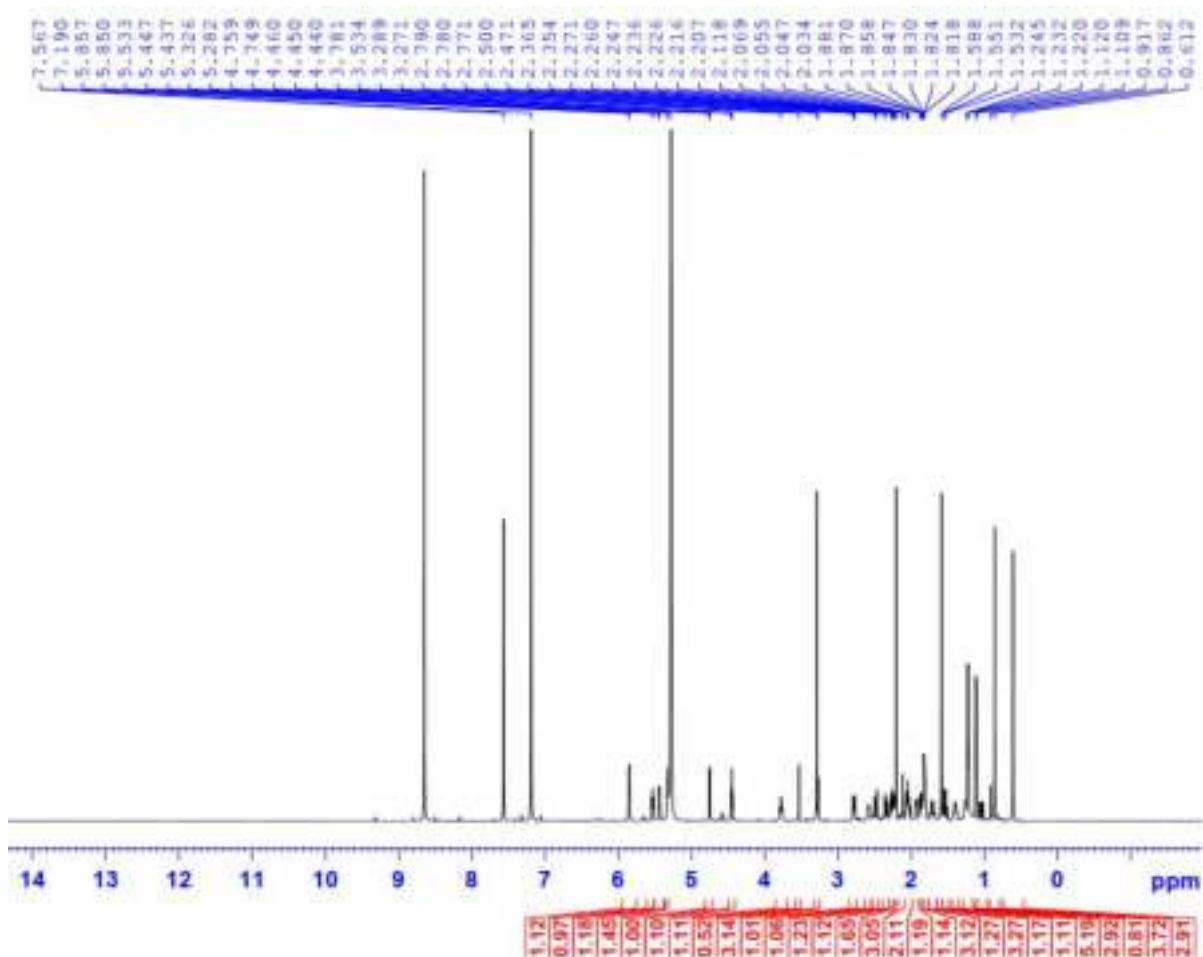
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL9

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD1

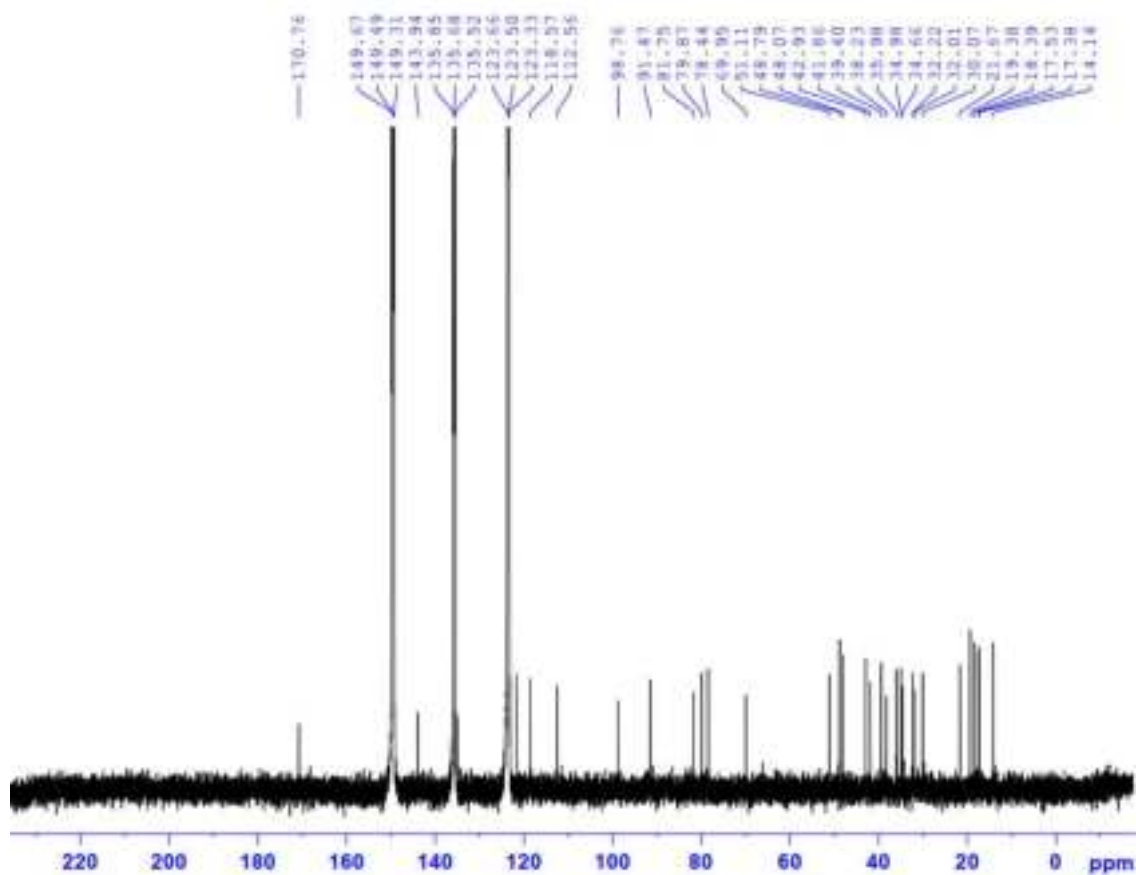


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD1

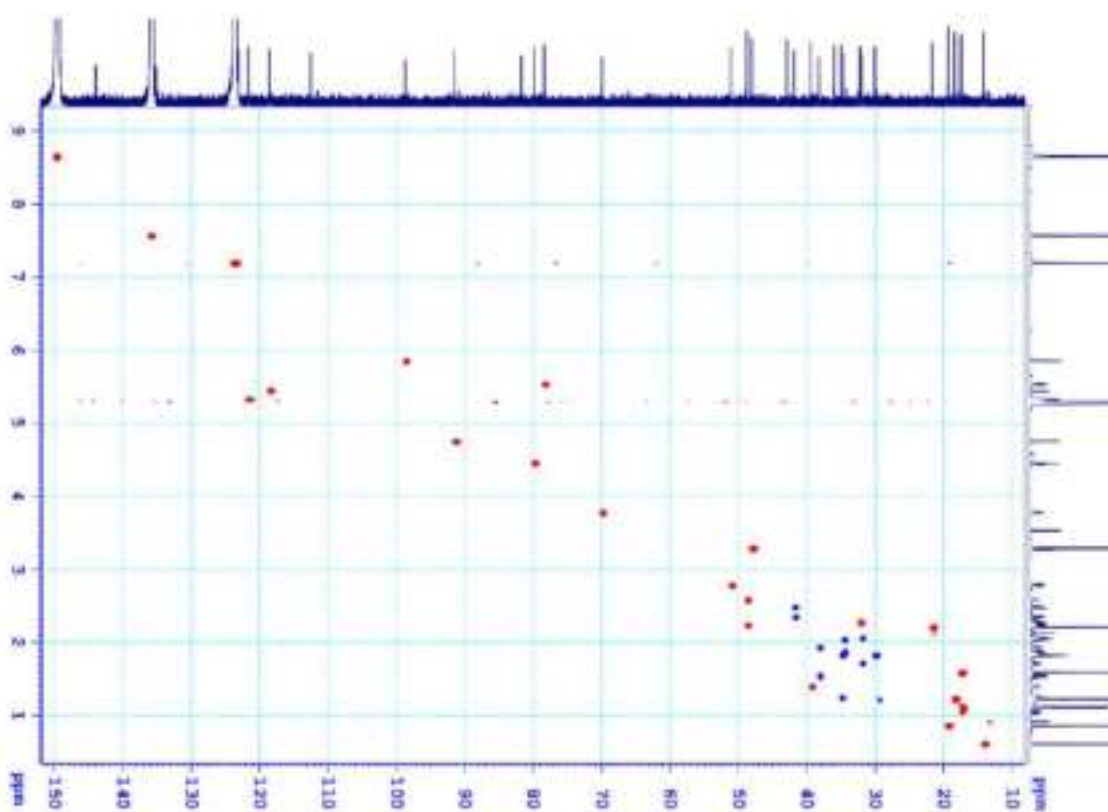


PL10

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD1

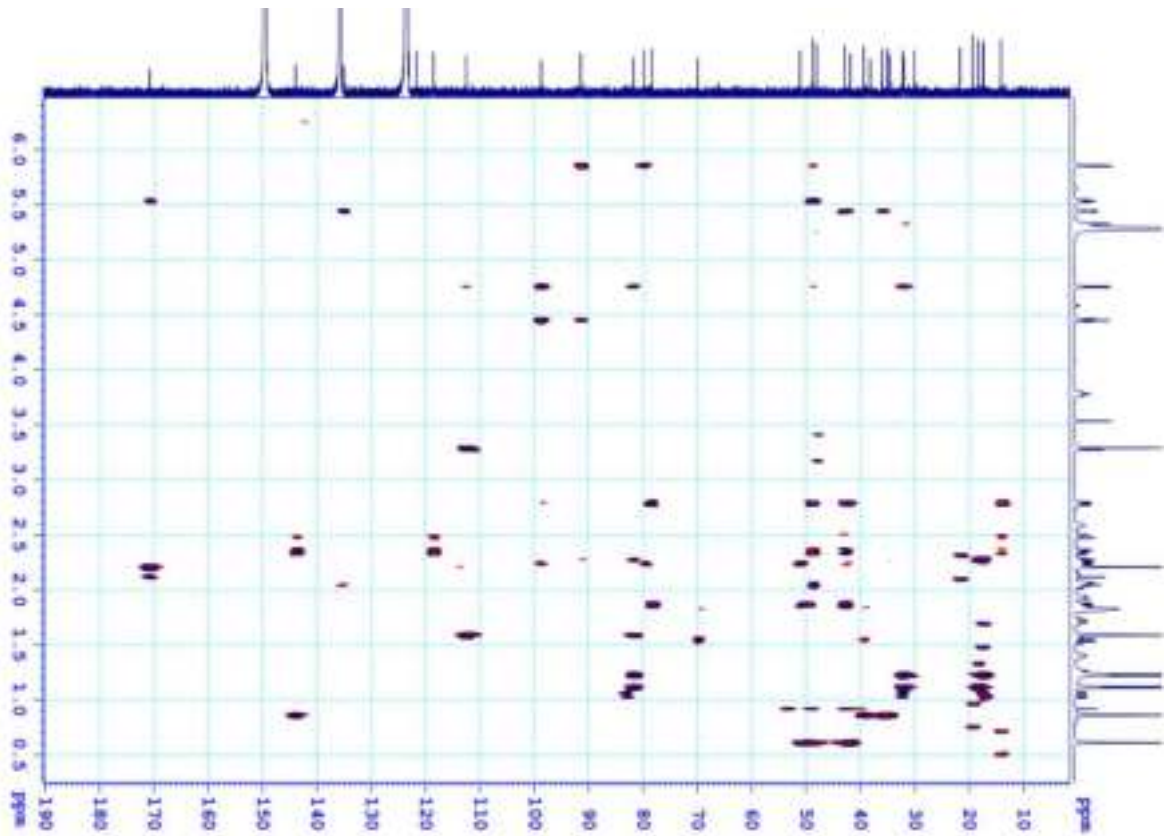


Phổ HSQC của hợp chất LD1

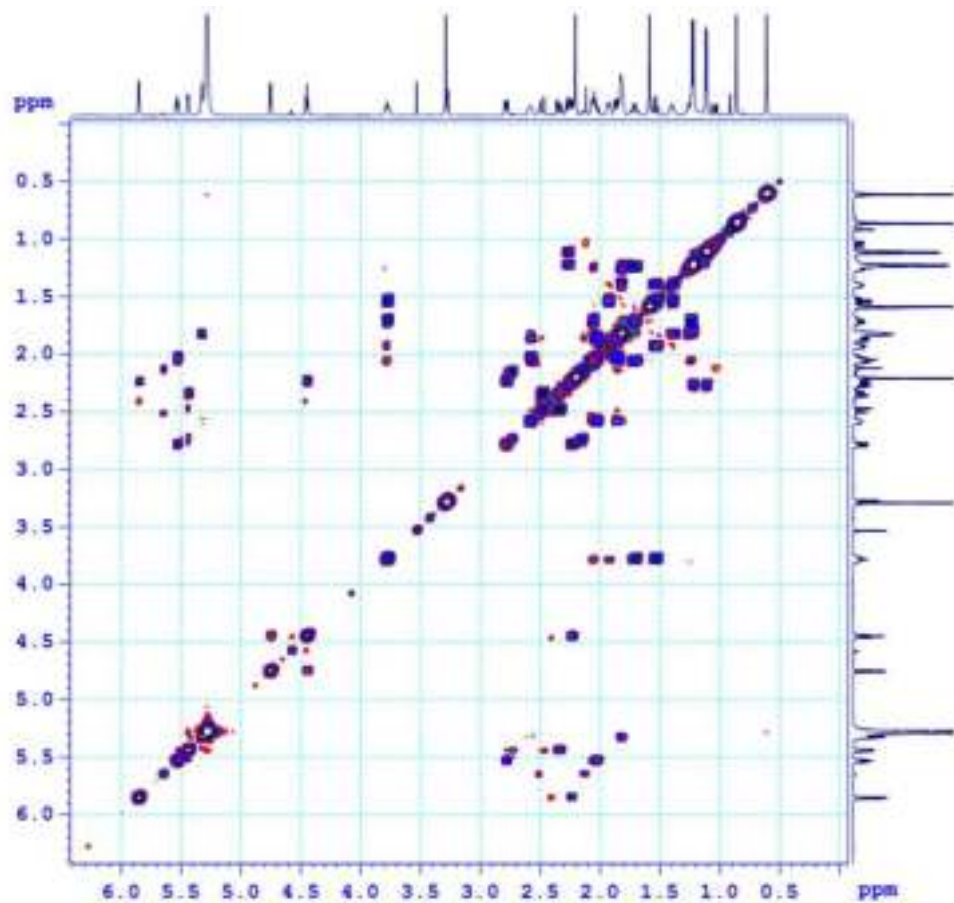


PL11

Phổ HMBC của hợp chất LD1

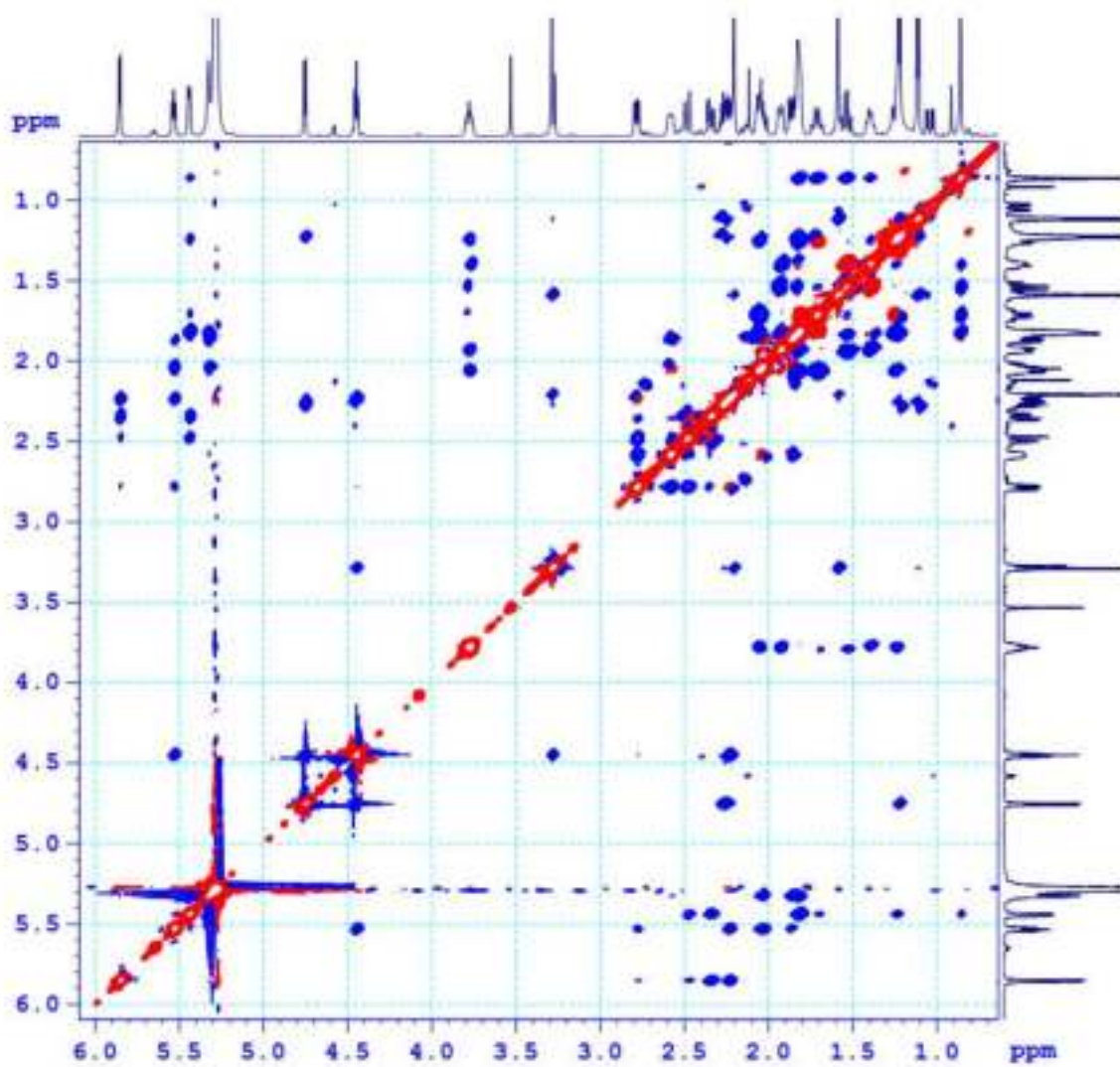


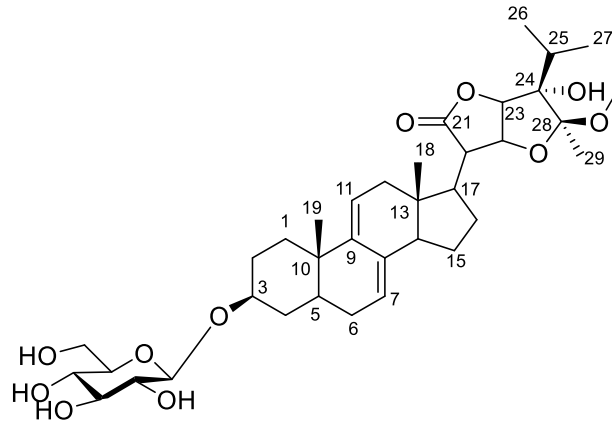
Phổ COSY của hợp chất LD1



PL12

Phổ ROESY của hợp chất LD1



II. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD2

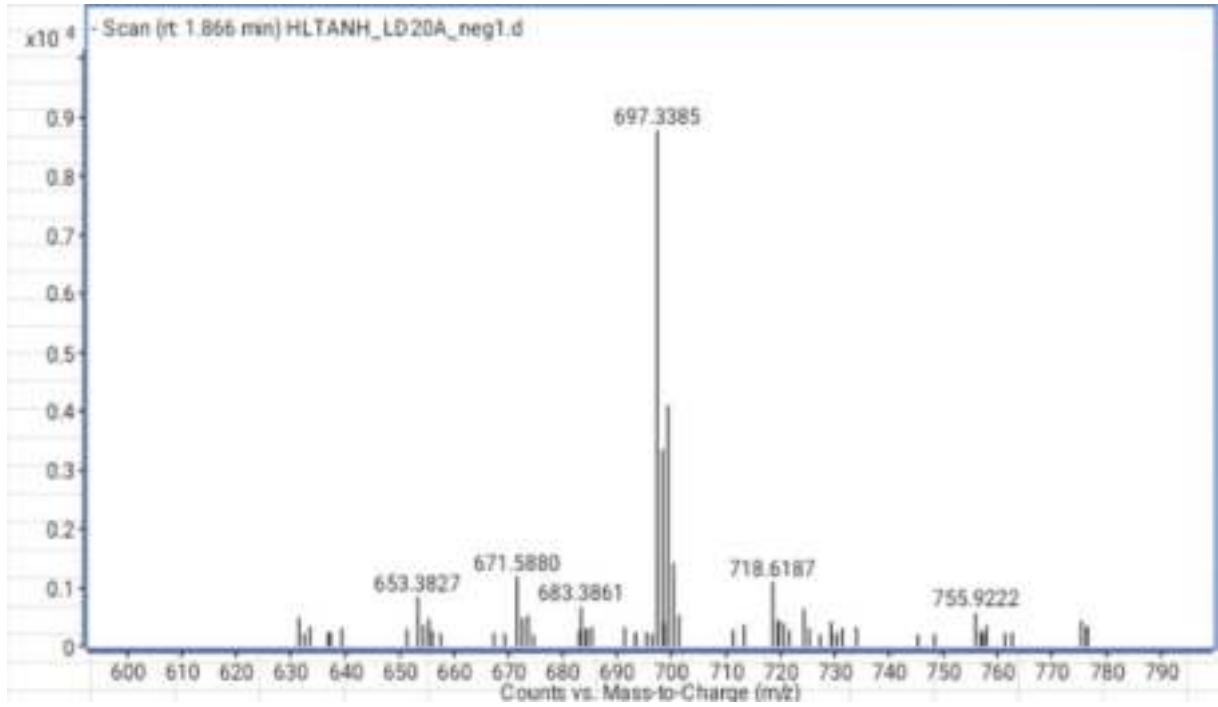
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{36}H_{54}O_{11}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 662,4

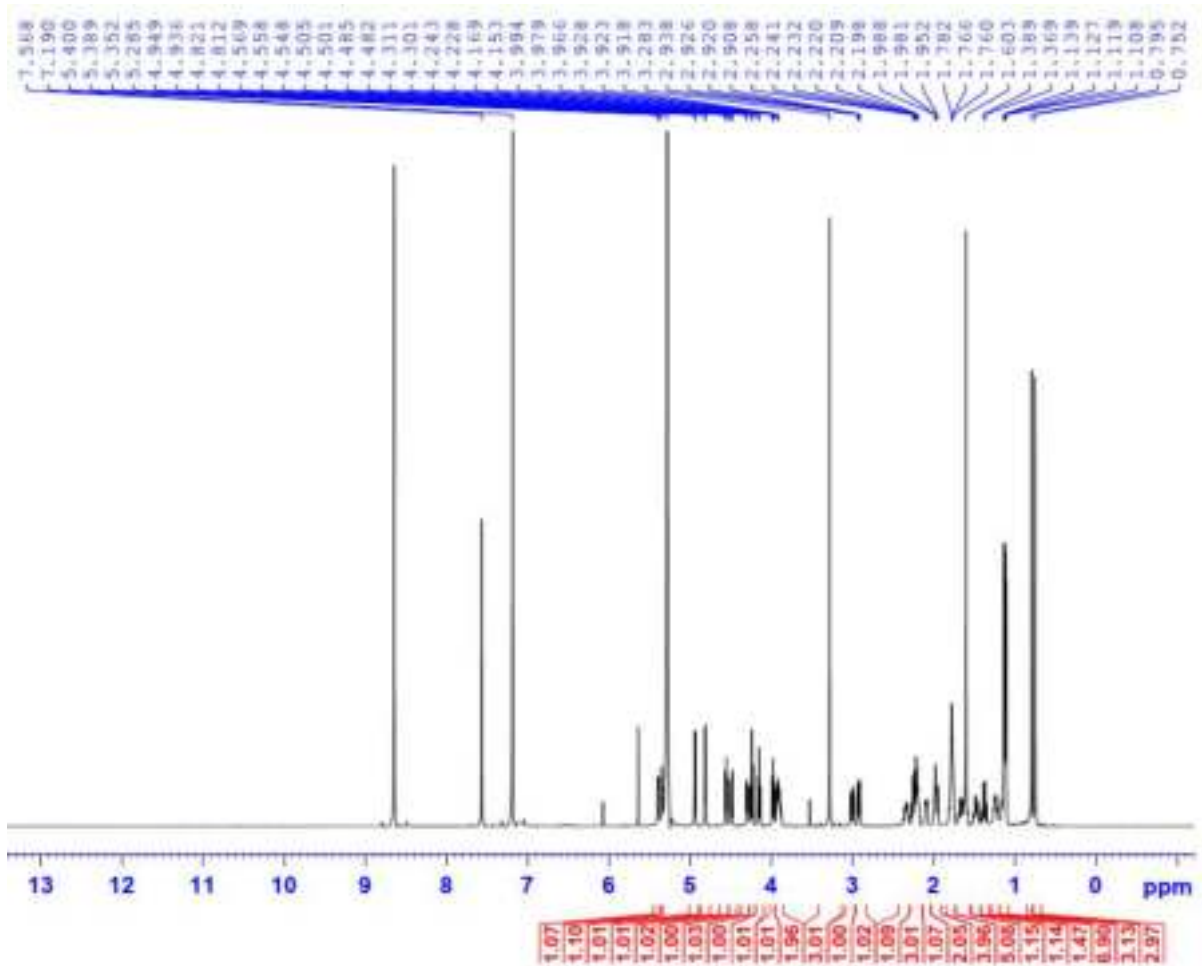
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL14

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD2

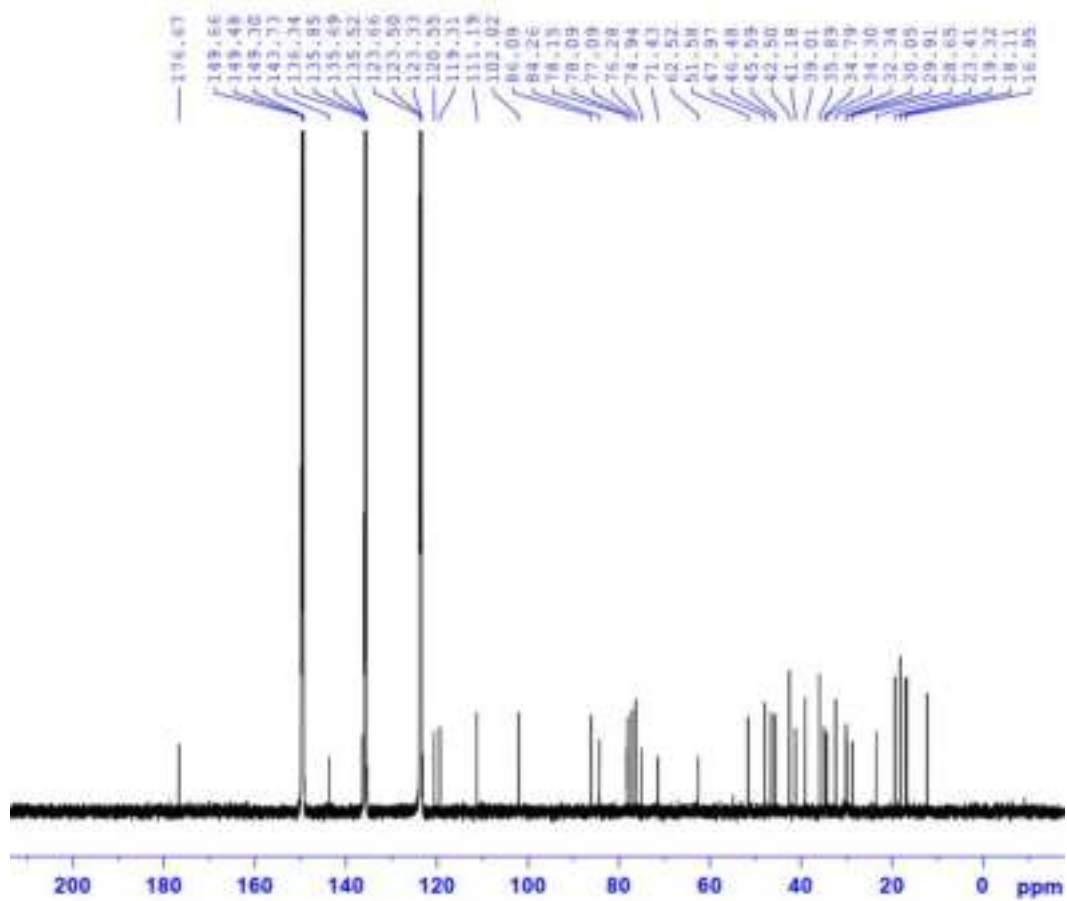


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD2

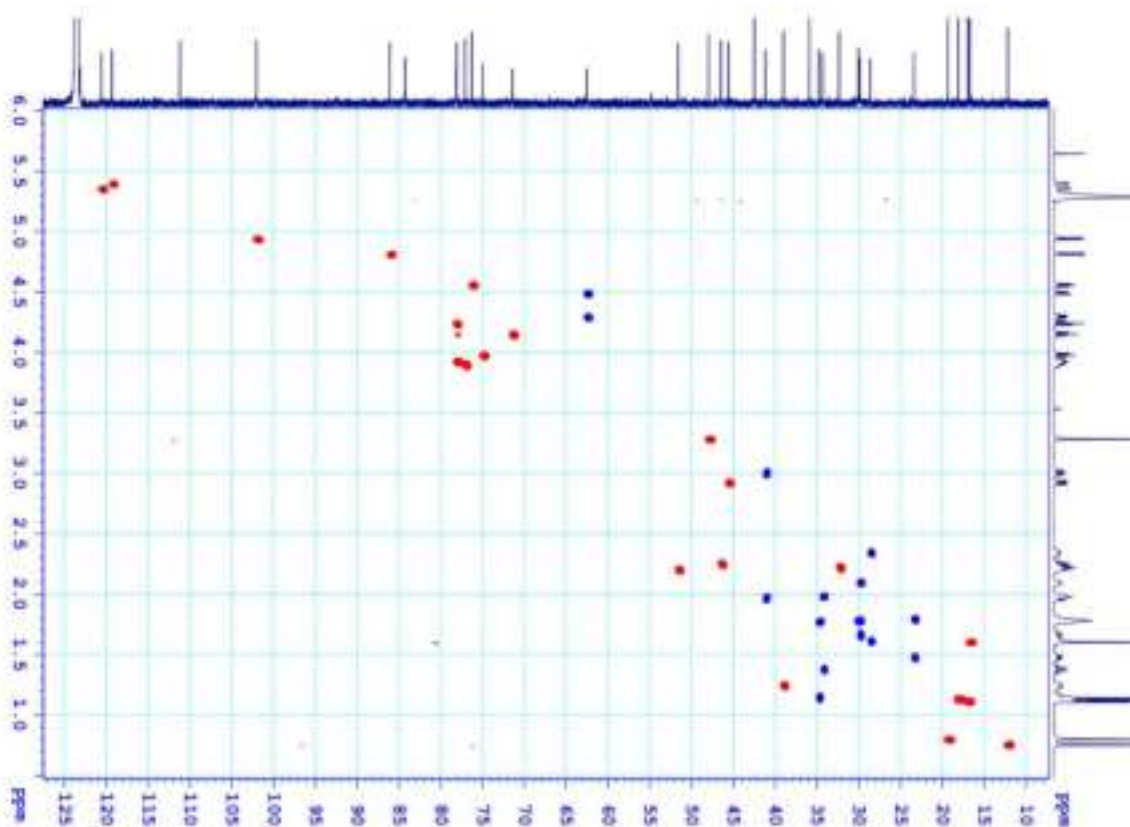


PL15

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD2

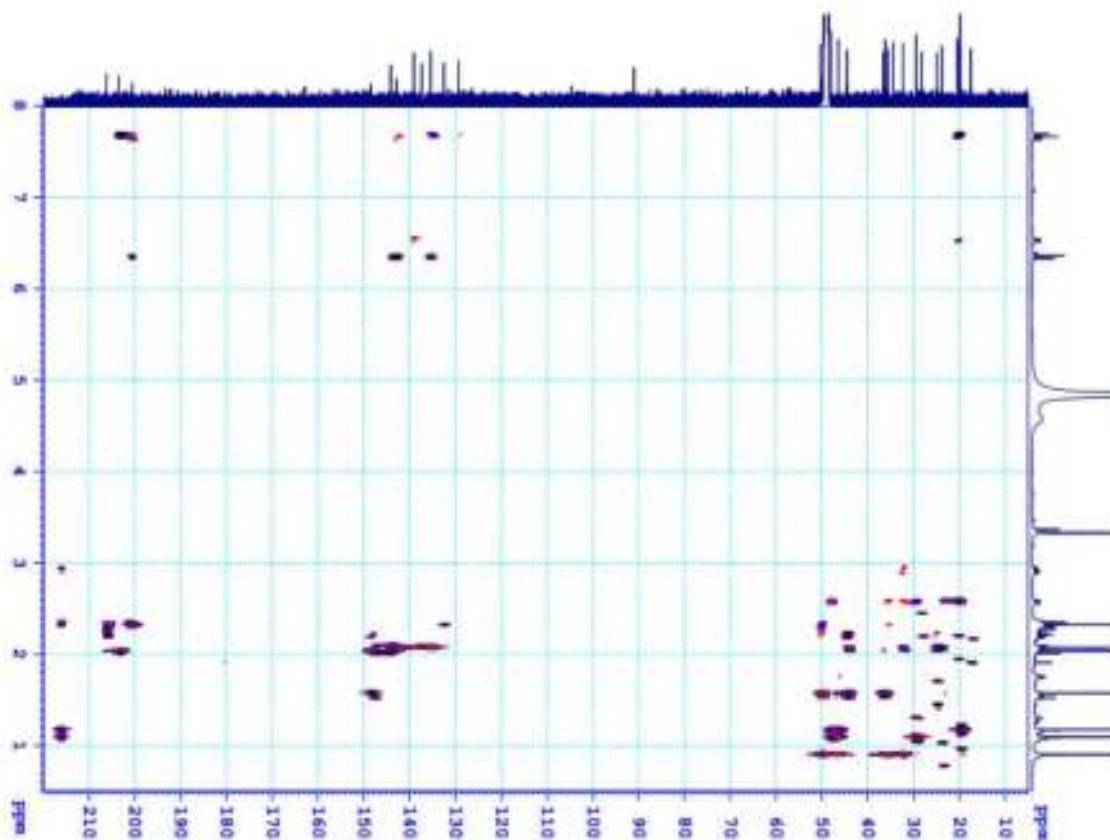


Phổ HSQC của hợp chất LD2

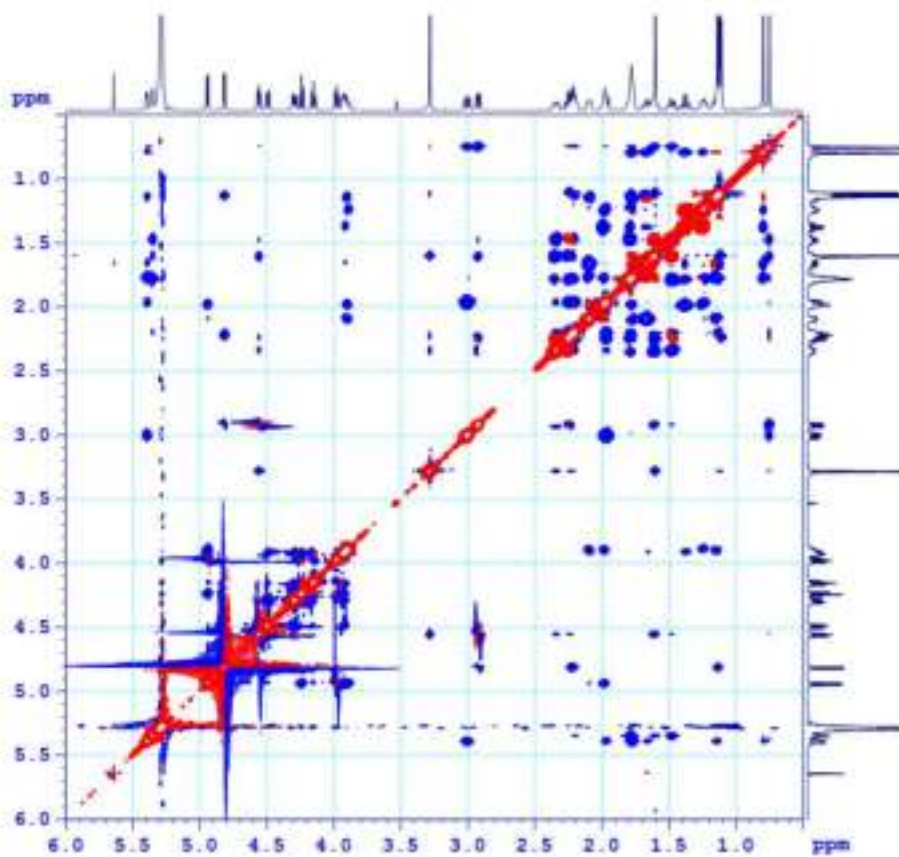


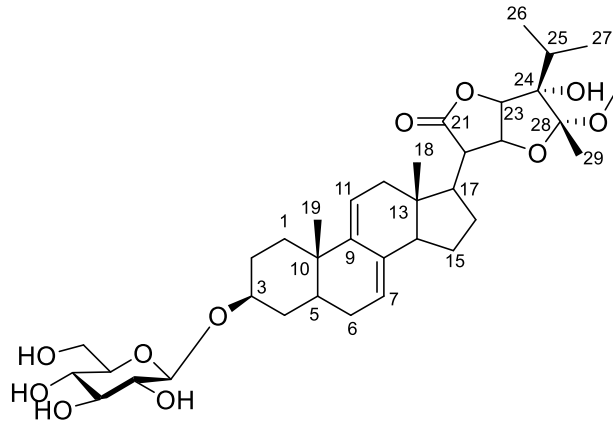
PL16

Phổ HMBC của hợp chất LD2



Phổ ROESY của hợp chất LD2



III. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD3

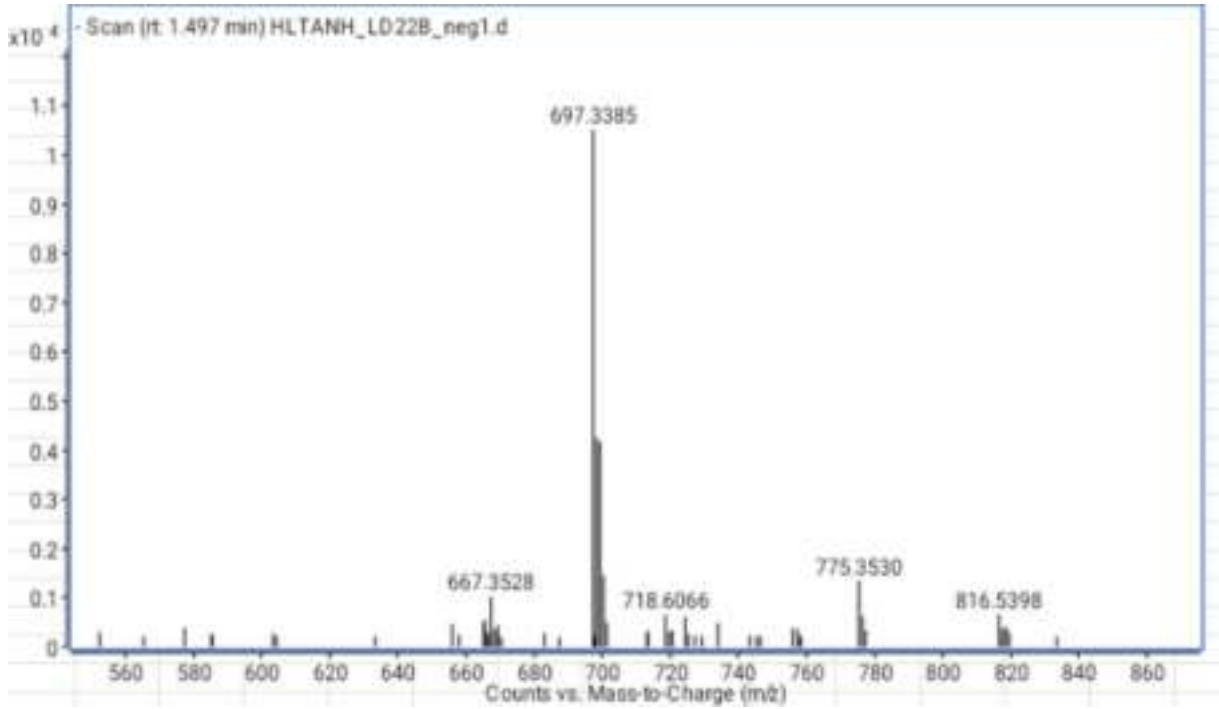
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{36}H_{54}O_{11}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 662,4

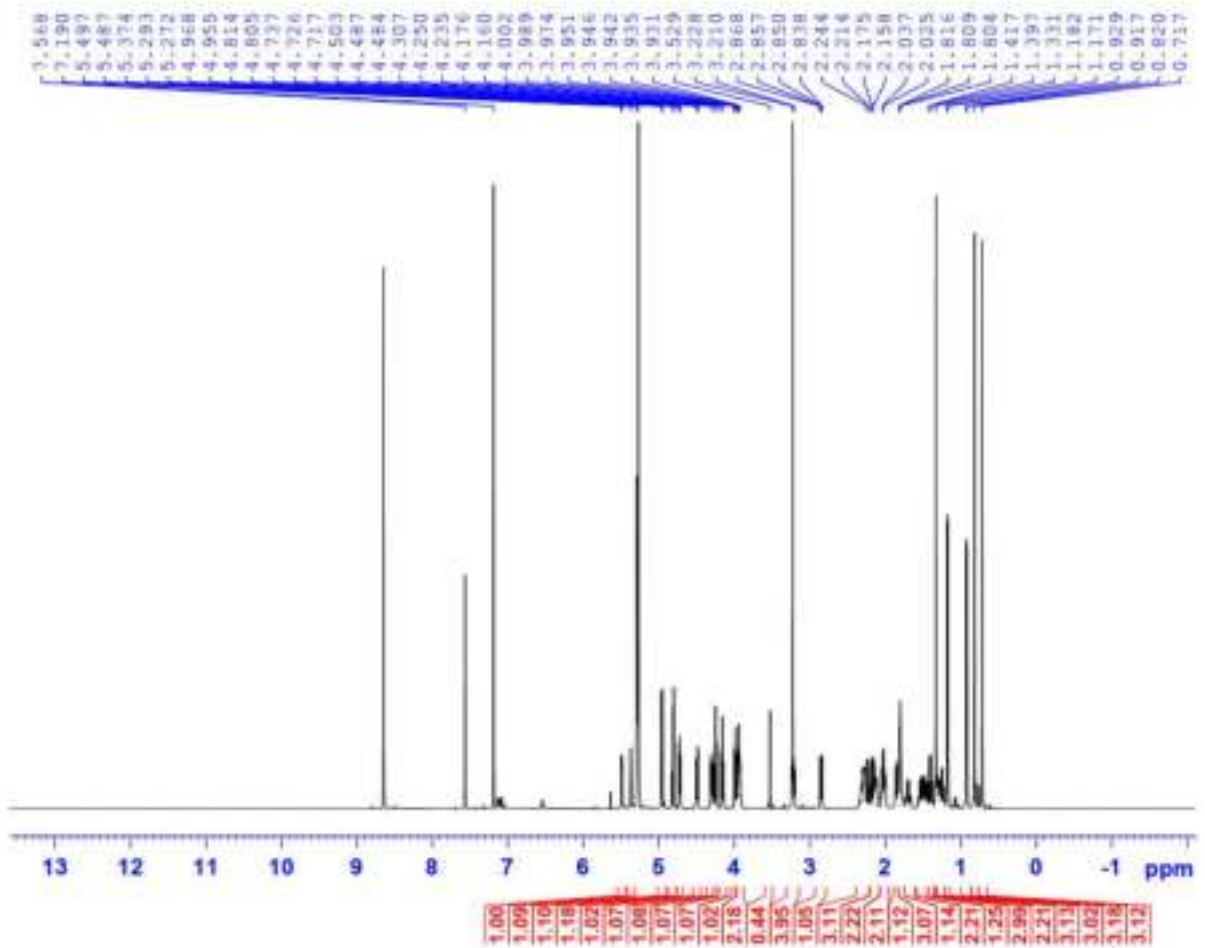
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ ROESY-NMR

PL18

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD3

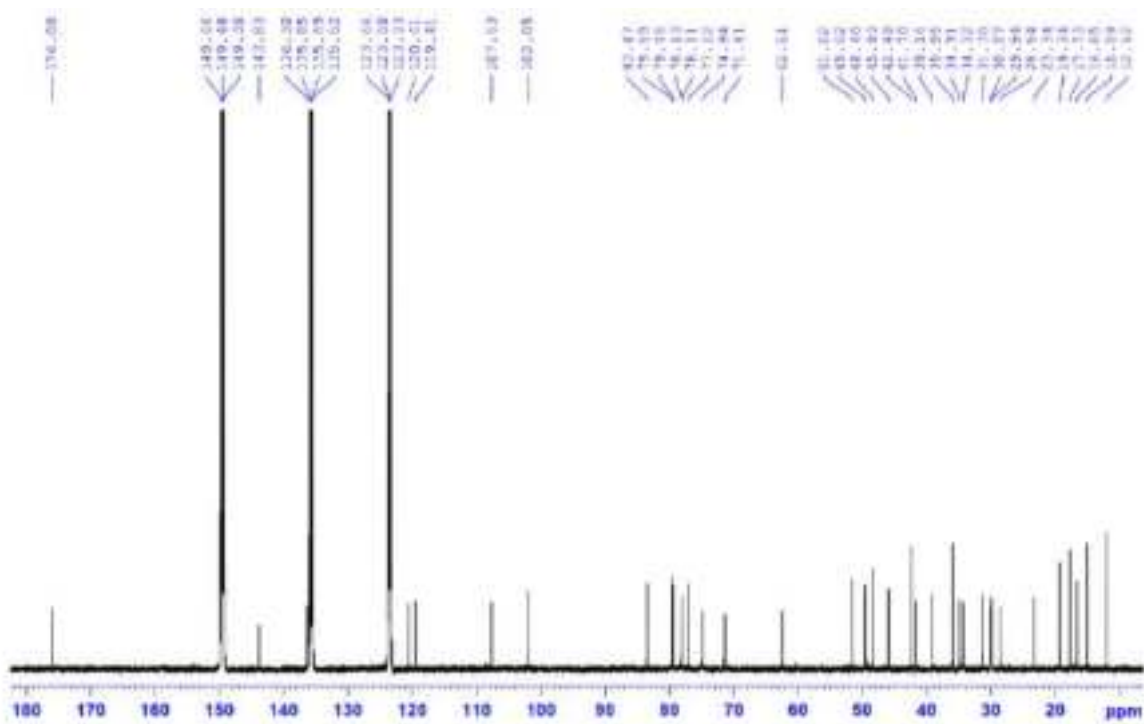


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD3



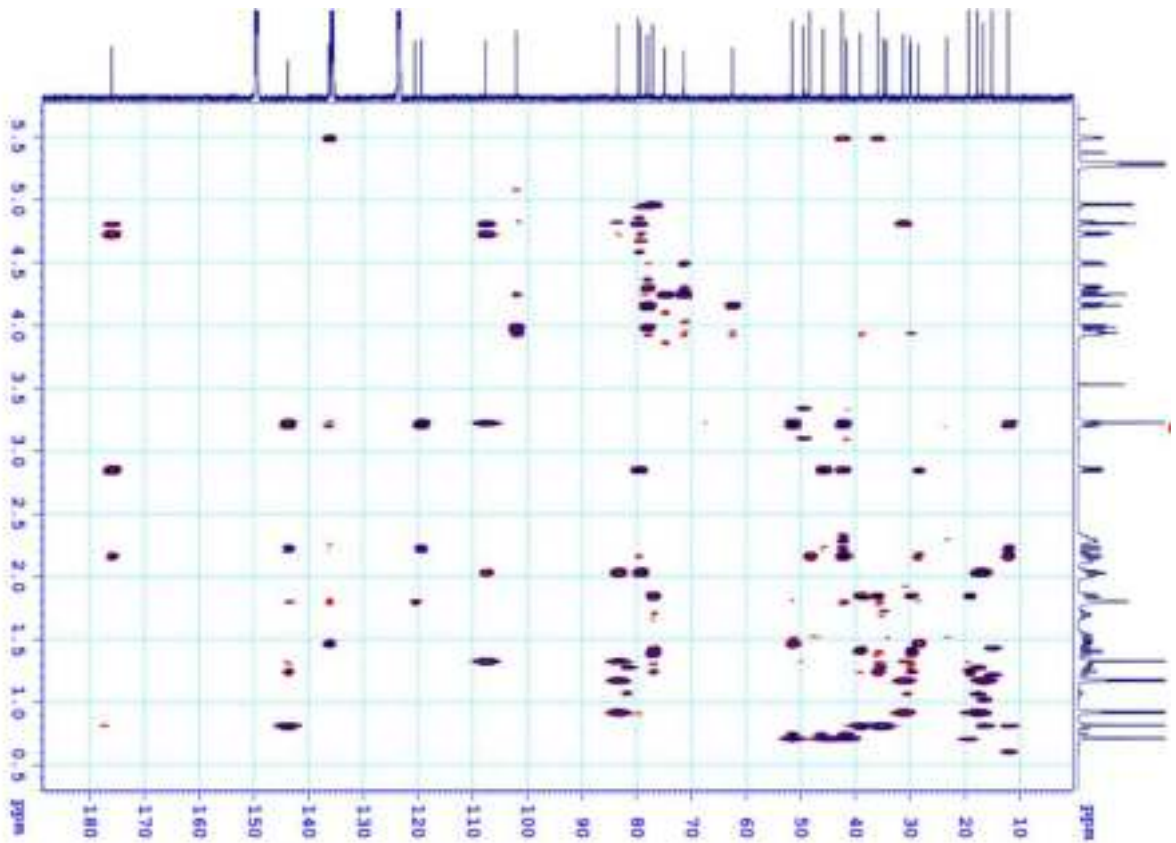
PL19

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD3

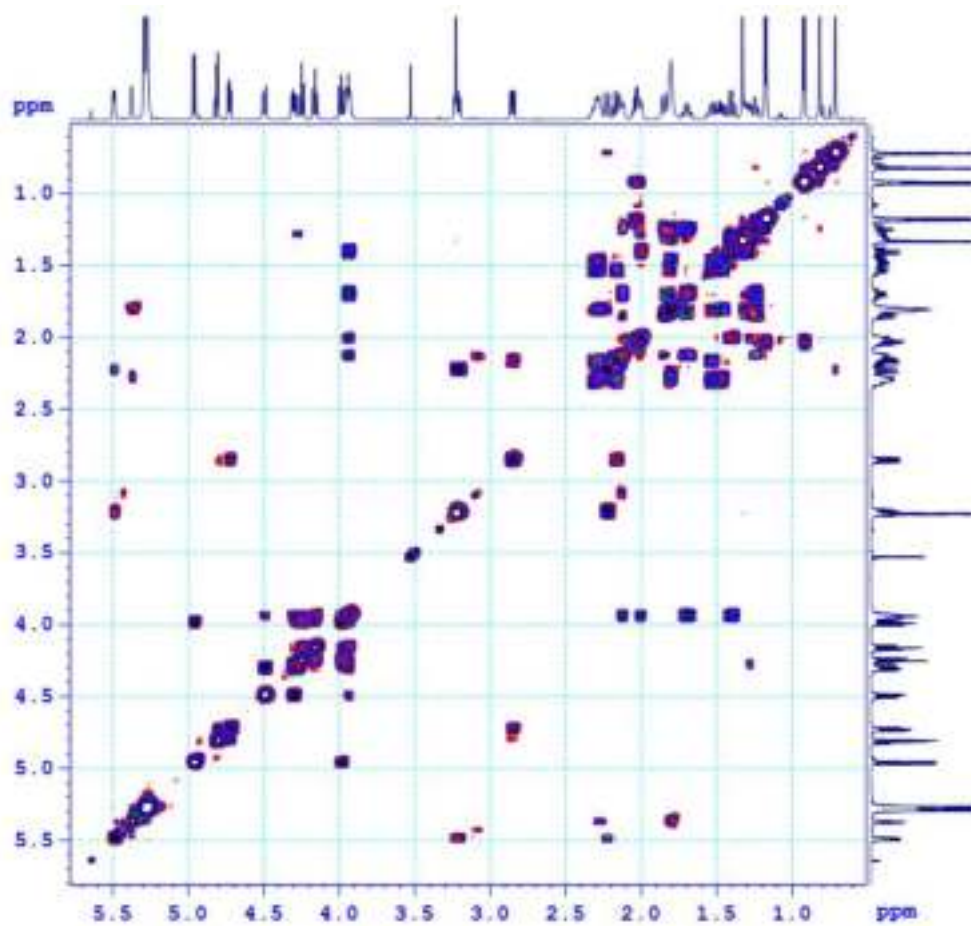


PL20

Phổ HMBC của hợp chất LD3

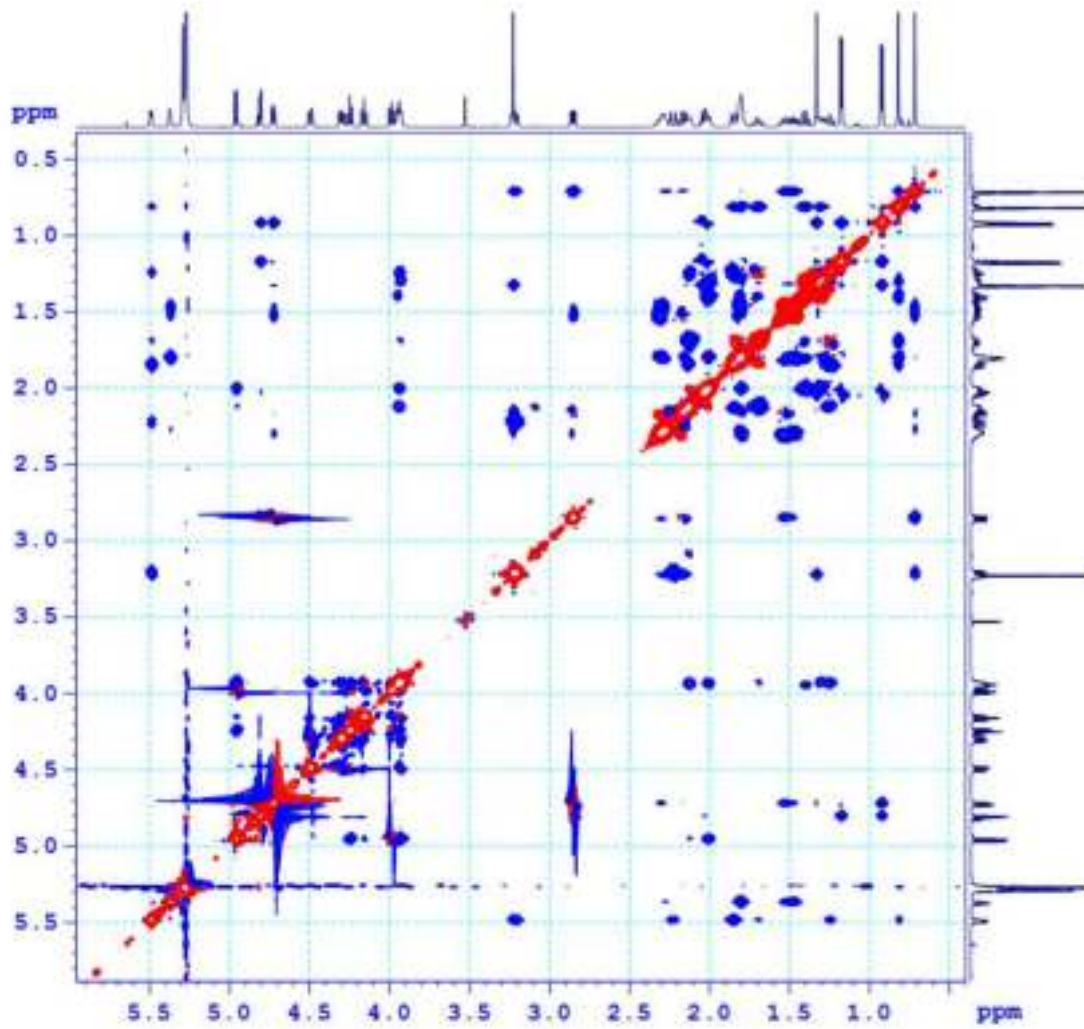


Phổ COSY của hợp chất LD3

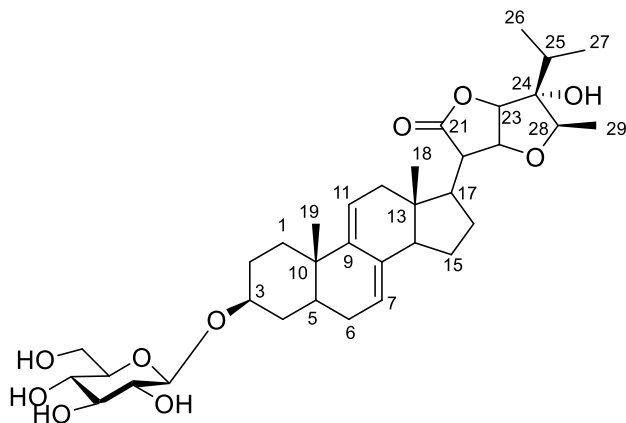


PL21

Phổ ROESY của hợp chất LD3



IV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD4



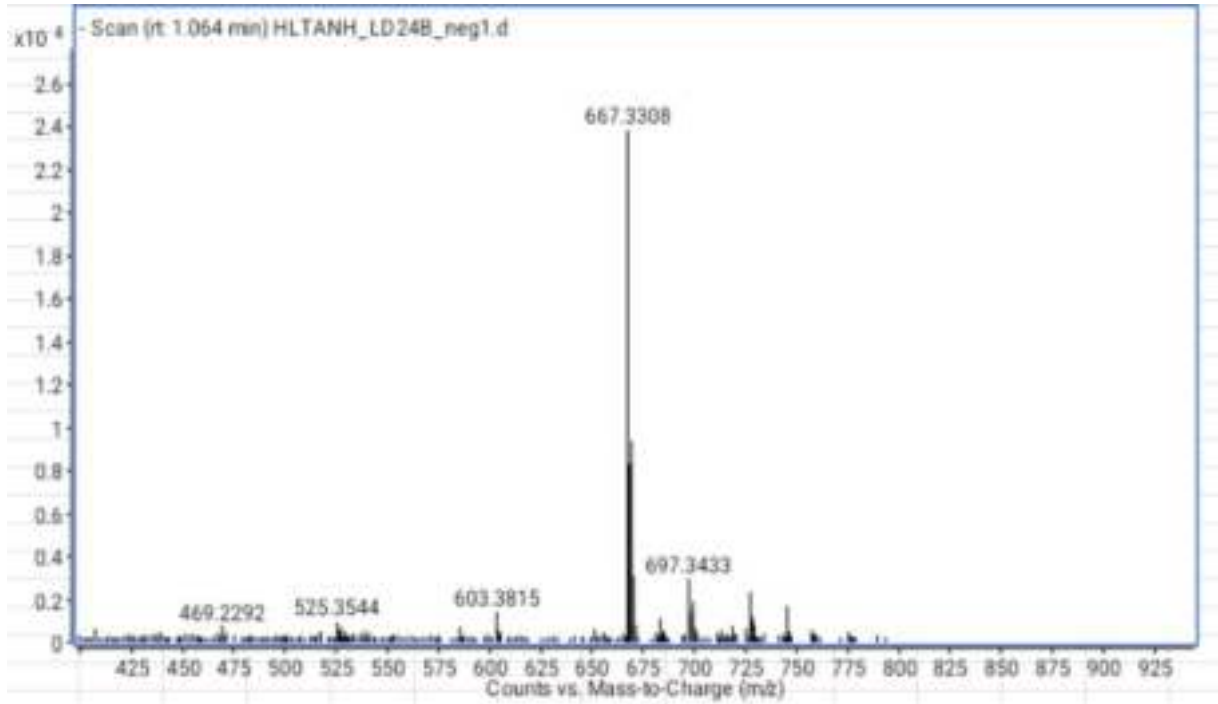
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{35}H_{52}O_{10}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 632,4

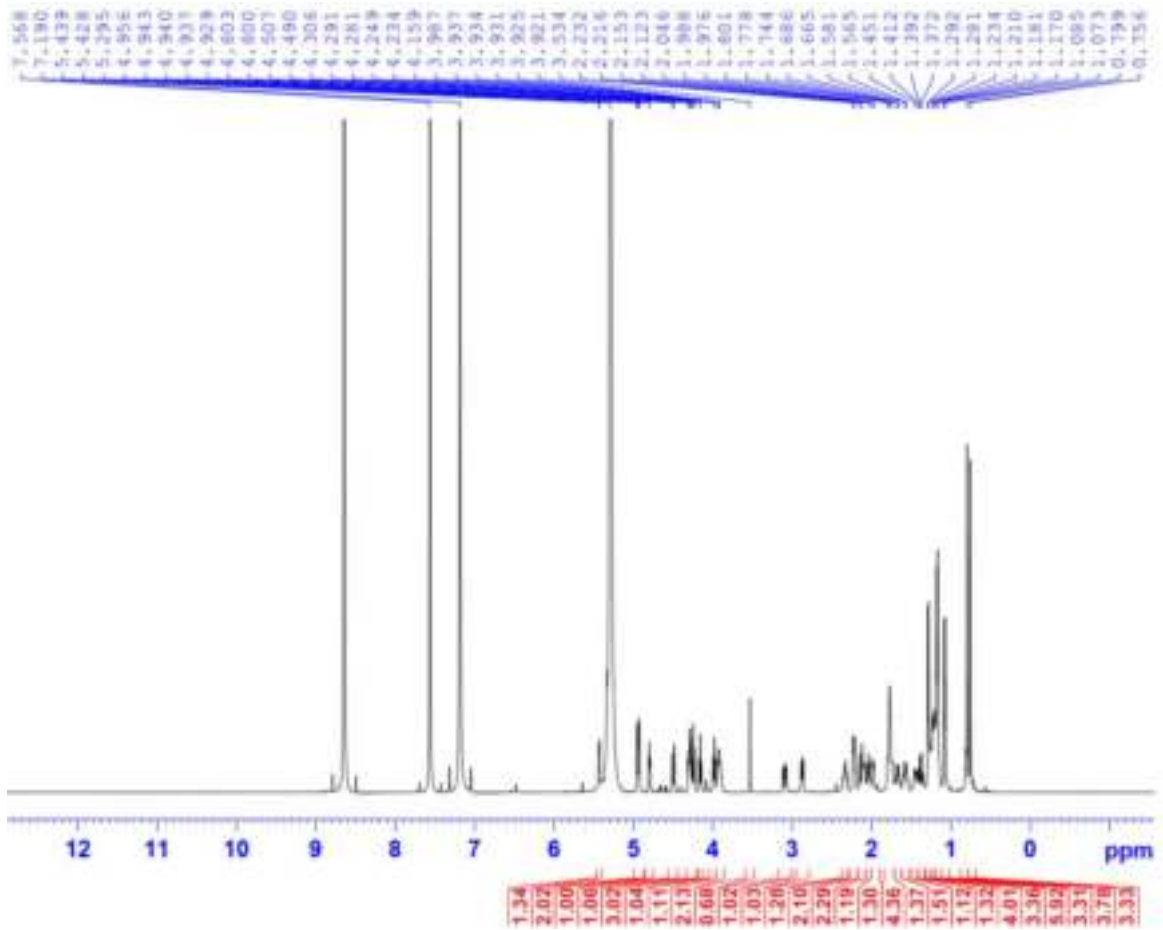
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ $^1\text{H-NMR}$
- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ ROESY-NMR

PL23

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD4

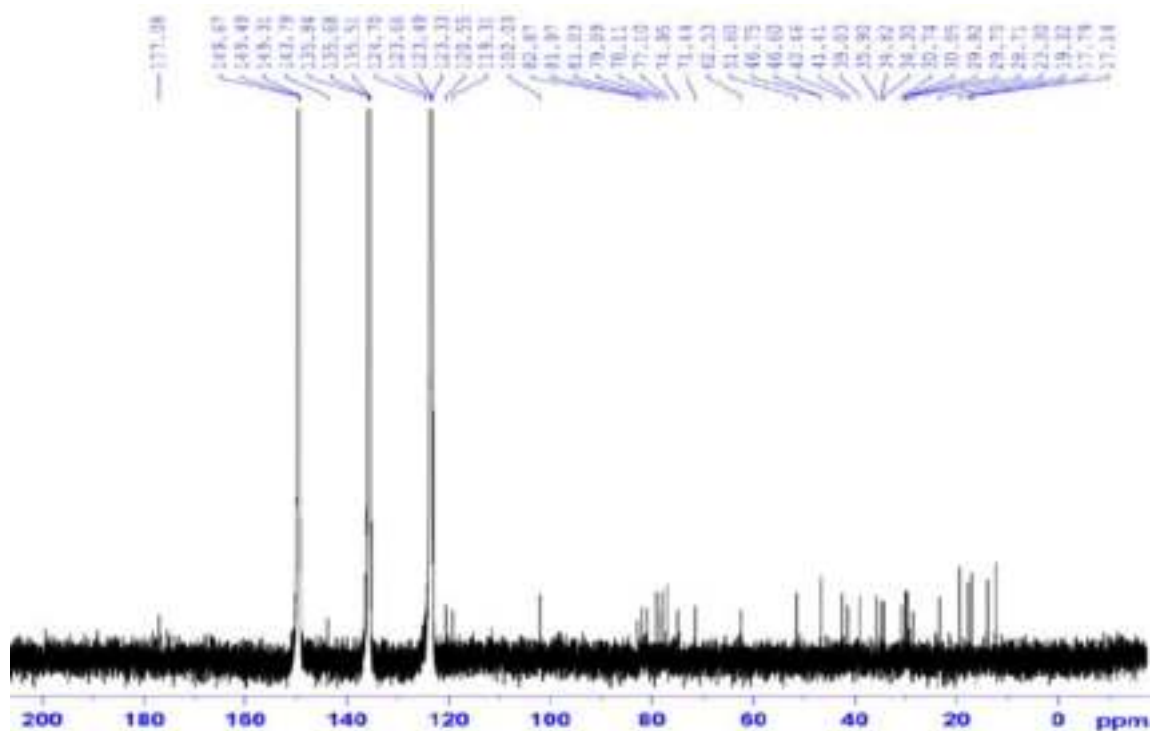


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD4

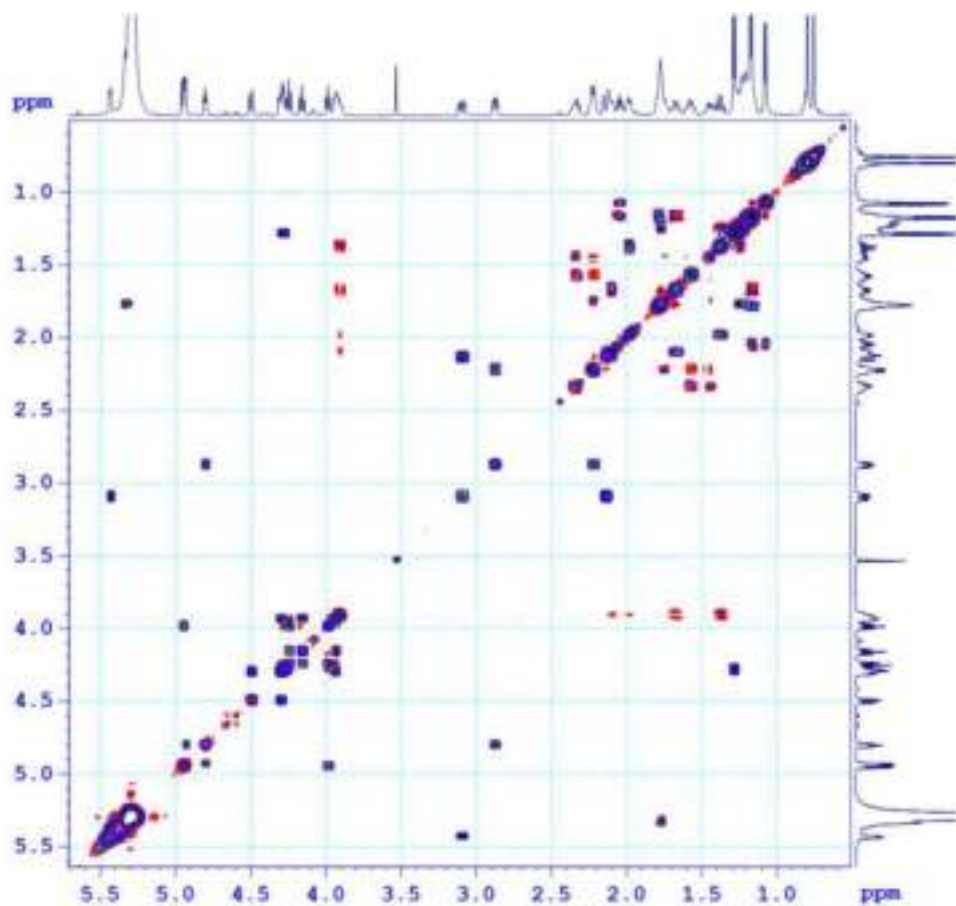


PL24

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD4

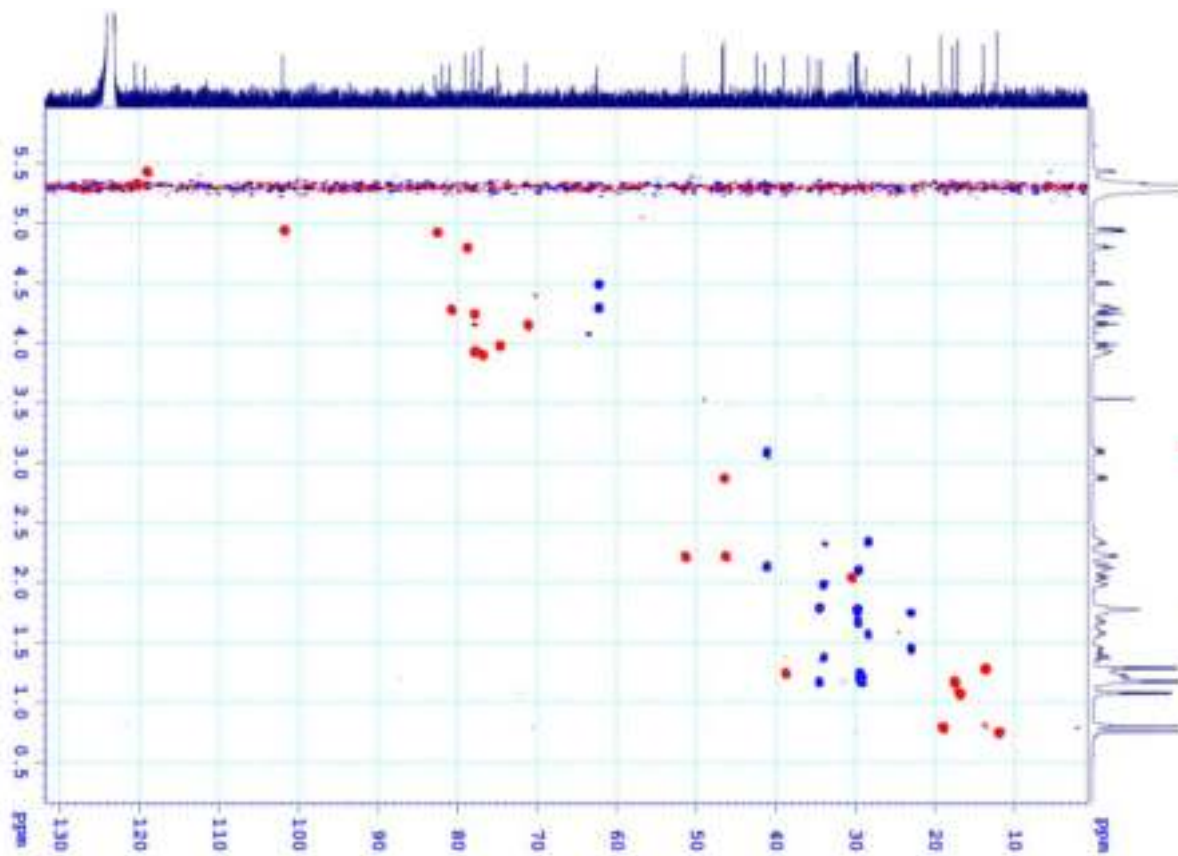


Phổ COSY của hợp chất LD4

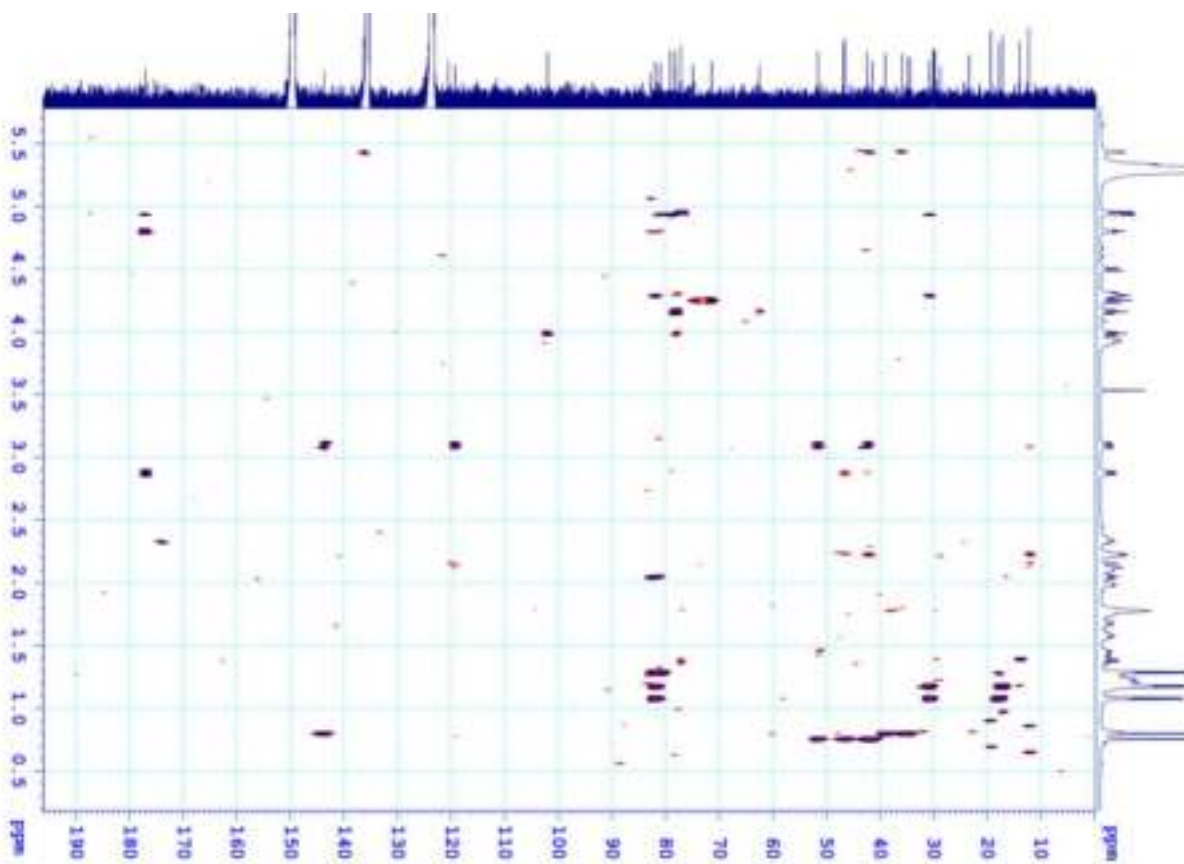


PL25

Phổ HSQC của hợp chất LD4

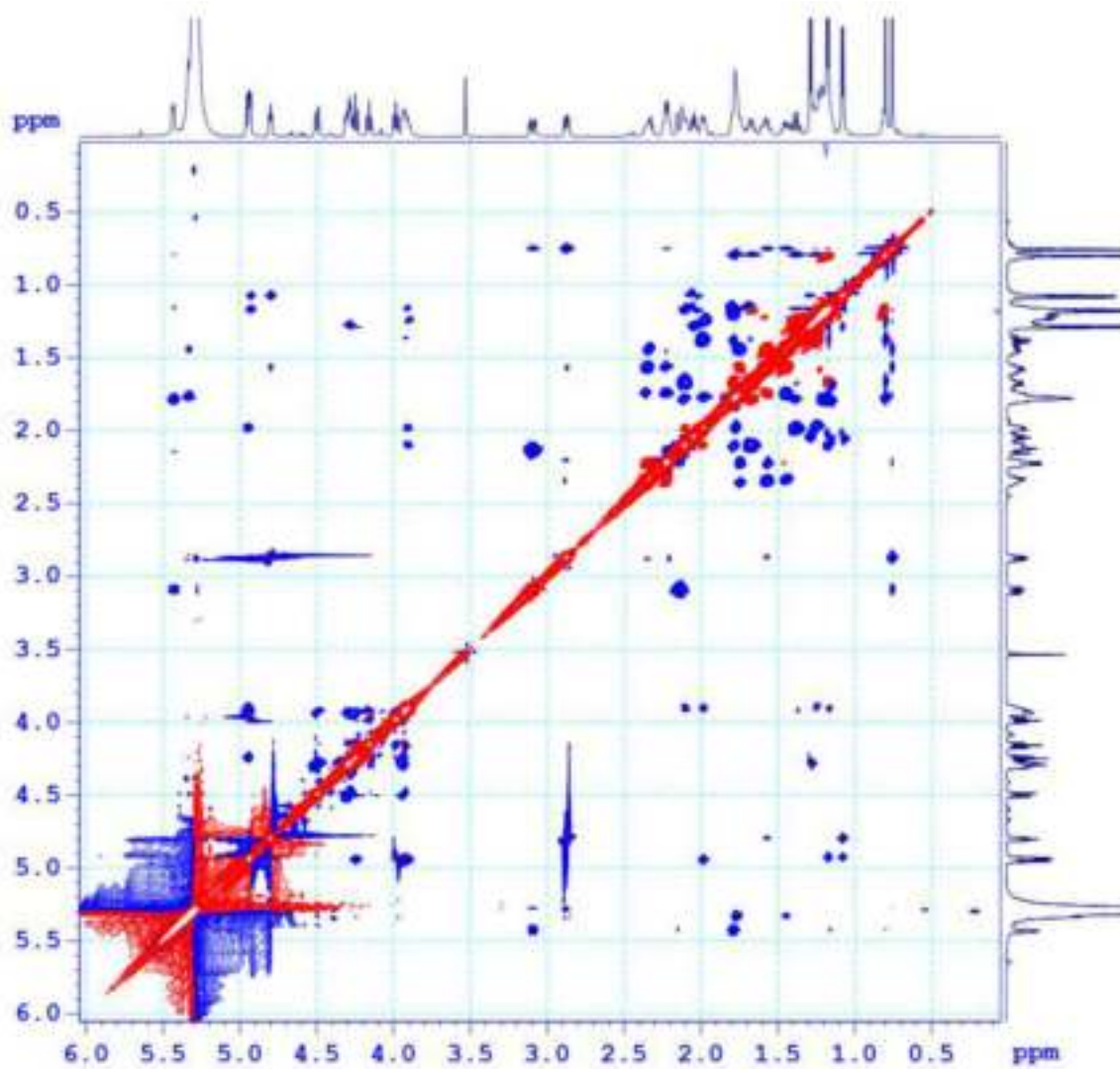


Phổ HMBC của hợp chất LD4

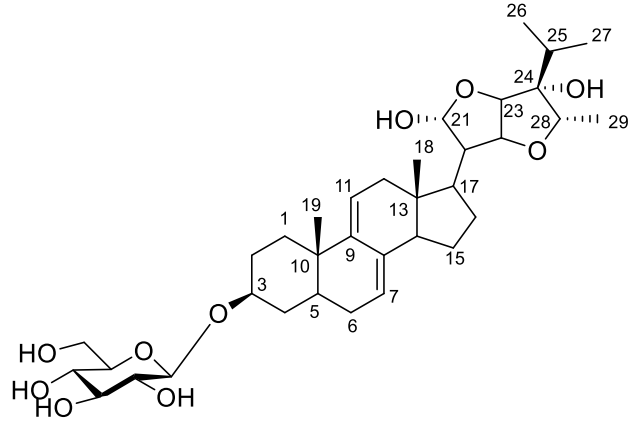


PL26

Phổ ROESY của hợp chất LD4



V. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD5



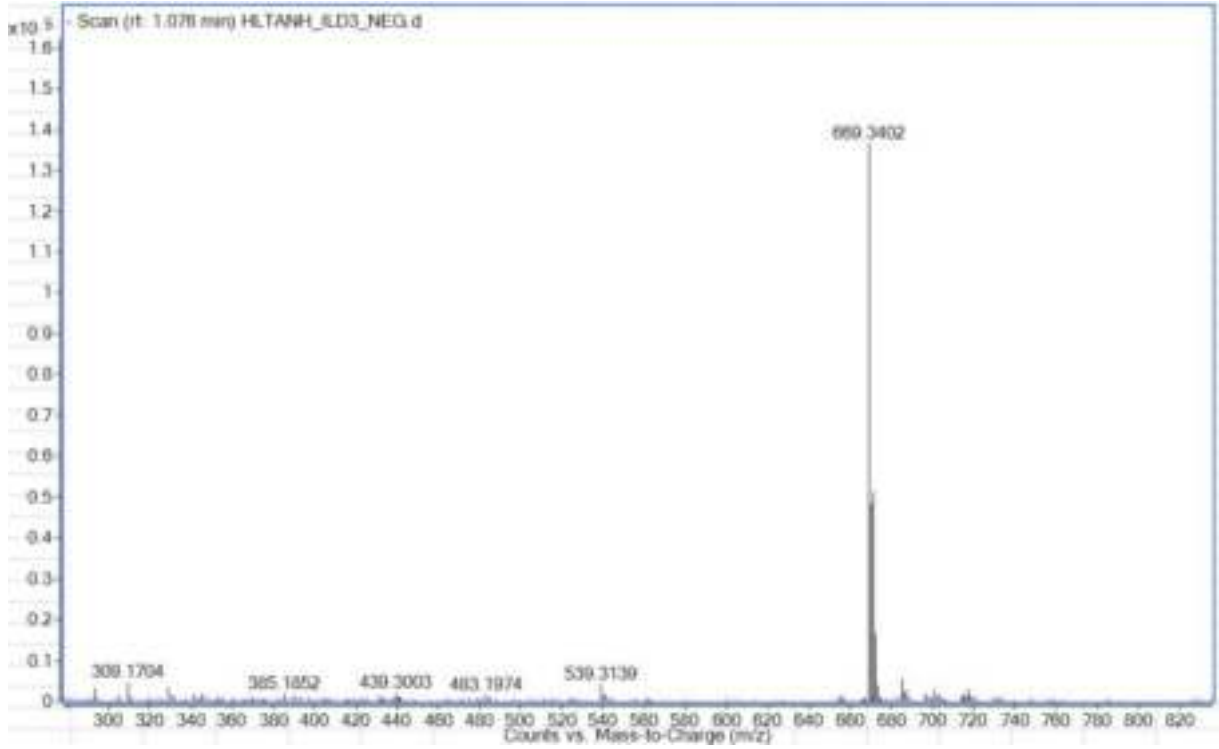
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{35}H_{54}O_{10}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 634,4

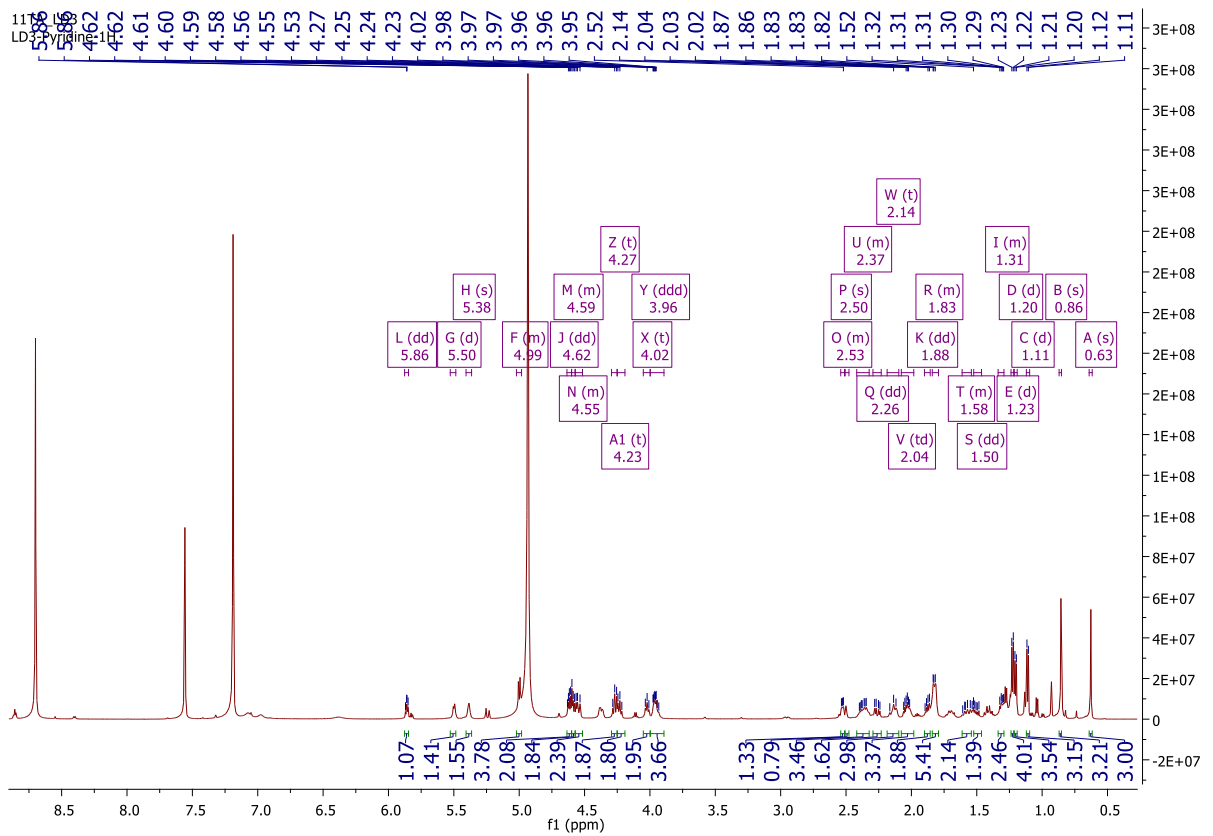
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL28

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD5

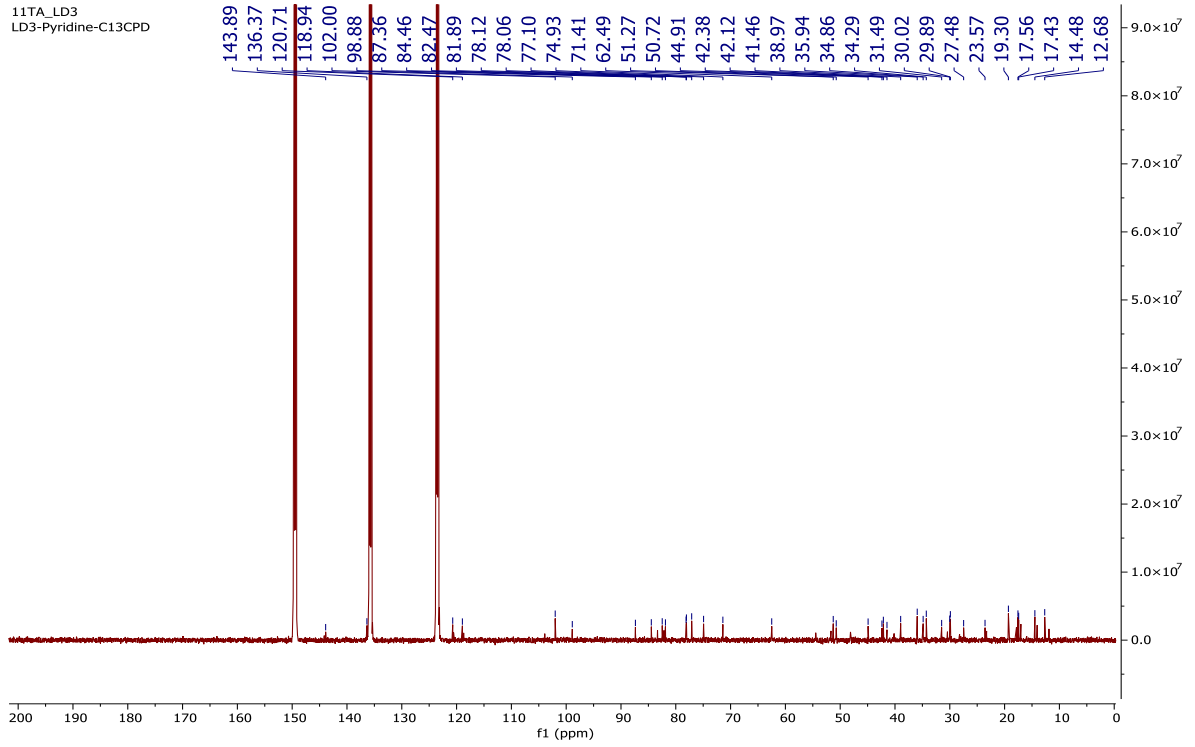


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD5

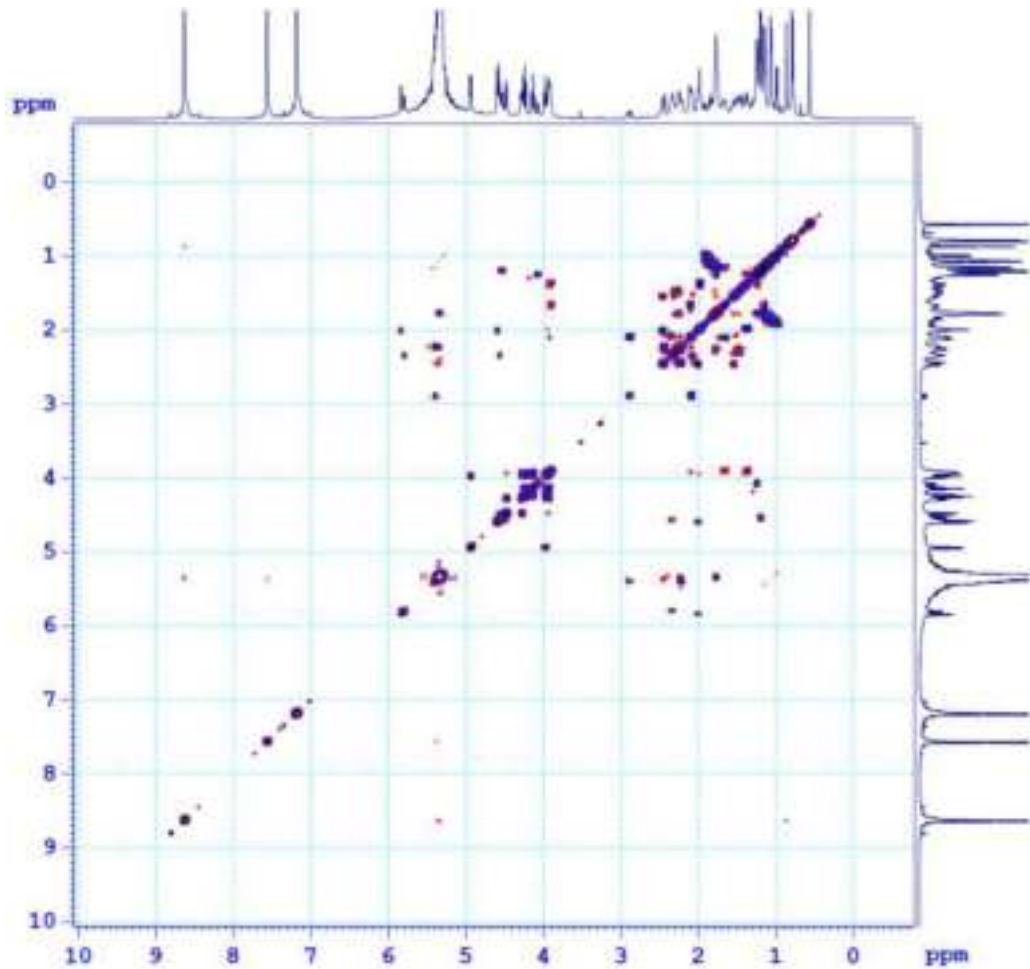


PL29

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD5

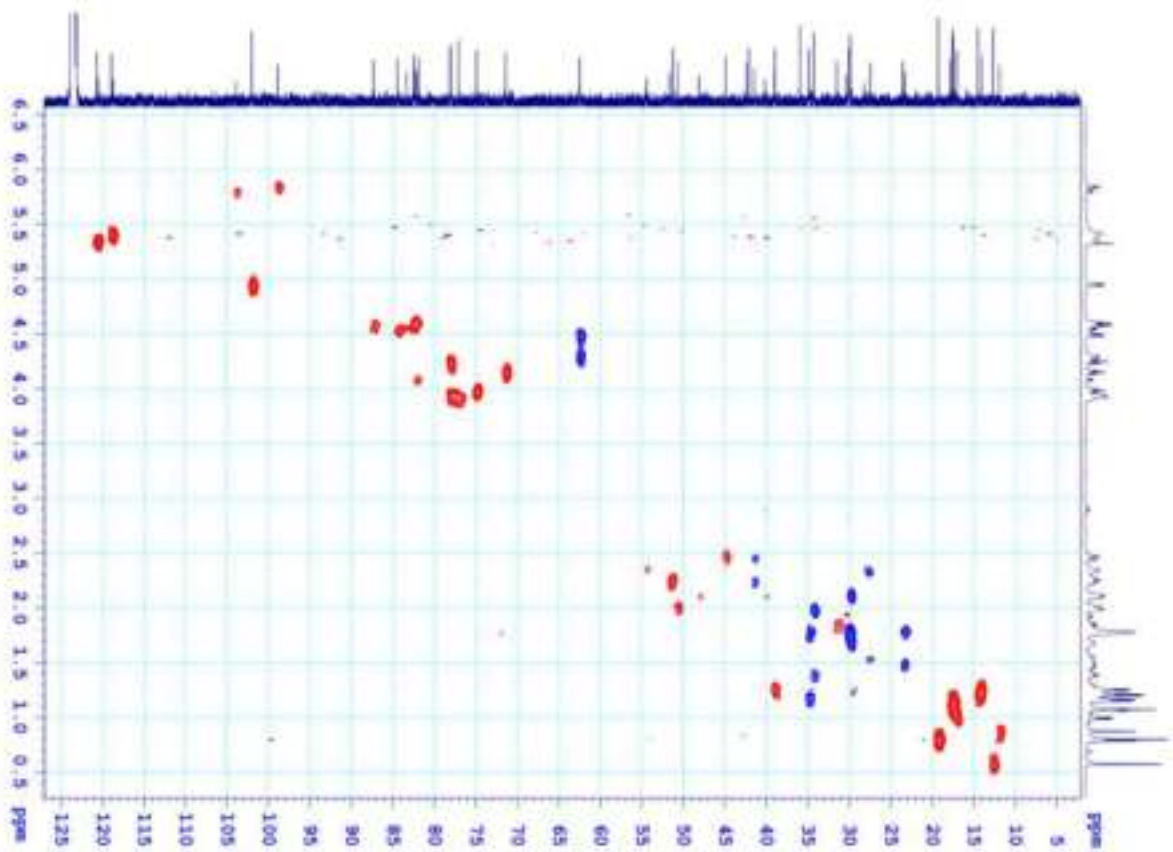


Phổ COSY của hợp chất LD5

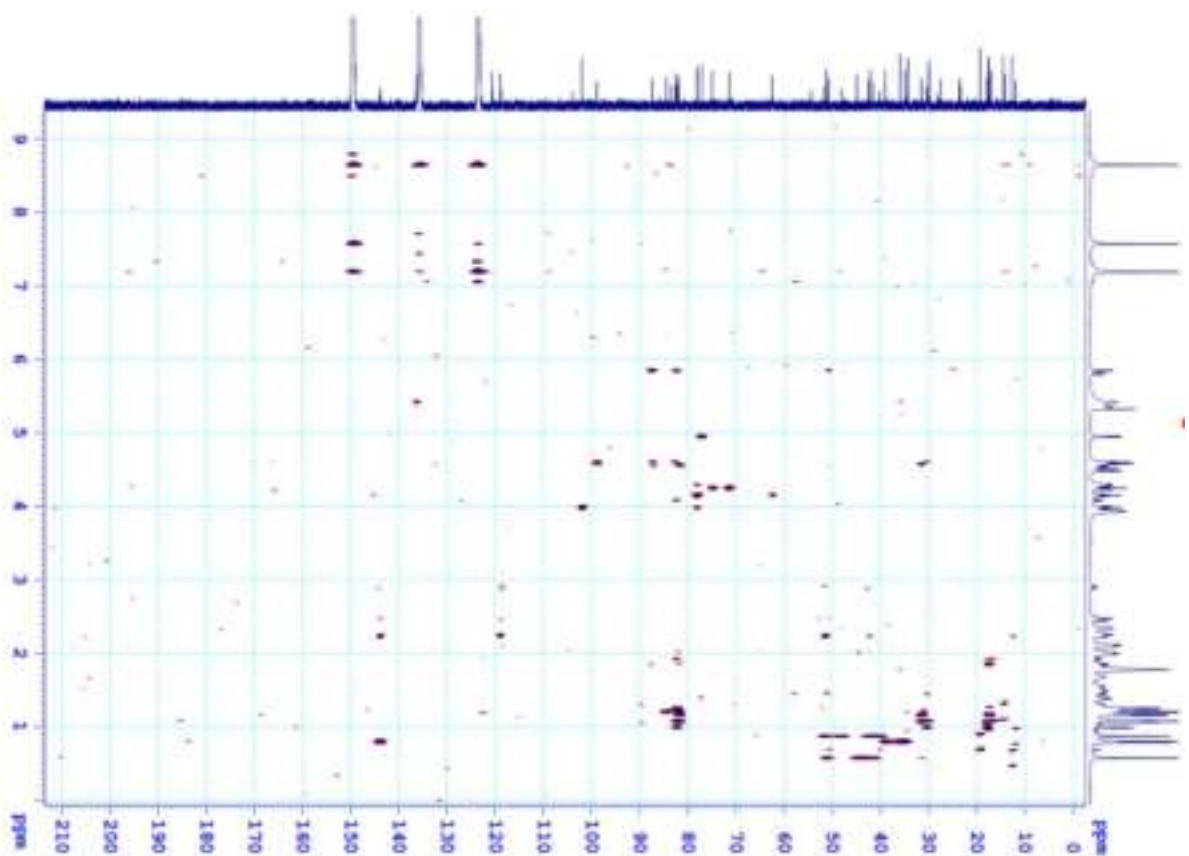


PL30

Phổ HSQC của hợp chất LD5

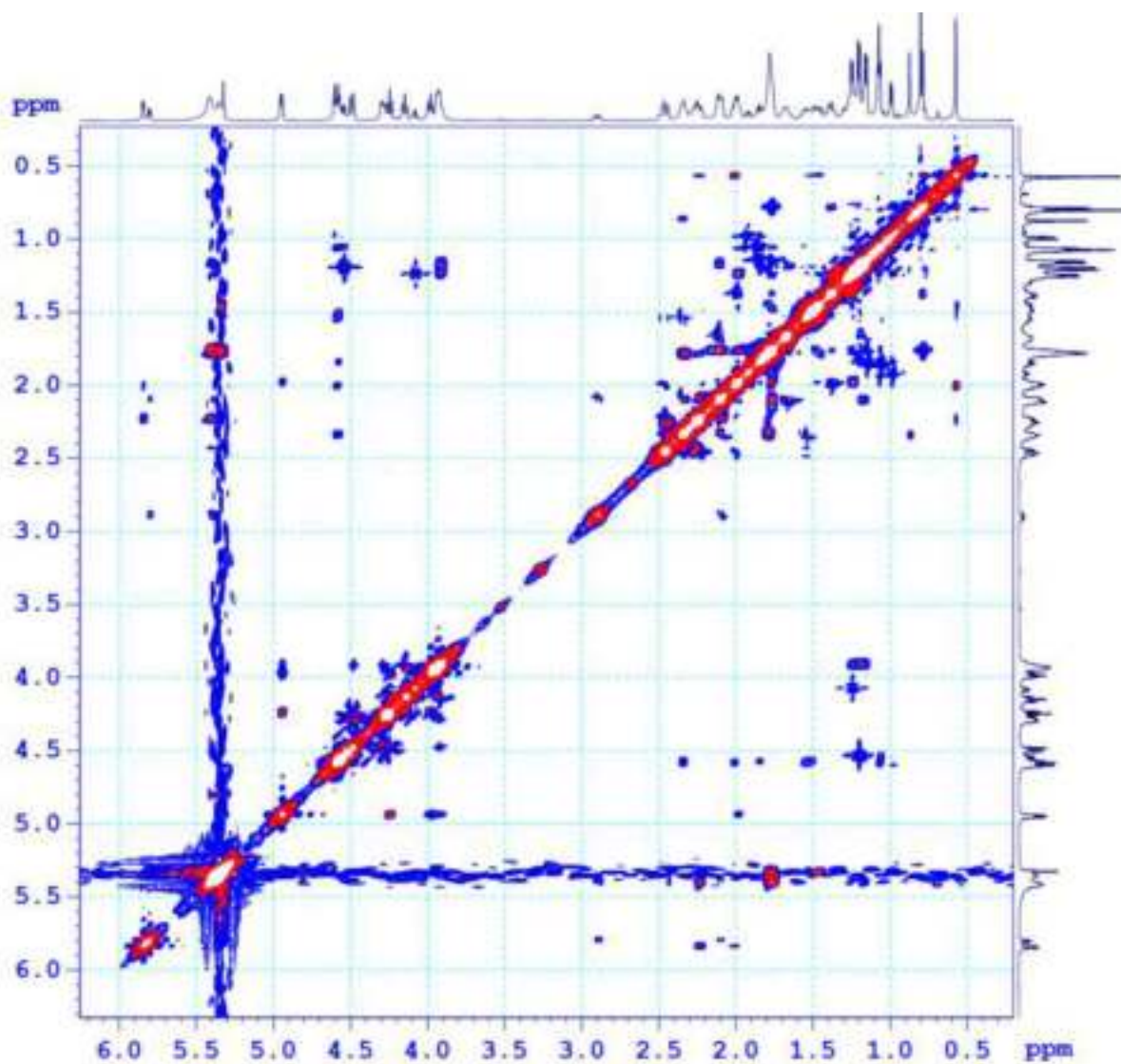


Phổ HMBC của hợp chất LD5

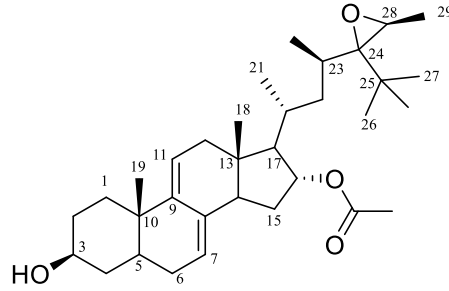


PL31

Phổ NOESY của hợp chất LD5



VI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD6



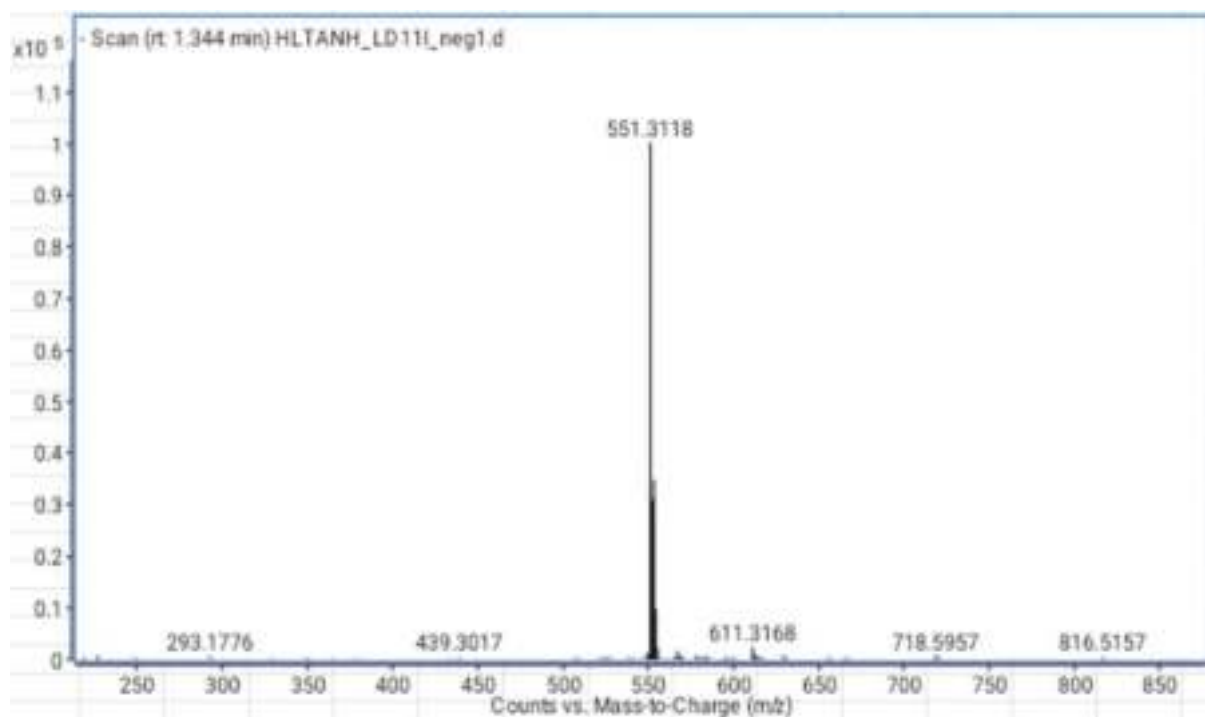
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{33}H_{32}O_4$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 512,4

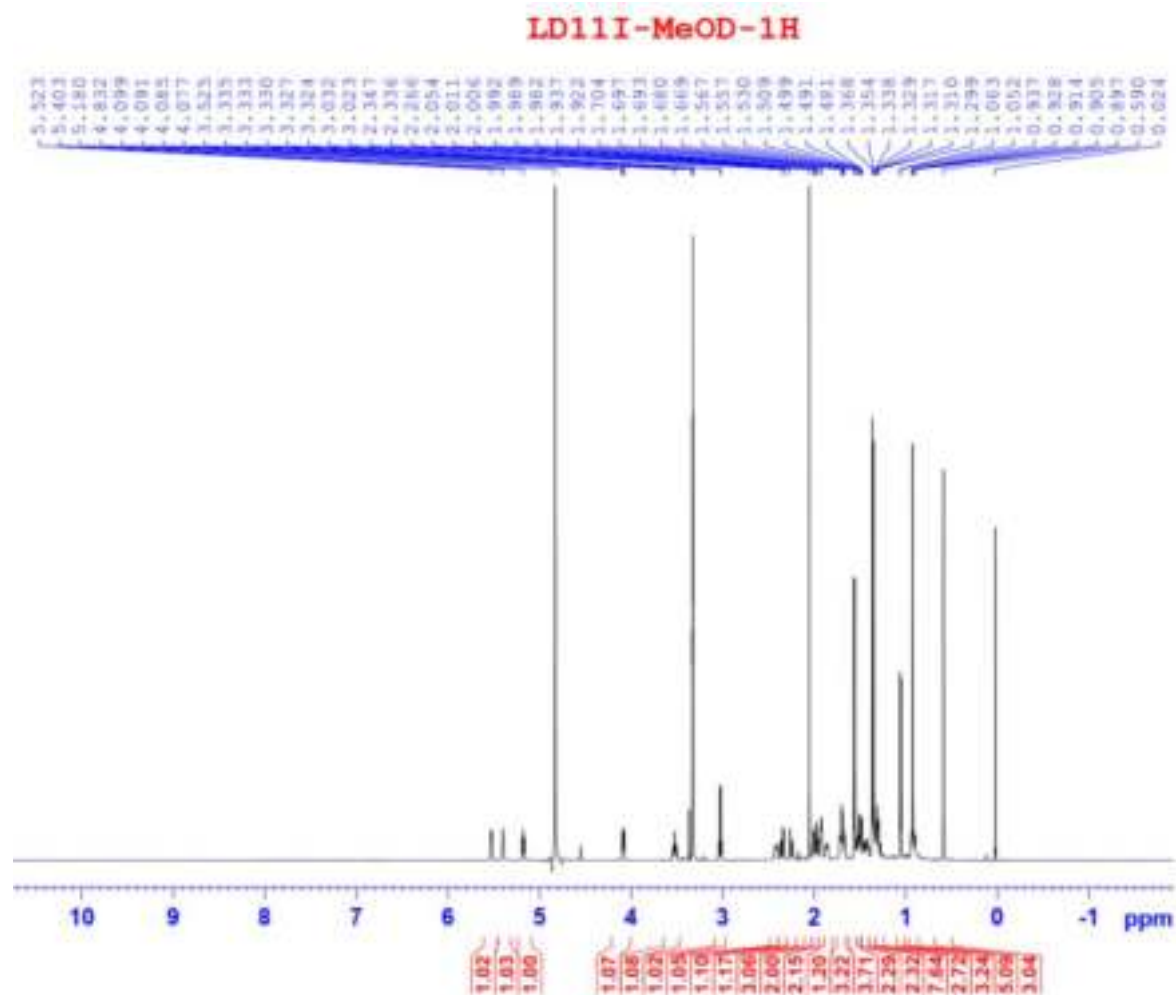
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL33

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD6

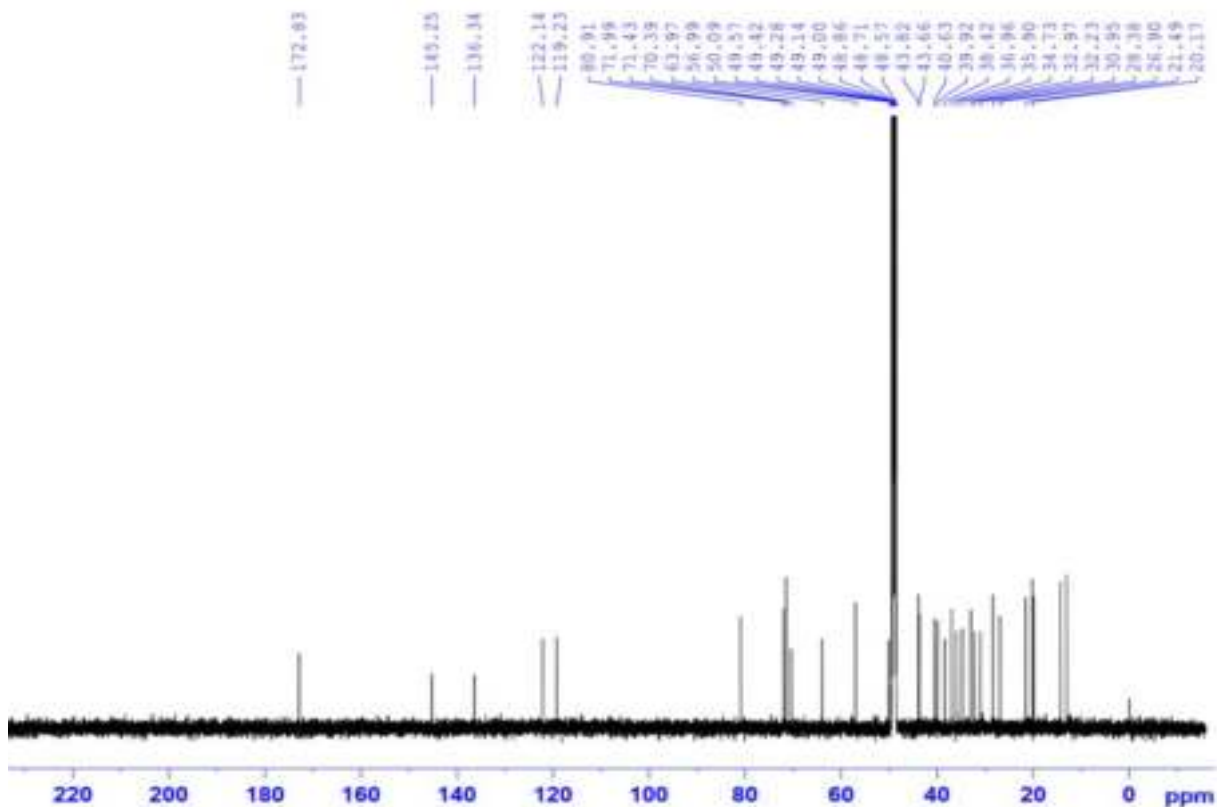


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD6

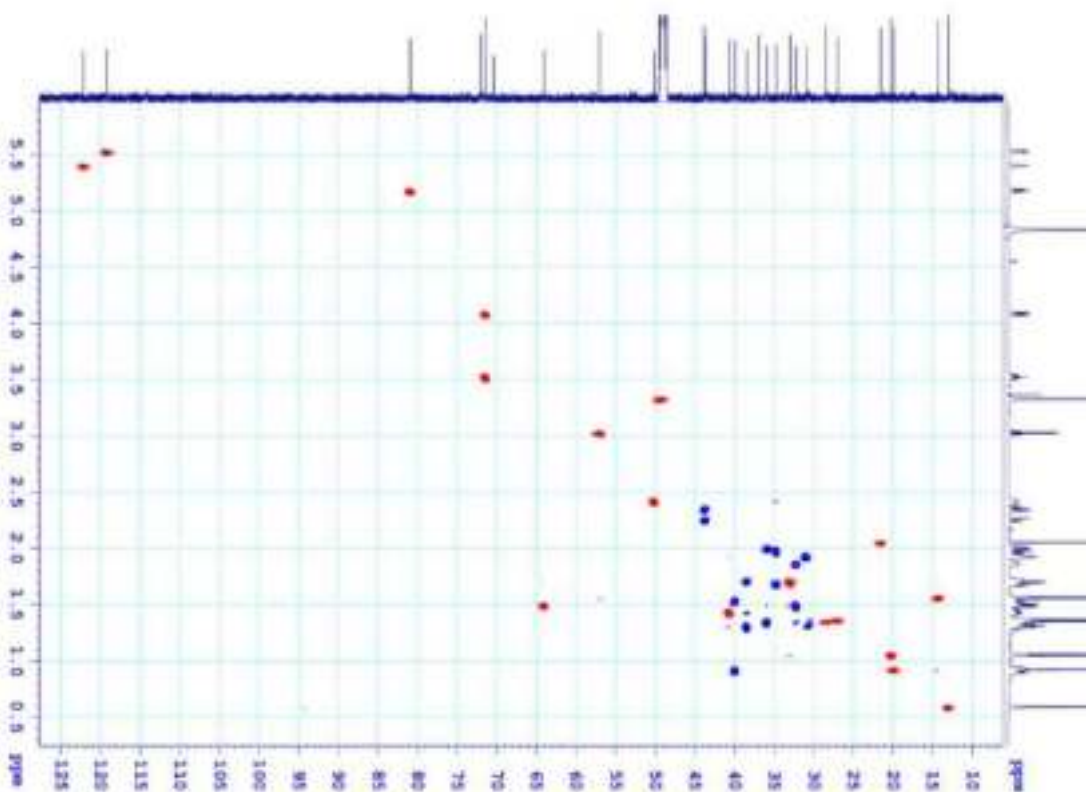


PL34

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD6

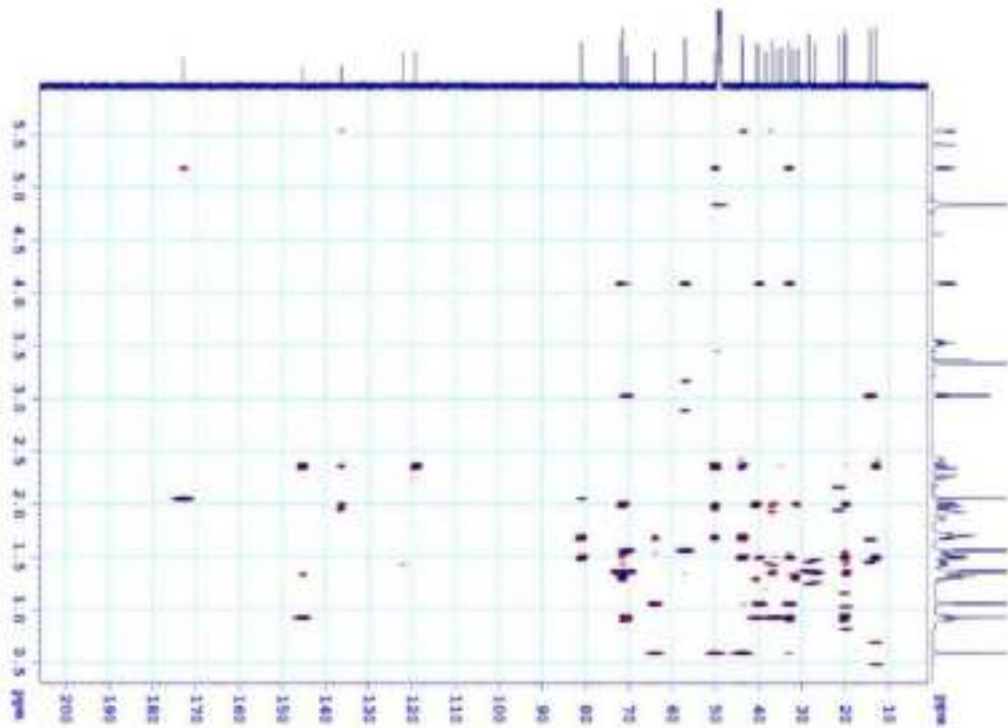


Phổ HSQC của hợp chất LD6

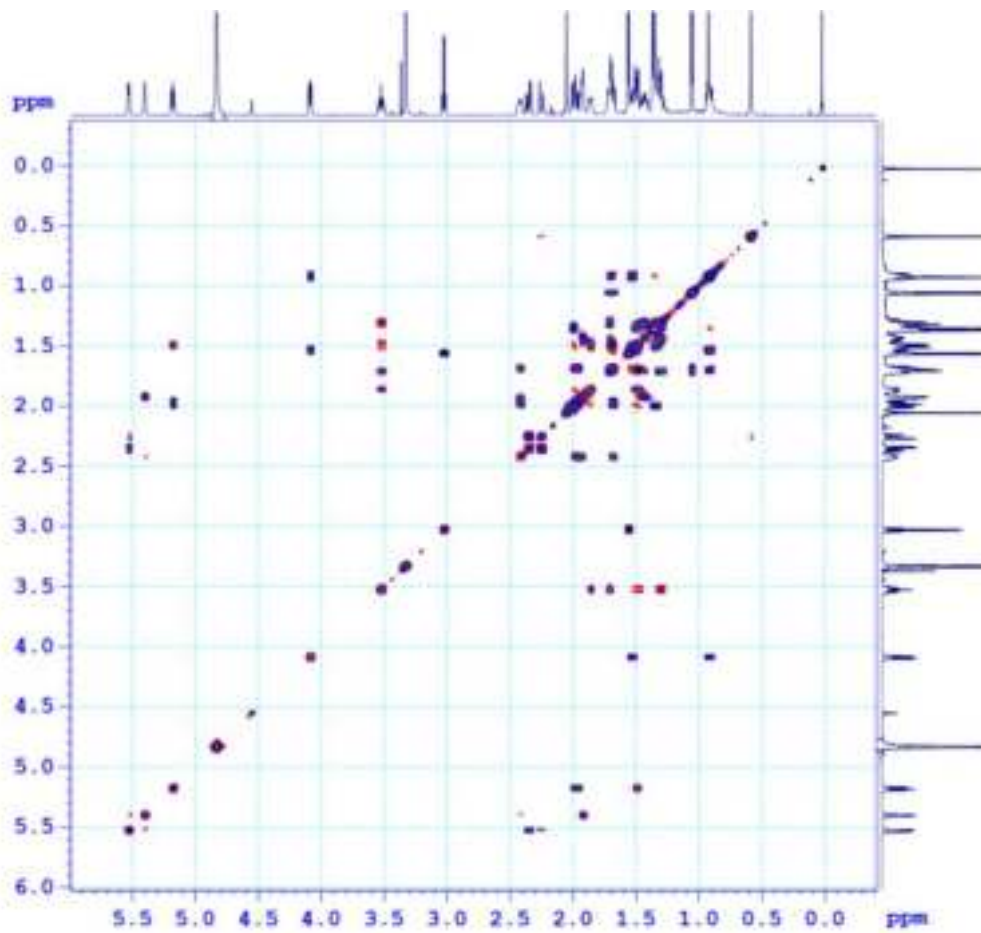


PL35

Phổ HMBC của hợp chất LD6

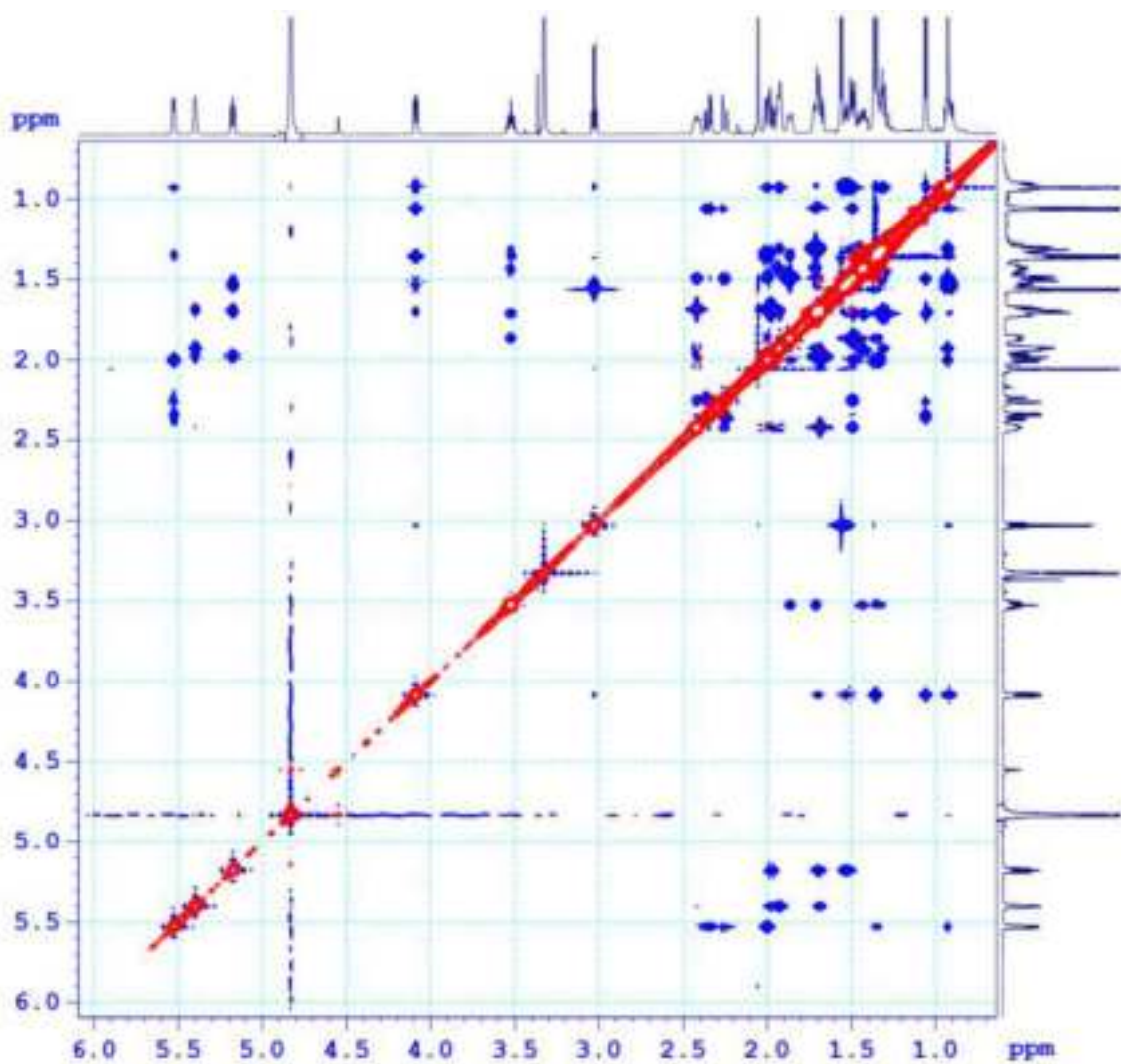


Phổ COSY của hợp chất LD6

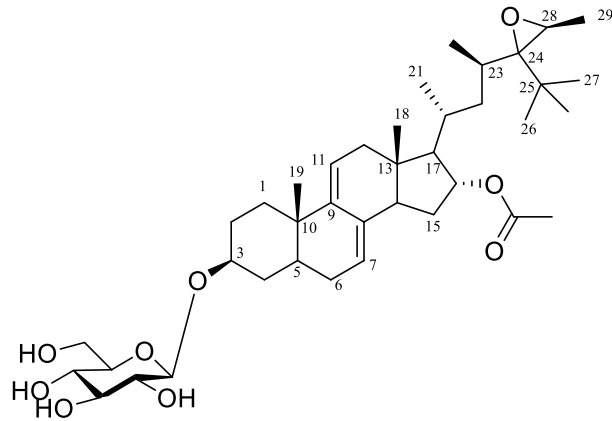


PL36

Phổ NOESY của hợp chất LD6



VII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD7



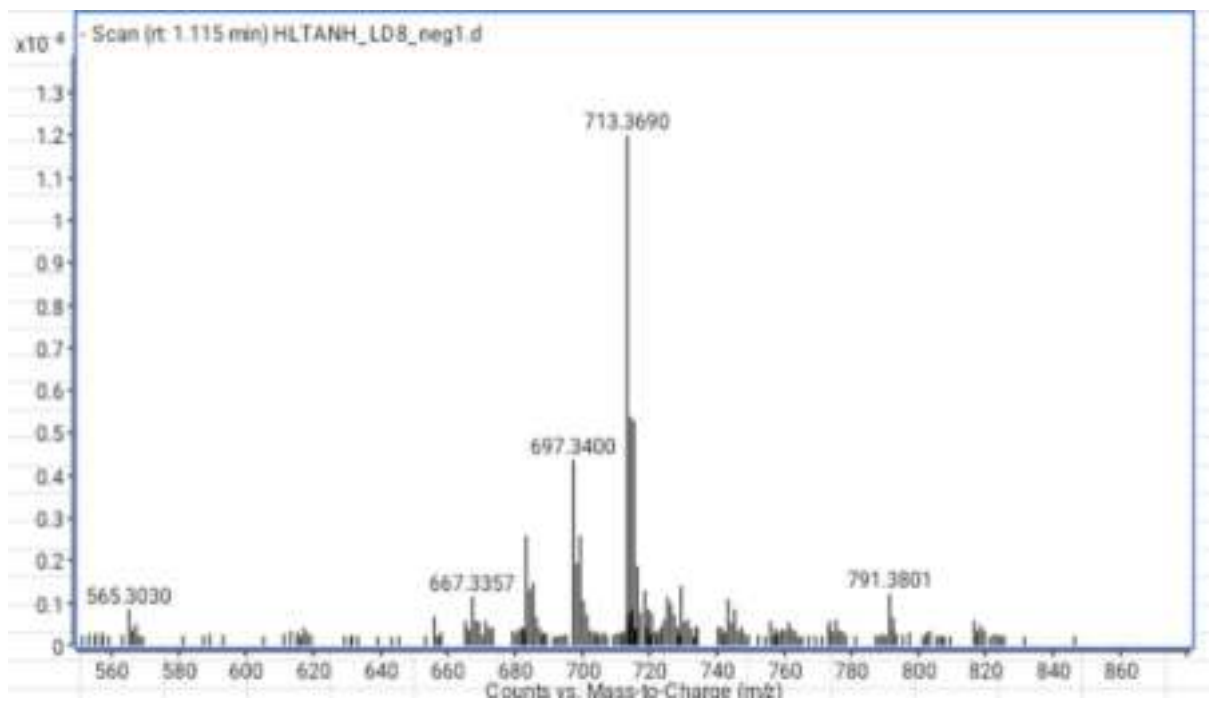
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{39}H_{62}O_9$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 674,4

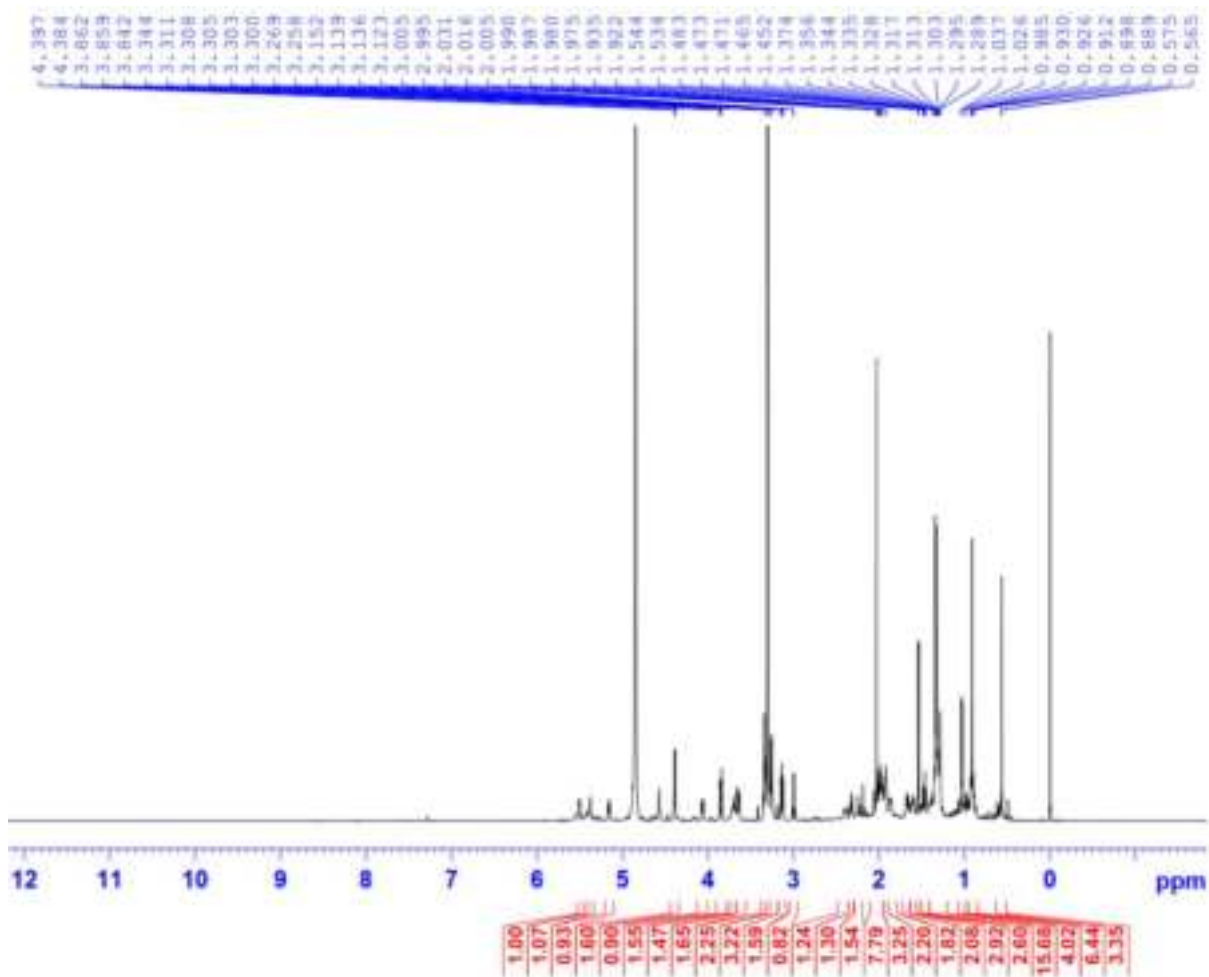
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL38

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD7

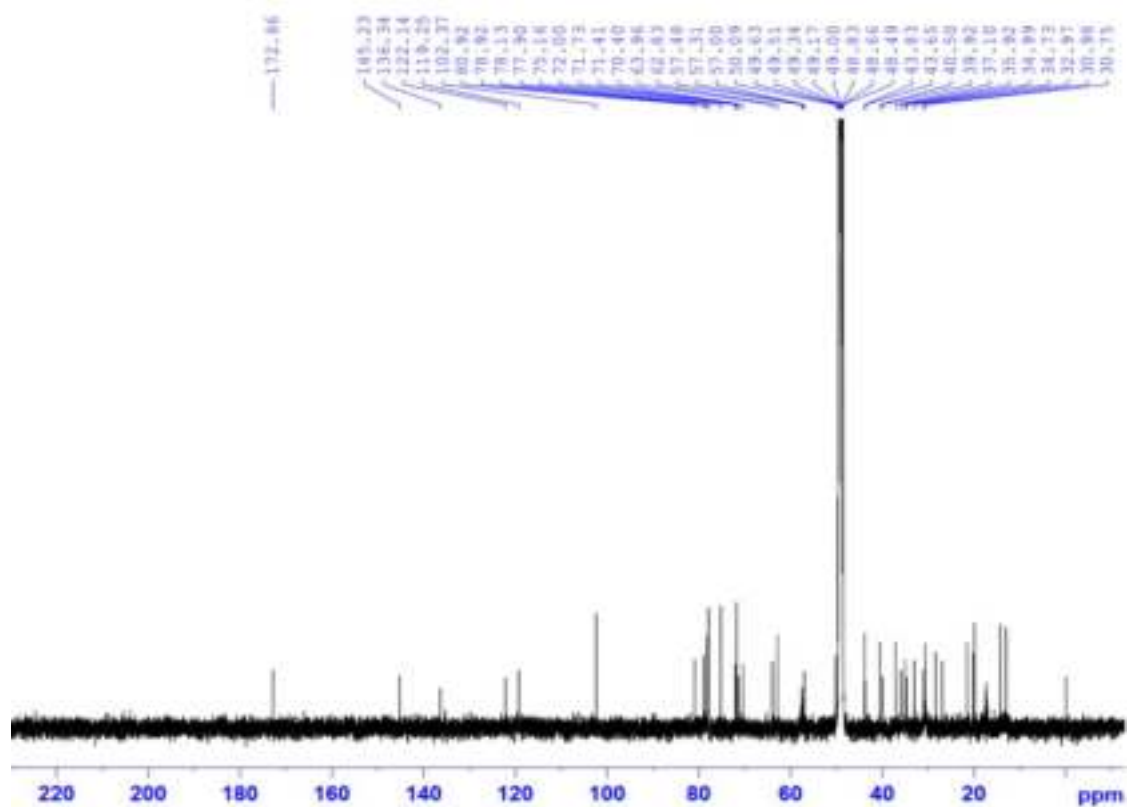


Phổ ¹H-NMR của hợp chất LD7

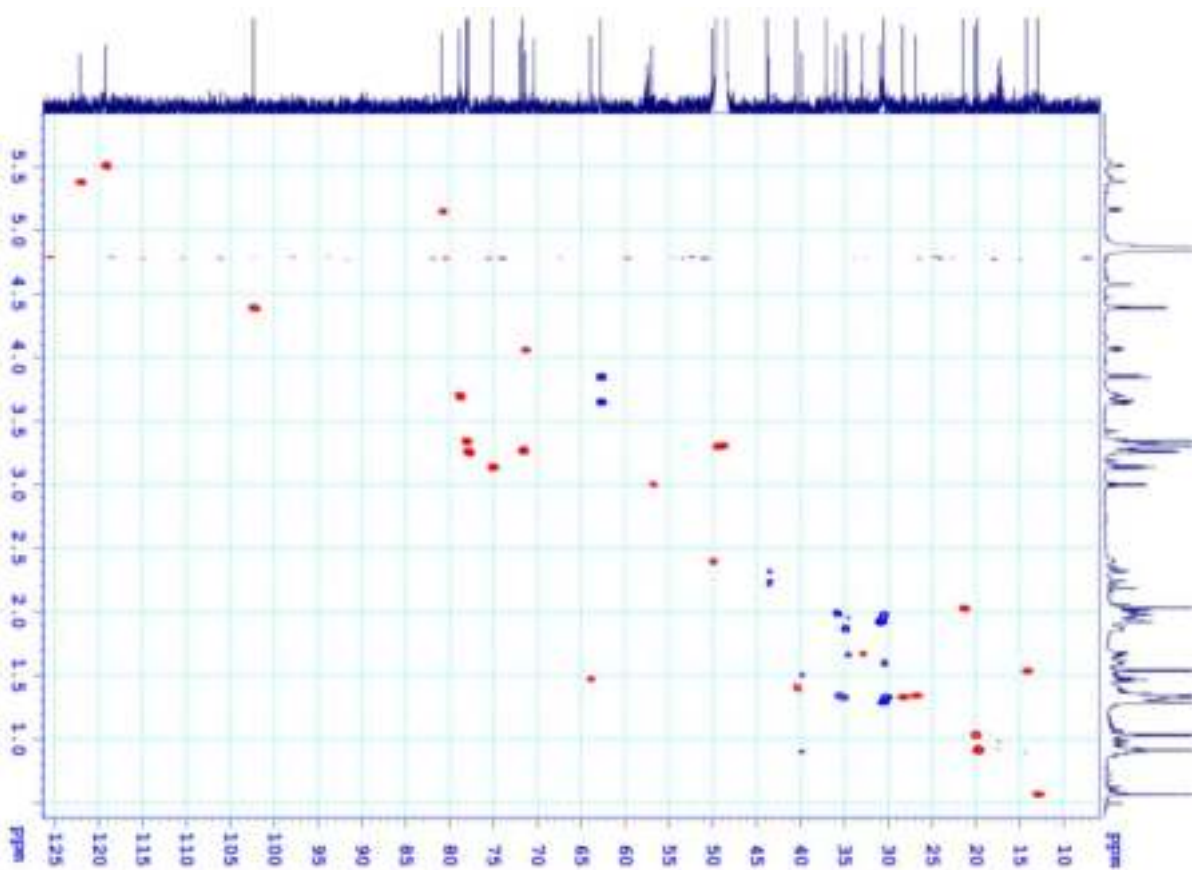


PL39

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD7

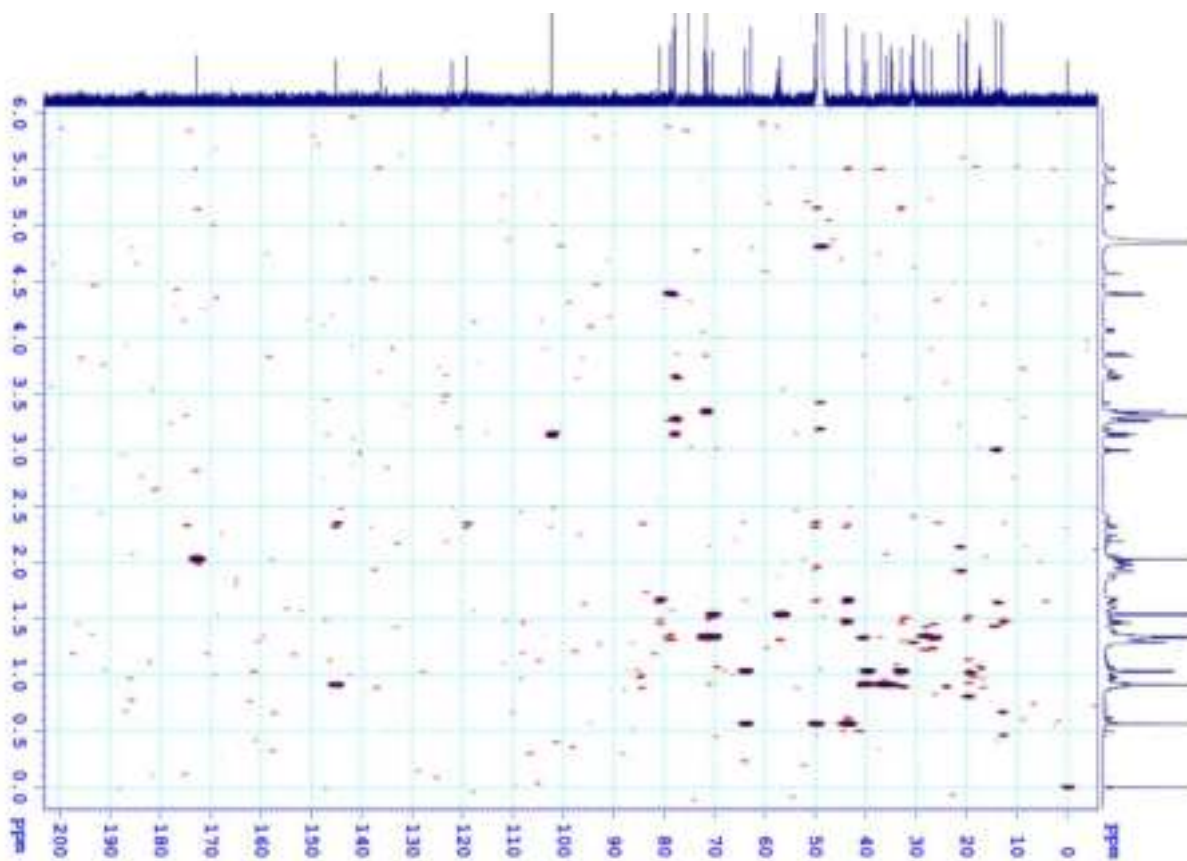


Phổ HSQC của hợp chất LD7

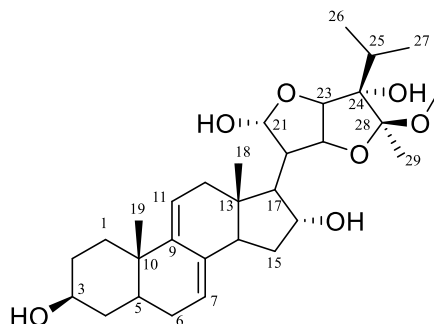


PL40

Phổ HMBC của hợp chất LD7



VIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD8



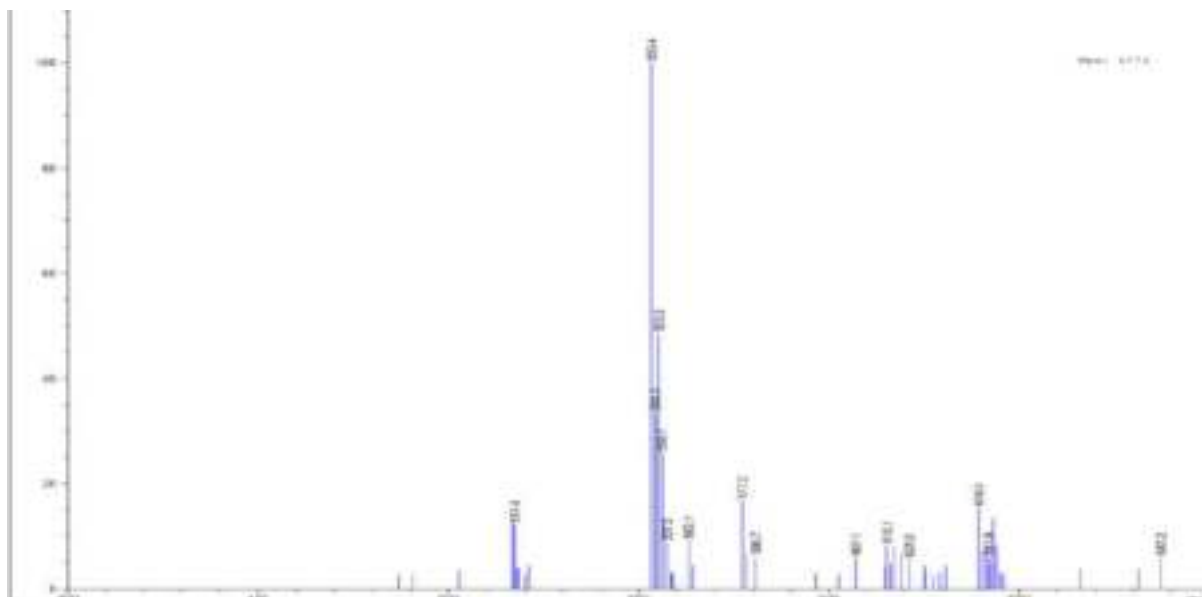
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{30}H_{46}O_7$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 518,3

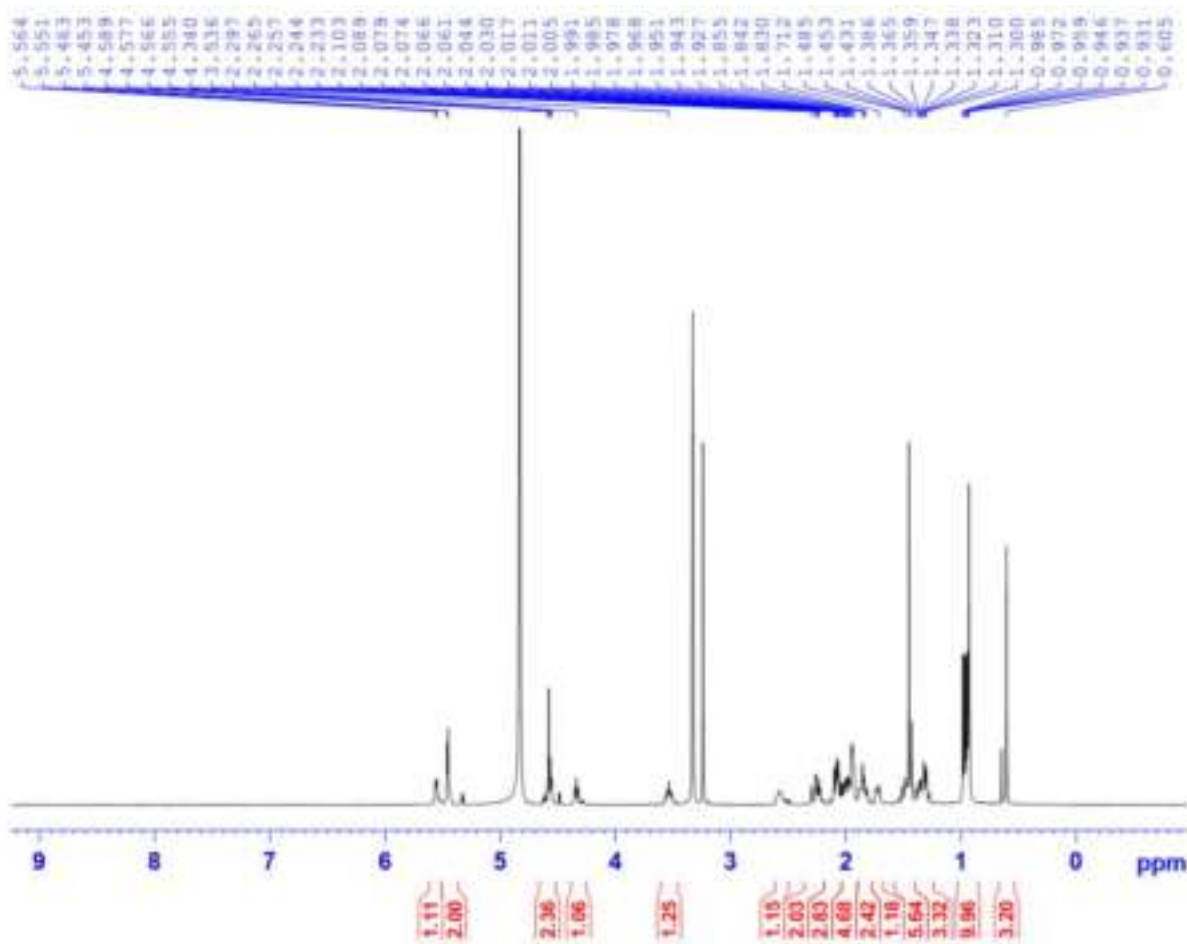
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL42

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD8

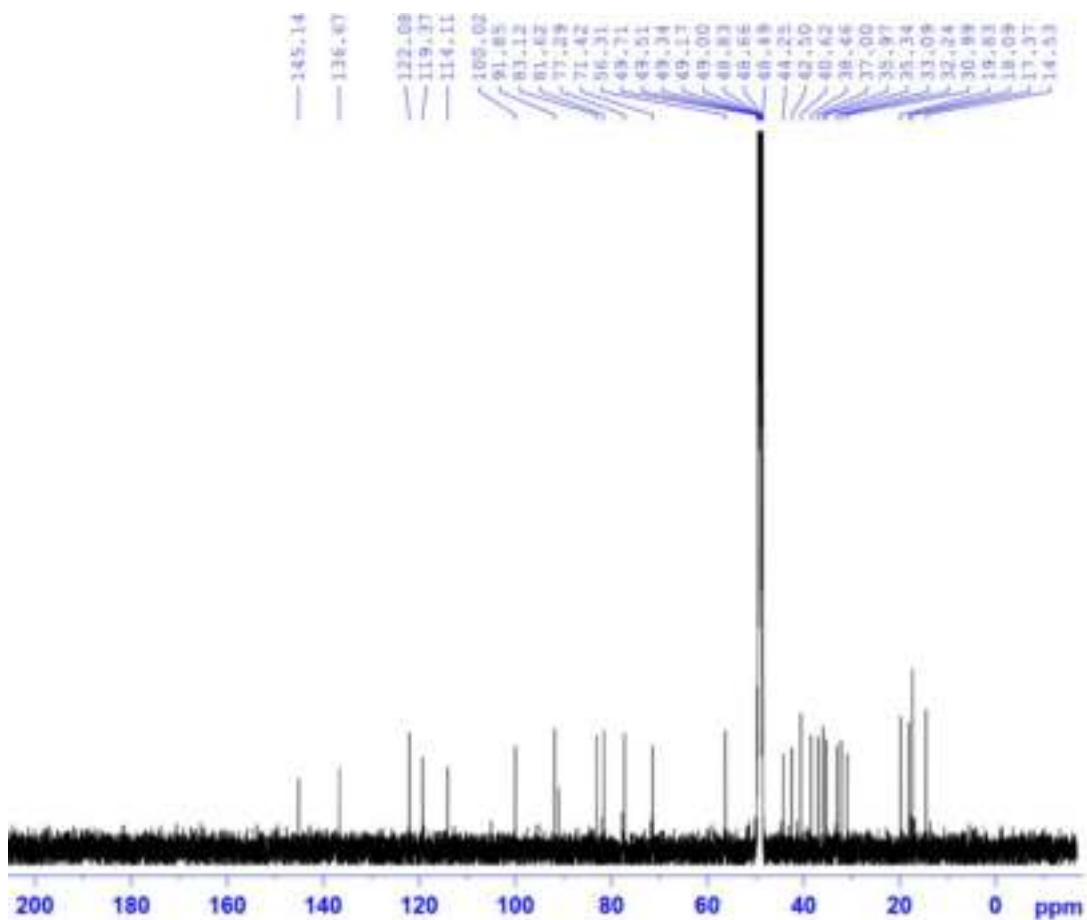


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD8

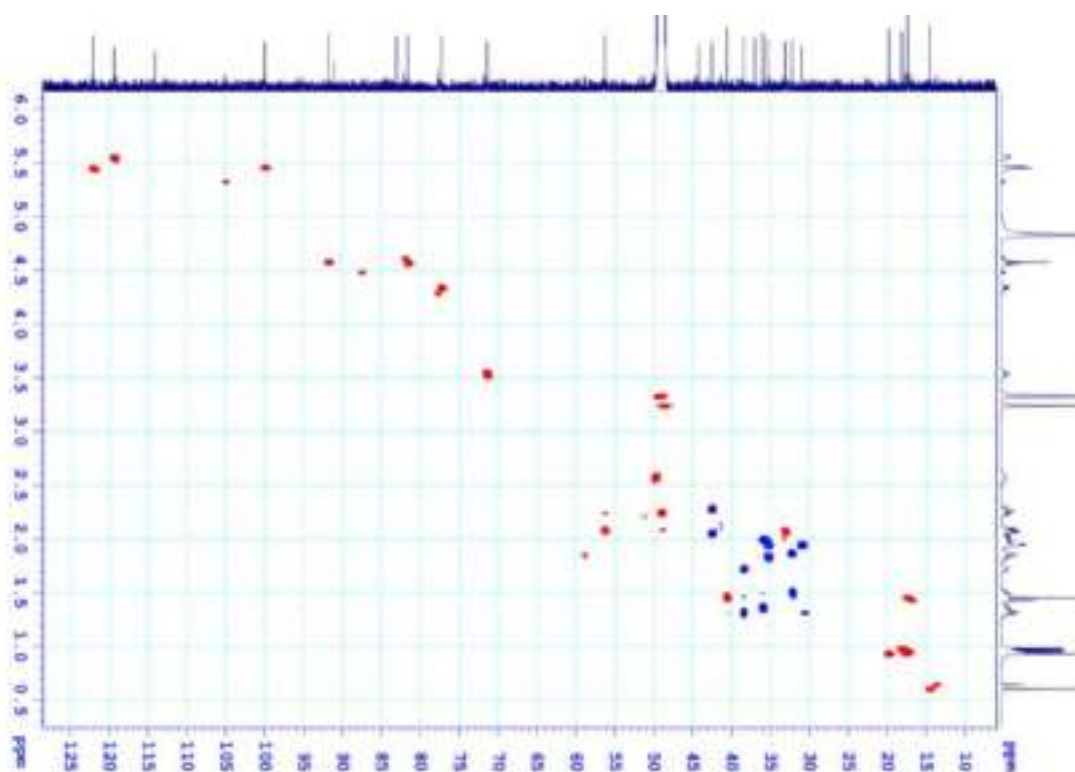


PL43

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD8

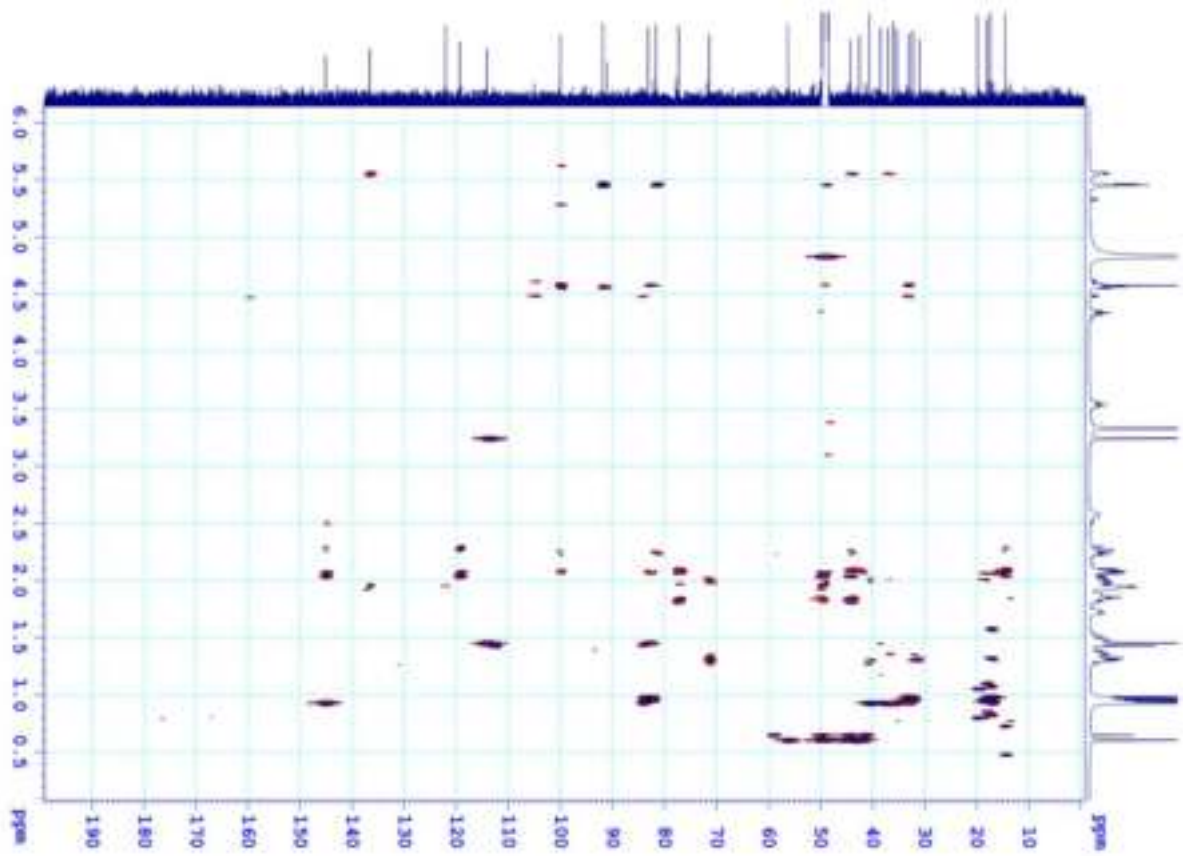


Phổ HSQC của hợp chất LD8

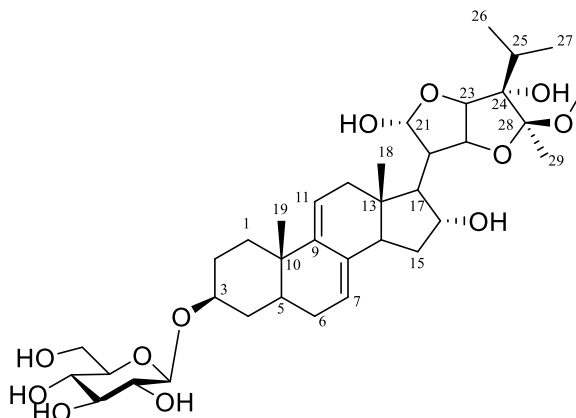


PL44

Phổ HMBC của hợp chất LD8



IX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD9



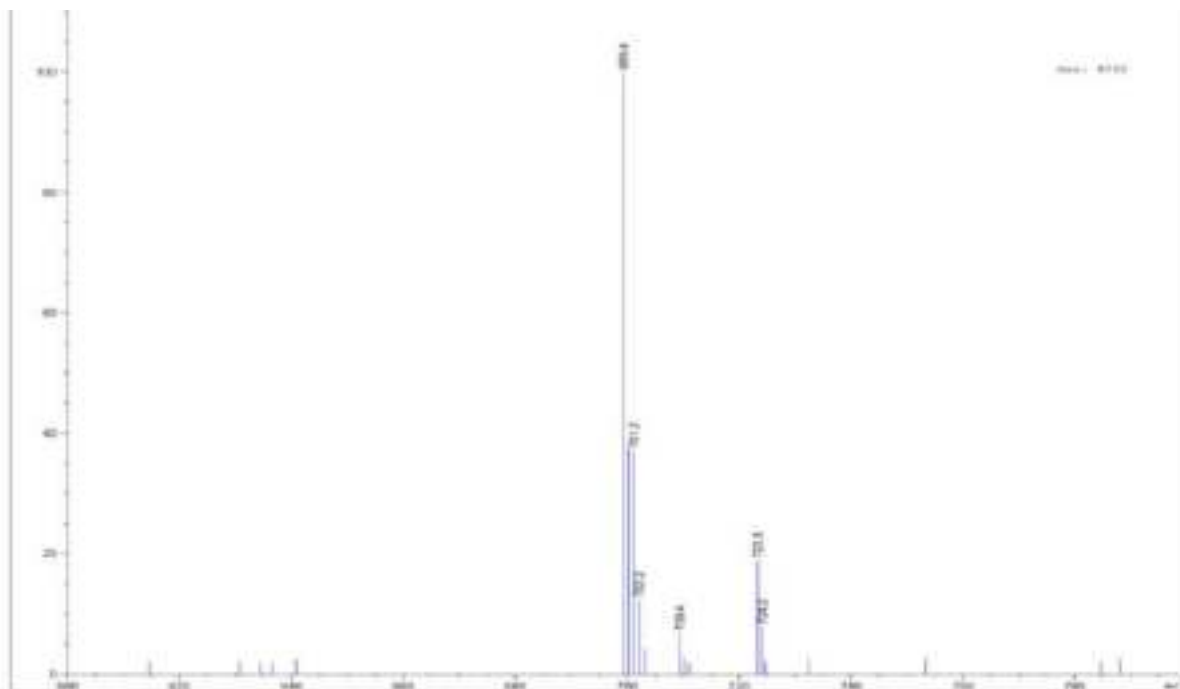
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{36}H_{56}O_{11}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 664,4

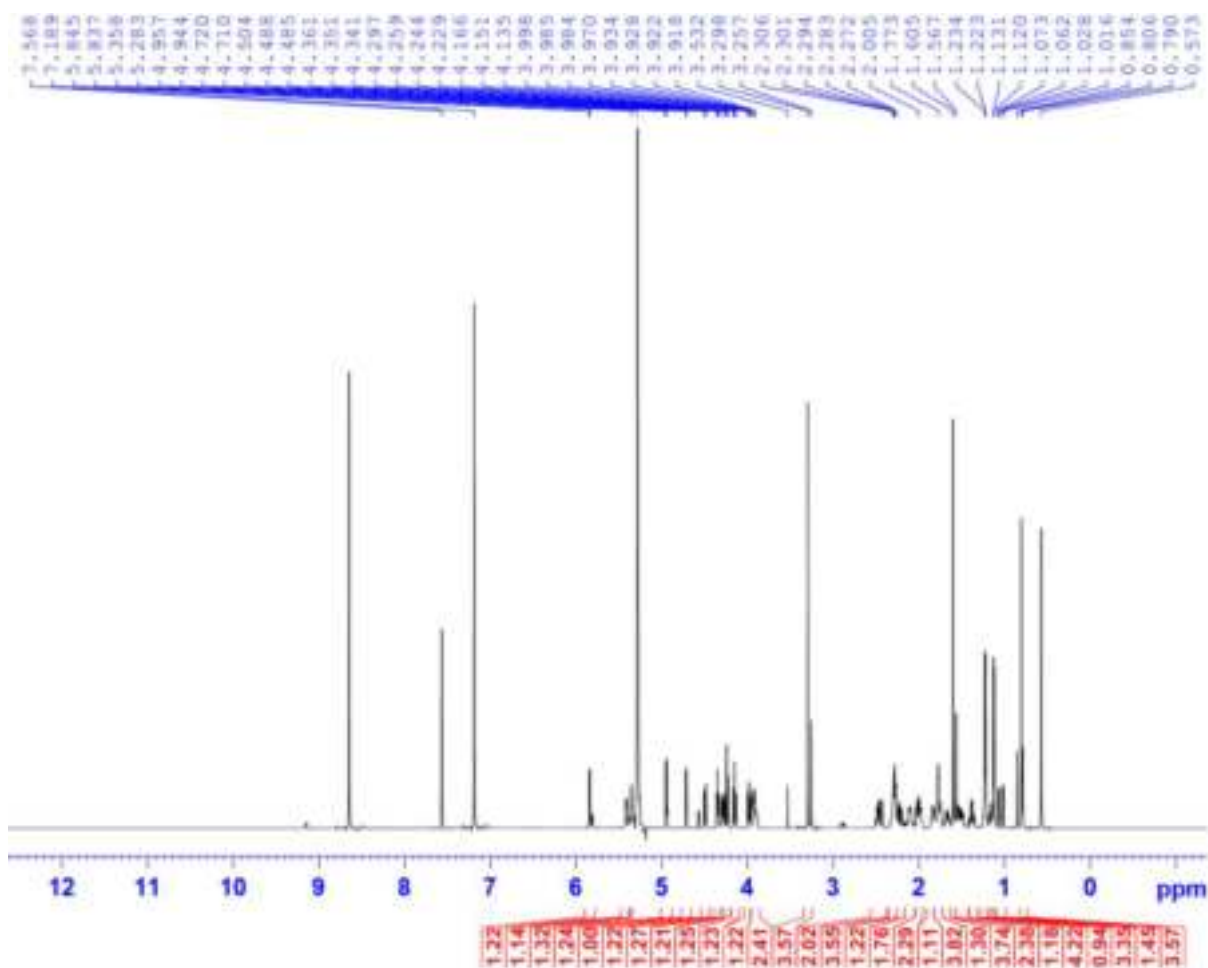
- Phổ ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL46

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD9

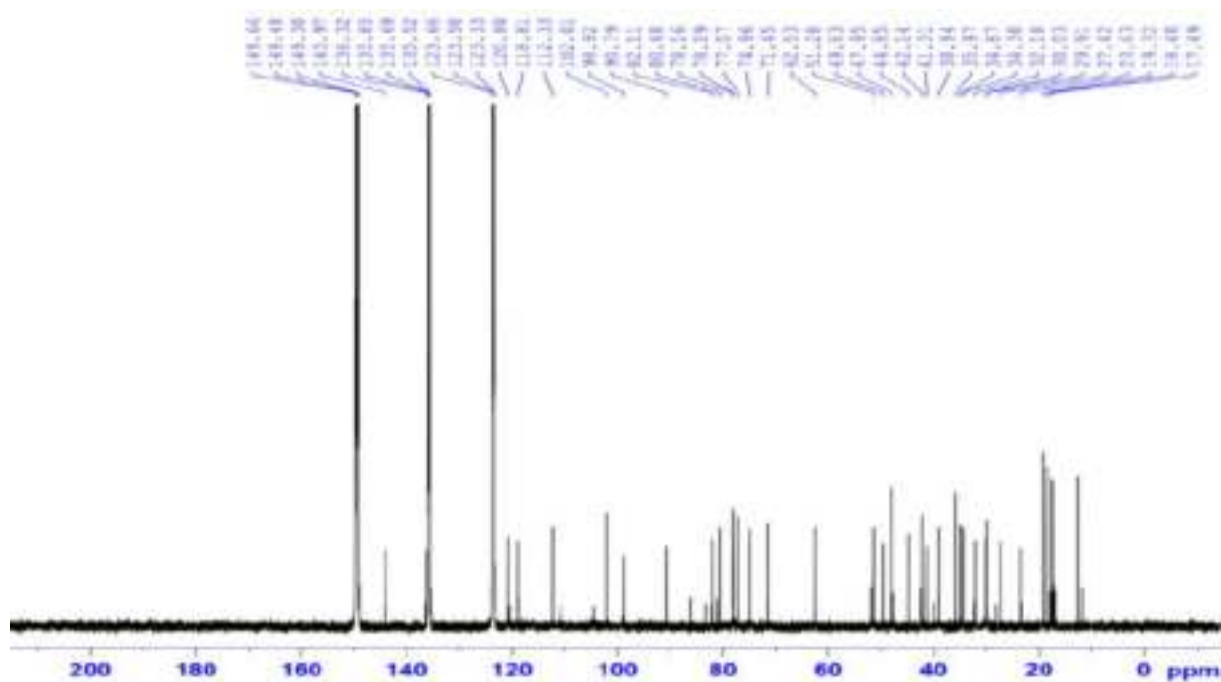


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD9

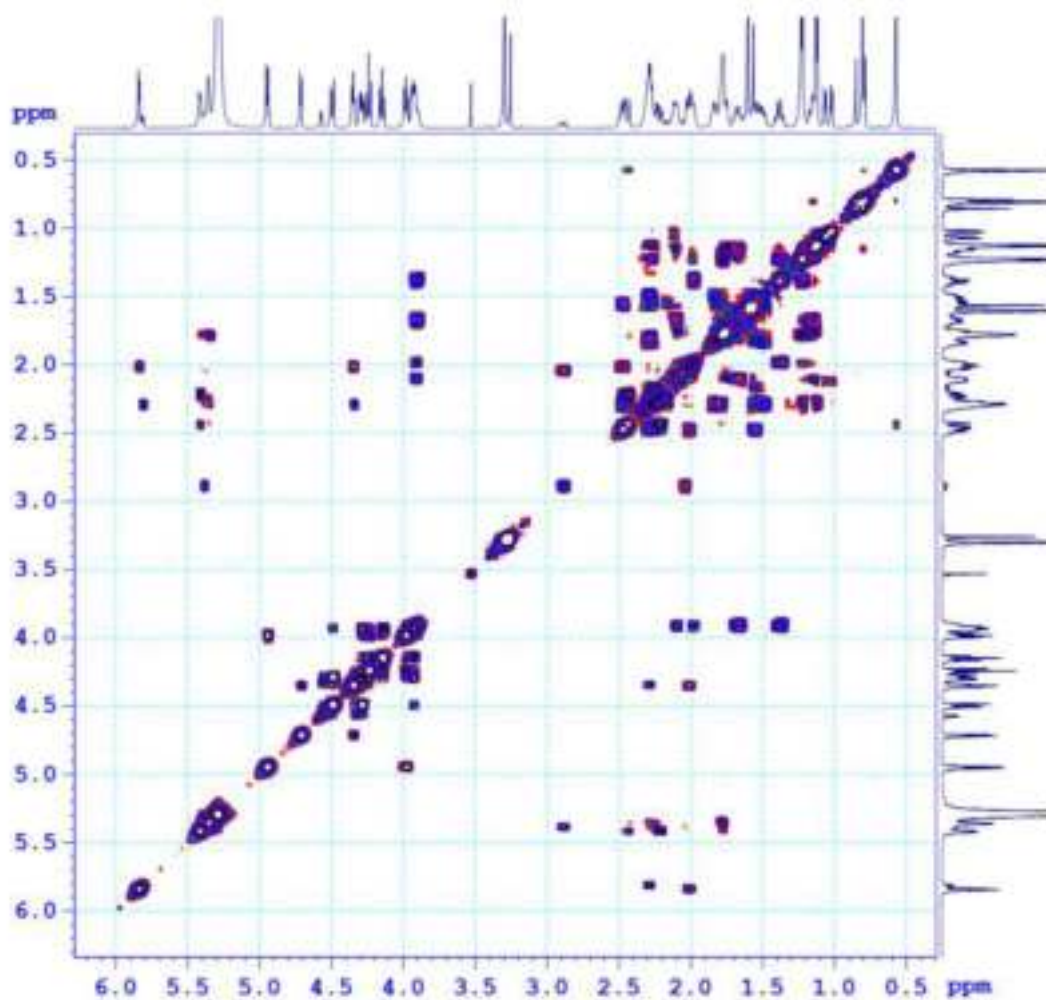


PL47

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất LD9

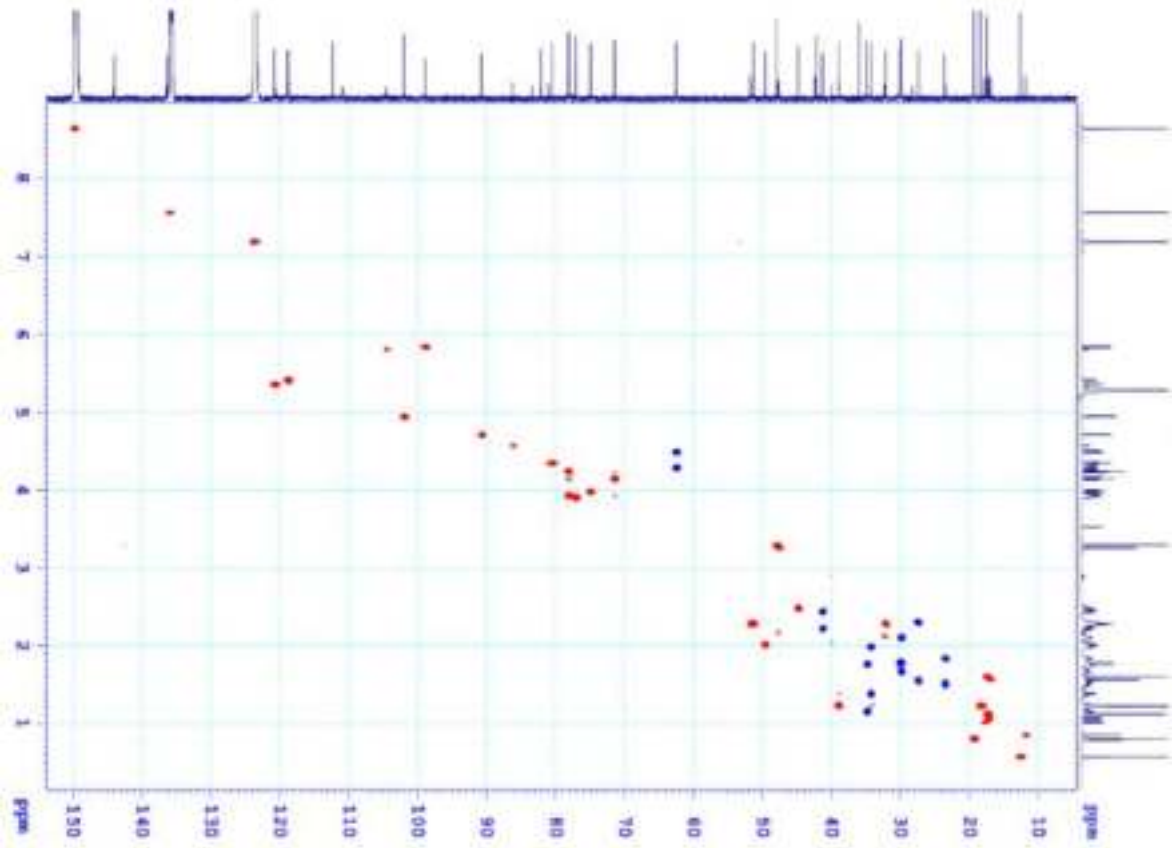


Phổ COSY của hợp chất LD9

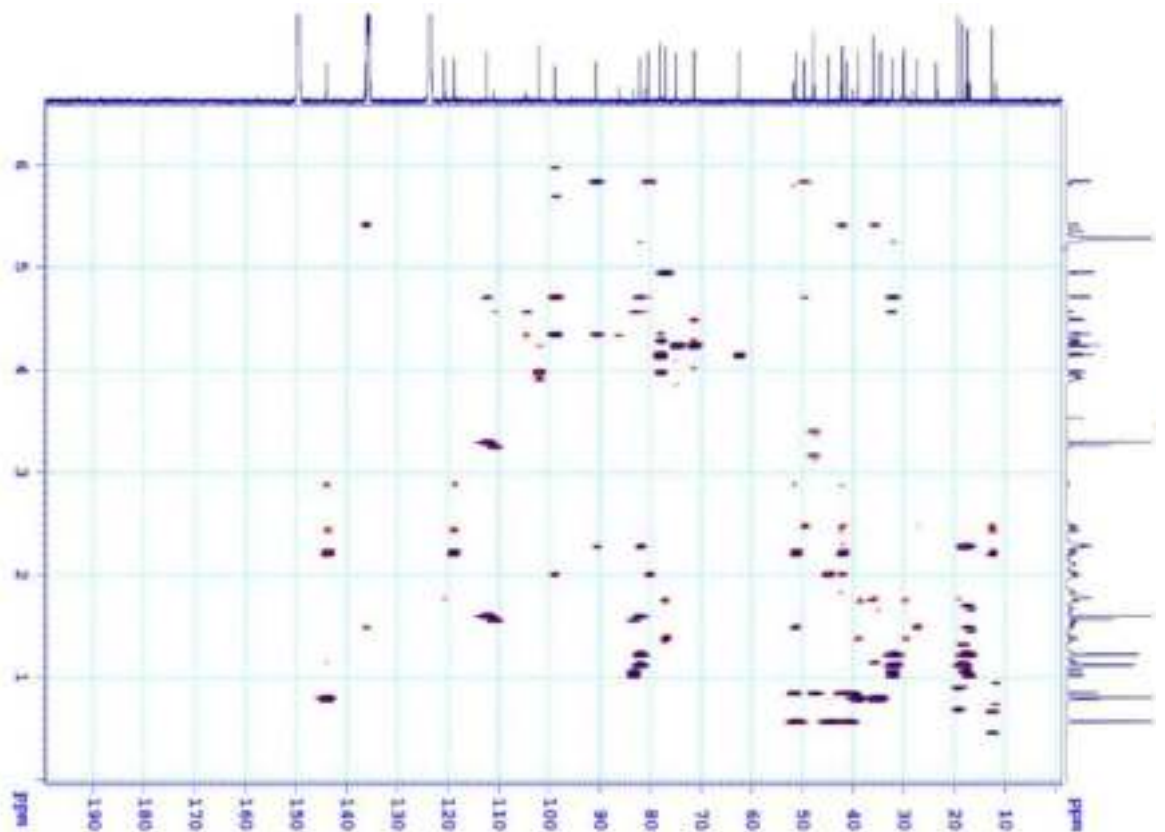


PL48

Phổ HSQC của hợp chất LD9

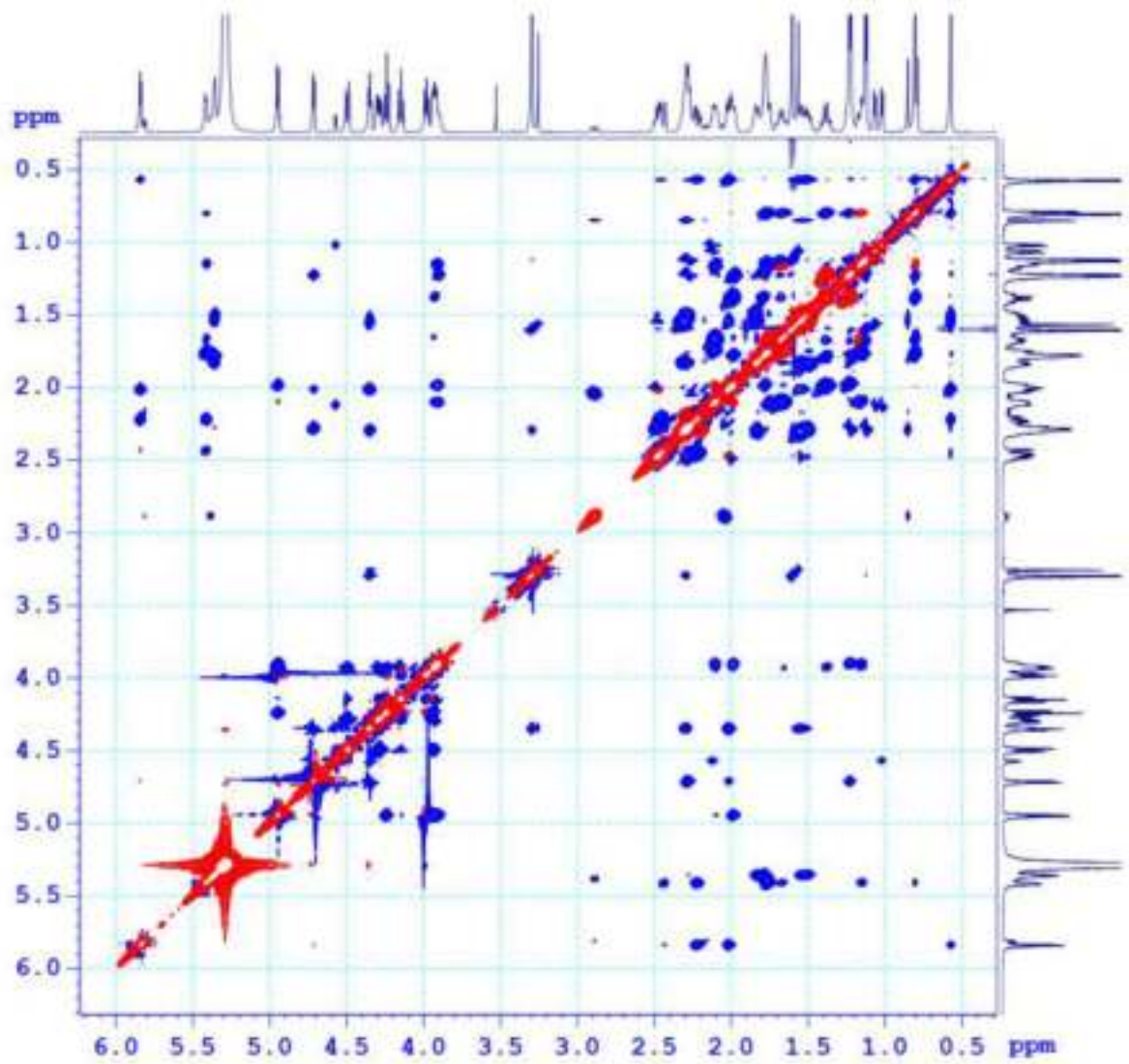


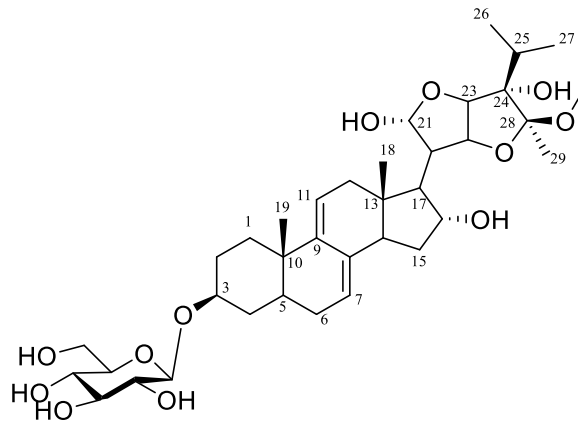
Phổ HMBC của hợp chất LD9



PL49

Phổ ROESY của hợp chất LD9



X. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD10

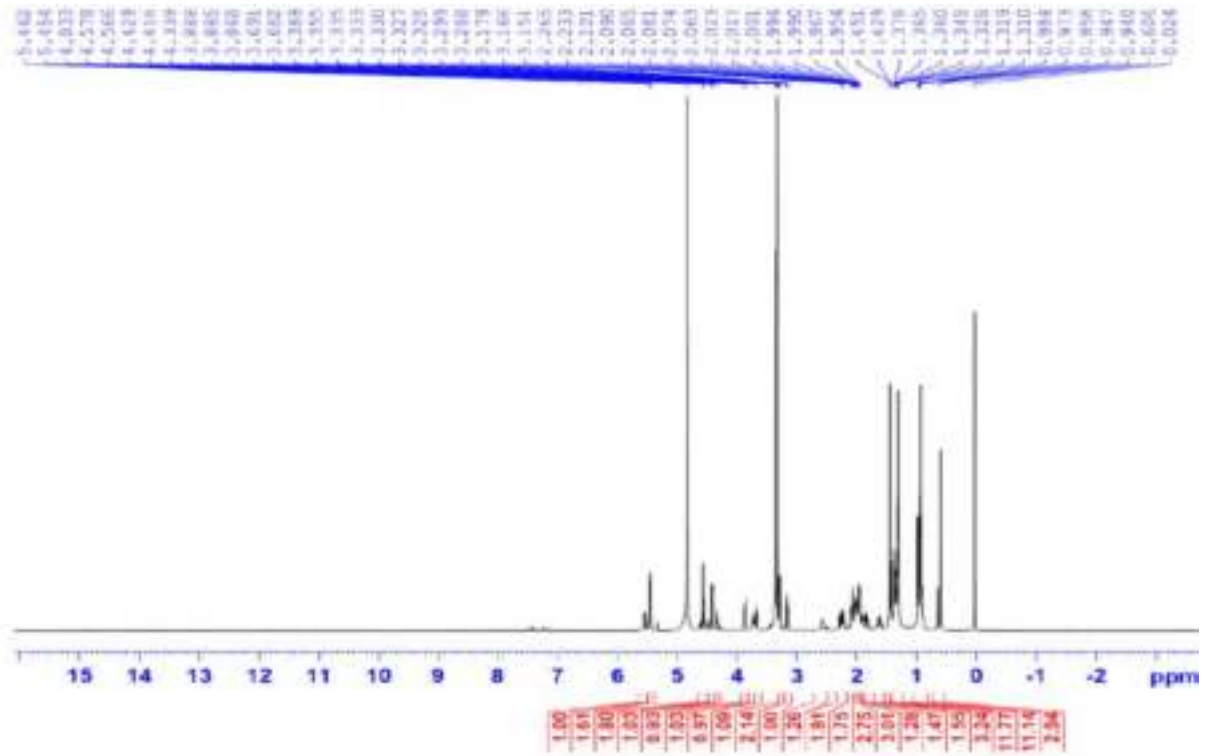
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{36}H_{56}O_{12}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 680,4

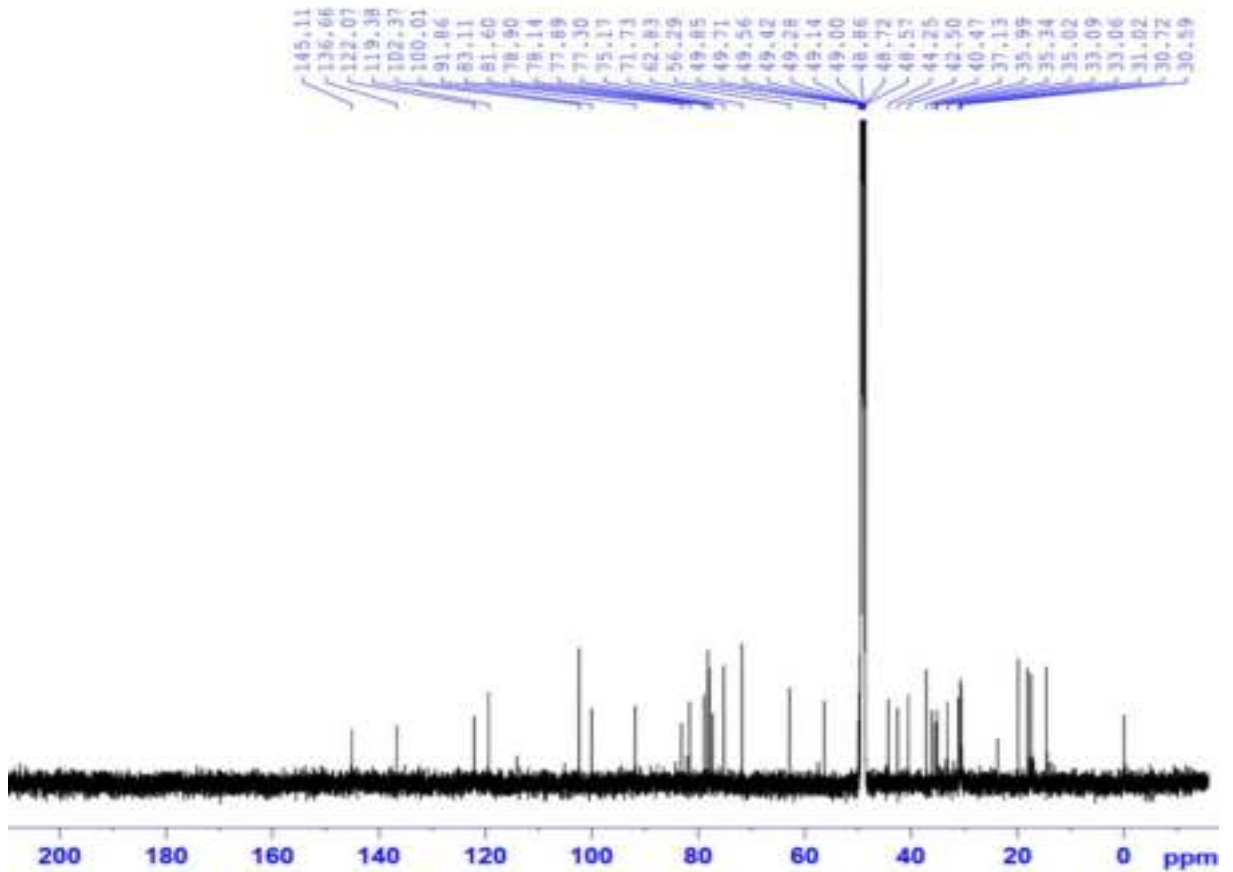
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL51

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD10

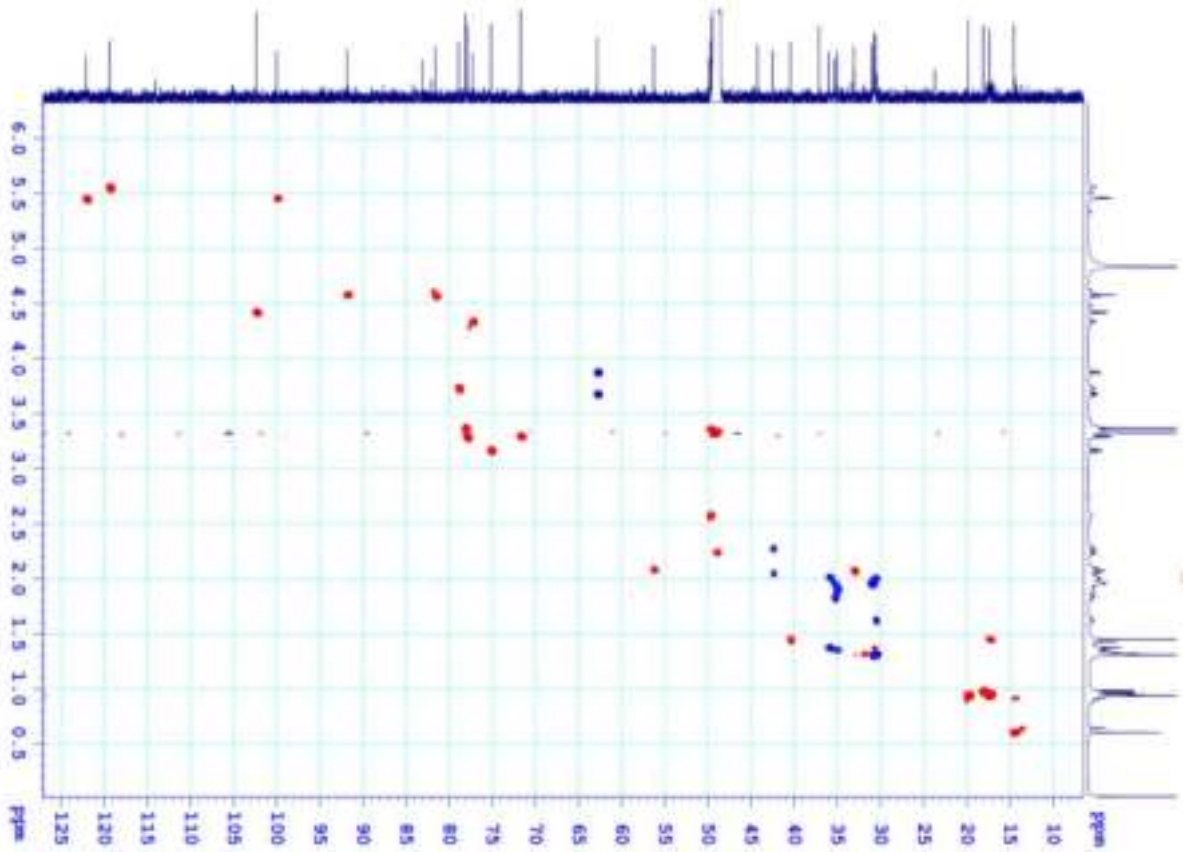


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD10

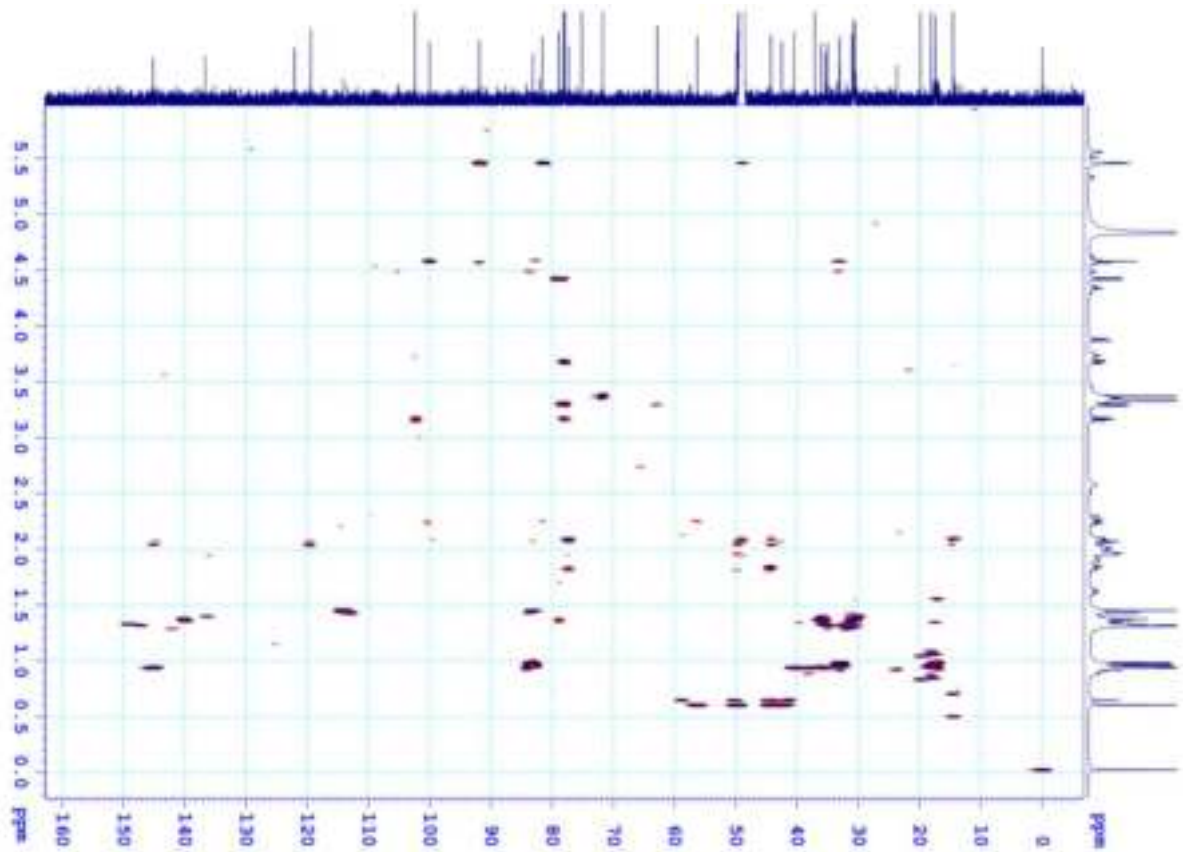


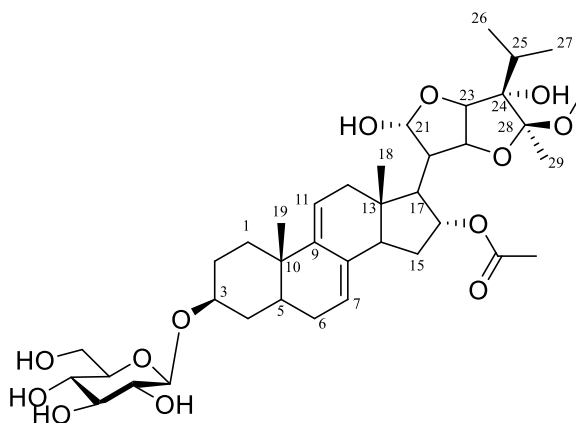
PL52

Phổ HSQC của hợp chất LD10



Phổ HMBC của hợp chất LD10

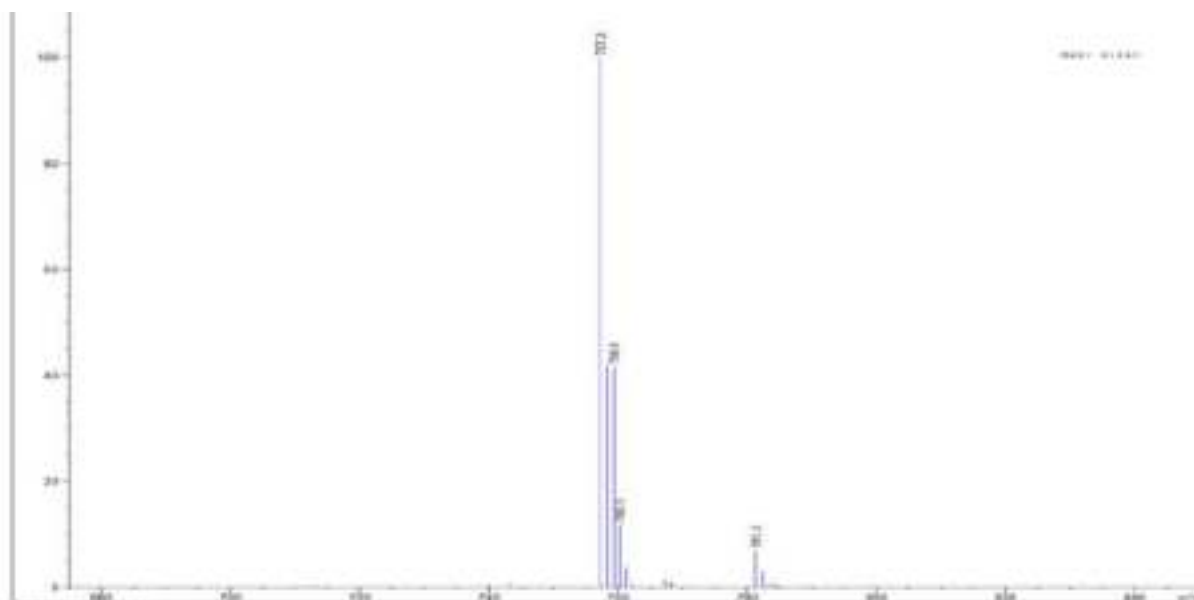


XI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD11

CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{38}H_{58}O_{13}$.

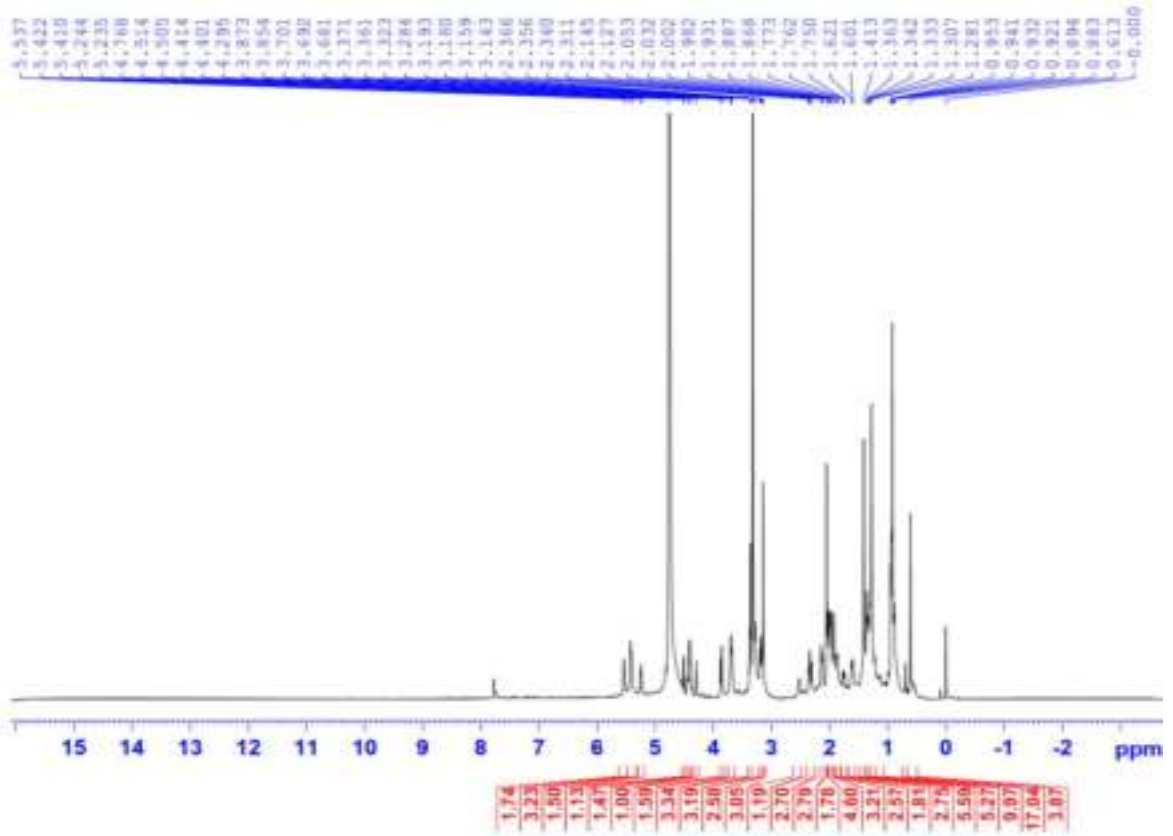
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 722,4

- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR

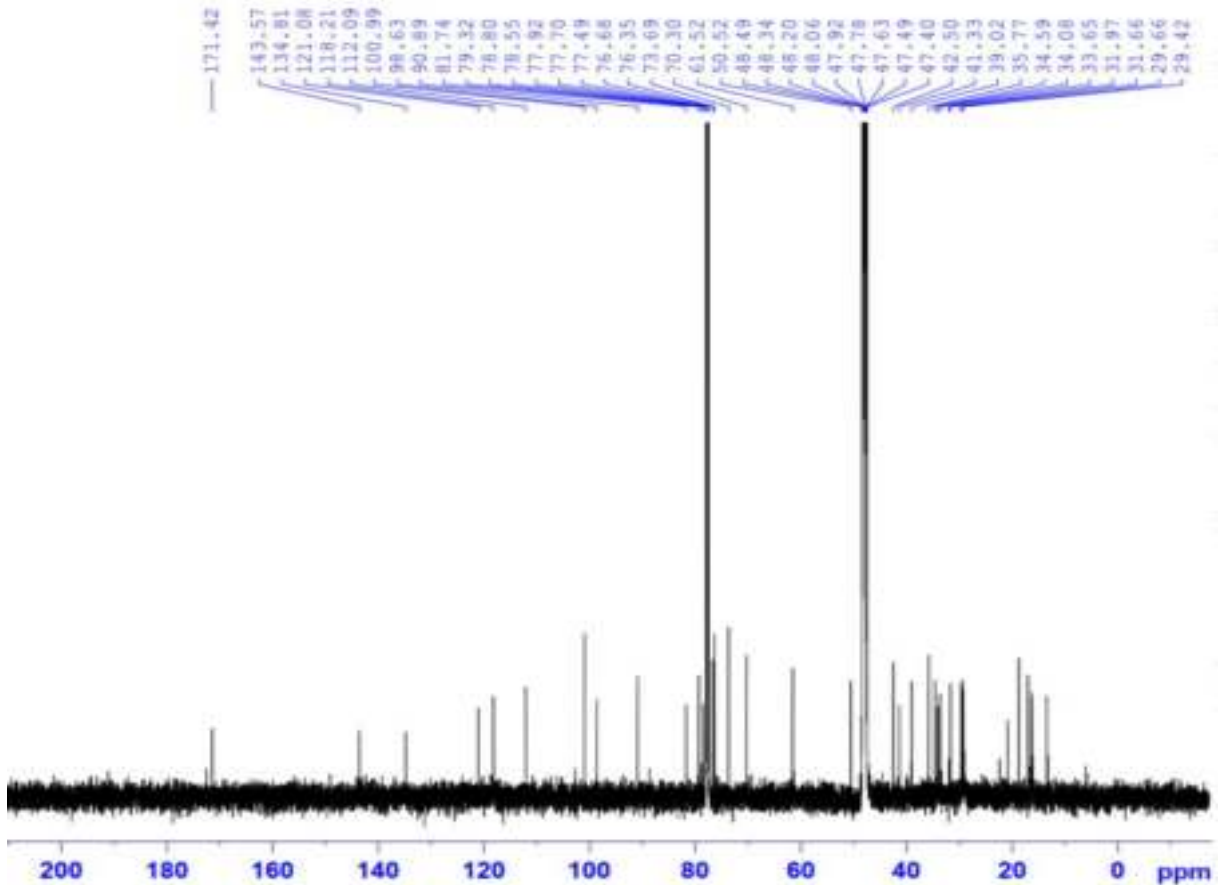
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD11

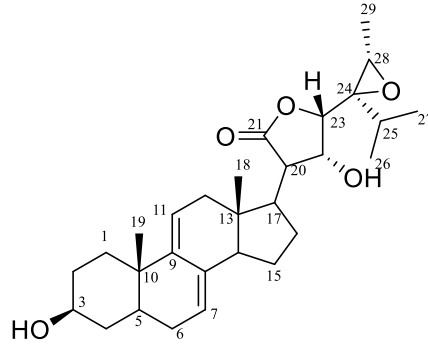
PL54

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD11



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất RP11



XII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD12

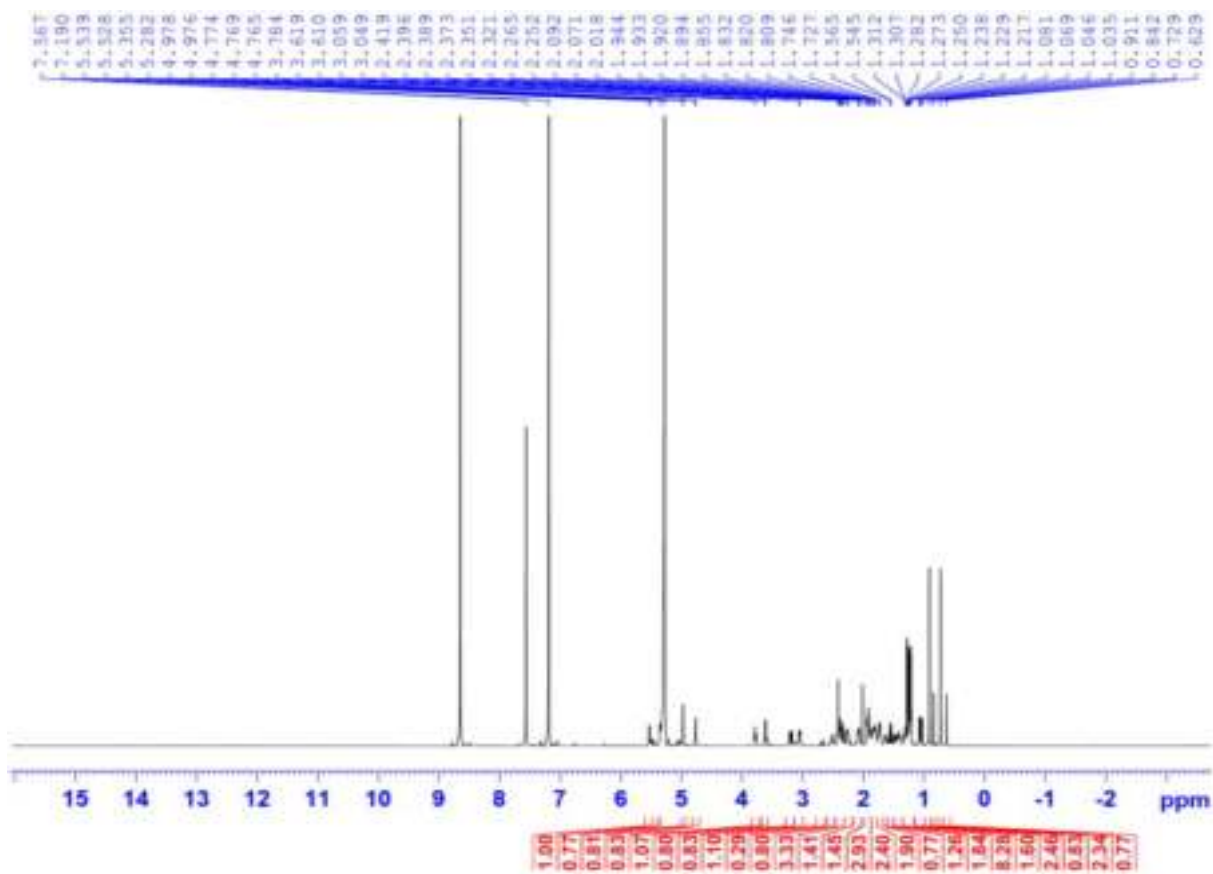
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{29}H_{42}O_5$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 470,3

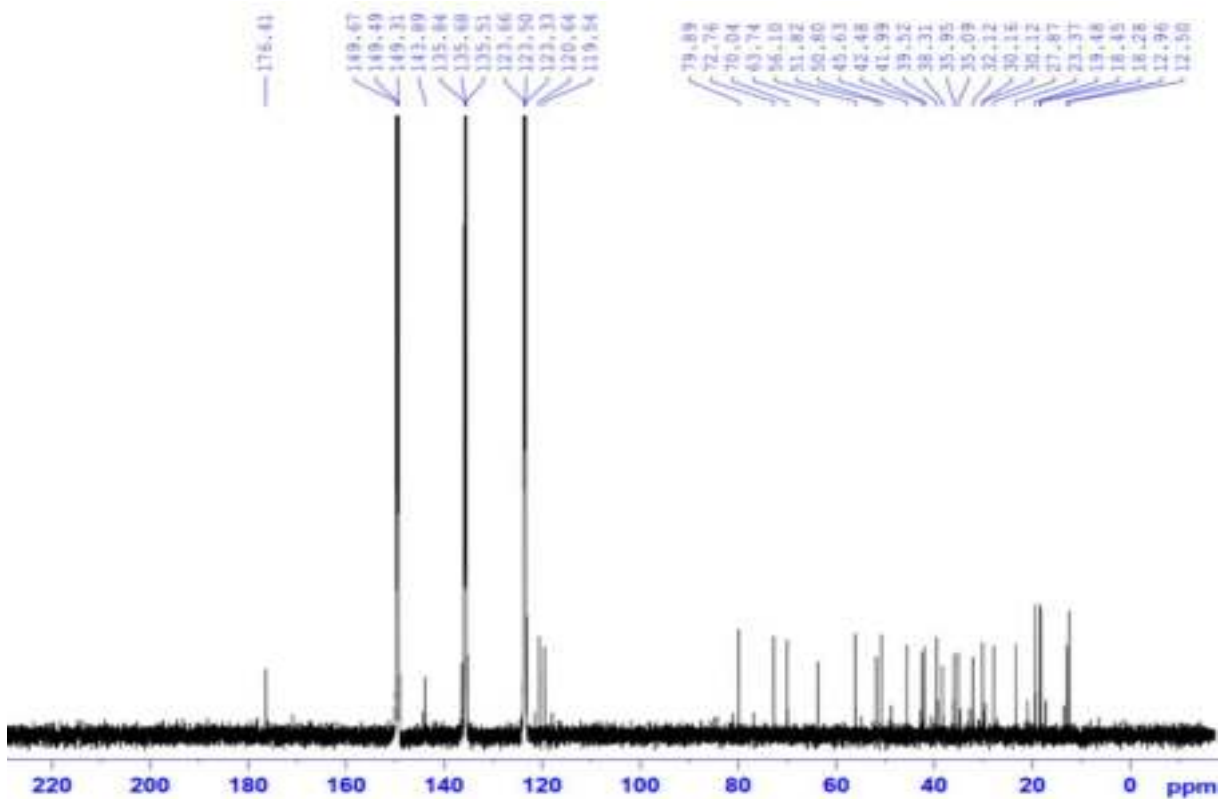
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL56

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD12

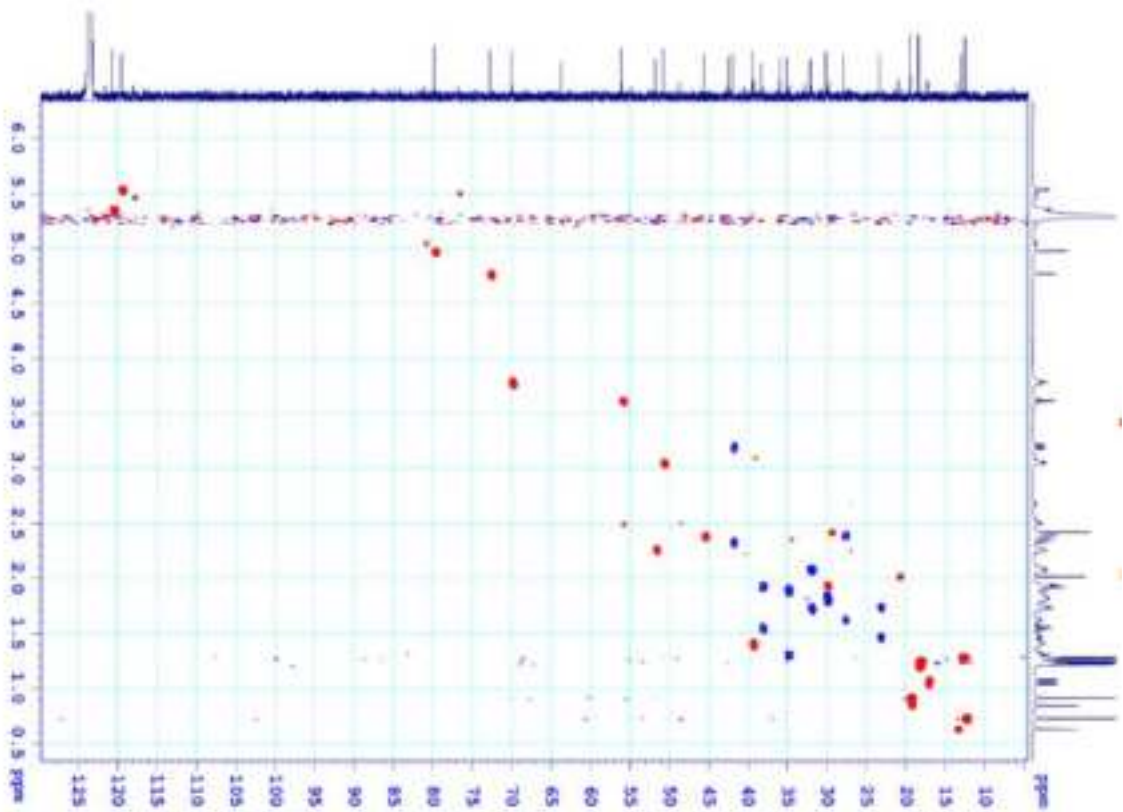


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD12

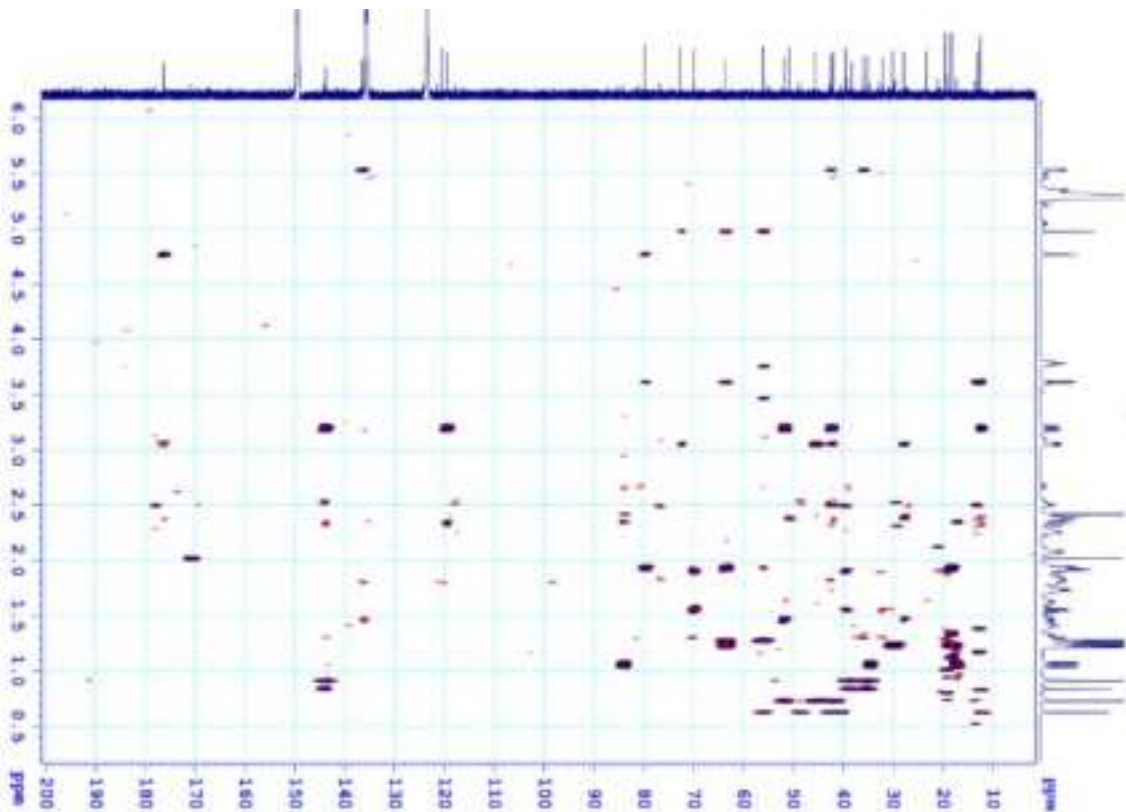


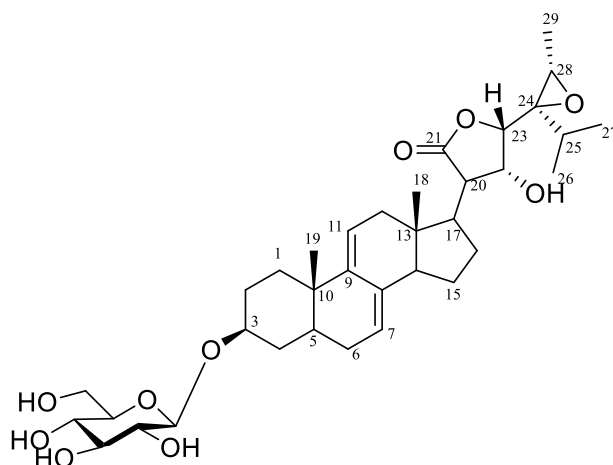
PL57

Phổ HSQC của hợp chất LD12



Phổ HMBC của hợp chất LD12

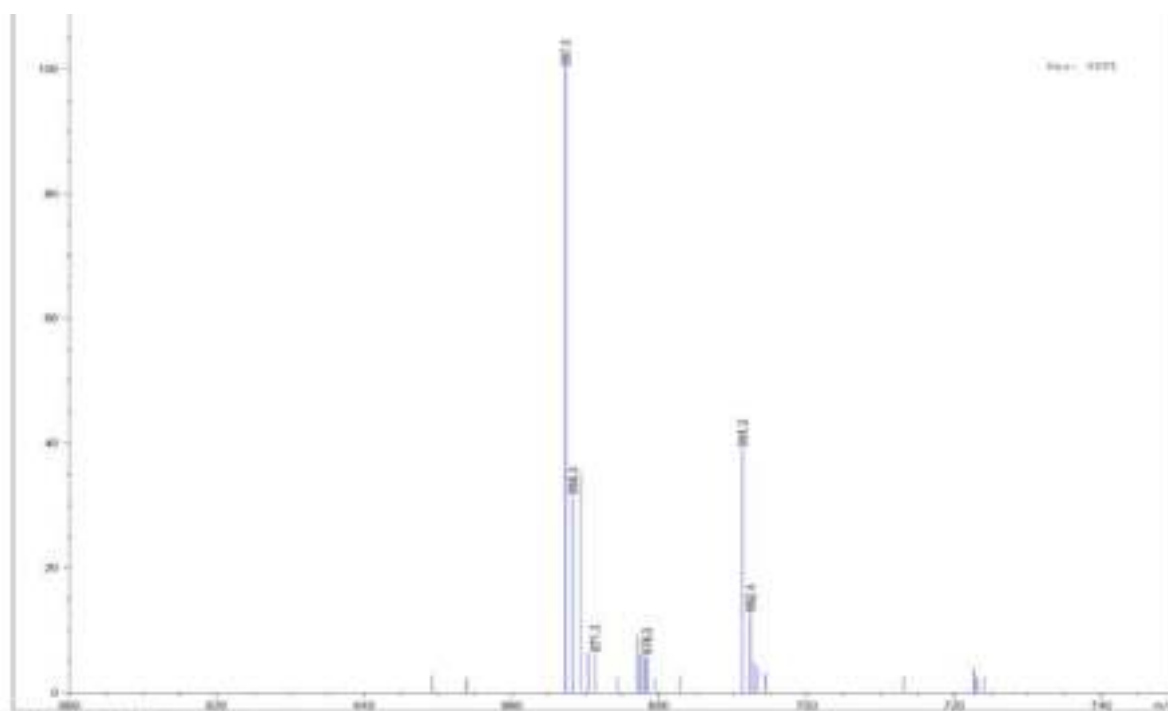


XIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD13

CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{35}H_{52}O_{10}$.

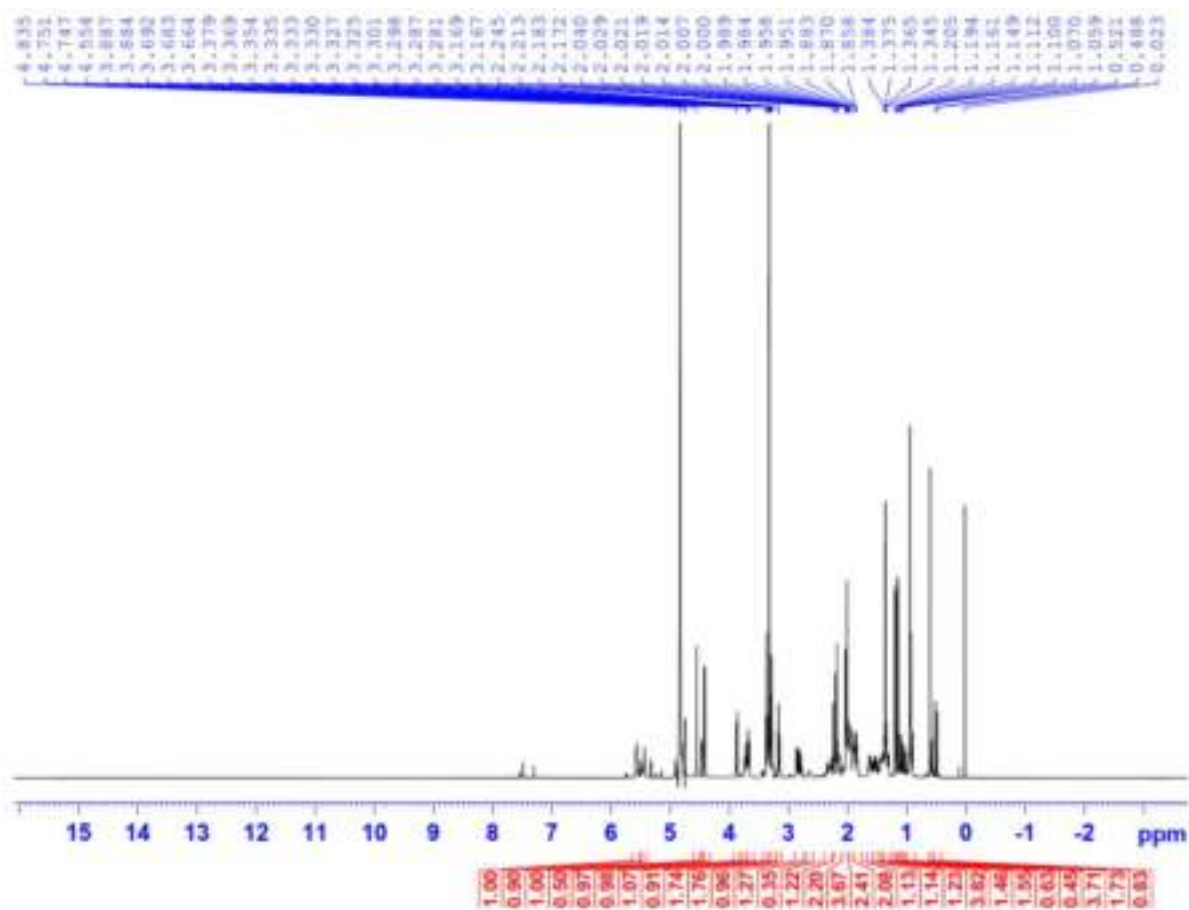
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 632,4

- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR

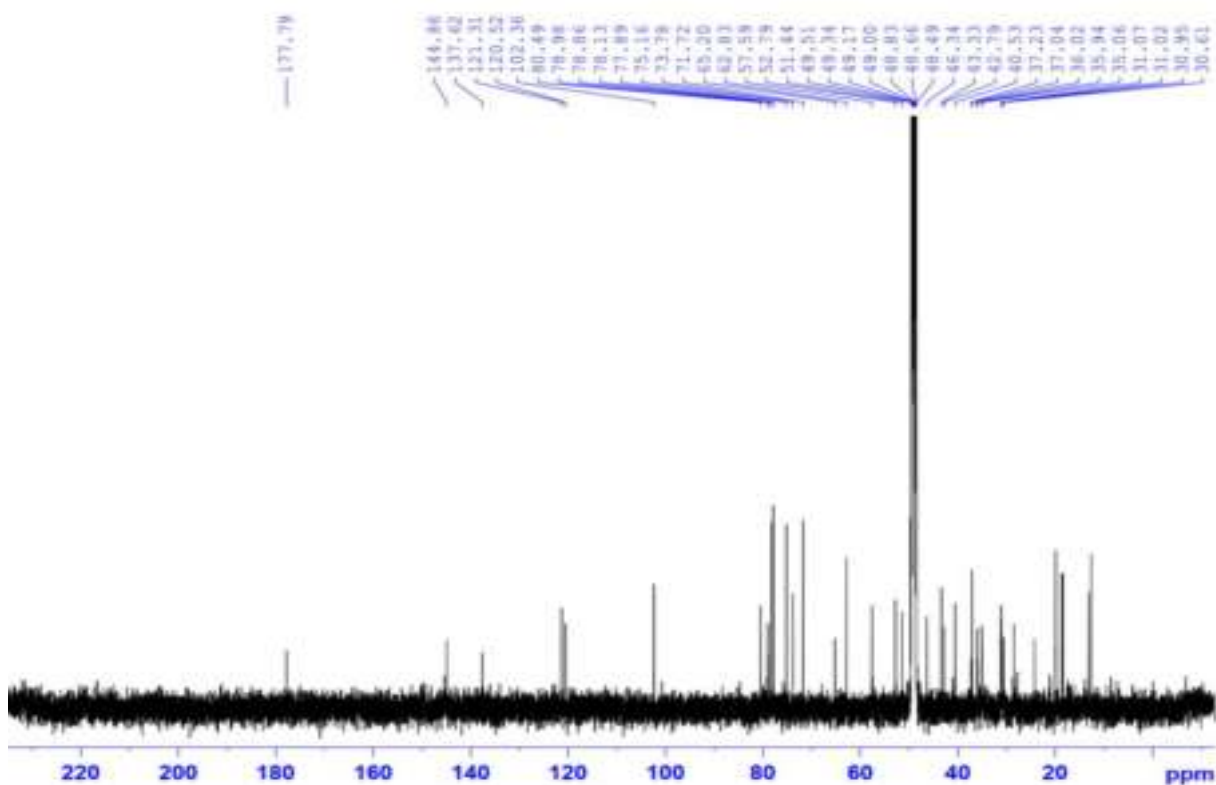
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD13

PL59

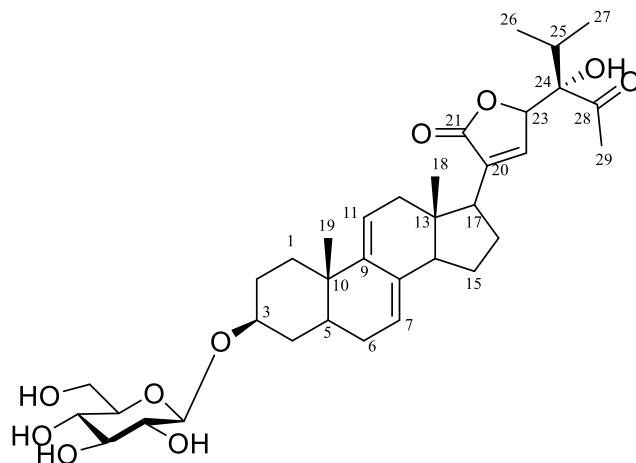
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD13



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD13



XIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD14



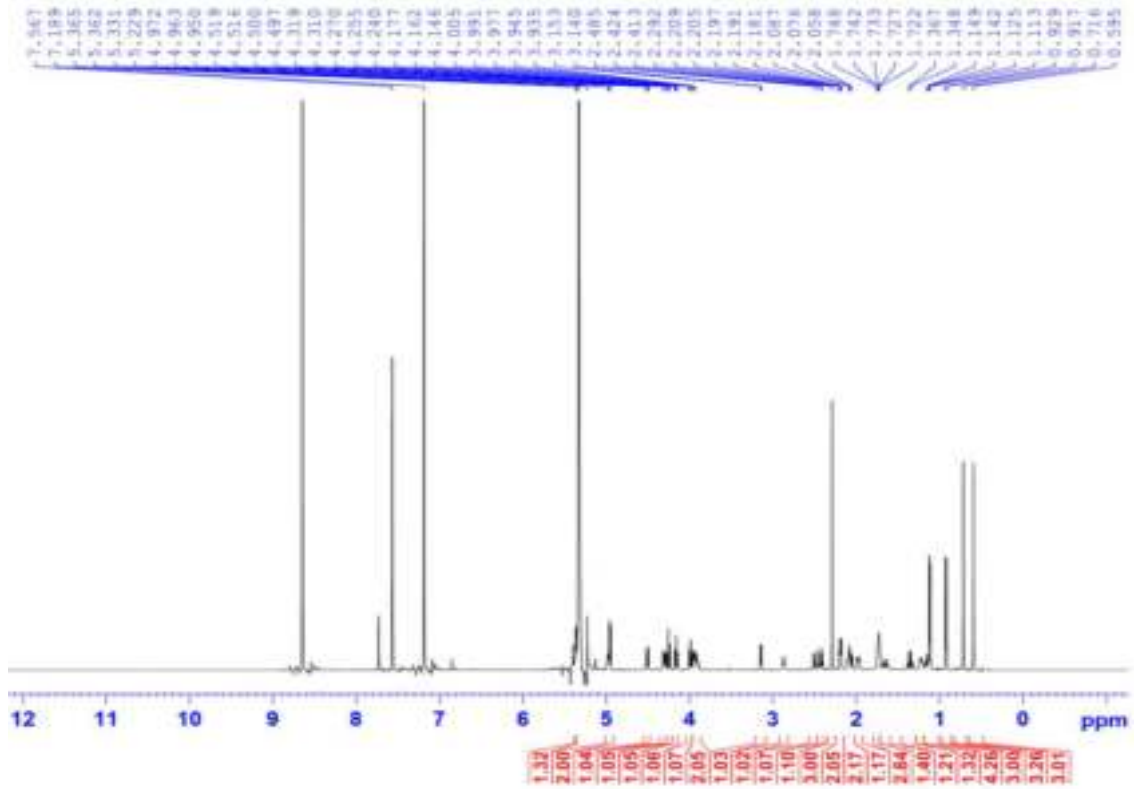
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{35}H_{50}O_{10}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 630,3

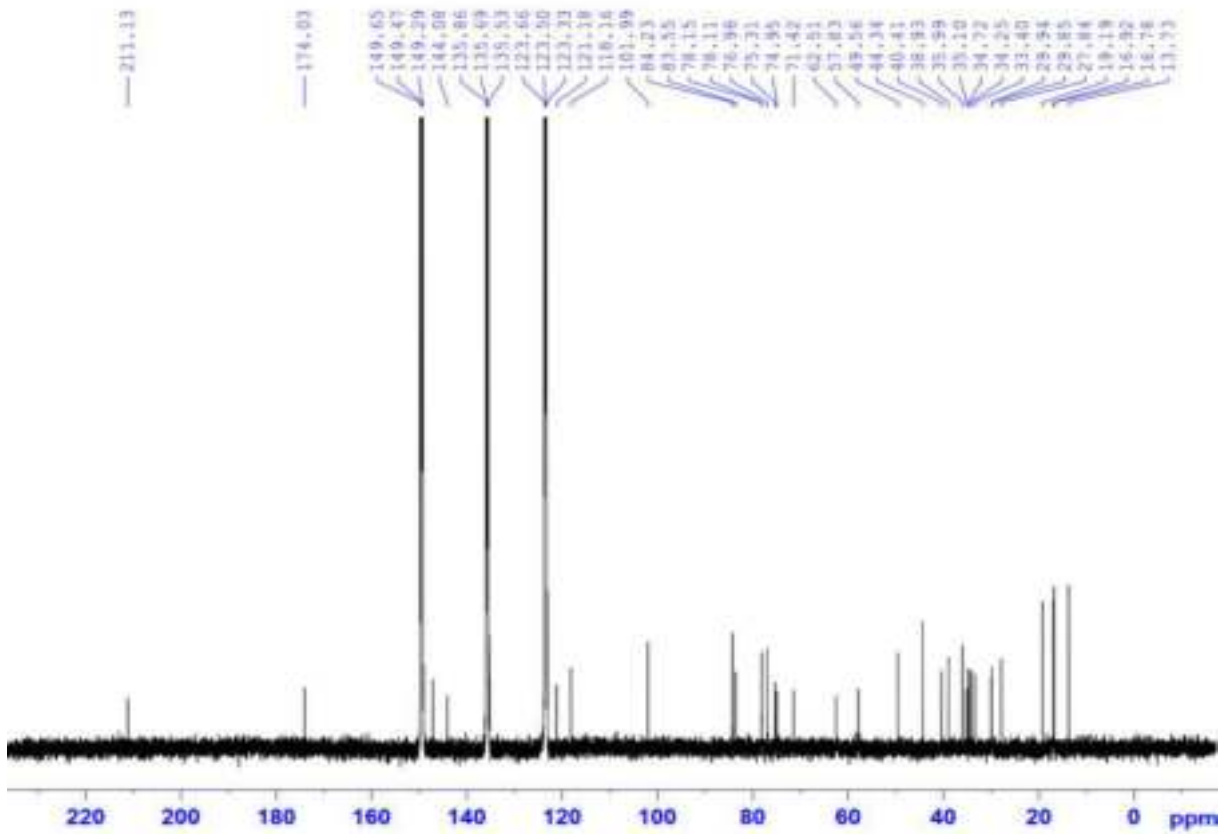
- Phổ $^1\text{H-NMR}$
- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL61

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD14

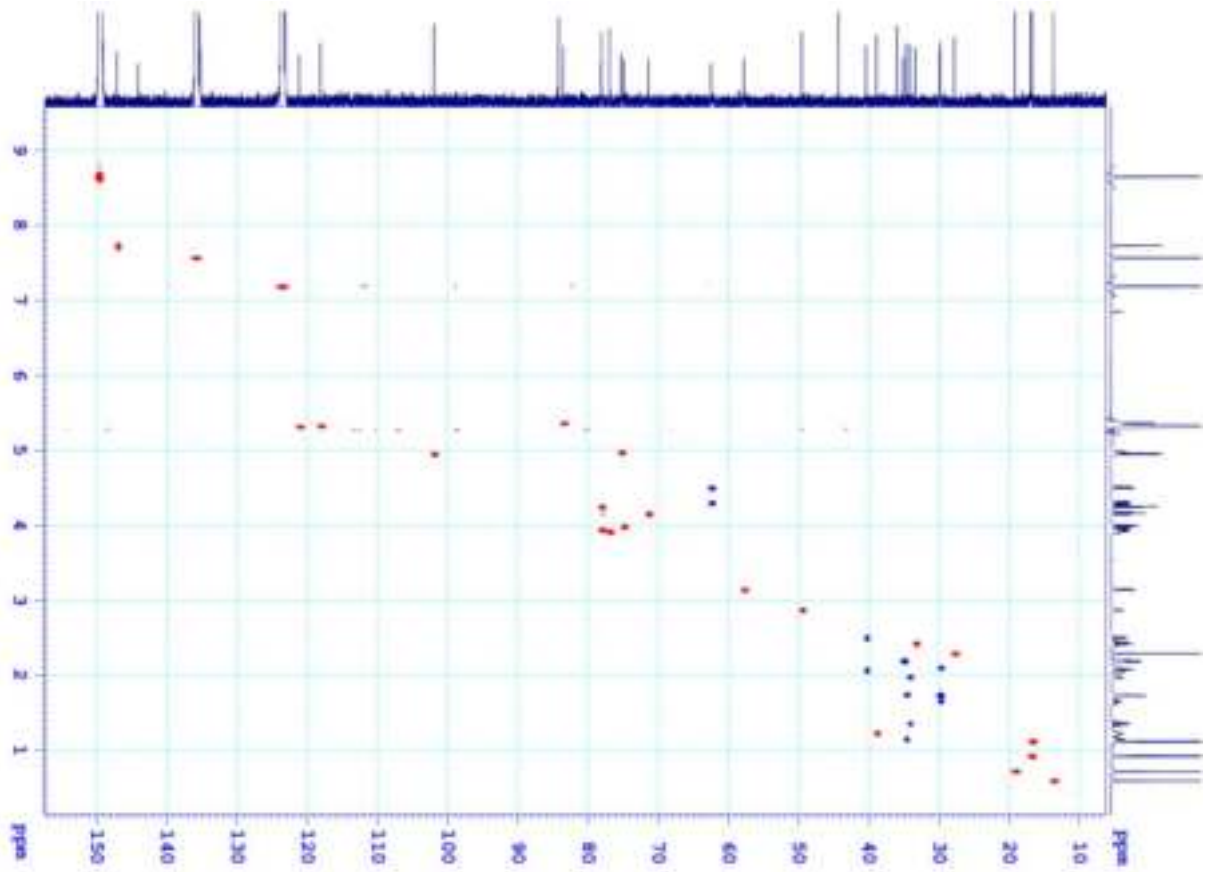


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD14

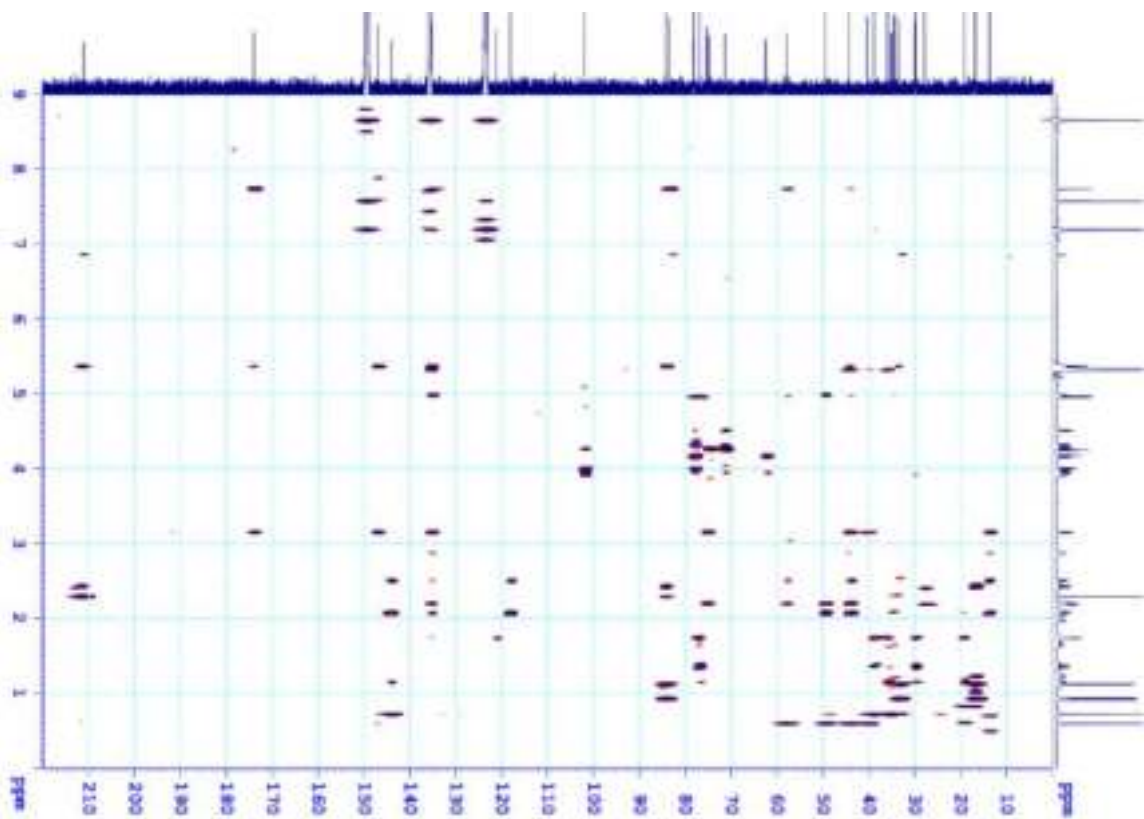


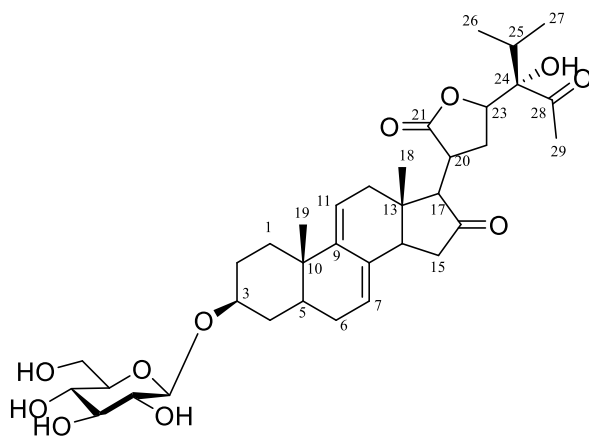
PL62

Phổ HSQC của hợp chất LD14



Phổ HMBC của hợp chất LD14



XV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD15

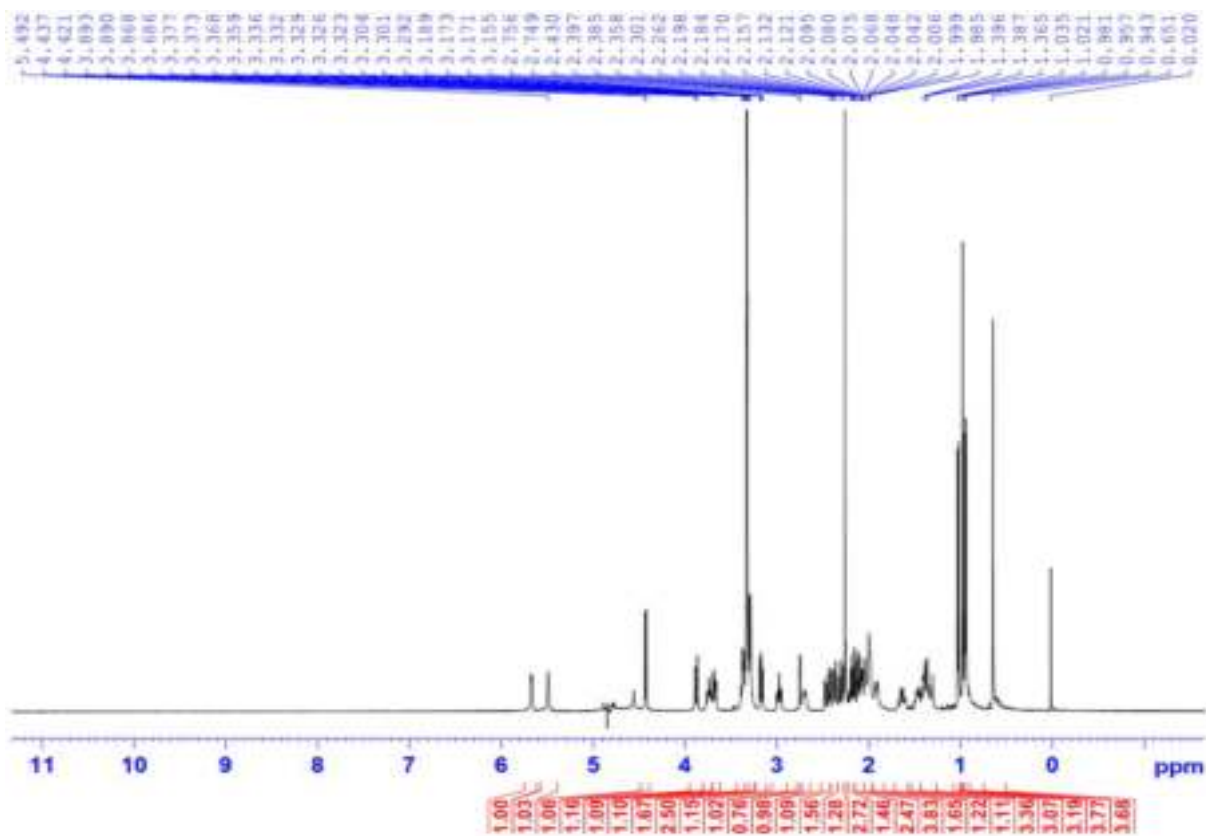
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{35}H_{50}O_{11}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 646,3

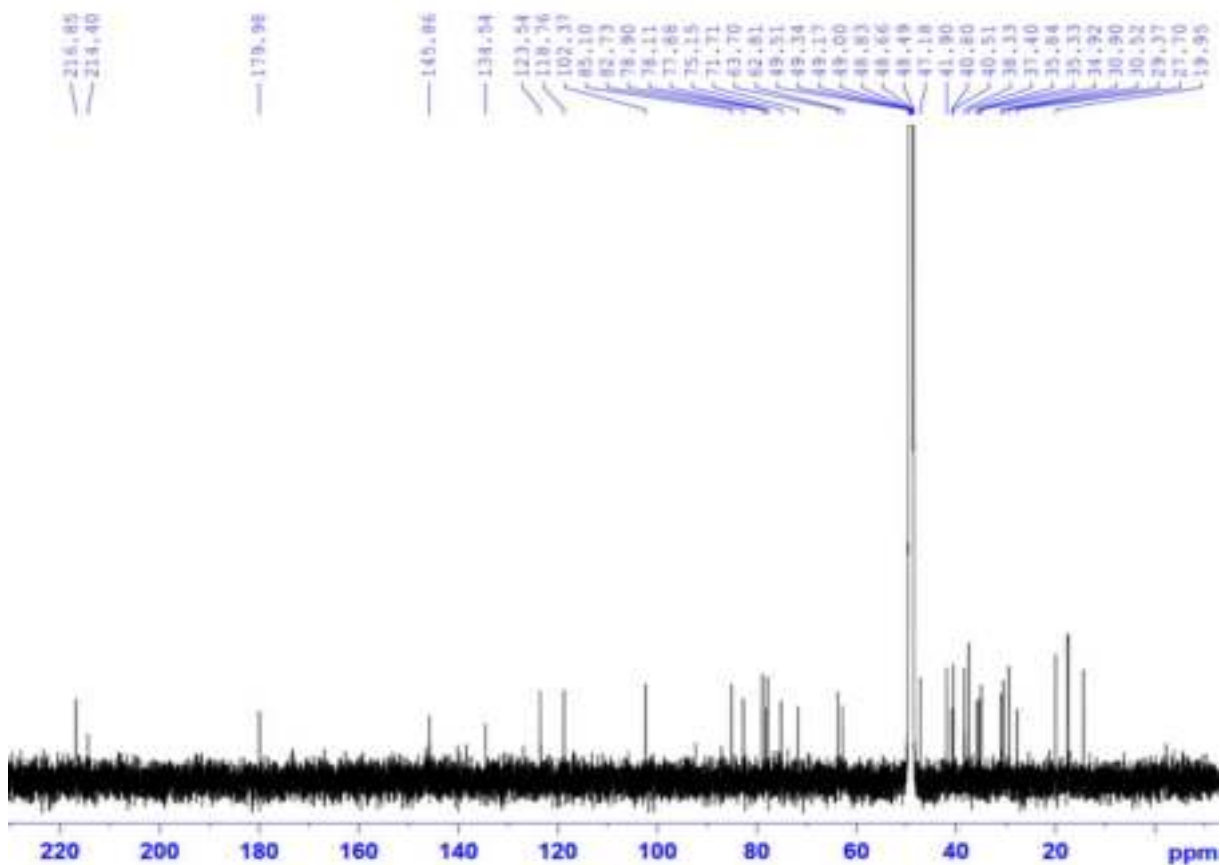
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL64

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD15

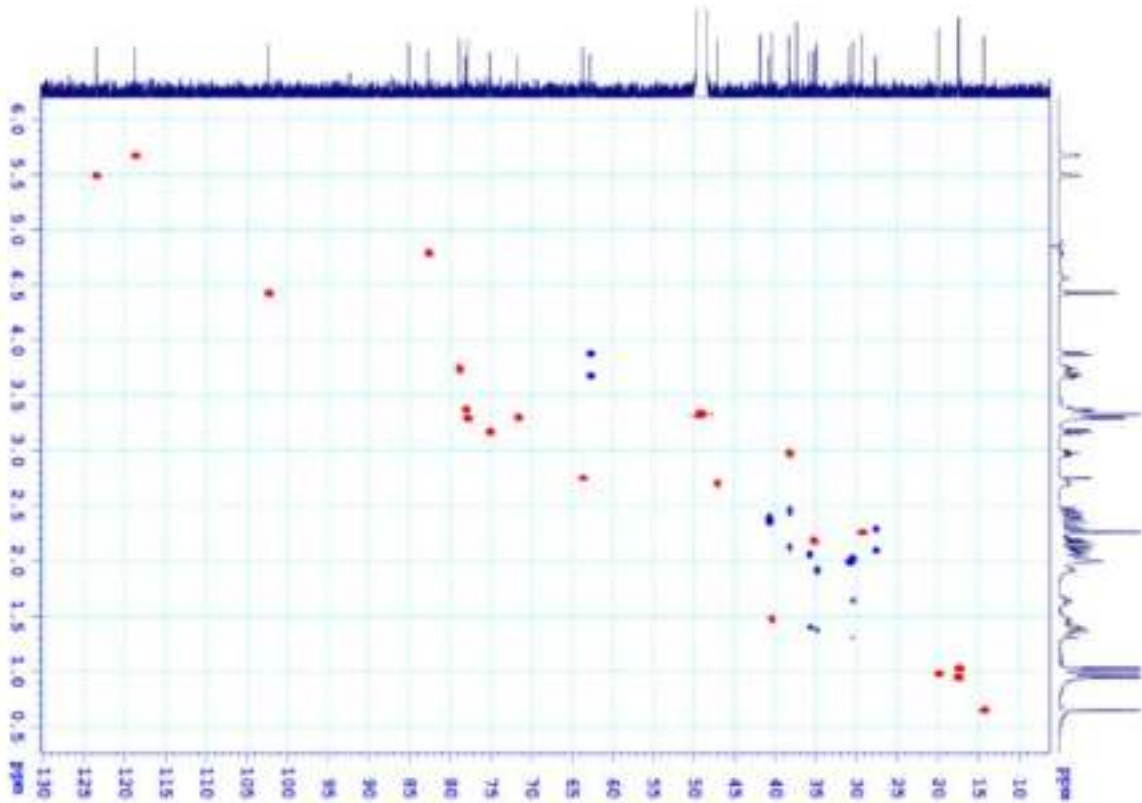


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD15

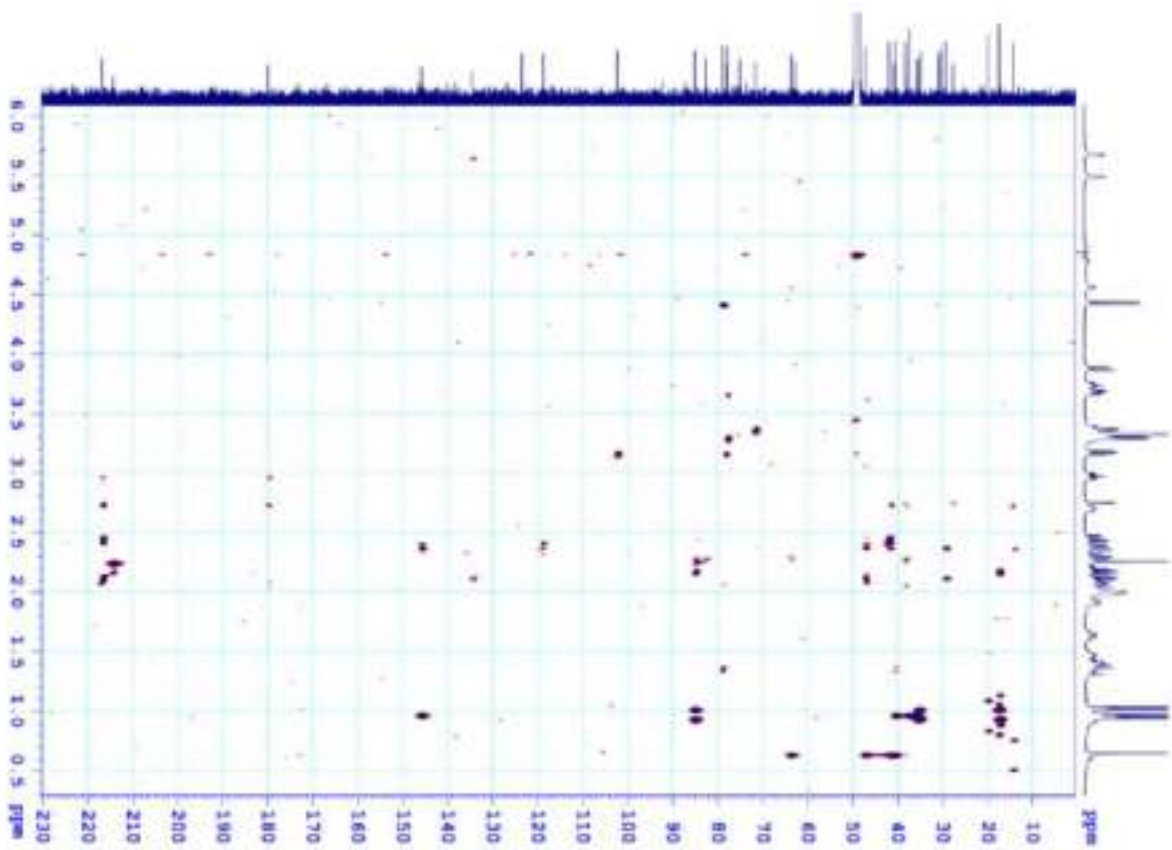


PL65

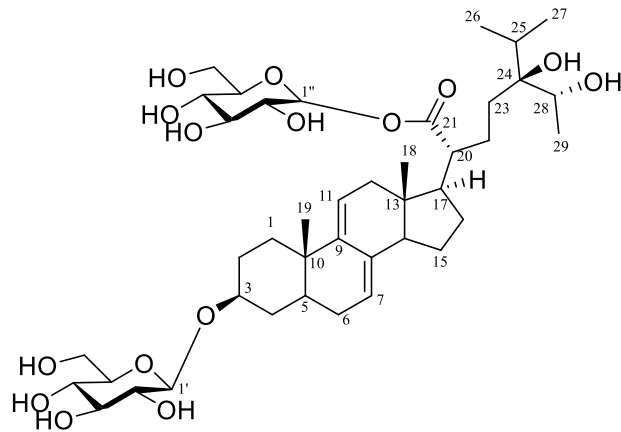
Phổ HSQC của hợp chất LD15



Phổ HMBC của hợp chất LD15



XVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD16



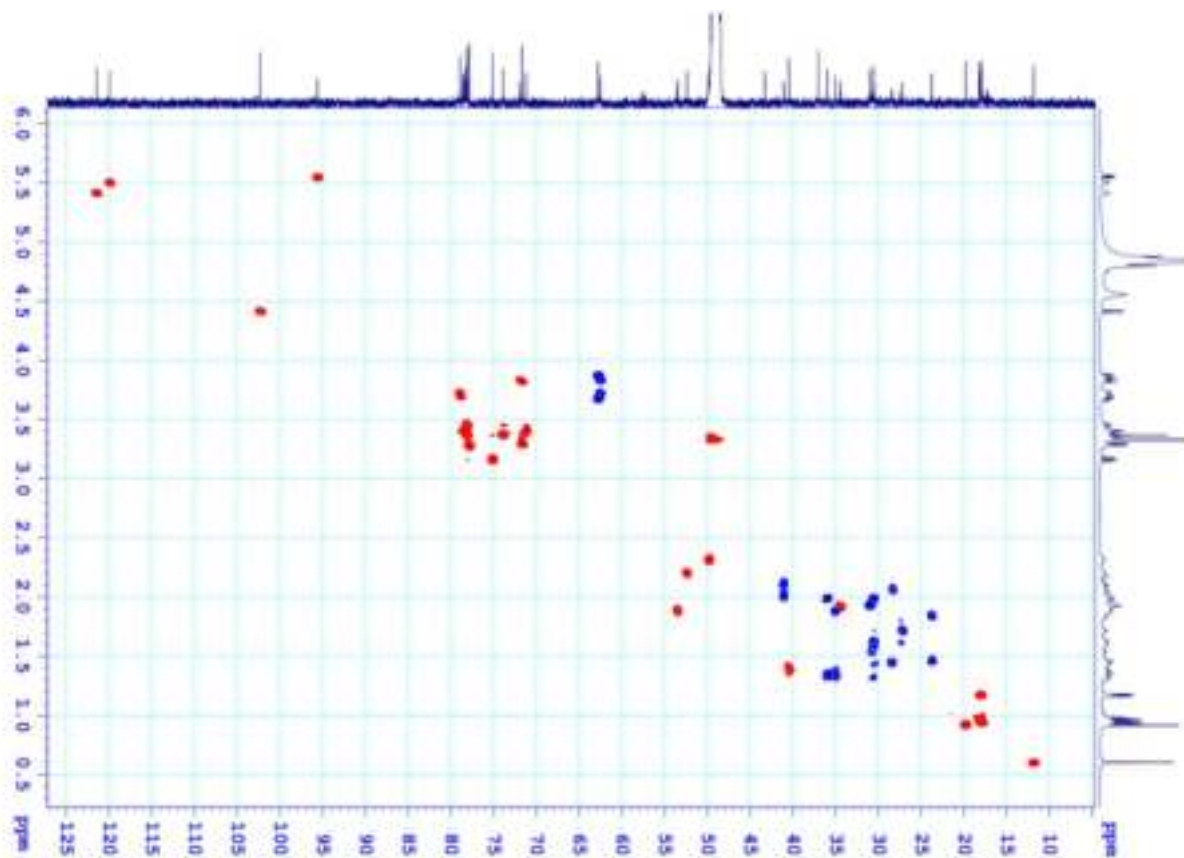
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{41}H_{66}O_{15}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 798,4

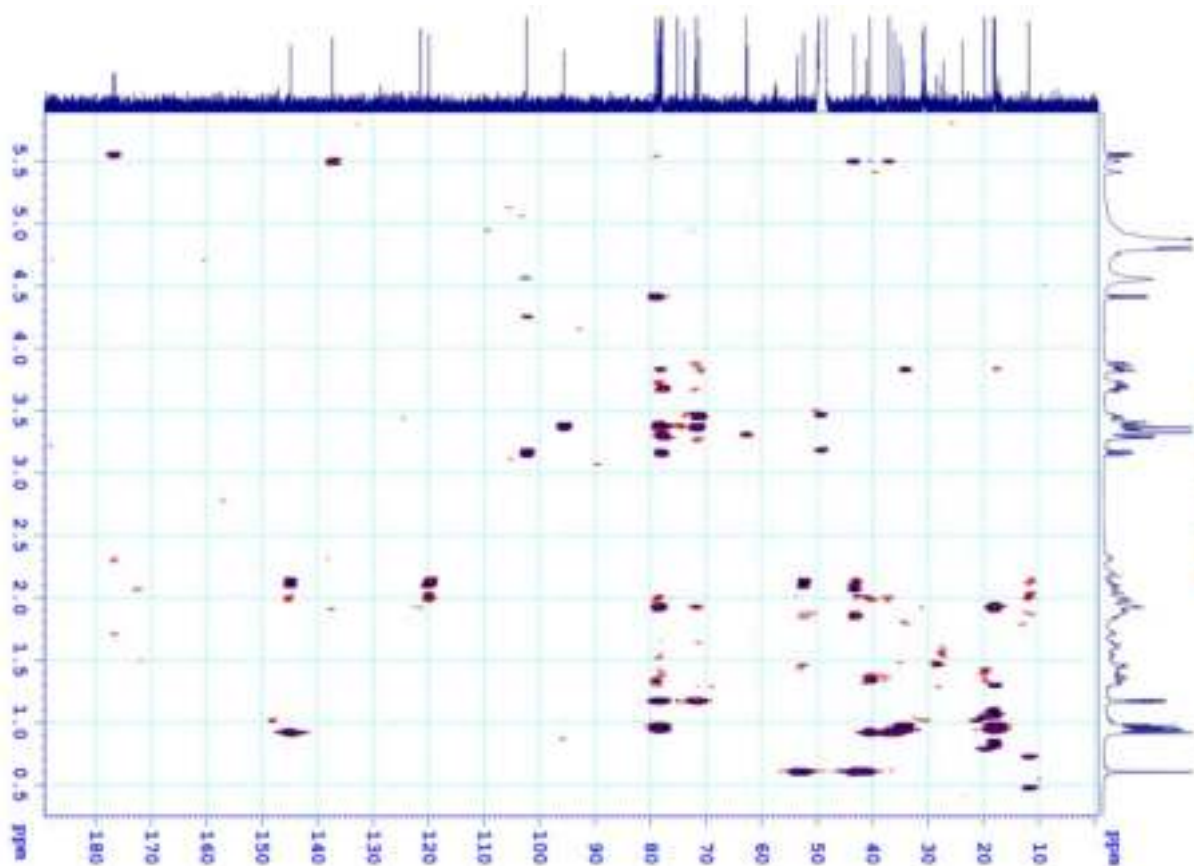
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL68

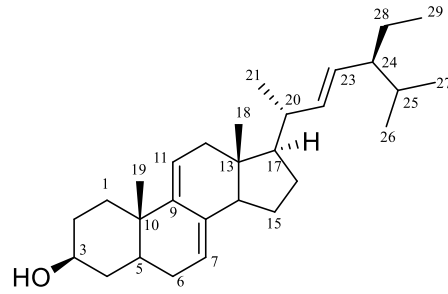
Phổ HSQC của hợp chất LD16



Phổ HMBC của hợp chất LD16



XVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD17



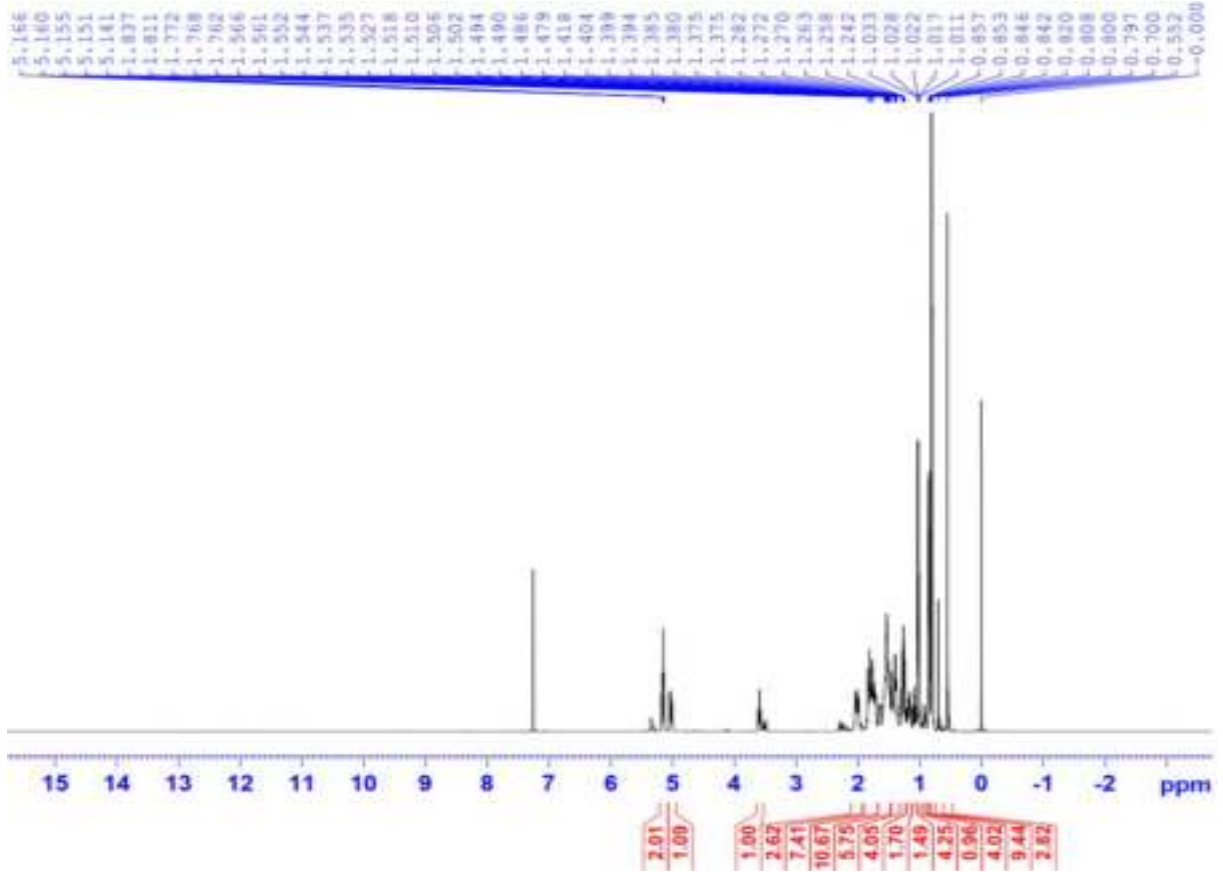
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{29}H_{46}O$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 410,4

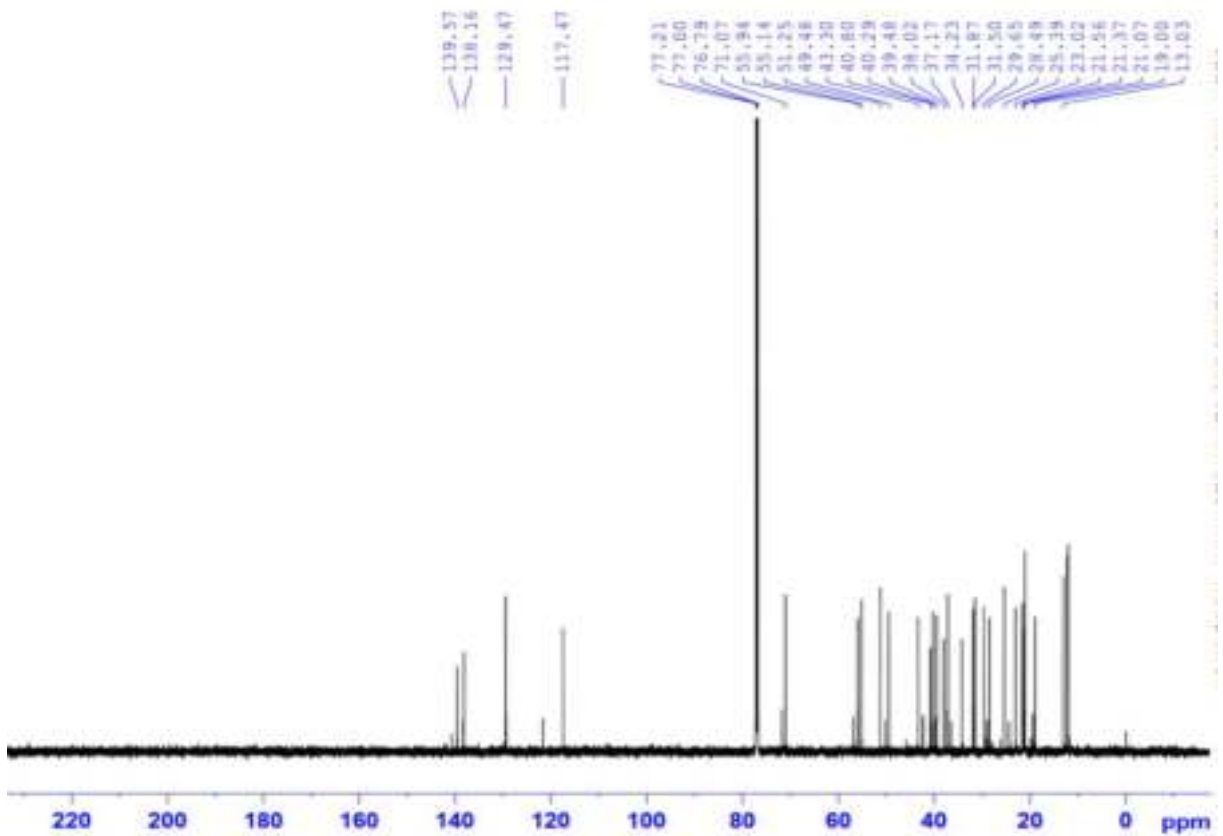
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL70

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD17

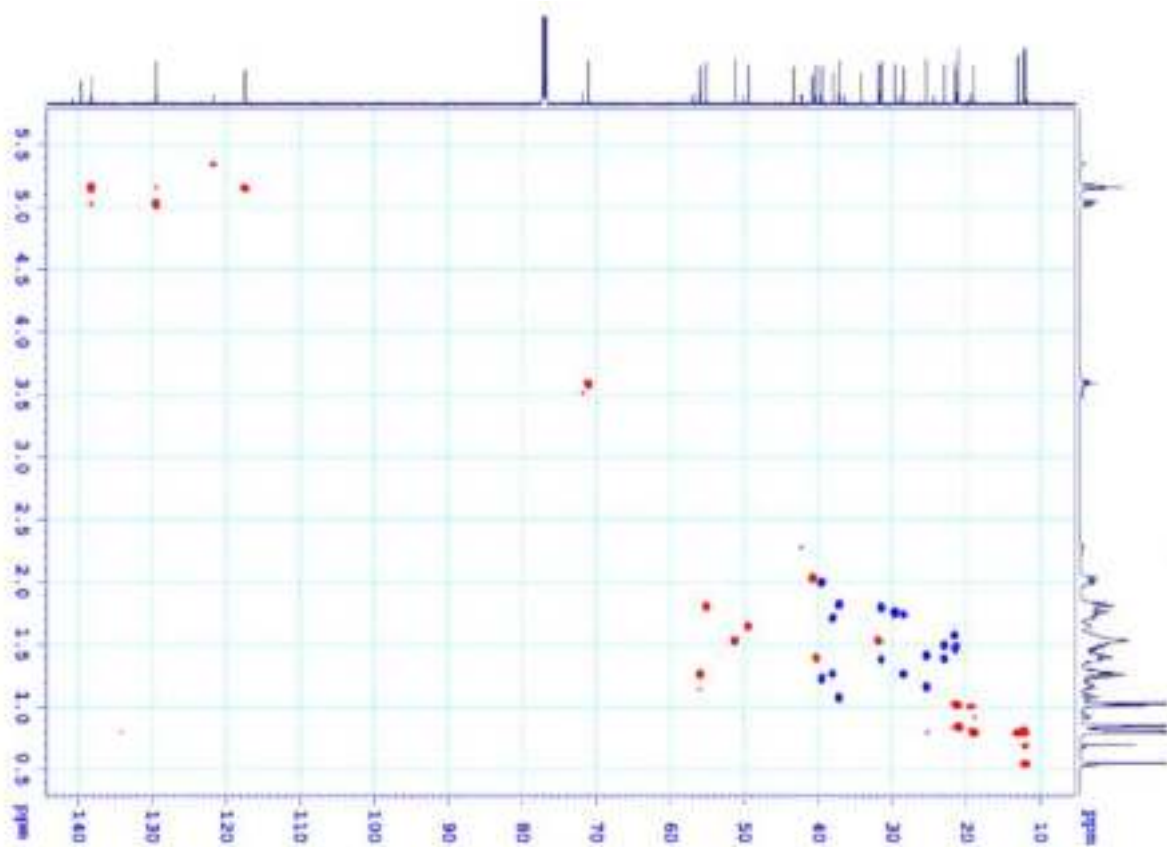


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất LD17

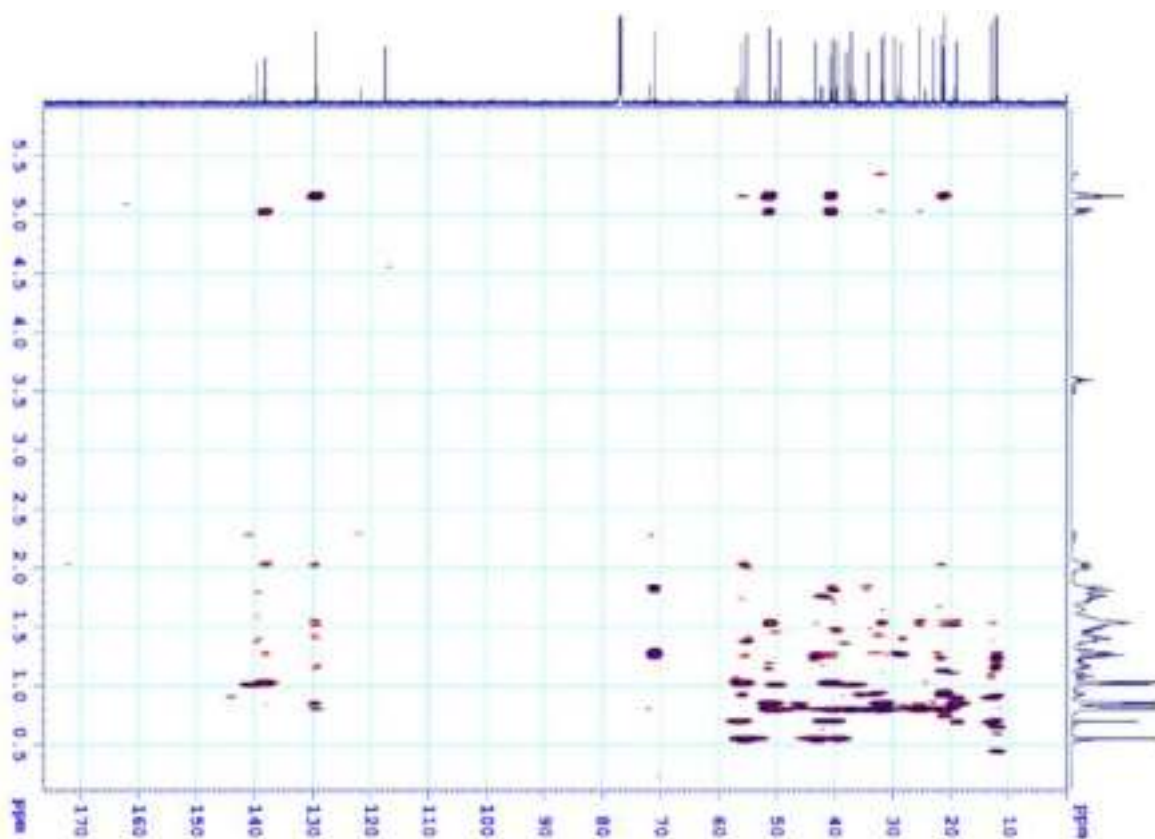


PL71

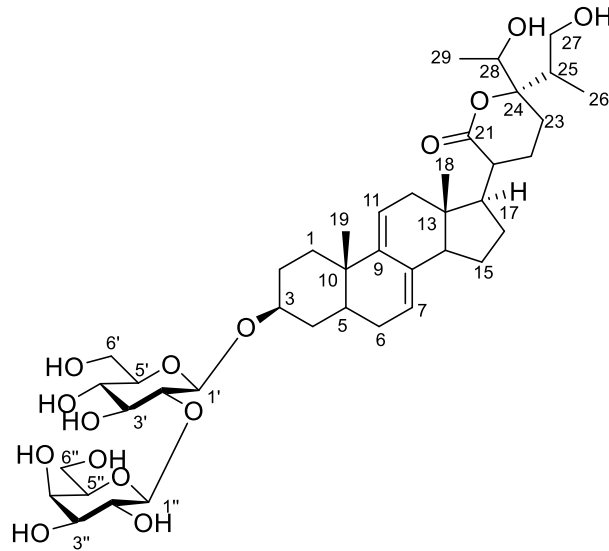
Phổ HSQC-NMR của hợp chất LD17



Phổ HMBC-NMR của hợp chất LD17



PHỤ LỤC CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ LOÀI *V. GRATIOSA*
XVIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG1



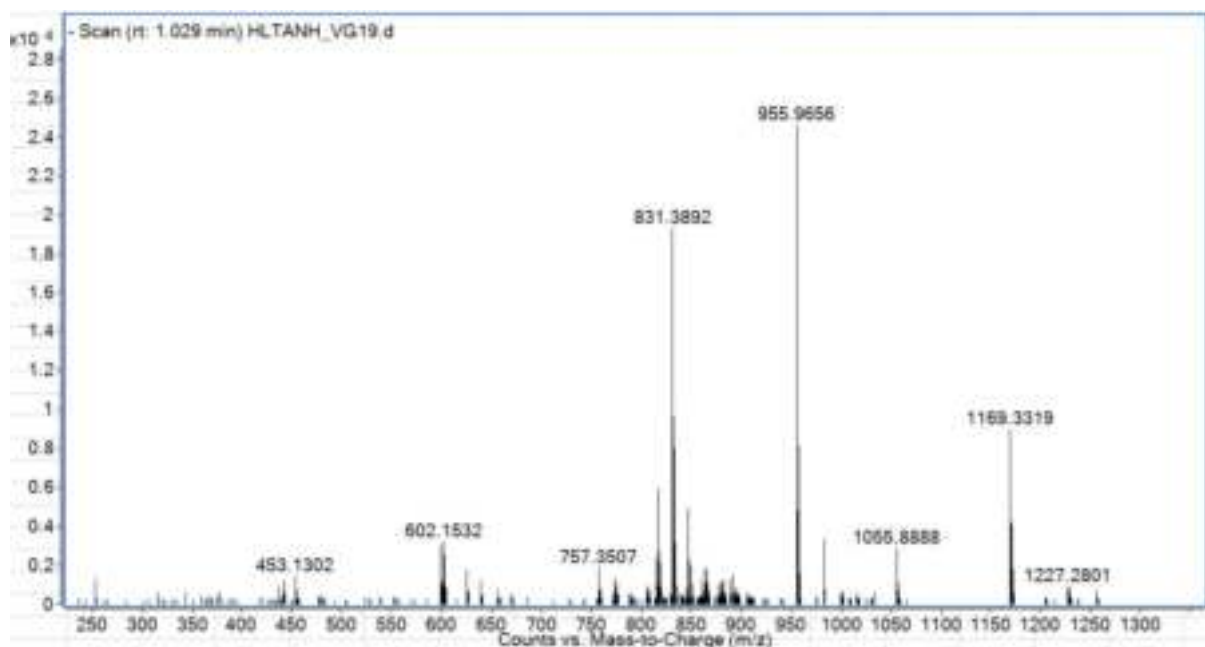
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{41}H_{64}O_{15}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 796,4

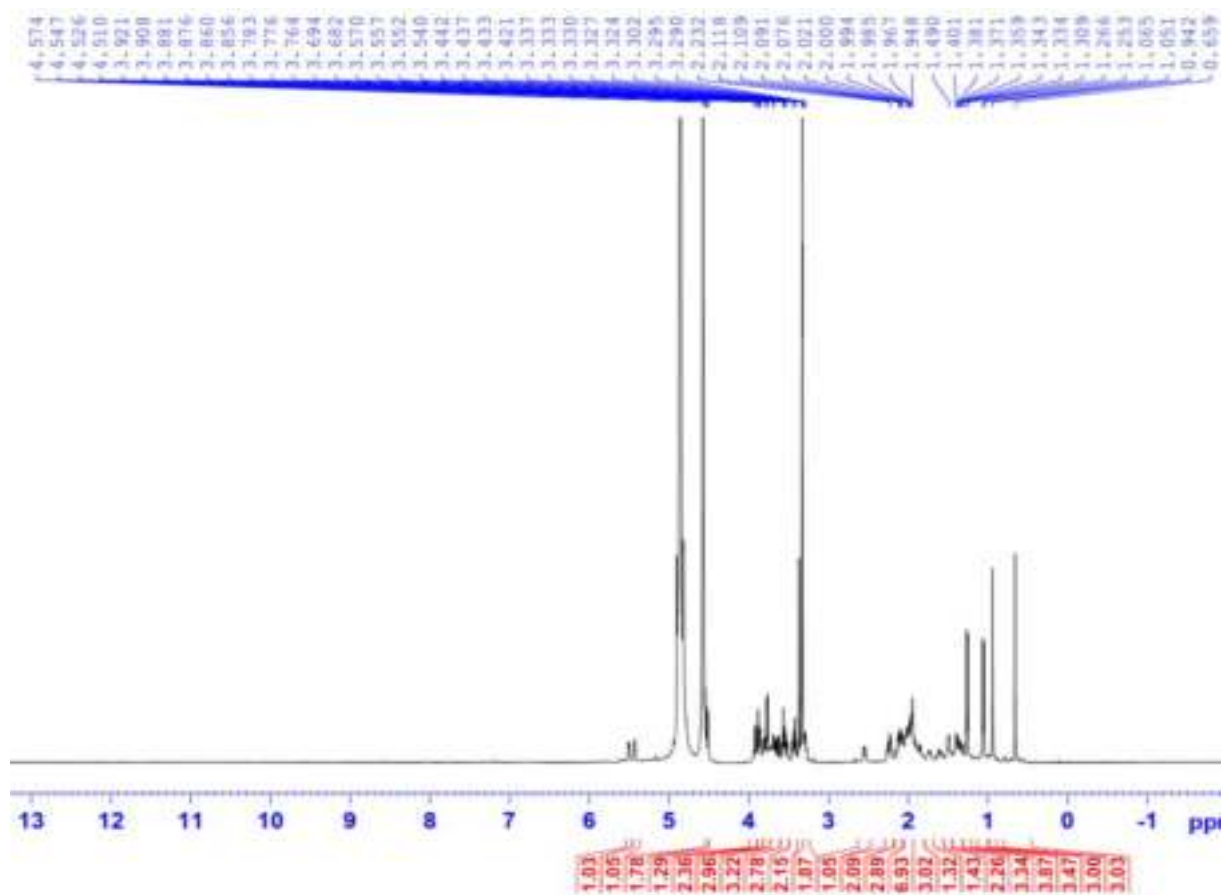
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ $^1\text{H-NMR}$
- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC
- Phổ HMBC
- Phổ COSY
- Phổ NOESY
- Phổ CD

PL73

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG1

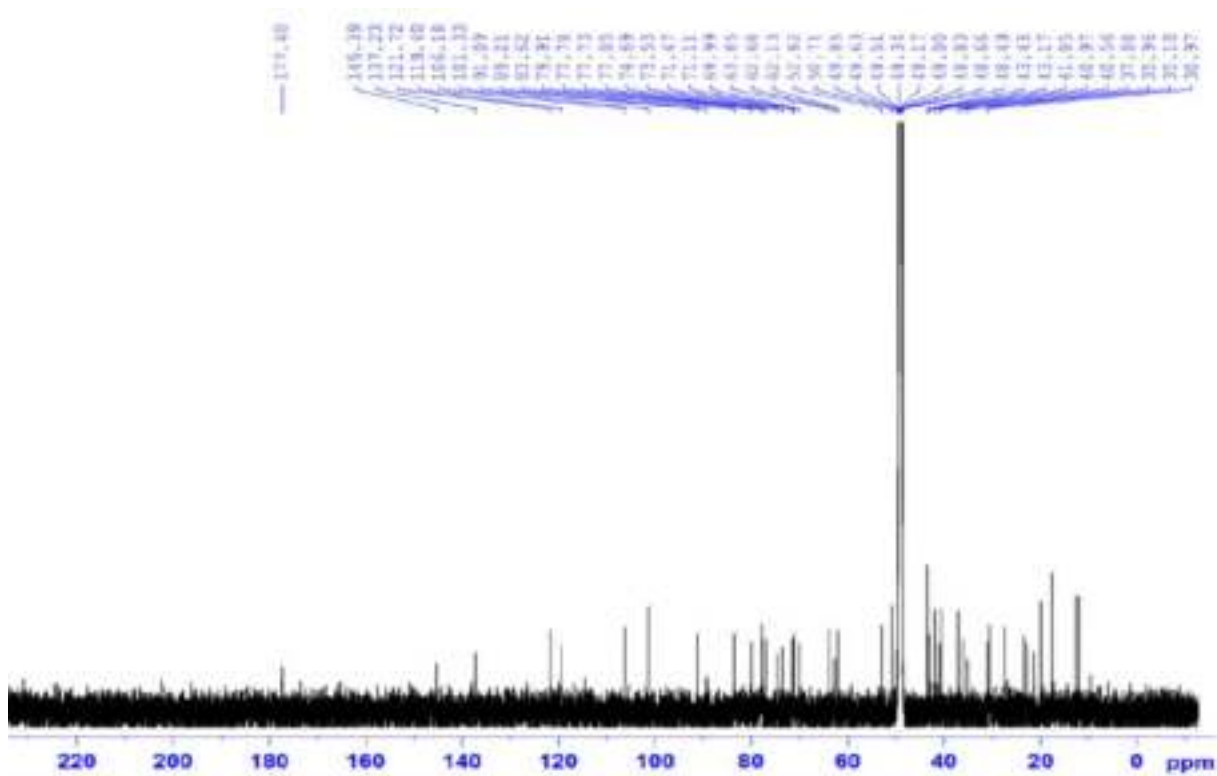


Phổ ¹H-NMR của hợp chất VG1

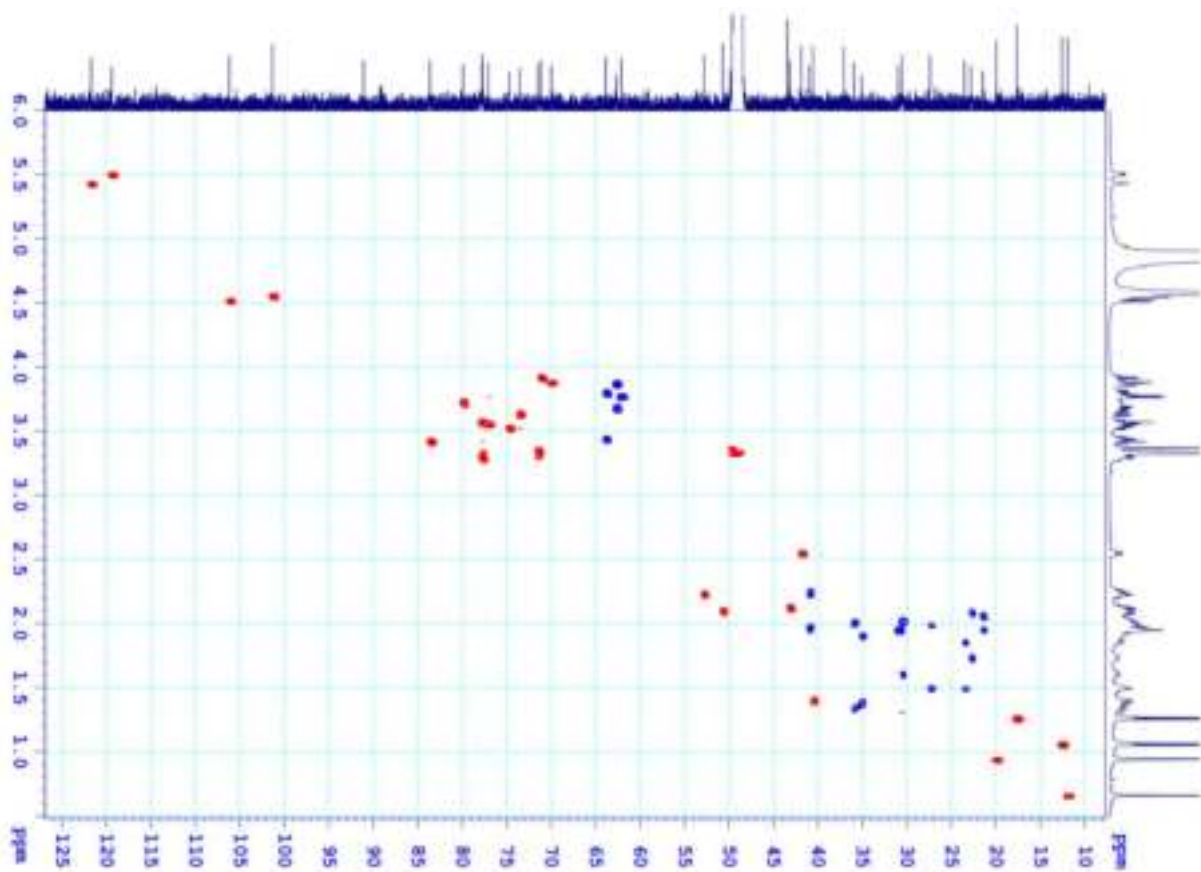


PL74

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất VG1

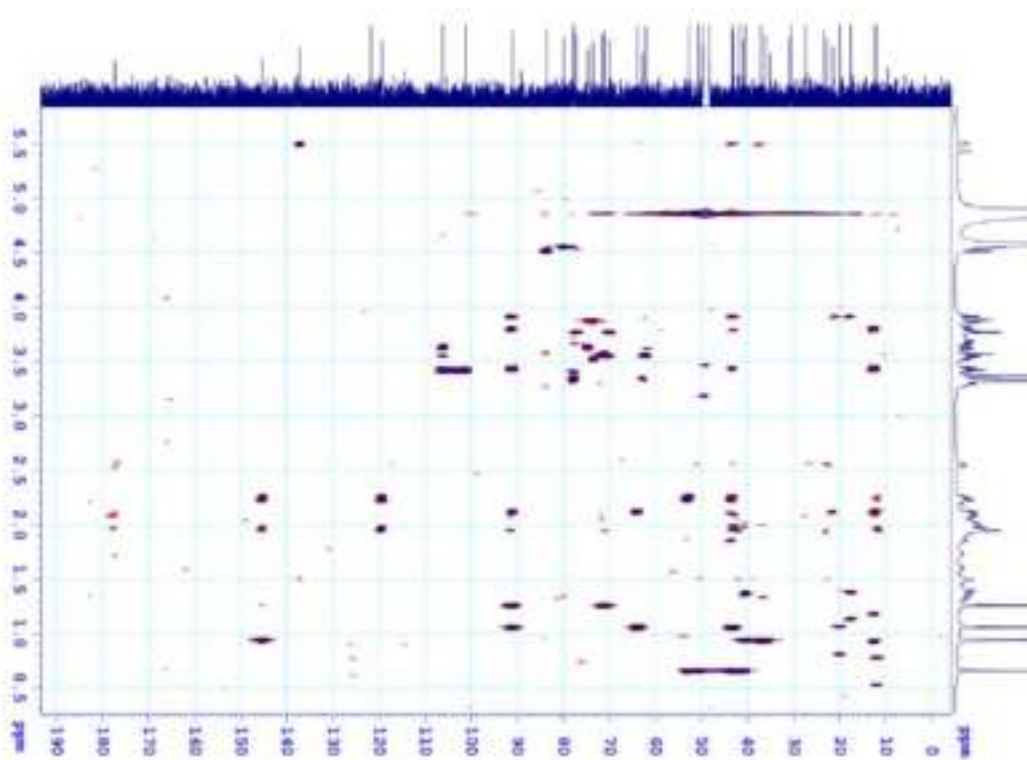


Phổ HSQC của hợp chất VG1

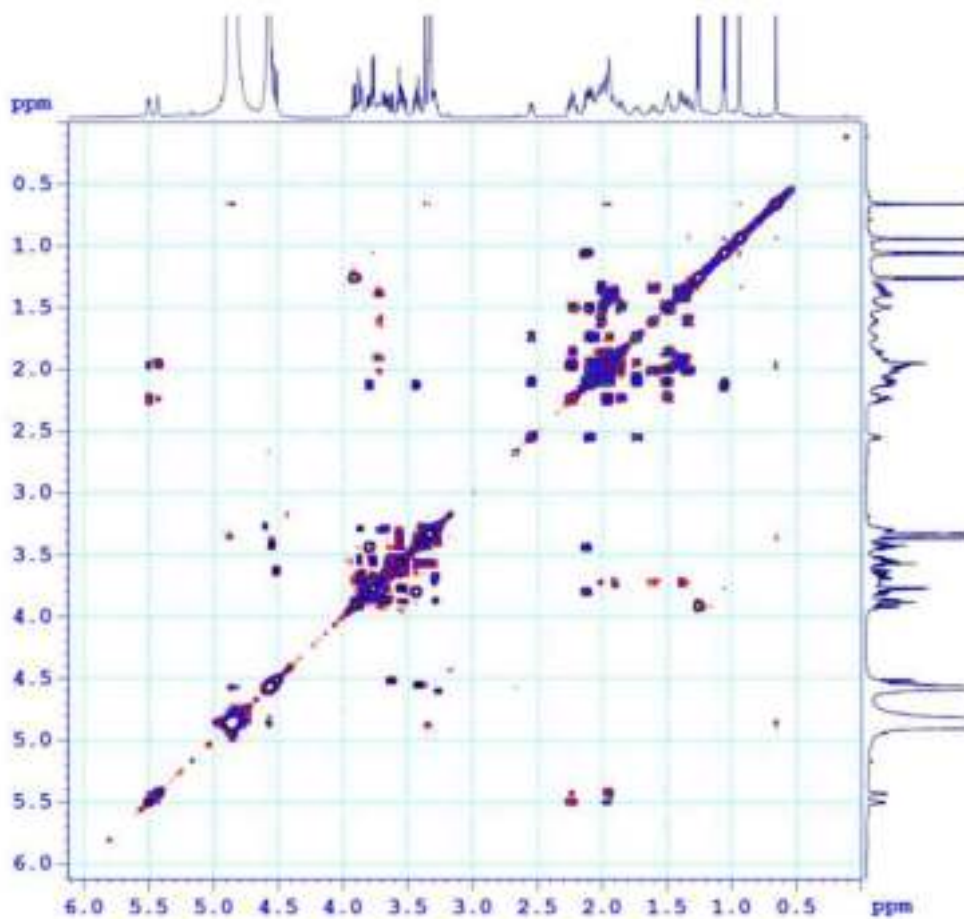


PL75

Phổ HMBC của hợp chất VG1

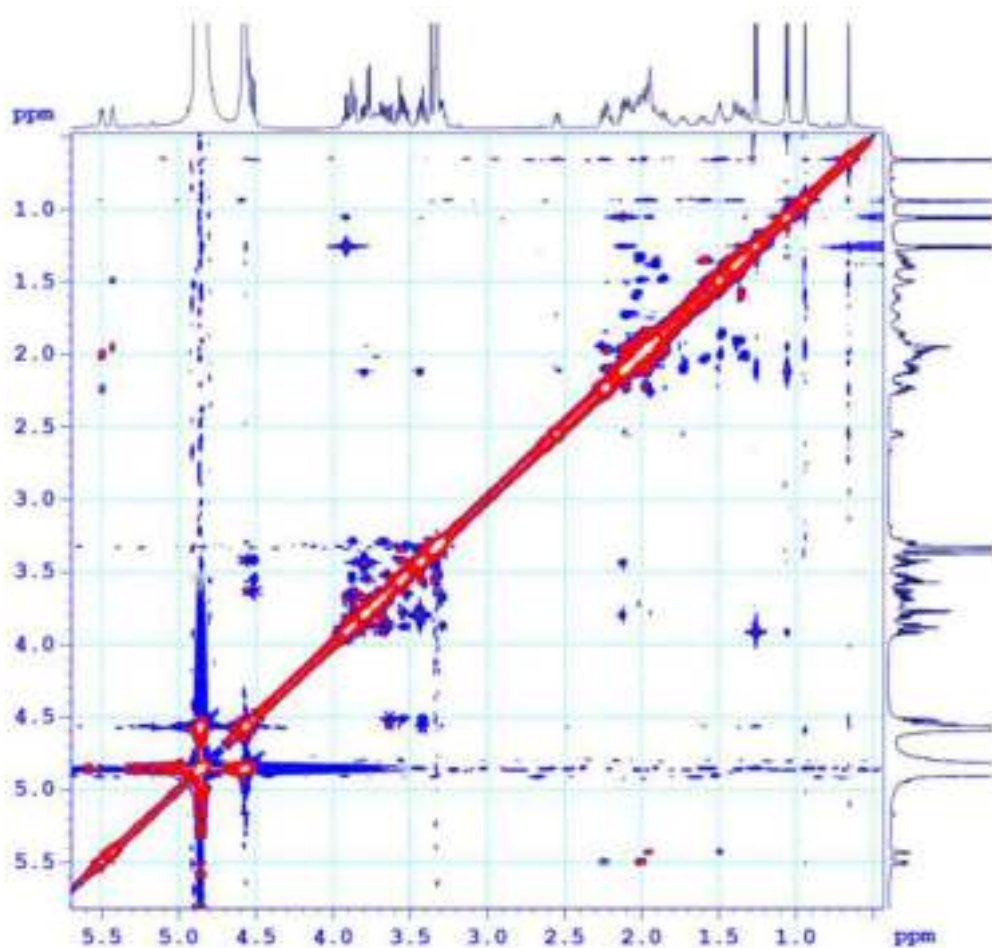


Phổ COSY của hợp chất VG1

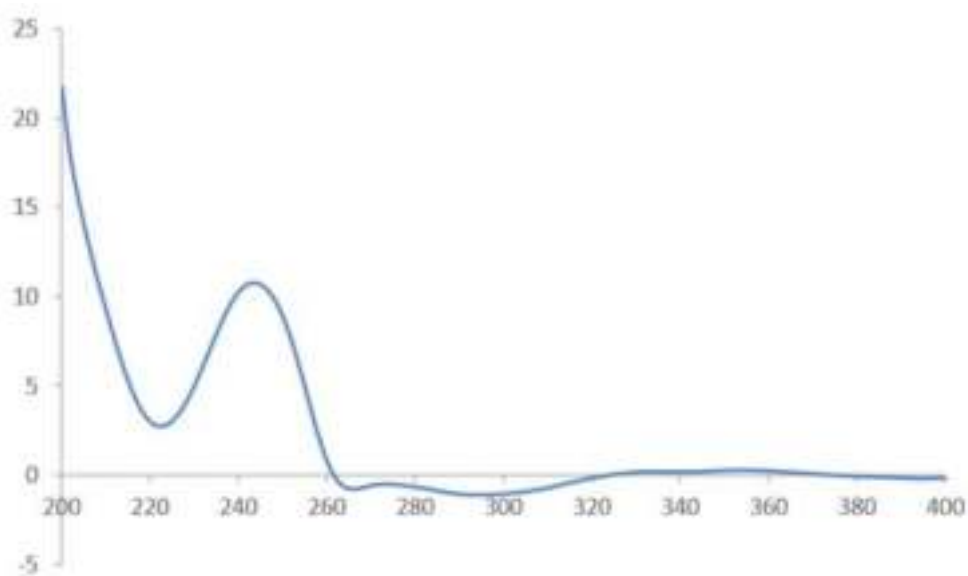


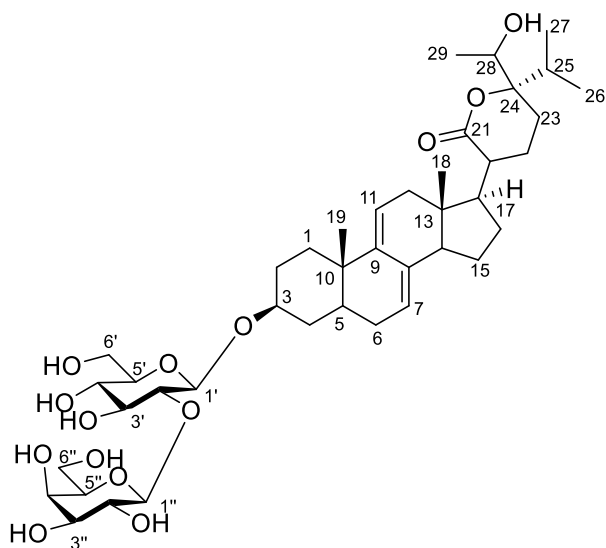
PL76

Phổ NOESY của hợp chất VG1



Phổ ECD của hợp chất VG1



XIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG2

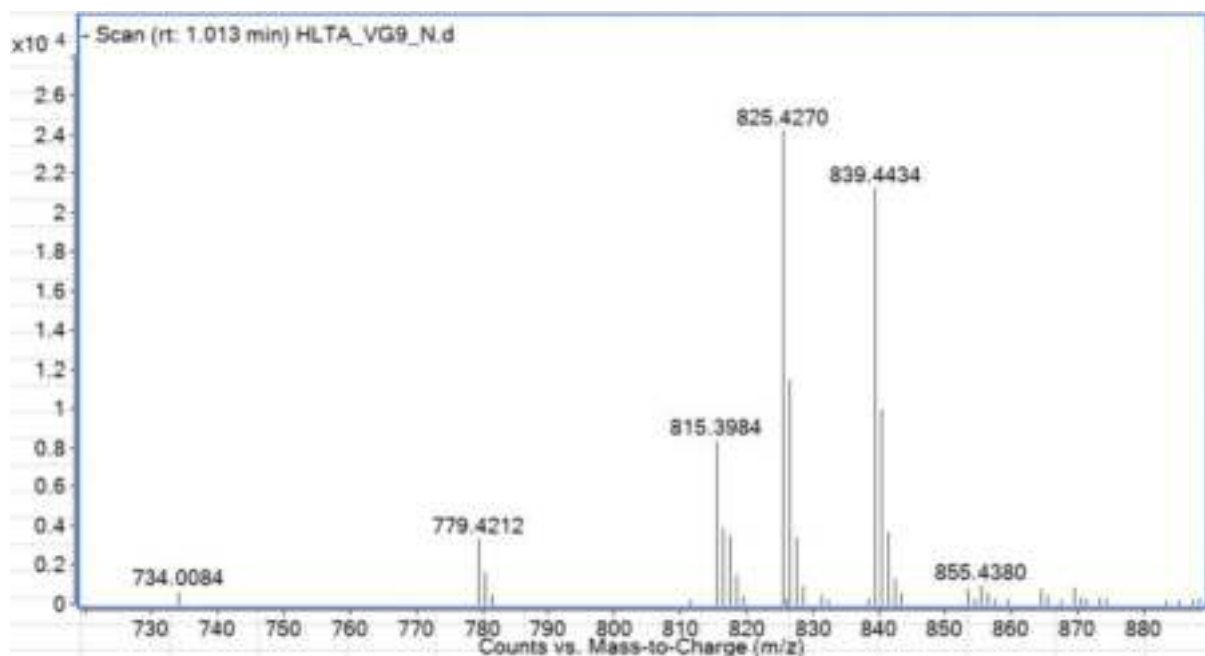
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{41}H_{64}O_{14}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 780,4

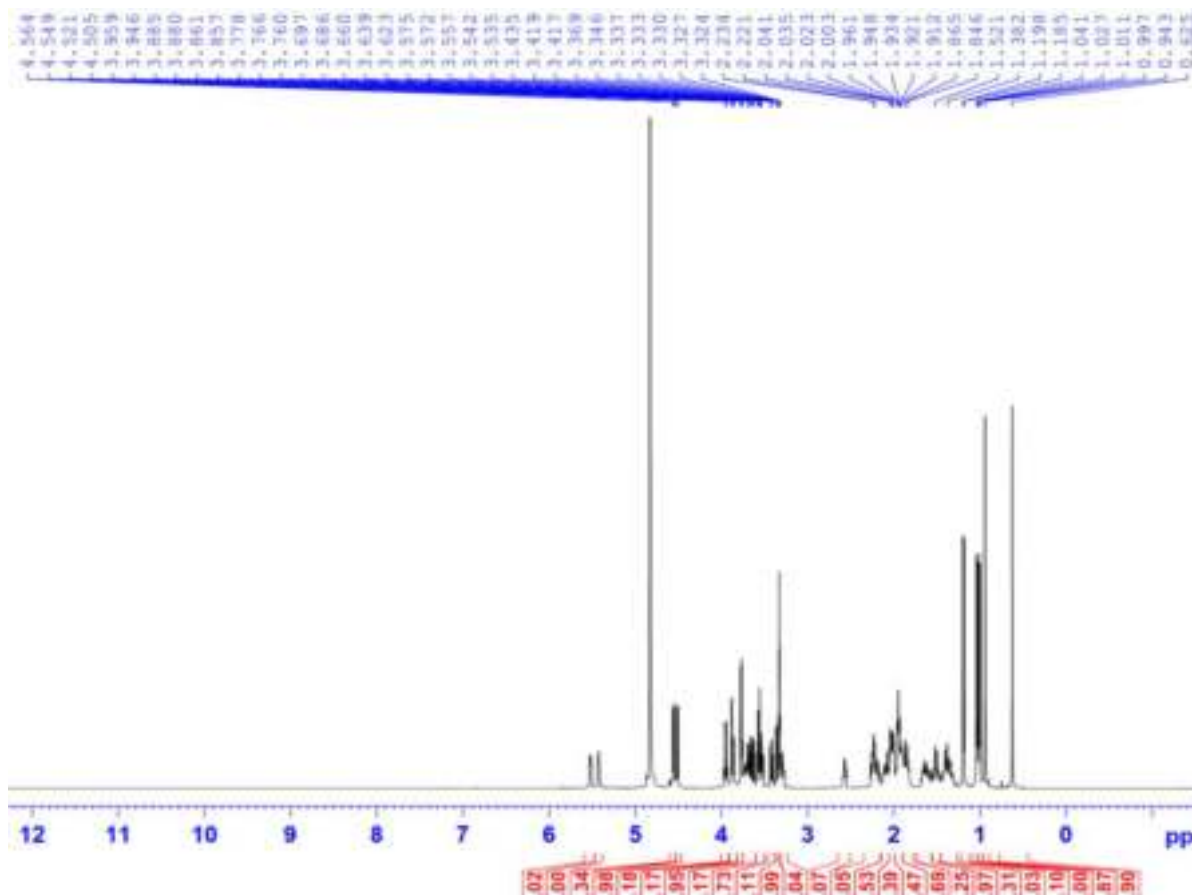
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ CD

PL78

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG2

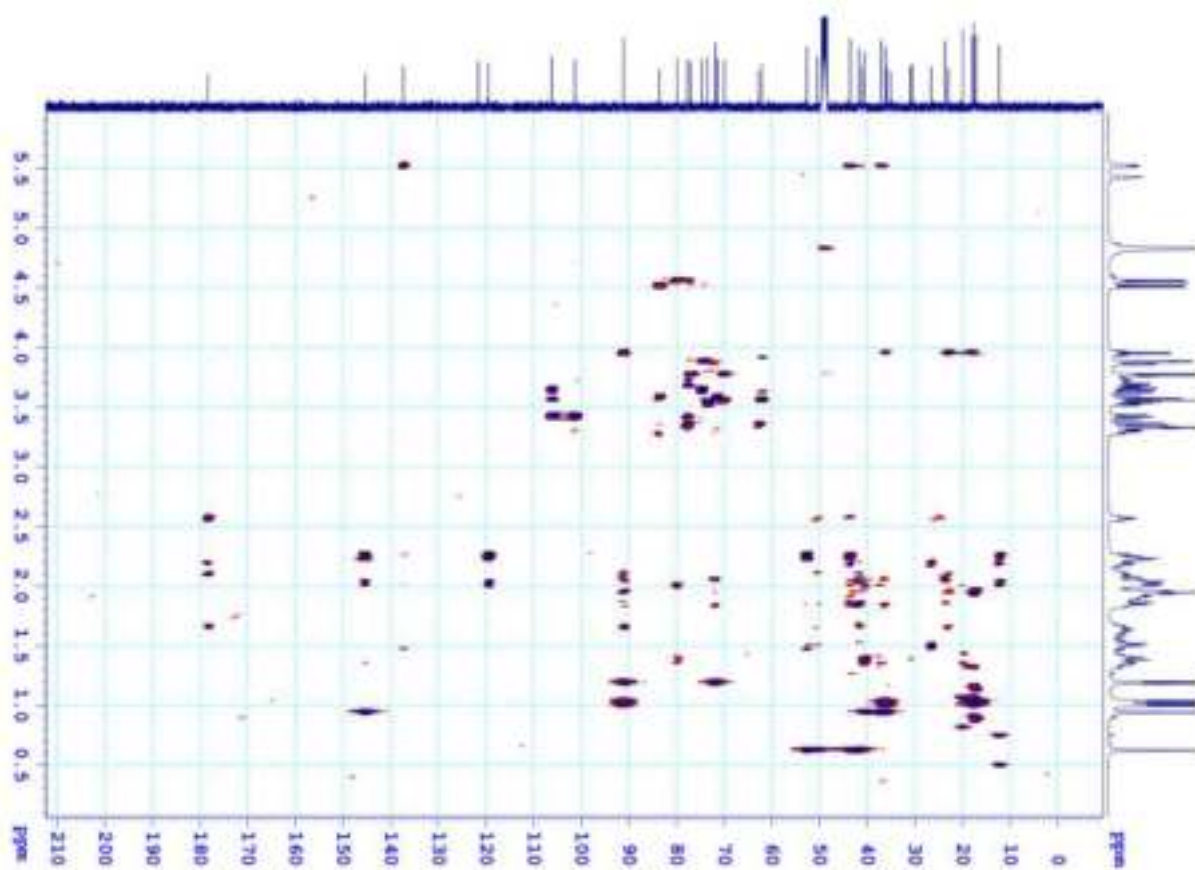


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG2

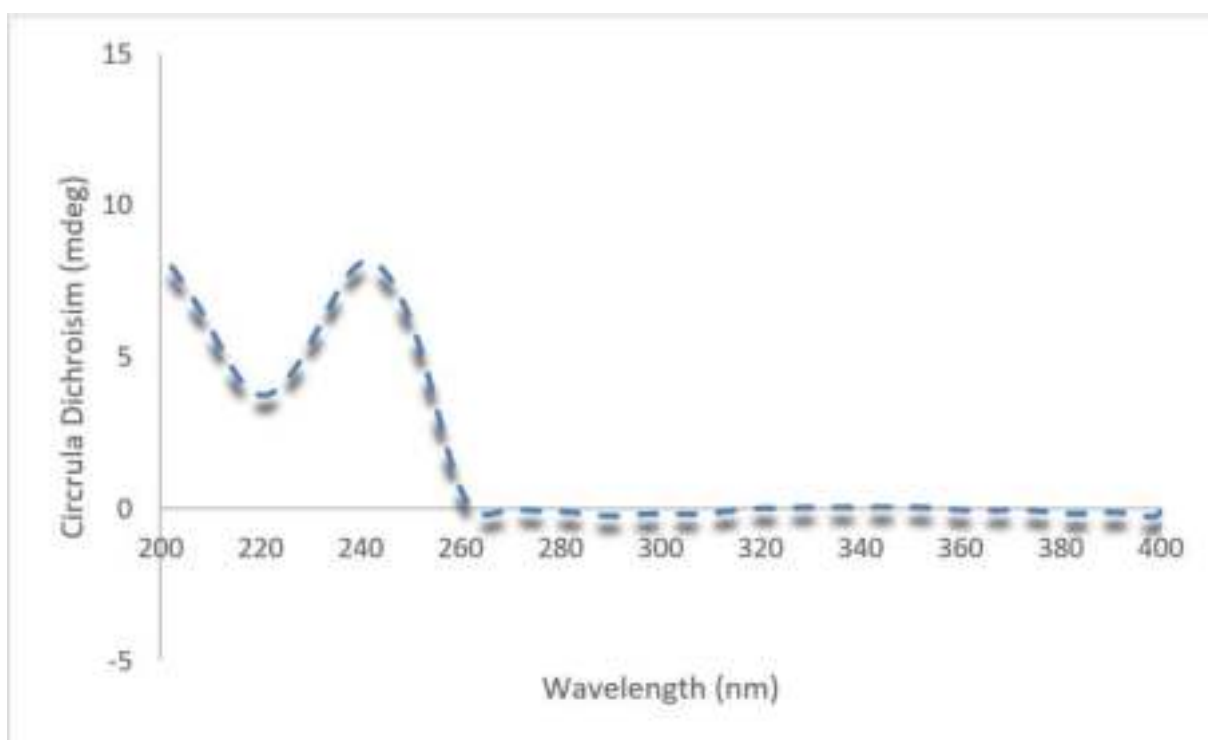


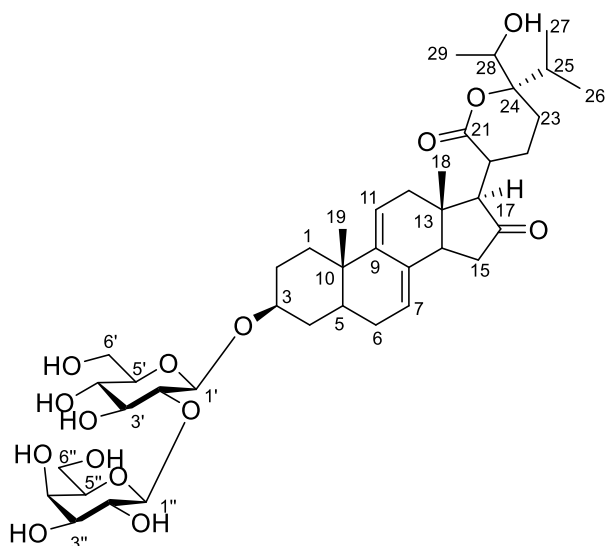
PL80

Phổ HMBC của hợp chất VG2



Phổ CD của hợp chất VG2



XX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG3

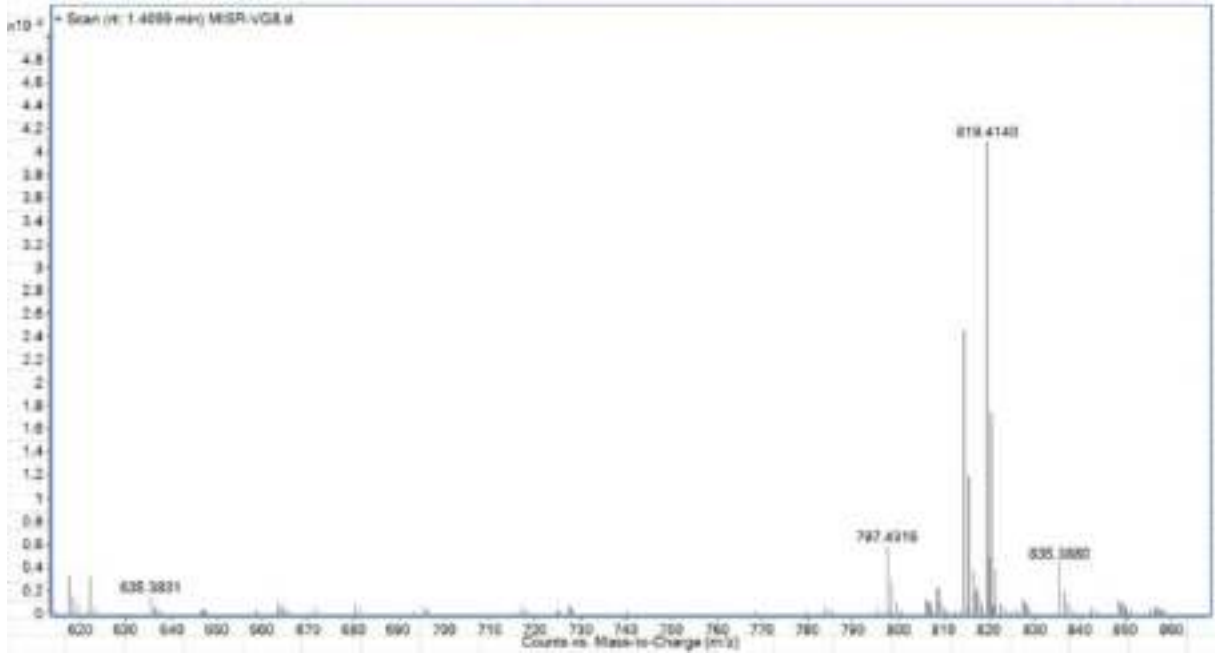
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{41}H_{62}O_{15}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 794,4

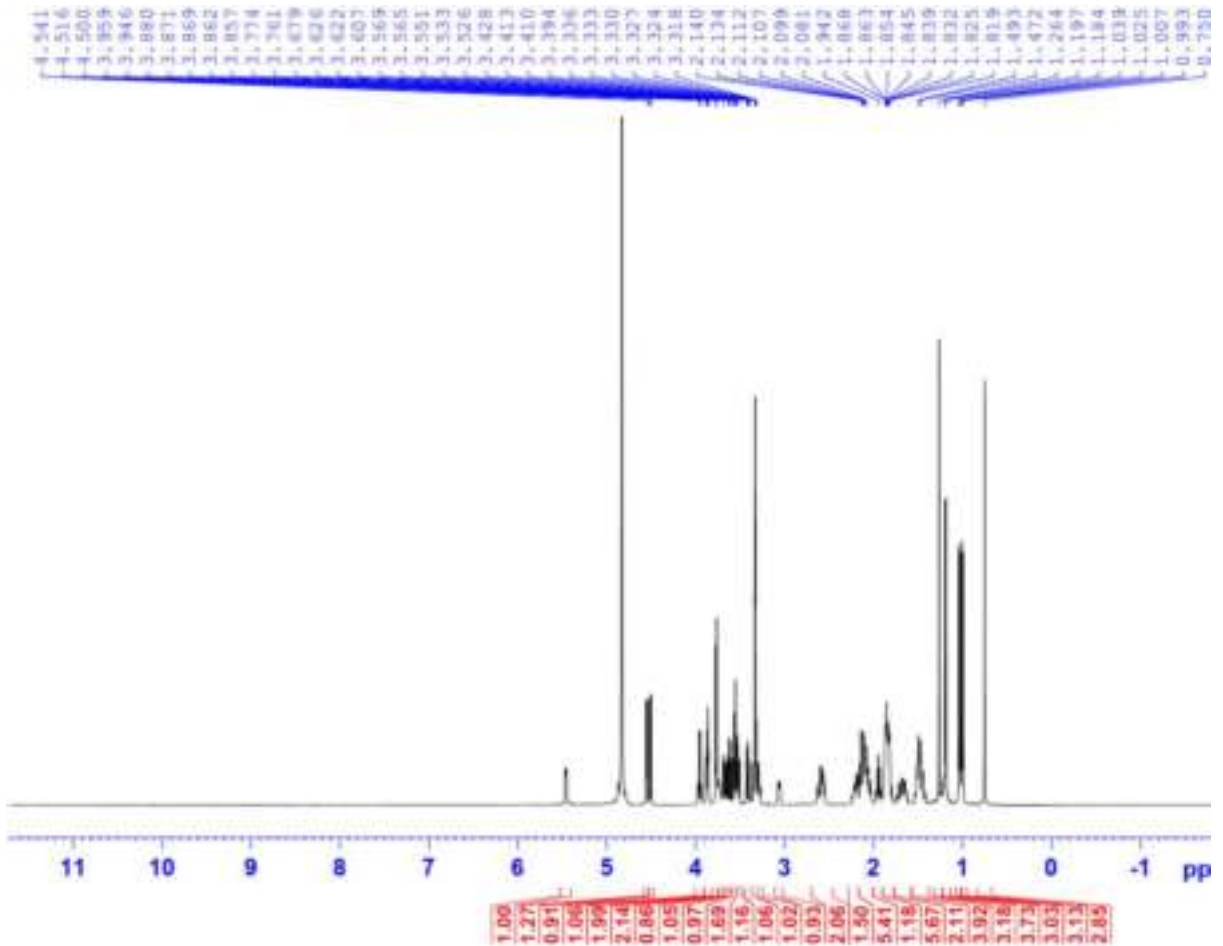
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR
- Phổ CD

PL82

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG3

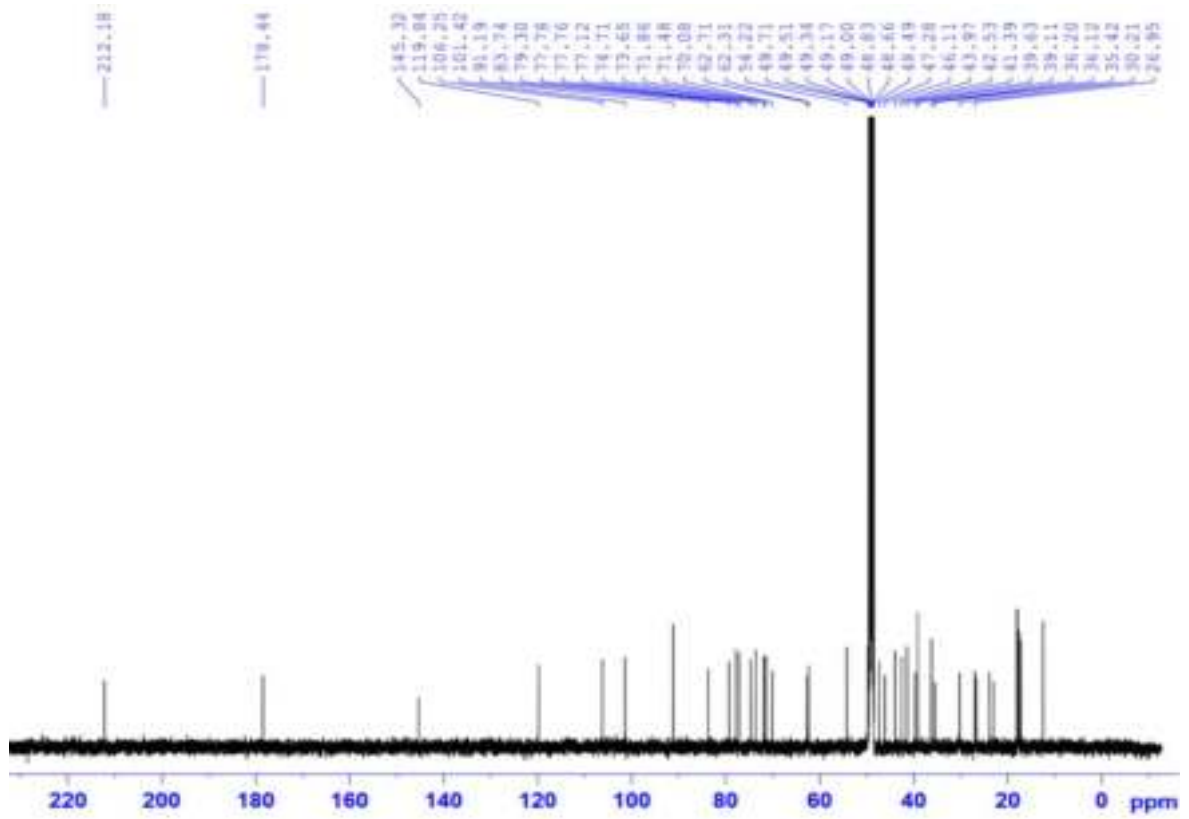


Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG3

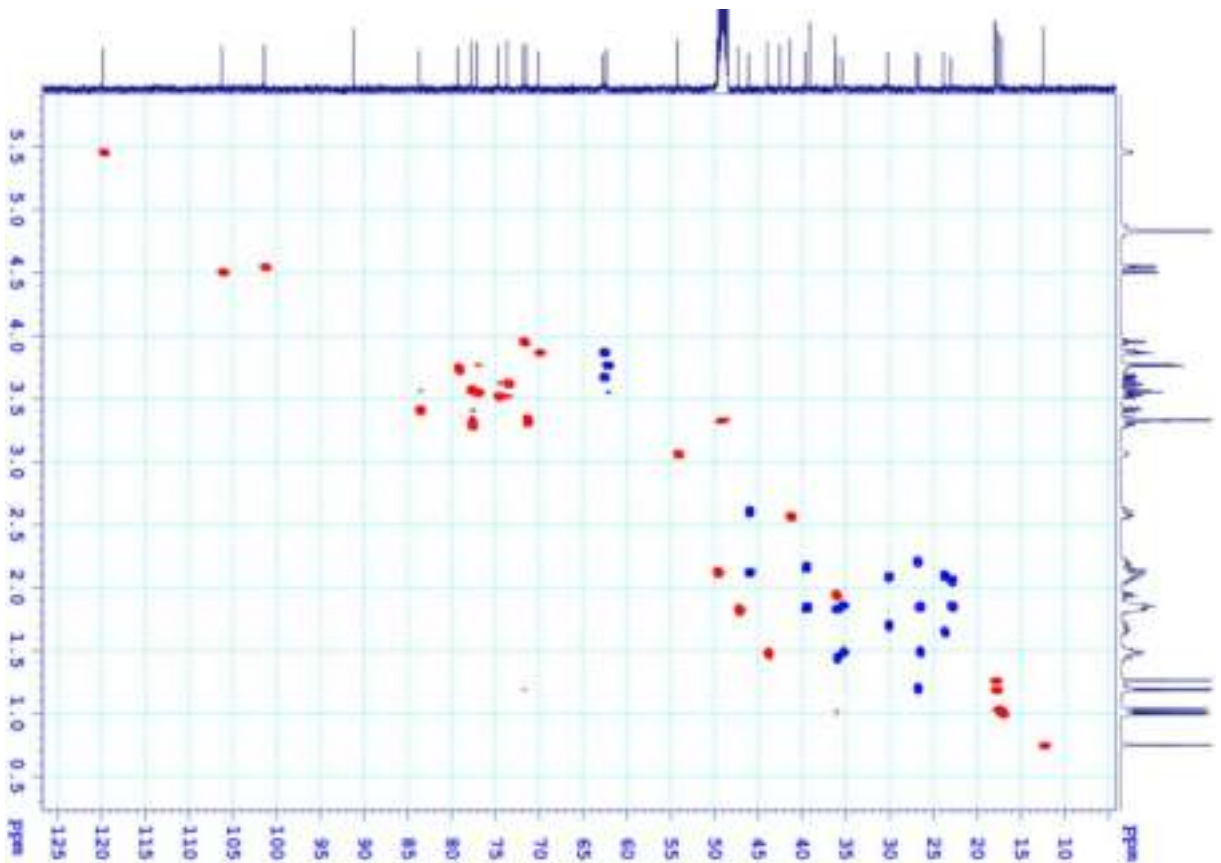


PL83

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất VG3

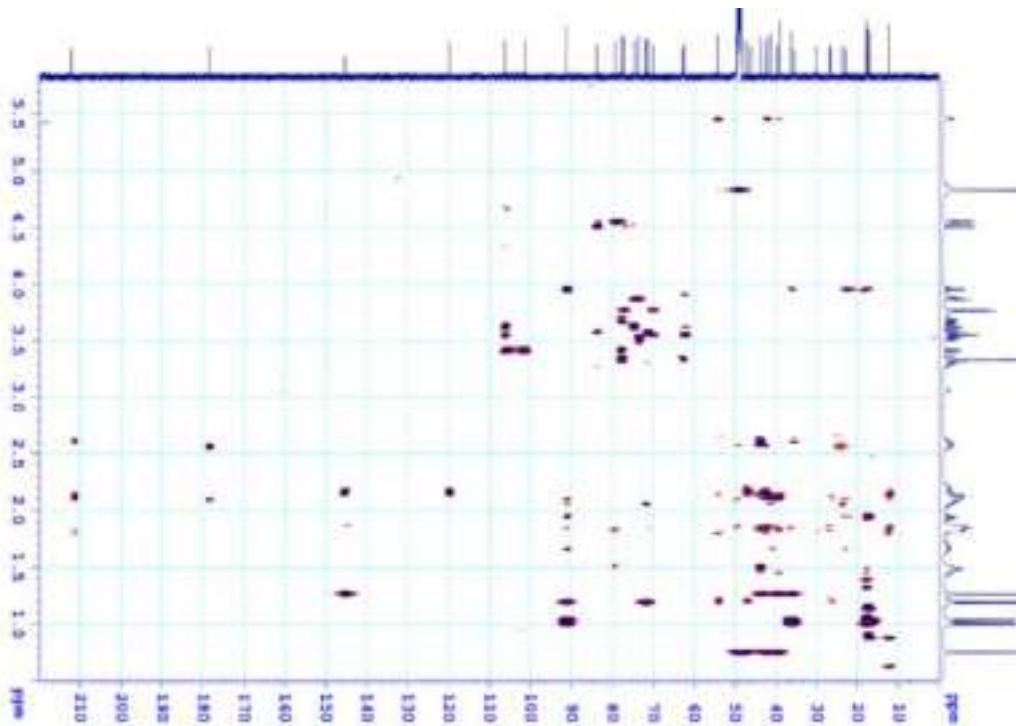


Phổ HSQC của hợp chất VG3

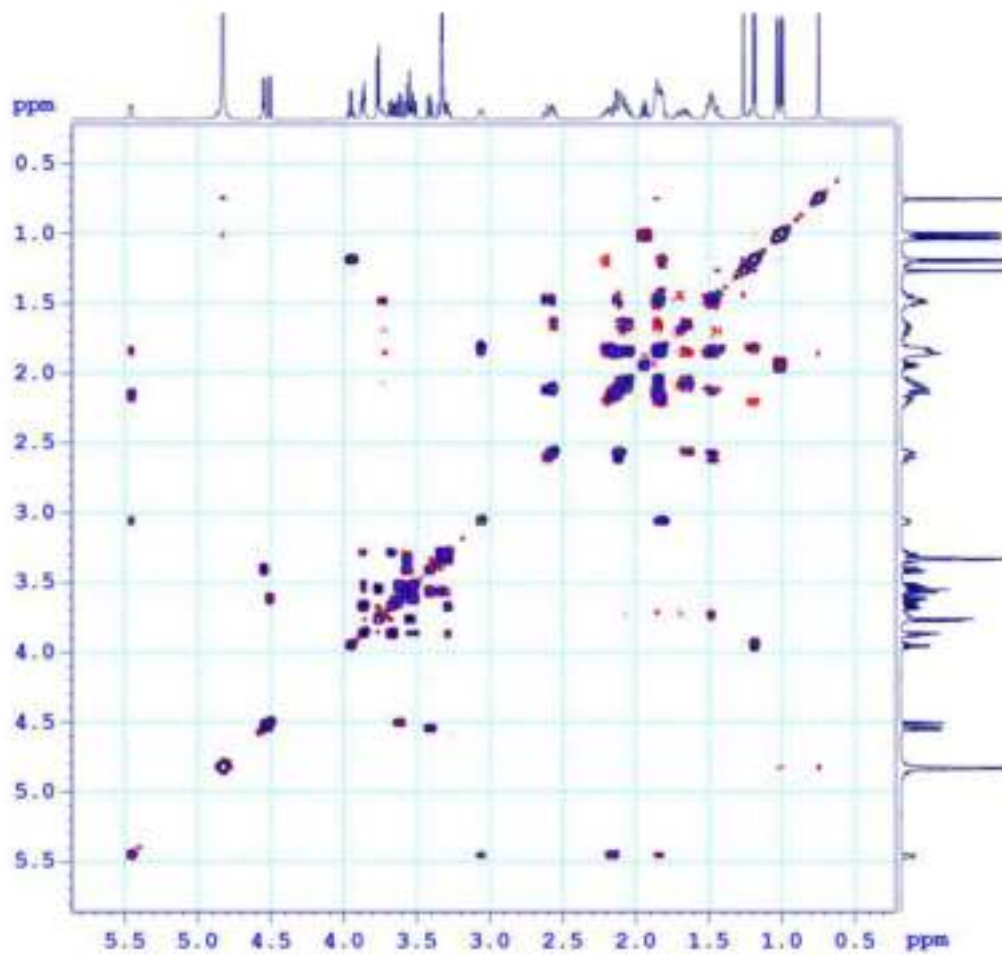


PL84

Phổ HMBC của hợp chất VG3

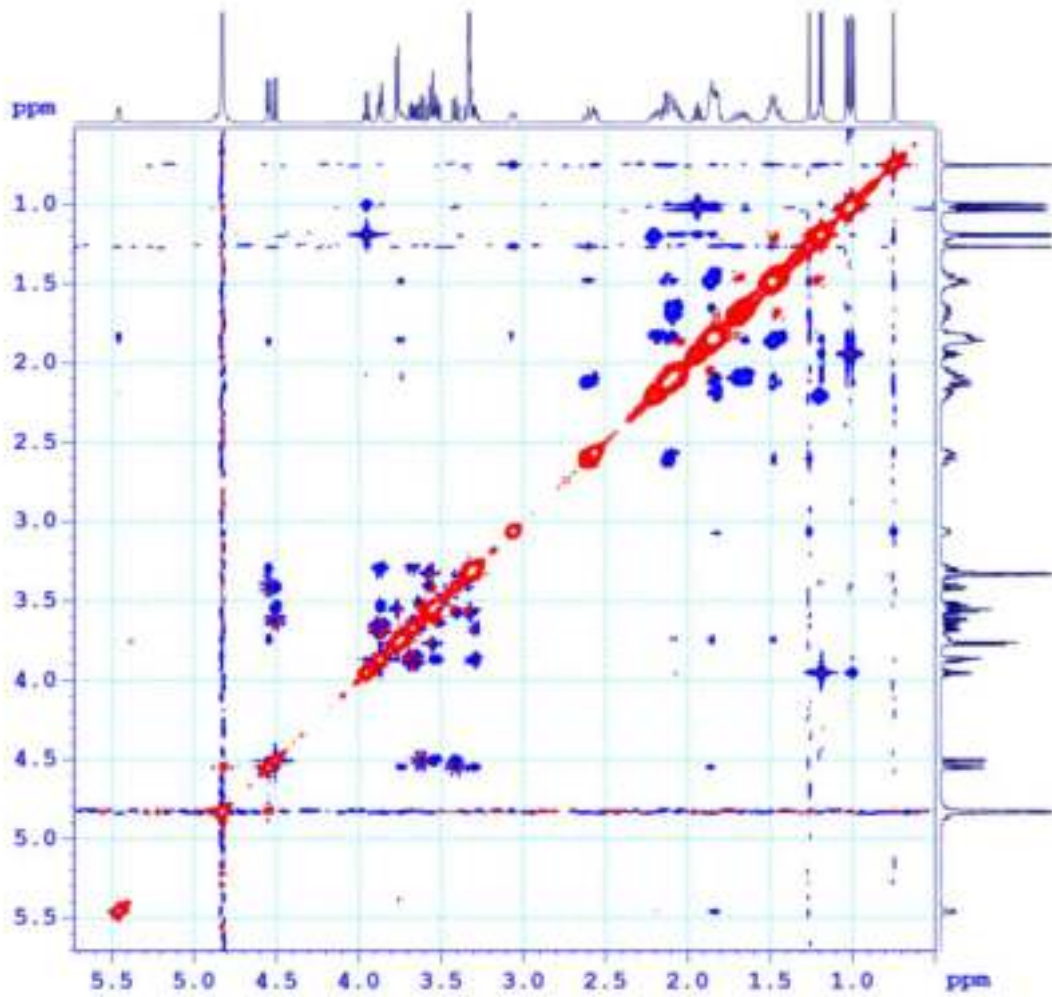


Phổ COSY của hợp chất VG3

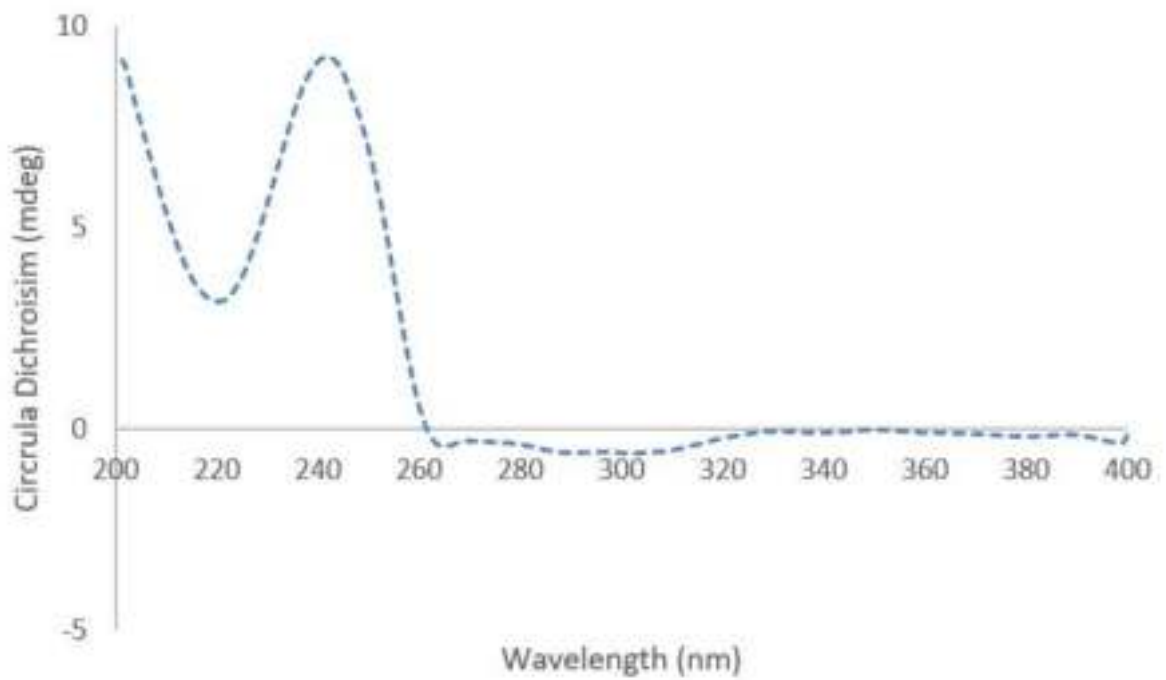


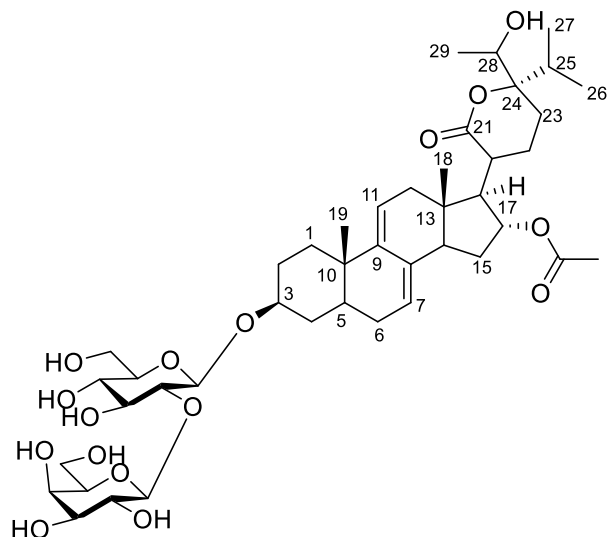
PL85

Phổ NOESY của hợp chất VG3



Phổ CD của hợp chất VG3



XXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG4

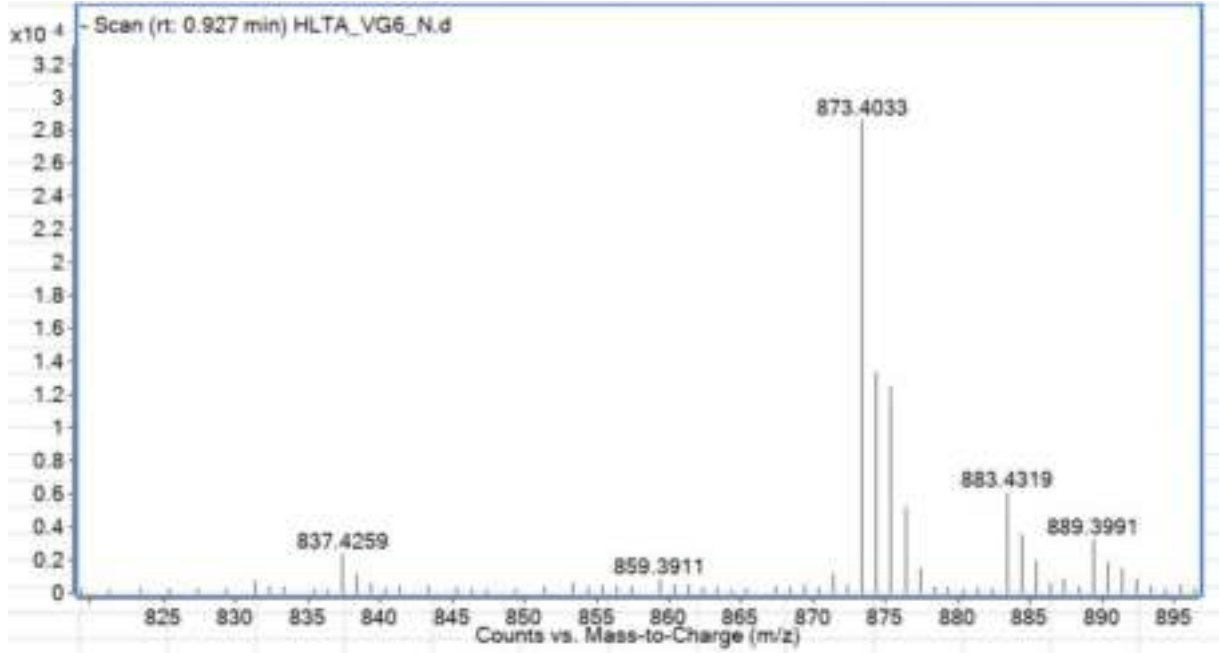
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{43}H_{66}O_{16}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 838,4

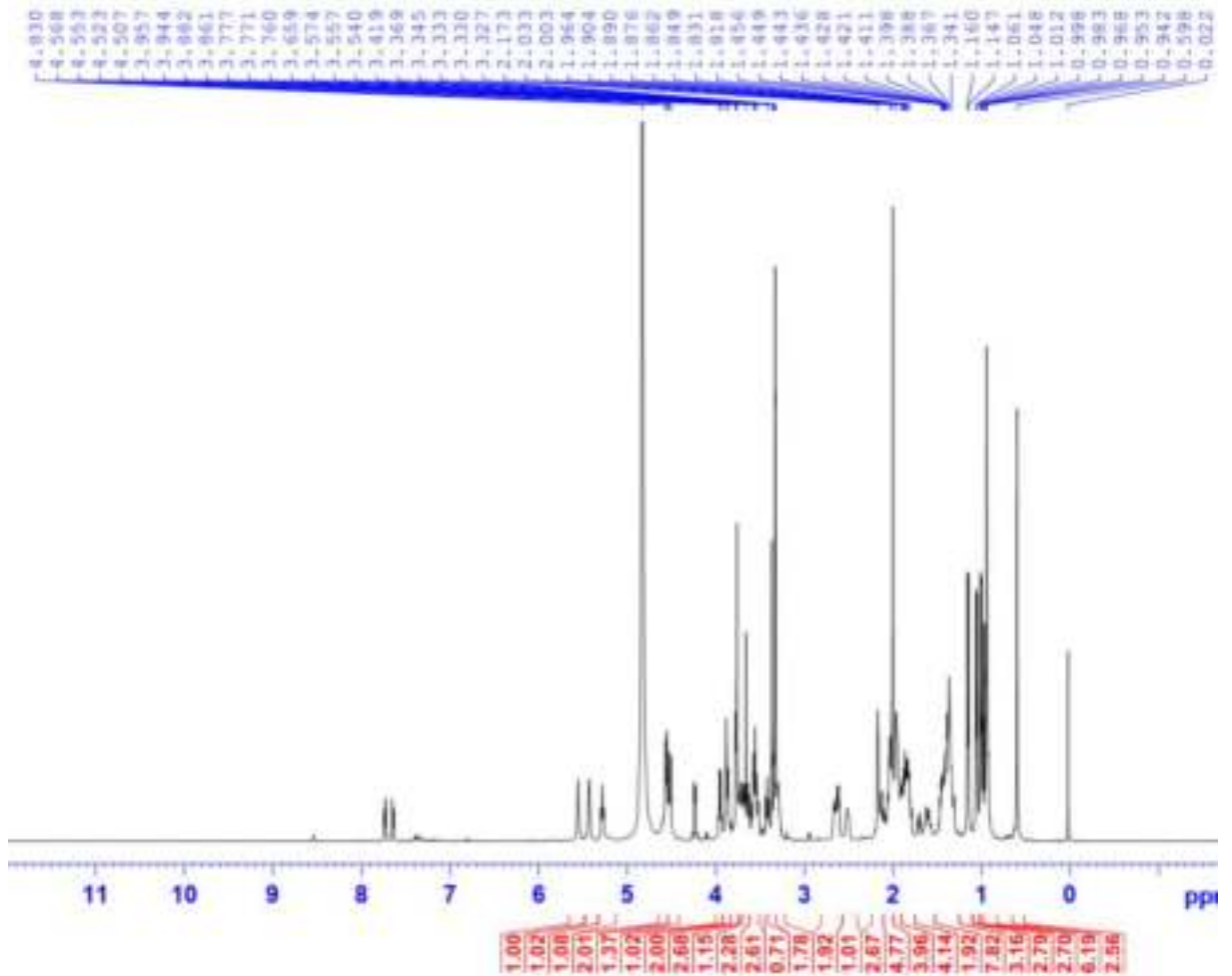
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ CD

PL87

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG4

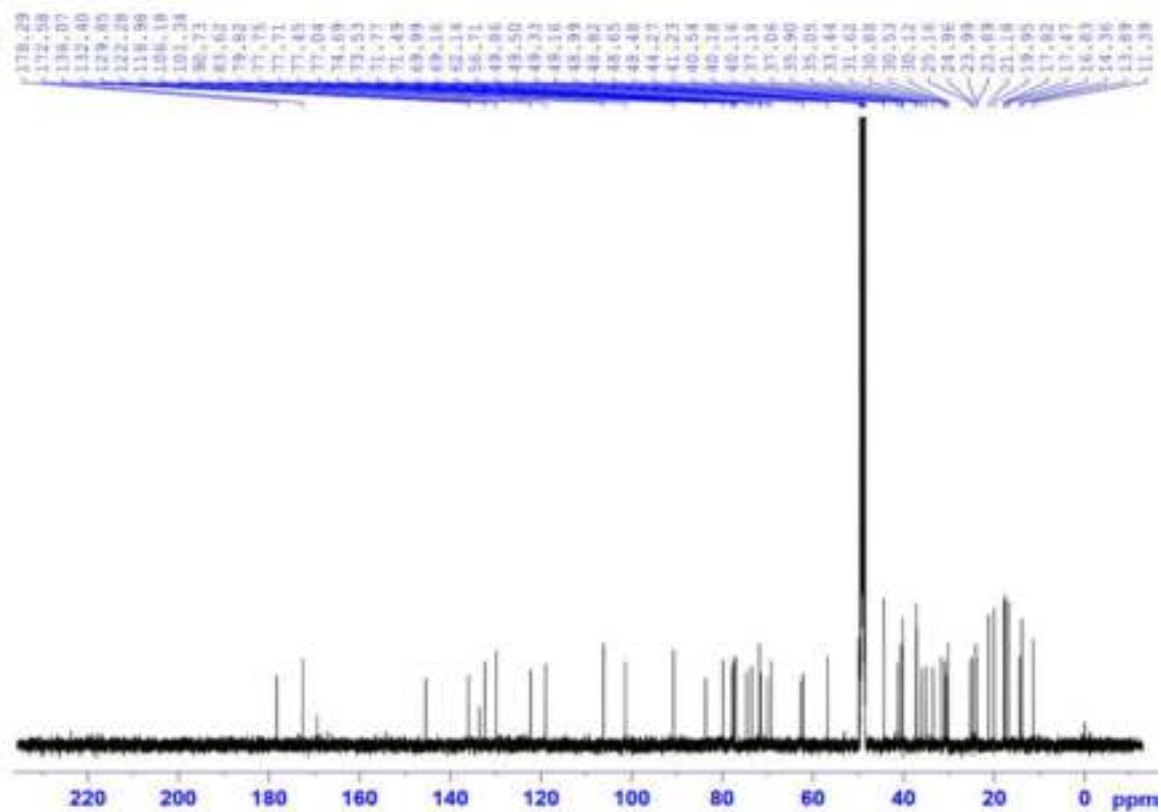


Phổ ¹H-NMR của hợp chất VG4

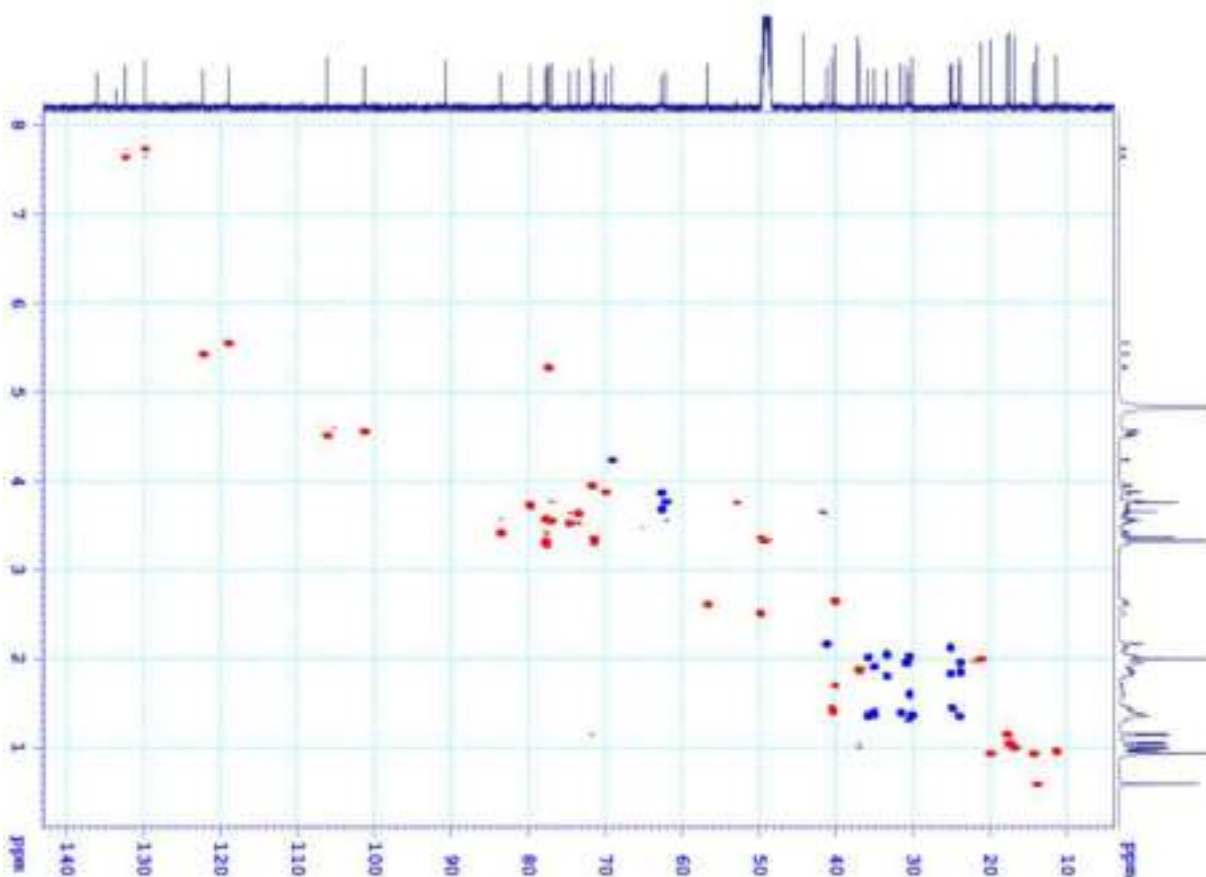


PL88

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất VG4

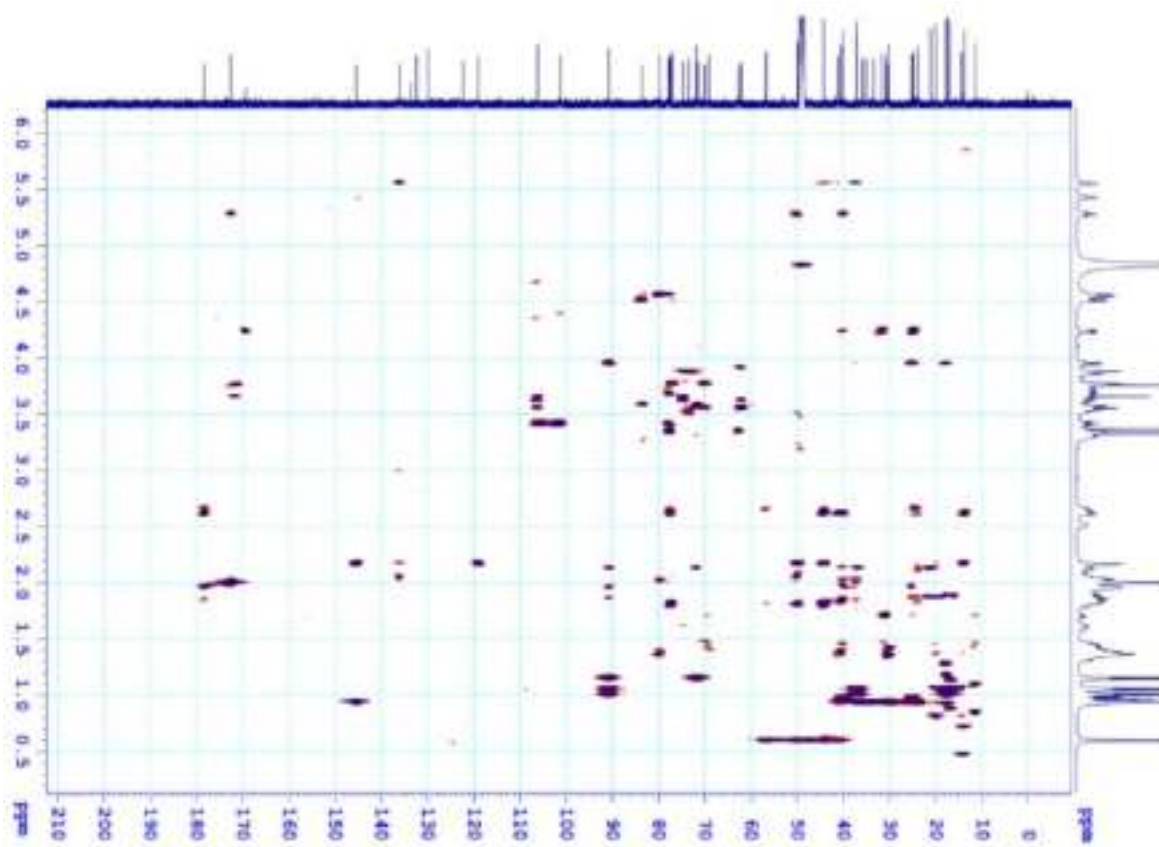


Phổ HSQC của hợp chất VG4

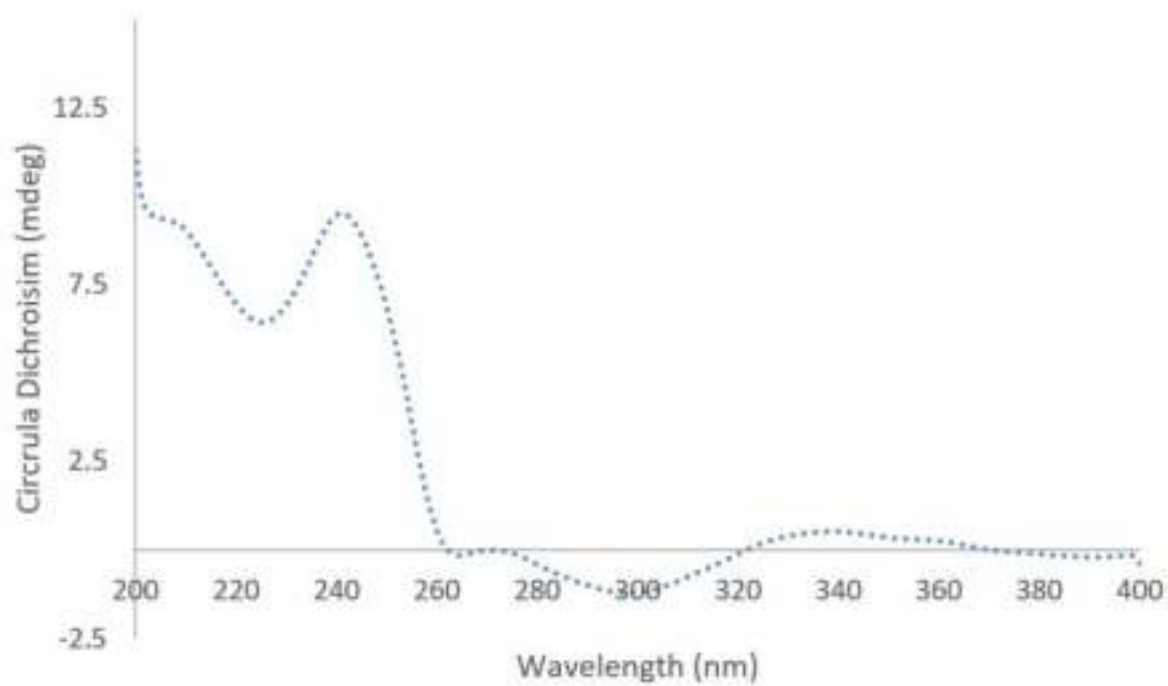


PL89

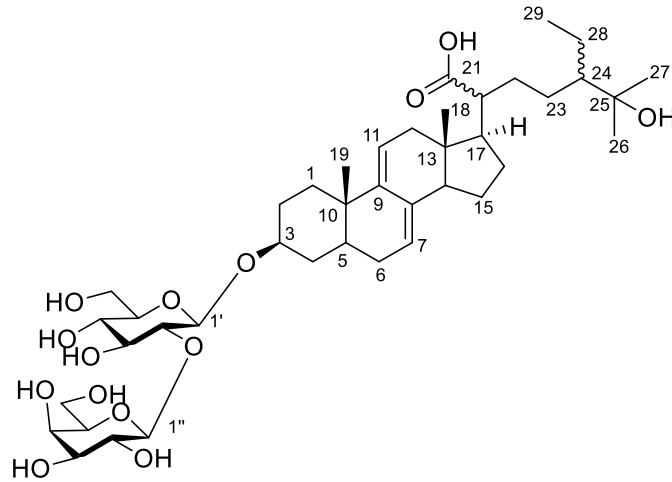
Phổ HMBC của hợp chất VG4



Phổ CD của hợp chất VG4



XXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG5

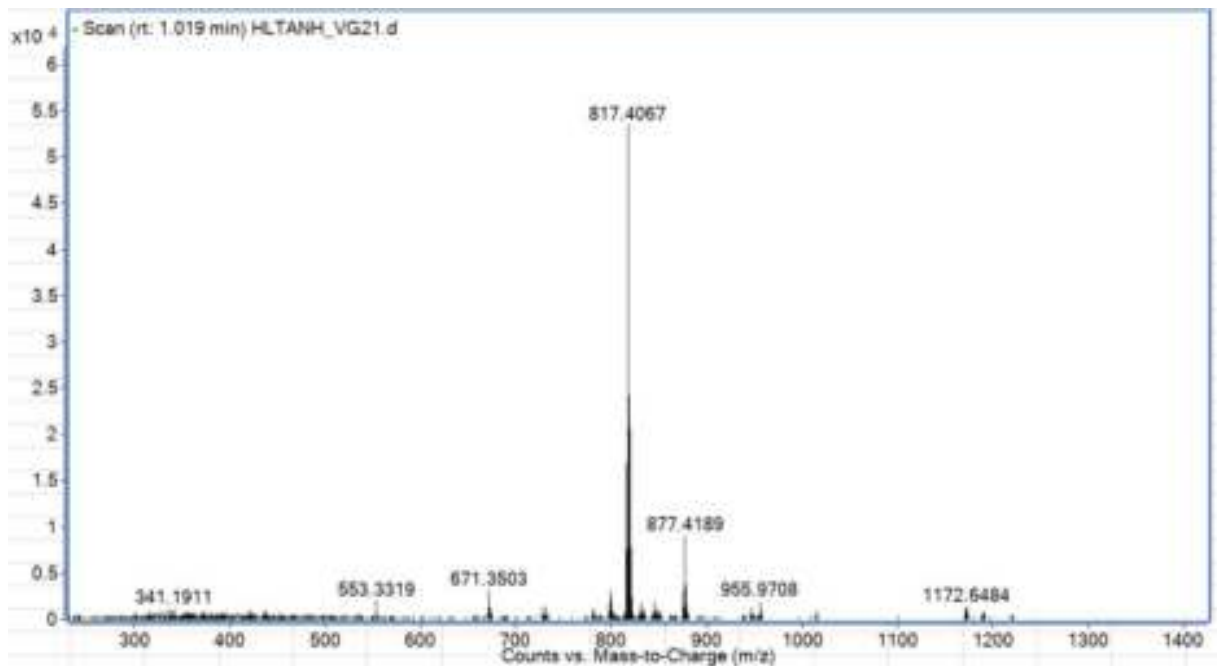


CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{41}H_{66}O_{14}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 782,4

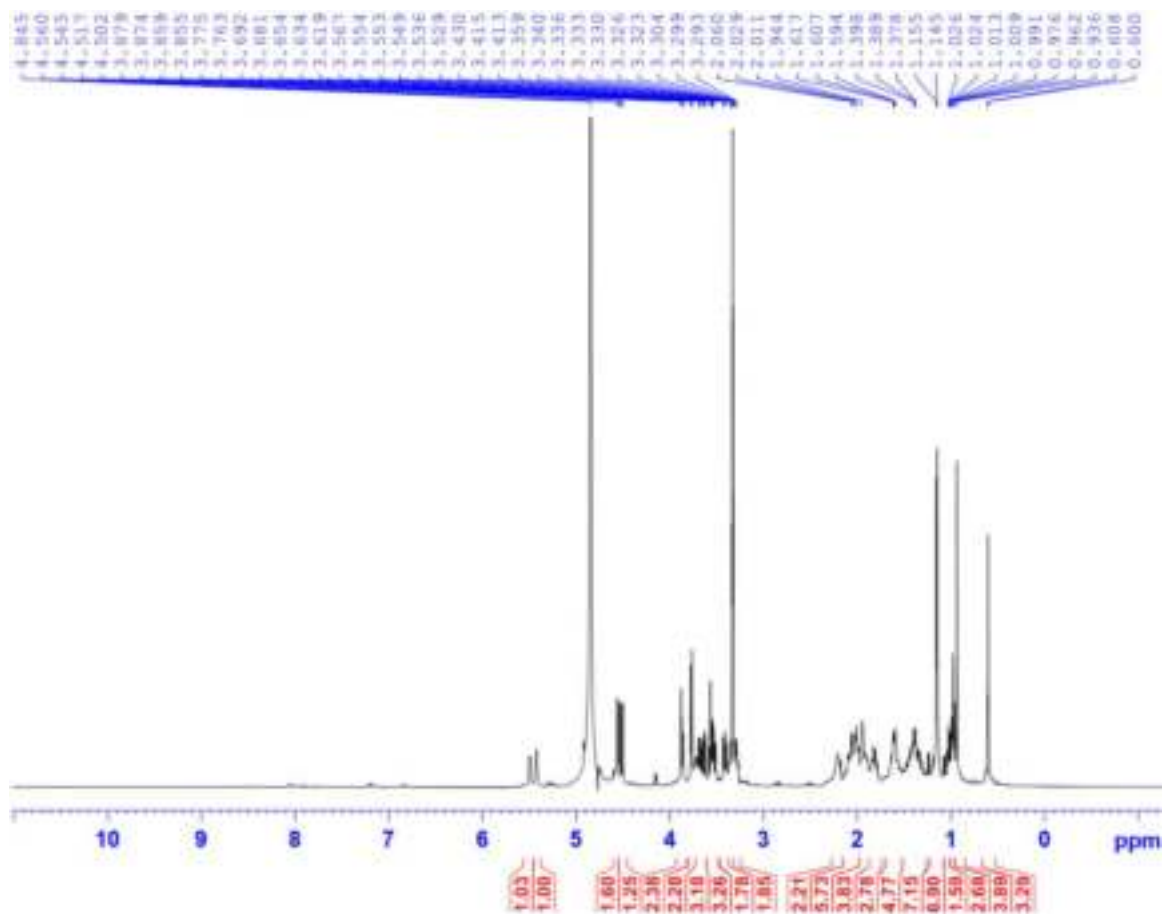
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG5

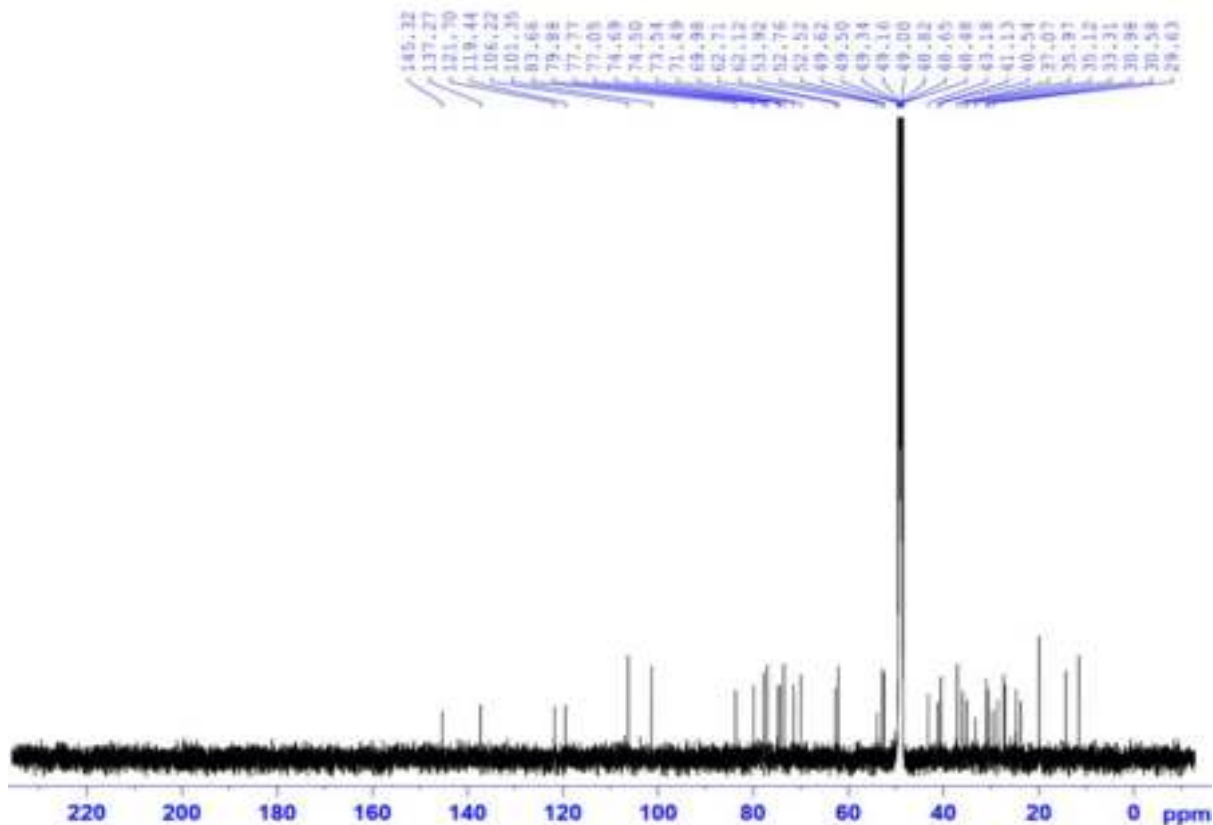


PL91

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG5

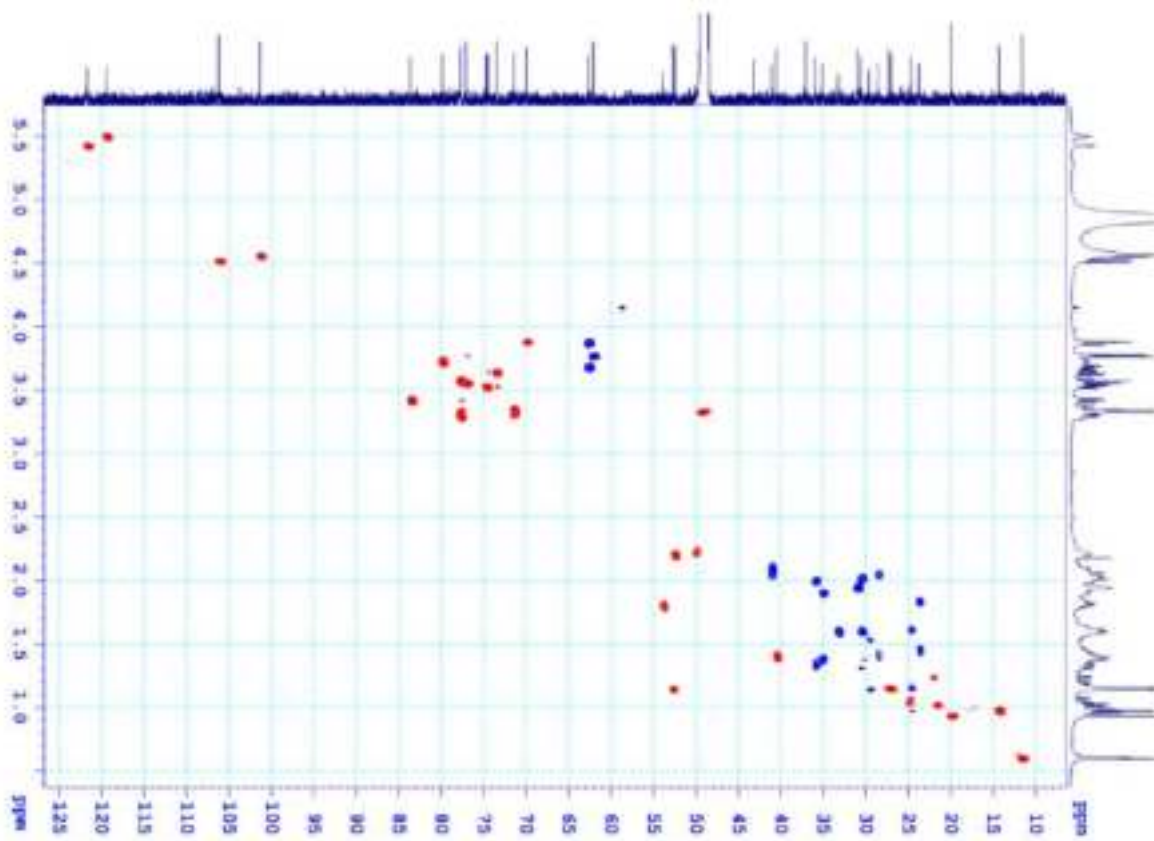


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG5

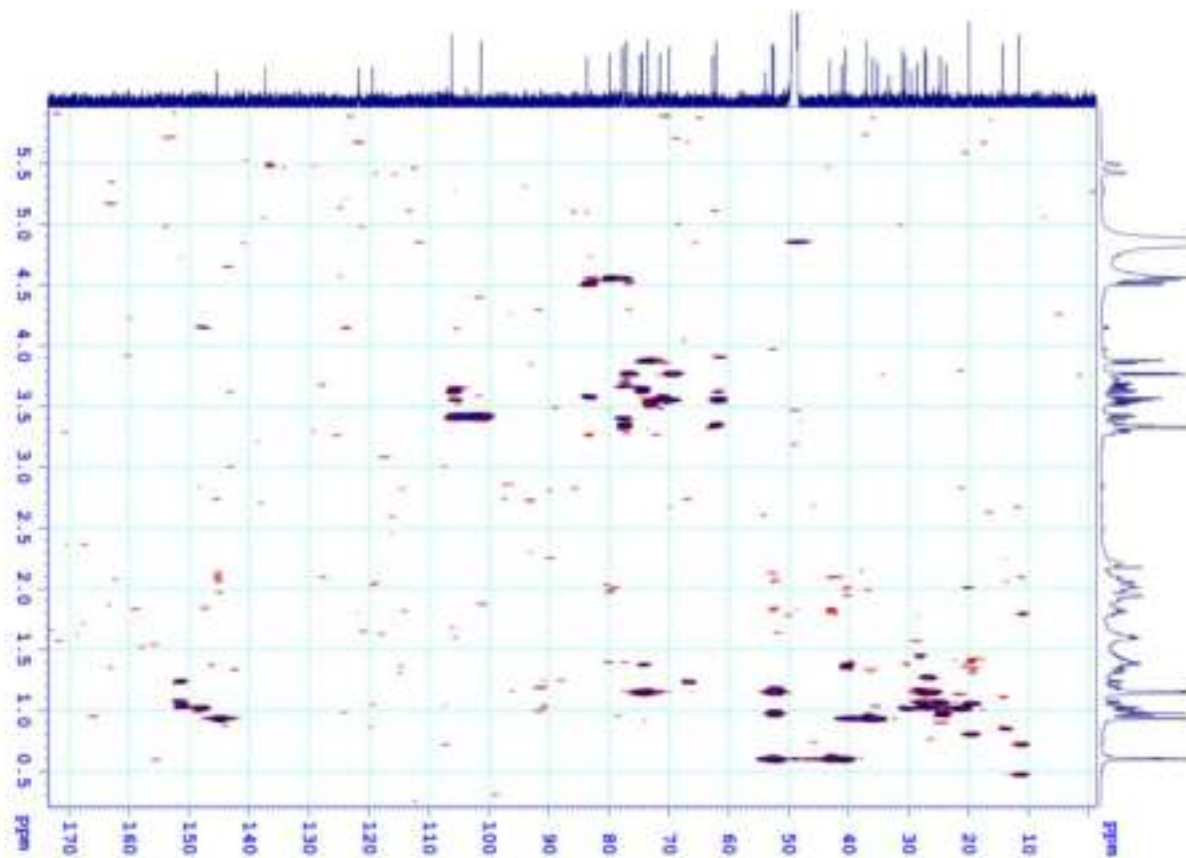


PL92

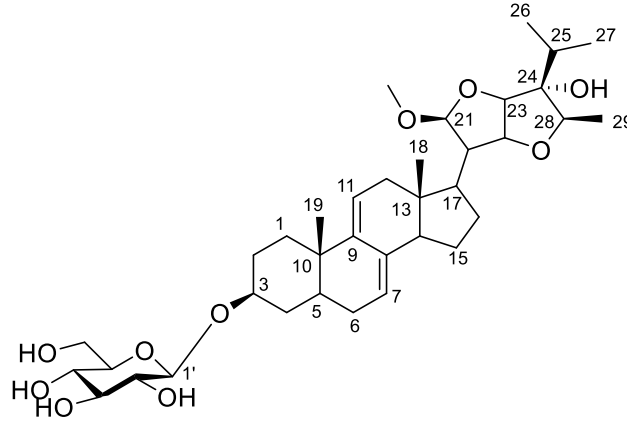
Phổ HSQC của hợp chất VG5



Phổ HMBC của hợp chất VG5



XXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG6

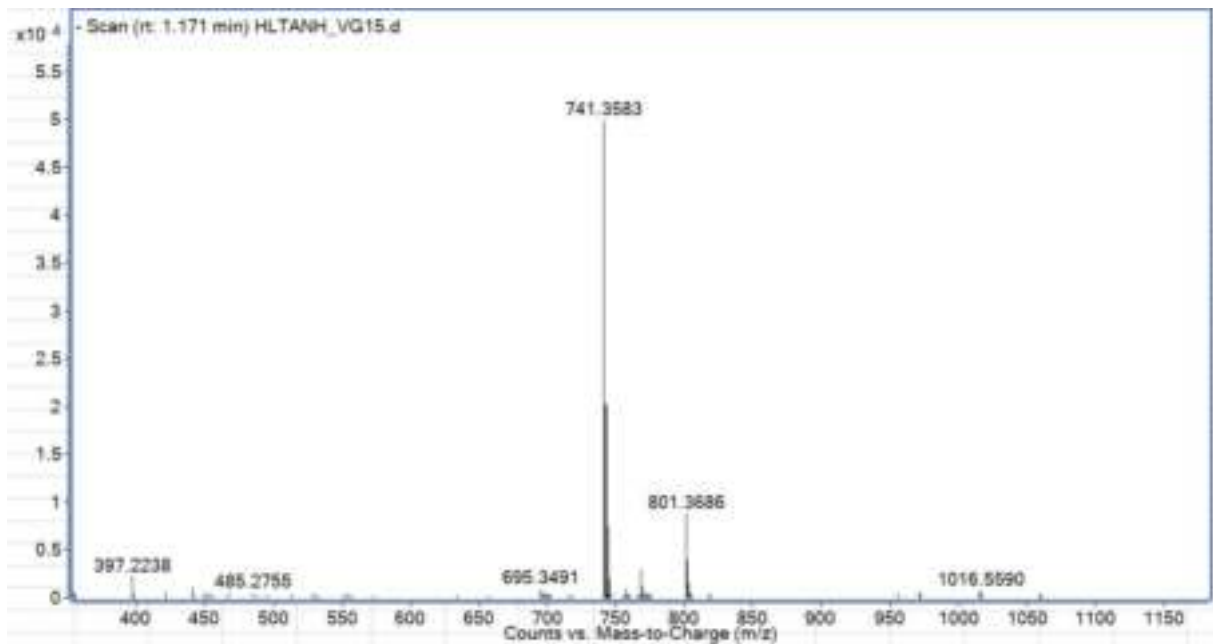


CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{36}H_{56}O_{10}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 648,4

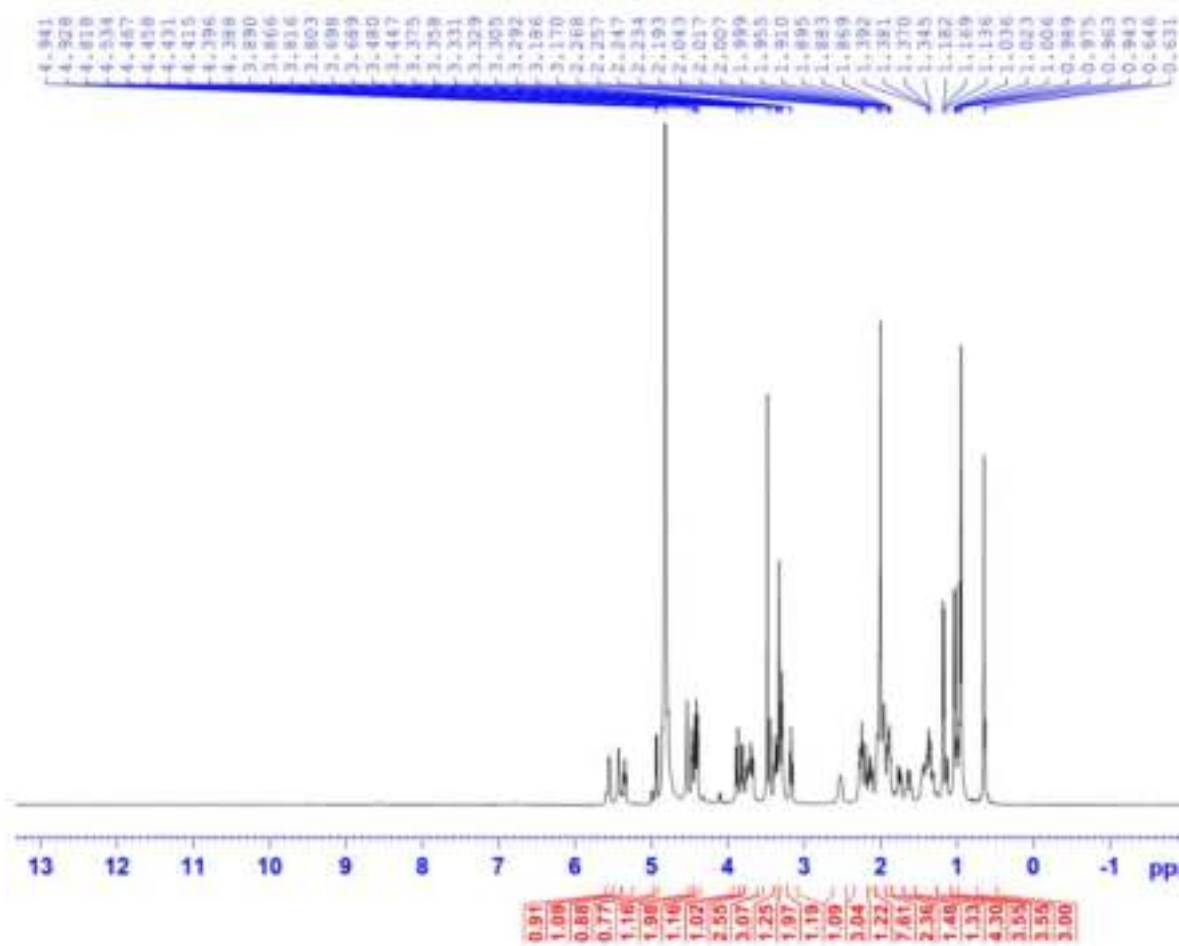
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG6

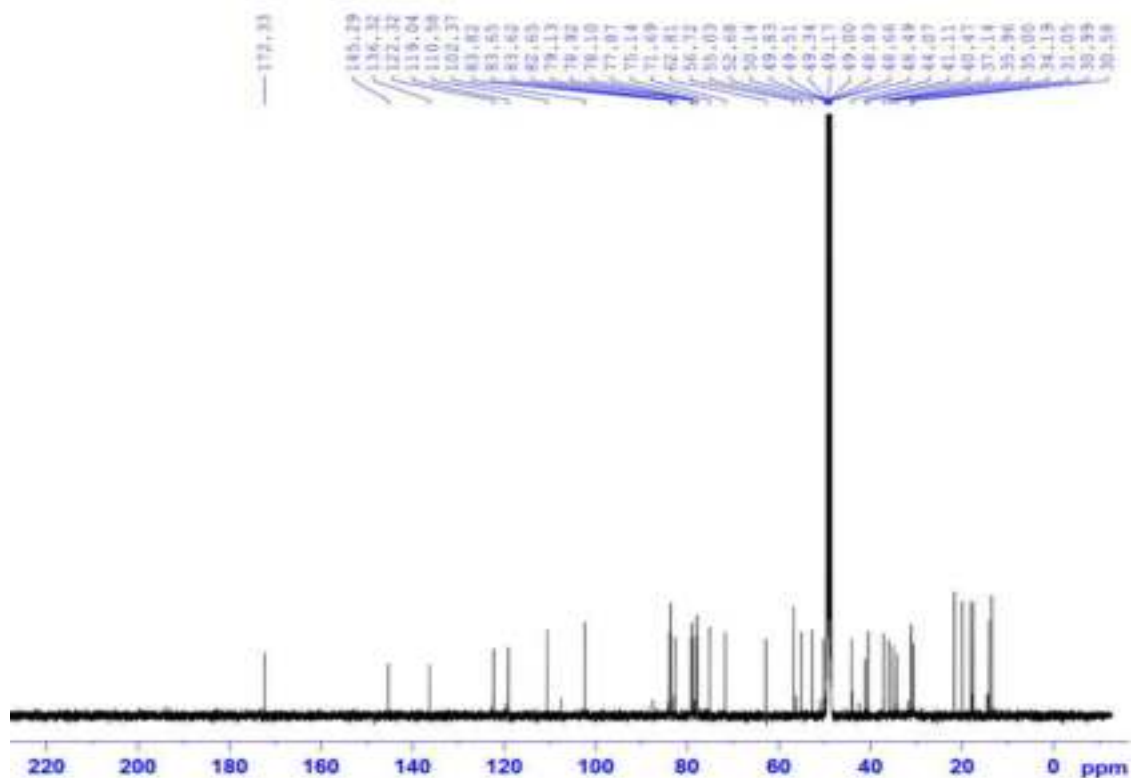


PL94

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG6

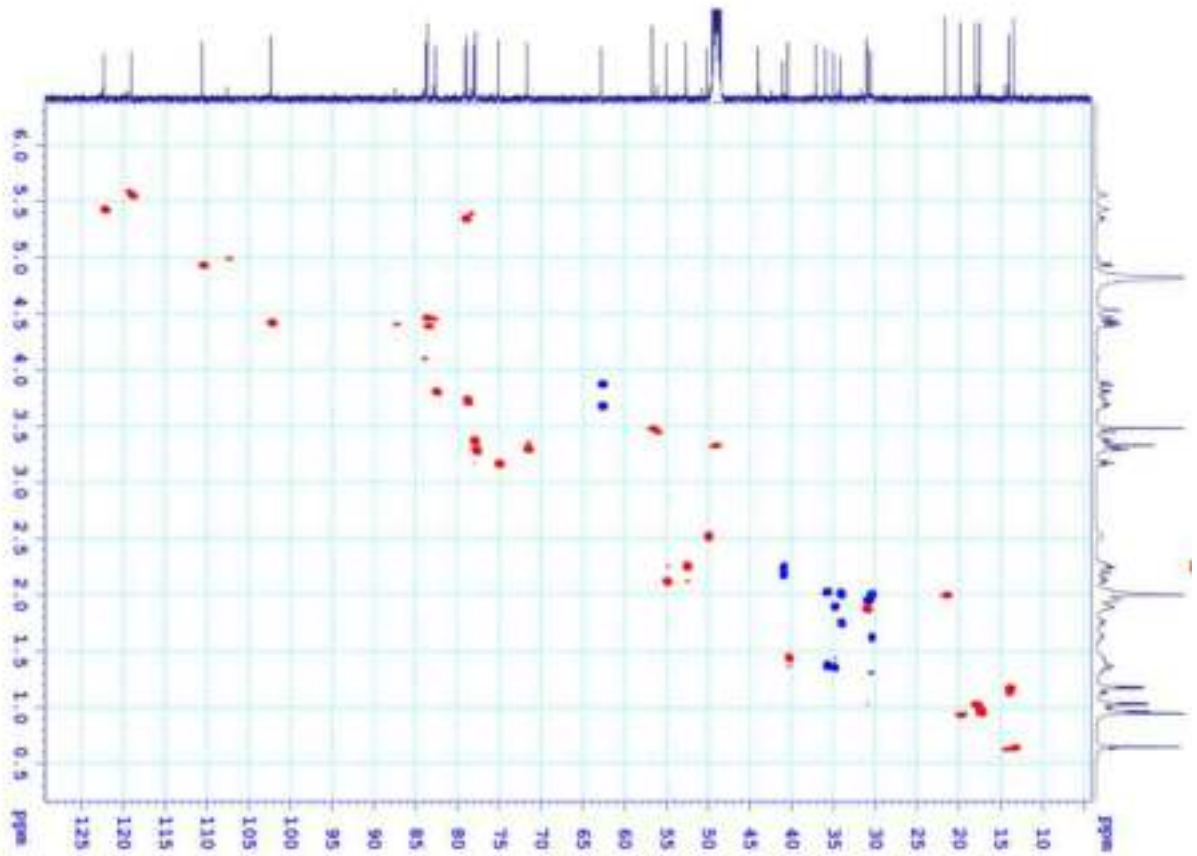


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG6

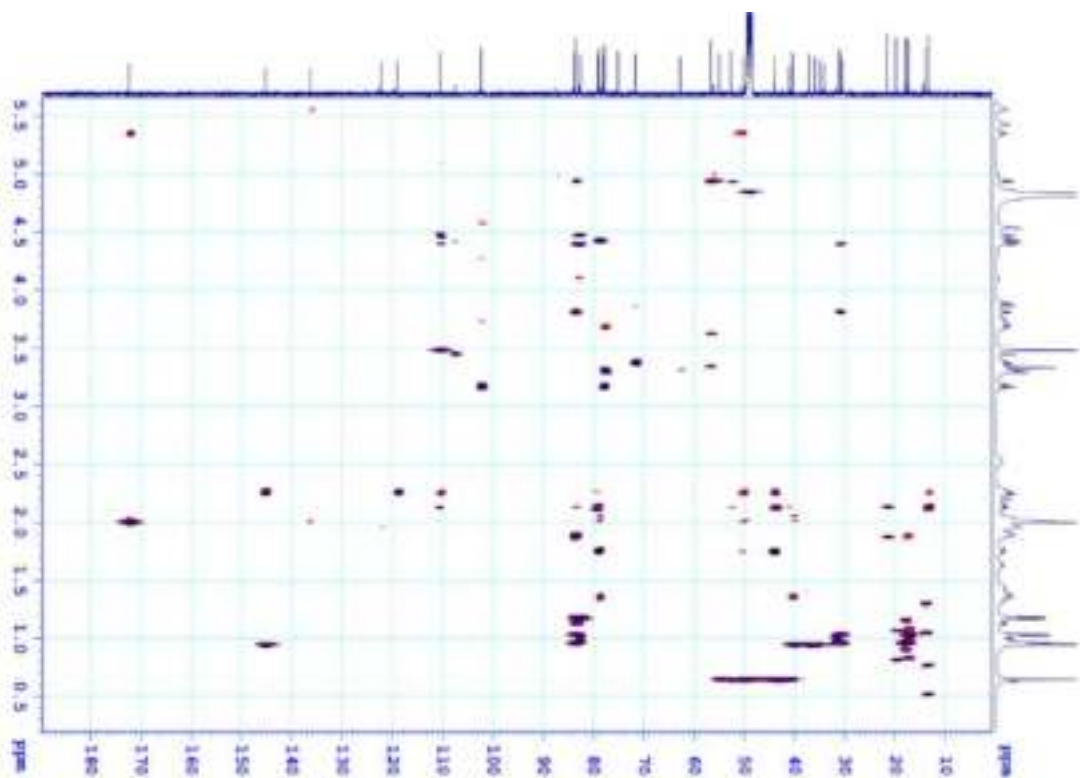


PL95

Phổ HSQC của hợp chất VG6

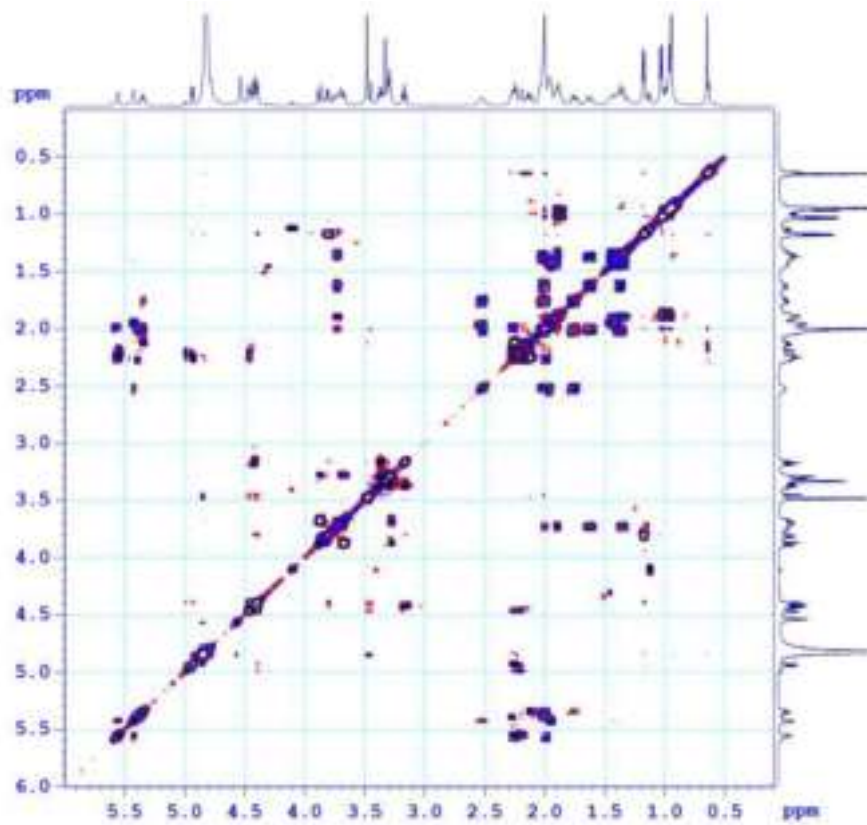


Phổ HMBC của hợp chất VG6

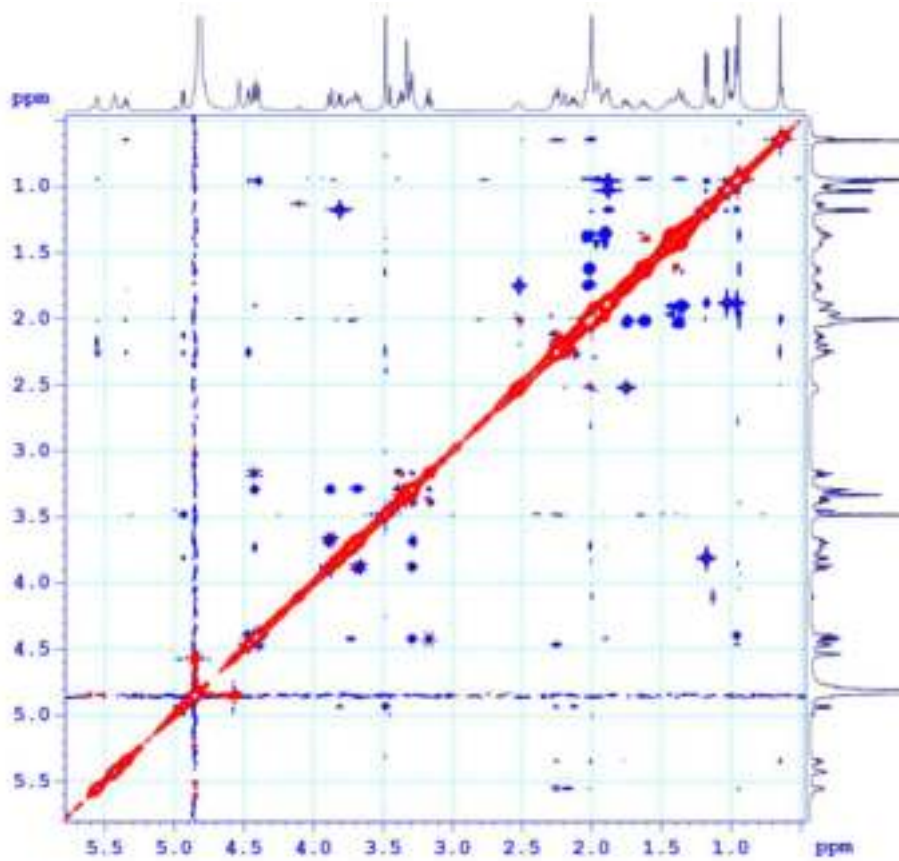


PL96

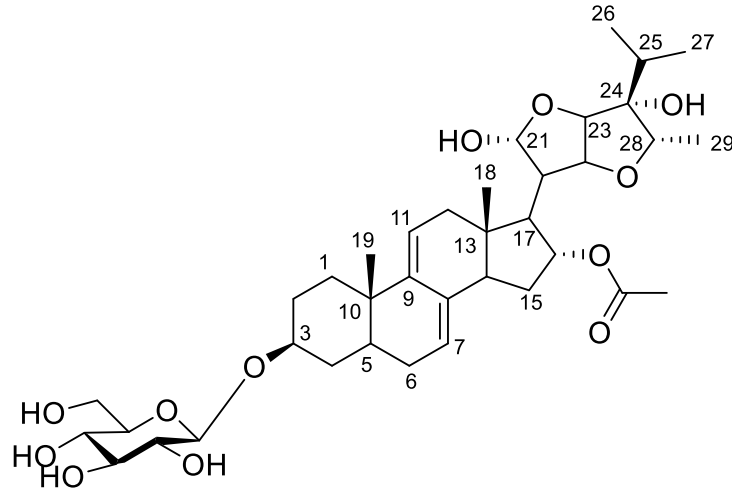
Phổ COSY của hợp chất VG6



Phổ NOESY của hợp chất VG6



XXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG7

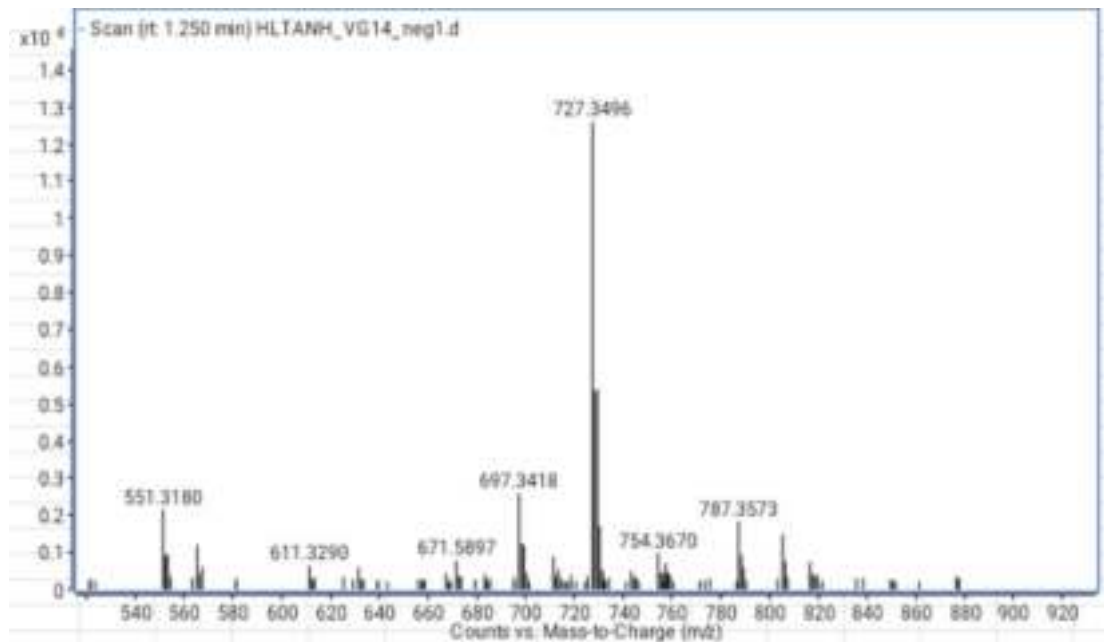


CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{37}H_{56}O_{12}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 692,4

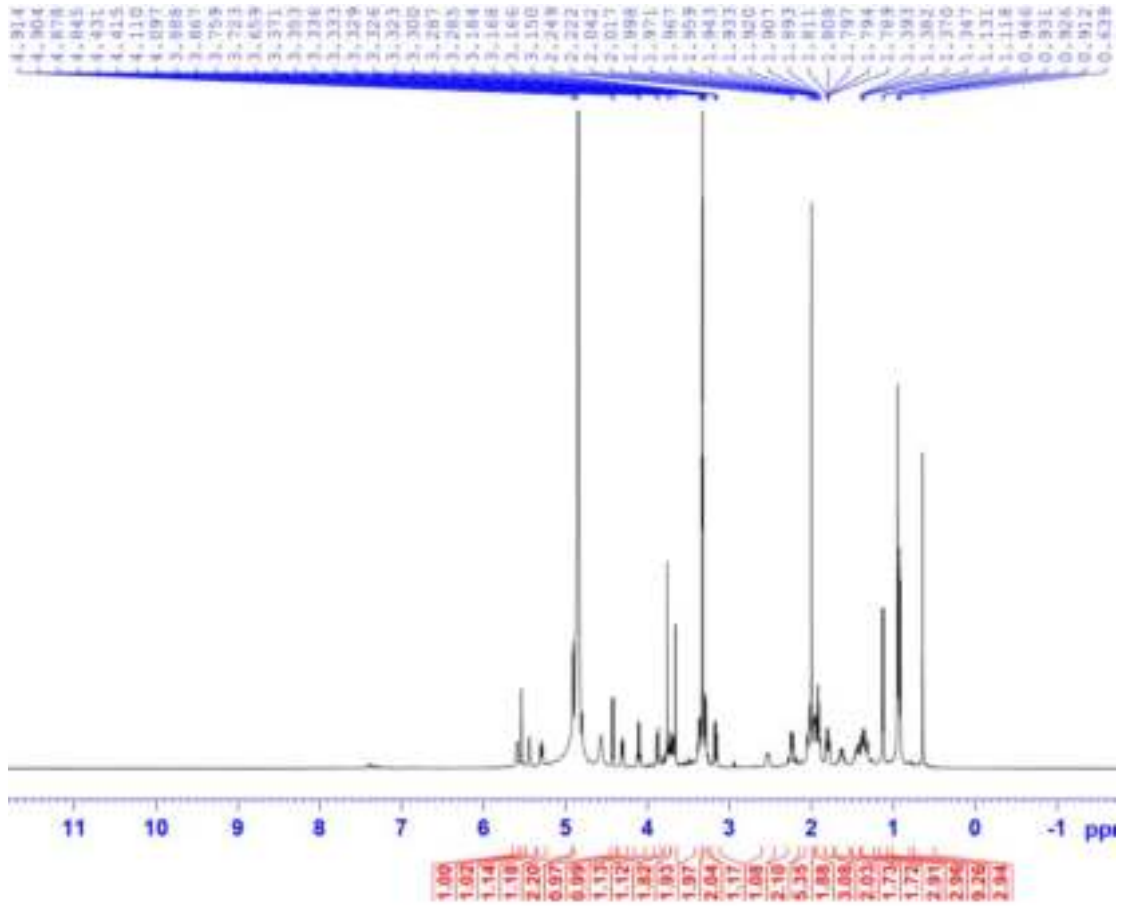
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG7

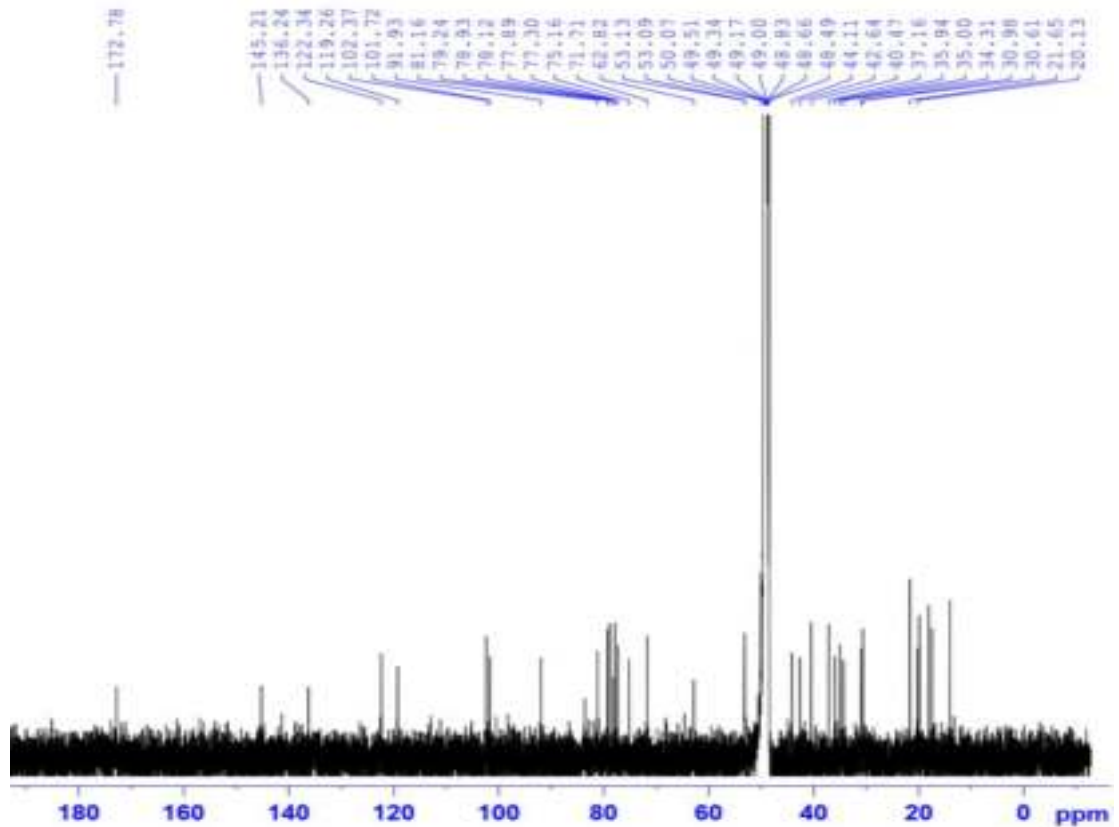


PL98

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG7

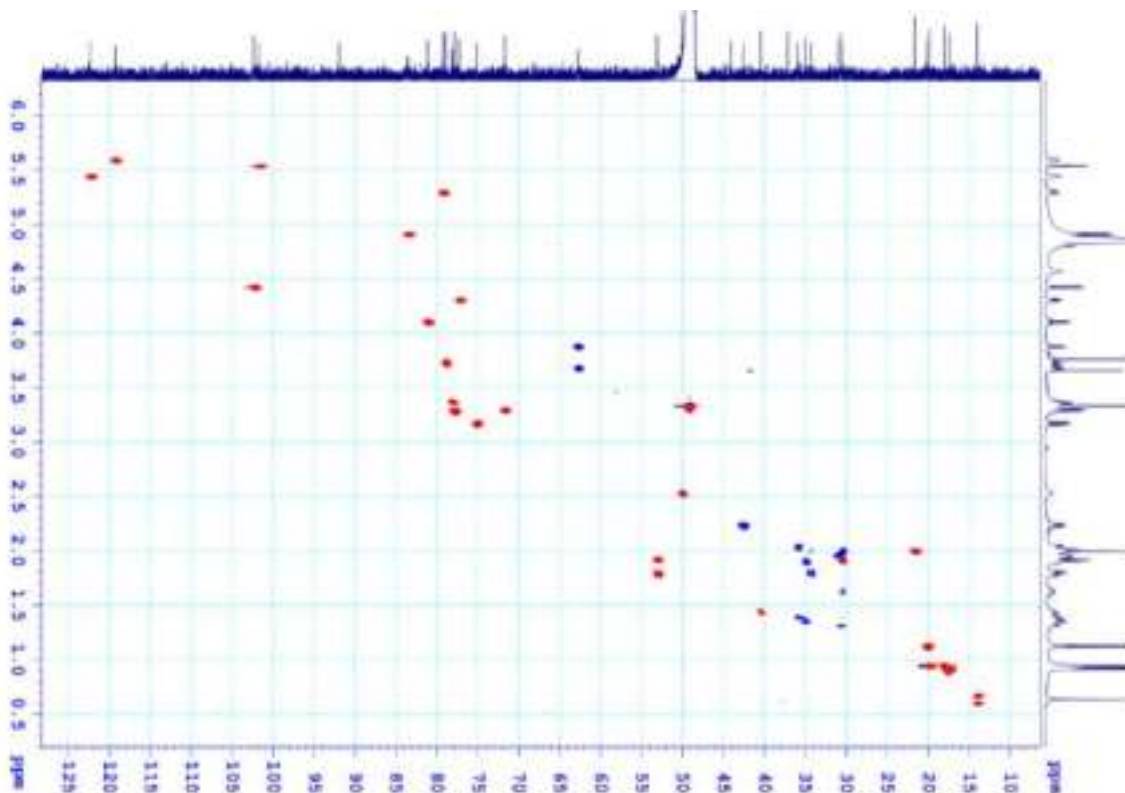


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG7

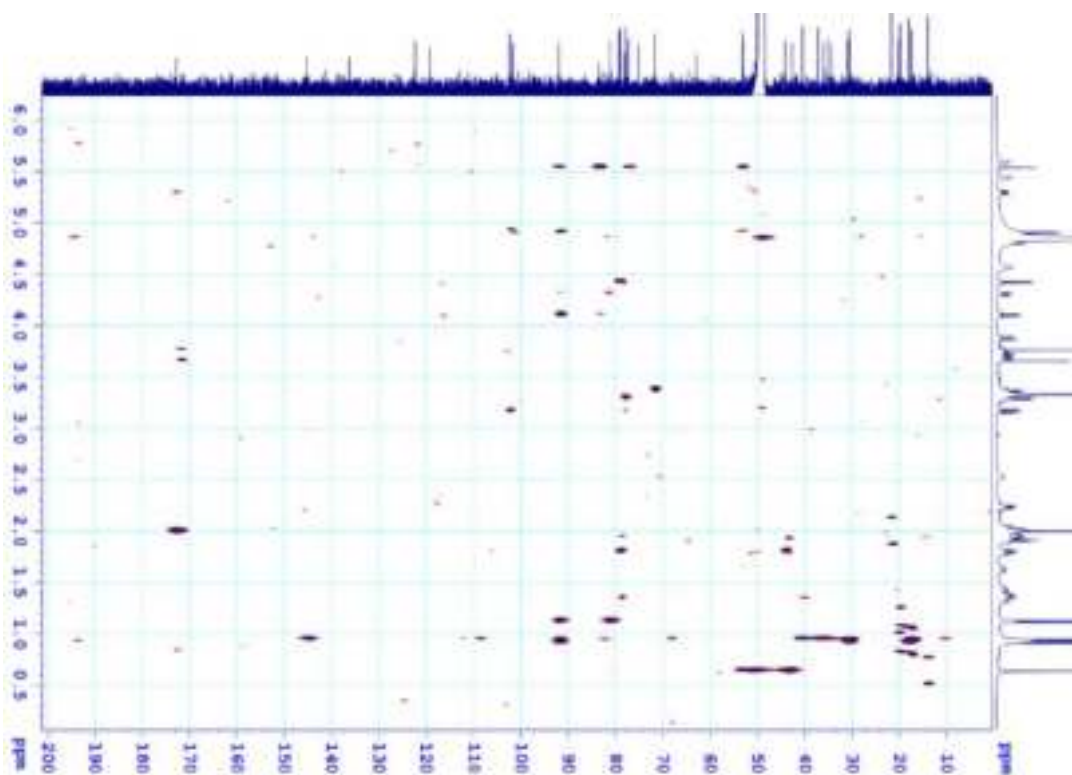


PL99

Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG7

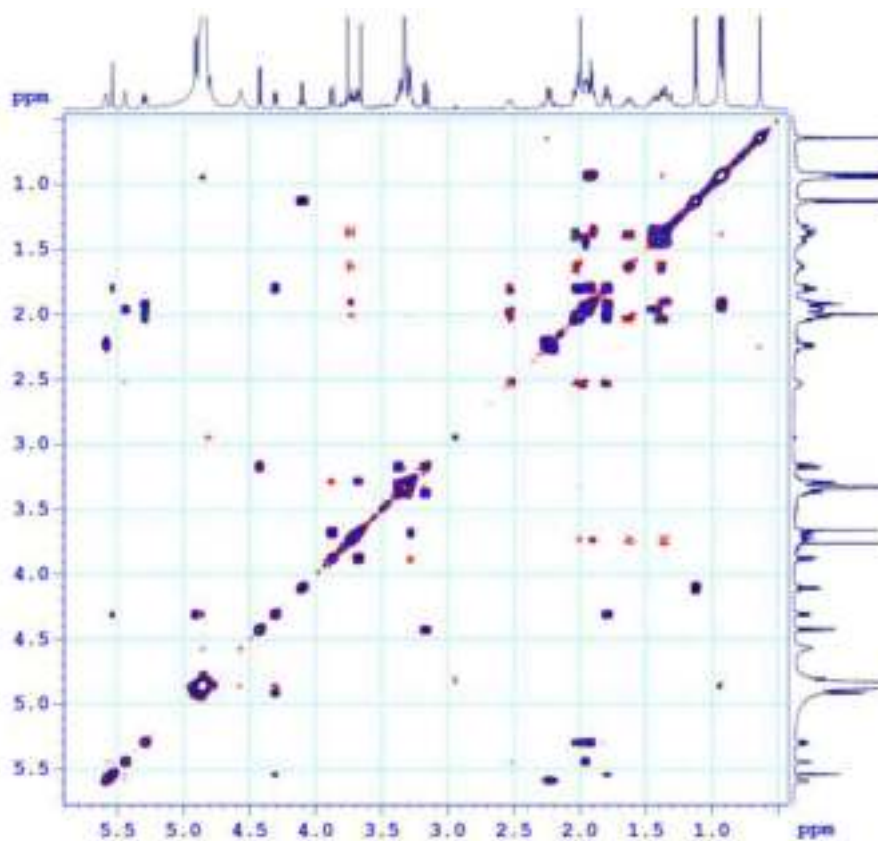


Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG7

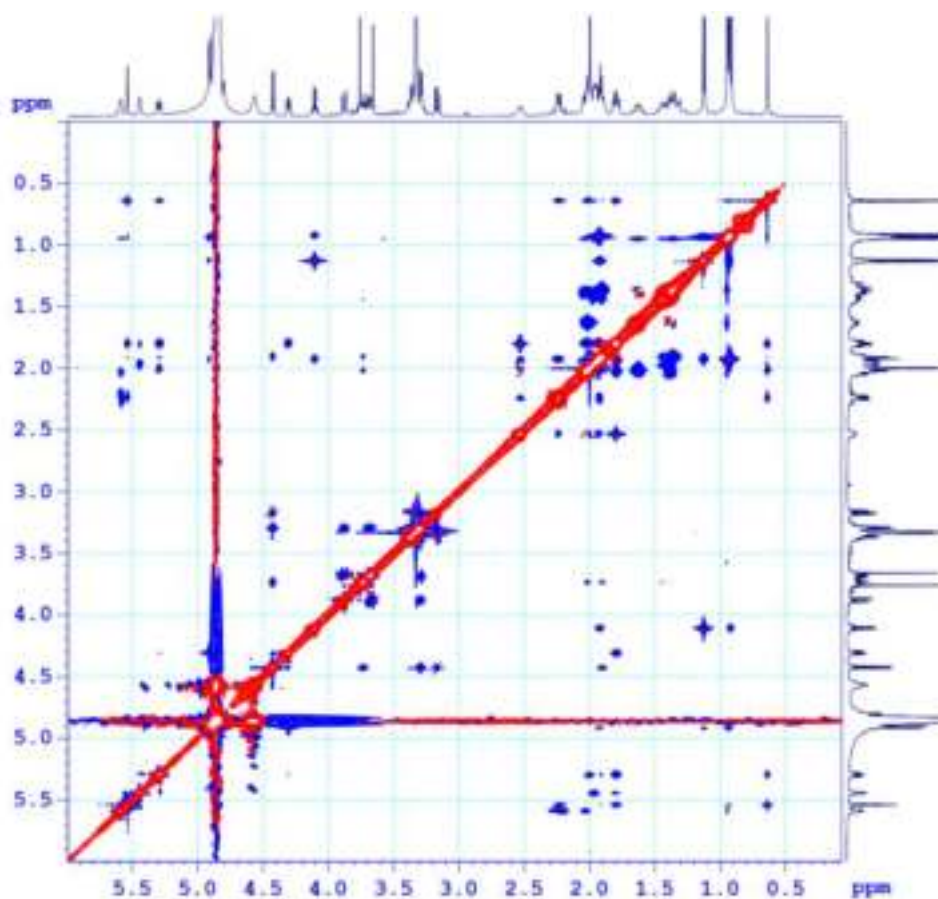


PL100

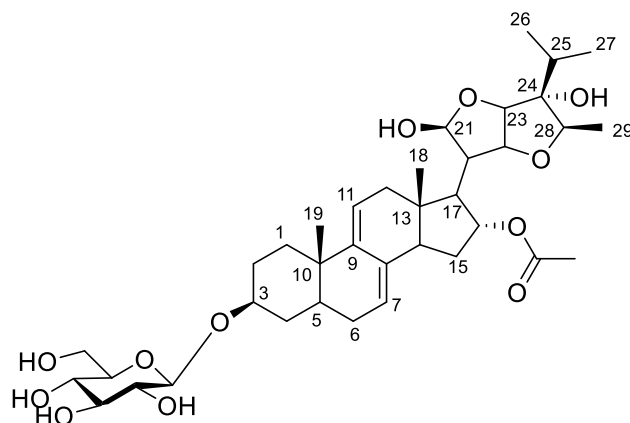
Phổ COSY-NMR của hợp chất VG7



Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG7



XXV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG8



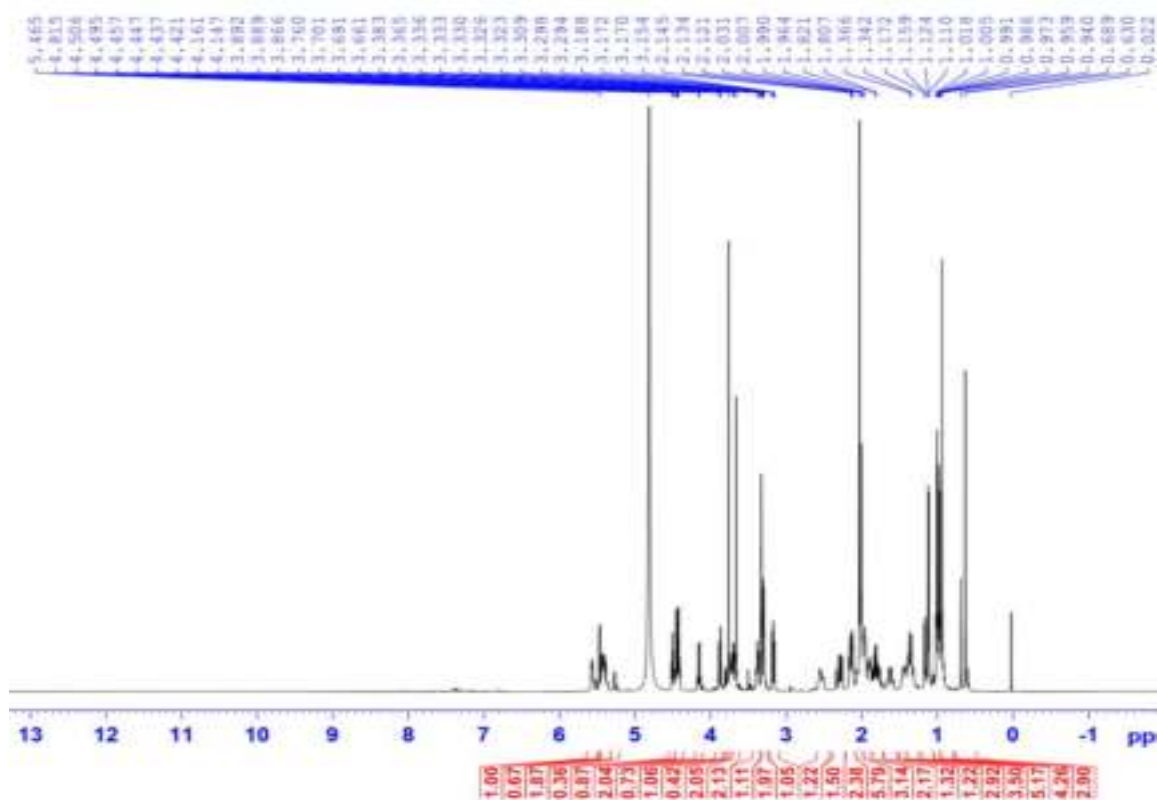
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{37}H_{56}O_{12}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 692,4

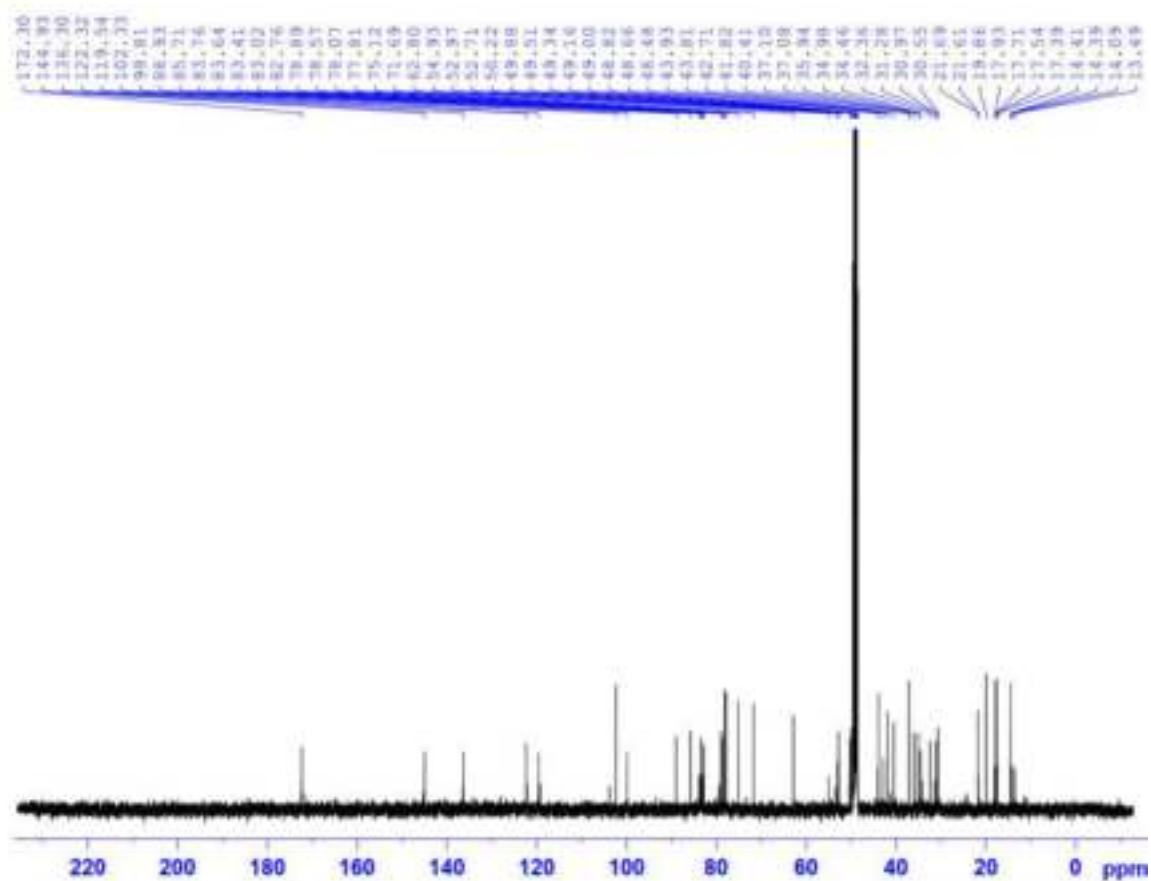
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL102

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG8

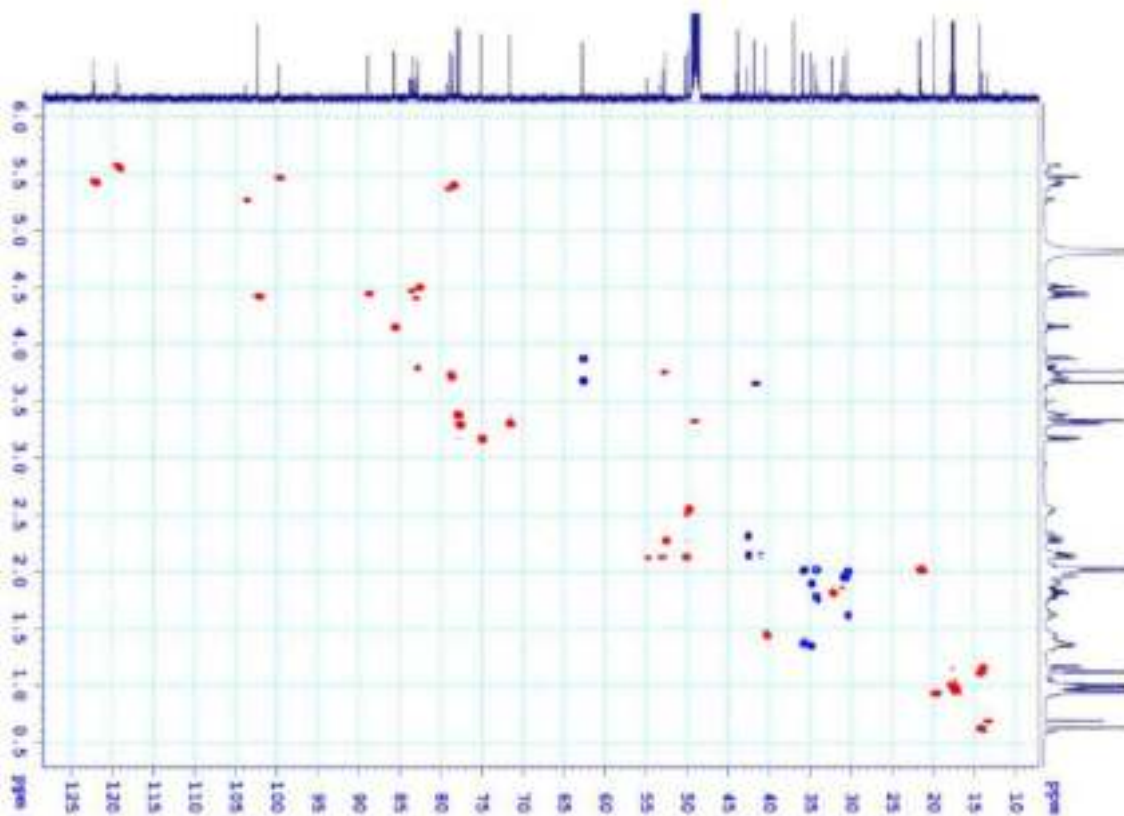


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG8

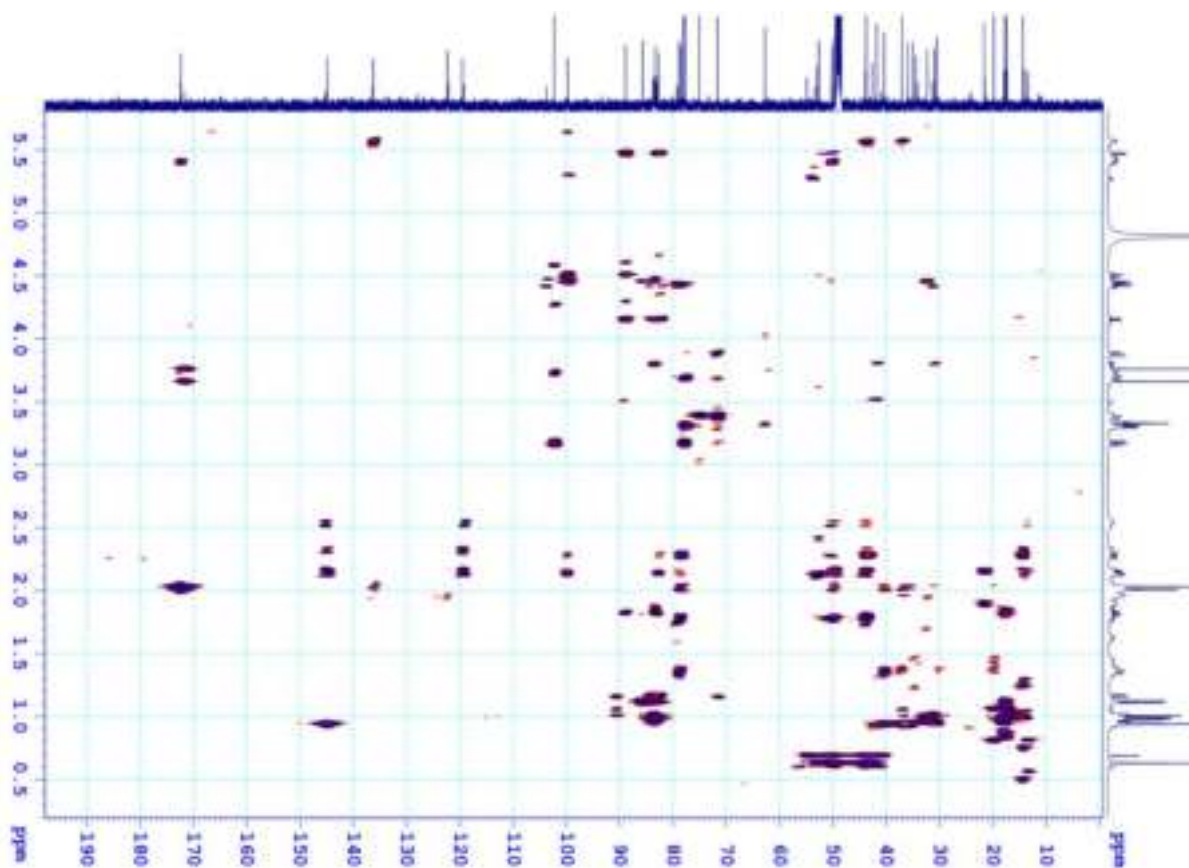


PL103

Phổ HSQC của hợp chất VG8

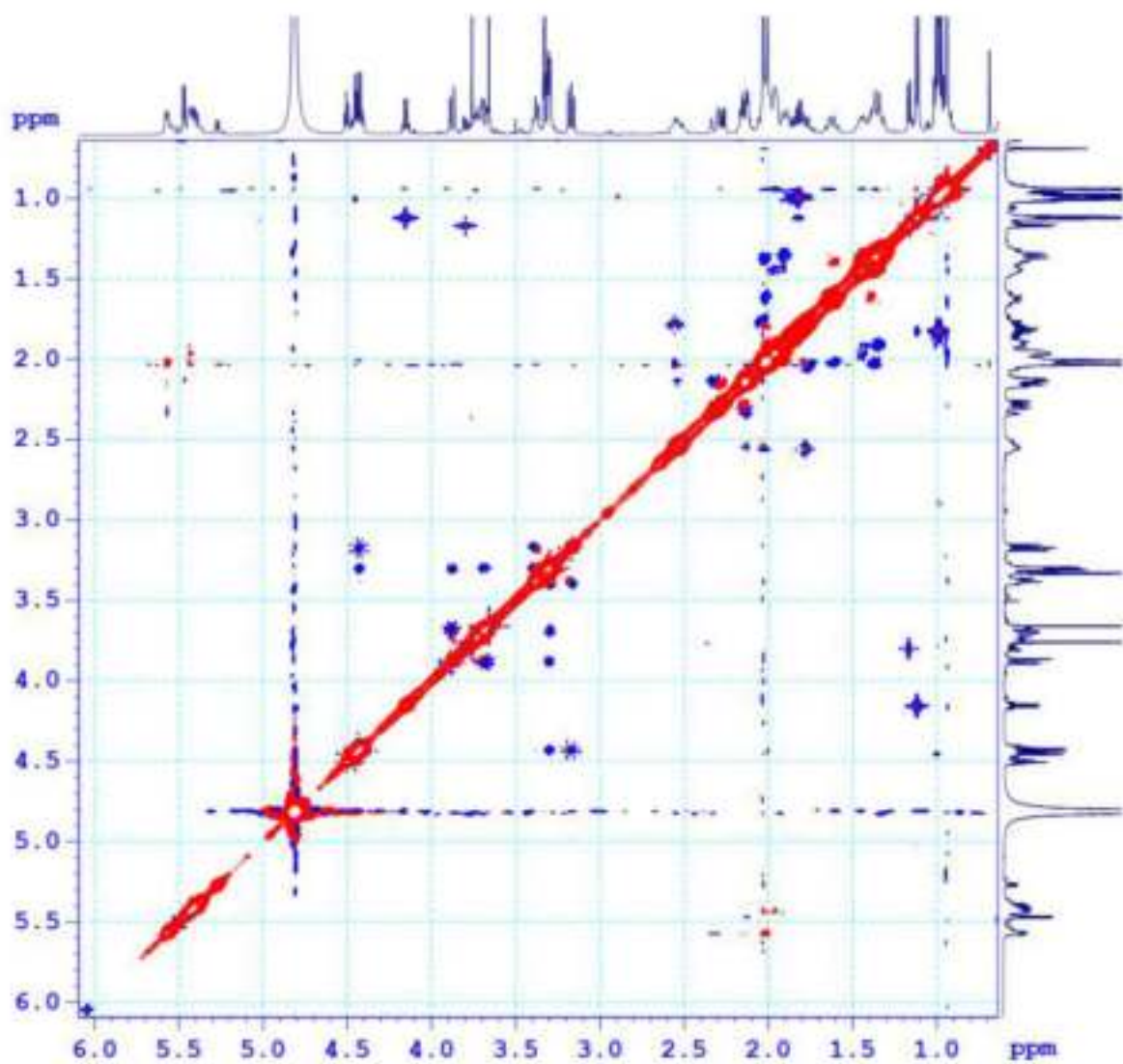


Phổ HMBC của hợp chất VG8

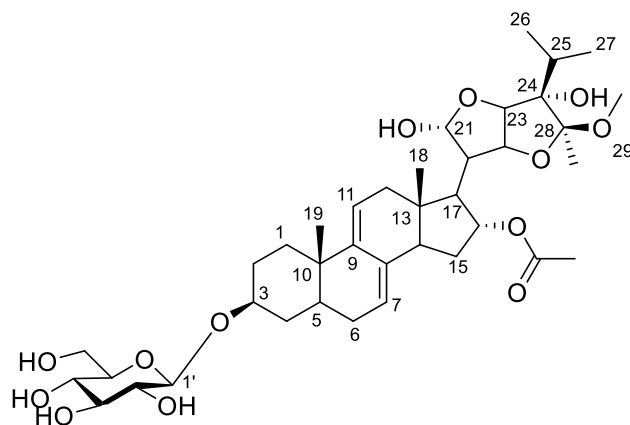


PL104

Phổ NOESY của hợp chất VG8



XXVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG9



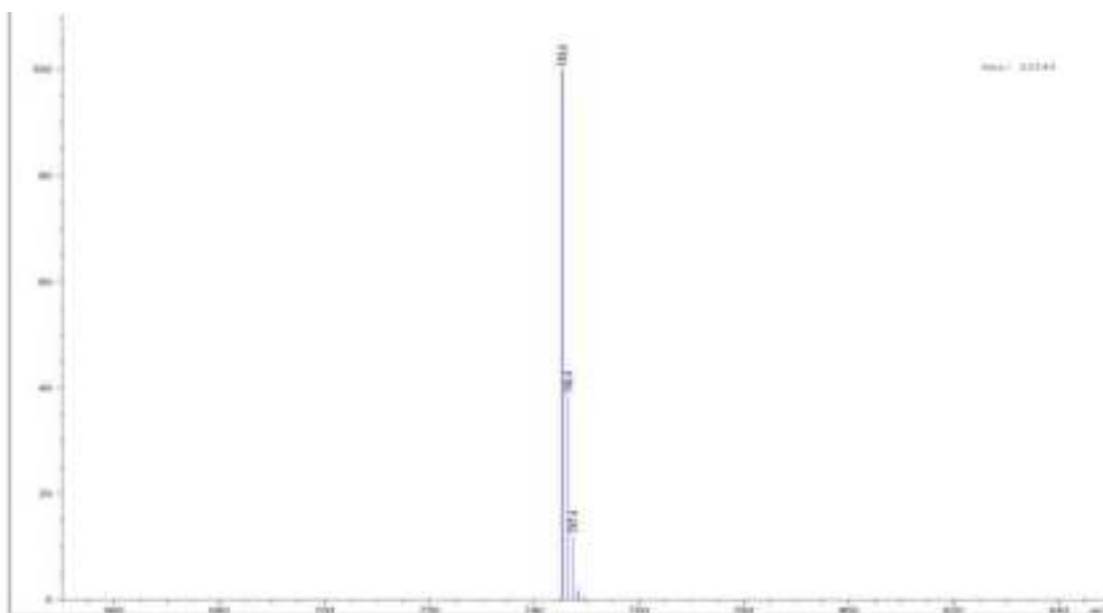
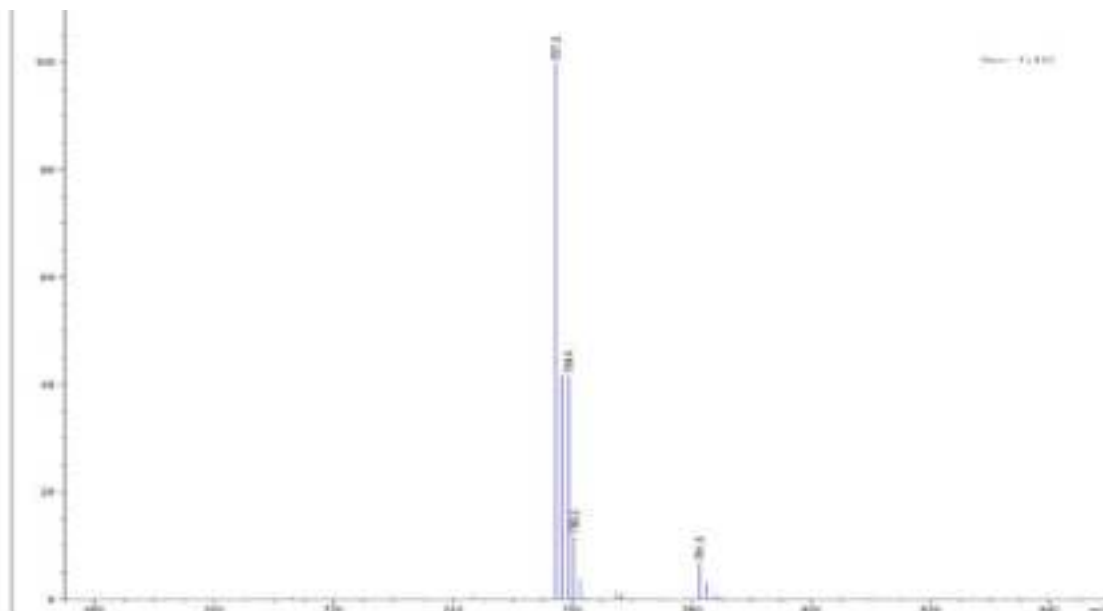
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{38}H_{58}O_{13}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 722,4

- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

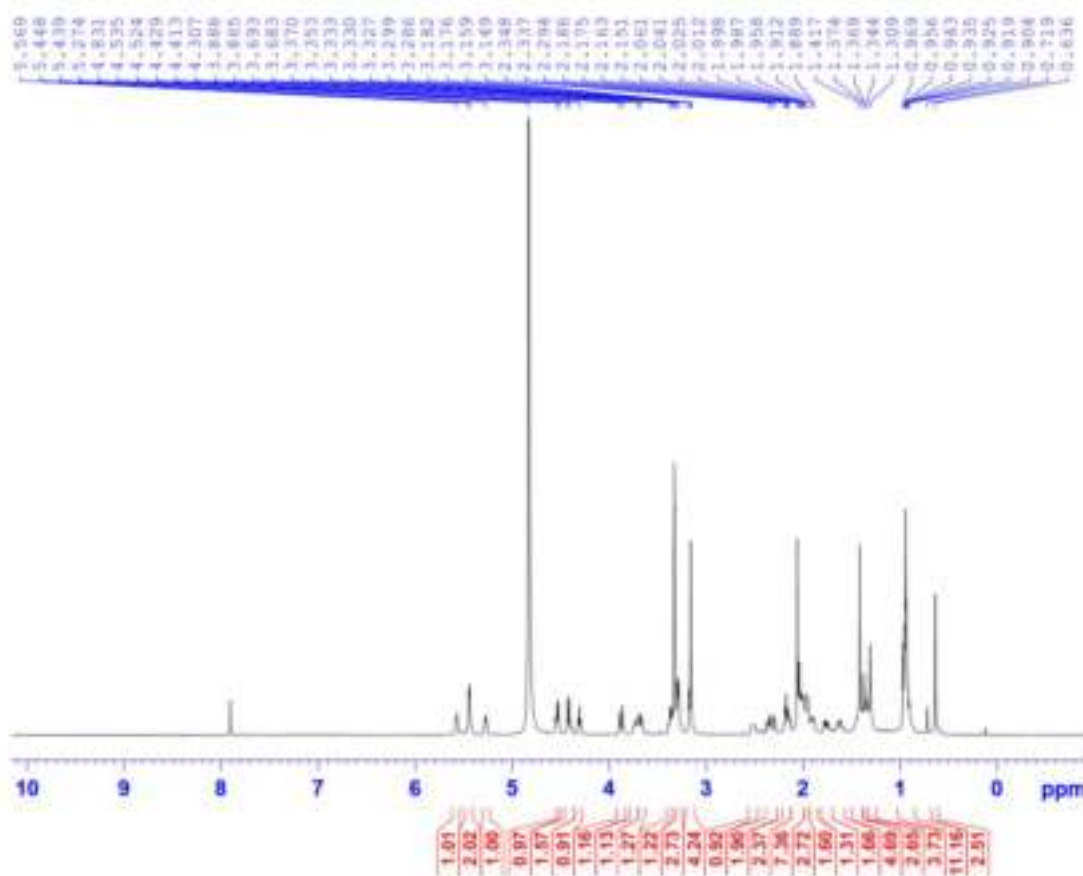
PL106

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG9

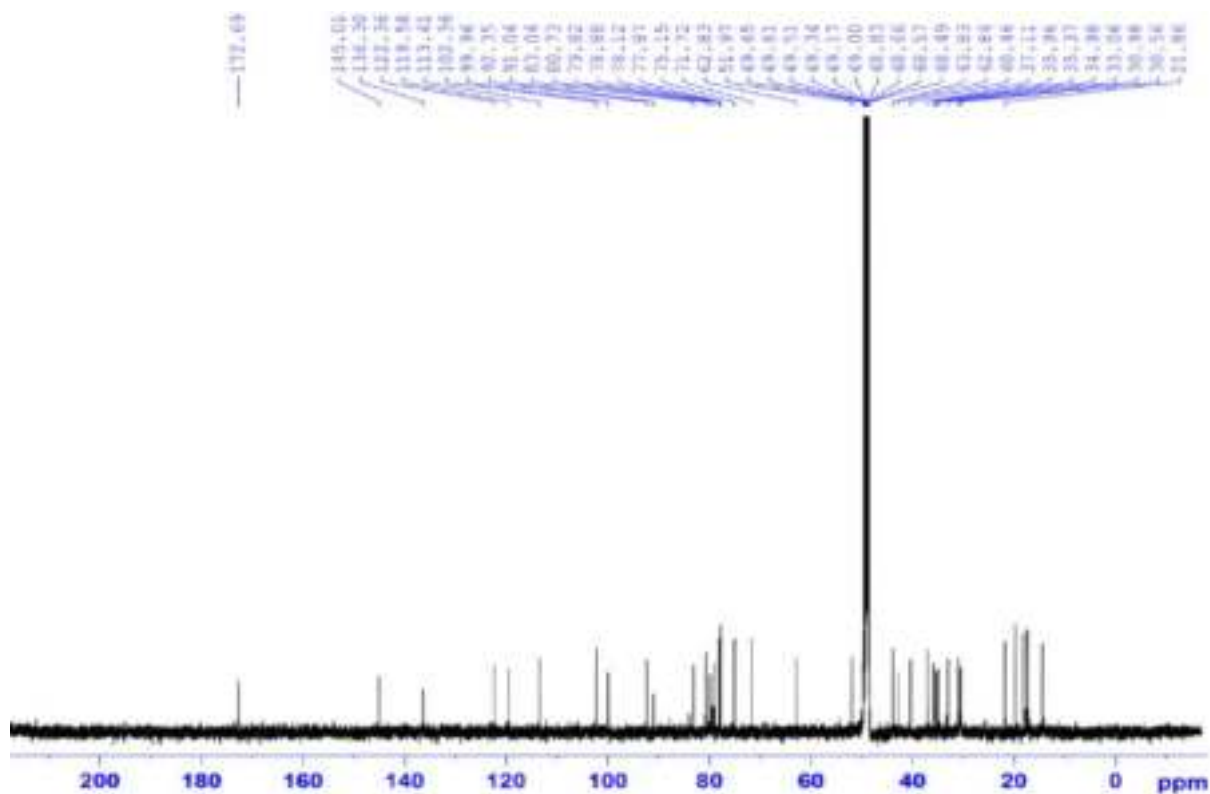


PL107

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG9

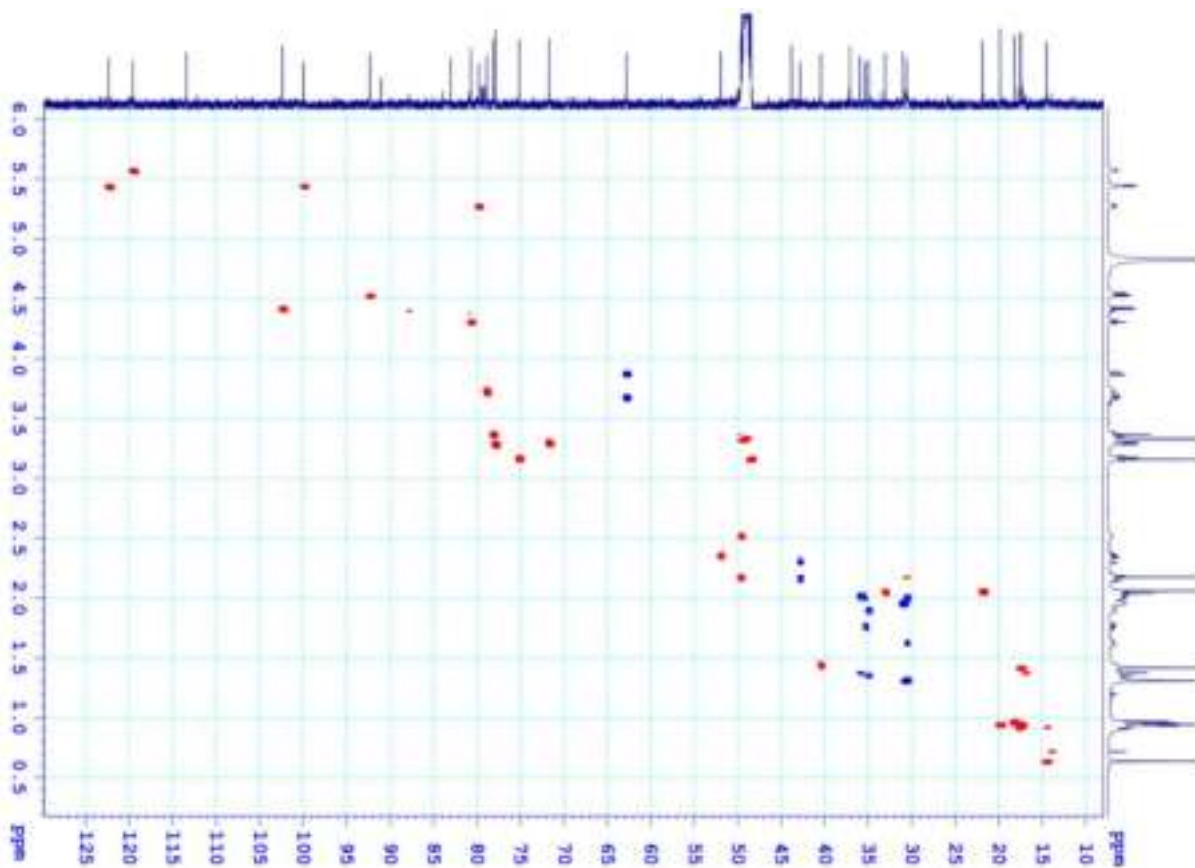


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG9

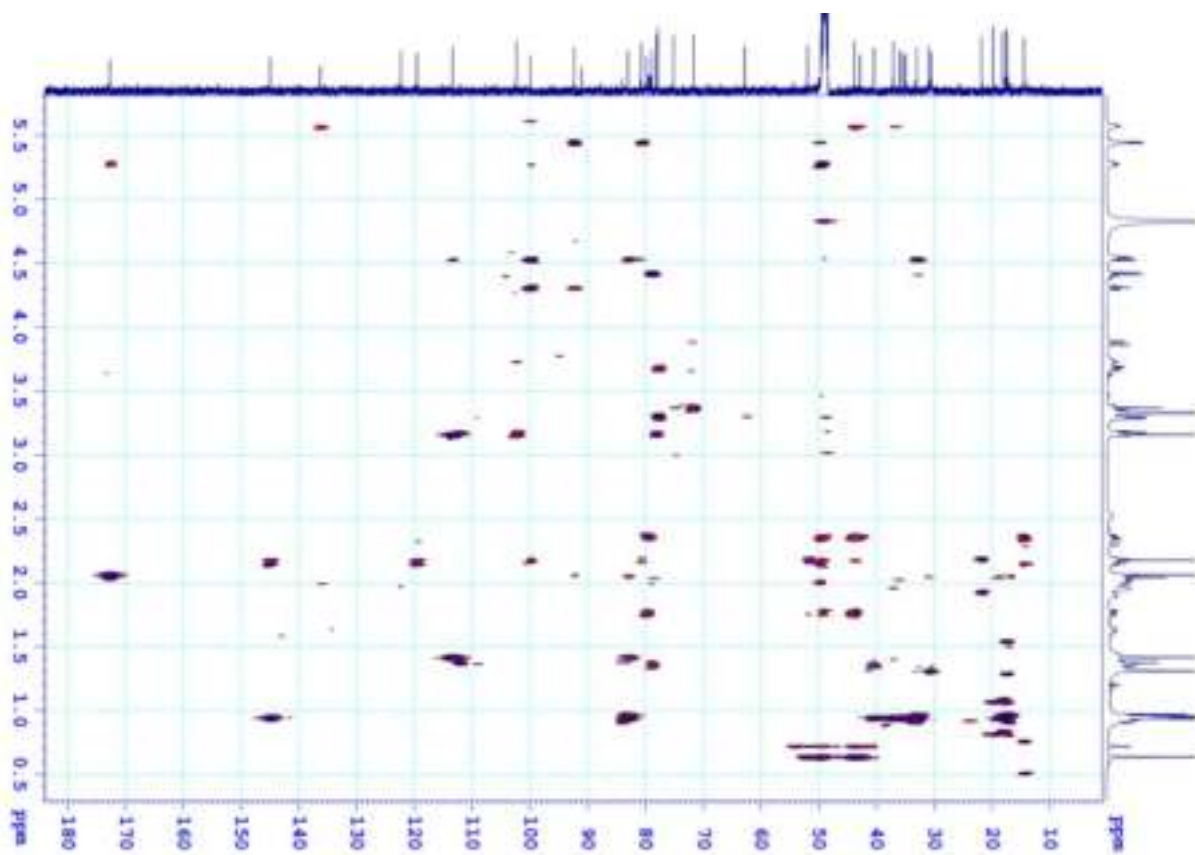


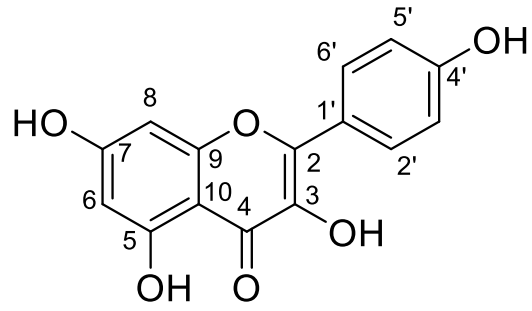
PL108

Phổ HSQC của hợp chất VG9



Phổ HMBC của hợp chất VG9



XXVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG10

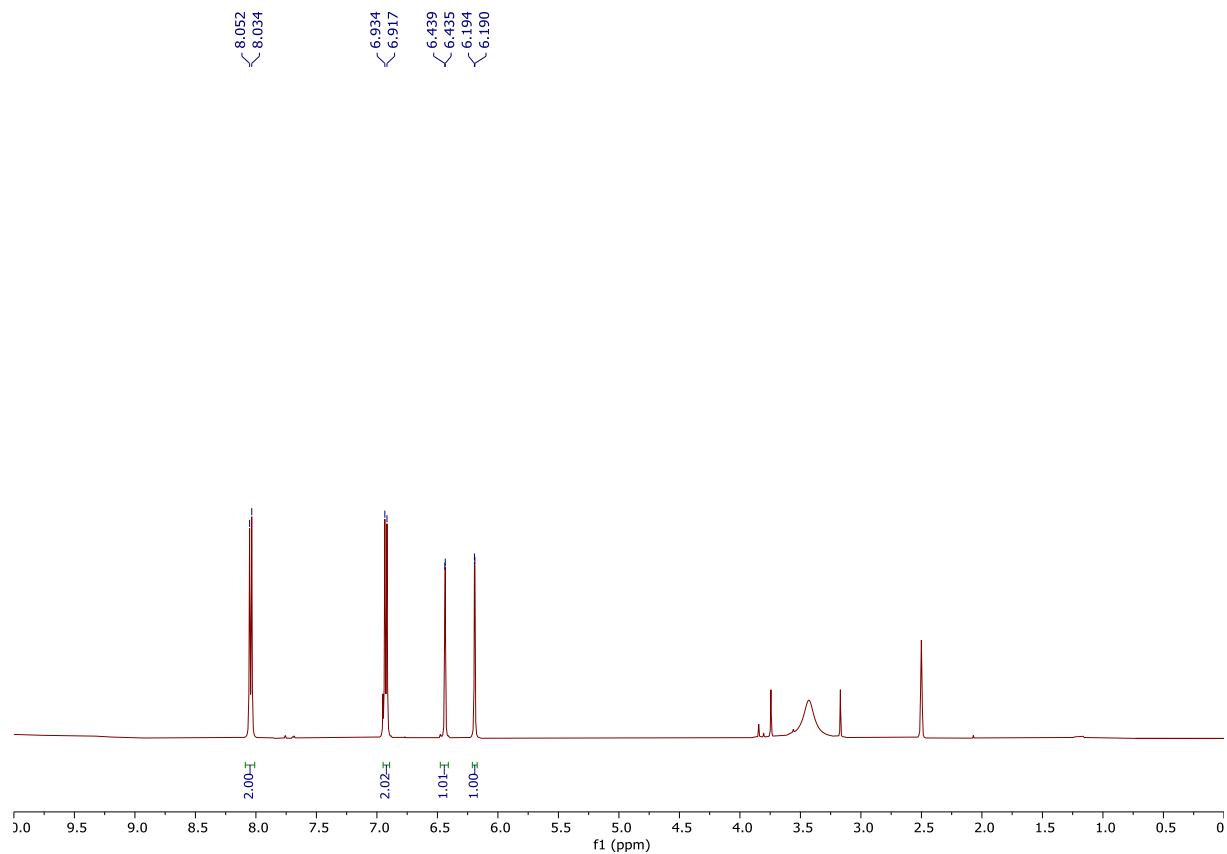
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{15}H_{10}O_6$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 286,1

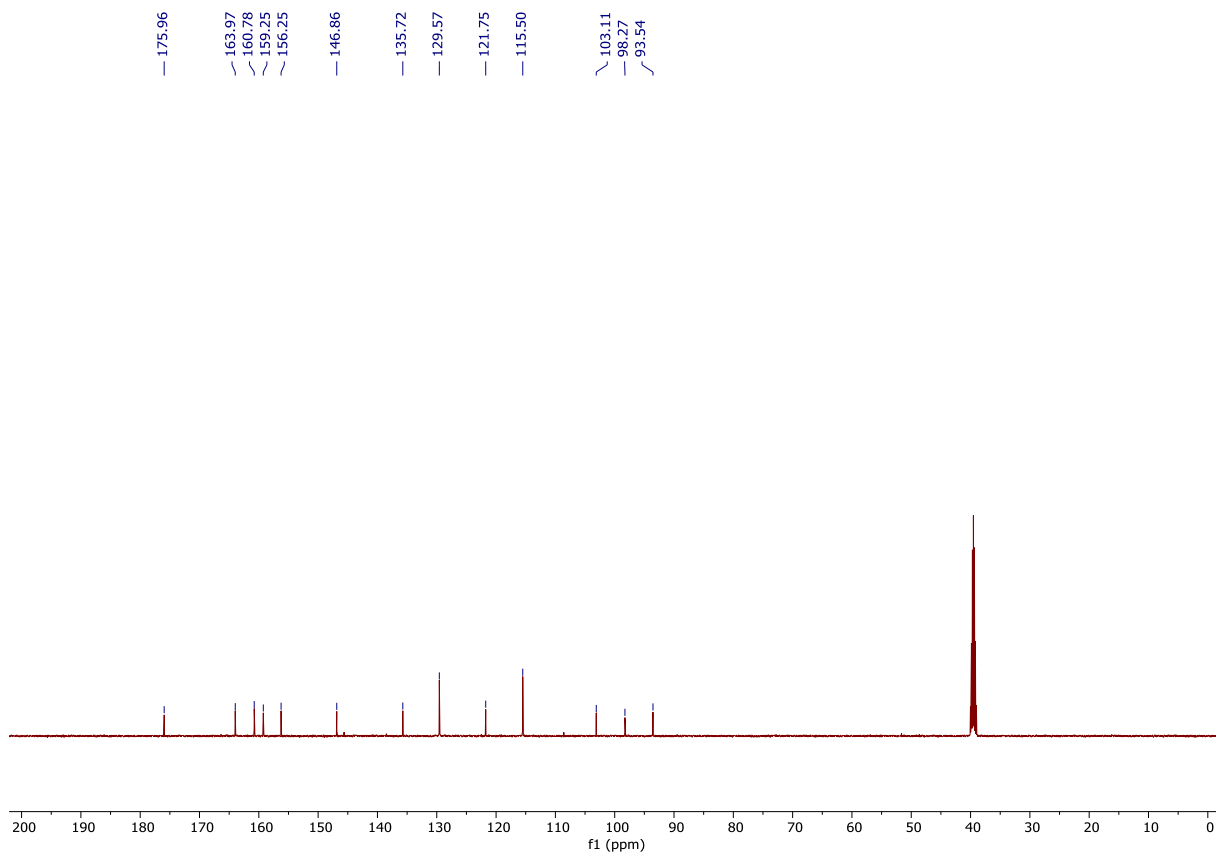
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR

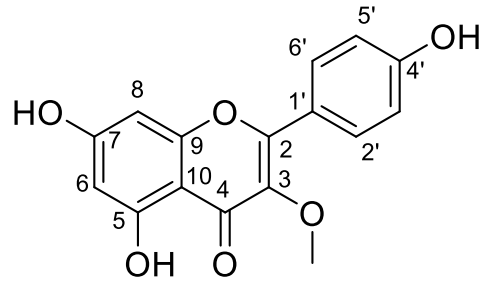
PL110

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG10



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG10



XXVIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG11

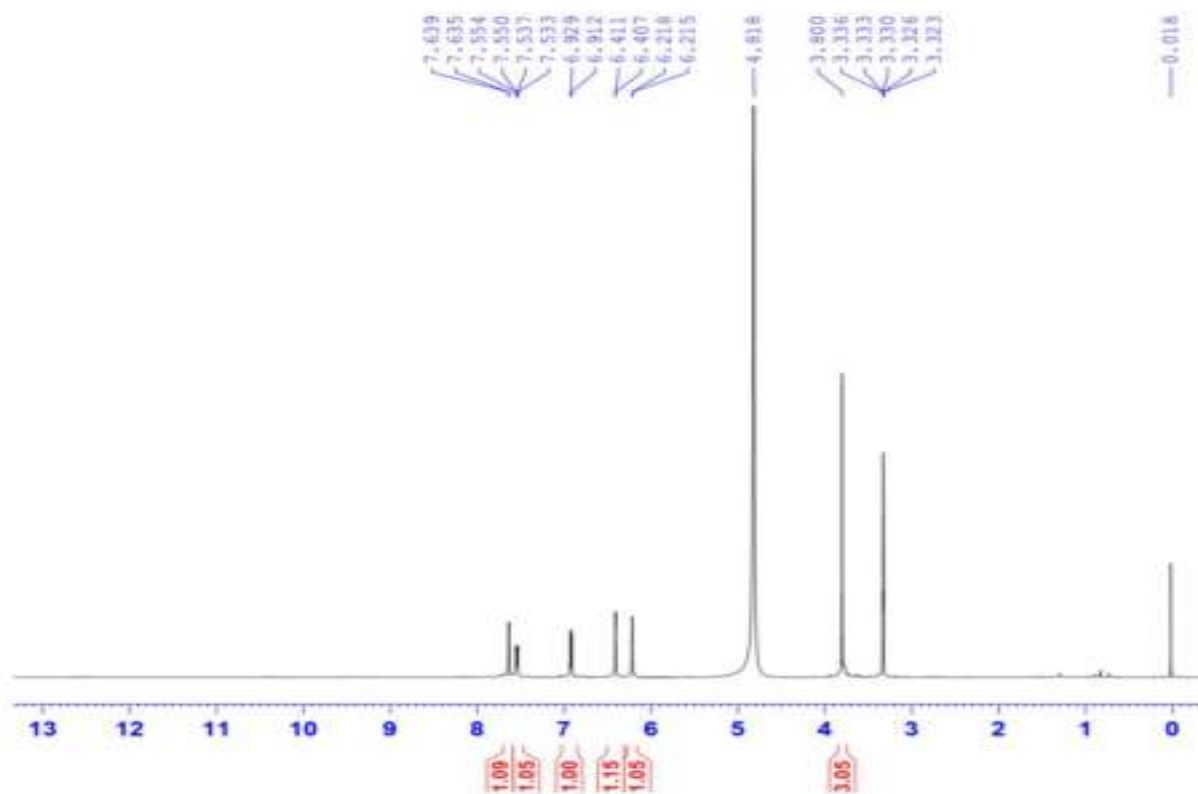
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{16}H_{22}O_6$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 300,1

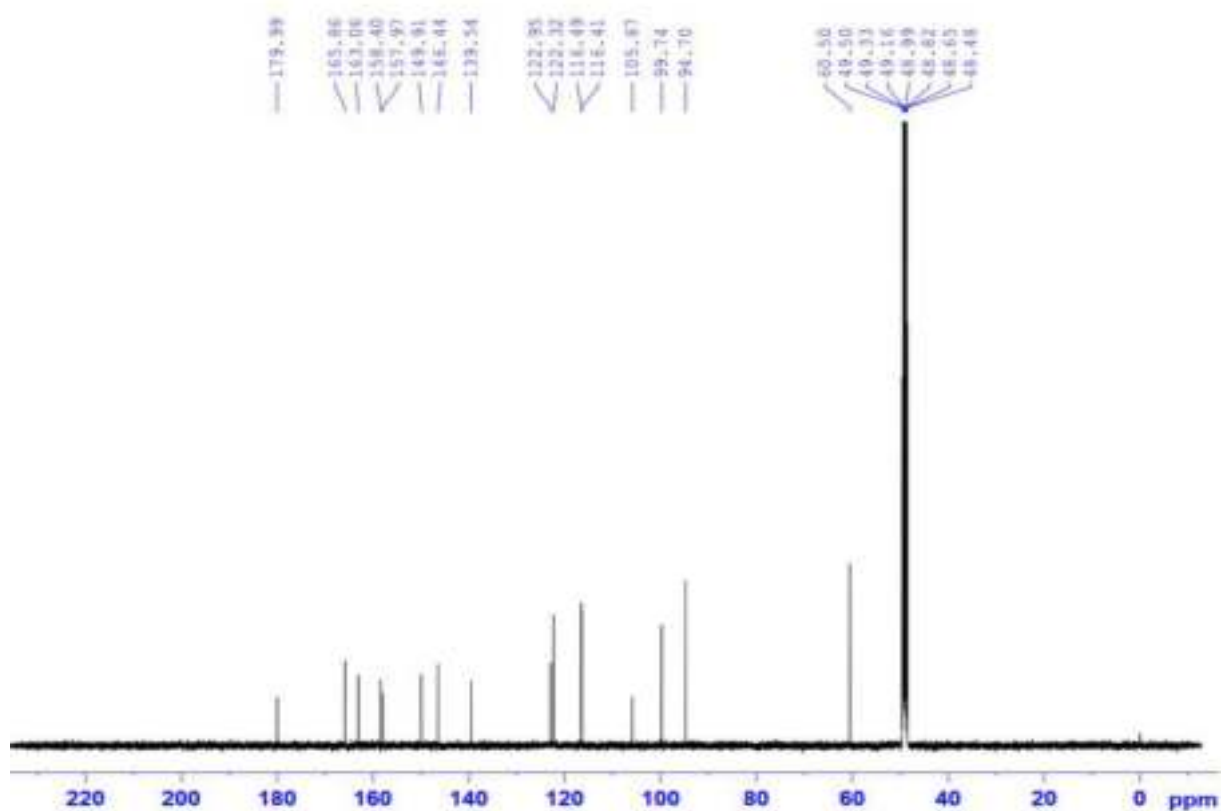
- Phổ $^1\text{H-NMR}$
- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL112

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG11

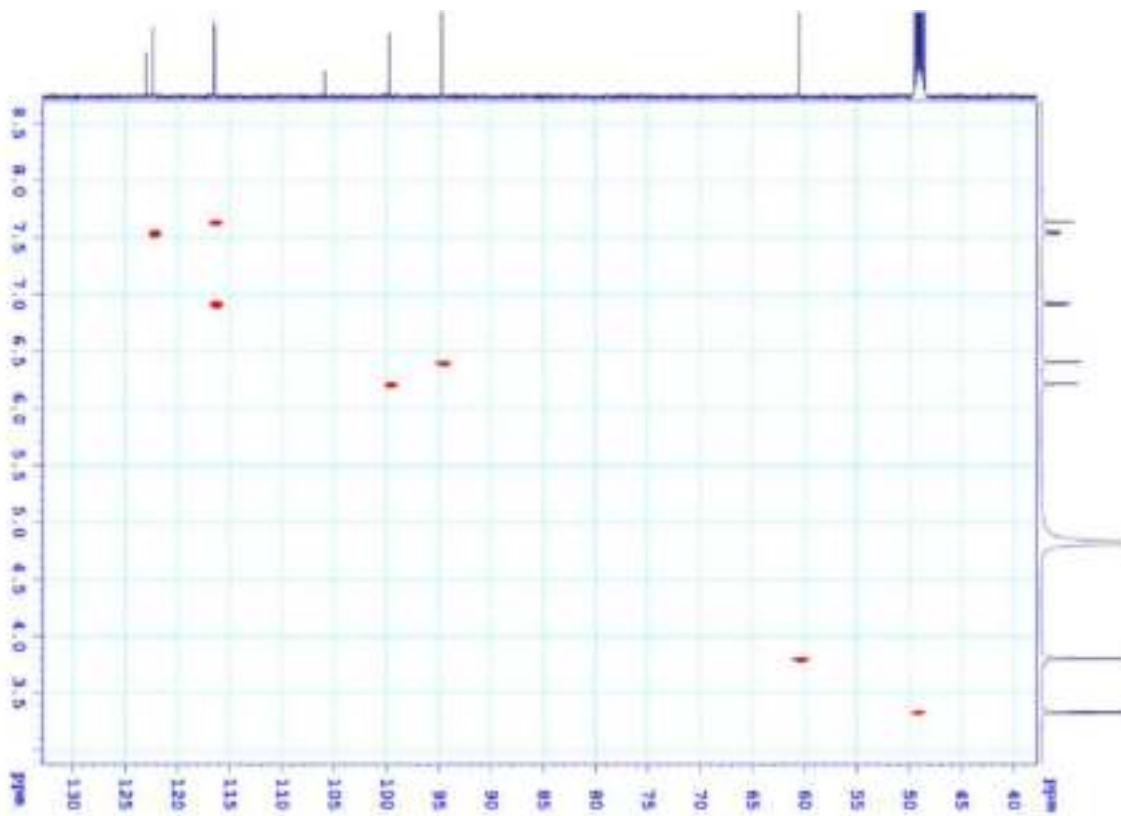


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG11

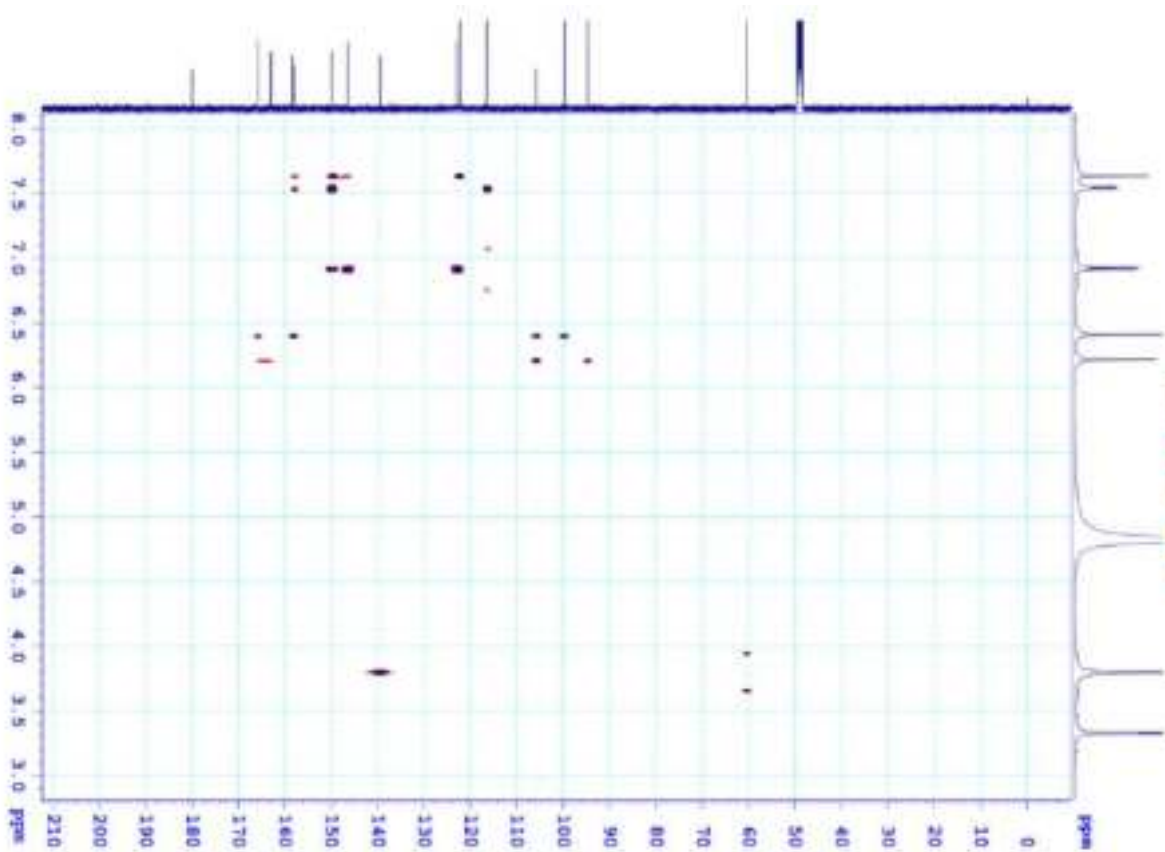


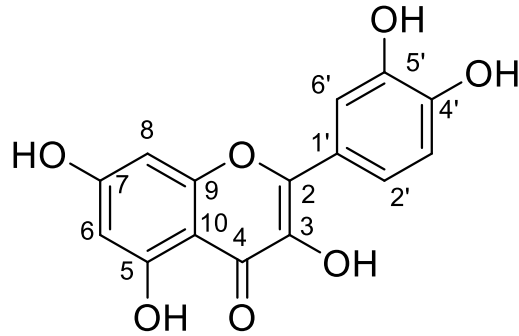
PL113

Phổ HSQC của hợp chất VG11



Phổ HMBC của hợp chất VG11



XXIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG12

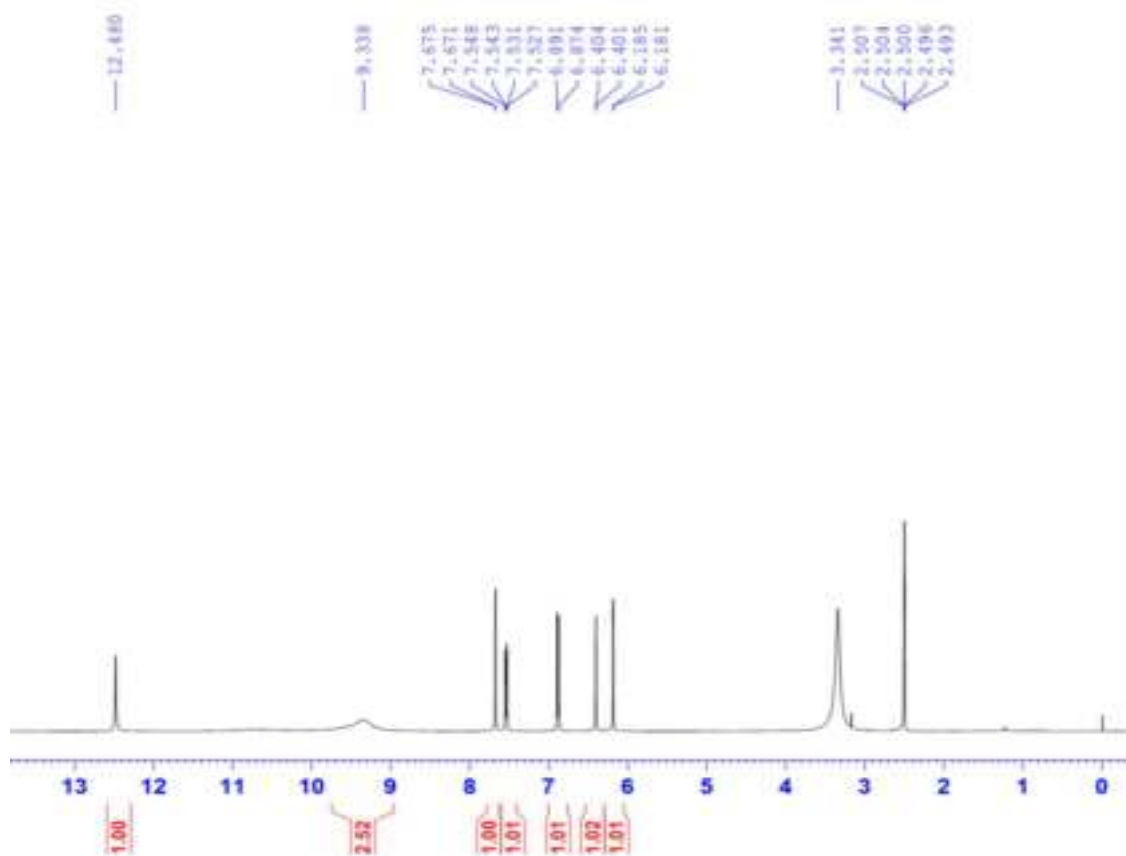
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{15}H_{10}O_7$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 302,0

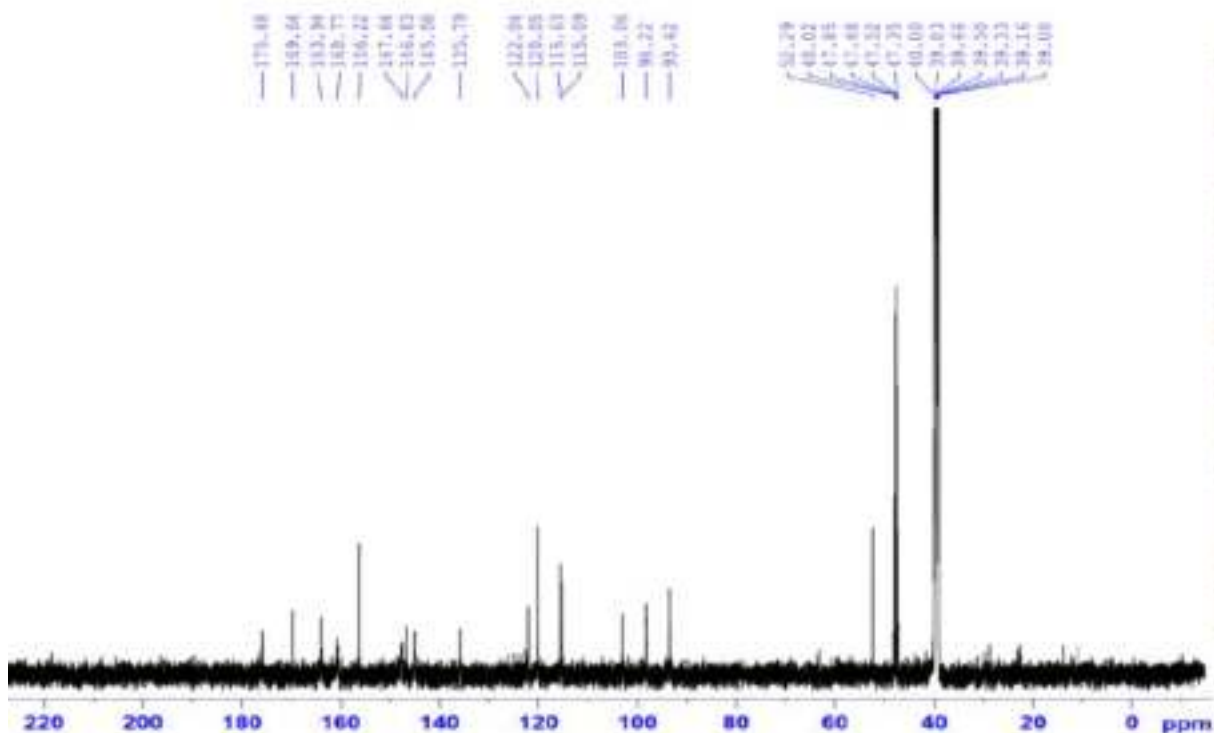
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR

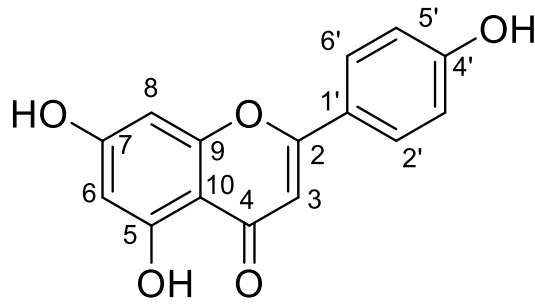
PL115

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG12



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG12



XXX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG13

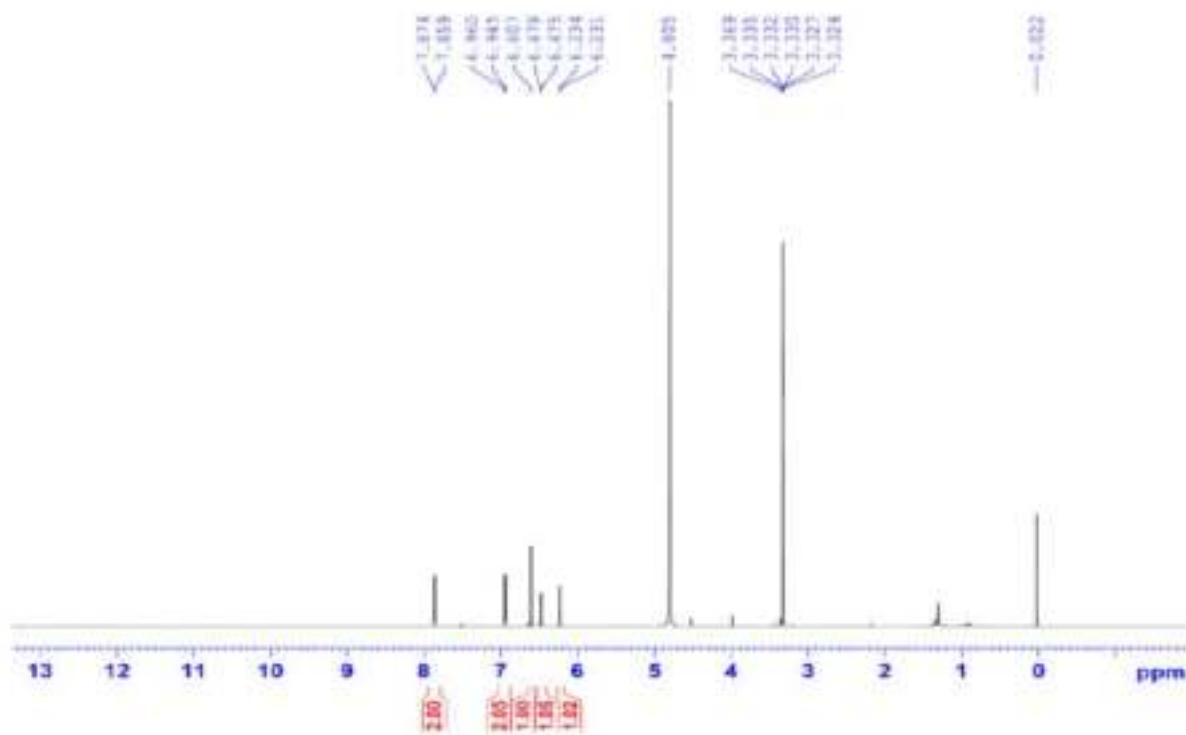
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{15}H_{10}O_5$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 270,1

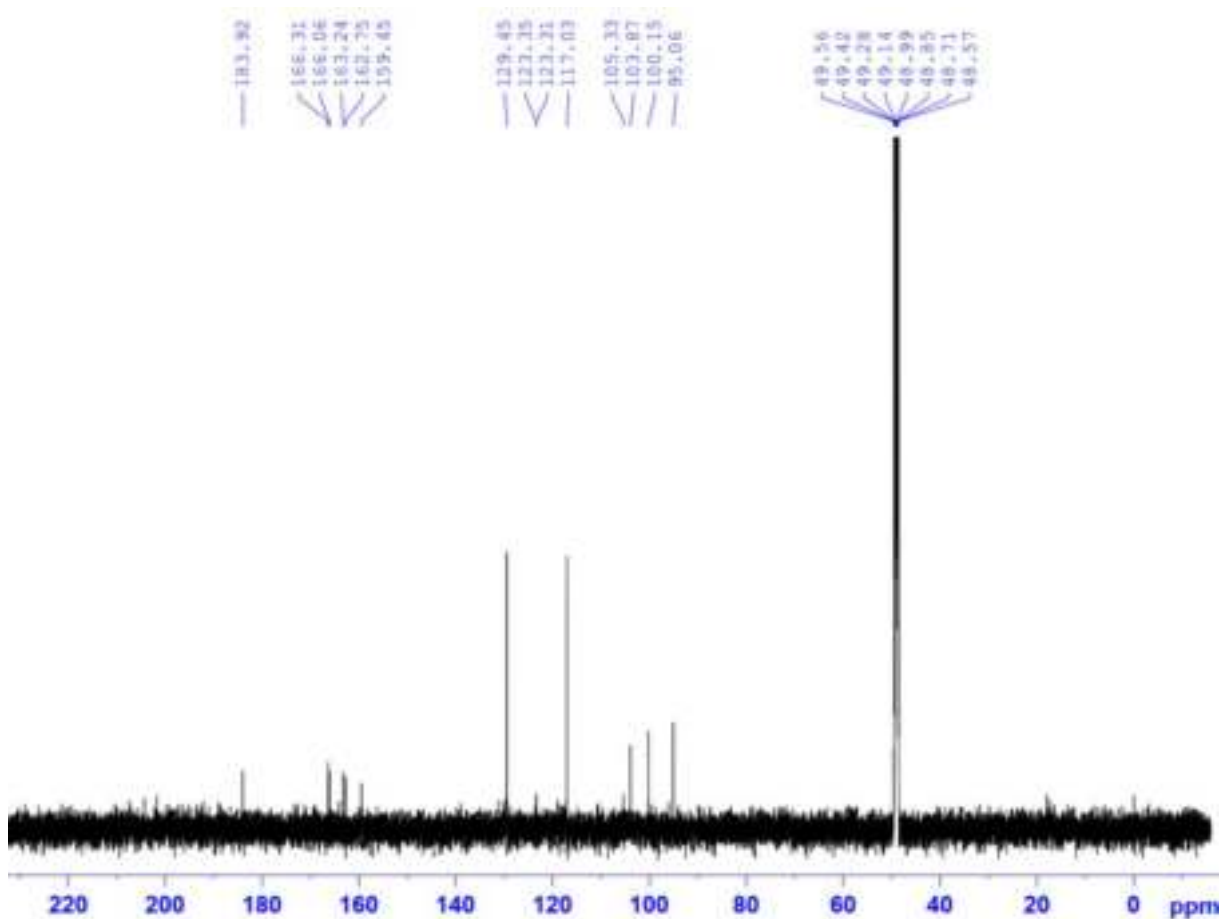
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR

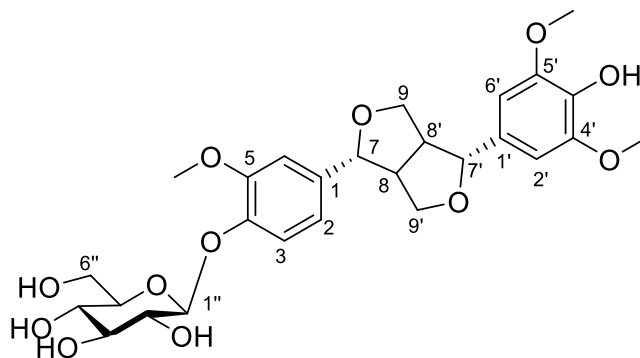
PL117

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG13



Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG13



XXXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG14

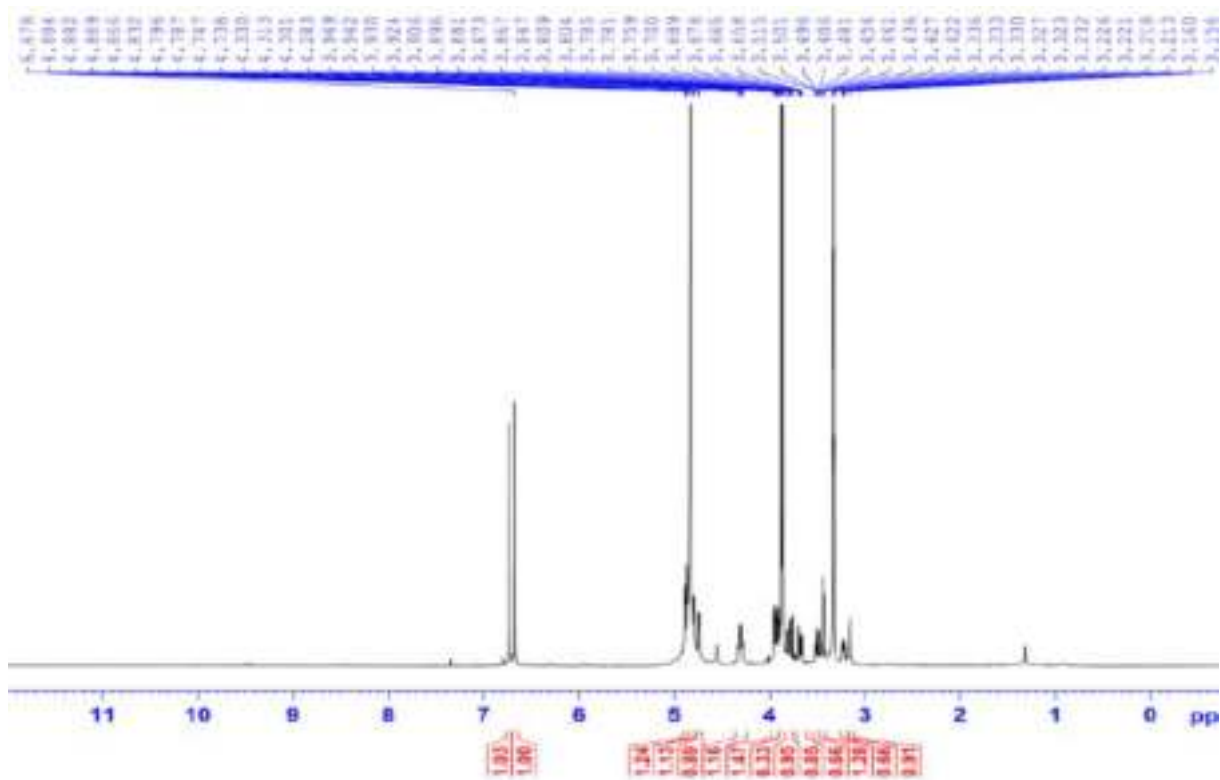
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{27}H_{34}O_{12}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 550,2

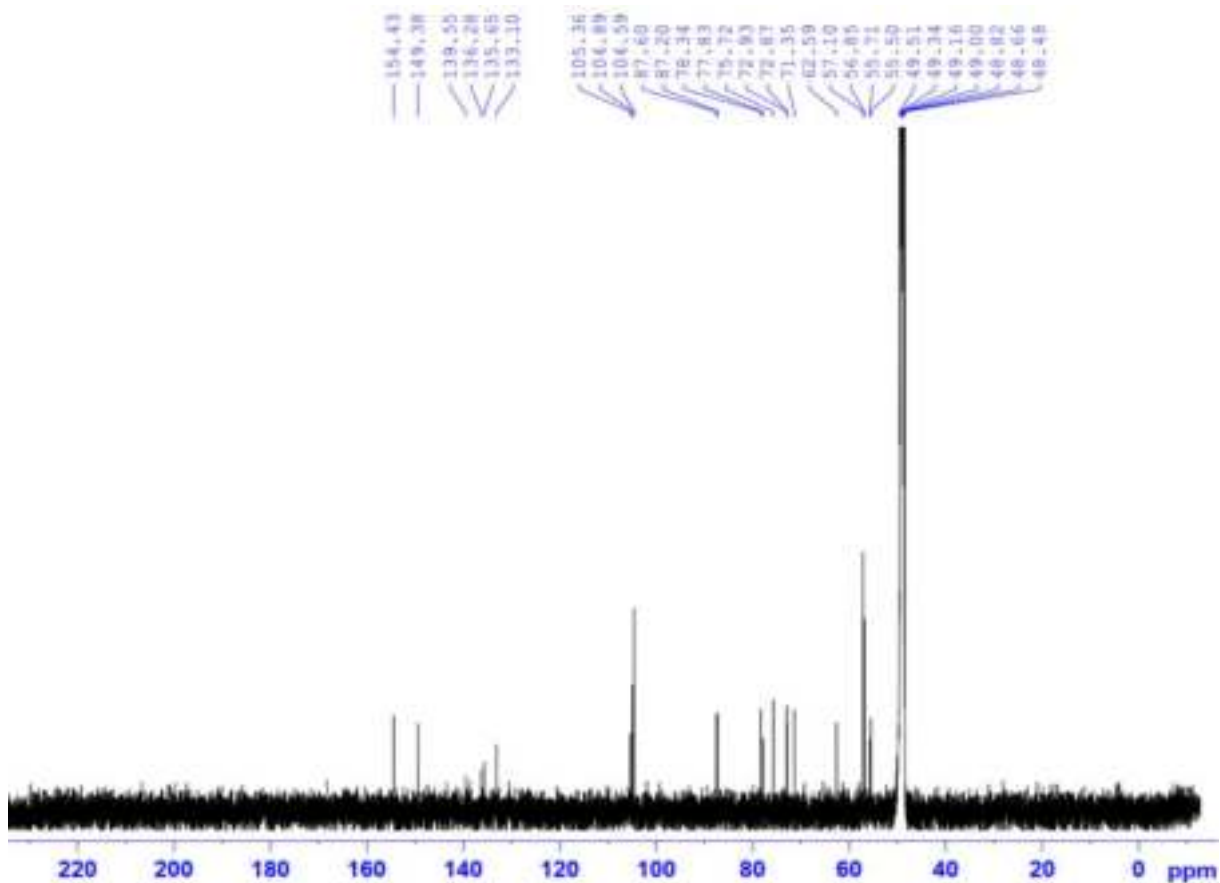
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL119

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG14

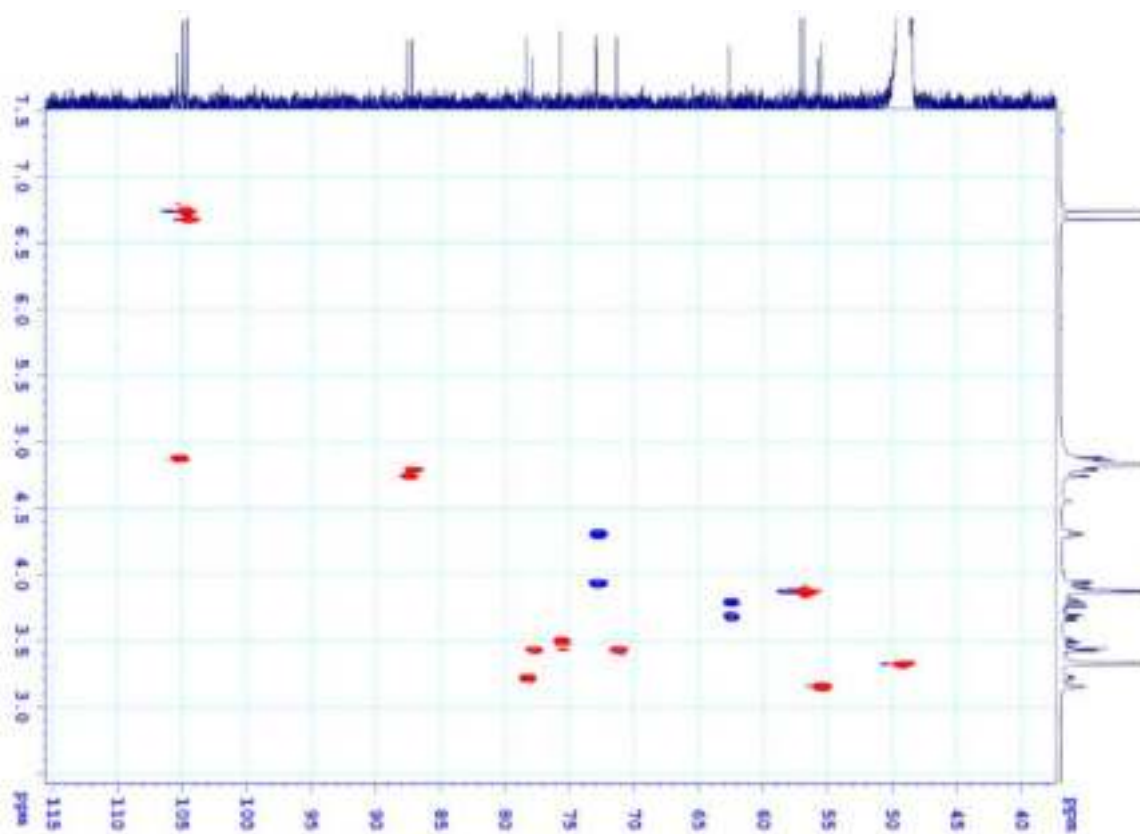


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG14

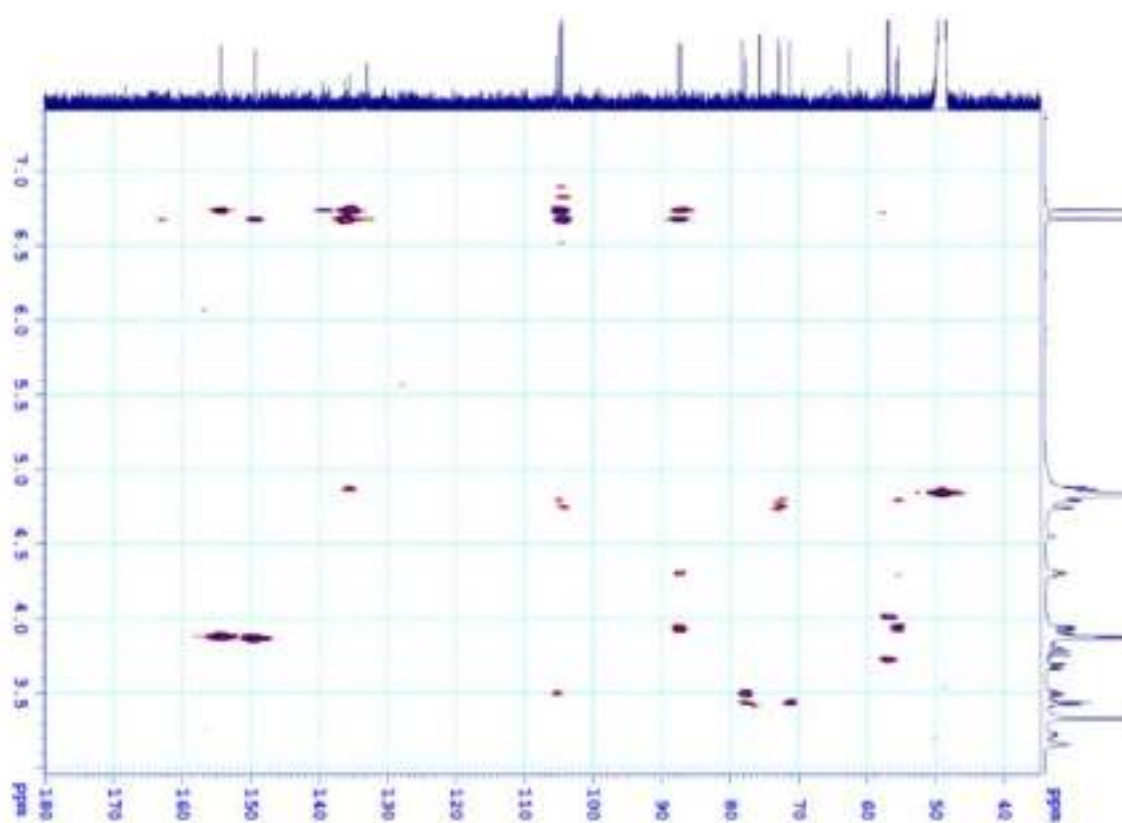


PL120

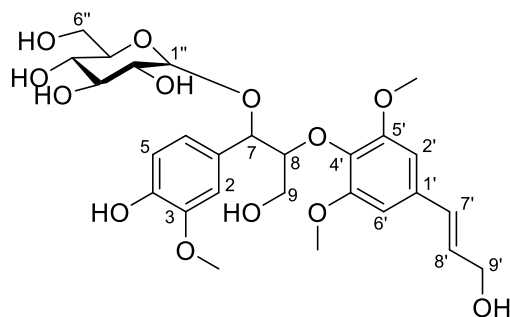
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG14



Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG14



XXXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG15



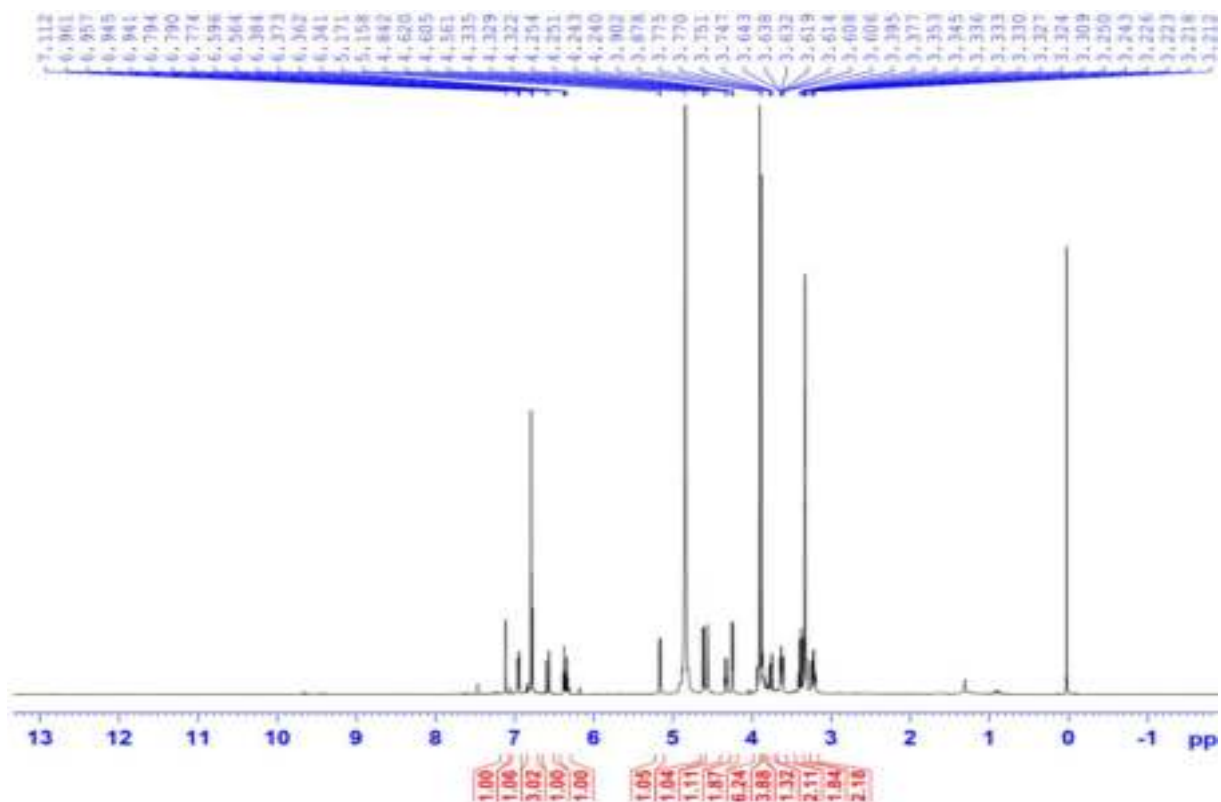
CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{27}H_{36}O_{13}$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 568,2

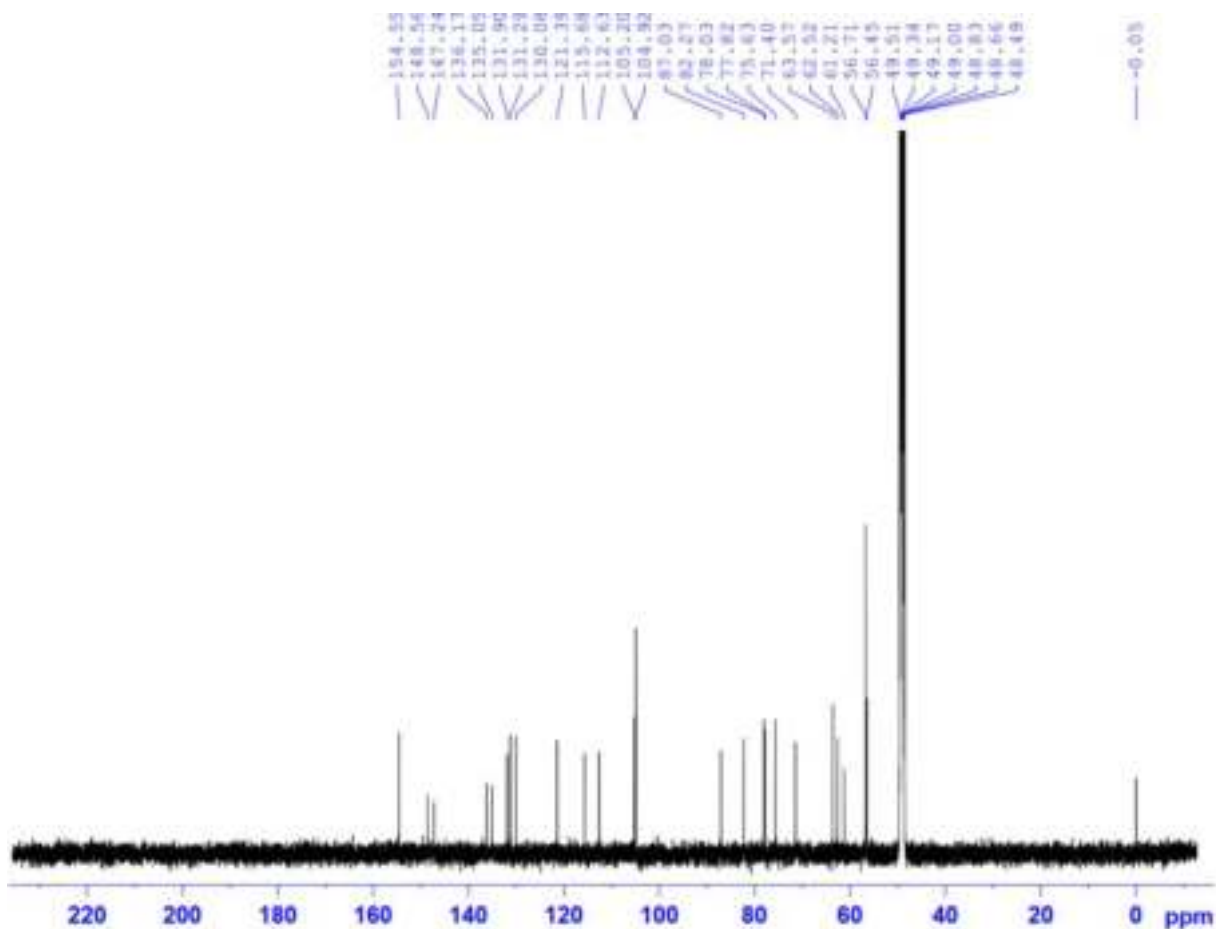
- Phổ $^1\text{H-NMR}$
- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL122

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG15

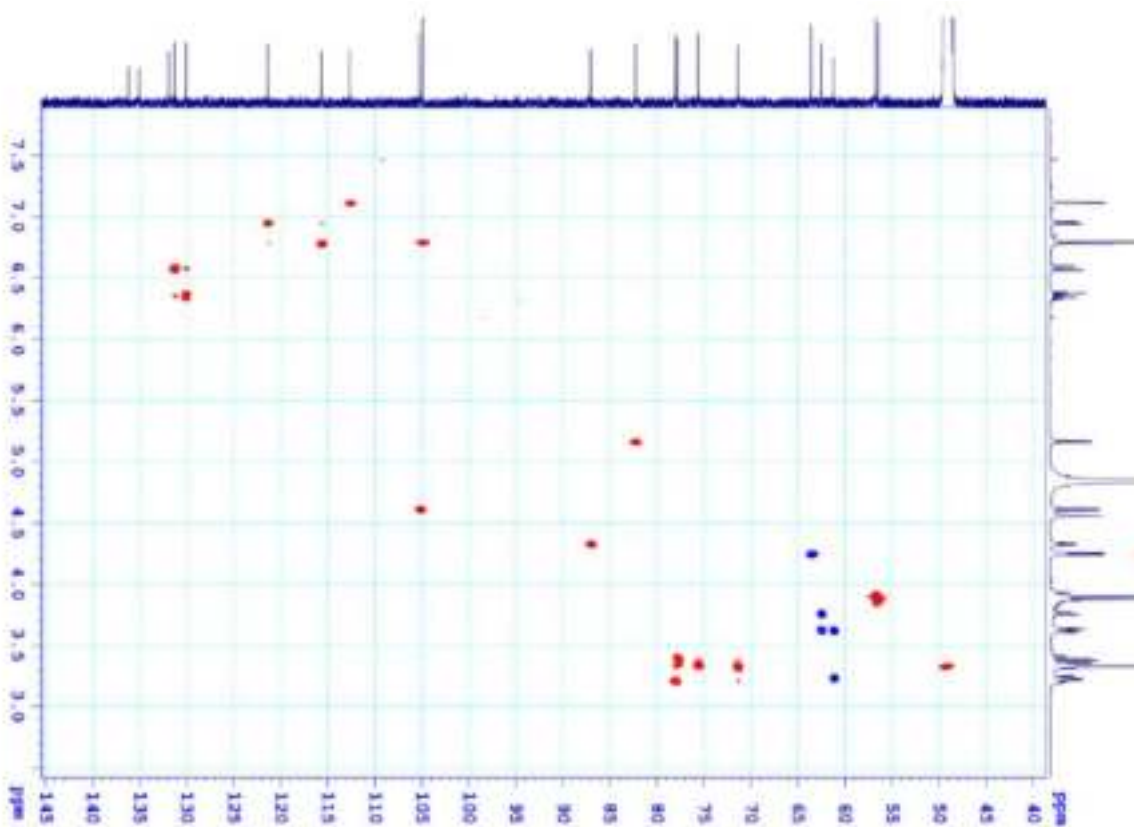


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG15

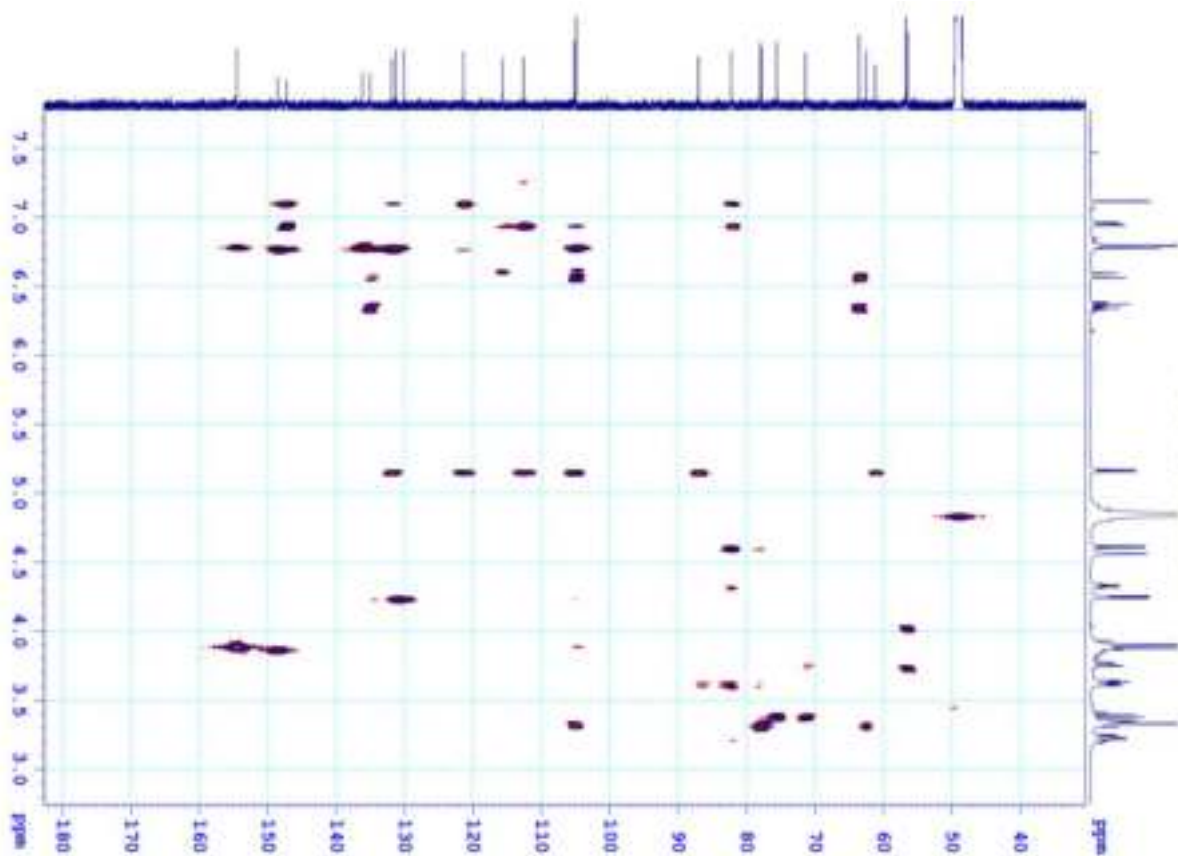


PL123

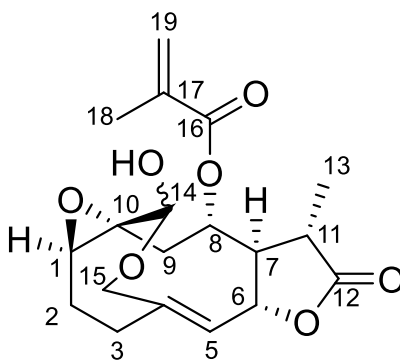
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG15



Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG15



XXXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG16

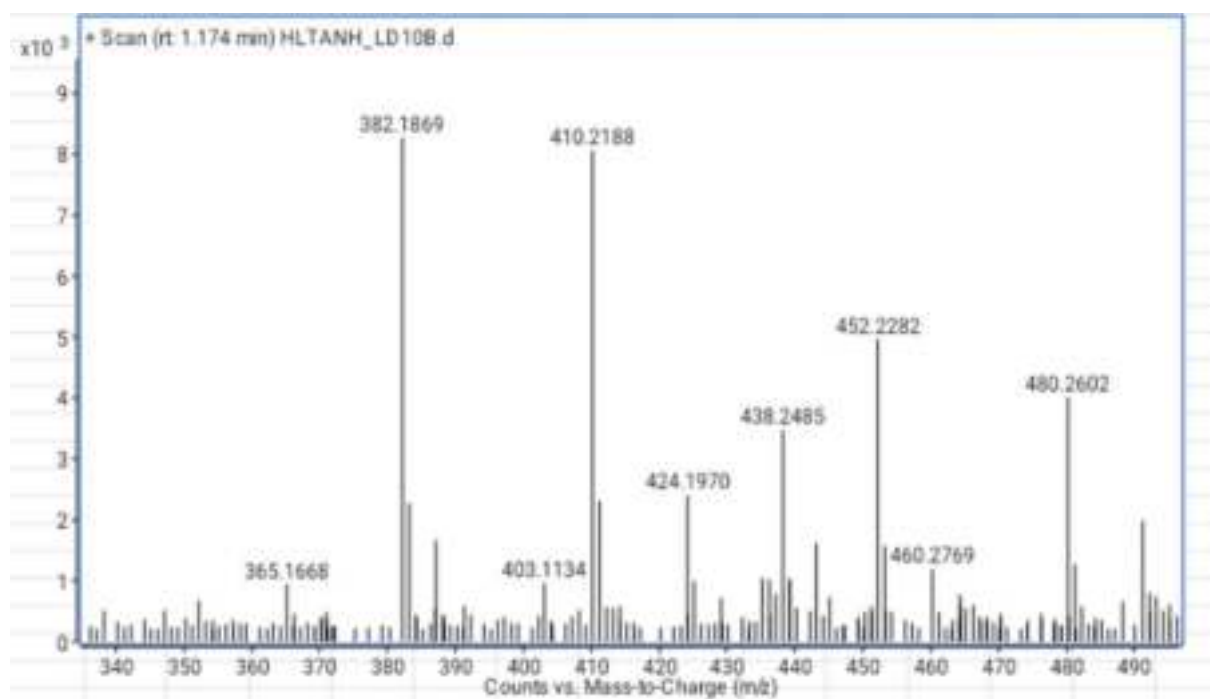


CÔNG THỨC PHÂN TỬ: $C_{19}H_{24}O_7$.

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 364,2

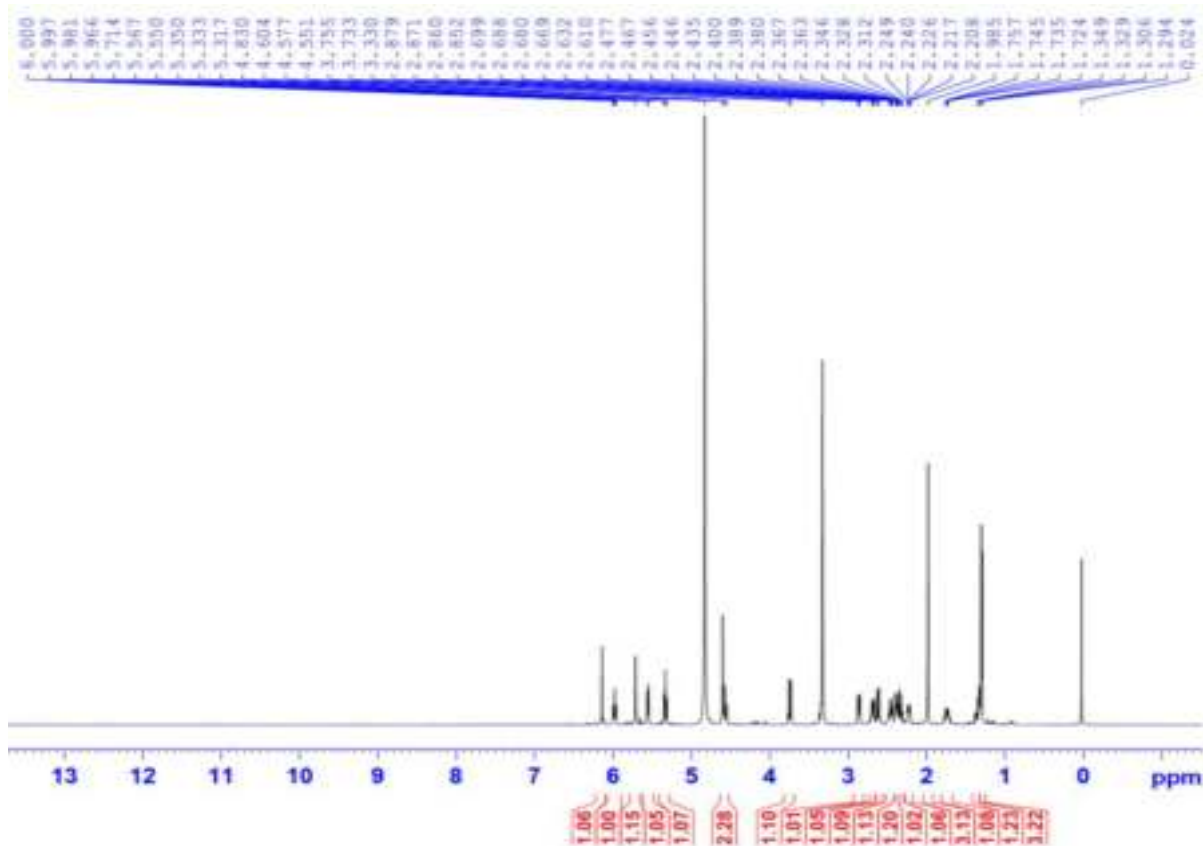
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ 1H -NMR
- Phổ ^{13}C -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG16

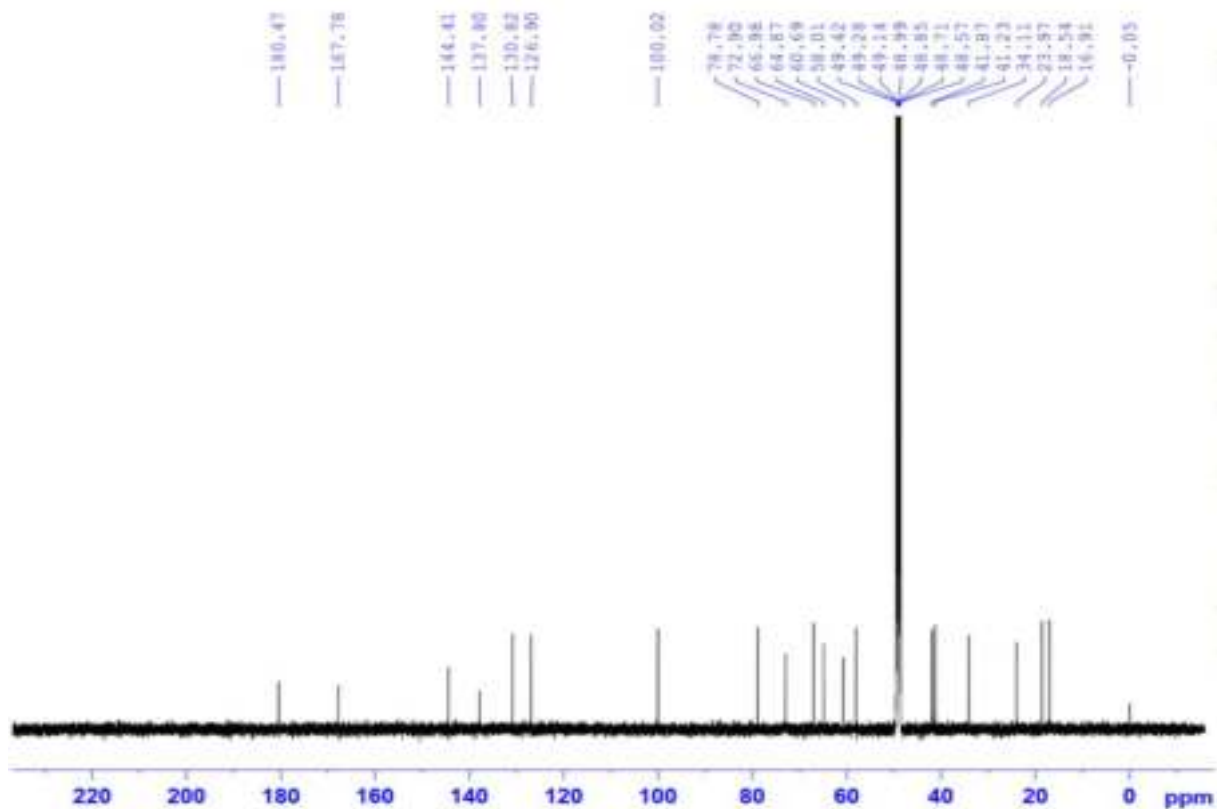


PL125

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG16

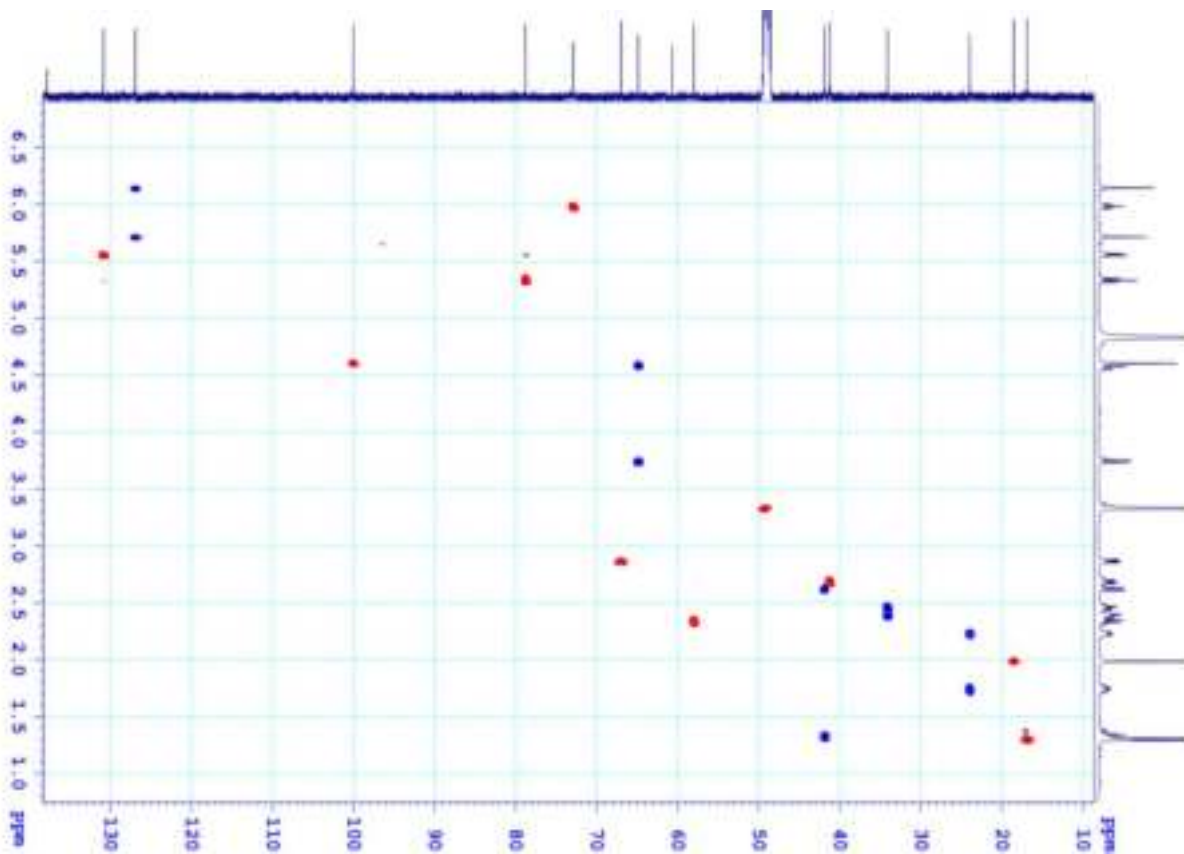


Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG16

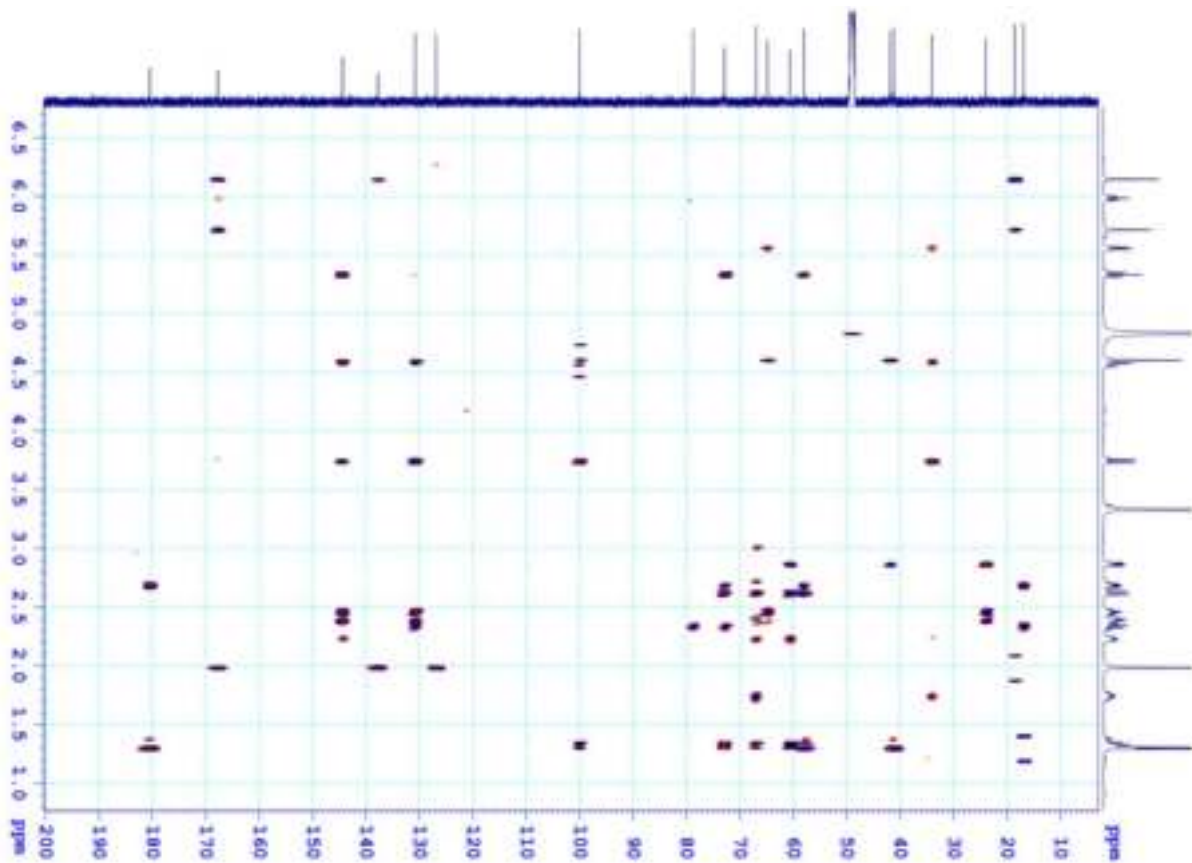


PL126

Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG16

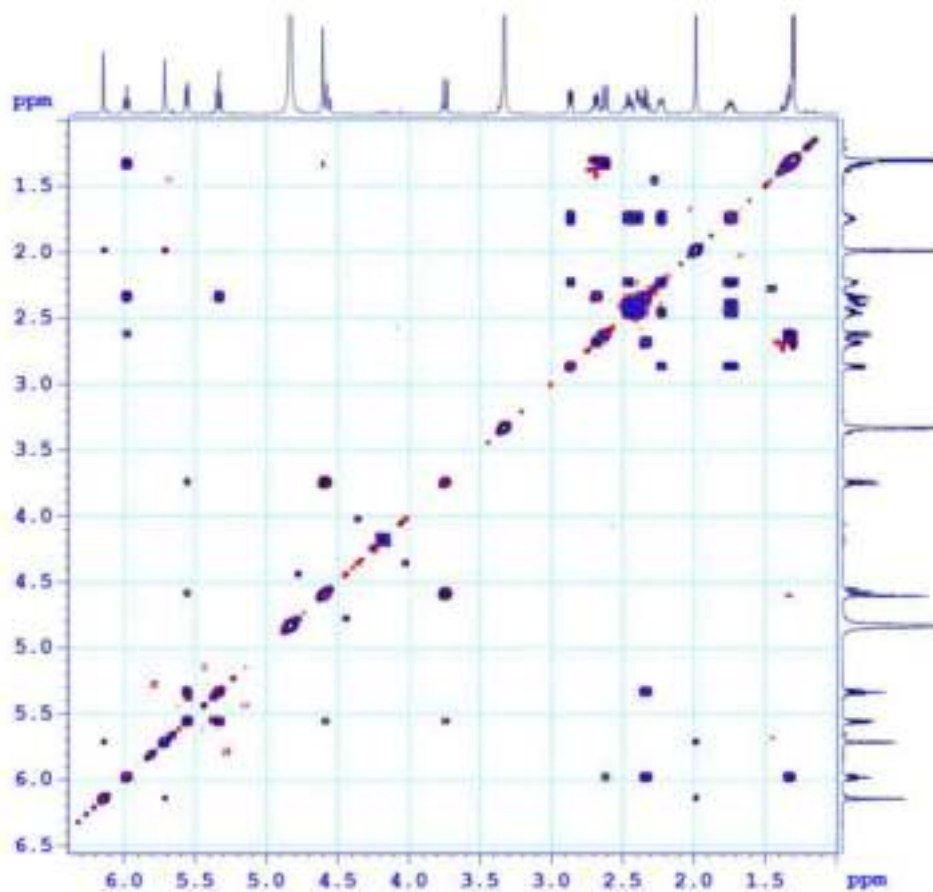


Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG16

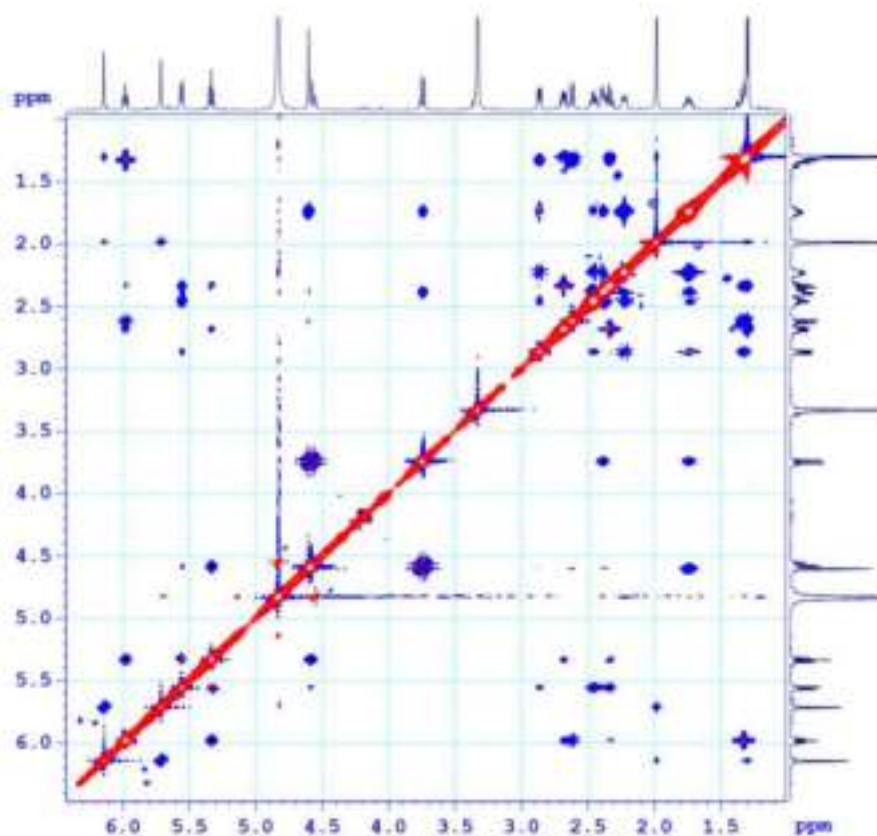


PL127

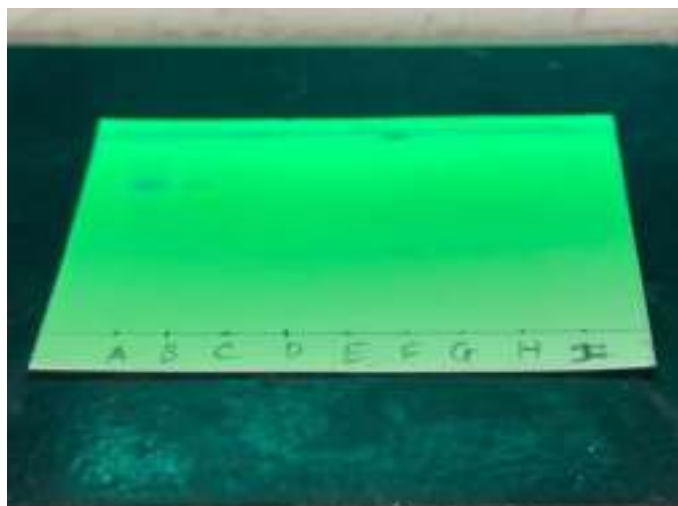
Phổ COSY-NMR của hợp chất VG16



Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG16



XXXV. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG1



I



II

A: hợp chất VG1

B: VG1 sau phản ứng thủy phân

C: dịch chiết EtOAc

D: đường D-galactose chuẩn

E: đường D- galactose sau khi tinh chế bằng TLC

F: đường D- galactose sau khi tinh chế bằng TLC và đường D- galactose chuẩn

G: đường D- glucose chuẩn

E: đường D- glucose sau khi tinh chế bằng TLC

F: đường D- glucose sau khi tinh chế bằng TLC và đường D-glucose chuẩn

I: TLC hiện thị dưới đèn UV tại bước sóng 254nm

II: TLC hiện thị bằng thuốc thử H₂SO₄ (5%)

XXXVI. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG5



I



II

A: hợp chất VG05

B: dịch chiết EtOAc

C: VG5 sau phản ứng thủy phân

D: đường D-galactose chuẩn

E: đường D- galactose sau khi tinh chế bằng TLC

F: đường D- galactose sau khi tinh chế bằng TLC và đường D- galactose chuẩn

G: đường D- glucose chuẩn

E: đường D- glucose sau khi tinh chế bằng TLC

F: đường D- glucose sau khi tinh chế bằng TLC và đường D-glucose chuẩn

I: TLC hiện thị dưới đèn UV tại bước sóng 254nm

II: TLC hiện thị bằng thuốc thử H₂SO₄ (5%)

XXXVII. PHIẾU GIÁM ĐỊNH TÊN KHOA HỌC CỦA LOÀI *V. GRATIOSA*
VÀ LOÀI *V. AMYGDALINA*

BẢO TÀNG THIÊN NHIÊN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC
MIỀN TRUNG

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Kính gửi: NCS. Phạm Văn Công

Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao

Chúng tôi nhận được đề nghị giám định tên khoa học cho mẫu tiêu bản của NCS. Phạm Văn Công, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào ngày 13/9/2023. Chúng tôi đã tiến hành giám định

Người giám định: TS. Lê Tuấn Anh

Các thông tin về mẫu vật: số 01

Mẫu vật mang số hiệu là VA-2021 ở dạng mẫu tiêu bản khô, có đủ tiêu chuẩn để định loài bao gồm cơ quan sinh sản (hoa), cơ quan sinh dưỡng (cành, lá) và các thông tin ghi chép được tại thực địa. Nơi thu mẫu: Thành Phố Hà Nội. Thời gian thu hái: tháng 4 năm 2021. Người thu hái: NCS. Phạm Văn Công, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các thông tin về mẫu vật: số 02

Mẫu vật mang số hiệu là VG-2020 ở dạng mẫu tiêu bản khô, có đủ tiêu chuẩn để định loài bao gồm cơ quan sinh sản (hoa), cơ quan sinh dưỡng (cành, lá) và các thông tin ghi chép được tại thực địa. Nơi thu mẫu: Huyện Hương Hóa, Quảng Trị, Việt Nam. Thời gian thu hái: tháng 4 năm 2019. Người thu hái: TS. Lê Tuấn Anh, Viện nghiên cứu khoa học Miền Trung, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Kết quả giám định tên khoa học:

Mẫu hiệu VA-2021 là mẫu cây thuộc loài *Vernonia amygdalina* thuộc họ Họ Cúc (Asteraceae).

Mẫu hiệu VG-2020 là mẫu cây thuộc loài *Vernonia gratiosa* thuộc họ Họ Cúc (Asteraceae).

Chúng tôi xin gửi tới NCS. Phạm Văn Công, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam kết quả giám định trên.

Thừa Thiên Huế, ngày 3 tháng 9 năm 2024

VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC MIỀN TRUNG

Người giám định



Hoàng Ngọc Lin

Lê Tuấn Anh