

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 HUYẾN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA HAI LOÀI MỘC LAN LÂM ĐỒNG
(*MAGNOLIA LAMDONGENSIS*) VÀ MỘC LAN TIẾP
(*MAGNOLIA TIEPII*)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

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 HUYẾN

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA HAI LOÀI MỘC LAN LÂM ĐỒNG
(*MAGNOLIA LAMDONGENSIS*) VÀ MỘC LAN TIẾP
(*MAGNOLIA TIEPII*)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: 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)

Hà Nội, 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của hai loài Mộc lan lâm đồng (*Magnolia lamdongensis*) và Mộc lan tiệp (*Magnolia tiepii*)” là công trình nghiên cứu của chính mình 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 Huyền

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan, TS. Nguyễn Thị Diệu Thuần và những người Thầy đã dành cho tôi sự hướng dẫn, chỉ bảo tận tình trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến Học viện Khoa học và Công Nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành các thủ tục trong thời gian học tập và thực hiện luận án.

Tôi xin cảm ơn đề tài TN18/C09 (Thuộc Chương trình Khoa học và Công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế, Mã số: KH-CN-TN/16-20) và đề tài Cơ sở chọn lọc (Phân tích thành phần hóa học chính của hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* bằng kỹ thuật LC-MS, Mã số: CSCL22.01/23-24) đã hỗ trợ kinh phí thực hiện các nội dung của luận án.

Trong suốt quá trình thực hiện luận án, tôi rất biết ơn sự giúp đỡ tạo điều kiện của:

- Tập thể các Thầy Cô, các bạn đồng nghiệp tại Phòng Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Ban Lãnh đạo Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Các anh, chị cán bộ nghiên cứu phòng NMR, Viện Hoá học.

- Các anh, chị cán bộ nghiên cứu phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

- Các anh, chị cán bộ nghiên cứu phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ sinh học.

- Các anh, chị cán bộ nghiên cứu phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa sinh biển.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình, Quý Thầy Cô, các anh chị đã luôn đồng hành hỗ trợ tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Tác giả luận án

Phạm Văn Huyền

MỤC LỤC

	Trang
LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	vii
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	xi
DANH MỤC BẢNG	xiv
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	2
1.1. Giới thiệu chung về chi <i>Magnolia</i>	2
1.1.1. Đặc điểm thực vật, phân bố	2
1.1.2. Ứng dụng trong các bài thuốc dân gian của các loài <i>Magnolia</i>	5
1.1.3. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của chi <i>Magnolia</i>	6
1.1.3.1. Trên thế giới.....	6
a. Nhóm hợp chất alkaloid	6
b. Nhóm hợp chất lignan và neolignan	8
c. Nhóm hợp chất flavonoid.....	9
d. Nhóm hợp chất phenylethanoid glycoside và phenolic	10
e. Nhóm hợp chất terpenoid.....	11
f. Các nghiên cứu về thành phần tinh dầu.....	13
g. Các hợp chất khác	14
1.1.3.2. Ở Việt Nam	15
1.1.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi <i>Magnolia</i>	17
1.1.4.1. Hoạt tính kháng ung thư	17
1.1.4.2. Hoạt tính kháng viêm.....	19
1.1.4.3. Hoạt tính chống oxy hoá.....	21
1.1.4.4. Hoạt tính kháng tiểu đường	23
1.1.4.5. Hoạt tính bảo vệ thần kinh.....	25
1.1.4.7. Các hoạt tính khác.....	26
1.2. Giới thiệu về hai loài nghiên cứu.....	27
1.2.1. Giới thiệu chung về loài <i>Magnolia lamdongensis</i>	27
1.2.2. Giới thiệu chung về loài <i>Magnolia tiepii</i>	28
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	30
2.1. Đối tượng nghiên cứu	30
2.1.1. Loài <i>Magnolia lamdongensis</i>	30
2.1.2. Loài <i>Magnolia tiepii</i>	30

2.2. Phương pháp nghiên cứu	31
2.2.1. Phương pháp thu mẫu nghiên cứu và giám định tên khoa học	31
2.2.2. Phương pháp xử lý mẫu và tạo dịch chiết phục vụ cho phân lập các hợp chất và thử hoạt tính sinh học	31
2.2.3. Các phương pháp phân lập các hoạt chất.....	31
2.2.4. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hoạt chất.....	32
2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học	32
2.2.5.1. Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hoá	32
2.2.5.2. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i>	33
2.2.5.3. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase	34
2.2.5.4. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào	35
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM	37
3.1. Tạo các cao chiết loài <i>M. lamdongensis</i>	37
3.2. Phân lập các hợp chất từ loài <i>M. lamdongensis</i>	37
3.3. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài <i>M. lamdongensis</i>	41
3.3.1. Hợp chất ML1 : rhamnetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D- galacto-pyranoside	41
3.3.2. Hợp chất ML2 : oxytroflavoside F	41
3.3.3. Hợp chất ML3 : rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -neohesperidoside.....	41
3.3.4. Hợp chất ML4 : curcucomoside D	41
3.3.5. Hợp chất ML5 : astragalin.....	42
3.3.6. Hỗn hợp chất ML6 : kaempferol 3-neohesperidoside và kaempferol 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside	42
3.3.7. Hỗn hợp chất ML7 : quercetin 3-neohesperidoside và quercetin 3- <i>O</i> - α -L- rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside	42
3.3.8. Hợp chất ML8 : 1- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(2 <i>S</i> *,3 <i>R</i> *,2' <i>R</i> *,4 <i>E</i> ,8 <i>Z</i>)-2'- hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol.....	42
3.3.9. Hợp chất ML9 : 1- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(2 <i>S</i> *,3 <i>R</i> *,2' <i>R</i> *,4 <i>E</i> ,8 <i>Z</i>)-2'- hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol.....	42
3.3.10. Hợp chất ML10 : (-)-sesamin	43
3.3.11. Hợp chất ML11 : hinokinin	43
3.3.12. Hợp chất ML12 : dihydrosesamin	43
3.3.13. Hợp chất ML13 : (<i>S</i>)-eriodictyol	43
3.3.14. Hợp chất ML14 : stigmasterol.....	43
3.3.15. Hợp chất ML15 : daucosterol.....	44

3.3.16. Hợp chất ML16 : palmitic acid.....	45
3.4. Tạo các cao chiết loài <i>M. tiepii</i>	45
3.5. Phân lập các hợp chất từ loài <i>M. tiepii</i>	46
3.6. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài <i>M. tiepii</i> .	49
3.6.1. Hợp chất MT1 : kaempferol 3-neohesperidoside	49
3.6.2. Hợp chất MT2 : nicotiflorin	49
3.6.3. Hợp chất MT3 : isoquercitrin	50
3.6.4. Hợp chất MT4 : magnoloside A	50
3.6.5. Hợp chất MT5 : (+)-syringaresinol	50
3.6.6. Hợp chất MT6 : (+)-pinoresinol	50
3.6.7. Hợp chất MT7 : (-)-acanthoside B	50
3.6.8. Hợp chất MT8 : (9 <i>S</i>)-9- <i>O</i> -methylcubebin	50
3.6.9. Hợp chất MT9 : (9 <i>R</i>)-9- <i>O</i> -methylcubebin.....	50
3.6.10. Hợp chất MT10 : lariciresinol	51
3.6.11. Hợp chất MT11 : dehydrovomifoliol	51
3.6.12. Hợp chất MT12 : blumenol A	51
3.6.13. Hợp chất MT13 : manglieside C	51
3.6.14. Hợp chất MT14 : syringin	51
3.6.15. Hợp chất MT15 : astragalin.....	51
3.6.16. Hợp chất MT16 : quercetin 3-neohesperidoside	51
3.6.17. Hợp chất MT17 : quercetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D- galactopyranoside	52
3.6.18. Hợp chất MT18 : hinokinin	52
3.6.19. Hợp chất MT19 : dihydrosesamin	52
3.6.20. Hợp chất MT20 : β -sitosterol	52
CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	53
4.1. Kết quả nghiên cứu và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài <i>M. lamdongensis</i>	53
4.1.1. Hợp chất ML1 : rhamnetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D- galactopyranoside	53
4.1.2. Hợp chất ML2 : oxytroflavoside F	56
4.1.3. Hợp chất ML3 : rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -neohesperidoside.....	58
4.1.4. Hợp chất ML4 : curcucomoside D	61
4.1.5. Hợp chất ML5 : astragalin.....	64
4.1.6. Hỗn hợp chất ML6 : kaempferol 3-neohesperidoside và kaempferol 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside.....	66

4.1.7. Hỗn hợp chất ML7 : quercetin 3-neohesperidoside và quercetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside	69
4.1.8. Hợp chất ML8 : 1- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(2 <i>S</i> *,3 <i>R</i> *,2' <i>R</i> *,4 <i>E</i> ,8 <i>Z</i>)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol.....	73
4.1.9. Hợp chất ML9 : 1- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(2 <i>S</i> *,3 <i>R</i> *,2' <i>R</i> *,4 <i>E</i> ,8 <i>Z</i>)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol.....	76
4.1.10. Hợp chất ML10 : (-)-sesamin	78
4.1.11. Hợp chất ML11 : hinokinin	81
4.1.12. Hợp chất ML12 : dihydrosesamin	84
4.2. Kết quả nghiên cứu và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài <i>M. tiepii</i>	87
4.2.1. Hợp chất MT1 : kaempferol 3-neohesperidoside	87
4.2.2. Hợp chất MT2 : nicotiflorin	89
4.2.3. Hợp chất MT3 : isoquercitrin	92
4.2.4. Hợp chất MT4 : magnoloside A	94
4.2.5. Hợp chất MT5 : (+)-syringaresinol	97
4.2.6. Hợp chất MT6 : (+)-pinoresinol	100
4.2.7. Hợp chất MT7 : (-)-acanthoside B	102
4.2.8. Hợp chất MT8 : (9 <i>S</i>)-9- <i>O</i> -methylcubebin	105
4.2.9. Hợp chất MT9 : (9 <i>R</i>)-9- <i>O</i> -methylcubebin.....	107
4.2.10. Hợp chất MT10 : lariciresinol	109
4.2.11. Hợp chất MT11 : dehydrovomifoliol	112
4.2.12. Hợp chất MT12 : blumenol A	114
4.2.13. Hợp chất MT13 : manglieside C	116
4.2.14. Hợp chất MT14 : syringin	118
4.3. Kết quả thử hoạt tính sinh học.....	121
4.3.1. Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hoá	121
4.3.2. Hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i>	122
4.3.3. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.....	123
4.3.4. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào	123
4.4. Tổng hợp các kết quả nghiên cứu	124
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	130
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....	132
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	132
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	133
PHỤ LỤC	147

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
Các phương pháp sắc ký		
CC	Column Chromatography	Sắc ký cột
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký bản mỏng
RP-18	Reversed phase C18	Pha đảo C18
Các phương pháp phổ		
¹³ C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon
¹ H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
CD	Circular Dichroism	Quang phổ lưỡng sắc tròn
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
DEPT	Distortions Enhancement by Polarization Transfer	Phổ DEPT
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng ion hóa phun mù điện tử
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation	Phổ HMBC
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation	Phổ HSQC
<i>J</i> (Hz)	Coupling constant	Hằng số tương tác tính bằng Hz
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Cộng hưởng từ hạt nhân
δ (ppm)	Chemical shift	Độ dịch chuyển hóa học
<i>brs</i>	Broad singlet	Pic đơn mũi rộng
<i>brd</i>	Broad doublet	Pic đôi mũi rộng
<i>d</i>	doublet	Pic đôi
<i>dd</i>	doublet of doublets	Pic đôi của pic đôi
<i>ddd</i>	doublet of doublets of doublets	Pic đôi của pic đôi của pic đôi
<i>dq</i>	doublet of quartets	Pic đôi của pic bốn
<i>dt</i>	doublet of triplets	Pic đôi của pic ba
<i>m</i>	multiplet	Pic đa
<i>q</i>	quartet	Pic bốn
<i>s</i>	singlet	Pic đơn
<i>t</i>	triplet	Pic ba
<i>td</i>	triplet of doublets	Pic ba của pic đôi
<i>p</i>	pentet	Pic năm
<i>dp</i>	doublet of pentets	Pic đôi của pic năm
Các dòng tế bào		
A375	Human skin cancer cell line	Dòng tế bào ung thư da ở người
A549	Human lung carcinoma	Dòng tế bào ung thư phổi ở người
AGS	Human stomach gastric adenocarcinoma	Ung thư dạ dày người

BMBC	Mouse bone marrow-derived mast cells	Tế bào mast có nguồn gốc từ tủy xương chuột
Colo320DM	Colorectal adenocarcinoma cancer cells	Ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng.
H1975	Cell lung cancer	Dòng tế bào ung thư phổi
HCT15	Cell colorectal carcinoma cancer	Dòng tế bào ung thư biểu mô đại trực tràng
HCT116	Human colorectal carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư ruột kết ở người
HEL	Human red blood cells	Tế bào hồng cầu ở người
HeLa	Human cervix carcinoma	Dòng tế bào ung thư cổ tử cung ở người
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	Dòng tế bào ung thư gan ở người
HGC27	Human gastric cell line	Dòng tế bào ung thư dạ dày ở người
HL-60	Human acute leukemia	Ung thư bạch cầu cấp tính leukemic ở người
HNE1	Nasopharyngeal carcinoma cell	Dòng tế bào ung thư biểu mô vòm họng
HT29	Human colorectal adenocarcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư đại trực tràng ở người
HUVEC	Stomach cancer cells	Dòng tế bào ung thư dạ dày
K562	Chronic myelogenous leukemia cells	Ung thư bạch cầu mạn
MCF-10A	Breast tissue cells	Tế bào mô vú
MCF-7	Human breast carcinoma	Dòng tế bào ung thư vú ở người
MDA-MB-231	High metastasis human breast cancer	Ung thư vú người dạng di căn
MDA-MB-435	Metastatic breast cancer cells	Dòng tế bào ung thư vú
MDA-MB-468	Metastatic breast cancer cells	Dòng tế bào ung thư vú
MGC-803	Human gastric carcinoma cells	Dòng tế bào ung thư biểu mô dạ dày ở người
NCI-H460	Lung cancer cell line	Dòng tế bào ung thư phổi
PC12	Neuronal cell line	Dòng tế bào thần kinh ở chuột
RAW246.7	Leukemia macrophage cells	Tế bào bạch cầu
RD	Human rhabdomyosarcoma	Dòng tế bào ung thư mô liên kết
SF-268	Neuronal cell line	Dòng tế bào thần kinh
SK-Mel-2	Human malignant melanoma	Ung thư da người
SK-N-SH	Neuroblastoma cell line	Dòng tế bào u nguyên bào thần kinh
SK-OV-3	Ovarian cancer cell line	Dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người

SK-BR3	Human breast cancer cell line	Dòng tế bào ung thư vú ở người
SMMC-7721	Human hepatocellular carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư biểu mô tế bào gan ở người
SW480	Human colon adenocarcinoma	Ung thư đại tràng ở người
T98G	T98G cells	Dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm
U251	Neuronal cell line	Dòng tế bào thần kinh
Vero	Monkey kidney epithelial cells	Tế bào biểu mô thận của khỉ
Các hóa chất		
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)	2,2'-Azino-bis(3-Ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
Acetone (A)	Acetone	Acetone
BHT	Butylated hydroxytoluene	Butylated hydroxytoluene
CHCl ₃ (C)	Chloroform	Chloroform
CH ₂ Cl ₂ (D)	Dichloromethane	Dichloromethane
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Dimethyl sulfoxide
EtOAc (E)	Ethyl acetate	Ethyl acetate
H	<i>n</i> -hexane	<i>n</i> -hexane
MeOH (M)	Methanol	Methanol
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide
NO	Nitric oxide	Nitric oxide
TEA	Triethylamine	Triethylamine
TMS	Tetramethylsilane	Tetramethylsilane
W	Water	Nước
Các ký hiệu viết tắt khác		
AChE	Cholinesterase	Cholinesterase
BChE	Butyrylcholinesterase	Butyrylcholinesterase
CS%	Cell survival	Tỷ lệ sống sót của tế bào
CTPT		Công thức phân tử
ED ₅₀	Median effective dose	Liều có hiệu quả ở 50% số con vật thí nghiệm
FRAP	Ferric reducing antioxidant power	Chất chống oxy hóa khử sắt
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
IL-2	Interleukin-2	Interleukin-2
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Enzym tạo ra oxit nitơ từ amino L-arginine acid

LPS	Lipopolysaccharides	Lipopolysaccharides
<i>M.</i>	<i>Magnolia</i>	Chi Mộc lan
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Yếu tố nhân kappa B
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Yếu tố nhân Nrf2
OD	Optical density	Mật độ quang học
OGD	Oxygen-glucose deprivation	Thiếu hụt oxygen glucose
PTP1B	Protein tyrosin phosphatase	Một enzym không xuyên màng
SC%	Scavenging capacity	Khả năng trung hòa các gốc tự do
SC ₅₀	Scavenging concentration at 50%	Nồng độ trung hòa được 50% gốc tự do của DPPH
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity	Khả năng chống oxy hóa tương đương Trolox
TLTK		Tài liệu tham khảo
TNF- α	Tumour necrosis factor-alpha	Yếu tố hoại tử khối u α

DANH MỤC HÌNH ẢNH

	Trang
Hình 1.1. Cấu trúc của một số alkaloid phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	7
Hình 1.2. Cấu trúc của một số lignan và neolignan phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	9
Hình 1.3. Cấu trúc của một số flavonoid phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	10
Hình 1.4. Cấu trúc của một số hợp chất phenylethanoid glycoside phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	11
Hình 1.5. Cấu trúc của một số hợp chất phenolic phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	11
Hình 1.6. Cấu trúc của một số terpenoid phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	12
Hình 1.7. Cấu trúc hoá học của một số cấu tử từ tinh dầu các loài <i>Magnolia</i>	14
Hình 1.8. Một số các hợp chất khác phân lập từ chi <i>Magnolia</i>	15
Hình 1.9. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất phân lập từ một số loài <i>Magnolia</i> phân bố tại Việt Nam	16
Hình 1.10. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng ung thư.....	18
Hình 1.11. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng viêm.....	20
Hình 1.12. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính chống oxy hoá	22
Hình 1.13. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng tiểu đường... ..	24
Hình 1.14. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính bảo vệ thần kinh	26
Hình 1.15. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng nấm và chống sốt rét	27
Hình 1.16. Loài <i>M. lamdongensis</i> ngoài tự nhiên (Ảnh: PV. Huyền).....	28
Hình 1.17. Loài <i>M. tiepii</i> ngoài tự nhiên (Ảnh: PV. Huyền).....	29
Hình 2.1. Loài <i>M. lamdongensis</i> ngoài tự nhiên và mẫu tiêu bản (Ảnh: PV. Huyền)	30
Hình 2.2. Loài <i>M. tiepii</i> ngoài tự nhiên và mẫu tiêu bản (Ảnh: PV. Huyền)	30
Hình 3.1. Sơ đồ tạo các dịch chiết phân đoạn từ lá loài <i>M. lamdongensis</i>	37
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-H	38
Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-C.....	39
Hình 3.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-E.....	40
Hình 3.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-W	40
Hình 3.6. Sơ đồ tạo các dịch chiết phân đoạn từ lá loài <i>M. tiepii</i>	45
Hình 3.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-H	46
Hình 3.8. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-C.....	47
Hình 3.9. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-E.....	48
Hình 3.10. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-W	49
Hình 4.1. Phổ ¹ H NMR (CD ₃ OD, 600 MHz) của hợp chất ML1	53
Hình 4.2. Phổ ¹³ C NMR (CD ₃ OD, 150 MHz) của hợp chất ML1	54
Hình 4.3. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất ML1	54
Hình 4.4. Phổ ¹ H NMR (CD ₃ OD, 600 MHz) của hợp chất ML2	56
Hình 4.5. Phổ ¹³ C NMR (CD ₃ OD, 150 MHz) của hợp chất ML2	56
Hình 4.6. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất ML2	58
Hình 4.7. Phổ ¹ H NMR (CD ₃ OD, 600 MHz) của hợp chất ML3	59
Hình 4.8. Phổ ¹³ C NMR (CD ₃ OD, 150 MHz) của hợp chất ML3	59
Hình 4.9. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất ML3	61
Hình 4.10. Phổ ¹ H NMR (CD ₃ OD, 600 MHz) của hợp chất ML4	61
Hình 4.11. Phổ ¹³ C NMR (CD ₃ OD, 150 MHz) của hợp chất ML4	62
Hình 4.12. Công thức cấu tạo của hợp chất ML4	63

Hình 4.13. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất ML5	64
Hình 4.14. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất ML5	64
Hình 4.15. Công thức cấu tạo của hợp chất ML5	66
Hình 4.16. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của ML6	66
Hình 4.17. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của ML6	67
Hình 4.19. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của ML7	70
Hình 4.20. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của ML7	70
Hình 4.21. Công thức cấu tạo của ML7a và ML7b	73
Hình 4.22. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất ML8	73
Hình 4.23. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất ML8	74
Hình 4.24. Cấu trúc hóa học, sự phân mảnh cấu trúc, các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất ML8	76
Hình 4.25. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất ML9	76
Hình 4.26. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất ML9	77
Hình 4.27. Cấu trúc hóa học và sự phân mảnh cấu trúc của hợp chất ML9	77
Hình 4.28. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML10	79
Hình 4.29. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML10	79
Hình 4.30. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất ML10 và giá trị phổ CD của hợp chất ML10 và hợp chất tham khảo	81
Hình 4.31. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML11	82
Hình 4.32. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML11	82
Hình 4.33. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất ML11 và giá trị phổ CD của hợp chất ML11 và hợp chất tham khảo	84
Hình 4.34. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML12	85
Hình 4.35. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất ML12	85
Hình 4.36. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất ML12 và giá trị phổ CD của hợp chất ML12 và hợp chất tham khảo	86
Hình 4.37. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT1	87
Hình 4.38. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT1	88
Hình 4.39. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MT1	88
Hình 4.40. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT2	90
Hình 4.41. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT2	90
Hình 4.42. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MT2	92
Hình 4.43. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT3	92
Hình 4.44. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT3	93
Hình 4.45. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MT3	94
Hình 4.46. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT4	95
Hình 4.47. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT4	95
Hình 4.48. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT4	97
Hình 4.49. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT5	98
Hình 4.50. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT5	98
Hình 4.51. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT5 và giá trị phổ CD của hợp chất MT5 và hợp chất tham khảo	99
Hình 4.52. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT6	100
Hình 4.53. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT6	101

Hình 4.54. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT6	101
Hình 4.55. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT7	102
Hình 4.56. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT7	103
Hình 4.57. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT7	103
Hình 4.58. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT8	105
Hình 4.59. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT8	106
Hình 4.60. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT8 và giá trị phổ CD của hợp chất MT8 và hợp chất tham khảo	106
Hình 4.61. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT9	108
Hình 4.62. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT9	108
Hình 4.63. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT9	108
Hình 4.64. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT10	110
Hình 4.65. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất MT10	110
Hình 4.66. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT10	112
Hình 4.67. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT11	112
Hình 4.68. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT11	113
Hình 4.69. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT11	113
Hình 4.70. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT12	114
Hình 4.71. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT12	115
Hình 4.72. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT12	116
Hình 4.73. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT13	116
Hình 4.74. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT13	117
Hình 4.75. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất MT13	117
Hình 4.76. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT14	119
Hình 4.77. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất MT14	119
Hình 4.78. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất MT14	120

DANH MỤC BẢNG

	Trang
Bảng 1.1. Hiện trạng phân bố của một số loài <i>Magnolia</i> tại Việt Nam	3
Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML1	55
Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML2	57
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML3	60
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML4	63
Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML5	65
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của ML6a	68
Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của ML6b	69
Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của ML7a	71
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của ML7b	72
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML8	75
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML9	78
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML10	80
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML11	83
Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML12	86
Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT1	89
Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT2	91
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT3	93
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT4	96
Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT5	99
Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT6	101
Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT7	104
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT8	107
Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT9	109
Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT10	111
Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT11	114
Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT12	115
Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT13	118
Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT14	120
Bảng 4.29. Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hóa	121
Bảng 4.30. Kết quả thử hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7	122
Bảng 4.31. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase	123
Bảng 4.32. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào	124
Bảng 4.33. Giá trị IC ₅₀ của mẫu có hoạt tính	124
Bảng 4.34. Tổng hợp kết quả phân lập các hợp chất từ hai loài nghiên cứu	125
Bảng 4.35. Tổng hợp các kết quả hoạt tính sinh học	129

MỞ ĐẦU

Thực vật đóng một tầm quan trọng trong hệ thống y học cổ truyền. Một số cây thuốc đã được sử dụng trong các bài thuốc y học cổ truyền trong nhiều thế kỷ và nhiều bài thuốc này đến nay vẫn còn được sử dụng. Chi *Magnolia* L. (Họ Magnoliaceae Juss.) có nhiều loài có giá trị về mặt y học, phần lớn trong số đó là loài đặc hữu của châu Á. Nhiều loài trong chi này theo truyền thống đã được sử dụng để chữa nhiều loại bệnh, từ bệnh nhẹ đến bệnh ác tính nặng. Do đặc tính chữa bệnh dễ thích nghi của chúng, nhiều loài khác nhau từ chi này đã được pha trộn và sử dụng trong các công thức dược phẩm và thành công về mặt thương mại.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu tập trung vào thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ chi *Magnolia*. Với giá trị to lớn của chúng trong các hệ thống chăm sóc sức khỏe truyền thống, một số loài thuộc chi này tiếp tục là đối tượng của nhiều điều tra về dược lý và hóa thực vật trên thế giới trong 20 năm qua. Tuy nhiên, các nghiên cứu về các hướng này đối với các loài thuộc chi *Magnolia* ở trong nước là chưa nhiều.

Quá trình điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên thực vật tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học như hoạt tính kháng ung thư, kháng viêm, chống oxy hoá... nhằm phát triển các loài dược liệu có giá trị cao, đã phát hiện và công bố một số loài, trong đó hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* thuộc chi *Magnolia* (Mộc lan) được công bố vào năm 2015 và chưa có công bố về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học từ hai loài này. Các kết quả nghiên cứu về thực vật, hoạt tính sinh học của hai loài này sẽ góp phần đánh giá phát triển nguồn nguyên liệu dược, cung cấp các sản phẩm dược liệu phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Vì vậy, tôi chọn đây là hai đối tượng để thực hiện đề tài “**Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của hai loài Mộc lan lâm đồng (*Magnolia lamdongensis*) và Mộc lan tiếp (*Magnolia tiepii*)**” nhằm thực hiện mục tiêu:

1. Chiết xuất và phân lập các hợp chất tinh sạch từ lá của hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* thuộc chi *Magnolia*.
2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được từ hai loài này.
3. Đánh giá hoạt tính sinh học gồm hoạt tính kháng ung thư, kháng viêm *in vitro*, kháng oxy hoá và ức chế enzyme α -glucosidase của các cao chiết tổng và một số hợp chất tinh sạch phân lập được.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu chung về chi *Magnolia*

1.1.1. Đặc điểm thực vật, phân bố

Chi Mộc lan hay Dạ hợp (*Magnolia* L.) thuộc họ Magnoliaceae (Mộc lan) là một chi lớn. Theo dữ liệu thực vật, Plants of the World Online cập nhật vào ngày 06 tháng 11 năm 2024, có 363 loài *Magnolia* được chấp nhận tên khoa học.

Các loài trong chi *Magnolia* là cây thân gỗ, phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, chủ yếu ở Đông Nam Hoa Kỳ, Mexico, Trung Mỹ, Caribe và Đông Nam Á [1]. Các loài *Magnolia* phổ biến nhất như *M. salicifolia*, *M. kobus*, *M. officinalis*, *M. ashei*, *M. acuminata*, *M. grandiflora*, *M. virginiana* và *M. liliiflora*, có nguồn gốc từ Nhật Bản, Hàn Quốc, Đông Nam Hoa Kỳ, Mexico và Trung Quốc. Chi *Magnolia* bao gồm các cây bụi rụng lá và thường xanh cao từ 9 đến 31 m, với hầu hết các loài có vỏ mỏng và mịn, gỗ mềm và sáng màu, thường được sử dụng để sản xuất thùng, hộp và đồ nội thất. Hạt *Magnolia* thường có màu đỏ và thường treo lủng lẳng bằng những sợi mảnh. Ngoài ra, loài này còn được đánh giá cao nhờ hoa to màu trắng, vàng, hồng và tím, lá thường nhẵn và sáng bóng và quả hình nón. Những bông hoa, thường giống như chiếc cốc và có mùi thơm, nằm ở đầu cành và có 3 lá đài, 6 đến 12 cánh hoa xếp thành 2 đến 4 chuỗi và nhiều nhị hoa xếp theo hình xoắn ốc. Hơn nữa, các loài *Magnolia* có giá trị trang trí độc đáo, khả năng chống ô nhiễm mạnh, có khả năng thích nghi rộng rãi, đặc biệt là ở Trung Quốc, Nhật Bản, Thái Lan và Ấn Độ, chúng có tầm quan trọng về mặt kinh tế như các hợp chất thơm và hoạt tính sinh học tự nhiên [2].

Ở Việt Nam, tác giả Phạm Hoàng Hộ đã ghi nhận và mô tả 11 loài thuộc chi *Magnolia* vào năm 1991 [3]. Đến năm 1999, thêm 7 loài *Magnolia* được bổ sung, đưa số lượng thuộc chi này lên 18 loài [4]. Trong khi đó, năm 2003, tác giả Nguyễn Tiến Bản [5] chỉ ghi nhận 12 loài và 2 thứ thuộc chi *Magnolia*. Những năm gần đây, nhiều loài mới thuộc chi *Magnolia* được phát hiện tại Việt Nam và một số loài được ghi nhận là những loài đặc hữu tại Việt Nam, số lượng loài trong chi này được ghi nhận khoảng 60 loài.

Các loài thuộc chi *Magnolia* có tán lá đẹp, kích thước hoa lớn, màu sắc đa dạng, gỗ thơm, hạt của nhiều loài được làm gia vị hoặc sử dụng trong các bài thuốc dân tộc để chữa các bệnh như đau dạ dày, cảm sốt, cao huyết áp, thấp khớp, giảm âu lo... Các loài *Magnolia* thường được dùng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như đồ nội thất, hàng mỹ nghệ, làm thuốc sắc uống, làm gia vị, được ứng dụng trong ngành công nghiệp nước hoa hoặc được trồng làm cảnh. Với các ứng dụng đa dạng trên, chi *Magnolia* đã và đang được các nhà khoa học ở trong và ngoài nước quan tâm nghiên

cứ trong nhiều lĩnh vực như hình thái, tế bào, cổ sinh học, phân tử và cảnh quan, làm thuốc, làm gia vị, chế tạo nước hoa, chiết xuất tinh dầu. Tuy nhiên, điều này cũng dẫn tới nhiều loài trong chi *Magnolia* bị khai thác quá mức, dẫn đến cạn kiệt.

Trong một báo cáo của Chu Thị Thu Hà và Trịnh Ngọc Bon vào năm 2020 đã trình bày tổng số 39 loài và thứ thuộc chi *Magnolia* được điều tra nghiên cứu thu mẫu tại 13 tỉnh của Việt Nam nhằm mục đích đánh giá hiện trạng phân bố và giá trị sử dụng [6]. Theo báo cáo này, Hà Giang và Lâm Đồng là hai tỉnh có số lượng loài *Magnolia* được ghi nhận có số lượng loài lớn nhất với lần lượt là 15 loài và 11 loài, các tỉnh còn lại (Cao Bằng, Bình Phước, Hà Tĩnh, Hòa Bình, Vĩnh Phúc, Khánh Hòa, Lai Châu, Tuyên Quang, Lào Cai, Phú Thọ, Sơn La) chỉ có 1-7 loài (bảng 1.1). Trong số các loài thuộc chi *Magnolia* được khảo sát nghiên cứu, có 8 loài là loài đặc hữu của Việt Nam gồm Mộc lan trung bộ (*M. annamensis*), Dạ hợp clemens (*M. clemensiorum*), Dạ hợp bidoup (*M. bidoupensis*), Dạ hợp hoa ống (*M. fistulosa*), Giỏi nhung (*M. braianensis*), Dạ hợp cát tiên (*M. cattienensis*), Mỡ sa pa (*M. sapaensis*), Mộc lan lâm đồng (*M. lamdongensis*).

Bảng 1.1. Hiện trạng phân bố của một số loài *Magnolia* tại Việt Nam

TT	Tên khoa học	Tên tiếng Việt	Phân bố
1	<i>M. annamensis</i> Dandy	Mộc lan trung bộ, Đưa	Lâm Đồng
2	<i>M. baillonii</i> Pierre	Giỏi xương, Giỏi găng, Kùi đui, Đạm cúc	Lâm Đồng, Lai Châu
3	<i>M. balansae</i> Aug. DC.	Giỏi bà, Giỏi lông	Hà Giang, Phú Thọ, Sơn La
4	<i>M. bidoupensis</i> Q.N.Vu	Dạ hợp bidoup	Lâm Đồng
5	<i>M. braianensis</i> (Gagnep.) Figlar	Giỏi nhung, Giỏi lông hung, Sứ braian	Lâm Đồng
6	<i>M. cathcartii</i> (Hook. f. & Thomson) Noot.	Kiều hùng, Dạ hợp cathcati	Lào Cai, Lai Châu
7	<i>M. cattienensis</i> Q.N.Vu	Dạ hợp cát tiên	Bình Phước
8	<i>M. championii</i> Benth.	Dạ hợp hồng không	Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang
9	<i>M. chapensis</i> (Dandy) Sima.	Giỏi sa pa	Hà Giang
10	* <i>M. chevalieri</i> (Dandy) V.S.Kumar	Giỏi chevalier, Mỡ phú thọ	Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang, Tuyên Quang
11	<i>M. citrata</i> Noot. & Chalermglin	Giỏi chanh, Giỏi xanh quả to	Lâm Đồng, Hà Giang
12	<i>M. clemensiorum</i> Dandy	Dạ hợp clemens	Sơn La
13	* <i>M. coco</i> (Lour.) DC.	Cây trứng gà	Lâm Đồng
14	<i>M. conifera</i> (Dandy) V.S.Kumar	Mỡ ba vì	Sơn La, Vĩnh Phúc

15	* <i>M. coriacea</i> (Hung T.Chang & B.L.Chen) Figlar	Giổi lá dai, giổi đá	Hà Giang
16	<i>M. dandyi</i> Gagnep.	Dạ hợp dandy, Vàng tâm	Hà Tĩnh
17	<i>M. duperreana</i> Pierre	Miên mộc	Lâm Đồng
18	<i>M. fistulosa</i> (Finet & Gagnep.) Dandy	Dạ hợp hoa ống, Dạ hợp bông	Sơn La, Hòa Bình
19	<i>M. fordiana</i> (Oliv.) Hu	Giổi ford, Dạ hợp ford	Lâm Đồng
20	<i>M. fordiana</i> var. <i>forrestii</i> (W.W.Sm. ex Dandy) V.S.Kumar	Mỡ lông bảo lộc	Lai Châu
21	<i>M. fordiana</i> var. <i>hainanensis</i> (Dandy) Noot.	Mỡ hải nam	Vĩnh Phúc
22	<i>M. foveolata</i> (Merr. ex Dandy) Figlar	Giổi lá láng	Cao Bằng, Sơn La, Phú Thọ, Tuyên Quang
23	<i>M. grandis</i> (Hu & W.C.Cheng) V.S.Kumar	Giổi na, mỡ lá to, giổi lá to	Hà Giang
24	<i>M. hookeri</i> var. <i>longirostrata</i> D.X.Li & R.Z.Zhou ex X.M.Hu, Q.W.Zeng & L.Fu	Giổi móc, Đa-xia	Hà Giang
25	<i>M. hypolampra</i> (Dandy) Figlar	Giổi ăn hạt, Rồ vành	Tuyên Quang
26	* <i>M. insignis</i> Wall.	Mỡ đá, giổi đá	Hà Giang, Cao Bằng, Tuyên Quang
27	* <i>M. kwangsiensis</i> Figlar & Noot.	Giổi quảng tây, Giổi quả tròn, Miên mộc	Hà Giang
28	<i>M. lacei</i> (W.W.Sm.) Figlar	Giổi quả hoa	Hà Giang
29	<i>M. lamdongensis</i> V.T.Tran, Duy & N.H.Xia	Mộc lan lâm đồng	Lâm Đồng
30	<i>M. lanuginosa</i> (Wall.) Figlar & Noot.	Giổi lưng bạc	Lai Châu
31	<i>M. lucida</i> (B.L.Chen & S.C.Yang) V.S.Kumar	Mỡ hoàng liên	Hà Giang
32	<i>M. macclurei</i> (Dandy) Figlar	Giổi búp nhọn	Hà Giang, Lâm Đồng
33	<i>M. martini</i> H.Lév.	Sứ martin	Hà Giang
34	<i>M. masticata</i> (Dandy) Figlar	Giổi bắc	Tuyên Quang
35	<i>M. mediocris</i> (Dandy) Figlar	Giổi xanh	Phú Thọ
36	<i>M. megaphylla</i> (Hu & W.C.Cheng) V.S.Kumar	Mỡ lá lớn	Hà Giang

37	<i>M. nitida</i> W.W.Sm.	Dạ hợp nitida	Lâm Đồng, Lào Cai
38	<i>M. sapaensis</i> (N.H.Xia & Q.N.Vu) Grimshaw & Macer	Mỡ sa pa	Cao Bằng, Lào Cai
39	<i>M. tiepii</i> V.T.Tran & Duy	Mộc lan tiếp	Khánh Hòa

*Loài đã có công bố về thành phần hóa học.

1.1.2. Ứng dụng trong các bài thuốc dân gian của các loài *Magnolia*

Các nghiên cứu trước đây báo cáo rằng các loài *Magnolia* đã được sử dụng làm thuốc truyền thống ở nhiều nơi trên thế giới. Trong hàng trăm năm, các quốc gia châu Á đã sử dụng vỏ cây *Magnolia* như một bài thuốc thảo dược truyền thống phổ biến cho nhiều loại bệnh, bao gồm lo âu, bệnh dị ứng, viêm nhiễm và các vấn đề về đường tiêu hóa [7].

Trong y học cổ truyền Trung Quốc và Nhật Bản, vỏ cây *M. officinalis* là một trong những thành phần trong bài thuốc *Hange-koboku-to* và *Saiboku-to*, được sử dụng để giảm lo lắng, căng thẳng và thúc đẩy giấc ngủ [8]. Nụ hoa khô của loài *M. biondii* từ lâu đã được sử dụng trong y học Trung Quốc để điều trị viêm xoang, đau đầu và viêm mũi dị ứng [8]. Do đặc tính chống viêm, nụ hoa khô của *M. fargesii* từ lâu đã được sử dụng trong thảo dược để điều trị các bệnh về phổi, nghẹt mũi, viêm xoang và viêm mũi dị ứng [9]. Một trong những phương thuốc truyền thống phổ biến nhất của Trung Quốc có thành phần là nụ hoa khô *M. sprengeri* (*Magnoliae Flos* hoặc *Xin-yi*). Nó đã được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền phương Đông để điều trị các triệu chứng như viêm mũi cấp tính hoặc mãn tính, viêm mũi dị ứng và các bệnh viêm mũi khác [8]. Vỏ của *M. obovata* (*Hu-Bak*) là một bài thuốc truyền thống phổ biến của Trung Quốc được sử dụng để làm giảm chứng khó tiêu và giảm lượng đờm [10]. Rễ, thân và cành của *M. officinalis* (*Hou-pu*) được sử dụng trong y học cổ truyền Trung Quốc để điều trị nhiều loại bệnh, bao gồm trầm cảm, ho, hen suyễn, bệnh gan, sưng tấy, các vấn đề về tiết niệu và tiêu chảy [11].

Ngoài ra, một số loài *Magnolia* phân bố ở châu Mỹ còn đóng góp giá trị trong các bài thuốc cổ truyền. *M. ovata* là một cây thuốc được trồng rộng rãi khắp Brazil. Vỏ thân được dùng để chữa sốt và lá được cho là có tác dụng chữa bệnh tiểu đường [12]. *M. virginiana* được sử dụng ở miền đông Hoa Kỳ để điều trị bệnh sốt rét, tiêu chảy và thấp khớp [13], giúp nhuận tràng và bài tiết mồ hôi dưới dạng thuốc sắc ấm hoặc như một tác nhân chống lại sốt từng cơn, bột vỏ cây được ngâm cồn để xoa bóp [14].

Bên cạnh đó, nhiều loài *Magnolia* đã được sử dụng trong các bài thuốc dân gian khác nhau. Nụ hoa khô của loài *M. fargesii* thường được sử dụng để điều trị các bệnh như viêm mũi dị ứng, viêm xoang, nghẹt mũi và viêm màng phổi [9]. *M. obovata*

được sử dụng điều trị rối loạn tiêu hóa, lo âu, bệnh dị ứng và hen phế quản [15]. *M. sieboldii* để điều trị các bệnh viêm nhiễm như viêm mũi, viêm phổi và viêm tử cung [16].

Ở Việt Nam, một số loài *Magnolia* đã được dùng để ướp trà hoặc làm thuốc chữa bệnh. Hoa của loài Ngọc lan hoa vàng (*M. champaca*) được dùng để điều trị ung thư dạ dày. Dạ hợp hương (*M. figo*) được dùng để ướp trà chữa cảm sốt. Hoa của loài Dạ hợp hoa to (*M. grandifolia*) cho tinh dầu dùng trong hương liệu, lá chữa cao huyết áp [17]. Cây trứng gà hay dạ hợp nhỏ (*M. coco*) có hoa thơm dùng ướp trà, thân gỗ dùng làm thuốc chữa sốt, thấp khớp, sắc nước uống cho phụ nữ sau sinh [4].

1.1.3. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Magnolia*

Trong thế kỷ 20, một số nghiên cứu về hóa học và dược lý thực vật đã tập trung vào nhiều loài thuộc chi này vì tầm quan trọng to lớn của nó trong chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Các báo cáo trước đây đã chỉ ra các nhóm hợp chất chính trong chi *Magnolia* gồm alkaloid, terpenoid, lignan, neolignan, phenylethanoid, phenolic... [18-22]. Theo các báo cáo này, một số loài như *M. grandiflora*, *M. officinalis*, *M. obovata* và *M. biondii* được nghiên cứu nhiều về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học. Trong đó, thành phần hóa học của *M. officinalis* và *M. grandiflora* được nghiên cứu rộng rãi nhất trong số các loài thuộc chi *Magnolia*, hai loài này cũng được nghiên cứu đầy đủ về các bộ phận của cây.

Từ những năm 2000 trở lại đây, tiếp tục có nhiều những nghiên cứu về thành phần hoạt tính của các loài thuộc chi này trên thế giới. Ở Việt Nam các nhà nghiên cứu cũng đã có những đánh giá về hoá học của một số loài *Magnolia* như *M. phuthoensis*, *M. insignis*, *M. coriacea*, *M. coco* và *M. hypolampra*. Tính đến nay, trên thế giới chỉ có khoảng 30 loài *Magnolia* đã được nghiên cứu về thành phần hoá học. Nhiều hợp chất mới được công bố và các hoạt tính mới lạ, thú vị đã được thử nghiệm.

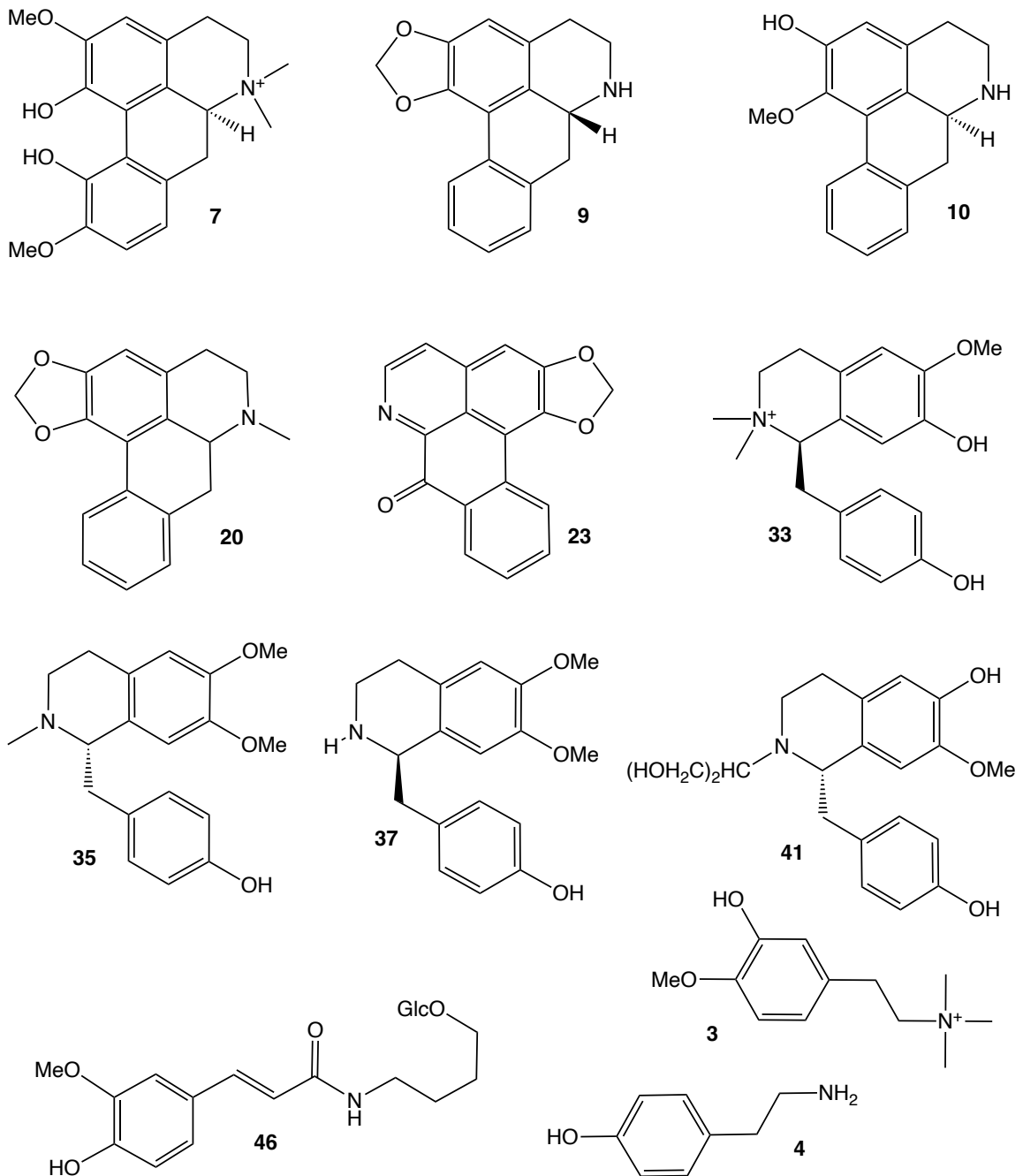
1.1.3.1. Trên thế giới

a. Nhóm hợp chất alkaloid

Từ các loài thuộc chi *Magnolia* các nhà khoa học đã phân lập được chủ yếu các alkaloid loại isoquinoline. *M. obovata* và *M. grandiflora* là các loài ghi nhận alkaloid nhiều nhất trong chi này. Từ dữ liệu hóa thực vật, không phải tất cả các loài thuộc chi này đều có khả năng sinh tổng hợp các hợp chất alkaloid, nhưng nhóm hợp chất này vẫn là một nhóm chất hiện diện khá nhiều trong các loài *Magnolia*. Alkaloid đã được ghi nhận nhiều từ các loài như *M. grandiflora*, *M. coco*, *M. denudata*, *M. kachirachirai*, *M. kobus*, *M. obovata*, *M. officinalis*. Bên cạnh đó, trên thực tế cho thấy alkaloid từ các loài *Magnolia* thường phân lập được từ các bộ phận vỏ thân, vỏ

rễ, gỗ hay hoa, ít được ghi nhận từ lá. Các hợp chất alkaloid phân lập từ chi *Magnolia* được tổng hợp tại bảng PL1.

Có khoảng 50 alkaloid khác nhau với phần lớn là các dẫn xuất aporphin hoặc noraporphine (**6-32**) được phân lập từ chi *Magnolia* đã được công bố. Liriodenine (**23**) là loại alkaloid phổ biến nhất ở *Magnolia* và đã được tìm thấy ở ít nhất 11 loài khác nhau. Bên cạnh đó là các hợp chất magnoflorine (**7**) (10 loài), asimilobine (**10**) (8 loài), roemerine (**20**) (5 loài), anonaine (**9**) (4 loài).



Hình 1.1. Cấu trúc của một số alkaloid phân lập từ chi *Magnolia*

Ngoài ra, còn có 9 alkaloid thuộc khung benzyloisoquinoline (**33-45**) cũng đã được phân lập từ các loài trong chi *Magnolia*. Trong đó, magnocurarine (**33**) (6 loài), armepavine (**35**) (3 loài), *N*-norarmepavine (**37**) (3 loài) thường được ghi nhận trong

nhóm hợp chất này. Bên cạnh đó, còn có 5 alkaloid loại amino (**1-5**) được ghi nhận phân lập từ một số loài *Magnolia*, trong đó, salicifoline (**3**) (4 loài) và tyramine (**4**) (4 loài) là khá phổ biến.

Những năm gần đây, các nghiên cứu về thành phần hoá học đã công bố thêm các alkaloid mới. Năm 2020, hai hợp chất alkaloid được ghi nhận lần đầu tiên từ nụ hoa của loài *M. biondii* là (*S*)-2-(1,3-propanediol-2-yl)-isococlaurine (**41**) và 4,4'-dihydroxy-3-methoxy-paucine-4'-*O*- β -D-glucopyranoside (**46**) [23].

b. Nhóm hợp chất lignan và neolignan

Lignan và neolignan là một trong những nhóm chất chuyển hóa thứ cấp chính được tìm thấy trong chi *Magnolia*. Cho đến nay, có hơn 250 hợp chất lignan và neolignan (**50-318**) đã được phân lập từ khoảng 17 loài thuộc chi *Magnolia*.

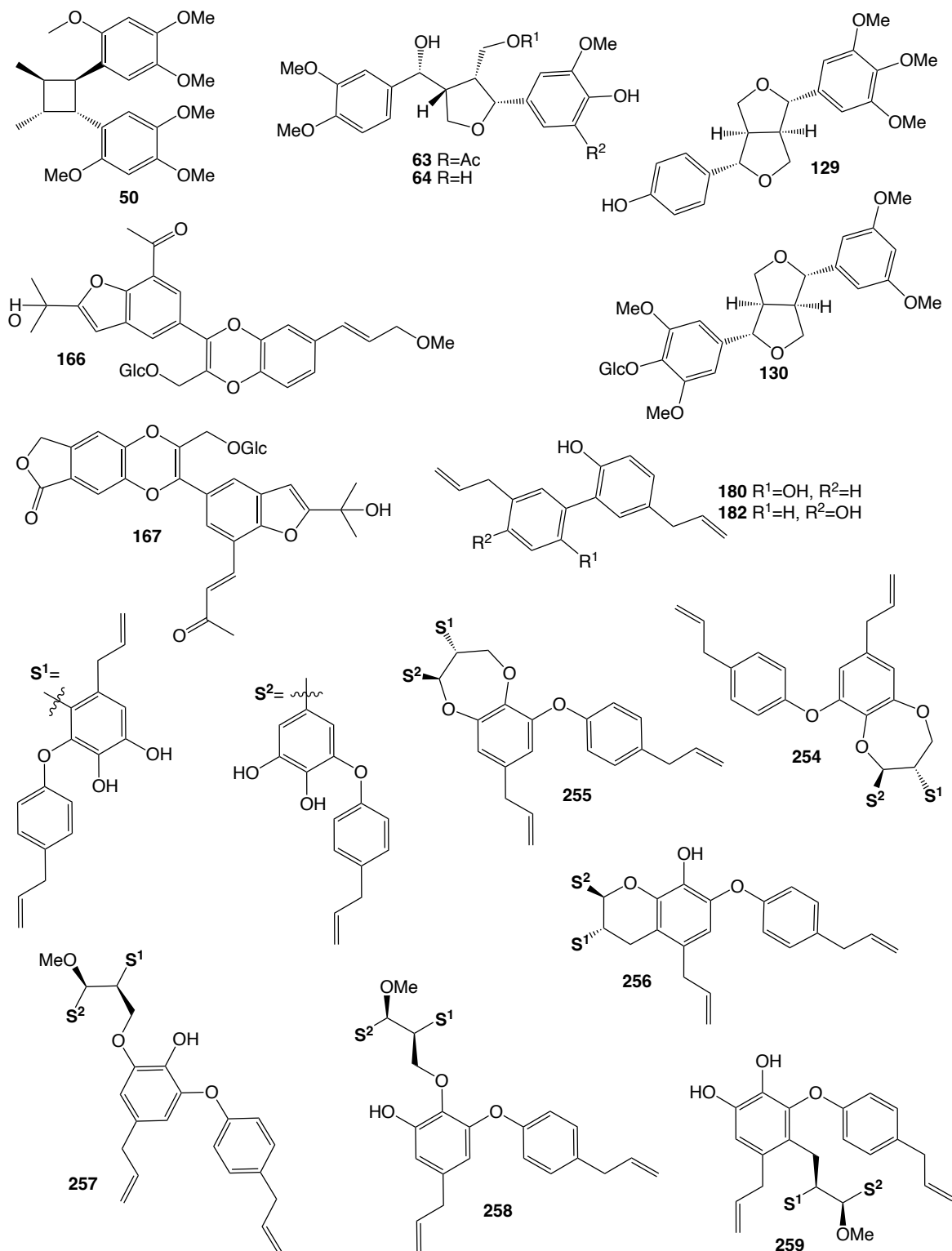
Lignan được định nghĩa là các dimer của các đơn vị phenylpropanoid (C6-C3) được liên kết bởi các nguyên tử cacbon trung tâm b-b' (C8-C8'). Ngược lại, các dimer tự nhiên có các liên kết khác với liên kết loại b-b' này được gọi là neolignan [24, 25]. Theo đó, các hợp chất lignan và neolignan phân lập từ chi *Magnolia* được chia thành 12 phân nhóm gồm: diaryl-dimethylcyclobutane (**50**), tetrahydrofuran (**51-95**), tetrahydrofurofuran (**96-133**), aryl-naphthalene (**134-135**), spirocyclohexadienone (**136-141**), benzofuranoide và hydrobenzofuranoide (**142-175**), biphenyl lignanoide (**176-214**), diarylpropane (**215-230**), hybrid neolignan (**231-253**), oligomeric lignan và neolignan (**254-295**), norlignan (**296-306**) và miscellaneous (**307-318**) (bảng PL1).

Thống kê cho thấy các lignan dạng tetrahydrofuran, tetrahydrofurofuran, benzofuranoide, hydrobenzofuranoide và biphenyl lignanoide là điển hình trong chi *Magnolia*. Trong đó, các hợp chất honokiol (**180**) (5 loài), magnolol (**182**) (5 loài) và obovatol (**203**) (5 loài) thuộc nhóm biphenyl lignanoide được ghi nhận ở các bộ phận khác nhau của các loài *Magnolia* với nhiều hoạt tính có giá trị [26]. Bên cạnh đó, các lignan và neolignan đóng góp thành phần hoạt tính rộng rãi của các loài *Magnolia* gồm gây độc tế bào, kháng viêm, kháng oxy hoá, kháng tiểu đường...

Những năm gần đây, các nghiên cứu từ các loài *Magnolia* đã công bố thêm nhiều hợp chất lignan và neolignan mới. Năm 2020, 5 hợp chất oligomeric neolignan là houpulignan A-F (**254-259**) được phân lập từ lá của *M. officinalis* [27].

Năm 2021, Qinge Ma cùng các cộng sự công bố thêm 2 hợp chất neolignan từ nụ hoa của *M. biondii* là 3,4-(10-methoxy-phenylallyl)-9''-((10'-isopropanol-3',4'-furan)-phenylacetyl)-8''-dioxane-7''-*O*- β -D-glucopyranoside (**166**), 3,4-benzolactone-9''-((12'-isopropanol-3',4'-furan)-phenylbutenone)-8''-dioxane-7''-*O*- β -D-glucopyranoside (**167**) [28].

Gần đây nhất, năm 2023, Xing Zhang và các cộng sự [29] đã công bố hai hợp chất lignan furofuran (**63-64**) và hai hợp chất lignan tetrahydrofuran mới (**129-130**) từ nụ hoa của *M. biondii*.



Hình 1.2. Cấu trúc của một số lignan và neolignan phân lập từ chi *Magnolia*

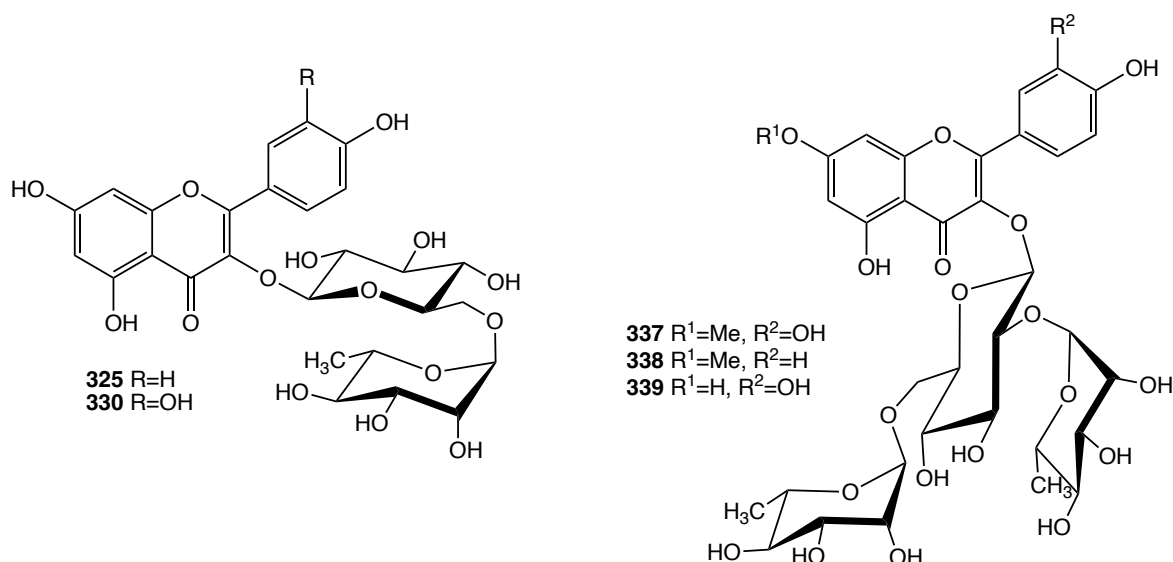
c. Nhóm hợp chất flavonoid

Các flavonoid phân lập từ các loài *Magnolia* đều thuộc hai loại anthocyanidin và flavone. Các hợp chất flavonoid được ghi nhận ở khoảng 10 loài thuộc chi này

(bảng PL1). Về mặt cấu trúc, chúng thường là các glycoside của rhamnetin, rhamnocitrin, kaempferol và quercetin. Đặc điểm phổ biến nhất của các flavonoid *Magnolia* là cấu trúc glycosyl hóa, đặc biệt là ở C-3 (**319-343**).

Hợp chất flavonoid xuất hiện nhiều ở các loài *Magnolia* có thể kể đến như rutin (**330**) (8 loài) và nicotiflorin (**325**) (5 loài). Nhóm hợp chất này thường được phân lập từ bộ phận lá, cành và hoa của các loài *Magnolia*. Không có nhiều các flavonoid aglycone được báo cáo từ chi này. Ngoài ra, các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của nhóm hợp chất này cũng chưa nhiều.

Vào năm 2019, Chutima Srinroch và cộng sự đã phân lập được năm flavonol triglycoside từ loài *M. utilis*, trong đó có ba hợp chất mới là champaluangoside A-C (**337-339**) [30].

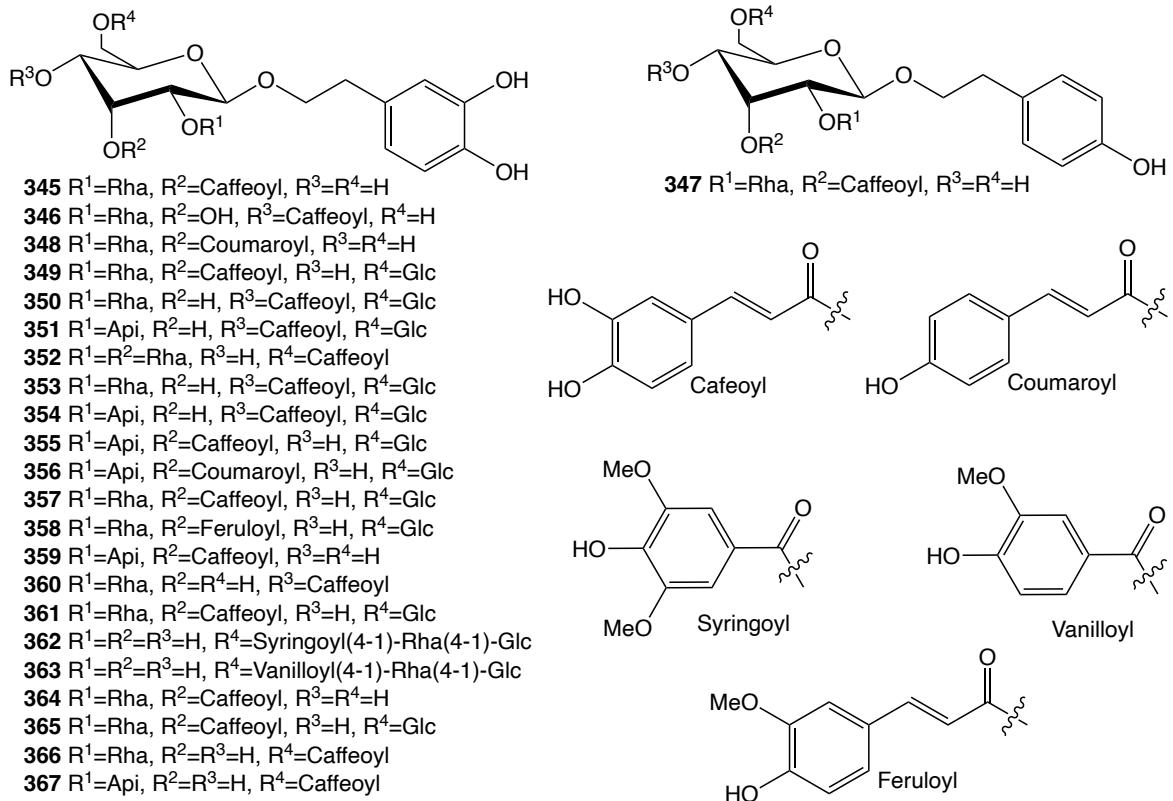


Hình 1.3. Cấu trúc của một số flavonoid phân lập từ chi *Magnolia*

d. Nhóm hợp chất phenylethanoid glycoside và phenolic

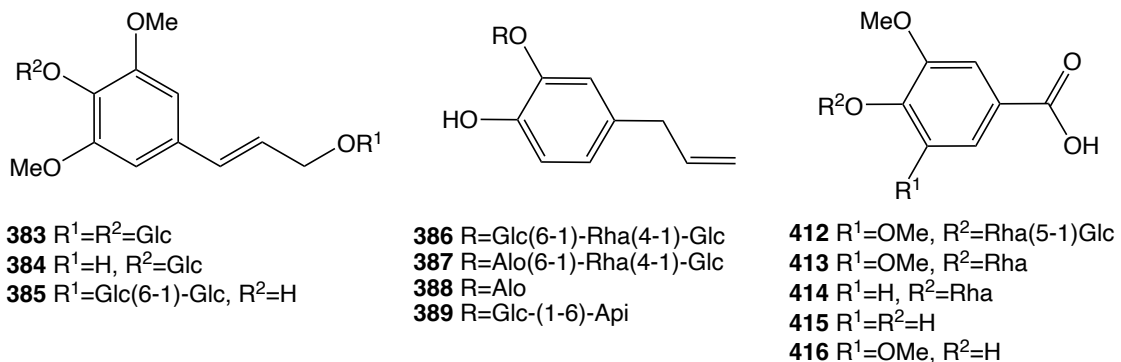
Các nhà nghiên cứu cũng đã xác định được hơn 30 phenylethanoid glycoside từ chi *Magnolia* (**345-377**). Cấu trúc của các hợp chất này bao gồm hai phần: 2-phenylethanol và glycoside. Hầu hết trong nhóm chất này, vị trí C-3 và C-4 của 2-phenylethanol sẽ được thay thế bằng các nhóm chứa oxy (hydroxyl, methoxy), ngoại trừ hợp chất magnoloside Ib (**347**) chỉ thế nhóm hydroxyl ở C-4.

Trong khi đó, phần glycoside thường có cấu trúc của các gốc đường như glucose, rhamnose và galactose và thường tạo ester chứa caffeoyl, coumaroyl và feruloyl. Gần đây, nhiều phenylethanoid glycoside đã được tìm thấy từ các loài *M. thailandica*, *M. henryi*, *M. hodgsonii* và *M. officinalis* var. *biloba* (bảng PL1). Chỉ riêng loài *M. officinalis* var. *biloba* đã ghi nhận được chín hợp chất phenylethanoid glycoside [31]. Phenylethanoid glycoside từ vỏ thân của *M. officinalis* có tác dụng gây độc tế bào đáng kể [32]. Trong khi các hợp chất phân lập từ *M. officinalis* var. *biloba* được ghi nhận có hoạt tính chống oxy hóa [33].



Hình 1.4. Cấu trúc của một số hợp chất phenylethanoid glycoside phân lập từ chi *Magnolia*

Bên cạnh đó, các loài *Magnolia* cũng sinh tổng hợp khá nhiều các hợp chất phenolic. Các phenolic có cấu trúc propylbenzen (C6-C3) tương đối phổ biến, với các proton ở vị trí C-3, C-4 và C-5 của vòng benzen được thay thế bằng các nhóm có oxy như hydroxyl, methoxy hoặc glycoside. Vị trí C-7, C-8 và C-9 của propyl thường bao gồm liên kết đôi hoặc liên kết với nhóm hydroxyl, methoxy hoặc glycoside (**383-389**). Hơn nữa, chi này sinh tổng hợp nhiều các phenolic là dẫn xuất của vanilic acid (**412-416**). Tuy nhiên, chưa có nhiều các nghiên cứu về tác dụng sinh học của nhóm hợp chất này thuộc chi *Magnolia*.



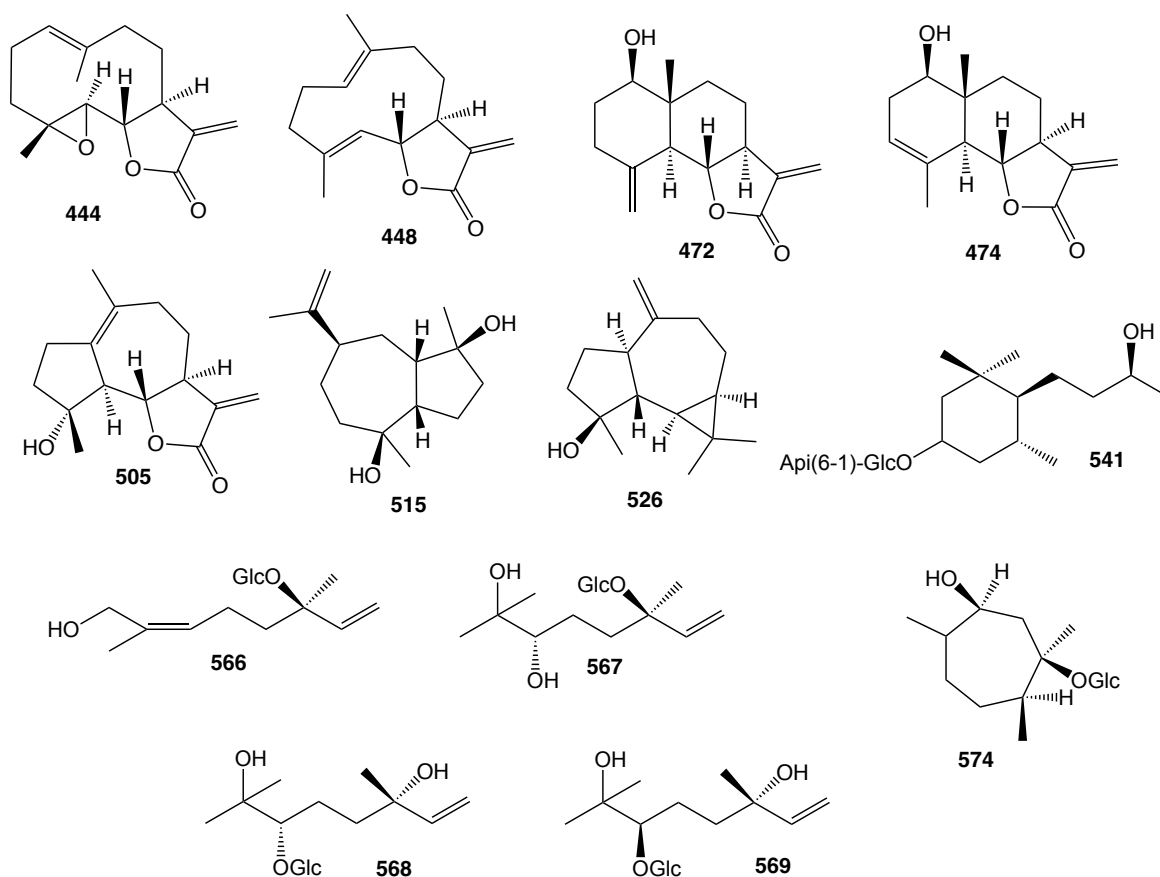
Hình 1.5. Cấu trúc của một số hợp chất phenolic phân lập từ chi *Magnolia*

e. Nhóm hợp chất terpenoid

Từ chi *Magnolia*, hơn 130 terpenoid (**438-574**) đã được phân lập từ nhiều loài khác nhau bao gồm monoterpene và sesquiterpene (bảng PL1). Germancrane (**438-**

463), eudesmane (464-500), guaiane (501-529) là những dạng sesquiterpen phổ biến trong chi này.

Các hợp chất parthenolide (444) và costunolide (448) thuộc khung germacrane được ghi nhận ở nhiều loài *Magnolia* với số lượng lần lượt là 6 loài và 5 loài từ các bộ phận khác nhau của cây. Các hợp chất này với phần cấu trúc vòng 11,13- γ -lactone không bão hoà được cho là tác nhân gây độc tế bào mạnh [34]. Nhóm eudesmane gồm hai vòng sáu (6/6) liền kề, có vòng γ -lactone hoặc không, đặc trưng trong nhóm này là reynosin (472) và santamarine (474). Nhóm guaiane có vòng năm và bảy liền kề (5/7), có thể có vòng γ -lactone (micheliolide 505) hoặc tạo vòng ba liên kết với vòng bảy (spathulenol 526) hoặc không có vòng ba (guaidiol 515). Ngoài ra, còn có một số sesquiterpene dạng norsesquiterpene với 13 carbon (megastigmane) cũng được tìm thấy nhiều ở các loài *Magnolia* (530-541).



Hình 1.6. Cấu trúc của một số terpenoid phân lập từ chi *Magnolia*

M. grandiflora là loài điển hình nhất với nhiều sesquiterpene được phân lập từ các bộ phận khác nhau. Năm 2023, Shuangyu Xu và các cộng sự đã phân lập từ lá của loài *M. grandiflora* tổng cộng 39 hợp chất với đa dạng các sesquiterpenoid khác nhau trong đó có 15 hợp chất mới [34].

Các monoterpene (**560-574**) được phân lập từ các loài như *M. biondii*, *M. fargesii*, *M. obovata*, *M. salicifolia*. Các monoterpene này có cấu trúc mạch thẳng hoặc mạch vòng.

Trong những năm gần đây, một số monoterpene glycoside mới cũng được ghi nhận phân lập từ chi *Magnolia*. Chẳng hạn, monthaphuoside B (**566**) và (3*R*,6*S*)-6,7-dihydroxy-6,7-dihydrolinaloyl 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**567**) được phân lập từ loài *M. henryi* [35], hay (3*S*,6*S*)-6,7-dihydroxy-6,7-dihydrolinaloyl 6-*O*- β -D-glucopyranoside (**568**) và (3*S*,6*R*)-6,7-dihydroxy-6,7-dihydrolinaloyl 6-*O*- β -D-glucopyranoside (**569**) phân lập từ loài *M. thailandica* [36].

f. Các nghiên cứu về thành phần tinh dầu

Magnolia là chi chứa tinh dầu có giá trị nên đã từ rất lâu cho đến ngày nay vẫn được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu. Về mặt hóa học, các thành phần chính được xác định trong hầu hết các loại tinh dầu *Magnolia* là eucalyptol, linalool, limonene, β -eudesmol, β -elemene, β -pinene và caryophyllene. Phân tích các thành phần hóa học được xác định trong tinh dầu *Magnolia* ghi nhận các nhóm hợp chất như hydrocarbon monoterpene, hydrocarbon sesquiterpene và sesquiterpenoid. Ngoài ra, các loại tinh dầu thể hiện các hoạt tính sinh học khác nhau, bao gồm các hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng nấm, gây độc tế bào, diệt tuyến trùng.

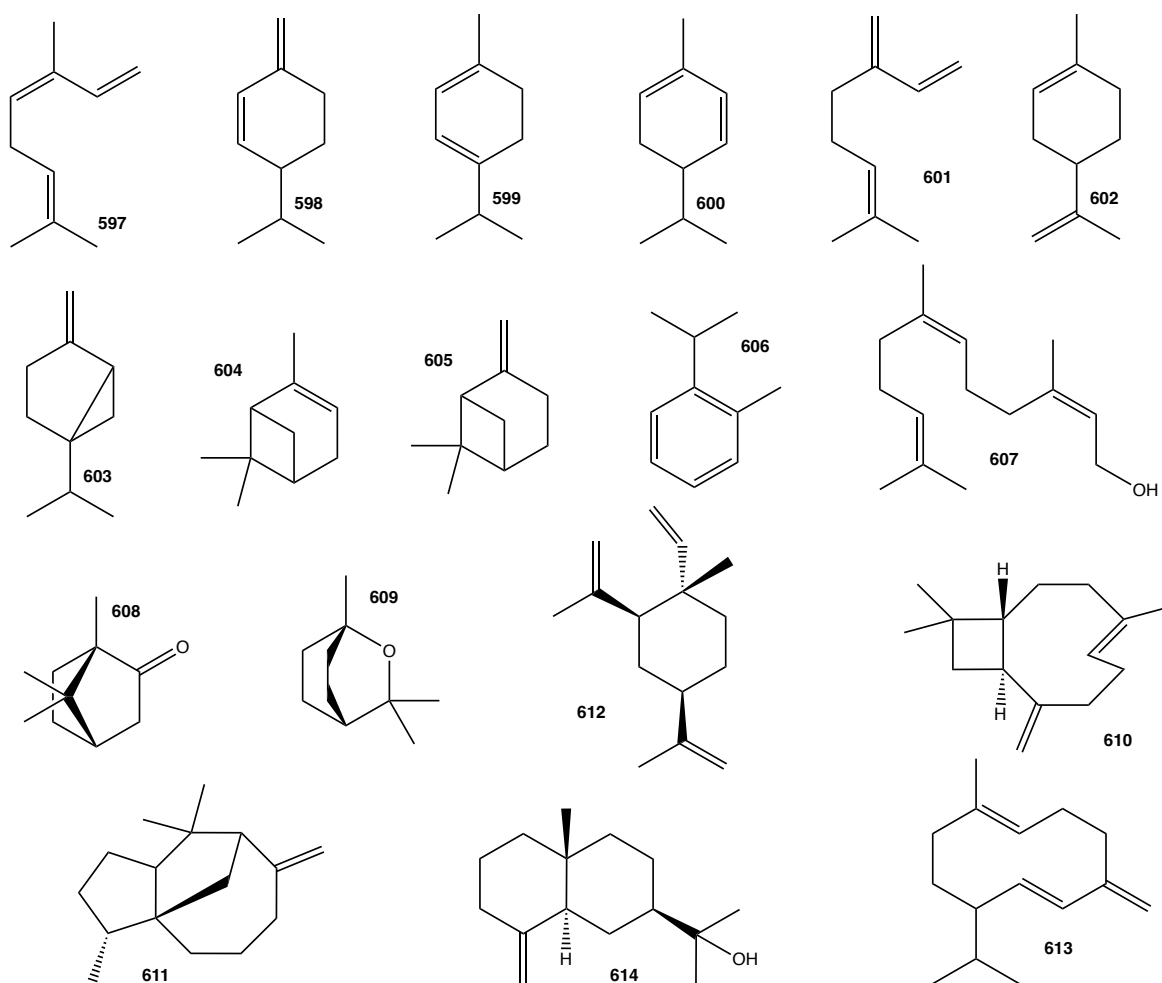
Loài *M. grandiflora* ở Mỹ được chú ý nghiên cứu nhiều về thành phần hoá học. Tinh dầu chủ yếu được chiết xuất từ lá, hoa và nụ hoa của cây này. Bên cạnh đó, các bộ phận khác như quả, vỏ cây, cành, chồi, hạt, vỏ, thân cũng đã được nghiên cứu. Tinh dầu từ hoa *M. grandiflora* có số lượng thành phần hóa học cao nhất (118 cấu tử) [37].

Trong một nghiên cứu, Zheng và các cộng sự [38] cho thấy tinh dầu của *M. kwangsiensis* chứa lượng hydrocarbon monoterpene cao nhất (86,59%), các cấu tử chính như *cis*- β -ocimene (**597**), β -phellandrene (**598**), α -terpinene (**599**), α -phellandrene (**600**), và β -myrcene (**601**). Hơn nữa, nghiên cứu cũng báo cáo sự hiện diện của limonene (**602**) (18,5-20,8%) là thành phần chính trong tinh dầu hoa *M. kwangsiensis* [39] và *M. kobus* [40].

Các nghiên cứu khác lại chỉ ra rằng các monoterpene như sabinene (**603**) [41], α -pinene (**604**) [42], β -pinene (**605**) [43-47], *o*-cymene (**606**) [48] và β -ocimene [38, 44] là thành phần chính trong tinh dầu *Magnolia*. Khoảng 47,16% tinh dầu từ nụ hoa ở *M. fargesii* là monoterpene mang oxygen và điển hình là farnesol (**607**), camphor (**608**), eucalyptol (**609**) và α -terpineol [49]. Ngoài ra, eucalyptol có trong hầu hết các

loại tinh dầu *Magnolia*, chẳng hạn như trong *M. grandiflora* [43], *M. bondii* [50], *M. denudata* [40, 51] và *M. salicifolia* [52].

Tinh dầu hoa của *M. grandiflora* chứa khoảng 80% sesquiterpene hydrocarbon, chủ yếu là β -caryophyllene (**610**), β -cedrene (**611**), γ -elemene (**612**) và germanacrene D (**613**) [53]. Cả *M. sieboldii* [54-56] và *M. grandiflora* [46] đều chứa chủ yếu là β -elemene. Hơn nữa, sesquiterpenoid được tìm thấy chủ yếu trong một số loại tinh dầu *Magnolia*, chẳng hạn như spathulenol trong tinh dầu từ quả cây *M. ovata* [57], *trans*-nerolidol trong *M. denudata* [51] và *M. acuminata* [46] và β -eudesmol (**614**) trong *M. obovata* [57] và *M. officinalis* [58-60].

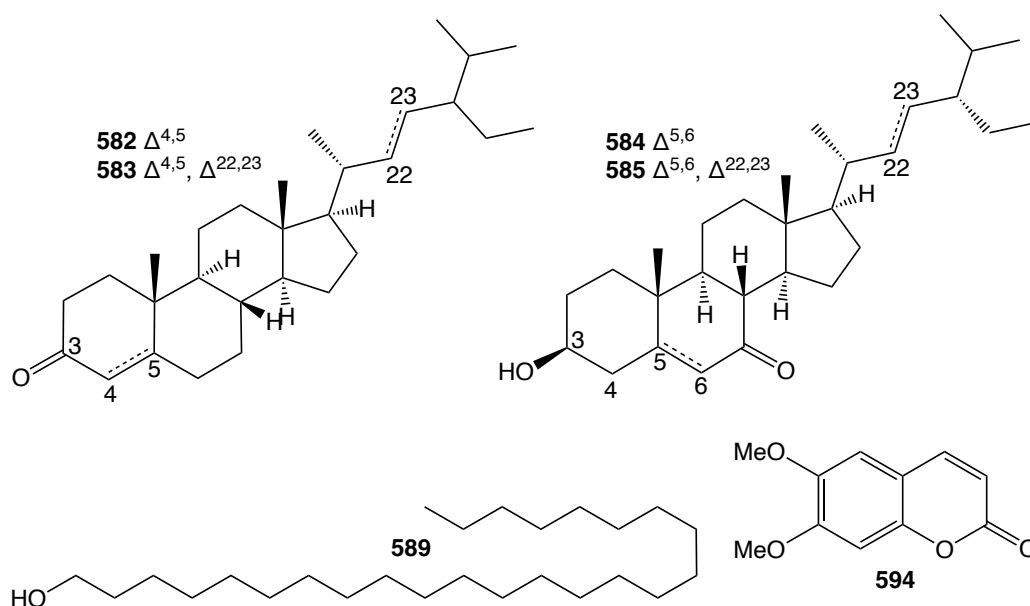


Hình 1.7. Cấu trúc hoá học của một số cấu tử từ tinh dầu các loài *Magnolia*

g. Các hợp chất khác

Ngoài các nhóm thành phần nói trên, các nhà nghiên cứu đã phân lập được các nhóm hợp chất khác từ loài *Magnolia*, bao gồm steroid (**575-585**), các hợp chất hydrocarbon (**586-593**) và coumarin (**594-596**) (bảng PL1). Các hợp chất này thường không đặc trưng cho chi *Magnolia* vì chúng thường xuất hiện ở nhiều họ trong giới thực vật. Steroid đã được phân lập từ các bộ phận khác nhau của *M. kachirachirai*, *M. officinalis* và *M. obovata*, các hợp chất hydrocarbon được tìm thấy ở *M. chevalieri*,

M. coriacea và *M. kachirachirai*, trong khi các hợp chất coumarin được ghi nhận từ *M. salicifolin*, *M. grandiflora*, *M. coco*.



Hình 1.8. Một số các hợp chất khác phân lập từ chi *Magnolia*

1.1.3.2. Ở Việt Nam

Các nghiên cứu về thành phần hoá học của các loài *Magnolia* tại Việt Nam được ghi nhận trên loài Mỡ phú thọ (*Manglietia phuthoensis* hay *M. chevalieri*), loài Giổi đá (*M. insignis*) và loài Giổi lá dai (*M. coriacea*). Thành phần chủ yếu là các hợp chất lignan, flavonoid, sesquiterpene và phenyl glycoside.

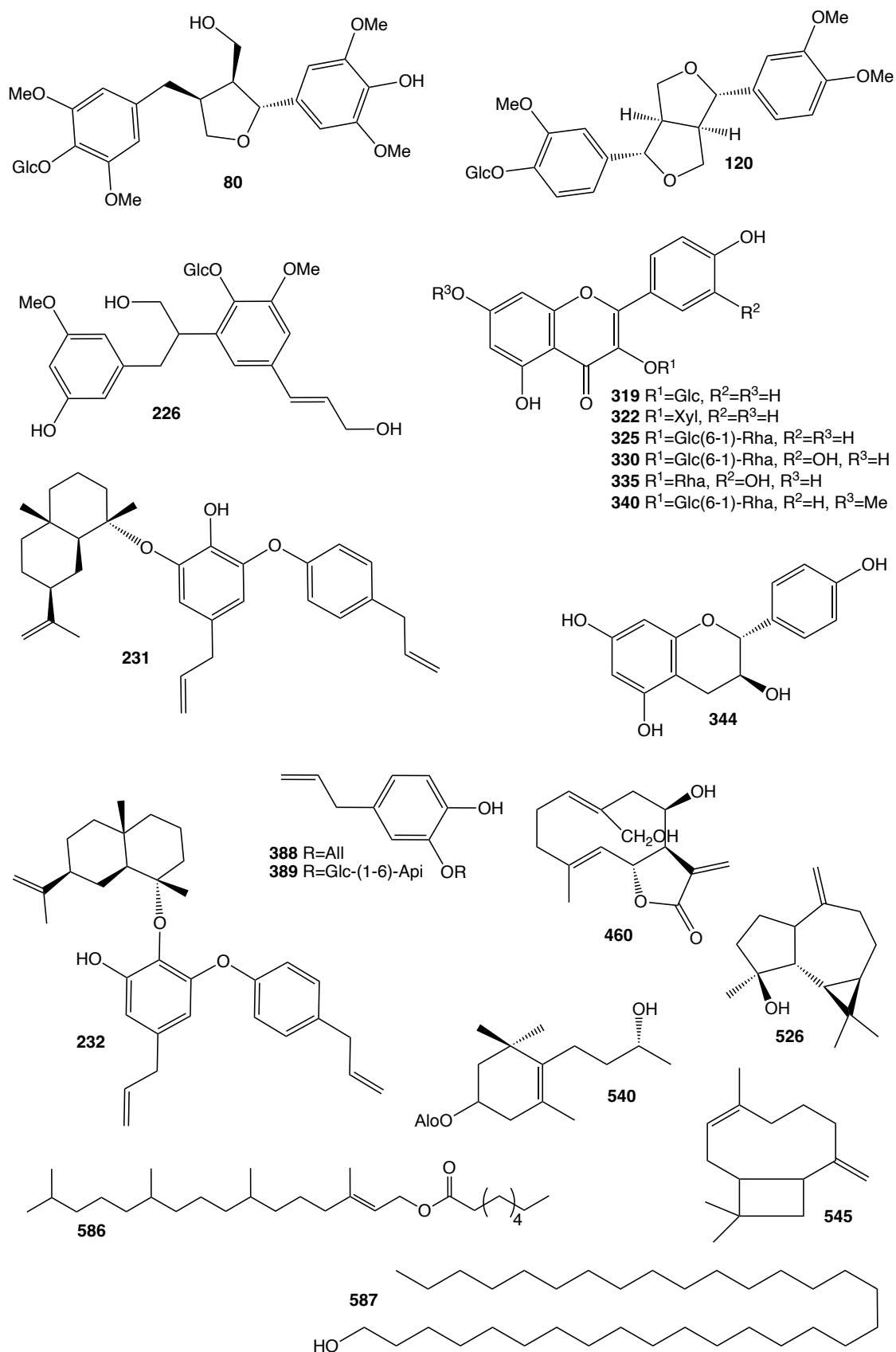
Năm 2008, từ lá của loài Mỡ phú thọ lần đầu tiên phân lập được 2 hợp chất phenyl glycoside gồm manglieside A-B (**388-389**), một hợp chất megastigmane glycoside, manglieside C (**540**) và 2 hợp chất lignan glycoside, manglieside D (**226**), E (**80**) [61]. Đến năm 2021, từ lá của loài này [62] đã công bố thêm 2 hợp chất neolignan sesquiterpenoid (hybrid neolignan) là chevalierinol A-B (**231-232**).

Năm 2020, từ lá của loài Giổi đá ghi nhận phân lập được 4 hợp chất flavonoid gồm (+)-afzelechin (**344**), nicotiflorin (**325**), kaempferol-3-*O*- β -D-xylopyranose (**322**), astragalin (**319**), 1 hợp chất sesquiterpene, budlein B (**460**) và một hợp chất lignan pinoselinol monomethyl ether- β -D-glucoside (**120**) [63].

Năm 2022, từ lá và cành của loài Giổi lá dai đã phân lập được 2 hợp chất sesquiterpene gồm spathulenol (**526**), caryophyllenol-II (**545**), 5 hợp chất flavonoid gồm rutin (**330**), quercitrin (**335**), rhamnocitrin 3-rutinoside (**340**), oxytroflavoside G (**328**), curcucomoside D (**320**) và 2 hydrocarbon gồm 2-phyten-1-yl-caprylate (**586**) và tritriacontan-1-ol (**587**) [64].

Bên cạnh đó, loài *M. coco* (Cây trứng gà) và *M. hypolampra* (Rò vành) đã được nghiên cứu về thành phần tinh dầu từ lá và cành. Từ lá của loài *M. coco* ghi nhận thành phần chính của tinh dầu là sabinene và β -pinene [65]. Trong khi đó, từ lá và

cành của *M. hypolampra* thành phần chính trong tinh dầu là các monoterenoid và sesquiterpenoid với β -pinene, α -pinene và germacrene D là các cấu tử chính [66].



Hình 1.9. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất phân lập từ một số loài *Magnolia* phân bố tại Việt Nam

Tóm lại, sau khi tổng hợp tài liệu thấy rằng chi *Magnolia* là một chi lớn của họ Magnoliaceae; mặc dù vậy, mới chỉ có khoảng 30 loài được nghiên cứu về thành phần hóa học trên thế giới và ở Việt Nam hiện chưa có nhiều các đánh giá về thành phần hoá học của các loài thuộc chi này. Các hợp chất phân lập từ chi *Magnolia* khá đa dạng bao gồm alkaloid, terpenoid, flavonoid, lignan, neolignan và các hợp chất phenol.

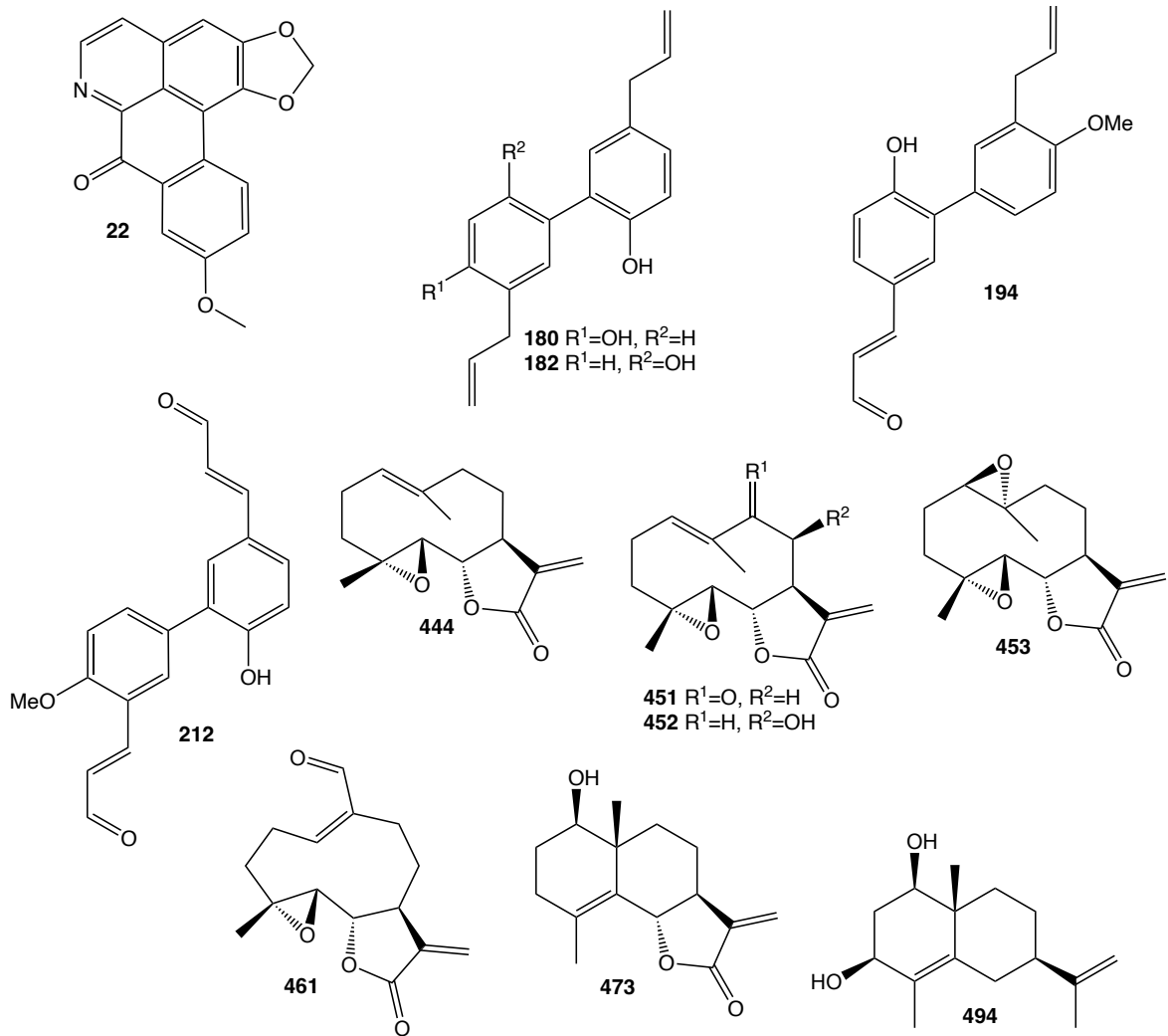
1.1.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học chi *Magnolia*

Với những tác dụng chữa bệnh truyền thống của một số loài *Magnolia*, trong hai thập niên qua, nhiều hợp chất chiết xuất từ chi này đã được nghiên cứu về tác dụng dược lý của chúng. Ngoài các hoạt tính được thử nghiệm phổ biến trên các hợp chất thiên nhiên như hoạt tính gây độc tế bào, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng oxy hoá, kháng tiêu đường các nhà khoa học còn ghi nhận các tác dụng bảo vệ thần kinh, kháng dị ứng [67], kháng nấm [68], chống sốt rét [69]... từ các hợp chất phân lập từ chi *Magnolia*.

1.1.4.1. Hoạt tính kháng ung thư

Đã có nhiều các thử nghiệm về hoạt tính gây độc tế bào từ các hợp chất phân lập từ chi *Magnolia*. Terpenoid và lignan chiếm tỷ lệ đáng kể trong danh sách này (từ năm 2003 – 2023) với lần lượt là 18 và 17 hợp chất (bảng PL2). Phenylethanoid glycoside bao gồm 13 hợp chất, trong khi alkaloid và phenolic mỗi loại có hai hợp chất. Các hợp chất được đánh giá độc tính trên một số dòng tế bào ung thư thông qua giá trị IC₅₀ (µM hoặc µg/mL). Trong đó, các hợp chất neolignan như honokiol (**180**) (IC₅₀ 6,3±0,5 µM/HepG2) phân lập từ loài *M. grandiflora* [70], 4'-methoxymagnaldehyde B (**194**) (IC₅₀ 1,3±0,3 µg/mL/HCT116) từ *M. obovata* [15], 4'-methoxymagnidialdehyde (**212**) (IC₅₀ 3,9 µg/mL/K562, 1,5 µg/mL/HeLa, 3,7 µg/mL/A549) [71] từ *M. officinalis* đều cho kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng ung thư *in vitro* tốt. Đặc biệt hai hợp chất alkaloid phân lập từ *M. grandiflora* gồm magnoflorine (**7**) (IC₅₀ 0,4 µg/mL/HepG2, 7,0 µg/mL/U251) và lanuginosine (**22**) (IC₅₀ 2,5 µg/mL/HepG2, 4,0 µg/mL/U251) đều cho kết quả chống thư rất tốt đối với hai dòng tế bào ung thư gan và ung thư thần kinh.

Bên cạnh việc thử nghiệm hoạt tính của các hợp chất, các nhà nghiên cứu đã nghiên cứu về mối quan hệ giữa cấu trúc và hoạt tính gây độc tế bào (SAR) của một số hợp chất. Cụ thể, trong một nghiên cứu, các sesquiterpene được phân lập từ *M. grandiflora* đánh giá hoạt tính kháng ung thư trên ba dòng tế bào: một dòng tế bào hồng cầu ở người (HEL) và hai dòng tế bào ung thư biểu mô đại trực tràng (Colo320DM và HCT116) [34].



Hình 1.10. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng ung thư

Sesquiterpene loại germanacrene gồm các hợp chất parthenolide **444** (IC_{50} 1,76 μ M/MDA-MB-468, 3,13 μ M/AGS, 6,63 μ M/HCT116, 8,62 μ M/HeLa, 5,80 μ M/MDA-MB-231), parthenolide-9-one **451** (IC_{50} 9,69 \pm 0,67 μ M/HCT116, 8,19 \pm 0,49 μ M/Colo320DM, 1,91 \pm 0,39 μ M/HEL), inulasalsolin **452** (IC_{50} 9,11 \pm 1,40 μ M/HCT116, 11,23 \pm 1,39 μ M/Colo320DM, 4,57 \pm 0,13 μ M/HEL), michelenolide **453** (IC_{50} 8,30 \pm 1,23 μ M/HCT116, 7,42 \pm 0,32 μ M/Colo320DM, 4,01 \pm 0,21 μ M/HEL), aldehyde **461** (IC_{50} 8,53 \pm 0,64 μ M/HCT116, 11,99 \pm 0,89 μ M/Colo320DM, 4,38 \pm 0,27 μ M/HEL), có vòng 11,13- γ -lactone không bão hoà và 1,2-epoxy được chứng minh là làm tăng tác dụng gây độc tế bào chống lại các dòng tế bào ung thư thực nghiệm. Hợp chất **451** có thêm nhóm α,β -carbonyl không bão hoà có khả năng gây độc tế bào đối với tế bào HEL gấp đôi so với hợp chất **452** không có nhóm này. Đối với các eudesmane, nhóm 11,13- γ -lactone không bão hoà và liên kết đôi như các hợp chất reynosin **472** (IC_{50} 7,15 \pm 0,39 μ M/HEL), magnolialide **473** (IC_{50} 9,54 \pm 2,08 μ M/HCT116, 5,73 \pm 0,32 μ M/Colo320DM, 4,99 \pm 0,85 μ M/HEL) là cần thiết cho hoạt tính chống khối u. Sesquiterpene loại guaiane, khi liên kết đôi được đặt ở vị trí $\Delta^{1,10}$

hoặc $\Delta^{10,14}$, cả hai hợp chất micheliolide **505** và 4 α -hydroxy-guaia-10(14),11(13)-diene-12,6 α -olide **494** đều thể hiện tác dụng ức chế chọn lọc trên tế bào HEL với giá trị IC₅₀ lần lượt là 6,00±0,20 và 6,43±0,50 μ M [34].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng các chất polyphenolic có hoạt tính chống ung thư mạnh [72]. Polyphenol được tạo thành từ một hoặc nhiều vòng thơm được kết nối trực tiếp với các nhóm hydroxyl nhất định. Có nhiều bằng chứng cho thấy lignan thực vật có đặc tính chống ung thư đáng kể và có thể được phát triển như một phương pháp điều trị ung thư hiệu quả [73, 74]. Nhiều nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* đã chỉ ra rằng honokiol **180** và magnolol **182** có hoạt tính chống ung thư mạnh [75, 76]. Điều trị đồng thời với honokiol và magnolol làm tăng tác dụng chống ung thư [77].

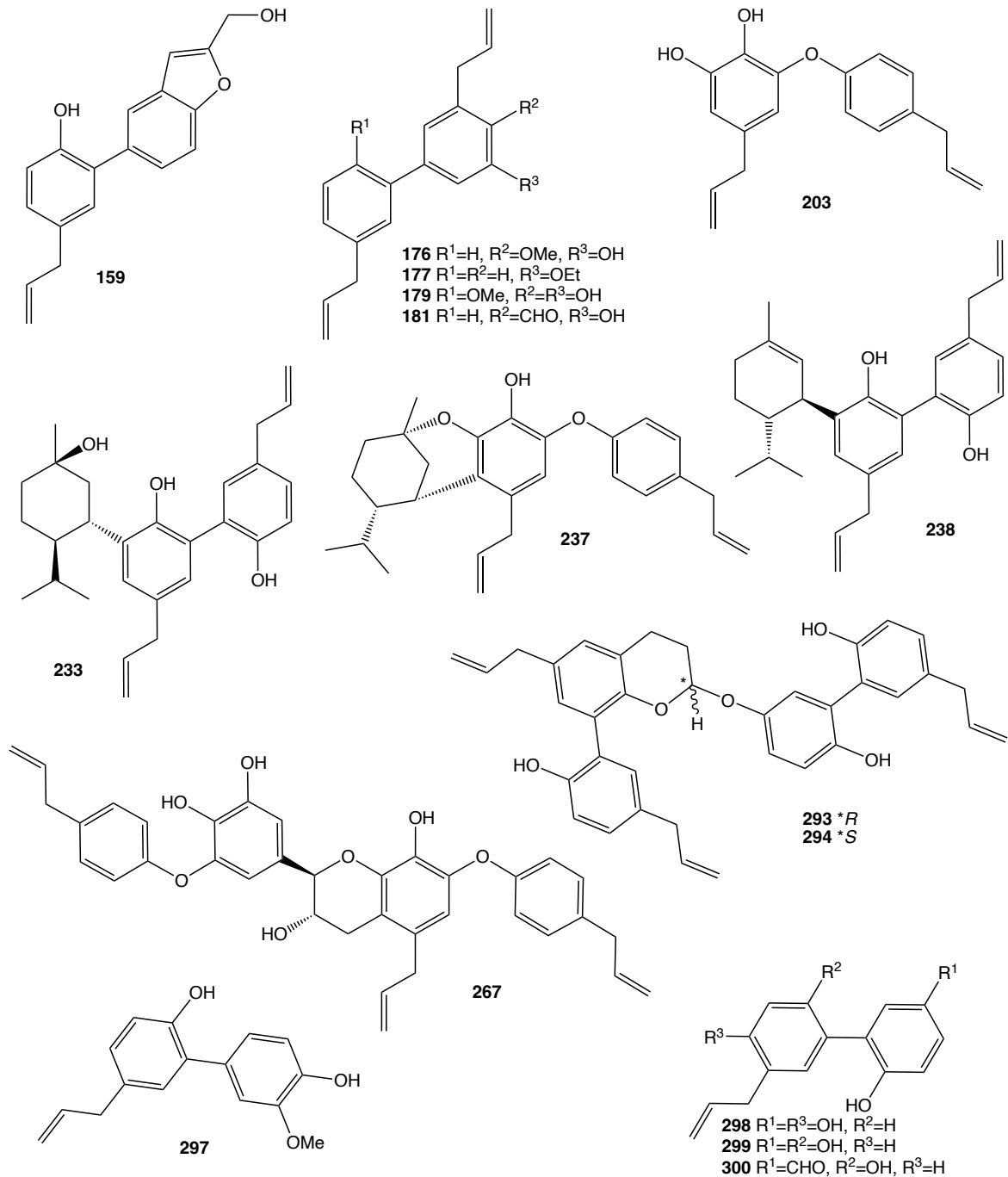
1.1.4.2. Hoạt tính kháng viêm

Viêm là phản ứng của hệ thống miễn dịch đối với các kích thích gây tổn hại như nhiễm trùng, tế bào bị tổn thương, chất độc hoặc chiếu xạ và nó hoạt động bằng cách loại bỏ các kích thích có hại, bắt đầu quá trình chữa lành [78, 79]. Do đó, viêm là một quá trình phòng thủ rất quan trọng đối với sức khỏe [80]. Nitric oxide (NO) là một phân tử tín hiệu rất cần thiết trong sinh lý bệnh của tình trạng viêm. Trong điều kiện sinh lý bình thường, nó hoạt động như một chất chống viêm. Tuy nhiên, NO cũng được cho là chất trung gian gây viêm, nó gây viêm khi được sản xuất quá mức trong môi trường bất thường [81]. Do đó, việc ức chế NO mang lại một bước quan trọng trong điều trị viêm.

Nhiều hợp chất từ chi *Magnolia* đã được đánh giá về khả năng chống viêm thông qua việc ức chế sản xuất NO do lipopolysaccharide (LPS) gây ra trong một số tế bào (bảng PL3). Hầu hết các hợp chất này là lignan và neolignan. Trong số đó, các hợp chất honokiol **180** và magnolol **182** đã được nghiên cứu rộng rãi về hoạt tính kháng viêm trong y học hiện đại [82, 83]. Các công bố cho thấy honokiol **180** phân lập từ *M. obovata* [10], officinalignan A **267** *M. officinalis* var. *biloba* [84] thể hiện hoạt tính kháng viêm rất tốt trên đại thực bào RAW 264.7 với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3,3±1,2 μ M và 3,26±0,44 μ M. Ngoài ra, 4-methoxyhonokiol **179**, một chất neolignan có nguồn gốc từ vỏ thân cây *M. obovata*, đã được chứng minh là có hoạt tính chống viêm *in vivo* đáng kể trong nhiều mô hình thử nghiệm khác nhau [85].

Hơn nữa, cơ chế đằng sau hoạt tính chống viêm này đã được nghiên cứu trên dòng tế bào đại thực bào ở chuột, RAW 264.7. Nghiên cứu cho thấy hợp chất **179** làm giảm đáng kể việc tạo ra NO, cũng như các biểu hiện protein và mRNA của iNOS và COX-2 trong các đại thực bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS. Obovatol **203** từ lá *M. obovata* đã được thử nghiệm về tác dụng của nó đối với việc tạo ra NO

và hoạt động của NF- κ B trong tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS. Các phát hiện chỉ ra rằng obovatol (1-5 μ M) ức chế hiệu quả việc tạo ra NO do LPS gây ra theo cách phụ thuộc vào nồng độ (IC₅₀ 0,91 μ M). Do đó, obovatol ức chế sự tạo ra NO thông qua việc ức chế hoạt động của NF- κ B/MAPK, khiến nó trở thành một loại thuốc chống viêm tiềm năng [86]. Các hợp chất obovatol **203**, magnatriol B **298**, randaiol **299** và magnaldehyde D **300** từ *M. officinalis* đã thể hiện sự ức chế hiệu quả NO do LPS gây ra trong dòng tế bào vi mô ở chuột (BV2) với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 9,0, 0,5, 1,2 và 9,2 μ g/mL [12].



Hình 1.11. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng viêm

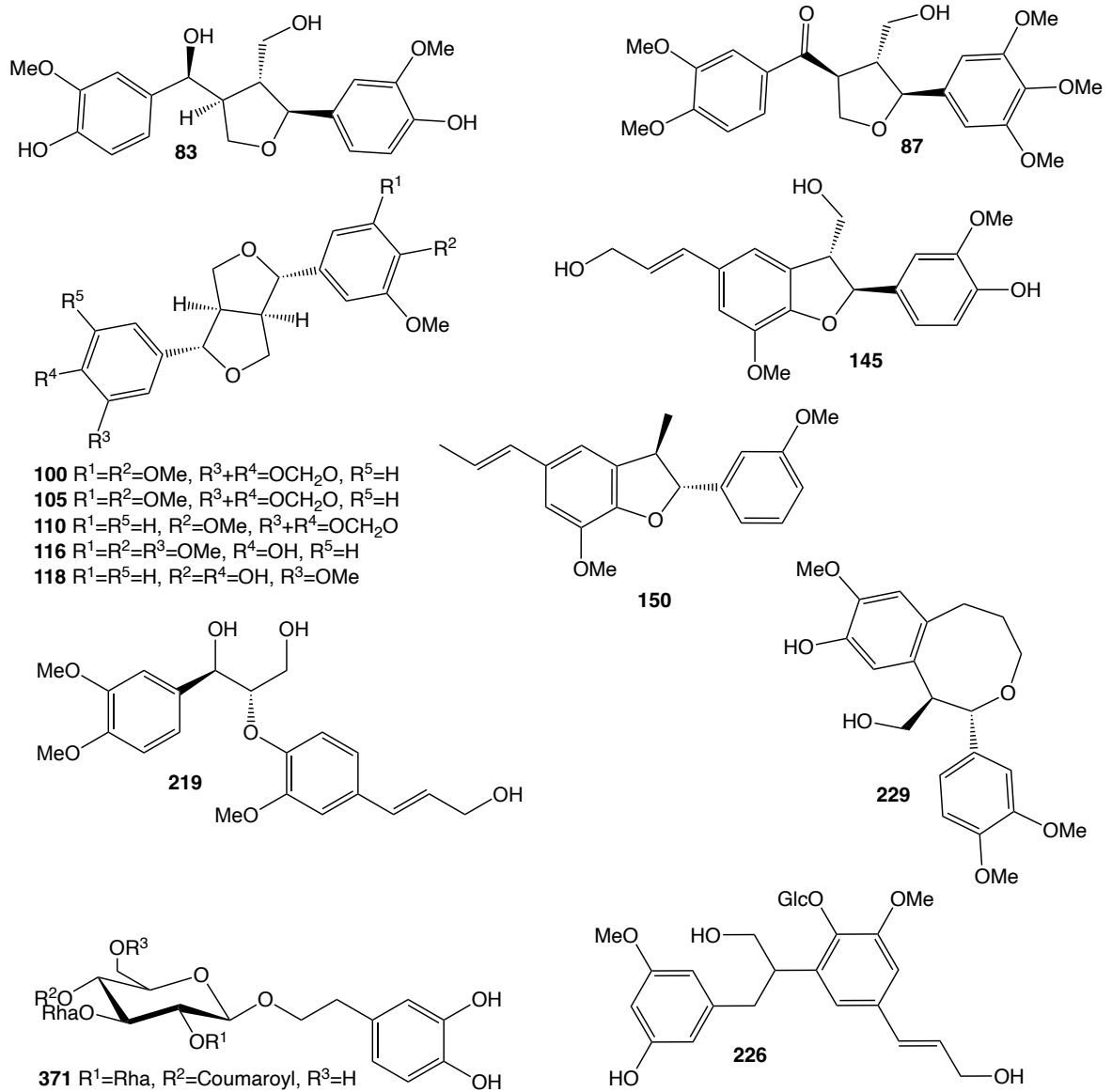
Bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và tế bào nội mô ở người đều tạo ra elastase, một loại enzyme phân giải protein. Elastase bạch cầu trung tính ở người được biết là thực hiện nhiều vai trò khác nhau trong cơ thể; tuy nhiên, hoạt động tăng lên của nó có thể dẫn đến một loạt bệnh tật. Thuốc ức chế elastase điều chỉnh hoạt động của enzyme này, đây là một phương pháp tiềm năng để điều trị viêm khớp dạng thấp và viêm cầu thận [87]. Các hợp chất 2-[2-(hydroxymethyl)-1-benzofuran-5-yl]-4-(prop-2-en-1-yl)phenol **159**, 2'-ethoxy-5,5'-di(prop-2-en-1-yl)biphenyl-2-ol **177** và vanilic acid **415** từ *M. denudata* đã ức chế sự giải phóng elastase do fMLP/CB gây ra, với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 6,4±1,5, 2,4±0,4, 1,5±0,2 và 4,8±0,5 µg/mL [88]. Các hợp chất phân lập từ *M. officinalis* gồm 4-methoxyhonokiol **179**, houpulin E **181**, 2,2'-dihydroxy-3-methoxy-5,5'-di-(2-propenylbiphenyl) **176**, obovatol **203**, houpulin F-J **233-237**, monoterpénylmagnolol **238**, houpulin K-L **293-294** và houpulin M **297**, đã ức chế sự giải phóng bạch cầu trung tính ở người để đáp ứng với FMLP/CB với IC₅₀ lần lượt là 8,18±1,33, 0,63±0,19, 3,39±0,83, 3,30±0,97, 3,56±1,06, 2,16±0,91, 10,69±1,93, 2,59±0,43, 3,67±0,15, 14,85±0,38, 2,25±0,06, 3,81±1,20 và 18,25±2,50 µM [89].

1.1.4.3. Hoạt tính chống oxy hoá

Ghi nhận từ năm 2003, hầu hết các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa được phân lập từ *Magnolia* là các phenolic và polyphenol. Chỉ có hợp chất magnoflorine **7**, một alkaloid, phân lập từ *M. officinalis* được thử nghiệm hoạt tính bắt gốc tự do DPPH (IC₅₀ 21,51±1,99 µg/mL), nhưng cấu trúc của nó vẫn là một polyphenolic. Các hợp chất **180**, **182**, manglieside D **226**, magnoloside A **3764**, magnoloside B **365**, magnoloside D **366** và magnoloside E **367** từ loài này cho thấy hiệu suất bắt gốc tự do DPPH với các giá trị IC₅₀ lần lượt là 12,79±1,06, 19,61±4,25, 25,61±1,78, 9,74±0,36, 7,00±0,13, 9,11±0,16 và 9,41±0,96 µg/mL [90].

Các hợp chất aschantin **100**, fargesin **105**, kobusin **110** và pinoresinol **118** từ *M. fargesii* cho thấy hoạt tính loại bỏ gốc superoxide mạnh với các giá trị ED₅₀ lần lượt là 19,2, 19,2, 16,5 và 27,7 µM [91]. Trong khi đó, cũng với thử nghiệm này, các hợp chất tanegool **83**, magnone B **87**, *O*-methylnagnolol **116**, (+)-dehydrodiconiferyl alcohol **145**, (7*R*,8*S*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenoxy]-propane-1,3-diol **219** và biondinin A **229** cho giá trị IC₅₀ lần lượt là 13,4, 62,8, 11,7, 42,2, 18,3 và 54,4 µM [92]. Các hợp chất **180**, **203**, **298** và **299** phân lập từ *M. officinalis* có hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH), với giá trị IC₅₀ lần lượt là 38,5, 33,0, 27,6 và 21,26 µg/mL [12].

Hợp chất licarin A **150** phân lập từ *M. ovata* thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do phụ thuộc vào nồng độ đáng kể với giá trị SC₅₀ là 56,1 µg/mL [93].



Hình 1.12. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính chống oxy hoá

Bên cạnh đó, mối quan hệ giữa hoạt tính bắt gốc tự do và cấu trúc của các phenylethanoid glycoside từ *M. officinalis* var. *biloba* đã được Lanlan Ge và cộng sự chứng minh thông qua các thử nghiệm bắt gốc DPPH, bắt gốc ABTS và bắt gốc anion superoxide với ascorbic acid và BHT làm đối chứng dương [33]. Thử nghiệm hoạt tính bắt gốc tự do cho thấy sự hiện diện của hai nhóm phenolic liền kề trong phân tử dẫn đến hoạt tính bắt gốc tự do mạnh. Càng có nhiều hai nhóm phenolic liền kề thì hoạt tính bắt gốc tự do càng mạnh. Cụ thể, các hợp chất magnoloside Ia **345** (IC_{50} $11,79 \pm 0,57 \mu M$), magnoloside Ic **346** (IC_{50} $12,99 \pm 0,48 \mu M$), magnoloside Ib **347** (IC_{50} $16,23 \pm 0,16 \mu M$) và magnoloside Va **351** (IC_{50} $20,99 \pm 0,50 \mu M$) chứa 2 loại đường nên khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt hơn các hợp chất crassifolioside **352** (IC_{50} $21,38 \pm 0,52 \mu M$), magnoloside IIa **349** (IC_{50} $22,94 \pm 0,26 \mu M$) và magnoloside IIb **350** (IC_{50} $24,62 \pm 0,15 \mu M$) chứa 3 loại đường. Ngoài ra, các hợp chất magnoloside IIIa **348** (IC_{50} $32,18 \pm 0,97 \mu M$) và magnoloside IVa **371** (IC_{50} $35,17 \pm 0,22 \mu M$) chỉ có

hai nhóm phenolic liền kề ở một bên có hoạt tính kém hơn các chất còn lại. Tuy nhiên, thử nghiệm bắt gốc tự do ABTS cho thấy hợp chất **351** (IC_{50} $6,23 \pm 0,06 \mu M$) có hoạt tính thấp nhất do nhóm apiose tạo ra tác động tiêu cực đến thử nghiệm này. Hợp chất **352** (IC_{50} $3,28 \pm 0,35 \mu M$) cho thấy khả năng bắt gốc tự do ABTS tốt hơn so với hợp chất **349** (IC_{50} $4,61 \pm 0,10 \mu M$) và **350** (IC_{50} $4,78 \pm 0,08 \mu M$) có thể do có nhóm glucose trong phân tử. Hơn nữa, thử nghiệm bắt gốc tự do anion superoxide cho thấy hoạt tính của hợp chất **351** (K_b $8,69 \pm 0,70 \cdot 10^{-4}$ A/s) là tốt nhất, trong khi hoạt tính của hợp chất **352** (K_b $11,57 \pm 0,17 \cdot 10^{-4}$ A/s) là kém nhất do sự khác biệt về các gốc đường trong phân tử. Từ những kết quả khác nhau do cơ chế của từng xét nghiệm, các tác giả cho rằng nên áp dụng phương pháp xét nghiệm kết hợp trong sàng lọc, đánh giá các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu tự nhiên.

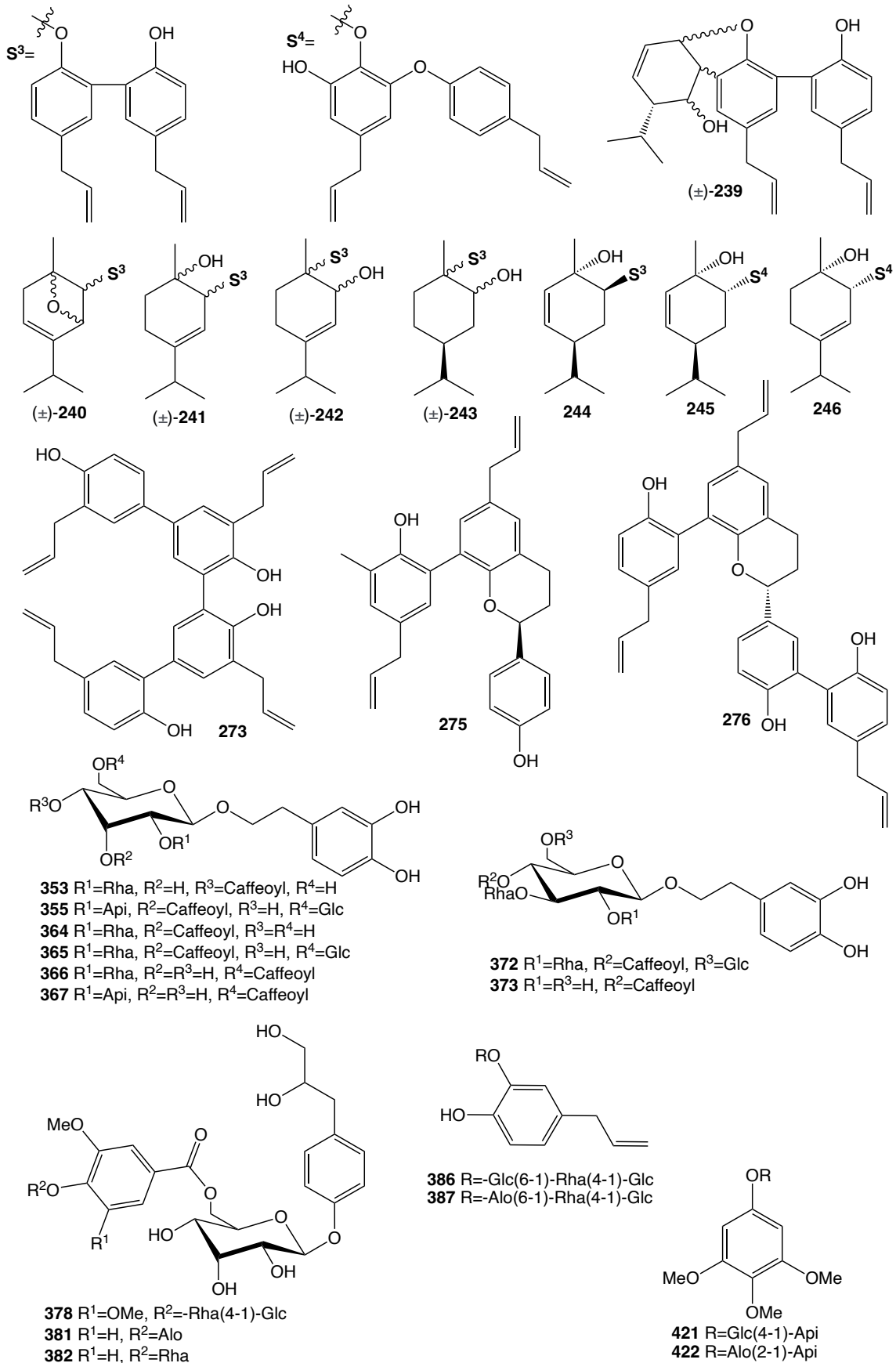
1.1.4.4. Hoạt tính kháng tiểu đường

Việc ức chế α -glucosidase ở ruột cản trở sự phân hủy oligo- và disaccharide từ carbohydrate trong chế độ ăn uống, làm chậm quá trình hấp thu glucose mà chúng chứa [94]. Thuốc ức chế α -glucosidase điều trị đáng kể trong bệnh tiểu đường type 2, nhiễm HIV, ung thư di căn [95].

Các hợp chất phân lập từ *M. officinalis* đã được đánh giá về hoạt tính ức chế α -glucosidase, với acarbose là đối chứng dương. Phenylethanoid glycoside magnoloside IVa **371**, verbascoside **373** và 2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanol 1-*O*-[4-*O*-caffeoyl-2-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-6-*O*- β -D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranoside **372** thể hiện khả năng ức chế α -glucosidase tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,13, 0,27 và 0,29 mM, nhưng các hợp chất magnoloside F **353**, H **355**, Y **381**, Z **382**, E **367**, A **364**, B **365** và D **366** thể hiện sự ức chế vừa phải (IC_{50} trong khoảng 0,51 - 0,94 mM) so với acarbose (IC_{50} 1,09 mM). Các phenolic glycoside gồm magnoloside Q **386**, magnoloside R **387**, magnoloside S-T **421-422** và magnoloside V **378** có tỷ lệ ức chế dưới 50% ở 1,0 mM. Dữ liệu này cho thấy phenylethanoid glycoside ức chế α -glucosidase mạnh hơn phenolic glycoside [96].

PTP1B xúc tác quá trình thủy phân phosphat của thụ thể insulin, làm giảm tín hiệu của insulin, đồng thời làm giảm tín hiệu leptin gây trạng thái béo phì hoặc rối loạn chuyển hóa [97]. Sự biểu hiện quá mức của enzyme này trong tế bào sẽ ức chế sự truyền tín hiệu bởi các thụ thể insulin, trong khi việc tăng biểu hiện của protein PTP1B này sẽ gây ra tình trạng kháng insulin [98]. Các hợp chất từ *M. officinalis* var. *biloba* đã được thử nghiệm về tác dụng ức chế PTP1B. Hợp chất magmenthane E **239** và H **246** thể hiện sự ức chế đáng kể, với giá trị IC_{50} lần lượt là 4,38 và 3,80 μM . Ở liều 10 μM , hợp chất magmenthane A-H (**239-246**) ức chế PTP1B lần lượt là 28,6, 64,1, 40,5, 11,7, 90,9, 26,4, 22,4 và 87,3% [99]. Với các thí nghiệm tương tự, các hợp

chất houpulin A (\pm)-**273**, houpulin C (\pm)-**275** và houpulin D (\pm)-**276** thể hiện hoạt tính ức chế PTP1B đáng kể với giá trị IC_{50} trong khoảng 0,14 - 2,10 μ M [100].



Hình 1.13. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng tiêu đường

1.1.4.5. Hoạt tính bảo vệ thần kinh

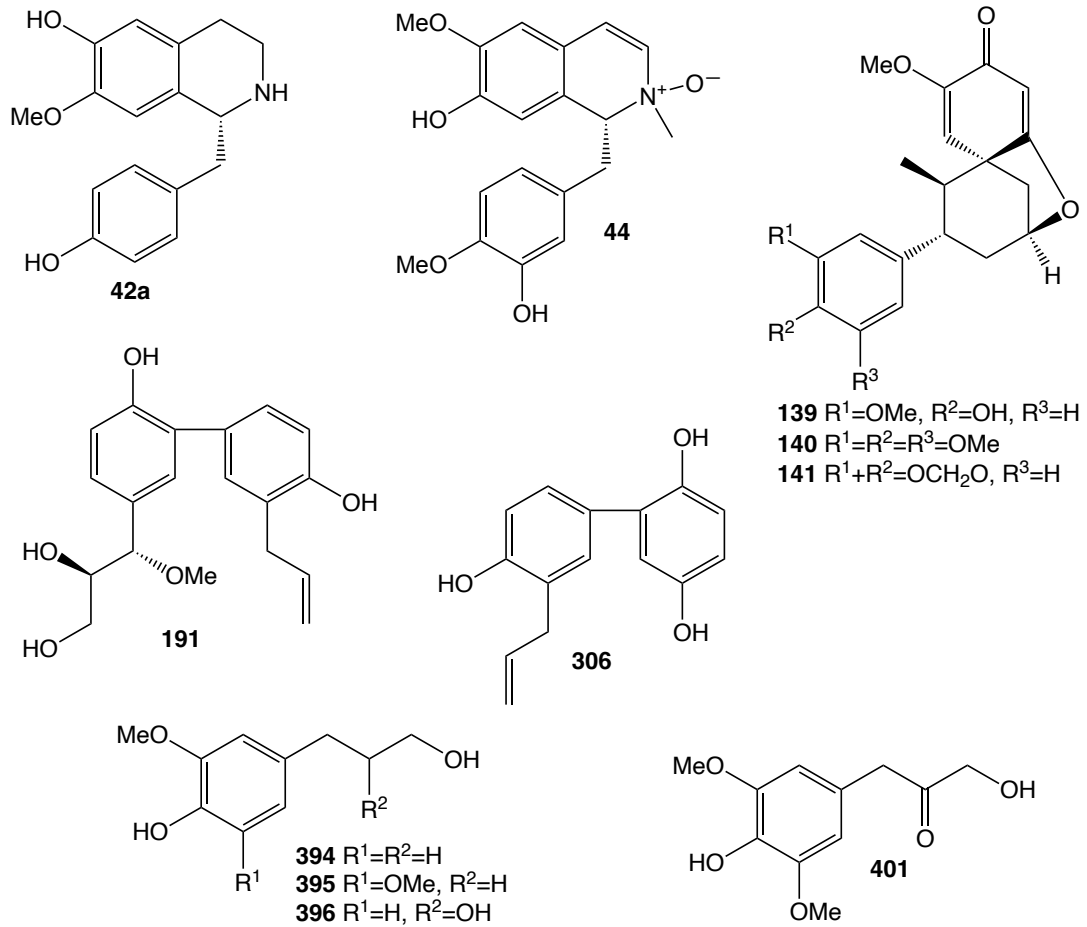
Các hợp chất magnoflorin D **139** và magliflonenone **140** thể hiện hoạt tính bảo vệ thần kinh vừa phải chống lại tổn thương tế bào PC12 do corticosterone gây ra ở 20 μM với khả năng sống sót của tế bào lần lượt là $71,5 \pm 0,99\%$ và $73,0 \pm 1,42\%$. Hợp chất futoenone **141** làm tăng sự phát triển nhanh chóng của tế bào thần kinh trong các tế bào PC12 do NGF gây ra thêm 11,98% ở mức 10 μM , so với 20,49% với NGF 50 ng/mL [101].

Các hợp chất từ vỏ cây *M. officinalis* var. *biloba* đã được nghiên cứu về lợi ích bảo vệ thần kinh của chúng chống lại tổn thương tế bào SK-N-SH do glutamic acid và thiếu hụt oxy glucose (OGD) [99]. Trong số các hợp chất magmenthane A-H (**239-246**) thì magmenthane A **239**, magmenthane C **241**, magmenthane D **242**, magmenthane E **243** và magmenthane G **245** có hoạt tính bảo vệ thần kinh chống lại tổn thương tế bào SK-N-SH do glutamic acid gây ra cao hơn so với thuốc đối chứng dương donepezil và TEA (lần lượt là 45,3% và 46,2%) ở liều 10 μM . Các hợp chất **242**, **243** và **245** có hiệu quả hơn các thuốc kiểm soát dương donepezil và TEA (lần lượt là 62,8% và 60,8%) trong việc điều trị tổn thương tế bào SK-N-SH do OGD gây ra.

Các chất ức chế AChE, còn được gọi là thuốc kháng cholinesterase, ngăn chặn enzyme cholinesterase phá vỡ AChE, do đó thúc đẩy mức độ và thời gian hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh [102]. Việc ức chế hoạt động AChE có thể gây ra một số hậu quả tiêu cực và độc tính cho sức khỏe [103]. Các hợp chất chiết xuất từ *M. biondii* đã được thử nghiệm *in vitro* về tác dụng ức chế AChE. Các hợp chất (+)-isococlaurine **42a**, (+)-reticuline *N*-oxide **44** và 4,4'-dihydroxy-3-methoxy-paucine-4'-*O*- β -D-glucopyranoside **45** cho thấy khả năng ức chế AChE vừa phải, với giá trị IC_{50} lần lượt là $8,2 \pm 1,8$, $10,4 \pm 2,5$ và $12,5 \pm 2,4$ μM [104]. Các hợp chất dihydroconiferylalcohol **394**, dihydroxyrinenin **395**, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propane-1,2-diol **396** và 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) propan-1-one **401** từ nụ hoa *M. biondii* cho thấy tác dụng ức chế ở mức độ vừa phải, với giá trị IC_{50} lần lượt là 25,7, 43,1, 38,1 và 31,9 μM [105].

Các hợp chất phân lập từ *M. officinalis* đã được thử nghiệm *in vitro* về hoạt tính ức chế đối với enzyme AChE và BChE. Hợp chất *threo*-7-*O*-methylhonokitriol **191** ức chế mạnh BChE ($\text{IC}_{50} = 190 \pm 3,67$ nM) nhưng không ức chế ở liều lên tới 2000 nM. Điều thú vị là magnotriol B **306** cho thấy tác dụng ức chế đáng kể đối với cả hai enzyme, với giá trị IC_{50} là $12,63 \pm 0,51$ (AChE) và $14,5 \pm 3,74$ nM (BChE). Hợp chất **306** có thể là một phân tử lead (một hợp chất hóa học có hoạt tính dược lý hoặc sinh

học có khả năng hữu ích về mặt trị liệu) khả thi để phát triển các loại thuốc mới điều trị bệnh Parkinson và bệnh Alzheimer [106].

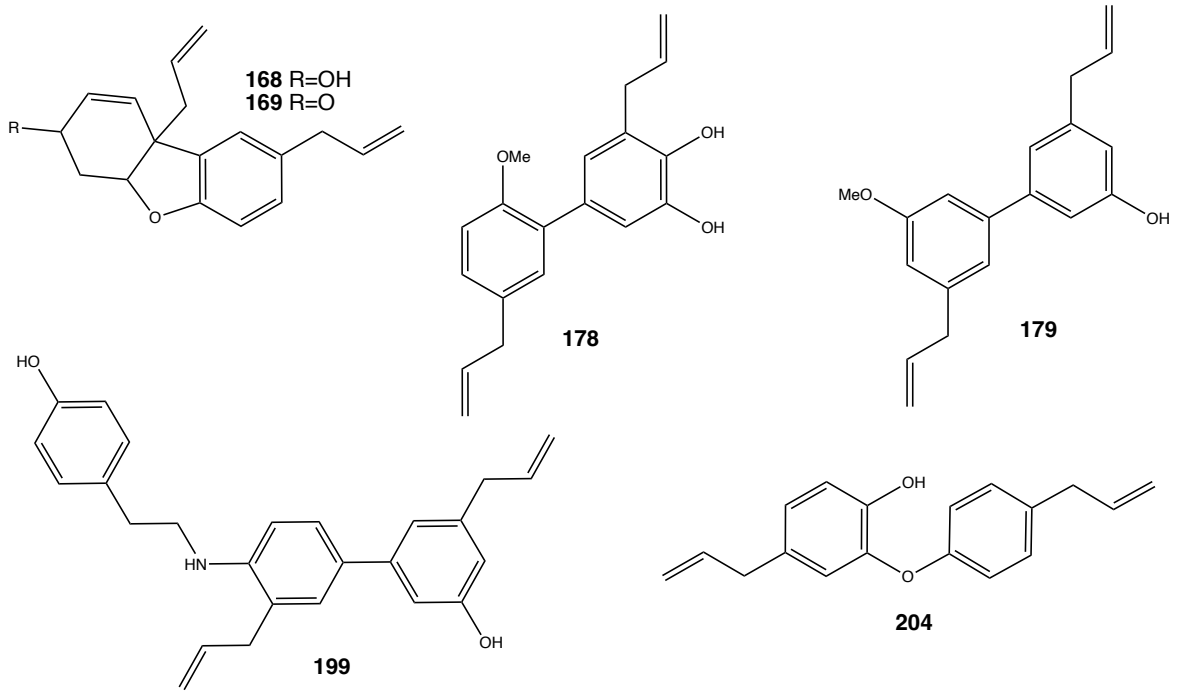


Hình 1.14. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính bảo vệ thần kinh

1.1.4.7. Các hoạt tính khác

Magnolide A **364** được phân lập từ *M. obovata*, có đặc tính kháng nấm đáng kể chống lại một số chủng *Cryptococcus*. Nồng độ ức chế thấp nhất nằm trong khoảng từ 1,0 đến 4,0 $\mu\text{g/mL}$ [107].

Các hợp chất chiết xuất từ *M. grandiflora* đã được thử nghiệm về hoạt tính chống sốt rét với chủng Dd2 của *P. falciparum* [108]. Hợp chất 4-methoxyhonokiol **179** và magnolol **182** có hoạt tính chống sốt rét vừa phải, với giá trị IC_{50} lần lượt là $2,8 \pm 0,06$ và $3,4 \pm 0,08$ μM . Các hợp chất 4,4'-diallyl-1,2,6,4'-tetrahydrodi-benzo[b,d]furan-3'-ol **168**, ketone **169**, 3-methoxymagnolol **178**, honokiol **180**, 3,3'-diallyl-4'-((4-hydroxyphenethyl)amino)-[1,1'-biphenyl]-4-ol **199** và isomagnolol **204** và thể hiện hoạt tính thấp hơn, với giá trị IC_{50} lần lượt là $37,5 \pm 2,00$, $86,1 \pm 0,6$, $16,6 \pm 0,2$, 114 ± 9 , $22,7 \pm 1,81$ và $44,4 \pm 4,1$ μM [108].



Hình 1.15. Cấu trúc hoá học của một số hợp chất có hoạt tính kháng nấm và chống sốt rét

1.2. Giới thiệu về hai loài nghiên cứu

Hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* được công bố vào năm 2015, trong đó *Magnolia lamdongensis* là loài đặc hữu của Việt Nam.

1.2.1. Giới thiệu chung về loài *Magnolia lamdongensis*

Tên khoa học: *Magnolia lamdongensis* V.T.Tran, Duy & N.H.Xia.

Tên tiếng Việt: Mộc lan lâm đồng, Dạ hợp lâm đồng.

Chi: *Magnolia*.

Họ thực vật: Magnoliaceae.

Đặc điểm thực vật: *M. lamdongensis* là cây thường xanh, cao đến 4 m, đường kính thân 15 cm, vỏ màu nâu xám, sần sùi. Cành mảnh, màu xanh lá cây, cành non phủ lông dày màu trắng xám, cành già có lông tơ nhô cao, chồi cuối có lông màu trắng xám. Lá sắp xếp theo hình xoắn ốc, phiến lá trưởng thành cứng và có lông, hình trứng hẹp, nhọn. Hoa mọc đơn độc ở đỉnh, hình trứng, màu trắng vàng. Quả hình elip thuôn hẹp, lá noãn, hình răng cưa ở mặt lưng, nhọn, đỉnh có mỏ nhô dài. Hạt hình đa giác không đều. Mùa hoa, quả vào khoảng tháng 5 đến tháng 7.

Phân bố và sinh thái: Loài *M. lamdongensis* được phát hiện tại đèo Phú Sơn, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng. Cây mọc trong rừng lá rộng thường xanh, vùng núi, ở độ cao 1300-1500 m so với mặt biển, lân cận với các loài như *Rhodoleia championii* Hook., *Castanopsis chinensis* (Spreng) Hance, *Manglietia chevalieri* Dandy, *Pramichelia baillonii* Hu... Đến nay chỉ có khoảng 10 cá thể trưởng thành ở các vùng

khác nhau tại sườn dốc Phú Sơn đã được tìm thấy và không có cây con xung quanh các cá thể trưởng thành [109].



Hình 1.16. Loài *M. lamdongensis* ngoài tự nhiên (Ảnh: PV. Huyền)

1.2.2. Giới thiệu chung về loài *Magnolia tiepii*

Tên khoa học: *Magnolia tiepii* V. T. Tran & Duy

Tên tiếng Việt: Mộc lan tiếp, Giỏi lá to.

Chi: *Magnolia*.

Họ thực vật: Magnoliaceae.

Đặc điểm thực vật: Loài *M. tiepii* là cây thường xanh, cao đến 20 m, đường kính thân 50 cm, phân nhánh rộng, vỏ màu nâu xám, sần sùi. Cành mảnh 0,3-0,5 cm, màu xanh lá, cành non phủ lông dày màu trắng xám, cành già có lông tơ nhô cao, chồi cuối có lông màu trắng xám. Lá sắp xếp theo hình xoắn ốc, phiến lá trưởng thành cứng và có lông, hình trứng hẹp, nhọn, các gân lá thưa có lông màu bạc, sáng bóng khi trưởng thành, thuôn hẹp hoặc tròn ở gốc, tù hoặc nhọn ở đỉnh. Cuống mọc thẳng, dài, có 2 - 3 lông, dày, có lông màu nâu. Hoa mọc đơn độc ở đỉnh, hình trứng. Nhị màu trắng kem, có 4 vòng, không bằng nhau, hình tam giác nhọn ở đỉnh. Quả hình xoan; lá noãn phân theo chiều dọc, nhọn, có lông dài hẹp; mỏ nhọn có khía. Hạt đều, màu vàng hồng. Cây ra hoa và đậu quả vào khoảng tháng 5 đến tháng 7.

Phân bố và sinh thái: Loài *M. tiepii* phân bố ở khu vực rừng núi đất có độ cao tầm 700-800 m so với mặt nước biển tại khu vực đèo Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa. Cây mọc ở rừng lá rộng thường xanh, vùng núi, lân cận với các loài như *Magnolia annamensis* Dandy, *Gonocaryum lobbiana* (Miers) Kurz, *Manglietia chevalieri*

Dandy [110]. Gần đây, loài *M. tiepii* còn được ghi nhận tại tỉnh Vân Nam, Trung Quốc [111].



Hình 1.17. Loài *M. tiepii* ngoài tự nhiên (Ảnh: PV. Huyền)

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Loài *Magnolia lamdongensis*

Mẫu lá cây *M. lamdongensis* được thu hái tại đèo Phú Sơn, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 9 năm 2020, được định danh bởi TS. Nông Văn Duy (một trong những người công bố và đặt tên), mẫu tiêu bản ký hiệu TN3/163 được lưu trữ tại phòng mẫu Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.



Hình 2.1. Loài *M. lamdongensis* ngoài tự nhiên và mẫu tiêu bản (Ảnh: PV. Huyền)

2.1.2. Loài *Magnolia tiepii*

Mẫu lá cây *M. tiepii* được thu hái tại đèo Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 5 năm 2021 được định danh bởi TS. Nông Văn Duy (một trong những người công bố và đặt tên). Mẫu tiêu bản (TN3/227) được lưu trữ tại phòng mẫu Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.



Hình 2.2. Loài *M. tiepii* ngoài tự nhiên và mẫu tiêu bản (Ảnh: PV. Huyền)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu nghiên cứu và giám định tên khoa học

Mẫu thực vật được thu hái tại các điểm thu mẫu đã xác định. Thời gian và vị trí sẽ được lưu giữ cùng mẫu tiêu bản. Mẫu nghiên cứu được các chuyên gia thực vật học thu thập, xử lý sơ bộ, chụp ảnh, làm tiêu bản, giám định tên khoa học và lưu trữ các thông tin cần thiết về thời gian, địa điểm lấy mẫu, đặc điểm phân bố...

Mẫu tiêu bản *M. lamdongensis* (TN3/163) và *M. tiepii* (TN3/227) được lưu trữ, làm dữ liệu nghiên cứu cho Bảo tàng Sinh học thuộc Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên. Thu và ghi chép các thông tin chính trên nhãn như ký hiệu mẫu, địa điểm, ngày lấy mẫu, các đặc điểm quan trọng, người lấy mẫu. Sau đó mang mẫu về nơi xử lý tập trung.

2.2.2. Phương pháp xử lý mẫu và tạo dịch chiết phục vụ cho phân lập các hợp chất và thử hoạt tính sinh học

- Mẫu thực vật sau khi thu hái được tiến hành phơi khô đến khối lượng không đổi.

- Ghi nhận khối lượng mẫu thu được và xay mẫu.

- Bột lá cây được tiến hành chiết 3 lần bằng MeOH.

- Dịch chiết của 3 lần chiết được lọc qua giấy lọc (Whatman, d=240nm, No. 1) gom lại và tiến hành cô quay chân không loại dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ khoảng 50°C đến khối lượng không đổi thu được cao chiết MeOH.

- Cân khối lượng cao chiết MeOH.

- Từ dịch chiết tổng MeOH, phân bố lại vào nước và chiết phân đoạn lần lượt bằng các dung môi *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate. Cô các dịch chiết đến khối lượng không đổi để thu được các cao chiết phân đoạn. Lốp nước được tiến hành tách phân đoạn bằng cột sắc ký với pha tĩnh là nhựa trao đổi ion diaion HP-20.

2.2.3. Các phương pháp phân lập các hoạt chất

Các phương pháp được sử dụng bao gồm:

- Sắc ký bản mỏng (TLC): sử dụng bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP-18 F_{254S} (Merck). Dùng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm để phát hiện chất. Sau đó, dùng dung dịch H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng trên bếp điện đến khi hiện màu.

- Sắc ký cột (CC): sử dụng cột với chất hấp phụ là silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh) và pha đảo ODS, YMC (30-50 µm, Fujisilisa Chemical Ltd.). Nhựa sephadex LH-20 (Sigma-Andrich), nhựa trao đổi ion diaion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

2.2.4. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hoạt chất

Các phương pháp để xác định cấu trúc hóa học bao gồm:

- Phổ khối lượng (ESI-MS) đo trên hệ thống UPLC ThermoScientific UltiMate 3000 TSQ-Fortis LC-MS/MS. Phổ được đo tại Phòng Hoá học các hợp chất thiên nhiên, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên;

- Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR) bao gồm phổ 1D (^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT) và 2D-NMR (HSQC, HMBC, COSY...) được đo trên máy Bruker AM600 FT-NMR Spectrometer. Phổ được đo tại Phòng NMR, Viện Hoá học;

- Phổ hồng ngoại (IR): đo trên máy JASCO FT-IR 4100. Phổ được đo tại Phòng Hoá học các hợp chất thiên nhiên, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên;

- Quang phổ lưỡng sắc tròn: đo trên máy Chirascan CD spectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK). Phổ được đo tại Phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hoá sinh biển.

- Độ quay cực $[\alpha]_D$: đo trên máy JASCO DIP-1000 KUY Polarimeter tại Phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hoá sinh biển.

2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

Một số hợp chất phân lập được từ lá của hai loài sẽ được thử hoạt tính sinh học để đánh giá hoạt tính (hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính ức chế sản sinh NO, hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase và hoạt tính gây độc tế bào).

2.2.5.1. Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hoá

Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hoá được thực hiện theo phương pháp của Williams và cộng sự [112], Shela và cộng sự [113], Kumar và cộng sự [114].

Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hoá được thử nghiệm tại Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Phương pháp này dựa trên nguyên tắc DPPH có khả năng tạo ra các gốc tự do bền trong dung dịch ethanol 96%. Khi các chất thử nghiệm được hòa tan trong DMSO 100% vào hỗn hợp này (trên phần vi lượng 96 giếng), chất có khả năng làm trung hoà hoặc bao vây hoạt tính chống oxy hoá được ghi nhận thông qua giá trị hấp thụ ánh sáng của dung dịch thí nghiệm so với đối chứng khi đọc kết quả trên máy Elisa ở bước sóng 515 nm.

Phép thử được lặp lại 3 lần và kết quả được thể hiện là giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn ($p \leq 0,05$).

Thực nghiệm:

Dung dịch gốc: DPPH 300 μM trong ethanol 96%.

Đối chứng dương: ascorbic acid 5 mM trong DMSO 10%.

Hoà tan mẫu trong DMSO 100% với nồng độ 4 mg/mL đối với mẫu thô và 1 mg/mL với mẫu tinh sạch. Mẫu được nhỏ lên phiên vi lượng 96 giếng với dung dịch DPPH ở trên để được nồng độ cuối của mẫu thử trong phản ứng từ 400 µg/mL đến 12,5 µg/mL (hoặc nồng độ thấp hơn nữa tùy hoạt tính của mẫu thử). Phiên được ủ kín ở 37°C trong 30 phút và đọc kết quả ở bước sóng 515 nm.

Tính kết quả:

Khả năng trung hòa các gốc tự do (SC%):

Giá trị SC% ở các nồng độ mẫu xử lý trên phần mềm Excel theo công thức:

$$SC\% = \left[100 - \frac{OD_{\text{Mẫu thử}} - OD_{\text{Mẫu trắng}}}{OD_{\text{Chứng âm tính}}} \times 100 \right]$$

Độ lệch chuẩn σ được tính theo công thức của Duncan:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (1)$$

Giá trị SC₅₀ (µg/mL):

Mẫu thử được pha thành các nồng độ giảm dần, ở mỗi nồng độ được thử nghiệm lặp lại 3 lần. Khả năng bắt gốc tự do tạo bởi DPPH của mỗi mẫu được tính dựa trên % trung hòa gốc tự do so với mẫu trắng và đối chứng âm. Đối với mẫu dương tính được tiến hành các bước tiếp theo để tìm giá trị IC₅₀ (µg/mL). Giá trị IC₅₀ được tính toán bằng phần mềm Table Curve AISN Software (Jandel Scientific) thông qua giá trị SC% và dãy các nồng độ mẫu thử tương ứng.

2.2.5.2. Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm *in vitro*

Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* được thử nghiệm tại Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Vật liệu, hóa chất:

Tế bào RAW264.7 cung cấp bởi ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), Griess reagent, LPS được mua từ nguồn Merck KGaA, Darmstadt, Đức.

Thực nghiệm:

Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường DMEM ở 37°C, 5% CO₂, 10% FBS. Sau đó dịch tế bào được chuyển lên phiên 96 giếng với mật độ 2,5 x 10⁵ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 10 µL LPS (20 µg/mL) trong 24 giờ và bổ sung thuốc/chất thử các nồng độ khác nhau. Cardamonin được sử dụng làm đối chứng (+). Dịch huyền phù của tế bào được ủ với thuốc thử Griess, NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Đo hỗn hợp phản ứng ở $\lambda = 570$ nm.

Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%) được xác định theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \left[\frac{X_{TB \text{ mẫu}} - X_{TB \text{ LPS}}}{X_{TB \text{ ĐC}} - X_{TB \text{ LPS}}} \right] \times 100$$

Trong đó: X_{TB} là nồng độ NO trung bình tính dựa trên đường chuẩn NaNO_2 .

Phần tế bào còn lại sau khi đã sử dụng để đánh giá các hoạt tính *in vitro* được bổ sung dung dịch MTT (0,5 mg/mL trong PBS), ủ 4 giờ trong tủ ấm 5% CO_2 ở 37°C. Sản phẩm chuyển hóa dạng tinh thể formazan được hòa tan trong DMSO (Sigma-Aldrich) và được đo mật độ quang ở bước sóng $\lambda = 540/720\text{nm}$ trên thiết bị Tecan Spark (Männedorf, Thụy Sĩ).

Tỷ lệ sống sót của tế bào CS% tính theo % so với đối chứng:

$$\text{Tỷ lệ ức chế tế bào (\%)} = \left[\frac{OD_{\text{mẫu}}}{OD_{\text{ĐC (-)}}} \right] \times 100$$

Độ lệch chuẩn σ được tính theo công thức của Ducan (1).

2.2.5.3. Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase được thử nghiệm tại Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase dựa trên phản ứng thủy phân cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (*p*NPG) [115, 116]. Dưới xúc tác của α -glucosidase, cơ chất *p*NPG bị thủy phân thành *p*-nitrophenol (*p*NP) màu vàng có độ hấp thụ tối đa ở bước sóng 405 nm.

Mẫu thử có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase sẽ làm giảm lượng *p*NP tạo thành sau phản ứng. Hàm lượng *p*NP trên phiến vi lượng 96 giếng được xác định bằng máy đọc TECAN (Infinite® 200 PRO, Switzerland) ở bước sóng 405 nm. Các thử nghiệm được tiến hành 3 lần và kết quả được thể hiện ở giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn ($p \leq 0,05$).

Hóa chất và các điều kiện của phản ứng:

Các thành phần phản ứng bao gồm: Đệm phosphate buffer 100 mM (pH 6,8); enzyme α -glucosidase (Sigma-Aldrich, USA) 0,5 $\mu\text{g/mL}$, mẫu thử, cơ chất *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich, USA) 5 mM.

Phản ứng được ủ ở nhiệt độ 37°C. Sau 30 phút, nhỏ 100 μL Na_2CO_3 0,2N vào hỗn hợp để kết thúc phản ứng.

Chất chuẩn dương tính: Voglibose (Sigma-Aldrich, USA).

Đối chứng âm: mẫu thử được thay bằng đệm phosphate buffer, không có enzyme.

Đối chứng dương: mẫu thử được thay bằng đệm phosphate buffer, có enzyme.

Mẫu trắng: gồm thành phần của phản ứng kể trên nhưng không có enzyme.

Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase (%) được xác định bằng công thức:

$$\text{Độ ức chế \%} = \left[\frac{(A_{C+} - A_{C-}) - (A_S - A_B)}{A_{C+} - A_{C-}} \right] \times 100$$

Trong đó:

A_{C+} : Độ hấp thụ trung bình của mẫu chứng dương

A_{C-} : Độ hấp thụ trung bình của mẫu đối chứng âm

A_S : Độ hấp thụ trung bình của mẫu thử AB: Độ hấp thụ trung bình của mẫu trắng.

Độ lệch chuẩn σ được tính theo công thức của Ducan (1).

Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)

Mẫu thử (chất thử) có hoạt tính được pha loãng thành các nồng độ giảm dần, ở mỗi nồng độ sẽ được thử nghiệm lặp lại 3 lần. Giá trị IC_{50} là nồng độ của chất thử mà tại đó ức chế 50% hoạt động của enzyme α -glucosidase, được tính toán bằng phần mềm TableCurve AISN Software (Jandel Scientific) qua giá trị độ ức chế (%) và dãy các nồng độ chất thử tương ứng.

2.2.5.4. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào

Theo phương pháp của Skehan và cộng sự [117] và Likhiwitayawuid và cộng sự [118] đã được áp dụng tại Viện nghiên cứu ung thư Quốc gia của Mỹ (NCI) và trường Đại học Dược, Đại học Tổng hợp Illinois, Chicago, Mỹ.

Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào được thử nghiệm tại Phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ sinh học và Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Dòng tế bào do Trường Đại học Long-Island, Hoa Kỳ và Trường Đại học Milan, Italia cung cấp, gồm: Dòng Hep-G2 (*Human hepatocellular carcinoma* – Ung thư gan), dòng RD (*Human rhabdomyosarcoma* – Ung thư mô liên kết), dòng HeLa (*HeLa cervical cancer cells* – Tế bào ung thư cổ tử cung).

Hóa chất, môi trường:

+ Môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle's salt) có bổ sung L-Glutamine, Sodium pyruvate, NaHCO_3 , PSF (Penicillin - Streptomycin sulfate - Fungizone); NAA (Non-Essential Amino Acids); 10% BCS (Bovine Calf Serum).

+ Trypsin-EDTA 0,05%; DMSO (Dimethyl sulfoxide); TCA (Trichloro acetic acid); Tris Base; PBS (Phosphate Buffered Saline); SRB (Sulfo Rhodamine B); acetic acid.

+ Đối chứng dương: Ellipticine pha trong DMSO.

Tính kết quả:

Kết quả được ghi nhận trên máy ELISA ở bước sóng 515 nm.

Giá trị CS%: Dựa trên kết quả đo được của chúng OD (ngày 0), DMSO 10% và so sánh với giá trị OD khi trộn mẫu để tìm giá trị CS (%) theo công thức:

$$CS\% = \left[\frac{OD_{\text{Mẫu thử}} - OD_{\text{Ngày 0}}}{OD_{\text{DMSO}} - OD_{\text{Ngày 0}}} \right] \times 100$$

Sau khi tính giá trị CS%, được tính trên phần mềm Excel để tính toán % trung bình \pm độ lệch chuẩn (σ) của mẫu thử. Độ lệch chuẩn được lặp lại 3 lần theo công thức của Ducan (1).

Với các mẫu thể hiện hoạt tính ($CS < 50\%$) sẽ được thử nghiệm tiếp để tính giá trị IC_{50} . Dùng giá trị CS của 10 thang nồng độ, dựa vào chương trình Table curve theo thang giá trị logarit của đường cong phát triển tế bào và nồng độ chất thử để tính giá trị IC_{50} .

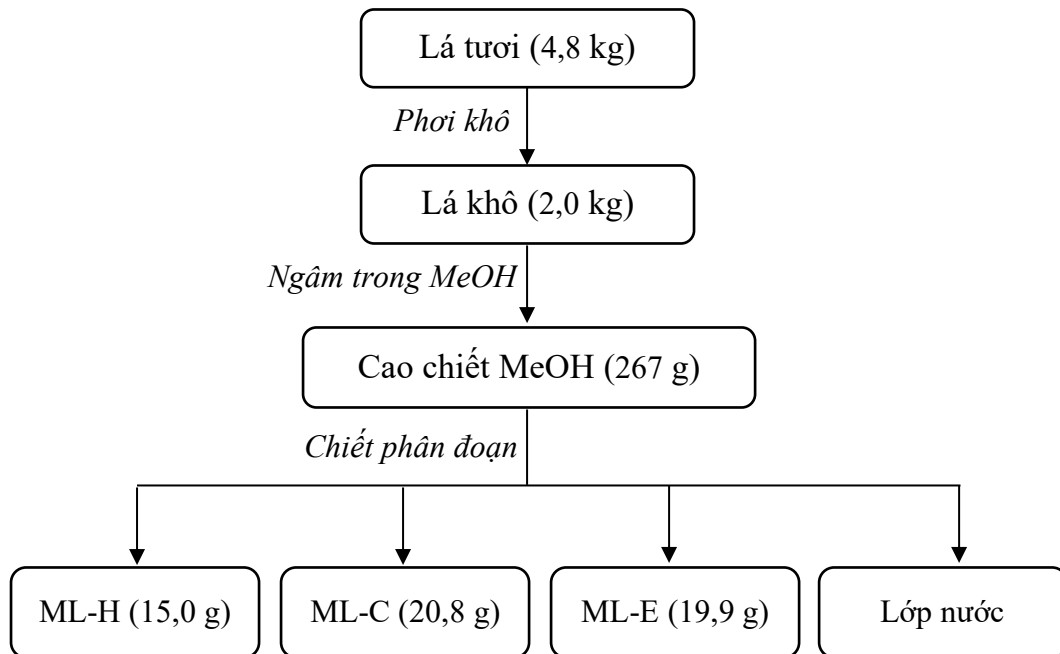
Công thức: $y = \frac{1}{a + b \ln x}$, với y là nồng độ chất thử.

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM

3.1. Tạo các cao chiết loài *M. lamdongensis*

Mẫu lá cây tươi *M. lamdongensis* (4,8 kg) sau khi thu hái được phơi khô đến khối lượng không đổi. Lá cây khô (2,0 kg) được đem xay nhỏ thành bột. Bột khô thu được tiến hành chiết cao tổng bằng MeOH 3 lần $\times 10$ L trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng bằng kỹ thuật chiết ngâm dầm.

Các dịch chiết thu gộp lại và thu hồi dung môi dưới áp suất giảm trên thiết bị cô quay chân không thu được 267 g cao MeOH (ML-M). Cao này được hòa tan với nước (2 L) và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate thu được các cao chiết tương ứng: *n*-hexane (ML-H, 15,0 g), chloroform (ML-C, 20,8 g), ethyl acetate (ML-E, 19,9 g) và lớp nước (ML-W).



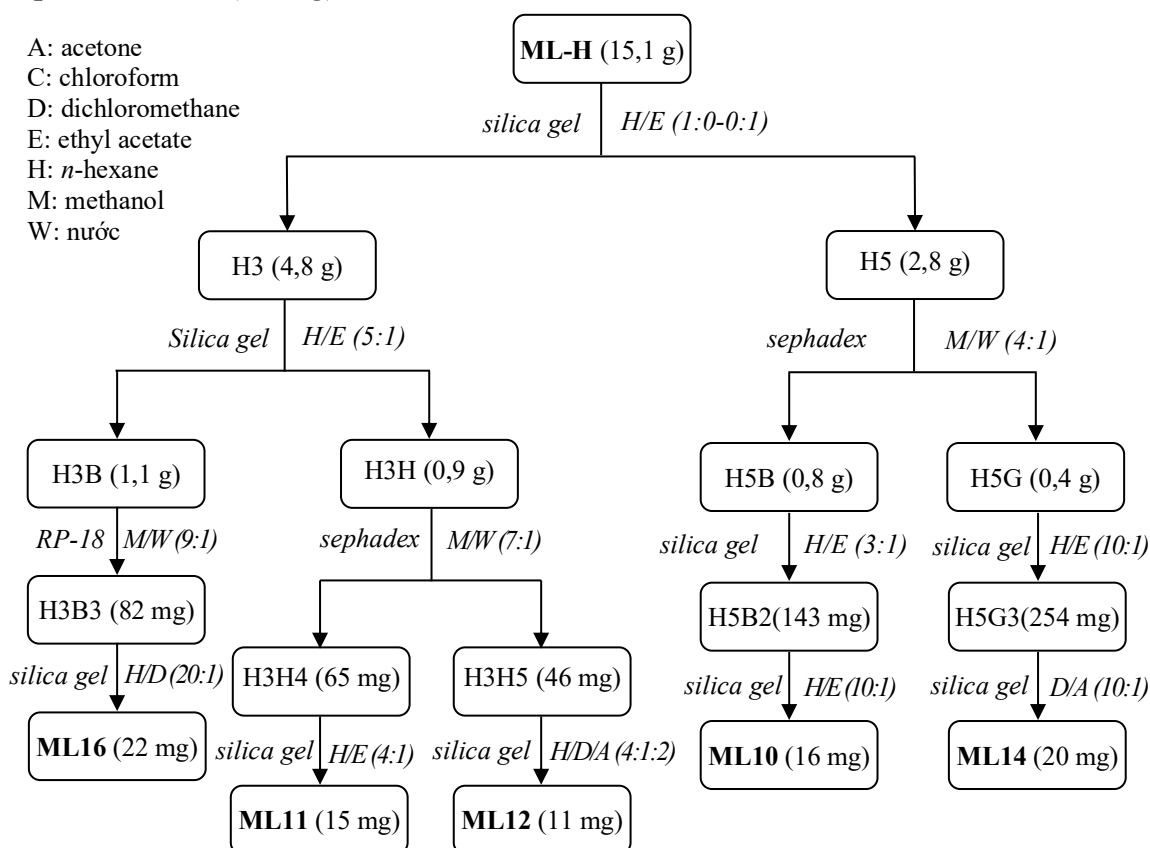
Hình 3.1. Sơ đồ tạo các dịch chiết phân đoạn từ lá loài *M. lamdongensis*

3.2. Phân lập các hợp chất từ loài *M. lamdongensis*

3.2.1. Phân đoạn ML-H

Từ cao chiết ML-H (15,0 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/E (1:0 – 0:1, v/v) thu được 7 phân đoạn, H1-H7. Phân đoạn H5 (2,8 g) tiếp tục chạy qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (4:1, v/v), thu được 7 phân đoạn, H5A-H5G. Phân đoạn H5B (0,8 g) sau đó được chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (3:1, v/v) thu được 3 phân đoạn, H5B1-H5B3. Phân đoạn H5B2 (143 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi H/E (10:1, v/v) thu được hợp chất **ML10** (16 mg). Phân đoạn H5G (0,4 g) tiến hành sắc ký bằng cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi H/E (10:1, v/v) thu được 4 phân đoạn, H5G1-H5G4. Phân đoạn H5G3 (254 mg) chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (10:1, v/v) thu được hợp chất **ML14**

(20 mg). Phân đoạn H3 (4,8 g) chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (5:1, v/v) thu được 9 phân đoạn, H3A-H3I. Phân đoạn H3B (1,1 g) tiến hành sắc ký bằng cột pha đảo RP-18, hệ dung môi M/W (9:1, v/v) thu được ba phân đoạn, H3B1-H3B3. Phân đoạn H3B3 (82 mg) tinh chế bằng cột silica gel với pha động H/D (20:1, v/v) thu được hợp chất **ML16** (22 mg). Phân đoạn H3H (0,9 g) triển khai sắc ký với cột sephadex LH-20, hệ dung môi M/W (7:1, v/v) thu được năm phân đoạn, H3H1-H3H5. Tiếp tục, phân đoạn H3H4 (65 mg) tinh chế bằng cột silica gel với pha động H/E (4:1, v/v) thu được hợp chất **ML11** (15 mg). Phân đoạn H3H5 (46 mg) tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi H/D/A (4/1/2, v/v/v) thu được hợp chất **ML12** (11 mg).

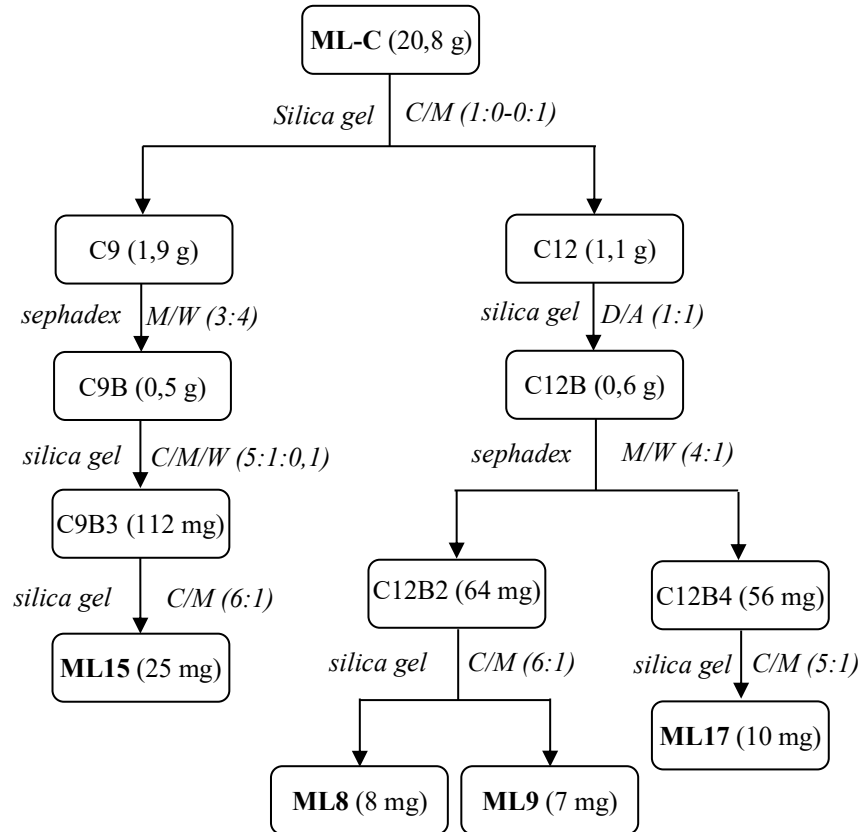


Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-H

3.2.2. Phân đoạn ML-C

Từ cao chiết ML-C (20,8 g) chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M (1:0 – 0:1, v/v) thu được 14 phân đoạn, C1-C14. Phân đoạn C12 (1,1 g) tiếp tục chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (1:1, v/v) thu được 3 phân đoạn, C12A-C12C. Phân đoạn C12B (0,6 g) chạy qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (4:1, v/v), thu được 4 phân đoạn, C12B1-C12B4. Phân đoạn C12B2 (64 mg) được tách sắc ký trên cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi C/M (6:1, v/v) thu được hai hợp chất **ML8** (8 mg) và **ML9** (7 mg). Phân đoạn C12B4 (56 mg) tinh chế bằng cột hấp phụ silica gel với hệ dung

môi C/M (5:1, v/v) thu được hợp chất **ML17** (10 mg). Phân đoạn C9 (1,9 g) cho qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (3:4-1:0, v/v), thu được 3 phân đoạn, C9A-C9C. Phân đoạn C9B (0,5 g) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi giải hấp C/M/W (5:1:0,1, v/v/v) thu được 10 phân đoạn từ, C9B1-C9B10. Phân đoạn C9B3 (112 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi C/M (6:1, v/v) thu được hợp chất **ML15** (25 mg).

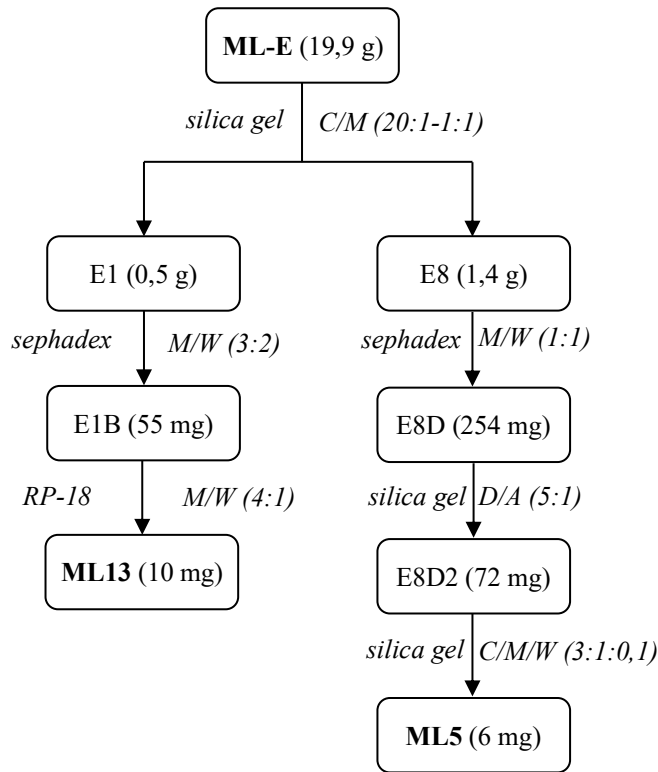


Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-C

3.2.3. Phân đoạn ML-E

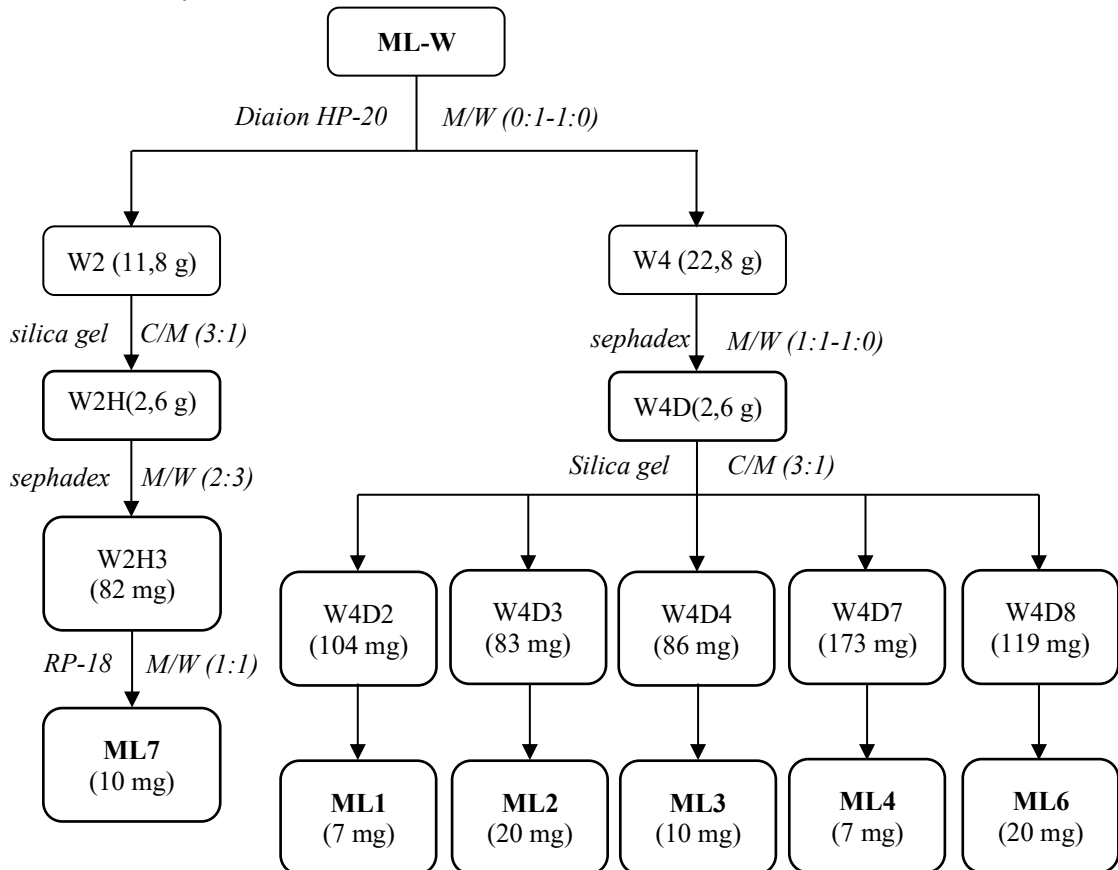
Phân đoạn ML-E (19,9 g) cho qua cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi C/M (20/1, 10/1, 5/1, 1/1, v/v) thu được 10 phân đoạn, E1-E10. Phân đoạn E1 (0,5 g) chạy qua cột sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (3:2, v/v) thu được năm phân đoạn, E1A-E1E. Sau đó, phân đoạn E1B (55 mg) được tinh chế bằng cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi M/W (4:1, v/v) thu được hợp chất **ML13** (10 mg). Phân đoạn E8 (1,4 g) được tách sắc ký qua cột sephadex LH-20 dùng hệ dung môi M/W (1:1, v/v) giải hấp thu được 4 phân đoạn, E8A-E8D. Phân đoạn E8D (254 mg) tiếp tục chạy qua cột silica gel với hệ dung môi D/A (5/1, v/v) thu được 4 phân đoạn,

E8D1-E8D4. Sau đó, phân đoạn E8D2 (72 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi C/M/W (3/1/0,1, v/v/v) thu được hợp chất **ML5** (6 mg).



Hình 3.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-E

3.2.4. Phân đoạn ML-W



Hình 3.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ ML-W

Lớp nước ML-W được tiến hành sắc ký qua cột diaion HP-20, giải hấp với hệ dung môi M/W (0:1-1:0, v/v) thu được 5 phân đoạn (W1-W5). Phân đoạn W2 (11,8 g) cho qua cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi C/M (3:1-1:1, v/v) cho 9 phân đoạn (W2A-W2I). Sau đó, phân đoạn W2H (2,6 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ sephadex, giải hấp với hệ dung môi M/W (2:3, v/v) cho 4 phân đoạn (W2H1-W2H4). Phân đoạn W2H3 (82 mg) triển khai sắc ký bằng cột RP-18, giải hấp với hệ dung môi M/W (1:1, v/v) thu được hỗn hợp chất **ML7** (10 mg). Phân đoạn W4 (22,8 g) cho qua cột hấp phụ sephadex LH-20, giải hấp với hệ dung môi M/W (1:1-1:0, v/v) thu 7 phân đoạn (W4A-W4G). Sau đó, phân đoạn W4D (2,6 g) tiếp tục triển khai sắc ký với cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi C/M (3:1, v/v) thu được 10 phân đoạn (W4D1-W4D10). Các phân đoạn W4D2 (104 mg), W4D3 (83 mg), W4D4 (86 mg), W4D7 (173 mg) và W4D8 (119 mg) được tinh chế bằng các cột silica gel với hệ dung môi C/M/W (3:1:0,1, v/v/v) lần lượt thu được các hợp chất **ML1** (13mg), **ML2** (20 mg), **ML3** (10 mg), **ML4** (7 mg) và hỗn hợp **ML6** (20 mg).

3.3. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài *M.*

lamdongensis

3.3.1. Hợp chất **ML1**: *rhamnetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside*

Chất bột màu vàng. CTPT: C₂₈H₃₂O₁₆, ESI-MS: m/z 625,18 [M+H]⁺, 479,09 [(M+H)-Rha]⁺, 317,04 [(M+H)-Rha-Gal]⁺, 623,05 [M-H]⁻ (hình PL20-21). IR (KBr) ν_{\max} = 3392, 2936, 1661, 1599 cm⁻¹ (hình PL1).

¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) và ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): xem bảng 4.1.

3.3.2. Hợp chất **ML2**: *oxytroflavoside F*

Chất bột màu vàng. CTPT: C₂₈H₃₂O₁₅, ESI-MS: m/z 609,19 [M+H]⁺, 463,12 [(M+H)-Rha]⁺, 301,06 [(M+H)-Rha-Gal]⁺, 607,03 [M-H]⁻ (hình PL38-39). IR (KBr) ν_{\max} = 3388, 2932, 1661, 1601 cm⁻¹ (hình PL22).

¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) và ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): xem bảng 4.2.

3.3.3. Hợp chất **ML3**: *rhamnocitrin 3-O- β -neohesperidoside*

Chất bột màu vàng. CTPT: C₂₈H₃₂O₁₅, ESI-MS: m/z 609,21 [M+H]⁺, 463,13 [(M+H)-Rha]⁺, 301,07 [(M+H)-Rha-Glc]⁺, 607,04 [M-H]⁻ (hình PL55-56). IR (KBr) ν_{\max} = 3405, 2933, 1660, 1600 cm⁻¹ (hình PL40).

¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) và ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): xem bảng 4.3.

3.3.4. Hợp chất **ML4**: *curcucomoside D*

Chất bột màu vàng. CTPT: C₂₇H₃₀O₁₄, ESI-MS: m/z 579,17 [M+H]⁺, 432,82 [(M+H)-Rha]⁺, 301,19 [(M+H)-Rha-Ara]⁺, 557,11 [M-H]⁻ (hình PL70-71). IR (KBr) ν_{\max} = 3317, 2932, 1662, 1616 cm⁻¹ (hình PL57).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.4.

3.3.5. Hợp chất ML5: astragalin

Chất bột màu vàng. CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, ESI-MS: m/z 449,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 287,05 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}]^+$, 447,04 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (hình PL83-84). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3352, 2934, 1658, 1609 \text{ cm}^{-1}$ (hình PL72).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.5.

3.3.6. Hỗn hợp chất ML6: kaempferol 3-neohesperidoside và kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

Chất bột màu vàng. CTPT: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$, ESI-MS: m/z 595,16 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 449,10 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 287,03 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$, 593,03 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (hình PL103-104). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3349, 2933, 1661, 1609 \text{ cm}^{-1}$ (hình PL85).

a. ML6a: kaempferol 3-neohesperidoside

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.6.

b. ML6b: kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.7.

3.3.7. Hỗn hợp chất ML7: quercetin 3-neohesperidoside và quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

Chất bột màu vàng. CTPT: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, ESI-MS: m/z 611,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 464,98 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 609,02 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (hình PL123-124). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3399, 2933, 1653, 1601 \text{ cm}^{-1}$ (hình PL105).

a. ML7a: quercetin 3-neohesperidoside

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.8.

b. ML7b: quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.9.

3.3.8. Hợp chất ML8: 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S*,3R*,2'R*,4E,8Z)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol

Chất bột màu trắng vô định hình. CTPT: $\text{C}_{42}\text{H}_{79}\text{NO}_9$, ESI-MS: m/z 742,71 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 724,63 $[(\text{M}+\text{H})-\text{H}_2\text{O}]^+$, 562,46 $[(\text{M}+\text{H})-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$ (hình PL141). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3372, 2922, 2851, 1645, 1538, 1467, 1086 \text{ cm}^{-1}$ (hình PL125).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.10.

3.3.9. Hợp chất ML9: 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S*,3R*,2'R*,4E,8Z)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol

Chất bột màu trắng vô định hình. CTPT: $C_{40}H_{75}NO_9$, ESI-MS: m/z 714,53 $[M+H]^+$, 696,56 $[(M+H)-H_2O]^+$, 534,56 $[(M+H)-Glc]^+$ (hình PL150). IR (KBr) ν_{max} = 3289, 2922, 2851, 1645, 1538, 1467, 1085 cm^{-1} (hình PL142).

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.11.

3.3.10. Hợp chất ML10: (-)-sesamin

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: $C_{20}H_{18}O_6$, ESI-MS: m/z 337,12 $[(M+H)-H_2O]^+$ (hình PL159). Độ quay cực: λ_D^{25} : -45,0 ($c = 0,1$, $CHCl_3$). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 212 (-4,19), 233 (-4,05) nm (hình PL160).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.12.

3.3.11. Hợp chất ML11: hinokinin

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: $C_{20}H_{18}O_6$, ESI-MS: m/z 355,08 $[M+H]^+$, 337,08 $[(M+H)-H_2O]^+$ (hình PL 171). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 236 ($\Delta\epsilon -2,50$), 290 ($\Delta\epsilon -2,51$) nm (hình PL172).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.13.

3.3.12. Hợp chất ML12: dihydrosesamin

Chất dầu không màu. CTPT: $C_{20}H_{20}O_6$; ESI-MS: m/z 355,30 $[M-H]^-$ (hình PL185). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 216 (+0,77), 293 (-0,43) nm (hình PL192).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.14.

3.3.13. Hợp chất ML13: (S)-eriodictyol

Chất bột màu vàng. CTPT: $C_{15}H_{12}O_6$; ESI-MS: m/z 289,24 $[M+H]^+$, 286,96 $[M-H]^-$, 574,82 $[M-H+M]^-$ (hình PL189-190). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 302 (-0,13), 315 (+0,21) nm (hình PL191).

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ ppm: 6,94 (1H, s, H-2'), 6,81 (1H, s, H-6'), 6,80 (1H, s, H-5'), 5,92 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8), 5,90 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6), 5,30 (1H, dd, $J = 12,8, 3,0$ Hz, H-2), 3,08 (1H, dd, $J = 17,2, 12,8$ Hz, H-3a), 2,72 (1H, dd, $J = 17,2, 3,0$ Hz, H-3b) (hình PL187).

^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ ppm: 80,49 (C-2), 44,09 (C-3), 197,77 (C-4), 165,44 (C-5), 96,17 (C-6), 168,35 (C-7), 97,03 (C-8), 164,84 (C-9), 103,37 (C-10), 131,79 (C-1'), 114,72 (C-2'), 146,50 (C-3'), 146,88 (C-4'), 116,27 (C-5'), 119,25 (C-6') (hình PL188) [119, 120].

3.3.14. Hợp chất ML14: stigmasterol

Tinh thể màu trắng. CTPT: $C_{28}H_{48}O$, ESI-MS: m/z 413,30 $[M+H]^+$ (hình PL194).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 5,35 (1H, brd, $J = 3,5$ Hz, H-6), 5,16 (1H, dd, $J = 15,0, 8,5$ Hz, H-22), 5,02 (1H, dd, $J = 15,0, 8,5$ Hz, H-23), 3,52 (1H, tdd, $J = 16,5, 11,5, 5,5$ Hz, H-3), 2,29 (1H, dd, $J = 8,0, 2,2$ Hz, H-4a), 2,23 (1H, dd, $J = 11,0,$

2,2 Hz, H-4b), 2,04 (1H, m, H-20), 1,99 (1H, m, H-7b), 1,85 (1H, m, H-1a), 1,83 (2H, m, H-2a, H-7a), 1,70 (1H, m, H-16a), 1,55 (1H, m, H-15a), 1,54 (1H, m, H-25), 1,53 (1H, m, H-24), 1,49 (2H, m, H-2b, H-7b), 1,48 (2H, m, H-7b, H-11a), 1,46 (1H, m, H-11b), 1,42 (1H, m, H-28a), 1,26 (1H, m, H-16b), 1,16 (1H, m, H-28b), 1,14 (1H, m, H-17), 1,09 (1H, m, H-1b), 1,02 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 1,01 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-19), 0,99 (1H, m, H-14), 0,92 (1H, m, H-9), 0,84 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27), 0,80 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, H-29), 0,79 (3H, t, $J = 7,0$ Hz, H-26), 0,70 (3H, s, H-18) (hình PL192).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ ppm: 37,29 (C-1), 31,70 (C-2), 71,83 (C-3), 42,25 (C-4), 140,79 (C-5), 121,72 (C-6), 31,93 (C-7), 31,70 (C-8), 50,21 (C-9), 36,55 (C-10), 21,10 (C-11), 40,48 (C-12), 42,34 (C-13), 56,90 (C-14), 24,38 (C-15), 28,92 (C-16), 56,01 (C-17), 12,07 (C-18), 19,41 (C-19), 40,48 (C-20), 21,23 (C-21), 138,32 (C-22), 129,32 (C-23), 51,26 (C-24), 31,90 (C-25), 19,00 (C-26), 21,08 (C-27), 25,41 (C-28), 12,25 (C-29) (hình PL193) [121].

3.3.15. Hợp chất ML15: daucosterol

Tinh thể màu trắng. CTPT: $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$, ESI-MS: m/z 577,43 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (hình PL197).

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 5,33 (1H, s, H-6), 4,22 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,63 (1H, dd, $J = 11,0, 5,0$ Hz, H-6'a), 3,48 (1H, m, H-3'), 3,40 (1H, m, H-6'b), 3,11 (1H, m, H-5'), 3,07 (1H, brd, $J = 5,0$ Hz, H-3), 3,01 (1H, m, H-4'), 2,90 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2'), 2,36 (1H, brd, $J = 9,5$ Hz, H-4a), 2,12 (1H, t, $J = 12,0$ Hz, H-4b), 1,94 (1H, m, H-12a), 1,92 (1H, m, H-7a), 1,90 (1H, m, H-7b), 1,80 (1H, m, H-2a), 1,79 (1H, m, H-1a), 1,78 (1H, m, H-16a), 1,62 (1H, q, $J = 6,0$ Hz, H-25), 1,52 (1H, m, H-15a), 1,47 (1H, m, H-11a), 1,46 (1H, m, H-2b), 1,39 (1H, m, H-11b), 1,33 (1H, m, H-20), 1,30 (1H, m, H-22a), 1,23 (1H, m, H-28a), 1,23 (1H, m, H-16b), 1,19 (1H, m, H-28b), 1,15 (2H, m, H-23), 1,11 (1H, m, H-12b), 1,08 (1H, m, H-17), 1,04 (1H, m, H-15b), 1,00 (1H, m, H-22b), 0,98 (1H, m, H-14), 0,95 (3H, s, H-19), 0,91 (1H, m, H-24), 0,90 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21), 0,89 (1H, m, H-9), 0,82 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, H-29), 0,80 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-27), 0,78 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-26), 0,65 (3H, s, H-18) (hình PL195).

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 36,85 (C-1), 29,28 (C-2), 76,75 (C-3), 38,33 (C-4), 140,48 (C-5), 121,23 (C-6), 31,39 (C-7), 31,45 (C-8), 49,63 (C-9), 36,24 (C-10), 20,61 (C-11), 39,10 (C-12), 41,88 (C-13), 56,20 (C-14), 23,88 (C-15), 27,81 (C-16), 55,45 (C-17), 11,69 (C-18), 18,96 (C-19), 35,49 (C-20), 18,64 (C-21), 33,37 (C-22), 25,48 (C-23), 45,17 (C-24), 28,75 (C-25), 19,12 (C-26), 19,73 (C-27), 22,64

(C-28), 11,81 (C-29), 100,79 (C-1'), 73,5 (C-2'), 76,97 (C-3'), 70,15 (C-4'), 76,78 (C-5'), 61,13 (C-6') (hình PL196) [122].

3.3.16. Hợp chất ML16: palmitic acid

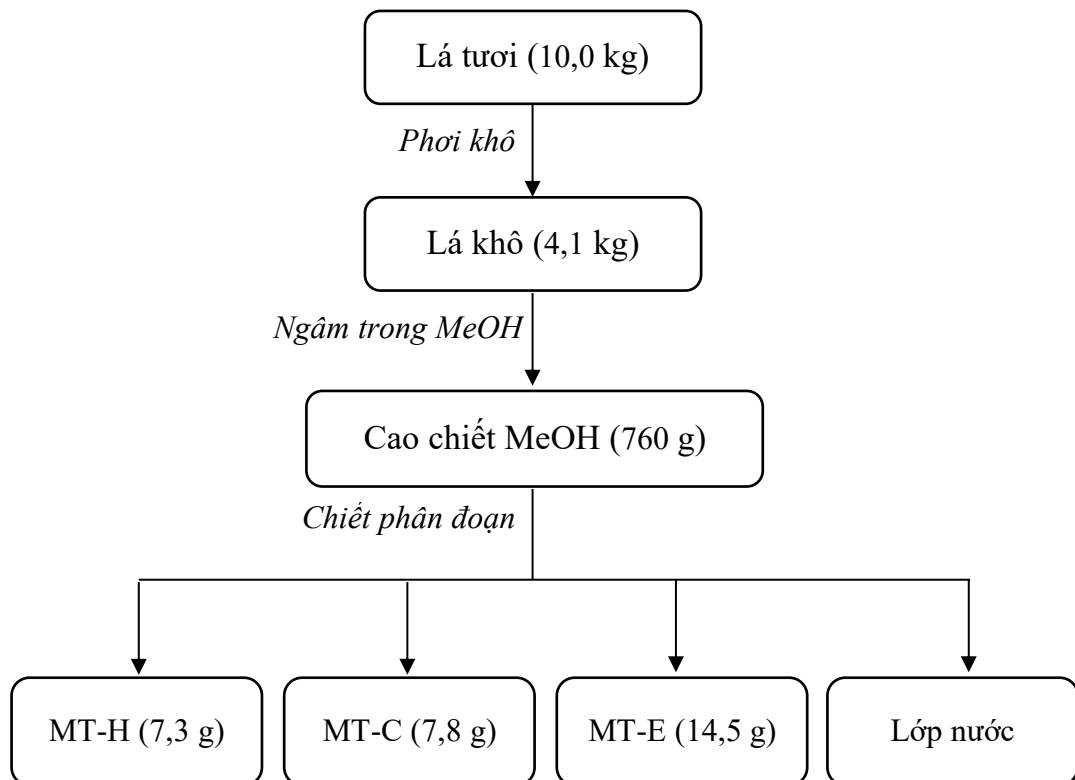
Chất bột màu trắng. CTPT: $C_{16}H_{32}O_2$; ESI-MS: m/z 257,35 $[M+H]^+$ (hình PL200).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 7,26 (OH, s), 2,34 (2H, t, $J = 7,2$ Hz, H-2), 1,64 (1H, dd, $J = 14,4, 7,4$ Hz, H-3a), 1,63 (1H, dd, $J = 15,0, 7,4$ Hz, H-3b), 1,26-1,34 (24H, m, H-4—H-15), 0,88 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, H-16) (hình PL198).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 179,83 (C-1), 34,02 (C-2), 24,70 (C-3), 29,08 (C-4), 29,37 (C-5), 29,45 (C-6), 29,61 (C-7), 29,70 (C-8—C-13), 31,94 (C-14), 22,70 (C-15), 14,11 (C-16) (hình PL199) [123].

3.4. Tạo các cao chiết loài *M. tiepii*

Mẫu lá tươi *M. tiepii* (10 kg) được rửa sạch sau khi thu hái, phơi khô đến khối lượng không đổi. Lá khô cây *M. tiepii* (4,1 kg) được nghiền nhỏ và chiết 3 lần với MeOH (20 L/lần) ở nhiệt độ phòng bằng phương pháp ngâm dầm. Dịch chiết MeOH được lọc, gom lại và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm đến khối lượng không đổi thu được 760 g cao chiết (MT-M). Cao chiết này được hòa tan vào nước (3 L) và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate thu được các cao chiết tương ứng: *n*-hexane (MT-H, 7,3 g), chloroform (MT-C, 7,8 g), ethyl acetate (MT-E, 14,5 g) và lớp nước.

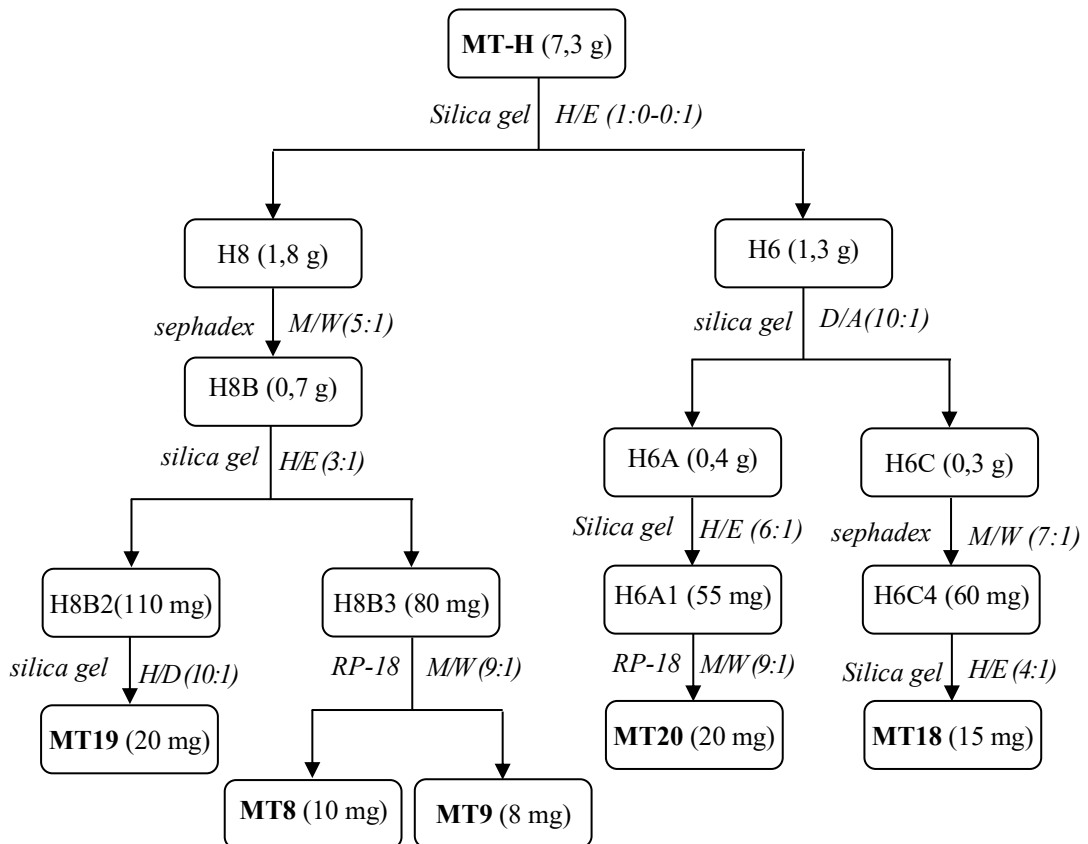


Hình 3.6. Sơ đồ tạo các dịch chiết phân đoạn từ lá loài *M. tiepii*

3.5. Phân lập các hợp chất từ loài *M. tiepii*

3.5.1. Phân đoạn MT-H

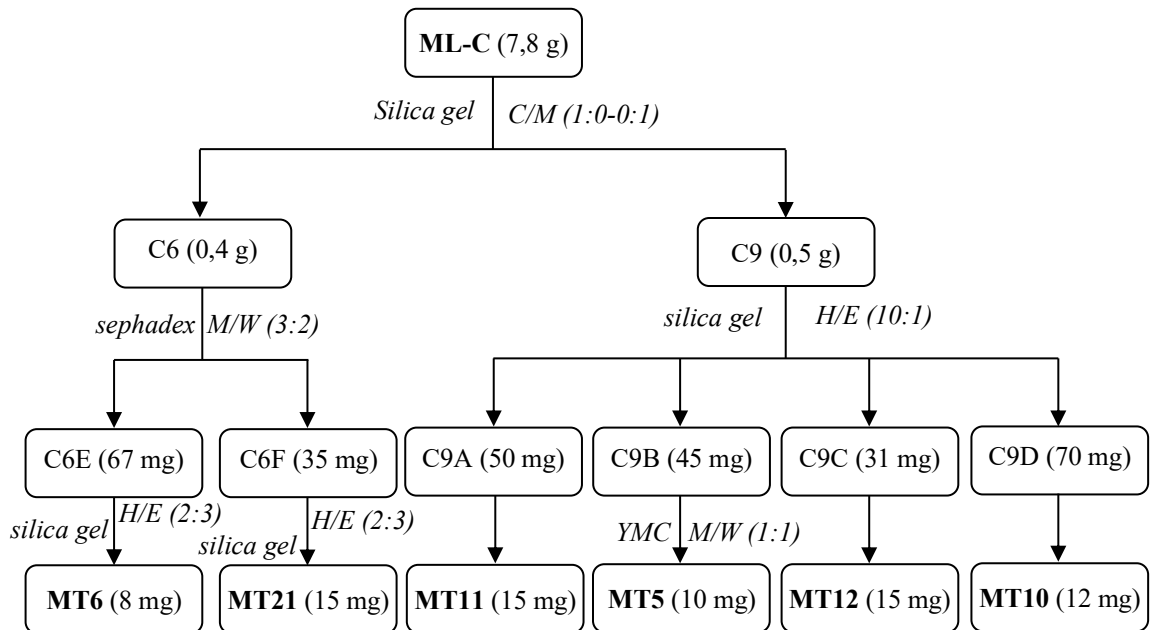
Từ cao chiết MT-H (7,3 g) tiến hành tách sắc ký qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/E (1:0 – 0:1, v/v) thu được 8 phân đoạn, H1-H8. Phân đoạn H8 (1,8 g) tiếp tục chạy qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (5:1, v/v), thu được 8 phân đoạn, H8A-H8H. Phân đoạn H8B (0,7 g) sau đó được chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (3:1, v/v) thu được 4 phân đoạn, H8B1-H8B4. Phân đoạn H8B2 (110 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi H/E (10:1, v/v) thu được hợp chất **MT19** (10 mg). Phân đoạn H8B3 (80 mg) tinh chế bằng cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi M/W (9:1, v/v) thu được hợp chất **MT8** (10 mg) và **MT9** (8 mg). Phân đoạn H6 (1,3 g) chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (10:1, v/v) thu được bốn phân đoạn, H6A-H6D. Phân đoạn H6A (0,4 g) tiếp tục chạy qua cột silica gel với hệ dung môi H/E (6:1, v/v) thu được hợp chất **MT20** (20 mg). Phân đoạn H6C (0,3 g) triển khai sắc ký với cột sephadex LH-20, hệ dung môi M/W (7:1, v/v) thu được năm phân đoạn, H6C1-H6C5. Tiếp tục, phân đoạn H6C4 (60 mg) tinh chế bằng cột silica gel với pha động H/E (4:1, v/v) thu được hợp chất **MT18** (15 mg).



Hình 3.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-H

3.5.2. Phân đoạn MT-C

Từ cao chiết MT-C (7,8 g) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi giải hấp gradient D/M (1:0 – 0:1, v/v) thu được 10 phân đoạn, C1-C10. Phân đoạn C1 (1,3 g) chạy qua cột sắc ký hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (5:1, v/v) thu được 7 phân đoạn, C1A-C1G. Phân đoạn C9 (0,5 g) tiếp tục chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/E (10:1, v/v) thu được 8 phân đoạn, C9A-C9H. Các phân đoạn C9A (50 mg), C9B (45 mg), C9C (31 mg) và C9D (70 mg) được tinh chế lần lượt bằng cột pha đảo YMC với hệ dung môi M/W (1:1, v/v) thu được các hợp chất **MT11** (15 mg), **MT12** (10 mg), **MT5** (15 mg) và **MT10** (12 mg). Phân đoạn C6 (0,4 g) được tách phân đoạn trên cột sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (3:2, v/v) thu được 6 phân đoạn, C6A-C6F. Phân đoạn C6E (67 mg) tiếp tục được tách sắc ký trên cột pha đảo RP-18 với hệ dung môi M/W (3:2, v/v) và được tinh chế bằng cột silica gel hệ dung môi H/E (2:3, v/v) thu được hợp chất **MT6** (8 mg). Phân đoạn C6F (35 mg) được tinh chế bằng cột silica gel với hệ dung môi H/E (2:3, v/v) thu được hợp chất **MT21** (15 mg).

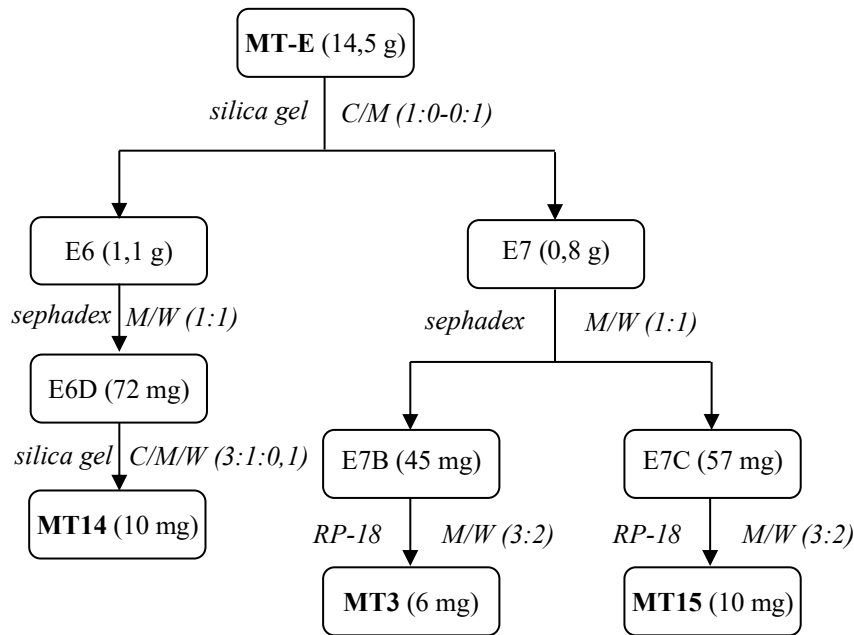


Hình 3.8. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-C

3.5.3. Phân đoạn MT-E

Từ cao chiết MT-E (14,5 g) được tách sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi giải hấp gradient C/M (1:0-0:1, v/v) thu được 8 phân đoạn, E1-E8. Phân đoạn E6 (1,1 g) tiếp tục được tách trên cột sephadex LH-20 CC với hệ M/W (1:1-1:0, v/v) thu được 4 phân đoạn, E6A-E6D. Phân đoạn E6D (72 mg) chạy qua cột silica gel bằng hệ dung môi C/M/W (3:1:0.1, v/v/v) thu được hợp chất **MT14** (6 mg). Phân đoạn E7 (0,8 g) được tách sắc ký trên cột sephadex LH-20 với hệ dung môi M/W (3:2, v/v) thu được 5 phân đoạn, E7A-E7E. Phân đoạn E7B (45 mg) chạy tinh chế bằng cột silica gel hệ

dung môi C/M (4:1, v/v) thu được hợp chất **MT3** (10 mg). Phân đoạn E7C (57 mg) chạy tinh chế qua cột pha đảo RP-18 thu được hợp chất **MT15** (10 mg).



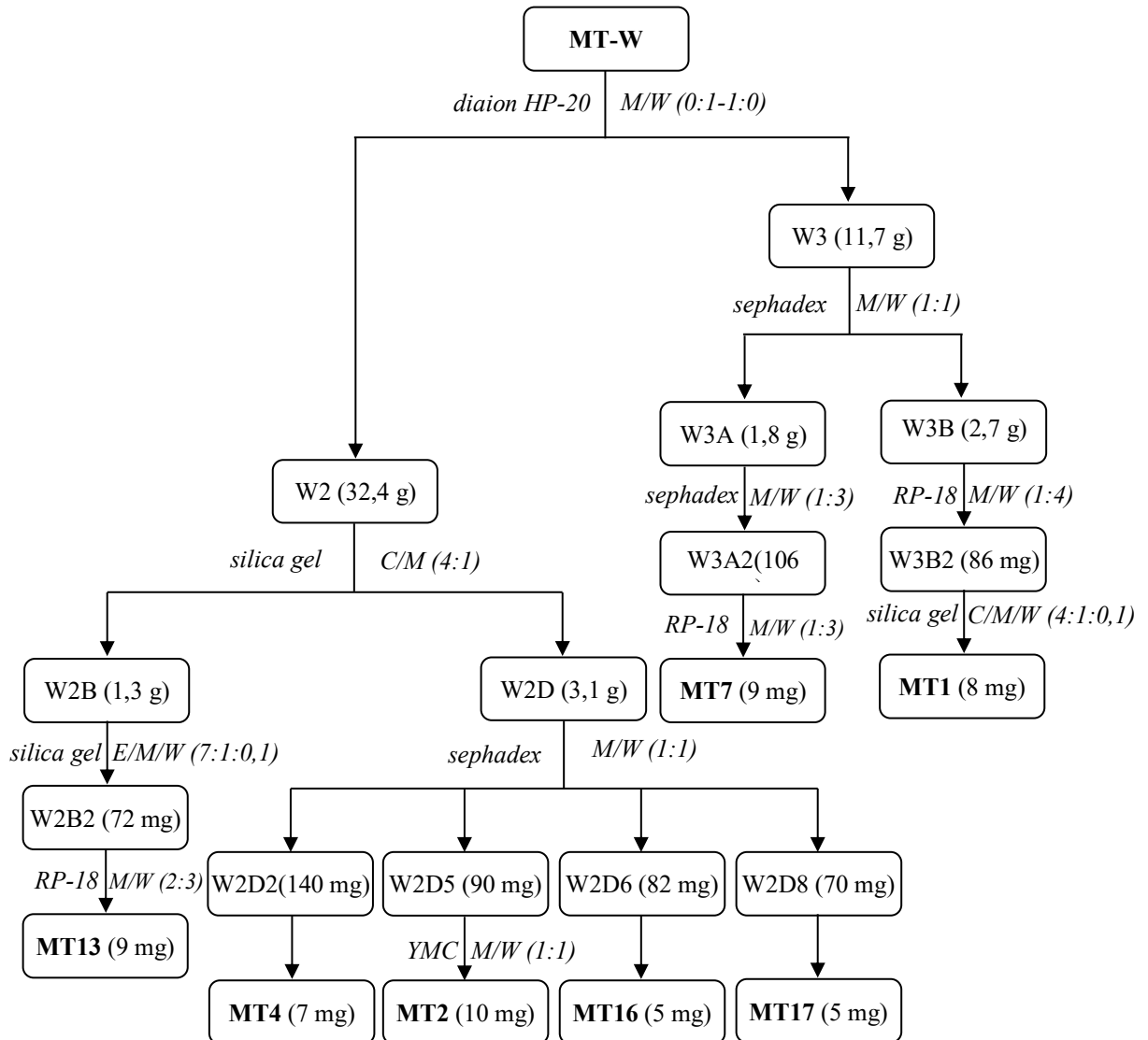
Hình 3.9. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-E

3.5.4. Phân đoạn MT-W

Lớp nước (MT-W, 3 L) được cô quay cho giảm bớt thể tích xuống còn 1 L sau đó chạy qua cột hấp phụ diaion HP-20, giải hấp với hệ dung môi M/W (0:1, 1:0, v/v) thu được 5 phân đoạn (W1-W5). Phân đoạn W2 (32,4 g) cho qua cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi C/M (4:1, v/v) cho 5 phân đoạn, W2A-W2E. Sau đó, phân đoạn W2B (1,3 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel, giải hấp với hệ dung môi E/M/W (7:1:0,1, v/v/v) cho 5 phân đoạn, W2B1-W2B5. Phân đoạn W2B2 (72 mg) triển khai sắc ký pha đảo RP-18, giải hấp với hệ dung môi M/W (2:3, v/v) thu được hợp chất **MT13** (9 mg). Phân đoạn W2D (3,1 g) cho qua cột hấp phụ sephadex LH-20, với hệ dung môi M/W (1:1-1:0, v/v) cho 10 phân đoạn, W2D1-W2D10. Các phân đoạn W2D2 (140 mg), W2D5 (90 mg), W2D6 (82 mg) và W2D8 (70 mg) chạy tinh chế qua các cột hấp phụ silica gel, với hệ dung môi E/M/W (7:1:0,1, v/v/v) thu được lần lượt các hợp chất **MT4** (7 mg), **MT2** (10 mg), **MT16** (5 mg) và **MT17** (5 mg).

Phân đoạn W3 (11,7 g) chạy qua cột hấp phụ sephadex LH-20, giải hấp với hệ dung môi M/W (1:1-1:0, v/v) thu 3 phân đoạn, W3A-W3C. Phân đoạn W3A (1,8 g) cho chạy qua cột hấp phụ sephadex LH-20, hệ dung môi M/W (1:3-1:0, v/v) thu 5 phân đoạn, W3A1-W3A5. Phân đoạn W3A2 (106 mg) chạy qua cột pha đảo RP-18, hệ M/W (1:3, v/v) thu được 4 phân đoạn, W3A2A-W3A2D. Phân đoạn W3A2D (40 mg) tinh chế qua cột pha đảo RP-18, hệ dung môi M/W (1:1, v/v) thu được hợp chất **MT7**. Phân đoạn W3B (2,7 g) triển khai sắc ký với cột RP-18, giải hấp với hệ dung

môi M/W (1:4, v/v) thu được 6 phân đoạn, W3B1-W3B6. Phân đoạn W3B2 (86 mg) tinh chế qua cột hấp phụ silica gel hệ dung môi C/M/W (3:1:0,1, v/v/v) thu được hợp chất **MT1** (8 mg).



Hình 3.10. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ MT-W

3.6. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập từ loài *M. tiepii*

3.6.1. Hợp chất **MT1**: *kaempferol 3-neohesperidoside*

Chất bột màu vàng. CTPT: $C_{27}H_{30}O_{15}$, ESI-MS: m/z 595,14 $[M+H]^+$, 449,10 $[(M+H)-Rha]^+$, 287,06 $[(M+H)-Rha-Glc]^+$ (hình PL214-215). IR (KBr) ν_{max} = 3349, 1661, 1609 cm^{-1} (hình PL201).

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.15.

3.6.2. Hợp chất **MT2**: *nicotiflorin*

Chất bột màu vàng. CTPT: $C_{27}H_{30}O_{15}$, ESI-MS: m/z 595,14 $[M+H]^+$, 449,11 $[(M+H)-Rha]^+$, 287,08 $[(M+H)-Rha-Glc]^+$ (hình PL230-231). IR (KBr) ν_{max} = 3317, 1662, 1616 cm^{-1} (hình PL216).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.16.

3.6.3. Hợp chất MT3: *isoquercitrin*

Chất bột màu vàng. CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$, ESI-MS: m/z 465,03 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 303,06 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}]^+$ (hình PL243). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3317, 1662, 1616 \text{ cm}^{-1}$ (hình PL232).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.17.

3.6.4. Hợp chất MT4: *magnoloside A*

Chất bột màu nâu đỏ. CTPT: $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$, ESI-MS: m/z 625,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 471,15 $[(\text{M}+\text{H})-\text{dihydroxy phenethyl alcohol}]^+$, 325,16 $[(\text{M}+\text{H})-\text{dihydroxy phenethyl alcohol-Rha}]^+$ (hình PL257). IR (KBr) $\nu_{\text{max}} = 3437, 3225, 2934, 2864, 1487, 1241$ (hình PL244).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.18.

3.6.5. Hợp chất MT5: (+)-*syringaresinol*

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$, ESI-MS: m/z 419,05 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 417,05 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (hình PL266-267). Độ quay cực: λ_D^{25} : +44,0 ($c = 0,1$, CHCl_3). CD (MeOH) $\lambda_{\text{max}} (\Delta\epsilon)$: 203 (+22,58), 233 (+1,43), 288 (+1,43) nm (hình PL268).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) và ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): xem bảng 4.19.

3.6.6. Hợp chất MT6: (+)-*pinoresinol*

Chất rắn màu trắng. CTPT: $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$, ESI-MS: m/z 359,07 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (hình PL276). Độ quay cực: λ_D^{25} : +70,1 ($c = 0,1$, CH_3OD). CD (MeOH) $\lambda_{\text{max}} (\Delta\epsilon)$: 205 (+2,11), 228 (+0,33), 284 (+0,18) nm (hình PL75).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) và ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): xem bảng 4.20.

3.6.7. Hợp chất MT7: (-)-*acanthoside B*

Bột vô định hình màu vàng. CTPT: $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{13}$, ESI-MS: m/z 401,04 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}]^+$, 419,16 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}+\text{H}_2\text{O}]^+$, 598,14 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$ (hình PL287). Độ quay cực: λ_D^{25} : +40,0 ($c = 0,1$, CH_3OD). CD (MeOH) $\lambda_{\text{max}} (\Delta\epsilon)$: 211 (-4,20), 233 (-4,02) nm (hình PL286).

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.21.

3.6.8. Hợp chất MT8: (9S)-9-O-methylcubebin

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_8$, ESI-MS: m/z 371,31 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 338,97 $[\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}]^+$, 320,99 $[\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (hình PL297). Độ quay cực: λ_D^{25} : +20,0 ($c = 0,1$, CHCl_3). CD (MeOH) $\lambda_{\text{max}} (\Delta\epsilon)$: 232 (-0,75), 251 (-0,32), 292 (-2,3) nm (hình PL298).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) và ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): xem bảng 4.22.

3.6.9. Hợp chất MT9: (9R)-9-O-methylcubebin

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: $C_{22}H_{24}O_8$, ESI-MS: m/z 371,24 $[M+H]^+$, 339,15 $[M+H-MeOH]^+$, 321,13 $[M+H-MeOH-H_2O]^+$ (hình PL308). Độ quay cực: λ_D^{25} : -25,0 ($c = 0,1$, $CHCl_3$).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.23.

3.6.10. Hợp chất MT10: *lariciresinol*

Chất dầu không màu. CTPT: $C_{20}H_{24}O_6$, ESI-MS: m/z 361,01 $[M+H]^+$ (hình PL318). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 219 (+1,5), 278 (-0,40) nm (hình PL319).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.24.

3.6.11. Hợp chất MT11: *dehydrovomifoliol*

Bột vô định hình màu trắng. CTPT: $C_{13}H_{18}O_3$, ESI-MS: m/z 223,04 $[M+H]^+$ (hình PL327). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 209 (-73,49), 244 (+87,38), 324 (-5.61) nm (hình PL326).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.25.

3.6.12. Hợp chất MT12: *blumenol A*

Bột vô định hình màu trắng. CTPT: $C_{13}H_{20}O_3$, ESI-MS: m/z 225,03 $[M+H]^+$ (hình PL338). CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 209 (-73,35), 244 (+87,30), 324 (-5.55) nm (hình PL339).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): xem bảng 4.26.

3.6.13. Hợp chất MT13: *manglieside C*

Chất vô định hình, không màu. CTPT: $C_{19}H_{34}O_7$, ESI-MS: m/z 375,23 $[M+H]^+$, 213,20 $[(M+H)-All]^+$ (hình PL253).

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.27.

3.6.14. Hợp chất MT14: *syringin*

Tinh thể màu trắng. CTPT: $C_{17}H_{24}O_9$, ESI-MS: m/z 373,13 $[M+H]^+$, 209,19 $[M+H-Glc]^+$ (hình PL362).

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): xem bảng 4.28.

3.6.15. Hợp chất MT15: *astragalin*

Chất bột màu vàng. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{11}$, ESI-MS: m/z 449,07 $[M+H]^+$, 287,00 $[(M+H)-Glc]^+$, 447,08 $[M-H]^-$ (hình PL363-364). **MT15** có số liệu phổ NMR và giá trị $R_f = 0,6$ trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi EtOAc:MeOH:HCOOH:W (50/10/3/6), tương ứng với hợp chất **ML5**.

3.6.16. Hợp chất MT16: *quercetin 3-neohesperidoside*

Chất bột màu vàng. CTPT: $C_{27}H_{30}O_{16}$, ESI-MS: m/z 611,16 $[M+H]^+$, 304,27 $[(M+H)-Glc-Rha]^+$, 609,06 $[M-H]^-$ (hình PL365-3666). **MT16** có số liệu phổ NMR và giá trị $R_f = 0,5$ trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi EtOAc:MeOH:HCOOH:W (50/10/3/6), tương ứng với hợp chất **ML7a**.

3.6.17. Hợp chất MT17: quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

Chất bột màu vàng. CTPT: C₂₇H₃₀O₁₆, ESI-MS: m/z 611,14 [M+H]⁺, 304,25 [(M+H)-Glc-Rha]⁺, 608,97 [M-H]⁻ (hình PL367-368). **MT17** có số liệu phổ NMR và giá trị R_f = 0,5, trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi EtOAc:MeOH:HCOOH:W (50/10/3/6), tương ứng với hợp chất **ML7b**.

3.6.18. Hợp chất MT18: hinokinin

Chất dầu màu vàng nhạt. CTPT: C₂₀H₁₈O₆, ESI-MS: m/z 355,11 [M+H]⁺, 337,10 [(M+H)-H₂O]⁺ (hình PL369). **MT18** có số liệu phổ NMR và giá trị R_f = 0,5 trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi H/E (4/1), tương ứng với hợp chất **ML11**.

3.6.19. Hợp chất MT19: dihydrosesamin

Chất dầu không màu. CTPT: C₂₀H₂₀O₆; ESI-MS: m/z 355,24 [M-H]⁻ (hình PL370). **MT19** có số liệu phổ NMR và giá trị R_f = 0,5 trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi H/E (4/1), tương ứng với hợp chất **ML12**.

3.6.20. Hợp chất MT20: β -sitosterol

Chất bột màu trắng. CTPT: C₂₉H₅₀O, ESI-MS: m/z 415,10 [M+H]⁺ (hình PL371). **MT20** có giá trị R_f = 0,5 trên bản mỏng silica gel (pha thường) bằng hệ dung môi H/E (4/1), tương ứng với chất chuẩn β -sitosterol.

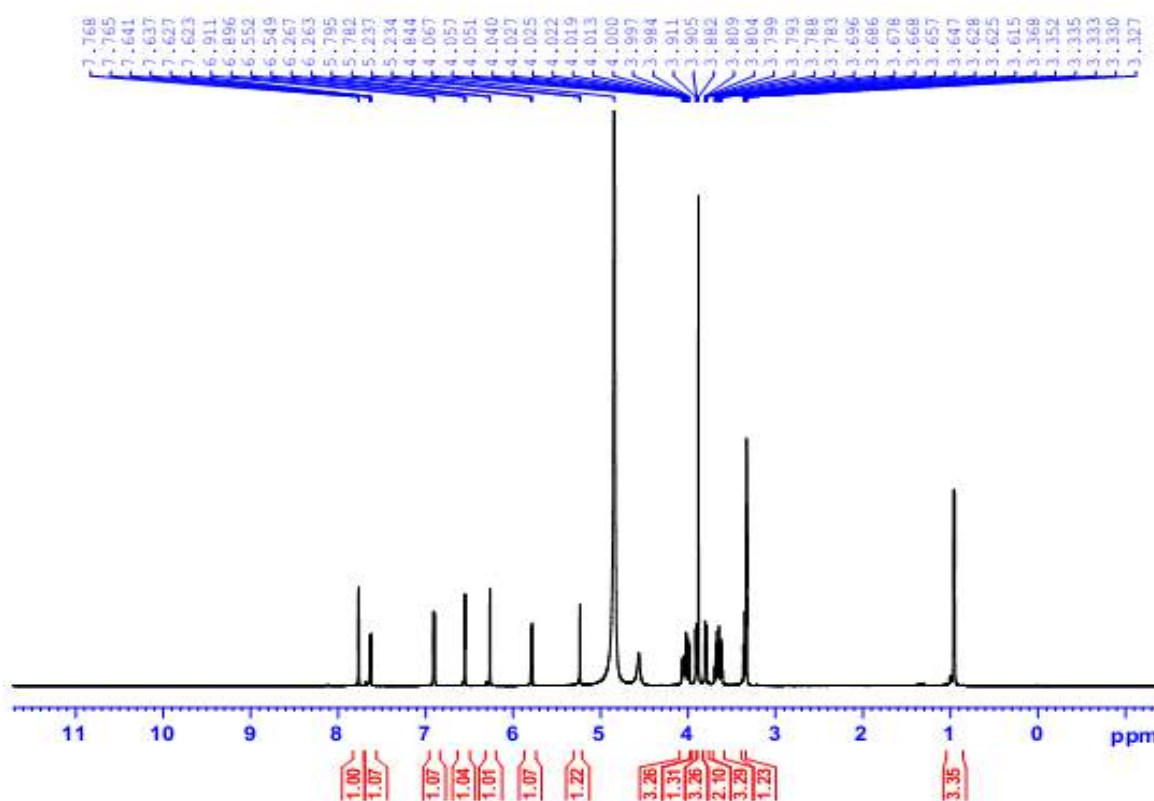
CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Kết quả nghiên cứu và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. lamdongensis*

4.1.1. Hợp chất **ML1**: rhamnetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside

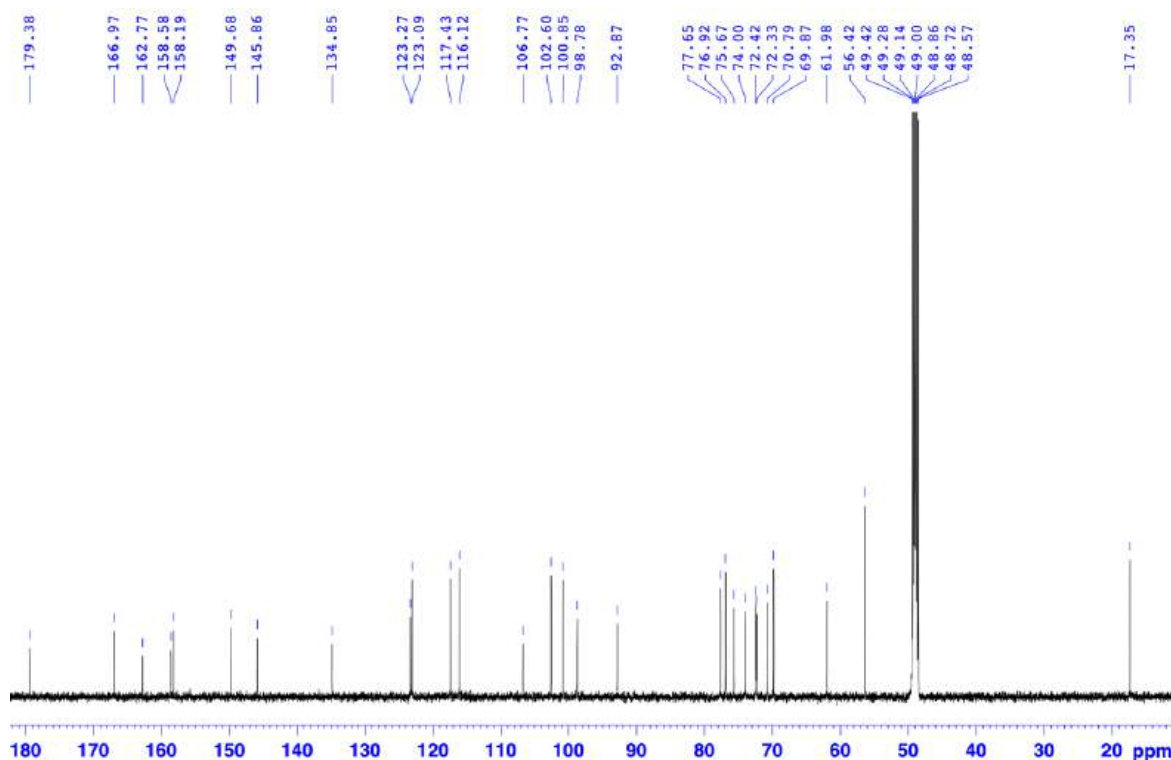
Hợp chất **ML1** phân lập được dưới dạng bột màu vàng.

Phổ ^1H NMR (hình 4.1) của hợp chất **ML1** xác định tín hiệu của 3 proton trong vòng thơm B dạng ABX [δ_{H} 7,77 (1H, d, $J = 2,2$ Hz), δ_{H} 6,90 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,63 (1H, dd, $J = 8,4, 2,2$ Hz)], 2 proton có tương tác *meta* của vòng thơm A [δ_{H} 6,27 (1H, d, $J = 2,2$ Hz) và δ_{H} 6,55 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)]. Những tín hiệu này cho phép ta xác định phần khung aglycone của **ML1** tương tự như khung quercetin. Bên cạnh đó, tín hiệu của hai proton anomer của hai gốc đường được ghi nhận, một mang cấu hình β tại δ_{H} 5,79 (d, $J = 7,8$ Hz, H-1'') và một mang cấu hình α tại δ_{H} 5,24 (d, $J = 1,6$ Hz, H-1'''). Ngoài ra, tín hiệu của một nhóm methyl tại δ_{H} 0,96 (d, $J = 6,2$ Hz) dự đoán có một gốc đường rhamnose trong phân tử.



Hình 4.1. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất **ML1**

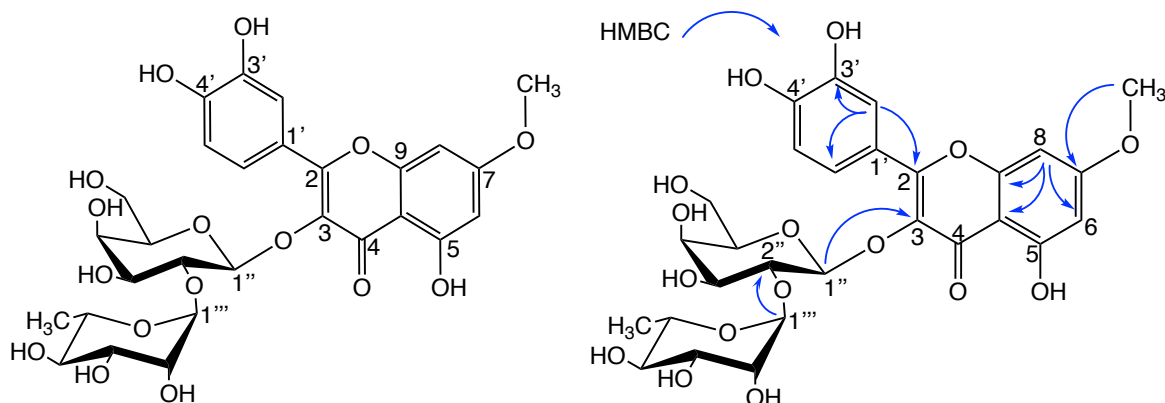
Phổ ^{13}C NMR (hình 4.2) kết hợp phổ DEPT (hình PL4) của **ML1** xác định sự hiện diện của 28 carbon bao gồm 16 carbon của khung aglycone và 12 carbon của 2 gốc đường. Cách sắp xếp các proton của 2 gốc đường được xác định qua sự phân tích phổ COSY (hình PL15).



Hình 4.2. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất **ML1**

Phổ HMBC (hình PL9) ghi nhận tương tác giữa proton H-1''' với carbon C-2'' (δ_{C} 77,65) chỉ ra rằng gốc đường thứ hai gắn với vị trí C-2'' của gốc đường thứ nhất. Phổ HMBC cũng xác nhận phần đường được gắn với nguyên tử oxygen của khung aglycone thông qua tương tác giữa proton anomer H-1'' với C-3. Bên cạnh đó, mối tương quan từ proton của nhóm methyl (δ_{H} 3,88) đến C-7 (δ_{C} 166,97) trên phổ HMBC đã xác nhận nhóm methoxy gắn với C-7 và phần aglycone được xác định là rhamnetin.

Phổ khối ESI-MS ở chế độ positive (hình PL20) cho các tín hiệu tại m/z 625,18 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 479,09 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 317,04 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}-\text{Gal}]^+$; ở chế độ negative (hình PL21) cho tín hiệu tại m/z 623,05 $[\text{M}-\text{H}]^-$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **ML1** là $M = 624$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$.



Hình 4.3. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất **ML1**

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR thì độ dời hóa học của **ML1** được trình bày trong bảng 4.1 và hợp chất **ML1** được xác định là rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside khi so sánh với tài liệu tham khảo [124]. Công thức cấu tạo của **ML1** được thể hiện trên hình 4.3.

Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML1**

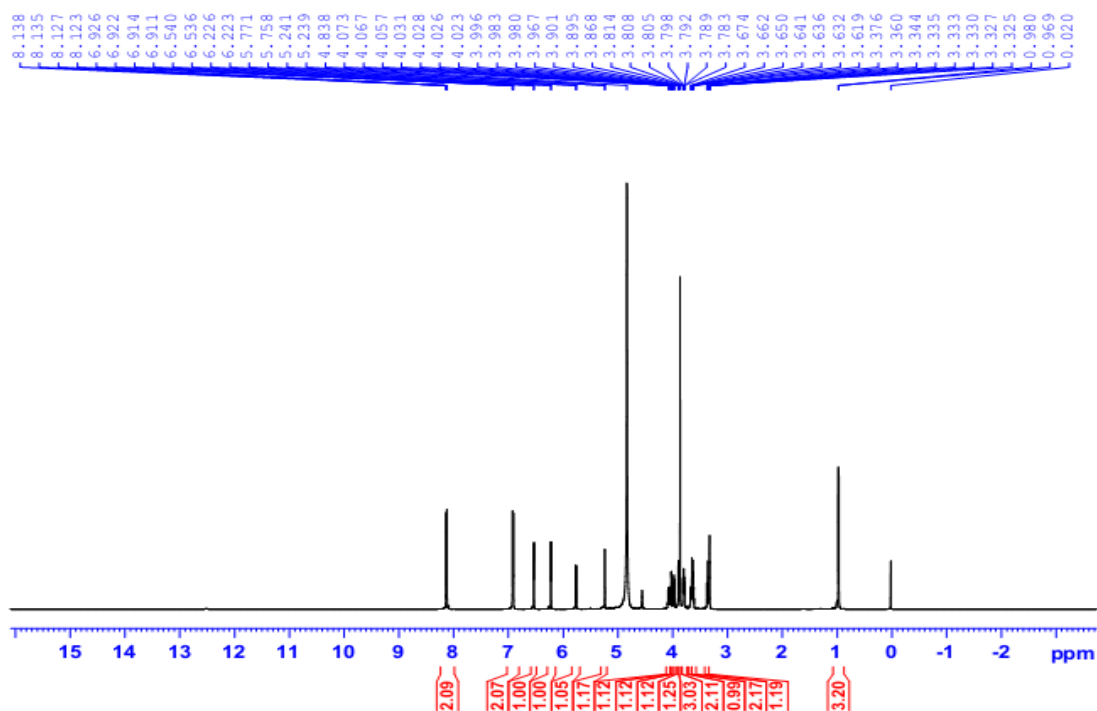
Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H \rightarrow C)	COSY (H \rightarrow H)
2	159,2	158,58	C				
3	134,9	134,85	C				
4	179,2	179,38	C				
5	162,6	162,77	C				
6	98,4	98,78	CH	6,27 d (2,2)	6,36 d (1,9)	4,5,8,10	8
7	165,9	166,97	C				
8	92,4	92,87	CH	6,55 d (2,2)	6,64 d (1,9)	4,5,6,9,10	6
9	158,0	158,19	C				
10	105,8	106,77	C				
1'	122,8	123,27	C				
2'	116,5	117,43	CH	7,77 d (2,2)	7,68 d (1,9)	2,3',6'	6'
3'	146,0	145,86	C				
4'	149,9	149,68	C				
5'	115,6	116,12	CH	6,90 d (8,4)	6,90 d (8,5)	2,2',3',4',6'	6',2'
6'	123,0	123,09	CH	7,63 dd (8,4, 2,2)	7,64 dd (8,5, 1,9)	2,2',3'	2',5'
1''	100,2	100,85	CH	5,79 d (7,8)	5,76 d (8,0)	3,5''	2''
2''	77,3	77,65	CH	4,00 dd (9,6, 7,8)	3,98 dd (8,5, 8,0)	1'',5'',1'''	1'',3''
3''	75,4	75,67	CH	3,80 dd (9,6, 3,5)	3,73 dd (8,5, 3,0)	1'',2'',5'''	2'',4''
4''	70,4	70,79	CH	3,91 d (3,5, 1,0)	3,85 dd (3,0, 1,2)	5''	3''
5''	76,7	76,92	CH	3,62 m	3,50 m	1'',4'',6''	
6''	62,0	61,98	CH ₂	3,64 dd (11,0, 2,0) 3,68 dd (11,0, 5,8)	3,64 dd (12,0, 2,0) 3,85 dd (12,0, 4,5)	3'',4'',5''	
1'''	100,2	102,6	CH	5,24 d (1,6)	5,25 d (1,2)	2'',2'''	2'''
2'''	72,0	72,33	CH	4,02 dd (3,4, 1,6)	4,03 dd (3,2, 1,2)	3'''	1''', 3'''
3'''	72,0	72,42	CH	3,79 dd (9,6, 3,4)	3,80 dd (9,7, 3,2)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	73,5	74,00	CH	3,36 d (9,6)	3,36 t (9,7)	2''',5''',6'''	3''',5'''
5'''	69,4	69,87	CH	4,05 dt (9,6, 6,2)	4,05 m	1''',6'''	4''',6'''
6'''	17,2	17,35	CH ₃	0,96 d (6,2)	0,96 d (6,5)	4''',5'''	5'''
7- OMe	56,2	56,42	CH ₃	3,88 s	3,92 s	7	

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside [124].

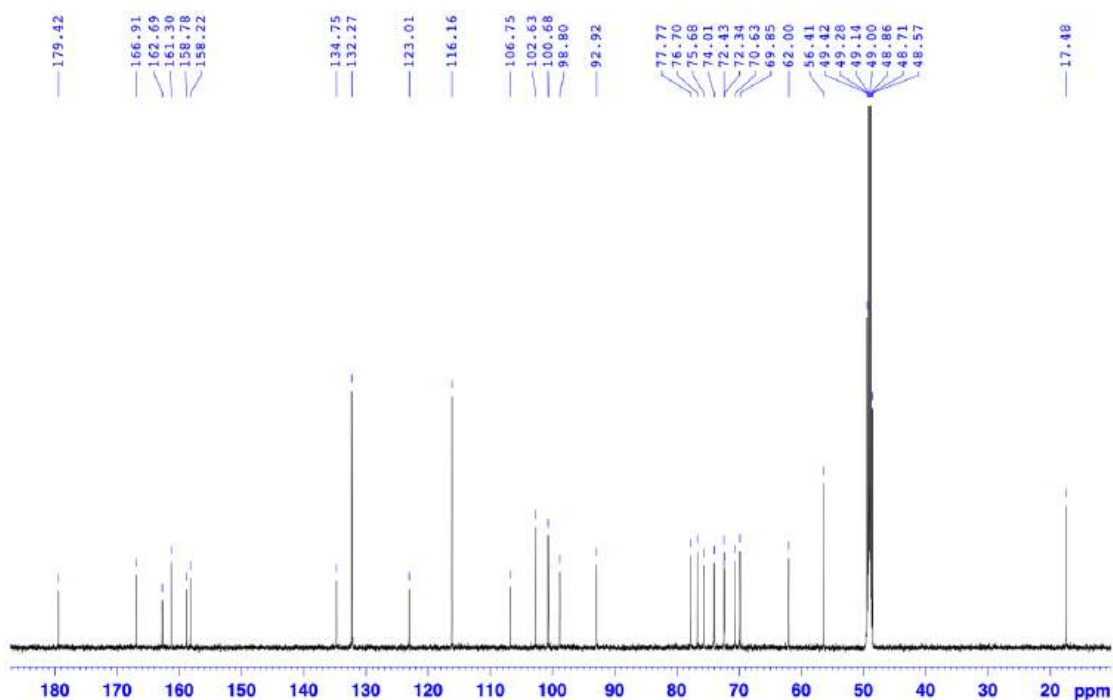
4.1.2. Hợp chất ML2: oxytroflavoside F

Hợp chất **ML2** được phân lập dưới dạng bột màu vàng.

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.4) của hợp chất **ML2** xuất hiện tín hiệu của 4 proton trong vòng thơm B dạng AA'BB' tại δ_{H} 8,13 (2H, dd, $J = 9,0, 3,0$ Hz, H-2', 6') và 6,92 (2H, dd, $J = 9,0, 3,0$ Hz, H-3', 5'). Bên cạnh đó, phổ ^1H NMR ghi nhận tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,87 (s, 3H) và tín hiệu của hai proton anomer của hai gốc đường tại δ_{H} 5,76 (d, $J = 7,8$ Hz, H-1'') và 5,24 (d, $J = 1,6$ Hz, H-1''').



Hình 4.4. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất **ML2**



Hình 4.5. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất **ML2**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.5) kết hợp với phổ DEPT (hình PL26) cho thấy tín hiệu của 28 carbon bao gồm 16 carbon của khung aglycone và 12 carbon của 2 gốc đường.

Phổ HSQC (hình PL28) và phổ HMBC (hình PL31) đã xác nhận các phần cấu trúc của khung aglycone là rhamnocitrin, phần gốc đường được nối vào vị trí C-3 tương tự như của hợp chất **ML1**.

Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML2**

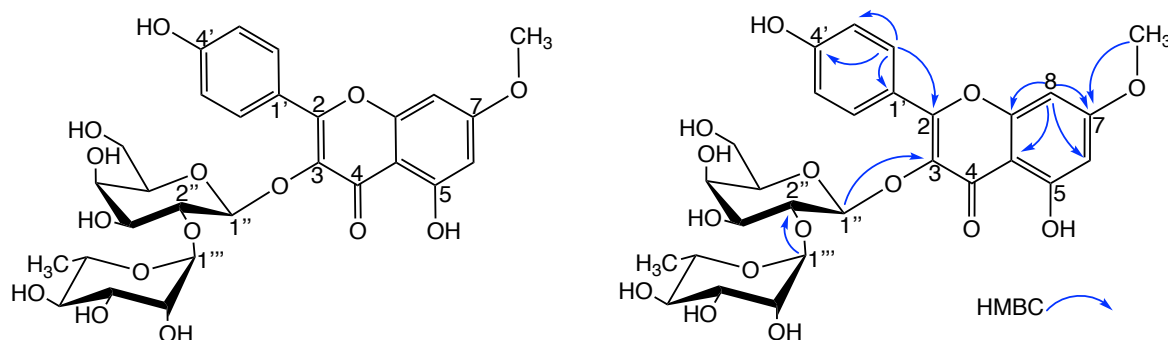
Vị trí	* $\delta_{\text{C}}^{\text{d,f}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$ (ppm)	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_{\text{H}}^{\text{d,e}}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	156,4	158,78	C				
3	133,0	134,75	C				
4	177,5	179,42	C				
5	160,9	162,69	C				
6	97,9	98,80	CH	6,22 d (2,2)	6,37 d (2,0)	5,7,8,10	8
7	165,0	166,91	C				
8	92,2	92,92	CH	6,54 d (2,2)	6,74 d (2,0)	4,6,7,9,10	6
9	156,2	158,22	C				
10	104,9	106,75	C				
1'	120,7	123,01	C				
2'	130,9	132,27	CH ₂	8,13 dd (9,0, 3,0)	8,12 d (9,0)	2,1',3',4', 5',6'	3'
3'	115,1	116,16	CH ₂	6,92 dd (9,0, 3,0)	6,87 d (9,0)	1',3',4',5'	2'
4'	160,1	161,3	C				
5'	115,1	116,16	CH ₂	6,92 dd (9,0, 3,0)	6,87 d (9,0)	1',3',4',5'	6'
6'	130,9	132,27	CH ₂	8,13 dd (9,0, 3,0)	8,12 d (9,0)	2,1',2',3', 4',5'	5'
1''	98,7	100,68	CH	5,76 d (7,8)	5,66 d (8,0)	3,5''	2''
2''	75,1	77,77	CH	3,98 dd (9,6, 7,8)	3,80 dd (9,5, 8,0)	1'',5'',1'''	1'',3''
3''	74,0	75,68	CH	3,81 dd (5,5, 3,5)	3,59 brd (9,0)	1'',2''	2''
4''	68,5	70,63	CH	3,90 d (3,5)	3,65 brs	2'',5'',6''	
5''	75,6	76,70	CH	3,67 m	3,36 t (5,5)	3''	
6''	60,1	62,00	CH	3,65 dd (11,0, 5,4) 3,63 dd (11,0, 2,4)	3,43 dd (10,5, 6,0) 3,28 dd (10,5, 5,5)	1'',3'',4'',6''	
1'''	100,5	102,63	CH	5,24 d (1,6)	5,06 s	2'',3''',5'''	2'''
2'''	70,64	72,43	CH	4,03 dd (3,4, 1,6)	3,74 brs	1''',3''',4'''	1''',3'''
3'''	70,57	72,34	CH	3,79 m	3,47 dd (9,5, 3,0)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	71,8	74,01	CH	3,36 t (9,6)	3,12 t (9,5)	3''',5''',6'''	3''',5'''
5'''	68,2	69,85	CH	4,07 dq (9,6, 6,2)	3,73 dq (9,5, 6,0)	3''',4''',6'''	4''',6'''
6'''	17,2	17,48	CH ₃	0,97 d (6,2)	0,75 d (6,0)	4''',5'''	5'''
7- OMe	56,1	56,41	CH ₃	3,87 s	3,86 s	7	

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^dDMSO-d₆, ^e500 MHz, ^f125 MHz

*Giá trị ^{13}C và ^1H của oxytroflavoside F [125].

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL38) cho các tín hiệu tại m/z 609,19 $[M+H]^+$, 463,12 $[(M+H)-Rha]^+$, 301,06 $[(M+H)-Rha-Gal]^+$; ở chế độ negative (hình PL39) cho tín hiệu tại m/z 607,03 $[M-H]^-$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **ML2** là $M = 608$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{28}H_{32}O_{15}$.

Số liệu phổ của **ML2** sau khi tổng hợp được trình bày trong bảng 4.2 và **ML2** được xác định là rhamnocitrin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside hay oxytroflavoside F khi so sánh với tài liệu tham khảo [125]. Công thức cấu tạo của **ML2** được biểu diễn trên hình 4.6.



Hình 4.6. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất **ML2**

4.1.3. Hợp chất **ML3**: rhamnocitrin 3-*O*- β -neohesperidoside

Hợp chất **ML3** được phân lập dưới dạng bột màu vàng.

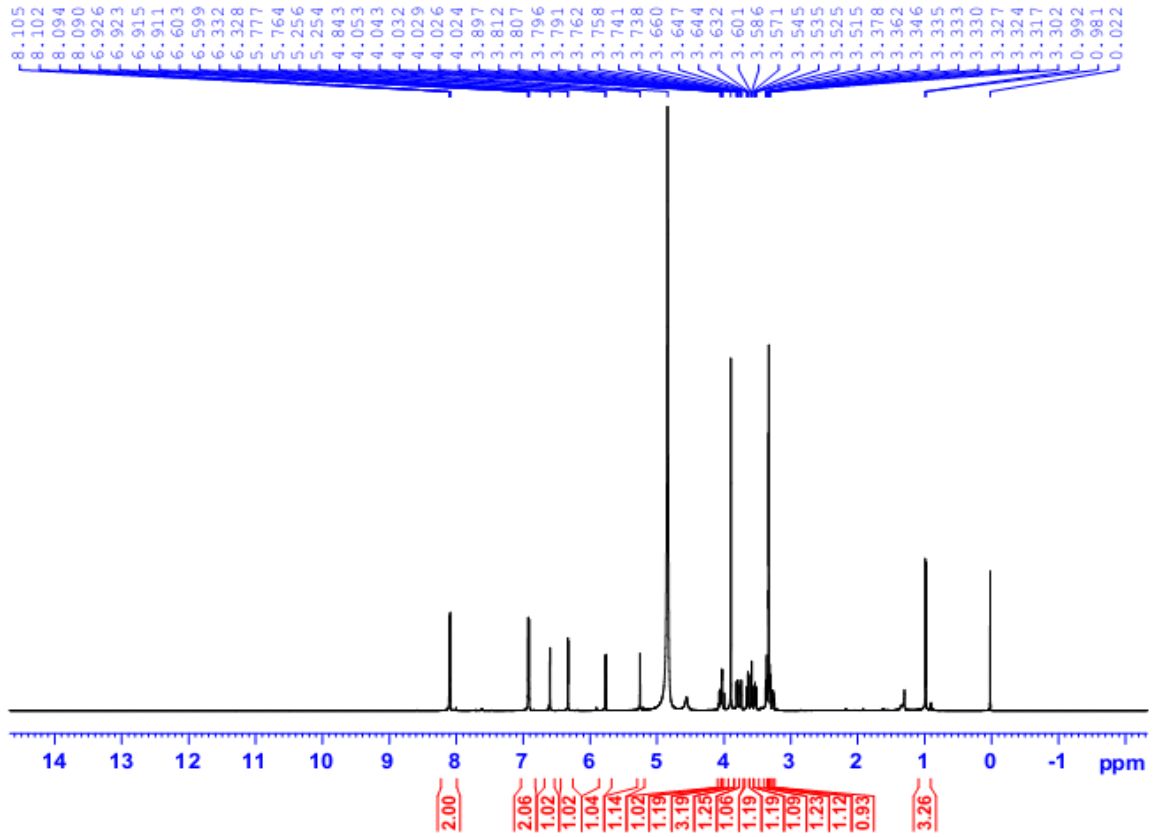
Phổ 1H NMR (hình 4.7) của **ML3** xuất hiện các tín hiệu của khung aglycone rhamnocitrin tương tự như ở **ML2** [δ_H 8,10 (2H, dd, $J = 9,0, 2,0$ Hz, H-2', 6'), 6,92 (2H, dd, $J = 9,0, 2,0$ Hz, H-3', 5'), 6,60 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-8), 6,33 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-6), 3,90 (s, 3H, 7-OMe)]. Bên cạnh đó, tín hiệu của 2 proton anomer của gốc đường xuất hiện ở δ_H 5,77 (1H, d, $J = 7,8$ Hz) và δ_H 5,26 (1H, d, $J = 1,6$ Hz) cùng với tín hiệu của 1 nhóm methyl tại δ_H 0,99 (3H, d, $J = 6,2$ Hz) xác nhận sự có mặt của 1 gốc đường rhamnoside, các tín hiệu của các nhóm methin còn lại của hai gốc đường xuất hiện trong vùng 3,26-4,07 ppm.

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.8) kết hợp với phổ DEPT (Hình PL44) cho thấy tín hiệu của 28 carbon bao gồm 16 carbon của khung aglycone và 12 carbon của 2 gốc đường. Qua phân tích trên phổ 1H và ^{13}C NMR của **ML2** và **ML3**, khác biệt đến từ các giá trị của các carbon gốc đường thứ nhất, gốc đường galactose trong **ML2** được thay thế bằng gốc đường glucose trong **ML3** (bảng 2.3).

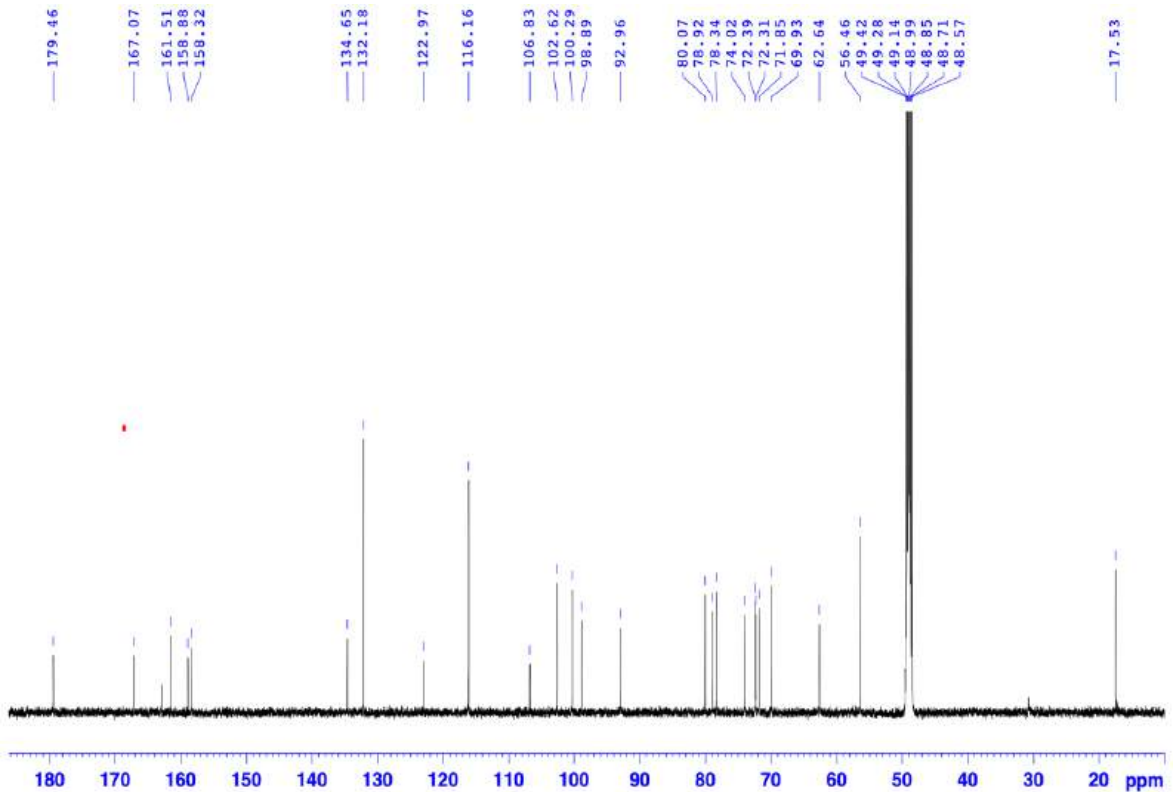
Phổ HSQC (hình PL46) và phổ HMBC (hình PL48) của **ML3** xác nhận các phần cấu trúc của khung aglycone, phần gốc đường được nối tương tự như của hợp chất **ML2**.

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL55) cho tín hiệu tại m/z 609,21 $[M+H]^+$, 463,13 $[(M+H)-Rha]^+$, 301,07 $[(M+H)-Rha-Glc]^+$; ở chế độ negative (hình

PL56) cho tín hiệu tại m/z 607,04 $[M-H]^-$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **ML3** là $M = 608$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{28}H_{32}O_{15}$.



Hình 4.7. Phổ 1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất **ML3**



Hình 4.8. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất **ML3**

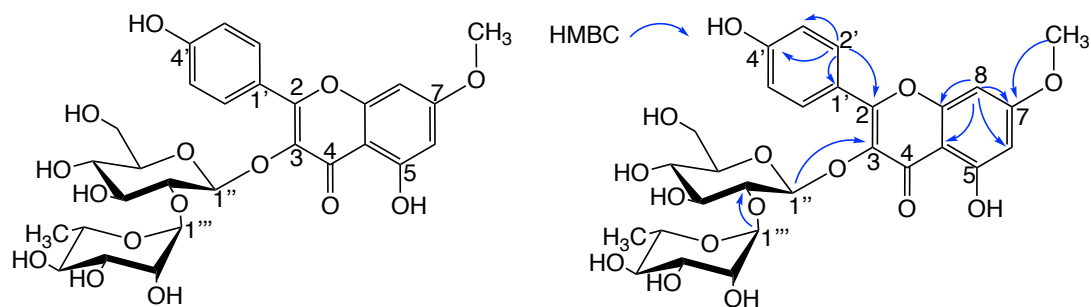
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML3**

Vị trí	* $\delta_C^{a,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,c}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	158,9	158,88	C				
3	134,7	134,65	C				
4	179,5	179,46	C				
5	163,0	163,00	C				
6	98,9	98,89	CH	6,33 d (2,2)	6,31 d (2,2)	5,7,8,10	8
7	167,1	167,07	C				
8	93,0	92,96	CH	6,60 d (2,2)	6,58 d (2,2)		6
9	158,4	158,32	C				
10	106,9	106,83	C				
1'	123,1	122,97	C				
2'	132,2	132,18	CH	8,10 dd (9,0, 2,0)	8,08 d (8,9)	2,3',4',5',6'	3'
3'	116,2	116,16	CH	6,92 dd (9,0, 2,0)	6,90 d (9,0)	1',3',4',5'	2'
4'	161,5	161,51	C				
5'	116,2	116,16	CH	6,92 dd (9,0, 2,0)	6,90 d (9,0)	2',3',4',5'	6'
6'	132,2	132,18	CH	8,10 dd (9,0, 2,0)	8,08 d (8,9)	1',3',4',5'	5'
1''	100,3	100,29	CH	5,77 d (7,8)	5,76 d (7,5)	3	2''
2''	80,1	80,07	CH	3,64 dd (9,0, 7,8)		1'',3'',1'''	1'',3''
3''	79,0	78,92	CH	3,59 t (9,0)		2'',4''	2'',4''
4''	71,9	71,85	CH	3,31 t (9,0)		5'',6''	3'',5''
5''	78,4	78,34	CH	3,26 ddd (9,0, 6,0, 2,4)		1'',4'',5'',6''	4'',6''
6''	62,7	62,64	CH ₂	3,75 dd (12,0, 2,4) 3,53 dd (12,0, 6,0)		4'',5''	5''
1'''	102,7	102,62	CH	5,26 d (1,6)	5,23 d (1,6)	2'',3''',5'''	2'''
2'''	72,5	72,39	CH	4,02 dd (3,4, 1,6)		4'',4'''	1''',3'''
3'''	72,4	72,31	CH	3,80 dd (9,6, 3,4)		3'',5'''	2''',4'''
4'''	74,1	74,02	CH	3,37 t (9,6)		4'',5''',6'''	5''',3'''
5'''	70,0	69,93	CH	4,06 dd (9,6, 6,2)		4'',1''',4''',6'''	4''',6'''
6'''	17,6	17,53	CH ₃	0,99 d (6,2)	0,95 d (6,2)	4''',5'''	5'''
7-OMe	56,5	56,46	CH ₃	3,90 s	3,88 s	7	

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d400MHz, ^e101 MHz,

*Giá trị ¹³C và ¹H của rhamnocitrin 3-O- β -neohesperidoside [126].

Độ dời hóa học của **ML3** được trình bày trong bảng 4.3 và hợp chất **ML3** được xác định là rhamnocitrin 3-O- β -neohesperidoside khi đối chiếu với tài liệu tham khảo [126]. Công thức cấu tạo của **ML3** được biểu diễn trên hình 4.9.

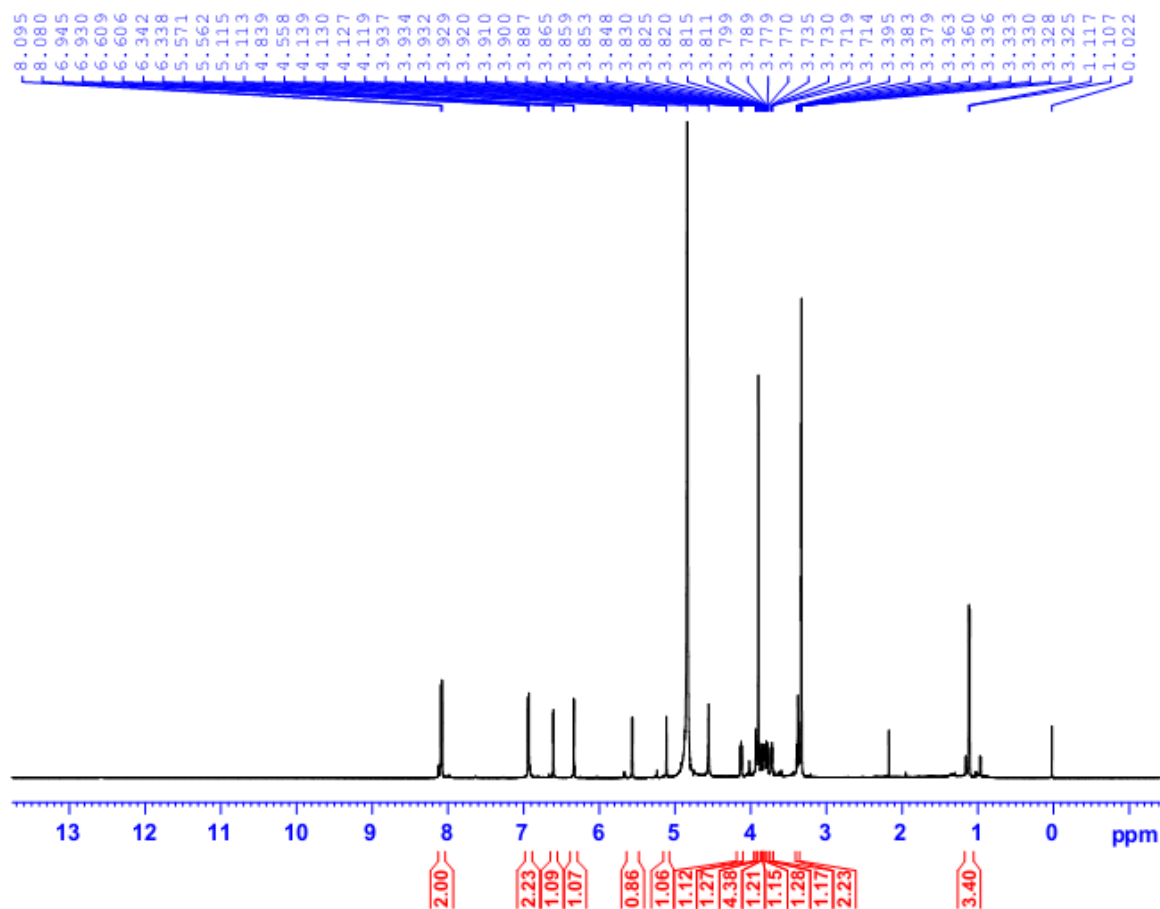


Hình 4.9. Công thức cấu tạo và các tương tác HMBC chính của hợp chất **ML3**

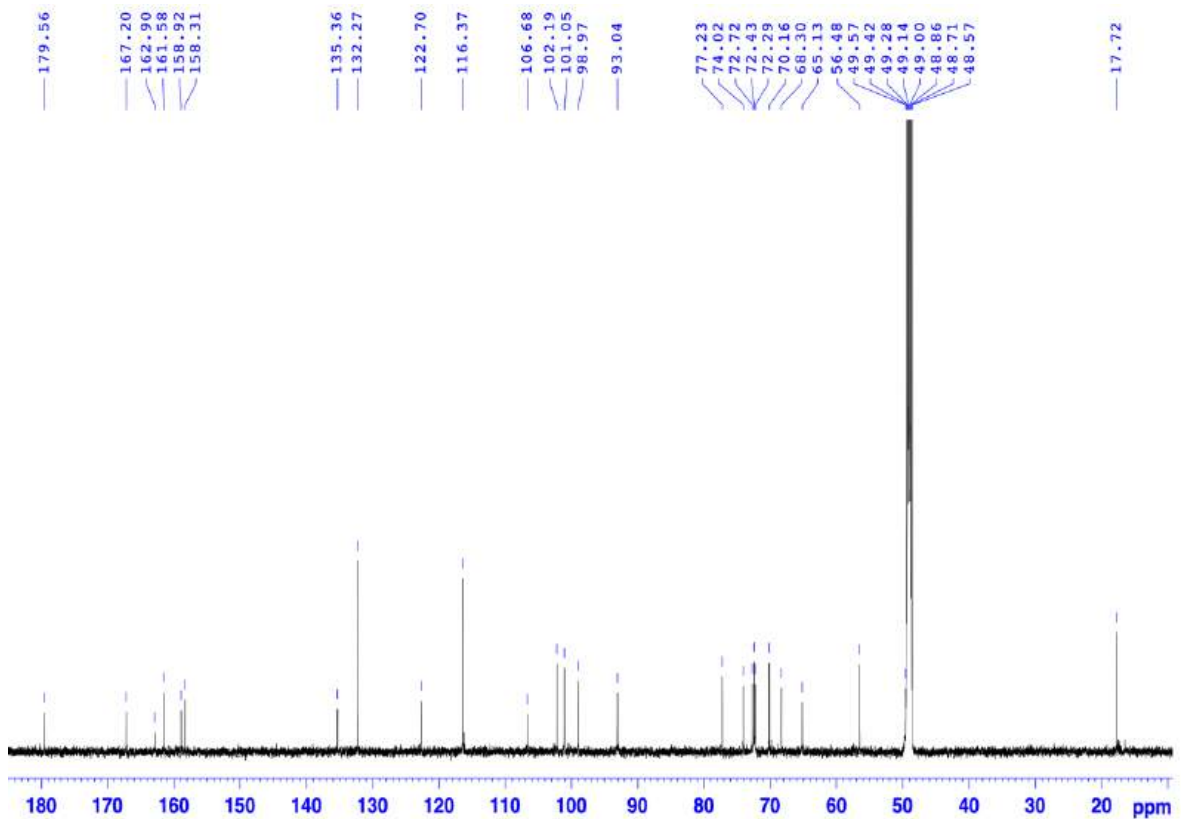
4.1.4. Hợp chất **ML4**: *curcucomoside D*

Hợp chất **ML4** được phân lập dưới dạng bột màu vàng.

Tương tự **ML2**, phổ ^1H NMR (hình 4.10) của **ML4** xuất hiện những tín hiệu của khung aglycone rhamnocitrin [δ_{H} 8,09 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', 6') và 6,94 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', 5'), 6,61 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-8), 6,34 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-6), 3,90 (3H, s, 7-OMe)]. Phổ ^1H NMR cũng xác nhận tín hiệu của hai proton anomer của hai gốc đường tại δ_{H} 5,57 (d, $J = 5,4$ Hz, H-1'') và 5,11 (d, $J = 1,6$ Hz, H-1'''). Tín hiệu doublet của một nhóm methyl tại δ_{H} 1,11 dự đoán một gốc đường rhamnose trong phân tử.



Hình 4.10. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất **ML4**



Hình 4.11. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất **ML4**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.11), DEPT (hình PL61) của **ML4** ghi nhận sự hiện diện của 27 carbon bao gồm 16 carbon của khung aglycone và 11 carbon của phần glycoside. Độ dời hóa học của các proton của 2 gốc đường được xác định qua sự phân tích phổ COSY (hình PL69), qua đó xác nhận sự hiện diện của một gốc đường α -rhamnose và một gốc đường α -arabinose.

Phổ HMBC (hình PL 65) ghi nhận tương tác giữa proton H-1'' với carbon C-2'' (δ_{C} 72,23) cho thấy gốc đường α -L-rhamnose gắn với vị trí C-2'' của gốc đường α -arabinose. Phổ HMBC cũng xác nhận phần đường được gắn với nguyên tử oxygen của khung aglycone thông qua tương tác giữa proton anomer H-1'' với C-3 (δ_{C} 135,36).

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL70) cho tín hiệu tại m/z 579,17 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 432,82 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 301,19 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}-\text{Ara}]^+$; ở chế độ negative (hình PL71) cho tín hiệu tại m/z 557,11 $[\text{M}-\text{H}]^-$ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **ML4** là $M = 578$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$.

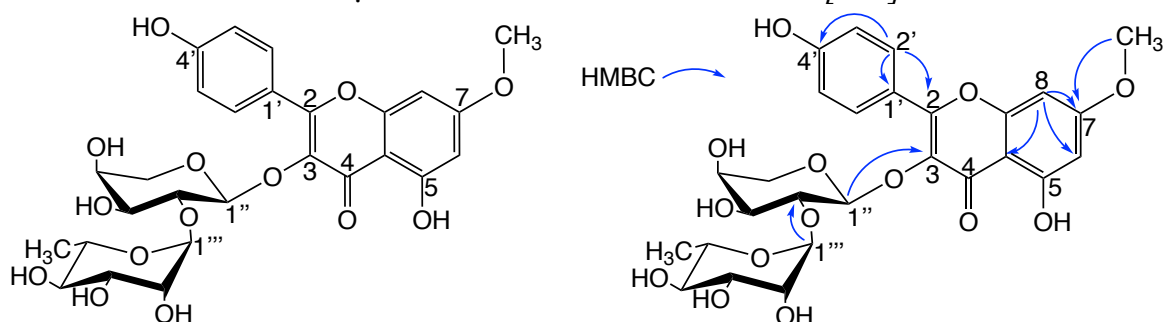
Hợp chất **ML4** được xác định là rhamnocitrin 3- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- O - α -L-arabinopyranoside hay curcucomoside D [127]. Công thức cấu tạo của **ML4** được biểu diễn trên hình 4.12, số liệu phổ được tổng hợp trên bảng 4.4.

Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất ML4

Vị trí	$^*\delta_C^{a,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,c}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ dạng pic (J, Hz)	$^*\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	158,9	158,92	C				
3	135,3	135,36	C				
4	179,5	179,56	C				
5	158,3	158,31	C				
6	93,0	93,04	CH	6,61 d (2,2)	6,59 br s	4,7,8,9,10	8
7	167,2	167,20	C				
8	98,9	98,97	CH	6,34 d (2,2)	6,32 br s	5,6,7,10	6
9	162,9	162,90	C				
10	106,6	106,68	C				
1'	122,6	122,70	C				
2'	132,2	132,27	CH	8,09 d (9,0)	8,06 d (8,7)	2,4',6'	3'
3'	116,3	116,37	CH	6,94 d (9,0)	6,90 d (8,7)	1',4',5'	2'
4'	161,6	161,58	C				
5'	116,3	116,37	CH	6,94 d (9,0)	6,90 d (8,7)	1',3',4'	6'
6'	132,2	132,27	CH	8,09 d (9,0)	8,06 d (8,7)	2,2',4'	5'
1''	101,0*	101,05	CH	5,57 d (5,4)	5,53 d (5,0)	3,2'',3'',5''	2''
2''	77,2	77,23	CH	4,13 dd (7,2, 5,4)	4,09 dd (6,2, 5,0)	1''',3'',4''	1'', 3''
3''	72,7	72,72	CH	3,86 dd (7,2, 3,6)	3,81	1'',2''	2'',4''
4''	68,3	68,30	CH	3,82 dd (6,0, 3,0)	3,74	3''	3'',5''
5''	65,1	65,13	CH ₂	3,37 dd (12,0, 2,4) 3,78 dd (12,0, 6,0)	3,32, 3,77	1'',4''	4''
1'''	102,2*	102,19	CH	5,11 d (1,6)	5,08 br s	2'',2''',5'''	2'''
2'''	72,2	72,29	CH	3,93 dd (3,0, 1,6)	3,89	4''',5'''	1''',3'''
3'''	72,4	72,43	CH	3,72 dd (9,6, 3,0)	3,69 dd (9,3, 3,2)	2'''	2''',4'''
4'''	74,0	74,02	CH	3,39 m	3,35 t (9,3)	2''',5''',6'''	3''',5'''
5'''	70,1	70,16	CH	3,91 m	3,86		4''', 6'''
6'''	17,7	17,72	CH ₃	1,11 d (6,0)	1,07 d (6,1)	4''',5'''	5'''
7-OMe	56,4	56,48	CH ₃	3,90 s	3,87 s	7	

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d400 MHz, ^e100MHz,

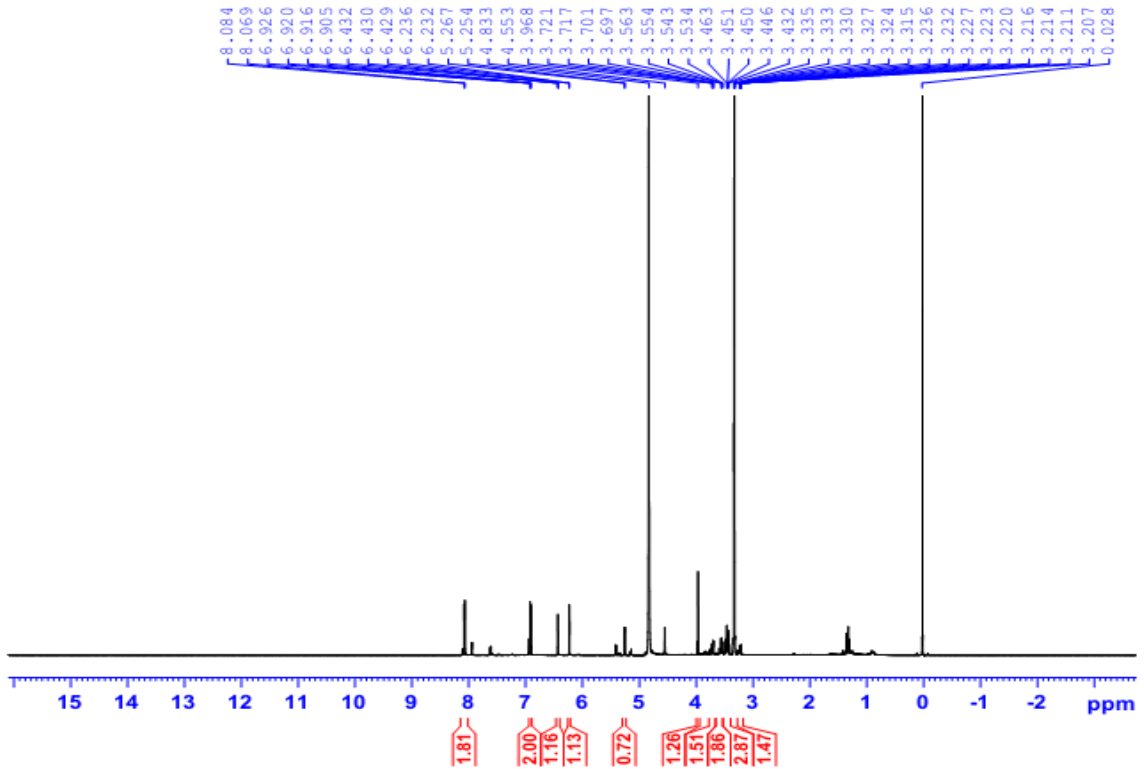
*Giá trị ¹³C và ¹H của curcucomoside D [127].



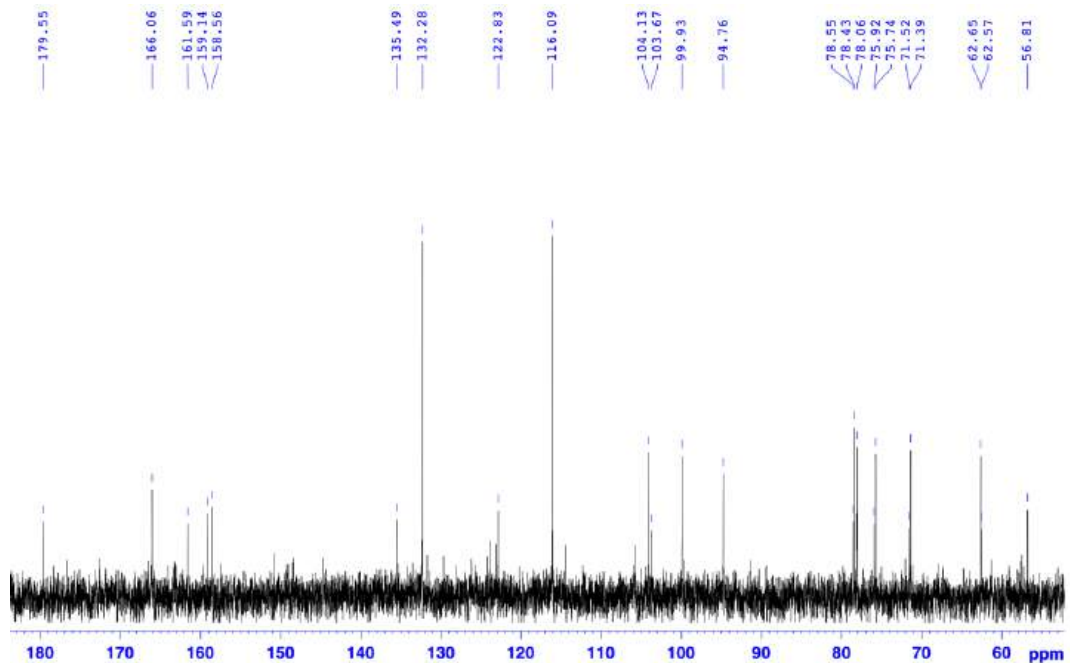
Hình 4.12. Công thức cấu tạo của hợp chất ML4

4.1.5. Hợp chất ML5: astragalin

Hợp chất **ML5** phân lập được ở dạng bột màu vàng tươi.



Hình 4.13. Phổ ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) của hợp chất **ML5**



Hình 4.14. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz) của hợp chất **ML5**

Phổ ^1H NMR (hình 4.13) của **ML5** xuất hiện các tín hiệu của khung aglycone kaempferol [δ_{H} 8,08 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,91 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), 6,43 (d, $J = 2,2$ Hz, H-8) và 6,23 (d, $J = 2,2$ Hz, H-6). Ngoài ra, tín hiệu của proton anomer của gốc đường mang cấu hình β được ghi nhận tại δ_{H} 5,26 (d, $J = 7,8$ Hz, H-

1''). Vùng tín hiệu từ δ_H 3,71 - 3,22 ppm ghi nhận tín hiệu các proton của các nhóm methine của gốc đường.

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.14) kết hợp với phổ DEPT (hình PL75) cho thấy tín hiệu của 21 carbon bao gồm 15 carbon của khung aglycone và 6 carbon của 1 đơn vị đường ở các vị trí δ_C 104,13 (C-1''), 75,74 (C-2''), 78,06 (C-3''), 71,39 (C-4''), 78,43 (C-5'') và 62,65 (C-6''). Trên phổ HMBC (hình PL78) xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton anomer H-1'' (δ_H 5,26) tương tác với vị trí C-3 (δ_C 135,49) của aglycone, do đó gốc đường gắn vào vị trí carbon C-3.

Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML5**

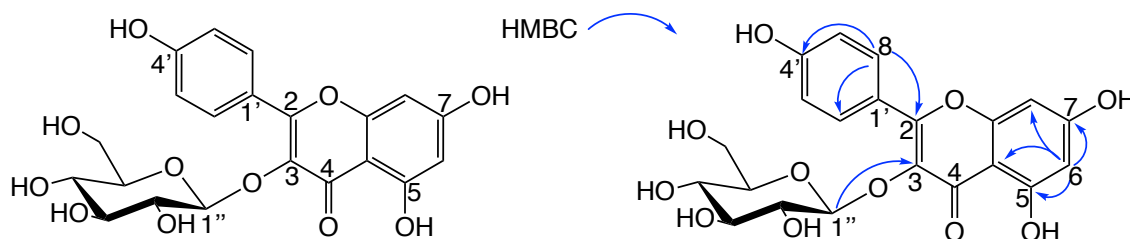
Vị trí	* $\delta_C^{a,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,c}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	158,2	158,56	C				
3	135,3	135,49	C				
4	179,1	179,55	C				
5	162,7	163,15	C				
6	99,4	99,93	CH	6,23 d (2,2)	6,17 d (1,8)	5,7,8,10	8
7	165,2	166,06	C				
8	94,1	94,76	CH	6,43 d (2,2)	6,36 d (1,8)	4,6,7,9,10	6
9	158,0	159,14	C				
10	105,6	105,65	C				
1'	122,6	122,83	C				
2'	132,2	132,28	CH	8,08 d (9,0)	8,03 d (8,3)	2,3',4', 5',6'	3'
3'	115,9	116,09	CH	6,91 d (9,0)	6,87 d (8,3)	1',5'	2'
4'	161,0	161,59	C				
5'	115,9	116,09	CH	6,91 d (9,0)	6,87 d (8,3)	1',3'	6'
6'	132,2	132,28	CH	8,08 d (9,0)	8,03 d (8,3)	2',3',4'	5'
1''	104,0	104,13	CH	5,26 d (7,8)	5,24 d (7,6)	3,3''	2''
2''	75,6	75,74	CH	3,46 dd (11,4, 7,8)	3,22–3,48 m	4'',5''	1''
3''	78,5	78,06	CH	3,45 m	3,22–3,48 m	2''	4''
4''	71,2	71,39	CH	3,32 m	3,22–3,48 m	3'',5'',6''	3'',5''
5''	77,3	78,43	CH	3,22 ddd (9,6, 5,4, 2,4)	3,22–3,48 m	4''	4'',6''
6''	62,4	62,65	CH ₂	3,71 dd (12,0, 2,4) 3,55 dd (12,0, 5,4)	3,68 dd (12,1, 2,4) 3,50 dd (12,1, 5,5)	3'',4'',5''	5''

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d400MHz, ^e100MHz,

*Giá trị ^{13}C và 1H của astragalin [128].

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL83) cho tín hiệu tại m/z 449,09 $[M+H]^+$, 287,05 $[(M+H)-Glc]^+$; ở chế độ negative (hình PL84) cho tín hiệu tại m/z 447,04 $[M-H]^-$ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **ML5** là $M = 448$ phù hợp với công thức phân tử là C₂₁H₂₀O₁₁.

Như vậy, hợp chất **ML5** được xác định là kaempferol 3-*O*-glucopyranoside hay astragalin sau khi tổng hợp dữ liệu phổ (bảng 4.5) và đối chiếu với tài liệu tham khảo [128]. Công thức cấu tạo của **ML5** được biểu diễn trên hình 4.15.

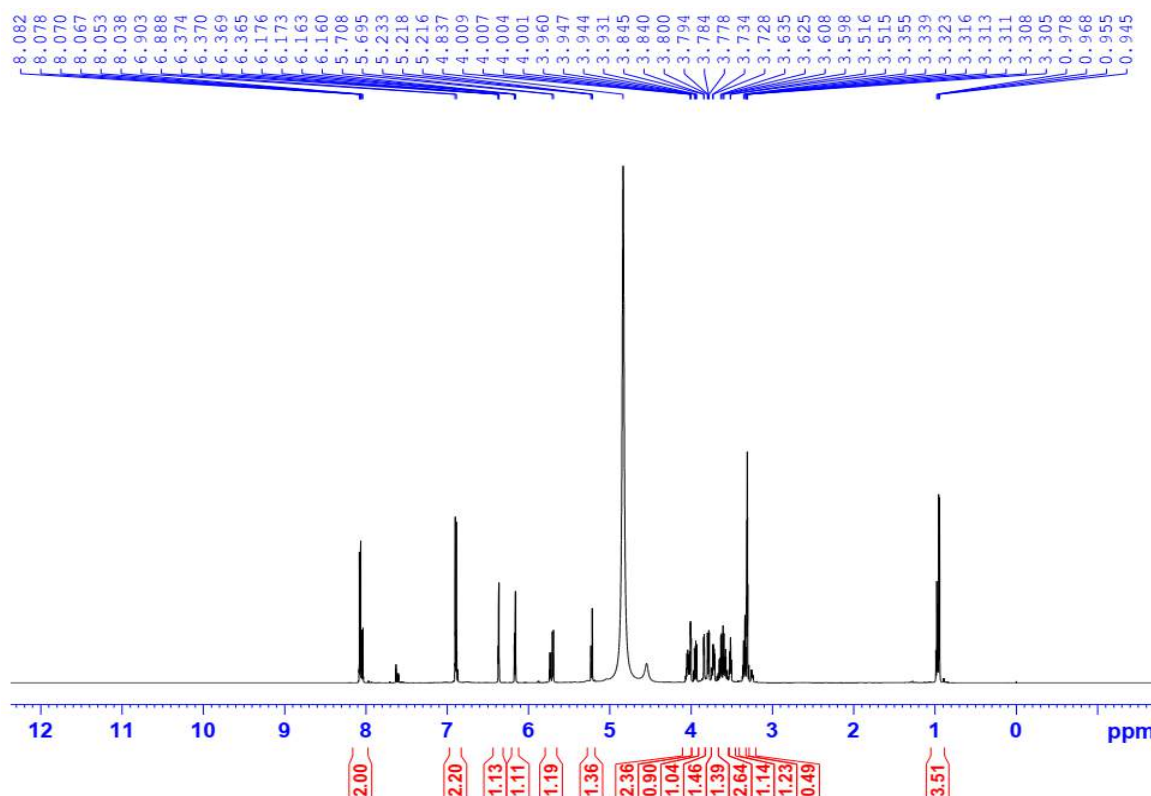


Hình 4.15. Công thức cấu tạo của hợp chất **ML5**

4.1.6. Hỗn hợp chất **ML6**: kaempferol 3-neohesperidoside và kaempferol 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-galactopyranoside

Hỗn hợp chất **ML6** phân lập được dưới dạng bột màu vàng tươi.

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.16) của **ML6** ghi nhận những tín hiệu của 2 khung aglycone kaempferol, $[\delta_{\text{H}} 8,05$ (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2', H-6'), 6,90 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3', H-5'), 6,17 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6), 6,37 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8)] và $[\delta_{\text{H}} 8,07$ (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,90 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), 6,16 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6), 6,37 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8)]. Bên cạnh đó, tín hiệu của các proton anomer của gốc đường được ghi nhận tại $\delta_{\text{H}} 5,73$ (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 5,70 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-1'') và 5,23 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-1''').

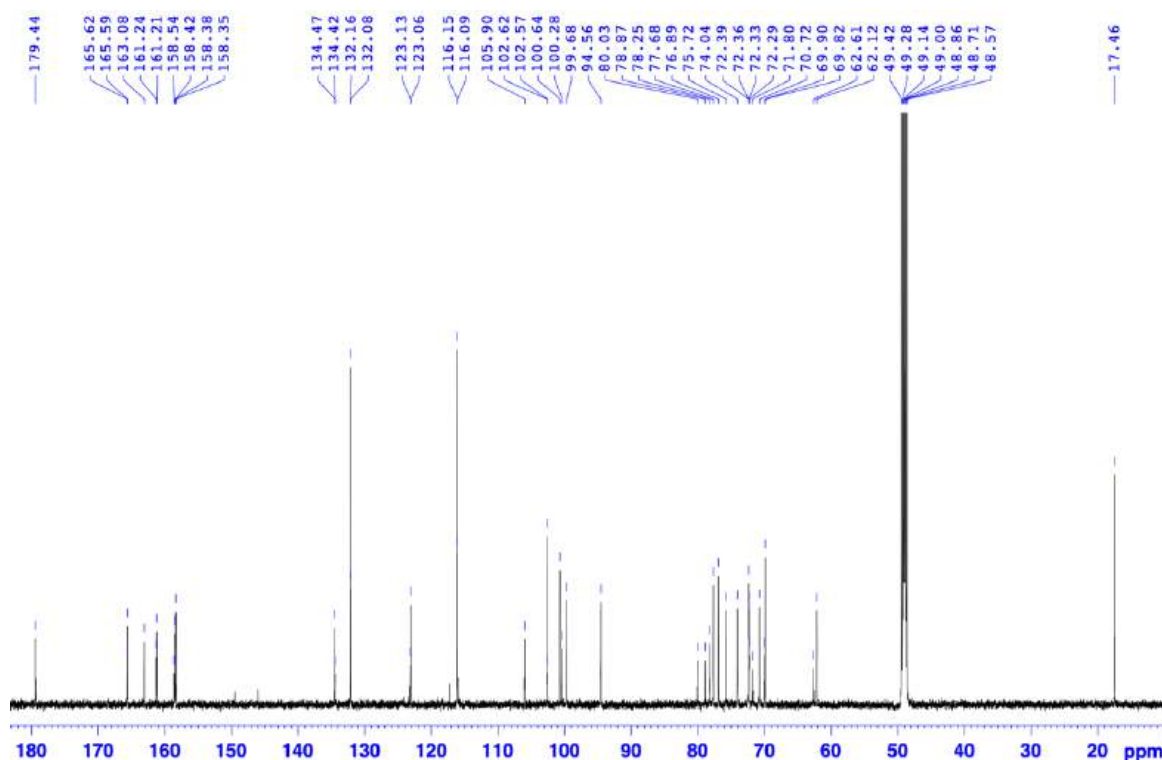


Hình 4.16. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của **ML6**

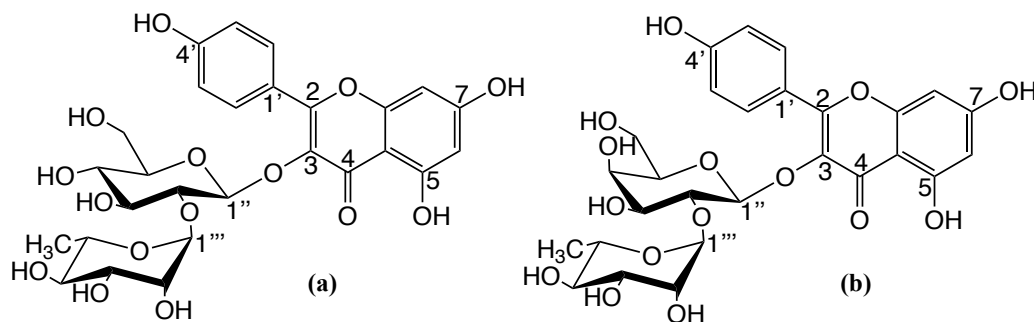
Trên phổ ^{13}C NMR (hình 4.17) của **ML6** xuất hiện những cặp tín hiệu của hai khung aglycone kaempferol và các carbon anomer. Những tín hiệu này dự đoán đây là một hỗn hợp của hai flavonoid glycoside, hai hợp chất này có cấu trúc tương tự nhau và chỉ khác biệt ở phần gốc đường trong phân tử.

Kết hợp với phổ HMBC (hình PL95) ta xác định được hai gốc glycoside gắn vào hai vị trí C-3 tại δ_{H} 134,42 và 134,47 thông qua cầu nối oxygen lần lượt là α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside và α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside.

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL103) cho các tín hiệu tại m/z 595,16 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 449,10 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 287,03 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$; ở chế độ negative (hình PL104) cho tín hiệu tại m/z 593,03 $[\text{M}-\text{H}]^-$ do vậy khối lượng phân tử của **ML6** là $M = 594$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$.



Hình 4.17. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của **ML6**



Hình 4.18. Công thức cấu tạo của **ML6a** và **ML6b**

Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của **ML6a**

Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	161,29	161,24	C				
3	134,44	134,42	C				
4	179,39	179,44	C				
5	163,20	163,08	C				
6	99,69	99,68	CH	6,17 d (2,1)	6,15 brs	5,8,10	8
7	165,62	165,62	C				
8	94,56	94,56	CH	6,37 d (2,1)	6,35 brs	6,7,9,10	6
9	158,43	158,42	C				
10	105,99	105,90	C				
1'	123,14	123,13	C				
2'	132,09	132,08	CH	8,05 d (8,8)	8,02 d (8,4)	2,6'	
3'	116,09	116,15	CH	6,90 d (8,8)	6,87 d (8,4)	2,1',5'	
4'	158,52	158,38	C				
5'	116,09	116,15	CH	6,90 d (8,8)	6,87 d (8,4)	2,1',3'	
6'	132,09	132,08	CH	8,05 d (8,8)	8,02 d (8,4)	2,2'	
1''	100,30	100,28	CH	5,73 d (7,5)	5,72 d (7,6)	3	2''
2''	80,06	80,03	CH	3,63 dd (9,0, 7,8)	3,60 dd (9,0, 7,6)	1'',3''	1''
3''	78,94	78,87	CH	3,58 m	3,53 t (9,0)	5''	4''
4''	71,85	71,80	CH	3,31 m	3,27 t (9,0)		3''
5''	78,35	78,25	CH	3,26 ddd (9,0, 6,2, 2,4)	3,22 m		
6''	62,66	62,61	CH	3,64 dd (11,6, 6,0) 3,59 dd (11,6, 1,5)	3,48 dd (12,0, 5,0) 3,71 dd (12,0, 1,5)	3'',4''	
1'''	102,60	102,62	CH	5,23 d (1,8)	5,22 d (1,6)	2'',3''',5'''	2'''
2'''	72,41	72,36	CH	4,01 dd (3,4, 1,8)	3,98 dd (3,0, 1,6)	3''',4'''	1''',3'''
3'''	72,31	72,29	CH	3,79 dd (9,6, 3,4)	3,75 dd (9,0, 3,0)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	74,06	74,04	CH	3,35 dt (9,6, 5,5)	3,31 t (9,0)	3''',5'''	3''',5'''
5'''	69,91	69,90	CH	4,04 dd (9,9, 6,3)	4,00 m	2''',4'''	4''',6'''
6'''	17,53	17,46	CH ₃	0,97 d (6,3)	0,93 d (6,0)	4''',5'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d100 MHz, ^e400 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của kaempferol 3-neohesperidoside [129].

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR, hai hợp chất trong hỗn hợp **ML6** được xác định là kaempferol 3-neohesperidoside (**ML6a**) [129] và kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside (**ML6b**) [130] khi so sánh với tài liệu tham khảo. Các giá trị về độ dời hóa học của hai hợp chất này được trình bày trong bảng 4.6 và bảng 4.7, công thức cấu tạo được thể hiện trên hình 4.18.

Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của **ML6b**

Vị trí	* $\delta_C^{d,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{d,f}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	158,4	158,35	C				
3	134,4	134,47	C				
4	179,5	179,44	C				
5	163,2	163,08	C				
6	99,8	99,68	CH	6,16 d (2,1)	6,15 s	5,8,10	8
7	166,0	165,59	C				
8	94,6	94,56	CH	6,37 d (2,1)	6,34 s	6,7,9,10	6
9	158,3	158,54	C				
10	105,8	105,90	C				
1'	123,0	123,06	C				
2'	132,2	132,16	CH	8,07 d (9,0)	8,05 d (7,8)	2,6'	3'
3'	116,2	116,15	CH	6,90 d (9,0)	6,87 d (7,8)	2,1',5'	2'
4'	161,2	161,21	C				
5'	116,2	116,15	CH	6,90 d (9,0)	6,87 d (7,8)	2,1',3'	6'
6'	132,2	132,16	CH	8,07 d (9,0)	8,05 d (7,8)	2,2'	5'
1''	100,6	100,64	CH	5,70 d (7,7)	5,68 d (7,8)	3	2''
2''	77,7	77,68	CH	3,95 dd (9,6, 7,7)	3,92 dd (9,0, 7,8)	1'',4'',5'',1''	1'',3''
3''	75,8	75,72	CH	3,73 dd (9,6, 3,5)	3,46 m	2'',4''	2'',3''
4''	70,8	70,72	CH	3,84 brd (3,5)	3,80 brd (3,0)	2'',5''	4''
5''	77,0	76,89	CH	3,52 m	3,68 dd (9,0, 3,0)	1'',4'',6''	
6''	62,2	62,12	CH ₂	3,64 dd (11,6, 6,0) 3,59 dd (11,6, 6,0)	3,48 dd (11,4, 2,4) 3,59 dd (11,4, 5,4)	3'',4''	
1'''	102,6	102,57	CH	5,23 d (1,8)	5,19 d (1,2)	2'',3''',5'''	
2'''	72,3	72,39	CH	4,01 dd (3,4, 1,8)	3,97 dd (3,0, 1,2)	3''',4'''	
3'''	72,4	72,33	CH	3,79 dd (9,8, 3,4)	3,75 dd (9,0, 3,0)	4''',5'''	
4'''	74,0	74,04	CH	3,35 dt (9,8, 5,5)	3,31 t (9,0)	3''',5'''	5'''
5'''	69,8	69,82	CH	4,05 dd (9,8, 6,2)	4,00 m	2''',4'''	4''',6'''
6'''	17,5	17,46	CH ₃	0,95 d (6,2)	0,91 d (6,6)	4''',5'''	5'''

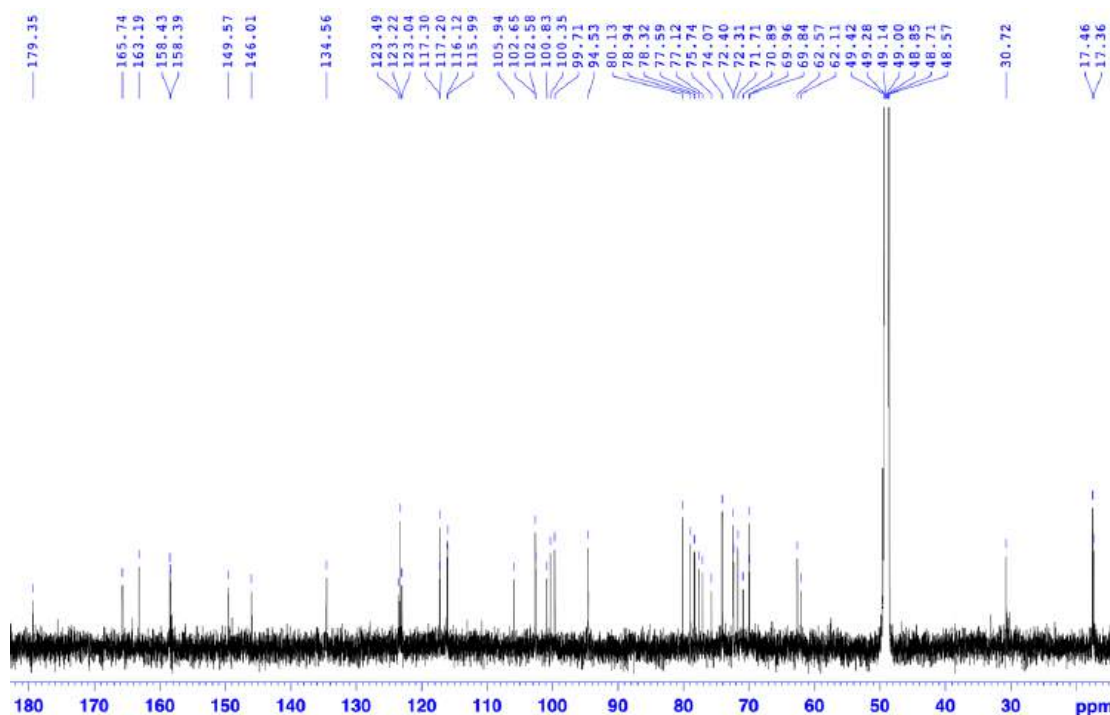
^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600MHz, ^dDMSO-d₆, ^e75,5 MHz, ^f300 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside [130].

4.1.7. Hỗn hợp chất **ML7**: quercetin 3-neohesperidoside và quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside

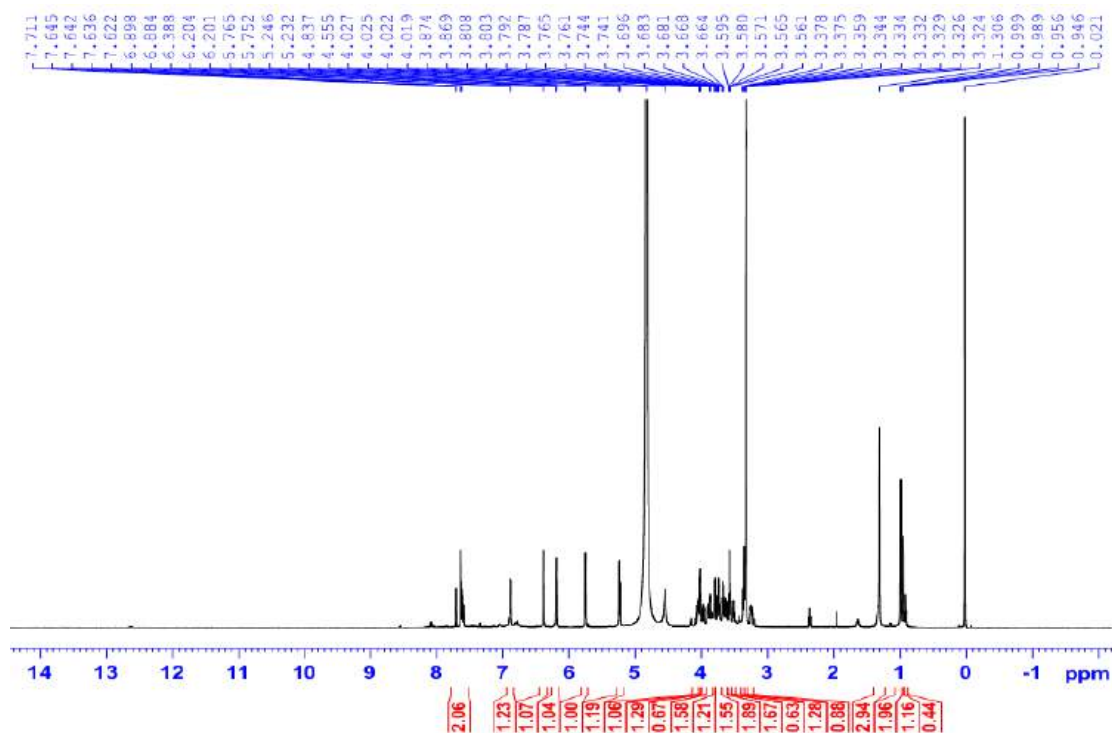
Hỗn hợp **ML7** phân lập được ở dạng bột màu vàng sẫm.

Trên phổ ¹³C NMR (hình 4.19) của **ML7** xuất hiện những cặp tín hiệu của hai khung aglycone quercetin và hai cặp carbon anomer. Những tín hiệu này dự đoán đây

là một hỗn hợp của hai flavonoid glycoside, hai hợp chất này có cấu trúc tương tự nhau và chỉ khác biệt ở phần gốc đường trong phân tử.



Hình 4.19. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của ML7



Hình 4.20. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của ML7

Dựa trên những dự đoán trên phổ ^{13}C NMR kết hợp phân tích phổ ^1H NMR (hình 4.20) của ML7, ta phân tích được vòng thơm dạng ABX của hai vòng thơm B thuộc khung aglycone quercetin [δ_{H} 7,63 (1H, dd, $J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,60 (1H, dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz, H-6') và 6,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5')] của ML7a và [δ_{H} 7,71 (1H, d,

$J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,60 (1H, dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz, H-6') và 6,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5')] của **ML7b**. Bên cạnh đó, xuất hiện tín hiệu của 2 proton có tương tác *meta* của vòng thơm A [$\delta_{\text{H}} 6,20$ (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6) và $\delta_{\text{H}} 6,39$ (1H, brs, H-8)]. Ngoài ra, tín hiệu của các proton anomer gốc đường xuất hiện tại [$\delta_{\text{H}} 5,76$ (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'') và $\delta_{\text{H}} 5,24$ (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-1''')].

Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của **ML7a**

Vị trí	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,e}}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	158,44	158,43	C				
3	134,57	134,56	C				
4	179,35	179,35	C				
5	163,18	163,19	C				
6	99,66	99,71	CH	6,20 d (1,8)	6,17 d (2,1)	8,10	8
7	165,60	165,74	C				
8	94,49	94,53	CH	6,39 brs	6,36 d (2,1)	6,7,10	6
9	158,38	158,39	C				
10	105,98	105,94	C				
1'	123,22	123,25	C				
2'	117,21	117,20	CH	7,63 d (2,4)	7,61 d (2,2)	4',6'	
3'	146,00	146,01	C				
4'	149,54	149,57	C				
5'	115,98	115,19	CH	6,89 d (8,4)	6,86 d (8,3)	1',3',4'	6'
6'	123,48	123,49	CH	7,60 dd (8,4, 2,4)	7,60 dd (8,3, 2,2)	2',3',4'	5'
1''	100,35	100,35	CH	5,76 d (7,8)	5,73 d (7,6)	3,3''	2''
2''	80,13	80,13	CH	3,68 d (7,8)	3,65 dd (9,4, 7,6)	1'',3'',1'''	1'',2''
3''	78,94	78,94	CH	3,57 m	3,55 t (9,4)	2'',4''	3''
4''	71,72	71,71	CH	3,38 m	3,33 t (9,4)	6''	5''
5''	78,32	78,32	CH	3,25 ddd (9,6, 5,4, 2,4)	3,22 ddd (9,4, 5,6, 2,3)		4'',6''
6''	62,57	62,57	CH ₂	3,76 dd (9,6, 2,4) 3,55 dd (9,6, 5,4)	3,72 dd (12,1, 2,3) 3,54 dd (12,1, 5,6)	4''	5''
1'''	102,64	102,65	CH	5,24 d (1,5)	5,22 d (1,5)	2'',2''',3'''	
2'''	72,41	72,40	CH	4,02 dd (3,0, 1,5)	3,99 dd (3,4, 1,5)	3'''	3'''
3'''	72,31	72,31	CH	3,80 dd (9,6, 3,0)	3,77 dd (9,6, 3,4)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	74,06	74,07	CH	3,34 m	3,33 t (9,6)		3''',5'''
5'''	69,96	69,96	CH	4,05 dq (9,6, 6,0)	4,03 dq (9,6, 5,6)		4''',6'''
6'''	17,46	17,46	CH ₃	0,95 d (6,0)	0,97 d (5,9)	4''',5'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d100 MHz, ^e400 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của quercetin 3-neohesperidoside [129].

Phổ khối ESI-MS (hình PL123) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 611,15 [M+H]⁺, 464,98 [(M+H)-Rha]⁺; ở chế độ negative (hình PL124) cho tín hiệu tại m/z

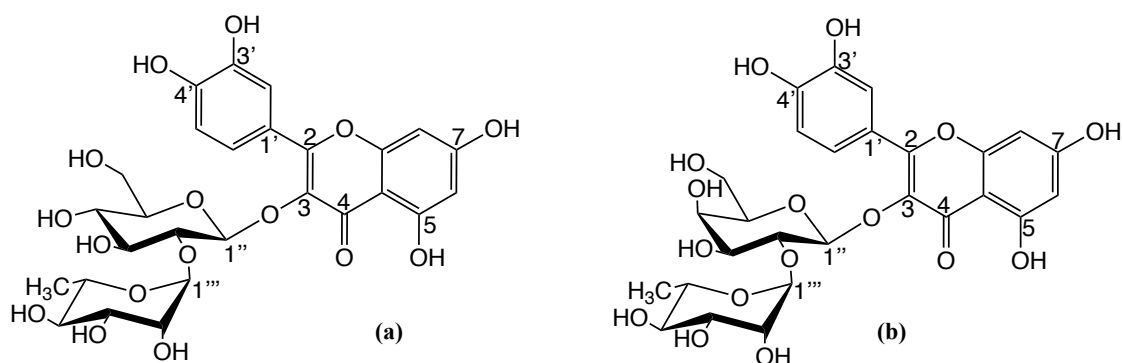
609,02 [M-H]⁻ vì thế khối lượng phân tử của hợp chất **ML7** là M = 610 phù hợp với công thức phân tử là C₂₇H₃₀O₁₆.

Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của **ML7b**

Vị trí	* $\delta_C^{d,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{d,f}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	156,3	158,43	C				
3	132,6	134,56	C				
4	177,0	179,35	C				
5	161,1	163,19	C				
6	99,1	99,71	CH	6,20 d (1,8)	6,15 brs	8,10	8
7	165,9	165,74	C				
8	93,6	94,53	CH	6,39 brs	6,37 brs	6,7,10	6
9	155,6	158,39	C				
10	103,2	105,94	C				
1'	120,8	123,25	C				
2'	115,4	117,3	CH	7,71 d (2,4)	7,51 d (1,5)	4',6'	
3'	145,2	146,01	C				
4'	148,9	149,57	C				
5'	115,7	116,12	CH	6,89 d (8,4)	6,59 d (8,7)	1',3',4'	
6'	121,8	123,49	CH	7,60 dd (8,4, 2,4)	7,65 dd (8,7, 1,5)	2',3',4'	
1''	98,8	100,83	CH	5,76 d (7,8)	5,61 d (7,5)	3,3''	
2''	75,2	77,59	CH	3,98 dd (9,6, 7,8)		1'',3'',1'''	3''
3''	74,2	75,74	CH	3,74 m			2'',4''
4''	68,1	70,89	CH	3,87 m		2'',3''	3''
5''	75,8	77,12	CH	3,51 t (6,0)		4'',6''	
6''	60,0	62,11	CH ₂	3,66 dd (12,0, 5,4) 3,63 dd (12,0, 5,4)		4'',5''	
1'''	100,4	102,58	CH	5,24 d (1,5)	5,05 brs	2'',2''',3'''	2'''
2'''	70,6	72,40	CH	4,02 dd (3,0, 1,5)		3'''	1''',3'''
3'''	70,6	72,31	CH	3,80 dd (9,6, 3,0)		4''',5'''	2''',4'''
4'''	71,9	74,07	CH	3,34 m			3''',5'''
5'''	68,4	69,84	CH	4,05 dt (9,6, 3,0)			4''',6'''
6'''	17,2	17,36	CH ₃	0,95 d (6,0)	0,77 d (6,5)	4''',5'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600MHz, ^dDMSO-d₆, ^e75,5 MHz, ^f300 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside [131].

Phân tích chi tiết các phổ NMR, hai hợp chất trong hỗn hợp **ML7** được xác định là quercetin 3-neohesperidoside (**ML7a**) [129] và quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside (**ML7b**) [131] khi so sánh với tài liệu tham khảo. Các giá trị về độ dời hóa học của hai hợp chất này được trình bày trong bảng 4.8 và bảng 4.9, công thức cấu tạo được biểu diễn trên hình 4.21.

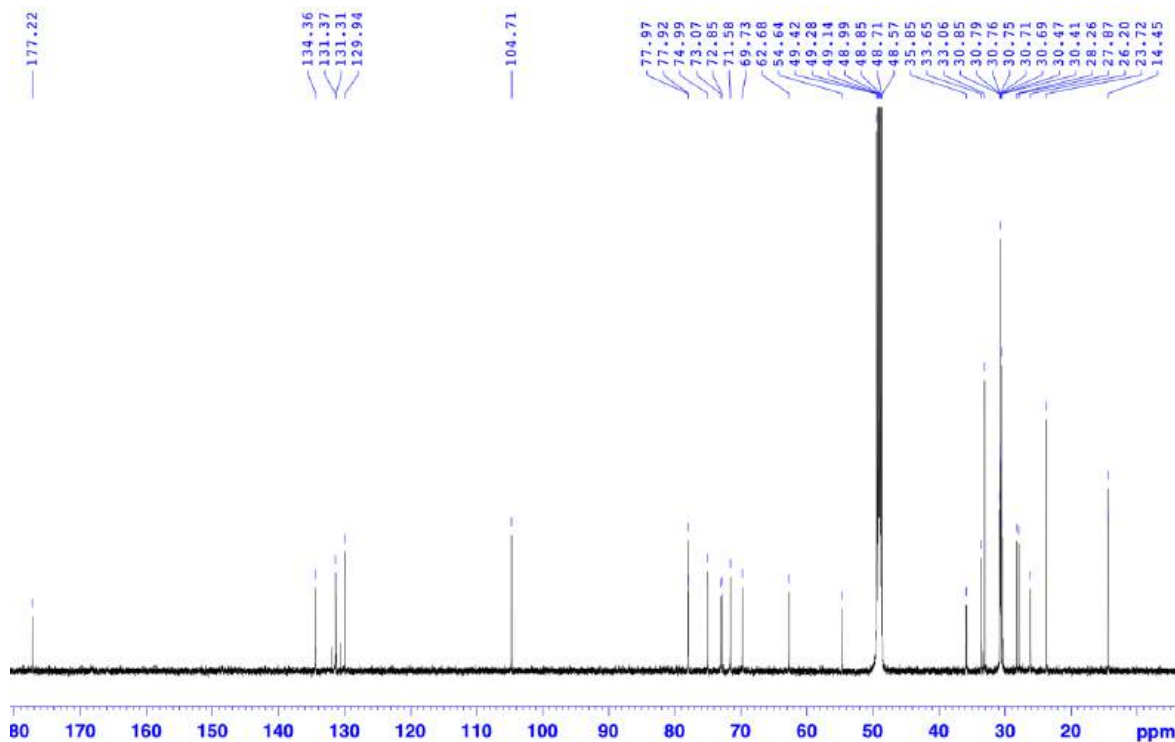


Hình 4.21. Công thức cấu tạo của **ML7a** và **ML7b**

4.1.8. Hợp chất ML8: 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S*,3R*,2'R*,4E,8Z)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol

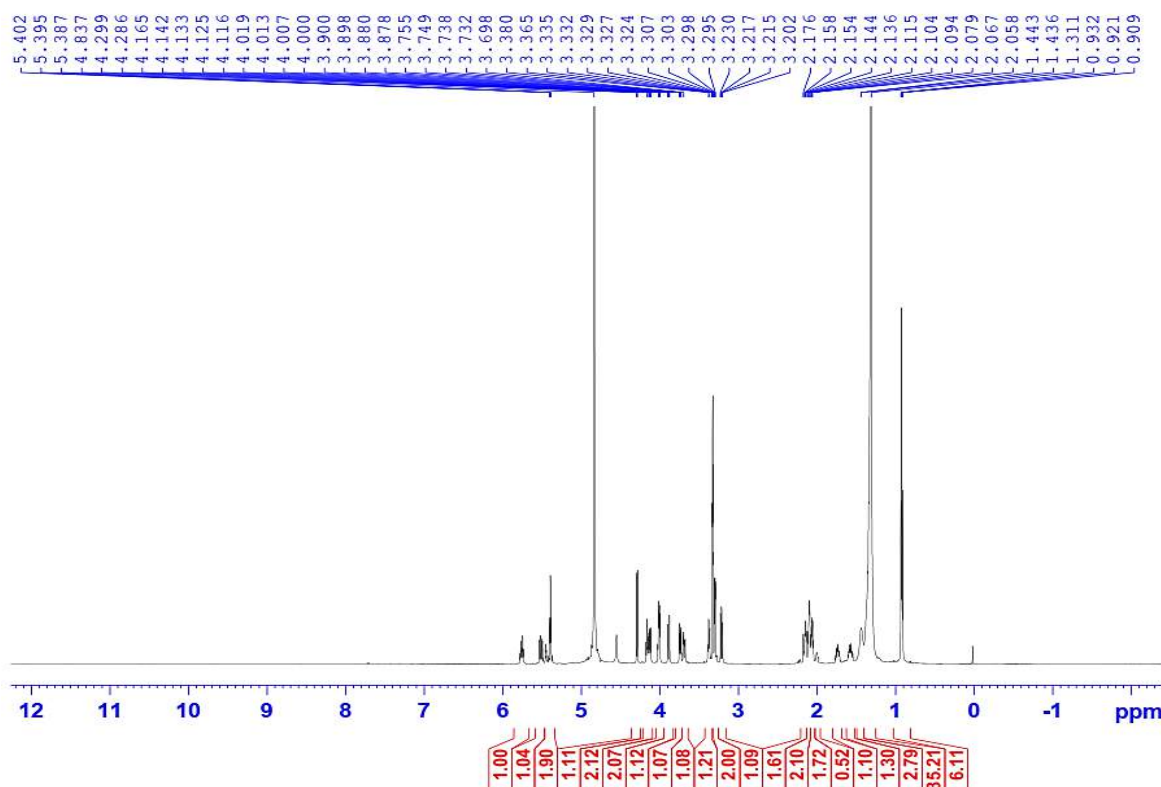
Hợp chất **ML8** phân lập được dưới dạng bột trắng vô định hình.

Phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **ML8** chỉ ra sự có mặt của một gốc đường, một nhóm amide và hai dây alkyl béo.



Hình 4.22. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **ML8**

Trên phổ ^{13}C NMR (hình 4.22) và phổ DEPT (hình PL130), ghi nhận các tín hiệu carbon tại δ_{C} 104,71, 74,99, 77,92, 71,58, 77,97 và 62,68 cho phép dự đoán một gốc đường glucopyranoside. Một tín hiệu carbon gắn với nitrogen tại δ_{C} 54,64 và một tín hiệu carbonyl amide tại δ_{C} 177,22. Bên cạnh đó, bốn carbon olefinic tại δ_{C} 131,31, 134,36, 129,94 và 131,37 xác nhận có 2 nối đôi trong phân tử, một nhóm methylene mang oxygen tại δ_{C} 69,73, hai nhóm methine mang oxygen tại δ_{C} 72,85 và 73,07. Các tín hiệu còn lại là những nhóm methylene của dây alkyl béo. Những ghi nhận này xác nhận cấu trúc của một glycosphingolipid (cerebroside).



Hình 4.23. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **ML8**

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.23), hằng số ghép đôi giữa H-1'' [δ_{H} 4,29 (d, $J = 7,8$ Hz)] và H-2'' [δ_{C} 3,22 (dd, $J = 9,0, 7,8$ Hz)] xác nhận gốc đường β -D-glucopyranoside. Bốn proton olefin tại δ_{H} 5,52 (dtd, $J = 15,3, 7,5, 1,4$ Hz, H-4), 5,76 (dtd, $J = 15,3, 6,4, 1,0$ Hz, H-5), 5,39 (t, $J = 4,5$ Hz, H-8), 5,40 (t, $J = 4,5$ Hz, H-9) xác nhận sự hiện diện của 2 cặp nối đôi trong phân tử; trong đó, với hằng số ghép đôi lớn giữa H-4 và H-5 xác nhận liên kết đôi theo kiểu *trans*, ngược lại, hằng số ghép đôi nhỏ giữa H-8 và H-9 gợi ý về liên kết đôi kiểu *cis*.

Kết hợp với phổ HSQC (hình PL132), thông qua các tương tác ghi nhận một nhóm methine mang nitrogen (δ_{H} 4,02/ δ_{C} 54,64), một nhóm methylene mang oxygen (δ_{H} 4,13 và 3,74/ δ_{C} 69,73) và hai nhóm methine mang oxygen (δ_{H} 4,17/ δ_{C} 72,85 và δ_{H} 4,01/ δ_{C} 73,07). Các nhóm methylene của hai dây béo nằm trong vùng δ_{C} 26,20-33,06.

Phổ HMBC (hình PL134) của **ML8** ghi nhận tín hiệu tương tác giữa proton tại δ_{H} 4,02 (H-2) với các carbon tại δ_{C} 69,73 (C-1), 72,85 (C-3), 131,31 (C-4) và 177,22 (C-1') và proton tại δ_{H} 4,01 tương tác với các carbon tại δ_{C} 177,22 (C-1') và 35,85 (C-3'). Trên phổ HMBC cũng cho thấy tín hiệu tương tác giữa proton anomer của gốc đường với C-1 (δ_{C} 69,73).

Phổ khối ESI-MS (hình PL141) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 742,60 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 724,60 [$(\text{M}+\text{H})-\text{H}_2\text{O}$] $^+$, 562,53 [$(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}$] $^+$, 443,37, 283,14, 237,13, 207,14, từ đó khối lượng phân tử của hợp chất **ML8** là $\text{M} = 741$ phù hợp với công

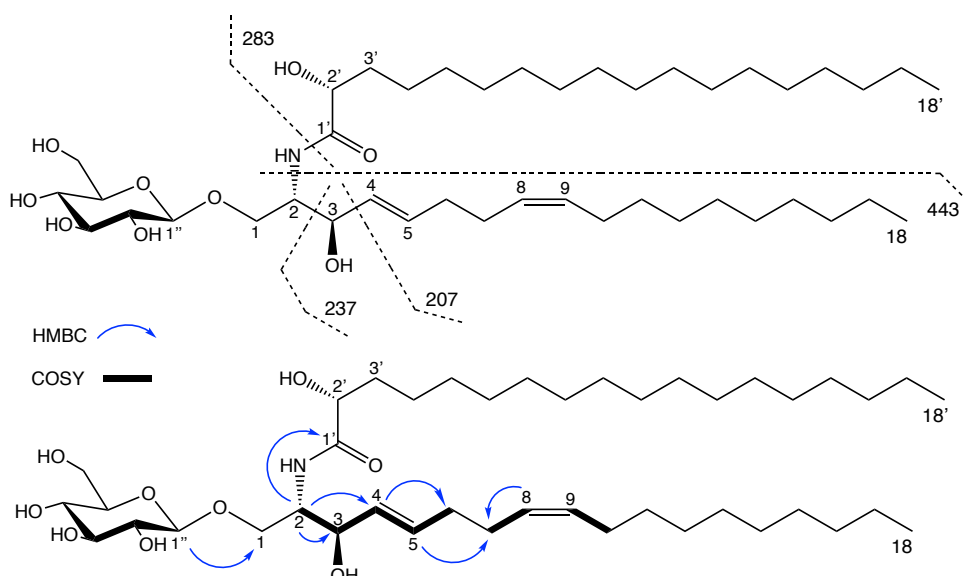
thức phân tử là $C_{42}H_{79}NO_9$. Các tín hiệu trên phổ MS giúp ta xác định được các mảnh cấu trúc của hợp chất **ML8** (hình 4.24).

Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML8**

Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	69,7	69,73	CH ₂	4,13 ddd (10,4, 5,6, 2,0) 3,74 dd (10,4, 3,7)	4,11 dd (10,1, 5,8) 3,71 dd (10,1, 3,7)	2,3,1''	1,2
2	54,6	54,64	CH	4,02 dd (7,5, 3,7)	3,99 ddd (5,8, 3,7, 1,9)	1,3,4,1'	1,3
3	72,9	72,85	CH	4,17 td (7,5, 1,0)	4,14 td (7,5, 1,9)	1,2,4,5	2,4
4	129,9	131,31	CH	5,52 ddt (15,3, 7,5, 1,4)	5,49 dd (15,1, 7,5)	3,6	3,5
5	134,3	134,36	CH	5,76 dtd (15,3, 6,4, 1,0)	5,73 dtd (15,1, 6,2, 1,5)	3,6,7	4,6
6	33,7	33,65	CH ₂	2,10 m	2,07 m	5,7,8	5
7	28,0	27,87	CH ₂	2,15 m	2,12 m	5,8	8
8	131,3	129,94	CH	5,39 t (4,5)	5,37 t (5,1)	7,10	7
9	131,3	131,37	CH	5,40 t (4,5)	5,37 t (5,1)	6,7	10
10	28,3	28,26	CH ₂	2,06 m	2,05 m	8	10
11-17	23,7 - 33,1	23,72 - 33,06	CH ₂	1,39 m – 1,30 m	1,35 m – 1,30 m		
1'	177,1	177,22	C				
2'	73,0	73,07	CH	4,01 dd (7,8, 3,9)	3,98 dd (8,0, 4,2)	1',3'	1',2'
3'	35,8	35,85	CH ₂	1,74 m/1,58 m	1,72 m/1,54 m	1',2'	
4'-17'	23,7 - 33,1	23,72 - 33,06	CH ₂	1,39 m – 1,31 m	1,40 m – 1,30 m		
18/18'	14,5	14,45/14,40	CH ₃	0,92 t (7,0)	0,90 t (7,0)	17	
1''	104,7	104,71	CH	4,29 d (7,8)	4,26 d (8,0)	1,5''	2''
2''	75,0	74,99	CH	3,22 dd (9,0, 7,8)	3,19 dd (9,0, 8,0)	1'',3'',5''	
3''	77,9	77,92	CH	3,38 t (9,0)	3,35 t (9,0)	2'',4''	2''
4''	71,5	71,58	CH	3,30 m	3,28 m	3'',5'',6''	6''
5''	77,9	77,97	CH	3,30 m	3,27 m	2'',4''	
6''	62,7	62,68	CH ₂	3,89 dd (11,9, 1,8) 3,69 dd (11,9, 5,3)	3,86 dd (12,0, 2,8) 3,67 dd (12,0, 5,8)	3'',4'',5''	4'',6''

^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d125 MHz, ^e500 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S,3R,4E,8Z)-2-[(2R)-hydroxyicosanoyl]amido]-4,8-octadecadiene-1,3-diol [132].

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR thì độ dời hóa học của **ML8** được trình bày trong bảng 4.10 và hợp chất **ML8** được xác định là 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S*,3R*,2'R*,4E,8Z)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol khi đối chiếu với tài liệu tham khảo [132].



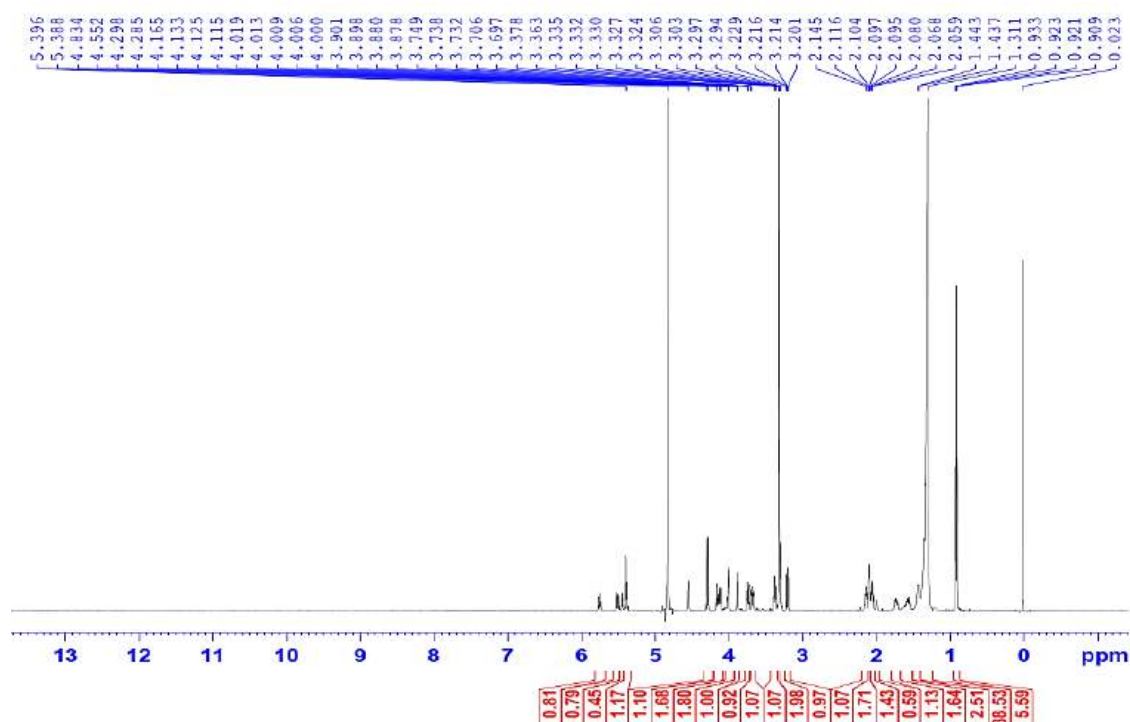
Hình 4.24. Cấu trúc hóa học, sự phân mảnh cấu trúc, các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất **ML8**

4.1.9. Hợp chất **ML9**: 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2*S**,3*R**,2'*R**,4*E*,8*Z*)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol

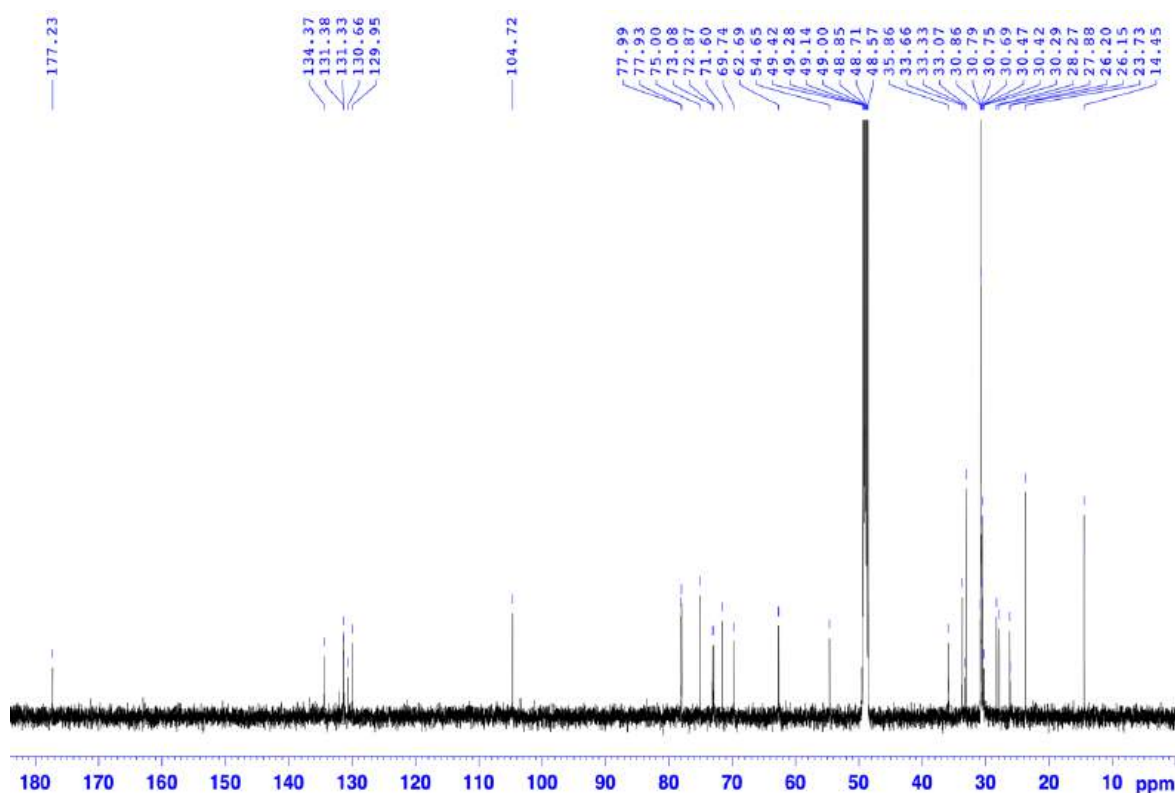
Hợp chất **ML9** phân lập được dưới dạng bột trắng vô định hình.

Phổ ^1H (hình 4.25) và ^{13}C NMR (hình 4.26) của hợp chất **ML9** chỉ ra sự hiện diện của một gốc đường, một nhóm amide và hai dây alkyl béo tương tự như hợp chất **ML8**.

Từ phổ ^1H , ^{13}C NMR và DEPT (Hình PL148) ghi nhận các tín hiệu của một gốc đường glucopyranose và 2 nối đôi trong phân tử.



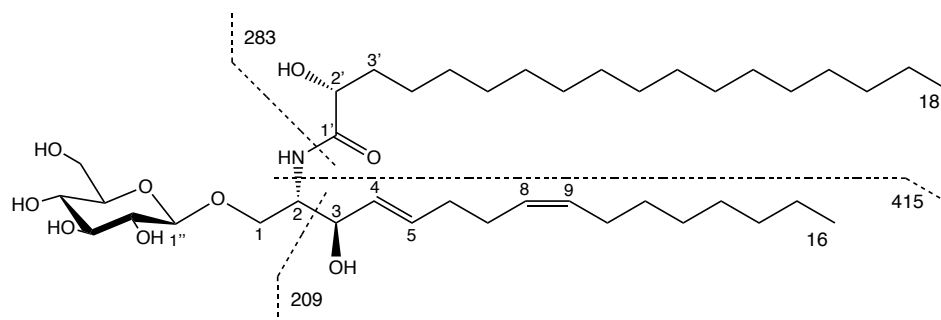
Hình 4.25. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **ML9**



Hình 4.26. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **ML9**

Bên cạnh đó, các phổ NMR còn ghi nhận sự hiện diện của 2 nhóm methine trong phân tử [δ_{C} 72,78 (C-3), 73,08 (C-2')]/ δ_{H} 4,17 (1H, td, $J = 7,5, 1,0$ Hz, H-3), 4,00 (1H, dd, $J = 7,8, 3,6$ Hz, H-2')], một nhóm methylene tại δ_{C} 69,74 (C-1)/ δ_{H} 4,13 (1H, ddd, $J = 10,4, 5,6, 2,1$ Hz, H-1_a), 3,74 (1H, dd, $J = 10,4, 3,6$ Hz, H-1_b), một nhóm amidomethine (δ_{H} 4,02/ δ_{C} 54,65) và một nhóm carbonyl tại δ_{C} 177,23 (C-1'). Các nhóm methylene của hai dây béo nằm trong vùng δ_{C} 33,07-23,73.

Phổ khối ESI-MS (hình PL150) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 714,43 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 696,56 $[(\text{M}+\text{H})-\text{H}_2\text{O}]^+$, 534,51 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}]^+$, 736,43 $[\text{M}+\text{Na}]$, 415,21, 283,01, 209,15, khối lượng phân tử của hợp chất **ML9** là $M = 713$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{40}\text{H}_{75}\text{NO}_9$. Sự phân mảnh cấu trúc của hợp chất **ML9** được trình bày trên hình 4.27.



Hình 4.27. Cấu trúc hóa học và sự phân mảnh cấu trúc của hợp chất **ML9**

Tổng hợp các phổ NMR thì độ dời hóa học của **ML9** được trình bày trong bảng 4.11 và so sánh với tài liệu tham khảo [132], hợp chất **ML9** được xác định là 1- O - β -

D-glucopyranosyl-(2*S**,3*R**,2'*R**,4*E*,8*Z*)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol.

Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML9**

Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)
1	69,7	69,74	CH ₂	4,13 ddd (10,4, 5,6, 2,1) 3,74 dd (10,4, 3,6)	4,10 dd (10,1, 5,2) 3,70 dd (10,1, 3,8)
2	54,6	54,65	CH	4,02 dd (7,5, 3,6)	3,98 ddd (5,8, 3,7, 2,0)
3	72,9	72,87	CH	4,17 td (7,5, 1,0)	4,13 td (8,3, 1,5)
4	130,7	131,33	CH	5,52 ddt (15,4, 7,5, 1,4)	5,47 dd (15,5, 7,6)
5	134,4	134,37	CH	5,76 dtd (15,4, 6,4, 1,0)	5,72 brd (15,5)
6	33,71	33,66	CH ₂	2,10 m	2,07 m
7	33,67	33,33	CH ₂	2,15 m	2,07 m
8	132,0	129,95	CH	5,39 t (4,5)	5,42 t (4,9)
9	131,2	131,38	CH	5,40 t (4,5)	5,42 t (4,9)
10	33,3	33,33	CH ₂	2,06 m	1,98 m
11-15	33,1 - 23,7	33,07 - 23,73	CH ₂	1,39 m – 1,30 m	1,30 m – 1,35 m
1'	177,2	177,23	C		
2'	73,1	73,08	CH	4,00 dd (7,8, 3,6)	3,98 dd (8,0, 4,2)
3'	35,9	35,86	CH ₂	1,74 m/1,58 m	1,72 m/1,54 m
4'-17'	33,1 - 23,7	33,07 - 23,73	CH ₂	1,39 m – 1,31 m	1,30 m
16/18'	14,4	14,45/ 14,43	CH ₃	0,92 t (7,1)	0,90 t (7,0)
1''	104,7	104,72	CH	4,29 d (7,8)	4,26 d (8,0)
2''	75,0	75,00	CH	3,22 dd (9,0, 7,8)	3,19 dd (9,0, 8,0)
3''	78,0	77,99	CH	3,38 t (9,0)	3,35 t (9,0)
4''	71,6	71,60	CH	3,30 m	3,28 m
5''	77,9	77,93	CH	3,31 m	3,27 m
6''	62,7	62,69	CH ₂	3,69 dd (11,9, 5,3) 3,89 dd (11,9, 1,8)	3,67 dd (12,0, 5,8) 3,86 dd (12,0, 2,8)

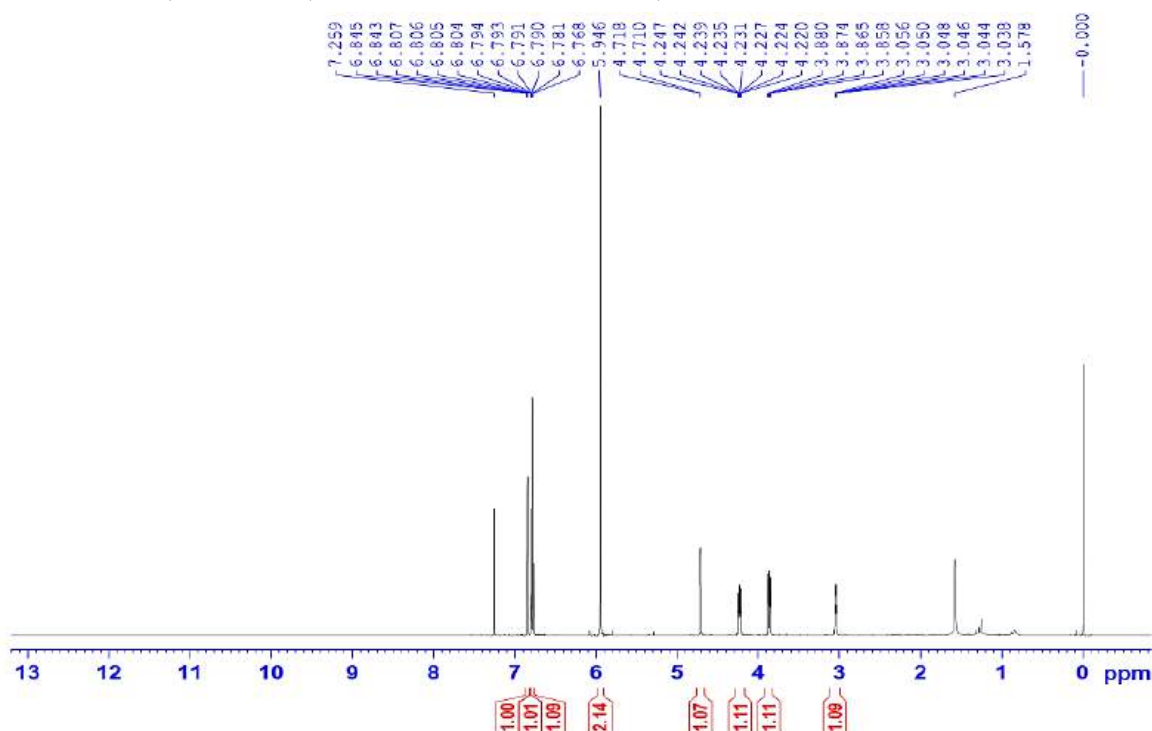
^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d125 MHz, ^e500 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*R*,4*E*,8*Z*)-2'-[(2*R*)-hydroxyicosanoyl]amido]-4,8-octadecadiene-1,3-diol [132].

4.1.10. Hợp chất **ML10**: (-)-sesamin

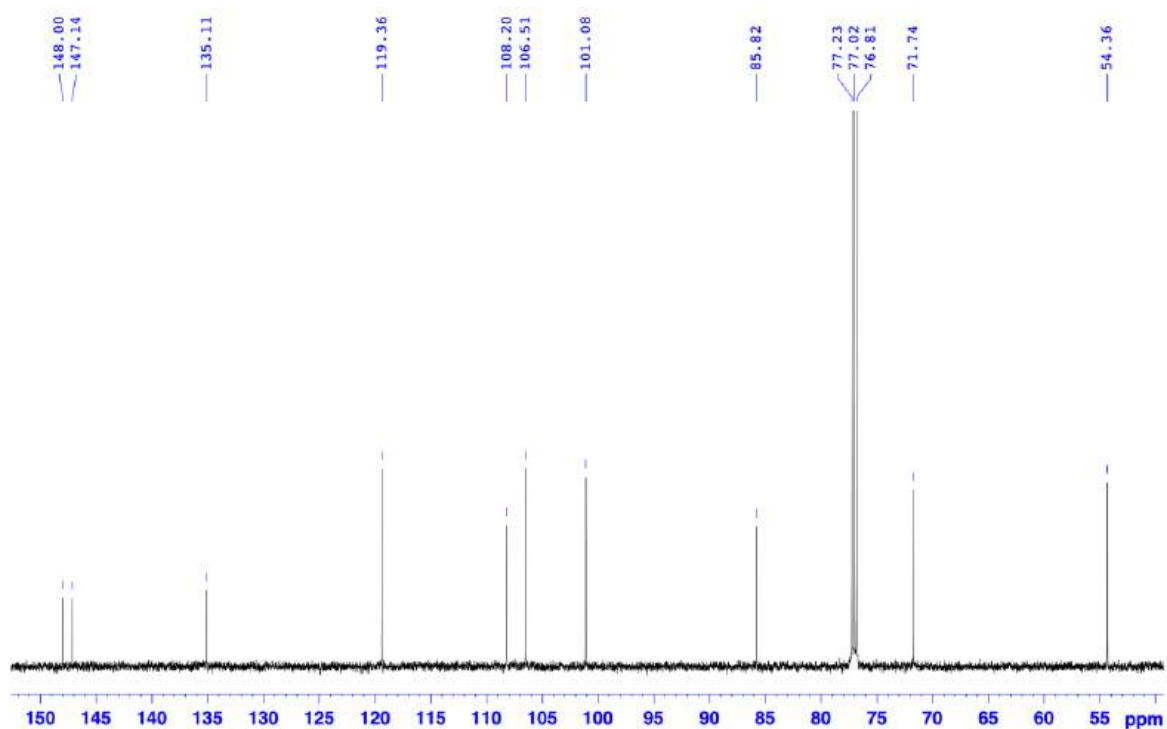
Hợp chất **ML10** phân lập được dưới dạng dầu.

Trên phổ ¹H NMR (hình 4.28) của **ML10** ghi nhận tín hiệu của 3 proton trong vòng thơm dạng ABX δ_H 6,84 (dd, $J = 1,5, 0,5$ Hz, H-2), 6,80 (ddd, $J = 8,0, 1,5, 0,5$ Hz, H-6) và 6,77 (dd, $J = 8,0, 0,5$ Hz, H-5)], một tín hiệu singlet của một nhóm dioxymethylene tại δ_H 5,95 (-O-CH₂-O-), nhóm methine mang oxygen tại δ_H 4,71 (d, $J = 4,5$ Hz, H-7) và proton của nhóm methine tại δ_H 3,05 (ddd, $J = 4,5, 3,8, 2,1$ Hz,

H-8). Ngoài ra, tín hiệu của nhóm methylene mang oxygen tại δ_H 4,23 (dd, $J = 9,2, 6,9$ Hz, H-9a) và 3,87 (dd, $J = 9,2, 3,8$ Hz, H-9b).



Hình 4.28. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML10**



Hình 4.29. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML10**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.29) cùng với phổ DEPT (hình PL153) ghi nhận tín hiệu của 10 carbon với 6 carbon của nhân thơm [δ_C 148,00, 147,14, 135,11, 119,36, 108,20 và 106,51], 2 nhóm methylene tại δ_C 71,74 và 101,08 và 2 nhóm methine tại δ_C 85,82 và 54,36.

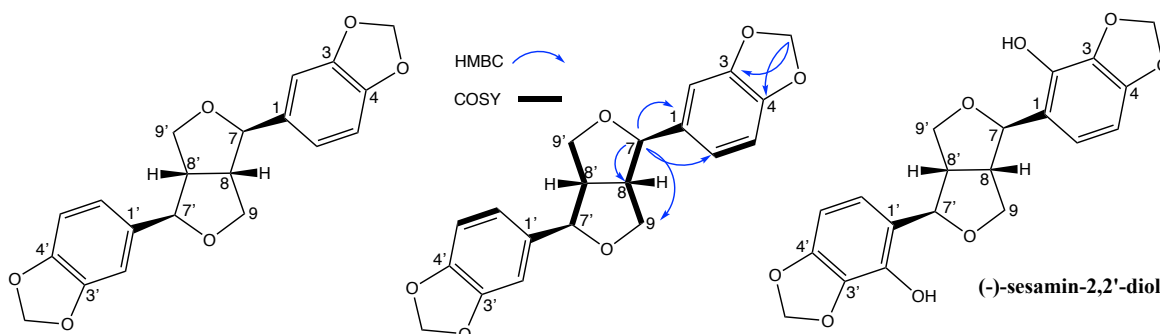
Phổ HSQC (hình PL154) của hợp chất **ML10** xác định sự liên kết giữa các proton và các carbon trong phân tử [δ_H/δ_C : 3,05/54,36 (CH), 4,71/85,82 (CH), 4,23 và 3,87/71,74 (CH₂), 6,84/106,51 (CH), 6,77/108,20 (CH), 6,80/119,36 (CH), 5,95/101,08 (CH)].

Phổ HMBC (hình PL155) xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton của nhóm dioxymethylene tại δ_H 5,95 (s) với hai carbon của nhân thơm tại δ_C 147,14 (C-4) và 148,00 (C-3), tín hiệu của proton H-7 (δ_H 4,71) với carbon C-1 (δ_C 135,11) của nhân thơm. Ngoài ra, phổ COSY (hình PL158) của **ML10** ghi nhận tín hiệu tương tác giữa proton H-8 (δ_H 3,05) với proton H-9a (δ_H 4,23), H-9b (δ_H 3,87) và H-7 (δ_H 4,71). Từ các tín hiệu của phổ HMBC và COSY ta nhận định đây là một hợp chất lignan với hai đơn vị phenylpropanoid (C6-C3).

Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML10**

Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	135,03	135,11	C				
2	106,48	106,51	CH	6,84 dd (1,5, 0,5)	6,84 d (1,6)	3,4,6,7	5,6
3	147,96	148,00	C				
4	147,10	147,14	C				
5	108,18	108,20	CH	6,77 dd (8,0, 0,5)	6,76-6,81 m	1,2,4,7	2,6
6	119,35	119,36	CH	6,80 ddd (8,0, 1,5, 0,5)	6,76-6,81 m	1,2,4,7	2,5
7	85,76	85,82	CH	4,71 d (4,5)	4,71 d (4,4)	1,5,6,8,9	8
8	54,31	54,36	CH	3,05 ddd (4,5, 3,8, 2,1)	3,05 m	1,7	7,9
9	71,70	71,74	CH ₂	4,23 dd (9,2, 6,9) 3,87 dd (9,2, 3,8)	4,23 dd (9,2, 6,8) 3,86 dd (9,2, 3,6)	1,7,8	8,9
OCH ₂ O	101,06	101,08	CH ₂	5,95 s	5,94 s	3,4	
1'	135,03	135,11	C				
2'	106,48	106,51	CH	6,84 dd (1,5, 0,5)	6,84 d (1,6)	3',4',6',7'	5',6'
3'	147,96	148,00	C				
4'	147,10	147,14	C				
5'	108,18	108,20	CH	6,77 dd (8,0, 0,5)	6,76-6,81 m	1',2',4',7'	2',6'
6'	119,35	119,36	CH	6,80 ddd (8,0, 1,5, 0,5)	6,76-6,81 m	1',2',4',7'	2',5'
7'	85,76	85,82	CH	4,71 d (4,5)	4,71 d (4,4)	1',5',6',8',9'	8'
8'	54,31	54,36	CH	3,05 ddd (4,5, 3,8, 2,1)	3,05 m	1',7'	7',9'
9'	71,70	71,74	CH ₂	4,23 dd (9,2, 6,9) 3,87 dd (9,2, 3,8)	4,23 dd (9,2, 6,8) 3,86 dd (9,2, 3,6)	1',7',8'	8',9'
OCH ₂ O	101,06	101,08	CH ₂	5,95 s	5,94 s	3',4'	

^aĐo trong CDCl₃, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d100 MHz, ^e400 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của (-)-sesamin [133].



$\lambda_{\max} (\Delta\epsilon)$: 212 ($\Delta\epsilon$ -4,19), 233 ($\Delta\epsilon$ -4,05), 290 ($\Delta\epsilon$ -1,37) nm

$\lambda_{\max} (\Delta\epsilon)$: 213 ($\Delta\epsilon$ -13,3), 234 ($\Delta\epsilon$ -3,6) nm

Hình 4.30. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **ML10**

và giá trị phổ CD của hợp chất **ML10** và hợp chất tham khảo

Phổ khối ESI-MS (hình PL159) ở chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 337,12 $[(M+H)-H_2O]^+$ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **ML10** là $M = 354$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{20}H_{18}O_6$. Kết hợp với phổ ^{13}C NMR, hợp chất **ML10** có cấu tạo với hai phần hoàn toàn đối xứng.

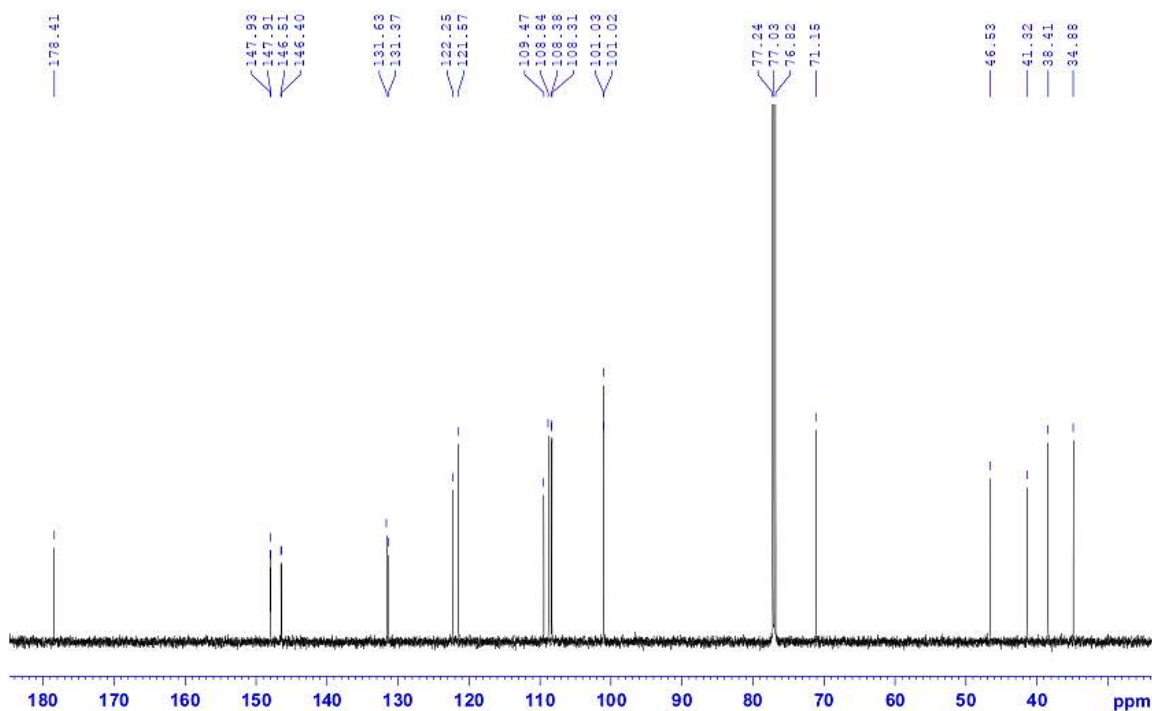
Như vậy, **ML10** được xác định là (-)-sesamin (hình 4.30) khi so sánh với tài liệu tham khảo [133]; cùng với đó, trên phổ CD (hình PL160) xuất hiện các hiệu ứng Cotton âm tại λ_{\max} 212 ($\Delta\epsilon$ -4,19), 233 ($\Delta\epsilon$ -4,05) nm khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của (-)-sesamin-2,2'-diol tại λ_{\max} 213 ($\Delta\epsilon$ -13,3), 234 ($\Delta\epsilon$ -3,6) nm [134] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **ML10** là $7R,7'R,8S,8'S$. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML10** được tổng hợp trên bảng 4.12.

4.1.11. Hợp chất **ML11**: hinokinin

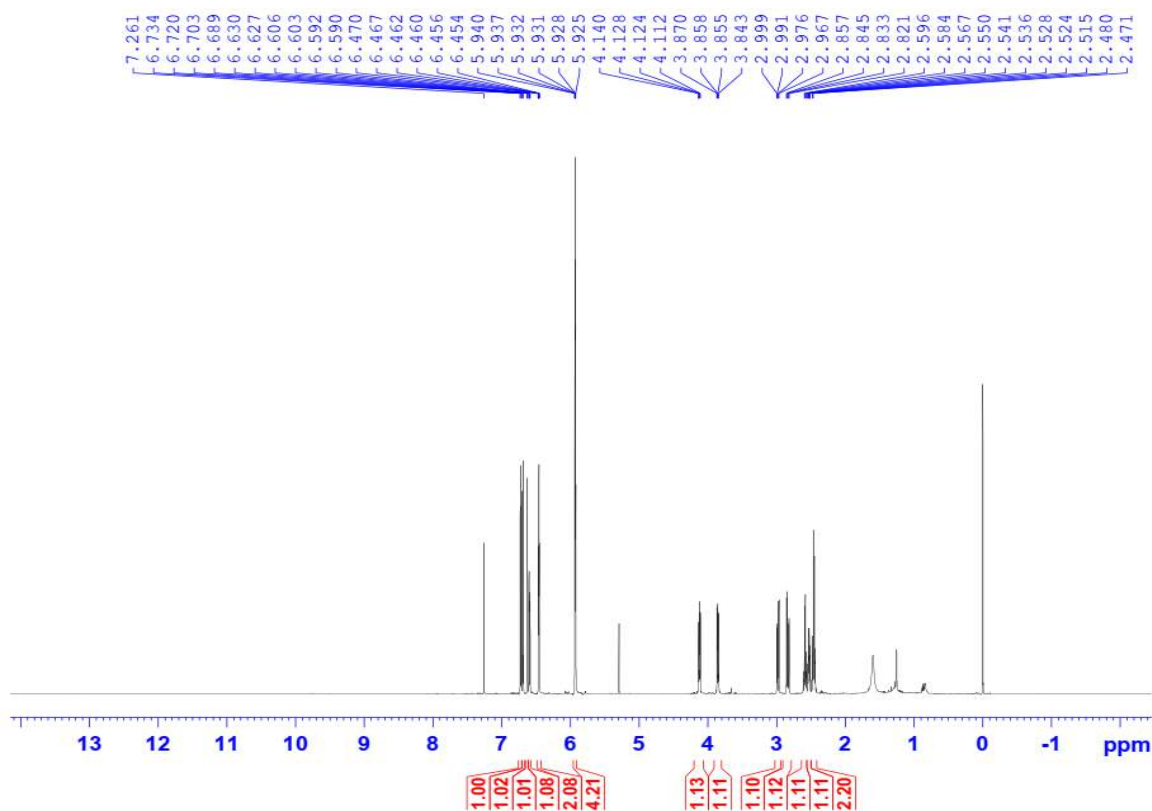
Hợp chất **ML11** phân lập được dưới dạng dầu, màu vàng.

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.31) của hợp chất **ML11** ghi nhận tín hiệu của 20 carbon. Kết hợp với phổ DEPT (hình PL163) xác nhận có 6 carbon vòng thơm không liên kết hydrogen, 1 carbon carbonyl (δ_C 178,41), 8 nhóm methine và 5 nhóm methylene.

Phổ 1H NMR (hình 4.31) của hợp chất **ML11** xác định tín hiệu của 2 nhân thơm dạng ABX, [δ_H 6,63 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2), 6,73 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H-5) và 6,60 (1H, dd, $J = 7,9, 1,8$ Hz, H-6)] và [6,45 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2'), 6,70 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-5') và 6,46 (1H, dd, $J = 8,2, 1,8$ Hz, H-6')]. Ngoài ra, phổ 1H NMR của **ML11** còn ghi nhận tín hiệu các proton của 3 nhóm methylene mang oxygen tại δ_H 5,93 (2H, m), 5,94 (2H, m) và 4,13 (1H, dd, $J = 9,2, 6,9$ Hz), 3,86 (1H, dd, $J = 9,2, 7,1$ Hz); các proton của 2 nhóm methylene tại δ_H 2,59 (1H, dd, $J = 9,8, 3,2$ Hz), 2,46 (1H, dd, $J = 9,8, 7,3$ Hz) và 2,98 (1H, dd, $J = 14,1, 5,1$ Hz), 2,84 (1H, dd, $J = 14,1, 7,5$ Hz); hai proton của hai nhóm methine tại 2,53 (1H, ddd, $J = 9,5, 7,3, 5,1$ Hz), 2,45 (1H, ddd, $J = 9,5, 7,3, 4,6$ Hz).



Hình 4.31. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML11**



Hình 4.32. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML11**

Dựa trên phổ COSY (hình PL169) giúp ta xác định vòng γ -lactone và hai vòng thơm dạng ABX.

Phổ HMBC (hình PL166) của hợp chất **ML11** ghi nhận tín hiệu tương tác giữa H-2 với C-7 (δ_{C} 34,88) tạo thành mảnh cấu trúc benzyl, đồng thời ghi nhận tín hiệu giữa H-7 với vị trí C-8 (δ_{C} 46,53) của vòng γ -lactone. Ngoài ra, phổ HMBC cũng thể

hiện tương tác giữa các proton của nhóm dioxymethylene (-OCH₂O-) với các carbon của nhân thơm xác nhận các vị trí của 2 nhóm này tại δ_C 101,03 và 101,02. Các phần cấu trúc trên cho phép ta dự đoán về một hợp chất hợp chất dibenzylbutyrolactone lignan với vòng γ -lactone ở trung tâm liên kết với hai mạch nhánh benzyl.

Phổ khối ESI-MS (hình PL171) ở chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 355,09 [M+H]⁺ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **ML11** là M = 354 phù hợp với công thức phân tử là C₂₀H₁₈O₆.

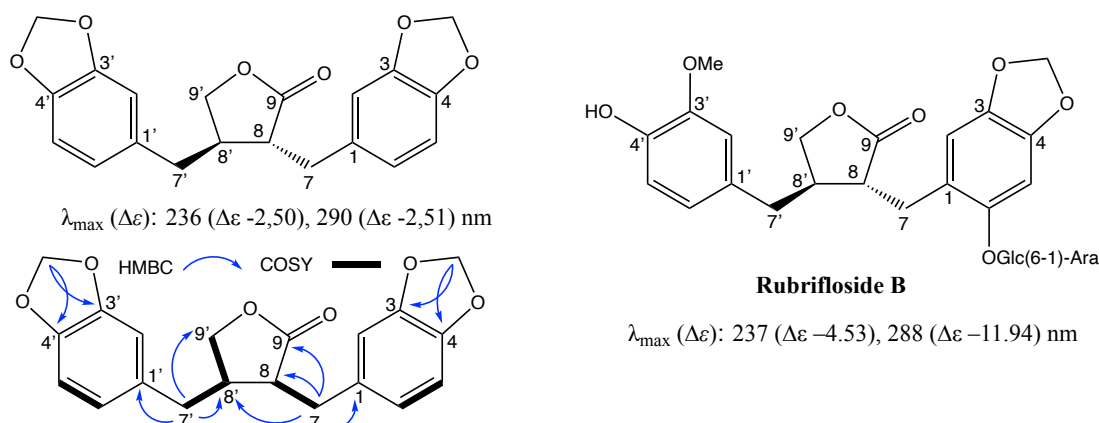
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML11**

Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	131,6	131,63	C				
2	109,4	109,47	CH	6,63 d (1,8)	6,64 d (1,6)	3,4,6,7,5	
3	147,9	147,93	C				
4	146,3	146,51	C				
5	108,3	108,31	CH	6,73 d (7,9)	6,71 d (8,3)	3,4,1,2	6
6	122,2	122,25	CH	6,60 dd (7,9, 1,8)	6,61 dd (1,6, 7,8)	2,7,4	5
7	34,8	34,88	CH ₂	2,98 dd (14,1, 5,1) 2,84 dd (14,1, 7,5)	2,99 dd (14,0, 5,0) 2,85 dd (14,0, 7,2)	1,2,6,8,9,8'	8
8	46,5	46,53	CH	2,53 ddd (9,5, 7,3, 5,1)	2,61-2,41 m	7,9,1,7	7
9	178,4	178,41	C				
OCH ₂ O	101,0	101,03	CH ₂	5,93 m	5,98-5,91 m	3,4	
1'	131,6	131,37	C				
2'	108,8	108,84	CH	6,45 d (1,8)	6,50-6,44 m	2',3',7',5'	
3'	147,9	147,91	C				
4'	146,3	146,40	C				
5'	108,3	108,38	CH	6,70 (8,2)	6,74 d (7,8)	1',4',2',3',6'	6'
6'	121,5	121,57	CH	6,46 dd (8,2, 1,8)	6,50-6,44 m	2',3',6',7',4'	5'
7'	38,3	38,41	CH ₂	2,59 dd (9,8, 3,2) 2,46 dd (9,8, 7,3)	2,61-2,41 m	6',8',9',1',2', 7',8'	8',9'
8'	41,3	41,32	CH	2,45 ddd (9,5, 7,3, 4,6)	2,61-2,41 m	2',6',8,9',1', 7'	7',9'
9'	71,1	71,15	CH ₂	4,13 dd (9,2, 6,9) 3,86 dd (9,2, 7,1)	4,14 dd (9,1, 7,0) 3,87 dd (9,1,7,0)	7',8'	8', 7'
OCH ₂ O	101,0	101,02	CH ₂	5,94 m	5,98-5,91 m	3',4'	

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của hinokinin [135].

Sau khi tổng hợp các số liệu phổ NMR (bảng 4.13), hợp chất **ML11** được xác nhận là hinokinin khi đối chiếu với tài liệu tham khảo [135]. Trên phổ CD (hình PL172) xuất hiện các hiệu ứng Cotton tại λ_{max} 236 ($\Delta\epsilon$ -2,50), 290 ($\Delta\epsilon$ -2,51) nm khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của rubrifloside B tại λ_{max} 237 ($\Delta\epsilon$ -4.53), 288 ($\Delta\epsilon$

-11.94) nm [136] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **ML11** là 8*R*,8'*S*. Công thức cấu tạo của **ML11** được trình bày trên hình 4.33.



Hình 4.33. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **ML11** và giá trị phổ CD của hợp chất **ML11** và hợp chất tham khảo

4.1.12. Hợp chất **ML12**: dihydrosesamin

Hợp chất **ML12** phân lập được dưới dạng dầu màu vàng nhạt.

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.35) của hợp chất **ML12** ghi nhận tín hiệu của 20 carbon bao gồm 12 carbon của 2 vòng thơm [δ_{C} 134,19, 106,30, 147,80, 145,96, 108,31, 119,06, 137,11, 108,95, 147,87, 146,91, 108,08, 121,43], 4 carbon của vòng tetrahydrofuran [δ_{C} 82,90 (C-7), 52,63 (C-8), 42,34 (C-8'), 72,92 (C-9')], một carbon methylene tại δ_{C} 33,28 (C-7'), một nhóm oxymethylen tại δ_{C} 60,91 (C-9) và 2 carbon dioxymethylene [δ_{C} 100,89 và 101,00].

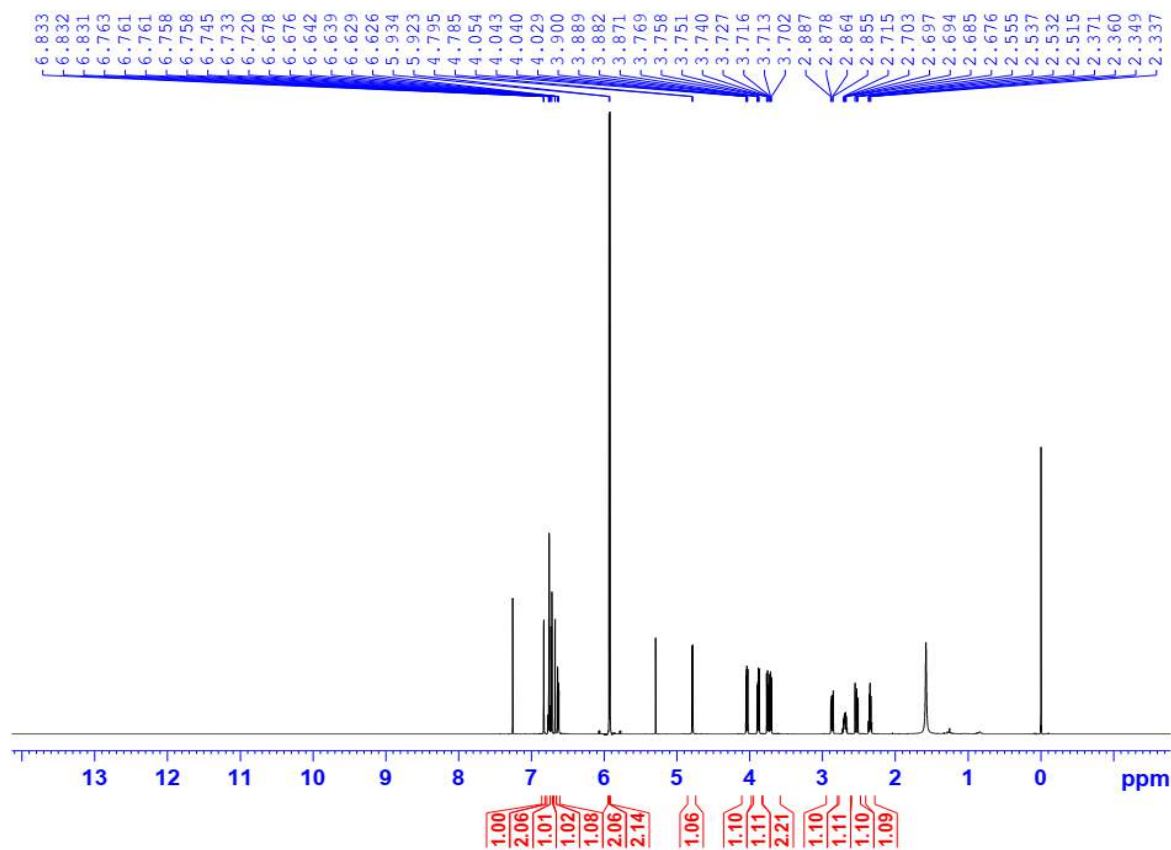
Phổ ^1H NMR (hình 4.34) của hợp chất **ML12** xác định tín hiệu của 2 nhân thơm dạng ABX [δ_{H} 6,83 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 6,73 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,77 (1H, d, $J = 8,0, 1,5$ Hz, H-6)] và [6,68 (1H, d, $J = 1,6$ Hz, H-2'), 6,75 (1H, dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, H-5'), 6,63 (1H, dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, H-6')]. Ngoài ra, phổ ^1H NMR của **ML12** còn ghi nhận các tín hiệu proton của 4 nhóm methylene mang oxygen tại δ_{H} 5,93 (2H, s), 5,92 (2H, s), 3,89 (1H, dd, $J = 10,7, 6,9$ Hz), 3,75 (1H, dd, $J = 10,7, 6,7$ Hz), 4,04 (1H, dd, $J = 8,6, 6,7$ Hz)/ 3,71 (1H, dd, $J = 8,6, 6,6$ Hz); hai proton của 1 nhóm methylene tại δ_{H} 2,87 (1H, dd, $J = 13,7, 5,4$ Hz), 2,53 (1H, dd, $J = 13,7, 10,4$ Hz); 3 proton của ba nhóm methine tại 4,79 (1H, d, $J = 6,3$ Hz), 2,35 (1H, td, $J = 6,8, 6,3$ Hz) và 2,69 (1H, tdd, $J = 8,6, 6,8, 5,4$ Hz).

Thông tin trên phổ ^1H và ^{13}C NMR, hợp chất **ML12** được xác định là một lignan tetrahydrofuran. Phổ khối ESI-MS (hình PL185) ở chế độ negative cho tín hiệu tại m/z 355,30 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **ML11** là $M = 356$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$.

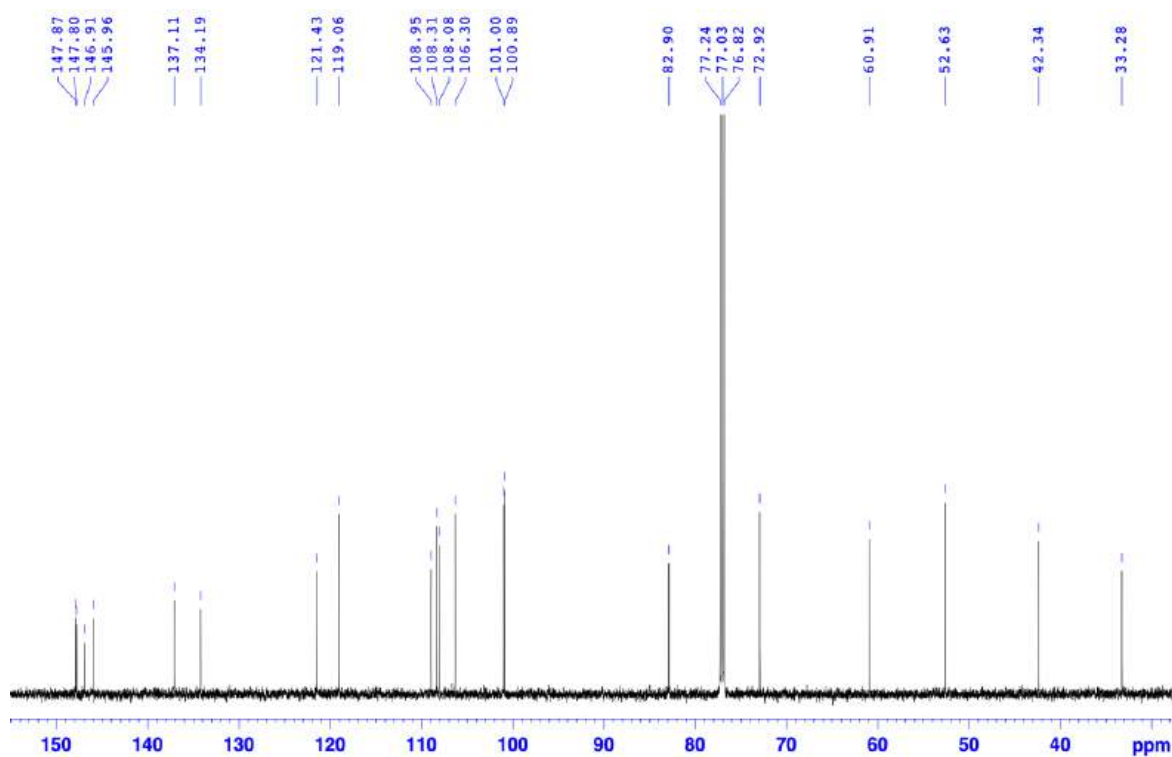
Trên phổ CD (hình PL186) của hợp chất **ML12** xuất hiện các hiệu ứng Cotton tại λ_{max} 216 ($\Delta\epsilon +0,77$), 293 ($\Delta\epsilon -0,43$) nm khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của

tianshanoside A tại λ_{\max} 215 ($\Delta\epsilon +4,35$), 291 ($\Delta\epsilon -2,26$) nm [137] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **ML12** là *7S,8R,8'R*.

Sau khi tổng hợp các số liệu phổ NMR (bảng 4.14), hợp chất **ML12** được xác định là dihydrosesamin (hình 4.36) khi so sánh với tài liệu tham khảo [138].



Hình 4.34. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML12**

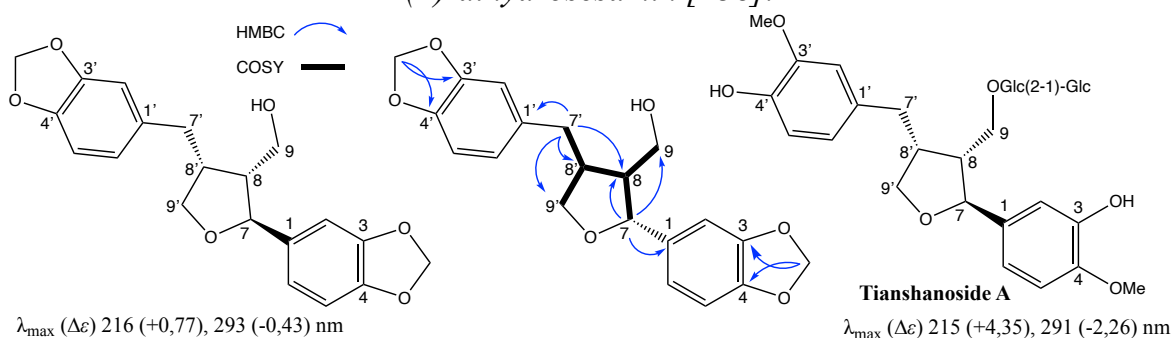


Hình 4.35. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **ML12**

Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất **ML12**

Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	134,1	134,19	C				
2	106,6	106,30	CH	6,83 d (1,5)	6,61–6,82 m	2,4,7	
3	147,8	147,80	C				
4	146,1	145,96	C				
5	108,7	108,31	CH	6,73 d (8,0)	6,61–6,82 m	1,2,4,6	
6	119,3	119,06	CH	6,77 dd (8,0, 1,5)	6,61–6,82 m	2,3,7	
7	82,7	82,90	CH	4,79 d (6,3)	4,78 d (6,1)	1,8,9	8
8	52,9	52,63	CH	2,35 td (6,8, 6,3)	2,30–2,37 m	7, 9	7,9,8'
9	60,7	60,91	CH ₂	3,89 dd (10,7, 6,9) 3,75 dd (10,7, 6,7)	3,87 dd (10,6, 7,0) 3,73 dd (10,7, 6,8)	7,8	7,8
1'	137,4	137,11	C				
2'	109,3	108,95	CH	6,68 d (1,6)	6,61–6,82 m	4',6', 7'	
3'	148,2	147,87	C				
4'	147,2	146,91	C				
5'	108,2	108,08	CH	6,75 dd (8,0, 1,6)	6,61–6,82 m	1',3'	
6'	121,4	121,43	CH	6,63 dd (8,0, 1,6)	6,61–6,82 m	2',4',7'	
7'	33,4	33,28	CH ₂	2,87 dd (13,7, 5,4) 2,53 dd (13,7, 10,4)	2,86 dd (13,5, 5,2) 2,52 dd (13,4, 10,5)	1',8',9',8	7',8'
8'	42,7	42,34	CH	2,69 tdd (8,6, 6,8, 5,4)	2,64–2,73 m		7',9',8
9'	73,3	72,92	CH ₂	4,04 dd (8,6, 6,7) 3,71 dd (8,6, 6,6)	4,03 dd (8,5, 6,6) 3,71 dd (8,5, 6,6)	7',8'	8',9'
OCH ₂ O	101,0	100,89	CH ₂	5,93 s	5,93 s	3,4	
OCH ₂ O	101,1	101,00	CH ₂	5,92 s	5,92 s	2',3',4'	

^aĐo trong CDCl₃, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d75 MHz, ^e300 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của (±)-dihydrosesamin [138].



Hình 4.36. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **ML12** và giá trị phổ CD của hợp chất **ML12** và hợp chất tham khảo

Kết luận:

Từ dịch chiết MeOH của lá loài *M. lamdongensis* đã phân lập và xác định cấu trúc của 18 hợp chất gồm:

- 10 hợp chất flavonoid: **ML1, ML2, ML3, ML4, ML5, ML6a, ML6b, ML7a, ML7b, ML13**;
- 02 hợp chất cerebroside: **ML8, ML9**;
- 03 hợp chất lignan: **ML10, ML11, ML12**;
- 02 hợp chất sterol: **ML14, ML15**;
- 01 hợp chất acid béo: **ML16**.

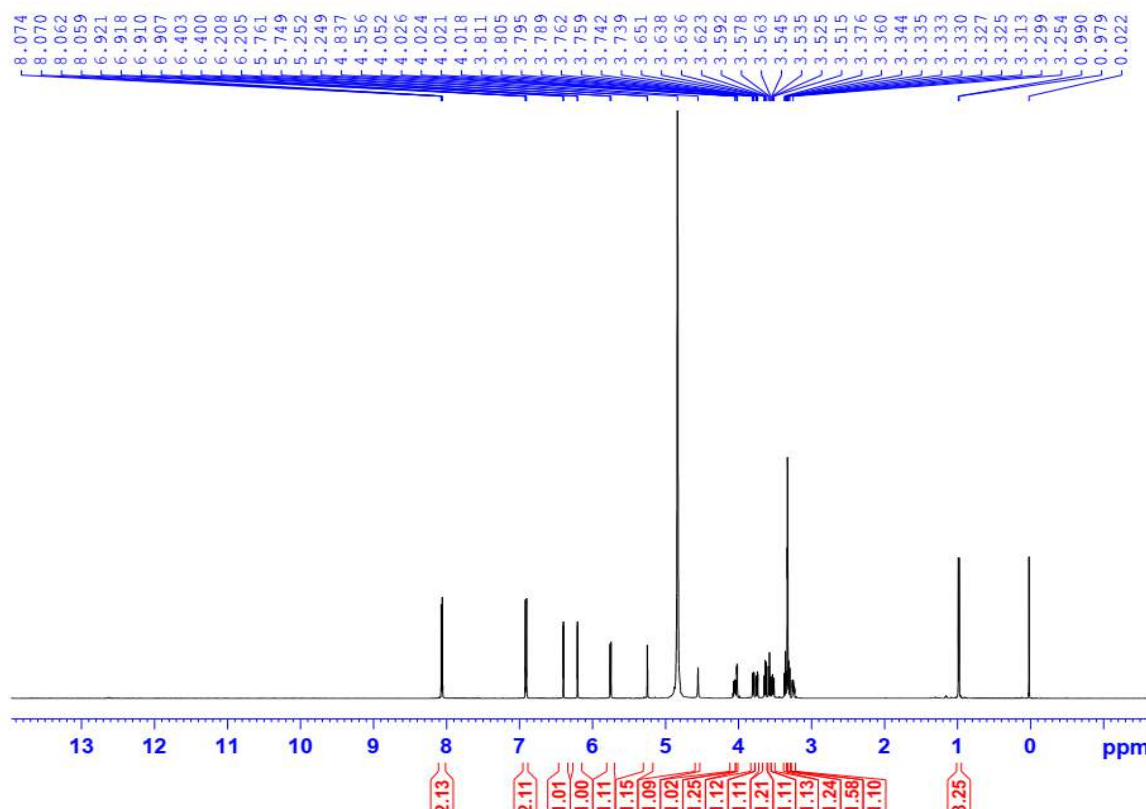
Trong đó, các hợp chất **ML1, ML2, ML6b, ML7a, ML7b, ML8, ML9, ML11, ML13** được phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

4.2. Kết quả nghiên cứu và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. tiepii*

4.2.1. Hợp chất **MT1: kaempferol 3-neohesperidoside**

Hợp chất **MT1** phân lập được dưới dạng bột màu vàng.

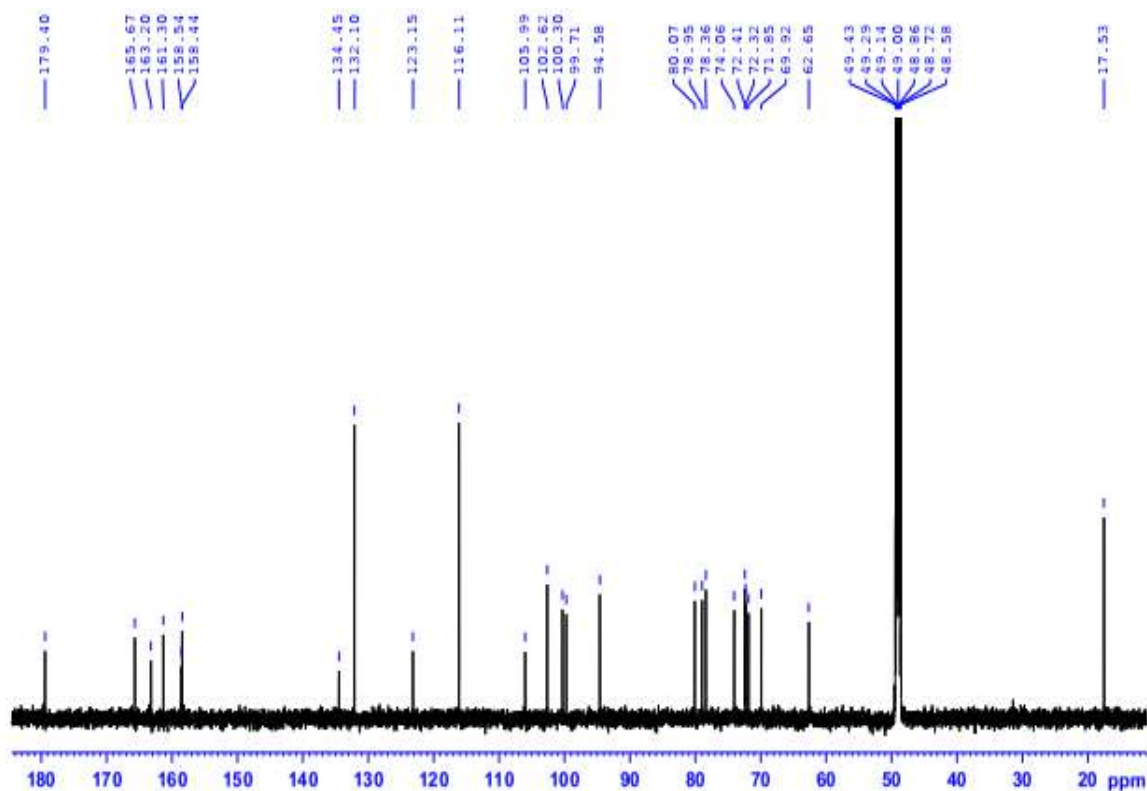
Phổ ^1H NMR (hình 4.37) của hợp chất **MT1** xuất hiện các tín hiệu của khung aglycone kaempferol [δ_{H} 8,07 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,91 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8) và 6,21 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6)]. Bên cạnh đó, tín hiệu của hai proton anomer của hai gốc đường được ghi nhận tại δ_{H} 5,76 (d, $J = 7,6$ Hz, H-1'') và 5,25 (d, $J = 1,6$ Hz, H-1'''). Vùng tín hiệu từ δ_{H} 4,06 - 3,25 ppm ghi nhận tín hiệu proton của các nhóm methine của gốc đường.



Hình 4.37. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT1**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.38) và phổ DEPT (hình PL204) cho thấy tín hiệu của 27 carbon bao gồm 15 carbon của khung aglycone và 12 carbon của 2 đơn vị đường.

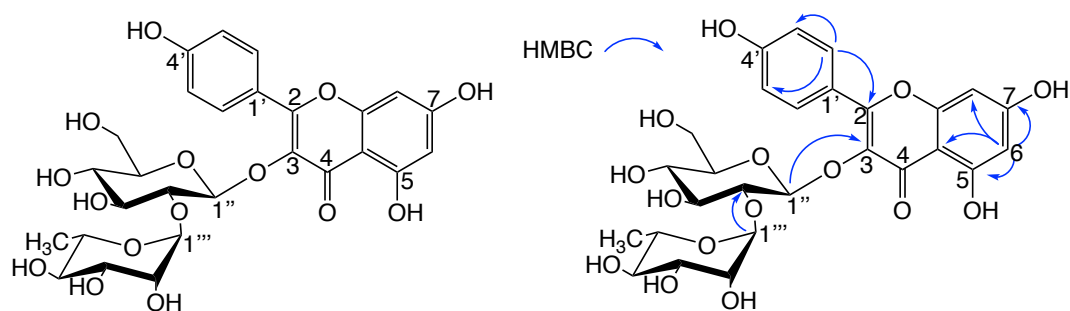
Kết hợp phổ HSQC (hình PL206) của **MT1** cho thấy tín hiệu gắn kết của proton tại δ_H 5,76 (H-1'') và 5,25 (H-1''') với carbon anomer gốc đường glucose tại δ_C 100,30 (C-1'') và rhamnose tại δ_C 102,62 (C-1'''). Trên phổ HMBC (hình PL209) xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton anomer H-1'' (Glc) với vị trí C-3 (δ_C 134,45) của khung flavonol và giữa H-1''' (Rha) với C-2'' (δ_C 72,41, Glc); do đó, gốc đường gắn vào vị trí C-3 là α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.



Hình 4.38. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT1**

Phổ khối ESI-MS ở chế độ positive (hình PL214) cho các tín hiệu tại m/z 595,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 449,10 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}]^+$, 287,06 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$; ở chế độ negative (hình PL215) cho tín hiệu tại m/z 593,01 $[\text{M}-\text{H}]^-$ do vậy khối lượng phân tử của hợp chất **MT1** ($M = 594$) phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$.

Tổng hợp dữ liệu phổ (bảng 4.15), hợp chất **MT1** được xác định là kaempferol 3-neohesperidoside [139]. Công thức cấu tạo của **MT1** được biểu diễn trên hình 4.39.



Hình 4.39. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **MT1**

Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT1

Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
2	161,3	161,30	C				
3	134,4	134,45	C				
4	179,3	179,40	C				
5	163,2	163,20	C				
6	99,7	99,71	CH	6,21 d (2,1)	6,15 brs	5,7,8,10	8
7	165,9	165,67	C				
8	94,6	94,58	CH	6,40 d (2,1)	6,35 brs	6,7,9,10	6
9	158,4	158,54	C				
10	105,9	105,99	C				
1'	123,1	123,15	C				
2'	132,1	132,10	CH	8,07 d (9,0)	8,02 d (8,4)	3',5',6',4',2	3'
3'	116,2	116,11	CH	6,91 d (9,0)	6,87 d (8,4)	1',3',5',2	2'
4'	158,4	158,44	C				
5'	116,2	116,11	CH	6,91 d (9,0)	6,87 d (8,4)	1',3',5',2	6'
6'	132,1	132,10	CH	8,07 d (9,0)	8,02 d (8,4)	2',3',5',4',2	5'
1''	100,2	100,30	CH	5,76 d (7,6)	5,72 d (7,6)	3'',3	2''
2''	80,0	80,07	CH	3,64 dd (9,5, 7,6)	3,60 dd (9,0, 7,6)	1'',5'',1'''	1''
3''	78,9	78,95	CH	3,58 t (8,8)	3,53 t (9,0)	1'',2'',4''	4''
4''	71,8	71,85	CH	3,31 t (8,8)	3,27 t (9,0)	5'',6''	3'',5''
5''	78,4	78,36	CH	3,25 ddd (9,5, 5,7, 2,3)	3,22 m	4''	4'',6''
6''	62,0	62,65	CH ₂	3,75 dd (12,0, 2,3) 3,53 dd (12,0, 5,7)	3,71 dd (12,0, 1,5) 3,54 dd (12,0, 5,0)	3'',4''	6'',3''
1'''	102,6	102,62	CH	5,25 d (1,6)	5,21 d (1,6)	2''',3''',5''',2''	2'''
2'''	72,4	72,41	CH	4,02 dd (3,4, 1,6)	3,98 dd (3,0, 1,6)	2''',3'''	1''',3'''
3'''	72,3	72,32	CH	3,80 dd (9,6, 3,4)	3,75 dd (9,0, 3,0)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	74,4	74,06	CH	3,36 t (9,6)	3,31 t (9,0)	2''',3''',5''',6'''	3''',5'''
5'''	69,9	69,92	CH	4,06 dd (9,6, 6,2)	4,00 m	2''', 3''', 6'''	4''',6'''
6'''	17,5	17,53	CH ₃	0,98 d (6,2)	0,93 d (6,0)	4''',5''',6'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d125 MHz, ^e500 MHz

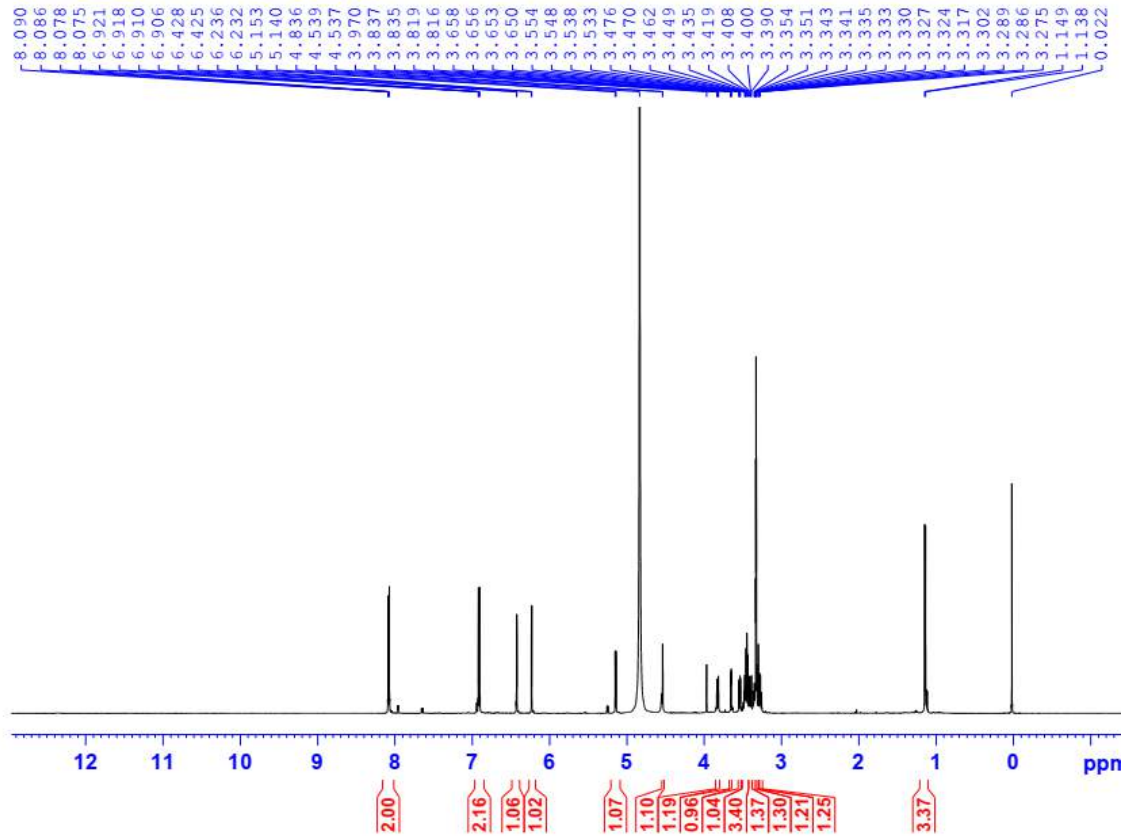
*Giá trị ¹³C và ¹H của kaempferol 3-neohesperidoside [129].

4.2.2. Hợp chất MT2: nicotiflorin

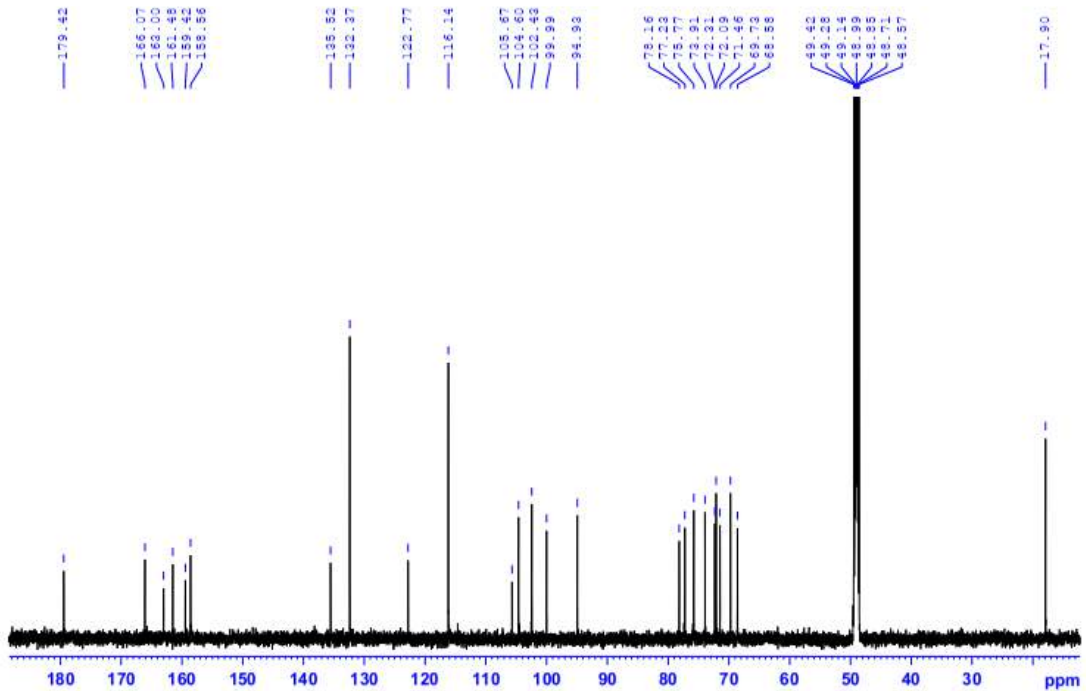
Hợp chất MT2 phân lập được dạng bột màu vàng.

Phổ ¹H NMR (hình 4.40) của hợp chất MT2 xuất hiện các tín hiệu của phần aglycone kaempferol [δ_H 8,08 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 6,91 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), 6,43 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8) và 6,23 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6)], hai proton anomer của hai gốc đường được ghi nhận tại δ_H 5,15 (d, $J = 7,8$ Hz, H-1'') và 4,54 (d, $J = 1,2$ Hz, H-1''').

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.41) kết hợp với phổ DEPT (hình PL219) cho thấy tín hiệu của 27 carbon bao gồm 15 carbon của khung aglycone và 12 carbon của 02 đơn vị đường.



Hình 4.40. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT2**



khung flavone và giữa H-1''' (δ_H 4,54, Rha) với C-6'' (δ_C 68,58), do đó, gốc đường gắn vào vị trí C-3 là α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside.

Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT2

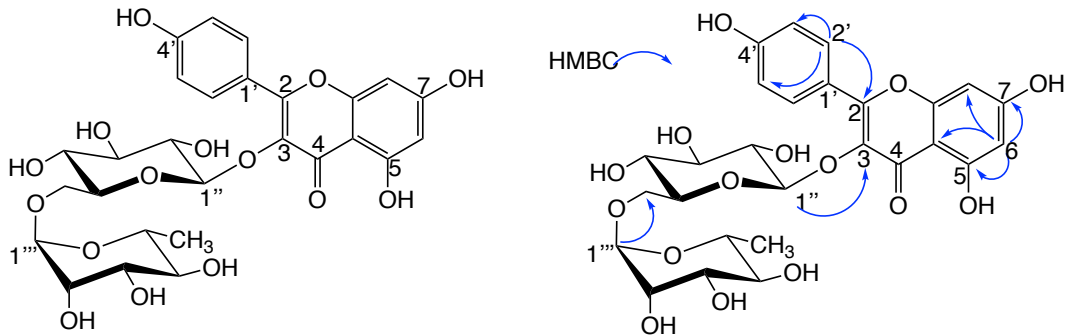
Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H \rightarrow C)	COSY (H \rightarrow H)
2	159,25	159,42	C				
3	135,38	135,52	C				
4	179,20	179,42	C				
5	162,80	163,00	C				
6	99,89	99,99	CH	6,23 d (2,1)	6,20 d (2,0)	5,7,8,10	8
7	165,81	166,07	C				
8	94,84	94,93	CH	6,43 d (2,1)	6,39 d (2,0)	6,7,9,10	6
9	158,36	158,56	C				
10	105,57	105,67	C				
1'	122,63	122,77	C				
2'	132,25	132,37	CH	8,08 d (9,0)	8,05 d (8,8)	2,3',4',6'	3'
3'	116,03	116,14	CH	6,91 d (9,0)	6,88 d (8,8)	5',1'	2'
4'	161,31	161,48	C				
5'	116,03	116,14	CH	6,91 d (9,0)	6,88 d (8,8)	1',3'	6'
6'	132,25	132,37	CH	8,08 d (9,0)	8,05 d (8,8)	2, 2',3',4'	5'
1''	104,52	104,60	CH	5,15 d (7,8)	5,12 d (7,2)	3, 3''	2''
2''	75,71	75,77	CH	3,45 t (7,8)	3,42 m	1'',2'',3''	1''
3''	78,09	78,16	CH	3,44 t (8,4)	3,41 m	1'',2'',3'',4''	4''
4''	71,40	71,46	CH	3,27 t (6,6)	3,25 t (7,6)	3'',6''	3''
5''	77,50	77,23	CH	3,36 dd (9,6, 1,8)	3,34 m	1'',4'',6''	6''
6''	68,53	68,58	CH ₂	3,83 dd (10,8, 1,5) 3,40 dd (11,4, 6,3)	3,80 d (10,0) 3,38 m	4'',5'',1'''	5'',6''
1'''	102,33	102,43	CH	4,54 d (1,5)	4,51 d (2,4)	3''',5''',6''	2'''
2'''	72,04	72,09	CH	3,65 dd (3,3, 1,5)	3,63 m	3''',4'''	1''',3'''
3'''	72,26	72,31	CH	3,54 dd (9,6, 3,3)	3,52 dd (9,6, 3,6)	4''',5'''	2''',4'''
4'''	73,85	73,91	CH	3,30 t (8,4)	3,27 t (8,0)	3''',5'''	3''',5'''
5'''	69,69	69,73	CH	3,48 m	3,44 m	3''',6'''	6'''
6'''	17,96	17,90	CH ₃	1,14 d (6,6)	1,11 d (6,4)	4''',5'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d250 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của nicotiflorin [140].

Phổ khối ESI-MS ở chế độ positive (hình PL230) cho các tín hiệu tại m/z 595,14 [M+H]⁺, 449,11 [(M+H)-Rha]⁺, 287,08 [(M+H)-Rha-Glc]⁺; ở chế độ negative (hình PL231) cho tín hiệu tại m/z 593,03 [M-H]⁻ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất MT2 là M = 594, phù hợp với công thức phân tử là C₂₇H₃₀O₁₅.

Hợp chất **MT2** được xác định là kaempferol 3-rutinoside hay nicotiflorin khi đối chiếu với tài liệu tham khảo [140]. Công thức cấu tạo của **MT2** được biểu diễn trên hình 4.42.

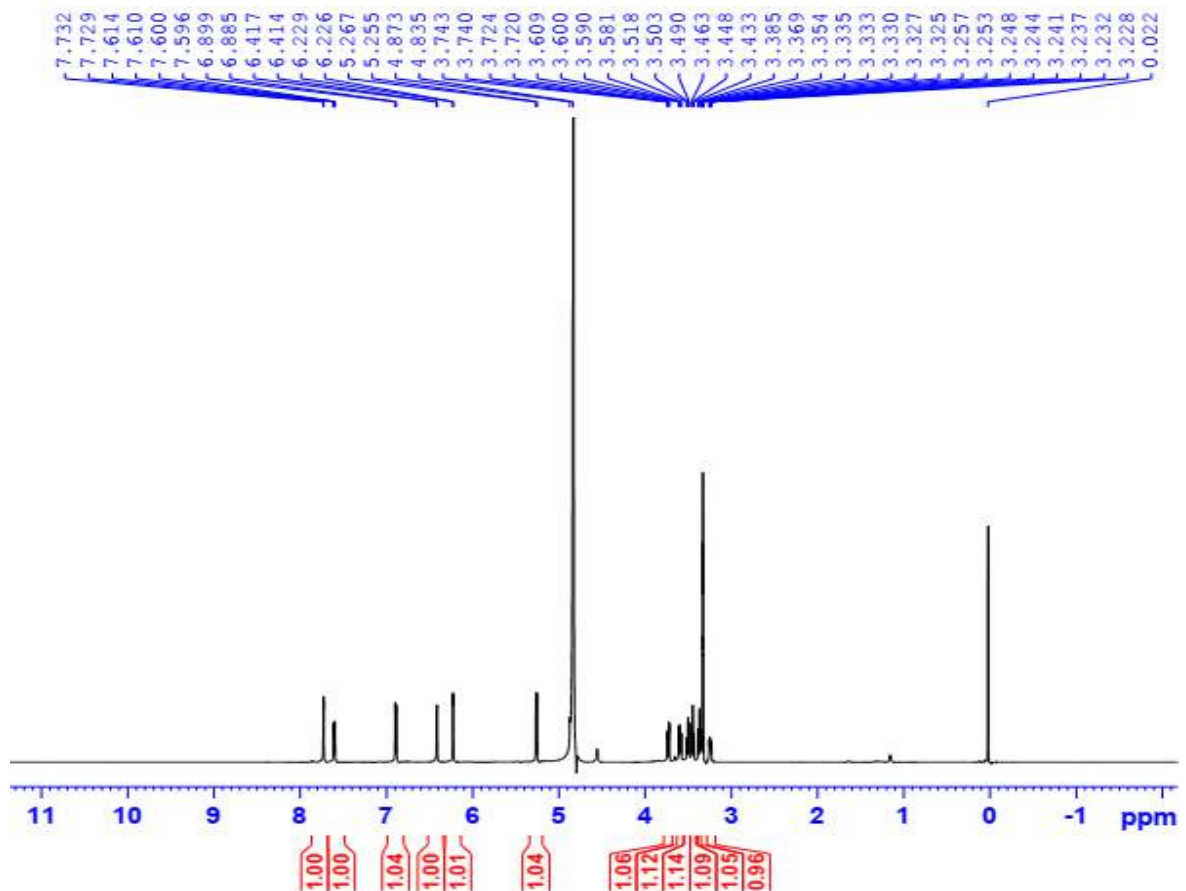


Hình 4.42. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **MT2**

4.2.3. Hợp chất **MT3**: isoquercitrin

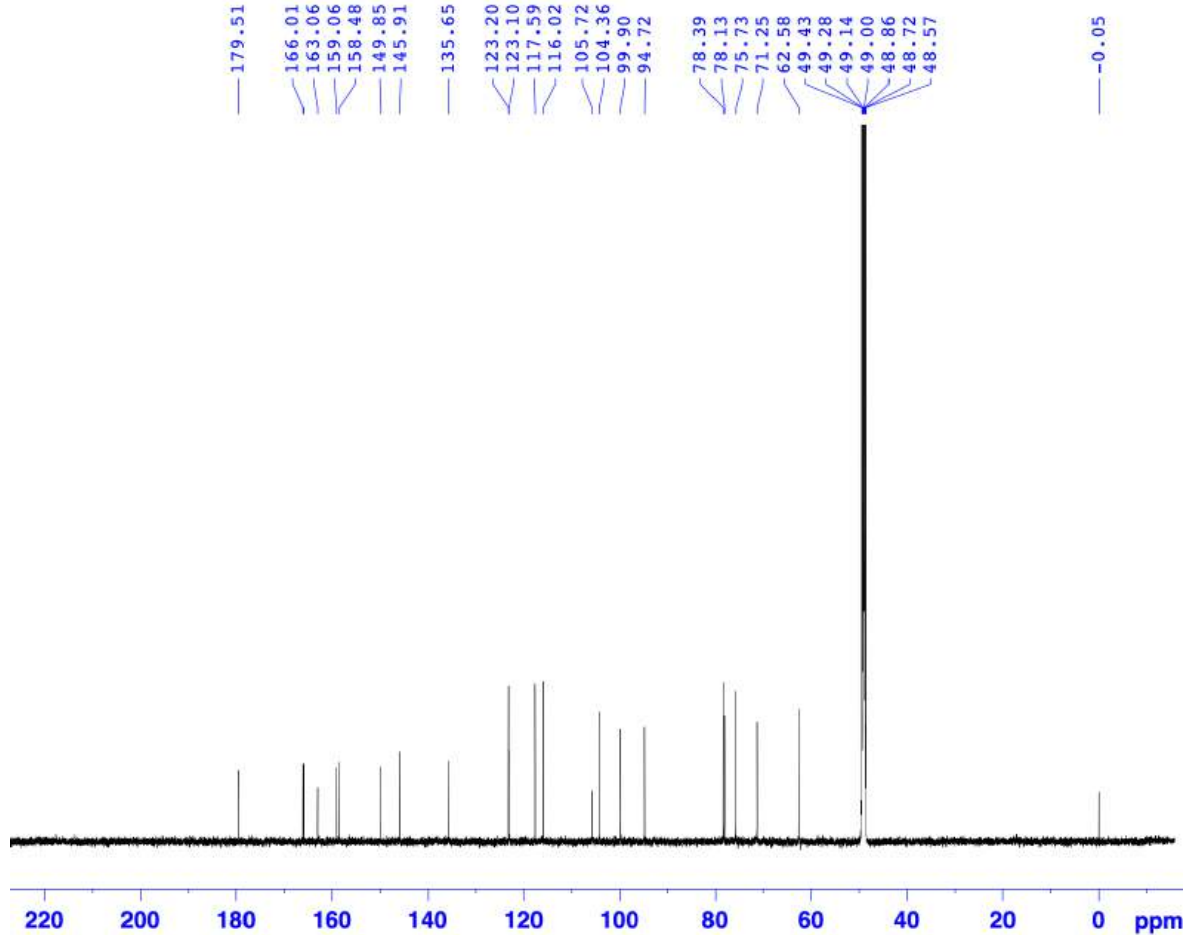
Hợp chất **MT3** phân lập được dưới dạng bột màu vàng.

Phổ ^1H NMR (hình 4.43) của **MT3** xác định tín hiệu của các proton của phần khung alycone quercetin [δ_{H} 7,73 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-2'), 6,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5'), 7,61 (1H, d, $J = 8,4, 2,1$ Hz, H-6'), 6,42 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8) và 6,23 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6)], một proton anomer của gốc đường được ghi nhận tại δ_{H} 5,26 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1'').



Hình 4.43. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT3**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.44) của **MT3** ghi nhận tín hiệu của 21 carbon trong phân tử. Kết hợp với phổ khối ESI-MS (hình PL243) chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 465,01 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 303,02 $[(\text{M}+\text{H})-\text{Glc}]^+$, khối lượng phân tử của hợp chất **MT3** là $M = 464$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$.



Hình 4.44. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT3**

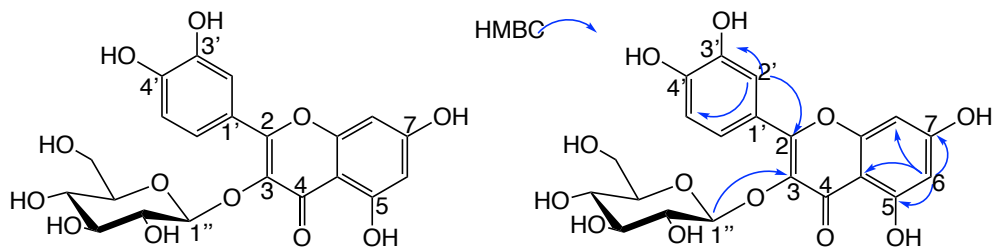
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT3**

Vị trí	* $\delta_{\text{C}^{\text{a,b}}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}^{\text{a,b}}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}^{\text{a,c}}}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_{\text{H}^{\text{a,c}}}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H \rightarrow C)	COSY (H \rightarrow H)
2	158,47	158,48				
3	135,61	135,65				
4	179,50	179,51				
5	163,07	163,06				
6	99,87	99,90	6,23 d (1,8)	6,21 d (1,5)	5,7,8,10	8
7	165,99	166,01				
8	94,69	94,72	6,42 d (1,8)	6,40 d (1,5)	6,7,10	6
9	159,02	159,06				
10	105,07	105,72				
1'	123,18	123,20				
2'	115,99	117,59	7,73 d (2,1)	7,85 s	2,3',4',5',6'	6'

3'	149,84	149,85				
4'	145,91	145,91				
5'	117,54	116,02	6,89 d (8,4)	6,86 d (8,0)	2,3',4',6'	6'
6'	123,08	123,10	7,61 dd (8,4, 2,1)	7,59 d (8,0)	2,3',5'	2',5'
1''	104,28	104,36	5,26 d (7,5)	5,10 d (7,5)	3,2'',3'',5''	2''
2''	75,73	75,73	3,50 dd (9,0, 7,5)	3,50 dd (9,0, 7,5)	1'',3'',5''	1''
3''	78,12	78,13	3,45 t (9,0)	3,56 t (9,0)	2'',4'',5''	
4''	71,22	71,25	3,37 t (9,0)	3,54 t (9,0)	3'',5'',6''	5''
5''	78,39	78,39	3,24 m	3,41 m	1'',3'',4'',6''	4'',6''
6''	62,56	62,58	3,73 dd (11,4, 2,1) 3,60 dd (11,4, 5,4)	3,80 dd (12,0, 2,0) 3,37 dd (12,0, 5,0)	3'',4'',5''	5'',6''

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d500 MHz, ^e125 MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của isoquercitrin [141].

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR (bảng 4.17), hợp chất **MT3** được xác định là isoquercetin [141]. Công thức cấu tạo của **MT3** được biểu diễn trên hình 4.45.



Hình 4.45. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **MT3**

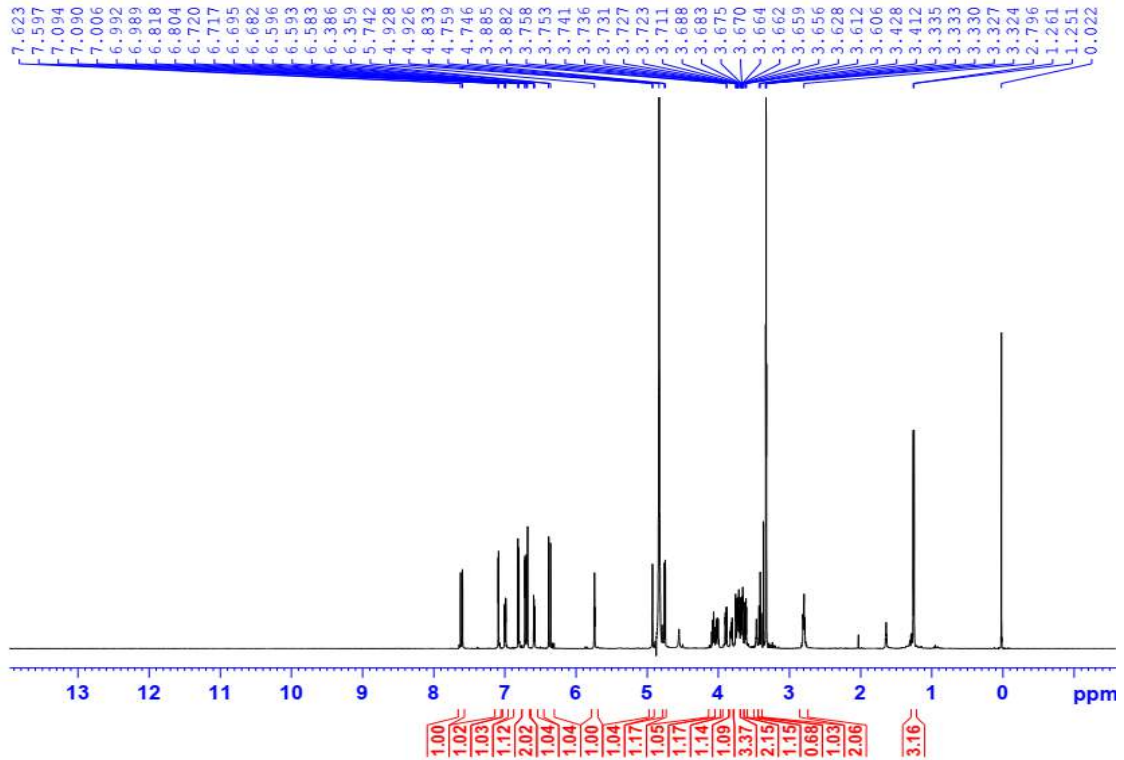
4.2.4. Hợp chất **MT4**: *magnoloside A*

Hợp chất **MT4** phân lập được dưới dạng chất bột màu nâu đỏ.

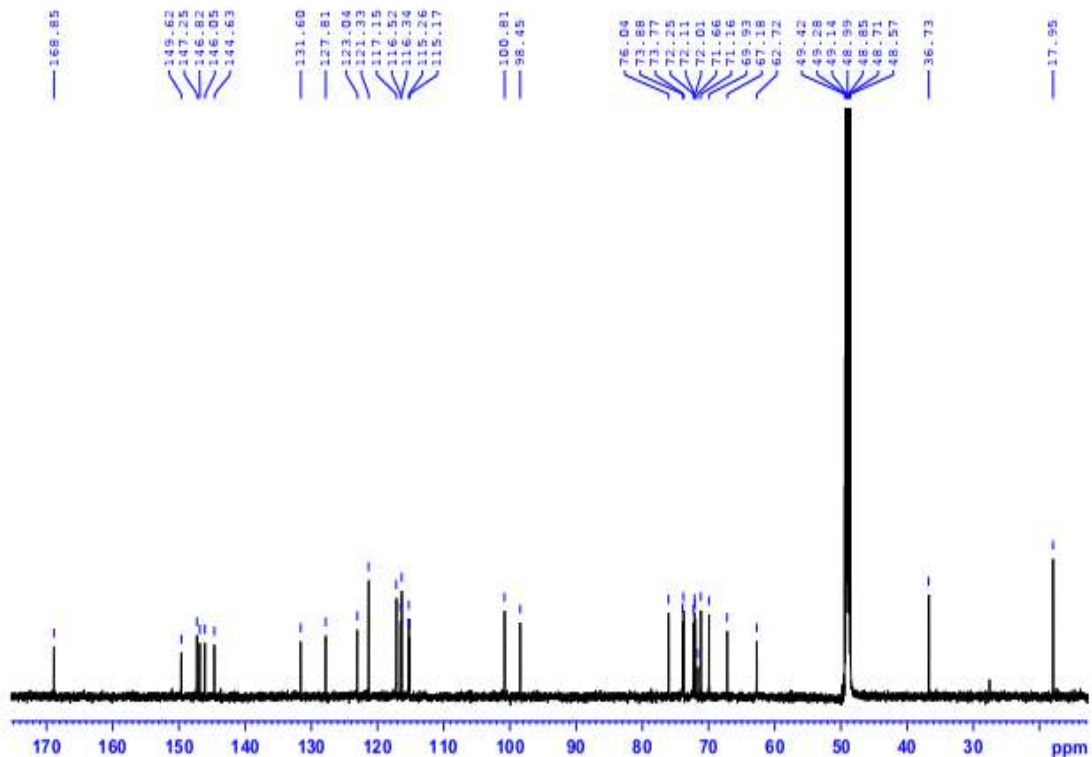
Phổ ¹H NMR (hình 4.46) của hợp chất **MT4** cho thấy những tín hiệu của nhóm *trans*-caffeoyl và 3,4-dihydroxy phenylethanol với các tín hiệu của hai vòng thơm dạng ABX [δ_H 7,09 (1H, d, $J = 2,1$ Hz), 6,81 (1H, d, $J = 8,2$ Hz) và 7,00 (1H, dd, $J = 8,2, 2,1$ Hz)] và [δ_H 6,72 (1H, d, $J = 2,1$ Hz), 6,69 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,59 (1H, dd, $J = 8,0, 2,1$ Hz)]. Tín hiệu của cặp proton *trans*-olefinic xuất hiện tại δ_H 7,61 (1H, d, $J = 15,9$ Hz), 6,37 (1H, d, $J = 15,9$ Hz) và tín hiệu của các proton nhóm benzylic methylene tại δ_H 2,80 (2H, td, $J = 7,0, 2,5$ Hz), 4,07 (1H, ddd, $J = 9,5, 8,2, 7,0$ Hz) và 3,71 (1H, m). Bên cạnh đó, hai proton anomer xuất hiện tại δ_H 4,75 (1H, d, $J = 7,9$ Hz) và 4,93 (1H, d, $J = 1,7$ Hz). Ngoài ra, phổ ¹H NMR của hợp chất **MT4** còn cho thấy sự hiện diện của một nhóm methyl tại δ_H 1,26 (3H, d, $J = 6,3$ Hz) cho ta dự đoán về một gốc đường rhamnose. Các tín hiệu trên gợi ý về một hợp chất phenylethanoid glycoside.

Phổ ¹³C NMR (hình 4.47) kết hợp với phổ HSQC (hình PL248) của hợp chất **MT4** xác nhận sự hiện diện của 29 carbon trong đó có 1 carbon carbonyl tại δ_C 168,85 (C-9').

Phổ HSQC cho ta xác định 2 nhóm methine nối đôi tại δ_H 7,61/147,25 (C-7') và 6,37/115,17 (C-8'), các tín hiệu của hai proton anomer của hai gốc đường tại δ_H 4,75/100,81 (C-1'') và 4,93/98,45 (C-1''').



Hình 4.46. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT4**



Hình 4.47. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT4**

Tương tác trên phổ HMBC (hình PL251) của hợp chất **MT4** giữa proton anomer của gốc đường thứ nhất tại δ_H 4,75 (H-1'', All) và C-8 (δ_C 72,11) cho

thấy gốc phenylethanol gắn với C-1'' (δ_C 100,81), tương tác giữa proton tại δ_H 5,74 (H-3'', All) và C-9' (δ_C 168,85) xác nhận gốc *trans*-caffeoyl gắn với C-3'' (δ_C 71,16, All), cùng với đó proton anomer tại δ_H 4,93 (H-1''', Rha) tương tác với C-2'' (δ_C 73,77) cho thấy gốc đường rhamnose gắn với C-2'' của gốc đường allose.

Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất MT4

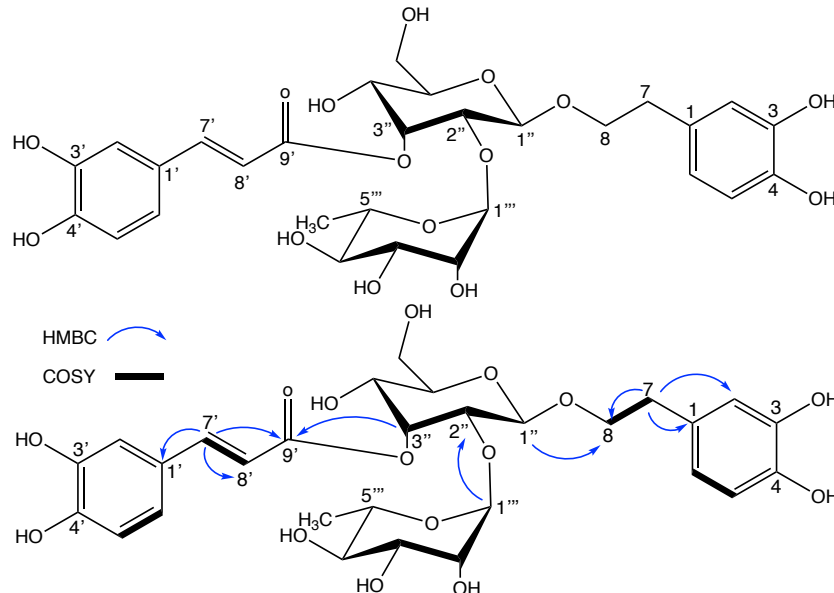
Vị trí	* $\delta_C^{a,d}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	131,5	131,60	C				
2	117,0	117,15	CH	6,72 d (2,1)	6,71 d (2,0)	3,4,6,7	5,6
3	145,7	146,05	C				
4	144,3	144,63	C				
5	116,3	116,34	CH	6,69 d (8,0)	6,69 d (8,0)	1,3,4	2,6
6	121,2	121,33	CH	6,59 dd (8,0, 2,1)	6,57 dd (8,0, 2,0)	2,4,7	2,5
7	36,4	36,73	CH ₂	2,80 td (7,0, 2,5)	2,78 t (7,2)	1,2,6,8	8
8	71,9	72,11	CH ₂	4,07 ddd (9,5, 8,2, 7,0) 3,71 m	4,05–4,01	1'',1,7	7,8
1'	127,6	127,81	C				
2'	115,2	115,26	CH	7,09 d (2,1)	7,08 d (2,0)	3',4',6'	6'
3'	146,4	146,82	C				
4'	149,3	149,62	C				
5'	116,4	116,52	CH	6,81 d (8,2)	6,80 d (8,4)	1',2',3',4'	6'
6'	123,0	123,04	CH	7,00 dd (8,2, 2,1)	6,96 dd (8,4, 2,0)	2',4',7'	2',5'
7'	147,1	147,25	CH	7,61 d (15,9)	7,61 d (16,0)	1',6',8',9'	8'
8'	114,9	115,17	CH	6,37 d (15,9)	6,37 d (16,0)	1',7',9'	7'
9'	168,8	168,85	C				
1''	100,5	100,81	CH	4,75 d (7,9)	4,74 d (8,0)	8,5''	2''
2''	73,6	73,77	CH	3,68 dd (8,0, 3,0)	3,69–3,66	3'',1'',1'''	1''
3''	71,0	71,16	CH	5,74 t (3,0)	5,75 dd (2,4, 2,4)	1'',2'',4''5'',9'	4'',5''
4''	66,9	67,18	CH	3,75 dd (10,0, 3,0)	3,77 dd (10,4, 2,4)	3'',6''	3''
5''	75,7	76,04	CH	3,82 ddd (10,0, 5,4, 2,2)	3,81 m	4'',6''	4'',6''
6''	62,5	62,72	CH ₂	3,89 dd (11,9, 2,2) 3,73 m	3,88 dd (12,0, 2,4)	1'', 3''	6''
1'''	98,2	98,45	CH	4,93 d (1,7)	4,94 brs	2'',3''',5'''	2'''
2'''	71,8	72,01	CH	3,66 dd (3,4, 1,7)	3,69–3,66	1''',3''',4'''	1'''
3'''	72,0	72,25	CH	3,62 dd (9,6, 3,4)	3,64 dd (9,6, 3,2)	4''',5'''	4'''
4'''	73,7	73,88	CH	3,41 t (9,6)	3,45 t (9,6)	2''',5''',6'''	3''',5'''
5'''	69,7	69,93	CH	4,02 dd (9,6, 6,3)	4,05–4,01	4''',6'''	6''',4'''
6'''	17,8	17,95	CH ₃	1,26 d (6,3)	1,25 d (6,4)	4''',5'''	5'''

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d400 MHz, ^e100 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của magnoloside A [142].

Phổ khối ESI-MS (hình PL257) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 625,15 $[M+H]^+$, 471,15 và 325,16 vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **MT4** là $M = 624$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{29}H_{36}O_{15}$.

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR (bảng 4.18) thì hợp chất **MT4** được xác định là magnololide A [142]. Công thức cấu tạo của **MT4** được biểu diễn trên hình 4.48.



Hình 4.48. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT4**

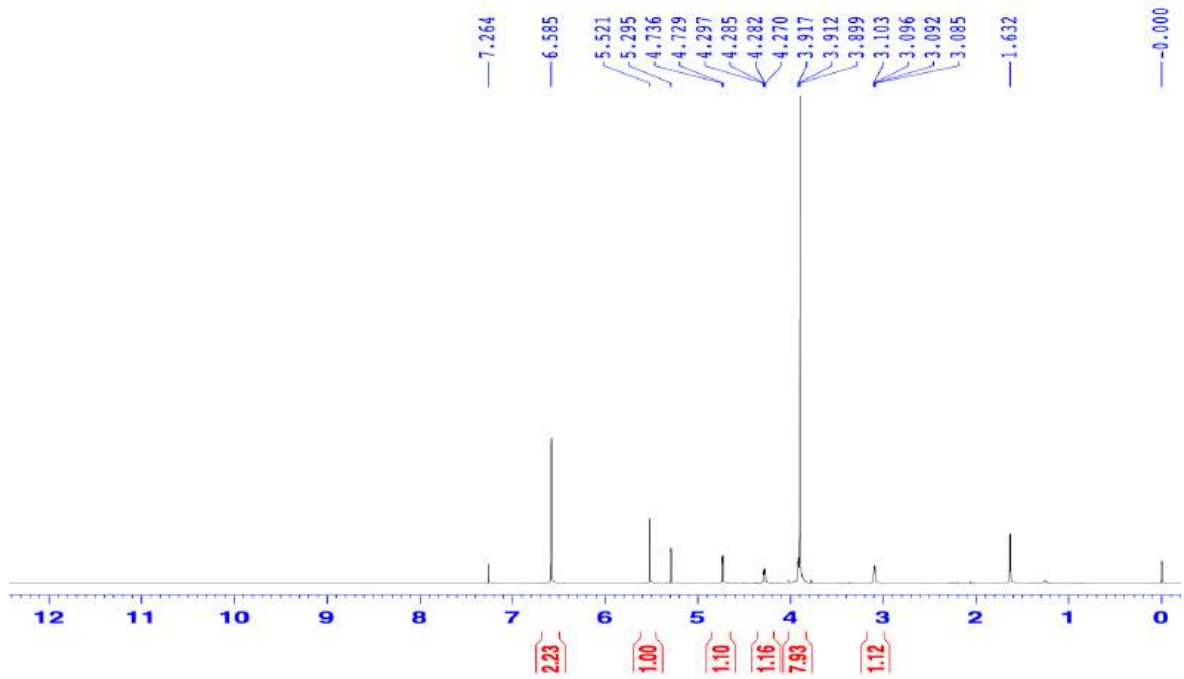
4.2.5. Hợp chất **MT5**: (+)-syringaresinol

Hợp chất **MT5** phân lập được dưới dạng dầu, màu vàng nhạt.

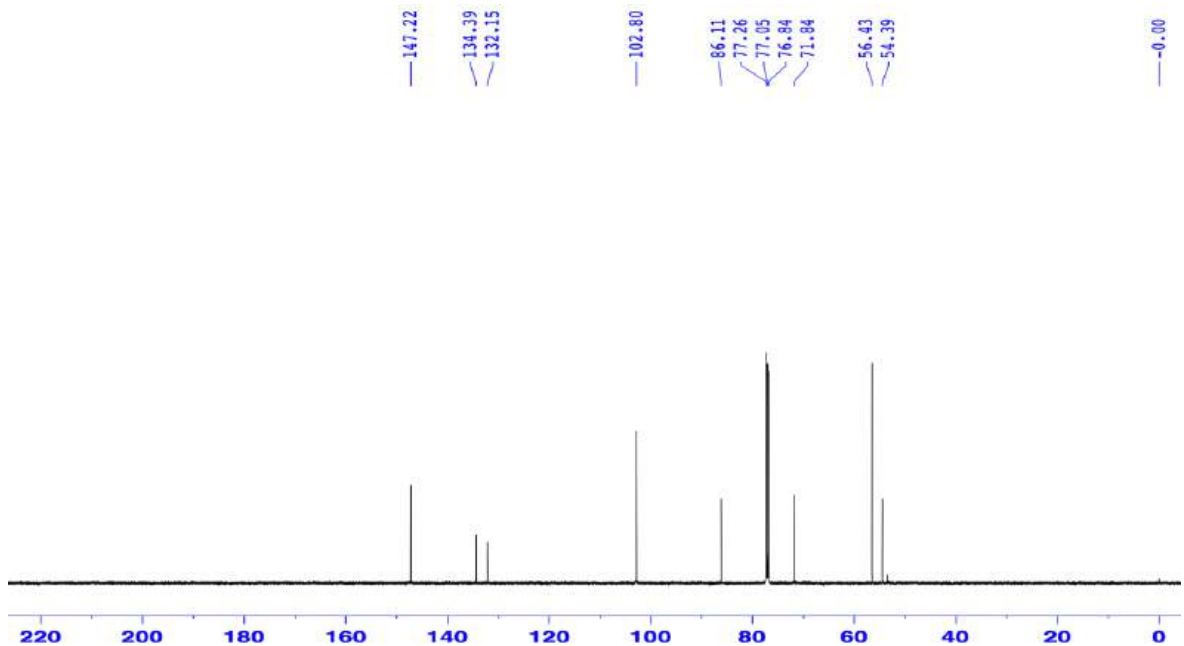
Phổ 1H NMR (hình 4.49) của hợp chất **MT5** ghi nhận tín hiệu của 2 proton tương đương của một nhân thơm bốn nhóm thế tại δ_H 6,59 (2H, s). Phổ 1H NMR của hợp chất **MT5** còn ghi nhận 1 nhóm methine mang oxygen tại δ_H 4,73 (1H, d, $J = 4,3$ Hz), 1 nhóm methine tại δ_H 3,09 (1H, ddd, $J = 6,7, 4,3$ Hz) và 1 nhóm methylene mang oxygen tại δ_H 4,28 (1H, dd, $J = 9,2, 6,7$ Hz) và 3,92 (1H, dd, $J = 9,2, 3,8$ Hz). Bên cạnh đó, tín hiệu của 2 nhóm methoxy tại δ_H 3,90 (6H, s, OMe) và 1 proton trao đổi nhanh tại δ_H 5,52 (1H, OH, s).

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.50) cùng với phổ HSQC (hình PL262) của hợp chất **MT5** ghi nhận tín hiệu của 6 carbon vùng nhân thơm [δ_C 147,22 ($\times 2$), 134,39, 132,15 và 102,80 ($\times 2$)], 1 carbon nhóm methylene mang oxygen tại δ_C 71,84, 1 nhóm methine mang oxygen tại δ_C 86,11, 1 nhóm methine tại δ_C 54,39 và 2 nhóm methoxy tại δ_C 56,43 ($\times 2$).

Các tín hiệu của phổ 1H và ^{13}C NMR cho phép ta dự đoán về một hợp chất tetrahydrofuran có cấu tạo dạng C6-C3 tương tự như hợp chất **ML10**.



Hình 4.49. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT5**



Hình 4.50. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT5**

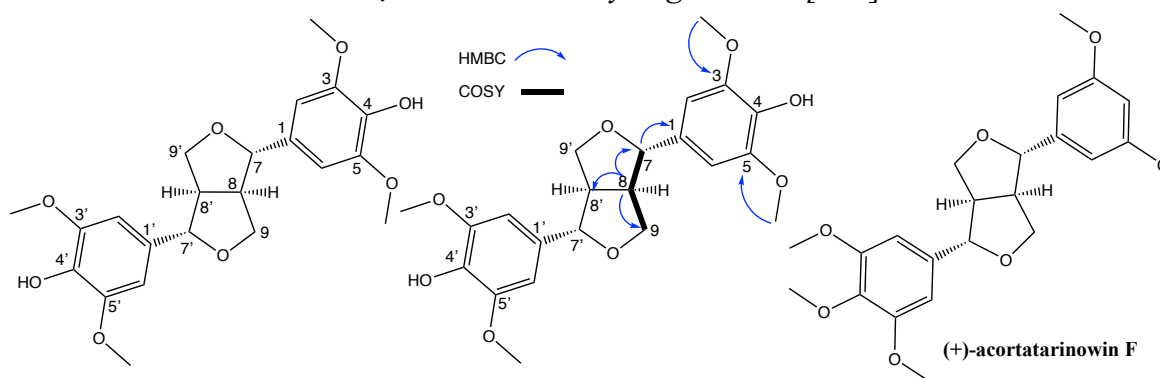
Phổ khối ESI-MS ở chế độ positive (hình PL266) cho tín hiệu tại m/z 419,05 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ở chế độ negative (hình PL267) cho tín hiệu tại m/z 417,05 $[\text{M}-\text{H}]^-$ vì vậy khối lượng phân tử của hợp chất **MT5** là $M = 418$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$. Kết hợp với phổ ^{13}C NMR, hợp chất **MT5** được xác định là một lignan có cấu trúc đối xứng tương tự **ML10**. Trên phổ CD (hình PL268) của **MT5** xuất hiện các hiệu ứng Cotton dương tại λ_{max} 203 ($\Delta\epsilon+22,58$), 233 ($\Delta\epsilon+1,43$), 288 ($\Delta\epsilon+1,43$) nm khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của (+)-acortatarinowin F tại λ_{max} 211 ($\Delta\epsilon+6,5$), 228 ($\Delta\epsilon+0,9$), 276 ($\Delta\epsilon+0,6$) nm [143] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **MT5** là $7S,7'S,8R,8'R$.

Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT5**

Vị trí	* $\delta_C^{a,c}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	132,0	132,15	C				
2	102,6	102,80	CH	6,59 s	6,59 s	1,3,4,6,7	
3	147,1	147,22	C				
4	134,2	134,39	C	5,52 s (OH)	5,57 s (OH)	3,4,5	
5	147,1	147,22	C				
6	102,6	102,80	CH	6,59 s	6,59 s	1,2,3,4,7	
7	86,0	86,11	CH	4,73 d (4,3)	3,10 m	1,2,6,8	8
8	54,2	54,39	CH	3,09 dd (6,7, 4,3)	4,74 d (4,3)	1,7,8,9,8'	7,9
9	71,7	71,84	CH ₂	4,28 dd (9,2, 6,7) 3,92 dd (9,2, 3,8)	4,29 dd (9,2, 6,7) 3,90 m	7,8,1	9
1'	132,0	132,15	C				
2'	102,6	102,80	CH	6,59 s	6,59 s	1',3',4',6',7'	
3'	147,1	147,22	C				
4'	134,2	134,39	C	5,52 s (OH)	5,57 s (OH)		
5'	147,1	147,22	C				
6'	102,6	102,80	CH	6,59 s	6,59 s	1',2',3',4',7'	
7'	86,0	86,11	CH	4,73 d (4,3)	3,10 m	1',2',6',8'	8'
8'	54,2	54,39	CH	3,09 dd (6,7, 4,3)	4,74 d (4,3)	1',7',8',9',8	7',9'
9'	71,7	71,84	CH ₂	4,28 dd (9,2, 6,7) 3,92 dd (9,2, 3,8)	4,29 dd (9,2, 6,7) 3,90 m	7',8',1'	9'
3-OMe	56,3	56,43	CH	3,90 s	3,90 s	2,3	
5-OMe	56,3	56,43	CH	3,90 s	3,90 s	5,6	
3'-OMe	56,3	56,43	CH	3,90 s	3,90 s	2',3'	
5'-OMe	56,3	56,43	CH	3,90 s	3,90 s	5',6'	

^aĐo trong CDCl₃, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d500 MHz, ^e125 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của syringaresinol [144].



λ_{\max} 203 ($\Delta\epsilon$ +22,58), 233 ($\Delta\epsilon$ +1,43), 288 ($\Delta\epsilon$ +1,43) nm

λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) 211 ($\Delta\epsilon$ +6,5), 228 ($\Delta\epsilon$ +0,9), 276 ($\Delta\epsilon$ +0,6) nm

Hình 4.51. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT5** và giá trị phổ CD của hợp chất **MT5** và hợp chất tham khảo

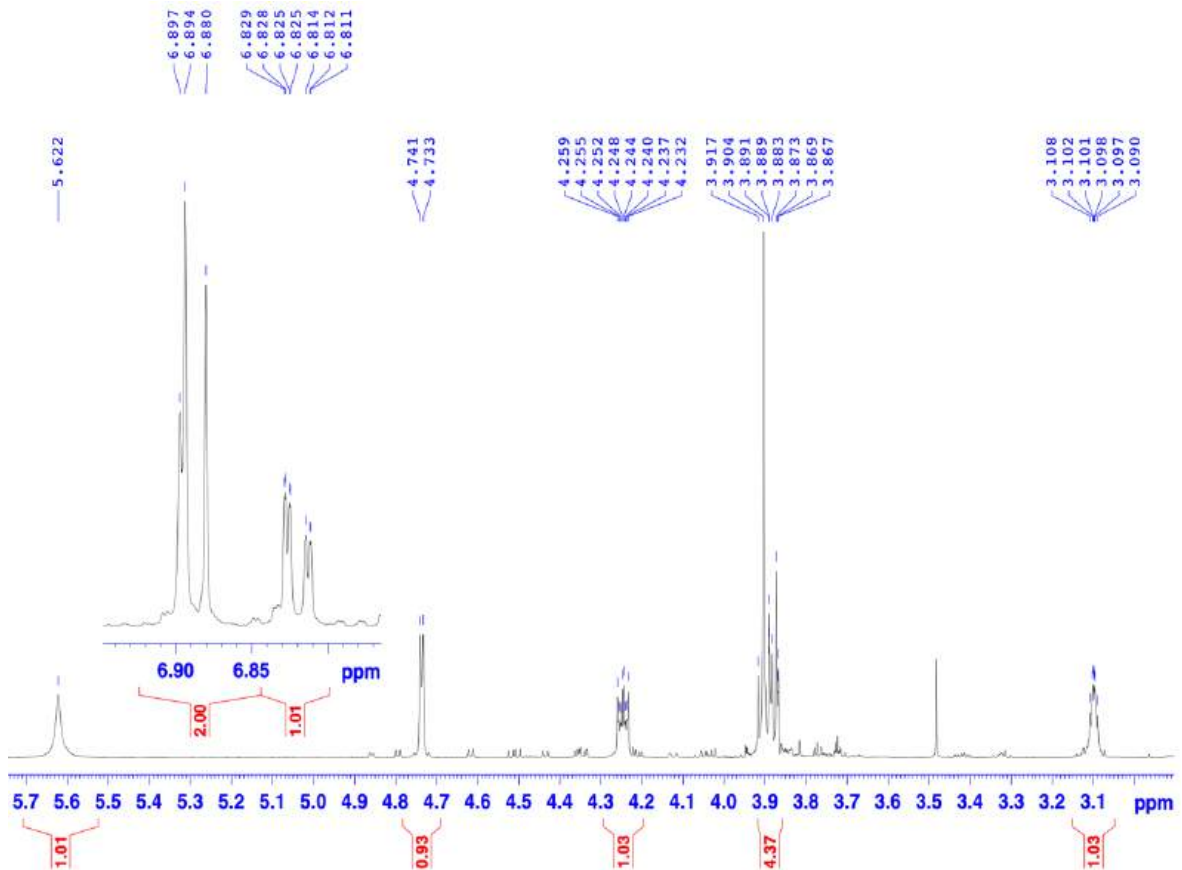
Dựa trên các dữ liệu phổ NMR (bảng 4.19) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [144], xác định **MT5** là (+)-syringaresinol có công thức cấu tạo như trên hình 4.51.

4.2.6. Hợp chất **MT6**: (+)-pinoresinol

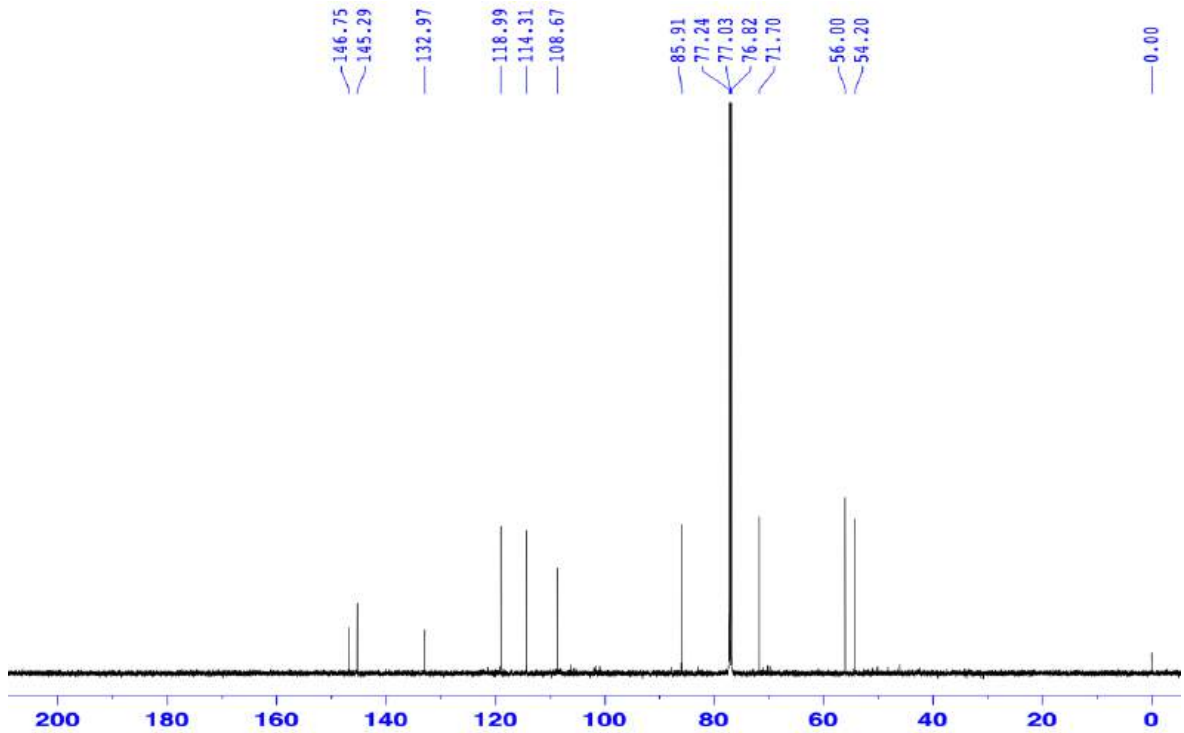
Hợp chất **MT6** phân lập được dưới dạng chất rắn màu trắng.

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.52) của **MT6** ghi nhận tín hiệu của một nhân thơm dạng ABX tương tự như hợp chất **MT5** [δ_{H} 6,90 (d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,89 (d, $J = 8,5$ Hz, H-5), 6,82 (dd, $J = 8,5, 2,0$ Hz, H-6)]. Trên phổ ^1H NMR của **MT6** cũng ghi nhận tín hiệu của một proton nhóm methine mang oxygen [δ_{H} 4,74 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H-7)], một proton của nhóm methine [δ_{H} 3,10 (1H, m, H-8)], hai proton của nhóm methylen mang oxygen [δ_{H} 4,25 (1H, dd, $J = 10,0, 6,9$ Hz, H-9a), 3,88 (1H, dd, $J = 10,0, 4,2$ Hz, H-9b)]. Ngoài ra, tín hiệu của nhóm methoxy tại δ_{H} 3,90 (3H, s, 3-OCH₃) cũng được ghi nhận.

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.53) của hợp chất **MT6** ghi nhận tín hiệu của 10 carbon bao gồm 6 carbon của nhân thơm [δ_{C} 132,97 (C-1), 108,67 (C-2), 146,75 (C-3), 145,29 (C-4), 144,31 (C-5), 118,99 (C-6)], một carbon mang oxygen (δ_{C} 85,91, C-7), một carbon của nhóm methine (δ_{C} 54,20, C-8), một carbon của nhóm methylene mang oxygen (δ_{C} 71,70, C-9) và một nhóm methoxy tại δ_{C} 56,00.



Hình 4.52. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT6**

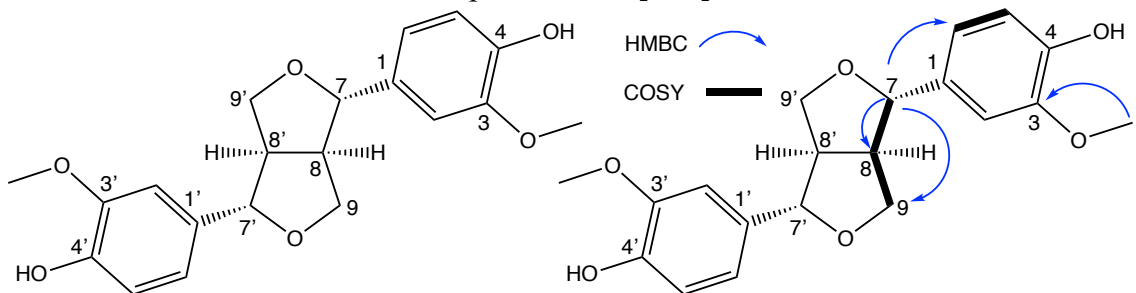


Hình 4.53. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT6**

Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT6**

Vị trí	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,e}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,d}}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H \rightarrow C)	COSY (H \rightarrow H)
1/1'	132,9	132,97				
2/2'	108,6	108,67	6,90 d (2,0)	6,90 d (2,0)	1,3,4,6,7	
3/3'	146,7	146,75				
4/4'	145,2	145,29				
5/5'	114,2	114,31	6,89 d (8,5)	6,87 d (8,5)	1,2,3,4,7	6
6/6'	118,9	118,99	6,82 dd (8,5, 2,0)	6,81 dd (8,0, 2,0)	1,2,4,7	5
7/7'	85,8	85,91	4,74 d (4,8)	4,73 d (4,5)	1,2,6,8,9	8
8/8'	54,1	54,20	3,10 m	3,09 m	1,7	7,9
9/9'	71,6	71,70	4,25 dd (10,0, 6,9) 3,88 dd (10,0, 4,2)	4,26, dd (9,0, 7,0) 3,86 dd (9,0, 3,5)	7,8	8
3,3'- OCH ₃	55,9	56,00	3,90 s	3,89 s	3,3'	

^aĐo trong CD_3OD , ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d500 MHz, ^e125MHz *Giá trị ^{13}C và ^1H của pinoresinol [145].



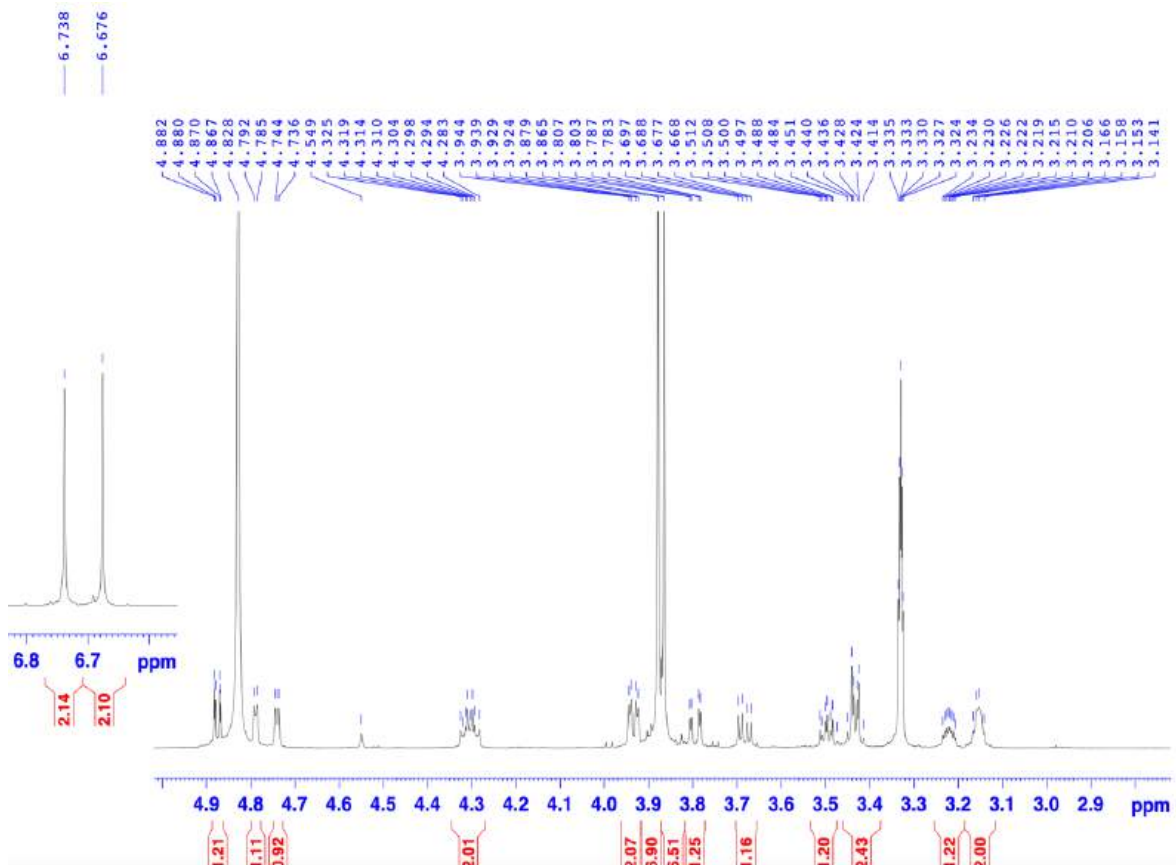
Hình 4.54. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT6**

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR thì độ dôi hóa học của **MT6** được trình bày trong bảng 4.20 và hợp chất **MT6** được xác định là (+)-pinoresinol khi so sánh với tài liệu tham khảo [145] và các hiệu ứng Cotton dương trên phổ CD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) 205 (+2,11), 228 (+0,33), 284 (+0,18) nm (hình PL275) khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của (+)-acortatarinowin F tại λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) 211 (+6,5), 228 (+0,9), 276 (+0,6) nm [143] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **MT6** là 7*S*,7'*S*,8*R*,8'*R*. Công thức cấu tạo của **MT6** được biểu diễn trên hình 4.54.

4.2.7. Hợp chất **MT7**: (-)-*acanthoside B*

Hợp chất **MT7** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu vàng.

Phổ ^1H NMR (hình 4.55) của hợp chất **MT7** ghi nhận tín hiệu của hai cặp proton tương đương của hai nhân thơm 3 nhóm thế tại δ_{H} 6,74 (2H, s) và 6,68 (2H, s), điều này chứng tỏ hai nhân thơm này có cặp proton ở vị trí *meta* với nhau. Các tín hiệu đặc trưng của khung furofuran lignan được ghi nhận trên phổ proton tại δ_{H} 3,15 (1H, m, H-8'), 4,74 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H-7'), 3,94 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-9a), 3,93 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-9b), 3,16 (1H, m, H-8), 4,79 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, H-7) và 4,30 (2H, m, H-9'). Bên cạnh đó, phổ ^1H NMR (hình 4.13) của hợp chất **MT7** còn ghi nhận các tín hiệu của các nhóm methoxy tại δ_{H} 3,87 (6H, s) và 3,88 (6H, s). Tín hiệu của một proton anomer ghi nhận tại δ_{H} 4,87 (1H, dd, $J = 7,2, 1,5$ Hz, H-1''') dự đoán về một gốc đường trong phân tử.

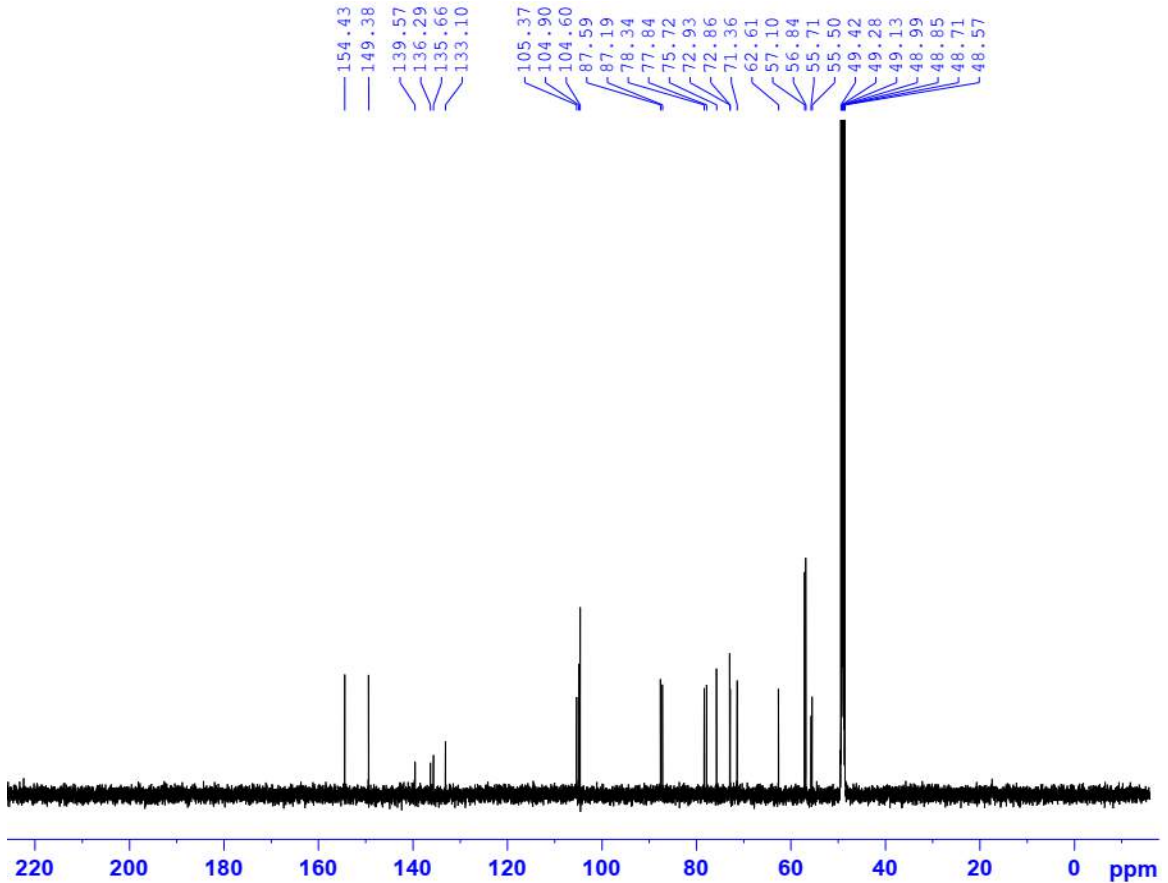


Hình 4.55. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT7**

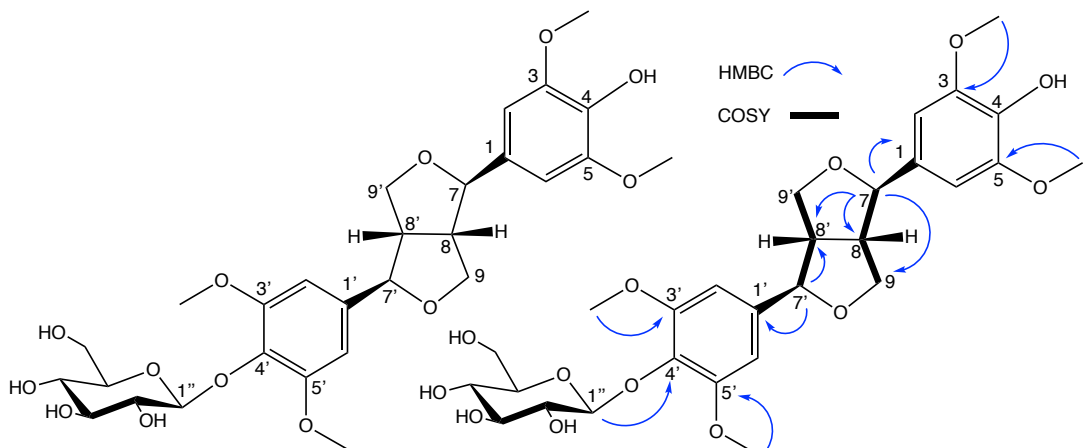
Phổ ^{13}C NMR (hình 4.56) của hợp chất **MT7** ghi nhận tín hiệu của 28 carbon.

Phổ COSY (hình PL284) của hợp chất **MT7** cũng xác nhận khung furofuran của hợp chất lignan (bảng 4.21).

Phổ HMBC (hình PL281) của hợp chất **MT7** ghi nhận tín hiệu của proton anomer H-1'' với carbon C-4' (δ_{C} 135,66) của nhân thơm.



Hình 4.56. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT7**



Hình 4.57. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT7**

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR thì độ dời hóa học của **MT7** được trình bày trong bảng 4.21 và hợp chất **MT7** được xác định là (-)-acanthoside B khi so sánh với tài liệu tham khảo [146] cùng với các giá trị đo được trên phổ CD (hình PL286)

ghi nhận hiệu ứng Cotton tại λ_{\max} 205 ($\Delta\varepsilon$ -5,81), 233 ($\Delta\varepsilon$ -1,42) nm khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của (-)-sesamin-2,2'-diol tại λ_{\max} 213 ($\Delta\varepsilon$ -13,3), 234 ($\Delta\varepsilon$ -3,6) nm [134] cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **MT7** là 7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*. Công thức cấu tạo của **MT7** được biểu diễn trên hình 4.57.

Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT7**

Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,e}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	139,57	139,57	C				
2	104,85	104,90	CH	6,74 s	6,71 s	1,3,4,5,6	
3	154,44	154,43	C				
4	135,60	135,66	C				
5	154,44	154,43	C				
6	104,85	104,90	CH	6,74 s	6,71 s	1,2,3,4,5	
7	87,21	87,19	CH	4,79 d (4,2)	4,76 d (4,0)	1,2,6,8,9,8'	8
8	55,54	55,50	CH	3,16 m	3,13 m		9,7
9	72,92	72,93	CH ₂	3,94 d (3,0) 3,93 d (3,0)	3,90 m	8,7',8'	9,8
3,5-OCH ₃	57,10	57,10	CH ₃	3,87 s	3,84 s	3,5,2,6	
1'	133,10	133,10	C				
2'	104,53	104,60	CH	6,68 s	6,65 s	1',3',4',5',6',7'	
3'	149,37	149,38	C				
4'	136,23	136,29	C				
5'	149,37	149,38	C				
6'	104,53	104,60	CH	6,68 s	6,65 s	1',2',3',4',5',7'	
7'	87,62	87,59	CH	4,74 d (4,8)	4,76 d (4,2)	1',2',6',8',9'	8'
8'	55,75	55,71	CH	3,15 m	3,13 m		7',9'
9'	72,95	72,86	CH ₂	4,30 m	3,28 m	8',8	8',9'
3',5'-OCH ₃	56,84	56,84	CH ₃	3,88 s	3,86 s	3',5'	
1''	105,36	105,37	CH	4,87 dd (7,2, 1,5)	4,85 [#]	4	2''
2''	75,73	75,72	CH	3,50 ddd (14,4, 7,2, 2,4)	3,47 m	1'',3''	1'',3''
3''	77,85	77,84	CH	3,43 d (2,4)	3,41 m		2''
4''	71,35	71,36	CH	3,44 d (2,4)	3,41 m	6''	5''
5''	78,36	78,34	CH	3,22 m	3,20 m		4'',6''
6''	62,60	62,61	CH ₂	3,80 dd (12,0, 2,4) 3,68 dd (12,0, 5,4)	3,77 dd (12,1, 2,6) 3,66 dd (12,1, 5,2)	4'',5''	5''

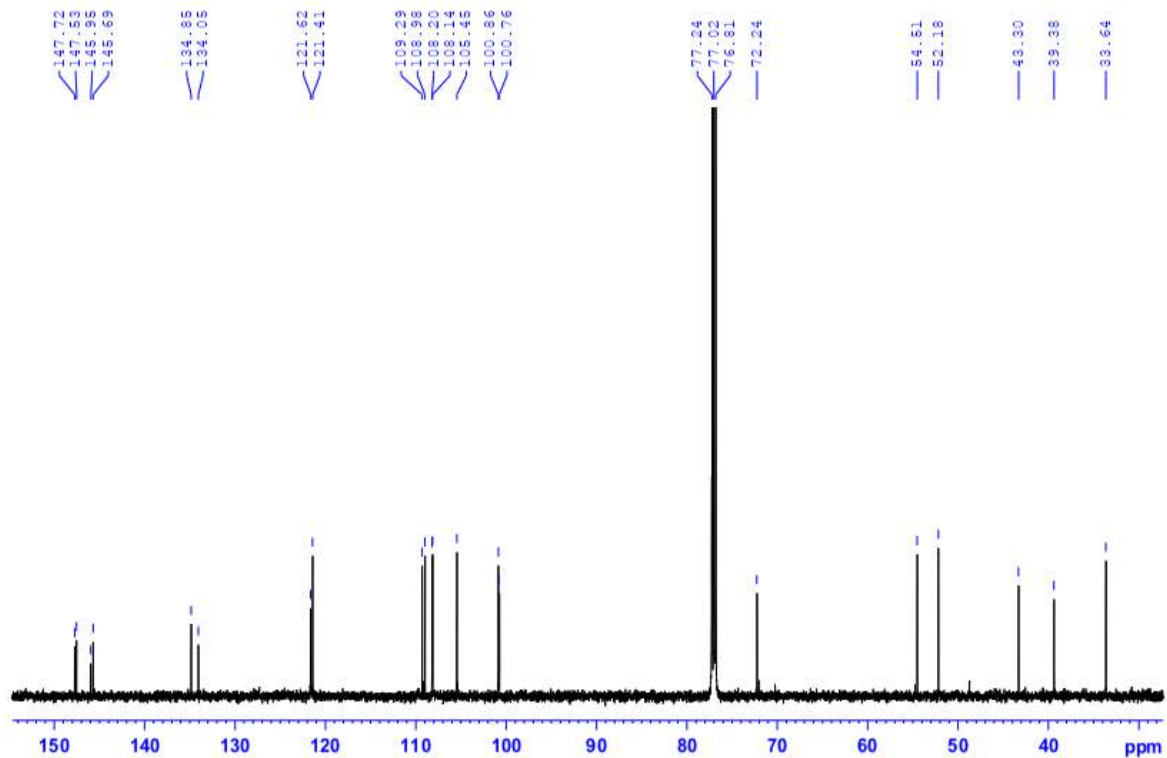
^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d400 MHz, ^e100MHz, [#]overlapped *Giá trị ¹³C và ¹H của acanthoside B [146].

Phổ khối ESI-MS chế độ positive (hình PL287) cho các tín hiệu tại m/z 401,04 [(M+H)-Glc]⁺, 419,16 [(M+H)-Glc+H₂O]⁺, 598,14 [M+H₂O]⁺ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT7** là $M = 580$ phù hợp với công thức phân tử là C₂₈H₃₆O₁₃.

4.2.8. Hợp chất **MT8**: (9*S*)-9-*O*-methylcubebin

Hợp chất **MT8** phân lập được dưới dạng dầu màu vàng nhạt. Các tín hiệu trên các phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất **MT8** định hướng về một hợp chất lignan tetrahydrofuran tương tự như **ML11**.

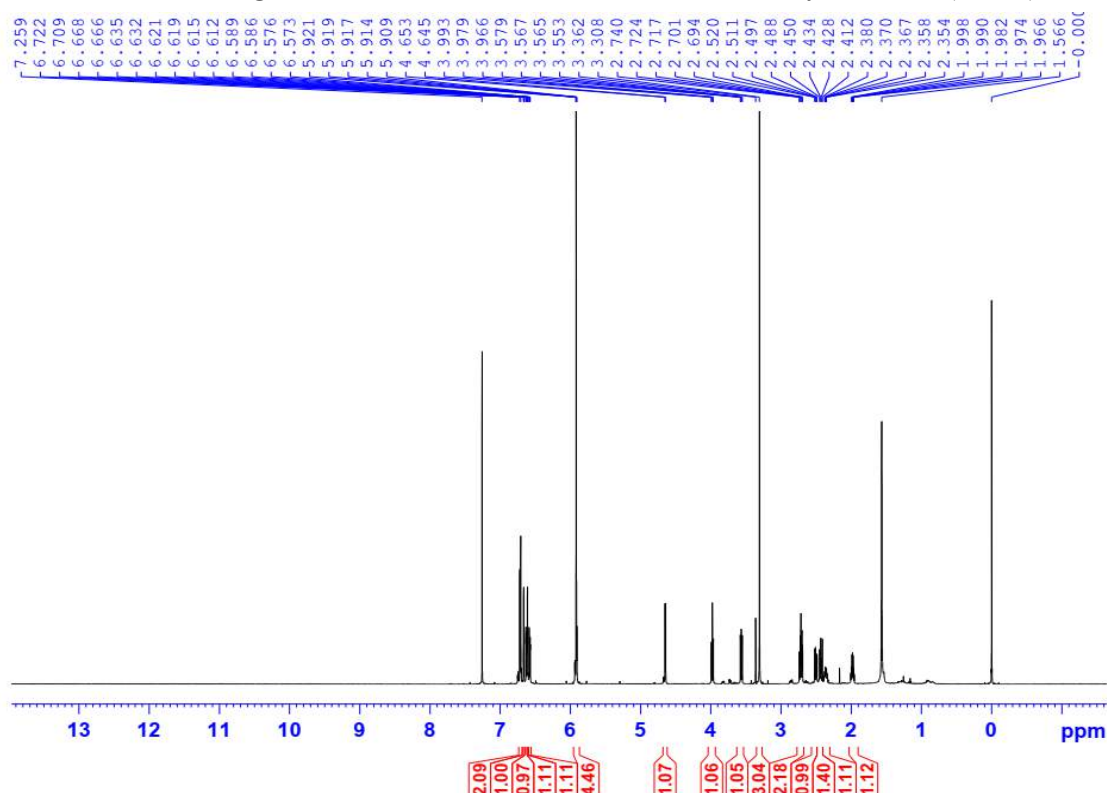
Trên phổ ¹³C NMR (hình 2.58) của hợp chất **MT8** ghi nhận tín hiệu của 21 carbon, bao gồm 12 carbon của 2 vòng thơm [δ_C 134,05, 109,29, 147,72, 145,95, 108,20, 121,62, 134,85, 108,98, 147,53, 145,69, 108,14, 121,41]; 4 carbon của vòng tetrahydrofuran [δ_C 52,18 (C-8), 105,45 (C-9), 43,30 (C-8') và 72,24 (C-9')], 2 carbon của nhóm methylene [δ_C 33,64 (C-7) và 39,38 (C-7')], 2 carbon dioxymethylene [δ_C 100,86, 100,76] và một nhóm methoxy tại δ_C 54,51.



Hình 4.58. Phổ ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) của hợp chất **MT8**

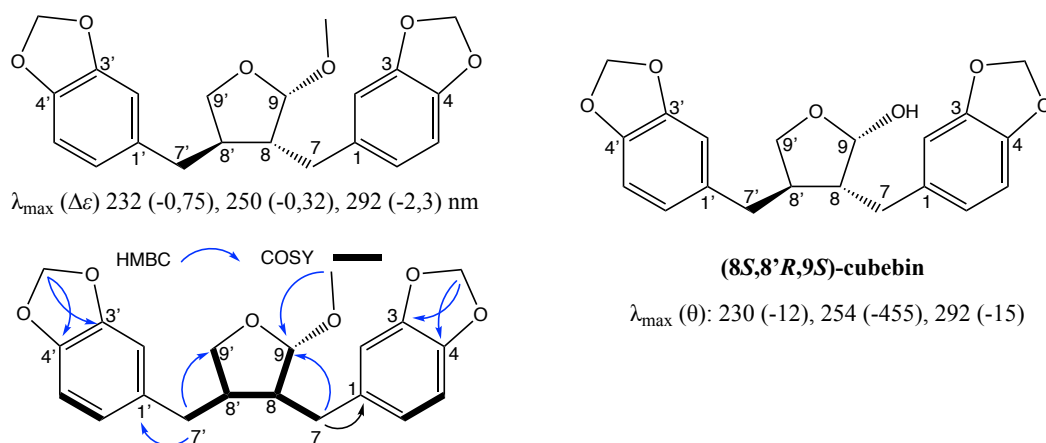
Trên phổ ¹H NMR (hình 2.59) của **MT8** xuất hiện các tín hiệu của 2 vòng thơm dạng ABX [δ_H 6,67 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 6,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,63 (1H, dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, H-6)] và [6,62 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2'), 6,71 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 6,58 (1H, dd, $J = 8,0, 1,8$ Hz, H-6')], 4 proton của hai nhóm dioxymethylene tại δ_H 5,92 (4H, m), tín hiệu của 1 vòng tetrahydrofuran với 4 proton: 2 proton methine tại δ_H 1,98 (1H, m, H-8), 2,37 (1H, m, H-8'), 2 proton của nhóm oxymethylene tại δ_H 3,98 (1H, t, $J = 8,4$ Hz, H-9_a') và 3,57 (1H, dd, $J = 8,4, 7,2$ Hz, H-9_b') và 1 proton của

nhóm methine mang oxygen tại δ_H 4,65 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H-9). Ngoài ra, phổ 1H NMR của **MT8** còn ghi nhận tín hiệu của một nhóm methoxy tại 3,31 (3H, s).



Hình 4.59. Phổ 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) của hợp chất **MT8**

Phổ khối ESI-MS (hình PL297) chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 371,31 $[M+H]^+$, 338,97 $[M+H-MeOH]^+$, 320,99 $[M+H-MeOH-H_2O]^+$, do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT8** là $M = 370$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{22}H_{24}O_8$.



Hình 4.60. Cấu trúc hóa học, tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT8** và giá trị phổ CD của hợp chất **MT8** và hợp chất tham khảo

Các dữ liệu phổ NMR cho thấy **MT8** là một lignan dạng tetrahydrofuran; ngoài ra, trên phổ CD xuất hiện các hiệu ứng Cotton tại λ_{max} 232 ($\Delta\epsilon$ -0,75), 251 ($\Delta\epsilon$ -0,32), 292 ($\Delta\epsilon$ -2,3) nm (hình PL298) khá phù hợp với các hiệu ứng Cotton của (8*S*,8'*R*,9*S*)-cubebin tại λ_{max} (θ): 230 (-12), 254 (-455), 292 (-15) cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của **MT8** là 8*S*,8'*R*,9*S* [147]. Sau khi tổng hợp số liệu phổ, **MT8** được xác định

là (9*S*)-9-*O*-methylcubebin. Công thức cấu tạo của **MT8** được biểu diễn trên hình 4.60.

Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT8**

Vị trí	* $\delta_C^{a,c}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	134,0	134,05				
2	109,3	109,29	6,67 d (1,5)	6,70 - 6,50 m	3,4,6,7	
3	147,6	147,72				
4	145,8	145,95				
5	108,2	108,20	6,72 d (8,0)	6,70 - 6,50 m	1,2,3,4,6	6
6	121,6	121,62	6,63 dd (8,0, 1,5)	6,70 - 6,50 m	2,7	5
7	33,6	33,64	2,72 d (4,2) 2,50 dd (13,8, 5,4)	2,70 m 2,50-2,30 m	1,2,6,9	8,7
8	52,1	52,18	1,98 m	2,00 m	1,9	7,9,8'
9	105,4	105,45	4,65 d (4,8)	4,64 d (4,4)	8,8',9',OMe	
OCH ₂ O	100,8	100,86	5,92 m	5,92 s	3,4	
9-OCH ₃	54,5	54,51	3,31 s	3,30 s	9	
1'	134,7	134,85				
2'	108,9	108,98	6,62 d (1,8)	6,70 - 6,50 m	3',4',6'	
3'	147,4	147,53				
4'	145,6	145,69				
5'	108,1	108,14	6,71 d (8,0)	6,70 - 6,50 m	1',3',4'	6'
6'	121,4	121,41	6,58 dd (8,0, 1,8)	6,70 - 6,50 m	2',7'	5'
7'	39,3	39,38	2,70 d (4,2) 2,43 dd (13,2, 9,6)	2,70 m 2,50-2,30 m	1',2',6',9	7',8'
8'	43,2	43,30	2,37 m	2,50-2,30 m		7',9',8
9'	72,2	72,24	3,98 t (8,4) 3,57 dd (8,4, 7,2)	3,97 dd (8,2, 8,0) 3,56 dd (8,2, 7,0)	7',8',8,9	8',9'
OCH ₂ O	100,7	100,76	5,92 m	5,92 s	3',4'	

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d400 MHz, ^e100MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của (9*S*)-9-*O*-methylcubebin [148].

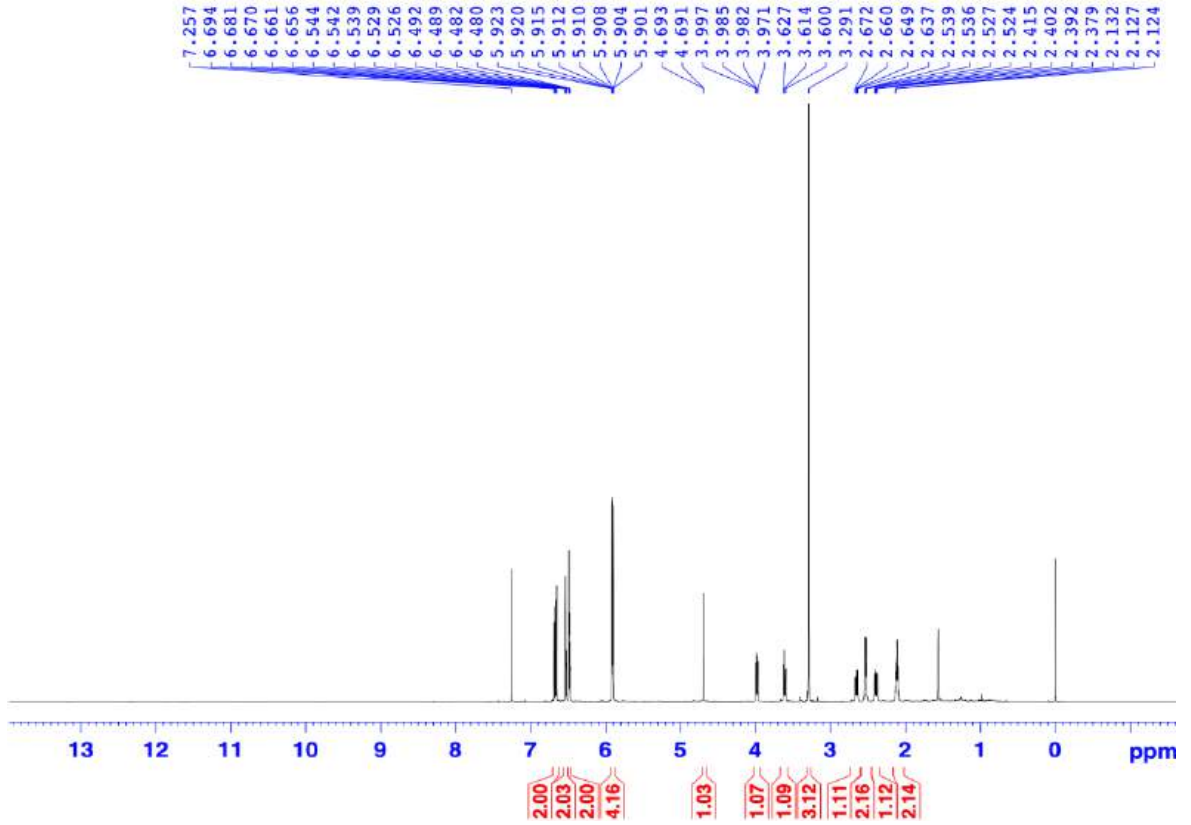
4.2.9. Hợp chất **MT9**: (9*R*)-9-*O*-methylcubebin

Hợp chất **MT9** phân lập được dưới dạng dầu màu vàng nhạt.

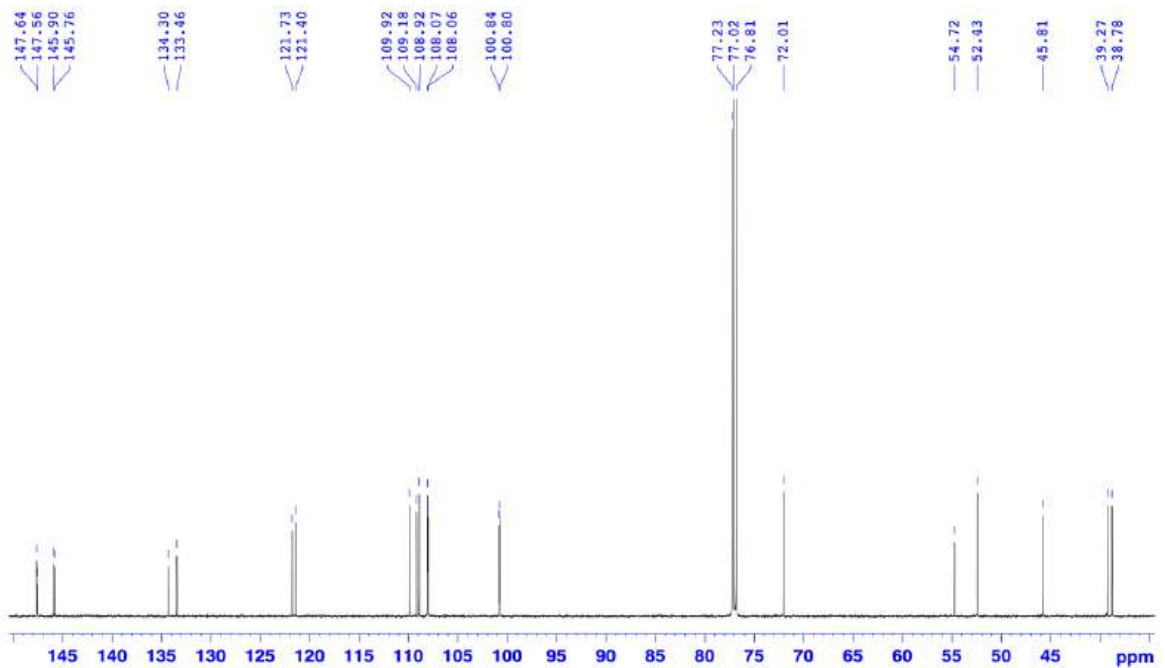
So sánh dữ liệu phổ ¹H (hình 4.61) và ¹³C NMR (hình 4.62) của **MT9** và **MT8** cho thấy rằng 2 hợp chất này có cấu trúc khá tương đồng.

Phổ khối ESI-MS (hình PL308) chế độ positive cho tín hiệu tại *m/z* 371,24 [M+H]⁺, 339,15 [M+H-MeOH]⁺, 321,13 [M+H-MeOH-H₂O]⁺ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT9** là M = 370 phù hợp với công thức phân tử là C₂₂H₂₄O₈. Như vậy, có thể xác nhận hợp chất **MT9** là một đồng phân epimer của hợp chất **MT8**.

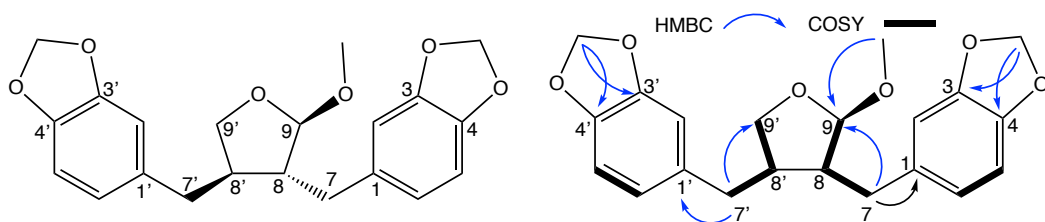
Sau khi so sánh với tài liệu tham khảo [148], hợp chất **MT9** được xác định là (9*R*)-9-*O*-methylcubebin (bảng 4.23). Công thức cấu tạo của **MT9** được biểu diễn trên hình 4.63.



Hình 4.61. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT9**



Hình 4.62. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT9**



Hình 4.63. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT9**

Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT9**

Vị trí	* $\delta_C^{a,c}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	134,3	134,30				
2	109,2	109,18	6,54 d (1,5)	6,55-6,45 m	3,4,5,6,7	
3	147,6	147,64				
4	145,8	145,90				
5	108,1	108,07	6,66 d (8,4)	66,68 d (8,5)	1,2,3,4	6
6	121,7	121,73	6,53 dd (8,4, 1,5)	6,55-6,45 m	2,4,5,7	5
7	38,8	38,78	2,65 dd (13,8, 7,2) 2,40 dd (13,8, 7,8)	2,65 dd (14,0, 7,5) 2,39 dd (14,0, 8,0)	2,6,8,8'	8
8	52,4	52,43	2,10 m	2,10 m	1,9,7',8',9'	7
9	109,9	109,92	4,69 d (1,2)	4,68 d (1,4)	7,8,8',9',OMe	
OCH ₂ O	100,8	100,80	5,91 dd (3,6, 1,5)	5,92 d (2,0)	3,4	
9-OCH ₃	54,7	54,72	3,29 s	3,29 s	9	
1'	133,4	133,46				
2'	108,9	108,92	6,49 d (1,5)	6,55-6,45 m	2',3',4',6',7'	
3'	147,5	147,56				
4'	145,7	145,76				
5'	108,1	108,06	6,69 d (7,8)	6,66 d (8,5)	1',2',3',4'	6'
6'	121,4	121,40	6,48 dd (7,8, 1,5)	6,55-6,45 m	2',4'	5'
7'	39,2	39,27	2,54 d (7,2) 2,53 d (7,2)	2,50 d (7,0)	2',6',8',9',1,8	
8'	45,8	45,81	2,12 m	2,10 m	1,8,9,7',8',9'	9'
9'	72,0	72,01	3,98 dd (9,0, 6,9) 3,61 t (7,8)	3,98 dd (8,8, 7,1) 3,60 dd (8,8, 8,0)	7',8',8	8'
OCH ₂ O	100,7	100,80	5,92 dd (4,8, 1,8)	5,92 d (2,0)	3',4'	

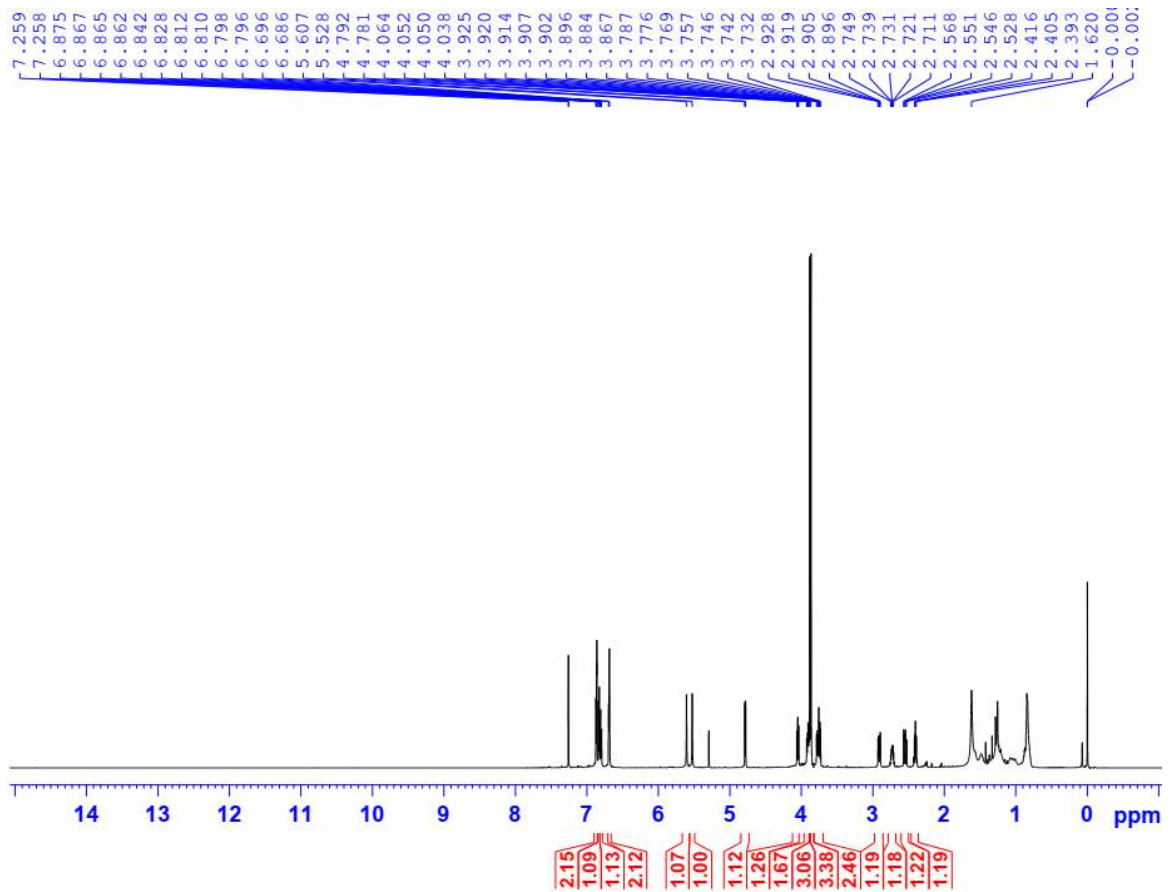
^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d400 MHz, ^e100MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của (9R)-9-O-methylcubebin [148].

4.2.10. Hợp chất **MT10: lariciresinol**

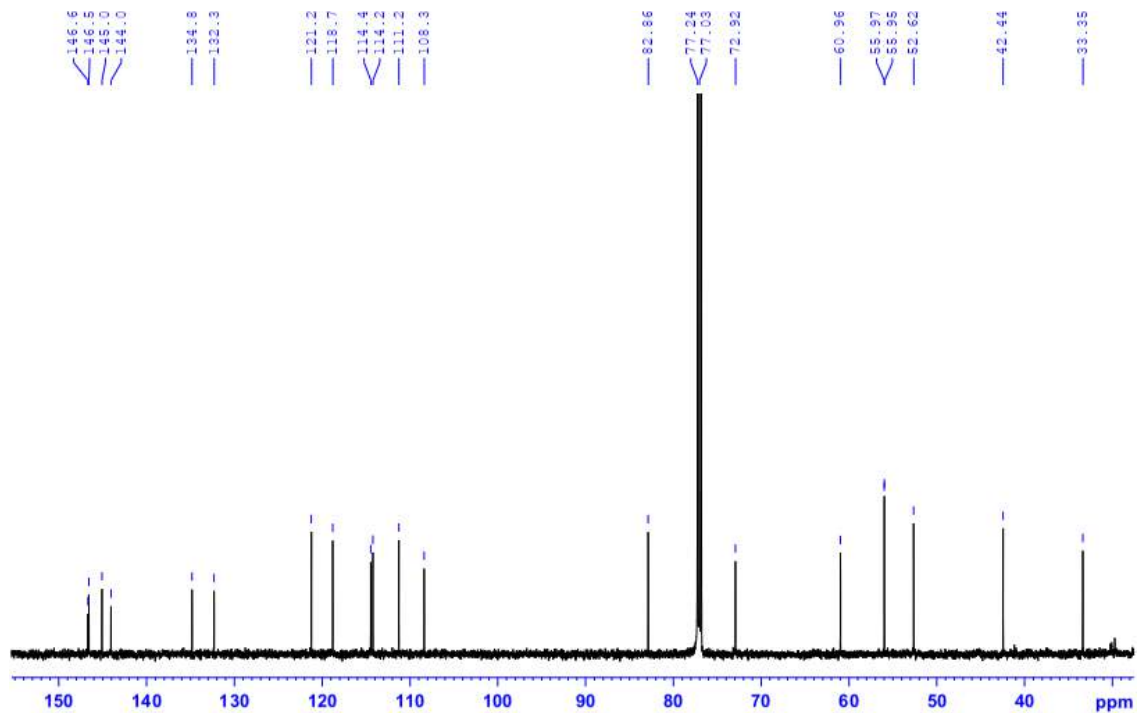
Hợp chất **MT10** phân lập dưới dạng dầu không màu.

Các tín hiệu trên phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất **MT10** gợi ý về một hợp chất lignan khung tetrahydrofuran tương tự như hợp chất **ML12**.

Trên phổ ¹³C NMR (hình 4.65) ghi nhận tín hiệu của 20 carbon bao gồm 12 carbon của 2 vòng thơm [δ_C 134,82, 108,37, 146,57, 145,08, 114,22, 118,79, 132,31, 111,26, 146,67, 144,04, 114,46, 121,23]; 4 carbon của vòng tetrahydrofuran [δ_C 82,86 (C-7), 52,62 (C-8), 42,44 (C-8'), 72,92 (C-9')], 1 carbon của nhóm methylene [δ_C 33,35 (C-7)], 1 carbon của nhóm methine mang oxygen [δ_C 60,96 (C-9)] và 2 nhóm methoxy [δ_C 55,95 (3-OCH₃), 55,97 (3'-OCH₃)].



Hình 4.64. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT10**



Hình 4.65. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) của hợp chất **MT10**

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.64) của **MT10** ghi nhận tín hiệu của 2 nhân thơm dạng ABX [δ_{H} 6,86 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-2), 6,87 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,80 (1H, dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, H-6)] và [δ_{H} 6,69 (1H, brs, H-2'), 6,83 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5'), 6,70 (1H, m, H-6')], 2 proton của nhóm methylene [δ_{H} 2,91 (1H, dd, $J = 13,6, 5,2$ Hz,

H-7a'), 2,55 (1H, dd, $J = 13,6, 10,6$ Hz, H-7b'), 2 proton của nhóm methylene mang oxygen [δ_H 3,91 (1H, dd, $J = 12,1, 7,0$ Hz, H-9a), 3,77 (1H, m, H-9b)] và một vòng tetrahydrofuran với 4 proton bao gồm 2 proton của nhóm methine [δ_H 2,40 (1H, m, H-8), 2,73 (1H, dp, $J = 12,2, 6,3$ Hz, H-8')], 2 proton của nhóm methylene mang oxygen [δ_H 4,05 (1H, ddd, $J = 7,7, 6,6, 1,0$ Hz, H-9a'), 3,74 (1H, m, H-9b')] và 1 proton của nhóm methine mang oxygen [δ_H 4,79 (1H, d, $J = 6,6$ Hz, H-7)].

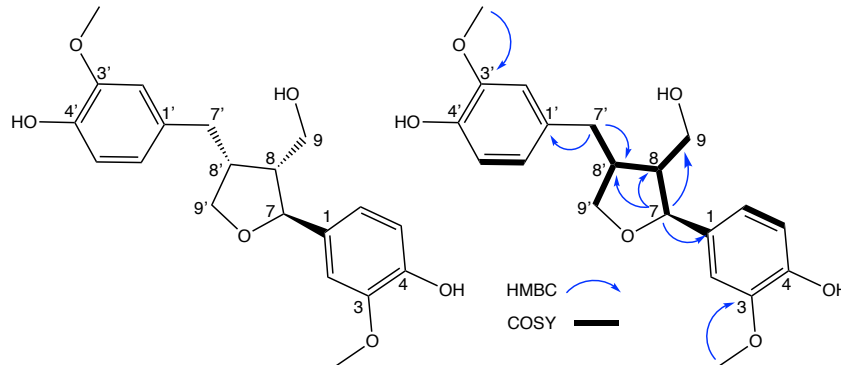
Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT10**

Vị trí	* $\delta_C^{a,c}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	134,79	134,82				
2	108,36	108,37	6,86 d (1,5)	6,85 d (2,0)	1,3,4,6,7	
3	146,65	146,57				
4	145,04	145,08				
5	114,20	114,22	6,87 d (8,0)	6,86 d (8,0)	1,2,3,6	6
6	118,75	118,79	6,80 dd (8,0, 1,5)	6,80 dd (8,0, 1,5)	2,4,7	5
7	82,83	82,86	4,79 d (6,6)	4,78 d (7,0)	1,2,6,8,9, 8',9'	8
8	52,50	52,62	2,40 m	2,40 m	1,7,9,7', 8',9'	7,9,8'
9	60,88	60,96	3,91 dd (12,1, 7,0) 3,77 m	3,92 m 3,73-3,78 m	7,8,8'	8
3-OCH ₃	55,92	55,95	3,87 s	3,86 s	3,4,5	
1'	132,28	132,31				
2'	111,24	111,26	6,69 brs	6,68 m	1',3',4',5',7'	
3'	146,55	146,67				
4'	144,01	144,04				
5'	114,44	114,46	6,83 d (8,4)	6,83 d (8,0)	1',2',3',4',6'	6'
6'	121,97	121,23	6,70 m	6,68 m	1',2',3',4', 5',7'	5'
7'	33,30	33,35	2,91 dd (13,6, 5,2) 2,55 dd (13,6, 10,6)	2,90 dd (13,5, 5,0) 2,54 dd (13,0, 10,5)	1',2',6',8', 9',8	8'
8'	42,41	42,44	2,73 dp (12,2, 6,3)	2,73 m	1',7,8,9	9',7',8
9'	72,88	72,92	4,05 ddd (7,7, 6,6, 1,0) 3,74 m	4,04 dd (8,5, 6,5) 3,74 dd (8,5, 6,2)	7',8',7,8	8'
3'-OCH ₃	55,92	55,97	3,88 s	3,87 s	3',4',5'	

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d500 MHz, ^e125MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của *lariciresinol* [149].

Phổ khối ESI-MS (hình PL318) chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 361,01 [M+H]⁺ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT10** là M = 370 phù hợp với công thức phân tử là C₂₀H₂₄O₆.

Sau khi phân tích chi tiết các phổ NMR (bảng 4.24), hợp chất **MT10** được xác định là lariciresinol khi so sánh với tài liệu tham khảo [149]. Công thức cấu tạo của **MT10** được biểu diễn trên hình 4.66.

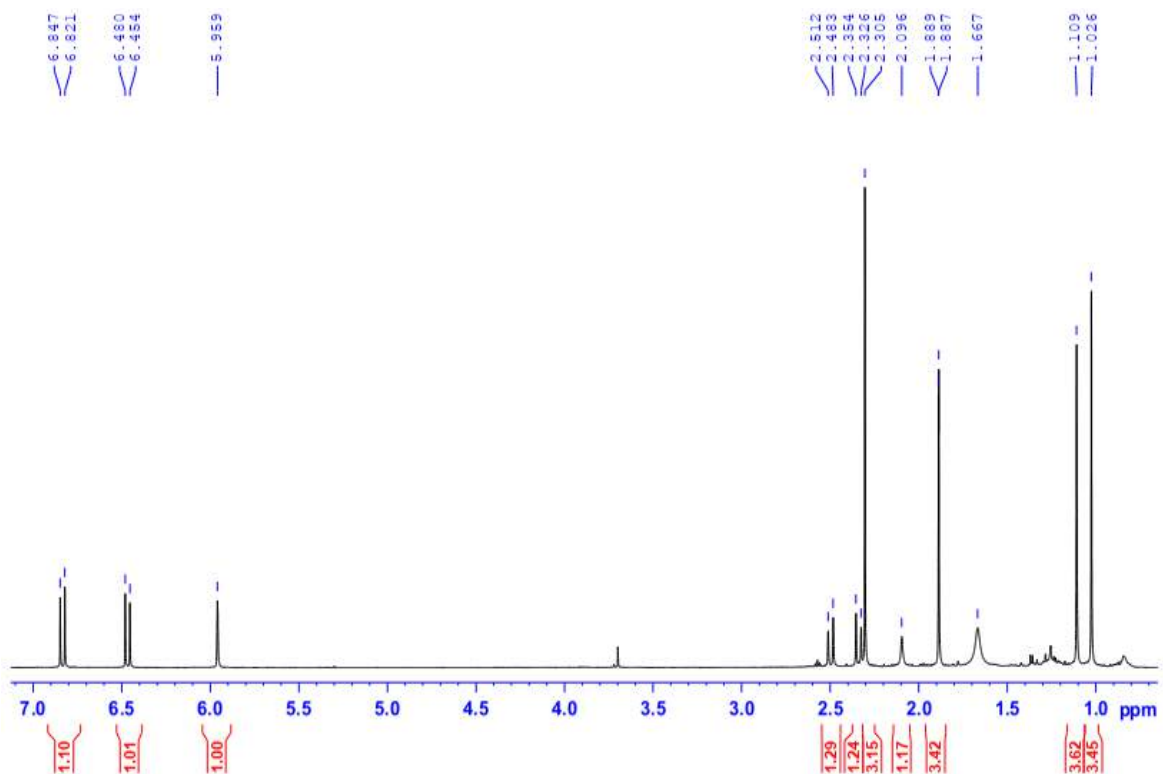


Hình 4.66. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT10**

4.2.11. Hợp chất **MT11**: *dehydrovomifoliol*

Hợp chất **MT11** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng.

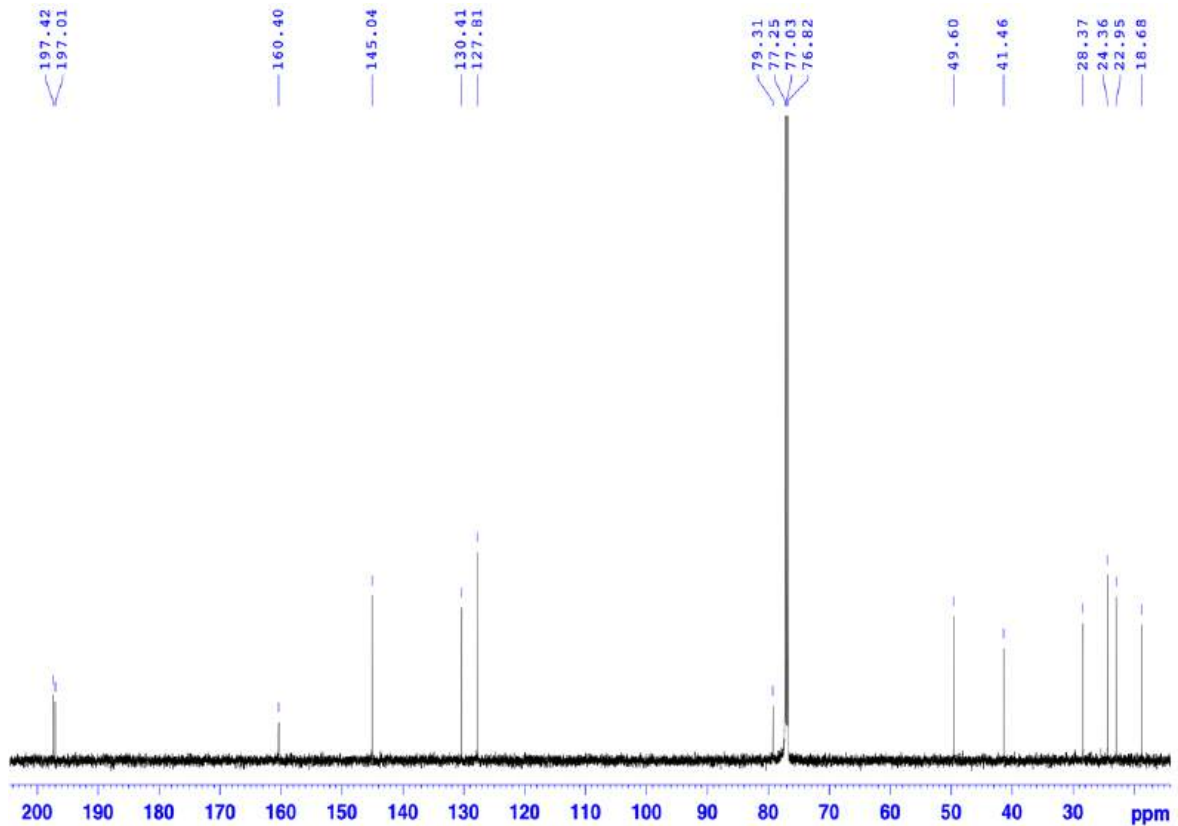
Trên phổ ^{13}C NMR (hình 4.68) ghi nhận tín hiệu của 13 carbon gồm 2 carbon carbonyl tại δ_{C} 197,42 và 197,01, 4 carbon olefinic tại δ_{C} 127,81, 160,40, 145,04, 130,41, carbon sp^3 mang oxygen tại δ_{C} 79,31, 1 carbon bậc bốn tại δ_{C} 41,46, và 4 nhóm methyl tại δ_{C} 18,68, 22,95, 24,36, 28,37.



Hình 4.67. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT11**

Trên phổ ^1H NMR (hình 4.67) của **MT11** ghi nhận các tín hiệu của hai nhóm *tert*-methyl [δ_{H} 1,11 (3H, s), 1,03 (3H, s)], 1 nhóm methyl gắn với nhóm carbonyl [δ_{H} 2,31 (3H, s)], 1 nhóm methyl gắn với carbon olefinic [δ_{H} 1,89 (3H, d, $J = 1,2$ Hz)], 1

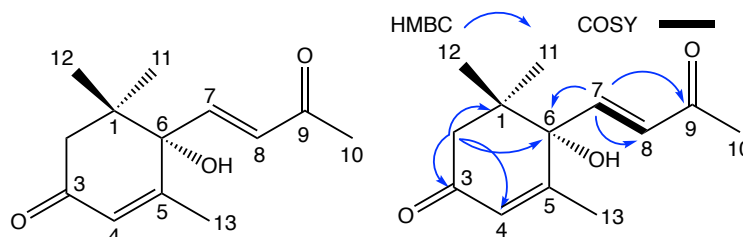
nhóm methylene [δ_H 2,50 (1H, d, $J = 17,1$ Hz), 2,34 (1H, d, $J = 17,1$ Hz)] và 3 proton olefinic [δ_H 5,96 (1H, brs), 6,83 (1H, d, $J = 15,6$ Hz), 6,47 (1H, d, $J = 15,6$ Hz)].



Hình 4.68. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT11**

Phổ HMBC (hình PL323) của **MT11** cho thấy sự tương tác giữa các proton và các carbon: H-2 với C-1/C-3/C-4/C-6/C-11, H-4 với C-2/C-6/C-13, H-7 với C-5/C-6/C-8/C-9, H-8 với C-6/C-7/C-9, H-10 với C-7/C-8/C-9, H-11, H-12 với C-1/C-2/C-6, H-13 với C-4/C-5/C-6. Các tương tác này xác định cấu trúc của **MT11** là 6-hydroxymegastigma-4,7-dien-3,9-one.

Phổ khối ESI-MS (hình PL327) chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 223,04 $[\text{M}+\text{H}]^+$, do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT11** là $M = 222$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$ và hợp chất **MT11** được xác định là dehydrovomifoliol [150] khi so sánh với tài liệu tham khảo (bảng 4.25). Công thức cấu tạo của **MT11** được biểu diễn trên hình 4.69.



Hình 4.69. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT11**

Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT11**

Vị trí	* $\delta_C^{a,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	41,64	41,46				
2	49,80	49,60	2,50 d (17,1) 2,34 d (17,1)	2,53 d (17,2) 2,36 d (17,2)	1,3,4,6,11	
3	197,50	197,42				
4	128,07	127,81	5,96 brs	5,96 brs	2,6,13	13
5	160,40	160,40				
6	79,14	79,31				
7	145,09	145,04	6,83 d (15,6)	6,86 d (15,6)	5,6,8,9	8
8	130,59	130,41	6,47 d (15,6)	6,49 d (15,6)	6,7,9	7
9	197,07	197,01				
10	28,65	28,37	2,31 s	2,31 s	7,8,9	
11	23,15	22,95	1,11 s	1,11 s	1,2,6,12	
12	24,56	24,36	1,03 s	1,03 s	1,2,3,6,11	
13	18,87	18,68	1,89 d (1,2)	1,89 d (1,2)	4,5,6	4

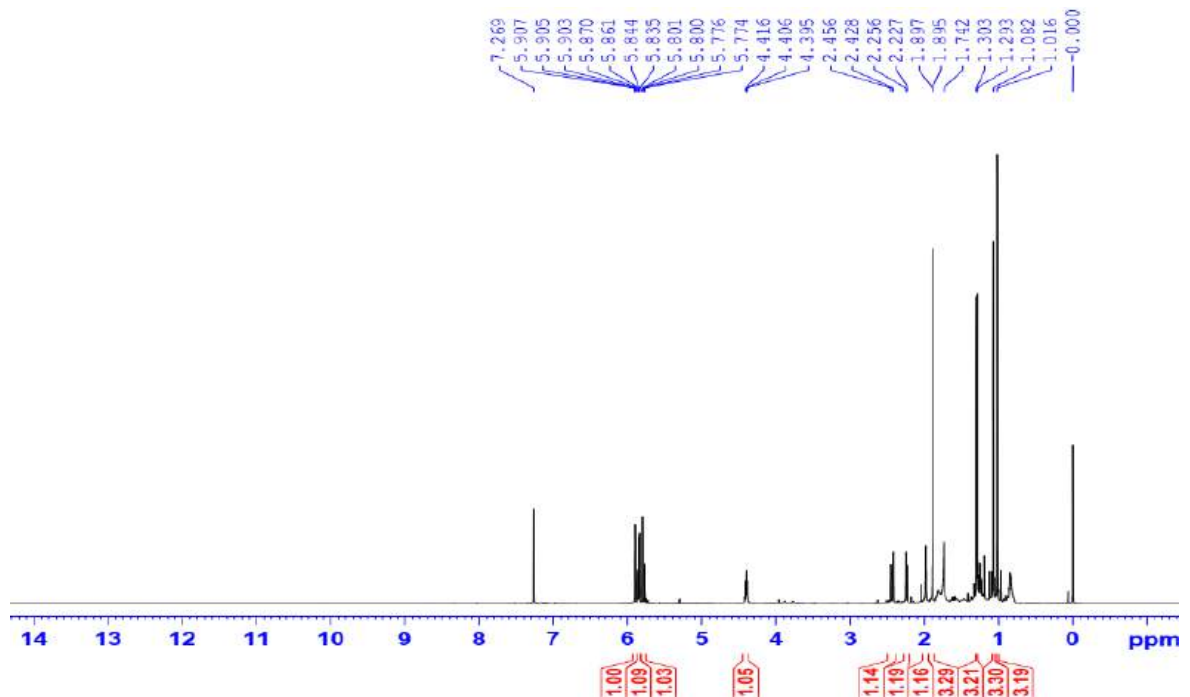
^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d400 MHz, ^e100 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của dehydromifoliol [150].

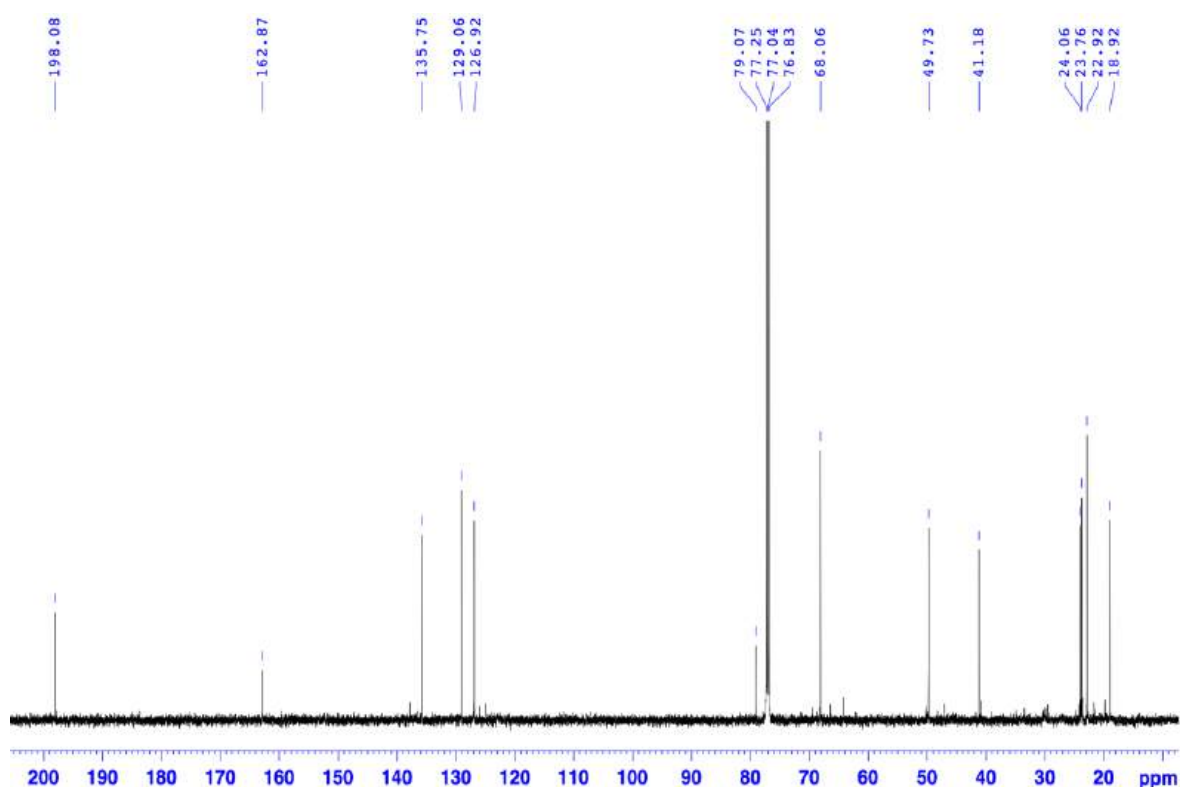
4.2.12. Hợp chất **MT12**: blumenol A

Hợp chất **MT12** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng.

So sánh dữ liệu phổ ¹H (hình 4.70) và ¹³C NMR (hình 4.71) của **MT12** và **MT11** cho thấy rằng 2 hợp chất này có cấu trúc khá tương đồng, ngoại trừ sự thay thế của nhóm carbonyl (δ_C 197,01) trên cấu trúc của **MT11** bằng nhóm hydroxymethine (δ_C 68,06) trên cấu trúc của **MT12**.



Hình 4.70. Phổ ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) của hợp chất **MT12**



Hình 4.71. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT12**

Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT12**

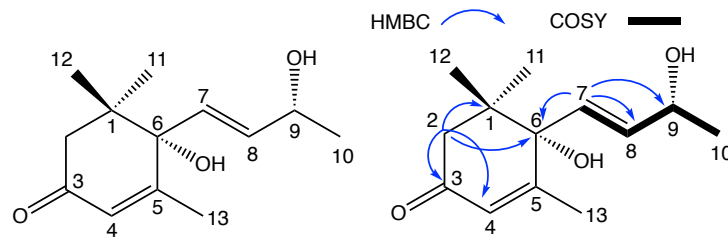
Vị trí	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,e}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,d}}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H \rightarrow C)	COSY (H \rightarrow H)
1	41,14	41,18				
2	49,68	49,73	2,44 d (17,1) 2,24 d (17,1)	2,45 d (16,8) 2,25 d (16,8)	1,3,4,6,11	
3	198,08	198,08				
4	126,80	126,92	5,91 t (1,2)	5,91 brs	2,4,6,8,13	13
5	162,96	162,87				
6	79,01	79,07				
7	135,74	135,75	5,79 dd (15,3, 1,1)	5,79 d (15,7)	6,8,9,10	8
8	128,96	129,06	5,85 dd (15,3, 5,4)	5,87 dd (15,7, 5,1)	5,6,7,9	7,9
9	67,96	68,06	4,41 t (6,0)	4,42 m	7,8,10	8,10
10	23,71	23,76	1,30 d (6,0)	1,30 d (6,3)	7,9	9
11	22,88	22,92	1,08 s	1,11 s	1,2,6,12	
12	24,01	24,06	1,02 s	1,02 s	1,2,3,5,6,7,11	
13	18,89	18,92	1,90 d (1,2)	1,90 brs	4,5,6	4

^aĐo trong CD_3OD , ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d500 MHz, ^e125 MHz

*Giá trị ^{13}C và ^1H của blumenol A [151].

Phổ khối ESI-MS (hình PL338) ở chế độ positive cho tín hiệu tại m/z 225,03 $[\text{M}+\text{H}]^+$, do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT12** là $M = 224$, phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$ và hợp chất **MT12** được xác định là blumenol A [151] khi

đối chiếu với tài liệu tham khảo (bảng 4.26). Công thức cấu tạo của **MT12** được biểu diễn trên hình 4.72.

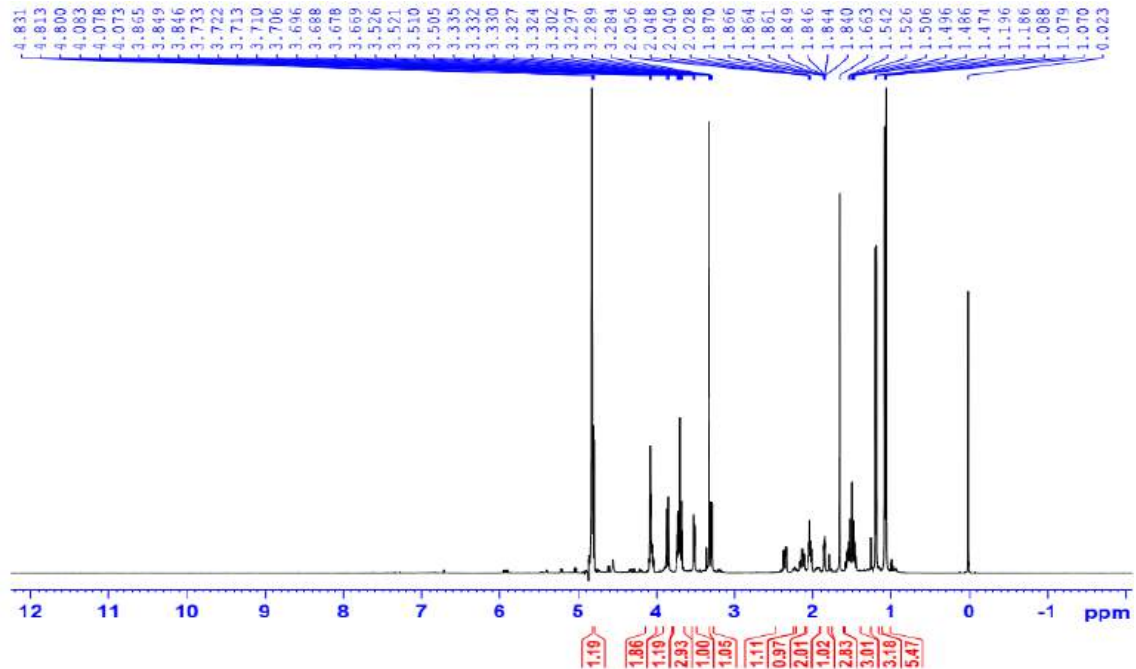


Hình 4.72. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT12**

4.2.13. Hợp chất **MT13**: manglieside C

Hợp chất **MT13** phân lập được dưới dạng chất bột vô định hình, không màu.

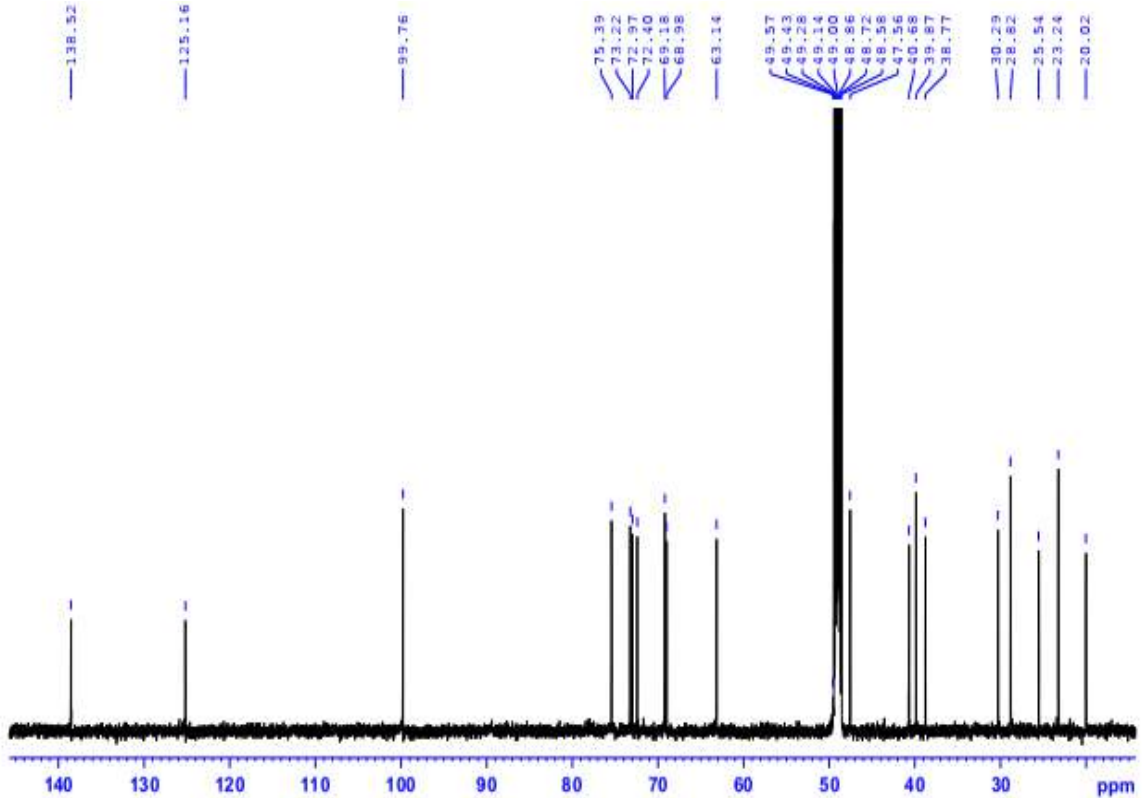
Phổ ^1H NMR (hình 4.73) của hợp chất **MT13** ghi nhận tín hiệu của 04 nhóm methyl tại δ_{H} 1,66 (3H, d, $J = 1,0$ Hz, H-13), 1,19 (3H, d, $J = 6,2$ Hz, H-10), 1,09 (3H, s, H-12) và 1,07 (3H, s, H-11), 04 nhóm methylene tại δ_{H} 1,86 (1H, ddd, $J = 12,2, 3,6, 2,2$ Hz, H-2a), 1,51 (1H, m, H-2b), 2,03 (1H, m, H-4b), 2,36 (1H, ddd, $J = 16,2, 6,2, 2,0$ Hz, H-4b), 2,14 (1H, td, $J = 13,0, 4,9$ Hz, H-7a), 2,05 (1H, m, H-7b), 1,55 (1H, m, H-8a), 1,47 (1H, m, H-8b), 02 nhóm methine mang oxygen tại δ_{H} 4,07 (1H, m, H-3) và 3,73 (1H, m, H-9). Ngoài ra, tín hiệu của 01 proton anomer tại δ_{H} 4,81 (1H, dd, $J = 7,9$ Hz, H-1') dự đoán về một gốc đường.



Hình 4.73. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT13**

Phổ ^{13}C NMR (hình 4.74) của hợp chất **MT13** ghi nhận tín hiệu của 19 carbon, trong đó 6 carbon của một gốc đường β -D-allopyranosyl được ghi nhận tại δ_{C} 99,76 (C-1'), 72,40 (C-2'), 72,97 (C-3'), 68,98 (C-4'), 75,39 (C-5') và 63,14 (C-6'). Bên cạnh đó, tín hiệu của 2 carbon olefin được xác nhận ở δ_{C} 125,16 (C-5) và 138,52 (C-6), 4

nhóm methyl tại δ_C 23,24 (C-10), 28,82 (C-11), 30,29 (C-12) và 20,02 (C-13), 4 nhóm methylene tại δ_C 47,56 (C-2), 39,87 (C-4), 25,54 (C-7) và 40,68 (C-8), 2 nhóm methine mang oxygen tại δ_C 73,22 (C-3) và 69,18 (C-9), 1 carbon bậc bốn tại δ_C 38,77 (C-1).



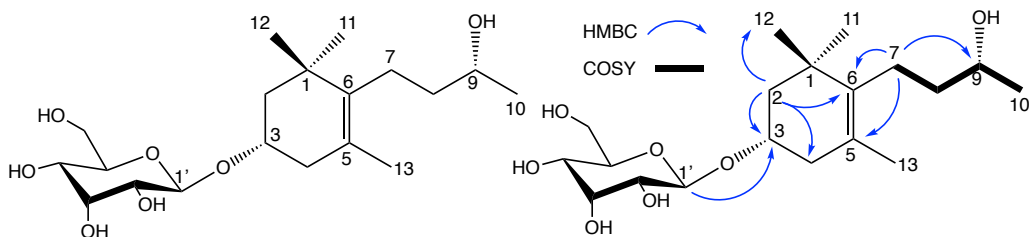
Hình 4.74. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) của hợp chất **MT13**

Các tín hiệu của các phổ ^1H và ^{13}C của hợp chất **MT13** dự đoán về một hợp chất megastigmane glycoside.

Trên phổ HMBC (hình PL343) của hợp chất **MT13** xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton anomer gốc đường tại δ_H 4,81 (H-1') với carbon C-3 (δ_C 73,22) do đó gốc đường gắn vào vị trí C-3 của phần megastigmane.

Phổ khối ESI-MS (hình PL353) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 375,23 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 213,20 $[(\text{M}+\text{H})-\text{All}]^+$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT13** là $M = 374$ phù hợp với công thức phân tử là $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_7$.

Sau khi tổng hợp dữ liệu phổ NMR (bảng 4.27), hợp chất **MT13** được xác định là manglieside C (hình 4.75) khi so sánh với tài liệu tham khảo [61].



Hình 4.75. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC, COSY chính của hợp chất **MT13**

Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT13**

Vị trí	* $\delta_C^{a,e}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)	COSY (H→H)
1	38,77	38,77	C				
2	47,56	47,56	CH ₂	1,86 ddd (12,2, 3,6, 2,2) 1,51 m	1,82 dt (12,5, 2,0) 1,49 m	3,4,6,11,12	2
3	73,23	73,22	CH	4,07 m	4,05 m		2, 4
4	39,87	39,87	CH ₂	2,03 dd (16,5, 9,3) 2,36 ddd (16,5, 6,2, 2,0)	2,02 dd (16,5, 10,0) 2,33 dd (16,5, 4,5)	2,3,5,6, 13	3,4
5	125,15	125,16	C				
6	138,05	138,52	C				
7	25,54	25,54	CH ₂	2,14 td (13,0, 4,9) 1,55 m	1,94 m 2,22 m	4,5,6,9	7,8
8	40,72	40,68	CH ₂	1,55 m/1,47 m	1,52 m	6,7,9,10	7,9
9	69,20	69,18	CH	3,73 m	3,71 m	7	8,10
10	23,24	23,24	CH ₃	1,19 d (6,2)	1,16 d (6,0)	8,9	9
11	28,82	28,82	CH ₃	1,07 s	1,04 s	1,2,6,12	
12	30,29	30,29	CH ₃	1,09 s	1,05 s	1,2,3,6,11	
13	20,01	20,02	CH ₃	1,66 d (1,0)	1,64 s	3,4,5,6,7	
1'	99,76	99,76	CH	4,81 d (8,0)	4,80 d (8,0)	3,5'	2'
2'	72,41	72,40	CH	3,29 dd (8,0, 3,0)	3,27 dd (8,0, 3,0)	1',3'	1',3'
3'	72,97	72,97	CH	4,08 t (3,0)	4,03 t (3,0)	1',2',4',5'	2',4'
4'	68,98	68,98	CH	3,52 dd (9,5, 3,0)	3,48 dd (10,0, 3,0)	5',6'	3',5'
5'	75,4	75,39	CH	3,70 m	3,71 m	1'	4'
6'	63,14	63,14	CH ₂	3,86 dd (11,4, 1,8) 3,68 dd (11,4, 5,4)	3,82 dd (12,0, 3,0) 3,65 dd (12,0, 5,0)	4',5'	6'

^aĐo trong CD₃OD, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^d500 MHz, ^e125 MHz

*Giá trị ¹³C và ¹H của manglieside C [152].

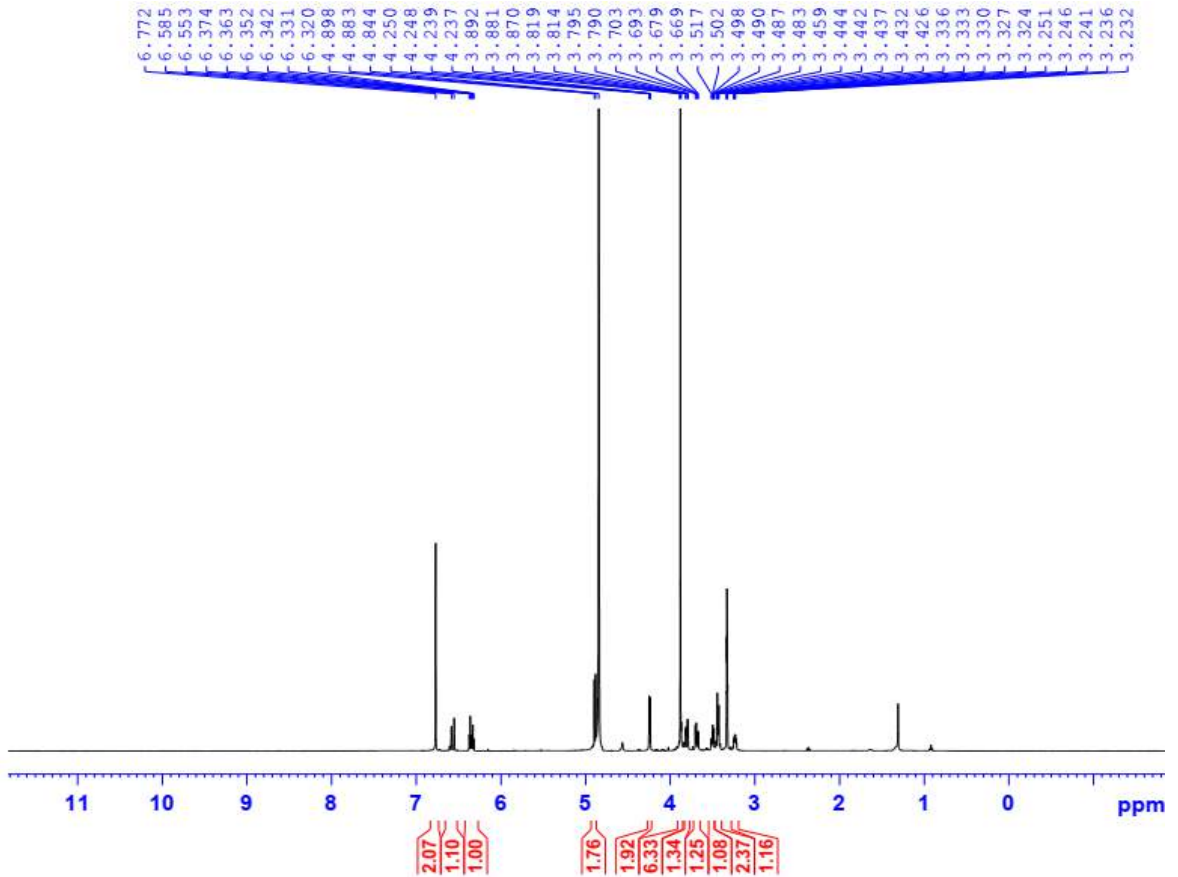
4.2.14. Hợp chất **MT14**: syringin

Hợp chất **MT14** phân lập được dưới dạng tinh thể màu trắng.

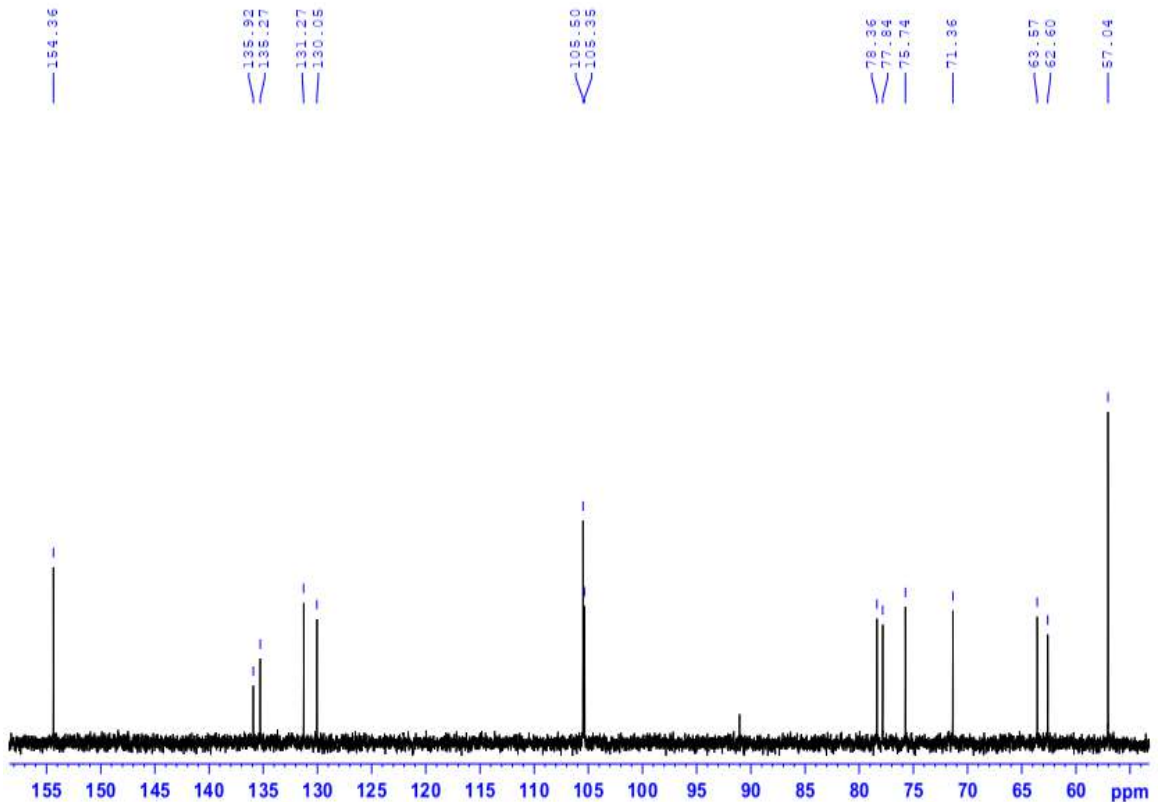
Trên phổ ¹H NMR (hình 4.76) ghi nhận tín hiệu của một nhân thơm bốn nhóm thế tại δ_H 6,77 (2H, s, H-5, H-9), hai nhóm methoxy tại δ_H 3,88 (6H, s, 6,8-OCH₃), hai proton olefinic tại δ_H 6,57 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-3), 6,35 (1H, dt, $J = 16,0, 5,5$ Hz, H-2) và hai proton của nhóm methylene mang oxygen tại 4,24 (2H, dd, $J = 5,5, 1,0$ Hz, H-1). Bên cạnh đó, tín hiệu của một proton anomer tại δ_H 4,29 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1', Glc) cũng được ghi nhận trên phổ ¹H NMR của **MT14**.

Phổ ¹³C NMR (hình 4.77) của hợp chất **MT14** xuất hiện tín hiệu của 11 carbon bao gồm 6 carbon trong vùng thơm [δ_C 135,27 (C-4), 105,50 (C-5, C-9), 154,36 (C-6, C-8), 135,92 (C-7)], carbon của nối đôi [δ_C 130,05 (C-2), 131,27 (C-3)], một

carbon của nhóm methylene mang oxygen [δ_c 63,57 (C-1)] và hai nhóm methoxy [δ_c 57,04 (6,8-OCH₃)].



Hình 4.76. Phổ ^1H NMR (600 MHz, CD₃OD) của hợp chất **MT14**



Hình 4.77. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, CD₃OD) của hợp chất **MT14**

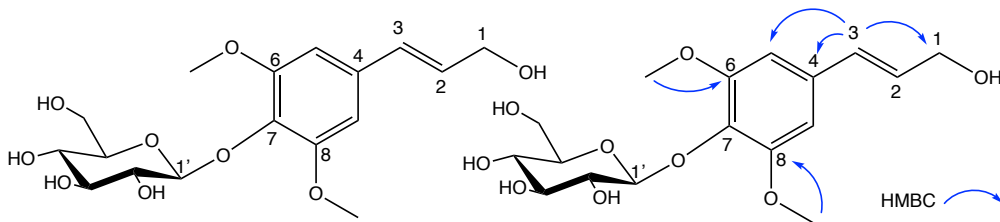
Phổ khối ESI-MS (hình PL362) ở chế độ positive cho các tín hiệu tại m/z 373,03 $[M+H]^+$ do đó khối lượng phân tử của hợp chất **MT14** là $M = 372$ phù hợp với công thức phân tử là $C_{17}H_{24}O_9$.

Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất **MT14**

Vị trí	* $\delta_C^{a,c}$ (ppm)	$\delta_C^{a,b}$ (ppm)	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ dạng pic (J, Hz)	* $\delta_H^{a,d}$ dạng pic (J, Hz)	HMBC (H→C)
1	63,55	63,57	CH ₂	4,24 dd (5,5, 1,0)	4,22 dd (5,5, 1,2)	2
2	129,86	130,05	CH	6,35 dt (16,0, 5,5)	6,30 d (15,8)	1,4
3	131,12	131,27	CH	6,57 d (16,0)	6,53 brd (15,8)	1,4,5
4	135,67	135,27	C			
5	105,29	105,50	CH	6,77 s	6,74 s	3,7,9
6	154,15	154,36	C			3,5,7
7	135,09	135,92	C			3,7,9
8	154,15	154,36	C			3,5,7
9	105,29	105,50	CH	6,77 s	6,74 s	3,5,7
6,8- OCH ₃	56,98	57,04	CH ₃	3,88 s	3,85 s	6,8
1'	105,19	105,35	CH	4,89 d (7,5)	4,90	4,5'
2'	75,66	75,74	CH	3,50 m	3,39 m	1',3'
3'	78,30	77,84	CH	3,44 m	3,60 m	
4'	71,26	71,36	CH	3,43 m	3,41 m	5',6'
5'	77,76	78,36	CH	3,24 m	3,20 m	
6'	62,52	62,60	CH ₂	3,80 dd (12,0, 2,5) 3,69 dd (12,0, 5,0)	3 62 dd (12,0, 3,8) 3,70 dd (13,8, 3,1)	4'

^aĐo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, ^d500 MHz, ^e125MHz *Giá trị ¹³C và ¹H của syringin [153].

Sau khi tổng hợp số liệu phổ (bảng 4.28), hợp chất **MT14** được xác định là syringin khi so sánh với tài liệu được công bố [153]. Công thức cấu tạo của **MT14** được biểu diễn trên hình 4.78.



Hình 4.78. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **MT14**

Kết luận:

Từ dịch chiết MeOH của lá loài *M. tiepii* đã phân lập và xác định cấu trúc của 20 hợp chất gồm:

- 06 hợp chất flavonoid: **MT1, MT2, MT3, MT15, MT16, MT17;**
- 01 hợp chất phenylethanoid: **MT4;**
- 08 hợp chất lignan: **MT5, MT6, MT7, MT8, MT9, MT10, MT18, MT19;**

- 03 hợp chất megastigmane: **MT11, MT12, MT13**;
- 01 hợp chất phenolic glycoside: **MT14**;
- 01 hợp chất sterol: **MT20**.

Trong đó, các hợp chất **MT7, MT8, MT9, MT11, MT16, MT17, MT18, MT19** được phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

4.3. Kết quả thử hoạt tính sinh học

Dựa trên kết quả thực nghiệm phân lập các hợp chất từ hai loài *M. lamdongensis* và *M. tiepii* (khối lượng mẫu tinh sạch phân lập được, cấu trúc của các hợp chất này) và tổng hợp tài liệu tham khảo về hoạt tính sinh học của các hợp chất đã phân lập, đã chọn một số hợp chất để thử nghiệm hoạt tính sinh học. Bên cạnh đó, cũng tiến hành thử nghiệm hoạt tính sinh học ở một số hợp chất chưa được nghiên cứu về những hoạt tính này trước đây.

4.3.1. Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hoá

Cao chiết MeOH từ hai loài *M. lamdongensis* (**ML-M**) và *M. tiepii* (**MT-M**) cùng với một số hợp chất phân lập được gồm 4 hợp chất flavonoid (**ML1, ML2, MT1, MT2**) và 1 hợp chất ethanoid glycoside (**MT4**) được thử hoạt tính kháng oxy hoá dựa trên khả năng bắt gốc tự do DPPH (bảng 4.29).

Bảng 4.29. Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hóa

Mẫu	Nồng độ đầu của mẫu ($\mu\text{g/mL}$)	Khả năng trung hòa gốc DPPH (SC, %)	SC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Kết quả
Đối chứng (+)	50	81,26 \pm 0,53	13,42	Dương tính
Đối chứng (-)	-	0	-	Âm tính
ML-M	200	64,25 \pm 0,54	120,62	Dương tính
MT-M	400	51,85 \pm 1,12	396,30	Dương tính
MT4	400	76,07 \pm 0,50	46,73	Dương tính
ML1	400	66,41 \pm 0,96	295,28	Dương tính
ML2	400	6,04 \pm 0,57	-	Âm tính
MT1	400	6,01 \pm 0,25	-	Âm tính
MT2	400	26,65 \pm 0,72	-	Âm tính

Đối chứng âm (-): DPPH/EtOH + DMSO, đối chứng dương (+): DPPH/EtOH + ascorbic acid

Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hoá cho thấy hai loại cao chiết **ML-M** (ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$) và **MT-M** (ở nồng độ 400 $\mu\text{g/mL}$) có khả năng kháng oxy hoá với giá trị SC₅₀ lần lượt là 120,62 và 396,30 $\mu\text{g/mL}$; tuy nhiên, một số hợp chất phân lập

được không phải tất cả đều cho kết quả dương tính ở nồng độ thử nghiệm (400 µg/mL).

Hợp chất **MT4** (magnoloside A) - một phenylethanoid glycoside với hai vòng phenol có hai nhóm hydroxyl liền kề. Điều này làm tăng đáng kể khả năng bắt gốc tự do tạo bởi DPPH trong thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hoá [31]. Hợp chất **MT4** biểu hiện hoạt tính kháng oxy hoá với giá trị SC_{50} là 46,73 µg/mL.

Bên cạnh đó, hợp chất **ML1** (rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside) có vòng thơm B với hai nhóm hydroxyl liền kề (aglycone là quercetin) cũng đã cho kết quả dương tính với thử nghiệm này với giá trị SC_{50} là 295,28 µg/mL. Ngược lại, các flavonoid khác gồm **ML2**, **MT1**, **MT2** với khung aglycone là kaempferol và rhamnocitrin đều cho kết quả âm tính ở nồng độ thử nghiệm (400 µg/mL).

4.3.2. Hoạt tính kháng viêm *in vitro*

Nhiều loài trong chi *Magnolia* đã được sử dụng trong điều trị các bệnh viêm nhiễm trong y học cổ truyền, vì vậy luận án đã khảo sát hoạt tính ức chế sản sinh NO kích thích bởi LPS trên đại thực bào RAW264.7 của một số hợp chất, gồm **ML1**, **ML2**, **MT2**, **MT7**, **MT11** (bảng 4.30).

Bảng 4.30. Kết quả thử hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7

Tên mẫu	Nồng độ	Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%)	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)	Giá trị IC_{50} , µg/mL	Kết quả
Đối chứng (-)	1%	-	104,76±0,15		
Đối chứng (+)	81 µg/mL	45,85±2,12	86,47±0,21	167,4	Dương tính
	810 µg/mL	86,93±0,96	71,8±0,51		
LPS	1 µg/mL	0,0±0,9	100,0±0,13		
MT2	256 µg/mL	53,06 ± 0,37	100,07 ± 0,93	236,18	Dương tính
	128 µg/mL	32,65 ± 0,12	102,04 ± 0,83		
	64 µg/mL	20,41 ± 0,09	103,58 ± 0,44		
MT11	256 µg/mL	59,59 ± 0,18	99,10 ± 0,11	202,74	Dương tính
	128 µg/mL	36,73 ± 0,37	99,18 ± 0,51		
	64 µg/mL	24,49 ± 0,07	100,45 ± 0,13		
ML1	256 µg/mL	38,78 ± 0,58	86,45 ± 0,13	>256	Âm tính
	128 µg/mL	25,38 ± 0,17	98,46 ± 0,35		
	64 µg/mL	14,69 ± 0,02	103,14 ± 0,84		
ML2	256 µg/mL	30,61 ± 0,11	86,13 ± 0,27	>256	Âm tính
	128 µg/mL	20,92 ± 0,35	99,04 ± 0,47		
	64 µg/mL	10,38 ± 0,08	100,58 ± 0,84		
MT7	256 µg/mL	40,82 ± 0,11	97,61 ± 0,92	>256	Âm tính
	128 µg/mL	29,77 ± 0,35	99,04 ± 0,47		
	64 µg/mL	18,44 ± 0,38	100,58 ± 0,74		

Đối chứng âm (-): DMSO, đối chứng dương (+): Cardamonin

Kết quả thử nghiệm cho thấy hợp chất **MT2** (nicotiflorin) và **MT11** (dehydrovomifoliol) biểu hiện hoạt tính kháng viêm qua đánh giá khả năng ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 236,18 và 202,74 $\mu\text{g/mL}$, so với chất chuẩn cardamonin (IC_{50} 167,4 $\mu\text{g/mL}$), hai mẫu này không gây độc tế bào RAW264.7 ở nồng độ 256 $\mu\text{g/mL}$. Các mẫu còn lại không thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO ở các nồng độ thử nghiệm.

4.3.3. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Một số hợp chất được phân lập gồm hai hợp chất flavonoid (**ML1**, **ML2**) và một hợp chất megastigmane glycoside (**MT13**) được đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (bảng 4.31).

Bảng 4.31. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Mẫu	Nồng độ đầu ($\mu\text{g/mL}$)	Độ ức chế (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Kết quả
Đối chứng dương (+)	100	63,05 \pm 1,28	93,34	Dương tính
ML1	400	79,49 \pm 0,92	179,86	Dương tính
ML2	400	67,65 \pm 0,74	316,88	Dương tính
MT13	400	80,32 \pm 1,26	117,58	Dương tính

Đối chứng dương (+): Voglibose

Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase cho thấy các mẫu **ML1** (rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside), **ML2** (oxytroflavoside F) và **MT13** (manglieside C) đều biểu hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase ở nồng độ thử nghiệm với các giá trị IC_{50} lần lượt là 179,86, 316,88 và 117,58 $\mu\text{g/mL}$.

4.3.4. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Cao chiết MeOH từ hai loài *M. lamdongensis* (ML-M) và *M. tiepii* (MT-M) cùng với một số hợp chất phân lập được gồm **ML10**, **ML11**, **MT1**, **MT2**, **MT11** được thử nghiệm hoạt tính trên ba dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2), ung thư mô liên kết (RD) và ung thư cổ tử cung (HeLa) (bảng 4.32).

Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào cho thấy cao chiết MeOH của lá cây *M. lamdongensis* (ML-M) và *M. tiepii* (MT-M) không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2) tại nồng độ thử nghiệm.

Đối với các hợp chất tinh sạch gồm: **ML10**, **ML11**, **MT1**, **MT2** và **MT11**, chỉ có hợp chất **ML11** (hinokinin) cho kết quả dương tính yếu trên cả ba dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2), ung thư mô liên kết (RD) và ung thư cổ tử cung (HeLa) với giá trị IC_{50} được tính toán lần lượt là 75,97 \pm 3,19, 60,44 \pm 3,39, 45,89 \pm 3,37 μM tại nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ so với đối chứng dương ellipticine (IC_{50} 0,36 \pm 0,03 μM /Hep-G2,

0,31±0,02 µM/RD, 0,34±0,02 µM/HeLa). Các hợp chất còn lại đều cho kết quả âm tính đối với các thử nghiệm gây độc trên các dòng này tại nồng độ thử nghiệm.

Bảng 4.32. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Mẫu	Nồng độ đầu (µg/mL)	Dòng tế bào			Kết quả
		Tỷ lệ sống sót của tế bào (CS%)			
		Hep-G2	RD	HeLa	
Đối chứng (-)	-	100	100	100	
Đối chứng (+)	5	2,02±0,15	1,79±0,80	3,06±0,58	
ML-M	40	90,01±0,72			Âm tính
MT-M	40	98,84±0,24			Âm tính
ML11	20	39,48±1,64	34,07±1,95	32,33±2,13	Dương tính
ML10	20	95,88±1,16	97,79±0,80	99,17±0,54	Âm tính
MT1	20	98,71±0,38	99,34±0,42	93,96±1,29	Âm tính
MT2	20	99,40±0,67	91,82±1,65	94,11±0,40	Âm tính
MT11	20	97,65±0,91	98,65±0,59	88,72±1,22	Âm tính

Đối chứng âm (-): DMSO, đối chứng dương (+): Ellipticine

Bảng 4.33. Giá trị IC₅₀ của mẫu có hoạt tính

Mẫu	Dòng tế bào		
	Giá trị IC ₅₀ (µM)		
	Hep-G2	RD	HeLa
ML11	75,97±3,19	60,44±3,39	45,89±3,37

Đối chứng dương (+): Ellipticine

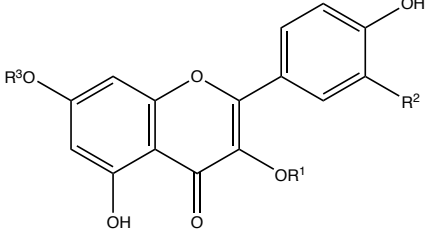
4.4. Tổng hợp các kết quả nghiên cứu

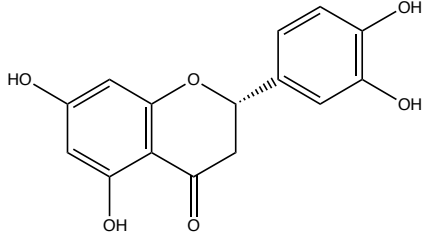
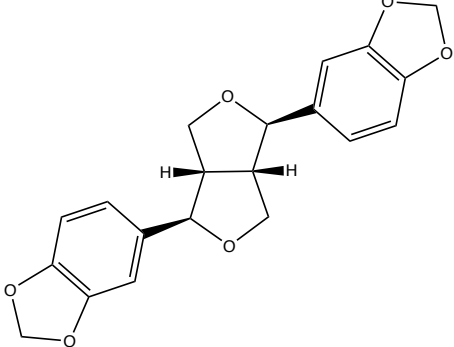
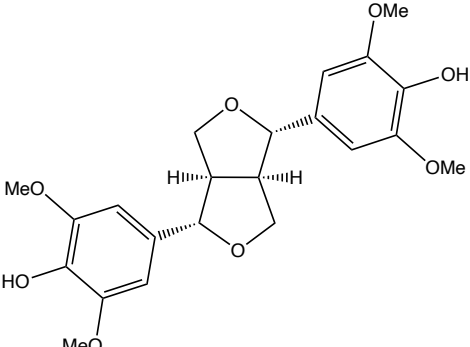
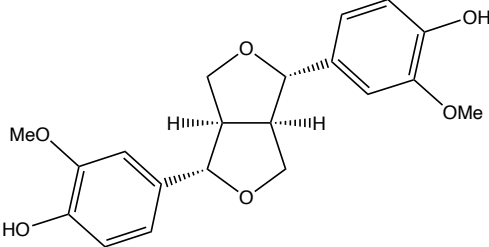
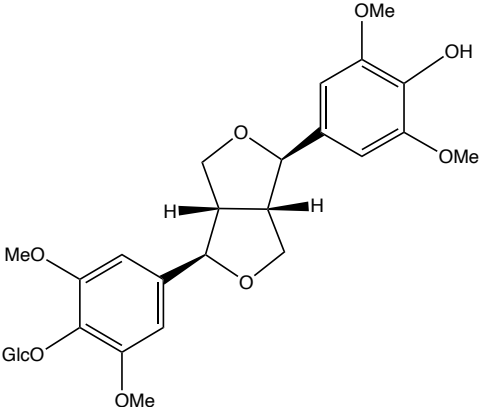
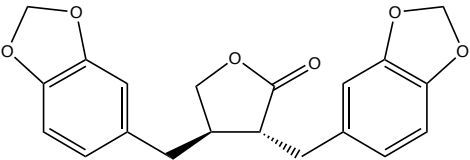
- Về thành phần hoá học: từ lá hai loài *M. lamdongensis* và *M. tiepii* đã phân lập và làm sáng tỏ cấu trúc của 32 hợp chất khác nhau thuộc các nhóm chất flavonoid, lignan, megastigmane, cerebroside, phenylethanoid glycoside, phenolic và sterol. Trong đó, từ lá loài *M. lamdongensis* phân lập được 18 hợp chất (9 hợp chất phân lập lần đầu từ chi *Magnolia*), từ lá loài *M. tiepii* phân lập được 20 hợp chất (6 hợp chất trùng với loài *M. lamdongensis*, 8 hợp chất phân lập lần đầu từ chi *Magnolia*) (bảng 4.34).

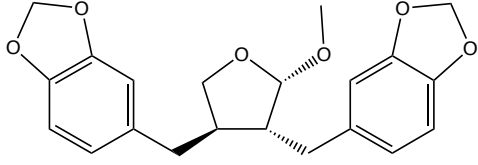
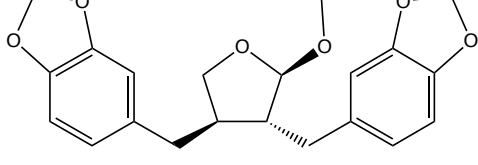
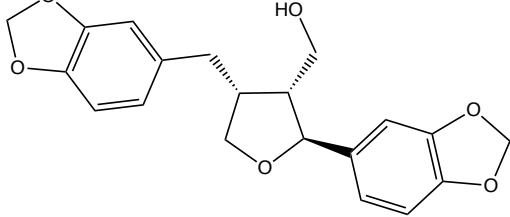
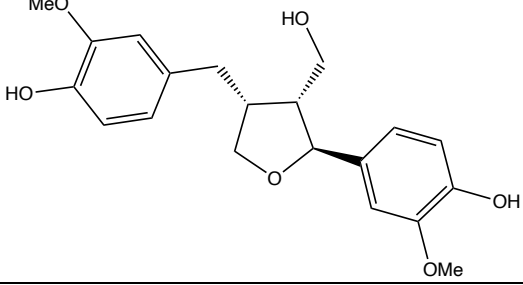
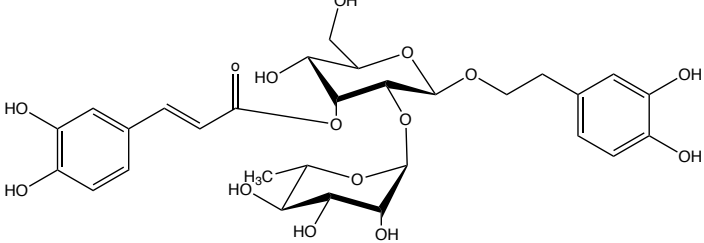
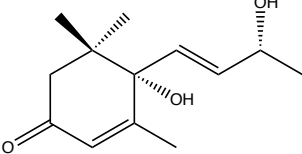
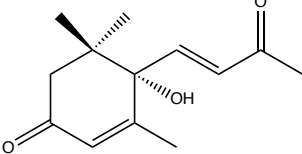
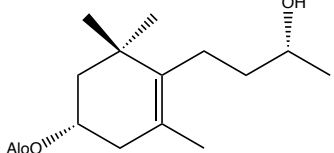
- Về hoạt tính sinh học: dựa trên thực tế phân lập các hợp chất từ hai loài nghiên cứu (khối lượng mẫu thu được, tiềm năng hoạt tính dựa trên các tài liệu tham khảo và thử nghiệm trên một số các mẫu ít nghiên cứu), luận án đã thử nghiệm và ghi nhận các kết quả dương tính trên một số thử nghiệm hoạt tính như hoạt tính chống oxy hoá (dương tính đối với các mẫu **ML1**, **MT4**, **ML-M**, **MT-M**), hoạt tính kháng viêm *in*

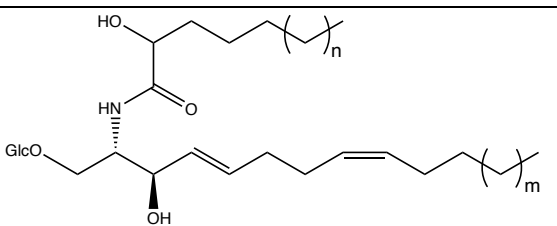
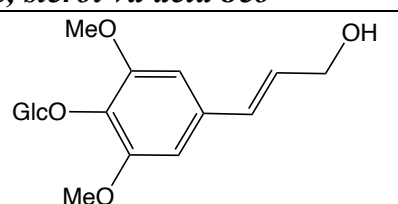
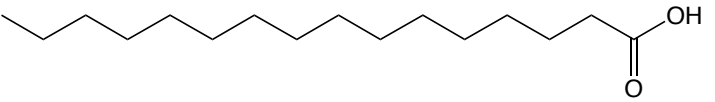
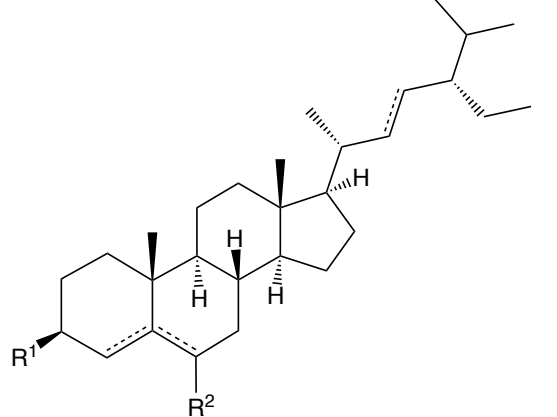
vitro (dương tính đối với các mẫu **MT2**, **MT11**), hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (dương tính đối với các mẫu **ML1**, **ML2**, **MT13**) và hoạt tính gây độc tế bào (dương tính đối với mẫu **ML11**) tại các nồng độ thử nghiệm (bảng 4.35).

Bảng 4.34. Tổng hợp kết quả phân lập các hợp chất từ hai loài nghiên cứu

Ký hiệu	Cấu trúc
Các hợp chất flavonoid	
ML1 rhamnetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	
ML2 oxytroflavoside F (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	ML1: R ¹ =Gal-(2-1)-Rha, R ² =OH, R ³ =CH ₃ ML2: R ¹ =Gal-(2-1)-Rha, R ² =H, R ³ =CH ₃
ML3 rhamnocitrin 3- <i>O</i> - β -neohesperidoside (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	ML3: R ¹ =Glc-(2-1)-Rha, R ² =H, R ³ =CH ₃ ML4: R ¹ =Ara-(2-1)-Rha, R ² =H, R ³ =CH ₃
ML4 curcucomoside D	ML5=MT15: R ¹ =Glc, R ² =H, R ³ =H
ML5=MT15 astragalín	ML6a=MT1: R ¹ =Glc-(2-1)-Rha, R ² =H, R ³ =H
MT1=MT6a kaempferol 3-neohesperidoside	ML6b: R ¹ =Gal-(2-1)-Rha, R ² =H, R ³ =H
ML6b kaempferol 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	ML7a=MT16: R ¹ =Glc-(2-1)-Rha, R ² =OH, R ³ =H ML7b=MT17: R ¹ =Gal-(2-1)-Rha, R ² =OH, R ³ =H
ML7a=MT16 quercetin 3-neohesperidoside (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	MT2: R ¹ =Glc-(6-1)-Rha, R ² =H, R ³ =H MT3: R ¹ =Glc, R ² =OH, R ³ =H
ML7b=MT17 quercetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)	
MT2 nicotiflorin	
MT3 isoquercitrin	

<p>ML13 (<i>S</i>)-eriodictyol</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
Các hợp chất lignan	
<p>ML10 (-)-sesamin</p>	
<p>MT5 (+)-syringaresinol</p>	
<p>MT6 (+)-pinoresinol</p>	
<p>MT7 (-)-acanthoside B</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
<p>ML11=MT12 hinokinin</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	

<p>MT8 (9S)-9-O-methylcubebin</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
<p>MT9 (9R)-9-O-methylcubebin</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
<p>ML12=MT19 dihydrosesamin</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
<p>MT10 lariciresinol</p>	
<p>Hợp chất phenylethanoid</p>	
<p>MT4 magnololide A</p>	
<p>Các hợp chất megastigmane</p>	
<p>MT11 dehydrovomifoliol</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	
<p>MT12 blumenol A</p>	
<p>MT13 manglieside C</p>	

Các hợp chất cerebroside	
<p>ML8 1-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyl-(2<i>S</i>*,3<i>R</i>*,2'<i>R</i>*,4<i>E</i>,8<i>Z</i>)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	 <p>ML8: m=7, n=12</p>
<p>ML9 1-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyl-(2<i>S</i>*,3<i>R</i>*,2'<i>R</i>*,4<i>E</i>,8<i>Z</i>)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol</p> <p>(Ghi nhận lần đầu từ chi <i>Magnolia</i>)</p>	<p>ML9: m=7, n=10</p>
Các hợp chất phenolic, sterol và acid béo	
MT14 syringin	
ML16 palmitic acid	
ML14 stigmasterol	 <p>ML21: R¹=OGlc, R²=H, $\Delta^{5,6}$</p> <p>ML22: R¹=OH, R²=H, $\Delta^{5,6}$, $\Delta^{22,23}$</p> <p>MT21: R¹=OH, R²=H, $\Delta^{5,6}$</p>
ML15 daucosterol	
MT20 β -sitosterol	

Bảng 4.35. Tổng hợp các kết quả hoạt tính sinh học

STT	Hợp chất	Hoạt tính sinh học
1	ML-M	Chống oxy hóa trên hệ DPPH, $SC_{50} = 120,62 \mu\text{g/mL}$.
2	MT-M	Chống oxy hóa trên hệ DPPH, $SC_{50} = 396,30 \mu\text{g/mL}$.
3	ML1	Chống oxy hóa trên hệ DPPH, $SC_{50} = 295,28 \mu\text{g/mL}$.
4	MT4	Chống oxy hóa trên hệ DPPH, $SC_{50} = 46,73 \mu\text{g/mL}$.
5	ML1	Ức chế enzyme α -glucosidase, $IC_{50} = 179,86 \mu\text{g/mL}$.
6	ML2	Ức chế enzyme α -glucosidase, $IC_{50} = 316,88 \mu\text{g/mL}$.
7	MT13	Ức chế enzyme α -glucosidase, $IC_{50} = 117,58 \mu\text{g/mL}$.
8	MT2	Ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7, $IC_{50} = 236,18 \mu\text{g/mL}$.
9	MT11	Ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7, $IC_{50} = 202,74 \mu\text{g/mL}$.
10	ML11	Gây độc tế bào ung thư Hep-G2 ($IC_{50} = 75,97 \pm 3,19 \mu\text{M}$), RD ($IC_{50} = 60,44 \pm 3,39 \mu\text{M}$) và HeLa ($IC_{50} = 45,89 \pm 3,37 \mu\text{M}$).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Đây là công bố đầu tiên ở Việt Nam cũng như trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của lá loài *Magnolia lamdongensis* phân bố tại huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng và loài *Magnolia tiepii* phân bố tại huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hoà.

Từ lá của hai loài nghiên cứu đã phân lập và định danh được 32 hợp chất khác nhau và đánh giá hoạt tính sinh học của một số hợp chất tinh sạch, cụ thể như sau:

1.1. Thành phần hóa học

Từ lá loài *M. lamdongensis* đã phân lập và xác định cấu trúc của 18 hợp chất gồm: rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (ML1), oxytroflavoside F (ML2), rhamnocitrin 3-*O*- β -neohesperidoside (ML3), curcucomoside D (ML4), astragalin (ML5), kaempferol 3-neohesperidoside (ML6a), kaempferol 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (ML6b), quercetin 3-neohesperidoside (ML7a), quercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (ML7b), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S**,3*R**,2'*R**,4*E*,8*Z*)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-octadecan-4,8-diene-1,3-diol (ML8), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S**,3*R**,2'*R**,4*E*,8*Z*)-2'-hydroxyoctadecanoylamido-hexadecan-4,8-diene-1,3-diol (ML9), (-)-sesamin (ML10), hinokinin (ML11), dihydrosesamin (ML12), (*S*)-eriodictyol (ML13), stigmaterol (ML14), daucosterol (ML15), palmitic acid (ML16). Trong đó, các hợp chất ML1, ML2, ML6b, ML7a, ML7b, ML8, ML9, ML11, ML13 phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

Từ lá loài *M. tiepii* đã phân lập và xác định cấu trúc của 20 hợp chất gồm: kaempferol 3-neohesperidoside (MT1), nicotiflorin (MT2), isoquercitrin (MT3), magnoloside A (MT4), (+)-syringaresinol (MT5), (+)-pinoresinol (MT6), (-)-acanthoside B (MT7), (9*S*)-9-*O*-methylcubebin (MT8), (9*R*)-9-*O*-methylcubebin (MT9), lariciresinol (MT10), dehydrovomifoliol (MT11), blumenol A (MT12), manglieside C (MT13), syringin (MT14), astragalin (MT15), quercetin 3-neohesperidoside (MT16), quercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside (MT17), hinokinin (MT18), dihydrosesamin (MT19), β -sitosterol (MT20). Trong đó, các hợp chất MT7, MT8, MT9, MT11, MT16, MT17, MT18, MT19 phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

Kết quả phân lập các hợp chất từ hai loài nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của nhóm các hợp chất lignan, flavonoid, megastigmane, ethanoid glycoside. Đây là những nhóm hợp chất được ghi nhận nhiều trong chi *Magnolia*. Bên cạnh đó, từ loài

M. lamdongensis ghi nhận hai hợp chất cerebroside (**ML8** và **ML9**), nhóm hợp chất này lần đầu được ghi nhận phân lập từ chi *Magnolia*.

1.2. Hoạt tính sinh học

Tiến hành thử hoạt tính kháng oxy hoá dựa trên khả năng bắt gốc tự do DPPH của hai loại cao chiết (**ML-M** và **MT-M**), 5 hợp chất tinh sạch (**ML1**, **ML2**, **MT1**, **MT2** và **MT4**). Hai loại cao chiết (**ML-M** và **MT-M**) thể hiện hoạt tính chống oxy hoá tại nồng độ thử nghiệm với giá trị SC_{50} lần lượt là 120,62 và 396,30 $\mu\text{g/mL}$. Các mẫu thử **ML1** (rhamnetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside) và **MT4** (magnoloside A) biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa tại nồng độ thử nghiệm với các giá trị SC_{50} lần lượt là 295,28, 46,73 $\mu\text{g/mL}$.

Tiến hành thử hoạt tính kháng viêm *in vitro* trên 5 hợp chất tinh sạch (**ML1**, **ML2**, **MT2**, **MT7**, **MT11**). Hai hợp chất **MT2** (nicotiflorin) và **MT11** (dehydrovomifoliol) biểu hiện hoạt tính kháng viêm qua đánh giá khả năng ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 236,18 và 202,74 $\mu\text{g/mL}$ so với đối chứng dương cardamonin (IC_{50} 167,4 $\mu\text{g/mL}$); 2 mẫu này không gây độc tế bào RAW264.7 ở nồng độ 256 $\mu\text{g/mL}$.

Thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên ba mẫu **ML1**, **ML2** (oxytroflavoside F), **MT13** (manglieside C), cả ba hợp chất này đều biểu hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase tại nồng độ thử nghiệm với các giá trị IC_{50} lần lượt là 179,86, 316,88, 117,58 $\mu\text{g/mL}$ so với đối chứng dương voglibose (IC_{50} 93,34 $\mu\text{g/mL}$).

Thử hoạt tính gây độc tế bào trên 5 hợp chất tinh sạch (**ML10**, **ML11**, **MT1**, **MT2**, **MT11**). Hợp chất **ML11** (hinokinin) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào yếu trên ba dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2), ung thư mô liên kết (RD) và ung thư cổ tử cung (HeLa) với giá trị IC_{50} lần lượt là $75,97 \pm 3,19$, $60,44 \pm 3,39$, $45,89 \pm 3,37$ μM tại nồng độ thử nghiệm.

2. KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài khác thuộc chi *Magnolia* tại Việt Nam.

- Tiếp tục thử nghiệm thêm hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được ở các thử nghiệm hoạt tính khác.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Luận án đã cung cấp các kết quả đầu tiên về thành phần hóa học của lá loài *M. lamdongensis*. Từ lá loài *M. lamdongensis* thu hái tại huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng đã phân lập và định danh được 18 hợp chất, trong đó có 9 hợp chất phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

2. Luận án cũng đã cung cấp các kết quả đầu tiên về thành phần hóa học của lá loài *M. tiepii*. Từ lá loài *M. tiepii* thu hái tại huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hoà đã phân lập và định danh được 20 hợp chất, trong đó có 8 hợp chất phân lập lần đầu tiên từ chi *Magnolia*.

3. Luận án cung cấp các kết quả đầu tiên về hoạt tính kháng oxy hoá, hoạt tính kháng viêm *in vitro*, ức chế enzyme α -glucosidase, gây độc tế bào *in vitro* của một số hợp chất phân lập từ lá hai loài *M. lamdongensis* và *M. tiepii*.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Pham Van Huyen**, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Thu Hien, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Toan Phan (2024), *Chemical constituents of Magnolia tiepii*, Chemistry of Natural Compounds, 60(3), 520-522. DOI: 10.1007/s10600-024-04368-6.

2. **Pham Van Huyen**, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Thu Hien, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Toan Phan (2023), *Flavonoid glycosides from the leaves of Magnolia lamdongensis*, Chemistry of Natural Compounds, 59(4), 773-775. DOI: 10.1007/s10600-023-04108-2.

3. **Pham Van Huyen**, Le Thi Tuong An, Trinh Thi Luong, Nguyen Huu Huong Duyen, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Toan Phan (2021), *Quercetin derivatives of the leaves of Magnolia lamdongensis*, International Journal of Engineering Research and Applications, 11(10), 1-4. DOI: 10.9790/9622-1110040104.

4. **Pham Van Huyen**, Tran Thi Ngoc Hanh, Tran Ngoc Huyen Vi, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Toan Phan (2022), *Flavonoid glycosides from the leaves of Magnolia tiepii (Magnoliaceae)*, European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 9(11), 13-16.

5. **Pham Van Huyen**, Nguyen Thi Thu Hien, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Huu Toan Phan (2023), *Chemical constituents of Magnolia tiepii leaves*, Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, 29(3), 142-147.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cicuzza D., Newton A., Oldfield S. - The Red List of Magnoliaceae, Flora and Fauna International. Cambridge, UK, 2007, 7-16.
2. Zhiliang C., Xulong L., Zhifeng W., Ping L., Jiong C., Nianhe X. - Research on Magnoliaceae species geographic distribution and protect measures by using GIS of Guangdong province China. *Proceedings: IGARSS '05*, 2005, **1**, 558-561.
3. Phạm Hoàng Hộ - Cây cỏ Việt Nam. NXB Trẻ, Hà Nội, 1991, 282-297.
4. Phạm Hoàng Hộ - Cây cỏ Việt Nam. NXB Trẻ, Hà Nội, 1999, 315-317.
5. Nguyễn Tiến Bản - Magnoliaceae Juss, Họ Ngọc lan - Danh lục các loài thực vật Việt Nam. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, 2003, 7-16.
6. Chu H., Bon T. - Hiện trạng phân bố và giá trị sử dụng của một số loài Mộc lan (*Magnolia* L.) tại Việt Nam. *Kỷ yếu Hội nghị khoa học 45 năm Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 2020, 24-34.
7. Lee Y. J., Lee Y. M., Lee C. K., Jung J. K., Han S. B., Hong J. T. - Therapeutic applications of compounds in the *Magnolia* family. *Pharmacol. Ther.*, 2011, **130**(2), 157-176.
8. Shen Y., Li G. C., Zhou F. S., Pang C. K. E., Story F. D., Xue C. L. C. - Chemistry and bioactivity of flos Magnoliae, A Chinese herb for rhinitis and sinusitis. *Curr. Med. Chem.*, 2008, **15**(16), 1616-1627.
9. Miyazawa M., Kasahara H., Kameoka H. - Phenolic lignans from flower buds of *Magnolia fargesii*. *Phytochemistry*, 1992, **31**(10), 3666-3668.
10. Seo K. H., Lee D. Y., Lee D. S., Park J. H., Jeong R. H., Jung Y. J., Shrestha S., Chung I. S., Kim G. S., Kim Y. C., Baek N. I. - Neolignans from the fruits of *Magnolia obovata* and their inhibition effect on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells. *Planta. Med.*, 2013, **79**(14), 1335-1340.
11. Poivre M., Duez P. - Biological activity and toxicity of the Chinese herb *Magnolia officinalis* Rehder & E. Wilson (Houpo) and its constituents. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2017, **18**(3), 194-214.
12. Shen C. C., Ni C. L., Shen Y. C., Huang Y. L., Kuo C. H., Wu T. S., Chen C. C. - Phenolic constituents from the stem bark of *Magnolia officinalis*. *J. Nat. Prod.*, 2009, **72**(1), 168-171.
13. Schühly W., Khan I., Fischer N. - The ethnomedicinal uses of Magnoliaceae from the southeastern United States as leads in drug discovery. *Pharm. Biol.*, 2001, **39**, 63-69.

14. Lewis W. H. - Medicinal plants and home remedies of *Appalachia*. *Econ. Bot.*, 1983, **37**(4), 433-433.
15. Youn U., Chen Q. C., Lee I. S., Kim H., Yoo J. K., Lee J., Na M., Min B. S., Bae K. - Two new lignans from the stem bark of *Magnolia obovata* and their cytotoxic activity. *Chem.Pharm. Bull.*, 2008, **56**(1), 115-117.
16. Oyungerel B., Lim H., Choi E. H., Li G. H., Choi K. D. - Anti-inflammatory effects of *Magnolia sieboldii* extract in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2014, **12**(6), 913.
17. Võ Văn Chi - Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, TP. Hồ Chí Minh, 1996, 289-290.
18. Kelm M. A., Nair M. G.- A brief summary of biologically active compounds from *Magnolia* spp; Atta-ur, R., Ed.; Elsevier (2000) 845-873.
19. Sarker S., Stewart M., Nahar P.- Chapter 3: Phytochemistry of the genus *Magnolia*; Satyajit D. Sarker, Y. M., Ed.; Taylor & Francis London (2002) 21-74.
20. Shuangyu X., Feng Z., Linlan T., Yangming J., Tao H., Yanan L., Zhanxing H., Jue Y., Xiaojiang H., Chunmao Y. - Three rare anti-inflammatory sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora*. *Chin. J. Nat. Med.*, 2024, **22**(3), 265-272.
21. Cristea R., Sava C., Căpățână C., Kanellou A. - Phytochemical Analysis and Specific Activities of Bark and Flower Extracts from Four *Magnolia* Plant Species. *Horticulturae*, 2024, **10**(2), 141.
22. Borah P., Chandra Dev Goswami R., Jha V., Saikia M. - Phytochemical analysis and molecular identification of *Magnolia hodgsonii* (Hook. f. & Thomson) H. Keng from Northeast India. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2024, **112**, 104762.
23. Cao Y., Li H., Zhang Y., Wang J., Ren Y., Liu Y., Wang M., He C., Chen X., Zheng X., Feng W. - Alkaloids and lignans with acetylcholinesterase inhibitory activity from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp. *New Journal of Chemistry*, 2020, **44**(25), 10309-10316.
24. Whiting D. A. - Ligans and neolignans. *Natural Product Reports*, 1985, **2**(3), 191-211.
25. Whiting D. A. - Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Rep.*, 1987, **4**, 499-525.
26. Song Q., Fischer N. H. - Biologically active lignans and neolignans from *Magnolia* species. *J. Mex. Chem. Soc.*, 1999, **43**(6), 211-218.

27. Vu V. T., Liu X. Q., Nguyen M. T., Lin Y. L., Kong L. Y., Luo J. G. - New obovatol trimeric neolignans with NO inhibitory activity from the leaves of *Magnolia officinalis* var. *biloba*. *Bioorg. Chem.*, 2020, **96**(1), 103586.
28. Ma Q., Wei R. - Structural elucidation and neuroprotective activities of lignans from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp. *Z Naturforsch C J. Biosci.*, 2021, **76**(3-4), 147-152.
29. Zhang X., Wu X. M., Han L. H., Qian F., Zhang L. Q., Li Y. M. - New furofuran and tetrahydrofuran lignans from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp and their antiallergic effects. *Nat. Prod. Res.*, 2023, **37**(18), 3083-3092.
30. Srinroch C., Sahakitpichan P., Chimnoi N., Ruchirawat S., Kanchanapoom T. - Flavonol triglycosides from *Magnolia utilis*. *Phytochem. Lett.*, 2019, **29**(2), 57-60.
31. Ge L., Zhang W., Zhou G., Ma B., Mo Q., Chen Y., Wang Y. - Nine phenylethanoid glycosides from *Magnolia officinalis* var. *biloba* fruits and their protective effects against free radical-induced oxidative damage. *Sci Rep*, 2017, **28**(7), 45342.
32. Xue Z., Yan R., Yang B. - Phenylethanoid glycosides and phenolic glycosides from stem bark of *Magnolia officinalis*. *Phytochemistry*, 2016, **127**(1), 50-62.
33. Ge L., Zhang W., Zhou G., Ma B., Mo Q., Chen Y., Wang Y. - Nine phenylethanoid glycosides from *Magnolia officinalis* var. *biloba* fruits and their protective effects against free radical-induced oxidative damage. *Sci. Rep.*, 2017, **7**(1), 45342.
34. Xu S., Tang Y., Li Y., Yang J., Gu W., Hao X., Yuan C. - Discovery of diverse sesquiterpenoids from *Magnolia grandiflora* with cytotoxic activities by inducing cell apoptosis. *Bioorg. Chem.*, 2023, **139**(1), 106707.
35. Srinroch C., Sahakitpichan P., Chimnoi N., Ruchirawat S., Kanchanapoom T. - Neolignan and monoterpene glycosides from *Magnolia henryi*. *Phytochem. Lett.*, 2019, **29**(3), 94-97.
36. Kanchanapoom T., Sahakitpichan P., Chimnoi N., Srinroch C., Thamniyom W., Ruchirawat S. - Monoterpene, benzyl and 3,4-dihydroxyphenethyl glycosides from *Magnolia thailandica*. *Phytochem. Lett.*, 2018, **25**(1), 28-32.
37. Morshedloo M. R., Quassinti L., Bramucci M., Lupidi G., Maggi F. - Chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity on tumour cells of the essential oil from flowers of *Magnolia grandiflora* cultivated in Iran. *Nat. Prod. Res.*, 2017, **31**(24), 2857-2864.

38. Zheng Y.-F., Liu X.-M., Zhang Q., Lai F., Ma L. - Constituents of the essential oil and fatty acid from rare and endangered plant *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 2019, **22**(1), 141-150.
39. Zheng Y. F., Ren F., Liu X. M., Lai F., Ma L. - Comparative analysis of essential oil composition from flower and leaf of *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot. *Nat. Prod. Res.*, 2016, **30**(13), 1552-1556.
40. Sook E., Choi K.-Y., Kim S.-C., In, Son S., Cho H., Su Y., Ahn, Mi H., Woo J., Hong D., Lee Y.-M. - Pattern recognition of the herbal drug, *Magnoliae Flos* according to their essential oil components. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2009, **30**(5), 1121-1126.
41. Fang H. J., Song W. Z., Yan Y. P. - Analysis and comparison of the constituents of the volatile oil from the flower buds and twigs of *Magnolia sprengeri* Pamp. *Yao Xue Xue Bao*, 1987, **22**(12), 908-912.
42. Kandhasamy S., Haeme C., Byoungsun Y., Songmun K. - Comparison of essential oil compositions of fresh and dried fruits of *Magnolia kobus* DC. *J. Appl. Pharm. Sci.*, 2016, **6**(4), 146-149.
43. Ali A., Tabanca N., Demirci B., Raman V., Budel J. M., Baser K. H. C., Khan I. A. - Insecticidal and biting deterrent activities of *Magnolia grandiflora* essential oils and selected pure compounds against *Aedes aegypti*. *Molecules*, 2020, **25**(6), 1359.
44. Báez D., Pino J. A., Morales D. - Volatiles from *Magnolia grandiflora* flowers: comparative analysis by simultaneous distillation-extraction and solid phase microextraction. *Nat. Prod. Commun.*, 2012, **7**(2), 237-238.
45. Nie J.-Y., Li R., Jiang Z.-T., Wang Y., Tan J., Tang S.-H., Zhang Y. - Screening and evaluation of radical scavenging active compounds in the essential oil from *Magnolia biondii* Pamp by electronic nose coupled with chemical methodology. *Ind. Crops Prod.*, 2020, **45**(5), 112060.
46. Schühly W., Ross S. A., Mehmedic Z., Fischer N. H. - Essential oil analysis of the follicles of four North American *Magnolia* species. *Nat. Prod. Commun.*, 2008, **3**(7), 1117-1119.
47. Zhenhong L. - Chemical analysis of *Magnolia liliflora* essential oil and its pharmacological function in nursing pregnant women suffering from decubitus ulcer. *J. Med. Plant Res.*, 2011, **5**(11), 2283-2288.
48. Sun G. R., Du F. G., Wang R. J. - Comparison of biomaterials from essential oils in five parts of *Magnolia sieboldii*. *Appl. Mech. Mat.*, 2014, **442**(1), 142-146.

49. Fang J. Y., Tsai T. H., Hung C. F., Wong W. W. - Development and evaluation of the essential oil from *Magnolia fargesii* for enhancing the transdermal absorption of theophylline and cianidanol. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2004, **56**(12), 1493-1500.
50. Wei Y., Li B., Duan H., Wu X., Yao X. - An integrated simultaneous distillation-extraction apparatus for the extraction of essential oils from herb materials and its application in Flos Magnoliae. *Biomed. Chromatogr.*, 2010, **24**(3), 289-293.
51. Fujita S. I., Ishmatsu Y., Fujita Y. - Miscellaneous contribution to the essential oils of the plants from various territories. XLII. On the components of the essential oils of *Magnolia denudata* Desr. *Yakugaku Zasshi*, 1977, **97**(11), 1216-1218.
52. Nagasawa M., Murakami T., Ikeda K., Hisada Y. - The geographical variation of essential oils of Flos Magnoliae. *Yakugaku Zasshi*, 1969, **89**(4), 454-459.
53. Garg S. N., Kumar S. - Volatile constituents from the flowers of *Magnolia grandiflora* L. from Lucknow, India. *J. Essent. Oil Res.*, 1999, **11**(5), 633-634.
54. Zhang B., Tang M., Zhang W., Zhangb C., Ai Y., Liang X., Shi Y., Chen Y., Zhang L., He T. - Chemical composition of *Blumea balsamifera* and *Magnolia sieboldii* essential oils and prevention of UV-B radiation-induced skin photoaging. *Nat. Prod. Res.*, 2021, **35**(24), 5977-5980.
55. Chen F., Zu Y., Yang L. - A novel approach for isolation of essential oil from fresh leaves of *Magnolia sieboldii* using microwave-assisted simultaneous distillation and extraction. *Sep. Purif. Technol.*, 2015, **154**(1), 271-280.
56. Lim S. S., Shin K. H., Ban H. S., Kim Y. P., Jung S. H., Kim Y. J., Ohuchi K. - Effect of the essential oil from the flowers of *Magnolia sieboldii* on the lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and prostaglandin E2 by rat peritoneal macrophages. *Planta. Med.*, 2002, **68**(5), 459-462.
57. Barros L. F., Ehrenfried C. A., Riva D., Barison A., de Mello-Silva R., Stefanello M. E. - Essential oil and other constituents from *Magnolia ovata* fruit. *Nat. Prod. Commun.*, 2012, **7**(10), 1365-1367.
58. Xu X. N., Tang Z. H., Liang Y. Z., Zhang L. X., Zeng M. M., Deng J. H. - Comparison of the volatile constituents of different parts of cortex *Magnolia officinalis* by GC-MS combined with chemometric resolution method. *J. Sep. Sci.*, 2009, **32**(20), 3466-3472.
59. Sha Y. F., Huang T. M., Shen S., Duan G. L. - Determination of volatile compounds in *Magnolia* bark by microwave-assisted extraction coupled to

- headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Sci.*, 2004, **20**(5), 857-859.
60. Pu Q. L., Pannell L. K., Xiao-Duo J. - The essential oil of *Magnolia officinalis*. *Planta. Med.*, 1990, **56**(1), 129-130.
 61. Kiem P. V., Tri M. D., Tuong L. V. D., Tung N. H., Hanh N. N., Quang T. H., Cuong N. X., Minh C. V., Choi E. M., Kim Y. H. - Chemical constituents from the leaves of *Manglietia phuthoensis* and their effects on osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 2008, **56**(9), 1270-1275.
 62. Ninh P. T., Ha C. T. T., Thai T. H., Hanh N. P., Khang N. S., Dung N. T., Hoai L. T. T., Chien T. V., Loc T. V., Nhu V. T. Q., Anh N. T., Hung T. Q., Sung T. V., Anh H. N., Thao T. T. P. - Chevalierinol A and B, two new neolignan sesquiterpenoids from *Magnolia chevalieri*. *Nat. Prod. Res.*, 2021, **35**(21), 3745-3751.
 63. Ninh P. T., Hoai L. T. T., Ha C. T. T., Thai T. H., Hang P. D., Van Loc T., Thao T. T. P. - Study on the chemical constituents of *Magnolia insignis* collected in Tuyen Quang province, Vietnam. *Vietnam J. Chem.*, 2020, **58**(1), 133-137.
 64. Ninh P. T., Dung N. T., Van Loc T., Ha C. T. T., Thao T. T. P., Van Chien T. - Phytochemistry of the aerial parts of *Magnolia coriacea* collected in Ha Giang, Viet Nam. *Vietnam J. Chem.*, 2022, **60**(5), 667-673.
 65. Chung N., Thi Huong L., Ogunwande I. - Antimicrobial, larvicidal activities and composition of the leaf essential oil of *Magnolia coco* (Lour.) DC. *Rec. Nat. Prod.*, 2020, **14**(5), 372-377.
 66. Chu H., Thai T., Hien N., Anh H., Diep L., Thuy D., Do-Dinh N., Setzer W. - Chemical composition and antimicrobial activity of the leaf and twig essential oils of *Magnolia hypolampra* Growing in Na Hang Nature Reserve, Tuyen Quang Province of Vietnam. *Nat. Prod. Commun.*, 2019, **14**(6), 1934578X1986037.
 67. Zhang X., Qian F., Tan J.-J., Guo F.-J., Kulka M., Xu J.-W., Li Y.-M. - Bioassay-guided isolation of bisepoxyignans from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp and their antiallergic effects. *RSC Advances*, 2017, **7**(54), 34236-34243.
 68. Lee W., Moon J. S., Kim S., Bahn Y.-S., Lee H., Kang T., Shin H.-M., Kim S. - A phenylpropanoid glycoside as a calcineurin inhibitor isolated from *Magnolia obovata* Thunb. *J. Microbiol. Biotechn.*, 2015, **25**(9), 1429-1432.
 69. Latif A., Du Y., Dalal S. R., Fernandez-Murga M. L., Merino E. F., Cassera M. B., Goetz M., Kingston D. G. I. - Bioactive neolignans and other compounds

- from *Magnolia grandiflora* L.: Isolation and antiplasmodial activity. *Chem. Biodivers.*, 2017, **14**(9), e1700209.
70. Li H. M., Zhao S. R., Huo Q., Ma T., Liu H., Lee J. K., Hong Y. S., Wu C. Z. - A new dimeric neolignan from *Magnolia grandiflora* L. seeds. *Arch. Pharm. Res.*, 2015, **38**(6), 1066-1071.
 71. Youn U. J., Chen Q. C., Jin W. Y., Lee I. S., Kim H. J., Lee J. P., Chang M. J., Min B. S., Bae K. H. - Cytotoxic lignans from the stem bark of *Magnolia officinalis*. *J. Nat. Prod.*, 2007, **70**(10), 1687-1689.
 72. Amawi H., Ashby C. R., Samuel T., Peraman R., Tiwari A. K. - Polyphenolic nutrients in cancer chemoprevention and metastasis: Role of the Epithelial-to-Mesenchymal (EMT) pathway. *Nutrients*, 2017, **9**(8), 911.
 73. Ong C. P., Lee W. L., Tang Y. Q., Yap W. H. - Honokiol: A review of Its anticancer potential and mechanisms. *Cancers*, 2019, **12**(1), 40.
 74. Dai X., Yin C., Guo G., Zhang Y., Zhao C., Qian J., Wang O., Zhang X., Liang G. - Schisandrin B exhibits potent anticancer activity in triple negative breast cancer by inhibiting STAT3. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2018, **358**(1), 110-119.
 75. Huang K. J., Kuo C. H., Chen S. H., Lin C. Y., Lee Y. R. - Honokiol inhibits *in vitro* and *in vivo* growth of oral squamous cell carcinoma through induction of apoptosis, cell cycle arrest and autophagy. *J. Cell Mol. Med.*, 2018, **22**(3), 1894-1908.
 76. Shen J., Ma H., Zhang T., Liu H., Yu L., Li G., Li H., Hu M. - Magnolol Inhibits the growth of non-small cell lung cancer via inhibiting microtubule polymerization. *Cell Physiol. Biochem.*, 2017, **42**(5), 1789-1801.
 77. Cheng Y. C., Hueng D. Y., Huang H. Y., Chen J. Y., Chen Y. - Magnolol and honokiol exert a synergistic anti-tumor effect through autophagy and apoptosis in human glioblastomas. *Oncotarget*, 2016, **7**(20), 29116-29130.
 78. Medzhitov R. - Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 2010, **140**(6), 771-776.
 79. Ferrero-Miliani L., Nielsen O. H., Andersen P. S., Girardin S. E. - Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007, **147**(2), 227-235.
 80. Nathan C., Ding A. - Nonresolving inflammation. *Cell*, 2010, **140**(6), 871-882.
 81. Sharma J., Al-Omran A., Parvathy S. S. - Role of nitric oxide in inflammatory disease. *Inflammopharmacology*, 2008, **15**(6), 252-259.

82. Lin Y., Li Y., Zeng Y., Tian B., Qu X., Yuan Q., Song Y. - Pharmacology, toxicity, bioavailability, and formulation of Magnolol: An update. *Front. Pharmacol.*, 2021, **12**(1), 632767.
83. Rauf A., Olatunde A., Imran M., Alhumaydhi F. A., Aljohani A. S. M., Khan S. A., Uddin M. S., Mitra S., Emran T. B., Khayrullin M., Rebezov M., Kamal M. A., Shariati M. A. - Honokiol: A review of its pharmacological potential and therapeutic insights. *Phytomedicine*, 2021, **90**(1), 153647.
84. Vu V. T., Xu X. J., Chen K., Nguyen M. T., Nguyen B. N., Pham G. N., Kong L. Y., Luo J. G. - New oligomeric neolignans from the leaves of *Magnolia officinalis* var. *biloba*. *Chin. J. Nat. Med.*, 2021, **19**(7), 491-499.
85. Zhou H. Y., Shin E. M., Guo L. Y., Youn U. J., Bae K., Kang S. S., Zou L. B., Kim Y. S. - Anti-inflammatory activity of 4-methoxyhonokiol is a function of the inhibition of iNOS and COX-2 expression in RAW 264.7 macrophages via NF-kappaB, JNK and p38 MAPK inactivation. *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, **586**(1-3), 340-349.
86. Choi M. S., Lee S. H., Cho H. S., Kim Y., Yun Y. P., Jung H. Y., Jung J. K., Lee B. C., Pyo H. B., Hong J. T. - Inhibitory effect of obovatol on nitric oxide production and activation of NF-kappaB/MAP kinases in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007, **556**(1-3), 181-189.
87. Jakimiuk K., Gesek J., Atanasov A. G., Tomczyk M. - Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2021, **36**(1), 1016-1028.
88. Chung C. Y., Kuo W. L., Hwang T. L., Chung M. I., Chen J. J. - Biphenyl-type neolignan derivatives from the twigs of *Magnolia denudata* and their anti-inflammatory activity. *Chem. Biodivers.*, 2015, **12**(8), 1263-1270.
89. Shih H. C., Kuo P. C., Wu S. J., Hwang T. L., Hung H. Y., Shen D. Y., Shieh P. C., Liao Y. R., Lee E. J., Gu Q., Lee K. H., Wu T. S. - Anti-inflammatory neolignans from the roots of *Magnolia officinalis*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2016, **24**(7), 1439-1445.
90. Yu S.-x., Yan R.-y., Liang R.-x., Wang W., Yang B. - Bioactive polar compounds from stem bark of *Magnolia officinalis*. *Fitoterapia*, 2012, **83**(2), 356-361.
91. Lee J., Lee D., Jang D. S., Nam J. W., Kim J. P., Park K. H., Yang M. S., Seo E. K. - Two new stereoisomers of tetrahydrofuranoid lignans from the flower buds of *Magnolia fargesii*. *Chem. Pharm. Bull.*, 2007, **55**(1), 137-139.

92. Lee J., Seo E. K., Jang D. S., Ha T. J., Kim J. P., Nam J. W., Bae G., Lee Y. M., Yang M. S., Kim J. S. - Two new stereoisomers of neolignan and lignan from the flower buds of *Magnolia fargesii*. *Chem. Pharm. Bull.*, 2009, **57**(3), 298-301.
93. Barros L. F., Barison A., Salvador M. J., de Mello-Silva R., Cabral E. C., Eberlin M. N., Stefanello M. E. - Constituents of the leaves of *Magnolia ovata*. *J. Nat. Prod.*, 2009, **72**(8), 1529-1532.
94. Cobb J., Dukes I. - Chapter 21 - Recent Advances in the development of agents for the treatment of type 2 diabetes; Bristol, J. A., Ed.; Academic Press, **Vol. 33** (1998) 213-222.
95. Choma I. M., Nikolaichuk H.- Chapter 16 - TLC bioprofiling—A tool for quality evaluation of medicinal plants; Mukherjee, P. K., Ed.; Elsevier (2022) 407-422.
96. Xue Z., Yan R., Yang B. - Phenylethanoid glycosides and phenolic glycosides from stem bark of *Magnolia officinalis*. *Phytochemistry*, 2016, **127**, 50-62.
97. Liu R., Mathieu C., Berthelet J., Zhang W., Dupret J.-M., Rodrigues Lima F. - Human protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B): From structure to clinical inhibitor perspectives. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, **23**(13), 7027.
98. Ahmad F., Azevedo J. L., Cortright R., Dohm G. L., Goldstein B. J. - Alterations in skeletal muscle protein-tyrosine phosphatase activity and expression in insulin-resistant human obesity and diabetes. *J. Clin. Invest.*, 1997, **100**(2), 449-458.
99. Li C., Li C. J., Ma J., Huang J. W., Wang X. Y., Wang X. L., Ye F., Zhang D. M. - Magmenthanes A-H: Eight new meroterpenoids from the bark of *Magnolia officinalis* var. *biloba*. *Bioorg. Chem.*, 2019, **88**(1), 102948.
100. Li C., Li C.-J., Xu K.-L., Ma J., Huang J.-W., Ye F., Zang Y.-D., Zhang D.-M. - Novel oligomeric neolignans with PTP1B inhibitory activity from the bark of *Magnolia officinalis* var. *biloba*. *Bioorg. Chem.*, 2020, **104**(2), 104319.
101. Wu X.-D., Hu J.-L., Nie W., Hu M., Li J.-D., Shen Y.-F., Ding L.-F., Song L.-D. - Spirocyclohexadienone-type neolignans with neuroprotective and Neurite outgrowth enhancing activities from *Magnolia liliiflora*. *Chem. Biodivers.*, 2022, **19**(9), e202200618.
102. Colović M. B., Krstić D. Z., Lazarević-Pašti T. D., Bondžić A. M., Vasić V. M. - Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr. Neuropharmacol.*, 2013, **11**(3), 315-335.

103. Li S., Li A. J., Zhao J., Santillo M. F., Xia M. - Acetylcholinesterase inhibition assays for high-throughput screening. *Methods Mol. Biol.*, 2022, **2474**(1), 47-58.
104. Cao Y., Li H., Zhang Y., Wang J., Ren Y., Liu Y., Wang M., He C., Chen X., Zheng X., Feng W. - Alkaloids and lignans with acetylcholinesterase inhibitory activity from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp. *New J. Chem.*, 2020, **44**(25), 10309-10316.
105. Cao Y. G., Li H. W., Cao B., Wang J. C., Zhang Y. L., Zhao X., Zheng X. K., Feng W. S. - Two new phenylpropanoids and a new dihydrostilbenoid from the flower buds of *Magnolia biondii* pamp and their acetylcholinesterase inhibitory activities. *Nat. Prod. Res.*, 2019, **35**(19), 1-8.
106. Zhang B., Yu H., Lu W., Yu B., Liu L., Jia W., Lin Z., Chen S. - Four new honokiol derivatives from the stem bark of *Magnolia officinalis* and their anticholinesterase activities. *Phytochem. Lett.*, 2019, **29**(1), 195-198.
107. Lee W., Moon j. s., Kim S., Bahn Y.-S., Lee H., Kang T., Shin H.-M., Kim S. - A phenylpropanoid glycoside as a calcineurin inhibitor isolated from *Magnolia obovata* Thunb. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, **25**(9), 1429-1432.
108. Latif A., Du Y., Dalal S. R., Fernandez-Murga M. L., Merino E. F., Cassera M. B., Goetz M., Kingston D. G. I. - Bioactive neolignans and other compounds from *Magnolia grandiflora* L.: Isolation and antiplasmodial activity. *Chem. Biodivers.*, 2017, **14**(9), e1700209.
109. Chinh V. T., Duy N. V., Phan N. H. T., Tran V. T., Tiep N. V., Xia N. - Additions to the Vietnamese species of *Magnolia* L., sect. *Gwillimia* DC. (Magnoliaceae). *Adansonia*, 2015, **37**(1), 13-18.
110. Duy N. V., Phan N. H. T., Tien T. V., Dung L. V., Xia N. - *Magnolia tiepii* sp. nov. from Vietnam. *Nord. J. Bot.*, 2015, **33**(4), 438-441.
111. <https://powo.science.kew.org/> - Ngày truy cập 31/10/2024.
112. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. - Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 1995, **28**(1), 25-30.
113. Gorinstein S., Haruenkit R., Park Y.-S., Jung S.-T., Zachwieja Z., Jastrzebski Z., Katrich E., Trakhtenberg S., Martin-Belloso O. - Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa® sweeties, a new kind of citrus fruit. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**(12), 1459-1463.
114. Phani Kumar G., Navya K., Ramya E. M., Venkataramana M., Anand T., Anilakumar K. R. - DNA damage protecting and free radical scavenging

- properties of Terminalia arjuna bark in PC-12 cells and plasmid DNA. *Free Radicals and Antioxidants*, 2013, **3**(1), 35-39.
115. Saijyo J., Suzuki Y., Okuno Y., Yamaki H., Suzuki T., Miyazawa M. - Alpha-glucosidase inhibitor from *Bergenias ligulata*. *J. Oleo. Sci.*, 2008, **57**(8), 431-435.
116. Ting L., Zhang X.-d., Song Y.-w., Liu J.-w. - A microplate-based screening method for alpha-glucosidase inhibitors. *Chinese J. Clin. Pharm. Ther.*, 2005, **10**(12), 1128-1134.
117. Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J. T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M. R. - New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, **82**(13), 1107-1112.
118. Likhitwitayawuid K., Angerhofer C. K., Cordell G. A., Pezzuto J. M., Ruangrunsi N. - Cytotoxic and antimalarial bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania erecta*. *J. Nat. Prod.*, 1993, **56**(1), 30-38.
119. Olennikov D. N., Chirikova N. K., Kim E., Kim S. W., Zul'fugarov I. S. - New glycosides of eriodictyol from *Dracocephalum palmatum*. *Chem. Nat. Compd.*, 2018, **54**(5), 860-863.
120. Lee E. H., Kim H. J., Song Y. S., Jin C., Lee K. T., Cho J., Lee Y. S. - Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Arch Pharm Res*, 2003, **26**(12), 1018-1023.
121. Dube N. P., Tembu V. J., Nyemba G. R., Davison C., Rakodi G. H., Kemboi D., de la Mare J. A., Siwe-Noundou X., Manicum A. E. - In vitro cytotoxic effect of stigmasterol derivatives against breast cancer cells. *BMC Complement Med. Ther.*, 2023, **23**(1), 316.
122. Nguyen T. M. H., Nguyen T. T. O., Le N. T., Spyridovich E. V., Nguyen V. H., Chau V. M. - Preliminary observation on the fibrinolytic activity of *Dimocarpus longan* Seed. *Chem. Nat. Compd.*, 2021, **57**(5), 945-948.
123. Di Pietro M., Mannu A., Mele A. - NMR determination of free fatty acids in vegetable Oils. *Processes*, 2020, **8**(4), 410.
124. Montoro P., Teyeb H., Masullo M., Mari A., Douki W., Piacente S. - LC-ESI-MS quali-quantitative determination of phenolic constituents in different parts of wild and cultivated *Astragalus gombiformis*. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2013, **72**(1), 89-98.
125. Wang S.-S., Zhang X.-J., Que S., Tu G.-Z., Wan D., Cheng W., Liang H., Ye J., Zhang Q.-Y. - 3-Hydroxy-3-methylglutaryl flavonol glycosides from *Oxytropis falcata*. *J. Nat. Prod.*, 2012, **75**(7), 1359-1364.

126. Walter A., Séquin U. - Flavonoids from the leaves of *Boscia salicifolia*. *Phytochemistry*, 1990, **29**(8), 2561-2563.
127. Chokchaisiri R., Innok P., Suksamrarn A. - Flavonoid glycosides from the aerial parts of *Curcuma comosa*. *Phytochem. Lett.*, 2012, **5**(2), 361-366.
128. Akzhigitova Z., Dyusebaeva M., Tokay T., Ydyrys A., Lijiang X., Jenis J. - Phytochemical study of *Bergenia crassifolia*. *Chem. Nat. Compd.*, 2020, **56**(5), 912-914.
129. Kazuma K., Noda N., Suzuki M. - Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 2003, **62**(2), 229-237.
130. Tham P. T., Chinh P. T., Thanh N. H., Giang P. T. T., Thang D. X., An N. T. K. - Flavone glycosides constituents from the leaves of *Fissistigma tonkinensis* (Fin. & Gagnep.) Merr. *Research and Development*, 2023, **59**(5), 112-115.
131. Kaouadji M. - Flavonol diglycosides from *Blackstonia perfoliata*. *Phytochemistry*, 1990, **29**(4), 1345-1347.
132. Jung J. H., Lee C. O., Kim Y. C., Kang S. S. - New bioactive cerebrosides from *Arisaema amurense*. *J. Nat. Prod.*, 1996, **59**(3), 319-322.
133. Li X.-J., Kim K.-W., Oh H., Liu X.-Q., Kim Y.-C. - Chemical constituents and an antineuroinflammatory lignan, savinin from the roots of *Acanthopanax henryi*. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2019, **2019**(1), 1-10.
134. Hong S. S., Lee C., Lee C. H., Park M., Lee M. S., Hong J. T., Lee H., Lee M. K., Hwang B. Y. - A new furofuran lignan from *Isodon japonicus*. *Arch. Pharm. Res.*, 2009, **32**(4), 501-504.
135. de Lima R. G., Lisoni F. C. R., Picão T. B., Dos Santos F. F., Orenha R. P., Borges A., Molina E. F., Parreira R. L. T., MLA E. S., Santos M. F. C., de Laurentiz R. D. S. - *In vitro* and *in silico* cytotoxicity of hinokinin-loaded PLGA microparticle systems against tumoral SiHa cells. *Nat. Prod. Res.*, 2022, **36**(18), 4696-4703.
136. li L., Li G., Zhao J., Tu Y., Yang X., Zhang H. - Two new lignan glycosides from *Schisandra rubriflora*. *Heterocycles*, 2004, **63**(3), 1437-1144.
137. Qin Y., Yin C., Cheng Z. - A new tetrahydrofuran lignan diglycoside from *Viola tianshanica* Maxim. *Molecules*, 2013, **18**(11), 13636-13644.
138. Mu Xia Y., Hui Bi W., Yuan Zhang Y. - Synthesis of dibenzylbutanediol lignans and their anti-HIV, anti-HSV, anti-tumor activities. *J. Chil. Chem. Soc.*, 2009, **54**(4), 428-431.

139. Viet T. N. T., Thu H. D. T., Minh T. T., Nhiem N. X., Yen P. H., Kiem P. V., - Flavonol glycosides from *Phoebe poilanei* Kosterm. *Vietnam J. Chem.*, 2018, **56**(6), 711-716.
140. Yoon H.-R., Han H.-G., Paik Y.-S. - Flavonoid glycosides with antioxidant activity from the petals of *Carthamus tinctorius*. *J. Appl. Biol. Chem.*, 2007, **50**, 175-178.
141. Thanh N. T. V., Hien D. T. T., Minh T. T., Cuong H. D., Nhiem N. X., Yen P. H., Van Kiem P. - Quercetin glycosides and sesquiterpenes from *Phoebe poilanei* Kosterm. *Vietnam J. Chem.*, 2019, **57**(4), 401-405.
142. Seo K. H., Lee D. Y., In S. J., Lee D. G., Kang H. C., Song M. C., Baek N. I. - Phenylethanoid glycosides from the fruits of *Magnolia obovata*. *Chem. Nat. Compd.*, 2015, **51**(4), 660-665.
143. Lu Y., Xue Y., Liu J., Yao G., Li D., Sun B., Zhang J., Liu Y., Qi C., Xiang M., Luo Z., Du G., Zhang Y. - (\pm)-Acortatarinowins A-F, Norlignan, neolignan, and lignan enantiomers from *Acorus tatarinowii*. *J. Nat. Prod.*, 2015, **78**(9), 2205-2214.
144. Gohari A. R., Saeidnia S., Bayati-Moghadam M., Amin G. - Lignans and neolignans from *Stelleropsis antoninae*. *Daru*, 2011, **19**(1), 74-79.
145. Hai T. T., Hue T. C., Tran H. G., Thoa H., Nguyen A. D., Hang N., Hung N. V., Le T. - Lignans isolated from the ethyl acetate extract of *Knema pachycarpa* fruit. *Vietnam J. Chem.*, 2017, **55**(4), 406-410.
146. Zhang L., Ulriksen E. S., Hoel H., Sandvik L., Malterud K. E., Inngjerdingen K. T., Inngjerdingen M., Wangensteen H. - Phytochemical characterization and anti-inflammatory activity of a water extract of *Gentiana purpurea* roots. *J. Ethnopharmacol.*, 2023, **301**(1), 115818.
147. Zhang X., Wu X. M., Han L. H., Qian F., Zhang L. Q., Li Y. M. - New furofuran and tetrahydrofuran lignans from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp and their antiallergic effects. *Nat. Prod. Res.*, 2023, **37**(18), 3083-3092.
148. Alberto Marco J., Sanz-Cervera J. F., Morante M. D., García-Lliso V., Vallès-Xirau J., Jakupovic J. - Tricyclic sesquiterpenes from *Artemisia chamaemelifolia*. *Phytochemistry*, 1996, **41**(3), 837-844.
149. Hoang A. N. T., Tuan N. V., Quan T. D., Thien D. D., Tam N. T., Kim L. G. T., Thuy T. T., Sung T. V. - Chemical constituents of *Chirita drakei* Burt collected in Ha Long bay, Quang Ninh province, Viet Nam. Part 1. Compounds isolated from the *n*-hexane and ethyl acetate extracts. *Vietnam J. Chem.*, 2017, **55**(2), 202.

150. Yang Y., Bakri M., Gu D., Aisa H. A. - Separation of (*S*)-dehydrovomifoliol from leaves of *Nitraria sibirica* Pall. by High-Speed Counter-Current Chromatography. *J. Liq. Chromatogr. R. T.*, 2013, **36**(5), 573-582.
151. Jin Y. P., Shi Y. P. - Terpenoids and steroids from *Lappula anocarpa*. *Pharmazie.*, 2004, **59**(11), 885-888.
152. Kiem P. V., Tri M. D., Tuong L. V. D., Tung N. H., Hanh N. N., Quang T. H., Cuong N. X., Minh C. V., Choi E.-M., Kim Y. H. - Chemical constituents from the leaves of *Manglietia phuthoensis* and their Effects on osteoblastic MC3T3-E1 Cells. *Chem. Pharm. Bull.*, 2008, **56**(9), 1270-1275.
153. Thuy T. T., Thao T. T. P., Frank K., Wessjohann L., Sung T. V. - Study on chemical constituents from the roots of *Codonopsis pilosula*. *Vietnam J. Chem.*, 2011, **50**(1), 116-120.

PHỤ LỤC