

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

-----



**Nguyễn Hoàng Anh**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG  
ỨC CHẾ SỰ PHÁT TRIỂN TẾ BÀO UNG THƯ CỦA LOÀI  
BÙM BỤP *Mallotus apelta* (LOUR.) MÜLL. –ARG., HỌ THẦU  
DẦU – EUPHORBIACEAE)**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ**

**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

Nguyễn Hoàng Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG  
ỨC CHẾ SỰ PHÁT TRIỂN TẾ BÀO UNG THƯ CỦA LOÀI  
BÙM BỤP *Mallotus apelta* (LOUR.) MÜLL. -ARG., HỌ  
THÀU DẦU – EUPHORBIACEAE)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ

Mã số: 9.44.01.14

Xác nhận của Học viện  
Khoa học và Công nghệ

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

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



Nguyễn Thị Trung

PGS. TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

PGS. TS. Phạm Thế Chính

Hà Nội – 2024

**LỜI CAM ĐOAN**

*Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận án này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực, nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.*

**Tác giả luận án****Nguyễn Hoàng Anh**

## LỜI CẢM ƠN

*Luận án này được hoàn thành tại Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, các nhà khoa học, các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.*

*Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc, sự cảm phục và kính trọng nhất tới PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm và PGS. TS. Phạm Thế Chính - những người Thầy đã tận tâm hướng dẫn khoa học, động viên, khích lệ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án.*

*Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa sinh biển cùng tập thể cán bộ của Viện đã quan tâm, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.*

*Tôi xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp phòng Nghiên cứu cấu trúc, Trung tâm Nghiên cứu và phát triển thuốc - Viện Hóa sinh biển đặc biệt là PGS. TS. Phan Văn Kiệt, TS. Bùi Hữu Tài, TS. Nguyễn Thị Minh Hằng đã ủng hộ, góp ý cho tôi trong quá trình thực hiện và hoàn thiện luận án.*

*Tôi xin trân trọng cảm ơn Khoa Dược, Trường Đại học Yonsei, Hàn Quốc đã giúp đỡ tôi thử hoạt tính kháng ung thư.*

*Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban Giám hiệu Trường đại học Khoa học-Đại học Thái Nguyên, Phòng Tổ chức Cán bộ và các đồng nghiệp của tôi tại Khoa Hóa học đã ủng hộ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian làm nghiên cứu sinh.*

*Tôi xin chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã cấp kinh phí hỗ trợ đề tài “Nghiên cứu chế tạo phức hệ nano malloapelta B-curcumin, đánh giá độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và hiệu lực kháng ung thư in vitro và in vivo”. Mã số đề tài: ĐL0000.01/19-20.*

*Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể gia đình, bạn bè và những người thân đã luôn luôn quan tâm, khích lệ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.*

*Xin trân trọng cảm ơn!*



**Nguyễn Hoàng Anh**



## MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT .....	vii
DANH MỤC BẢNG.....	ix
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....	xi
MỞ ĐẦU .....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU .....	3
<b>1.1. Giới thiệu về chi <i>Mallotus</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1. Đặc điểm thực vật của chi <i>Mallotus</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi <i>Mallotus</i> .....</b>	<b>7</b>
1.1.2.1. Các hợp chất benzopyran và coumarin .....	7
1.1.2.2. Các hợp chất flavonoid. ....	8
1.1.2.3. Các hợp chất phloroglucinol .....	14
1.1.2.4. Các hợp chất phenolic .....	17
1.1.2.5. Các hợp chất triterpenoid .....	23
1.1.2.6. Các diterpenoid và terpenoid khác .....	26
1.1.2.7. Các hợp chất steroid .....	29
1.1.2.8. Các hợp chất khác.....	31
<b>1.1.3. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi <i>Mallotus</i> .....</b>	<b>32</b>
1.1.3.1. Hoạt tính gây độc và kháng ung thư .....	32
1.1.3.2. Hoạt tính kháng viêm và điều hòa miễn dịch.....	33
1.1.3.3. Hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ gan.....	35
1.1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm .....	35
1.1.3.5. Hoạt tính kháng virus.....	36
1.1.3.6. Các hoạt tính khác .....	36
<b>1.2. Giới thiệu về loài <i>Mallotus apelta</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>1.2.1. Đặc điểm loài <i>Mallotus apelta</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>1.2.2. Tình hình nghiên cứu về loài <i>M. apelta</i> .....</b>	<b>38</b>
1.2.2.1. Các nghiên cứu về loài <i>M. apelta</i> trên thế giới .....	37
1.2.2.2. Các nghiên cứu về loài <i>M. apelta</i> ở Việt Nam .....	41
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	44
<b>2.1. Đối tượng nghiên cứu.....</b>	<b>44</b>
<b>2.2. Phương pháp nghiên cứu.....</b>	<b>44</b>

<b>2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất .....</b>	<b>44</b>
2.2.1.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC) .....	44
2.2.1.2. Sắc ký cột (CC).....	45
2.2.1.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).....	46
<b>2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc .....</b>	<b>47</b>
2.2.2.1. Phổ khối lượng phân giải cao .....	47
2.2.2.2. Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR).....	48
2.2.2.3. Phổ lưỡng sắc tròn điện tử.....	48
2.2.2.4. Phương pháp tính toán phổ CD lý thuyết .....	49
2.2.2.5. Độ quay cực ( $[\alpha]_D$ ).....	49
<b>2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học .....</b>	<b>50</b>
2.2.3.1. Phương pháp MTT, MTS và CCK-8 .....	50
2.2.3.2. Thử nghiệm đặc điểm sống sót của tế bào ung thư.....	51
2.2.3.3. Phân tích tín hiệu huỳnh quang YFP .....	51
2.2.3.4. Dòng điện ngắn mạch .....	51
2.2.3.5. Đo nồng độ calcium nội bào .....	52
2.2.3.6. Đánh giá hàm lượng protein.....	52
2.2.3.7. Western blot .....	53
2.2.3.8. Tạo dòng tế bào FRT-KO.....	53
2.2.3.9. Thử nghiệm di chuyển của tế bào .....	53
2.2.3.10. Đánh giá hoạt tính caspase-3 .....	54
2.2.3.11. Phương pháp phân tích thống kê .....	54
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>55</b>
<b>3.1. Phân lập các hợp chất .....</b>	<b>55</b>
<b>3.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất.....</b>	<b>60</b>
3.2.1. Hợp chất MA1: Malloapelta C (Hợp chất mới) .....	60
3.2.2. Hợp chất MA2: Malloapelta D (Hợp chất mới) .....	60
3.2.3. Hợp chất MA3: Malloapelta E (Hợp chất mới).....	60
3.2.4. Hợp chất MA4: Malloapelta F (Hợp chất mới).....	60
3.2.5. Hợp chất MA5: Malloapelta G (Hợp chất mới) .....	61
3.2.6. Hợp chất MA6: Malloapelta H (Hợp chất mới) .....	61
3.2.7. Hợp chất MA7: Malloapelta I (Hợp chất mới).....	61

3.2.8. Hợp chất MA8: Malloapelta II (Hợp chất mới) .....	61
3.2.9. Hợp chất MA9: Malloapelta J (Hợp chất mới) .....	61
3.2.10. Hợp chất MA10: Malloapelta K (Hợp chất mới) .....	62
3.2.11. Hợp chất MA11: Malloapelta L (Hợp chất mới).....	62
3.2.12. Hợp chất MA12: Malloflavoside (Hợp chất mới).....	62
3.2.13. Hợp chất MA13: Apigenin 6- <i>C</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl-8- <i>C</i> - $\alpha$ -L- arabinopyranoside .....	62
3.2.14. Hợp chất MA14: Malloapelta B .....	62
3.2.15. Hợp chất MA15: Schaftoside.....	63
3.2.16. Hợp chất MA16: Apigenin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucoside .....	63
3.2.17. Hợp chất MA17: Apigenin 7- <i>O</i> - $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D- glucopyranoside .....	63
3.2.18. Hợp chất MA18: Blumenol C glucoside .....	63
3.2.19. Hợp chất MA19: Acantrifoside E .....	63
3.3. Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được .....	64
3.3.1. Hợp chất MA1: Malloapelta C (Hợp chất mới) .....	64
3.3.2. Hợp chất MA2: Malloapelta D (Hợp chất mới) .....	67
3.3.3. Hợp chất MA3: Malloapelta E (Hợp chất mới).....	70
3.3.4. Hợp chất MA4: Malloapelta F (Hợp chất mới).....	72
3.3.5. Hợp chất MA5: Malloapelta G (Hợp chất mới) .....	75
3.3.6. Hợp chất MA6: Malloapelta H (Hợp chất mới) .....	77
3.3.7. Hợp chất MA7: Malloapelta I (Hợp chất mới).....	79
3.3.8. Hợp chất MA8: Malloapelta II (Hợp chất mới) .....	81
3.3.9. Hợp chất MA9: Malloapelta J (Hợp chất mới) .....	83
3.3.10. Hợp chất MA10: Malloapelta K (Hợp chất mới) .....	85
3.3.11. Hợp chất MA11: Malloapelta L (Hợp chất mới).....	87
3.3.12. Hợp chất MA12: Malloflavoside (Hợp chất mới).....	89
3.3.13. Hợp chất MA13: Apigenin 6- <i>C</i> - $\beta$ -D-xylopyranosyl-8- <i>C</i> - $\alpha$ -L- arabinopyranoside .....	92
3.3.14. Hợp chất MA14: Malloapelta B .....	93
3.3.15. Hợp chất MA15: Schaftoside.....	95
3.3.16. Hợp chất MA16: Apigenin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucoside .....	97

3.3.17. Hợp chất MA17: Apigenin 7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside .....	99
3.3.18. Hợp chất MA18: Blumenol C glucoside .....	101
3.3.19. Hợp chất MA19: Acantrifoside E .....	102
3.4. Tổng hợp các hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc từ loài <i>M. apelta</i> .....	104
3.5. Hoạt tính sinh học của các hợp chất.....	106
3.5.1. Đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được.....	106
3.5.2. Đánh giá cơ chế gây chết tế bào ung thư của các hợp chất có hoạt tính mạnh thông qua apoptosis và bất hoạt yếu tố nhân NF- $\kappa$ B. ....	109
3.5.2.1. Ảnh hưởng của các hợp chất MA2, MA3, MA14 đến yếu tố apoptosis .....	109
3.5.2.2. Ảnh hưởng của MA2, MA3, MA14 đến con đường tín hiệu NF- $\kappa$ B .....	111
3.5.3. Đánh giá cơ chế kháng ung thư của các hợp chất có hoạt tính mạnh thông qua giảm biểu hiện ANO1.....	112
3.5.3.1. Xác định và mô tả thuộc tính của các chất ức chế ANO1.....	113
3.5.3.2. Tác dụng ức chế có chọn lọc ANO1 của MA8.....	115
3.5.3.3. Tác dụng ức chế của MA8 đối với sự sinh trưởng và di chuyển tế bào trong tế bào PC-3 và CAL-27 .....	116
3.5.3.4. Ảnh hưởng của MA8 đến sự tăng hoạt động caspase-3 và sự phân tách PARP trong các tế bào PC-3 và CAL-27.....	119
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>124</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>126</b>
<b>CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....</b>	<b>143</b>

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

<b>Kí hiệu</b>	<b>Tiếng anh</b>	<b>Diễn giải</b>
$^{13}\text{C}$ -NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
$^1\text{H}$ -NMR	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
ACN	Acetonitrile	Acetonitrile
ANO1	Anoctamin 1	Gen mã hóa protein
ATP	Adenosine triphosphate	Adenosine triphosphate
CAL-27	Centre antoine lacassagne 27	Tế bào ung thư tuyến tiền liệt
CC	Column chromatography	Sắc kí cột
CCK-8	Cell counting kit-8	Bộ đếm tế bào -8
CD	Circular dichroism spectroscopy	Phổ lưỡng sắc tròn
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	Chất điều hòa độ dẫn xuyên màng xơ nang
COSY	$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ - correlation spectroscopy	Phổ tương tác của các proton đỉnh với carbon cạnh nhau
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer	Phổ tương tác trực tiếp carbon-proton
ED <sub>50</sub>	Effective dose 50%	Nồng độ gây ra 50% hiệu ứng tối đa
FRT	Fischer rat thyroid	Tế bào tuyến giáp của chuột
Glu	Glucose	Glucose
Hep-G2	Human epithelioma-2	Tế bào ung thư biểu mô gan ở người
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation	Phổ tương tác của proton và carbon qua nhiều liên kết
HR-ESI-MS	High resolution electrospray ionization mass spectrum	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation	Phổ tương tác proton và carbon qua một liên kết
HT-29		

IC <sub>50</sub>	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% hoạt tính mong muốn
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Enzym tạo ra nitơ oxide từ amino L-arginine acid
LPS	Lipopolysaccharide	Nội độc tố lipopoly saccarit
MCF-7	Michigan cancer foundation-7	Tế bào ung thư vú ở người
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B	Yếu tố hạt nhân tăng cường chuỗi nhẹ kappa của các tế bào hoạt hóa B
NO	Nitric oxide	Nitric oxide
NOESY	Nuclear overhauser enhancement spectroscopy	Phổ tương tác xa của các proton theo khoảng cách
PARP	Poly ADP ribose polymerase	một họ protein tham gia vào một số quá trình của tế bào như sửa chữa DNA, ổn định bộ gen và chết tế bào theo chương trình
PC-3	Prostate adenocarcinoma cell	Tế bào ung thư tuyến tiền liệt
RD	Rhabdosarcoma	Tế bào ung thư xương ở người
RP-18	Reversed phase -C18	Pha đảo-C18
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TOV-21G	TOV-21G ovarian adenocarcinoma	Tế bào ung thư biểu mô buồng trứng
YFP	Yellow fluorescent protein	Protein huỳnh quang vàng

## DANH MỤC BẢNG

<i>Bảng 1.1. Các loài thuộc chi Mallotus ở Việt Nam</i> .....	3
<i>Bảng 1.2. Các hợp chất khung benzopyran được phân lập từ chi Mallotus.</i> .....	7
<i>Bảng 1.3. Các hợp chất flavonoid từ chi Mallotus.</i> .....	8
<i>Bảng 1.4. Các hợp chất chalcone từ chi Mallotus.</i> .....	11
<i>Bảng 1.5. Các hợp chất phloroglucinol từ chi Mallotus.</i> .....	14
<i>Bảng 1.6. Các dẫn xuất gallic và bergenin từ chi Mallotus.</i> .....	17
<i>Bảng 1.7. Các tanin từ chi Mallotus.</i> .....	19
<i>Bảng 1.8. Các lignan từ chi Mallotus.</i> .....	21
<i>Bảng 1.9. Các hợp chất phenol khác từ chi Mallotus.</i> .....	22
<i>Bảng 1.10. Triterpenoid từ chi Mallotus.</i> .....	24
<i>Bảng 1.11. Các diterpenoid từ chi Mallotus.</i> .....	27
<i>Bảng 1.12. Các megastigmane và terpenoid khác từ chi Mallotus.</i> .....	29
<i>Bảng 1.13. Các hợp chất steroid từ chi Mallotus.</i> .....	30
<i>Bảng 1.14. Các hợp chất khác từ chi Mallotus.</i> .....	31
<i>Bảng 1.15. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài M. apelta trên thế giới.</i> .....	38
<i>Bảng 1.16. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài M. apelta ở Việt Nam.</i> .....	41
<i>Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA1 và hợp chất tham khảo</i> .....	66
<i>Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA2 và hợp chất tham khảo</i> .....	69
<i>Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA3 và hợp chất tham khảo</i> .....	71
<i>Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA4 và hợp chất tham khảo</i> .....	74
<i>Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA5 và hợp chất tham khảo</i> .....	76
<i>Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA6 và hợp chất tham khảo</i> .....	78
<i>Bảng 3.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA7</i> .....	80
<i>Bảng 3.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA8 và hợp chất tham khảo</i> .....	82
<i>Bảng 3.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA9 và hợp chất tham khảo</i> .....	84
<i>Bảng 3.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA10 và hợp chất tham khảo.</i> .....	86
<i>Bảng 3.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA11 và hợp chất tham khảo.</i> .....	88
<i>Bảng 3.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA12 và hợp chất tham khảo.</i> .....	91
<i>Bảng 3.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA13 và hợp chất tham khảo.</i> .....	93
<i>Bảng 3.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA14 và hợp chất tham khảo.</i> .....	95
<i>Bảng 3.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA15 và hợp chất tham khảo.</i> .....	96
<i>Bảng 3.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA16 và hợp chất tham khảo.</i> .....	98
<i>Bảng 3.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA17 và hợp chất tham khảo.</i> .....	100

<i>Bảng 3.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA18 và hợp chất tham khảo.....</i>	<i>102</i>
<i>Bảng 3.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA19 và hợp chất tham khảo.....</i>	<i>103</i>
<i>Bảng 3.20. Các hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc từ M. apelta.....</i>	<i>104</i>
<i>Bảng 3.21. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất .....</i>	<i>107</i>
<i>Bảng 3.22. Tác dụng gây độc tế bào ung thư của các hợp chất .....</i>	<i>108</i>



## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Hai trong số bảy loài đặc hữu thuộc chi <i>Mallotus</i> tại Việt Nam.....	7
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các benzopyran và coumarin từ chi <i>Mallotus</i> .....	8
Hình 1.3. Các hợp chất flavonoid chi <i>Mallotus</i> .....	10
Hình 1.4. Các hợp chất chalcone từ chi <i>Mallotus</i> .....	13
Hình 1.5. Các hợp chất phloroglucinol từ chi <i>Mallotus</i> .....	16
Hình 1.6. Các dẫn xuất từ galic và bergenin từ chi <i>Mallotus</i> .....	18
Hình 1.7. Các tanin từ chi <i>Mallotus</i> .....	21
Hình 1.8. Các lignan từ chi <i>Mallotus</i> .....	22
Hình 1.9. Các hợp chất phenol khác từ chi <i>Mallotus</i> .....	23
Hình 1.10. Các triterpenoid từ chi <i>Mallotus</i> .....	26
Hình 1.11. Các diterpenoid từ chi <i>Mallotus</i> .....	28
Hình 1.12. Các megastigmane và terpenoid khác từ chi <i>Mallotus</i> .....	29
Hình 1.13. Cấu trúc của các hợp chất steroid từ chi <i>Mallotus</i> .....	31
Hình 1.14. Các hợp chất khác từ chi <i>Mallotus</i> .....	32
Hình 1.15. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài <i>M. apelta</i> trên thế giới.....	40
Hình 1.16. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài <i>M. apelta</i> tại Việt Nam.....	42
Hình 1.17. Các dẫn xuất bán tổng hợp từ <i>malloapelta</i> B.....	43
Hình 2.1. Hình ảnh loài <i>M. apelta</i> .....	44
Hình 2.2. Sắc kí lớp mỏng trong phòng thí nghiệm.....	45
Hình 2.3. Sắc kí cột trong phòng thí nghiệm - Viện Hóa sinh biển.....	46
Hình 2.4. Hệ thống HPLC đặt trong phòng kỹ thuật – Viện Hóa sinh biển.....	47
Hình 2.5. Hệ thống máy đo quang phổ lưỡng sắc tròn.....	49
Hình 2.6. Máy đo góc quay cực P-2000 -JASCO.....	50
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất của phân đoạn MAL1.....	58
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất của phân đoạn MAL2.....	59
Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của hai đối quang MA1a và MA1b và.....	64
Hình 3.4. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA1.....	65
Hình 3.5. Phổ CD của MA1 và các đối quang (MA1a và MA1b).....	66
Hình 3.6. Phổ CD thực nghiệm MA1a (A), MA1b (B) và phổ CD tính toán của hợp chất MA1(3S,4S) và MA1(3R,4R).....	67
Hình 3.7. Cấu trúc hóa học của hai đối quang MA2a và MA2b và hợp chất tham khảo.....	67
Hình 3.8. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA2.....	69

Hình 3.9. Phổ CD thực nghiệm <b>MA2a</b> (A), <b>MA2b</b> (B) và phổ CD tính toán của hợp chất <b>MA2</b> (3R,4S) và (3S,4R).	70
Hình 3.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA3</b> và hợp chất tham khảo	70
Hình 3.11. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA3</b>	72
Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA4</b> và hợp chất tham khảo	72
Hình 3.13. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA4</b>	73
Hình 3.14. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA5</b> và hợp chất tham khảo	75
Hình 3.15. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA5</b>	76
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA6</b> và hợp chất tham khảo	77
Hình 3.17. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA6</b>	78
Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA7</b>	79
Hình 3.19. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA7</b>	80
Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA8</b> và hợp chất tham khảo	81
Hình 3.21. Các tương tác HMBC chính của <b>MA8</b>	82
Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA9</b> và hợp chất tham khảo	83
Hình 3.23. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA9</b>	85
Hình 3.24. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA10</b> và hợp chất tham khảo	85
Hình 3.25. Các tương tác COSY và HMBC chính của <b>MA10</b>	87
Hình 3.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA11</b> và hợp chất tham khảo	87
Hình 3.27. Các tương tác HMBC chính của <b>MA11</b>	89
Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất <b>MA12</b> và hợp chất tham khảo	89
Hình 3.29. Các tương tác HMBC chính của <b>MA12</b>	90
Hình 3.30. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA13</b>	92
Hình 3.31. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA14</b>	93
Hình 3.32. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA15</b>	97
Hình 3.33. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA16</b>	97
Hình 3.34. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA17</b>	99
Hình 3.35. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA18</b>	101
Hình 3.36. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>MA19</b>	104
Hình 3.37. Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ loài <i>M. apelta</i>	105
Hình 3.38. Ảnh hưởng của các hợp chất <b>MA2</b> , <b>MA3</b> , <b>MA14</b> đến yếu tố apoptosis	110
Hình 3.39. Ảnh hưởng của các hợp chất <b>MA2</b> , <b>MA3</b> , <b>MA14</b> đến con đường tín hiệu NF- $\kappa$ B	112
Hình 3.40. Phát hiện các chất có tác dụng ức chế ANO1.	114

<i>Hình 3.41. Tác dụng ức chế có chọn lọc của MA8.....</i>	<i>116</i>
<i>Hình 3.42. Ảnh hưởng của MA8 đối với mức độ biểu hiện của protein ANO1 và khả năng sống của tế bào trong tế bào PC-3, CAL-27.....</i>	<i>118</i>
<i>Hình 3.43. Ảnh hưởng của MA8 đến sự di chuyển của tế bào PC-3 và CAL-27.....</i>	<i>119</i>
<i>Hình 3.44. Ảnh hưởng của MA8 đến hoạt động của caspase-3 và sự phân cắt PARP trong tế bào PC-3, CAL-27. ....</i>	<i>121</i>

## MỞ ĐẦU

Điều kiện tự nhiên đặc trưng và sự đa dạng về khí hậu giữa các vùng miền đã mang lại cho đất nước Việt Nam một hệ sinh thái thực vật phong phú. Bên cạnh bề dày lịch sử văn hoá là nền y học cổ truyền lâu đời, gắn với việc sử dụng nhiều loại thảo dược trong điều trị bệnh và nâng cao sức khoẻ. Theo thống kê của các nhà khoa học, nước ta có khoảng 12000 loài thực vật bậc cao, hơn 4000 loài trong số đó được sử dụng làm thuốc chữa bệnh [1]. Việc sử dụng chúng để sản xuất các loại thuốc, hoặc thực phẩm chức năng phục vụ cuộc sống ngày càng được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm do tác dụng điều trị bệnh hiệu quả và gần như không để lại tác dụng phụ.

Trong y học, vi sinh vật (vi khuẩn, virus, nấm, tảo) là căn nguyên của các bệnh truyền nhiễm. Sự phát triển của xã hội đã tác động đến biến đổi của khí hậu, làm phát sinh nhiều loại dịch bệnh nguy hiểm như cúm, đậu mùa, sốt rét, covid... Đặc biệt, ung thư vẫn tiếp tục là mối lo ngại của nhiều quốc gia và tác động trực tiếp đến sức khoẻ con người, điển hình như ung thư gan, phổi, dạ dày, vú, đại tràng ... Tuy nhiên, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học kỹ thuật, nhiều hợp chất có nguồn gốc từ thực vật được phân lập và sử dụng làm thuốc để điều trị ung thư như alkaloid vinca, epipodophyllotoxin, taxan...

Chi Ba bét (*Mallotus*) là một chi thực vật phổ biến, gồm khoảng 150 loài, phân bố chủ yếu tại các khu vực Đông Á, Nam Á và Đông Nam Á. Một số loài thuộc chi này đã được sử dụng trong dân gian để trị các loại bệnh khác nhau. Người Trung Quốc đã sử dụng loài bụi núi cao *M. japonicus* để chữa bệnh viêm loét dạ dày và tiêu hóa. Người Thái Lan được sử dụng loài bụi trườn *M. repandus* để chữa bệnh dạ dày, gan, viêm khớp và trị rắn độc cắn. Loài rùm nao *M. philippinensis* được người dân Philippines sử dụng làm thuốc sởi ảm, tẩy giun sán, thuốc diệt côn trùng và rất hữu ích trong việc điều trị viêm phế quản, chữa lành vết loét. Ở nước ta, loài bụi bực nâu *M. barbatus* được dùng chữa mụn nhọt, phù nề, ghẻ, cảm máu...[2]. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu được lý cho thấy chi *Mallotus* chứa các hợp chất chromene và flavonoid có hoạt tính tốt như kháng khuẩn, kháng nấm, gây độc tế bào, chống oxy hóa...[3].

Loài bụi bực *M. apelta* từ lâu cũng đã được sử dụng trong y học cổ truyền để chữa bệnh. Các nghiên cứu phát hiện một số hợp chất trong *M. apelta* có hoạt tính sinh học đặc biệt lý thú. Có thể kể đến malloapelta B phân lập từ lá có khả năng kháng ung thư thông qua việc ức chế mạnh sự hoạt hoá của yếu tố nhân NF- $\kappa$ B [4]. Một hợp chất khác, malloapeltic acid phân lập từ rễ có tính kháng HIV [5]. Điều này gợi ý đến tiềm năng to lớn của các hợp chất chưa biết trong *M. apelta* với việc hỗ trợ và điều trị những căn bệnh nan y. Thực tiễn đòi hỏi cần có các nghiên cứu nhằm phân lập đầy

đủ, đồng thời thử nghiệm kỹ lưỡng hoạt tính sinh học những hợp chất của loài này. Chính vì vậy, tôi lựa chọn đề tài: “*Nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư của loài Bùm búp *Mallotus apelta* (Lour.) Müll. – Arg., họ Thầu dầu – Euphorbiaceae*” để thực hiện luận án.

### **Mục tiêu của luận án:**

- Nghiên cứu sâu thành phần hóa học của loài *Mallotus apelta* ở Việt Nam.
- Nghiên cứu về tác dụng gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được.

### **Nội dung luận án bao gồm:**

1. Phân lập 21 hợp chất từ lá loài *Mallotus apelta* ở Việt Nam bằng phương pháp sắc ký.
2. Xác định cấu trúc hóa học của tất cả các hợp chất phân lập được, dựa trên các phương pháp phổ hiện đại.
3. Đánh giá hoạt tính kháng ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú và ung thư đại trực tràng của các hợp chất phân lập được. Nghiên cứu cơ chế gây độc tế bào ung thư vú và tuyến tiền liệt.

### **Những đóng góp mới của luận án:**

1. Đã tiến hành phân lập và xác định cấu trúc của 14 hợp chất mới: malloapelta C và D (**MA1a, MA1b, MA2a, MA2b** - 2 cặp đối quang), malloapelta E - H (**MA3-MA6**), malloapelta I và II (**MA7** và **MA8**), malloapelta J-L (**MA9-MA11**) và malloflavoside (**MA12**).

2. Các hợp chất phân lập **MA1-MA8** và malloapelta B được phát hiện có tác dụng ức chế mạnh sự phát triển tế bào ung thư. Hợp chất **MA2, MA3** và malloapelta B được phát hiện ức chế sự phát triển dòng tế bào ung thư buồng trứng TOV-21G thông qua yếu tố apoptosis và bất hoạt yếu tố nhân NF- $\kappa$ B. Hợp chất **MA8** được phát hiện gây độc các dòng tế bào ung thư vú và tuyến tiền liệt, MCF-7 và PC-3, thông qua con đường ức chế ANO1.

## Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Giới thiệu về chi *Mallotus*

#### 1.1.1. Đặc điểm thực vật của chi *Mallotus*

Chi *Mallotus* (Ba bét) thuộc bộ Malpighiales (Sơ ri), họ Euphorbiaceae (Thầu dầu), phân họ Acalyphoidae (Tai tượng). Đây là chi tương đối lớn với khoảng 150 loài, phân bố chủ yếu ở những vùng nhiệt đới Nam Á và Đông Nam Á như ở Malaysia có 75 loài, Thái Lan có 38 loài, Myanmar có 24 loài, Ấn Độ có 20 loài ....

Các loài thuộc chi *Mallotus* thường là cây thân bụi hoặc gỗ nhỏ. Lá mọc đối hoặc xếp hình xoắn ốc. Hoa đơn tính, mọc chùm hoặc chùy ở đầu cành hoặc nách lá. Quả nang hình sao, có lông mịn, khi khô nứt thành 3 mảnh. Hạt nhỏ có hình cầu hoặc trứng, màu đen, vỏ nhẵn bóng. Cây mọc ở những khu rừng nguyên sinh hoặc thứ sinh có nhiều mưa, luôn xanh tốt, độ cao dưới 1000 m so với mực nước biển. Ở Việt Nam, thống kê cho thấy có 40 loài thuộc chi *Mallotus* trong đó có 7 loài đặc hữu [3].

**Bảng 1.1. Các loài thuộc chi *Mallotus* ở Việt Nam**

STT	Tên loài	Tên Việt nam	Đặc điểm thực vật, phân bố và sử dụng truyền thống
1	<i>Mallotus anisopodus</i> Airy Shaw	Ruổi khế	Phân bố ở Việt Nam (An Giang), Campuchia, Lào, độ cao 100–500 m.
2	<i>Mallotus apelta</i> (Lour.) Müll. Arg.	Ba bét trắng, bực trắng, bùm bực, bai bái, bàng bạc, búi búi, cày ruộng	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Trung Quốc, độ cao 100–700 m. Vỏ: cầm máu. Lá: chữa bệnh ngoài da, viêm tai giữa. Toàn bộ cây: chữa tiêu chảy, viêm nhiễm, gan, dạ dày, phù nề.
3	<i>Mallotus barbatus</i> (Wall.) Müll. Arg.	Bùng bực, bông bét, bùng bực gai, bực bông gai, ba bét lông, ruổi câu, nhung diện râu, cám lợn	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Trung Quốc, Ấn Độ, Lào, Malaysia, Myanmar, Thái Lan, độ cao 100–1100 m. Vỏ: chữa dạ dày. Lá: chữa mụn nhọt, phù nề, ghẻ, cầm máu. Rễ: giảm đau, hạ sốt, lợi tiểu.
4	<i>Mallotus canii</i> Thin	Ba bét gia lai <b>(loài đặc hữu)</b>	Cây, tìm thấy tại tỉnh Gia Lai, độ cao 100–500 m.
5	<i>Mallotus chrysocarpus</i>	Ba bét quả vàng, ruổi trái vàng	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Hà Tây), Trung Quốc, độ cao 100–500 m.
6	<i>Mallotus chuyenii</i> Thin	Ba bét hoà bình <b>(loài đặc hữu)</b>	Cây, tìm thấy tại tỉnh Hòa Bình – Việt Nam, độ cao 100–500 m.
7	<i>Mallotus clellaii</i> Hook.f.	Ruổi clella, nhung diện	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (các tỉnh phía nam), Campuchia, Lào,

		clella, ruồi không lông, nhưng diện không lông,	Myanmar, Thái Lan, độ cao 100-500 m.
8	<i>Mallotus contubernalis</i> Hance	Ba bét, đơn xương, cánh kiến lá bạc, bực trường ba ngăn	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (các tỉnh phía bắc), Trung Quốc, Lào, độ cao 100-500 m.
9	<i>Mallotus cuneatus</i> Ridl.	Duối rừng, ruồi rừng	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Campuchia, Ấn Độ, Malaysia, Philippines, Thái Lan, độ cao 100-500 m.
10	<i>Mallotus cuneatus</i> Ridl. var. <i>glabratus</i> Thin	Ba bét nhỏ ( <b>loài đặc hữu</b> )	Cây, phân bố ở các tỉnh phía bắc, độ cao 100-500 m.
11	<i>Mallotus dispar</i> (Blume) Müll. Arg.	Ruồi không đều, nhưng diện không đều	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam, Indonesia, Malaysia, Philippines, Thái Lan.
12	<i>Mallotus eberhardtii</i> Gagnep	Đỏ đọt ( <b>loài đặc hữu</b> )	Cây nhỏ/bụi, tìm thấy tại Huế và Kiên Giang, độ cao 100-500 m.
13	<i>Mallotus esquirolii</i> H. Lev.	Ba bét esquirol	Cây, phân bố ở Việt Nam (các tỉnh phía bắc Lạng Sơn và Hòa Bình), Trung Quốc, độ cao 100-500 m.
14	<i>Mallotus floribuus</i> (Blume) Müll. Arg.	Ba bét nhiều hoa, ruồi trung bộ, bạch đàn	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Australia, Campuchia, Lào, Indonesia, Malaysia, New Guinea, Philippines, Thái Lan, độ cao 100-500 m. Rễ: chữa tiêu chảy, hạ sốt, viêm nhiễm. Toàn bộ cây: chữa ghẻ
15	<i>Mallotus glabriusculus</i> (Kurz) Pax & K. Hoffm.	Ba bét nhỏ, nhưng diện coudere, chiết cánh, kiến cánh,	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (các tỉnh phía nam), Campuchia, Lào, Myanmar, độ cao 100-500 m. Rễ: chữa ho
16	<i>Mallotus hanheoensis</i> Thin	Ba bét hờn hờn ( <b>loài đặc hữu</b> )	Cây, tìm thấy tại tỉnh Khánh Hòa – Việt Nam, độ cao 100-500 m.
17	<i>Mallotus hookerianus</i> (Seem.) Müll. Arg.	Ba bét cuống lông, chua nga, nhót vàng, ba bét lông dựng,	Cây, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Trung Quốc, New Guinea, độ cao 100-500 m.
18	<i>Mallotus lanceolatus</i> (Gagnep) Airy Shaw	Ba bét thon, ruồi thon, nhưng diện thon	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Campuchia, Lào, Thái Lan, độ cao 100-500 m.
19	<i>Mallotus luchenensis</i> F.P. Metcalf.	Cắm lộn, bùm bup, ruồi luchen	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở bắc Việt Nam, Trung Quốc, độ cao 100-800 m.

20	<i>Mallotus macrostachyus</i> (Miq.) Müll. Arg.	Ba bét chùm to, bùm búp bông to, ruồi trắng, ruồi đuôi to, bực chùm to ...	Cây, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Ấn Độ, Indonesia, Malaysia, Philippines, Thái Lan, 100–500 m. Lá: chữa mụn nhọt, cầm máu, làm lành vết thương
21	<i>Mallotus metcalfianus</i> Croizat	Ba bét đỏ, ruồi mecalf, ba bét mecalf	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Trung Quốc, độ cao 100–1000 m.
22	<i>Mallotus microcarpus</i>	Ba bét quả nhỏ, ruồi trái nhỏ	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc và trung), Trung Quốc, độ cao 100–500 m.
23	<i>Mallotus mollissimus</i> (Vahl & Geiseler) Airy Shaw	Bực quả thầu dầu, bực nâu, ba bét nâu, ruồi mem,	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Australia, Campuchia, Indonesia, Lào, Malaysia, New Guinea, Philippines, 100–500 m.
24	<i>Mallotus nanus</i> Airy Shaw	Ba bét lùn, ruồi thorel	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở miền trung Việt Nam, Campuchia, Lào, độ cao 100–500 m.
25	<i>Mallotus oblongifolius</i> (Miq.) Müll. Arg.	Chóc mòn, chóc móc, chóc mót, cám heo, ruồi tròn dài	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Australia, Campuchia, Ấn Độ, Indonesia, Lào, Malaysia, Myanmar, New Guinea, Philippines, độ cao 100–800 m. Rễ: chữa sốt rét. Toàn bộ cây: chữa tiêu chảy, dạ dày
26	<i>Mallotus oreophilus</i> Müll. Arg.	Ba bét núi cao	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (Lào Cai), Trung Quốc, Ấn Độ, độ cao 700–2000 m.
27	<i>Mallotus pallidus</i> (Airy Shaw) Airy Shaw	Ba bét tai	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc và trung), Trung Quốc, Thái Lan, độ cao 100–500 m.
28	<i>Mallotus paniculatus</i> (Lam.) Müll. Arg.	Bông bét, bùm búp nâu, bùm bực nâu, bái dài, bạch thủ, bực bạc, ba bét nam đỏ	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Đông bắc Australia, Campuchia, Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Lào, Malaysia, Myanmar, New Guinea, độ cao 100–1650 m. Quả: chữa nhiễm trùng vết thương, phù nề. Rễ: chữa viêm nhiễm. Toàn bộ cây: chữa đau đầu, hạ sốt, làm lành vết thương
29	<i>Mallotus peltatus</i> (Geiseler) Müll. Arg.	Ba bét lông, ruồi lông	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Lào Cai và các tỉnh phía nam), Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Malaysia, Myanmar, New Guinea, Philippines, Thái Lan, độ cao 1000–1500 m.
30	<i>Mallotus philippinensis</i> (Lamk.) Müll. Arg.	Cánh kiến, mót, rùm nao, ba chia, thuốc sán,	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Australia, Campuchia, Ấn Độ, Indonesia, Lào, Malaysia,



		thó kháng sai, rùm hao	Myanmar, Philippines, Thái Lan, Sri Lanka, độ cao 100–500 m. Vỏ: sát trùng, giảm đau, chữa bệnh ngoài da, hạ sốt, cầm máu. Quả: chữa dạ dày, phù nề, kí sinh trùng, giang mai. Lá: chữa tiêu chảy, lợi tiểu, kiết lỵ. Rễ: chống co giật, cầm máu. Thân: chữa chóng mặt
31	<i>Mallotus pierrei</i> (Gagnep) Airy Shaw	Nhung diện pierre, ruồi pierre	Cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Đồng Nai, Vũng Tàu), Thái Lan, độ cao 100–600 m.
32	<i>Mallotus poilanei</i> Gagnep.	Sita, sito <b>(loài đặc hữu)</b>	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (các tỉnh miền trung), độ cao 100–500 m. Lá: chữa đau đầu
33	<i>Mallotus repaus</i> (Rottler) Müll. Arg.	Bục trườn, bục leo, bùm bục trườn, bùm bục leo, nhung diện bãi, ruồi trần	Cây nhỏ/bụi, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), bắc Australia, Campuchia, Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Lào, Malaysia, Myanmar, New Guinea, Philippines, Sri Lanka, Thái Lan, độ cao 100–500 m. Lá: ghẻ, mụn nhọt. Rễ: hạ sốt, cầm máu. Toàn bộ cây: chữa nhiễm trùng vết thương, an thần
34	<i>Mallotus resinus</i> (Blanco) Merr.	Nhung diện mút, ruồi resin	Cây, phân bố ở Việt Nam (bắc vào nam), Campuchia, Ấn Độ, Indonesia, Malaysia, New Guinea, Philippines, Sri Lanka, độ cao 100-500 m.
35	<i>Mallotus sathayensis</i> Thin	Ba bét sa thày <b>(loài đặc hữu)</b>	Cây, tìm thấy tại tỉnh Kon Tum – Việt Nam, độ cao 100-500 m.
36	<i>Mallotus spodocarpus</i> Airy Shaw	Ba bét sét, ruồi trái sét kém	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Ninh Thuận), Thái Lan, độ cao 100–500 m.
37	<i>Mallotus thorelii</i> Gagnep.	Nhung diện thorel, ruồi thorel	Bụi, cây nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Kiên Giang), Campuchia, Trung Quốc, Lào, độ cao 100–500 m.
38	<i>Mallotus tsiangii</i> Merr. & Chun	Ruồi tsiang	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (Vĩnh Phúc), Trung Quốc, 500–1000 m.
39	<i>Mallotus ustulatus</i> (Gagnep.) Airy Shaw	Ba bét lửa, ruồi củi	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (trung vào nam), Campuchia, độ cao 100–500 m.
40	<i>Mallotus yunnanensis</i> Pax & K. Hoffm.	Ba bét vân nam, ruồi vân nam	Bụi nhỏ, phân bố ở Việt Nam (miền bắc), Trung Quốc, độ cao 100–500 m.



*Mallotus hanheoensis*  
(nguồn: cayxanhdatviet.com.vn)



*Mallotus poilanei* Gagnep.  
(nguồn: <https://tracuuduoclieu.vn/>)

**Hình 1.1. Hai trong số bảy loài đặc hữu thuộc chi *Mallotus* tại Việt Nam**

### 1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Mallotus*

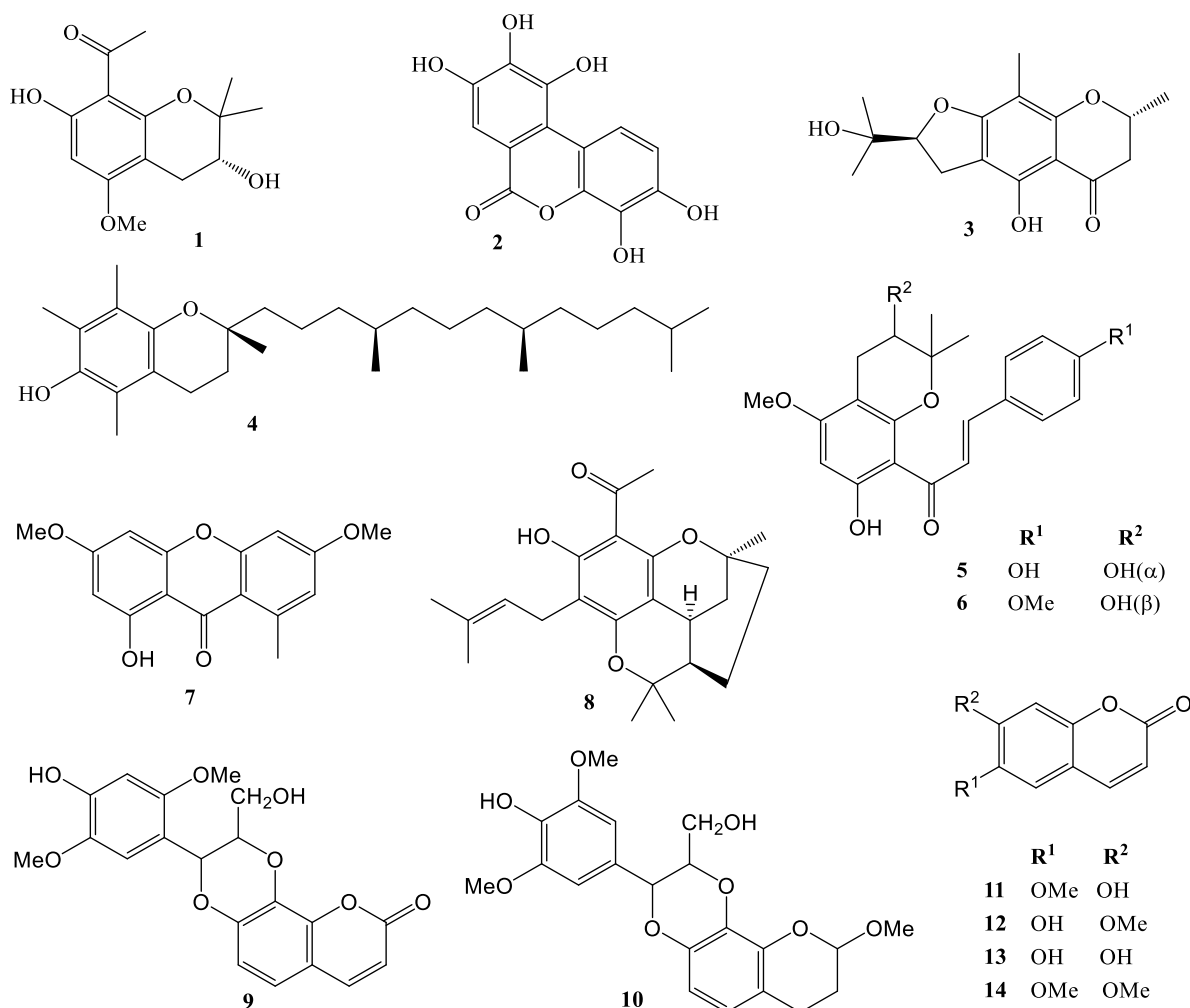
Tổng quan cho biết có 273 hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc từ chi *Mallotus*, trong đó nhiều nhất là các phenolic (74 hợp chất: **103-176**), terpenoid (69 hợp chất: **177-245**), tiếp đó là flavonoid (52 hợp chất: **15-66**), phloroglucinol (36 hợp chất: **67-102**), benzopyran và coumarin (14 hợp chất: **1-14**), còn lại là steroid và hợp chất khác (28 hợp chất: **246-273**).

#### 1.1.2.1. Các hợp chất benzopyran và coumarin

**Bảng 1.2. Các hợp chất khung benzopyran được phân lập từ chi *Mallotus*.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
1	acronyculatin U	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
2	pentahydroxydibenzo[b,d]pyran-6-one	<i>M. furetianus</i>	lá	[7, 8]
3	paxiione D	<i>M. paxii</i>	thân	[9]
4	(+)- $\alpha$ -tocopherol	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. apelta</i>	lá lá	[10] [11]
5	paxiione A	<i>M. paxii</i>	thân	[9]
6	paxiione B	<i>M. paxii</i>	thân	[9]
7	lichenxanthone	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
8	mallopenin B	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
9	repandusin	<i>M. repandus</i>	thân	[13]
10	repanduthylin	<i>M. repandus</i>	thân	[13]
11	scopoletin	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. apelta</i> <i>M. resinosus</i> <i>M. japonicus</i>	lá cành quả lá	[6] [14] [15] [16]
12	isoscopoletin	<i>M. resinosus</i>	rễ	[17]
13	esculetin	<i>M. resinosus</i>	rễ	[17]
14	dimethoxycoumarin	<i>M. resinosus</i>	rễ	[17]

Có 8 benzopyran và 6 coumarin được phân lập từ chi *Mallotus*. Các hợp chất benzopyran (**1-8**) có trong *M. oppositifolius* (lá), *M. furetianus* (lá), *M. paxii* (thân) và *M. philippensis* (quả). Các coumarin (**9-14**) có trong *M. repandus* (thân), *M. oppositifolius* (lá), *M. resinus* (lá và quả) và *M. japonicus* (lá).



**Hình 1.2.** Cấu trúc hóa học của các benzopyran và coumarin từ chi *Mallotus*

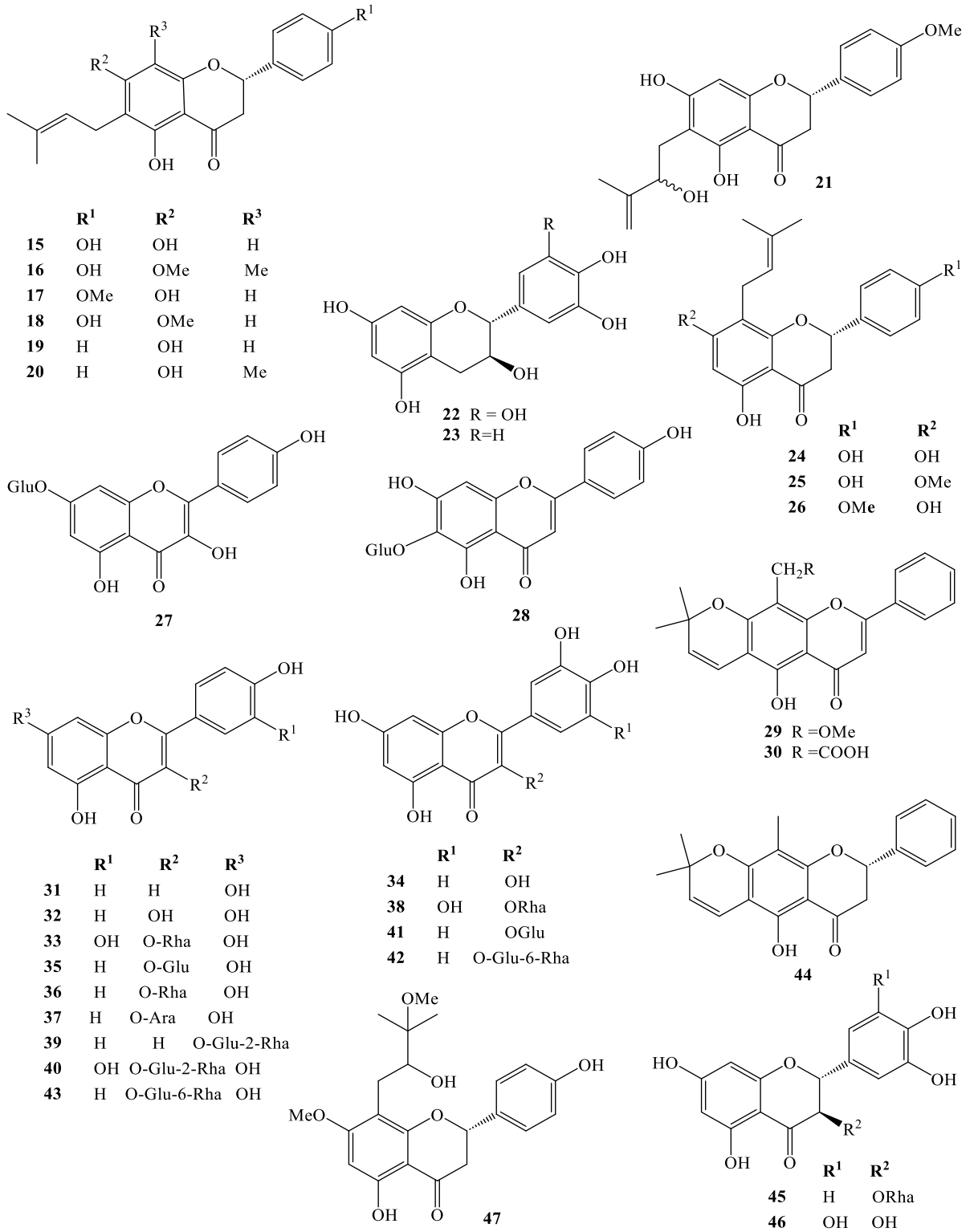
#### 1.1.2.2. Các hợp chất flavonoid.

Có 52 flavonoid được phân lập từ chi *Mallotus*. Các hợp chất này có trong *M. barbatus* (lá), *M. conspurcatus*, *M. metcalfianus* (lá và thân), *M. japonicus* (lá), *M. philippinensis* (quả) và *M. philippensis* (quả).

**Bảng 1.3.** Các hợp chất flavonoid từ chi *Mallotus*.

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TL TK
<b>15</b>	6-prenylnaringenin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[18]
<b>16</b>	7-O-methyl-6-prenylnaringenin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[18]
<b>17</b>	4'-O-methyl-6-prenylnaringenin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[18]
<b>18</b>	(2S)-5,4'-dihydroxy-7-methoxy-6-(3'',3''-dimethylallyl)flavanone	<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]

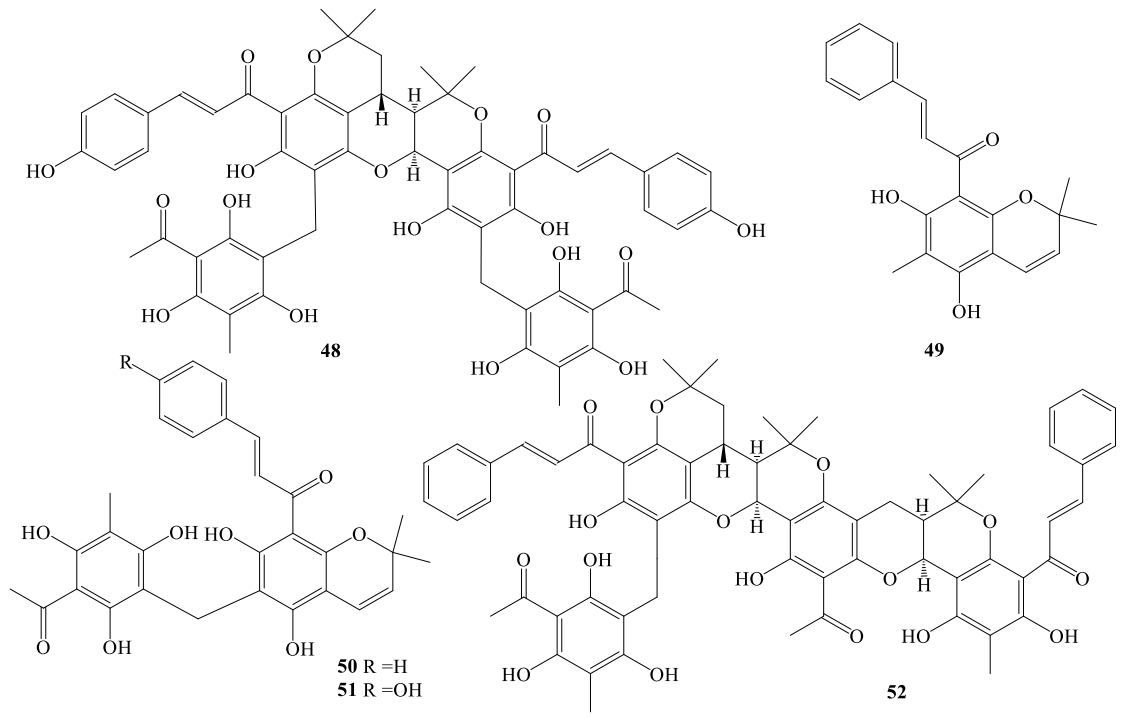
19	5,7-dihydroxy-8-methyl-6-prenylflavanone	<i>M. philippensis</i>	quả	[20]
20	5,7-dihydroxy-8-methyl-6-prenylflavanone	<i>M. philippensis</i>	quả	[21]
21	(2''S/2''R)-(2S)-5,7-dihydroxy-4'-methoxy-6-(2''-hydroxy-3''-methylbut-3''-enyl)flavanone	<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]
22	galocatechin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
23	catechin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
24	8-prenylnaringenin	<i>M. mollissimus</i> <i>M. conspurcatus</i>	lá rễ	[19] [18]
25	7-O-methyl-8-prenylnaringenin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[18]
26	(2S)-5,7-dihydroxy-4'-methoxy-8-(3'',3''-dimethylallyl)flavanone	<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]
27	apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside	<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]
28	isovitexin	<i>M. philippensis</i>	lá	[23]
29	mallophenin D	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
30	mallophenin E	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
31	apigenin	<i>M. apelta</i> <i>M. mollissimus</i>	cành lá	[14] [19]
32	kaempferol	<i>M. apelta</i> <i>M. barbatus</i>	cành lá	[14] [24]
33	quercitrin	<i>M. japonicus</i> <i>M. barbatus</i> <i>M. nanus</i> <i>M. metcalfianus</i>	lá lá lá lá	[25] [26] [27] [28]
34	quercetin	<i>M. japonicus</i> <i>M. barbatus</i>	lá	[25] [26]
35	kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside	<i>M. barbatus</i>	lá	[24]
36	kaempferin	<i>M. barbatus</i> <i>M. nanus</i> <i>M. metcalfianus</i>	lá lá lá	[26] [27] [28]
37	juglanin	<i>M. nanus</i>	lá	[27]
38	myricitrin	<i>M. nanus</i>	lá	[27]
39	rhoifolin	<i>M. nanus</i>	lá	[27]
40	quercetin-3-O-β-neohesperidoside	<i>M. metcalfianus</i>	thân	[28]
41	isoquercitrin	<i>M. japonicus</i>	lá	[25]
42	rutin	<i>M. japonicus</i>	lá	[25]
43	kaempferol-3-rutinoside	<i>M. japonicus</i>	lá	[25]
44	6,6-dimethylpyrano(2'',3'':7,6)-5-hydroxy-8-methylflavanone	<i>M. philippensis</i>	quả	[21]
45	astilbin	<i>M. metcalfianus</i>	thân	[28]
46	ampelopsin	<i>M. philippensis</i>	lá	[23]
47	paxiione C	<i>M. paxii</i>	thân	[9]

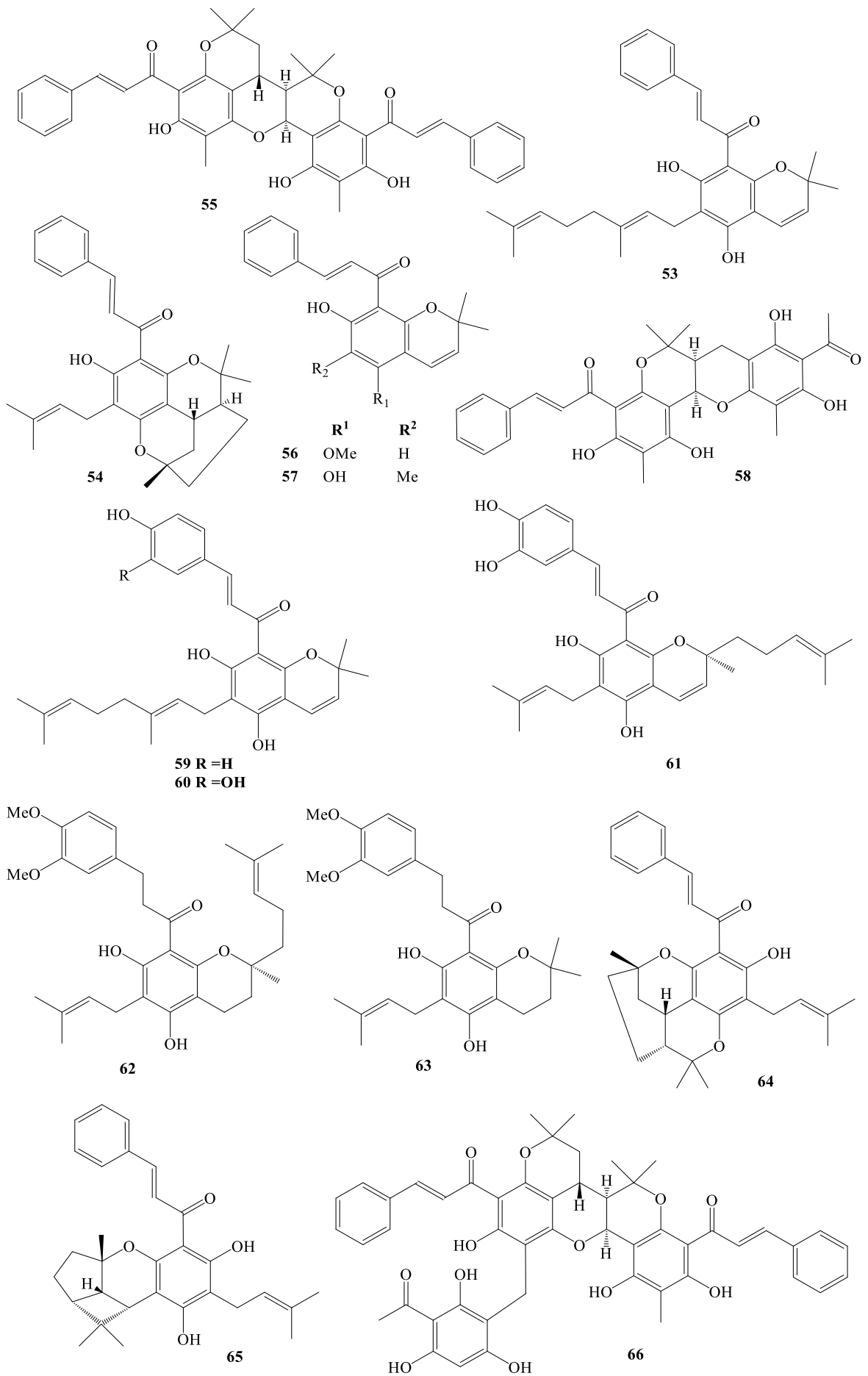


**Hình 1.3. Các hợp chất flavonoid chi Mallotus.**

**Bảng 1.4. Các hợp chất chalcone từ chi Mallotus.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
48	kamalachalcone E	<i>M. philippinensis</i>	quả	[29]
49	1-(5,7-dihydroxy-2,2,6-trimethyl-2H-1-benzopyran-8-yl)-3-phenyl-2-propen-1-one	<i>M. philippinensis</i>	quả	[29]
50	rotterin	<i>M. philippensis</i> <i>M. philippinensis</i>	quả quả	[12, 20, 21, 30] [29]
51	4'-hydroxyrottlerin	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
52	kamalachalcone D	<i>M. philippensis</i>	quả	[21]
53	mallotophilippen F	<i>M. philippensis</i>	quả	[12, 30]
54	3-prenylrubranine	<i>M. philippensis</i>	quả	[20]
55	kamalachalcone A	<i>M. philippensis</i>	quả	[21, 31]
56	8-cinnamoyl-2,2-dimethyl-7-hydroxy-5-methoxychromene	<i>M. philippensis</i>	quả	[30]
57	8-cinnamoyl-5,7-dihydroxy-2,2,6-trimethylchromene	<i>M. philippensis</i>	quả	[30]
58	kamalachalcone C	<i>M. philippensis</i>	quả	[21]
59	mallotophilippen C	<i>M. philippinensis</i>	quả	[32]
60	mallotophilippen D	<i>M. philippinensis</i>	quả	[32]
61	mallotophilippen E	<i>M. philippinensis</i>	quả	[32]
62	mallotoate A	<i>M. philippensis</i>	thân	[33]
63	mallotoate B	<i>M. philippensis</i>	thân	[33]
64	mallophenin A	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
65	mallophenin C	<i>M. philippensis</i>	quả	[12]
66	kamalachalcone B	<i>M. philippensis</i>	quả	[21, 31]





**Hình 1.4. Các hợp chất chalcone từ chi Mallotus.**



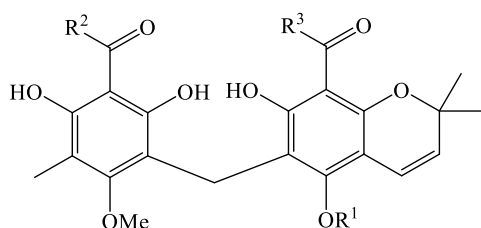
### 1.1.2.3. Các hợp chất phloroglucinol

Có 36 phloroglucinol được phân lập từ chi *Mallotus*. Các phloroglucinol (67-102) có trong *M. japonicus* (quả và lá), *M. oppositifolius* (quả và lá), *M. pallidus* (lá), *M. philippinensis* (quả) và *M. philippensis* (quả).

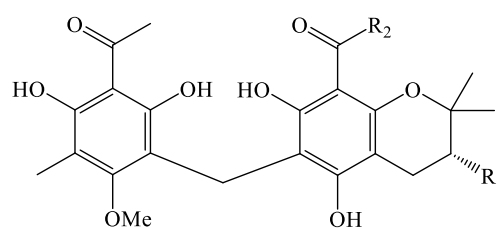
**Bảng 1.5. Các hợp chất phloroglucinol từ chi *Mallotus*.**

TT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
67	mallotophilippen A	<i>M. japonicus</i>	quả	[34]
68	mallotophilippen B	<i>M. japonicus</i>	quả	[34]
69	mallotochromene	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 35-38]
70	butyrylmallotochromene	<i>M. japonicus</i>	quả	[38, 39]
71	isobutyrylmallotochromene	<i>M. japonicus</i>	quả	[38, 39]
72	methylene-bis-aspidinol AB	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[10]
73	methylene-bis-aspidinol	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[10]
74	mallotophenone	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. japonicus</i>	quả	[40, 41] [15, 35-38]
75	mallotochromanol	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 36-39, 41, 42]
76	isobutyrylmallotochromanol	<i>M. japonicus</i>	quả	[37, 38, 41, 43]
77	mallotochroman	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 37, 38]
78	butyrylmallotochromanol	<i>M. japonicus</i>	quả	[38, 43]
79	butyrylmallotolerin	<i>M. japonicus</i>	quả	[37, 38, 41]
80	mallotolerin	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 36, 38]
81	isobutyrylmallotolerin	<i>M. japonicus</i>	quả	[38]
82	isomallotolerin	<i>M. japonicus</i>	quả	[42]
83	malloterin	<i>M. japonicus</i>	quả	[42]
84	mallopposinol	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[10]
85	isomallotochromene	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 37, 38, 41]
86	isomallotochromanol	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 37, 38, 41, 42]
87	isomallotochroman	<i>M. japonicus</i>	quả	[38]
88	mallotojaponin B	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6, 40]
89	mallotojaponin	<i>M. japonicus</i>	quả	[15, 35-38, 41, 44, 45]
90	butyrylmallotojaponin	<i>M. japonicus</i>	quả	[16, 38]
91	isobutyrylmallotojaponin	<i>M. japonicus</i>	quả	[16, 38]
92	3-(3,3-dimethylallyl)-5-(3-acetyl-2,4-dihydroxy-5-methyl-6-methoxybenzyl)-phlorobutyrophenone	<i>M. japonicus</i>	quả	[36, 45, 46]
93	3-(3,3-dimethylallyl)-5-(3-acetyl-2,4-dihydroxy-5-methyl-6-methoxy benzyl)-phloroisobutyrophenone	<i>M. japonicus</i>	quả	[36, 46]

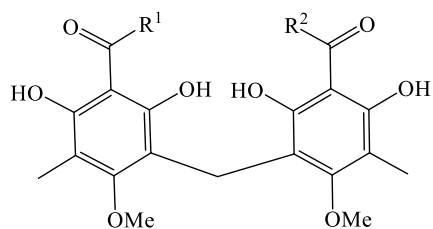
<b>94</b>	mallopallidol	<i>M. pallidus</i>	lá	[47, 48]
<b>95</b>	homomallopallidol	<i>M. pallidus</i>	lá	[48]
<b>96</b>	mallopallidusol	<i>M. pallidus</i>	lá	[49]
<b>97</b>	mallotojaponol	<i>M. japonicus</i>	quả	[43]
<b>98</b>	mallotojaponin D	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
<b>99</b>	isoallorottlerin	<i>M. philippensis</i>	quả	[12, 21]
<b>100</b>	4'-hydroxyisorottlerin	<i>M. philippensis</i>	quả	[12, 21]
<b>101</b>	isorottlerin	<i>M. philippensis</i> <i>M. philippinensis</i>	quả	[12, 20, 30] [21, 50]
<b>102</b>	mallotojaponin C	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6, 40]



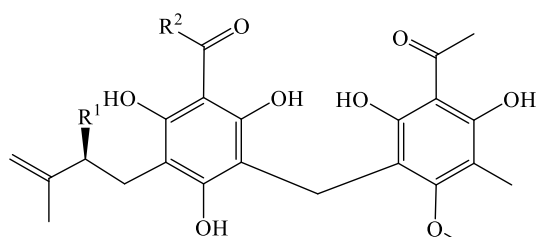
	<b>R<sup>1</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>3</sup></b>
<b>67</b>	Me	<i>i</i> -propyl	<i>i</i> -butyl
<b>68</b>	Me	Me	<i>i</i> -butyl
<b>69</b>	H	Me	Me
<b>70</b>	H	Me	<i>n</i> -propyl
<b>71</b>	H	Me	<i>i</i> -propyl



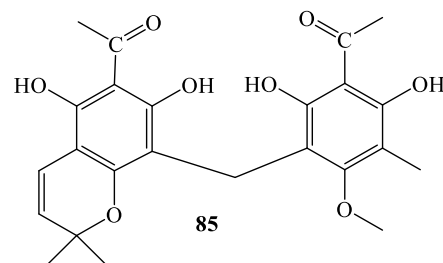
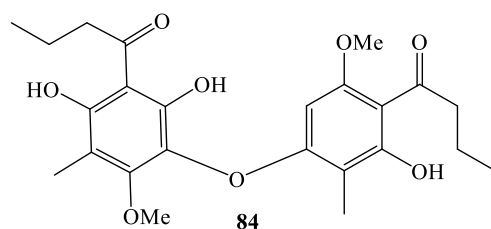
	<b>R<sup>1</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>75</b>	OH	Me
<b>76</b>	OH	<i>i</i> -butyl
<b>77</b>	H	Me
<b>78</b>	OH	<i>n</i> -propyl

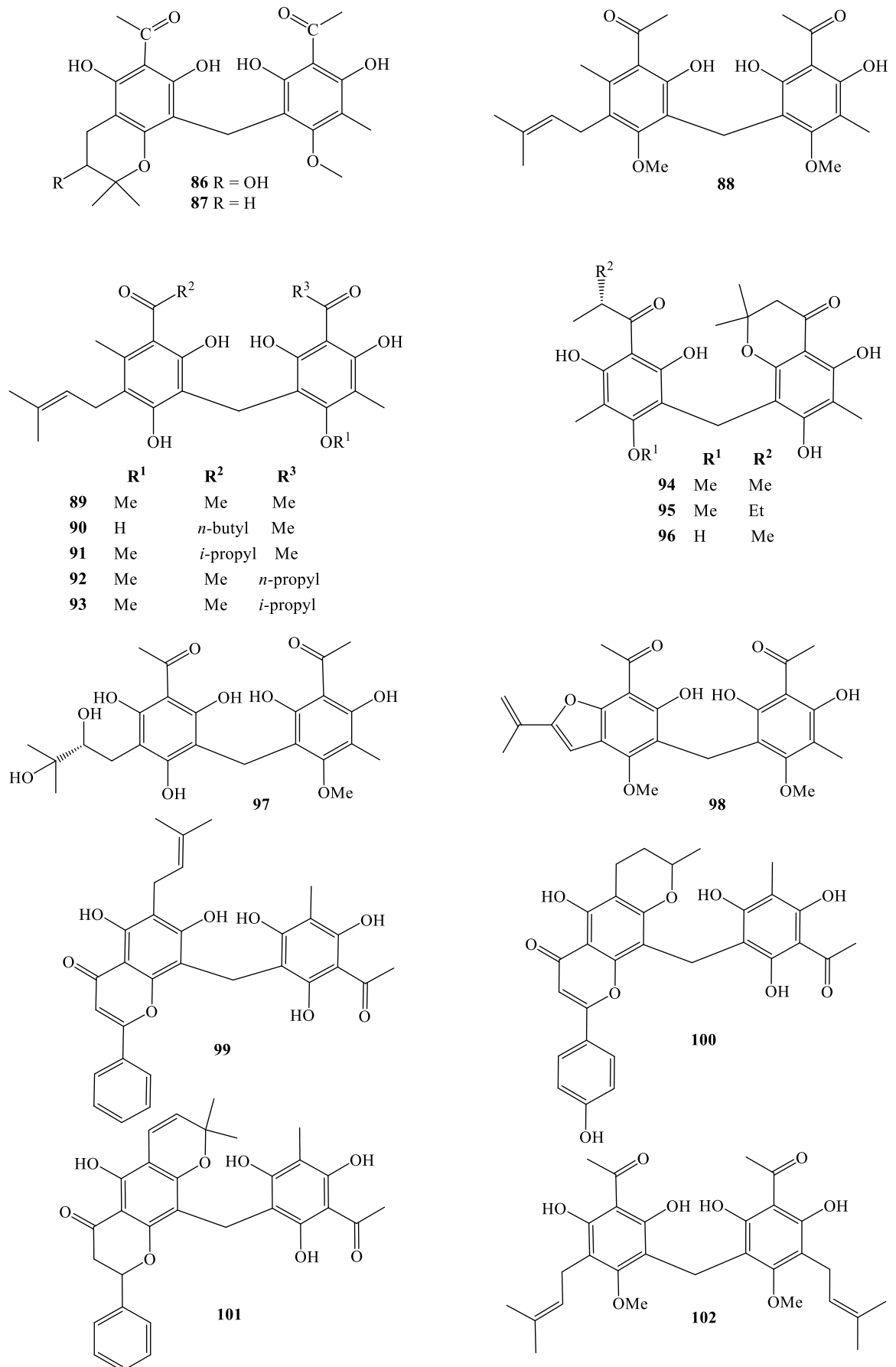


	<b>R<sup>1</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>72</b>	Me	<i>n</i> -propyl
<b>73</b>	<i>n</i> -propyl	<i>n</i> -propyl
<b>74</b>	Me	Me



	<b>R<sup>1</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>79</b>	OH	<i>n</i> -butyl
<b>80</b>	OH	Me
<b>81</b>	H	<i>i</i> -propyl
<b>82</b>	OH	<i>n</i> -propyl
<b>83</b>	OH	<i>i</i> -propyl





Hình 1.5. Các hợp chất phloroglucinol từ chi *Mallotus*.

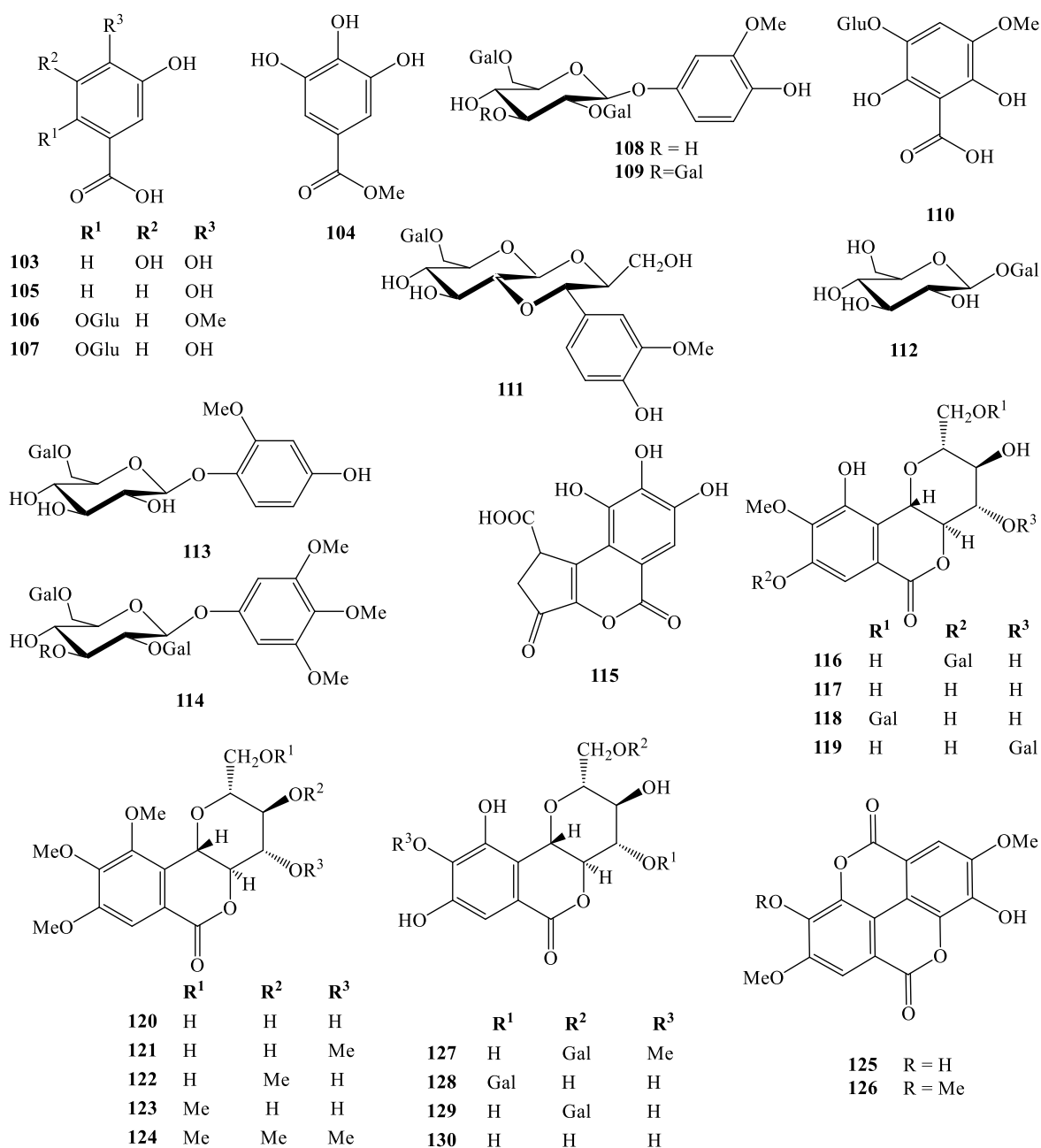
#### 1.1.2.4. Các hợp chất phenolic

Có 74 hợp chất phenolic được phân lập từ chi *Mallotus*. Trong số đó, các dẫn xuất của gallic và bergenin (**103-130**) có trong *M. anisopodus* (lá), *M. barbatus* (lá), *M. furetianu* (lá), *M. japonicus* (vỏ cây và lá), *M. conspurcatus* (vỏ cây), *M. nanus* (lá), *M. philippensis* (lá), *M. repandus* (lá và vỏ cây), *M. oppositifolius* (lá), *M. philipinesis* (lá), *M. resinusus* (lá) và *M. roxburghianus* (lá). Các tanin (**131-154**) có trong *M. conspurcatus* (lá), *M. furetianus* (vỏ cây và lá), *M. japonicus* (vỏ cây và lá), *M. philipinesis* (lá), *M. repandus* (lá). Còn lại là các lignan và một số hợp chất khác (**155-176**).

**Bảng 1.6. Các dẫn xuất gallic và bergenin từ chi *Mallotus*.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
103	gallic acid	<i>M. furetianus</i> <i>M. barbatus</i>	lá lá	[7, 8] [24]
104	methyl gallate	<i>M. furetianu</i> <i>M. oppositifolius</i> <i>M. barbatus</i>	lá lá lá	[7] [10] [24]
105	protocatechuic acid	<i>M. barbatus</i>	lá	[24]
106	mallonanose A	<i>M. nanus</i>	lá	[27]
107	mallonanose B	<i>M. nanus</i>	lá	[27]
108	4-hydroxy-3-methoxyphenol-1- <i>O</i> - $\beta$ -D-(2',6'-di- <i>O</i> -galloyl)glucoside	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[51]
109	4-hydroxy-3-methoxyphenol-1- <i>O</i> - $\beta$ -D-(2,3,6'-tri- <i>O</i> -galloyl)glucoside	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[51]
110	3-(1- <i>C</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,6-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid	<i>M. roxburghianus</i>	lá	[52]
111	mallophenol A	<i>M. furetianus</i> <i>M. resinusus</i>	lá lá	[7, 8] [8]
112	glucogallin	<i>M. repandus</i>	lá	[53]
113	4-hydroxy-2-methoxyphenol-1- <i>O</i> - $\beta$ -D-(6'- <i>O</i> -galloyl)glucoside	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[51]
114	3,4,5-trimethoxyphenol 1- <i>O</i> - $\beta$ -D-(2',6'-di- <i>O</i> -galloyl) glucoside	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[51]
115	brevifolin carbonxilic acid	<i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	lá lá	[54] [53]
116	11- <i>O</i> -galloylbergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
117	bergenin	<i>M. anisopodus</i> <i>M. oppositifolius</i> <i>M. philippensis</i> <i>M. conspurcatus</i> <i>M. japonicus</i>	lá lá lá vỏ vỏ	[56] [6, 10, 22, 23] [23, 54] [22] [52, 55, 57, 58]
118	bergenin-8- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnoside	<i>M. repandus</i>	vỏ	[59]

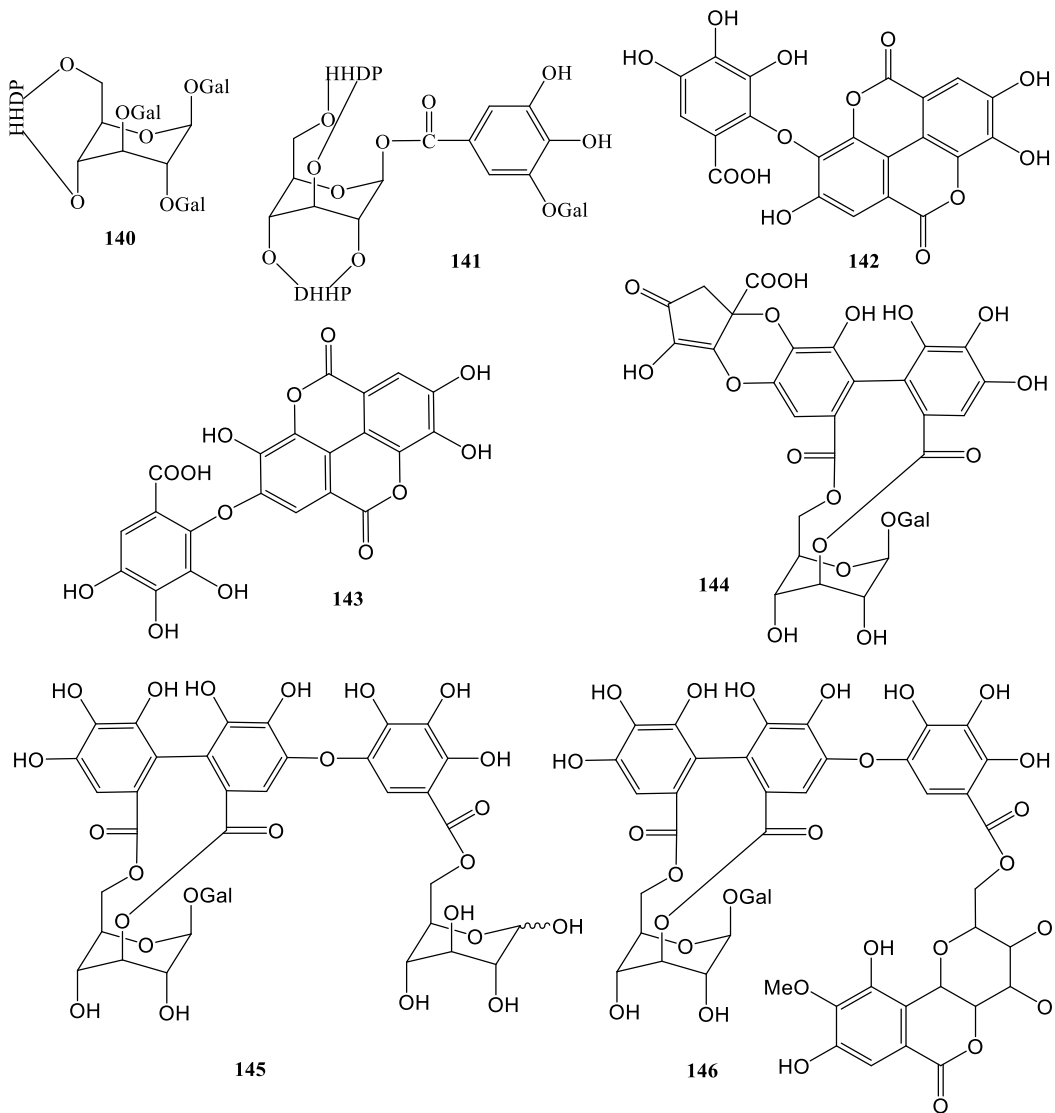
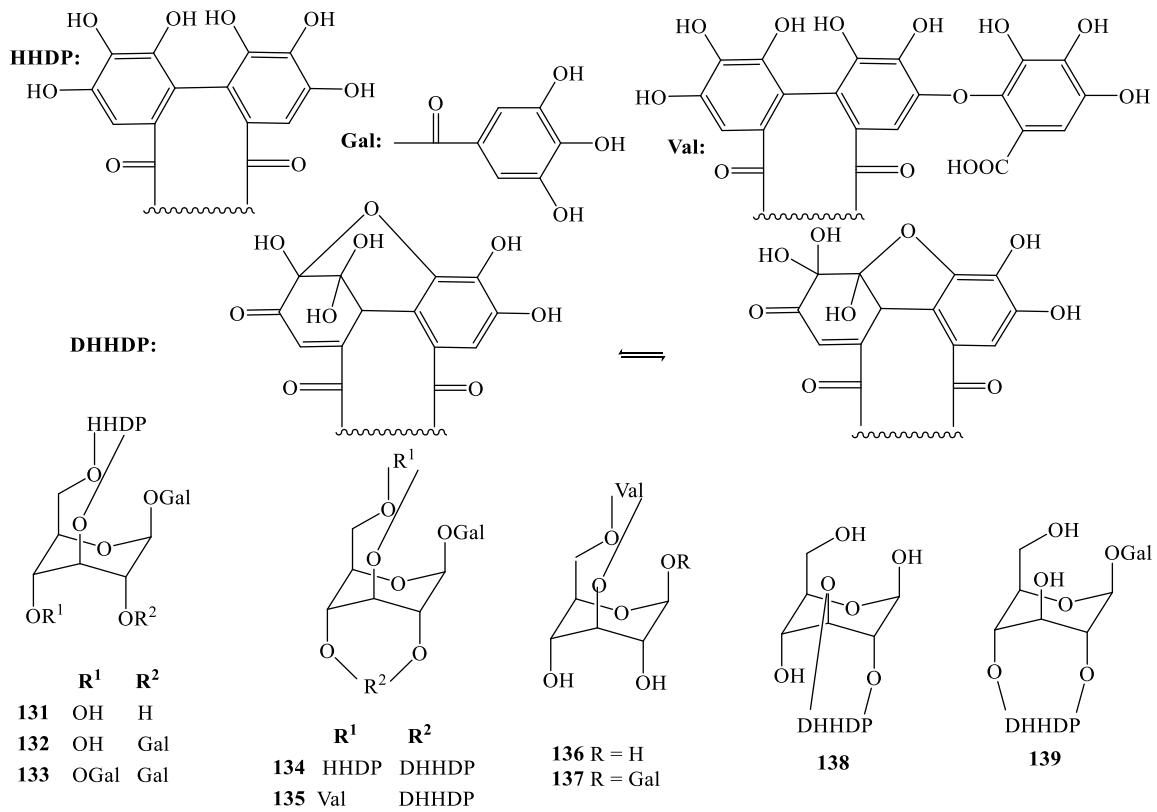
<b>119</b>	4- <i>O</i> -galloylbergenin	<i>M. philippensis</i> <i>M. japonicus</i>	lá vỏ	[23] [55]
<b>120</b>	8,10-di- <i>O</i> -methylbergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
<b>121</b>	4,8,10-tri- <i>O</i> -methylbergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
<b>122</b>	3,8,10-tri- <i>O</i> -methylbergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
<b>123</b>	8,10,11-tri- <i>O</i> -methylbergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
<b>124</b>	permethylated bergenin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[55]
<b>125</b>	nasutin B	<i>M. japonicus</i>	lá	[16]
<b>126</b>	nasutin C	<i>M. japonicus</i>	lá	[16]
<b>127</b>	6- <i>O</i> -galloylbergenin	<i>M. philippensis</i>	lá	[54]
<b>128</b>	3- <i>O</i> -galloylnorbergenin	<i>M. philippensis</i>	lá	[54]
<b>129</b>	11- <i>O</i> -galloyldemethylbergenin	<i>M. philippensis</i>	lá	[54, 55]
<b>130</b>	norbergenin	<i>M. philippensis</i>	lá	[54]

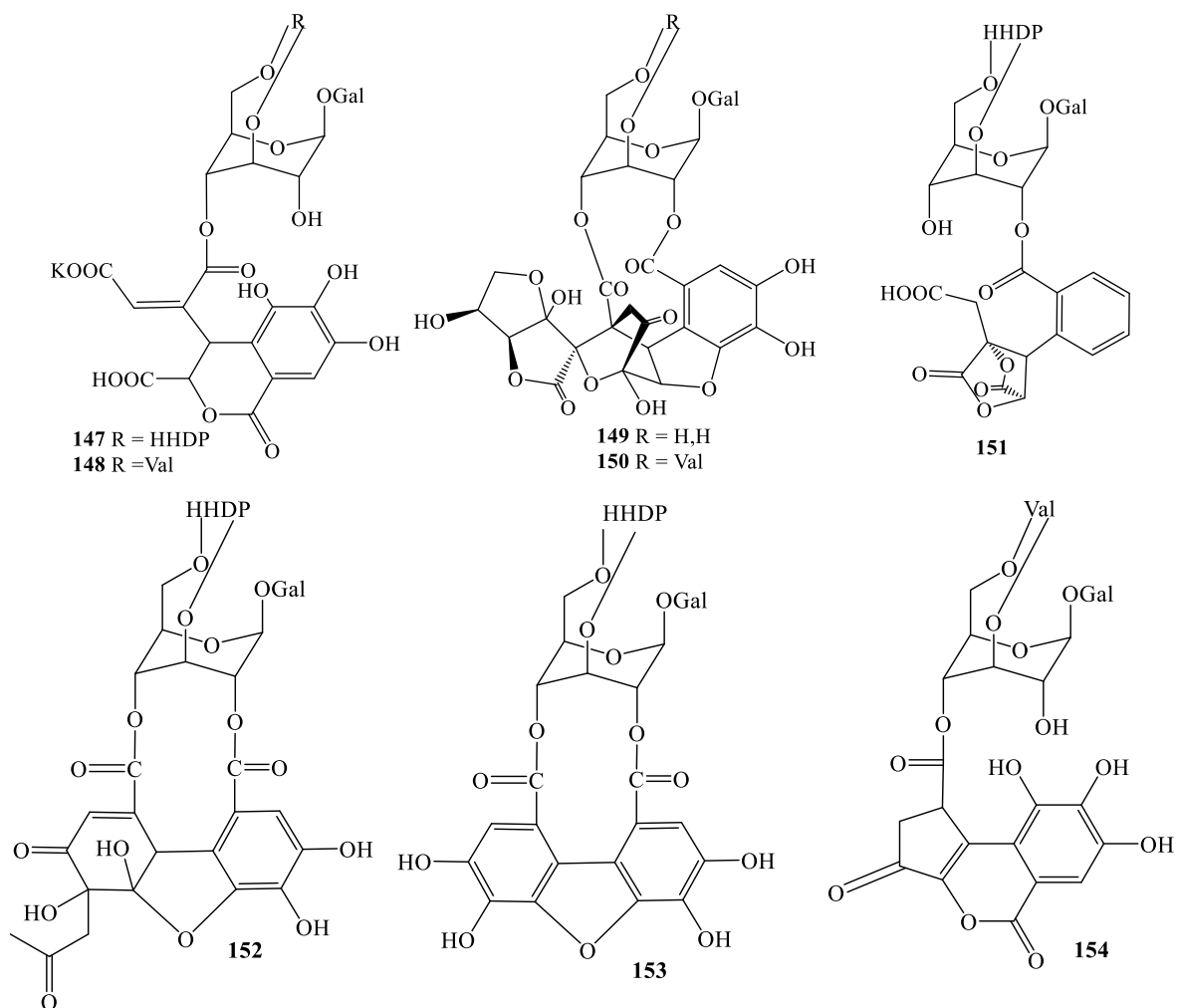


Hình 1.6. Các dẫn xuất từ galic và bergenin từ chi Mallotus.

**Bảng 1.7. Các tanin từ chi Mallotus.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
131	corilagin	<i>M. furetianus</i> , <i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	vỏ lá lá	[7, 60, 61] [54] [53]
132	1,2-di- <i>O</i> -galloyl-3,6-( <i>R</i> )-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucose	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[62]
133	punicafolin	<i>M. repandus</i>	lá	[53]
134	geraniin	<i>M. japonicus</i> <i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	lá lá lá	[60, 61, 63] [54] [53]
135	mallotusinic acid	<i>M. japonicus</i> <i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	vỏ lá lá	[60, 61, 63] [53, 54] [58]
136	L-desgalloylmallotinic acid	<i>M. philipinesis</i>	lá	[54]
137	mallotinic acid	<i>M. japonicus</i> <i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	vỏ lá lá	[60, 61, 63] [54] [53]
138	2,3-( <i>S</i> )-hexa-hydroxydiphenoyl-D-glucose	<i>M. philipinesis</i>	lá	[54]
139	furososin	<i>M. philipinesis</i> <i>M. repandus</i>	lá lá	[54] [53]
140	eugenin	<i>M. repandus</i>	lá	[53]
141	1- <i>O</i> -digalloyl-3,6-( <i>R</i> )-hexahydroxydiphenoyl- $\beta$ -D-glucose	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[62]
142	tergallic acid dilactone	<i>M. philipinesis</i>	lá	[54]
143	flavogallonic acid	<i>M. philipinesis</i>	lá	[54]
144	repandinin B	<i>M. furetianus</i>	lá	[7]
145	mallotanin A	<i>M. japonicus</i>	lá	[54]
146	mallotanin B	<i>M. japonicus</i>	lá	[54]
147	repandusinic acid A	<i>M. repandus</i>	lá	[53, 54]
148	repandusinic acid B	<i>M. repandus</i>	lá	[53]
149	mallonin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[62]
150	mallojaponin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[62]
151	mallotinin	<i>M. repandus</i>	lá	[53]
152	phyllanthusiin D	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[25]
153	mallotusinin	<i>M. japonicus</i>	vỏ	[62]
154	repandusinin	<i>M. repandus</i>	lá	[53]





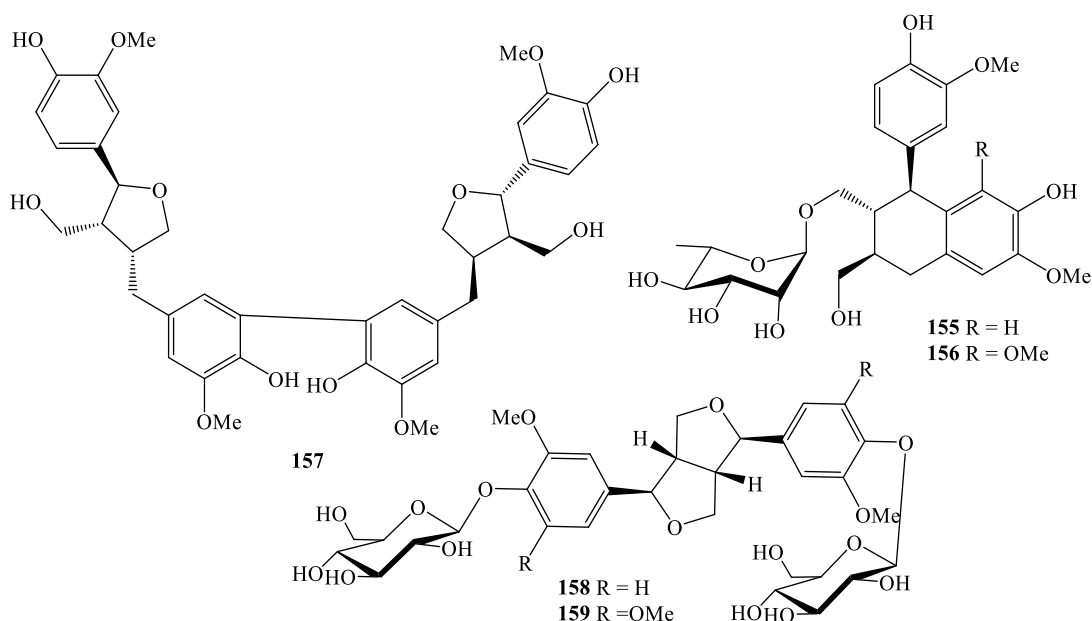
**Hình 1.7. Các tanin từ chi Mallotus**

Có 5 lignan (**155-159**) được phân lập từ *M. philippensis* (lá), *M. japonicus* (lá), *M. furetianus* (lá) và *M. macrostachyus* (lá).

**Bảng 1.8. Các lignan từ chi Mallotus.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
<b>155</b>	aviculin	<i>M. furetianus</i>	lá	[8]
<b>156</b>	(+)-lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>M. furetianus</i>	lá	[7, 8]
<b>157</b>	bilariciresinol	<i>M. philippensis</i>	lá	[23]
<b>158</b>	(+)-pinoresinol glucopyranoside	di-O- $\beta$ -D- <i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
<b>159</b>	syringaresinol glucopyranoside	di-O- $\beta$ -D- <i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]

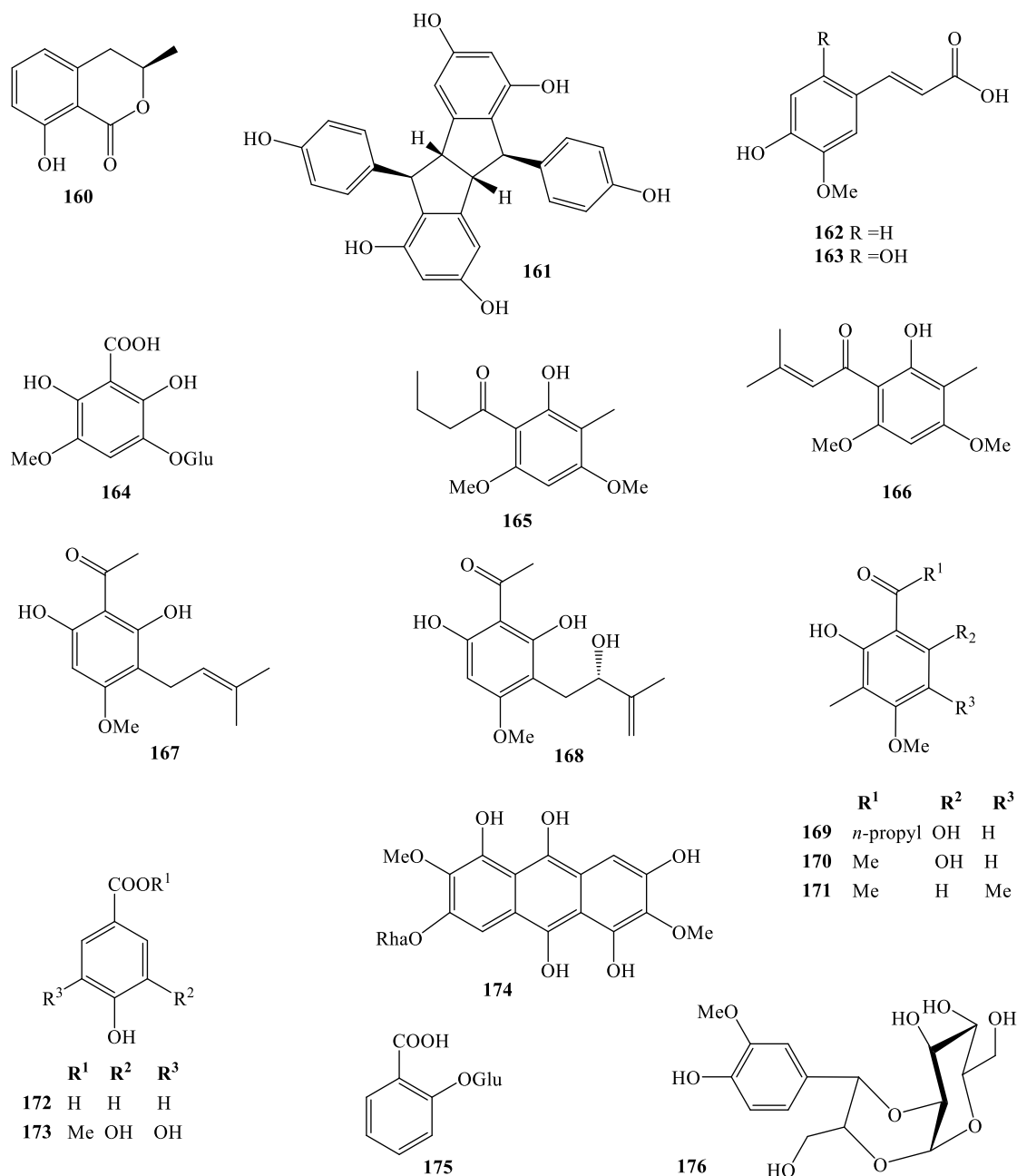




**Hình 1.8.** Các lignan từ chi *Mallotus*.

**Bảng 1.9.** Các hợp chất phenol khác từ chi *Mallotus*.

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
160	mellein	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
161	pallidol	<i>M. pallidus</i>	lá	[47, 48]
162	<i>trans</i> -ferulic acid	<i>M. metcalfianus</i>	thân	[28]
163	2-hydroxy ferulic acid	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
164	3-(1- <i>C</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,6-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid	<i>M. roxburghianus</i>	lá	[52]
165	pallidusol	<i>M. pallidus</i>	lá	[47, 48]
166	dehydropallidusol	<i>M. pallidus</i>	lá	[47, 48]
167	acronyculatin S	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
168	acronyculatin T	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[6]
169	aspidinol B	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[10]
170	2,6-dihydroxy-3-methyl-4-methoxyacetophenone	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. japonicus</i> <i>M. roxburghianus</i>	lá quả lá	[6] [15, 16, 35-37] [52]
171	mallophenone	<i>M. japonicus</i>	quả	[38]
172	4-hydroxybenzoic acid	<i>M. roxburghianus</i>	lá	[52]
173	gallincin	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
174	2,4,8,9,10-pentahydroxy-3,7-dimethoxy anthracene-6- <i>O</i> - $\beta$ -D-rhamnopyranoside	<i>M. roxburghianus</i>	lá	[52]
175	methyl salicylate glucoside	<i>M. metcalfianus</i>	thân	[28]
176	junipetrioloside A	<i>M. anisopodus</i>	thân	[56]



**Hình 1.9. Các hợp chất phenol khác từ chi *Mallotus*.**

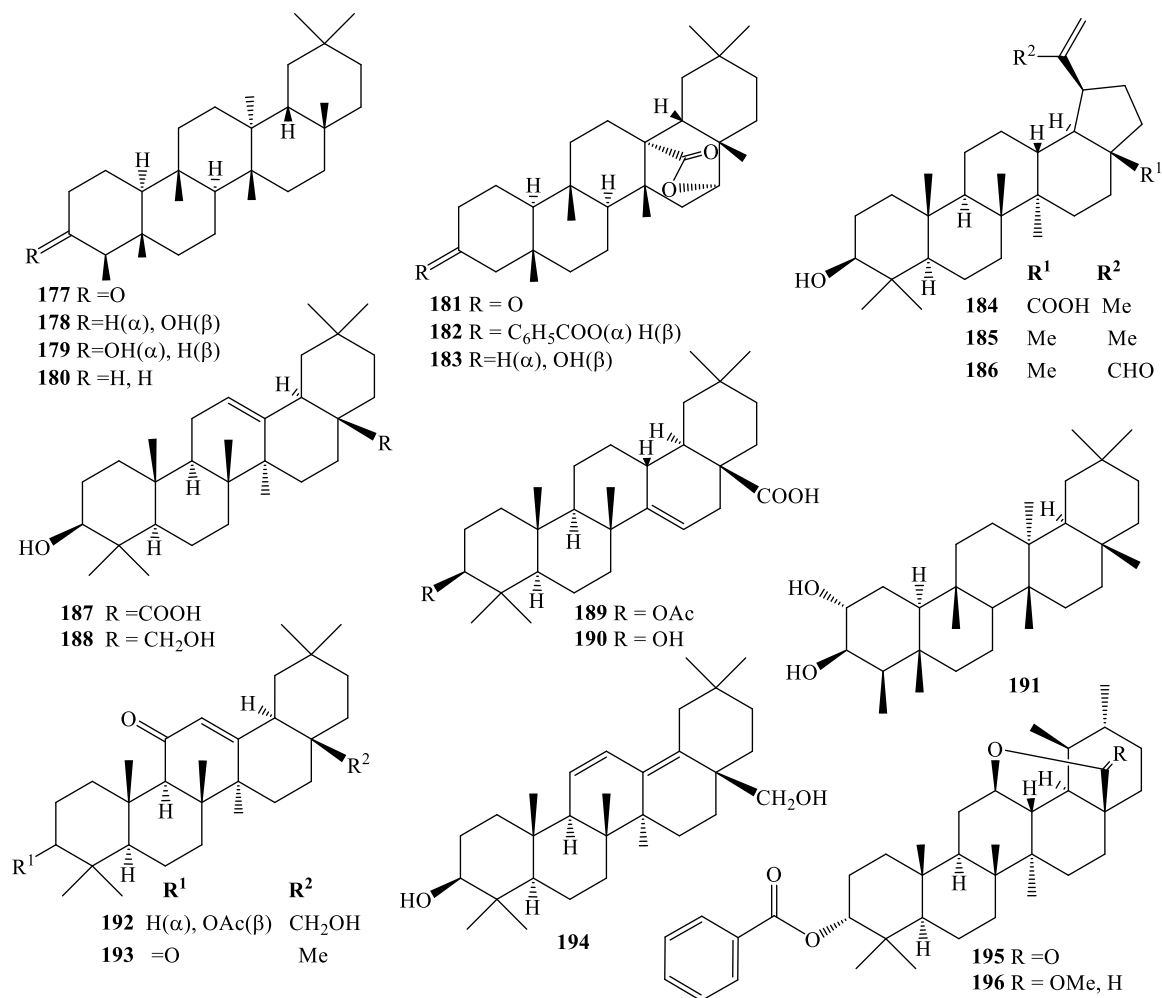
#### 1.1.2.5. Các hợp chất triterpenoid

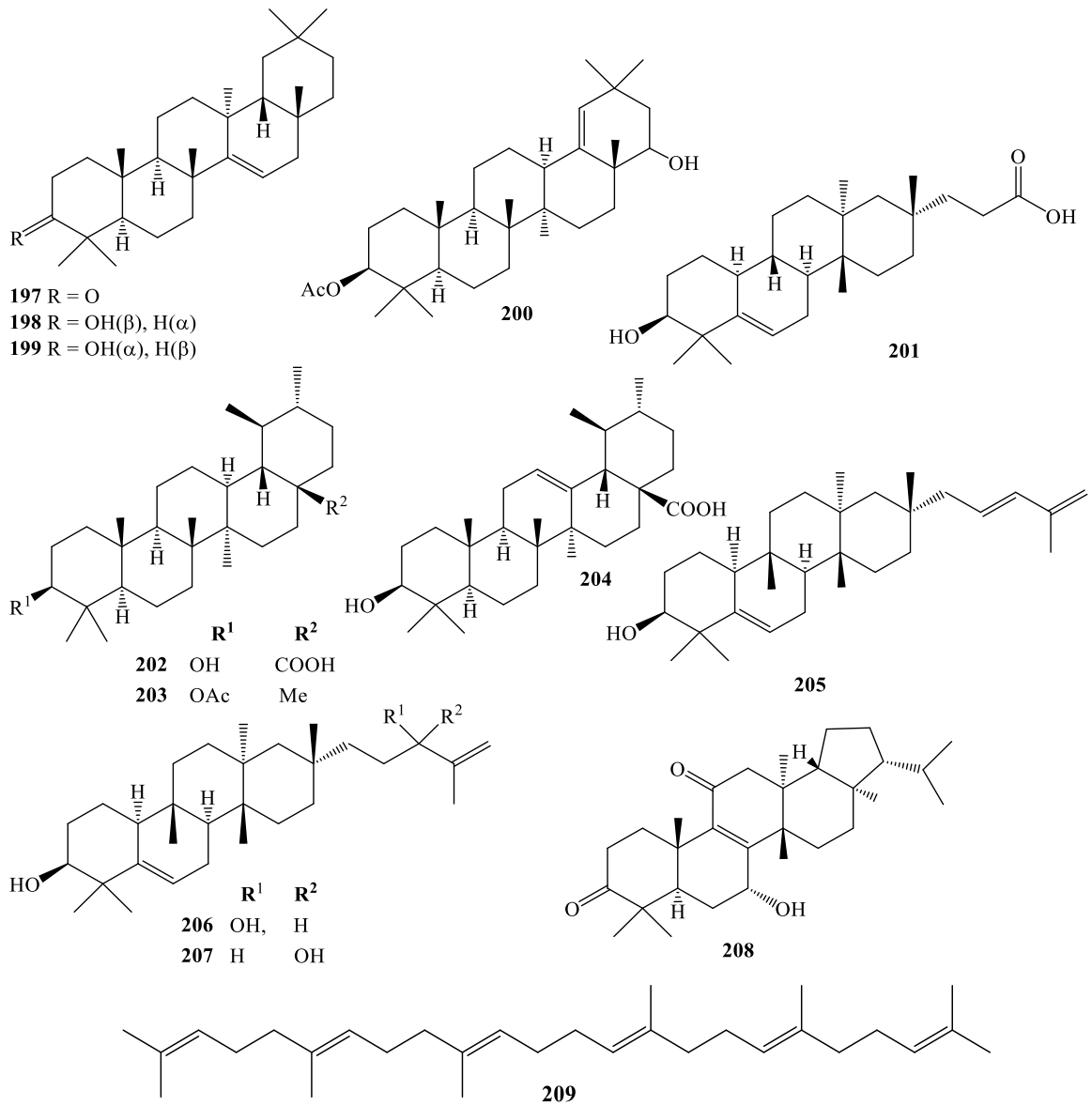
Có 33 triterpenoid (**177-209**) từ chi *Mallotus*. Các hợp chất có trong *M. barbatus* (lá), *M. metcalfianus* (thân), *M. mollissimus* (lá), *M. conspurcatus* (lá), *M. macrostachyus* (lá và cành), *M. nepalensis* (lá), *M. philippiensis* (thân), *M. repandus* (thân), *M. philippensis* (lá) và *M. roxburghianus* (lá).

**Bảng 1.10. Triterpenoid từ chi Mallotus.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
177	friedelin	<i>M. barbatus</i> <i>M. macrostachyus</i> <i>M. conspurcatus</i> <i>M. apelta</i> <i>M. roxburghianus</i>	lá cành lá lá lá	[26] [64, 65] [66] [67] [68]
178	friedelanol	<i>M. metcalfianus</i> <i>M. macrostachyus</i> <i>M. apelta</i> <i>M. roxburghianus</i>	thân cành lá lá	[28] [65] [67] [68]
179	epifriedelanol	<i>M. macrostachyus</i> <i>M. roxburghianus</i>	cành lá	[64, 65] [68]
180	friedelane	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
181	3-oxo-D:A-friedo-oleanan-27,16 $\alpha$ -lactone	<i>M. repandus</i>	thân	[69]
182	3 $\alpha$ -benzoyloxyD:A-friedo-oleanan-27,16 $\alpha$ -lactone	<i>M. repandus</i>	thân	[69]
183	3 $\beta$ -hydroxy-D:A-friedo-oleanan-27,16 $\alpha$ -lactone	<i>M. repandus</i>	thân	[69]
184	betulinic acid	<i>M. roxburghianus</i>	lá	[52]
185	lupeol	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. nepalensis</i>	lá lá	[10] [70]
186	3-hydroxy-lup-20-(29)-en-30-al	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
187	oleanolic acid	<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]
188	erythrodiol	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
189	acetylaleuritolic acid	<i>M. macrostachyus</i> <i>M. conspurcatus</i>	cành lá	[65] [66]
190	aleuritolic acid	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
191	pachysandiol	<i>M. philippensis</i>	lá	[23]
192	3 $\beta$ -acetoxy-28-hydroxy-12-oleanene-3-one	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
193	12-oleanene-3,11-dione	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
194	3 $\beta$ ,28-dihydroxyoleana-11,13(18)-diene	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
195	3 $\alpha$ -hydroxy-13 $\alpha$ -ursan-28,12 $\beta$ -olide 3-benzoate	<i>M. repandus</i>	thân	[71, 72]
196	3 $\alpha$ -hydroxy-28 $\beta$ -methoxy13 $\alpha$ -ursan-28,12 $\alpha$ -epoxide 3-benzoate	<i>M. repandus</i>	thân	[71, 72]
197	taraxerone	<i>M. mollissimus</i> <i>M. apelta</i>	lá lá	[19] [67]
198	epitaraxerol	<i>M. macrostachyus</i> <i>M. mollissimus</i> <i>M. apelta</i>	lá lá lá	[64] [19] [67]

		<i>M. roxburghianus</i>	lá	[68]
<b>199</b>	taraxerol	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
		<i>M. mollissimus</i>	lá	[19]
		<i>M. barbatus</i>	lá	[24]
		<i>M. roxburghianus</i>	lá	[68]
<b>200</b>	kamaladiol-3-acetate	<i>M. philippiensis</i>	thân	[73]
<b>201</b>	mallomacrostin A	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
<b>202</b>	3 $\alpha$ -hydroxy-13 $\alpha$ -ursan-28-oic acid	<i>M. repandus</i>	thân	[71, 72]
<b>203</b>	$\alpha$ -amyrin acetate	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
<b>204</b>	ursolic acid	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65, 70]
		<i>M. nepalensis</i>	lá	[70]
<b>205</b>	mallomacrostin B	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
<b>206</b>	foliasalacin D2	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
<b>207</b>	foliasalacin D3	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
<b>208</b>	supinenolone 2f	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
<b>209</b>	squalene	<i>M. oppositifolius</i>	lá	[10]





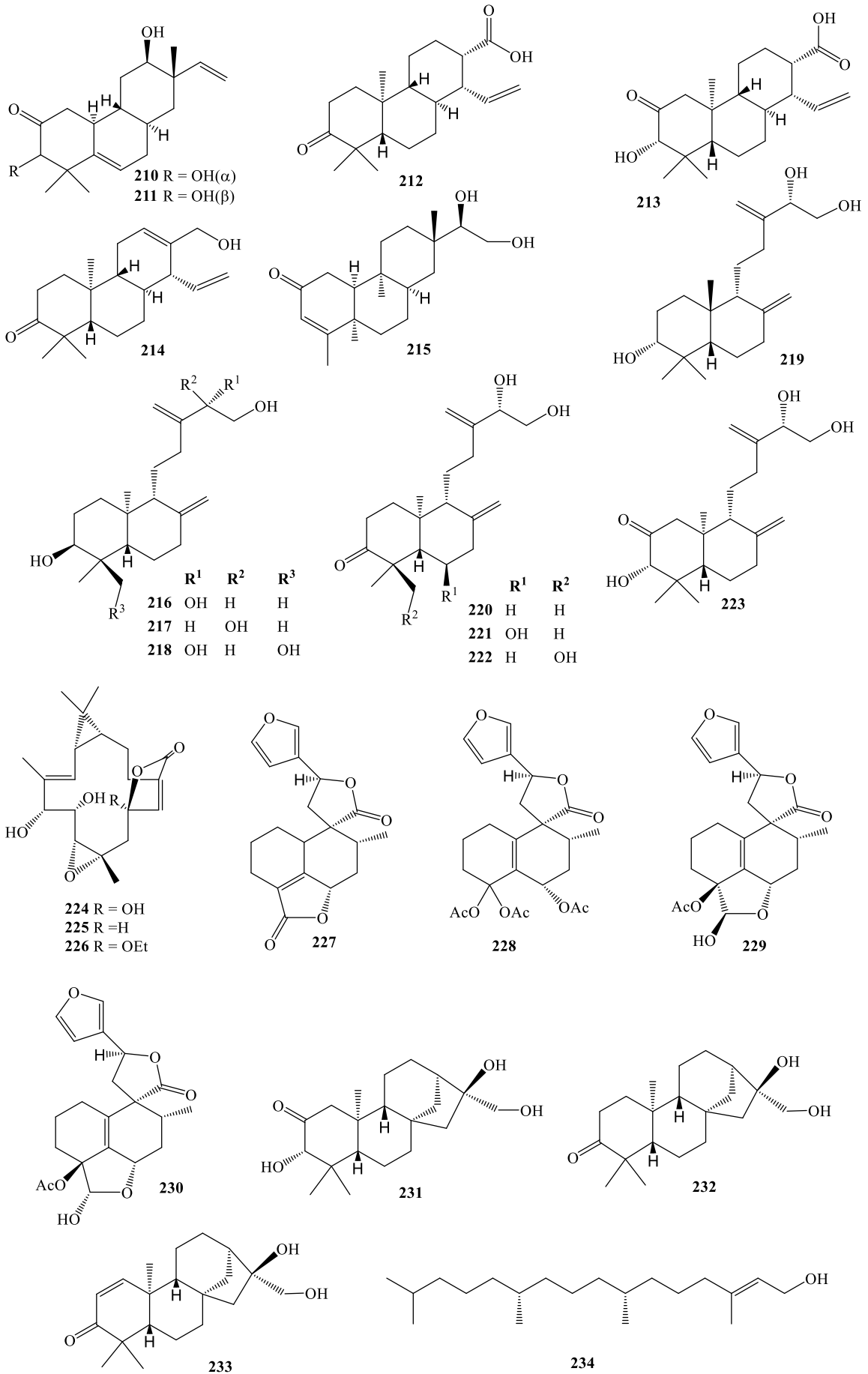
**Hình 1.10. Các triterpenoid từ chi *Mallotus*.**

#### 1.1.2.6. Các diterpenoid và terpenoid khác

Có 25 diterpenoid (**210-234**) từ chi *Mallotus*. Các diterpenoid có trong *M. anomalus* (rễ), *M. hookerianus* (thân), *M. japonicus* (thân), *M. conspurcatus* (lá và rễ), *M. oppositifolius* (lá) và *M. repandus* (thân).

**Bảng 1.11. Các diterpenoid từ chi *Mallotus*.**

<b>ST T</b>	<b>Tên hợp chất</b>	<b>Nguồn gốc</b>	<b>Bộ phận</b>	<b>TL TK</b>
210	anomalusin A	<i>M. anomalus</i>	rễ	[74]
211	anomalusin B	<i>M. anomalus</i>	rễ	[74]
212	malloconspur A	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
213	malloconspur B	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
214	17-hydroxycleistantha-12,15-dien-3-one	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
215	2-oxo-5-epifagonene	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
216	mallonicusin C	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
217	mallonicusin D	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
218	mallonicusin H	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
219	mallonicusin B	<i>M. conspurcatus</i> <i>M. japonicus</i>	lá thân	[66] [75]
220	mallonicusin E	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
221	mallonicusin F	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
222	mallonicusin G	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
223	mallonicusin A	<i>M. japonicus</i>	thân	[75]
224	hookerianolide A	<i>M. hookerianus</i>	thân	[76]
225	hookerianolide B	<i>M. hookerianus</i>	thân	[76]
226	hookerianolide C	<i>M. hookerianus</i>	thân	[76]
227	mallotucin A	<i>M. repandus</i>	thân	[77]
228	mallotucin B	<i>M. repandus</i>	thân	[77]
229	mallotucin C	<i>M. repandus</i>	thân	[77]
230	mallotucin D	<i>M. repandus</i>	thân	[77]
231	ent-3S,16S,17-trihydroxy-kauran-2-one	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
232	16-epiabbeokutone	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
233	anomaluone	<i>M. conspurcatus</i>	rễ	[22]
234	trans-phytol	<i>M. oppositifolius</i> <i>M. apelta</i>	lá lá	[10] [11]

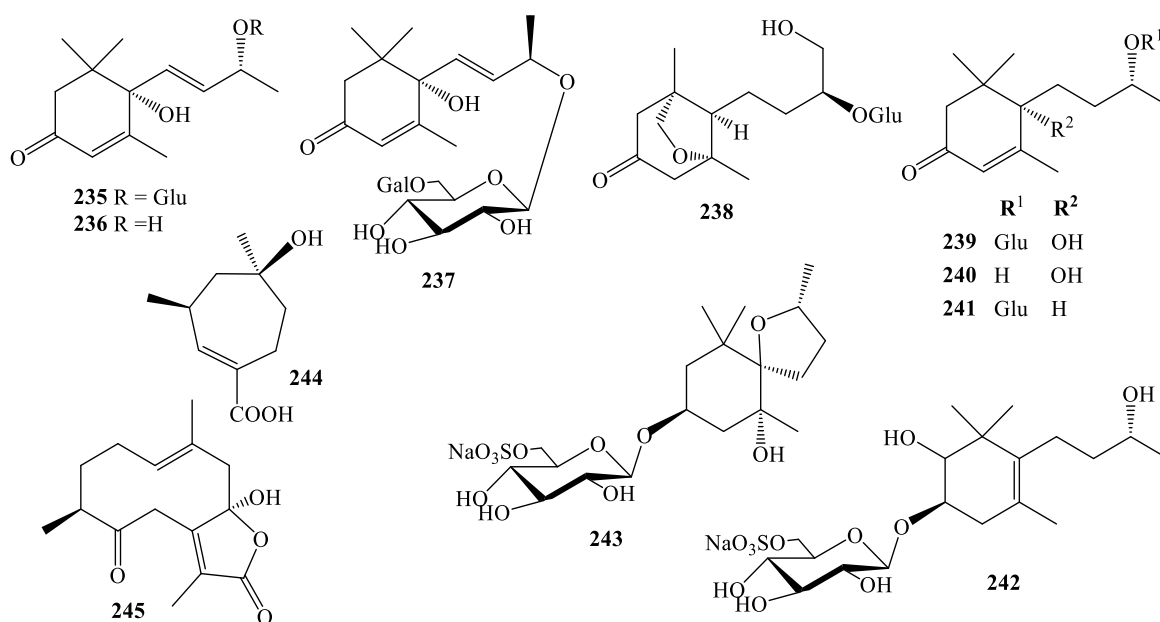


*Hình 1.11. Các diterpenoid từ chi Mallotus.*

Có 9 hợp chất megastigmane (**235-243**) được phân tách từ *M. anisopodus* (lá), *M. macrostachyus* (lá), *M. metcalfianus* (thân), *M. conspurcatus* (rễ), *M. furetianus* (thân) và *M. resinusus* (lá). Ngoài ra, có 2 terpenoid khác (**244** và **245**) được phân tách từ *M. conspurcatus*

**Bảng 1.12. Các megastigmane và terpenoid khác từ chi Mallotus.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
<b>235</b>	corchoionoside C	<i>M. furetianus</i> <i>M. macrostachyus</i>	lá lá	[8] [64]
<b>236</b>	dihydrovomifoliol	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
<b>237</b>	mallophenol B	<i>M. resinusus</i>	lá	[8]
<b>238</b>	macarangioside F	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
<b>239</b>	icariside B5	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
<b>240</b>	vomifoliol	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
<b>241</b>	blumenol C glucoside	<i>M. metcalfianus</i>	thân	[28]
<b>242</b>	anisoposide A	<i>M. anisopodus</i>	lá	[56]
<b>243</b>	anisoposide B	<i>M. anisopodus</i>	lá	[56]
<b>244</b>	paeoveitol B	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]
<b>245</b>	curdionolide	<i>M. conspurcatus</i>	lá	[66]



**Hình 1.12. Các megastigmane và terpenoid khác từ chi Mallotus.**

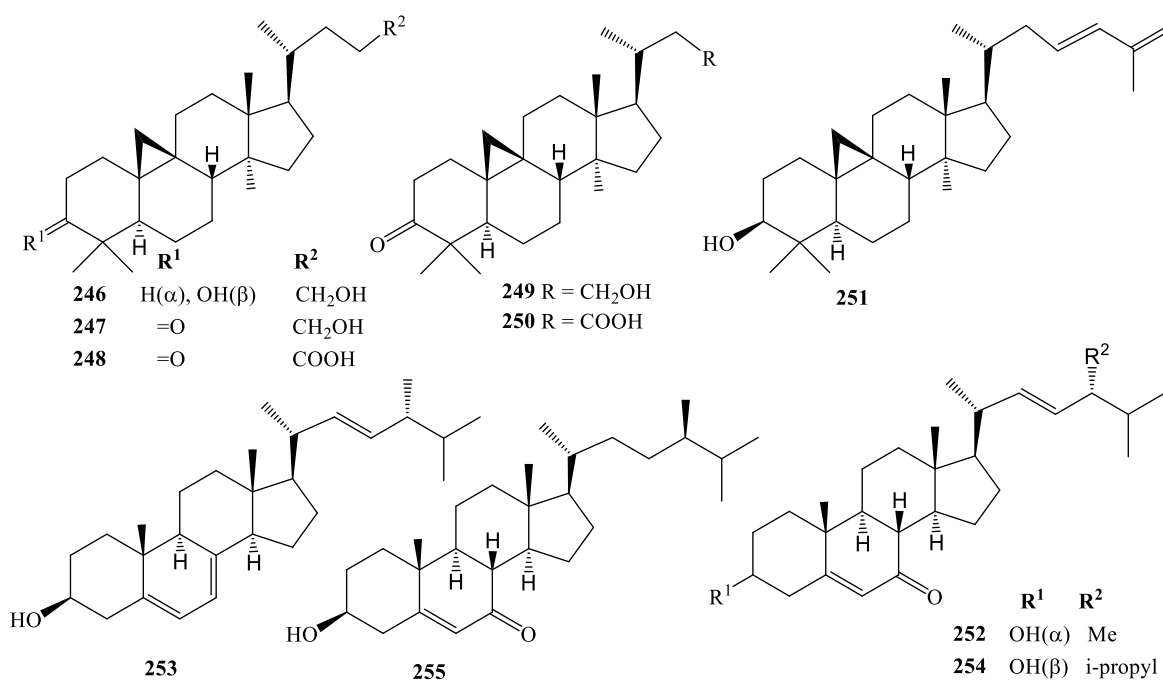
#### 1.1.2.7. Các hợp chất steroid

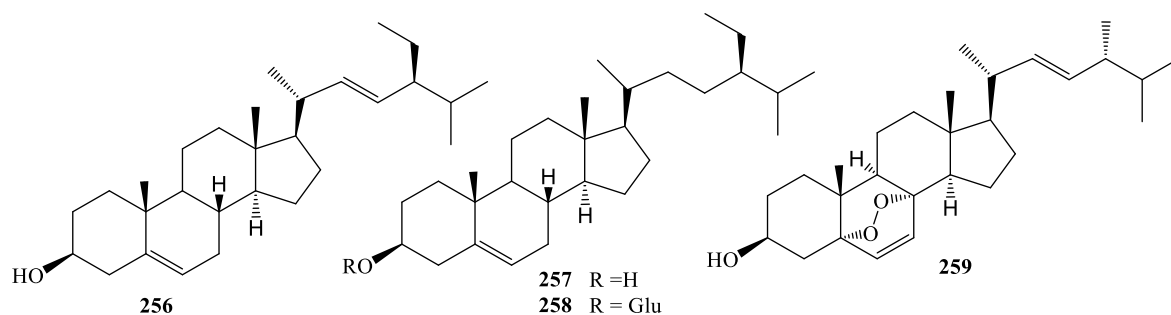
Có 14 steroid (**246-259**) được phân lập từ chi *Mallotus*: *M. barbatus* (lá), *M. macrostachyus* (lá và cành), *M. nepalensis* (thân), *M. oppositifolius* (lá), *M. mollissimus* (lá), *M. paniculatus* (thân) và *M. roxburghianus* (lá).



Bảng 1.13. Các hợp chất steroid từ chi *Mallotus*.

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
246	macrostachyoside A	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
247	25,26,27-trisnor-24-hydroxycycloartan-3-one	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
248	25,26,27-trisnor-3-ketocycloartan-24-oic acid	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
249	macrostachyoside B	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]
250	mallomacrostin C	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
251	cycloarta-23E,25-dien-3 $\beta$ -ol	<i>M. macrostachyus</i>	cành	[65]
252	(22E,24S)-3-hydroxy-24-methylcholesta-5,22-dien-7-one	<i>M. paniculatus</i>	thân	[78]
253	ergosterol	<i>M. paniculatus</i>	thân	[78]
254	polasterol A	<i>M. paniculatus</i>	thân	[78]
255	(24R)-3 $\beta$ -hydroxystigmast-5-en-7-one	<i>M. paniculatus</i>	thân	[78]
256	stigmasterol	<i>M. roxburghianus</i> <i>M. paniculatus</i>	lá thân	[52] [78]
257	$\beta$ -sitosterol	<i>M. paniculatus</i> <i>M. roxburghianus</i> <i>M. mollissimus</i> <i>M. nepalensis</i>	thân lá lá thân	[78] [24, 52] [19] [70]
258	daucosterol	<i>M. barbatus</i> <i>M. roxburghianus</i> <i>M. paniculatus</i> <i>M. nepalensis</i>	lá lá thân thân	[24] [52] [78] [70]
259	ergosterol peroxide	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]





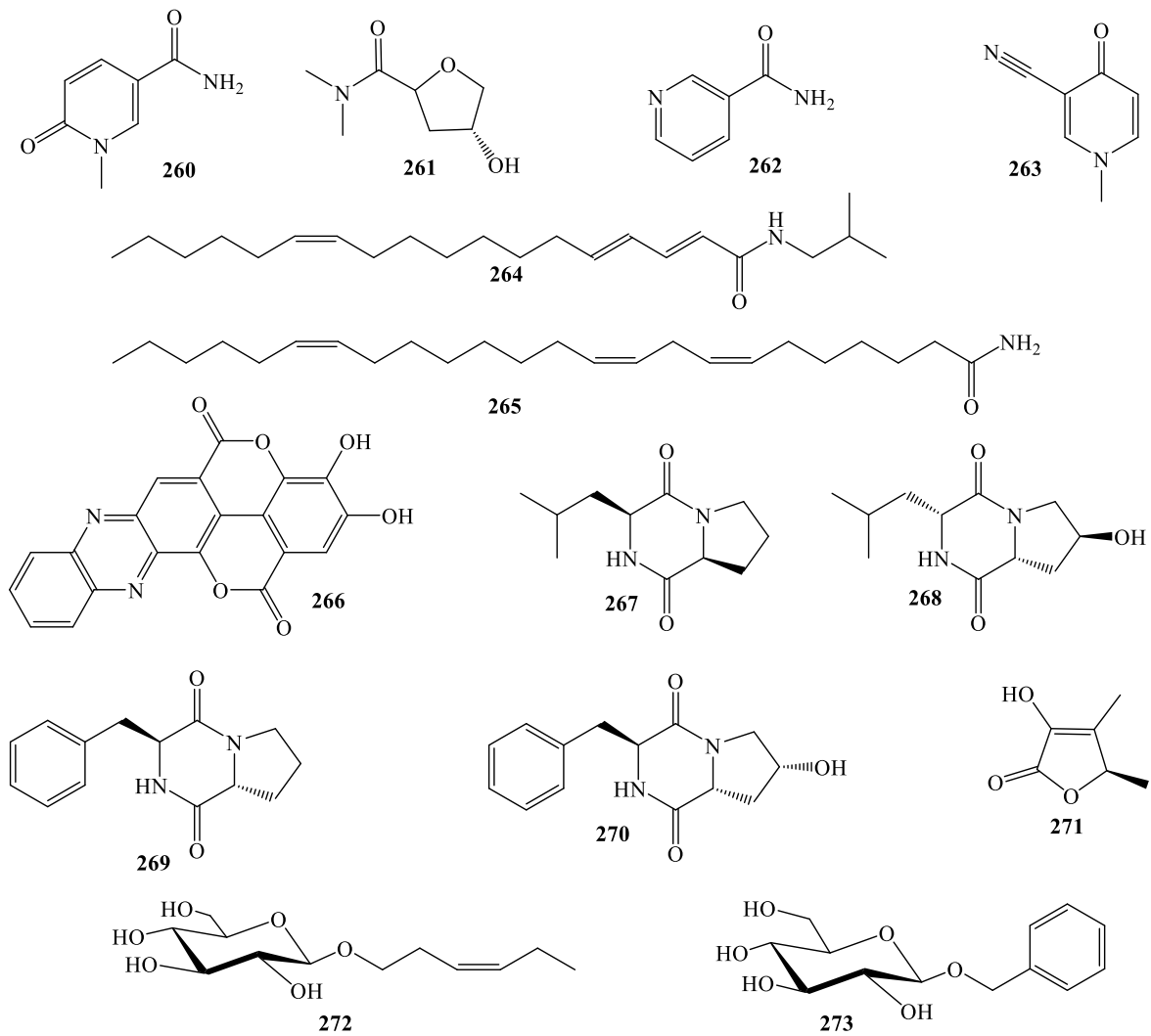
**Hình 1.13. Cấu trúc của các hợp chất steroid từ chi *Mallotus*.**

**1.1.2.8. Các hợp chất khác**

Các hợp chất khác (260-273) được phân lập từ chi *Mallotus* thuộc nhóm ancaloit và peptit. Chúng đã được báo cáo trong *M. barbatus*, *M. japonicus*, *M. lianus croiz*, *M. cuneatus*, *M. furetianus*, *M. nudiflorus*, *M. macrostachyus* và *M. repandus*.

**Bảng 1.14. Các hợp chất khác từ chi *Mallotus*.**

STT	Tên hợp chất	Nguồn gốc	Bộ phận	TLTK
260	<i>N</i> -methyl-5-carboxamide-2-pyridone	<i>M. barbatus</i>	lá lá	[26]
261	<i>trans</i> -2-carboxy-4-hydroxy tetrahydrofuran <i>N,N</i> -dimethylamide	<i>M. cuneatus</i>	lá	[79]
262	nicotinamide	<i>M. japonicus</i>	lá	[80]
263	mallorepine	<i>M. repandus</i>	thân	[81]
264	<i>N</i> -isobutyl-2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,12 <i>Z</i> -octadecatrienamamide	<i>M. lianus croiz</i>	rễ	[82]
265	(7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,18 <i>Z</i> )-tricoso-7,10,18-trienamide	<i>M. lianus croiz</i>	rễ	[82]
266	phenazine C	<i>M. japonicus</i>	lá	[63]
267	cyclo(L-Pro-L-Leu)	<i>M. nudiflorus</i>	thân	[83]
268	cyclo(D- <i>trans</i> -Hyp-D-Leu)	<i>M. nudiflorus</i>	thân	[83]
269	cyclo(D-Pro-L-Phe)	<i>M. nudiflorus</i>	thân	[83]
270	cyclo(D- <i>cis</i> -Hyp-L-Phe)	<i>M. nudiflorus</i>	thân	[83]
271	3-hydroxy-4,5( <i>R</i> )-dimethyl-2(5H)-furanone	<i>M. furetianus</i>	lá	[8]
272	( <i>Z</i> )-3-hexenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>M. furetianus</i>	lá	[7, 8]
273	benzyl- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>M. macrostachyus</i>	lá	[64]



**Hình 1.14. Các hợp chất khác từ chi *Mallotus*.**

### 1.1.3. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Mallotus*

Các công dụng truyền thống và các hợp chất có hoạt tính sinh học từ chi *Mallotus* đã thu hút sự chú ý của các nhà khoa học, thúc đẩy việc nghiên cứu các hoạt động dược lý và kiểm chứng những ứng dụng tiềm năng của chi này. Phần thảo luận sau đây trình bày tác dụng sinh học của các chất chiết xuất cũng như các hợp chất từ chi *Mallotus*. Các loài thuộc chi *Mallotus* đã được ghi nhận với nhiều hoạt tính quan trọng như chống ung thư, chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, điều hòa miễn dịch và kháng virus. Dưới đây là tổng hợp những hoạt tính sinh học nổi bật của chi *Mallotus*.

#### 1.1.3.1. Hoạt tính gây độc và kháng ung thư

Tổng quan các tài liệu về chi *Mallotus* cho thấy các thành phần có trong chi này có hoạt tính sinh học rõ rệt, đặc biệt là trên các dòng tế bào ung thư ở người như ung thư biểu mô (KB), ung thư cổ tử cung (HeLa), ung thư biểu mô tuyến phổi (LU-1), ung thư xương ở người rhabdosarcoma (RD), ung thư biểu mô tế bào gan ở người

(Hep-G2), ung thư buồng trứng ở người (A2780). Hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào KB biểu hiện trong các hợp chất phloroglucinol. Năm 1985 và 1986, Arisawa đã phân lập được mallotochromene (**69**), mallotophenone (**74**), mallotolerin (**80**) và 3-(3,3-dimethylallyl)-5-(3-acetyl-2,4-dihydroxy-5-methyl-6-methoxybenzyl)-phlorobutyrophenone (**92**) từ quả của loài *M. japonicus*. Các hợp chất **69**, **74**, **80** và **92** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đáng kể chống lại các dòng tế bào KB và L-5 178Y với các giá trị ED<sub>50</sub> tương ứng là 4,8 và 5,2; 0,29 và 1,04; 0,95 và 0,82; và 0,26 và 1,07 µg/ml [35, 36]. Sau đó, butyrylmallotochromene (**70**) và isobutyrylmallotochromene (**71**) cũng được phân lập từ phần quả của *M. japonicus* vào năm 1988. Các hợp chất này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đáng kể đối với dòng tế bào KB với giá trị ED<sub>50</sub> là 3,3 và 0,4 µg/ml [39]. Butyrylmallotojaponin (**90**) và isobutyrylmallotojaponin (**91**) được phân lập từ lá của *M. japonicus* cho thấy khả năng gây độc tế bào KB với ED<sub>50</sub> lần lượt là 0,72 và 0,89 µg/ml [16]. Isomallotolerin (**82**) từ quả của *M. japonicus* cũng gây độc tế bào trên dòng KB với giá trị IC<sub>50</sub> là 0,84 µg/ml [42]. Năm 1990, Arisawa và cộng sự đã phân lập 18 phloroglucinol từ quả của *M. japonicus*. Tất cả các hợp chất thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên tế bào Hela với giá trị IC<sub>50</sub> nằm trong khoảng từ 0,28 µg/ml đến 49,10 µg/ml [38]. Năm 2011, TS. Nguyễn Hoài Nam và cộng sự đã phân lập được hai steroid, macrostachyoside A (**246**) và macrostachyoside B (**249**) từ lá của *M. macrostachyus*. Các hợp chất **246** và **249** cho thấy tác dụng gây độc tế bào đáng kể đối với các dòng tế bào KB và LU-1, với các giá trị IC<sub>50</sub> nằm trong khoảng từ 4,31 ± 0,09 đến 7,12 ± 0,07 µg/ml [64]. Paxiione A (**5**) thu được từ thân của *M. paxii* cũng cho thấy hoạt tính gây độc tế bào đáng kể trên dòng KB, với giá trị IC<sub>50</sub> là 8,62 ± 1,31 µg/ml [9].

Vào năm 2013, Harinantenaina và cộng sự, đã phân lập ba phloroglucinol, mallotophenone (**74**), mallotojaponin B (**88**) và mallotojaponin C (**102**) từ lá của *M. oppositifolius* và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người (A2780). Các hợp chất **74**, **88** và **102** cho thấy hoạt tính gây độc tế bào đáng kể đối với dòng tế bào ung thư buồng trứng A2780 ở người (IC<sub>50</sub> 6,3 ± 0,4, 1,10 ± 0,05 và 1,3 ± 0,1 µM, tương ứng) [6, 40]. Gần đây, năm prenylflavonoid, 6-prenylnaringenin (**15**), 7-*O*-methyl-6-prenylnaringenin (**16**), 4'-*O*-methyl-6-prenylnaringenin (**17**), 8-prenylnaringenin (**24**) và 7-*O*-methyl-8-prenylnaringenin (**25**) thu được từ *M. conspurcatus*. Hơn nữa, tất cả các hợp chất này đều kháng tế bào HeLa với giá trị IC<sub>50</sub> nằm trong khoảng từ 10,08 đến 60,16 µM [18].

#### 1.1.3.2. Hoạt tính kháng viêm và điều hòa miễn dịch

Bên cạnh tác dụng kháng ung thư, các đặc tính kháng viêm của các chiết xuất và hợp chất từ chi *Mallotus* đã được báo cáo, cho thấy tiềm năng của chúng được phát triển dưới dạng thuốc kháng viêm hoặc hợp chất dẫn thuốc. Năm 2001, các hợp chất

**41, 74-76, 79, 86** và **89** đã được công bố ức chế đáng kể quá trình sản sinh NO trên dòng tế bào đại thực bào ở chuột, RAW 264.7, được kích thích bởi LPS và interferon-Q (IFN-Q).

Dịch chiết acetone trong nước của vỏ quả *M. japonicus* đã ức chế quá trình sản xuất NO bởi dòng tế bào giống đại thực bào ở chuột, RAW 264.7, được kích hoạt bởi LPS và interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Tám dẫn xuất phloroglucinol đã được phân lập bởi Ishii và cộng sự, từ quả của *M. japonicus* gồm mallotochromene (**69**), mallotophenone (**74**), mallotochromanol (**75**), isobutyrylmallotochromanol (**76**), butyrylmallotolerin (**79**), isomallotochromanol (**86**), mallotojaponin (**89**) và 2,6-dihydroxy-3-methyl-4-methoxyacetophenone (**170**). Trong số các dẫn xuất phloroglucinol này, **86** thể hiện hoạt tính ức chế mạnh đối với việc sản sinh NO với giá trị IC<sub>50</sub> là 10,7  $\mu$ M. Các dẫn xuất phloroglucinol làm giảm đáng kể cả việc tạo ra protein tổng hợp nitric oxide cảm ứng (iNOS) và biểu hiện iNOS mRNA. NO sản sinh bởi các đại thực bào được kích hoạt lại bằng LPS và IFN- $\gamma$  trong 16 giờ cũng bị ức chế các dẫn xuất phloroglucinol [37]. Isomallotochromene (**85**) và isomallotochromanol (**86**) là những chất mạnh nhất trong việc ức chế sản sinh cytokine. Các dẫn xuất phloroglucinol làm giảm đáng kể các biểu hiện mRNA của cytokine này [84].

Năm 2004, ba chalcone mới từ quả của *M. philippinensis*, mallotophilippen C (**59**), D (**60**) và E (**61**) đã ức chế sản xuất NO và biểu hiện gen NO synthase (iNOS) cảm ứng bởi một dòng tế bào giống như đại thực bào ở chuột (RAW 264.7), được kích hoạt bởi LPS và IFN- $\gamma$ . Hơn nữa, chúng đã điều hòa quá mức gen cyclooxygenase-2 (COX-2), gen interleukin-6 (IL-6) và biểu hiện gen interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Các kết quả đã cho thấy rằng chúng có hoạt tính kháng viêm và điều hòa miễn dịch [32].

Các hoạt tính giảm đau và kháng viêm của *M. repandus* được đánh giá bằng cách sử dụng các mô hình thí nghiệm gây đau quận do acetic acid, chứng phù tai do xylen gây ra, thí nghiệm u hạt do cục bông và thí nghiệm ngâm đuôi chuột ở các liều lượng 500, 1000 và 2000 mg/kg trọng lượng cơ thể. Chiết xuất của *M. repandus* thể hiện các hoạt tính chống nhiễm trùng và chống viêm đáng kể đối với bốn mô hình đau cổ điển. Trong các mô hình đau quận do acetic acid, phù tai do xylen và mô hình u hạt do cục bông, chiết xuất cho thấy hoạt tính phụ thuộc vào liều lượng. Những phát hiện trên cho thấy loài này có thể được sử dụng như một nguồn tiềm năng kháng viêm và chống nhiễm trùng [85]. Vào năm 2016, nhóm nghiên cứu của Gangwar đã đánh giá hoạt động kháng viêm, giảm đau và gây buồn ngủ từ dịch chiết quả của cây *M. philippinensis* trong các mô hình thí nghiệm khác nhau trên chuột. Nghiên cứu cho thấy chiết xuất của *M. philippinensis* có hiệu quả trong việc giảm viêm cấp tính và bán cấp tính, đồng thời cho thấy hoạt tính giảm đau hiệu quả [86]. Vào năm 2019, hai

diterpenoid mới, malloconspur A (**212**), malloconspur B (**213**) và 16 terpenoid đã biết đã được phân lập từ chiết xuất ethanol của *M. conspurcatus*. Malloconspur B (**213**) và 17-hydroxycleistantha-12,15-dien-3-one (**214**) ức chế đáng kể quá trình sản xuất NO với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 10,47  $\mu$ M và 9,32  $\mu$ M. Các hợp chất **212**, **213** và **214** làm giảm rõ rệt sự bài tiết prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) và yếu tố hoại tử khối u (TNF- $\alpha$ ), do LPS gây ra trong các tế bào RAW 264.7. Các hợp chất **213** và **214** làm giảm đáng kể biểu hiện protein iNOS, NF- $\kappa$ B/p65 và COX-2 [66].

#### 1.1.3.3. Hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ gan

Bergenin (**117**), 3-(1-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,6-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid (**164**), 2,4,8,9,10-pentahydroxy-3,7-dimethoxyanthracene-6-O- $\beta$ -D-rhamnopyranoside (**174**) và betulinic acid (**184**) đã được phân lập từ lá của *M. roxburghimms*. Các hợp chất **117**, **164**, **174** và **184** kích thích ức chế các hoạt tính chống oxy hóa [52]. Năm 2008, lá *M. japonicus* đã được phân lập và đánh giá hoạt tính tiêu diệt gốc tự do. Mallotinic acid (**137**), corilagin (**131**), geraniin (**134**) và đặc biệt là mallotusinic acid (**137**) cho thấy các hoạt động loại bỏ gốc tự do DPPH mạnh mẽ [61]. Bergenin (**117**), một thành phần chính của chiết xuất nước của *M. japonicus cortex*, có tác dụng bảo vệ gan chống lại CCl<sub>4</sub>-, GalN- và D-galactosamine gây ra trong tế bào gan chuột được nuôi cấy sơ cấp [52, 55, 57, 58]. Năm 2015, hai dẫn xuất chalcone mới là mallotoate A (**62**) và mallotoate B (**63**) đã được Afzal và cộng sự tách từ phân đoạn etyl axetat của *M. philippensis*. Hợp chất **62** và **63** được đánh giá về khả năng chống oxy hóa của chúng trong hoạt động thu dọn gốc tự do DPPH, trong đó hợp chất **62** cho thấy hoạt tính tối đa và cạnh tranh ( $91,43 \pm 0,82\%$ ) so với thuốc đối chứng [33].

Năm 2018, tám hợp chất, gồm 3,4,8,9,10-pentahydroxydibenzo[b,d]pyran-6-one (**2**), galic acid (**103**), methyl gallate (**104**), mallophenol A (**111**), corilagin (**131**), repandinin B (**144**), (+)-lyoniresinol-3 $\alpha$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**156**) và (Z)-3-hexenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (**272**), được phân lập từ lá của *M. furetianus*. Các hợp chất **111**, **156** và **272** cho thấy hoạt tính chống nhiễm mỡ mạnh trong mô hình tế bào do oleic acid gây ra, với nồng độ hiệu quả tối thiểu lần lượt là 0,05, 0,0005 và 0,0005  $\mu$ g/ml, thấp hơn nhiều so với đối chứng dương, kiểm soát bởi fibrate 72,4  $\mu$ g/ml [7].

#### 1.1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

Năm 2014, kamalachalcone E (**48**), 1-(5,7-dihydroxy-2,2,6-trimethyl-2H-1-benzopyran-8-yl)-3-phenyl-2-propen-1-one (**49**), rottlerin (**50**) và 4'-hydroxyrottlerin (**51**) đã được báo cáo từ quả của *M. philippinensis*. Các hợp chất **48–51** được đánh giá về hoạt tính kháng nấm chống lại các loại nấm men và nấm sợi gây bệnh khác nhau ở người. Hoạt tính chống chuyển hóa của các hợp chất cũng được đánh giá đối với các dòng tế bào Thp-1. Kết quả là, cả hai hợp chất **48** và **49** đều biểu hiện hoạt

tính kháng *C. neoformans* PRL518, *C. neoformans* ATCC32045 và *A. fumigatus* với  $IC_{50}$  lần lượt là 8,4 và 16,0  $\mu\text{g/ml}$ . Hơn nữa **51** cho thấy khả năng ức chế 54% sự tăng trưởng của các dòng tế bào Thp-1 ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$  [29]. Bên cạnh hoạt tính chống oxy hóa, các hợp chất **62** và **63** từ *M. philippinensis* đều được Afzal báo cáo về hoạt tính diệt nấm đáng kể đối với *C. cladosporioides* [33]. Vào năm 2019, các hợp chất **50** và **51** từ quả của *M. philippinensis* đã cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đáng kể chống lại *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. mutans* và *E. coli*, với giá trị MIC nằm trong khoảng từ 3,8 đến 15,5  $\mu\text{M}$  [12]. Vào năm 2020, mallotojaponin C (**102**), bergenin (**117**), acronyculatin S (**167**) và acronyculatin T (**168**) đã được chiết tách từ lá của *M. oppositifolius* và cho thấy khả năng kháng lại các chủng vi khuẩn *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* với nồng độ ức chế tối thiểu nằm trong khoảng từ 3,125 đến 50  $\mu\text{g/ml}$  [6].

#### 1.1.3.5. Hoạt tính kháng virus

Năm 1990, mười chín dẫn xuất phloroglucinol từ *M. japonicus* đã được phân lập và được đánh giá về khả năng ức chế sự nhân lên của vi rút herpes simplex-1 (HSV-1). Tất cả các hợp chất đều ức chế sự sao chép của HSV-1 với giá trị  $ED_{50}$  nằm trong khoảng từ 0,088 đến 48,1  $\mu\text{g/ml}$ . Trong số đó, butyrylmallotochromanol (**78**) và isomallotochromanol (**87**) có giá trị  $ED_{50}$  tương ứng là 10,9 và 9,1  $\mu\text{g/ml}$ . Nghiên cứu này đã cho biết các hợp chất **78** và **87** có thể là một loại thuốc kháng vi-rút [38]. Năm 2005, năm dẫn xuất phloroglucinol, mallopallidol (**94**), homomallopallidol (**95**), pallidusol (**150**), pallidol (**161**) và dehydropallidusol (**166**) từ *M. pallidus* đã được đánh giá về tác dụng ức chế virus herpes simplex HSV-1, HSV-2 và virus gây suy giảm miễn dịch ở người HIV-1. Trong đó, các hợp chất **94** và **95** cho thấy hoạt tính đáng kể chống lại cả HSV và HIV. Tuy nhiên, hoạt tính kháng vi-rút của chúng dường như đi kèm với độc tính, được biểu thị bằng giá trị  $IC_{50}$  của chúng trong tế bào vero và PBMC [47].

#### 1.1.3.6. Các hoạt tính khác

Các hợp chất **88** và **102** từ *M. oppositifolius* cho thấy hoạt tính chống sốt rét mạnh đối với *P. falciparum* kháng chloroquine với các giá trị  $IC_{50}$  là  $0,75 \pm 0,30$  và  $0,14 \pm 0,04$   $\mu\text{M}$  [40]. Vào năm 2015, 12 hợp chất từ lá của *M. oppositifolius* được báo cáo. Các hoạt động diệt trypanocidal và antiishmanial *in vitro* của tất cả các hợp chất trên đã được khảo sát. Trong số đó, alloposinol (**84**) và aspidinol B (**169**) thể hiện hoạt tính chống trầm cảm yếu đối với *L. promastigotes*, với giá trị  $EC_{50}$  lần lượt là 21,3 và 38,8  $\mu\text{M}$ . Methylene-bis-aspidinol (**73**) cho thấy khả năng diệt trypanocidal kháng lại *T. brucei*, trypomastigote với giá trị  $LC_{100}$  là 0,8  $\mu\text{M}$ , tương tự như chất đối chứng dương, pentamidine ( $LC_{100}$  là 0,4  $\mu\text{M}$ ) [10]. Hosokawa và cộng sự cũng đã phân lập quercitrin (**33**), quercetin (**34**), isoquercitrin (**41**), rutin (**42**), kaempferol-3-

*O*-rutinoside (**43**) và phyllanthusiin D (**152**) từ lá của *M. japonicus*. Các hợp chất này được phát hiện là ngăn chặn sự biến đổi AhR theo cách phụ thuộc vào nồng độ, với các giá trị IC<sub>50</sub> là 0,12  $\mu$ M (**152**), 0,45  $\mu$ M (**34**), 0,97  $\mu$ M (**42**) và 16  $\mu$ M (**43**) so với 1 nM do 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin chuyển đổi AhR gây ra [25].

## 1.2. Giới thiệu về loài *Mallotus apelta*

### 1.2.1. Đặc điểm loài *Mallotus apelta*

**Tên khoa học:** *Mallotus apelta* (Lour.) Müll.-Arg

**Tên thường gọi:** Bùm bụp, bông bét, ba bét trắng, cây ruông, cám lợn...

**Ngành:** Magnoliophyta (Ngọc lan)

**Lớp:** Magnoliophyta (Ngọc lan)

**Bộ:** Malpighiales (Sơ ri)

**Họ:** Euphorbiaceae (Thầu dầu/ đại kích)

**Chi:** *Mallotus* (Ba bét/ ruồi)

#### Mô tả về thực vật:

Cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ, có thể cao tới 6 m. Thân và cành màu nâu, cành non có lông vàng nhạt, lá mọc so le. Lá hình tim, dài khoảng 25 cm, rộng 15 cm, mép lá nguyên hoặc có khía răng nhỏ thưa. Mặt trên lá màu lục, mặt dưới phủ lông mịn và có phần màu trắng, Gân lá toả ra 3 – 5 hướng từ gốc lá, kiểu gân mạng nhện. Cuống lá có lông, dài 10 – 15 cm. Hoa đơn tính khác góc, mọc thành chùy, thông xuống, dài 20 – 40 cm. Cụm hoa đực có thể phân nhánh, có 4 răng, dính liền ở gốc, nhiều nhị. Cụm hoa cái có đài hợp, từ 4 đến 5 răng, lông trắng, bầu có gai mềm. Quả nang có phủ lông, nhiều gai mềm, hình tim, màu trắng nhạt, khi chín nứt chia làm 3 mảnh. Hạt có màu nâu đen, hình trứng. Cây ra hoa vào các tháng từ 4 đến 6, có quả tháng từ tháng 7 đến 9 [1-3]

#### Sinh thái và phân bố

Cây mọc hoang ở nhiều nơi như ven đường, ven rừng hoặc ở sườn đồi, sườn núi, phân bố ở độ cao lên tới 700 m tính từ mặt nước biển. Cây có thể tái sinh mạnh bằng hạt, đặc biệt phát triển nhanh ở những nơi có đất đai màu mỡ và nhiều ánh sáng. Nếu mọc từ hạt thì cây có thể ra hoa sau 2 năm.

Cây mọc chủ yếu ở khu vực Đông Nam Á và miền Nam Trung Quốc. Ở Việt Nam, cây có thể được tìm thấy tại nhiều tỉnh phía bắc như Lạng Sơn, Sơn La, Bắc Cạn, Phú Thọ, Hòa Bình, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Hà Nam, Ninh Bình... và một số tỉnh phía nam như Đồng Nai, Tây Nguyên, Bà Rịa – Vũng Tàu [1, 2, 87].



## 1.2.2. Tình hình nghiên cứu về loài *M. apelta*

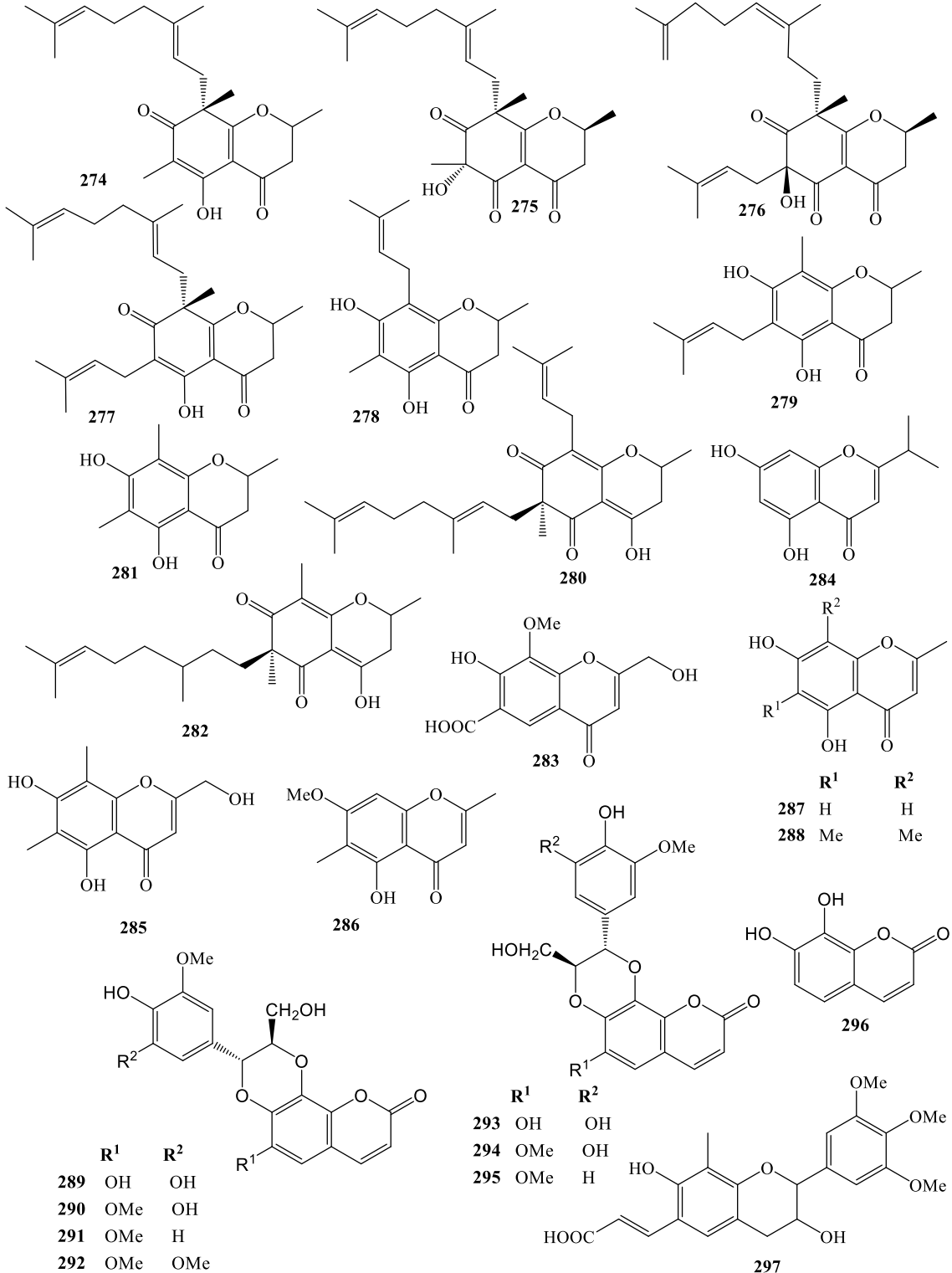
### 1.2.2.1. Các nghiên cứu về loài *M. apelta* trên thế giới

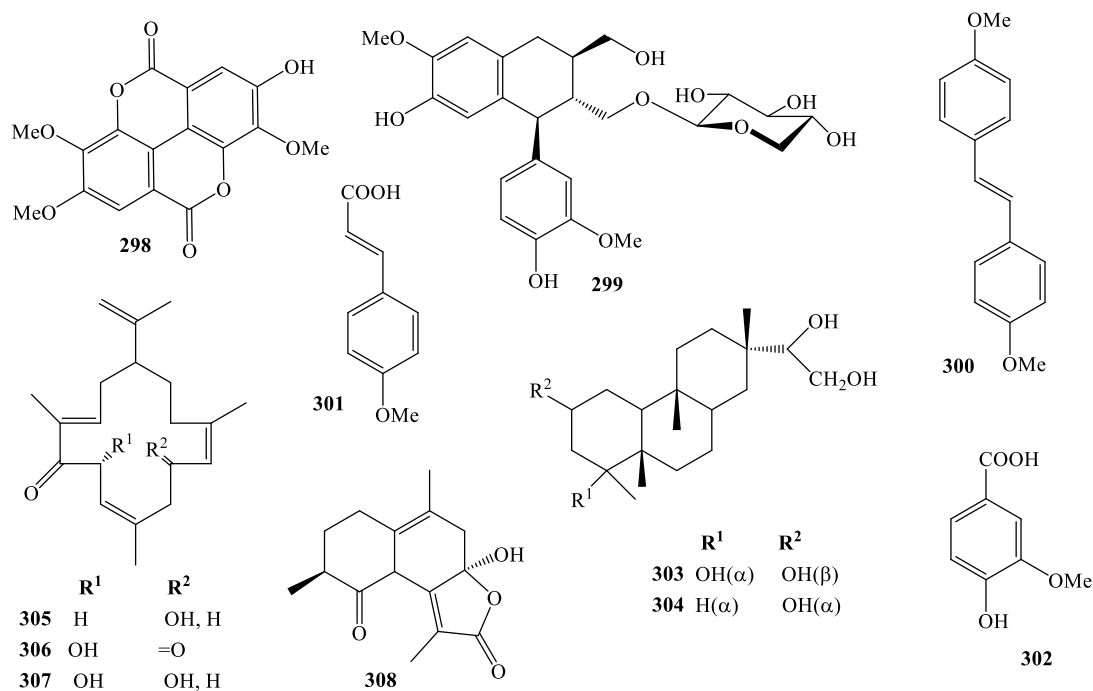
Tổng quan cho thấy trên thế giới đã có 38 chất được phân lập từ loài *M. apelta*, trong đó có 24 chất benzopyran và coumarin (11, 274-296), 3 flavonoid (31, 32, 297), 5 hợp chất phenolic (298-302), 5 diterpenoid (303-307) và 1 hợp chất khác (308). Các bộ phận có giàu chất chủ yếu là rễ, lá và cành của cây. Các hợp chất chủ yếu được các nhà khoa học Trung Quốc phân lập.

**Bảng 1.15. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. apelta* trên thế giới.**

274	5-hydroxy-2,8,6-trimethyl-8-(3,7-dimethyl-16-octadienyl)-2H-1-benzopyran-4,7(3H,8H)-dione	lá	[88]
275	6 $\beta$ -hydroxy-2 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,8 $\beta$ -trimethyl-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2H-1-benzopyran-4,5,7(3H,6H,8H)-trione	lá	[89]
276	6 $\beta$ -hydroxy-2 $\alpha$ ,8 $\beta$ -dimethyl-6-(3-methyl-2-butenyl)-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2H-1-benzopyran-4,5,7(3H,6H,8H)-trione	lá	[89]
277	5-hydroxy-2,8-dimethyl-6-(3-methyl-2-butenyl)-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2H-1-benzopyran-4,7(3H,8H)-dione	lá	[88]
278	2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2,6-dimethyl-8-(3-methyl-2-butenyl)-4H-L-benzopyran-4-one	lá	[88]
279	2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2,8-dimethyl-6-(3-methyl-2-butenyl)-4H-1-benzopyran-4-one	lá	[88]
280	4-hydroxy-2,6-dimethyl-6-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-8-(3-methyl-2-butenyl)-2H-1-benzopyran-5,7(3H,6H)-dione	lá	[88]
281	4-hydroxy-2,6,8-trimethyl-6-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2H-1-benzopyran-5,7(3H,6H)-dione	lá	[88]
282	2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2,6,8-trimethyl-4H-1-benzopyran-4-one	lá	[88]
283	7-hydroxy-2-hydroxymethyl-8-methoxy-4-O-4H-chromene-6-carboxylic acid	cành	[14]
284	5,7-dihydroxy-2-propylchromone	cành	[14]
285	melachromone	cành	[14]
286	eugenitol	cành	[14]
287	noreugenin	cành	[14]
288	5,7-dihydroxy-2,6,8-trimethylchromone	cành	[14]
289	malloapelin A	rễ	[90]
290	cleomiscosin A	rễ	[90, 91]
291	cleomiscosin B	rễ	[90]
292	aquillochin	rễ	[91]
293	malloapelin B	rễ	[90]
294	malloapelin C	rễ	[90]
295	5'-demethylaquillochin	rễ	[90, 91]
296	daphnetin	cành	[14]
297	malloapeltic acid	lá	[5]
298	4,5,4'-trimethylelagic acid	rễ	[92]

<b>299</b>	schizandriside	rễ	[93]
<b>300</b>	( <i>E</i> )-1,2-bis(4-methoxyphenyl) ethane	cành	[14]
<b>301</b>	methoxy cinnamic acid	cành	[14]
<b>302</b>	methoxybenzoic acid	cành	[14]
<b>303</b>	2 $\alpha$ ,4 $\beta$ ,15,16-tetrahydroxyl-dolabradane	thân	[94]
<b>304</b>	malloapeltine	rễ	[95]
<b>305</b>	10-hydroxycembrene-5-one	thân	[94]
<b>306</b>	6-hydroxy-cembrene-5,10-dione	thân	[94]
<b>307</b>	malloapentene	thân	[95]
<b>308</b>	malloapelin D	rễ	[93]





**Hình 1.15.** Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. apelta* trên thế giới.

Các nghiên cứu trên thế giới gần đây cho thấy loài *M. apelta* có nhiều hoạt tính sinh học thú vị. Năm 1989, Từ dịch chiết *M. apelta*, Ono và các cộng sự đã báo cáo về hoạt tính ức chế enzyme phiên mã ngược retrovirus ở chuột và DNA polymerase của người và được thể hiện qua giá trị IC<sub>50</sub> thấp của nó đối với enzyme phiên mã ngược (0,4–0,5 μg/ml) và DNA polymerase-α (0,9–1,4 μg/ml) [96]. Năm 1998, nhóm nghiên cứu của Cheng đã phân lập malloapeltine (**304**) và 4,5,4'-trimethylellagic acid (**302**) trong phần dịch chiết kháng HIV nhất, từ rễ của *M. apelta*. Năm 2001, An và cộng sự phân lập từ lá của *M. apelta* nhiều hợp chất benzopyran. Tất cả chúng đã được thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn chống lại *S. aureus*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* và *E. coli*. Trong đó, hợp chất 4-hydroxy-2,6-dimethyl-6-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-8-(3-methyl-2-butenyl)-2H-1-benzopyran-5,7(3H, 6H)-dione (**280**) cho thấy khả năng kháng khuẩn với giá trị MIC là 7,34 μg/ml [88]. Năm 2006, nhóm nghiên cứu của Xu đã đánh giá tác dụng ức chế của rễ *M. apelta* đối với virus viêm gan B ở vịt (D-HBV) *in vivo*. Rễ của *M. apelta* được phát hiện có tác dụng điều trị đối với D-HBV. Nó có thể hạn chế sự nhân đôi của D-HBV *in vivo*. Như vậy, *M. apelta* là thuốc điều trị viêm gan B hiệu quả, an toàn và kinh tế [97]. Năm 2008, các hoạt động bảo vệ gan của malloapelin A – C (**289**, **293** và **294**) từ *M. apelta* được Xu và cộng sự đánh giá bằng cách đo lường tác động của chúng đối với tỷ lệ sống sót của tế bào. Những hợp chất trên cho thấy hoạt động ức chế ở 10<sup>-4</sup> M trong ống nghiệm

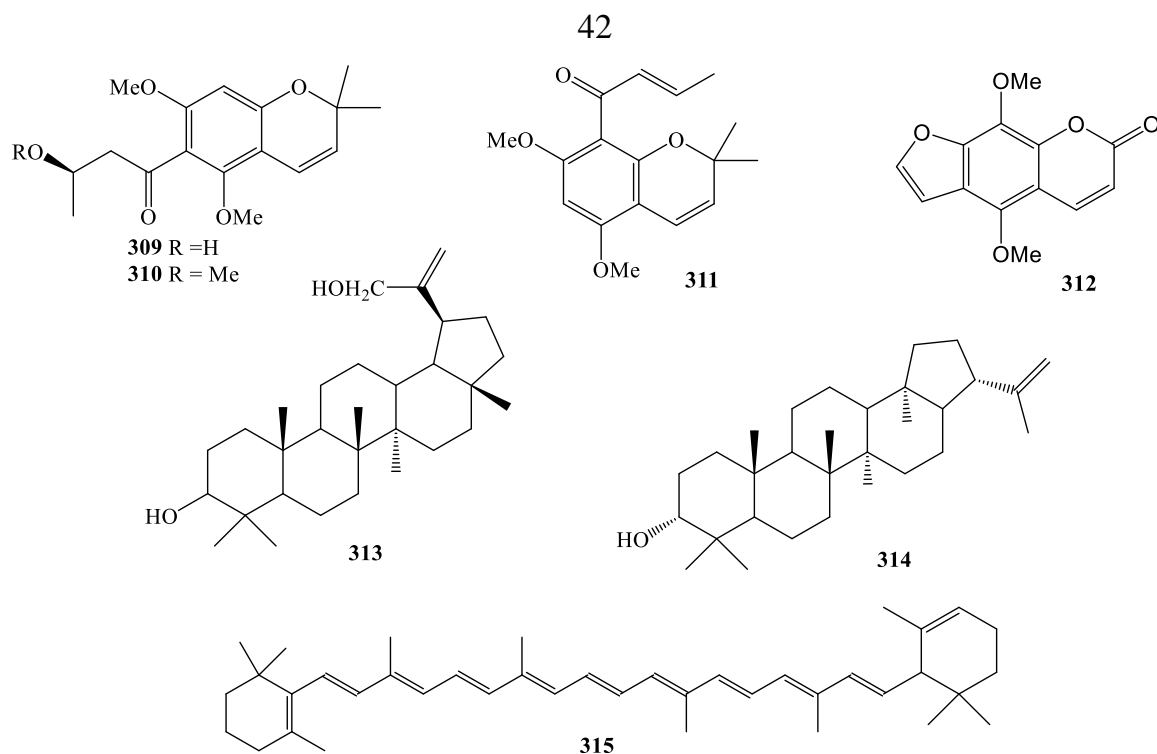
mà không có bất kỳ tác dụng gây độc tế bào nào. So với chất đối chứng dương, bicyclol và các sản phẩm tự nhiên khác như silybin (45,5% ở 50  $\mu$ M), được biết là có hoạt tính bảo vệ gan mạnh, malloapelin C (**294**) cho thấy hoạt tính đầy hứa hẹn chống lại độc tính do D-galac-tosamine gây ra trong các tế bào giống biểu mô gan chuột WB-F344 [90]. Năm 2010, malloapeltic acid (**297**) từ rễ của *M. apelta*, cho thấy hoạt tính kháng HIV mạnh trong ống nghiệm [5]. Vào năm 2014, một dẫn xuất coumarine, 7-hydroxy-2-hydroxymethyl-8-methoxy-4-oxo-4*H*-chromene-6-carboxylic acid (**283**) đã được Lu và cộng sự tìm thấy từ các nhánh của *M. apelta*. Hợp chất này đã thể hiện hoạt tính gây độc tế bào vừa phải trên các dòng KB và HeLa với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 9,50 và 9,23  $\mu$ g/ml [14].

#### 1.2.2.2. Các nghiên cứu về loài *M. apelta* ở Việt Nam

Tại Việt Nam, đã có 13 hợp chất được nhóm nghiên cứu của GS. VS. Châu Văn Minh và PGS. TS. Phan Văn Kiệm phân lập (**4, 177, 178, 197, 198, 234, 309, 310, 311, 312, 313-315**). Trong đó các hợp chất **4, 309- 312** thuộc nhóm benzopyran và coumarin, 6 triterpenoid (**177, 178, 197, 198, 313, 314**), 1 diterpenoid (**234**) và một chất khác (**315**).

**Bảng 1.16. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. apelta* ở Việt Nam.**

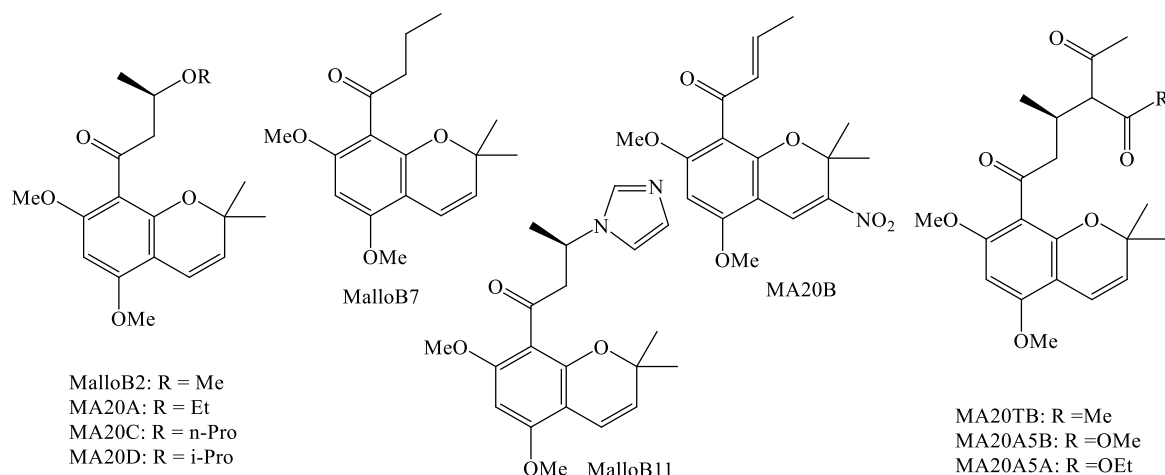
<b>309</b>	6-[1'-oxo-3'(R)-hydroxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2 <i>H</i> -L-benzopyran	lá	[98]
<b>310</b>	6-[1'-oxo-3'(R)-methoxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2 <i>H</i> -L-benzopyran	lá	[98]
<b>311</b>	malloapelta B	lá	[11]
<b>312</b>	isopimpinellin	lá	[11]
<b>313</b>	hennadiol	lá	[67]
<b>314</b>	malloapelta A	lá	[67]
<b>315</b>	carotene	lá	[11]



**Hình 1.16. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài *M. apelta* tại Việt Nam.**

Năm 2005, PGS. TS. Phan Văn Kiệm và cộng sự đã báo cáo về hai benzopyran là 6-[1'-oxo-3'(R)-hydroxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2*H*-L-benzopyran (**309**) và 6-[1'-oxo-3'(R)-methoxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2*H*-L-benzopyran (**310**) từ lá của *M. apelta*. Các hợp chất này được đánh giá về tác dụng gây độc tế bào đối với các dòng tế bào Hep-G2 và RD, hợp chất **309** thể hiện tác dụng gây độc tế bào đáng kể với các giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 0,49  $\mu\text{g/ml}$  (Hep-G2) và 0,54  $\mu\text{g/ml}$  (RD). Trong khi đó, hợp chất **310** chỉ cho thấy ảnh hưởng ở mức trung bình đối với dòng Hep-G2 với  $IC_{50}$  là 4,22  $\mu\text{g/ml}$  [98]. Trong nghiên cứu của GS. VS. Châu Văn Minh và các đồng tác giả, 22 hợp chất từ loài này đã được đánh giá tác dụng gây độc tế bào đối với các dòng tế bào ung thư KB, FL và Hep-G2. Trong số đó, malloapelta B (**311**) thể hiện hoạt tính gây độc mạnh cả ba dòng tế bào ung thư, trong khi các hợp chất khác không thể hiện tính ức chế, với giá trị các giá trị  $IC_{50}$  đều lớn hơn 50  $\mu\text{M}$  [99]. Khi nghiên cứu các thành phần ức chế từ các sản phẩm tự nhiên đối với yếu tố phiên mã NFAT và hoạt hóa NF- $\kappa\text{B}$  từ dịch chiết lá của *M. apelta*, GS. VS. Châu Văn Minh và các cộng sự đã phát hiện malloapelta B thể hiện hoạt tính mạnh mẽ chống lại yếu tố phiên mã NFAT ( $IC_{50}$  2,48 $\pm$ 0,56  $\mu\text{M}$ ) và bất hoạt NF- $\kappa\text{B}$  ( $IC_{50}$ : 0,54 $\pm$ 0,05  $\mu\text{M}$ ) [100]. Năm 2007, trong các nỗ lực để thay đổi cấu trúc của malloapelta B nhằm tạo ra những hợp chất có khả năng kháng ung thư tốt hơn, nhóm nghiên cứu của TS. Nguyễn Hoài Nam đã tổng hợp thêm 10 dẫn xuất khác từ

malloapelta B và thử nghiệm hoạt tính sinh học. Tuy rằng các dẫn xuất này không có được hoạt tính thú vị như malloapelta B nhưng kết quả cho thấy nhóm carbonyl  $\alpha$ ,  $\beta$  không đóng vai trò quan trọng với hoạt tính. Kết quả này cũng là một phần trong đề tài luận án tiến sỹ “*Nghiên cứu hoá học và hoạt tính chống ung thư của một số hợp chất benzopyran nguồn gốc thực vật*”, được bảo vệ thành công vào năm 2009 của tác giả [101].



**Hình 1.17. Các dẫn xuất bán tổng hợp từ malloapelta B**

Dựa trên tổng quan, có thể thấy khá nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước về loài *M. apelta*. Tất cả các điều chỉ ra rằng trong thành phần của loài này có chứa nhiều nhóm chất có hoạt tính sinh học vô cùng đa dạng và lý thú. Đặc biệt, hợp chất malloapelta B đã được các nhà khoa học Việt Nam nghiên cứu vô cùng kỹ lưỡng và được đưa vào sản xuất chế phẩm phức hệ malloapelta B-curcumin, hỗ trợ điều trị ung thư. Như vậy *M. apelta* có thể chính là chìa khoá để điều trị các căn bệnh nan y. Với sự phát triển của y học và hoá học hiện đại, việc phân lập đầy đủ những hợp chất từ loài *M. apelta* và thử nghiệm hoạt tính là một nhu cầu tất yếu của xã hội.

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

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu



**Hình 2.1. Hình ảnh loài *M. apelta*.**

Lá của loài *Mallotus apelta* (Lour.) Müll. –Arg được thu hái tại xã Ngọc Thanh, thành phố Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc, Việt Nam (21°22'03,4" N + 105°43'023,9" E) vào tháng 8 năm 2018 và được giám định bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (MA1808) được lưu tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

##### 2.2.1.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography - TLC) là một kỹ thuật sắc ký dùng để tách các hỗn hợp không bay hơi. Kỹ thuật này được thực hiện trên một bản trơ (pha tĩnh) như thủy tinh, nhựa hoặc lá nhôm, được phủ một lớp mỏng vật liệu hấp phụ, thường là silica gel, nhôm oxide (alumin) hoặc xenlulozơ. Sau khi mẫu đã được chấm lên bản, dung môi hoặc hỗn hợp dung môi (pha động) được hút lên bản thông qua mao quản. Các chất phân tích khác nhau đi lên bản TLC với tốc độ khác nhau nên có thể phân tách được [102, 103].



**Hình 2.2. Sắc ký lớp mỏng trong phòng thí nghiệm.**

Sắc ký lớp mỏng có thể được sử dụng để theo dõi tiến trình của phản ứng, xác định các hợp chất có trong một hỗn hợp nhất định và xác định độ tinh khiết của một chất. Các ví dụ cụ thể về các ứng dụng này bao gồm: phân tích ceramide và acid béo, phát hiện thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt côn trùng trong thực phẩm và nước, phân tích thành phần thuốc nhuộm của sợi trong pháp y, kiểm tra độ tinh khiết phóng xạ của dược phẩm phóng xạ, hoặc xác định cây thuốc và các thành phần của chúng.

Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên các lớp đã tráng DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (0,25 mm, Merck), RP-18 F<sub>254s</sub> (0,25 mm, Merck). Sau đó chất được phát hiện bằng chiếu đèn tử ngoại ở các bước sóng 254 nm và 365 nm. Cách khác để hiện chất là phun dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% lên lớp mỏng, sau đó mang sấy khô rồi làm nóng chậm để hiện màu.

#### 2.2.1.2. Sắc ký cột (CC)

Sắc ký cột (column chromatography - CC) là một phương pháp sử dụng để phân tách một hợp chất hóa học trong hỗn hợp, dựa trên tốc độ di chuyển của chúng. Phương pháp này rất phổ biến vì có thể dùng nhiều chất hấp phụ khác nhau (pha thường, pha đảo...) với nhiều loại dung môi và phân lập từ lượng nhỏ đến rất lớn, lại có chi phí thấp. Phương pháp được tiến hành bằng cách sử dụng trọng lực hoặc khí nén để đẩy dung môi qua cột [104].

Sắc ký bản mỏng có thể cho biết cách mà hỗn hợp các chất sẽ phân tách khi chạy sắc ký cột, nên thường được thực hiện trước để khảo sát.



Trong sắc kí cột, nếu pha thường thì dùng chất hấp phụ là Silica gel (cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm, 230 - 400 Mesh). Nếu là pha đảo thì sử dụng chất hấp phụ RP-18 (30 - 50  $\mu\text{m}$ , YMC Co., Ltd) hay Diaion HP-20 (MilliporeSigma™ Supelco).



**Hình 2.3. Sắc kí cột trong phòng thí nghiệm - Viện Hóa sinh biển.**

#### 2.2.1.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

High performance liquid chromatography (HPLC) là một phương pháp phổ biến trong phân tích hóa học. Đây là phương pháp có thể sử dụng để tách, định tính và định lượng thành phần các chất có trong một hỗn hợp. Bản chất của kỹ thuật này là dùng máy để bơm có áp suất hỗn hợp dung môi lỏng chứa mẫu qua cột chứa chất hấp phụ rắn. Do sự tương tác giữa thành phần trong mẫu với vật liệu hấp phụ là khác nhau, nên gây ra tốc độ dòng khác nhau, khiến các thành phần được tách ra khi chảy khỏi cột [102, 105, 106].

So với sắc ký truyền thống sử dụng lực hấp dẫn để truyền pha động qua cột, HPLC sử dụng áp suất cao hơn đáng kể (50–350 bar). Do HPLC tách lượng mẫu rất nhỏ, nên cột có đường kính điển hình là 2,1–4,6 mm và chiều dài 30–250 mm. Ngoài ra, cột HPLC được làm bằng các hạt hấp phụ nhỏ hơn (cỡ hạt trung bình 2–50  $\mu\text{m}$ ). Điều này mang lại cho HPLC khả năng phân giải vượt trội, trở thành một kỹ thuật sắc ký phổ biến.



**Hình 2.4. Hệ thống HPLC đặt trong phòng kỹ thuật – Viện Hóa sinh biển**

Sơ đồ của một thiết bị HPLC thường bao gồm bộ khử khí, bộ lấy mẫu, máy bơm và máy dò. Bộ lấy mẫu đưa hỗn hợp mẫu, đồng thời pha động được đưa vào cột. Máy bơm cung cấp lưu lượng và thành phần mong muốn của pha động chảy qua cột. Máy dò tạo ra tín hiệu tỷ lệ với lượng thành phần mẫu xuất hiện từ cột, nhằm định lượng các thành phần trong mẫu. Bộ vi xử lý kỹ thuật số và phần mềm có chức năng đọc và phân tích dữ liệu. Hầu hết các thiết bị HPLC đều có thể điều chỉnh nhiệt độ của quá trình tách.

Sắc ký HPLC pha đảo sử dụng loại RP-18 (30 - 50  $\mu\text{m}$ , cột đối quang: Chirapak AD-3, dài 250 mm  $\times$  đường kính cột 4,6 mm hoặc cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu\text{m}$ , chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm

### **2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc**

Cấu trúc của các hợp chất được phân tích trên các phương pháp đo góc quay cực và chụp phổ hiện đại, sau đó tiến hành phân tích và so sánh với các tài liệu tham khảo. Quá trình sử dụng gồm có:

#### **2.2.2.1. Phổ khối lượng phân giải cao**

Phổ khối lượng là kỹ thuật xác định khối lượng của các phân tử tích điện khi chúng di chuyển trong điện trường. Mẫu được ion hóa trở thành các phân tử tích điện khác nhau và được phân tách dựa vào sự sai khác về giá trị  $m/z$ . Dữ liệu phổ được tự động ghi lại và sử dụng để nhận dạng hợp chất bằng các phần mềm tin học.

Phép đo khối phổ ion hóa-phun điện tử có độ phân giải cao (High Resolution-Electrospray Ionization-Mass Spectrometry HR-ESI-MS) sử dụng phương pháp ion

hóa mẫu bằng phun chùm ion trong dung dịch với hiệu điện thế cao, hợp chất và dung môi tạo thành giọt nhỏ dễ bay hơi. Các giọt này tích điện và bay vào bộ phận phân tích khối lượng của máy [107]. Phổ được tiến hành đo trên máy AGILENT 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### 2.2.2.2. Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR)

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cung cấp tín hiệu của các proton có trong một hợp chất hữu cơ. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  thể hiện giá trị độ dịch chuyển hóa học ( $\delta_{\text{H}}$ ), dạng pic (*singlet*, *doublet*, *triplet*...) và hằng số tương tác  $J$ . Trong đó, các giá trị  $\delta_{\text{H}}$  cho phép dự đoán loại hydro khác nhau ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$ ), dạng pic thể hiện mối quan hệ tương tác của các proton với nhau; giá trị của hằng số  $J$  giúp xác định cấu hình của hydro trong hợp chất đó (*axial*, *equatorial* hoặc cấu dạng  $Z/E$ ).

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho biết giá trị độ dịch chuyển hóa học ( $\delta_{\text{C}}$ ) trong các nguyên tử carbon. Phạm vi dịch chuyển hóa học của  $^{13}\text{C-NMR}$  từ 0-240 và đóng vai trò quan trọng trong việc xác định cấu trúc của hợp chất. Dựa vào phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  kết hợp với phổ DEPT (hoặc HSQC), có thể biết được tổng số nguyên tử carbon có trong một phân tử hợp chất hữu cơ và số lượng cụ thể carbon thuộc các nhóm methyl ( $\text{CH}_3$ ), methylene ( $\text{CH}_2$ ), methine ( $\text{CH}$ ) và carbon không liên kết với hydro.

Các phép đo NMR sử dụng máy Bruker DRX 500 MHz (Chất chuẩn nội là TMS) tại Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các kỹ thuật được sử dụng bao gồm:

- Phổ một chiều:  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT.
- Phổ hai chiều: HSQC, HMBC, COSY và NOESY.

Dung môi sử dụng trong quá trình đo có thể là DMSO,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ... sao cho mẫu thử được hoà tan hoàn toàn.

#### 2.2.2.3. Phổ lưỡng sắc tròn điện tử

Hiện tượng lưỡng sắc tròn (Circular Dichroism-CD) là hiện tượng lưỡng sắc liên quan đến ánh sáng phân cực tròn, tức là sự hấp thụ khác biệt của ánh sáng thuận tay trái và phải. Phổ CD ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: xác định cấu hình tuyệt đối của các tiểu phân tử quang hoạt gồm các hợp chất tổng hợp, bán tổng hợp từ tự nhiên có trung tâm bất đối, xác định cấu trúc của các đại phân tử như cấu trúc xoắn, gấp của protein, phân tích định lượng một hợp chất quang hoạt... [108].

Phổ lưỡng sắc tròn điện tử (ECD) sử dụng máy Chirascan™ CD spectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK) đặt tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



**Hình 2.5. Hệ thống máy đo quang phổ lưỡng sắc tròn**

#### 2.2.2.4. Phương pháp tính toán phổ CD lý thuyết

Phổ lưỡng sắc tròn điện tử là một công cụ mạnh mẽ nhằm xác định cấu hình tuyệt đối của các hợp chất. Cách thông thường là so sánh phổ ECD của một hợp chất mới có cấu hình chưa biết với phổ đã biết. Tuy nhiên, với sự cải tiến của các chương trình và thuật toán, đặc biệt là lý thuyết hàm mật độ phụ thuộc thời gian (TDDFT), các công trình đã được công bố trong khoảng 10 năm gần đây đã sử dụng phổ ECD lý thuyết để so sánh với phổ ECD thực nghiệm. Nếu hai bộ dữ liệu giống nhau thì sẽ thu được phép gán có độ tin cậy cao [109].

Tìm kiếm cấu dạng được thực hiện trên chương trình Spartan 14. Các cấu dạng có thể có sẽ được tối ưu hóa và tính toán lý thuyết dựa trên chương Gaussian 09. Phổ CD theo tính toán lý thuyết sẽ được thiết lập sau khi hiệu chỉnh dựa trên hệ số phân bố Boltzmann của các cấu dạng bền sử dụng phần mềm SpecDisv1.64.

#### 2.2.2.5. Độ quay cực ( $[\alpha]_D$ )

Độ quay cực của một chất là góc của mặt phẳng phân cực bị quay đi khi ánh sáng phân cực đi qua chất đó nếu là chất lỏng, hoặc qua dung dịch chất đó nếu là chất rắn. Chất làm quay mặt phẳng phân cực theo cùng hoặc ngược chiều kim đồng hồ được ký hiệu là (+) hoặc (-). Thông thường, góc quay cực được xác định ở nhiệt độ 25°C và với chùm tia đơn sắc có bước sóng ứng với vạch D (589,3 nm) của đèn sodium qua lớp chất lỏng hay dung dịch có bề dày 1 dm. Độ quay cực riêng  $[\alpha]_D^{25}$  của

một chất lỏng là góc quay cực đo được chia cho tỷ trọng của chất ở cùng nhiệt độ [110].

Độ quay cực được đo trên máy JASCO P-2000 polarimeter của Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



**Hình 2.6. Máy đo góc quay cực P-2000 -JASCO**

### **2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học**

#### *2.2.3.1. Phương pháp MTT, MTS và CCK-8*

MTT là phương pháp sử dụng thuốc nhuộm 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, tạo ra sản phẩm formazan dạng tinh thể. Còn MTS là một phương pháp cải tiến vì nó sử dụng một loại thuốc nhuộm tetrazolium mới là 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, dẫn đến một sản phẩm formazan dễ tan. Như vậy MTS không có bước hòa tan tinh thể formazan nên tiết kiệm thời gian hơn so với MTT [111, 112].

Bộ đếm tế bào 8 (WST-8/CCK-8) (ab228554) là một phương pháp mạnh để thực hiện xét nghiệm khả năng sống của tế bào. Bộ này sử dụng muối tetrazolium hòa tan trong nước để định lượng số lượng tế bào sống bằng cách tạo ra thuốc nhuộm formazan màu da cam khi khử sinh học với sự có mặt của chất mang điện tử [113]. Dung dịch WST-8/CCK-8 được thêm trực tiếp vào các ô thử nghiệm mà không cần trộn trước các thành phần. Muối tetrazolium WST-8/CCK-8 bị khử bởi dehydrogenase thành sản phẩm formazan màu cam hòa tan trong môi trường nuôi cấy mô. Lượng formazan được tạo ra tỷ lệ thuận với số lượng tế bào sống và được đo bằng độ hấp thụ ở 460 nm. Độ ổn định và ít gây độc tế bào của dung dịch WST-8/CCK-8 làm cho bộ dụng cụ này hữu ích cho các xét nghiệm cần thời gian ủ dài (từ 24 đến 48 giờ).

### 2.2.3.2. Thử nghiệm đặc điểm sống sót của tế bào ung thư

Các dòng tế bào TOV-21G được nuôi cấy trong môi trường DMEM hoặc RPMI có bổ sung 10% FBS và penicillin/streptomycin (100 U/ml và 100 µg/ml) ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Ảnh hưởng của các hợp chất đến khả năng tăng trưởng và sống sót của các tế bào ung thư buồng trứng được xác định bằng cách đo muối tetrazolium hòa tan trong nước 2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, muối monosodium (WST-8), độ hấp thụ thuốc nhuộm như theo mô tả của nghiên cứu trước đó [114]. Tổng số  $1,5 \times 10^3$  tế bào được nuôi trên đĩa 96 giếng trong 72h. Trong 3h cuối cùng nuôi cấy, tạo xung với 12 µl WST-8/giếng, độ hấp thụ được đo ở bước sóng 450 nm sử dụng máy đọc đĩa đa năng (Teckan, Maennedorf, Switzerland). Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần, kết quả được biểu thị dưới dạng tỉ lệ hấp thụ tương đối so với nhóm đối chứng. Giá trị IC<sub>50</sub> được xác định bằng phương pháp CCK-8 và biểu thị dưới dạng trị số trung bình kèm theo sai số của thí nghiệm.

Các dòng tế bào ung thư PC3, MCF-7, HT-29 và TOV-21G được lưu trữ và thử nghiệm tại khoa Dược, Đại học YonSei, Hàn Quốc.

### 2.2.3.3. Phân tích tín hiệu huỳnh quang YFP

Các tế bào FRT thể hiện ổn định cả trên biến thể YFP (YFP-H148Q/I152L/F46L) và ANO1 được đặt trong các đĩa 96 giếng với mật độ  $2 \times 10^3$  tế bào mỗi giếng. Sau 48 giờ ủ, mỗi giếng được rửa hai lần bằng PBS. Sau đó, các hợp chất thử nghiệm được trộn trong PBS được xử lý trong 20 phút. Huỳnh quang YFP của mỗi giếng được đo 0,4 giây một lần trong 5 giây bằng đầu đọc vi đĩa FLUOstar Omega. Để đo dòng iodide qua trung gian ANO1, 100 µL dung dịch iodide 70 mM với 100 M ATP được tự động được tiêm bằng đầu đọc vi bản vào từng giếng 1 giây sau khi bắt đầu đo. Tác dụng ức chế của các hợp chất thử nghiệm đối với hoạt tính ANO1 được đo bằng tốc độ dòng iodua ban đầu, tốc độ này được xác định từ độ dốc giảm huỳnh quang ban đầu sau khi tiêm ATP [115].

### 2.2.3.4. Dòng điện ngắn mạch

Các miếng chèn Snapwell chứa ANO1 và CFTR biểu hiện các tế bào FRT được gắn trong các buồng Ussing (Physiologic Instruments, San Diego, CA). Bồn rửa đáy bên chứa đầy dung dịch đệm HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> có chứa 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM D-glucose, 2,5 mM HEPES và 25 mM NaHCO<sub>3</sub> (pH =

7,4) và bồn rửa đỉnh được đổ đầy dung dịch bán chloride. Trong dung dịch bán chloride, 65 mM NaCl trong dung dịch đệm  $\text{HCO}_3^-$  được thay thế bằng sodium gluconate. Màng đáy được thấm với 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  amphotericin B. Các tế bào được ngâm trong 20 phút và được sục khí với 95%  $\text{O}_2$  và 5%  $\text{CO}_2$  ở 37°C. ATP được bổ sung cho màng đỉnh để kích hoạt ANO1 và forskolin được bổ sung cho màng đỉnh để kích hoạt CFTR. Hợp chất được bổ sung cho cả dung dịch rửa ở đỉnh và đáy 20 phút trước khi kích hoạt ANO1 và CFTR. Dòng điện màng đỉnh được đo bằng EVC4000 đa kênh V/I Clamp (World Precision Instruments, Sarasota, FL) và dòng điện thí nghiệm 4/35 (AD Instruments, Castle Hill, Úc). Dữ liệu được phân tích bằng Lab chart Pro 7 (AD Instruments). Tốc độ lấy mẫu là 4 Hz. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần một cách độc lập [116].

#### 2.2.3.5. *Đo nồng độ calcium nội bào*

Các tế bào FRT được nuôi cấy trên đĩa 96 giếng phủ đen, được bổ sung với Fluo-4 NW theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen, Carlsbad, CA). Các tế bào được ủ với 100  $\mu\text{l}$  đệm theo kit (1X dung dịch muối cân bằng Hanks với 2,5mM probenecid và 20 mM dung dịch HEPES) cùng với Fluo-4 NW. Sau khi ủ hỗn hợp trong 1h, đĩa nuôi cấy được chuyển sang máy đọc tín hiệu huỳnh quang. Tín hiệu từ Fluo-4 được đo bằng máy FLUOstar Omega (BMG Labtech) được trang bị cùng với hệ thống tùy chỉnh bơm và bộ lọc Fluo-4 (485/538 nm) [117].

#### 2.2.3.6. *Đánh giá hàm lượng protein*

Phương pháp này dựa trên hiện tượng thuốc nhuộm Coomassie Brilliant Blue G-250 thay đổi bước sóng hấp thụ cực đại khi tạo phức với protein. Màu thuốc thay đổi từ đỏ nhạt (bước sóng 465nm) đến xanh nhạt (bước sóng 595nm). Mật độ quang ở bước sóng 595 nm và nồng độ protein có trong mẫu tỷ lệ thuận với nhau. Để xác định protein trong mẫu, ta phải thiết lập đường chuẩn với dung dịch protein chuẩn có nồng độ đã biết, có thể là Bovine plasma  $\gamma$ -globulin hoặc bovine serum albumin. Màu sẽ xuất hiện 2 phút sau khi thuốc nhuộm được cho dung dịch protein. Sau đó mật độ quang được đo bằng máy quang phổ kế. Lượng protein được xác định bằng cách chấm trên đường chuẩn theo mật độ quang và chiếu xuống trục hoành [118].

Hàm lượng protein được xác định bằng thuốc thử Bradford/PCA và được chuẩn hoá là 5 mg/ml. Protein được đưa vào các giếng để chạy Western blot.



### 2.2.3.7. *Western blot*

Các tế bào sau nuôi cấy được ly giải với đệm lysis (50 mM Tris-HCl; pH 7,4; 1% Nonidet P-40; 0,25% sodium deoxycholate, 150mM NaCl, 1 mM EDTA, 1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> và hỗn hợp ức chế protease). Toàn bộ phần dịch ly giải được ly tâm ở tốc độ 15000g trong 10 phút ở 4°C để loại bỏ xác tế bào. Sau đó 20,8 µg protein tổng số được điện di trên gel 4-12% Tris-Glycerine-PAG (Koma Biotech) sau đó chuyển lên màng lai PVDF. Giai đoạn blocking được thực hiện bởi albumin huyết thanh bò 5% (Bovine Serum Albumin-BSA) trong đệm Tris với 0,1% Tween 20 trong 1h tại nhiệt độ phòng. Màng lai sau đó được ủ với kháng thể sơ cấp tương ứng bao gồm kháng thể kháng ANO1 (Abcam), kháng thể kháng actin (Santa Cruz Biotechnology) và kháng thể kháng PARP cleaved (BD Biosciences) qua đêm. Tiếp theo, rửa màng với 0,1% Tween 20 trong đệm TBST và tiếp tục ủ với kháng thể thứ cấp IgG gắn HRP (Enzo Life Science) trong 1h. Cuối cùng, các hình ảnh kết quả được ghi lại bởi hệ thống ECL Plus Western blotting (GE Healthcare). Tất cả các thí nghiệm được lặp lại độc lập 3 lần [119].

### 2.2.3.8. *Tạo dòng tế bào FRT-KO*

Các tế bào FRT biểu hiện protein ANO1 và CFTR được tạo ra bởi nhóm nghiên cứu của L. J. Galletta vào năm 2001 [120]. Các tế bào FRT được nuôi cấy trong môi trường F12 có cải tiến của Coon, bổ sung 10% FBS, 2mM L-glutamine, 100 U/ml penicilin và 100 µg/mL streptomycin. Các tế bào này được nuôi cấy và thử nghiệm tại khoa Dược, Đại học Yonsei, Hàn Quốc

Tế bào loại trực tiếp FRT KO ANO1 được thiết lập bằng kỹ thuật CRISPR/Cas9. Vector PlentiCRISPRv2 chứa Cas9 và CRISPR guide RNA nhắm đích đến ANO1 (CCTGATGCCGAGTGCAAGTA) (Clone ID: X35909) được cung cấp bởi Genscript (Piscataway, NJ, USA). Tổng cộng 1500 ng plasmid CRISPR, 1200 ng plasmid psPAX2 (đóng gói) và 400 ng plasmid pMD2.G (vỏ) cùng được nạp vào dòng tế bào HEK293T trên đĩa nuôi cấy 6 giếng. Phần dịch nổi chứa các hạt lentivirus được thu lại sau 48h sau nạp và lọc bởi xy lanh kích thước 0,45µm. Các hạt lentivirus được trộn môi trường nuôi cấy sạch theo tỉ lệ 1:1 và bổ sung trực tiếp vào các giếng nuôi cấy, ủ qua đêm. Các tế bào ANO1 knock-out sau đó được chọn lọc với kháng sinh puromycin (Sigma-Aldrich) 72h sau khi nhiễm virus [121].

### 2.2.3.9. *Thử nghiệm di chuyển của tế bào*

Các tế bào PC-3 và CAL-27 được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng để tạo lớp đơn với mức độ bao phủ 80%. Vùng vết thương được tạo bởi WoundMaker 96 giếng



(Essen BioScience, MI). Sau khi hình thành vùng tổn thương này, mỗi giếng được rửa 2 lần với môi trường không chứa huyết thanh và ủ với 200  $\mu$ l môi trường nuôi cấy chứa 2% FBS. Các hình ảnh kết quả về vết thương được ghi lại bởi IncuCyte ZOOM (Essen BioScience, MI), đồng thời phần mềm IncuCyte được sử dụng để phân tích tỉ lệ phần trăm chữa lành. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập [122].

#### 2.2.3.10. *Đánh giá hoạt tính caspase-3*

Các tế bào PC-3 và CAL-27 được nuôi cấy trên đĩa 96 giếng cho đến khi đạt 30% độ phủ. Anti-D2 và chất ức chế caspase-3 là Ac-DEVD-CHO tiếp tục được bổ sung vào các giếng nuôi cấy. Sau 24 giờ, mỗi giếng được rửa với dung dịch PBS và ủ trong 100  $\mu$ l PBS chứa 1  $\mu$ M NucView 488 caspase-3 ở nhiệt độ phòng. Sau 30 phút ủ, các tế bào được nhuộm với 1  $\mu$ M Hoechst 33342. Tín hiệu huỳnh quang của NucView 488 và Hoechst 33342 được đo bởi máy FLUOstar Omega (BMG Labtech) và các hình ảnh đa màu được chụp bởi kính hiển vi tự động Lionheart FX (BioTek) [123].

#### 2.2.3.11. *Phương pháp phân tích thống kê*

Các kết quả thí nghiệm được thể hiện dưới dạng các trị số trung bình kèm theo sai số của thí nghiệm. Phân tích thống kê sử dụng kiểm định Student's t-test nhằm đánh giá sự khác biệt giữa 2 phương sai. Giá trị  $P < 0,05$  được coi là sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Phần mềm GraphPad Prism v7.0 được sử dụng để vẽ các đường cong phụ thuộc nồng độ và tính toán giá trị  $IC_{50}$  [124].

### Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Phân lập các hợp chất

Quy trình phân lập các hợp chất từ loài bùm bụp *Mallotus apelta* được sử dụng các phương pháp sắc kí như sau:

Lá của *M. apelta* sau khi phơi khô, nghiền thành bột mịn (5,0 kg) được chiết bằng methanol (3 lần, mỗi lần 8 lít), sử dụng thiết bị siêu âm (ở 50 °C, thời gian chiết mỗi lần 4h). Các dịch chiết sau đó được gom lại, lọc qua giấy lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 568 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này được hòa tan vào 4,0 lít nước cất, rồi tiến hành chiết phân bố bằng dichloromethane để thu được cặn dichloromethane (MAL1, 250,0 g).

Phân đoạn MAL1 (120,0 g) được phân tách trên cột sắc kí silica gel và rửa giải gradien bằng hệ dung môi *n*-hexane - acetone (10:1, 5:1, 0:1, v/v) thu được 5 phân đoạn MAL1A (18,0 g), MAL1B (15,0 g), MAL1C (12,0 g), MAL1D (20,0 g) và MAL1E (35,0 g).

Phân đoạn MAL1B (15,0 g) được tiếp tục được phân tách trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane - acetone (40:1 → 0:1, v/v) để tạo ra bốn phân đoạn nhỏ, MAL1B1 (1,0 g), MAL1B2 (1,0 g), MAL1B3 (1,2 g) và MAL1B4 (1,3 g). Phân đoạn MAL1B1 cho phân tách trên cột sắc kí RP-18, sử dụng hệ dung môi methanol - nước (3,5:1, v/v) để tạo ra ba phân đoạn nhỏ hơn, MAL1B1A (100 mg), MAL1B1B (400 mg) và MAL1B1C (100 mg). MAL1B1B được chạy HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4 µm, chiều dài 150 mm × đường kính cột 20 mm) sử dụng hệ dung môi acetonitrile 55% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thì thu được hợp chất **MA7** (9,6 mg). Còn MAL1B3 được sắc ký trên cột silica gel, sử dụng hệ dung môi *n*-hexane - ethyl acetate (4:1, v/v) thu được ba phân đoạn nữa, MAL1B3A (80 mg), MAL1B3B (150 mg) và MAL1B3C (100 mg). MAL1B3B đem phân tách bằng cột RP-18, sử dụng hệ dung môi methanol - nước (3,5:1, v/v) thu được **MA6** (5,0 mg), **MA8** (15,0 mg) và **MA14** (16,7 mg).

MAL1D (20g) được sắc ký trên cột silica gel và rửa giải gradient bằng hệ dung môi dichloromethane - acetone (40:1 → 0:1, v/v) thu được bốn phân đoạn, MAL1D1 (2,5 g), MAL1D2 (2,0 g), MAL1D3 (1,8 g) và MAL1D4 (1,7 g). MAL1D1 được phân tách bằng cột RP-18, sử dụng hệ dung môi acetone - nước (1:2, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn, MAL1D1A (200 mg), MAL1D1B (400 mg), MAL1D1C (1,1 g). MAL1D1A được sắc ký trên hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4 µm, chiều dài 150 mm × đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 30% trong

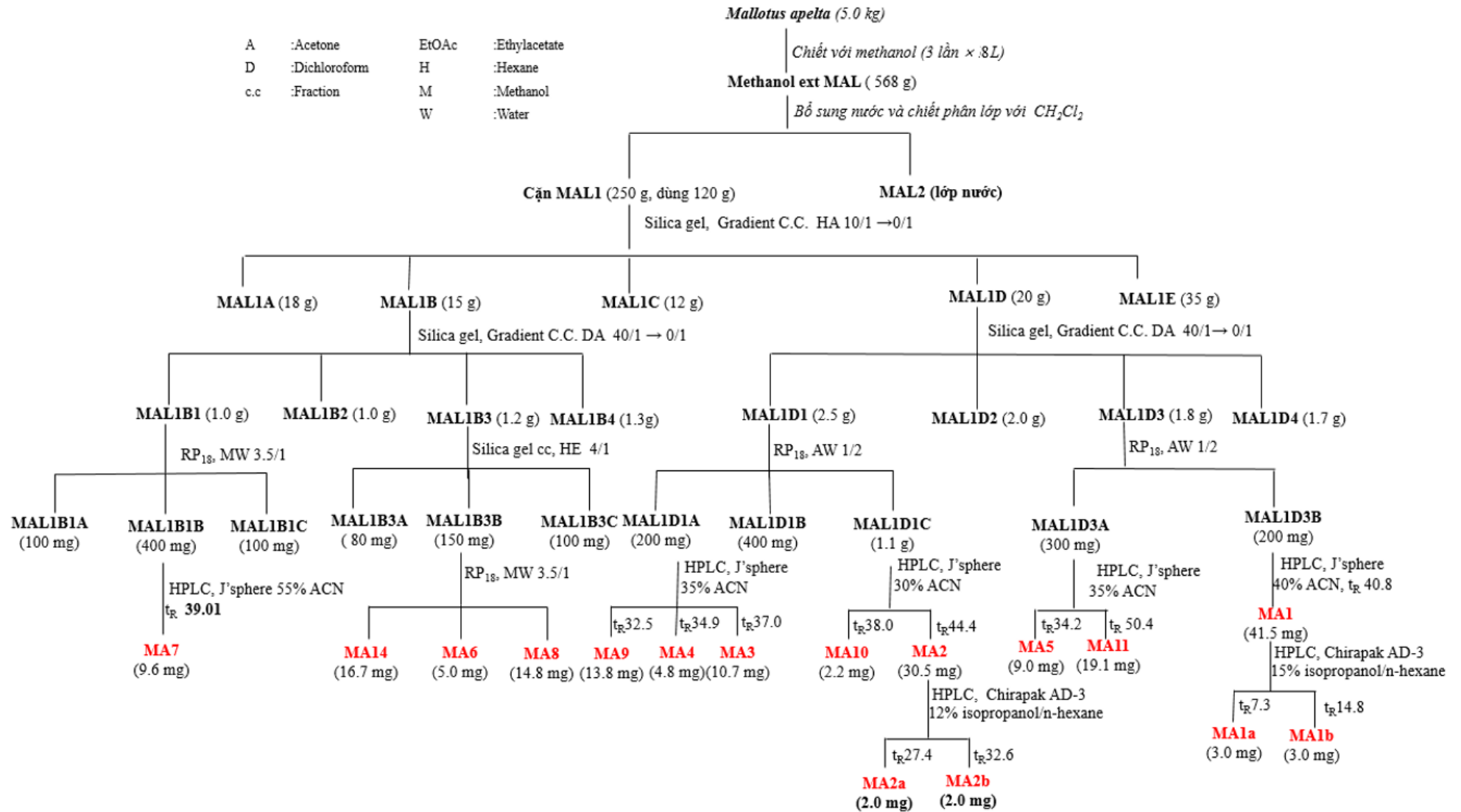
nước với tốc độ 3 ml/phút thì thu được hợp chất **MA3** (10,7 mg), **MA4** (4,8 mg) và **MA9** (13,8 mg). Với MAL1D1C, tiếp tục sử dụng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải acetonitrile 30% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thu được **MA2** (30,5 mg) và **MA10** (2,2 mg). Phân tách MAL1D3 bằng cột RP-18, sử dụng hệ dung môi acetone - nước (1:2, v/v) thu được hai phân đoạn, MAL1D3A và MAL1D3B. Hợp chất **MA5** (9,0 mg) và **MA11** (19,1 mg) thu được từ MAL1D3A khi sử dụng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải acetonitrile 30% trong nước với tốc độ 3 ml/phút. Tinh chế phân đoạn MAL1D3B bằng HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) sử dụng dung môi acetonitrile 40% trong nước với tốc độ 3 ml/phút cũng thu được **MA1** (41,5 mg).

Với các chất **MA1** và **MA2**, sử dụng HPLC (cột đối quang: Chirapak AD-3, ID 4,6 mm  $\times$  dài 250 mm) rửa giải lần lượt bằng isopropanol/*n*-hexane 15% và 12% đã phân tách được hai cặp chất đối quang **MA1a** ( $t_R$  7,3), **MA1b** ( $t_R$  14,8), **MA2a** ( $t_R$  27,4) và **MA2b** ( $t_R$  32,6).

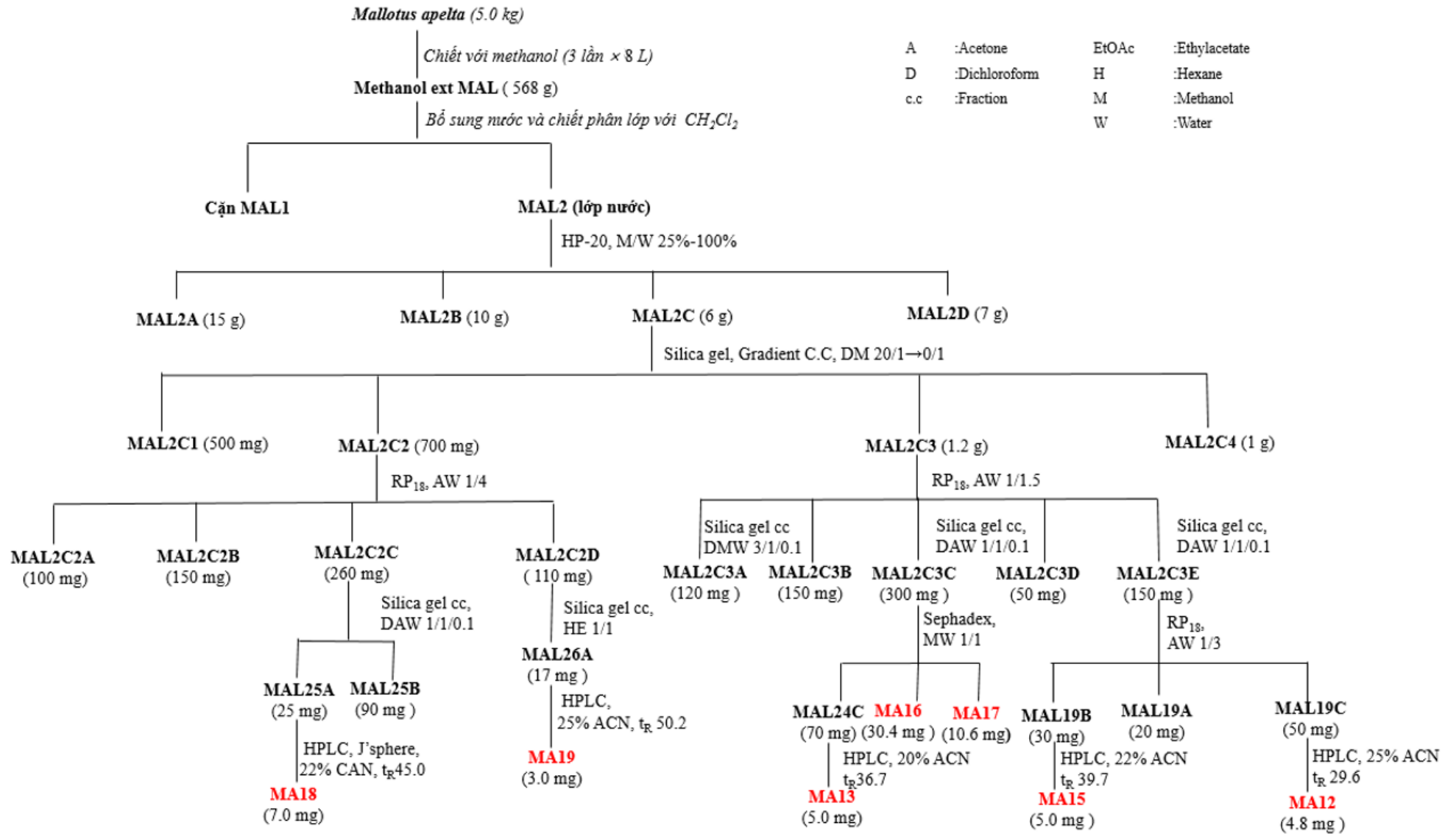
Lớp nước (MAL2) được loại bỏ dung môi hữu cơ sau đó được phân tách trên cột Diaion HP-20 rửa giải bằng nước để loại bỏ các thành phần phân cực, sau đó tăng nồng độ methanol trong nước (25, 50, 75 và 100%, v/v) để thu được bốn phân đoạn lần lượt là MAL2A-MAL2D. Phân đoạn MAL2C (6 g) được phân tách trên silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi diclormethane - methanol (20:1, 10:1,5:1, 1:1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn: MAL2C1 (500 mg), MAL2C2 (700 mg), MAL2C3 (1,2 g) và MAL2C4 (1,0 g).

Phân đoạn MAL2C2 được phân tách trên cột sắc kí RP-18, sử dụng hệ acetone - nước (1:4, v/v) thu được bốn phân đoạn, MAL2C2A (100 mg), MAL2C2B (150 mg), MAL2C2C (260 mg) và MAL2C2D (110 mg). Phân đoạn MAL2C2C được phân tách trên cột silica gel, sử dụng hệ dichloromethane - methanol-nước (1:1:0,1) thu được hai phân đoạn, MAL25A (20 mg) và MAL25B (90 mg). Hợp chất **MA18** (7 mg) thu được từ MAL25A bằng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 22% trong nước với tốc độ 3 ml/phút. Phân tách tiếp MAL2C2D trên cột silica gel, sử dụng hệ dung môi *n*-hexane – ethyl acetate (1:1, v/v) thu được phân đoạn MAL26A (17 mg), chạy tiếp phân đoạn này bằng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 25% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thu được lần lượt **MA19** (3,0 mg).

Phân đoạn MAL2C3 được phân tách bằng cột RP-18, sử dụng acetone - nước (1:1,5, v/v) làm dung môi rửa giải để tạo ra năm phân đoạn, MAL2C3A (120 mg), MAL2C3B (150 mg), MAL2C3C (300 mg), MAL2C3D (50 mg) và MAL2C3E (150 mg). MAL2C3C được phân tách trên cột sephadex LH20, sử dụng hệ methanol - nước (1:1, v/v) làm dung môi rửa giải để thu được 2 chất **MA16** (30,4 mg), **MA17** (10,6 mg) và phân đoạn MAL24C. Chạy tiếp phân đoạn này bằng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 16% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thu được **MA13** (5,0 mg). MAL2C3E được phân tách bằng cột RP-18, sử dụng hệ dung môi acetone - nước (1:3, v/v) thu được 2 phân đoạn MAL19B (30 mg) và MAL19C (50 mg). Phân tách MAL19B bằng HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 22% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thu được **MA15** (5,0 mg). MAL19C cũng được tách bằng hệ thống HPLC (cột J'sphere, ODS H-80, 4  $\mu$ m, chiều dài 150 mm  $\times$  đường kính cột 20 mm) rửa giải bằng acetonitrile 25% trong nước với tốc độ 3 ml/phút thu tiếp **MA12** (4,8 mg).



Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất của phân đoạn MAL1



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất của phân đoạn MAL2

### 3.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất

#### 3.2.1. Hợp chất MA1: Malloapelta C (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{18}H_{24}O_6$ ,  $M = 336$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  ( $c$  0,1  $CHCl_3$ )

(**MA1a**  $[\alpha]_D^{25} = +21,1$  ( $c$  0,05  $CHCl_3$ ), **MA1b**  $[\alpha]_D^{25} = -20,3$  ( $c$  0,05  $CHCl_3$ ))

HR-ESI-MS tại  $m/z$  337,1646  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{18}H_{25}O_6]^+$ , 337,1646.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.1.

#### 3.2.2. Hợp chất MA2: Malloapelta D (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  ( $c$  0,1  $CHCl_3$ )

(**MA2a**  $[\alpha]_D^{25} = -30,3$  ( $c$  0,05  $CHCl_3$ ), **MA2b**  $[\alpha]_D^{25} = +25,4$  ( $c$  0,05  $CHCl_3$ ))

HR-ESI-MS tại  $m/z$  323,1490  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{17}H_{23}O_6]^+$ , 323,1489.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.2.

#### 3.2.3. Hợp chất MA3: Malloapelta E (Hợp chất mới)

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  ( $c$  0,1  $CHCl_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  323,1489  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{17}H_{23}O_6]^+$ , 323,1489.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.3.

#### 3.2.4. Hợp chất MA4: Malloapelta F (Hợp chất mới)

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{17}H_{20}O_6$ ,  $M = 320$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  ( $c$  0,1  $CHCl_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  321,1331  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{17}H_{21}O_6]^+$ , 321,1333.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.4.

**3.2.5. Hợp chất MA5: Malloapelta G (Hợp chất mới)**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1  $CHCl_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  323,1493  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{17}H_{23}O_6]^+$ , 323,1489.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.5.

**3.2.6. Hợp chất MA6: Malloapelta H (Hợp chất mới)**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{16}H_{20}O_5$ ,  $M = 292$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1  $CHCl_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  293,1403  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{16}H_{21}O_5]^+$ , 293,1384.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.6.

**3.2.7. Hợp chất MA7: Malloapelta I (Hợp chất mới)**

Chất bột màu vàng.

Công thức phân tử:  $C_{20}H_{18}O_5$ ,  $M = 338$ .

HR-ESI-MS tại  $m/z$  339,1227  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{20}H_{19}O_5]^+$ , 339,1232.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CD_3OD$ ): Xem Bảng 3.7.

**3.2.8. Hợp chất MA8: Malloapelta II (Hợp chất mới)**

Chất bột màu vàng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1,  $CDCl_3$ ).

Công thức phân tử:  $C_{20}H_{20}O_6$ ,  $M = 356$ .

HR-ESI-MS tại  $m/z$  357,1332  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{20}H_{21}O_6]^+$ , 357,1338.

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CDCl_3$ ): Xem Bảng 3.8.

**3.2.9. Hợp chất MA9: Malloapelta J (Hợp chất mới)**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{18}H_{26}O_7$ ,  $M = 354$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1,  $CDCl_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  355,1751  $[M+H]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{18}H_{27}O_7]^+$ , 355,1757.



Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ): Xem Bảng 3.9.

### 3.2.10. Hợp chất MA10: Malloapelta K (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_7$ ,  $M = 354$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1,  $\text{CDCl}_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  355,1751  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{O}_7]^+$ , 355,1757.

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ): Xem Bảng 3.10.

### 3.2.11. Hợp chất MA11: Malloapelta L (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_7$ ,  $M = 368$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = 0,0$  (c 0,1,  $\text{CHCl}_3$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  369,1908  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_7]^+$ , 369,1913.

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ): Xem Bảng 3.11.

### 3.2.12. Hợp chất MA12: Malloflavoside (Hợp chất mới)

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử:  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$ ,  $M = 548$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = +20,0$  (c 0,1,  $\text{MeOH}$ ).

HR-ESI-MS tại  $m/z$  549,1603  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Tính toán lý thuyết cho công thức  $[\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{O}_{13}]^+$ , 549,1609.

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): Xem Bảng 3.12.

### 3.2.13. Hợp chất MA13: Apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử:  $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$ ,  $M = 534$ .

Độ quay cực:  $[\alpha]_D^{25} = +15,0$  (c 0,1,  $\text{MeOH}$ ).

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): Xem Bảng 3.13.

### 3.2.14. Hợp chất MA14: Malloapelta B

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_4$ ,  $M = 288$ .

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ): Xem Bảng 3.14.

**3.2.15. Hợp chất MA15: Schaftoside**

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử:  $C_{26}H_{28}O_{14}$ ,  $M = 564$ .

Độ quay cực:  $[\alpha]_D^{25} = +29,0$  (c 0,1, MeOH).

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CD_3OD$ ): Xem Bảng 3.15.

**3.2.16. Hợp chất MA16: Apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside**

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử:  $C_{21}H_{20}O_{10}$ ,  $M = 432$ .

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong DMSO- $d_6$ ): Xem Bảng 3.16.

**3.2.17. Hợp chất MA17: Apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside**

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử:  $C_{21}H_{20}O_{10}$ ,  $M = 564$ .

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CD_3OD$ ): Xem Bảng 3.17.

**3.2.18. Hợp chất MA18: Blumenol C glucoside**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử:  $C_{19}H_{32}O_7$ ,  $M = 372$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = +25,0$  (c 0,1 MeOH).

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CD_3OD$ ): Xem Bảng 3.18.

**3.2.19. Hợp chất MA19: Acantrifoside E**

Chất bột vô định hình màu trắng.

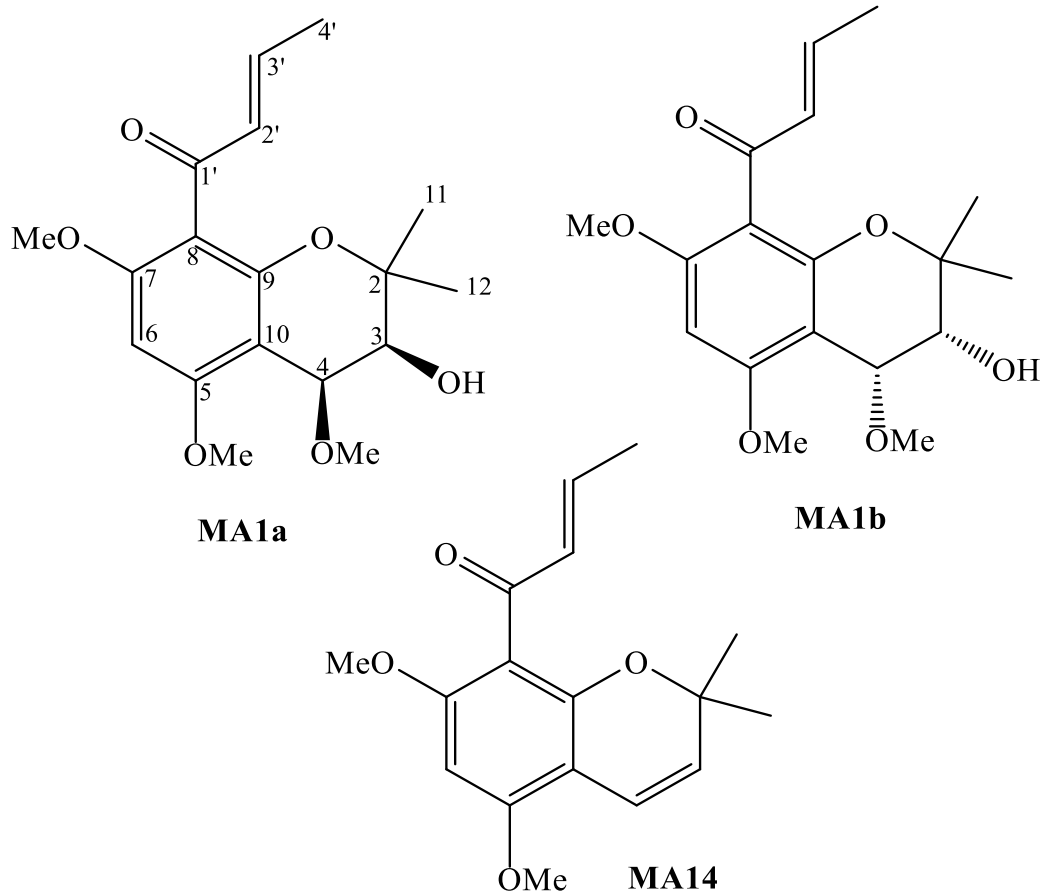
Công thức phân tử:  $C_{17}H_{24}O_8$ ,  $M = 356$ .

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25} = -14,0$  (c 0,1 MeOH).

Dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR (đo trong  $CD_3OD$ ): Xem Bảng 3.19.

### 3.3. Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được

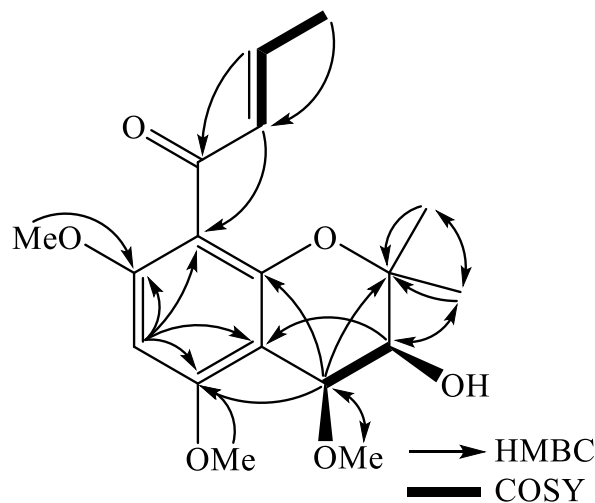
#### 3.3.1. Hợp chất MA1: Malloapelta C (Hợp chất mới)



**Hình.3.3. Cấu trúc hóa học của hai đồng quang MA1a và MA1b và hợp chất tham khảo**

Hợp chất **MA1** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng và công thức phân tử được xác định là  $C_{18}H_{24}O_6$  dựa trên phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  337,1646  $[M+H]^+$  (Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{18}H_{25}O_6]^+$ , 337,1646). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA1** (đo trong  $CDCl_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_H$  6,12 (s), hai proton olefin tại  $\delta_H$  6,29 (1H, dq,  $J = 2,0, 16,0$  Hz) và 6,58 (1H, dq,  $J = 7,0, 16,0$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_H$  3,74 (1H, dd,  $J = 3,0, 8,5$  Hz) và 4,25 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz), ba nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,51, 3,76 và 3,89 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,87 (3H, dd,  $J = 2,0, 7,0$  Hz) và 1,32 (6H, s). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA1** xuất hiện các tín hiệu của 18 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_C$  194,8, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_C$  77,6, 102,2, 111,0, 151,6, 158,6 và 161,4, năm methine tại  $\delta_C$  70,5, 74,6, 88,5, 134,3 và 145,2, sáu carbon methyl tại  $\delta_C$  18,1, 23,3, 24,2, 57,3, 55,8 và 55,9. Phân tích phổ  $^1H$  và  $^{13}C$ -NMR cho thấy cấu trúc của **MA1** tương tự như **MA14** (malloapelta B), với sự thay thế liên kết đôi tại C-3/C-

4 bởi các nhóm hydroxyl và methoxy. Điều này dựa trên các tương tác HMBC giữa H-11/H-12 ( $\delta_H$  1,32) và C-2 ( $\delta_C$  77,6)/C-3 ( $\delta_C$  70,5), H-3 ( $\delta_H$  3,74) và C-2 ( $\delta_C$  77,6)/C-10 ( $\delta_C$  102,2)/C-11 ( $\delta_C$  24,2)/C-12 ( $\delta_C$  23,3), giữa H-4 ( $\delta_H$  4,25) và C-2 ( $\delta_C$  77,6)/C-5 ( $\delta_C$  161,4)/C-9 ( $\delta_C$  151,6)/C-10 ( $\delta_C$  102,2), giữa nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,51) và C-4 ( $\delta_C$  74,6) (Hình 3.4). Tương tác HMBC từ H-6 ( $\delta_H$  6,12) đến C-5 ( $\delta_C$  161,4)/C-7 ( $\delta_C$  158,6)/C-8 ( $\delta_C$  111,0)/C-10 ( $\delta_C$  102,2), từ nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,76 và 3,89) đến C-5 ( $\delta_C$  161,4) và C-7 ( $\delta_C$  158,6) cho biết vị trí của hai nhóm methoxy tại C-5 và C-7. Hằng số ghép cặp lớn giữa H-2' và H-3' ( $J = 16,0$  Hz) chứng tỏ cấu dạng của liên kết đôi của nhóm 1-oxobut-2-enyl là *E*. Hơn nữa, vị trí của nhóm này tại C-8 xác định dựa trên tương tác HMBC từ H-2' ( $\delta_H$  6,29) và C-8 ( $\delta_C$  111,0). Hằng số ghép cặp nhỏ giữa H-3 và H-4 ( $J = 3,0$  Hz) cho phép kết luận cấu dạng *Z* của H-3 và H-4 của vòng pyran. Do đó, cấu trúc của **MA1** được xác định là (3*S*\*,4*S*\*)-8-[1-oxobut-2(*E*)-enyl]-4,5,7-trimethoxy-2,2-dimethylchroman-3-ol và được đặt tên là malloapelta C. Tuy nhiên, độ quay cực của **MA1** ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ) và phổ CD của **MA1** không cho thấy hiệu ứng Cotton nào, gợi ý đây là một racemic. Tiếp đó, sử dụng HPLC (cột đối quang: Chirapak AD-3, ID 4,6 mm  $\times$  dài 250 mm) rửa giải bằng isopropanol/n-hexane 15% đã phân tách được hai chất đối quang [**MA1a**:  $[\alpha]_D^{25} = +21,1$  (*c* 0,05, CHCl<sub>3</sub>) và **MA1b**:  $[\alpha]_D^{25} = -20,3$  (*c* 0,05, CHCl<sub>3</sub>)]. Phổ CD tính toán của **MA1**(3*S*,4*S*) có hiệu ứng Cotton dương tại 200-220 nm, giống với phổ CD thực nghiệm của **MA1a**. Tương tự như vậy, phổ CD thực nghiệm của **MA1b** có hiệu ứng cotton âm tại 200-220 nm và trùng với phổ CD tính toán của **MA1**(3*R*,4*R*). Do đó, các cấu hình tuyệt đối của **MA1a** và **MA1b** lần lượt được xác định là (3*S*,4*S*)-malloapelta C và (3*R*,4*R*)-malloapelta C.

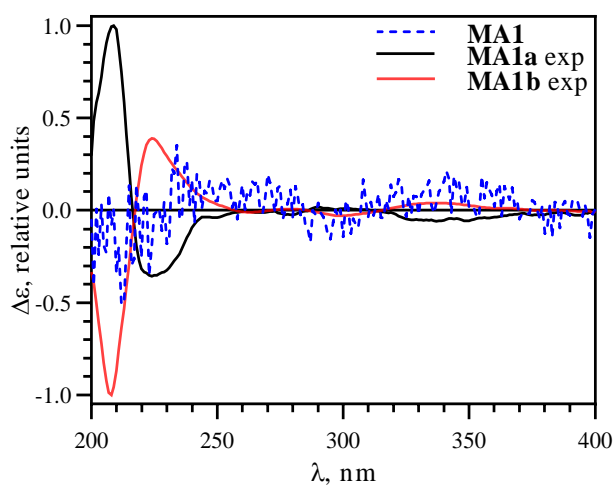


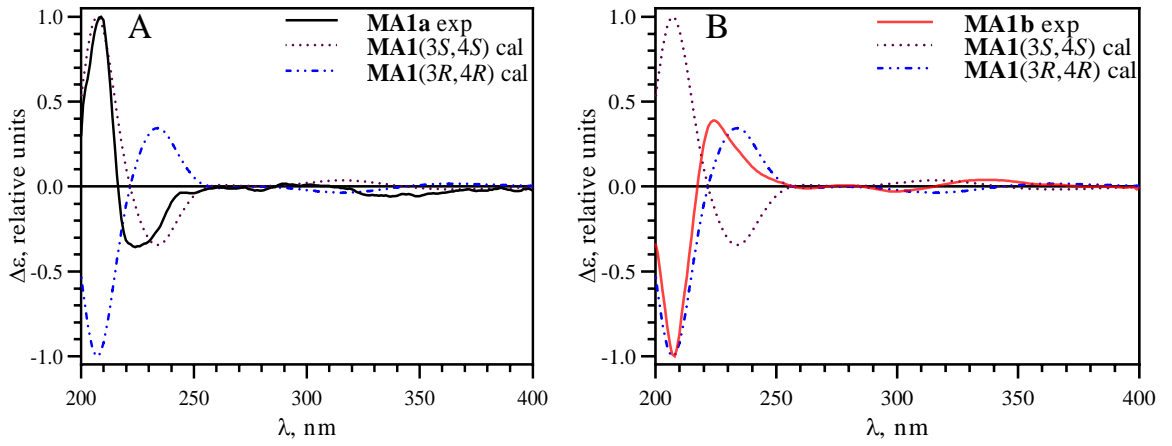
**Hình 3.4.** Các tương tác COSY và HMBC chính của **MA1**

**Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA1 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	76,5	77,6	-
3	127,1	70,5	3,74 (dd, 3,0, 8,5)
4	116,7	74,6	4,25 (d, 3,0)
5	156,5	161,4	-
6	88,0	88,5	6,12 (s)
7	158,1	158,6	-
8	111,7	111,0	-
9	151,9	151,6	-
10	104,2	102,2	-
11	27,7	24,2	1,32 (s)
12	27,5	23,3	1,32 (s)
1'	194,2	194,8	-
2'	134,8	134,3	6,29 (dq, 2,0, 16,0)
3'	144,8	145,2	6,58 (dq, 7,0, 16,0)
4'	18,1	18,1	1,87 (dd, 2,0, 7,0)
4-OMe		57,3	3,51 (s)
5-OMe	55,9	55,9	3,76 (s)
7-OMe	55,6	55,8	3,89 (s)
3-OH			1,97 (d, 8,5)

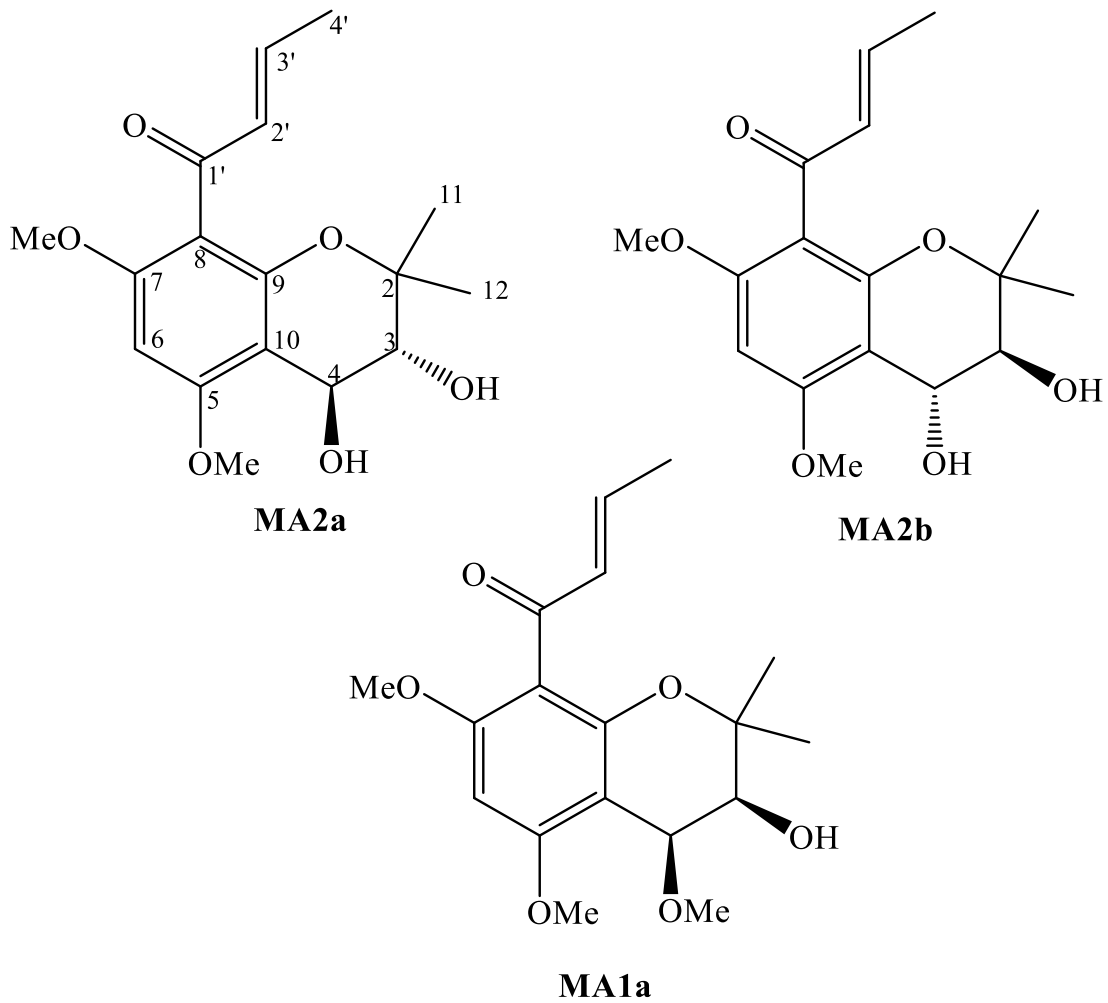
<sup>#)</sup>  $\delta_C$  của malloapelta B (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ) [11], <sup>a)</sup>đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b)</sup>125 MHz, <sup>c)</sup>500 MHz

**Hình 3.5. Phổ CD của MA1 và các đối quang (MA1a và MA1b).**



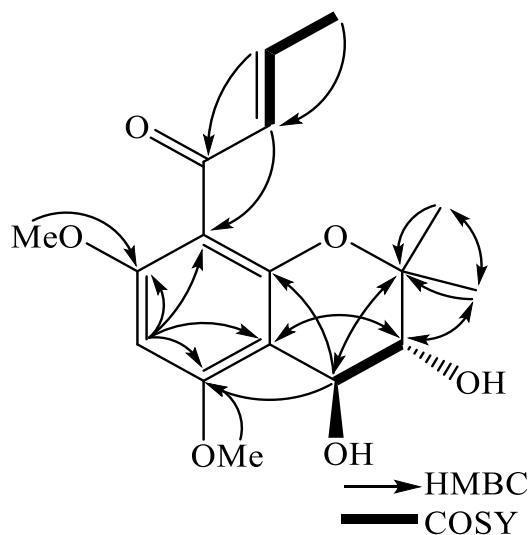
**Hình 3.6. Phổ CD thực nghiệm MA1a (A), MA1b (B) và phổ CD tính toán của hợp chất MA1(3S,4S) và MA1(3R,4R).**

### 3.3.2. Hợp chất MA2: Malloapelta D (Hợp chất mới)



**Hình 3.7. Cấu trúc hóa học của hai đối quang MA2a và MA2b và hợp chất tham khảo**

Công thức phân tử của hợp chất **MA2** được xác định là  $C_{17}H_{22}O_6$  dựa trên phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  323,1490  $[M+H]^+$  (Tính theo lý thuyết  $[C_{17}H_{23}O_6]^+$ , 323,1489). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA2** (đo trong  $CD_3OD$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_H$  6,11 (1H, s), hai proton olefin tại  $\delta_H$  6,29 (1H, dq,  $J = 2,0, 16,0$  Hz) và 6,57 (1H, dq,  $J = 7,0, 16,0$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_H$  3,71 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz) và 4,72 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz), hai nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,76 và 3,91(s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,88 (3H, dd,  $J = 2,0, 7,0$  Hz), 1,18 (3H, s) và 1,37 (3H, s). Phổ  $^{13}C$ -NMR của **MA2** xuất hiện các tín hiệu của 17 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_C$  194,3, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_C$  78,5, 105,2, 111,6, 151,1, 158,2 và 159,8, năm methine tại  $\delta_C$  75,0, 67,9, 88,2, 134,1 và 145,1, năm carbon methyl tại  $\delta_C$  18,2, 19,6, 25,5, 55,7 và 56,0. So sánh dữ liệu NMR giữa **MA2** và **MA1** cho thấy cấu trúc của **MA2** giống với **MA1** với sự thay thế nhóm methoxy bằng nhóm hydroxyl tại C-4. Điều này dựa trên các tương tác HMBC giữa H-11 ( $\delta_H$  1,8)/H-12 ( $\delta_H$  1,37) và C-2 ( $\delta_C$  78,5)/C-3 ( $\delta_C$  75,0), H-3 ( $\delta_H$  3,71) và C-2 ( $\delta_C$  78,5)/C-10 ( $\delta_C$  105,2)/C-11 ( $\delta_C$  25,5)/C-12 ( $\delta_C$  19,6), giữa H-4 ( $\delta_H$  4,72) và C-2 ( $\delta_C$  78,5)/C-5 ( $\delta_C$  159,8)/C-9 ( $\delta_C$  151,1)/C-10 ( $\delta_C$  105,2) (Hình 3.8). Tương tác HMBC từ H-6 ( $\delta_H$  6,11) đến C-5 ( $\delta_C$  159,8)/C-7 ( $\delta_C$  158,2)/C-8 ( $\delta_C$  111,6)/C-10 ( $\delta_C$  105,2), từ nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,76 và 3,91) đến C-5 ( $\delta_C$  159,8) và C-7 ( $\delta_C$  158,2) cho biết vị trí của hai nhóm methoxy tại C-5 và C-7. Hằng số ghép cặp lớn giữa H-2' và H-3' ( $J = 16,0$  Hz) cho thấy cấu dạng *E* trong nhóm 1-oxobut-2-enyl. Hơn nữa, vị trí của nhóm này tại C-8 xác định dựa trên tương tác HMBC từ H-2' ( $\delta_H$  6,29) và C-8 ( $\delta_C$  111,6). Vị trí của các nhóm hydroxyl tại C-3 và C-4 được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-3 ( $\delta_H$  3,71) và C-2 ( $\delta_C$  78,5)/C-10 ( $\delta_C$  105,2)/C-11 ( $\delta_C$  25,5)/C-12 ( $\delta_C$  19,6), giữa H-4 ( $\delta_H$  4,72) và C-2 ( $\delta_C$  78,5)/C-5 ( $\delta_C$  159,8)/C-9 ( $\delta_C$  151,1)/C-10 ( $\delta_C$  105,2). Hằng số ghép cặp lớn của H-3 và H-4 ( $J = 6,5$  Hz) thể hiện cấu dạng *E* của H-3 và H-4. Do đó, cấu trúc của **MA2** được xác định là (3*R*\*,4*S*\*)-8-[1-oxobut-2(*E*)-enyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethylchroman-3,4-diol và được đặt tên là malloapelta D. Thêm vào đó, **MA2** cũng được xác định là một hỗn hợp racemic do không có hiệu ứng Cotton và được phân tách thành **MA2a** và **MA2b** bằng cách sử dụng cột đối quang phân tích trên hệ thống HPLC (cột đối quang: ID 4,6 mm  $\times$  dài 250 mm) rửa giải bằng isopropanol/n-hexane 12%. Phổ CD của **MA2a** và **MA2b** xuất hiện đối xứng nhau và độ quay cực riêng (**MA2a**:  $[\alpha]_D^{25} = -30,3$  và **MA2b**:  $[\alpha]_D^{25} = +25,4$ ). Các tính toán ECD lượng tử cũng được áp dụng để xác định cấu hình tuyệt đối của các dẫn xuất 3*R*,4*S* và 3*S*,4*R*. Hình 3.9 cho thấy phổ CD thực nghiệm của **MA2a** và **MA2b** có hiệu ứng Cotton âm và dương tại 215-250 nm, phù hợp với các phổ ECD tính toán của (3*R*,4*S* và 3*S*,4*R*). Do đó, các cấu hình tuyệt đối của **MA2a** và **MA2b** được xác định lần lượt là (3*R*,4*S*) và (3*S*,4*R*)-malloapelta D.



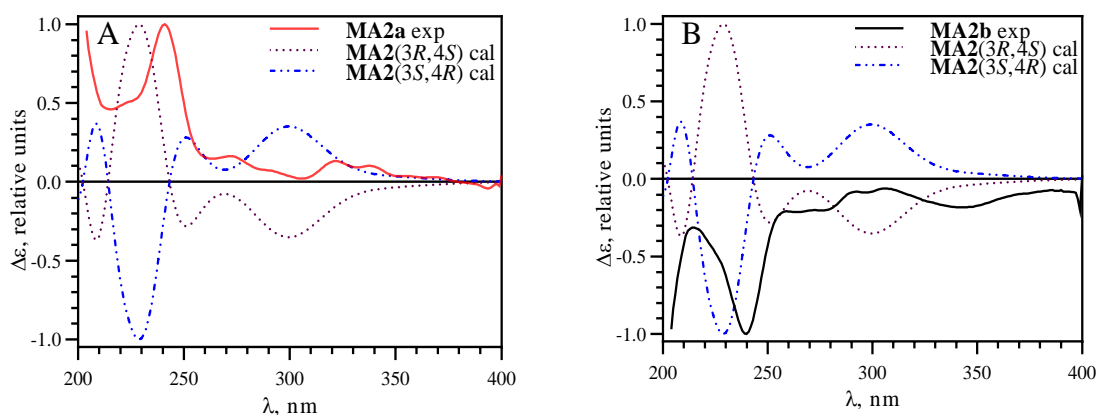
Hình 3.8. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA2

Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA2 và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	77,6	78,5	-
3	70,5	75,0	3,71 (d, 6,5)
4	74,6	67,9	4,72 (d, 6,5)
5	161,4	159,8	-
6	88,5	88,2	6,11 (s)
7	158,6	158,2	-
8	111,0	111,6	-
9	151,6	151,1	-
10	102,2	105,2	-
11	24,2	25,5	1,37 (s)
12	23,3	19,6	1,18 (s)
1'	194,8	194,3	-
2'	134,3	134,1	6,29 (dq, 2,0, 16,0)
3'	145,2	145,1	6,57 (dq, 7,0, 16,0)
4'	18,1	18,2	1,88 (dd, 2,0, 7,0)
5-OMe	55,9	56,0	3,76 (s)
7-OMe	55,8	55,7	3,91 (s)

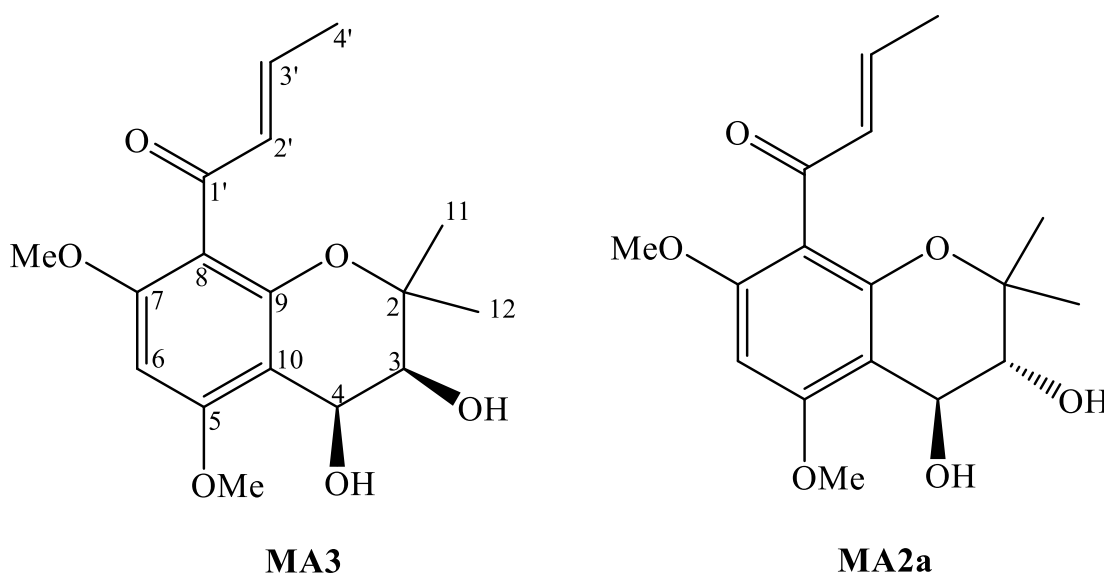
<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của MAI (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.





**Hình 3.9. Phổ CD thực nghiệm MA2a (A), MA2b (B) và phổ CD tính toán của hợp chất MA2 (3R,4S) và (3S,4R).**

### 3.3.3. Hợp chất MA3: Malloapelta E (Hợp chất mới)



**Hình 3.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA3 và hợp chất tham khảo**

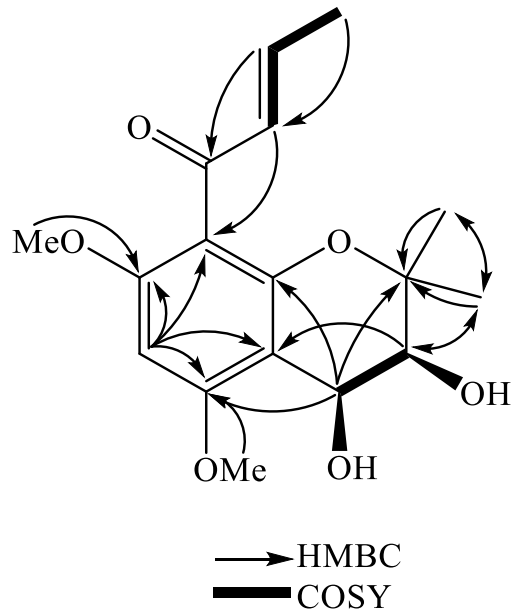
Phổ HR-ESI-MS của **MA3** cho phép xác định công thức phân tử giống với của **MA2**. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **MA3** (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  6,11 (s), hai proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  6,30 (1H, dq,  $J = 2,0, 16,0$  Hz) và 6,61 (1H, dq,  $J = 7,0, 16,0$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,73 (1H, dd,  $J = 5,5, 6,0$  Hz) và 4,94 (1H, dd,  $J = 2,0, 5,5$  Hz), hai nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3,77 và 3,91 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1,88 (3H, dd,  $J = 2,0, 7,0$  Hz), 1,29 (3H, s) và 1,32 (3H, s). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **MA3** xuất hiện các tín hiệu của 17 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_{\text{C}}$  194,3, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_{\text{C}}$  77,9, 104,4, 111,6, 151,6, 158,4 và 160,2, năm methine tại  $\delta_{\text{C}}$  71,2, 62,2, 87,9, 134,1 và 145,1, năm carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  18,2, 21,4, 25,1, 56,0 và 55,7. Phân tích phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của **MA3** gần như giống với phổ của **MA2** (malloapelta D) ngoại trừ sự khác biệt nhỏ về tín hiệu của hydroxymethine H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,73 (dd,  $J = 5,5, 6,0$  Hz) và

C-3 ( $\delta_C$  71,2), gợi ý các cấu hình khác nhau trong vòng dihydropyran. Điều này dựa trên các tương tác NOESY mạnh giữa H-3 ( $\delta_H$  3,73) và H-4 ( $\delta_H$  4,94). Tương tác HMBC từ H-6 ( $\delta_H$  6,11) đến C-5 ( $\delta_C$  160,2)/C-7 ( $\delta_C$  158,4)/C-8 ( $\delta_C$  111,6)/C-10 ( $\delta_C$  104,1), từ các nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,77 và 3,91) đến C-5 ( $\delta_C$  160,2) và C-7 ( $\delta_C$  158,4) cho biết vị trí của hai nhóm methoxy tại C-5 và C-7 (Hình 3.11). Hơn nữa, so sánh hằng số ghép cặp giữa **MA3** ( $J_{H-3, H-4} = 5,5$  Hz) và malloapelta D ( $J_{H-3, H-4} = 6,5$  Hz), tương tác NOESY giữa H-3 ( $\delta_H$  3,73)/H-4 ( $\delta_H$  4,94) và H-11 ( $\delta_H$  1,29) đã gợi ý cấu dạng của H-3 và H-4 là Z ( $3S^*, 4S^*$ ). Do đó, cấu trúc của **MA3** được xác định là ( $3S^*, 4S^*$ )-8-[1-oxobut-2(*E*)-enyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethylchroman-3,4-diol và được đặt tên là malloapelta E.

**Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA3 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	78,5	77,9	-
3	75,0	71,2	3,73 (dd, 5,5, 6,0)
4	67,9	62,2	4,94 (dd, 2,0, 5,5)
5	159,8	160,2	-
6	88,2	87,9	6,11 (s)
7	158,2	158,4	-
8	111,6	111,6	-
9	151,1	151,6	-
10	105,2	104,4	-
11	25,5	25,1	1,29 (s)
12	19,6	21,4	1,32 (s)
1'	194,3	194,3	-
2'	134,1	134,1	6,30 (dq, 2,0, 16,0)
3'	145,1	145,1	6,61 (dq, 7,0, 16,0)
4'	18,2	18,2	1,88 (dd, 2,0, 7,0)
3-OH			3,16 (d, 6,0)
4-OH			3,45 (d, 2,0)
5-OMe	56,0	56,0	3,77 (s)
7-OMe	55,7	55,7	3,91 (s)

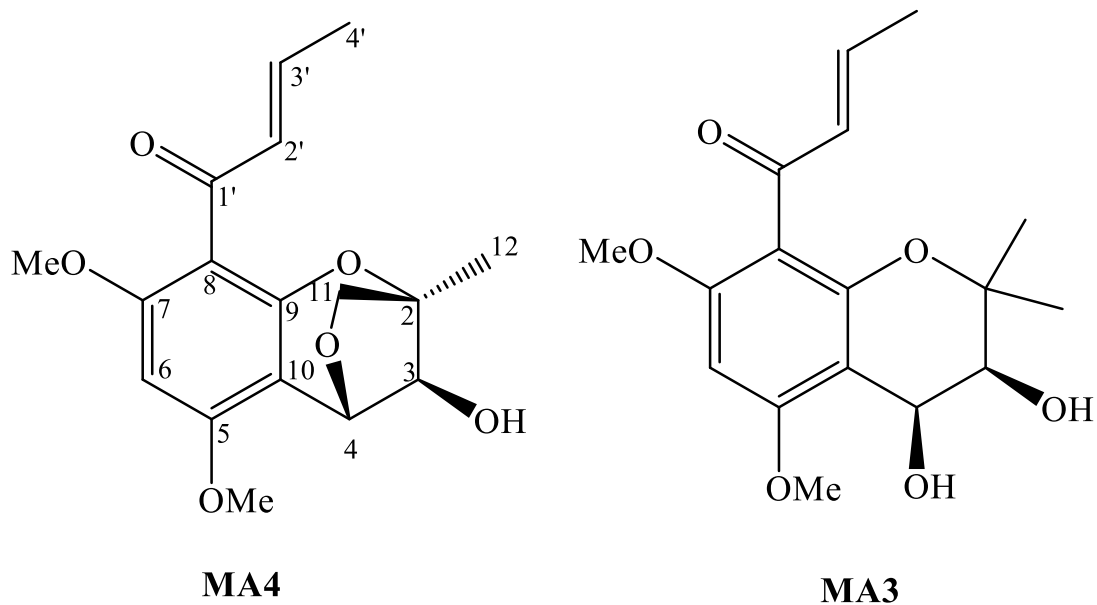
<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của **MA2** (đo trong  $CDCl_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $CDCl_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz



**Hình 3.11.** Các tương tác COSY và HMBC chính của MA3

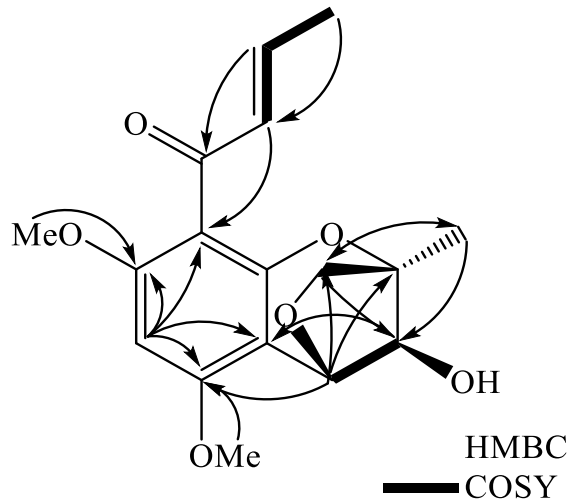
Hợp chất MA3 đã được đo độ quay cực ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ) và không quan sát thấy hiệu ứng Cotton trên phổ CD nên là một hỗn hợp racemic. Tuy nhiên, không thể phân tách được các chất đối quang do lượng ít.

### 3.3.4. Hợp chất MA4: Malloapelta F (Hợp chất mới)



**Hình 3.12.** Cấu trúc hóa học của hợp chất MA4 và hợp chất tham khảo

Phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  321,1331  $[M+H]^+$  của **MA4** cho biết công thức phân tử là  $C_{17}H_{20}O_6$  (tính theo lý thuyết  $[C_{17}H_{21}O_6]^+$ , 321,1333). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA4** (đo trong  $CDCl_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_H$  6,09 (s), hai proton olefin tại  $\delta_H$  6,33 (1H, dq,  $J = 2,0, 16,0$  Hz) và 6,69 (1H, dq,  $J = 7,0, 16,0$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_H$  4,10 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz) và 5,16 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz), hai nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,78 và 3,84 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  3,92 (d,  $J = 11,0$ )/4,12 (d,  $J = 11,0$  Hz) và 1,91 (dd,  $J = 2,0, 7,0$  Hz). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA4** xuất hiện các tín hiệu của 17 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_C$  193,7, một carbon methylene tại  $\delta_C$  77,9, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_C$  82,4, 102,9, 110,3, 152,9, 159,3 và 160,0, năm methine tại  $\delta_C$  69,5, 69,8, 88,6, 134,0 và 145,1, bốn carbon methyl tại  $\delta_C$  18,1, 18,3, 56,0 và 57,3. Phân tích phổ 1D- và 2D- NMR đã gợi ý cấu trúc của **MA4** giống với **MA3**. Sự khác biệt giữa **MA3** và **MA4** là sự đóng vòng giữa C-4 và C-11 thông qua cầu oxy. Độ chuyển dịch hóa học của H-4  $\delta_H$  4,94 (dd,  $J = 2,5, 5,0$  Hz) của **MA3** dịch chuyển thành 5,16 (d,  $J = 5,0$  Hz) của **MA4**. Tương tác HMBC từ H-4 ( $\delta_H$  5,16) đến C-2 ( $\delta_C$  82,4)/C-3 ( $\delta_C$  69,8)/C-5 (C 160,0)/C-9 (C 152,9)/C-10 ( $\delta_C$  102,9)/C-11 ( $\delta_C$  77,9), từ H-12 ( $\delta_H$  1,41) và C-2 ( $\delta_C$  82,4)/C-3 ( $\delta_C$  69,8)/C-11 ( $\delta_C$  77,9) cho biết vị trí của nhóm hydroxyl tại C-3 và cầu epoxy tại C-4 và C-11 (Hình 3.13) (Hình 3.15). Ngoài ra, hằng số ghép cặp nhỏ của H-3 và H-4,  $J = 5,0$  Hz và tương tác NOESY giữa H-3 ( $\delta_H$  4,10) và H-4 ( $\delta_H$  5,16)/H-12 ( $\delta_H$  1,41) cho phép xác định cấu hình tương đối là  $2S^*,3S^*,4S^*$ . Do đó, cấu trúc của **MA4** được xác định là  $(2S^*,3S^*,4S^*)$ -8-[1-oxobut-2(*E*)-enyl]-5,7-dimethoxy-4,11-epoxy-2,2-dimethylchroman-3-ol và được đặt tên là malloapelta F.



Hình 3.13. Các tương tác COSY và HMBC chính của **MA4**

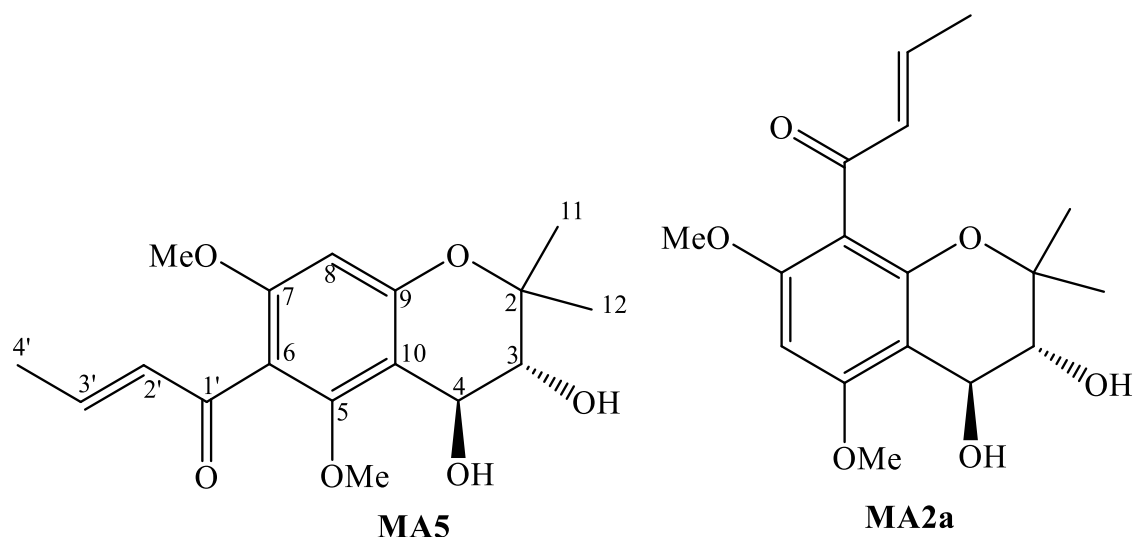
**Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA4 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	77,6	82,4	-
3	70,5	69,8	4,10 (d, 5,0)
4	74,6	69,5	5,16 (d, 5,0)
5	161,4	160,0	-
6	88,5	88,6	6,09 (s)
7	158,6	159,3	-
8	111,0	110,3	-
9	151,6	152,9	-
10	102,2	102,9	-
11	24,2	77,9	3,92 (d, 11,0)/4,12 (d, 11,0)
12	23,3	18,1	1,41 (s)
1'	194,8	193,7	-
2'	134,3	134,0	6,33 (dq, 2,0, 16,0)
3'	145,2	145,1	6,69 (dq, 7,0, 16,0)
4'	18,1	18,3	1,91 (dd, 2,0, 7,0)
5-OMe	55,9	56,0	3,78 (s)
7-OMe	55,8	55,7	3,84 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của MA3 (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.

Hợp chất MA4 đã được đo độ quay cực ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ) và không quan sát thấy hiệu ứng Cotton trên phổ CD nên là một hỗn hợp racemic. Tuy nhiên, không thể phân tách được các chất đối quang do lượng ít.

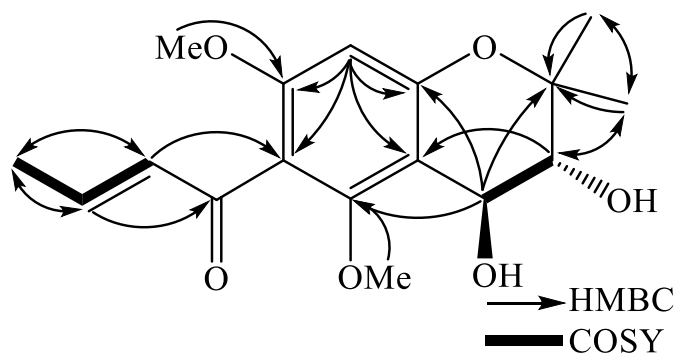
### 3.3.5. Hợp chất MA5: Malloapelta G (Hợp chất mới)



**Hình 3.14. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA5 và hợp chất tham khảo**

Phổ HR-ESI-MS của **MA5** cho thấy công thức phân tử giống với của **MA2**. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **MA5** (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_{\text{H}}$  6,19 (s), hai proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  6,39 (1H, dq,  $J = 2,0, 16,0$  Hz) và 6,70 (1H, dq,  $J = 7,0, 16,0$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,76 (1H, d,  $J = 7,0$  Hz) và 4,73 (1H, d,  $J = 7,0$  Hz), hai nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  3,72 và 3,76 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1,92 (3H, dd,  $J = 2,0, 7,0$  Hz) và 1,26 (6H, s). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **MA5** xuất hiện các tín hiệu của 17 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_{\text{C}}$  194,2, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_{\text{C}}$  78,5, 96,2, 109,1, 154,7, 157,4 và 158,4, năm methine tại  $\delta_{\text{C}}$  67,9, 75,6, 96,2, 88,5, 134,0 và 146,1, năm carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  18,4, 19,5, 25,9, 55,9 và 62,4. So sánh dữ liệu phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  của **MA5** cũng giống hoàn toàn với **MA2**, sự khác biệt duy nhất là vị trí dịch chuyển của nhóm 1-oxobut-2(*E*)-enyl từ C-8 sang C-6. Vị trí của các nhóm methoxy tại C-5 và C-7 và các nhóm hydroxy tại C-3 và C-4 cũng được hỗ trợ bởi các tương tác trên phổ COSY và HMBC với các tương tác HMBC từ H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,76) và C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  78,5)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  109,1)/C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  25,9)/C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  19,5), giữa H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4,73) và C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  78,5)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  157,4)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  154,7)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  109,1), từ nhóm methoxy ( $\delta_{\text{H}}$  3,72 và 3,76) đến C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  157,4) và C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  158,4) (Hình 3.15). Ngoài ra, vị trí của 1-oxobut-2(*E*)-enyl tại C-6 được xác nhận bởi tương tác HMBC giữa H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,19) và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  116,0)/C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  158,4)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  154,7)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  109,1), giữa H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  6,39) và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  116,0). Hằng số tương tác giữa H-3 và H-4 là  $J = 7,0$  Hz, cho biết cấu dạng *E* của H-3 và H-4 (các cấu hình tương đối là  $3R^*$ ,  $4S^*$ ). Do đó, cấu trúc của **MA5** được xác định là

(3*R*\*,4*S*\*)-6-[1-oxobut-2(*E*)-enyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethylchroman-3,4-diol và được đặt tên là malloapelta G.



Hình 3.15. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA5

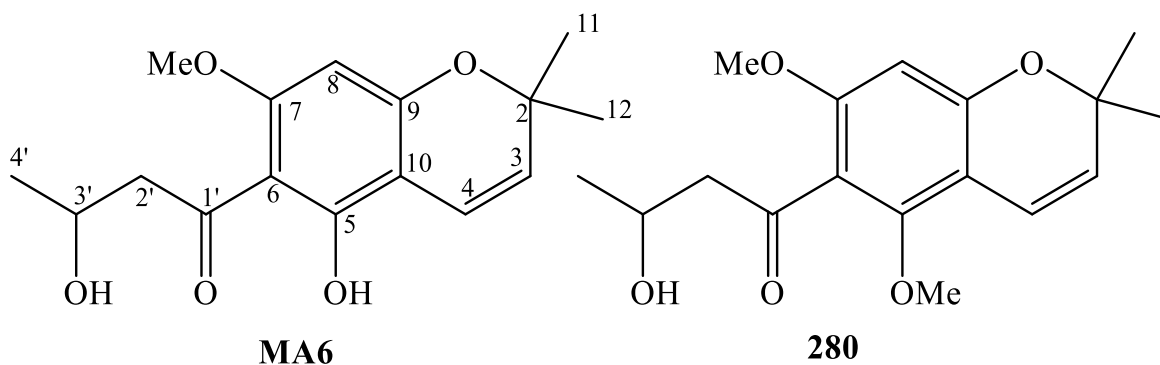
Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA5 và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	78,5	78,5	-
3	75,0	75,6	3,76 (d, 7,0)
4	67,9	67,9	4,73 (d, 7,0)
5	159,8	157,4	-
6	88,2	116,0	-
7	158,2	158,4	-
8	111,6	96,2	6,19 (s)
9	151,1	154,7	-
10	105,2	109,1	-
11	25,5	25,9	1,26 (s)
12	19,6	19,5	1,26 (s)
1'	194,3	194,2	-
2'	134,1	134,0	6,39 (dq, 2,0, 16,0)
3'	145,1	146,4	6,70 (dq, 7,0, 16,0)
4'	18,2	18,4	1,92 (dd, 2,0, 7,0)
5-OMe	56,0	62,4	3,76 (s)
7-OMe	55,7	55,9	3,72 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của MA2 (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.

Hợp chất MA5 đã được đo độ quay cực ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ) và không quan sát thấy hiệu ứng Cotton trên phổ CD nên là một hỗn hợp racemic. Tuy nhiên, không thể phân tách được các chất đối quang do lượng ít.

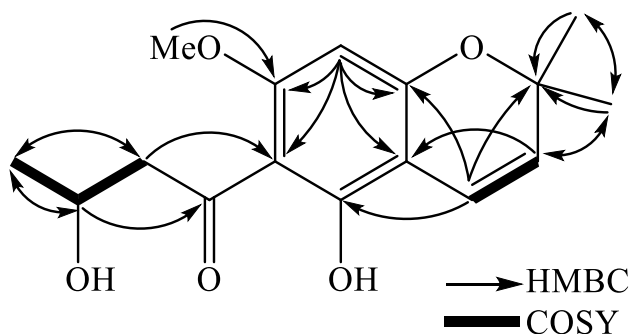
### 3.3.6. Hợp chất MA6: Malloapelta H (Hợp chất mới)



**Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA6 và hợp chất tham khảo**

Công thức phân tử của **MA6** được xác định là  $C_{16}H_{20}O_5$  từ kết quả phân tích trên phổ HR-ESI-MS (pic ion tại  $m/z$  293,1403  $[M+H]^+$ ). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA6** (đo trong  $CDCl_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_H$  5,88 (s), hai proton olefin tại  $\delta_H$  5,46 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz) và 6,65 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz), một oxymethine tại  $\delta_H$  4,34 (1H, dq,  $J = 2,5, 6,5, 9,5$  Hz), một nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,86 (3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,44 (6H, s) và 1,26 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA6** xuất hiện các tín hiệu của một nhóm ketone tại  $\delta_C$  205,1, sáu nguyên tử carbon không liên kết trực tiếp proton ( $\delta_C$  78,3, 102,9, 105,7, 160,5, 161,9 và 163,0), ba methine: [ $\delta_C$  91,4 và  $\delta_H$  5,88 (1H, s)], [ $\delta_C$  115,9 và  $\delta_H$  6,65 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz)] và [ $\delta_C$  125,5 và  $\delta_H$  5,46 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz)], hai nhóm methyl [ $\delta_C$  28,4 và  $\delta_H$  1,44 (6H, s)] trên phổ  $^1H$  và  $^{13}C$ -NMR cho thấy các tín hiệu đặc trưng của 2,2-dimethyl-2H-chromene [98]. Một nhóm ketone ( $\delta_C$  205,1), một methylene [ $\delta_C$  52,3 và  $\delta_H$  3,04 (1H, dd,  $J = 9,5, 18,0$  Hz) và 3,18 (1H, dd,  $J = 2,5, 18,0$  Hz)], một methine [ $\delta_C$  64,2 và  $\delta_H$  4,34 (1H, dd,  $J = 2,5, 6,5, 9,5$  Hz)] và một nhóm methyl [ $\delta_C$  22,5 và  $\delta_H$  1,26 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz)] cho biết sự có mặt của nhóm 1-oxo-3-hydroxybutyl. Phân tích phổ  $^1H$  và  $^{13}C$ -NMR cho thấy cấu trúc của **MA6** giống với cấu trúc của hợp chất 6-[1'-oxo-3'(R)-hydroxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2H-L-benzopyran (**309**) ngoại trừ sự biến mất của một nhóm methoxy tại C-5 [98]. Tương tác HMBC giữa H-8 ( $\delta_H$  5,88) và C-6 ( $\delta_C$  105,7)/C-7 ( $\delta_C$  163,0)/C-9 ( $\delta_C$  160,5)/C-10 ( $\delta_C$  102,9), giữa H-2' ( $\delta_H$  3,04 và 3,18) và C-6 ( $\delta_C$  105,7), giữa methoxy ( $\delta_H$  3,86) và C-7 ( $\delta_C$  163,0) đã chứng minh vị trí của các nhóm 1-oxo-3-hydroxybutyl và methoxy lần lượt tại C-6 và C-7 (Hình 3.17). Do đó, cấu trúc của **MA6** được xác định là 6-(1-oxo-3-hydroxybutyl)-7-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromen-5-ol và được đặt tên là malloapelta H.





**Hình 3.17. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA6**

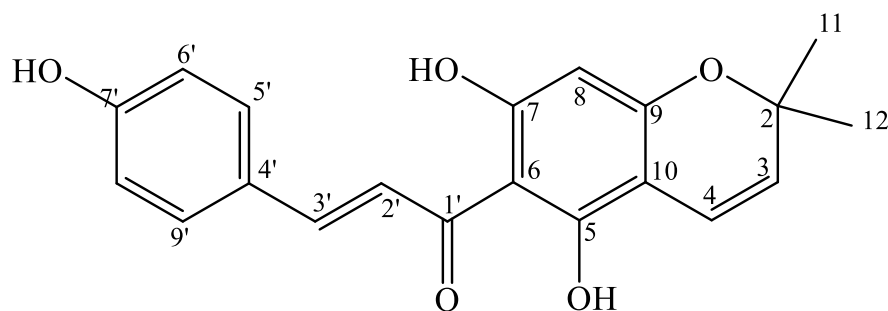
Hợp chất **MA6** đã được đo độ quay cực ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ) và không quan sát thấy hiệu ứng Cotton trên phổ CD đã cho phép kết luận đây là hỗn hợp racemic. Tuy nhiên, không thể phân tách được các chất đối quang do lượng ít.

**Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA6 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, J = Hz)
2	76,9	78,3	-
3	127,9	125,5	5,46 (d, 10,0)
4	116,3	115,9	6,65 (d, 10,0)
5	154,2	161,9	-
6	117,8	105,7	-
7	157,5	163,0	-
8	96,3	91,4	5,88 (s)
9	156,3	160,5	-
10	108,1	102,9	-
11	27,9	28,4	1,44 (s)
12	27,9	28,4	1,44 (s)
1'	205,1	205,1	-
2'	53,2	52,3	3,04 (dd, 9,5, 18,0) 3,18 (dd, 2,5, 18,0)
3'	64,5	64,2	4,34 (dq, 2,5, 6,5, 9,5)
4'	22,4	22,5	1,26 (d, 6,5)
5-OH			
7-OMe	55,9	55,6	3,86 (s)

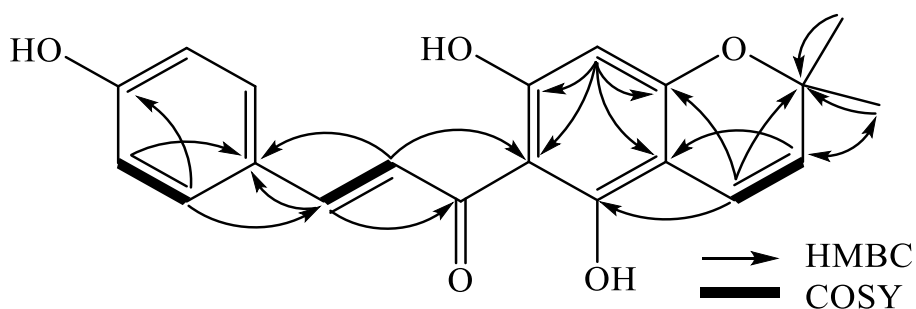
<sup>#)</sup>  $\delta_C$  của chất tham khảo 6-[1'-oxo-3'(R)-hydroxy-butyl]-5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2H-L-benzopyran đo trong  $CDCl_3$ , [98], <sup>a)</sup> đo trong  $CD_3Cl_3$ , <sup>b)</sup> 125 MHz, <sup>c)</sup> 500 MHz

### 3.3.7. Hợp chất MA7: Malloapelta I (Hợp chất mới)



**Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA7**

Hợp chất **MA7** được phân lập dưới dạng bột màu vàng. Công thức phân tử được xác định là  $C_{20}H_{18}O_5$  dựa trên pic ion phân tử tại  $m/z$  339,1227  $[M+H]^+$  trên phổ HR-ESI-MS (Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{20}H_{19}O_5]^+$ , 339,1232). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA7** (đo trong  $CD_3OD$ ) cho thấy các tín hiệu tương ứng với một vòng thơm thế *para* [ $\delta_H$  7,52 và 6,86 (mỗi tín hiệu, 2H, d,  $J = 8,5$  Hz)], hai proton olefin có cấu dạng *E* [ $\delta_H$  8,00 và 7,70 (mỗi tín hiệu, 1H, d,  $J = 15,5$  Hz)], hai proton olefin có cấu dạng *Z* [ $\delta_H$  6,61 và 5,52 (mỗi tín hiệu, 1H, d,  $J = 10$  Hz)] và hai nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,56 (6H, s). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA7** cho thấy tín hiệu của 20 carbon bao gồm 7 carbon không liên kết trực tiếp proton tại  $\delta_C$  79,1, 157,7, 106,7, 167,5, 161,6, 104,0 và 128,4, 10 nhóm methine tại  $\delta_C$  125,3, 118,0, 96,7, 125,5, 143,7, 131,2  $\times$  2, 117,0  $\times$  2 và 161,2, hai nhóm methyl tại  $\delta_C$  28,2, một nhóm ketone tại  $\delta_C$  194,1. Hằng số tương tác  $J$  giữa H-2' và H-3' ( $J_{H-2', H-3'} = 15,5$  Hz) cùng với tương tác HMBC giữa H-3' ( $\delta_H$  7,70) và C-1' ( $\delta_C$  194,1)/C-4' ( $\delta_C$  128,4)/C-5' ( $\delta_C$  131,2)/C-9' ( $\delta_C$  131,2), H-5' ( $\delta_H$  7,52)/H-9' ( $\delta_H$  7,52) và C-7' ( $\delta_C$  161,2) cho thấy sự có mặt của nhóm *trans-p*-coumaroyl. Trong khi đó, hằng số tương tác  $J$  giữa H-3 và H-4 ( $J_{H-3, H-4} = 10,0$  Hz) cùng với tương tác HMBC giữa H-4 ( $\delta_H$  6,61) và C-3 ( $\delta_C$  125,3)/C-10 ( $\delta_C$  104,0)/C-5 ( $\delta_C$  157,7)/C-9 ( $\delta_C$  161,6), H-8 ( $\delta_H$  5,93) và C-6 ( $\delta_C$  106,7)/C-7 ( $\delta_C$  167,5)/C-9 ( $\delta_C$  161,6)/C-10 ( $\delta_C$  104,0) cho thấy sự hiện diện của hợp chất có khung 2H-chromene (Hình 3.19). Tương tác HMBC giữa H-11/H-12 ( $\delta_H$  1,56) và C-2 ( $\delta_C$  79,1)/C-3 ( $\delta_C$  125,3) cho biết vị trí của hai nhóm methyl tại C-2. Hai carbon tại  $\delta_C$  157,7 và 167,5 cho thấy sự có mặt của hai nhóm hydroxyl tại C-5 và C-7. Cuối cùng, liên kết trực tiếp giữa C-6 và C-1' với sự có mặt của nhóm ketone tại C-1' được xác định thông qua tương tác HMBC giữa H-2' ( $\delta_H$  8,00) và C-1' ( $\delta_C$  194,1)/C-6 ( $\delta_C$  106,7). Từ các bằng chứng phổ nêu trên, cấu trúc hóa học của **MA7** được xác định và được đặt tên là malloapelta I.



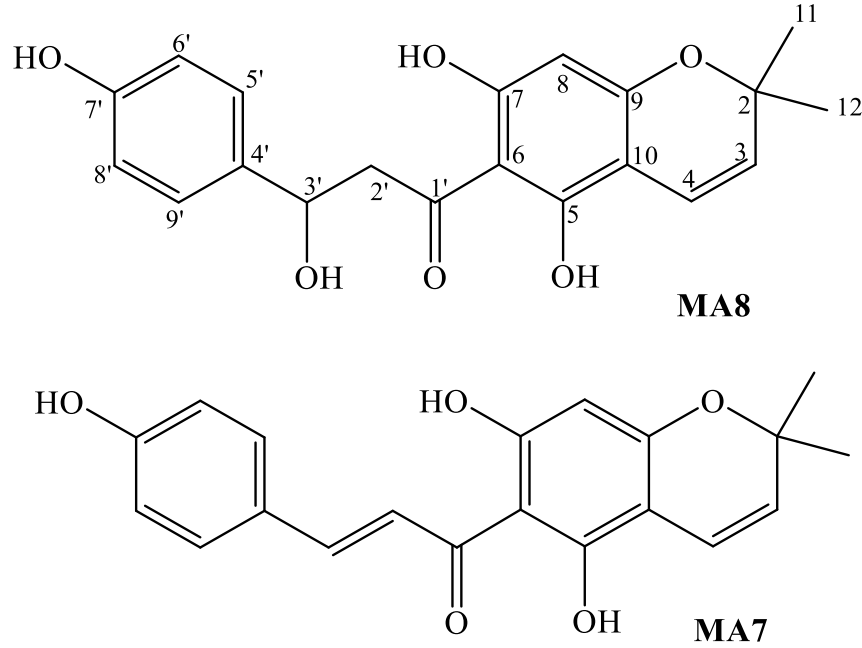
Hình 3.19. Các tương tác COSY và HMBC chính của MA7

Bảng 3.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA7

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	79,1	-
3	125,3	5,52 (d, 10,0)
4	118,0	6,61 (d, 10,0)
5	157,7	-
6	106,7	-
7	167,5	-
8	96,7	5,93 (s)
9	161,6	-
10	104,0	-
11	28,2	1,56 (s)
12	28,2	1,56 (s)
1'	194,1	
2'	125,5	8,00 (d, 15,5)
3'	143,7	7,70 (d, 15,5)
4'	128,4	-
5', 9'	131,2	7,52 (d, 8,5)
6', 8'	117,0	6,86 (d, 8,5)
7'	161,2	-

<sup>a)</sup>đo trong  $CD_3OD$ , <sup>b)</sup>125 MHz, <sup>c)</sup>500 MHz

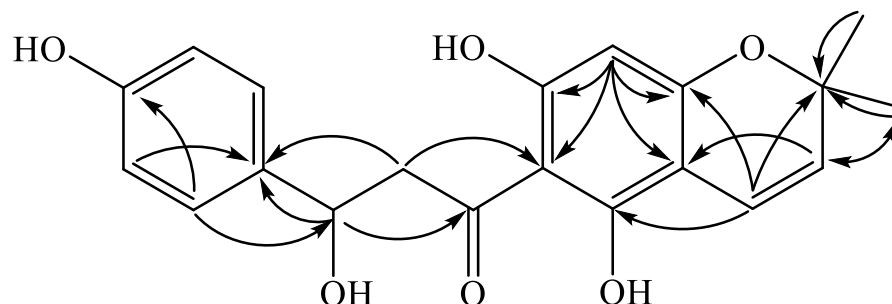
### 3.3.8. Hợp chất MA8: Malloapelta II (Hợp chất mới)



**Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA8 và hợp chất tham khảo**

Hợp chất **MA8** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Phân tích phổ HR-ESI-MS cho thấy công thức phân tử của hợp chất này là  $C_{20}H_{20}O_6$  dựa trên pic ion phân tử tại  $m/z$  357,1332  $[M+H]^+$  (Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{20}H_{21}O_6]^+$ , 357,1338). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA8** (đo trong  $CD_3OD$ ) xuất hiện các tín hiệu của một vòng thơm thế *para* tại  $\delta_H$  7,31 và 6,87 (mỗi tín hiệu 2H, d,  $J = 8,5$  Hz), hai proton olefin có cấu dạng *Z* tại  $\delta_H$  6,62 và 5,50 (mỗi tín hiệu 1H, d,  $J = 10,5$  Hz), một nhóm oxymethine tại  $\delta_H$  5,34 (1H, dd,  $J = 3,0, 13,0$  Hz), một nhóm methylene tại  $\delta_H$  3,07 (1H, dd,  $J = 13,0, 17,0$  Hz) và 2,78 (1H, dd,  $J = 3,0, 17,0$  Hz) và hai nhóm methyl [ $\delta_H$  1,43 và 1,44 (mỗi tín hiệu 3H, s)]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA8** cho thấy các tín hiệu của 20 carbon, bao gồm 9 carbon không liên kết trực tiếp proton ( $\delta_C$  196,1, 162,5, 162,3, 161,2, 158,4, 130,5, 103,1, 102,8 và 78,4), 8 methine ( $\delta_C$  128,0  $\times$  2, 126,3, 115,7  $\times$  2, 115,3, 96,3 và 78,9), một methylene ( $\delta_C$  43,1) và hai carbon methyl ( $\delta_C$  28,5 và 28,4) (Xem Bảng 3.8). Phân tích số liệu phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của **MA8** cho thấy cấu trúc của hợp chất này giống với của **MA7**. Sự khác biệt được tìm thấy là các tín hiệu H-2'/C-2' và H-3'/C-3'. Đặc biệt, tín hiệu của liên kết đôi trong hợp chất **MA7** được thay thế bằng tín hiệu của nhóm oxymethine ( $\delta_H$  5,34 và  $\delta_C$  78,9) và nhóm methylene ( $\delta_H$  3,07 và 2,78 và  $\delta_C$  43,1) trong **MA8**. Tương tác HMBC giữa H-3' ( $\delta_H$  5,34) và C-1' ( $\delta_C$  196,1)/C-4' ( $\delta_C$  130,5)/C-5'/C-9' ( $\delta_C$  128,0) cho thấy sự có mặt của nhóm hydroxyl tại C-3'. Nhóm methylene được xác định tại C-2' cũng được xác định bởi các tương tác HMBC giữa H<sub>2</sub>-2' ( $\delta_H$  3,07 và 2,78) và C-4' ( $\delta_C$  130,5) (Hình 3.21). Do độ quay cực của **MA8** ( $[\alpha]_D^{25} \sim 0$ ), gợi ý sự đây là một racemic. Điều

này được khẳng định thêm dựa trên kết quả không quan sát thấy hiệu ứng Cotton trên phổ CD. Vì thế, cấu trúc hóa học của **MA8** được xác định và đặt tên là malloapelta II.



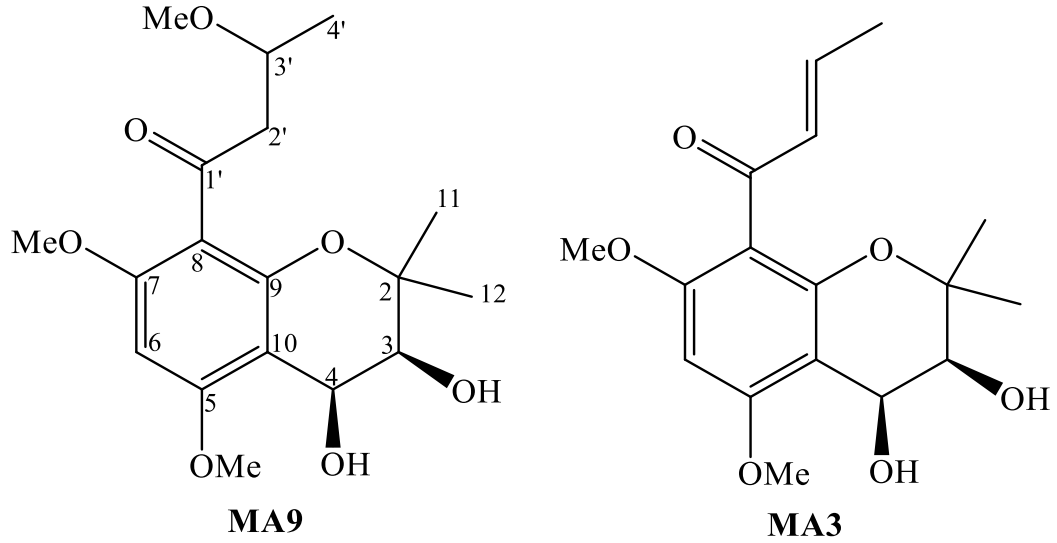
Hình 3.21. Các tương tác HMBC chính của MA8

Bảng 3.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA8 và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	79,1	78,4	-
3	125,3	126,3	5,50 (d, 10,5)
4	118,0	115,3	6,62 (d, 10,5)
5	157,7	162,3	-
6	106,7	102,8	-
7	167,5	162,5	-
8	96,7	96,3	5,95 (s)
9	161,6	158,4	-
10	104,0	103,1	-
11	28,2	28,5	1,44 (s)
12	28,2	28,4	1,43 (s)
1'	194,1	196,1	
2'	125,5	43,1	2,78 (dd, 3,0, 17,0) 3,07 (dd, 13,0, 17,0)
3'	143,7	78,9	5,34 (dd, 3,0, 13,0)
4'	128,4	130,5	-
5', 9'	131,2	128,0	7,31 (d, 8,5)
6', 8'	117,0	115,7	6,87 (d, 8,5)
7'	161,2	161,2	-

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của MA7 (đo trong  $CD_3OD$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $CDCl_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.

### 3.3.9. Hợp chất MA9: Malloapelta J (Hợp chất mới)



**Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA9 và hợp chất tham khảo**

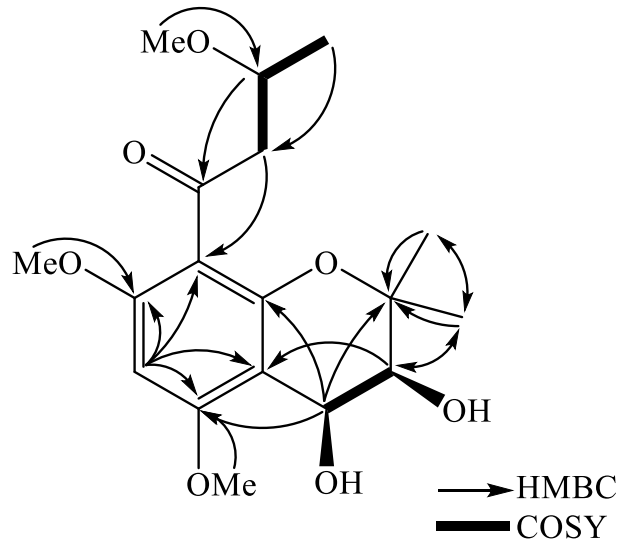
Hợp chất **MA9** thu được ở dạng bột vô định hình màu trắng và công thức phân tử của nó được xác định là  $C_{18}H_{26}O_7$  từ phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  355,1751  $[M+H]^+$ . Phổ  $^1H$ -NMR của **MA9** (đo trong  $CD_3OD$ ) cho tín hiệu của proton thơm tại  $\delta_H$  6,09 (s), một methylene tại  $\delta_H$  2,78 (1H, dd,  $J = 16,5, 7,5$  Hz) và 2,79 (1H, dd,  $J = 2,5, 16,5$  Hz), ba nhóm oxy methine tại  $\delta_H$  3,74 (1H, d,  $J = 5,0, 5,5$  Hz), 3,87 (1H, m) và 4,93 (1H, dd,  $J = 5,0, 1,5$  Hz). Hơn nữa, ba nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,31, 3,82 và 3,88 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,22 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz), 1,33 (3H, s) và 1,38 (3H, s) cũng được hiển thị. Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA9** cho thấy 18 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_C$  201,8, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_C$  78,2, 104,4, 113,5, 151,3, 158,0 và 160,4, bốn nhóm methine tại  $\delta_C$  62,2, 71,0, 73,3 và 87,9, một nhóm methylene tại  $\delta_C$  51,5, 6 carbon methyl tại  $\delta_C$  19,8, 21,6, 24,9, 55,8, 55,9 và 56,1. Phân tích phổ 1D- và 2D-NMR cho phép xác định được cấu trúc của **MA9** giống với **MA3** (malloapelta E) với sự thay thế liên kết đôi ở vị trí C-2'/C-3' bởi nhóm methoxy tại C-3'. Điều này được xác nhận thêm bởi các tương tác HMBC (Hình 3.23) giữa H-11 ( $\delta_H$  1,33)/H-12 ( $\delta_H$  1,38) và C-2 ( $\delta_C$  78,2)/C-3 ( $\delta_C$  71,0), giữa H-3 ( $\delta_H$  3,74) và C-2 ( $\delta_C$  78,2)/C-10 ( $\delta_C$  104,4)/C-11 ( $\delta_C$  24,9)/C-12 ( $\delta_C$  21,6), giữa H-4 ( $\delta_H$  4,93) và C-2 ( $\delta_C$  78,2)/C-5 ( $\delta_C$  158,0)/C-9 ( $\delta_C$  151,3)/C-10 ( $\delta_C$  104,4), giữa H-6 ( $\delta_H$  6,09) với C-5 ( $\delta_C$  158,0)/C-7 ( $\delta_C$  160,4)/C-8 ( $\delta_C$  113,5)/C-10 ( $\delta_C$  104,4) (Hình 3.23). Hơn nữa, các tương tác HMBC từ các proton methoxy tương ứng ( $\delta_H$  3,31, 3,82 và 3,88) với C-3' ( $\delta_C$  73,3)/C-5 ( $\delta_C$  158,0)/C-7 ( $\delta_C$  160,4), cho thấy vị trí của ba

nhóm methoxy tại C-3', C-5 và C-7. Hơn nữa, vị trí của gốc 3-methoxy-1-oxobut-1-yl tại C-8 của chromane được biểu thị bằng các tương tác HMBC từ H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  2,78 và 2,79) tới C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  113,5). Hằng số ghép cặp nhỏ của H-3 và H-4 ( $J = 5,0$  Hz) cho biết cấu dạng Z của H-3 và H-4 trong vòng pyran. Điều này được xác nhận thêm bởi tương tác NOESY giữa H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,74)/H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4,93) và H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  1,33). Do đó, cấu trúc của **MA9** đã được làm sáng tỏ là (3*S*\*,4*S*\*)-8-(3-methoxy-1-oxobut-1-yl)-5,7-dimethoxy-2,2-dimethylchroman-3,4-diol và đặt tên là malloapelta J.

**Bảng 3.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA9 và hợp chất tham khảo**

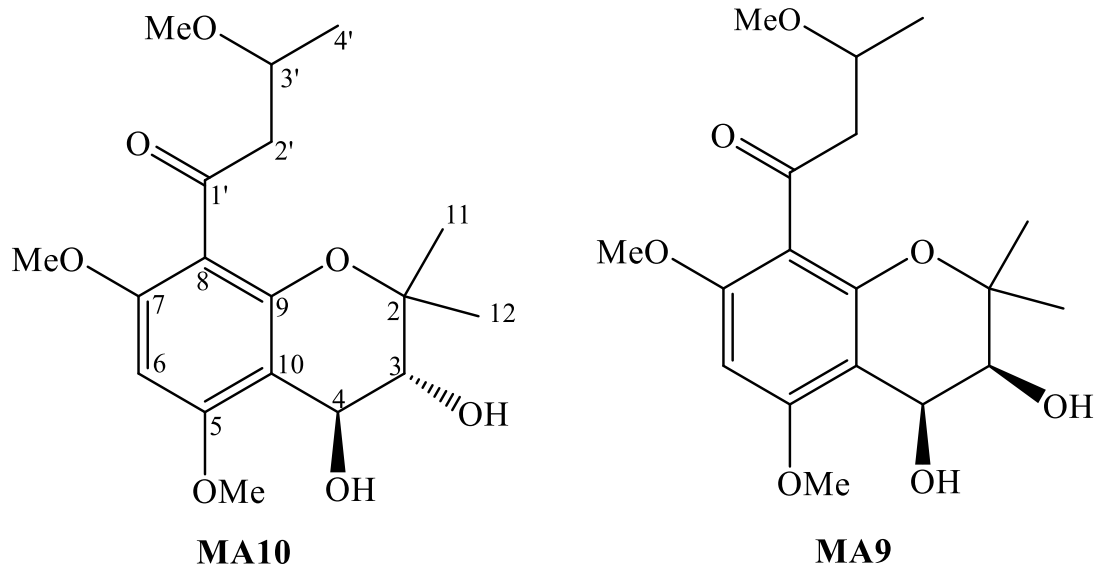
C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a, b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a, c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	77,9	78,2	-
3	71,2	71,0	3,74 (dd, 5,0, 5,5)
4	62,2	62,2	4,93 (dd, 1,5, 5,0)
5	160,2	158,0	-
6	87,9	87,9	6,09 (s)
7	158,4	160,4	-
8	111,6	113,5	-
9	151,6	151,3	-
10	104,4	104,4	-
11	25,1	24,9	1,33 (s)
12	21,4	21,6	1,38 (s)
1'	194,3	201,8	-
2'	134,1	51,5	2,78 (dd, 7,5, 16,5) 2,79 (dd, 2,5, 16,5)
3'	145,1	73,3	3,87 (m)
4'	18,2	19,8	1,22 (d, 6,5)
5-OMe	56,0	55,8	3,88 (s)
7-OMe	55,7	55,9	3,82 (s)
3'-OMe		56,1	3,31 (s)
3-OH			3,45 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_{\text{C}}$  của **MA3** (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.



**Hình 3.23.** Các tương tác COSY và HMBC chính của MA9

### 3.3.10. Hợp chất MA10: Malloapelta K (Hợp chất mới)



**Hình 3.24.** Cấu trúc hóa học của hợp chất MA10 và hợp chất tham khảo

Hợp chất **MA10** thu được ở dạng bột vô định hình màu trắng và công thức phân tử được xác định là  $C_{18}H_{26}O_7$  từ HR-ESI-MS tại  $m/z$  355,1751 $[M+H]^+$ . Phổ  $^1H$ -NMR của **MA10** (đo trong  $CD_3OD$ ) cho tín hiệu của proton aromatic tại  $\delta_H$  6,10 (s), một methylene tại  $\delta_H$  2,78 (1H, dd,  $J = 7,5, 16,5$  Hz), ba nhóm oxy methine tại  $\delta_H$  3,74 (1H, d,  $J = 5,0, 5,5$  Hz), 3,85 (1H, s) và 4,71 (1H, dd,  $J = 5,0, 1,5$  Hz), ba nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,30, 3,80 và 3,92 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,22 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz), 1,20 (3H, s) và 1,44 (3H, s). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA10** cho thấy 18 carbon, bao gồm 1 nhóm ketone tại  $\delta_C$  201,7, 6 carbon không proton tại  $\delta_C$  78,7, 105,2, 113,7, 150,8, 157,9 và 160,0, bốn nhóm methine tại  $\delta_C$  67,7, 75,2, 73,3 và 88,2, một nhóm methylene tại  $\delta_C$  51,7 và 6 carbon methyl tại  $\delta_C$  19,8, 19,7, 25,6,

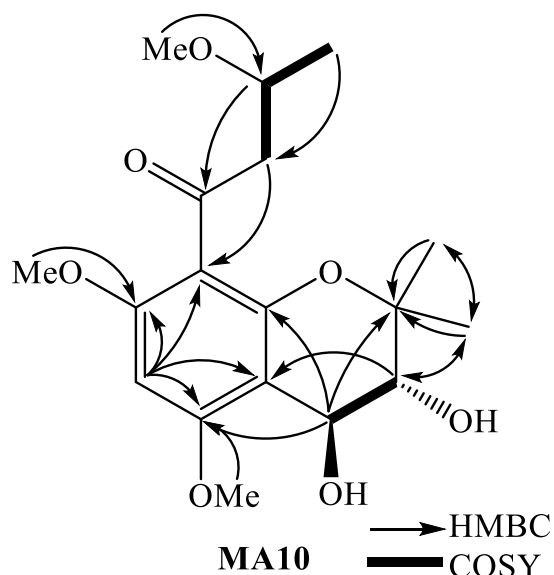


56,0, 55,7 và 56,7. Phân tích phổ  $^1\text{H}$ - và  $^{13}\text{C}$ -NMR của **MA10** hầu hết giống với malloapelta J (**MA9**) trừ sự khác nhau về tín hiệu của các hydroxymethine. Điều này dựa trên các tương tác HMBC giữa H-11/H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  1,22/1,44) và C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  78,7)/C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  75,2), H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,74) và C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  78,7)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  105,2)/C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  25,6)/C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  19,7), giữa H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4,71) và C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  78,7)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  157,9)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  151,3)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  105,2), tương tác HSQC giữa H-3 [ $\delta_{\text{H}}$  3,74 (dd,  $J = 6,5, 3,0$  Hz)]/C-3 ( $\delta_{\text{H}}$  75,2) và H-4 [ $\delta_{\text{H}}$  4,71 (dd,  $J = 6,5, 1,0$  Hz)]/C-4 ( $\delta_{\text{H}}$  67,8) (Hình 3.25). Những khác biệt này cho thấy khả năng hai nhóm hydroxy trong vòng dihydropyran có cấu hình khác nhau. Bằng cách so sánh hằng số ghép giữa H-3 và H-4 của **MA10** ( $J = 6,5$  Hz) và malloapelta J ( $J_{\text{H-3,H-4}} = 5,0$  Hz), cấu dạng của H-3 và H-4 được kết luận là *E*. Do vậy, cấu hình của **MA10** được làm sáng tỏ là (3*R*\*,4*S*\*)-8-(3-methoxy-1-oxobut-1-yl)-5,7-dimethoxy-2,2-dimethylchroman-3,4-diol và đặt tên là malloapelta K.

**Bảng 3.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA10 và hợp chất tham khảo**

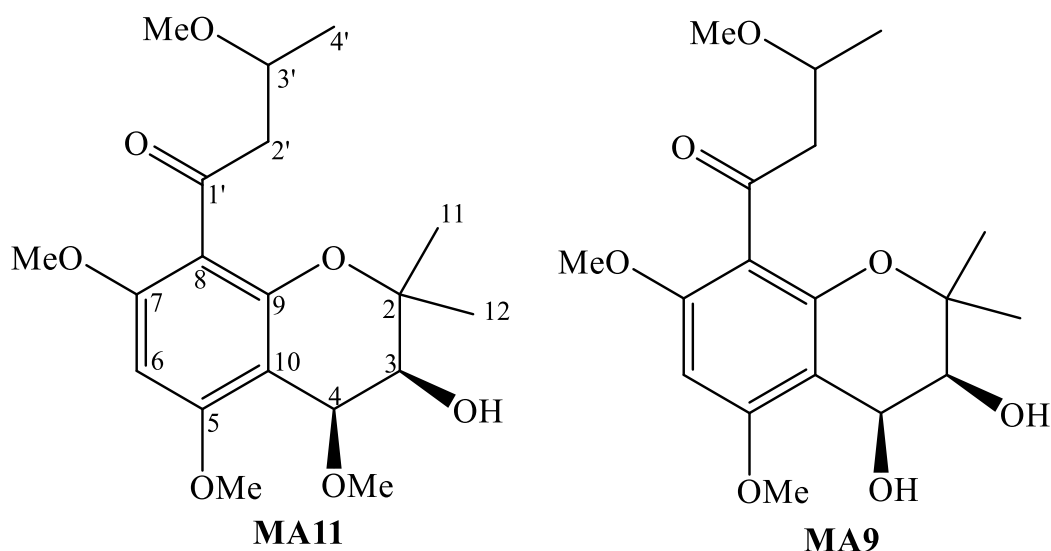
C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	78,2	78,7	-
3	71,0	75,2	3,74 (dd, 3,0, 6,5)
4	62,2	67,7	4,71 (dd, 1,0, 6,5)
5	158,0	157,9	-
6	87,9	88,2	6,10 (s)
7	160,4	160,0	-
8	113,5	113,7	-
9	151,3	150,8	-
10	104,4	105,2	-
11	24,9	25,6	1,44 (s)
12	21,6	19,7	1,22 (s)
1'	201,8	201,7	-
2'	51,5	51,7	2,78 (dd, 7,5, 16,5) 3,08 (dd, 6,0, 16,5)
3'	73,3	73,3	3,85 (m)
4'	19,8	19,8	1,20 (d, 6,5)
5-OMe	55,8	56,0	3,80 (s)
7-OMe	55,9	55,7	3,92 (s)
3'-OMe	56,1	56,7	3,30 (s)
3-OH			3,54 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_{\text{C}}$  của **MA9** (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.



**Hình 3.25.** Các tương tác COSY và HMBC chính của MA10

### 3.3.11. Hợp chất MA11: Malloapelta L (Hợp chất mới)



**Hình 3.26.** Cấu trúc hóa học của hợp chất MA11 và hợp chất tham khảo

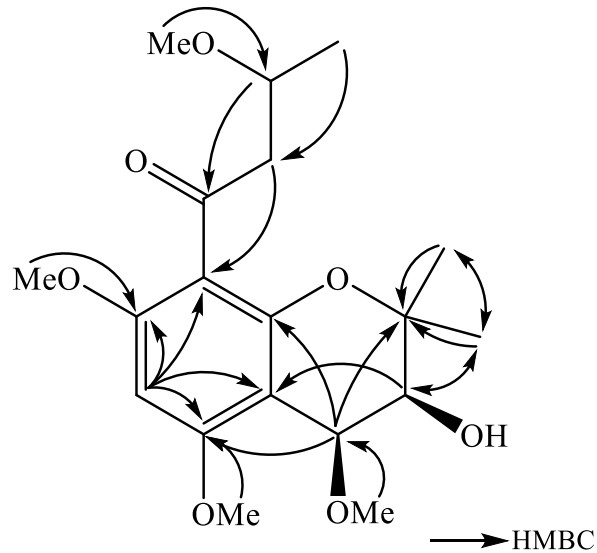
Công thức phân tử của hợp chất **MA11** được xác định là  $C_{19}H_{28}O_7$  dựa trên phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  369,1908  $[M+H]^+$  (Tính toán lý thuyết cho công thức  $[C_{19}H_{29}O_7]^+$ , 369,1913). Phổ  $^1H$ -NMR của **MA11** (đo trong  $CDCl_3$ ) cho thấy các tín hiệu của một proton thơm tại  $\delta_H$  6,10 (s), một nhóm methylene tại  $\delta_H$  2,78 (1H, dd,  $J = 7,5, 16,5$  Hz) và 3,08 (1H, dd,  $J = 1,0, 16,5$  Hz), hai oxymethine tại  $\delta_H$  3,74 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz) và 4,25 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz), bốn nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,50, 3,76, 3,78 và 3,89 (mỗi tín hiệu 3H, s), ba nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,20 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz) và 1,39 (6H, s). Phổ  $^{13}C$ -NMR và HSQC của **MA11** xuất hiện các tín hiệu của 19 carbon, bao gồm một nhóm ketone tại  $\delta_C$  202,1, sáu carbon không liên kết trực tiếp với proton tại  $\delta_C$  77,9, 102,2, 113,1, 151,4, 158,3 và 161,7, một methylen tại  $\delta_C$  51,7, bốn methine tại  $\delta_C$

70,5, 73,5, 74,6 và 88,4, bảy carbon methyl tại  $\delta_C$  19,8, 23,5, 24,3, 55,9, 55,9, 56,1 và 57,3. So sánh dữ liệu NMR giữa **MA11** và **MA9** cho thấy cấu trúc của **MA11** giống với **MA9** với sự thay thế nhóm hydroxyl bằng nhóm methoxyl tại C-4. Điều này cũng được thể hiện bởi tương tác HMBC giữa H-11/H-12 ( $\delta_H$  1,39) và C-2 ( $\delta_C$  77,9)/C-3 ( $\delta_C$  70,5), H-3 ( $\delta_H$  3,74) và C-2 ( $\delta_C$  77,9)/C-10 ( $\delta_C$  102,2)/C-11 ( $\delta_C$  24,3)/C-12 ( $\delta_C$  23,5), giữa H-4 ( $\delta_H$  4,25) và C-2 ( $\delta_C$  77,9)/C-5 ( $\delta_C$  161,7)/C-9 ( $\delta_C$  151,4)/C-10 ( $\delta_C$  102,2), giữa methoxy ( $\delta_H$  3,50) và C-4 ( $\delta_C$  74,6) (Hình 3.27). Do đó, cấu trúc của **MA11** được xác định là 8-[1-oxobut-(3-methoxy)-yl]-4,5,7-trimethoxy-2,2-dimethylchroman-3-ol và được đặt tên là malloapelta L.

**Bảng 3.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA11 và hợp chất tham khảo**

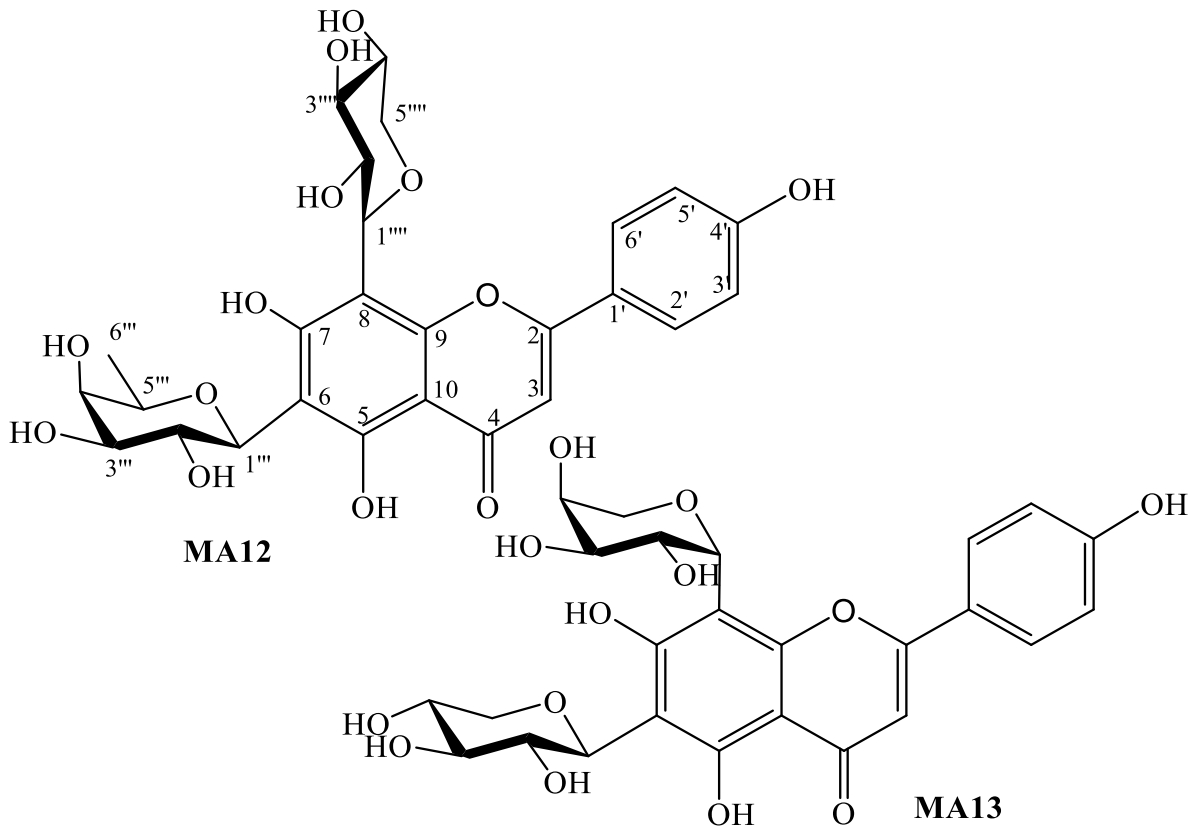
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	78,2	77,9	-
3	71,0	70,5	3,74 (d, 3,0)
4	62,2	74,6	4,25 (d, 3,0)
5	158,0	161,7	-
6	87,9	88,4	6,10 (s)
7	160,4	158,3	-
8	113,5	113,1	-
9	151,3	151,4	-
10	104,4	102,2	-
11	24,9	24,3	1,39 (s)
12	21,6	23,5	1,39 (s)
1'	201,8	202,1	-
2'	51,5	51,7	2,78 (dd, 7,5, 16,5) 3,08 (dd, 1,5, 16,5)
3'	73,3	73,5	3,83 (m)
4'	19,8	19,8	1,38 (d, 6,0)
4-OMe	55,8	57,3	3,50 (s)
5-OMe	55,8	55,9	3,76 (s)
7-OMe	55,9	55,9	3,89 (s)
3'-OMe	56,1	56,1	3,78 (s)
3-OH			2,28 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của **MA9** (đo trong  $\text{CDCl}_3$ ), <sup>a</sup>) đo trong  $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz.



Hình 3.27. Các tương tác HMBC chính của MA11

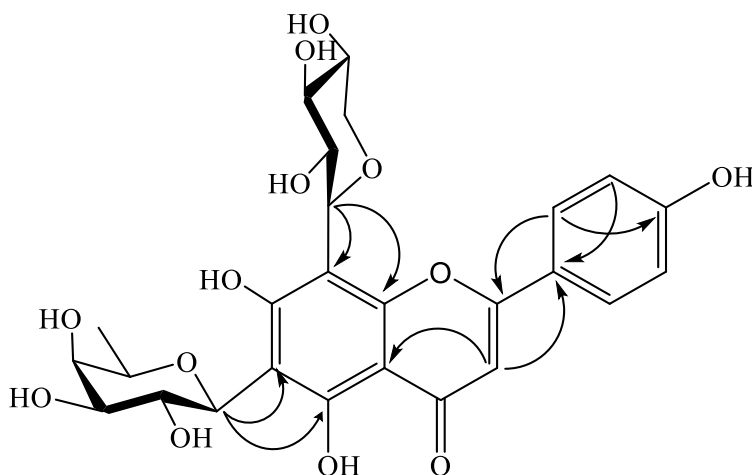
### 3.3.12. Hợp chất MA12: Malloflavoside (Hợp chất mới)



Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất MA12 và hợp chất tham khảo

Công thức phân tử của **MA12** được xác định là  $C_{26}H_{28}O_{13}$  dựa trên phổ HR-ESI-MS tại  $m/z$  549,1603  $[M+H]^+$ . Các tín hiệu proton tại  $\delta_H$  7,91 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2'/6'), 6,97 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3'/5') và 6,66 (s, H-3) đặc trưng cho sự có mặt của khung apigenin. Các tín hiệu trên phổ  $^{13}C$ -NMR của **MA12** cho biết cấu trúc thuộc khung apigenin với sự có mặt của một nhóm ketone tại  $\delta_C$  184,3 (C-4) và 5

carbon gắn oxy tại  $\delta_C$  157,4 (C-9), 160,6 (C-5), 162,8 (C-4'), 163,5 (C-7) và 166,5 (C-2). Hợp chất **MA12** được xác định là khung apigenin với 2 đơn vị C-monosaccharide, đó là fucopyranosyl và xylopyranosyl bằng cách so sánh với dữ liệu NMR [125]. Liên kết  $\beta$  của các đơn vị monosaccharide được suy ra từ hằng số ghép cặp ( $J = 9,5$  Hz) của tín hiệu proton anome tại  $\delta_H$  4,96 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz) và 4,96 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz). Sự có mặt của fucopyranosyl được xác định bằng các tín hiệu của một nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,34 (d,  $J = 6,5$  Hz), 4 proton oxymethine tại  $\delta_H$  4,02 (1H, dd,  $J = 9,0, 9,5$  Hz, H-2''), 3,64 (1H, dd,  $J = 9,0, 2,0$  Hz, H-3''), 3,79 (1H, br d,  $J = 2,0$  Hz, H-4''), 3,82 (1H, m, H-5'') và một proton anome tại  $\delta_H$  4,96 (d,  $J = 9,5$  Hz). Mặt khác, sự có mặt của nhóm xylopyranosyl dựa trên tín hiệu của proton anome tại  $\delta_H$  4,96 (1H, d,  $J = 9,5$  Hz, H-1''') và ba hydroxymethine tại  $\delta_H$  4,14 (1H, dd,  $J = 9,0, 9,5$  Hz, H-2'''), 3,50 (1H, t,  $J = 9,0$  Hz, H-3'''), 3,81 (1H, m, H-4'''), một nhóm methylene gắn oxy tại 3,41 (1H, dd,  $J = 11,0, 11,0$  Hz, H<sub>a</sub>-5''') và 4,10 (1H, dd,  $J = 11,0, 5,5$  Hz, H<sub>b</sub>-5'''). Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của **MA12** gần như giống với phổ của **MA13** (apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside) ngoại trừ sự khác biệt nhỏ về tín hiệu của methine [H-1''' ( $\delta_H$  4,96 (d,  $J = 9,5$ ) và C-8 ( $\delta_C$  105,5); H-2''' ( $\delta_H$  4,14 (dd,  $J = 9,0, 9,5$  Hz) gợi ý các cấu dạng khác nhau trong vòng arabinose. Tương tác HMBC từ H-1'' ( $\delta_H$  4,96) đến C-5 ( $\delta_C$  160,6)/C-6 ( $\delta_C$  109,2)/C-7 ( $\delta_C$  163,5) và từ H-1''' ( $\delta_H$  4,96) đến C-7 ( $\delta_C$  163,5)/C-8 ( $\delta_C$  105,5)/C-9 ( $\delta_C$  157,4) đã xác định các nhóm fucopyranosyl và xylopyranosyl đính với C-6 và C-8 của apigenin (Hình 3.29). Do vậy, hợp chất **MA12** được xác định là apigenin 6-C- $\beta$ -D-fucopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-xylopyranoside, một hợp chất mới được đặt tên là malloflavoside.



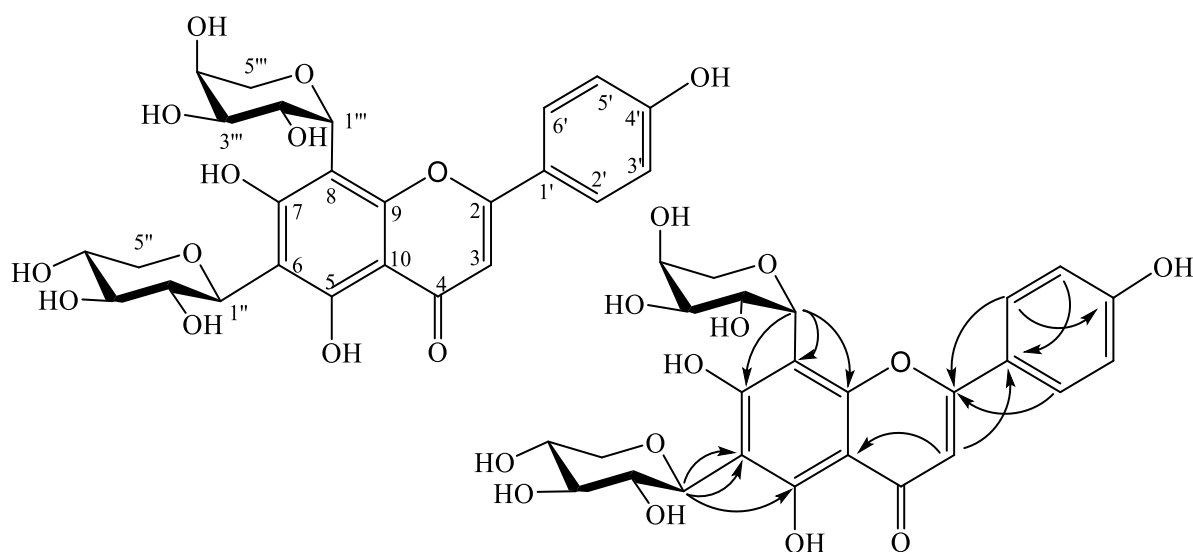
**Hình 3.29.** Các tương tác HMBC chính của **MA12**

**Bảng 3.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA12 và hợp chất tham khảo**

<b>C</b>	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	-	166,5	-
3	101,6	104,0	6,66 (s)
4	-	184,3	-
5	-	160,6	-
6	-	109,2	-
7	-	163,5	-
8	-	105,5	-
9	-	157,4	-
10	-	105,4	-
1'	-	123,7	-
2', 6'	127,8	129,7	7,91 (d, 8,5)
3', 5'	115,3	117,2	6,97 (d, 8,5)
4'	162,8	162,8	-
<b>6-C- Fuc</b>			
1''		76,4	4,96 (d, 9,5)
2''		73,0	4,14 (dd, 9,0, 9,5)
3''		80,8	3,50 (t, 9,0)
4''		71,8	3,80*
5''		71,9	3,41 (dd, 11,0, 11,0) 4,10 (dd, 5,5, 11,0)
<b>8-C- Xyl</b>			
1'''	74,2	75,9	4,96 (d, 9,5)
2'''	70,1	71,1	4,02 (dd, 9,0, 9,5)
3'''	78,9	76,4	3,64 (dd, 2,0, 9,0)
4'''	69,6	73,2	3,79 (br d, 2,0)
5'''	69,7	76,6	3,82 (m)
6'''		17,2	1,34 (d, 6,5)

<sup>#)</sup>  $\delta_C$  của apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside đo trong DMSO- $d_6$ , <sup>a)</sup> Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b)</sup> 125 MHz, <sup>c)</sup> 500 MHz, \*Tín hiệu chồng chập.

### 3.3.13. Hợp chất MA13: Apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside



**Hình 3.30. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA13**

Công thức phân tử của hợp chất **MA13** được xác định là  $C_{25}H_{26}O_{13}$  ( $M = 534$ ). Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất **MA13** xuất hiện tín hiệu của bốn proton của vòng thơm bị thế *para* tại  $\delta_H$  7,95 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', 6') và 6,94 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', 5'). Ngoài ra, trên phổ này cũng quan sát thấy tín hiệu của 2 gốc đường gồm hai proton anome tại  $\delta_H$  4,96 (d,  $J = 10,0$  Hz, H-1''') và 4,88 (H-1'', d, 4,0) cùng với các tín hiệu của các nhóm oxymethine ( $\delta_H$  4,12-3,81), oxymethylene [ $\delta_H$  3,40 (m)/3,77 (m)] của hai gốc đường trên. Trên phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **MA13** xuất hiện các tín hiệu của carbon và cũng xác nhận sự có mặt của bốn nhóm methine vòng thơm bị thế đối xứng *para* tại  $\delta_C$  117,1 và 129,8, một nhóm methine còn lại tại  $\delta_C$  104,0. Bên cạnh đó phân tích các tín hiệu trên phổ này cũng phát hiện sự có mặt của một nhóm ketone với sự có mặt của pic tại  $\delta_C$  184,3, các carbon vòng thơm gắn trực tiếp với nguyên tử oxy tại  $\delta_C$  161,7, 162,8, 162,9 và 165,5 và carbon bậc bốn khác tại các tín hiệu 104,0, 109,8 và 155,0. Các tín hiệu carbon cũng tương đồng với khung apigenin với sự có mặt của một nhóm ketone tại  $\delta_C$  184,3 (C-4) và 5 carbon gắn oxy tại  $\delta_C$  155,0 (C-9), 157,3 (C-5), 162,8 (C-4'), 165,5 (C-7) và 166,5 (C-2). Thêm vào đó các vạch tín hiệu của hai gốc đường cũng được ghi nhận trên phổ này. Thông qua các phân tích tương tác trên phổ  $^1H$  và  $^{13}C$  có thể nhận định hai đơn vị đường này là xylopyranoside và arabinose. Do đó hợp chất được xác định là apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Viola yedoensis* [125].

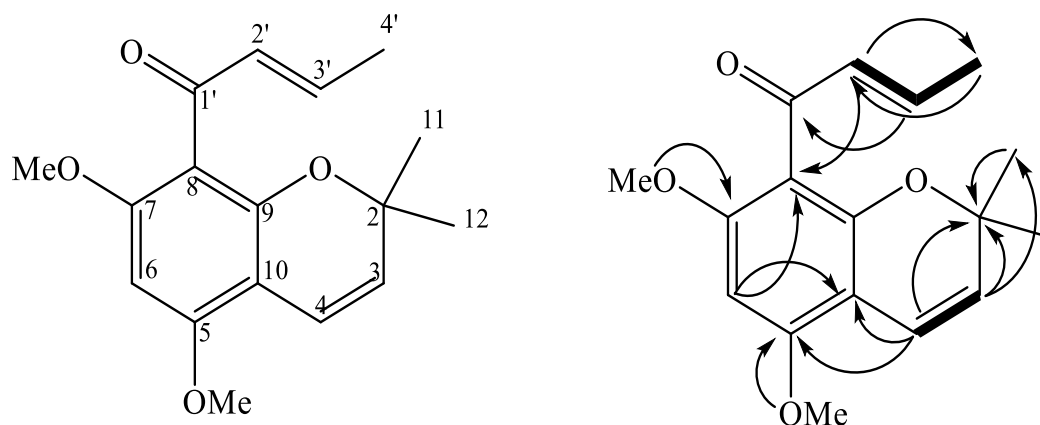
**Bảng 3.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA13 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J =Hz)
2	-	166,5	-
3	-	104,0	6,66 (s)
4	-	184,3	-
5	-	157,3	-
6	-	105,1	-
7	-	165,5	-
8	-	103,4	-
9	-	155,0	-
10	-	104,0	-
1'	-	123,5	-
2', 6'	127,8	129,8	7,95 (d, 8,5)
3', 5'	115,3	117,1	6,94 (d, 8,5)
4'	-	162,8	-
<b>6-C-Xyl</b>			
1''	74,2	76,0	4,96 (d, 10,0)
2''	70,1	72,0	4,12 (m)
3''	78,9	80,3	3,50 (m)
4''	69,6	71,1	4,10 (m)
5''	69,7	71,9	3,40 (t, 9,0) 4,10 (t, 9,0)
<b>8-C-Ara</b>			
1'''	75,0	76,5	4,88 (d, 4,0)
2'''	69,4	71,6	3,81 (m)
3'''	74,2	75,4	3,65 (m)
4'''	68,3	70,5	3,81 (d, 9,0)
5'''	70,0	72,0	3,77 (m) 4,05 (dd, 2,5, 9,0)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside [125] đo trong DMSO- $d_6$ ,

<sup>a</sup>) Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>) 125 MHz, <sup>c</sup>) 500 MHz

### 3.3.14. Hợp chất MA14: Malloapelta B



**Hình 3.31. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA14**



Hợp chất **MA14** có dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ HR-ESI-MS cung cấp công thức phân tử là  $C_{17}H_{20}O_4$ , tại  $m/z$  289,1441  $[M+H]^+$  (tính toán cho công thức  $C_{17}H_{21}O_4$ : 289,1440). Phổ  $^1H$ -NMR (trong  $CDCl_3$ ), cho tín hiệu của hai nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,86 (6H, s), hai nhóm methyl bậc ba tại  $\delta_H$  1,34 (6H, s), một nhóm methyl bậc hai tại  $\delta_H$  1,91 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz) và 5 proton olefin [ $\delta_H$  6,03 (1H, s), 5,45 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz), 6,58 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz), 6,38 (1H, d,  $J = 17,0$  Hz) và 6,69 (1H, dq,  $J = 17,0, 6,5$  Hz)] được thể hiện ở bảng dưới. Các tín hiệu carbon thu được từ phổ  $^{13}C$ -NMR cho thấy sự có mặt của một nhóm ketone ( $\delta_C$  194,2), 5 carbon olefin bậc 4 ( $\delta_C$  104,2, 111,7, 151,9, 156,5 và 158,1), năm carbon methine olefin ( $\delta_C$  127,1, 116,7, 88,0, 134,8 và 144,8), ba nhóm methyl ( $\delta_C$  27,5, 27,7 và 18,1) và hai nhóm methoxy ( $\delta_C$  55,6 và 55,9). Độ chuyển dịch hóa học tại  $\delta_C$  76,5 cho thấy nguyên tử carbon này phải liên kết với oxy. Điều này dựa trên các tương tác HMBC giữa H-11/H-12 ( $\delta_H$  1,34) và C-2 ( $\delta_C$  76,5)/C-3 ( $\delta_C$  127,1), giữa H-3 ( $\delta_H$  5,45) và C-2 ( $\delta_C$  76,5)/C-10 ( $\delta_C$  104,2)/C-11 ( $\delta_C$  27,7)/C-12 ( $\delta_C$  27,5), giữa H-4 ( $\delta_H$  6,58) và C-2 ( $\delta_C$  76,5)/C-5 ( $\delta_C$  156,5)/C-9 ( $\delta_C$  151,9)/C-10 ( $\delta_C$  104,2) (Hình 3.31). Tương tác HMBC từ H-6 ( $\delta_H$  6,03) đến C-5 ( $\delta_C$  156,5)/C-7 ( $\delta_C$  158,1)/C-8 ( $\delta_C$  111,7)/C-10 ( $\delta_C$  104,2), từ nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,51) và C-5 ( $\delta_C$  156,5)/C-7 ( $\delta_C$  158,1) cho biết vị trí của hai nhóm methoxy tại C-5 và C-7. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **MA14** với hợp chất malloapelta B thấy sự phù hợp hoàn toàn [11]. Như vậy, xác định hợp chất **MA14** chính là malloapelta B (**291**).

**Bảng 3.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA14 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,c}$	$\delta_H^{b,c}$ (J, Hz)
2	76,5	76,5	-
3	127,1	127,1	5,45 (d, 10,5)
4	116,7	116,7	6,58 (d, 10,5)
5	156,5	156,5	-
6	88,0	88,0	6,03 (s)
7	158,1	158,1	-
8	111,7	111,7	-
9	151,9	151,9	-
10	104,2	104,2	-
11	27,7	27,7	1,34 (s)
12	27,5	27,5	1,34 (s)
1'	194,2	194,2	-
2'	134,8	134,8	6,38 (d, 17,0)
3'	144,8	144,8	6,69 (dd, 17,0, 6,5)
4'	18,1	18,1	1,91 (d, 6,5)
5-OMe	55,9	55,9	3,77 (s)
7-OMe	55,6	55,6	3,84 (s)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của malloapelta B đo trong  $CDCl_3$  [11] <sup>a</sup>) 150 MHz; <sup>b</sup>) 600 MHz; <sup>c</sup>) Đo trong  $CDCl_3$ ,

### 3.3.15. Hợp chất MA15: Schaftoside

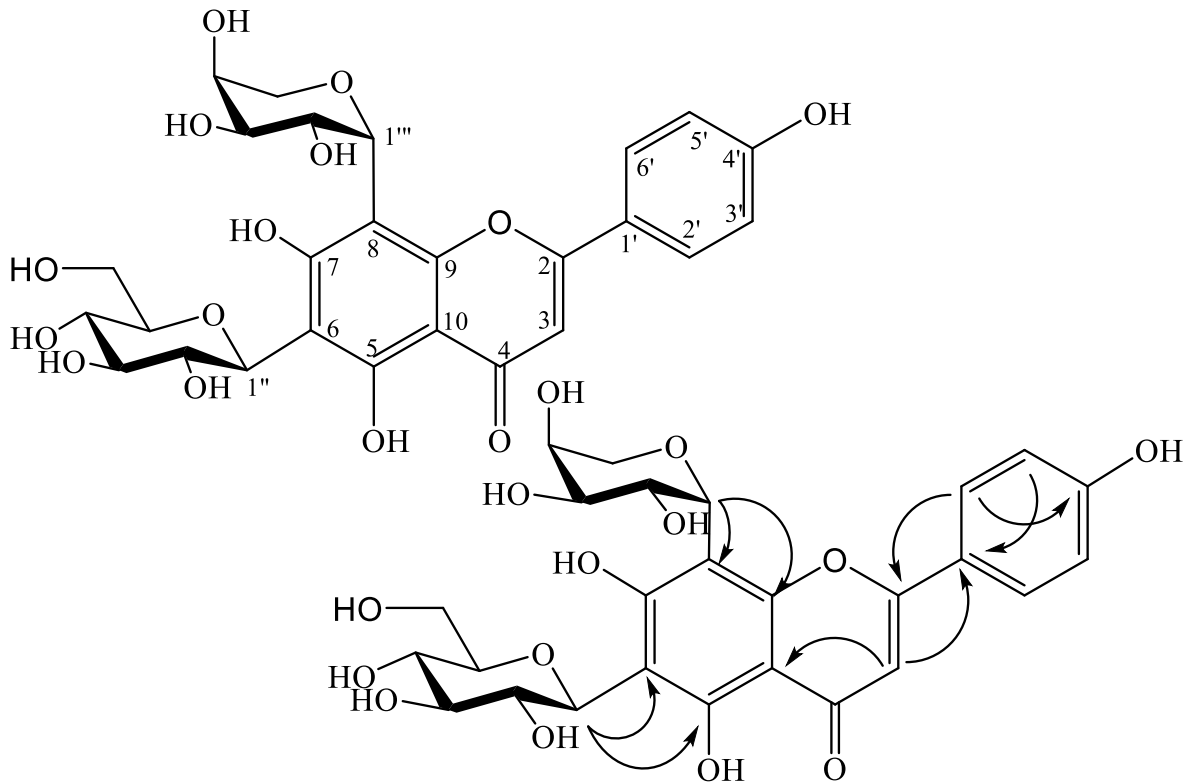
Hợp chất **MA15** thu được có công thức hóa học  $C_{26}H_{28}O_{14}$  (M = 564), qua phân tích dữ liệu phổ hợp chất được xác định là schaftoside có cấu trúc khung flavone C – Neoschaftoside, một hợp chất đã được phân lập từ hoa của loài *Viola yedoensis* [125]. Trên phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất **MA15** xuất hiện tín hiệu của bốn proton của vòng thơm bị thế *para* tại  $\delta_H$  7,95 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', 6') và 6,94 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', 5'). Ngoài ra, trên phổ này cũng quan sát thấy tín hiệu của 2 gốc đường gồm hai proton anome tại  $\delta_H$  4,90\* và 5,70 (s) cùng với các tín hiệu của các nhóm oxymethine ( $\delta_H$  3,47-4,18), oxymethylene [ $\delta_H$  3,73 (m)/3,88 (m)] của hai gốc đường trên. Trên phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **MA15** xuất hiện các tín hiệu của 26 carbon và cũng xác nhận sự có mặt của bốn nhóm methine vòng thơm bị thế đối xứng *para* tại  $\delta_C$  117,2 và 129,6, một nhóm methine còn lại tại  $\delta_C$  104,0. Bên cạnh đó phân tích các tín hiệu trên phổ này cũng phát hiện sự có mặt của một nhóm ketone với sự có mặt của pic tại  $\delta_C$  184,0, các carbon vòng thơm gắn trực tiếp với nguyên tử oxy tại  $\delta_C$  155,0, 161,7, 162,8, 162,9 và 165,5 và ba carbon không liên kết trực tiếp với hydrogen tại các tín hiệu 104,0, 109,8 và 103,4. Thêm vào đó các vạch tín hiệu của hai gốc đường cũng được thu nhận

trên phổ này. Thông qua các phân tích tương tác trên phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  có thể nhận định hai đơn vị đường này một là glucose và một là arabinose. Tương tác quan sát được trên phổ HMBC của proton anome của đường glucose H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4,90) và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  109,8), proton anome của đường arabinose H-1''' ( $\delta_{\text{H}}$  5,70) và C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  103,4) chứng tỏ gốc đường glucose liên kết với khung **MA15** ở vị trí C-6 và gốc đường arabinose liên kết với khung ở vị trí C-8 (Hình 3.32). Ngoài ra, một số tương tác xa H-C khác cũng quan sát thấy trên phổ này.

**Bảng 3.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA15 và hợp chất tham khảo**

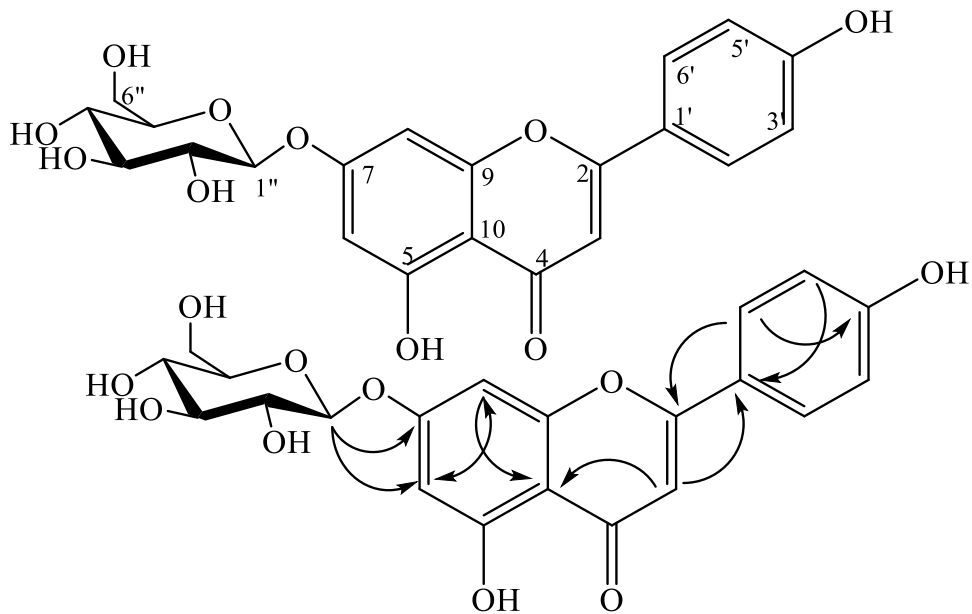
C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	-	161,7	-
3	101,9	103,4	6,66 (s)
4	-	184,0	-
5	-	162,9	-
6	-	109,8	-
7	-	165,5	-
8	-	104,0	-
9	-	155,0	-
10	-	104,0	-
1'	-	122,9	-
2', 6'	128,6	129,6	7,95 (d, 8,5)
3', 5'	115,6	117,2	6,94 (d, 8,5)
4'		162,8	-
<b>6-C-<math>\beta</math>-D-Glu</b>			
1''	73,1	74,9	4,90*
2''	70,7	71,3	4,08*
3''	78,2	80,4	3,47*
4''	69,7	72,0	3,52*
5''	80,8	82,5	3,40*
6''	60,5	63,2	3,73*/3,88*
<b>8-C-<math>\alpha</math>-L-Ara</b>			
1'''	74,6	73,8	5,70 (s)
2'''	68,7	74,4	3,98*
3'''	74,0	71,9	3,49*
4'''	68,3	64,8	4,18*
5'''	70,2	68,7	3,82*/3,92*

<sup>#</sup>)  $\delta_{\text{C}}$  của schaftoside đo trong  $\text{DMSO}-d_6$  [125] <sup>a)</sup> Đo trong  $\text{CD}_3\text{OD}$ , <sup>b)</sup> 125 MHz, <sup>c)</sup> 500 MHz, \*Tín hiệu chồng chập



**Hình 3.32. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA15**

### 3.3.16. Hợp chất MA16: Apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucoside



**Hình 3.33. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA16**

Hợp chất **MA16** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **MA16** thấy có xuất hiện cặp tín hiệu doublet tại  $\delta_{\text{H}}$  6,43 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-6) và 6,82 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-8) đặc trưng cho hai proton ở vị trí C-6 và C-8 của vòng A và một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  6,84 (1H, s, H-3) của hợp

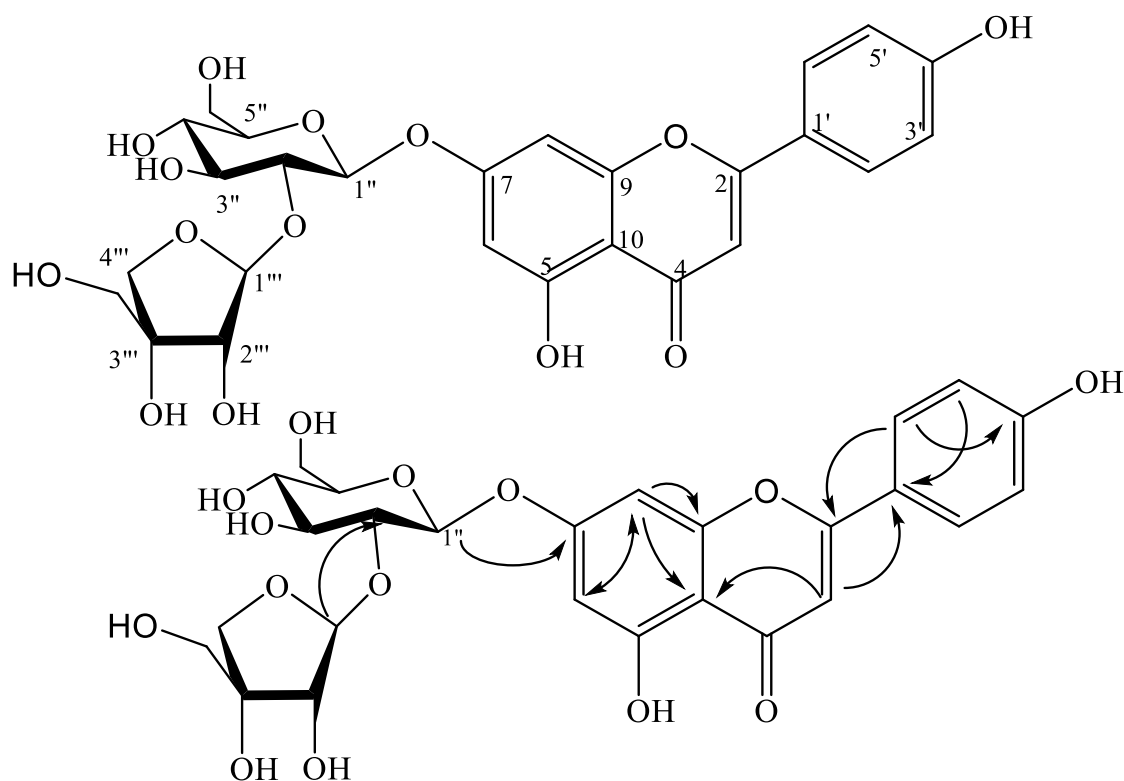
chất flavonoid. Hai cặp tín hiệu doublet khác tại  $\delta_H$  6,92 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', H-5') và 7,94 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', H-6') đặc trưng cho vòng thơm B thể *para*. Tín hiệu proton anome tại  $\delta_H$  5,06 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'') gợi ý trong hợp chất **MA16** có mặt 1 gốc đường. Đặc biệt, hằng số tương tác  $J = 8,0$  Hz gợi ý về sự xuất hiện của một đường  $\beta$ -glucopyranoside. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **MA16** cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 21 nguyên tử carbon. Trong đó có 6 tín hiệu tại  $\delta_C$  99,9 (C-1''), 73,1 (C-2''), 77,2 (C-3''), 69,6 (C-4''), 76,5 (C-5''), 60,6 (C-6'') khẳng định sự có mặt của gốc đường glucose và tín hiệu 15 nguyên tử carbon  $\delta_C$  164,3 (C-2), 103,0 (C-3), 182,0 (C-4), 161,6 (C-5), 99,6 (C-6), 162,9 (C-7), 94,9 (C-8), 156,9 (C-9), 105,3 (C-10), 120,9 (C-1'), 128,6 (C-2', 6'), 116,1 (C-3', 5'), 161,1 (C-4') thuộc vào khung flavonoid có vòng B thể *para*. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất số **MA16** với hợp chất apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside thấy sự phù hợp hoàn toàn [126]. Như vậy, có thể khẳng định hợp chất **MA16** là apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside.

**Bảng 3.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA16 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	164,2	164,3	-
3	103,0	103,0	6,84 (s)
4	181,6	182,0	-
5	161,0	161,6	-
6	99,6	99,6	6,43 (d, 1,5)
7	162,8	162,9	-
8	94,9	94,9	6,82 (d, 1,5)
9	156,8	156,9	-
10	105,3	105,3	-
1'	121,1	120,9	-
2', 6'	128,1	128,6	7,94 (d, 8,5)
3', 5'	115,8	116,1	6,92 (d, 8,5)
4'	160,9	161,1	-
5-OH		-	12,95 (s)
<b>7-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-Glu</b>			
1''	100,3	99,9	5,06 (d, 8,0)
2''	73,1	73,1	3,26 (dd, 8,0, 9,0)
3''	77,0	77,2	3,45 (t, 9,0)
4''	69,9	69,6	3,19 (t, 9,0)
5''	76,4	76,5	3,29 (m)
6''	60,8	60,6	3,71 (dd, 2,0, 12,0)
			3,50 (dd, 6,0, 12,0)

<sup>#)</sup>  $\delta_C$  của apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside đo trong  $\text{DMSO}-d_6$  [126] <sup>a)</sup> đo trong  $\text{DMSO}-d_6$ , <sup>b)</sup> 125 MHz, <sup>c)</sup> 500 MHz

### 3.3.17. Hợp chất MA17: Apigenin 7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside



Hình 3.34. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA17

Hợp chất MA17 phân lập được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA17 thấy có xuất hiện cặp tín hiệu doublet tại  $\delta_{\text{H}}$  6,46 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-6) và 6,77 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-8) đặc trưng cho hai proton ở vị trí C-6 và C-8 của vòng A và một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  6,61 (1H, s, H-3) của hợp chất flavonoid. Cặp hai tín hiệu doublet khác tại  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', 5') và 7,85 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', 6') đặc trưng cho vòng thơm B thể *para*. Tín hiệu proton anome tại  $\delta_{\text{H}}$  5,15 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'') và 5,48 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-1''') gợi ý trong hợp chất MA17 có mặt 2 gốc đường. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA17 cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 26 nguyên tử carbon. Tín hiệu 15 nguyên tử carbon tại  $\delta_{\text{C}}$  167,1 (C-2), 103,6 (C-3), 184,2 (C-4), 164,5 (C-5), 101,0 (C-6), 164,8 (C-7), 95,8 (C-8), 158,9 (C-9), 107,0 (C-10), 121,9 (C-1'), 129,7 (C-2', 6'), 117,6 (C-3', 5'), 164,5 (C-4') thuộc khung flavonoid có vòng B thể *para* giống với hợp chất MA16. Sự khác biệt duy nhất là có thêm một phân tử đường. Độ chuyển dịch hóa học tại C-2 tăng nhẹ (73,1 lên 78,7) gợi ý xuất hiện liên kết glycoside tại C-2 của đường glucose. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất số MA17 với hợp chất apigenin-7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside thấy sự phù hợp hoàn toàn [127]. Như vậy, xác định hợp chất số MA17 là hợp chất apigenin 7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside.

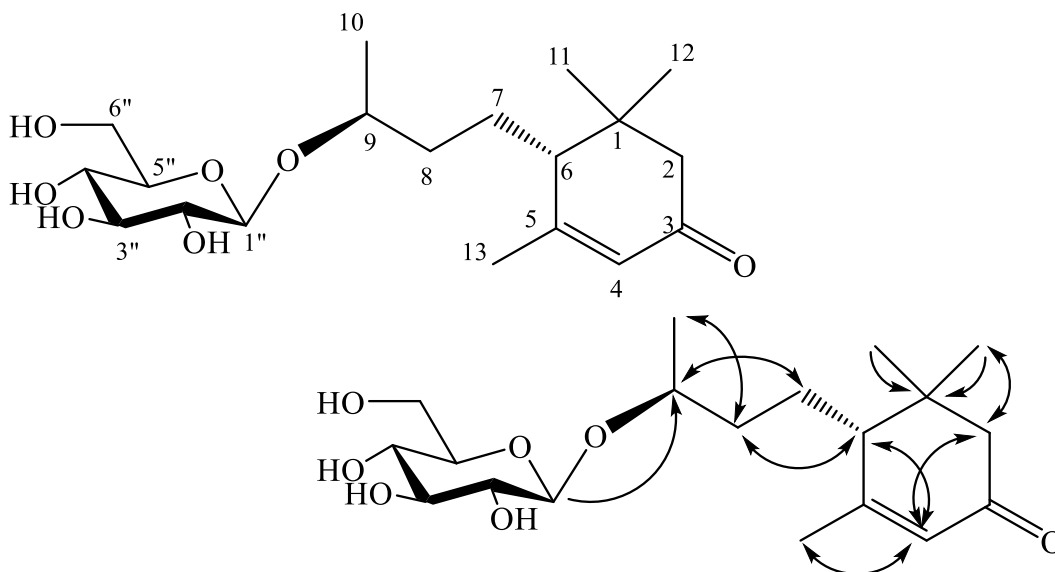
**Bảng 3.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA17 và hợp chất tham khảo**

<b>C</b>	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
2	167,0	167,1	-
3	104,2	103,6	6,61 (s)
4	184,0	184,2	-
5	163,1	164,5	-
6	101,1	101,0	6,46 (d, 1,5)
7	164,8	164,8	-
8	96,2	95,8	6,77 (d, 1,5)
9	159,1	158,9	-
10	107,2	107,0	-
1'	123,1	121,9	-
2', 6'	129,8	129,7	7,85 (d, 8,5)
3', 5'	117,2	117,6	6,90 (d, 8,5)
4'	163,2	164,5	-
<b>7-O-<math>\beta</math>-D-Glu</b>			
1''	100,2	100,2	5,15 (d, 8,0)
2''	78,9	78,7	3,71 (dd, 8,0, 9,0)
3''	78,6	78,4	3,68 (t, 9,0)
4''	71,5	71,3	3,45 (t, 9,0)
5''	78,4	78,7	3,71 (m)
6''	62,7	62,5	3,95 (dd, 2,0, 12,0) 3,74 (dd, 6,0, 12,0)
<b>2''-<math>\beta</math>-D-Api</b>			
1'''	111,1	110,9	5,48 (d, 1,5)
2'''	78,3	78,1	3,99 (d, 1,5)
3'''	80,8	80,7	-
4'''	75,6	75,4	4,07 (d, 9,5) 3,84 (d, 9,5)
5'''	66,0	65,9	3,58 (m)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của apigenin 7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside đo trong CD<sub>3</sub>OD [127],

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

### 3.3.18. Hợp chất MA18: Blumenol C glucoside



**Hình 3.35.** Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA18

Hợp chất **MA18** thu được dưới dạng chất bột, màu trắng. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **MA18** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin của liên kết đôi dạng *E* tại  $\delta_{\text{H}}$  5,82 (1H, s), ba nhóm methyl singlet tại  $\delta_{\text{H}}$  1,04 (3H, s), 1,12 (3H, s) và 2,01 (3H, s), một nhóm methyl doublet tại  $\delta_{\text{H}}$  1,26 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz) và một proton anome tại  $\delta_{\text{H}}$  4,33 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz) gợi ý sự có mặt của một đơn vị đường. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **MA18** xuất hiện tín hiệu của 19 carbon, bao gồm: tín hiệu 13 carbon đặc trưng của hợp chất megastigmane tại  $\delta_{\text{C}}$  22,0 (CH<sub>3</sub>), 25,0 (CH<sub>3</sub>), 26,7 (CH<sub>2</sub>), 27,5 (CH<sub>3</sub>), 29,1 (CH<sub>3</sub>), 37,5 (CH<sub>2</sub>), 48,2 (CH<sub>2</sub>), 52,7 (CH), 77,7 (CH), 125,6 (CH), 169,8 (C), 202,4 (C) và sáu carbon đặc trưng của một glucopyranose tại  $\delta_{\text{C}}$  62,9 (CH<sub>2</sub>), 71,8 (CH), 75,3 (CH), 77,9 (CH), 78,3 (CH), 104,0 (C). Hằng số tương tác của proton anome H-1' ( $J_{\text{H-1}', \text{H-2}'} = 7,5$  Hz) và độ chuyển dịch hóa học của carbon anome tương ứng C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  104,0) cho biết phần đường là *O*- $\beta$ -glucopyranose. Phân tích phổ HMBC cho thấy vị trí của hai nhóm methyl singlet tại C-1 được xác định dựa vào tương tác giữa H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  1,04)/H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  1,12) với C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  37,4)/C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  48,2)/C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  52,7); vị trí của hai nhóm methyl tại C-5 và C-9 lần lượt được xác định dựa vào các tương tác HMBC giữa H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  1,26) với C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  37,5)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  77,7) và H-13 ( $\delta_{\text{H}}$  2,01) với C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  125,6)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  169,8)/C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  52,7) (Hình 3.35). Tương tự, vị trí của nhóm ketone được xác định dựa vào các tương tác HMBC giữa H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  2,08, 2,49)/H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,82) với C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  202,3). Bằng các dữ kiện phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , HSQC, HMBC và so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **MA18** được xác định là blumenol C glucoside (**241**) [128].



**Bảng 3.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA18 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	37,4	37,4	
2	48,2	48,2	2,08 (d, 17,0) 2,49 (d, 17,0)
3	202,4	202,3	-
4	125,6	125,5	5,82 (s)
5	169,8	169,8	-
6	52,7	52,7	1,97 (m)
7	26,7	26,7	1,67 (m)/1,81 (m)
8	37,5	37,5	1,65 (m)/1,72 (m)
9	77,7	77,7	3,82 (m)
10	22,0	21,9	1,26 (d, 6,5)
11	29,1	29,0	1,04 (s)
12	27,5	27,5	1,12 (s)
13	25,0	25,0	2,01 (s)
<b>9-O-<math>\beta</math>-D-Glu</b>			
1''	104,1	104,0	4,33 (d, 7,5)
2''	75,4	75,3	3,15 (dd, 7,5, 9,0)
3''	78,3	78,3	3,35 (t, 9,0)
4''	71,8	71,8	3,26 (t, 9,0)
5''	77,9	77,9	3,25 (m)
6''	62,9	62,9	3,67 (dd, 6,0, 12,0) 3,86 (dd, 2,0, 12,0)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của blumenol C glucoside đo trong  $CD_3OD$  [128] <sup>a</sup>)Đo trong  $CD_3OD$ , <sup>b</sup>)125 MHz, <sup>c</sup>)500 MHz.

### 3.3.19. Hợp chất MA19: Acantrifoside E

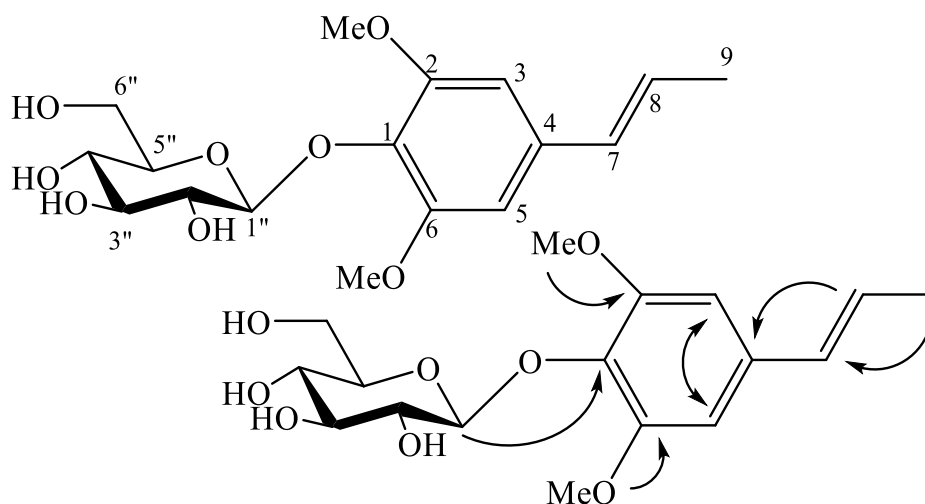
Hợp chất **MA19** thu được dưới dạng chất bột, màu trắng. Trên phổ  $^1H$ -NMR của **MA19** xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,87 (6H, s); một proton anome tại  $\delta_H$  4,84 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz) và hai proton thơm tại  $\delta_H$  6,70 (2H, s). Bên cạnh đó, trên phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT của **MA19** xuất hiện tín hiệu của 17 carbon, bao gồm hai nhóm methoxy tại  $\delta_C$  57,0, một carbon oxymethylen tại  $\delta_C$  136,3; sáu carbon đặc trưng của một đơn vị đường glucopyranose tại  $\delta_C$  62,7 ( $CH_2$ ), 77,9 (CH), 75,5 (CH), 78,3 (2CH), 105,5 (CH), hai carbon methylen đối xứng tại  $\delta_C$  104,5, ba carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_C$  136,2, 154,3, 154,3, hai proton olefin tại  $\delta_C$  126,5 và 132,5 và một nhóm methyl tại  $\delta_C$  18,5. Hằng số tương tác của proton anome

$J_{H-1', H-2'} = 7,5$  Hz, cùng với độ chuyển dịch hóa học của carbon tương ứng  $\delta_C$  105,5 cho biết đơn vị đường là *O*- $\beta$ -glucopyranose. Trên phổ HMBC xuất hiện tương tác giữa H-3/H-5 ( $\delta_H$  6,70) với C-1 ( $\delta_C$  136,3), C-2/C-6 ( $\delta_C$  154,3), C-4 ( $\delta_C$  136,2)/C-7 ( $\delta_C$  132,2) cho phép quy kết giá trị độ dịch chuyển hóa học carbon tại các vị trí thuộc vòng thơm, đồng thời xác định vị trí gắn kết của nhóm oxymethylene (7-CH<sub>2</sub>-O) tại C-1 (Hình 3.36). Vị trí của hai nhóm methoxy đối xứng tại C-2/C-6 và nhóm pro-1-enyl tại C-4 được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,87) với C-2/C-6 ( $\delta_C$  104,5) và giá trị độ dịch chuyển hóa học tại C-4 ( $\delta_C$  136,2). Tương tự, vị trí của phân đường tại C-7 được xác định dựa vào tương tác H-1' ( $\delta_H$  4,84) với C-7 ( $\delta_C$  132,2). Từ các bằng chứng phổ trên hợp chất **MA19** được xác định là 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzyl-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside hay còn gọi là acantrifoside E. Kết luận này cũng được kiểm chứng khi so sánh số liệu phổ NMR của **MA19** với tài liệu đã công bố [129].

**Bảng 3.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất MA19 và hợp chất tham khảo**

C	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	136,4	136,3 -
2, 6	154,4	154,3 -
3, 5	105,5	104,5 6,70 (s)
4	135,5	136,2 -
7	132,2	132,2 6,36 (d, 16,0)
8	126,6	126,5 6,25 (dq, 16,0, 6,5)
9	18,6	18,5 1,88 (d, 6,5)
2,6-OMe	57,1	57,0 3,87 (s)
<b>3-O-<math>\beta</math>-D-Glu</b>		
1'	105,6	105,5 4,84 (d, 7,5)
2'	75,6	75,5 3,49 (dd, 7,5, 9,0)
3'	78,5	78,3 3,23 (t, 9,0)
4'	71,5	71,4 3,43 (t, 9,0)
5'	78,0	77,9 3,44 (m)
6'	62,7	3,52 (dd, 12,0, 5,0)
		3,83 (dd, 12,0, 2,0)

<sup>#</sup>)  $\delta_C$  của acantrifoside E đo trong CD<sub>3</sub>OD [129] <sup>a</sup>)Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>)125 MHz, <sup>c</sup>)500 MHz.



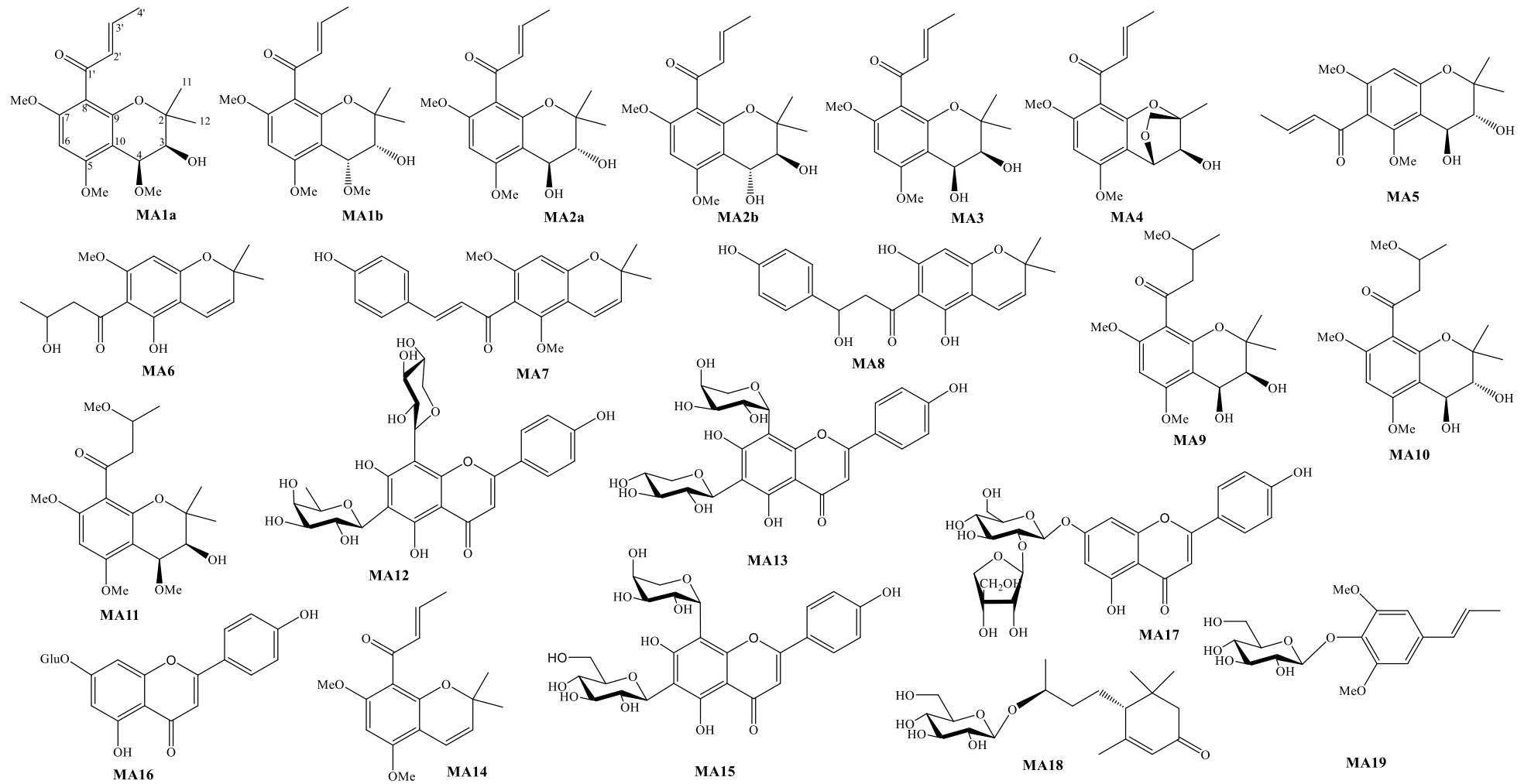
**Hình 3.36.** Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của MA19

### 3.4. Tổng hợp các hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc từ loài *M. apelta*.

Như vậy, đã có 21 hợp chất được phân lập, bao gồm có 14 chromene (MA1a, MA1b, MA2a, MA2b, MA3 -MA11, MA14), 5 flavonoid (MA12, MA13, MA15-MA17) và hai hợp chất khác (MA18, MA19) từ loài *M. apelta*. Trong đó có 14 hợp chất mới và 7 hợp chất đã biết.

**Bảng 3.20.** Các hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc từ *M. apelta*

STT	Hợp chất	Tên gọi
1	Hai hợp chất mới MA1a và MA1b	(+)-malloapelta C (MA1a) (-)-malloapelta C (MA1b)
2	Hai hợp chất mới MA2a và MA2b	(-)-malloapelta D (MA2a) (+)-malloapelta D (MA2b)
3	Hợp chất mới MA3	malloapelta E
4	Hợp chất mới MA4	malloapelta F
5	Hợp chất mới MA5	malloapelta G
6	Hợp chất mới MA6	malloapelta H
7	Hợp chất mới MA7	malloapelta I
8	Hợp chất mới MA8	malloapelta II
9	Hợp chất mới MA9	malloapelta J
10	Hợp chất mới MA10	malloapelta K
11	Hợp chất mới MA11	malloapelta L
12	Hợp chất mới MA12	malloflavoside
13	Hợp chất MA13	apigenin 6-C- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside
14	Hợp chất MA14	malloapelta B
15	Hợp chất MA15	schaftoside
16	Hợp chất MA16	apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucoside
17	Hợp chất MA17	apigenin 7-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside
18	Hợp chất MA18	blumenol C glucoside
19	Hợp chất MA19	acantrifoside E



**Hình 3.37.** Cấu trúc các hợp chất được phân lập từ loài *M. apelta*

### 3.5. Hoạt tính sinh học của các hợp chất

#### 3.5.1. Đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được.

Đầu tiên, các hợp chất được sàng lọc khả năng gây độc tế bào ung thư trên 2 dòng tế bào PC-3 và MCF-7.

**MCF-7** (Michigan Cancer Foundation-7) có nguồn gốc từ một khối u ác tính ở vú của một bệnh nhân nữ 69 tuổi được phát hiện vào năm 1970. MCF-7 được tìm ra vào năm 1973 bởi Herbert Soule và cộng sự. Trước MCF-7, các nhà nghiên cứu ung thư không thể có được dòng tế bào tuyến vú có khả năng sống lâu hơn vài tháng. Đây là dòng tế bào được nghiên cứu phổ biến nhất, chiếm hơn 2/3 tổng số bài báo về các dòng tế bào ung thư vú [111, 130].

**PC-3** là một dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt được tìm ra vào năm 1979 từ di căn xương của ung thư tuyến tiền liệt độ IV ở một người đàn ông da trắng 62 tuổi. Các tế bào PC-3 rất hữu ích trong việc điều tra những thay đổi sinh hóa trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt tiến triển và trong việc đánh giá phản ứng của chúng đối với các tác nhân hóa trị liệu. Tế bào PC-3 cũng được sử dụng để nghiên cứu sự lây nhiễm virus trong tế bào động vật có vú, có biểu hiện phản ứng miễn dịch [111, 112].

Chất đối chứng dương là các mẫu có chứa đoạn ADN/ARN mục tiêu đã được biết trước, trong khi chất đối chứng âm là những mẫu không có đoạn ADN/ARN mục tiêu để nhằm giúp kiểm soát được quá trình nhiễm chéo khi thực hiện các phản ứng. Carboplatin và Mitoxantrone là hai trong số những loại thuốc dùng để điều trị cho bệnh nhân ung thư buồng trứng, ung thư đại tràng và ung thư vú [131], được sử dụng như các chất đối chứng dương.

Tế bào PC-3 và MCF-7 được xử lý với các hợp chất ở nồng độ 30  $\mu$ M trong 48 giờ và % tế bào sống được xác định bằng phương pháp MTS. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.21.

**Bảng 3.21. Kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất**

Hợp chất	% tế bào sống sót tại 30 $\mu$ M	
	PC-3	MCF-7
<b>MA1</b>	<b>35,4<math>\pm</math>0,33</b>	<b>25,7<math>\pm</math>0,23</b>
<b>MA2</b>	<b>33,1<math>\pm</math>0,57</b>	<b>39,5<math>\pm</math>0,25</b>
<b>MA3</b>	<b>37,9<math>\pm</math>0,35</b>	<b>16,2<math>\pm</math>0,15</b>
<b>MA4</b>	<b>29,7<math>\pm</math>0,27</b>	<b>13,1<math>\pm</math>0,12</b>
<b>MA5</b>	<b>49,2<math>\pm</math>0,47</b>	<b>49,0<math>\pm</math>0,45</b>
<b>MA6</b>	<b>26,7<math>\pm</math>0,25</b>	<b>11,7<math>\pm</math>0,11</b>
<b>MA7</b>	<b>30,50<math>\pm</math>0,28</b>	<b>14,60<math>\pm</math>0,13</b>
<b>MA8</b>	<b>1,90<math>\pm</math>0,02</b>	<b>10,00<math>\pm</math>0,09</b>
<b>MA9</b>	102,20 $\pm$ 0,94	68,70 $\pm$ 0,62
<b>MA10</b>	88,70 $\pm$ 0,67	69,50 $\pm$ 0,59
<b>MA11</b>	94,00 $\pm$ 0,86	78,70 $\pm$ 0,71
<b>MA12</b>	100,30 $\pm$ 0,92	79,00 $\pm$ 0,71
<b>MA13</b>	91,90 $\pm$ 0,85	72,60 $\pm$ 0,65
<b>MA14</b>	<b>12,00<math>\pm</math>0,11</b>	<b>10,40<math>\pm</math>0,09</b>
<b>MA15</b>	109,50 $\pm$ 1,01	77,70 $\pm$ 0,70
<b>MA16</b>	78,30 $\pm$ 0,72	58,20 $\pm$ 0,52
<b>MA17</b>	109,30 $\pm$ 1,00	79,10 $\pm$ 0,71
<b>MA18</b>	97,40 $\pm$ 0,90	80,40 $\pm$ 0,72
<b>MA19</b>	102,50 $\pm$ 0,94	66,70 $\pm$ 0,60
<b>Mitoxantrone*</b>	27,50 $\pm$ 0,8	21,60 $\pm$ 0,70

\*Mitoxantrone được dùng như chất đối chứng dương

Kết quả cho thấy, có tới 9 hợp chất tác dụng gây độc tế bào ung thư >50% (tức là % tế bào sống sót < 50%), gồm **MA1-MA8** và **MA14**. Các hợp chất này có tác dụng đồng thời lên cả 2 dòng tế bào PC-3 và MCF-7. Trong đó **MA8** có tác dụng tốt nhất, với tỉ lệ sống sót của cả 2 dòng lần lượt là 1,9 $\pm$ 0,02% và 10,0 $\pm$ 0,09%.

**HT-29** là dòng tế bào ung thư đại tràng ở người, được Jorgen Fogh tìm ra vào năm 1964 từ một phụ nữ da trắng 44 tuổi. Trong nghiên cứu tiền lâm sàng, các tế bào HT-29 đã được nghiên cứu về khả năng biệt hóa và mô phỏng mô đại tràng trong ống nghiệm, một đặc điểm khiến HT-29 trở nên hữu ích cho nghiên cứu tế bào biểu mô [132].

**TOV-21G** là dòng tế bào biểu hiện hình thái biểu mô được phân lập từ buồng trứng của một phụ nữ 62 tuổi bị ung thư biểu mô tuyến ác tính nguyên phát từ năm 1991. Dòng tế bào này đã được ký gửi bởi Đại học Montreal. TOV-21G được sử dụng

phổ biến để nghiên cứu các con đường ung thư buồng trứng, chất ức chế tyrosine kinase kép, *cis-platin*, chất ức chế IGF-IR... [133].

Giá trị IC<sub>50</sub> của **MA1-MA8**, **MA14** được tiếp tục kiểm tra trên 4 dòng tế bào PC-3, MCF-7, HT-29 và TOV-21G, sử dụng chất đối chứng dương là carboplatin và capecitabine. Kết quả thể hiện ở Bảng 3.22.

**Bảng 3.22. Tác dụng gây độc tế bào ung thư của các hợp chất.**

Hợp chất	Dòng tế bào ung thư-IC <sub>50</sub> (μM)			
	PC-3	MCF-7	HT-29	TOV-21G
<b>MA1</b>	18,9±0,11	6,94±0,10	8,92±0,25	3,04±0,12
<b>MA2</b>	3,58±0,21	4,96±0,18	5,24±0,24	1,62±0,24
<b>MA3</b>	4,65±0,26	2,22±0,17	3,71±0,08	2,64±0,02
<b>MA4</b>	6,15±0,08	2,78±0,04	7,21±0,16	4,02±0,51
<b>MA5</b>	16,1±0,15	7,51±0,15	12,40±0,20	3,54±0,02
<b>MA6</b>	18,7±0,24	7,52±0,11	11,64±0,31	10,42±0,07
<b>MA7</b>	8,89±0,17	6,02±0,09	6,87±0,18	-
<b>MA8</b>	7,29±0,20	4,23±0,05	9,24±0,26	-
<b>MA14</b>	1,60±0,05	1,24±0,04	1,62±0,09	1,72±0,45
<b>Carboplatin</b>	-	-	-	1,15±0,03
<b>Capecitabine</b>	11,20±1,44	-	12,51±0,36	-

*Chú thích: Các tế bào được xử lý với các hợp chất ở nồng độ 30 μM trong 48 h, mức độ sống sót của tế bào được xác định bằng thử nghiệm MTS. Các thí nghiệm lặp lại 3 lần độc lập. TB: trị số trung bình, SS: sai số chuẩn.(-): Không thử nghiệm*

Kết quả cho thấy, với dòng tế bào PC-3, các hợp chất ức chế mạnh nhất bao gồm **MA14>MA2>MA3>MA4>MA8>MA7>MA5>MA6>MA1**. Với dòng tế bào MCF-7, thứ tự được xếp **MA14 >MA3>MA4>MA8>MA2>MA7>MA1>MA5>MA6**. Với dòng tế bào HT-29, thứ tự giảm dần là **MA14 >MA3>MA2>MA7>MA4>MA1>MA8>MA6>MA5**. Với dòng tế bào TOV-21G, do không thử nghiệm với **MA7** và **MA8** nên thứ tự là **MA2 >MA14>MA3>MA1>MA5>MA4>MA6**. Qua đó, có thể thấy hợp chất **MA14**, **MA2**, **MA3** có IC<sub>50</sub> rất thấp trên cả 4 dòng tế bào ung thư (nhỏ hơn 5 μM). Ngoài ra, các hợp chất **MA4**, **MA7** và **MA8** đều kháng ung thư tốt ba dòng tế bào PC-3, MCF-7 và HT-29 với IC<sub>50</sub> < 10 μM.

### 3.5.2. Đánh giá cơ chế gây chết tế bào ung thư của các hợp chất có hoạt tính mạnh thông qua apoptosis và bất hoạt yếu tố nhân NF- $\kappa$ B.

Quá trình ức chế sự phát triển và khả năng sống của tế bào được quan sát cho thấy sự phụ thuộc liều lượng ở thời điểm 72 giờ sau khi ủ với các hợp chất **MA1-MA5** và **MA14** với  $IC_{50}$  trong khoảng 1,62-4,02  $\mu$ M, thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư TOV-21G rất mạnh (Xem Bảng 3.22). Trong đó, hợp chất **MA2**, **MA3** và **MA14** cho thấy tác dụng gây độc tế bào ung thư người cao hơn các chất còn lại. Mặt khác, các nghiên cứu trước đây cho thấy hợp chất **MA14** không biểu hiện gây độc tế bào trên đại thực bào RAW 264.7 lên đến 30  $\mu$ M [134]. Do vậy, các hợp chất **MA2**, **MA3** và **MA14** được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư bùng trứng thông qua apoptosis và bất hoạt yếu tố nhân NF- $\kappa$ B

#### 3.5.2.1. Ảnh hưởng của các hợp chất **MA2**, **MA3**, **MA14** đến yếu tố apoptosis

**Caspase-8** và **caspase-9** là các protein họ caspase, được mã hóa bởi các gen CASP8 và CASP9. Các gen này đã được xác định ở nhiều loài động vật có vú có sẵn dữ liệu bộ gen hoàn chỉnh. Caspase-8 có vai trò truyền tín hiệu bổ sung trong tế bào lympho, rất cần thiết để tạo ra yếu tố phiên mã NF- $\kappa$ B sau khi kích thích thông qua các thụ thể kháng nguyên. Caspase-9 đóng vai trò khởi xướng, quan trọng đối với con đường apoptosis và được tìm thấy trong nhiều mô của các loài có vú [135].

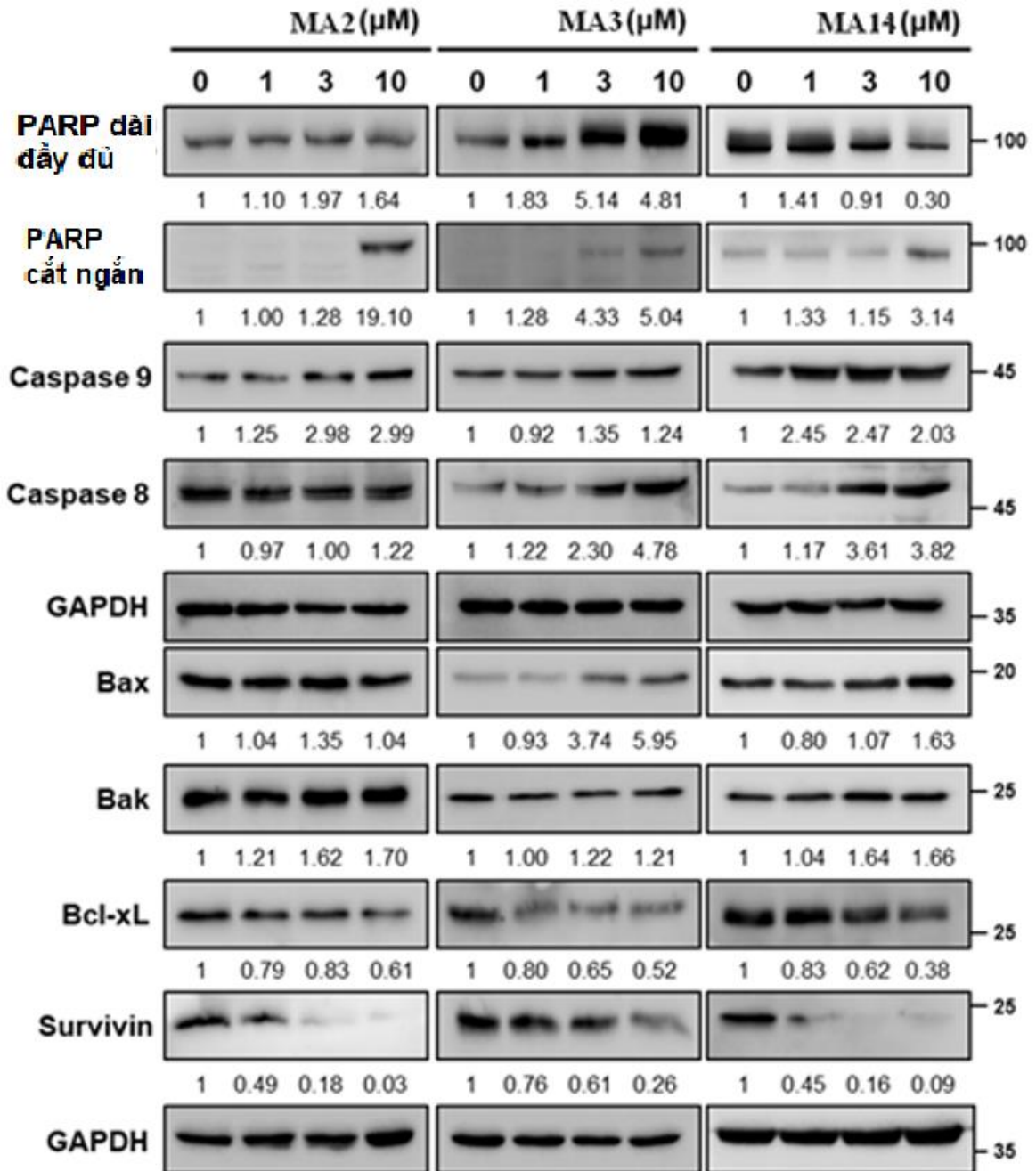
**GAPDH** (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) là một enzyme có khả năng xúc tác chuyển hóa glyceraldehyde 3-phosphate thành D-glycerate 1,3-bisphosphate. Trong điều kiện tế bào bình thường, GAPDH chủ yếu tồn tại dưới dạng tetramer. Ngoài chức năng trao đổi chất, GAPDH gần đây còn được biết có liên quan đến một số quá trình không trao đổi chất, bao gồm kích hoạt phiên mã, bắt đầu quá trình apoptosis và vận chuyển nhanh sợi trục [136].

BH là một họ các protein liên quan với nhau về mặt tiến hóa. Những protein này nằm ở lớp màng ngoài bán thấm của ti thể. Một vài thành viên trong số chúng có vai trò kích thích quá trình apoptosis như **Bax**, **BAD**, **Bak** và **Bok**, số khác có lại vai trò ức chế quá trình này như **Bcl-2**, **Bcl-xL** và **Bcl-w** [137].

**Survivin** là một loại protein ở người, được mã hóa bởi gen BIRC5. Protein survivin có chức năng ức chế kích hoạt caspase, do đó dẫn đến sự điều chỉnh tiêu cực của quá trình apoptosis. Do sự khác biệt lớn trong biểu hiện giữa mô bình thường-ác tính và vai trò nguyên nhân của nó đối với sự tiến triển của bệnh ung thư, survivin hiện đang được nghiên cứu chuyên sâu như một biểu hiệu khối u tiềm năng [138].

Để xác định mức độ tự chết của tế bào gây ra bởi các hợp chất **MA2**, **MA3** và **MA14** trên dòng tế bào ung thư bùng trứng, khả năng kích hoạt con đường tín hiệu tự chết của tế bào được đánh giá bằng phương pháp Western blot sử dụng các kháng thể tương ứng.





**Hình 3.38.** Ảnh hưởng của các hợp chất MA2, MA3, MA14 đến yếu tố apoptosis

Các tế bào TOV-21G được xử lý với DMSO 0,1% (nhóm đối chứng) hoặc các hợp chất với nồng độ cụ thể trong vòng 24h. Toàn bộ tế bào sau nuôi cấy được ly giải và xử lý với các kháng thể tương ứng. Mức độ biểu hiện của các protein được đánh giá trong mỗi tương quan với mức độ biểu hiện của GAPDH, mức độ biểu hiện của nhóm đối chứng mặc định là 1.

Kết quả cho thấy khi xử lý các tế bào TOV-21G với ba hợp chất trên đã có tác dụng kích hoạt các protein Bak và pro-apoptotic Bax giảm các biểu hiện protein Bcl-xL và kháng apoptosis survivin (Hình 3.38). Hơn nữa, những hợp chất này làm tăng mức độ biểu hiện poly (ADP ribose), polymerase (PARP), caspase 9 và caspase 8, cho thấy rằng những hợp chất này gây ra cả apoptosis bên trong và bên ngoài. Do đó,

có thể kết luận những hợp chất này thể hiện tác dụng chống ung thư thông qua con đường apoptosis của tế bào.

### 3.5.2.2. Ảnh hưởng của MA2, MA3, MA14 đến con đường tín hiệu NF- $\kappa$ B

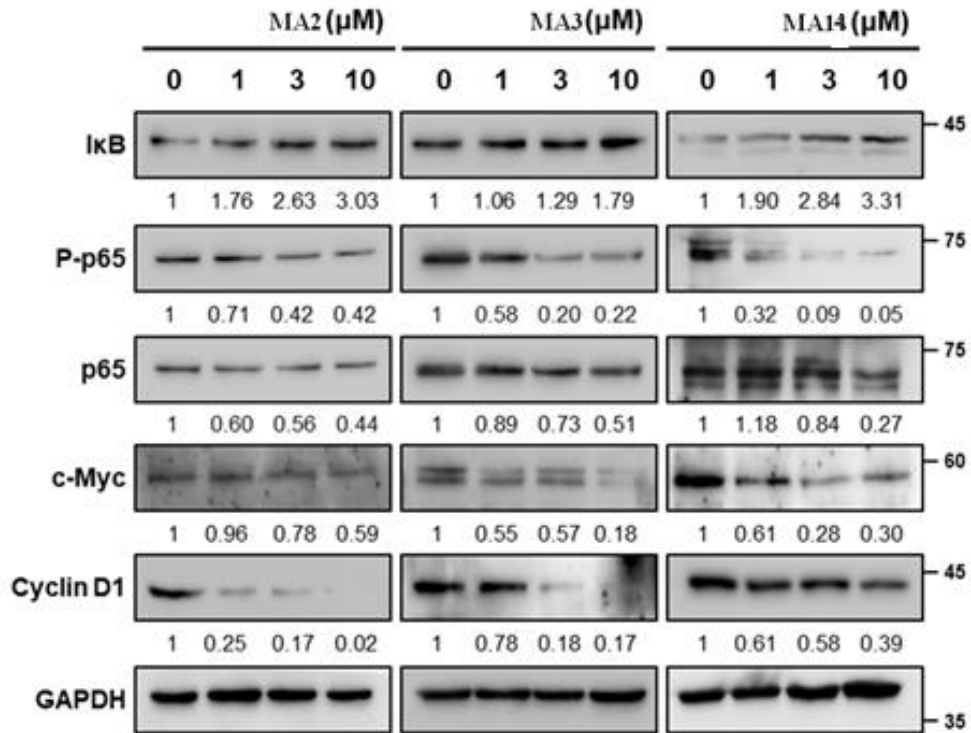
Hợp chất **MA14** được biết đến như một chất gây ức chế quá trình hoạt hóa NF- $\kappa$ B, gây ra bởi LPS [134]. Vì vậy, các hợp chất **MA2** và **MA3** được kiểm tra cùng **MA14** xem có khả năng ảnh hưởng đến con đường truyền tín hiệu NF- $\kappa$ B hay không.

**I $\kappa$ B** kinase là một phức hợp enzyme có liên quan đến việc truyền phản ứng của tế bào đối với chứng viêm, cụ thể là điều hòa tế bào lympho. Phức hợp enzyme I $\kappa$ B kinase là một phần của tầng tải nạp tín hiệu NF- $\kappa$ B ngược dòng. Protein I $\kappa$ B $\alpha$  làm bất hoạt yếu tố phiên mã NF- $\kappa$ B bằng cách che các tín hiệu định vị nhân của protein NF- $\kappa$ B và giữ chúng được cô lập ở trạng thái không hoạt động trong tế bào chất [139].

Yếu tố nhân **p65** (NF- $\kappa$ B p65) được mã hóa bởi gen RELA trên nhiễm sắc thể số 11 ở người và thuộc họ protein Rel. Nó là một trong hai tiểu đơn vị của NF- $\kappa$ B dị hóa với các tiểu đơn vị khác là p50 hoặc p52. Nó đặc biệt đóng một vai trò quan trọng trong việc phiên mã gen immunoglobulin kappa trong các tế bào bạch huyết B trưởng thành. **P-p65** là một kháng thể đơn dòng của thỏ đối với RELA, được phát hiện khi phosphoryl hóa NF- $\kappa$ B. Nó không phản ứng chéo với tiểu đơn vị p50 hoặc các protein liên quan khác. Do vậy, nó có các ứng dụng như kết tủa, hóa mô miễn dịch, miễn dịch huỳnh quang và Western blot [134].

Myc là một họ gen điều hòa và proto-oncogene mã hóa cho các yếu tố phiên mã. Họ Myc bao gồm ba gen liên quan đến con người: c-myc, l-myc và n-myc. **C-myc** là gen đầu tiên được phát hiện trong họ này, do tương đồng với gen virus v-myc. Trong bộ gen của con người, c-myc nằm trên nhiễm sắc thể số 8 và được cho là điều chỉnh biểu hiện của 15% tất cả các gen thông qua liên kết trên các trình tự tăng cường [140].

**Cyclin D1** là một loại protein ở người được mã hóa bởi gen CCND1. Gen này nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể 11. Cyclin D1 được gặp trong tất cả các mô của người trưởng thành ngoại trừ các tế bào có nguồn gốc từ dòng tế bào gốc tủy xương. Sự khuếch đại hoặc biểu hiện quá mức của cyclin D1 đóng vai trò then chốt trong sự phát triển của một nhóm bệnh ung thư ở người bao gồm u tuyến cận giáp, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư hạch, u ác tính và ung thư tuyến tiền liệt. Ngoài tính năng điều hòa phụ thuộc CDK của chu kỳ tế bào, cyclin D1 còn liên kết và điều chỉnh hoạt động của các yếu tố phiên mã, ức chế nhân và chi phối quá trình acetyl hóa [141].



**Hình 3.39. Ảnh hưởng của các hợp chất MA2, MA3, MA14 đến con đường tín hiệu NF-κB**

Các tế bào TOV-21G được xử lý bằng 0,1% DMSO (đối chứng) hoặc các hợp chất ở nồng độ được chỉ định trong 24 giờ. Tổng số tế bào ly giải đã được thực hiện quá trình miễn dịch với các kháng thể được chỉ định. Mức độ biểu hiện protein đã được định lượng theo GAPDH và mức độ kiểm soát được đặt ở mức 1.

Kết quả cho thấy hợp chất **MA2** và **MA3** làm giảm mức độ phosphoryl hóa NF-κB và NF-κB tổng, trong khi các hợp chất này làm tăng mức độ ức chế NF-κB (IκB) (Hình 3.39). Các gen đích NF-κB, c-myc và cyclin D1 đã giảm khi tế bào TOV-21G được xử lý với **MA2** và **MA3**. Mặt khác, con đường truyền tín hiệu NF-κB đã được báo cáo có liên quan đến sự sinh trưởng tế bào, quá trình apoptosis, viêm và hình thành khối u [139, 140, 142]. Do đó, các phát hiện này cho thấy tiềm năng ứng dụng của các hợp chất **MA2**, **MA3** và **MA14** để điều trị ung thư và các bệnh viêm nhiễm thông qua việc điều chỉnh NF-κB.

### 3.5.3. Đánh giá cơ chế kháng ung thư của các hợp chất có hoạt tính mạnh thông qua giảm biểu hiện ANO1

Anoctamin 1 (ANO1), là một loại protein ở người được mã hóa bởi gen ANO1, được biết đến như một kênh chloride kích hoạt calcium (CaCC). ANO1 được thể hiện rộng rãi trong các mô khác nhau và điều chỉnh nhiều hoạt động sinh lý như bài tiết tế bào biểu mô, co cơ trơn, tăng trưởng tế bào và truyền dẫn tế bào thần kinh. Đặc biệt, ANO1 được khuếch đại cao và biểu hiện ở nhiều loại ung thư biểu mô bao gồm ung

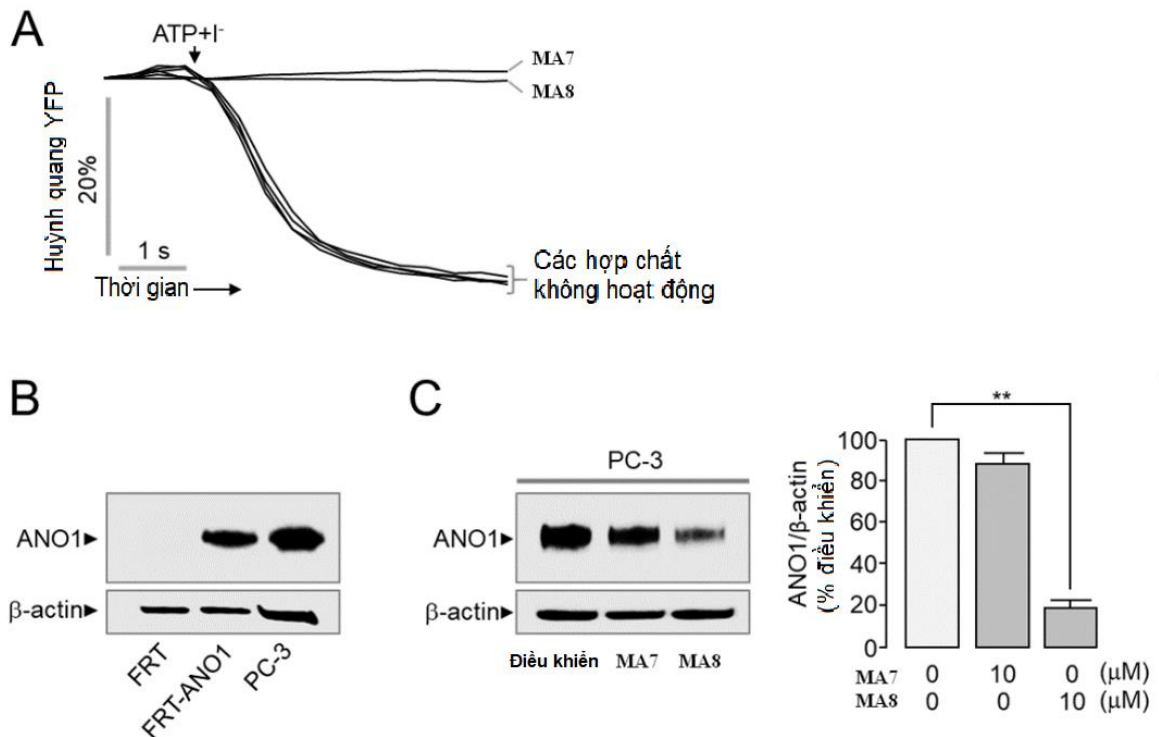
thư biểu mô tế bào vảy miệng, ung thư tuyến tiền liệt, vú và thực quản và có liên quan đến sự sinh trưởng, di căn và xâm lấn của tế bào ung thư. Mặc dù cơ chế cơ bản chưa rõ ràng, nhưng tác dụng chống ung thư của ức chế ANO1 đã được báo cáo trong một số nghiên cứu. Sự sinh trưởng tế bào, di căn và xâm lấn tế bào ung thư tuyến tiền liệt và ung thư miệng đã giảm đáng kể do ức chế chức năng kênh ANO1 và giảm mức protein ANO1. Ngoài ra, điều chỉnh giảm ANO1 với việc điều trị ANO1 shRNA làm giảm đáng kể sự phát triển khối u trong mô hình chuột xenograft ung thư tuyến tiền liệt [6]. Bằng chứng mới đây cho thấy rằng các chất ức chế ANO1 có thể là một phương pháp khả thi để điều trị ung thư tuyến tiền liệt, ung thư miệng và nhiều loại ung thư khác biểu hiện mức ANO1 cao. Cho đến nay, một số chất ức chế ANO1 đã được báo cáo, bao gồm CaCC<sub>inh</sub>-A01, T16A<sub>inh</sub>-A01, idebenone, tannic acid, Ani9 và Ani9-5f. Tuy nhiên cơ chế hoạt động và đặc tính dược lý của chúng vẫn chưa được hiểu đầy đủ và những chất ức chế này đang ở giai đoạn đầu của quá trình khám phá thuốc. Các sản phẩm tự nhiên là nguồn gốc của các chế phẩm thuốc khác nhau đã cho thấy tiềm năng dược lý như là tác nhân điều trị trong nhiều loại ung thư. Các hợp chất từ *M. apelta* (Lour.) cho thấy nhiều hoạt tính sinh học thú vị bao gồm kháng vi-rút, bảo vệ gan và gây độc tế bào. Trong đó, hoạt tính gây độc tế bào được cho là do sự có mặt của các hợp chất chromene. Do vậy, các hợp chất đã được phân lập, từ **MA1-MA19** được đánh giá về hoạt tính gây độc tế bào và tác dụng ức chế ANO1.

### 3.5.3.1. *Xác định và mô tả thuộc tính của các chất ức chế ANO1.*

**FRT** (Fisher Rat Thyroid) là dòng tế bào biểu mô kém biệt hóa có nguồn gốc từ tuyến giáp của chuột Fischer. Các tế bào FRT được phân cực tốt cả về hình thái và chức năng và trong số các dấu hiệu tuyến giáp chỉ biểu hiện Pax8 một miền được ghép nối có chứa protein được tìm thấy trong các tế bào tuyến giáp, thận và não. Dòng tế bào FRT cho phép nghiên cứu các vấn đề như: cơ chế thu nhận và duy trì tính phân cực trong các tế bào biểu mô, quá trình phân loại protein trong các tế bào phân cực và quá trình kiểm soát enzyme phiên mã đặc hiệu của tuyến giáp [112].

Actin là các protein được bảo tồn cao có liên quan đến sự vận động, cấu trúc và tính toàn vẹn của tế bào.  **$\beta$ -actin** là một trong sáu dạng đồng phân actin khác nhau đã được xác định ở người.  $\beta$ -actin đã được chứng minh là kích hoạt iNOS, do đó làm tăng sản xuất NO.  $\beta$ -actin thường được sử dụng trong phương pháp Western blot như một biện pháp kiểm soát tải trọng, để bình thường hóa tổng lượng protein và kiểm tra sự phân hủy protein cuối cùng trong các mẫu [113, 134].

Tác dụng ức chế ANO1 của các hợp chất **MA7**, **MA8**, **MA14**, **MA16**, **MA18** và **MA19** được đánh giá bằng phương pháp YFP (quenching assay) (F46L/H148Q/I152L) trong các tế bào FRT biểu hiện bền vững ANO1 người (Hình 3.40). Kết quả cho thấy cả hai hợp chất **MA7** và **MA8** đều thể hiện tác dụng ức chế ANO1 > 99% ở nồng độ 25  $\mu\text{M}$ , thể hiện ở cường độ tín hiệu huỳnh quang giảm dần và mất hoàn toàn theo thời gian sau khi được bổ sung ATP (Hình 3.40A). Biểu hiện của ANO1 ở dòng tế bào FRT, FRT-ANO1 và PC-3 được kiểm tra bằng Western blot và kết quả cho thấy chỉ có băng đặc hiệu với ANO1 được xác định ở dòng tế bào FRT-ANO1 và PC-3. Đáng chú ý, trên dòng tế bào PC-3, hợp chất **MA8** làm giảm biểu hiện ANO1 mạnh hơn so với **MA7**, mức độ biểu hiện của ANO1 khi tế bào được xử lý với **MA7** hoặc **MA8** đều giảm so với nhóm đối chứng. Ở nồng độ 10  $\mu\text{M}$ , biểu hiện **MA8** ức chế biểu hiện ANO1 thấp hơn có ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhóm đối chứng ( $P < 0,01$ ). Ở cùng nồng độ này thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa mẫu xử lý với **MA7** và mẫu đối chứng (Hình 3.40C).



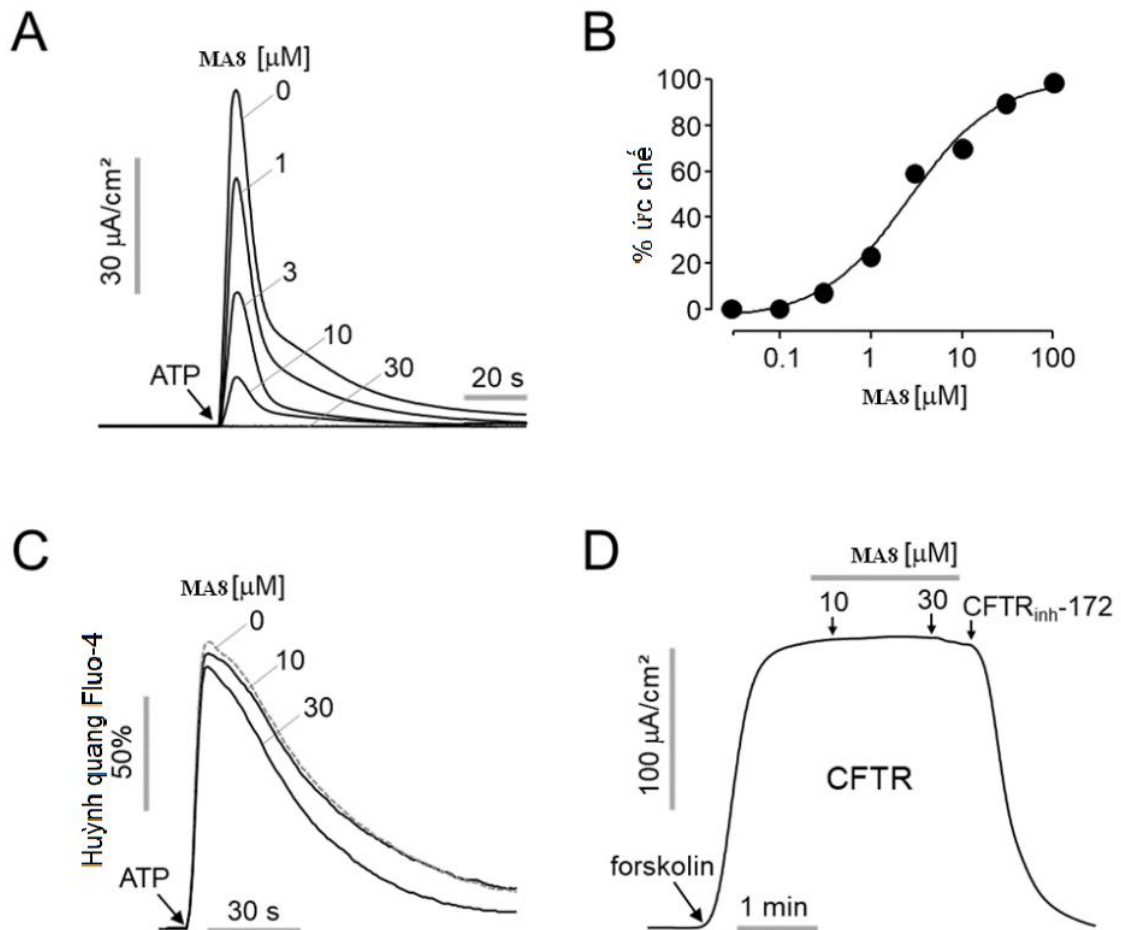
**Hình 3.40. Phát hiện các chất có tác dụng ức chế ANO1.**

(A) Tác dụng ức chế ANO1 của các hợp chất trên các tế bào FRT biểu hiện ANO1 người và YFP đột biến. Các tế bào đầu tiên được xử lý trước với các **MA7** và **MA8** ở 25  $\mu\text{M}$  trong 20 phút. ANO1 được kích hoạt bởi ATP 100  $\mu\text{M}$ . (B) Biểu hiện protein ANO1 trên các tế bào FRT, FRT-ANO1 và PC-3. (C) Tác dụng của **MA7** và **MA8** đến mức độ biểu hiện của protein ANO1 trên tế bào PC-3. Tế bào PC-3 được xử lý với **MA7** và **MA8** (10  $\mu\text{M}$ ) trong 24 giờ. (phải) Tóm tắt về cường độ dải tần. Cường độ dải ANO1 được chuẩn hóa thành  $\beta$ -actin (trung bình  $\pm$  S.E.,  $n = 3$ ). \*\*  $P < 0,01$ .

### 3.5.3.2. Tác dụng ức chế có chọn lọc ANO1 của MA8

Các hợp chất **MA7**, **MA8** và **MA14** ức chế khả năng sống của tế bào PC-3, với  $IC_{50}$  lần lượt là  $8,89 \pm 0,17$ ,  $7,29 \pm 0,20$  và  $1,60 \pm 0,05$  so với đối chứng dương, capecitabine (Xem Bảng 3.22). Trong số các chất này, **MA8** làm ngăn chặn mạnh hoạt động của kênh ANO1, giảm mức độ biểu hiện protein ANO1 trong tế bào và giảm cả khả năng sống của tế bào PC-3 nên được chọn để nghiên cứu sâu hơn.

Để khảo sát tác dụng ức chế kênh ANO1 chloride của **MA8**, dòng điện trên màng đỉnh được đo trên các tế bào FRT biểu thị ANO1 người. Kết quả được thể hiện ở Hình 3.41. Kết quả cho thấy hợp chất **MA8** có tác dụng ức chế mạnh đáng kể dòng điện ANO1 chloride, được kích hoạt bởi ATP với  $IC_{50}$  là  $2,64 \mu\text{M}$ . Để quan sát tác dụng của **MA8** lên con đường tín hiệu calcium, các tế bào FRT thêm vào chất chỉ thị calcium huỳnh quang, Fluo-4. Tiền xử lý **MA8** không làm thay đổi đáng kể sự gia tăng nồng độ calcium trong tế bào do ATP gây ra. Để đánh giá tác dụng ảnh hưởng lên kênh chloride khác của **MA8**, dòng điện màng đỉnh được đo bằng bộ điều khiển truyền qua màng sợi (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR) trên tế bào FRT biểu hiện ở người. Kết quả là **MA8** thể hiện tác dụng ức chế tối thiểu đối với hoạt động của kênh CFTR ở nồng độ  $30 \mu\text{M}$  cho thấy sự ức chế hoàn toàn ANO1.



**Hình 3.41. Tác dụng ức chế có chọn lọc của MA8.**

(A) Ảnh hưởng của MA8 lên dòng điện màng đỉnh quan sát được trong các tế bào FRT biểu hiện ANO1. MA8 được sử dụng ở các nồng độ trong 20 phút trước khi ANO1 hoạt hóa bởi ATP (100  $\mu\text{M}$ ). (B) Tác dụng ức chế của MA8 theo nồng độ (TB  $\pm$  SS, n = 3-4). (C) Ảnh hưởng của MA8 đến nồng độ calcium nội bào được đo bằng Fluo-4/NW ở tế bào FRT. Các tế bào được xử lý trước với MA8 (0, 10, 30  $\mu\text{M}$ ) trong 20 phút trước khi xử lý với ATP (100  $\mu\text{M}$ ). (D) Ảnh hưởng của MA8 lên hoạt động của kênh CFTR chloride quan sát được ở các tế bào FRT biểu hiện CFTR người. Dòng chloride CFTR được kích hoạt bởi 10  $\mu\text{M}$  forskolin và được ức chế bởi 10  $\mu\text{M}$  CFTR<sub>inh</sub>-172.

3.5.3.3. Tác dụng ức chế của MA8 đối với sự sinh trưởng và di chuyển tế bào trong tế bào PC-3 và CAL-27

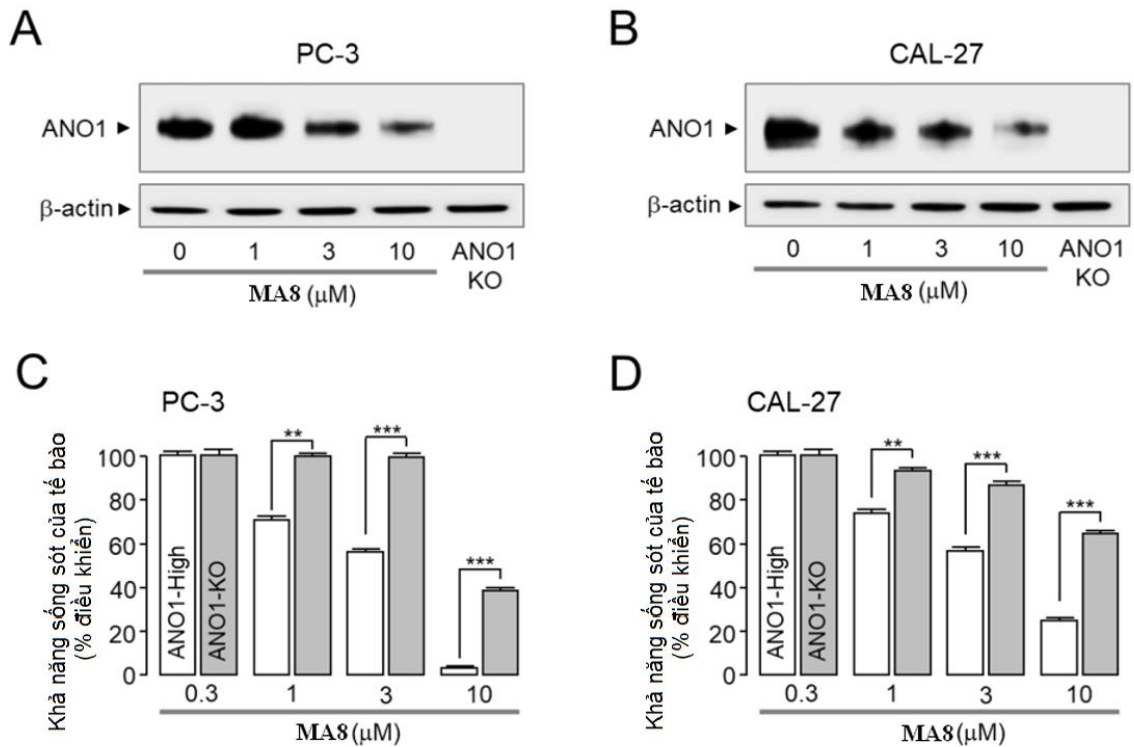
KO (knock out) là một kỹ thuật di truyền được sử dụng rộng rãi liên quan đến việc loại bỏ hoặc bất hoạt có mục tiêu một gen cụ thể trong bộ gen của sinh vật. Kỹ thuật này cho phép các nhà nghiên cứu nghiên cứu chức năng của một gen cụ thể trong cơ thể sống và hiểu được vai trò của gen đối với sự phát triển và sinh lý bình thường cũng như trong bệnh lý của các bệnh. Loại bỏ gen đã được sử dụng rộng rãi ở nhiều sinh vật khác nhau như vi khuẩn, nấm men, ruồi giấm, cá ngựa, chuột... Ở chuột, việc loại bỏ gen thường được sử dụng để nghiên cứu chức năng của các gen

cụ thể trong quá trình phát triển, sinh lý học và nghiên cứu ung thư [139]. Các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng ức chế của **MA8** được tiến hành trên tế bào ANO1 KO.

**Cal-27** là dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến vảy miệng được phân lập vào năm 1982 từ mô trước khi điều trị cho một người đàn ông da trắng 56 tuổi bị tổn thương ở giữa lưỡi. Các tế bào CAL 27 là biểu mô hình đa giác và có nhiều hạt, thời gian nhân đôi là 45 giờ, bám dính và phát triển theo kiểu đơn lớp. Chúng kháng với điều trị bằng vindesine sulfate, *cis*-platin hoặc actinomycin D. Vì vậy, chúng là một trong số những dòng tế bào ung thư được nghiên cứu phổ biến nhất [143].

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng thuốc phong tỏa ANO1 ức chế sự sinh trưởng tế bào của tế bào ung thư tuyến tiền liệt di căn và tế bào ung thư biểu mô tuyến vảy miệng [144, 145]. Trong nghiên cứu này, **MA8** gây ra sự giảm đáng kể biểu hiện protein ANO1 trên dòng tế bào PC-3 và CAL-27, mức độ giảm biểu hiện ANO1 tỉ lệ nghịch với nồng độ **MA8**. Biểu hiện ANO1 giảm mạnh nhất khi **MA8** ở nồng độ 10  $\mu\text{M}$  đối với cả 2 dòng tế bào PC-3 và CAL-27 (Hình 3.42 A và B). Ngoài ra, **MA8** làm giảm đáng kể khả năng sống của tế bào trong tế bào PC-3, CAL-27 và gây độc tế nhẹ ở tế bào ANO1 KO (Hình 3.42 C và D). Đáng chú ý, **MA8** không ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào ANO1 KO PC-3 ở nồng độ 3  $\mu\text{M}$  cho thấy tác dụng gây độc tế bào có ý nghĩa trên tế bào PC-3 biểu hiện ANO1. **MA8** cũng làm giảm mạnh khả năng sống của tế bào CAL-27 biểu hiện ANO1, nhưng không phải trong tế bào ANO1 KO CAL-27.

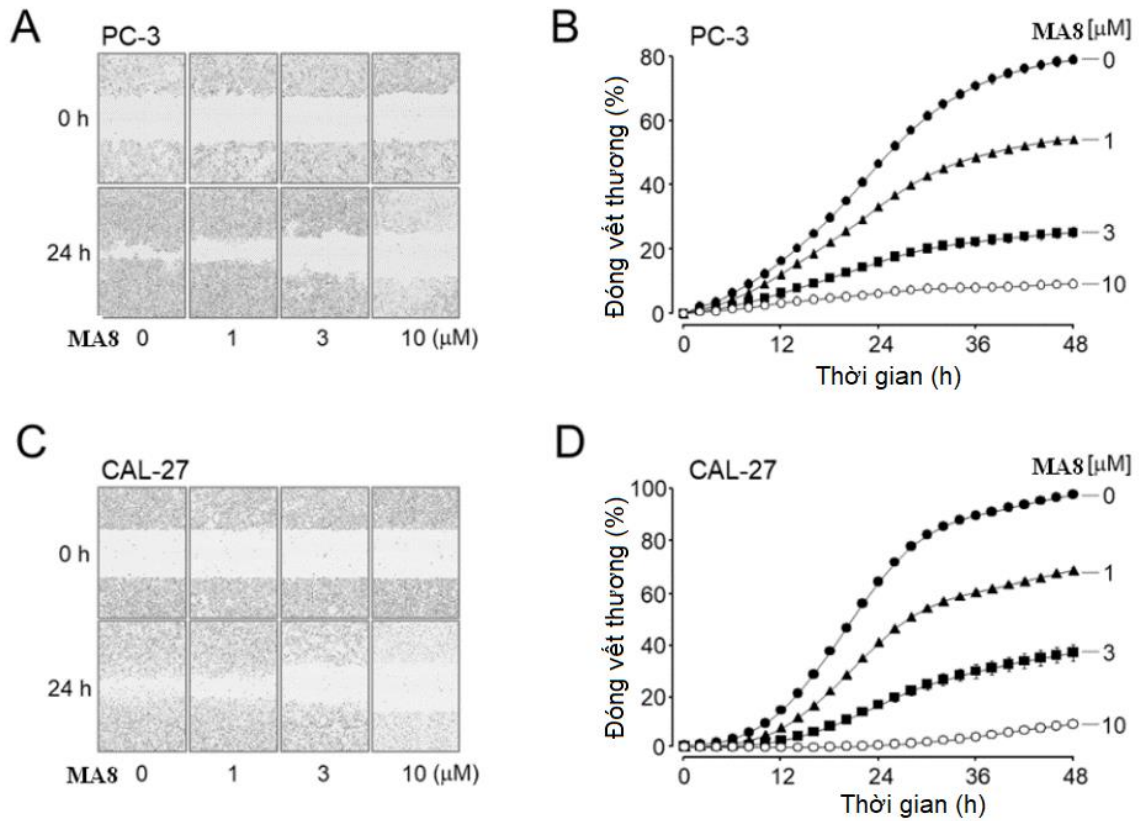




**Hình 3.42. Ảnh hưởng của MA8 đối với mức độ biểu hiện của protein ANO1 và khả năng sống của tế bào trong tế bào PC-3, CAL-27.**

(A, B) Phân tích Western blot ANO1 trong các tế bào PC-3 và CAL-27 được xử lý với MA8 biểu hiện ANO1. Tế bào được nuôi cấy với MA8 trong 24 giờ. Tế bào loại trực tiếp (KO) ANO1 được thiết lập bằng kỹ thuật CRISPR/Cas9. (C, D) Ảnh hưởng của MA8 đến khả năng sống của tế bào PC-3, ANO1 KO PC-3, CAL-27 và ANO1 KO CAL-27. MA8 được xử lý ở các nồng độ khác nhau trong 72 giờ và khả năng sống của tế bào được xác định bằng phương pháp MTS ( $TB \pm SS$ ,  $n = 5$ ). \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

Để xác định MA8 có ức chế sự di chuyển của tế bào ung thư hay không, thí nghiệm chữa lành vết thương được thực hiện tiếp trên các dòng tế bào PC-3 và CAL-27. Kết quả cho thấy biểu hiện cao ANO1. MA8 ở nồng độ 1, 3 và 10  $\mu\text{M}$  ức chế mạnh sự di chuyển của các tế bào PC-3 lần lượt là 31,3, 68,0 và 88,3 %, tế bào CAL-27 lần lượt là 31,8, 64,0 và 87,5 %. (Hình 3.43).



**Hình 3.43.** Ảnh hưởng của MA8 đến sự di chuyển của tế bào PC-3 và CAL-27.

Tế bào được xử lý bằng MA8 trong 48 giờ và hình ảnh đại diện được chụp ở 0 giờ và 24 giờ sau khi tạo vết thương ( $\times 10$ ). Các thí nghiệm lặp lại 3 lần độc lập. (A, B) Thử nghiệm chữa lành vết thương được thực hiện trên dòng tế bào PC-3. (C, D) Thử nghiệm chữa lành vết thương được thực hiện trong các tế bào CAL-27.

#### 3.5.3.4. Ảnh hưởng của MA8 đến sự tăng hoạt động caspase-3 và sự phân tách PARP trong các tế bào PC-3 và CAL-27

**Apoptosis** là một dạng tế bào tự chết, khác với hoại tử, trong đó các tế bào chết do bị thương. Đây là một quá trình có trật tự, trong đó các chất bên trong tế bào bị phá vỡ và được đóng thành các gói màng nhỏ để tế bào miễn dịch “thu gom rác thải”. Apoptosis giúp loại bỏ các tế bào trong quá trình phát triển cũng như tiêu diệt các tế bào tiền ung thư và nhiễm virus. Do vậy, nó có vai trò đặc biệt quan trọng với hệ miễn dịch. Sự ức chế được lý đối với protein ANO1 gây ra quá trình apoptosis ở các tế bào ung thư khác nhau [139, 146].

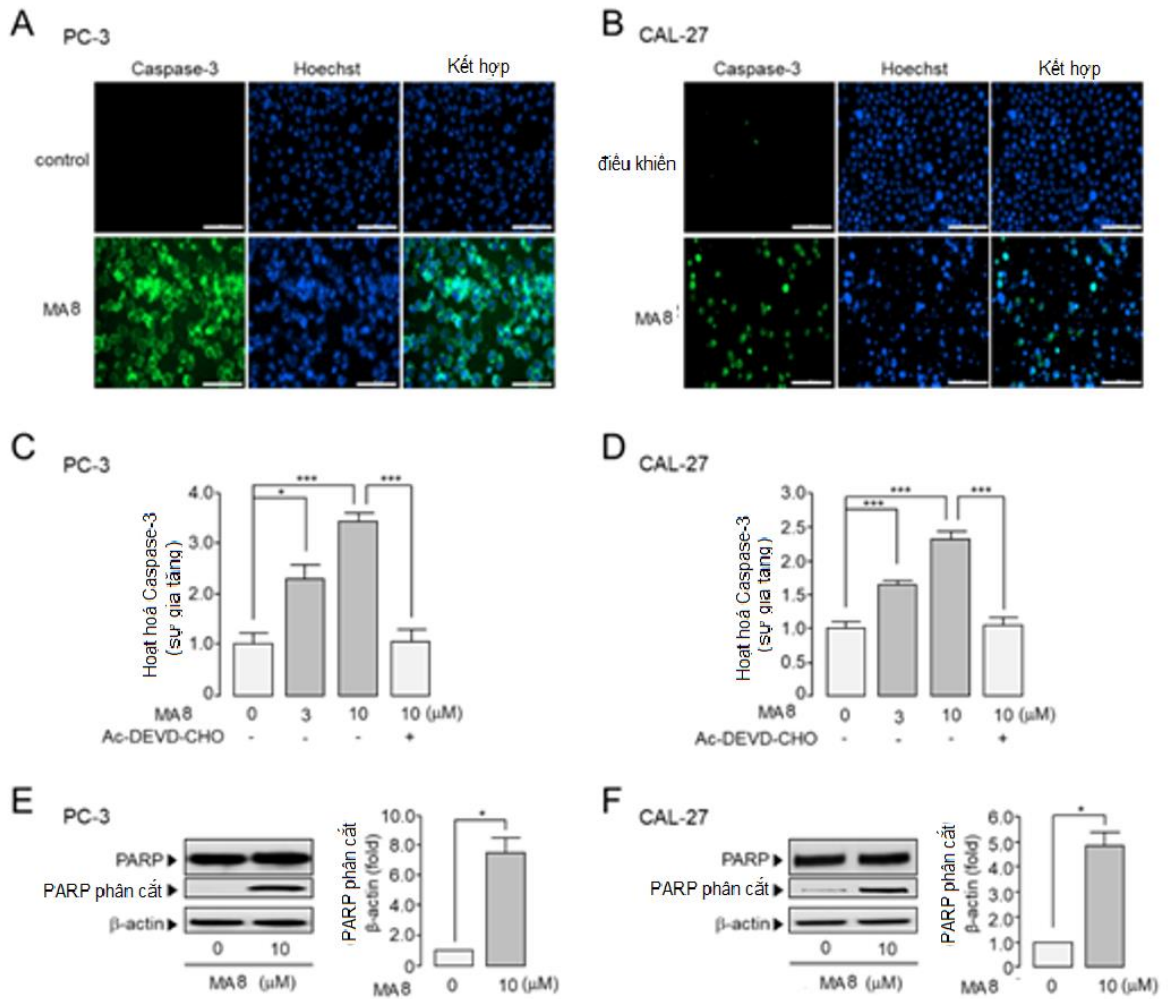
**PARP** (Poly ADP ribose polymerase) là một enzym đóng vai trò phục hồi tổn thương ADN và ngăn chặn quá trình tự hủy của tế bào trong cơ thể. Khi cơ thể bị ung thư, các tế bào tiếp quản cả chức năng này của PARP và lợi dụng nó để giúp cho khối u phát triển. Nếu con người hiểu sâu được cơ chế nói trên hay lợi dụng PARP để tiêu diệt tế bào ung thư sẽ có tác dụng chữa khỏi bệnh.

Caspase (cysteine-aspartic protease) là một họ của protease cysteine, có vai trò quan trọng đối với sự chết rụng tế bào trong giai đoạn sinh trưởng và phát triển của

một cá thể trưởng thành. Một số caspase cũng tham gia vào hoạt động của hệ miễn dịch trong quá trình trưởng thành của lympho bào. Trong đó **caspase-3** là một protein caspase tương tác với caspase-8 và caspase-9. Nó được mã hóa bởi gen CASP3. **AC-DEVD-CHO** (hay Acetyl-Asp-Glu-Val-Asp-CHO) là chất ức chế đặc hiệu cao, mạnh và có thể đảo ngược caspase-3 [147].

**Hoechst** (hoechst 33342 hay bisbenzimidazole) là một hợp chất hữu cơ được sử dụng làm chất nhuộm huỳnh quang cho DNA trong các ứng dụng sinh học phân tử. Nó có xu hướng liên kết với các DNA giàu adenine – thymine và có thể làm giảm mật độ của các DNA đó. Hoechst được trộn với các mẫu DNA và sử dụng để tách DNA theo phần trăm AT của chúng bằng cách sử dụng ly tâm gradient cesium chloride (CsCl) [148]. Trong thí nghiệm này, hoechst được sử dụng để làm sáng các tế bào chết, giúp cho việc quan sát quá trình phân rã được dễ dàng hơn.

Sự ức chế được lý đối với protein ANO1 gây ra quá trình apoptosis ở các tế bào ung thư khác nhau [146]. Để kiểm tra xem **MA8** có gây ra apoptosis ở các tế bào PC-3 và CAL-27 biểu hiện mức ANO1 cao hay không, tác động của **MA8** lên hoạt động của caspase-3 và sự phân cắt PARP đã được quan sát thấy trong các tế bào này. Kết quả cho thấy **MA8** làm tăng mạnh các tế bào dương tính với caspase-3 ở các dòng tế bào PC-3 và CAL-27 (Hình 3.44 A và B). Hoạt động của caspase-3 được tăng lên đáng kể bởi **MA8** và thể hiện sự phụ thuộc vào liều lượng trong các tế bào PC-3 và CAL-27, sự gia tăng **MA8** gây ra hoạt động caspase-3 bị ức chế hoàn toàn bởi AC-DEVD-CHO, một chất ức chế caspase-3 đặc hiệu (Hình 3.44 C và D). Ngoài ra, xử lý **MA8** làm tăng đáng kể PARP-1 bị phân cắt trong các tế bào PC-3 và CAL-27.



**Hình 3.44. Ảnh hưởng của MA8 đến hoạt động của caspase-3 và sự phân cắt PARP trong tế bào PC-3, CAL-27.**

(A, B) Hình ảnh được chụp sau 24 giờ ủ với MA8. Chất nền Caspase-3 (xanh lá cây, 2,0 μM) và Hoechst 33342 (xanh lam, 1 μM) được xử lý trong 20 phút trước khi chụp. Thanh màu trắng thể hiện chiều dài 200 μm. (C, D) Tế bào được nuôi cấy với MA8 ở nồng độ khác nhau trong 24 giờ, sau đó 2 μM cơ chất caspase-3 được xử lý trong 20 phút. Hoạt tính của caspase-3 bị ức chế bởi 10 μM Ac-DEVD-CHO (TB ± SS., n = 3-4). (E, F) Tế bào được nuôi cấy với 10 μM MA8 trong 24 giờ và mức độ biểu hiện của PARP, β-actin xác định bằng Western blot (TB ± SS., n = 3). \* P < 0,05 \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001.

Sự khuếch đại và biểu hiện quá mức protein ANO1 đã được báo cáo trong các trường hợp ung thư biểu mô khác nhau [149-151]. Bằng chứng gần đây cho thấy ANO1 là mục tiêu điều trị tiềm năng cho một số bệnh ung thư như ung thư tuyến tiền liệt, miệng, vú và tuyến tụy [150, 152, 153]. Trong nghiên cứu này, việc sàng lọc trên các dòng tế bào được thực hiện để xác định hoạt tính ức chế ANO1 mới từ chiết xuất methanol của *M. apelta* và phát hiện ra MA8 là có tác dụng ức chế ANO1 thực sự. Các báo cáo trước đây cho thấy chất ức chế ANO1 có thể điều chỉnh sự tiến triển của

ung thư thông qua điều chỉnh giảm ANO1 trong nhiều loại tế bào ung thư. Các chất ức chế ANO1 đã làm giảm khả năng sống của tế bào trong ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào vảy ở đầu - cổ (HNSCC) và ung thư biểu mô tế bào vảy thực quản (ESCC) bằng cách ức chế hoạt động của protein kinase II phụ thuộc  $Ca^{2+}$ /calmodulin (CAMKII) cũng như sự biểu hiện thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (Epithelial growth factor receptor-EGFR) [150, 154]. Ngoài ra, sự biểu hiện quá mức của ANO1 còn có tác dụng thúc đẩy sự phát triển của khối u bằng cách kích hoạt đường truyền tín hiệu AKT/SRC/ERK1/2 qua trung gian EGFR hoặc đường truyền tín hiệu Ras-Raf-MEK-ERK1/2 [155, 156]. Như vậy, ANO1 có thể là mục tiêu thuốc tiềm năng quan trọng trong điều trị ung thư thông qua sử dụng các chất ức chế ANO1 có thể đem lại kết quả khả quan làm giảm tăng trưởng các khối u ác tính.

*M. apelta* phân bố nhiều ở Trung Quốc và Việt Nam, vốn được sử dụng trong y học cổ truyền để chữa viêm gan mãn tính, bệnh bạch cầu và viêm đại tràng. Chất flavonoid chiết xuất từ lá *M. apelta* có hoạt tính chống oxy hóa và ức chế quá trình xơ hóa gan trong quá trình xơ hóa do carbon tetrachloride ( $CCl_4$ ) gây ra ở chuột thông qua điều chỉnh các con đường tín hiệu TGF-beta/Smad và NF- $\kappa$ B [157]. Các dẫn xuất benzopyran từ *M. apelta* cho thấy tác dụng gây độc tế bào đối với dòng Hep-G2 và RD [3, 68]. Những kết quả này cho thấy chiết xuất *M. apelta* có thể chứa các hoạt chất hữu ích là tác nhân tiềm năng trong điều trị ung thư. Trong nghiên cứu này, **MA8** đã được xác định là một chất có hoạt tính là từ chiết xuất methanol của *M. apelta* với tác dụng ức chế mạnh lên ANO1. Đồng thời **MA8** không chỉ ức chế hoạt động của kênh chloride ANO1 mà còn làm giảm đáng kể lượng protein ANO1 trong các tế bào PC-3 và CAL-27. Đáng chú ý, **MA8** làm giảm đáng kể khả năng sống sót của các tế bào PC-3 và CAL-27 có biểu hiện ANO1, nhưng ngược lại chỉ có tác dụng ức chế tối thiểu đối với khả năng sống sót của các của tế bào ANO1-KO-PC-3 và tế bào CAL-27 (không biểu hiện ANO1) thậm chí ở nồng độ lên tới 3  $\mu$ M.

Nghiên cứu đã chỉ ra rằng idebenone, luteolin và Ani9-5f làm giảm đáng kể cả hoạt động của kênh ANO1 cùng với mức độ biểu hiện protein, đồng thời chúng cho thấy sự ức chế mạnh mẽ khả năng sống sót của tế bào trong các tế bào PC-3 biểu hiện mức ANO1 cao [12, 13, 17, 35]. Tuy nhiên, kaempferol và Ani9, chỉ có khả năng ức chế hoạt động của kênh ANO1 với tác dụng tối thiểu, cho thấy tác dụng ức chế yếu đối với khả năng tồn tại của tế bào PC-3 [112, 158]. Những phát hiện này chỉ

ra rằng việc giảm mức độ biểu hiện protein của ANO1 có thể quan trọng hơn trong việc thể hiện tác dụng chống ung thư hơn là ngăn chặn hoạt động của kênh ANO1. Do đó, **MA8** có thể có tác dụng ức chế mạnh đối với khả năng tồn tại của tế bào PC-3, bởi vì nó có khả năng làm giảm không chỉ hoạt động của kênh ANO1 mà còn cả mức độ biểu hiện protein của ANO1. Ngoài ra, **MA8** làm giảm đáng kể tốc độ di chuyển tế bào của các tế bào PC-3 và CAL-27 có biểu hiện ANO1 (Hình 3.42), đồng thời tăng hoạt động caspase-3 và phân cắt PARP, đây là những tín hiệu của quá trình chết theo chương trình. Tổng kết những dữ liệu thu được, kết quả cho thấy bằng chứng **MA8** thể hiện độc tính mạnh đối với ung thư tuyến tiền liệt và ung thư miệng, ít nhất một phần đến từ quá trình chết theo chương trình, thông qua ức chế ANO1.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

1. Từ lá loài *Mallotus apelta* thu hái tại Ngọc Thanh, Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc, sau khi xử lý ngâm, chiết và tiến hành phân lập bằng các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại, đã có 21 hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học. Cụ thể là:

- 14 hợp chất mới là (+)-malloapelta C (**MA1a**) và (-)-malloapelta C (**MA1b**), (-)-malloapelta D (**MA2a**) và (+)-malloapelta D (**MA2b**), malloapelta E (**MA3**), malloapelta F (**MA4**), malloapelta G (**MA5**), malloapelta H (**MA6**), malloapelta I (**MA7**), malloapelta II (**MA8**), malloapelta J (**MA9**), malloapelta K (**MA10**), malloapelta L (**MA11**) và malloflavoside (**MA12**). Trong đó đã sử dụng hệ thống HPLC với cột đối quang để phân tách được 4 chất đối quang là **MA1a**, **MA1b** và **MA2a**, **MA2b** từ 2 hỗn hợp racemic. Các hợp chất này đều là chất mới và xác định được cấu hình tuyệt đối bằng phương pháp phổ CD thực nghiệm kết hợp với phương pháp tính toán.

- 7 hợp chất đã biết, bao gồm: apigenin 6-*C*- $\beta$ -D-xylopyranosyl-8-*C*- $\alpha$ -L-arabinopyranoside (**MA13**), malloapelta B (**MA14**), schaftoside (**MA15**), apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside (**MA16**), apigenin 7-*O*- $\beta$ -D-apiofuranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**MA17**), blumenol C glucoside (**MA18**) và acantrifoside E (**MA19**).

2. Đã nghiên cứu tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư của tất cả các hợp chất phân lập được từ loài *Mallotus apelta*. Kết quả thu được như sau:

- Hợp chất **MA14**, **MA2** và **MA3** kháng ung thư rất tốt trên cả 4 dòng tế bào PC-3, MCF-7, HT-29 và TOV-21G với  $IC_{50} < 5 \mu M$ . Bên cạnh đó, **MA4**, **MA7** và **MA8** cũng kháng tốt trên ba dòng PC-3, MCF-7 và HT-29 với  $IC_{50} < 10 \mu M$ .

- Các hợp chất phân lập **MA2**, **MA3** và **MA14** được phát hiện ức chế sự phát triển tế bào ung thư buồng trứng TOV-21G thông qua yếu tố apoptosis và bất hoạt yếu tố nhân NF- $\kappa$ B. Điều này được kết luận dựa trên việc làm tăng biểu hiện của các protein Bak, pro-apoptotic Bax, giảm biểu hiện protein Bcl-xL và kháng apoptosis survivin. Hơn nữa **MA2** và **MA3** cũng làm giảm mức độ phosphoryl hóa NF- $\kappa$ B và NF- $\kappa$ B tổng, đồng thời giảm các gen đích NF- $\kappa$ B, c-myc và cyclin D1.

- Cả hai hợp chất **MA7** và **MA8** đều thể hiện tác dụng ức chế ANO1 > 99% trong các tế bào FRT ở nồng độ 25  $\mu M$ . Đáng chú ý, trên dòng tế bào PC-3, hợp chất **MA8** làm giảm biểu hiện ANO1 mạnh hơn so với **MA7**. Điều này phù hợp với kết

quả khảo sát tác dụng ức chế kênh ANO1 chloride và con đường tín hiệu calcium. **MA8** ở nồng độ 10  $\mu$ M cũng được kết luận là giảm sự sinh trưởng và di chuyển trong tế bào PC-3 và CAL-27, dựa trên kết quả thí nghiệm với các tế bào tế bào ANO1 KO. Ngoài ra **MA8** làm tăng hoạt động caspase-3 và phân cắt PARP, đây là những tín hiệu của quá trình chết theo chương trình.

### KIẾN NGHỊ

Cả hai hợp chất **MA7** và **MA8** đều giảm quá trình sinh trưởng và di chuyển trong tế bào PC-3 và CAL-27, thông qua giảm biểu hiện ANO1, trong đó MA8 biểu hiện tốt hơn. Ngoài ra **MA8** làm tăng hoạt động caspase-3 và phân cắt PARP, xúc tiến sự chết theo chương trình. Vì vậy, cần có nghiên cứu sâu hơn về cơ chế tác dụng của hợp chất **MA8**, nhằm phát hiện tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư.



**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đ.H. Bích, Đ.Q. Chung, B.X. Chương, N.T. Dong, Đ.T. Đàm, P.V. Hiền, V.N. Lộ, P.D. Mai, P.K. Mãn, Đ.T. Như, N. Tập, T. Toàn, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2004, Hà Nội.
2. C.V. Minh, P.V. Kiem, L.Đ. Moi, P.Q. Long, N.T.K. Thanh, N.X. Cuong, N.H. Nam, *Mallotus genus: Chemistry, biological activity, and fingerprint chromatography*, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 2009, Hà Nội.
3. C. Riviere, N.T.H. Van, T.H. Quang, G. Chataigne, N.H. Nam, B. Dejaeger, C. Tistaert, N.T.K. Thuy, Y. Vander Heyden, C.V. Minh, J. Quetin-Leclercq, *Mallotus species from Vietnamese mountainous areas: phytochemistry and pharmacological activities*, *Phytochemistry Reviews*, 2010, 9, 217-253.
4. L.V. Chinh, C.V. Minh, J.L. Joon, S.J. Hun, *Exploration of essential structure of malloapelta B for the inhibitory activity against TNF induced NF- $\kappa$ B activation*, *Archives of Pharmacal Research*, 2006, 29, 840-844.
5. J. Wang, Z. Chen, S. Wang, *Malloapeltic acid, a new benzopyran derivative from Mallotus apelta*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2010, 46, 7-9.
6. Y.A.N. Tchangoue, J. Tchangoue, P.K. Lunga, J. Knepper, R. Paltinean, K. Ibrom, G. Crisan, S.F. Kouam, M.S. Ali, S. Schulz, *Antibacterial phloroglucinols derivatives from the leaves of Mallotus oppositifolius (Geisler) Mull. Arg. (Euphorbiaceae)*, *Fitoterapia*, 2020, 142, 104527.
7. X. Huang, M. Xu, T. Shirahata, W. Li, K. Koike, A. Kojima-Yuasa, I. Yuasa, Y. Kobayashi, *Anti-steatosis compounds from leaves of Mallotus furetianus*, *Natural Product Research*, 2018, 32, 1459-1462.
8. K. Wei, W. Li, K. Koike, L. Liu, X. Fu, L. Lin, Y. Chen, T. Nikaido, *Two new galloylglucosides from the leaves of Mallotus furetianus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2004, 52, 776-779.
9. Y. Zhang, H. Chen, D. Zhou, W. Liu, G. Zhang, L. Hao, C. Li, R. Yang, S. Deng, J. Li, X. Huang, *Paxiiones A-D, four new flavonoids from the stem of Mallotus paxii Pamp*, *Phytochemistry Letters*, 2020, 37, 70-74.

10. F.A. Kabran, T.A. Okpekon, F. Roblot, B. Seon-Meniél, K. Leblanc, C. Bories, P. Champy, S.F. Yolou, P.M. Loiseau, L.A. Djakoure, B. Figadere, A. Maciuk, *Bioactive phloroglucinols from Mallotus oppositifolius*, *Fitoterapia*, 2015, 107, 100-104.
11. P.V. Kiem, C.V. Minh, H.T. Huong, N.H. Nam, J.J. Lee, Y.H. Kim, *Chemical investigation and biological studies of Mallotus apelta III-New chromene derivative from Mallotus apelta*, *Vietnam Journal of Chemistry*, 2005, 43, 652-656.
12. S. Cheenpracha, S.G. Pyne, B.O. Patrick, R.J. Andersen, W. Maneerat, S. Laphookhieo, *Mallopinins A-E, antibacterial phenolic derivatives from the fruits of Mallotus philippensis*, *Journal of Natural Products*, 2019, 82, 2174-2180.
13. N.X. Yang, G.Y. Liang, P.X. Cao, *Two new coumarinlignoids from Mallotus repandus (Willd) Müll. Arg*, *Natural Product Research and Development*, 2014, 26, 983-986.
14. T. Lu, S. Deng, C. Li, L. Wu, R. Yang, J. Li, *A new chromone from the twig of Mallotus apelta*, *Natural Product Research*, 2014, 28, 1864-1868.
15. M. Arisawa, A. Fujita, N. Morita, T. Okuyama, H. Nishino, *Inhibition of tumor promoter-enhanced 3H-choline incorporation into cellular phospholipids by phloroglucinol derivatives from Mallotus japonicus*, *Journal of Natural Products*, 1991, 54, 1409-1412.
16. M. Arisawa, A. Fujita, H. Bai, A. Nagasaki, K. Morikoshi, N. Morita, *Studies on cytotoxic constituents in leaves of Mallotus japonicus (Euphorbiaceae)*, *Shoyakugaku Zasshi*, 1990, 44, 179-182.
17. J. Ma, S.H. Jones, S.M. Hecht, *A coumarin from Mallotus resinousus that mediates DNA cleavage*, *Journal of Natural Products*, 2004, 67, 1614-1616.
18. Y. Zhang, D. Zhou, W. Liu, C. Li, L. Hao, G. Zhang, S. Deng, R. Yang, J. Qin, J. Li, W. Deng, *Cytotoxic activity and related mechanisms of prenylflavonoids isolated from Mallotus conspurcatus Croizat*, *Chemistry & Biodiversity*, 2019, 16, e1800465.

19. P.M. Giang, V.M. Trang, S. Kawakami, H. Otsuka, *(2S)-Prenylflavanones and taraxerane triterpenoids from Mallotus mollissimus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 2017, 73, 22-25.
20. S.F.H. Zaidi, I. Yoshida, F. Butt, M.A. Yusuf, K. Usmanhani, M. Kadowaki, T. Sugiyama, *Potent bactericidal constituents from Mallotus philippinensis against clarithromycin and metronidazole resistant strains of Japanese and Pakistani Helicobacter pylori*, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2009, 32, 631-636.
21. M. Furusawa, Y. Ido, T. Tanaka, T. Ito, K.I. Nakaya, I. Ibrahim, M. Ohyama, M. Iinuma, Y. Shirataka, Y. Takahashi, *Novel, complex flavonoids from Mallotus philippensis (Kamala tree)*, *Helvetica Chimica Acta*, 2005, 88, 1048-1058.
22. J.E. Lee, N.T.T. Thuy, Y. Lee, N. Cho, H.M. Yoo, *An antiproliferative ent-Kaurane diterpene isolated from the roots of Mallotus japonicus induced apoptosis in leukemic cells*, *Natural Product Communications*, 2020, 15, 1934578X19897496.
23. N.T. Mai, N.X. Cuong, N.P. Thao, N.H. Nam, N.H. Khoi, C.V. Minh, V.H. Yvan, N.T. Thuan, N.V. Tuyen, J.Q. Leclercq, P.V. Kiem, *A new lignan dimer from Mallotus philippensis*, *Natural Product Communications*, 2010, 5, 423-426.
24. V.M. Trang, L.T. Huong, P.M. Giang, P.T. Son, *Phenolic compounds from Mallotus barbatus (Wall.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae)*, *Vietnam Journal of Chemistry*, 2010, 48, 632-636.
25. K. Hosokawa, A. Hishida, S. Nishiumi, E. Fukushi, J. Kawabata, H. Ashida, *Isolation and identification of compounds with dioxin-induced AhR transformation inhibitory activity from the leaves of Mallotus japonicus (Thunb.) Müll. Arg*, *Journal of Medicinal Plant Research*, 2019, 13, 167-172.
26. C. Riviere, N.T.H. Van, N.H. Nam, B. Dejaegher, C. Tistaert, P.V. Kiem, Y. Vander Heyden, C.V. Minh, J. Quetin-Leclercq, *N-methyl-5-carboxamide-2-pyridone from Mallotus barbatus: A chemosystematic marker of the Euphorbiaceae genus Mallotus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, 44, 212-215.

27. P.V. Kiem, N.T. Mai, C.V. Minh, N.H. Khôi, N.H. Đang, N.P. Thao, N.X. Cuong, N.H. Nam, N.X. Nhiem, Y.V. Heyden, J.Q. Leclercq, G.N. Kim, H.D. Jang, Y.H. Kim, *Fred S Wouters*, *Archives of Pharmacal Research*, 2010, 33, 203-208.
28. C. Riviere, V.N.T. Hong, L. Pieters, B. Dejaegher, Y. Vander Heyden, M.C. Van, J. Quetin-Leclercq, *Polyphenols isolated from antiradical extracts of Mallotus metcalfianus*, *Phytochemistry*, 2009, 70, 86-94.
29. R.R. Kulkarni, S.G. Tupe, S.P. Gample, M.G. Chandgude, D. Sarkar, M.V. Deshpande, S.P. Joshi, *Antifungal dimeric chalcone derivative kamalachalcone E from Mallotus philippinensis*, *Natural Product Research*, 2014, 28, 245-250.
30. Q. Hong, D.E. Minter, S.G. Franzblau, M. Arfan, H. Amin, M.G. Reinecke, *Anti-tuberculosis compounds from Mallotus philippinensis*, *Natural Product Communications*, 2010, 5, 211-217.
31. T. Tanaka, T. Ito, M. Iinuma, Y. Takahashi, H. Naganawa, *Dimeric chalcone derivatives from Mallotus philippinensis*, *Phytochemistry*, 1998, 48, 1423-1427.
32. A. Daikonya, S. Katsuki, S. Kitanaka, *Antiallergic agents from natural sources 9. Inhibition of nitric oxide production by novel chalcone derivatives from Mallotus philippinensis (Euphorbiaceae)*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2004, 52, 1326-1329.
33. M. Afzal, L. Zhang, R.J. Cox, N. Muhammad, S. Khan, *Isolation of two new mallotoates with antifungal and radical scavenging activities from Mallotus philippinensis Müll*, *Asian Journal of Chemistry*, 2015, 27, 3891-3894.
34. A. Daikonya, S. Katsuki, J.B. Wu, S. Kitanaka, *Anti-allergic agents from natural sources (4): Anti-allergic activity of new phloroglucinol derivatives from Mallotus philippinensis (Euphorbiaceae)*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 50, 1566-1569.
35. M. Arisawa, A. Fujita, R. Suzuki, T. Hayashi, N. Morita, N. Kawano, S. Koshimura, *Studies on cytotoxic constituents in pericarps of Mallotus japonicus, part I*, *Journal of Natural Products*, 1985, 48, 455-459.

36. M. Arisawa, A. Fujita, M. Saga, T. Hayashi, N. Morita, N. Kawano, S. Koshimura, *Studies on cytotoxic constituents in pericarps of Mallotus japonicus. Part II*, Journal of Natural Products, 1986, 49, 298-302.
37. R. Ishii, M. Horie, K. Saito, M. Arisawa, K. Susumu, *Inhibitory effects of phloroglucinol derivatives from Mallotus japonicus on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, activated by lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$* , Biochimica et Biophysica Acta, 2001, 1568, 74-82.
38. M. Arisawa, A. Fujita, T. Hayashi, K. Hayashi, H. Ochiai, N. Morita, *Cytotoxic and antiherpetic activity of phloroglucinol derivatives from Mallotus japonicus (Euphorbiaceae)*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1990, 38, 1624-1626.
39. A. Fujita, T. Hayashi, M. Arisawa, M. Shimizu, N. Morita, T. Kikuchi, Y. Tezuka, *Studies on cytotoxic constituents in pericarps of Mallotus japonicus, part III*, Journal of Natural Products, 1988, 51, 708-712.
40. L. Harinantenaina, J.D. Bowman, P.J. Brodie, C. Slebodnick, M.W. Callmander, E. Rakotobe, R. Randrianaivo, V.E. Rasamison, A. Gorka, P.D. Roepe, M.B. Cassera, D.G.I. Kingston, *Antiproliferative and antiplasmodial dimeric phloroglucinols from Mallotus oppositifolius from the Madagascar Dry Forest*, Journal of Natural Products, 2013, 76, 388-393.
41. R. Ishii, M. Horie, K. Saito, M. Arisawa, S. Kitanaka, *Prostaglandin E2 production and induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 is inhibited in a murine macrophage-like cell line, RAW 264.7, by Mallotus japonicus phloroglucinol derivatives*, Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1571, 115-123.
42. M. Arisawa, A. Fujita, T. Hayashi, N. Morita, T. Kikuchi, Y. Tezuka, *Studies on cytotoxic constituents in pericarps of Mallotus japonicus. IV*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1990, 38, 698-700.
43. M. Arisawa, A. Fujita, N. Morita, *Studies on cytotoxic constituents in pericarps of Mallotus japonicus, V. Three new phloroglucinol derivatives, butyrylmallotochromanol, isobutyrylmallotochromanol, and mallotojaponol*, Carbohydrate Polymers, 1990, 53, 638-643.

44. Y. Satomi, M. Arisawa, H. Nishino, A. Iwashima, *Antitumor-promoting activity of mallotojaponin, a major constituent of pericarps of Mallotus japonicus*, *Oncology*, 1994, 51, 215-219.
45. M. Arisawa, A. Fujita, N. Morita, S. Koshimura, *Cytotoxic and antitumor constituents in pericarps of Mallotus japonicus*, *Planta Medica*, 1990, 56, 377-379.
46. I. Kouno, N. Shigematsu, M. Iwagami, N. Kawano, *Further phloroglucinol derivatives in the fruits of Mallotus japonicus*, *Phytochemistry*, 1985, 24, 620-621.
47. K. Likhitwitayawuid, B. Supudompol, B. Sritularak, V. Lipipun, K. Rapp, R.F. Schinazi, *Phenolics with anti-HSV and anti-HIV activities from Artocarpus gomezianus, Mallotus pallidus, and Triphasia trifolia*, *Pharmaceutical Biology*, 2005, 43, 651-657.
48. B. Supudompol, K. Likhitwitayawuid, P.J. Houghton, *Phloroglucinol derivatives from Mallotus pallidus*, *Phytochemistry*, 2004, 65, 2589-2594.
49. K. Likhitwitayawuid, B. Supudompol, *A new phloroglucinol dimer from Mallotus Pallidus*, *Heterocycles*, 2005, 65, 161-164.
50. S.C. Thakur, S.S. Thakur, S.K. Chaube, S.P. Singh, *An etheral extract of Kamala (Mallotus philippinensis (Moll.Arg) Lam.) seed induce adverse effects on reproductive parameters of female rats*, *Reproductive Toxicology*, 2005, 20, 149-156.
51. R. Saijo, G. Nonaka, I. Nishioka, *Tannins and related compounds. Part 82. Phenol glucoside gallates from Mallotus japonicus*, *Phytochemistry*, 1989, 28, 2443-2446.
52. V.S. Rana, M.S.M. Rawat, G. Pant, A. Nagatsu, *Chemical constituents and antioxidant activity of Mallotus roxburghianus leaves*, *Chemistry & Biodiversity*, 2005, 2, 792-798.
53. R. Saijo, G. Nonaka, I. Nishioka, *Tannins and related compounds. LXXXVII. Isolation and characterization of four new hydrolyzable tannins from the leaves of Mallotus repandus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1989, 37, 2624-2630.

54. R. Saijo, G. Nonaka, I. Nishioka, I.S. Chen, T.H. Hwang, *Tannins and related compounds. LXXXVIII. Isolation and characterization of hydrolyzable tannins from Mallotus japonicus (Thunb.) Müll-Arg. and M. philippinensis (Lam.) Müll-Arg.*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1989, 37, 2940-2947.
55. T. Yoshida, K. Seno, Y. Takama, T. Okuda, *Studies on tannins and polyphenols of Mallotus japonicus. Part 2. Bergenin derivatives from M. japonicus*, Phytochemistry, 1982, 21, 1180-1182.
56. C.V. Minh, N.T.K. Thanh, T.H. Quang, N.X. Cuong, N.N. Thin, N.H. Nam, V.H. Yvan, Q.L. Joelle, P.V. Kiem, *Two new megastigmane sulphonoglucosides from Mallotus anisopodus*, Natural Product Communications, 2009, 4, 889-892.
57. H.K. Lim, H.S. Kim, H. Choi, J. Choi, S.H. Kim, M.J. Chang, *Effects of bergenin, the major constituent of Mallotus japonicus against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats*, Pharmacology, 2001, 63, 71-75.
58. H.K. Lim, H.S. Kim, H.S. Choi, S. Oh, J. Choi, *Hepatoprotective effects of bergenin, a major constituent of Mallotus japonicus, in carbon tetrachloride-poisoned rats*, Journal of Ethnopharmacology, 2000, 72, 469-474.
59. K. Luangruangrong, B. Sritularak, V. Lipipun, K. Likhitwitayawuid, *New gallic acid glycosides from Mallotus plicatus*, Heterocycles, 2014, 89, 1237-1244.
60. H. Tabata, T. Katsube, K. Moriya, T. Utsumi, Y. Yamasaki, *Protective activity of components of an edible plant, Mallotus japonicus, against oxidative modification of proteins and lipids*, Food Chemistry, 2009, 118, 548-553.
61. H. Tabata, T. Katsube, T. Tsuma, Y. Ohta, N. Imawaka, T. Utsumi, *Isolation and evaluation of the radical-scavenging activity of the antioxidants in the leaves of an edible plant, Mallotus japonicus*, Food Chemistry, 2008, 109, 64-71.
62. R. Saijo, G. Nonaka, I. Nishioka, *Tannins and related compounds. LXXXIV. Isolation and characterization of five new hydrolyzable tannins from the bark of Mallotus japonicus*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1989, 37, 2063-2070.

63. T. Okuda, K. Seno, *Mallotusinic acid and mallotinic acid, new hydrolyzable tannins from Mallotus japonicus*, Tetrahedron Letters, 1978, 139-142.
64. N.H. Nam, P.V. Kiem, N.K. Ban, N.P. Thao, N.X. Nhiem, N.X. Cuong, T. Christophe, B. Dejaegher, Y.V. Heyden, J.Q. Leclercq, D.T. Thao, C.V. Minh, *Chemical constituents of Mallotus macrostachyus growing in Vietnam and cytotoxic activity of some cycloartane derivatives*, Phytochemistry Letters, 2011, 4, 348-352.
65. H.M. Gao, T. Wang, H.T. Hu, J.N. Yue, T. Shen, H.X. Lou, X.N. Wang, *Three new triterpenoids from Mallotus macrostachyus*, Fitoterapia, 2020, 142, 104498.
66. Y. Zhang, X. Huang, H. Chen, D. Zhou, Z. Yang, K. Wang, W. Liu, S. Deng, R. Yang, J. Li, R. He, *Discovery of anti-inflammatory terpenoids from Mallotus conspurcatus croizat*, Journal of Ethnopharmacology, 2019, 231, 170-178.
67. P.V. Kiem, C.V. Minh, H.T. Huong, N.H. Nam, L.J. Joon, K.Y. Ho, *Pentacyclic triterpenoids from Mallotus apelta*, Archives of Pharmacal Research, 2004, 27, 1109-1113.
68. V.M. Chau, V.K. Phan, T.H. Hoang, T.D. Nguyen, H.N. Nguyen, J.J. Lee, Y.H. Kim, *Chemical investigations and biological studies of Mallotus apelta. I. Pentacyclic triterpenoids from Mallotus apelta*, Vietnam Journal of Chemistry, 2005, 43, 235-239.
69. S. Sutthivaiyakit, J. Thongtan, S. Pisutjaroenpong, K. Jiaranantanont, P. Kongsaree, *D:A Friedo-oleanane lactones from the stems of Mallotus repandus*, Journal of Natural Products, 2001, 64, 569-571.
70. S. Rastogi, B.N. Mehrotra, D.K. Kulshreshtha, *Constituents of Mallotus nepalensis Müll. Arg.: A mild CNS depressant*, Natural Product Sciences, 2004, 10, 237-239.
71. P.L. Huang, L.W. Wang, C.N. Lin, *New triterpenoids of Mallotus repandus*, Journal of Natural Products, 1999, 62, 891-892.
72. N.X. Yang, G.Y. Liang, P.X. Cao, B.X. Xu, *A new triterpenoid lactone from Mallotus repandus (willd) Müll. Arg.*, Natural Product Research and Development, 2013, 25, 733-735.



73. S.P. Nair, J.M. Rao, *Kamaladiol-3-acetate from the stem bark of Mallotus philippinensis*, *Phytochemistry*, 1993, 32, 407-409.
74. G. Ni, S. Yang, J. Yue, *Anomalousins A and B, two new ent-rosane diterpenoids from Mallotus anomalus*, *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2012, 21, 421-427.
75. D.Z. Li, C. Tang, R.J. Quinn, Y. Feng, C.Q. Ke, S. Yao, Y. Ye, *ent-Labdane diterpenes from the stems of Mallotus japonicus*, *Journal of Natural Products*, 2013, 76, 1580-1585.
76. Y. Bai, Y.P. Yang, Y. Ye, *Hookerianolides A-C: Three novel casbane-type diterpenoid lactones from Mallotus hookerianus*, *Tetrahedron Letters*, 2006, 47, 6637-6640.
77. T. Nakatsu, S. Ito, T. Kawashima, *Mallotucin C and D, two diterpenic lactones from Mallotus repandus*, *Heterocycles*, 1981, 15, 241-244.
78. W.J. Wang, J.H. Jiang, Y.G. Chen, *Steroids from Mallotus paniculatus*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49, 577-578.
79. A. Groweiss, J.H. Cardellina, II, G.N. Gray, M.R. Boyd, *A novel furanocarboxamide from Mallotus cuneatus*, *Natural Product Letters*, 1994, 5, 175-178.
80. N. Yamashita, K. Sakata, H. Ina, K. Ina, *Isolation of nicotinamide from Mallotus leaves as an attaching repellent against the blue mussel, Mytilus edulis*, *Agricultural and Biological Chemistry*, 1989, 53, 3351-3352.
81. H. Hikino, M. Tamada, K.Y. Yen, *Mallorepine, cyano- $\gamma$ -pyridone from Mallotus repandus*, *Planta Medica*, 1978, 33, 385-388.
82. L. Jiang, Y. Lu, S. He, Y. Pan, C. Sun, T. Wu, *Preparative isolation and purification of two amides from Mallotus lianus Croiz by high-speed counter-current chromatography*, *Journal of Separation Science*, 2008, 31, 3930-3935.
83. W.X. Xiang, Q. Liu, X.M. Li, C.H. Lu, Y.M. Shen, *Four pairs of proline-containing cyclic dipeptides from Nocardiosis sp. HT88, an endophytic bacterium of Mallotus nudiflorus L*, *Natural Product Research*, 2020, 34, 2219-2224.
84. R. Ishii, M. Horie, K. Saito, M. Arisawa, S. Kitanaka, *Inhibition of lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine expression via*

- suppression of nuclear factor- $\kappa$ B activation by Mallotus japonicus phloroglucinol derivatives*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, 1620, 108-118.
85. M.M. Hasan, N. Uddin, M.R. Hasan, A.F.M.M. Islam, M.M. Hossain, A.B. Rahman, M.S. Hossain, I.A. Chowdhury, M.S. Rana, *Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of Mallotus repandus (Willd.) Müll. Arg*, *BioMed Research International*, 2014, 2014, 539807.
86. M. Gangwar, M.K. Gautam, S. Ghildiyal, G. Nath, R.K. Goel, *Pharmacological evaluation of Mallotus philippinensis (Lam.) Müll. Arg. fruit hair extract for anti-inflammatory, analgesic and hypnotic activity*, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 2015, 5, 14-21.
87. X.C. Liu, X.B. Chen, Z.L. Liu, *Gas chromatography-mass spectrometric analysis and insecticidal activity of essential oil of aerial parts of Mallotus apelta (Lour.) Müll.-Arg. (Euphorbiaceae)*, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2014, 13, 1515-1520.
88. T. An, L. Hu, X. Cheng, Z. Chen, *Benzopyran derivatives from Mallotus apelta*, *Phytochemistry*, 2001, 57, 273-278.
89. T.Y. An, L.H. Hu, X.F. Cheng, Z.L. Chen, *Two new benzopyran derivatives from Mallotus apelta*, *Natural Product Research*, 2003, 17, 325-328.
90. J.F. Xu, Z.M. Feng, J. Liu, P.C. Zhang, *New hepatoprotective coumarinolignoids from Mallotus apelta*, *Chemistry & Biodiversity*, 2008, 5, 591-597.
91. X.F. Cheng, Z.L. Chen, *Coumarinolignoids of Mallotus apelta*, *Fitoterapia*, 2000, 71, 341-342.
92. X.F. Cheng, Z.M. Meng, Z.L. Chen, *A pyridine-type alkaloid from Mallotus apelta*, *Phytochemistry*, 1998, 49, 2193-2194.
93. J.F. Xu, F.S. Li, Z.M. Feng, J.S. Jiang, P.C. Zhang, *A new sesquiterpenoid from Mallotus apelta*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2011, 47, 218-219.
94. X.F. Cheng, Z.L. Chen, *Three new diterpenoids from Mallotus apelta Müll. Arg*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 1999, 1, 319-325.
95. X.F. Cheng, Z. Chen, Z.M. Meng, *Two new diterpenoids from Mallotus apelta Müll. Arg*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 1999, 1, 163-168.

96. K. Ono, H. Nakane, Z. Meng, Y. Ose, Y. Sakai, M. Mizuno, *Differential inhibitory effects of various herb extracts on the activities of reverse transcriptase and various deoxyribonucleic acid (DNA) polymerases*, Chemical & pharmaceutical bulletin, 1989, 37 7, 1810-1812.
97. S. Xu, Z.P. Lü, H.B. Cai, X.G. Zhang, Q. Liu, Y. Tan, *Inhibiting effects of root of Mallotus apelta on duck hepatitis B virus*, Chinese Journal of Integrative Medicine, 2006, 4, 285-288.
98. P.V. Kiem, N.H. Đang, H.V. Bao, H.T. Huong, C.V. Minh, L.M. Huong, L.J. Joon, K.Y. Ho, *New cytotoxic benzopyrans from the leaves of Mallotus apelta*, Archives of Pharmacal Research, 2005, 28, 1131-1134.
99. C.V. Minh, P.V. Kiem, L.M. Huong, N.H. Nam, *Chemical investigations and biological studies of Mallotus apelta. VI. Cytotoxic constituents from Mallotus apelta*, Vietnam Journal of Chemistry, 2005a, 43, v-vi.
100. C.V. Minh, P.V. Kiem, N.H. Nam, H.T. Huong, L.J. Joon, K.Y. Hoo, *Chemical Investigations and biological studies of Mallotus apelta. IV - Constituents with inhibitory activity against NFAT transcription and NF- $\kappa$ B activation from Mallotus apelta*, Tap Chi Hoa Hoc, 2005, 43, 773-777.
101. N.H. Nam, N.H. Dang, P.V. Kiem, L.V. Chinh, P.T. Binh, L.D. Moi, C.V. Minh, *Study on benzopyrans and other isolated compounds from Mallotus apelta*, Tap Chi Hoa Hoc, 2007, 45, 111-121.
102. E. Lundanes, L. Reubsæet, T. Greibrokk, *Chromatography: Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013, Weinheim, Germany.
103. L.S. Ettre, J.V. Hinshaw, *Chapters in the Evolution of Chromatography*, Imperial College Press, 2008, London, U.K.
104. C. Dayton, *Column Chromatography*, NY RESEARCH PRESS, 2015, New York, U.S.A.
105. P.m. Luận, *Phương Pháp Phân Tích Sắc Ký Và Chiết Tách*, Nhà xuất bản Bách khoa Hà Nội, 2014, Hà Nội.
106. N.M. Đức, *Sắc ký lỏng hiệu năng cao*, Nhà xuất bản Y học, 2006, Ba Đình, Hà Nội.

107. S. Jedidi, H. Selmi, F. Aloui, K. Rtibi, M. Jridi, A. Chaâbane, H. Sebai, *Comparative Studies of Phytochemical Screening, HPLCPDAESI-MS/MSLC-HRESIMS Analysis, Antioxidant Capacity and in vitro Fermentation of Officinal Sage (Salvia officinalis L.) Cultivated in Different Biotopes of Northwestern Tunisia*, Chemistry & Biodiversity, 2019, 17.
108. A. Rodger, B. Nordén, T. Dafforn, *Linear Dichroism and Circular Dichroism: A Textbook on Polarized-Light Spectroscopy (Special Publication)*, Royal Society of Chemistry, 2010, London, U.K.
109. A.E. Nugroho, H. Morita, *Circular dichroism calculation for natural products*, Journal of Natural Medicines, 2014, 68, 1-10.
110. T. Mori, Y. Inoue, S. Grimme, *Quantum Chemical Study on the Circular Dichroism Spectra and Specific Rotation of Donor–Acceptor Cyclophanes*, The Journal of Physical Chemistry A, 2007, 111, 7995-8006.
111. Y. Seo, J. Kim, J. Chang, S.S. Kim, W. Namkung, I. Kim, *Synthesis and biological evaluation of novel Ani9 derivatives as potent and selective ANO1 inhibitors*, European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 160, 245-255.
112. Y. Seo, K. Ryu, J. Park, D. Jeon, S. Jo, H.K. Lee, W. Namkung, *Inhibition of ANO1 by luteolin and its cytotoxicity in human prostate cancer PC-3 cells*, PLOS ONE, 2017, 12, e0174935.
113. Y. Song, J. Gao, L. Guan, X. Chen, J. Gao, K. Wang, *Inhibition of ANO1/TMEM16A induces apoptosis in human prostate carcinoma cells by activating TNF- $\alpha$  signaling*, Cell Death & Disease, 2018, 9, 703.
114. H.W. Ryu, D.H. Shin, D.H. Lee, J. Choi, G. Han, K.Y. Lee, S.H. Kwon, *HDAC6 deacetylates p53 at lysines 381/382 and differentially coordinates p53-induced apoptosis*, Cancer Letters, 2017, 391, 162-171.
115. S. Ganesan, S.A. Beg, T.T.C. Ng, B. Vojnovic, F.S. Wouters, *A dark yellow fluorescent protein (YFP)-based Resonance Energy-Accepting Chromoprotein (REACH) for Förster resonance energy transfer with GFP*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103, 4089-4094.
116. B.Z. Ginzburg, J. Hogg, *What does a short-circuit current measure in biological systems?*, Journal of Theoretical Biology, 1967, 14, 316-322.

117. M. Whitaker, *Chapter 6 - Genetically Encoded Probes for Measurement of Intracellular Calcium*, in *Methods in Cell Biology*, M. Whitaker, Editor. 2010, Academic Press. p. 153-182.
118. A.E. Bender, B.H. Doell, *Biological evaluation of proteins: a new aspect*, *British Journal of Nutrition*, 1957, 11, 140-148.
119. D.J. MacPhee, *Methodological considerations for improving Western blot analysis*, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2010, 61, 171-177.
120. L.J.V. Galietta, M.F. Springsteel, M. Eda, E.J. Niedzinski, K. By, M.J. Haddadin, M.J. Kurth, M.H. Nantz, A.S. Verkman, *Novel CFTR Chloride Channel Activators Identified by Screening of Combinatorial Libraries Based on Flavone and Benzoquinolizinium Lead Compounds\*210*, *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276, 19723-19728.
121. K.H. Seo, Y. Jin, S.Y. Jung, S.H. Lee, *Comprehensive behavioral analyses of anoctamin1/TMEM16A-conditional knockout mice*, *Life Sciences*, 2018, 207, 323-331.
122. C. Justus, N. Leffler, M. Ruiz, Echevarria, L. Yang, *In vitro Cell Migration and Invasion Assays*, *JoVE*, 2014, e51046.
123. M.A. Davoli, J. Fourtounis, J. Tam, S. Xanthoudakis, D. Nicholson, G.S. Robertson, G.Y.K. Ng, D. Xu, *Immunohistochemical and biochemical assessment of caspase-3 activation and DNA fragmentation following transient focal ischemia in the rat*, *Neuroscience*, 2002, 115, 125-136.
124. M.L. Swift, *GraphPad Prism, Data Analysis, and Scientific Graphing*, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 1997, 37, 411-412.
125. C. Xie, N.C. Veitch, P.J. Houghton, M.S.J. Simmonds, *Flavone C-glycosides from Viola yedoensis MAKINO*, *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 2003, 51, 1204-1207.
126. M. Kubo, H. Sasaki, T. Endo, H. Taguchi, I. Yosioka, *The constituents of Schizonepeta tenuifolia BRIQ. II. Structure of a new monoterpene glucoside, schizonepetoside C*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1986, 34, 3097-3101.

127. J.H. Chung, H.C. Shin, J.Y. Cho, S.K. Kang, H.J. Lee, S.C. Shin, K.H. Park, J.H. Moon, *Isolation and structural determination of free radical scavenging compounds from Korean fermented red pepper paste (Kochujang)*, Food Science and Biotechnology, 2009, 18, 463-470.
128. K. Matsunami, H. Otsuka, Y. Takeda, *Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2010, 58, 438-441.
129. Y.X. Li, X. Yu, S.J. Yu, A.Y. Ma, Z.W. Deng, W.H. Lin, *Phenolic glucopyranosides from the Chinese mangrove plant Excoecaria agallocha L.*, Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2010, 256-259.
130. S.K. Sandur, M.K. Pandey, B. Sung, K.S. Ahn, A. Murakami, G. Sethi, P. Limtrakul, V. Badmaev, B.B. Aggarwal, *Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism*, Carcinogenesis, 2007, 28, 1765-1773.
131. A. du Bois, H.J. Lück, W. Meier, H.P. Adams, V. Möbus, S. Costa, T. Bauknecht, B. Richter, M. Warm, W. Schröder, S. Olbricht, U. Nitz, C. Jackisch, G. Emons, U. Wagner, W. Kuhn, J. Pfisterer, *A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer*, Journal of the National Cancer Institute, 2003, 95, 1320-1329.
132. E. Cohen, I. Ophir, Y.B. Shaul, *Induced differentiation in HT29, a human colon adenocarcinoma cell line*, Journal of Cell Science, 1999, 112, 2657-2666.
133. M. Koshiyama, N. Matsumura, I. Konishi *Subtypes of Ovarian Cancer and Ovarian Cancer Screening*. Diagnostics, 2017. 7, DOI: 10.3390/diagnostics7010012.
134. J. Ma, H. Shi, C. Mi, H.L. Li, J.J. Lee, X. Jin, *Malloapelta B suppresses LPS-induced NF- $\kappa$ B activation and NF- $\kappa$ B-regulated target gene products*, International Immunopharmacology, 2015, 24, 147-152.

135. K. Aral, C.A. Aral, Y.L. Kapila, *The role of caspase-8, caspase-9, and apoptosis inducing factor in periodontal disease*, Journal of Periodontology, 2018, 90, 288–294.
136. C. Nicholls, H. Li, J.P. Liu, *GAPDH: A common enzyme with uncommon functions*, Clinical and experimental pharmacology & physiology, 2011, 39, 674-679.
137. T. Moldoveanu, P. Czabotar, *BAX, BAK, and BOK: A coming of age for the BCL-2 family effector proteins*, Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2019, 12, a036319.
138. M. Duffy, N. O'Donovan, D. Brennan, W. Gallagher, B. Ryan, *Survivin: A promising tumor biomarker*, Cancer Letters, 2007, 249, 49-60.
139. M.S. Hayden, S. Ghosh, *Signaling to NF- $\kappa$ B*, Genes & Development, 2004, 18, 2195-2224.
140. F.A. La Rosa, J.W. Pierce, G.E. Sonenshein, *Differential regulation of the c-myc oncogene promoter by the NF- $\kappa$ B rel family of transcription factors*, Molecular and Cellular Biology, 1994, 14, 1039-1044.
141. M. Fu, C. Wang, Z. Li, T. Sakamaki, R.G. Pestell, *Minireview: Cyclin D1: Normal and Abnormal Functions*, Endocrinology, 2004, 145, 5439-5447.
142. M. Hinz, D. Krappmann, A. Eichten, A. Heder, C. Scheidereit, M. Strauss, *NF- $\kappa$ B function in growth control: regulation of cyclin D1 expression and G0/G-to-S-phase transition*, Molecular and Cellular Biology, 1999, 19, 2690-2698.
143. L. Jiang, N. Ji, Y. Zhou, J. Li, X. Liu, Z. Wang, Q. Chen, X. Zeng, *CAL 27 is an oral adenosquamous carcinoma cell line*, Oral Oncology, 2009, 45, e204-e207.
144. Y. Seo, K. Ryu, J. Park, D.K. Jeon, S. Jo, H.K. Lee, W. Namkung, *Inhibition of ANO1 by luteolin and its cytotoxicity in human prostate cancer PC-3 cells*, PLOS ONE, 2017, 12, e0174935.
145. Y. Seo, J. Kim, J. Chang, S.S. Kim, W. Namkung, I. Kim, *Synthesis and biological evaluation of novel Ani9 derivatives as potent and selective ANO1 inhibitors*, Eur J Med Chem, 2018, 160, 245-255.

146. Y. Song, J. Gao, L. Guan, X. Chen, J. Gao, K. Wang, *Inhibition of ANO1/TMEM16A induces apoptosis in human prostate carcinoma cells by activating TNF- $\alpha$  signaling*, Cell Death Dis, 2018, 9, 703.
147. J.G. Devassy, I.D. Nwachukwu, P.J.H. Jones, *Curcumin and cancer: barriers to obtaining a health claim*, Nutrition Reviews, 2015, 73, 155-165.
148. L. Crowley, B. Marfell, N. Waterhouse, *Analyzing Cell Death by Nuclear Staining with Hoechst 33342*, Cold Spring Harbor Protocols, 2016, 2016, 778-781.
149. R. West, C. Corless, X. Chen, B. Rubin, S. Subramanian, K. Montgomery, S. Zhu, C. Ball, T. Nielsen, R. Patel, J. Goldblum, M. Heinrich, M. van de Rijn, *The Novel Marker, DOG1, Is Expressed Ubiquitously in Gastrointestinal Stromal Tumors Irrespective of KIT or PDGFRA Mutation Status*, The American Journal of Pathology, 2004, 165, 107-113.
150. A. Britschgi, A. Bill, H. Brinkhaus, C. Rothwell, I. Clay, S. Duss, M. Rebhan, P. Raman, C.T. Guy, K. Wetzel, E. George, M.O. Popa, S. Lilley, H. Choudhury, M. Gosling, L. Wang, S. Fitzgerald, J. Borawski, J. Baffoe, M. Labow, L.A. Gaither, M. Bentires-Alj, *Calcium-activated chloride channel ANO1 promotes breast cancer progression by activating EGFR and CAMK signaling*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110, E1026-1034.
151. C. Ruiz, J.R. Martins, F. Rudin, S. Schneider, T. Dietsche, C.A. Fischer, L. Tornillo, L.M. Terracciano, R. Schreiber, L. Bubendorf, K. Kunzelmann, *Enhanced expression of ANO1 in head and neck squamous cell carcinoma causes cell migration and correlates with poor prognosis*, PLOS ONE, 2012, 7, e43265.
152. Y. Li, J. Zhang, S. Hong, *ANO1 as a marker of oral squamous cell carcinoma and silencing ANO1 suppresses migration of human SCC-25 cells*, Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal, 2014, 19, e313-319.
153. Y. Seo, J. Park, M. Kim, H.K. Lee, J.H. Kim, J.H. Jeong, W. Namkung, *Inhibition of ANO1/TMEM16A Chloride Channel by Idebenone and Its Cytotoxicity to Cancer Cell Lines*, PLOS ONE, 2015, 10, e0133656.



154. A. Bill, A. Gutierrez, S. Kulkarni, C. Kemp, D. Bonenfant, H. Voshol, U. Duvvuri, L.A. Gaither, *ANO1/TMEM16A interacts with EGFR and correlates with sensitivity to EGFR-targeting therapy in head and neck cancer*, *Oncotarget*, 2015, 6, 9173-9188.
155. U. Duvvuri, D.J. Shiwarski, D. Xiao, C. Bertrand, X. Huang, R.S. Edinger, J.R. Rock, B.D. Harfe, B.J. Henson, K. Kunzelmann, R. Schreiber, R.S. Seethala, A.M. Egloff, X. Chen, V.W. Lui, J.R. Grandis, S.M. Gollin, *TMEM16A induces MAPK and contributes directly to tumorigenesis and cancer progression*, *Cancer Research*, 2012, 72, 3270-3281.
156. H. Wang, L. Zou, K. Ma, J. Yu, H. Wu, M. Wei, Q. Xiao, *Cell-specific mechanisms of TMEM16A Ca(2+)-activated chloride channel in cancer*, *Molecular Cancer*, 2017, 16, 152.
157. B. Zhang, L. Lai, Y. Tan, Q. Liang, F. Bai, W. Mai, Q. Huang, Y. Ye, *Hepatoprotective effect of total flavonoids of Mallotus apelta (Lour.) Müll.Arg. leaf against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats via modulation of TGF- $\beta$ 1/Smad and NF- $\kappa$ B signaling pathways*, *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 254, 112714.
158. Y. Seo, H.K. Lee, J. Park, D.K. Jeon, S. Jo, M. Jo, W. Namkung, *Ani9, A Novel Potent Small-Molecule ANO1 Inhibitor with Negligible Effect on ANO2*, *PLOS ONE*, 2016, 11, e0155771.

**CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Nguyen Hoang Anh**, Duong Thi Hai Yen, Nguyen The Cuong, Bui Huu Tai, Pham Hai Yen, Pham The Chinh, Pham Van Cuong, Nguyen Hoai Nam, Phan Van Kiem, Su Hyeon Cho, Seon Ju Park, Nguyen Xuan Nhiem, *Three new chromanes and one new flavone C-glycoside from Mallotus apelta*, Journal of Asian Natural Products Research, 2023, 25, 18-26.
2. Yohan Seo, **Nguyen Hoang Anh**, Yunkyung Heo, So Hyeon Park, Phan Van Kiem, Yechan Lee, Duong Thi Hai Yen, Sungwoo Jo, Dongkyu Jeon, Bui Huu Tai, Nguyen Hoai Nam, Chau Van Minh, Seung Hyun Kim, Nguyen Xuan Nhiem, Wan Namkung *Novel ANO1 Inhibitor from Mallotus apelta Extract Exerts Anticancer Activity through Downregulation of ANO1*. International Journal of Molecular Sciences, 2020. 21, DOI: 10.3390/ijms21186470.
3. Phan Van Kiem, Nguyen Xuan Nhiem, **Nguyen Hoang Anh**, Duong Thi Hai Yen, Nguyen The Cuong, Bui Huu Tai, Pham Hai Yen, Nguyen Hoai Nam, Chau Van Minh, Pham The Chinh, Yu Hyun Jeon, Seon Ju Park, Seung Hyun Kim, So Hee Kwon, *Enantiomeric chromene derivatives with anticancer effects from Mallotus apelta*, Bioorganic Chemistry, 2020, 104, 104268.
4. **Nguyen Hoang Anh**, Seon Ju Park, Do Thi Trang, Duong Thi Hai Yen, Bui Huu Tai, Pham Hai Yen, Phan Van Kiem, Pham The Chinh, Nguyen Xuan Nhiem, *Genus Mallotus (Euphorbiaceae): A review on traditional medicinal use, phytochemistry and biological activities*, Vietnam Journal of Science and Technology, 2022, 60, 141-174.

## PHỤ LỤC PHỔ CỦA CÁC HỢP CHẤT

<b>1. Hợp chất MA1</b> .....	<b>6</b>
1.1. Phổ HR-ESI-MS của MA1 .....	7
1.2. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất MA1 .....	7
1.3. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất MA1 .....	8
1.4. Phổ HSQC của hợp chất MA1 .....	8
1.5. Phổ HMBC của hợp chất MA1 .....	9
1.6. Phổ COSY của hợp chất MA1 .....	9
1.7. Phổ NOESY của hợp chất MA1 .....	10
<b>2. Hợp chất MA2</b> .....	<b>11</b>
2.1. Phổ HR-ESI-MS của MA2 .....	12
2.2. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất MA2.....	12
2.3. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất MA2 .....	13
2.4. Phổ HSQC của hợp chất MA2 .....	13
2.5. Phổ HMBC của hợp chất MA2 .....	14
2.6. Phổ COSY của hợp chất MA2.....	14
2.7. Phổ NOESY của hợp chất MA2 .....	15
<b>3. Hợp chất MA3</b> .....	<b>16</b>
3.1. Phổ HR-ESI-MS của MA3 .....	17
3.2. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất MA3.....	17
3.3. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất MA3 .....	18
3.4. Phổ HSQC của hợp chất MA3 .....	18
3.5. Phổ HMBC của hợp chất MA3 .....	19
3.6. Phổ COSY của hợp chất MA3.....	19
3.7. Phổ NOESY của hợp chất MA3 .....	20
<b>4. Hợp chất MA4</b> .....	<b>21</b>

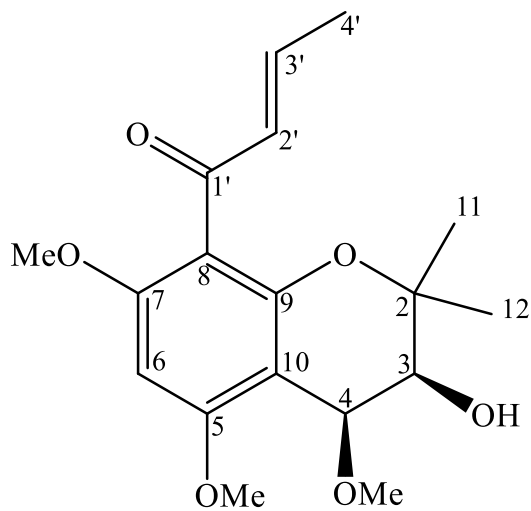
4.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA4 .....	22
4.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của MA4.....	22
4.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA4 .....	23
4.4. Phổ HSQC của hợp chất MA4 .....	23
4.5. Phổ HMBC của hợp chất MA4 .....	24
4.6. Phổ COSY của hợp chất MA4.....	24
4.7. Phổ NOESY của hợp chất MA4 .....	25
<b>5. Hợp chất MA5.....</b>	<b>26</b>
5.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA5 .....	27
5.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA5.....	27
5.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA5 .....	28
5.4. Phổ HSQC của hợp chất MA5 .....	28
5.5. Phổ HMBC của hợp chất MA5 .....	29
5.6. Phổ NOESY của hợp chất MA5 .....	29
<b>6. Hợp chất MA6.....</b>	<b>30</b>
6.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA6 .....	30
6.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA6.....	31
6.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA6 .....	31
6.4. Phổ HSQC của hợp chất MA6 .....	32
6.5. Phổ HMBC của hợp chất MA6 .....	32
6.6. Phổ COSY của hợp chất MA6.....	33
6.7. Phổ NOESY của hợp chất MA6 .....	33
<b>7. Hợp chất MA7 .....</b>	<b>34</b>
7.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA7 .....	34
7.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA7.....	35
7.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA7 .....	35

7.4. Phổ HSQC của hợp chất MA7.....	36
7.5. Phổ HMBC của hợp chất MA7.....	36
<b>8. Hợp chất MA8.....</b>	<b>37</b>
8.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA8.....	37
8.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA8.....	38
8.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA8.....	38
8.4. Phổ HSQC của hợp chất MA8.....	39
8.5. Phổ HMBC của hợp chất MA8.....	39
8.6. Phổ COSY của hợp chất MA8.....	40
<b>9. Hợp chất MA9.....</b>	<b>41</b>
9.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA9.....	42
9.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA9.....	42
9.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA9.....	43
9.4. Phổ HSQC của hợp chất MA9.....	43
9.5. Phổ HMBC của hợp chất MA9.....	44
9.6. Phổ COSY của hợp chất MA9.....	44
9.7. Phổ NOESY của hợp chất MA9.....	45
<b>10. Hợp chất MA10.....</b>	<b>46</b>
10.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA10.....	47
10.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA10.....	47
10.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất MA10.....	48
10.4. Phổ HSQC của hợp chất MA10.....	48
10.5. Phổ HMBC của hợp chất MA10.....	49
10.6. Phổ NOESY của hợp chất MA10.....	49
<b>11. Hợp chất MA11.....</b>	<b>50</b>
11.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA11.....	51
11.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất MA11.....	51

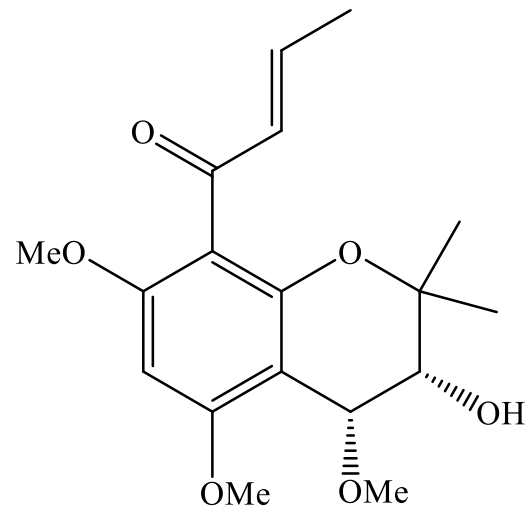
11.3. Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA11 .....	52
11.4. Phổ HSQC của hợp chất MA11 .....	52
11.5. Phổ HMBC của hợp chất MA11 .....	53
11.6. Phổ NOESY của hợp chất MA11 .....	53
<b>12. Hợp chất MA12.....</b>	<b>54</b>
12.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA12 .....	55
12.2. Phổ $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất MA12.....	55
12.3. Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA12 .....	56
12.4. Phổ HSQC của hợp chất MA12 .....	56
12.5. Phổ HMBC của hợp chất MA12 .....	57
12.6. Phổ COSY của hợp chất MA12.....	57
<b>13. Hợp chất MA13.....</b>	<b>59</b>
13.1. Phổ $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất MA13.....	60
13.2. Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA13 .....	60
13.3. Phổ HSQC của hợp chất MA13 .....	61
13.4. Phổ HMBC của hợp chất MA13 .....	61
13.5. Phổ COSY của hợp chất MA13.....	62
<b>14. Hợp chất MA14.....</b>	<b>63</b>
14.1. Phổ $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất MA14.....	64
14.2. Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA14 .....	64
14.3. Phổ HSQC của hợp chất MA14 .....	65
14.4. Phổ HMBC của hợp chất MA14 .....	65
<b>15. Hợp chất MA15.....</b>	<b>65</b>
15.1. Phổ $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất MA15.....	67
15.2. Phổ $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA15 .....	67
15.3. Phổ HSQC của hợp chất MA15 .....	68
15.4. Phổ HMBC của hợp chất MA15 .....	68

<b>16. Hợp chất MA16.....</b>	<b>69</b>
16.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất <b>MA16</b> .....	69
16.2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất <b>MA16</b> .....	70
16.3. Phổ HSQC của hợp chất <b>MA16</b> .....	70
<b>17. Hợp chất MA17 .....</b>	<b>71</b>
17.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất <b>MA17</b> .....	71
17.2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất <b>MA17</b> .....	72
17.3. Phổ HSQC của hợp chất <b>MA17</b> .....	72
<b>18. Hợp chất MA18.....</b>	<b>73</b>
18.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất <b>MA18</b> .....	73
18.2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất <b>MA18</b> .....	74
18.3. Phổ HSQC của hợp chất <b>MA18</b> .....	74
<b>19. Hợp chất MA19.....</b>	<b>75</b>
19.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất <b>MA19</b> .....	75
19.2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất <b>MA19</b> .....	76
19.3. Phổ HSQC của hợp chất <b>MA19</b> .....	76

## 1. Hợp chất MA1



**MA1a**



**MA1b**

### Cấu trúc hóa học các đối quang của MA1

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{18}H_{24}O_6$ ,  $M = 336$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

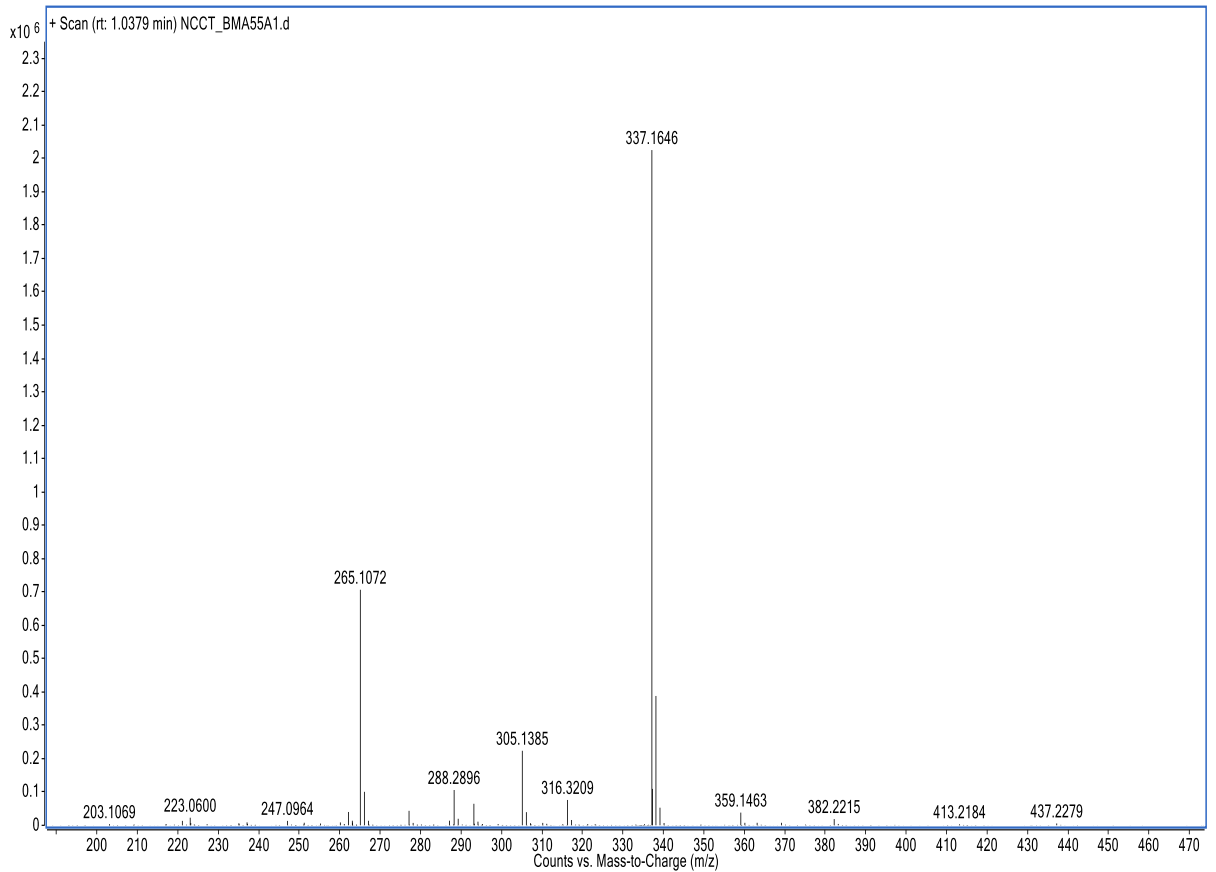
Phổ HMBC

Phổ COSY

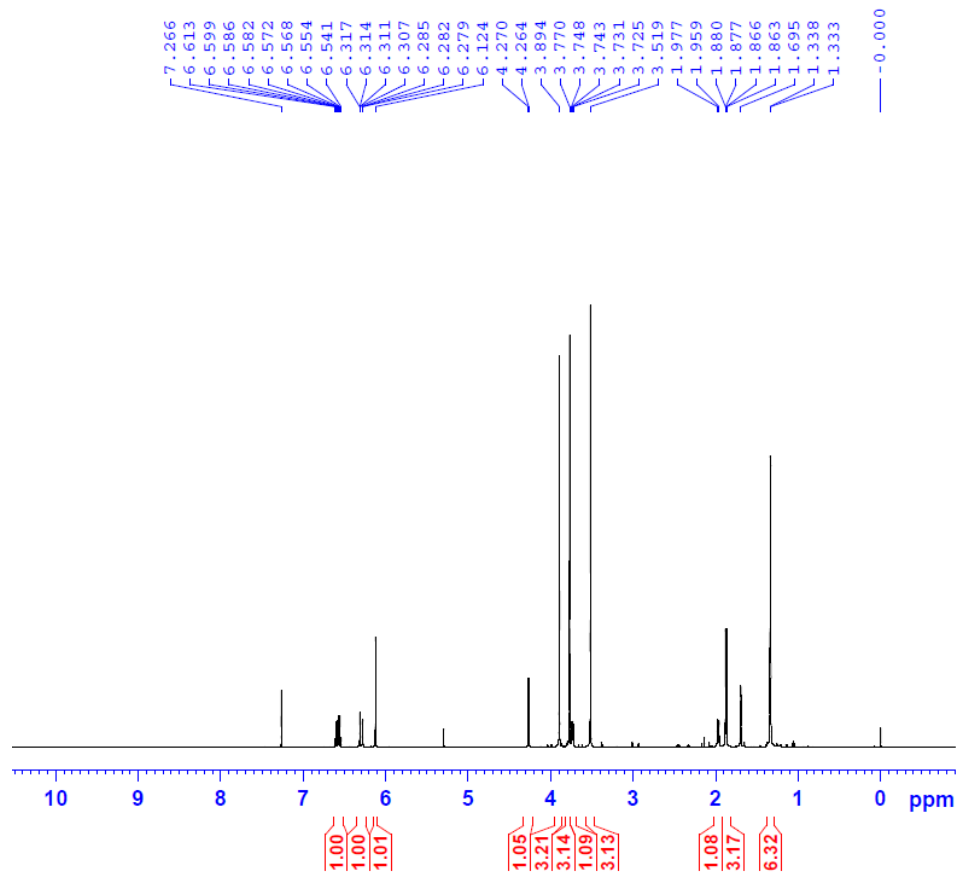
Phổ NOESY



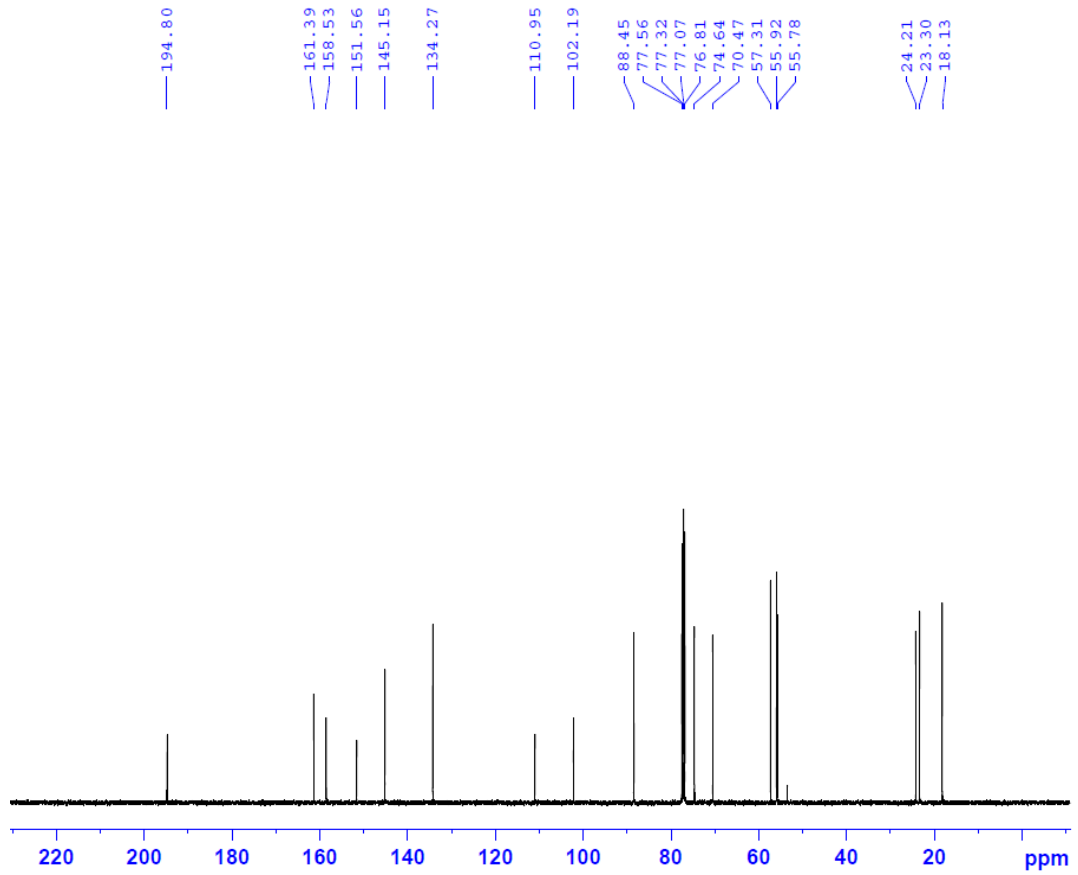
1.1. Phổ HR-ESI-MS của MAI



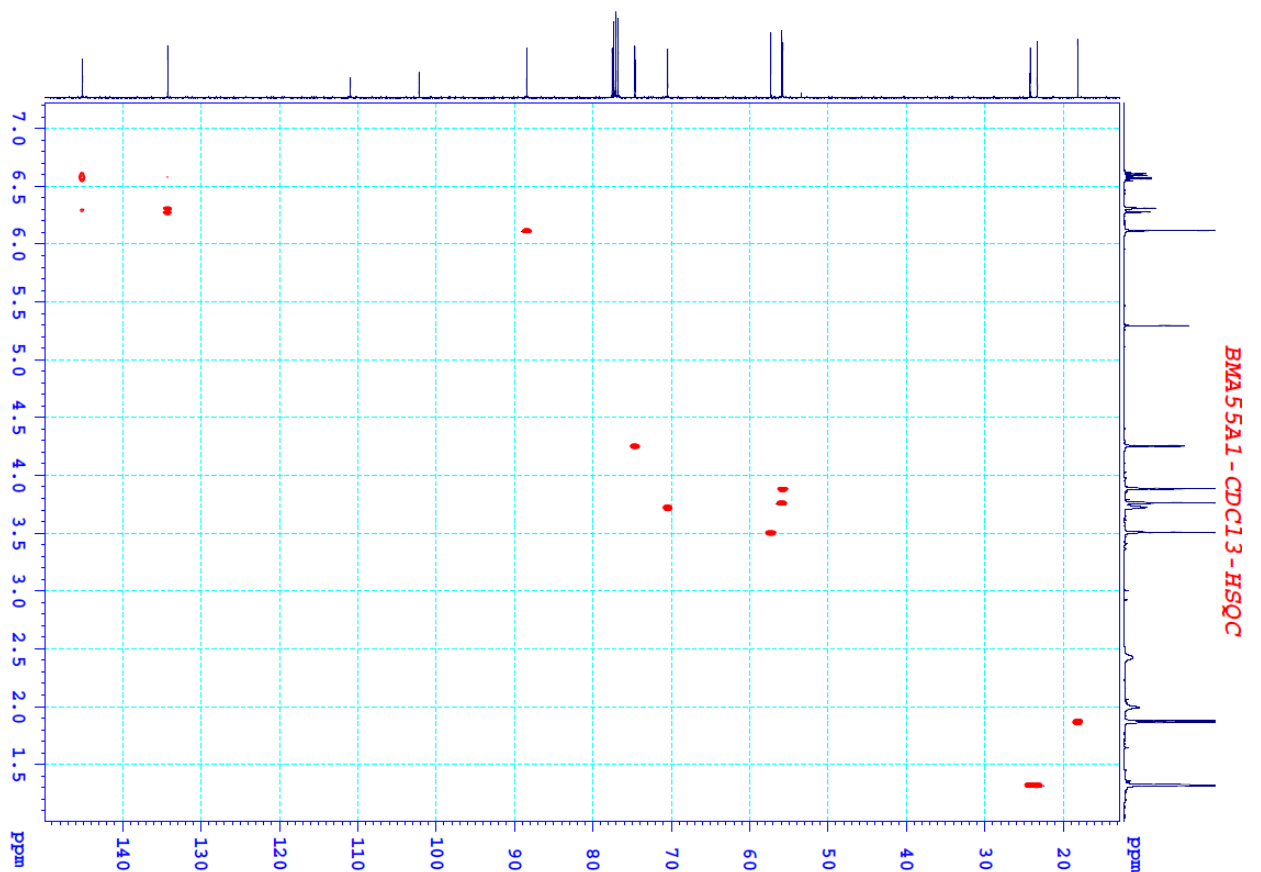
1.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MAI



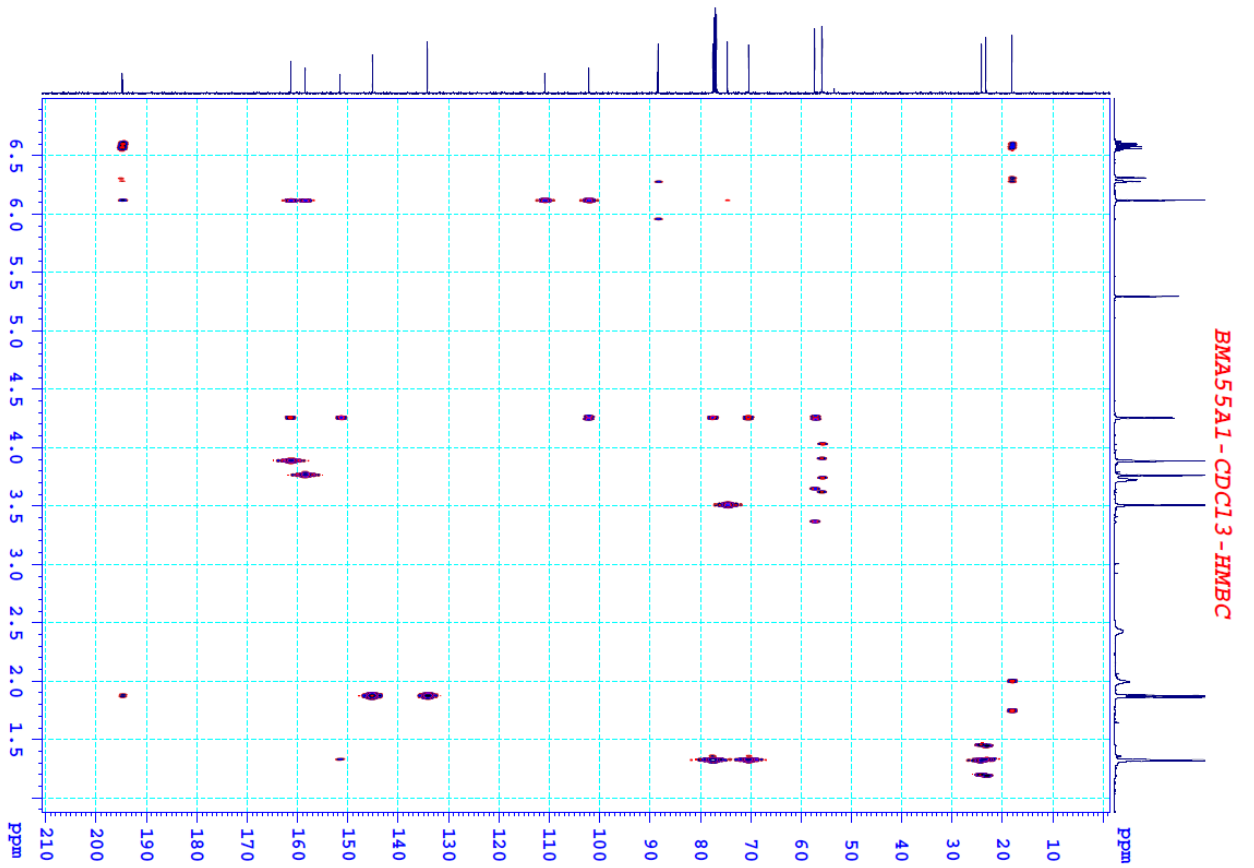
1.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA1



1.4. Phổ HSQC của hợp chất MA1

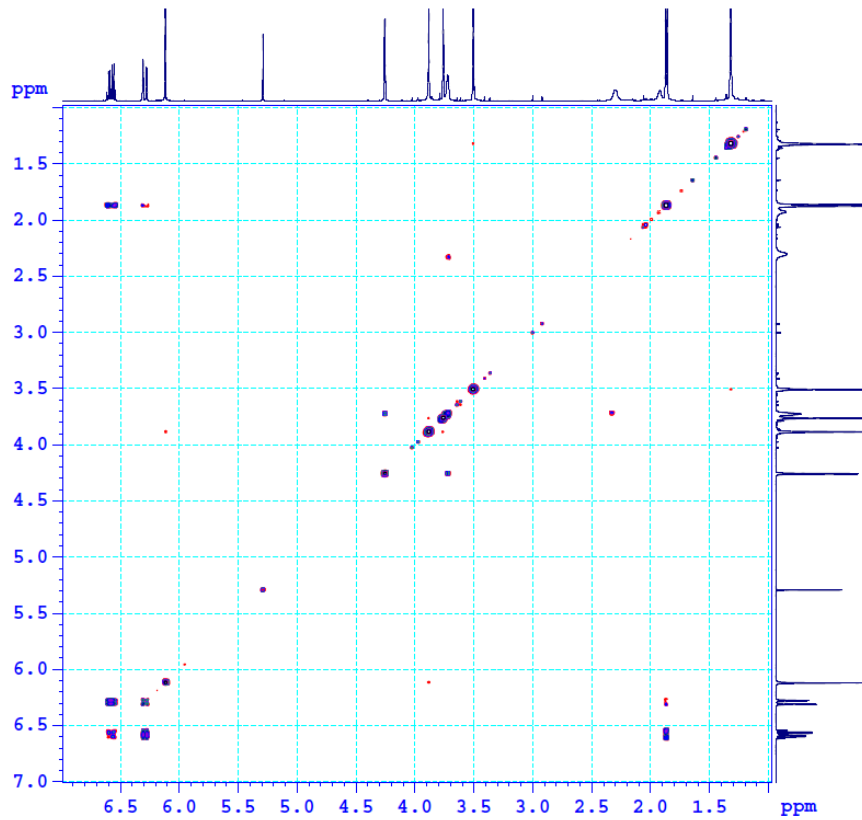


1.5. Phổ HMBC của hợp chất MA1

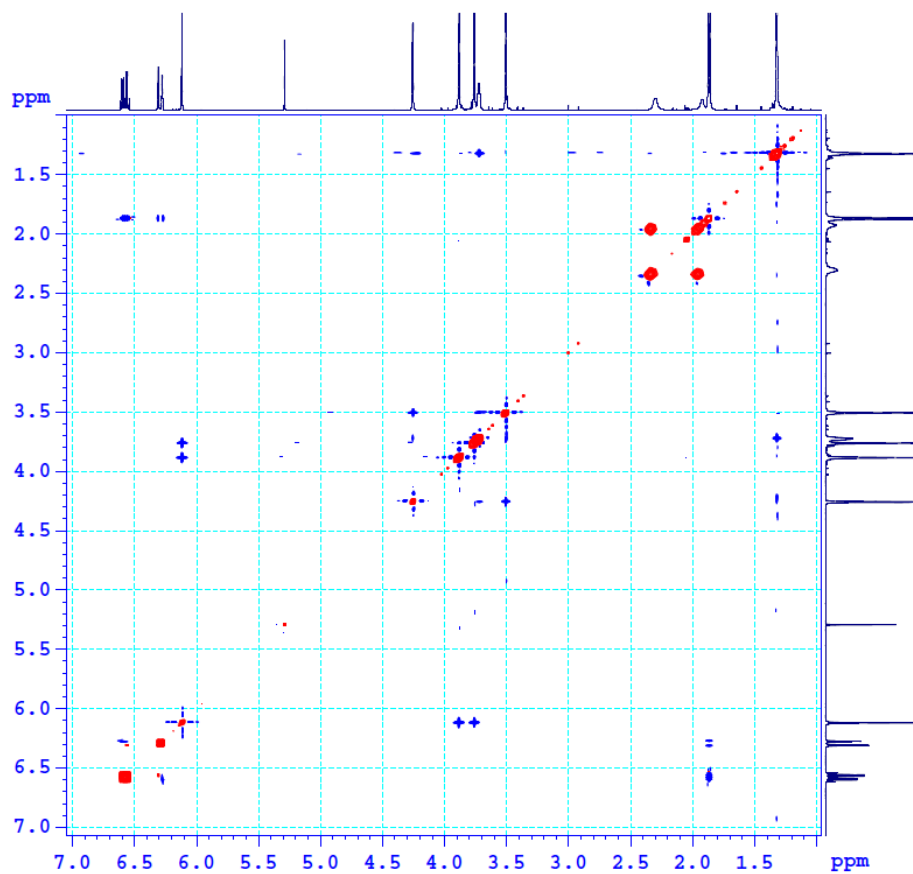


1.6. Phổ COSY của hợp chất MA1

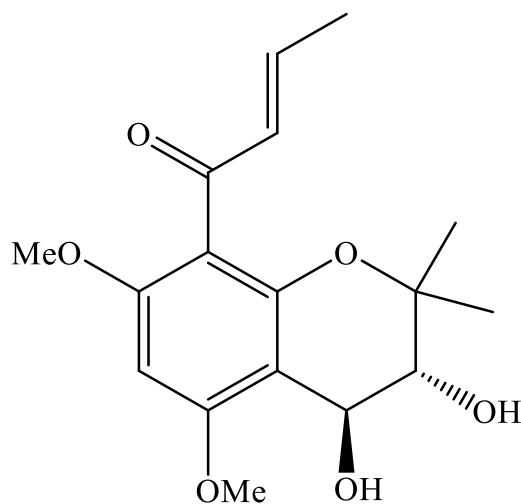
BMA55A1 - CDCl3 - COSYGP



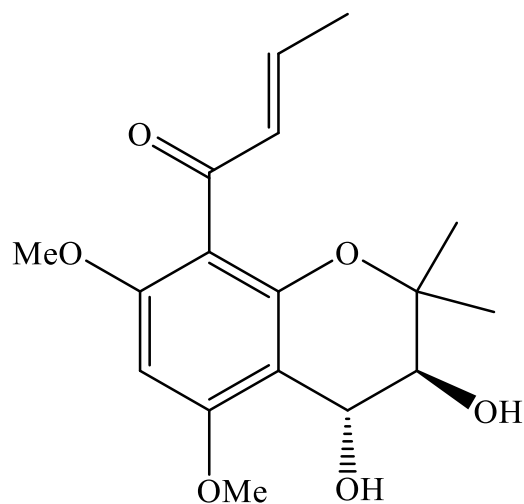
## 1.7. Phổ NOESY của hợp chất MAI



## 2. Hợp chất MA2



MA2a



MA2b

### Cấu trúc hóa học các đối quang của MA2

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

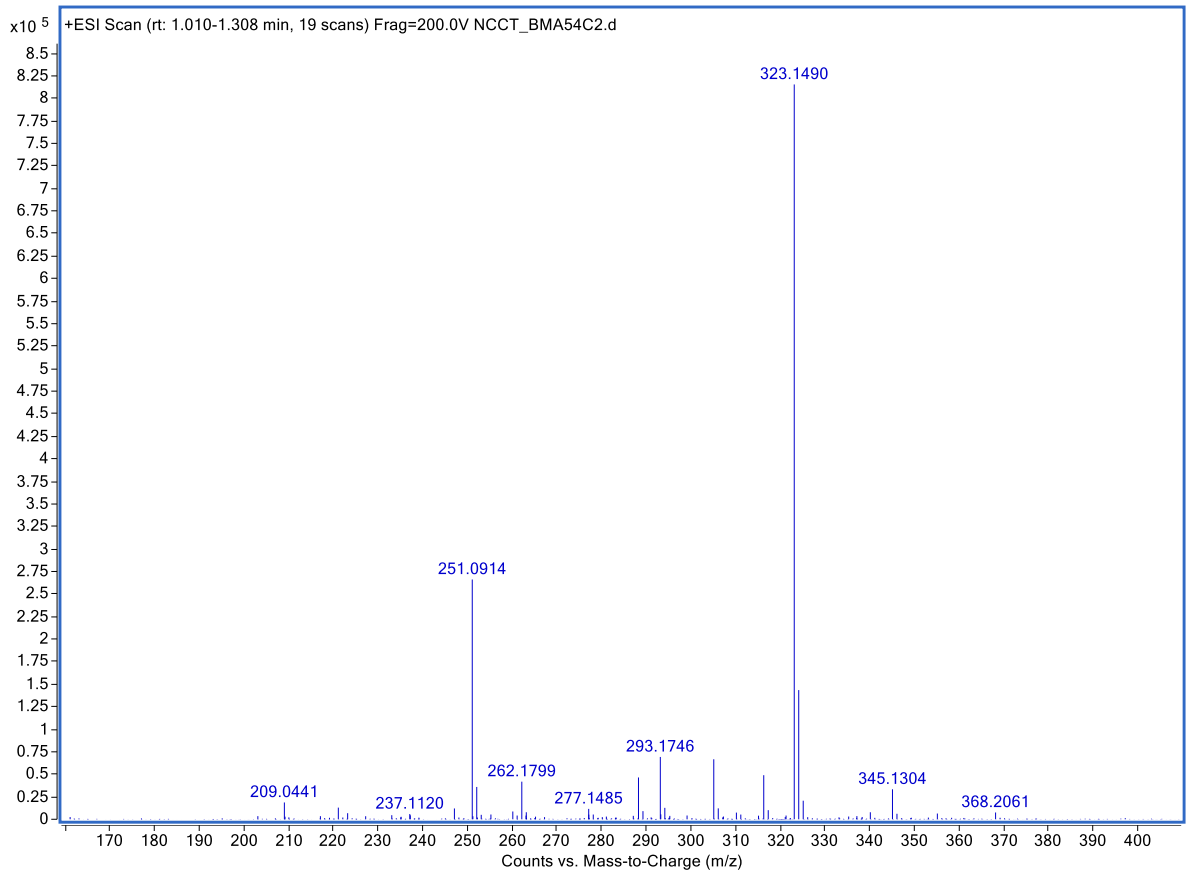
Phổ HSQC

Phổ HMBC

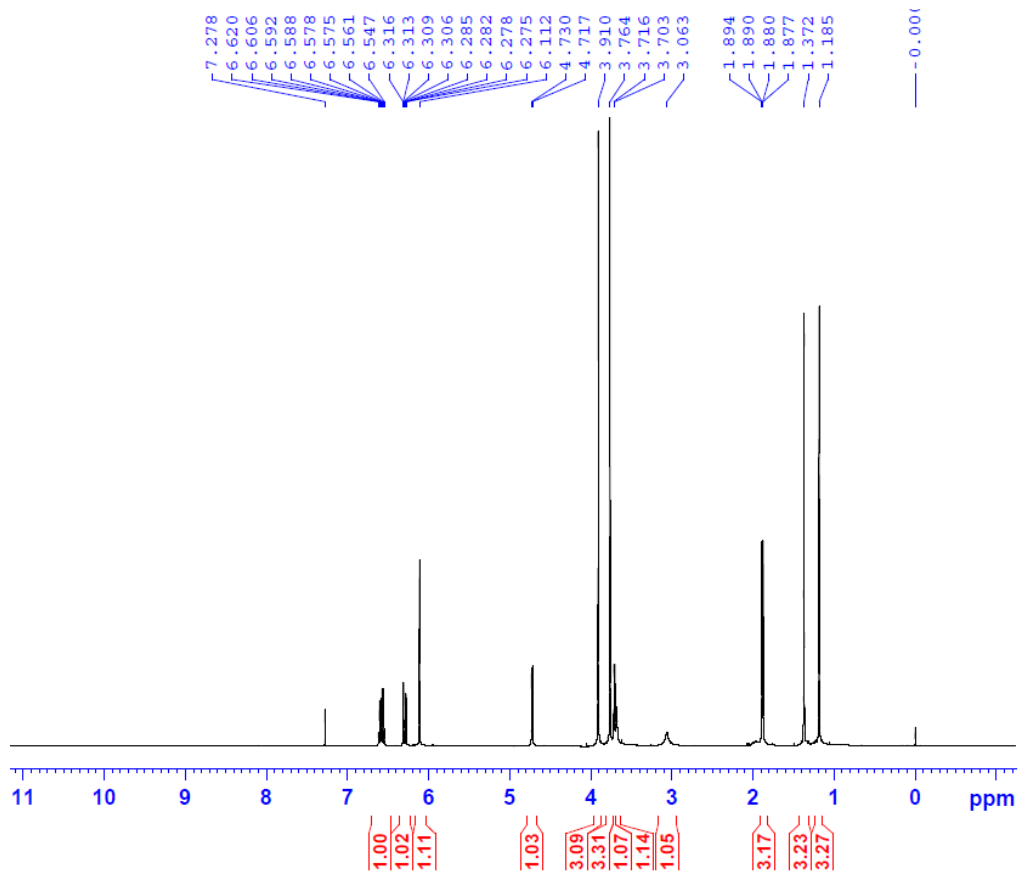
Phổ COSY

Phổ NOESY

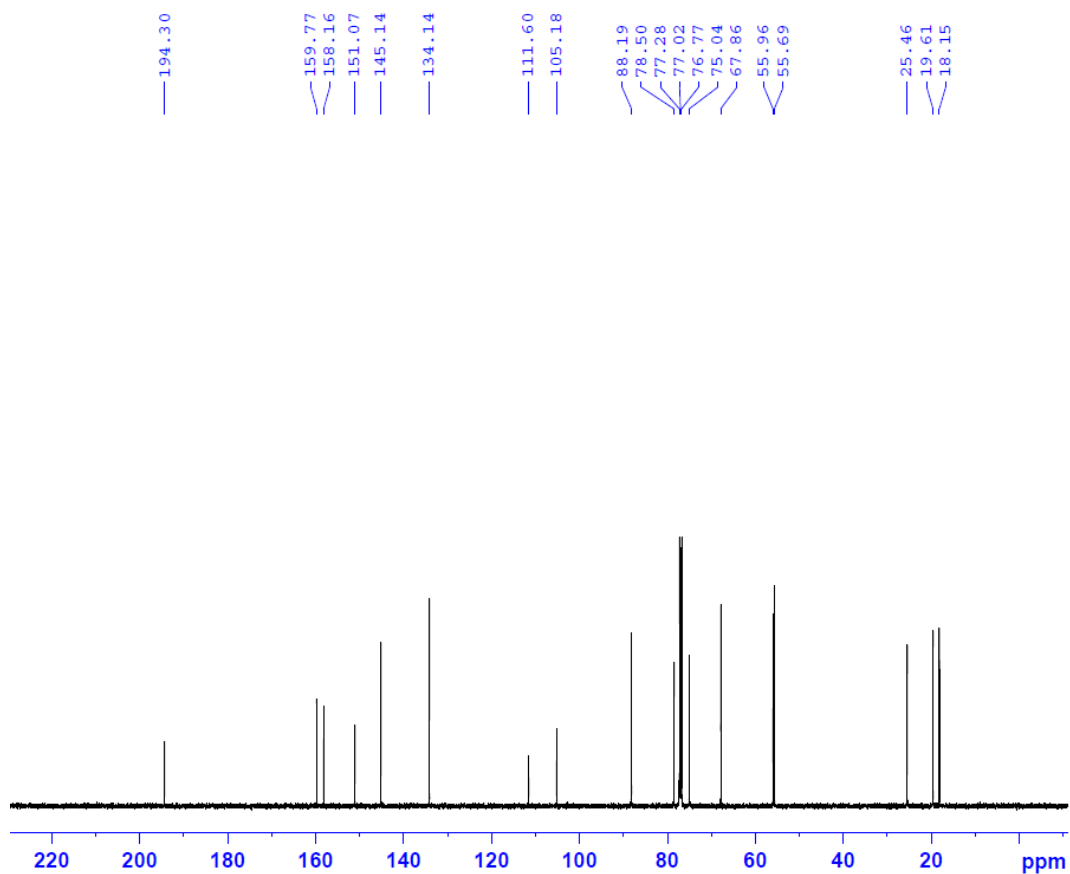
2.1. Phổ HR-ESI-MS của MA2



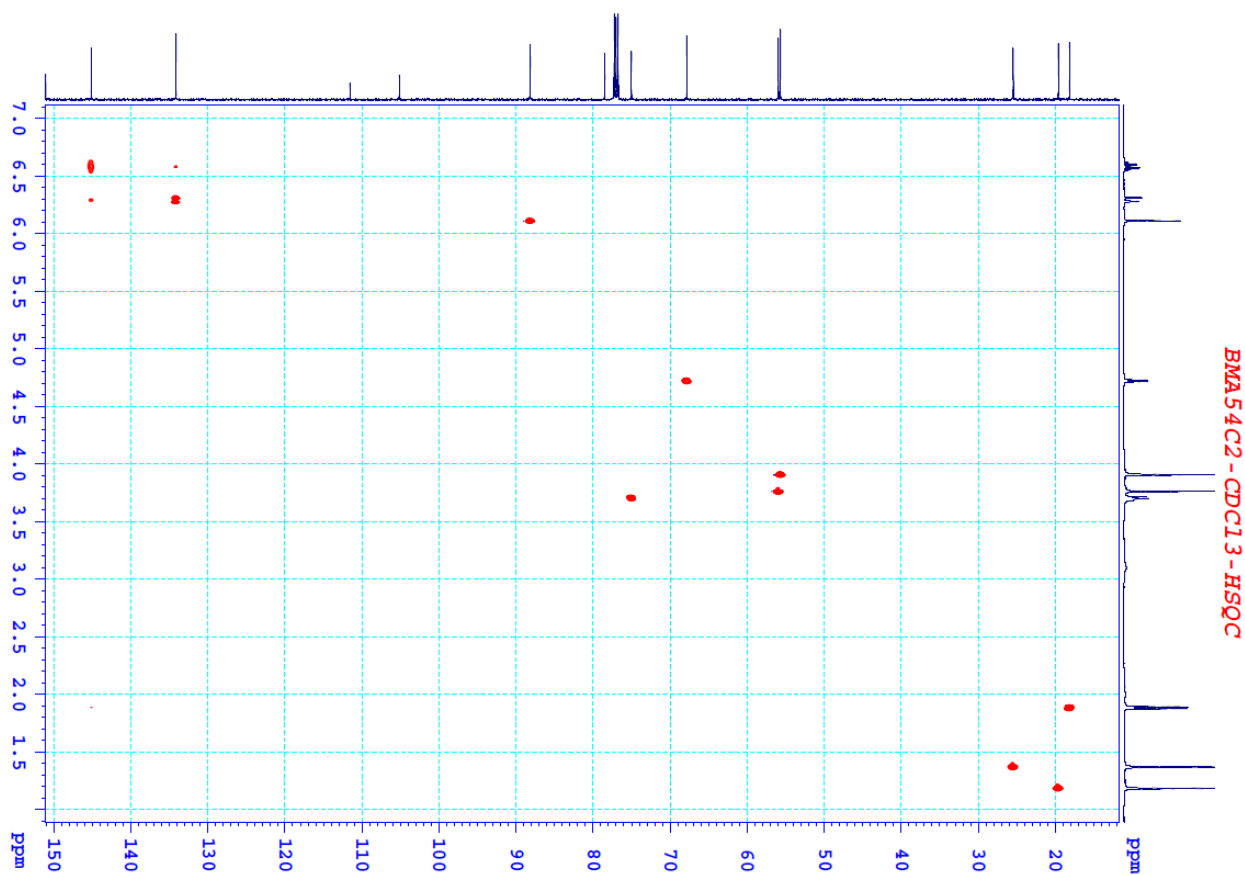
2.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA2



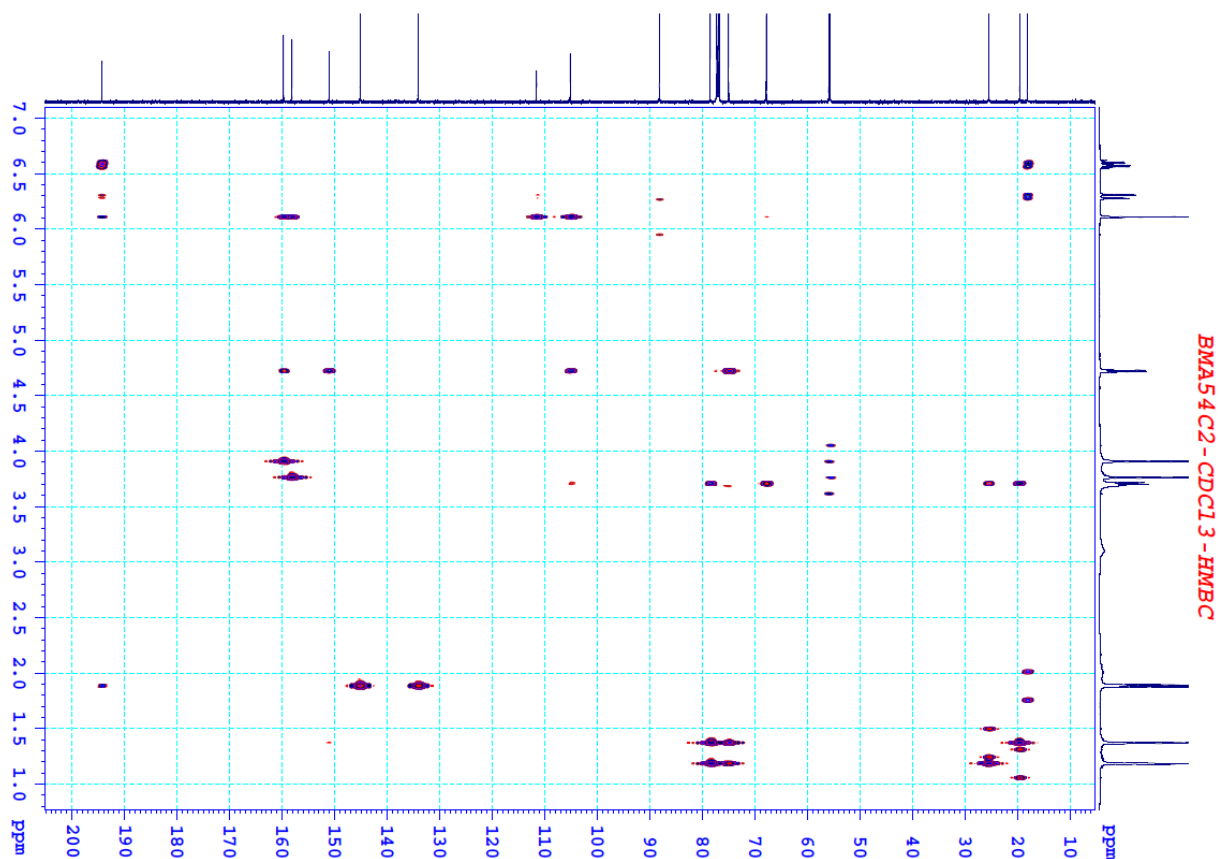
2.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA2



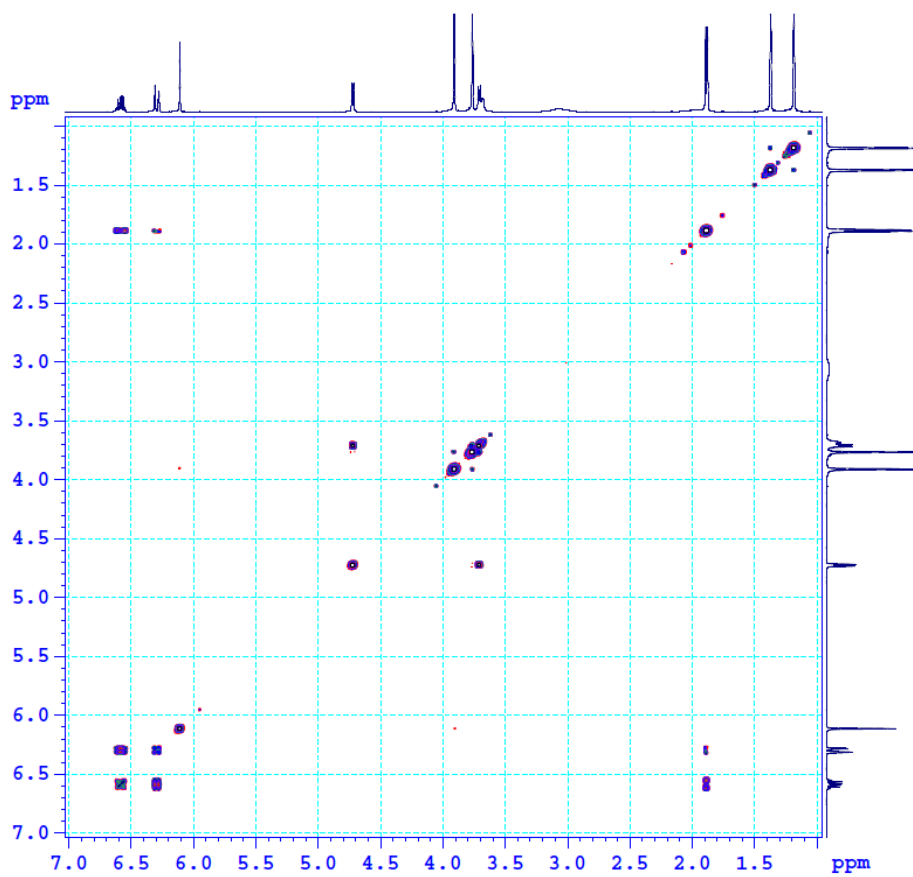
2.4. Phổ HSQC của hợp chất MA2



## 2.5. Phổ HMBC của hợp chất MA2

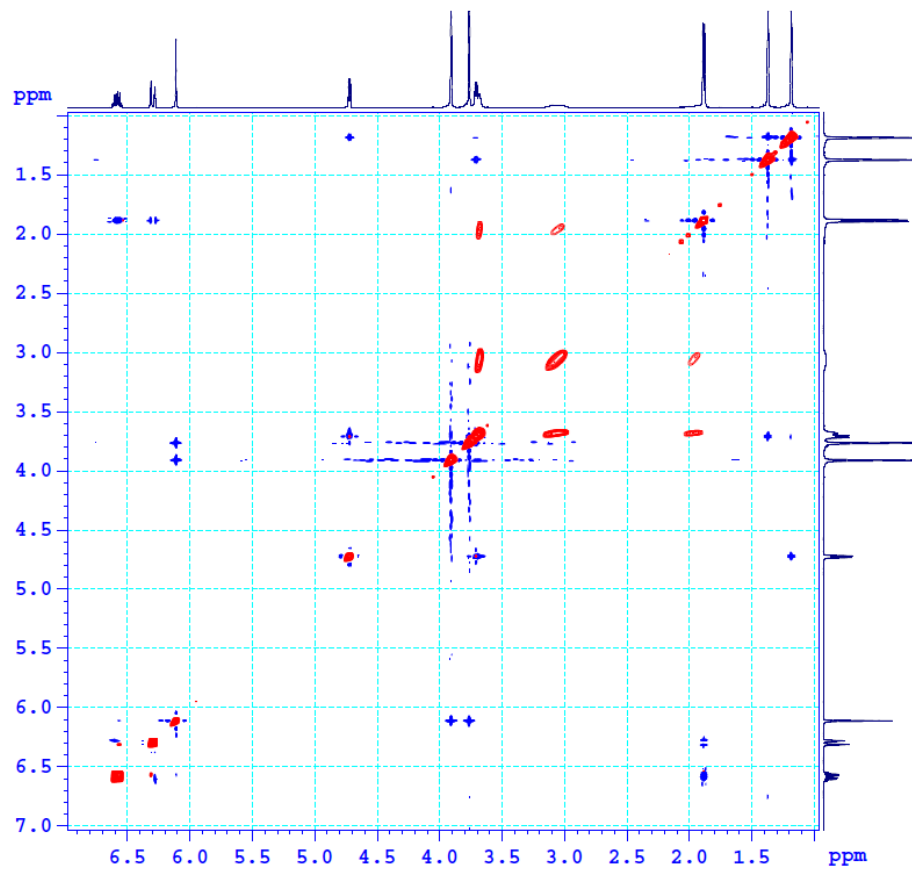


## 2.6. Phổ COSY của hợp chất MA2

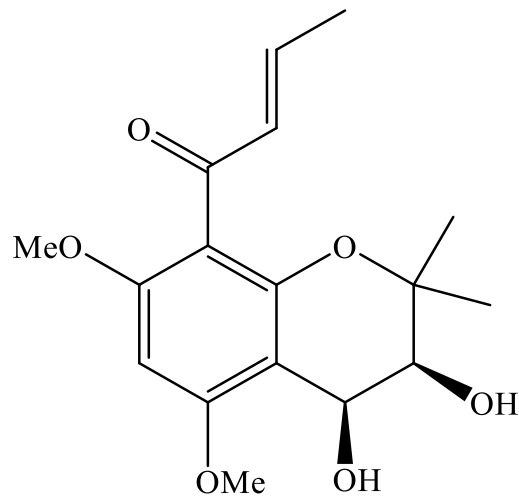




## 2.7. Phổ NOESY của hợp chất MA2



### 3. Hợp chất MA3



**Cấu trúc hóa học của MA3**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

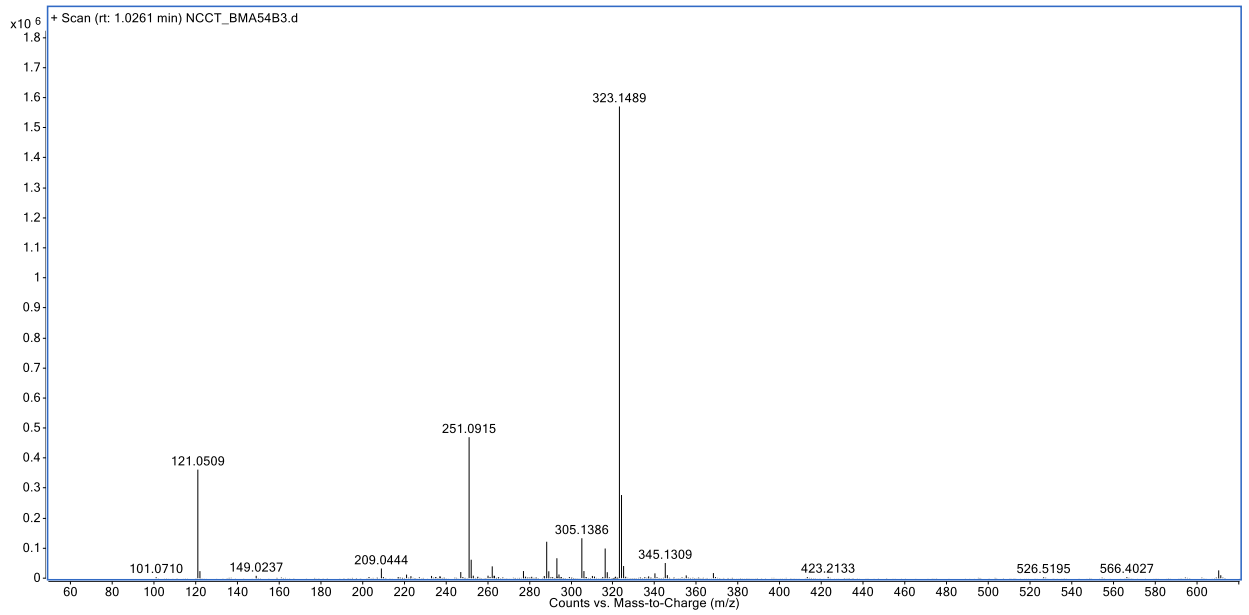
Phổ HSQC

Phổ HMBC

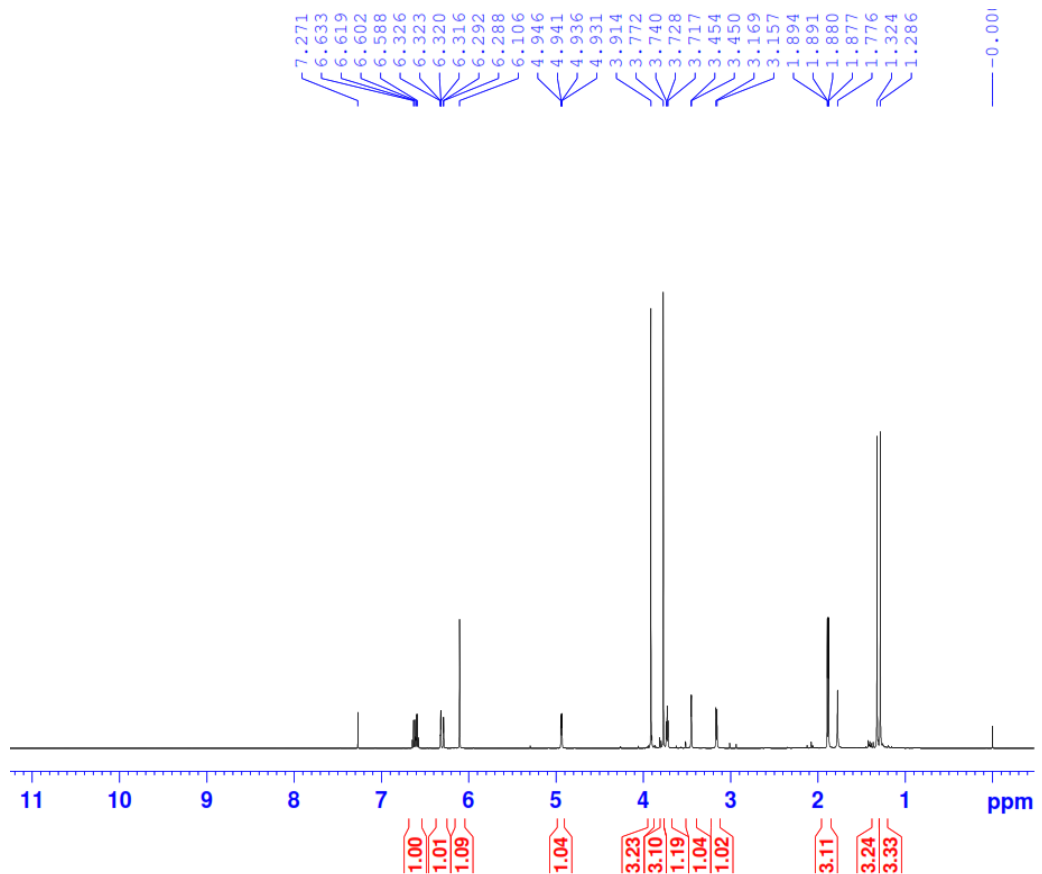
Phổ COSY

Phổ NOESY

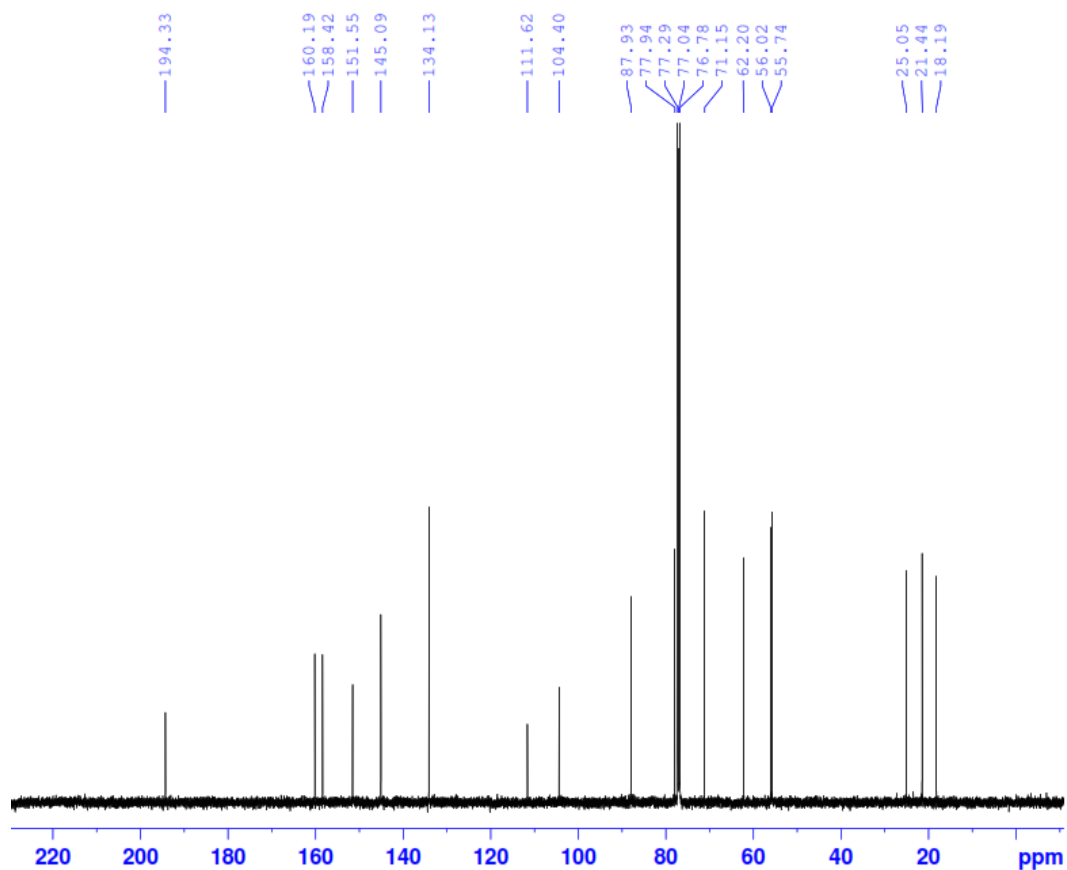
3.1. Phổ HR-ESI-MS của MA3



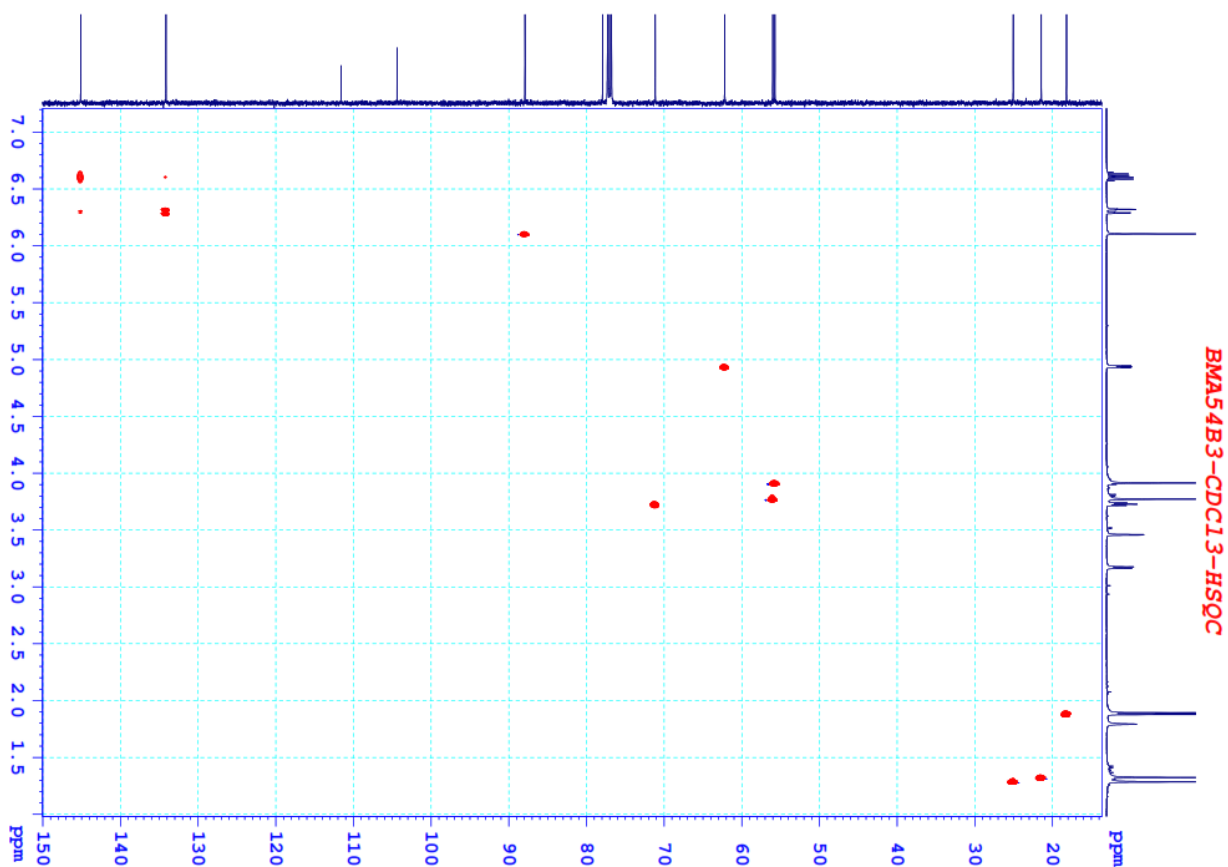
3.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA3



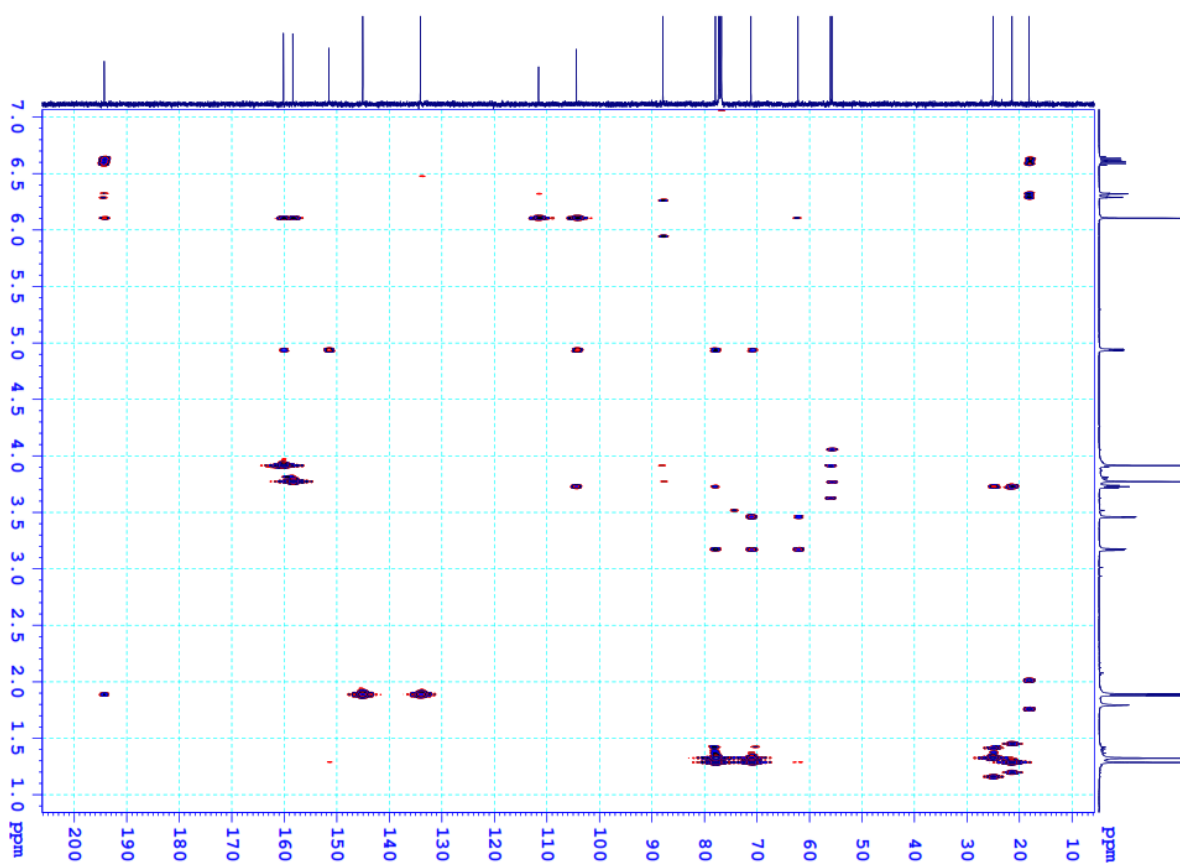
3.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA3



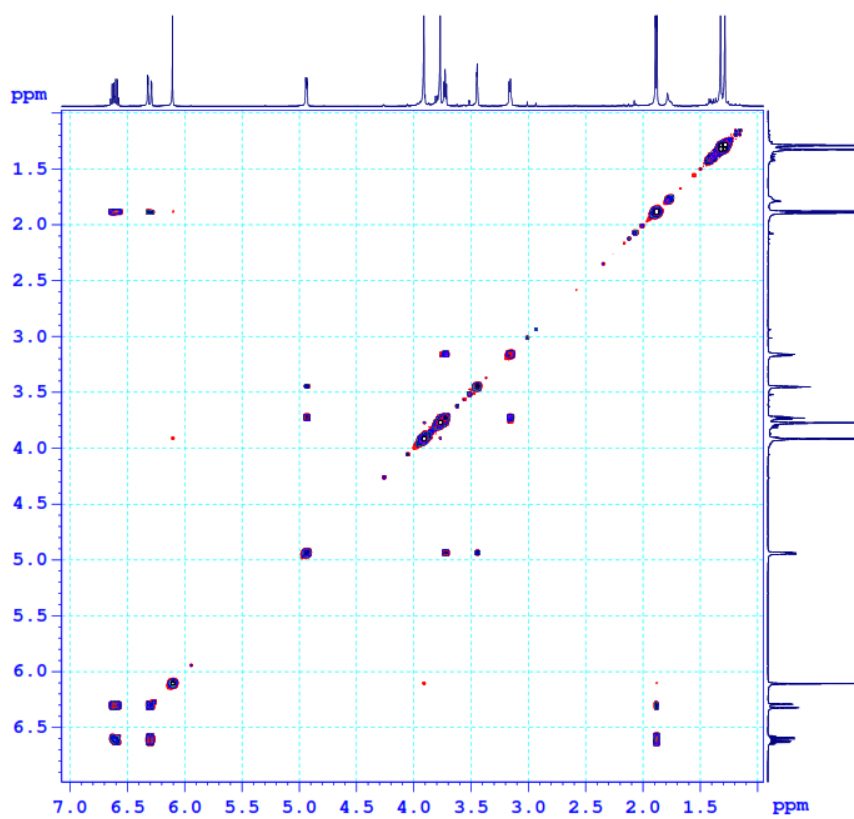
3.4. Phổ HSQC của hợp chất MA3



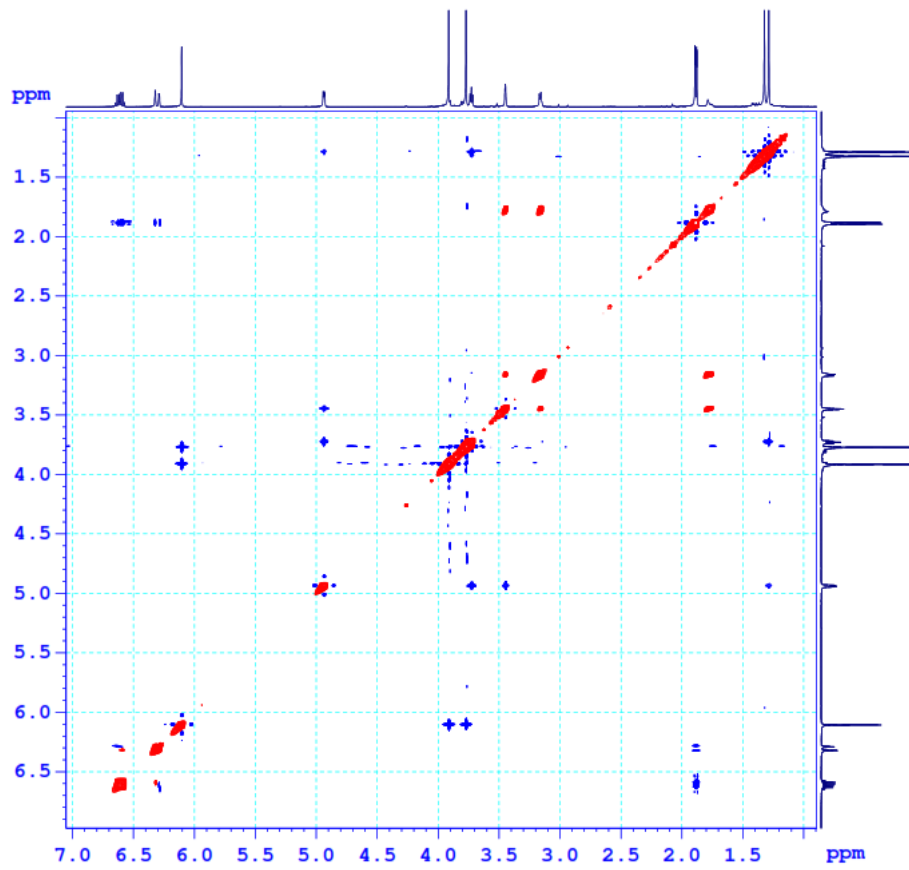
## 3.5. Phổ HMBC của hợp chất MA3



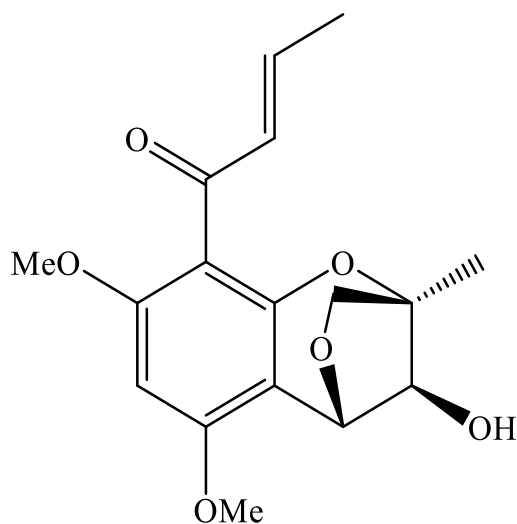
## 3.6. Phổ COSY của hợp chất MA3

**BMA54B3-CDC13-COSYGP**

## 3.7. Phổ NOESY của hợp chất MA3



#### 4. Hợp chất MA4



**Cấu trúc hóa học của MA4**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{17}H_{20}O_6$ ,  $M = 320$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

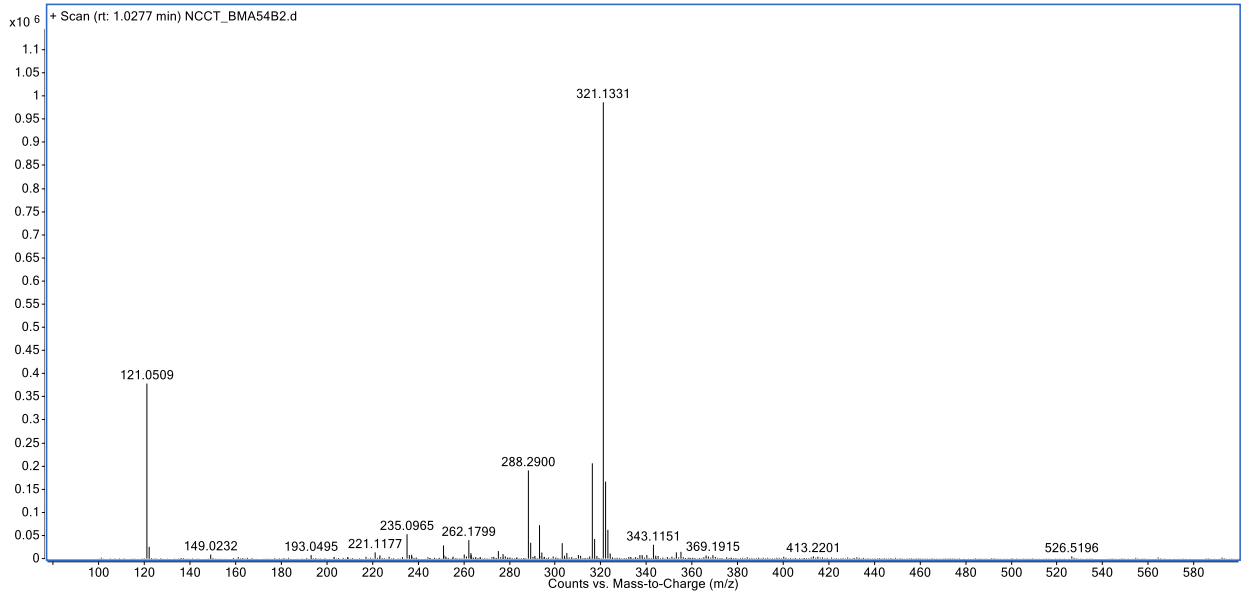
Phổ HSQC

Phổ HMBC

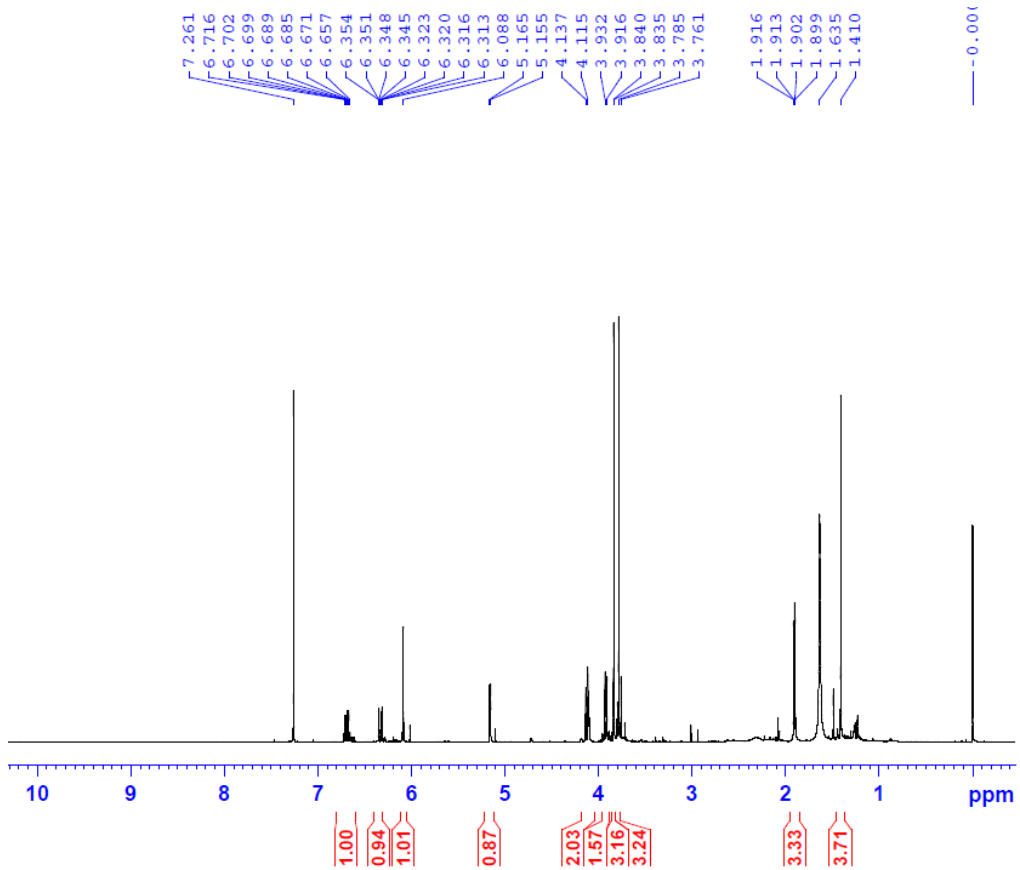
Phổ COSY

Phổ NOESY

4.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA4

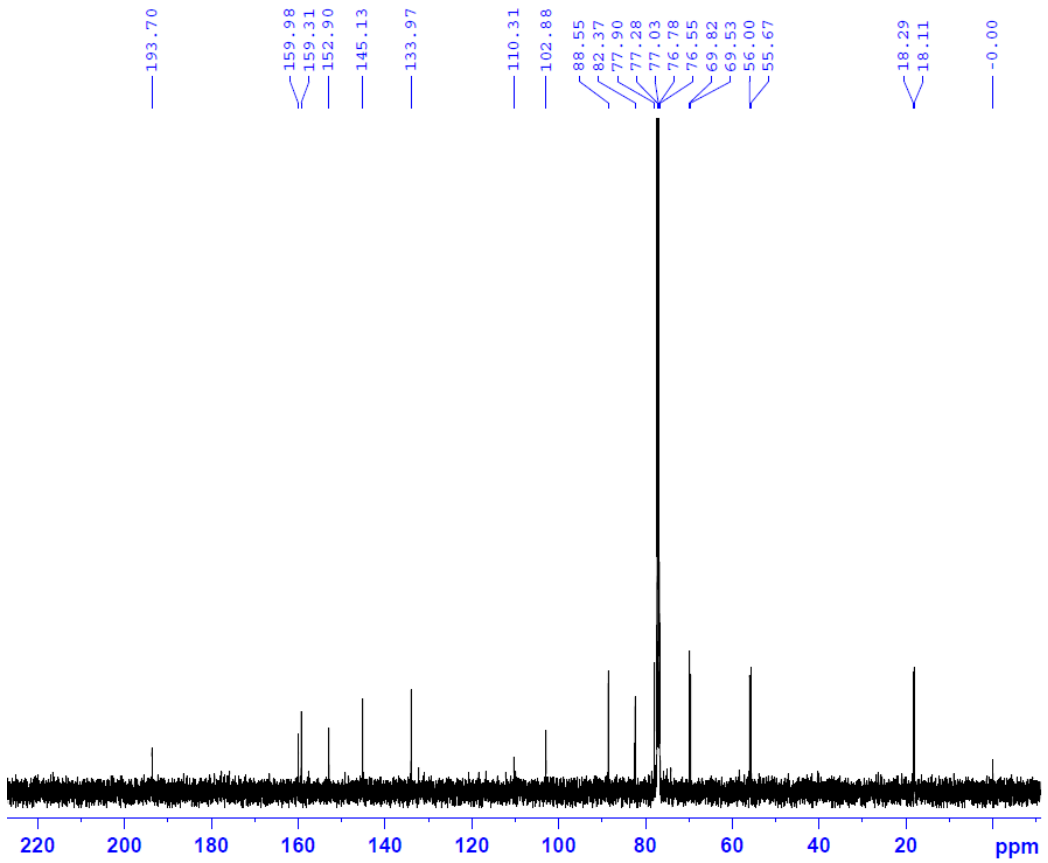


4.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của MA4

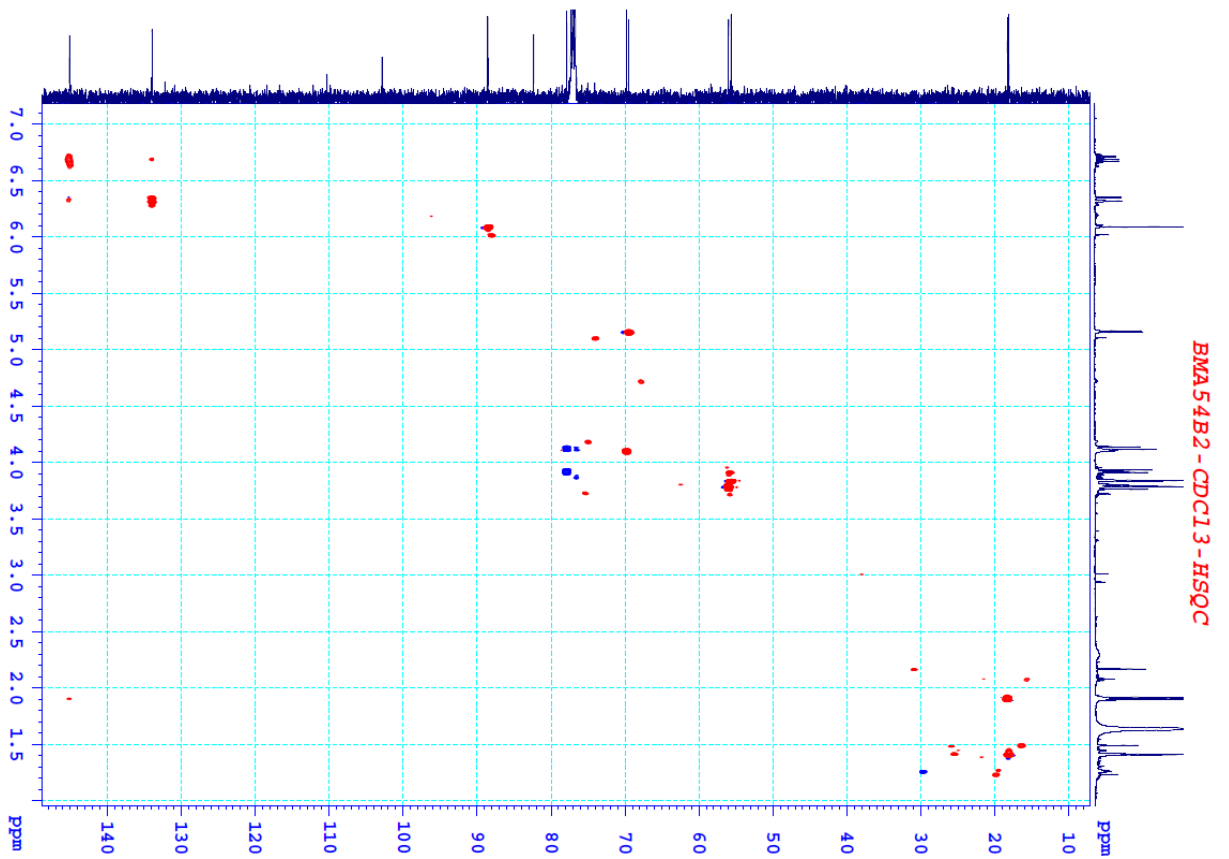




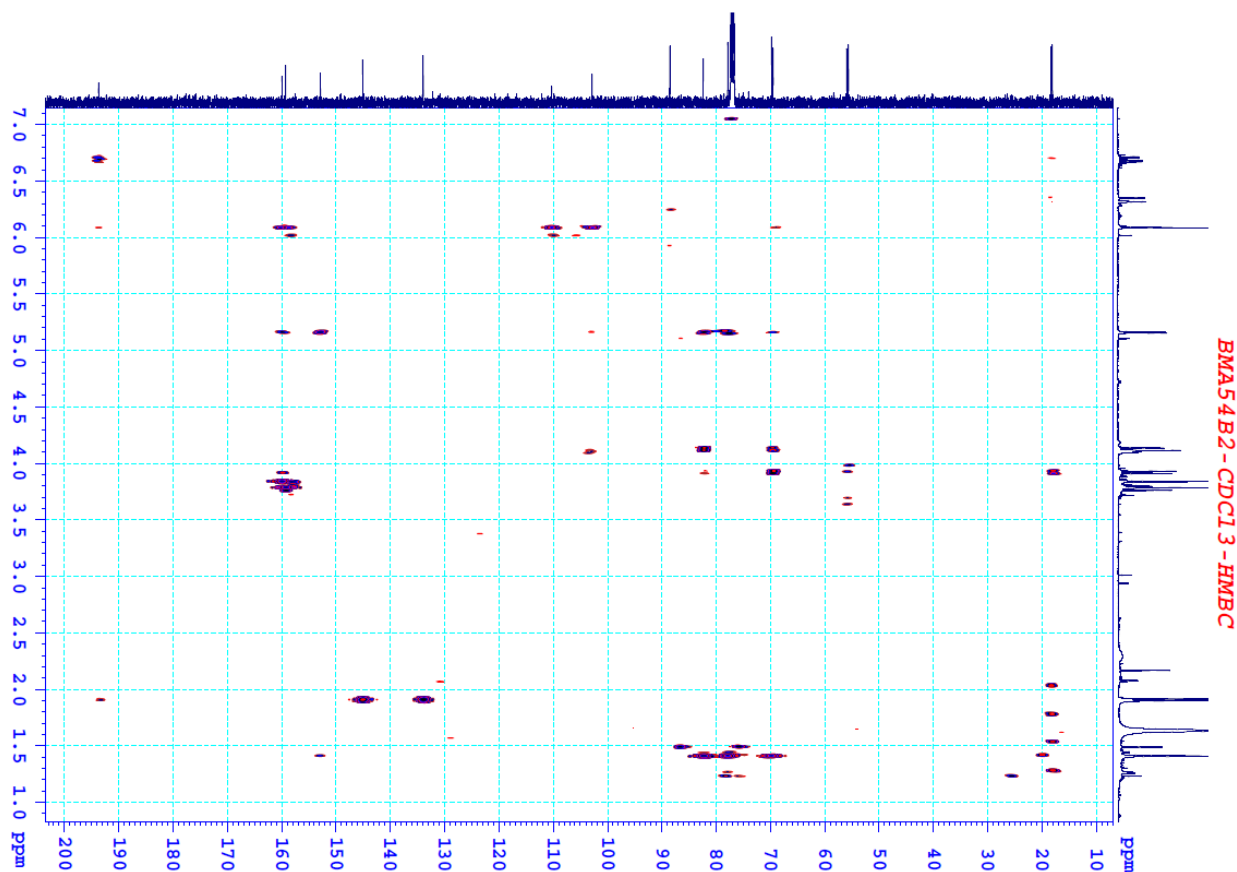
4.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA4



4.4. Phổ HSQC của hợp chất MA4

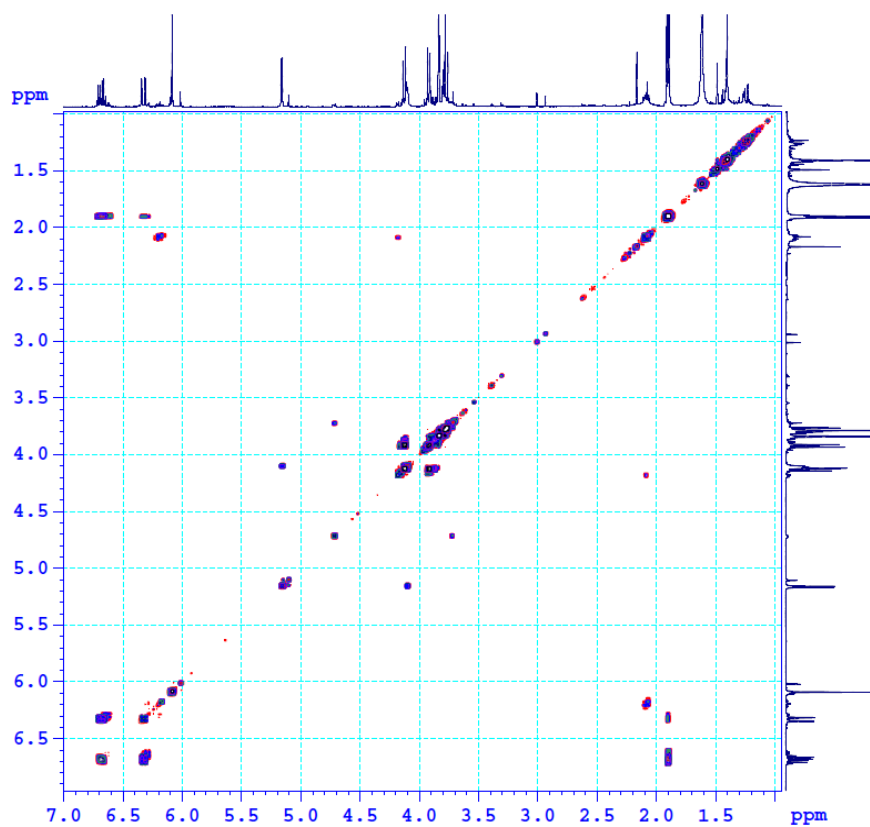


4.5. Phổ HMBC của hợp chất MA4

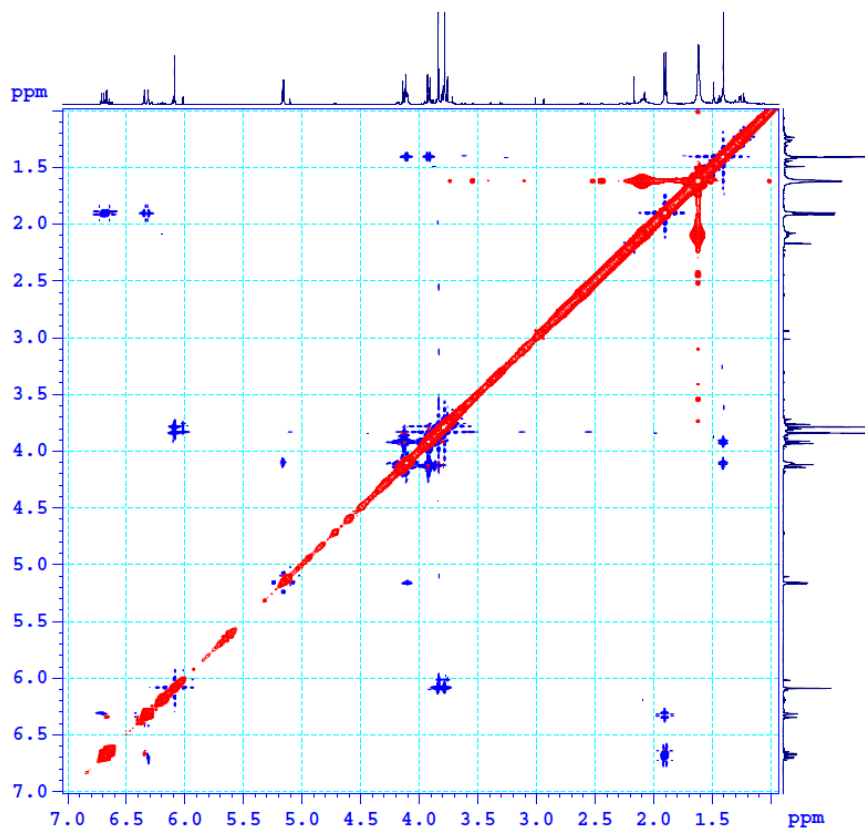


4.6. Phổ COSY của hợp chất MA4

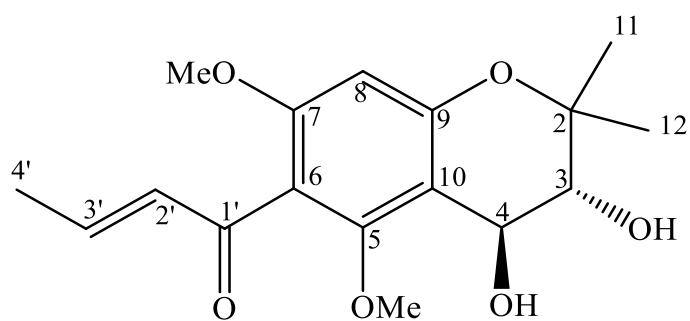
BMA54B2 - CDCl3 - COSYGP



## 4.7. Phổ NOESY của hợp chất MA4

BMA54B2 - CDCl<sub>3</sub> - NOESY

## 5. Hợp chất MA5



**Cấu trúc hóa học của MA5**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{17}H_{22}O_6$ ,  $M = 322$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

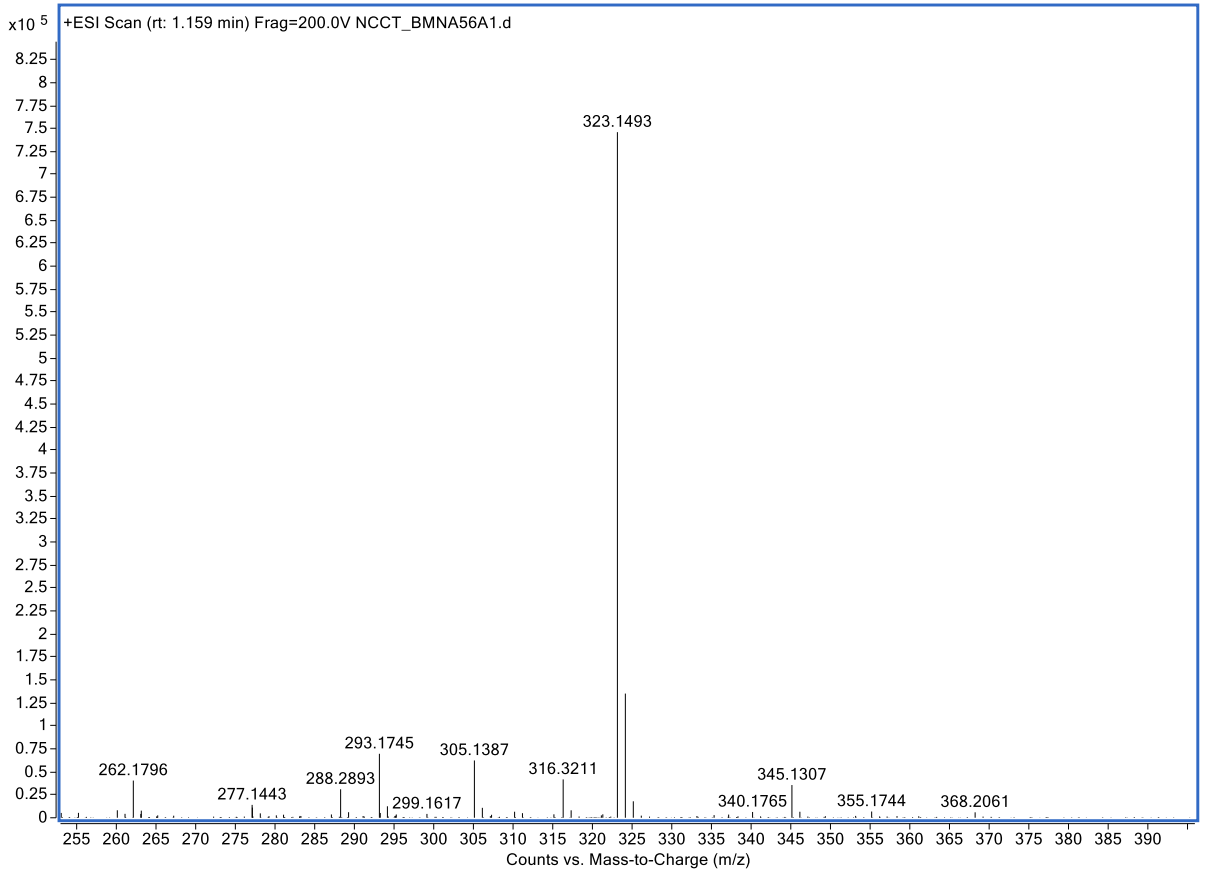
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

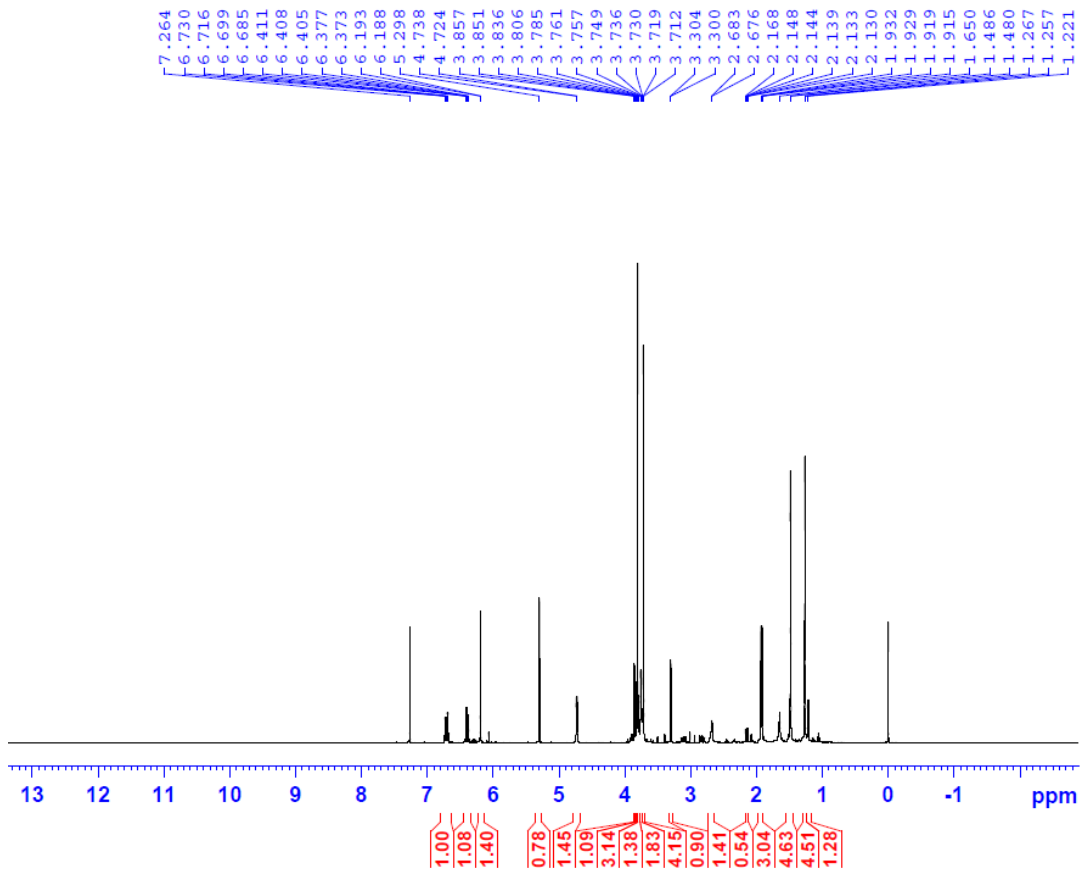
Phổ HMBC

Phổ NOESY

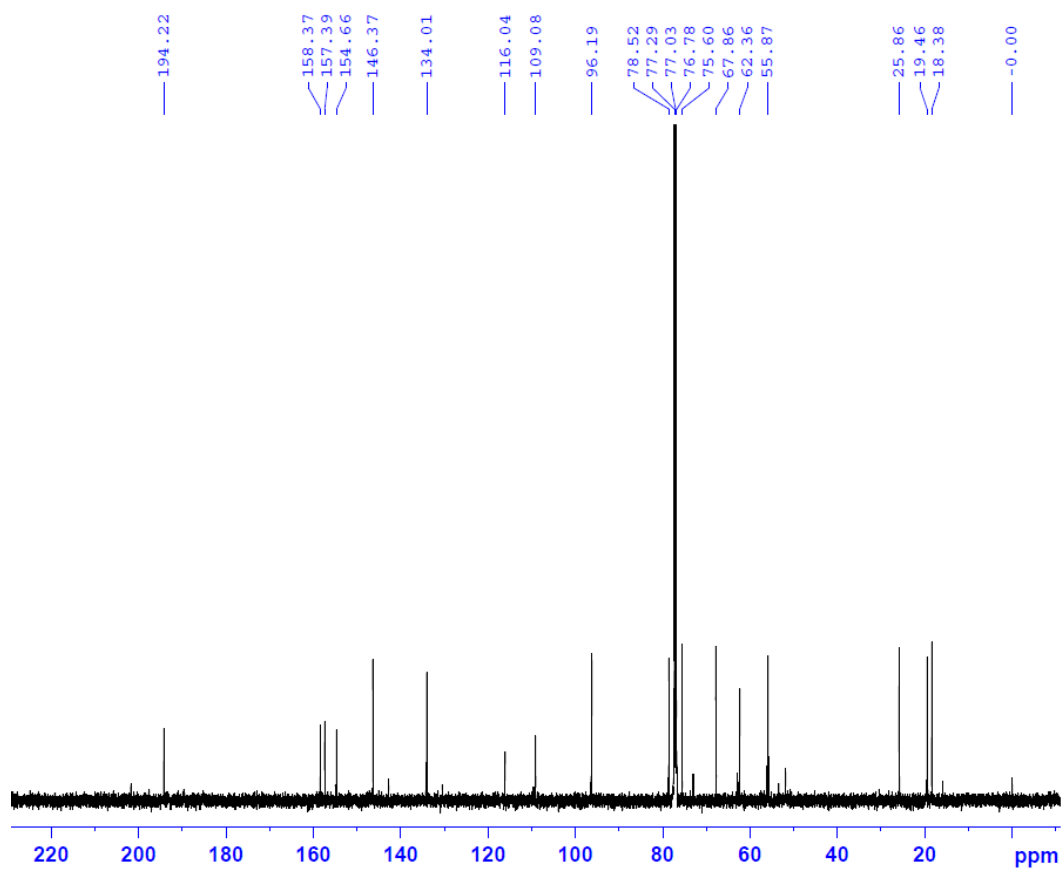
5.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA5



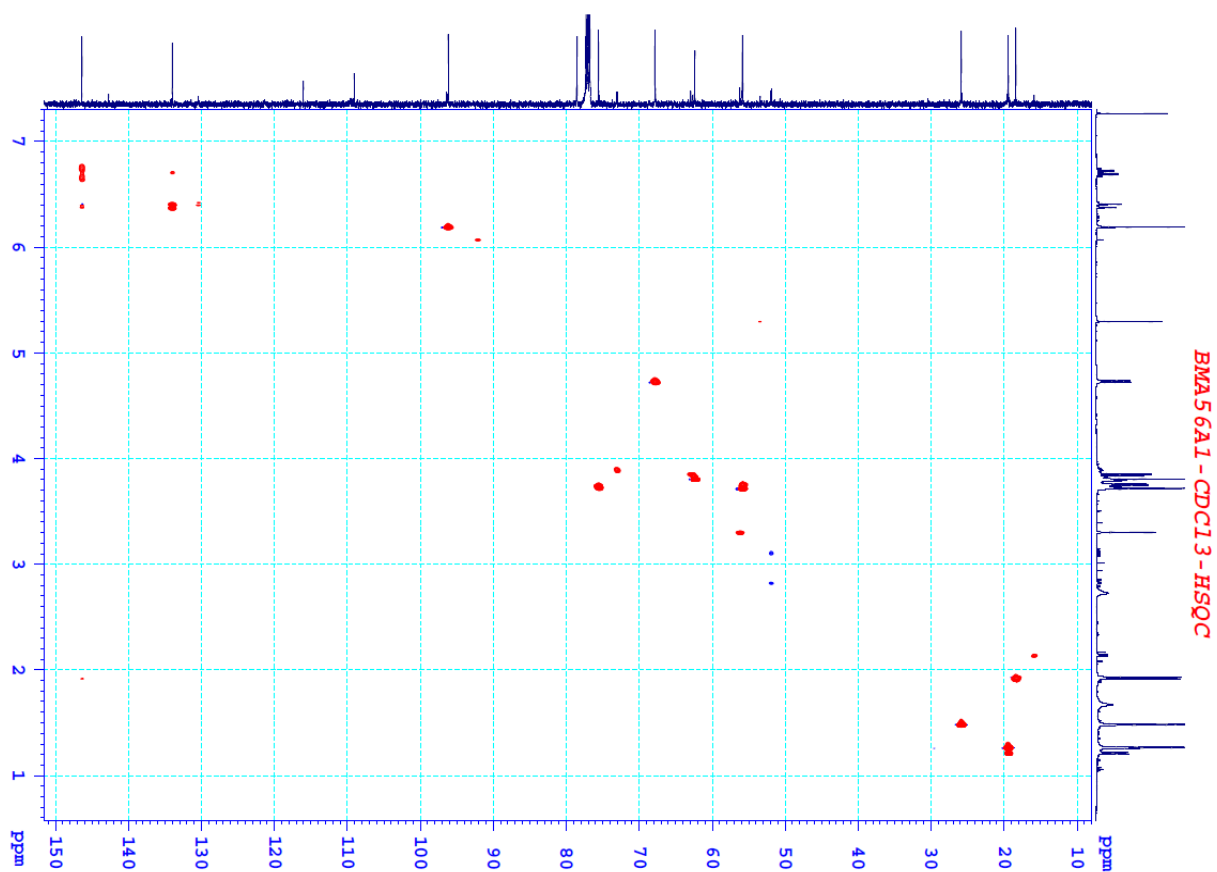
5.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA5



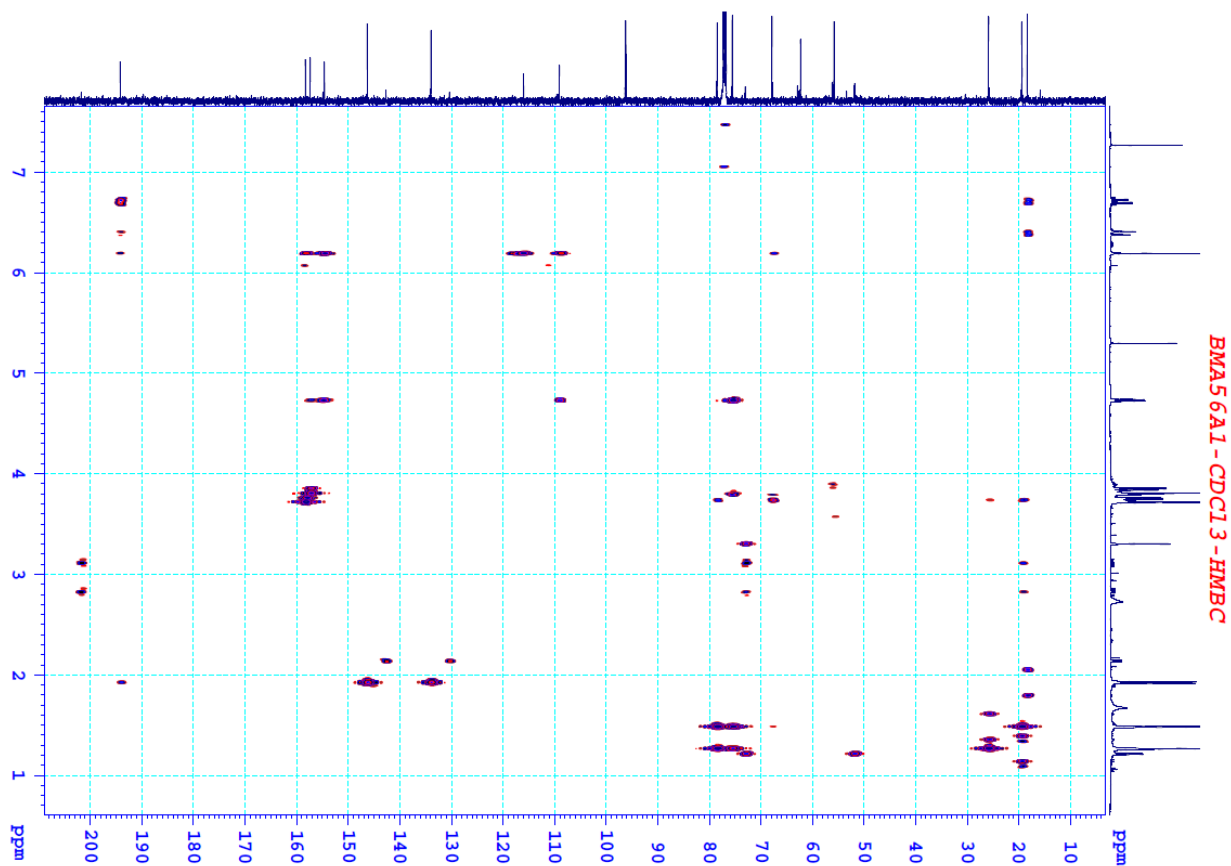
5.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA5



5.4. Phổ HSQC của hợp chất MA5

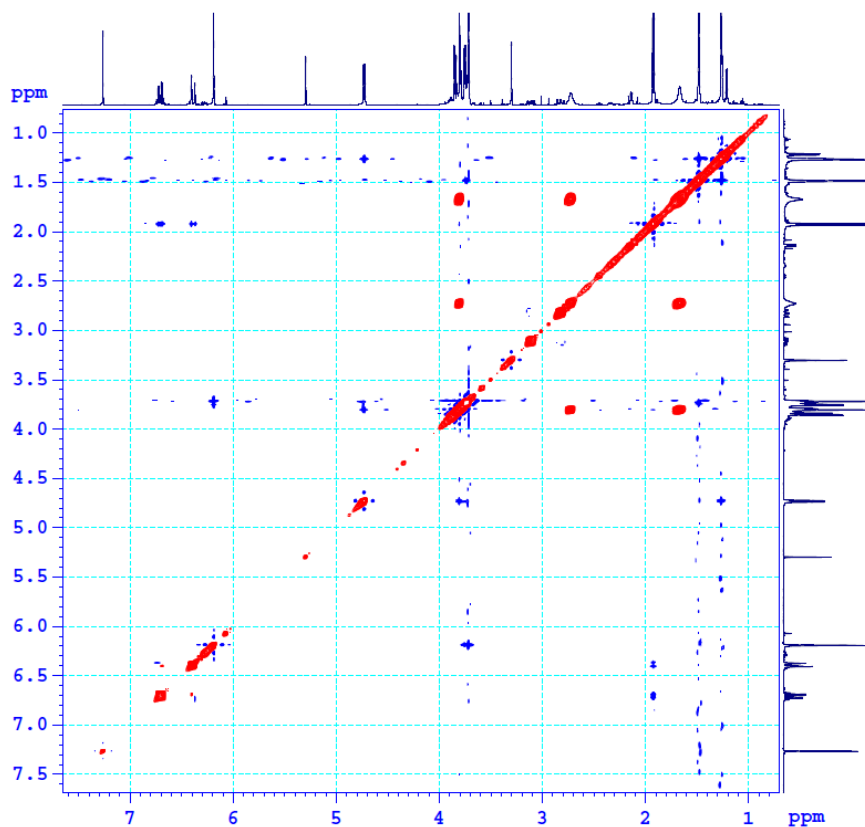


5.5. Phổ HMBC của hợp chất MA5

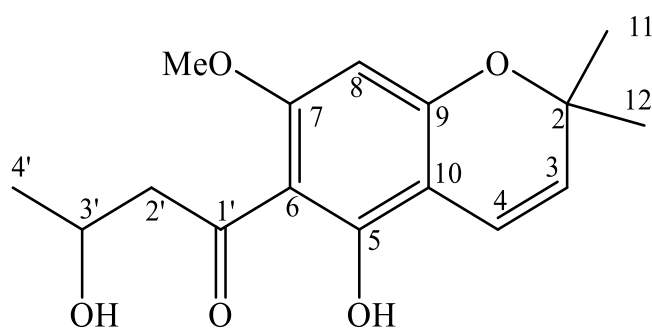


5.6. Phổ NOESY của hợp chất MA5

BMA56A1 - CDCl3 - NOESY



## 6. Hợp chất MA6



**Cấu trúc hóa học của MA6**

Chất bột màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{16}H_{20}O_5$ ,  $M = 292$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

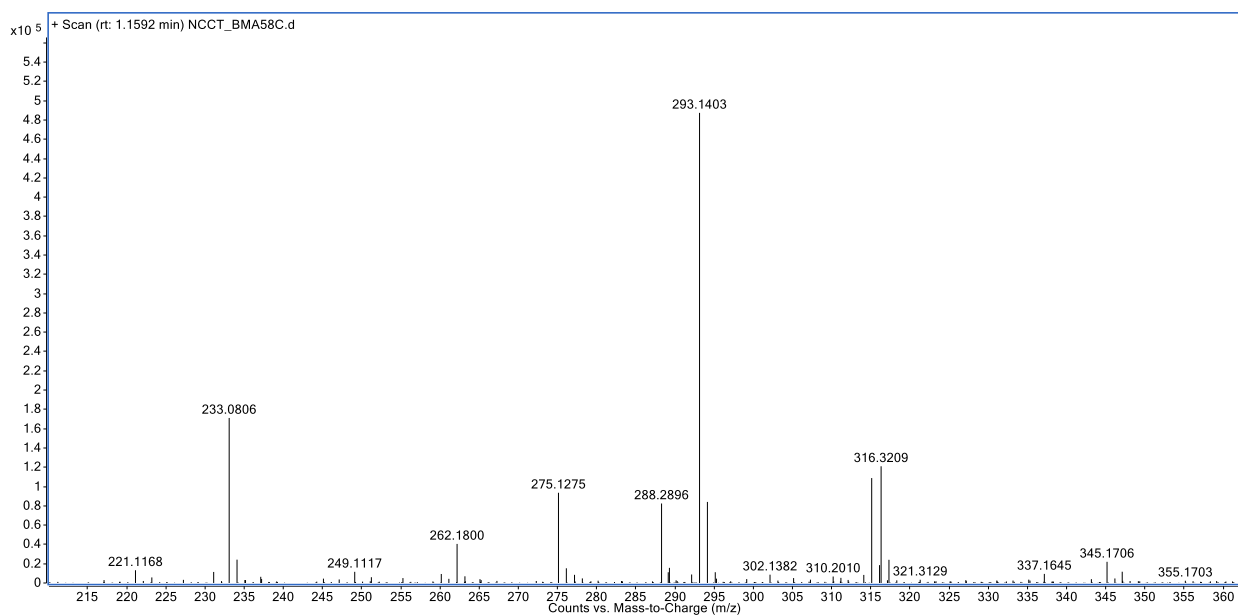
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

Phổ HMBC

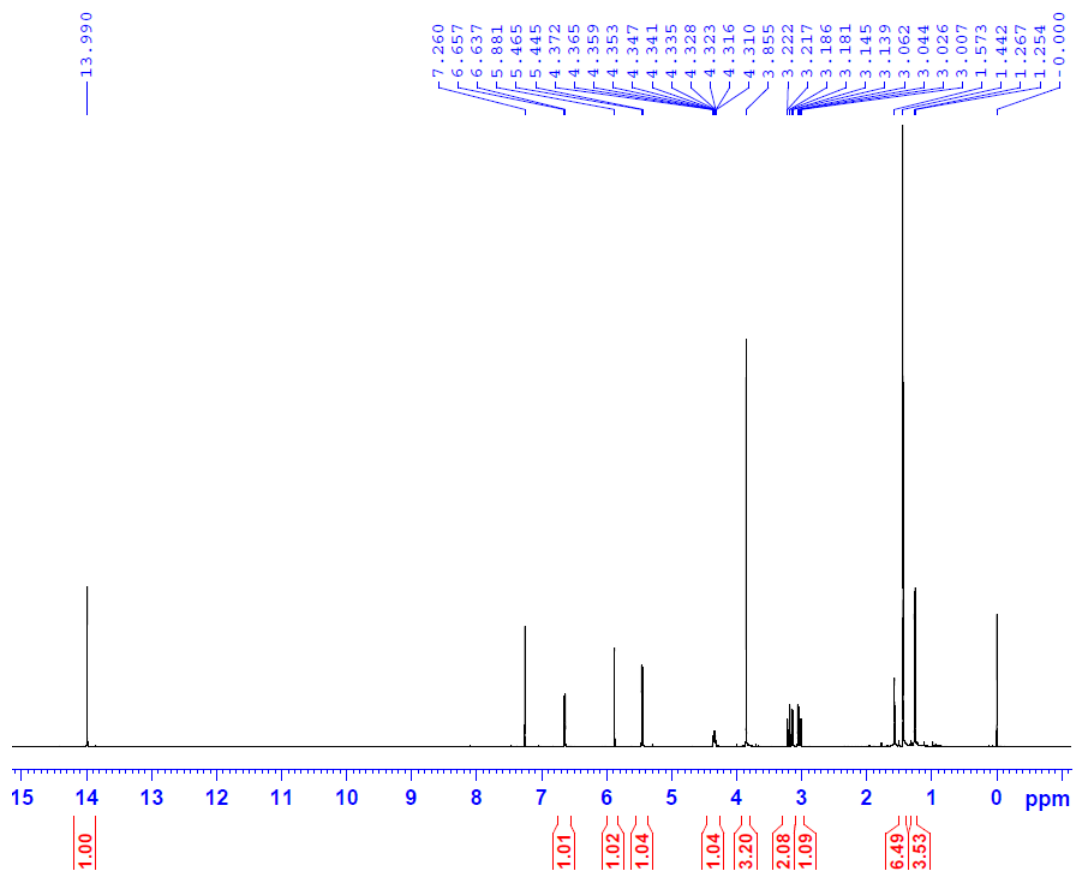
Phổ NOESY

### 6.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA6

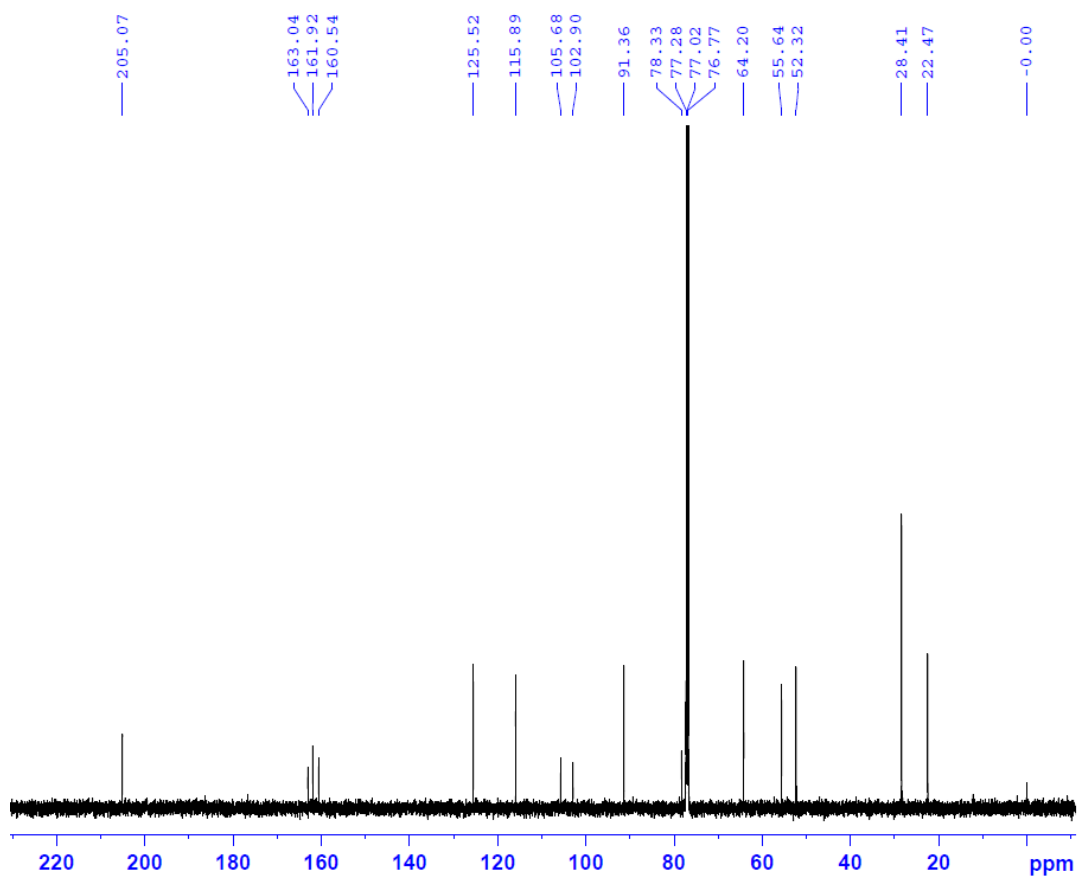




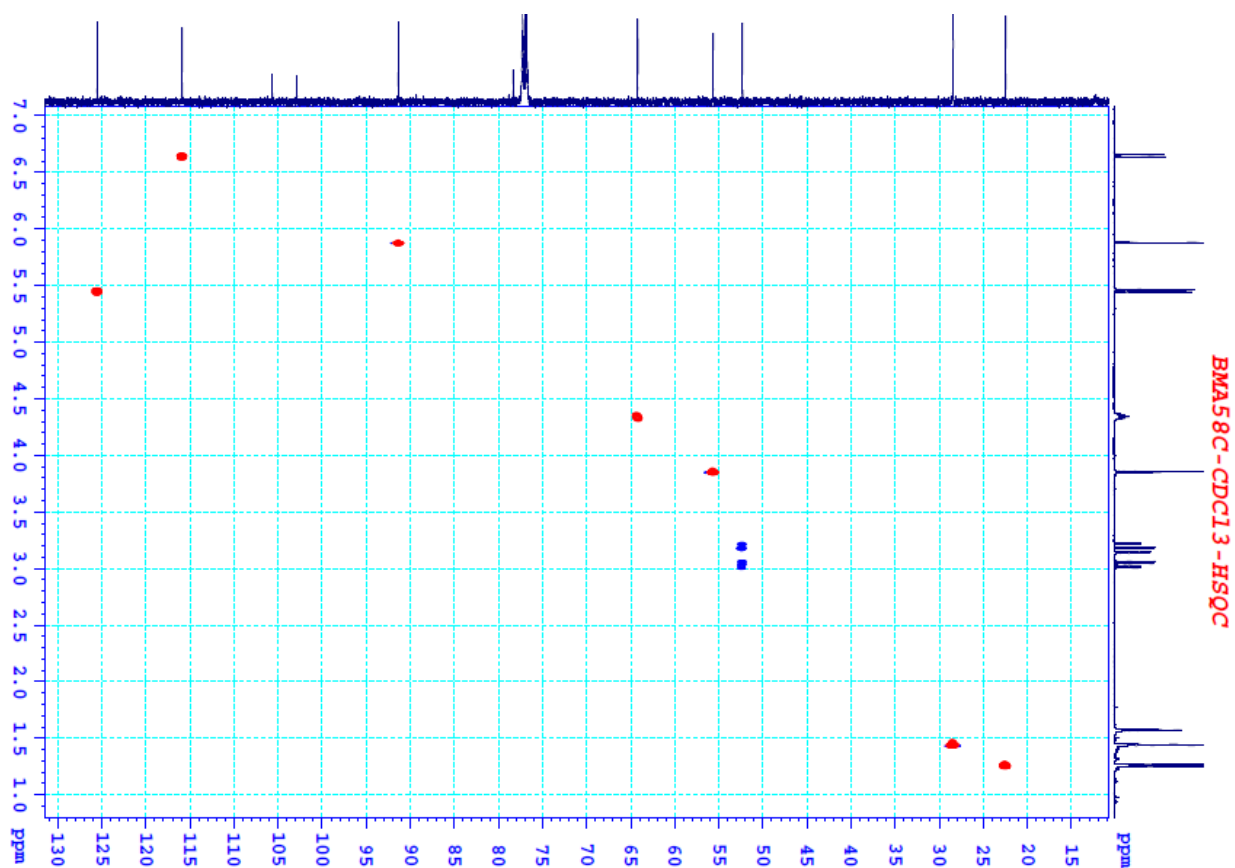
6.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA6



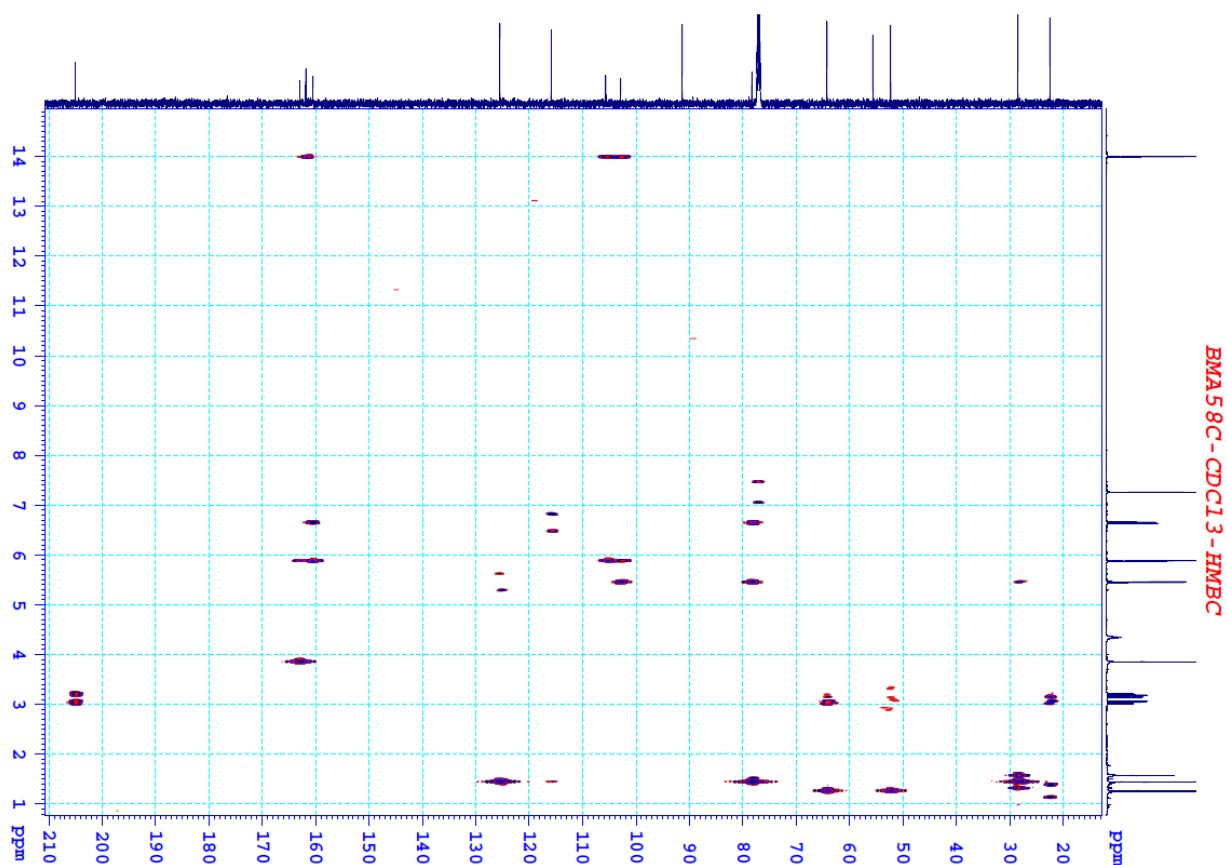
6.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA6



## 6.4. Phổ HSQC của hợp chất MA6

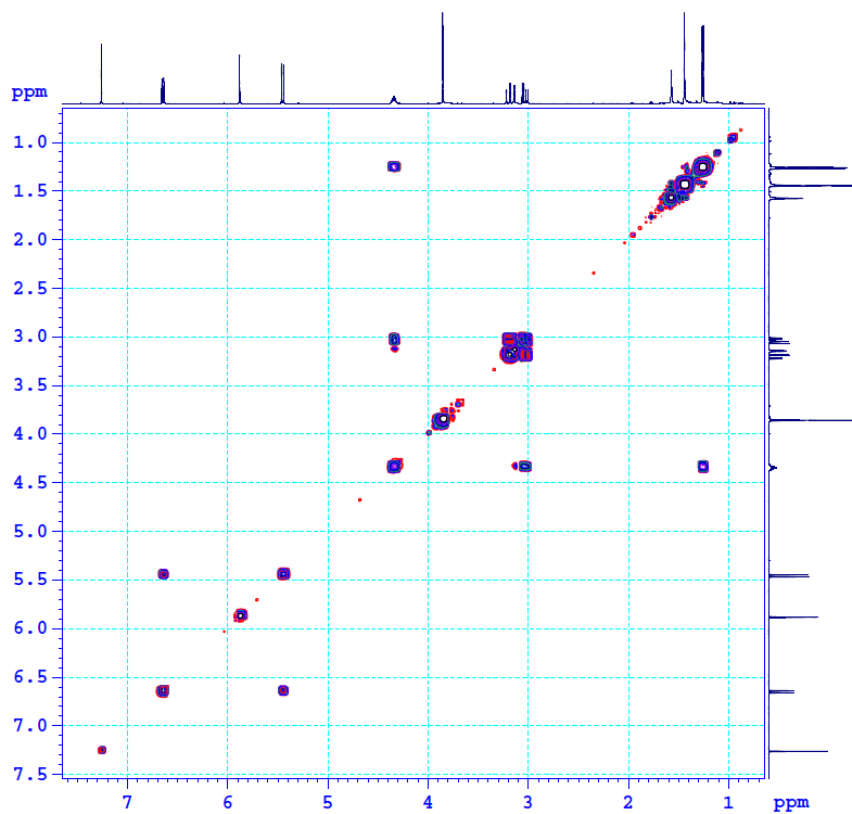


## 6.5. Phổ HMBC của hợp chất MA6

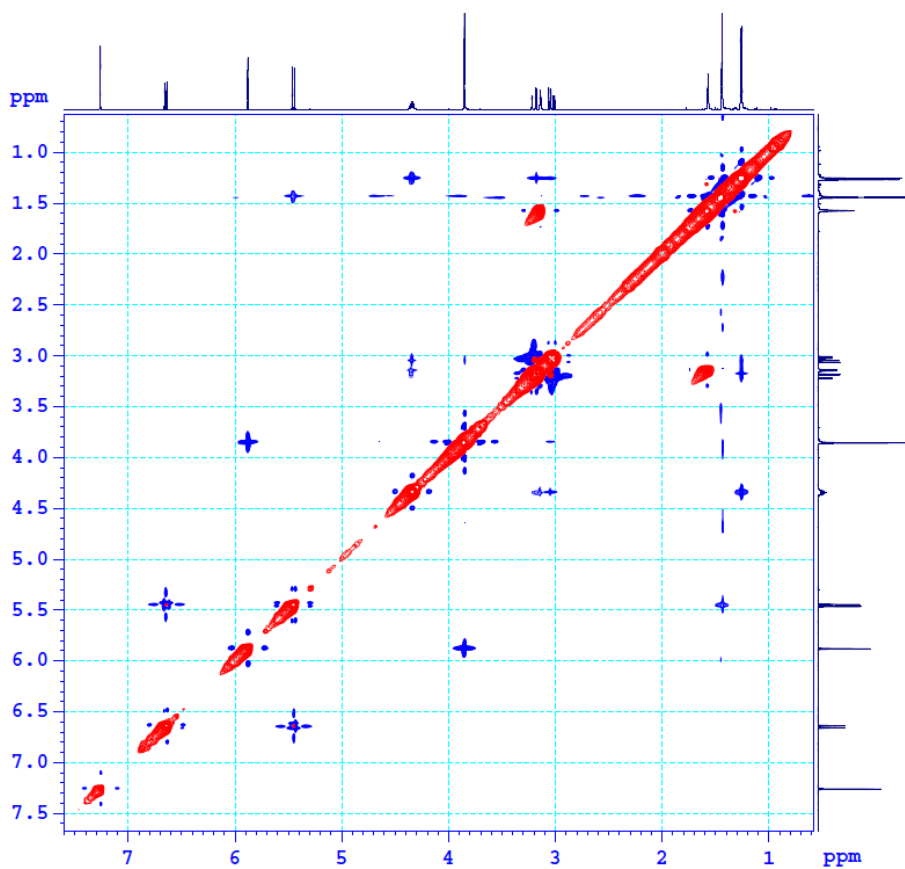


## 6.6. Phổ COSY của hợp chất MA6

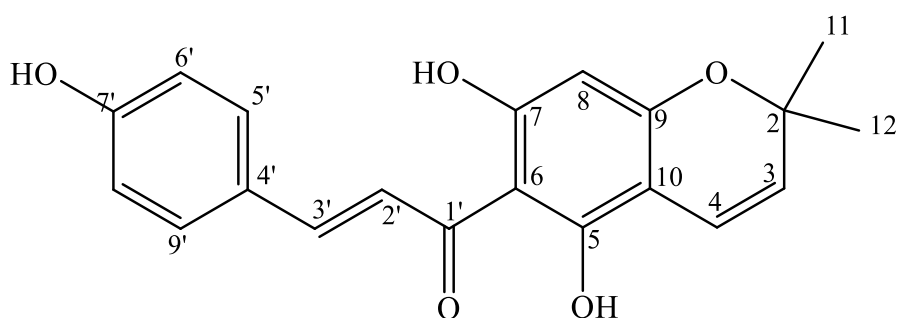
BMA58C - CDC13 - COSYGP



## 6.7. Phổ NOESY của hợp chất MA6



## 7. Hợp chất MA7



**Cấu trúc hóa học của MA7**

Chất bột màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{20}H_{18}O_5$ ,  $M = 338$ .

Phổ HR-ESI-MS

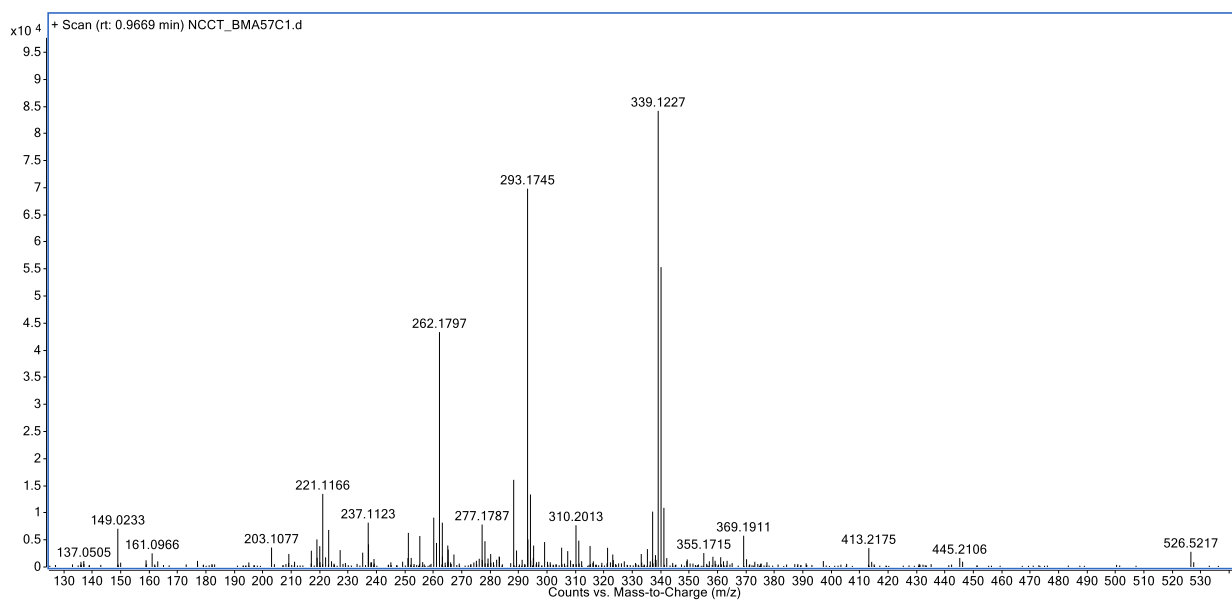
Phổ  $^1H$ -NMR

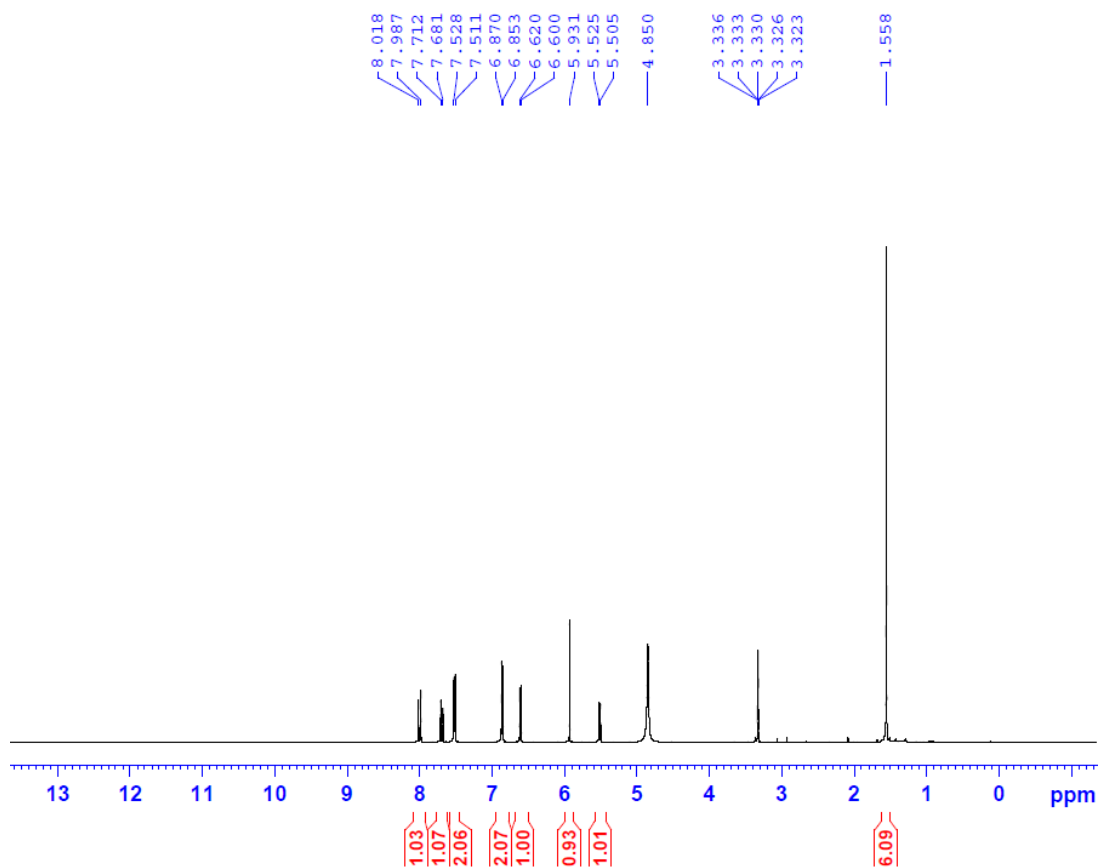
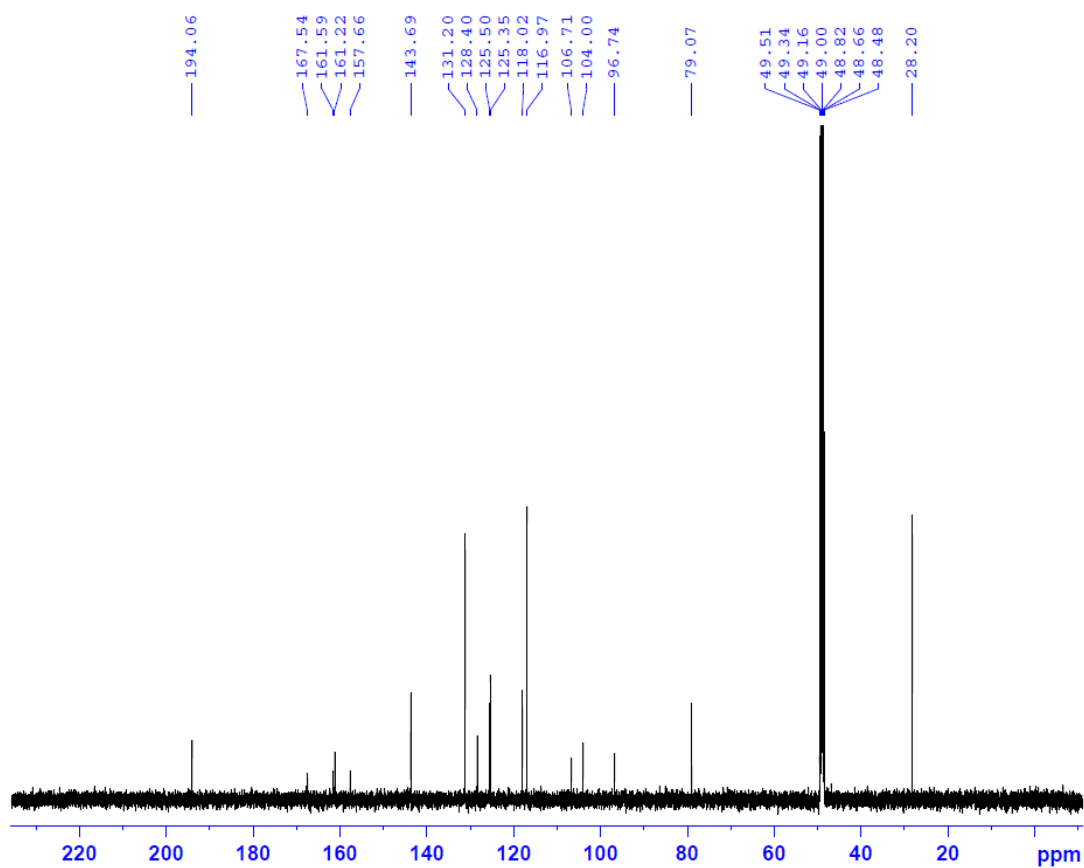
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

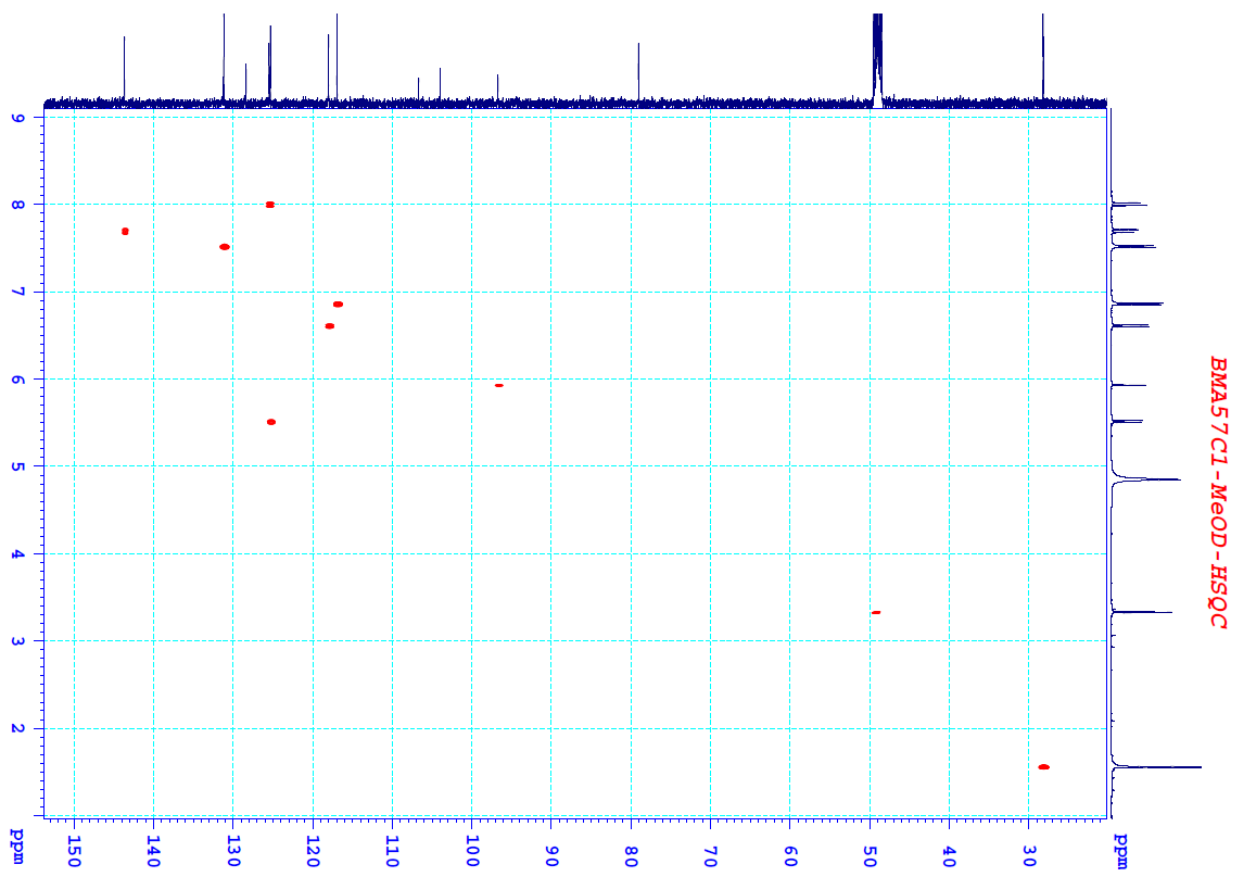
Phổ HMBC

### 7.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA7

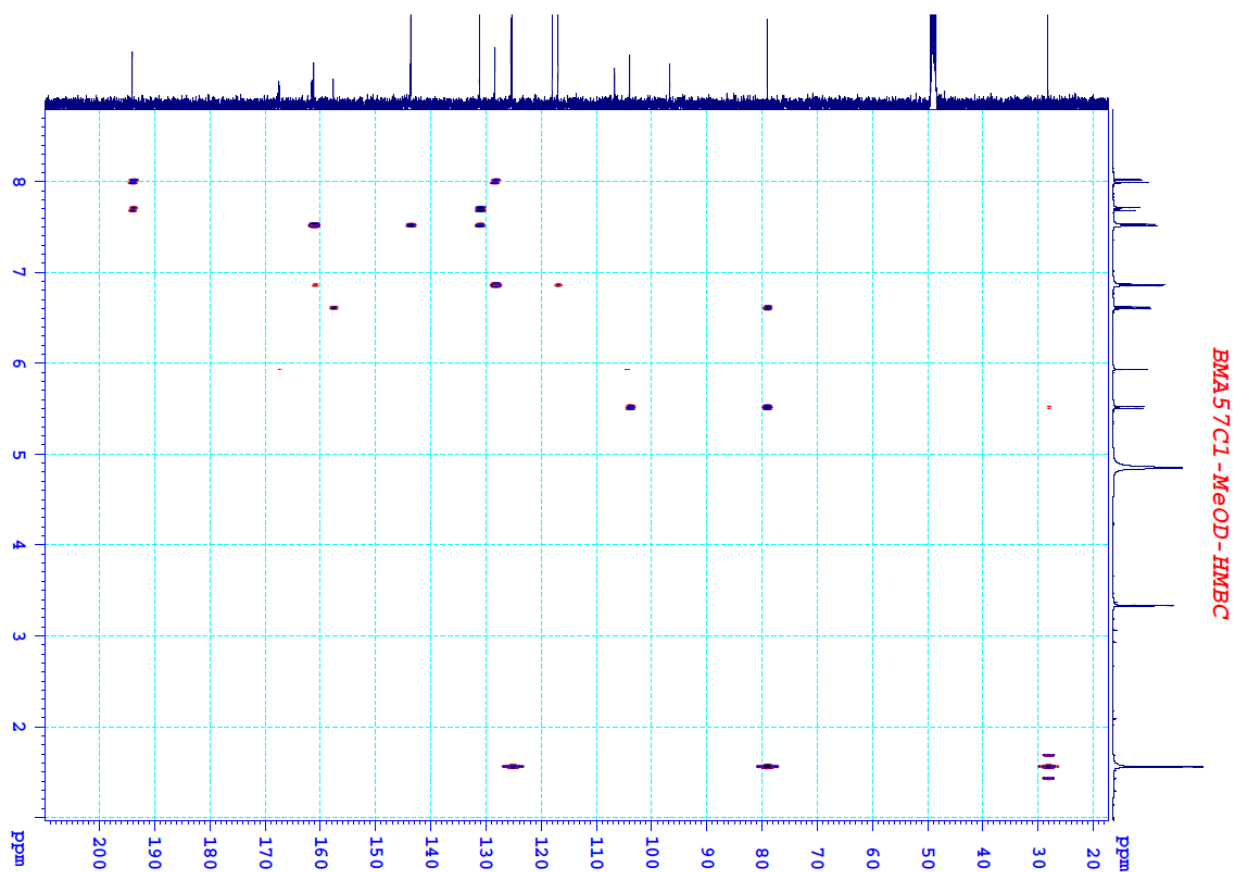


7.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA77.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA7

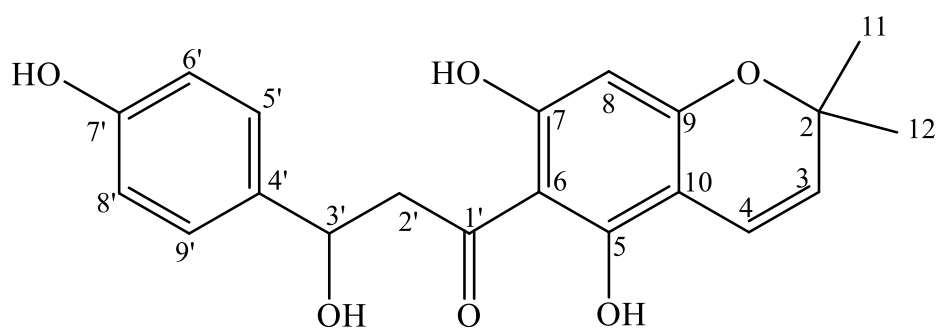
## 7.4. Phổ HSQC của hợp chất MA7



## 7.5. Phổ HMBC của hợp chất MA7



## 8. Hợp chất MA8



**Cấu trúc hóa học của MA8**

Chất bột màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{20}H_{20}O_6$ ,  $M = 356$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

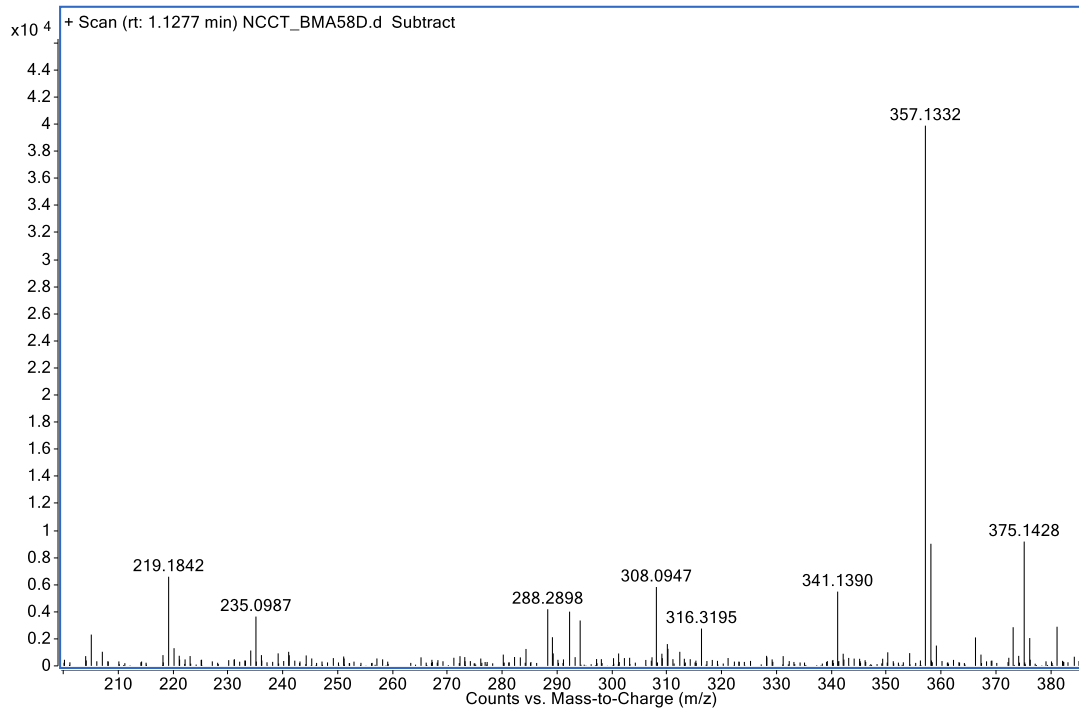
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

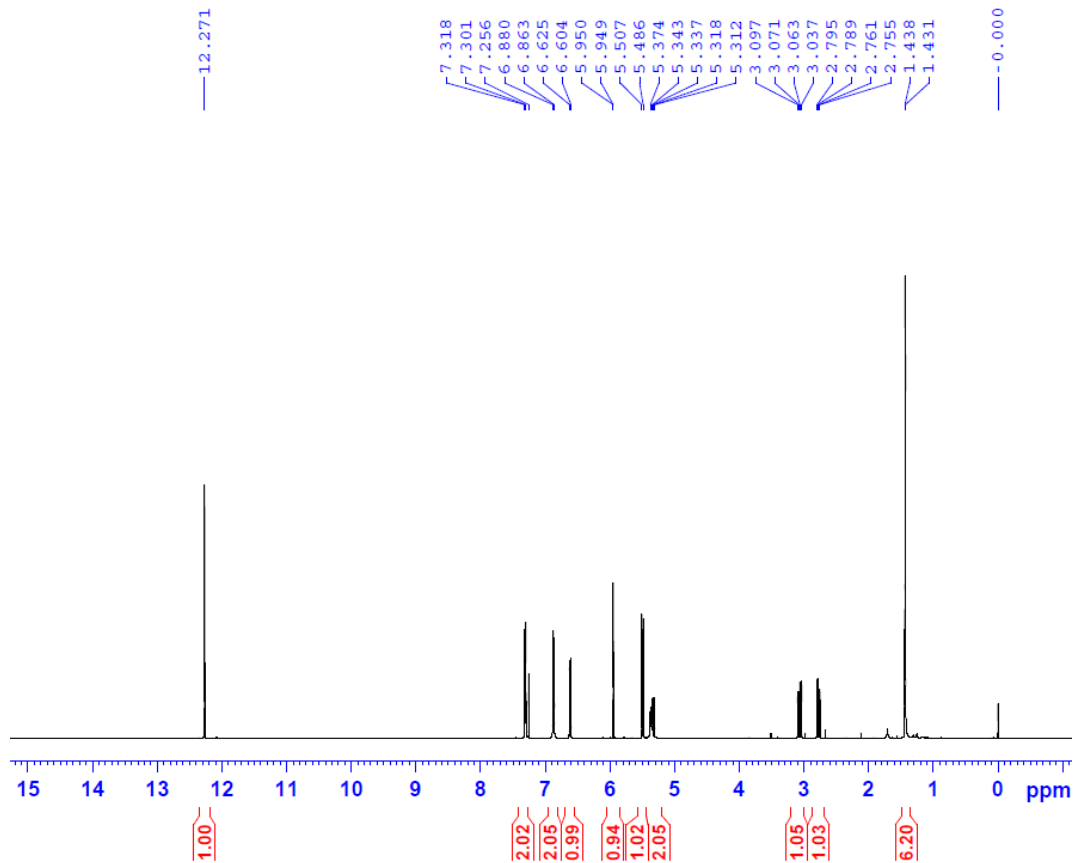
Phổ HMBC

Phổ COSY

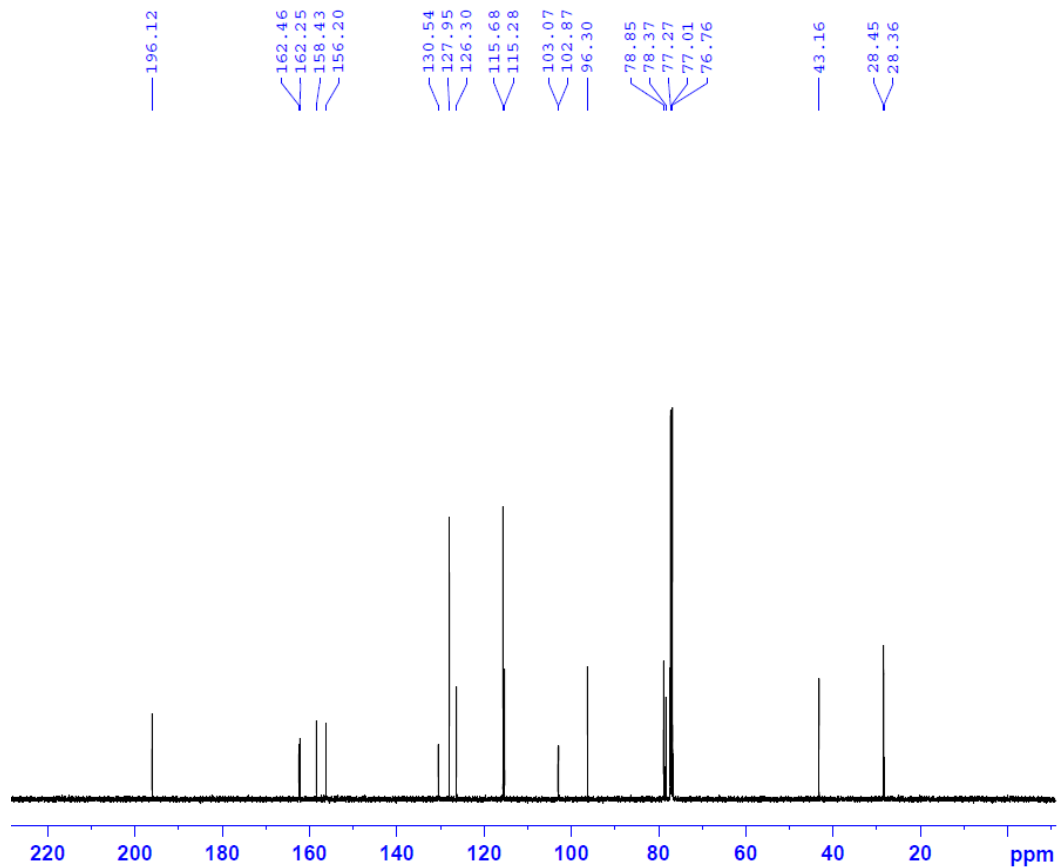
### 8.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA8



8.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA8

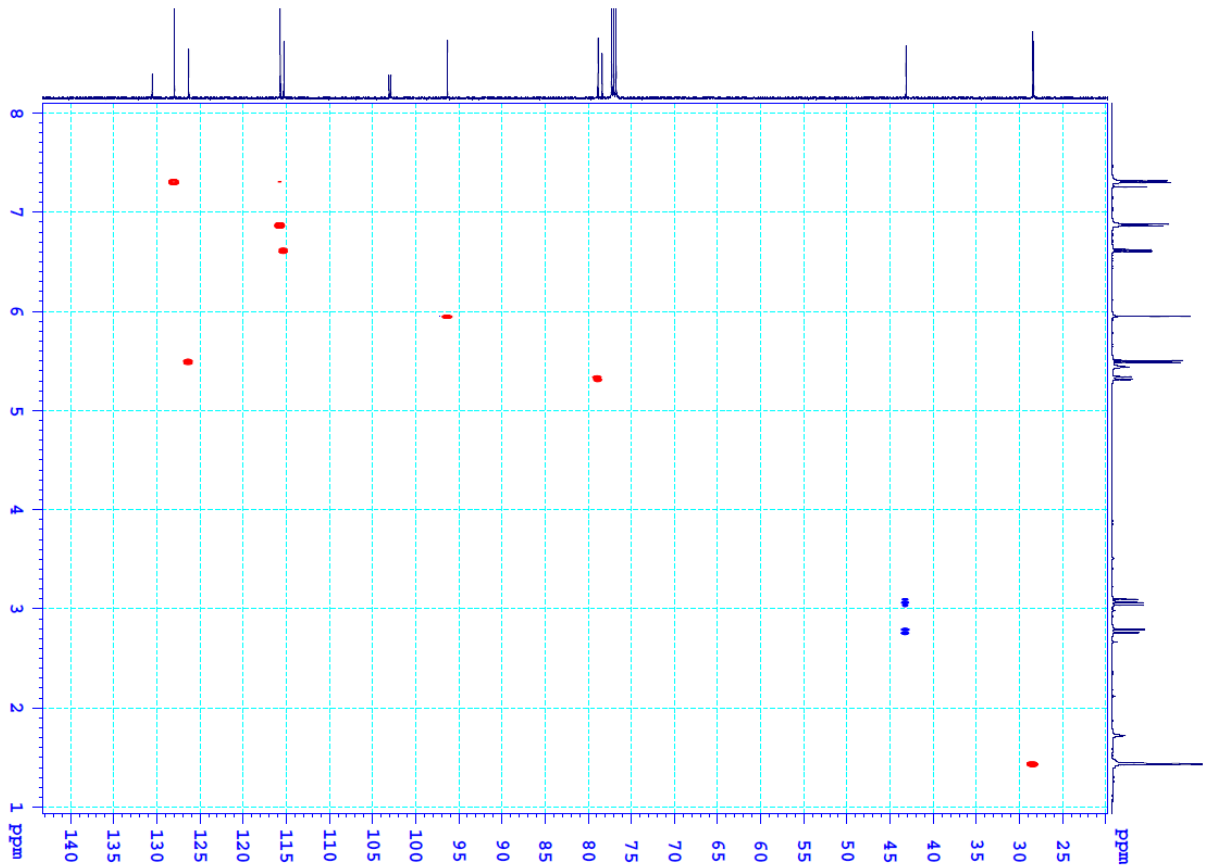


8.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA8

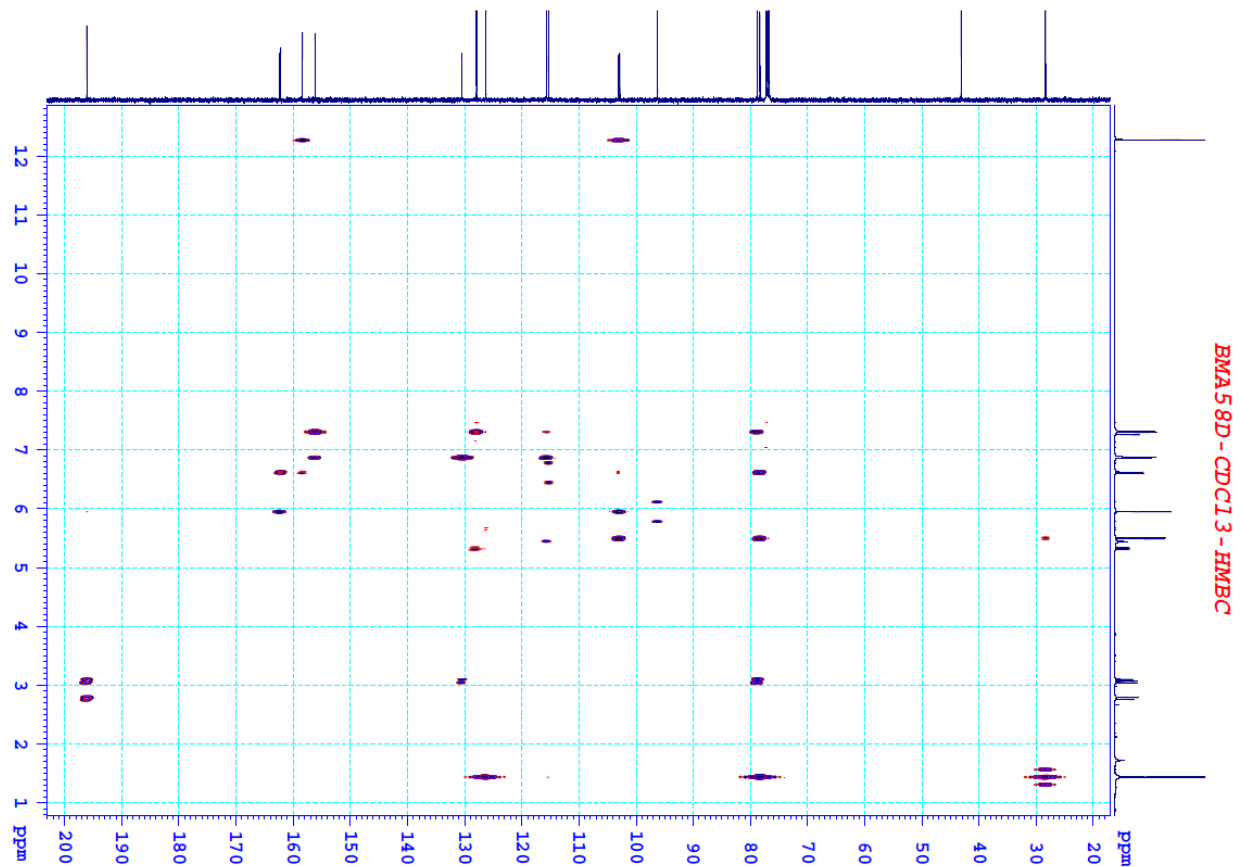




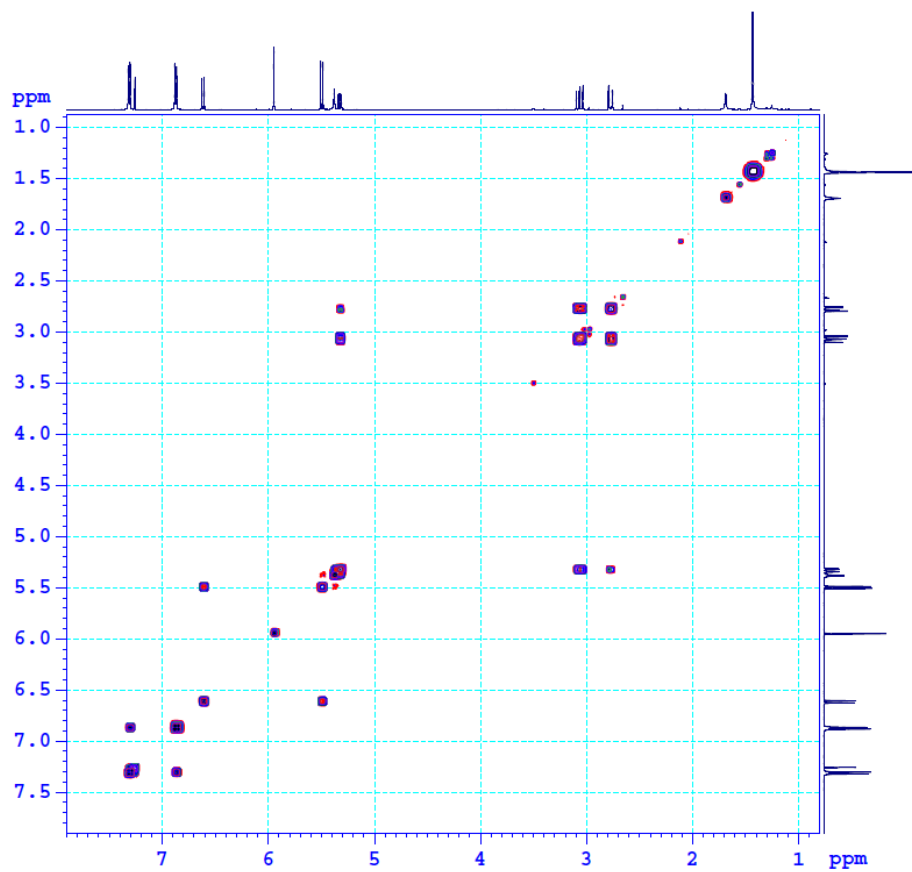
8.4. Phổ HSQC của hợp chất MA8



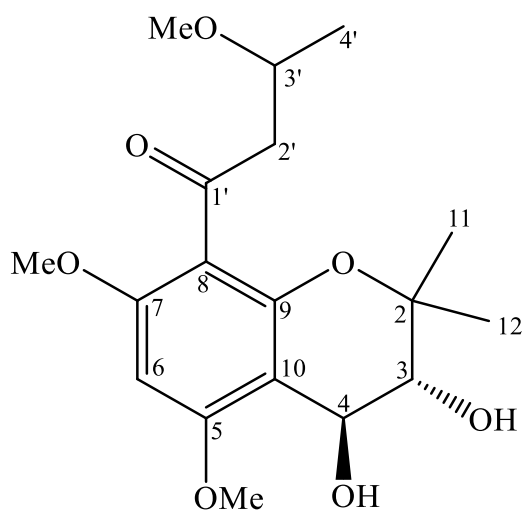
8.5. Phổ HMBC của hợp chất MA8



## 8.6. Phổ COSY của hợp chất MA8



## 9. Hợp chất MA9



**Cấu trúc hóa học của MA9**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{18}H_{26}O_7$ ,  $M = 354$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

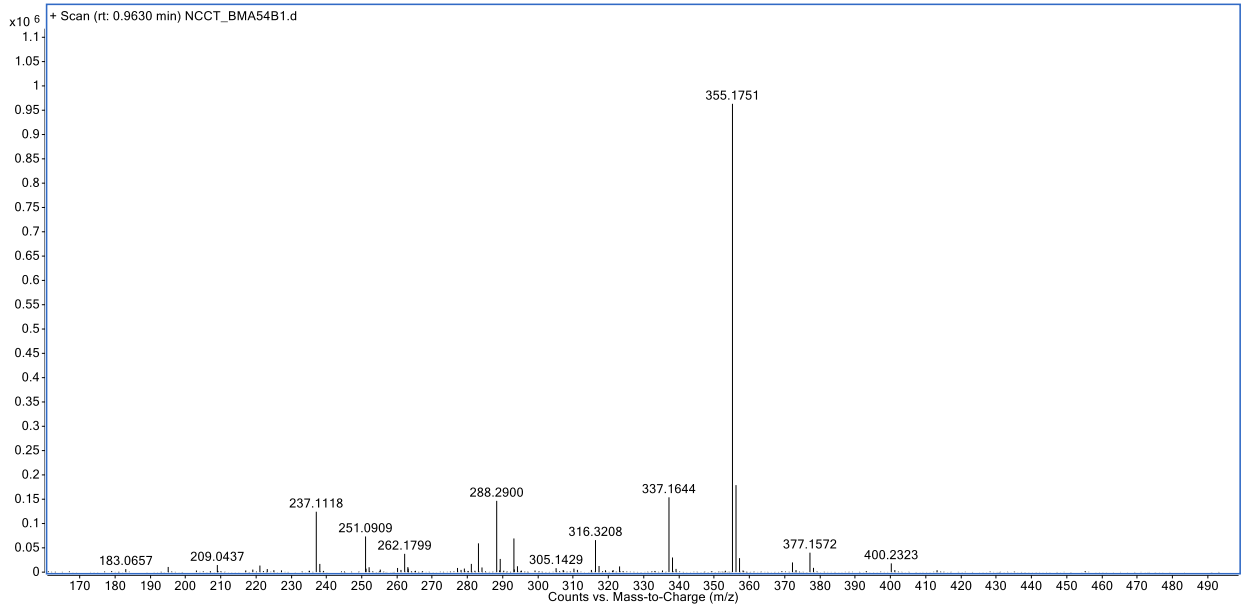
Phổ HSQC

Phổ HMBC

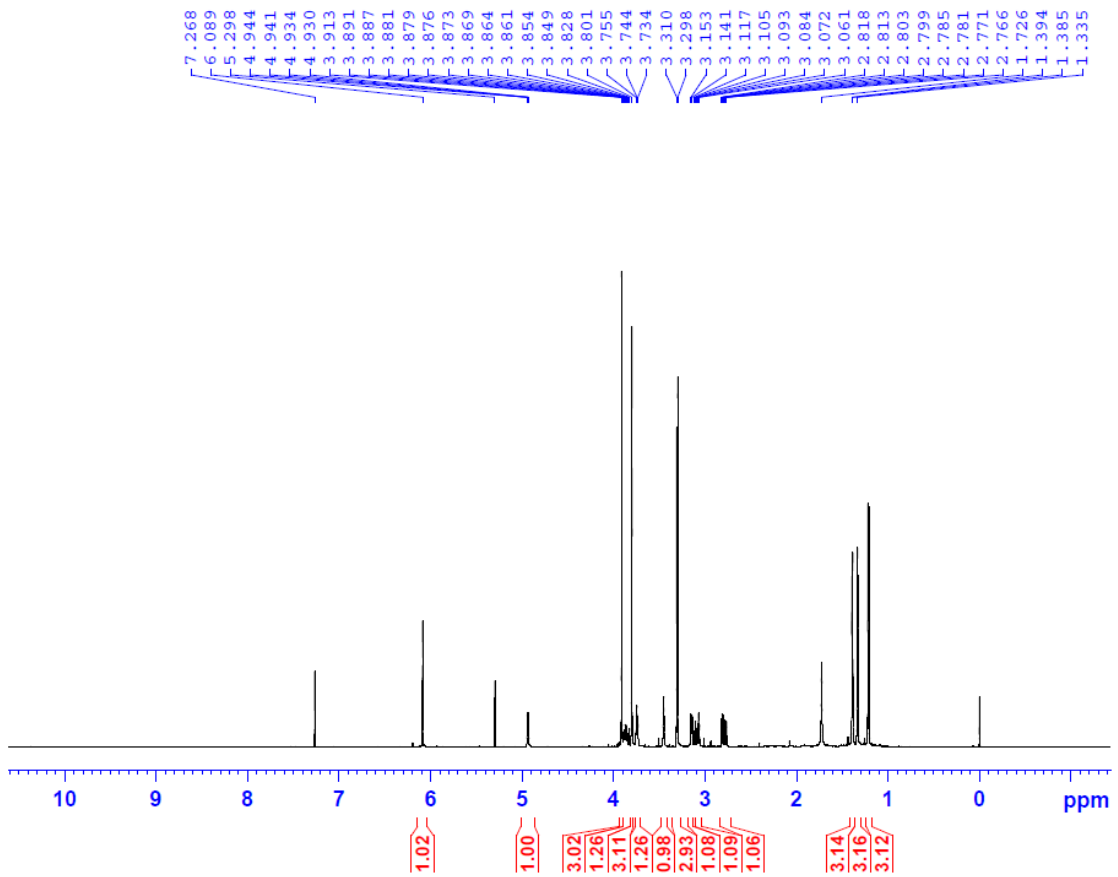
Phổ COSY

Phổ NOESY

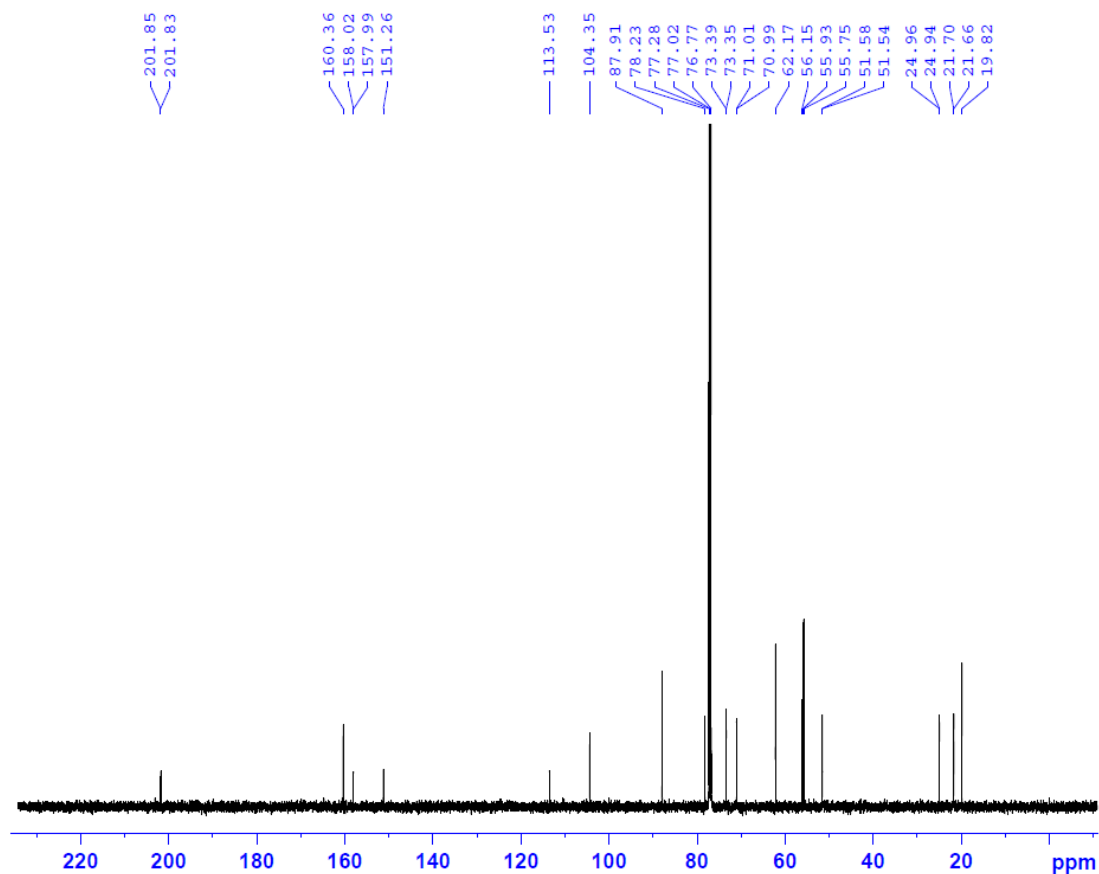
9.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA9



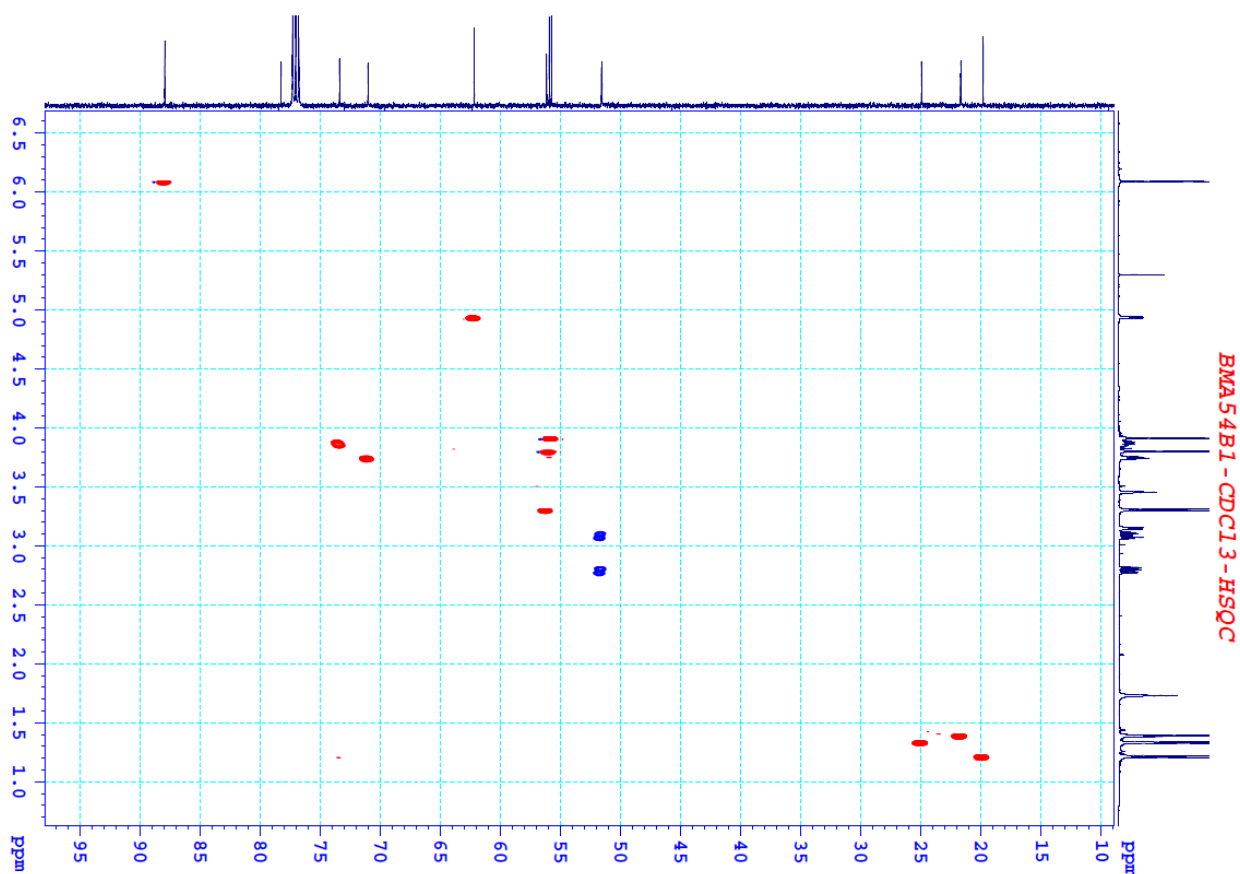
9.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA9



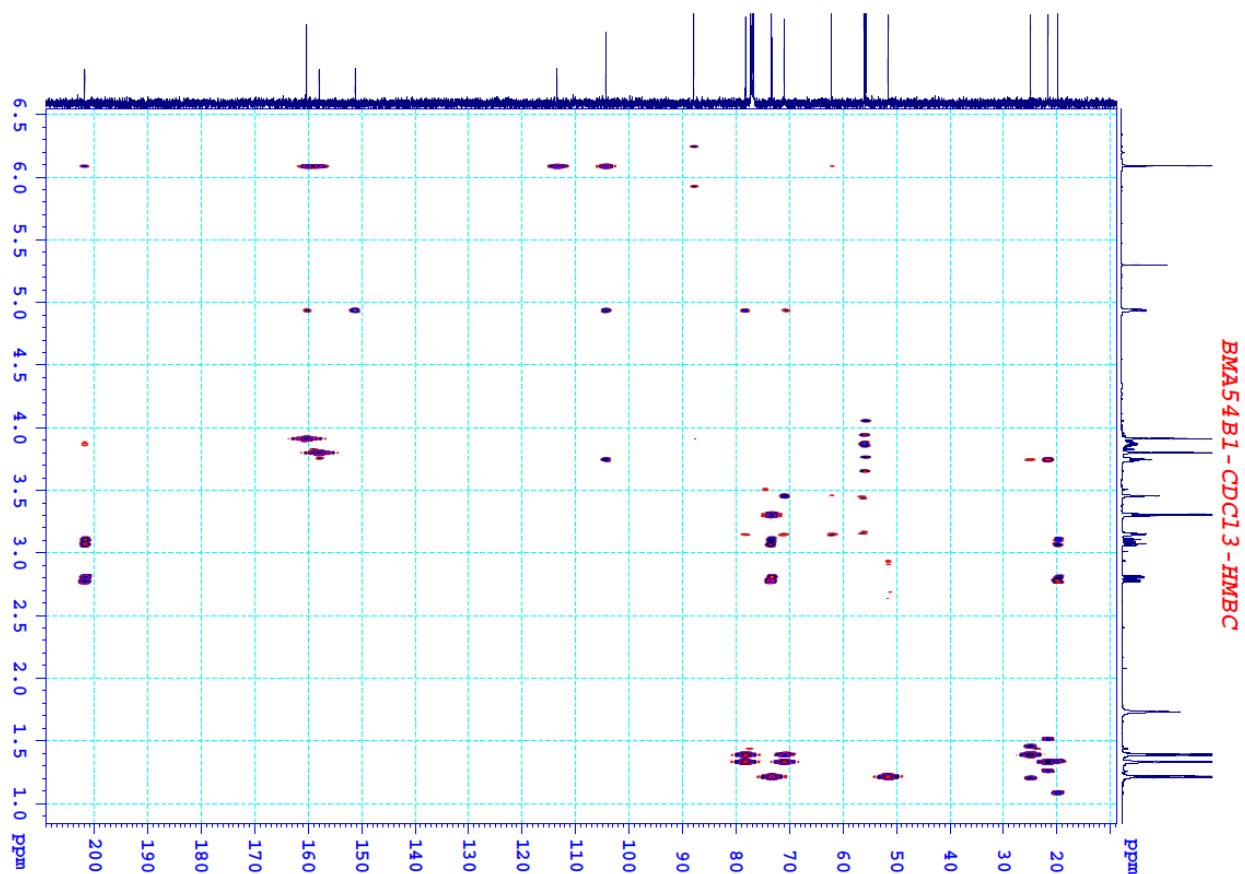
9.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA9



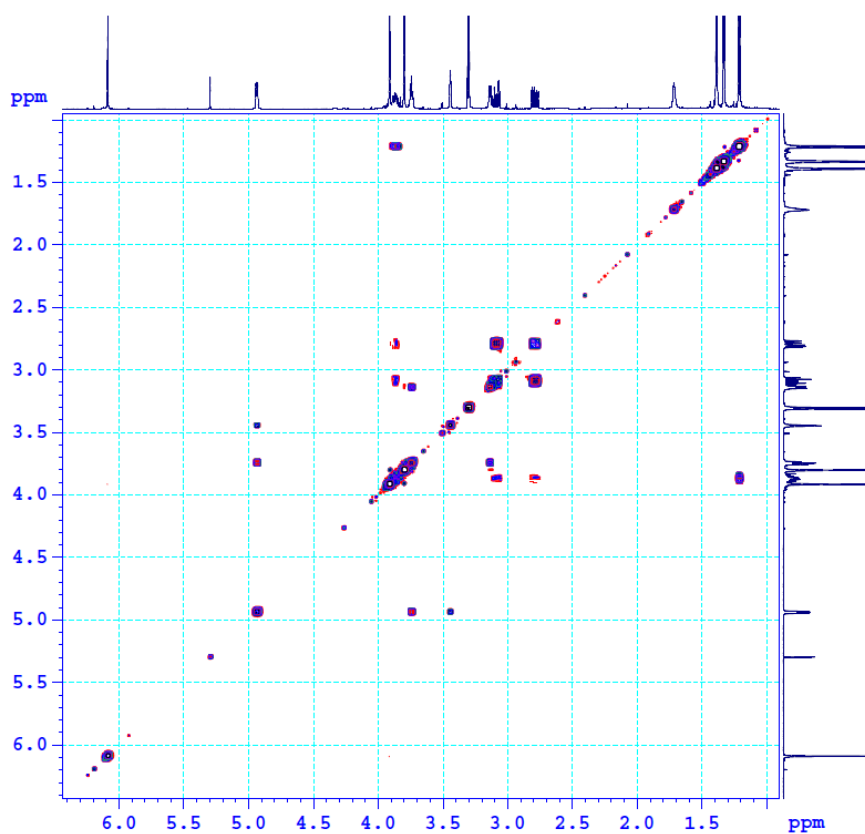
9.4. Phổ HSQC của hợp chất MA9



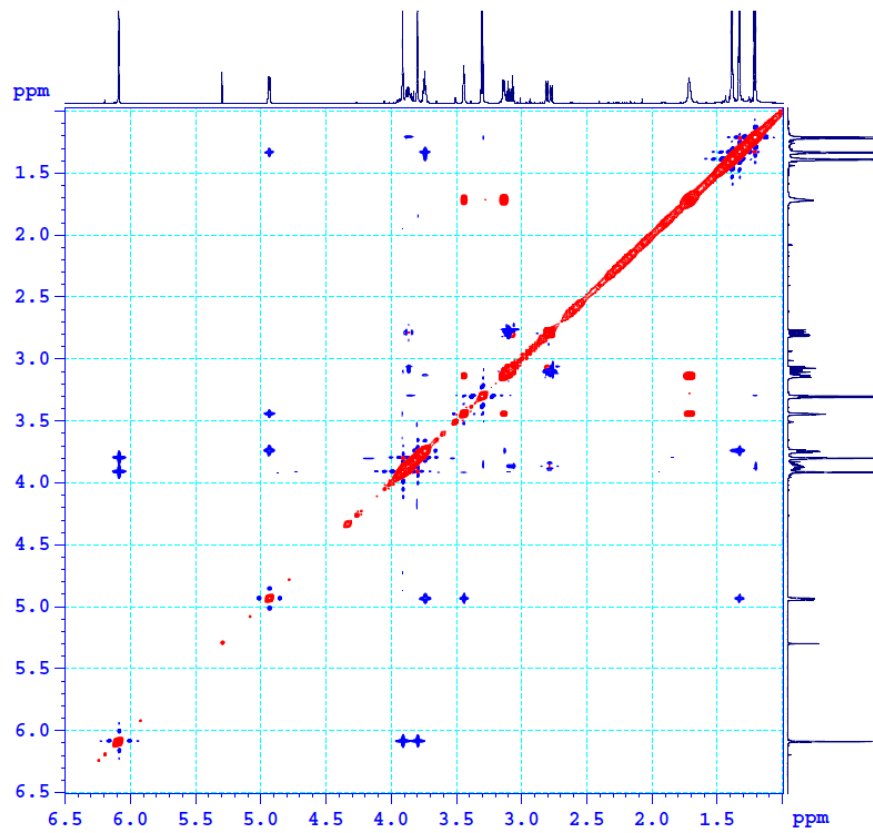
## 9.5. Phổ HMBC của hợp chất MA9

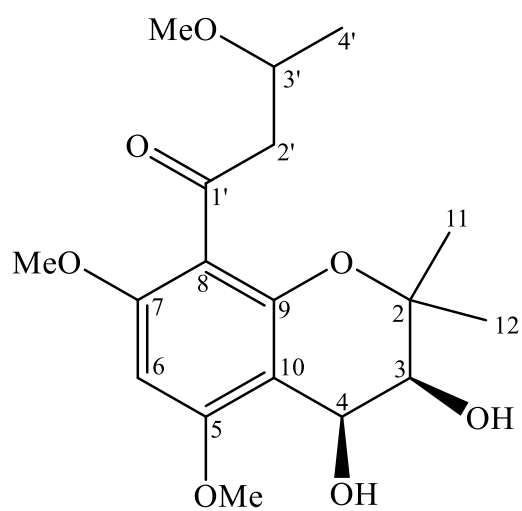


## 9.6. Phổ COSY của hợp chất MA9

BMA54B1 - CDCl<sub>3</sub> - COSYGP

## 9.7. Phổ NOESY của hợp chất MA9

*BMA54B1 - CDCl<sub>3</sub> - NOESY*

**10. Hợp chất MA10****Cấu trúc hóa học của MA10**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{18}H_{26}O_7$ ,  $M = 354$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

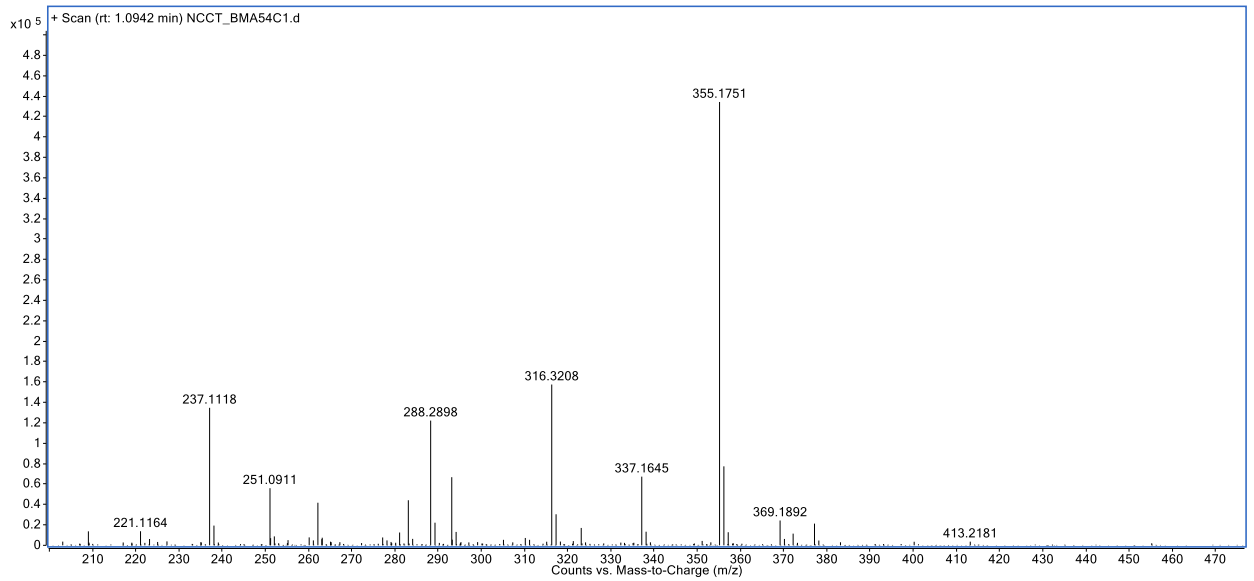
Phổ HSQC

Phổ HMBC

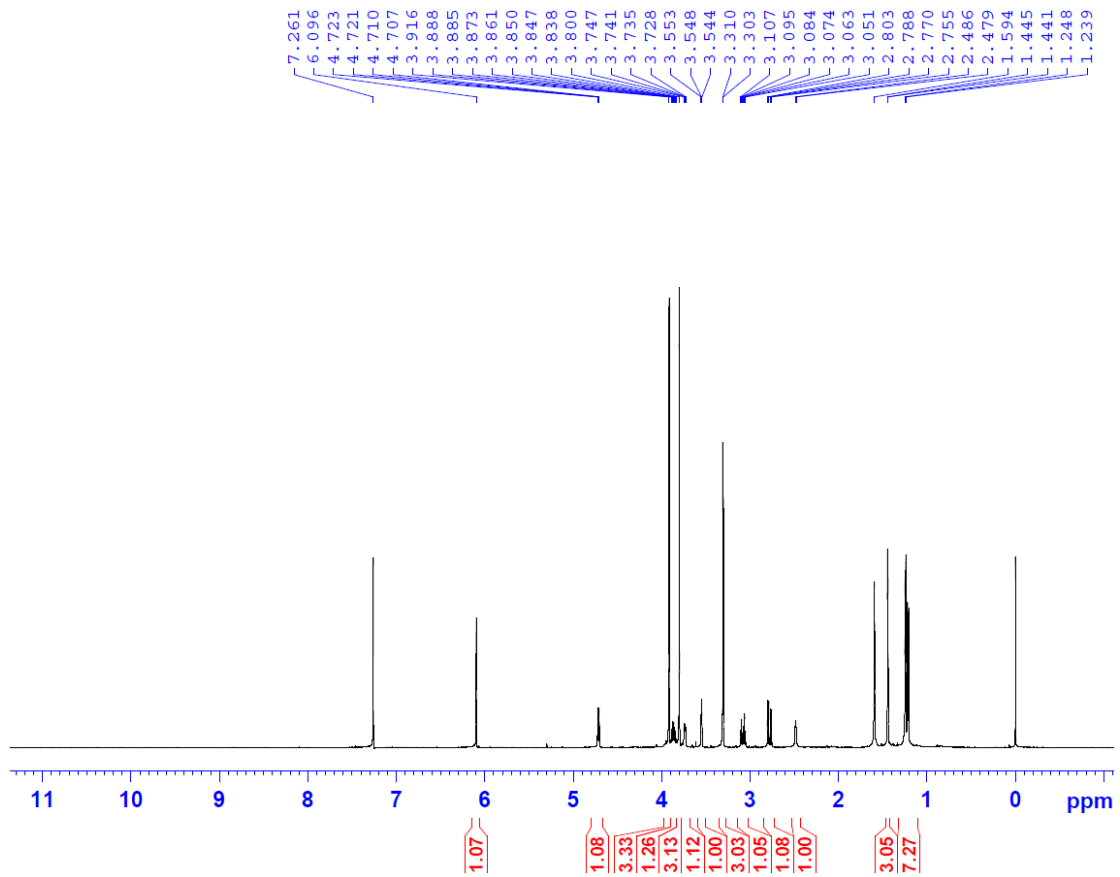
Phổ NOESY



10.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA10

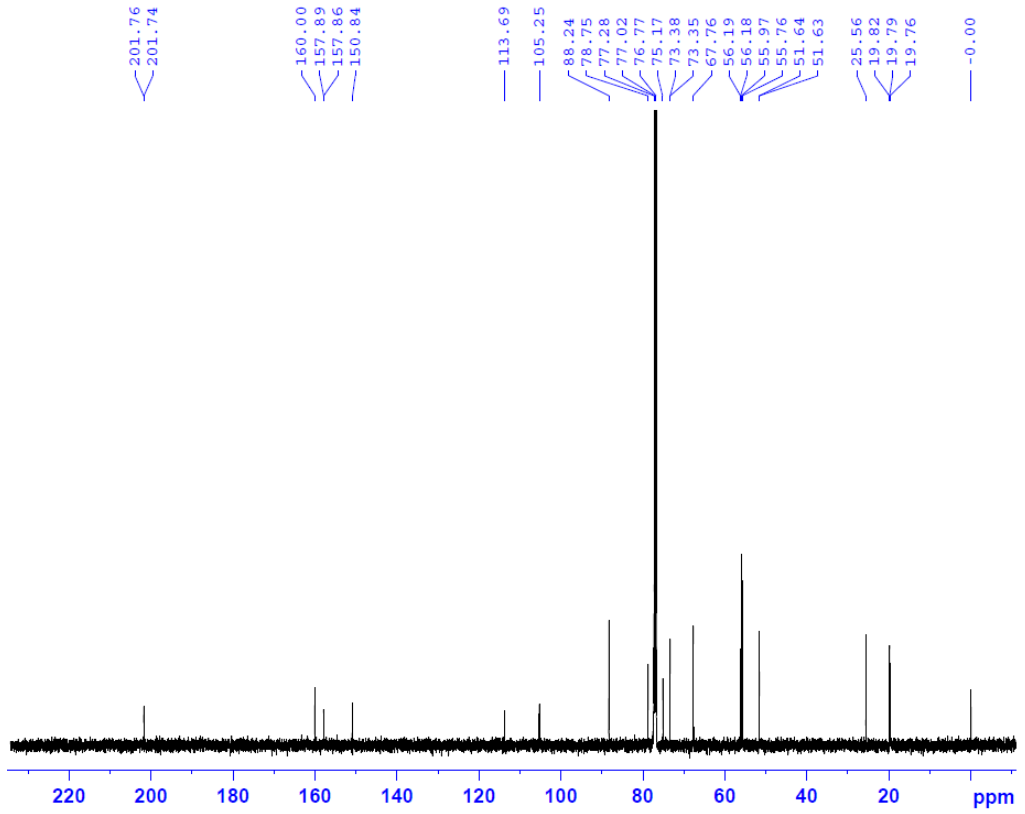


10.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA10

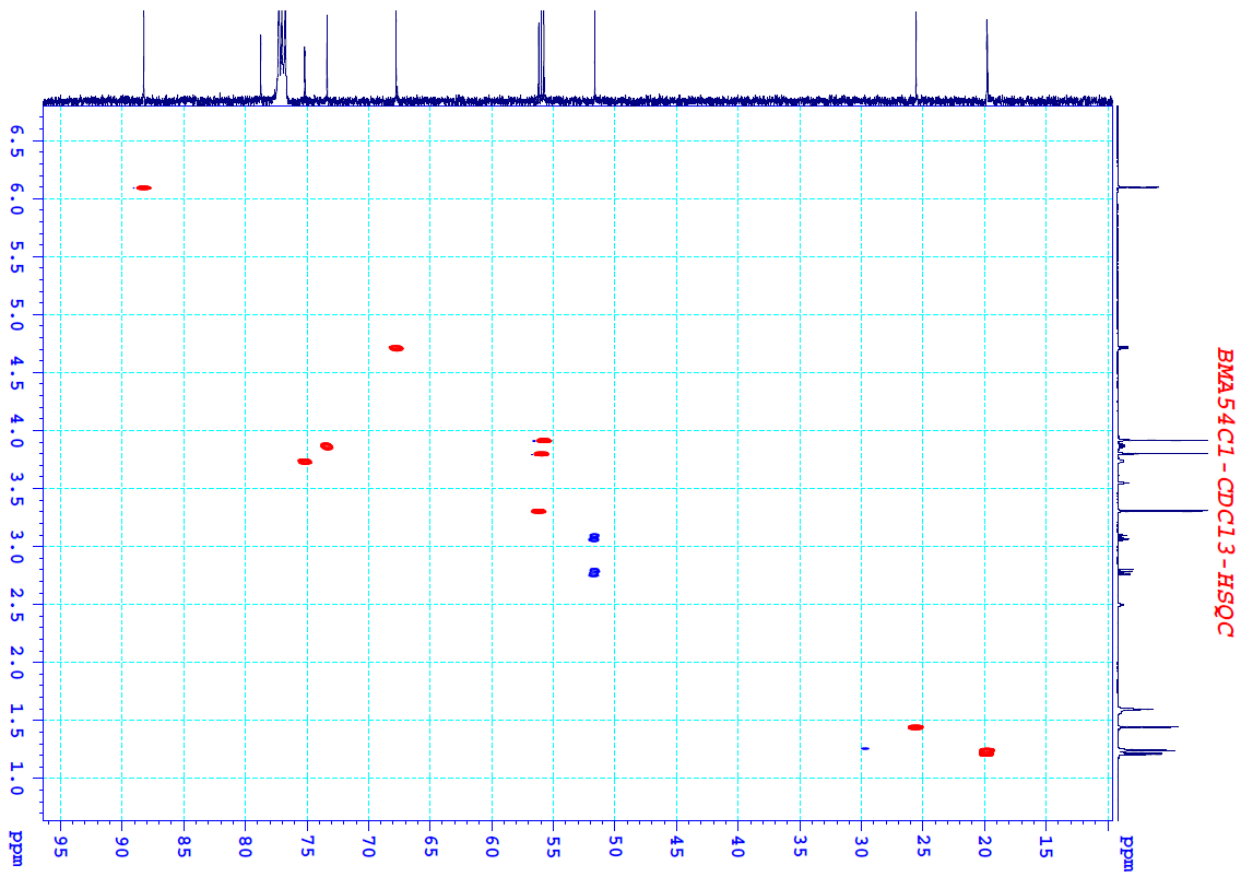


10.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA10

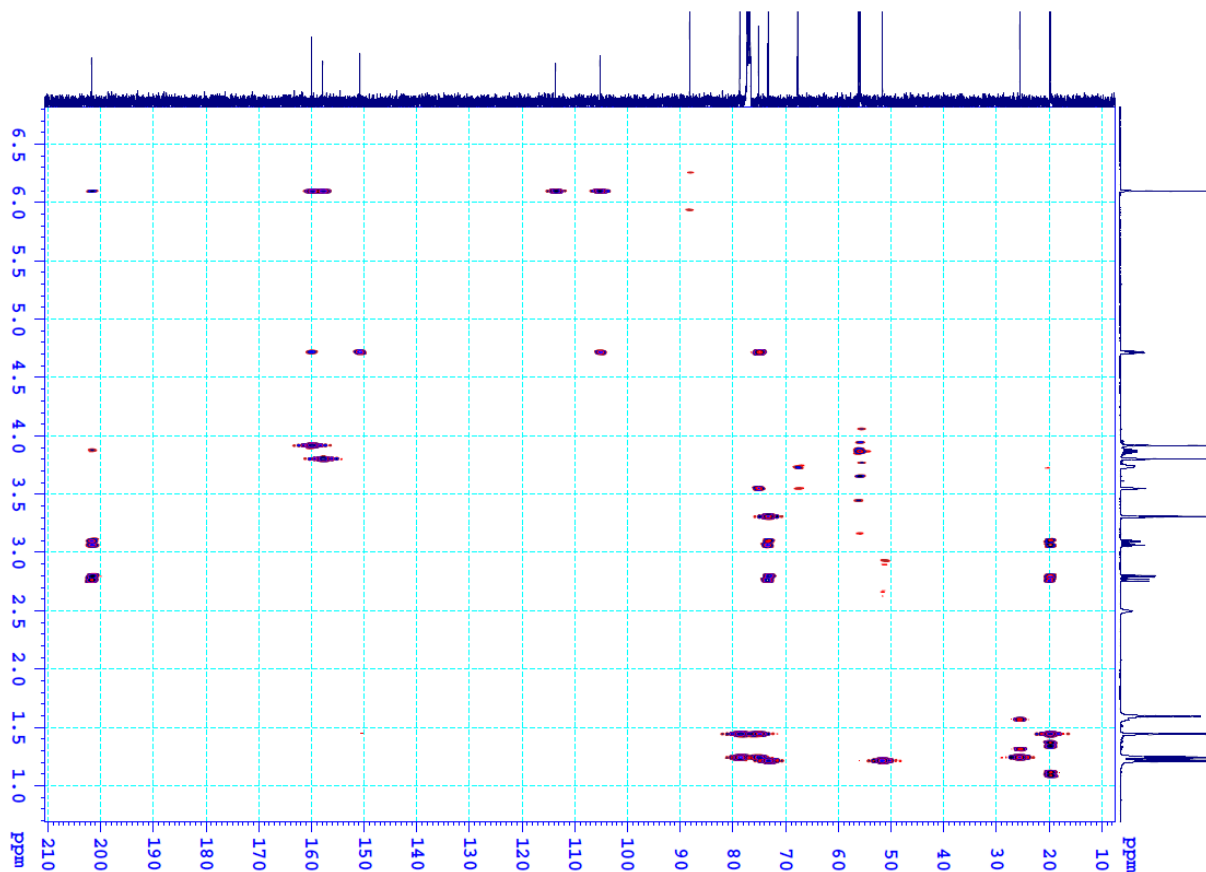
BMA54C1 - CDCl3 - C13CPD



10.4. Phổ HSQC của hợp chất MA10

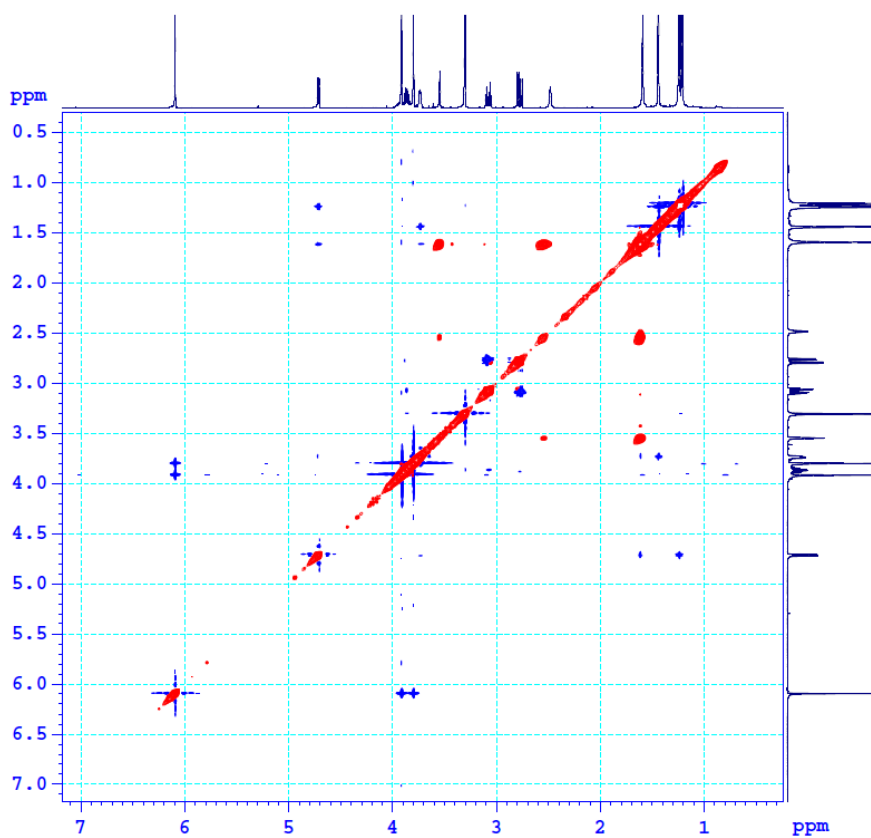


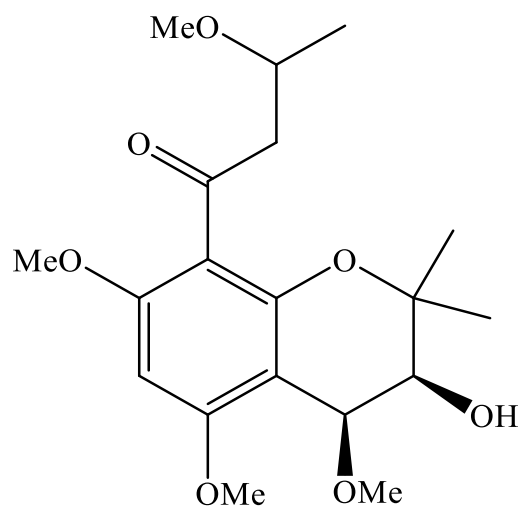
## 10.5. Phổ HMBC của hợp chất MA10



## 10.6. Phổ NOESY của hợp chất MA10

BMA54C1 - CDC13 - NOESY



**11. Hợp chất MA11****Cấu trúc hóa học của MA11**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{19}H_{28}O_7$ ,  $M = 368$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

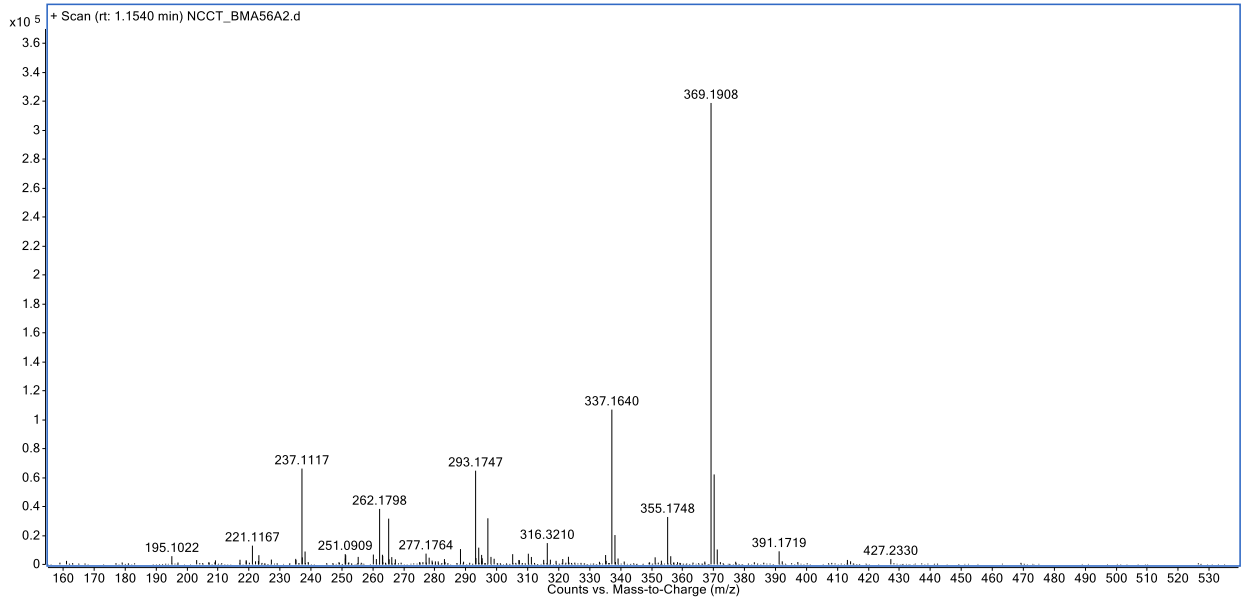
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

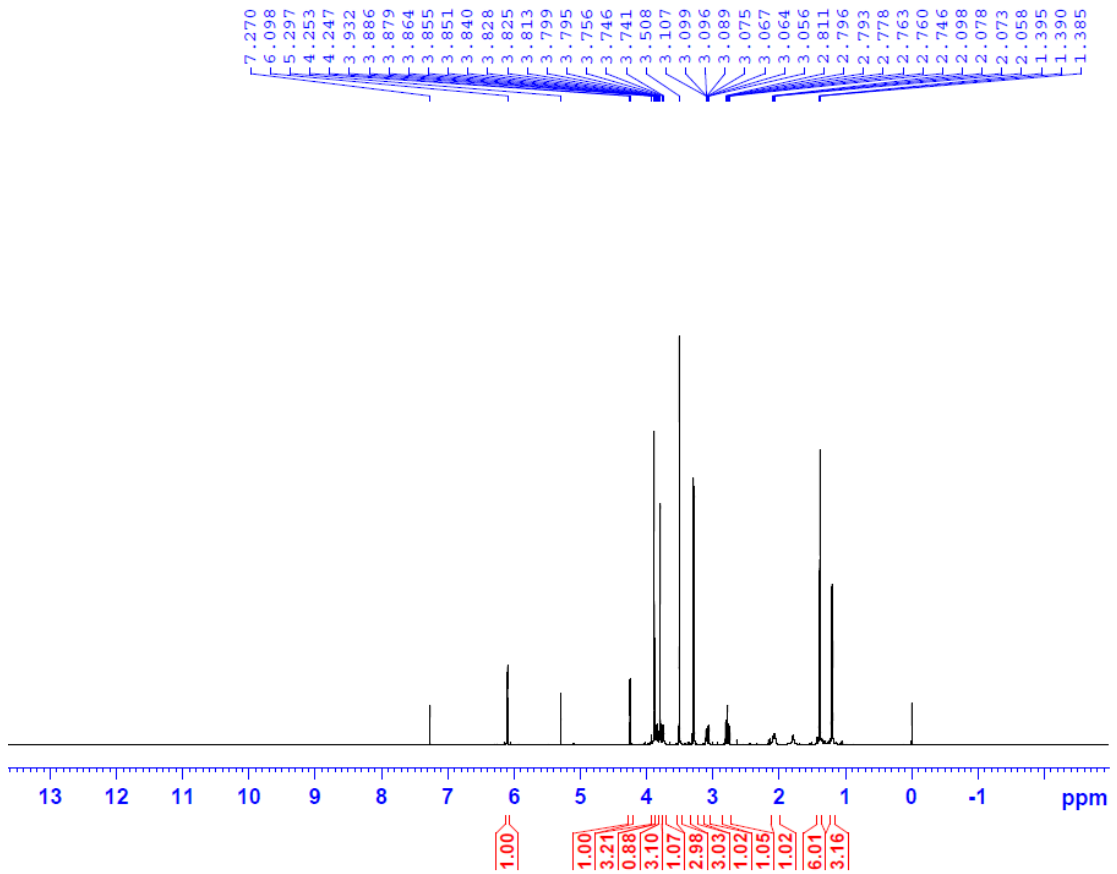
Phổ HMBC

Phổ NOESY

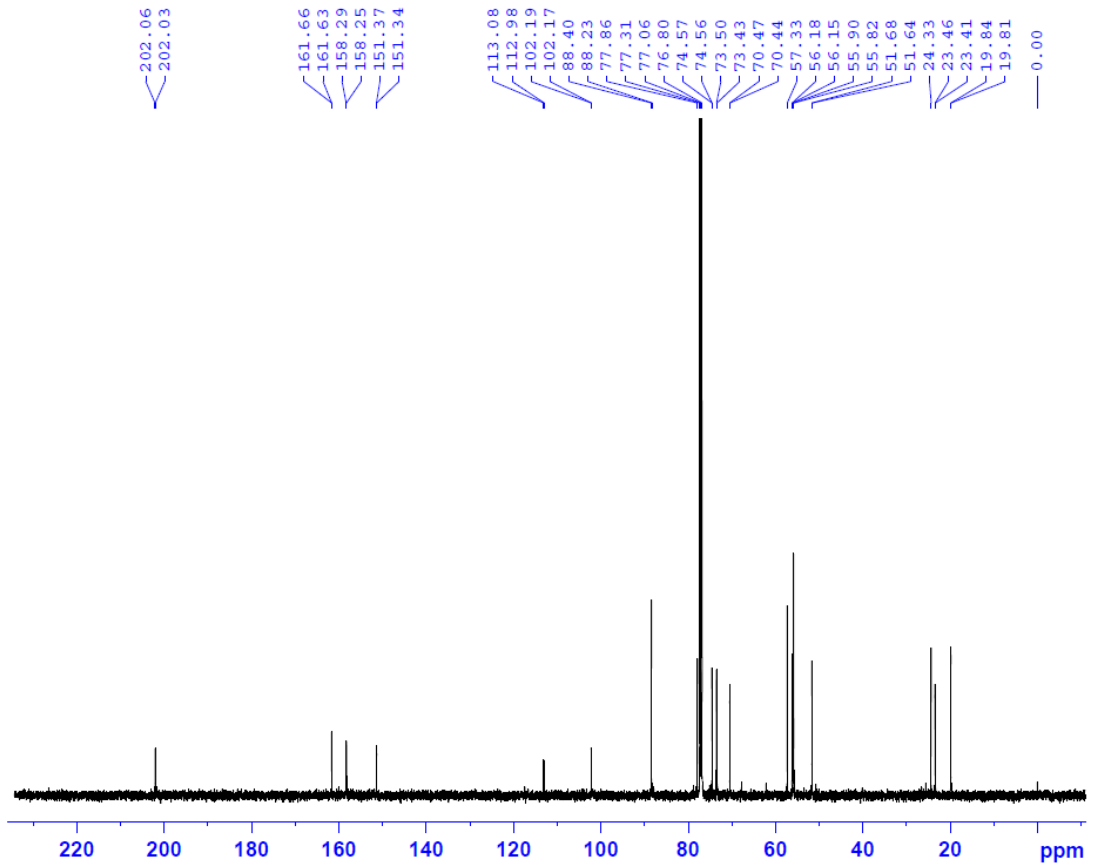
11.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA11



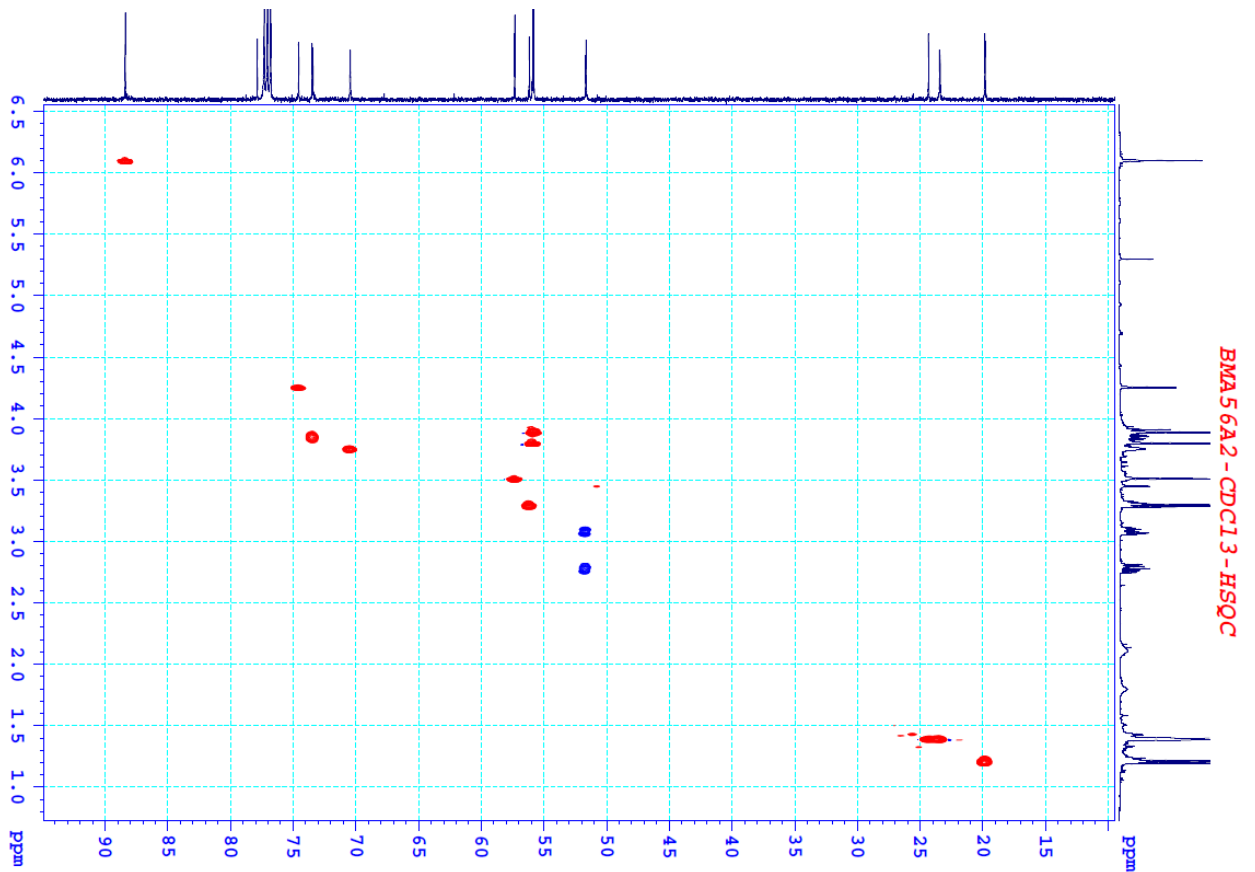
11.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA11



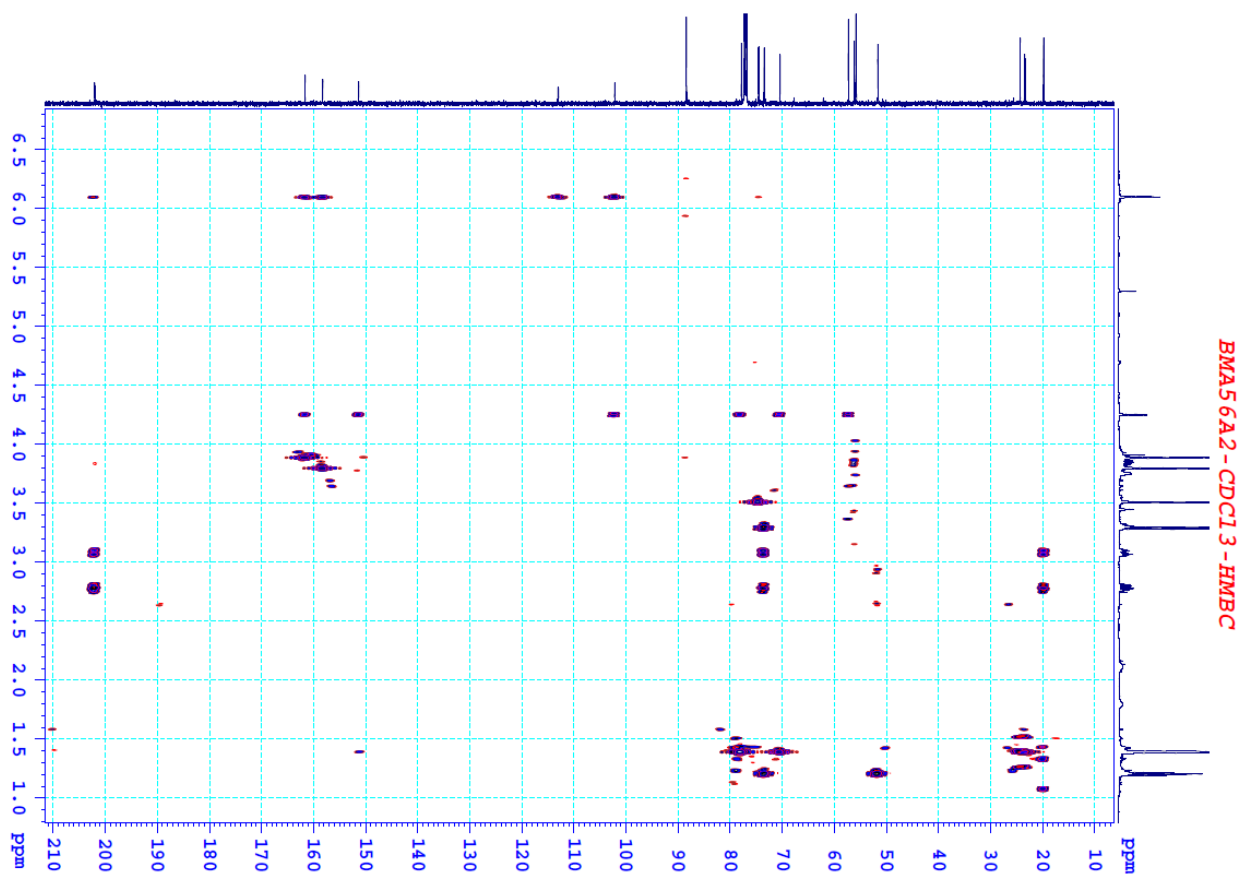
11.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA11



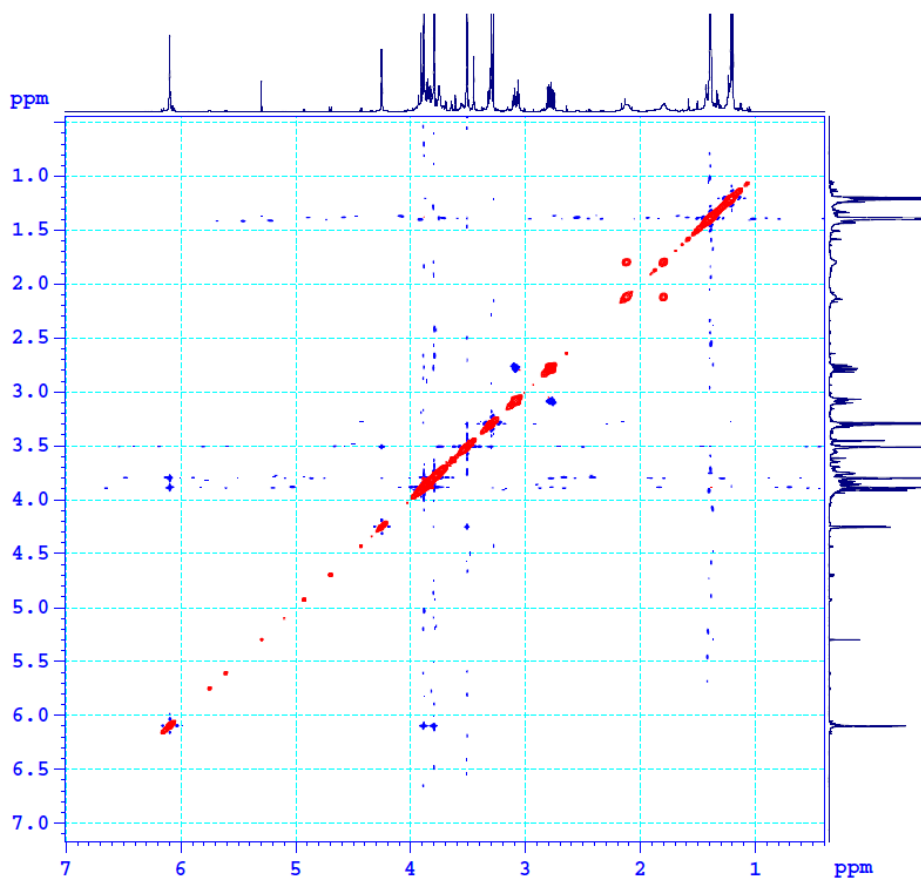
11.4. Phổ HSQC của hợp chất MA11



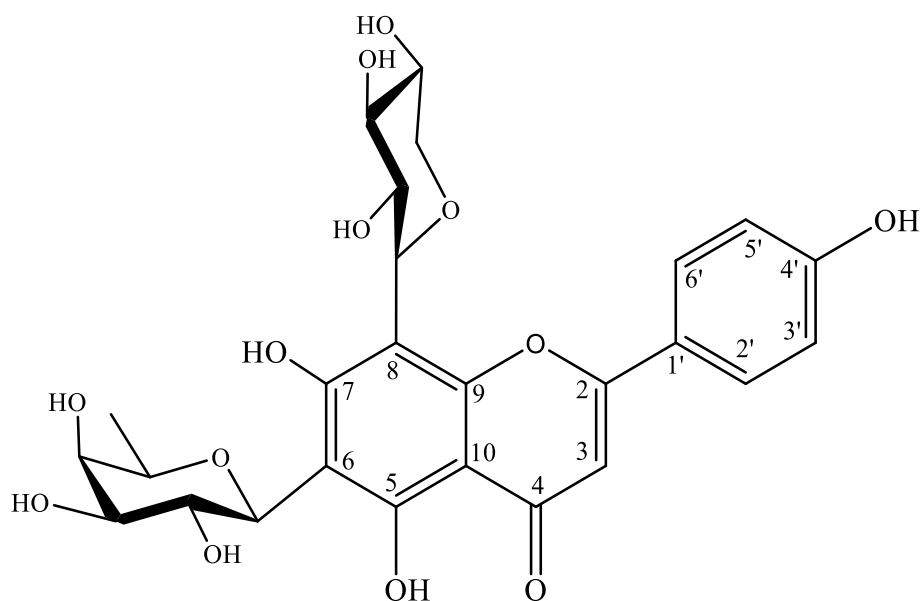
## 11.5. Phổ HMBC của hợp chất MA11



## 11.6. Phổ NOESY của hợp chất MA11



## 12. Hợp chất MA12



Cấu trúc hóa học của MA12

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{26}H_{28}O_{13}$ ,  $M = 548$ .

Phổ HR-ESI-MS

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

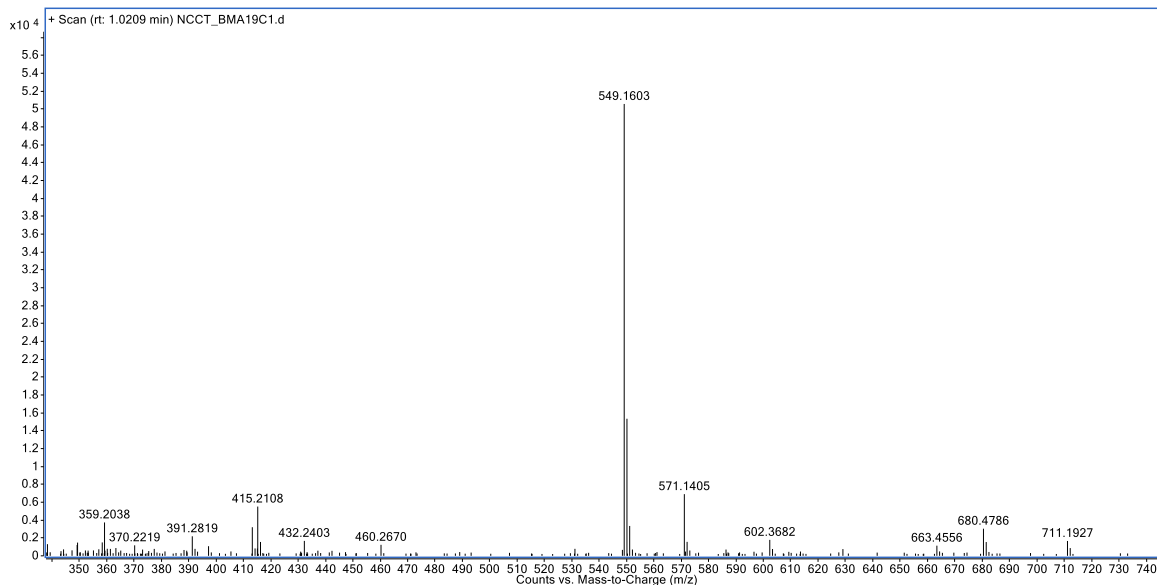
Phổ HMBC

Phổ COSY

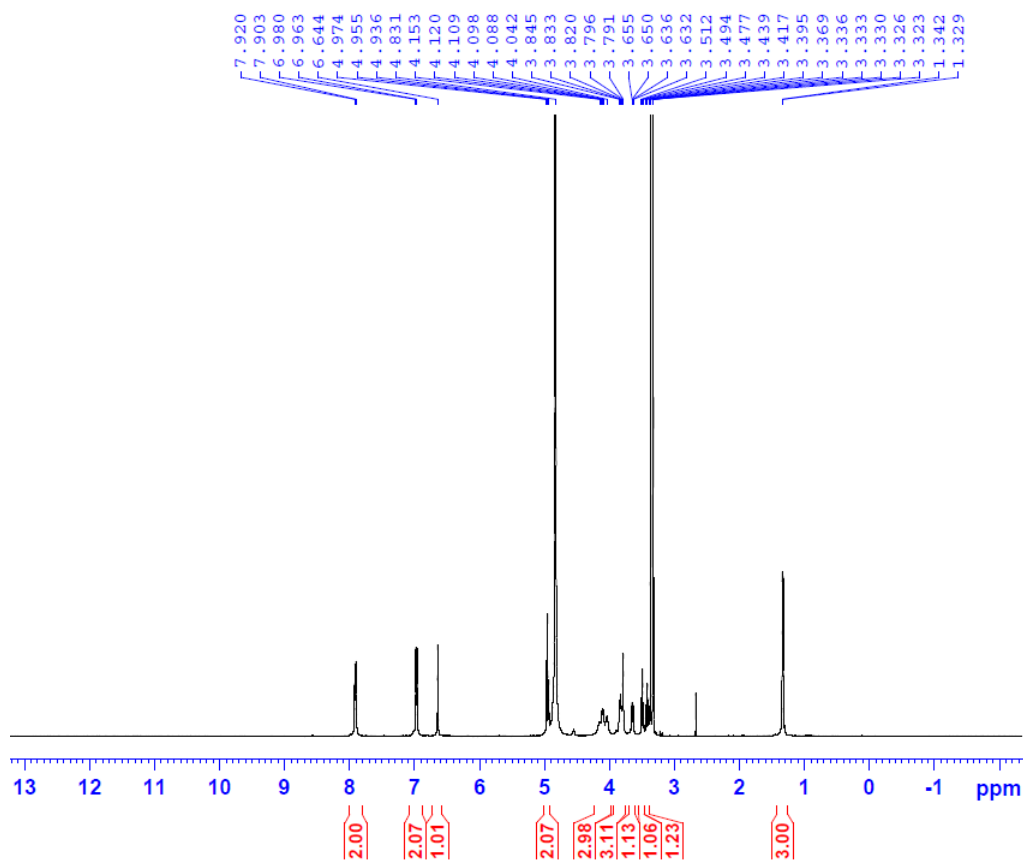
Phổ NOESY



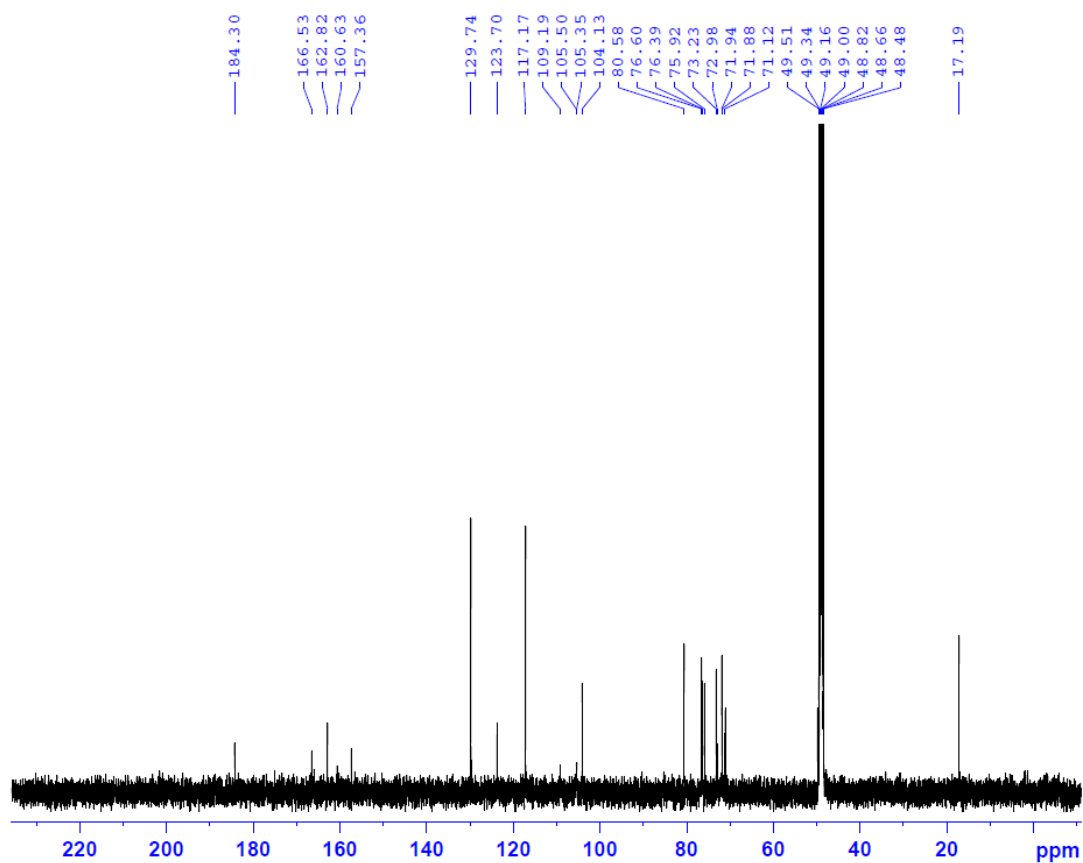
12.1. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất MA12



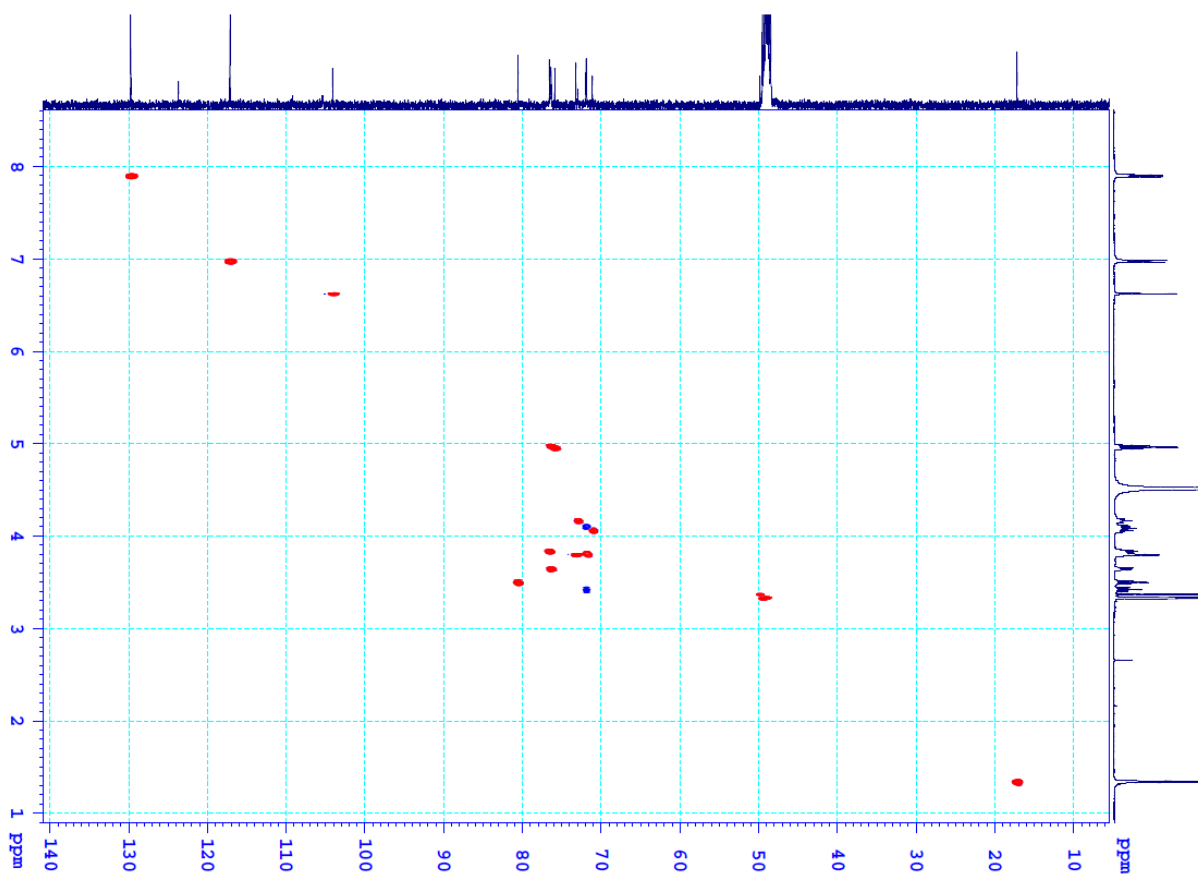
12.2. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA12



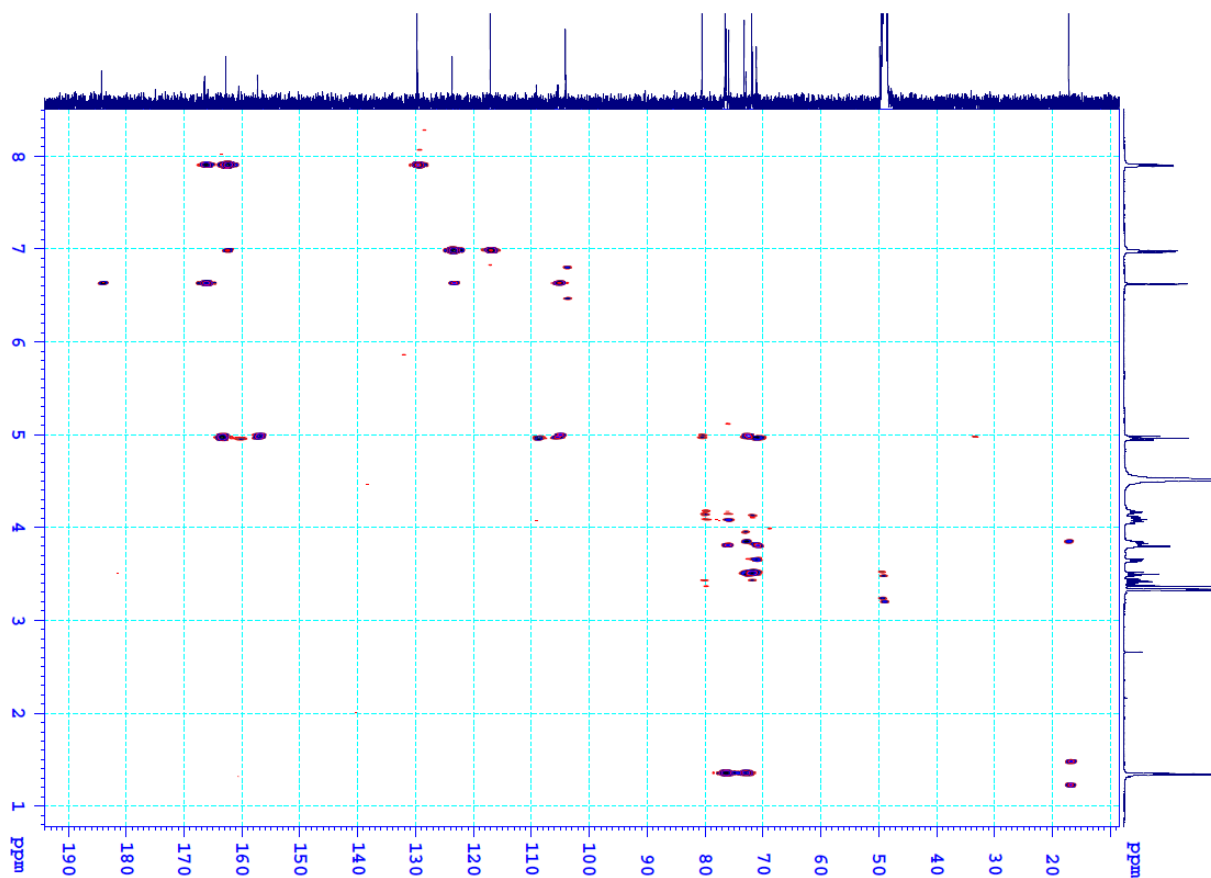
12.3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA12



12.4. Phổ HSQC của hợp chất MA12

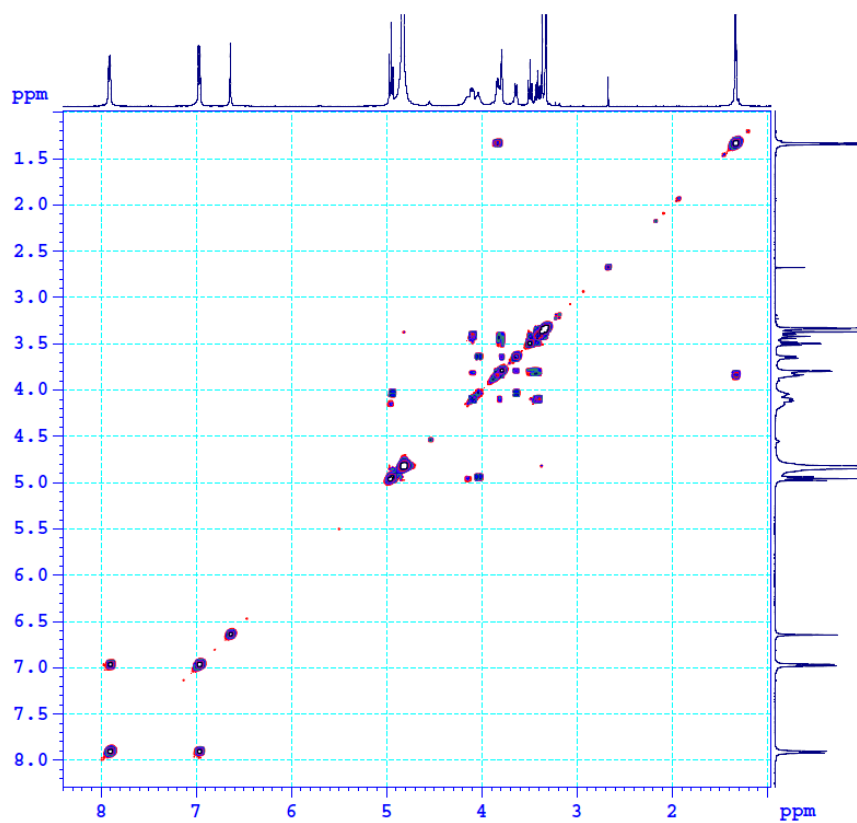


## 12.5. Phổ HMBC của hợp chất MA12

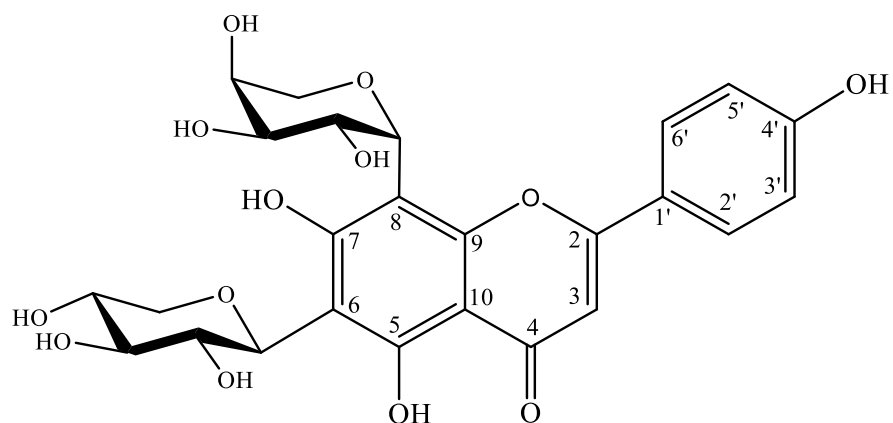


## 12.6. Phổ COSY của hợp chất MA12

BMA19C1-MeOD-COSYGP





**13. Hợp chất MA13****Cấu trúc hóa học của MA13**

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{25}H_{26}O_{13}$ ,  $M = 534$ .

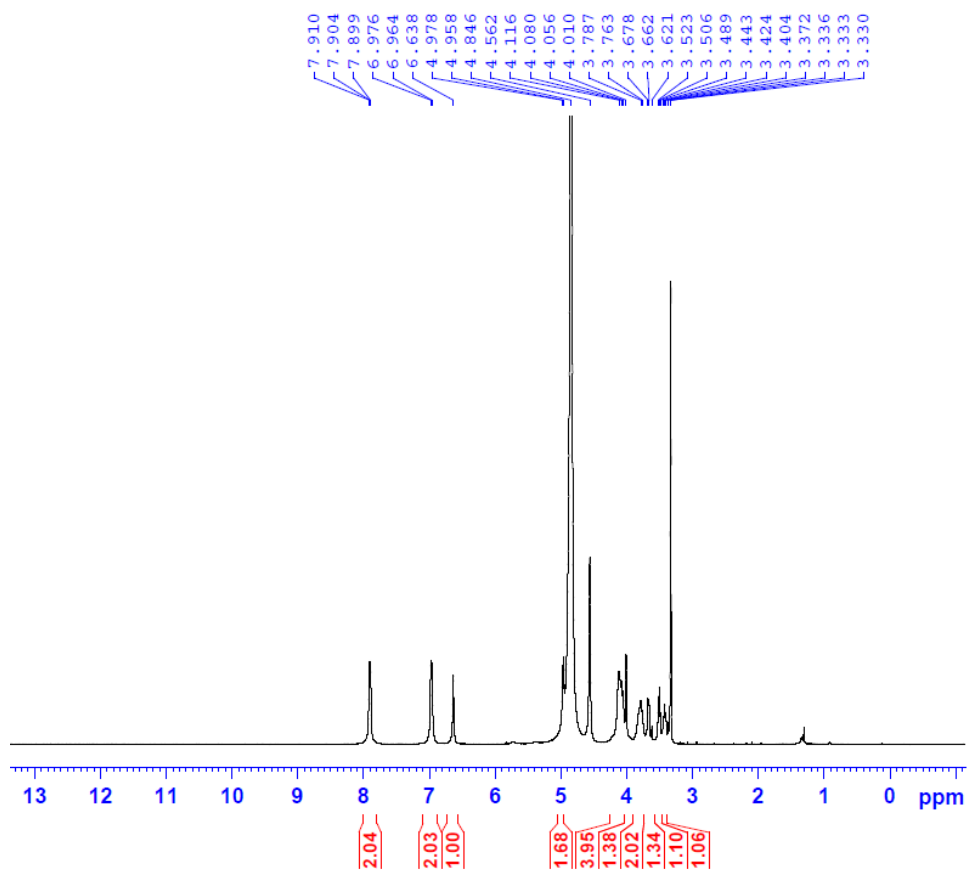
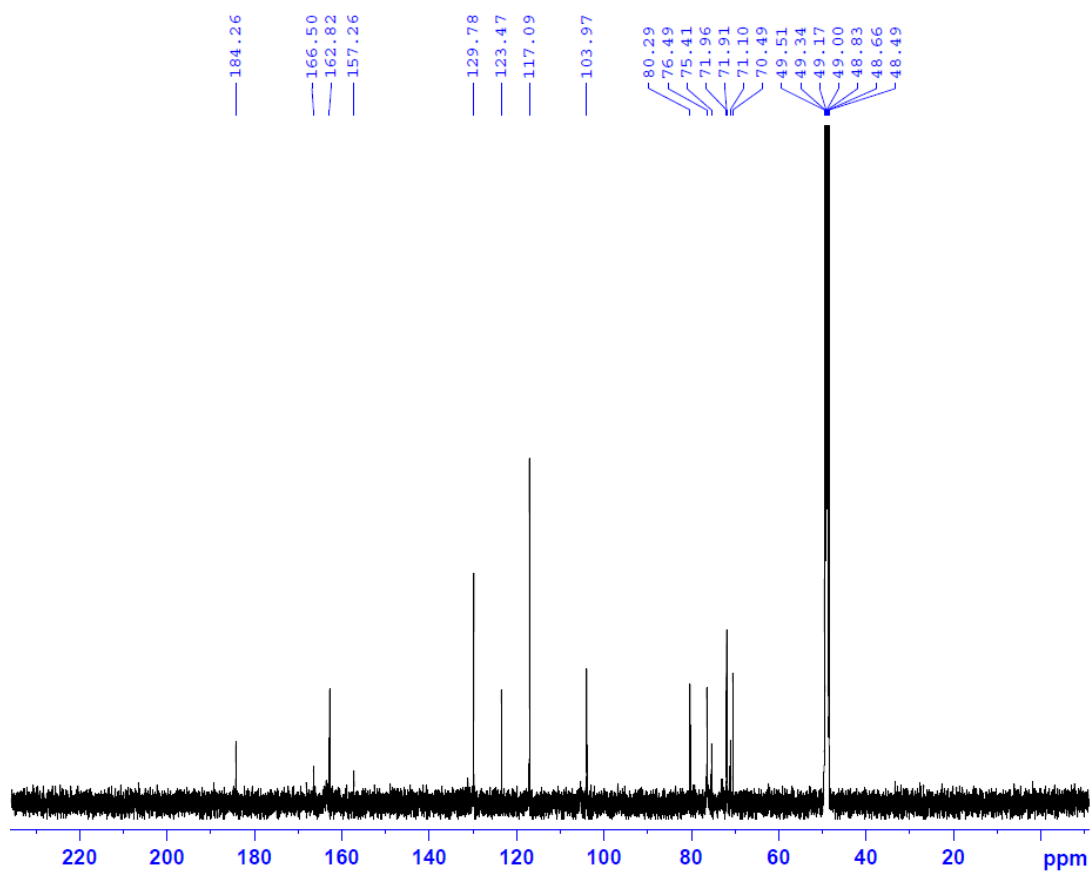
Phổ  $^1\text{H-NMR}$

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$

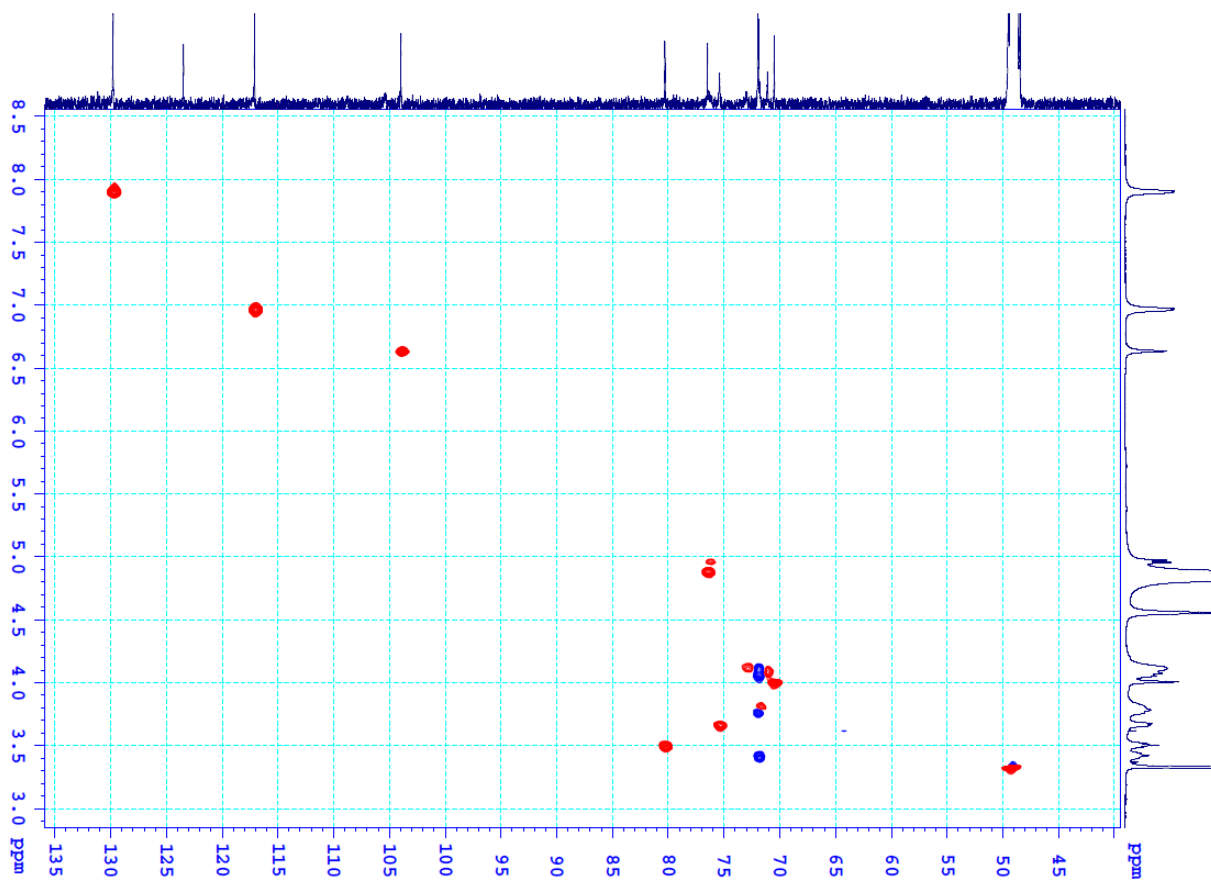
Phổ HSQC

Phổ HMBC

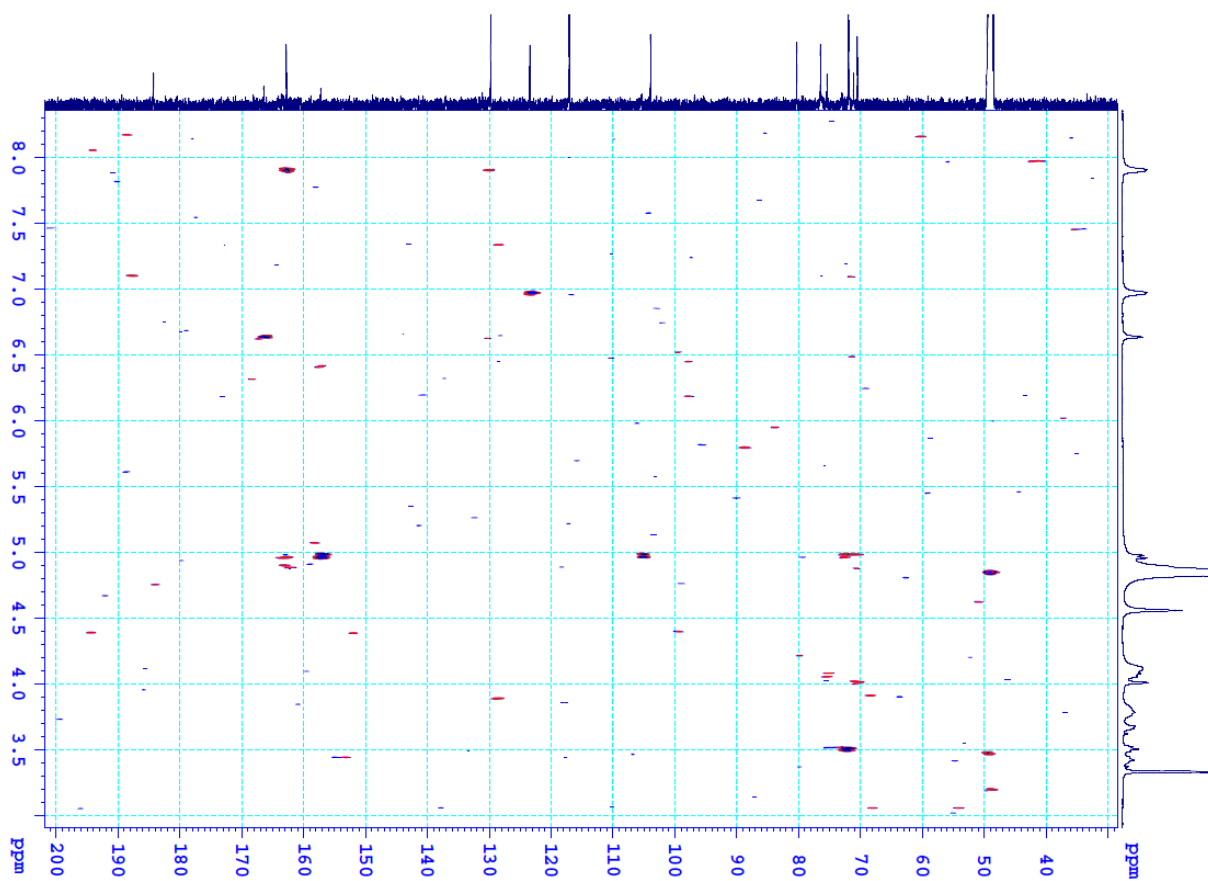
Phổ COSY

13.1. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA1313.2. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA13

## 13.3. Phổ HSQC của hợp chất MA13

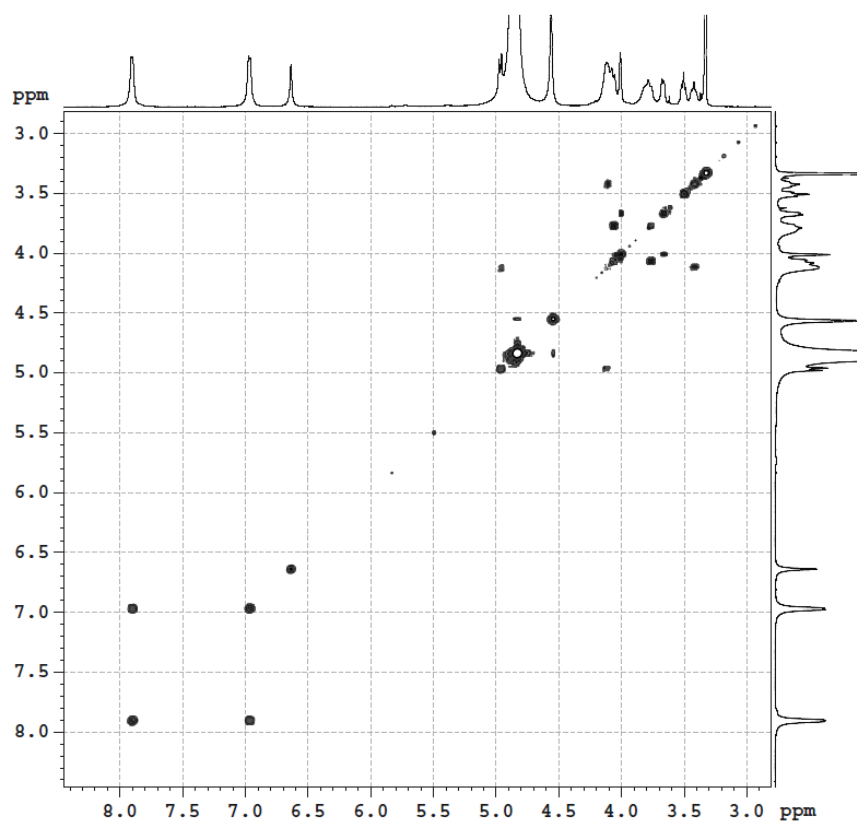


## 13.4. Phổ HMBC của hợp chất MA13

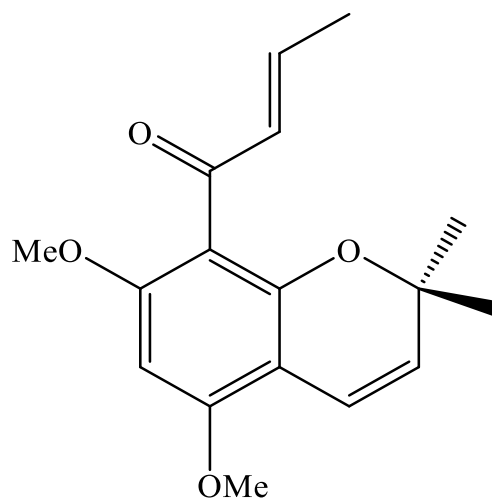


## 13.5. Phổ COSY của hợp chất MA13

BMA.24C1-MeOD-COSYGP





**14. Hợp chất MA14****Cấu trúc hóa học của MA14**

Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>, M = 288.

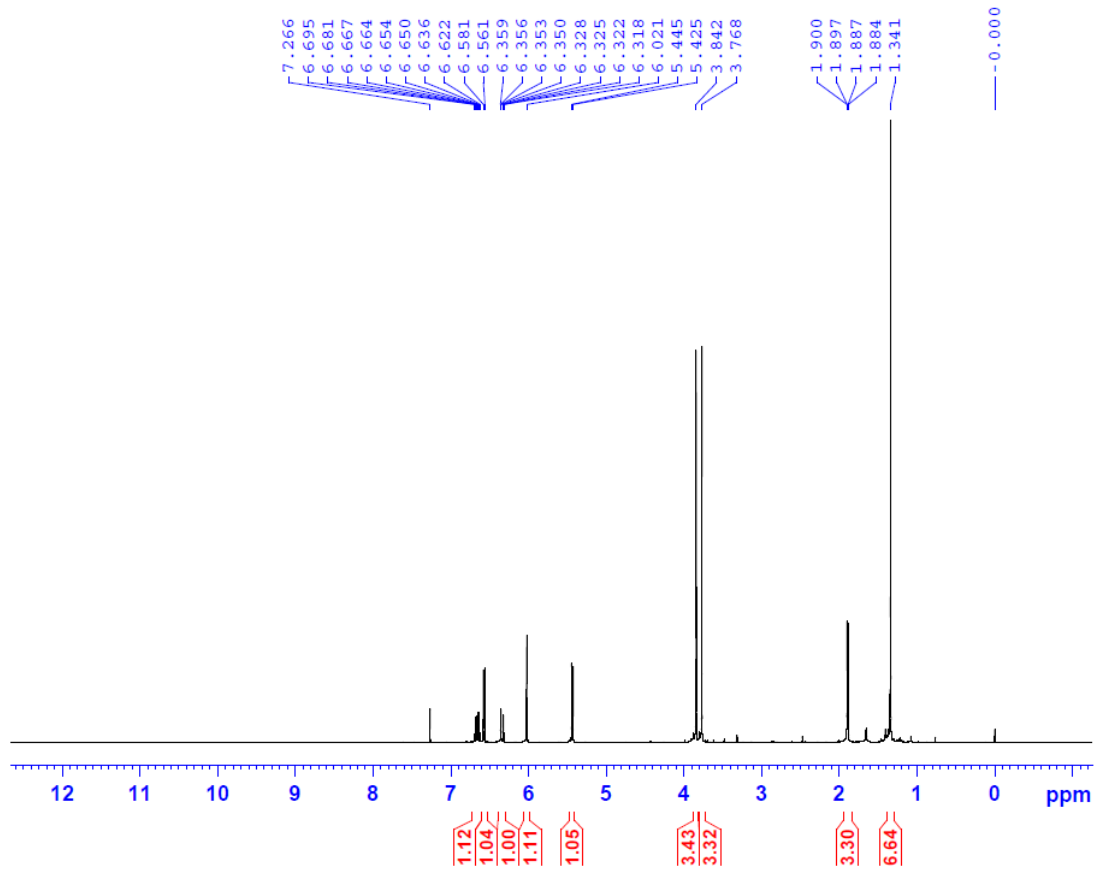
Phổ <sup>1</sup>H-NMR

Phổ <sup>13</sup>C-NMR

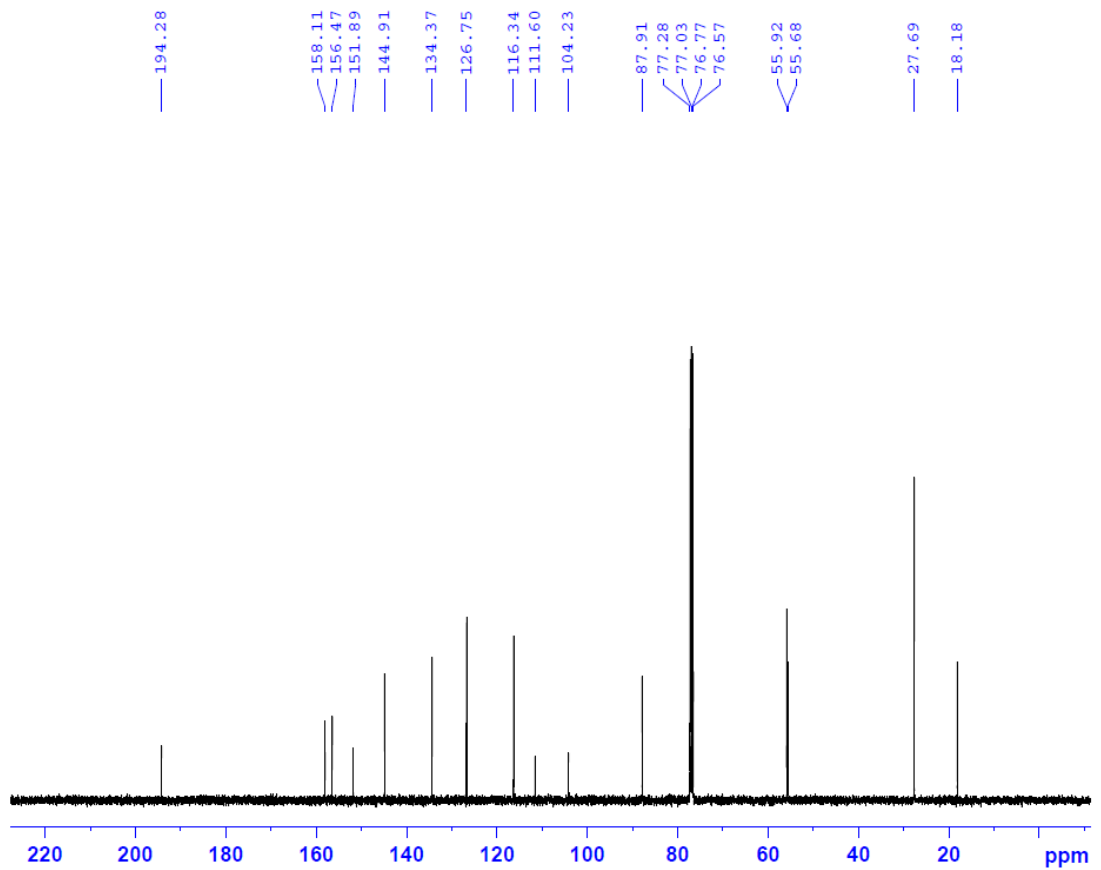
Phổ HSQC

Phổ HMBC

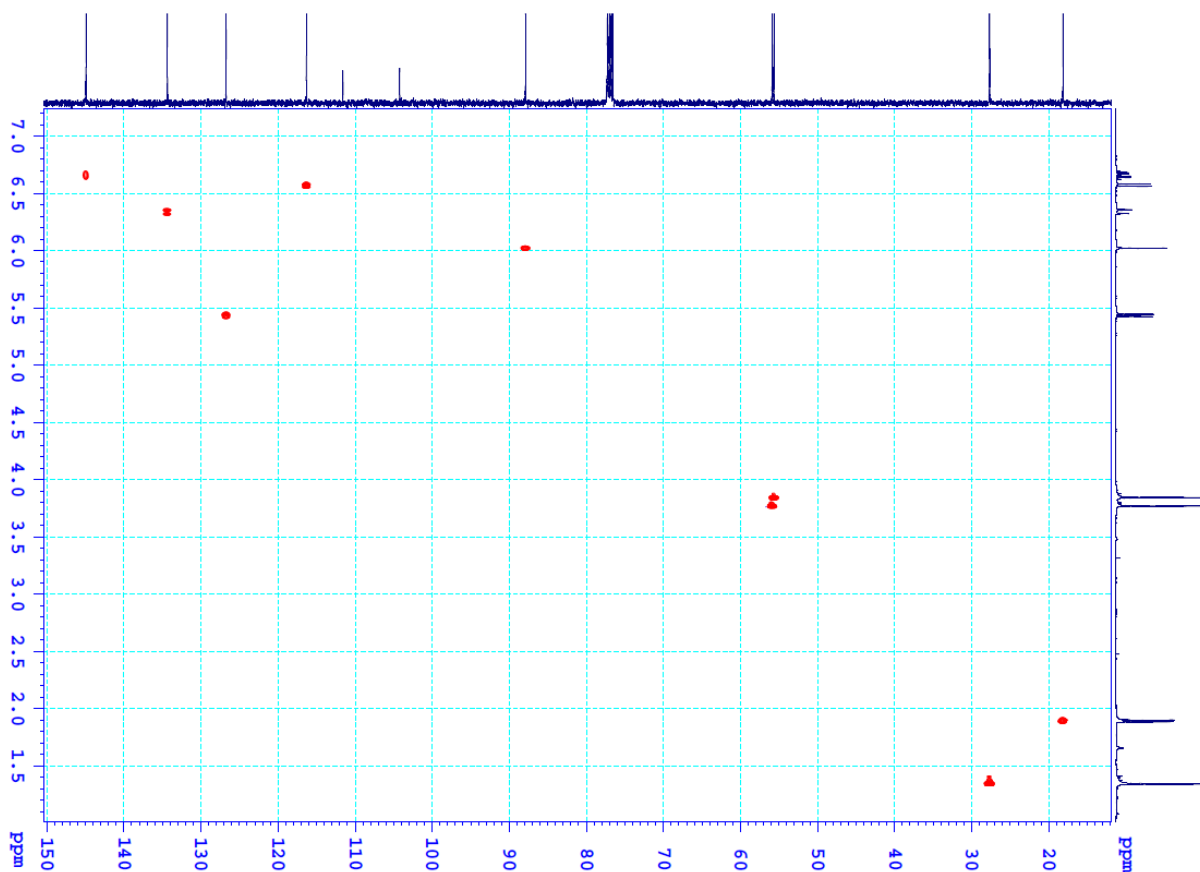
14.1. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA14



14.2. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA14

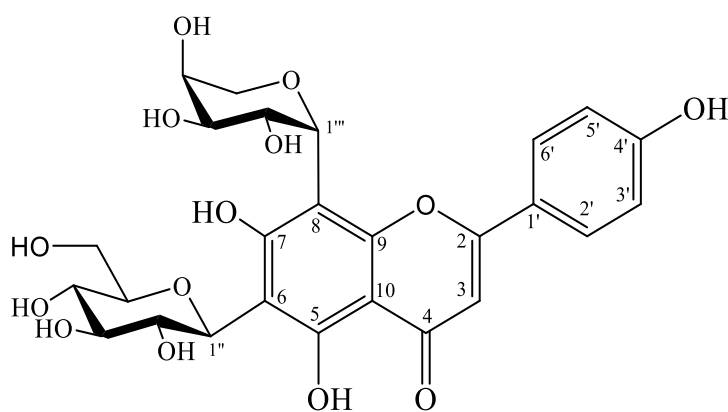


## 14.3. Phổ HSQC của hợp chất MA14



## 14.4. Phổ HMBC của hợp chất MA14

## 15. Hợp chất MA15



Cấu trúc hóa học của MA15

Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{26}H_{28}O_{14}$ ,  $M = 564$ .

Phổ  $^1H$ -NMR

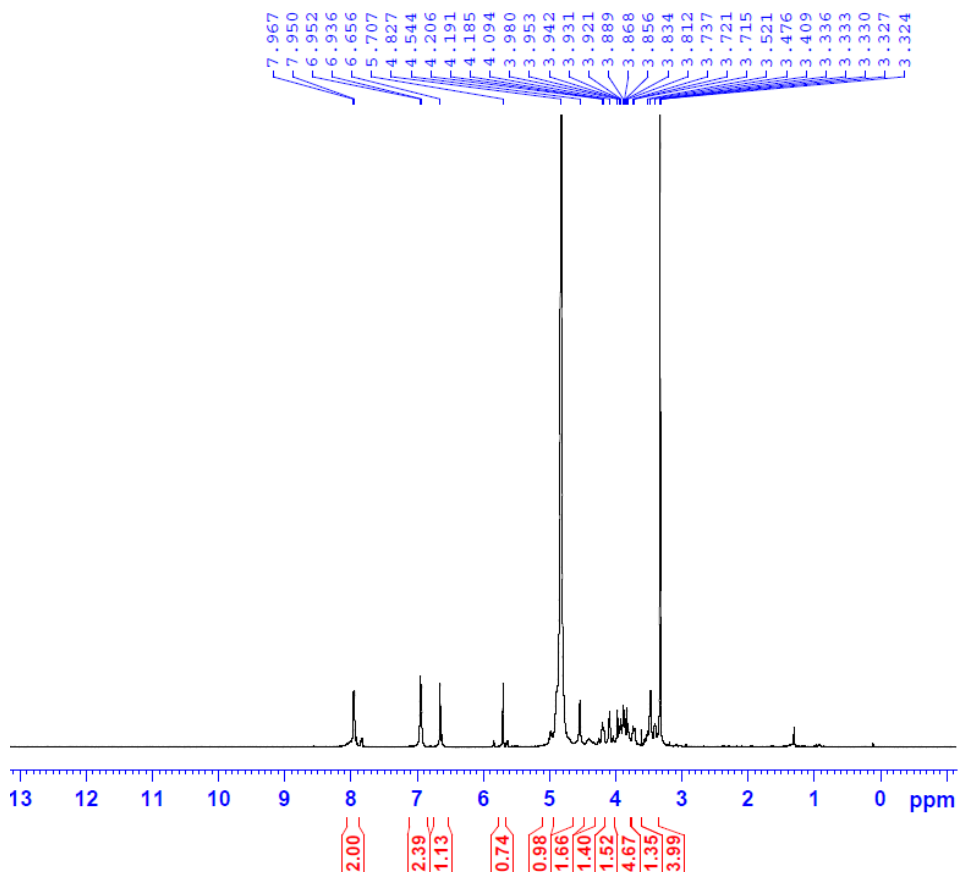
Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

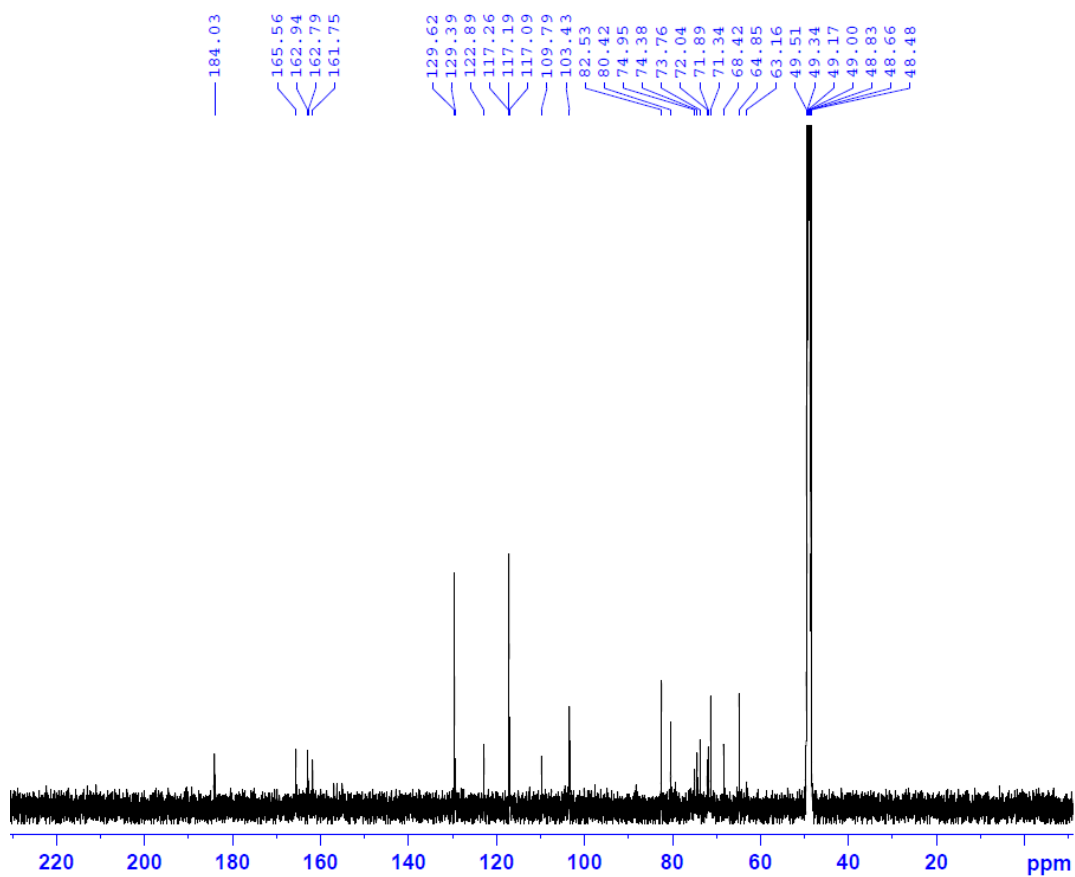
Phổ HMBC



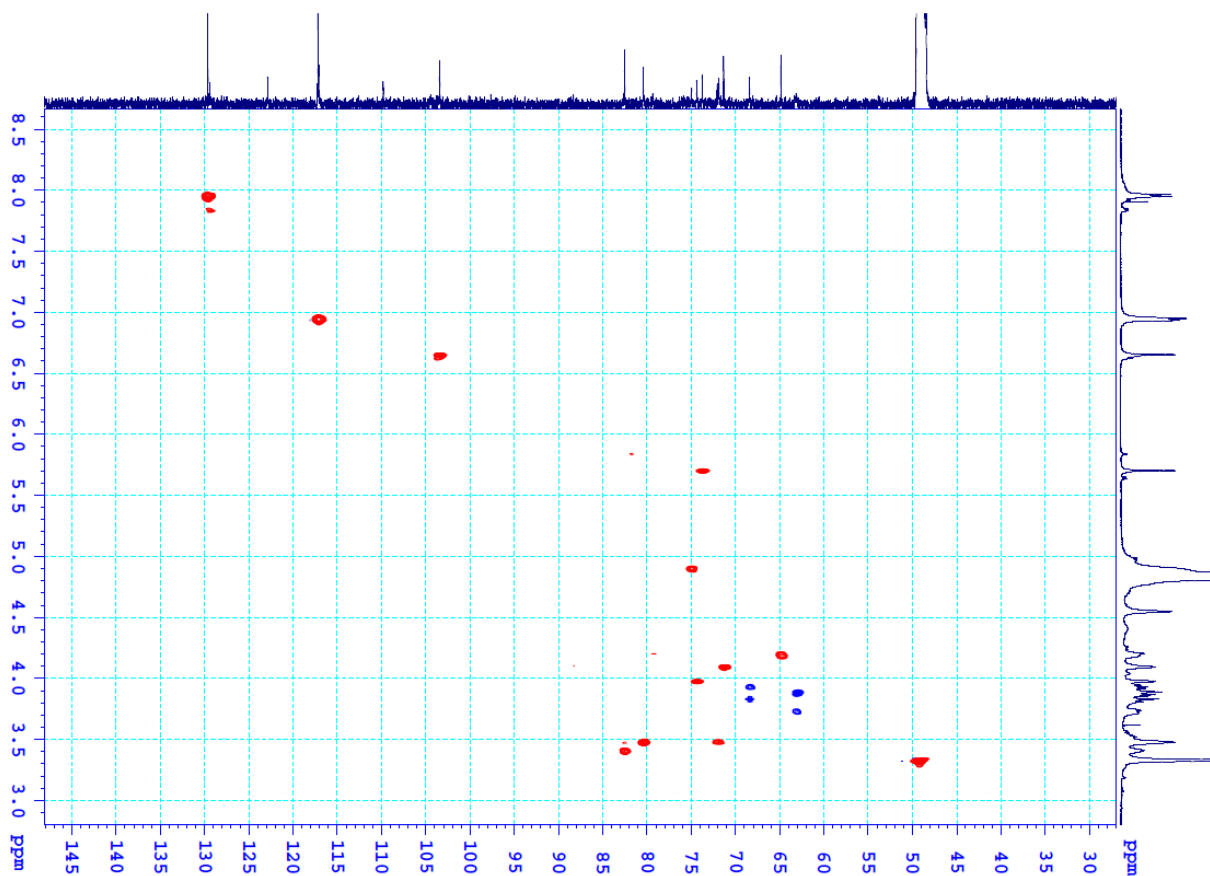
15.1. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất MA15



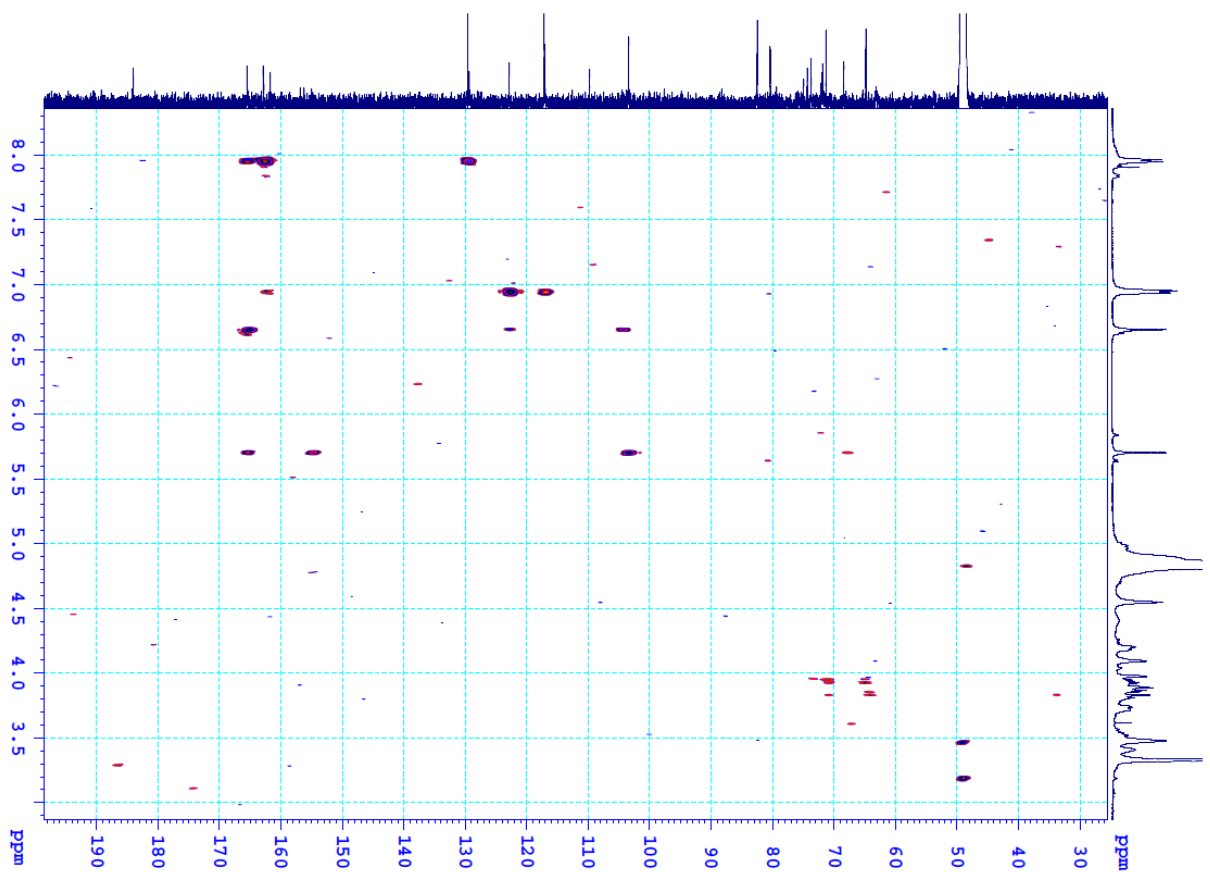
15.2. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất MA15



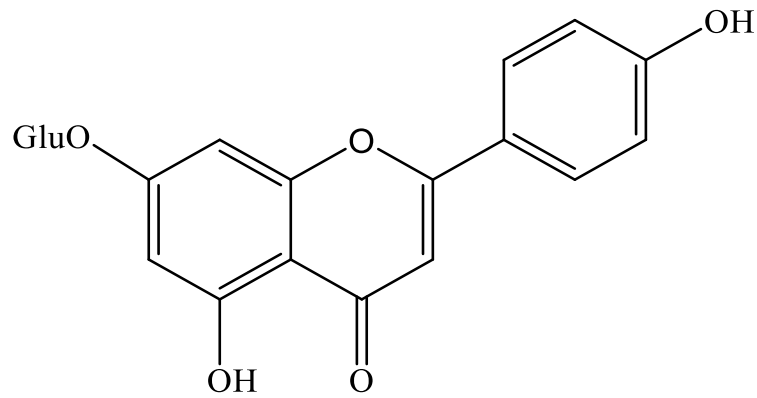
## 15.3. Phổ HSQC của hợp chất MA15



## 15.4. Phổ HMBC của hợp chất MA15



## 16. Hợp chất MA16



Cấu trúc hóa học của MA16

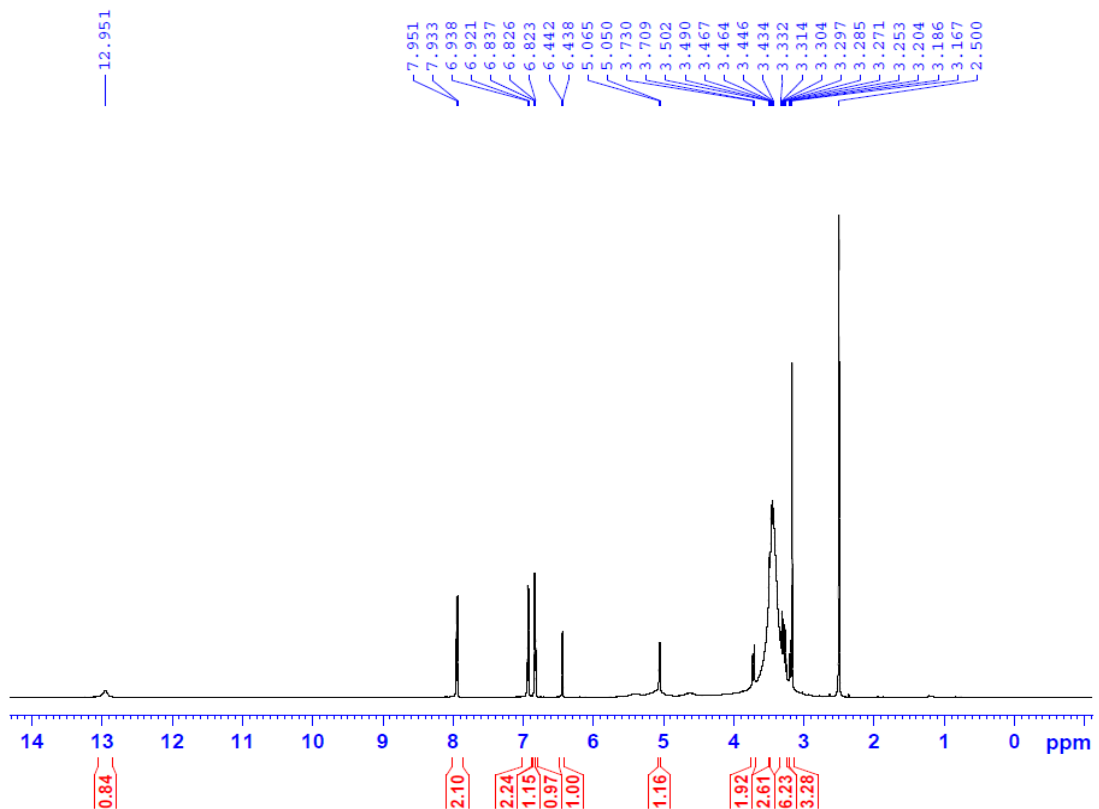
Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{21}H_{20}O_{10}$ ,  $M = 432$ .

Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

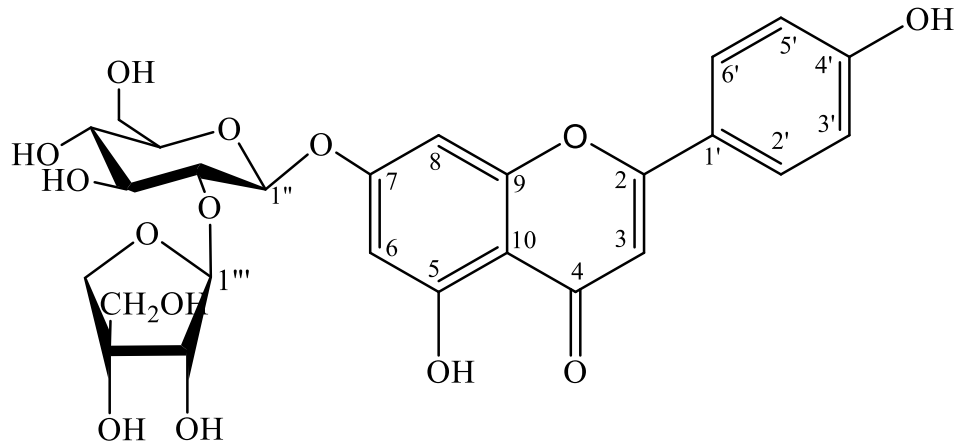
Phổ HSQC

16.1. Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất MA16





## 17. Hợp chất MA17



Cấu trúc hóa học của MA17

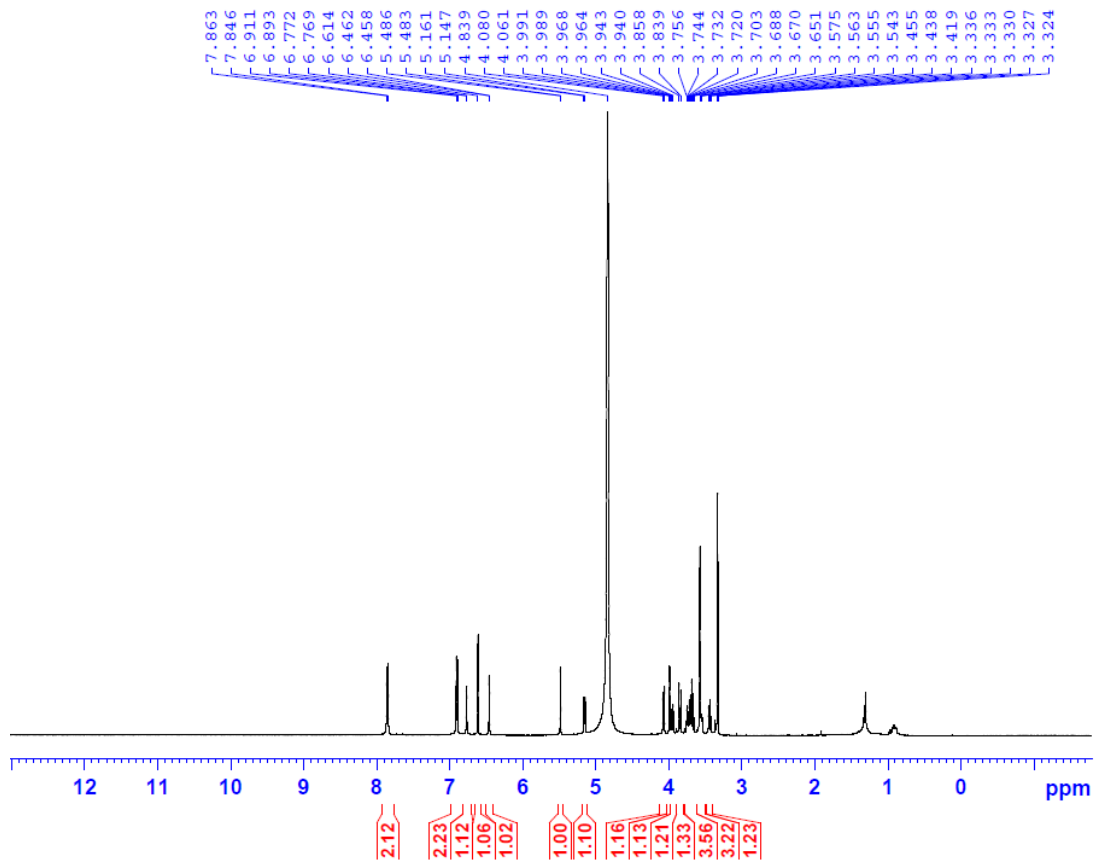
Chất bột vô định hình màu vàng.

Công thức phân tử  $C_{26}H_{28}O_{14}$ ,  $M = 564$ .

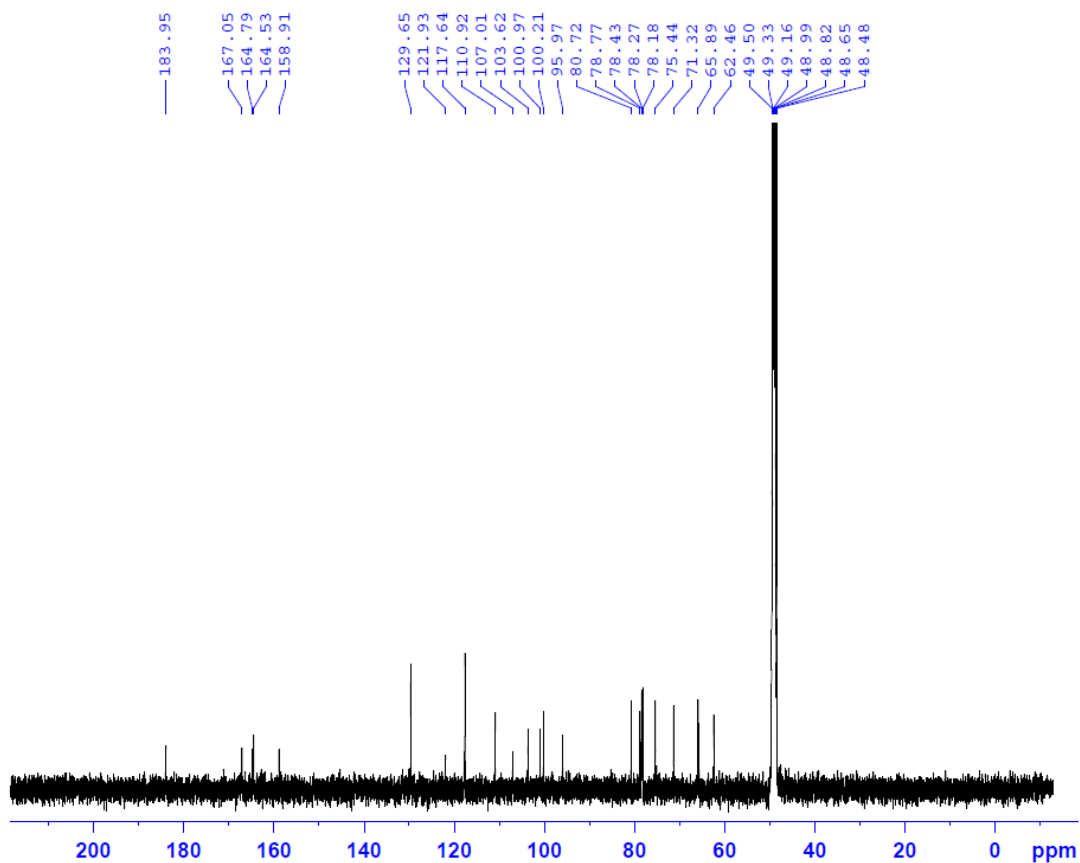
Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

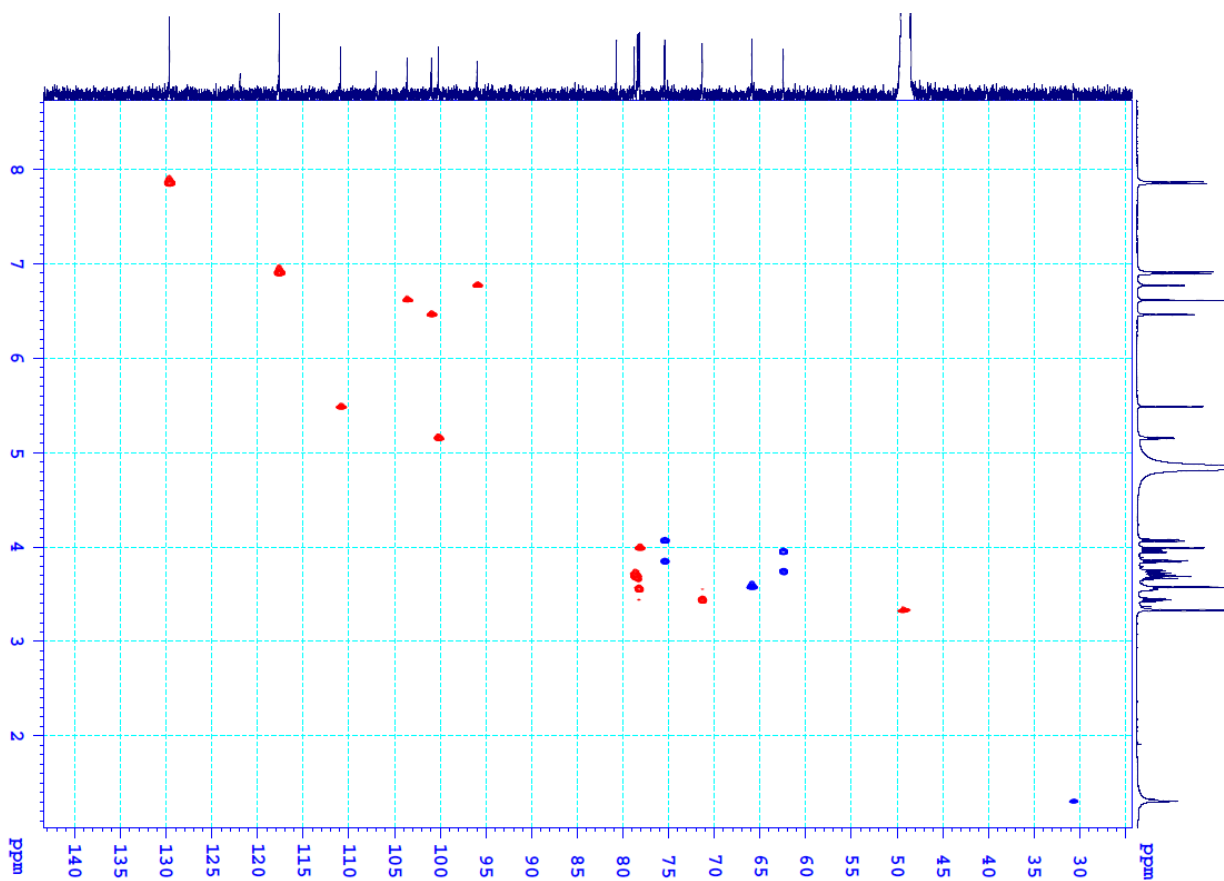
Phổ HSQC

17.1. Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất MA17

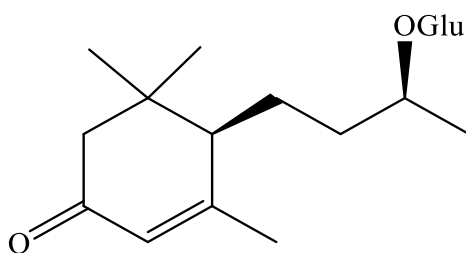
17.2. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA17



17.3. Phổ HSQC của hợp chất MA17



## 18. Hợp chất MA18



Cấu trúc hóa học của MA18

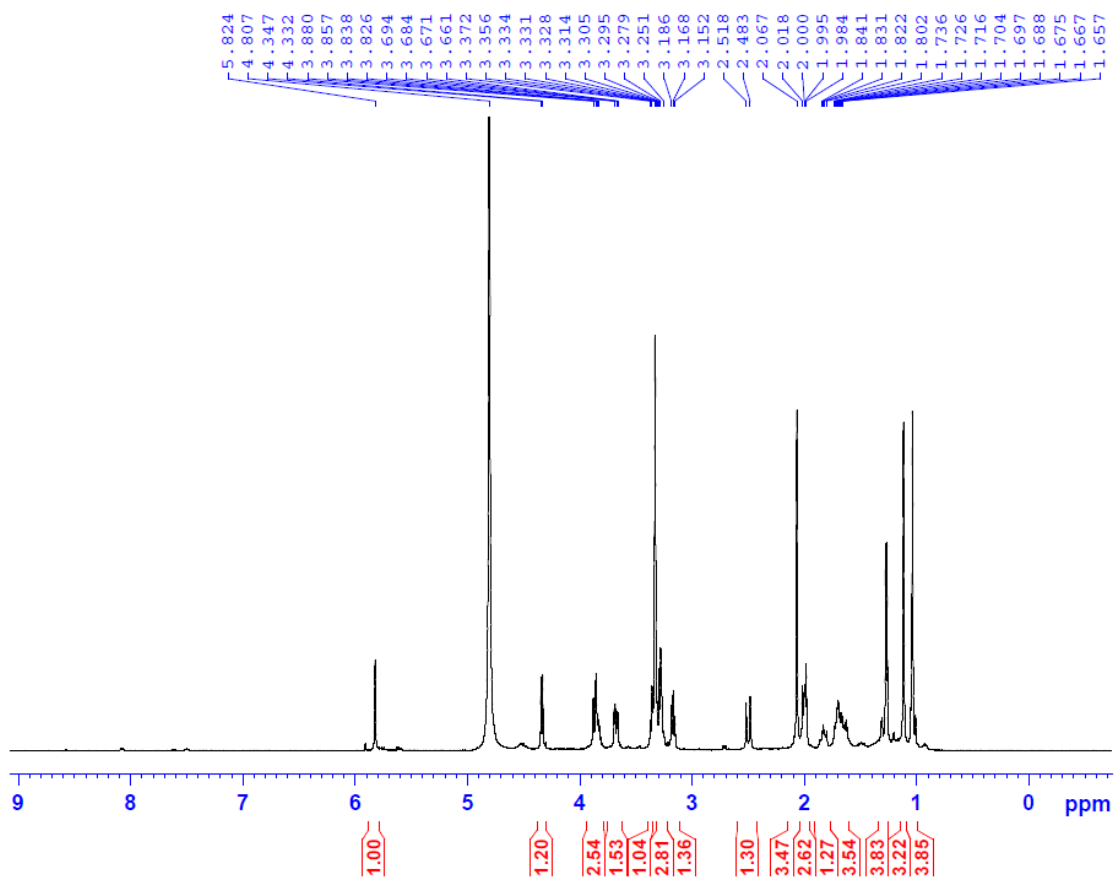
Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>, M = 372.

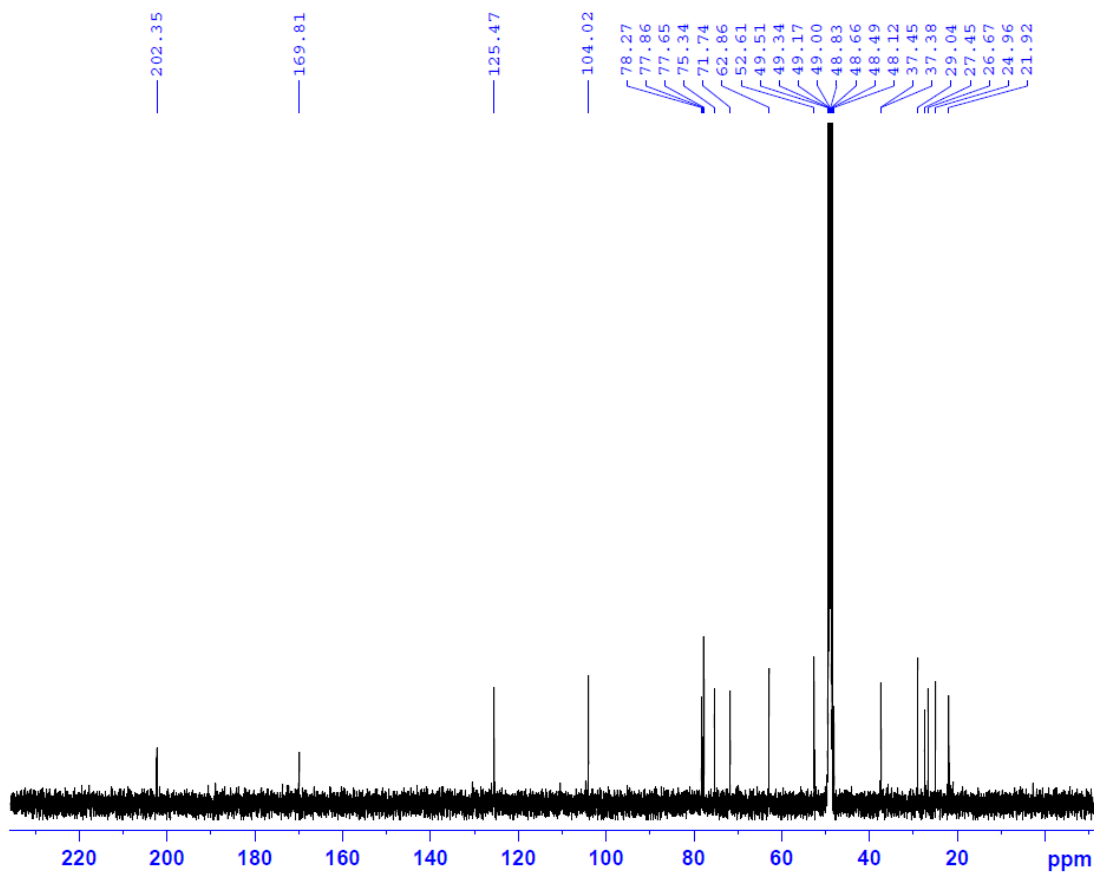
Phổ <sup>1</sup>H-NMR

Phổ <sup>13</sup>C-NMR

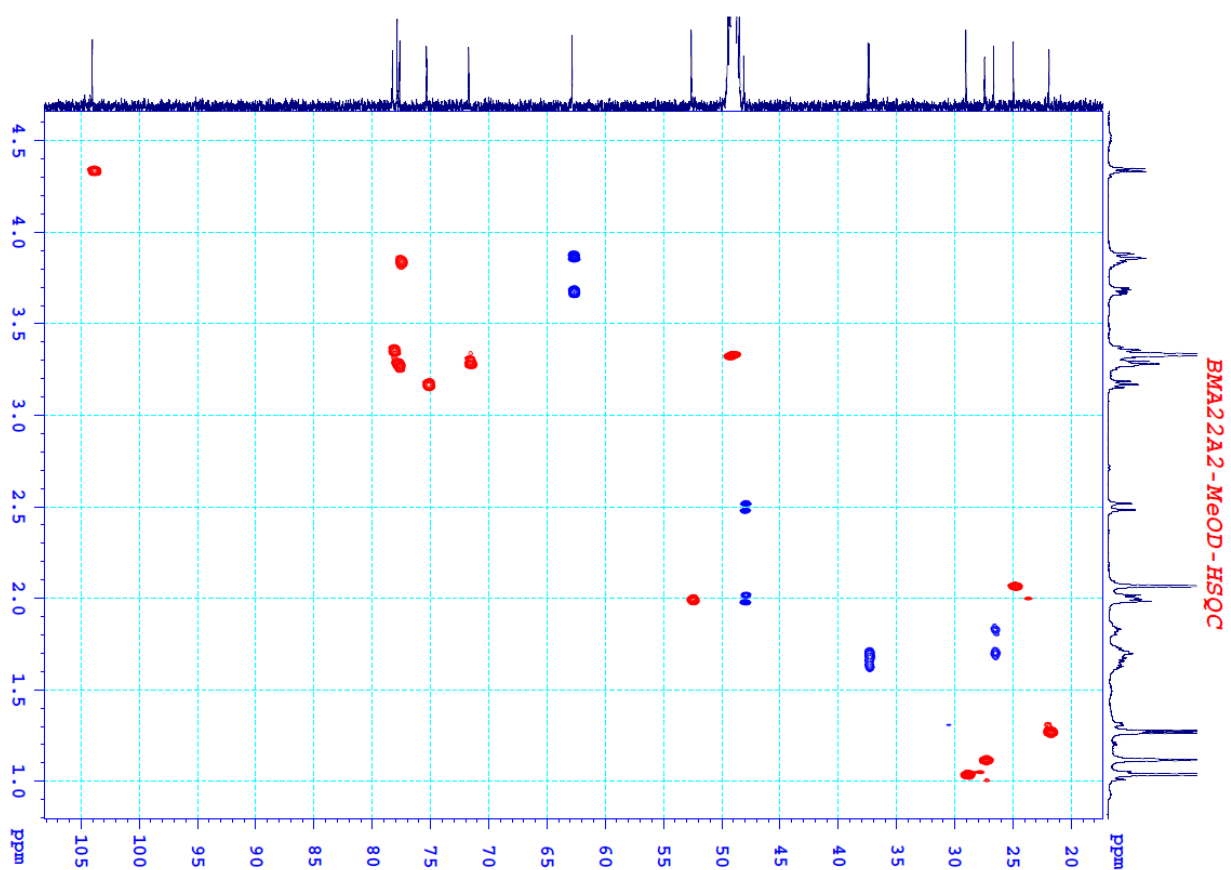
Phổ HSQC

18.1. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất MA18

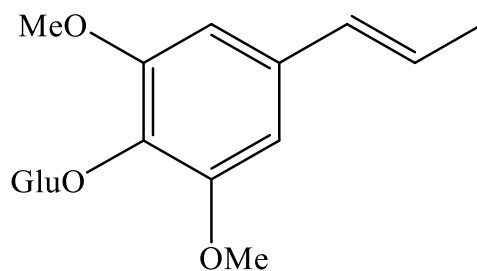
18.2. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA18



18.3. Phổ HSQC của hợp chất MA18



## 19. Hợp chất MA19



## Cấu trúc hóa học của MA19

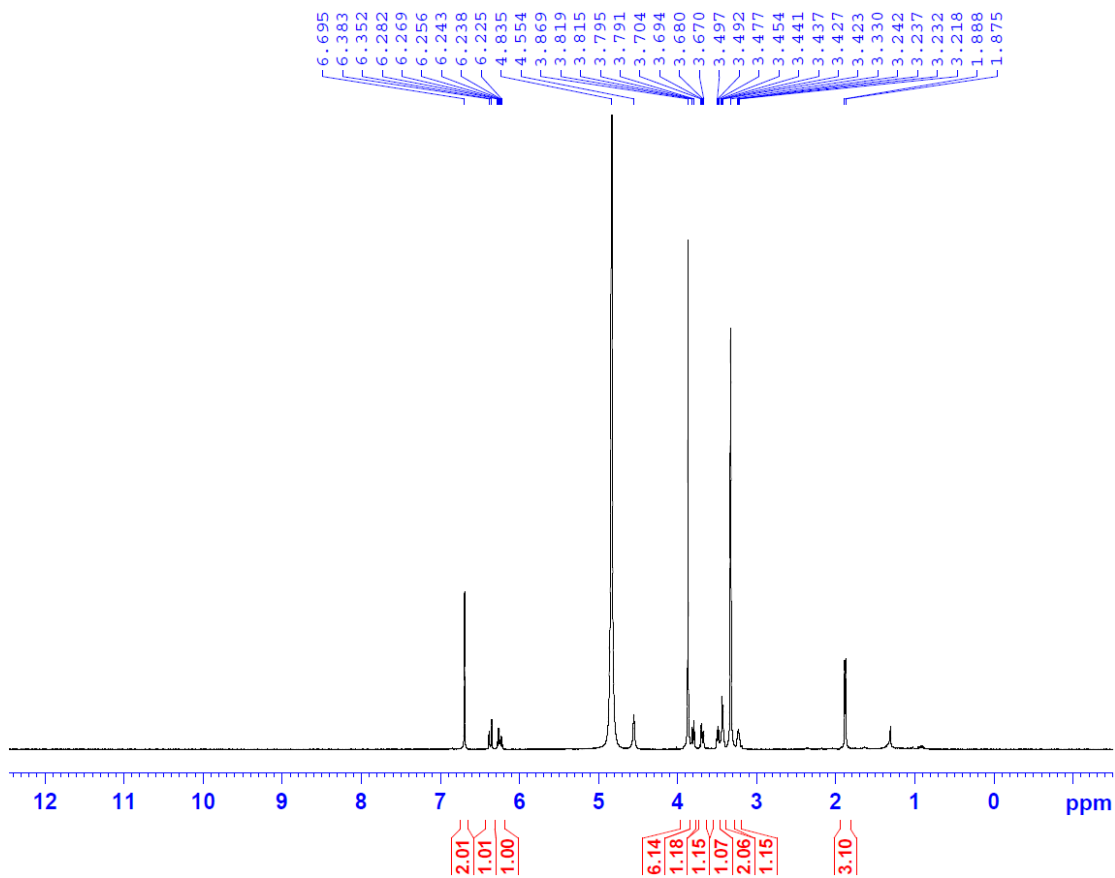
Chất bột vô định hình màu trắng.

Công thức phân tử  $C_{17}H_{24}O_8$ ,  $M = 356$ .

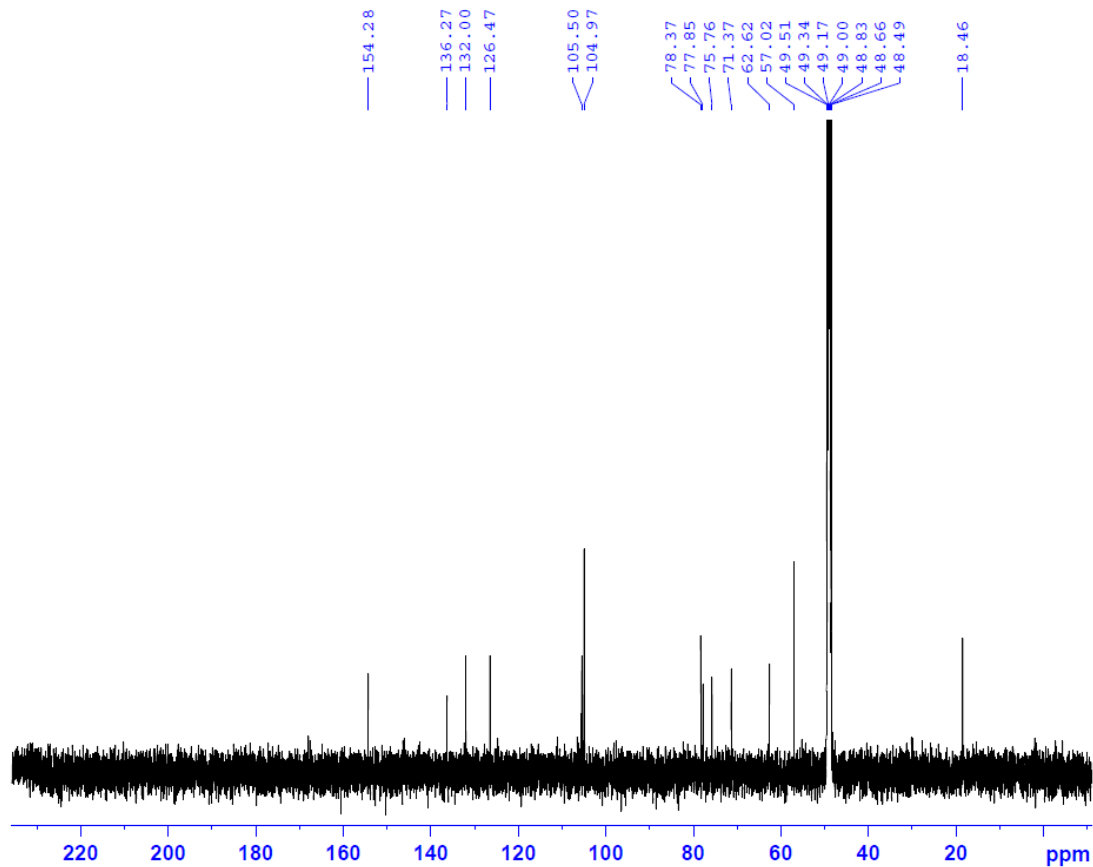
Phổ  $^1H$ -NMR

Phổ  $^{13}C$ -NMR

Phổ HSQC

19.1. Phổ  $^1H$ -NMR của hợp chất MA19

19.2. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất MA19



19.3. Phổ HSQC của hợp chất MA19

