

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Phạm Văn Công**

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

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ  
HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN**

**Hà Nội - 2024**

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Phạm Văn Công

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

**LUẬN ÁN TIÊN SĨ HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN**

Mã số: 9.44.01.17

Xác nhận của Học viện  
Khoa học và Công nghệ



Người hướng dẫn 1  
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh

Người hướng dẫn 2  
(Ký, ghi rõ họ tên)

TS. Bùi Quang Minh

Hà Nội - 2024

## LỜI CAM ĐOAN

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

Hà Nội, ngày 28 tháng 08 năm 2024

Tác giả luận án



Phạm Văn Công

## LỜI CẢM ƠN

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

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

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

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

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

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

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

*Xin trân trọng cảm ơn!*

**Tác giả luận án**



**Phạm Văn Công**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	<i>i</i>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	<i>ii</i>
<b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT</b> .....	<i>vii</i>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<i>viii</i>
<b>DANH MỤC HÌNH</b> .....	<i>ix</i>
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<i>1</i>
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU</b> .....	<i>3</i>
<b>1.1. Giới thiệu chung về họ Cúc (Asteraceae)</b> .....	<i>3</i>
<b>1.2. Tổng quan về chi Vernonia</b> .....	<i>4</i>
1.2.1. Vài nét về chi Vernonia.....	<i>4</i>
1.2.1.1. Giới thiệu thực vật loài <i>V. amygdalina</i> .....	<i>5</i>
1.2.1.2. Giới thiệu về loài Vernonia gratiosa.....	<i>6</i>
1.2.2. Tác dụng của chi Vernonia trong y học cổ truyền.....	<i>7</i>
<b>1.3. Nghiên cứu về thành phần hóa học của chi Vernonia</b> .....	<i>8</i>
1.3.1. Các hợp chất sesquiterpene.....	<i>8</i>
1.3.2. Các hợp chất sesquiterpene lactone khác:.....	<i>17</i>
1.3.3. Các sesquiterpene khác.....	<i>19</i>
1.3.4. Các hợp chất stigmastane steroid.....	<i>20</i>
1.3.5. Các hợp chất triterpenoid.....	<i>26</i>
1.3.6. Các hợp chất flavonoid và phenolic.....	<i>27</i>
<b>1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi Vernonia</b> .....	<i>31</i>
1.4.1. Tác dụng kháng viêm.....	<i>31</i>
1.4.2. Tác dụng chống tiểu đường.....	<i>32</i>
1.4.3. Tác dụng gây độc tế bào ung thư.....	<i>33</i>
1.4.4. Tác dụng chống sốt rét.....	<i>35</i>
1.4.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật.....	<i>36</i>
<b>1.5. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước về loài <i>V. amygdalina</i></b> .....	<i>36</i>

1.6. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước của loài <i>V. gratiosa</i> .....	37
1.7. Giới thiệu về bệnh tiểu đường.....	37
1.8. Giới thiệu về bệnh gút .....	38
<b>CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	39
<b>2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU</b> .....	39
2.1.1. Loài <i>Vernonia amygdalina</i> .....	39
2.1.2 Loài <i>Vernonia gratiosa</i> .....	39
<b>2.2. DUNG MÔI, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU</b> .....	40
2.2.1. Dung môi và hóa chất .....	40
2.2.2. Thiết bị nghiên cứu.....	40
<b>2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	41
2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất.....	41
2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất .....	41
2.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất sạch.....	41
2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học .....	42
2.3.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase.....	42
2.3.4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase .....	42
<b>2.4. PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT</b> .....	43
2.4.1. Phân lập các hợp chất từ loài <i>V. amygdalina</i> .....	43
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài <i>V. gratiosa</i> .....	46
<b>2.5. THÔNG SỐ VẬT LÝ VÀ DỮ LIỆU PHỔ CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP</b> .....	49
2.5.1. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> .....	49
2.5.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài <i>Vernonia gratiosa</i> . .....	52
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	55
<b>3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i></b> ....	55
3.1.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> .....	55
3.1.1.1. Hợp chất LD1: <i>Vernonioside K</i> .....	55

3.1.1.2. Hợp chất LD2: Vernonioside N.....	61
3.1.1.3. Hợp chất LD3: Vernonioside M .....	63
3.1.1.4. Hợp chất LD4: Vernonioside O .....	65
3.1.1.5. Hợp chất LD5: Vernonioside L.....	67
3.1.1.6. Hợp chất LD6: Vernonioside P .....	70
3.1.1.7. Hợp chất LD7: Vernonioside Q .....	76
<b>3.1.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất đã biết từ loài <i>V. gratiosa</i> .....</b>	<b>76</b>
3.1.2.1. Hợp chất LD8: (22R,23S,24R,28S)-28-methoxy- 7,8,9,11 tetrahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ - stigmastane. ....	77
3.1.2.2. Hợp chất LD9: Vernoamyoside E .....	78
3.1.2.3. Hợp chất LD10: Vernonioside B <sub>2</sub> .....	80
3.1.2.4. Hợp chất LD11: Vernoniacum B.....	82
3.1.2.5. Hợp chất LD12: (23S,24R,28S)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone .....	83
3.1.2.6. Hợp chất LD13: Vernonioside B <sub>1</sub> .....	84
3.1.2.7. Hợp chất LD14: Veramyoside H.....	86
3.1.2.8. Hợp chất LD15: Veramyoside J .....	87
3.1.2.9. Hợp chất LD16: Vernoamyoside A .....	88
3.1.2.10. Hợp chất LD17: $\alpha$ -spinasterol.....	90
<b>3.1.3. Đặc trưng phổ <sup>13</sup>C-NMR của các hợp chất stigmastane steroid phân lập được từ loài <i>V. amygdalina</i>. ....</b>	<b>92</b>
<b>3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ loài <i>V. gratiosa</i> 96</b>	
<b>3.2.1. Cấu trúc của các hợp chất mới đã phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i> .....</b>	<b>96</b>
3.2.1.1. Hợp chất VG1: Vernoniagratoside A.....	96
3.2.1.2. Hợp chất VG2: Vernogratoside B .....	103
3.2.1.3. Hợp chất VG3: Vernogratoside C.....	105
3.2.1.4. Hợp chất VG4: Vernogratoside R.....	111
3.2.1.5. Hợp chất VG5; Vernogratoside S .....	113
3.2.1.6. Hợp chất VG6: Vernoratoside A .....	115

3.2.1.7. Hợp chất VG7: Vernoratoside B .....	122
3.2.2. Cấu trúc của các hợp chất đã biết được phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i> .....	124
3.2.2.1. Hợp chất VG8: VE-1 .....	124
3.2.2.2. Hợp chất VG9: Vernoniacum B .....	126
3.2.2.3. Hợp chất VG 10: Kaempferol .....	127
3.2.2.4. Hợp chất VG11: Quercetin 3-O-methyl ether.....	128
3.2.2.5. Hợp chất VG12; Quercetin .....	129
3.2.2.6. Hợp chất VG13: Hợp chất Apigenin.....	130
3.2.2.7. Hợp chất VG14: Syringaresinol-4- $\beta$ -D-glucoside .....	131
3.2.2.8. Hợp chất VG15: Threo-guaiacylglycerol-8-O-4'-sinapylete-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.....	132
3.2.2.9. Hợp chất VG16: 11 $\beta$ ,13-dihydroveranolide .....	134
3.2.2.10. Hợp chất VG17: 5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde. ....	135
<b>3.3. Đặc trưng phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của một số hợp chất stigmastane steroid phân lập từ loài <i>V. gratiosa</i>.....</b>	<b>136</b>
<b>3.4. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được từ loài <i>V. amygdalina</i> và <i>V. gratiosa</i>.....</b>	<b>138</b>
3.4.1. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất LD1 – LD17 .....	139
3.4.2. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất (VG1 – VG17) ..	140
3.4.3. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase các hợp chất (LD1 – LD17).....	140
3.4.4. Hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất sạch phân lập được từ loài <i>V. gratiosa</i> .....	141
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>142</b>
<b>KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>143</b>
<b>NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....</b>	<b>143</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....</b>	<b>144</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>145</b>



## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT

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

## DANH MỤC BẢNG

<b>Bảng 1.</b> Một số loài thực vật chi <i>Vernonia</i> tìm thấy ở Việt Nam.....	5
<b>Bảng 3. 1.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -NMR của <b>LD1</b> và chất tham khảo .....	60
<b>Bảng 3. 2.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD2</b> và chất tham khảo .....	62
<b>Bảng 3. 3.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ -NMR của <b>LD3</b> và <b>LD2</b> .....	64
<b>Bảng 3. 4.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD4</b> và chất tham khảo .....	66
<b>Bảng 3. 5.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD5</b> và chất tham khảo .....	69
<b>Bảng 3. 6.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD6</b> và <b>LD7</b> .....	75
<b>Bảng 3. 7.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD8</b> .....	77
<b>Bảng 3. 8.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD9</b> và chất tham khảo.....	79
<b>Bảng 3. 9.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD10</b> và chất tham khảo.....	81
<b>Bảng 3. 10.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD11</b> và chất tham khảo .....	82
<b>Bảng 3. 11.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD12</b> và chất tham khảo .....	84
<b>Bảng 3. 12.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD13</b> và chất tham khảo .....	85
<b>Bảng 3. 13.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD14</b> và chất tham khảo .....	86
<b>Bảng 3. 14.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD15</b> và <b>LD14</b> .....	88
<b>Bảng 3. 15.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD16</b> và chất tham khảo .....	89
<b>Bảng 3. 16.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>LD17</b> và chất tham khảo .....	91
<b>Bảng 3. 17.</b> Dữ liệu phổ $^{13}\text{C}$ NMR các hợp chất phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> ....	94
<b>Bảng 3. 18.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG1</b> và chất tham khảo .....	99
<b>Bảng 3. 19.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ -NMR của <b>VG2</b> và chất tham khảo .....	104
<b>Bảng 3. 20.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG3</b> , <b>VG2</b> và chất tham khảo .....	110
<b>Bảng 3. 21.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG4</b> và chất tham khảo .....	112
<b>Bảng 3. 22.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG5</b> và chất tham khảo .....	114
<b>Bảng 3. 23.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG6</b> và chất tham khảo .....	117
<b>Bảng 3. 24.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG7</b> và <b>VG6</b> .....	123
<b>Bảng 3. 25.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG8</b> và hợp chất VE-1 .....	125
<b>Bảng 3. 26.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG9</b> và chất tham khảo .....	126
<b>Bảng 3. 27.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG10</b> và chất tham khảo .....	128
<b>Bảng 3. 28.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG11</b> và chất tham khảo .....	129
<b>Bảng 3. 29.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG12</b> và chất tham khảo .....	129
<b>Bảng 3. 30.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ NMR của <b>VG13</b> và chất tham khảo.....	130
<b>Bảng 3. 31.</b> Dữ liệu phổ NMR của hợp chất <b>VG14</b> và chất tham khảo .....	132
<b>Bảng 3. 32.</b> Dữ liệu phổ $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ -NMR của số <b>VG15</b> .....	133
<b>Bảng 3. 33.</b> Dữ liệu phổ NMR của <b>VG16</b> và chất tham khảo .....	135
<b>Bảng 3. 34.</b> Dữ liệu phổ của <b>VG17</b> và chất tham khảo.....	136
<b>Bảng 3. 35.</b> Dữ liệu phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của các hợp chất ( <b>VG1 – VG9</b> ).....	137
<b>Bảng 3. 36.</b> Tác dụng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của ( <b>LD1 -LD17</b> ) .....	140
<b>Bảng 3. 37</b> Tác động ức chế $\alpha$ -glucosidase của ( <b>VG1 – VG17</b> ) .....	140
<b>Bảng 3. 38.</b> Tác động ức chế enzym xanthine oxidase của ( <b>VG1 – VG17</b> ).....	141

## DANH MỤC HÌNH

<b>Hình 1. 1.</b> Hình ảnh ba loài thuộc chi <i>Vernonia</i> tại Việt Nam.....	4
<b>Hình 1. 2.</b> Hình ảnh của cây <i>Vernonia amygdalina</i> .....	6
<b>Hình 1. 3.</b> Hình ảnh của cây <i>Vernonia gratioiosa</i> .....	7
<b>Hình 1. 4.</b> Phân loại các hợp chất sesquiterpene lactone .....	8
<b>Hình 1. 5.</b> Quá trình sinh tổng hợp dimer <b>74</b> .....	15
<b>Hình 1. 6.</b> Quá trình sinh tổng hợp dimer ( <b>76 -78</b> ). .....	16
<b>Hình 2. 1.</b> Hình ảnh loài <i>V. amygdalina</i> thu tại Hà Nội.....	39
<b>Hình 2. 2.</b> Hình ảnh loài <i>V. gratioiosa</i> thu tại Quảng Trị.....	39
<b>Hình 2. 3.</b> Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất từ <i>V. amygdalina</i> ở Việt Nam.....	45
<b>Hình 2. 4.</b> Sơ đồ phân lập và tinh chế hợp chất từ loài <i>V. gratioiosa</i> ở Việt Nam.....	48
<b>Hình 3. 1.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD1</b> và hợp chất tham khảo <b>LD1a</b> .....	55
<b>Hình 3. 2.</b> Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>LD1</b> .....	56
<b>Hình 3. 3.</b> Các tương tác ROESY chính của <b>LD1</b> .....	56
<b>Hình 3. 4.</b> Phổ HR-ESI-MS của <b>LD1</b> .....	57
<b>Hình 3. 5.</b> Phổ <sup>1</sup> H-NMR của <b>LD1</b> .....	57
<b>Hình 3. 6</b> Phổ <sup>13</sup> C-NMR của <b>LD1</b> .....	58
<b>Hình 3. 7.</b> Phổ HSQC của <b>LD1</b> .....	58
<b>Hình 3. 8.</b> Phổ <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY của <b>LD1</b> .....	59
<b>Hình 3. 9.</b> Phổ ROESY của <b>LD1</b> .....	59
<b>Hình 3. 10.</b> Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất <b>LD2</b> ....	61
<b>Hình 3. 11.</b> Các tương tác ROESY chính của <b>LD2</b> .....	63
<b>Hình 3. 12.</b> Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất <b>LD3</b> .....	63
<b>Hình 3. 13.</b> Các tương tác ROESY chính của <b>LD3</b> .....	65
<b>Hình 3. 14.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD4</b> và hợp chất <b>LD4a</b> .....	65
<b>Hình 3. 15.</b> Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>LD4</b> .....	67
<b>Hình 3. 16.</b> Các tương tác ROESY chính của <b>LD4</b> .....	67
<b>Hình 3. 17.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD5</b> .....	67
<b>Hình 3. 18.</b> Phổ HR-ESI-MS của <b>LD5</b> .....	68
<b>Hình 3. 19.</b> Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>LD5</b> .....	68
<b>Hình 3. 20.</b> Các tương tác ROESY chính của <b>LD5</b> .....	70
<b>Hình 3. 21.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD6</b> .....	70
<b>Hình 3. 22.</b> Các tương tác COSY, HMBC và NOESY chính của <b>LD6</b> .....	71
<b>Hình 3. 23.</b> Phổ <sup>1</sup> H-NMR của <b>LD6</b> .....	72
<b>Hình 3. 24.</b> Phổ <sup>13</sup> C-NMR của <b>LD6</b> .....	72

<b>Hình 3. 25.</b> Phổ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY của <b>LD6</b> .....	73
<b>Hình 3. 26.</b> Phổ HMBC của <b>LD6</b> .....	73
<b>Hình 3. 27.</b> Phổ HSQC của <b>LD6</b> .....	74
<b>Hình 3. 28.</b> Phổ ROESY của <b>LD6</b> .....	74
<b>Hình 3. 29.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD7</b> và hợp chất <b>LD6</b> .....	76
<b>Hình 3. 30.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD8</b> .....	77
<b>Hình 3. 31.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD9</b> .....	78
<b>Hình 3. 32.</b> Cấu trúc hóa học của của hợp chất <b>LD10</b> .....	80
<b>Hình 3. 33.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD11</b> .....	83
<b>Hình 3. 34.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD12</b> .....	83
<b>Hình 3. 35.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD13</b> .....	84
<b>Hình 3. 36.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD14</b> .....	86
<b>Hình 3. 37.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD15</b> .....	87
<b>Hình 3. 38.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD16</b> .....	88
<b>Hình 3. 39.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>LD17</b> .....	90
<b>Hình 3. 40.</b> Cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập từ loài <i>V. amygdalina</i> .	92
<b>Hình 3. 41.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG1</b> và hợp chất tham khảo <b>VG1a</b> ....	96
<b>Hình 3. 42.</b> Tương tác COSY và HMBC chính của <b>VG1</b> .....	97
<b>Hình 3. 43.</b> Tương tác NOESY của <b>VG1</b> .....	98
<b>Hình 3. 44.</b> Phổ HR-ESI-MS của <b>VG1</b> .....	98
<b>Hình 3. 45.</b> Phổ $^1\text{H}$ -NMR của <b>VG1</b> .....	100
<b>Hình 3. 46.</b> Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của <b>VG1</b> .....	100
<b>Hình 3. 47.</b> Phổ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY của <b>VG1</b> .....	101
<b>Hình 3. 48.</b> Phổ HMBC của <b>VG1</b> .....	101
<b>Hình 3. 49.</b> Phổ HSQC của <b>VG1</b> .....	102
<b>Hình 3. 50.</b> Phổ NOESY của <b>VG1</b> .....	102
<b>Hình 3. 51.</b> Phổ CD thực nghiệm của <b>VG1</b> .....	103
<b>Hình 3. 52.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG2</b> ; hợp chất <b>VG1</b> ; hợp chất <b>VG1a</b>	103
<b>Hình 3. 53.</b> Tương tác NOESY chính của <b>VG2</b> .....	104
<b>Hình 3. 54.</b> Phổ CD của <b>VG2</b> và <b>Verocuminoside H</b> .....	104
<b>Hình 3. 55.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG3</b> .....	105
<b>Hình 3. 56.</b> Phổ HR-ESI-MS của hợp chất <b>VG3</b> .....	106
<b>Hình 3. 57.</b> Phổ $^1\text{H}$ -NMR của <b>VG3</b> .....	106
<b>Hình 3. 58.</b> Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của <b>VG3</b> .....	107
<b>Hình 3. 59.</b> Phổ HSQC của <b>VG3</b> .....	107
<b>Hình 3. 60.</b> Phổ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY của <b>VG3</b> .....	108

<b>Hình 3. 61.</b> Phổ HMBC của <b>VG3</b> .....	108
<b>Hình 3. 62.</b> Phổ NOESY của <b>VG3</b> .....	109
<b>Hình 3. 63.</b> Phổ ECD của <b>VG3</b> .....	109
<b>Hình 3. 64.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG4</b> .....	111
<b>Hình 3. 65.</b> Phổ CD của <b>VG4</b> .....	111
<b>Hình 3. 66.</b> Cấu trúc hóa học của các hợp chất <b>VG1-VG4</b> .....	112
<b>Hình 3. 67.</b> Phổ so sánh phổ ECD của ( <b>VG1-VG4</b> ) .....	113
<b>Hình 3. 68.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG5</b> .....	115
<b>Hình 3. 69.</b> Tương tác HMBC của <b>VG5</b> .....	115
<b>Hình 3. 70.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG6</b> và hợp chất <b>VE1</b> .....	115
<b>Hình 3. 71.</b> Phổ HR-ESI-MS của <b>VG6</b> .....	116
<b>Hình 3. 72.</b> Tương tác COSY và HMBC của <b>VG6</b> .....	118
<b>Hình 3. 73.</b> Tương tác phổ NOESY của <b>VG6</b> .....	118
<b>Hình 3. 74.</b> Phổ <sup>1</sup> H-NMR của <b>VG6</b> .....	119
<b>Hình 3. 75.</b> Phổ <sup>13</sup> C-NMR của <b>VG6</b> .....	119
<b>Hình 3. 76.</b> Phổ HSQC của <b>VG6</b> .....	120
<b>Hình 3. 77.</b> Phổ <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY của <b>VG6</b> .....	120
<b>Hình 3. 78.</b> Phổ HMBC của <b>VG6</b> .....	121
<b>Hình 3. 79.</b> Phổ NOESY của <b>VG6</b> .....	121
<b>Hình 3. 80.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG7</b> .....	122
<b>Hình 3. 81.</b> Tương tác COSY và HMBC chính của hợp chất <b>VG7</b> .....	122
<b>Hình 3. 82.</b> Tương tác NOESY của <b>VG7</b> .....	124
<b>Hình 3. 83.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG8</b> .....	124
<b>Hình 3. 84.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG9</b> .....	127
<b>Hình 3. 85.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG10</b> .....	127
<b>Hình 3. 86.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG11</b> .....	128
<b>Hình 3. 87.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG12</b> .....	129
<b>Hình 3. 88.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG13</b> .....	130
<b>Hình 3. 89.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG14</b> .....	131
<b>Hình 3. 90.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG15</b> .....	132
<b>Hình 3. 91.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG16</b> .....	134
<b>Hình 3. 92.</b> Tương tác HMBC và NOESY chính của <b>VG16</b> .....	135
<b>Hình 3. 93.</b> Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>VG17</b> .....	135
<b>Hình 3. 94.</b> Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ <i>V. gratiosa</i> .....	138

## MỞ ĐẦU

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

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

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

Bên cạnh tiểu đường, bệnh gút cũng là một bệnh lý chuyển hóa có liên quan đến tăng nồng độ acid uric trong máu. Theo thống kê năm 2020, ước tính có khoảng 55,8 triệu người mắc bệnh gút trên toàn thế giới, tăng 22,5% so với năm 1990. Tổng số

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

Do đó, việc nghiên cứu, phân lập và đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất từ *V. amygdalina* và *V. gratiosa* có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở khoa học vững chắc cho định hướng ứng dụng, khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng này ở Việt Nam. Từ những cơ sở trên tôi lựa chọn đề tài: "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiosa***".

**Mục tiêu của luận án trên bao gồm:**

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

**Nội dung nghiên cứu của luận án bao gồm:**

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

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Giới thiệu chung về họ Cúc (Asteraceae)

Họ Cúc (Asteraceae hay Compositae), một trong những họ lớn nhất của ngành thực vật hạt kín, bao gồm cây bụi, cây thân cỏ hoặc một số ít là thân gỗ. Họ Cúc là một trong số những họ thực vật quan trọng nhất trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Theo thống kê của vườn thực vật Hoàng gia Kew, họ Cúc (Asteraceae) có khoảng 1620 chi và hơn 23600 loài trong đó các chi lớn nhất là *Senecio* (1500 loài), *Vernonia* (1000 loài), *Cousinia* (600 loài), *Centaurea* (600 loài) được phân bố rộng khắp trên toàn cầu nhưng tập trung nhiều nhất là các vùng ôn đới và miền núi nhiệt đới [1].

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

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

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

Lá: Lá của họ Cúc thường mọc ở nách và mọc so le, đôi khi cũng gặp một số loài thuộc tông (*Heliantheae* và *Eupatorieae*) là có lá mọc đối. Phiến lá ít khi nguyên, thường khía răng hay chia thùy. Hình dạng và kích thước lá thay đổi nhiều theo từng khu vực. Ở nước ta chủ yếu có các dạng lá đơn nguyên, có thùy, xẻ thùy và lá kép. Do lá thuộc họ Cúc khá đa dạng nên không thể phân biệt các chi bằng hình thái lá được [2].

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



Bộ nhị: Trong họ Cúc thường có năm nhị bằng nhau trừ loài (*Blumeopsis* có 2-4 nhị), chỉ nhị luôn dính vào ống tràng và rời nhau còn bao phấn thì dính với nhau thành một ống và mở dọc theo kẽ nứt bên trong. Trừ 2 loài *Blumeopsis* và *Xanthium* là có bao phấn rời. Bộ nhụy: gồm 3 noãn luôn dính lại thành bầu dưới 1 ô, trong chứa 1 noãn đảo dính ở đáy, vòi nhụy, gốc vòi có triển tuyến mật, đầu nhụy xẻ 2 thùy sâu, phía trong có chứa núm, phía ngoài không có. Nhụy có nhiều hình dạng khác nhau như hình trụ, hình dùi hơi dẹt, hình dải hẹp, [2] .... Quả: Quả ở họ Cúc thường là quả bế chỉ có 1 hạt với vỏ hạt mỏng và phôi lớn, không có nội nhũ, đỉnh quả có thể dạng trần hoặc tồn tại dưới dạng đài. Các dạng quả bế, dạng đài trên đỉnh quả bế là đặc điểm đặc trưng cho từng taxon nên dùng làm tiêu chuẩn để phân loại họ Cúc [2].

## 1.2. Tổng quan về chi *Vernonia*

### 1.2.1. Vài nét về chi *Vernonia*

Chi *Vernonia* là một trong những chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae). Là dạng cây cỏ, bụi, cây gỗ nhỏ, lá mọc xen kẽ hiếm khi mọc đối, viền có răng cưa, gân lá hình lông chim, cụm hoa hình đầu, đơn độc thường mọc thành dạng gù hay chùy, mỗi cụm hoa thường có 2 hoặc nhiều hơn hai hoa, tất cả là hoa hình ống, đồng hình, lưỡng thụ. Lá bắc ở tổng bao thường nhiều hàng với đặc trưng là hàng ngoài ngắn hơn hàng trong, đôi khi cũng có khi gặp 2 hàng. Đế hoa bằng hoặc hơi nhô lên dạng tổ ong hoặc lỗ nông, không có vảy nhỏ, không có lông hoặc có lông ngắn, có hoa lưỡng tính, hoa có màu tím, tím hồng hoặc trắng nhạt, trắng. Quả bế hình trụ, trụ tròn hoặc hơi bị ép dẹt, vỏ quả có 5-10 gờ hoặc 4-5 cạnh. Tính đến nay đã có khoảng 1000 loài được báo cáo, những báo cáo đã chỉ ra rằng chi *Vernonia* được phân bố ở nhiều nơi với nhiều loại hình điều kiện sinh thái khác nhau như: rừng nhiệt đới, đầm lầy, các khu vực ẩm ướt, hoang mạc hay sa mạc thậm chí là những khu vực hàn đới ở Bắc Mỹ. Các loài thuộc chi *Vernonia* theo kinh nghiệm dân gian cũng như theo Y học cổ truyền thường được dùng để chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rần cắn, bỏng lửa [1]...



*V. gratiosa*

*V. amygdalina*

*V. patula*

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

(Tác giả thực hiện)

Tại Việt Nam theo danh mục từ điển cây thuốc, chi *Vernonia* đã có 16 loài được dùng làm thuốc để chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm,...

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

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

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

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

Ngành Ngọc Lan (Magnoliophyta)

Lớp Ngọc Lan (Magnoliopsida)

Phân lớp Cúc (Asteridae)

Bộ Cúc (Asterales)

Họ Cúc (Asteraceae)

Chi *Vernonia*

Loài *Vernonia amygdalina* Del.

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

nhau tạo thành ống, dài khoảng 5-6 mm, phía trên hơi loe ra và chia thành 5 thùy, hình tam giác, dài khoảng 3 mm. Bộ nhị gồm 5 nhị đều, bộ nhị một bó. Bầu nhụy màu trắng, hình trụ dài khoảng 2-4 mm. Trên đỉnh bầu có đĩa mật hình mâm màu vàng nhạt. Vòi nhụy dạng sợi, màu trắng, dài 8 mm [2].

*V. amygdalina* có nguồn gốc từ Châu Phi, ngoài ra cũng được tìm thấy ở một vài nơi ở Châu Á như : Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia.... Loài này được di thực vào Việt Nam gần đây và được trồng phổ biến khắp nơi từ vùng cao đến vùng đồng bằng. *V. amygdalina* thường được dùng để chữa bệnh cao huyết áp, dạ dày, viêm gan,... ở Việt Nam theo kinh nghiệm cũng như bài thuốc dân gian thì loài này dùng để chữa đái tháo đường. Ngoài ra, rễ cây được dùng làm que ngậm giúp làm sạch răng miệng, làm thức uống như rượu, có tác dụng trên các bệnh về dạ dày – ruột [2].



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

(Tác giả thực hiện)

#### 1.2.1.2. Giới thiệu về loài *Vernonia gratiosa*

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

Ngành Ngọc Lan (Magnoliophyta)

Lớp Ngọc Lan (Magnoliopsida)

Phân lớp Cúc (Asteridae)

Bộ Cúc (Asterales)

Họ Cúc (Asteraceae)

Chi *Vernonia*

Loài *Vernonia gratiosa* Del.

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

dày đặc màu xanh xám hoặc nâu xám, gân bên có 6-12 cặp, gân dọc nổi không rõ ràng, gân nhỏ có lưới, gốc hình nêm tròn, mép lá phủ toàn bộ bởi lông hoặc có lông thưa, đỉnh nhọn ngắn. Cụm hoa ở đầu hoặc nách lá, hình chùy. Một số đài hoa, đường kính 10-15 mm; cuống 2-12 mm có lông dày đặc màu nâu, đỉnh nhọn, giữa và bên trong thuôn. Hoa: tràng hoa màu tím, hình ống, thùy tuyến tính, nhẵn [3].

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



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

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

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

Tại Việt Nam, chi *Vernonia* có 16 loài dùng làm thuốc để chữa các bệnh như kiết lị, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rắn cắn, bỏng lửa...[4]. Loài *V. amygdalina* được được biết đến trong việc chữa các bệnh về đường tiêu hóa như tiêu chảy, táo bón, đau dạ dày, giun sán, và nhiễm khuẩn. Bên cạnh đó, loài này cũng được dùng để điều trị bệnh đường tiết niệu, tiểu đường, giải độc gan, và sốt rét,...[5]

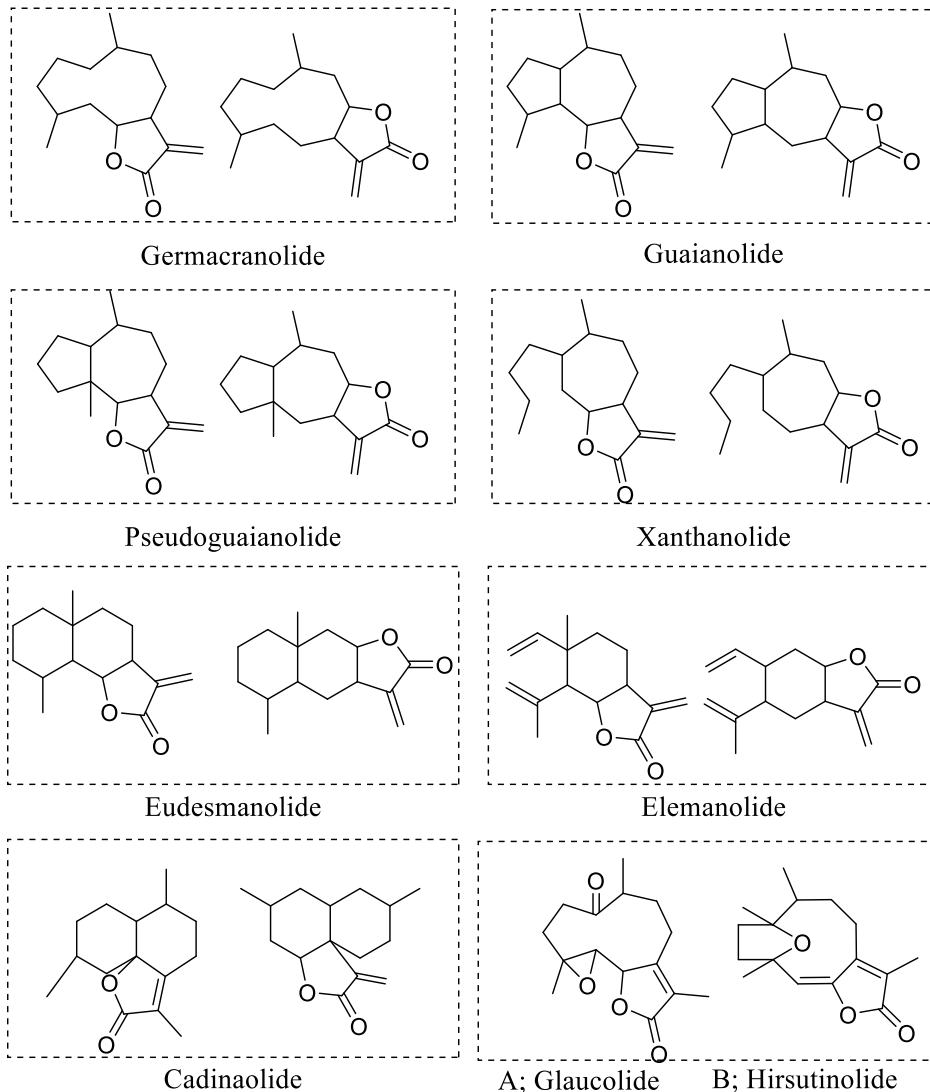
Một trong số các loài thuộc chi *Vernonia* được sử dụng để làm thuốc ở Việt Nam thì loài *V. cinerea* được sự quan tâm nghiên cứu nhiều nhất của các nhà khoa. Theo y học cổ truyền cho thấy loài *V. cinerea* (loài bạch đầu ông) thường được dùng trị các bệnh như sốt, ho, đau dạ dày, chàm, rắn cắn, tiêu chảy, viêm gan, các bệnh về da...[1].

Ngoài ra loài *V. colorata* cũng đã được sử dụng nhiều trong điều trị chống co thắt và kháng khuẩn ở khắp châu Phi. Ở Trung Phi và Cameroon, *V. colorata* được sử dụng để ức chế sự phát triển ký sinh trùng, chống lại ung thư tiền liệt tuyến. Ngoài ra loài *V. kotschyana* được sử dụng từ lâu trong dân gian để điều trị viêm loét dạ dày, tá tràng, hỗ trợ cải thiện hệ tiêu hóa, chữa lành vết thương, cũng như kháng khuẩn và điều hòa miễn dịch [1].

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

Tổng quan các nghiên cứu về chi *Vernonia* từ năm 1982 đến nay, đã có hơn 350 hợp chất đã được báo cáo từ chi *Vernonia*, bao gồm sesquiterpene (đặc biệt là sesquiterpene lactone), stigmastane-steroid, triterpenoid, flavonoid và các phenolic. Trong đó, hai lớp chất điển hình, đặc trưng, quyết định hoạt tính cho chi *Vernonia* là sesquiterpene lactone và stigmastane steroid [1].

#### 1.3.1. Các hợp chất sesquiterpene



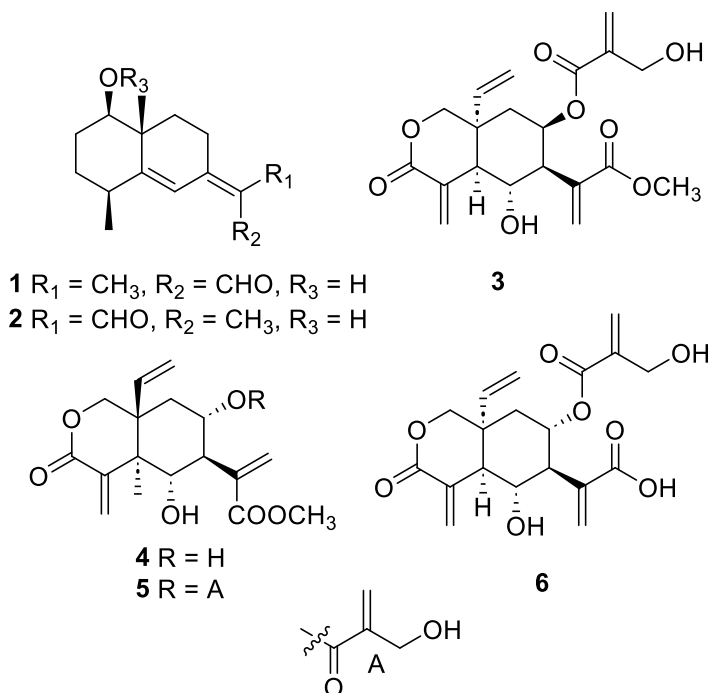
**Hình 1. 4.** Phân loại các hợp chất sesquiterpene lactone

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

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

### 1.3.1.1. Nhóm chất eudesmane

Năm 1982, nhóm tác giả Bohlmma đã phân lập được từ rễ của loài *V. stipulacea* hai hợp chất eudesman đầu tiên là vernostipulal A (1), vernostipulal B (2) [7]. Các nghiên cứu tiếp theo ở loài *V. amygdalina*, đã phân lập thêm một hợp chất và được xác định là vernodalol (3) [8]. Các công bố khác chỉ ra rằng hợp chất này cũng được phát hiện ở loài *V. anthelmintica* và *V. cinerascens* [5], [9].



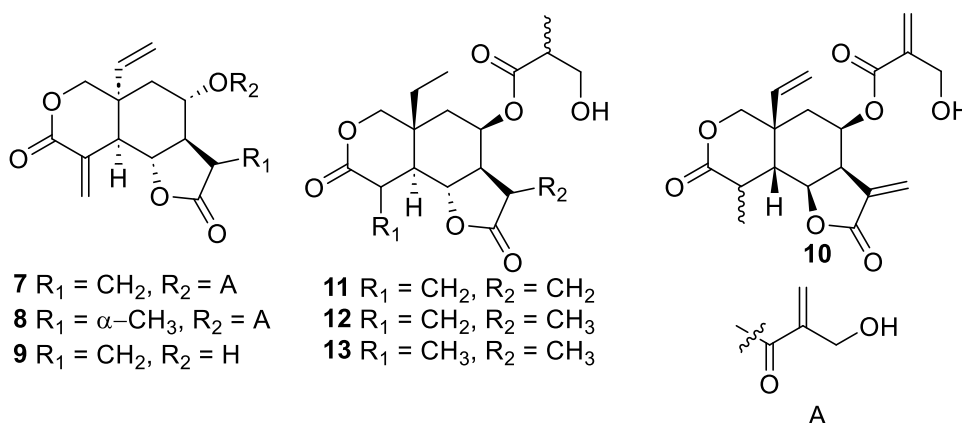
Sau đó đến năm 2006, hai hợp chất mới thuộc khung eudesmane, lasiopulide (4), epivernodalol (5) được báo cáo từ thân, cành, lá của loài *V. lasiopus*. Các hợp chất

này là các epimer tại vị trí C-10 của vernodalol và demethylacroyl vernodalol. Trong cấu trúc của vernodalol, hai vòng sáu cạnh liên kết với nhau ở dạng *cis* trong khi ở epivernodalol là dạng *trans* [10].

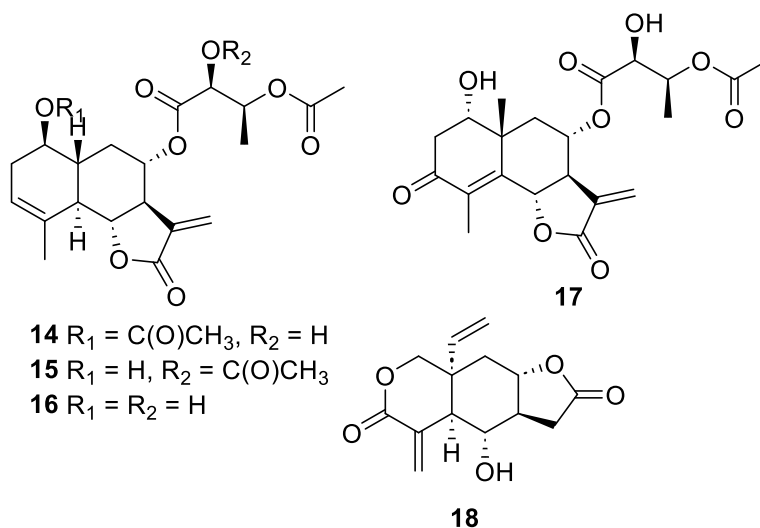
Từ loài *V. anthelmintica* năm 2015, cộng sự và Turak đã phân lập được ba hợp chất lasiopulide (4), epivernodalol (5), và vernodalinol (6) [5]. Đây là các hợp chất chứa các nhánh 4-hydroxytigloyl, tygloyl, 2-methylacryloyl đặc trưng của các sesquiterpene lactone phân lập từ chi *Vernonia*.

### 1.3.1.2 Nhóm chất eudesmanolide

Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Kimani, Thụy Sỹ đã phân lập và báo cáo hai hợp chất sesquiterpene lactone khung eudesmanolide bao gồm vernodalin (7), 11 $\beta$ ,13-dihydrovernodalin (8)[9].



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



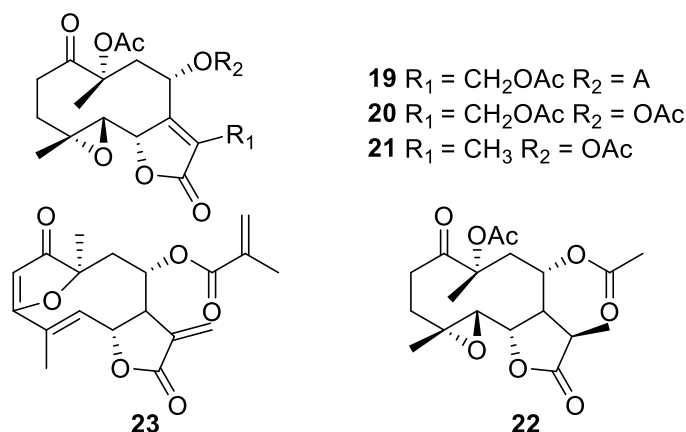
Toàn bộ các bộ phận trên mặt đất của loài *V. blumeoides* thu tại Nigeria, các nhà khoa học thuộc nhóm của Aliyu đã xác định được bốn hợp chất mới có khung

eudesmanolide sesquiterpene lacton blumeoidolide A-D (**14 -17**). Đây là các hợp chất hiếm gặp ở chi *Vernonia* phân bố ở châu Phi [12].

### 1.3.1.3. Nhóm chất glaucolide

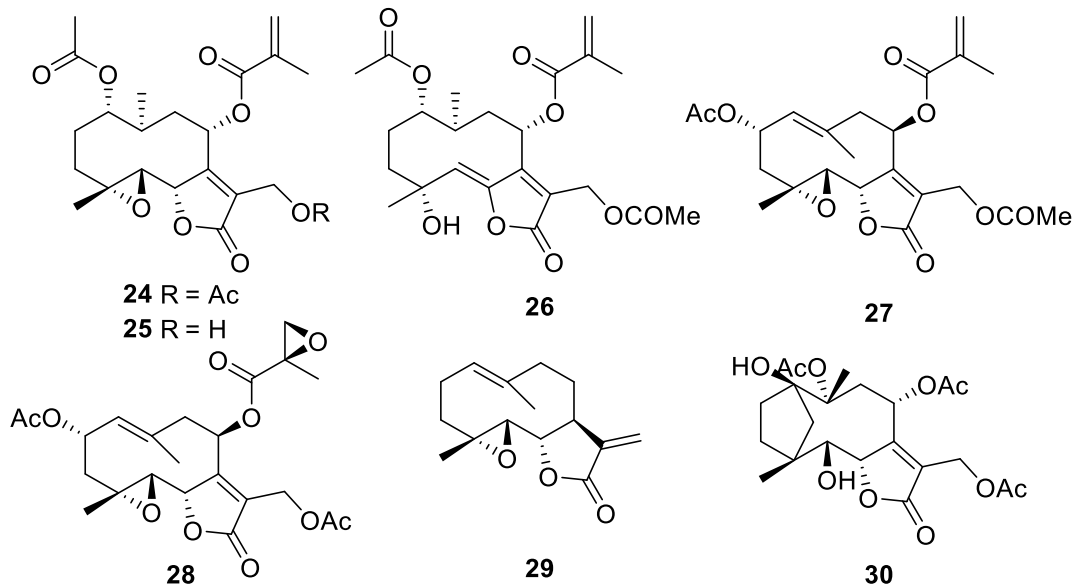
Khung chất glaucolide được đề cập đến lần đầu tiên từ chi *Vernonia* được tiến hành bởi Watson và Beth Wu, họ đã tiến hành phân lập các hợp chất chính từ loài *V. glauca* và 25 loài khác thuộc chi *Vernonia* thu ở Nam Mỹ và Bắc Mỹ. Hai hợp chất glaucolide sesquiterpene lactone mới được xác định là glaucolide A (**19**) và glaucolide B (**20**) được phân lập từ loài *V. baldwinii* [13]. Ngoài ra, hợp chất (**20**) cũng được tìm thấy từ loài *V. eremophila* và *V. fruticulosa* [14, 15].

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

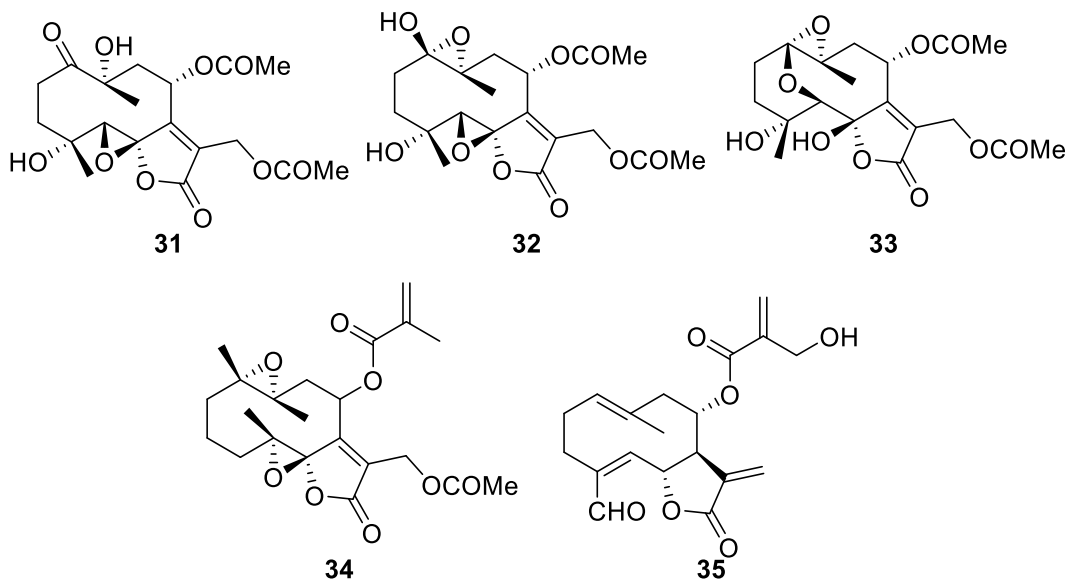


Ở một nghiên cứu khác, nhóm nghiên cứu Williams đã tách chiết và xác định cấu trúc của ba hợp chất glaucolide mới từ loài *V. pachyclada* và đặt tên là glaucolide K-M (**24 -26**). Các hợp chất này là các sesquiterpene lactone có khung germacra-1(10)-diene-4-epoxide [16].



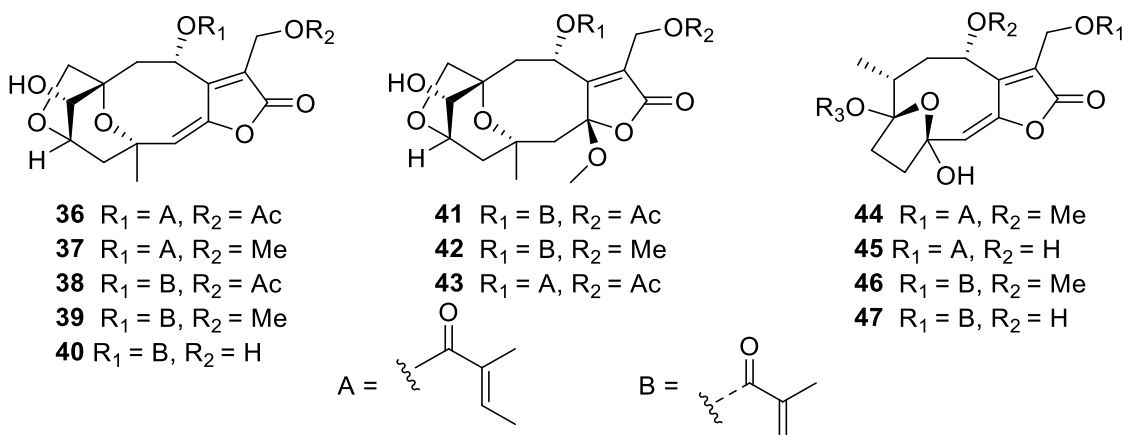


Từ loài *V. liatroides*, Campos và cộng sự đã thành công phát hiện và làm sáng tỏ được cấu trúc của bốn hợp chất thuộc khung glaucolide, gồm glaucolide D và E (**27**, **28**), (1*R*,4*S*,5*R*,6*S*,8*S*,10*R*)-8,10,13-triacetoxy-1(4)-epoxy-1,5-dihydroxy germacr-7(11)-en-6(12)-olide (**29**) và hợp chất parthenolide (**30**). Sự khác biệt trong cấu trúc của nhóm chất này chủ yếu là sự khác nhau về nhóm thế và sự dehydro hóa tạo các thành các liên kết đôi [17].

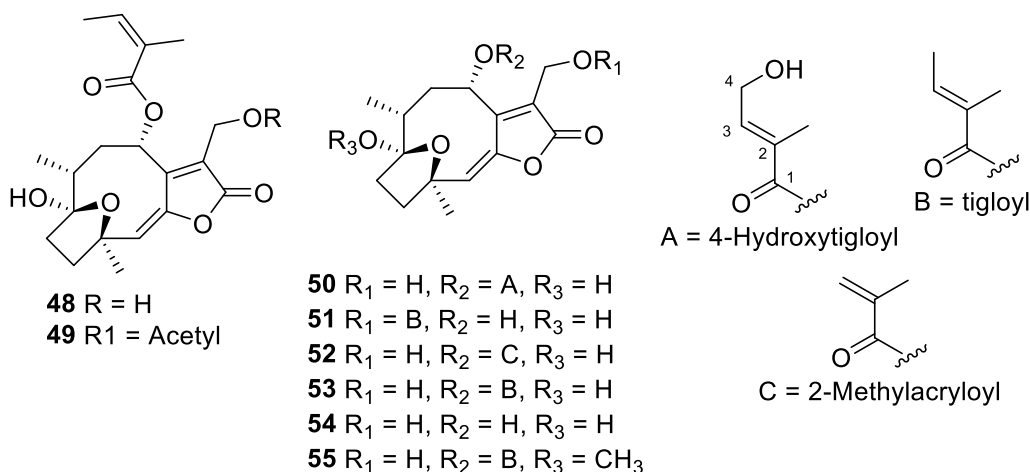


Ngoài ra, một số hợp chất sesquiterpene lactone khác thuộc khung này cũng được phát hiện ở một số loài thuộc chi *Vernonia* như: 8*α*,13-diacetoxy-1*α*,10*α*, -5*β*,6*β*-diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**31**), 10*α*,4*α* -dihydroxy-5*β*,6*β*-isoglaucolide B (**32**), 8*α*,13-diacetoxy-1*α*,10*α*,-1*β*,5*β*-diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**33**), glaucolide C (**34**), glaucolide G (**35**) [18].

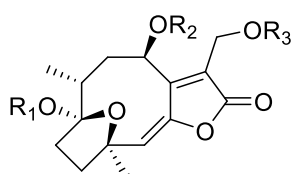
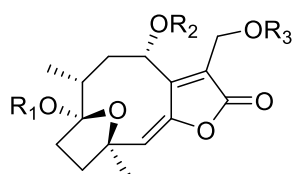
### 1.3.1.4. Nhóm chất hirsutinolide



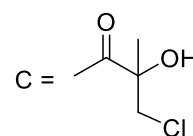
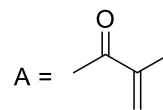
Từ loài *V. cinerea*, tám hợp chất mới thuộc khung hirsutinolide đã được phân tách và làm rõ về cấu trúc là vercinolide A-H (**36 – 43**) và bốn hợp chất cũ: vernolide B (**44**), 8 $\alpha$ -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**), 8 $\alpha$ -(2-methylacryloyloxy)-1 $\alpha$ -methoxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**46**), and 8 $\alpha$ -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**47**). Trong đó, hợp chất (**36 – 43**) là những hợp chất được xác định lần đầu tiên với cấu trúc bao gồm cả vòng ether hiếm ở vị trí 4 $\alpha$ , 10 $\alpha$  và vòng ether ở vị trí 2,4. Các hợp chất (**44 – 47**) được báo cáo với cấu trúc thuộc khung hirsutinolide chứa vòng  $\gamma$ -lactone chứa nối đôi không no ở vị trí  $\alpha$  và  $\beta$  kết hợp với vòng ether ở vị trí 1 $\beta$ , 4 $\beta$ . Các hợp chất (**44, 45, 47**) sau đó cũng được báo cáo ở loài *V. cinerea* bởi nhóm tác giả Zang và cộng sự năm 2018 [19].



Cũng từ loài này, một nhóm tác giả khác cũng báo cáo sự phân lập của 11 hợp chất hirsutinolide, trong đó bao gồm 4 hợp chất mới 8 $\alpha$ -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide (**48**), 8 $\alpha$ -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**), 8 $\alpha$ -(4-hydroxytigloyloxy)-hirsutinolide (**50**), và 8 $\alpha$ -hydroxy13-*O*-tigloyl-hirsutinolide (**51**). Các hợp chất cũ được xác định cấu trúc là 8 $\alpha$ -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide (**52**), 8 $\alpha$ -tigloyloxyhirsutinolide (**53**), 8 $\alpha$ -hydroxyhirsutinolide (**54**), và vernolide-A (**55**) [20].



**62** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = C, R<sub>3</sub> = Ac



**56** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = C, R<sub>3</sub> = Ac

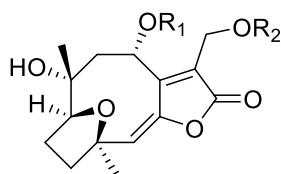
**57** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = C, R<sub>3</sub> = H

**58** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = B, R<sub>3</sub> = Ac

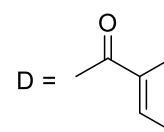
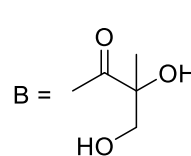
**59** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = A, R<sub>3</sub> = Ac

**60** R<sub>1</sub> = Me, R<sub>2</sub> = A, R<sub>3</sub> = Ac

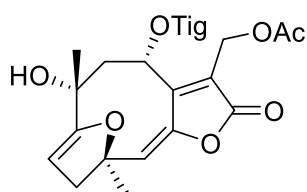
**61** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = D, R<sub>3</sub> = Ac



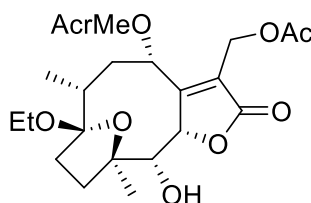
**63** R<sub>1</sub> = C, R<sub>2</sub> = Ac



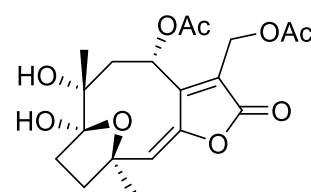
Bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel, C-18 gel, MCI gel, nhóm tác giả Xin Chen và cộng sự của ông đã báo cáo phân lập từ loài *V. chinensis* được năm hợp chất mới thuộc khung hirsutinolide sesquiterpene lactone vernchinilide A-E (**56** – **60**) và năm hợp chất cũ, 8β-(2-methylacryloyloxy)hirsutinolide 13-*O*-acetate (**61**), 8α-(2-methylacryloyloxy)-1β,4β-epoxy-1α-methoxy-13-*O*-acetate-10β-*H*-germacra-5*E*,7(11)-dien-12,6-olide (**62**), 8β-(2-hydroxymethylacryloyloxy)hirsutinolide 13-*O*-acetate (**63**), 8α-tigloyloxyhirsutinolide 13-*O*-acetate (**45**) và vernolide-B (**44**). Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên việc phân tích dữ liệu phổ NMR, đặc biệt là phổ 2D-NMR [21].



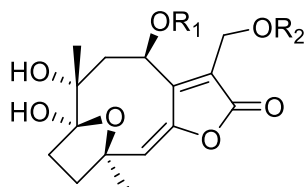
**64**



**65**



**66**



**67** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H

**68** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = Ac

**69** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Ac

**70** R<sub>1</sub> = Ac, R<sub>2</sub> = Et

**71** R<sub>1</sub> = MeAcr, R<sub>2</sub> = Ac

**72** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Et

**73** R<sub>1</sub> = MeAcr, R<sub>2</sub> = Et

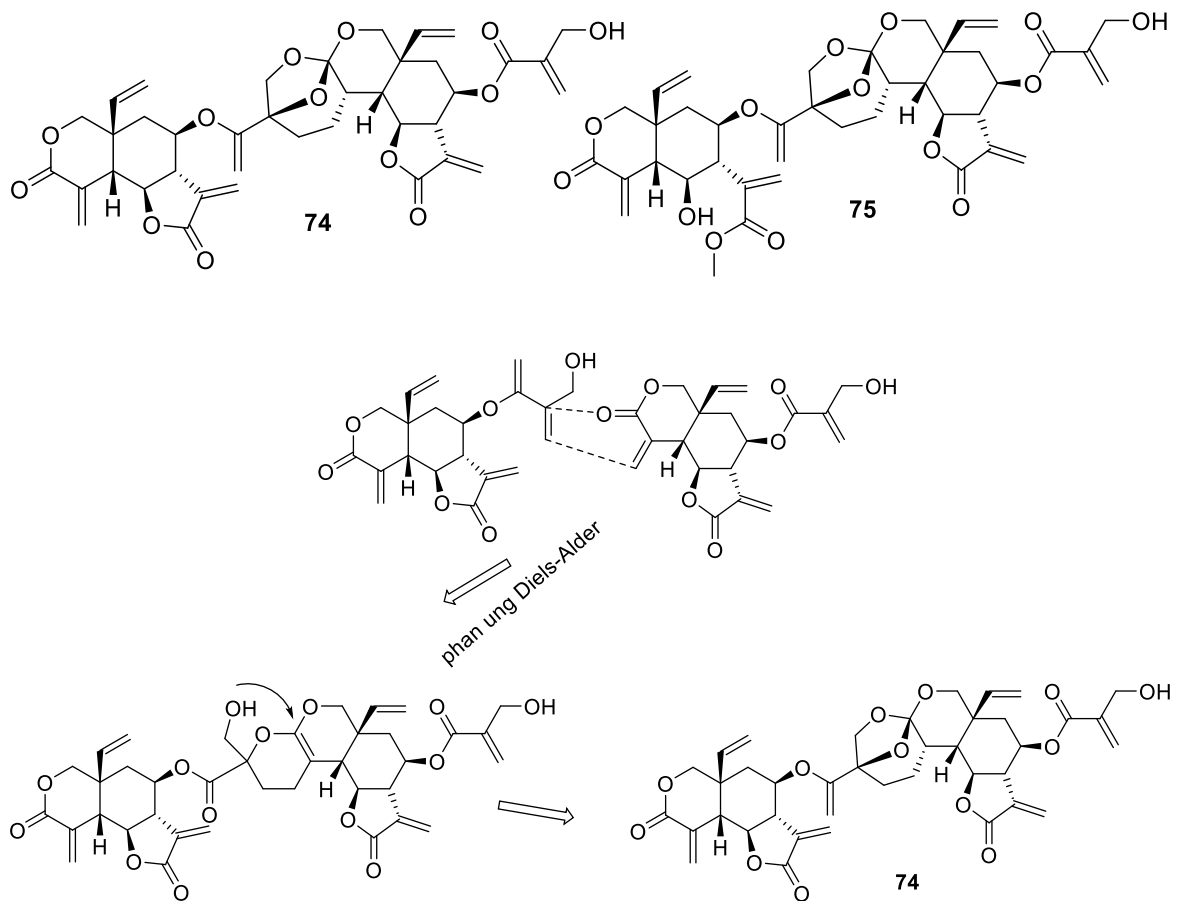
Nhóm tác giả người Mỹ, Bardon cũng đã tìm thấy ba hợp chất là dẫn xuất của hirsutinolide từ loài *V. nudiflora*: (4*R*\*,8*S*\*,10*R*\*)-1,4-epoxy-8-tiglyloxy-13-acetoxygermacra-5*E*,7(13)-dien-6,12-olide (**64**), (1*R*\*,4*R*\*,5*R*\*,8*S*\*,10*R*\*)-1,4-epoxy-1-ethoxy-5-hydroxy-8-methacryloxy-13-acetoxygermacra-5*E*,7(11)-dien-6,12-olide (**65**), (1*S*\*,4*R*\*,8*S*\*,10*R*\*)-1,4-Epoxy-8,10-diacetoxy-1-formyloxy-13-hydroxygermacra-5*E*,7(11)-dien-6,12-olide (**66**) [22].

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

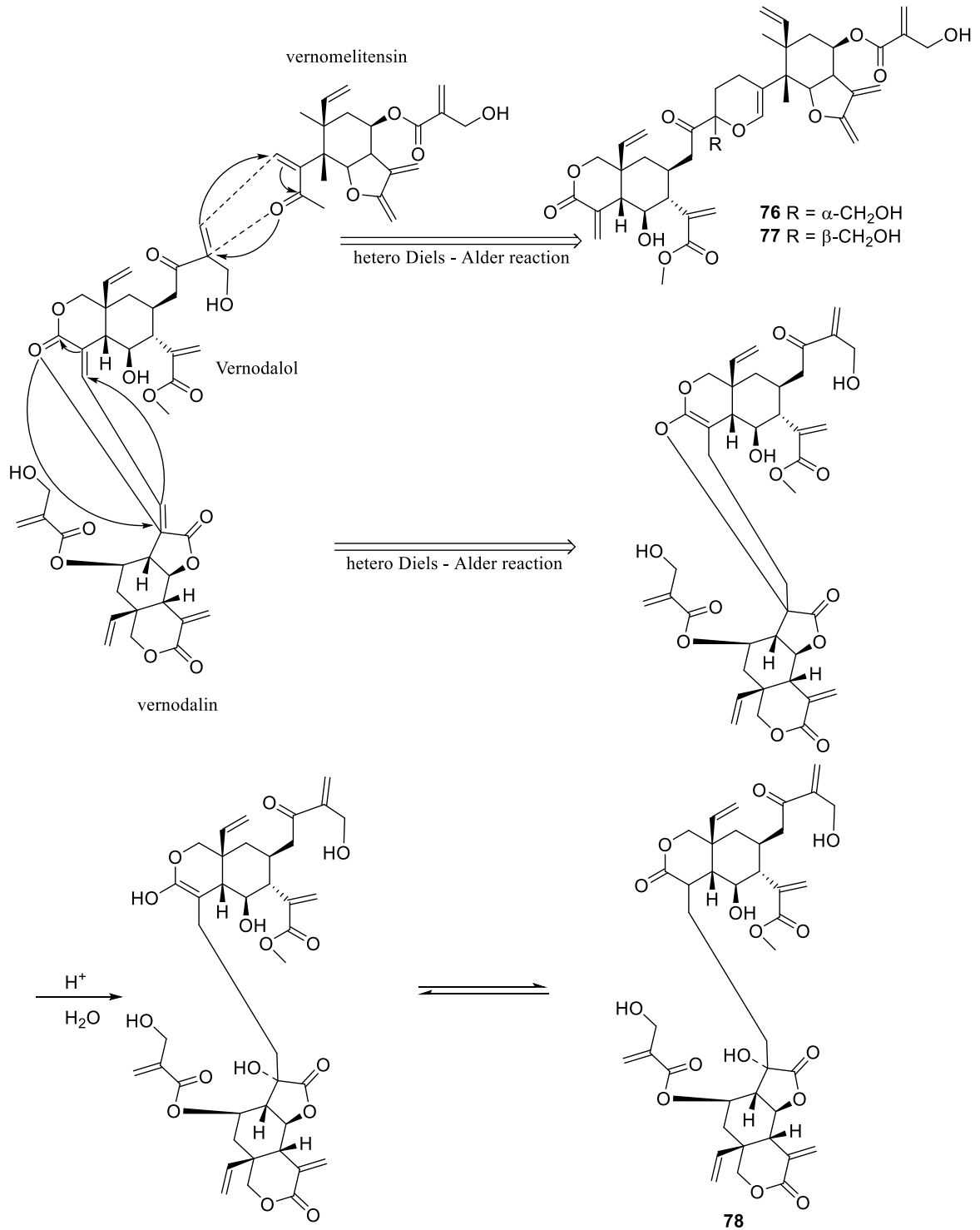
Cấu trúc của các hợp chất được xác định là: piptocarphol (**67**), diacetylpiptocarphol (**68**), piptocarphin D (**69**), 8-acetyl-13-ethoxypiptocarphol (**70**), piptocarphin A (**71**), piptocarphin F (**72**). Các hợp chất **70** – **72** được tìm thấy từ loài *V. bockiana* thu hái tại tỉnh Quizhau, Trung Quốc. Bên cạnh đây, các nhà khoa học Trung Quốc cũng phát hiện thêm một dẫn xuất hirsutinolide mới từ loài *V. bockiana*, và đặt tên là vernobockolide B (**73**) [18].

#### 1.3.1.4. Nhóm chất dimer sesquiterpene lactone

Các dimer sesquiterpene elemanolide mới, vernodalidimers A (**74**) và B (**75**), được phân lập từ hạt của *V. anthelmintica* bởi các nhà khoa học Nhật Bản. Các hợp chất này sở hữu một vòng *ortho* ester tricyclic hiếm gặp. Hợp chất (**74**) là một dimer của vernodalin, trong khi (**75**) là dimer của vernodalin và vernodalol. Sự hình thành hợp chất (**74**) được dự đoán có nguồn gốc từ việc cộng vòng region và stereo Diels-Alder giữa nhóm enone (C-15', C-4', C-3', và O-3') của vernodalin này và methylene C-17, C-18 của vernodalin kia. Sự hình thành dimer (**75**) cũng được dự đoán là tương tự như dimer **74** [23].



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

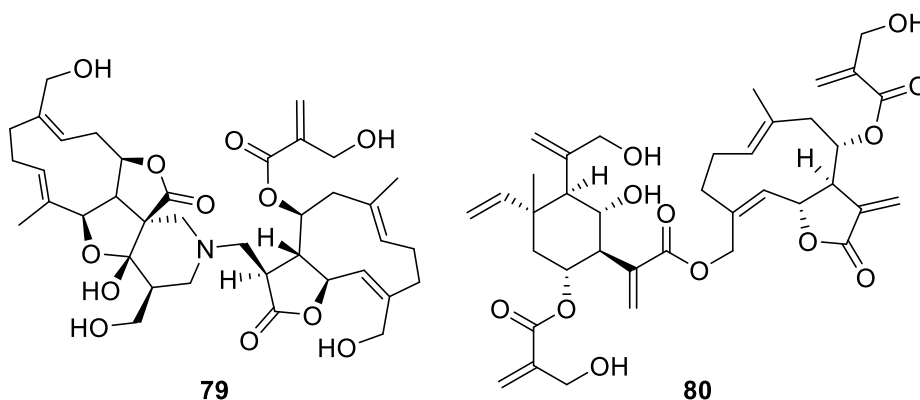


**Hình 1. 6.** Quá trình sinh tổng hợp dimer (**76-78**).

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

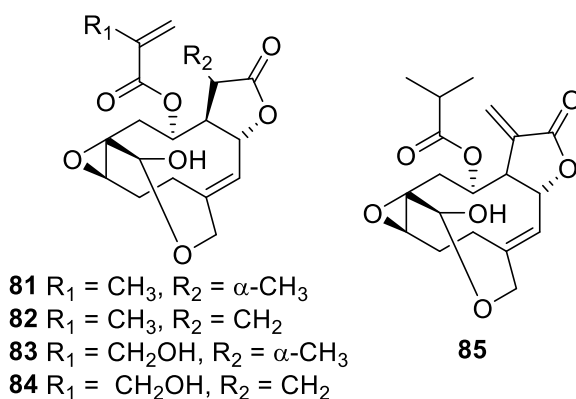
của vernomelitensin. Trong khi đó, hợp chất (**78**) được cho là hình thành từ phản ứng Diels-Alder giữa nhóm methylene (C-11', C-13') của vernolalin và C-4, C-15, C-3 và gốc O-3 của vernodalol, sau đó là phản ứng mở vòng và tautomer keto-enol.

Gần đây, hai hợp chất dimer thuộc khung germacranolide sesquiterpene – alkaloid tufnelactone A (**79**), tufnelactone B (**80**) được báo cáo từ loài *V. tufnelliae*. Trong đó, hợp chất **79** là dimer bốn vòng nhưng tụ 10/5/5/6-tetracyclic germacranolide với nhóm hexahydro-1*H*,3*H*,7*H*-furo [3',4':3,4] furo [3,2-c] pyridin-1-one là kết quả của quá trình đóng vòng của nhóm methacrylate và nhóm amin. Hợp chất (**80**) là một hợp chất dimer elemene-germacranolide [24].

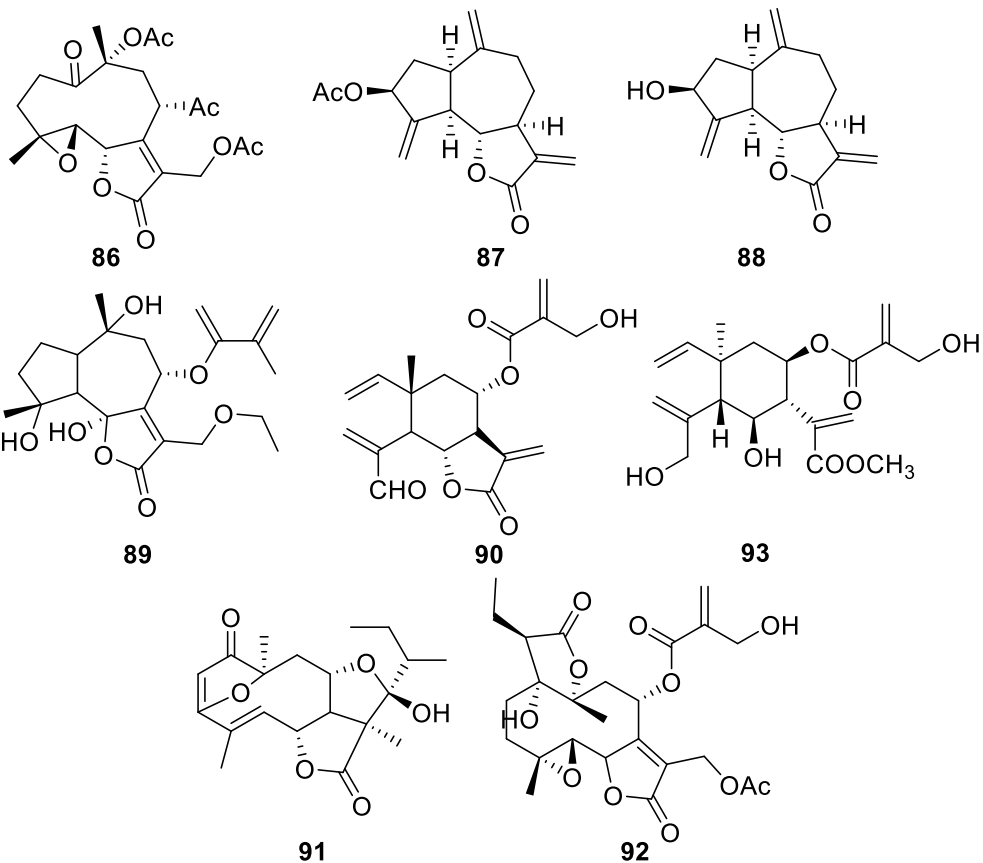


### 1.3.2. Các hợp chất sesquiterpene lactone khác:

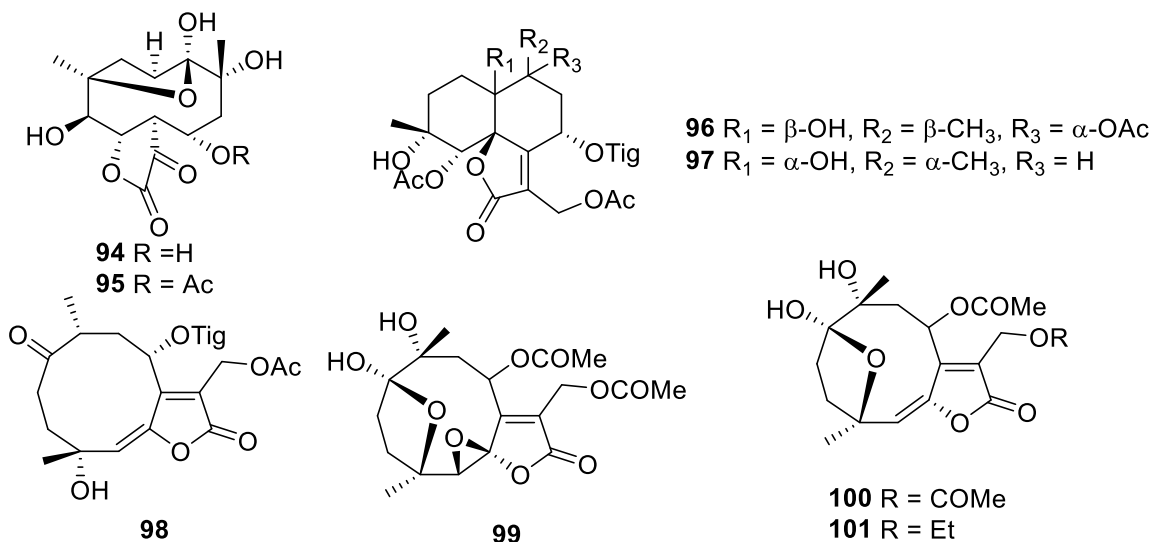
Từ chi *Vernonia*, các nhà khoa học cũng phân lập được một số sesquiterpene lactone khác như: 11 $\beta$ ,13-dihydrovernolide (**81**), vernolide (**82**), 11 $\beta$ ,13-dihydrohydroxyvernolide (**83**), hydroxyvernolide (**84**), vernomydin (**85**) [5].



Ngoài ra, các hợp chất khác cũng được báo cáo như glaucolide B (**86**), zaluzanin C (**87**), blumeoidolide-A (**88**), vernobockolide A (**89**), vernomelitensin (**90**), eremantholide B (**91**), 16,17-dihydrobrachycalyxolide (**92**), vernodalinol (**93**) [12, 14].

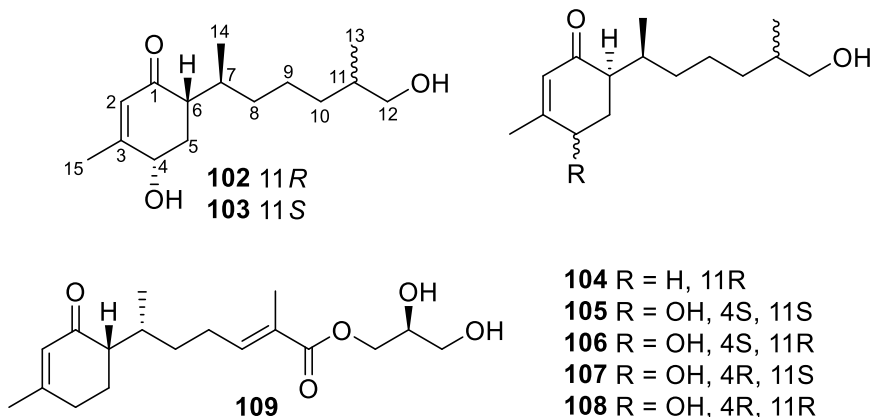


8 $\alpha$ -acetoxy-2-epi-vernemargolide-1,4-cyclohemiacetal (**94**), 8 $\alpha$ -hydroxy-2-epi-vernemargolide-1,4-cyclohemiacetal (**95**), (1*S*,4*R*,5*S*,6*S*,8*S*,10*R*)-1,4-dihydroxy-5,10,13-triaceroxy-8-tiglyloxy-cadin-7(11)-en-6,12-olide (**96**), (1*R*,4*R*,5*R*,6*R*,8*S*,10*R*)-1,4-dihydroxy-5,13-diacetoxy-8-tiglyloxy-cadin-7(11)-en-6,12-olide (**97**), 4*R*,8*S*,10*R*)-1-oxo-4-hydroxy-8-tiglyloxy-10-acetoxygermucra-5*E*,7(13)-trien-6,12-olide (**98**), 10 $\alpha$ ,4 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -isoglaucolide B (**99**), 8 $\alpha$ ,13-diacetoxy-1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,-1 $\beta$ ,5 $\beta$ -diepoxygermacra-7(11)-en-12-olide (**100**), 8 $\alpha$ ,13-diacetoxy-1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -hydroxy-5,6-epoxy-hirsutinolide (**101**) [5, 9, 25-30].[28-31]

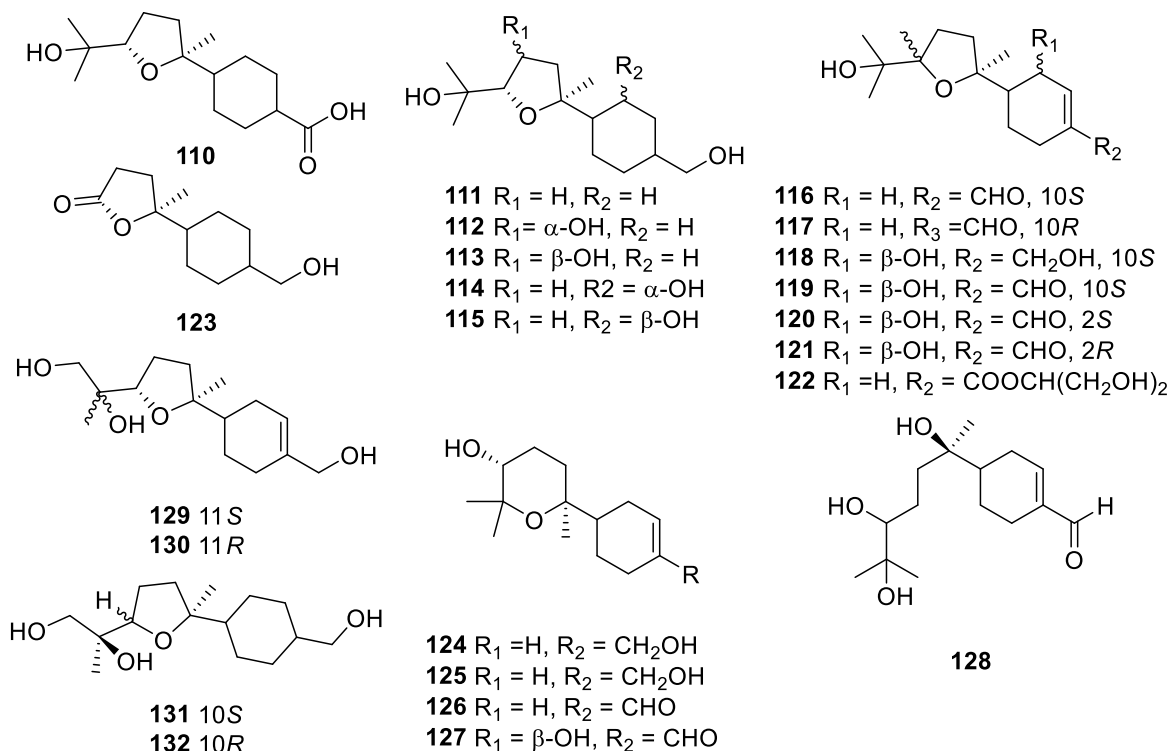


### 1.3.3. Các sesquiterpene khác

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



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

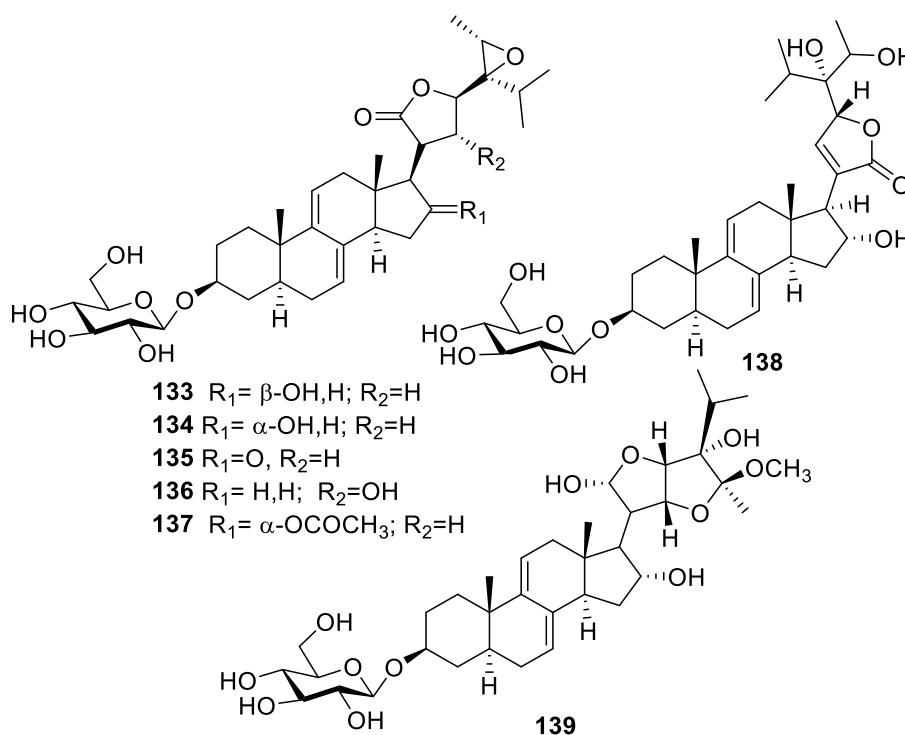




### 1.3.4. Các hợp chất stigmastane steroid

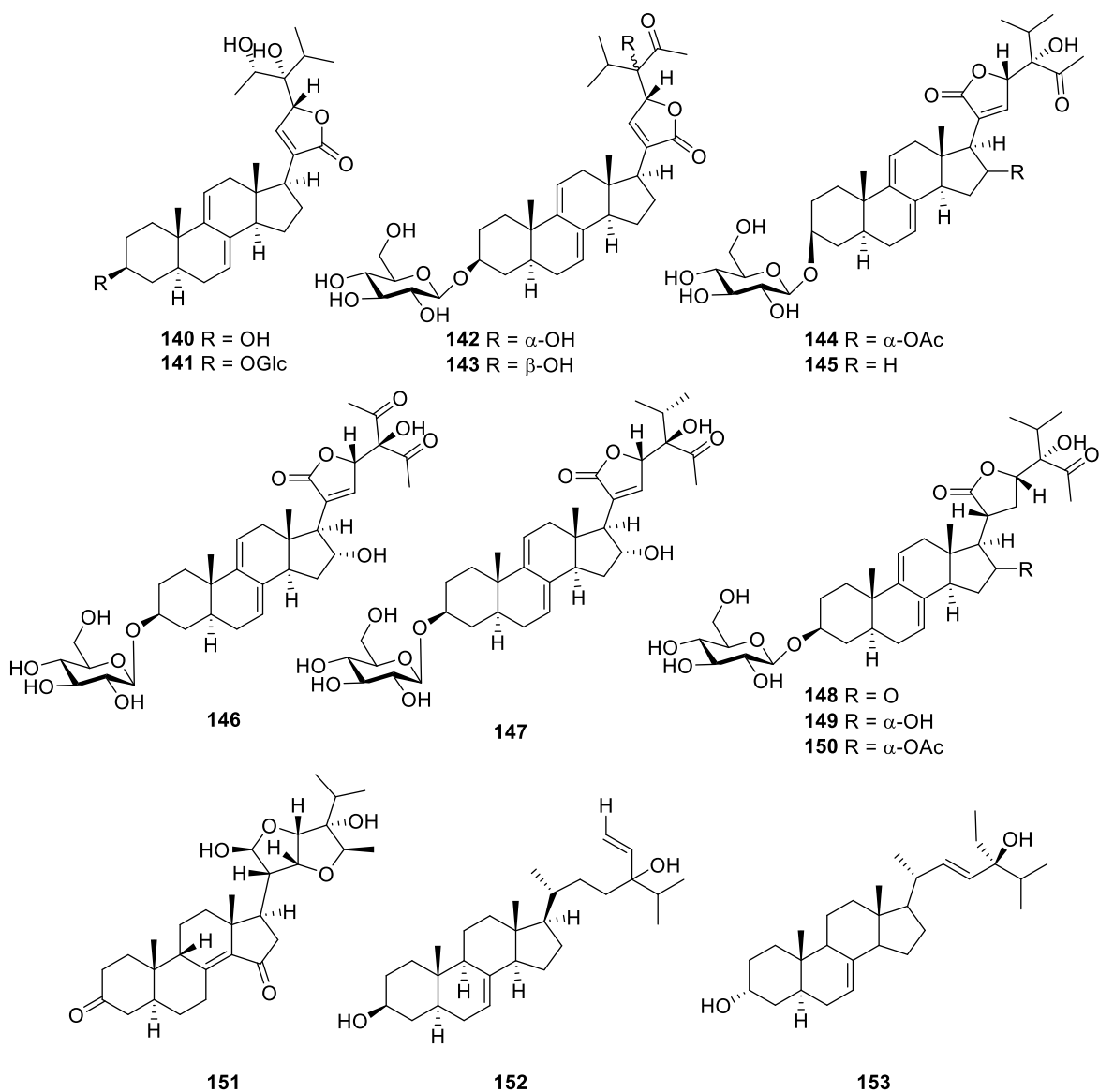
Các hợp chất stigmastane steroid phân lập được từ chi *Vernonia* thường có cấu trúc bốn vòng ngưng tụ 6/6/6/5 với hai nối đôi liên hợp tại vị trí  $\Delta^{7,9(11)}$ , một số ít hợp chất có chứa nối đôi liên hợp tại vị trí  $\Delta^{7,9(14)}$ . Trong cấu trúc mạch nhánh thường là vòng  $\gamma$ -lactone,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

Năm 1992, nhóm nghiên cứu của Jisaka và cộng sự tại Nhật Bản, đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học của loài *V. amygdalina*. Kết quả, đã phân lập được các hợp chất vernonioside ( $A_1 - A_4$ ) bao gồm (133 – 136) và vernonioside ( $B_1 - B_3$ ) gồm các chất (137 – 139).



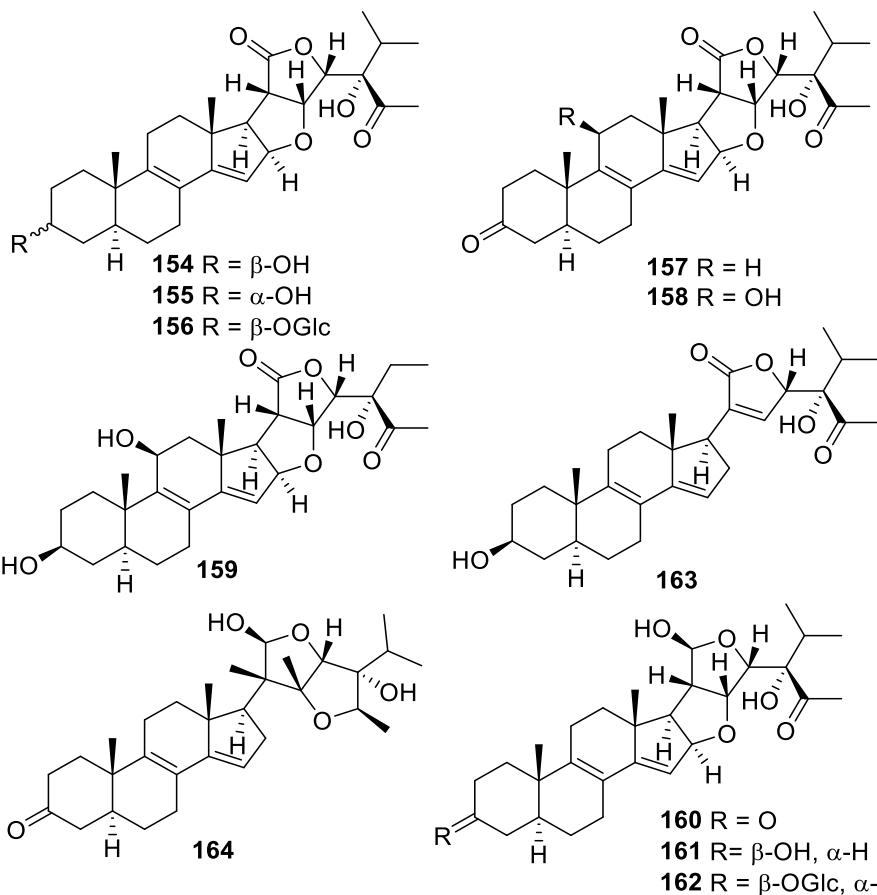
Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Liu và cộng sự, đã phân lập được 11 hợp chất mới trong đó có 1 aglycone và 10 glycoside veramyoside A-J (140 – 150) cũng như 3 hợp chất đã biết (151 – 153) từ cành của loài *V. amygdalina*. Các hợp chất này đều có cấu trúc thuộc khung stigmastane steroid với hai nối đôi liên hợp  $\Delta^{7,9(11)}$  và mạch

nhánh là vòng  $\gamma$ -lactone hoặc vòng lactone 5 cạnh với vị trí  $\alpha$ ,  $\beta$  không bão hòa [34].

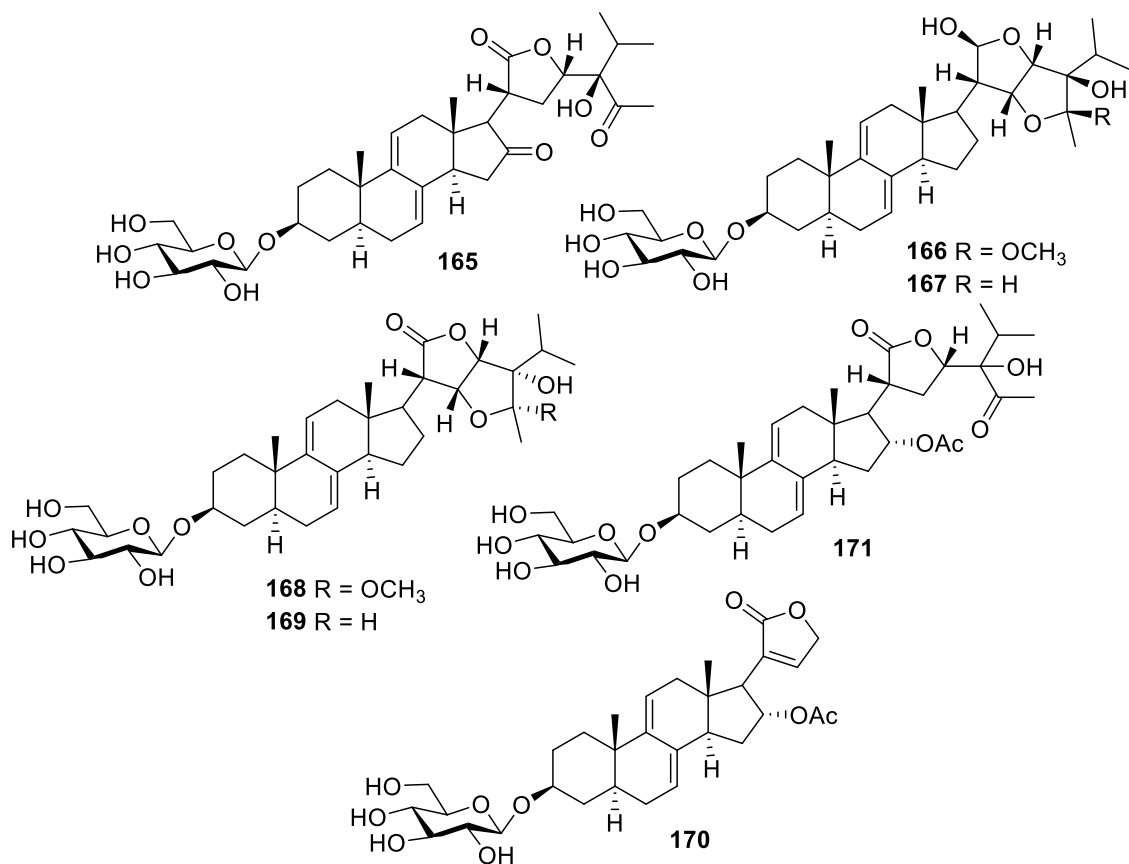


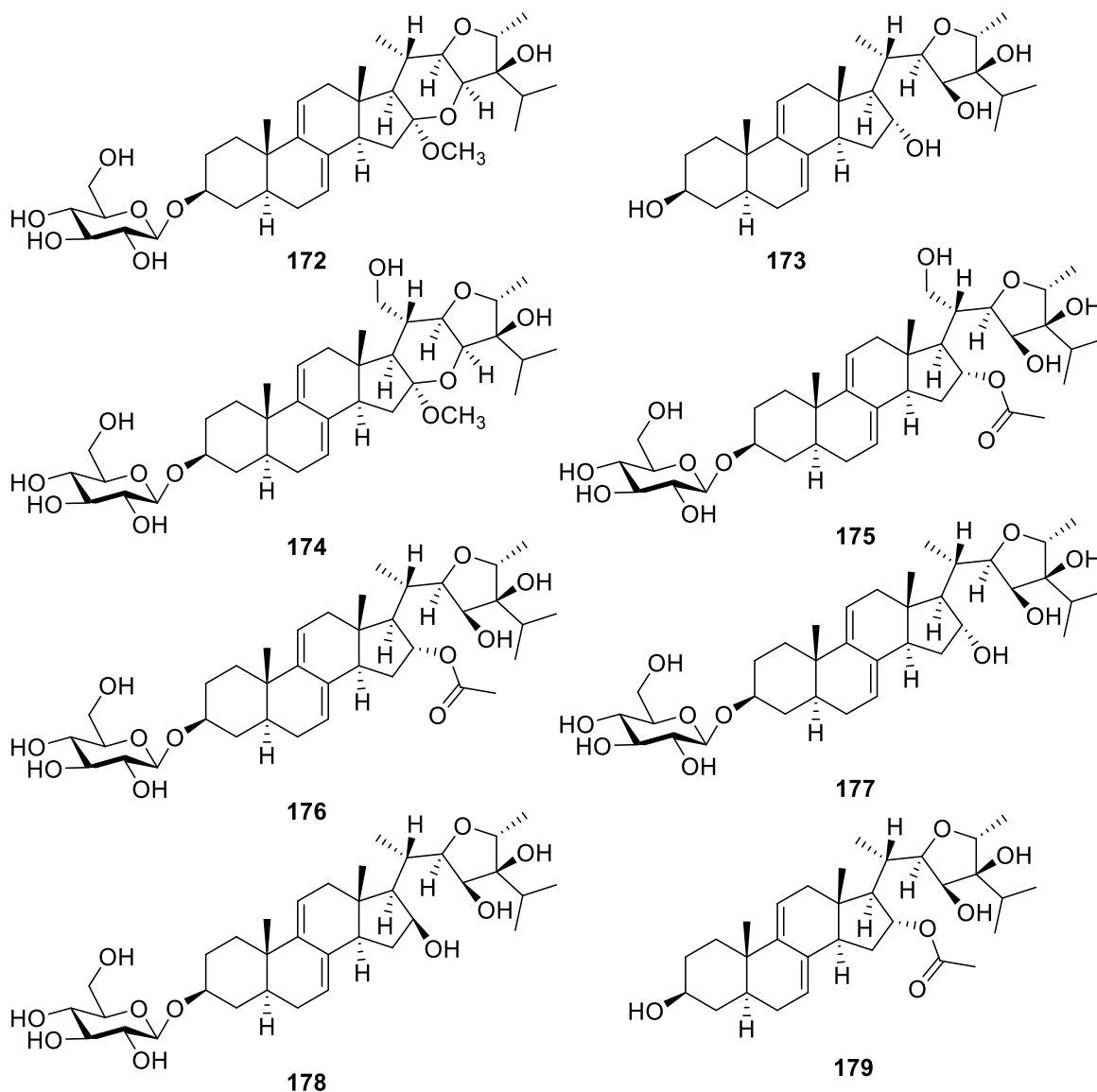
Chín hợp chất mới có khung stigmastane steroid, vernoanthelein A-I (**154** – **162**) và hai hợp chất stigmastane steroid glycoside vernoantheleside A (**163**) và B (**164**) được tìm thấy từ loài *V. anthelmintica*. Cấu trúc của các hợp chất này được làm sáng tỏ dựa trên các phổ IR, MS, 1D-NMR, 2D-NMR.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

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



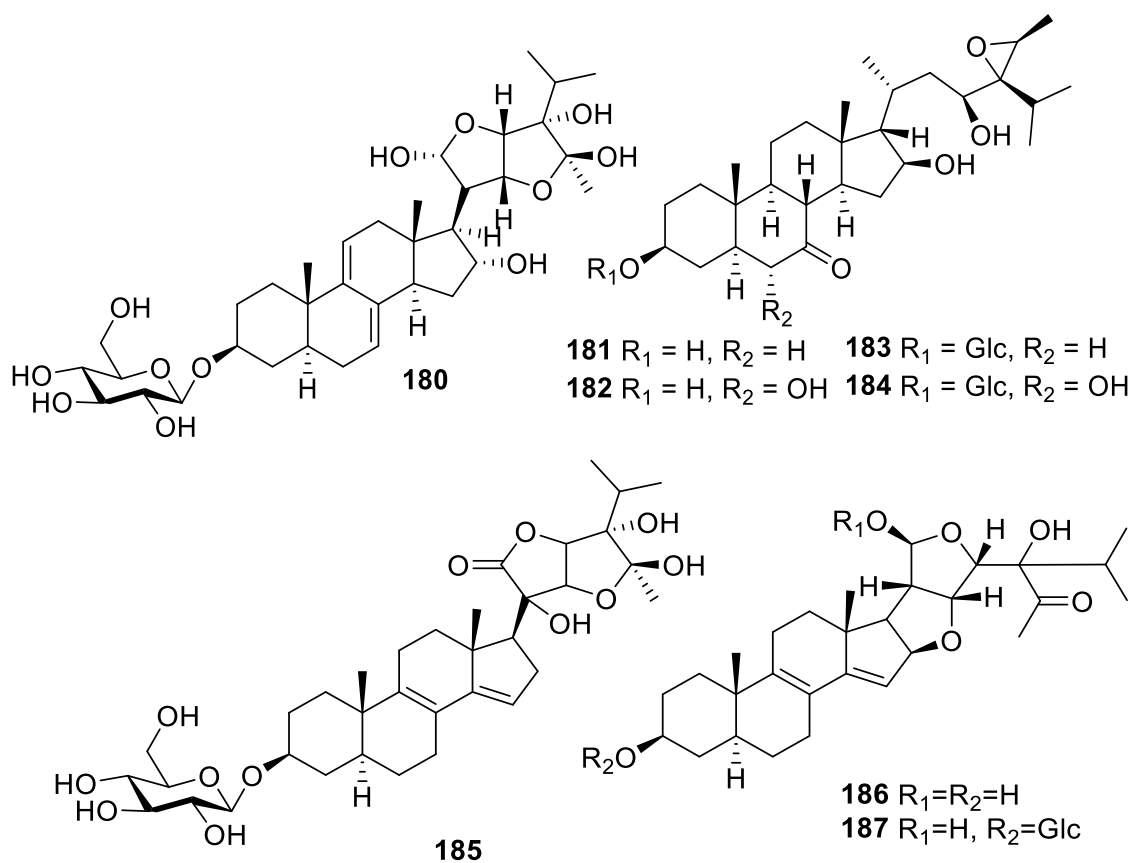
Nhóm tác giả Liu và cộng sự, năm 2022, báo cáo tám hợp chất thuộc khung stigmasterane-steroid là vernonin M-T (**172-179**) [37].



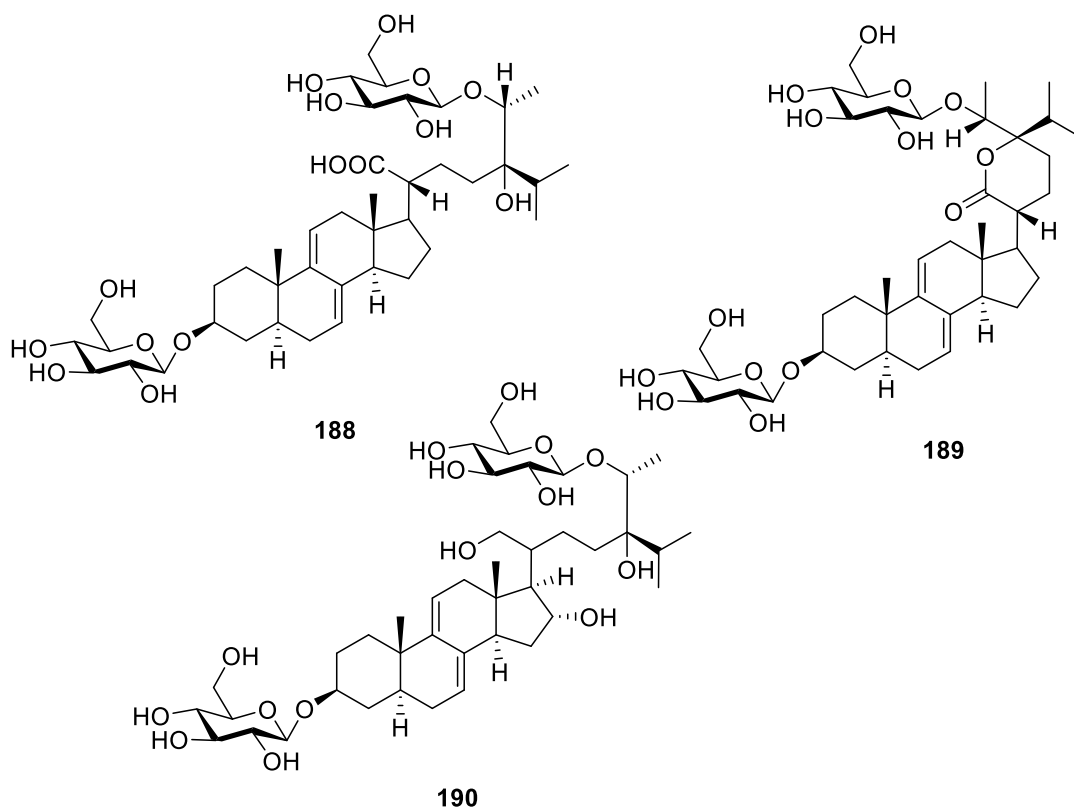


Nhóm nghiên cứu của các nhà khoa học Việt Nam, cũng báo cáo một hợp chất stigmastane steroid mới từ loài *V. amygdalina* và đặt tên là vernonioside V (**180**) [38]. Đến gần đây, tháng 2/2023 nhóm nghiên cứu tại Cameroon đã báo cáo 4 hợp chất lần đầu tiên công bố và hai hợp chất đã biết từ loài *V. kotschyana*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

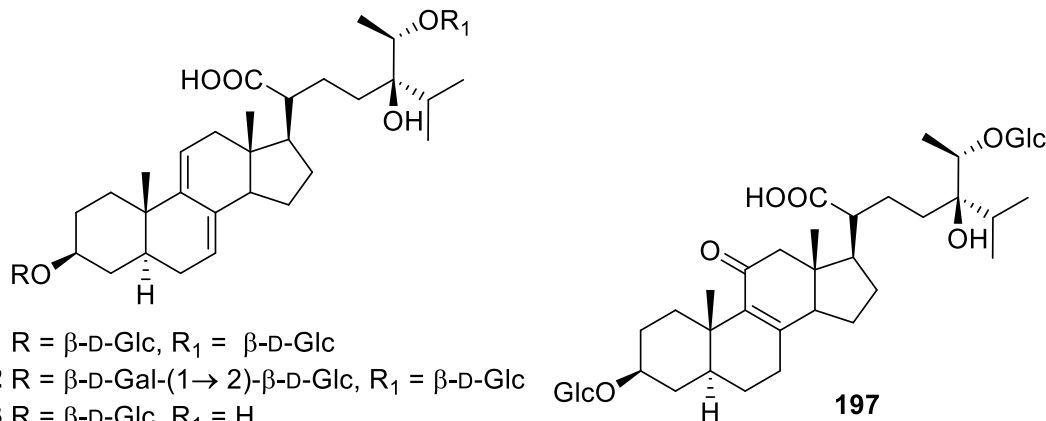
Ở một nghiên cứu khác, nhóm tác giả Donfack cũng đã tìm thấy từ loài *V. guineensis*, một hợp chất mới, đặt tên vernoguinoside A (**186**) và hợp chất đã tìm thấy trước đó vernoguinoside (**187**) [40].



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

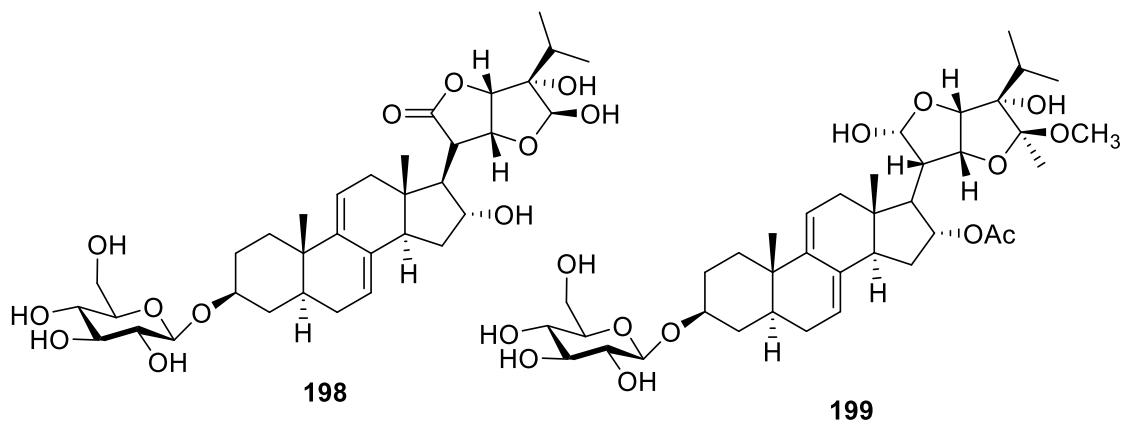


Trong nghiên cứu của Liu và cộng sự ở Trung Quốc đã tiến hành nghiên cứu về vỏ của loài *V. cumingiana* đã phân tách được 07 hợp chất stigmastane steroid glycoside mới đặt tên là vernocuminosides A–G (**191** - **197**). Trong đó, cấu trúc của các hợp chất (**191-196**) gồm 29 carbon và chứa nối đôi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

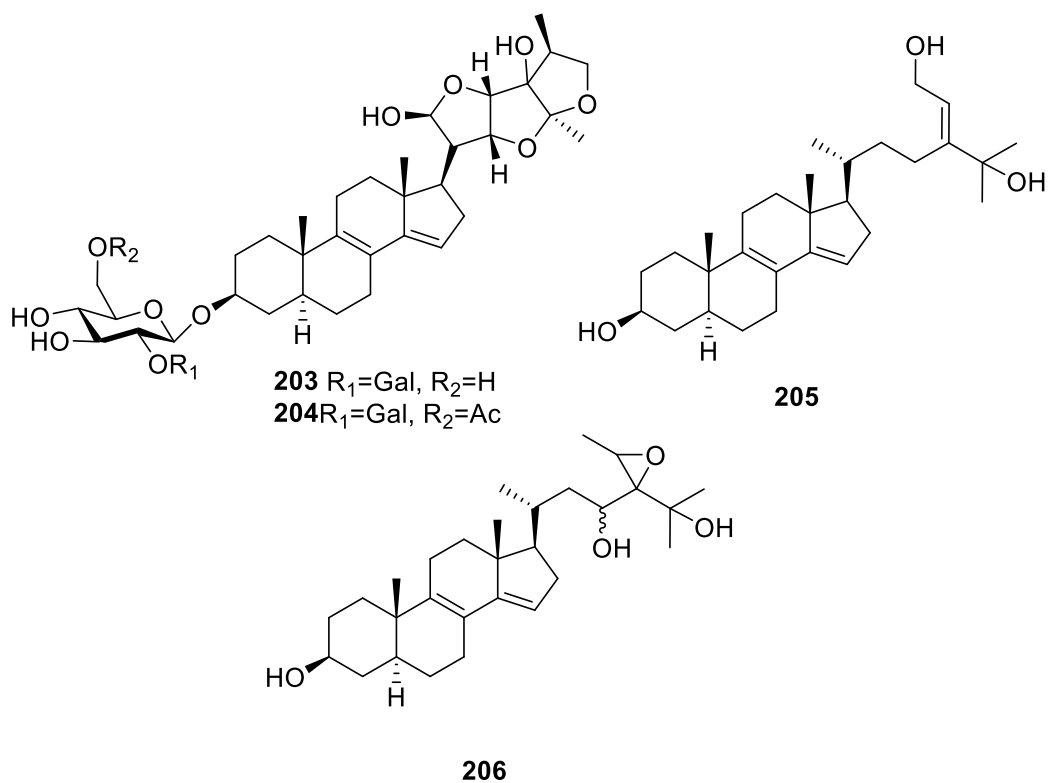


- 191** R =  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> =  $\beta$ -D-Glc  
**192** R =  $\beta$ -D-Gal-(1→2)- $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> =  $\beta$ -D-Glc  
**193** R =  $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> = H  
**194** R =  $\beta$ -D-Gal-(1→2)- $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> = H  
**195** R =  $\alpha$ -L-Ara-(1→2)- $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> = H  
**196** R =  $\alpha$ -L-Ara-(1→2)- $\beta$ -D-Glc, R<sub>1</sub> =  $\beta$ -D-Glc

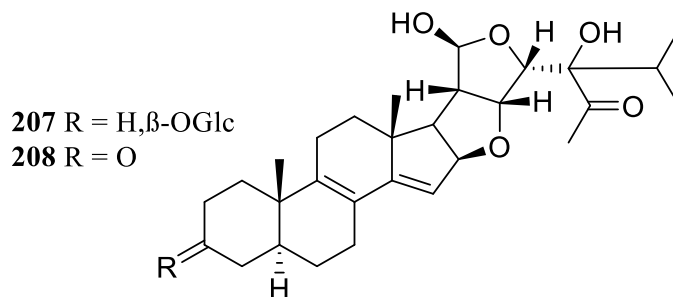
Cũng từ rễ loài này, năm 2016, hai hợp chất mới vernoniacum A (**198**) và B (**199**) cũng được báo cáo [43].



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



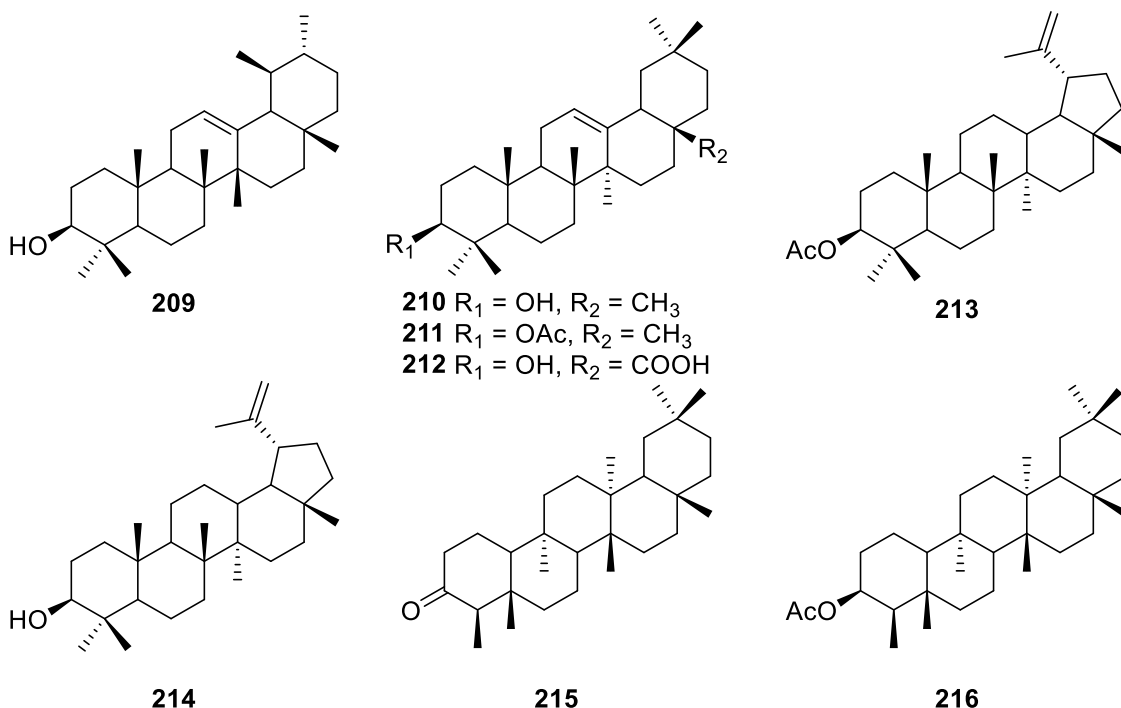
Tiếp tục Tchinda và cộng sự đã tìm thấy hai hợp chất mới thuộc nhóm chất stigmasteroid bao gồm:  $6\beta,22R;21,23S$ -diepoxy- $3\beta$ - $O$ - $\beta$ -D-glucopyranosyloxy- $21S,24$ -dihydroxy- $5\alpha$ -stigmasteroid- $8,14$ -dien- $28$ -one (**207**),  $16\beta,22R;21,23S$ -diepoxy- $21S,24$ -dihydroxy-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



### 1.3.5. Các hợp chất triterpenoid

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

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



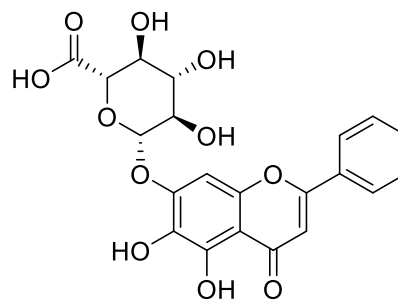
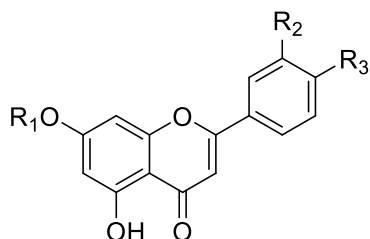
### 1.3.6. Các hợp chất flavonoid và phenolic

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

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

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

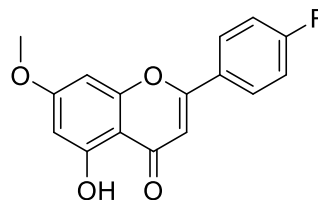




225

- 219**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH$   
**220**  $R_1 = \text{GlcA}, R_2 = OH, R_3 = OH$   
**221**  $R_1 = \text{Glc}, R_2 = OH, R_3 = OH$   
**222**  $R_1 = H, R_2 = H, R_3 = OH$   
**223**  $R_1 = \text{Glc}, R_2 = H, R_3 = OH$   
**224**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = \text{OCH}_3$   
**226**  $R_1 = \text{Rut}, R_2 = H, R_3 = OH$

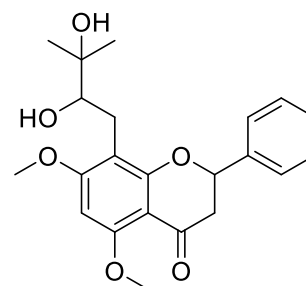
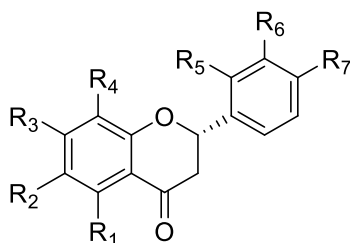
GlcA = glucuronic acid  
Rut = rutinosose



- 217**  $R = H$   
**218**  $R = \text{Rut}$

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

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



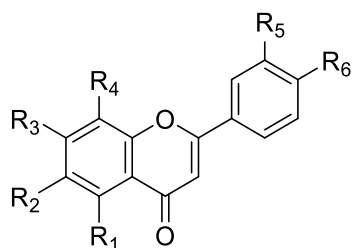
239

- 234**  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$   
**235**  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = R_5 = R_6 = H, R_7 = OH$   
**236**  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = \text{Prenyl}, R_5 = R_6 = H, R_7 = OH$   
**237**  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH, R_4 = R_5 = H, R_6 = R_7 = OH$   
**238**  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H, R_5 = OH, R_6 = R_7 = H$

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

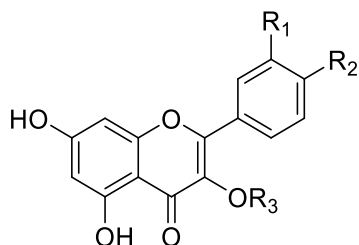
dihydroxy-3-methylbutyl)-5,7-dimethoxy-2-phenyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-one (239) [49].

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

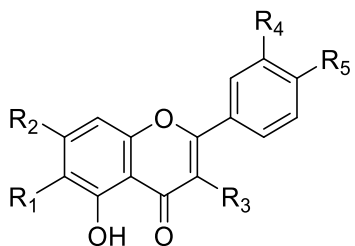


- 240  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H, R_3 = OH$   
 241  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_6 = H, R_5 = OH$   
 242  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H, R_3 = OH, R_6 = OCH_3$   
 243  $R_1 = R_2 = R_3 = OH, R_4 = R_5 = R_6 = H$   
 244  $R_1 = R_3 = OH, R_2 = R_4 = R_5 = H, R_6 = OH$   
 245  $R_1 = R_3 = R_5 =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

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

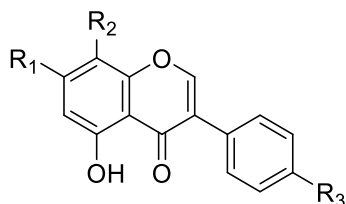


- 227  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Xyl-(1\rightarrow4)-Glc$   
 228  $R_1 = R_2 = OH, R_3 = Api-(1\rightarrow4)-Glc$   
 229  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Api-(1\rightarrow4)-Glc$   
 230  $R_1 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = Xyl$   
 231  $R_1 = R_2 = OH, R_3 = Glc$   
 232  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Glc$   
 233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



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

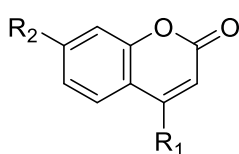
*Isoflavone*: genistein (255), ononin (256), biochanin  $\alpha$ - $\beta$ -D-glucoside (257), tectorigenin (258), malonyldaidzin (259).



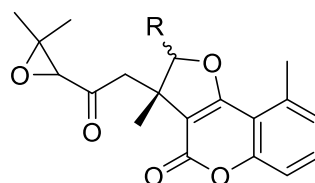
- 255  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH$   
 256  $R_1 = OGlc, R_2 = H, R_3 = OCH_3$   
 257  $R_1 = OGlc, R_2 = H, R_3 = OCH_3$   
 258  $R_1 = OH, R_2 = OCH_3, R_3 = OH$   
 259  $R_1 = 6-malonic-Glc, R_2 = H, R_3 = OH$

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

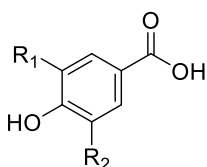
(275), chlorogenic acid (276), 1,5-dicaffeoyl quinic acid (277), 3,5-dicaffeoyl quinic acid (278), 4,5-dicaffeoyl quinic acid (279).



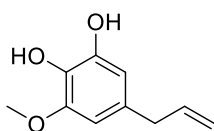
269 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH  
 270 R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH  
 271 R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = GlcA



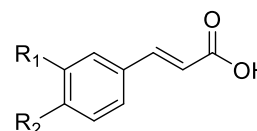
272 R = α-CH<sub>3</sub>  
 273 R = β-CH<sub>3</sub>



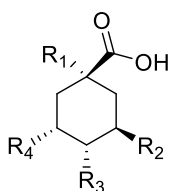
260 R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H  
 261 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OH



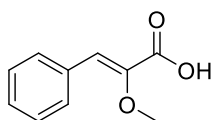
262



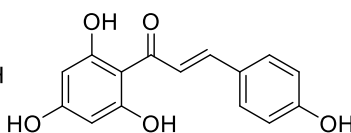
263 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H  
 264 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH  
 265 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>  
 266 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OH



274 R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = OH, R<sub>4</sub> = caffeoyl  
 275 R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = caffeoyl  
 276 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = caffeoyl, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = OH  
 277 R<sub>1</sub> = caffeoyl, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = OH, R<sub>4</sub> = caffeoyl  
 278 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = caffeoyl, R<sub>3</sub> = OH, R<sub>4</sub> = caffeoyl  
 279 R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = caffeoyl

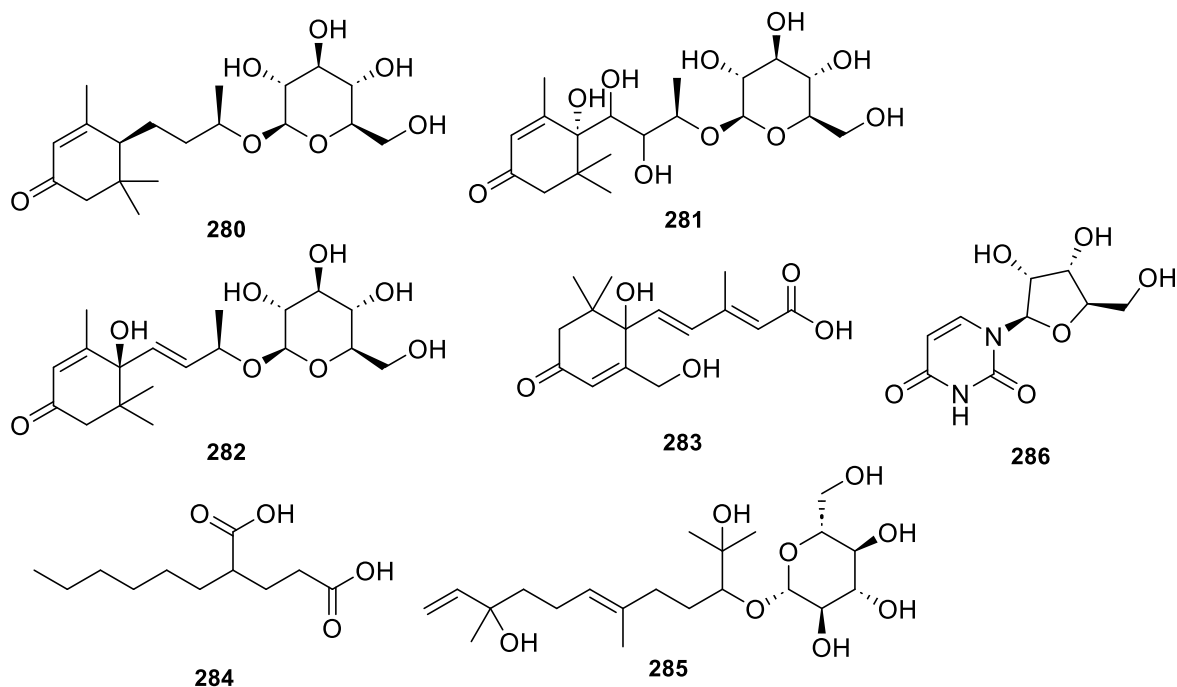


267



268

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



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

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

##### 1.4.1. Tác dụng kháng viêm

Nhóm nghiên cứu của Asante và cộng sự năm (2019) đã tiến hành thử nghiệm khả năng ức chế viêm, đau và sốt trong mô hình gây viêm bởi carrageenan ở chuột bởi các cao chiết lá non và lá già của *V. amygdalina*. Cao chiết ethanol của *V. amygdalina* được sử dụng ở mức 50-200 mg/kg, cùng với diclofenac (10 mg/kg). Kết quả cho thấy các đặc tính của quá trình viêm khi chuột được uống cao *V. amygdalina* tương tự như thuốc đối chứng diclofenac [1].

Ở một nghiên cứu khác, hợp chất vernonioside V (**180**) phân lập loài *V. amygdalina* cho thấy hợp chất này thể hiện được tác dụng ức chế mạnh hoạt động của yếu tố hoại tử TNF $\alpha$ , interleukin-6 (IL-6) và quá trình sản xuất cytokine gây viêm interleukin-8 (IL-8) với nồng độ 30  $\mu\text{g/mL}$  [1].

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

tác dụng ở  $IC_{50}$  trong khoảng (9 – 56  $\mu\text{M}$ ). Đặc biệt, hợp chất luteolin thể hiện được tác dụng mạnh nhất trong khoảng giá trị ( $IC_{50} = 9 \pm 2 \mu\text{M}$ ) [1].

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

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

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

#### **1.4.2. Tác dụng chống tiểu đường**

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

*amygdalina* cho thấy giảm hàm lượng đường trong máu lúc đói và cũng cải thiện tình trạng kháng glucose và insulin. Cao chiết này cũng có tác dụng trong việc làm tăng hoạt động của các enzyme adenosine-5'-monophosphate kinase và ức chế hoạt động của phosphoenolpyruvate carboxykinase và glucose-6-phosphatase [1].

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

Kiểm tra khả năng chống tiểu đường của dịch chiết từ hạt loài *V. anthelmintica*, nhóm nghiên cứu của Fatima đã báo cáo, ở liều thử 0,50 g/kg trọng lượng cơ thể (sau 6 giờ), dịch chiết loài này có tác dụng làm giảm 82% lượng glucose trong máu ở chuột thử nghiệm [1]

#### **1.4.3. Tác dụng gây độc tế bào ung thư**

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

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

Trong nghiên cứu của nhóm tác giả Williams năm 2005, các hợp chất glaucolide K-L (**24**, **25**) đã thể hiện được khả năng gây độc tế bào ung thư buồng trứng (A2780) ở giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $5,8 \mu\text{M}$ ;  $24,5 \mu\text{M}$  và  $3,3 \mu\text{M}$  (đối chứng dương actinomycin D;  $8-24 \times 10^{-4}$ ) [1].

Bên cạnh đó, hợp chất  $8\alpha$ -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**) và  $8\alpha$ -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**) có tác dụng ức chế các tế bào ung thư phổi MDA-MB-231 theo cơ chế apoptosis thông qua ức chế hoạt động của STAT3. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các hợp chất  $8\alpha$ -tigloyloxyhirsutinolide-13-*O*-acetate (**45**),  $8\alpha$ -(2-methylacryloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**47**) có tác dụng gây độc với cả 3 dòng tế bào ung thư thử nghiệm gồm MDA-MB-231, U251MG, và NIH-3T3. Trong khi hợp chất  $8\alpha$ -(2'*Z*-tigloyloxy)-hirsutinolide-13-*O*-acetate (**49**),  $8\alpha$ -hydroxy-13-*O*-tigloyl-hirsutinolide (**51**), và vernolide B (**44**) có tác dụng ức chế chọn lọc đối với dòng tế bào U251MG [20].

Trên mô hình *in vivo*, hợp chất piptocarphin A (**71**) thể hiện được sự ức chế phát triển của dòng tế bào ung thư P-388 với liều 4,6 mg/kg và IC<sub>50</sub> là 0,77  $\mu$ M. Tuy nhiên, hợp chất này cũng gây độc đối với dòng tế bào HL-60 với IC<sub>50</sub> = 3,87  $\mu$ M, cũng trong nghiên cứu này, hợp chất piptocarphin F (**72**) cũng thể hiện sự ức chế trên hai dòng tế bào P-388 và HL-60 với IC<sub>50</sub> là 1,32  $\mu$ M và 5,69  $\mu$ M [1].

Nhà khoa học Jisaka và cộng sự tại Nhật Bản đã chứng minh được các hợp chất vernodalin (**7**), vernomenin (**18**), vernodalinol (**6**), epivernodalol (**5**), 4,15-dihydrovernodalol (**10**) có khả năng gây độc tế bào ung thư trong khoảng giá trị IC<sub>50</sub> từ 0,07 – 75  $\mu$ g/ml [1].

Đánh giá tác dụng gây độc đối với dòng tế bào ung thư biểu mô tế bào biểu bì vòm miệng (KB), ung thư biểu mô ruột kết, ung thư biểu mô phổi tế bào lớn (NCI-661), và ung thư biểu mô cổ tử cung (Hela), kết quả là hợp chất vernolide-A (**55**) thể hiện tác dụng mạnh với các dòng tế bào này ở ED<sub>50</sub> lần lượt là (0,02; 0,05; 0,53, 0,04  $\mu$ g/ml) trong khi hợp chất vernolide-B (**44**) chỉ thể hiện tác dụng ở mức trung bình với giá trị ED<sub>50</sub> 3,78; 5,88 và 6,42  $\mu$ g/ml. Trong nghiên cứu này, các tác giả cũng nhận thấy sự thay thế nhóm hydroxy bằng nhóm acetyl ở vị trí C-13 của các hợp chất hirsutinolide sesquiterpene có vai trò quan trọng đối với hoạt tính gây độc tế bào của chúng [52]

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

(P388); 6,0  $\mu\text{M}$  (A-549). Cũng trên dòng tế bào HL-60, hai hợp chất vernodalidimer A (**74**), vernodalidimer B (**75**) cũng thể hiện khả năng ức chế sự phát triển ở  $\text{IC}_{50}$  0,72  $\mu\text{M}$  và 0,47  $\mu\text{M}$  [1].

#### 1.4.4. Tác dụng chống sốt rét

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

Abosi và Raseroka (2003) đã tiến hành đánh giá tác dụng chống sốt rét đối với *P. berghei* ở chuột của cặn chiết từ lá và vỏ rễ của *V. amygdalina* với các liều 125, 250 hoặc 500 mg/kg trong 4 ngày. Kết quả chứng minh rằng dịch chiết này có khả năng ức chế lần lượt là 67% và 53,5% số lượng ký sinh trùng. Nghiên cứu này chứng minh rằng việc sử dụng cao chiết ethanol của *V. amygdalina* trong giai đoạn nhiễm bệnh sớm có thể làm giảm số lượng ký sinh trùng trong máu [1].

Bihonegn và cộng sự (2019) đã đánh giá hoạt tính chống sốt rét của cao chiết methanol 80% và các cao phân đoạn từ lá *V. amygdalina* đối với chuột nhiễm *P. berghei*. Dịch chiết *V. amygdalina* thể hiện tác dụng ức chế ký sinh trùng trong thời gian thí nghiệm kéo dài 4 ngày lần lượt là 200 mg/kg; 32,47% ( $\pm 2,65$ ); 400mg/kg; 35,40% ( $\pm 3,14$ ) và 600 mg/kg; 37,67% ( $\pm 2,50$ ). Một nghiên cứu khác trước đó cũng đã phát hiện ra sự gia tăng các tế bào hồng cầu trong các nhóm chuột bị nhiễm *Plasmodium* được uống cao chiết từ loài *V. amygdalina* [53].

Challand và Willcox (2009) đã kiểm tra tác dụng của dịch chiết lá loài *V. amygdalina* về hiệu quả của chúng trong điều trị bệnh sốt rét ở bệnh nhân từ 12 tuổi trở lên. Theo kết quả của nghiên cứu này, 67% bệnh nhân có đáp ứng lâm sàng khả quan vào ngày thứ 14. Trong số đó, có 32% bệnh nhân không phát hiện có ký sinh trùng trong máu, tuy nhiên 71% bệnh nhân bị tái phát lại. Quan trọng hơn, không có tác dụng phụ nào được ghi nhận. Trên mô hình *in vitro* ở nồng độ 50  $\mu\text{g/ml}$  Ver-EtOH đã cho thấy cặn chiết ethanol ức chế đáng kể sự hình thành bào tử ở giai đoạn sớm (ESS) ( $> 90\%$ ). Trong đó, cao phân đoạn ethylacetate đã ức chế  $>90\%$  ESS [53].

Vernodalin (**7**) có hoạt tính mạnh nhất với giá trị  $\text{IC}_{50}$  là 0,16  $\mu\text{M}$  và chỉ số chọn lọc (SI) là 35. Dẫn xuất 11 $\beta$ ,13-dihydro của vernodalin là **8**, có hoạt tính ức chế giảm với giá trị  $\text{IC}_{50}$  là 1,1  $\mu\text{M}$ . Việc giảm hoạt tính có thể là do hydro hóa nhóm exomethylene C-11 và C-13. Sự đóng góp của các nhóm này vào hoạt tính sinh học của các sesquiterpen lactone được chứng minh thêm bằng cách so sánh tác dụng của vernolide (**82**) và 11 $\beta$ ,13-dihydrovernalide (**81**), có giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là 0,50 và 17  $\mu\text{M}$ . Tương tự, hydroxyvernalide (**84**) và đồng loại của nó 11 $\beta$ ,13-dihydrohydroxyvernalide (**83**) đăng ký giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là 5,0 và 15  $\mu\text{M}$  [9].



#### 1.4.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Hợp chất vernodalol (**3**) và vernolide (**82**) thể hiện khả năng ức chế mạnh đối với các vi khuẩn Gram dương. Hợp chất vernodalol kháng mạnh các chủng *Penicillium notatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, và *Mucor hiemalis* với LC<sub>50</sub> lần lượt là 0,2; 0,3, và 0,4 mg/mL, trong khi đó, vernolide có LC<sub>50</sub> lần lượt là 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL.

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

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

Bên cạnh đó, một số triterpene phân lập từ loài *V. auriculifera* cũng cho thấy khả năng ức chế các chủng *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophili*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *E. faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* với nồng độ ức chế tối thiểu MIC 0,25 mg/mL [54].

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

#### Tình hình nghiên cứu trên thế giới:

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

#### Tình hình nghiên cứu trong nước:

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về loài *V. amygdalina* còn hạn chế, đến nay chỉ có các nghiên cứu sơ bộ về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Năm 2016, nhóm nghiên cứu của tác giả Lê Thị Mi Chi đã tiến hành khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, đặc điểm vi phẫu và hình thái của cây lá đắng [55]. Đến năm 2018, tác giả Hồ Thị Dung và cộng sự tiếp tục nghiên cứu về đặc điểm thực vật của loài *V. amygdalina* nhằm khẳng định và nâng cao giá trị sử dụng của loài lá đắng.

Gần đây, nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Hạnh và cộng sự đã chứng minh được tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết *V. amygdalina* trên chuột trắng. Kết quả là nồng độ glucose giảm dần giảm về gần mức đường huyết ban đầu sau đợt điều trị đối với lô chuột được uống dịch chiết *V. amygdalina*. Mức liều 200 mg/kg cho kết

quả giảm đường huyết mạnh nhất (50,3%) và gần tương đương mức giảm của lô dùng insulin (52,7%) [52].

Năm 2018, nhóm tác giả Hoàng Lê Tuấn Anh và cộng sự đã phân lập và báo cáo hai hợp chất sterol và một hợp chất flavone: (23*S*,24*R*,28*S*)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetradecahydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone, (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradecahydro-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,21,24-tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ -stigmastane, và luteolin. Đến năm 2021, nhóm nghiên cứu này tiếp tục tiến hành nghiên cứu về hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* của stigmastane-type steroid saponin mới được chiết xuất từ lá cây *V. amygdalina*. Sử dụng các phương pháp phân tách sắc ký khác nhau, đã phân lập được 4 hợp chất steroid saponin từ lá cây *Vernonia amygdalina* Delile gồm vernoamyoside E, vernoniacums B, vernonioside B<sub>1</sub> và vernonioside B<sub>2</sub>. Trong đó, hợp chất vernoamyoside E là hợp chất mới. Nghiên cứu hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các hợp chất phân lập được cho biết hợp chất vernoamyoside E ức chế đáng kể cả hoạt động chống lại  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase [51].

Năm 2022, hai hợp chất flavone khác: luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, kaempferol cũng được nhóm nghiên cứu báo cáo phân lập từ loài *V. amygdalina* đồng thời các hợp chất này cũng được đánh giá hoạt tính chống oxi hóa [56].

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

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

### 1.7. Giới thiệu về bệnh tiểu đường

Tiểu đường là bệnh nội tiết phổ biến nhất thế giới và được đặc trưng bởi sự tăng đường huyết mãn tính liên quan đến những bất thường trong carbohydrate, chất béo, và chuyển hóa protein. Nó được gây ra bởi sự thiếu hụt hoặc suy giảm quá trình sinh tiết insulin và/hoặc hoạt động của insulin dẫn đến sự suy thoái dần quá trình dung nạp glucose, do đó làm tăng lượng đường trong máu [57]. Bệnh tiểu đường là một căn bệnh lớn và nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng trên toàn thế giới, ảnh hưởng đến khoảng 171 triệu người, trong đó phần lớn người bệnh là mắc tiểu đường loại 2 [58]. Số người mắc bệnh tiểu đường ước tính sẽ vượt 300 triệu người trên toàn cầu vào năm 2025 [59]. Hiệp hội tiểu đường Mỹ cho biết khoảng 22,3 triệu người tại Hoa Kỳ bị tiểu đường, chiếm 7% dân số [60]. Do vậy, những nỗ lực lớn trong việc tìm kiếm các tác nhân điều trị mới đang được thực hiện nhằm ngăn chặn sự tiến triển của căn bệnh này [61]. Cho đến nay, insulin là tác nhân duy nhất có sẵn để điều trị bệnh tiểu đường cả loại 1 và tiểu đường nặng loại 2 [62]. Trong thử nghiệm lâm sàng lại chỉ ra rằng, trong số này, chưa có các hợp chất hoặc các chiết xuất nào có thể thay thế insulin

trong việc điều trị bệnh tiểu đường. Do đó, việc tìm kiếm các tác nhân mới có thể bắt chước tác dụng của insulin trong việc chữa tiểu đường vẫn đang thực sự rất cần thiết và đáng được quan tâm.

Một trong những biện pháp kiểm soát hiệu quả bệnh đái tháo đường, đặc biệt là bệnh đái tháo đường không phụ thuộc insulin (NIDDM) là làm giảm tình trạng tăng đường huyết sau bữa ăn bằng cách làm chậm quá trình hấp thu glucose thông qua việc ức chế các enzyme thủy phân carbohydrate, chẳng hạn như  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase..., trong hệ tiêu hóa.  $\alpha$ -Glucosidase là enzyme chính xúc tác bước cuối cùng trong quá trình chuyển hóa carbohydrate. Do đó, việc ức chế enzyme này sẽ làm chậm quá trình tăng lượng đường trong máu sau bữa ăn chứa carbohydrate[60]. Nó là một enzyme liên kết màng có trong biểu mô của ruột non, có tác dụng tạo điều kiện thuận lợi cho sự hấp thu glucose của ruột non bằng cách xúc tác quá trình thủy phân các oligosacarit thành các monosacarit có thể hấp thụ được. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để tìm kiếm các chất ức chế  $\alpha$ -glucosidase hiệu quả từ các nguồn tự nhiên nhằm phát triển các thuốc mới để điều trị bệnh tiểu đường. Các chất ức chế  $\alpha$ -glucosidase phổ biến là acarbose và voglibose trong vi sinh vật, và nojirimycin và 1-deoxynojirimycin trong thực vật,[61]...

### 1.8. Giới thiệu về bệnh gút

Bệnh gút là một bệnh lý chuyển hóa có liên quan đến tăng nồng độ axit uric trong máu. Căn bệnh này là đặc trưng bởi các giai đoạn viêm khớp cấp tính hoặc mãn tính do lắng đọng tinh thể mononatri urate trong khớp và mô liên kết.

Xanthine oxyase (XO) xúc tác quá trình oxy hóa hypoxanthine thành xanthine và xanthine thành axit uric. Nó đóng vai trò chính trong bước cuối cùng của quá trình chuyển hóa nucleotide purine ở người và đóng vai trò là nguồn sinh học quan trọng của các gốc tự do có nguồn gốc từ oxy. XO được tìm thấy chủ yếu ở gan và ruột. Ở người, việc sản xuất quá mức xanthine oxyase làm tăng nồng độ axit uric trong máu và dẫn đến tăng axit uric máu. Sự lắng đọng axit uric bắt đầu khi axit uric hòa tan trong máu và hình thành các tinh thể urat monohydrat ở khớp và thận, dẫn đến viêm đau. Axit uric đã được xác định là dấu hiệu của bệnh gút và một số bất thường về chuyển hóa. Các chất ức chế xanthine oxidase tổng hợp như allopurinol, febuxostat và dẫn xuất phenylpyrazol Y-700, đã được sử dụng rộng rãi để điều trị chứng tăng axit uric máu và bệnh gút, nhưng có thể có tác dụng phụ. Thuốc allopurinol được kê đơn rộng rãi đã được báo cáo là gây ra hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử biểu bì nhiễm độc, rối loạn gan và rối loạn chức năng thận. Do đó, cần có những lựa chọn thay thế có nguồn gốc tự nhiên với ít tác dụng phụ hơn [63].

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

### 2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1. Loài *Vernonia amygdalina*

Các bộ phận phía trên mặt đất của loài *V. amygdalina* được thu thập ở Hà Nội, Việt Nam có tọa độ 21°01'51"B 105°48'05"Đ vào tháng 4 năm 2021. Mẫu được định danh bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện Nghiên cứu khoa học Miền Trung (VAST). Mẫu tiêu bản (VA-2021) được lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, (VAST).



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

#### 2.1.2 Loài *Vernonia gratiosa*

Loài *V. gratiosa* được thu hái tại Hướng Hóa, Quảng Trị vào tháng 4/2019 có tọa độ 16°46'49.0"N 106°35'06.2"E. Mẫu được định danh bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện nghiên cứu khoa học miền Trung (VAST). Mẫu tiêu bản được ký hiệu là VG-2019 và lưu tại phòng Tiêu bản, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, (VAST).



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

## 2.2. DUNG MÔI, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU

### 2.2.1. Dung môi và hóa chất

Dung môi: *n*-hexane (Hex), methylene chloride (MC), ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH), acetone, *n*-butanol (BuOH) được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Trung Quốc/ Malaysia/ Merck.

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

### 2.2.2. Thiết bị nghiên cứu

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

## 2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất

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

### 2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất

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

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

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

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

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

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

Phương pháp xác định đường: Mỗi hợp chất (2,0 mg) được thủy phân bằng  $\text{CF}_3\text{COOH}$  2N (hồi lưu, 5 ml, 3h, 95°C). Sau đó, được chiết lỏng – lỏng với EtOAc, pha nước được làm khô bằng máy cô quay chân không, áp suất giảm, sau đó được tiến hành sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi  $\text{CHCl}_3$ : MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$ ; 8:5:1 và so sánh với mẫu chuẩn. Các monosaccharide được tinh chế bằng TLC điều chế với hệ dung môi tương tự và đo độ quay cực riêng.

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

### 2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

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

#### 2.3.4.1. Đánh giá hoạt tính sinh học ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase [51]

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

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

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

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

- Dừng thí nghiệm bằng cách thêm vào 80  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,2M) và đo OD ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Biotek).

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

$$\% \text{ Ức chế} = 100 - \left[ \left( \frac{\text{OD}_{\text{mẫu thử}}}{\text{OD}_{\text{đối chứng}}} \right) \times 100 \right]$$

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

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

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

#### 2.3.4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase [1]

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

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

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

- Cơ chất xanthine (750  $\mu$ M) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm (60  $\mu$ L) rồi ủ tiếp ở 37°C trong 30 phút.

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

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

- Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, phosphate buffer, enzyme và xanthine được sử dụng làm đối chứng âm. Allopurinol được sử dụng làm đối chứng tham khảo. Quá trình lặp lại 3 lần để đảm bảo sự chính xác.

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

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

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

$$OD_{\text{mẫu thử}} = OD_{\text{mẫu thử}} - OD_{\text{blank}}$$

- Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50%) sẽ được tính toán trên phần mềm máy tính TableCurve2Dv4.

## 2.4. PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT

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

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

Sử dụng sắc ký cột pha tĩnh là silica gel cho đoạn LD1B (7,5 g), hệ pha động gồm (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH; 100/1-1/1, v/v) được 4 phân đoạn (LDE5A-LDE5D). Phân đoạn LDE5A (150,2 mg) được cho lên cột silica gel rửa giải với (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH; 20/1-1/1, v/v) ta thu được **LD13** (5,0 mg). Phân tách đoạn LDE5B (2,1 g) dùng cột sephadex-LH20 với dung môi (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O; 1/1, v/v) được hai phân đoạn (LDE6A và LDE6B). Phân đoạn LDE6A (300,2 mg) được tinh chế trên cột với pha tĩnh là hạt C-18 rửa giải bằng hệ (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O; 2,5/1, v/v) thu được **LD11** (4,0 mg). Tương tự phân đoạn LDE6B với pha tĩnh là C18 và pha động là hỗn hợp (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O; 2,5/1, v/v) ta thu được **LD16** (3,0 mg). Với cùng điều kiện sắc ký, hợp chất **LD7** (5,0 mg) thu được từ phân đoạn LDE5C (80,0 mg). Tiếp tục phân đoạn LDE5D chạy trên cột silica gel với hệ pha động (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ CH<sub>3</sub>OH; 20/1  $\rightarrow$  1/1, v/v) ta được 2 phân đoạn



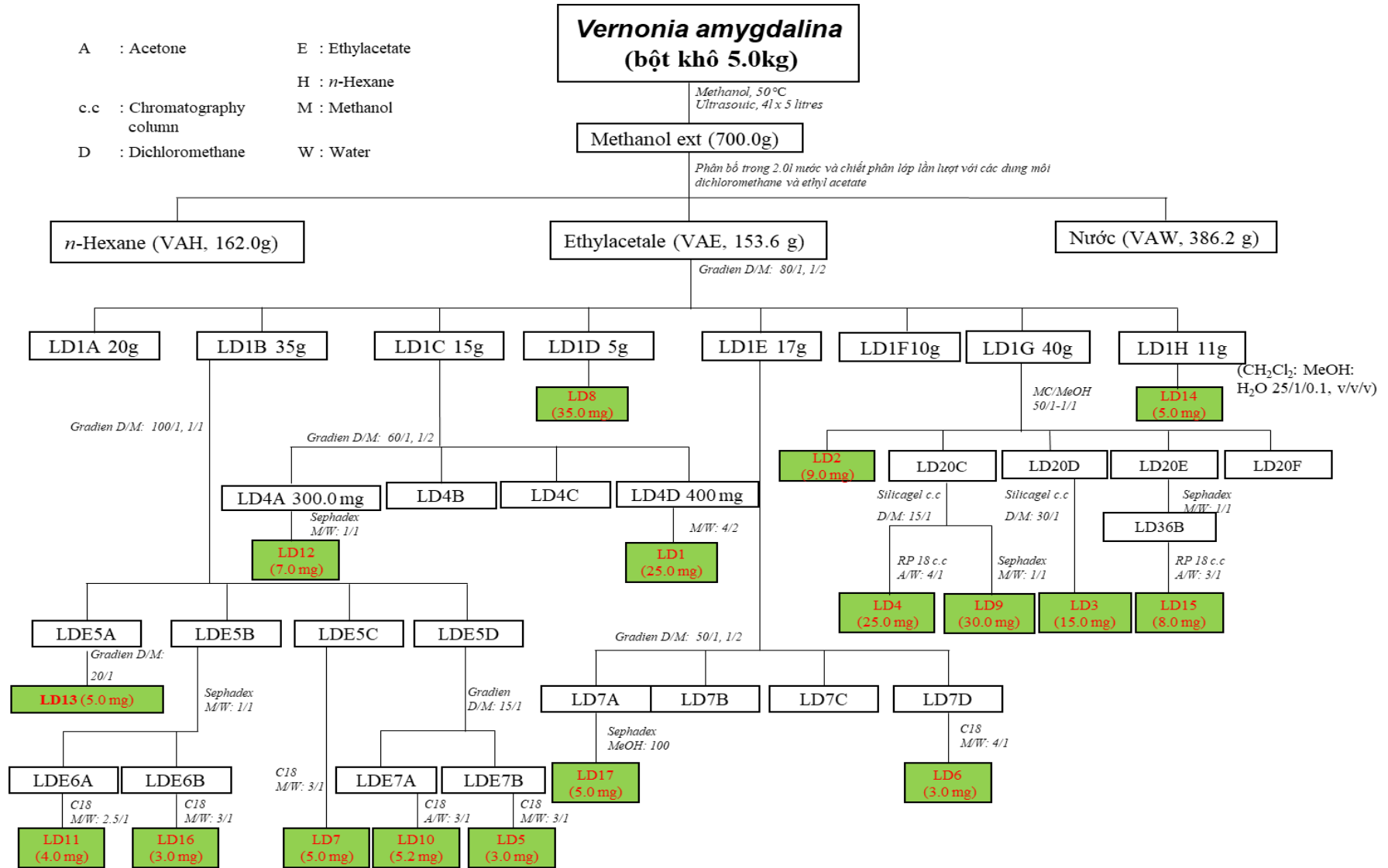
(LDE7A và LDE7B) sau đó từ phân đoạn nhỏ LDE7A được phân tách trên cột C18 bằng dung môi chạy cột ( $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ ; 3/1, v/v) ta đạt được chất sạch là **LD10** (5,2 mg). Một cách tương tự LDE7B tiếp tục được chạy qua cột pha đảo với pha động ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ : 3/1, v/v) ta thu được **LD5** (3,0 mg).

Từ cặn LD1C (5,2 g) được chia tách trên cột pha thường và rửa giải với pha động ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ ; 60/1  $\rightarrow$  1/2; v/v) thu được bốn phân đoạn gồm (LD4A-LD4D). Từ phân đoạn nhỏ LD4B (500,0 mg) chạy qua cột Sephadex-LH20 và giải hấp phụ bởi hệ ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 1/1, v/v) thu được **LD12** (7,0 mg). Hợp chất **LD1** (25,0 mg) được phân tách từ đoạn LD4D (600,0 mg) bằng việc sử dụng cột C18 với đẳng hệ dung môi ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 4/2, v/v). Từ LD1D (550,2 mg) được phân tách trên cột sắc ký silica gel sử dụng hệ pha động ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ ; 25/1  $\rightarrow$  1/1, v/v) ta thu được sạch **LD8** (35,0 mg).

Phân đoạn LD1E (7,0 g) được đưa lên cột với pha tĩnh là silica gel sử dụng pha động là ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ ; 50/1  $\rightarrow$  1/1, v/v) ta được 4 phân đoạn kí hiệu (LD7A-LD7D). Từ phân đoạn nhỏ LD7A sử dụng cột Sephadex LH20 với 100%  $\text{CH}_3\text{OH}$  ta thu được chất sạch **LD17** (5,0 mg). Một cách tương tự **LD6** (3,5 mg) đạt được khi phân tách LD7D trên C-18 với pha động ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 4/1, v/v).

Từ phân đoạn LD1G (15,2 g) được sử dụng sắc ký cột dùng hệ giải hấp phụ ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ ; 50/1  $\rightarrow$  1/1, v/v) thu được được **LD2** (9,0 mg) và 4 phân đoạn (LD20C-LD20F). Từ phân đoạn nhỏ hơn LD20C (400,0 mg) được làm sạch bằng cột silica gel với dung môi ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ ; 15/1, v/v) và tinh chế trên cột đảo pha tĩnh là hạt C18 giải hấp bằng ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 4/1-1/1, v/v) ta thu được là **LD4** (25,0 mg) và **LD9** (30,0 mg). **LD3** (15,0 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn LD20D (300,3 mg) bằng sắc ký cột thường silica gel sử dụng đẳng hệ dung môi ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ ; 30/1, v/v). Phân đoạn LD20E (1,5 g) được chia tách trên cột Sephadex LH20 với hệ dung môi ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 1/1, v/v) sau đó được làm sạch tiếp trên sắc ký C18 dùng pha động rửa giải ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ; 3/1, v/v) ta thu được **LD15** (8,0 mg).

Từ phân đoạn LD1H (500,0 mg) tinh chế bằng cột silica gel, hệ dung môi ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ ; 25/1/0,1, v/v/v) ta được **LD14** (5,0 mg).



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

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

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

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

Từ phân đoạn VGW2, được đưa lên trên cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi gradien (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ CH<sub>3</sub>OH; 20/1-1/2, v/v) thu được 4 phân đoạn nhỏ hơn (VGW2A - VGW2D). Phân đoạn VGW2B được đưa tiến hành cột sắc ký silica gel pha đảo C18 rửa giải với đẳng hệ dung môi (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O; 1/2, v/v) ta thu được 2 phân đoạn

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

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

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



## 2.5. THÔNG SỐ VẬT LÝ VÀ DỮ LIỆU PHỔ CỦA CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP.

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

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

Chất bột rắn, màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +75° (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH)

Công thức phân tử (CTPT): C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>O<sub>8</sub>

Khối lượng phân tử (KLPT): 560,3349

Phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 583,3248 [M+Na]<sup>+</sup>

Tính toán lý thuyết (TTLT): C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>O<sub>8</sub>Na (M = 583,3247)

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR xem ở *Bảng 3.1*

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

Chất bột rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +55° (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH)

CTPT: C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>

KLPT: 662,3666

HR-ESI-MS  $m/z$ : 697,3385 [M+Cl]<sup>-</sup>

TTLT: C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>Cl<sup>-</sup> (M = 697,3355)

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR xem ở *Bảng 3.2*

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

Chất bột rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +45° (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH)

CTPT: C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>

KLPT: 662,3666

HR-ESI-MS  $m/z$ : 697,3355 [M+Cl]<sup>-</sup>

TTLT: C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>Cl<sup>-</sup> (M= 697,3360)

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR xem ở *Bảng 3.3*.

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

Chất bột rắn, màu trắng:  $[\alpha]_D^{25}$ : +48,0° (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH)

CTPT: C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>10</sub>

KLPT: 632,3560

Phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 667,3308 [M+Cl]<sup>-</sup>

TTLT: C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>10</sub>Cl<sup>-</sup>, (M = 667,3254)

Phổ <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.4*.

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

Chất bột vô định hình không màu,  $[\alpha]_D^{25}$ : +45,7° (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH)

CTPT: C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>O<sub>10</sub>, KLPT: 634,3717

Phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 669,3402 [M+Cl]<sup>-</sup>

TTLT:  $C_{35}H_{54}O_{10}Cl^-$ , ( $M = 669,3406$ )

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

2.5.1.6. *Hợp chất LD6: Vernonioside P*

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

CTPT:  $C_{31}H_{48}O_6$

CTPT: 516,3451

Phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 551,3118  $[M + Cl]^-$

TTLT:  $C_{31}H_{48}O_6Cl^-$  ( $M = 551,3139$ )

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

2.5.1.7. *Hợp chất LD7: Vernonioside Q*

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

CTPT:  $C_{37}H_{58}O_{11}$

KLPT: 678,3979

Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$  713,3690  $[M+Cl]^-$

TTLT:  $C_{37}H_{58}O_{11}Cl^-$  ( $M = 731,3668$ )

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

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

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

CTPT:  $C_{30}H_{46}O_7$ ; KTPT: 518,3244

ESI-MS  $m/z$ : 541,3  $[M+Na]^+$

TTLT:  $C_{30}H_{46}O_7Na$  ( $M = 541,3$ )

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

2.5.1.9. *Hợp chất LD9: Vernoamyoside E*

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

CTPT:  $C_{36}H_{56}O_{11}$ , KTPT: 664,4

Phổ ESI-MS ,Neg  $m/z$ : 699,4  $[M+Cl]^-$

TTLT:  $C_{36}H_{56}O_{11}Cl^-$  ( $M = 669,4$ )

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

2.5.1.10. *Hợp chất LD10: Vernonioside B<sub>2</sub>*

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

CTPT:  $C_{36}H_{56}O_{12}$

KLPT: 680,3772

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

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

Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +37,5 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>38</sub>H<sub>58</sub>O<sub>13</sub>

KLPT: 722,3877

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.10*.

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

Chất bột rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +17,1 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub>

KLPT: 470,3032

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.11*.

2.5.1.13. Hợp chất **LD13**: *Venonioside B<sub>1</sub>*

Chất rắn màu trắng vô định hình,  $[\alpha]_D^{25}$ : +33,5 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>10</sub>

KLPT: 632,3560

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR trên *Bảng 3.12*.

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

Chất bột màu trắng, vô định hình,  $[\alpha]_D^{25}$ : -17,98 (c 0,2; CHCl<sub>3</sub>).

CTPT: C<sub>35</sub>H<sub>50</sub>O<sub>11</sub>

KLPT: 646,3353

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.13*.

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

Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +24,0 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>35</sub>H<sub>50</sub>O<sub>11</sub>

KLPT: 646,3353

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.14*.

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

Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +0,27 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>41</sub>H<sub>66</sub>O<sub>15</sub>

KLPT: 798,4402

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem ở *Bảng 3.15*.

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

Bột rắn màu trắng

CTPT: C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>

KLPT: 460,3553



Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem ở Bảng 3.16.

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

**2.5.2.1. Hợp chất VG1: Vernogratioid A**

Chất bột rắn, màu trắng,  $[\alpha]_D^{25} : -28$  (c 0,1;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CD (c  $5,0 \times 10^{-4}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (mdeg) 221 (+2,82), và 243 (+10,78) nm

CTPT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{15}$

LKPT: 796,4245

HR-ESI-MS  $m/z$ : 831,3892  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ ; TTLT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{15}\text{Cl}^-$  (M = 831,3939)

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem ở Bảng 3.18.

**2.5.2.2. Hợp chất VG2: Vernogratioid B**

Chất bột rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25} : -32$  (c 0,1;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CD (c  $5,0 \times 10^{-4}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (mdeg) 220 (+3,74), và 243 (+8,10) nm

CTPT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{14}$

LKPT: 780,4296

HR-ESI-MS  $m/z$ : 779,4212  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ; TTLT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{63}\text{O}_{14}^-$ , 779,4223

Dữ liệu  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem ở Bảng 3.19.

**2.5.2.3. Hợp chất VG3: Vernogratioid C**

Chất bột rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25} : -33^\circ$  (c 0,1;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CD (c  $5,0 \times 10^{-4}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $\lambda_{\text{max}}$  (mdeg) 221 (+3,17), và 243 (+9,18) nm

CTPT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{15}$

KLPT: 796,4245

Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  797,4216; TTLT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{65}\text{O}_{15}^+$  (797,4318)

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem ở Bảng 3.20.

**2.5.2.4. Hợp chất VG4: Vernogratioid R**

Thu được dưới dạng bột màu trắng,  $[\alpha]_D^{25} : -35^\circ$  (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CTPT:  $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{O}_{16}$

KLPT: 838,4351

Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$   $[\text{M}+\text{Cl}]^-$  873,4033; TTLT:  $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{ClO}_{16}^-$  873,4039).

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem Bảng 3.21.

**2.5.2.5. Hợp chất VG5: Vernogratioid S**

Dạng rắn màu vàng,  $[\alpha]_D^{25} : +45,7^\circ$  (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CTPT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{14}$

KLPT: 782,4453

Phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 817,4067  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ ; TTLT:  $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{ClO}_{14}^-$  817,4141

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.22*.

2.5.2.6. *Hợp chất VG6: Vernoratoside A*

Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +44,5 (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

CTPT:  $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{O}_{12}$

KLPT: 706,3928

HR-ESI-MS  $m/z$ : 741,3583  $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ ; TTLT:  $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{O}_{12}\text{Cl}$  (M = 741,3617)

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.23*.

2.5.2.7. *Hợp chất VG7: Vernoratoside B*

Chất rắn màu trắng không xác định hình dạng,  $[\alpha]_D^{25}$ : + 30,6 (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

CTPT:  $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_{12}$

KLPT: 692,3772

Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$  727,3466  $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ ; TTLT:  $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_{12}\text{Cl}$ , (M = 727,3460)

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.24*.

2.5.2.8. *Hợp chất VG8: VE1*

Dạng bột màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +75 (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

CTPT:  $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_{12}$

KLPT: 692,3772

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.25*.

2.5.2.9. *Hợp chất VG9: Vernoniacum B*

Chất rắn màu trắng,  $[\alpha]_D^{25}$ : +37,5 (c 0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

CTPT:  $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{O}_{13}$

KLPT: 722,3877

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.26*.

2.5.2.10. *Hợp chất VG10: Kaempferol*

Chất rắn vô định hình, màu vàng

CTPT:  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$

KLPT: 286,0477

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.27*.

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

Chất rắn, màu vàng chanh

CTPT:  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$

KLPT: 316,0583

Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR xem *Bảng 3.28*.

2.5.2.12. *Hợp chất VG12: Quercetin*

Chất rắn vô định hình, màu vàng

CTPT: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>

KLPT: 302,0427

Dữ liệu Phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem trên *Bảng 3.29*.

2.5.2.13. *Hợp chất VG13: Apigenin*

Chất rắn dạng bột, màu vàng nhạt.

CTPT: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>

KLPT: 270,0528

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.30*.

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

Chất bột màu trắng, vô định hình.

CTPT: C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub>

KLPT: 580,2156

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.31*.

3.2.1.1. 2.5.2.15. *Hợp chất VG15: 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(E)-propenyl)-2,6 dimethoxyphenoxy] propyl-β-D-glucopyranoside*

Chất rắn màu trắng;  $[\alpha]_D^{25}$  : -24 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>

KLPT: 568,2156

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.32*.

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

Chất rắn dạng tinh thể, màu trắng;  $[\alpha]_D^{25}$  : +0,27 (c 0,2; CH<sub>3</sub>OH).

CTPT: C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>

KLPT: 364,1522

Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.33*.

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

Chất rắn vô định hình, màu trắng

CTPT: C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>; KLPT: 139,0633

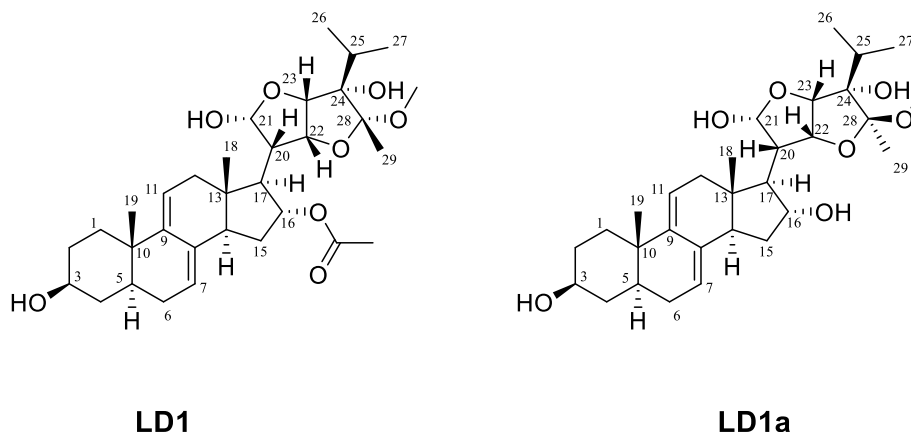
Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR xem *Bảng 3.34*.

## CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

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

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

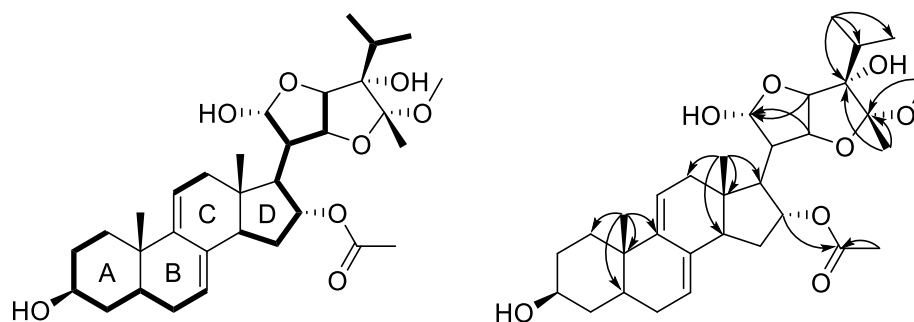


**Hình 3. 1.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD1** và hợp chất tham khảo **LD1a**

Hợp chất **LD1** phân lập được ở dạng rắn, màu trắng. Công thức phân tử của **LD1** được xác định là  $C_{32}H_{48}O_8$  dựa trên phổ khối lượng HR-ESI-MS tại  $m/z$  583,3248  $[M + Na]^+$  (tính toán cho công thức  $C_{32}H_{48}NaO_8^+$ : 583,3247) (Hình 3.4).

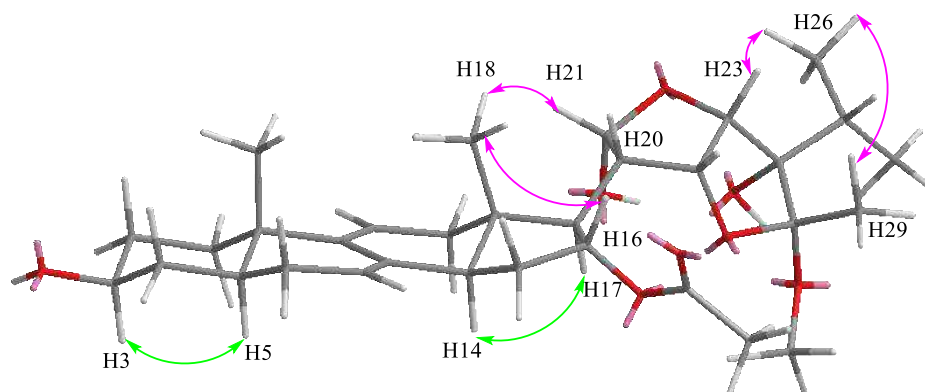
Phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của **LD1** (Bảng 3.1) xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung  $\Delta^{7,9(11)}$  stigmasterane steroid tương tự với cấu trúc của **LD1a**. Trên phổ  $^1H$ -NMR của **LD1** (Bảng 3.1) xuất hiện các tín hiệu của hai proton olefinic [ $\delta_H$  5,44 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-11; 5,33 (1H, br s, H-7)], một oxymethine đặc trưng của H-3 [ $\delta_H$  3,78 (1H, m, H-3)], một nhóm isopropyl [ $\delta_H$  2,27 (1H, m, H-25); 1,23 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-27); 1,11 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz, H-26)], ba proton methyl ( $CH_3$ ) singlet [ $\delta_H$  1,59 (3H, s, H-29); 0,86 (3H, s, H-19); 0,61 (3H, s, H-18)], một nhóm  $CH_3$  singlet tại  $\delta_H$  2,21 (3H, s) đặc trưng của nhóm acetyl, và một nhóm methoxyl [ $\delta_H$  3,29 (3H, s, 28- $OCH_3$ )]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **LD1** cho thấy sự có mặt của 32 tín hiệu carbon, trong đó 06 carbon không liên kết với proton, 06 nhóm methylene, 04 carbon olefinic, 01 nhóm acetyl, 05 nhóm methyl và 01 methoxy. Thêm vào đó, vị trí cạnh nhau của các proton trong cấu trúc của **LD1** được xác định thông qua các tương tác COSY, cụ thể là H-2/ H-1 và H-3, H-4/ H-3 và H-5, H-6/ H-5 và H-7, H-11/H-12, H-15/ H-14 và H-16, H-16/H-17, H-20/ H-21 và H-22, H-22/ H-23, H-25/ H-26 và H-27 (Hình 3.2). Các tương tác này cũng cho phép xác định cấu trúc các mảnh của vòng A-D và hai vòng furan của mạch nhánh của **LD1**. Ngoài ra, các tương tác HMBC của proton tại [ $\delta_H$  5,44 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-11) với C-8/C-9/C-10/C-13; của H-7 và C-5/C-8/C-9/C-15 chỉ ra vị trí của hai liên kết đôi là ở 7(8) và 9(11). Nhóm acetoxy được xác định vị trí tại C-16 thông qua tương tác HMBC của H-16 ( $\delta_H$  5,53; t;  $J = 6,0$  Hz) đến  $\delta_C$  170,8 ( $CH_3COO$ ). Đối với mạch nhánh của **LD1**, trên

phổ HMBC cho thấy sự tương tác của H-26/H-27 và C-24, cho phép xác định vị trí của nhóm isopropyl tại C-24. Ngoài ra, vị trí của các methoxy và methyl tại C-28 được xác định dựa trên các tương tác HMBC của 28-OCH<sub>3</sub>/H-29 với C-28. Các tương tác HMBC của H-20 và C-21/C-22, của H-21 và C-22/C-23, của H-22 và C-20/C-23, của H-23 và C-21/C-24 xác nhận sự hiện diện của hai vòng furan, liên kết với nhau qua C-22 và C-23 (Hình 3.2). Cuối cùng, mạch nhánh này dính vào vị trí C-17 được xác định bởi liên kết HMBC của H-17 và C-20 cũng như tương tác H-17/ H-20 trên phổ COSY (Hình 3.2).

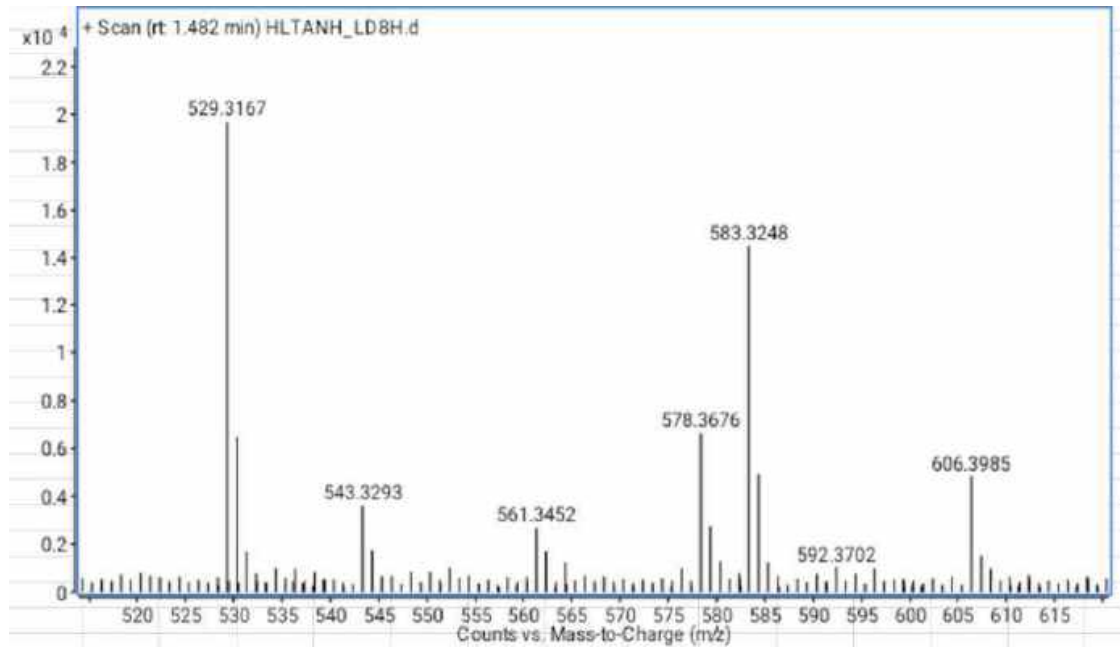


**Hình 3. 2.** Các tương tác COSY và HMBC chính của **LD1**

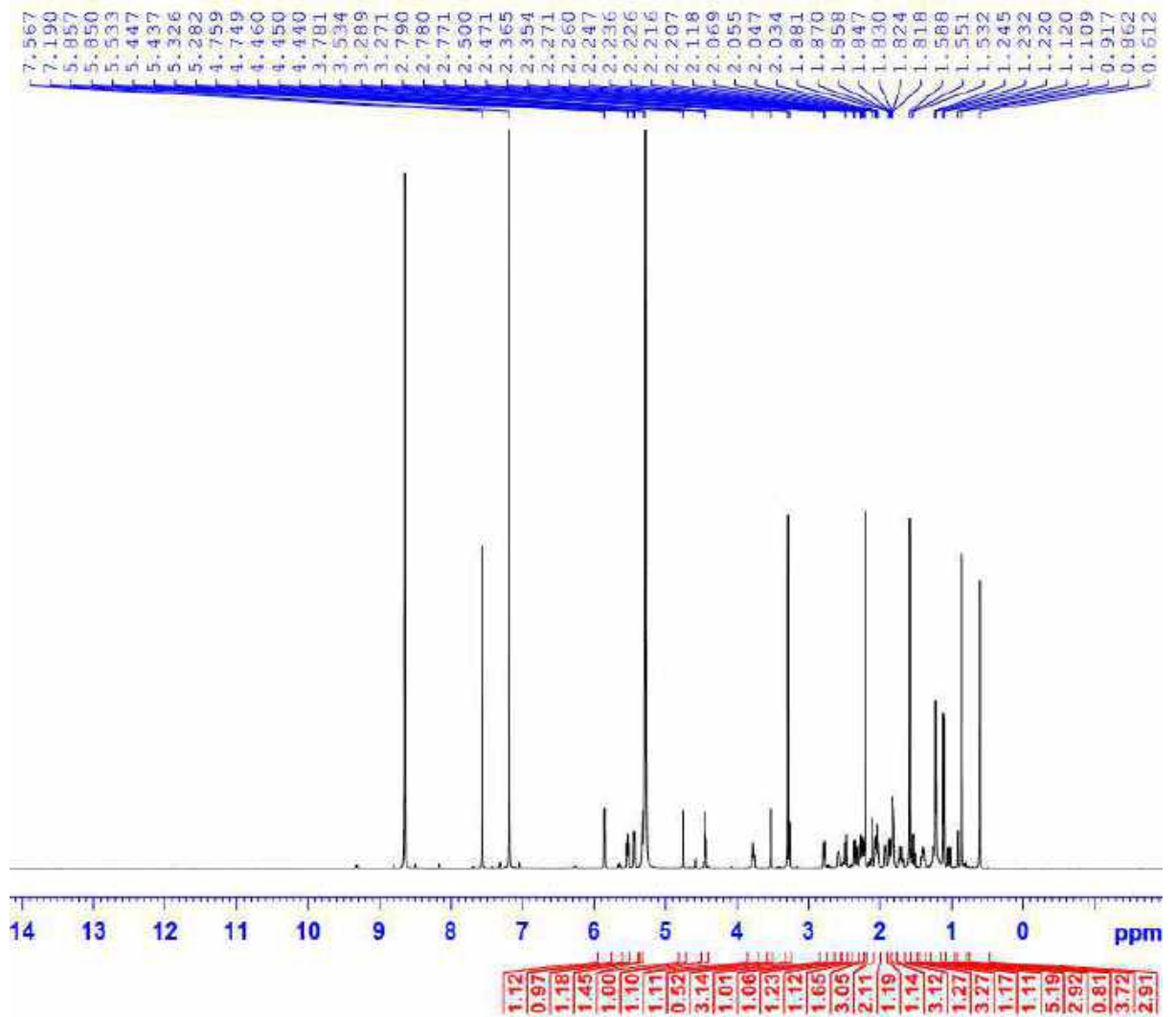
Cuối cùng, hóa lập thể của **LD1** được xác định thông qua phổ ROESY. Phổ ROESY của **LD1** chỉ ra tương tác giữa H-3 và H-5, H-14 và H-17, H-18 và H-16 và H-19, cho phép xác định các hệ thống vòng A/B và C/D ngưng tụ với nhau theo dạng *trans*; các proton H-16, H-18 và H-19 có cấu hình  $\beta$ ; và H-3, H-5, H-14 và H-17 có cấu hình  $\alpha$  (Hình 3.3). Hơn nữa, tương tác ROESY giữa H-20 và H-18/H-21/H-27, giữa H-23 và H-22/H-26 chỉ ra rằng các proton này có cấu hình  $\beta$  (Hình 3.3). Trên phổ ROESY cũng chỉ ra tương tác của H-29 và H-26 điều đó chỉ ra rằng nhóm methyl tại vị trí C-28 này có cấu hình  $\beta$ . Từ các dữ liệu phân tích trên, cho thấy cấu trúc của **LD1** có độ tương đồng rất cao so với **LD1a**, ngoại trừ việc thay thế nhóm hydroxy tại C-16 của **LD1a** bằng nhóm acetyl ở **LD1** [64]. Do đó, cấu trúc hóa học của **LD1** được xác định như trong (Hình 3.1), tra cứu Scifider cho thấy **LD1** là một hợp chất mới và được đặt tên là vernioside K.



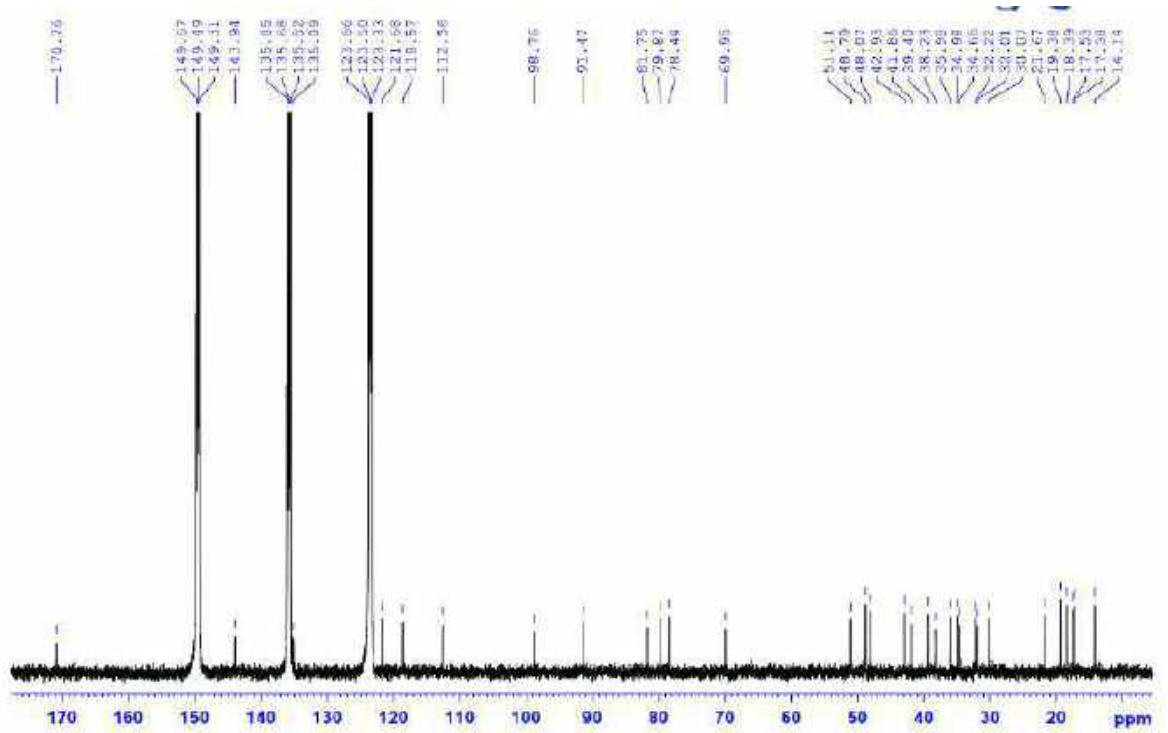
**Hình 3. 3.** Các tương tác ROESY chính của **LD1**



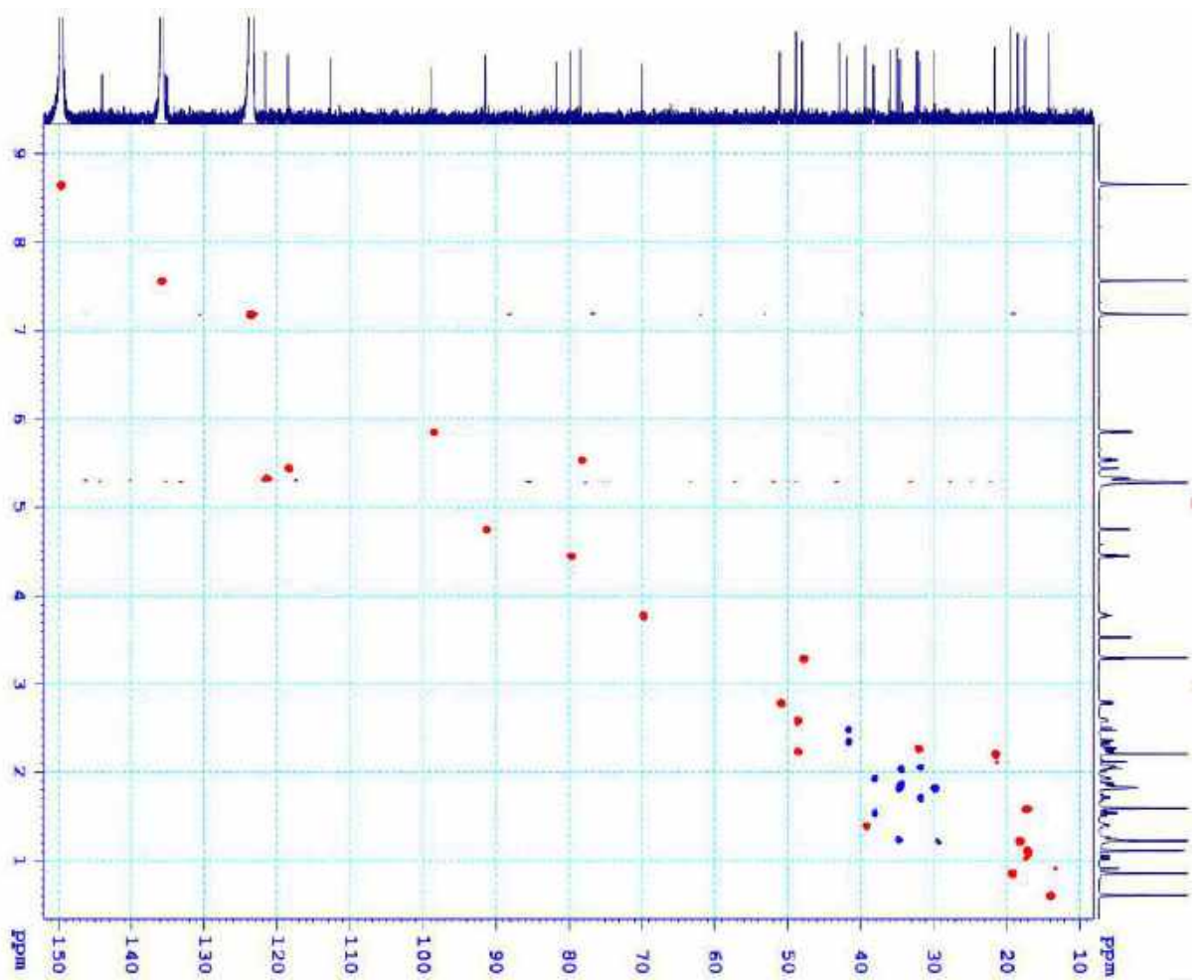
**Hình 3. 4. Phổ HR-ESI-MS của LD1**



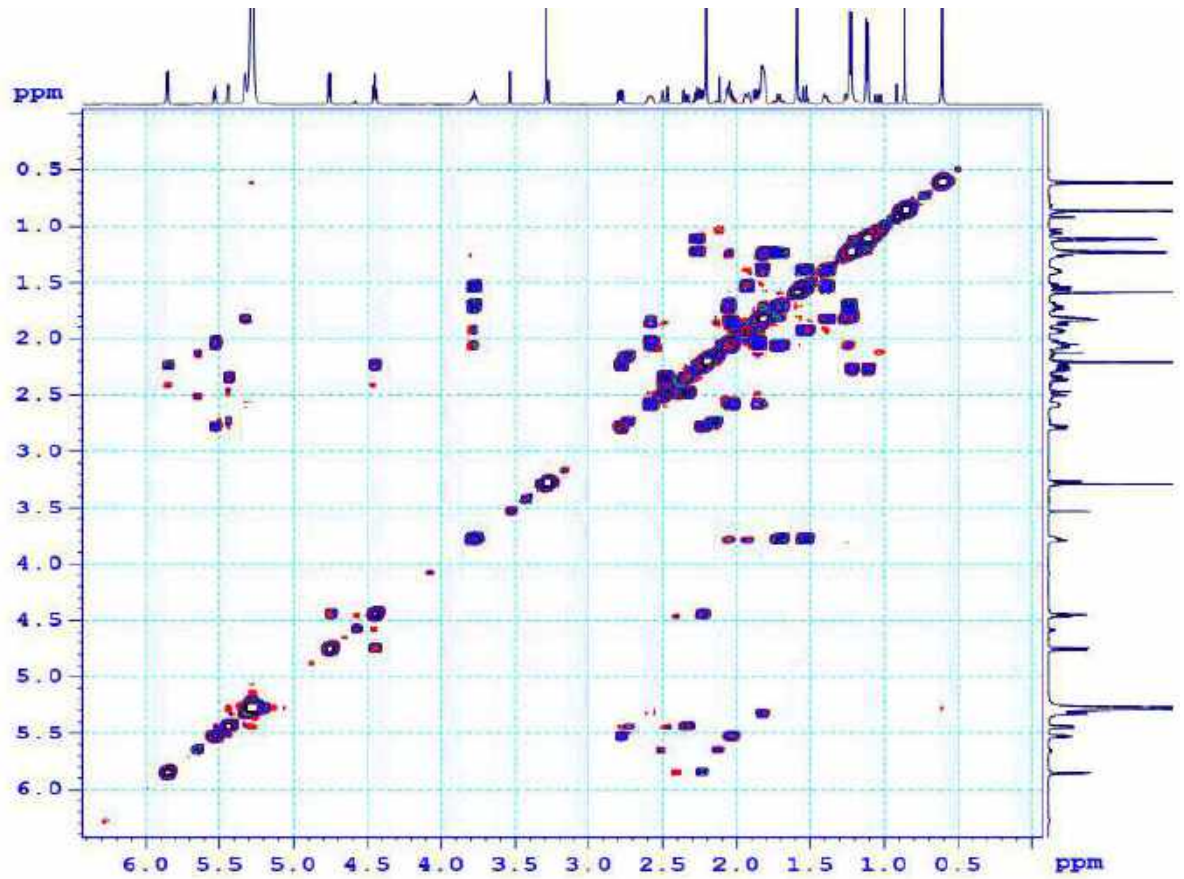
**Hình 3. 5. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của LD1**



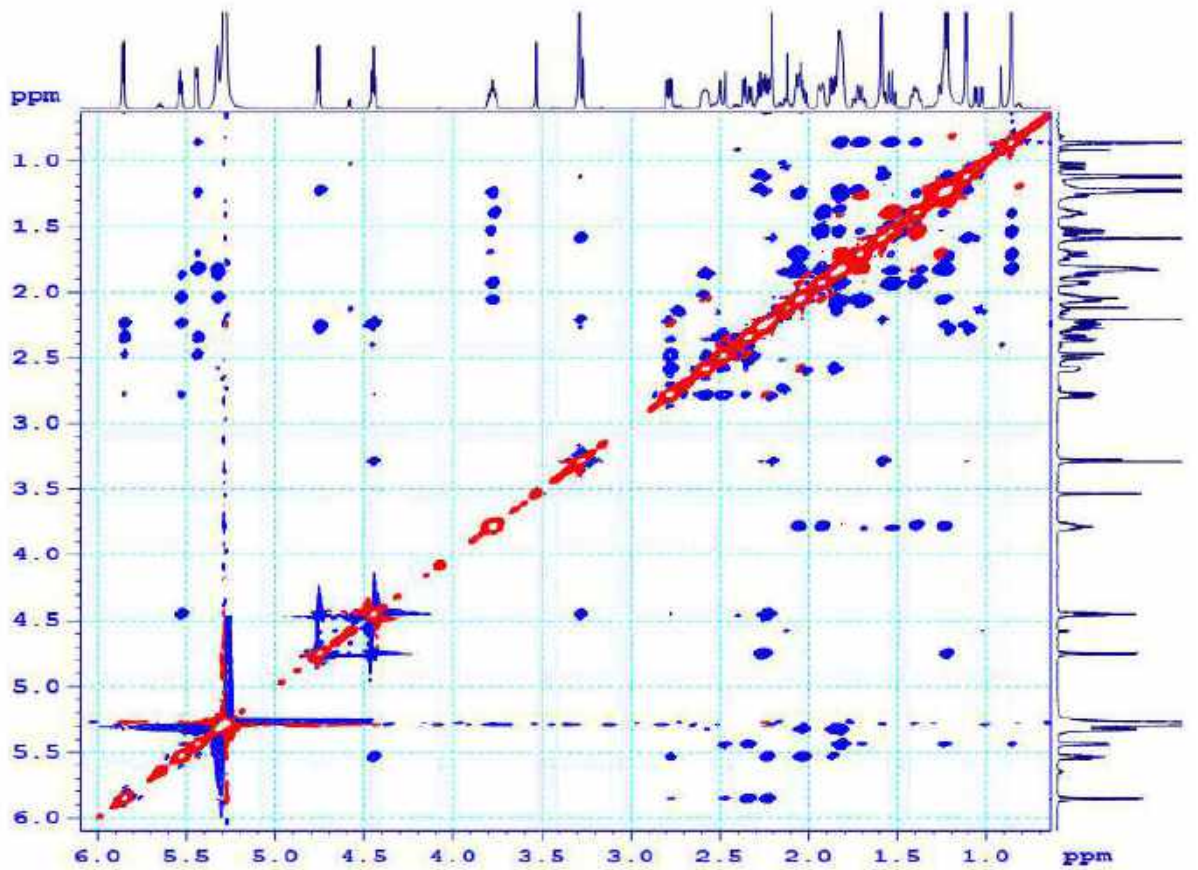
Hình 3. 6. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của LD1



Hình 3. 7. Phổ HSQC của LD1



**Hình 3. 8.** Phổ <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY của LD1



**Hình 3. 9.** Phổ ROESY của LD1

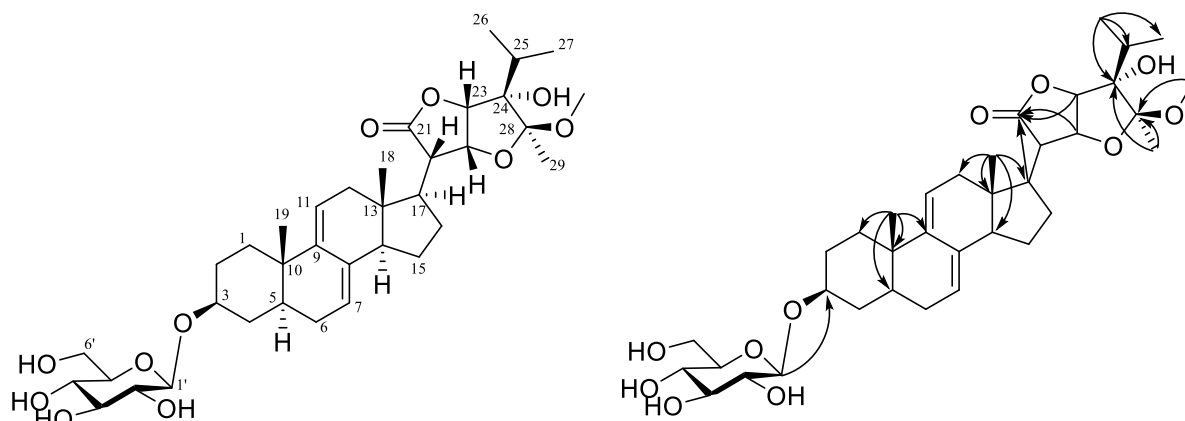


**Bảng 3. 1.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  -NMR của **LD1** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> pyridine-*d*<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  của LD1a [64], \* Tín hiệu bị chồng lấp

### 3.1.1.2. Hợp chất LD2: Vernonioside N



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

Hợp chất **LD2** thu được ở dạng chất rắn không màu,  $[\alpha]_D^{25} : +55^\circ$  ( $c$  0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Hợp chất **LD2** có công thức là  $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}$  dựa trên phổ HR-ESI-MS  $m/z$ : 697,3385  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$  tính toán cho công thức:  $[\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}\text{Cl}]^-$  ( $M = 697,3355$ ).

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **LD2** (Bảng 3.2) cho thấy tín hiệu của hai nhóm *tert*-methyl [ $\delta_{\text{H}}$  0,80 (3H, s, H-19) và 0,75 (3H, s, H-18)], một nhóm isopropyl [ $\delta_{\text{H}}$  1,11 (3H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-27); 1,12 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-26)], một nhóm methyl khác tại [ $\delta_{\text{H}}$  1,61 (3H, s, H-29)] và hai proton olefinic [ $\delta_{\text{H}}$  5,35 (1H, br s, H-7); 5,40 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-11)]. Bên cạnh đó, một proton anomeric của đường glucopyranosyl [ $\delta_{\text{H}}$  4,94 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1')] cũng xuất hiện trên phổ  $^1\text{H-NMR}$ . Cấu hình  $\beta$  của proton này là được xác định bởi hằng số ghép cặp  $J_{1',2'}$  lớn ( $J = 7,8$  Hz). Cấu hình tuyệt đối của đường được xác định là  $\beta$ -D-glucose thông qua so sánh độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$  của đường này sau khi thủy phân [(TLC, EtOAc–isopropanol–acetone– $\text{H}_2\text{O}$ : 20–10–7–6), v/v/v/v,  $R_f = 0,3$ ;  $[\alpha]_D^{25} +40,1$  ( $c$  0,2;  $\text{H}_2\text{O}$ )] với đường chuẩn ( $[\alpha]_D^{25} +50,8$  ( $c$  0,2;  $\text{H}_2\text{O}$ )). Vị trí của đường tại C-3 được thiết lập dựa trên tương tác HMBC giữa proton H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4,94) và C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  77,1). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **LD2** xuất hiện tín hiệu của 36 carbon trong đó bao gồm một nhóm methoxy, một đơn vị đường và 29 carbon của aglycone. Dữ liệu  $^1\text{H-}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  của **LD2** (Bảng 3.2) cho thấy đặc trưng của khung  $\Delta^{7,9(11)}$  stigmastane steroid saponin và phù hợp với hợp chất **vernoamyoside E** [65] ngoại trừ nhóm hydroxy ở vị trí C-21 của hợp chất **vernoamyoside E** bị thay thế bởi nhóm carboxyl ở  $\delta_{\text{C}}$  176,7 (C-21) trong **LD2**. Điều này được chứng minh bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  176,7) của **LD2** khi so sánh với hợp chất đã biết **vernoamyoside E** có  $\delta_{\text{C}}$  100,0 (C-21). Điều này cũng được khẳng định bằng tương tác trên HMBC giữa H-17, H-22, H-23 và C-21. Ngoài ra kết hợp so sánh hợp chất **LD2** với hợp chất Vernoniacum A đã công bố trước đây cũng khẳng định về độ chuyển dịch vị trí C-24 trong cấu trúc của hợp chất **LD2** (Bảng 3.2) Cấu hình tương

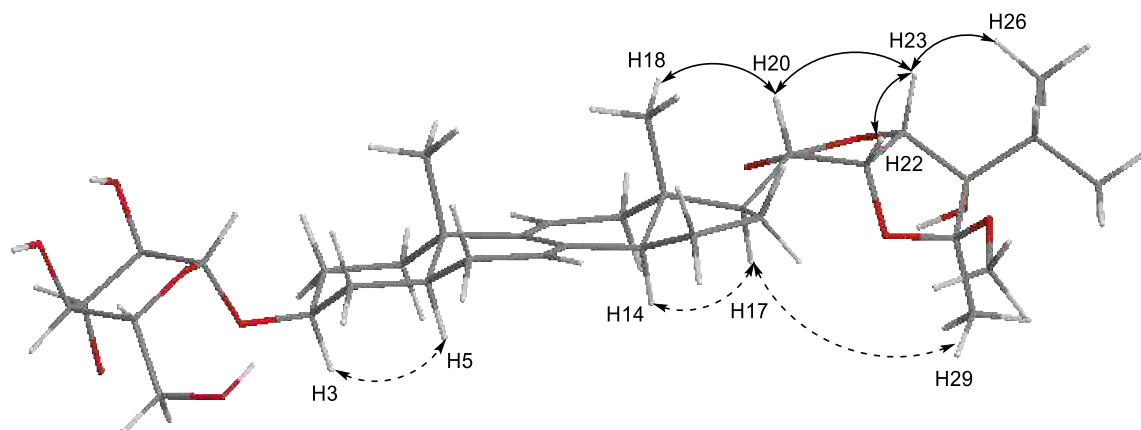
đôi của **LD2** được thiết lập dựa trên phổ ROESY tương tự như ở **LD1**. Tương tác ROESY giữa H-3 và H-5, H-14 và H-17, giữa H-18 và H19/H-20, cho phép xác định các vòng A/B và C/D liên kết với nhau theo dạng *trans*; các proton H-18, H-19, và H-20 có cấu hình  $\beta$ ; và H-3, H-5, H-14 và H-17 có cấu hình  $\alpha$  (Hình 3.11). Bên cạnh đó, các tương tác ROESY giữa H-17 và H-29 chỉ ra rằng nhóm CH<sub>3</sub>-29 này có cấu hình  $\alpha$  và nhóm methoxy (28-OCH<sub>3</sub>) có cấu hình  $\beta$ . Tương tác giữa H-20 và H-18/H-23, giữa H-23, H-22 và H-26 chỉ ra rằng các proton H-18, H-20, H-22, H-23 có cấu hình  $\beta$  (Hình 3.11). Do đó, cấu trúc của **LD2** được xác định như trong (Hình 3.10). Kiểm tra trên hệ thống Scifinder nhận thấy đây là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside N.

**Bảng 3. 2.** Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C NMR của **LD2** và chất tham khảo

C	# $\delta_C^d$	<sup>2</sup> # $\delta_C^a$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,8	35,0	34,8	1,16* (m)/ 1,78* (m)
2	30,8	30,3	29,9	2,10 (d; 11,5)/ 1,67 (m)
3	78,9	77,1	77,1	3,89 (m)
4	34,4	34,5	34,3	1,48 (dd; 20,0; 10,0)/ 1,98* (m)
5	40,1	39,3	39,0	1,25 (m)
6	30,3	30,2	30,1	1,76 m*/ 1,80 (m)
7	121,4	120,4	120,6	5,35 (br s)
8	137,2	136,4	136,3	-
9	144,8	144,1	143,7	-
10	36,8	36,2	35,9	-
11	119,5	119,8	119,3	5,39 (d; 5,0)
12	41,9	42,3	41,2	2,18 (m)*/ 3,00; (dd; 15,0; 5,5)
13	42,7	42,6	42,5	-
14	51,9	50,4	51,6	2,19 (m)
15	24,2	37,1	23,4	1,49 (m)/ 1,76* (m)
16	28,0	72,1	28,7	1,70 (m)/ 2,14 (m)
17	45,4	45,2	46,5	2,26 (m)
18	12,9	13,6	12,2	0,75 (s)
19	19,8	19,6	19,3	0,80 (s)
20	50,2	52,8	45,6	2,92 (m)
21	100,0	178,2	176,7	-
22	81,0	81,1	76,3	4,56 (t; 5,4)
23	83,2	86,8	86,1	4,81 (d; 5,4)
24	91,3	85,1	84,3	-
25	32,7	28,7	32,3	2,24*(m)
26	17,4	17,0	17,0	1,12 (d; 6,0)
27	18,1	18,0	18,1	1,11 (d; 6,0)
28	112,9	85,0	111,2	-
29	17,4	15,9	16,7	1,61 (s)
OCH <sub>3</sub>	48,3		48,0	3,28 (s)
1'	102,6	102,3	102,0	4,94 (d; 7,8)
2'	74,8	75,7	74,9	3,98 (t; 7,5)
3'	77,3	78,9	78,2	4,26 (t; 7,5)

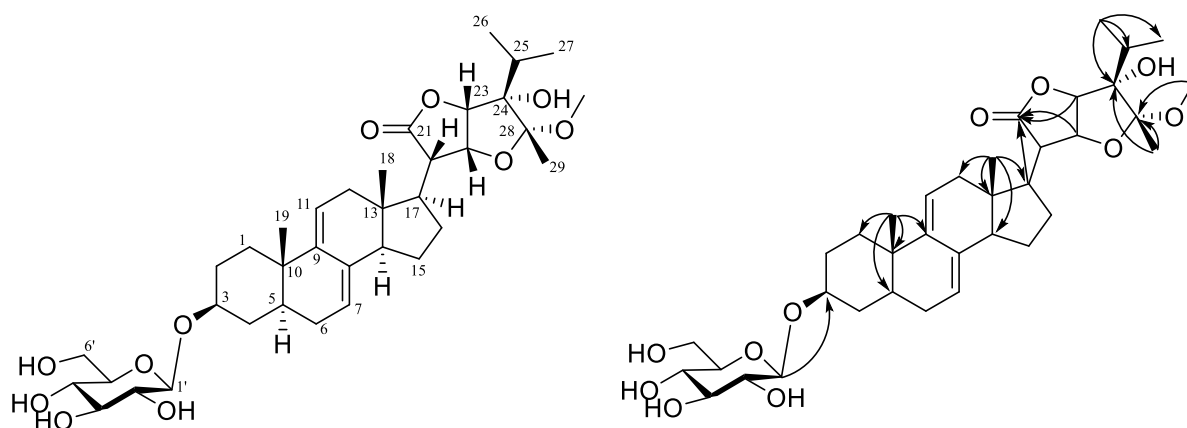
4'	71,4	72,1	71,4	4,15 (t; 7,5)
5'	77,5	78,5	78,1	3,92* (m)
6'	62,6	63,3	62,5	4,30 (dd; 10,0; 5,0)/ 4,49 (dd; 10,0; 2,0)

a) *pyridine-d<sub>5</sub>*, b) 150 MHz, c) 600 MHz, # $\delta_C$  vernoamyoside E [65], \* tín hiệu chồng lấp, d) *CD<sub>3</sub>OD*, <sup>2</sup># $\delta_C$  Vernoniacum A [43].



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

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



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

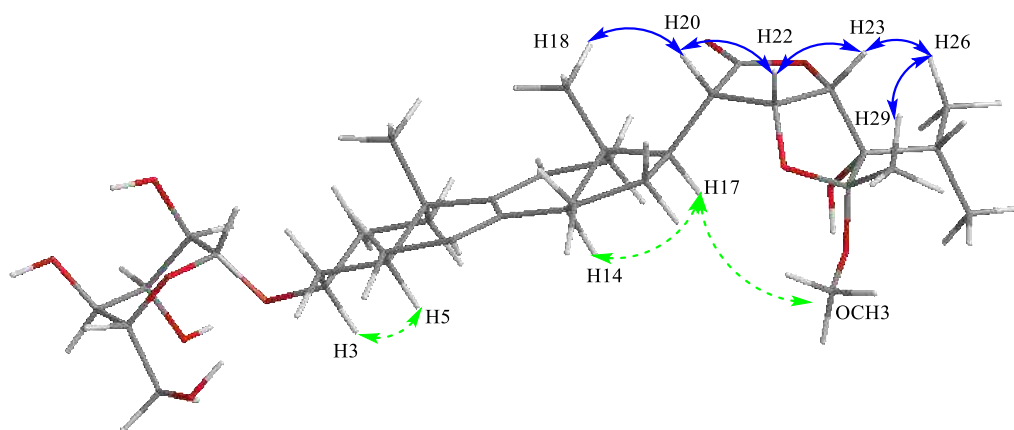
Hợp chất **LD3** có dạng bột rắn, màu trắng  $[\alpha]_D^{25} : +45^\circ$  (*c* 0,2; *CH<sub>3</sub>OH*). Công thức phân tử của **LD3** được xác định là  $C_{36}H_{54}O_{11}$  dựa trên phổ HR-ESI-MS *m/z*: 697,3385  $[M+Cl]^-$  tính toán lý thuyết cho công thức:  $[C_{36}H_{54}O_{11}Cl]^-$  ( $M = 697,3355$ ). Tín hiệu phổ 1D-NMR của **LD3** (Bảng 3.3) xuất hiện các tín hiệu của hợp chất thuộc khung  $\Delta^{7,9(11)}$  dienestigmanstane glycoside - stigmastane steroid saponin, các tín hiệu phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR của **LD3** thể hiện sự tương đồng rất cao so với **LD2**. Điểm khác biệt duy nhất là sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-28 ( $\delta_C$  107,6 ở **LD3** và  $\delta_C$  111,2 ở **LD2**) gợi ý sự khác biệt ở cấu hình tại vị trí C-28. Điều này được minh chứng bởi các tương tác trên phổ ROESY từ H-18/H-20, H-20/H-22, H-23/H-20, H-23/ H-26, H-29/H-26 cho phép xác định cấu hình  $\beta$  của các proton này, đồng thời, trên phổ ROESY cũng thể hiện các tương tác giữa nhóm *OCH<sub>3</sub>* tại vị trí  $\delta_C$  107,6 (C-

28) và H-17, điều này gợi ý rằng nhóm methoxy (28-OCH<sub>3</sub>) có cấu hình  $\alpha$  (Hình 3.13). Từ các phân tích dữ liệu phổ trên cho phép xác định cấu trúc của **LD3** như (Hình 3.12). Đây cũng là một hợp chất mới được đặt tên là vernonioside M.

**Bảng 3. 3.** Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR của **LD3** và **LD2**

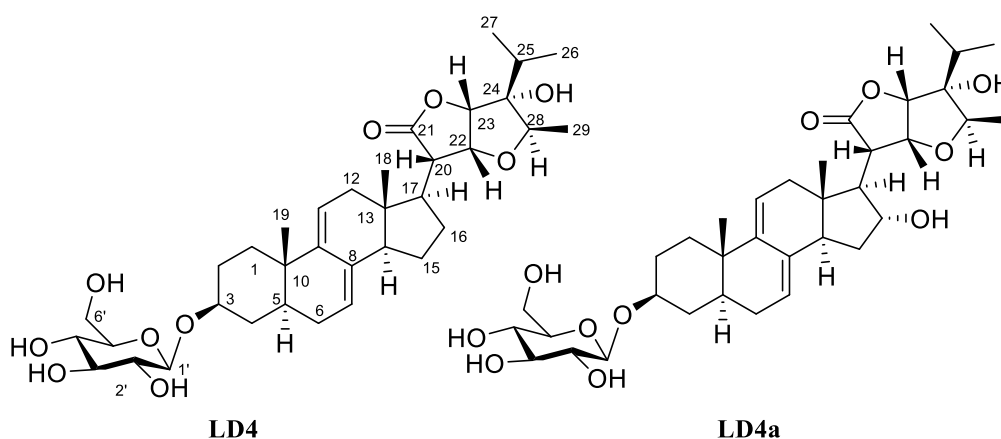
C	# $\delta_C^{a,c}$	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{b,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	34,8	34,9	1,25 (m)/ 1,85 (dt; 11,0; 2,5)
2	29,9	29,9	1,71 (m)/ 2,13 (d; 8,0)
3	77,1	77,1	3,93 (m)
4	34,3	34,3	1,40 (q; 10,0)/ 2,00* (m)
5	39,0	39,4	1,31 (m)
6	30,1	30,1*	1,80* (m)
7	120,6	120,6	5,37 (br s)
8	136,3	136,3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

<sup>a</sup> pyridine-d<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, # $\delta_C$  **LD2**, \* tín hiệu bị chồng lấp



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

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



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

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

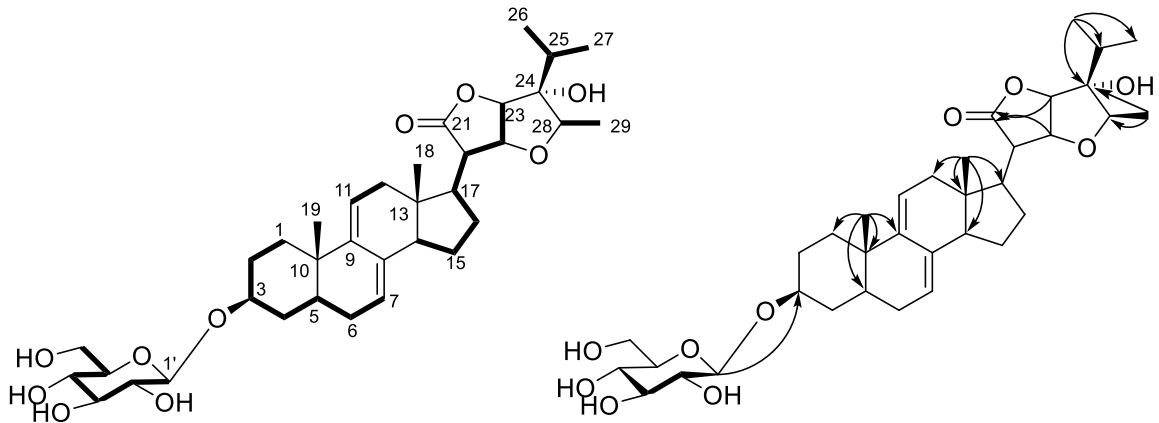
Cấu hình của **LD4** được chứng minh qua tương tác giữa H-H trên phổ ROESY (Hình 3.16). Phổ ROESY của **LD4** chỉ ra các tương tác từ H-3 đến H-5, từ H-14 đến

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

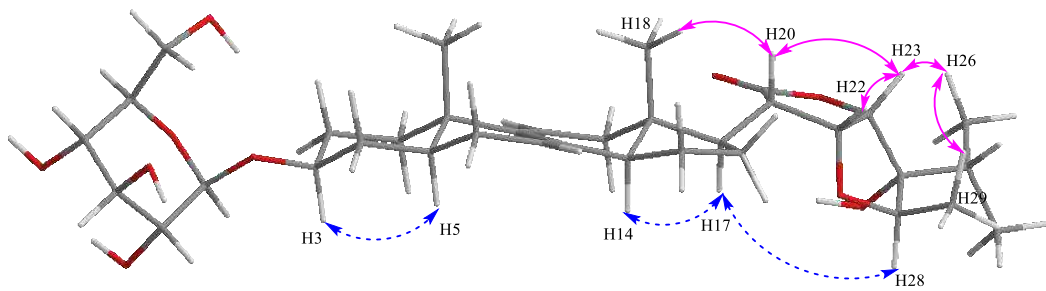
**Bảng 3. 4.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD4** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> pyridine-*d*<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz,  $\# \delta_{\text{C}}$  **LD4a** [43], \* tín hiệu bị chồng lấp

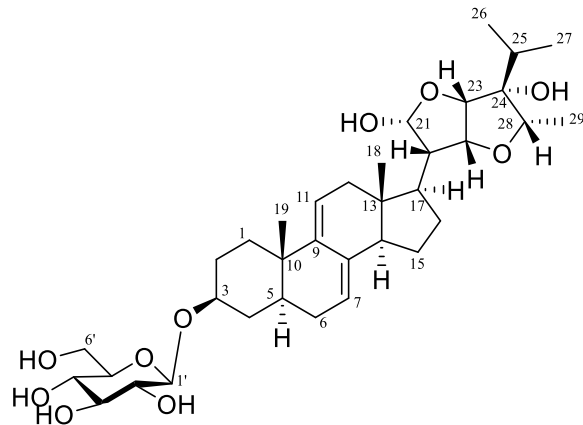


**Hình 3. 15.** Các tương tác COSY và HMBC chính của **LD4**



**Hình 3. 16.** Các tương tác ROESY chính của **LD4**

### 3.1.1.5. Hợp chất **LD5**: *Vernonioside L*

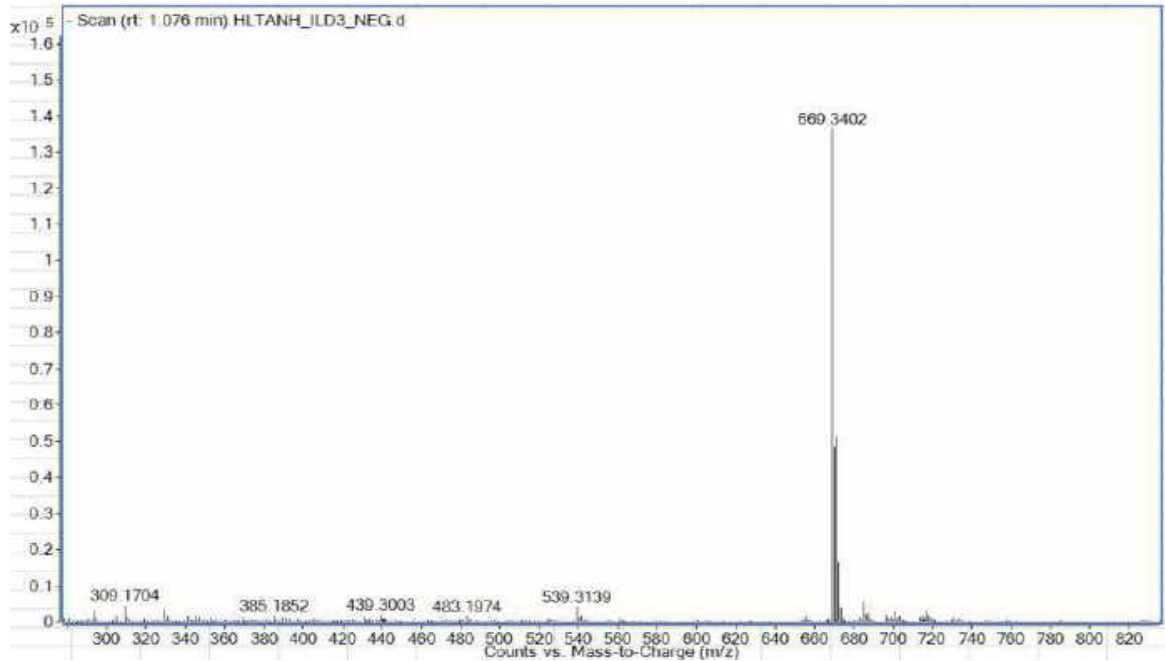


**Hình 3. 17.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD5**

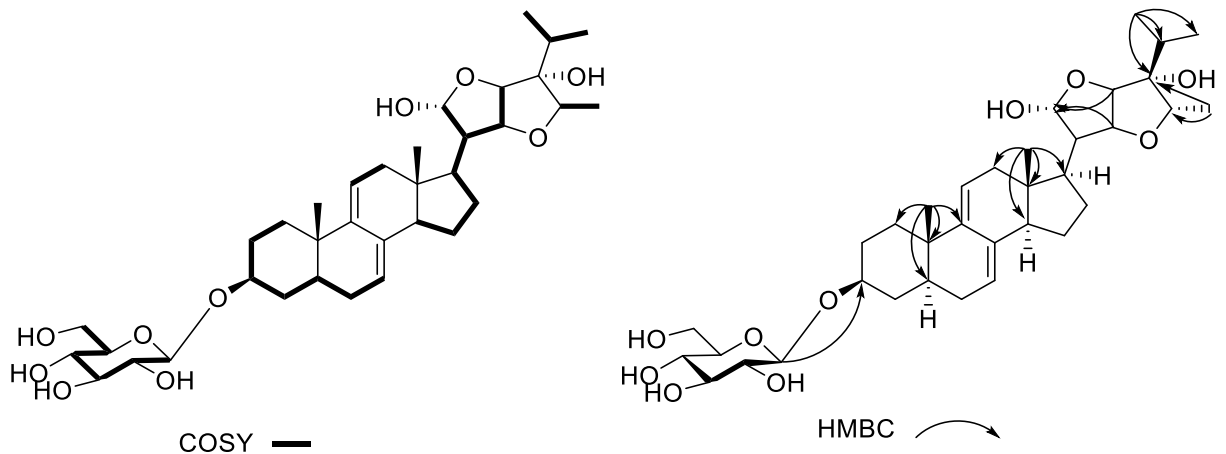
Hợp chất **LD5** được phân lập dưới dạng bột vô định hình, không màu. Công thức phân tử ( $C_{35}H_{54}O_{10}$ ) được xác định bằng phổ HR-ESI-MS với pic ion phân tử chloro hóa ở  $m/z$  669,3402  $[M + Cl]^-$  (tính toán lý thuyết cho  $C_{35}H_{54}ClO_{10}^-$ , 669,3406) (Hình 3.18). Từ số liệu phổ-NMR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



**LD5** cho thấy sự vắng mặt của nhóm carbonyl tại vị trí C-21 đồng thời hiện diện tín hiệu của một carbon oxymethine tại ( $\delta_C$  99,1-C21), chứng tỏ rằng nhóm carbonyl trong cấu trúc của **LD2** đã được thay thế bằng nhóm hydroxy trong cấu trúc của **LD5**. Điều này cũng được chứng minh dựa trên tương tác trong phổ HMBC giữa  $\delta_H$  5,88 (1H, d,  $J = 4,2$  Hz, H-21) với  $\delta_C$  (45,1; C-17), (87,6; C-22) và (82,7; C-23). Ngoài ra, cấu trúc của **LD5** cũng được khẳng định lại bằng việc so sánh dữ liệu phổ hợp chất đã biết vernonioside B<sub>2</sub> [64] (Bảng 3.5).



**Hình 3. 18.** Phổ HR-ESI-MS của **LD5**



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

Hóa lập thể của **LD5** xác định dựa thông qua phổ ROESY. Trên phổ ROESY cho thấy tương tác từ H-3 đến H-5, từ H-14 đến H-17 và từ H-18 đến H-19/H-20 cho phép xác định liên kết của các vòng A/B và C/D theo dạng *trans*; cấu hình  $\alpha$  của H-3, H-5, H-14, và H-17; và cấu hình  $\beta$  của H-18, H-19 và H-20. Tương tác ROESY từ H-20 đến H-18/H-21, từ H-21 đến H-18/H-26, và từ H-26 đến H-22/H-23/H-28 chỉ ra

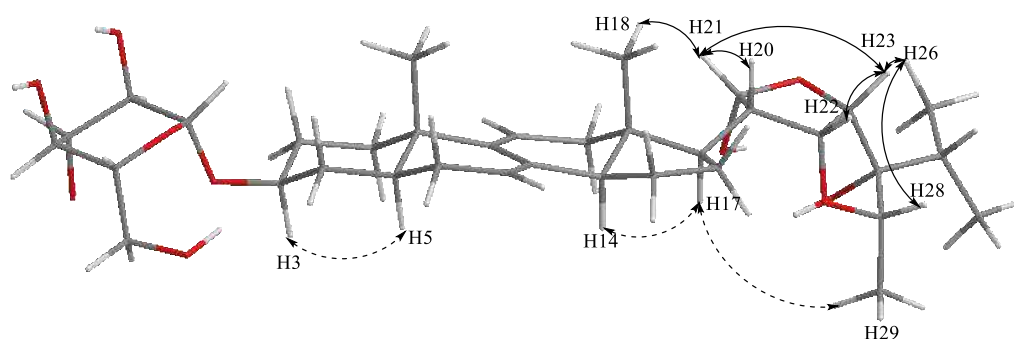
rằng các proton có cấu hình  $\beta$ . Bên cạnh đó, tương tác ROESY giữa H-17 và H-14/H-29 cho thấy nhóm methyl H-29 có cấu hình  $\alpha$ . Do đó, cho phép xác định cấu trúc của **LD5** như trong (Hình 3.17). Kết quả tìm kiếm trên Scifinder cho thấy **LD5** là một hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside L.

**Bảng 3. 5.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD5** và chất tham khảo

C	# $\delta_{\text{C}}$	<b>LD2</b>	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	34,9	34,8	35,1	1,24* (m)/ 1,85 (m)
2	30,1	29,9	30,2	1,84* (m)/ 2,15 (m)
3	77,0	77,1	77,3	3,98* (m)
4	34,5	34,3	34,5	1,43 (m)/ 2,08* (m)
5	39,1	39,0	39,2	1,32* (m)
6	30,2	30,1	30,1	2,16* (m)/1,32* (m)
7	121,3	120,6	120,9	5,41 (s)
8	135,8	136,3	136,6	-
9	144,1	143,7	144,1	-
10	36,2	35,9	36,2	-
11	118,6	119,3	119,2	5,52 (s)
12	41,7	41,2	41,7	2,28 (dd; 17,4; 6,6) 2,55* (m)
13	43,6	42,5	42,3	-
14	49,1	51,6	51,5	2,36 (m)
15	35,2	23,4	23,8	1,52 (m) 1,85* (m)
16	76,3	28,7	27,7	1,61 (m)/ 2,41* (m)
17	56,0	46,5	45,1	2,55* (m)
18	14,5	12,2	12,9	0,65 (s)
19	19,5	19,3	19,5	0,88 (s)
20	48,5	45,6	50,9	2,07* (m)
21	99,1	176,7	99,1	5,84 (d, 4,8)
22	81,0	76,3	87,6	4,61* (m)
23	90,0	86,1	82,7	4,61* (m)
24	82,0	84,3	82,1	4,61* (m)
25	32,4	32,3	31,7	1,90 (dd; 13,4; 6,6)

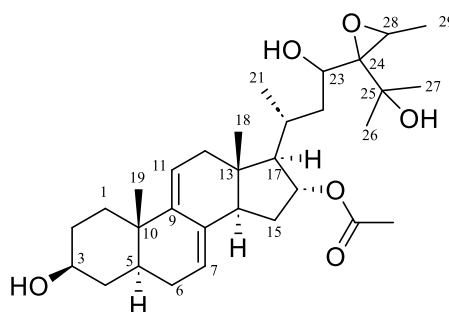
26	17,4	17,0	17,6	1,13 (d; 6,6)
27	18,5	18,1	17,8	1,23 (d; 6,6)
28	113,3	111,2	84,7	4,57* (m)
29	17,4	16,7	14,7	1,25 (d; 6,8)
1'	102,3	102,0	102,2	5,02 (d; 7,8)
2'	75,3	74,9	75,1	4,04 (t; 7,8)
3'	78,6	78,2	78,3	3,95 (m)
4'	71,8	71,4	71,6	4,26 (m)
5'	78,4	78,1	78,3	4,30* (m)
6'	62,9	62,5	62,7	4,31* (m)
OCH <sub>3</sub>	48,5			

<sup>a</sup> pyridine-*d*<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, <sup>#</sup>  $\delta_C$  vernonioside B<sub>2</sub> [64], \* Tín hiệu chồng lấp



**Hình 3. 20.** Các tương tác ROESY chính của **LD5**

### 3.1.1.6. Hợp chất **LD6**: *Vernonioside P*

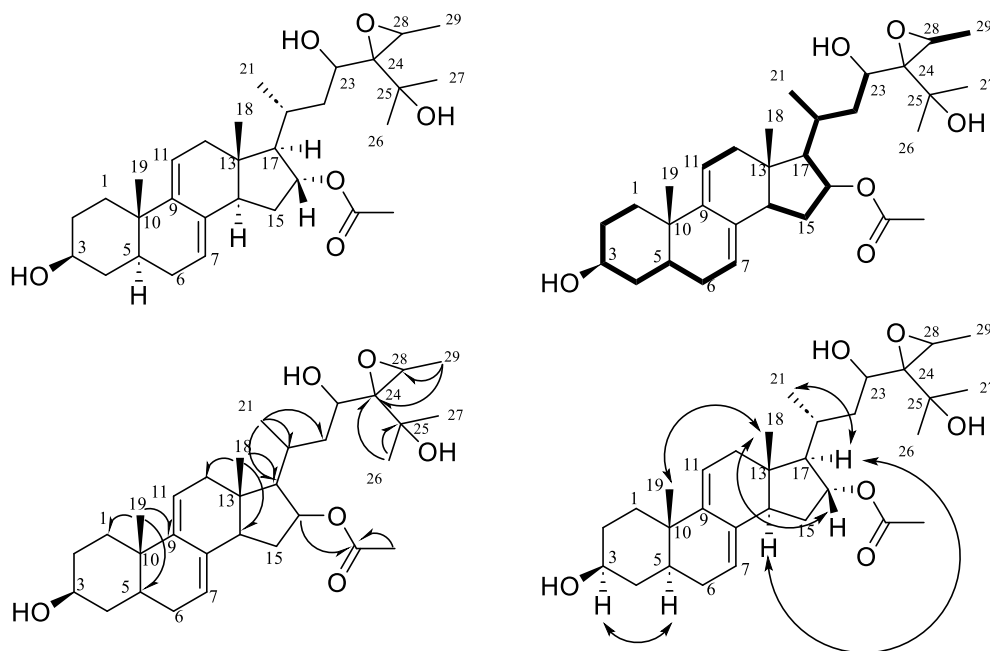


**Hình 3. 21.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD6**

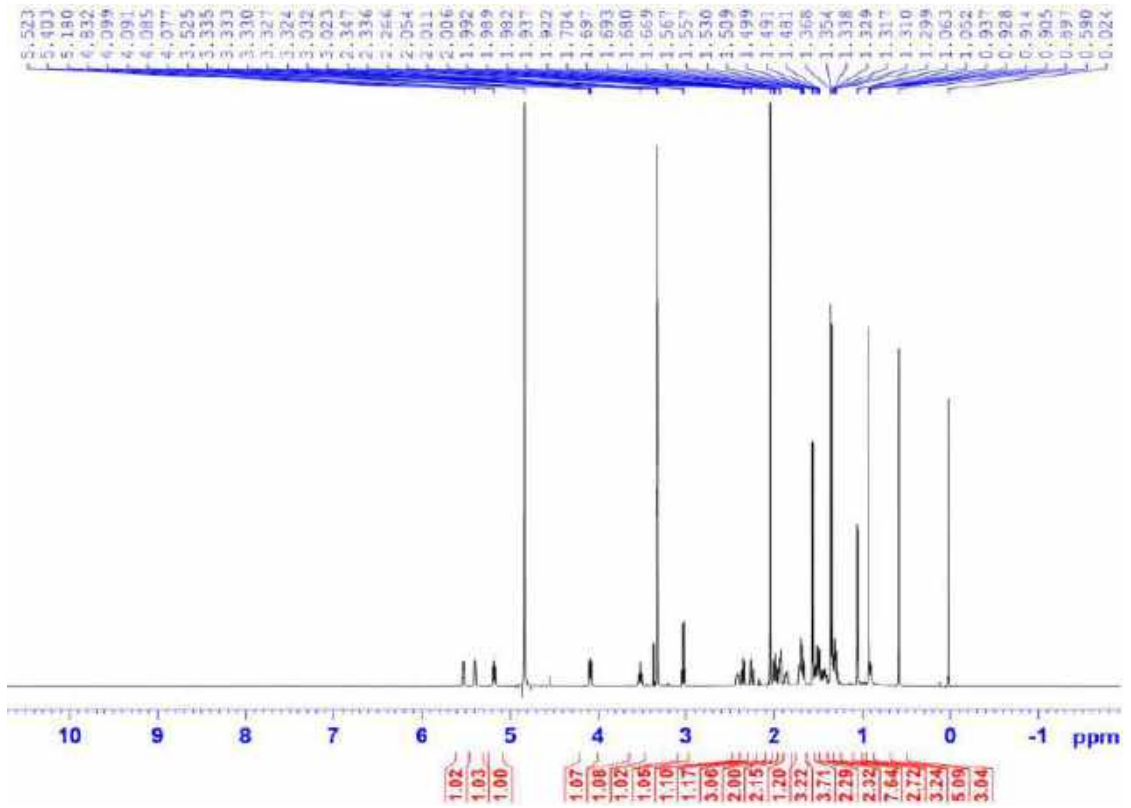
Hợp chất **LD6** thu được dưới bột rắn, màu trắng. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **LD6** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa tại  $m/z$  551,3118 [M+Cl]<sup>-</sup> (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub>Cl<sup>-</sup>; 551,3139). Công thức phân tử của **LD6** được xác định là C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của **LD6** (Bảng 3.6) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất thuộc khung stigmasteroid steroid và

có cấu trúc tương tự các (**LD1-LD5**) ngoại trừ cấu trúc của phần mạch nhánh. Đối với mạch nhánh, phổ  $^1\text{H-NMR}$  thể hiện tín hiệu của hai nhóm methyl doublet [ $\delta_{\text{H}}$  1,05 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-21); 1,56 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz, H-29)], hai nhóm ( $\text{CH}_3$ ) đính với carbon bậc 4 tại  $\delta_{\text{C}}$  72,0 (C-25) lần lượt là [ $\delta_{\text{H}}$  1,35 (3H, s, H-26) và 1,37 (3H, s, H-27)], hai nhóm oxymethine [ $\delta_{\text{H}}$  4,09 (1H, dd, 7,0; 4,0 Hz, H-23) và  $\delta_{\text{H}}$  3,02 (1H, dd,  $J = 9,5$ ; 5,0 Hz, H-28)], một nhóm methine và một nhóm methylene ở vùng trường cao tại [ $\delta_{\text{H}}$  1,72 (1H, m, H-20); 0,94 (2H, m, H-22)]. Cấu trúc của mạch nhánh được chứng minh bằng tương tác COSY của H-20/ H-21/ H-22/ H-23 (Hình 3.22) cũng như tương tác HMBC của H-21 và C-20/ C-22, H-23 với C-24/ C-28/ C-25, và H-29 với C-24/ C-28, H-26/H-27 với C-24/ C-25.

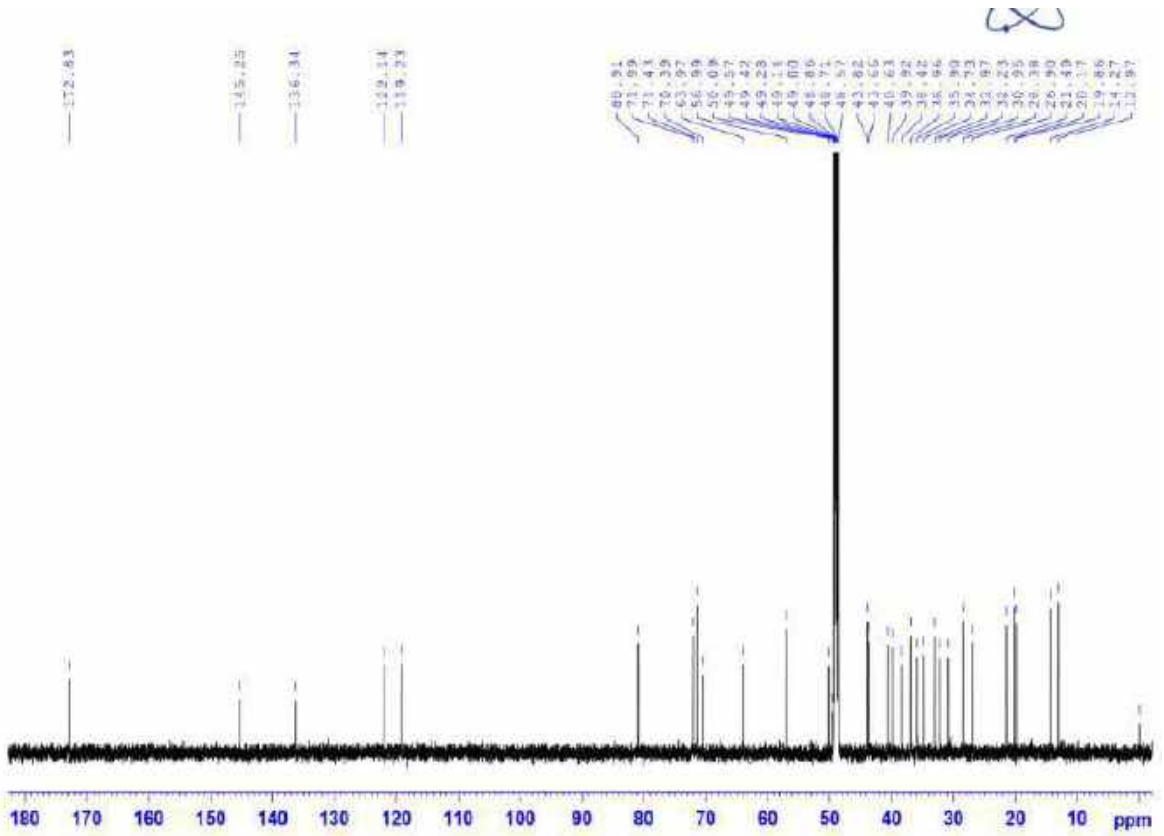
Cấu hình tương đối của **LD6** được thiết lập dựa trên phổ ROESY. Trên phổ ROESY thể hiện các tương tác của H-16/ H-18, H-18/ H-19, H-18/ H-20 cho phép xác định cấu hình  $\beta$  của các proton này. Mặt khác, trên phổ ROESY cũng xuất hiện tương tác của các proton H-3 /H-5, H-14/ H-17, H-17/ H-21 chỉ ra cấu hình  $\alpha$  của các proton này (Hình 3.22). Do đó, cấu hình của **LD6** được xác định như trong (Hình 3.21). Qua tra cứu tài liệu cho thấy đây là một hợp chất mới và đặt tên là vernonioside P (Hình 3.21).



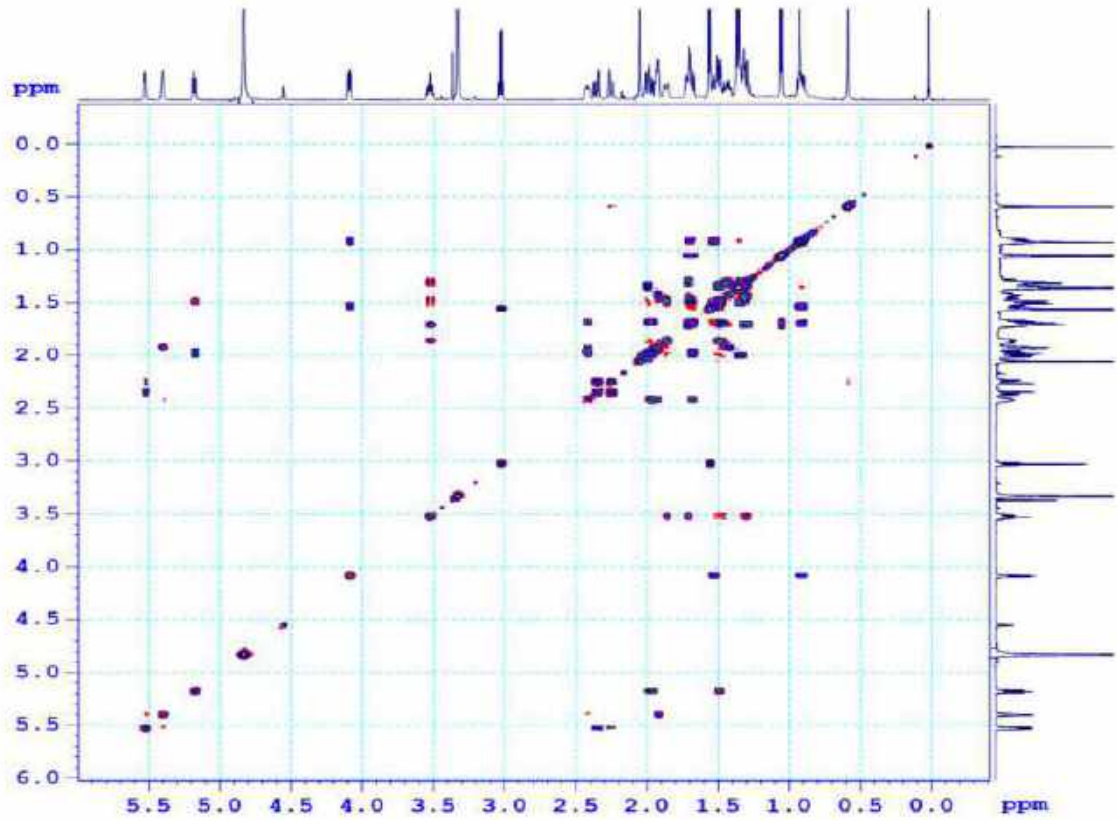
**Hình 3. 22.** Các tương tác COSY, HMBC và NOESY chính của **LD6**



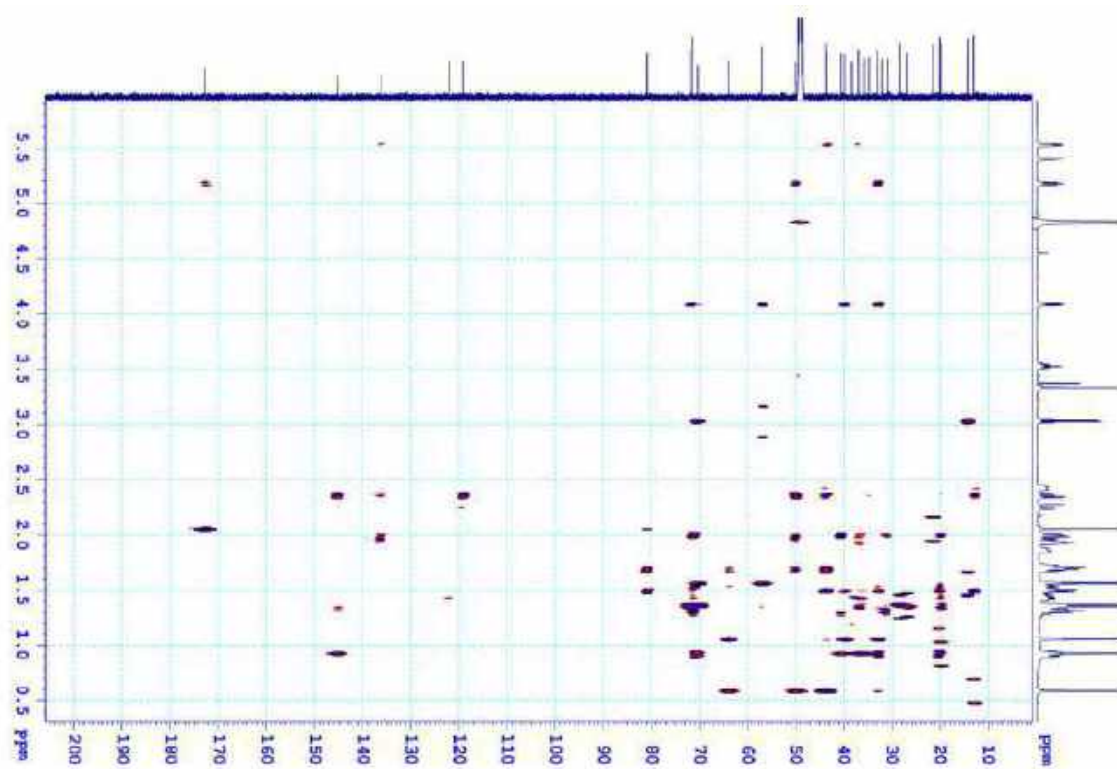
Hình 3. 23. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của LD6



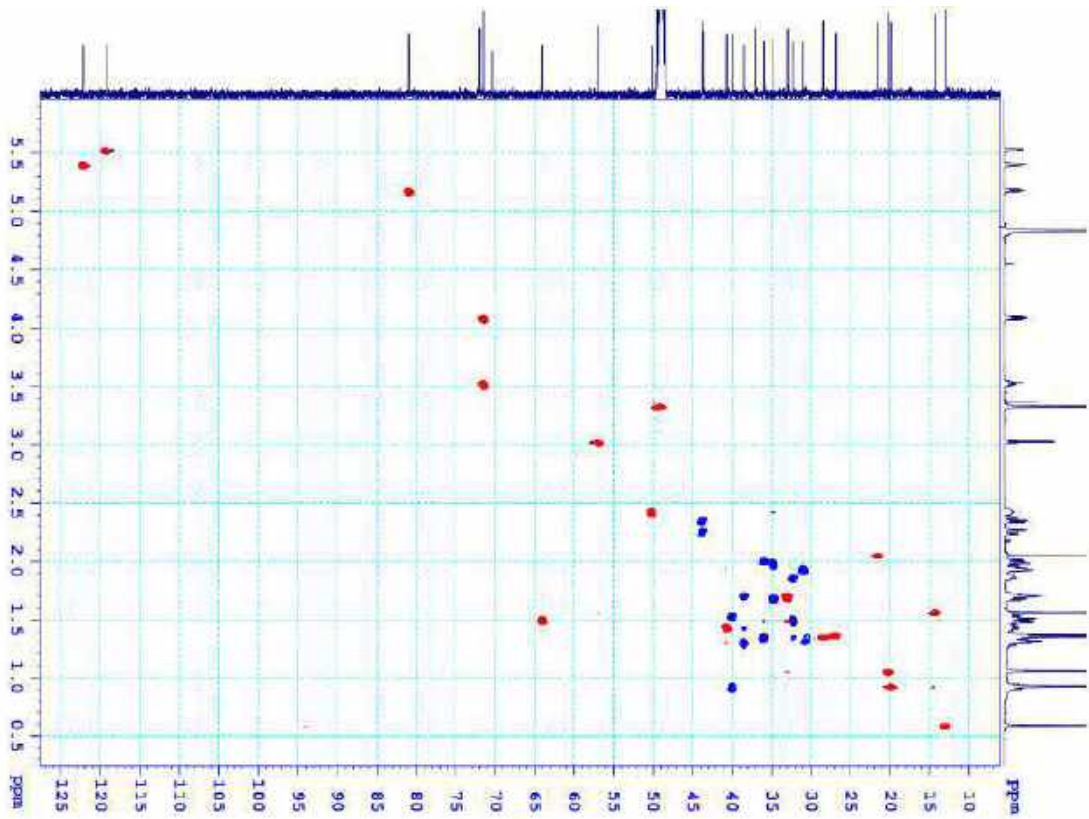
Hình 3. 24. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của LD6



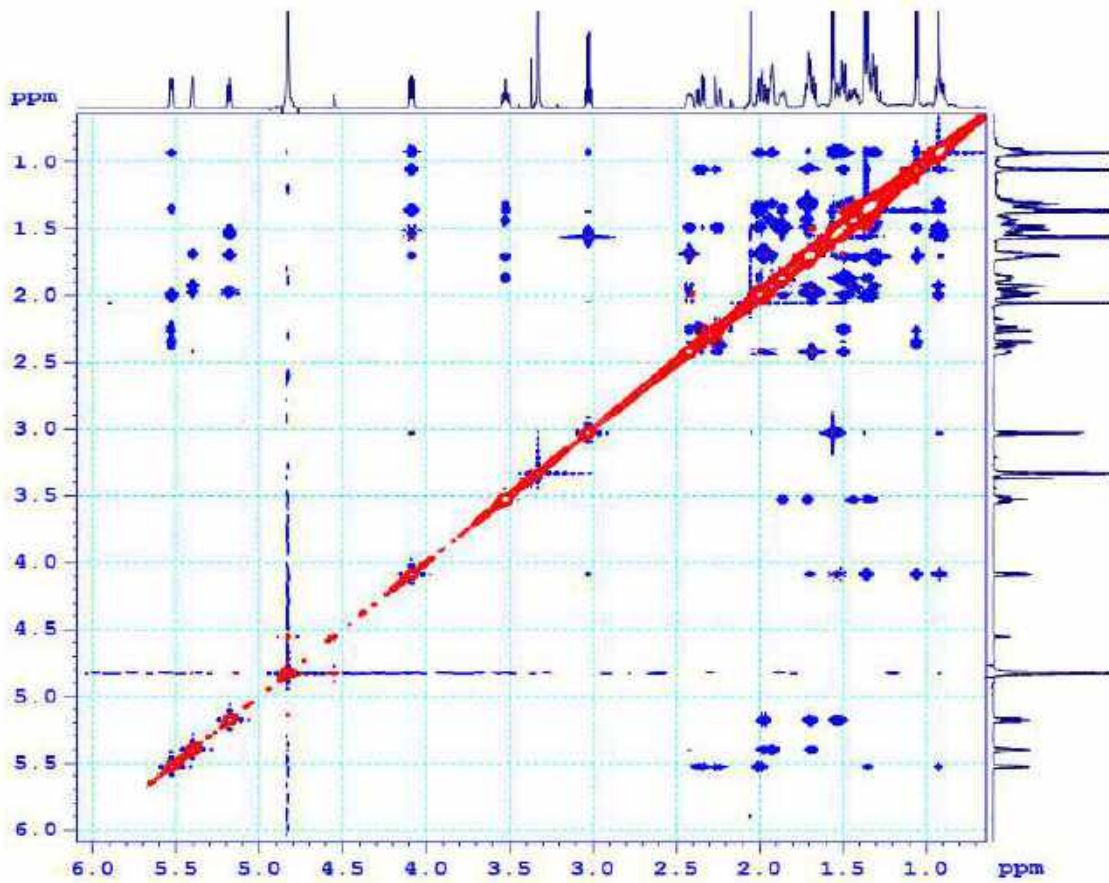
**Hình 3. 25.** Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY của LD6



**Hình 3. 26.** Phổ HMBC của LD6



**Hình 3. 27.** Phổ HSQC của LD6



**Hình 3. 28.** Phổ ROESY của LD6

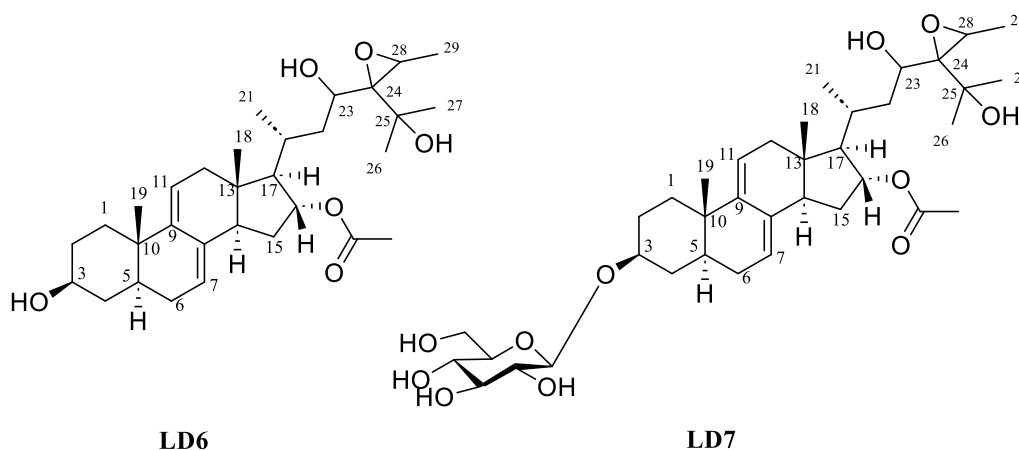
**Bảng 3. 6.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD6** và **LD7**

C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,9	35,9	1,33 (m)/ 2,00 (m)
2	30,6	30,9	1,28 (m)/ 1,71 (m)
3	78,9	71,4	3,35 (m)
4	34,7	34,7	1,44 (m)
5	39,9	40,6	1,41 (m)
6	30,6	31,0	1,30 (m)/ 1,92 (m)
7	122,1	122,1	5,40 (br s)
8	136,9	136,3	-
9	145,2	145,3	-
10	37,1	37,0	-
11	119,2	119,2	5,53 (d, 6,6)
12	40,5	43,7	2,24 (d, 16,8)
13	43,6	43,8	-
14	50,1	50,1	2,42 (m)
15	34,7	38,4	1,67 (d; 6,6) 1,95 (m)
16	70,0	80,9	5,18 (t; 6,6)
17	57,0	64,0	1,49 (dd; 10,8; 6,6)
18	14,2	13,0	0,59 (s)
19	19,9	19,9	0,93 (s)
20	33,0	33,0	1,72 (m)
21	13,0	20,2	1,05 (d; 6,6)
22	47,8	39,9	0,94 (m)
23	80,9	71,4	3,51 (m)
24	71,0	70,4	4,09 (dd; 8,4; 4,8)
25	70,0	72,0	-
26	28,4	28,4	1,35 (s)
27	26,9	26,9	1,37 (s)
28	63,9	57,0	3,02 (dd; 11,4; 6,0)
29	14,3	14,3	1,56 (d; 6,0)
OCO <u>CH</u> <sub>3</sub>	21,5	21,5	2,05 (s)
OC <u>O</u> CH <sub>3</sub>	172,8	172,8	-
1'	102,4		
2'	75,1		
3'	77,9		
4'	71,7		
5'	78,1		
6'	62,8		

<sup>a</sup> pyridine-*d*<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  của hợp chất **LD7**



### 3.1.1.7. Hợp chất LD7: Vernonioside Q



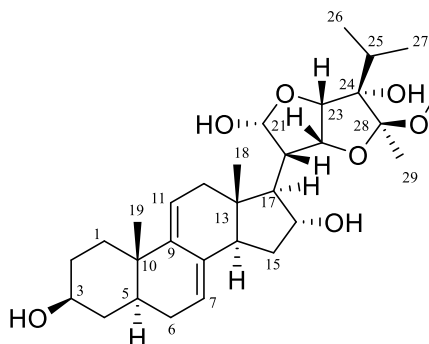
**Hình 3. 29.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD7** và hợp chất **LD6**

Hợp chất **LD7** thu được có dạng rắn màu trắng. Trên phổ HR-ESI-MS của **LD7** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa tại  $m/z$ : 713,3690  $[M+Cl]^-$  (cho công thức phân tử dự kiến  $C_{37}H_{58}O_{11}Cl$ : 713,3668). Từ đó ta xác định được công thức phân tử của **LD7** là  $C_{37}H_{58}O_{11}$ . Đối chiếu dữ liệu phổ của **LD7** với **LD6** nhận thấy có sự tương đồng hoàn toàn về phần aglycon (Bảng 3.6). Điểm khác biệt duy nhất là trong cấu trúc của **LD7** có thêm các dấu hiệu đặc trưng của một phân tử đường glucopyranoside [ $\delta_H$  4,39 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1'),  $\delta_C$  102,4 (C-1'); 75,2 (C-2'); 77,9 (C-3'); 71,4 (C-4'); 78,1 (C-5'); 62,8 (C-6')]. Cấu hình  $\beta$ -D-glucopyranoside được chứng minh bằng hằng số ghép cặp lớn của proton anomeric ( $J = 7,8$  Hz) kết hợp so sánh giá trị góc quay cực của đơn vị đường này ( $[\alpha]_D^{25} +20,5$  (c 0,2;  $H_2O$ ) với đường chuẩn ( $[\alpha]_D^{25} +50,4$  (c 0,2;  $H_2O$ ) sau phản ứng thủy phân. Trên phổ HMBC cho thấy sự tương tác giữa H-1' của phân tử đường với C-3, điều đó chứng tỏ rằng vị trí của phân tử đường glucopyranoside tại C-3 của aglycone. Do đó, cấu trúc của **LD7** được làm sáng tỏ như trong (Hình 3.29) tra cứu hợp chất **LD7** trên hệ thống Scifinder thì chưa thấy có công bố nào về hợp chất này do đó **LD7** được xác định là hợp chất mới và được đặt tên là vernonioside Q (Hình 3.29).

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

Bằng việc phân tích số liệu phổ NMR kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ NMR của các công bố trước đây, tác giả đã xác định được 10 hợp chất đã biết bao gồm: (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradecahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24-tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ -stigmastane (**LD8**), vernoamyoside E (**LD9**), vernonioside B<sub>2</sub> (**LD10**), vernoniacum B (**LD11**), (23*S*,24*R*,28*S*)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetradecahydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone (**LD12**), vernonioside B<sub>1</sub> (**LD13**), veramyoside H (**LD14**), veramyoside J (**LD15**), vernoamyoside A (**LD16**);  $\alpha$ -spinasterol (**LD17**).

**3.1.2.1. Hợp chất LD8: (22R,23S,24R,28S)-28-methoxy- 7,8,9,11 tetrahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxi-5 $\alpha$ - stigmastane.**



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

Hợp chất **LD8** là chất rắn màu trắng. Trên phổ HR-ESI-MS của **LD8** có sự xuất hiện của pic ion giả phân tử tại;  $m/z$  541,3  $[M+Na]^+$  kết hợp với phổ  $^{13}C$ -NMR cho phép khẳng định công thức phân tử của **LD8** là  $C_{30}H_{46}O_7$ . Phổ  $^1H$  NMR (Bảng 3.8) của **LD8** cho thấy tín hiệu của hai olefinic proton [ $\delta_H$  5,45 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz, H-7) và 5,56 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-11)], ba nhóm (CH<sub>3</sub>) singlet [ $\delta_H$  0,61 (3H, s, H-18); 0,93 (3H, s, H-19); 1,45 (3H, s, H-29)], một nhóm isopropyl [ $\delta_H$  2,06 (1H, m, H-25); 0,95 (6H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-26, H-27)] và một nhóm (OCH<sub>3</sub>) [ $\delta_H$  3,22 (3H, s, 28-OCH<sub>3</sub>)]. Phân tích phổ  $^{13}C$ -NMR kết hợp với phổ HSQC ta có thể xác định được **LD8** có cấu trúc dạng khung  $\Delta^{7,9(11)}$  dienstigmastane. Trên phổ  $^{13}C$  cũng cho thấy sự có mặt tín hiệu của 30 carbon bao gồm một nhóm isopropyl [ $\delta_C$  33,1 (C-25); 17,4 (C-26); 18,1 (C-27)], ba hydroxy carbon [ $\delta_C$  81,6 (C-22); 91,9 (C-23); 83,1 (C-24)], một nhóm hemiacetal carbon  $\delta_C$  100,0 (C-21) và một nhóm acetal tại 114,1 (C-28), một nhóm methoxy [ $\delta_C$  48,5 (28-OCH<sub>3</sub>)]. Kết hợp với công bố trước đây hợp chất **LD8** được xác định là (22R,23S,24R,28S)-28-methoxy-7,8,9,11-tetrahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxi-5 $\alpha$ - stigmastane (Hình 3.30) [54].

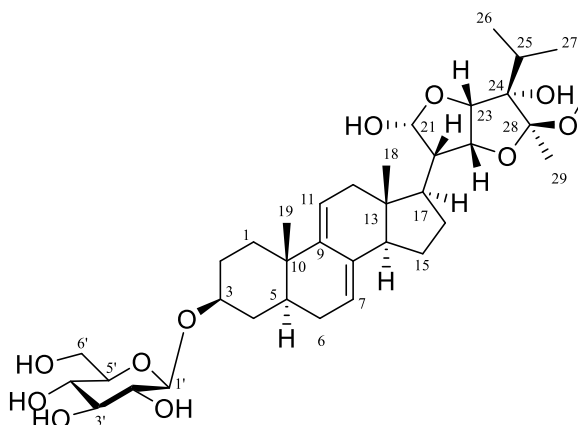
**Bảng 3. 7.** Dữ liệu phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$  NMR của **LD8**

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	35,3*	1,81 (m)/ 1,93(m)
2	32,2	1,50 (m)/ 1,87 (m)
3	71,4	3,54 (m)
4	38,4	1,31(m)/1,72 (br d; 12,0)
5	40,6	1,45 (m)
6	31,0	1,92 (m)
7	122,1	5,45 (d; 5,0)
8	136,7	-
9	145,1	-
10	37,0	-

11	119,4	5,56 (d; 6,5)
12	42,5	2,04 (m)/ 2,28 (dd; 10,0; 6,5)
13	44,2	-
14	49,7	2,58 (m)
15	36,0	1,37 (dd; 13,5; 3,0)
16	77,3	4,34 (t; 7,0)
17	56,3	2,07 (dd; 6,5; 2,5)
18	14,5	0,61 (s)
19	19,8	0,93 (s)
20	48,7	2,23 (t; 5,0)
21	100,0	5,46* (m)
22	81,6	4,57 (t; 5,5)
23	91,9	4,58 (br s)
24	83,1	-
25	33,1	2,06 (m)
26	17,4	0,95 (d; 6,5)
27	18,1	0,95 (d; 6,5)
28	114,1	-
29	17,4	1,45 (s)
OCH <sub>3</sub>	48,5	3,22 (s)

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125MHz, <sup>c</sup> 500 MHz \*tín hiệu bị chồng lấp

### 3.1.2.2. Hợp chất LD9: Vernoamyoside E



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

Hợp chất **LD9** thu được dưới dạng bột rắn màu trắng. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (Bảng 3.9) của **LD9** có mặt của 3 tín hiệu của proton *tert*-methyl [ $\delta_H$  0,57 (3H, s, H-18); 0,81 (3H, s, H-19) và 1,61 (3H, s, H-29)] đồng thời cũng xuất hiện 2 nhóm methyl doublet [ $\delta_H$  1,12 (3H, d,  $J = 5,5$  Hz, H - 26); 1,22 (3H, d,  $J = 5,5$  Hz, H- 27)] và một nhóm methoxy [ $\delta_H$  3,30 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)]. Ngoài ra phổ <sup>1</sup>H -NMR của hợp chất **LD9** cũng cho thấy sự hiện diện của 2 proton olefin [ $\delta_H$  5,36 (1H, br s, H-7) và 5,41 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-11)], một proton multiflet [ $\delta_H$  3,94 (m)] đặc trưng cho vị trí H-3, và một proton anomeric [ $\delta_H$  4,95 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-1')].

Phân tích kết hợp đồng thời phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (Bảng 3.9) với phổ HSQC của hợp chất **LD9** cho thấy sự có mặt của 36 tín hiệu carbon bao gồm 29 carbon phần khung steroid khung chất đặc trưng của loài *V. amygdalina* cùng với sáu carbon của một phân tử đường glucose và một nhóm methoxy (Hình 3.31). Cụ thể là, phổ  $^{13}\text{C}$  NMR cho thấy tín hiệu của hai nối đôi [ $\delta_{\text{C}}$  120,4 (C-7); 136,3 (C-8); 143,9 (C-9); 118,8 (C-11)], ba nhóm hydroxycarbon [ $\delta_{\text{C}}$  80,5 (C-22); 90,8 (C-23); 83,2 (C-24)], một nhóm hemiacetal carbon  $\delta_{\text{C}}$  98,9 (C-21), một nhóm acetal tại 112,3 (C-28), một nhóm isopropyl [ $\delta_{\text{C}}$  32,2 (C-25); 17,5 (C-26); 18,4 (C-27)], một nhóm methoxy tại [48,0 (28-OCH<sub>3</sub>)], và một nhóm methyl [ $\delta_{\text{C}}$  17,4 (C-29)]. Bên cạnh đó, tín hiệu của sáu carbon của phân tử đường glucose cũng xuất hiện trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR [ $\delta_{\text{C}}$  102,0 (C-1'); 74,9 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,5 (C-4'); 77,7 (C-5'); 62,5 (C-6')]. Cấu trúc của **LD9** cũng được khẳng định bởi các tương tác trên phổ COSY, HMBC. So sánh với tài liệu tham khảo cho thấy hợp chất **LD9** và hợp chất vernoamyoside E có độ tương đồng cao về dữ liệu phổ NMR điều đó cho phép ta xác định được **LD9** là vernoamyoside E [65]. Hợp chất vernoamyoside E cũng đã công bố trước đây từ loài *V. amygdalina*.

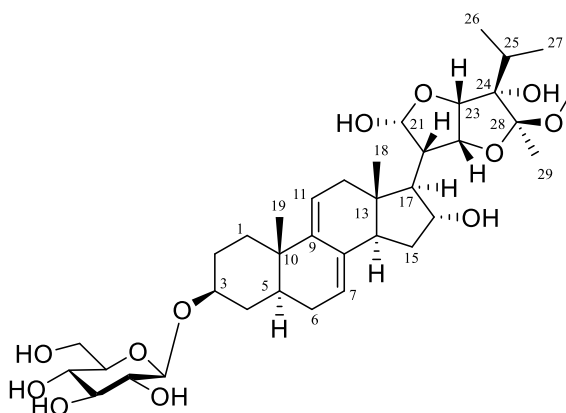
**Bảng 3. 8.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD9** và chất tham khảo

C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,8	34,9	1,16/ 1,76 (dd; 7,5; 3,0)
2	30,8	29,9	1,78 (m)
3	78,9	78,1	3,94 (m)
4	34,8	34,3	1,38 (q; 12,6)/1,99* (m)
5	40,1	38,9	1,23 (m)
6	30,3	30,0*	1,14 (m)/ 1,80 (m)
7	121,4	120,8	5,36 (br s)
8	137,2	136,3	-
9	144,8	143,9	-
10	36,8	35,9	-
11	119,5	118,8	5,41 (d; 5,5)
12	41,9	41,3	2,22 (dd; 14,5; 5,5)
13	42,7	42,1	-
14	51,9	51,3	2,22 (d; 15,0)
15	24,2	23,6	1,50 (dd; 10,0; 5,0)/ 1,83 (m)
16	28,0	27,4	1,54 (m)/ 2,29 (m)
17	45,4	44,9	2,48 (q; 10,8)
18	12,9	12,6	0,57 (s)
19	19,8	19,3	0,81 (s)
20	50,2	49,6	2,02 (dd; 10,0; 4,0)
21	100,0	98,9	5,84 (d; 4,0)
22	81,0	80,5	4,35 (d; 5,0)

23	91,3	90,8	4,70 (d; 5,0)
24	83,2	82,1	-
25	32,7	32,2	2,28 (m)
26	17,4	17,5	1,12 (d; 5,5)
27	18,1	18,4	1,22 (d; 5,5)
28	112,9	112,3	-
29	17,4	17,4	1,61 (s)
OCH <sub>3</sub>	43,8	48,0	3,30 (s)
1'	102,6	102,0	4,95 (d; 7,8)
2'	74,8	74,9	3,99 (t; 7,5)
3'	77,4	78,1	4,24 (t; 7,5)
4'	71,4	71,5	4,15 (t; 7,5)
5'	77,7	77,1	3,93* (m)
6'	62,6	62,5	4,29 (dd; 10; 5,0)

<sup>a</sup>pyridine-d<sub>5</sub>, <sup>b</sup>150MHz, <sup>c</sup>600MHz <sup>#</sup>δ<sub>C</sub> vernoamyoside E [65] \*Tín hiệu bị chồng chập

### 3.1.2.3. Hợp chất LD10: Vernonioside B<sub>2</sub>



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

Hợp chất **LD10** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phân tích tín hiệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR (Bảng 3.10) của **LD10** nhận thấy các tín hiệu đặc trưng của một stigmasterane steroid saponin, với hai olefinic proton [ $\delta_{\text{H}}$  5,46 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz, H-7); 5,56 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-11), năm tín hiệu methyl [ $\delta_{\text{H}}$  0,60 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19); 0,95 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-26); 0,98 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-27); 0,95 (3H, s, H-29)], một anomeric proton [ $\delta_{\text{H}}$  4,43; (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1')], và một nhóm methoxy [ $\delta_{\text{H}}$  3,24 (3H, s, OCH<sub>3</sub>)]. Phổ <sup>13</sup>C-NMR cũng cho thấy tín hiệu của 36 carbon (Bảng 3.10). So sánh số liệu phổ NMR của **LD10** cho thấy khá giống với **LD9** ngoại trừ trong hợp chất **LD10** có sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-16 từ ( $\delta_{\text{C}}$  27,4) ở **LD9** về trường thấp hơn ( $\delta_{\text{C}}$  77,3) trong hợp chất **LD10**. Điều này chỉ ra rằng, có sự xuất hiện của nhóm hydroxy tại vị trí C-16 trong cấu trúc của **LD10**. So sánh dữ liệu phổ của **LD10** và vernoioside B<sub>2</sub> nhận thấy sự trùng khớp hoàn toàn, do đó, **LD10** được xác định là vernoioside B<sub>2</sub> (Hình 3.32) [54].

**Bảng 3. 9.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD10** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, <sup>d</sup> Đo trong *pyridine-d*<sub>5</sub>

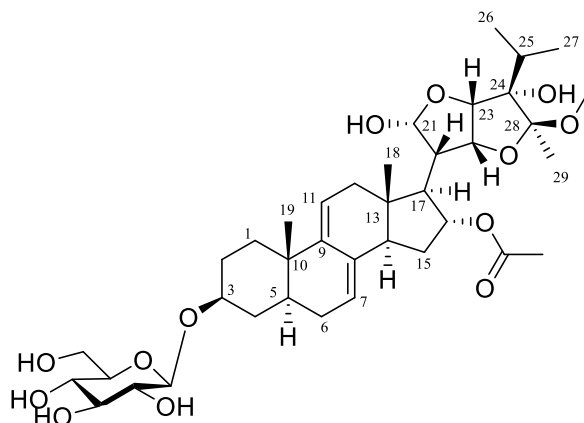
### 3.1.2.4. Hợp chất LD11: *Vernoniacum B*

Hợp chất **LD11** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (Bảng 3.11) của **LD11** hiển thị các tín hiệu của hai nhóm methyl [ $\delta_{\text{H}}$  0,64 (3H, s, H-18) và 0,94 (3H, s, H-19)], hai tín hiệu proton olefinic [ $\delta_{\text{H}}$  5,34 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-7) và 5,47 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-11)] và một proton anomeric [ $\delta_{\text{H}}$  4,42 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, Glc-1')], tương ứng với khung  $\Delta^{7,9(11)}$  stigmastane steroid glycoside là khung chất chính trong loài *V. amygdalina* cũng như các hợp chất đã phân lập được (**LD1-LD10**). Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (Bảng 3.11) của **LD11** hiển thị 38 tín hiệu carbon bao gồm: một phân tử đường, năm nhóm methyl tại [ $\delta_{\text{C}}$  14,5 (C-18); 19,8 (C-19); 17,5 (C-26); 18,2 (C-27) và 17,4 (C-29)], một nhóm acetyl ( $\delta_{\text{C}}$  21,9; 172,7), một nhóm methoxy [ $\delta_{\text{C}}$  51,6] tại vị trí C-28, hai liên kết đôi [ $\delta_{\text{C}}$  122,4 (C-7); 136,3 (C-8); 145,0 (C-9); 119,6 (C-11)] và 20 nguyên tử carbon khác. So sánh phổ NMR của hợp chất **LD11** cho thấy có độ tương đồng rất cao với **LD9** ngoại trừ **LD11** xuất hiện thêm một nhóm acetyl ( $\text{OCOCH}_3$ ) tại vị trí C-16. Vị trí chính xác của nhóm này được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa proton H-16 (5,27; m) với nhóm acetyl ( $\delta_{\text{C}}$  172,7). Kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo cho thấy sự trùng khớp về dữ liệu phổ với vernoniacum B đã được công bố tìm thấy từ loài *V. amygdalina* này [43], từ đó xác định được **LD11** là vernoniacum B (Hình 3.33).

**Bảng 3. 10.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H-}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD11** và chất tham khảo

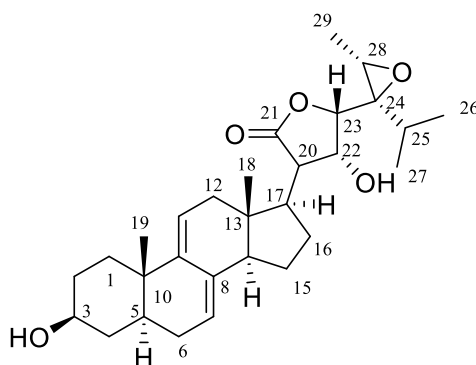
C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,4	1,35 (m)/ 2,01 (m)	20	49,5*	2,51 (m)
2	30,6	1,53 (m)/ 1,99 (m)	21	91,0	5,44 (d; 4,5)
3	77,9	3,53 (m)	22	80,7	4,31 (t; 6,0)
4	35,0	1,33 (m)	23	92,4	4,53 (t; 6,0)
5	40,5	1,41 (m)	24	83,0	-
6	31,0	1,31 (m)/ 1,95 (m)	25	33,1	2,02 (m)
7	122,	5,44 (d; 4,5)	26	17,5	0,93 (d; 4,0)
8	136,	-	27	18,2	0,96 (d; 6,5)
9	145,	-	28	113,4	-
10	37,1	-	29	17,5	1,42 (s)
11	119,	5,57 (d; 5,5)	1'	102,4	4,42 (d; 8,0)
12	42,8	2,03 (m)/ 2,15 (m)	2'	75,2	3,17 (m)
13	43,8	-	3'	78,1	3,34 (m)
14	49,5	2,19 (m)	4'	71,7	3,38 (m)
15	36,0	1,38 (m)/ 2,01 (m)	5'	78,9	3,29 (m)
16	79,8	5,27 (m)	6'	62,8	3,57 (dd; 11,5; 5,0)
17	48,6	3,17 (m)	16- $\text{OCOCH}_3$	172,7	-
18	14,5	0,64 (s)	16- $\text{OCOCH}_3$	21,9	2,06 (s)
19	19,8	0,94 (s)	$\text{OCH}_3$	48,5	3,16 (s)

<sup>a</sup>  $\text{CD}_3\text{OD}$ , <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz \*Xác định trên phổ HSQC



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

**3.1.2.5. Hợp chất LD12: (23S,24R,28S)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetradehydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone**



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

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

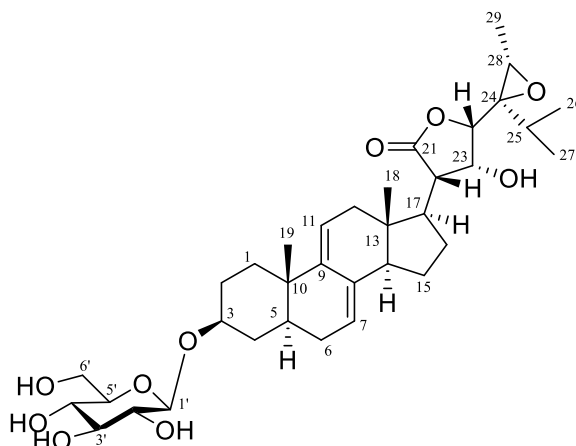


**Bảng 3. 11.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD12** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup>  $\text{CD}_3\text{OD}$ , <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> MHz # $\delta_{\text{C}}$  hợp chất tham khảo [36]

### 3.1.2.6. Hợp chất **LD13**: *Vernonioside B<sub>1</sub>*



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

**Bảng 3. 12.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD13** và chất tham khảo

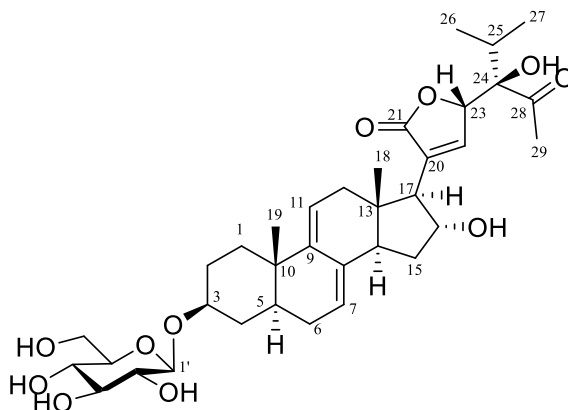
C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,0	35,9	1,35 (m)/ 2,00 (m)
2	30,2	30,5	1,61 (m)/ 1,99 (m)
3	78,7	79,1	3,67 (m)
4	34,5	35,1	1,35 (m)
5	39,3	40,4	1,42 (m)
6	30,3	30,9	1,92 (m)
7	120,7	121,1	5,41 (br s)
8	136,5	137,5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

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz # hợp chất vernonioside B<sub>1</sub> [36] đo trong pyridine-*d*<sub>5</sub>

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

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

### 3.1.2.7. Hợp chất **LD14**: Veramyoside H



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

**Bảng 3. 13.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD14** và chất tham khảo

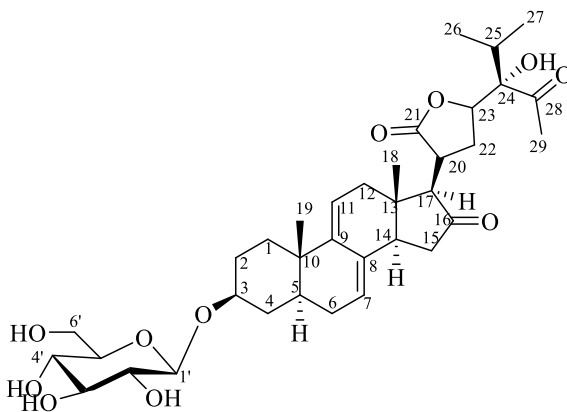
C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )	C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,2	35,1	2,20* (m)	19	19,7	19,2	0,72 (s)
2	30,5	30,0	1,74* (m)	20	136,0	135,4	-
3	77,3	77,0	3,91(m)	21	174,4	174,0	-
4	34,8	34,4	1,37 (q; 12,6) 1,98 (d; 10,0)	22	147,5	147,1	7,75 (s)
5	39,4	38,9	1,22(m)	23	84,0	86,3	5,36 (d; 1,5)
6	30,4	29,9	1,68(m)/ 2,11(m)	24	84,8	84,2	-
7	121,7	120,6	5,33* (s)	25	33,9	33,4	2,42 (m)
8	135,8	136,3	-	26	17,3	16,8	0,92 (d; 6,0)
9	144,6	144,1	-	27	17,4	16,9	1,12 (d; 6,0)
10	36,5	36,0	-	28	211,3	211,2	-
11	118,7	118,2	5,32* (s)	29	28,2	27,8	2,29 (s)
12	40,9	40,4	2,05 (d; 5,5) 2,50 (dd; 15,5; 5,5)	1'	102,6	102,0	4,96 (d; 7,8)
13	44,9	44,3	-	2'	75,7	75,0	3,99 (t; 8,4)
14	50,2	49,6	2,87 (t; 15,0)	3'	79,0	78,2	4,26 (t; 8,4)
15	35,9	34,7	1,53 (m)/ 1,73* (m)	4'	72,1	71,4	4,16 (t; 8,4)
16	76,0	75,3	4,98 (m)	5'	78,9	78,1	3,95 (m)
17	58,5	57,8	3,15 (d; 6,5)	6'	63,2	62,5	4,30 (dd; 10,0; 5,0) 4.50 (dd; 10,0; 1,8)
18	14,2	13,7	0,60 (s)				

<sup>a</sup> pyridine- $d_5$ , <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  veramyoside H [34], \* tín hiệu bị chồng lấp

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

### 3.1.2.8. Hợp chất **LD15**: Veramyoside J

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



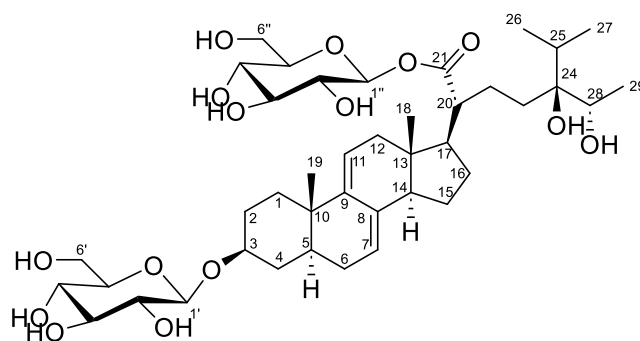
**Hình 3. 37.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD15**

**Bảng 3. 14.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD15** và **LD14**

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

<sup>a</sup> pyridine-*d*<sub>5</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> đo tại 600 MHz, \* tín hiệu bị chồng lấp, # dữ liệu của **LD14** [34]

### 3.1.2.9. Hợp chất **LD16**: *Vernoamyoside A*

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

Hợp chất **LD16** phân lập được ở dạng chất rắn màu trắng, vô định hình, độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} : +0,27$  ( $c$  0,2;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -NMR (Bảng 3.16) của **LD16** thể hiện sự xuất hiện của 5 nhóm methyl trong đó bao gồm 2 nhóm methyl singlet [ $\delta_{\text{H}}$  0,61 (3H, s, H-18); 0,92 (3H, s, H-19)] và 3 nhóm methyl doublet [ $\delta_{\text{H}}$  0,95 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-26); 0,97 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-27); 1,74 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-29)]. Từ dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR (Bảng 3.16) của **LD16** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của 41 carbon trong đó 29 carbon thuộc khung  $\Delta^{7,9(11)}$  stigmasterane-type steroid và 12 tín hiệu carbon của 2 đơn vị đường. Vị trí của đường tại C-3 và C-21 được xác định dựa

trên tương tác trên phổ HMBC giữa proton  $\delta_{\text{H}}$  4,41 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1') và  $\delta_{\text{C}}$  79,0 (C-3), giữa  $\delta_{\text{H}}$  5,56 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'') với  $\delta_{\text{C}}$  176,8 (C-21). Từ những phân tích dữ liệu phổ trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo về dữ liệu phổ của vernoamyoside A [36], ta nhận thấy có sự tương đồng rất cao về các thông số phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR từ đó có thể xác định được **LD16** là vernoamyoside A (Hình 3.38). Bảng so sánh về dữ liệu phổ của 2 hợp chất trên được thể hiện dưới (Bảng 3.16):

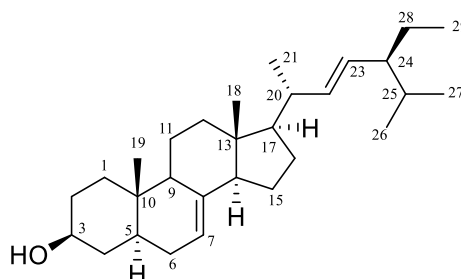
**Bảng 3. 15.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD16** và chất tham khảo

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

1''	95,7	95,6	5,56 (d; 8,0)
2''	74,0	73,9	3,35* (m)
3''	78,6	78,6	3,40* (m)
4''	71,6	71,7	3,30* (m)
5''	77,8	77,9	3,29* (m)
6''	62,6	62,5	3,72 (m)/ 3,88 (m)

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, <sup>#</sup>  $\delta_C$  vernoamyoside A [36], \*tín hiệu bị chồng lấp

### 3.1.2.10. Hợp chất LD17: $\alpha$ -spinasterol



**Hình 3. 39.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **LD17**

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

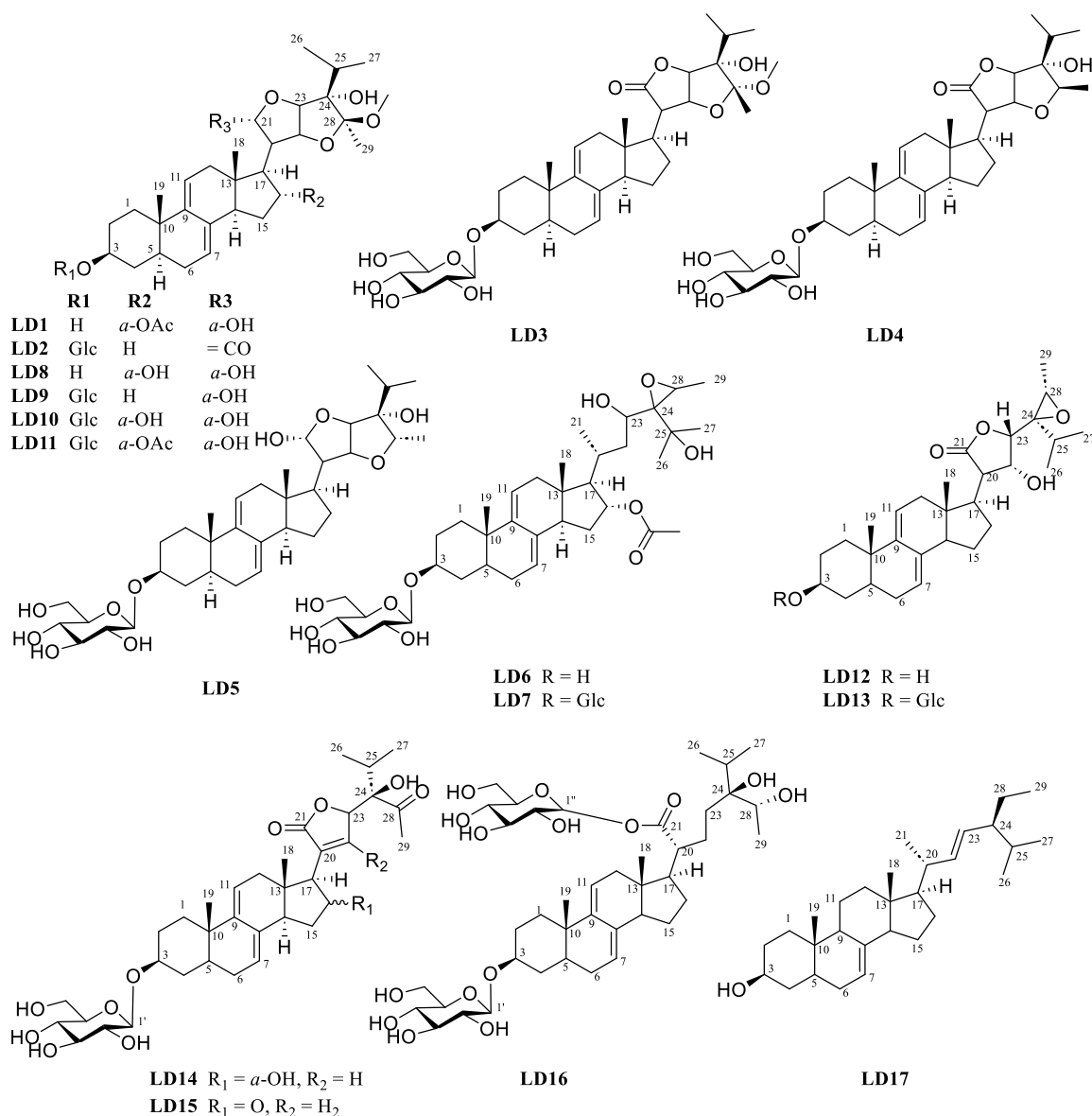
**Bảng 3. 16.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **LD17** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, <sup>#</sup>  $\delta_{\text{C}}$   $\alpha$ -spinasterol đo trong CDCl<sub>3</sub>, \* tín hiệu bị chồng lấp

Từ loài *Vernonia amygdalina* đã phân lập được **17** hợp chất gồm 7 hợp chất mới (**LD1-LD7**) được đặt tên là: (**LD1**-vernonioside K), (**LD2**-vernonioside N), (**LD3**-vernonioside M), (**LD4**-vernonioside O), (**LD5**-vernonioside L), (**LD6**-vernonioside P), (**LD7**-vernonioside Q) và 10 hợp chất đã biết bao gồm: (**LD8**- (22*R*,23*S*,24*R*,28*S*)-28-methoxy-7,8,9,11-tetradehydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24 tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ - stigmastane), (**LD9**-vernoamyoside E), (**LD10**-vernonioside B<sub>2</sub>), (**LD11**-vernoniacum B), (**LD12**- (23*S*,24*R*,28*S*)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetradehydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone), (**LD13** vermonioside B<sub>1</sub>), (**LD14**: veramyoside G), (**LD15**-vernoramyoside A), (**LD16**-vernoamyoside A), (**LD17**-  $\alpha$ -spinasterol). Công thức hóa học của các hợp chất phân lập được thể hiện dưới bảng sau:





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

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

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

Dựa vào dữ liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của các hợp chất trên (Bảng 3.18) ta nhận thấy trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của 16 hợp chất xuất hiện tín hiệu của 29 carbon đặc trưng cho

lớp chất steroid. Bên cạnh đó, tùy thuộc vào sự có mặt của các nhóm thế khác nhau sẽ xuất hiện thêm các tín hiệu carbon của nhóm thế, các nhóm thế thường xuất hiện trong cấu trúc của các hợp chất từ loài *V. amgdalina* là nhóm acetoxy, methoxy, và các phân tử đường. Với các đặc điểm về mặt cấu trúc nêu trên, trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR sẽ quan sát được các tín hiệu như sau.

Sự xuất hiện của hai nối đôi liên hợp tại các vị trí C-7, C-8, C-9, C-11 đặc trưng cho các dẫn xuất dienestigmastane steroid. Các giá trị độ chuyển dịch của carbon olefinic này tại các vị trí  $\delta_{\text{C}}$ : C-7 (120,6 – 123,5); C-8 (134,5 – 137,6); C-9 (143,7 – 145,9) và C-11 (118,6 – 120,5) ppm. Sự thay đổi tín hiệu của các tín này về vùng trường cao hoặc thấp có thể gợi sự có mặt của các nhóm thế ở các vị trí lân cận. Ví dụ như, tín hiệu của  $\delta_{\text{C}}$  C-9 ở khoảng 143,7 ppm ở các (**LD2 – LD5, LD9, LD12, LD13** và **DL16**), thì có thể dự đoán vị trí C-16 không xuất hiện các nhóm thế và mạch nhánh là hai vòng furan, trong khi vị trí C-16 bị thế bởi nhóm acetyl ( $\text{OCOCH}_3$ ) hoặc nhóm hydroxy (OH) thì tín hiệu của C-9 sẽ di chuyển về vùng trường thấp khoảng 145,9 ppm trong các hợp chất **LD6, LD7, LD9, LD10**.

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

Cấu trúc mạch nhánh của các hợp chất stigmastane steroid của các hợp chất phân lập được từ *V. amygdalina* thường tồn tại ở dạng đóng vòng với hai vòng furan hợp nhất với nhau tại C-22, C-23, trong các hợp chất (**LD1 - LD5, LD9 - LD11**); cầu 22, 23 epoxy kết hợp với vòng  $\gamma$ -lactone (**LD12, LD13, LD15**) hay vòng lacton 5 cạnh với liên kết đôi ở vị trí  $\alpha, \beta$  của (**LD14**) hay với mạch thẳng chứa các nhóm hydroxy tự do trong (**LD6, LD7**) hoặc mở vòng hoàn toàn đối với (**LD16**). Đối với các hợp chất có mạch nhánh là với hai vòng furan, các tín hiệu thể hiện ở vùng trường thấp khoảng ( $\delta_{\text{C}}$ , 176,0 ppm) cho phép xác định nhóm thế tại C-21 là nhóm carbonyl, trong khi nếu vị trí C-21 là nhóm hydroxy là  $\delta_{\text{C}}$  (98,0 - 100,0) ppm. Bên cạnh đó, phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR cũng cho thấy tín hiệu carbon C-28 khi có sự xuất hiện của các nhóm thế nhóm methyl ( $\text{CH}_3$ ), methoxy ( $\text{OCH}_3$ ), hydroxy (OH). Độ chuyển dịch hóa học của C-28 là  $\delta_{\text{C}}$  (111,2 - 112,1 ppm) khi có nhóm  $\beta$ - $\text{OCH}_3$  và  $\alpha$ - $\text{CH}_3$  gắn trực tiếp với C-

28, ở cấu hình ngược lại độ chuyển dịch của C-28 là ( $\delta_C$  107,6 ppm). Ngoài ra, khi không có sự xuất hiện của nhóm methoxy tại C-28, tín hiệu carbon của C-28 sẽ di chuyển đến vùng trường cao  $\delta_C$  (81,0 - 84,0 ppm). Đối với mạch nhánh là cầu epoxy kết hợp với vòng  $\gamma$ -lactone, phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR sẽ thể hiện các tín hiệu carbon tại  $\delta_C$  177,1 (C-21); 73,0 (C-22); 80,0 (C-23); 65,4 (C-24). Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR sẽ thấy sự có mặt của các tín hiệu tại  $\delta_C$ , 174,0; 147,0; 86,3; 84,2 sẽ gợi ý sự xác định mạch nhánh chứa cầu epoxy là vòng lacton 5 cạnh với liên kết đôi ở vị trí  $\alpha$ ,  $\beta$ . Nếu mạch nhánh mở vòng hoàn toàn sẽ xuất hiện các tín hiệu với độ chuyển dịch trong khoảng  $\delta_C$  (176,0; 27,2; 28,5 và 78,3) ppm tương ứng với các vị trí (C-21 - C-24).

**Bảng 3. 17.** Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C}$  NMR của các hợp chất phân lập từ loài *V. amygdalina*

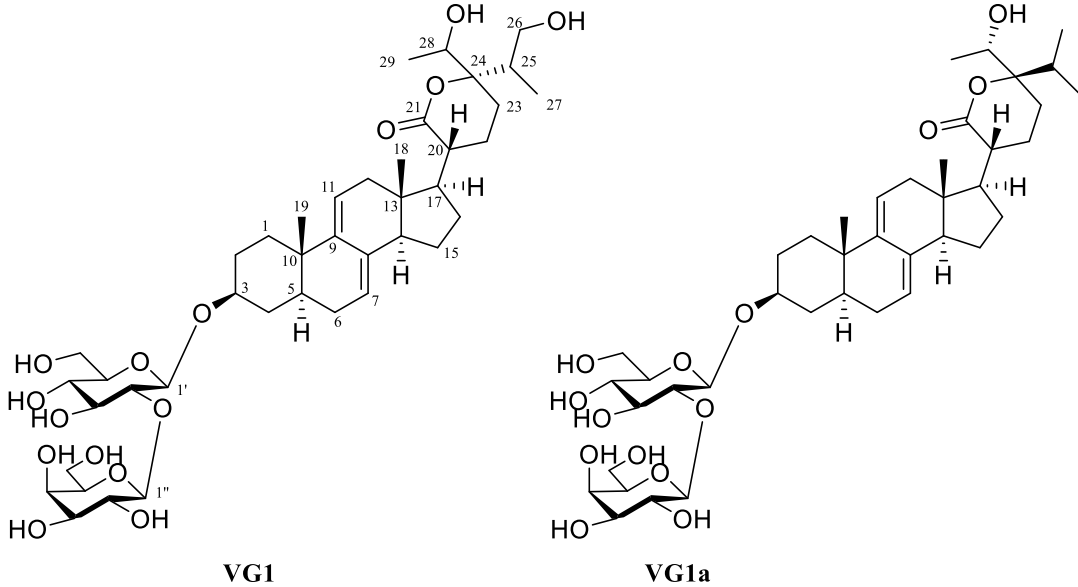
	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5	LD6	LD7	LD8	LD9	LD10	LD11	LD12	LD13	LD14	LD15	LD16
1	35,0	34,8	34,9	34,8	34,9	35,9	35,9	35,3	34,9	35,0	35,4	36,0	35,9	35,1	35,8	35,1
2	32,0	29,9	29,9	29,9	29,9	30,9	30,6	32,4	29,9	30,6	30,6	32,3	30,5	30,0	30,9	31,0
3	70,0	77,1	77,1	78,1	77,1	71,4	78,9	71,4	78,1	78,9	77,9	71,5	79,1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

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

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

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

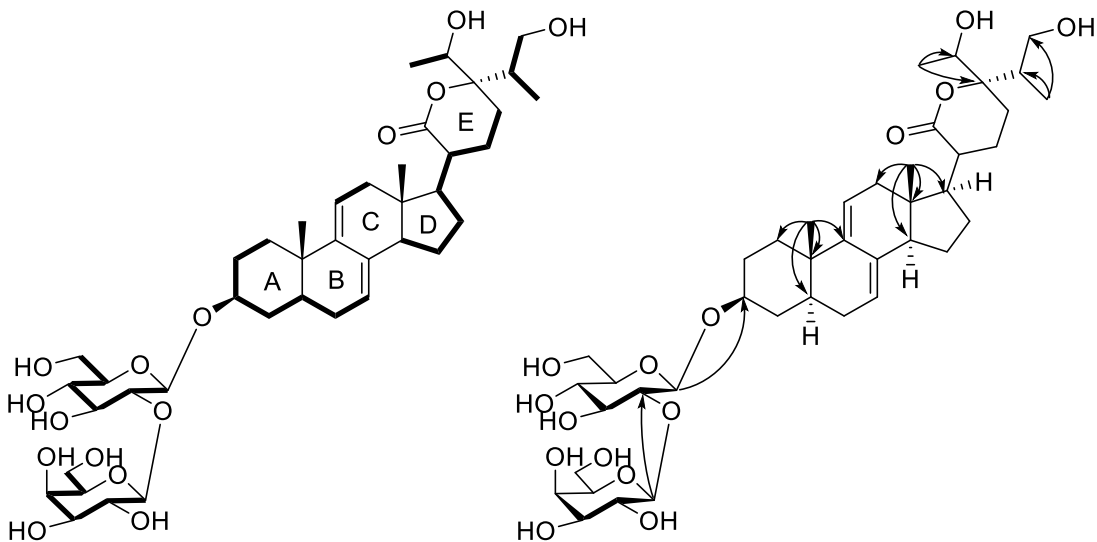
##### 3.2.1.1. Hợp chất VG1: Vernoniagratiocide A



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

Hợp chất **VG1** phân lập được ở dạng bột màu trắng, có công thức phân tử  $C_{41}H_{64}O_{15}$ , được thiết lập dựa trên phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$   $[M+Cl]^-$  831,3892; (tính toán cho công thức  $C_{41}H_{64}ClO_{15}$ ; 831,3939) (Hình 3.41). Từ dữ liệu phổ 1D-NMR, 2D-NMR của **VG1** kết hợp với việc so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất Vernocuminoside I đã được công bố trước đây [66] cho thấy **VG1** là một hợp chất stigmastane saponin steroid với hai nối đôi liên hợp đặc trưng  $\Delta^{7,9(11)}$  với mạch nhánh là vòng  $\delta$ -lactone (Bảng 3.19). Thật vậy, dữ liệu phổ proton của **VG1** cho thấy sự có mặt của hai proton olefinic [ $\delta_H$  5,43 (1H, br s, H-7) và 5,50 (1H, d,  $J = 5,5$  Hz, H-11)], một methine liên kết với oxy của H-3 [ $\delta_H$  3,72 (1H, m, H-3)], hai nhóm methyl bậc bốn [ $\delta_H$  0,94 (3H, s, H-19) và 0,66 (3H, s, H-18)], một nhóm propanyl [ $\delta_H$  3,45 (2H, m, H-26); 2,12 (1H, m, H-25); 1,06 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-27)] và một nhóm methyl doublet khác [ $\delta_H$  1,26 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-29)]. Ngoài ra, các tín hiệu methine proton của đường glucopyranosyl và galactopyranosyl cũng như hai proton anomeric [ $\delta_H$  4,55 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-1') và 4,51 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'')] cũng xuất hiện trên phổ  $^1H$ -NMR. Hằng số ghép cặp lớn ( $J_{1',2'} = 7,5$  Hz,  $J_{1'',2''} = 8,0$  Hz) cho phép xác định cấu hình tương đối của các phân tử đường là  $\beta$ . Từ dữ liệu  $^{13}C$ -NMR của **VG1** cho thấy sự xuất hiện của 41 tín hiệu carbon, trong đó có 29 tín hiệu của aglycone và 12 tín hiệu của hai đơn vị đường. Dữ liệu  $^{13}C$ -NMR cũng cho thấy sự tồn tại của nhóm carbonyl [ $\delta_C$  177,4 (C-21), bốn olefinic carbon

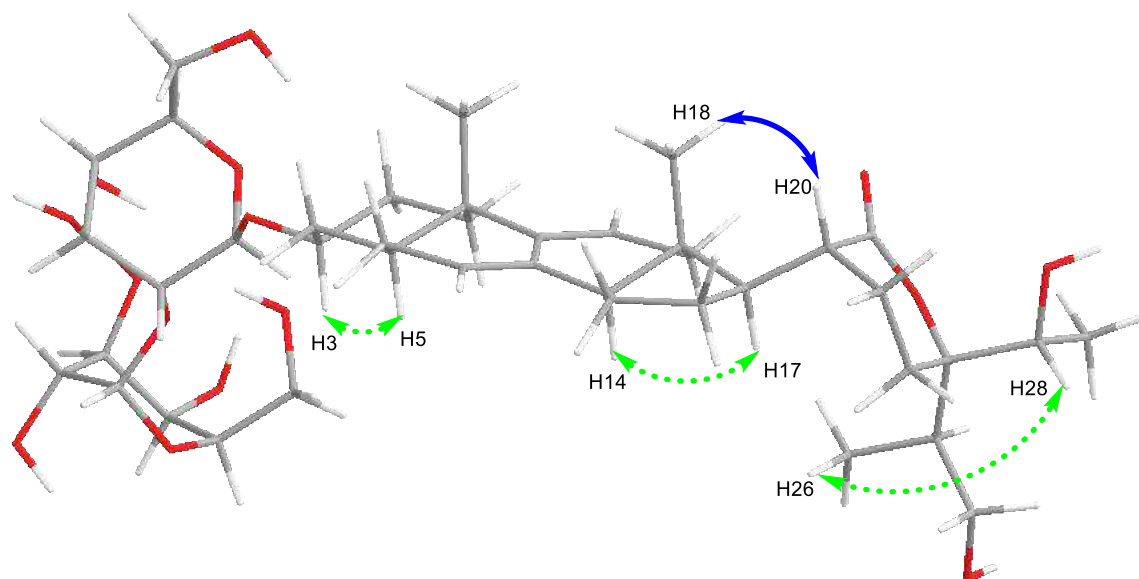
[ $\delta_C$  121,7 (C-7); 137,2 (C-8); 145,4 (C-9); 119,4 (C-11)], hai nhóm methine liên kết với oxy tại [ $\delta_C$  79,9 (C-3); 71,1 (C-28) và bốn methyl carbon [ $\delta_C$  11,9 (C-18); 19,9 (C-19); 12,6 (C-26); 17,6 (C-29)] cho phần aglycone. Sự tồn tại của vòng  $\delta$ -lacton ở mạch nhánh trong cấu trúc của **VG1** được xác định nhờ tương tác COSY giữa H-20/H-22/H-23, H-25/H-26/H-27 và H-28/H-29, cùng với tương tác HMBC giữa H-22 và C-21/C-24, H-27 và C-24/C-25/C-26, và H-29 và C-24/C-28 (Hình 3.42). Tương tác HMBC từ H-17 đến C-20/C-21 gợi ý vị trí nhánh  $\delta$ -lactone tại C-17 của aglycone. Tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  4,55) đến C-3 ( $\delta_C$  79,9) chứng tỏ rằng nhóm  $\beta$ -D-glucosyl liên kết với C-3. Vị trí của đường galactopyranosyl tại C-2' được nhận biết bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-2' ( $\delta_C$  83,6) so với C-2' ( $\delta_C$  75,1) của glucose trong hợp chất Vernocuminoside H [67], bên cạnh đó điều này cũng được khẳng định bởi tương tác HMBC giữa H-1'' ( $\delta_H$  4,51) với C-2' ( $\delta_C$  83,7). So sánh dữ liệu NMR của **VG1** và dữ liệu NMR của vernocuminoside I (Ver I) [67], cho thấy sự tương đồng rất cao. Sự khác biệt chính là việc thay thế nhóm oxymethylene tại C-26 ở **VG1** bởi nhóm methyl ở **Ver I (VG1a)**. Điều này cũng được xác nhận bởi mối tương quan HMBC của H-26 với C-24, C-25, và C-26. Như vậy, cấu trúc phẳng của **VG1** đã được xác định (Hình 3.41).



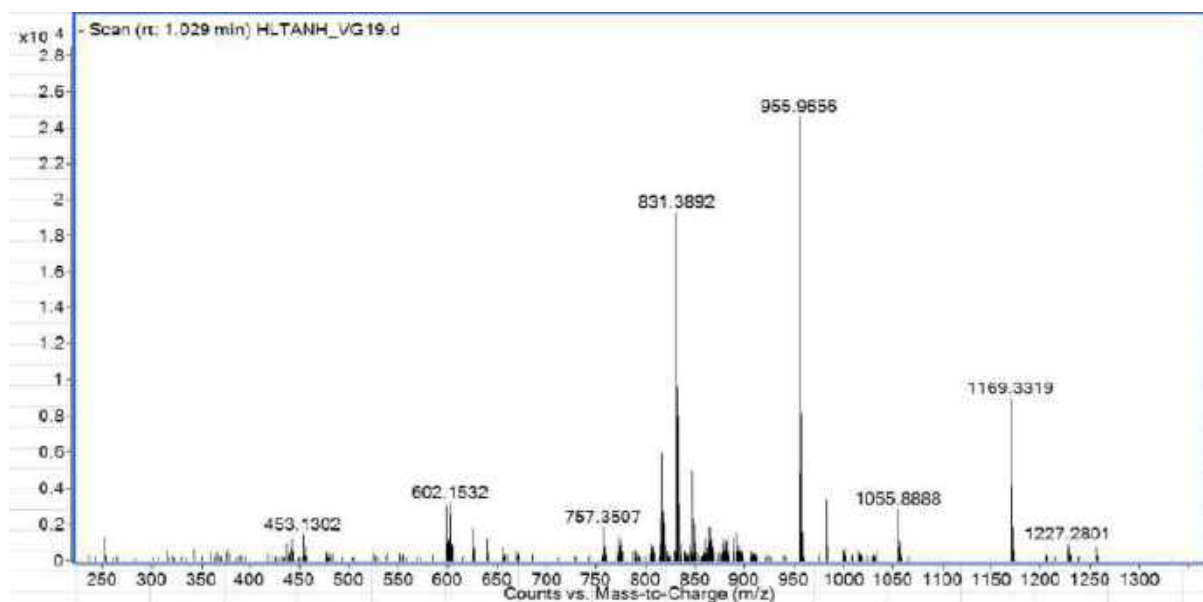
**Hình 3. 42.** Tương tác COSY và HMBC chính của **VG1**

Cấu hình tương đối của **VG1** được xác định bởi phổ NOESY (Hình 3.43). Cụ thể, tương tác NOESY của H-3/H-5, H-14/H-17 và H-18/H-19 chỉ ra rằng A/B và C/D hợp nhất với nhau theo dạng *trans*, H-18 và H-19 có cấu hình  $\beta$  và H-3, H-5 và H-17 có cấu hình  $\alpha$ . Ngoài ra, tương tác NOESY của H-18/H-20 cũng cho phép xác định cấu hình  $\beta$  của H-20 và cấu hình  $\alpha$  của vòng lacton E (Hình 3.43). Cấu hình tuyệt đối của C-24 được xác định dựa trên phổ ECD (Hình 3.51). Phân tích phổ ECD của **VG1** thấy sự xuất hiện hiệu ứng Cotton dương ở bước sóng 221nm (+2,82) và 243 nm (+10,78) đối lập với vernocuminoside H, một saponin mới được báo cáo từ chi *Vernonia* có cấu hình 24R, cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG1** là S. Do hợp chất **VG1**

phân lập được với khối lượng nhỏ, cấu hình tuyệt đối tại vị trí C-25 và C-28 chưa xác định được. Cấu hình tuyệt đối của hai phân tử đường được xác định là  $\beta$ -D-glucopyranoside và  $\beta$ -D-galactopyranoside dựa trên sự thủy phân **VG1**, các đường đơn sau đó được tinh chế bằng TLC điều chế với hệ dung môi EtOAc–isopropanol–acetone–H<sub>2</sub>O: 20–10–7–6), và so sánh R<sub>f</sub> và  $[\alpha]_D^{25}$  của chúng với các phân tử đường chuẩn:  $\beta$ -D-glucose (R<sub>f</sub> 0,40;  $[\alpha]_D^{25} + 40$  (H<sub>2</sub>O; c 0,05) and  $\beta$ -D-galactose (R<sub>f</sub> 0,31,  $[\alpha]_D^{25} + 52$  (H<sub>2</sub>O; c 0,05). Kết quả là, chất **VG1** được xác nhận là một mới và được đặt tên là vernogratiside A (Hình 3.41).



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



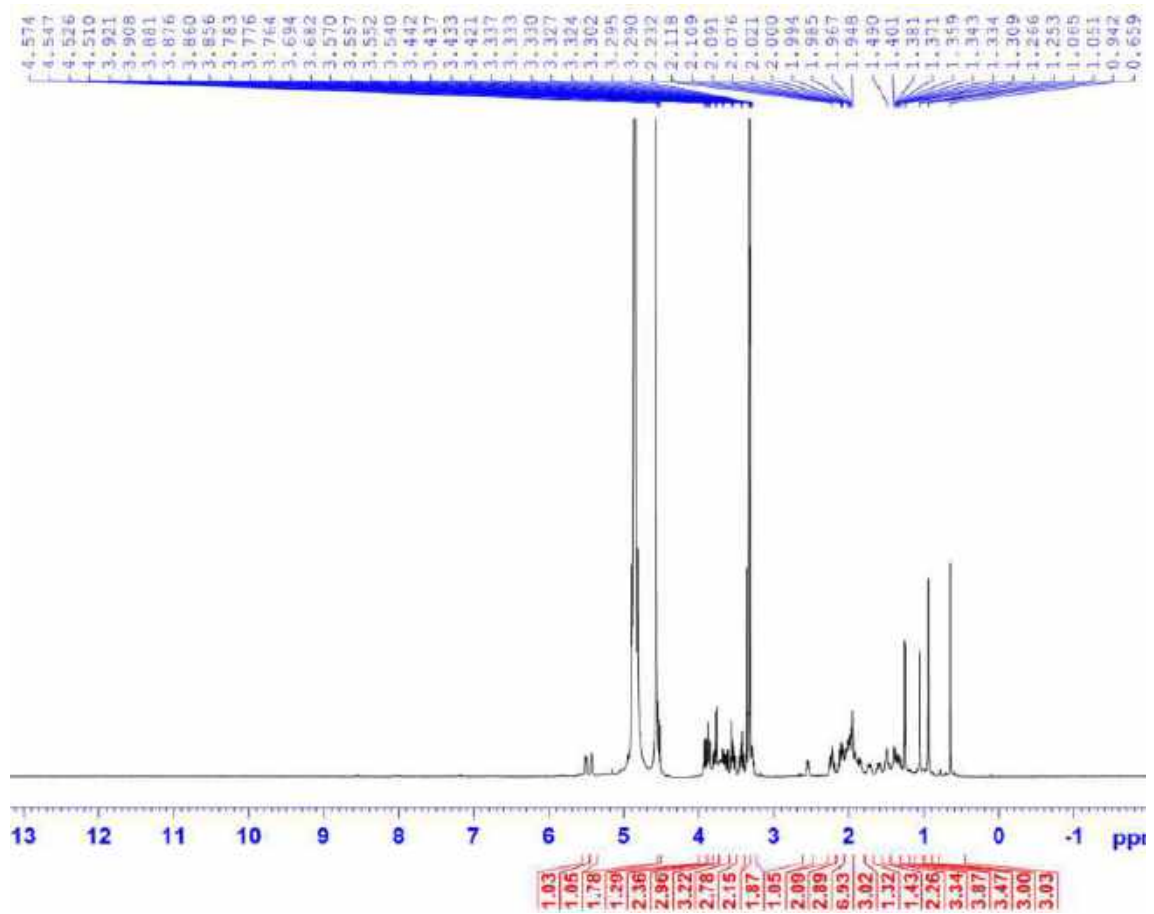
**Hình 3. 44.** Phổ HR-ESI-MS của **VG1**

**Bảng 3. 18.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG1** và chất tham khảo

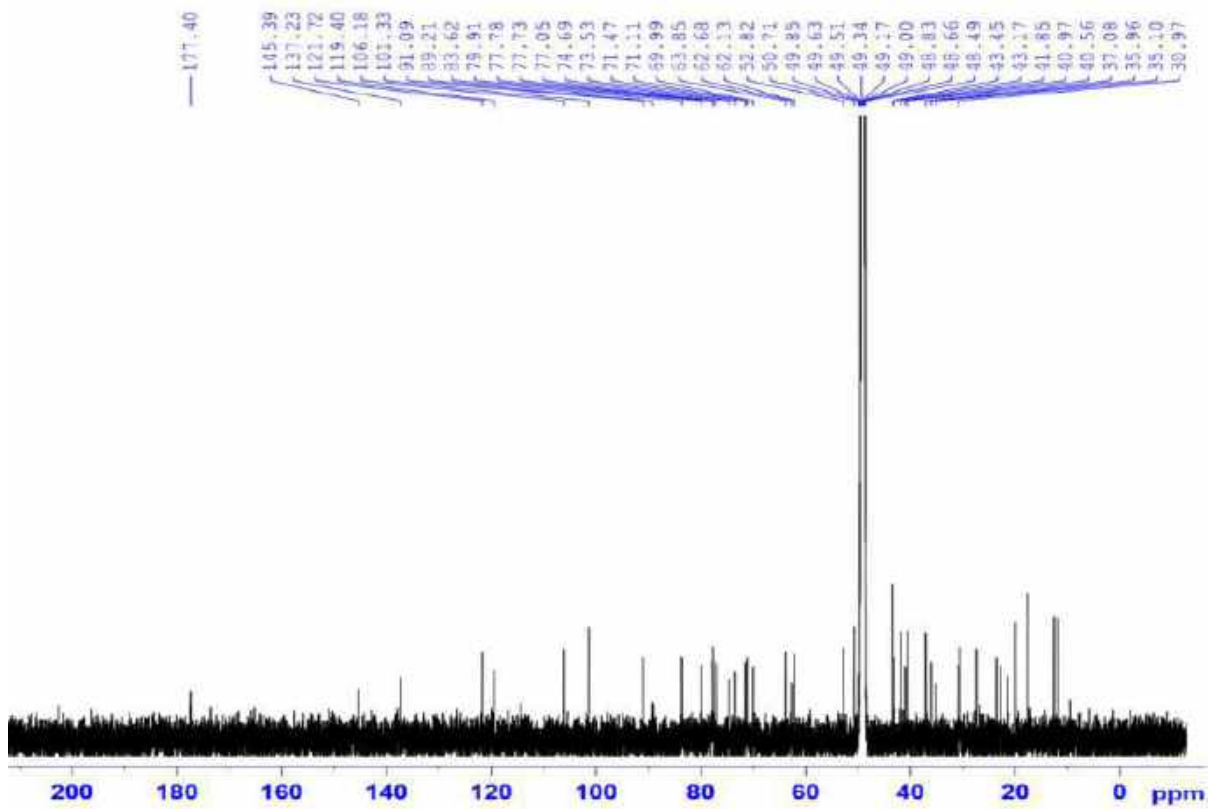
C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	36,0	36,0	1,33 (m)/ 2,00 (m)
2	30,6	30,6	1,61 (m)/ 2,02 (m)
3	79,9	79,9	3,72 (m)
4	35,1	35,1	1,40 (m)/ 1,90 (m)
5	40,6	40,6	1,39/ (m)
6	31,0	31,0	1,96/ (m)
7	121,6	121,7	5,43/ (br s)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

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125 MHz, <sup>c</sup>500 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  **VG1a** [67], \*tín hiệu bị chồng lấp

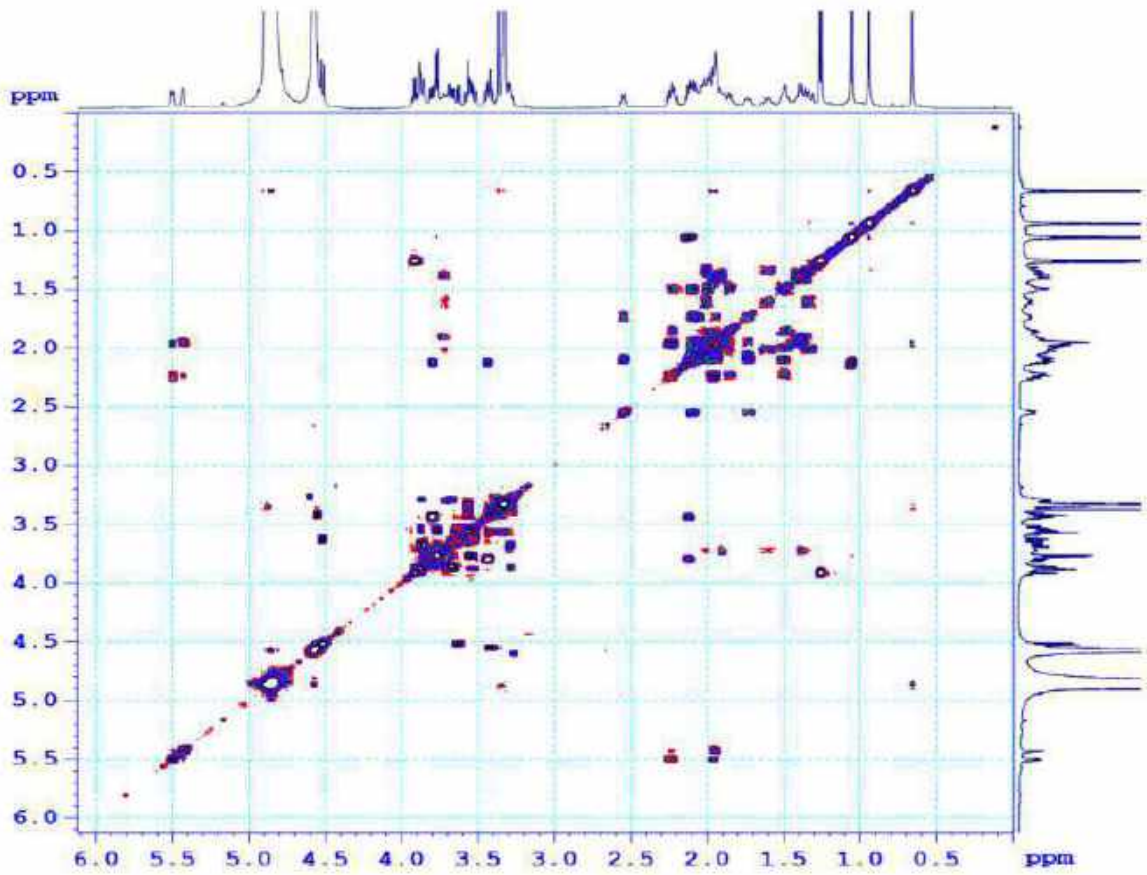




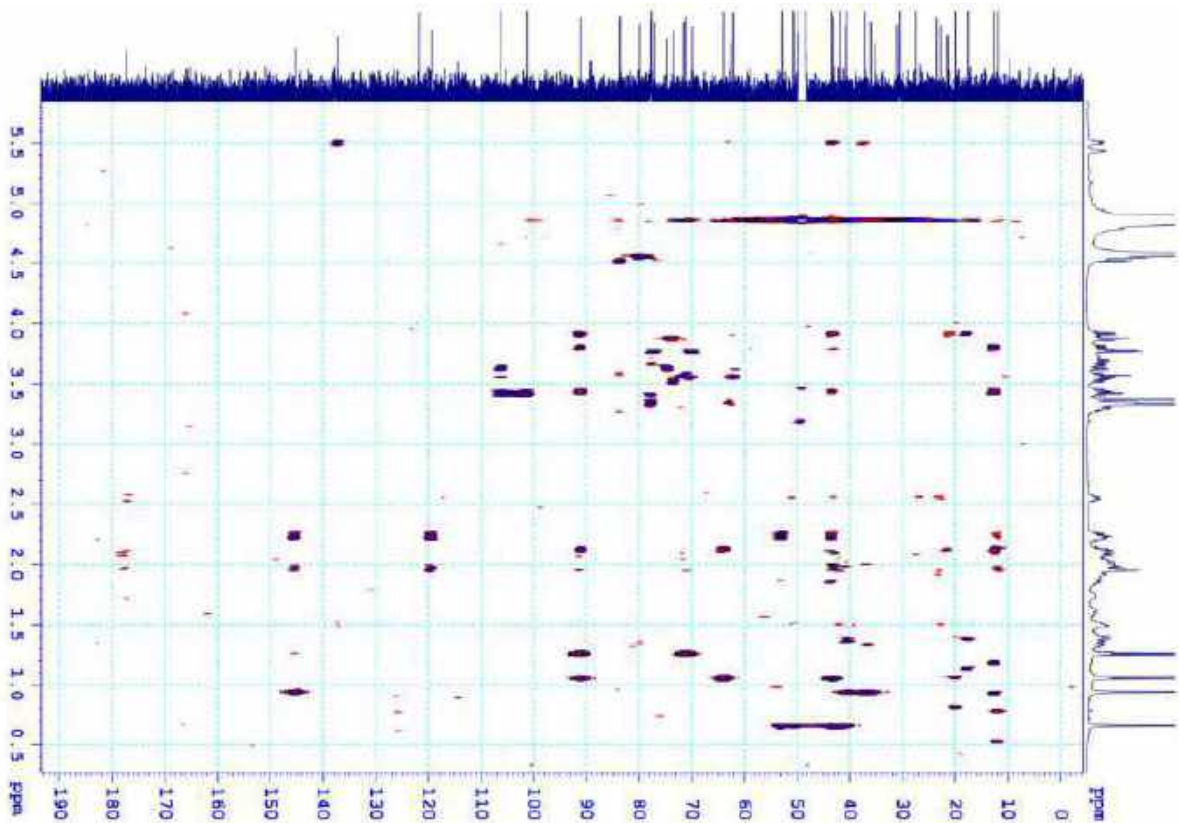
**Hình 3. 45.** Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của VG1



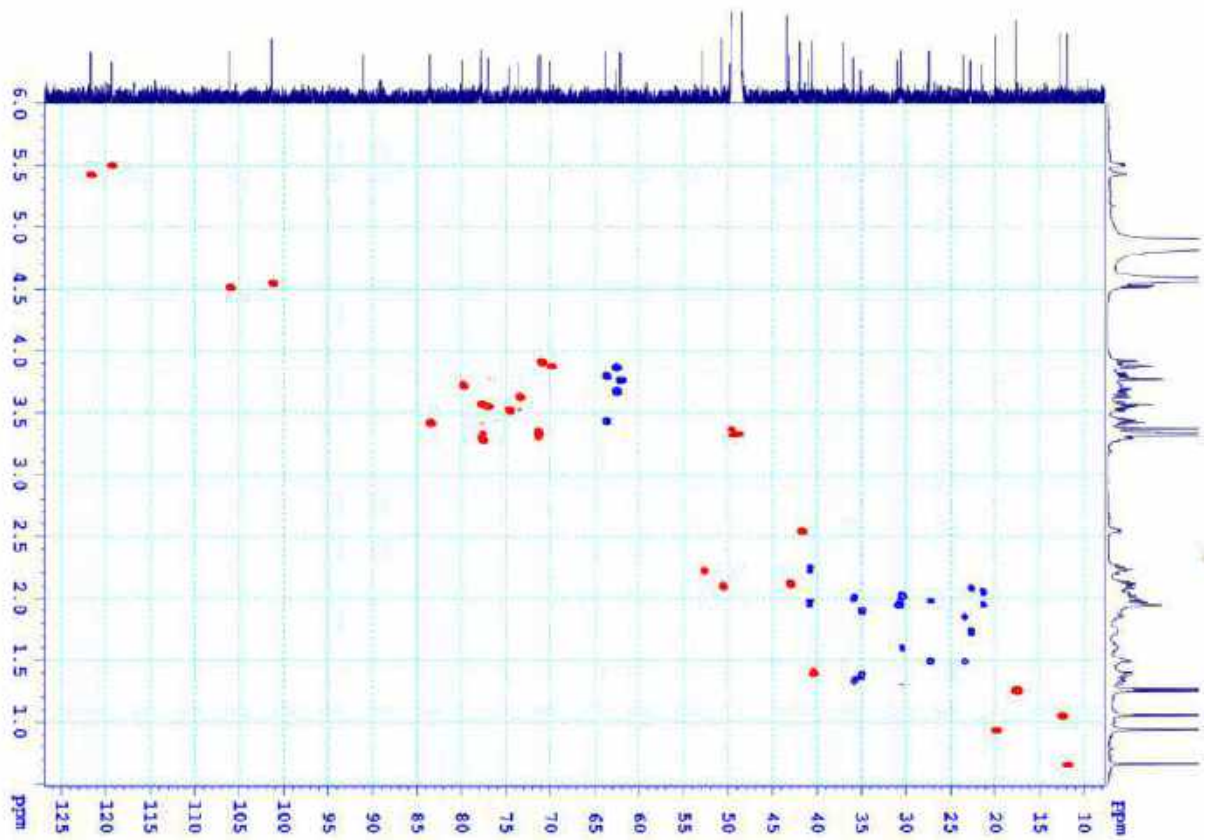
**Hình 3. 46.** Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của VG1



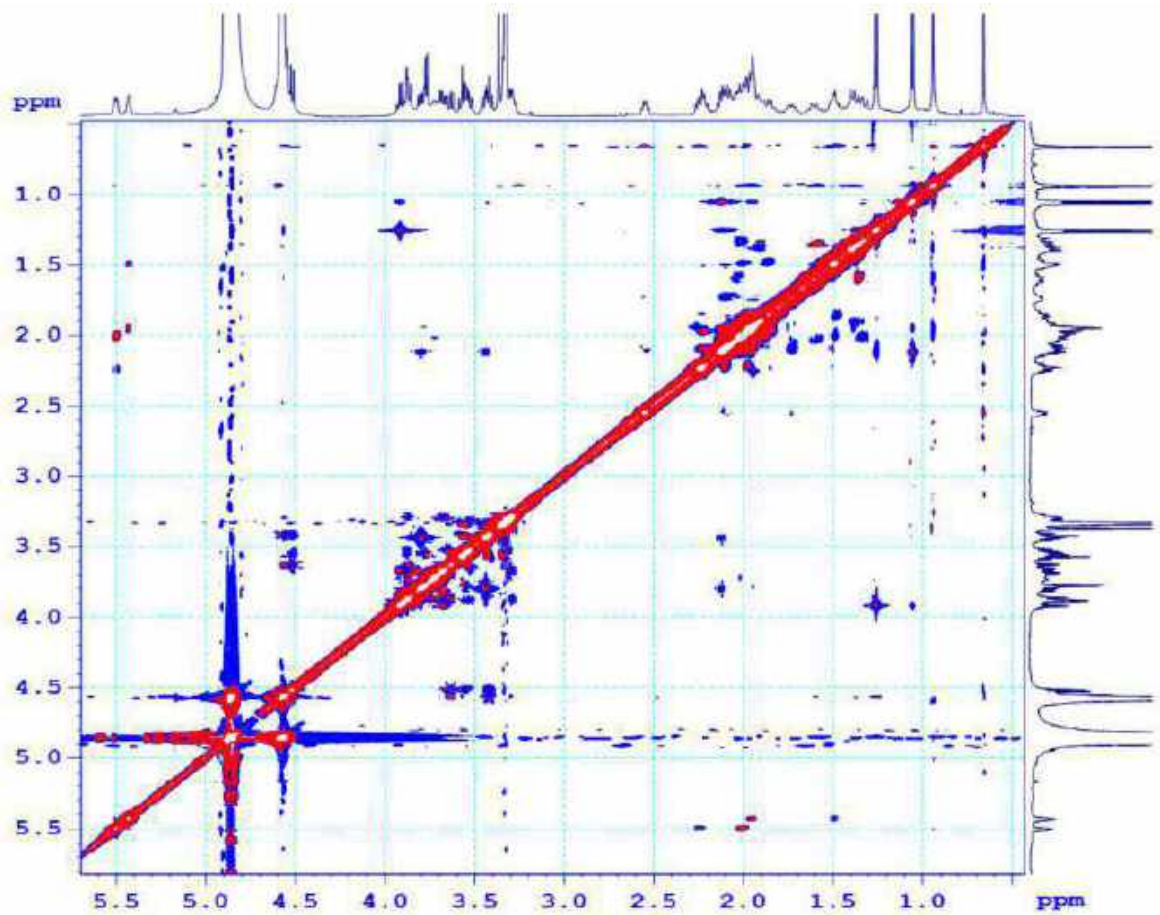
Hình 3. 47. Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY của VG1



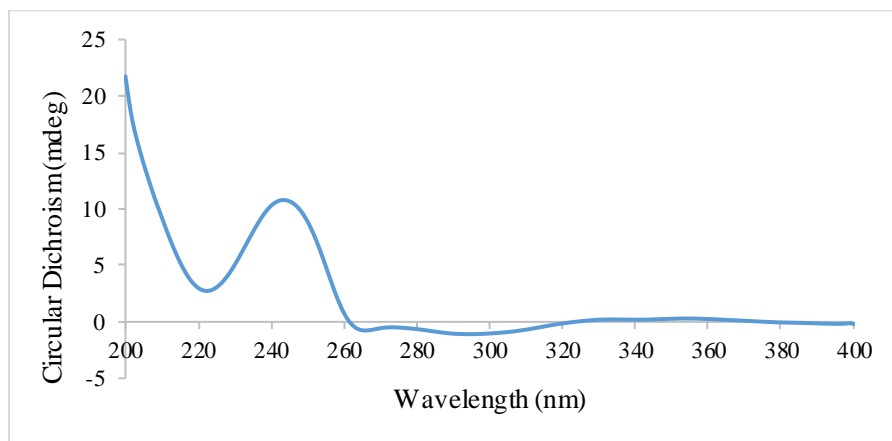
Hình 3. 48. Phổ HMBC của VG1



**Hình 3. 49.** Phổ HSQC của VG1

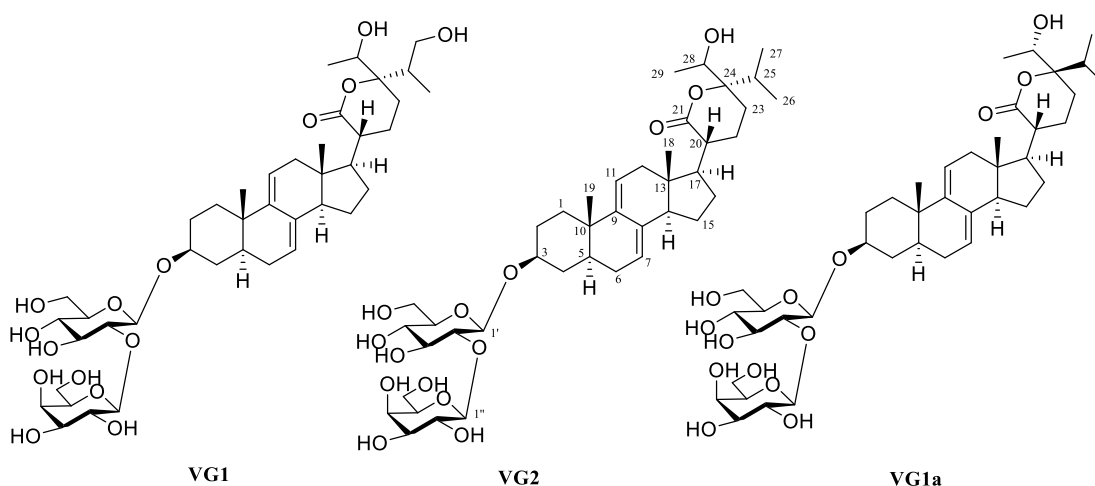


**Hình 3. 50.** Phổ NOESY của VG1



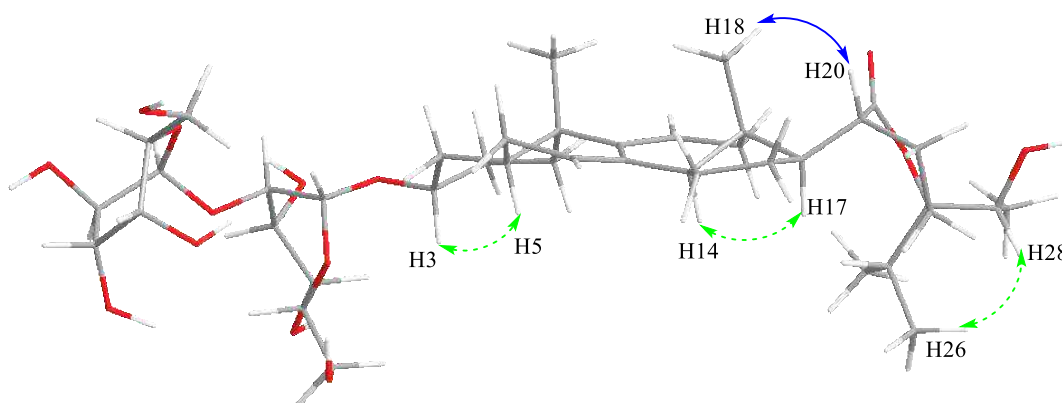
**Hình 3. 51.** Phổ CD thực nghiệm của **VG1**

### 3.2.1.2. Hợp chất **VG2**: Vernogratiside **B**

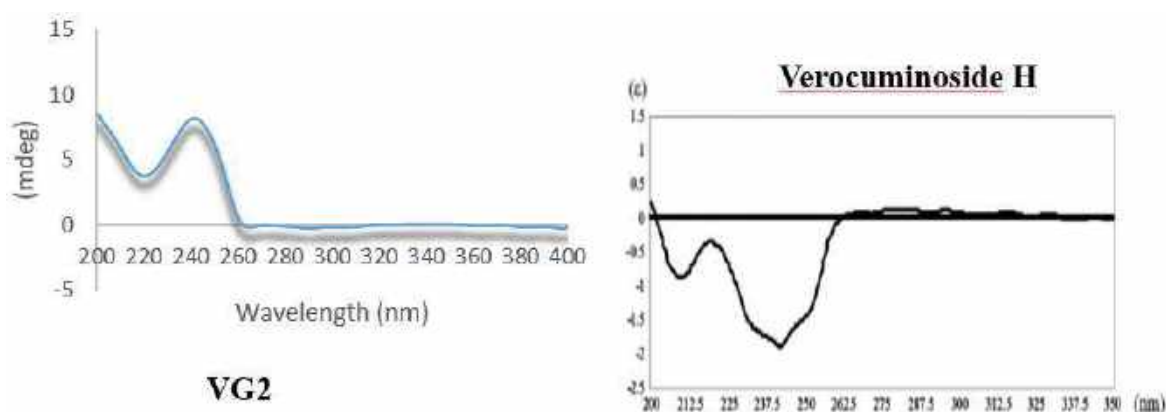


**Hình 3. 52.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG2**; hợp chất **VG1** và hợp chất **VG1a**

Hợp chất **VG2** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu trắng, có công thức phân tử  $C_{41}H_{64}O_{14}$  được xác định dựa trên phổ HR-ESI-MS với mảnh ion giả phân tử tại  $m/z$  779,4212  $[M-H]^-$  (tính toán lý thuyết cho  $C_{41}H_{63}O_{14}^-$ , 779,4223). Dữ liệu phổ NMR của **VG2** (Bảng 3.20) chỉ ra cấu trúc phẳng tương tự hợp chất **VG1**, ngoại trừ việc thay thế nhóm oxymethylene ở vị trí C-27 của **VG1** bằng nhóm methyl trong **VG2**. Điều này được thể hiện ở sự thay đổi độ dịch chuyển hóa học của C-27 từ  $\delta_C$  63,9 (trong **VG1**) xuống  $\delta_C$  17,6 (trong **VG2**). Ngoài ra, dữ liệu NMR của **VG2** cũng tương đồng cao với hợp chất Ver I (**VG1a**) [67], khác biệt duy nhất là cấu hình tại vị trí C-24. Cấu hình tương đối của **VG2** được thiết lập từ các tương tác NOESY, giống như được mô tả ở **VG1**. Phổ ECD của **VG2** và **VG1** xuất hiện các hiệu ứng Cotton giống hệt nhau như trong (Hình 3.54) và đối lập với phổ ECD của Vernocuminoside H. Điều này cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG2** là 24*S*. Tương tự hợp chất **VG1**, cấu hình tuyệt đối của C-28 ở **VG2** cũng chưa xác định được. Như vậy, cấu trúc hóa học của **VG2** được xác định là một hợp chất mới như ở (Hình 3.52) và được đặt tên là Vernogratiside B.



Hình 3. 53. Tương tác NOESY chính của VG2



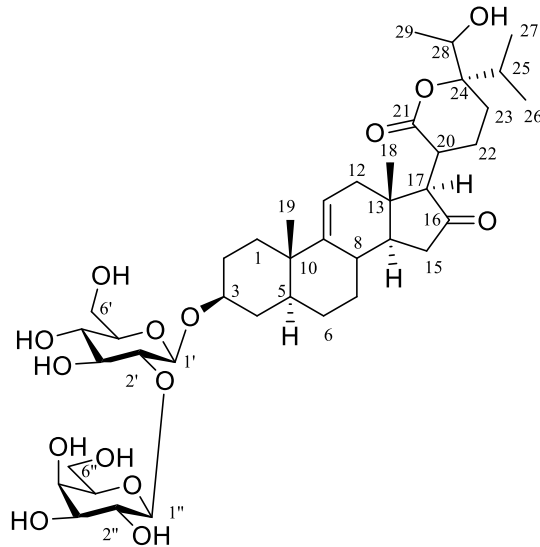
Hình 3. 54. Phổ CD của VG2 và Verocuminoside H

Bảng 3. 19. Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR của VG2 và chất tham khảo

C	# $\delta^a_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{a,b}$	a,c $\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J =$	C	# $\delta^a_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{a,b}$	a,c $\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J =$ Hz)
1	36,0	36,0	1,36 (m)/ 2,00 (m)	21	178,4	178,4	-
2	30,6	30,6	1,60 (m)/ 2,02 (m)	22	23,7	23,7	1,84 (m)/ 2,10 (m)
3	79,9	80,0	3,72 (m)	23	23,0	23,0	1,85 (m)/ 2,05 (m)
4	35,1	35,1	1,39 (m)/ 1,90 (m)	24	91,1	91,1	-
5	40,6	40,6	1,40 (m)	25	36,2	36,2	1,85 (m)
6	31,0	31,0	1,95 (m)	26	17,2	17,2	1,00 (d; 7,0)
7	121,6	121,6	5,43 (s)	27	17,6	17,6	1,03 (d; 7,0)
8	137,3	137,3	-	28	71,8	71,8	3,95 (d; 6,5)
9	145,4	145,4	-	29	17,9	17,9	1,19 (d; 6,5)
10	37,1	37,1	-	1'	101,4	101,4	4,56 (d; 7,5)
11	119,5	119,5	5,52 (s)	2'	83,7	83,7	3,42 (dd; 9,0; 8,0)
12	41,2	41,2	2,02 (m)/ 2,24 (m)	3'	77,7	77,7	3,29 (m)
13	43,6	43,6	-	4'	71,5	71,5	3,34 (m)
14	52,6	52,6	2,23 (m)	5'	77,7	77,7	3,58 (m)
15	23,7	23,7	1,14 (m)/ 1,64 (m)	6'	62,7	62,7	3,68 (dd; 12,0; 5,5)
16	26,6	26,6	1,52 (m)/ 1,92 (m)	1''	106,2	106,2	4,51 (d; 8,0)
17	50,4	50,5	2,19 (m)	2''	73,5	73,5	3,64 (m)
18	12,3	12,3	0,63 (s)	3''	74,7	74,7	3,53 (m)
19	20,0	20,0	0,94 (s)	4''	70,0	70,0	3,88 (m)
20	41,7	41,8	2,57 (m)	5''	77,0	77,0	3,56 (m)
				6''	62,1	62,1	3,77 (m)

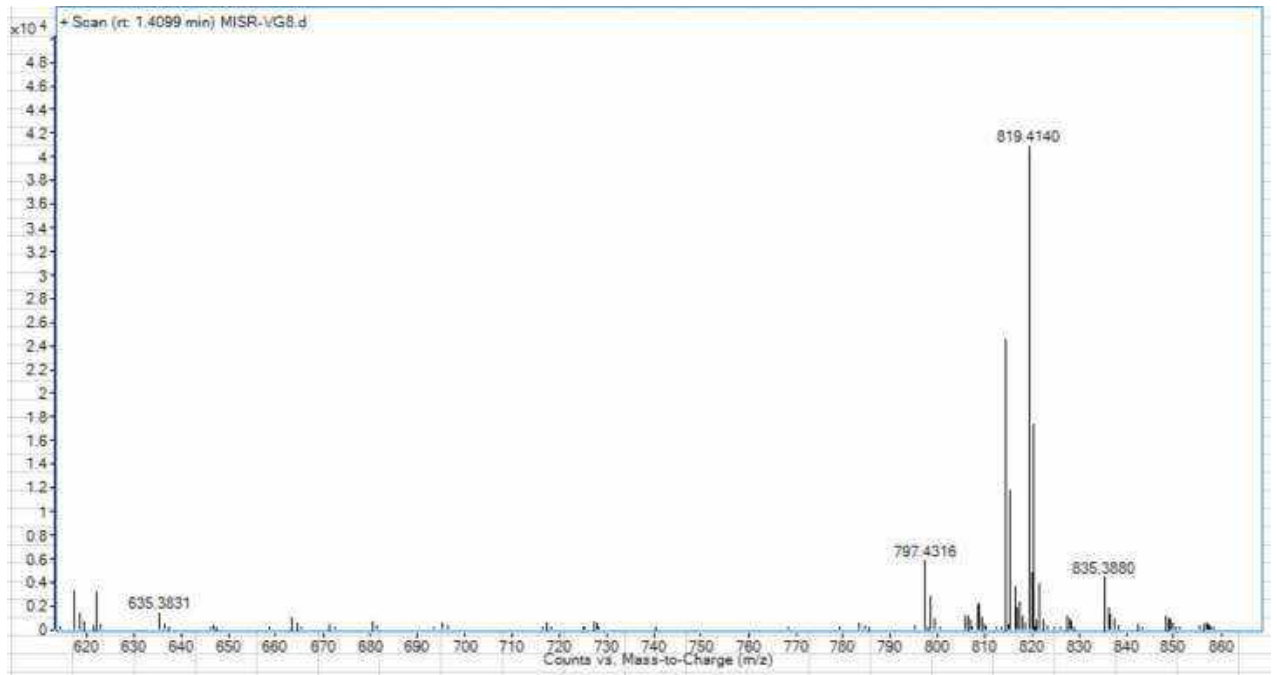
<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  chất tham khảo [67] \* tín hiệu bị chông lấp

### 3.2.1.3. Hợp chất VG3: Vernogratiside C

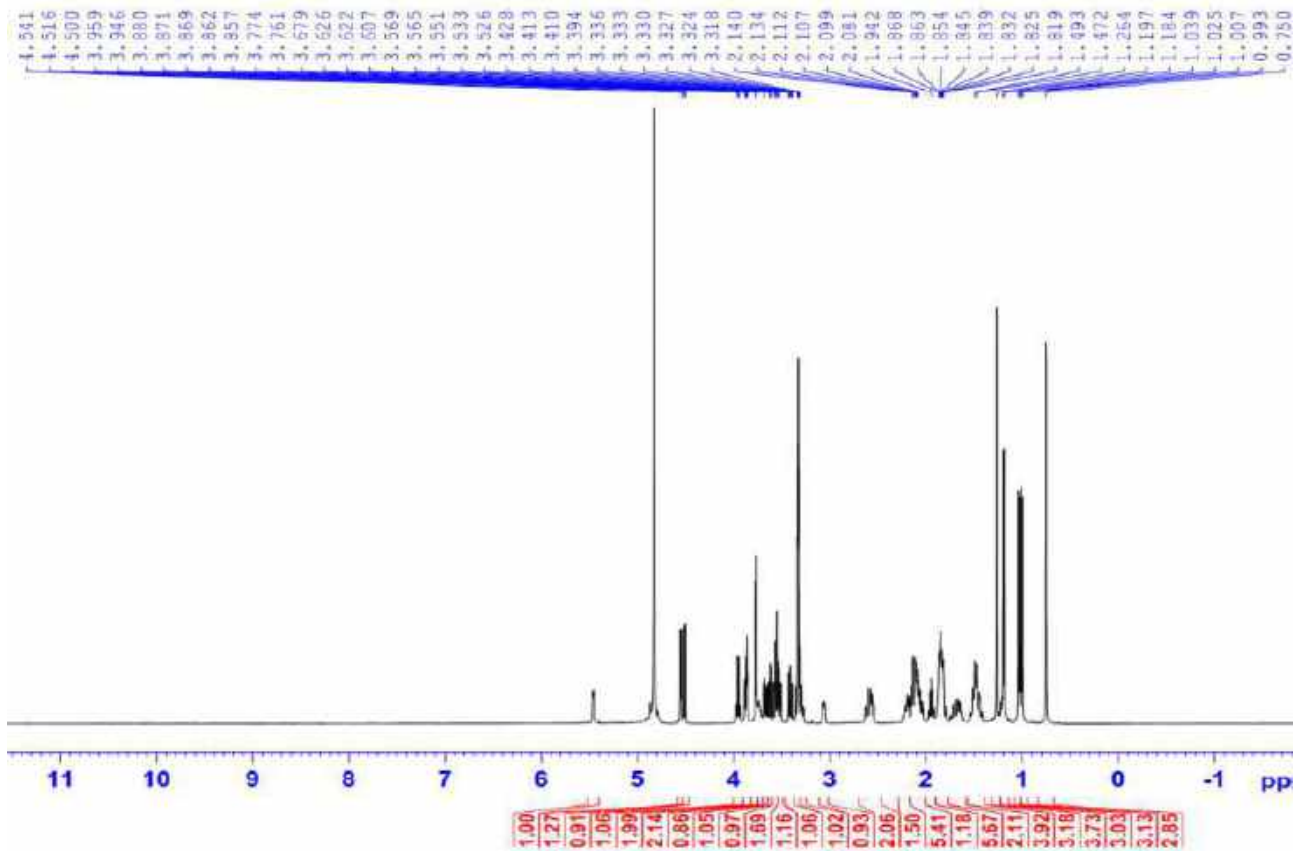


**Hình 3. 55.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG3**

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



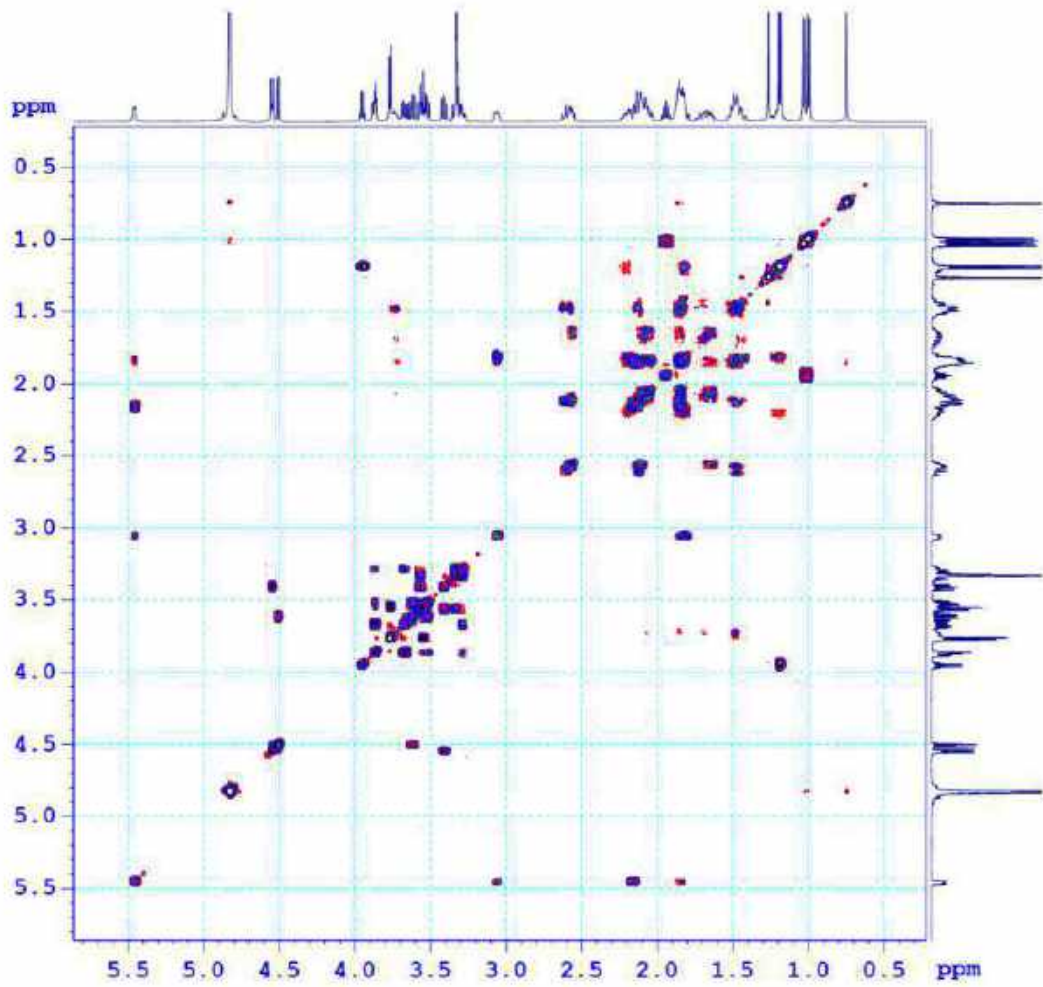
Hình 3. 56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG3



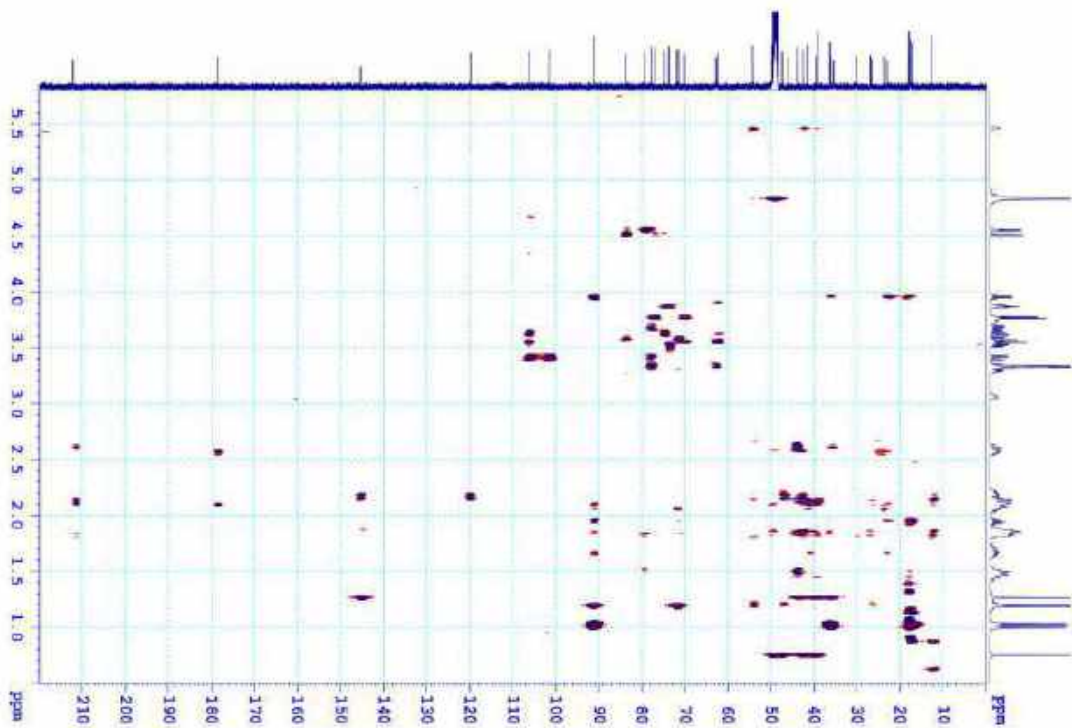
Hình 3. 57. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của VG3



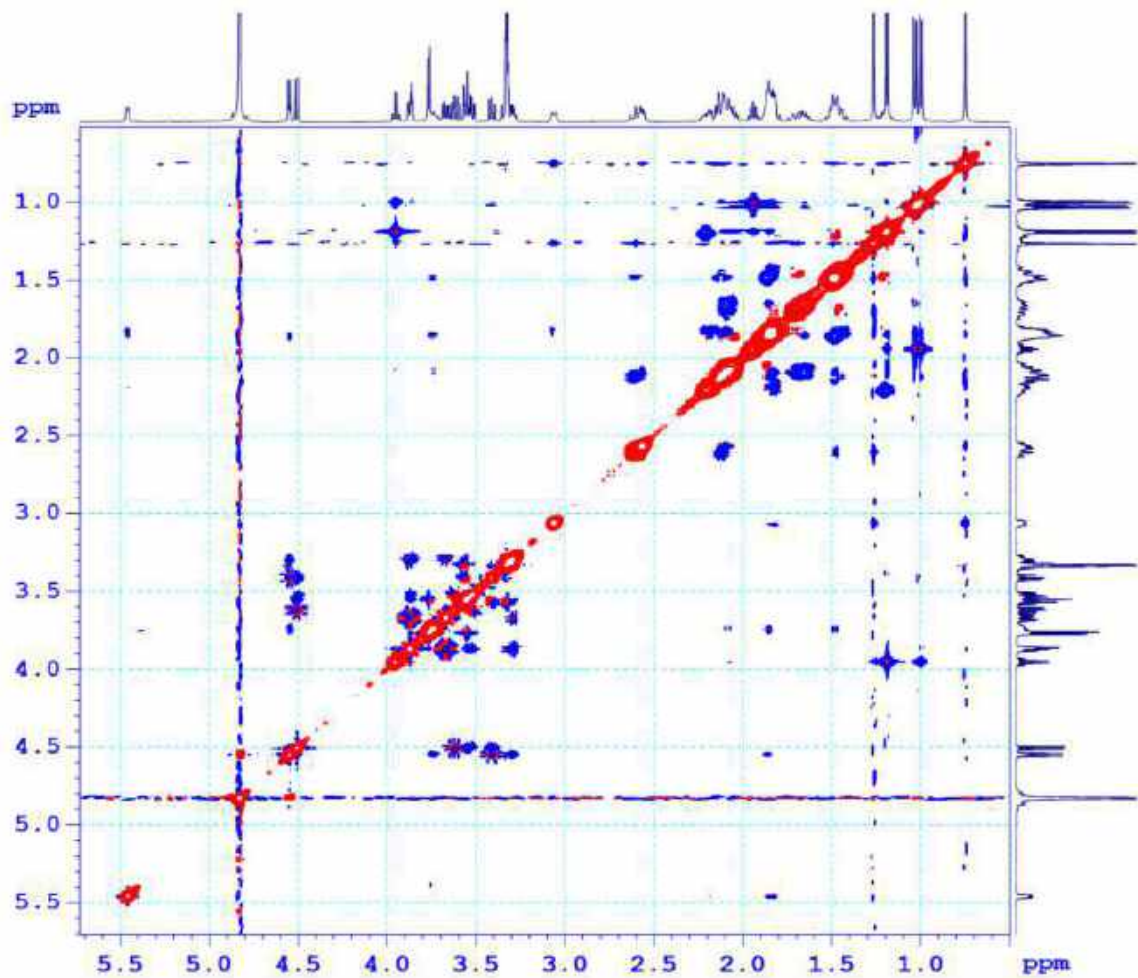




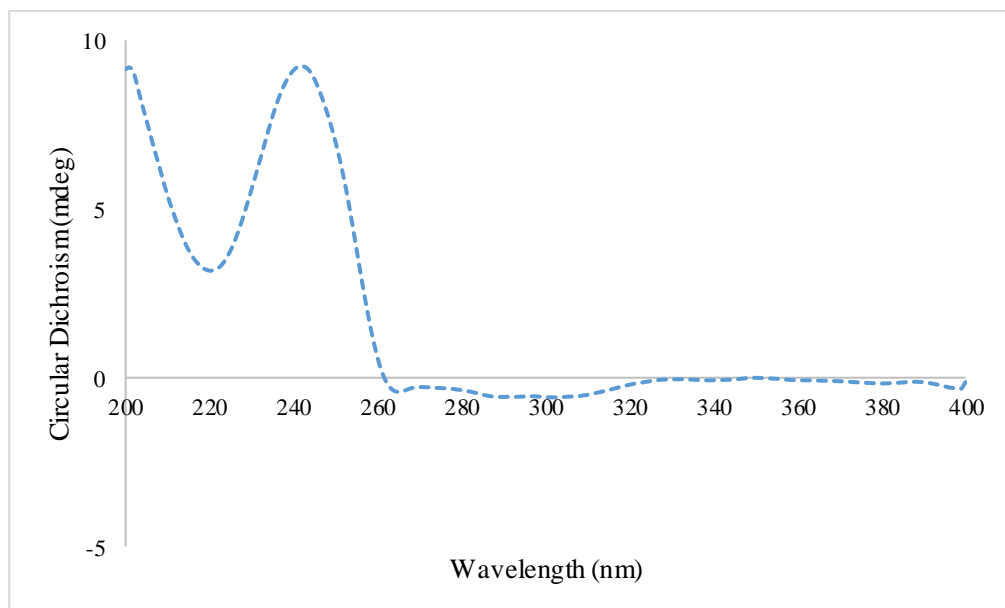
**Hình 3. 60.** Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY của VG3



**Hình 3. 61.** Phổ HMB của VG3



**Hình 3. 62.** Phổ NOESY của VG3



**Hình 3. 63.** Phổ ECD của VG3

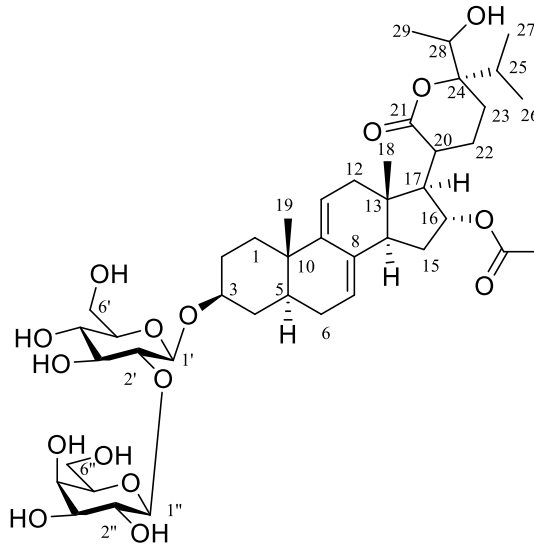
**Bảng 3. 20.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG3**, **VG2** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125 MHz, <sup>a</sup>500 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  Vernocuminoside I [67] đo trong CDCl<sub>3</sub>,

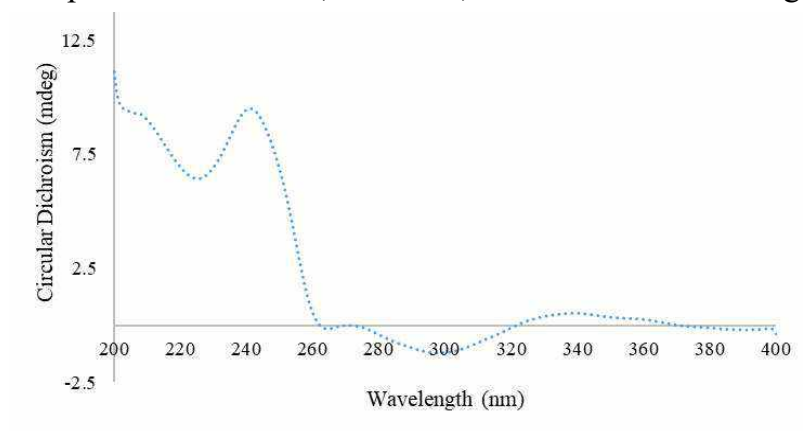
\* tín hiệu bị chồng lấp

### 3.2.1.4. Hợp chất VG4: Vernogratiside R



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

Hợp chất **VG4** phân lập được có dạng chất rắn, màu trắng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **VG4** xuất hiện pic ion phân tử chloro hóa tại  $m/z$  873,4033  $[M+Cl]^-$  tính toán lí thuyết cho công thức phân tử ( $C_{43}H_{66}O_{16}Cl$ : 873,4039). Từ đó cho phép xác định công thức phân tử  $C_{43}H_{66}O_{16}$ . Phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR (Bảng 3.22) của **VG4** và **VG2** cho thấy sự giống nhau về độ chuyển dịch hóa học, ngoại trừ **VG4** xuất hiện thêm một tín hiệu của một nhóm acetyl ( $OCOCH_3$ ) tại vị trí C-16 thay cho nhóm methylene trong **VG2** đã biết ở trên. Điều này được chứng minh bởi sự thay đổi độ chuyển dịch hóa học của C-16 từ  $\delta_C$  26,6 ở **VG2** đến  $\delta_C$  77,5 trong **VG4**. Bên cạnh đó, dữ liệu phổ  $^1H$  và  $^{13}C$ -NMR của **VG4** cũng tương đồng cao với hợp chất Vernocuminoside K [67], từ đó có thể xác định được cấu trúc phẳng của **VG4** tương tự như Vernocuminoside K đã được công bố trước đây. Dữ liệu phổ ECD của **VG4** và **VG2** xuất hiện các hiệu ứng Cotton giống hệt nhau như (Hình 3.67), cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của C-24 trong **VG4** là 24*S*. Như vậy, cấu trúc hóa học của **VG4** được xác định là một hợp chất mới như ở (Hình 3.64) và được đặt tên vernogratiside R.

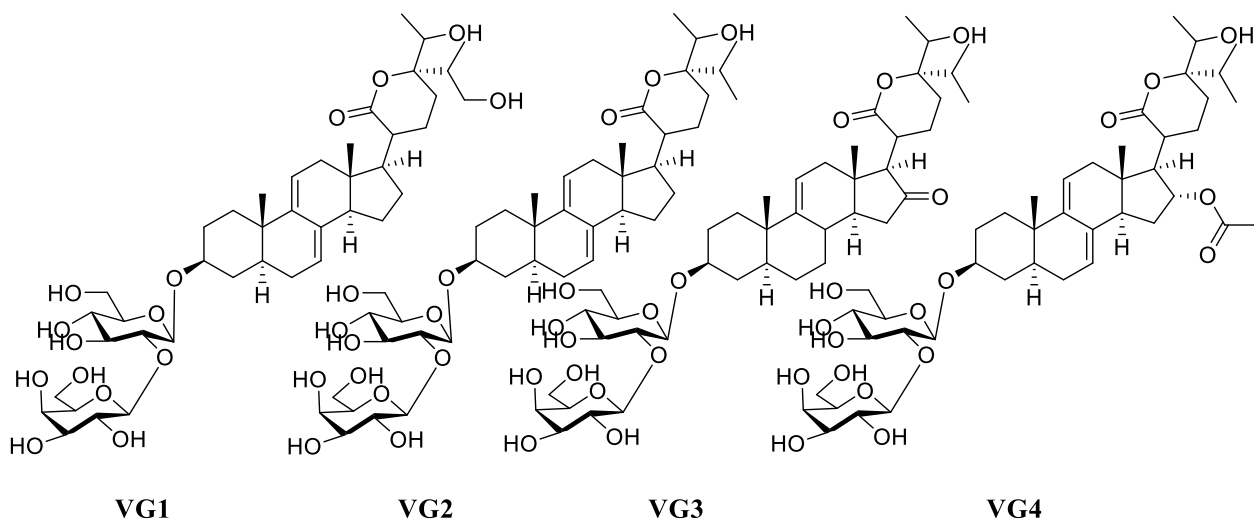


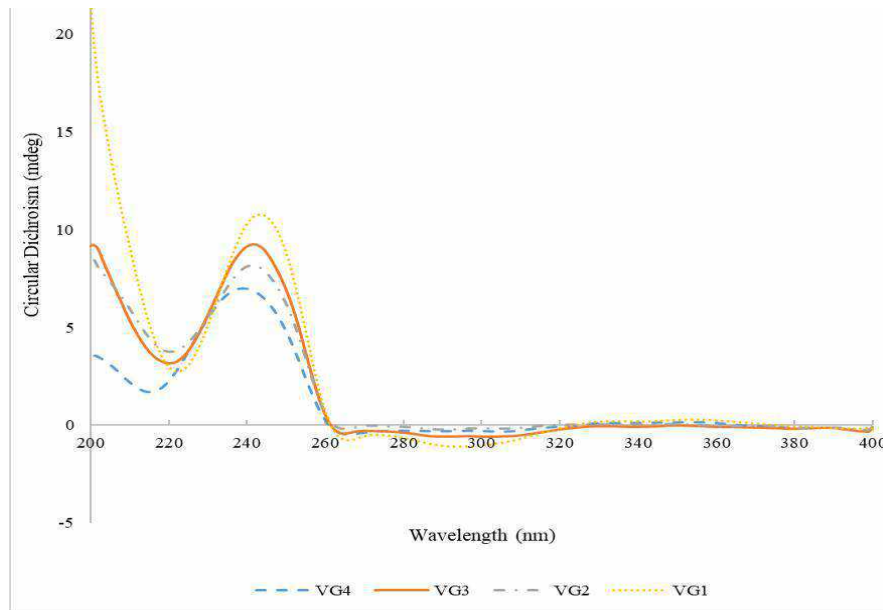
**Hình 3. 65.** Phổ CD của **VG4**

**Bảng 3. 21.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG4** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125MHz, <sup>c</sup> 500MHz, # $\delta_{\text{C}}$  vernocuminoside K [67] đo trong *pyridine - d*<sub>5</sub>

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



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

### 3.2.1.5. Hợp chất VG5; Vernogratioid S

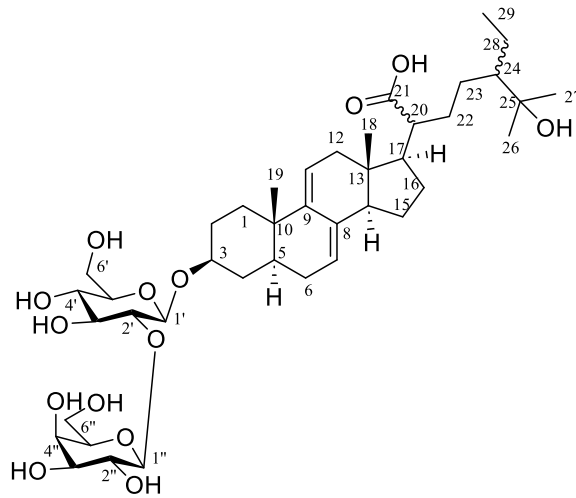
Hợp chất **VG5** thu được dưới dạng bột rắn màu vàng có công thức phân tử  $C_{41}H_{66}O_{14}$ , được xác định từ phổ khối HR-ESI-MS pic ion phân tử chloro hóa tại  $m/z$   $[M+Cl]^-$  817,4067 (tính toán lý thuyết cho  $C_{41}H_{66}ClO_{14}^-$ ). Dữ liệu  $^1H$  và  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.23) của **VG5**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

nhỏ. Từ các dữ liệu phân tích trên cho thấy **VG5** là một hợp chất mới và được đặt tên là Vernogratoside S (Hình 3.68).

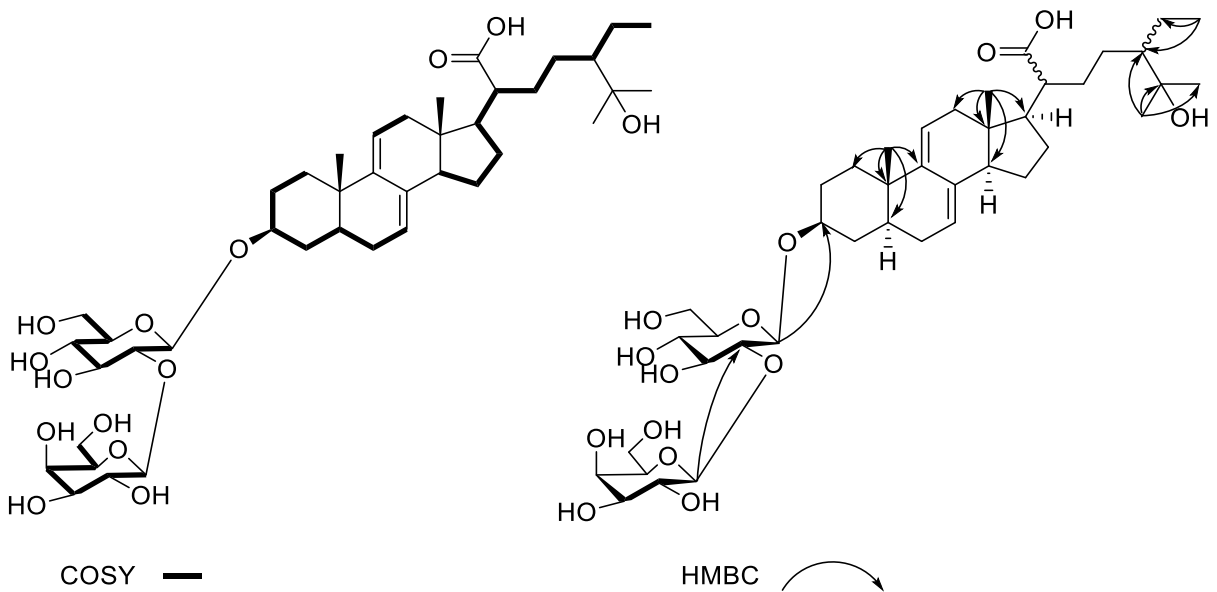
**Bảng 3. 22.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG5** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, # $\delta_{\text{C}}$  Vernocuminoside I [67], \*tín hiệu bị chồng lấp

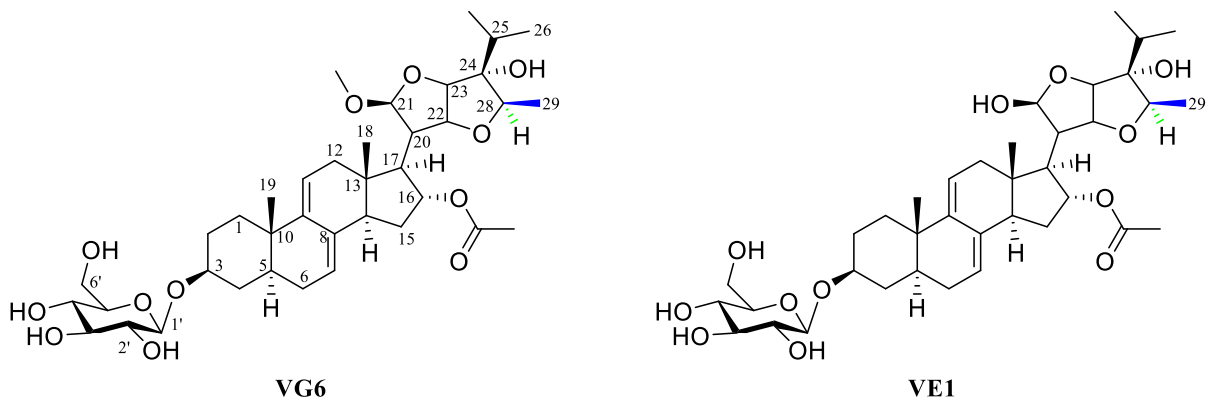


**Hình 3. 68.** Cấu trúc hóa học của hợp chất **VG5**



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

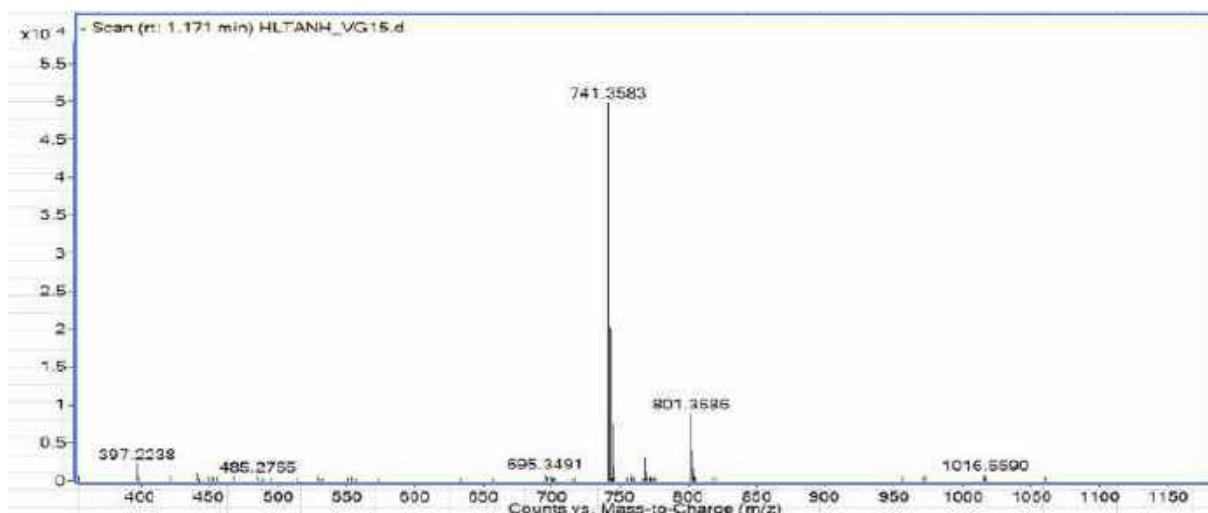
### 3.2.1.6. Hợp chất **VG6**: Vernoratoside A



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

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





**Hình 3. 71.** Phổ HR-ESI-MS của **VG6**

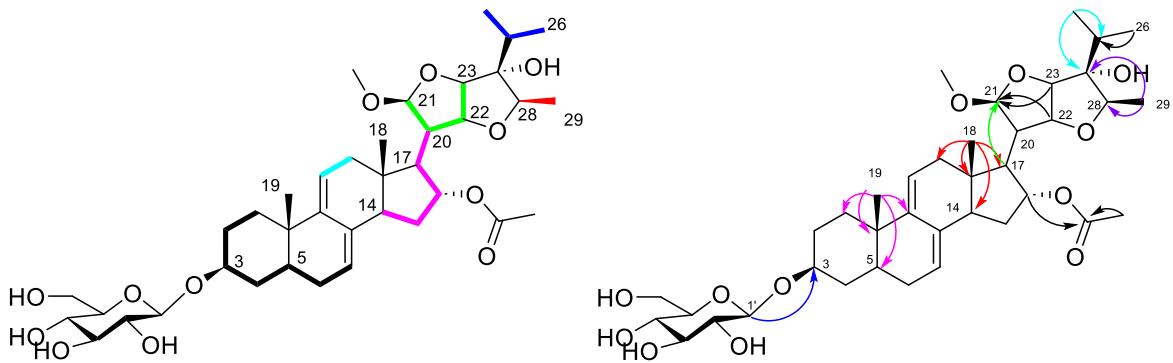
Phổ 1D-NMR (Bảng 3.24) của **VG6** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho khung saponin steroid với tín hiệu của hai nhóm *tert*-methyl ở  $\delta_H$  0,65 (3H, s, H-18); 0,94 (3H, s, H-19), ba nhóm methhyl doublet ở  $\delta_H$  0,97 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-26); 1,03 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-27) và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

**Bảng 3. 23.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG6** và chất tham khảo

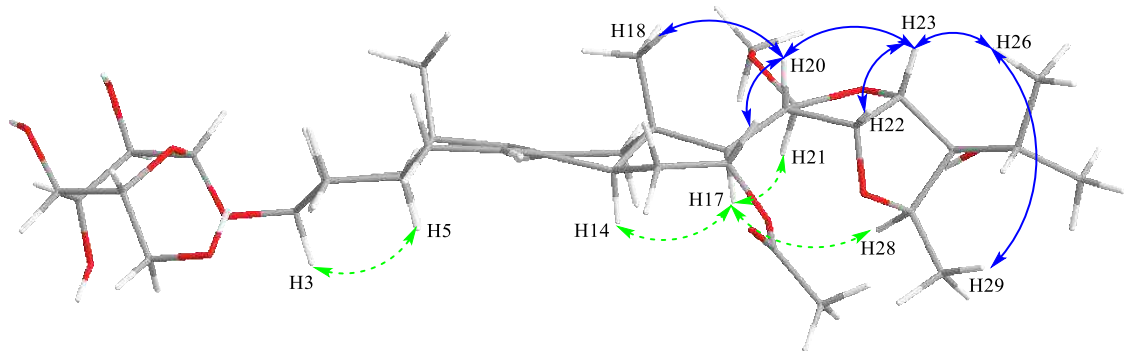
C	VE1 $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,3	36,0	1,38 (m)/ 2,02* (m)
2	30,5	30,6	1,73 (m)/ 2,00* (m)
3	79,0	78,9	3,73 (m)
4	34,8	35,0	1,35 (m)/ 1,90 (m)
5	39,5	40,5	1,43 (m)
6	32,2	31,0	1,94 (m)
7	122,0	122,3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

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125 MHz, <sup>a</sup>500 MHz, <sup>#</sup> $\delta_{\text{C}}$  VE1 [67] đo trong *pyridine-d*<sub>5</sub>, \* tín hiệu bị chồng lấp.

Cấu hình tương đối của các carbon bất đối trong mạch nhánh của **VG6** được thiết lập dựa trên phổ NOESY. Tín hiệu phổ NOESY của **VG6** cho thấy tương tác của H-20/H-18, H-22/H-20, H-23/H-20, H-26/H23 và H-29/H-26 chỉ ra rằng H-20, H-22, H-23 và H-29 đều có cấu hình  $\beta$ . Ngoài ra, phổ NOESY cũng thể hiện tương tác giữa H-16/H-18 cho thấy nhóm acetyl tại vị trí C-16 là nhóm  $\alpha$ . Trên phổ NOESY cũng thể hiện tương tác giữa H-3 và H-5, giữa H-14 và H-17 điều đó cho phép xác định cấu hình  $\alpha$  của các proton này (Hình 3.73). Ngoài ra, so sánh giá trị của hằng số ghép cặp của proton H-21 ( $J = 6,5$  Hz) có sự tương đồng so với hợp chất VE-1-Ac ( $J = 6,6$  Hz), điều này cho phép xác định cấu hình của H-21 là  $\beta$ . Cấu hình  $\beta$  của đường cũng được xác định dựa trên hằng số ghép cặp lớn của H-1' và H-2'. Bằng phương pháp thủy phân kết hợp so sánh với đường chuẩn, cấu hình tuyệt đối của đường được xác định là D-glucose sử dụng hệ dung môi TLC: EtOAc–isopropanol–acetone–H<sub>2</sub>O: 20–10–7–6,  $R_f$  0,30,  $[\alpha]_D^{25} +50,1$  (c 0,05; H<sub>2</sub>O). Vị trí của đơn vị đường  $\beta$ -D-glucose liên kết tại C-3 của aglycone được xác định thông qua tương tác trên phổ HMBC giữa proton anomeric H-1' ( $\delta_H$  4,42) và C-3 ( $\delta_C$  78,9). Từ các dữ liệu trên, cấu trúc của **VG6** được xác định là 16 $\alpha$ -acetoxy-21 $\beta$ -methoxy-24 $\alpha$ -hydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-7(8),9(11)-dien-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và được đặt tên là vernoratosides A.

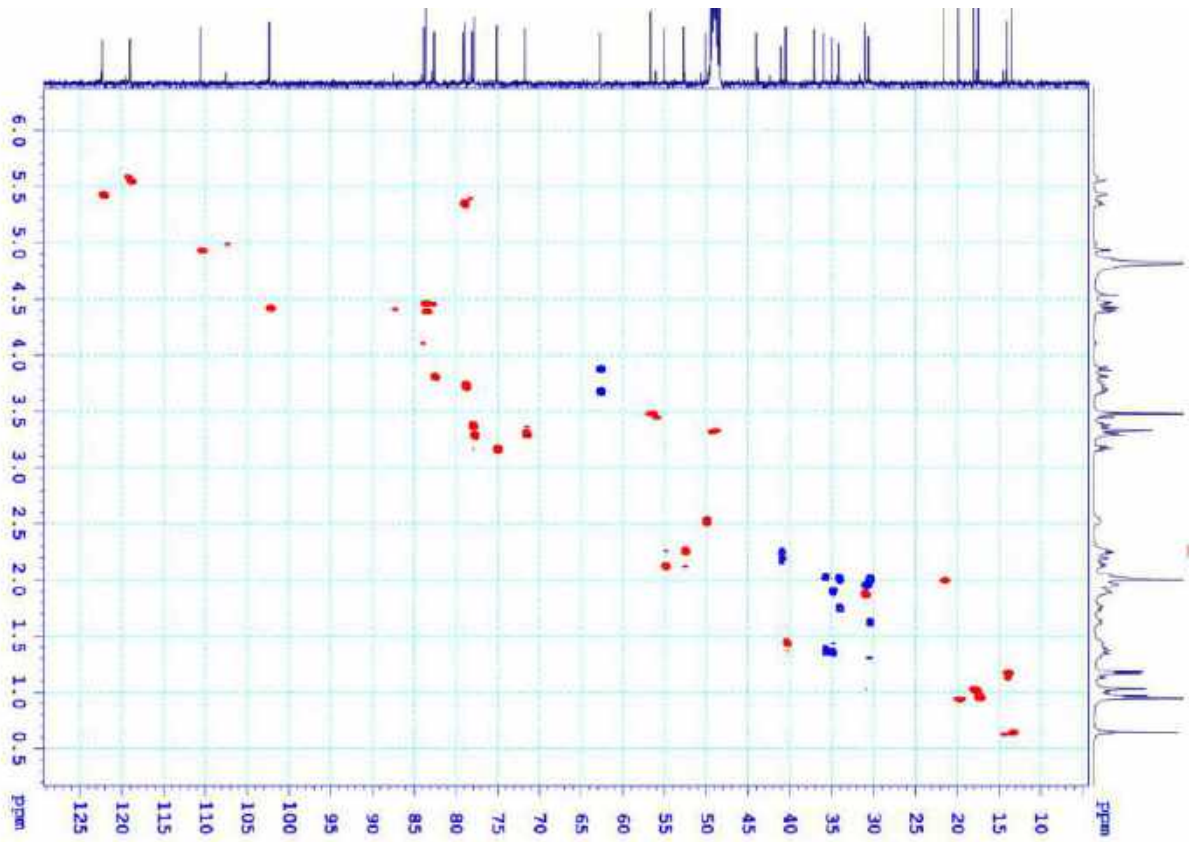


**Hình 3. 72.** Tương tác COSY và HMBC của **VG6**

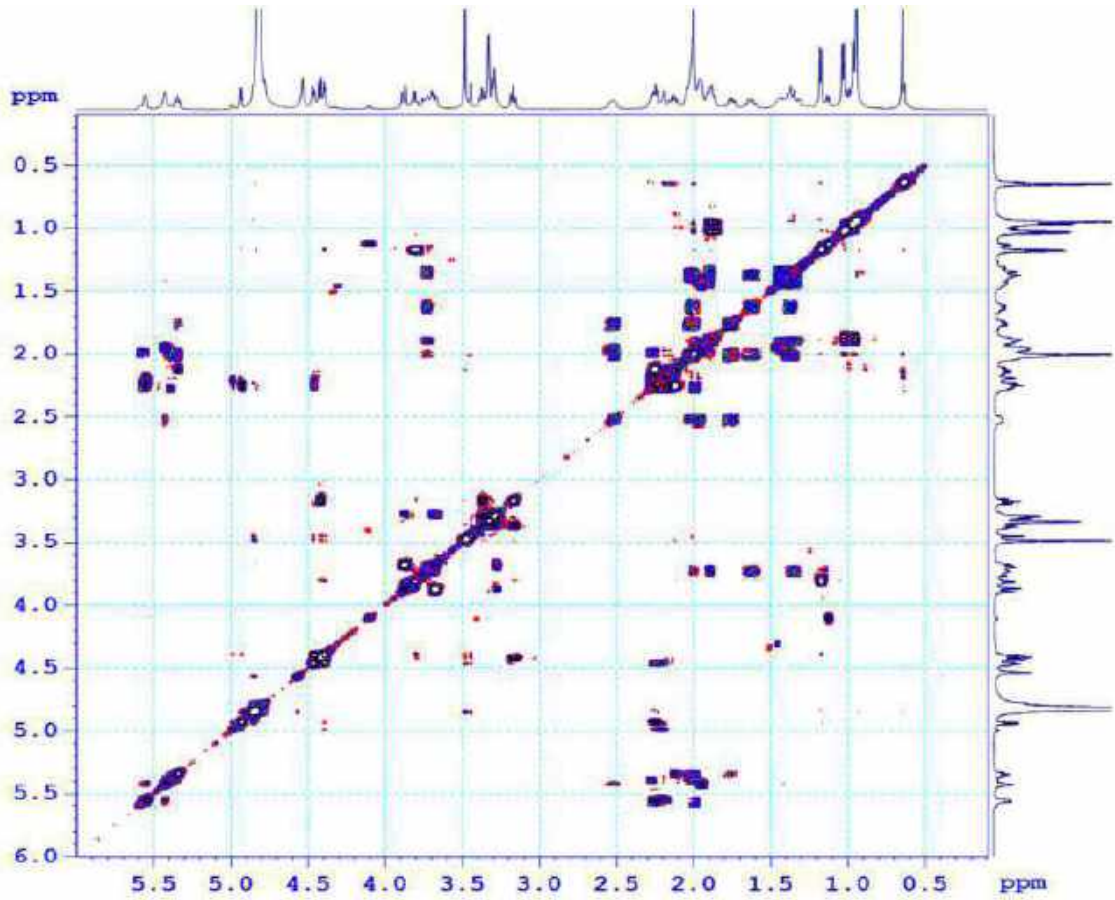


**Hình 3. 73.** Tương tác phổ NOESY của **VG6**

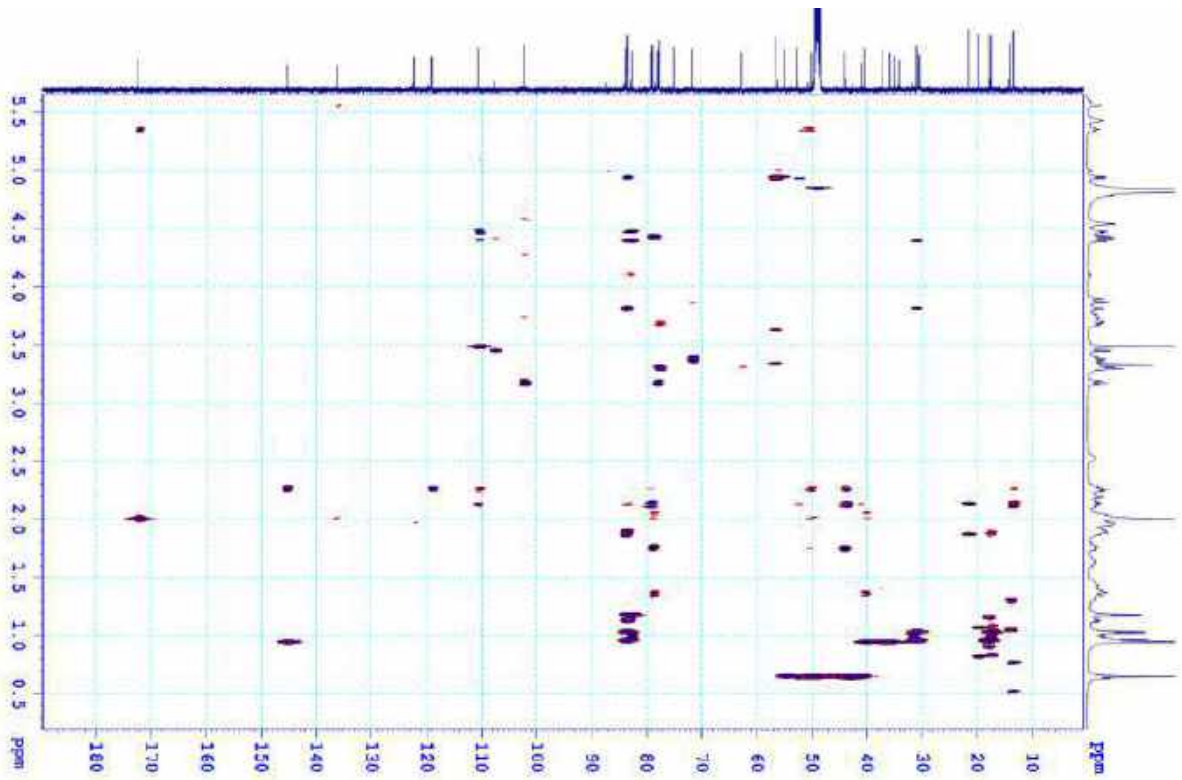




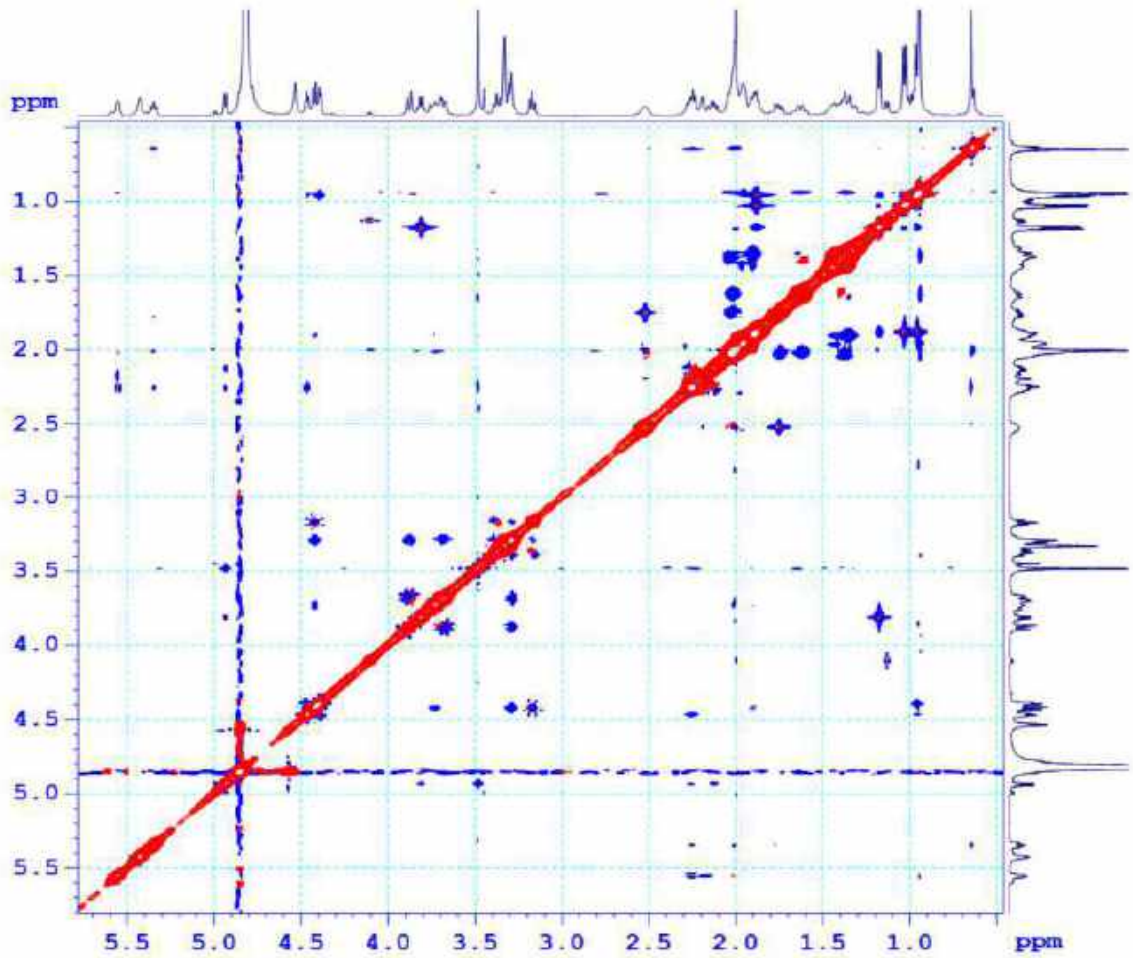
**Hình 3. 76.** Phổ HSQC của VG6



**Hình 3. 77.** Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY của VG6

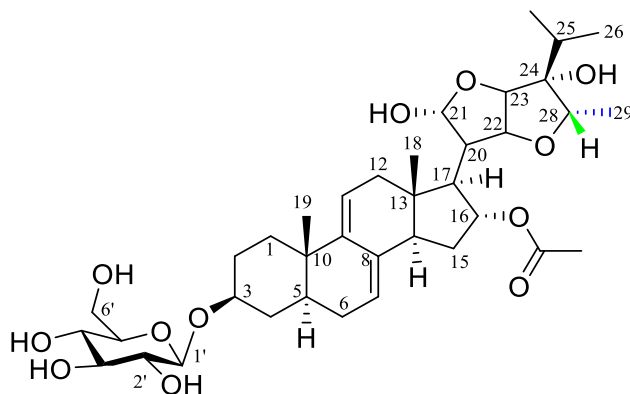


**Hình 3. 78.** Phổ HMBC của VG6



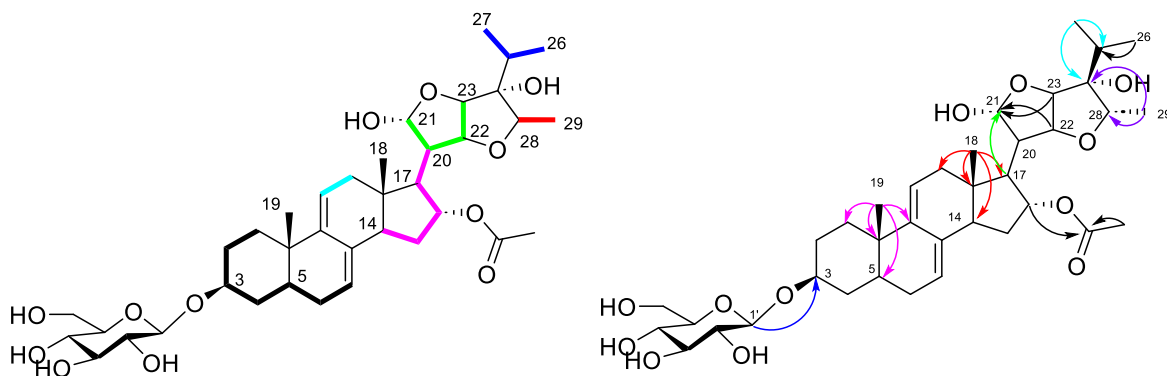
**Hình 3. 79.** Phổ NOESY của VG6

### 3.2.1.7. Hợp chất VG7: Vernoratoside B



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

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



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

**Bảng 3. 24.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG7** và **VG6**

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

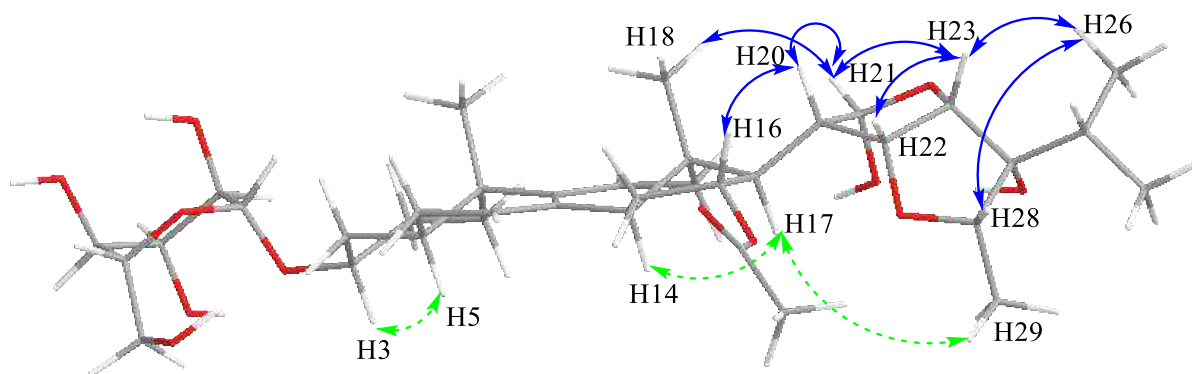
<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, #  $\delta_{\text{C}}$  -**VG6**, \* tín hiệu bị chồng lấp

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



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

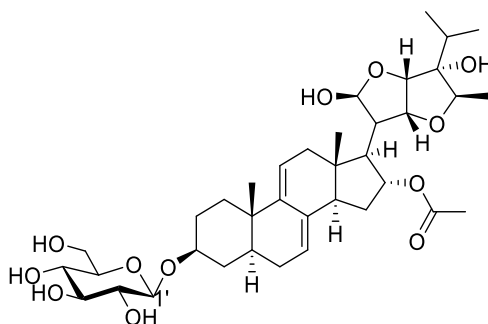
Bên cạnh đó, cấu hình  $\alpha$  của **H-21** trong **VG7** được xác định dựa trên hằng số ghép (giá trị  $J$ ) của H-21 ở **VG7** [ $\delta_H$  5,54 (br s)] khi so sánh với giá trị  $J$  của **VG6** [ $\delta_H$  4,93 (d,  $J = 6,5$  Hz)]. Ngoài ra, cấu hình tương đối của các trung tâm bất đối khác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



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

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

#### 3.2.2.1. Hợp chất **VG8**: **VE-1**



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

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

Hz, H-26); 1,00 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-27); 1,12 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, H-29), và một anomeric proton tại  $\delta_{\text{H}} 4,43$  (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'). Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR cho thấy tín hiệu của 37 carbon, bao gồm 31 tín hiệu của aglycone và sáu tín hiệu của một đơn vị đường (Bảng 3.26). So sánh dữ liệu của **VG8** và **VE-1** [68] nhận thấy sự trùng khớp hoàn toàn, do đó, **VG8** được xác định là **VE-1** (Hình 3.83).

**Bảng 3. 25.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG8** và hợp chất VE-1

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz. # $\delta_{\text{C}}$  VE-1 [68]

3.2.2.2. *Hợp chất VG9: Vernoniacum B***Bảng 3. 26.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG9** và chất tham khảo

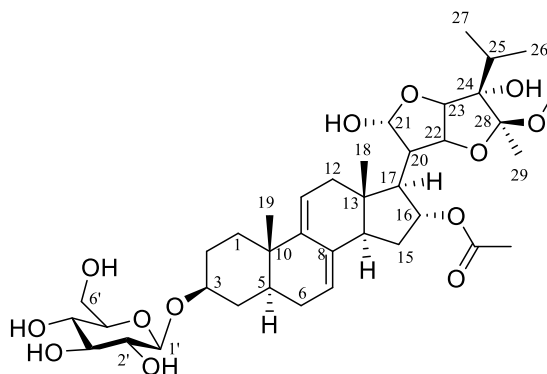
C	# $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	35,3	35,4	1,35 (m)/ 2,01 (m)
2	30,5	30,6	1,53 (m)/ 1,99 (m)
3	77,4	78,9	3,53 (m)
4	38,4	35,0	1,33 (m)/ 1,88 (m)
5	39,5	40,5	1,41 (m)
6	30,5	31,0	1,31 (m)/1,95 (m)
7	122,1	122,4	5,44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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz. # $\delta_{\text{C}}$  vernoniacum B [43], \* tín hiệu bị chồng

lấp

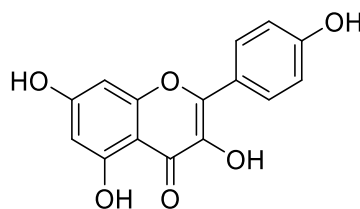
Hợp chất **VG9** phân lập được dưới dạng bột màu trắng. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **VG9** hiển thị các tín hiệu của hai nhóm methyl ở  $\delta_{\text{H}}$  0,64 (3H, s, H-18) và 0,94 (3H, s, H-19), hai tín hiệu proton olefinic ở  $\delta_{\text{H}}$  5,44 (2H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-7, H-21) và 5,57 (1H,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

5,5 Hz, H-11) và một proton anomeric ở  $\delta_{\text{H}}$  4,42 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, Glc-1'), tương ứng với khung  $\Delta^{7,9(11)}$  stigmastane steroid glycoside. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (Bảng 3.27) của **VG9** hiển thị 38 tín hiệu carbon của một đường, năm nhóm methyl [ $(\delta_{\text{C}}$  14,5 (C-18); 19,8 (C-19); 17,5 (C-26); 18,2 (C-27) và 17,4 (C-29)], một nhóm acetyl tại C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  22,2; 170,9), một nhóm methoxy ( $\delta_{\text{C}}$  51,6), hai liên kết đôi ( $\delta_{\text{C}}$  122,4 (C-7); 136,3 (C-8); 145,0 (C-9); 119,6 (C-11) và 20 nguyên tử carbon khác. Từ những phân tích dữ liệu phổ 1D-NMR của hợp chất **VG9** kết hợp với tài liệu tham khảo [43], ta thấy dữ liệu phổ thể hiện độ tương đồng cao từ đó cấu trúc của hợp chất **VG9** được xác định là vernoniacum B (Hình 3.84).



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

### 3.2.2.3. Hợp chất **VG 10**: *Kaempferol*



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

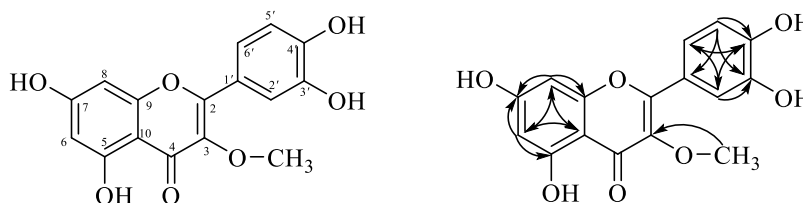
Hợp chất **VG10** phân lập được có dạng bột rắn màu vàng. Tín hiệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG10** (Bảng 3.28) cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một hợp chất flavonoid điển hình. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **VG10** cho thấy sự xuất hiện các cặp doublet của 04 proton thơm có hệ tương tác spin AA'BB' ở  $\delta_{\text{H}}$  8,04 (H-2' và H-6') và 6,93 (H-3' và H-5') cho thấy vòng B có nhóm thế ở C-4'. Hai proton doublet ở  $\delta_{\text{H}}$  6,19 (H-6) và 6,44 (H-8) có cùng hằng số tương tác ( $J = 1,8$  Hz) chứng tỏ vòng A có hai nhóm thế ở vị trí meta với nhau. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG10** xuất hiện tín hiệu của 15 carbon, bao gồm 06 carbon methine và 09 carbon bậc 4 trong đó có 01 nhóm carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  176,0 (C-4). Từ dữ liệu phân tích ở trên và so sánh với số liệu phổ của kaempferol đã công bố trước đây cho thấy phổ của chúng hoàn toàn phù hợp với các vị trí tương ứng [69]. Do đó, **VG10** được xác định là kaempferol (Hình 3.85).

**Bảng 3. 27.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG10** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> DMSO, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz. # $\delta_{\text{C}}$  kaempferol [69], pyridine –  $d_5$

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



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

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

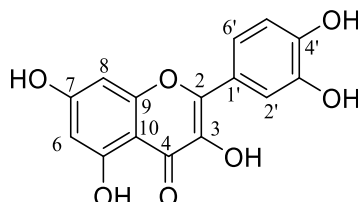
báo cáo trước đây trong tài liệu [70]. Vì vậy, **VG11** được xác định là quercetin 3-*O*-methyl ether (Hình 3.86).

**Bảng 3. 28.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG11** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz. <sup>#</sup> $\delta_{\text{C}}$  quercetine-3-methyl ether trong (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO-*d*<sub>6</sub> [71]

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



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

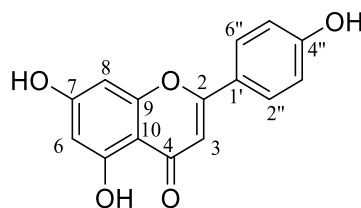
**Bảng 3. 29.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$  NMR của **VG12** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup>DMSO, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz. <sup>#</sup> $\delta_{\text{C}}$  quercetin [70]

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **VG12** cho thấy các tín hiệu của 03 proton thơm có hệ tương tác spin ABX ở  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (1H; d;  $J = 8,5$  Hz; H-5'); 7,55 (1H; dd;  $J = 8,5; 2,0$  Hz; H-6') và 7,67 (1H; d; 2,0 H-2') cho thấy vòng B có nhóm thế ở vị trí C-3' và C-4'. Hai proton ở vị trí meta với nhau được thể hiện ở sự có mặt của hai tín hiệu  $\delta_{\text{H}}$  6,20 (1H; s; H-6) và  $\delta_{\text{H}}$  6,40 (1H; s; H-8). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **VG12** kết hợp với phổ DEPT cho thấy **VG12** có 15 tín hiệu của tổng số 15 carbon ứng với số carbon của khung flavonoid gồm: 1 carbon carbonyl ở  $\delta_{\text{C}}$  175,9 (C-4); 7 carbon bậc 4 của vòng thơm mang oxygen ở các  $\delta_{\text{C}}$  146,8 (C-2); 135,8 (C-3); 160,8 (C-5); 163,9 (C-7); 156,2 (C-9); 145,1 (C-3') và 147,6 (C-4'); 2 carbon bậc 4 vòng thơm không mang oxygen ở  $\delta_{\text{C}}$  103,1 (C-10); 122,0 (C-1'); 5 carbon methine vòng thơm tại 93,4 (C-8); 98,2 (C-6); 115,1 (C-2'); 115,6 (C-5') và 120,1 (C-6'). Từ các dữ liệu phổ đã phân tích kết hợp so sánh với việc so sánh các dữ liệu phổ NMR của Quercetin [70] ta xác định được **VG12** là Quercetin (Hình 3.87).

### 3.2.2.6. Hợp chất VG13: Hợp chất Apigenin



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

**Bảng 3. 30.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H-}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR của VG13 và chất tham khảo

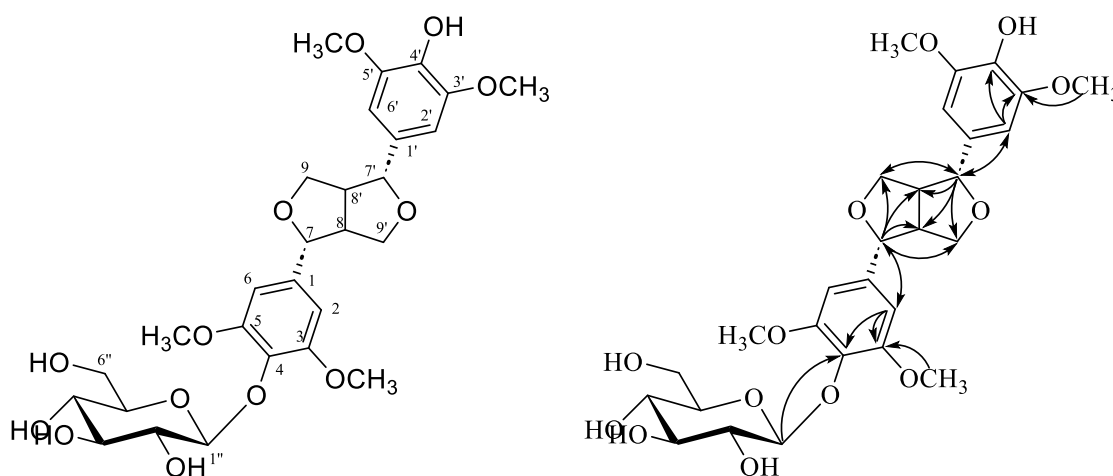
C	$\#,\text{a}\delta_{\text{C}}$	$\text{a,b}\delta_{\text{C}}$	$\text{a,c}\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	163,93	166,1	-
3	103,06	103,9	6,61 (s)
4	181,94	183,9	-
5	161,69	163,2	-
6	99,07	100,2	6,23 (d; 1,5)
7	164,34	166,3	-
8	94,18	95,1	6,47 (d; 1,5)
9	157,48	159,5	-
10	103,94	105,3	-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

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, <sup>#</sup> $\delta_{\text{C}}$  Apigenin [72]

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

xuất hiện 15 tín hiệu carbon trong đó có 1 carbonyl carbon ở  $\delta_C$  183,9 (C-4), 6 carbonate thơm được oxy hóa tại  $\delta_C$  166,1 (C-2), 163,2 (C-5), 166,3 (C-7), 159,5 (C-9), và 162,8 (C-4'), hai nguyên tử carbon thơm bậc bốn, và bảy methine carbon, Các phân tích trên cho thấy tính hiệu đặc trưng của một hợp chất flavone và được chứng minh là apigenin khi kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [72] (Hình 3.88).

### 3.2.2.7. Hợp chất VG14: Syringaresinol-4- $\beta$ -D-glucoside



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

Hợp chất **VG14** thu được ở dạng rắn, màu trắng. Tín hiệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG14** cho thấy đặc trưng của khung dihydrofuran lignan glycoside. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **VG14** cho thấy sự hiện diện của bốn proton thơm ở  $\delta_H$  6,74 (2H, s, H-2, H-6); 6,67 (2H, s, H-2', H-6') cùng với hai methine proton ở  $\delta_H$  3,16 (2H, m, H-8, H-8'), hai nhóm oxymethylene ở  $\delta_H$  3,94 (1H, m, H-9a); 4,31 (1H, m, H-9b); 3,94 (1H, m, H-9'a); 4,31 (1H, m, H-9'b), và bốn nhóm methoxy ở  $\delta_H$  3,88 (6H, s, 3-, 5-OCH<sub>3</sub>); 3,86 (6H, s, 3', 5'-OCH<sub>3</sub>) và hai nhóm oxymethine ở  $\delta_H$  4,79 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-7) và 4,74 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-7'). Ngoài ra, một proton anomeric ở  $\delta_H$  4,88 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-1'') với hằng số ghép lớn ( $J = 7,5$  Hz) cũng được quan sát thấy trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR, cho thấy sự hiện diện của đường  $\beta$ -glucopyranosyl. Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG14** cũng cho thấy sự xuất hiện các tín hiệu của 28 carbon, bao gồm 12 carbon thơm, hai oxymethylene carbon, bốn methine carbon và sáu carbon của phần đường. Dựa trên những bằng chứng phân tích trên kết hợp với tài liệu tham khảo [73], **VG14** được xác định là syringaresinol-4- $\beta$ -D-glucoside (Hình 3.89).

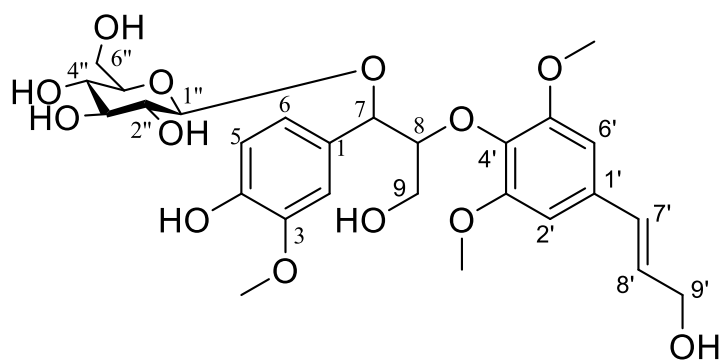


**Bảng 3. 31.** Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **VG14** và chất tham khảo

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

<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup> 125 MHz, <sup>c</sup> 500 MHz, # $\delta_C$  syringaresinol- $\beta$ -D-glucoside [73].

### 3.2.2.8. Hợp chất **VG15**: *Threo-guaiacylglycerol-8-O-4'-sinapylete-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside*



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

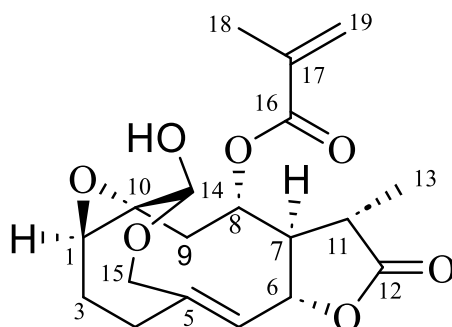
Hợp chất **VG15** được phân lập dưới dạng bột vô định hình. Dữ liệu  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG15** chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của khung 8-*O*-4'-neolignan glycoside. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **VG15** hiển thị tín hiệu của vòng benzen thế ở vị trí 1,3,4 [ $\delta_{\text{H}}$  7,11 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-2); 6,95 (1H, dd,  $J = 9,0; 2,0$  Hz; H-6); 6,78 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz, H-5), vòng benzen thế 1,3,4,5 ở  $\delta_{\text{H}}$  6,79 (2H, s, H-2', H-6'), một nối đôi dạng *trans* ở  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (1H, dt,  $J = 16,0; 5,5$  Hz, H-8') và 6,58 (1H, br d,  $J = 5,5$  Hz, H-7'), hai oxymethine ở  $\delta_{\text{H}}$  4,33 (1H, m, H-8) và 5,16 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-7), hai oxymethylene ở  $\delta_{\text{H}}$  3,76 (1H, dd,  $J = 11,4; 3,0$  Hz, H-6''); 3,62 (1H, m, H-6'') và 4,25 (2H, dd,  $J = 6,6; 2,0$  Hz, H-9) và ba nhóm methoxy ở  $\delta_{\text{H}}$  3,89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>); 3,90 (6H, s, 3', 5'-OCH<sub>3</sub>). Ngoài ra, một phân tử glucopyranosyl cũng được gợi ý từ tín hiệu của proton anomeric ở  $\delta_{\text{H}}$  4,61 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-1'') trong phổ  $^1\text{H}$ -NMR cùng với các tín hiệu đặc trưng ở  $\delta_{\text{C}}$  105,2 (C-1''); 78,0 (C-5''); 77,8 (C-3''); 75,6 (C-2'') và 62,5 (C-6'') trên phổ  $^{13}\text{C}$  NMR. Hơn nữa, hằng số ghép cặp lớn  $J = 7,5$  Hz của proton anomeric cho phép xác định cấu hình  $\beta$  của glucopyranosyl. Vị trí của đường này tại C-7 được xác định dựa trên tương tác HMBC của H-1'' và C-7. Cấu hình *threo* của **VG15** được xác định bằng  $J_{7,8}$  (6,5 Hz) trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **VG15**. Bằng cách so sánh dữ liệu NMR của **VG15** với dữ liệu được báo cáo trong tài liệu [74], cấu trúc của **VG15** được xác định là 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(*E*)-propenyl)-2,6-dimethoxyphenoxy] propyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (Hình 3.90).

**Bảng 3. 32.** Dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR của số **VG15**

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

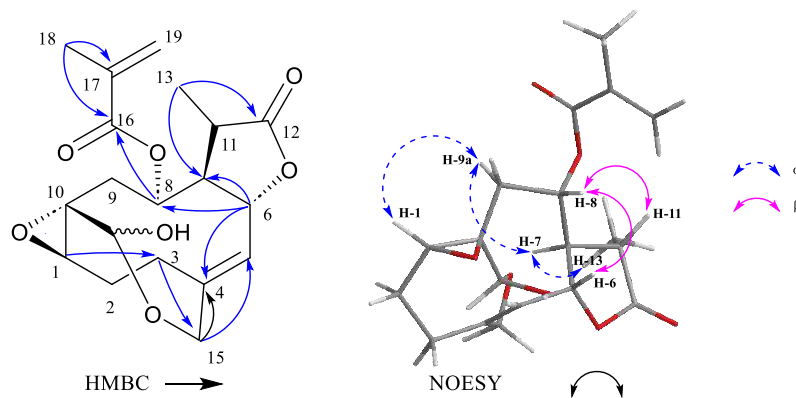
<sup>a</sup> CD<sub>3</sub>OD; <sup>b</sup> 500 MHz, <sup>c</sup> 125 MHz. \*) tín hiệu bị chồng lấp

### 3.2.2.9. Hợp chất VG16: 11 $\beta$ ,13-dihydroveranolide



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

Hợp chất **VG16** thu được dưới dạng tinh thể không màu. Phổ proton của **VG16** cho thấy sự xuất hiện của 3 proton olefinic ở  $\delta_{\text{H}}$  5,56 (1H, d,  $J = 10,2$  Hz, H-5); 5,71 (1H, br s, H-19) và 6,14 (1H, br s, H-19). Bên cạnh đó, bốn nhóm oxymethin ở  $\delta_{\text{H}}$  2,86 (1H, dd,  $J = 11,4; 4,8$  Hz, H-1); 5,33 (1H, t,  $J = 19,8; 10,2$  Hz, H-6); 5,98 (1H, t,  $J = 13,6; 6,2$  Hz, H-8) và 4,60 (1H, s, H-14); hai proton oxymethylene ở  $\delta_{\text{H}}$  3,74 (1H, d,  $J = 13,2$  Hz, H-15); 4,56 (1H, d,  $J = 13,2$  Hz, H-15); và sáu proton methyl ở  $\delta_{\text{H}}$  1,30 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz, H-13) và 1,99 (3H, s, H-18) cũng xuất hiện trên phổ  $^1\text{H}$  NMR. Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR bao gồm hai mươi tín hiệu carbon tương ứng với khung sesquiterpene có gắn nhóm methylacryloyl. Các tín hiệu ở  $\delta_{\text{C}}$  180,7 (C-12) và 167,8 (C-16) tương ứng với hai nhóm carbonyl trong cấu trúc của **VG16**. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **VG16** cũng thể hiện tín hiệu của carbon etylenic ở  $\delta_{\text{C}}$  144,4 (C-4); 130,8 (C-5); 137,8 (C-17); 126,9 (C-19) và carbon bậc 4 liên kết với oxy ở  $\delta_{\text{C}}$  60,7 (C-10). Tín hiệu ở  $\delta_{\text{C}}$  67,0 (C-1); 78,8 (C-6), 72,9 (C-8); 100,0 (C-14) được xác định là các carbon oxymethine, ngoài ra các oxymethylene carbon cũng được quan sát thấy ở  $\delta_{\text{C}}$  64,9 (C-15). Tương tác COSY của H-1/H-2/H-4, H-5/H-6/H-7/H-8/H-9, và H-7/H-11/H-13 chỉ ra sự hiện diện của ba hệ thống spin chính trong **VG16** tương ứng với CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, CH-CH-CH-CH<sub>2</sub>, và CH-CH-CH<sub>3</sub>. Tương tác HMBC giữa H-8 và C-16 chỉ ra vị trí của nhóm methylacryloyl là tại C-8. Phổ NOESY của **VG16** cho thấy tương tác giữa H-9 $\alpha$  và H-1/H-7, giữa H-7 và H-13 cho thấy những proton này có cùng cấu hình tương đối  $\alpha$ , bên cạnh đó, cấu hình  $\beta$  của các proton H-11, H-8, H-6 được thiết lập dựa trên tương tác NOESY từ H-8 đến H-6 và H-11. Phổ 1D- và 2D-NMR cho phép xác định **VG16** là 11 $\beta$ ,13-dihydroveranolide (Hình 3.91) [75].



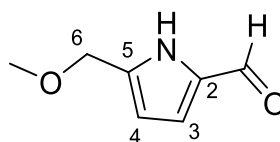
**Hình 3. 92.** Tương tác HMBC và NOESY chính của **VG16**

**Bảng 3. 33.** Dữ liệu phổ NMR của **VG16** và chất tham khảo

C	<sup>[76]</sup> δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub> <sup>a,b</sup>	δ <sub>H</sub> <sup>a,c</sup> (độ bội, J = Hz)
1	66,32	67,0	2,86 (dd; 9,5; 4,0)
2	22,74	23,9	2,23 (m)/ 1,75 (m)
3	33,56	34,1	2,46 (m)/ 2,38 (m)
4	142,85	144,4	-
5	129,23	130,8	5,56 (d; 8,5)
6	77,31	78,8	5,33 (t; 8,0)
7	57,11	58,0	2,33 (t; 8,0)
8	71,50	72,9	5,98 (t; 8,0)
9	40,79	41,9	2,62 (d; 11,0)
10	58,89	60,7	-
11	39,93	41,2	2,68 (m)
12	177,54	180,7	-
13	16,72	16,9	1,30 (d; 6,0)
14	99,47	100,0	4,60 (br s)
15	64,30	64,9	4,56 (d; 13,0)
16	167,96	167,8	-
17	135,62	137,8	-
18	18,28	18,5	1,99 (s)
19	127,44	126,9	6,14 (br s; H-19a)

<sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD; <sup>b</sup> 500 MHz, <sup>c</sup> 125 MHz.

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



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

Hợp chất **VG17** phân lập được dưới bột vô định hình màu trắng. Phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy sự có mặt của một proton aldehyde ở δ<sub>H</sub> 9,47 (1H, s, CHO), hai proton thơm ở δ<sub>H</sub>

6,90 (1H, dd,  $J = 3,6; 2,4$  Hz, H-3) và 6,21 (1H, dd,  $J = 3,0; 2,4$  Hz, H-4), một nhóm oxymethylene ở  $\delta_{\text{H}}$  4,49 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), và một nhóm methoxy ở  $\delta_{\text{H}}$  3,40 (3H, s, OCH<sub>3</sub>). Phổ <sup>13</sup>C-NMR cho thấy tín hiệu của bảy nguyên tử carbon, trong đó có một nguyên tử carbon aldehyde ở  $\delta_{\text{C}}$  178,9 (CHO), bốn nguyên tử carbon thơm ở  $\delta_{\text{C}}$  137,4 (C-5); 132,7 (C-2); 121,3 (C-3) và 109,6 (C-4), một oxymethylene carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  67,1 (OCH<sub>2</sub>), và một nhóm methoxy ở  $\delta_{\text{C}}$  58,5 (OCH<sub>3</sub>). Dữ liệu <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất **VG17** phù hợp với hợp chất của 5-(hydroxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde [77]. Như vậy, cấu trúc của **VG17** là được xác định là 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde.

**Bảng 3. 34.** Dữ liệu phổ của **VG17** và chất tham khảo

	# $\delta_{\text{C}}$ <sup>a,b</sup>	$\delta_{\text{C}}$ <sup>a,b</sup>	<sup>a,c</sup> $\delta_{\text{H}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	178,8	178,9	9,47 (s)
2	132,7	132,7	
3	121,5	121,3	6,90 (dd; 3,6; 2,4)
4	109,8	109,6	6,21 (dd; 3,0; 2,4)
5	137,6	137,4	
6	67,0	67,1	4,49 (s)
OCH <sub>3</sub>	58,4	58,5	3,40 (s)

<sup>a</sup> CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup> 500 MHz, <sup>c</sup> 125 MHz.

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

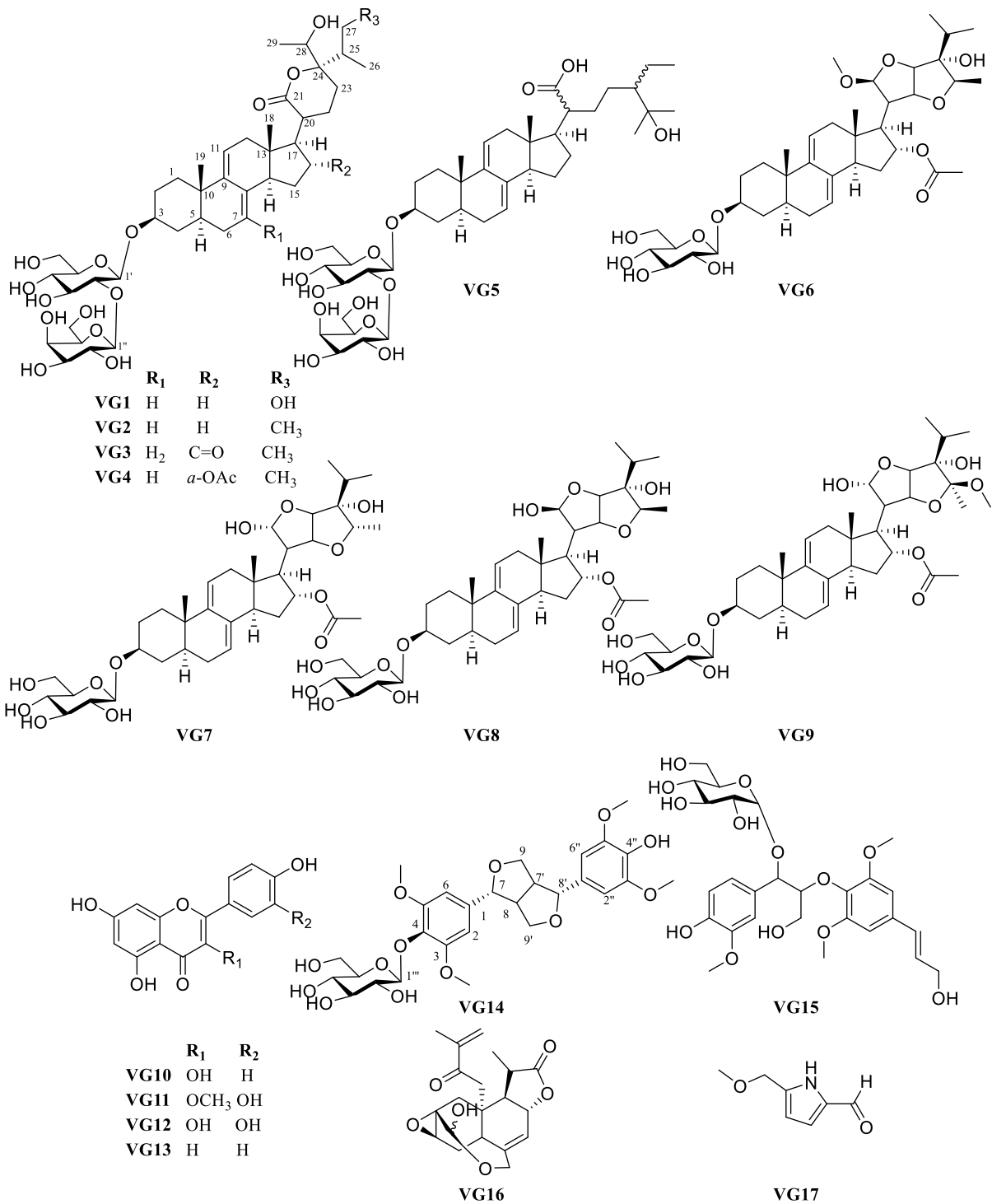
### 3.3. Đặc trưng phổ <sup>13</sup>C-NMR của một số hợp chất stigmastane steroid phân lập từ loài *V. gratiosa*.

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

cho phép xác định cấu trúc  $\delta$ -lactone của mạch nhánh, trong khi hai vòng furan được xác định dựa trên các tín hiệu của các carbon oxymethine hoặc hemiacet trong vùng trường thấp  $\delta_C$  (77,3 - 110,6 ppm).

**Bảng 3. 35.** Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của các hợp chất (VG1 – VG9)

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



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

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

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

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

### 3.4.1. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất LD1 – LD17

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

Tổng quan tài liệu tham khảo chỉ ra rằng cho đến nay chỉ có nghiên cứu của nhóm tác giả Hoàng Lê Tuấn Anh về khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina*. Trong nghiên cứu này tác giả đã tìm ra được hợp chất vernoamyoside E ức chế đáng kể đối với enzyme này, các hợp chất còn lại vernoniacums B, vernonioside B<sub>1</sub> và vernonioside B<sub>2</sub> không thể hiện được tác dụng ức chế đối với enzyme này. Nghiên cứu này có thể làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế hoạt động của các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* đối với enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

Kết quả trong (Bảng 3.37) đã cho thấy được mối tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc một cách tương đối. Cụ thể là, các hợp chất stigmastane steroid có mạch nhánh là vòng lactone 5 cạnh có chứa một liên kết đôi tại vị trí  $\alpha$ ,  $\beta$  (**LD15**, **LD14**) hoặc vòng  $\gamma$ -lactone (**LD12**) sẽ thể hiện hoạt tính nổi bật hơn so với các dạng mạch nhánh đóng vòng với 2 vòng furan liên kết với nhau tại vị trí C-22, C-23 (ngoại trừ **LD5**, **LD1**), trong khi các hợp chất có mạch nhánh ở dạng mở vòng hoàn toàn không thể hiện được khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase. So sánh tác dụng của hợp chất **LD15** ( $IC_{50} = 7,42 \pm 0,95 \mu M$ ) và **LD12**, ( $72,41 \pm 7,56 \mu M$ ) chỉ ra rằng sự hình thành vòng epoxy ở vị trí C-24, C-28 đã làm giảm hoạt tính của hợp chất stigmastane với mạch nhánh là vòng  $\gamma$ -lactone. Bên cạnh đó, sự dehydrate hóa ở vị trí C-16 của **LD14** so với **LD15** cũng làm giảm tác dụng. Đối với mạch nhánh ở dạng đóng vòng với hai vòng furan, nhóm thế  $\alpha$ -CH<sub>3</sub> tại vị trí C-28 và OH tại C-21 đóng vai trò quyết định hoạt tính của các hợp chất steroid. Cụ thể là, hợp chất **LD5** với vị trí C-28 có gắn một nhóm  $\alpha$ -CH<sub>3</sub> thể hiện khả năng ức chế rất mạnh ở giá trị  $IC_{50}$  là  $14,74 \pm 1,57 \mu M$ , tuy nhiên ở hợp chất **LD1** có gắn thêm một nhóm  $\beta$ -OCH<sub>3</sub> hoạt tính giảm mạnh xuống và giá trị  $IC_{50}$  là  $78,56 \pm 7,28 \mu M$ . Ngoài ra, các hợp chất **LD2**, **LD3**, **LD4**, **LD8** không thể hiện được hoạt tính do cấu trúc mạch nhánh không chứa nhóm thế  $\alpha$ -CH<sub>3</sub> tại vị trí C-28 và OH tại C-21.



**Bảng 3. 36.** Tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của (LD1 -LD17)

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

### 3.4.2. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất (VG1 – VG17)

Kết quả đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ *V. gratiosa* (Bảng 3.38) cho thấy chỉ có hợp chất **VG15** thể hiện được tác dụng hiệu quả với giá trị (IC<sub>50</sub> = 47,08  $\pm$  3,98  $\mu$ M) so với đối chứng dương Acarbose có giá trị IC<sub>50</sub> (146,64  $\pm$  8,85  $\mu$ M) ngoài ra 2 hợp chất **VG5** và **VG13** cũng thể hiện tác dụng sinh học yếu hơn ở giá trị IC<sub>50</sub> = (424,79  $\pm$  37,83; 477,52  $\pm$  20,84  $\mu$ M). Các hợp chất còn lại phân lập từ loài *V. gratiosa* không cho thấy khả năng ức chế ở các nồng độ nghiên cứu. Tổng quan các tài liệu đến thời điểm hiện tại, chưa có nghiên cứu nào về tác động ức chế  $\alpha$ -glucosidase từ các hợp chất phân lập được của loài *V. gratiosa*. Đây là nghiên cứu đầu tiên cung cấp tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính sinh học của loài *V. gratiosa*.

**Bảng 3. 37** Tác động ức chế  $\alpha$ -glucosidase của (VG1 – VG17)

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

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

Kết quả đánh giá khả năng ức chế hoạt động của enzyme xanthine oxidase bởi các hợp chất phân lập được từ loài *V. amygdalina* cho thấy, không có hợp chất nào thể hiện được tác dụng ức chế đáng. Tất cả các hợp chất **LD1 – LD17** đều thể hiện giá trị IC<sub>50</sub> >500  $\mu$ M.

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

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

**Bảng 3. 38.** Tác động ức chế enzym xanthine oxidase của (VG1 – VG17)

<b>Hợp chất</b>	<b>VG1</b>	<b>VG2</b>	<b>VG3</b>	<b>VG4</b>
<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>
<b>Hợp chất</b>	<b>VG5</b>	<b>VG6</b>	<b>VG7</b>	<b>VG8</b>
<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>47,65 ± 3,44</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>	<b>&gt;500</b>
<b>Hợp chất</b>	<b>VG13</b>	<b>VG14</b>	<b>VG15</b>	<b>Allopurinol</b>
<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>6,26 ± 0,60</b>	<b>&gt;500</b>	<b>26,92 ± 1,04</b>	<b>1,12 ± 0,15</b>

Kết quả trên chỉ ra rằng các hợp chất **VG13** và **VG15** có khả năng ức chế enzym xanthine oxidase ở IC<sub>50</sub> là (**6,26 ± 0,60 μM** và **26,92 ± 1,04 μM**) so với đối chứng dương Allopurinol (**1,12 ± 0,15 μM**); Các mẫu còn lại không thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu.

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

## KẾT LUẬN

### 1. Về thành phần hóa học:

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

- Từ loài *V. amygdalina*, 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (**LD1-LD7**) được đặt tên là: (**LD1**-vernonioside K), (**LD2**-vernonioside N), (**LD3**-vernonioside M), (**LD4**-vernonioside O), (**LD5**-vernonioside L), (**LD6**-vernonioside P), (**LD7**-vernonioside Q) và 10 hợp chất đã biết gồm hợp chất (**LD8**-(22R,23S,24R,28S)-28-methoxy-7,8,9,11-tetrahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24-tetrahydroxy 21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ -stigmastane), (**LD9**-vernoamyoside E), (**LD10**-vernonioside B<sub>2</sub>), (**LD11**-vernoniacum B), (**LD12**-(23S,24R,28S)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone), (**LD13** vernonioside B<sub>1</sub>), (**LD14**: Veramyoside G); (**LD15**-veramyoside J), (**LD16**-vernoamyoside A), (**LD17**- $\alpha$ -spinasterol).

- Từ loài *V. Gratiosa*, 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (**VG1 – VG7**) được đặt tên là: vernogratiside A (**VG1**), vernogratiside B (**VG2**), vernogratiside C (**VG3**), vernogratiside R (**VG4**), vernogratiside S (**VG5**), vernoratiside A (**VG6**); vernoratiside B (**VG7**), và 10 hợp chất cũ bao gồm: VE-1 (**VG8**), vernoniacum B (**VG9**), kaempferol (**VG10**), quercetin 3-*O*-methyl ether (**VG11**), quercetin (**VG12**), apigenin (**VG13**), syringaresinol-4- $\beta$ -D-glucoside (**VG14**), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(E)-propenyl)-2,6-dimethoxyphenoxy] propyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (**VG15**), 11 $\beta$ ,13-dihydrovernonolide (**VG16**), 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde (**VG17**).

### 2. Về hoạt tính sinh học

- Các hợp chất **LD1**, **LD5**, **LD14**, **LD12**, **LD15**, phân lập từ loài *V. amygdalina* thể hiện được khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase hiệu quả với IC<sub>50</sub> từ (**7,42  $\pm$  0,95  $\mu$ M** đến **78,56  $\pm$  7,28  $\mu$ M**) so với đối chứng dương (Acarbose **127,53  $\pm$  1,73  $\mu$ M**). Trong khi đó, các hợp chất **VG5**, **VG13** và **VG15** phân lập từ loài *V. gratiosa* cho thấy khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase với giá trị IC<sub>50</sub> là (**47,08  $\pm$  3,98  $\mu$ M** và **477,52  $\pm$  20,84  $\mu$ M**) so với đối chứng dương Acarbose (**146,64  $\pm$  8,85  $\mu$ M**).

- Các hợp chất **VG5**, **VG13** và **VG15** cho thấy khả năng ức chế enzym xanthine oxidase với (IC<sub>50</sub> = **6,26  $\pm$  0,60 – 47,65  $\pm$  3,44  $\mu$ M**) so với đối chứng dương Allopurinol là: (**47,65  $\pm$  3,44; 26,92  $\pm$  1,04  $\mu$ M**).

## KIẾN NGHỊ

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

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

## NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Lần đầu tiên phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* 7 hợp chất mới (**LD1-LD7**) được đặt tên là vernonioside K (**LD1**), vernonioside N (**LD2**), vernonioside M (**LD3**), vernonioside O (**LD4**), vernonioside L (**LD5**), vernonioside P (**LD6**), vernonioside Q (**LD7**).
2. Phát hiện và công bố 07 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng như trong tự nhiên (**VG1-VG7**) bao gồm: vernogratioides A (**VG1**), vernogratioides B (**VG2**), vernogratioides C (**VG3**), vernogratioides R (**VG4**), vernogratioides S (**VG5**), vernoratioides A (**VG6**), vernoratioides B (**VG7**).
3. Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*. Kết quả đã phát hiện được các hợp chất **LD1, LD5, LD14, LD12, LD15** phân lập từ loài *V. amygdalina* cho thấy khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase rất mạnh với giá trị  $IC_{50}$  từ (**7,42  $\pm$  0,95  $\mu$ M** đến **78,56  $\pm$  7,28  $\mu$ M**) so với đối chứng dương (Acarbose **127,53  $\pm$  1,73  $\mu$ M**). Bên cạnh đó, hợp chất **VG15** phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng ức chế mạnh hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là **47,08  $\pm$  3,98  $\mu$ M**, trong khi đó, hợp chất **VG5** và **VG13** chỉ thể hiện tác dụng ức chế yếu đối với enzyme này với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là **424,79  $\pm$  37,83  $\mu$ M** và **477,52  $\pm$  20,84  $\mu$ M** so với đối chứng dương Acarbose **146,64  $\pm$  8,85  $\mu$ M**.
4. Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*; đã tìm thấy các hợp chất **VG5, VG13** và **VG15** có tiềm năng trong ức chế enzym (XO) với  $IC_{50} =$  **6,26  $\pm$  0,60 – 47,65  $\pm$  3,44  $\mu$ M**; so với đối chứng dương Allopurinol là: (**1,12  $\pm$  0,15  $\mu$ M**).
5. Lần đầu tiên loài *Vernonia gratiosa* thu hái ở Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ**

1. Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* and their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Natural Product Research*, 2024, 38 (4): 601-606; thuộc danh mục SCIE; IF-2.488.
2. Isolation, structural elucidation and molecular docking studies against SARS-CoV-2 main protease of new stigmastane-type steroidal glucosides isolated from the whole plants of *Vernonia gratiosa*. *Natural Product Research*, 2023, 37 (14): 2342-2350; danh mục SCIE; IF-2.488.
3. Alpha-glucosidase inhibitory activity of saponins isolated from *Vernonia gratiosa* Hance. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33.6: 797.; thuộc danh mục SCIE; IF-3.27.
4. Constituents of *Vernonia gratiosa* Hance and their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Vietnam Journal of Chemistry*, 2022, 60.5: 653-659; thuộc danh mục ESCI, IF-0.74.
5. Two new stigmastane steroidal saponins from *vernonia gratiosa* hance with their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibition. *Vietnam Journal of Science and Technology* thuộc danh mục Scopus (chấp nhận đăng: 06/07/2024)

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Toyang N.J., Verpoorte R., 2013, A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae), *Journal of ethnopharmacology*, 146(3): pp. 681-723.
2. Lợi Đ.T., *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. 1962: Nhà xuất bản Y học.
3. Biên L.K., *Thực vật chí Việt Nam*. 2007: Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật
4. Chi V.V., *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.
5. Dogra N.K., Kumar S., Kumar D., 2020, *Vernonia anthelmintica* (L.) Willd.: An ethnomedicinal, phytochemical, pharmacological and toxicological review, *Journal of Ethnopharmacology*, 256: pp. 112777.
6. Lemos Da Silva L.A., Biavatti M.W., Sandjo L.P., Chapter 6 - Centrifugal partition chromatography isolation of glaucolides sesquiterpenes and LC-ESIMS/MS technique for differentiation the mass spectrometry behavior of hirsutinolide and glaucolide skeletons, in *Studies in Natural Products Chemistry*, R. Atta ur, Editor. 2022, Elsevier. p. 201-223.
7. Bohlmann F., Zdero C., 1982, Glaucolides and other constituents from south african *Vernonia* species, *Phytochemistry*, 21(9): pp. 2263-2267.
8. Erasto P., Grierson D.S., Afolayan A.J., 2006, Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Journal of ethnopharmacology*, 106(1): pp. 117-120.
9. Kimani N.M., Matasyoh J.C., Kaiser M., Brun R., Schmidt T.J., 2018, Sesquiterpene lactones from *Vernonia cinerascens* Sch. Bip. and their *in vitro* antitrypanosomal activity, *Molecules*, 23(2).
10. Koul J.L., Koul S., Singh C., Taneja S.C., Shanmugavel M., Kampasi H., Saxena A.K., Qazi G.N., 2003, In vitro cytotoxic elemanolides from *Vernonia lasiopus*, *Planta Medica*, 69(02): pp. 164-166.
11. Hula M., Bova K., Bunb P., Keoa S., 2021, The antidiabetic activity of *Vernonia amygdalina* Delile native to Cambodia, *Asian journal of pharmacognosy*, 4(1): pp. 5-7.
12. Aliyu A.B., Moodley B., Chenia H., Koorbanally N.A., 2015, Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Vernonia blumeoides* growing in Nigeria, *Phytochemistry*, 111: pp. 163-168.
13. Padolina W., Yoshioka H., Nakatani N., Mabry T., Monti S., Davis R., Cox P., Sim O., Watson W., Wu I.B., 1974, Glaucolide-A and-B, new germacranolide-type sesquiterpene lactones from *Vernonia* (Compositae), *Tetrahedron*, 30(10): pp. 1161-1170.

14. Alarcon M.C.B.V., Callegari Lopes J.L., Herz W., 1990, Glaucolide B, A molluscicidal sesquiterpene lactone, and other constituents of *Vernonia eremophila*, *Planta Medica*, 56(03): pp. 271-273.
15. Barbosa L.C.d.A., Costa A.V., Piló-Veloso D., Lopes J.L.C., Hernandez-Terrones M.G., King-Diaz B., Lotina-Hennsen B., 2004, Phytogrowth-inhibitory lactones derivatives of glaucolide B, *Zeitschrift für naturforschung C*, 59(11-12): pp. 803-810.
16. Williams R.B., Norris A., Slebodnick C., Merola J., Miller J.S., Andriantsiferana R., Rasamison V.E., Kingston D.G., 2005, Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the Madagascar rainforest, *Journal of natural products*, 68(9): pp. 1371-4.
17. Campos M., Oropeza M., Ponce H., Fernández J., Jimenez-Estrada M., Torres H., Reyes-Chilpa R., 2003, Relaxation of uterine and aortic smooth muscle by glaucolides D and E from *Vernonia liatroides*, *Biological and pharmaceutical bulletin*, 26(1): pp. 112-5.
18. Catalán C.A., De Iglesias D.I., Kavka J., Sosa V.E., Herz W., 1986, Sesquiterpene lactones and other constituents of *Vernonia mollissima* and *Vernonia squamulosa*, *Journal of natural products*, 49(2): pp. 351-353.
19. Zhang M., Yang X., Wei Y., Wall M., Songsak T., Wongwiwatthanakit S., Chang L.C., 2019, Bioactive sesquiterpene lactones isolated from the whole plants of *Vernonia cinerea*, *Journal of natural products*, 82(8): pp. 2124-2131.
20. Youn U.J., Miklossy G., Chai X., Wongwiwatthanakit S., Toyama O., Songsak T., Turkson J., Chang L.C., 2014, Bioactive sesquiterpene lactones and other compounds isolated from *Vernonia cinerea*, *Fitoterapia*, 93: pp. 194-200.
21. Chen X., Zhan Z.-J., Zhang X.-W., Ding J., Yue J.-M., 2005, Sesquiterpene lactones with potent cytotoxic activities from *Vernonia chinensis*, *Planta Medica*, 71(10): pp. 949-954.
22. Bardón A., Kamiya N.I., De Ponce De León C.A., Catalán C.A.N., Díaz J.G., Herz W., 1992, Glaucolides and related sesquiterpene lactones from *Vernonia nudiflora* and *Chrysolaena propinqua*, *Phytochemistry*, 31(2): pp. 609-613.
23. Liu Y., Nugroho A.E., Hirasawa Y., Nakata A., Kaneda T., Uchiyama N., Goda Y., Shirota O., Morita H., Aisa H.A., 2010, Vernodalidimers A and B, novel orthoester elemanolide dimers from seeds of *Vernonia anthelmintica*, *Tetrahedron letters*, 51(50): pp. 6584-6587.
24. Bitchagno G.T.M., Schüffler A., Gross J., Krumb M., Tane P., Opatz T., 2022, Sesquiterpene lactones from *Vernonia tufnelliae*: structural characterization and biological evaluation, *Journal of natural products*, 85(7): pp. 1681-1690.

25. Valkute T.R., Aratikatla E.K., Gupta N.A., Ganga S., Santra M.K., Bhattacharya A.K., 2018, Synthesis and anticancer studies of Michael adducts and Heck arylation products of sesquiterpene lactones, zaluzanin D and zaluzanin C from *Vernonia arborea*, *RSC advances*, 8(67): pp. 38289-38304.
26. Alarcon M.C., Callegari Lopes J.L., Herz W., 1990, Glaucolide B, A Molluscicidal sesquiterpene lactone, and other constituents of *Vernonia eremophila*, *Planta Medica*, 56(3): pp. 271-3.
27. Huo J., Yang S.-P., Xie B.-J., Liao S.-G., Lin L.-P., Ding J., Yue J.-M., 2008, Cytotoxic sesquiterpenoids from *Vernonia bockiana*, *Journal of Asian natural products research*, 10(6): pp. 571-575.
28. Toyang N.J., Wabo H.K., Ateh E.N., Davis H., Tane P., Sondengam L.B., Bryant J., Verpoorte R., 2013, Cytotoxic sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia guineensis* Benth. (Asteraceae), *Journal of ethnopharmacology*, 146(2): pp. 552-556.
29. Lopes J.L., 1991, Sesquiterpene lactones from *Vernonia*, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86 Suppl 2: pp. 227-30.
30. Buskuhl H., de Oliveira F.L., Blind L.Z., de Freitas R.A., Barison A., Campos F.R., Corilo Y.E., Eberlin M.N., Caramori G.F., Biavatti M.W., 2010, Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their *in vitro* cytotoxicity, *Phytochemistry*, 71(13): pp. 1539-44.
31. Dong S.-H., Wu Y., Yue J.-M., 2019, Chemical constituents from *Vernonia bockiana*, *Chinese journal of natural medicines*, 17(12): pp. 924-927.
32. Liu X., Tian W., Zhou M., Xu Q., Feng J., Yang R., He S., Wang G., Lin T., Chen H., 2022, Bisabolane-type sesquiterpenes from *Vernonia amygdalina*: Absolute configuration and anti-inflammatory activity, *Phytochemistry*, 201: pp. 113283.
33. Li Z., Yang Y., Chen C., Lin L., Tang C., Ye Y., 2023, Bisabolane-type sesquiterpenoids with a tetrahydrofuran or tetrahydropyran ring from *Vernonia solanifolia*, *Journal of natural products*, 86(6): pp. 1550-1563.
34. Liu X., Tian W., Wang G., Xu Q., Zhou M., Gao S., Qiu D., Jiang X., Sun C., Ding R., Lin T., Chen H., 2019, Stigmastane-type steroids with unique conjugated  $\Delta^{7,9(11)}$  diene and highly oxygenated side chains from the twigs of *Vernonia amygdalina*, *Phytochemistry*, 158: pp. 67-76.
35. Hua L., Qi W.-Y., Hussain S.H., Gao K., Arfan M., 2012, Highly oxygenated stigmastane-type steroids from the aerial parts of *Vernonia anthelmintica* Willd., *Steroids*, 77(7): pp. 811-818.



36. Zhao M.-L., Shan S.-J., Tao R., Cui L.-T., Li Q.-R., Luo J., Li Y., 2021, Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* Del, *Fitoterapia*, 150: pp. 104838.
37. Liu X., Zhou M., He S., Xu Q., Du C., Zhu H., Lin T., Wang G., Tian W., Chen H., 2022, Polyhydric stigmastane-type steroids derivative from *Vernonia amygdalina* and their anti-neuroinflammatory activity, *Pharmaceuticals (Basel)*, 15(9).
38. Nguyen T.X.T., Dang D.L., Ngo V.Q., Trinh T.C., Trinh Q.N., Do T.D., Thanh T.T.T., 2021, Anti-inflammatory activity of a new compound from *Vernonia amygdalina*, *Natural product research*, 35(23): pp. 5160-5165.
39. Tseme Wandji N., Bitchagno G.T.M., Mawabo Kanga I., Tchamgoue J., Nkenfou C.N., Lenta B.N., Sewald N., Kouam S.F., 2023, Polyoxygenated stigmastane-type steroids from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. and their chemophenetic significance, *Molecules*, 28(13): pp. 5278.
40. Donfack A.R.N., Toyang N.J., Wabo H.K., Tane P., Awouafack M.D., Kikuchi H., Tamokou J.D.D., Kuate J.R., Oshima Y., 2012, Stigmastane derivatives from the roots of *Vernonia guineensis* and their antimicrobial activity, *Phytochemistry Letters*, 5(3): pp. 596-599.
41. Suo M., Yang J., 2009, Complete assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic data for three new stigmastane glycosides from *Vernonia cumingiana*, *Magnetic resonance in chemistry*, 47(2): pp. 179-183.
42. Liu J., Liu Y., Si Y., Yu S., Qu J., Xu S., Hu Y., Ma S., 2009, New vernocuminosides from the stem barks of *Vernonia cumingiana* Benth, *Steroids*, 74(1): pp. 51-61.
43. Ma G.-X., Feng W., Sun Z.-H., Li P.-F., Zhu N.-L., Yang J.-S., Xu X.-D., Wu H.-F., 2016, New stigmastane type of steroidal glycosides from the roots of *Vernonia cumingiana*, *Journal of carbohydrate chemistry*, 35(3): pp. 172-179.
44. Cioffi G., Sanogo R., Diallo D., Romussi G., De Tommasi N., 2004, New compounds from an extract of *Vernonia colorata* leaves with anti-inflammatory activity, *Journal of natural products*, 67(3): pp. 389-394.
45. Tchinda A.T., Tane P., Ayafor J.F., Connolly J.D., 2003, Stigmastane derivatives and isovaleryl sucrose esters from *Vernonia guineensis* (Asteraceae), *Phytochemistry*, 63(7): pp. 841-846.
46. Kiplimo J., Koorbanally N., Chenia H., 2011, Triterpenoids from *Vernonia auriculifera* Hiern exhibit antimicrobial activity, *African journal of pharmacy and pharmacology*, 5: pp. 1150-1156.
47. Alves T.M., Nagem T.J., de Carvalho L.H., Krettli A.U., Zani C.L., 1997, Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliana*, *Planta medica*, 63(6): pp. 554-5.

48. Narain N.K., 1977, Flavonoids from *Vernonia fasciculata* Michx. Isolation of genkwanin and a new flavone disaccharide, fasciculatin, *Journal of the chemical society, Perkin Transactions 1*, (9): pp. 1018-1020.
49. Ugboogu E.A., Emmanuel O., Dike E.D., Agi G.O., Ugboogu O.C., Ibe C., Iweala E.J., 2021, The phytochemistry, ethnobotanical, and pharmacological potentials of the medicinal plant-*Vernonia amygdalina* L. (bitter Leaf), *Clinical complementary medicine and pharmacology*, 1(1): pp. 100006.
50. Malafronte N., Pesca M.S., Bisio A., Morales Escobar L., De Tommasi N., 2009, New flavonoid glycosides from *Vernonia ferruginea*, *Natural product communications*, 4(12): pp. 1639-42.
51. Anh H.L.T., Vinh L.B., Lien L.T., Cuong P.V., Arai M., Ha T.P., Lin H.N., Dat T.T.H., Cuong L.C.V., Kim Y.H., 2021, *In vitro* study on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of a new stigmastane-type steroid saponin from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Natural product research*, 35(5): pp. 873-879.
52. Nguyễn Thị Hồng Hạnh Đ.T.H., Trần Thị Hồng, 2020, Tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết lá đắng *Vernonia amygdalina* Del trên chuột nhắt trắng, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 225(01): pp. 144149.
53. Degu S., Meresa A., Animaw Z., Jegnie M., Asfaw A., Tegegn G., 2024, *Vernonia amygdalina*: a comprehensive review of the nutritional makeup, traditional medicinal use, and pharmacology of isolated phytochemicals and compounds, *Frontiers in natural products*, 3.
54. Kiplimo J.J., Koorbanally N.A., Chenia H.Y., 2011, Triterpenoids from *Vernonia auriculifera* Hiern exhibit antimicrobial activity, *African journal of pharmacy and pharmacology*, 5: pp. 1150-1156.
55. Lê Thị Mi Chi K.L., Lê Thị Đại Phương, 2016, Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, đặc điểm vi phẫu và hình thái của cây Lá đắng, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng*, 11: pp. 7881.
56. Le Thi Bach N.T.T., Lien Thao Van, Tran Khanh Tien, Doan Minh Trung, Dang Trung Hieu, Truong Huynh Kim Ngoc, Quach Thi Hong Dung, Pham Thi Kim Phuong, 2022, Antioxidative activity of some isolated flavonoids from *Vernonia amygdalina* Del, *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 4: pp. 194-199.
57. Fontana Pereira D., Cazarolli L.H., Lavado C., Mengatto V., Figueiredo M.S.R.B., Guedes A., Pizzolatti M.G., Silva F.R.M.B., 2011, Effects of flavonoids on  $\alpha$ -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis, *Nutrition*, 27(11): pp. 1161-1167.
58. Gershell L., 2005, Type 2 diabetes market, *Nature reviews drug discovery*, 4(5): pp. 367-8.

59. Marx J., 2002, Unraveling the causes of diabetes, *Science*, 296(5568): pp. 686-9.
60. 2013, Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012, *Diabetes care*, 36(4): pp. 1033-46.
61. Kumar S., Narwal S., Kumar V., Prakash O., 2011,  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes, *Pharmacognosy reviews*, 5(9): pp. 19-29.
62. Umpierrez G.E., Palacio A., Smiley D., 2007, Sliding scale insulin use: myth or insanity?, *The American Journal of medicine*, 120(7): pp. 563-7.
63. Aladdin N.-A., Husain K., Jalil J., Sabandar C.W., Jamal J.A., 2020, Xanthine oxidase inhibitory activity of a new isocoumarin obtained from *Marantodes pumilum* var. *pumila* leaves, *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1): pp. 324.
64. Jisaka M., Ohigashi H., Takegawa K., Hirota M., Irie R., Huffman M.A., Koshimizu K., 1993, Steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*, a possible chimpanzee medicinal plant, *Phytochemistry*, 34(2): pp. 409-413.
65. Anh H.L.T., Vinh L.B., Lien L.T., Cuong P.V., Arai M., Ha T.P., Lin H.N., Dat T.T.H., Cuong L.C.V., Kim Y.H., 2021, In vitro study on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of a new stigmastane-type steroid saponin from the leaves of *Vernonia amygdalina*, *Natural product research*, 35(5): pp. 873-879.
66. Liu J., Ma S.-G., Yu S., Lv H., Li Y., Wu X., Liu Y., 2010, Seven new vernocuminosides from the stem bark of *Vernonia cumingiana* Benth, *Carbohydrate research*, 345: pp. 1156-62.
67. Liu J., Ma S., Yu S., Lv H., Li Y., Wu X., Liu Y., 2010, Seven new vernocuminosides from the stem bark of *Vernonia cumingiana* Benth, *Carbohydrate research*, 345(9): pp. 1156-1162.
68. Liu Q.-H., Yuan J.-Q., Suo M.-R., Yang J.-S., 2005, Chemical constituents of the roots of *Vernonia cumingiana* Benth, *Journal of integrative plant biology*, 47(8): pp. 1016-1020.
69. Choi S.Z., Choi S.U., Lee K.R., 2004, Phytochemical constituents of the aerial parts from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea*, *Archives of pharmacal research*, 27(2): pp. 164-8.
70. Lee E.H., Kim H.J., Song Y.S., Jin C., Lee K.T., Cho J., Lee Y.S., 2003, Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*, *Archives of pharmacal research*, 26(12): pp. 1018-23.
71. Shen C.-C., Chang Y.-S., Hott L.-K., 1993, Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids, *Phytochemistry*, 34(3): pp. 843-845.

72. Kim J.S., Kim J.C., Shim S.H., Lee E.J., Jin W., Bae K., Son K.H., Kim H.P., Kang S.S., Chang H.W., 2006, Chemical constituents of the root of *Dystaenia takeshimana* and their anti-inflammatory activity, *Archives of pharmacal research*, 29(8): pp. 617-23.
73. Shahat A.A., Abdel-Azim N.S., Pieters L., Vlietinck A.J., 2004, Isolation and NMR spectra of syringaresinol-beta-D-glucoside from *Cressa cretica*, *Fitoterapia*, 75(7-8): pp. 771-3.
74. Takara K., Matsui D., Wada K., Ichiba T., Nakasone Y., 2002, New antioxidative phenolic glycosides isolated from Kokuto non-centrifuged cane sugar, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(1): pp. 29-35.
75. Rabe T., Mullholland D., van Staden J., 2002, Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves, *Journal of ethnopharmacology*, 80(1): pp. 91-94.
76. Jisaka M., Ohigashi H., Takagaki T., Nozaki H., Tada T., Hirota M., Irie R., Huffman M.A., Nishida T., Kaji M., Koshimizu K., 1992, Bitter steroid glucosides, vernoniosides A1, A2, and A3, and related B1 from a possible medicinal plant, *Vernonia amygdalina*, used by wild chimpanzees, *Tetrahedron*, 48(4): pp. 625-632.
77. Don M.J., Shen C.C., Lin Y.L., Syu W.J., Ding Y.H., Sun C.M., 2005, Nitrogen-containing compounds from *Salvia miltiorrhiza*, *Journal of natural products*, 68(7): pp. 1066-70.

PL1  
**PHỤ LỤC**

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

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

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

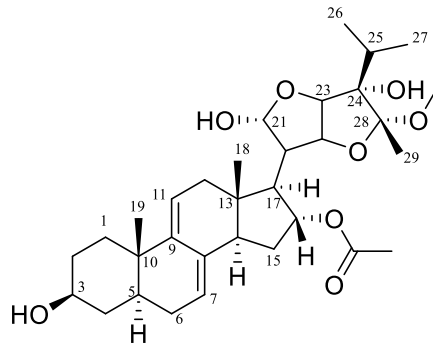
Phổ HMBC của hợp chất LD15.....	65
<b>XVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD16 .....</b>	<b>66</b>
Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất LD16.....	67
Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất LD16.....	67
Phổ HSQC của hợp chất LD16.....	68
Phổ HMBC của hợp chất LD16.....	68
<b>XVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD17.....</b>	<b>69</b>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



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

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

Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG14.....	120
<b>XXXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG15 .....</b>	<b>121</b>
Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất VG15 .....	122
Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất VG15 .....	122
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG15.....	123
Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG15.....	123
<b>XXXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG16.....</b>	<b>124</b>
Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG16.....	124
Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất VG16 .....	125
Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất VG16 .....	125
Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG16.....	126
Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG16.....	126
Phổ COSY-NMR của hợp chất VG16.....	127
Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG16 .....	127
<b>XXXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG17.....</b>	<b>128</b>
Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất VG17 .....	128
Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất VG17 .....	128
<b>XXXV. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG1 .....</b>	<b>129</b>
<b>XXXVI. SẮC KÝ ĐỒ TLC XÁC ĐỊNH ĐƯỜNG CỦA HỢP CHẤT VG5....</b>	<b>130</b>
<b>XXXVII. PHIẾU GIÁM ĐỊNH TÊN KHOA HỌC CỦA LOÀI <i>V.GRATIOSA</i></b>	<b>131</b>
<b>VÀ LOÀI <i>V. AMYGDALINA</i> .....</b>	<b>131</b>
<b>XXXVIII. DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....</b>	<b>132</b>

**I. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD1**

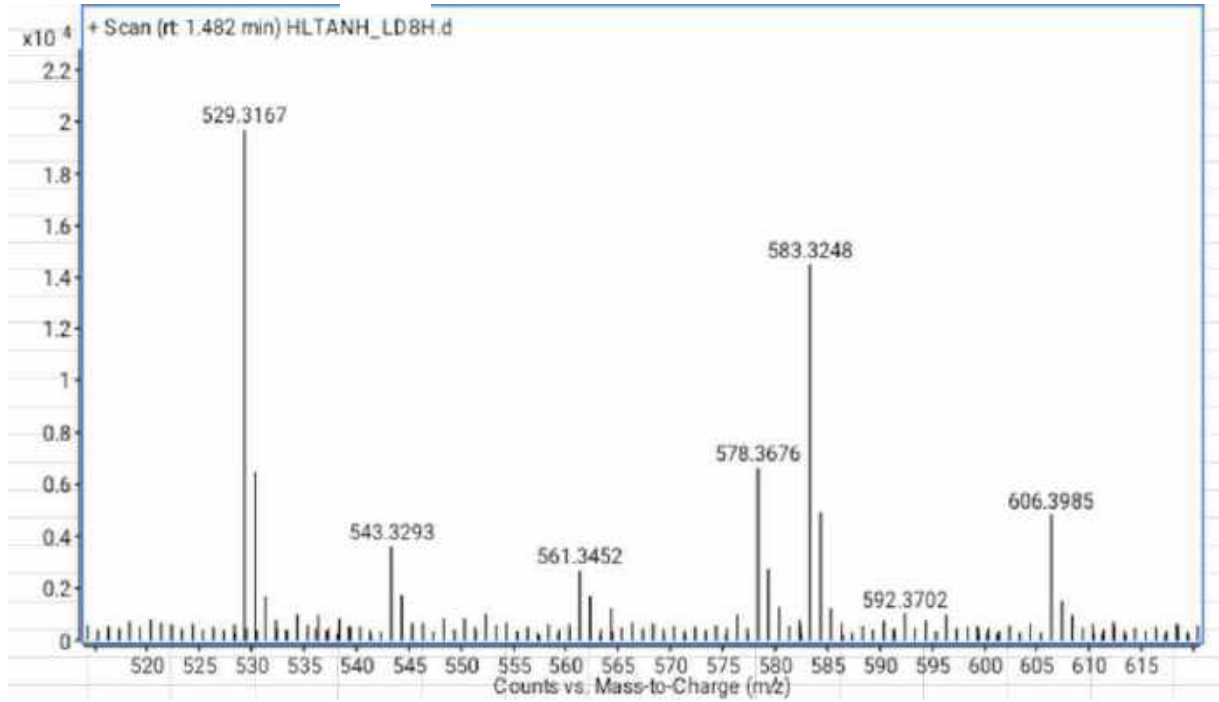
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{32}H_{48}O_8$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 560,3

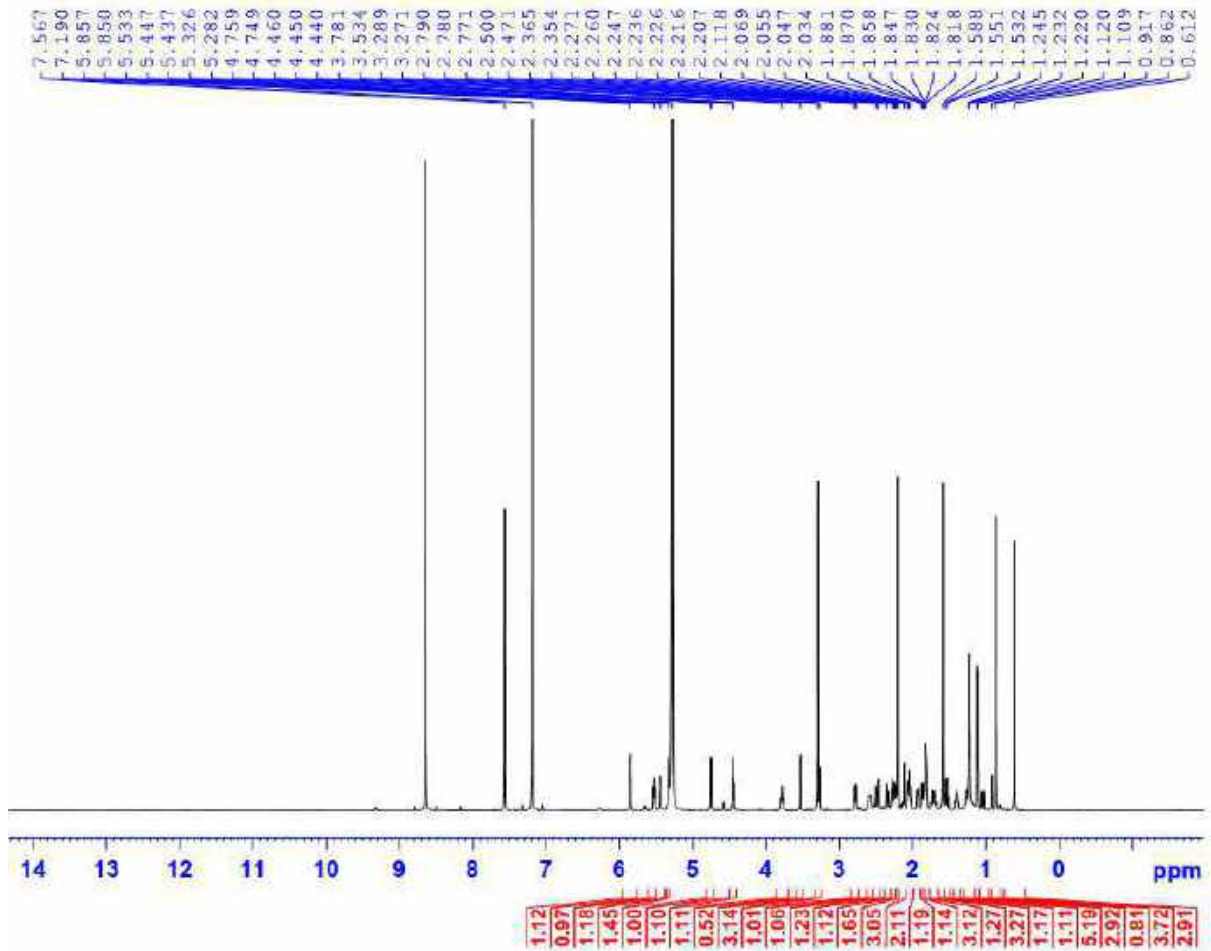
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL9

### Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD1

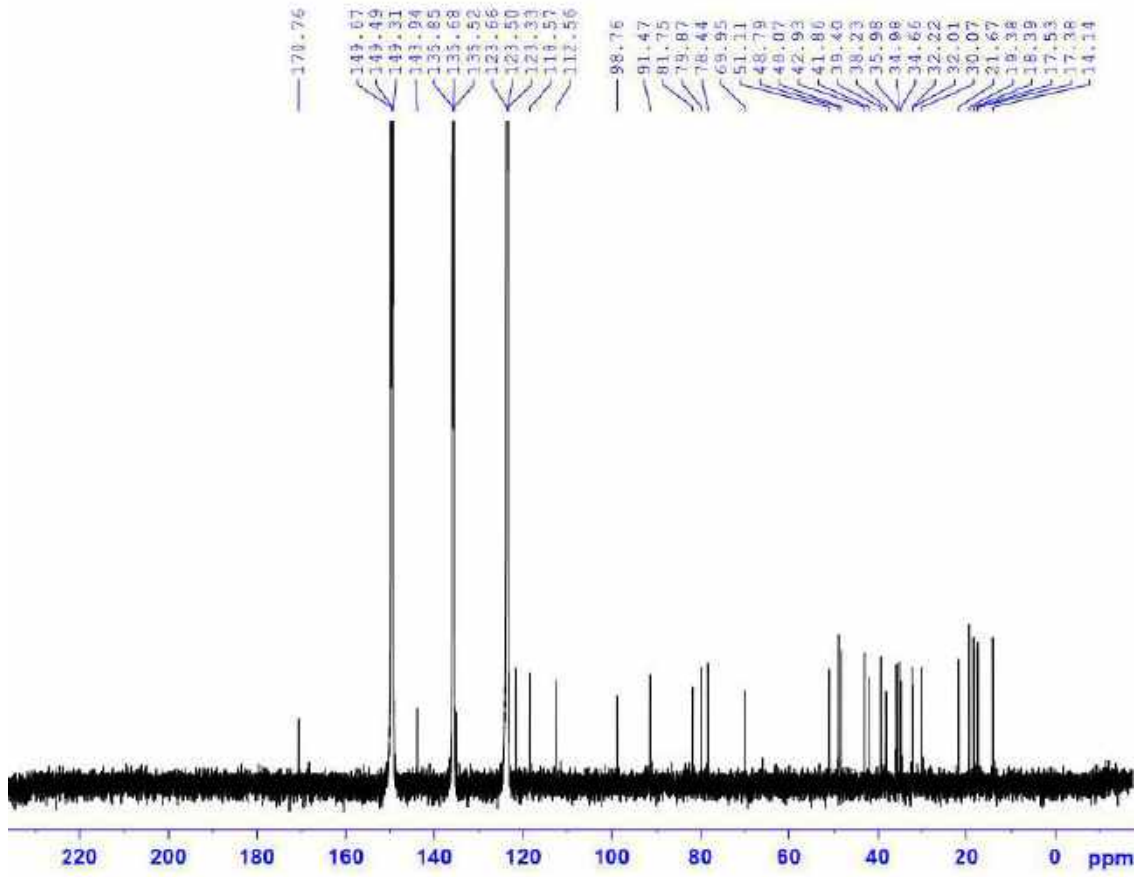


### Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD1

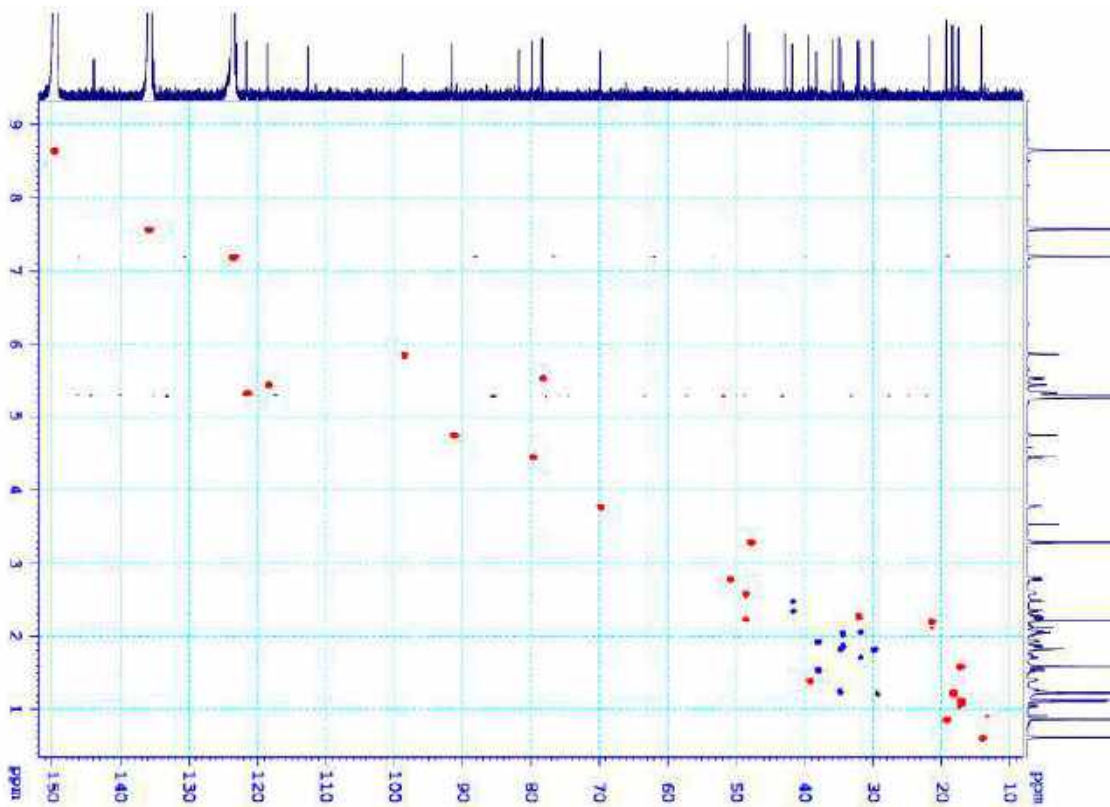


PL10

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

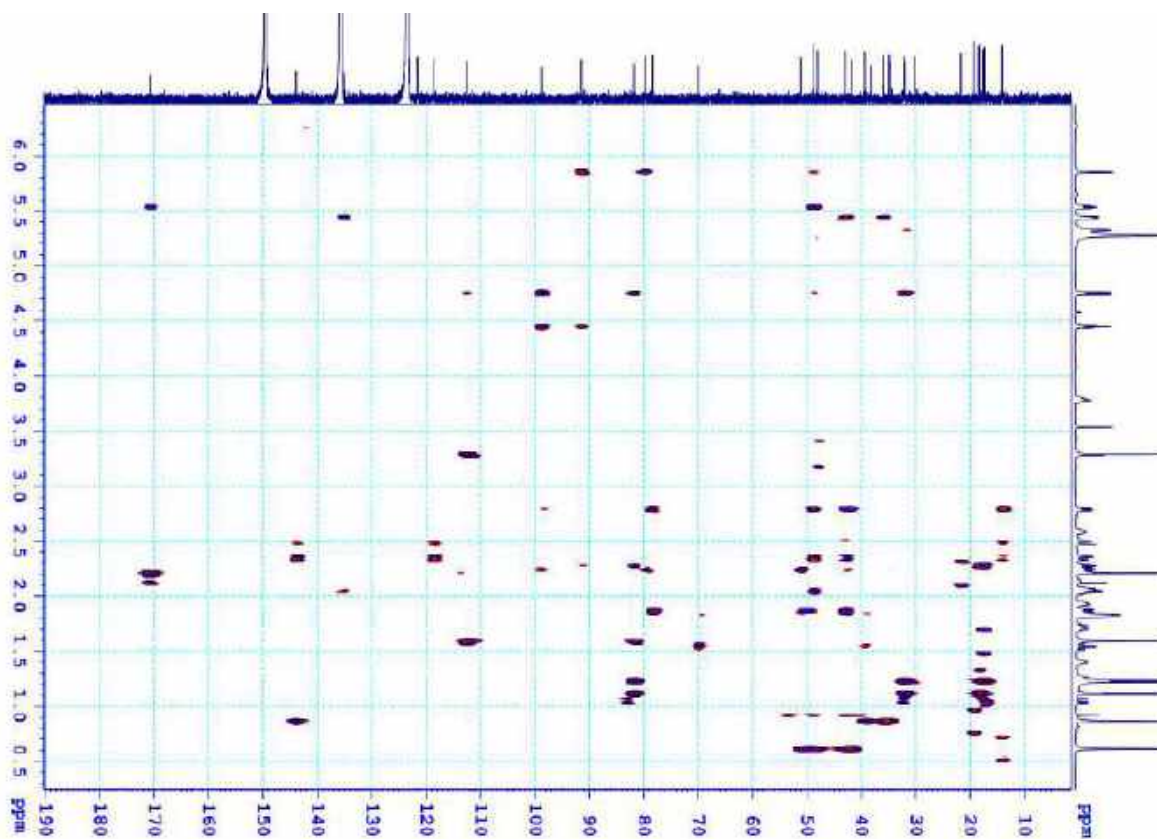


Phổ HSQC của hợp chất LD1

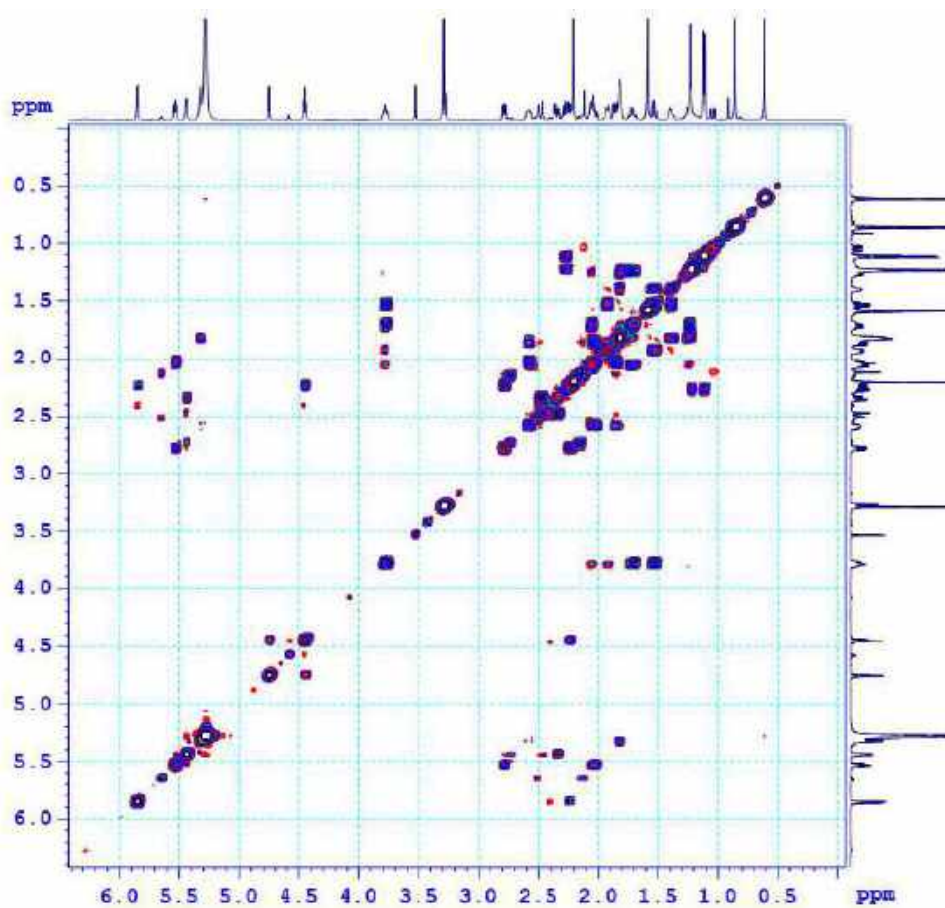


PL11

**Phổ HMBC của hợp chất LD1**

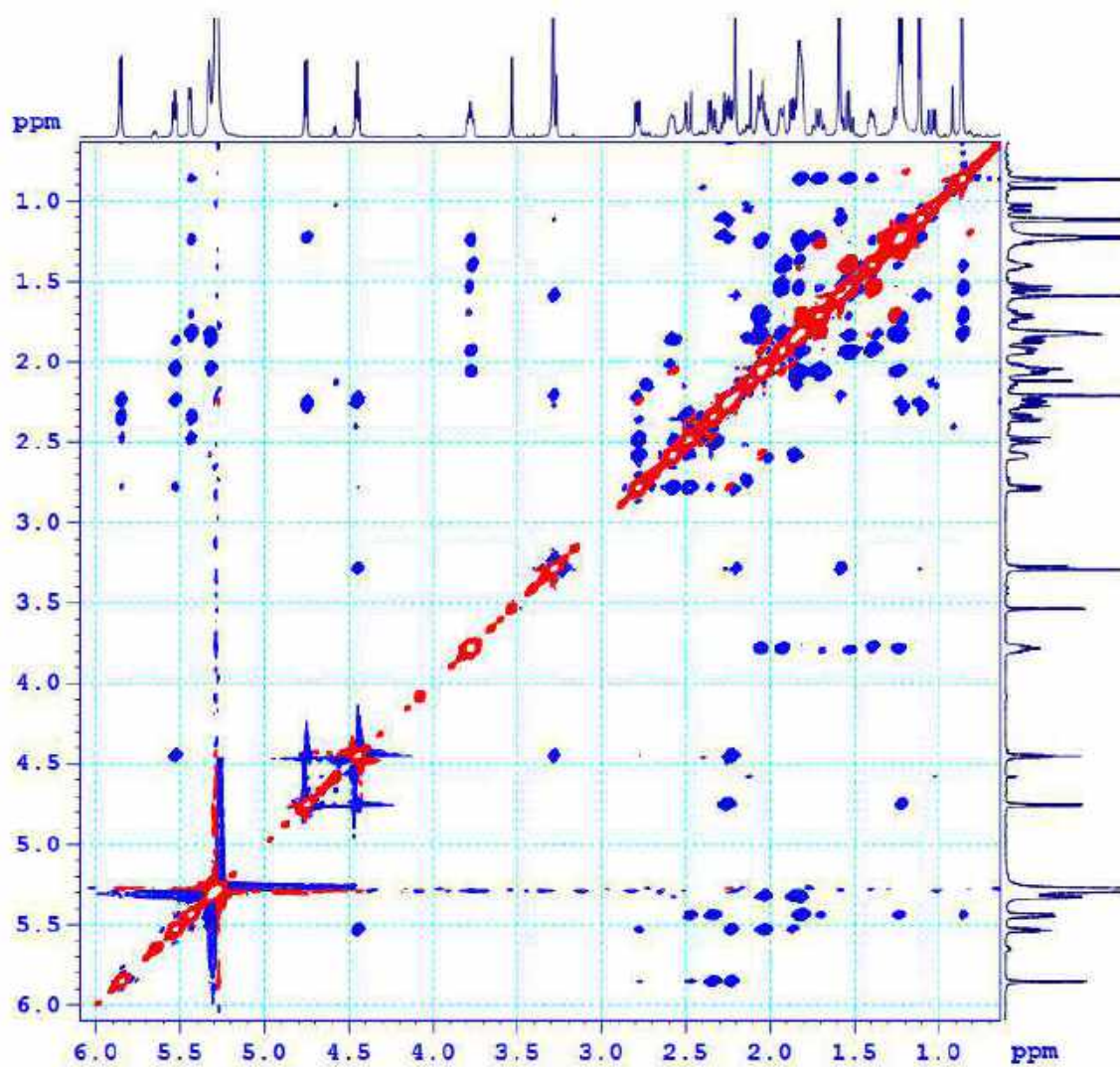


**Phổ COSY của hợp chất LD1**

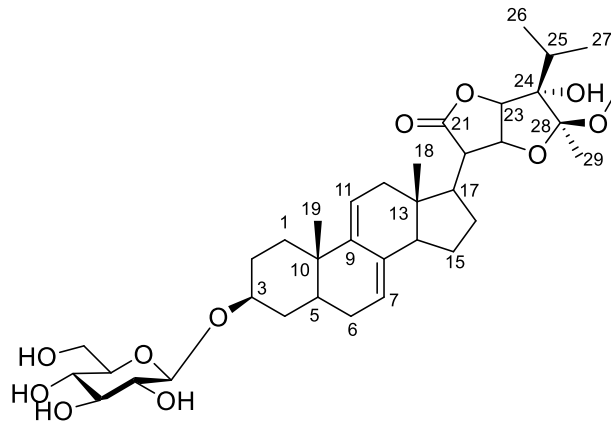


PL12

Phổ ROESY của hợp chất LD1





**II. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD2**

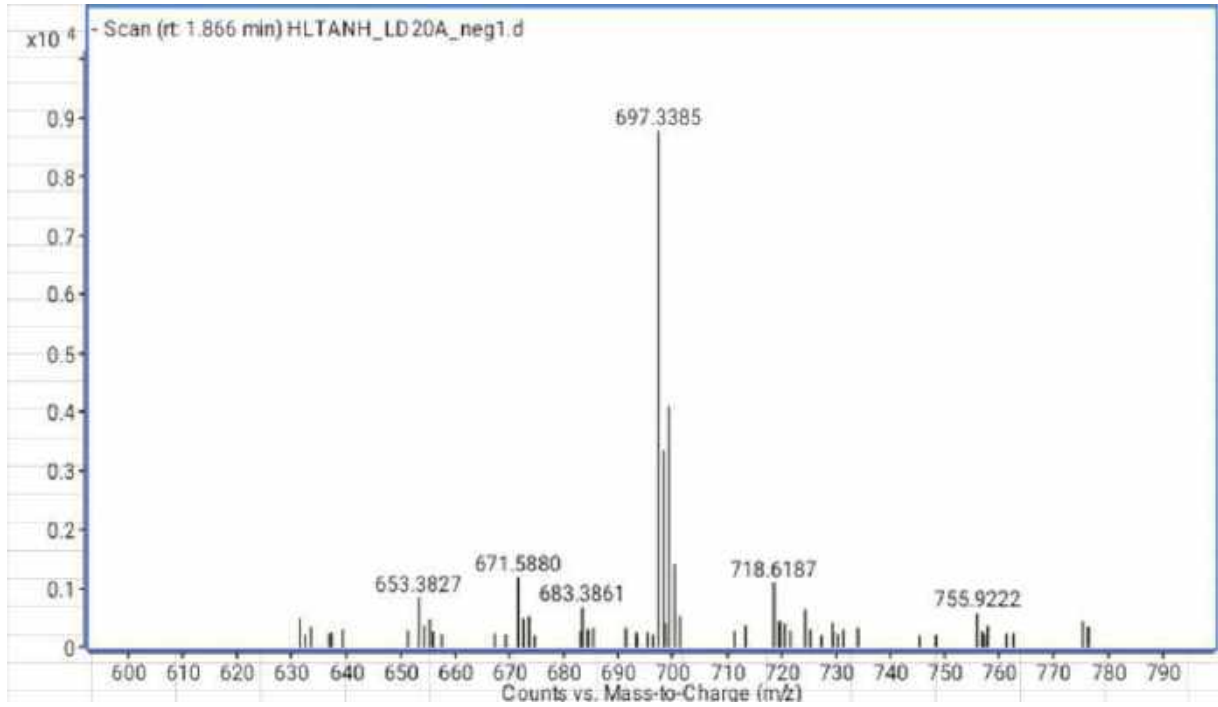
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{36}H_{54}O_{11}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 662,4

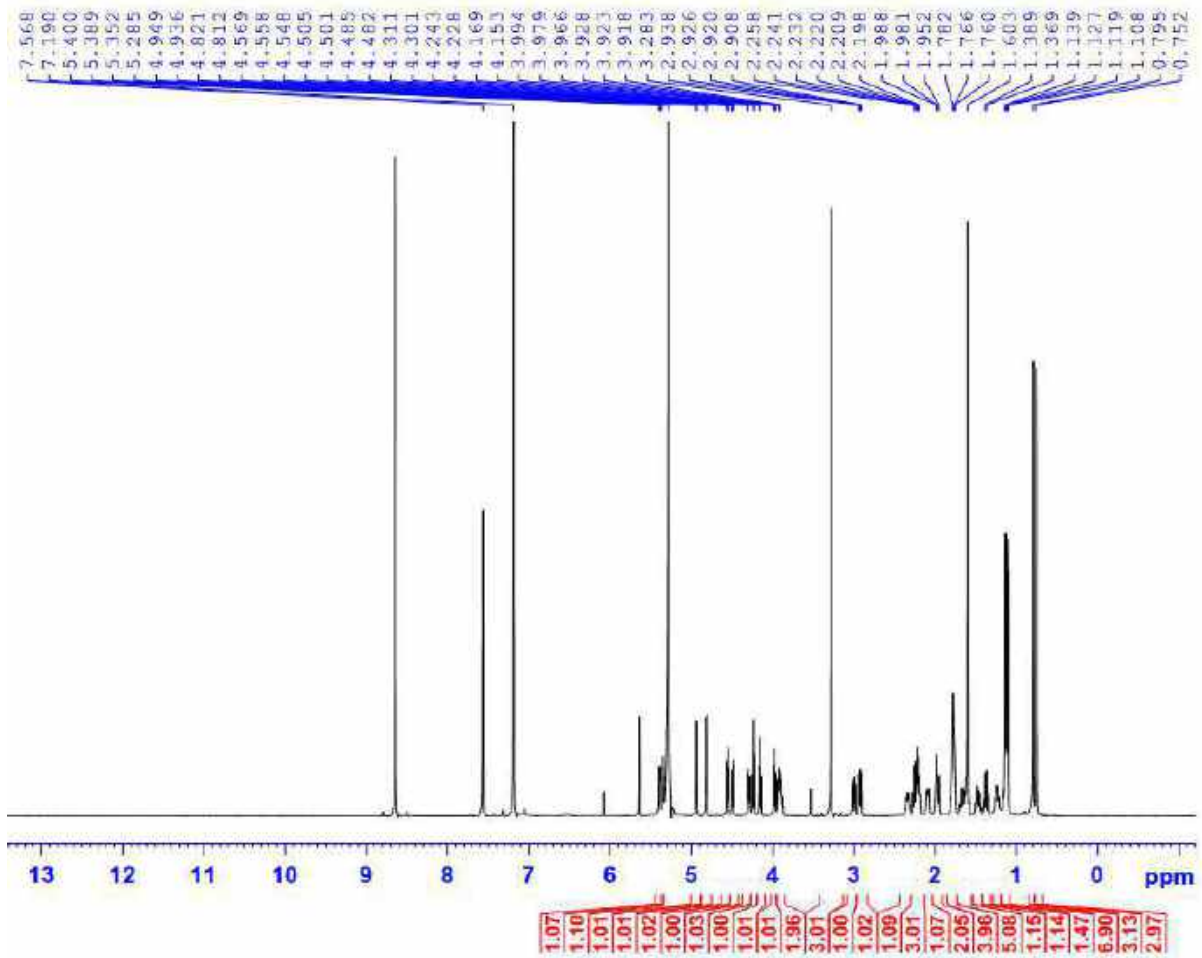
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL14

**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD2**

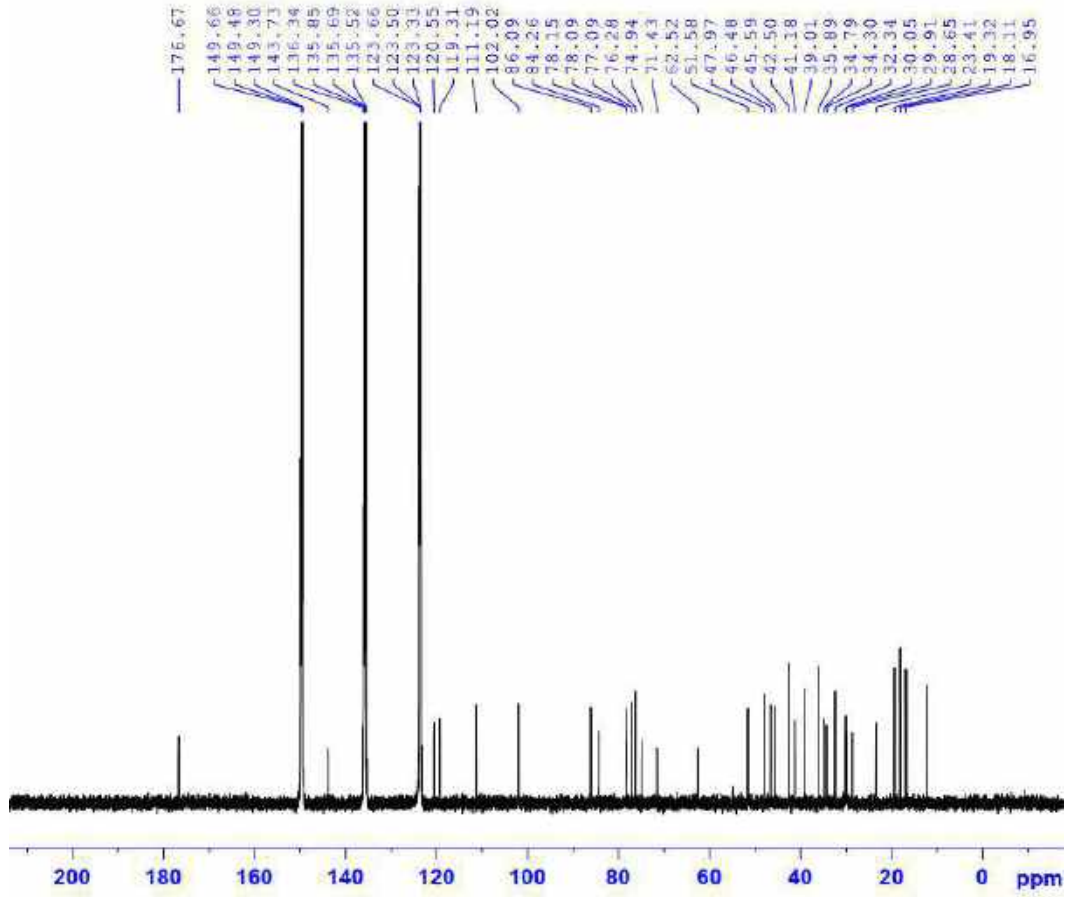


**Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD2**

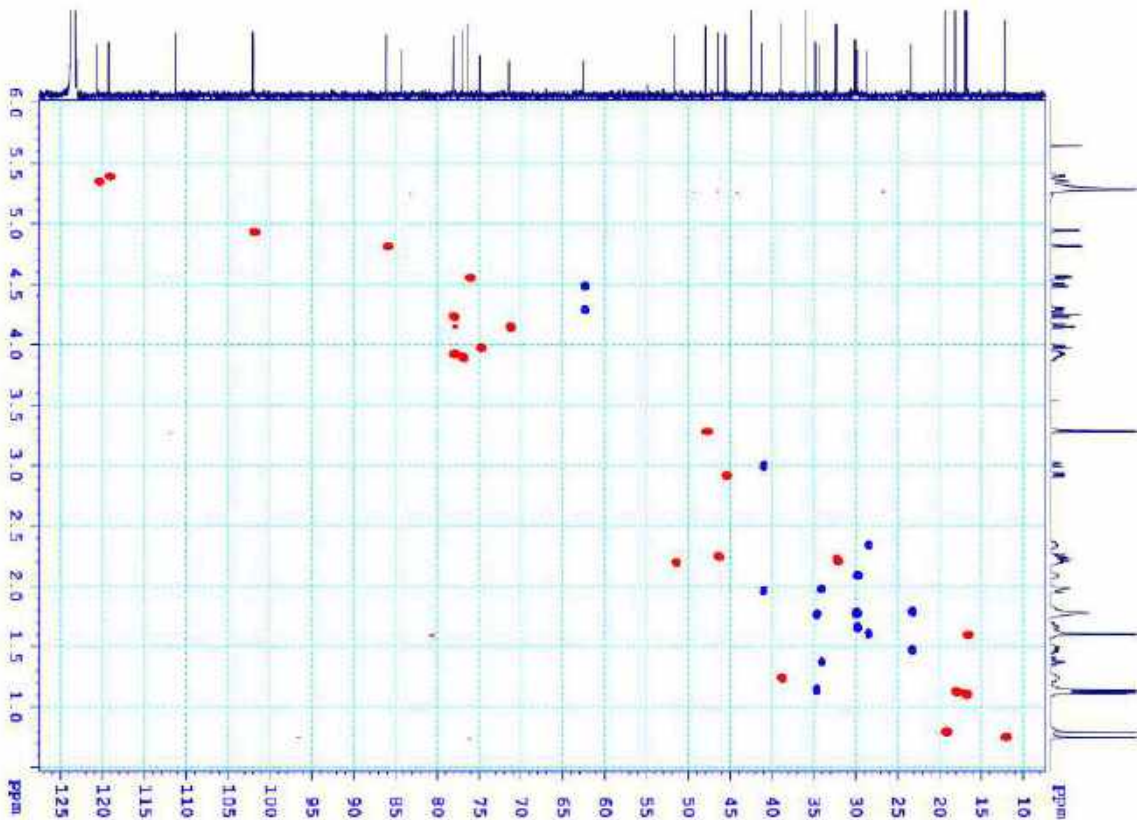


PL15

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD2

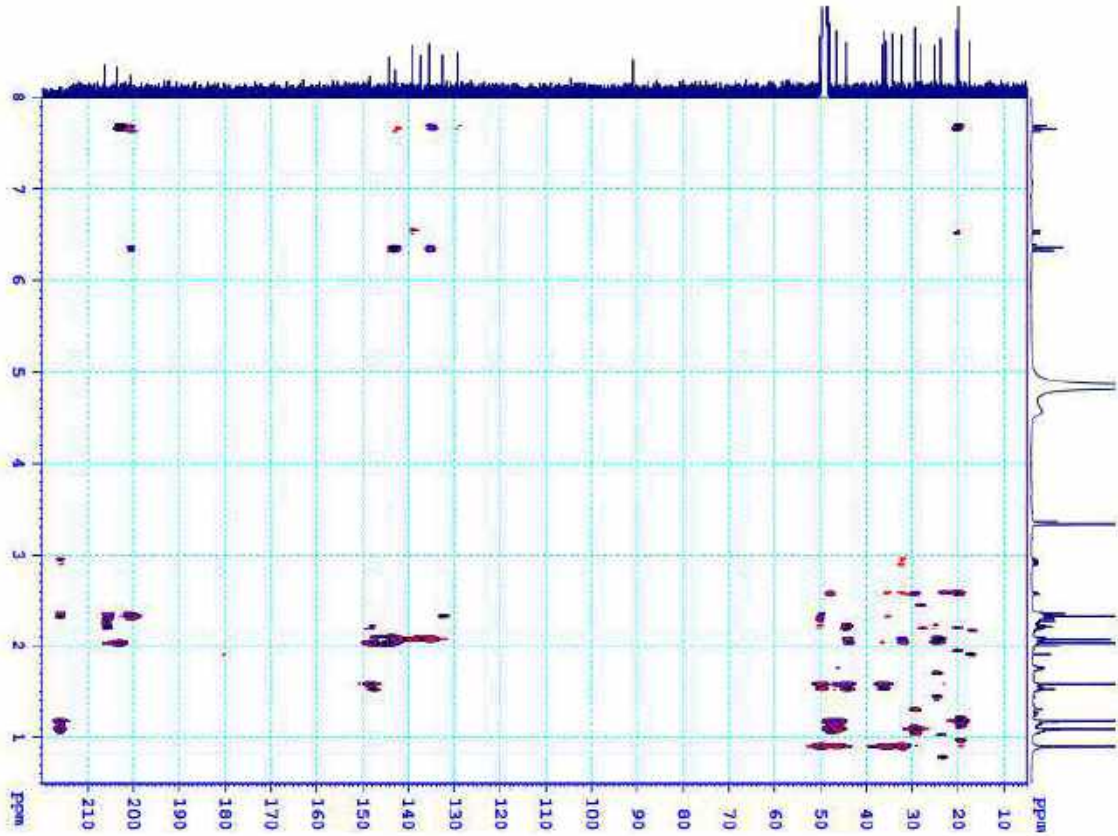


Phổ HSQC của hợp chất LD2

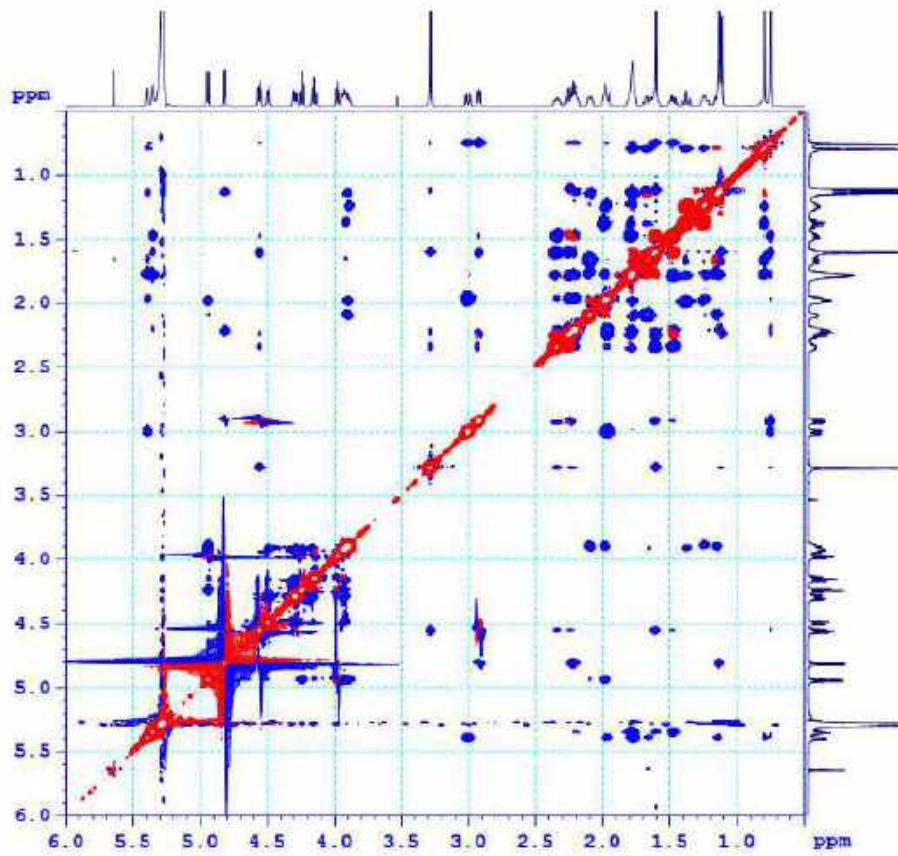


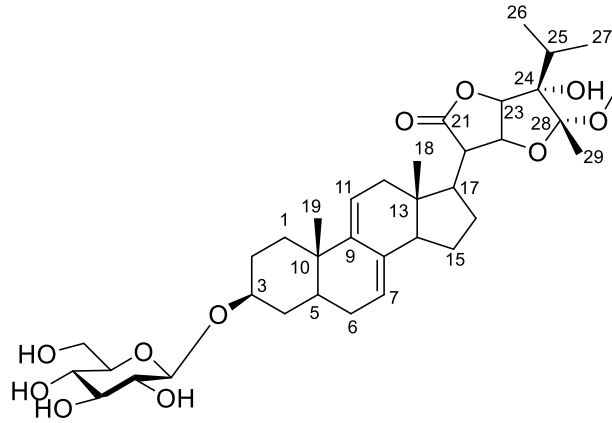
PL16

**Phổ HMBC của hợp chất LD2**



**Phổ ROESY của hợp chất LD2**



**III. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD3**

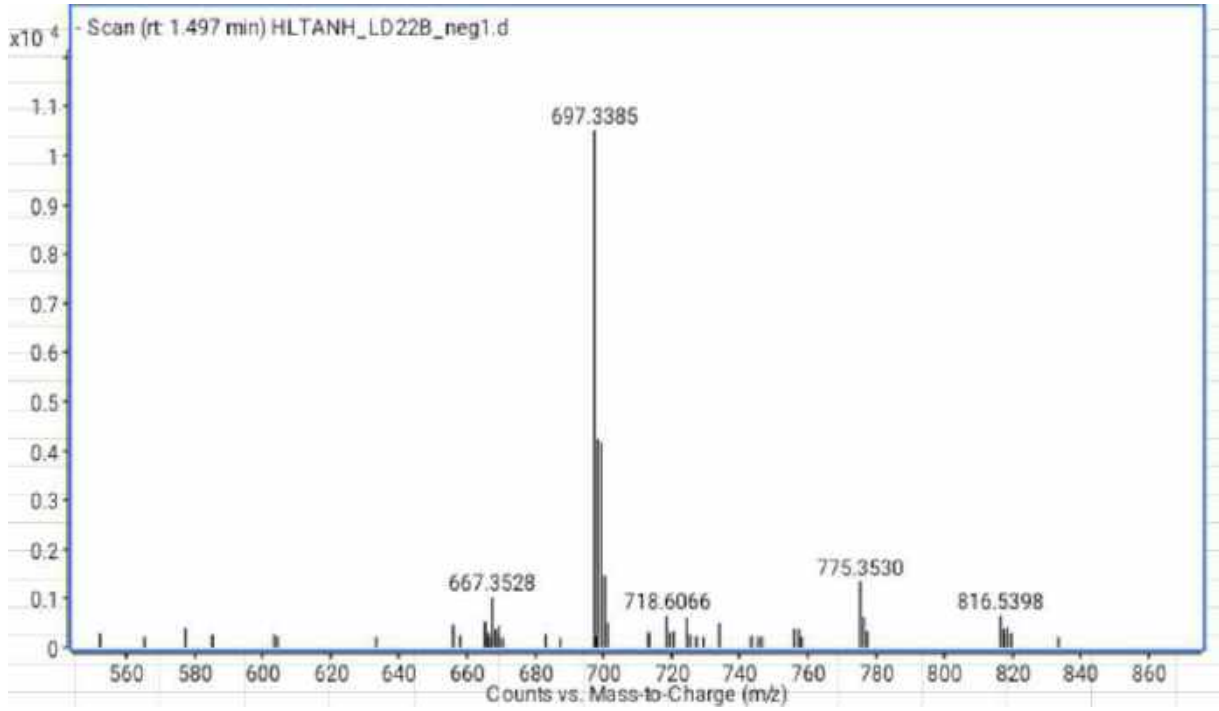
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{36}H_{54}O_{11}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 662,4

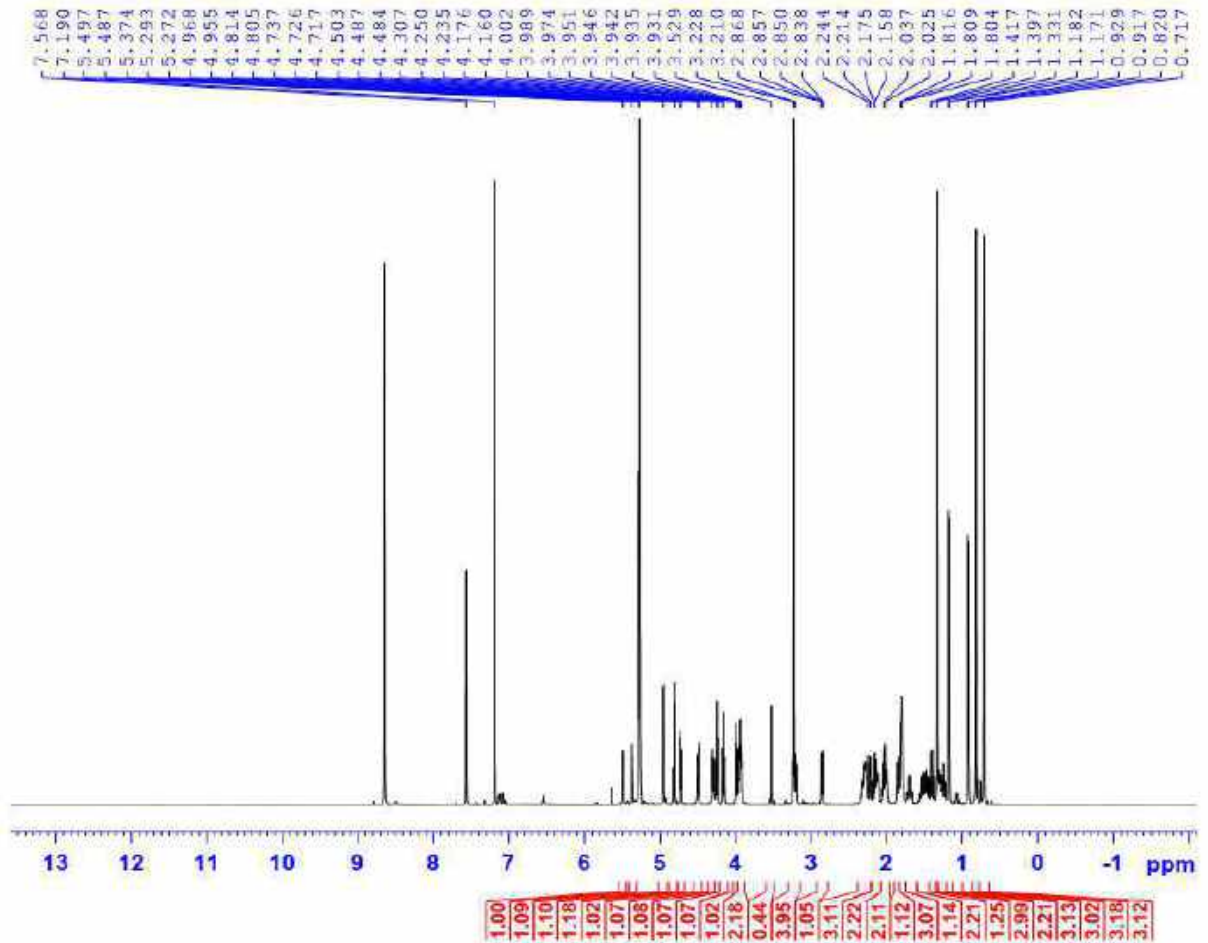
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ ROESY-NMR

PL18

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD3

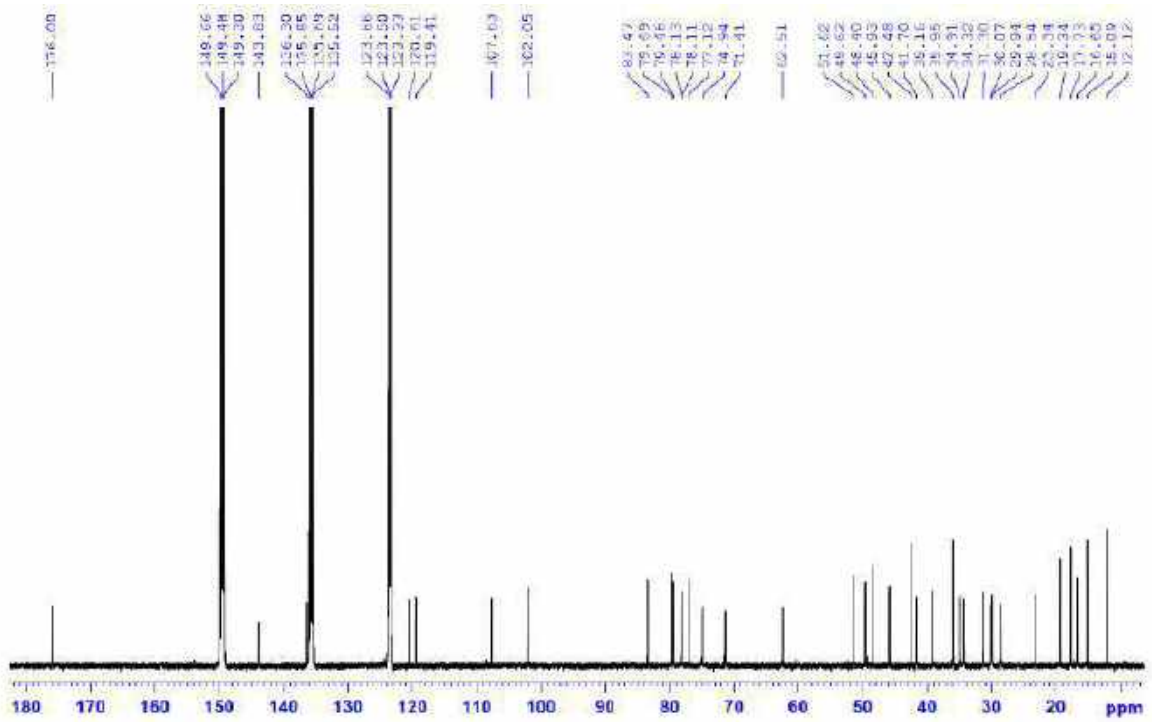


Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD3

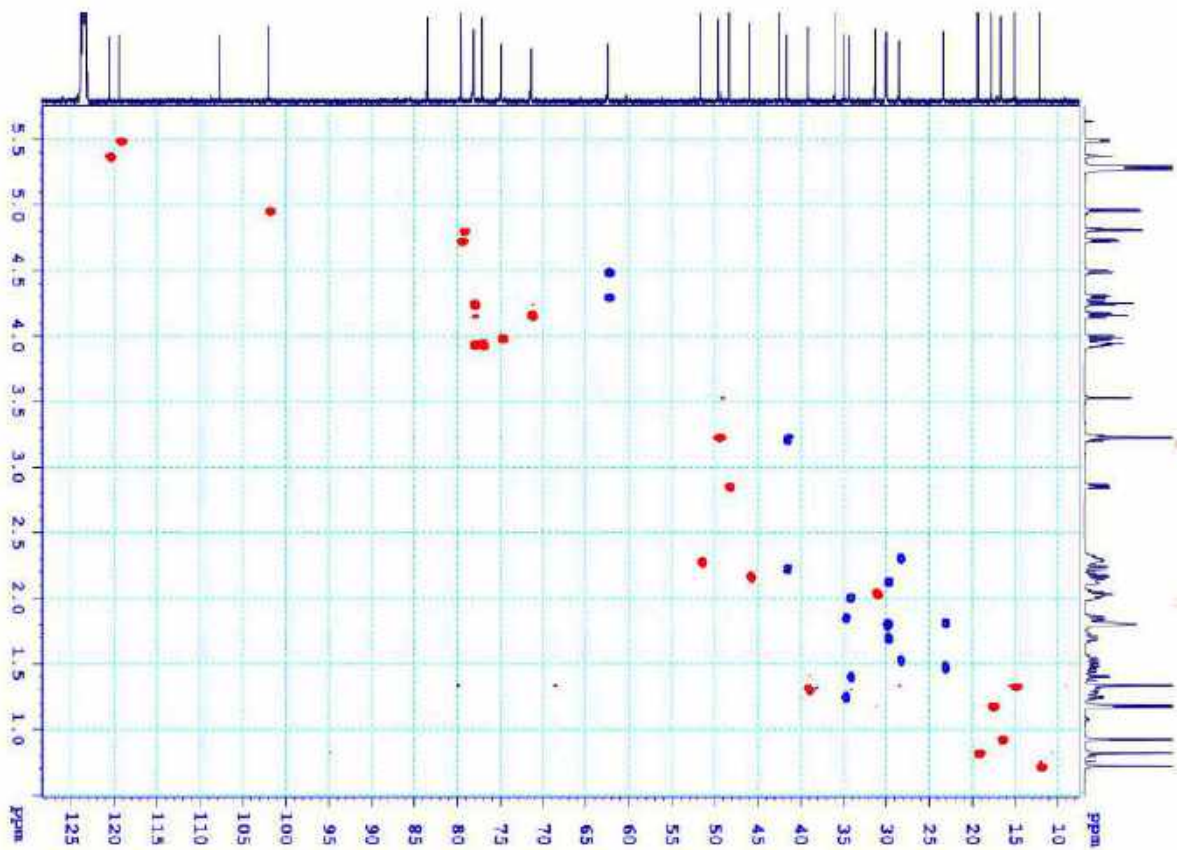


PL19

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD3

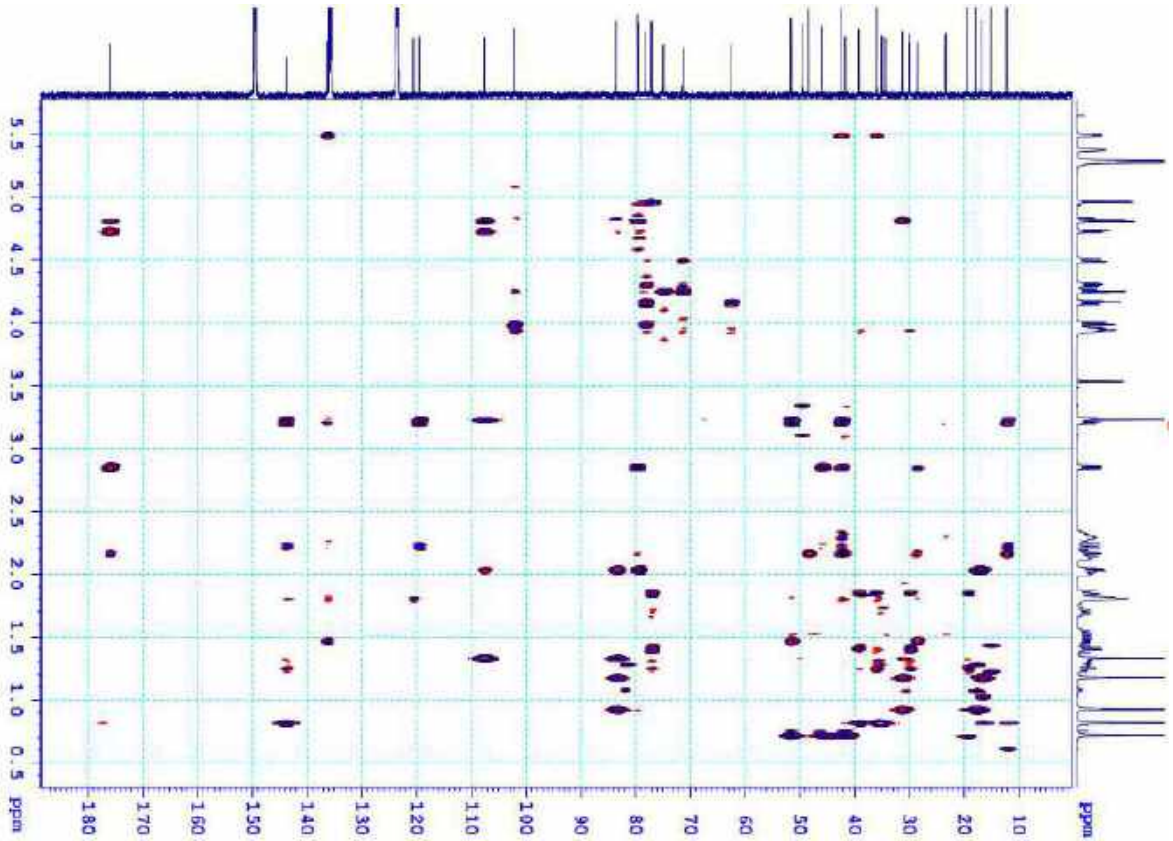


Phổ HSQC của hợp chất LD3

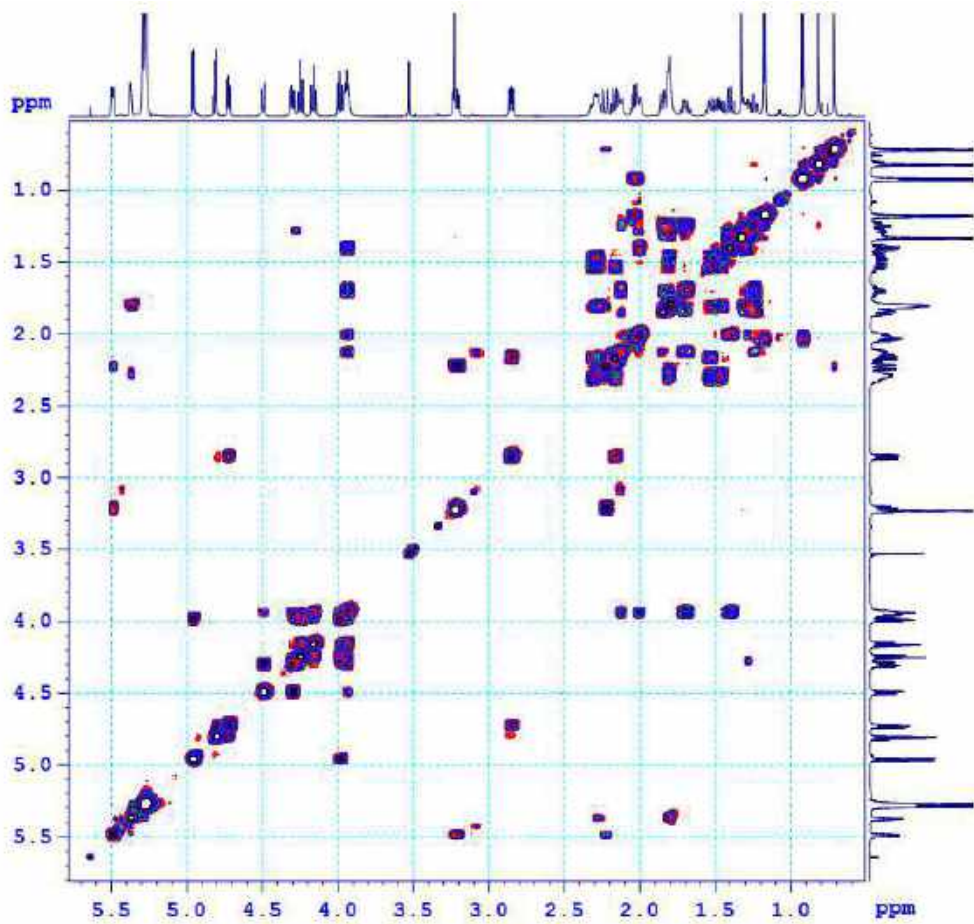


PL20

Phổ HMBC của hợp chất LD3



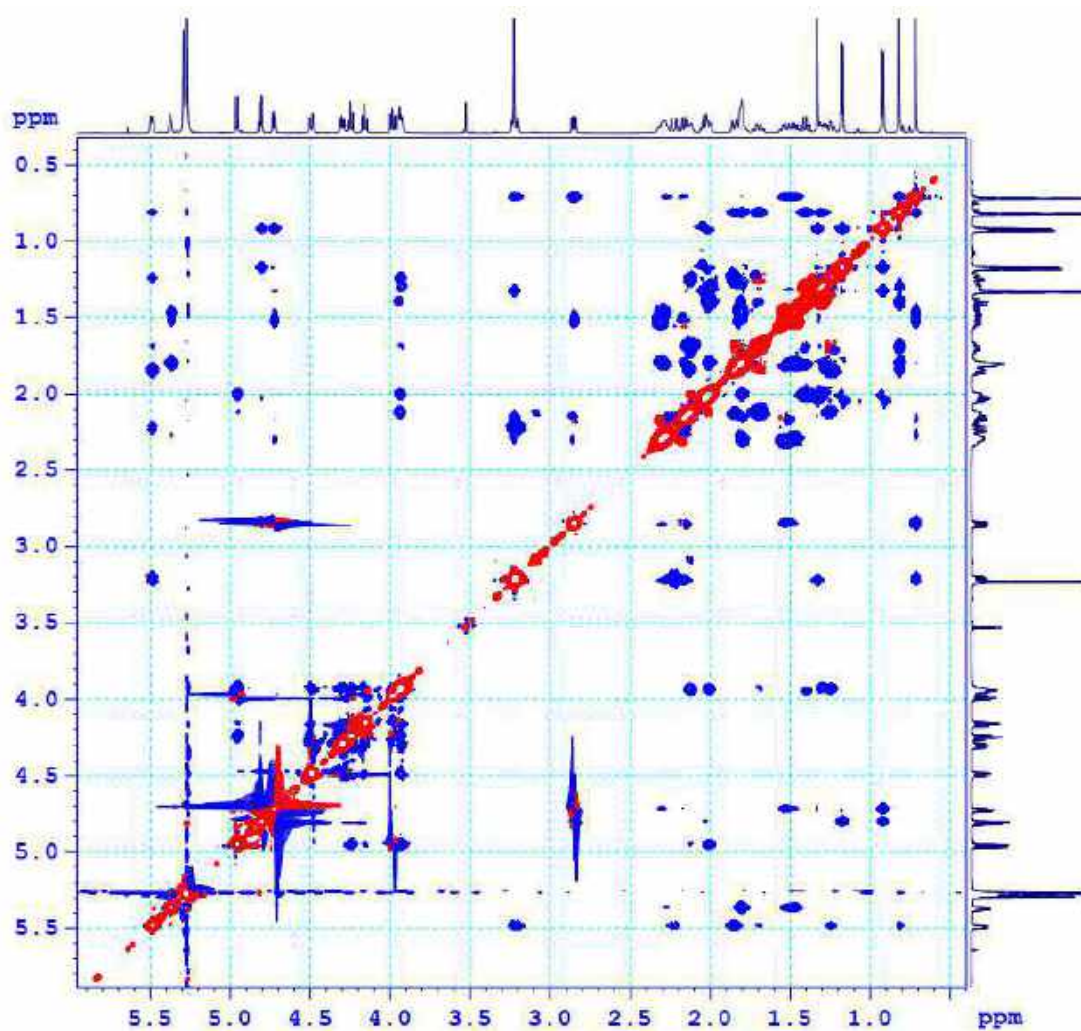
Phổ COSY của hợp chất LD3



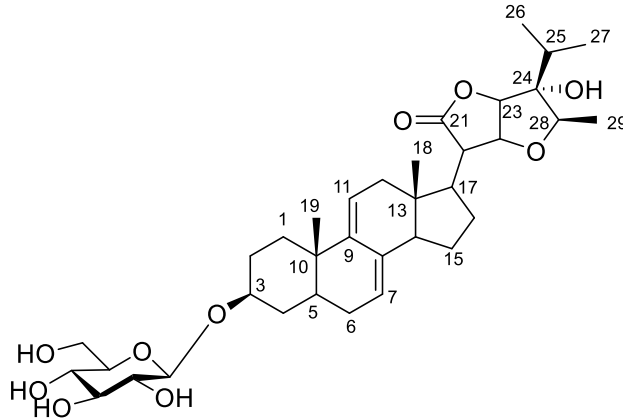


PL21

Phổ ROESY của hợp chất LD3



## IV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD4



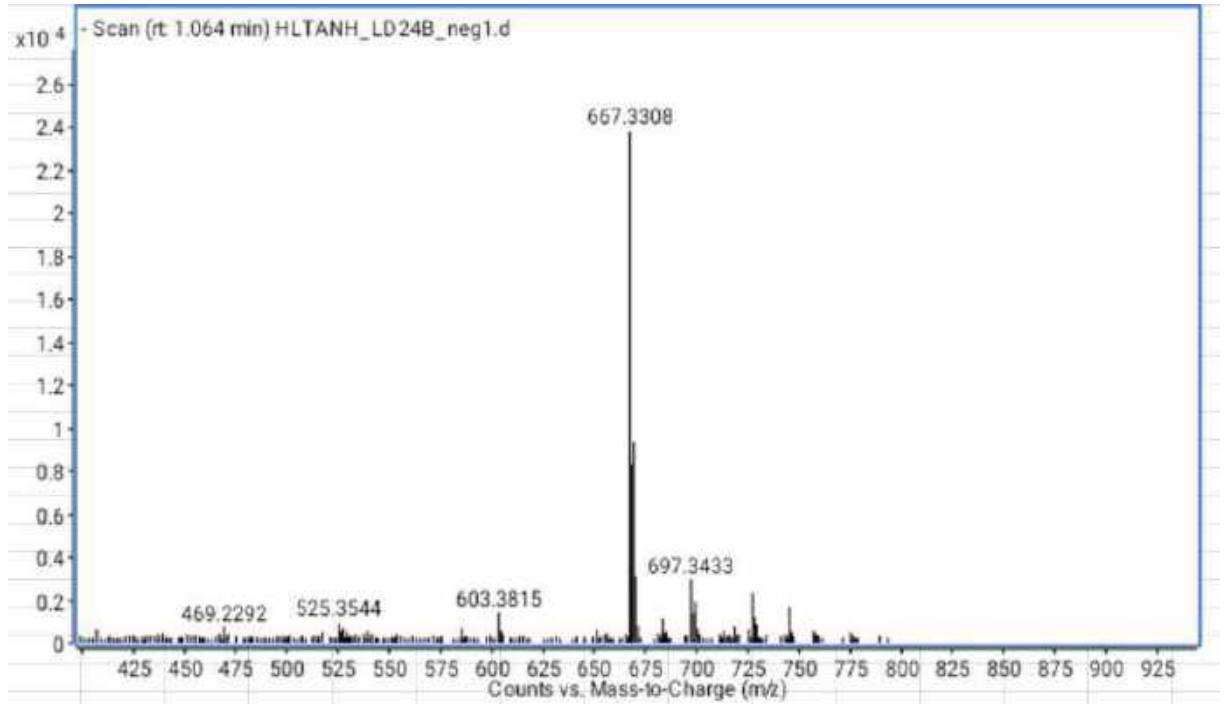
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{35}H_{52}O_{10}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 632,4

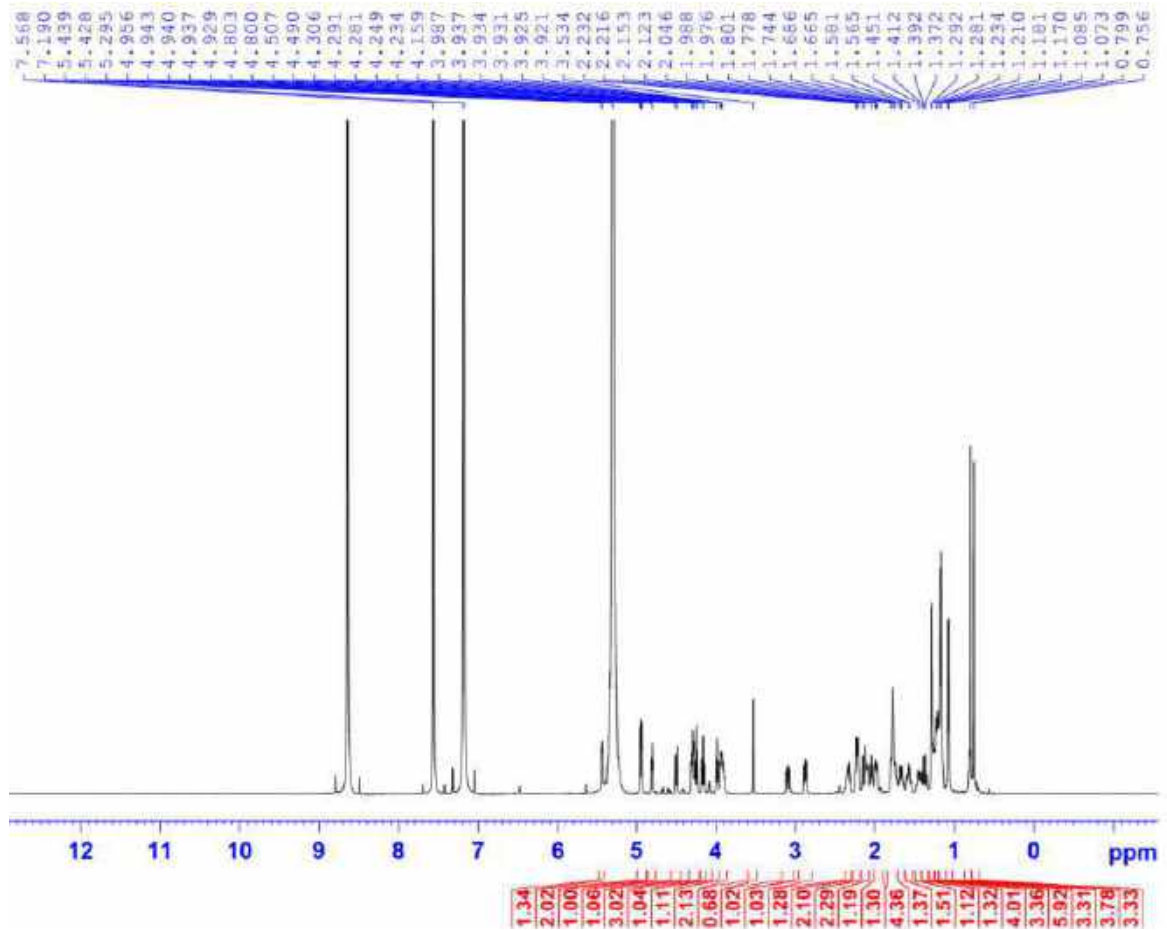
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ ROESY-NMR

PL23

**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD4**

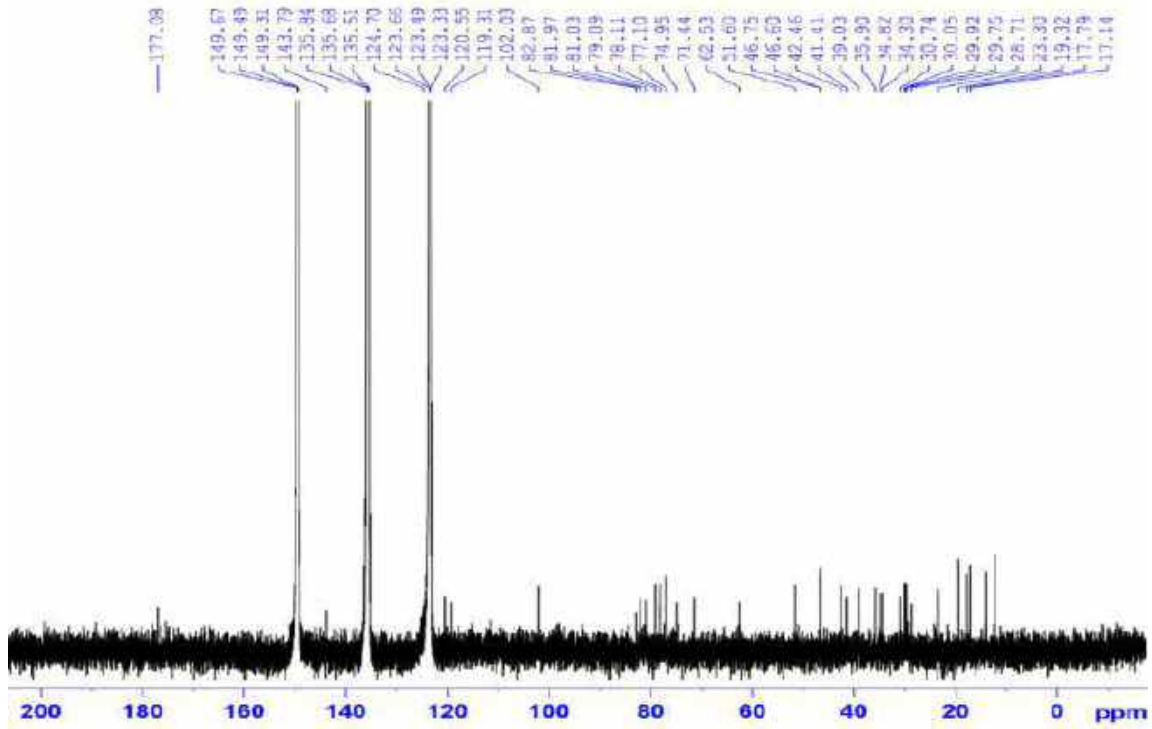


**Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD4**

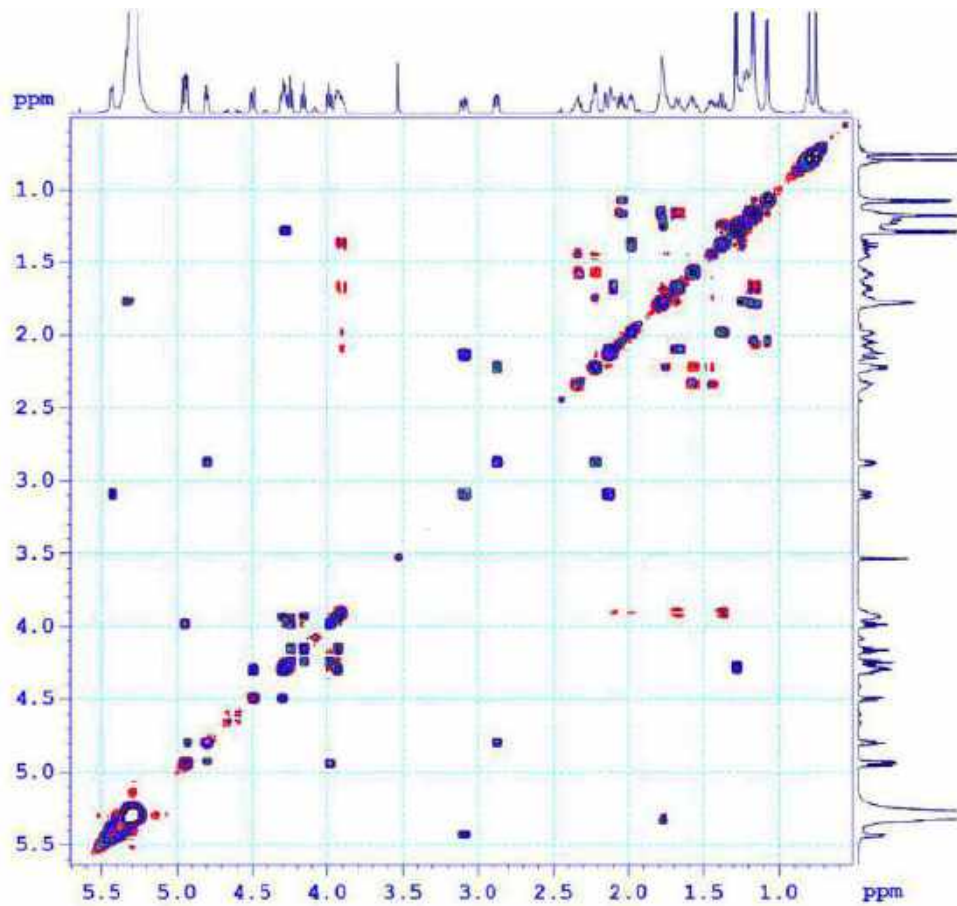


PL24

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD4

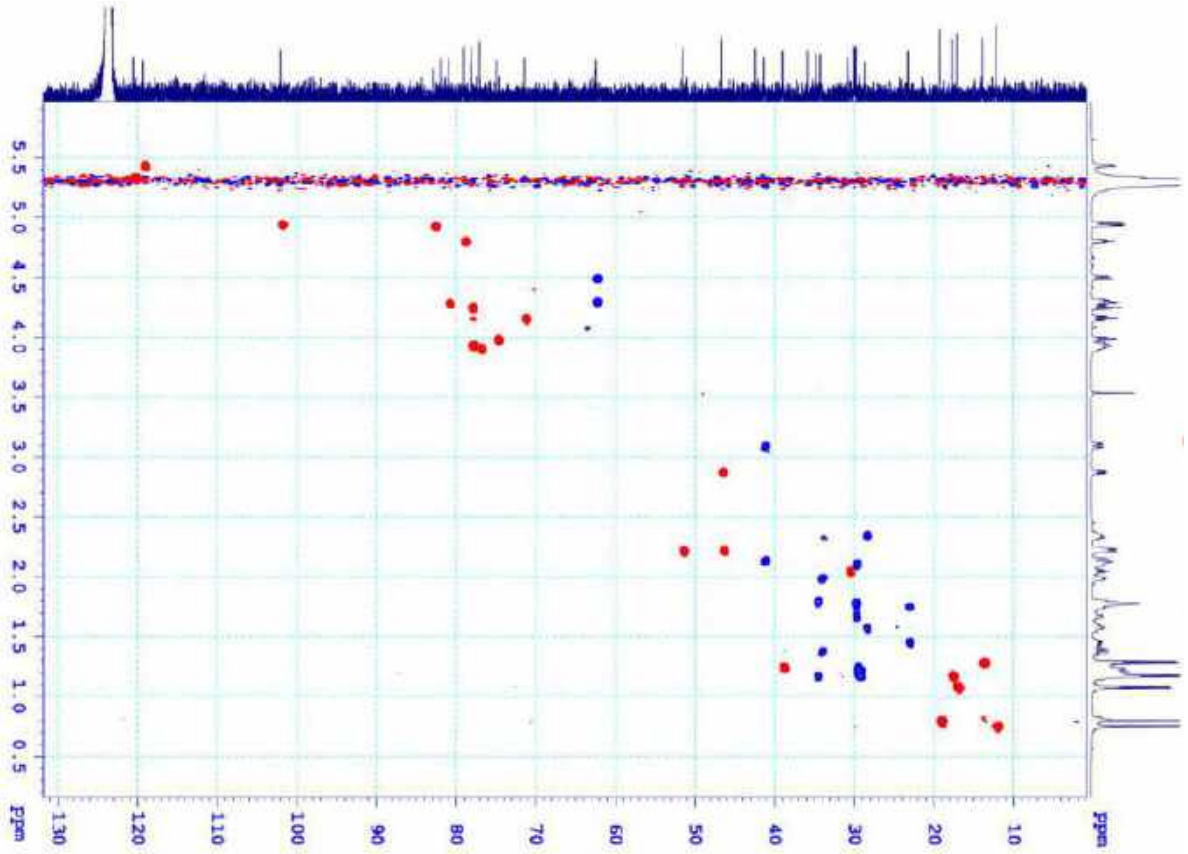


Phổ COSY của hợp chất LD4

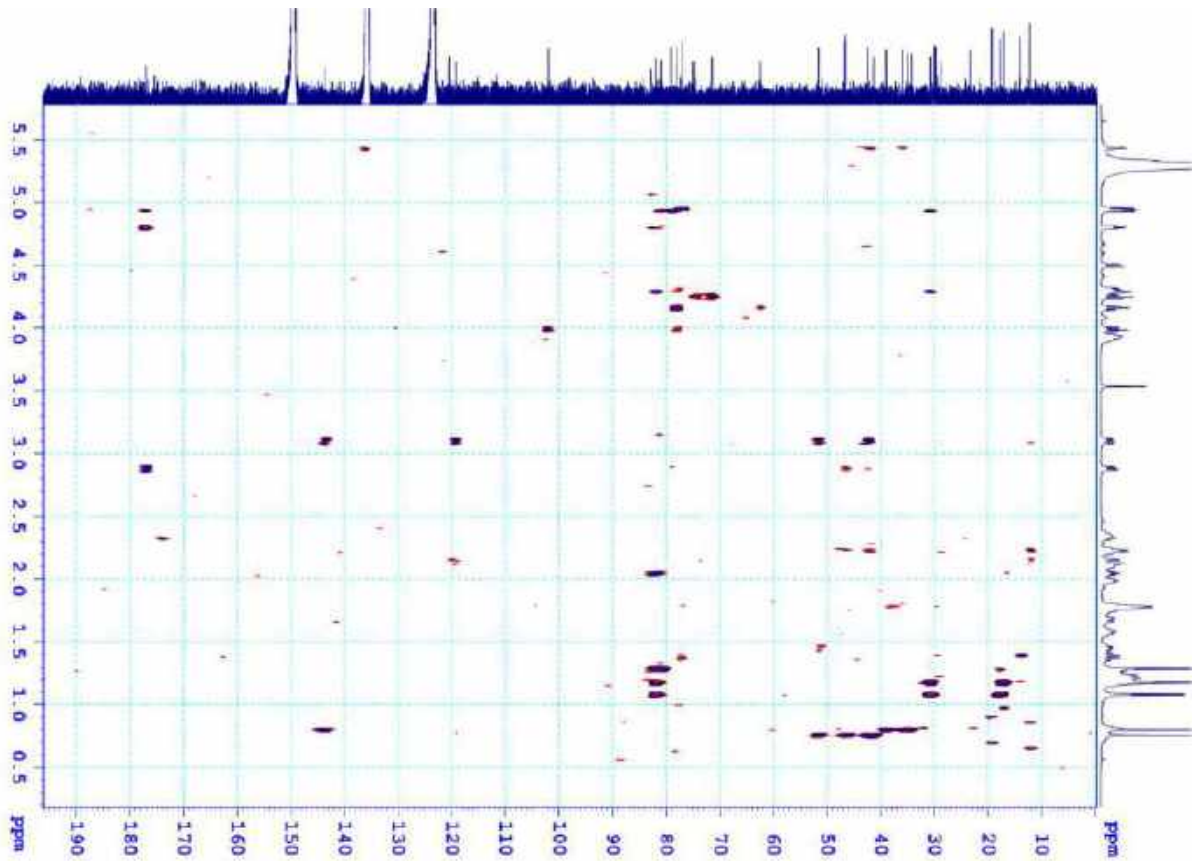


PL25

**Phổ HSQC của hợp chất LD4**

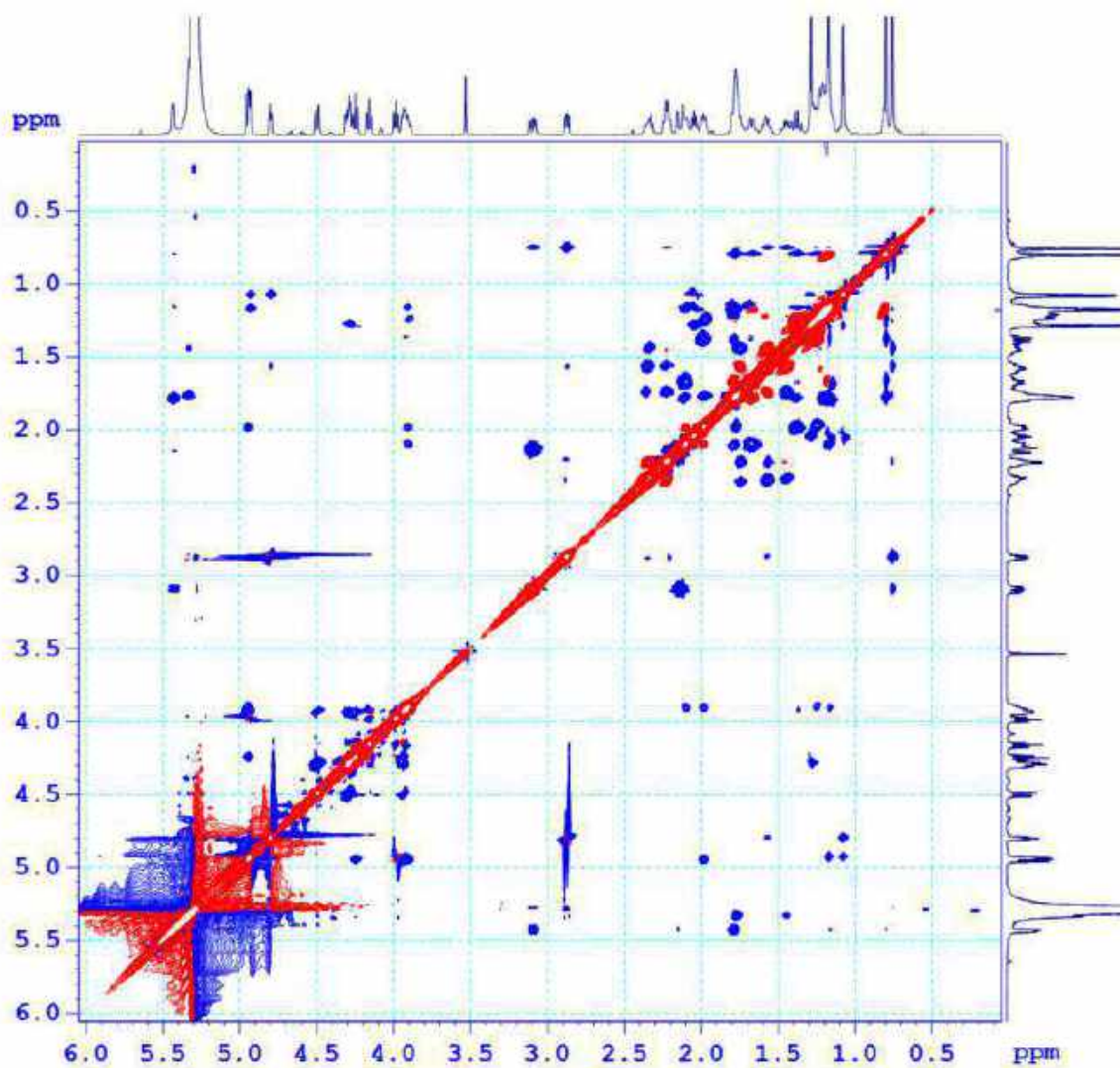


**Phổ HMBC của hợp chất LD4**

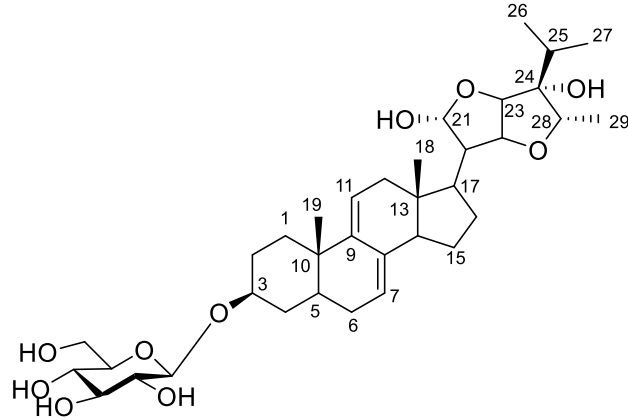


PL26

Phổ ROESY của hợp chất LD4



## V. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD5



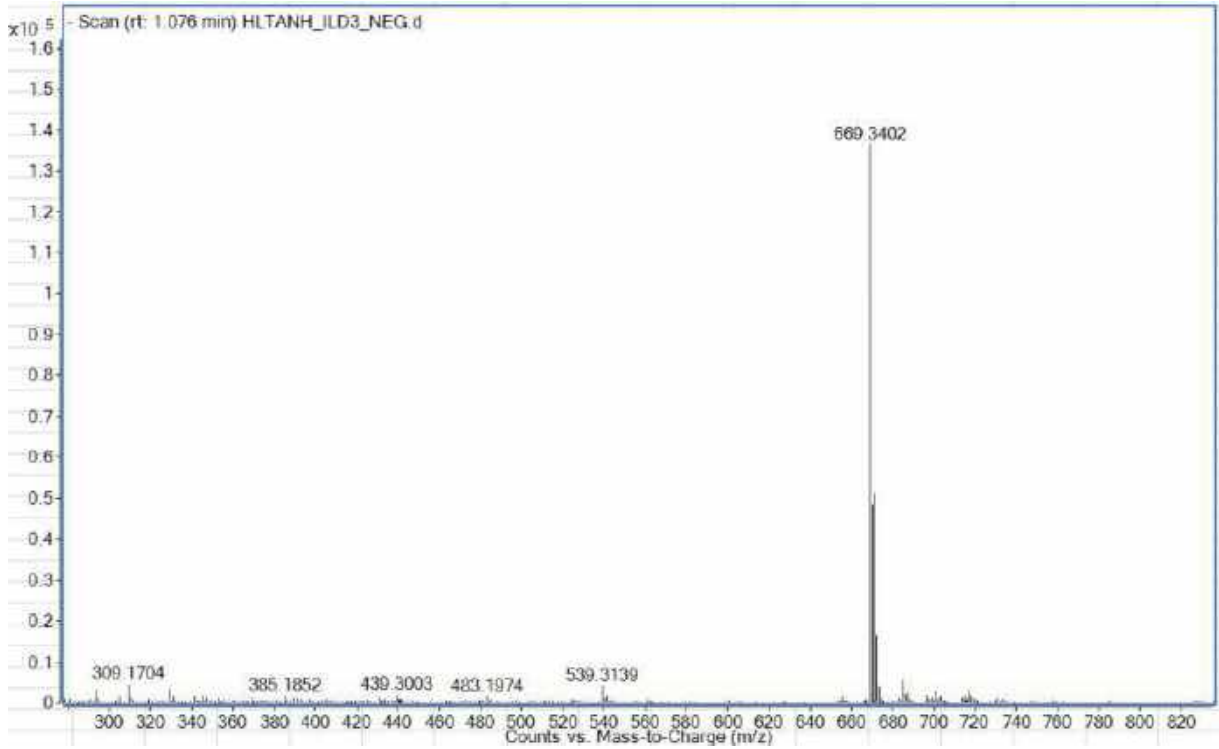
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{35}H_{54}O_{10}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 634,4

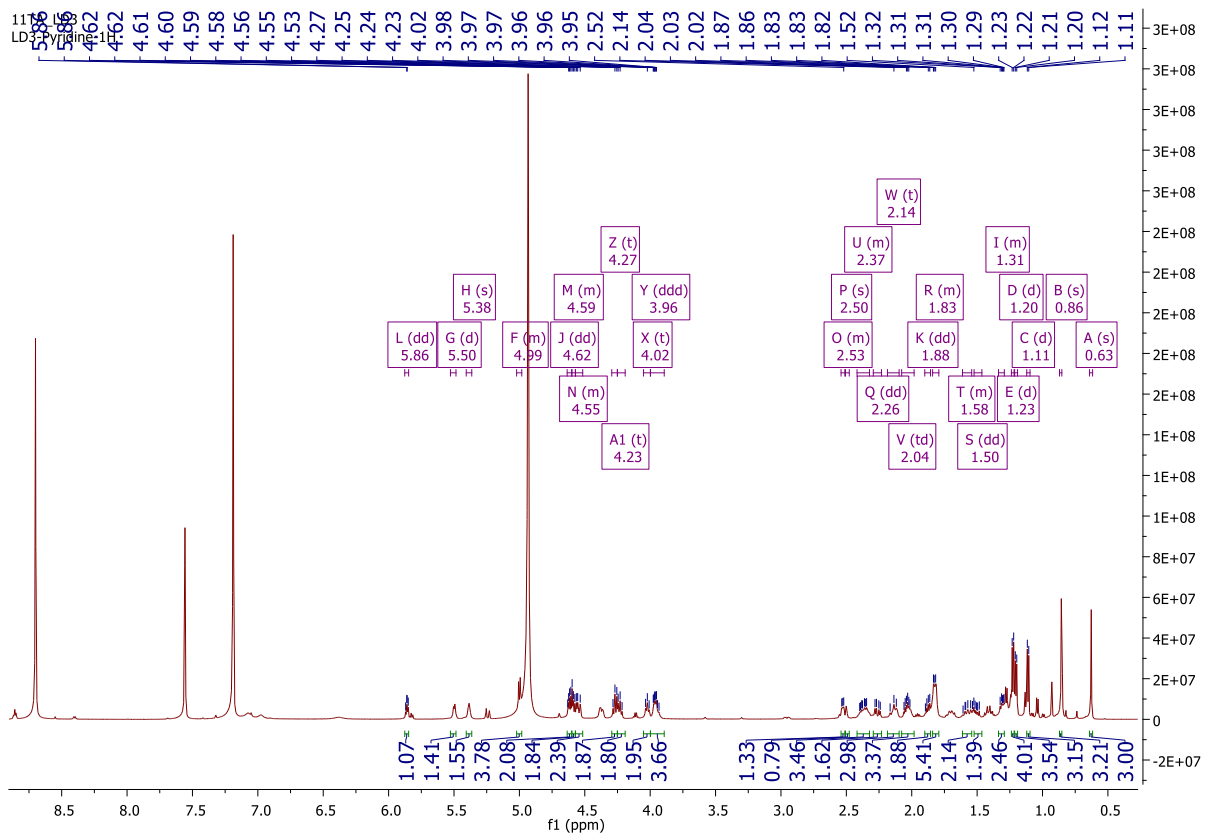
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

# PL28

## Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD5



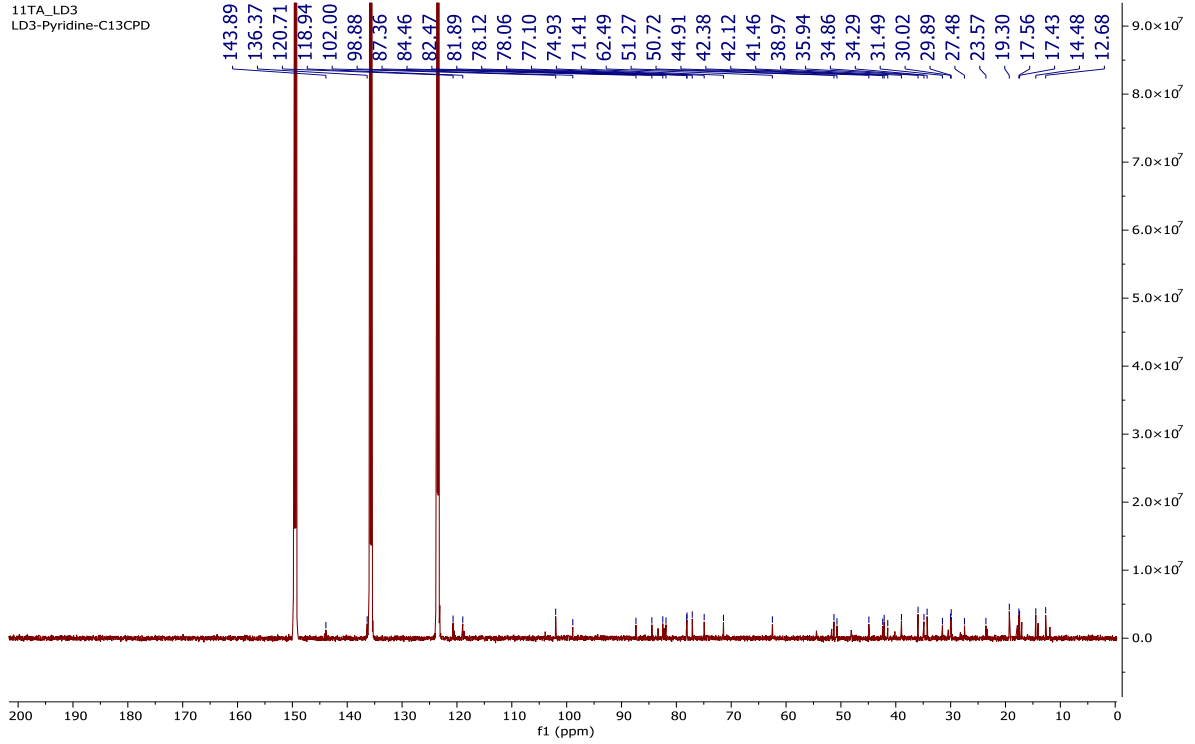
## Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD5



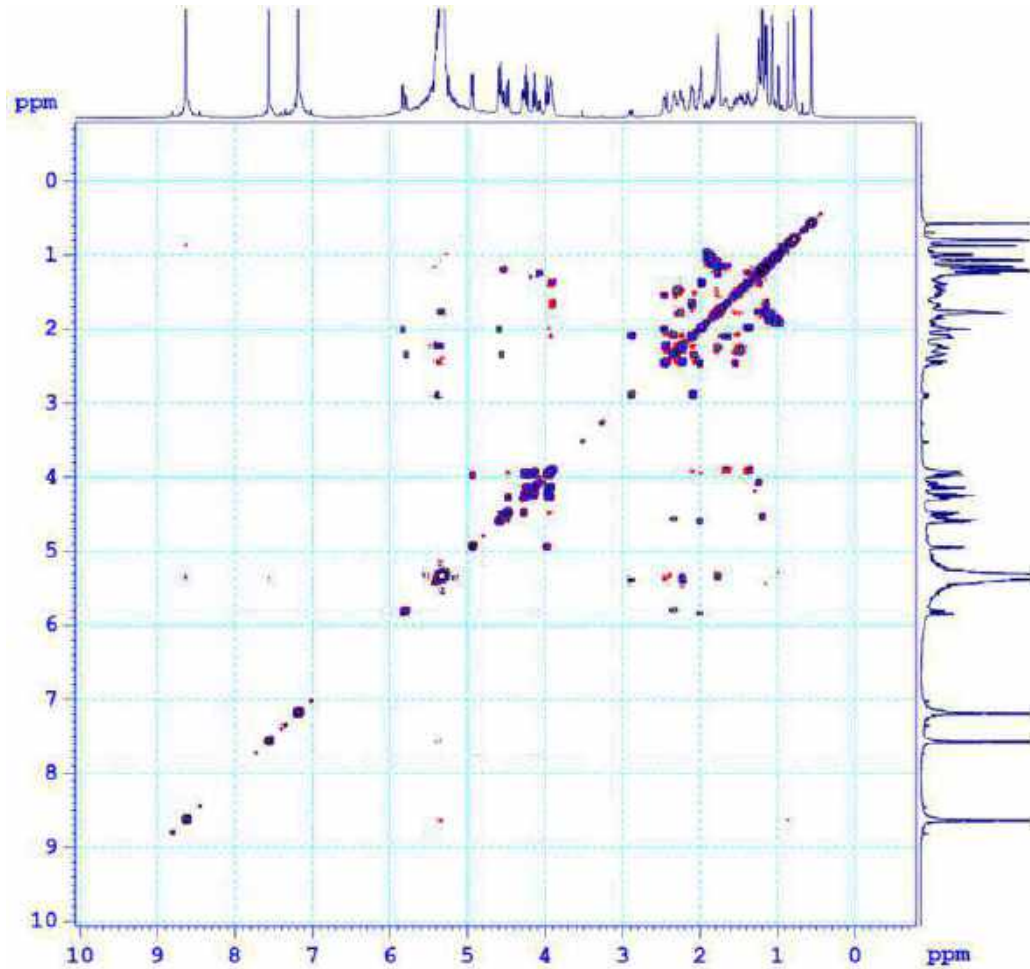


PL29

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD5

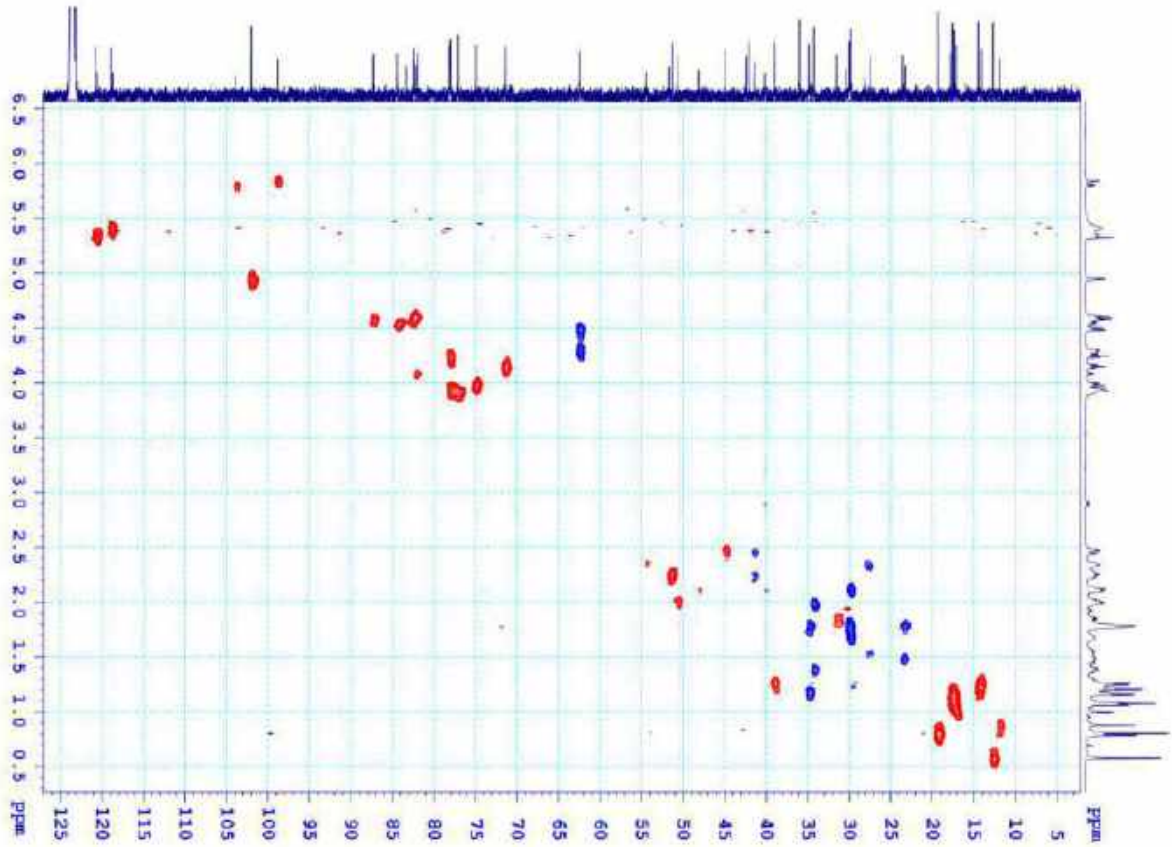


### Phổ COSY của hợp chất LD5

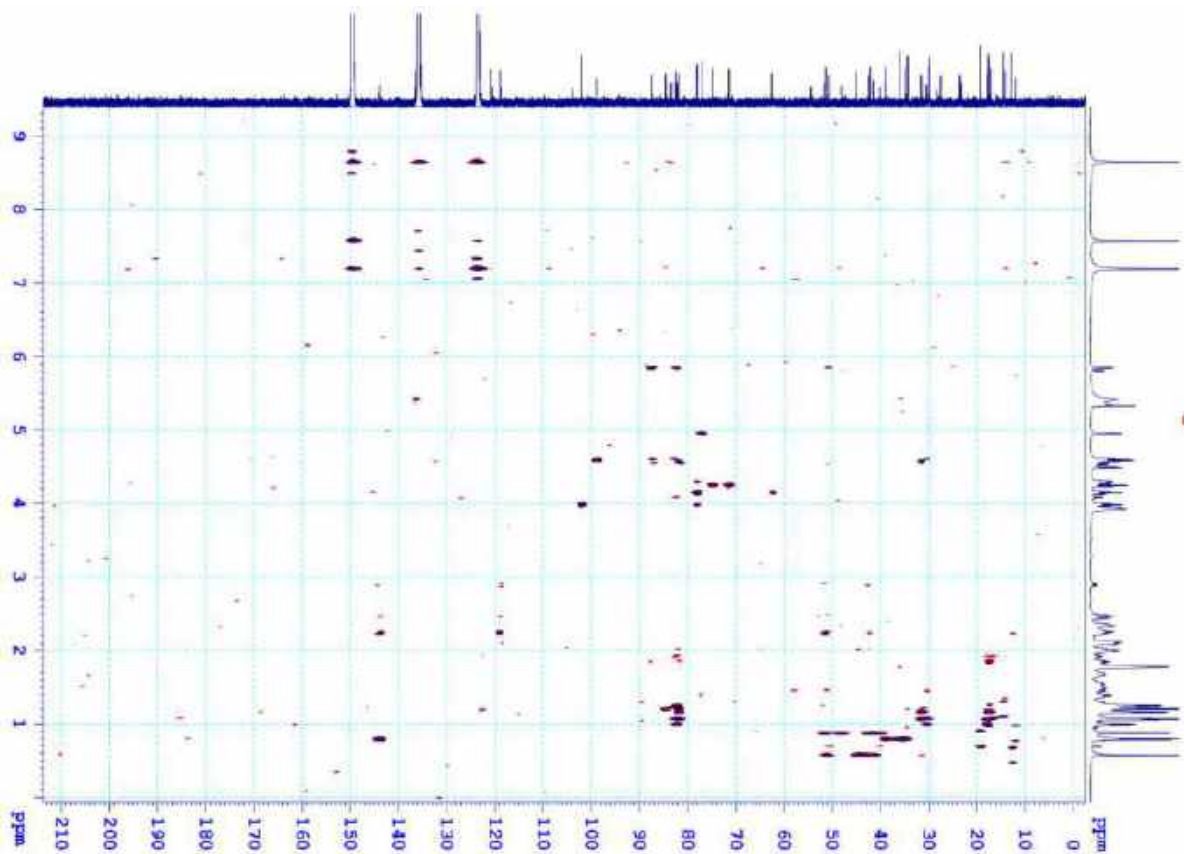


PL30

Phổ HSQC của hợp chất LD5

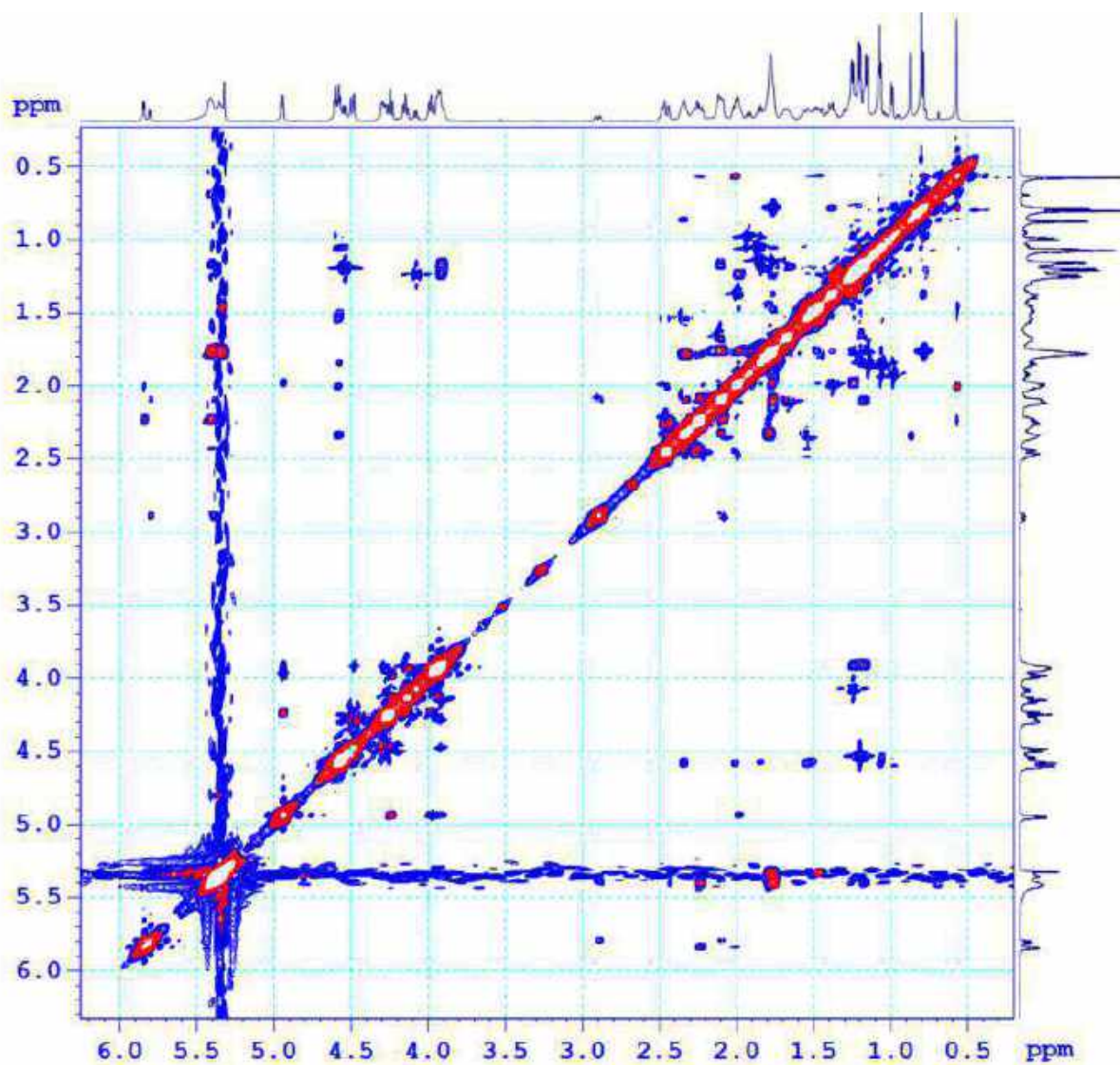


Phổ HMBC của hợp chất LD5

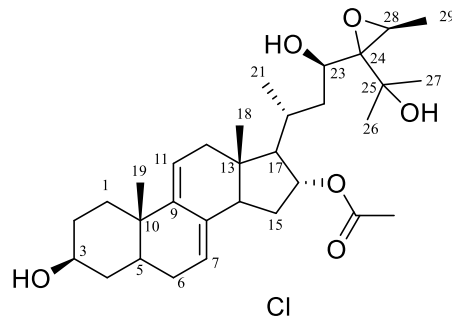


PL31

Phổ NOESY của hợp chất LD5



## VI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD6



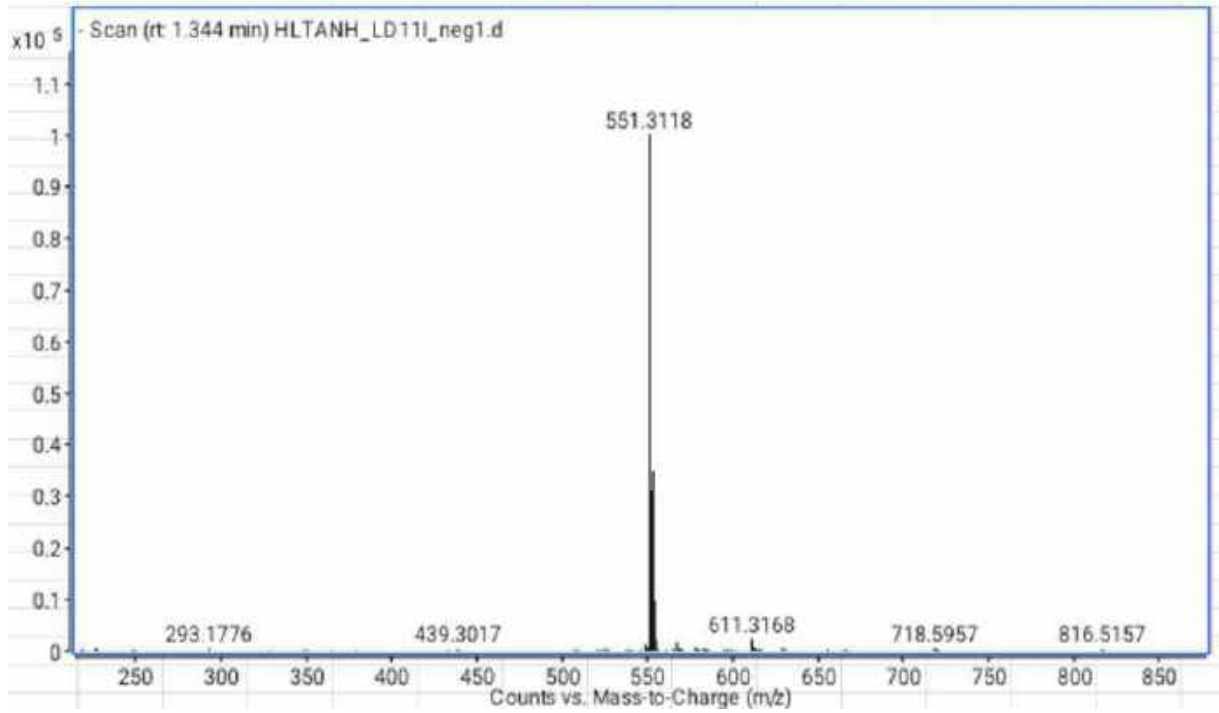
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{33}H_{32}O_4$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 512,4

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

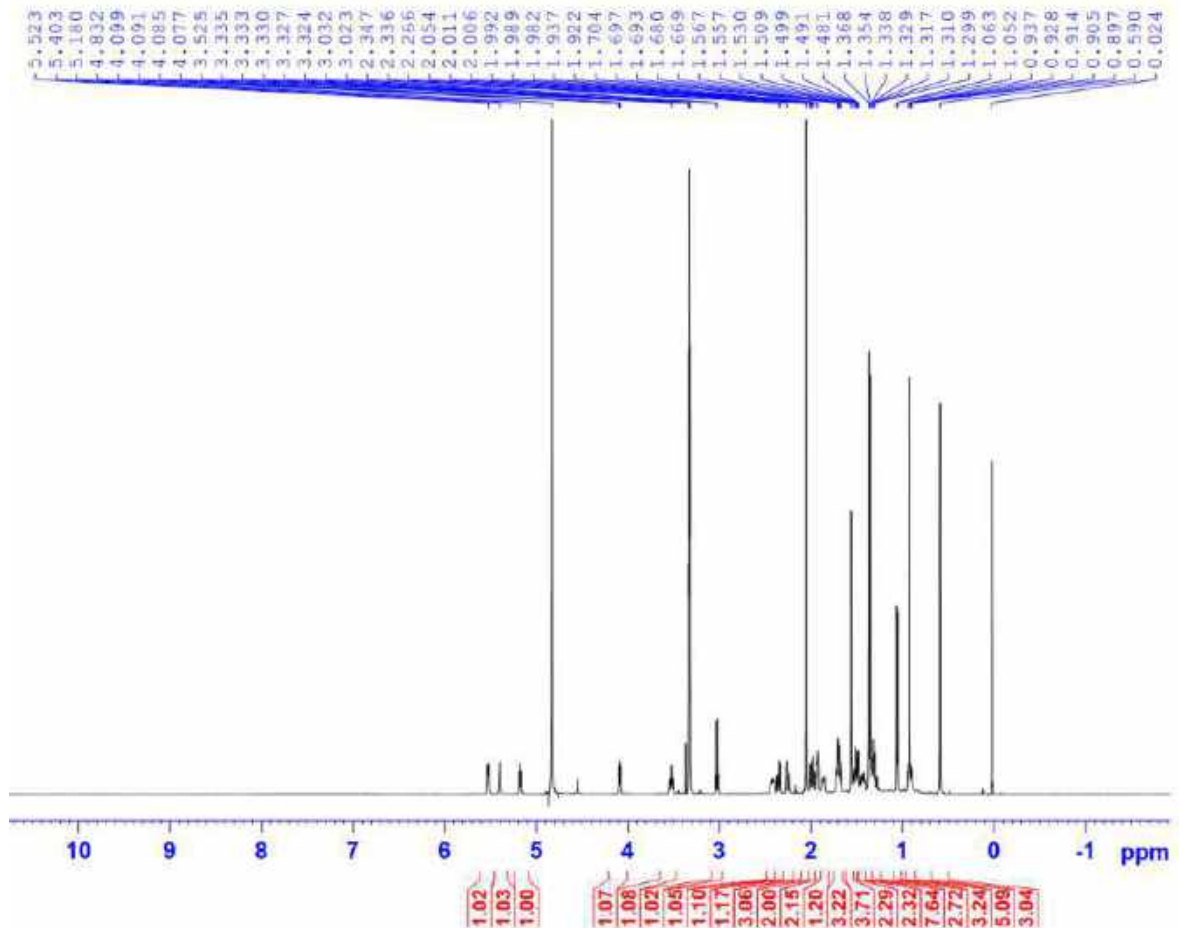
PL33

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD6



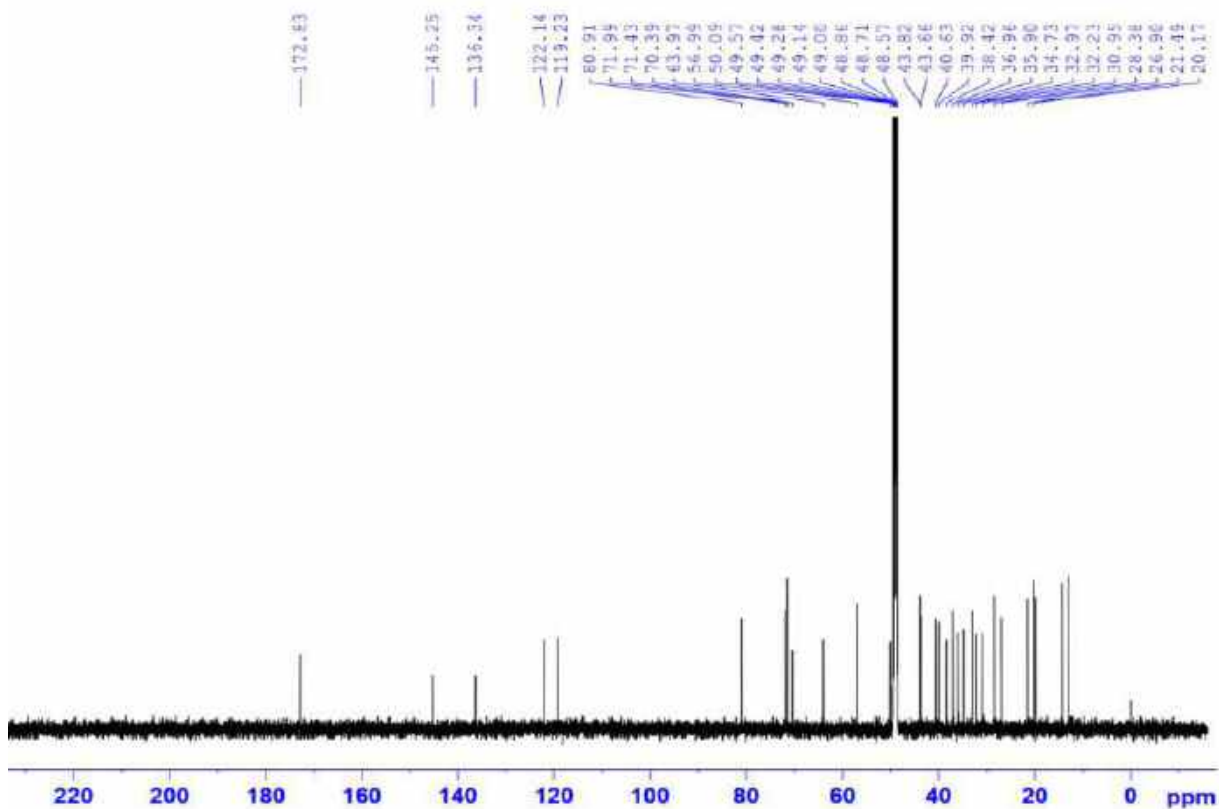
Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD6

LD11I-MeOD-1H

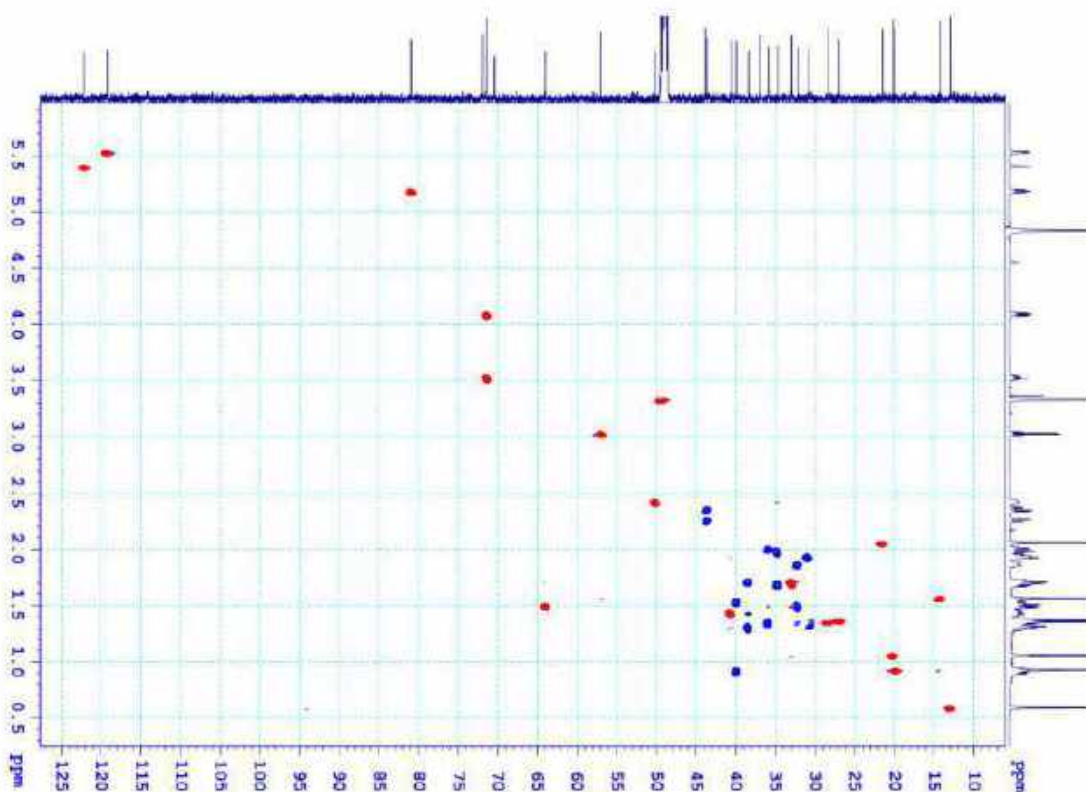


PL34

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD6

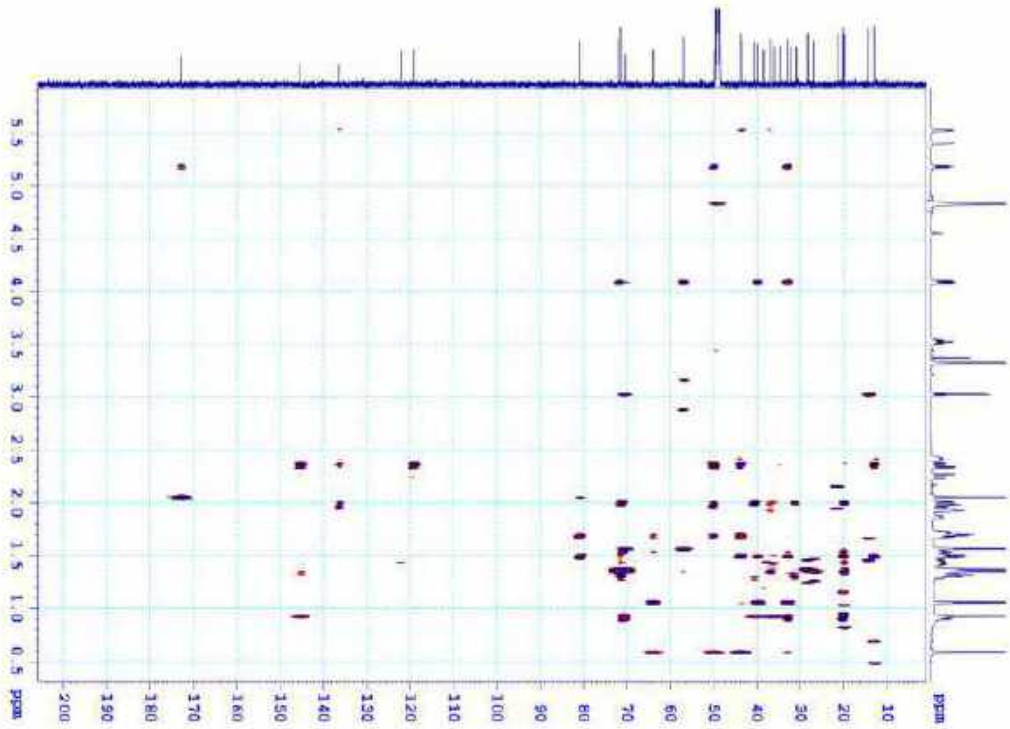


### Phổ HSQC của hợp chất LD6

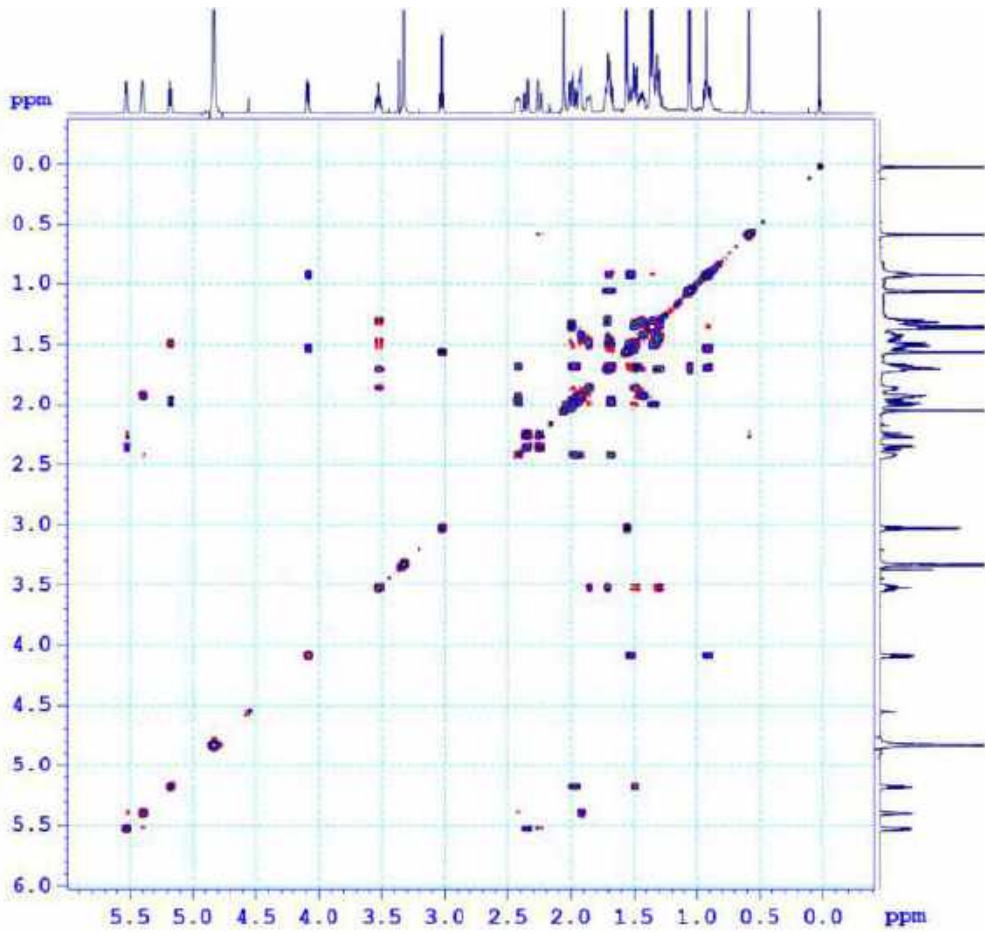


PL35

**Phổ HMBC của hợp chất LD6**

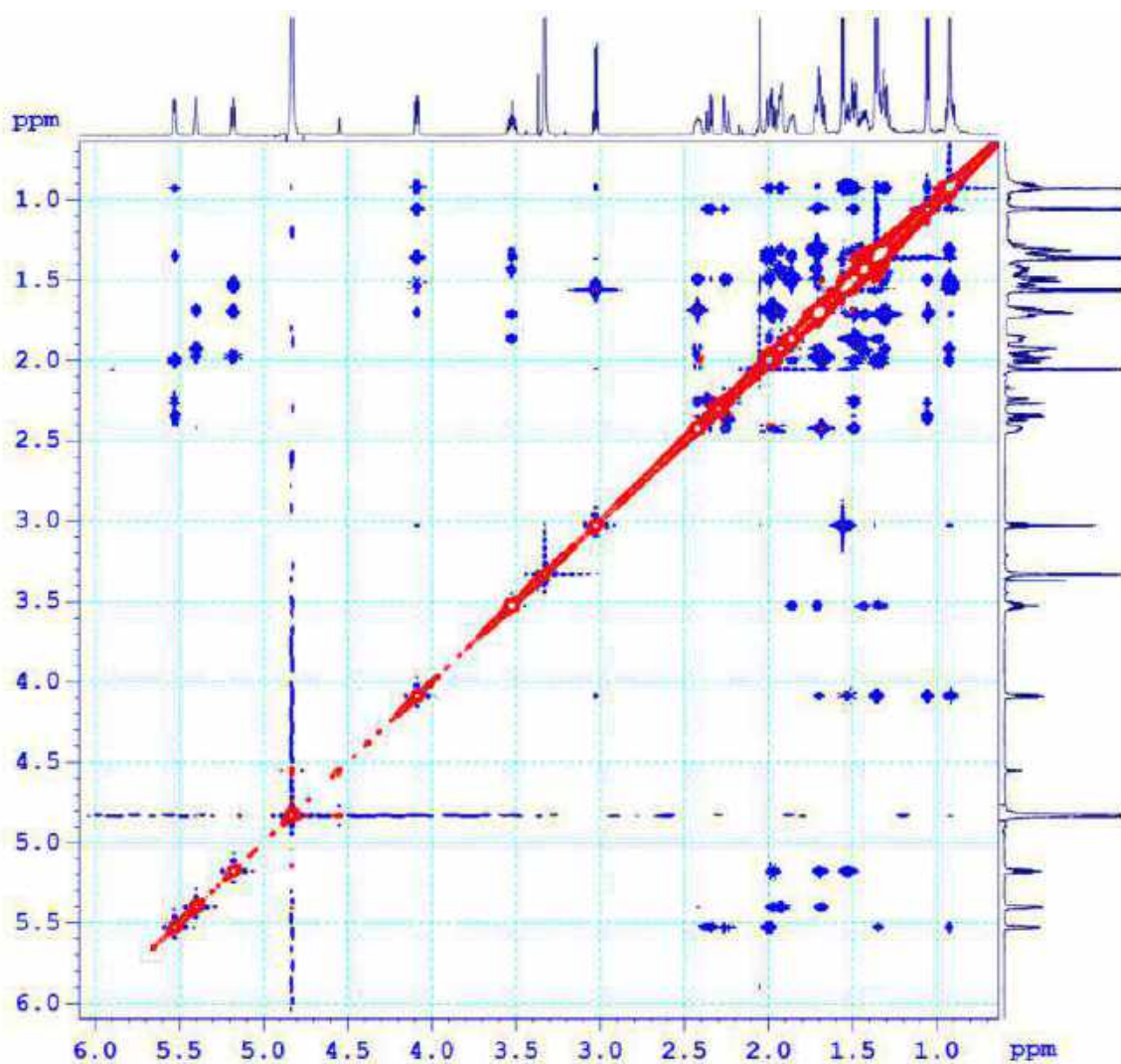


**Phổ COSY của hợp chất LD6**



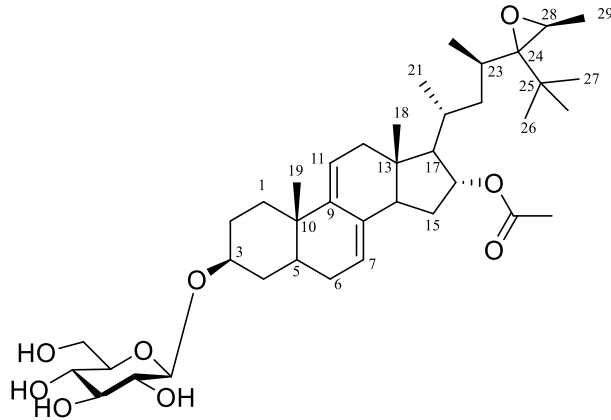
PL36

Phổ NOESY của hợp chất LD6





## VII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD7



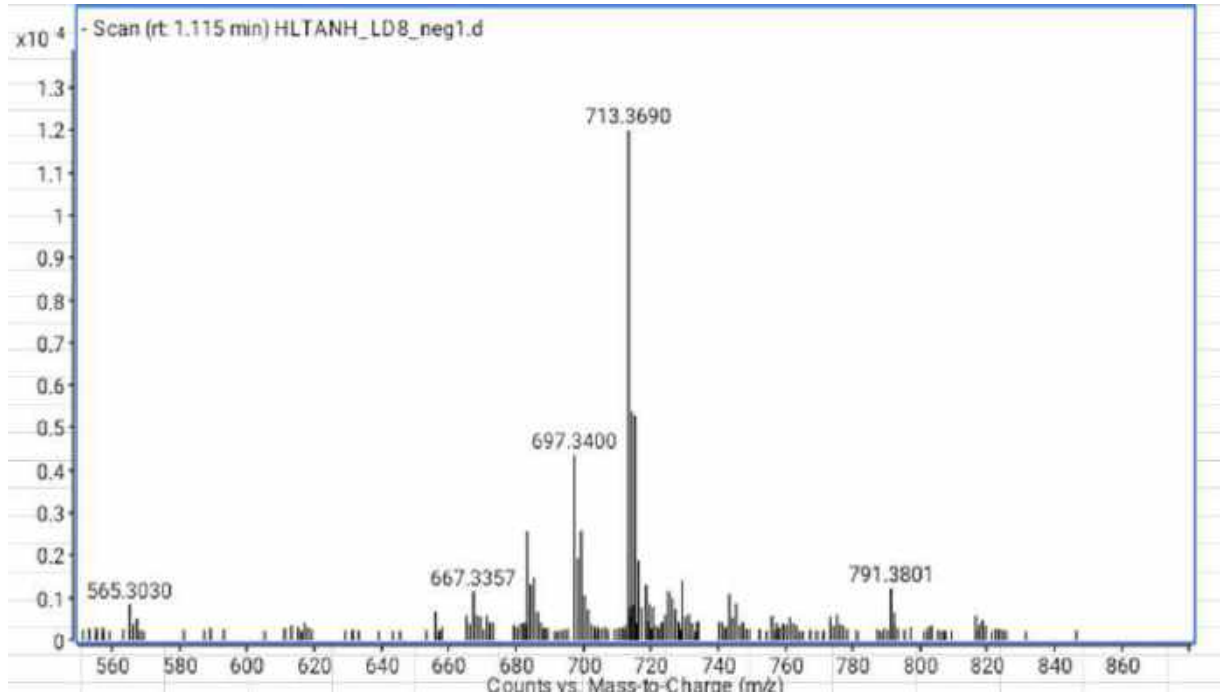
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{39}H_{62}O_9$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 674,4

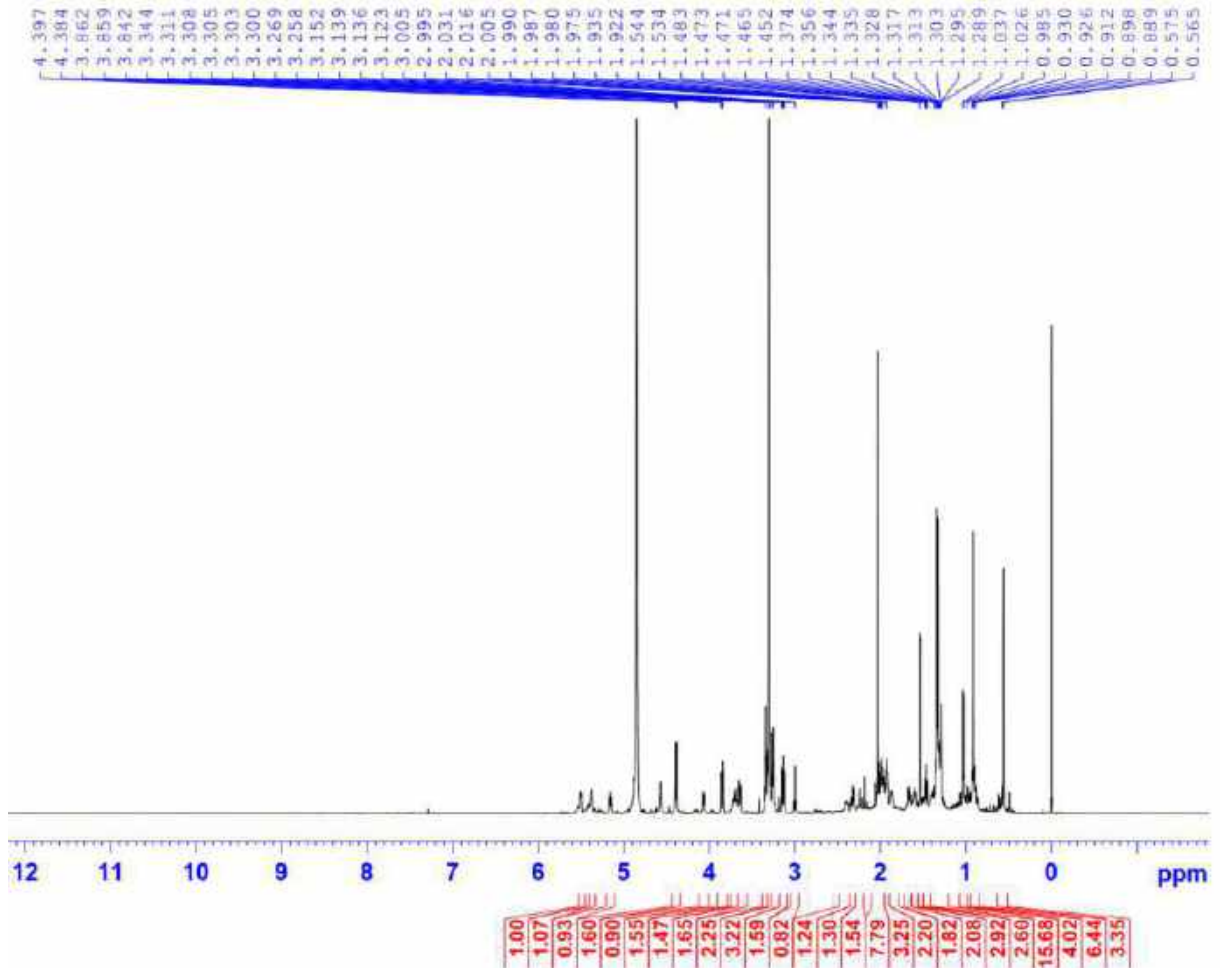
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL38

**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD7**

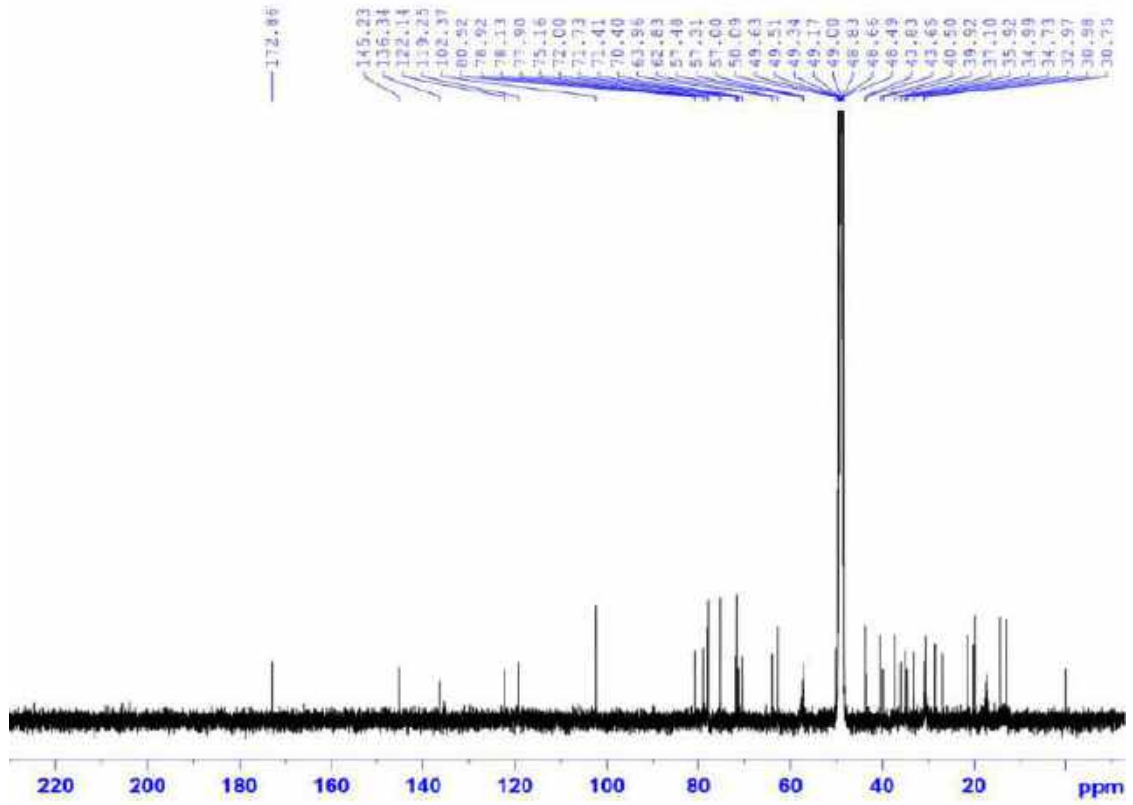


**Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất LD7**

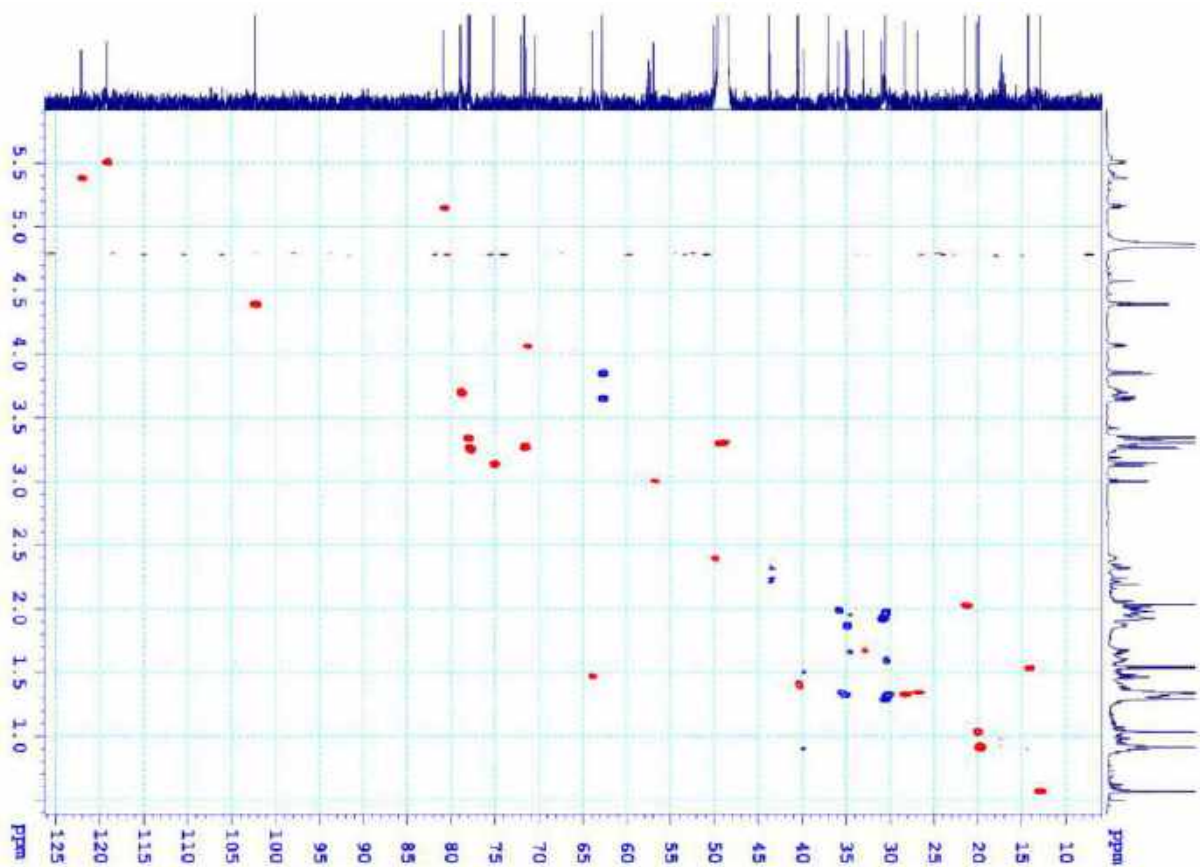


PL39

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD7

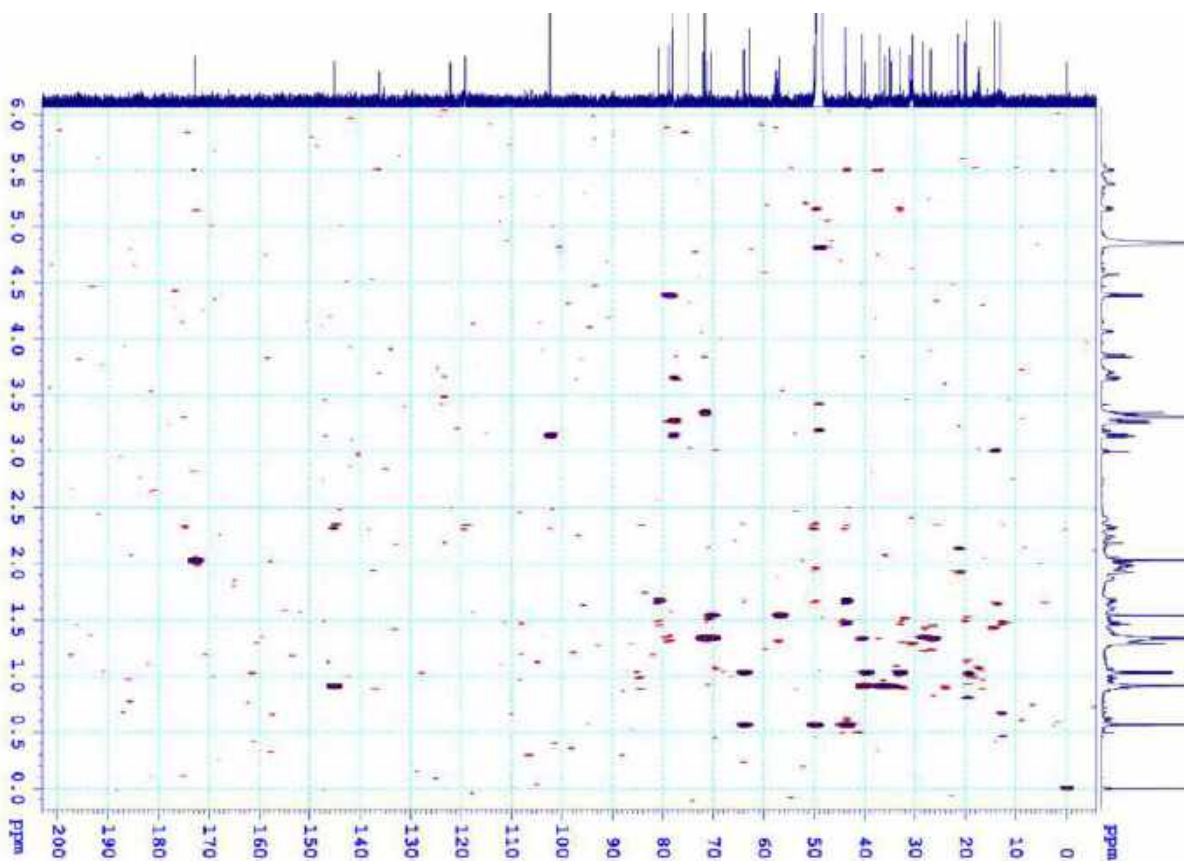


### Phổ HSQC của hợp chất LD7

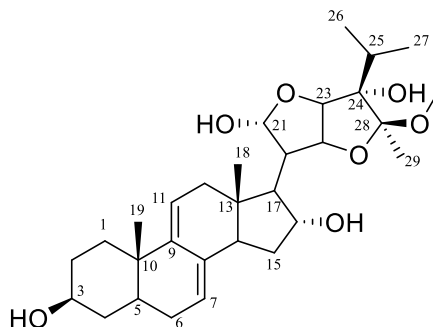


PL40

Phổ HMBC của hợp chất LD7



## VIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD8



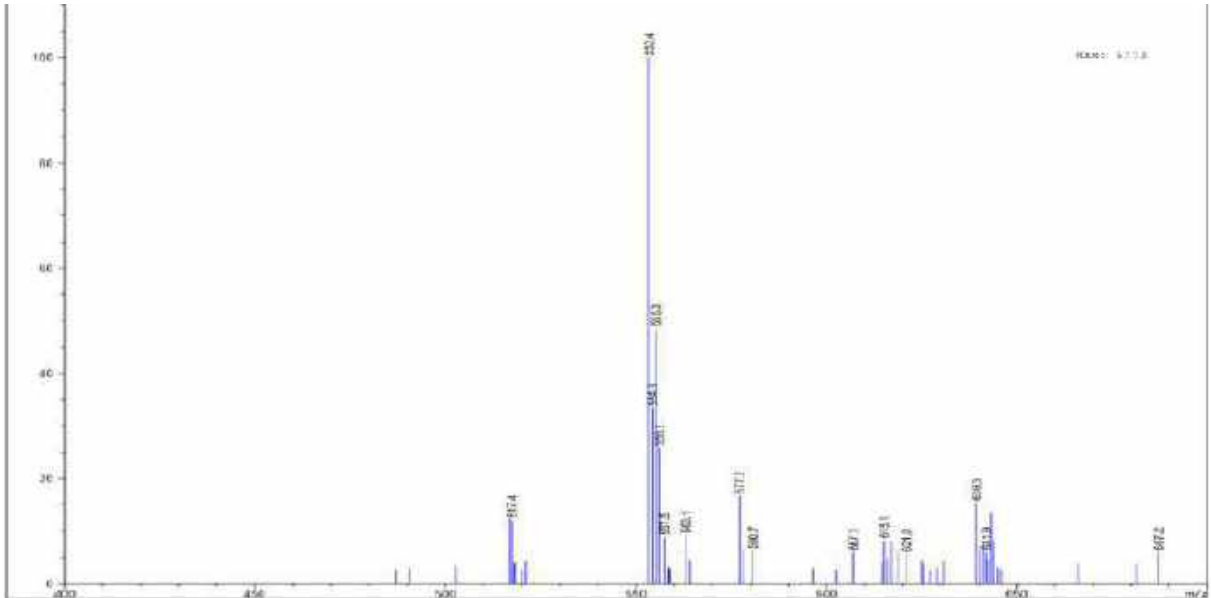
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{30}H_{46}O_7$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 518,3

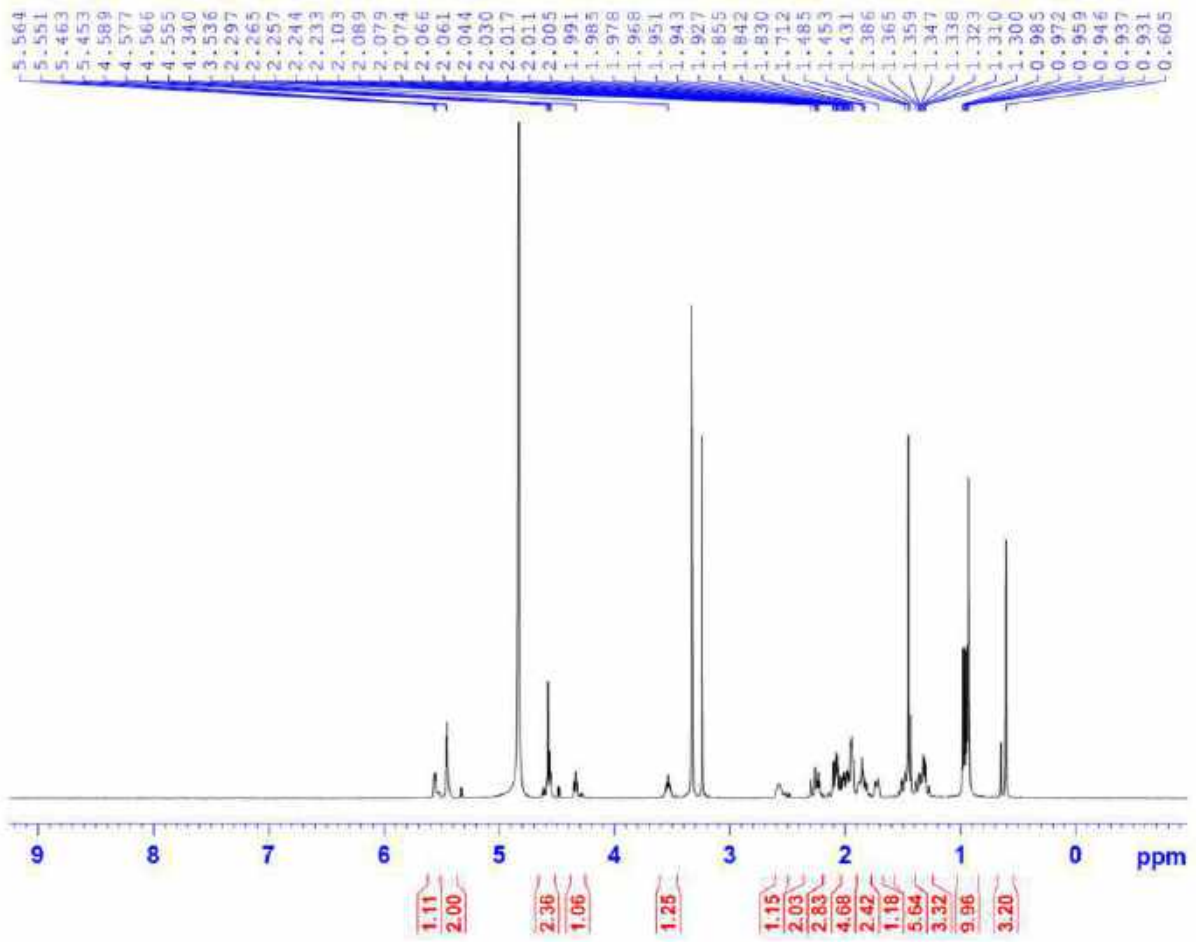
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL42

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD8



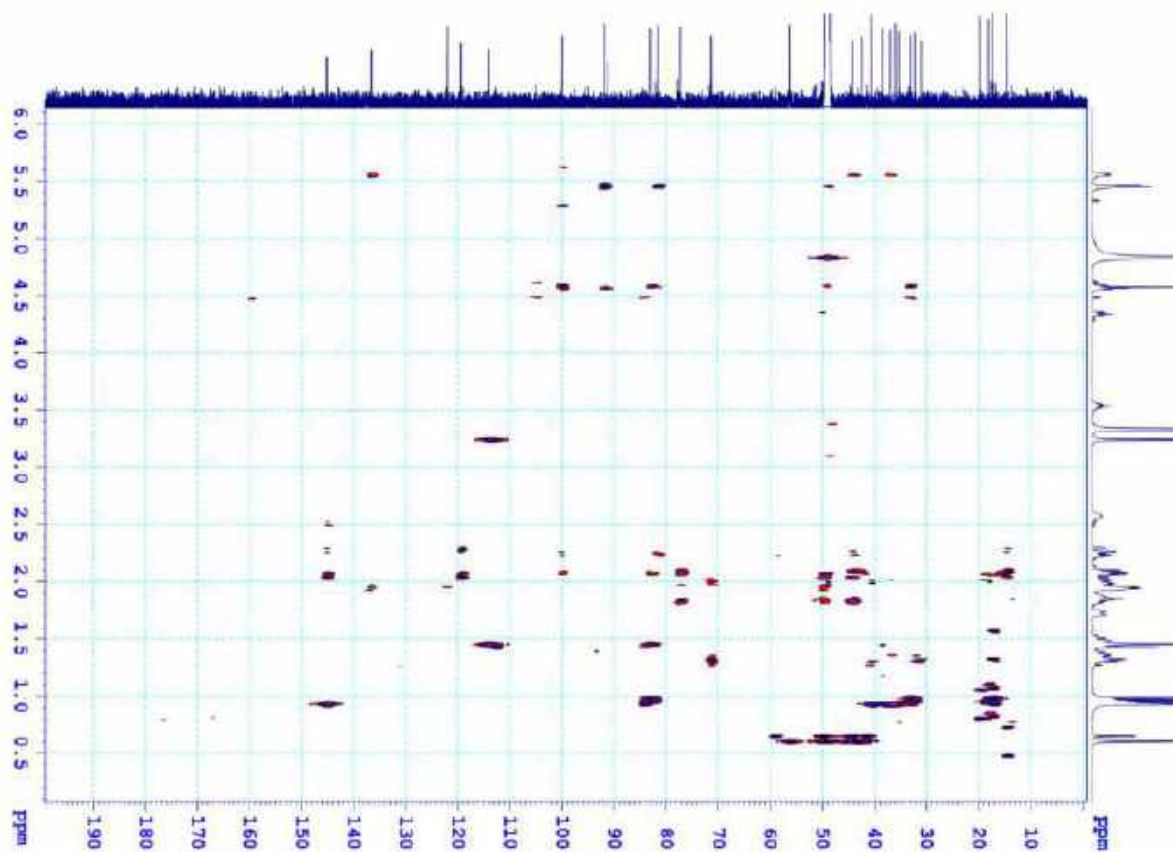
Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất LD8





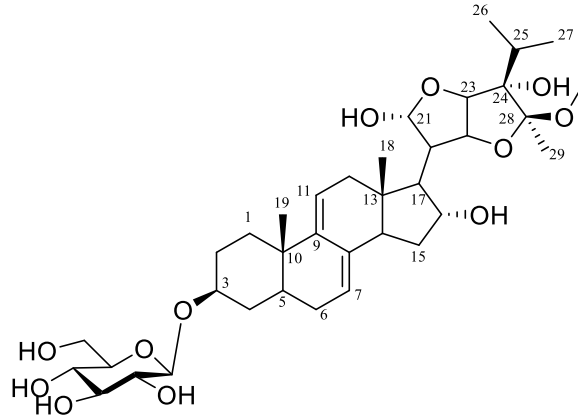
PL44

Phổ HMBC của hợp chất LD8





## IX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD9



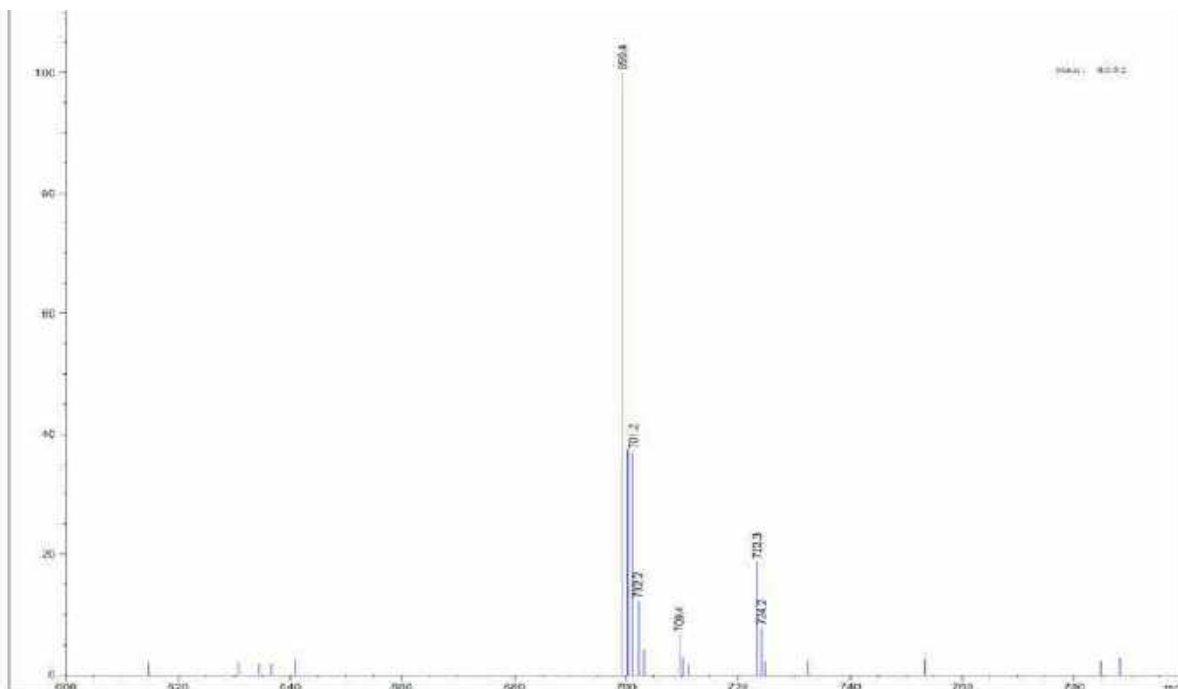
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{36}H_{56}O_{11}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 664,4

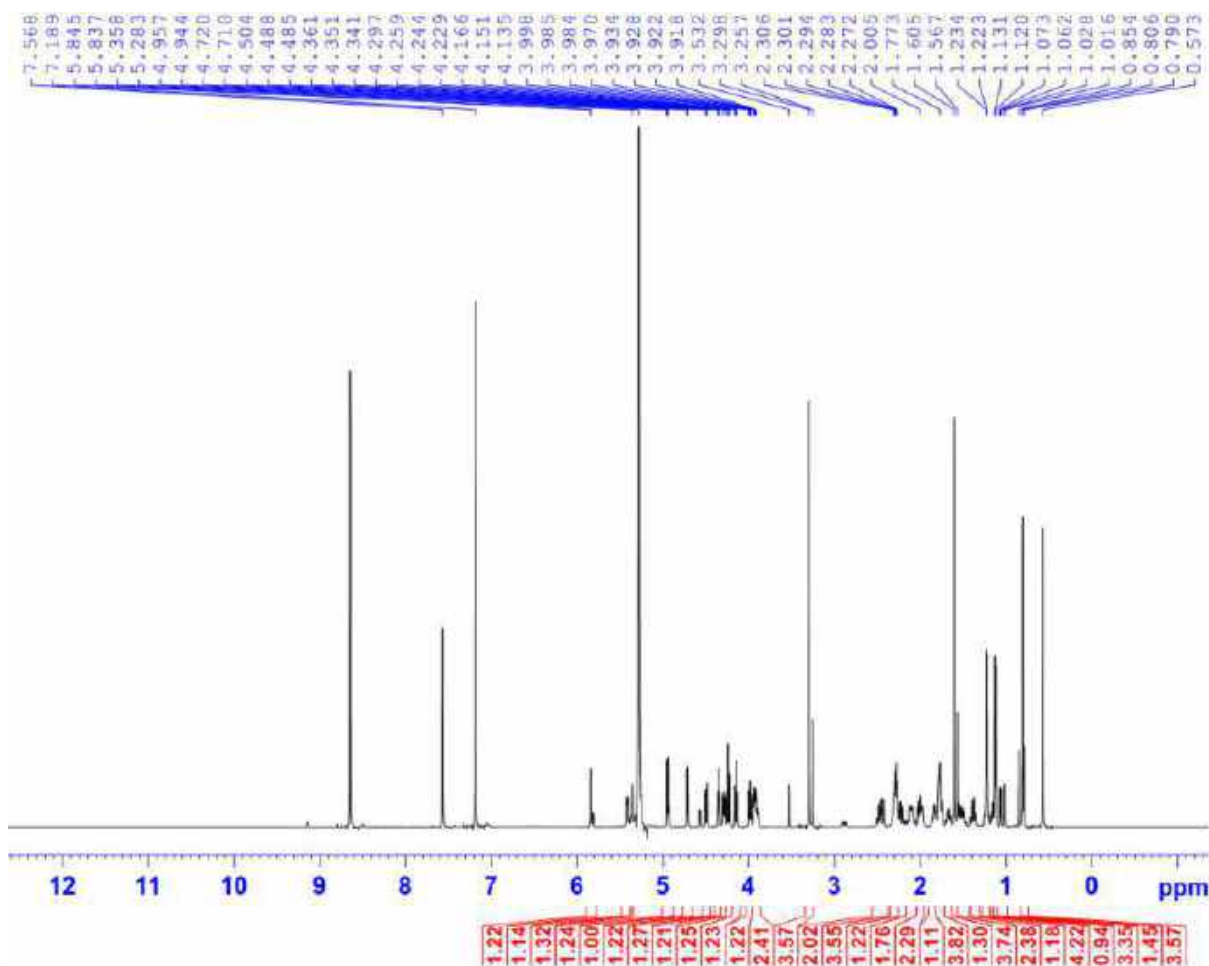
- Phổ ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL46

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD9

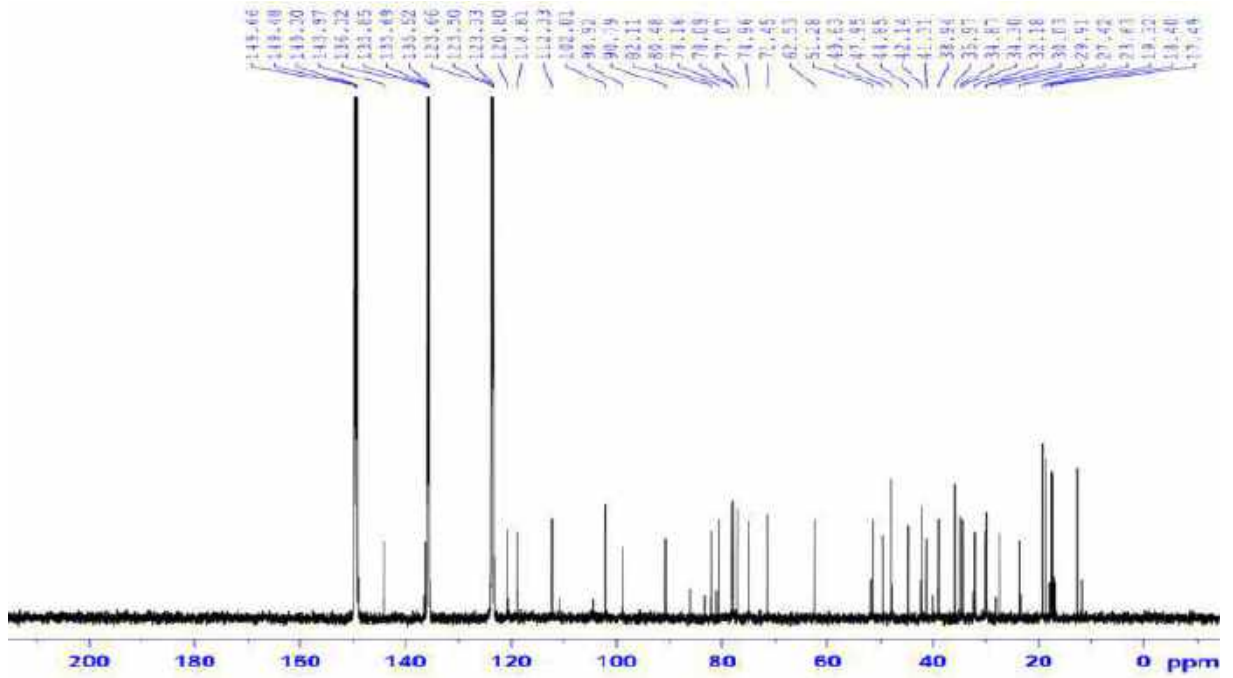


Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất LD9

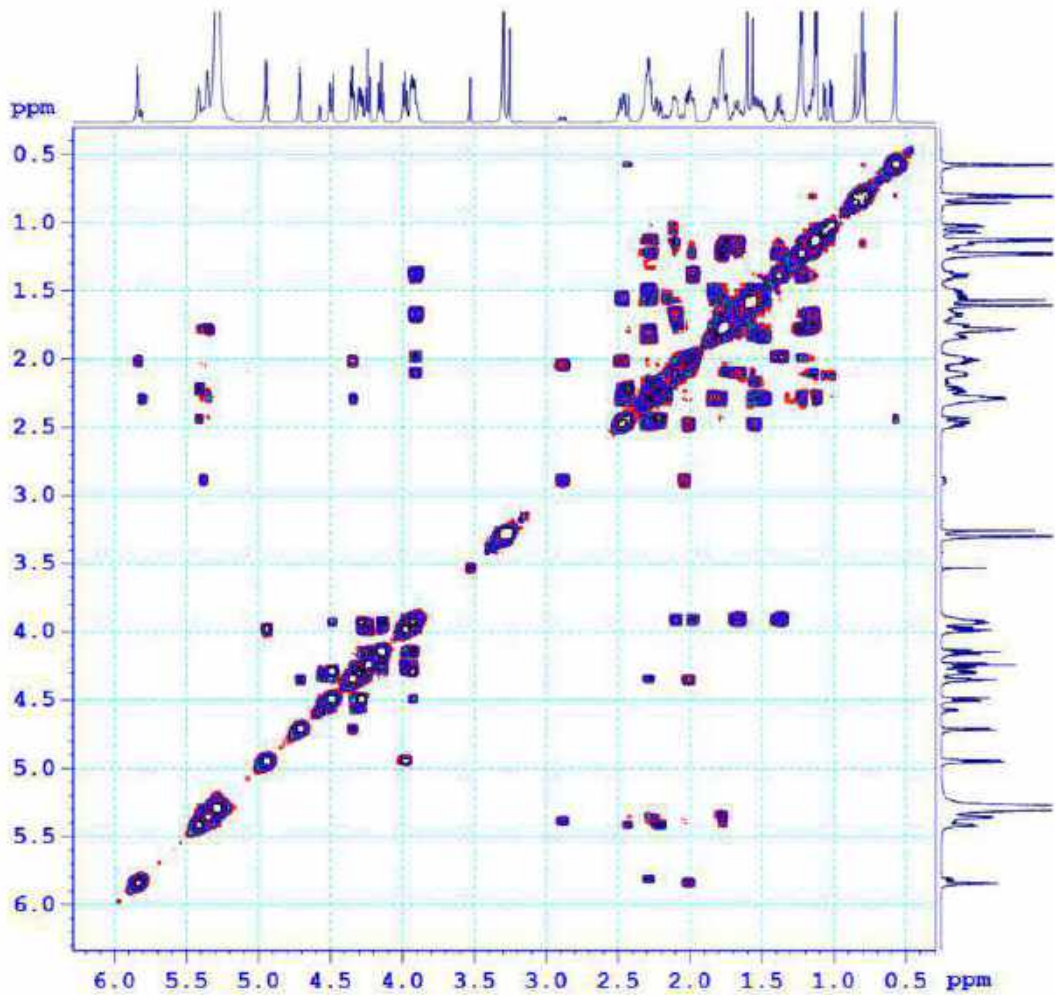


PL47

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất LD9

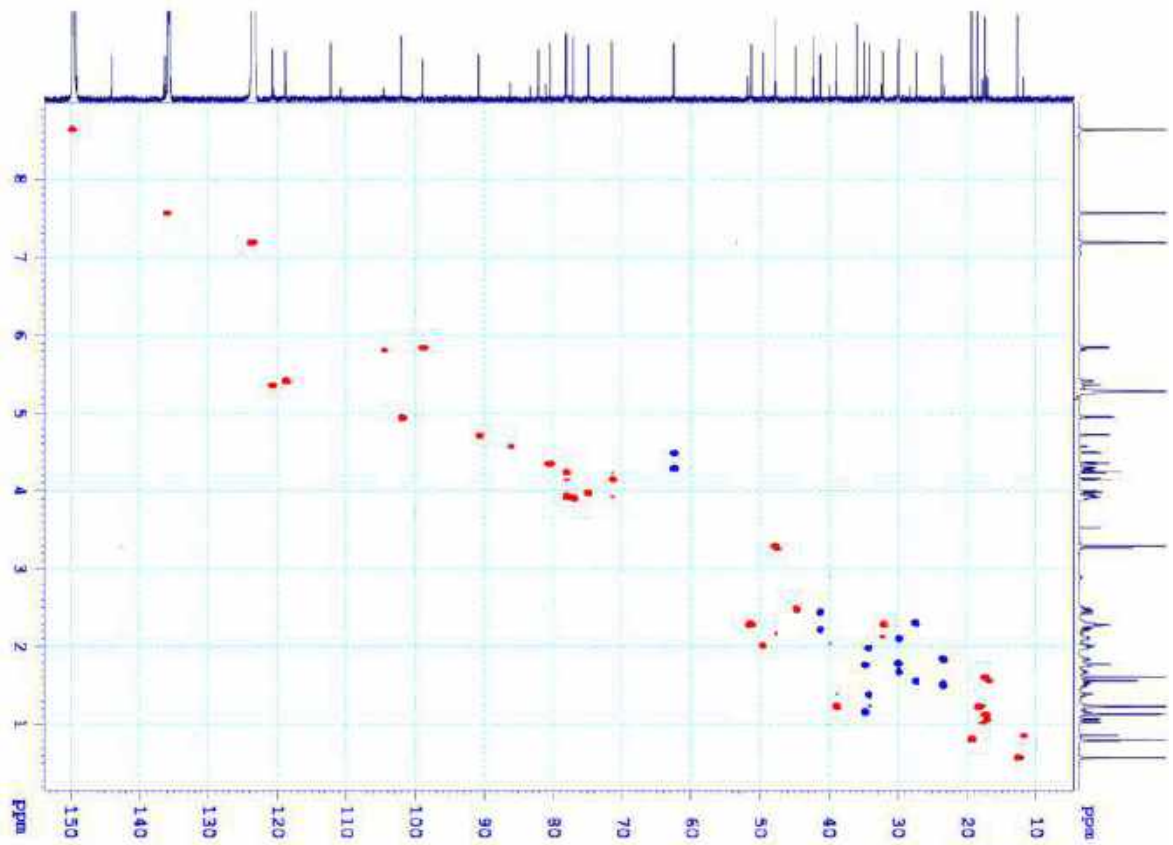


Phổ COSY của hợp chất LD9

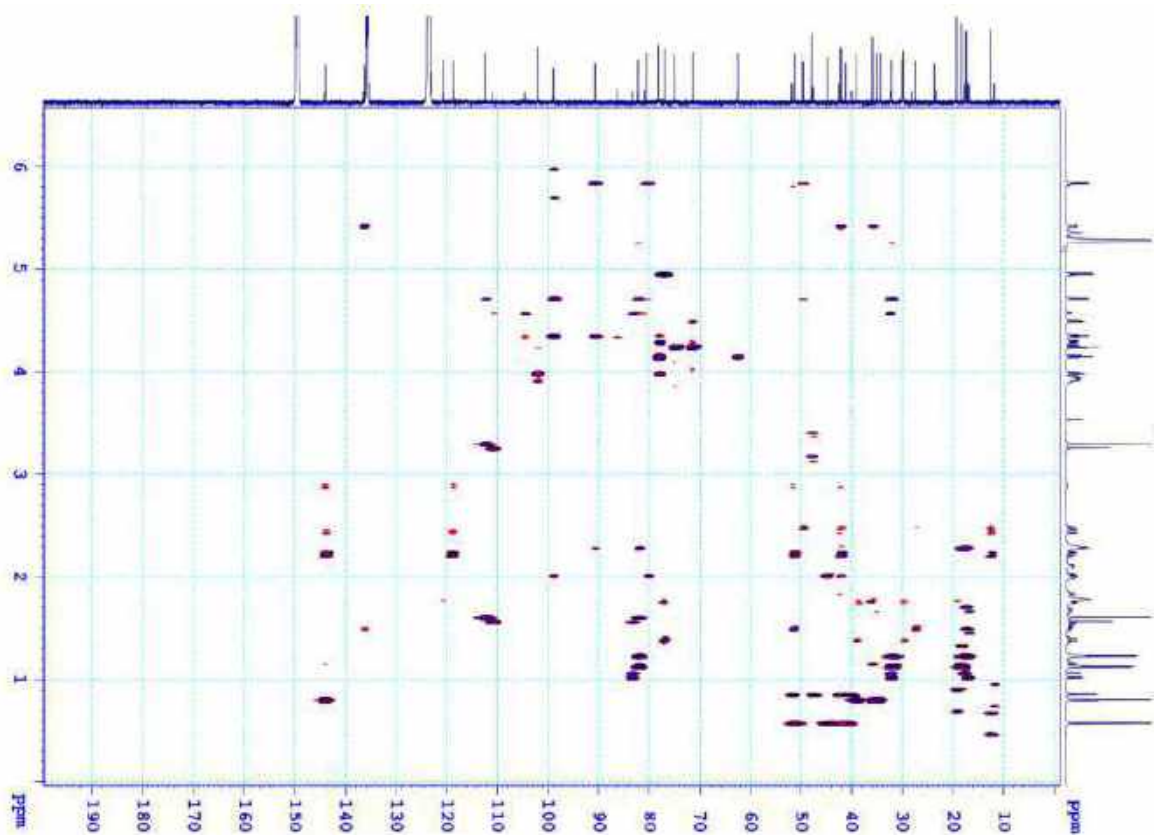


PL48

**Phổ HSQC của hợp chất LD9**

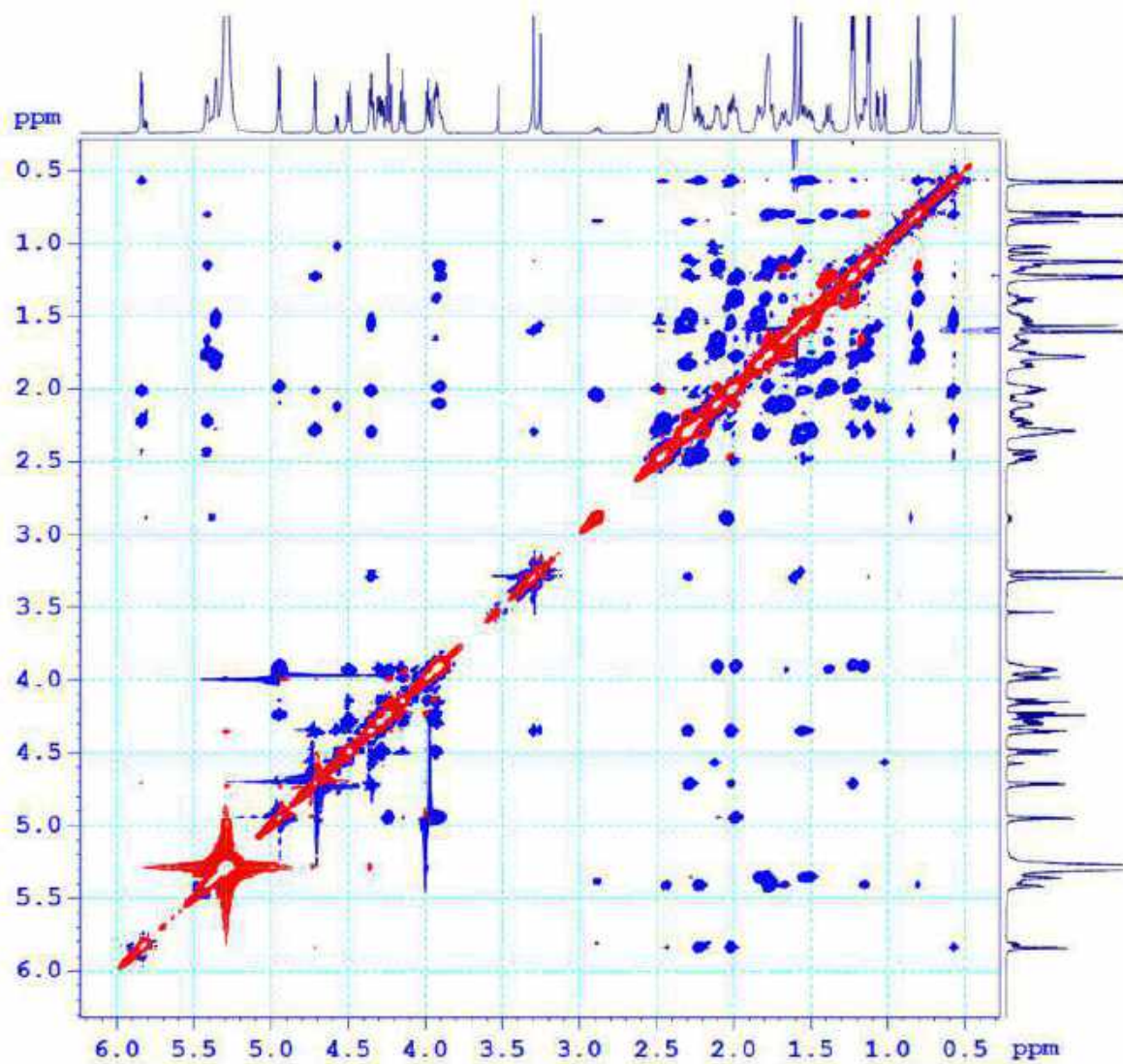


**Phổ HMBC của hợp chất LD9**



PL49

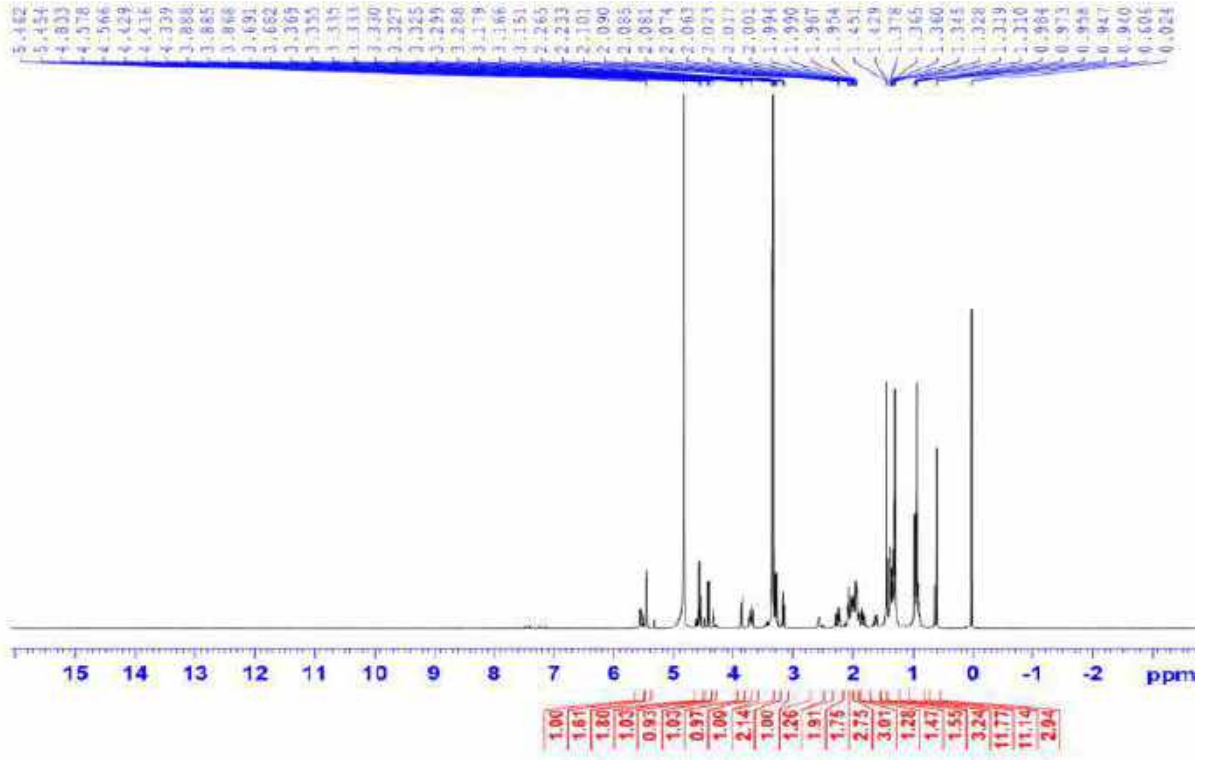
Phổ ROESY của hợp chất LD9



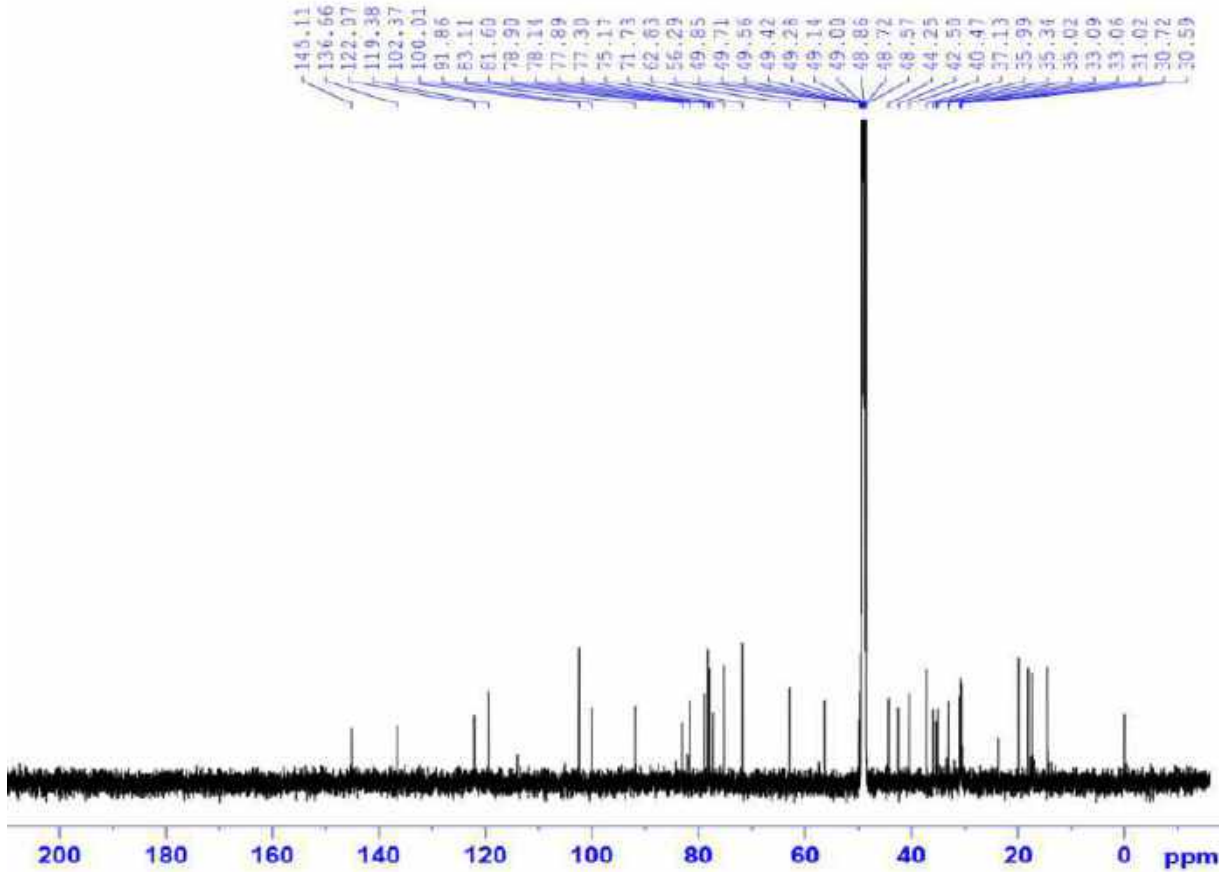


PL51

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

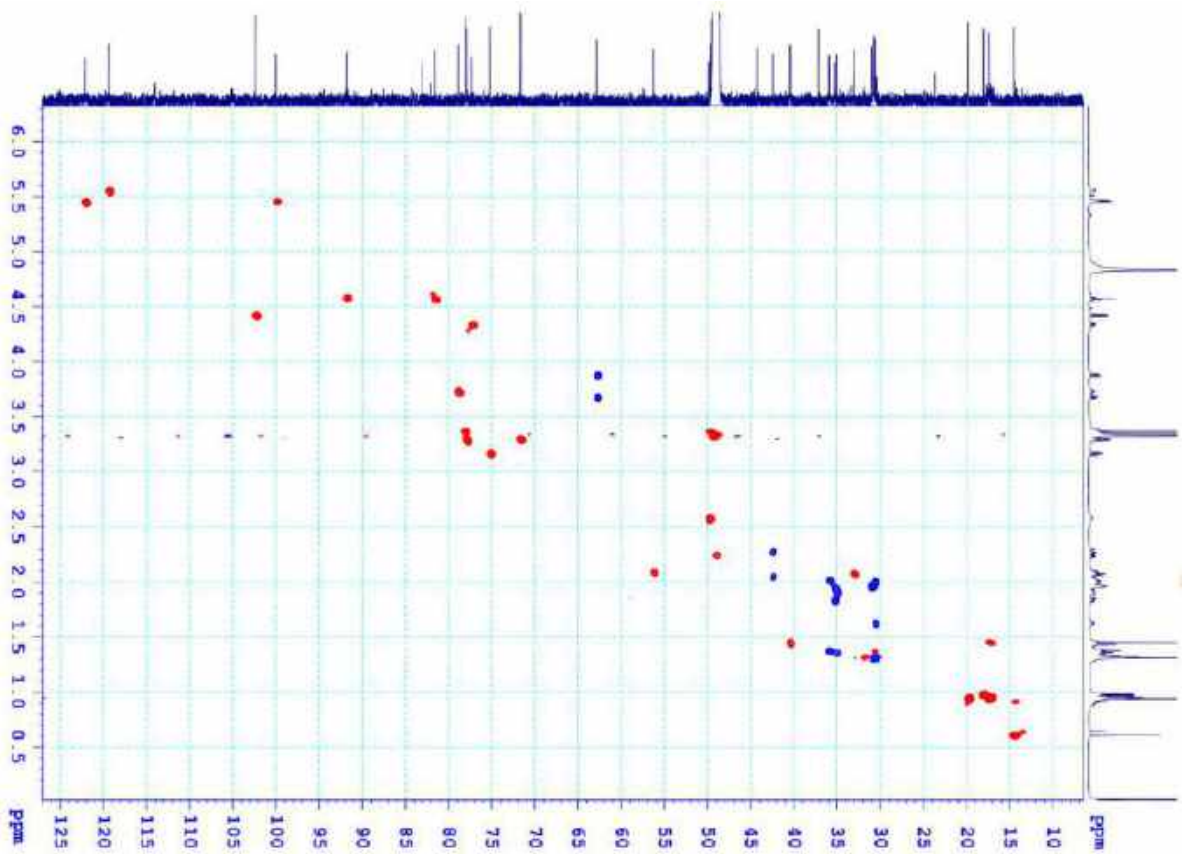


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD10

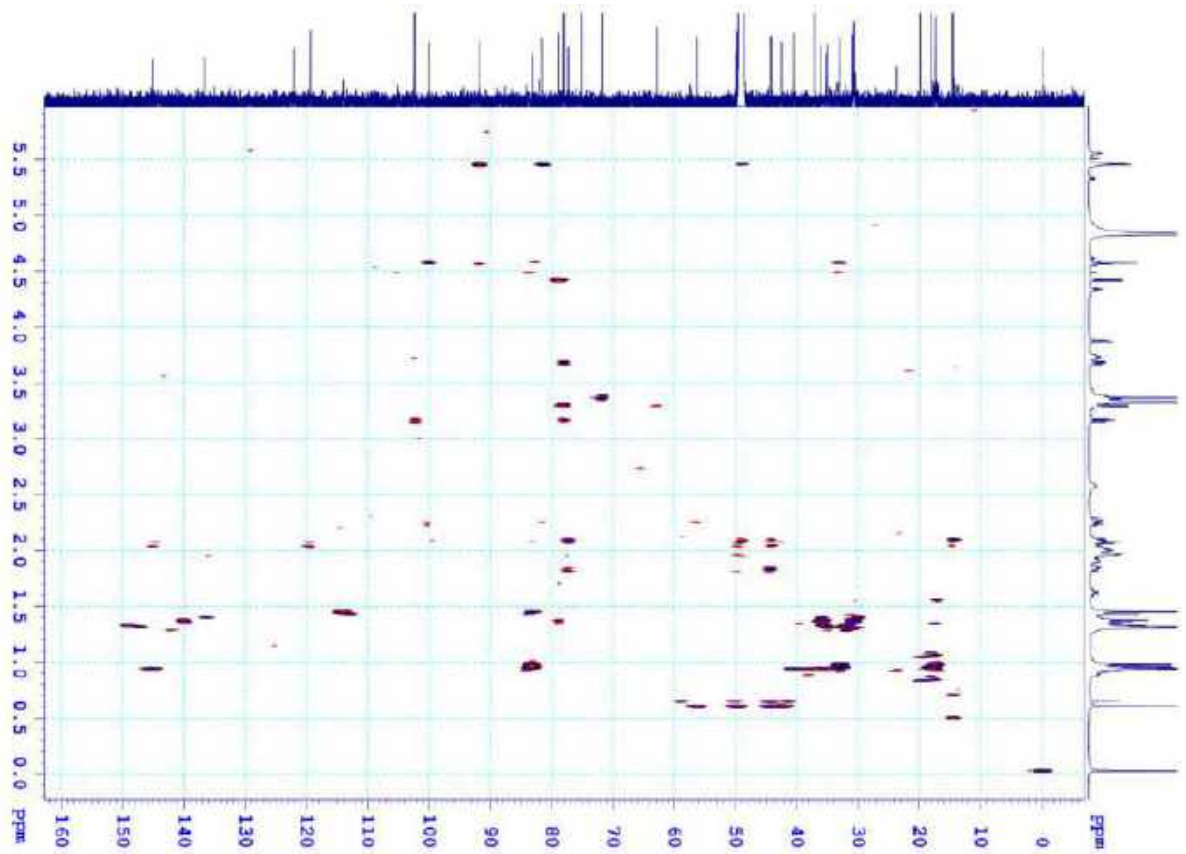


PL52

**Phổ HSQC của hợp chất LD10**



**Phổ HMBC của hợp chất LD10**

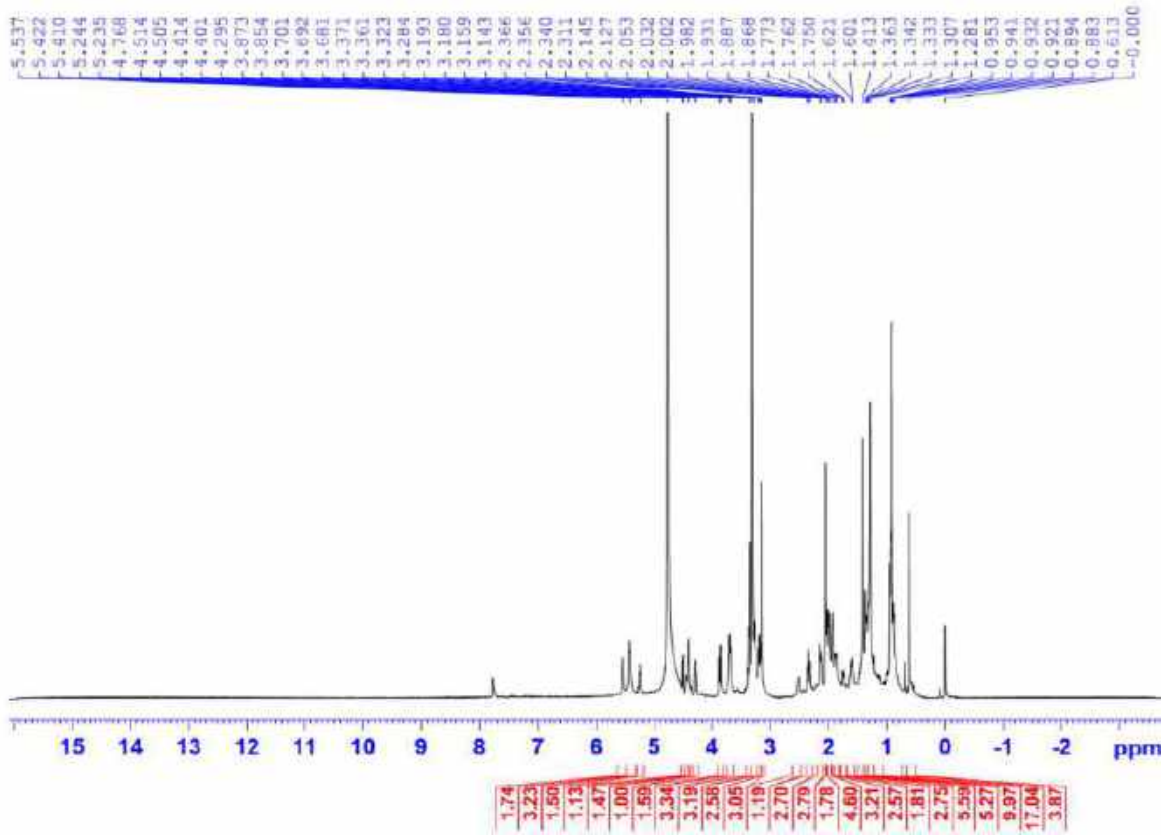




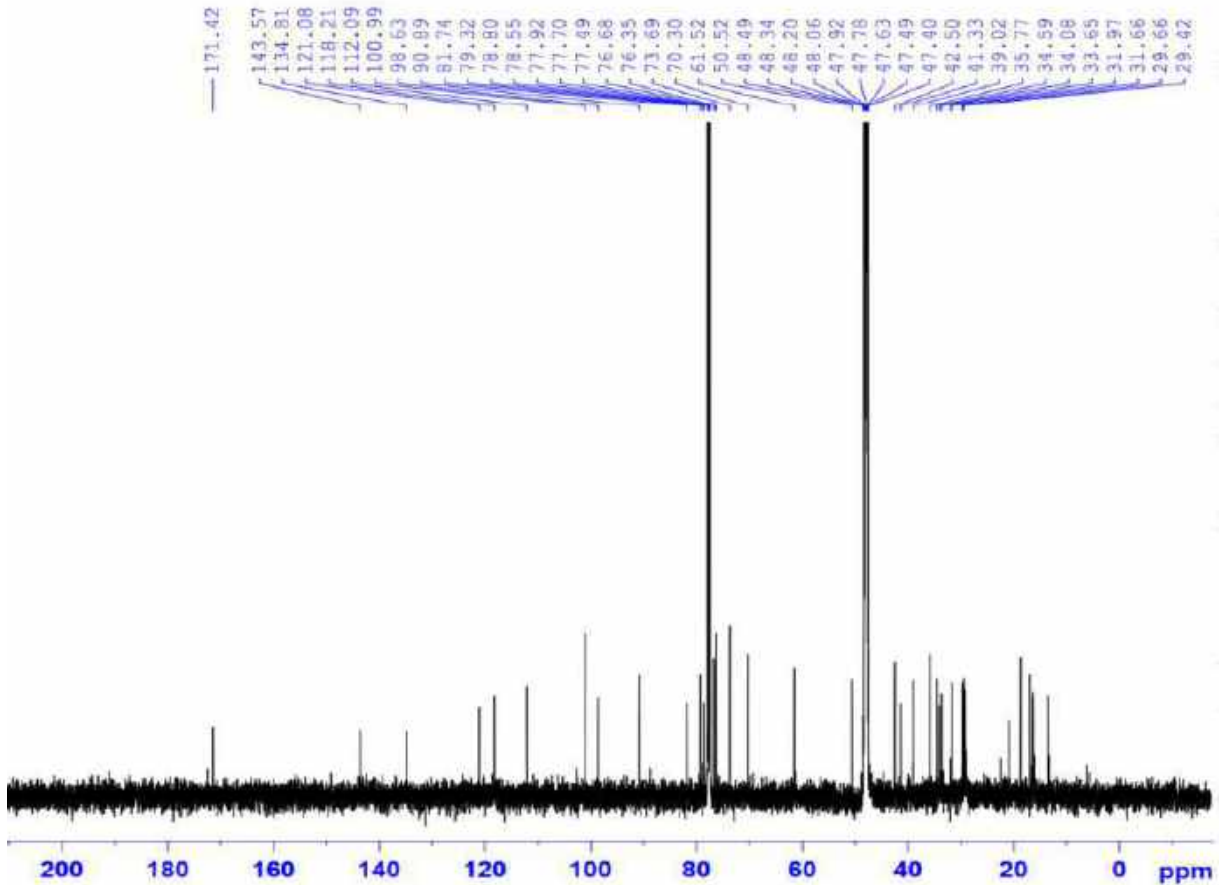


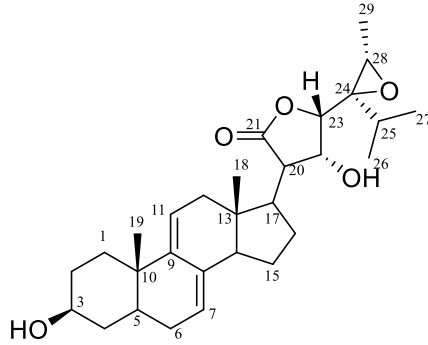
PL54

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



Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD11



**XII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD12**

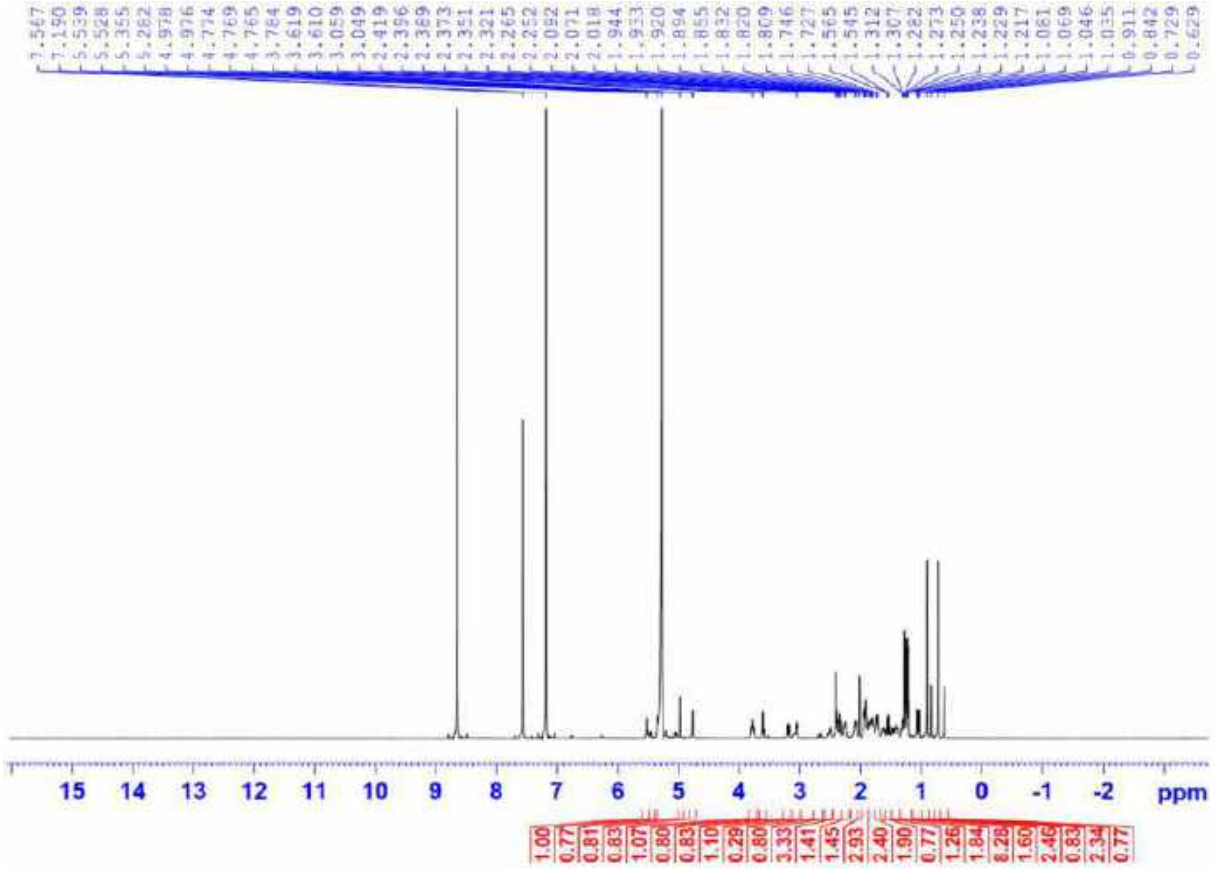
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{29}H_{42}O_5$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 470,3

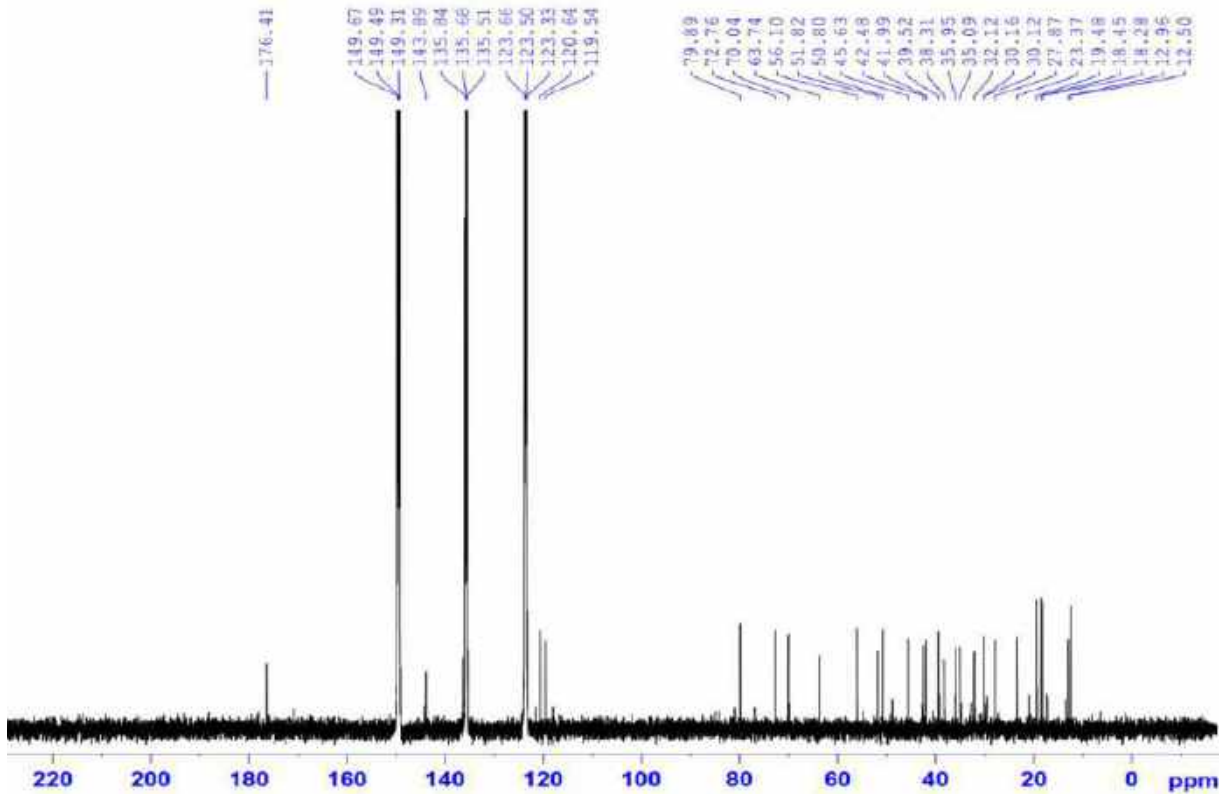
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL56

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

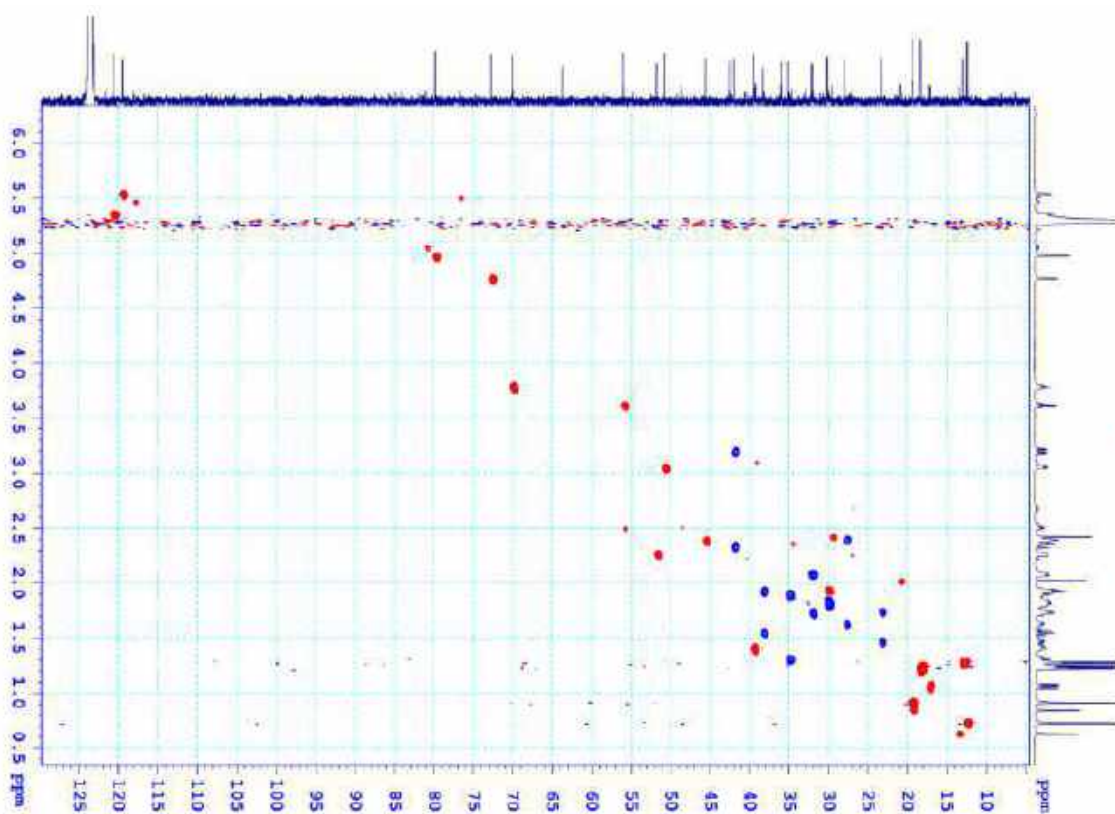


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD12

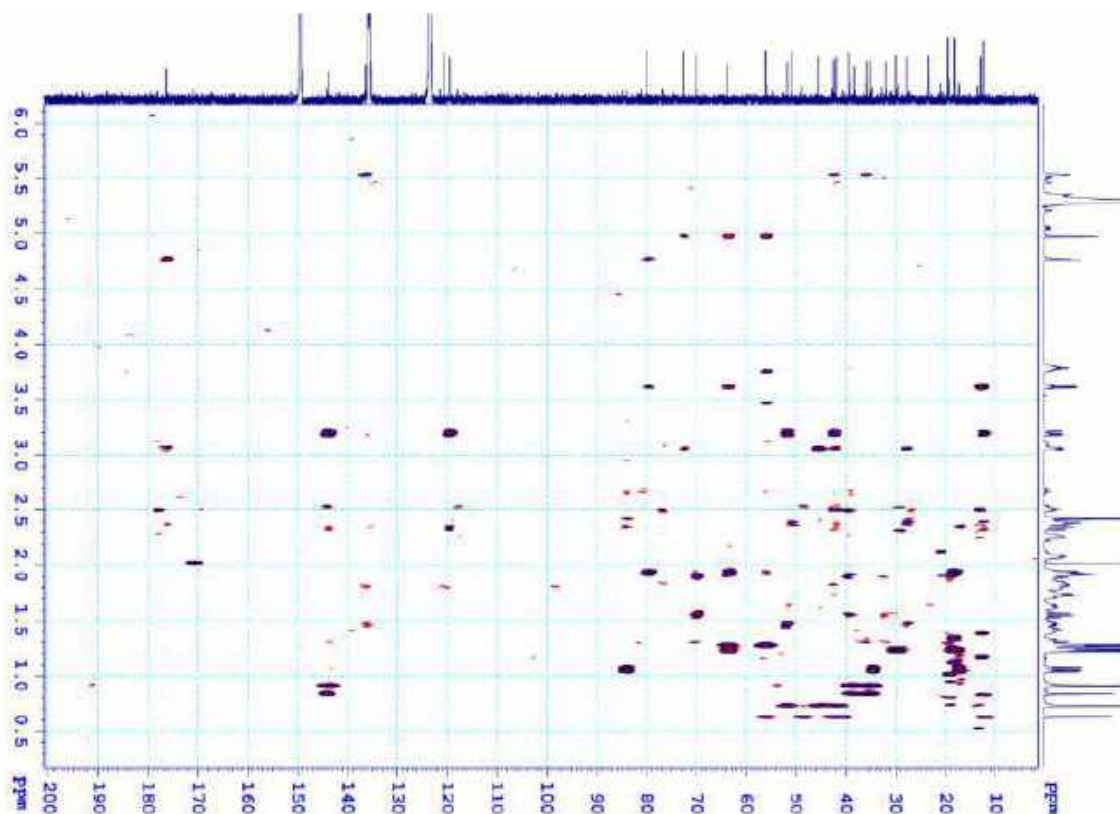


PL57

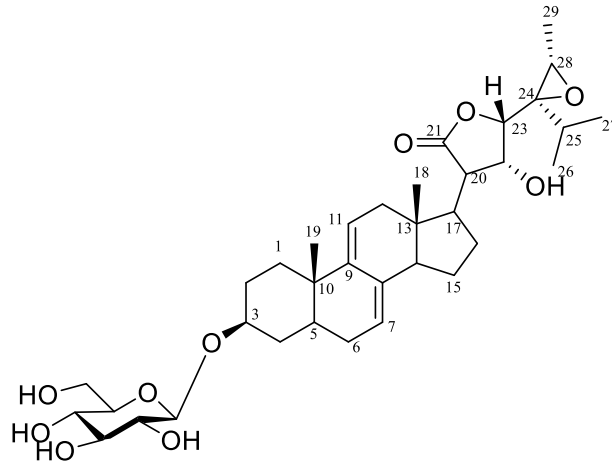
### Phổ HSQC của hợp chất LD12



### Phổ HMBC của hợp chất LD12



## XIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD13

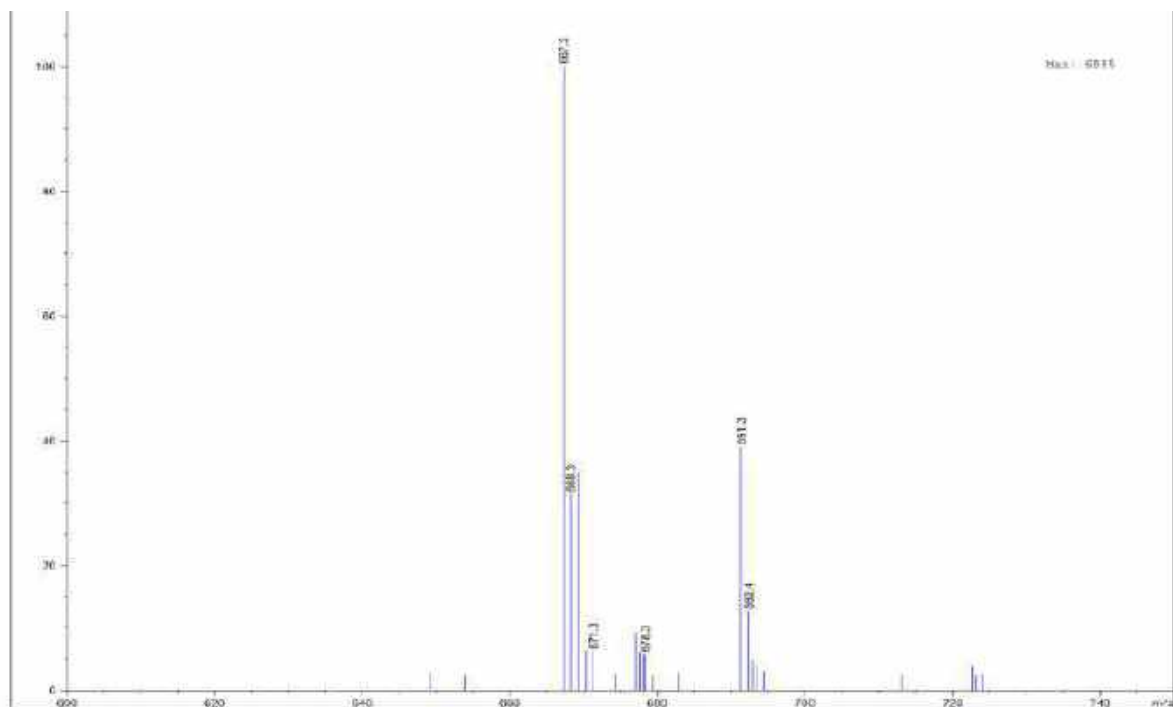


CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{35}H_{52}O_{10}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 632,4

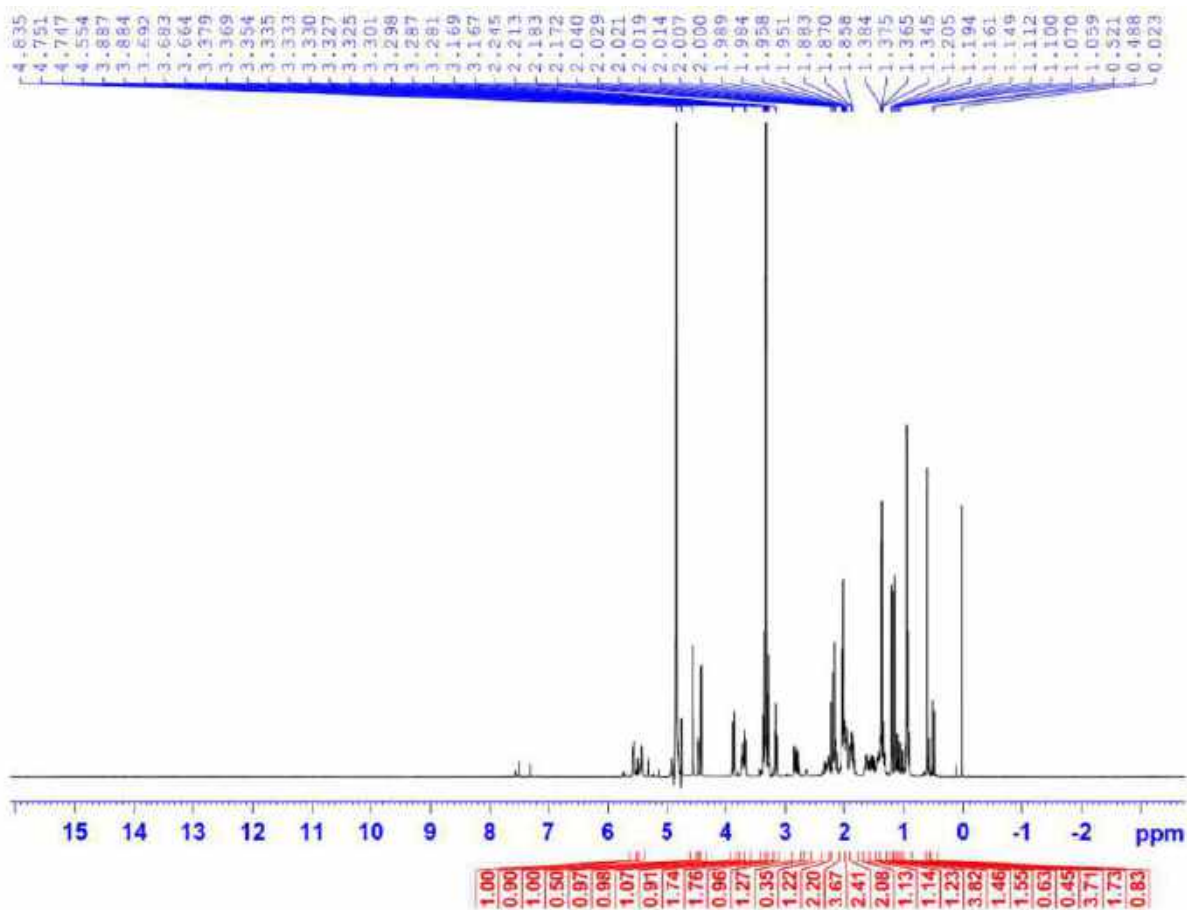
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR

## Phổ HR-ESI-MS của hợp chất LD13

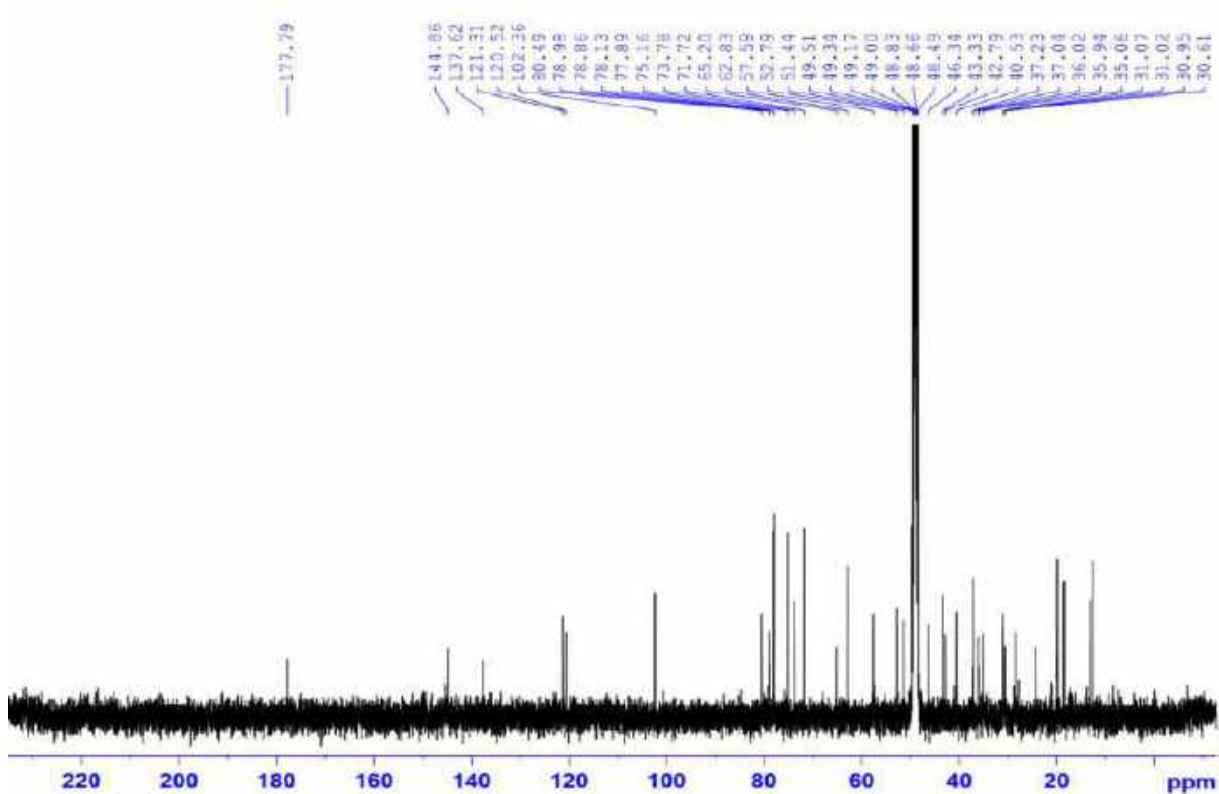


PL59

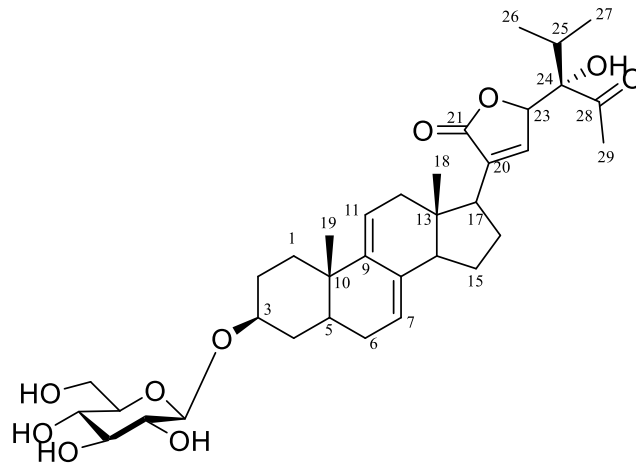
### Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất LD13



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



## XIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD14



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

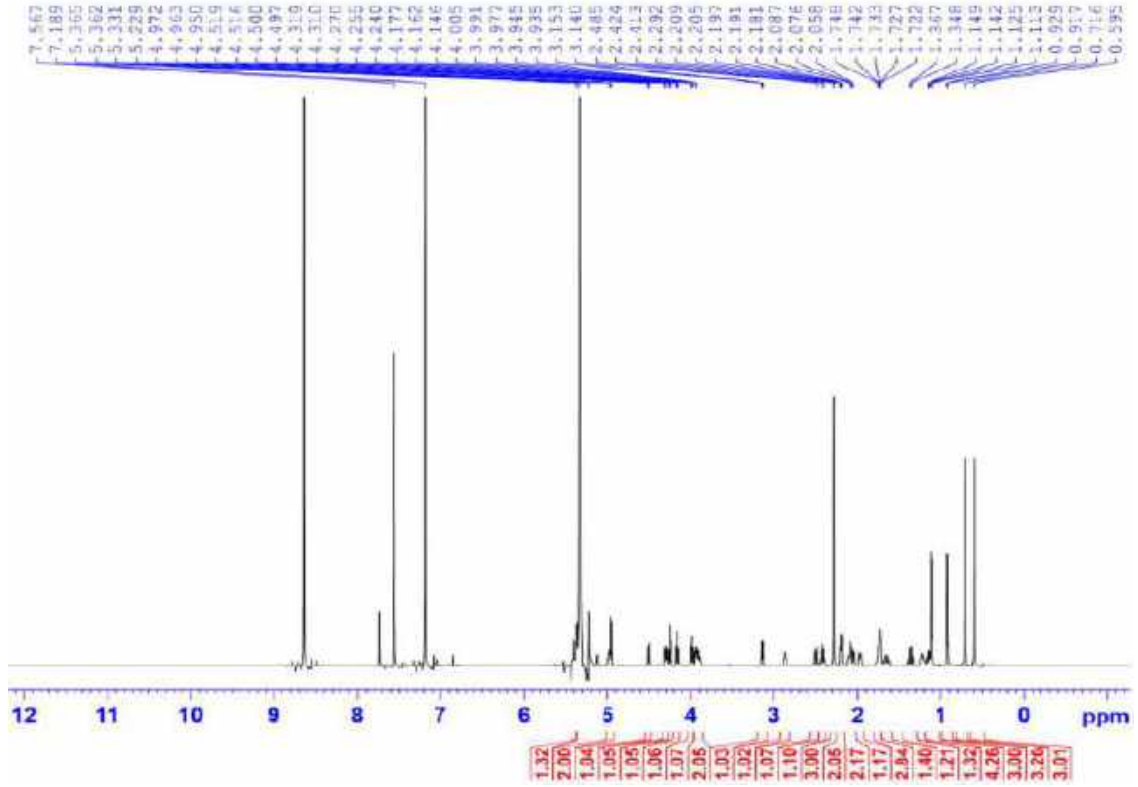
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 630,3

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

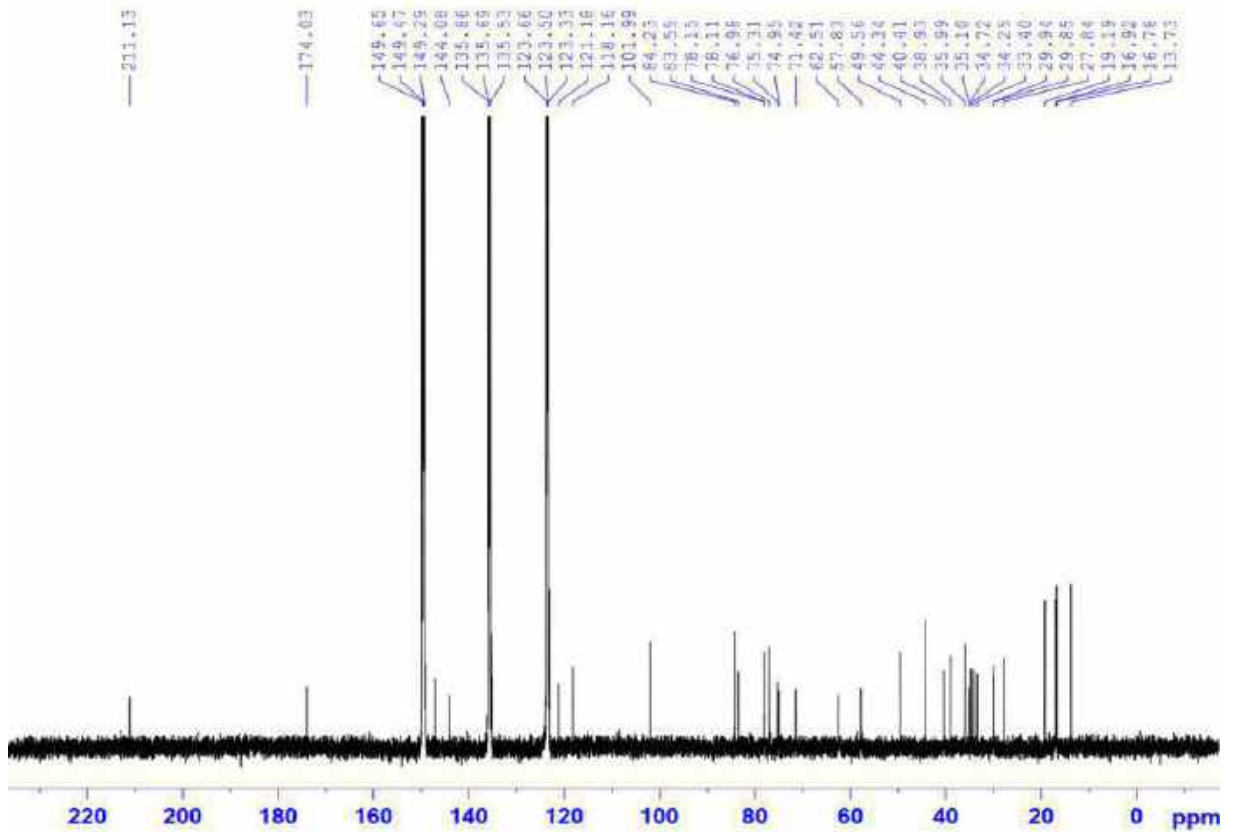


PL61

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

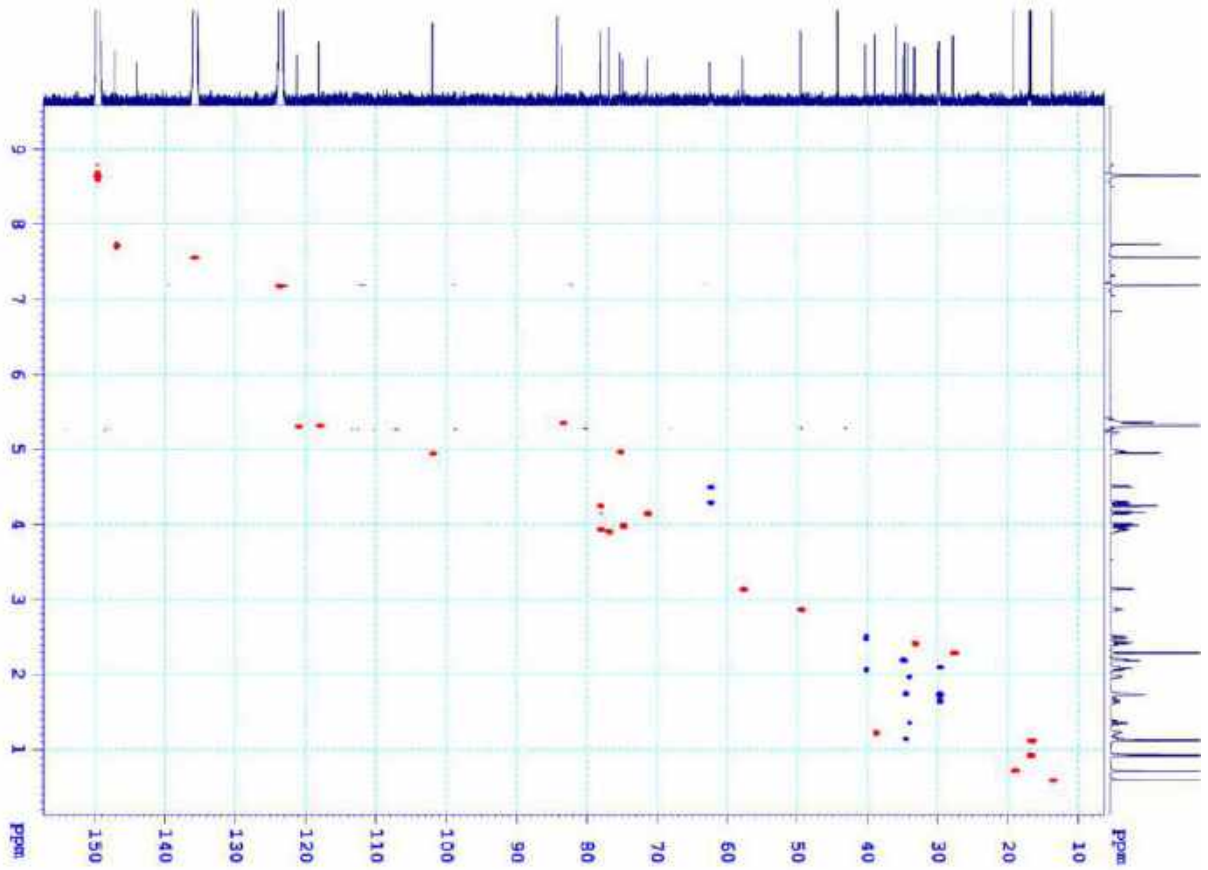


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD14

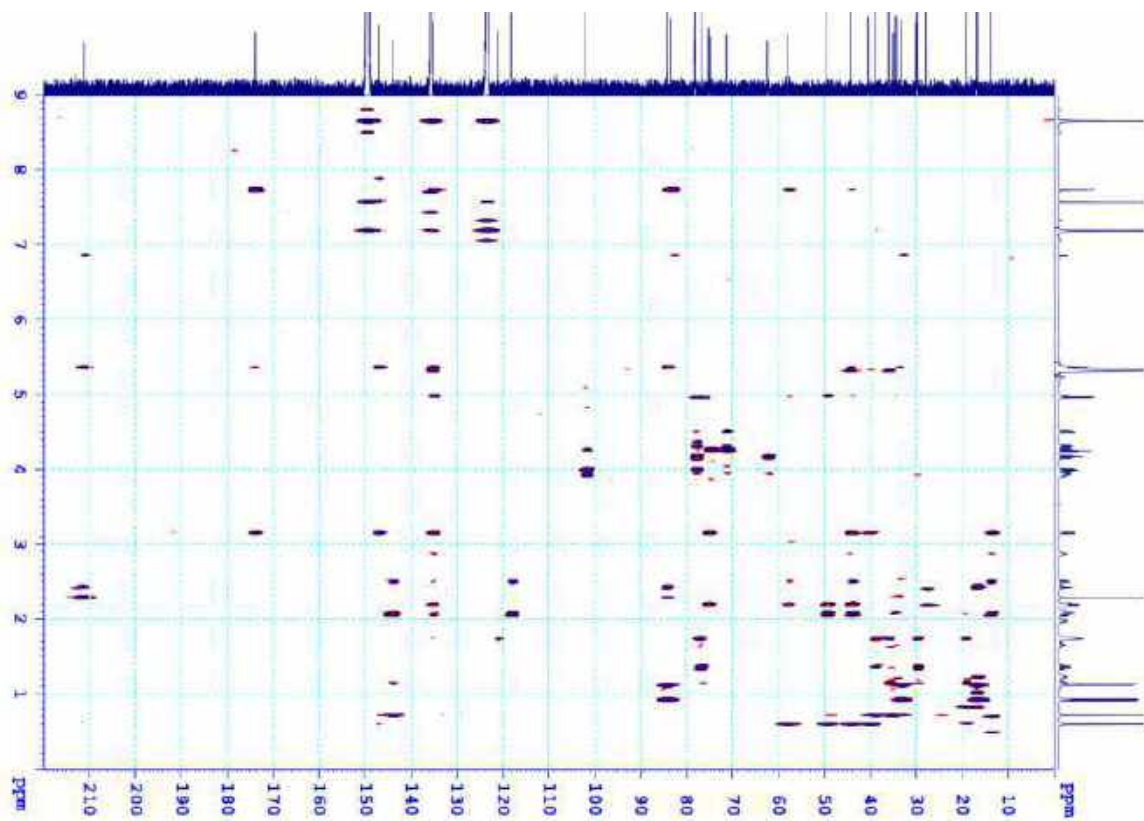


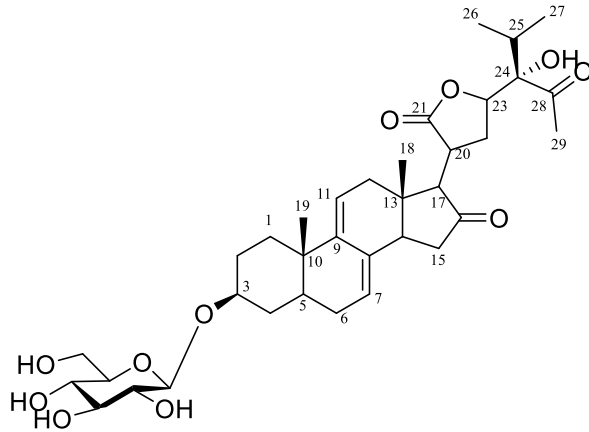
PL62

**Phổ HSQC của hợp chất LD14**



**Phổ HMBC của hợp chất LD14**



**XV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD15**

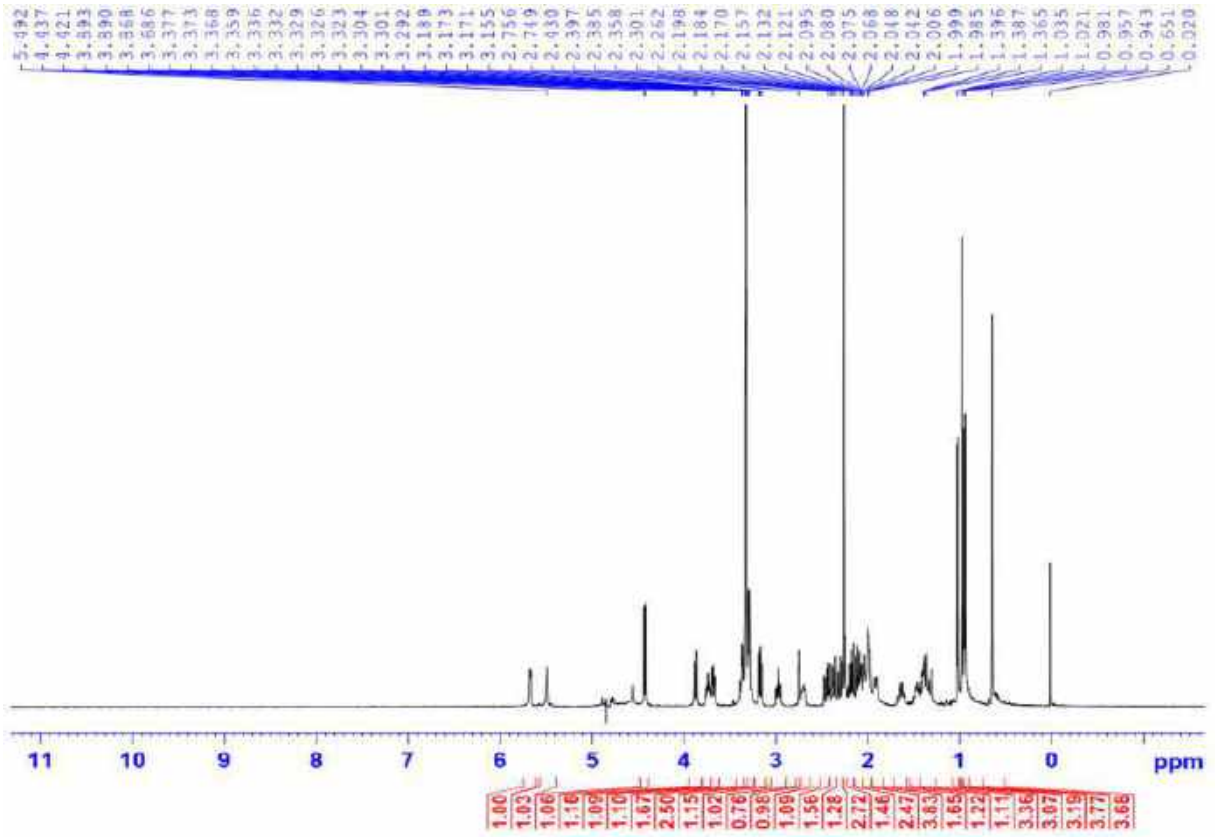
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{35}H_{50}O_{11}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 646,3

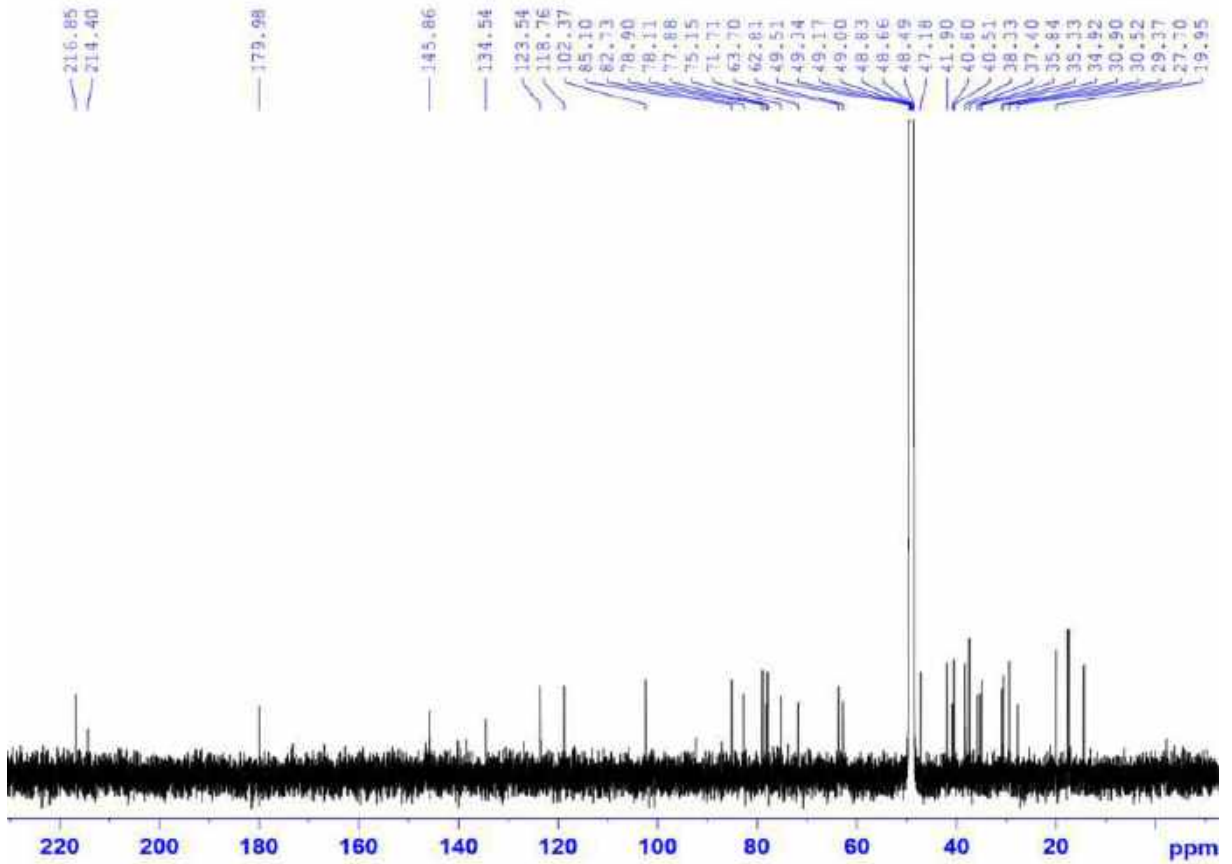
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL64

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

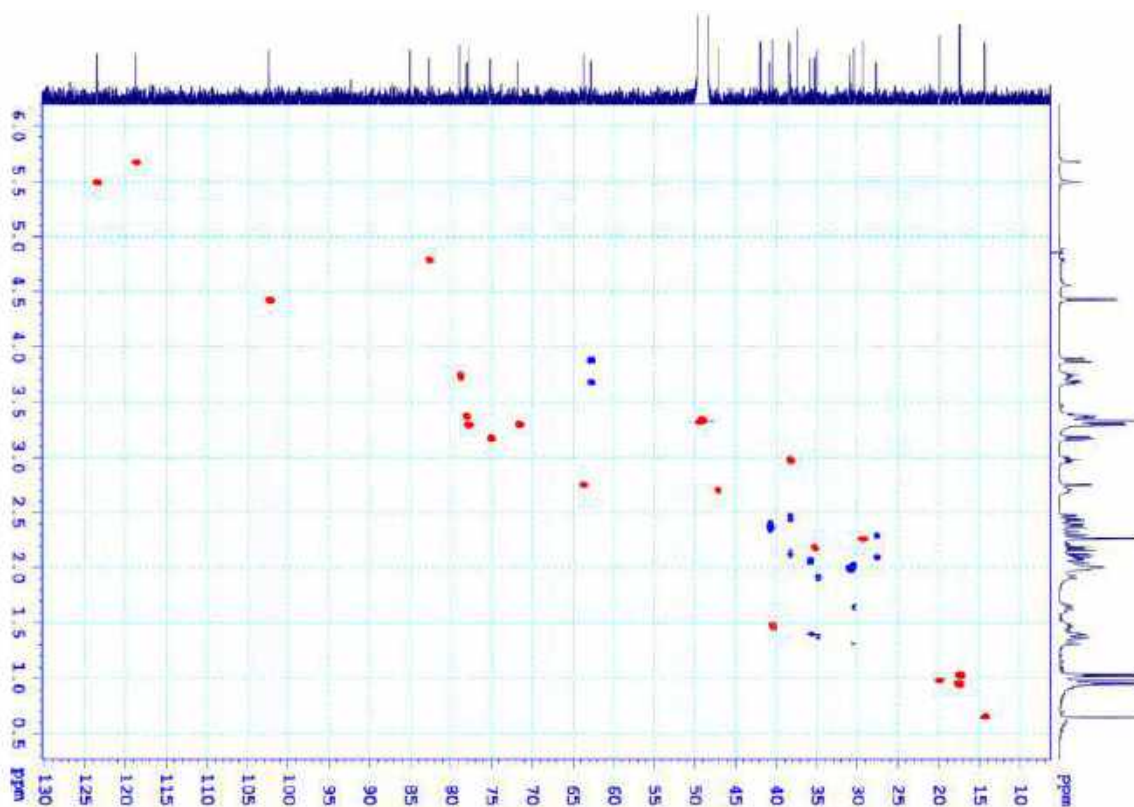


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD15

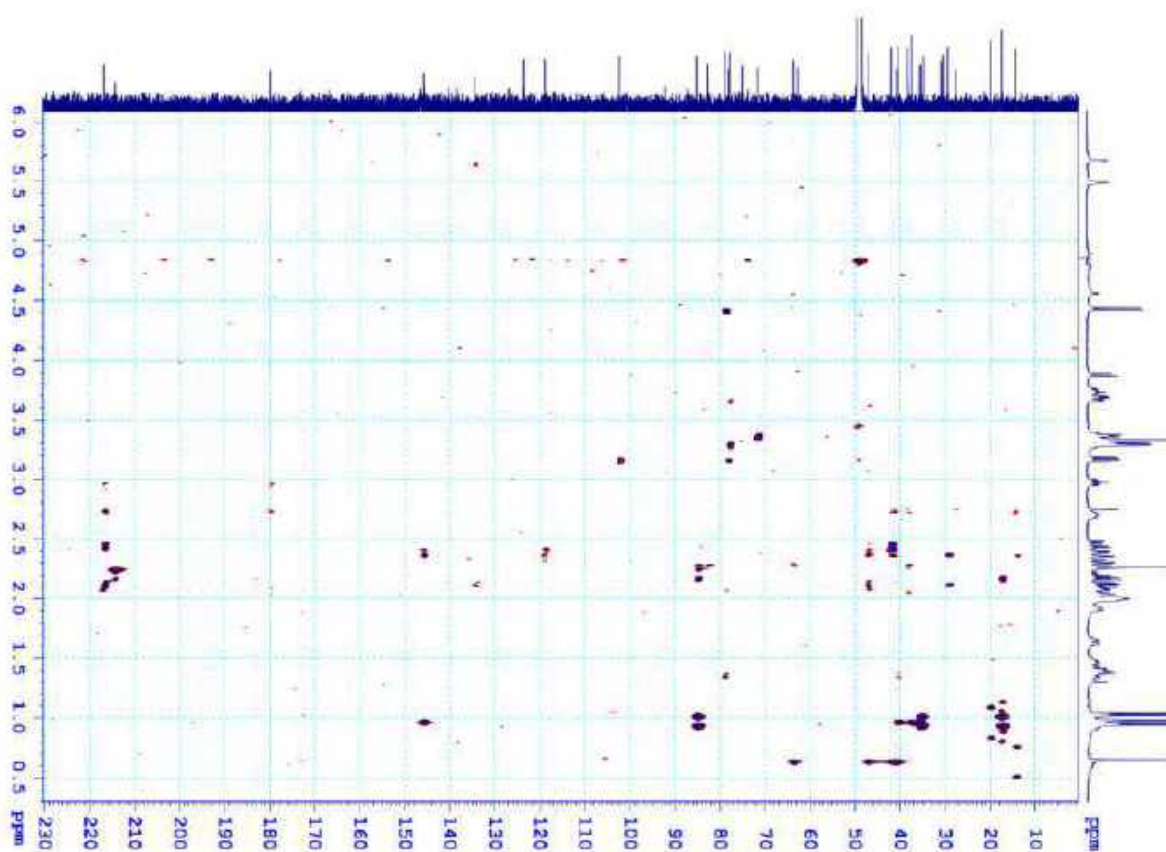


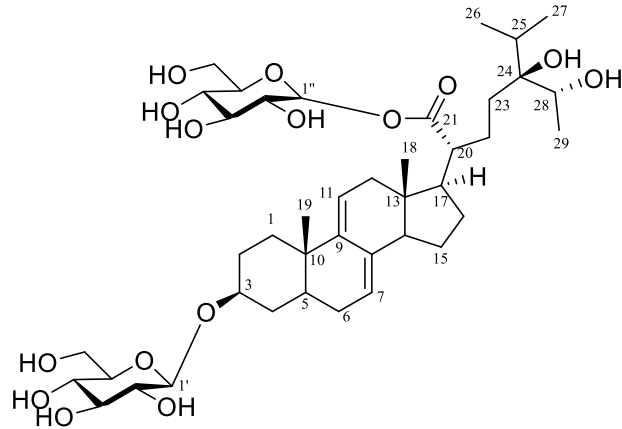
PL65

**Phổ HSQC của hợp chất LD15**



**Phổ HMBC của hợp chất LD15**



**XVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD16**

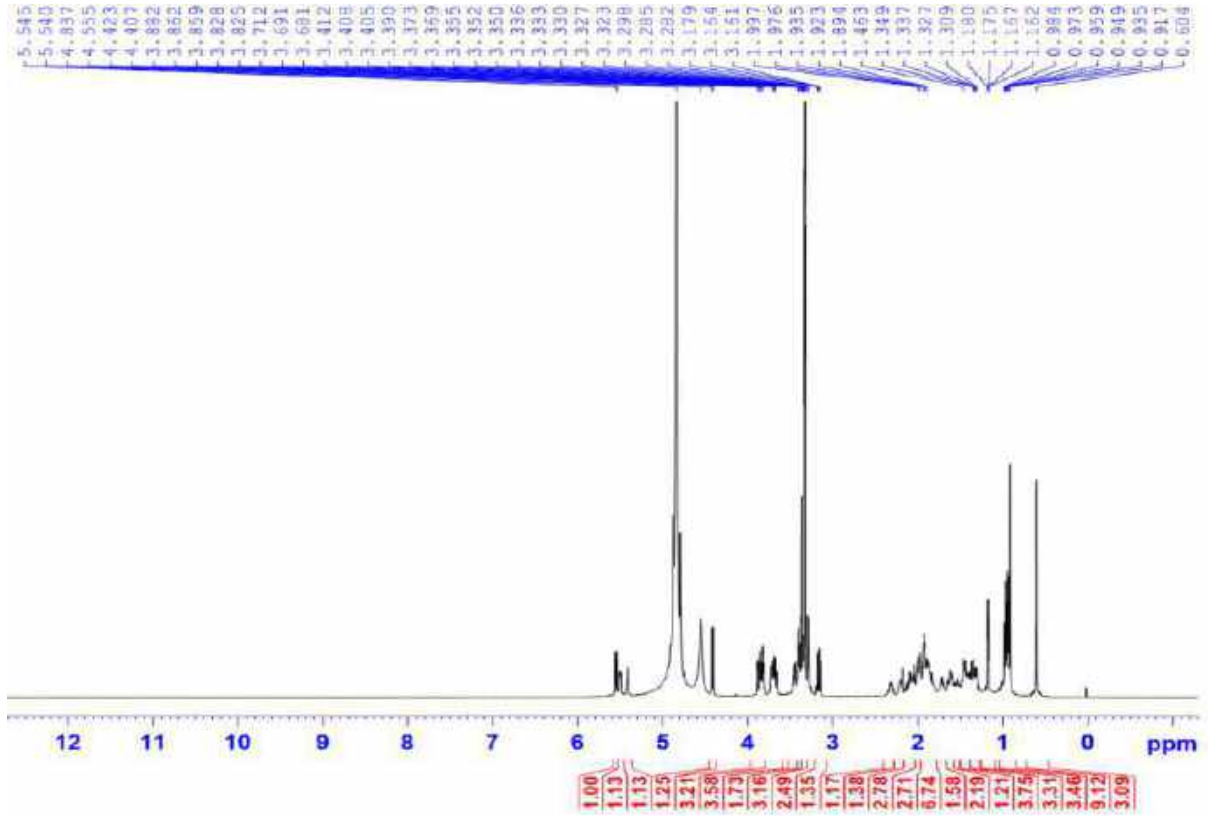
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{41}H_{66}O_{15}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 798,4

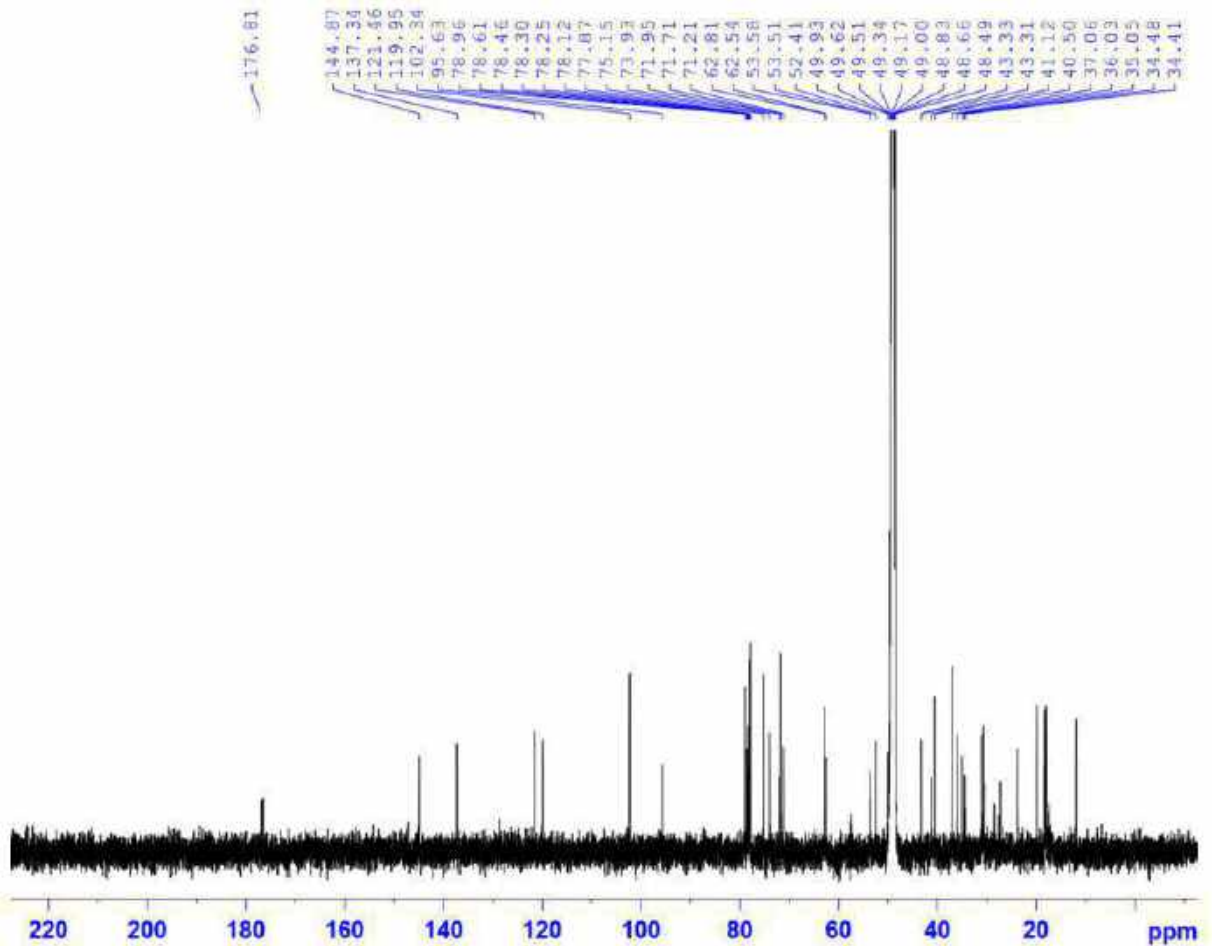
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL67

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất LD16

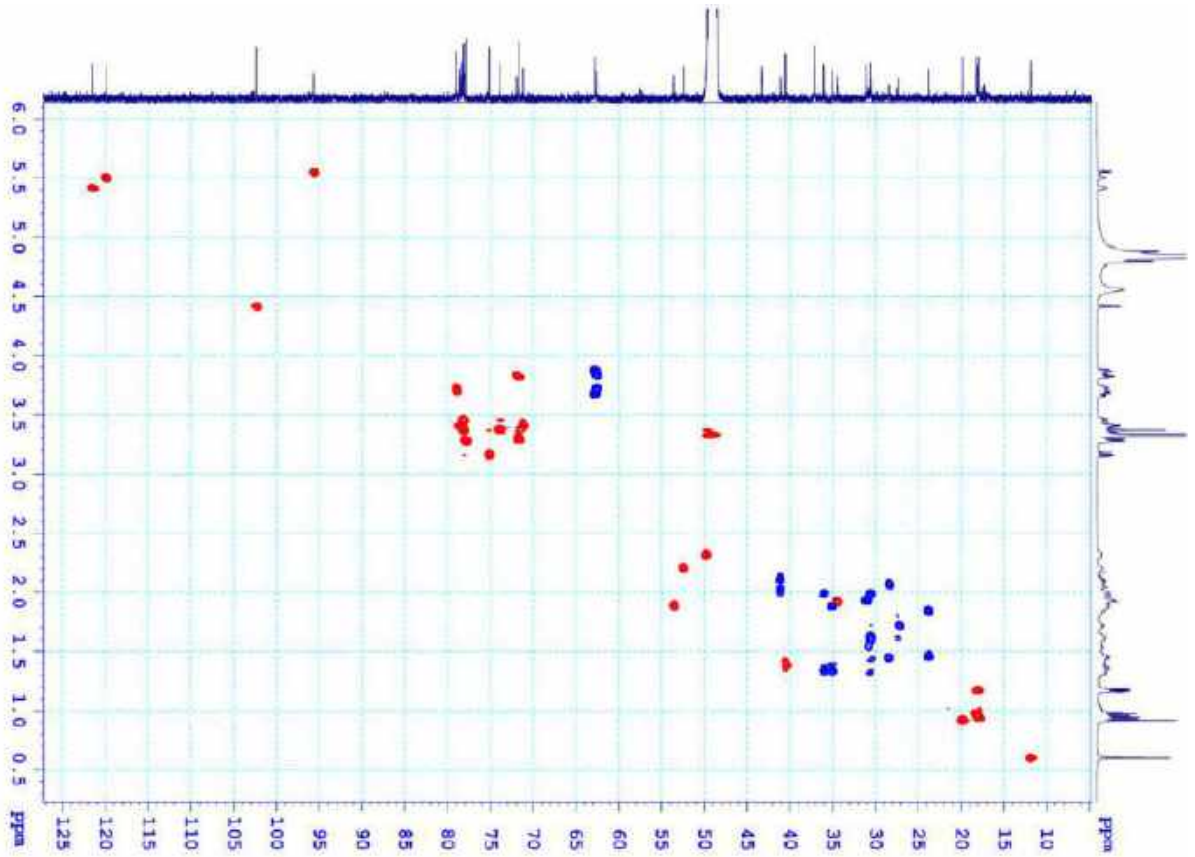


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất LD16

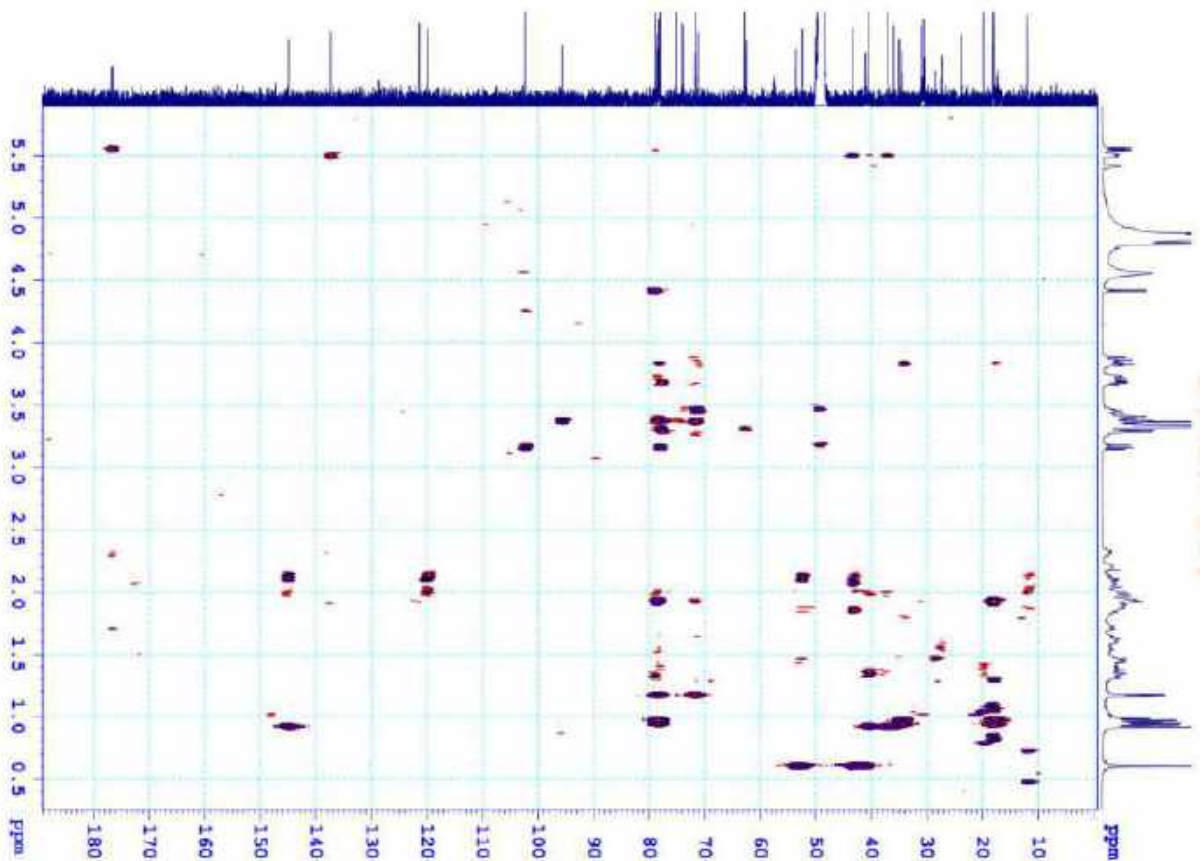


PL68

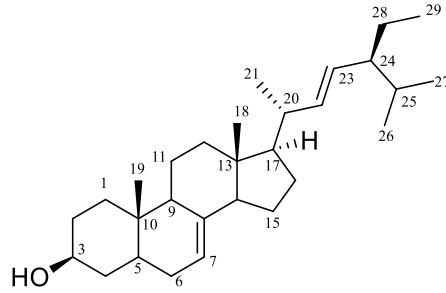
Phổ HSQC của hợp chất LD16



Phổ HMBC của hợp chất LD16





**XVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT LD17**

CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{29}H_{48}O$ .

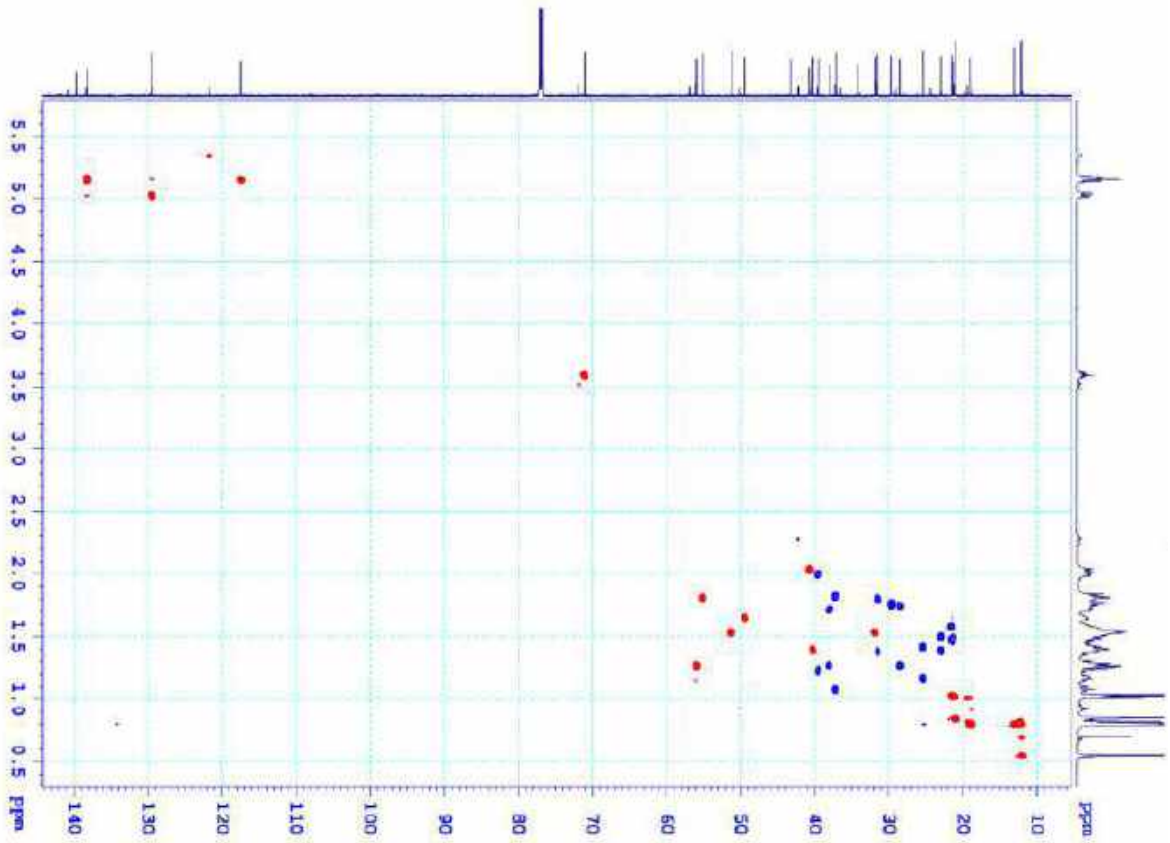
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 412,7

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

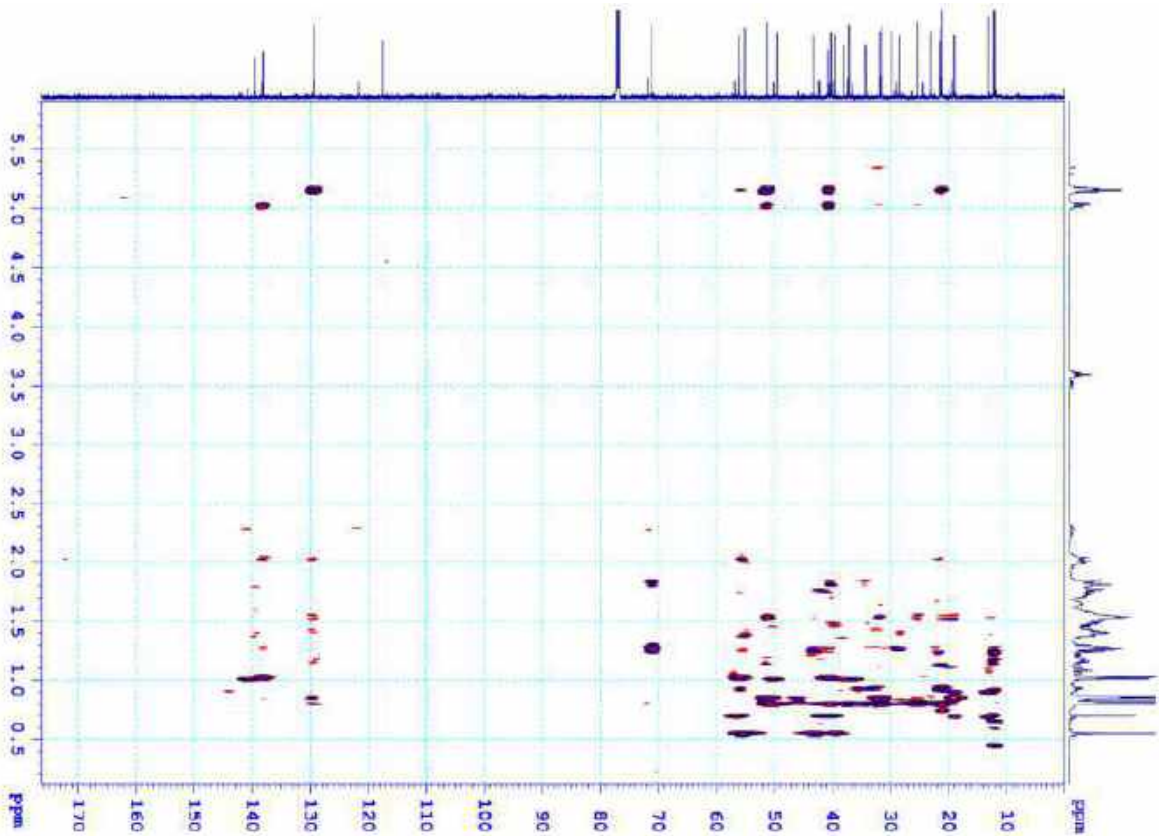


PL71

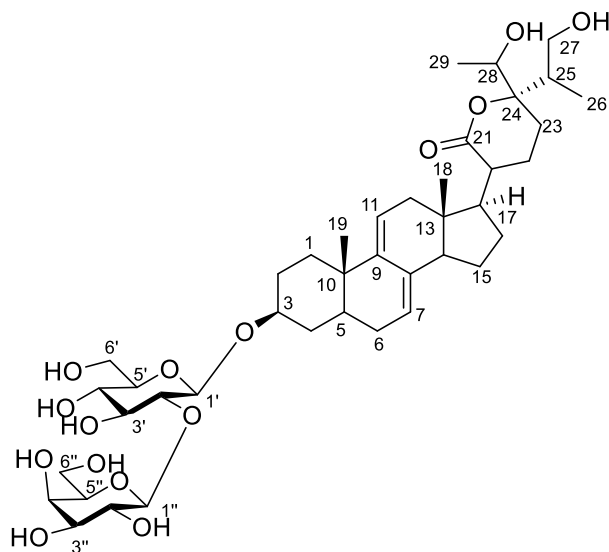
Phổ HSQC-NMR của hợp chất LD17



Phổ HMBC-NMR của hợp chất LD17



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



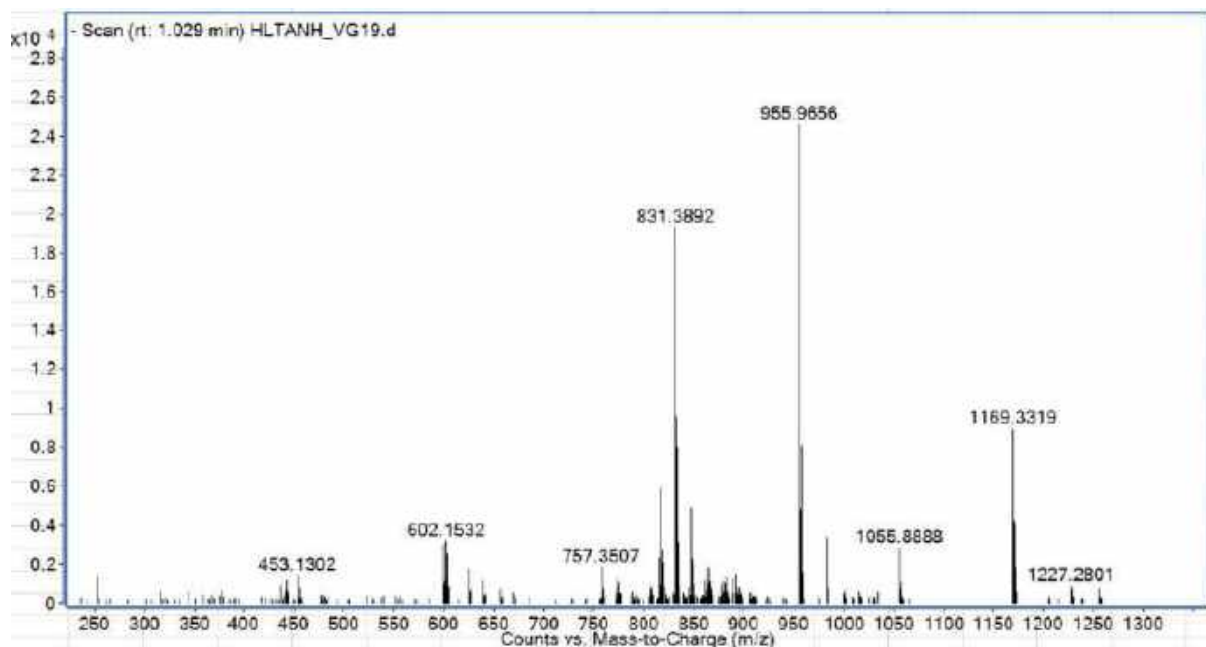
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{41}H_{64}O_{15}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 796,4

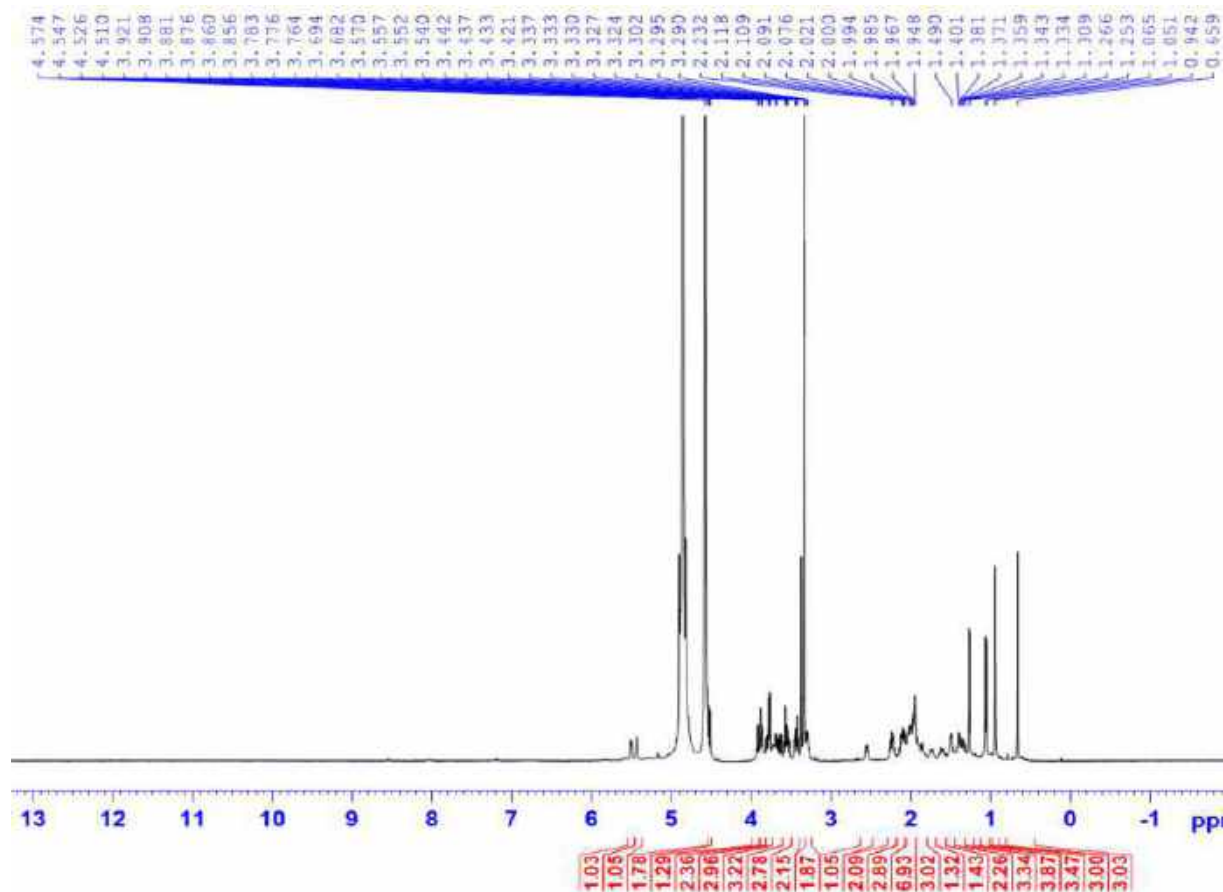
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC
- Phổ HMBC
- Phổ COSY
- Phổ NOESY
- Phổ CD

PL73

### Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG1

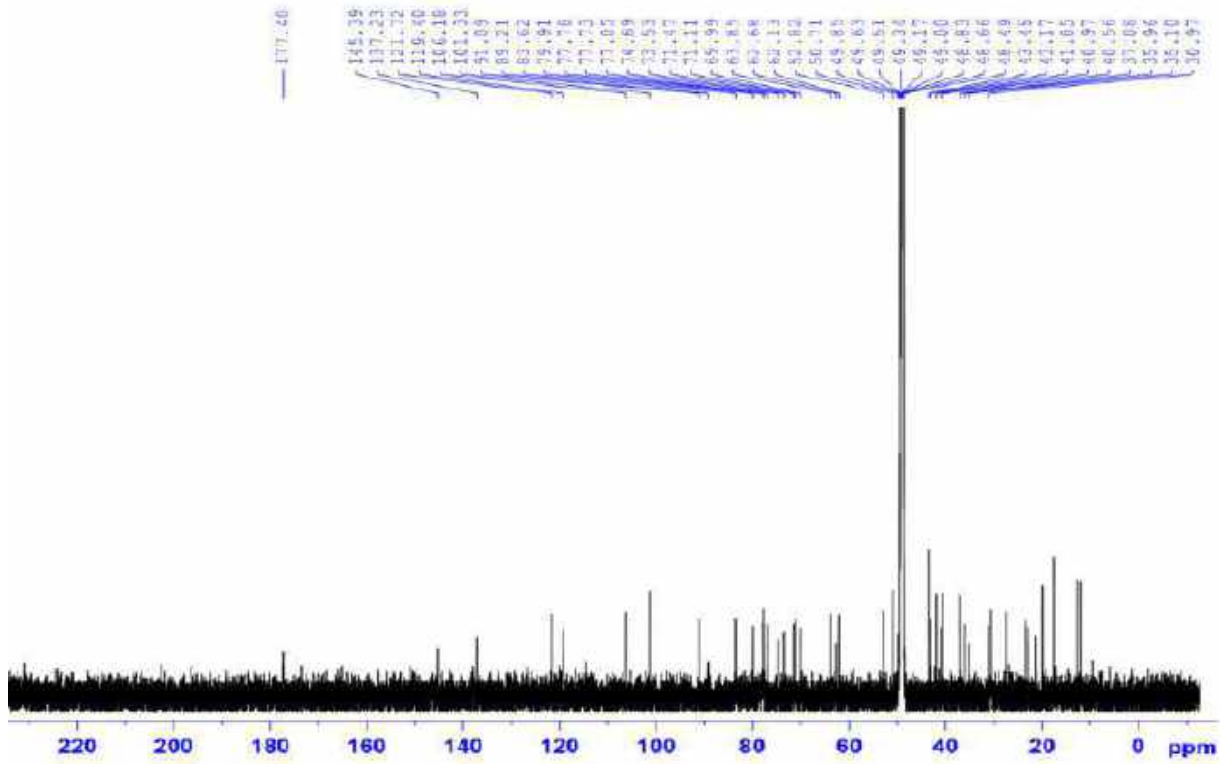


### Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất VG1

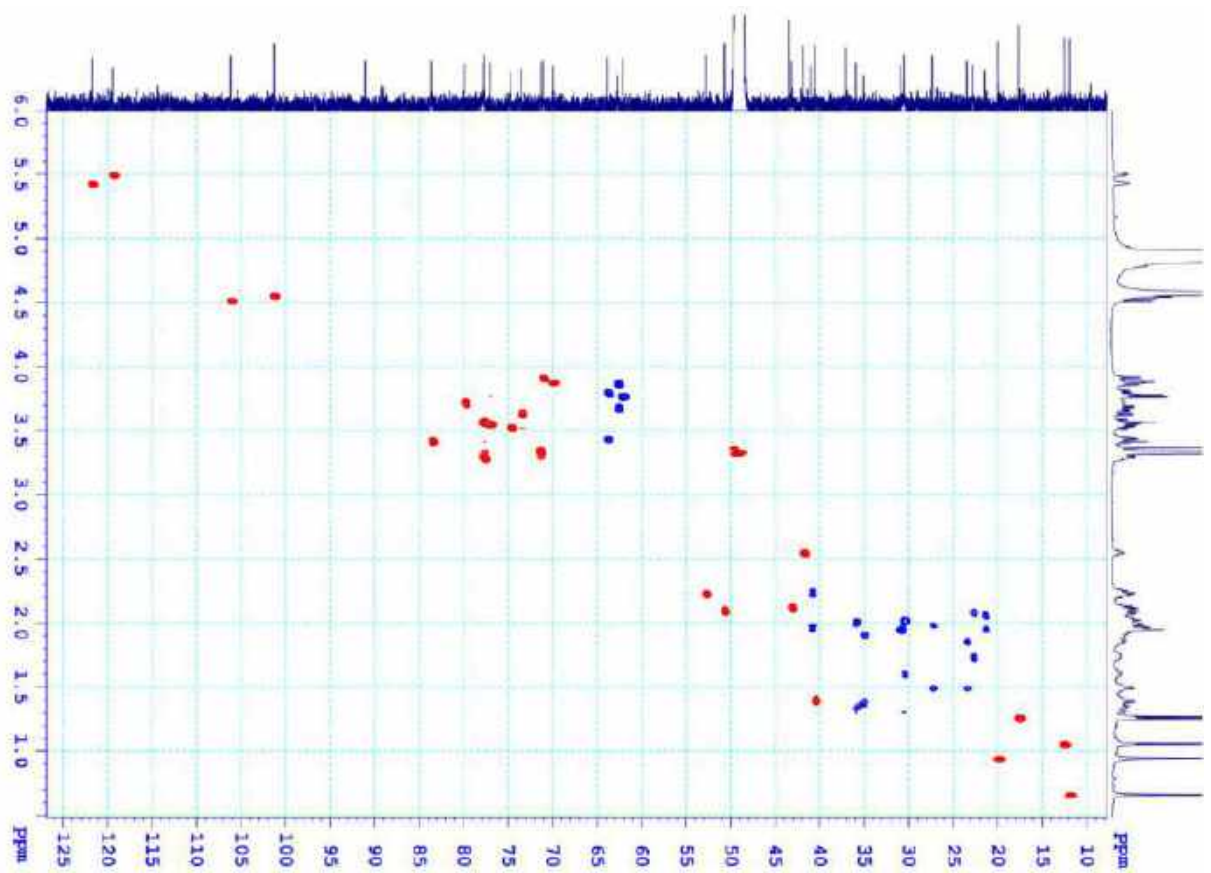


PL74

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất VG1

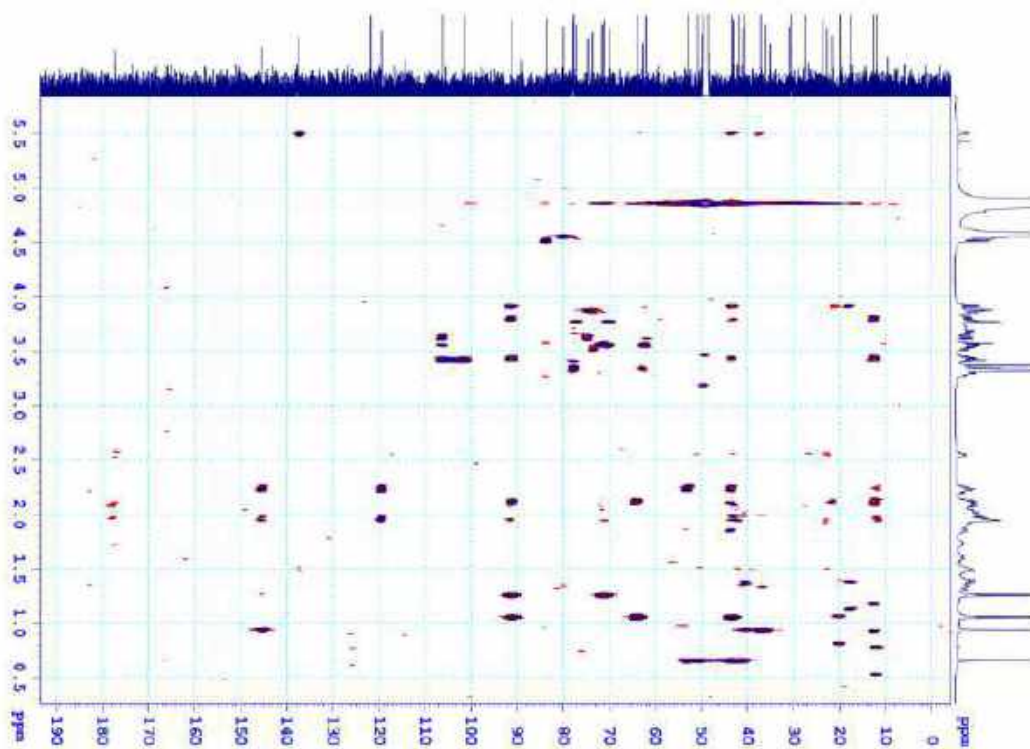


Phổ HSQC của hợp chất VG1

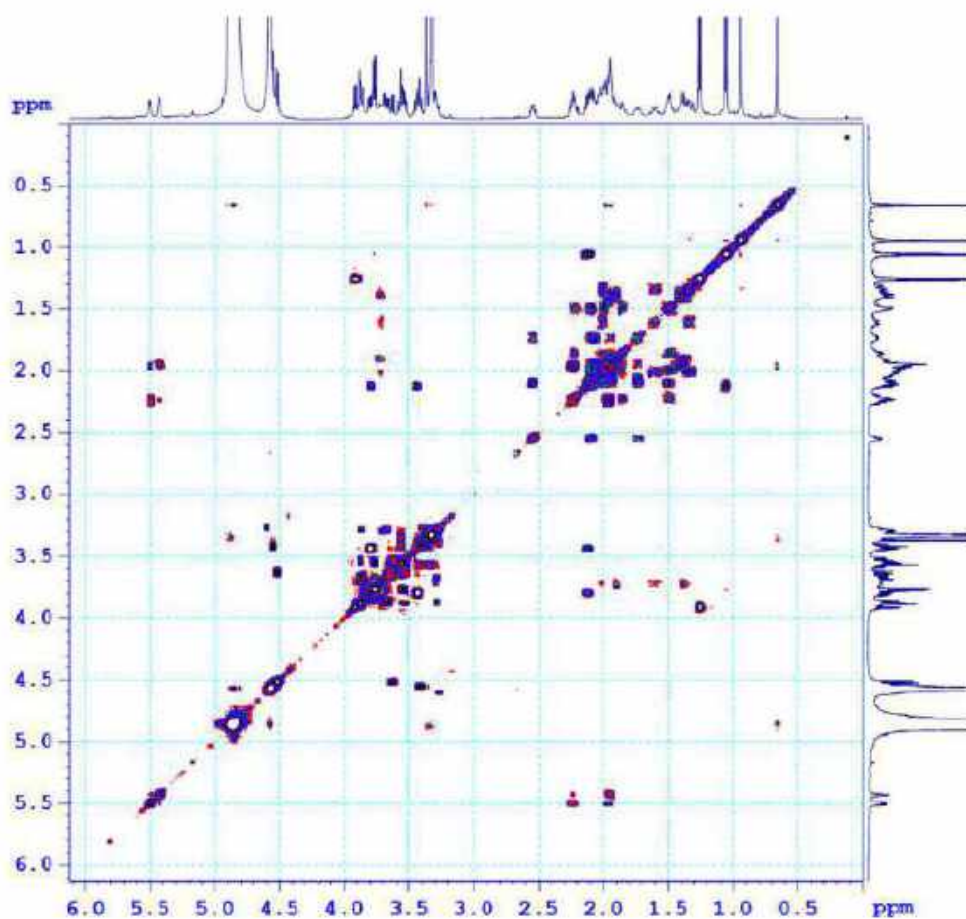


PL75

**Phổ HMBC của hợp chất VG1**

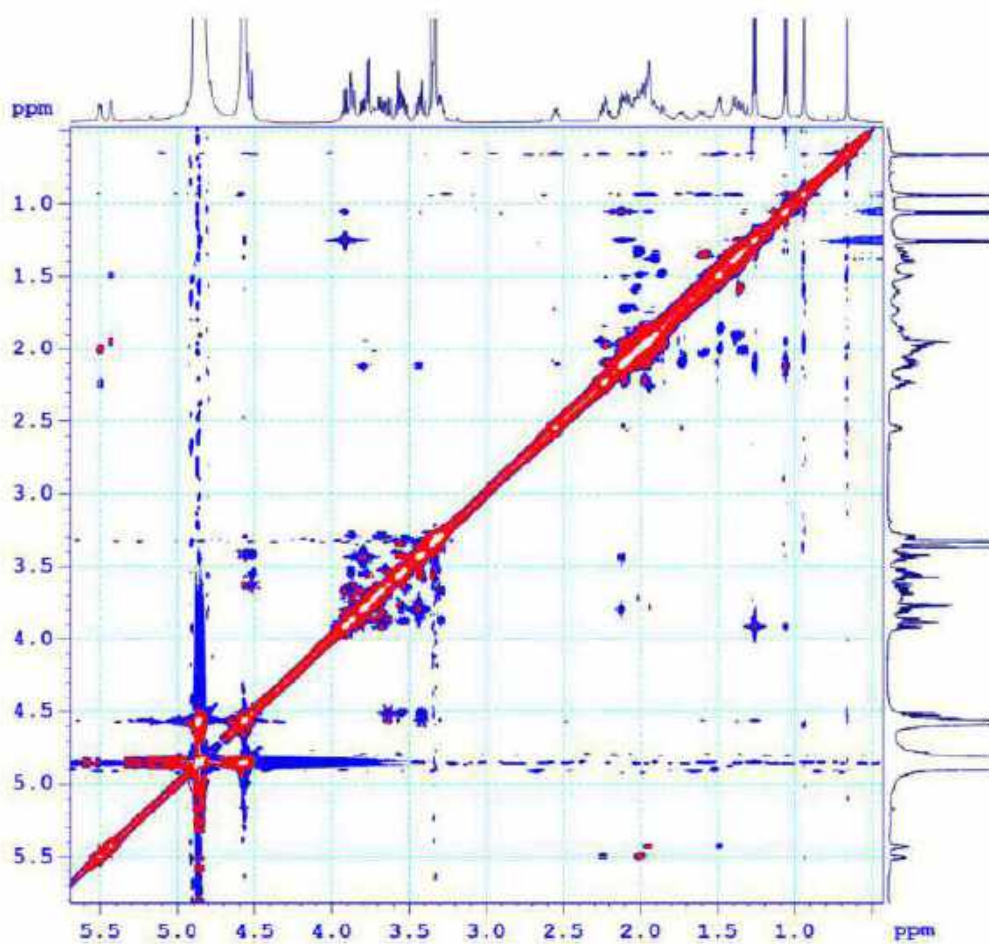


**Phổ COSY của hợp chất VG1**

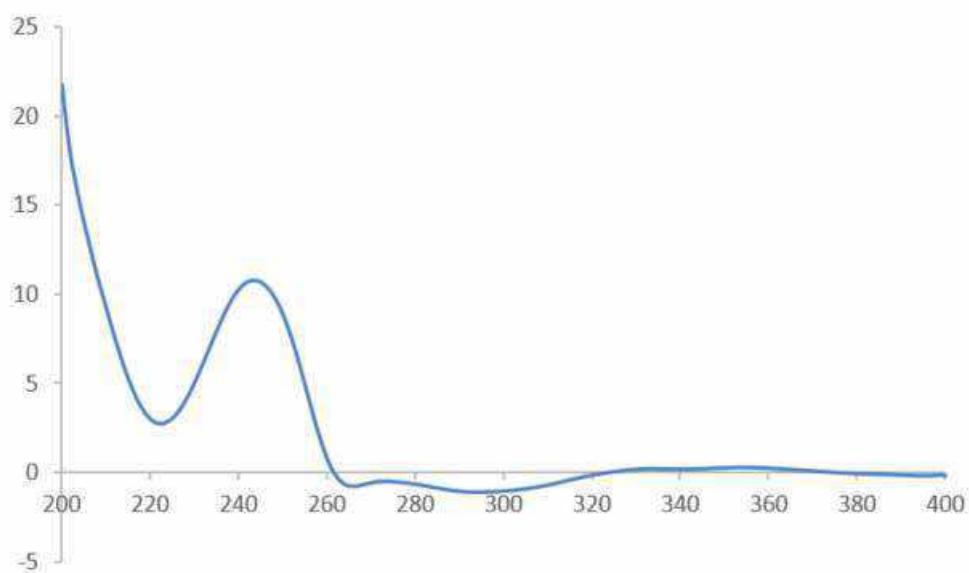


PL76

**Phổ NOESY của hợp chất VG1**

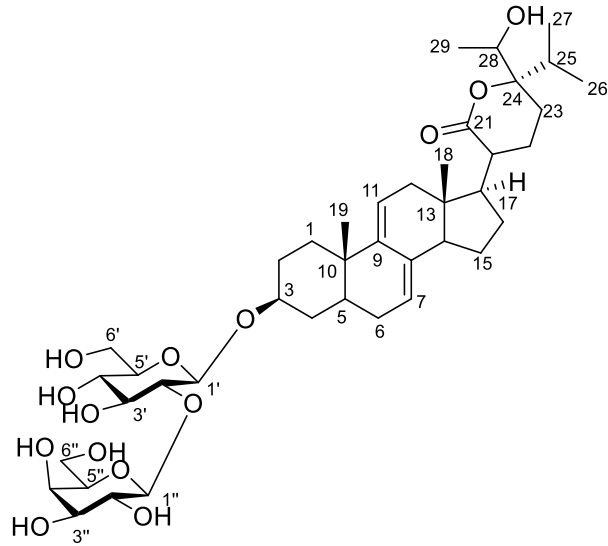


**Phổ ECD của hợp chất VG1**





## XIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG2



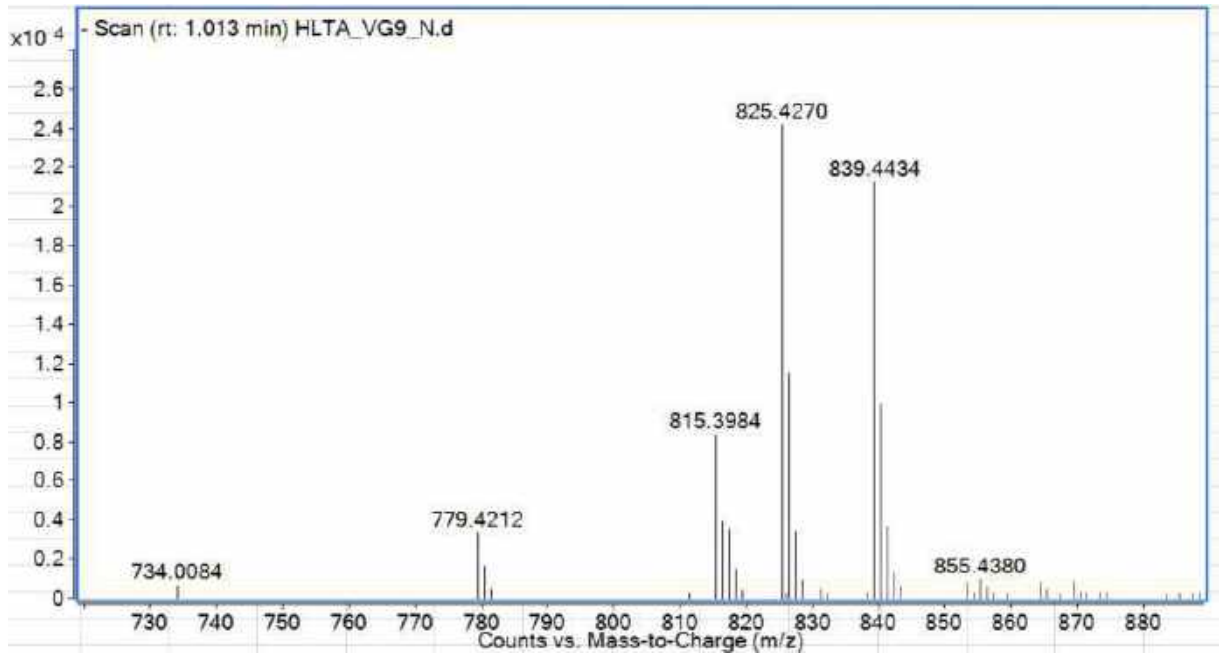
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{41}H_{64}O_{14}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 780,4

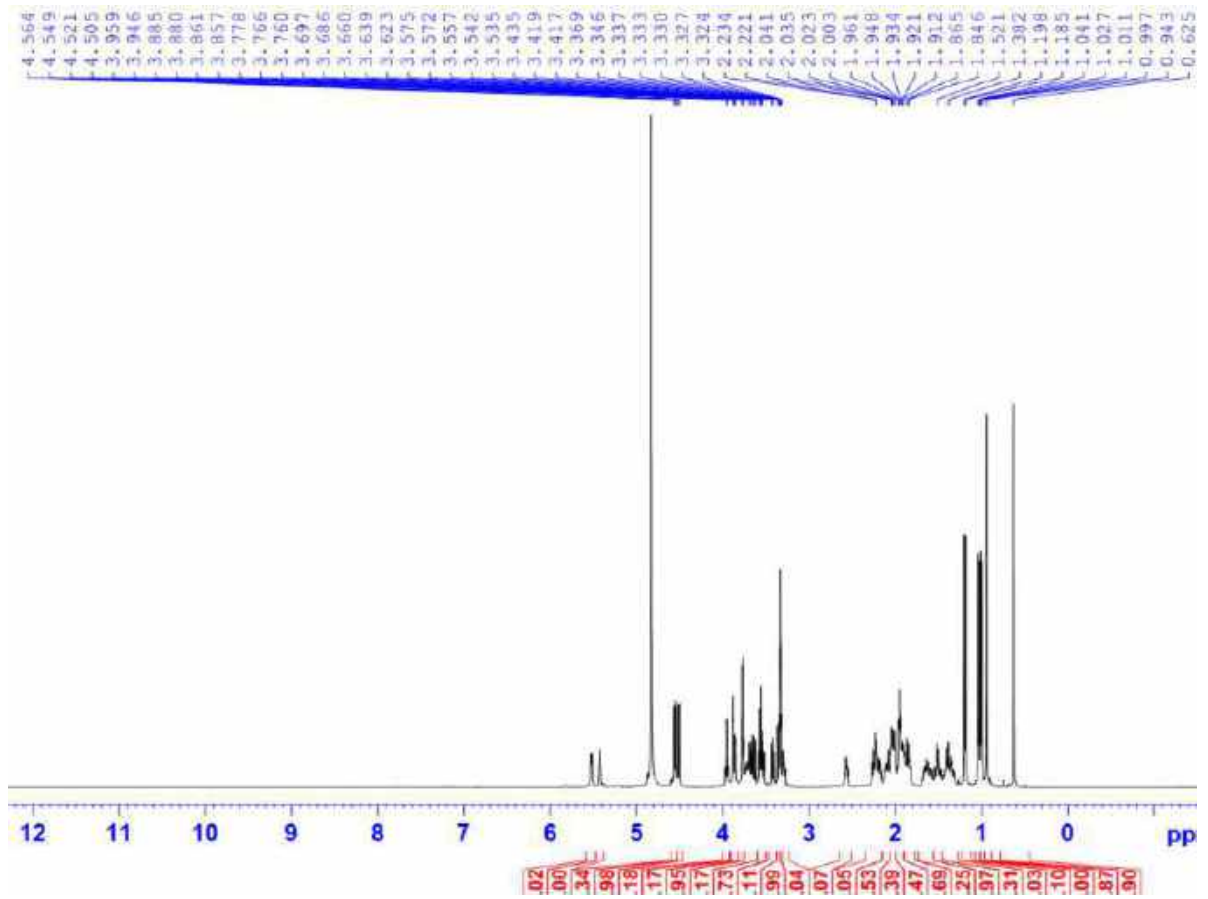
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ CD

PL78

**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG2**

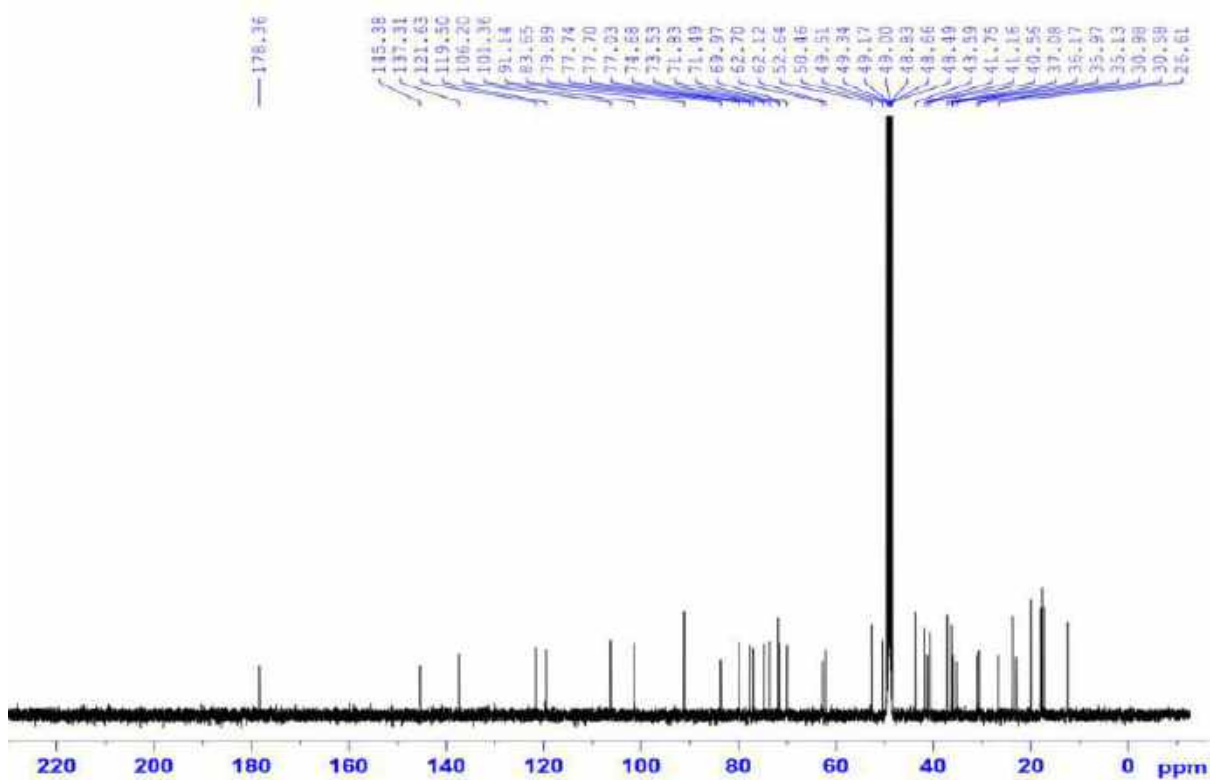


**Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất VG2**

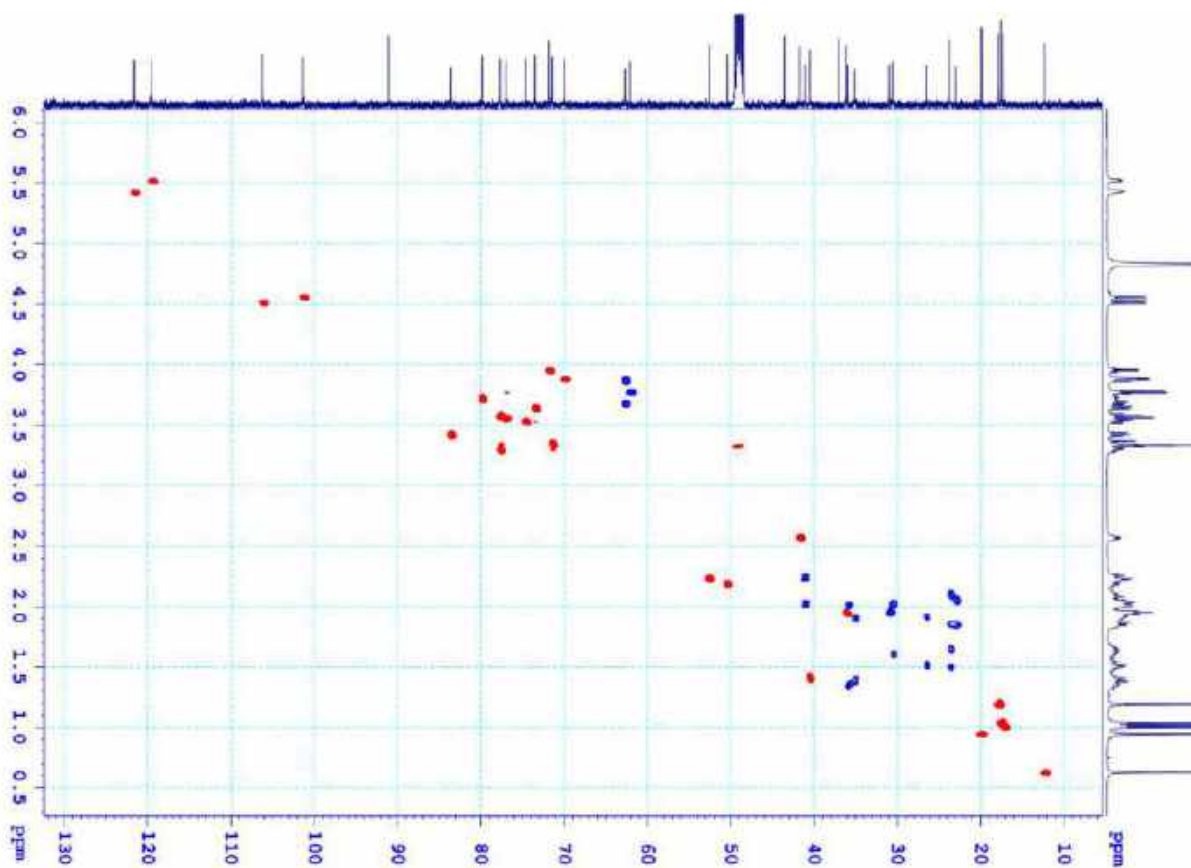


PL79

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất VG2

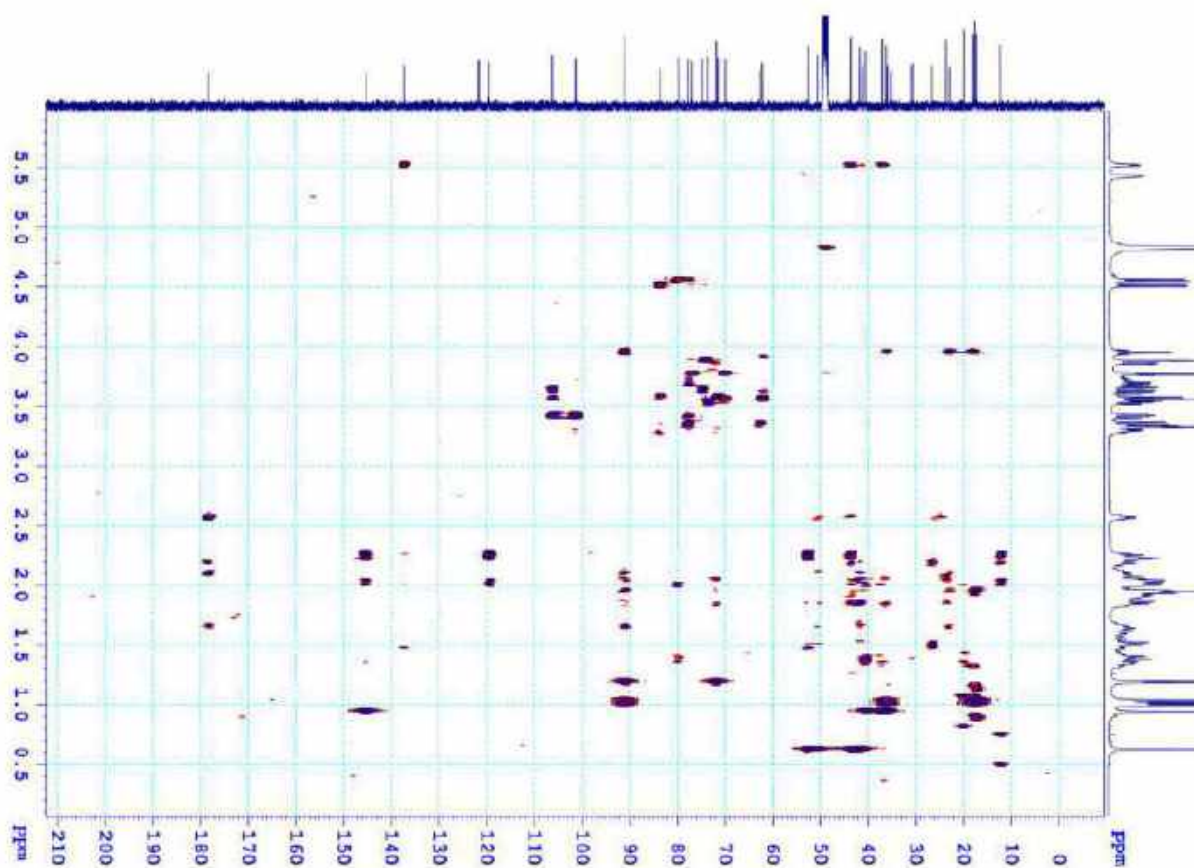


### Phổ HSQC của hợp chất VG2

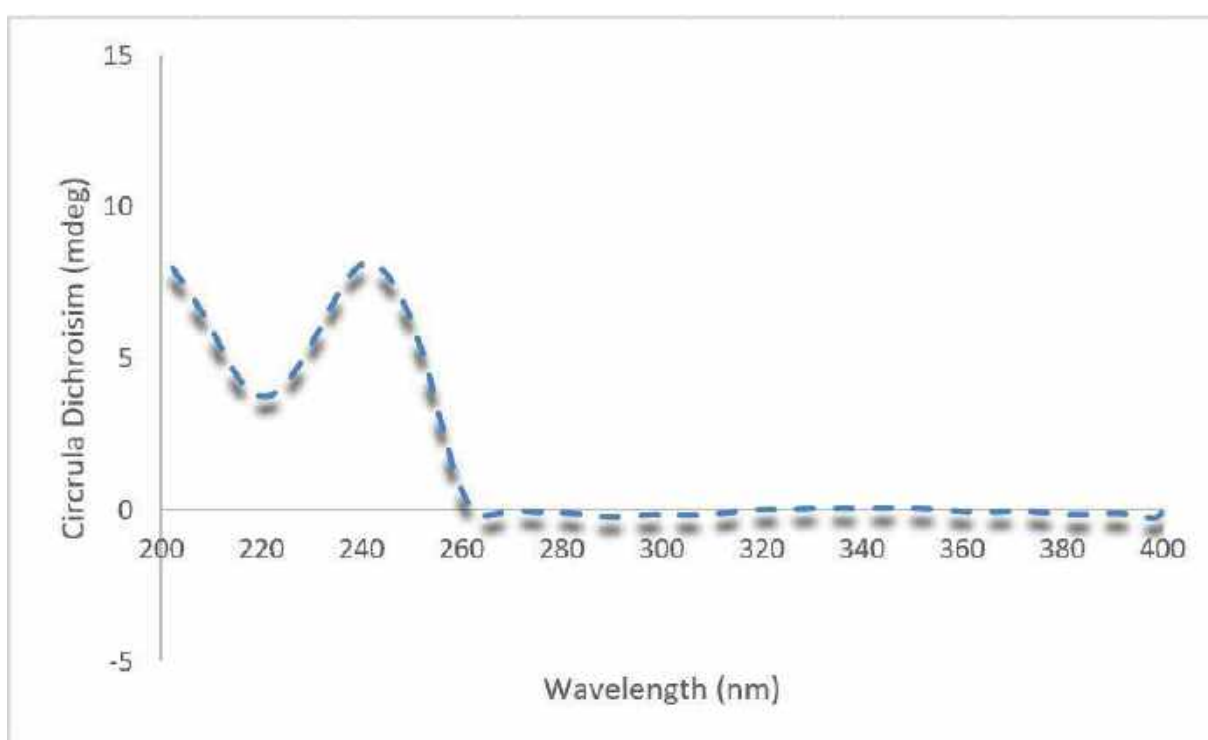


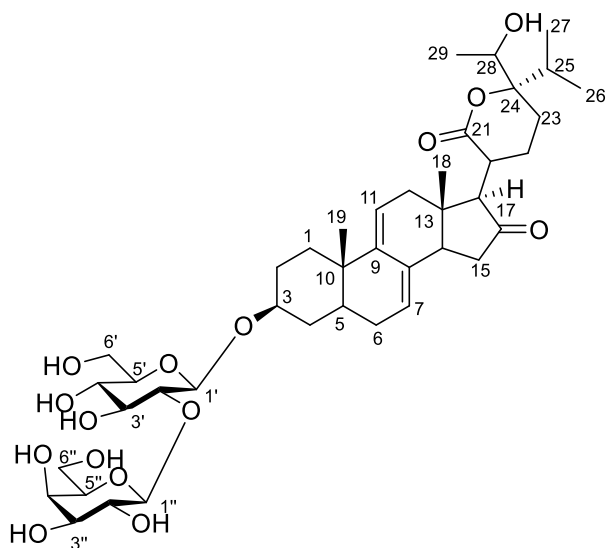
PL80

### Phổ HMBC của hợp chất VG2



### Phổ CD của hợp chất VG2



**XX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG3**

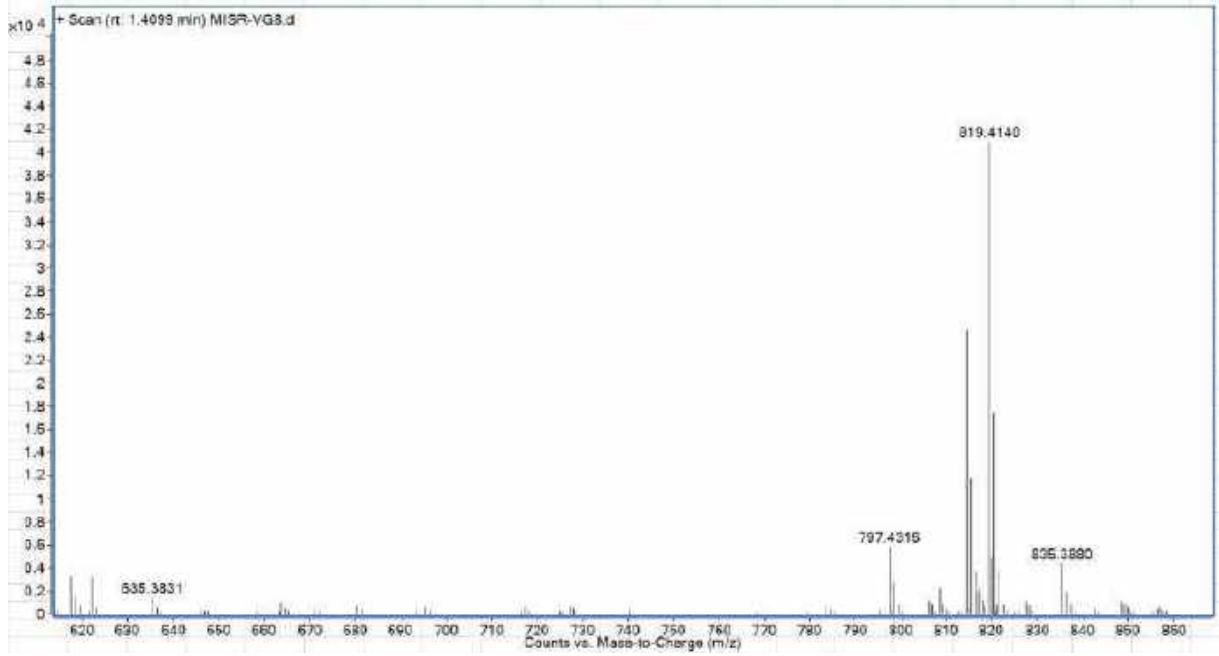
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{41}H_{62}O_{15}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 794,4

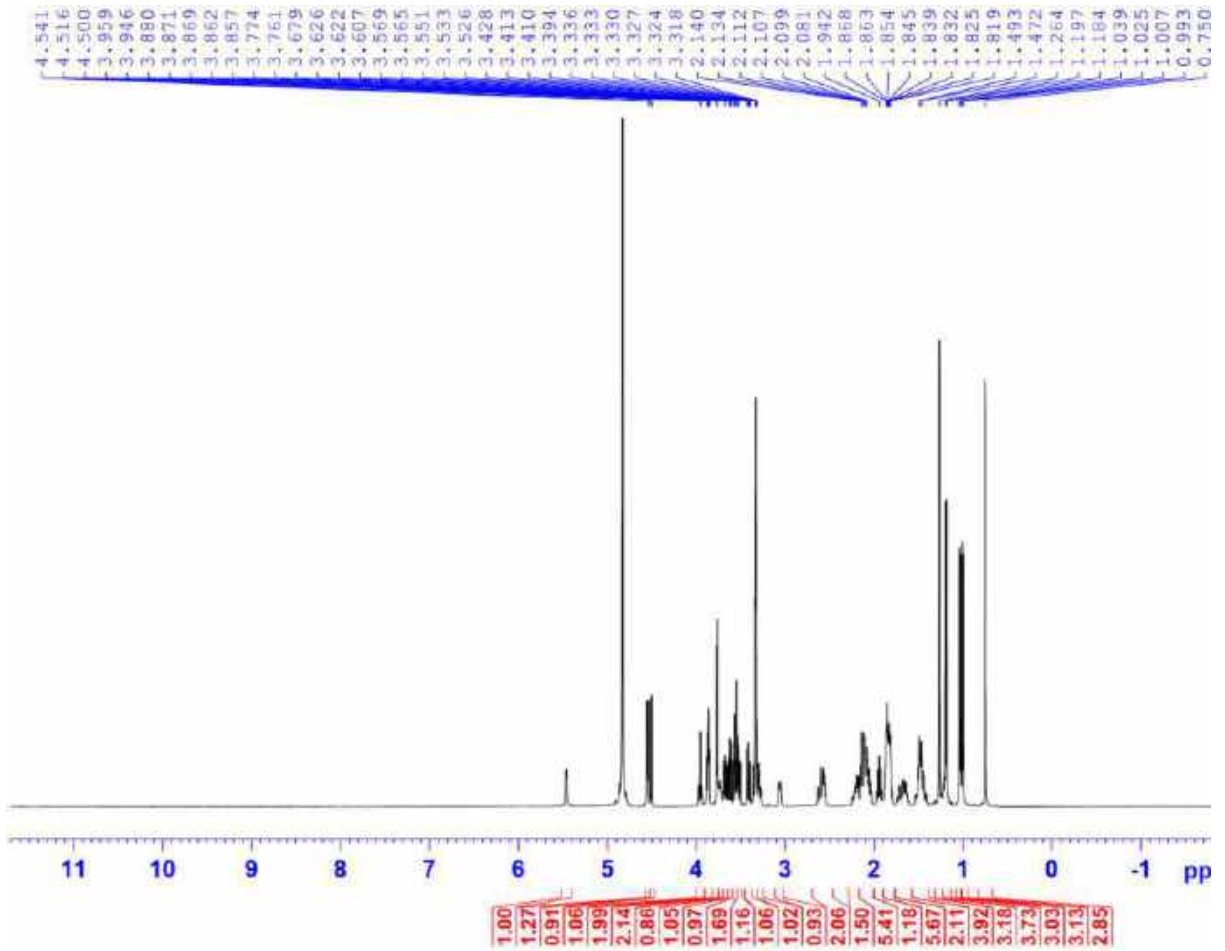
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ NOESY-NMR
- Phổ CD

PL82

### Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG3

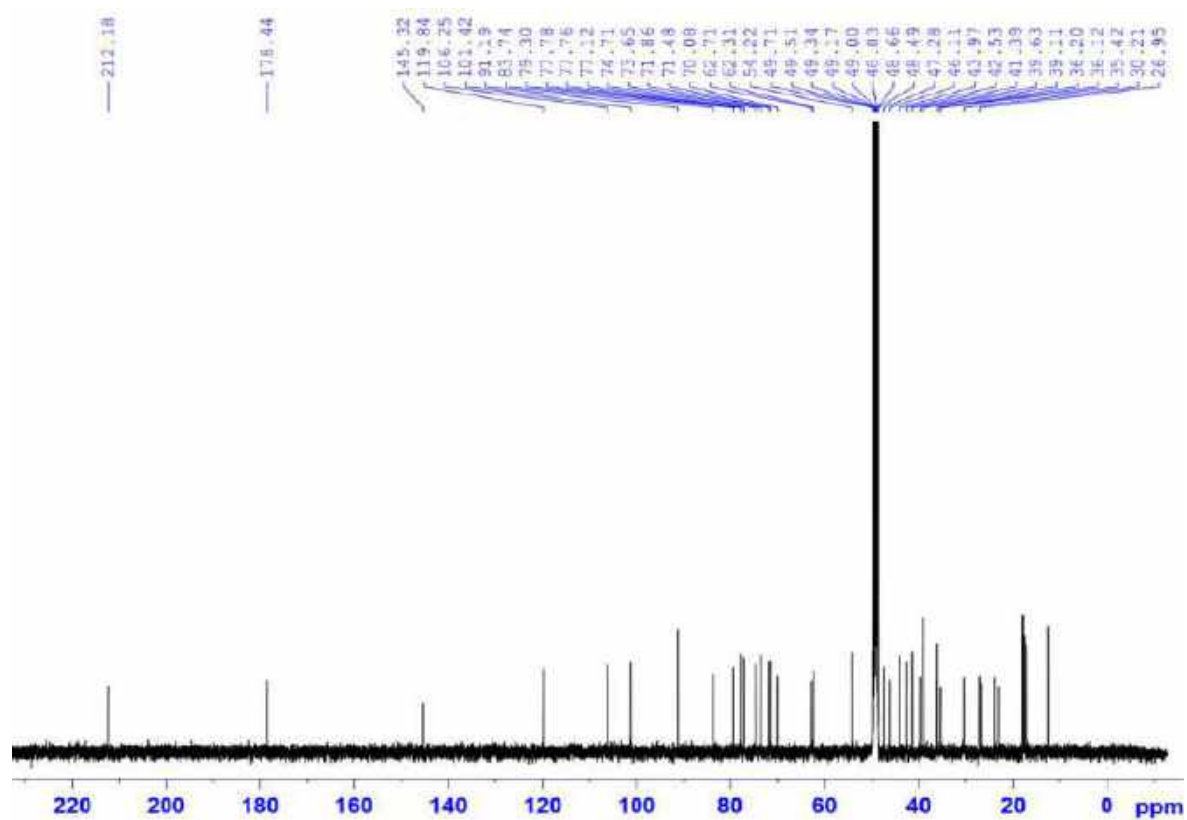


### Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất VG3

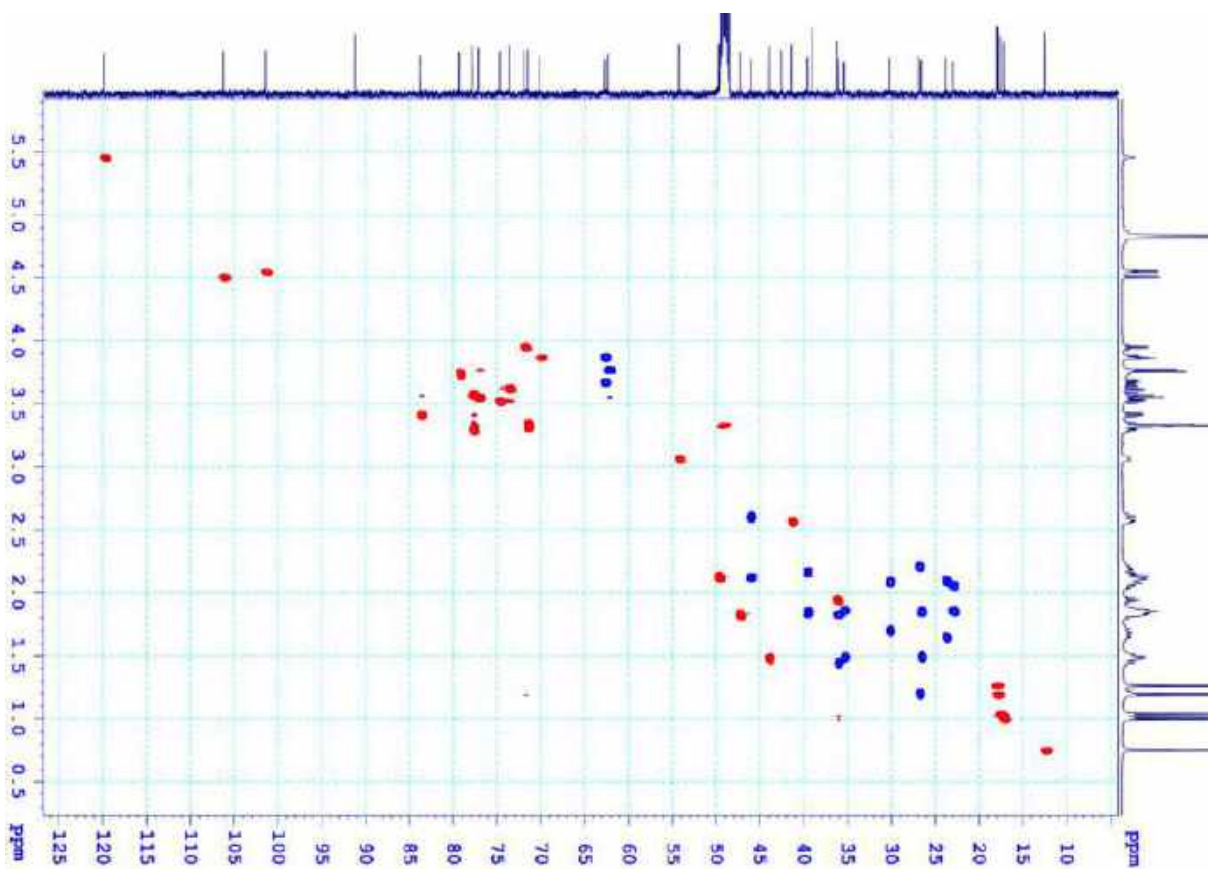


PL83

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất VG3

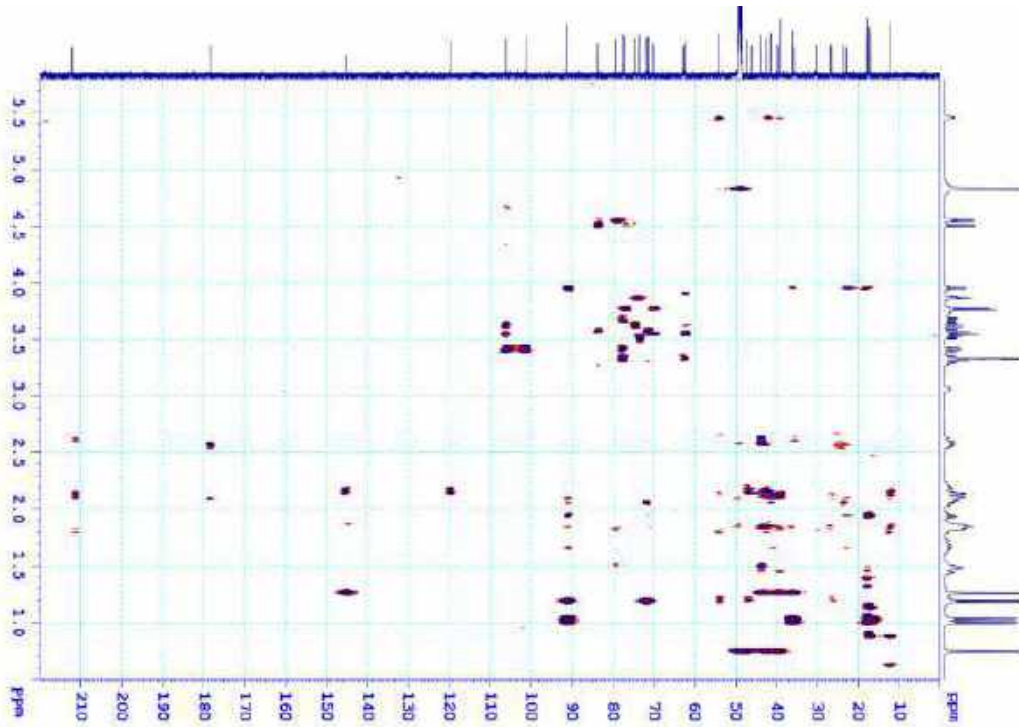


### Phổ HSQC của hợp chất VG3

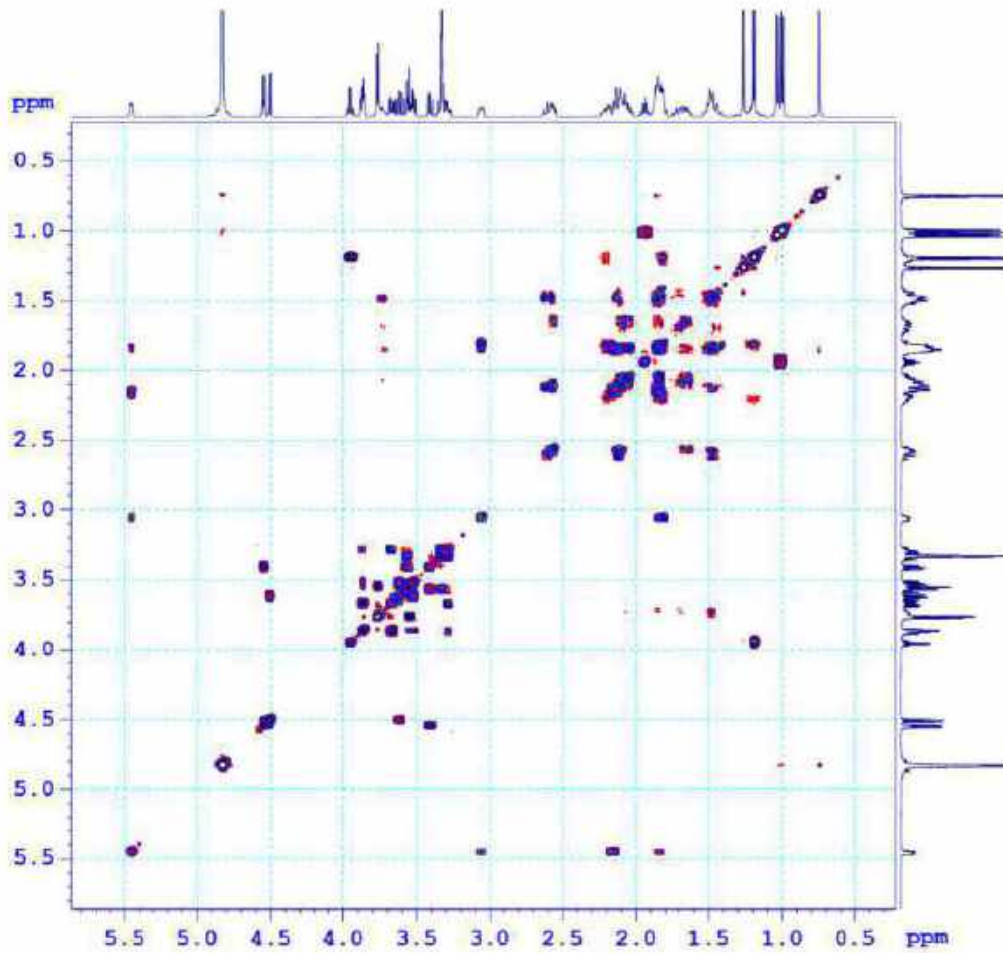


PL84

**Phổ HMBC của hợp chất VG3**



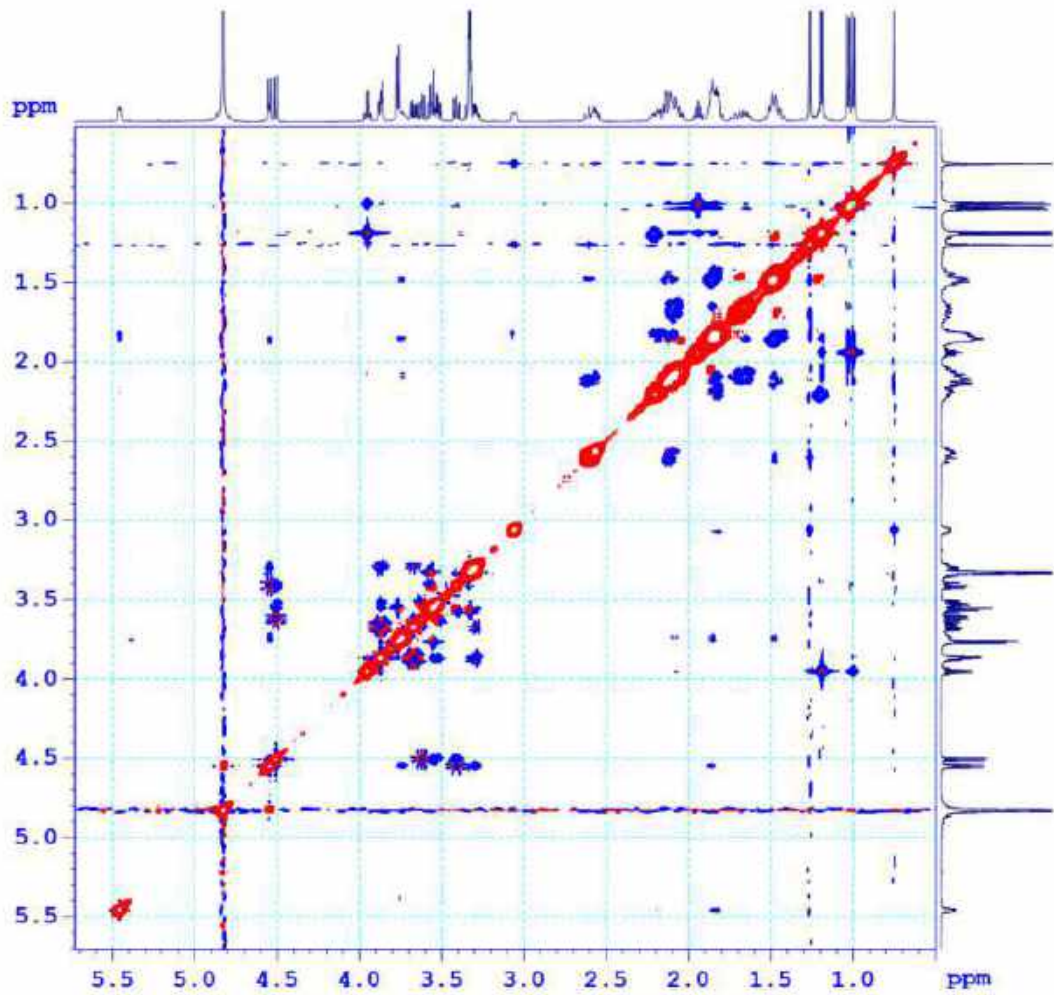
**Phổ COSY của hợp chất VG3**



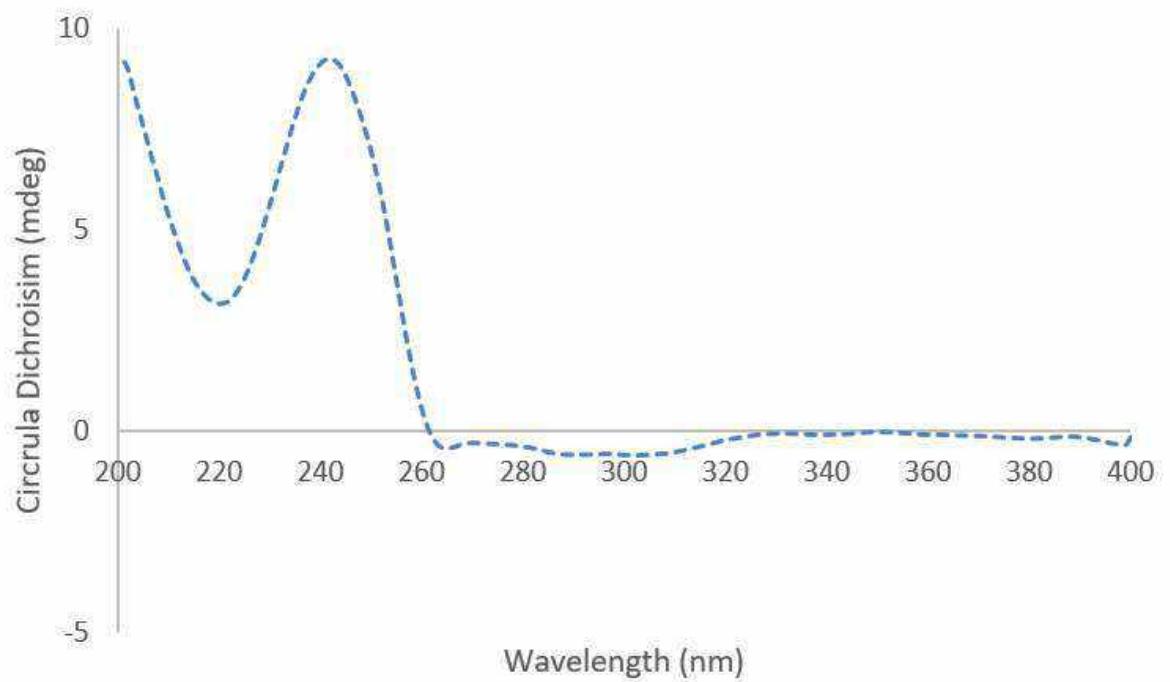


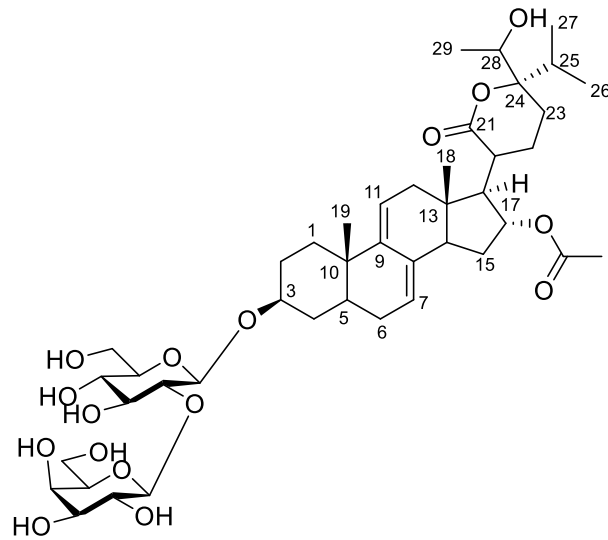
PL85

### Phổ NOESY của hợp chất VG3



### Phổ CD của hợp chất VG3



**XXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG4**

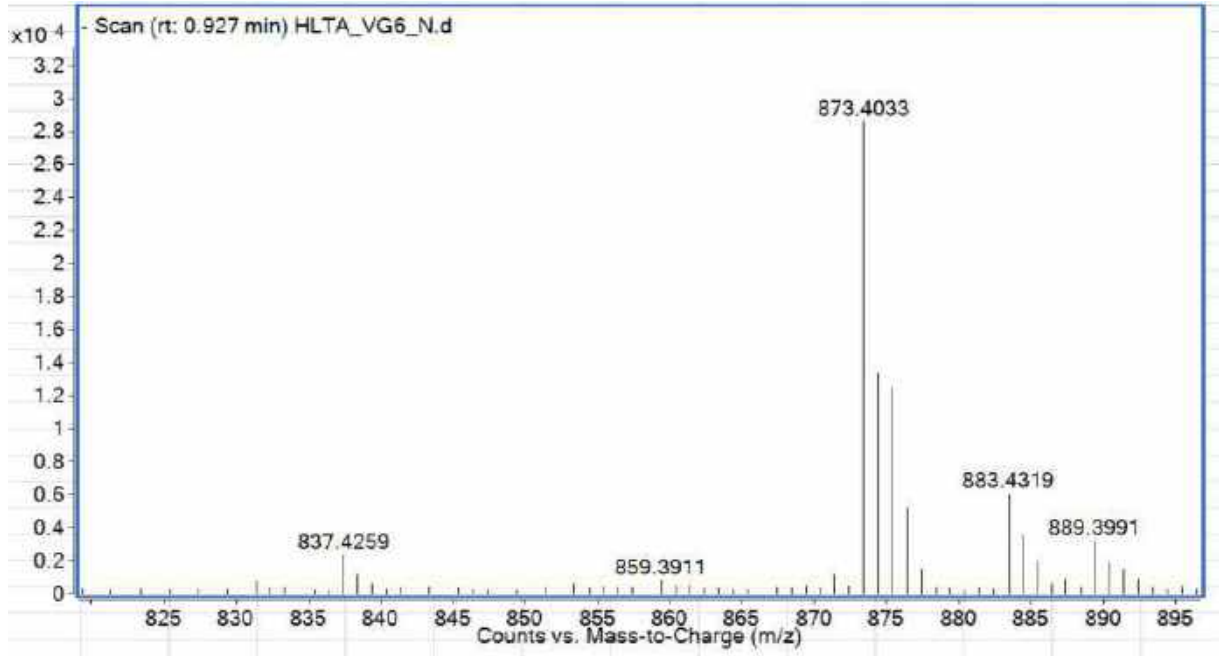
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{43}H_{66}O_{16}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 838,4

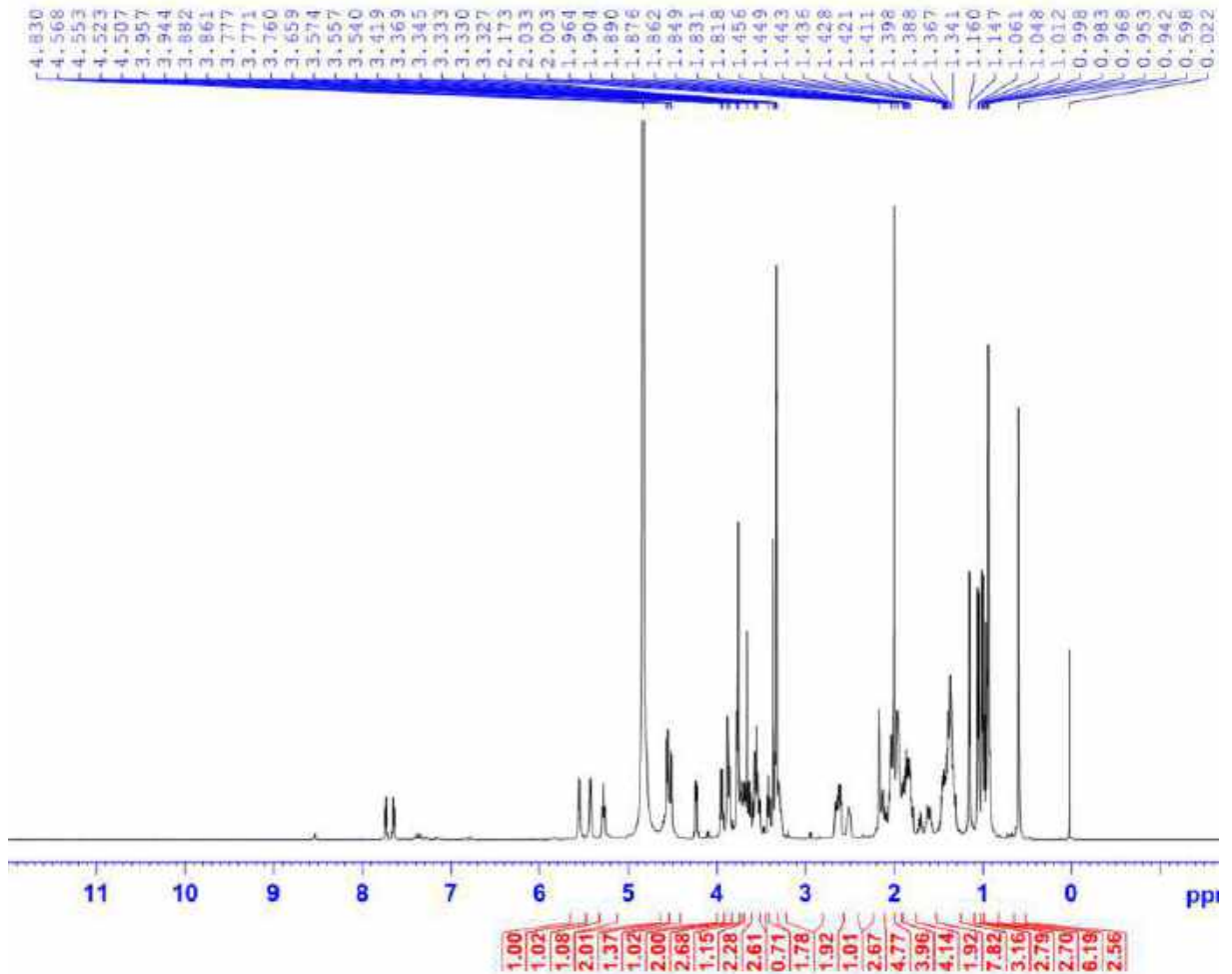
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ CD

PL87

### Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG4

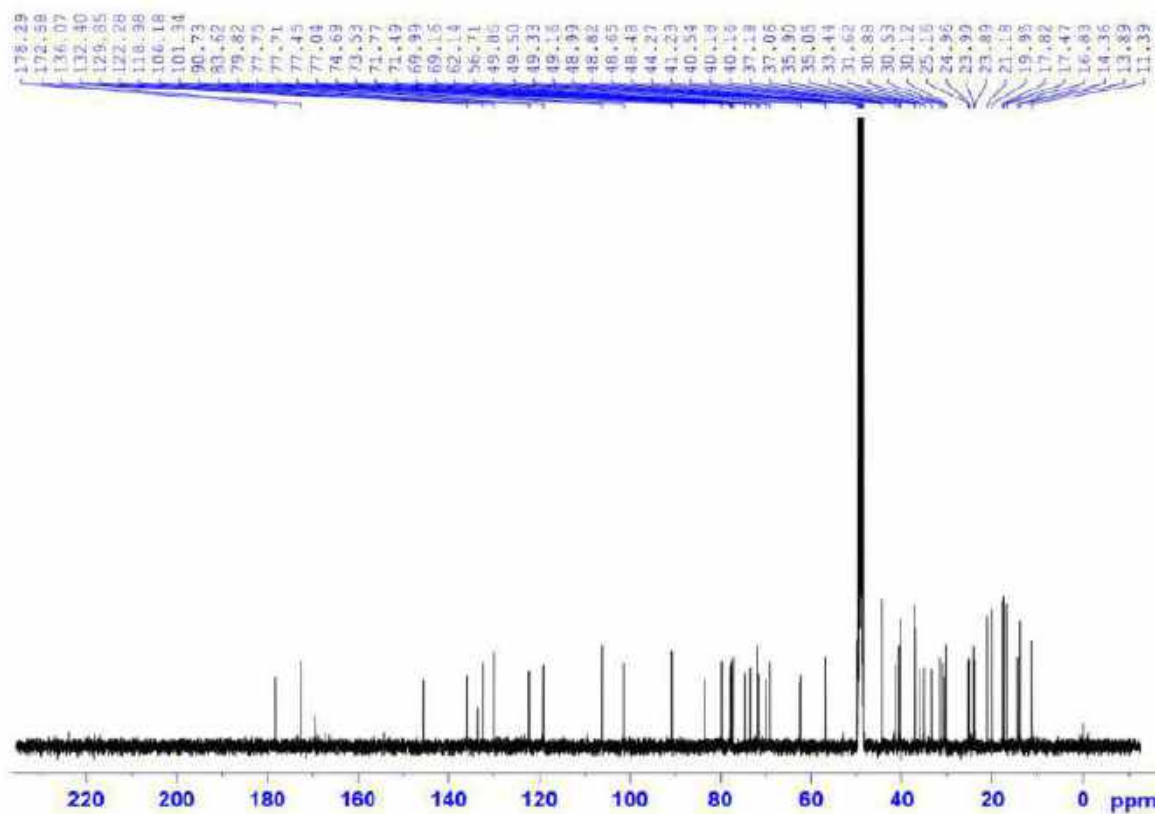


### Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất VG4



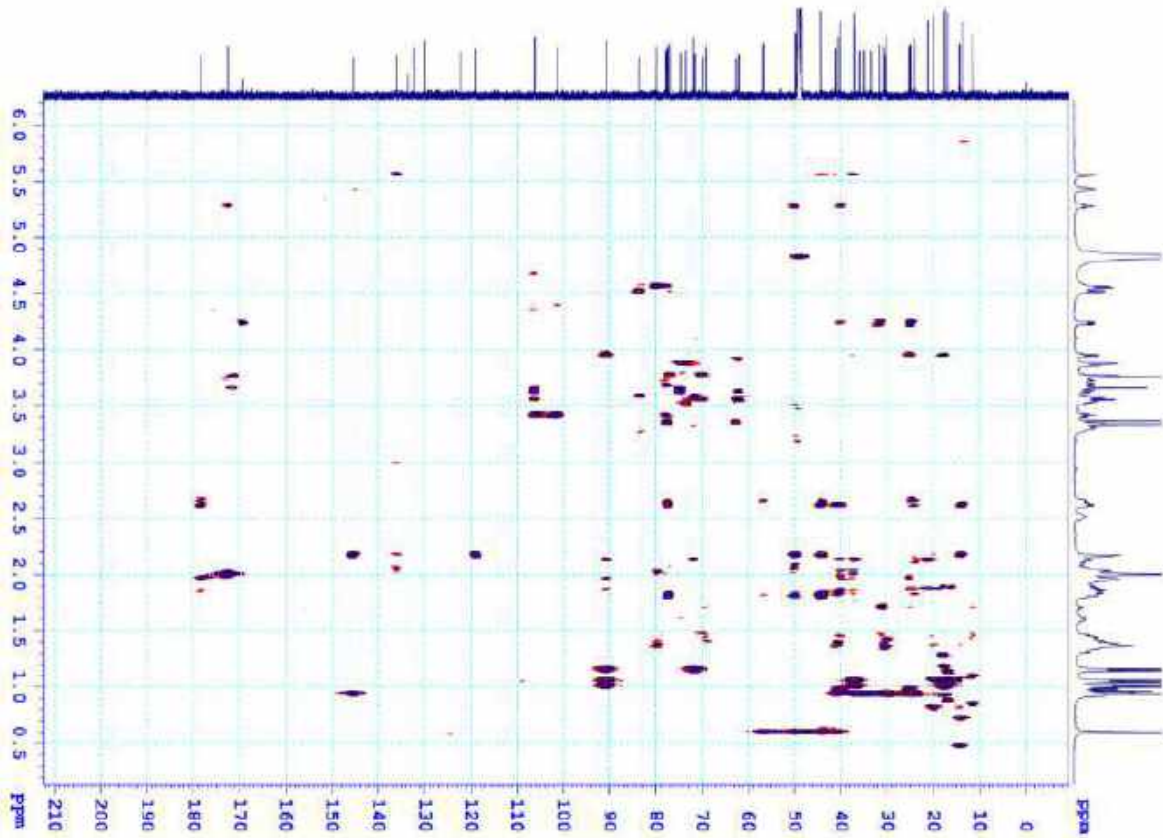
PL88

### Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất VG4

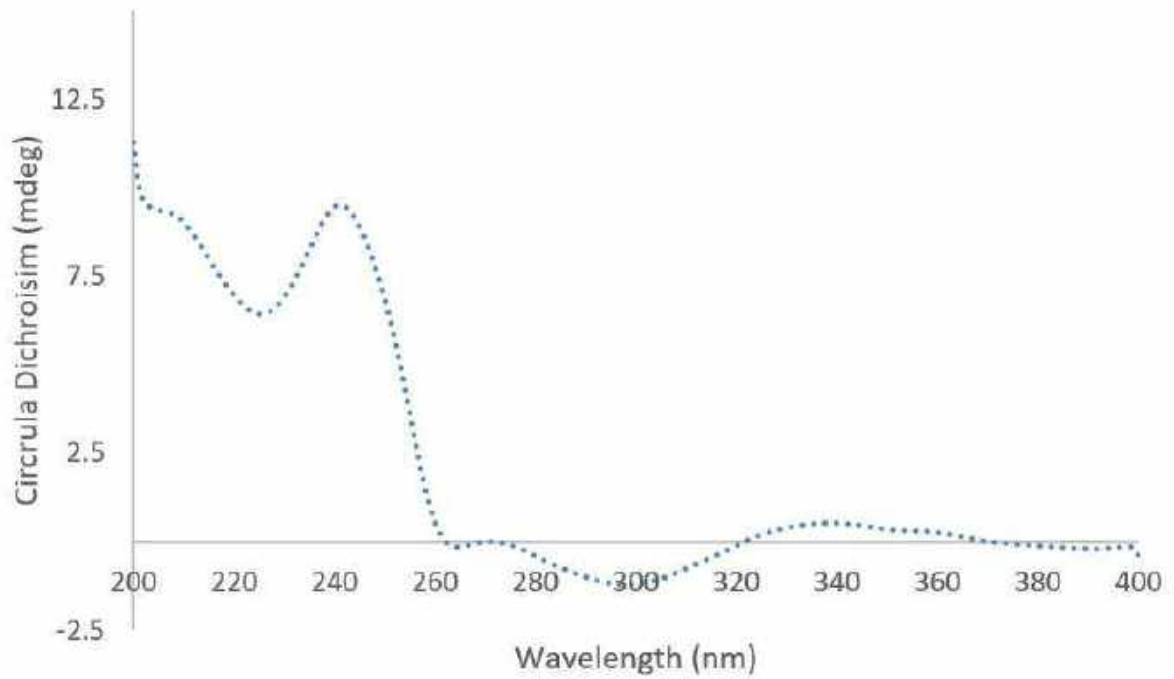


PL89

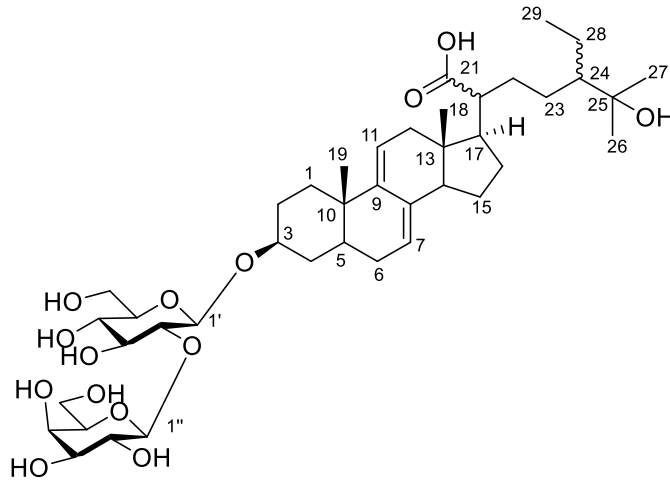
**Phổ HMBC của hợp chất VG4**



**Phổ CD của hợp chất VG4**



## XXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG5

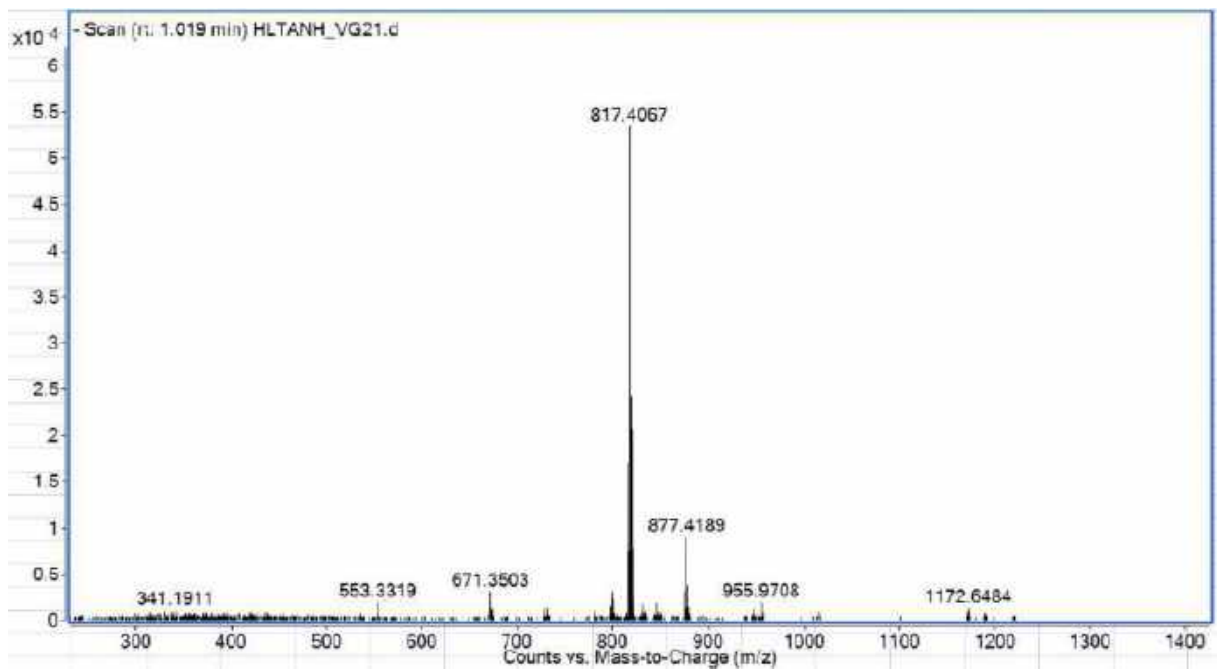


CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{41}H_{66}O_{14}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 782,4

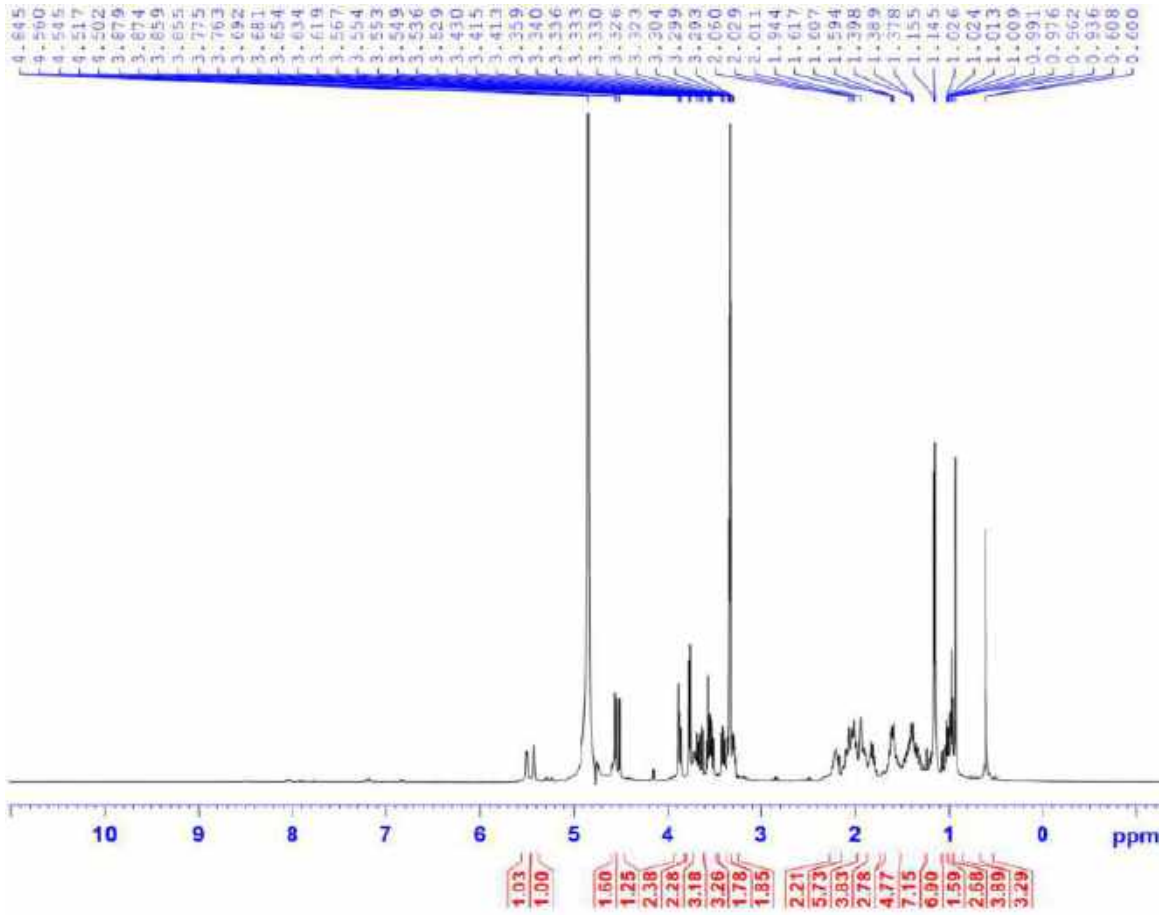
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

## Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG5

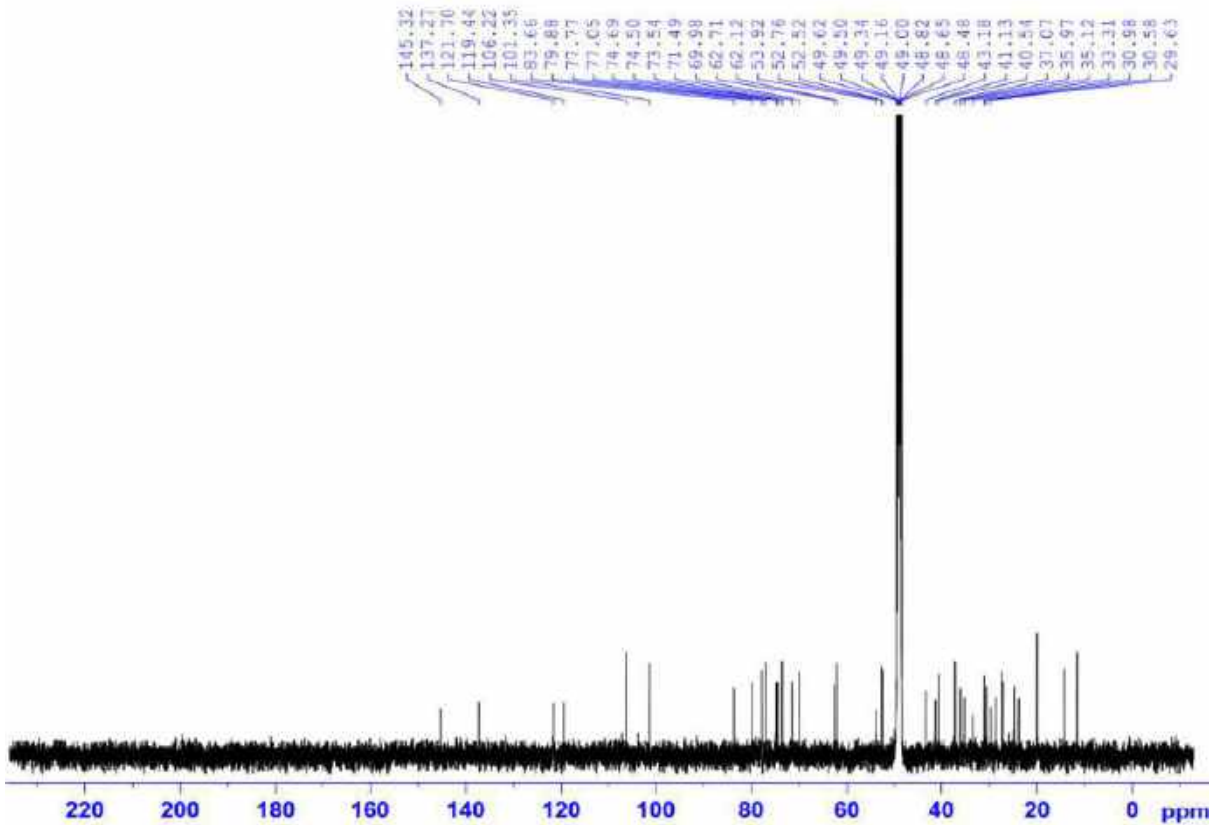


PL91

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất VG5

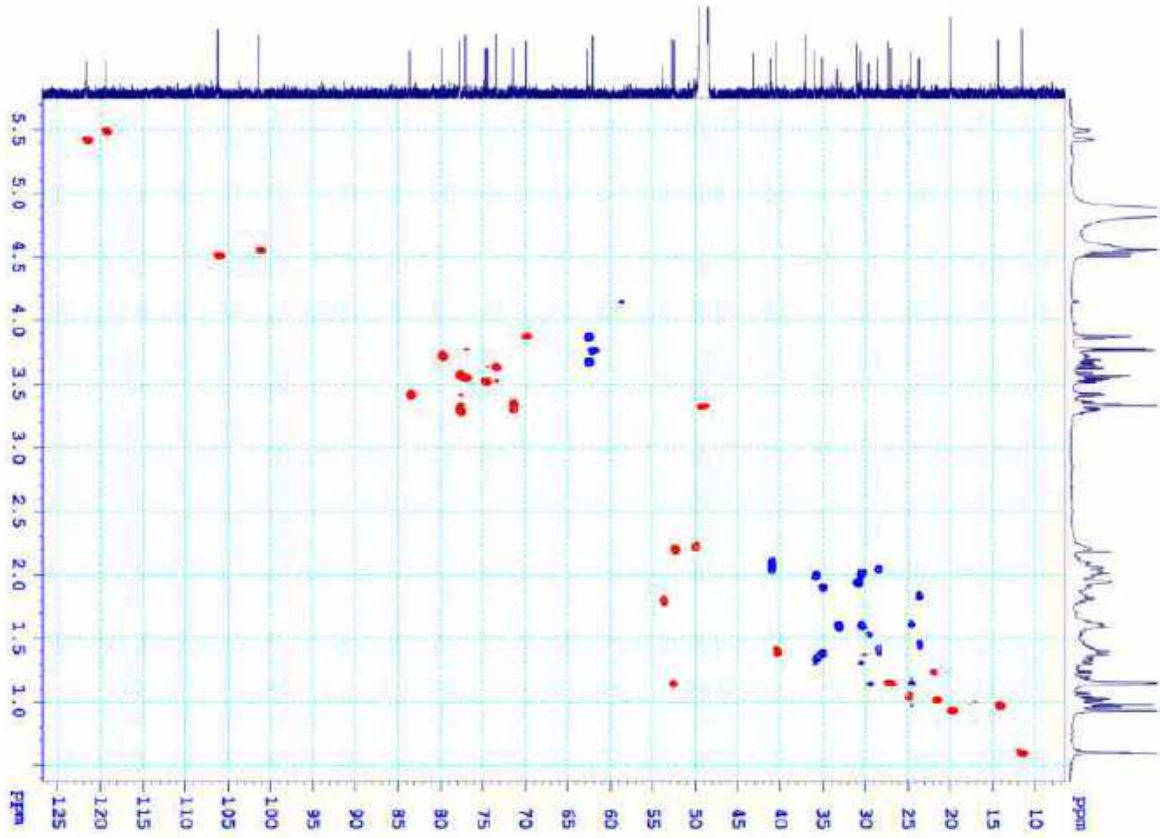


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG5

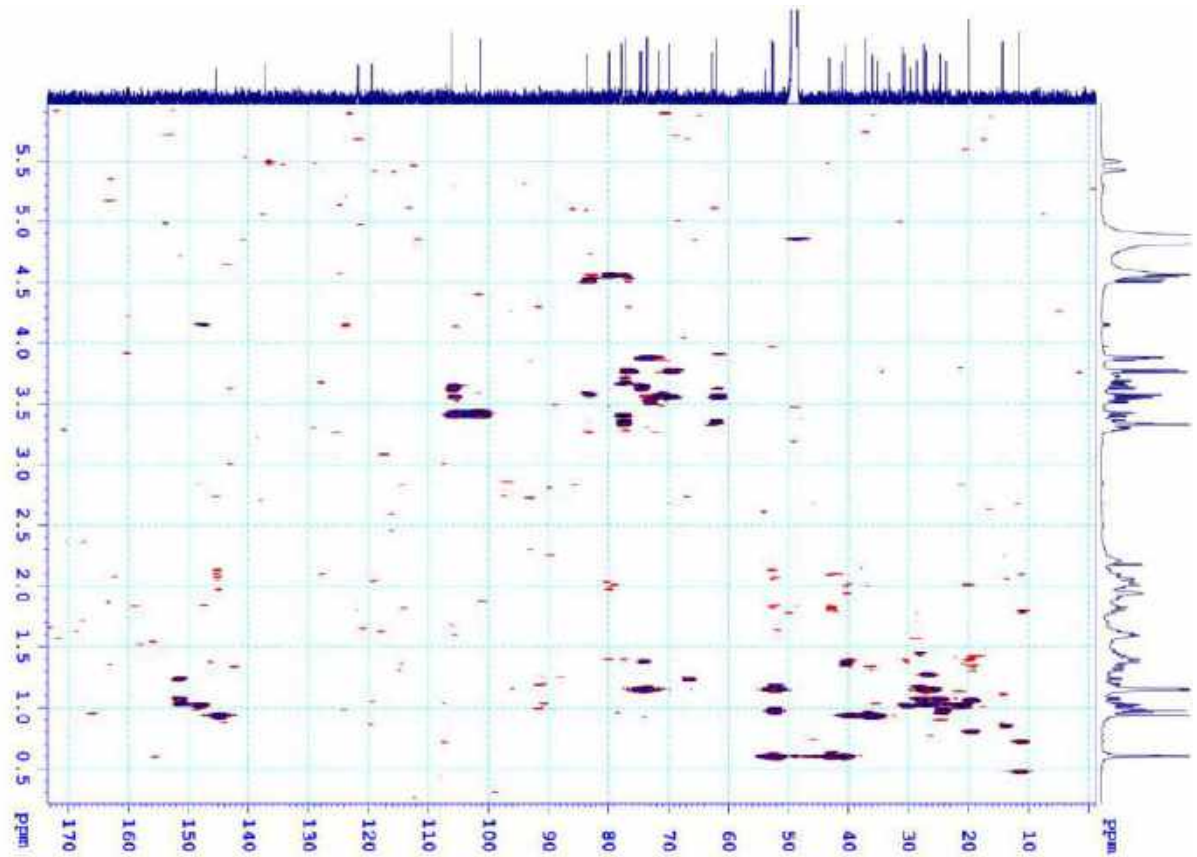


PL92

**Phổ HSQC của hợp chất VG5**

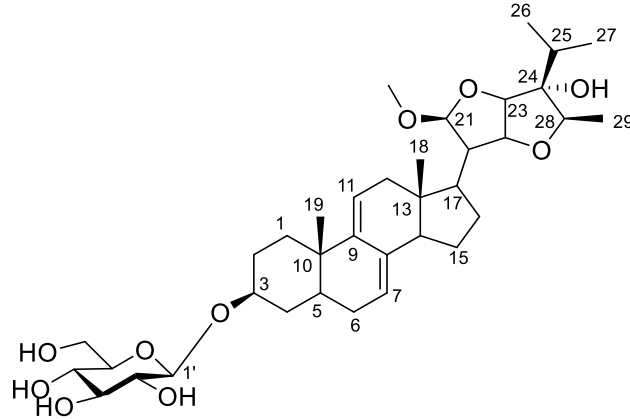


**Phổ HMBC của hợp chất VG5**





## XXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG6

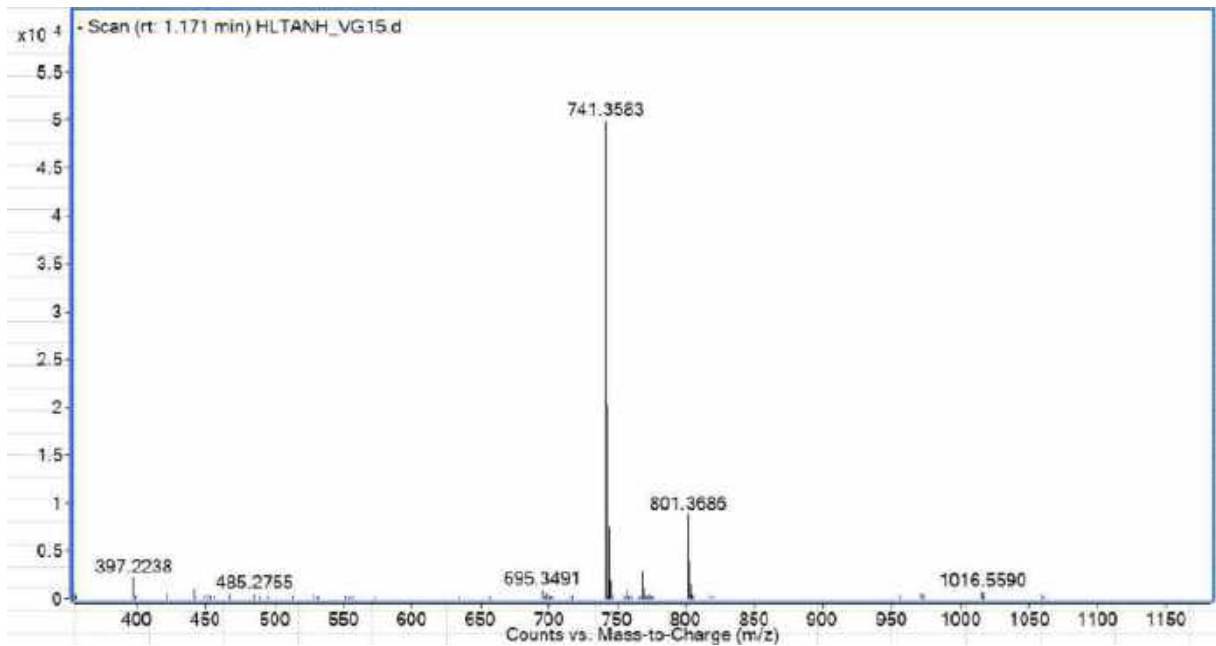


CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{36}H_{56}O_{10}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 648,4

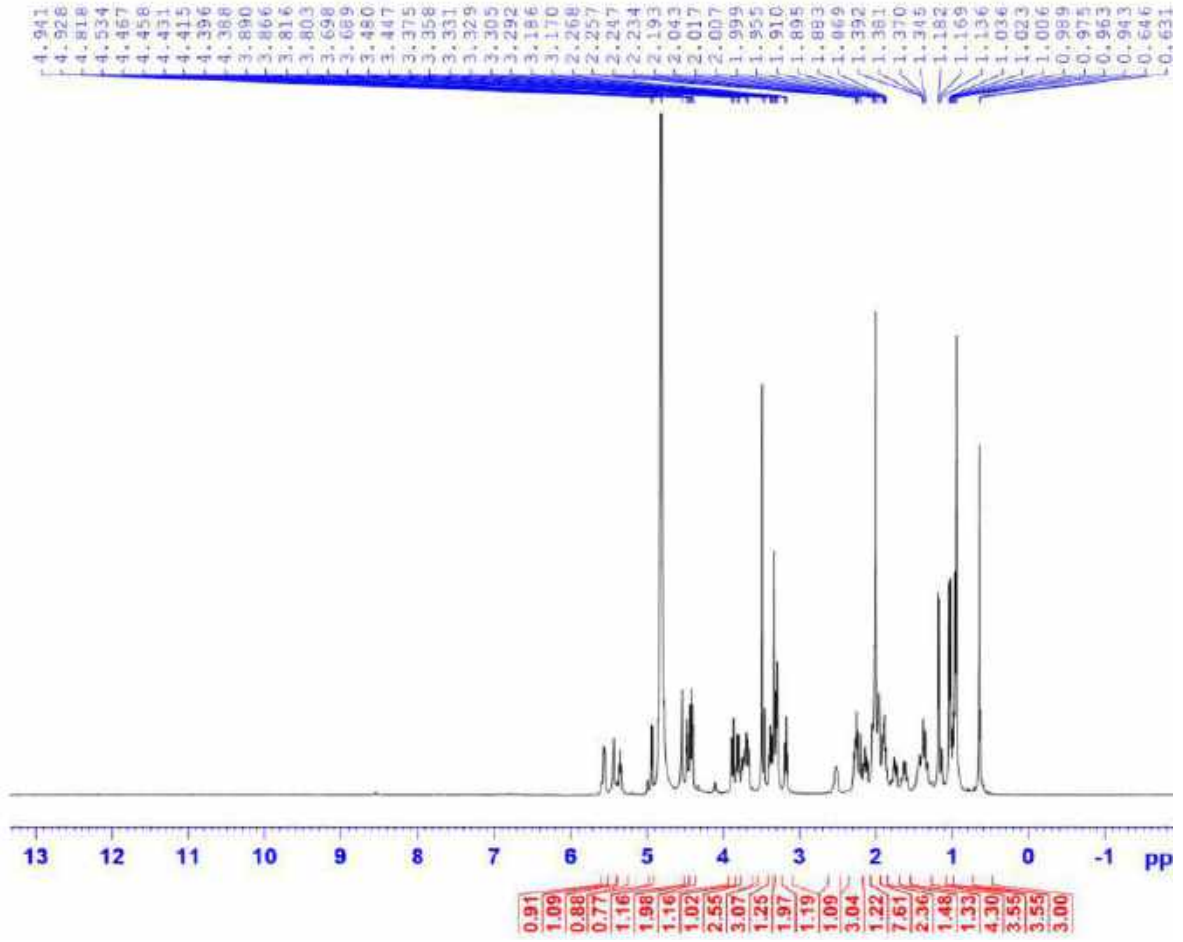
- Phổ HR-ESI-MS
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ COSY-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

## Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG6

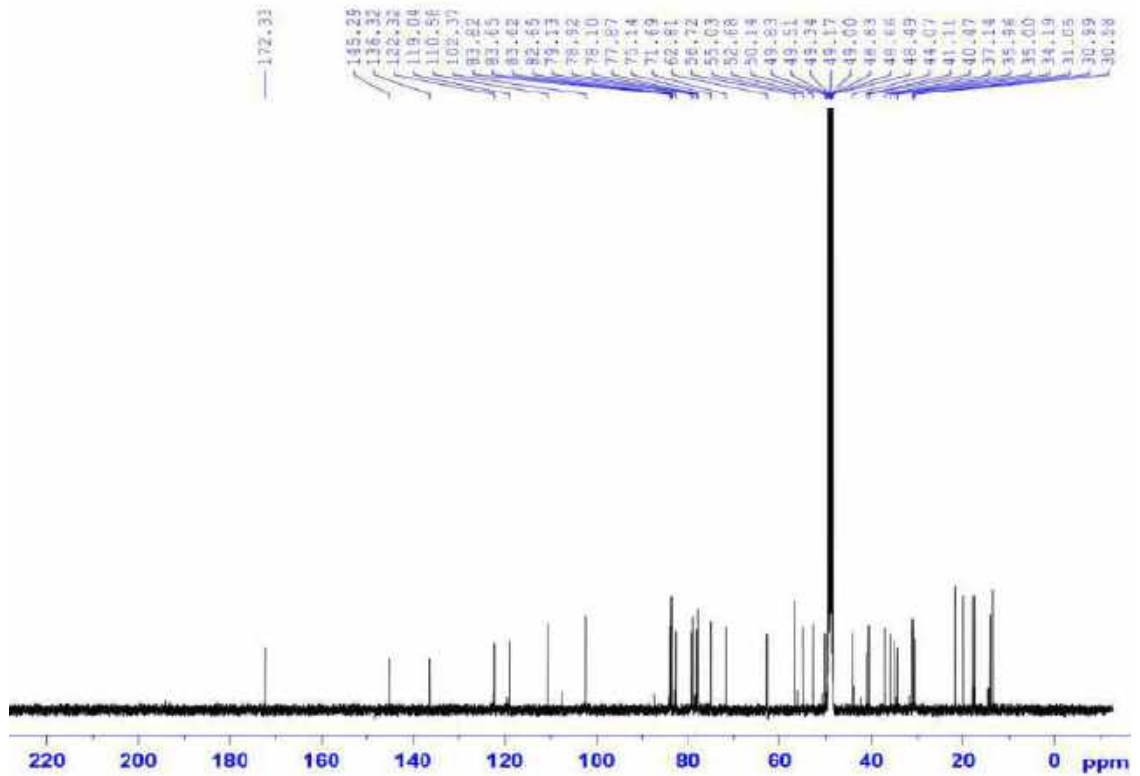


PL94

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất VG6

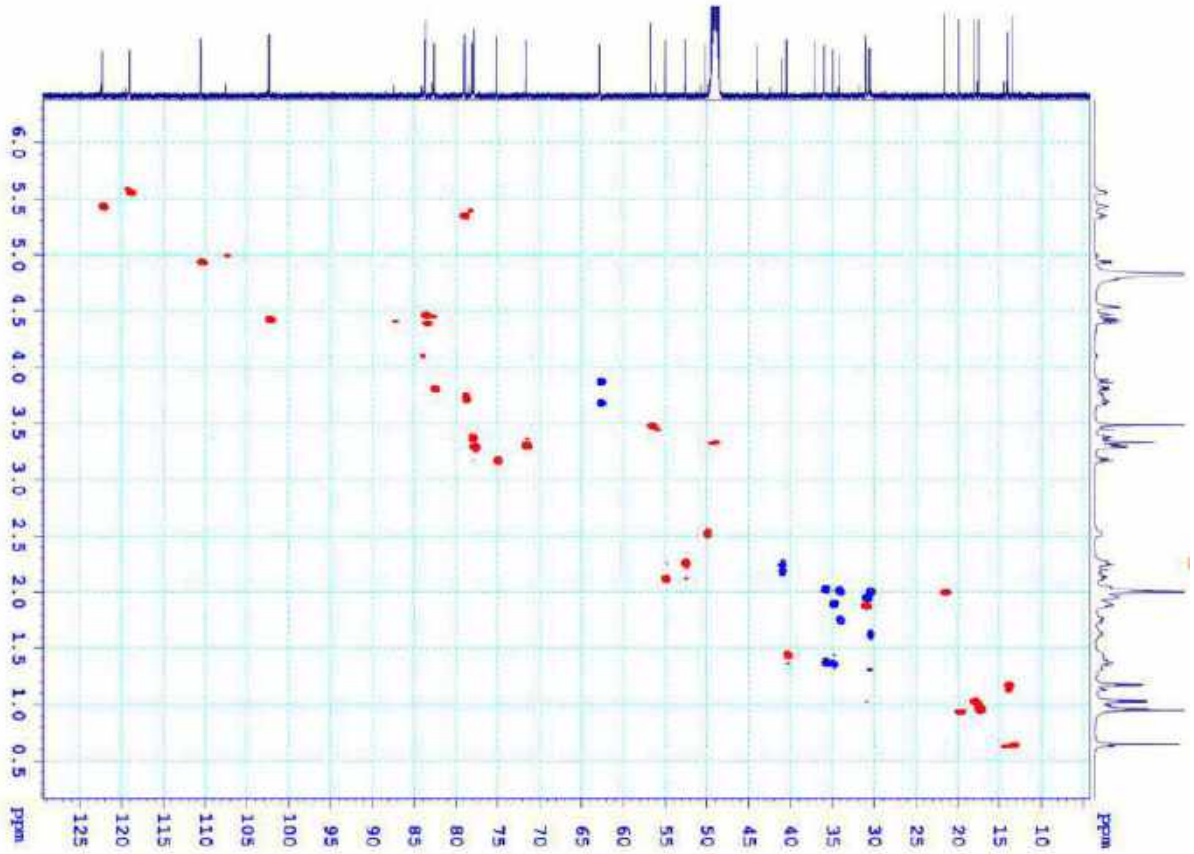


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG6

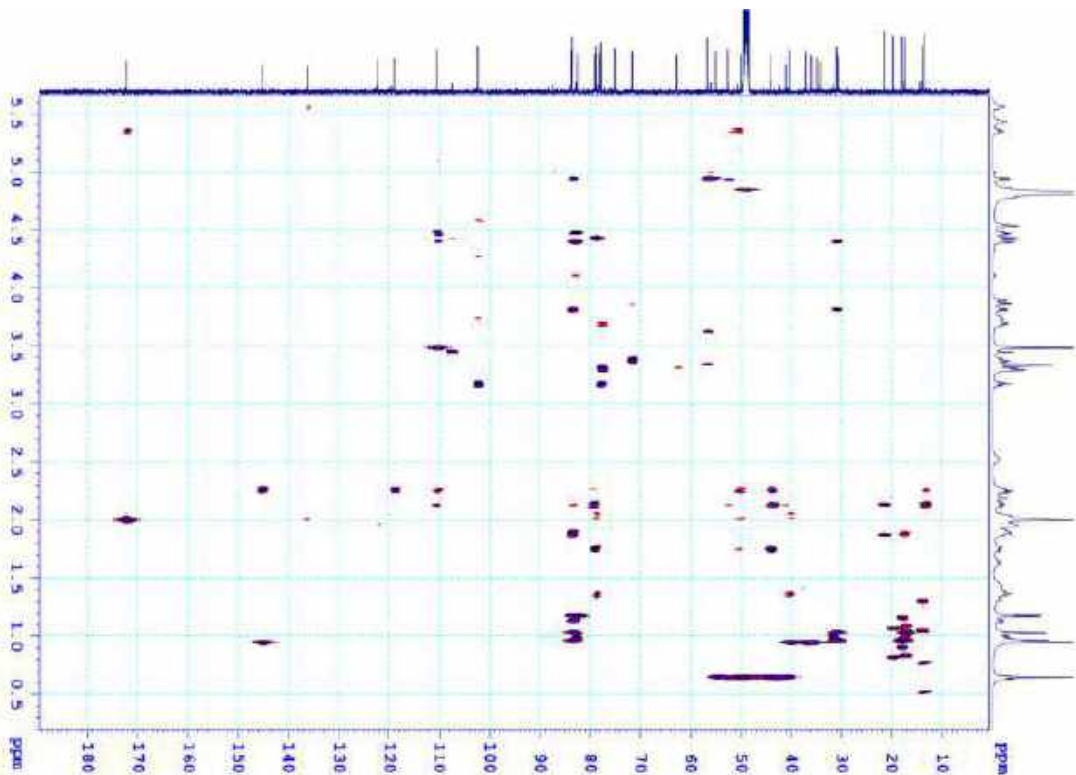


PL95

**Phổ HSQC của hợp chất VG6**

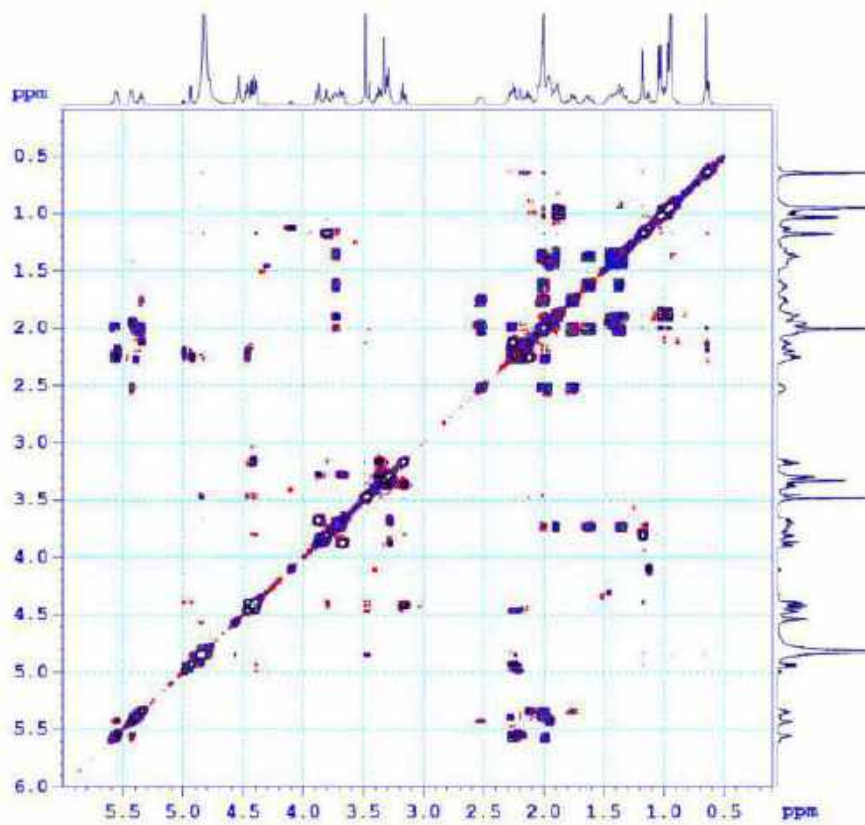


**Phổ HMBC của hợp chất VG6**

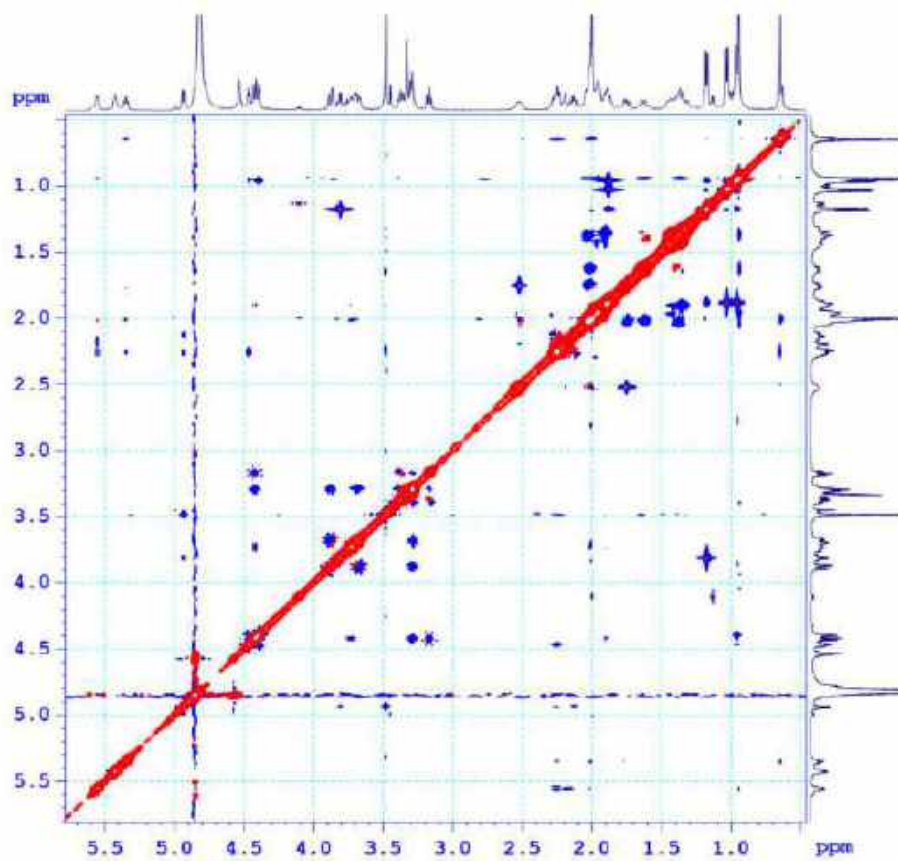


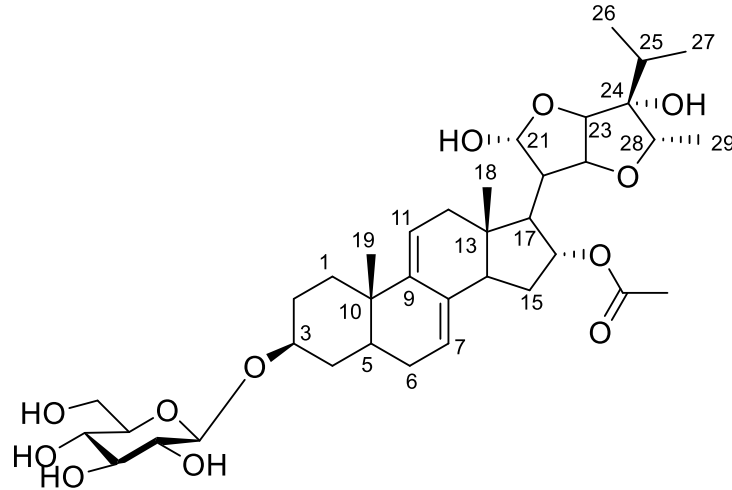
PL96

### Phổ COSY của hợp chất VG6



### Phổ NOESY của hợp chất VG6

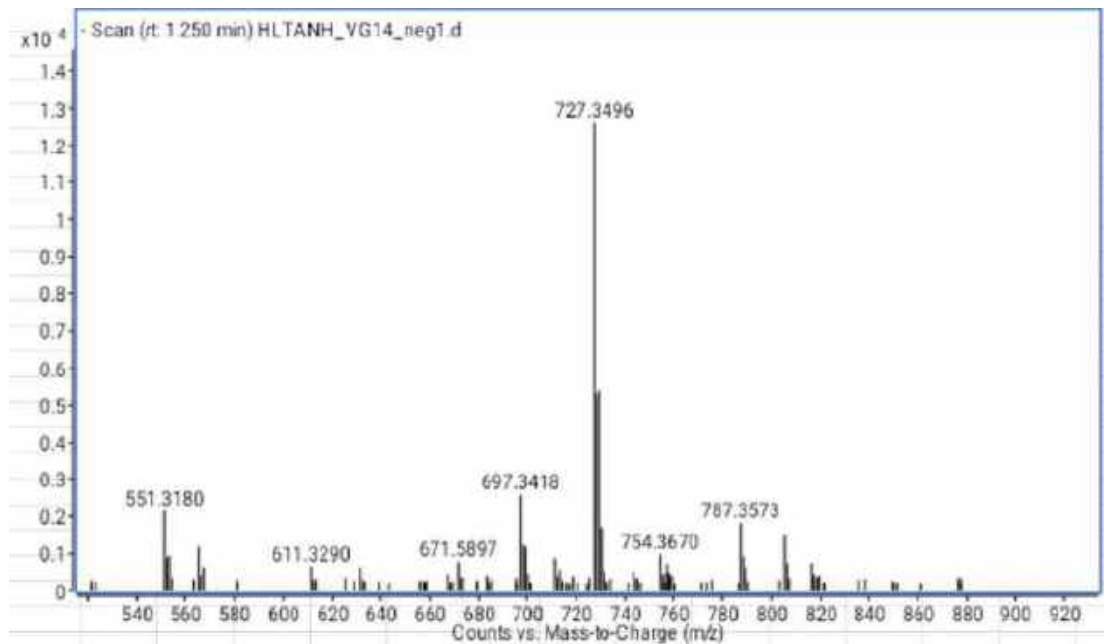


**XXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG7**

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

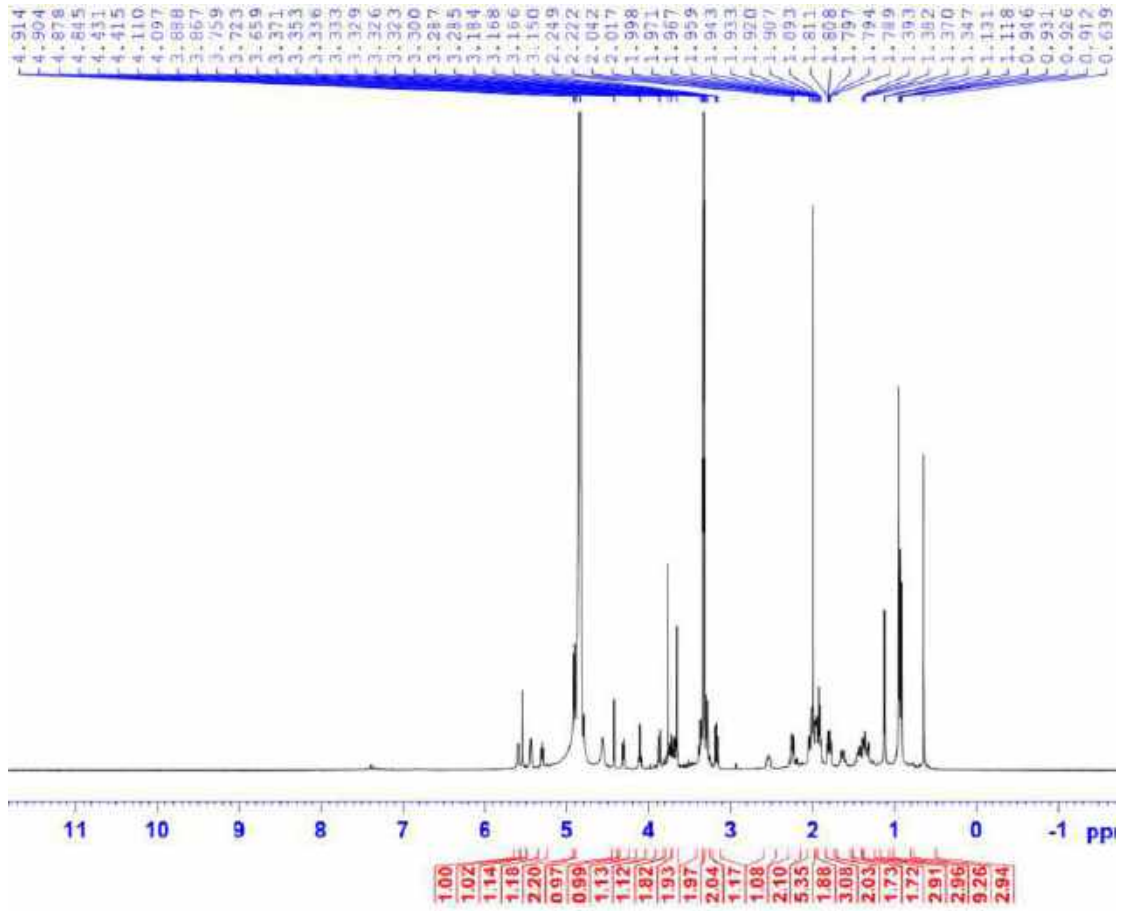
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 692,4

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

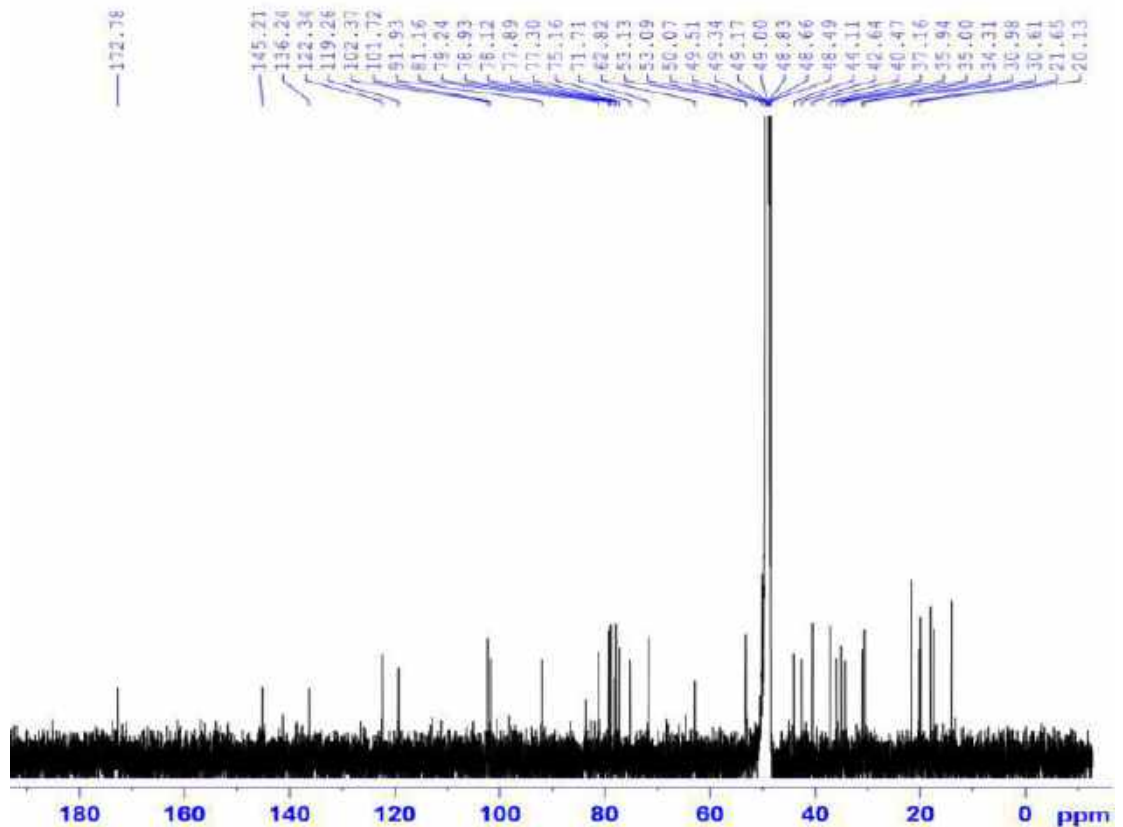
**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG7**

PL98

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất VG7

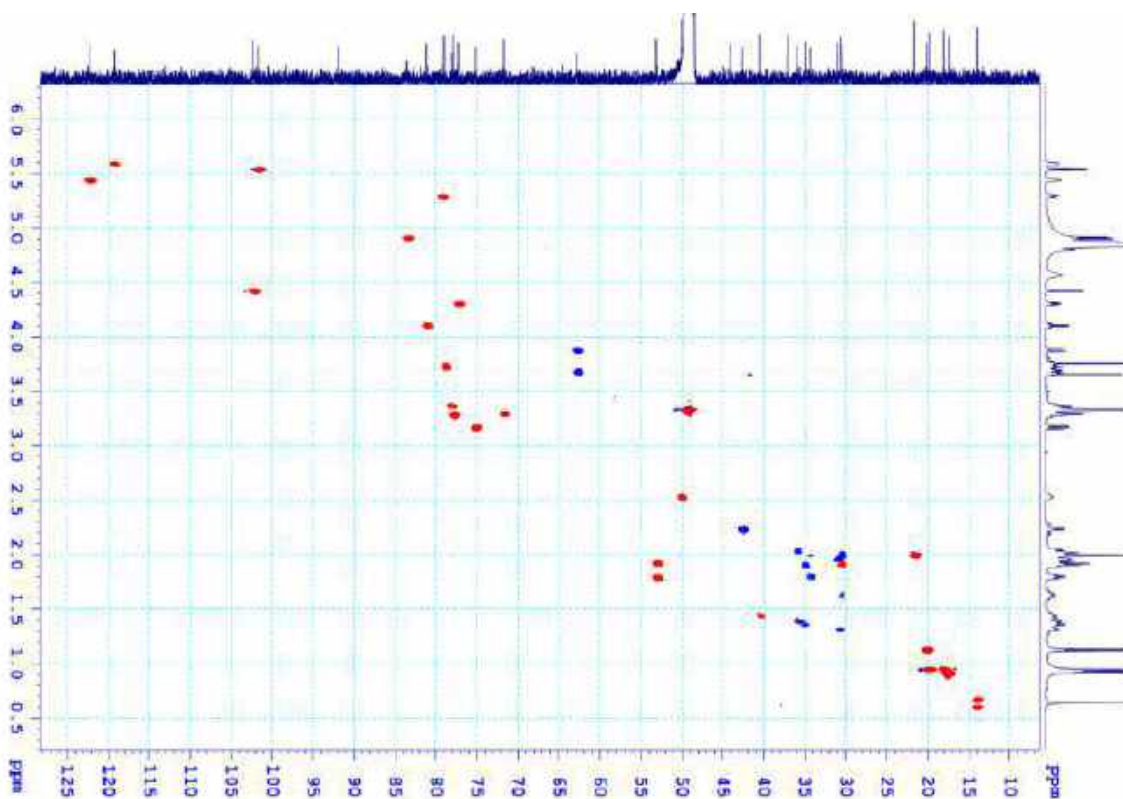


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG7

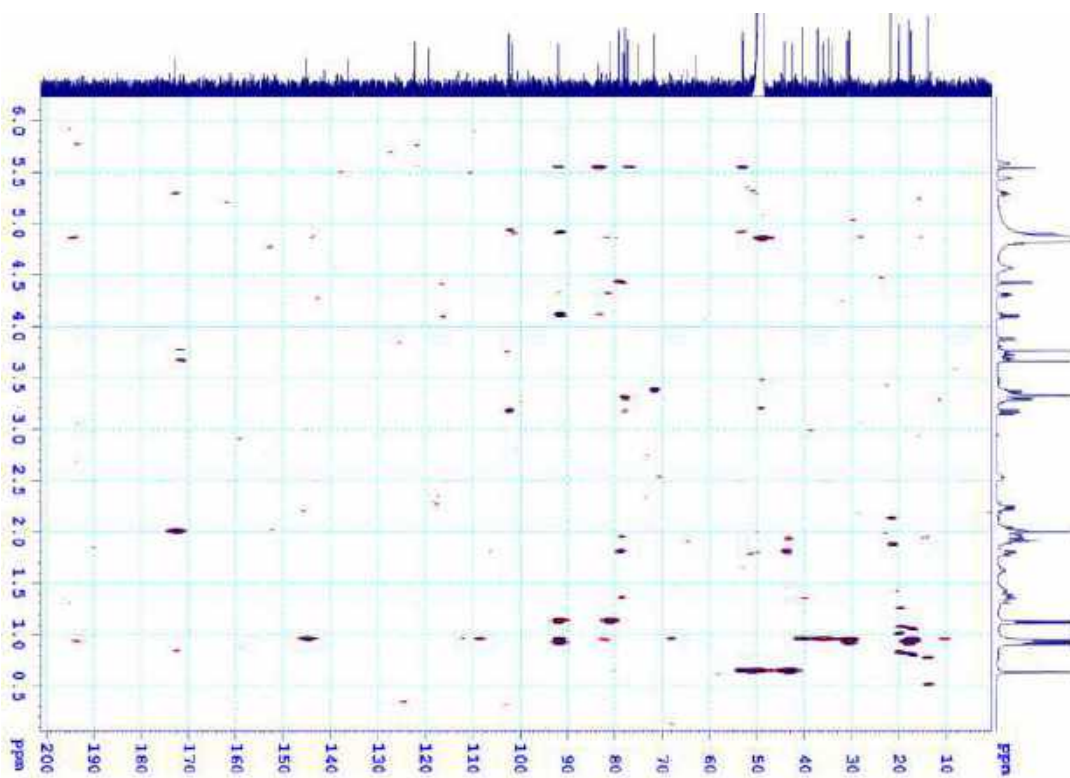


PL99

### Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG7

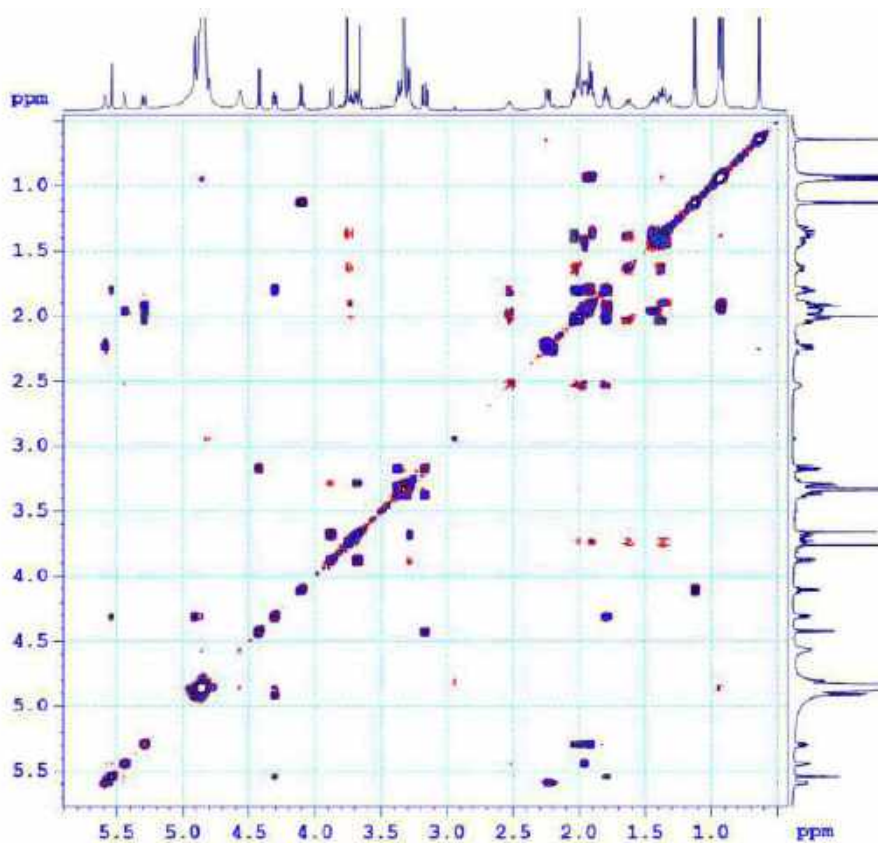


### Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG7

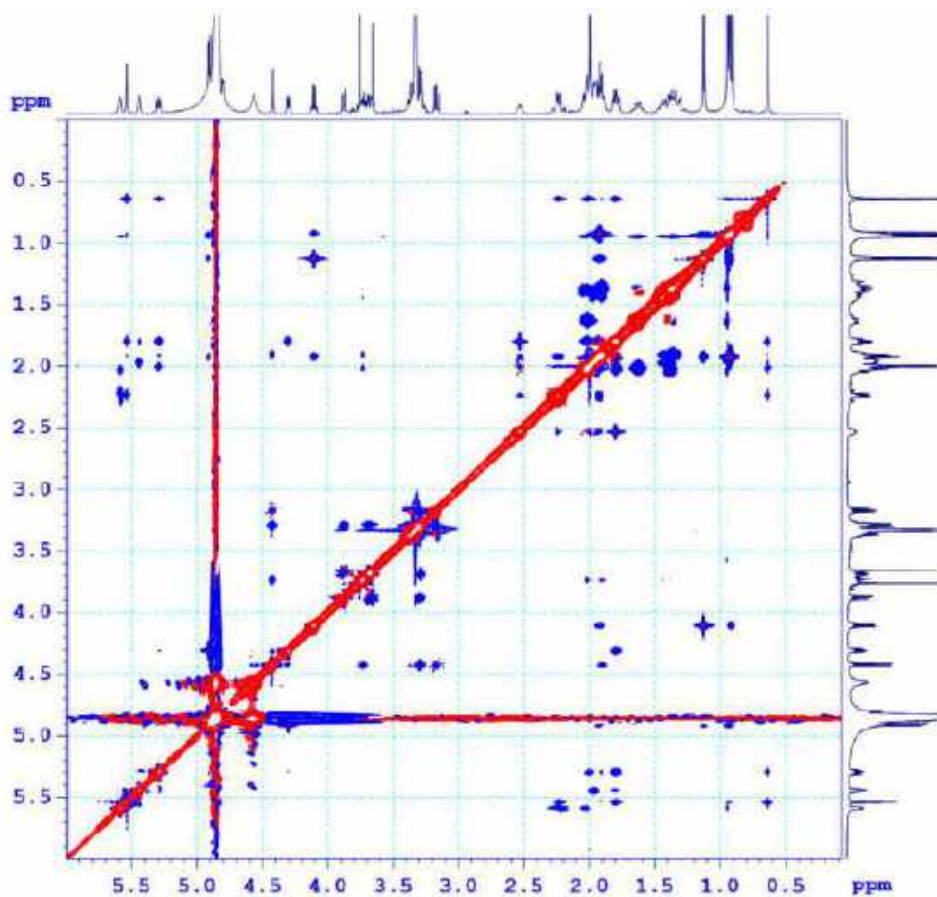


PL100

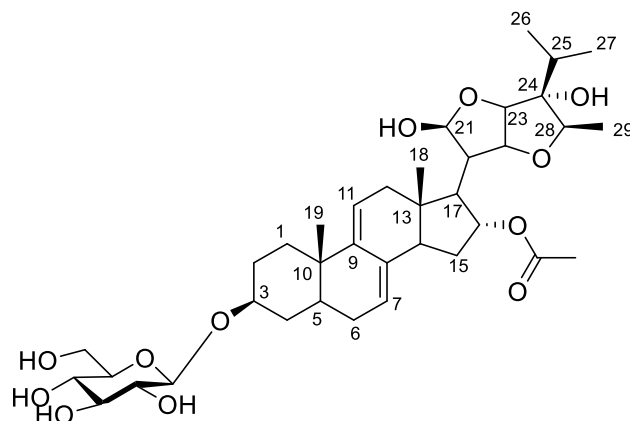
### Phổ COSY-NMR của hợp chất VG7



### Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG7





**XXV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG8**

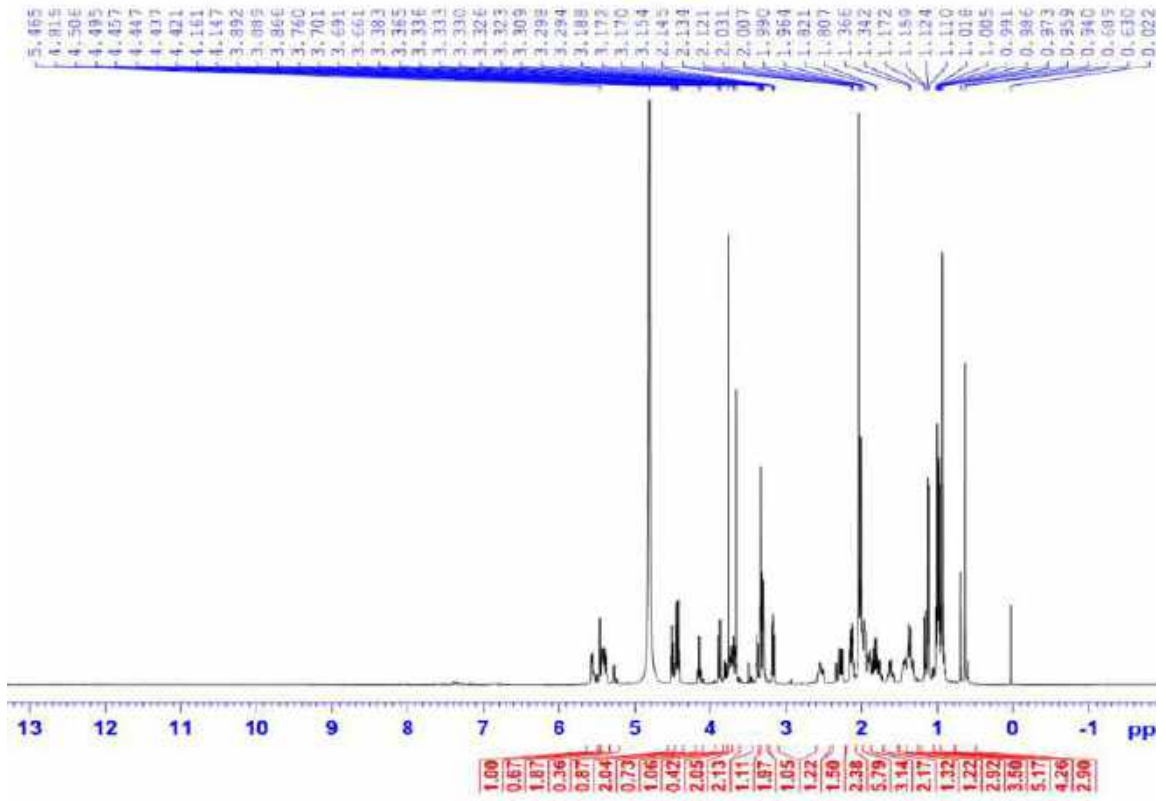
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{37}H_{56}O_{12}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 692,4

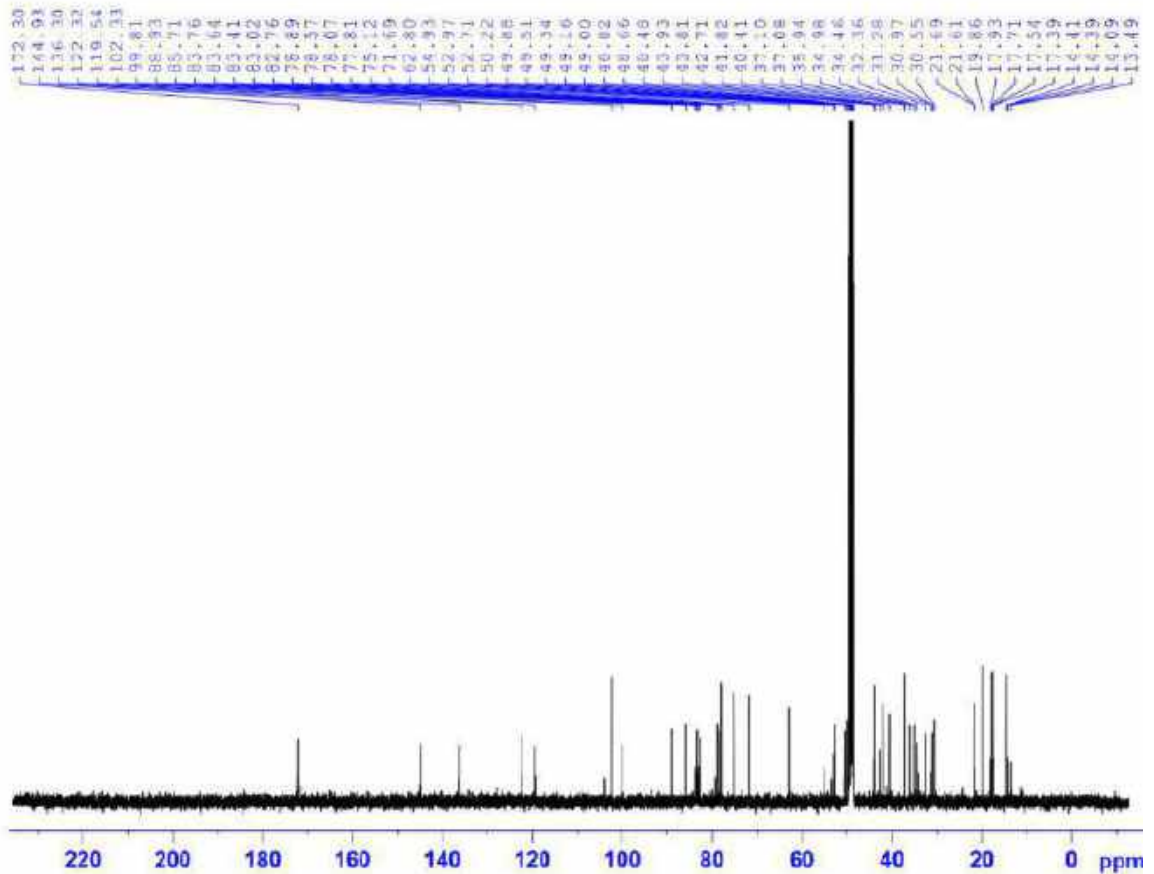
- Phổ  $^1\text{H-NMR}$
- Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR
- Phổ NOESY-NMR

PL102

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất VG8

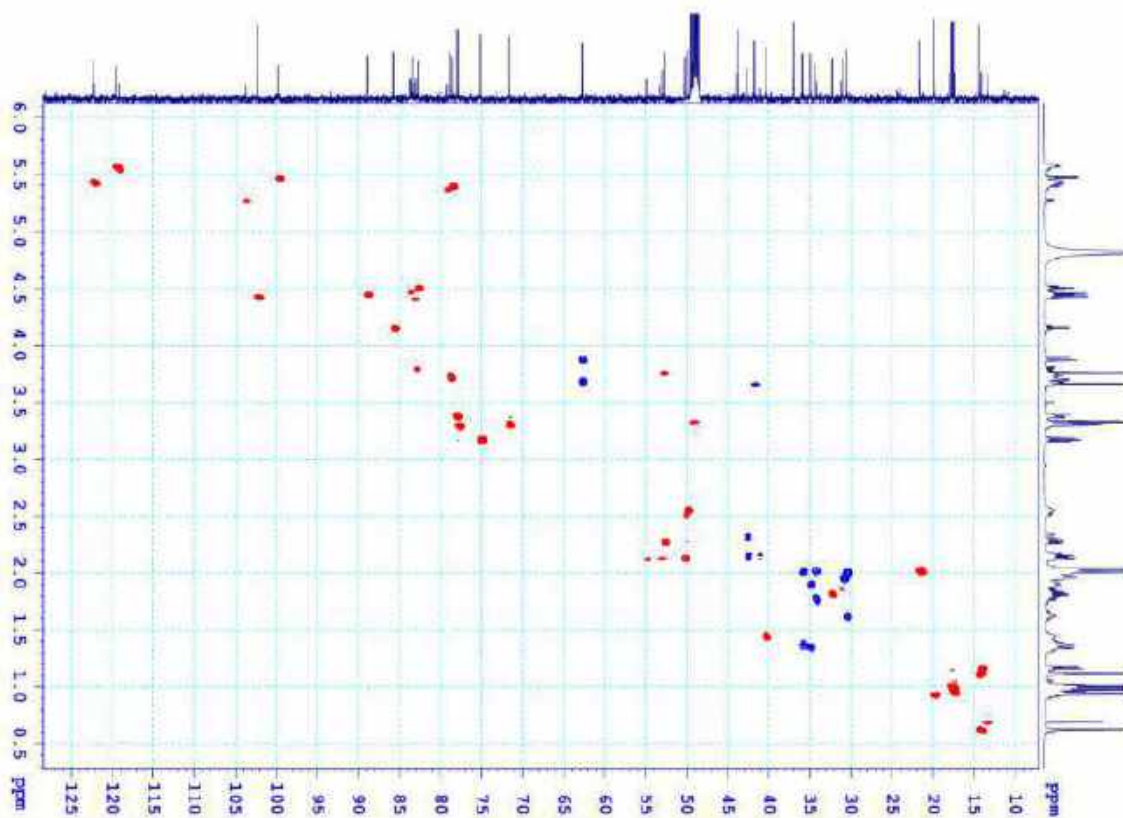


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG8

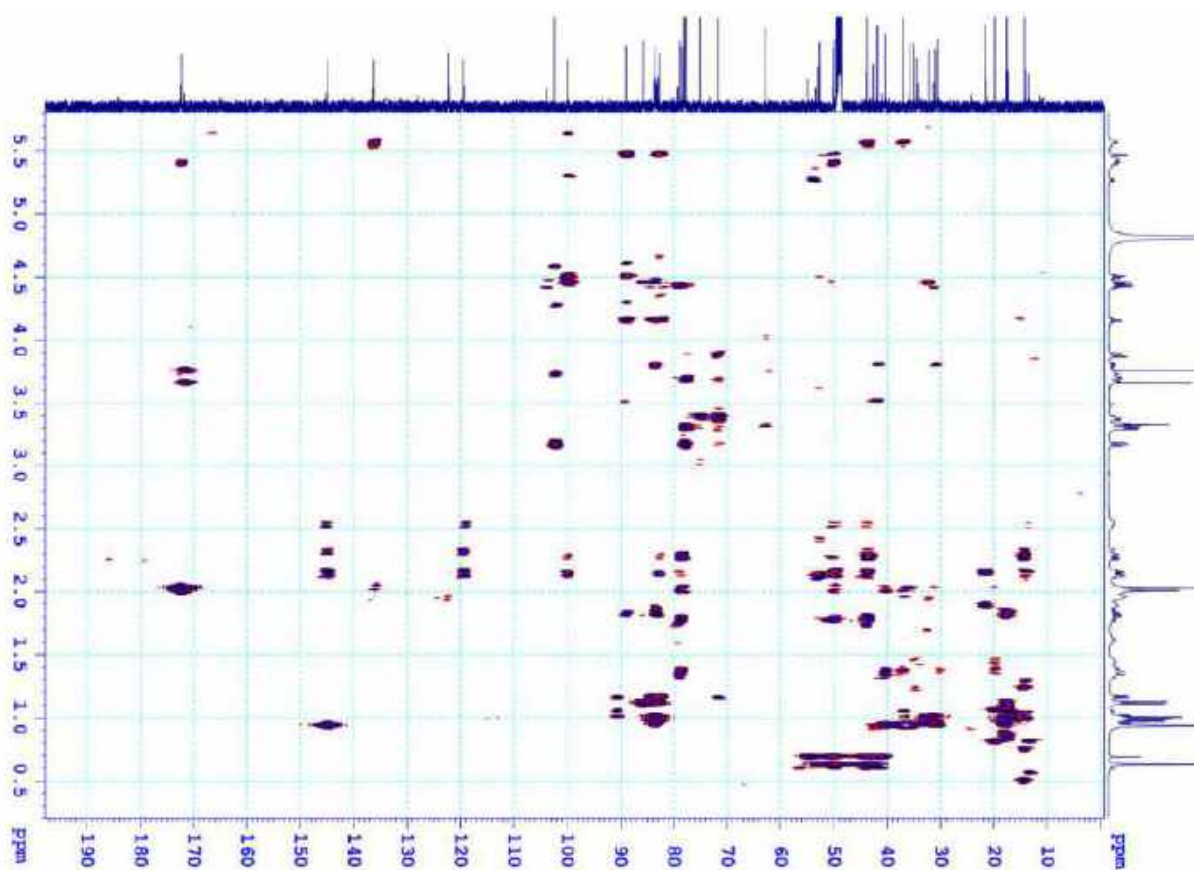


PL103

### Phổ HSQC của hợp chất VG8

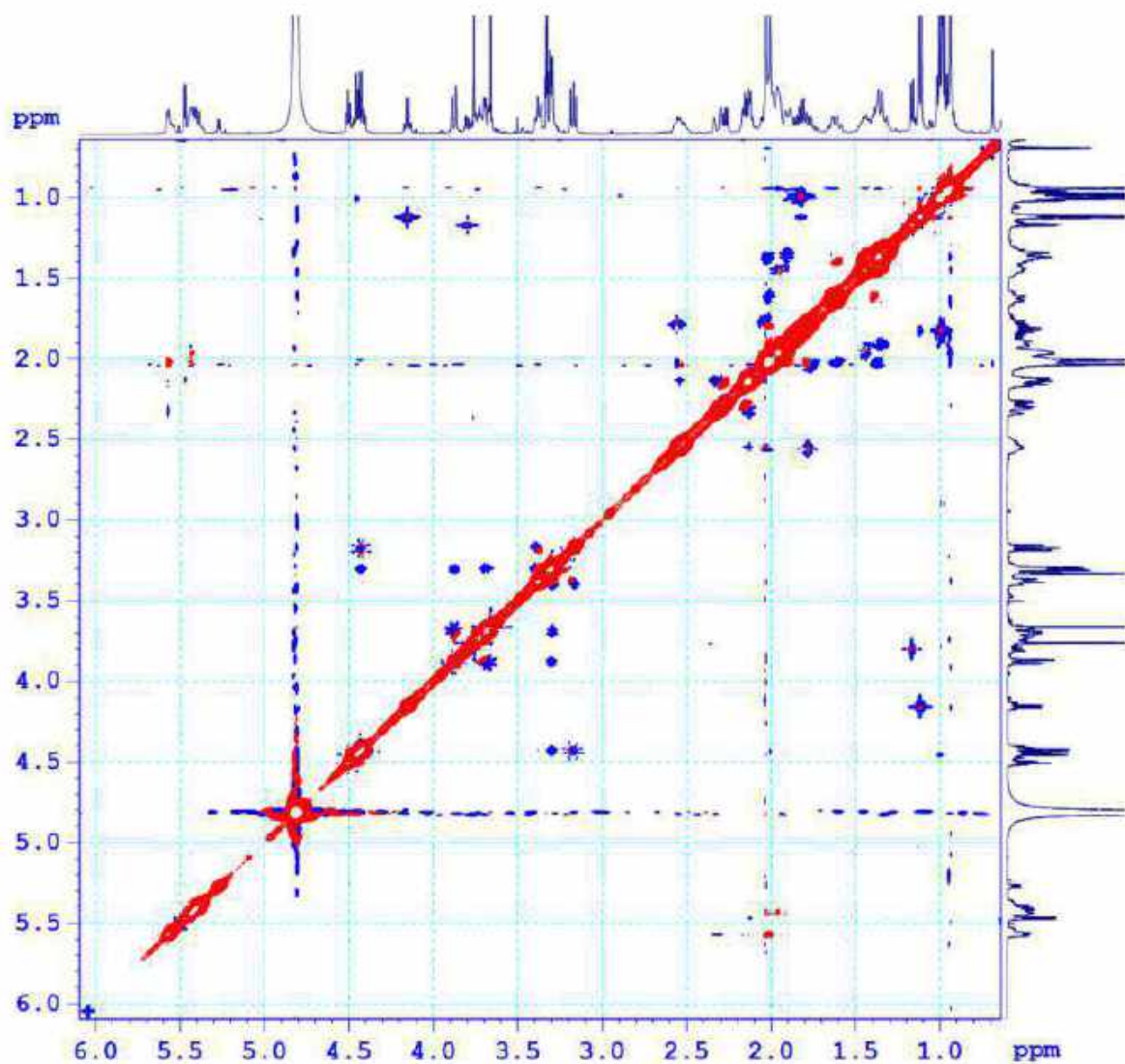


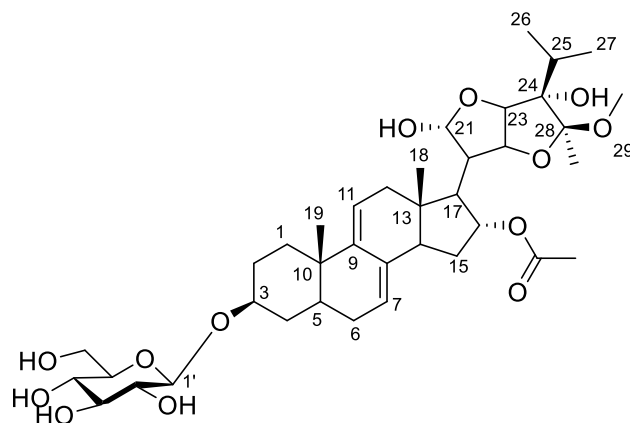
### Phổ HMBC của hợp chất VG8



PL104

Phổ NOESY của hợp chất VG8



**XXVI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG9**

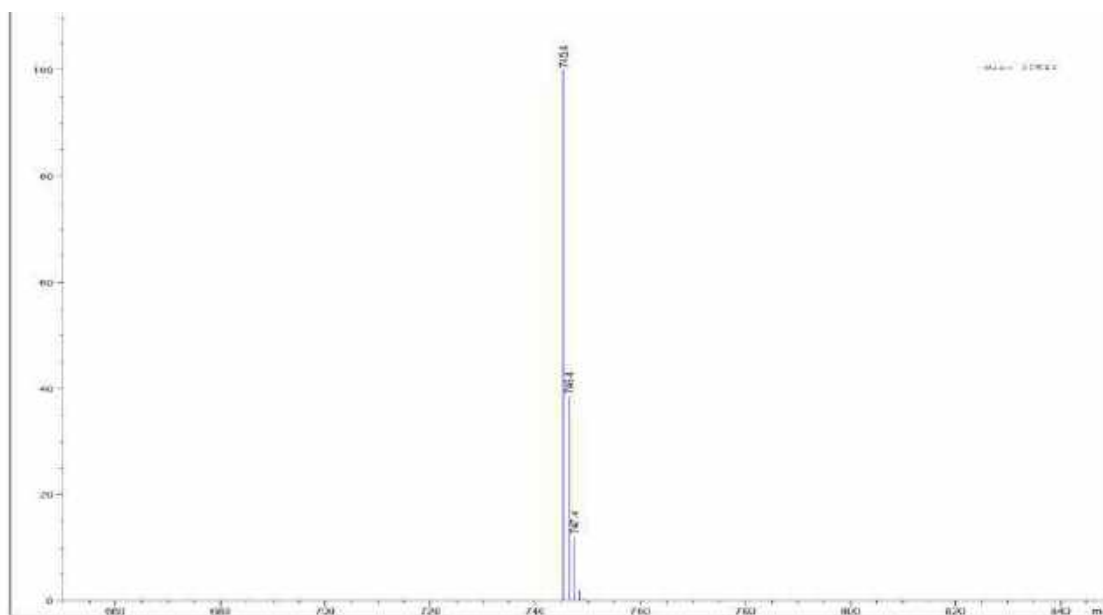
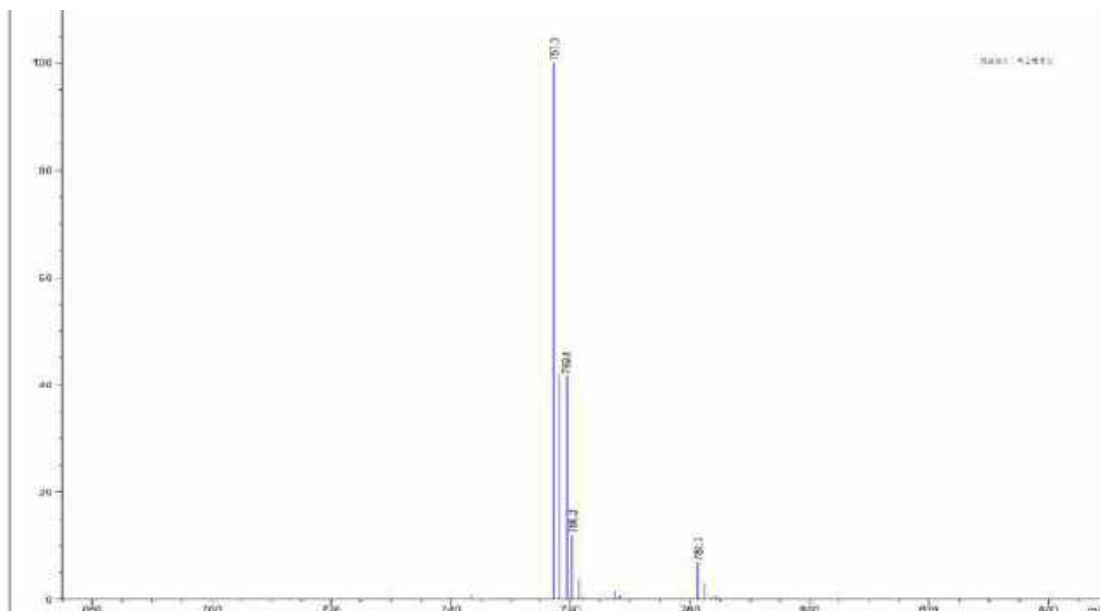
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{38}H_{58}O_{13}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 722,4

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

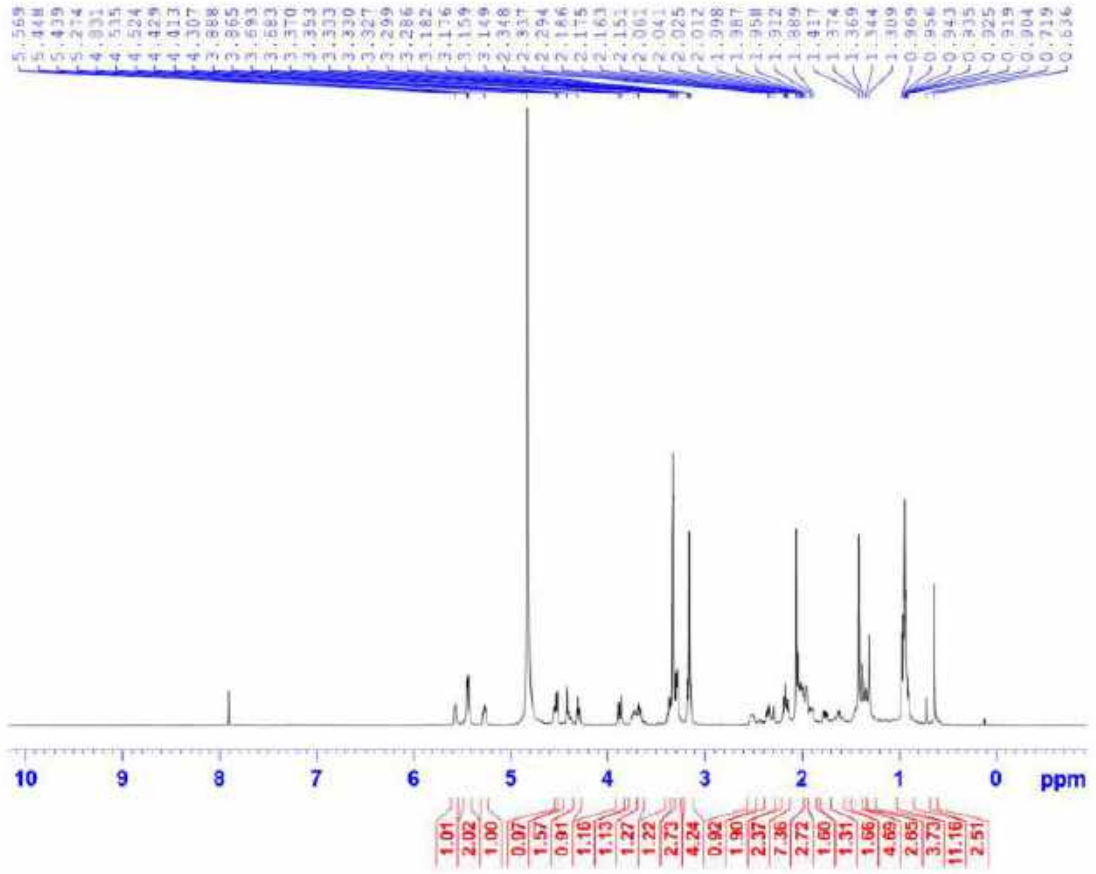
PL106

Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG9

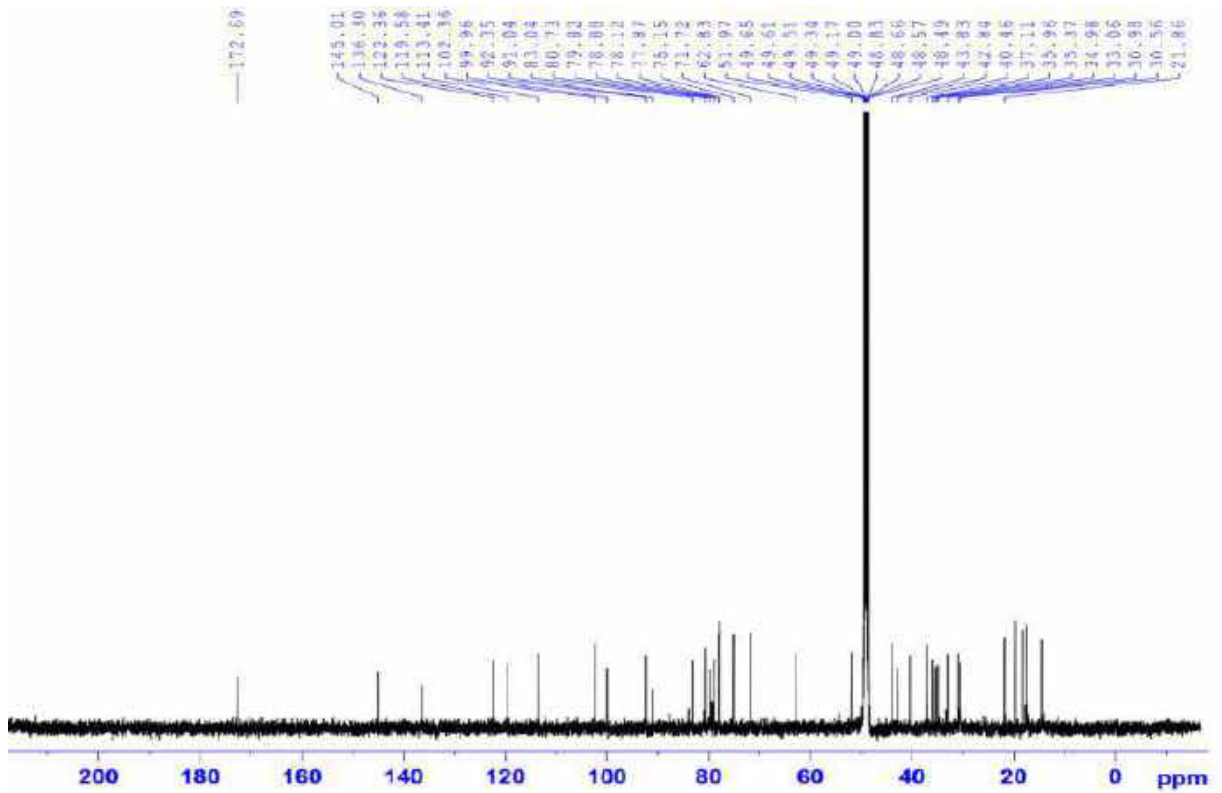


PL107

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất VG9

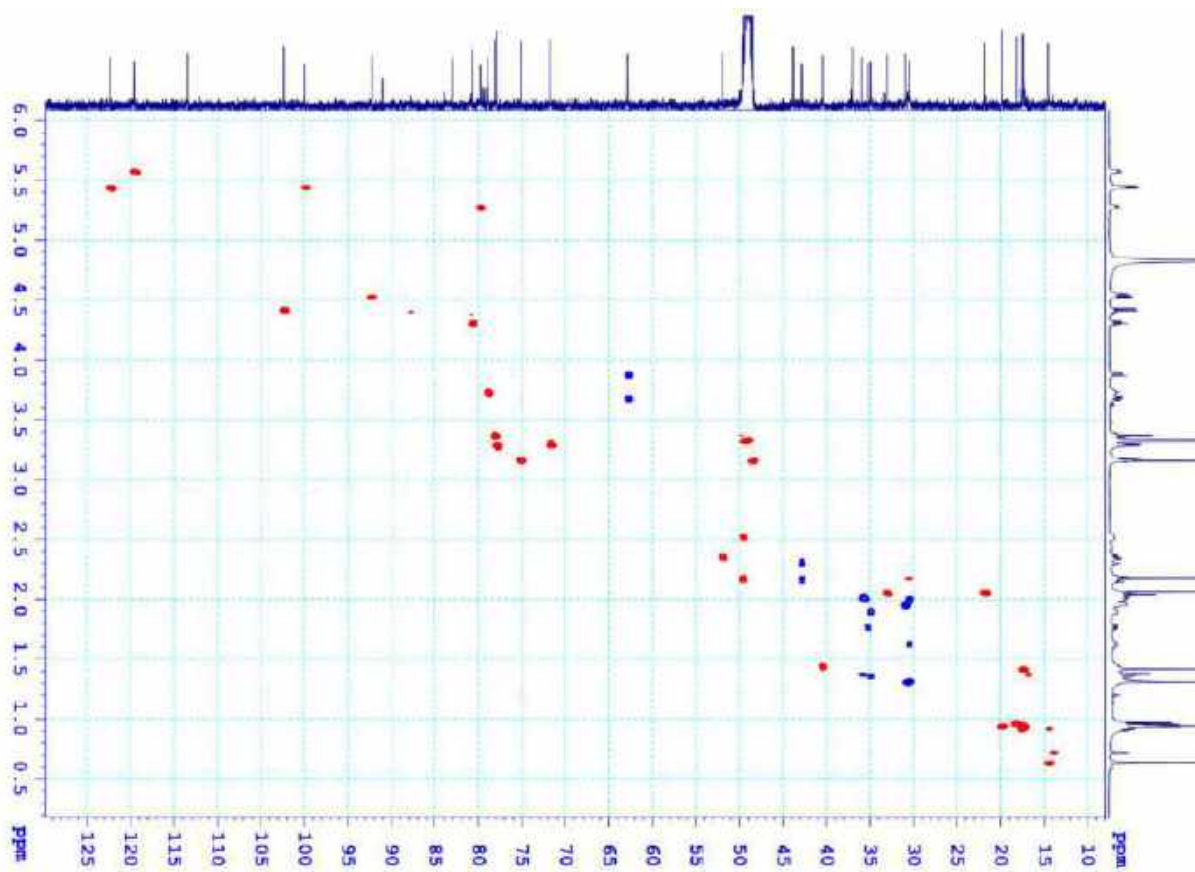


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG9

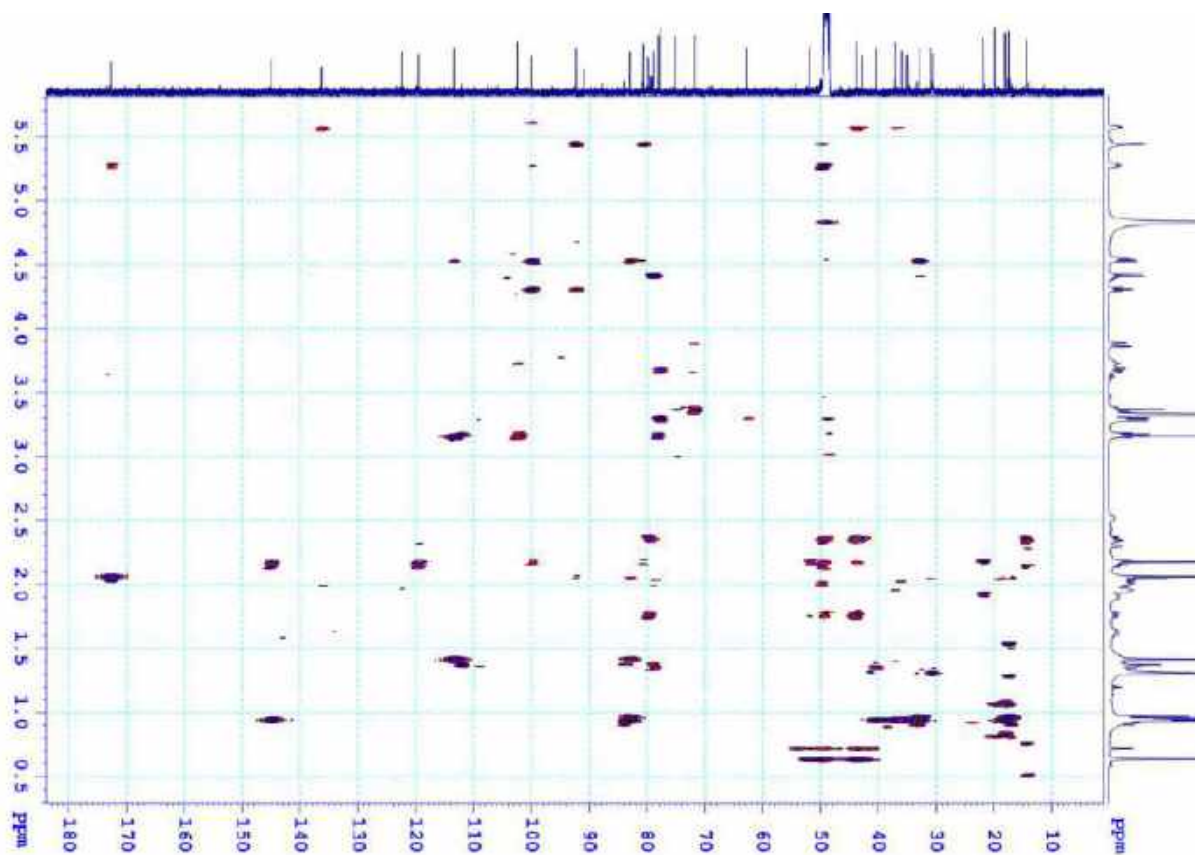


PL108

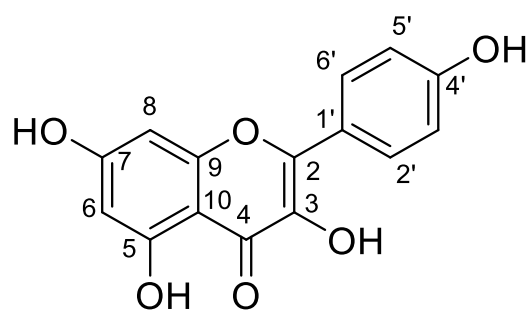
**Phổ HSQC của hợp chất VG9**



**Phổ HMBC của hợp chất VG9**





**XXVII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG10**

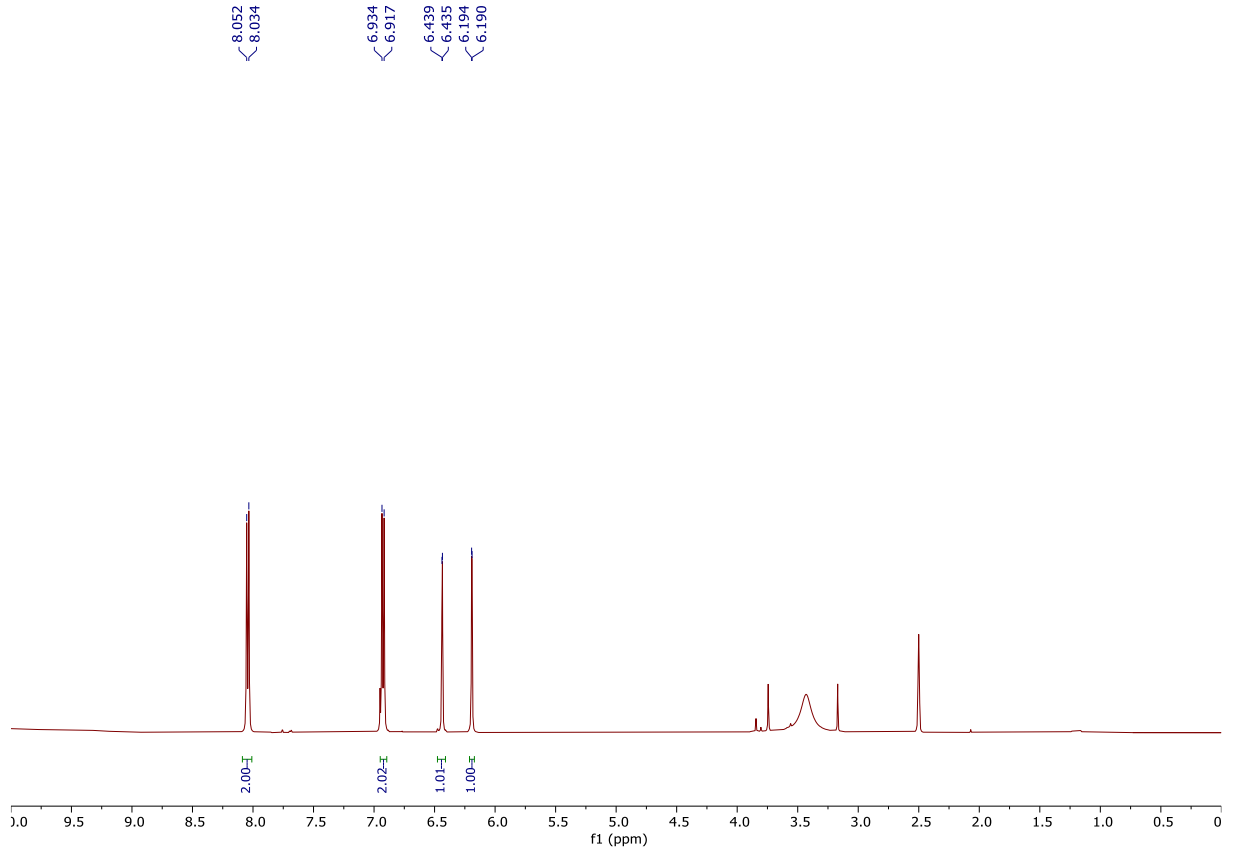
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{15}H_{10}O_6$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 286,1

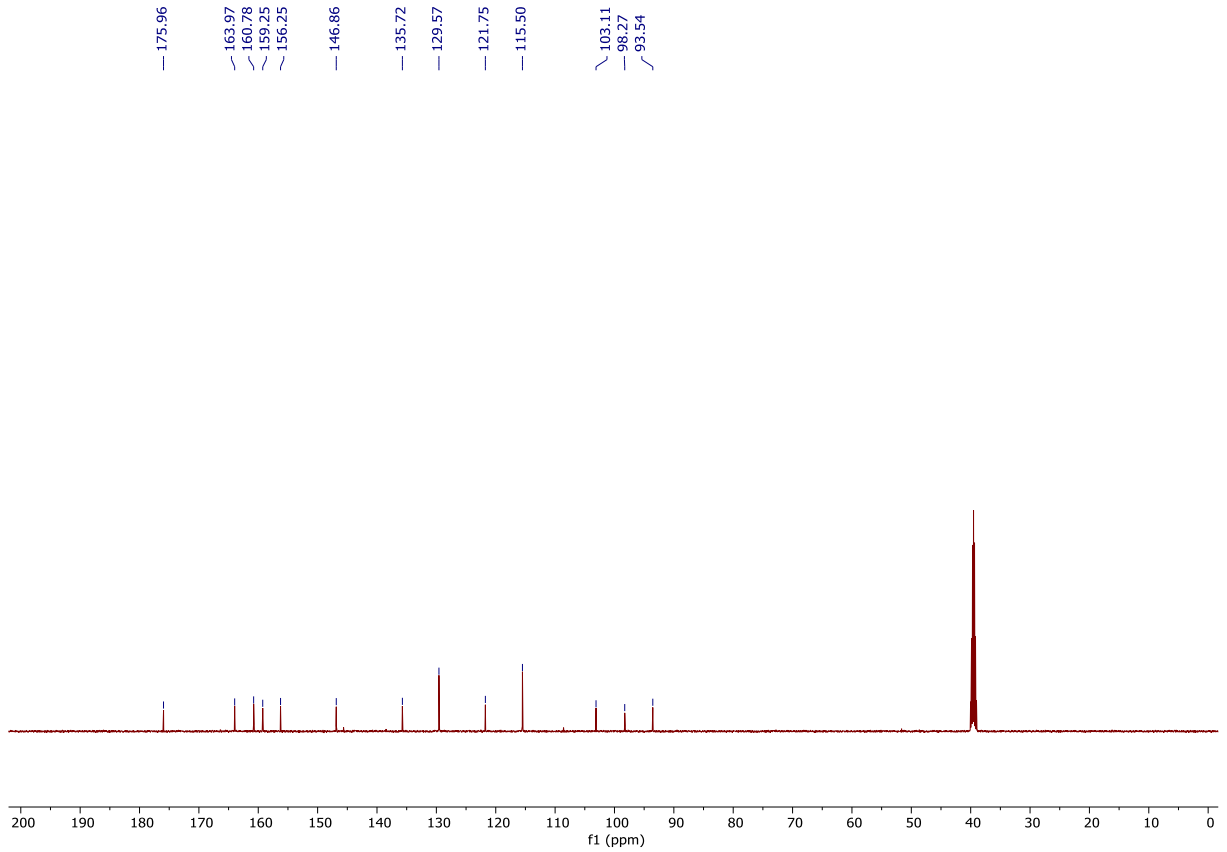
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR

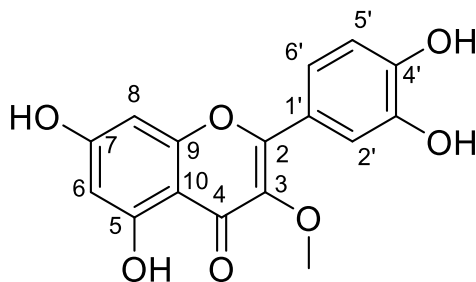
PL110

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



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



**XXVIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG11**

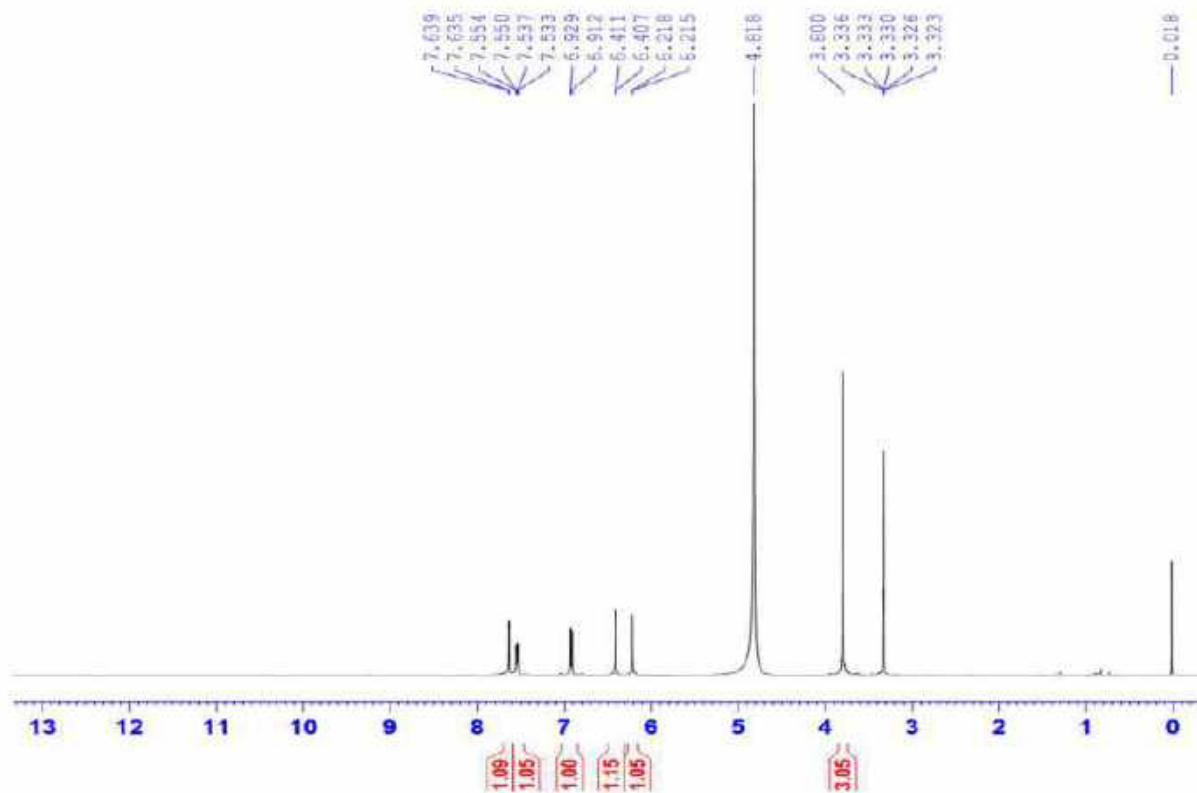
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{16}H_{22}O_6$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 300,1

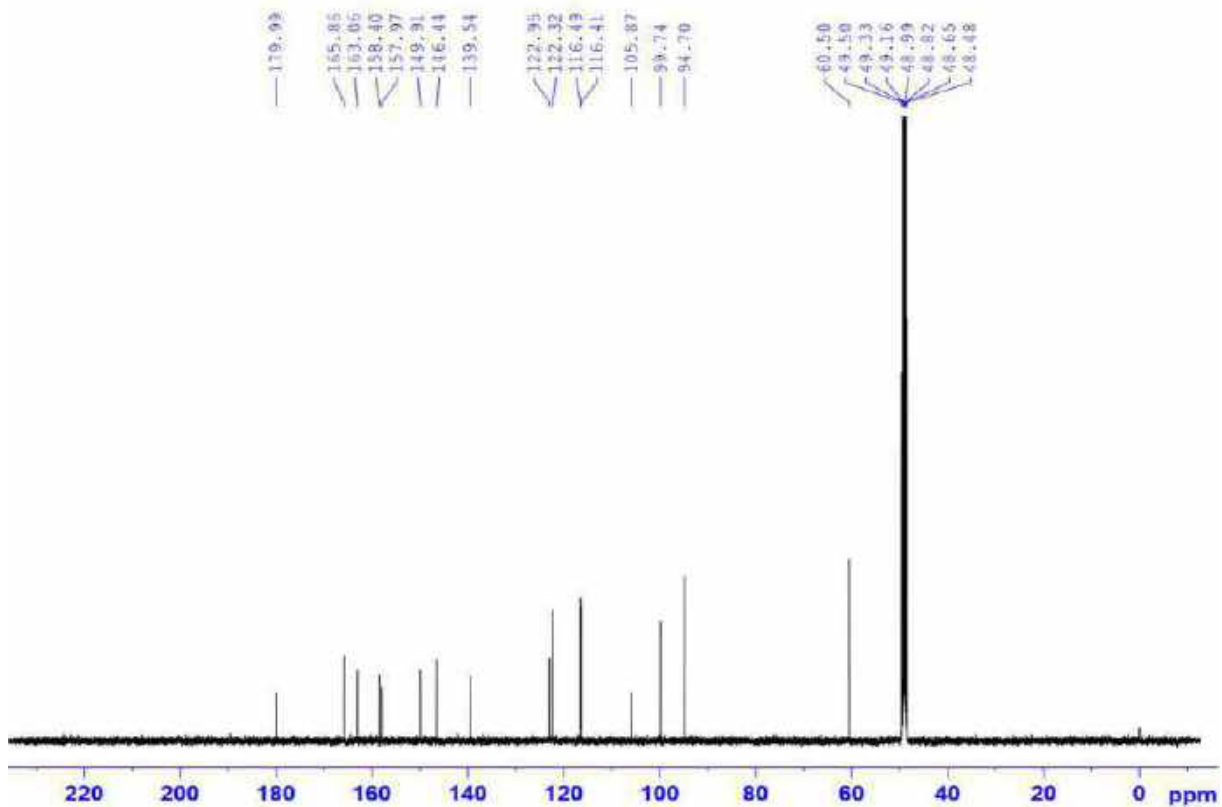
- Phổ  $^1\text{H-NMR}$
- Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL112

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

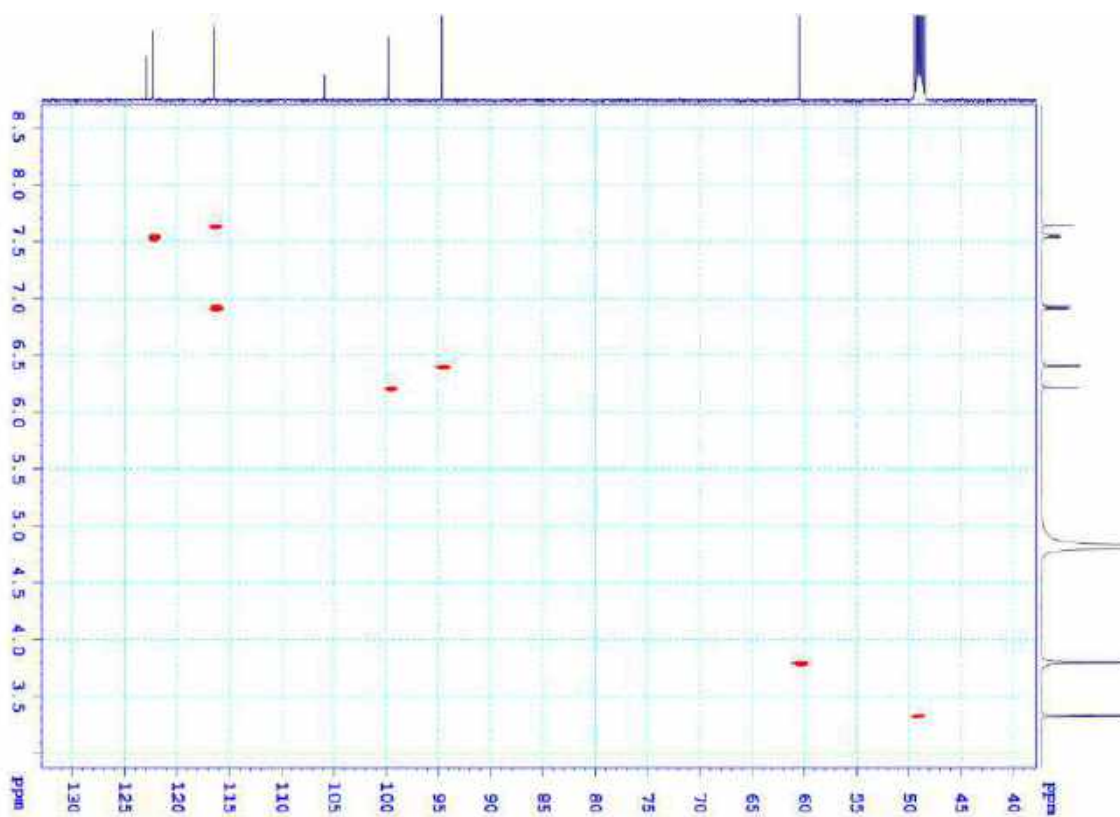


### Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG11

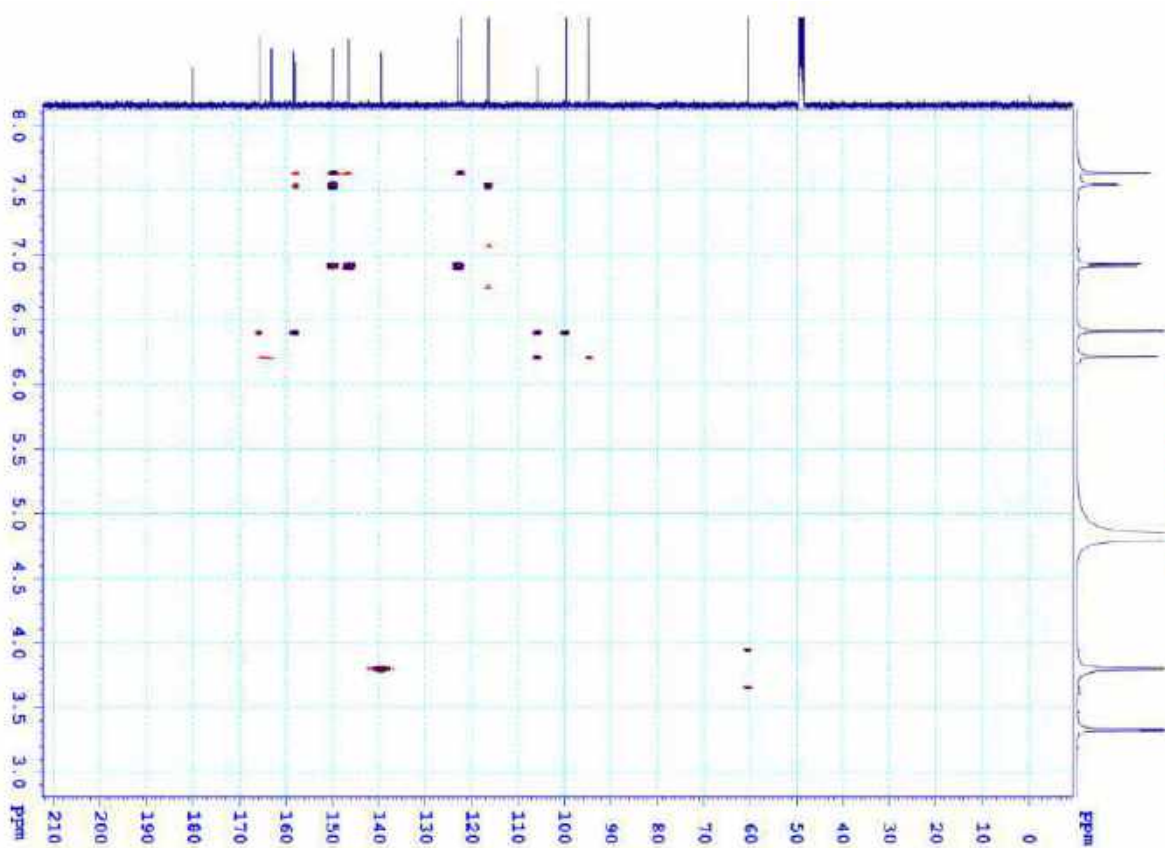


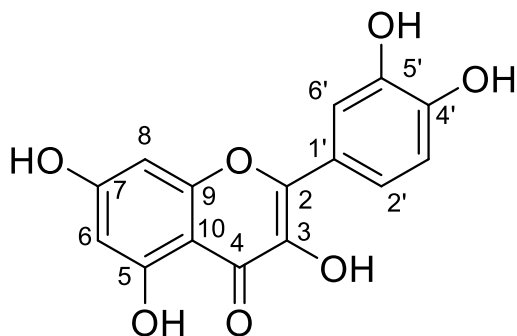
PL113

**Phổ HSQC của hợp chất VG11**



**Phổ HMBC của hợp chất VG11**



**XXIX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG12**

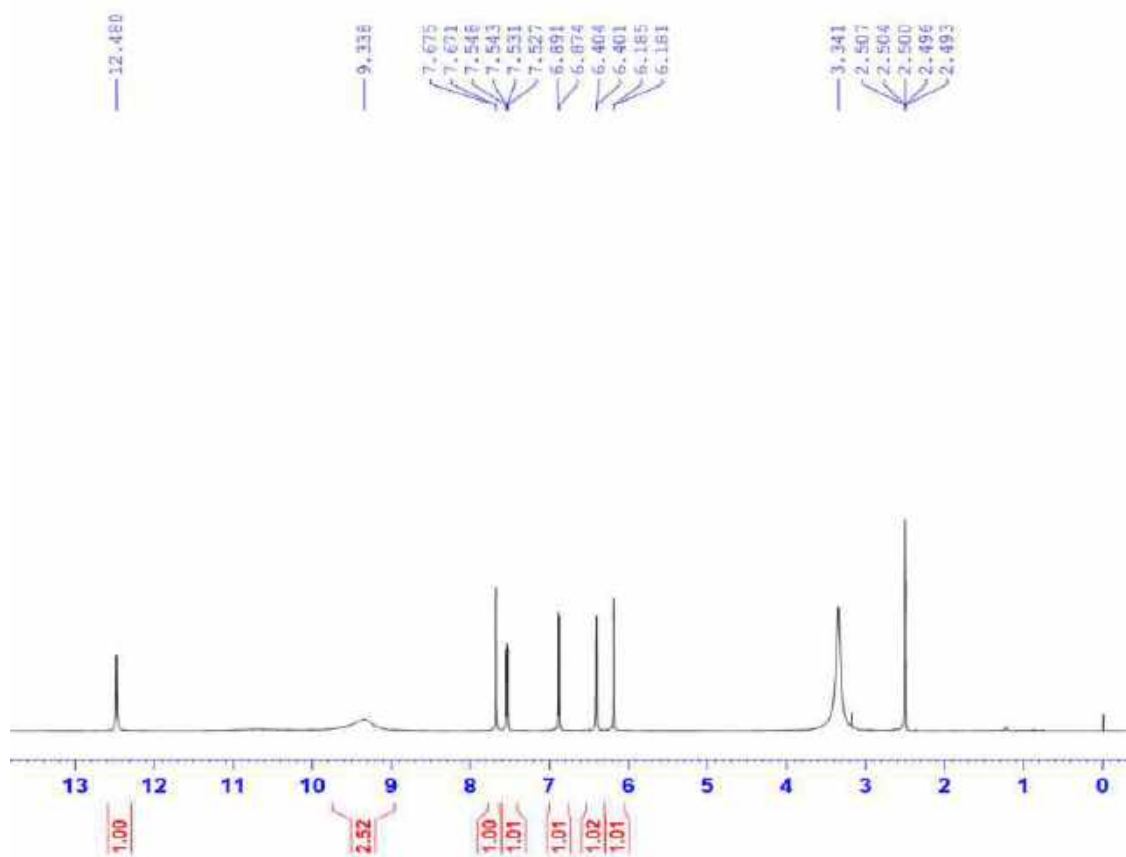
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{15}H_{10}O_7$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 302,0

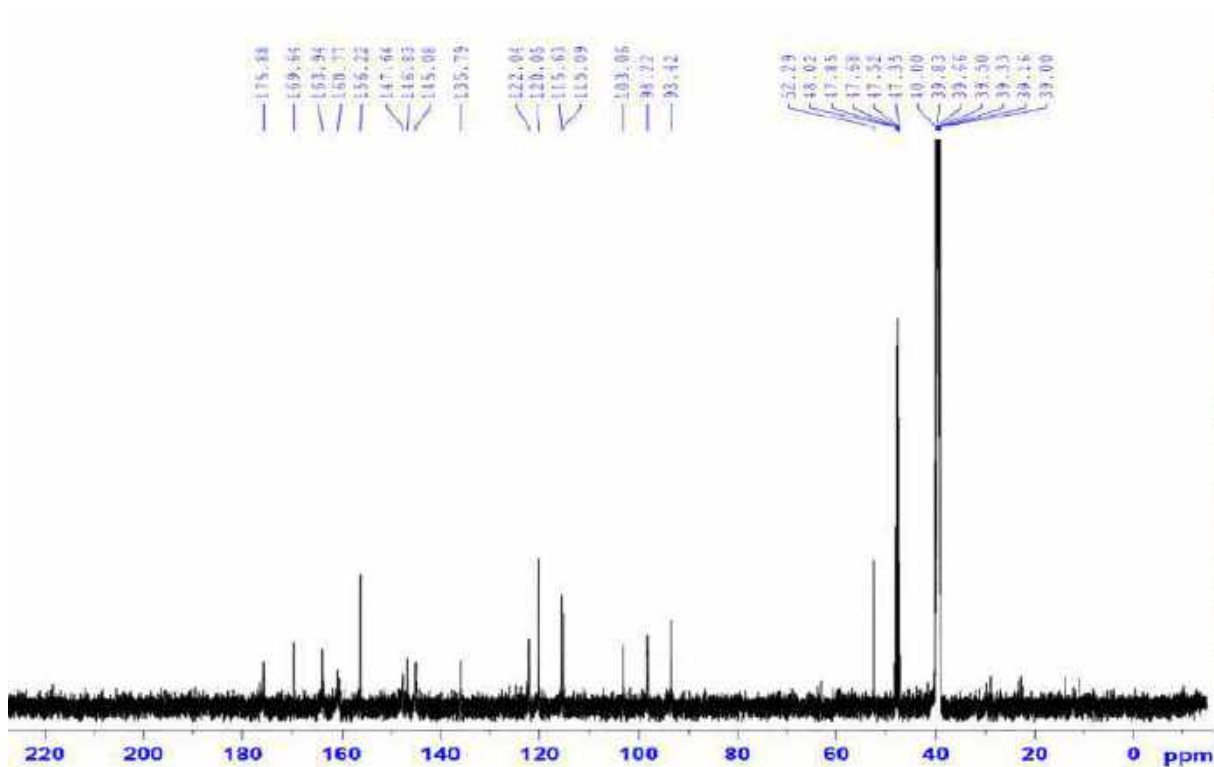
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR

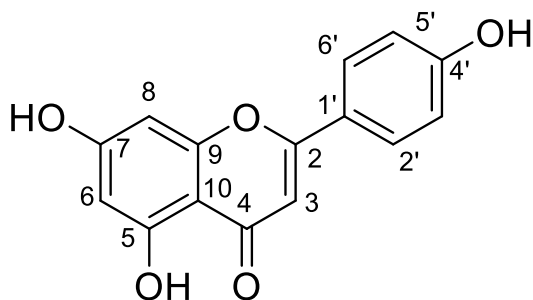
PL115

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



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



**XXX. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG13**

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

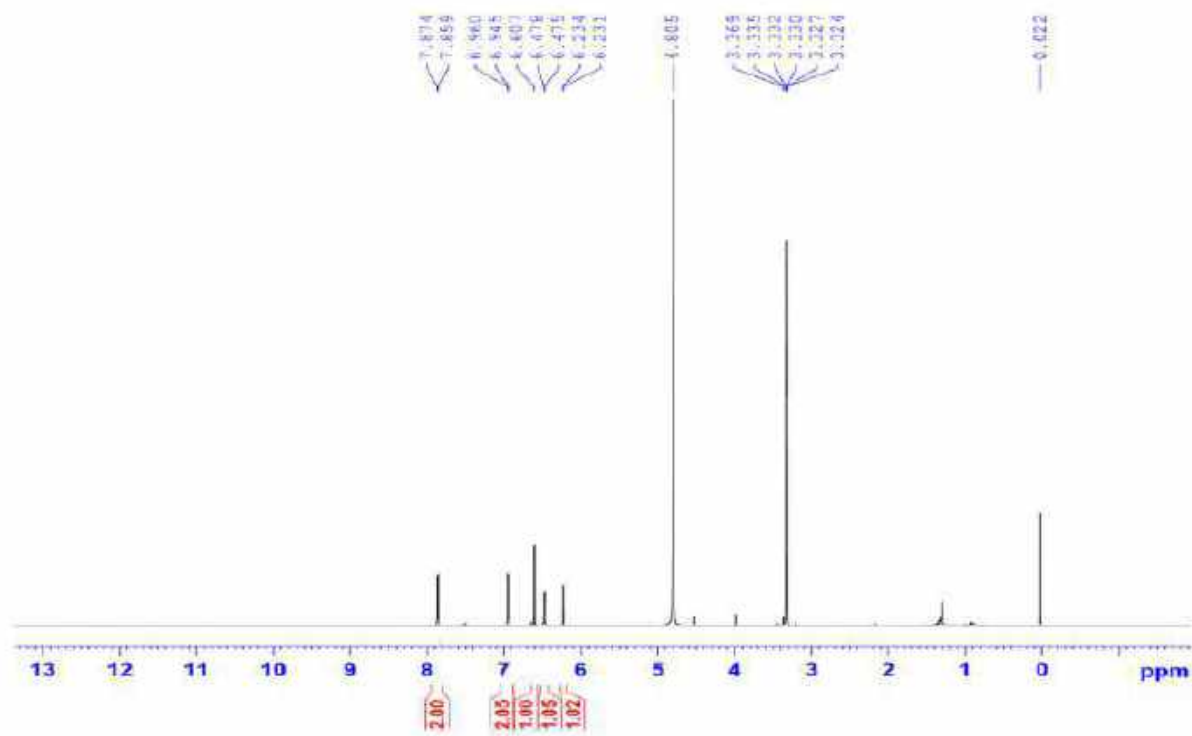
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 270,1

- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR

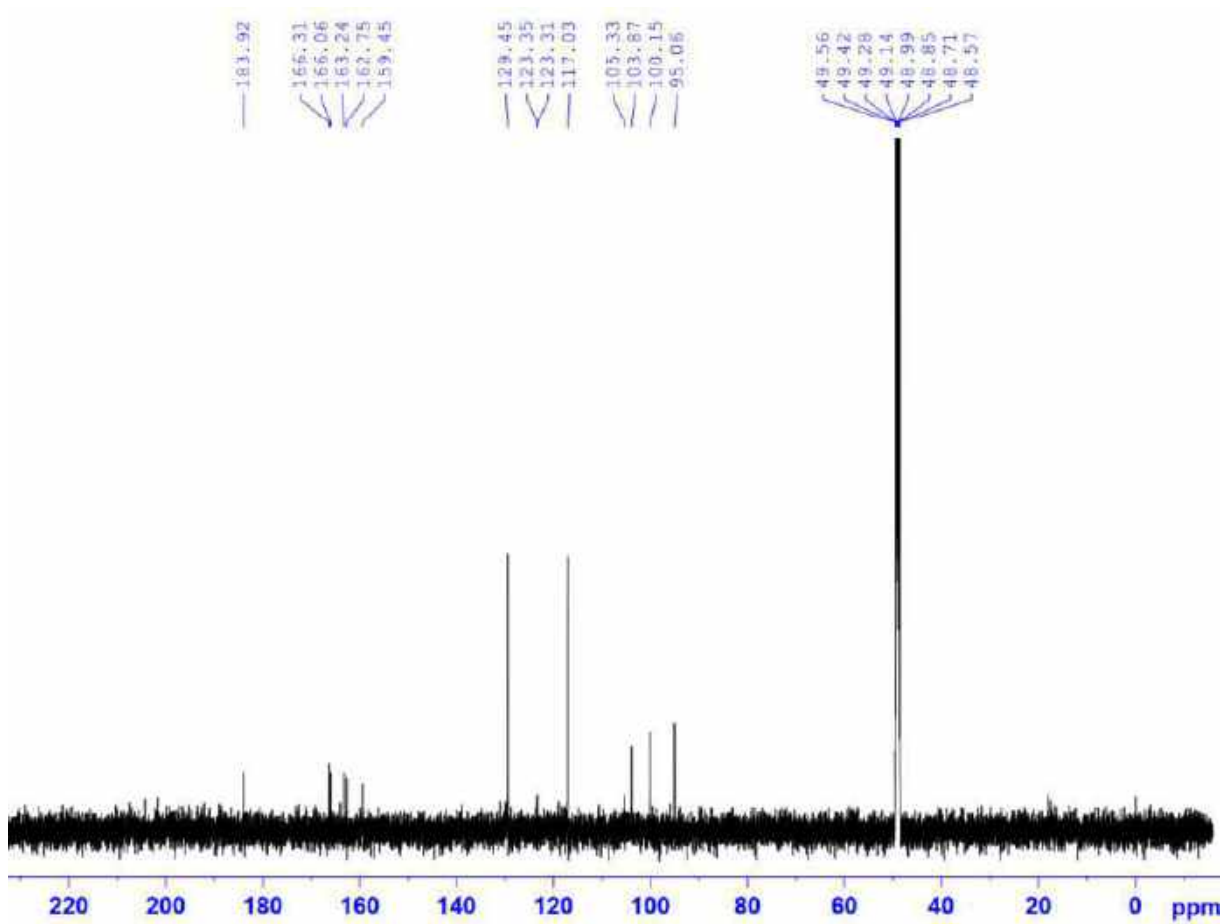


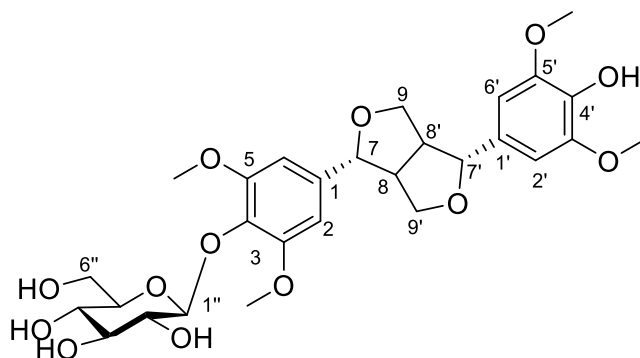
PL117

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



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



**XXXI. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG14**

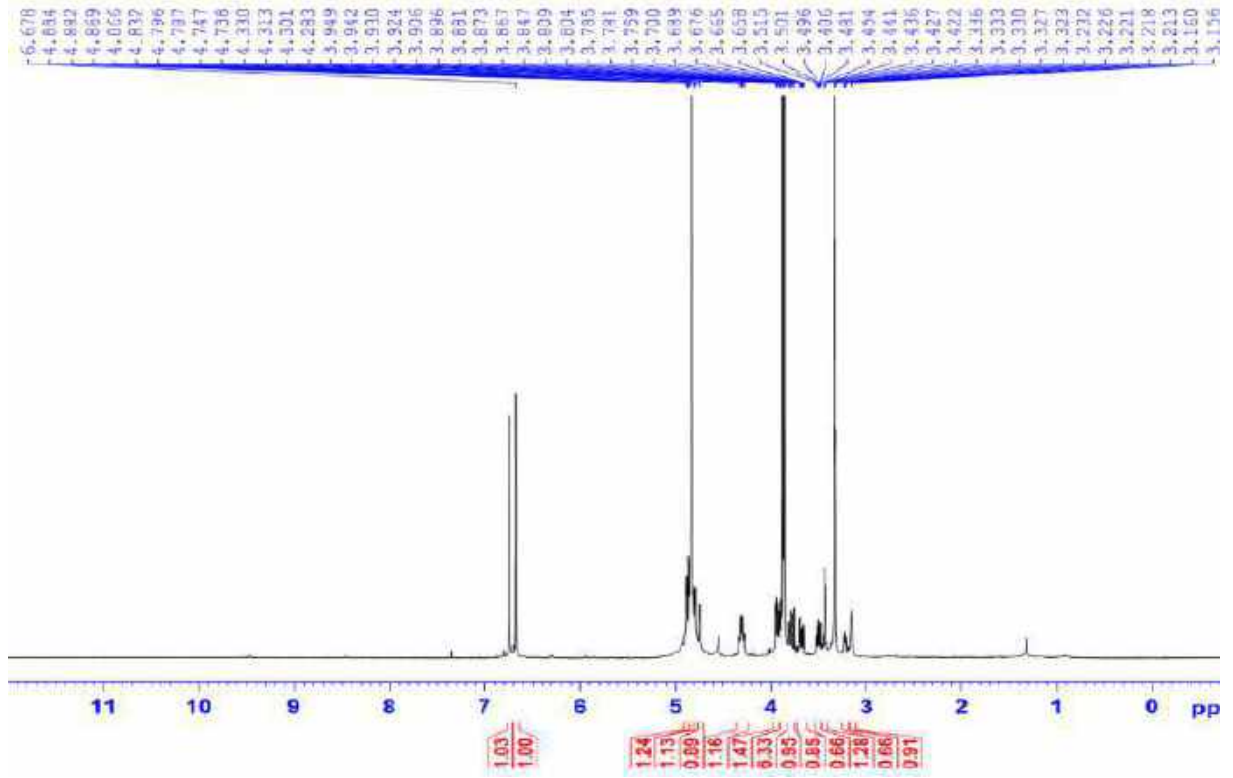
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{28}H_{36}O_{13}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 580,2

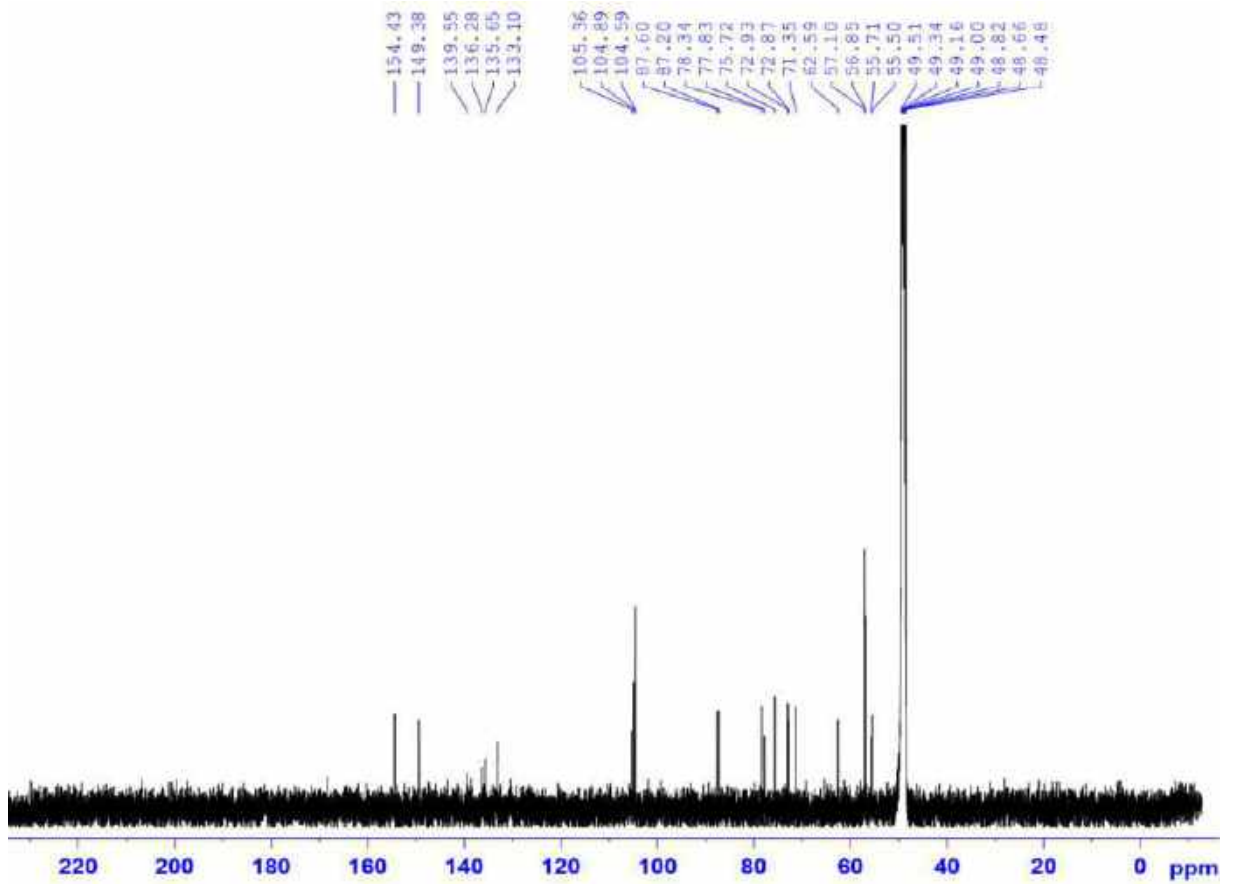
- Phổ  $^1H$ -NMR
- Phổ  $^{13}C$ -NMR
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL119

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

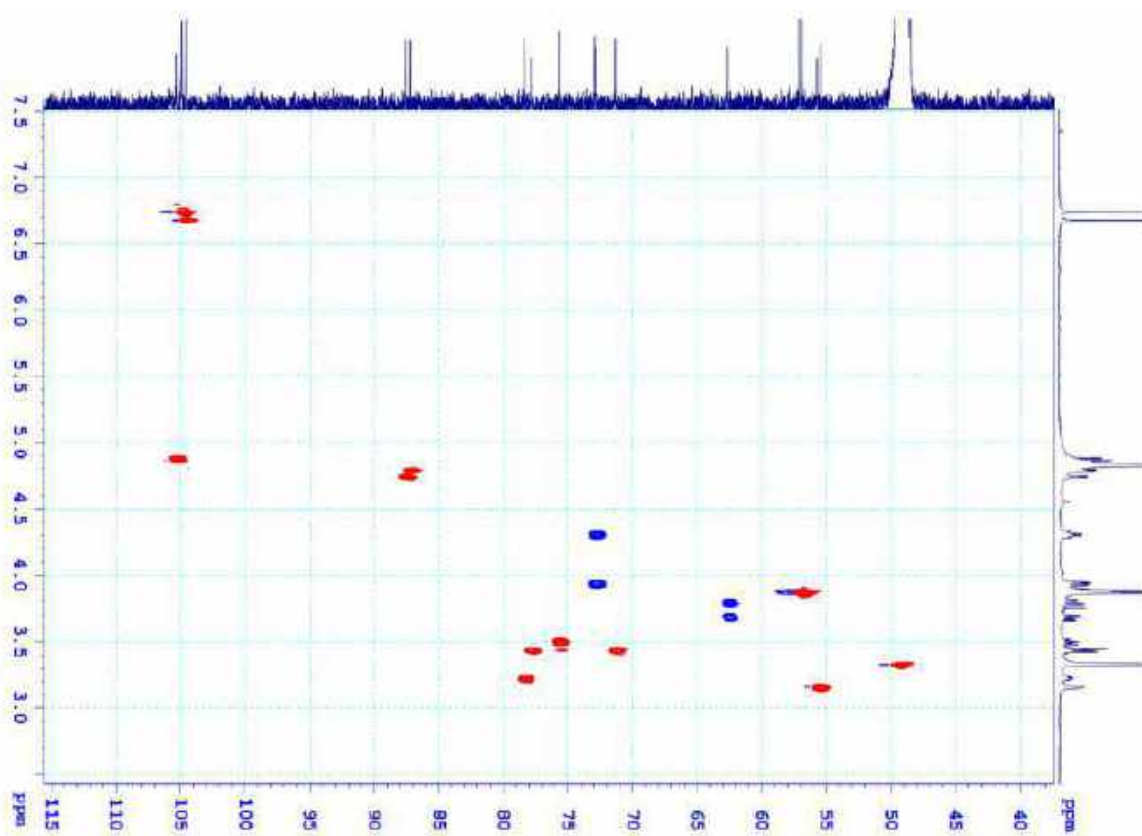


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG14

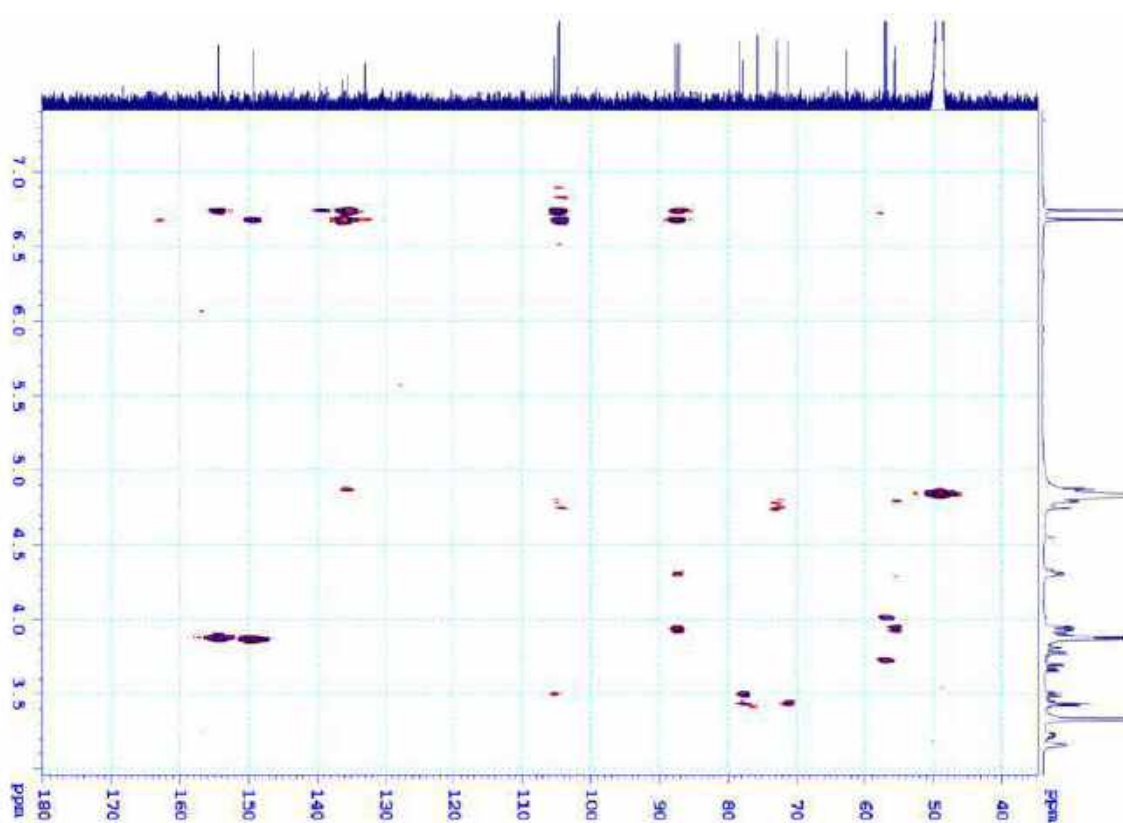


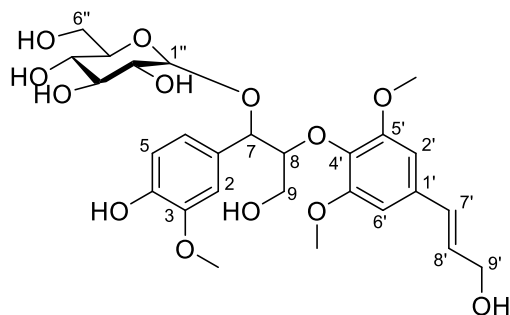
PL120

Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG14



Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG14



**XXXII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG15**

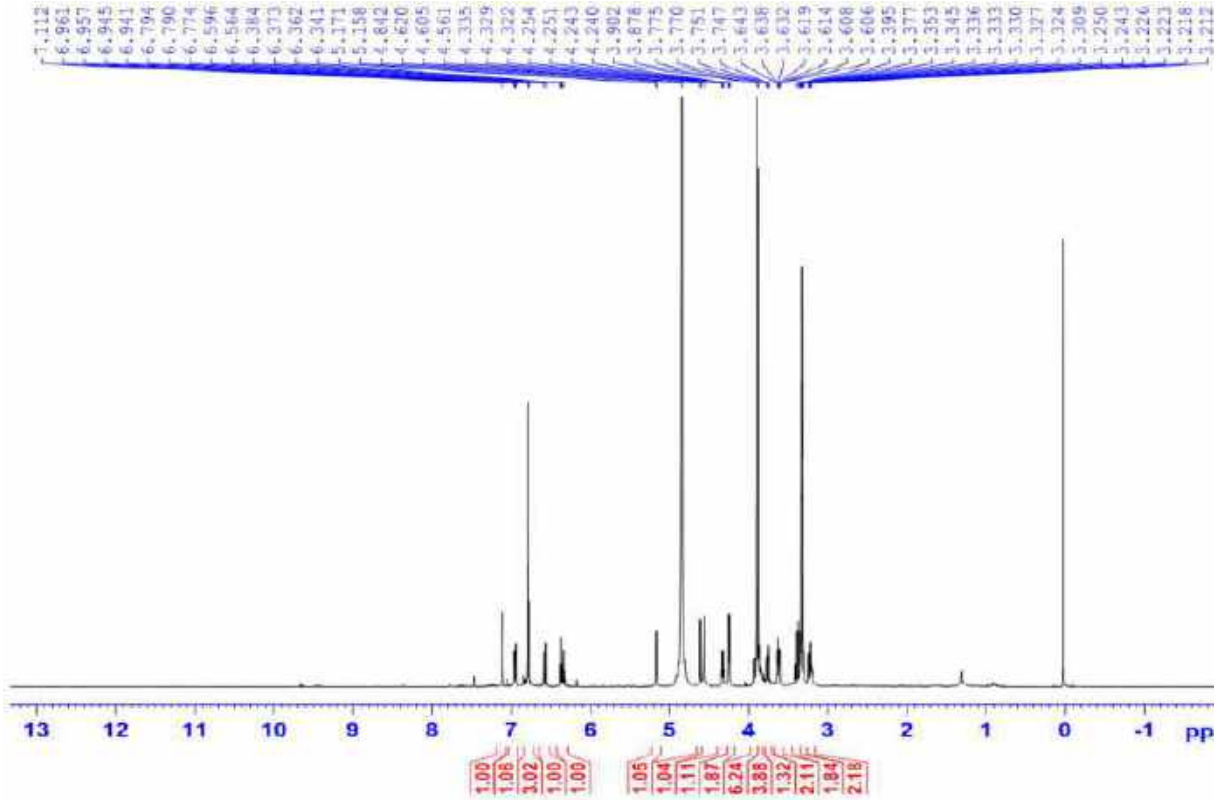
CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{27}H_{36}O_{13}$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 568,2

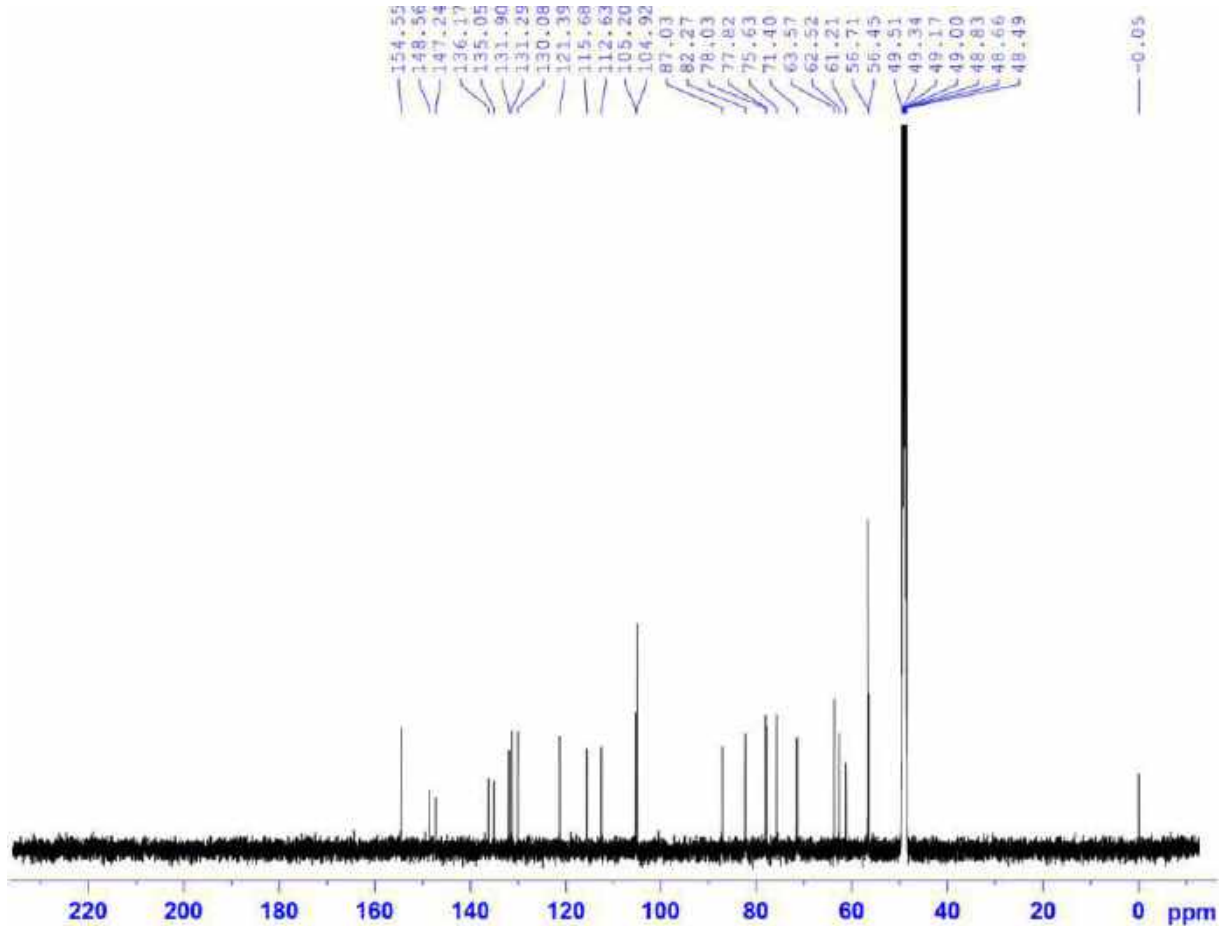
- Phổ  $^1\text{H-NMR}$
- Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$
- Phổ HSQC-NMR
- Phổ HMBC-NMR

PL122

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

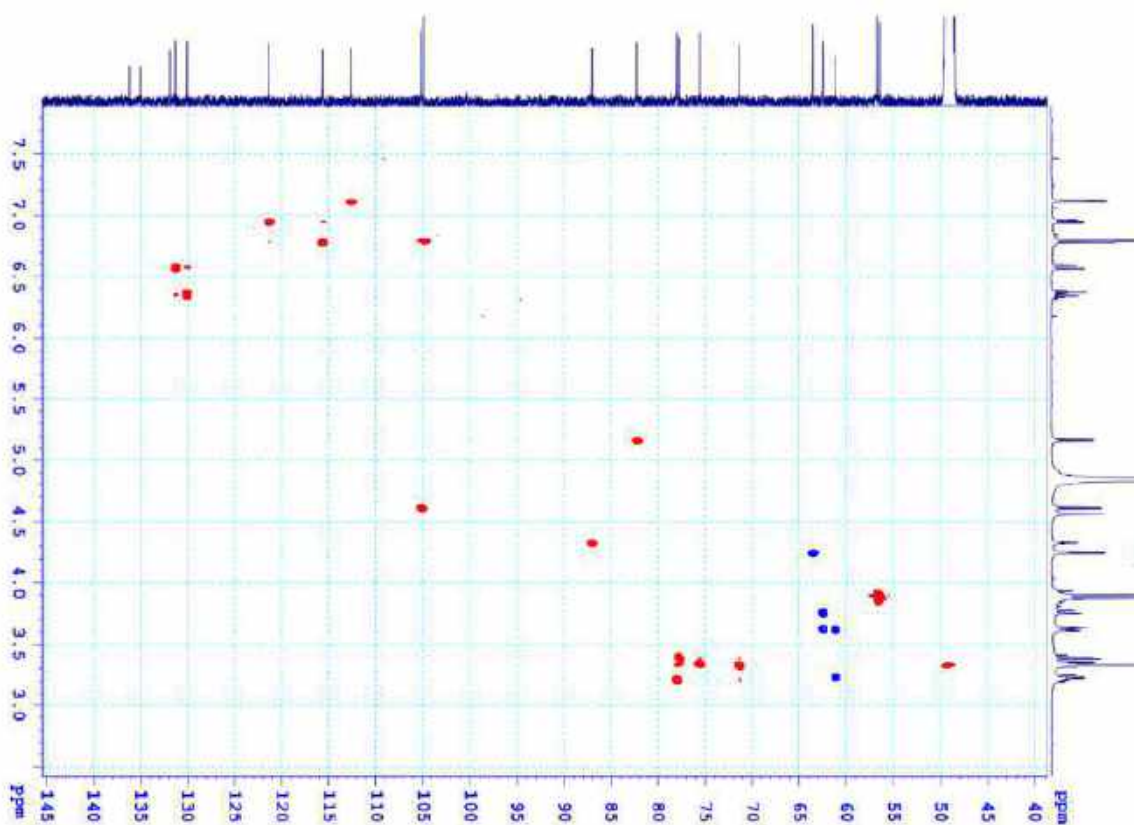


### Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất VG15

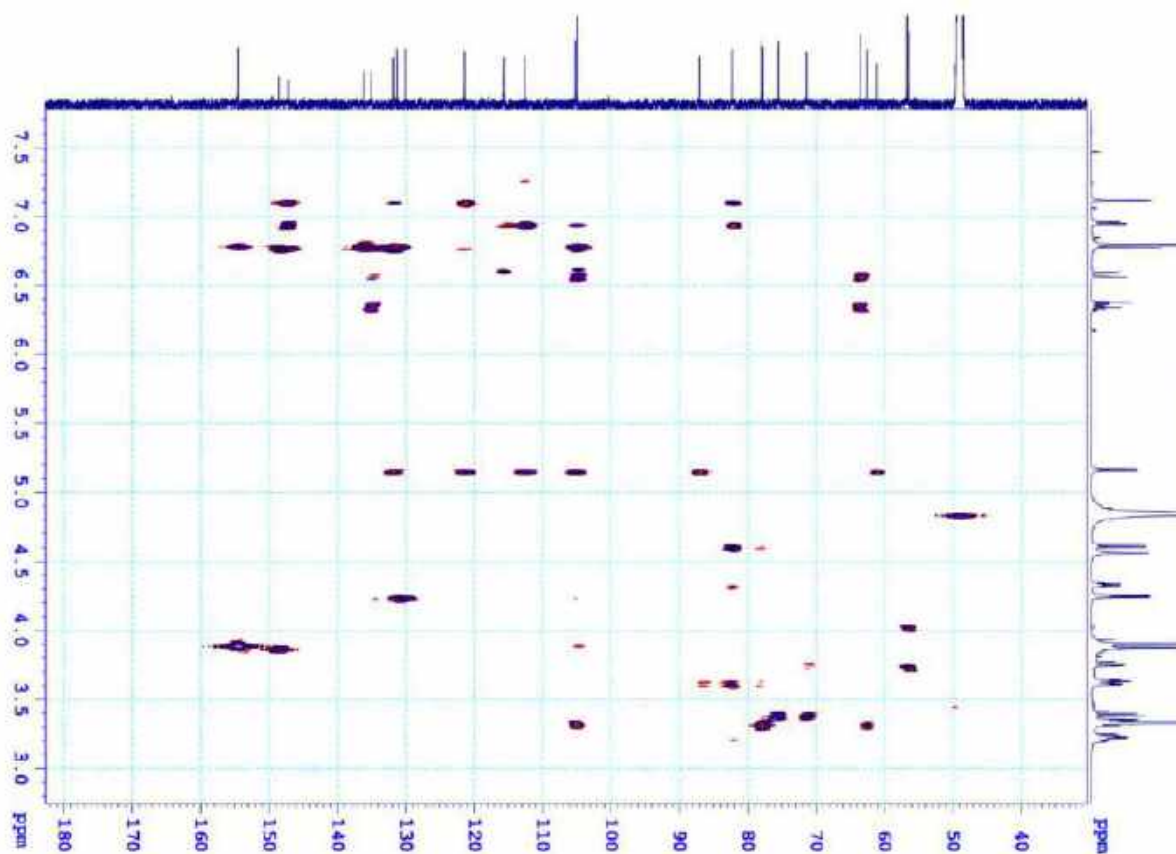


PL123

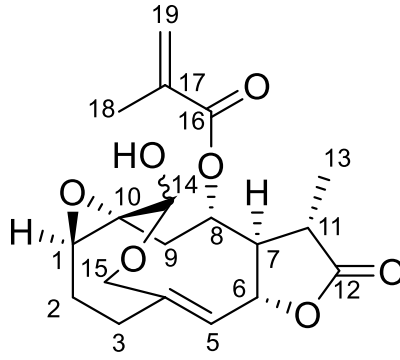
### Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG15



### Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG15



## XXXIII. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG16

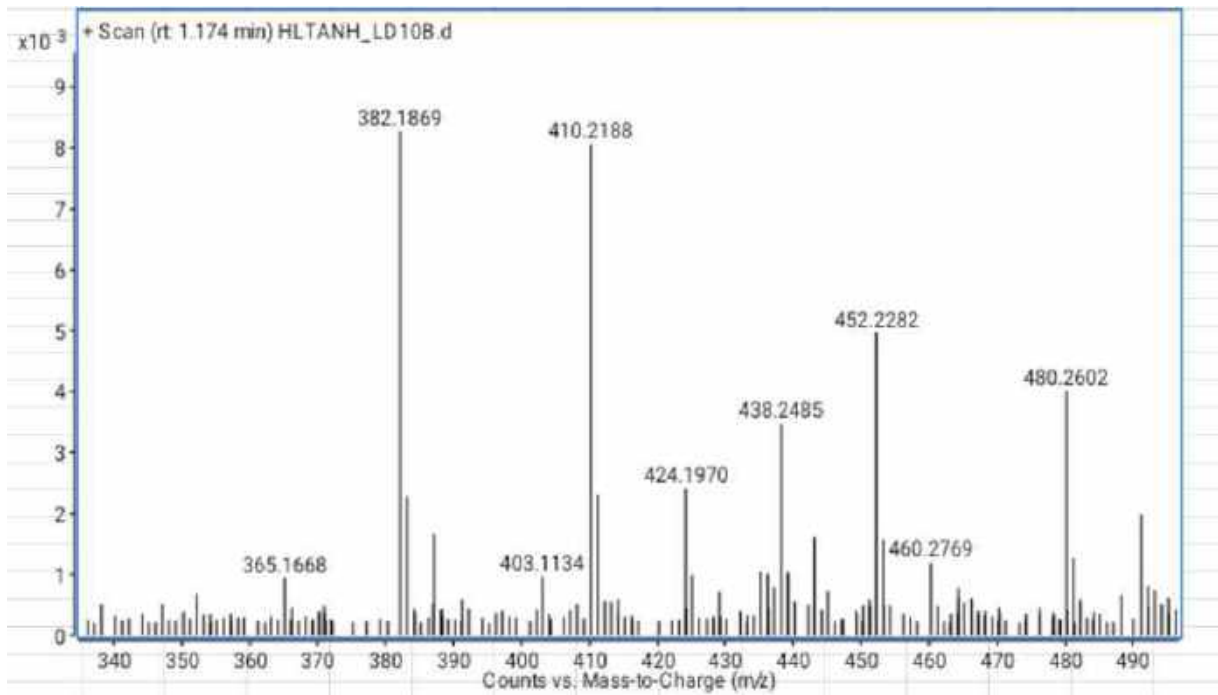


CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_{19}H_{24}O_7$ .

KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 364,2

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

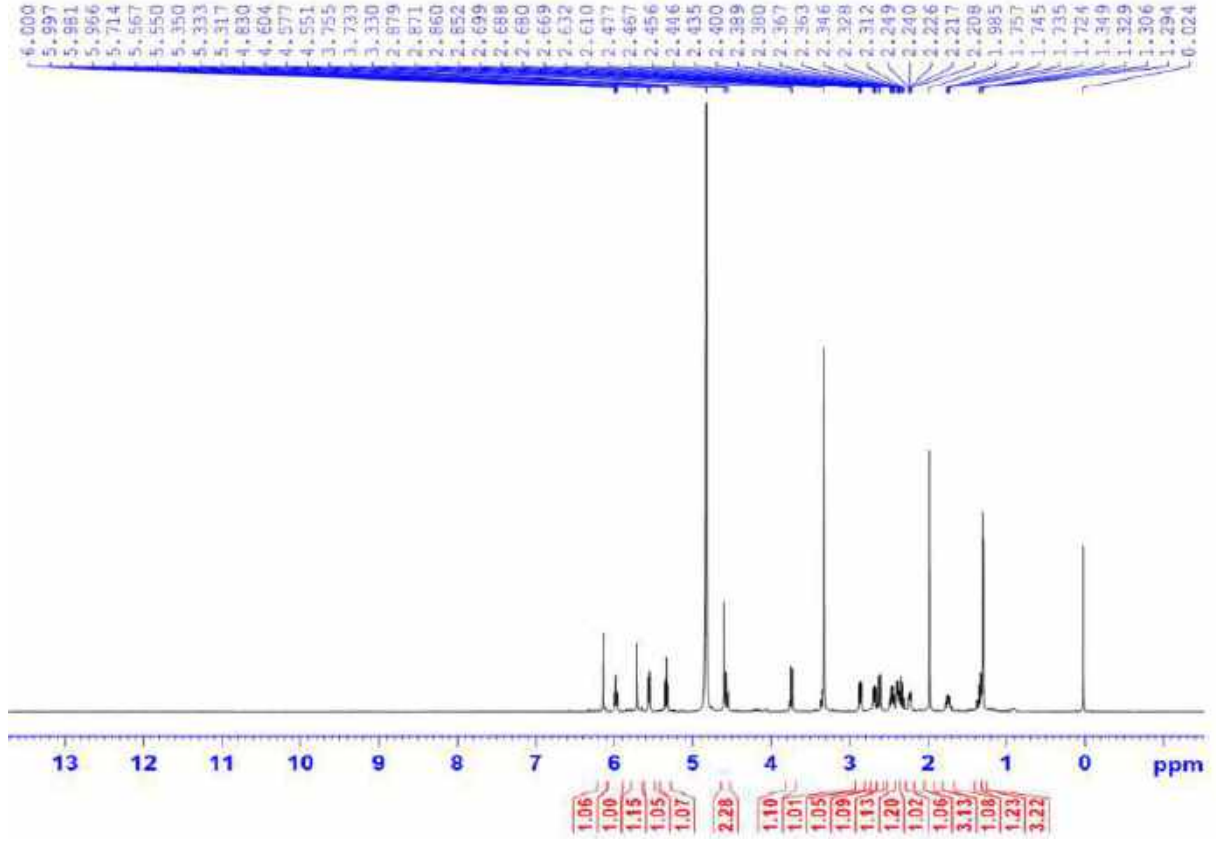
**Phổ HR-ESI-MS của hợp chất VG16**



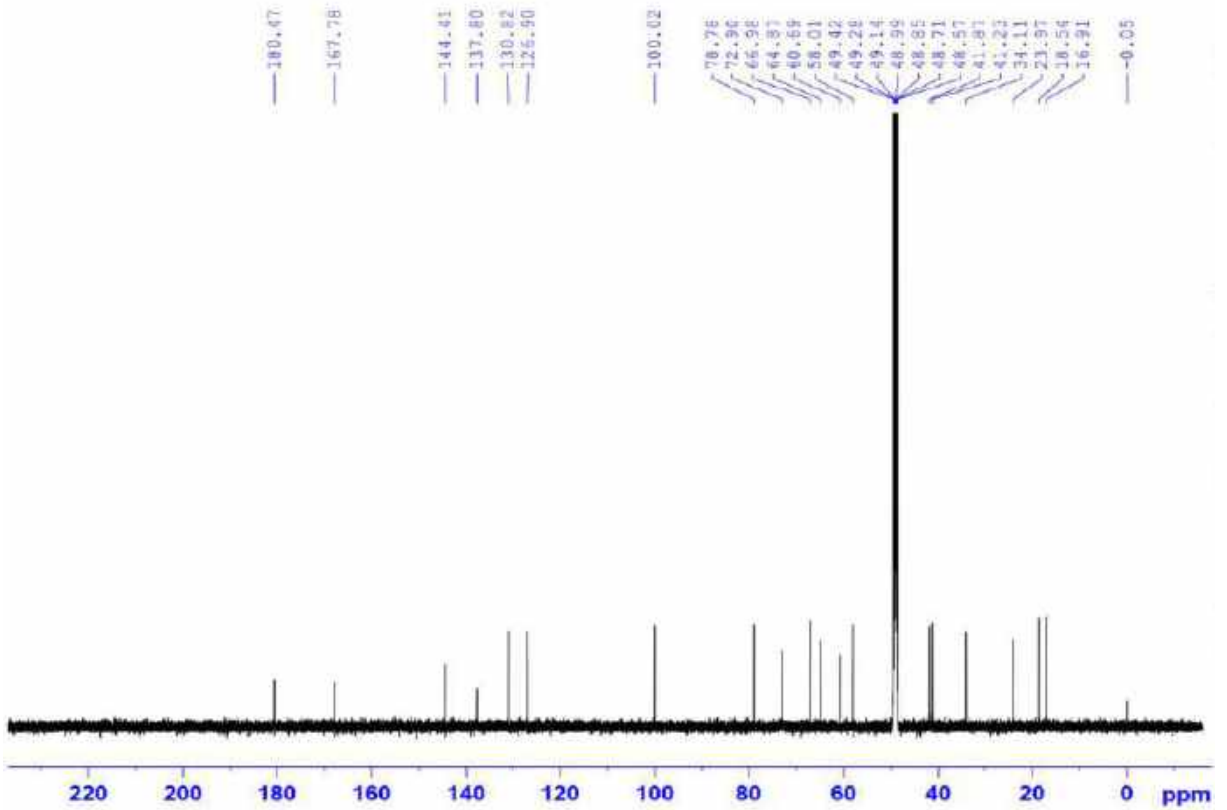


PL125

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

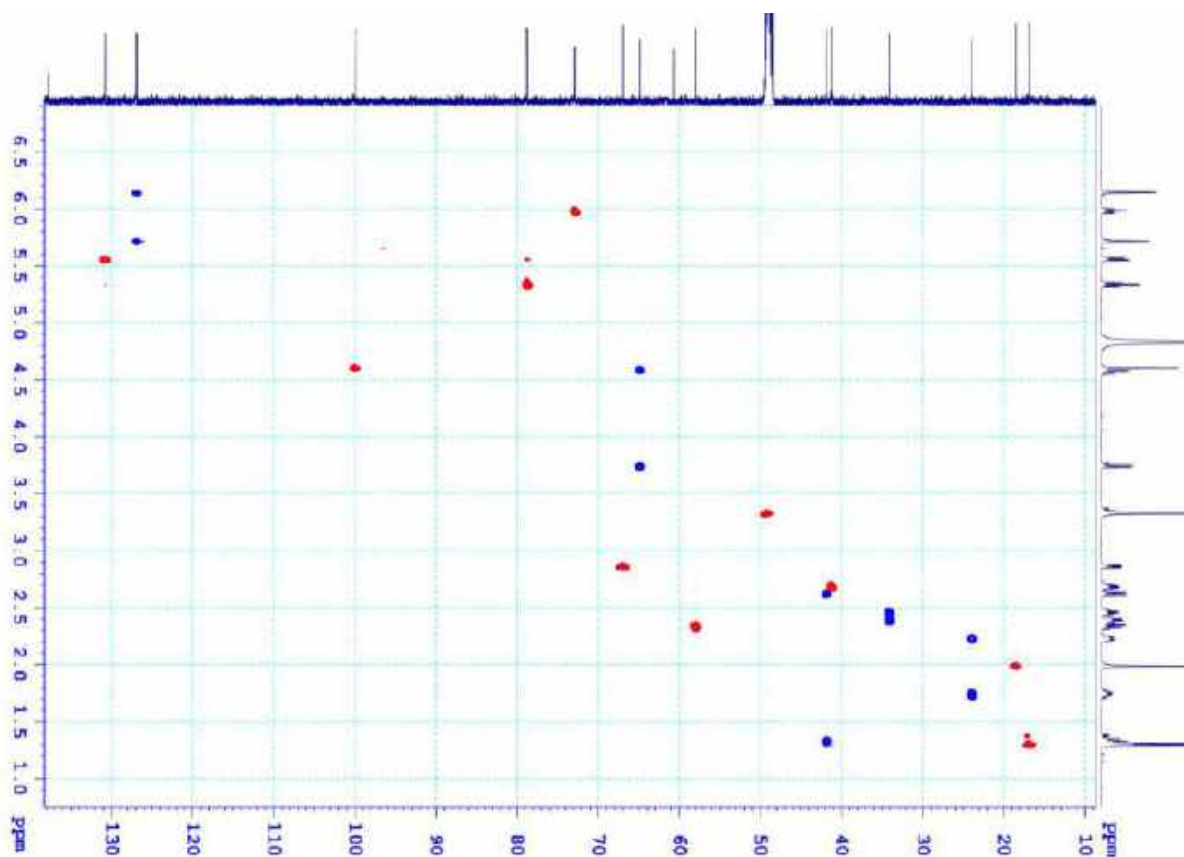


Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất VG16

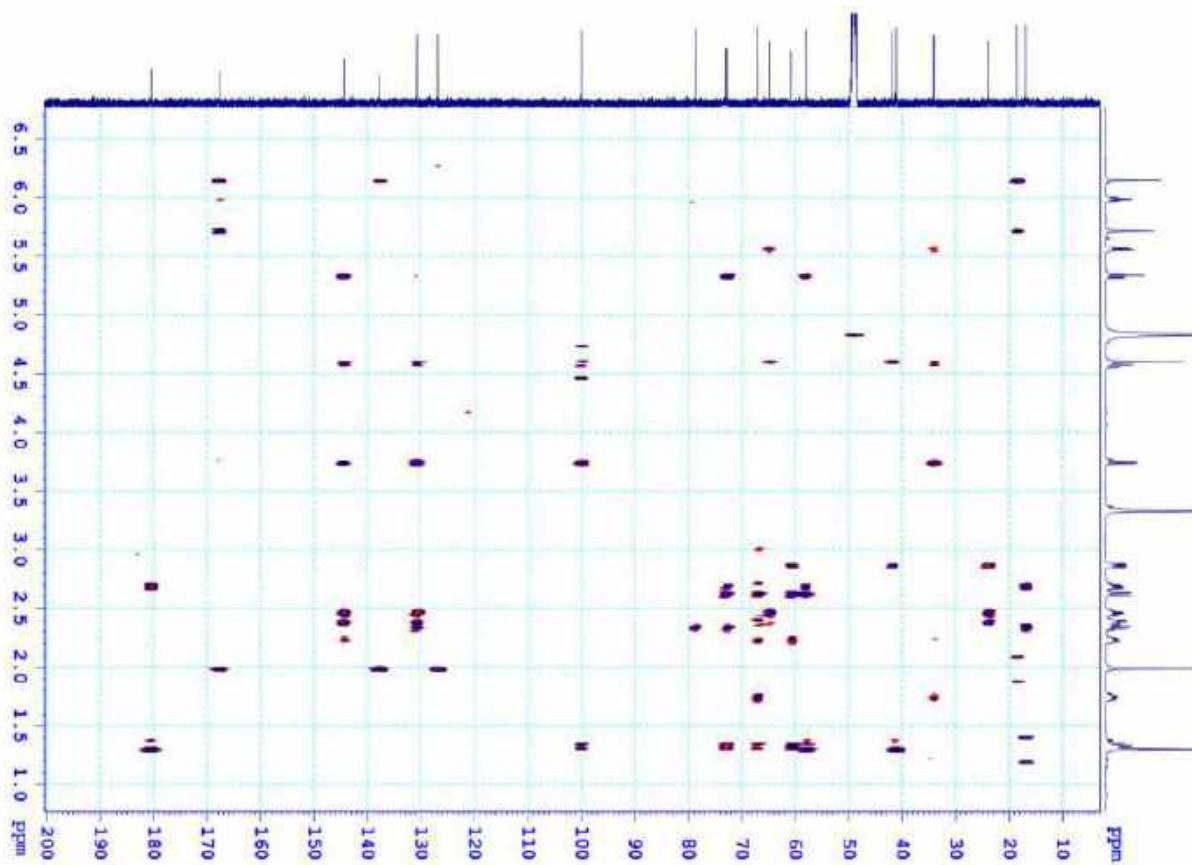


PL126

Phổ HSQC-NMR của hợp chất VG16

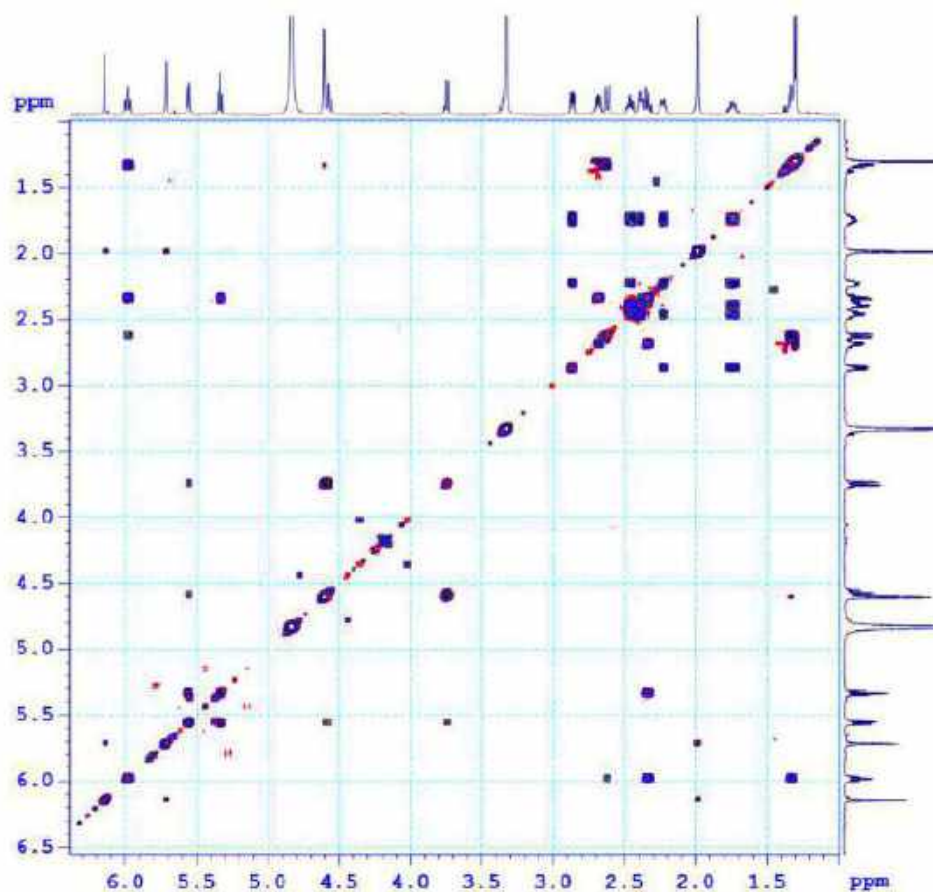


Phổ HMBC-NMR của hợp chất VG16

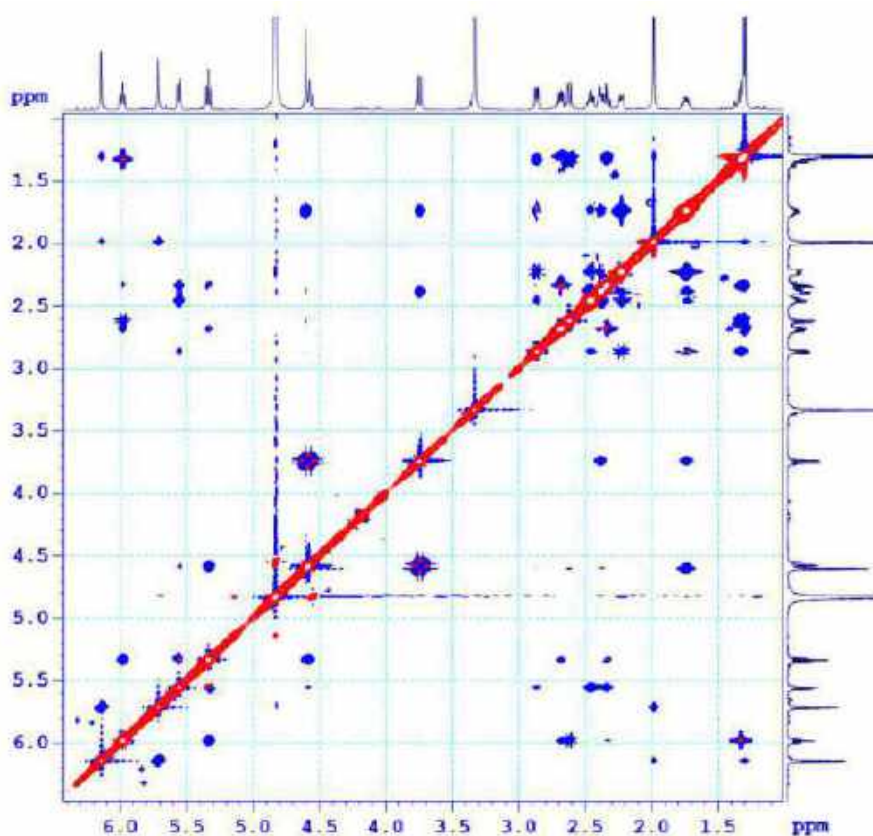


PL127

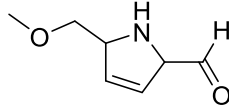
**Phổ COSY-NMR của hợp chất VG16**



**Phổ NOESY-NMR của hợp chất VG16**



## XXXIV. PHỤ LỤC HỢP CHẤT VG17

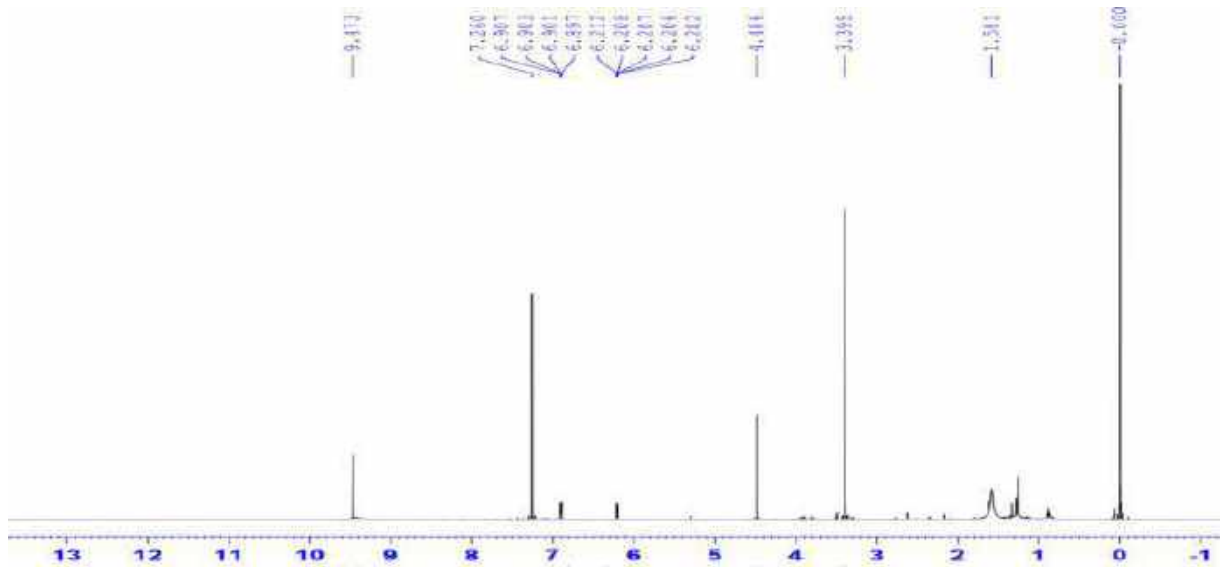
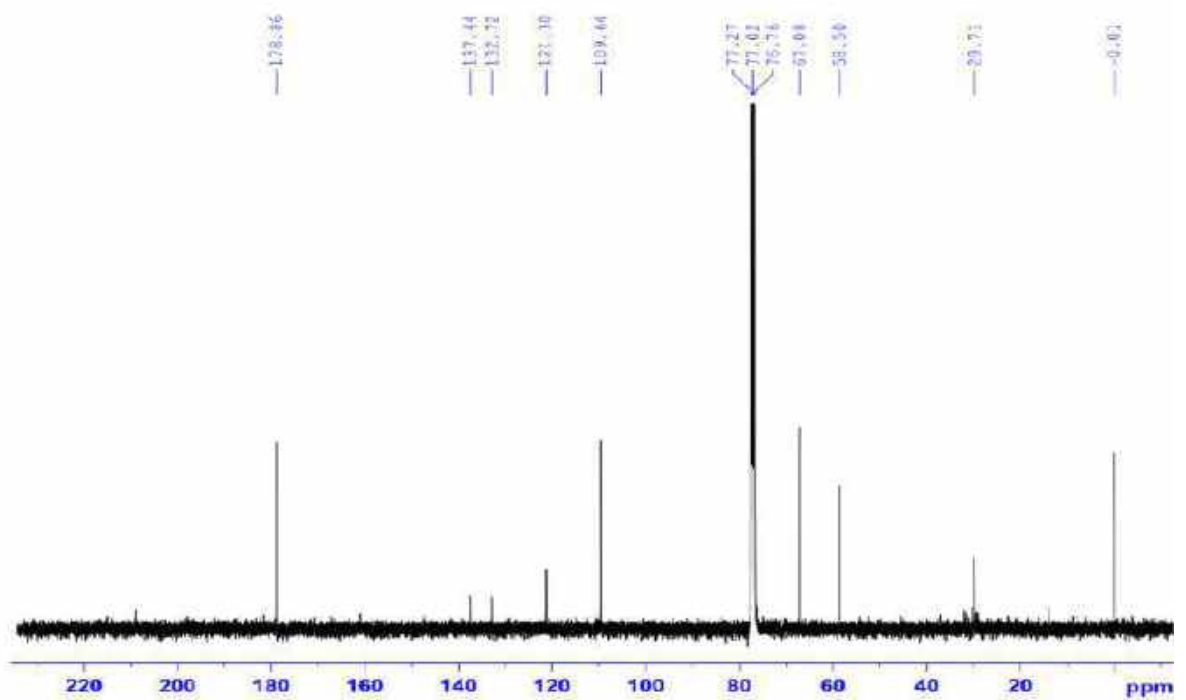


CÔNG THỨC PHÂN TỬ:  $C_7H_{11}NO_2$ .

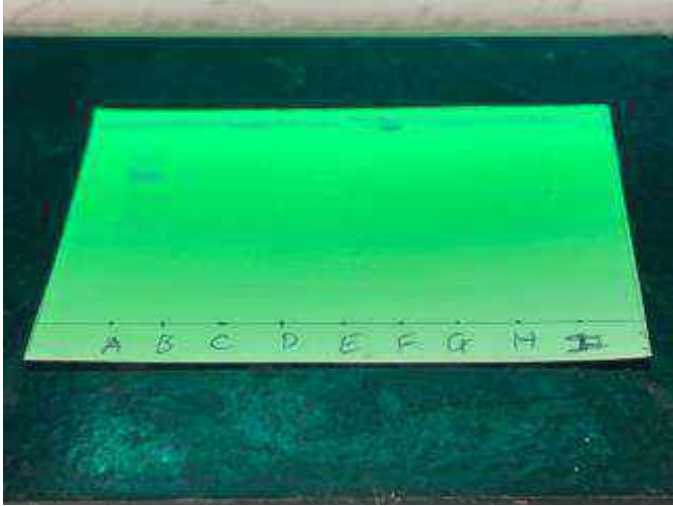
KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ: 141.1

- Phổ  $^1H$ -NMR

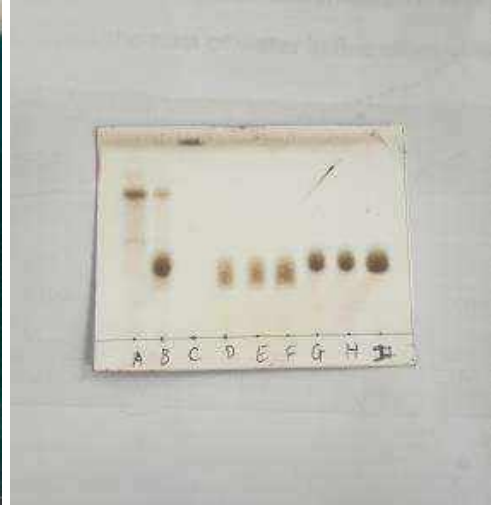
- Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất VG17Phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất VG17

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



I



II

A: hợp chất VG1

B: VG1 sau phản ứng thủy phân

C: dịch chiết EtOAc

D: đường D-galactose chuẩn

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

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

G: đường D- glucose chuẩn

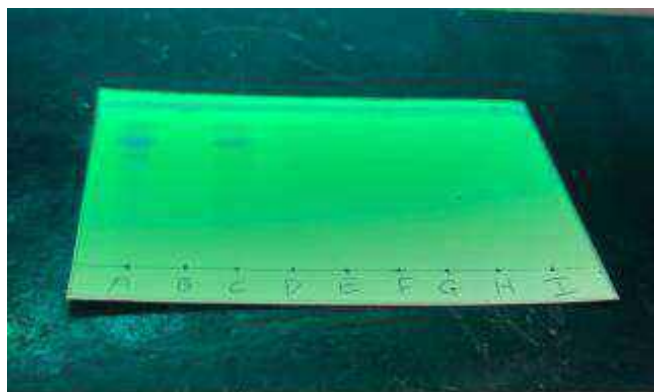
E: đường D- glucose sau khi tinh chế bằng TLC

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

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

II: TLC hiện thị bằng thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5%)

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



I



II

A: hợp chất VG05

B: dịch chiết EtOAc

C: VG5 sau phản ứng thủy phân

D: đường D-galactose chuẩn

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

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

G: đường D- glucose chuẩn

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

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

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

II: TLC hiện thị bằng thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5%)

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

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

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

Kính gửi: NCS. Phạm Văn Công

Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao

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

Người giám định: **TS. Lê Tuấn Anh**

**Các thông tin về mẫu vật: số 01**

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

**Các thông tin về mẫu vật: số 02**

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

**Kết quả giám định tên khoa học:**

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

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

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

Thừa Thiên Huế, ngày 3 tháng 4 năm 2024

VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC MIỀN TRUNG

Người giám định



**Hoàng Ngọc Lin**

**Lê Tuấn Anh**

**XXXVIII. DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ**

1. Stigmastane-type steroid saponins from the leaves of *Vernonia amygdalina* and their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Natural Product Research*, 2024, 38 (4): 601-606; thuộc danh mục SCIE; IF-2.488.
2. Isolation, structural elucidation and molecular docking studies against SARS-CoV-2 main protease of new stigmastane-type steroidal glucosides isolated from the whole plants of *Vernonia gratioiosa*. *Natural Product Research*, 2023, 37 (14): 2342-2350; danh mục SCIE; IF-2.488.
3. Alpha-glucosidase inhibitory activity of saponins isolated from *Vernonia gratioiosa* Hance. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33.6: 797.; thuộc danh mục SCIE; IF-3.27.
4. Constituents of *Vernonia gratioiosa* Hance and their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activities. *Vietnam Journal of Chemistry*, 2022, 60.5: 653-659; thuộc danh mục ESCI, IF-0.74.
5. Two new stigmastane steroidal saponins from *vernonia gratioiosa* hance with their  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibition. *Vietnam Journal of Science and Technology* thuộc danh mục Scopus (chấp nhận đăng: 06/07/2024)



Số: 706/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 21 tháng 6 năm 2024

**QUYẾT ĐỊNH**  
**Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện**

**GIÁM ĐỐC**  
**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/03/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 08/2017/TT-BGDĐT ngày 04/4/2017 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế Tuyển sinh và Đào tạo trình độ Tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1948/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2018 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Quyết định số 1123/QĐ-HVKHCN ngày 13/8/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh chất lượng quốc tế đợt 2 năm 2021;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Phạm Văn Công với đề tài:

**“Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*”**

Ngành: Hóa học các HCTN Mã số: 9 44 01 17

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

**Điều 2.** Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực tối đa 90 ngày kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện Khoa học và Công nghệ. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

**Điều 3.** Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT, TN16.

**GIÁM ĐỐC**  
  
**GS. TS. Vũ Đình Lâm**



**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ  
CẤP HỌC VIỆN**

(Kèm theo Quyết định số 706/QĐ-HVKHCN ngày 21/6/2024  
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

Về đề tài: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiosa*” .

Ngành: Hóa học các HCTN

Mã số: 9 44 01 17

Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh - Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN

Người hướng dẫn 2: TS. Bùi Quang Minh - Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Lê Thị Huyền	Hóa hữu cơ	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Hóa hữu cơ	Trường Đại học giao thông vận tải, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4	PGS.TS. Vũ Kim Thu	Hóa hữu cơ	Trường Đại học Mỏ - Địa chất, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 3
5	PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân	Hóa học các HCTN	Viện Hóa học các HCTN, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
6	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
7	TS. Tô Đạo Cường	Dược học	Trường Đại học Phenikaa, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

Hội đồng gồm 07 thành viên./.



(Mẫu 8-HV-Mẫu nhận xét luận án)  
Mẫu trình bày Bản nhận xét/phản biện (làm 02 bản)

## BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên luận án: "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*"

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số:

Nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

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

2. TS. Bùi Quang Minh

Người nhận xét: GS. TS. Nguyễn Văn Tuyên

Cơ quan công tác: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae) có khoảng 1000 loài, chúng phân bố chủ yếu ở các nước thuộc Nam Mỹ, Bắc Mỹ, Châu Phi và Đông Nam Á, ở Việt Nam có 16 loài thuộc chi *Vernonia* được dùng làm thuốc chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rắn cắn, bỏng lửa,... Hiện nay, các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi này cho thấy có chứa nhiều lớp chất có hoạt tính sinh học cao như steroid, flavonoid, terpenoid, polyphenol, ... Các nghiên cứu về chi *Vernonia* ở Việt Nam còn khá hạn chế. Đề tài "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*" có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả của nghiên cứu này có thể là cơ sở khoa học vững chắc cho định hướng ứng dụng, khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng này ở Việt Nam.

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

Kết quả nghiên cứu, số liệu công bố và các kết luận của luận án không trùng lặp với các đề án, luận văn, luận án hay công trình khoa học đã công bố trong và ngoài nước.

Luận án trích dẫn các tài liệu tham khảo là các bài báo khoa học quốc tế được đăng trên các tạp chí uy tín. Các tài liệu tham khảo đều phù hợp với nội dung cần tổng quan, được trích dẫn đầy đủ, đáng tin cậy.

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

Các nội dung nghiên cứu hoàn toàn phù hợp với tên đề tài luận án, thuộc chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Các nội dung nghiên cứu bao gồm: 1) Phân lập các hợp chất từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* thu thập tại Việt Nam sử dụng các phương pháp sắc ký; 2) Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* bằng các phương pháp vật lý, hóa học hiện đại; 3) Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được; 4) Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất sạch thu được đã phản ánh đúng tên của đề tài và hoàn toàn phù hợp với đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa*”. Các kết luận của luận án phù hợp với cách đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu đề ra.

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

Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất sử dụng phương pháp phổ hiện đại bao gồm: Phổ khối (HR-ESI-MS), độ quay cực  $[\alpha]_D$ , phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D, 2D-NMR), phổ lưỡng sắc tròn (CD). Các phương pháp và kỹ thuật đã sử dụng trong luận án hiện đại, có độ tin cậy.

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được là phương pháp thường quy, đáng tin cậy.

### 5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy các kết quả đó.

Kết quả nghiên cứu của luận án đã có nhiều đóng góp mới cho sự phát triển ngành hóa hữu cơ nói chung và chuyên ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên nói riêng. Các kết quả thu được có nhiều điểm mới, bao gồm:

- Phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là vernonioside K (LD1), vernonioside N (LD2), vernonioside M (LD3), vernonioside O (LD4), vernonioside L (LD5), vernonioside P (LD6), vernonioside Q (LD7) và 07 hợp chất mới từ loài *V. gratioiosa* (VG1 – VG7) là: vernogratioides A (VG1), vernogratioides B (VG2), vernogratioides C (VG3), vernogratioides R (VG4), vernogratioides S (VG5), vernoratioides A (VG6), vernoratioides B (VG7).

- Đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioiosa*, kết quả đã phát hiện được các hợp chất LD1, LD5, LD14, LD12, LD15 có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  từ  $(7.42 \pm 0.95 \mu\text{M})$  đến  $(78.56 \pm 7.28 \mu\text{M})$  so với đối chứng dương (Acarbose  $127.53 \pm 1.73 \mu\text{M}$ ). Bên cạnh đó, hợp chất VG15 ức chế mạnh hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là  $(47.08 \pm 3.98 \mu\text{M})$ .



- Đánh giá tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase cho thấy các hợp chất VG5, VG13 và VG15 có tiềm năng trong ức chế enzym (XO) với  $IC_{50} = (6,26 \pm 0,60) - (47,65 \pm 3,44) \mu M$ ; so với đối chứng dương Allopurinol là  $1,12 \pm 0,15 (\mu M)$ .

#### 6. Ưu và nhược điểm về nội dung, kết cấu luận án.

Luận án có bố cục rõ ràng, nội dung nghiên cứu phong phú, kỹ thuật sử dụng hiện đại và có đóng góp mới, hình thức và nội dung luận án được trình bày theo qui định.

Luận án vẫn có một số lỗi chính tả cần chỉnh sửa, hoàn thiện.

#### 7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Kết quả khoa học của luận án được đăng trên 4 bài báo khoa học uy tín trong đó có 2 bài đăng trên tạp chí Natural Product research, 1 bài trên tạp chí Journal of Microbiology Biotechnology, 1 bài Vietnam Journal of Chemistry. Nghiên cứu sinh là tác giả đứng đầu của cả 4 bài báo.

Các bài báo có chất lượng tốt, có chỉ số số IF cao, nội dung phù hợp với nội dung của Luận án.

#### 7. Kết luận chung

Bản luận án là công trình có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Luận án có nội dung nghiên cứu phong phú, đạt nhiều kết quả, có tính mới. Luận án đáp ứng đầy đủ về mặt nội dung của một luận án tiến sĩ. Đề nghị Hội đồng cho phép NCS được bảo vệ luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.



Hà Nội, ngày 12 tháng 07 năm 2024

NGƯỜI VIẾT NHẬN XÉT

GS. TS. Nguyễn Văn Tuyền



## BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Đề tài luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa*.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9440114

Nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

Người nhận xét: PGS.TS. Lê Thị Huyền

Đơn vị công tác: Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

**Nội dung nhận xét:**

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

Bệnh gout là một bệnh lý chuyển hóa có liên quan đến tăng nồng độ acid uric trong máu. Căn bệnh này là đặc trưng bởi các giai đoạn viêm khớp cấp tính hoặc mãn tính do lắng đọng tinh thể mononatri urate trong khớp và mô liên kết. Sự lắng đọng acid uric bắt đầu khi acid uric hòa tan trong máu và hình thành các tinh thể urate monohydrate ở khớp và thận, dẫn đến viêm đau. Các chất ức chế xanthine oxidase tổng hợp như allopurinol, febuxostate và dẫn xuất phenylpyrazol Y-700, đã được sử dụng rộng rãi để điều trị chứng tăng acid uric máu và bệnh gout, nhưng có thể có tác dụng phụ. Thuốc allopurinol được kê đơn rộng rãi đã được báo cáo là gây ra hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử biểu bì nhiễm độc, rối loạn gan và rối loạn chức năng thận. Do đó, cần có những lựa chọn thay thế có nguồn gốc tự nhiên với ít tác dụng phụ hơn.

Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae), trong đó loài *V. amygdalina* là một trong số các loài được tập trung nghiên cứu, các nghiên cứu bước đầu chỉ ra dịch chiết và một số hợp chất tinh khiết của loài này có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên mô hình in vitro và có khả năng làm giảm hàm lượng đường trong máu ở mô hình in vivo. Bên cạnh đó, theo y học cổ truyền *V. amygdalina* cũng dùng để điều trị bệnh gout. Mặt khác, loài *V. gratioiosa* chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học cũng như các hoạt tính sinh học. Do đó, việc nghiên cứu phân lập và đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất từ *V. amygdalina* và *V. gratioiosa* có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở khoa học vững chắc cho định

hướng ứng dụng, khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng này ở Việt Nam.

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

Luận án có nội dung hoàn toàn phù hợp với mã số chuyên ngành Hóa Hữu cơ, 9.44.01.14. Nội dung và kết quả nghiên cứu là rõ ràng, đầy đủ và có giá trị tham khảo tốt.

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

Đề tài và nội dung đã thực hiện được của luận án, bao gồm việc nghiên cứu phân lập và xác định được thành phần hóa học chủ yếu của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia grattiosa* ở Việt Nam, đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được. Tác giả đã sử dụng các phương pháp phân lập và xác định cấu trúc được sử dụng trong hoá học các hợp chất thiên nhiên, các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học của các chất được phân lập. Vì vậy, giữa đề tài và nội dung, giữa nội dung và chuyên ngành là hoàn toàn phù hợp nhau.

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

Các phương pháp nghiên được sử dụng trong đề tài này là phù hợp với các nội dung đưa ra, các phương pháp nghiên cứu bao gồm kết hợp các phương pháp thường quy trong nghiên cứu chiết tách hợp chất như sắc ký cột, sắc ký bản mỏng, cũng như các phương pháp, kỹ thuật hiện đại HPLC, xác định cấu trúc hóa học bằng các phương pháp phổ IR, UV, NMR, phổ khối phân giải cao HR-MS, phổ lưỡng sắc tròn CD, phương pháp đo quang trong đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase. Kết quả của các phương pháp nghiên cứu được sử dụng đảm bảo tính hiện đại cho độ tin cậy và tính đặc hiệu cao.

**5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy các kết quả đó.**

Luận án nghiên cứu 2 loài thuộc chi *Veronia*, với hai nội dung chính là nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase đối với cả 2 loài.

Lần đầu tiên phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là vernonioside K (LD1), vernonioside N (LD2), vernonioside M (LD3), vernonioside O (LD4), vernonioside L (LD5), vernonioside P (LD6), vernonioside Q (LD7)

Phát hiện và phân lập 07 hợp chất mới từ loài *V. gratiosa* cũng như trong tự nhiên (VG1-VG7) bao gồm: vernogratioides C (VG1), vernogratioides D (VG2), vernogratioides E (VG3), vernogratioides R (VG4), vernogratioides S (VG5), vernogratioides A (VG6), vernogratioides B (VG7).

Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratiosa*. Kết quả đã phát hiện được các hợp chất LD1, LD5, LD14, LD12, LD15 phân lập từ loài *V. amygdalina* cho thấy khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase rất mạnh với giá trị  $IC_{50}$  từ  $(7,42 \pm 0,95 \mu M)$  đến  $78,56 \pm 7,28 \mu M)$  so với đối chứng dương (Acarbose  $127,53 \pm 1,73 \mu M$ ). Bên cạnh đó, hợp chất VG15 phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng ức chế mạnh hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là  $47,08 \pm 3,98 \mu M$ , trong khi đó, hợp chất VG5 và VG13 chỉ thể hiện tác dụng ức chế yếu đối với enzyme này với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $424,79 \pm 37,83 \mu M$  và  $477,52 \pm 20,84 \mu M$  so với đối chứng dương Acarbose  $146,64 \pm 8,86 \mu M$ .

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

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

a) Ưu điểm

Luận án được thiết kế tốt, có nội dung nghiên cứu rõ ràng, phương pháp nghiên cứu hiện đại, có độ tin cậy cao. Luận án thu được nhiều kết quả có ý nghĩa, nhất là số lượng các hợp chất được phân lập và xác định cấu trúc khá lớn, trong đó đáng chú ý là có 7 hợp chất mới từ loài *Vernonia amygdalina* và 7 hợp chất mới từ loài *Vernonia gratiosa*. Nhiều hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase tốt được nghiên cứu. Những đóng góp này làm cơ sở khoa học tốt cho những nghiên cứu tiếp theo và có giá trị tham khảo.

Luận án được trình bày rõ ràng, bố cục hợp lý, các bảng biểu, hình vẽ được bố trí khoa học. Tài liệu tham khảo phong phú và cập nhật và được trích dẫn đầy đủ, chính xác.



Đây là một công trình nghiên cứu rất hay và hoàn chỉnh, có khối lượng nghiên cứu khá lớn và thu được nhiều kết quả có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Là cơ sở dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo về hóa thực vật cũng như hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Vernonia*. Đặc biệt đây là công trình nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxidase

b) Đóng góp sửa chữa:

- Hóa lập thể của các hợp chất đặc biệt là các hợp chất mới cần được vẽ đầy đủ trong cấu trúc (ví dụ Hình 3.1, cấu trúc LD1a thiếu lập thể của H-20 của LD1a). Bảng 3.1 (trang 56) cần bổ sung tín hiệu của nhóm 28-OCH<sub>3</sub>, nhóm CH<sub>3</sub>OO cần được sửa lại là CH<sub>3</sub>COO.

- Hợp chất LD2 trang 60, tương tác ROESY giữa H-18, H-20 chỉ ra lập thể của H-18, H-19 là beta, chưa chính xác. Nên biện luận đầy đủ, tương tác ROESY giữa H-18 và H-20/H-19, gợi ý lập thể của 3 proton này là beta. Xem lại tất cả các giá trị J trong bảng vì máy đo ở 600 MHz (hiện đang tính theo tần số máy 500MHz). Trong phần biện giải cần làm rõ sự khác biệt về độ chuyển dịch hóa học carbon tại vị trí 24 (khác biệt 7 ppm).

- Hợp chất LD3 là chất mới nên cần biện giải cụ thể và kỹ hơn. Trong phần biện giải khi so sánh với hợp chất LD2, thì chỉ ra sự khác biệt tại 1 chỗ duy nhất. Tuy nhiên, trong bảng 3.3 có thể thấy có thêm 2 vị trí C-22 và C-23 có sự khác biệt cũng tương đối lớn. Cần luận giải sự khác biệt hoặc chứng minh sự khác biệt. Cần xem lại các giá trị J.

- Hợp chất LD4 cần vẽ đầy đủ lập thể tại H22 (hình 3.14). Cần xem lại các giá trị J (bảng 3.4)

- Hợp chất LD5, bảng 3.5 thừa tín hiệu H-24 (vị trí này không có proton), xem lại các giá trị J.

- Hợp chất LD6, LD8, LD10, LD11, LD12, LD14, LD15 xem lại các giá trị J (bảng 3.6, 3.8,...).

- LD11, độ chuyển dịch hóa học của C7, C8, C9 chưa chính xác (bảng 3.11)

- Hợp chất LD12, nên so sánh độ quay cực riêng với TLTK để xác định cấu hình tuyệt đối.

- Phần 3.1.2.8, khi biện giải cấu trúc LD15, so sánh với LD14 chỉ ra có 1 sự khác biệt duy nhất tại C-16, tuy nhiên 2 hợp chất này khác nhau cả nổi đôi tại C-20/C-22. Vì vậy cần biện giải lại chất này (trang 86). Bảng 3.15, bổ sung độ chuyển dịch hóa học của H-20 và H-22.

- Hình 3.40, vẽ đầy đủ lập thể của các trung tâm bất đối. Cấu trúc của hợp chất LD15 cần vẽ lại cho chính xác.

- Nhiều chất còn biện giải sơ xài. Nên biện giải kỹ hơn.

-Luận án còn một vài lỗi in ấn, văn phong.

**7. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ quy định tại Điều 20 Quy chế; luận án có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Tiến sĩ hay không**

Các kết quả trong luận án cho thấy đây là một luận án có khối lượng công việc lớn, chất lượng tốt và có mục tiêu rõ ràng, tốt, có nhiều đóng góp mới cho khoa học. Tác giả đã công bố được 4 công trình trên các tạp chí Khoa học quốc tế có uy tín, trong đó có 3 bài thuộc danh mục SCIE Q2 và 1 bài thuộc danh mục ESCI (tại thời điểm công bố) là Vietnam Journal of Chemistry. Các bài báo phản ánh nội dung cơ bản của luận án, có chất lượng tốt, có giá trị tham khảo cao. Bốn bài báo đăng trên tạp chí đã khẳng định giá trị khoa học cao của luận án. Vì thế, Luận án của NCS đáp ứng được yêu cầu nội dung của một bản Luận án Tiến sĩ về Hoá học hữu cơ (về nội dung chuyên ngành và mã số chuyên ngành) theo qui định tại Điều 30 của Quy chế 10/2009 và sửa đổi tại Thông tư 05/2012/TT-BGDĐT. Do vậy, tôi **đồng ý** cho NCS được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để NCS nhận học vị tiến sĩ.

*Hà nội, ngày 10 tháng 07 năm 2024*

**Người viết nhận xét**



**PGS. TS. Lê Thị Huyền**

## BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiola*

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

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

2: TS. Bùi Quang Minh

Người nhận xét/ Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

Cơ quan công tác: Trường Đại học Giao thông vận tải

### NỘI DUNG NHẬN XÉT:

#### - Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

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

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

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

Trong phạm vi tra cứu của bản thân thì nội dung của Luận án không trùng lặp với các công trình đã công bố trong và ngoài nước.

Nghiên cứu sinh đã thực hiện đầy đủ và trung thực việc trích dẫn các tài liệu tham khảo.

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

Nội dung đề tài nghiên cứu phù hợp với tên của luận án. Nội dung nghiên cứu tập trung về khảo sát, xác định thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các hợp chất được phân lập từ hai loài thực vật nên phù hợp với chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên (Mã số: 9.44.01.17).

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

Luận án đã sử dụng nhiều phương pháp hiện đại trong quá trình tách chiết như các phương pháp sắc ký cột, sắc ký bản mỏng... Các phương pháp hoá lý (HR-ESI-MS, 1D-NMR, 2D-NMR, CD, và phổ CD tính toán theo phương pháp TDDFT sử dụng phần mềm Gaussian 09...) để xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất.

Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase bằng mô hình *in vitro* của các hợp chất phân lập được

Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong luận án đều là các phương pháp hiện đại mà thế giới và Việt Nam đang dùng. Các số liệu thực nghiệm trong luận án chính xác, khoa học và có độ tin cậy cao.

- Kết quả nghiên cứu mới của tác giả.

Lần đầu tiên phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là vernonioside K (LD1), vernonioside N (LD2), vernonioside M (LD3), vernonioside O (LD4), vernonioside L (LD5), vernonioside P (LD6), vernonioside Q (LD7) và 07 hợp chất mới từ loài *V. gratioisa* (VG1 - VG7) là: vernogratioides A (VG1), vernogratioides B (VG2), vernogratioides C (VG3), vernogratioides R (VG4), vernogratioides S (VG5), vernoratioides A (VG6), vernoratioides B (VG7).

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

Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioisa*, đã tìm thấy các hợp chất VG5, VG13 và VG15 có tiềm năng trong ức chế enzym (XO) với  $IC_{50} = (6,26 \pm 0,60) - (47,65 \pm 3,44) \mu M$ ; so với đối chứng dương Allopurinol là:  $1.12 \pm 0,15 (\mu M)$ .

- Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án đã xác định được các thành phần hóa học của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa* ở Việt Nam, đã tiến hành đánh giá hoạt tính hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của các hợp chất sạch phân lập được.

Luận án có bố cục hợp lý. NCS viết rất có đọng, dễ hiểu, biện luận cấu trúc chất chặt chẽ, đã phân tích phổ đặc trưng của các hợp chất chính của 2 loài nghiên cứu, đây là những tín hiệu để nhận biết khung của hợp chất. Tuy nhiên NCS nên rà soát lại các lỗi in ấn như tên khoa học của loài nghiên cứu còn 1 số chưa in nghiêng,

- Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

NCS đều là tác giả chính của 04 công trình khoa học trên các tạp chí quốc tế: trong đó 03 bài danh mục SCIE như: Natural Product Research, Journal of Microbiology Biotechnology, và 01 bài trong danh mục Scopus Vietnam Journal of Chemistry, đều là các tạp chí có uy tín, điều đó khẳng định thêm chất lượng của Luận án.

Nội dung của các công trình này phản ánh được các kết quả chủ yếu của luận án.

- Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không; luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không.

Đây là một luận án có mục đích rõ ràng, nội dung nghiên cứu đáp ứng tốt các mục tiêu đề ra, khối lượng công việc lớn, kết quả thu được có độ tin cậy khoa học cao và có nhiều đóng góp mới.

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên.

Tôi đồng ý cho NCS được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện.

Hà Nội, Ngày 15 tháng 07 năm 2024

Người nhận xét



PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

## BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài luận án: "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*".

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

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

2: TS. Bùi Quang Minh

Người nhận xét/Người phản biện: PGS.TS. Vũ Kim Thư

Cơ quan công tác: Trường Đại học Mở - Địa chất

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Hiện nay tỷ lệ mắc bệnh liên quan đến chuyển hóa có xu hướng ra tăng nhanh, điển hình là bệnh tiểu đường và bệnh gút. Sự gia tăng nhanh chóng 2 bệnh trên trở thành gánh nặng cho toàn xã hội. Do vậy, việc nghiên cứu phát triển các thuốc mới có nguồn gốc từ thực vật trong điều trị bệnh tiểu đường và bệnh gút đang là một xu hướng thu hút các nhà khoa học tập trung nghiên cứu.

Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae) có khoảng 1000 loài, chúng phân bố chủ yếu ở các nước thuộc Nam Mỹ, Bắc Mỹ, Châu Phi và Đông Nam Á. Theo Từ điển cây thuốc Việt Nam thì ở Việt Nam có 16 loài thuộc chi *Vernonia* được dùng làm thuốc chữa các bệnh như kiết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rắn cắn, bỏng lửa,...

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

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

Luận án có nội dung không trùng lặp với các công trình đã công bố trong và ngoài nước. Luận án đã sử dụng 69 TLTK, cập nhật đến năm 2023. TLTK được trích dẫn trung thực, đầy đủ, rõ ràng theo đúng format quy định.

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

Nội dung của luận án là trình bày kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* (lá đắng) và *Vernonia gratioisa* (bạch đầu thôn) do đó hoàn toàn phù hợp với tên của luận án. Nội dung nghiên cứu này phù hợp với chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên, mã số 9 44 01 17.

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

Luận án đã sử dụng các phương pháp thường quy và hiện đại trong quá trình tách chiết (sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký lớp mỏng điều chế và sắc ký cột (CC) và xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất (HR-ESI-MS, 1D-NMR, 2D-NMR, độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$  ...), phổ ECD và phương pháp thủy phân xác định đường so sánh với đường chuẩn.

Phương pháp xác định hoạt tính sinh học bao gồm: hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và đánh giá hoạt tính ức chế enzym xanthine oxidase được thực hiện tại Viện Công nghệ sinh học, VAST.

**5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả.**

- Lần đầu tiên phân lập được 07 hợp chất mới từ loài *V. amygdalina* (LD1-LD7) được đặt tên là vernonioside K (LD1), vernonioside N (LD2), vernonioside M (LD3), vernonioside O (LD4), vernonioside L (LD5), vernonioside P (LD6), vernonioside Q (LD7) và 07 hợp chất mới từ loài *V. gratioisa* (VG1 – VG7) là vernogratioides A (VG1), vernogratioides B (VG2), vernogratioides C (VG3), vernogratioides R (VG4), vernogratioides S (VG5), vernoratioides A (VG6), vernoratioides B (VG7).

- Lần đầu tiên đánh giá tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được từ hai loài *V. amygdalina* và *V. gratioisa*. Kết quả đã phát hiện được các hợp chất LD1, LD5, LD14, LD12, LD15 phân lập từ loài *V. amygdalina* ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase rất mạnh với giá trị  $IC_{50}$  từ  $7,42 \pm 0,95 \mu\text{M}$  đến  $78,56 \pm 7,28 \mu\text{M}$  (so với đối chứng dương Acarbose  $127,53 \pm 1,73 \mu\text{M}$ ). Bên cạnh đó, hợp chất VG15 phân lập từ loài *V. gratioisa* cũng ức chế mạnh hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là  $47,08 \pm 3,98 \mu\text{M}$ , trong khi đó hợp chất VG5 và VG13 chỉ thể hiện tác dụng ức chế yếu đối với enzyme này với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $424,79 \pm 37,83 \mu\text{M}$  và  $477,52 \pm 20,84 \mu\text{M}$  so với đối chứng dương Acarbose  $146,64 \pm 8,85 \mu\text{M}$ .

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

#### 6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Nội dung luận án được trình bày trong 148 trang (gồm Mở đầu, 03 Chương, Kết luận, Kiến nghị, Những đóng góp mới của luận án, Danh mục các công trình đã công bố, Tài liệu tham khảo) và 131 trang phụ lục. Luận án có bố cục hợp lý, rõ ràng, các phổ NMR đầy đủ, rõ nét.

#### Một số góp ý:

- Sửa lỗi trình bày thống nhất trong toàn luận án: tên dung môi viết theo tiếng Anh, dùng dấu phẩy khi viết các số có phần thập phân, xem lại cách dùng dấu chấm phẩy (;), mở đóng ngoặc đơn (...), cách trình bày, thống kê cho hợp lý.
- Phần mục lục rà lại đủ thứ tự các mục, in đậm kí hiệu của các chất trong toàn luận án. Bỏ lỗi lặp ở danh mục hình (hình 1.1 – 1.6).
- Phần tổng quan nên làm rõ nghĩa hơn về ý nghĩa của 2 phép thử hoạt tính sinh học.
- Các bảng số liệu phổ bổ sung tiêu đề "... và hợp chất tham khảo" kèm trích dẫn TLTK (nếu có) phía dưới bảng. Một số tín hiệu  $J$  của các proton cạnh nhau cần có hằng số  $J$  hiệu chỉnh như nhau.
- Kiểm tra và thống nhất trạng thái, CTPT, KTLP, CTCT của phần 2.5 với phần thảo luận, phụ lục: LD17, VG4, VG5, VG8, VG11, VG14.

#### 7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Kết quả của luận án đã được NCS đăng tải trên 03 bài báo khoa học quốc tế chuyên ngành uy tín SCIE (2 bài Natural Product research, IF-2.488 và 1 bài Journal of Microbiology Biotechnology, IF-3.27) và 01 bài báo Tạp chí hóa học thuộc danh mục Scopus (*Vietnam Journal of Chemistry*, IF-0.74). Nội dung của các bài báo này đều phản ánh các kết quả chính của luận án. 04 bài báo khoa học trên các tạp chí chuyên ngành uy tín này minh chứng kết quả nghiên cứu của luận án đã được kiểm định và khẳng định chất lượng của luận án.

#### 8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không; luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không.

Đây là một luận án có nội dung nghiên cứu tốt. Kết quả đã đạt 4 bài báo khoa học chuyên ngành uy tín, có nhiều đóng góp mới cho chuyên ngành hóa học các hợp chất thiên



nhiên và là cơ sở khoa học cho những nghiên cứu sâu hơn theo hướng ứng dụng tạo sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên để chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một Luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Luận án hoàn toàn xứng đáng được đưa ra bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện nhận học vị Tiến sĩ hóa học cho NCS Phạm Văn Công.

Hà Nội, ngày 11 tháng 07 năm 2024

Người nhận xét



PGS.TS. Vũ Kim Thư

## BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

**Tên đề tài luận án:** “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*”.

**Chuyên ngành:** Hóa học các hợp chất thiên nhiên

**Mã số:** 9.44.01.17

**Nghiên cứu sinh:** Phạm Văn Công

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

2. TS. Bùi Quang Minh

**Người nhận xét:** PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

**Cơ quan công tác:** Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Việc tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính sinh học để phát triển thành các sản phẩm chăm sóc sức khoẻ và chữa bệnh từ các loài dược liệu là xu hướng được quan tâm ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Bệnh tiểu đường và bệnh gút là các căn bệnh chuyển hoá đang ngày càng trở nên phổ biến và ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khoẻ cũng như chất lượng cuộc sống. Một số thuốc hiện đang được dùng để điều trị hai căn bệnh này gần đây được báo cáo gây ra một số tác dụng phụ không mong muốn. Trong khi đó, loài dược liệu *Vernonia amygdalina* được dùng trong y học cổ truyền để chữa bệnh gút và một số nghiên cứu bước đầu đã cho thấy có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* và giảm hàm lượng đường trong máu ở mô hình *in vivo*. Đối với loài *Vernonia gratioisa*, cho đến nay chưa thấy công bố nào về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của loài này.

Đề tài luận án: “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*” đã thực hiện việc nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa* thu hái ở Việt Nam, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 34 hợp chất, trong đó có 14 chất mới, có một số chất thể hiện có hoạt tính tiềm năng, tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu sau về hai loài dược liệu này. Kết quả đề tài có nhiều đóng góp mới, có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

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

Luận án nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa* thu hái ở Việt Nam. Kết quả thu được có nhiều tính mới và không trùng lặp với các đồ án, luận văn, luận án hay công trình khoa học khác đã công bố trong và ngoài nước.

- Luận án đã trích dẫn 69 tài liệu tham khảo công bố ở trong và ngoài nước, cập nhật đến năm 2024, đã cung cấp các thông tin khá đầy đủ đến các vấn đề liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu của đề tài.

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

Nội dung nghiên cứu của luận án hoàn toàn phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo Hoá học các hợp chất thiên nhiên (mã số 9.44.01.17).

**4. Độ tin cậy và tính hiệu quả của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:**

Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hóa học và sinh học như: các phương pháp chiết lỏng-rắn, lỏng-lỏng để xử lý và chiết mẫu dược liệu; phương pháp sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột trên các chất hấp phụ khác nhau (silica gel pha thường, silica gel pha đảo, sephadex, diaion); các phương pháp phổ IR, UV-Vis, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ), hai chiều (HSQC, HMBC, COSY, NOESY, ROESY), phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ ECD và kết hợp đo độ quay cực để xác định cấu trúc hoá học các hợp chất phân lập được; phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase để đánh giá khả năng ức chế bệnh tiểu đường và bệnh gút của các chất phân lập được. Đây đều là các phương pháp hiện đại, cập nhật và phù hợp với nội dung nghiên cứu. Do đó, kết quả thu được là tin cậy.

**5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả:**

Luận án đã thu được kết quả rất xuất sắc, có nhiều đóng góp mới có giá trị, đã góp phần làm sáng tỏ về thành phần hoá học và khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa* thu hái ở Việt Nam.

Các kết quả thu được như sau:

- Từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia amygdalina*, đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 17 hợp chất (ký hiệu từ LD1 đến LD17), trong đó có 07 chất mới (được đặt tên là vernonioside K, N, M, O, L, P, Q) và 04 chất lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên.

- Từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia gratioiosa*, đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 17 hợp chất (ký hiệu từ VG1 đến VG17), trong đó có 07 chất mới (được đặt tên là vernogratioides A, B, C, R, S và vernoratioides A, B).

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số chất có hoạt tính tốt khi so sánh với chất đối chứng dương Acarbose.

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxydase của các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số chất có hoạt tính tốt khi so sánh với chất đối chứng dương Allopurinol.

**Như vậy, kết quả của luận án có nhiều tính mới, cụ thể như sau:**

- Đây là lần đầu tiên loài *Vernonia gratioisa* thu hái ở Hướng Hoá, Quảng Trị, Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 7 chất mới (vernonioside K, N, M, O, L, P, Q) từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia amygdalina*.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 7 chất mới (vernogratioides A, B, C, R, S và vernoratioides A, B) từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia gratioisa*.

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase của các hợp chất phân lập được.

#### **6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:**

Luận án có nội dung nghiên cứu phong phú, cả về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học, kết quả nhiều, có nhiều đóng góp mới có giá trị, có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn. Kết cấu và hình thức của luận án hợp lý, bảng biểu và các hình vẽ cấu trúc hoá học của các hợp chất được trình bày rõ ràng. Hình phổ minh họa cho các hợp chất mới được đưa vào luận án hợp lý, đầy đủ; hình phổ của các chất đã biết được đưa vào phần phụ lục.

Một số góp ý nhỏ:

- Nếu có thể thì phần Tổng quan nên bổ sung thêm một chút thông tin về enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase và bệnh tiểu đường, bệnh gút.

- Ở một số bảng dữ liệu phổ của chất phân lập được và của chất tham khảo (ví dụ Bảng 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, ...) có sự chênh lệch khá lớn về các giá trị độ chuyển dịch hoá học ở các vị trí tương ứng, nên xem xét lại cho chính xác.

- Trang 56 (dòng 2↑): sửa " $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OO}$ " thành " $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO}$ ".

- Trang 61 (dòng 3↓): sửa " $29\text{-OCH}_3$ " thành " $28\text{-OCH}_3$ ".

- Trang 69 (dòng 18↑): sửa " $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{Cl}$ " thành " $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{Cl}$ ".

- Xem lại số liệu phổ NMR của các chất LD6 và LD7 ở Bảng 3.6 (trang 70) và Bảng 3.7 (trang 75) chưa thống nhất. Hai bảng này có giá trị tương đương nhau vì cùng đưa ra các giá trị phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hai chất LD6 và LD7, vậy nên chỉ cần sử dụng một Bảng 3.6, còn Bảng 3.7 lặp lại nên không cần thiết có thể bỏ.

- Trang 94 (dòng 3↓): sửa "trong đó bao gồm 07 hợp chất được báo cáo lần đầu tiên (VG1-VG7)" thành "trong đó bao gồm 07 hợp chất mới (VG1-VG7)".

- Phần "Những đóng góp mới của luận án" (trang 141), nên xem xét bổ sung thêm một nội dung mới nữa là "Lần đầu tiên loài *Vernonia gratiosa* thu hái ở Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học".

- Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: ví dụ ở các trang 2, 38, 54, 60, ...

**7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố:**

Các kết quả của luận án đã được công bố trong 03 bài báo trên Tạp chí chuyên ngành quốc tế (02 bài trên tạp chí *Natural Product Research*, 01 bài trên tạp chí *Journal of Microbiology and Biotechnology*) và 01 bài báo trên Tạp chí chuyên ngành quốc gia thuộc danh mục ESCI (*Vietnam Journal of Chemistry*). Đây đều là các tạp chí chuyên ngành có uy tín trên quốc tế và trong nước, đều được phản biện rất chặt chẽ và đòi hỏi kết quả phải có tính mới, có giá trị khoa học cao. Điều này đã minh chứng cho tính mới và ý nghĩa khoa học, cũng như độ tin cậy của kết quả nghiên cứu của luận án.

**8. Kết luận chung:**

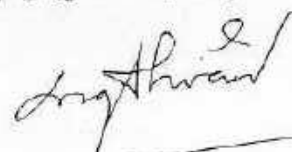
Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên, với nhiều kết quả phong phú, có nhiều đóng góp mới có giá trị trong lĩnh vực Hóa học các hợp chất thiên nhiên nói riêng và Hóa Hữu cơ nói chung. Bản Tóm tắt luận án phản ánh đúng các nội dung chính của luận án.

Tôi đánh giá xuất sắc các kết quả đạt được của luận án và đề nghị Hội đồng cho phép NCS. Phạm Văn Công được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ Hóa học.

Hà Nội, ngày 10 tháng 07 năm 2024

Người nhận xét

(Ký, ghi rõ họ tên)



PGS.TS Nguyễn Thị Hồng Vân

## BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*"

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Tên nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

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

2) TS. Bùi Quang Minh

Người nhận xét: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Cơ quan công tác của người nhận xét: Học viện Khoa học và Công nghệ

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Chi *Vernonia* là một chi lớn thuộc họ Cúc (Asteraceae) với khoảng 1000 loài, trong đó nhiều loài được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh như kiết lỵ, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, tiểu đường, viêm...

Các nghiên cứu về thành phần hóa học của một số loài thuộc chi này cho thấy có khoảng 350 hợp chất được thông báo thuộc các lớp chất như sesquiterpene, stigmasteroid, flavonoid, terpenoid, phenolic... Các hợp chất và cao chiết từ các loài thuộc chi *Vernonia* thể hiện tác dụng kháng viêm, chống tiểu đường, gây độc tế bào ung thư, chống sốt rét và kháng vi sinh vật kiểm định. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về chi *Vernonia* còn khá hạn chế và chưa toàn diện, đặc biệt là loài *V. graticosa* chưa có nghiên cứu ở cả Việt Nam và thế giới. Do đó, đề tài nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa* *Vernonia* góp phần làm sáng tỏ công dụng trong dân gian của 2 loài này, cung cấp cơ sở dữ liệu để phát triển nguồn dược liệu Việt Nam có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

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

Kết quả của luận án không trùng lặp với các công bố trong và ngoài nước.

Kết quả của Luận án đã đăng được 03 bài trên tạp chí SCIE (02 bài thuộc tạp chí Natural Product Research, 01 bài thuộc tạp chí Journal of Microbiology and Biotechnology) và 01 bài thuộc danh mục ESCI (Vietnam Journal of Chemistry).

Luận án có 69 tài liệu tham khảo, cập nhật đến năm 2024. Tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ. Tuy nhiên cần thống nhất cách ghi tên Tạp chí.

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

Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và mã số chuyên ngành đào tạo. Luận án có mục tiêu và các nội dung được trình bày hợp lý và bổ trợ cho nhau trong cách biện luận. Các số liệu minh chứng rõ ràng, đầy đủ được bố trí để tra cứu và theo dõi.

**4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để nghiên cứu**  
Các phương pháp nghiên cứu sử dụng trong luận án bao gồm:

Các phương pháp sắc ký (sắc ký lớp mỏng, sắc ký lớp mỏng điều chế và sắc ký cột).

Các phương pháp để xác định cấu trúc: Phổ khối (ESI-MS), phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều (1D-, 2D-NMR).

Phương pháp nghiên cứu hoạt tính sinh học đánh giá tác dụng ức chế enzyme enzyme alpha-glucosidase và xanthine oxidase trên mô *in vitro*.

Đây đều là phương pháp thường quy và hiện đại, được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu. Do đó các kết quả số liệu thu được là hợp lý, có độ tin cậy cao.

**5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy các kết quả đó.**

Luận án tập trung nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme alpha glucosidase và xanthine oxidase.

- Từ loài *V. amygdalina*, đã phân lập và xác định cấu trúc của 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là; (LD1-vernonioside K); (LD2-vernonioside N), (LD3-vernonioside M); (LD4-vernonioside O); (LD5-vernonioside L);

(LD6- vernonioside P); (LD7-vernonioside Q) và 10 hợp chất đã biết gồm hợp chất (LD8-(22R,23S,24R,28S)-28-methoxy-7,8,9,11-tetrahydro-3 $\beta$ -16 $\alpha$ ,21,24-tetrahydroxy-21,23:22,28-diepoxy-5 $\alpha$ -stigmastane); (LD9-vernoamyoside E); (LD10-vernonioside B2); (LD11-vernoniacum B); (LD12- (23S,24R,28S)-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -dihydroxy-7,8,9,11-tetrahydro-24,28-epoxy-5 $\alpha$ -stigmastane-21,23-carbolactone); (LD13 vernonioside B<sub>1</sub>); (LD14: Veramyoside G); (LD15-veramyoside J); (LD16-vernoamyoside A); (LD17-  $\alpha$ -spinasterol).

- Từ loài *V. gratiosa*, đã phân lập và xác định cấu trúc của 17 hợp chất trong đó gồm 7 hợp chất mới (VG1 – VG7) được đặt tên là: vernogratioides A (VG1); vernogratioides B (VG2); vernogratioides C (VG3); vernogratioides R (VG4); vernogratioides S (VG5); vernoratioides A (VG6); vernoratioides B (VG7); và 10 hợp chất cũ bao gồm: VE1 (VG8); vernoniacum B (VG9); kaempferol (VG10); quercetin 3-*O*-methyl ether (VG11); quercetin (VG12); apigenin (VG13); syringaresinol- $\beta$ -*D*-glucoside (VG14); 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(*E*)-propenyl)-2,6-dimethoxyphenoxy]propyl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (VG15); 11 $\beta$ ,13-dihydrovernonolide (VG16); 5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde (VG17).

Đã đánh giá được tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất:

- Các hợp chất LD1, LD5, LD14, LD12, LD15 thể hiện được khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase hiệu quả với IC<sub>50</sub> từ (7,42  $\pm$  0,95  $\mu$ M đến 78,56  $\pm$  7,28  $\mu$ M) so với đối chứng dương (Acarbose 127,53  $\pm$  1,73  $\mu$ M). Trong khi đó, các hợp chất VG5, VG13 và VG15 thể hiện khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase với giá trị IC<sub>50</sub> là (47,08  $\pm$  3,98  $\mu$ M và 477,52  $\pm$  20,84  $\mu$ M) so với đối chứng dương Acarbose (146,64  $\pm$  8,85  $\mu$ M).

- Các hợp chất VG5, VG13 và VG15 cho thấy khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase với (IC<sub>50</sub> = 6,26  $\pm$  0,60 – 47,65  $\pm$  3,44  $\mu$ M); so với đối chứng dương Allopurinol là: (47,65  $\pm$  3,44; 26,92  $\pm$  1,04  $\mu$ M).

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

- Luận án được trình bày đẹp, rõ ràng.
- Một số lỗi in ấn cần được rà soát lại.
- NCS nên thống nhất viết tên đầy đủ tạp chí hoặc viết tắt. Ví dụ hình trang 44.
- Bổ sung khối lượng các phần đoạn trong hình 2.3 và 2.4.
- Sửa nhóm acetyl trang 54 thành acetoxy.

Với Bảng có số liệu của hợp chất tham khảo thì tiêu đề nên bổ sung thêm "... và hợp chất tham khảo".

- Bổ sung Phụ lục Danh mục công trình công bố.



7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình công bố

NCS đã công bố được 4 bài báo quốc tế:

02 bài đăng trên tạp chí Natural Product Research (SCIE).

01 bài đăng trên tạp chí Journal of Microbiology and Biotechnology (SCIE).

01 bài đăng trên tạp chí Vietnam Journal of Chemistry (ESCI).

Các công trình trên phản ánh đúng kết quả nghiên cứu và khẳng định được tính mới, độ tin cậy của các kết quả nghiên cứu của luận án.

**8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ quy định tại Điều 20 Quy chế; luận án có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Tiến sĩ hay không**

Từ những cơ sở trên, tôi thấy đây là một luận án có mục đích rõ ràng, nội dung nghiên cứu tốt, kết quả thu được có độ tin cậy khoa học cao và có nhiều đóng góp mới, đặc biệt cung 14 hợp chất mới từ 2 loài nghiên cứu.

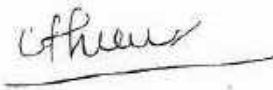
Bản tóm tắt đưa ra một cách ngắn gọn nhưng đầy đủ, rõ ràng và phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Luận án của NCS. Phạm Văn Công đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Tôi đề nghị cho NCS. Phạm Văn Công được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

Hà Nội, ngày 12 tháng 07 năm 2024

**NGƯỜI NHẬN XÉT**



**PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm**

## BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9 44 01 17

Nghiên cứu sinh: Phạm Văn Công

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

2: TS. Bùi Quang Minh

Người nhận xét/ Người phản biện: TS. Tô Đạo Cường

Cơ quan công tác: Trường Đại học Phenikaa

Nội dung nhận xét:

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

Chi *Vernonia* được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian và y học cổ truyền để chữa các bệnh kết lỵ, sốt, sốt rét, viêm gan, đau dạ dày, chàm, rần cấn, bỏng, v/v. Thành phần hóa học của chi này chủ yếu chứa các hợp chất sesquiterpene, steroid, triterpenoid, flavonoid và phenolic. Hoạt tính sinh học của chi *Vernonia* bao gồm tác dụng kháng viêm, chống tiểu đường, chống ung thư, chống sốt rét và kháng vi sinh vật. Loài Lá đắng (*Vernonia amygdalina*) đã có một số nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học nhưng kết quả thu được là ít và chưa đánh giá hết được tiềm năng của loài dược liệu này trong nghiên cứu khoa học cũng như sử dụng trong thực tiễn. Trong khi đó, loài Bạch đầu thuôn (*Vernonia gratioisa*) lại chưa có bất kì nghiên cứu nào về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của nó. Do đó, hoá thực vật và hoạt tính sinh học của 02 loài này cần được tiếp tục nghiên cứu sâu hơn và rộng hơn, nhằm đóng góp vào kiến thức hóa học các hợp chất thiên nhiên, đồng thời kiểm chứng, làm rõ các công dụng cây thuốc cũng như tìm kiếm các hợp chất mới có hoạt tính sinh học từ 02 loài này. Vì vậy, thực hiện đề tài "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*" là rất cần thiết, vừa có ý nghĩa khoa học và vừa có ý nghĩa thực tiễn.

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

Nội dung và kết quả của luận án không trùng lặp với các công trình đã công bố trước đây ở trong nước và nước ngoài. Các kết quả nghiên cứu được tác giả phân tích rõ ràng và đầy đủ thể hiện tính trung thực của nghiên cứu. Các tài liệu trích dẫn được cập nhật đến năm 2023, đầy đủ và rõ ràng và liên quan đến các nội dung nghiên cứu của luận án.

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

Các mục tiêu và nội dung nghiên cứu của đề tài gồm: Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học và thăm dò hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được là hoàn toàn phù hợp với mã số và chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên.

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

Các phương pháp phân lập và xác định cấu trúc hóa học cũng như phương pháp đánh giá tác dụng sinh học tiến hành theo phương pháp thường quy kết hợp với các phương pháp nghiên cứu hiện đại mà trên thế giới đang sử dụng. Vì vậy, các phương pháp nghiên cứu là phù hợp, hiện đại và có độ tin cậy cao.

#### 5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả.

- Từ loài *V. amygdalina*, nghiên cứu sinh (NCS) đã phân lập được 7 hợp chất mới (LD1-LD7) được đặt tên là: (LD1-vernonioside K); (LD2-vernonioside N), (LD3-vernonioside M); (LD4-vernonioside O); (LD5-vernonioside L); (LD6-vernonioside P); (LD7-vernonioside Q).

- Từ loài *V. gratiosa*, NCS cũng đã phân lập được 7 hợp chất mới (VG1 – VG7) được đặt tên là: vernogratioides A (VG1); vernogratioides B (VG2); vernogratioides C (VG3); vernogratioides R (VG4); vernogratioides S (VG5); vernoratioides A (VG6); vernoratioides B (VG7).

- Các hợp chất phân lập được từ 02 loài này lần đầu tiên được đánh giá tác dụng chống tiểu đường và điều trị Gout thông qua ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase. Kết quả cho thấy các hợp chất LD1, LD5, LD14, LD12, LD15, phân lập từ loài *V. amygdalina* thể hiện được khả năng ức chế mạnh enzym  $\alpha$ -glucosidase với  $IC_{50}$  từ  $7,42 \pm 0,95 \mu M$  đến  $78,56 \pm 7,28 \mu M$  so với đối chứng dương (Acarbose  $127,53 \pm 1,73 \mu M$ ). Trong khi đó, hợp chất VG5 phân lập từ loài *V. gratiosa* cũng cho thấy khả năng ức chế mạnh enzym  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50} = 47,08 \pm 3,98 \mu M$  so với đối chứng dương Acarbose ( $146,64 \pm 8,85 \mu M$ ).

- Các hợp chất VG5, VG13 và VG15 cho thấy khả năng ức chế trung bình đến yếu enzym xanthine oxidase với  $IC_{50}$  từ  $6,26 \pm 0,60$  đến  $47,65 \pm 3,44 \mu M$ ; so với đối chứng dương Allopurinol là:  $1,12 \pm 0,15 (\mu M)$ .

#### 6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

##### 6.1. Ưu điểm:

Nội dung nghiên cứu của luận án là đầy đủ và chi tiết. Kết cấu luận án sắp xếp phù hợp, rất logic và khoa học. Hình thức luận án trình bày sạch sẽ và hầu như không có lỗi chính tả.

##### 6.2. Nhược điểm:

- Tổng quan:
  - + Bổ sung ngắn gọn tổng quan về enzym  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase để làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu đánh giá các hoạt tính sinh học sau này.
  - Phương pháp nghiên cứu:
    - + Mục 2.1.1 và 2.1.2: NCS nên bổ sung địa điểm thu hái mẫu bao gồm kinh độ và vĩ độ.
    - + Mục 2.2.2 (thiết bị nghiên cứu): NCS bổ sung tên cơ quan quản lý các thiết bị này.
    - + NCS bổ sung mục Phương pháp xử lý số liệu.
    - + Mục 2.5.1 và 2.5.2: NCS nên bổ sung điểm nóng chảy m.p, alpha D, UV và IR cho các hợp chất mới (nếu có thể).
  - Kết quả và thảo luận:
    - + NCS nên kiểm tra lại các dữ liệu phổ NMR của tất cả các hợp chất ở phần biện luận cấu trúc sao cho trùng khớp với các dữ liệu phổ ở các bảng biểu cũng như hình phổ của các hợp chất tương ứng trong phần Phụ lục.
    - + Kết quả hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase là tốt, tuy nhiên NCS nên bổ sung phần thảo luận so sánh hoạt tính ức chế 02 enzym của 20 hợp chất cũ với các công bố trước đây (nếu có).

### 6.3. Câu hỏi

+ Cơ sở khoa học nào mà NCS lại đánh giá hoạt tính hoạt tính ức chế enzym và xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được?

+ Cơ sở khoa học nào mà NCS xác định đơn vị đường trong các hợp chất phân lập được là đường glucose?

**7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỳ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.**

Nội dung luận án đã được công bố trong 04 công trình trên các tạp chí chuyên ngành trong và ngoài nước. Trong đó có 03 công trình thuộc danh mục ISI và 01 công trình đăng trên tạp chí uy tín Quốc gia. Các công trình khoa học đều có giá trị khoa học cao, đã phản ánh đúng nội dung và chất lượng của luận án.

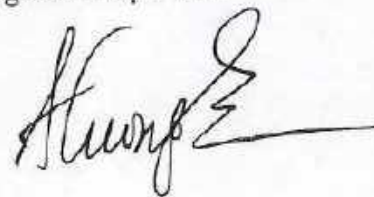
**8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không; luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không.**

Luận án đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ quy định tại Điều 30 của Quy chế. Kết quả luận án là trung thực, công trình nghiên cứu có ý nghĩa khoa học với khối lượng công việc lớn, hoàn thành được các mục tiêu nghiên cứu đặt ra, có các kết quả nghiên cứu mới đóng góp cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành. Các kết quả nghiên cứu của luận án được công bố trên các tạp chí quốc tế và quốc gia có uy tín.

Từ các kết quả nghiên cứu đạt được, luận án đạt yêu cầu và có thể đưa ra bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học viện.

Hà Nội, Ngày 10 tháng 07 năm 2024

Người nhận xét



TS. Tô Đạo Cường

Hà Nội, ngày 09 tháng 8 năm 2024

**QUYẾT NGHỊ**  
**CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

**I. THÔNG TIN CHUNG**

Họ và tên NCS: Phạm Văn Công  
Tên đề tài luận án: “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa*”.  
Chuyên ngành: Hoá học các hợp chất thiên nhiên  
Mã số: 9.44.01.17  
Người hướng dẫn: 1. PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh  
2. TS. Bùi Quang Minh  
Thời gian bảo vệ: Từ 9h00 đến 12h00 ngày 09 tháng 8 năm 2024.  
Địa điểm bảo vệ: Phòng họp 1705, Tòa nhà Ươm tạo Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

**II. QUYẾT NGHỊ CỦA HỘI ĐỒNG CHẤM LUẬN ÁN:**

Sau khi thảo luận và thống nhất ý kiến, Hội đồng đã nhất trí những nội dung quyết nghị sau đây về luận án:

**1. Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án:**

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá “**Tán thành**” cho NCS. Phạm Văn Công được nhận học vị Tiến sĩ Hóa học.
- 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức “**Xuất sắc**”.

**2. Những kết luận khoa học cơ bản, những đóng góp mới của luận án:**

Luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn, kết quả phong phú, có đóng góp mới.

**- Luận án thu được những kết quả chính như sau:**

- + Từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia amygdalina*, đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 17 hợp chất (ký hiệu từ **LD1** đến **LD17**), trong đó có 07 chất mới và 04 chất lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên.
- + Từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia gratioisa*, đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 17 hợp chất (ký hiệu từ **VG1** đến **VG17**), trong đó có 07 chất mới.
- + Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số chất có hoạt tính tốt khi so sánh với chất đối chứng dương Acarbose.
- + Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxydase của các hợp chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số chất có hoạt tính tốt khi so sánh với chất đối chứng dương Allopurinol.



**- Một số đóng góp mới của luận án:**

- + Đây là lần đầu tiên loài *Vernonia gratioisa* thu hái ở Hương Hoá, Quảng Trị, Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase.
- + Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 7 chất mới từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia amygdalina*.
- + Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 7 chất mới từ phần trên mặt đất của loài *Vernonia gratioisa*.
- + Đã đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase của các hợp chất phân lập được.

**3. Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án**

Các kết quả thu được của luận án là hoàn toàn trung thực và tin cậy.

**4. Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án:**

Các kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần đã góp phần làm sáng tỏ về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme xanthine oxydase của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa* ở Việt Nam, tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm ứng dụng các hoạt chất để phát triển thành các thực phẩm chức năng/thuốc có tác dụng phòng và hỗ trợ bệnh tiêu đường, bệnh gút, từ đó góp phần nâng cao giá trị kinh tế của hai loài dược liệu này ở Việt Nam.

**5. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án:**

Nghiên cứu sinh cần phải sửa chữa luận án theo góp ý của Hội đồng chấm luận án cấp Học viện trước khi nộp quyền cho Thư viện.

**6. Kiến nghị của Hội đồng:**

- Luận án đã hoàn toàn đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ.

- Hội đồng nhất trí đề nghị cho NCS. **Phạm Văn Công** được nhận học vị Tiến sĩ Hóa học.

**Thư ký Hội đồng**

**Chủ tịch Hội đồng**

**PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân**

**GS.TS. Nguyễn Văn Tuyển**

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO  
**KT. GIÁM ĐỐC**  
**PHÓ GIÁM ĐỐC**



**Nguyễn Thị Trung**

Hà Nội, ngày 09 tháng 8 năm 2024

## BIÊN BẢN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên NCS: Phạm Văn Công

Tên đề tài luận án: “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioiosa*”.

Chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Mã số: 9.44.01.17

Hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh  
2. TS. Bùi Quang Minh

Thời gian bảo vệ: Bắt đầu từ 9h00 ngày 09 tháng 8 năm 2024.

Địa điểm bảo vệ: Phòng họp 1705, Học Viện Khoa học và Công nghệ, nhà A28, tầng 17, Tòa nhà Ươm tạo Công nghệ, số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

### I. THÀNH PHẦN THAM DỰ

#### 1. Thành phần Hội đồng:

Hội đồng có mặt đủ 7/7 thành viên.

Danh sách Hội đồng có mặt như sau:

TT	Họ và tên, học hàm học vị	Đơn vị công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền	Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Chủ tịch
2	PGS.TS. Lê Thị Huyền	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Trường Đại học Giao thông vận tải, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4	PGS.TS. Vũ Kim Thư	Trường Đại học Mỏ địa chất, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 3
5	PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân	Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Ủy viên/Thư ký
6	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Ủy viên
7	TS. Tô Đạo Cường	Trường Đại học Phenikaa, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

## 2. Khách mời:

- TS. Nguyễn Phương Anh - Phó Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh - Phó Tổng Giám đốc Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hướng dẫn khoa học.

- TS. Bùi Quang Minh - Phó Tổng Giám đốc Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hướng dẫn khoa học.

- Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

- Các cán bộ và đồng nghiệp tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, cùng với gia đình và bạn bè của nghiên cứu sinh.

## II. NỘI DUNG BUỔI BẢO VỆ

1. Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, tuyên bố lý do, đọc Quyết định của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án Tiến sĩ cấp Học viện và mời GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

2. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

- Chủ tịch Hội đồng công bố thành phần Hội đồng có mặt đầy đủ 7/7 thành viên, Do đó, buổi họp đảm bảo điều kiện theo quy chế để Hội đồng có thể làm việc.

- Chủ tịch Hội đồng công bố chương trình làm việc và đề nghị Thư ký Hội đồng đọc lý lịch khoa học, quá trình học tập của Nghiên cứu sinh (NCS) cũng như các điều kiện để NCS được bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Học viện.

3. PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Ủy viên Thư ký, đọc lý lịch khoa học và các điều kiện đảm bảo NCS. Phạm Văn Công đã có đầy đủ điều kiện theo quy chế để luận án được đánh giá ở cấp Học viện.

4. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền - Chủ tịch Hội đồng, hỏi ý kiến Hội đồng (HĐ) và các khách tham dự có ai có ý kiến gì về lý lịch khoa học cũng như các điều kiện mà Thư ký Hội đồng vừa nêu. Không ai có ý kiến gì, chủ tịch Hội đồng đề nghị NCS trình bày kết quả luận án.

5. NCS. Phạm Văn Công trình bày luận án, bắt đầu lúc 9 giờ 15 phút và kết thúc hồi 9 giờ 45 phút.

Nội dung trình bày gồm 4 phần chính:

*Phần 1.* Đặt vấn đề, giới thiệu về đối tượng nghiên cứu, tính cấp thiết và mục tiêu nghiên cứu của luận án.

*Phần 2.* Phương pháp nghiên cứu và các kỹ thuật nghiên cứu đã sử dụng.

*Phần 3.* Các kết quả của luận án đã đạt được và thảo luận kết quả.

*Phần 4.* Kết luận và Kiến nghị.

6. Chủ tịch Hội đồng mời các GS phản biện nhận xét luận án.

7. PGS.TS. Lê Thị Huyền - Phản biện 1, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

\* Nhận xét: - Luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, cung cấp cơ sở khoa học vững chắc cho hướng ứng dụng khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratioisa* ở Việt Nam.

- Luận án có nội dung hoàn toàn phù hợp với mã số chuyên ngành.



- Nội dung và kết quả nghiên cứu là rõ ràng, đầy đủ và có giá trị tham khảo tốt.  
- Giữa tên đề tài và nội dung, giữa nội dung và chuyên ngành là hoàn toàn phù hợp.

- Các phương pháp nghiên cứu phù hợp với nội dung, đảm bảo tính hiện đại, cho độ tin cậy và tính đặc hiệu cao.

- Luận án nghiên cứu hai loài thuộc chi *Vernonia* với hai nội dung chính là nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase đối với cả hai loài. Kết quả luận án thu được nhiều, phong phú, có đóng góp mới, trong đó đáng chú ý là số lượng các hợp chất được phân lập và xác định cấu trúc hoá học là khá lớn, trong đó có 7 chất mới từ loài *Vernonia amygdalina* và 7 chất mới từ loài *Vernonia gratioisa*. Những đóng góp này là cơ sở khoa học tốt cho những nghiên cứu tiếp theo và có giá trị tham khảo.

- Luận án được thiết kế tốt, trình bày rõ ràng, bố cục hợp lý, các bảng biểu, hình vẽ được bố trí khoa học. Tài liệu tham khảo phong phú, cập nhật và được trích dẫn đầy đủ, chính xác.

- Đây là một công trình nghiên cứu rất hay và hoàn chỉnh, có khối lượng nghiên cứu lớn, thu được nhiều kết quả có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Đây là cơ sở dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo về hoá thực vật cũng như hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Vernonia*. Đặc biệt, đây là công trình nghiên cứu đầu tiên về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase.

- Kết quả luận án đã được công bố trên 4 công trình trên các tạp chí khoa học quốc tế uy tín, trong đó có 03 bài thuộc danh mục SCI-E Q2 và 01 bài thuộc danh mục ESCI (tại thời điểm công bố) là *Vietnam Journal of Chemistry*. Các bài báo phản ánh nội dung cơ bản của luận án, có chất lượng tốt, có giá trị tham khảo cao.

\* Góp ý: - NCS rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả, lỗi đánh máy trong luận án.

- Hoá lập thể của các hợp chất, đặc biệt là các hợp chất mới cần được vẽ đầy đủ trong cấu trúc (ví dụ Hình 3.1, cấu trúc LD1a thiếu lập thể của H-20). Bảng 3.1 (trang 56), cần bổ sung tín hiệu của nhóm 28-OCH<sub>3</sub>, nhóm CH<sub>3</sub>OO cần được sửa lại là CH<sub>3</sub>COO.

- Hợp chất LD2 trang 60, tương tác ROESY giữa H-18, H-20 chỉ ra lập thể của H-18, H-19 là beta, chưa chính xác. Nên biện luận đầy đủ, tương tác ROESY giữa H-18 và H-20/H-19 gợi ý lập thể của 3 proton này là beta. Xem lại tất cả các giá trị *J* trong bảng vì máy đo ở 600 MHz (hiện đang tính theo tần số máy 500 MHz). Trong phần biện giải cần làm rõ sự khác biệt về độ chuyển dịch hoá học của carbon tại vị trí 24 (khác biệt 7ppm).

- Hợp chất LD3 là chất mới nên cần biện giải cụ thể và kỹ hơn. Trong phần biện giải, khi so sánh với hợp chất LD2 thì chỉ ra sự khác biệt tại một chỗ duy nhất. Tuy nhiên, trong bảng 3.3 có thể thấy có thêm hai vị trí C-22 và C-23 có sự khác biệt tương đối lớn. Cần luận giải sự khác biệt hoặc chứng minh sự khác biệt. Cần xem lại các giá trị *J*.

- Hợp chất LD4 cần vẽ đầy đủ lập thể tại H-22 (hình 3.14). Cần xem lại các giá trị *J* (bảng 3.4).

- Hợp chất LD5, bảng 3.5 thừa tín hiệu H-24 (vị trí này không có carbon), xem lại các giá trị *J*.

- Hợp chất LD6, LD8, LD10, LD11, LD12, LD14, LD15, xem lại các giá trị *J* (bảng 3.6, 3.8...).

- LD11, độ chuyển dịch hoá học của C-7, C-8, C-9 chưa chính xác (bảng 3.11).

- Hợp chất LD12, nên so sánh độ quay cực riêng với tài liệu tham khảo để xác định cấu hình tuyệt đối.

- Phần 3.1.2.8, khi biện giải cấu trúc LD15, so sánh với LD14 chỉ ra có sự khác biệt duy nhất tại C-16, tuy nhiên hai hợp chất này khác nhau cả nối đôi tại C20/C-22. Vì vậy cần biện giải lại chất này (trang 86). Bảng 3.15, bổ sung độ chuyển dịch hoá học của H-20 và H-22.

- Hình 3.40, vẽ đầy đủ lập thể của các trung tâm bất đối, cấu trúc của hợp chất LD15 cần vẽ lại cho chính xác.

- Nhiều chất còn biện giải sơ sài, nên biện giải kỹ hơn.

- Luận án còn một vài lỗi in ấn, văn phong.

\* *Đánh giá chung*: Luận án có mục tiêu rõ ràng, có khối lượng công việc lớn, chất lượng tốt, có nhiều đóng góp mới cho khoa học. Luận án đã đáp ứng yêu cầu nội dung của một bản Luận án Tiến sĩ về Hoá học hữu cơ (về nội dung chuyên ngành và mã số chuyên ngành) theo quy định tại Điều 30 của Quy chế 10/2009 và sửa đổi tại Thông tư 05/2012/TT-BGDĐT. Đồng ý cho NCS. Phạm Văn Công được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

8. PGS.TS. Nguyễn Thị Mai - Phản biện 2, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

\* *Nhận xét*: - Đề tài luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, tạo cơ sở khoa học vững chắc cho định hướng ứng dụng, khai thác và phát triển bền vững nguồn dược liệu tiềm năng ở Việt Nam.

- Nội dung của luận án không trùng lặp với các công trình đã công bố trong và ngoài nước.

- Nội dung luận án phù hợp với tên luận án. Nội dung nghiên cứu tập trung về khảo sát, xác định thành phần hoá học và hoạt tính sinh học các hợp chất thiên nhiên phân lập được từ hai loài thực vật nên phù hợp với chuyên ngành Hoá học các hợp chất thiên nhiên (Mã số: 9.44.01.17).

- Việc trích dẫn tài liệu tham khảo là đầy đủ và trung thực.

- Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong luận án đều là các phương pháp hiện đại mà thế giới và Việt Nam đang dùng. Các số liệu thực nghiệm trong luận án là chính xác, khoa học và có độ tin cậy cao.

- Các kết quả của luận án phong phú, bao gồm kết quả về thành phần hoá học và kết quả về hoạt tính sinh học của hai loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiosa* ở Việt Nam.

- Luận án có bố cục hợp lý, cô đọng, dễ hiểu, đã phân tích phổ đặc trưng của các hợp chất chính của hai loài dược liệu nghiên cứu. Đây là những tín hiệu để nhận biết khung của hợp chất.

- Nghiên cứu sinh đều là tác giả đầu tiên của 04 công trình khoa học trên các tạp chí quốc tế, trong đó có 03 bài thuộc danh mục SCIE (*Natural Product Research, Journal of Microbiology Biotechnology*) và 01 bài trên tạp chí *Vietnam Journal of Chemistry* thuộc danh mục Scopus.

\* *Góp ý*: - Rà soát lại các lỗi in ấn như tên khoa học của loài nghiên cứu còn một số chỗ chưa in nghiêng.

- Rà soát lại một số hình vẽ cấu trúc hoá học của một số hợp chất.

- Nên nêu rõ ý nghĩa của hai phép thử hoạt tính kháng enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase.

\* *Đánh giá chung*: Đánh giá cao các kết quả đã đạt được của luận án. Luận án có mục tiêu rõ ràng, nội dung nghiên cứu đáp ứng tốt các mục tiêu đề ra, khối lượng công việc lớn, kết quả thu được có độ tin cậy khoa học cao và có nhiều đóng góp mới. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ Hoá học các hợp chất thiên nhiên. Đồng ý đề NCS. Phạm Văn Công đưa luận án ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

9. PGS.TS. Vũ Kim Thư - Phản biện 3, nhận xét (*có Bản nhận xét kèm theo*):

\* *Nhận xét*: - Luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn cao.

- Luận án có nội dung không trùng lặp với các công trình đã công bố ở trong và ngoài nước.

- Luận án đã sử dụng 69 tài liệu tham khảo, cập nhật đến năm 2023. Tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, đầy đủ, rõ ràng theo đúng quy định.

- Nội dung luận án trình bày kết quả nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* (Lá đắng) và *Vernonia gratioiosa* (Bạch đầu thuôn), do đó hoàn toàn phù hợp với tên luận án. Nội dung nghiên cứu này phù hợp với chuyên ngành Hoá học các hợp chất thiên nhiên, mã số 9.44.01.17.

- Luận án đã sử dụng các phương pháp thường quy và hiện đại trong quá trình tách chiết, xác định cấu trúc hoá học và xác định hoạt tính sinh học.

- Luận án có kết quả nhiều, trong đó có đóng góp mới.

- Luận án có bố cục hợp lý, rõ ràng, các phổ NMR đầy đủ, rõ nét.

- Kết quả của luận án đã được đăng tải trên 03 bài báo khoa học quốc tế chuyên ngành uy tín SCIE và 01 bài trên Tạp chí Hoá học thuộc danh mục Scopus. Nội dung của các bài báo này đều phản ánh kết quả chính của luận án, được công bố trên các tạp chí chuyên ngành uy tín, minh chứng kết quả của luận án đã được kiểm định và khẳng định chất lượng của luận án.

\* *Góp ý*: - Sửa lỗi trình bày thống nhất trong toàn luận án: tên dung môi viết theo tiếng Anh, dùng dấu phẩy khi viết các số có phần thập phân, xem lại cách dùng dấu chấm phẩy (;), mở đóng ngoặc đơn (...), cách trình bày, thống kê cho hợp lý.

- Phần mục lục rà lại đủ thứ tự các mục, in đậm ký hiệu của các chất trong toàn luận án. Bỏ lỗi lặp ở danh mục hình (Hình 1.1 – 1.6).

- Phần tổng quan nên làm rõ nghĩa hơn về ý nghĩa của hai phép thử hoạt tính sinh học.

- Các bảng số liệu phổ bổ sung tiêu đề "... và hợp chất tham khảo" kèm trích dẫn tài liệu tham khảo (nếu có) phía dưới bảng. Một số tín hiệu  $J$  của các proton cạnh nhau cần có hằng số  $J$  hiệp chính như nhau.

- Kiểm tra và thống nhất trạng thái, công thức phân tử, khối lượng phân tử, công thức cấu tạo của phần 2.5 với phần thảo luận, phụ lục: LD17, VG4, VG5, VG8, VG11, VG14.

\* *Đánh giá chung:* Đánh giá xuất sắc luận án. Đây là một luận án có nội dung nghiên cứu tốt, khối lượng công việc lớn, kết quả thu được nhiều, có độ tin cậy khoa học cao và có nhiều đóng góp mới. Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một Luận án tiến sĩ hoá học, chuyên ngành Hoá học các hợp chất thiên nhiên. Tóm tắt của luận án được trình bày bố cục gọn gàng, chặt chẽ, phản ánh trung thực luận án. Đồng ý đề NCS. Phạm Văn Công được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện đề nhận bằng Tiến sĩ.

10. PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Ủy viên Thư ký Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

Hoàn toàn nhất trí với đánh giá của ba thành viên phản biện, đánh giá cao các kết quả của luận án. Luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Kết quả luận án thu được nhiều, có đóng góp mới có giá trị trong lĩnh vực Hoá học các hợp chất thiên nhiên nói riêng và Hoá hữu cơ nói chung, không trùng lặp với công trình khoa học khác đã được công bố ở trong và ngoài nước. Phương pháp nghiên cứu và các kỹ thuật sử dụng đều là các phương pháp và kỹ thuật hiện đại, cập nhật, phù hợp với nội dung nghiên cứu, đảm bảo tính tin cậy của kết quả thu được. Điều này được thể hiện rõ qua các công bố của luận án: các kết quả của luận án đã được công bố trong 04 bài báo khoa học, trong đó có 03 bài trên tạp chí quốc tế SCI-E uy tín (02 bài trên tạp chí *Natural Product Research*, 01 bài trên tạp chí *Journal of Microbiology and Biotechnology*) và 01 bài trên tạp chí quốc gia uy tín (*Vietnam Journal of Chemistry*, giờ đã thuộc danh mục Scopus). Đây đều là các tạp chí khoa học uy tín trên thế giới và trong nước, đòi hỏi kết quả phải có tính mới và có ý nghĩa khoa học, được phản biện chặt chẽ. Về hình thức, luận án có bố cục hợp lý, trình bày đẹp, các hình vẽ cấu trúc hoá học/hình ảnh phổ/bảng biểu ... được minh hoạ rõ ràng. Như vậy, luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Đánh giá luận án ở mức xuất sắc, trân trọng đề nghị Hội đồng cho phép NCS. Phạm Văn Công được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện đề nhận học vị Tiến sĩ.

\* *Góp ý:* - Nếu có thể thì phần Tổng quan nên bổ sung thêm một chút thông tin về enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase và về bệnh tiểu đường, bệnh gút.

- Ở một số bảng dữ liệu phổ của chất phân lập được và của chất tham khảo (ví dụ Bảng 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, ...) có sự chênh lệch khá lớn về các giá trị độ chuyển dịch hoá học  $\delta_C$  tại các vị trí tương ứng, nên xem xét lại cho chính xác.

- Trang 56 (dòng 2 $\uparrow$ ): sửa " $\text{CH}_3\text{OO}$ " thành " $\text{CH}_3\text{COO}$ ".

- Trang 61 (dòng 3 $\downarrow$ ): sửa " $29\text{-OCH}_3$ " thành " $28\text{-OCH}_3$ ".

- Trang 69 (dòng 18 $\uparrow$ ): sửa " $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{Cl}$ " thành " $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{Cl}$ ".

- Xem lại số liệu phổ NMR của các chất LD6 và LD7 ở Bảng 3.6 (trang 70) và Bảng 3.7 (trang 75) chưa thống nhất. Hai bảng này có giá trị tương đương nhau vì cùng đưa ra các giá trị phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hai chất LD6 và LD7, vậy nên chỉ cần sử dụng một Bảng 3.6, còn Bảng 3.7 lặp lại nên không cần thiết có thể bỏ.

- Trang 94 (dòng 3 $\downarrow$ ): sửa "trong đó bao gồm 07 hợp chất được báo cáo lần đầu tiên (VG1-VG7)" thành "trong đó bao gồm 07 hợp chất mới (VG1-VG7)".

- Phần "Những đóng góp mới của luận án" (trang 141), nên xem xét bổ sung thêm một nội dung mới nữa là "Lần đầu tiên loài *Vernonia gratioiosa* thu hái ở Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học".

- Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: ví dụ ở các trang 2, 38, 54, 60, ...

11. PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

Nhất trí với ý kiến nhận xét của ba phản biện và ủy viên thư ký Hội đồng. Đề tài luận án mang ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn. Kết quả của luận án không trùng lặp với các công bố ở trong và ngoài nước. Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và mã số chuyên ngành đào tạo. Phương pháp nghiên cứu thường quy và hiện đại, được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu. Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ Hoá học các hợp chất thiên nhiên. Đồng ý đề NCS được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

\* Góp ý: - Một số lỗi in ấn cần được rà soát lại.

- Thống nhất viết tên đầy đủ của tạp chí hoặc viết tắt.

- Bổ sung khối lượng các phân đoạn trong hình 2.3 và 2.4.

- Sửa nhóm "acetyl" ở trang 54 thành "acetoxyl".

- Với Bảng có số liệu phổ của hợp chất tham khảo thì tiêu đề nên bổ sung thêm "... và hợp chất tham khảo".

- Bổ sung Phụ lục Danh mục các công trình công bố.

\* Câu hỏi:

Câu hỏi 1: Các chất phân lập được từ loài *Vernonia amygdalina* (ký hiệu LD) thuộc lớp chất gì? Vị trí nào là quyết định trong quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất này?

Câu hỏi 2: Dạng peak của glucose và galactose khác nhau như thế nào?

12. TS. Tô Đạo Cường - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

Đánh giá cao các kết quả mà luận án đã đạt được. Loài Lá đắng (*Vernonia amygdalina*) đã có một số nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học nhưng kết quả thu được là ít và chưa đánh giá được tiềm năng của loài dược liệu này. Trong khi đó, loài Bạch đầu thôn (*Vernonia gratioiosa*) chưa có bất kỳ công bố nào về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học. Do đó, việc thực hiện đề tài luận án này là rất cần thiết, có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn. Nội dung và kết quả luận án không trùng lặp với các công trình công bố trước đây ở trong và ngoài nước. Tên đề tài phù hợp với nội dung và chuyên ngành đào tạo. Các phương pháp nghiên cứu phù hợp, hiện đại và có độ tin cậy cao. Kết quả luận án phong phú và có tính mới, đã được công bố trên 04 công trình trên các tạp chí chuyên ngành có uy tín trên thế giới và trong nước, trong đó có 03 bài trên tạp chí quốc tế ISI. Luận án hoàn toàn đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ. Đồng ý cho NCS được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

\* Góp ý: - Phần Tổng quan: Bổ sung ngắn gọn tổng quan về enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase để làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu đánh giá các hoạt tính sinh học sau này.

- Phần Phương pháp nghiên cứu: Mục 2.1.1 và 2.1.2 nên bổ sung địa điểm thu hái mẫu bao gồm kinh độ và vĩ độ. Mục 2.2.2 (thiết bị nghiên cứu), bổ sung tên cơ quan quản

lý các thiết bị này. Mục 2.5.1 và 2.5.2, bổ sung điểm nóng chảy m.p., alpha D, UV và IR cho các hợp chất mới (nếu có thể). Bổ sung phương pháp xử lý số liệu.

- Phần Kết quả và thảo luận: Kiểm tra lại các dữ liệu phổ NMR của tất cả các hợp chất ở phần biện luận cấu trúc sao cho trùng khớp với các dữ liệu phổ ở các bảng biểu cũng như hình phổ của các hợp chất tương ứng trong phần Phụ lục. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase, nên bổ sung phần thảo luận so sánh hoạt tính ức chế 02 enzyme của 20 chất cũ với các công bố trước đây (nếu có).

\* *Câu hỏi:*

Câu hỏi 3: Cơ sở khoa học nào mà NCS lại đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được?

Câu hỏi 4: Cơ sở khoa học nào để NCS xác định đơn vị đường trong các hợp chất phân lập được là đường glucose hay galactose?

13. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên - Chủ tịch Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

Đánh giá rất xuất sắc các kết quả đã thu được của luận án. Luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn cao, có nhiều đóng góp mới có giá trị cho sự phát triển ngành hoá hữu cơ nói chung và chuyên ngành hoá học các hợp chất thiên nhiên nói riêng. Kết quả khoa học của luận án được đăng trên 4 bài báo khoa học uy tín có chất lượng tốt, có chỉ số IF cao, trong đó có 2 bài đăng trên tạp chí *Natural Product Research*, 01 bài trên tạp chí *Journal of Microbiology Biotechnology* và 01 bài trên *Vietnam Journal of Chemistry*. Luận án đáp ứng đầy đủ về mặt nội dung của một luận án tiến sĩ. NCS. Phạm Văn Công hoàn toàn có đủ điều kiện để bảo vệ luận án và nhận học vị Tiến sĩ.

\* *Góp ý:* - Luận án vẫn có một số lỗi chính tả cần chỉnh sửa, hoàn thiện.

#### 14. Nghiên cứu sinh trả lời các câu hỏi:

NCS xin chân thành cảm ơn và xin tiếp thu tất cả các ý kiến góp ý của các thành viên trong Hội đồng.

Sau đây là phần trả lời các câu hỏi của NCS:

Câu hỏi 1: Các chất phân lập được từ loài *Vernonia amygdalina* (ký hiệu LD) thuộc lớp chất gì? Vị trí nào là quyết định trong quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất này?

NCS trả lời: Các hợp chất phân lập được từ loài *Vernonia amygdalina* (ký hiệu LD) thuộc lớp chất stigmastane-steroid (LD1-LD16) và sterol (LD17).

Các vị trí C-5, C-14, C-18, C-19 thuộc hệ vòng 1,2-cyclopentanoperhydrophenanthrene (17 carbon cấu trúc ở dạng 4 vòng ngưng tụ *trans-trans-trans-cis* với 2 nối đôi liên hợp tại vị trí  $\Delta^{(9),11}$ ) cũng như C-24 trên của mạch nhánh là quyết định trong quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất này.

Câu hỏi 2: Dạng peak của glucose và galactose khác nhau như thế nào?

NCS trả lời: Glucose và galactose có sự khác biệt rõ ràng về dạng peak của H-4 và hằng số ghép cặp  $J_{3,4}$ ,  $J_{4,5}$  trên phổ  $^1\text{H NMR}$ . Cụ thể là, đối với đường glucose, hằng số ghép cặp  $J_{3,4} \sim 9.0 \text{ Hz}$ ,  $J_{4,5} \sim 10.0 \text{ Hz}$ , trong khi của galactose là  $J_{3,4} \sim 3.4 - 3.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{4,5} \sim 1.1 - 1.2 \text{ Hz}$ .

Câu hỏi 3: Cơ sở khoa học nào mà NCS lại đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase của các hợp chất phân lập được?

NCS trả lời: Đối với đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase: Dựa trên các kết quả nghiên cứu sàng lọc ban đầu của nhóm nghiên cứu PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh cũng như tổng quan các tài liệu tham khảo đã được công bố cho thấy cao chiết cũng như các hợp chất tinh khiết phân lập từ các loài thuộc chi *Vernonia* có khả năng ức chế tiêu đường trên cả mô hình *in vitro* và

*in vivo*. Trong khi đó, enzyme  $\alpha$ -glucosidase được xem là một đích kiểm soát việc tăng lượng đường trong máu, do đó, NCS lựa chọn đánh giá hoạt tính ức chế enzyme này trong phạm vi nghiên cứu của luận án.

Đối với đánh giá hoạt tính chế enzyme xanthine oxidase: Theo y học cổ truyền, một số loài thuộc chi *Vernonia* được sử dụng để điều trị bệnh gout. Một trong số những mô hình được ứng dụng để sàng lọc đánh giá ban đầu là mô hình đánh giá sự ức chế đối với enzyme xanthine oxidase. Trên cơ sở này, NCS lựa chọn đánh giá hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase trong phạm vi nghiên cứu của luận án.

**Câu hỏi 4:** Cơ sở khoa học nào để NCS xác định đơn vị đường trong các hợp chất phân lập được là đường glucose hay galactose?

**NCS trả lời:** NCS xác định đơn vị đường là đường glucose hay galactose dựa trên cơ sở:

+ Một là: Dựa trên các tín hiệu đặc trưng của đường glucose và galactose trên phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR.

+ Hai là: Tiến hành thủy phân các hợp chất chứa các phân tử đường glucose, galactose, sau đó tinh chế các đường đơn này bằng TLC điều chế và so sánh  $R_f$  cũng như  $[\alpha]_D$  so với đường glucose và galactose chuẩn.

**15.** Chủ tịch Hội đồng hỏi các đại biểu tham dự và khách mời có ai có ý kiến gì không, không ai có ý kiến. Chủ tịch HĐ mời đại diện tập thể hướng dẫn nhận xét về quá trình nghiên cứu học tập của NCS. Phạm Văn Công.

**16.** Đại diện tập thể hướng dẫn, PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh, nhận xét về quá trình học tập của nghiên cứu sinh (có văn bản kèm theo).

**17. Hội đồng tiến hành họp kín**

Hội đồng bầu Ban kiểm phiếu gồm:

- PGS.TS. Nguyễn Thị Mai, Trưởng ban.
- PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân, Ủy viên.
- TS. Tô Đạo Cường, Ủy viên.

Hội đồng đã thảo luận, bỏ phiếu kín đánh giá (có Biên bản kiểm phiếu kèm theo).

Kết quả đánh giá:

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá "Tán thành".
- Trong đó, có 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức "Xuất sắc".

**18.** Chủ tịch Hội đồng công bố quyết nghị của Hội đồng (có bản Quyết nghị của Hội đồng kèm theo).

Buổi bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện của NCS. Phạm Văn Công kết thúc vào hồi 12 giờ 30 phút ngày 09 tháng 8 năm 2024.

Thư ký Hội đồng

PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

Chủ tịch Hội đồng

GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



KI. GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC

Nguyễn Thị Trung



**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIÊN SĨ  
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 09 tháng 08 năm 2024, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Phạm Văn Công theo Quyết định số 706/QĐ-HVKHCN ngày 21 tháng 06 năm 2024 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase của loài *Vernonia amygdalina* và *Vernonia gratiiosa*”

Ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên Mã số: 9.44.01.17

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

2: TS. Bùi Quang Minh

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
<b>PGS. TS. Lê Thị Huyền: Phản biện 1</b>		
1	NCS rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả, lỗi đánh máy trong luận án.	NCS đã rà soát và chỉnh sửa toàn bộ lỗi chính tả và lỗi đánh máy trong luận án.
2	Hoá lập thể của các hợp chất, đặc biệt là các hợp chất mới cần được vẽ đầy đủ trong cấu trúc (ví dụ Hình 3.1, cấu trúc LD1a thiếu lập thể của H-20). Bảng 3.1 (trang 56), cần bổ sung tín hiệu của nhóm 28-OCH <sub>3</sub> , nhóm CH <sub>3</sub> OO cần được sửa lại là CH <sub>3</sub> COO.	Hóa lập thể trong cấu trúc của các hợp chất mới đã được NCS bổ sung đầy đủ. Cấu hình của H-20 đã được bổ sung theo góp ý của Phản biện 1. Bảng 3.1 (trang 56) đã được bổ sung thông tin về tín hiệu proton và carbon của nhóm 28-OCH <sub>3</sub> ; nhóm CH <sub>3</sub> OO đã được sửa thành CH <sub>3</sub> COO (Trang 56)
3	Hợp chất LD2 trang 60, tương tác ROESY giữa H-18, H-20 chỉ ra lập thể của H-18, H-19 là beta, chưa chính xác. Nên biện luận	Cấu hình tương đối của các proton H-18, H-19, H-20 đã được rà soát và chỉnh sửa lại. Các hằng số ghép cặp <i>J</i> trong bảng 3.2 đã được NCS tính toán lại.

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung





	<p>đầy đủ, tương tác ROESY giữa H-18 và H-20/H-19 gợi ý lập thể của 3 proton này là beta. Xem lại tất cả các giá trị J trong bảng vì máy đo ở 600 MHz (hiện đang tính theo tần số máy 500 MHz). Trong phần biện giải cần làm rõ sự khác biệt về độ chuyển dịch hoá học của carbon tại vị trí 24 (khác biệt 7ppm).</p>	<p>NCS đã giải thích sự khác biệt về độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-24 của hợp chất LD2 và hợp chất tham khảo trong bản luận án sau khi được chỉnh sửa. (Trang 61)</p>
4	<p>Hợp chất LD3 là chất mới nên cần biện giải cụ thể và kỹ hơn. Trong phần biện giải, khi so sánh với hợp chất LD2 thì chỉ ra sự khác biệt tại một chỗ duy nhất. Tuy nhiên, trong bảng 3.3 có thể thấy có thêm hai vị trí C-22 và C-23 có sự khác biệt tương đối lớn. Cần luận giải sự khác biệt hoặc chứng minh sự khác biệt. Cần xem lại các giá trị J.</p>	<p>NCS đã biện luận chi tiết và đầy đủ hơn trong việc xác định cấu trúc của hợp chất LD3, sự khác biệt về độ chuyển dịch hóa học tại vị trí C-22 và C-23 của hai hợp chất cũng được đề cập và giải thích rõ ràng hơn trong bản luận án chỉnh sửa. Các giá trị J đã được NCS rà soát và tính toán lại.</p>
5	<p>Hợp chất LD4 cần vẽ đầy đủ lập thể tại H-22 (hình 3.14). Cần xem lại các giá trị J (bảng 3.4).</p>	<p>Cấu trúc hóa lập thể của hợp chất LD4 tại vị trí H-22 đã được bổ sung. Đã kiểm tra và tính toán lại các giá trị J trong bảng 3.4.</p>
6	<p>Hợp chất LD5, bảng 3.5 thừa tín hiệu H-24 (vị trí này không có carbon), xem lại các giá trị J.</p>	<p>Trong bảng 3.5 NCS đã chỉnh sửa lại tín hiệu của H-24, và các giá trị J.</p>
7	<p>Hợp chất LD6, LD8, LD10, LD11, LD12, LD14, LD15, xem lại các giá trị J (bảng 3.6, 3.8...).</p>	<p>NCS đã rà soát và tính toán lại giá trị J trong bảng dữ liệu phổ của các hợp chất này.</p>
8	<p>LD11, độ chuyển dịch hoá học của C-7, C-8, C-9 chưa chính xác (bảng 3.11).</p>	<p>Độ chuyển dịch hóa học của các vị trí C-7, C-8, C-9 đã được NCS chỉnh sửa lại trong bản luận án.</p>
9	<p>Hợp chất LD12, nên so sánh độ quay cực riêng với tài liệu tham khảo để xác định cấu hình tuyệt đối.</p>	<p>Hợp chất LD12 đã được đo thêm góc quay cực riêng và so sánh với giá trị trong tài liệu tham khảo và kết luận về cấu hình tuyệt đối.</p>

10	Phần 3.1.2.8, khi biện giải cấu trúc LD15, so sánh với LD14 chỉ ra có sự khác biệt duy nhất tại C-16, tuy nhiên hai hợp chất này khác nhau cả nối đôi tại C20/C-22. Vì vậy cần biện giải lại chất này (trang 86). Bảng 3.15, bổ sung độ chuyển dịch hoá học của H-20 và H-22.	Biện giải cấu trúc của hợp chất LD15 đã được bổ sung thêm thông tin khi so sánh với hợp chất LD14. Độ chuyển dịch hóa học của H-20, H-22 đã được liệt kê trong bảng 3.15.
11	Hình 3.40, vẽ đầy đủ lập thể của các trung tâm bất đối, cấu trúc của hợp chất LD15 cần vẽ lại cho chính xác.	Các trung tâm bất đối trong cấu trúc của hợp chất LD15 đã được thể hiện đầy đủ trong bản luận án sau khi được chỉnh sửa.
12	Nhiều chất còn biện giải sơ sài, nên biện giải kỹ hơn.	Các chất cũ đã được NCS biện giải chi tiết và đầy đủ sau khi NCS chỉnh sửa theo góp ý của Phản biện.
13	Luận án còn một vài lỗi in ấn, văn phong.	NCS đã rà soát các lỗi in ấn và văn phong của luận án.
<b>PGS.TS. Nguyễn Thị Mai - Phản biện 2</b>		
14	Rà soát lại các lỗi in ấn như tên khoa học của loài nghiên cứu còn một số chỗ chưa in nghiêng	NCS đã kiểm tra và chỉnh sửa tên khoa học của các loài nghiên cứu trong toàn bộ luận án.
15	Rà soát lại một số hình vẽ cấu trúc hoá học của một số hợp chất	Hình vẽ cấu trúc hóa học của các hợp chất trong luận án đã được rà soát và chỉnh sửa lại đúng theo góp ý của Phản biện.
16	Nên nêu rõ ý nghĩa của hai phép thử hoạt tính kháng enzyme $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase	Ý nghĩa của hai phép thử hoạt tính kháng.
<b>PGS.TS. Vũ Kim Thư - Phản biện 3</b>		
17	Sửa lỗi trình bày thống nhất trong toàn luận án: tên dung môi viết theo tiếng Anh, dùng dấu phẩy khi viết các số có phần thập phân, xem lại cách dùng dấu chấm phẩy (;), mở đóng ngoặc đơn (...), cách trình bày, thống kê cho hợp lý	Các lỗi trình bày đã được chỉnh sửa trong luận án, bao gồm: tên dung môi, dấu phẩy, chấm phẩy, các dấu ngoặc đơn,...
18	Phần mục lục rà lại đủ thứ tự các mục, in đậm ký hiệu của các chất	Mục lục đã được NCS rà soát và bổ sung đầy đủ tất cả các mục có trong luận án, các ký hiệu

	trong toàn luận án. Bỏ lỗi lặp ở danh mục hình (Hình 1.1 – 1.6).	trong phần mục lục cũng được in đậm theo góp ý của Phản biện. Lỗi lặp danh mục hình cũng đã được khắc phục.
19	Phần tổng quan nên làm rõ nghĩa hơn về ý nghĩa của hai phép thử hoạt tính sinh học.	Đã bổ sung thêm thông tin về hai phép thử hoạt tính sinh học trong phần tổng quan của Luận án sau khi được chỉnh sửa.
20	Các bảng số liệu phổ bổ sung tiêu đề "... và hợp chất tham khảo" kèm trích dẫn tài liệu tham khảo (nếu có) phía dưới bảng. Một số tín hiệu J của các proton cạnh nhau cần có hằng số J hiệu chỉnh như nhau.	Theo góp ý của Phản biện, NCS đã chỉnh sửa lại tên của các bảng số liệu, kiểm tra, tính toán lại các giá trị J của các proton.
21	Kiểm tra và thống nhất trạng thái, công thức phân tử, khối lượng phân tử, công thức cấu tạo của phần 2.5 với phần thảo luận, phụ lục: LD17, VG4, VG5, VG8, VG11, VG14.	NCS đã rà soát và thống nhất các thông tin về các thông số của các hợp chất LD17, VG4, VG5, VG8, VG11, VG14 trong phần bản thảo so với phần phụ lục của Luận án.
<b>PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Ủy viên Thư ký Hội đồng</b>		
22	Nếu có thể thì phần Tổng quan nên bổ sung thêm một chút thông tin về enzyme $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase và về bệnh tiểu đường, bệnh gút	Trong bản Luận án sau khi được chỉnh sửa, NCS đã bổ sung thêm các thông tin cơ bản về bệnh tiểu đường, bệnh gút, cũng như các thông tin về enzyme $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase.
23	Ở một số bảng dữ liệu phổ của chất phân lập được và của chất tham khảo (ví dụ Bảng 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, ...) có sự chênh lệch khá lớn về các giá trị độ chuyển dịch hoá học $\delta$ C tại các vị trí tương ứng, nên xem xét lại cho chính xác	NCS đã rà soát lại toàn bộ dữ liệu của các hợp chất phân lập được và so sánh lại với các hợp chất tham khảo để đảm bảo tính chính xác trong việc xác định cấu trúc.
24	Trang 56 (dòng 2↑): sửa "CH3OO" thành "CH3COO".	Lỗi "CH3OO" đã được chỉnh sửa thành "CH3COO". (Trang 56)
25	Trang 61 (dòng 3↓): sửa "29-OCH3" thành "28-OCH3".	Lỗi "29-OCH3" đã được chỉnh sửa thành "28-OCH3". Trang 61

26	Trang 69 (dòng 18↑): sửa “C <sub>29</sub> H <sub>39</sub> O <sub>4</sub> Cl-” thành “C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub> Cl-”.	Lỗi “C <sub>29</sub> H <sub>39</sub> O <sub>4</sub> Cl-” đã được chỉnh sửa thành “C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub> Cl-”.
27	Xem lại số liệu phổ NMR của các chất LD6 và LD7 ở Bảng 3.6 (trang 70) và Bảng 3.7 (trang 75) chưa thống nhất. Hai bảng này có giá trị tương đương nhau vì cùng đưa ra các giá trị phổ <sup>1</sup> H và <sup>13</sup> C-NMR của hai chất LD6 và LD7, vậy nên chỉ cần sử dụng một Bảng 3.6, còn Bảng 3.7 lặp lại nên không cần thiết có thể bỏ.	Do sự trùng lặp dữ liệu của bảng 3.6, 3.7 nên NCS đã xóa bỏ bảng dữ liệu 3.7. (Trang 75)
28	Trang 94 (dòng 3↓): sửa “trong đó bao gồm 07 hợp chất được báo cáo lần đầu tiên (VG1-VG7)” thành “trong đó bao gồm 07 hợp chất mới (VG1-VG7)”.	Theo góp ý của TKHD, NCS đã chỉnh sửa “trong đó bao gồm 07 hợp chất được báo cáo lần đầu tiên (VG1-VG7)” thành “trong đó bao gồm 07 hợp chất mới (VG1-VG7)”.
29	Phần “Những đóng góp mới của luận án” (trang 141), nên xem xét bổ sung thêm một nội dung mới nữa là “Lần đầu tiên loài <i>Vernonia gratioiosa</i> thu hái ở Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học”.	Về đóng góp mới của Luận án, NCS đã bổ sung thêm nội dung mới: “Lần đầu tiên loài <i>Vernonia gratioiosa</i> thu hái ở Việt Nam được nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học” theo như góp ý của TKHD. (Trang 140)
30	Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả: ví dụ ở các trang 2, 38, 54, 60, ...	NCS đã rà soát các lỗi in ấn và văn phong của luận án.
<b>PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm - Ủy viên Hội đồng</b>		
31	Một số lỗi in ấn cần được rà soát lại.	NCS đã rà soát các lỗi in ấn và văn phong của luận án.
32	Thống nhất viết tên đầy đủ của tạp chí hoặc viết tắt.	NCS đã thống nhất các thể hiện tên tạp chí trong phần tài liệu tham khảo của Luận án.
33	Bổ sung khối lượng các phân đoạn trong hình 2.3 và 2.4.	Khối lượng của các phân đoạn trong hình 2.3 và 2.4 đã được bổ sung đầy đủ.
34	Sửa nhóm “acetyl” ở trang 54 thành “acetoxyl”.	Nhóm “acetyl” đã được thay đổi thành “acetoxyl”.

35	Với Bảng có số liệu phổ của hợp chất tham khảo thì tiêu đề nên bổ sung thêm "... và hợp chất tham khảo".	Tên của bảng số liệu đã được chỉnh sửa lại theo góp ý của Phản biện.
36	Bổ sung Phụ lục Danh mục các công trình công bố.	NCS đã bổ sung thêm Phụ lục các công trình công bố trong bản Luận án sau khi được chỉnh sửa. (PL132)
<b>TS. Tô Đạo Cường - Ủy viên Hội đồng</b>		
37	Phản Tổng quan: Bổ sung ngắn gọn tổng quan về enzyme $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase để làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu đánh giá các hoạt tính sinh học sau này.	Trong bản Luận án sau khi được chỉnh sửa, NCS đã bổ sung thêm các thông tin cơ bản về các thông tin về enzyme $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxydase.
38	Phân Phương pháp nghiên cứu: Mục 2.1.1 và 2.1.2 nên bổ sung địa điểm thu hái mẫu bao gồm kinh độ và vĩ độ. Mục 2.2.2 (thiết bị nghiên cứu), bổ sung tên cơ quan quản lý các thiết bị này. Mục 2.5.1 và 2.5.2, bổ sung điểm nóng chảy m.p, alpha D, UV và IR cho các hợp chất mới (nếu có thể). Bổ sung phương pháp xử lý số liệu.	Theo góp ý của Phản biện, NCS đã hoàn thiện đầy đủ các thông tin còn thiếu trong các mục mà Phản biện đề cập. (Trang 38, 39)
39	Phân kết quả và thảo luận: Kiểm tra lại các dữ liệu phổ NMR của tất cả các hợp chất ở phần biện luận cấu trúc sao cho trùng khớp với các dữ liệu phổ ở các bảng biểu cũng như hình phổ của các hợp chất tương ứng trong phần Phụ lục. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase, nên bổ sung phần thảo luận so sánh hoạt tính ức chế 02 enzyme của 20 chất cũ với các công bố trước (nếu có).	Dữ liệu phổ NMR của tất cả các hợp chất đã được kiểm tra lại và chỉnh sửa trùng khớp giữa các dữ liệu ở phần bảng biểu và hình ảnh phụ lục. Về kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase và xanthine oxidase, NCS đã bổ sung thêm phần thảo luận và so sánh hoạt tính của các chất trong luận án so với các chất đã được công bố trước đây.

<b>GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên - Chủ tịch Hội đồng</b>	
40	Luận án vẫn có một số lỗi chính tả cần chỉnh sửa, hoàn thiện. NCS đã rà soát các lỗi in ấn và văn phong của luận án.

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 21 tháng 08 năm 2024

**TẬP THẺ HƯỚNG DẪN**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN 1      NGƯỜI HƯỚNG DẪN 2      NGHIÊN CỨU SINH



PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh



TS. Bùi Quang Minh



Phạm Văn Công

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN  
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

**KT. GIÁM ĐỐC**  
**ĐẠI GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

