

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM  
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

-----



**Lê Doãn Tùng Lâm**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN SAPONIN VÀ HOẠT TÍNH ỨC  
CHẾ ENZYME  $\alpha$ -GLUCOSIDASE và  $\alpha$ -AMYLASE TỪ CÂY LAN  
THẠCH HỘC (*DENDROBIUM OFFICINALE KIMURA & MIGO*)**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

**Ngành: Hóa hữu cơ**

**Mã số: 8440114**

**Hà Nội – 2024**

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM  
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

-----



**Lê Doãn Tùng Lâm**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN SAPONIN VÀ HOẠT TÍNH ỨC  
CHẾ ENZYME  $\alpha$ -GLUCOSIDASE và  $\alpha$ -AMYLASE TỪ CÂY LAN  
THẠCH HỘC (*DENDROBIUM OFFICINALE KIMURA & MIGO*)**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

Cán bộ hướng dẫn khoa học: TS. Phạm Hải Yến

**Hà Nội – 2024**

**LỜI CAM ĐOAN**

*Tôi xin cam đoan kết quả nghiên cứu trong luận văn 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 văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm.*

**Tác giả****Lê Doãn Tùng Lâm**

## LỜI CẢM ƠN

*Luận văn này được hoàn thành tại Viện Hóa sinh biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài Khoa học công nghệ cấp Quốc gia mã số ĐTĐLCN.65/22.*

*Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc, sự khâm phục và kính trọng nhất tới TS. Phạm Hải Yến - Người đã tận tâm hướng dẫn chỉ dạy cho tôi về mặt chuyên môn, và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận văn .*

*Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo và các đồng nghiệp phòng Nghiên cứu cấu trúc - Viện Hóa Sinh biển về sự ủng hộ to lớn, những lời khuyên bổ ích và những góp ý quý báu trong việc thực hiện và hoàn thiện luận văn.*

*Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ và Viện Hóa sinh biển đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học.*

*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!*

## MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN .....	I
LỜI CẢM ƠN .....	II
MỤC LỤC .....	III
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT .....	V
DANH MỤC HÌNH.....	VII
DANH MỤC BẢNG .....	IX
MỞ ĐẦU .....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Tổng quan về chi <i>Dendrobium</i> .....	3
1.1.1. Giới thiệu chung về chi <i>Dendrobium</i> .....	3
1.1.2. Các nghiên cứu về chi <i>Dendrobium</i> .....	3
1.1.2.1. Tác dụng dược lý của Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> )...3	
1.1.2.2. Các sản phẩm từ Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) .....	5
1.2. Tổng quan về Cây Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ).....	5
1.2.1. Giới thiệu chung về Cây Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) ....	5
1.2.1.1. Mô tả .....	6
1.2.1.2. Phân bố .....	6
1.2.1.3. Bộ phận Thạch Học dùng, thu hái, chế biến, bảo quản.....	6
1.2.1.4. Bảo quản .....	7
1.2.2. Các nghiên cứu về Cây Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) ....	7
1.2.2.1. Các nghiên cứu trong nước.....	7
1.2.2.2. Các nghiên cứu trên thế giới.....	8
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	14
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	14
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	14
2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	14
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất.....	15
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzym $\alpha$ -glucosidase .....	15
2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase .....	16
2.3. Chiết xuất và phân lập. ....	19
2.4. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được .....	19
2.4.1. Hợp chất DO9: hợp chất mới ( <i>Dendrocinaoside F</i> ) .....	19
2.4.2. Hợp chất DO10: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-serratagenic acid, 28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl -(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. ....	20

2.4.3. Hợp chất DO11: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester .....	20
2.4.4. Hợp chất DO12: 3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. ....	20
2.4.5. Hợp chất DO13: Yemuoside YM14 .....	20
2.4.6. Hợp chất DO14: Yemuoside YM11 .....	20
2.4.7. Hợp chất DO15: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester .....	21
2.5. Thử hoạt tính các hợp chất phân lập được .....	21
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>22</b>
3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài Lan thạch hộc ( <i>Dendrobium Officinale</i> ) .....	22
3.1.1. Hợp chất DO9: hợp chất mới ( <i>Dendrocinaoside F</i> ) .....	22
3.1.2. Hợp chất DO10: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ -hydroxyolean-12-ene-28,29-dioic.....	29
3.1.3. Hợp chất DO11: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester .....	33
3.1.4. Hợp chất DO12: 3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. ....	38
3.1.5. Hợp chất DO13: Yemuoside YM14 .....	44
3.1.6. Hợp chất DO14: Yemuoside YM11 .....	49
3.1.7. Hợp chất DO15: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. ....	53
3.1.8. Tổng hợp cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài lan thạch hộc ( <i>Dendrobium officinale</i> ).....	58
3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được .....	59
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>61</b>
<b>CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN .....</b>	<b>62</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>63</b>
<b>PHỤ LỤC PHỔ .....</b>	<b>PL1</b>

## DANH MỤC CHỮ 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
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
CTPT	Molecular formula	Công thức phân tử
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC <sub>50</sub>	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
KLPT	Molecular mass	Khối lượng phân tử
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy	Phổ NOESY
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$
DOP	Dendrobium Officinale Polysaccharide	Cặn chiết chứa Polysaccharide của Lan Thạch Hộc
FBG	Fasting blood glucose test	Nồng độ đường huyết lúc đói
GSP	Glycated serum protein	Protein huyết thanh Glucosyl hóa

<b>Kí hiệu</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Diễn giải</b>
STZ-DM	Streptozotocin	Hóa chất gây tiểu đường được sử dụng nhiều nhất để tạo ra mô hình chuột mắc bệnh tiểu đường loại 1 và 2
TP	Total polysaccharid	Tổng lượng polysaccharid



## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Một số hợp chất phân lập từ Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) .....	10
Hình 1.2. Một số hợp chất phân lập từ Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) (tiếp).....	11
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất đượcpân lập từ loài <i>Dendrobium officinale</i> .....	12
Hình 2.1. Lan thạch học tía ( <i>Dendrobium officinale</i> ) .....	14
Hình 2.2 Sơ đồ phân lập các hợp chất.....	18
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của <b>DO9</b> .....	22
Hình 3.2 Các tương tác HMBC chính của <b>DO9</b> .....	23
Hình 3.3. Các tương tác NOESY của <b>DO9</b> .....	23
Hình 3.4 Phổ HR-ESI-MS của hợp chất <b>DO9</b> .....	25
Hình 3.5. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất <b>DO9</b> .....	26
Hình 3.6. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>DO9</b> .....	26
Hình 3.7. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO9</b> .....	27
Hình 3.8. Phổ HMBC của hợp chất <b>DO9</b> .....	27
Hình 3.9. Phổ COSY của hợp chất <b>DO9</b> .....	28
Hình 3.10. Phổ ROESY của hợp chất <b>DO9</b> .....	28
Hình 3.11. Cấu trúc hóa học của <b>DO10</b> .....	29
Hình 3.12. Các tương tác MBC chính của <b>DO10</b> .....	29
Hình 3.13. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất <b>DO10</b> .....	31
Hình 3.14. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>DO10</b> .....	32
Hình 3.15. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO10</b> .....	32
Hình 3.16. Phổ HMBC của hợp chất <b>DO10</b> . .....	33
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của <b>DO11</b> .....	33
Hình 3.18. Các tương tác HMBC chính của <b>DO11</b> .....	34
Hình 3.19. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất <b>DO11</b> .....	36
Hình 3.20. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>DO11</b> .....	37
Hình 3.21. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO11</b> . .....	37
Hình 3.22. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của <b>DO12</b> . .....	38
Hình 3.23. Các tương tác HMBC chính của <b>DO12</b> . .....	39
Hình 3.24. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất <b>DO12</b> .....	41
Hình 3.25. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất <b>DO12</b> .....	42
Hình 3.26. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO12</b> .....	42
Hình 3.27. Phổ HMBC của hợp chất <b>DO12</b> . .....	43
Hình 3.28. Phổ COSY của hợp chất <b>DO12</b> .....	43
Hình 3.29. Phổ ROESY của hợp chất <b>DO12</b> .....	44

<i>Hình 3.30. Cấu trúc hóa học của <b>DO13</b></i> .....	44
<i>Hình 3.31. Các tương tác HMBC chính của <b>DO13</b></i> .....	45
<i>Hình 3.32. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất <b>DO13</b></i> .....	47
<i>Hình 3.33. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất <b>DO13</b></i> .....	48
<i>Hình 3.34. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO13</b></i> .....	48
<i>Hình 3.35. Phổ HMBC của hợp chất <b>DO13</b></i> .....	49
<i>Hình 3.36. Cấu trúc hóa học và của <b>DO14</b></i> .....	49
<i>Hình 3.37. Các tương tác HMBC chính của <b>DO14</b></i> .....	50
<i>Hình 3.38. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất <b>DO14</b></i> .....	52
<i>Hình 3.39. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất <b>DO14</b></i> .....	53
<i>Hình 3.40. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO14</b></i> .....	53
<i>Hình 3.41 Cấu trúc hóa học của <b>DO15</b></i> .....	53
<i>Hình 3.42 Các tương tác HMBC chính của <b>DO15</b></i> .....	54
<i>Hình 3.43. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất <b>DO15</b></i> .....	56
<i>Hình 3.44. Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất <b>DO15</b></i> .....	57
<i>Hình 3.45. Phổ HSQC của hợp chất <b>DO15</b></i> .....	57
<i>Hình 3.46. Phổ HMBC của hợp chất <b>DO15</b></i> .....	58
<i>Hình 3.47 Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài <i>Dendrobium officinale</i></i> .....	59

**DANH MỤC BẢNG**

<i>Bảng 2.1 Khả năng ức chế enzym <math>\alpha</math>-glucosidase và enzym <math>\alpha</math>-amylase của các hợp chất.....</i>	<i>21</i>
<i>Bảng 3.1 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO9</b> .....</i>	<i>24</i>
<i>Bảng 3.2 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO10</b> và hợp chất tham khảo. 30</i>	
<i>Bảng 3.3 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO11</b> và hợp chất tham khảo. 35</i>	
<i>Bảng 3.4 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO12</b> và hợp chất tham khảo. 39</i>	
<i>Bảng 3.5 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO13</b> và hợp chất tham khảo. 46</i>	
<i>Bảng 3.6 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO14</b> và hợp chất tham khảo. 50</i>	
<i>Bảng 3.7 Số liệu phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất <b>DO15</b> và hợp chất tham khảo. 55</i>	

## MỞ ĐẦU

Thực vật trên thế giới rất phong phú và đa dạng. Hiện nay ước tính có đến khoảng 285.650 loài thực vật đã được phát hiện. Việt Nam là một đất nước khí hậu nhiệt đới ẩm gió mùa, có nhiều điều kiện rất thuận lợi cho các loài sinh vật phát triển. Theo các số liệu thống kê, thảm thực vật Việt Nam có trên 12.000 loài thuộc 2.256 chi, 205 họ. Trong số đó có trên 3200 loài được sử dụng làm thuốc trong y học dân gian [1]. Tuy nhiên, phần lớn các loài thực vật ở Việt Nam hiện chưa được nghiên cứu đầy đủ, nhất là về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học do đó chưa đủ cơ sở khoa học. Gần đây, xu hướng tìm kiếm một số hoạt chất mới trong các loài thảo mộc có tác dụng chữa bệnh ngày một tăng và thu hút nhiều nhà khoa học nghiên cứu. Một số loài thực vật đã được đưa ra làm thuốc hoặc thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị như Dây thìa canh, Trinh nữ hoàng cung, Hoàng liên, Hoàng cầm, Nghệ... Điều đáng chú ý là các sản phẩm này sử dụng an toàn, ít tác dụng phụ, ít hiện tượng nhờn thuốc.

Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*) là một loài thuộc chi *Dendrobium*, họ Lan (Orchidaceae). Ngoài giá trị thẩm mỹ, nó còn có giá trị dược liệu được sử dụng phổ biến trong nền y học cổ truyền của nhiều nước châu Á. Theo các tài liệu dược học cổ truyền, Thạch hộc tía có tác dụng bổ âm, tân sinh, chữa chứng hỏa hư, trị đau dạ dày, đau thượng vị, bồi bổ đôi mắt, chống lão hóa [2]. Các nghiên cứu gần đây khẳng định giá trị dược học của loại thảo dược này về khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, tăng cường hệ miễn dịch, ức chế tế bào ung thư, điều hòa đường huyết, cải thiện hoạt động của hệ tiêu hóa, ổn định hệ vi sinh đường ruột [2]. Do vậy, việc tìm hiểu, nghiên cứu, đánh giá về thành phần hóa học, thành phần dược lý và sàng lọc các chất có hoạt tính sinh học tiềm năng từ các loài thực vật trong chi *Dendrobium*, đặc biệt như loài *Lan Thạch Hộc* sẽ có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Hơn nữa, nghiên cứu này sẽ góp phần tích cực vào việc khai thác và sử dụng một cách hợp lý nguồn tài nguyên thiên nhiên dồi dào của đất nước. Từ những lý do trên, tôi đã quyết định lựa chọn đề tài “**Nghiên cứu thành phần Saponin và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase từ cây Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale* Kimura & Migo)**”

**Mục tiêu của luận án:** Nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ loài Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*). Khảo sát và đánh giá được tác dụng hạ đường huyết trên cơ sở hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các hợp chất phân lập được.

**Nội dung luận văn bao gồm:**

1. Tạo dịch chiết và các phân đoạn cao chiết;
2. Phân lập các hợp chất sạch từ loài Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*) bằng các phương pháp sắc ký;
3. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp vật lý, hóa học;
4. Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của các hợp chất phân lập được

**Những đóng góp của luận văn:**

- Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc được 1 hợp chất mới và được đặt tên là Dendrocinaoside F (**Hợp chất DO9**).
- Lần đầu tiên 07 hợp chất phân lập từ loài Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*) được thử tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase. Kết quả hợp chất **DO13** và **DO14** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase mạnh hơn cả đối chứng acarbose (một dược chất đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân bị tiểu đường).
- Hợp chất **DO9** và **DO15** cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase
- Hợp chất **DO10** và **DO12** ức chế 1 enzym  $\alpha$ -amylase còn hợp chất **DO11** ức chế 1  $\alpha$ -glucosidase.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

### 1.1. Tổng quan về chi *Dendrobium*

#### 1.1.1. Giới thiệu chung về chi *Dendrobium*

Chi *Dendrobium* thuộc họ lớn Orchidaceae (Phong lan), có khoảng 1.400 loài trên toàn thế giới phân bố từ châu Á nhiệt đới đến châu Đại Dương [3].

Trong nền Y học cổ truyền Trung Quốc có 9 loại “Đại thiên thảo”: Lan Thạch học tía, Thiên sơn tuyết liên, Nhân sâm, Đông trùng hạ thảo, Bách niên thủ ô, Hoa giáp phục linh, Đại mạc tùng dung, Thiên sơn linh chi, Chân châu đáy biển. Lan thạch học tía được coi là loài dược liệu rất có giá trị trong 9 loài này.

Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) phân bố ở một số quốc gia trên thế giới như: Nhật Bản, Hoa Kỳ và Úc, Trung Quốc và Việt Nam [4]. Nghiên cứu dược lý cho thấy thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) và thành phần polysaccharide của nó có tác dụng chống ung thư, bảo vệ gan, giảm lipid máu, chống mệt mỏi, chống oxy hóa, chống táo bón, hạ đường huyết, loét dạ dày tác dụng bảo vệ và hạ huyết áp, tăng cường miễn dịch... [5,6,7].

#### 1.1.2. Các nghiên cứu về chi *Dendrobium*

##### 1.1.2.1. Tác dụng dược lý của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)

Gần đây, ngày càng có nhiều tác dụng dược lý của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) được báo cáo, chẳng hạn như tác dụng hạ đường huyết, hạ lipid máu và hạ huyết áp bảo vệ gan, chống ung thư, chống mệt mỏi và chữa viêm loét dạ dày.

- **Tác dụng hạ đường huyết:** tác dụng hạ đường huyết, một đặc tính quan trọng của thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*), đã được nghiên cứu rất nhiều. Uống DOP (*Dendrobium officinale polysaccharide*: cặn chiết chứa polysaccharide của thân cây Lan thạch học tía) làm giảm nồng độ đường huyết lúc đói (FBG) và protein huyết thanh glycosyl hóa (GSP) và tăng nồng độ insulin huyết thanh ở chuột mắc bệnh tiểu đường do dị ứng alloxan. Ngoài ra, DOP làm giảm sự xuất hiện của stress oxy hóa trong gan và thận của chuột mắc bệnh tiểu đường do alloxan gây ra. Do đó, DOP có thể điều chỉnh lượng đường trong máu thông qua quá trình cân bằng lipid máu và các tổn thương chống oxy hóa gây ra cho gan và thận [8]. Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có tác dụng hạ đường huyết đáng kể ở chuột bị tăng đường huyết do adrenaline và chuột mắc bệnh tiểu đường do streptozotocin (STZ-DM) [9]. Ngoài ra, các nhóm TP (tổng polysaccharid, 100mg / kg), TF (tổng số flavonoid, 35mg / kg) và TE (chiết xuất nước, 6 g/kg) của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) đã điều chỉnh đáng kể quá trình phosphoryl hóa của JNK (Thr183 / Tyr185) và điều chỉnh quá trình phosphoryl hóa của AKT ser<sup>473</sup> so với nhóm đối chứng bình thường, điều này cho thấy rằng các chiết xuất của Lan thạch

học tía (*Dendrobium officinale*) có tác dụng ức chế phosphoryl hóa JNK và thúc đẩy quá trình phosphoryl hóa AKT ser<sup>473</sup> [10].

- **Tác dụng hạ lipid máu và hạ huyết áp:** Người ta nhận thấy rằng thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có tác dụng hạ lipid máu và hạ huyết áp. Dung dịch bột thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có thể làm giảm đáng kể mức TG, TCHOL và LDL-C trong huyết thanh và làm giảm sự biểu hiện của TNF- $\alpha$  và IL-6 ở chuột [11]. Ngoài ra, nó có thể làm giảm các khu vực mảng xơ vữa trong van và vòm động mạch chủ ở chuột và sự biểu hiện của TNF- và IL-6 trong vòm động mạch chủ. Nghiên cứu cho thấy rằng thời gian sống và tỷ lệ sống sót của chuột bị tăng huyết áp tự phát (SHR- sp) khi uống DOP tốt hơn đáng kể so với uống cao chiết thân cây Lan thạch học tía không chứa polysaccharide [12].

- **Tác dụng bảo vệ gan:** Khả năng bảo vệ gan của thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) liên quan đến khả năng chống oxy hóa, đặc biệt là trong tổn thương gan do rượu cấp tính hoặc mãn tính. Nghiên cứu cho thấy rằng các polysaccharid *Dendrobium officinale* (DOP) tăng tốc quá trình chuyển hóa TG và TC trong huyết thanh, đồng thời tăng hoạt động của gan, giúp phục hồi các rối loạn chuyển hóa lipid và đẩy nhanh quá trình bài tiết rượu và các chất chuyển hóa của nó [13].

- **Tác dụng chống ung thư:** Hoạt tính chống ung thư của dịch chiết thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) đã được nghiên cứu và chứng minh có tác dụng ức chế sự phát triển các dòng tế bào ung thư Hela, HepG2 và HCT-116 *in vitro*, cũng như CNE1 và CNE2 trên thử nghiệm *in vivo* và *in vitro* [14]. Ngoài ra, DOP thể hiện tác dụng chống ung thư ở chuột ung thư biểu mô phổi (LLC). Tỷ lệ ức chế khối u của nó là 8,5% - 18,3% ( $P > 0,05$ ) [15]. Trong các thí nghiệm về hình thái học tế bào, Liu đã chỉ ra DOP có thể ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan (HepG2), tế bào ung thư phổi (A549), tế bào u ác tính ở người (NCCIT) và u ác tính (F9) [16]. Hoạt tính chống ung thư của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có thể đi kèm với tác dụng cải thiện hệ thống miễn dịch.

- **Tác dụng chống mệt mỏi:** Tác dụng chống mệt mỏi của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) được minh họa trên *in vivo*, khi so sánh với các nhóm đối chứng; Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có thể tăng lượng glycogen dự trữ trong quá trình tập thể dục và làm giảm mức độ tích tụ urê huyết thanh và axit lactic [17]. Ngoài ra, so với các nhóm đối chứng, Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) làm tăng đáng kể các chỉ số thanh thải carbon và làm giảm axit lactic trong huyết thanh [18].

- **Tác dụng chữa viêm loét dạ dày:** Nghiên cứu cho thấy rằng Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có tác dụng ngăn ngừa tổn thương dạ dày gây ra bởi dung

dịch axit clohydric 60% ethanol [19]. Nước ép Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) mới vắt cho thấy giảm đáng kể chỉ số loét trên mô hình loét dạ dày do hóa chất và kích thích [20].

**- Độc tính của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*):** Thử nghiệm độc tính cấp tính, độc tính di truyền và thử nghiệm cho ăn trong 90 ngày ở chuột, kết quả cho thấy rằng các protocorms của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) không có độc tính, độc tính di truyền và khả năng gây đột biến trong phạm vi liều thử nghiệm [21]. Hơn nữa, nước sắc 15% của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) được sử dụng để thử nghiệm dị dạng tinh trùng của chuột, thử nghiệm Ames và thử nghiệm vi nhân của tủy xương, tất cả các kết quả xét nghiệm đều âm tính. Ngoài ra, thử nghiệm độc tính cấp tính qua đường miệng cho thấy liều cao nhất là 10 g/kg thể trọng không độc hại [22].

#### **1.1.2.2. Các sản phẩm từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)**

Trong những năm gần đây, sự phát triển của các sản phẩm chăm sóc sức khỏe từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) đang rất hứa hẹn. Nhiều sản phẩm được cấp bằng sáng chế liên quan đang được đăng ký hoặc đã được ủy quyền, có chứa các thành phần Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) như các hợp chất chống lão hóa [23], đồ uống lactobacillus [24], thuốc mờ mắt antiasthenopia [25], các hợp chất tăng cường miễn dịch [26], hạ huyết áp [27], hạ đường huyết [28]. Một số bằng sáng chế này đã được đưa vào sản xuất như “Tiepifengdou”, một trong những sản phẩm chế biến nổi tiếng nhất từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) [29]. Tuy nhiên, có rất ít thuốc từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) ngoài tiepishihu của dược liệu Trung Quốc.

### **1.2. Tổng quan về Cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)**

#### **1.2.1. Giới thiệu chung về Cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)**

Thạch học (Herba Dendrobii) là loại hoa lan, mà mọi người hay gọi là lan Thạch học. Thật ra, nó là tên chung của nhiều loại phong lan, như: Thạch học tía (Thiết bì thạch học), Thạch học lưu tô, Thạch học cầu hoa, Thạch học cổ chùy, Kim thoa thạch học... Trong đó, Thạch học tía và Kim thoa thạch học là 2 cái tên mà mọi người nghe nhiều nhất dùng để làm thuốc.

Sở dĩ nó được đặt cho cái tên Thạch học là do loại cây này thường mọc ra từ trong các kẽ đá. Ngoài ra, có một cách giải thích khác cho tên gọi này, “Thạch” là đơn vị đo lường xưa, thường dùng để đo lường số lượng gạo tiêu thụ trong 1 năm. “Hộc” cũng là đơn vị đo lường gạo 1 người dùng trong 1 ngày. Do đó, gọi tên Thạch học liệu có phải ý chỉ sự quý giá của vị thuốc này, tương đương với số lượng gạo rất lớn chăng?



### 1.2.1.1. Mô tả

Thạch học là loại cây sống phụ sinh trên thân cây gỗ hoặc những vách đá. Chúng thường mọc thành cụm. Cây trưởng thành cao khoảng 30 – 50cm. Thân cây hơi dẹt, có những rãnh dài dọc thân, phần thân dưới mỏng nhỏ hơn phần trên. Trên thân có những đốt dài khoảng 2,5 – 3cm, có vân dọc. Thạch học có nhiều loại, tùy loại mà thân có màu khác nhau. Như Thạch học tía thân có màu tím, Kim thạch học thân màu vàng, một số loại Thạch học khác thân thường có màu xanh... Lá dài khoảng 12cm, rộng khoảng 2 – 3cm, có hình thuôn dài, mọc so le tạo thành 2 dãy đều 2 bên thân. Trên mặt lá có 5 gân dọc và hầu như không có cuống. Đầu lá hơi cuộn lại thành hình cái móng. Hoa có 2 – 4 cánh hình bầu dục, hoặc nhọn cuộn thành phễu, mọc ở kẽ lá. Thường hoa có màu sắc đa dạng tùy loại Thạch học, nhưng trong họng hoa sẽ xuất hiện các chấm màu tím. Loại hoa này không mọc riêng lẻ mà sẽ mọc thành chùm trên các cuống dài. Quả nang hình hơi thoi, sẽ tự nở ra khi khô. Trong quả có rất nhiều hạt nhỏ như bụi phấn. Mùa hoa vào khoảng tháng 2 – 4, mùa quả từ tháng 4 đến tháng 6. [30]

### 1.2.1.2. Phân bố

Loại cây này thường mọc hoang ở vùng rừng có độ cao 1.000 – 3.400 m so với mực nước biển. Cây sống phụ sinh vào cây gỗ hoặc vách đá có mọc rêu dưới tán rừng. Trong điều kiện môi trường tự nhiên độ ẩm 70%, nhiệt độ không khí bình quân năm 12 – 18°C, lượng mưa 900 – 1.500 mm. Loại này thường tập trung sống ở phần dốc núi râm mát, độ ẩm cao và vách núi đá. Thạch học phân bố nhiều ở Việt Nam, Lào, Trung Quốc, Myanmar và nhiều nước nhiệt đới, cận nhiệt đới. Ở Việt Nam, cây thấy nhiều ở rừng núi các tỉnh Quảng Trị, Quảng Nam, Đà Nẵng, Gia Lai, Lâm Đồng. [30]

### 1.2.1.3. Bộ phận Thạch Học dùng, thu hái, chế biến, bảo quản

- **Bộ phận dùng:** dùng thân và cành của cây để làm thuốc.
- **Thu hái:** có thể thu hái quanh năm, nhưng tốt nhất vào mùa đông. Thường sau khi trồng 1 – 2 năm là có thể thu hoạch. Khi hái, dùng kéo cắt phần trên góc, chỉ cắt lấy thân già, giữ lại thân non để phát triển tiếp. Cắt từ phần trên của bộ rễ, để lại ít nhất 2 đốt để năm sau cây tiếp tục đâm chồi nảy lộc.
- **Chế biến:** Có 3 cách sơ chế Thạch học làm thuốc: Chế biến khô, tươi, chế biến phong đầu.

**Chế biến tươi:** Thân cành tươi dùng trực tiếp làm thuốc.

**Chế biến khô,** có 2 cách:

- Cách 1: Luộc bằng nước sôi: Cây tươi ngắt hết rễ và lá, ngâm nước vài ngày để lá và màng thối rữa, sau đó dùng bàn chải quét hết màng mỏng của bẹ. Dùng nước hấp khô, sau khi hong khô dùng rom buộc lại rồi tiếp tục hong

khô, nhưng không để lửa quá mạnh. Sau khi khô, phun chút nước sôi rồi xếp thành từng lớp phủ rom. Khi thân cây chuyển sang màu vàng thơm lại đem hong khô.

- Cách 2: Hấp nóng: Sau khi làm sạch, đặt cây vào nồi có cát rồi đun nóng đảo đi đảo lại. Khi thấy bẹ lá khô, lấy ra đặt vào mâm gỗ rồi bó lại. Loại bỏ bẹ lá rồi dùng nước rửa hết bùn, cắt đem phơi khô đến đêm và sáng hôm sau đảo đi đảo lại vài lần. Thân chuyển sang màu vàng thơm lại được làm khô tiếp.
- Chế biến phong đầu: Sau khi rửa sạch như trên, ngắt hết lá và màng bẹ cắt thành đoạn dài 10cm cho vào nồi, phủ tro giữ nhiệt ở 80°C. Sau khi khô nhuyển dùng tay bện thành rọ, rồi cho vào nồi ở nhiệt độ 50°C. Phần thân cây còn giữ được rễ tơ và ngọn thân gọi là phượng vĩ, có độ dài vừa phải được chế biến thành phong đầu, còn gọi là “Long đầu phượng vĩ” là tuyệt phẩm của Thạch học rị sắt dùng làm thuốc. Chú ý không đun quá lửa để ảnh hưởng đến chất lượng. [30]

#### 1.2.1.4. Bảo quản

Giữ vị thuốc nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ẩm mốc, tránh ánh nắng trực tiếp. [30]

### 1.2.2. Các nghiên cứu về Cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)

#### 1.2.2.1. Các nghiên cứu trong nước

Năm 2017 nhóm nghiên cứu của Đại học Thái Nguyên đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá độc tính cấp của thân cây Lan thạch học tía. Nghiên cứu đã xác định trong thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có 7 nhóm chất hữu cơ là alcaloid, flavonoid, axit hữu cơ, carotenoid, axit amin, đường khử và chất béo. Trong 100g tươi, thành phần nước, nitơ, lipid, khoáng, đường khử, đường tổng, photpho, carotenoid, polysaccharide, alkaloid lần lượt là 80,22; 0,215; 0,051; 0,748; 0,575; 0,971; 0,045; 9,15; 23,23; 0,025 g/100g. Kết quả bước đầu đánh giá được tính an toàn của sản phẩm từ Thạch học tía với người dùng ở mức độ  $LD_{50} = 18,5 \text{ mlcao/kg}$  [31]. Tuy nhiên nghiên cứu chỉ dừng lại việc định tính các lớp chất và thử độc tính cao tổng, do đó cần có những nghiên cứu sâu hơn về loài cây này.

Thân của cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) chủ yếu được sử dụng làm thực phẩm tăng cường sức khỏe trong dân gian. Có nhiều phương pháp để sử dụng thân cây tươi, ví dụ: nhai, ép, sắc và làm các món ăn [32]. Ngoài ra, có thể kết hợp với các loại thảo mộc khác, sự kết hợp của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) và sâm Mỹ (American Ginseng) có thể tăng cường khả năng miễn dịch [33]. Kết hợp với y học hiện đại, thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có thể được sử dụng để điều trị nhiều bệnh bao gồm: loét dạ dày, tổn thương gan do rượu, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, tiểu đường, béo phì, viêm khớp

dạng thấp, đột quy do tăng huyết áp, đục thủy tinh thể, thể trạng yếu hoặc kém [34,35,36].

Từ loài Lan thạch học, có ít nhất 190 hợp chất đã được phân lập, chủ yếu là polysaccharid, phenanthrenes, bibenzyls, saccharide và glycoside, tinh dầu, alcaloid và các hợp chất khác. Trong đó polysaccharide là thành phần chính trong loài này. Phân tích cho thấy hàm lượng polysaccharide chứa trong mẫu khô của thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) đạt 58,3 % [37]. Tuy nhiên, phương pháp chế biến, năm trồng, kỹ thuật trồng trọt và các bộ phận khác nhau của loài dược liệu này đều ảnh hưởng đến hàm lượng polysaccharide. Sau khi làm khô mẫu với các phương pháp khác nhau, hàm lượng polysaccharide của Lan thạch học tía (DOP) được sắp xếp như sau: sấy khô bằng không khí nóng > sấy chân không > sấy đông lạnh chân không > làm khô tự nhiên [38]. Ngoài ra, lượng polysaccharide của Lan thạch học tía hai năm nhiều hơn một năm hoặc ba năm [39], trong khi loại hoang dã chứa nhiều hơn dung so với loại trồng [40]. Nghiên cứu cho thấy rằng các polysaccharid phân bố ở các phần thân khác nhau của nó là khác nhau: thân giữa > thân trên > thân dưới > rễ [41]. Do đó, việc xác định chính xác hàm lượng polysaccharid có ý nghĩa lớn. Các nghiên cứu về mối quan hệ cấu trúc-hoạt động của các polysaccharid của Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) cũng đã được thực hiện. Nghiên cứu cho thấy rằng *O*-acetyl-glucomannan (Dendronan) (Hình 1), được phân lập từ thân Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) [42] và có hoạt tính điều hòa miễn dịch *in vitro* [43], cũng như cải thiện bệnh đại tràng của chuột [44].

Từ thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*), 9 phenanthrenes đã được phân lập. Trong đó có một bibenzyl và phenanthrene được xác định trong *D. chrysotoxum* trước đây: chrysotobibenzyl (11) và erianin (6). Cả chrysotobibenzyl và erianin đều có tác dụng kháng u [45].

### 1.2.2.2. Các nghiên cứu trên thế giới

Từ thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) 25 hợp chất bibenzyls được phân lập. Trong số các hợp chất này có 17 hợp chất bibenzyl: Dendrocandins A – Q (14-30) đã được phân lập bởi Li và cộng sự từ năm 2008 đến năm 2014. Trong các hợp chất bibenzyls, hợp chất DCET-2 (31) có tác dụng ức chế sự gia tăng của tế bào A2780 (dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người) và DCET-12 (32) ức chế BGC-823 (dòng tế bào ung thư dạ dày ở người) và tế bào A2780 (dòng tế bào ung thư buồng trứng người) [46].

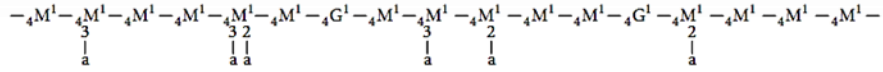
Trong vài thập kỷ qua, đã có 26 saccharide và glycoside đã được tìm thấy từ thân cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*), Trong số đó, hợp chất dictamnocide A (80) cho thấy có tác dụng điều hòa miễn dịch [47].

Hơn 80 hợp chất tinh dầu đã được phân lập từ loài này, hàm lượng limonene trong thân cây là 9,15%; limonene có nhiều nhất trong lá chiếm 38% [48]. Limonene có chứa các đặc tính chống ung thư [49]. Ngoài ra nó có chứa hàm lượng cao (*E*)-2-hexenal có hoạt tính kháng khuẩn [50].

Alkaloid là những hợp chất hóa học được phân lập sớm nhất từ chi *Dendrobium*. Dendrobine, một loại alkaloid chiếm 0,52%, được phân lập lần đầu vào năm 1932 [51]. Các alkaloid trong loài Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) thuộc nhóm terpenoid indole alkaloid, với tổng hàm lượng của nó được đo khoảng 0,02% [52]. Tuy nhiên, có rất ít báo cáo về tác dụng sinh học của các hợp chất alkaloid.

Ngoài ra các hợp chất phenols, acids, esters, amides cũng được phân lập từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)

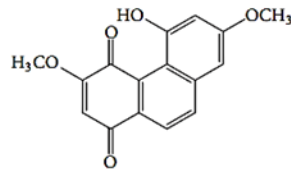
Cấu trúc hóa học của một số hợp chất quan trọng phân lập được từ Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*) được trình bày ở hình 1.



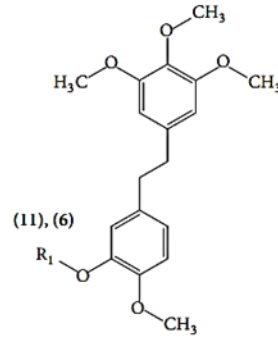
M:  $\beta$ -D-mannopyranose; G:  $\beta$ -D-glucopyranose; a: O-acetyl group

(A) Dendronan<sup>®</sup>

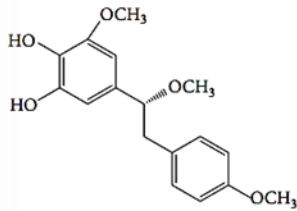
Number	R <sub>1</sub>
11	CH <sub>3</sub>
6	H
16	OCH <sub>3</sub>
17	OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
18	—
19	OCH <sub>3</sub>
20	OH
21	OH
25	—
23	OCH <sub>3</sub>
24	OH
27	—
28	OH
29	H
30	H
31	—
32	OCH <sub>3</sub>



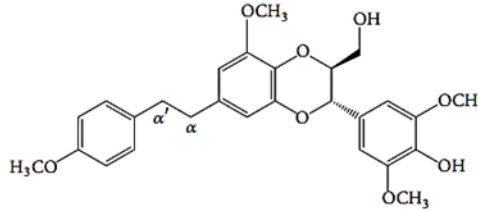
Denbinobin (5)



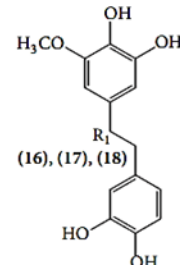
Chrysotobibenzyl (11), erianin (6)



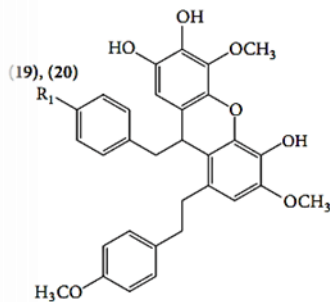
Dendrocandin A (14)



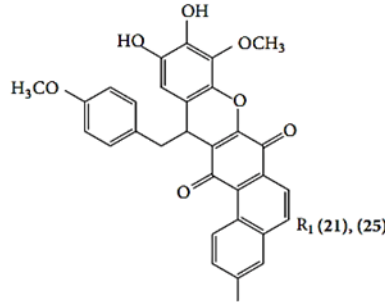
Dendrocandin B (15)



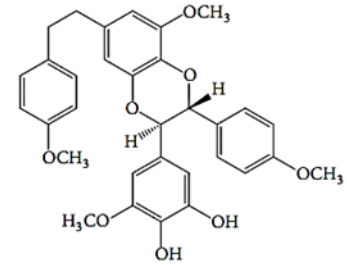
Dendrocandin C (16), D (17), E (18)



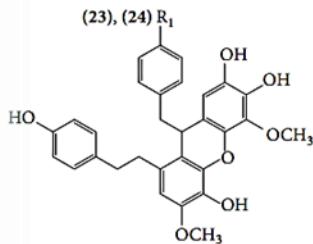
Dendrocandin F (19), G (20)



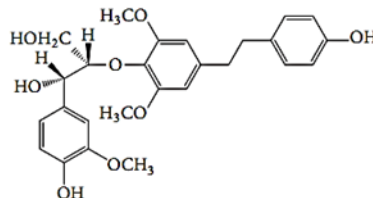
Dendrocandin H (21), L (25)



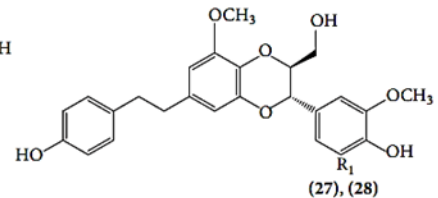
Dendrocandin I (22)



Dendrocandin J (23), K (24)

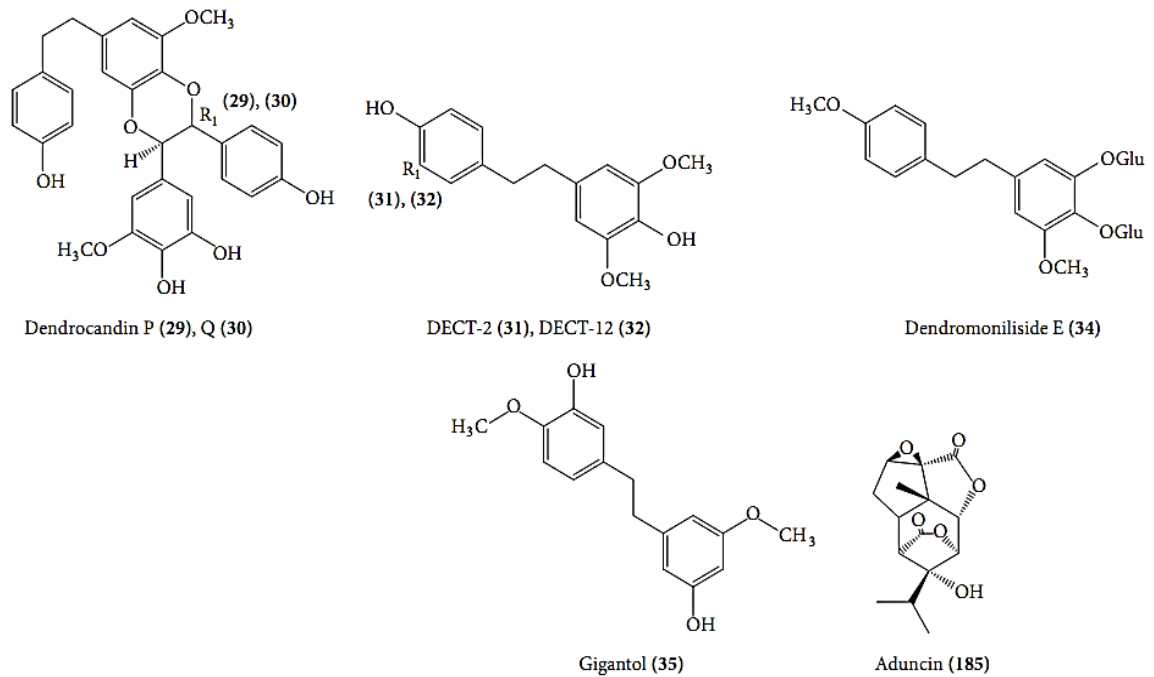


Dendrocandin M (26)



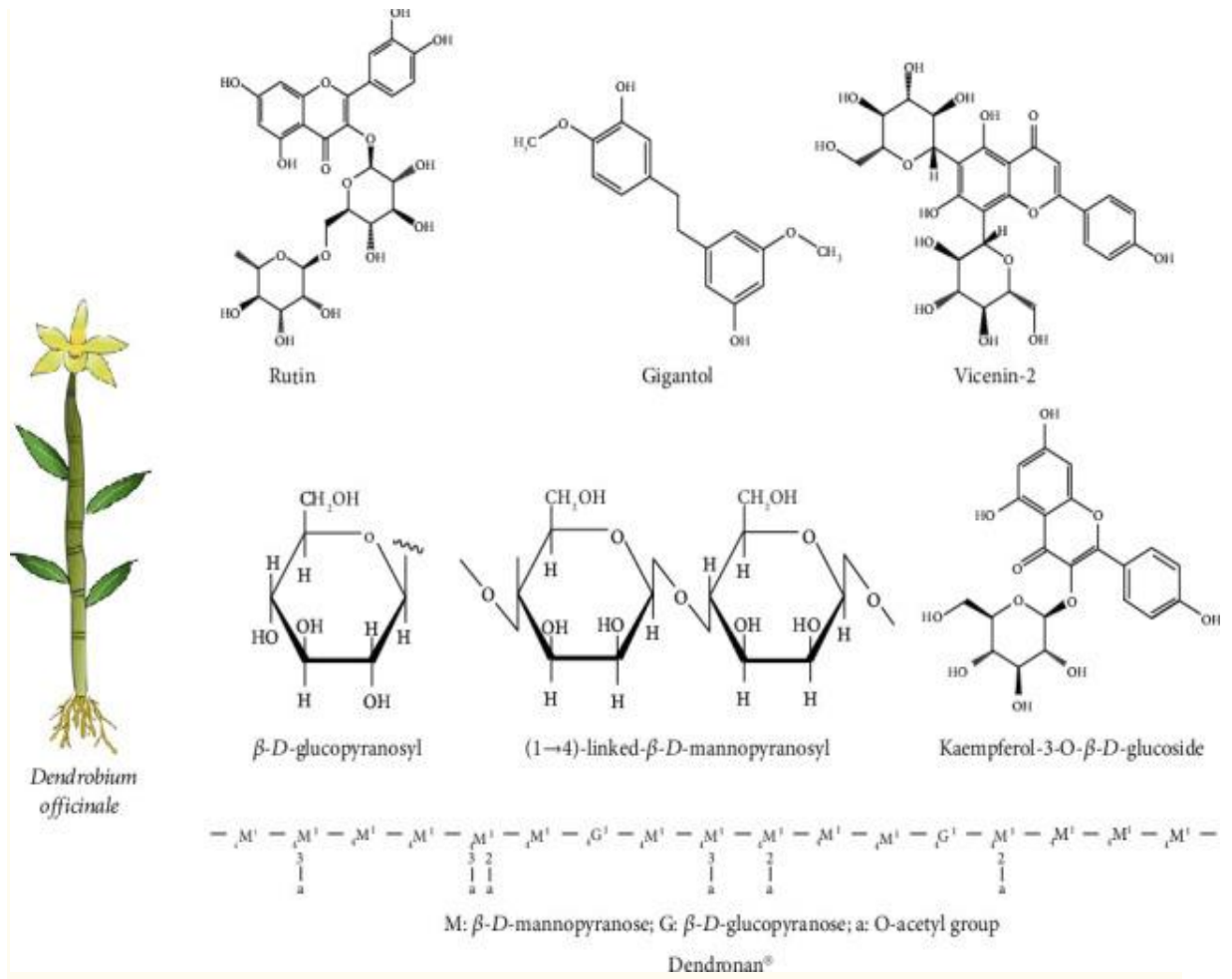
Dendrocandin N (27), O (28)

Hình 1.1. Một số hợp chất phân lập từ Lan thạch hộc tía (*Dendrobium officinale*)



Hình 1.2. Một số hợp chất phân lập từ Lan thạch hộc tía (*Dendrobium officinale*) (tiếp)

Theo các nghiên cứu về hoạt tính sinh học và các cơ chế hoạt động của Xiaoyu Xu, Cheng Zhang và các cộng sự. Một lượng lớn các nghiên cứu cho thấy *Dendrobium officinale* chứa nhiều hợp chất hoạt tính sinh học khác nhau, chẳng hạn như polysaccharides, flavonoid, bibenzyls và alkaloid (Hình 1). Phân tích mô cho thấy thân, lá và thể giống protocorm của *Dendrobium docinale* có hàm lượng polysaccharides, flavonoid và alkaloid cao nhất tương ứng [37]. Trong số các hợp chất có hoạt tính sinh học, polysaccharides là hợp chất dược liệu chính thường được sử dụng để nghiên cứu tác dụng điều trị của *Dendrobium officinale*. Nó chủ yếu được phân lập từ thân cây *Dendrobium officinale* với tỷ lệ năng suất trên 30% [38]. Phân tích hóa học cho thấy các polysaccharide chủ yếu chứa mannose và glucose có cấu trúc gồm các gốc (1→4)-linked - $\beta$ -D-mannopyranosyl và  $\beta$ -D-glucopyranosyl [39,40]. *Dendronan*® là một polysaccharide O-acetylglucomannan mới được phân lập từ *Dendrobium docinale* có cấu trúc hóa học tương đối chi tiết và được xác định bằng tỷ lệ mannose và glucose (6,9:1) [41]. Tuy nhiên, một số polysaccharide có trọng lượng phân tử lớn hoặc không có các nhóm hóa học nhất định có thể có hoạt tính sinh học thấp, và do đó, một số sửa đổi có thể được xem xét để cải thiện tính khả dụng sinh học của polysaccharide từ *Dendrobium officinale*, chẳng hạn như lên men, phân hủy hoặc ghép [42,43]. Hơn nữa, mối quan hệ giữa đặc điểm cấu trúc và tính chất sinh học của polysaccharides *Dendrobium officinale* cần được nghiên cứu sâu hơn.



Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất được phân lập từ loài *Dendrobium officinale*

Ngoài ra, thành phần hoá học của *Dendrobium officinale* cho thấy lá chứa nhiều flavonoid hơn các bộ phận khác và flavonoid được coi là nguồn chống oxy hóa quan trọng [46]. Tổng cộng có 14 hợp chất phenolic chính trong đó có 1 flavonol loại quercetin, rutin và 13 flavon loại apigenin như apigenin 6- C -  $\beta$  - D - glucoside-8- C -  $\alpha$  - L-rhamnoside được xác định từ lá *Dendrobium chính thức*. Và hợp chất flavonoid chính là rutin với hàm lượng từ 1,33 đến 2,89 mg/g từ lá [37]. Hơn nữa, naringenin là hợp chất flavonoid chỉ được tìm thấy trong thân cây *Dendrobium officinale* [37].

Bibenzyl là một trong những thành phần hoạt động mạnh nhất trong *Dendrobium officinale*, và gigantol và dendrocandin là những hợp chất bibenzyl phổ biến nhất từ *Dendrobium officinale* [31]. Nghiên cứu hóa thực vật cho thấy các mô rễ của *Dendrobium officinale* chứa lượng bibenzyl cao nhất, chẳng hạn như erianin và gigantol. Và phân tích phiên mã cho thấy các gen cytochrome P450 và các gen enzyme khác có liên quan về mặt chức năng với quá trình sinh tổng hợp và tích lũy bibenzyl, có thể giúp tăng hàm lượng bibenzyl để sản xuất thuốc và công

nghiệp hóa *Dendrobium officinale* [47]. Một số hợp chất bibenzyl cũng đã được tìm thấy trong lá của *Dendrobium officinale*, chẳng hạn như dẫn xuất mới denofficin, dendrocandin B, 4,4'-dihydroxy-3,5-dimethoxy bibenzyl, gigantol và densiflorol [48].

Alkaloid được tìm thấy nhiều trong các thể giống protocorm của *Dendrobium officinale*, chúng có thể sẵn sàng để sản xuất alkaloid hơn các cơ quan khác. Nghiên cứu cũng cho thấy các enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp alkaloid là strictosidine  $\beta$ -D-glucosidase, geissoschizine synthase và vinorine synthase trong *Dendrobium officinale* [37]. Ngoài ra, các gen mã hóa enzyme quan trọng liên quan đến quá trình sinh tổng hợp alkaloid có hoạt động cao hơn ở lá so với ở thân cây *Dendrobium officinale*.



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

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu thân Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale* Kimura & Migo) được thu tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc vào tháng 4 năm 2023 được định danh 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 được lưu giữ tại Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,



Hình 2.1. Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

- *Sắc ký lớp mỏng (TLC)*: được sử dụng để khảo sát các cặn chiết. Dung môi sử dụng cho sắc ký lớp mỏng là hỗn hợp các dung môi thông dụng như n-hexane, dichloromethane, methanol, acetone, ethyl acetate, H<sub>2</sub>O... thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC - Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck 1,05715), RP - 18 F<sub>254S</sub> (Merck). Chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại tại hai bước sóng 365 nm và 254 nm và dùng thuốc thử hiện màu là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> loãng (10%) được bôi đều lên bản mỏng, sấy khô rồi đốt nóng đến khi màu chất hiện lên.

- *Sắc ký cột (C.C.)*: được sử dụng để phân tách các cặn chiết và phân lập các chất sạch. Pha tĩnh sử dụng trong sắc ký cột là các chất hấp phụ thông thường và hiện đại như silica gel pha thường, silica gel pha đảo, Sephadex LH-20, Diaion HP-20...Pha động là các dung môi thông dụng như n-hexane, dichloromethane, methanol, acetone, ethyl acetate, H<sub>2</sub>O...và các hỗn hợp của chúng.

- *Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)*: được thực hiện với cột sắc ký HPLC pha ngược (RP-HPLC), pha tĩnh không phân cực, trong khi pha động là chất lỏng

phân cực. Cột điều chế được làm bằng thép không rỉ độ dài 250 mm với đường kính 20 mm. Đầu dò UV (detector) nằm ở cuối cột có tác dụng phát hiện chất điều chế. Tín hiệu đầu đo được ghi lại qua phần mềm lưu trữ và xử lý dữ liệu, sau đó hứng phân đoạn thu được chất điều chế.

### **2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất**

- Cấu trúc của các hợp chất phân lập được được xác định bằng sự kết hợp của các dữ kiện thu được từ các phương pháp phổ như: quang phổ hồng ngoại (FT-IR), phổ khối va chạm electron (EIMS), phổ khối phân giải cao (HRMS) và các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân, gồm phổ một chiều ( $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR và DEPT) và phổ 2 chiều (COSY, HSQC, HMBC và NOESY).

- *Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS*: được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass QTOF LC/MS của Viện Hóa sinh biển.

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR*: được đo trên máy Bruker AM600 FT - NMR và Bruker AM500 FT - NMR của Viện Hoá học. Chất nội chuẩn là TMS. Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều:  $^1\text{H}$ -NMR và  $^{13}\text{C}$ -NMR. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC, HMBC, NOSEY và COSY.

- *Phổ khối lượng (MS)*: Phổ khối lượng phun mù điện ESI-MS được đo trên máy Agilent 1100 LC-MSD Trap của Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

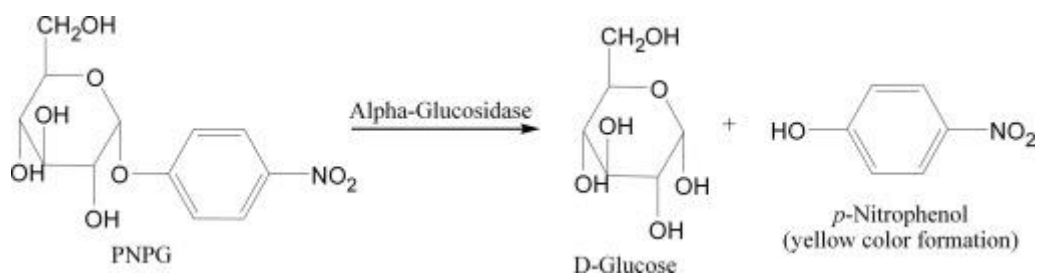
- *Độ quay cực  $[\alpha]_D$* : được đo trên máy JASCO P - 2000 Polarimeter tại Viện Hóa sinh biển, VAST.

### **2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase**

$\alpha$ -glucosidase là enzyme then chốt trong quá trình thủy phân carbohydrate tạo glucose trong cơ thể người. Do đó, các chất ức chế  $\alpha$ - glucosidase có thể làm chậm quá trình giải phóng và hấp thụ glucose, qua đó không làm tăng đường huyết sau ăn. Vì vậy, một số chất ức chế  $\alpha$ - glucosidase như Acarbose và Miglitol đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị tiểu đường type 2.

*Nguyên lí của phép thử:*

Dựa trên phản ứng phân cắt cơ chất p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside nhờ tác động của enzyme  $\alpha$  - glucosidase, qua đó giải phóng sản phẩm là p-Nitrophenol có màu vàng.



Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm ở thời điểm 30 phút sau phản ứng, phản ánh lượng sản phẩm p-Nitrophenol sinh ra, qua đó phản ánh hoạt độ của enzyme  $\alpha$  - glucosidase.

#### *Phương pháp:*

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng với tổng thể tích phản ứng là 200  $\mu$ l/giếng.

Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO 100% hoặc nước cất vô trùng đến nồng độ cuối cùng trong phản ứng là 1024, 256; 64; 16; 4; 1  $\mu$ g/ml. Acarbose được sử dụng làm chất tham khảo.

Các thành phần phản ứng bao gồm: Phosphate buffer 100 mM pH 6,8 (40  $\mu$ l),  $\alpha$ -glucosidase 0,4 U/ml ( 25  $\mu$ l), mẫu thử (10  $\mu$ l), p-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside 2,5 mM (25  $\mu$ l).

Ở mẫu đối chứng, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Thí nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$  C. Sau 30 phút, phản ứng được dừng bằng 100  $\mu$ l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Độ hấp thụ của phản ứng được xác định trên máy quang phổ với bước sóng 405 nm (A).

Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ - glucosidase của mẫu thử được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ Ức chế enzyme} = \frac{(\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{mẫu thử}})}{(\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{chứng (-)}})} \times 100\%$$

IC<sub>50</sub> (half maximal inhibitory concentration) là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase, được tính bằng phần mềm Tablecurve.

#### **2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase**

Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase được thực hiện theo phương pháp của Wickramaratne và cộng sự [Wickramaratne MN, PUNCHIHEWA JC, WICKRAMARATNE DB. *In-vitro alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of Adenanthera pavonina. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2016 Dec;16(1):1-5*].

Phép thử được thực hiện như sau:

- Các mẫu thử được pha thành các nồng độ 100, 20, 4 và 0,8  $\mu$ g/mL trong phosphate buffer (pH 6,9).
- Đưa vào ống eppendorf 200  $\mu$ L mẫu thử và 200  $\mu$ L enzyme  $\alpha$ -amylase (3 UI/mL), sau đó trộn đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút.

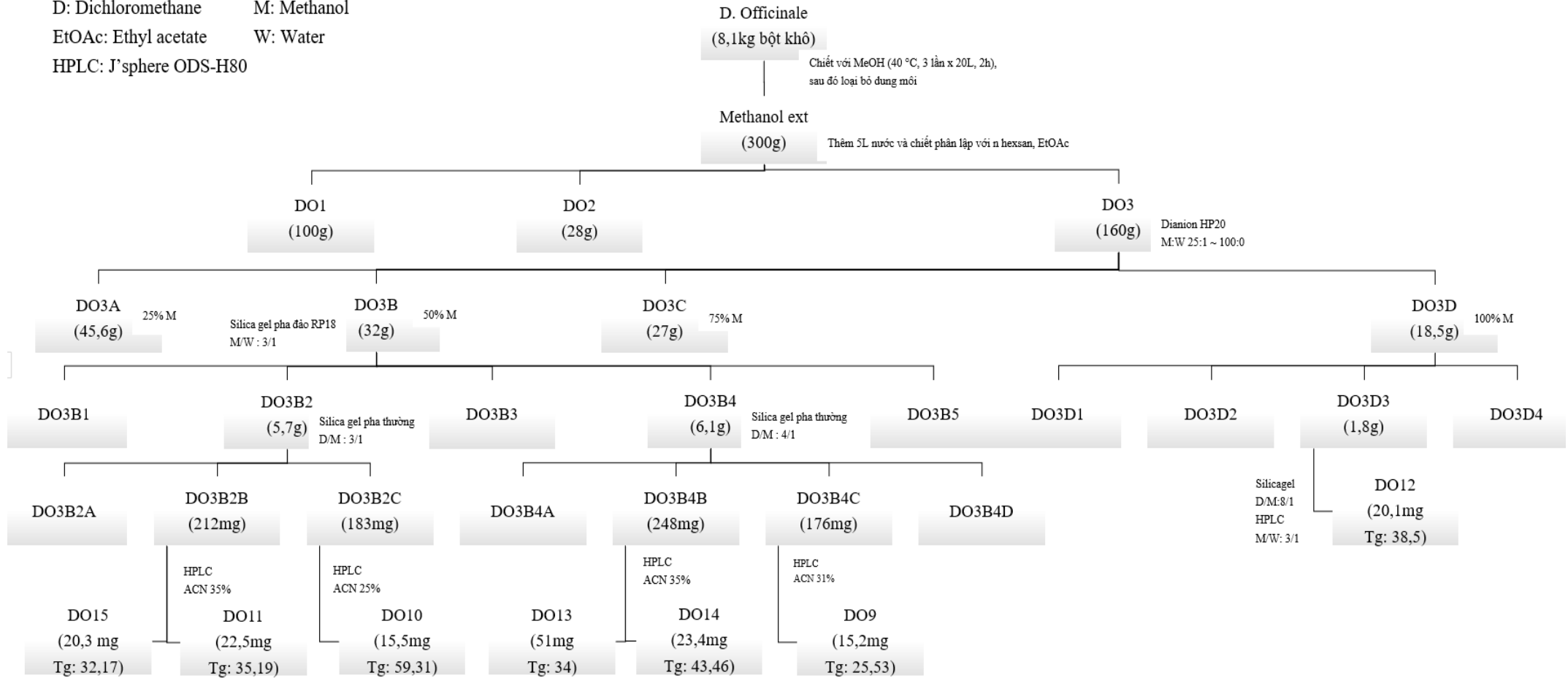
- Tiếp theo, thêm vào các ống eppendorf thí nghiệm 200  $\mu$ L dung dịch starch soluble (1%) và tiếp tục ủ hỗn dịch thêm 10 phút.
- Cuối cùng, thêm 200  $\mu$ L dung dịch thuốc thử DNSA vào các ống thí nghiệm và để vào trong bể ổn nhiệt ở 90°C trong 5 – 10 phút.
- Sau khi làm mát hỗn dịch, đo mật độ quang của hỗn dịch ở bước sóng 540 nm bằng hệ thống máy Biotek Elx8000.
- Khả năng ức chế  $\alpha$ -amylase được xác định theo công thức:

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

Trong đó: OD đối chứng là OD của ống chứa buffer và enzyme  $\alpha$ -amylase, starch soluted và thuốc thử DNS sau khi đã trừ blank (là ống chỉ chứa buffer, starch soluted và thuốc thử DNS; OD mẫu là OD của mẫu thử sau khi đã trừ OD back ground (là ống có chứa mẫu thử và buffer thay cho enzyme).

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

ACN: Acetonitrile      Tg: Thời gian  
 D: Dichloromethane    M: Methanol  
 EtOAc: Ethyl acetate    W: Water  
 HPLC: J'sphere ODS-H80



Hình 2.2 Sơ đồ phân lập các hợp chất

### 2.3. Chiết xuất và phân lập.

Thân loài *D. officinale* được sấy khô, cắt và nghiền thành bột (8,1 kg) và được chiết siêu âm với MeOH ở trong ba lần (mỗi lần 20 L, 2 giờ) để thu được cặn MeOH (300 g). Cặn methanol này được phân bố với 5,0 L nước và sau đó chiết với n-hexan, EtOAc để thu được n-hexan (DO1, 100 g), EtOAc (DO2, 28 g) và chiết xuất hòa tan trong nước (DO3, 160 g). Các phân đoạn này được sàng lọc về hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase ở nồng độ 200 mg/mL. Phân đoạn DO3 cho thấy hoạt tính kháng  $\alpha$ -glucosidase (71,2%) và kháng  $\alpha$ -amylase (68,0%). Do đó, phân đoạn này được chọn để nghiên cứu thêm. Phân đoạn DO3 được chạy trên cột Diaion (HP-20) sử dụng MeOH/H<sub>2</sub>O (1/4, 1/1, 3/4 và 1/0, mỗi loại 3 L) làm chất rửa giải để tạo ra bốn phân đoạn, DO3A (45,6 g), DO3B (32 g), DO3C (27,0 g) và DO3D (18,5 g), tương ứng. Phân đoạn DO3B (32 g) được phân lập trên cột silica gel pha đảo RP18 rửa giải bằng MeOH/H<sub>2</sub>O (3/1) thu được năm phân đoạn, DO3B1–DO3B5. Phân đoạn DO3B2 (5,7 g) được chạy sắc ký trên cột silica gel pha thường rửa giải bằng CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (3/1) để thu được ba phân đoạn, DO3B2A–DO3B2C. Phân đoạn DO3B2B (212 mg) được phân lập trên HPLC sử dụng hệ dung môi CH<sub>3</sub>CN 35% trong nước để thu được hai hợp chất **DO11** (22,5 mg, tR = 35,19 phút) và **DO15** (20,3mg, tR = 32,17 phút). Phân đoạn DO3B2C (183 mg) được tinh chế trên HPLC sử dụng hệ dung môi CH<sub>3</sub>CN 25% trong nước thu được hợp chất **DO10** (15,5 mg, tR = 59,31 phút). Phân đoạn DO3B4 (6,1 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải bằng CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (4/1) thu được bốn phân đoạn, DO3B4A–DO3B4D. Phân đoạn DO3B4B (248 mg) được tinh chế trên HPLC sử dụng CH<sub>3</sub>CN 35% thu được hai hợp chất **DO13** (51,0 mg, tR = 34,00 phút) và **DO14** (23,4 mg, tR = 43,46 phút). Phân đoạn DO3B4C (176 mg) được tinh chế trên HPLC sử dụng CH<sub>3</sub>CN 31% để thu được hợp chất **DO9** (15,2 mg, tR = 25,53 phút). Phân đoạn DO3D (18,5 g) được phân lập trên cột RP18 rửa giải bằng MeOH/H<sub>2</sub>O (5/1) để thu được bốn phân đoạn, DO3D1–DO3D4. Phân đoạn DO3D3 (1,8 g) được sắc ký trên cột silica gel rửa giải bằng CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/1) và sau đó được tinh chế trên HPLC bằng CH<sub>3</sub>OH 75% trong H<sub>2</sub>O để thu được hợp chất **DO12** (20,1 mg, tR = 38,5 phút).

### 2.4. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được

#### 2.4.1. Hợp chất DO9: hợp chất mới (*Dendrocinaoside F*)

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-31.0^\circ$  ( $c=0.1$ , MeOH)

CTPT: C<sub>52</sub>H<sub>84</sub>O<sub>22</sub>

KLPT: 1060

Phổ HR - ESI - MS  $m/z$ : 1061.5553  $[M+H]^+$ , 1083.5373  $[M+Na]^+$

Phổ  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.1)

**2.4.2. Hợp chất DO10: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-serratagenic acid, 28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-39.5^\circ$  ( $c=0.1$ , MeOH)

CTPT:  $C_{47}H_{74}O_{19}$

KLPT: 942

Phổ  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.2)

**2.4.3. Hợp chất DO11: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-35.7^\circ$  ( $c=0.1$ , MeOH)

CTPT:  $C_{53}H_{86}O_{21}$

KLPT: 1058

Phổ  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.3)

**2.4.4. Hợp chất DO12: 3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+31.78^\circ$  ( $c=0.45$ , MeOH)

CTPT:  $C_{65}H_{106}O_{31}$

KLPT: 1382

Phổ  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.4.)

**2.4.5. Hợp chất DO13: Yemuoside YM14**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-48.3^\circ$  ( $c=0.1$ , MeOH)

CTPT:  $C_{52}H_{82}O_{21}$

KLPT: 1042

Phổ  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR (Bảng 3.5)

**2.4.6. Hợp chất DO14: Yemuoside YM11**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-58.3^\circ$  ( $c=0.1$ , MeOH)

CTPT:  $C_{46}H_{72}O_{17}$

KLPT: 896

Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (Bảng 3.6)

**2.4.7. Hợp chất DO15: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester**

Chất dạng bột, vô định hình, màu trắng.

Độ quay cực  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+13.3^\circ$  ( $c=0.54$ , MeOH)

CTPT:  $\text{C}_{53}\text{H}_{86}\text{O}_{22}$

KLPT: 1074

Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (Bảng 3.7)

**2.5. Thử hoạt tính các hợp chất phân lập được**

Tiến hành thử khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase tại Phòng Hoá sinh ứng dụng, Viện Hoá học, VAST.

*Bảng 2.1 Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase của các hợp chất*

Hợp chất	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	
	$\alpha$ -glucosidase	$\alpha$ -amylase
<b>DO9</b>	99.6 $\pm$ 3.4	135.2 $\pm$ 3.3
<b>DO10</b>	>200	127.4 $\pm$ 3.1
<b>DO11</b>	107.7 $\pm$ 2.9	>200
<b>DO12</b>	>200	166.5 $\pm$ 3.7
<b>DO13</b>	40.5 $\pm$ 1.9	44.5 $\pm$ 2.3
<b>DO14</b>	42.4 $\pm$ 2.5	39.8 $\pm$ 2.5
<b>DO15</b>	136.5 $\pm$ 3.7	148.6 $\pm$ 4.2
<b>Acabose<sup>a</sup></b>	47.1 $\pm$ 1.4	145.7 $\pm$ 2.2

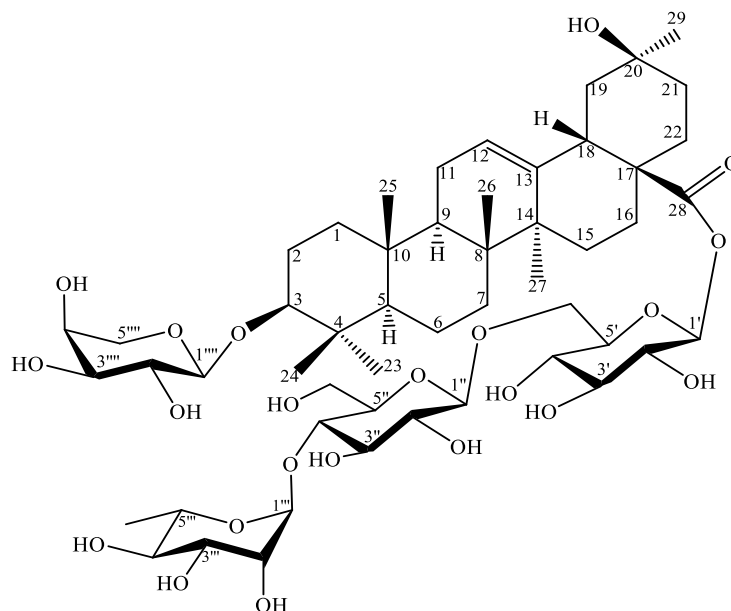
<sup>a)</sup> Đối chứng dương



### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài Lan thạch hệ (*Dendrobium Officinale*)

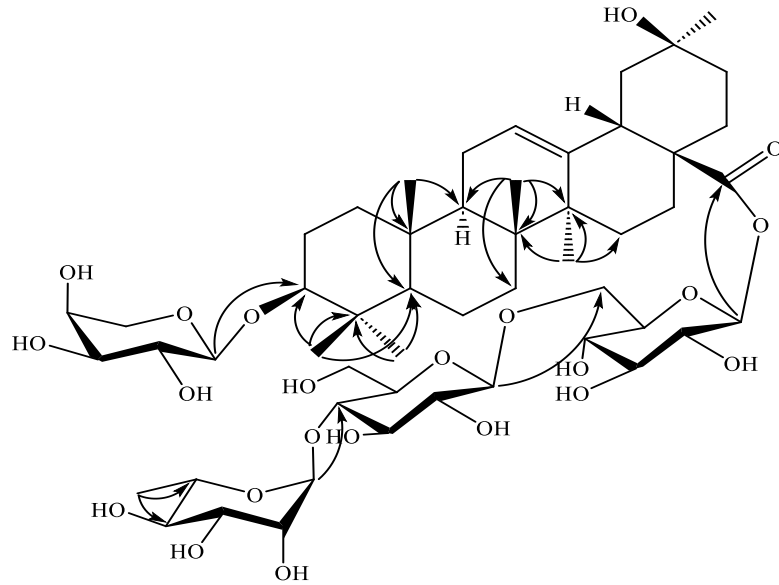
##### 3.1.1. Hợp chất DO9: hợp chất mới (*Dendrocinaoside F*)



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của DO9

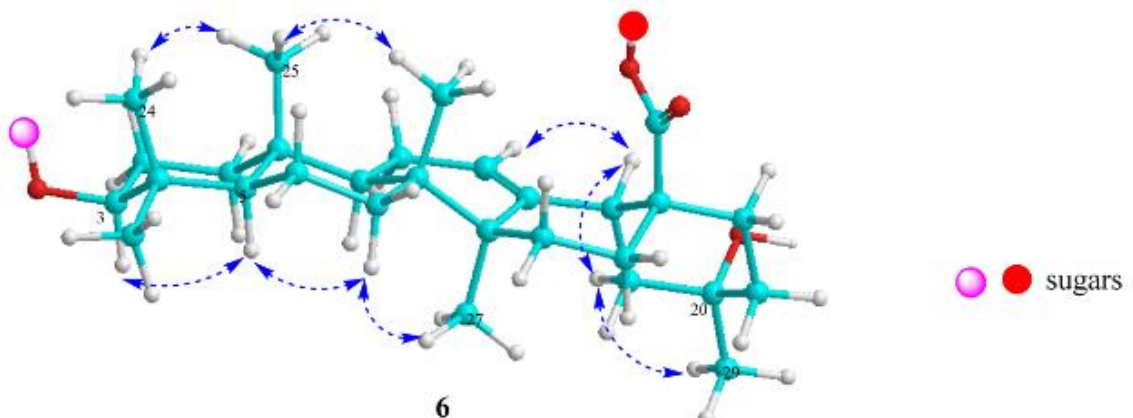
Hợp chất **DO9** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO9** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5.34 (1H, t,  $J = 3.0$  Hz); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.16 (1H, dd,  $J = 4.2; 11.4$  Hz), bốn proton anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5.32 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.86 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz), 4.39 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz) và 4.30 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), tín hiệu proton của 7 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.29 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz), 1.2 (3H, s); 1.17 (3H, s), 1.06 (3H, s); 0.98 (3H, s); 0.88 (3H, s) và 0.84 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **DO9** thấy xuất hiện tín hiệu của 54 carbon trong đó tín hiệu của 8 carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_{\text{C}}$  178.0, 144.6, 69.8, 47.7, 42.9, 40.8, 40.2 và 38.0; 24 carbon methin tại  $\delta_{\text{C}}$  123.8, 107.1, 104.6, 102.9, 96.1, 90.7, 79.8, 78.0, 78.0, 76.9, 76.8, 75.3, 74.3, 73.8, 73.8, 72.8, 72.4, 72.2, 71.0, 70.7, 69.5, 57.1, 49.0 và 41.5; tín hiệu của 7 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  31.5, 28.6, 26.3, 18.0, 17.9, 17.0, và 16.2. Từ các phân tích phổ trên, cho thấy **DO9** là một triterpene khung oleanan.



Hình 3.2 Các tương tác HMBC chính của **DO9**

Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.06)/H-24 ( $\delta_H$  0.88) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7)/C-4 ( $\delta_C$  40.8)/C-5 ( $\delta_C$  57.1; từ H-25 ( $\delta_H$  0.98) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  38.0); từ H-26 ( $\delta_H$  0.84) đến C-7 ( $\delta_C$  33.9)/C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  38.0); từ H-27 ( $\delta_H$  1.17) đến C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-13 ( $\delta_C$  144.6)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-29 ( $\delta_H$  1.2) đến C-20 ( $\delta_C$  69.8)/C-19 ( $\delta_C$  46.1)/C-21 ( $\delta_C$  34.1), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.34) đến C-11 ( $\delta_C$  24.6)/C-13 ( $\delta_C$  144.6) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.32) đến C-28 ( $\delta_C$  178.0)/C-3' ( $\delta_C$  76.8); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.39) đến C-6' ( $\delta_C$  69.8)/C-3'' ( $\delta_C$  76.9), từ H-1''' ( $\delta_H$  4.86) đến C-4'' ( $\delta_C$  79.8); từ H-1'''' ( $\delta_H$  4.30) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0), Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO9**.



Hình 3.3. Các tương tác NOESY của **DO9**

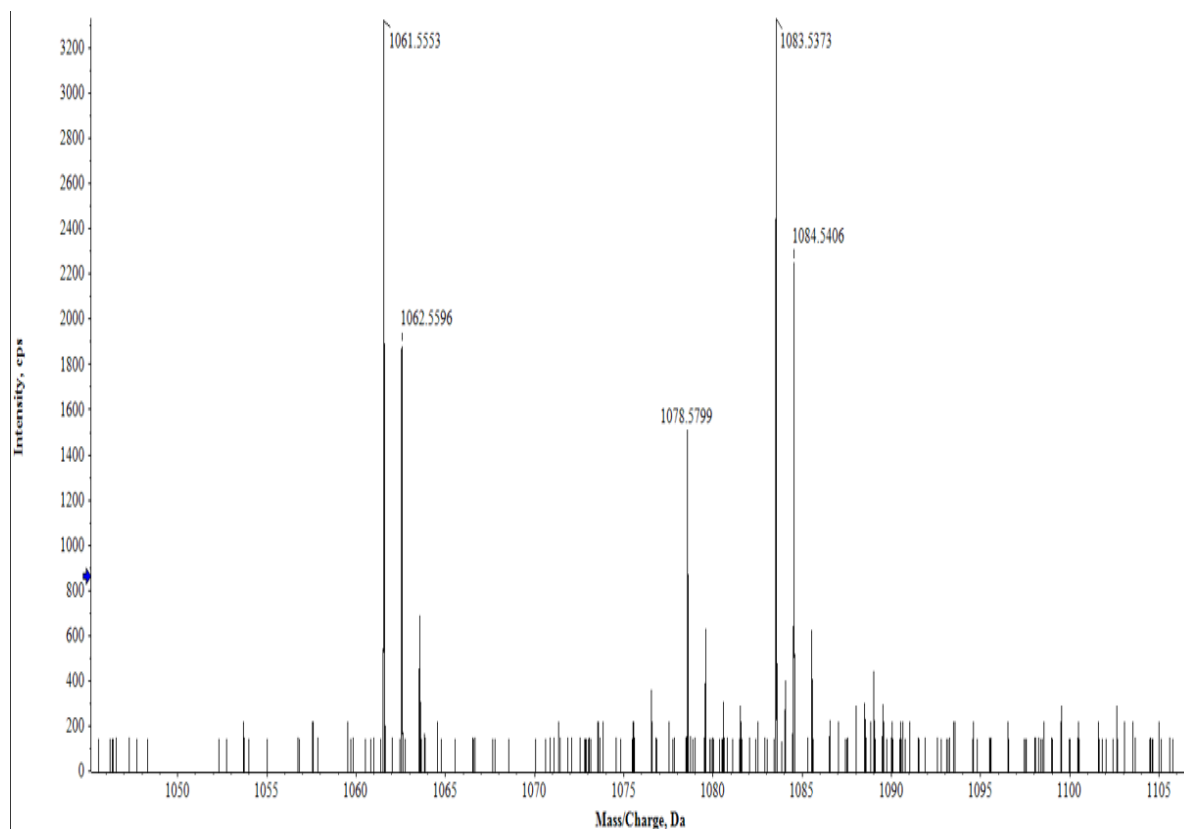
Thông qua các tín hiệu phổ NOESY H-29 ( $\delta_H$  1.2) đến H-19 ( $\delta_H$  1.84) và H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến H-5 ( $\delta_H$  0.80) cho phép xác định H-3/H-5 và H-19/H-29 định hướng  $\alpha$ . Từ các phân tích phổ trên cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO9** là 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-20 $\beta$ -hydroxy-30-noroleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. Và hợp chất này cũng được xác định là hợp chất mới lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên và đặt tên là Dendrocinaoside F.

*Bảng 3.1 Số liệu phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất DO9*

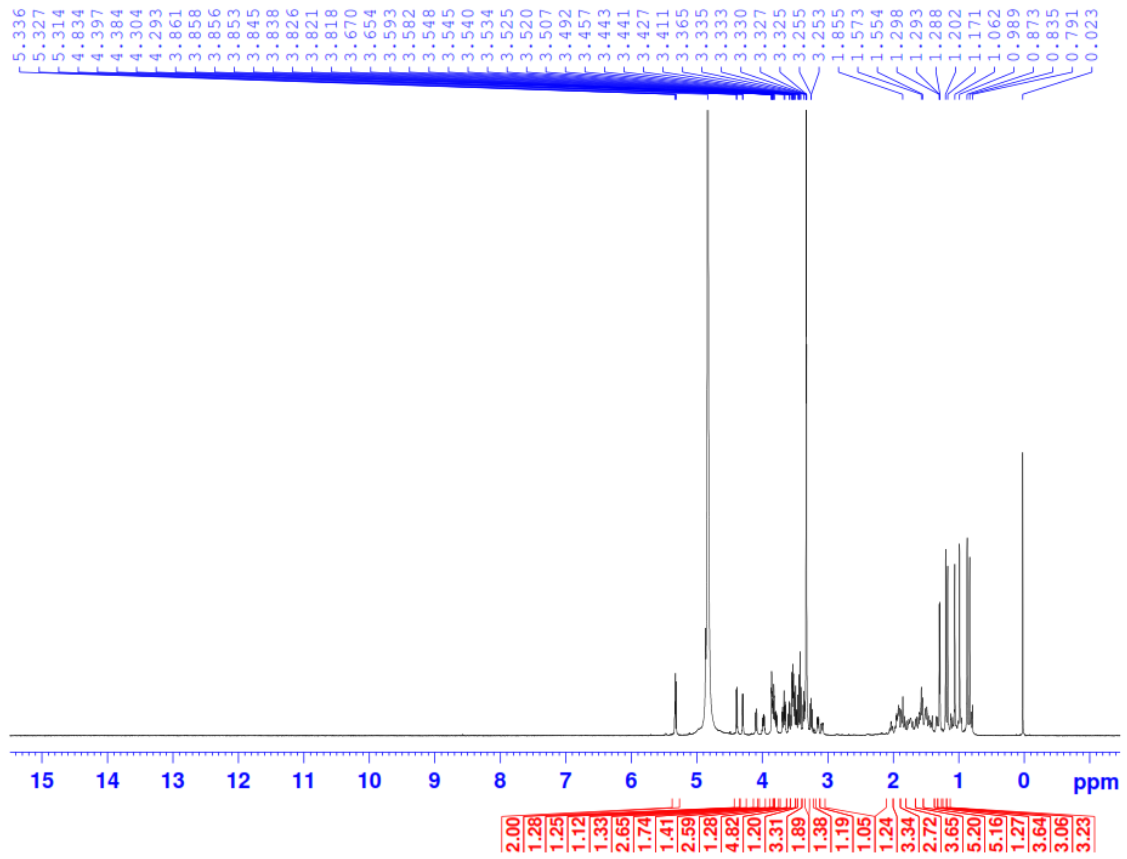
C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	39.8	0.98 (m)/1.64 (m)
2	27.0	1.06 (m)/1.72 (m)
3	90.7	3.16 (dd, 4.2; 11.4)
4	40.8	-
5	57.1	0.80 (d, 11.4)
6	19.4	1.43 (m)/1.56 (m)
7	33.9	1.33 (m)/1.52 (m)
8	40.2	-
9	49.0	1.6 (m)
10	38.0	-
11	24.6	1.9 (m)/1.92 (m)
12	123.8	5.34 (t, 3.0)
13	144.6	-
14	42.9	-
15	28.9	1.10 (m)/1.80 (m)
16	23.8	1.74 (m)/2.03 (m)
17	47.7	-
18	41.5	3.09 (dd,4.2; 11.4)
19	46.1	1.47 (m) 1.48 (dd, 11.4; 11.4)
20	69.8	-
21	34.1	1.50 (m)/1.56 (m)
22	32.5	1.57 (m)/1.94 (m)
23	28.6	1.06 (s)
24	17.0	0.88 (s)
25	16.2	0.98 (s)
26	18.0	0.84 (s)
27	26.3	1.17 (s)
28	178.0	-
29	31.5	1.2 (s)
28-O- $\beta$ -Glu		
1'	96.1	5.32 (d, 7.8)
2'	73.8	3.36 (m)
3'	76.8	3.32 (m)
4'	71.0	3.43 (m)
5'	78.0	3.52 (m)
6'	69.8	3.78 (dd, 5.4; 11.4) 4.10 (dd, 1.2; 11.4)
6'-O- $\beta$ -Glu		
1''	104.6	4.39 (d, 7.8)

2''	75.3	3.25 (dd, 7.8; 9.0)
3''	76.9	3.48 (m)
4''	79.8	3.54 (m)
5''	78.0	3.43 (m)
6''	62.0	3.68 (m)/3.83 (m)
4'-O- $\alpha$ -Rha-		
1'''	102.9	4.86 (d, 1.2)
2'''	72.4	3.85 (dd, 1.2; 3.0)
3'''	72.2	3.66 (dd, 3.0; 9.0)
4'''	73.8	3.42 (m)
5'''	70.7	3.99 (m)
6'''	17.9	1.29 (d, 6.0)
3-O- $\alpha$ -Ara		
1''''	107.1	4.3 (d, 6.6)
2''''	72.8	3.59 (dd, 6.6; 9.0)
3''''	74.3	3.52 (m)
4''''	69.5	3.82 (br s)
5''''	66.3	3.53 (*)/3.84 (*)

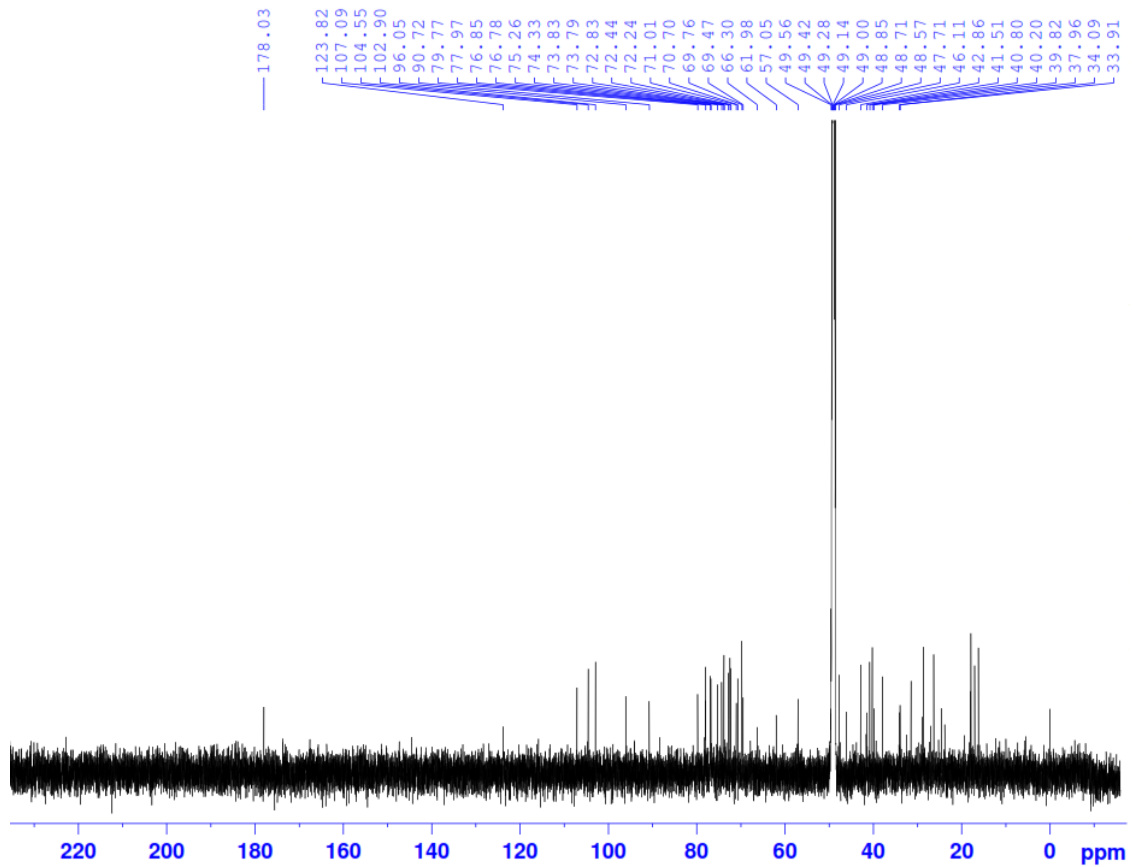
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz.



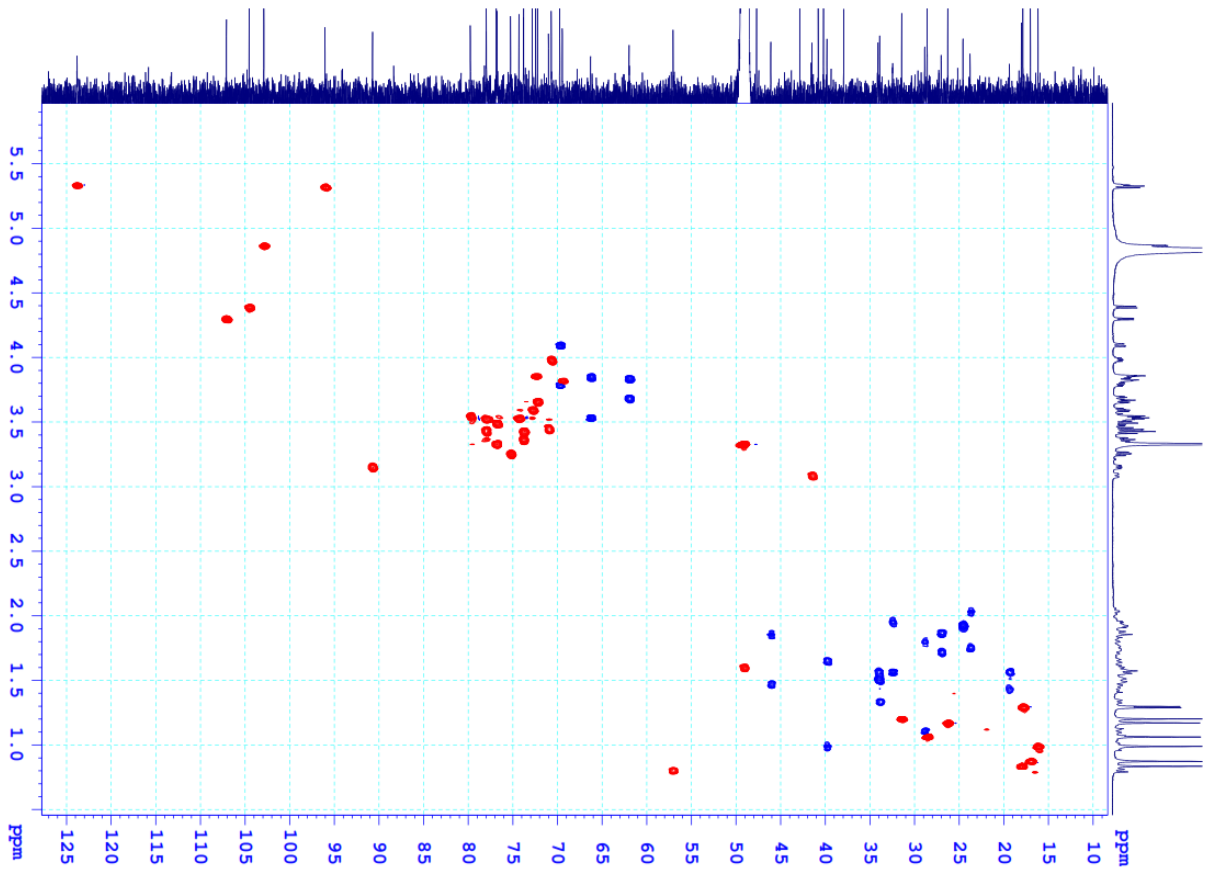
Hình 3.4 Phổ HR-ESI-MS của hợp chất DO9



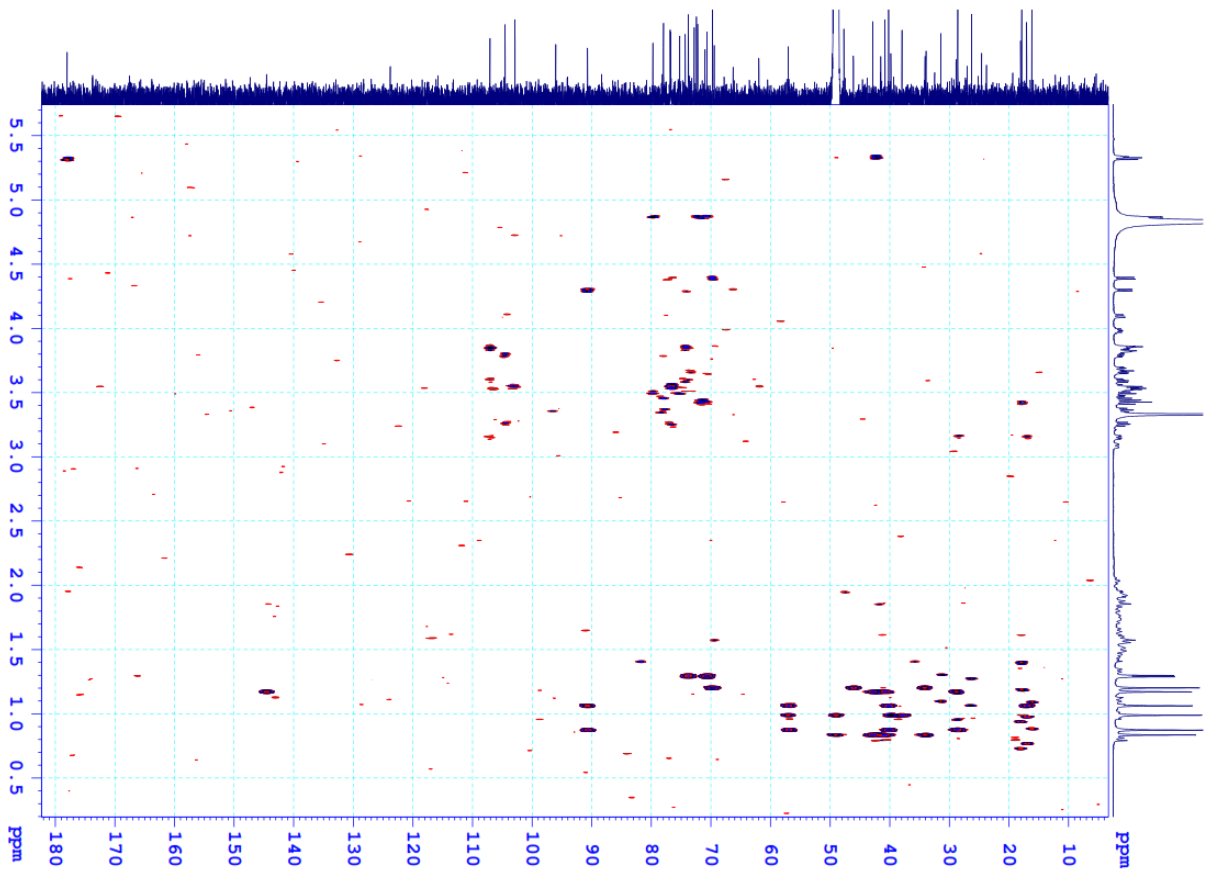
Hình 3.5. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất DO9



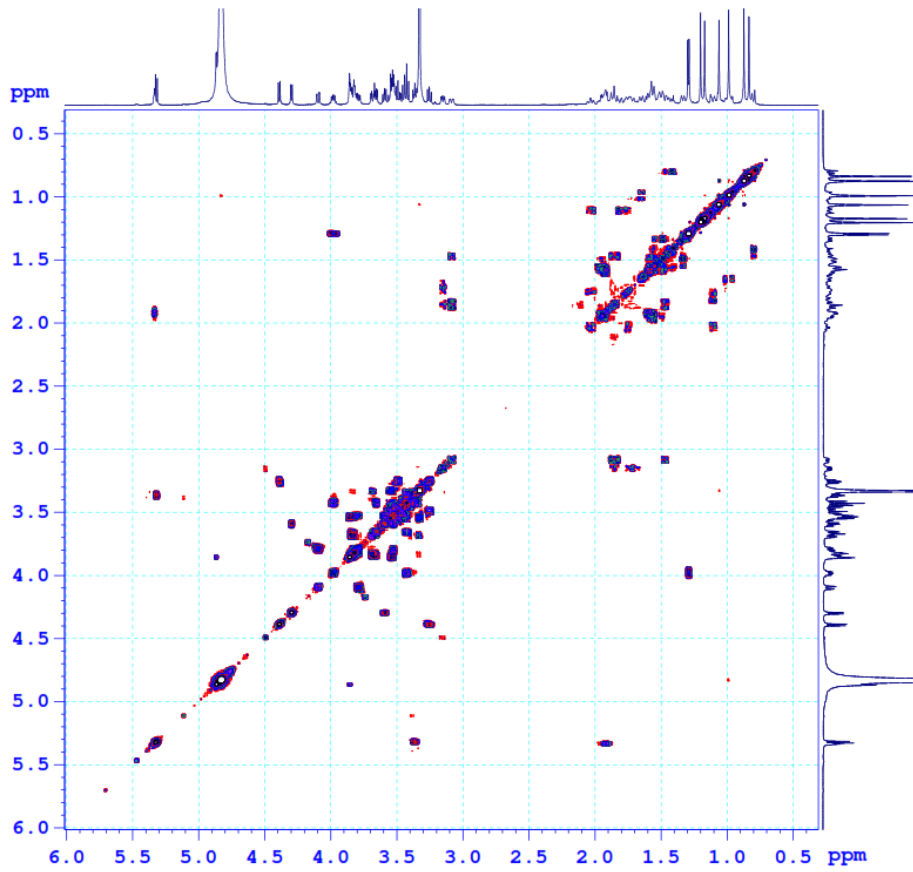
Hình 3.6. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO9



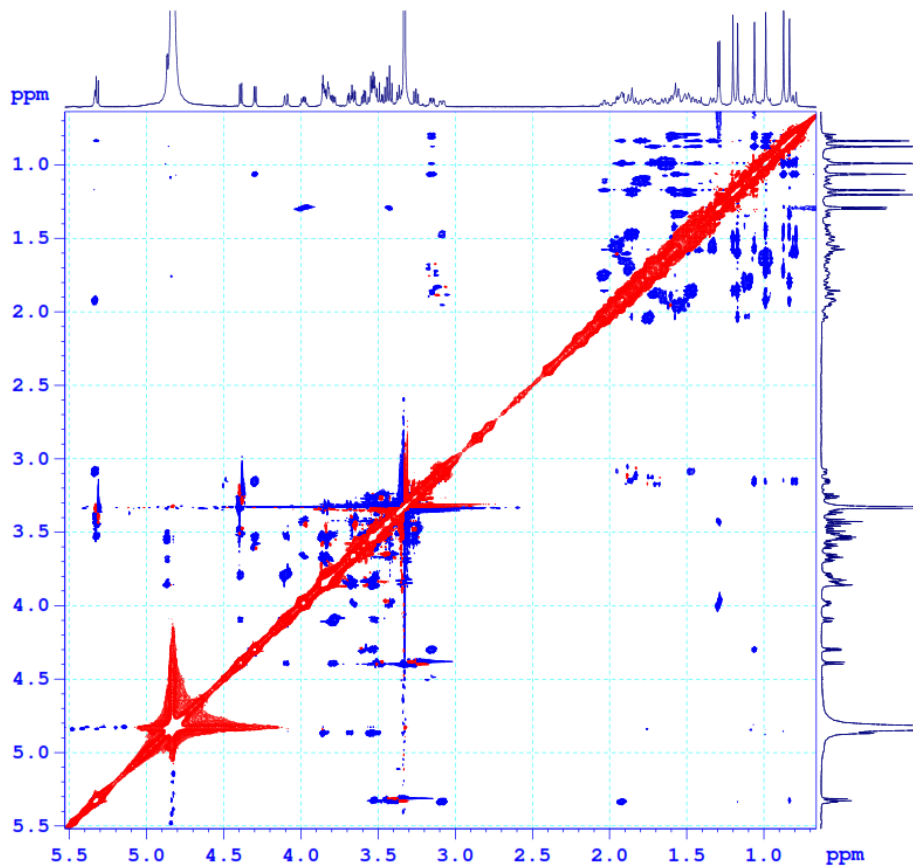
Hình 3.7. Phổ HSQC của hợp chất DO9



Hình 3.8. Phổ HMBC của hợp chất DO9

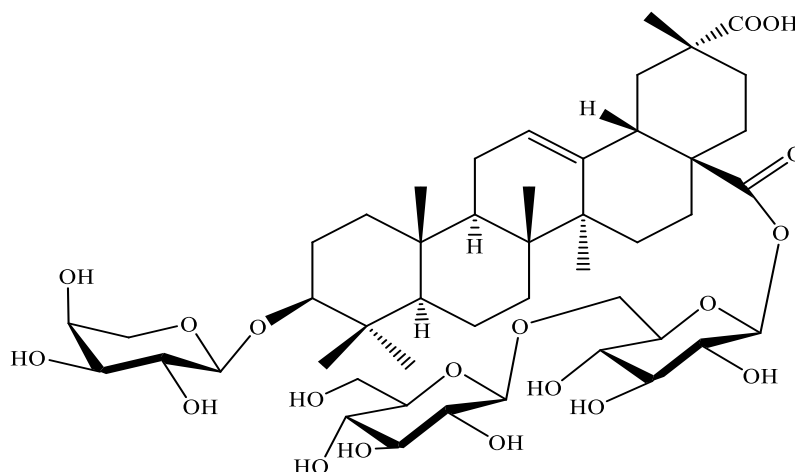


Hình 3.9. Phổ COSY của hợp chất DO9



Hình 3.10. Phổ ROESY của hợp chất DO9

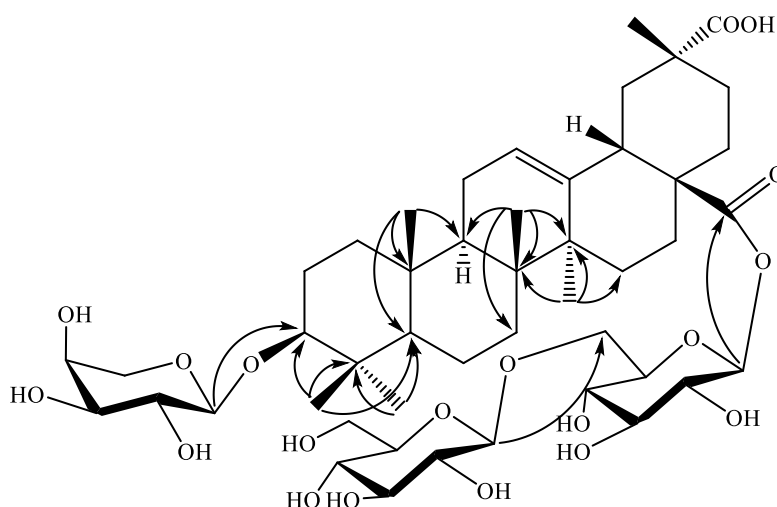
**3.1.2. Hợp chất DO10: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ -hydroxyolean-12-ene-28,29-dioic**



Hình 3.11. Cấu trúc hóa học của **DO10**

Hợp chất **DO10** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO10** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại 5.31 (1H, t,  $J = 3.6$  Hz); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.16 (1H, dd,  $J = 4.8; 12.0$  Hz), ba proton anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5.37 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.37 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz) và 4.30 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), tín hiệu proton của 6 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.24 (3H, s), 1.19 (3H, s); 1.06 (3H, s), 0.98 (3H, s); 0.87 (3H, s) và 0.83 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **DO10** thấy xuất hiện tín hiệu của 47 cacbon trong đó tín hiệu của 9 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_{\text{C}}$  185.0, 178.0, 144.5, 48.0, 43.7, 42.9, 40.8, 40.2 và 379; 18 cacbon methin tại  $\delta_{\text{C}}$  124.2, 107.1, 104.3, 95.8, 90.7, 78.2, 78.0, 78.0, 77.9, 75.2, 74.3, 73.9, 72.8, 71.6, 71.4, 69.5, 57.0, 49.0. Từ các phân tích phổ trên, cho thấy **DO10** cũng là một triterpene khung oleanan.



Hình 3.12. Các tương tác MBC chính của **DO10**.



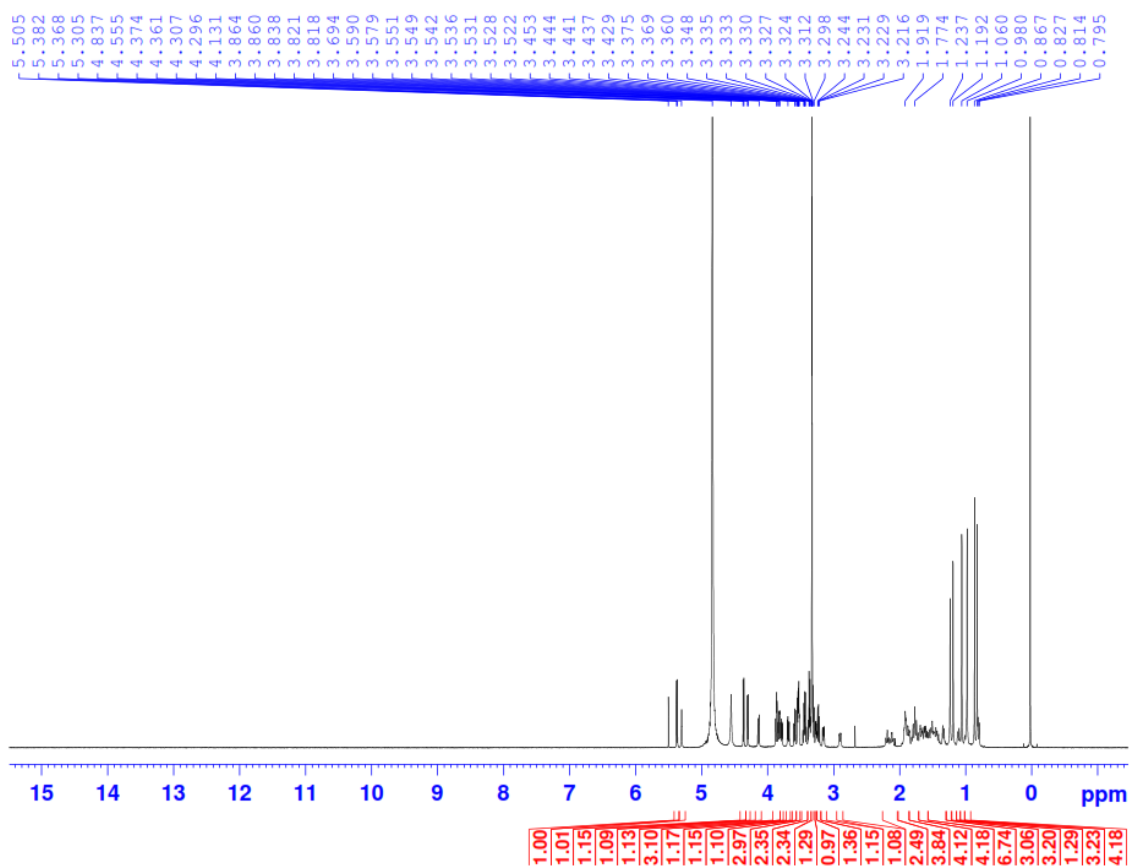
Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.06)/H-24 ( $\delta_H$  0.87) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7)/C-4 ( $\delta_C$  40.8)/C-5 ( $\delta_C$  57.0); từ H-25 ( $\delta_H$  0.98) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-26 ( $\delta_H$  0.83) đến C-7 ( $\delta_C$  34.0)/C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-27 ( $\delta_H$  1.19) đến C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-13 ( $\delta_C$  144.5)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-30 ( $\delta_H$  1.24) đến C-20 ( $\delta_C$  42.9)/C-19 ( $\delta_C$  41.8)/C-21 ( $\delta_C$  30.0), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.31) đến C-11 ( $\delta_C$  24.6)/C-13 ( $\delta_C$  144.5) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.37) đến C-28 ( $\delta_C$  178.0)/C-3' ( $\delta_C$  78.2); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.37) đến C-6' ( $\delta_C$  69.6)/C-3'' ( $\delta_C$  78.0); từ H-1''' ( $\delta_H$  4.30) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0), Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO10**. Thông qua các tín hiệu phổ của hợp chất **DO10** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO10** và tên của hợp chất này là 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ -hydroxyolean-12-ene-28,29-dioic acid.

Bảng 3.2 Số liệu phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **DO10** và hợp chất tham khảo

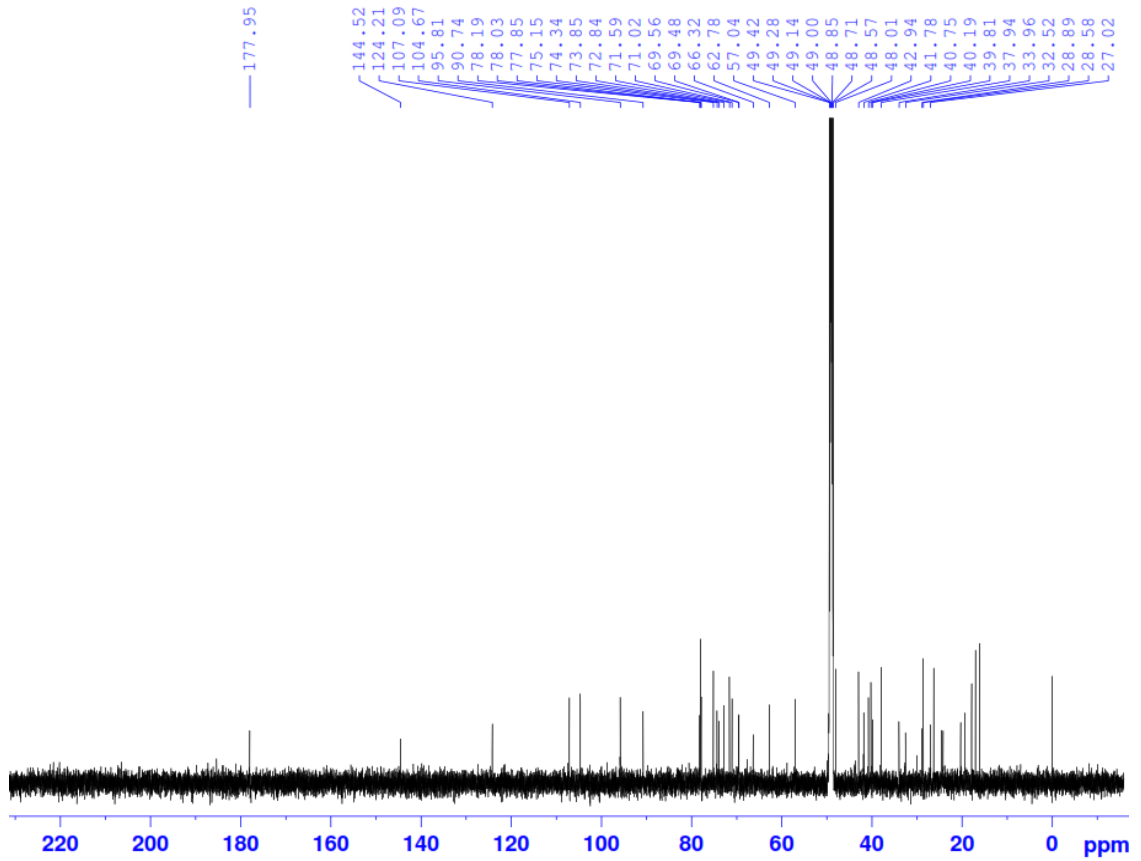
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	38.8	39.8	0.98 (m)/1.63 (m)
2	26.7	27.0	1.72 (m)/1.88 (m)
3	88.8	90.7	3.16 (dd, 4.8; 12.0)
4	39.5	40.8	-
5	55.8	57.0	0.80 (m)
6	18.7	19.4	1.43 (m)/1.57 (m)
7	32.8	34.0	1.35 (m)/1.52 (m)
8	39.9	40.2	-
9	48.1	49.0	1.6 (m)
10	37.1	37.9	-
11	23.9	24.6	1.9 (m)
12	123.1	124.2	5.31 (t, 3.6)
13	143.9	144.5	-
14	42.4	42.9	-
15	28.4	28.9	1.12 (m)/1.80 (m)
16	23.5	24.2	1.75 (m)/2.13 (m)
17	47.0	48.0	-
18	40.9	42.9	2.91 (dd, 4.2; 13.2)
19	41.1	41.8	1.46 (m)/2.19 (t, 13.2)
20	42.1	43.7	-
21	29.5	30.0	1.41 (m)/1.52 (m)
22	31.7	32.5	1.67 (m)/1.77 (m)
23	28.3	28.6	1.06 (s)
24	17.0	17.0	0.87 (s)
25	15.7	16.1	0.98 (s)
26	17.6	17.4	0.83 (s)
27	26.1	26.3	1.19 (s)
28	176.5	178.0	-

29	181.0	185.0	-
30	20.2	20.3	1.24 (s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.8	95.8	5.37 (7.8)
2'	73.9	73.9	3.36 (m)
3'	78.7	78.2	3.43 (m)
4'	71.1	71.4	3.44 (m)
5'	77.9	77.9	3.54 (m)
6'	69.4	69.6	3.78 (d, 5.4; 12.0) 4.13 (d, 1.8; 12.0)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	105.3	104.3	4.37 (d, 7.8)
2''	75.2	75.2	3.22 (m)
3''	78.4	78.0	3.37 (m)
4''	71.7	71.6	3.31 (m)
5''	78.4	78.0	3.26 (m)
6''	62.7	62.8	3.69 (d, 1.8; 12.0) 3.82 (d, 5.4; 12.0)
3-O- $\alpha$ -Ara			
1'''	107.3	107.1	4.30 (d, 6.6)
2'''	72.9	72.8	3.59 (d, 6.6; 9.0)
3'''	74.6	74.3	3.53 (m)
4'''	69.5	69.5	3.82 (br s)
5'''	66.7	66.3	3.54 (*)/3.85 (m)

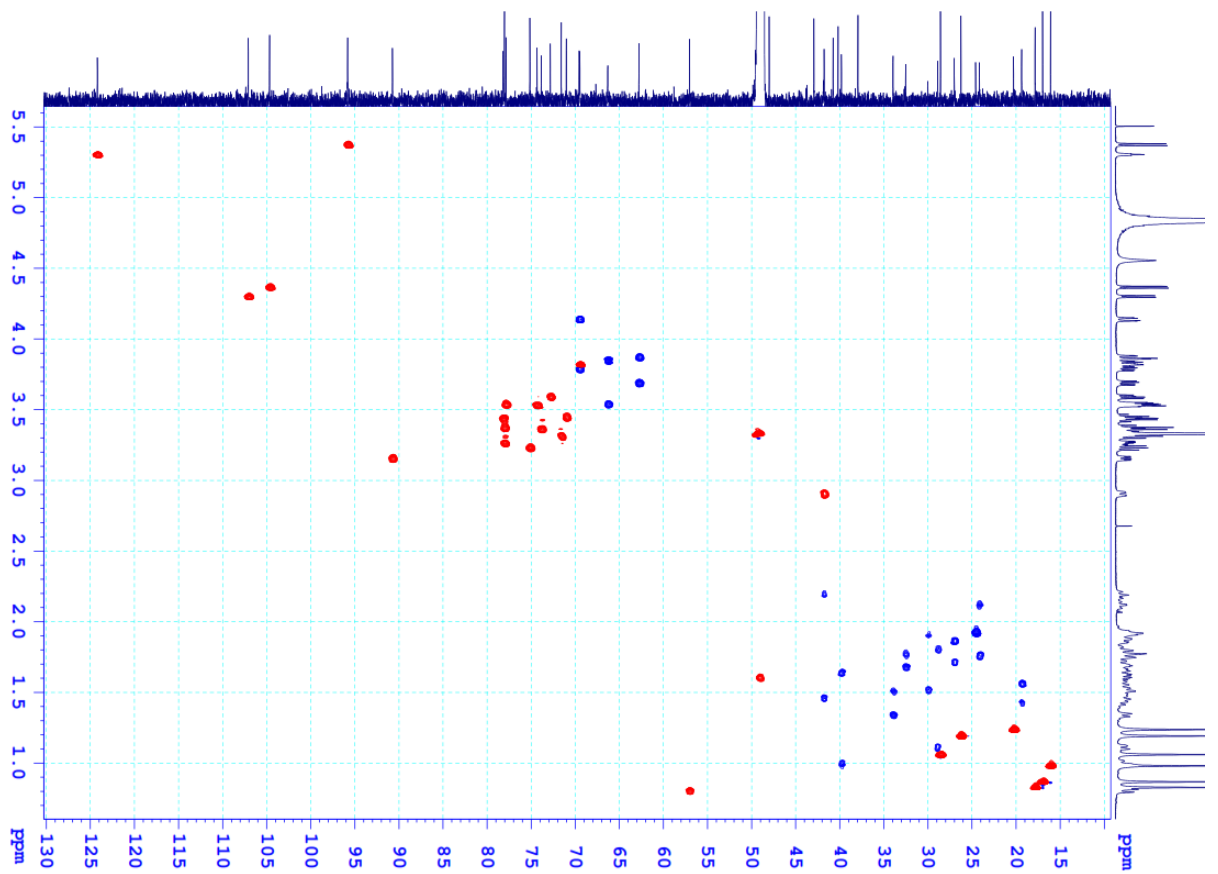
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz,  $\delta_c^{\#}$  [54]



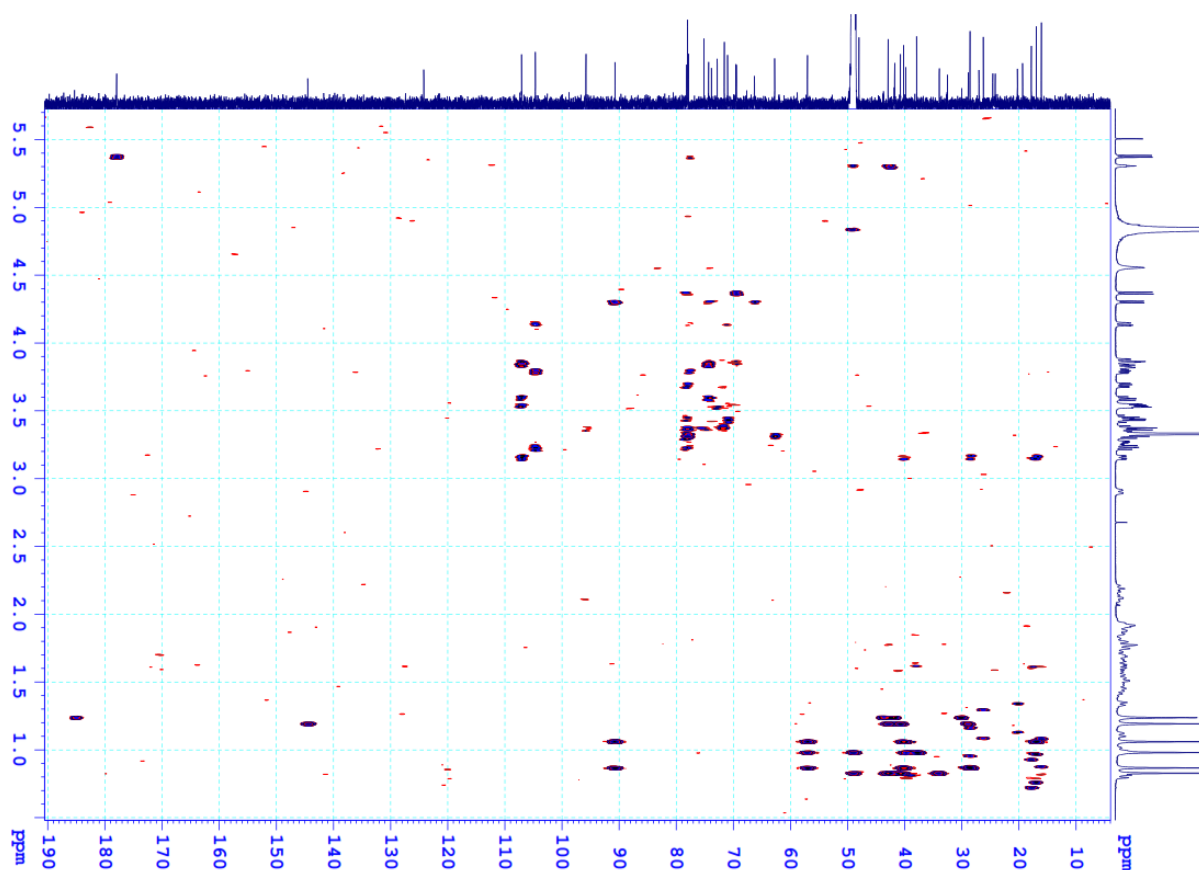
Hình 3.13. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO10.



Hình 3.14. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO10

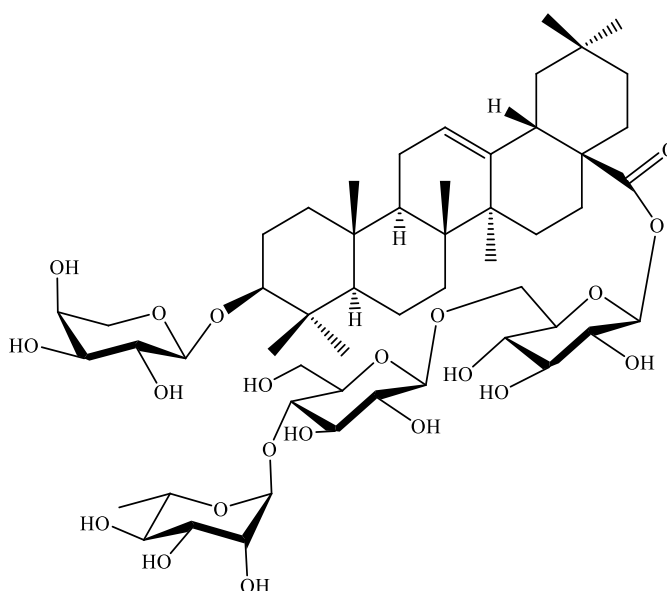


Hình 3.15. Phổ HSQC của hợp chất DO10



Hình 3.16. Phổ HMBC của hợp chất **DO10**.

**3.1.3. Hợp chất DO11: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester**

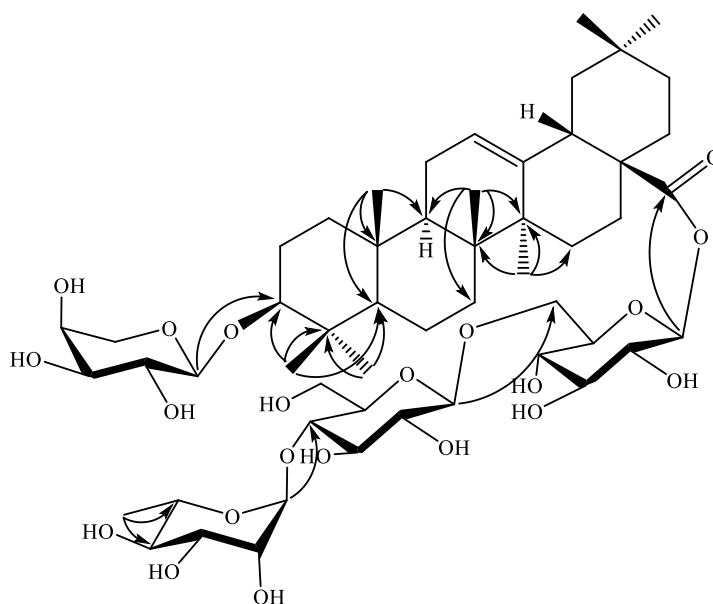


Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của **DO11**

Hợp chất **DO11** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO11** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại 5.28 (1H, t,  $J = 3.0$  Hz); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.16 (1H, dd,  $J = 4.8; 12.0$  Hz),

bốn proton anomeric tại  $\delta_H$  5.36 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.87 (1H, s), 4.80 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz) và 4.42 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), tín hiệu proton của 8 nhóm methyl tại  $\delta_H$  1.93 (3H, s), 1.29 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.18 (3H, s), 1.06 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.87 (3H, s), và 0.79 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR và HSQC của **DO11** thấy xuất hiện tín hiệu của 53 cacbon trong đó tín hiệu của 8 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_C$  178.1, 144.9, 48.1, 42.9, 40.2, 39.5, 37.9 và 31.5; 24 cacbon methin tại  $\delta_C$  123.8, 107.1, 105.0, 104.3, 95.8, 90.7, 79.6, 78.2, 78.1, 76.8, 75.3, 74.3, 73.9, 73.8, 72.8, 72.4, 72.2, 71.7, 71.3, 70.7, 69.5, 57.1, 49.0, 42.6, 8 cacbon methyl tại  $\delta_C$  33.5, 28.6, 26.3, 24.1, 17.8, 17.8, 17.0 và 16.1. Từ các phân tích phổ trên, cho thấy **DO11** cũng là một triterpene khung oleanan.



Hình 3.18. Các tương tác HMBC chính của **DO11**.

Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.06)/H-24 ( $\delta_H$  0.87) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7)/C-4 ( $\delta_C$  39.5)/C-5 ( $\delta_C$  57.1); từ H-25 ( $\delta_H$  0.98) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-26 ( $\delta_H$  0.79) đến C-7 ( $\delta_C$  33.9)/C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-27 ( $\delta_H$  1.18) đến C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-13 ( $\delta_C$  144.9)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-30 ( $\delta_H$  0.97) đến C-20 ( $\delta_C$  31.5)/C-19 ( $\delta_C$  47.2)/C-21 ( $\delta_C$  34.9), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.31) đến C-11 ( $\delta_C$  24.6)/C-13 ( $\delta_C$  144.9) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.36) đến C-28 ( $\delta_C$  178.1)/C-3' ( $\delta_C$  76.8); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.42) đến C-6' ( $\delta_C$  69.5)/C-3'' ( $\delta_C$  71.7); từ H-1''' ( $\delta_H$  4.8) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0), Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO11**. Thông qua các tín hiệu phổ của

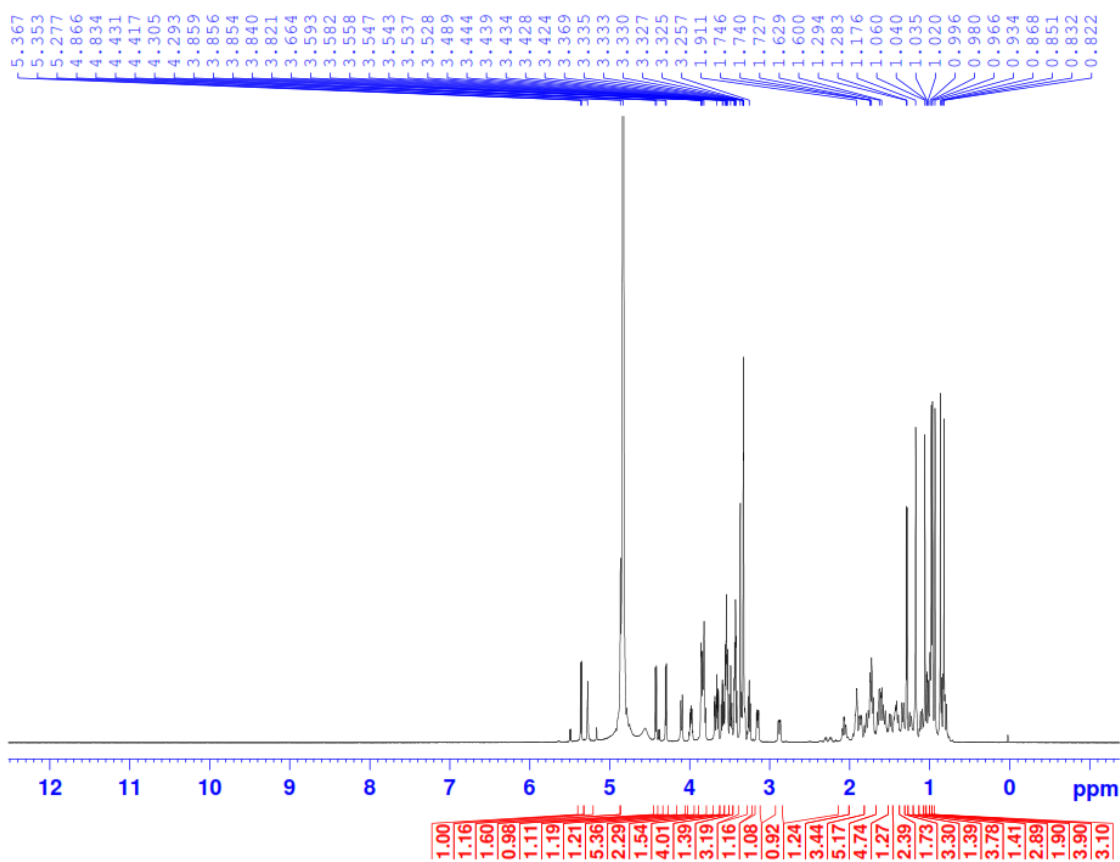
hợp chất **DO11** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO11** và tên của hợp chất này là 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.

Bảng 3.3 Số liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **DO11** và hợp chất tham khảo

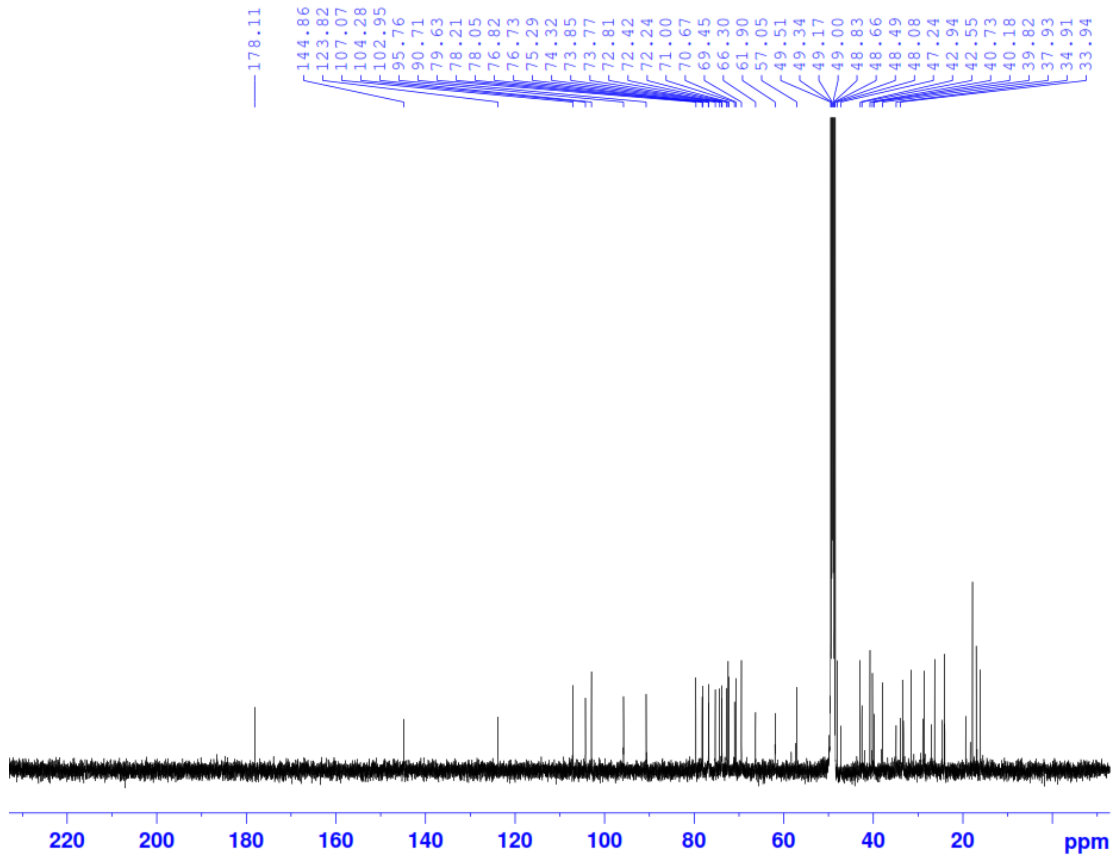
C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	38.9	39.8	0.98 (m)/1.63 (m)
2	26.6	27.0	1.72 (m)/1.88 (m)
3	88.7	90.7	3.16 (dd, 4.8; 12.0)
4	40.7	39.5	-
5	55.9	57.1	0.80 (m)
6	18.5	19.4	1.43 (m)/1.57 (m)
7	33.1	33.9	1.35 (m)/1.52 (m)
8	39.0	40.2	-
9	48.0	49.0	1.6 (m)
10	37.0	37.9	-
11	23.7	24.6	1.9 (m)
12	122.6	123.8	5.28 (t, 3.0)
13	144.1	144.9	-
14	42.1	42.9	-
15	28.2	28.9	1.12 (m)/1.80 (m)
16	23.7	24.0	1.72 (m)/2.08 (m)
17	47.0	48.1	-
18	41.9	42.6	2.88 (dd, 3.0; 13.8)
19	46.2	47.2	1.18 (m)/1.73 (m)
20	30.6	31.5	-
21	34.0	34.9	1.24 (m)/1.43 (m)
22	32.8	33.3	1.62 (m)/1.75 (m)
23	28.2	28.6	1.06 (s)
24	16.9	17.0	0.87 (s)
25	15.6	16.1	0.98 (s)
26	17.5	17.8	0.79 (s)
27	26.1	26.3	1.18 (s)
28	176.5	178.1	-
29		33.5	1.93 (s)
30	23.7	24.1	0.97 (s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.6	95.8	5.36 (7.8)
2'	73.9	73.9	3.35 (m)
3'	78.7	76.8	3.32 (m)
4'	70.9	71.3	3.43 (m)
5'	78.0	78.1	3.55 (m)
6'	69.2	69.5	3.79 (*)/4.10 (d, 12.0)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	104.8	104.3	4.42 (d, 7.8)
2''	75.3	75.3	3.26 (m)
3''	76.5	71.7	3.48 (m)
4''	78.3	79.6	3.56 (m)
5''	77.0	78.2	3.43 (m)
6''	61.3	61.9	3.67 (m)/3.83 (m)
4'-O- $\alpha$ -Rha-			
1'''	102.7	105.0	4.87 (s)
2'''	72.3	72.4	3.86 (m)

3'''	72.6	72.2	3.66 (m)
4'''	72.9	73.8	3.44 (m)
5'''	70.3	70.7	3.98 (m)
6'''	18.5	17.8	1.29 (d, 6.6)
3-O- $\alpha$ -Ara			
1''''	107.5	107.1	4.8 (d, 7.2)
2''''	72.8	72.8	3.59 (m)
3''''	74.6	74.3	3.54 (m)
4''''	69.5	69.5	3.83 (m)
5''''	66.7	66.3	3.54 (*)/3.85 (m)

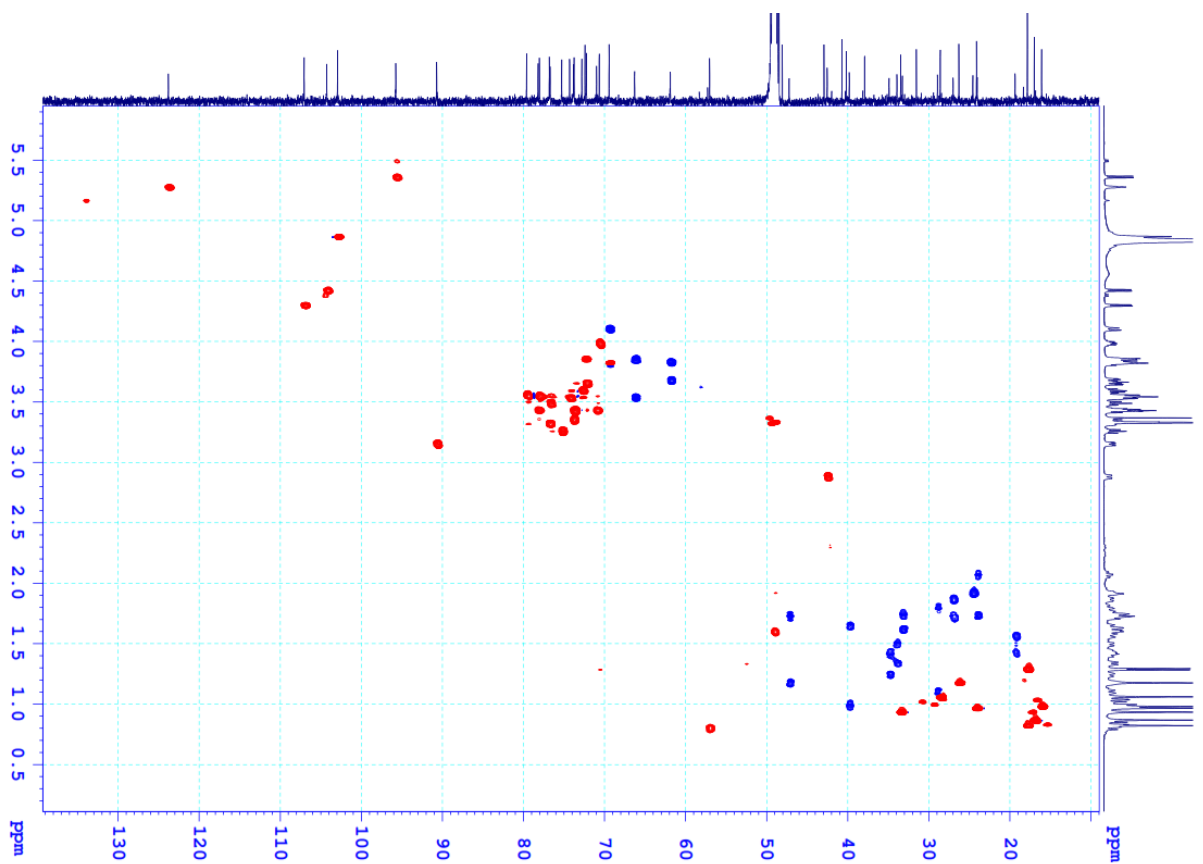
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>d</sup> $\delta_c^{\#}$  [53]



Hình 3.19. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO11



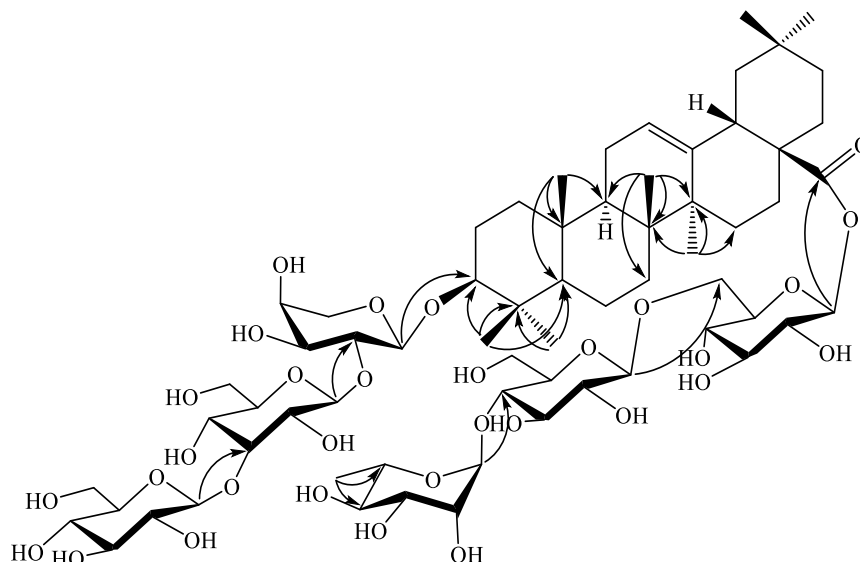
Hình 3.20. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO11.



Hình 3.21. Phổ HSQC của hợp chất DO11.



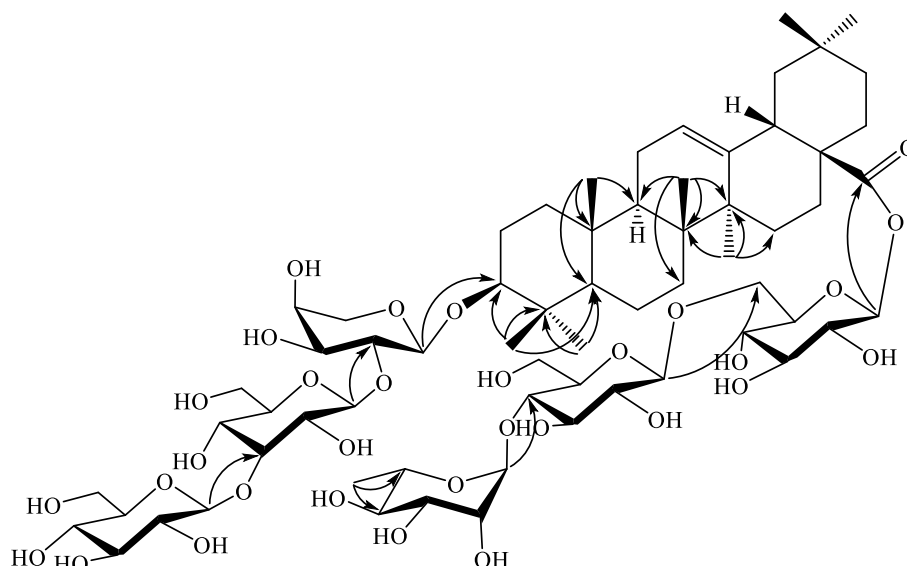
**3.1.4 . Hợp chất DO12: 3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-  $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.**



Hình 3.22. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của **DO12**.

Hợp chất **DO12** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO12** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại 5.27 (1H, m); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.19 (1H, dd,  $J = 4.2; 11.4$  Hz), sáu proton anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5.35 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.86 (1H, s), 4.86 (1H, s), 4.64 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 4.48 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz) và 4.43 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), tín hiệu proton của 8 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.93 (3H, s), 1.29 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.17 (3H, s), 1.09 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.97 (3H, s), 0.89 (3H, s), và 0.82 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **DO12** thấy xuất hiện tín hiệu của 65 cacbon trong đó tín hiệu của 8 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_{\text{C}}$  178.2, 144.5, 48.1, 42.9, 40.8, 40.4, 37.9 và 31.5; 34 cacbon methin tại  $\delta_{\text{C}}$  123.9, 105.7, 104.7, 104.3, 104.1, 102.9, 95.8, 91.7, 86.2, 79.6, 79.6, 78.2, 78.1, 77.9, 76.9, 76.8, 76.7, 76.7, 75.3, 74.7, 74.6, 73.8, 73.7, 72.7, 72.0, 72.0, 72.0, 71.0, 70.7, 70.0, 69.5, 57.1, 49.0, 42.5. 8 cacbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  33.5, 28.4, 26.3, 24.1, 17.9, 17.8, 17.0 và 16.1. Từ các phân tích phổ trên, cho thấy **DO12** cũng là một triterpene khung oleanan.



Hình 3.23. Các tương tác HMBC chính của **DO12**.

Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.09)/H-24 ( $\delta_H$  0.89) đến C-3 ( $\delta_C$  91.7)/C-4 ( $\delta_C$  40.8)/C-5 ( $\delta_C$  57.1); từ H-25 ( $\delta_H$  0.97) đến C-1 ( $\delta_C$  39.9)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-26 ( $\delta_H$  0.82) đến C-7 ( $\delta_C$  34.0)/C-8 ( $\delta_C$  40.4)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-27 ( $\delta_H$  1.17) đến C-8 ( $\delta_C$  40.4)/C-13 ( $\delta_C$  144.5)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-30 ( $\delta_H$  0.97) đến C-20 ( $\delta_C$  31.5)/C-19 ( $\delta_C$  47.2)/C-21 ( $\delta_C$  34.9), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.27) đến C-11 ( $\delta_C$  24.6)/C-13 ( $\delta_C$  145.0) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.35) đến C-28 ( $\delta_C$  178.2)/C-3' ( $\delta_C$  76.7); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.43) đến C-6' ( $\delta_C$  69.5)/C-3'' ( $\delta_C$  76.9); từ H-1''' ( $\delta_H$  4.86) đến C-4'' ( $\delta_C$  79.6), từ H-1'''' ( $\delta_H$  4.48) đến C-3 ( $\delta_C$  91.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.19) đến C-1 ( $\delta_C$  39.9)/C-2 ( $\delta_C$  34.0)/C-1'''' ( $\delta_C$  105.7); từ H-1''''' ( $\delta_H$  4.86) đến C-2'''' ( $\delta_C$  79.6); từ H-1'''''' ( $\delta_H$  4.64) đến C-3'''' ( $\delta_C$  86.2). Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO12**. Thông qua các tín hiệu phổ của hợp chất **DO12** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO12** và tên của hợp chất này là oleanolic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.[8]

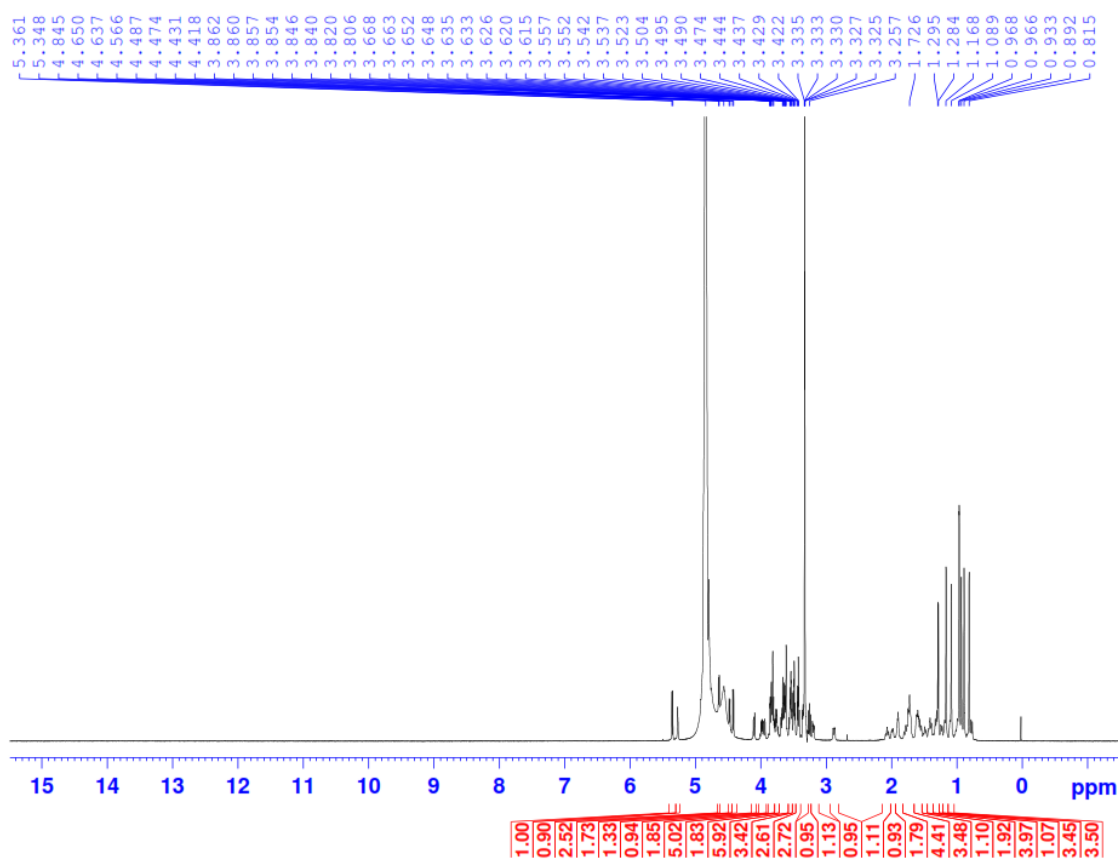
Bảng 3.4 Số liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **DO12** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	38.9	39.9	0.99 (m)/1.61 (m)
2	26.6	27.0	1.70 (m)/1.98 (m)
3	88.7	91.7	3.19 (dd, 4.2; 11.4)
4	40.7	40.8	-
5	55.9	57.1	0.80 (d, 10.8)
6	18.5	19.4	1.43 (m)/1.57 (m)

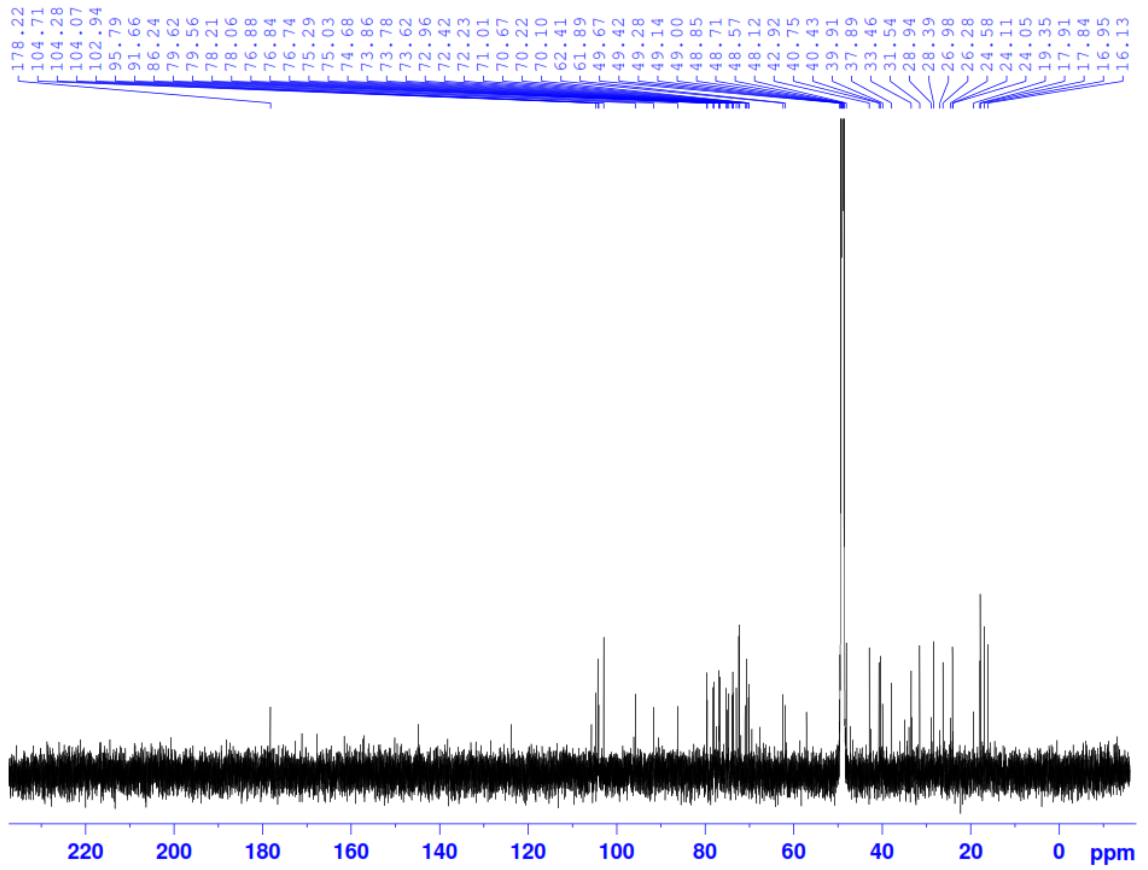
7	33.1	34.0	1.32 (m)/1.50 (m)
8	39.0	40.4	-
9	48.0	49.0	1.59 (m)
10	37.0	37.9	-
11	23.7	24.6	1.9 (m)
12	122.6	123.9	5.27 (m)
13	144.1	145.0	-
14	42.1	42.9	-
15	28.2	28.9	1.10 (m)/1.78 (m)
16	23.7	24.1	1.72 (m)/2.07 (m)
17	47.0	48.1	-
18	41.9	42.5	2.88 (dd,3.6; 10.8)
19	46.2	47.2	1.18 (m)/1.73 (m)
20	30.6	31.5	-
21	34.0	34.9	1.24 (m)/1.43 (m)
22	32.8	33.3	1.62 (m)/1.75 (m)
23	28.2	28.4	1.09 (s)
24	16.9	17.0	0.89 (s)
25	15.6	16.1	0.97 (s)
26	17.5	17.8	0.82 (s)
27	26.1	26.3	1.17 (s)
28	176.5	178.2	-
29		33.5	1.93 (s)
30	23.7	24.1	0.97 (s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.6	95.8	5.35 (d, 7.8)
2'	73.9	73.8	3.35 (m)
3'	78.7	76.7	3.32 (m)
4'	70.9	71.0	3.42 (m)
5'	78.0	78.1	3.54 (m)
6'	69.2	69.5	3.80 (*) 4.10 (dd, 1.2; 11.4)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	104.8	104.3	4.43 (d, 7.8)
2''	75.3	75.3	3.25 (m)
3''	76.5	76.9	3.48 (m)
4''	78.3	79.6	3.55 (m)
5''	77.0	78.2	3.42 (m)
6''	61.3	61.9	3.67 (m)/3.82 (m)
4'-O- $\alpha$ -Rha-			
1'''	102.7	102.9	4.86 (s)
2'''	72.3	72.0	3.85 (m)
3'''	72.6	72.0	3.65 (m)
4'''	72.9	73.7	3.42 (m)
5'''	70.3	70.7	3.98 (m)
6'''	18.5	17.9	1.29 (d, 6.6)
3-O- $\alpha$ -Ara			
1''''	107.5	105.7	4.48 (d, 7.8)
2''''	72.8	79.6	3.82 (m)

3''''	74.6	74.7	3.53 (m)
4''''	69.5	69.5	3.83 (br s)
5''''	66.7	67.7	3.62 (m) 3.94 (dd, 1.2; 12.0)
2''''-O- $\beta$ - Glu			
1'''''		104.1	4.86 (s)
2'''''		76.8	3.48 (m)
3'''''		86.2	3.76 (m)
4'''''		72.7	3.62 (m)
5'''''		76.7	3.31 (m)
6'''''		62.4	3.66 (m)/3.76 (m)
3'''''-O- $\beta$ - Glu			
1''''''		104.7	4.64 (d, 7.8)
2''''''		72.0	3.62 (m)
3''''''		74.6	3.53 (m)
4''''''		70.0	3.82 (m)
5''''''		77.9	3.60 (m)
6''''''		62.4	3.66 (m)/3.76 (m)

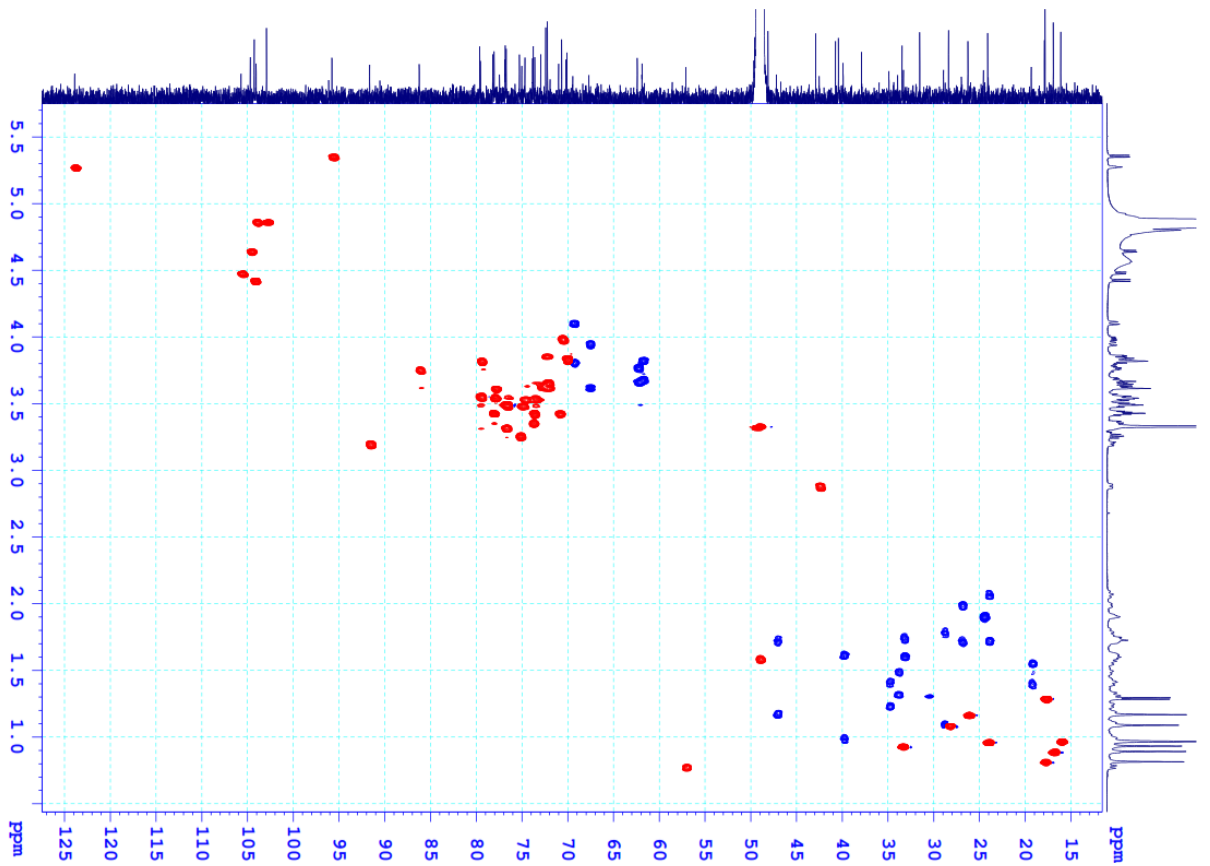
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta_c$  [8]



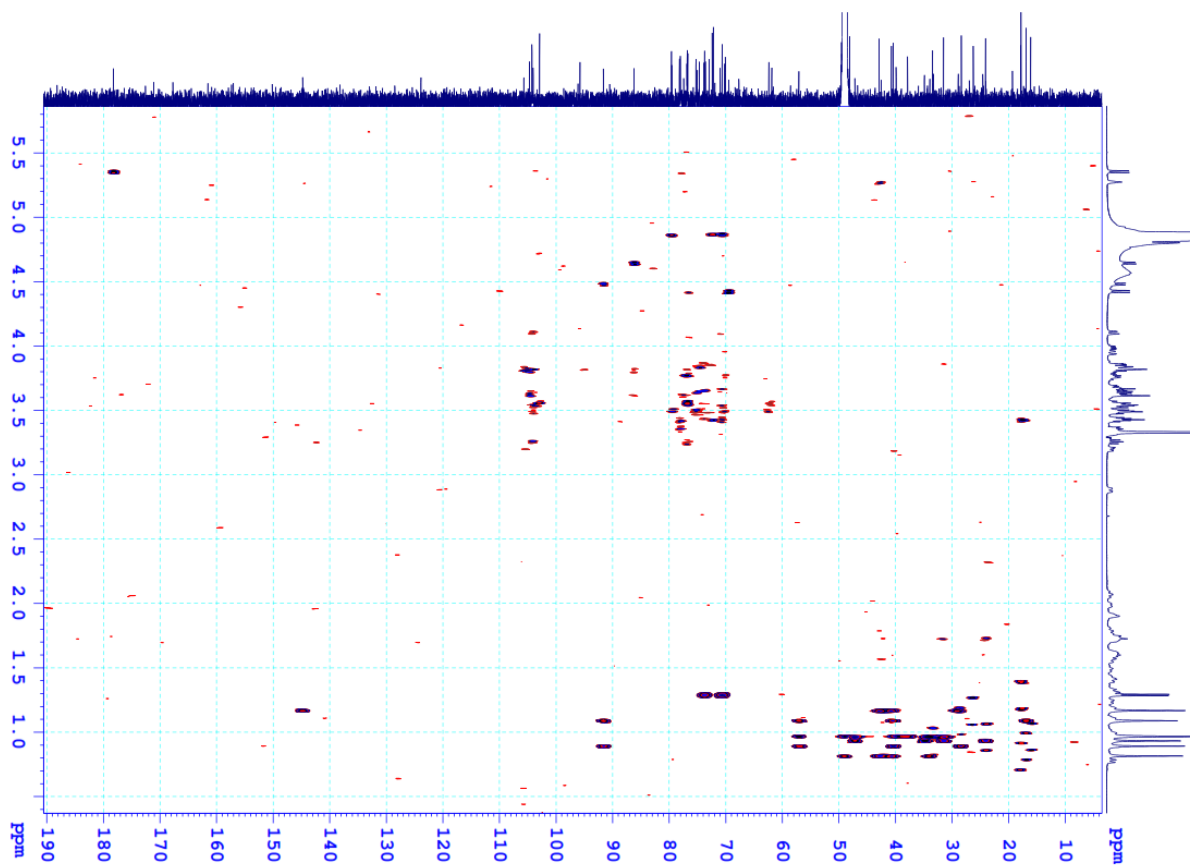
Hình 3.24. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO12.



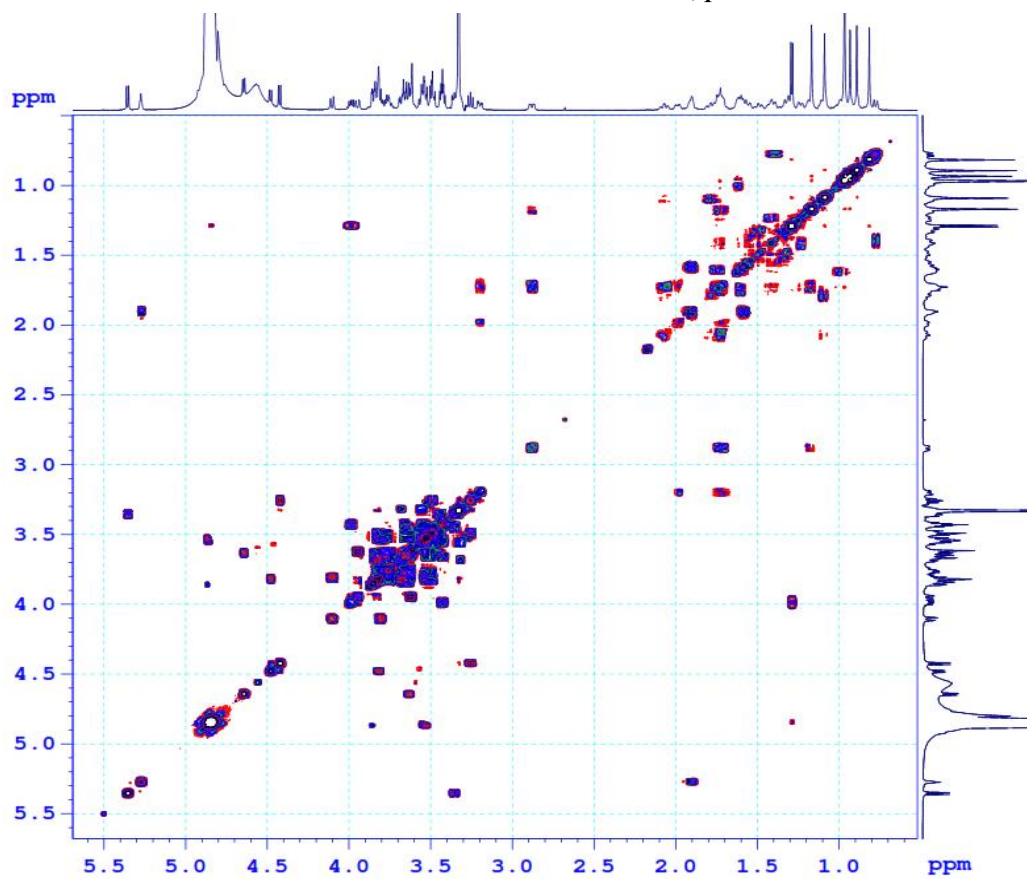
Hình 3.25. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO12.



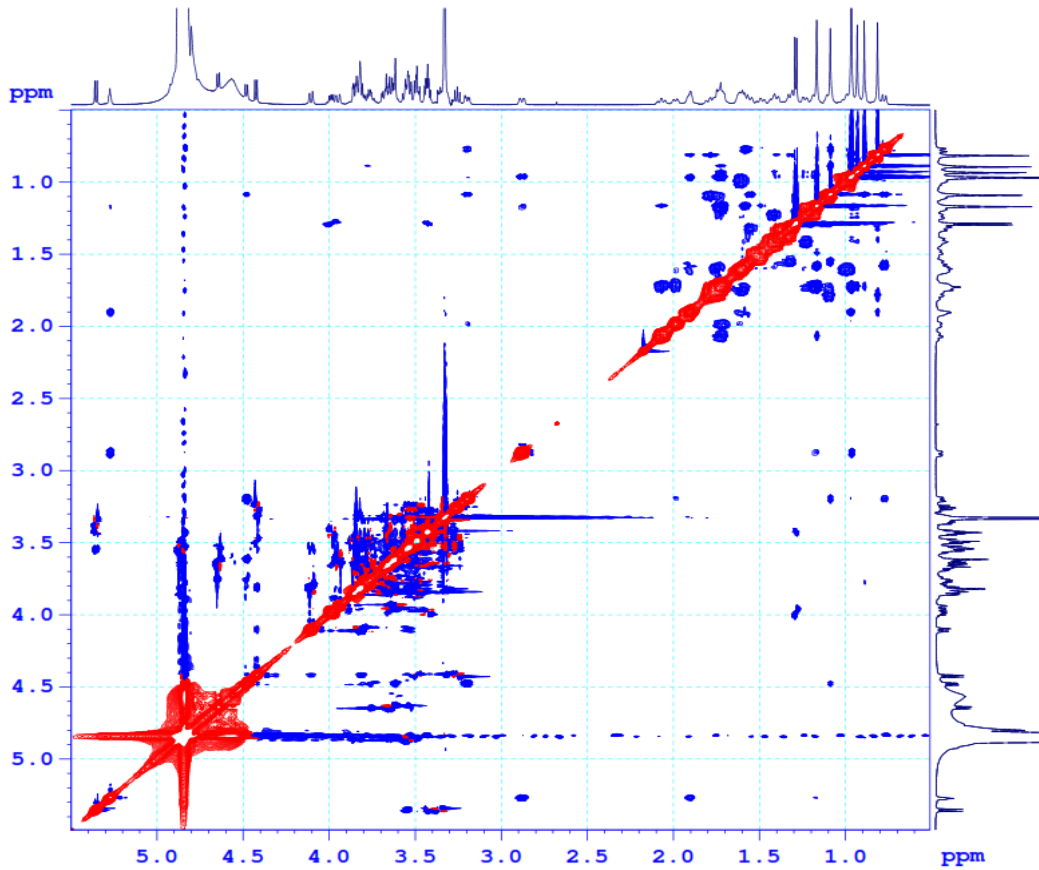
Hình 3.26. Phổ HSQC của hợp chất DO12



Hình 3.27. Phổ HMBC của hợp chất DO12.

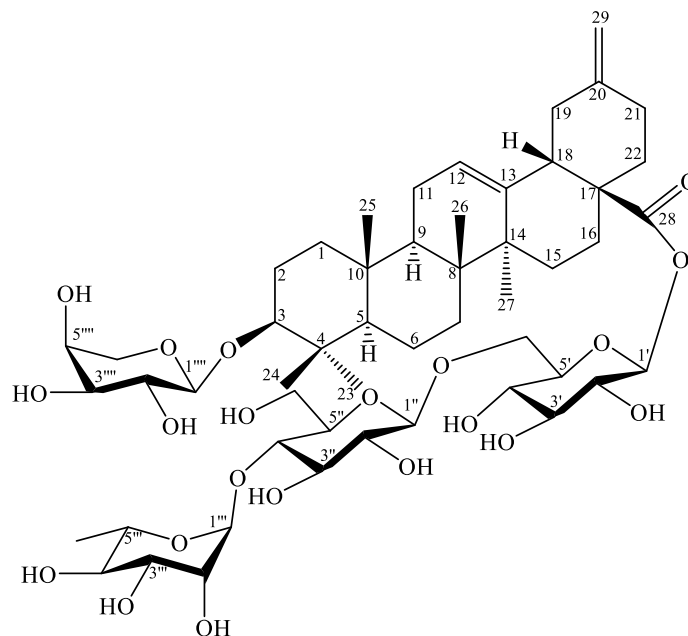


Hình 3.28. Phổ COSY của hợp chất DO12.



Hình 3.29. Phổ ROESY của hợp chất **DO12**

### 3.1.5. Hợp chất **DO13**: Yemuoside **YM14**

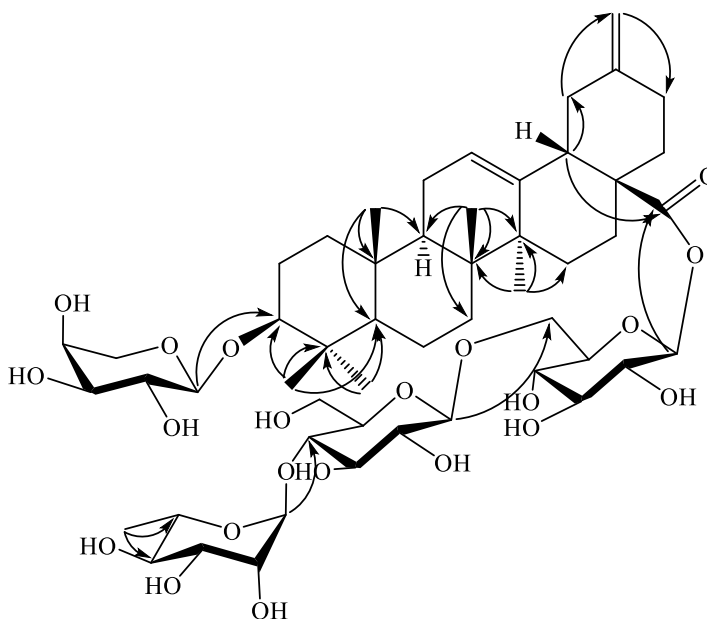


Hình 3.30. Cấu trúc hóa học của **DO13**

Hợp chất **DO13** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO13** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (1H, Br s); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,16 (1H, dd,  $J = 4,8; 12,0$  Hz), bốn

proton anomeric tại  $\delta_H$  5.34 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.87 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz), 4.41 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), và 4.30 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), tín hiệu proton của 6 nhóm methyl tại  $\delta_H$  1.29 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.21 (3H, s), 1.07 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.87 (3H, s) và 0.78 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR và HSQC của **DO13** thấy xuất hiện tín hiệu của 52 cacbon trong đó tín hiệu của 9 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_C$  177.3, 149.3, 144.2, 57.0, 48.2, 42.9, 40.8, 39.9 và 37.9. 23 cacbon methin tại  $\delta_C$  124.3, 107.1, 104.2, 102.9, 95.8, 90.7, 79.5, 78.1, 78.0, 76.8, 76.7, 75.2, 74.3, 73.8, 73.8, 72.8, 72.4, 72.2, 71.0, 70.6, 69.5, 48.6, 48.4; 6 cacbon methyl tại  $\delta_C$  28.6, 26.3, 17.9, 17.8, 17.0 và 16.1.



Hình 3.31. Các tương tác HMBC chính của **DO13**.

Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.07)/H-24 ( $\delta_H$  0.87) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7)/C-4 ( $\delta_C$  39.9)/C-5 ( $\delta_C$  57.0); từ H-25 ( $\delta_H$  0.99) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-9 ( $\delta_C$  48.6)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-26 ( $\delta_H$  0.78) đến C-7 ( $\delta_C$  33.9)/C-8 ( $\delta_C$  40.8)/C-9 ( $\delta_C$  48.6)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-27 ( $\delta_H$  1.21) đến C-8 ( $\delta_C$  40.8)/C-13 ( $\delta_C$  144.2)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-29 ( $\delta_H$  4.65/4.66) đến C-20 ( $\delta_C$  149.3)/C-19 ( $\delta_C$  42.6)/C-21 ( $\delta_C$  30.1), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.35) đến C-11 ( $\delta_C$  24.6)/C-13 ( $\delta_C$  143.4) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.34) đến C-28 ( $\delta_C$  177.3)/C-3' ( $\delta_C$  76.8); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.41) đến C-6' ( $\delta_C$  69.4)/C-3'' ( $\delta_C$  76.2); từ H-1''' ( $\delta_H$  4.87) đến C-4'' ( $\delta_C$  78.6), từ H-1'''' ( $\delta_H$  4.30) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0). Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO13**. Thông qua các tín hiệu phổ của hợp chất **DO13** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO13** và tên của hợp chất này là **yemuoside YM<sub>14</sub>**.

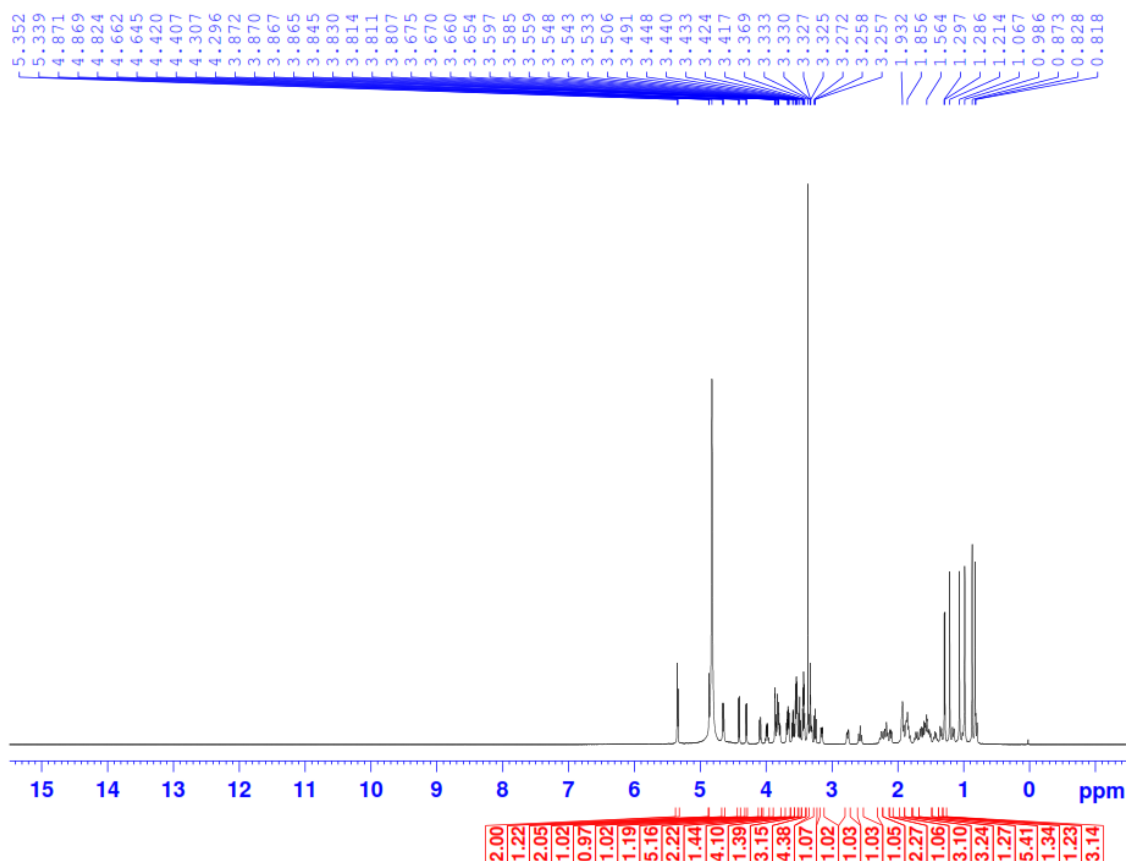


Bảng 3.5 Số liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **DO13** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	38.78	39.8	1.00 (m)/1.64 (m)
2	26.61	27.0	1.72(m)/187 (m)
3	88.56	90.7	3.16 (dd, $J = 4.8; 12.0$ )
4	39.86	39.86	-
5	55.81	57.0	-
6	18.49	19.3	1.43 (m)/(1.57)
7	33.03	33.9	1.35 (m)/1.52 (m)
8	39.51	40.8	-
9	47.97	48.6	1.60 (m)
10	36.95	37.9	-
11	23.73	24.6	1.93 (m)
12	123.01	124.3	5.35 (br s)
13	143.40	144.2	-
14	42.02	42.9	-
15	28.22	28.9	1.15 (m)/1.84 (m)
16	23.45	24.2	1.87(m)/2.20(m)
17	47.27	48.2	-
18	47.48	48.4	2.76 (dd, 4.8; 13.2)
19	41.64	42.6	2.10 (dd, 4.8; 13.2) 2.57 (t, 13.2)
20	148.30	149.3	-
21	30.07	30.07	2.16 (m)/2.25 (m)
22	37.57	38.5	1.57 (m)/1.92 (m)
23	28.22	28.6	1.07 (s)
24	16.91	17.0	0.87 (s)
25	15.59	16.1	0.99 (s)
26	17.44	17.8	0.78 (s)
27	26.00	26.3	1.21 (s)
28	175.77	177.3	-
29	107.42	107.6	465 (br s)/4.66 (br s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.67	95.8	5.34 (d, 7.8)
2'	73.72	73.8	3.35 (m)
3'	77.85	76.8	3.32 (m)
4'	70.69	71.0	3.43 (m)
5'	77.08	78.0	3.53 (m)
6'	69.19	69.4	3.78 (d, 12.0) 4.08 (d, 12.0)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	104.81	104.2	4.41 (d, 7.8)
2''	75.24		3.25 (dd, 7.8; 9.0)
3''	76.41	76.7	3.47 (m)
4''	78.57	79.5	3.55 (m)
5''	78.11	78.1	3.43 (m)
6''	61.22	61.9	3.54 (m)/3.85 (m)
4'-O- $\alpha$ -Rha-			
1'''	102.63	102.9	4.87 (d, 1.2)
2'''	72.69	72.4	3.86 (dd; 1.2; 3.0)
3'''	72.51	72.2	3.66 (m)
4'''	73.91	73.8	3.43 (m)
5'''	70.23	70.6	3.98 (m)

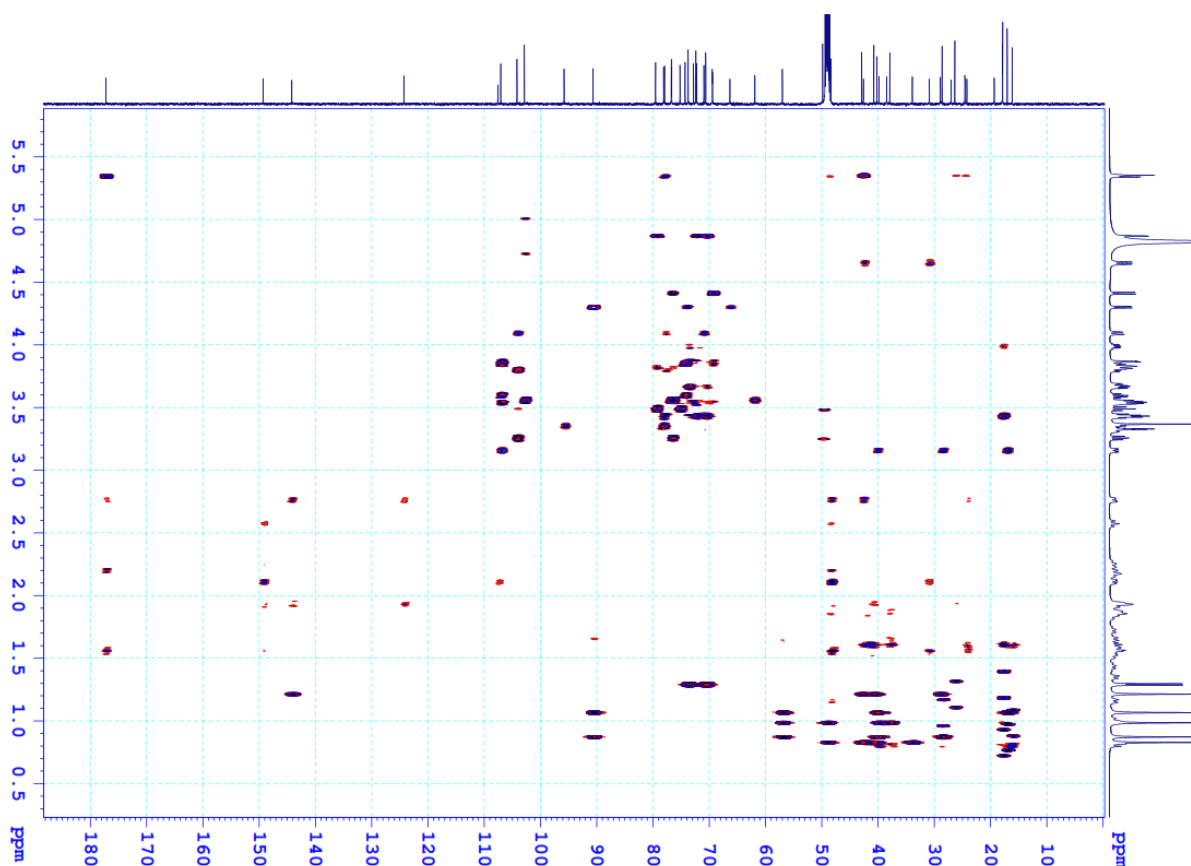
6'''	18.49	17.9	1.29 (d, 6.6)
3-O- $\alpha$ -Ara			
1'''	107.50	107.1	4.30 (d, 6.6)
2'''	72.84	72.8	3.59 (dd, 6.6; 9.0)
3'''	74.59	74.3	3.54 (m)
4'''	69.50	69.5	3.84 (br s)
5'''	66.77	66.3	3.54 (m)/3.85 (m)

<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta_C$  của Yernuoside YM<sub>14</sub> [55]



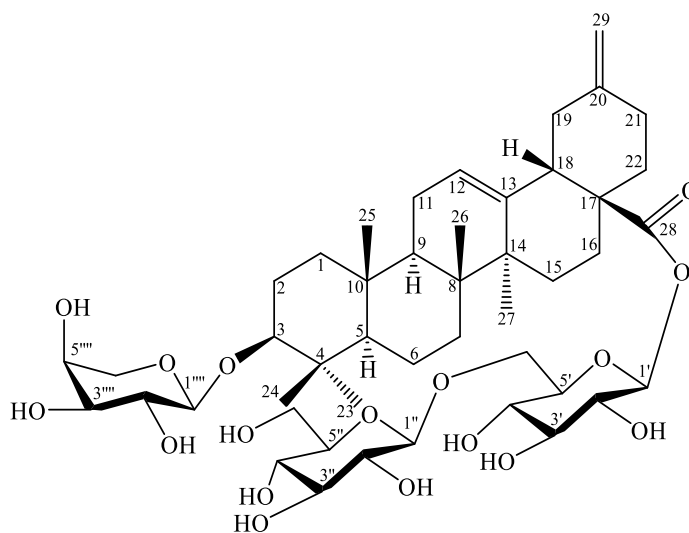
Hình 3.32. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO13





Hình 3.35. Phổ HMBC của hợp chất **DO13**

### 3.1.6. Hợp chất **DO14**: Yemuoside **YM11**

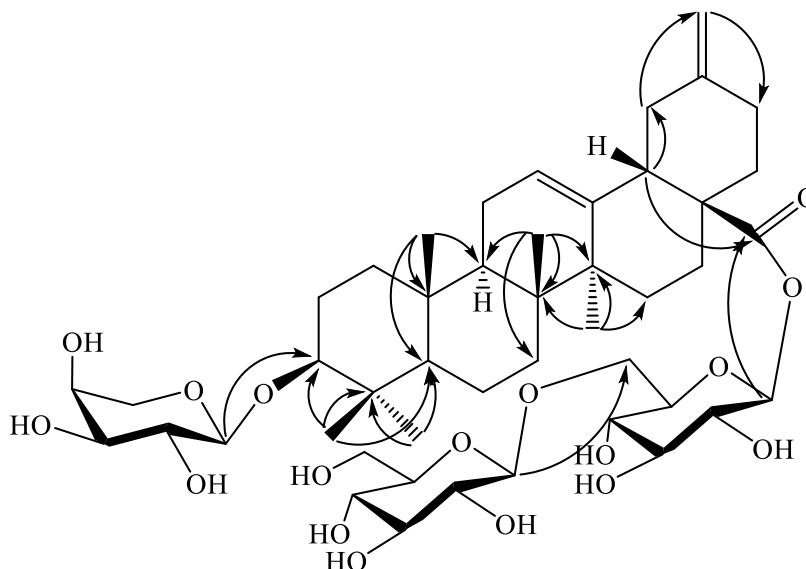


Hình 3.36. Cấu trúc hóa học và của **DO14**

Hợp chất **DO14** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO14** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5,34 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,16 (1H, dd,  $J = 4.8; 12.0$  Hz), ba proton anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4,34 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz) và 4,30

(1H, d,  $J = 6.6$  Hz), tín hiệu proton của 5 nhóm methyl tại  $\delta_H$  1.21 (3H, s), 1.07 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.87 (3H, s) và 0.83 (3H, s).

Phân tích phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR và HSQC của **DO14** thấy xuất hiện tín hiệu của 46 cacbon trong đó tín hiệu của 7 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_C$  177.4, 149.4, 144.2, 47.3, 42.9, 40.8, 40.2 và 37.9; 20 cacbon methin tại  $\delta_C$  124.3, 107.4, 107.1, 104.7, 95.8, 90.7, 78.1, 78.0, 78.0, 77.8, 75.1, 74.3, 73.0, 72.8, 71.6, 71.0, 69.4, 57.0, 49.0 và 48.5; 5 cacbon methyl tại  $\delta_C$  28.6, 26.2, 17.9, 17.0 và 16.1.



Hình 3.37. Các tương tác HMBC chính của **DO14**.

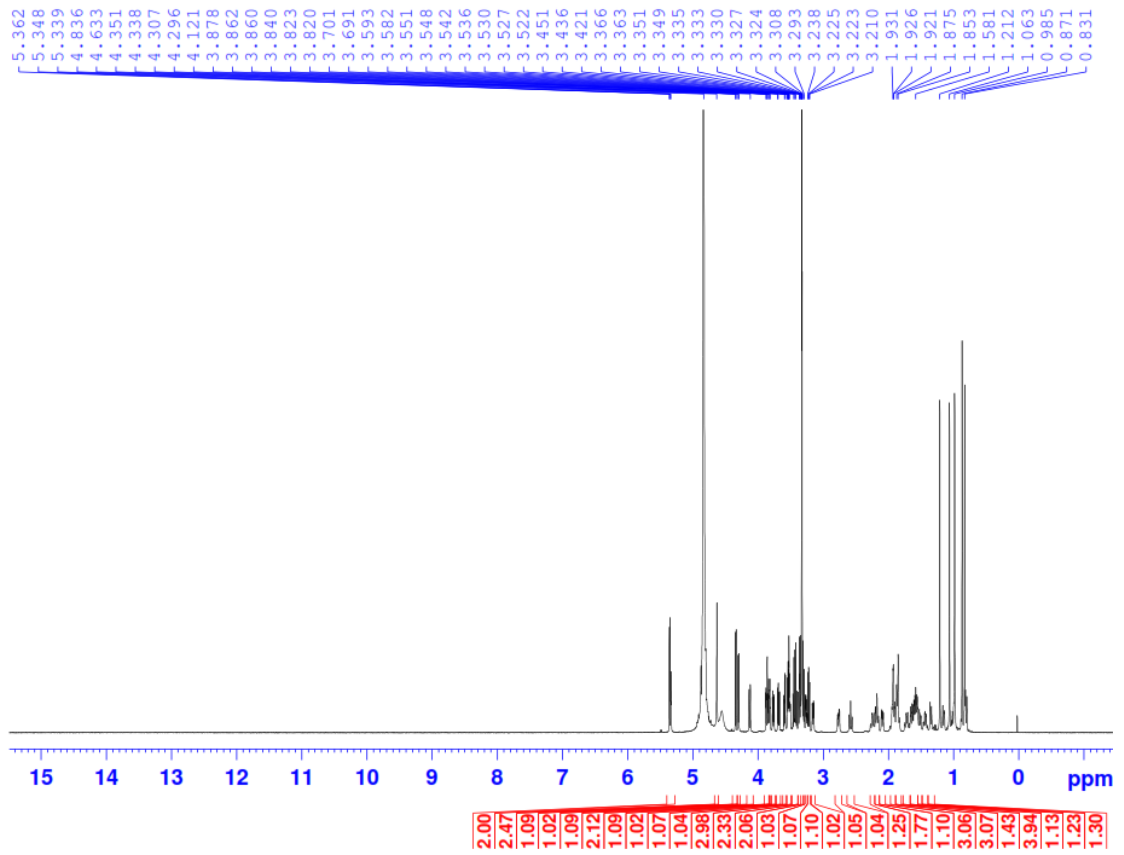
Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_H$  1.07)/H-24 ( $\delta_H$  0.87) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7)/C-4 ( $\delta_C$  40.8/C-5 ( $\delta_C$  57.0); từ H-25 ( $\delta_H$  0.99) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-26 ( $\delta_H$  0.83) đến C-7 ( $\delta_C$  33.9)/C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-9 ( $\delta_C$  49.0)/C-10 ( $\delta_C$  37.9); từ H-27 ( $\delta_H$  1.21) đến C-8 ( $\delta_C$  40.2)/C-13 ( $\delta_C$  144.2)/C-14 ( $\delta_C$  42.9)/C-15 ( $\delta_C$  28.9); từ H-29 ( $\delta_H$  4.63) đến C-20 ( $\delta_C$  149.4)/C-19 ( $\delta_C$  42.6)/C-21 ( $\delta_C$  30.8), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_H$  5.34) đến C-11 ( $\delta_C$  24.5)/C-13 ( $\delta_C$  144.2) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_H$  5.35) đến C-28 ( $\delta_C$  177.4)/C-3' ( $\delta_C$  78.1); từ H-1'' ( $\delta_H$  4.34) đến C-6' ( $\delta_C$  69.9)/C-3'' ( $\delta_C$  78.0); từ H-1''' ( $\delta_H$  4.30) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0. Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO14**. Các tín hiệu phổ NMR của hợp chất **DO14** gần giống như các tín hiệu phổ của hợp chất **DO13** ngoại trừ tín hiệu phổ của hợp chất **DO14** ít hơn tín hiệu phổ của hợp chất **DO13**, 1 đơn vị đường L-Rhamnopyranosyl. Kết hợp với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO14** và có tên gọi là yemuoside  $\text{YM}_{11}$ .

Bảng 3.6 Số liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **DO14** và hợp chất tham khảo

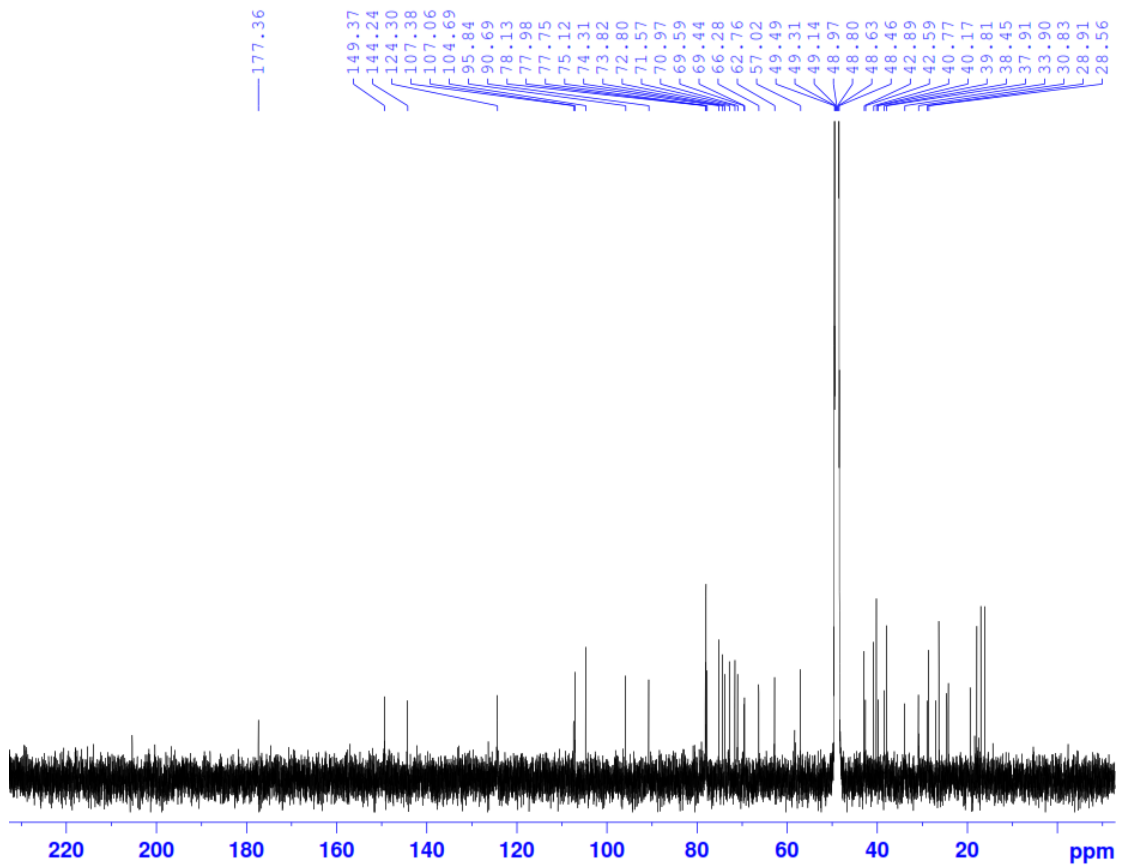
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
---	-----------------	------------------	--

1	38.80	39.8	1.0 (m)/1.60 (m)
2	26.64	27.0	1.71 (m)/1.87 (m)
3	88.69	90.7	3.16 (dd, 4.2; 12.0)
4	39392	40.8	-
5	55.86	57.0	0.81 (m)
6	18.52	19.3	1.43 (m)/157 (m)
7	33.08	33.9	1.16 (m)/2.87 (m)
8	39.56	40.2	-
9	48.01	49.0	1.6 (m)
10	37.01	37.9	-
11	23.77	24.5	1.95 (m)
12	123.3	124.3	5.34 (t, 3.0)
13	134.47	144.2	-
14	42.08	42.9	-
15	28.26	28.9	1.16 (m)/2.87 (m)
16	23.51	24.2	1.89 (m)/2.20 (m)
17	47.35		-
18	47.53	48.5	2.77 (dd, 4.2; 13.2)
19	41.68	42.6	2.10 (dd, 4.6; 13.2) 2.57 (t, 13.2)
20	148.39	149.4	-
21	30.08	30.8	2.16 (m)/2.25 (m)
22	37.61	38.5	1.58 (m)/1.92 (m)
23	28.26	28.6	1.07 (s)
24	16.94	17.0	0.87 (s)
25	15.66	16.1	0.99 (s)
26	17.52	17.9	0.83 (s)
27	26.05	26.2	1.21 (s)
28	175.82	177.4	-
29	107.33	107.4	4.63 (br s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.76	95.8	5.35 (d, 7.8)
2'	73.8	73.0	3.35 (m)
3'	78.31	78.1	3.42 (m)
4'	70.84	71.0	3.44 (m)
5'	77.85	77.8	3.52 (m)
6'	69.44	69.6	3.72 (dd, 5.4; 12.0) 4.13 (dd, 2.4; 12.0)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	105.30	104.7	4.34 (d)
2''	75.12	75.1	3.23 (dd, 7.8; 9.0)
3''	78.64	78.0	3.35 (m)
4''	71.51	71.6	3.30 (m)
5''	78.16	78.0	3.27 (m)
6''	62.64	62.8	3.69 (dd, 5.4; 12.0) 3.88 (dd, 1.8; 12.0)
3-O- $\alpha$ -ara			
1'''	107.48	107.1	4.30 (d, 6.6)
2'''	72.90	72.8	3.59 (m)
3'''	74.64	74.3	3.54 (m)
4'''	69.54	69.4	3.82 (br s)
5'''	66.22	66.3	3.54 (m)/3.85 (m)

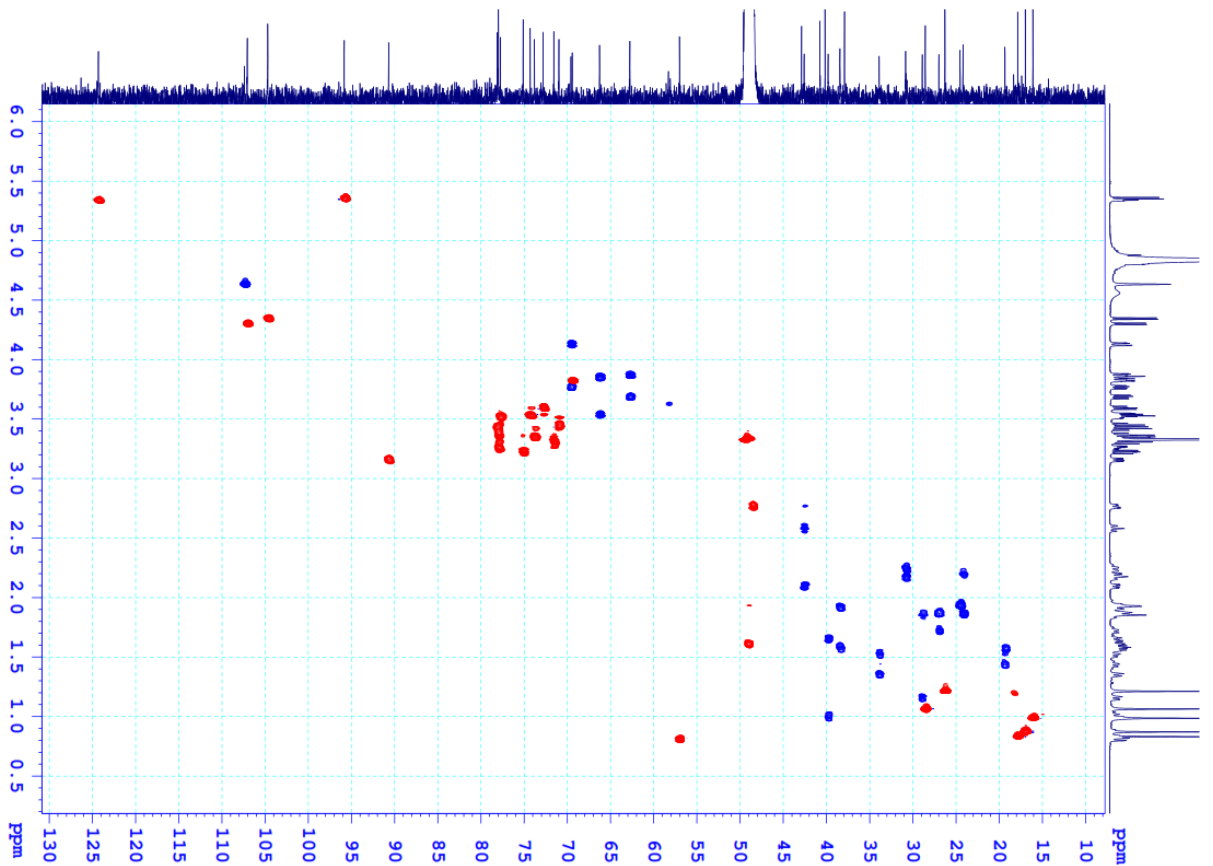
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta_C$  của Yernuoside YM<sub>11</sub> [55]



Hình 3.38. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất DO14

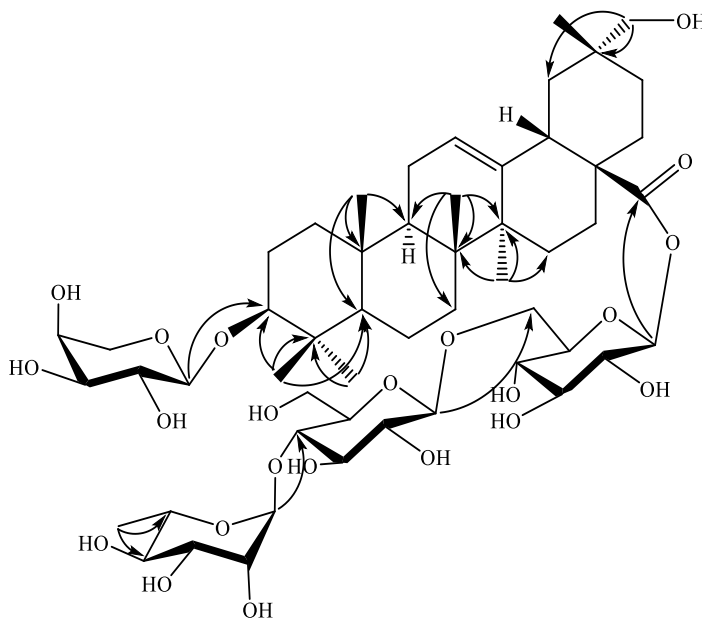


Hình 3.39. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO14



Hình 3.40. Phổ HSQC của hợp chất DO14.

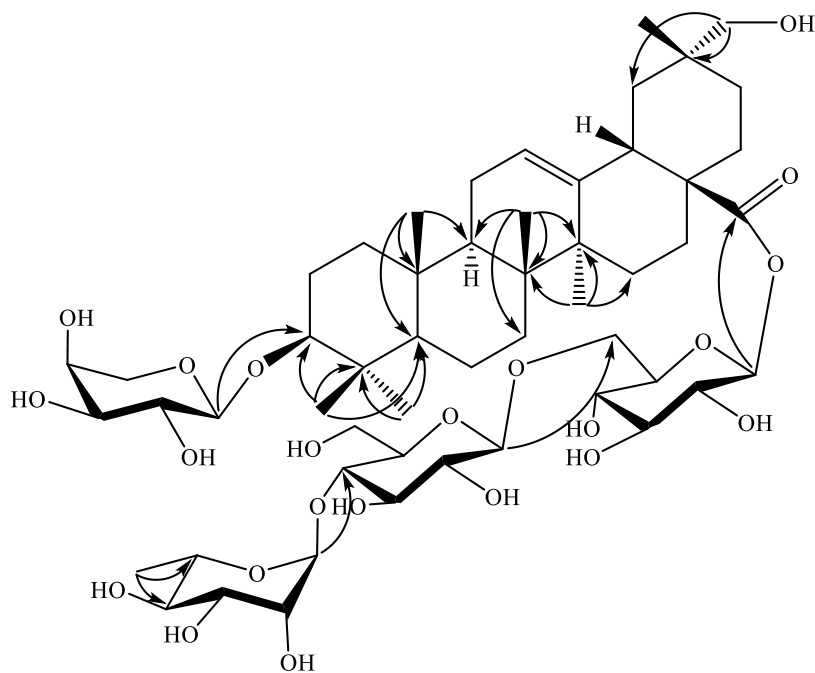
3.1.7. Hợp chất DO15: 3-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.



Hình 3.41 Cấu trúc hóa học của DO15



Hợp chất **DO15** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng, trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **DO15** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5.29 (1H, t,  $J = 3.0$  Hz); một proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3.16 (1H, dd,  $J = 4.2; 11.4$  Hz), bốn proton anomeric tại  $\delta_{\text{H}}$  5.37 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz); 4.86 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz), 4.43 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz và 4.3 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), tín hiệu proton của 7 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.29 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz), 1.18 (3H, s), 1.06 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.87 (3H, s), và 0.79 (3H, s). Phân tích phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC của **DO15** thấy xuất hiện tín hiệu của 53 cacbon trong đó tín hiệu của 8 cacbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_{\text{C}}$  178.0, 144.8, 48.4, 42.9, 40.7, 40.2, 37.9 và 36.8; 24 cacbon methin tại  $\delta_{\text{C}}$  123.9, 107.1, 104.2, 103.0, 95.8, 90.7, 79.6, 78.2, 78.1, 76.8, 76.7, 75.3, 74.3, 73.8, 73.8, 72.8, 72.4, 72.2, 71.7, 70.7, 69.5, 57.1, 49.0, 41.8, 7 cacbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  28.6, 26.3, 19.7, 17.8, 17.8, 17.0, và 16.1. Từ các phân tích phổ trên, cho thấy **DO15** cũng là một triterpene khung oleanan.



Hình 3.42 Các tương tác HMBC chính của **DO15**

Tương tác HMBC từ H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.06)/H-24 ( $\delta_{\text{H}}$  0.87) đến C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  90.7)/C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  40.7)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  57.1); từ H-25 ( $\delta_{\text{H}}$  0.98) đến C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  39.8)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  49.0)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  37.9); từ H-26 ( $\delta_{\text{H}}$  0.79) đến C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  33.9)/C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  40.2)/C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  49.0)/C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  37.9); từ H-27 ( $\delta_{\text{H}}$  1.18) đến C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  40.2)/C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  144.8)/C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  42.9)/C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  28.9); từ H-30 ( $\delta_{\text{H}}$  0.96) đến C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  36.8)/C-19 ( $\delta_{\text{C}}$  41.4)/C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  29.3), Từ H-29 ( $\delta_{\text{H}}$  3.21) đến C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  36.8)/C-19 ( $\delta_{\text{C}}$  41.4)/C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  29.3)/C-30 ( $\delta_{\text{C}}$  19.7), tương tác HMBC từ H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  5.29) đến C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  24.6)/C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  144.8) cho biết các giá trị tại các vị trí của khung và một nối đôi tại vị trí C-12/C-13; tương tác HMBC từ H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  5.37) đến C-28 ( $\delta_{\text{C}}$  178.0)/C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  76.8); từ H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.43) đến C-6' ( $\delta_{\text{C}}$

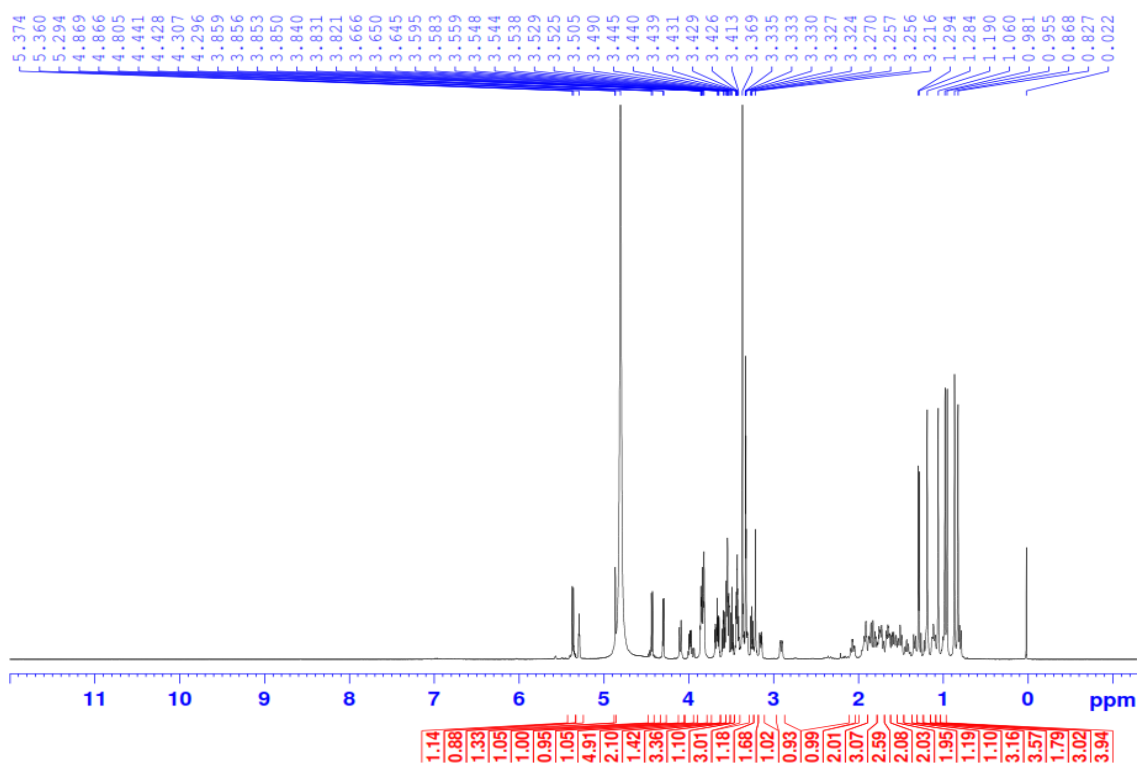
69.4)/C-3'' ( $\delta_C$  76.7); từ H-1'''' ( $\delta_H$  4.3) đến C-3 ( $\delta_C$  90.7), từ H-3 ( $\delta_H$  3.16) đến C-1 ( $\delta_C$  39.8)/C-2 ( $\delta_C$  27.0), Cho biết rõ hơn trình tự và vị trí liên kết của các đơn vị đường với nhau và với khung của hợp chất **DO15**. Thông qua các tín hiệu phổ của hợp chất **DO15** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **DO15** và tên của hợp chất này là 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester.

Bảng 3.7 Số liệu phổ  $^{13}C$ -NMR của hợp chất **DO15** và hợp chất tham khảo

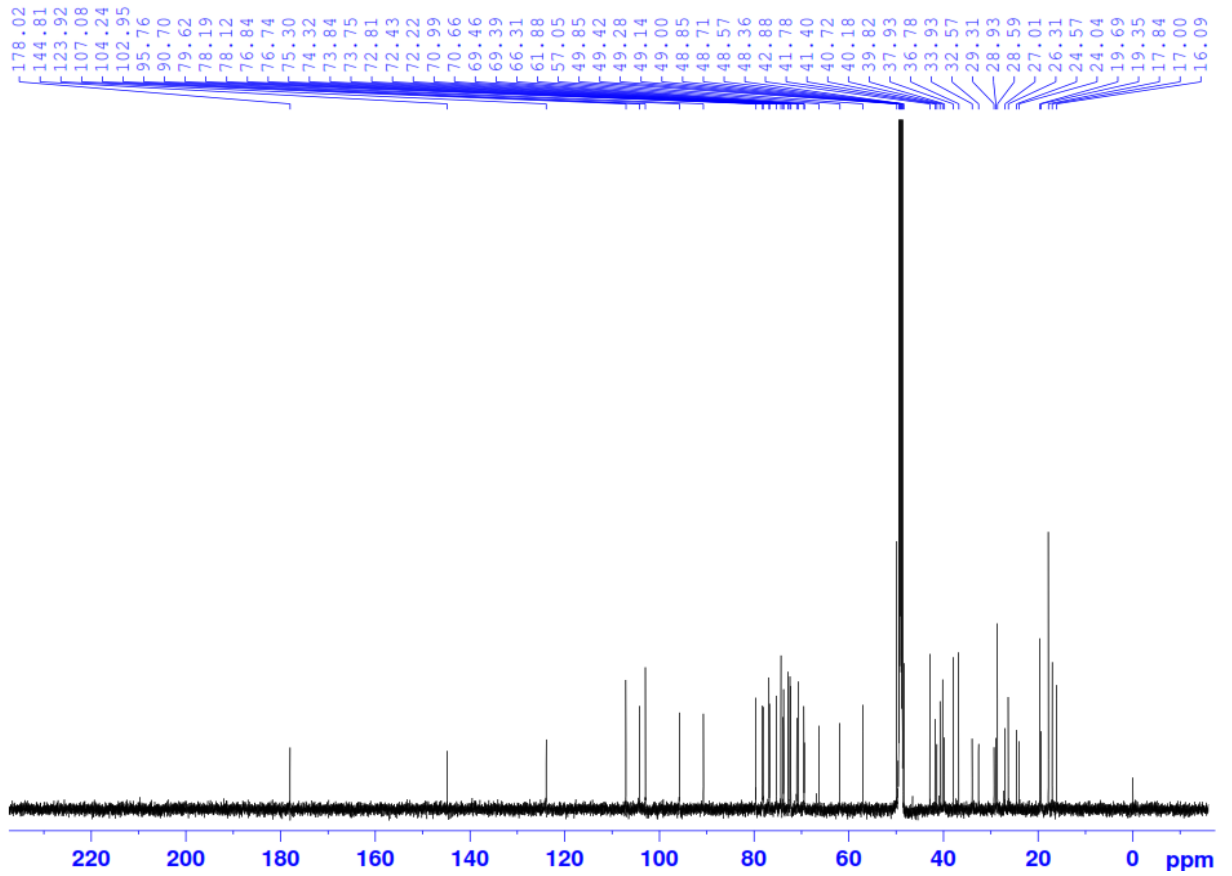
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., $J = \text{Hz}$ )
1	38.9	39.8	0.98 (m)/1.64 (m)
2	26.6	27.0	1.72 (m)/1.86 (m)
3	88.7	90.7	3.16 (dd, 4.2; 11.4)
4	40.7	40.7	-
5	55.9	57.1	0.80 (d, 11.4)
6	18.5	19.4	1.43 (m)/1.57 (m)
7	33.1	33.9	1.33 (m)/1.52 (m)
8	39.0	40.2	-
9	48.0	49.0	1.6 (m)
10	37.0	37.9	-
11	23.7	24.6	1.92 (m)/1.94 (m)
12	122.6	123.9	5.29 (t, 3.0)
13	144.1	144.8	-
14	42.1	42.9	-
15	28.2	28.9	1.10 (m)/1.80 (m)
16	23.7	24.0	1.74 (m) 2.07 (ddd, 3.0; 13.2; 13.2)
17	47.0	48.4	-
18	41.9	41.8	2.92 (dd, 3.6; 11.4)
19	46.2	41.4	1.12 (m) 1.83 (dd, 11.4; 11.4)
20	30.6	36.8	-
21	34.0	29.3	1.2 (m)/1.52 (m)
22	32.8	32.6	1.66 (m)/1.75 (m)
23	28.2	28.6	1.06 (s)
24	16.9	17.0	0.87 (s)
25	15.6	16.1	0.98 (s)
26	17.5	17.8	0.79 (s)
27	26.1	26.3	1.18 (s)
28	176.5	178.0	-
29		74.3	3.21 (s)
30		19.7	0.96 (s)
28-O- $\beta$ -Glu			
1'	95.6	95.8	5.37 (d, 7.8)
2'	73.9	73.8	3.36 (m)
3'	78.7	76.8	3.32 (m)
4'	70.9	71.0	3.42 (m)
5'	78.0	78.1	3.55 (m)
6'	69.2	69.4	3.82 (*)

			4.10 (dd, 1.2; 11.4)
6'-O- $\beta$ -Glu			
1''	104.8	104.2	4.43 (d, 7.8)
2''	75.3	75.3	3.26 (dd, 7.8; 9.0)
3''	76.5	76.7	3.48 (m)
4''	78.3	79.6	3.55 (m)
5''	77.0	78.2	3.43 (m)
6''	61.3	61.9	3.68 (m)/3.82 (m)
4'-O- $\alpha$ -Rha-			
1'''	102.7	103.0	4.86 (d, 1.8)
2'''	72.3	72.4	3.85 (dd, 1.8; 3.0)
3'''	72.6	72.2	3.65 (dd, 3.0; 9.0)
4'''	72.9	73.8	3.42 (m)
5'''	70.3	70.7	3.99 (m)
6'''	18.5	17.8	1.29 (d, 7.0)
3-O- $\alpha$ -Ara			
1''''	107.5	107.1	4.3 (d, 6.6)
2''''	72.8	72.8	3.59 (m)
3''''	74.6	74.3	3.53 (m)
4''''	69.5	69.5	3.82 (br s)
5''''	66.7	66.3	3.53 (*)/3.85 (*)

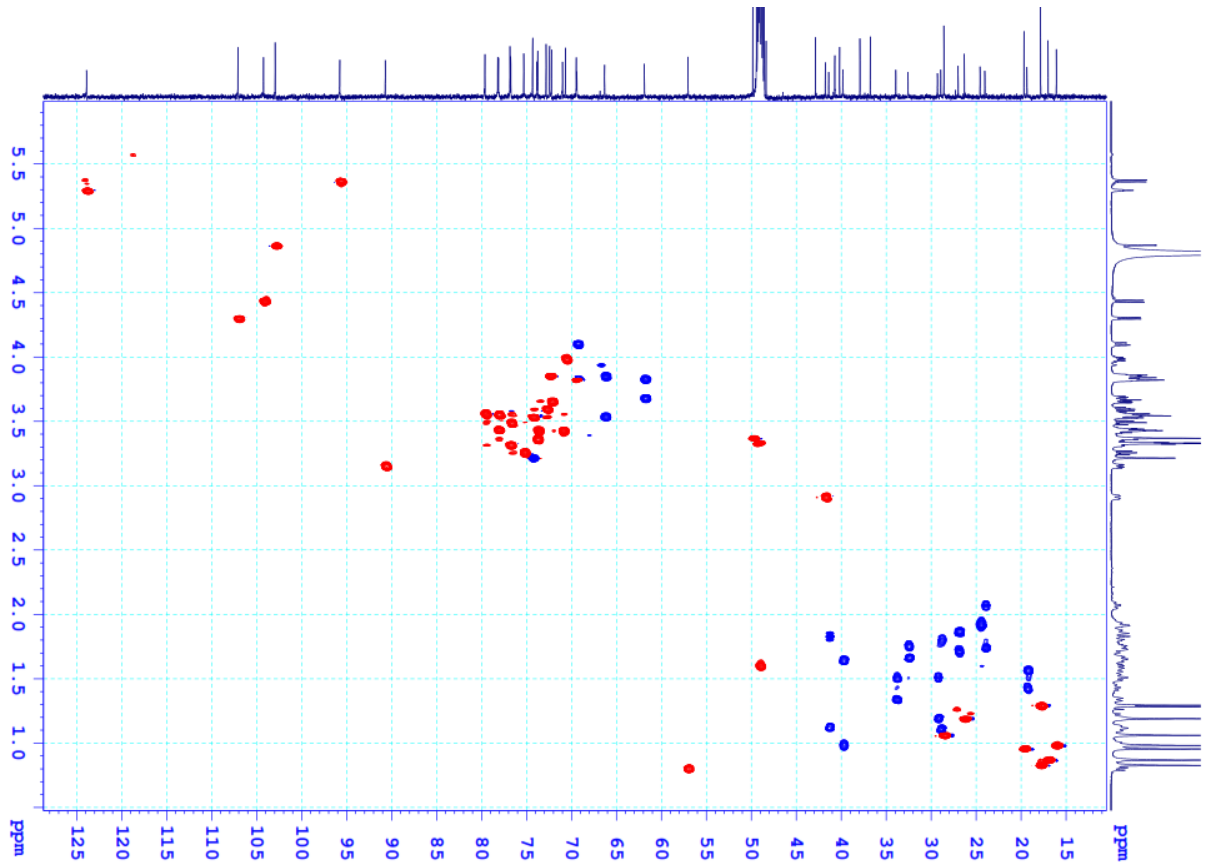
<sup>a</sup>đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta$ C của 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester. đo trong C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N. [10]



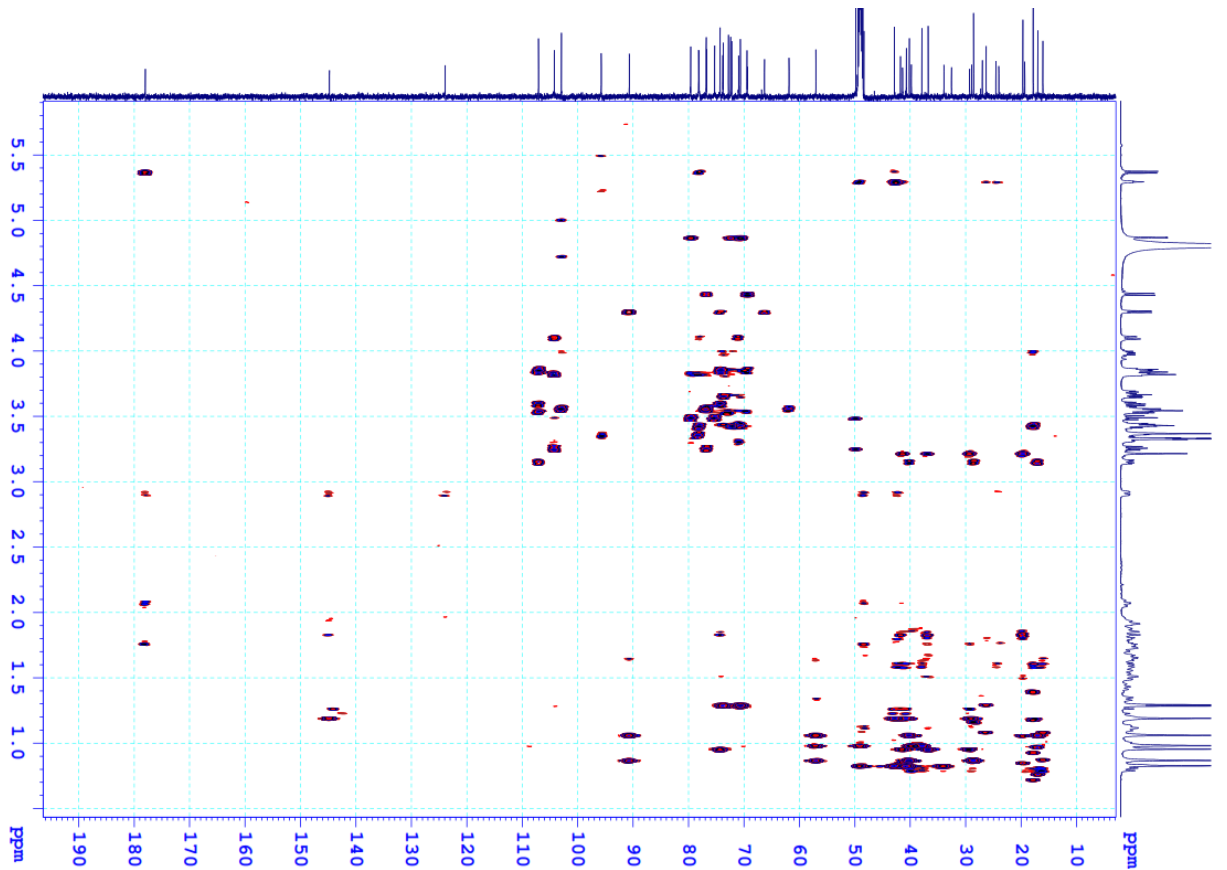
Hình 3.43. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO15.



Hình 3.44. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO15.

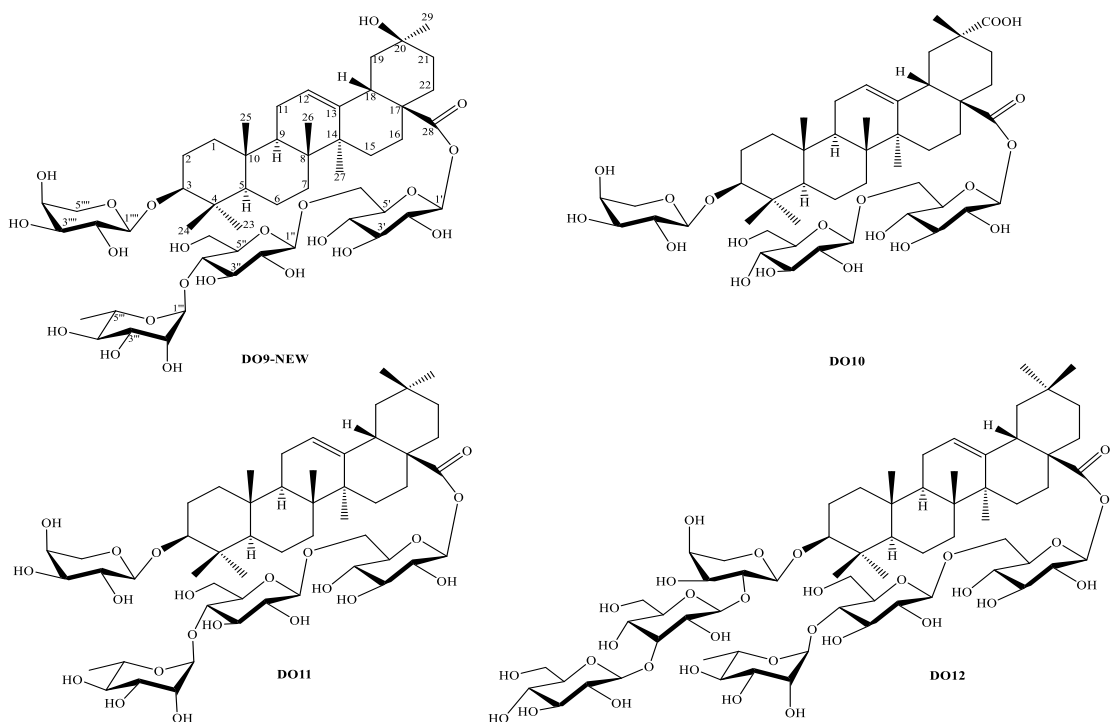


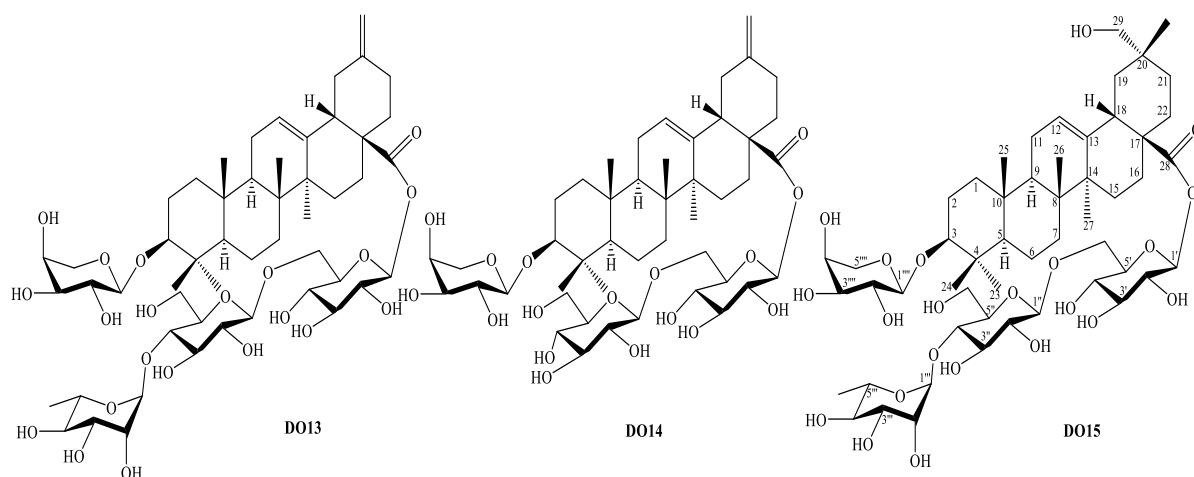
Hình 3.45. Phổ HSQC của hợp chất DO15.



Hình 3.46. Phổ HMBC của hợp chất DO15.

### 3.1.8. Tổng hợp cấu trúc các hợp chất phân lập từ loài lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*).





Hình 3.47 Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài *Dendrobium officinale*

### 3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được

Các hợp chất được thử khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase. Kết quả được thể hiện ở bảng dưới:

Bảng 3.1. Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase của các hợp chất

Hợp chất	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	
	$\alpha$ -glucosidase	$\alpha$ -amylase
<b>DO9</b>	99.6 $\pm$ 3.4	135.2 $\pm$ 3.3
<b>DO10</b>	>200	127.4 $\pm$ 3.1
<b>DO11</b>	107.7 $\pm$ 2.9	>200
<b>DO12</b>	>200	166.5 $\pm$ 3.7
<b>DO13</b>	40.5 $\pm$ 1.9	44.5 $\pm$ 2.3
<b>DO14</b>	42.4 $\pm$ 2.5	39.8 $\pm$ 2.5
<b>DO15</b>	136.5 $\pm$ 3.7	148.6 $\pm$ 4.2
<b>Acabose<sup>a</sup></b>	47.1 $\pm$ 1.4	145.7 $\pm$ 2.2

<sup>a</sup>) Đối chứng dương: Acabose

Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase của các hợp chất phân lập được từ loài Lan thạch học tía ta thấy:

- Hợp chất **DO13** và **DO14** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase mạnh hơn cả đối chứng acarbose (một dược chất đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân bị tiểu đường) với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 40.5 $\pm$ 1.9  $\mu$ M; 42.4 $\pm$ 2.5  $\mu$ M và 44.5 $\pm$ 2.3  $\mu$ M; 39.8 $\pm$ 2.5  $\mu$ M.

- Hợp chất **DO9** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $99.6 \pm 3.4 \mu\text{M}$  và  $135.2 \pm 3.3 \mu\text{M}$
- Hợp chất **DO10** và **DO12** ức chế 1 enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  là  $127.4 \pm 3.1 \mu\text{M}$  và  $166.5 \pm 3.7 \mu\text{M}$ .
- Hợp chất **DO11** ức chế 1  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là  $107.7 \pm 2.9 \mu\text{M}$ .
- Hợp chất **DO15** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $136.5 \pm 3.7 \mu\text{M}$  và  $148.6 \pm 4.2 \mu\text{M}$

## CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Luận văn “**Nghiên cứu thành phần Saponin và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase từ cây Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale* Kimura & Migo)**” đã đạt được một số kết quả như sau:

- Sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và xác định cấu trúc 7 hợp chất từ loài Lan thạch hộc (*Dendrobium officinale*), trong đó có 1 hợp chất mới là Dendrocinaoside F (**DO9** 15,2 mg) và 6 hợp chất đã biết: 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ -hydroxyolean-12-ene-28,29-dioic (**DO10** 15,5 mg), 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-oleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**DO11** 22,5 mg), 3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopyranoside 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**DO12** 20,1mg), Yemuoside YM14 (**DO13** 51 mg), Yemuoside YM11 (**DO14** 23,4 mg) và 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-29-hydroxyoleanolic acid 28-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**DO15** 20,3 mg).

- Đánh giá khả năng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase của 5 hợp chất phân lập được từ loài Lan thạch hộc tía. Hợp chất **DO13** và **DO14** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase mạnh hơn cả đối chứng acarbose (một dược chất đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân bị tiểu đường) với  $IC_{50}$  lần lượt là  $40.5 \pm 1.9 \mu M$ ;  $42.4 \pm 2.5 \mu M$  và  $44.5 \pm 2.3 \mu M$ ;  $39.8 \pm 2.5 \mu M$ . Hợp chất **DO9** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $99.6 \pm 3.4 \mu M$  và  $135.2 \pm 3.3 \mu M$ . Hợp chất **DO10** và **DO12** ức chế 1 enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  là  $127.4 \pm 3.1 \mu M$  và  $166.5 \pm 3.7 \mu M$ . Hợp chất **DO11** ức chế 1  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là  $107.7 \pm 2.9 \mu M$ . Hợp chất **DO15** ức chế cả 2 enzym  $\alpha$ -glucosidase và enzym  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $136.5 \pm 3.7 \mu M$  và  $148.6 \pm 4.2 \mu M$ .

### 4.2 Kiến nghị

- Dự kiến với những kết quả hoạt tính đạt được, em sẽ nghiên cứu sâu hơn về cơ chế tác dụng điều trị tiểu đường của các chất phân lập được, đặc biệt là chất mới DO9. Ngoài ra, em cũng sẽ nghiên cứu thử nghiệm trên động vật thực nghiệm (chuột nhắt trắng)



## CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

Pham Hai Yen, Bui Huu Tai, Dan Thi Thuy Hang, Le Doan Tung Lam, Duong Thi Dung, Do Thi Trang, Duong Thi Hai Yen, Nguyen Huy Hoang, Phan Thi Thanh Huong, Nguyen Viet Dung, Ngo Anh Bang, Nguyen Duc Duy and Phan Van Kiem, Discovery of new triterpene glycosides from *Dendrobium officinale* with their  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity, RSC Adv., 2024, 14, 12147 (Q2, IF 3.9) doi: 10.1039/D4RA01483A

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bích, Đ. H., Trung, Đ. Q., Chương, B. X., Dong, N. T., Đàm, Đ. T., Hiền, P. V., Lộ, V. N., Mai, P. D., Mãn, P. K., Thu, Đ. T., Tập, N., and Toàn, T., Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. (2004) *Nhà xuất bản Khoa học và Công Nghệ Hà Nội*: Vol. 1, 827-828.
2. Nguyễn Thanh Thuận (2015): “Giá trị dược liệu của cây Lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)”, *Tạp chí Đại học Thủ Dầu Một*, số 6 (25)
3. H. Yu, Y. Qu, and S. Chen, “Eicacy of Golden *Dendrobium* tablets on clearing and smoothing laryngopharynx,” *Yunnan University Natural Sciences*, vol.27, no.5, (2005), p.440.
4. X. X. Li, *The Phylogenetic of Chinese Dendrobium and Protection and Genetics Research on Dendrobium Oicinale*, Nanjing Normal University, Nanjing, China, (2009).
5. Lv, Gui-Yuan, Mei-Qiu Yan, and Su-Hong Chen. "Review of pharmacological activities of *Dendrobium officinale* based on traditional functions." *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica* 38.4 (2013): 489-493.
6. Luo, Qiu-lian, et al. "Chemical properties and antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium officinale*." *International Journal of Biological Macromolecules* 89 (2016): 219-227.
7. He, Tao-Bin, et al. "Structural characterization and immunomodulating activity of polysaccharide from *Dendrobium officinale*." *International journal of biological macromolecules* 83 (2016): 34-41.
8. Pan, Li-Hua, et al. "Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species." *International Journal of Biological Macromolecules* 64 (2014): 420-427.
9. Wu, H. S., et al. "Studies on anti-hyperglycemic effect and its mechanism of *Dendrobium candidum*." *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica* 29.2 (2004): 160-163.
10. H. L. Chang, "Effect of *Dendrobium officinale* on JNK, AKT protein phosphorylation expression in islet tissue of type 2 diabetic rats", *Chinese Pharmaceutical Affairs*, 29 (1), ( 2015): 54–57
11. Y. M. Li, P. Wu, X. J. Xie, H. L. Yao, L. P. Song, and D. F. Liao, “Effects of *Dendrobii officinalis caulis* on serum lipid, TNF- $\alpha$  and IL-6 in apolipoprotein E-deficient mice,” *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 19(18), (2013): 270–274
12. R. Z. Wu, B. X. Yang, Y. P. Li et al., “Experimental study of *Dendrobium officinale* polysaccharides on anti-hypertensivestroke effects of SHR-sp

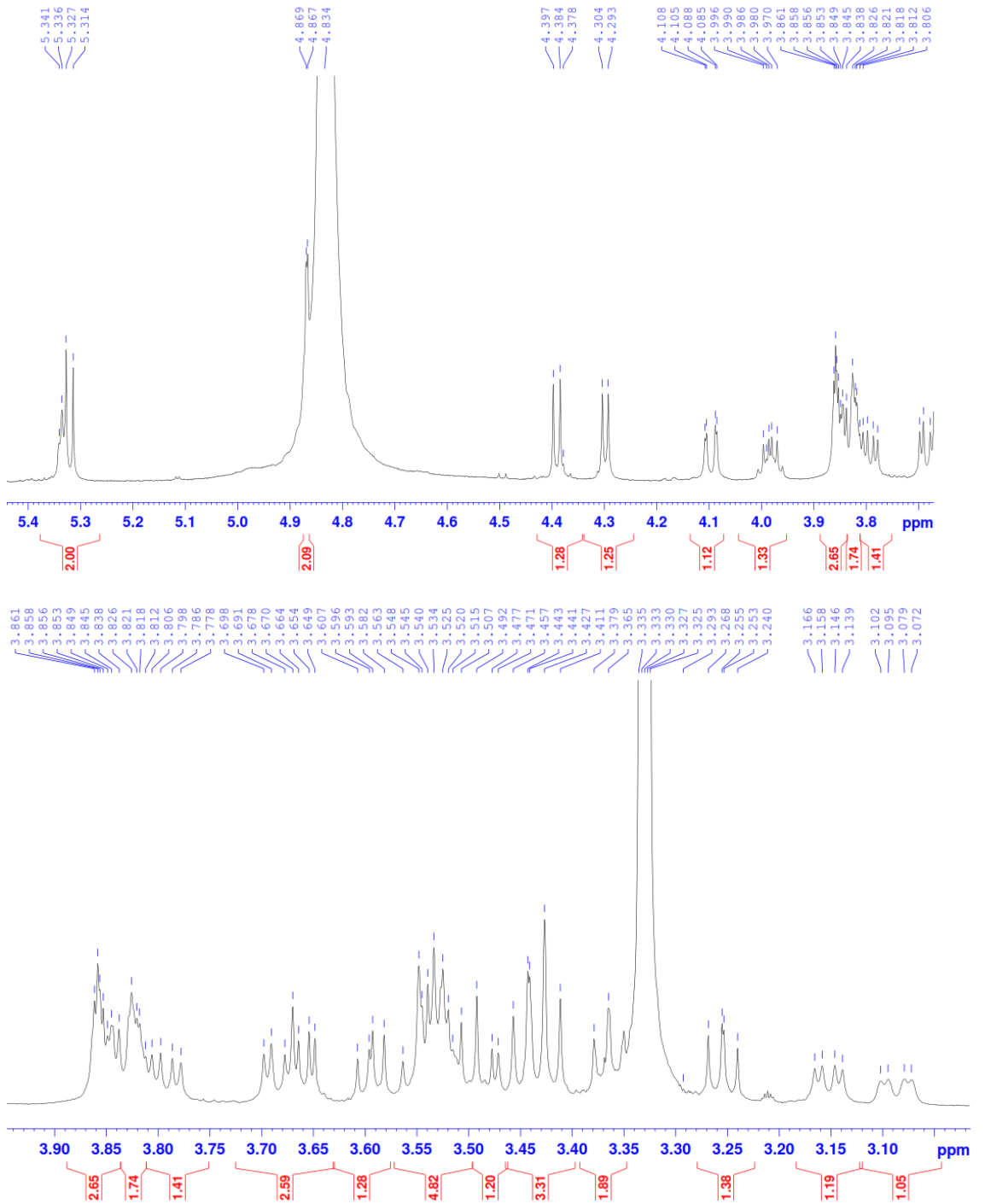
- mice,” Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 18(3), (2011): 204–210
13. S. L. Li, Comparison of Intervention Effects of Polysaccharides from Six *Dendrobium* Species on Alcoholic Liver Injury, Hefei University of Technology, Anhui, China, 2013
  14. P. Deng, Studies on the Curing of Nasopharyngeal Carcinoma (NPC) with Oicinal *Dendrobium* Stem, Guangxi Medical University, Guangxi, China, 2010
  15. Ge, Y. H., et al. "Effects of fresh *Dendrobium officinale* polysaccharides on immune function in mice with Lewis lung cancer." *Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine* 49.4 (2014): 277-279.
  16. Y. J. Liu, Effect of *Dendrobium oicinale* Polysaccharides on Mouse Embryonic Stem Cells and Study on its Anti-Tumor and Immune Activity, Zhejiang University of Technology Zhejiang, 2014
  17. H. Q. Tang, H. Chen, Y. Wei, and L. Lu, “Effects of *Dendrobium officinale* on energy metabolism and expression of CNTF mRNA in athletic fatigue mice,” Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 20 (15), (2014): 164–167
  18. Feng, Yi, et al. "The lowest doses of *Dendrobium officinale* for improving sports ability, anti-fatigue and immune ability of mice." *Journal of Southern Agriculture* 45.6 (2014): 1089-1093.
  19. X. Feng and X. Zhao, “Prevention effect of *Dendrobium officinale* aqueous extract to SD rats with gastric injury,” *Jiangsu Agricultural Sciences*, 41(7), (2013): 294–296
  20. C.Y.Liang, H.B.Li, S.Z.Hou, J.Zhang, S.Huang, and X. P. Lai, “*Dendrobium officinale* hepatic protection and antiulcerative effects,” *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*, 15(2),( 2013): 234–237
  21. Feng, Xu, et al. "Research on toxicological security of *Dendrobium candidum* protocorms." *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* 3 (2014): 355-358.
  22. Fu, J. Y., et al. "Toxicity and Safety Evaluation of *Dendrobium officinale*'s extracting solution." *Zhejiang Journal of Preventive Medicine* 4 (1998): 250-251.
  23. S. Z. Hou, S.Huang, Y.M.Liangetal., “The medicinal use of *Dendrobium officinale*,” China Patent CN102552698A, 2012
  24. B. Liu, Q.Q.Chen, Y.Liuetal., “Preparation method of *Dendrobium candidum* plant protein lactic acid drink,” China Patent CN102940038A, 2013

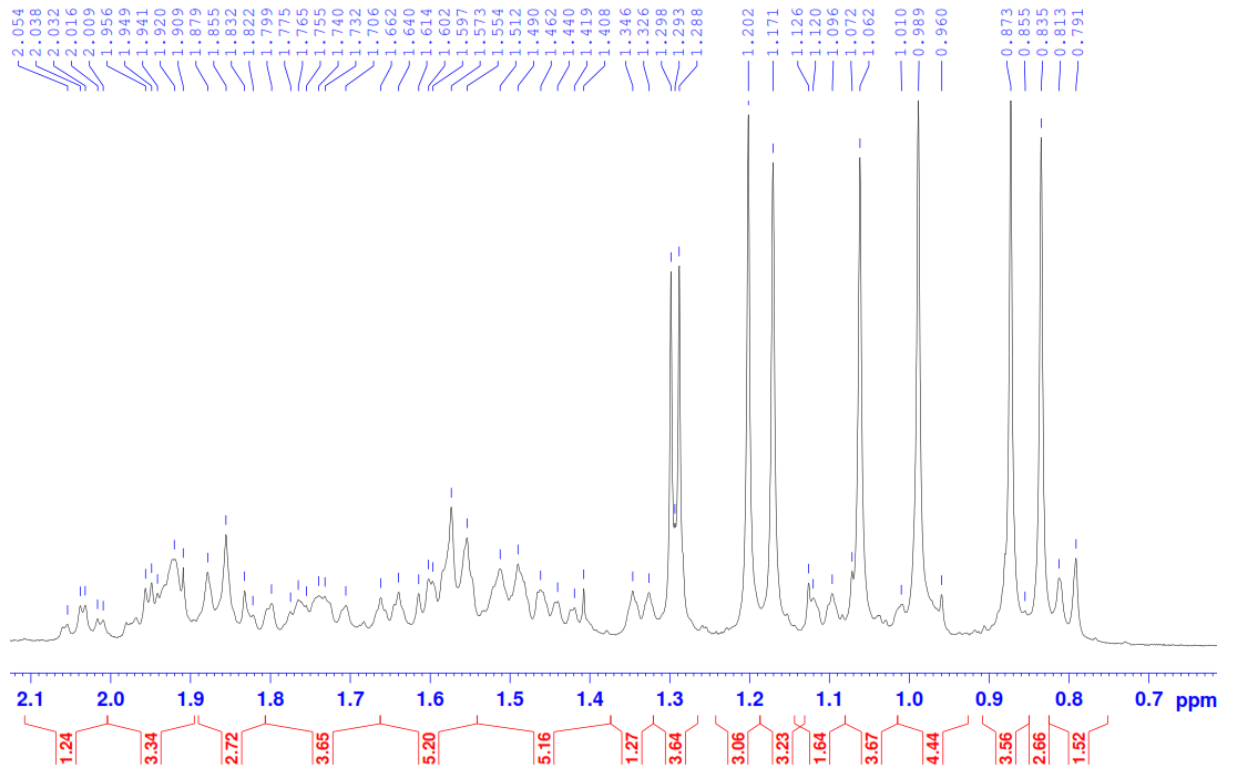
25. Z. H. He and X. P. He, "One kind of anti-asthenopia *Dendrobium candidum*," China Patent CN103961556A, 2014
26. Z. H. He and X. P. He, "One kind of immuno-enhancement *Dendrobium officinale* health products," China Patent CN103816389A, 2014
27. L. Z. Chen, Z. J. Lou, R.Z.Wu et al., "The application of *Dendrobium officinale* polysaccharides of the medicine preventing and treating hypertension and stroke," China Patent CN101849957B, 2012
28. C. G. Cai, W.D.Zhang and M.R.Zhang, One kind of hypoglycemic and hypolipidemic *Dendrobium officinale* compound and its preparation method, China Patent CN104126746A, 2014
29. China Food Drug Administration, <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0001/>
30. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, 2003, NXB Y Học
31. Duyên, Nguyễn Thị, and Vũ Thị Ánh. " nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá độc tính cấp của Lan thạch học tía." TNU Journal of Science and Technology 166.06 (2017): 165-168.
32. Cai, G. X., et al. "Applications of *Dendrobium officinale* in ancient and modern times." Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan 31.5 (2011): 77-81.
33. M.J, Yang, et al. "Effects of dendrobium candidum capsules on immune responses in mouse." Jiangsu Journal of Preventive Medicine 19 (4) (2008): 11-13
34. Huang, Chongping, et al. "Effects of exogenous salicylic acid on the physiological characteristics of *Dendrobium officinale* under chilling stress." Plant Growth Regulation 79.2 (2016): 199-208.
35. Hou, Shao-zhen, et al. "*Dendrobium officinale* prevents early complications in streptozotocin-induced diabetic rats." Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2016 (2016).
36. Song, Tian-He, et al. "*Dendrobium officinale* polysaccharides ameliorated pulmonary function while inhibiting mucin-5AC and stimulating aquaporin-5 expression." Journal of Functional Foods 21 (2016): 359-371.
37. Xing, Xiaohui, et al. "Study on *Dendrobium officinale* O-acetylglucomannan (Dendronan®): Part I. Extraction, purification, and partial structural characterization." Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 4.1 (2014): 74-83.
38. Xin, Ming, et al. "Effects of different drying methods on polysaccharides and dendrobine from *Dendrobium candidum*." Journal of Southern Agriculture 44.8 (2013): 1347-1350.

39. Y.Zhu, J.P.Si, B.L.Guo, B.W.He, and A.L.Zhang, "the content variation regularity of cultivated *Dendrobium candidum* polysaccharides," *China Journal of Chinese Materia Medica*, vol.35, no.4, (2010), pp.427–430.
40. Shang, X. Y. "Distribution of polysaccharides from different sources and in different parts of *Dendrobium officinale*." *Chinese Journal of Modern Drug Application* 4.13 (2010): 104-105.
41. Sheng, J. R., et al. "Advances in the study of polysaccharide from *Dendrobium officinale*." *Journal of Guangxi Academy of Sciences* 27.4 (2011): 338-340.
42. Xing, Xiaohui, et al. "Study on *Dendrobium officinale* O-acetyl-glucomannan (Dendronan®): Part II. Fine structures of O-acetylated residues." *Carbohydrate polymers* 117 (2015): 422-433.
43. Cai, Hai-lan, et al. "Study on *Dendrobium officinale* O-acetyl-glucomannan (Dendronan®): Part III–Immunomodulatory activity in vitro." *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5.2 (2015): 99-105.
44. Thủy, Nguyễn Hải. "Cập nhật chẩn đoán và điều trị tiền đái tháo đường." *Vietnam Journal of Diabetes and Endocrinology* 46 (2021): 9-25.
45. Su, P. "Research on the Molecular Mechanism of Erianin Anti-Hepatoma Effect." University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, China (2011).
46. Li, Yan, et al. "Chemical constituents of *Dendrobium candidum*." *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica* 35.13 (2010): 1715-1719.
47. Chang, Jun, et al. "Seven new sesquiterpene glycosides from the root bark of *Dictamnus dasycarpus*." *Journal of natural products* 64.7 (2001): 935-938.
48. Shao, JinMing, et al. "Analysis on chemical constituents of volatile oil from stem and leaf of *Dendrobium officinale* by GC-MS." *Guizhou Agricultural Sciences* 42.4 (2014): 190-193.
49. Miller, Jessica A., et al. "Plasma metabolomic profiles of breast cancer patients after short-term limonene intervention." *Cancer Prevention Research* 8.1 (2015): 86-93.
50. Hammond, David G., Sergio Rangel, and Isao Kubo. "Volatile aldehydes are promising broad-spectrum postharvest insecticides." *Journal of agricultural and food chemistry* 48.9 (2000): 4410-4417.
51. Suzuki, S. K. "Study on Chinese Flickingeria alkaloids (*Dendrobium* Alkaloids research." *Pharmaceutical Journal* 52.12 (1932): 1049-1060.
52. Guo, Xu, et al. "Analysis of the *Dendrobium officinale* transcriptome reveals putative alkaloid biosynthetic genes and genetic markers." *Gene* 527.1 (2013): 131-138.

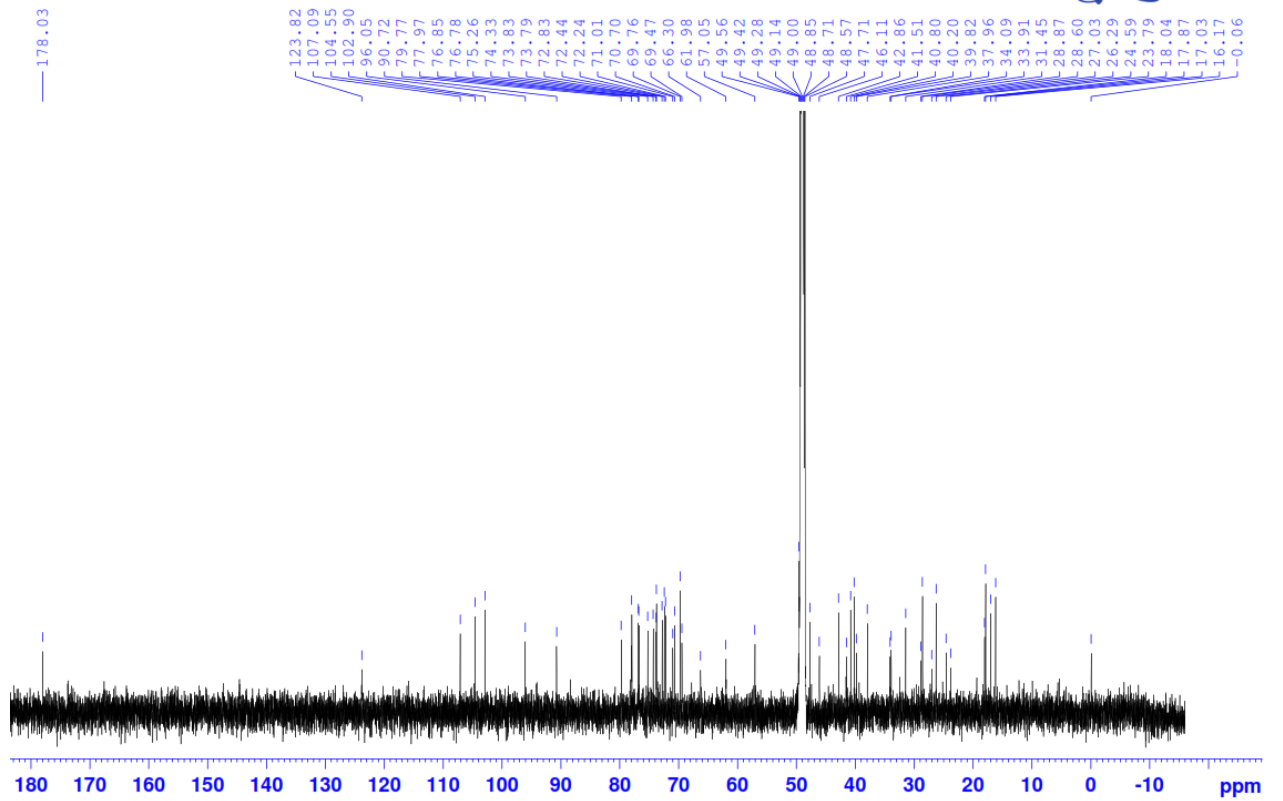
53. Chun J. S., Ryoji K., Jing D. X. and Osamu T. "Saponins from Leaves of *Acanthopanax senticosus* HARMS., *Ciwujia* : Structures of Ciwujianosides B, C1, C2, C3, C4, D1, D2 and E", *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* (1988) 36(2), 601-608
54. Wei, X., Gao, D. F., Abe, Y., Tanaka, Y., Zhu, H. T., Wang, D., Yang, C. R., and Zhang, Y. J. Triterpenoid saponins with hepatoprotective effects from the fresh leaves of *Metapanax delavayi*, *Nat Prod Res* (2020) 34, 1373-1379.
55. Wang, H.B., et al., *Yemuoside YM7, YM11, YM13, and YM14: Four Nortriterpenoid Saponins from Stauntonia chinensis*. *Planta Med*, 1989. **55**(3): p. 303-6
56. Vassallo, A., et al., *Antiproliferative Oleanane Saponins from Dizygotheca Elegantissima*. *Natural product communications*, 2012. **7**: p. 1427-30.
57. Shao, C.-J., et al., *Saponins from Leaves of Acanthopanax senticosus HARMS., Ciwujia. II. : Structures of Ciwujianosides A<SUB>1</SUB>, A<SUB>2</SUB>*

# PHỤ LỤC PHỔ

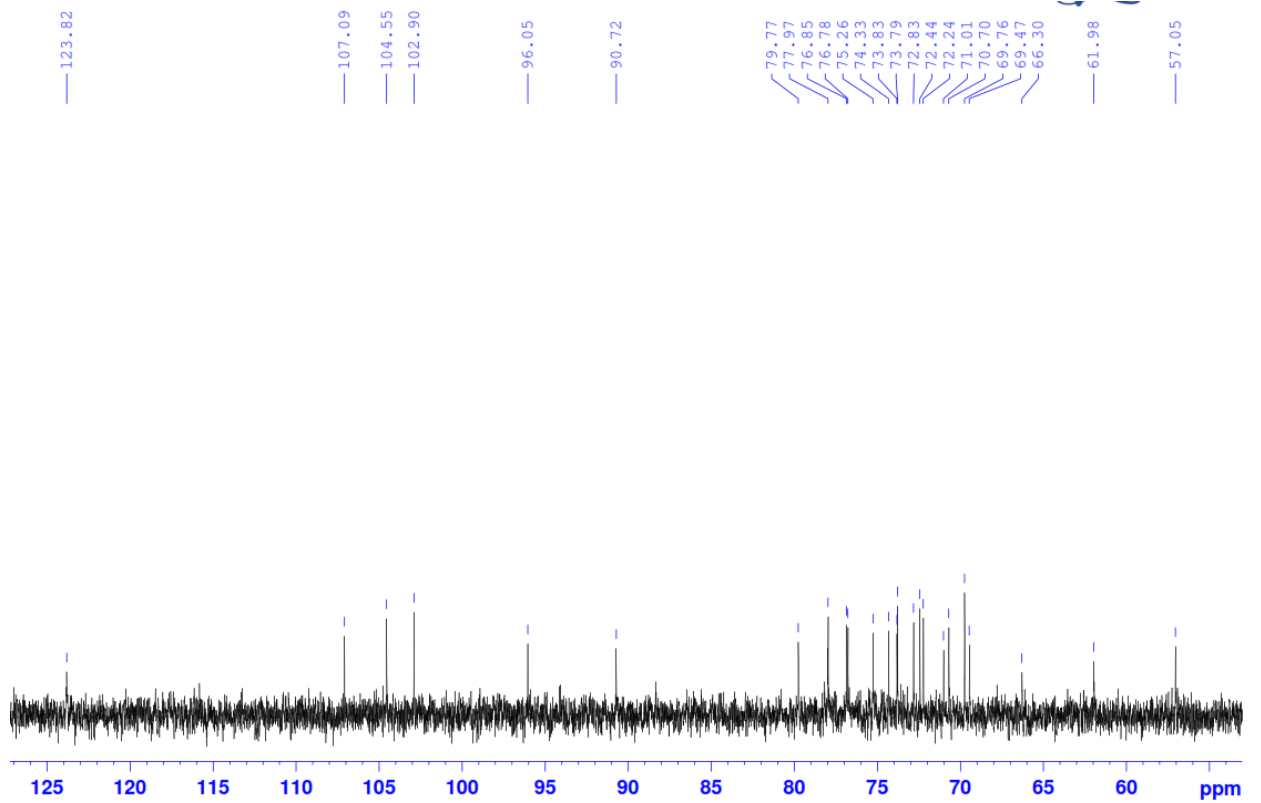
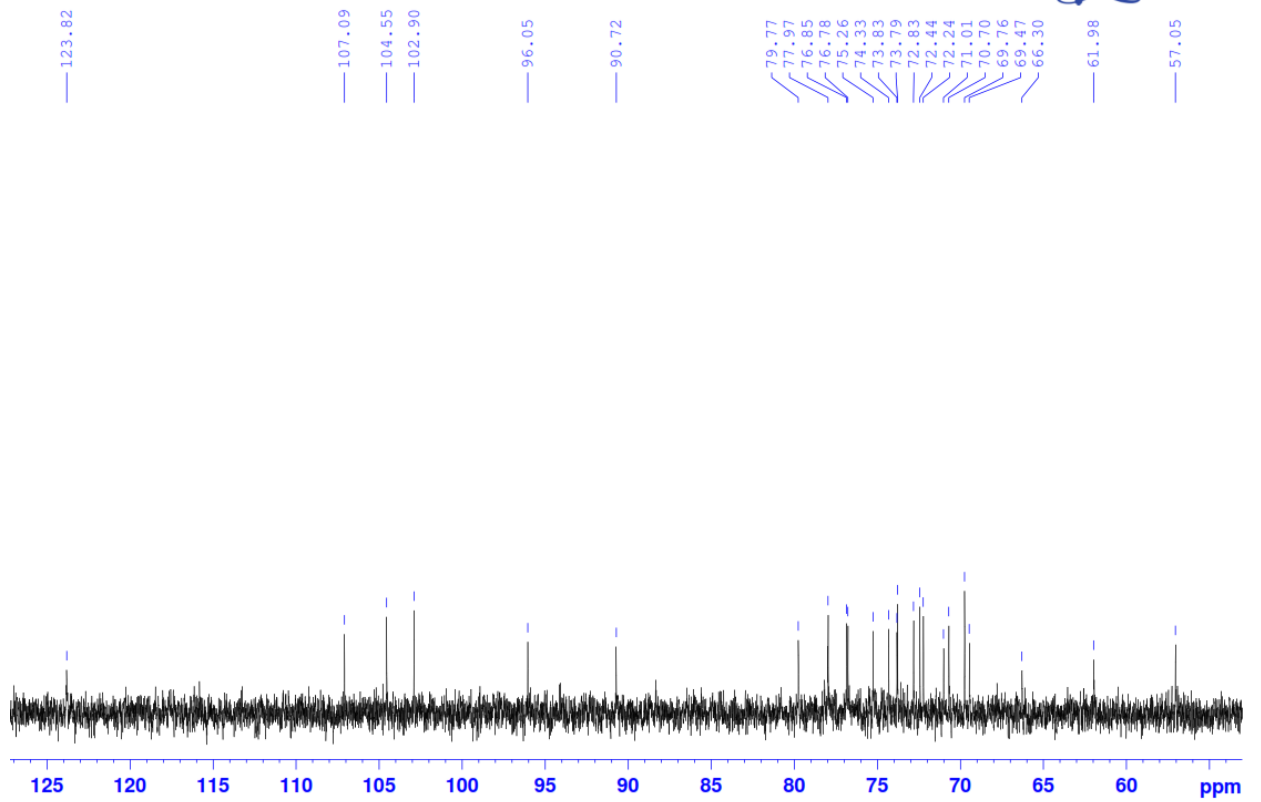




Phụ Lục 1 Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất DO9

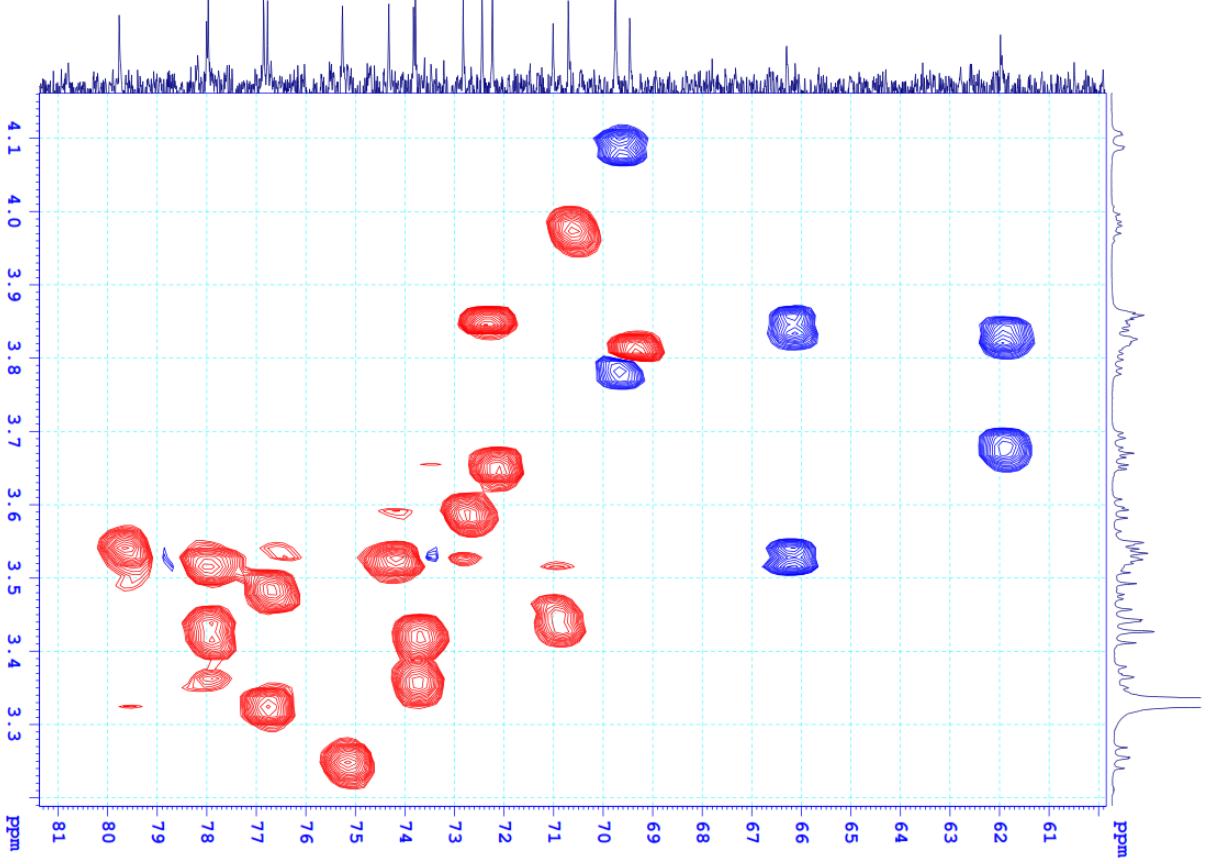
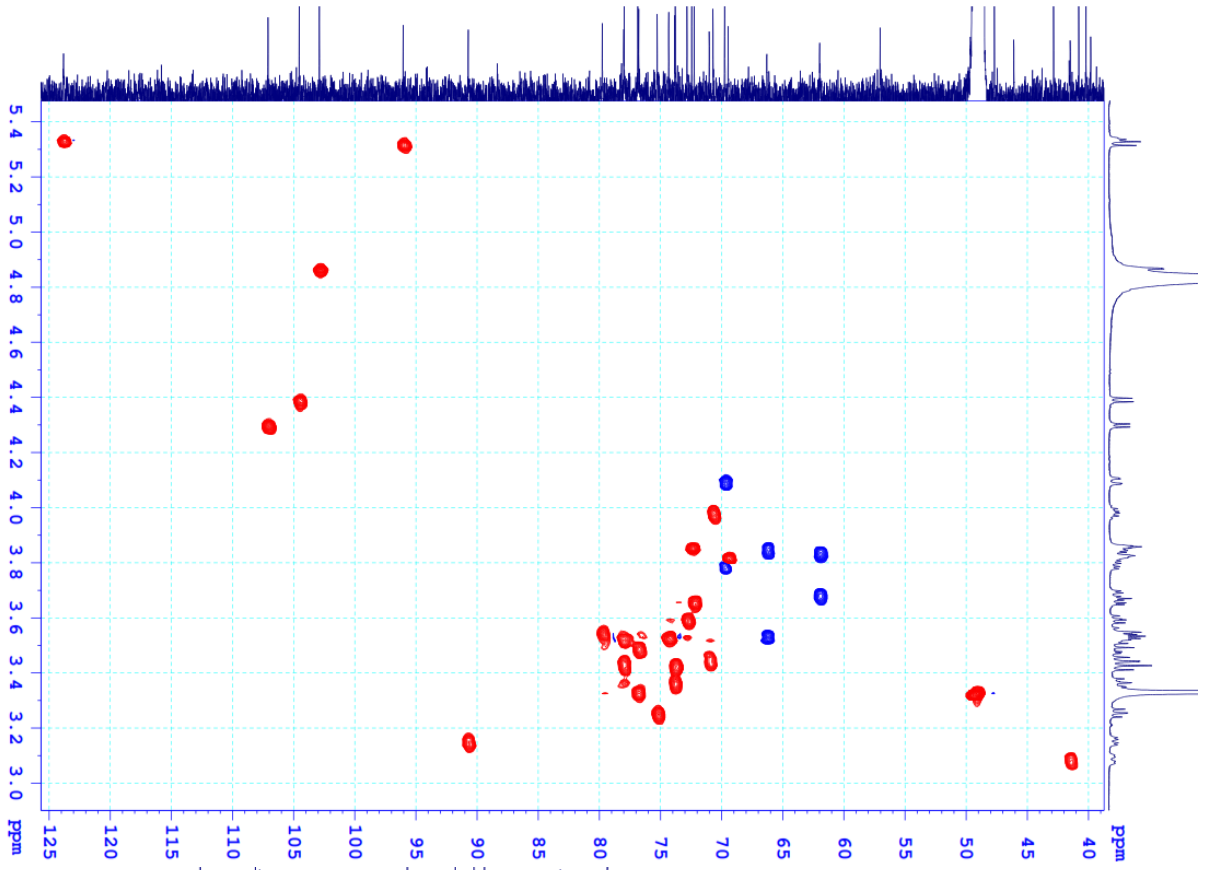


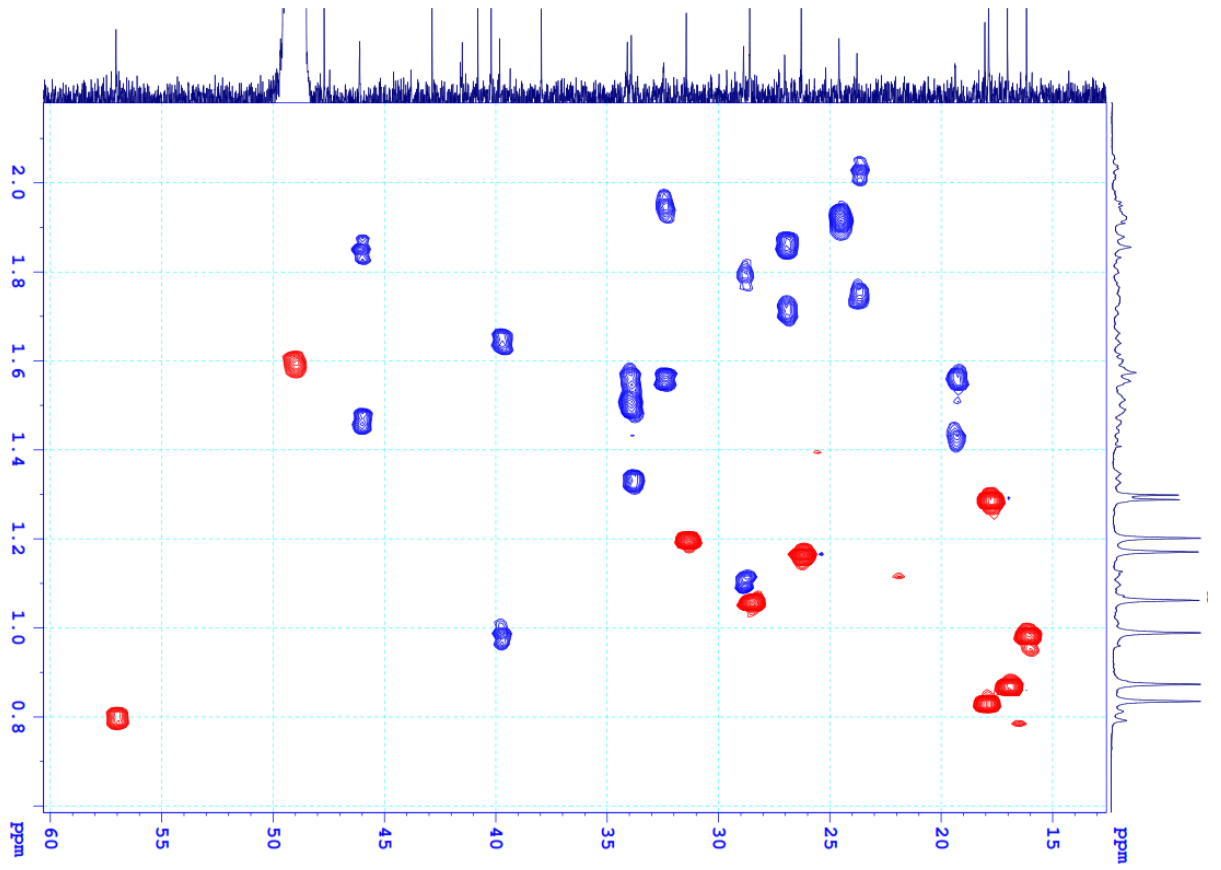




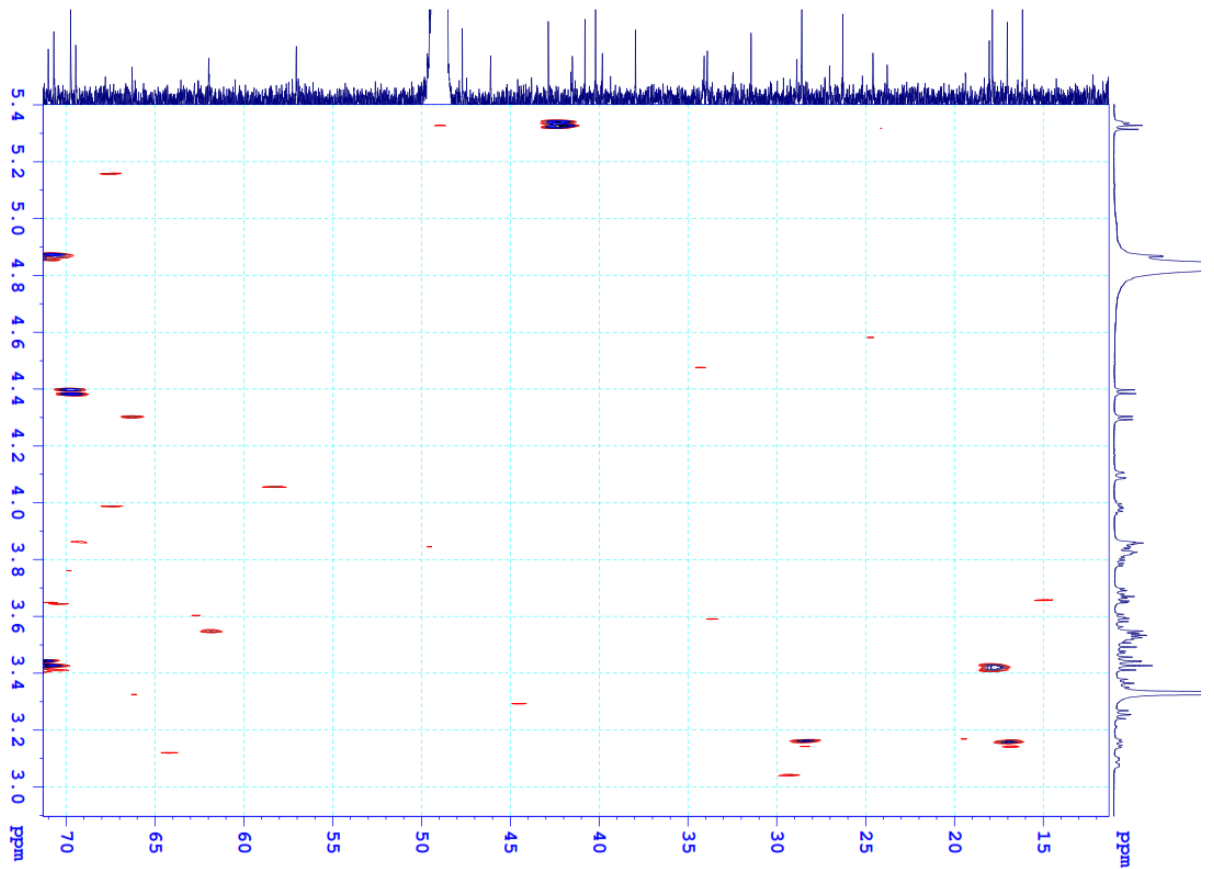
Phụ Lục 2 Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO9

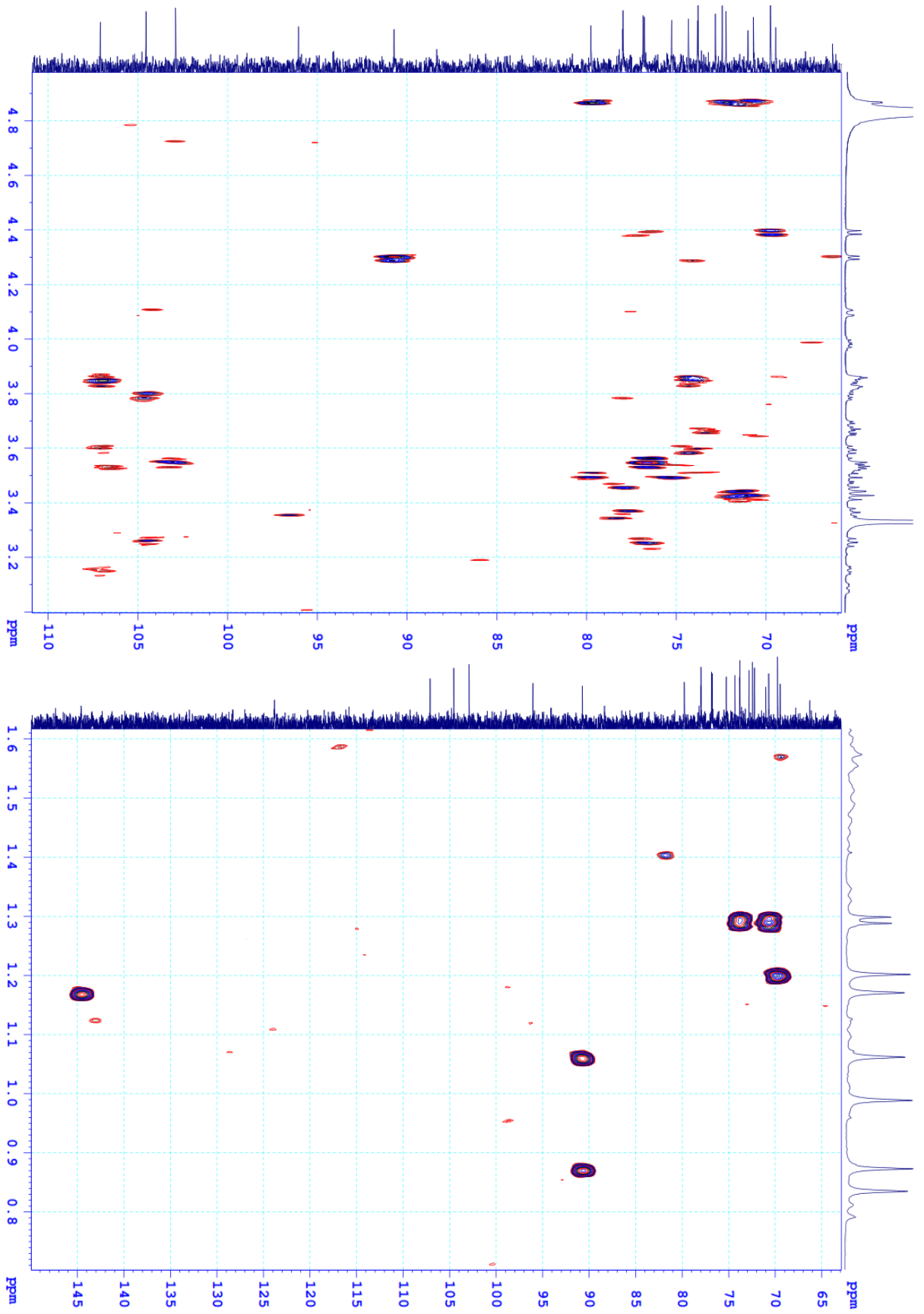
PL4





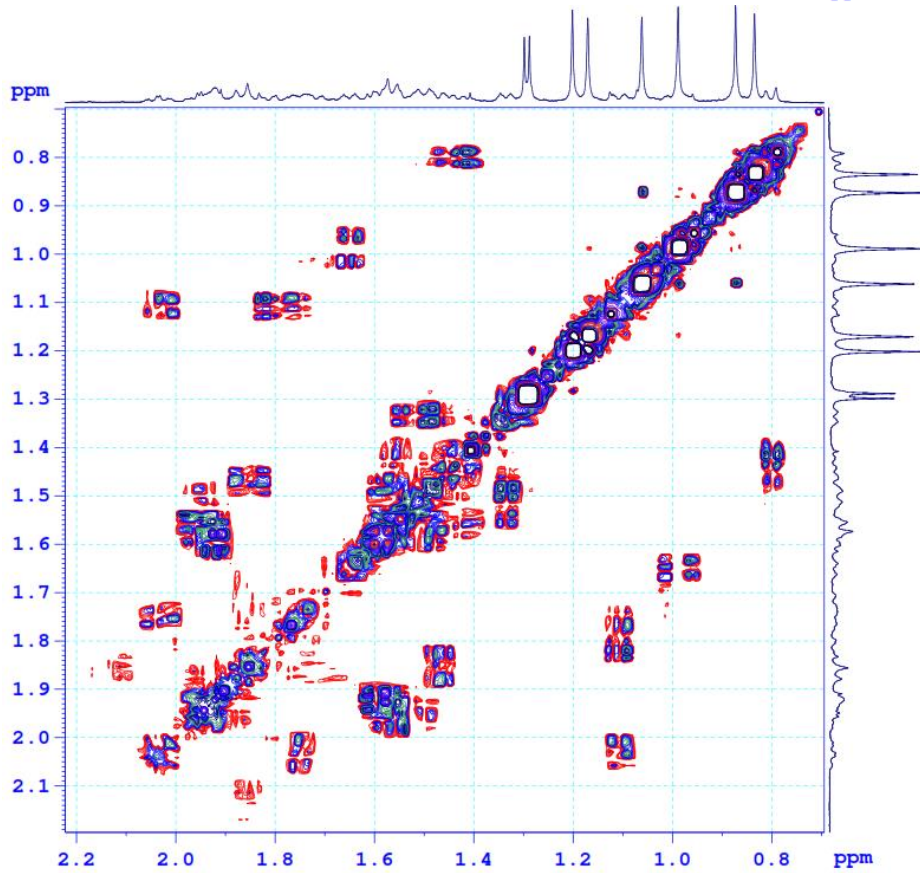
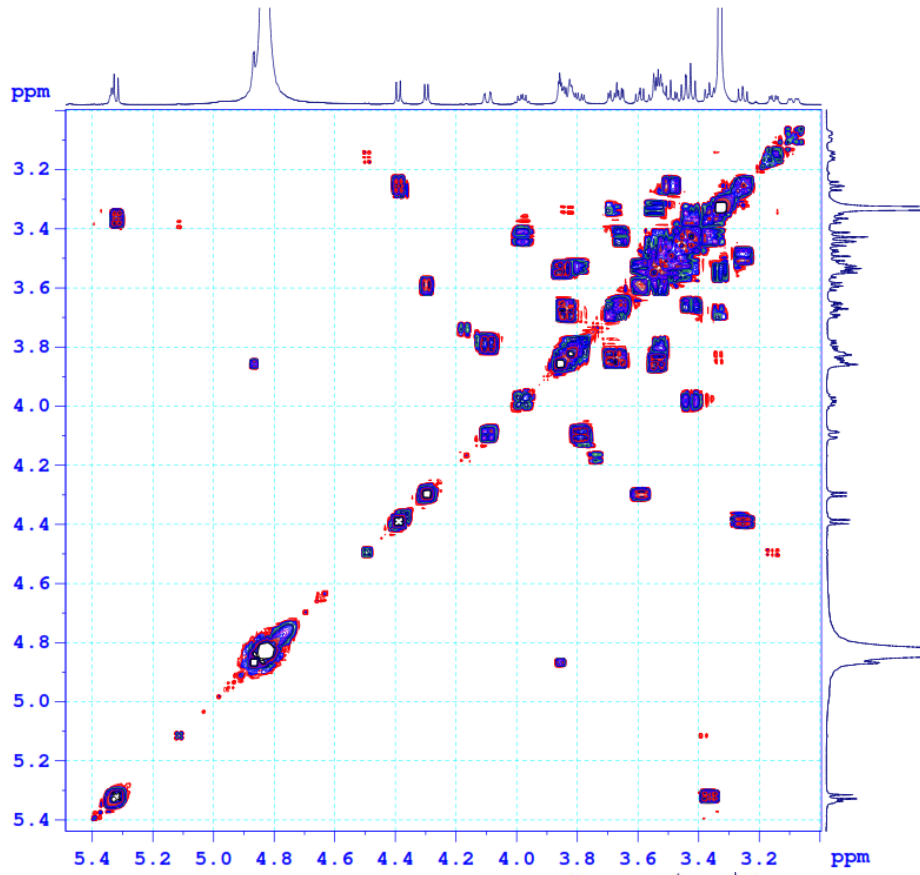
*Phụ Lục 3 Phổ HSQC của hợp chất DO9*

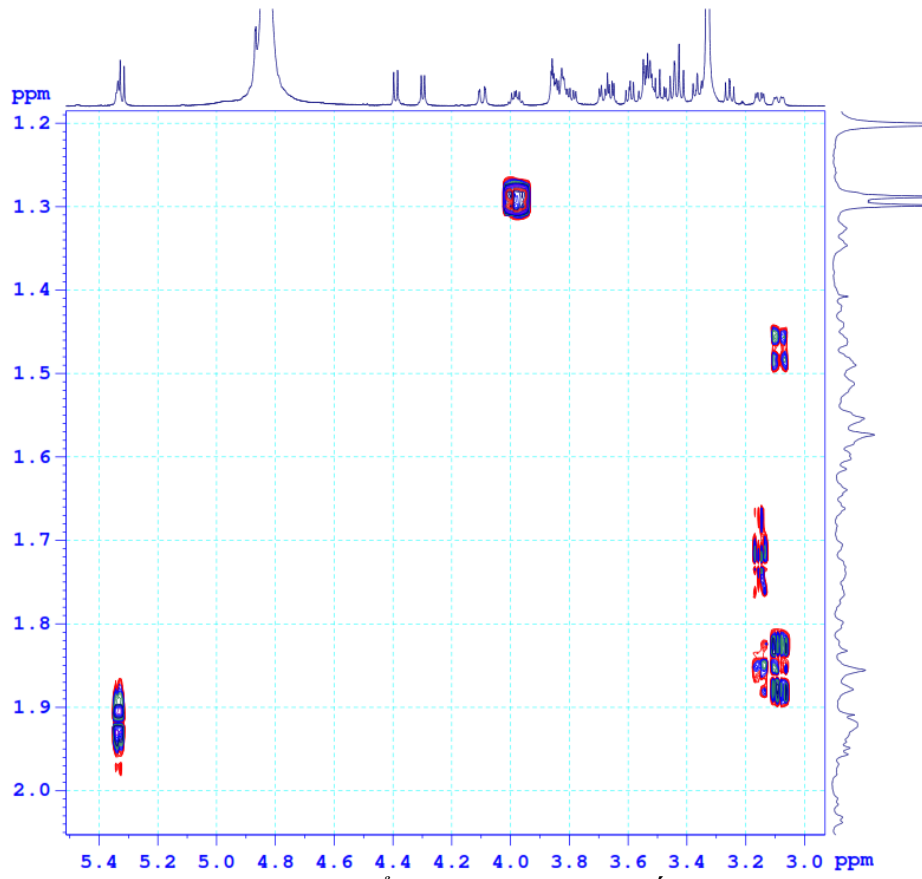




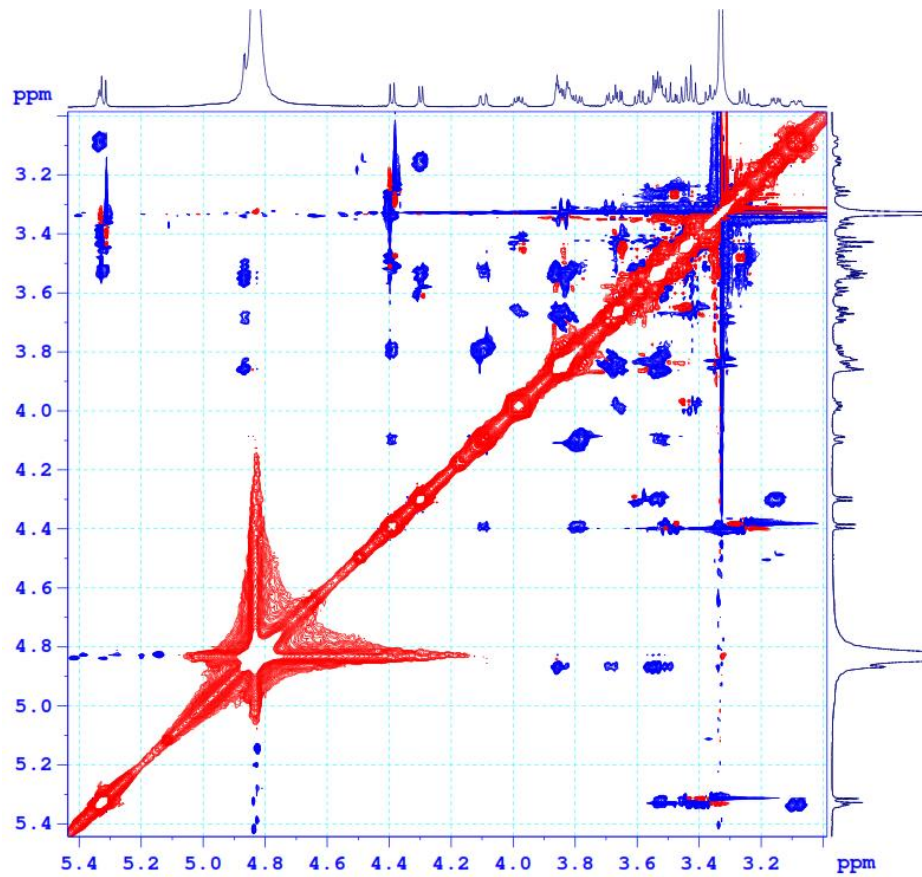
Phụ Lục 4 Phổ HMBC của hợp chất DO9

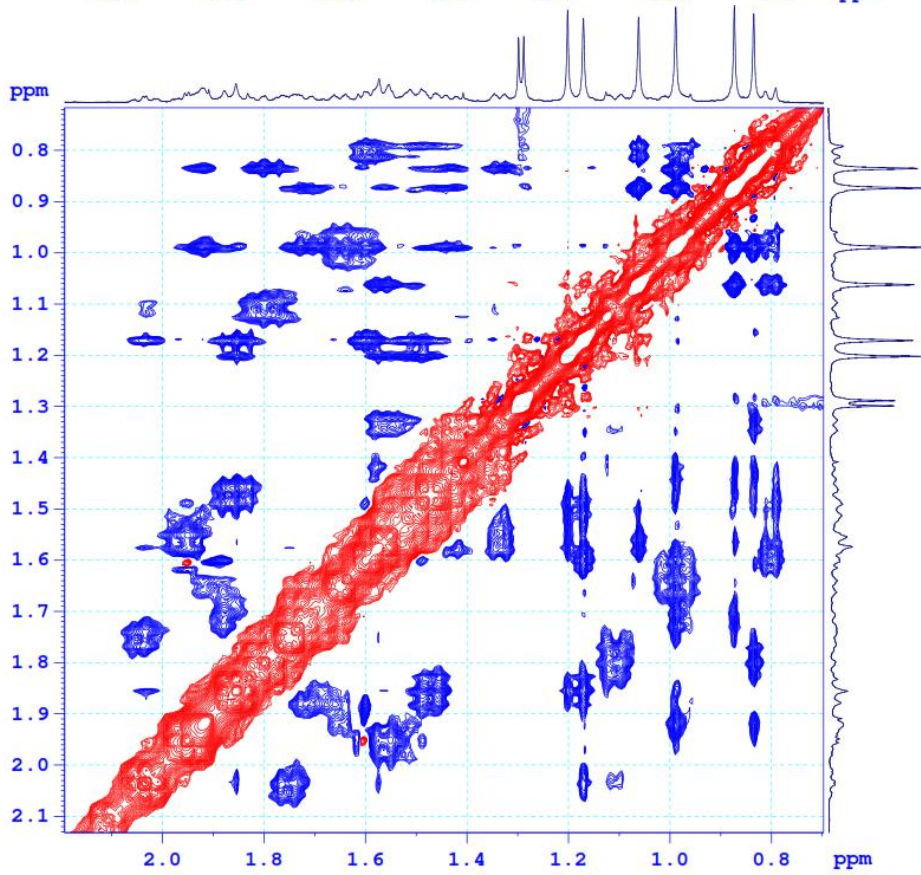
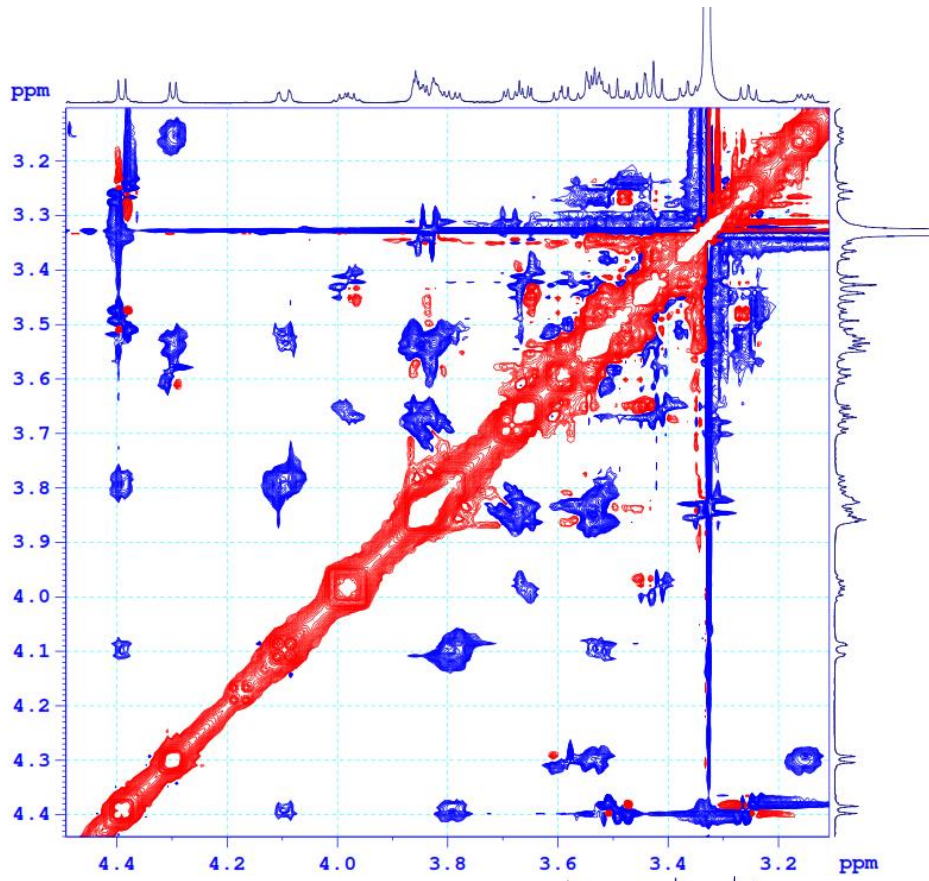
PL7

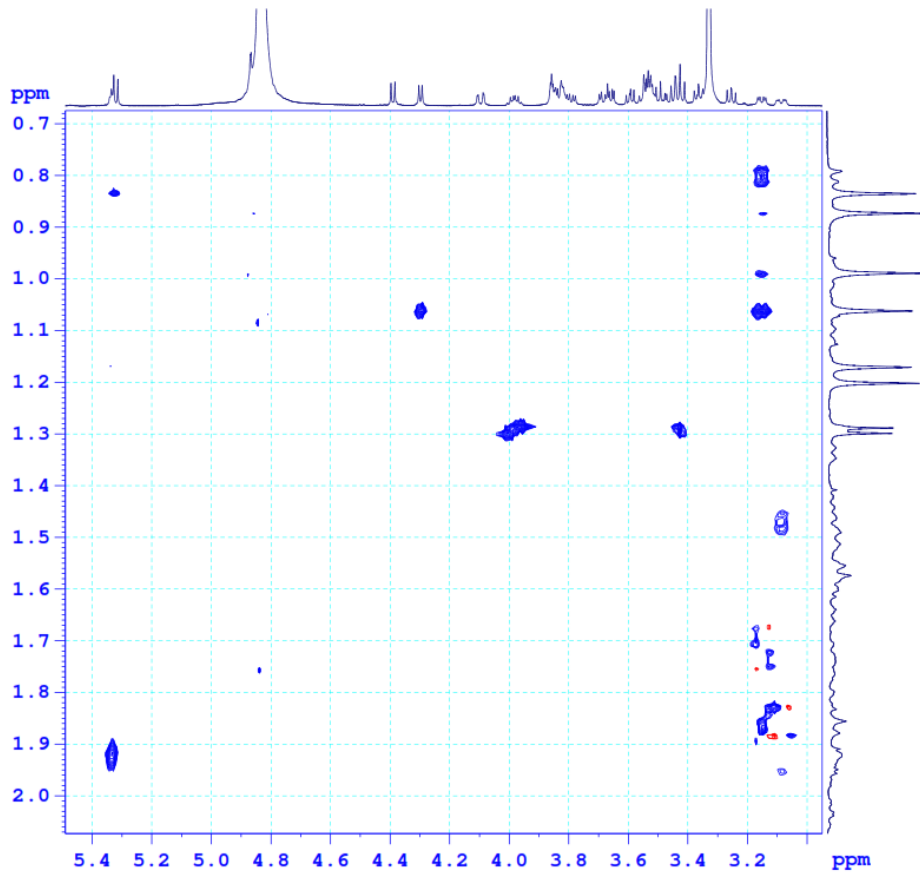




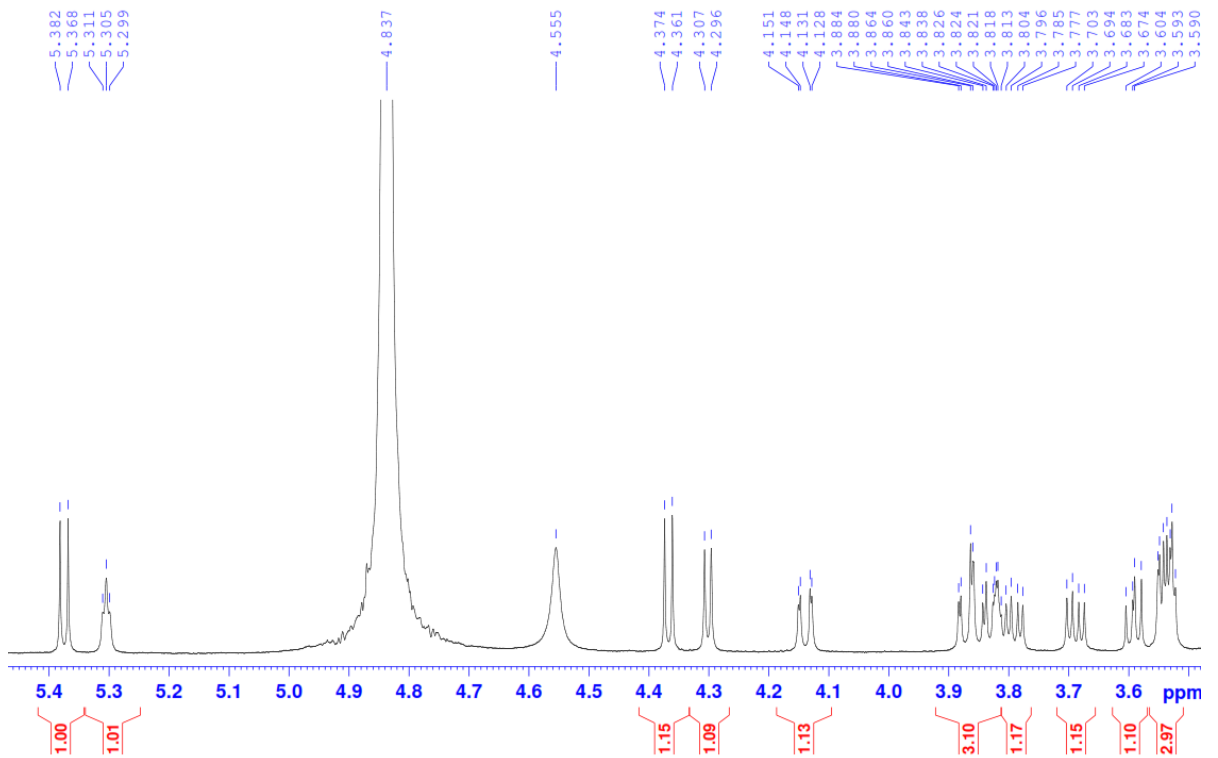
*Phụ Lục 5 Phổ COSY của hợp chất DO9*



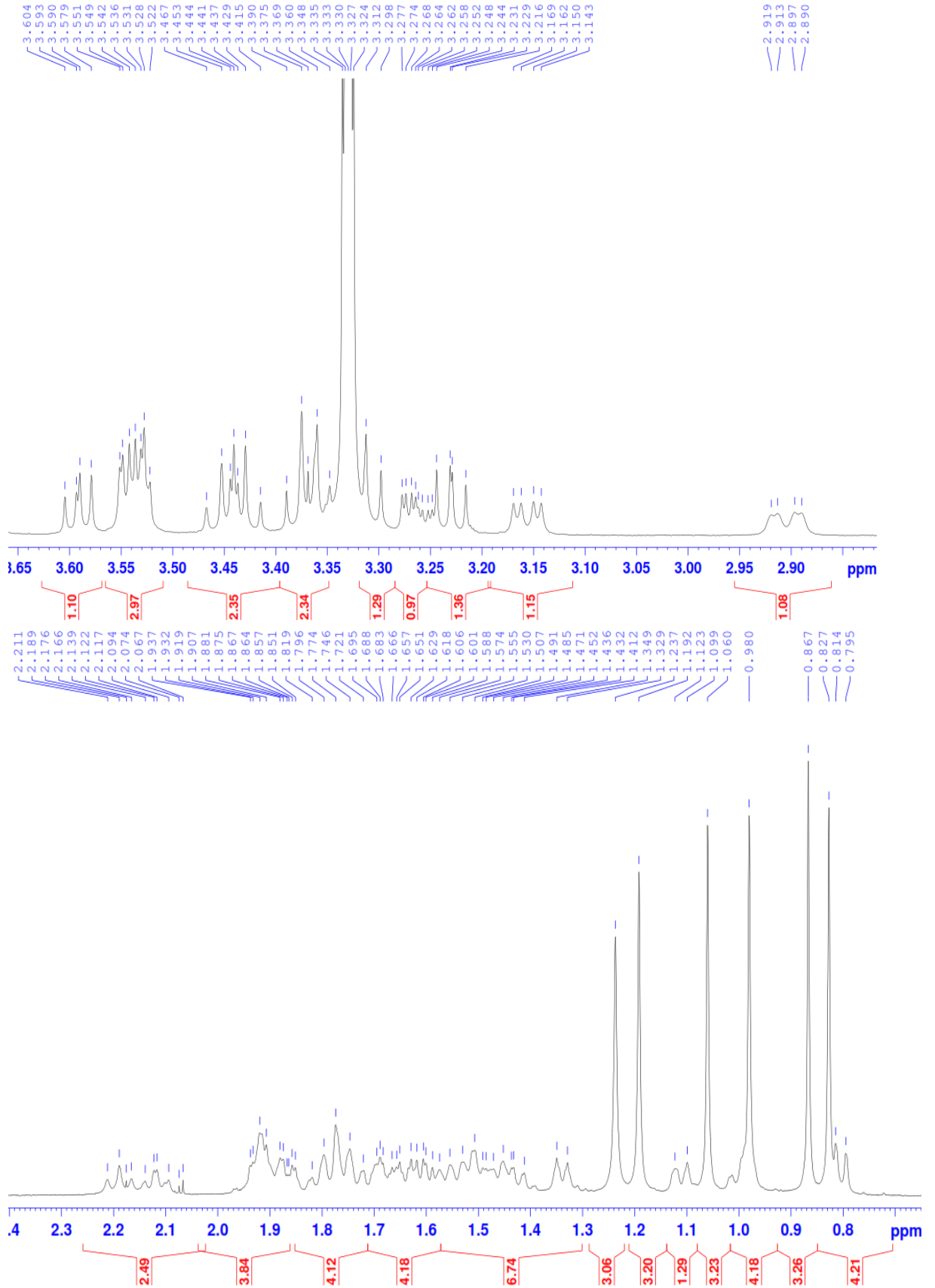




Phụ Lục 6 Phổ ROESY của hợp chất DO9

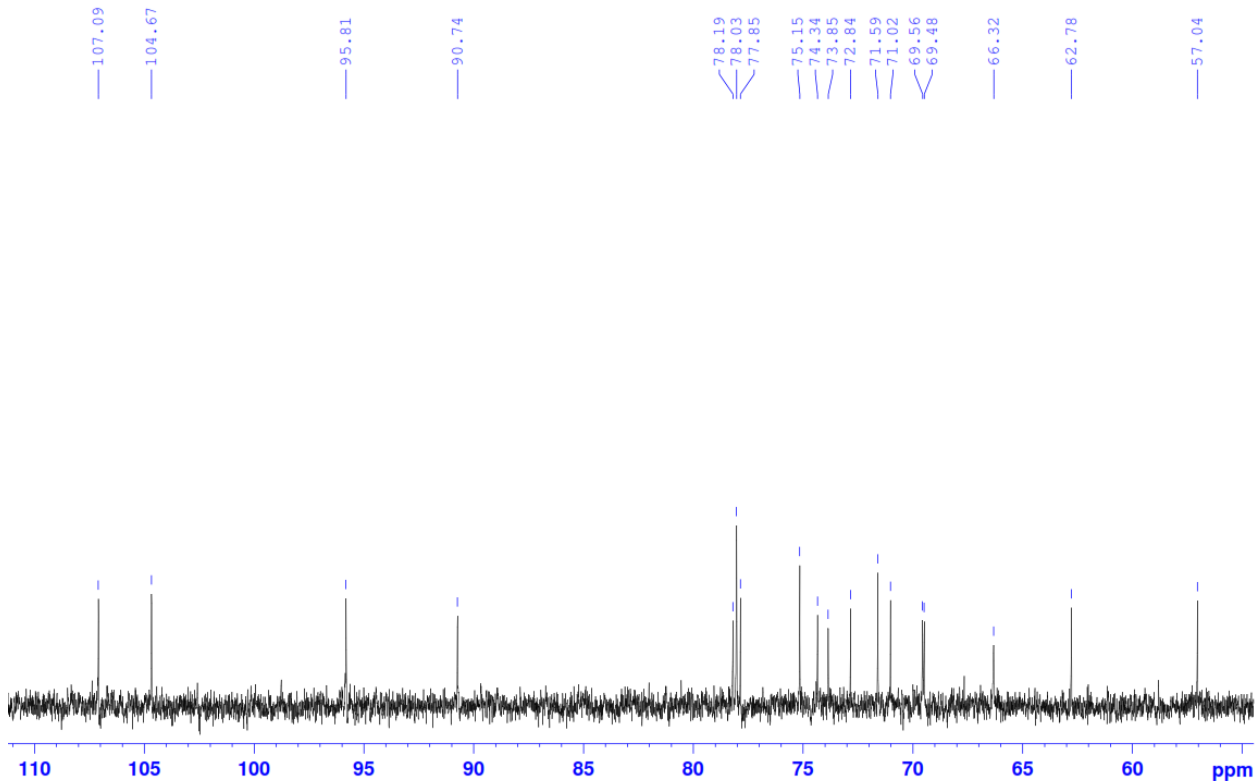
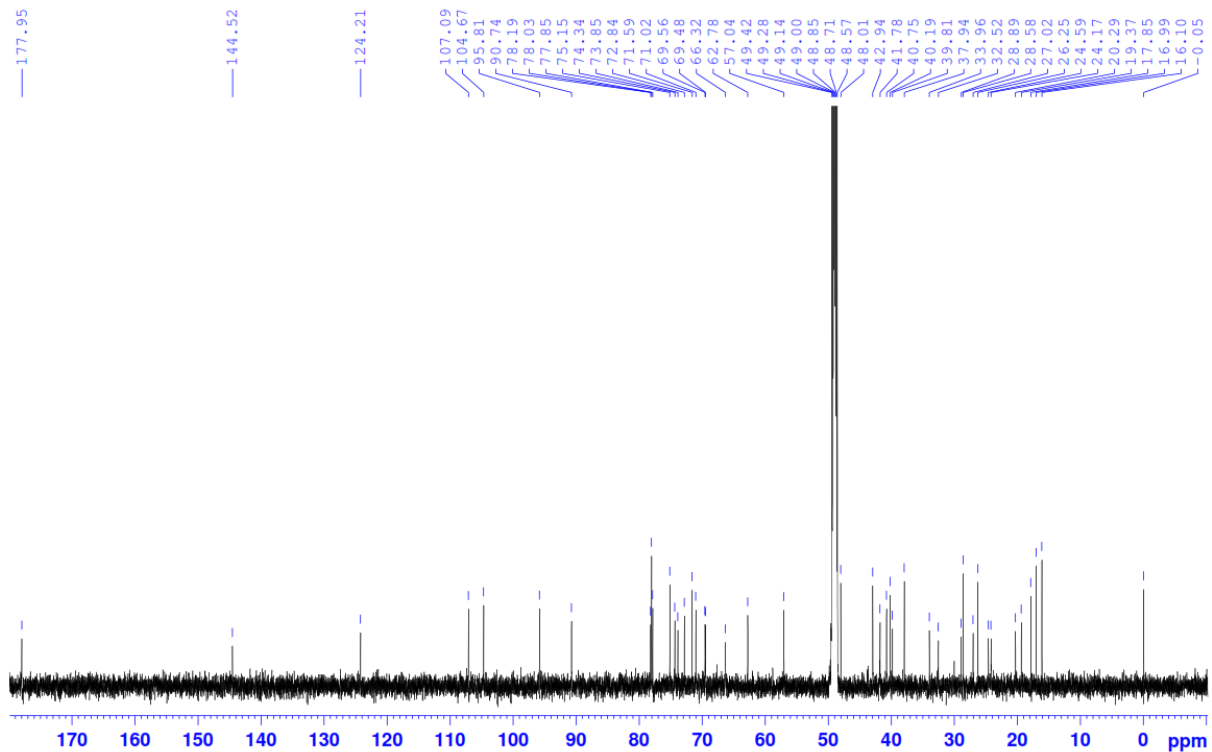


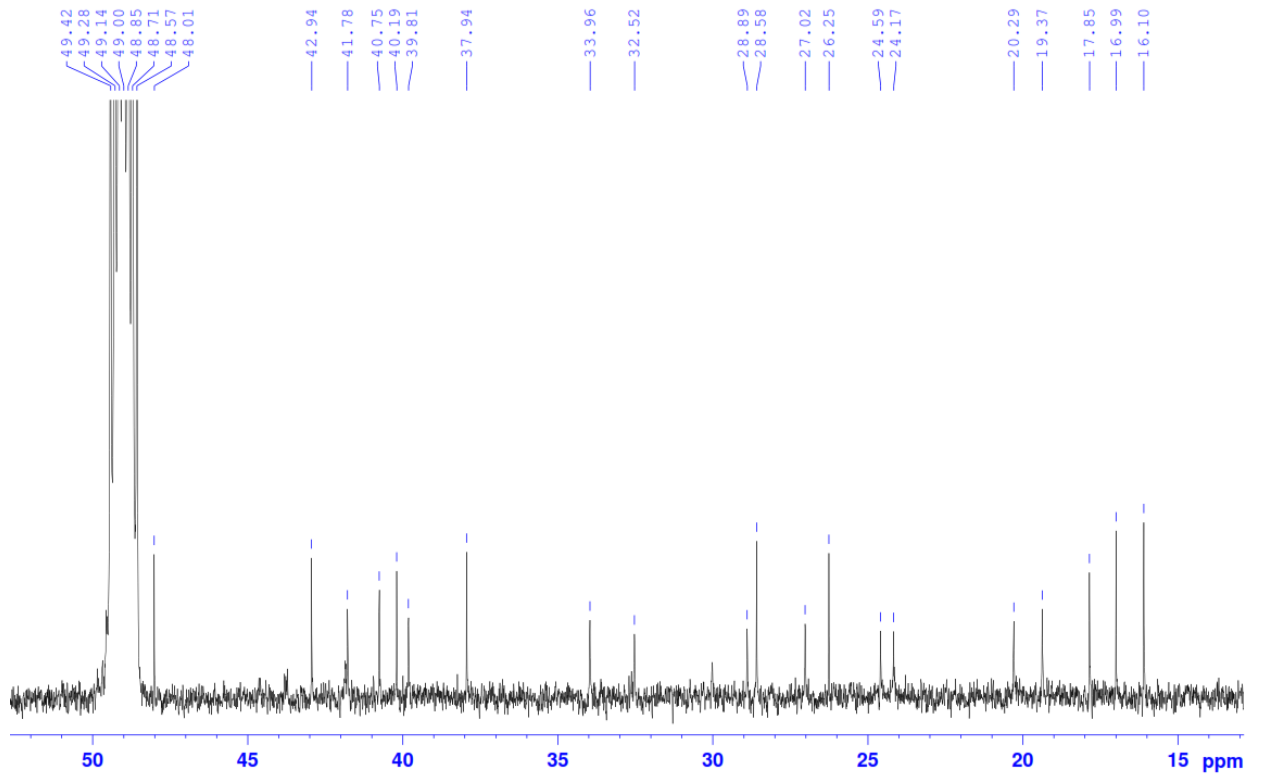


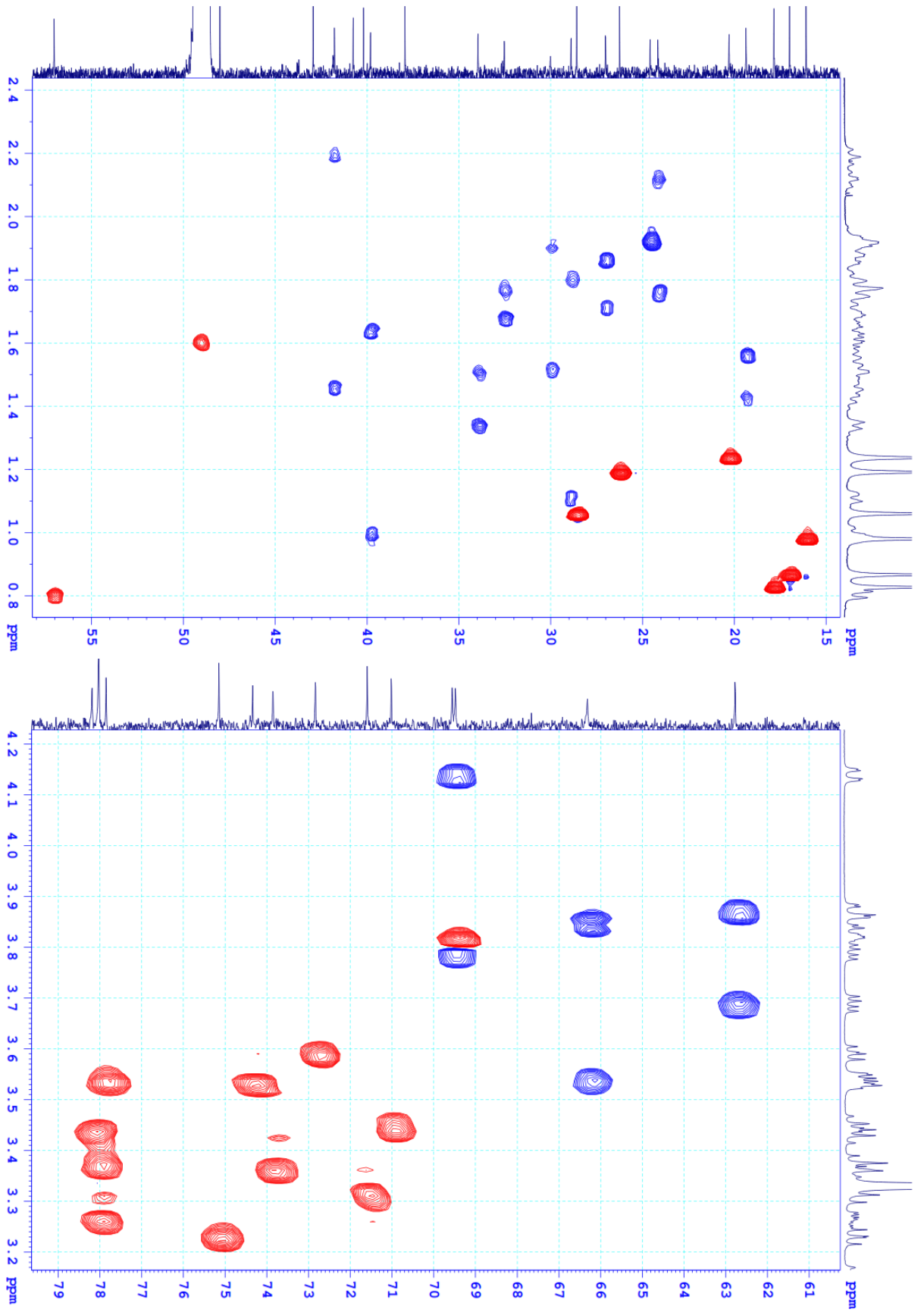


Phụ Lục 7 Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO10

PL12

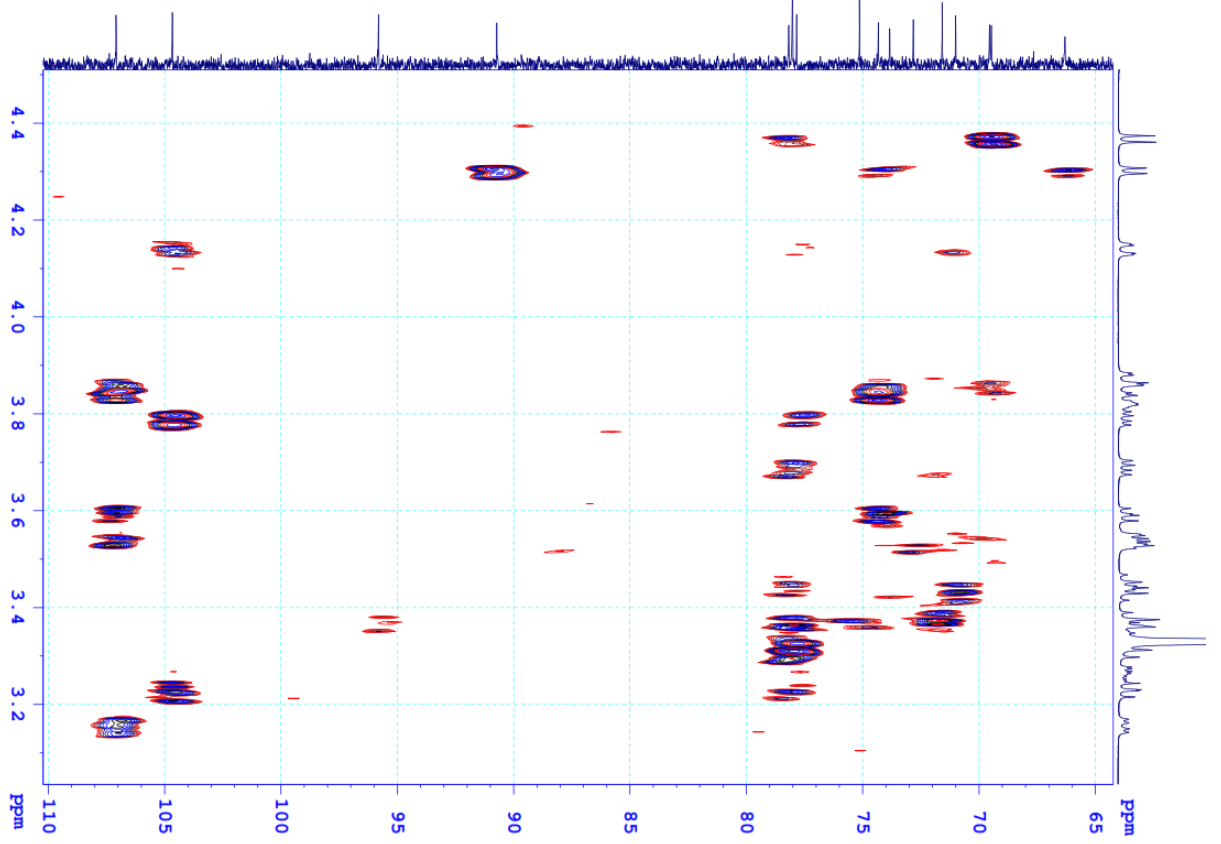
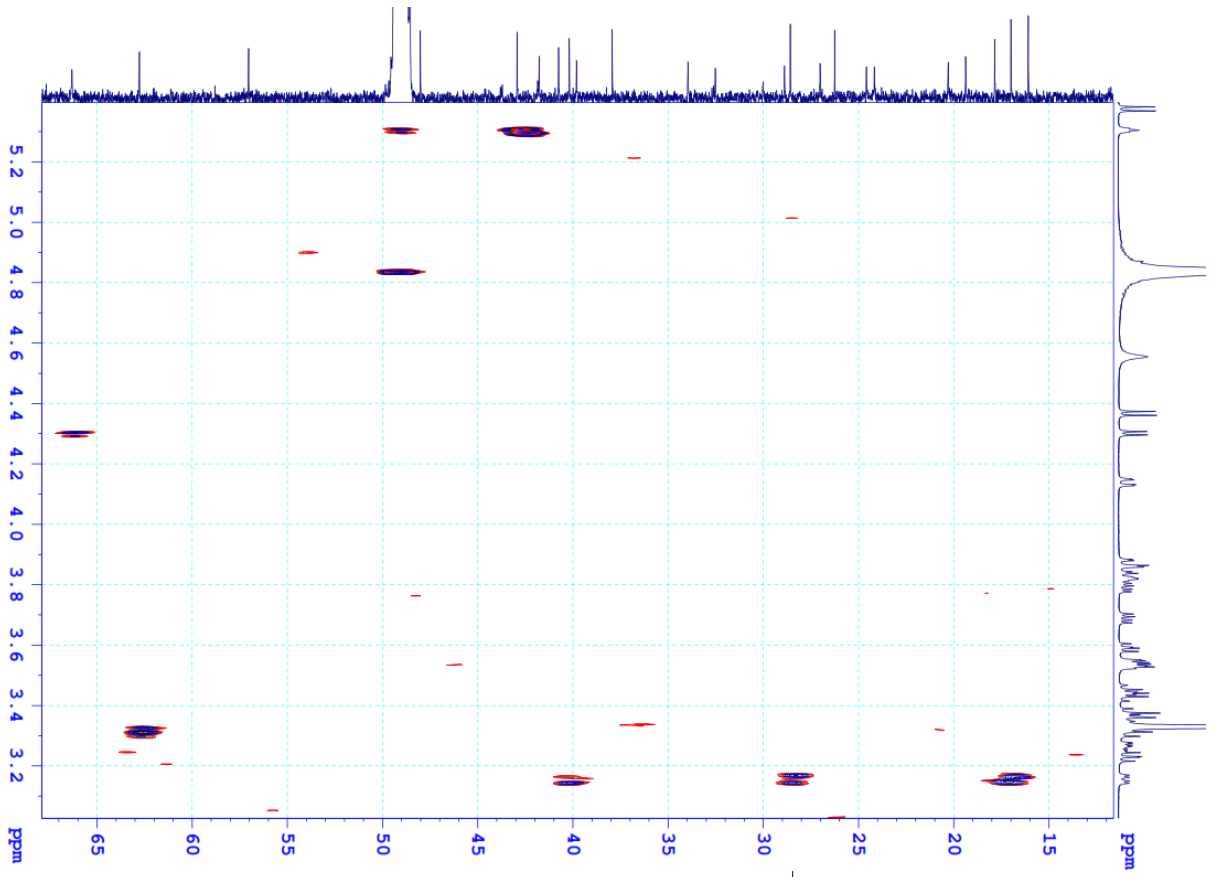


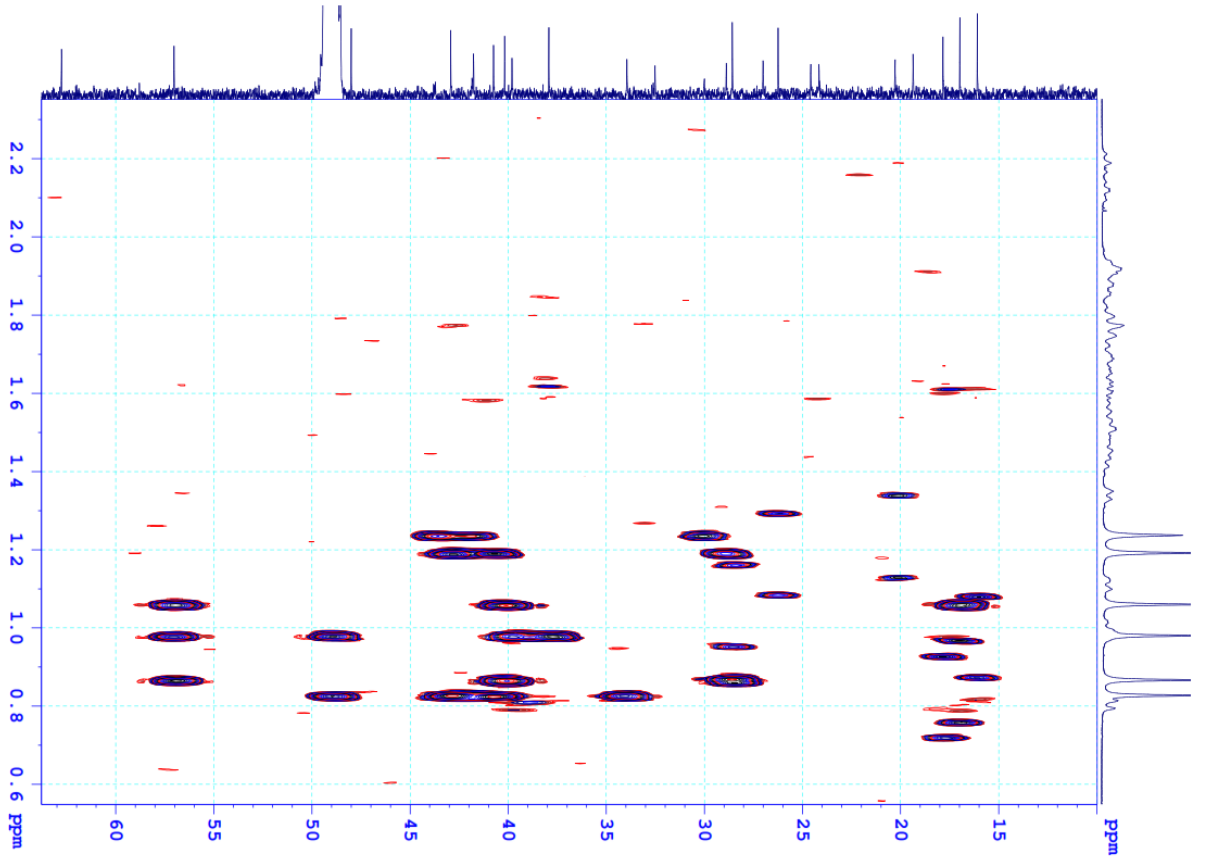
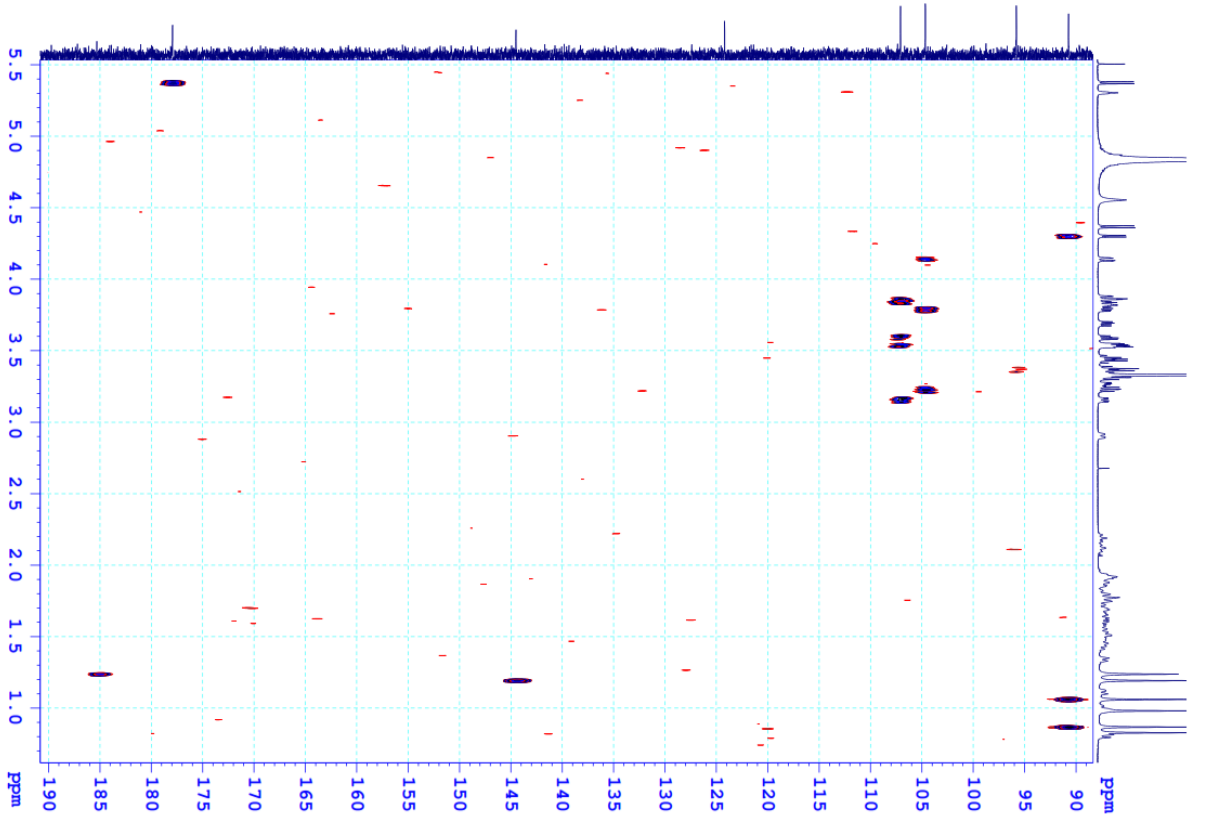


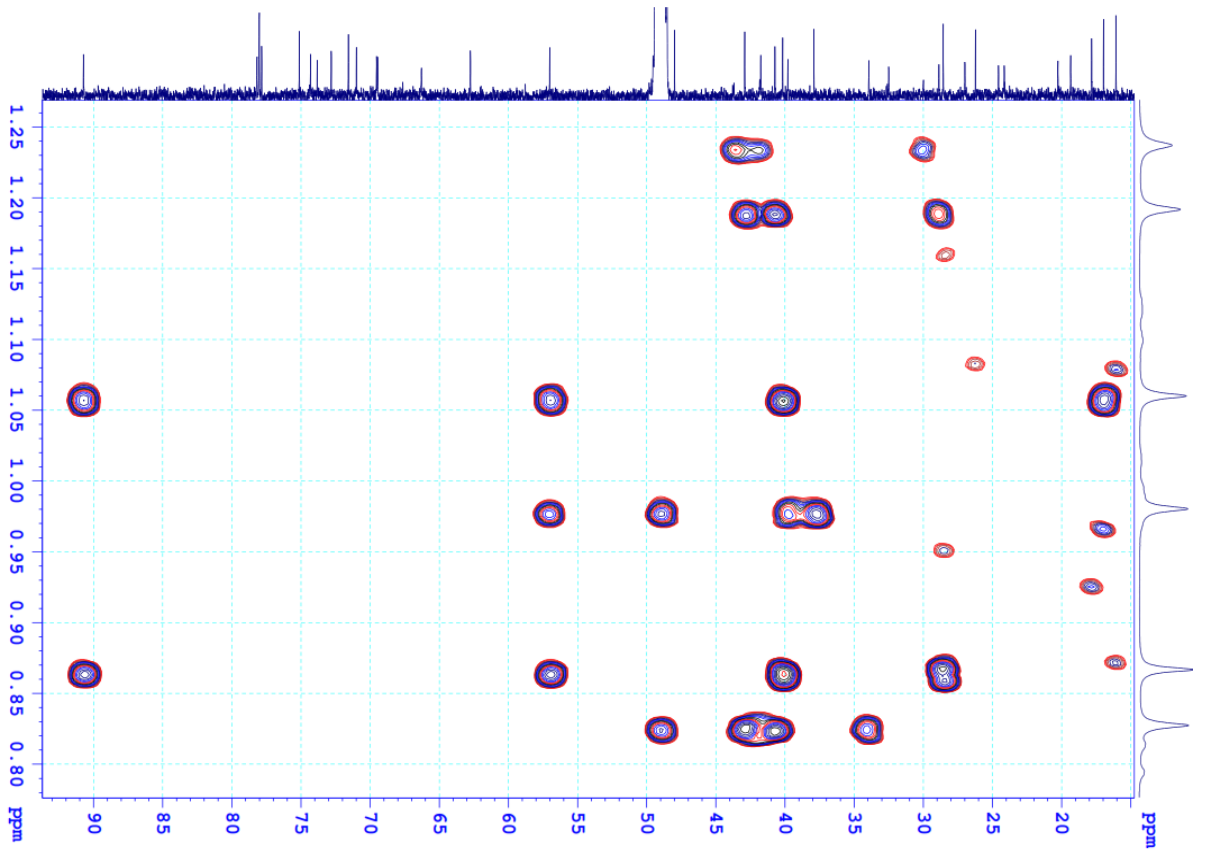


Phụ Lục 9 Phổ HSQC của hợp chất DO10

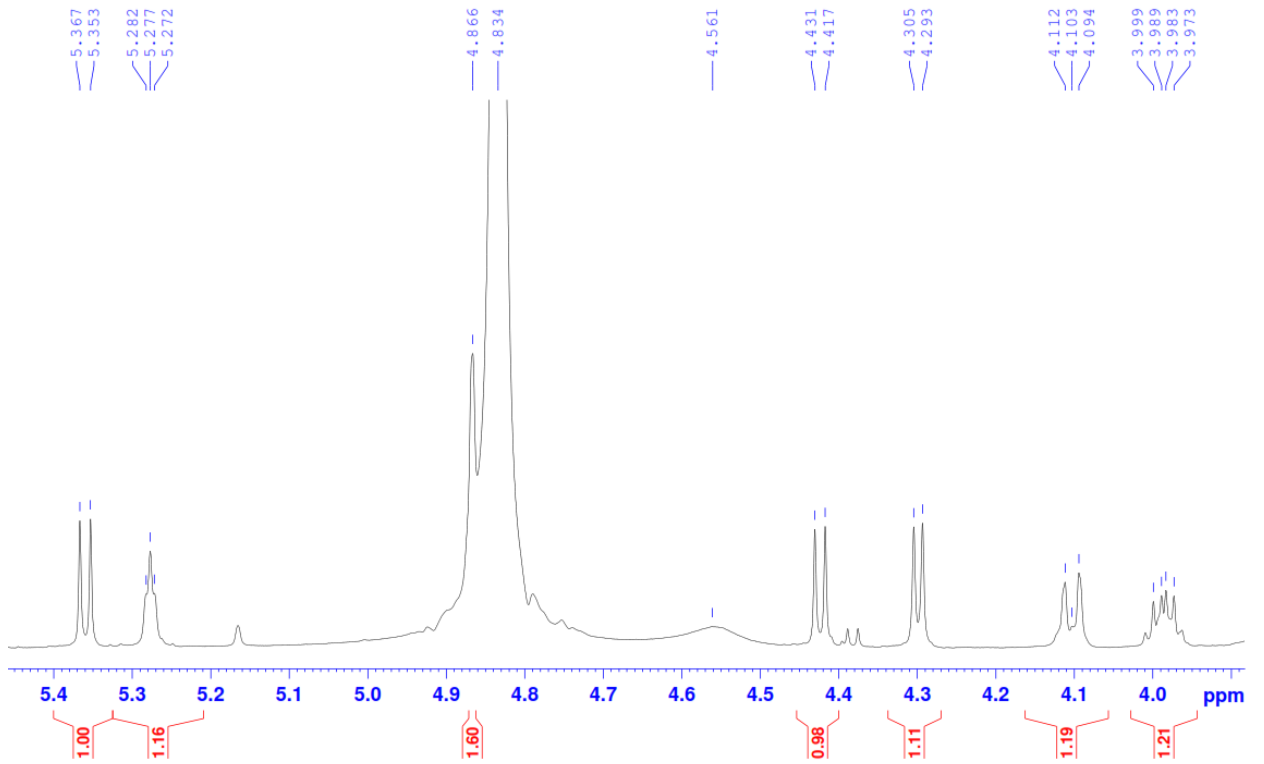
PL15

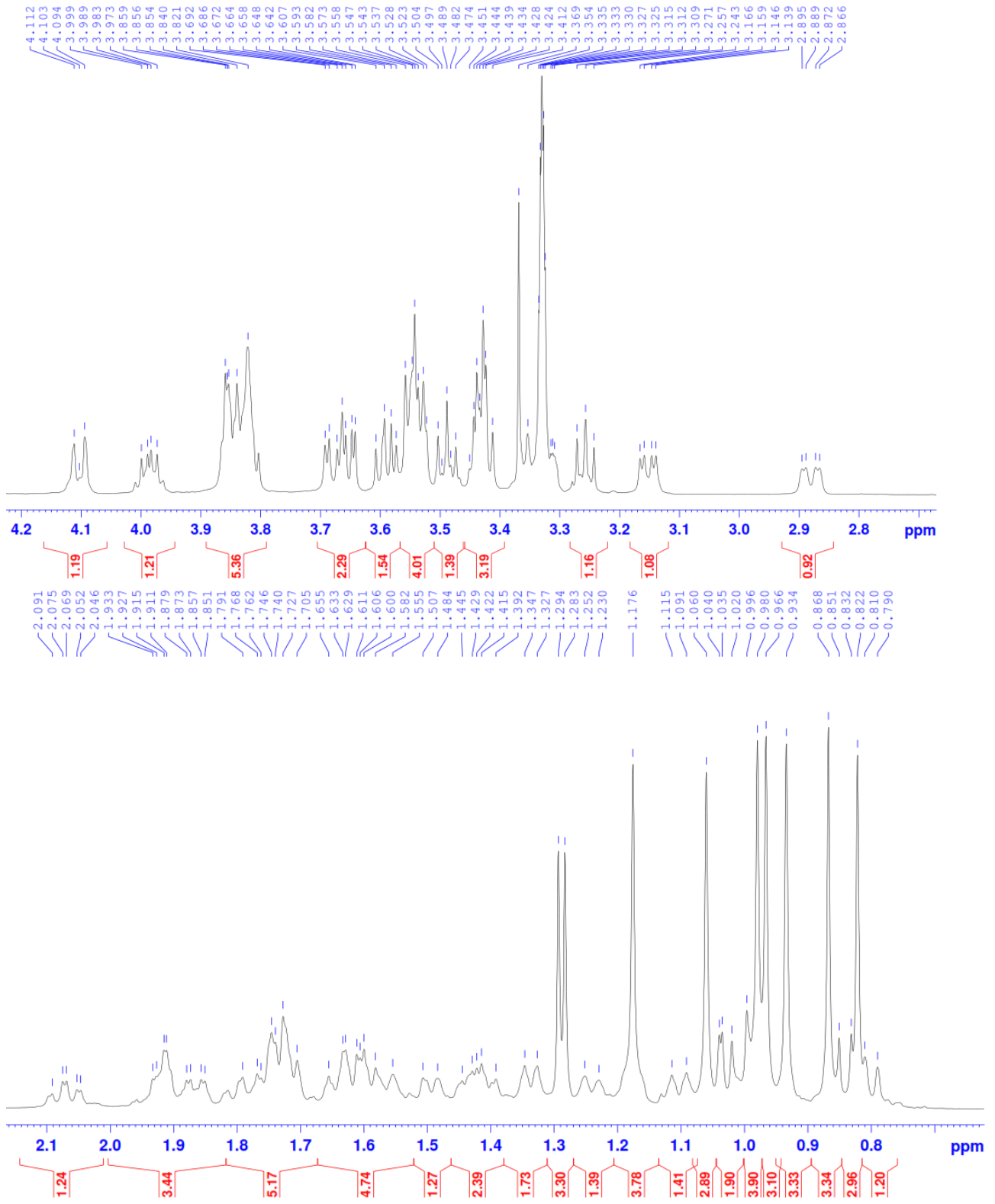






Phụ Lục 10 Phổ HMBC của hợp chất DO10

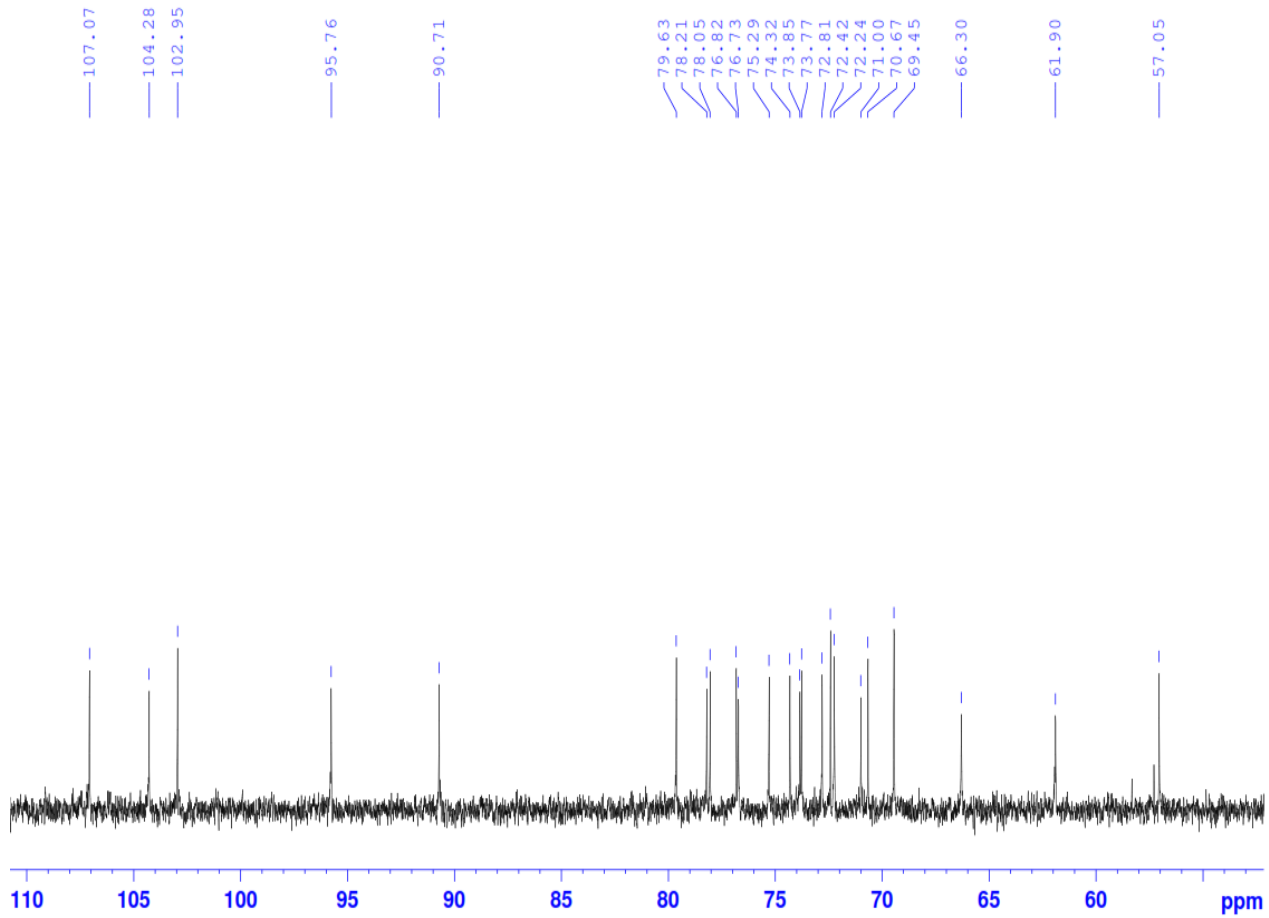
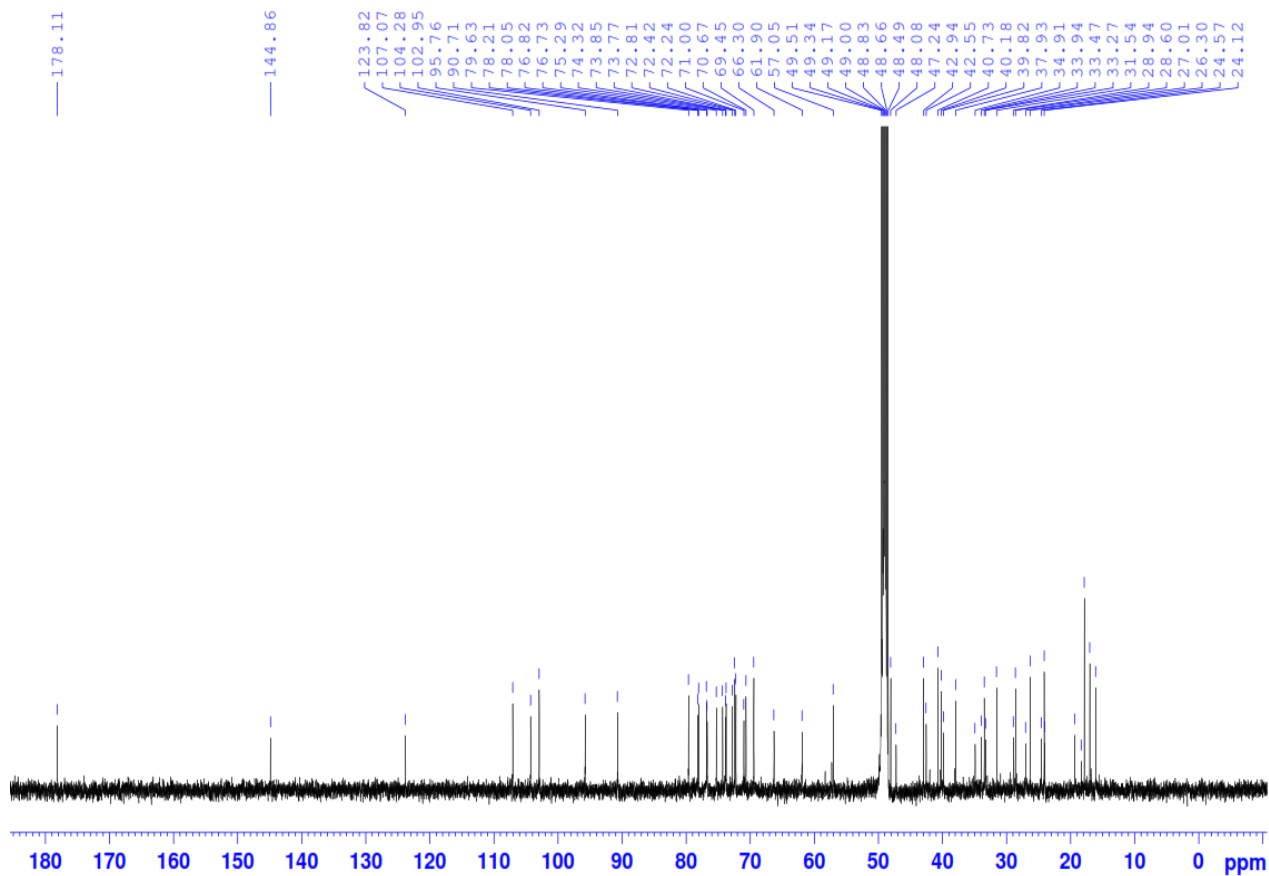


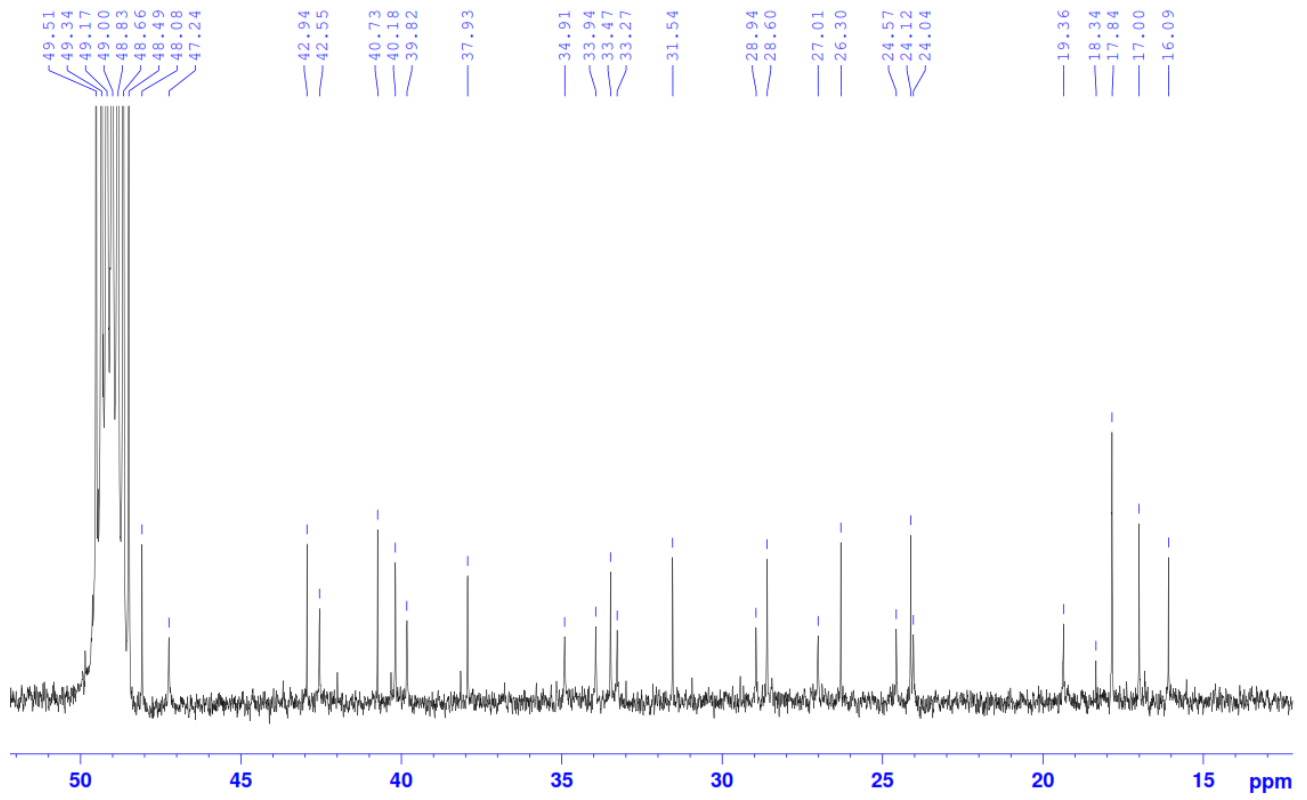


Phụ Lục 11 Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO11

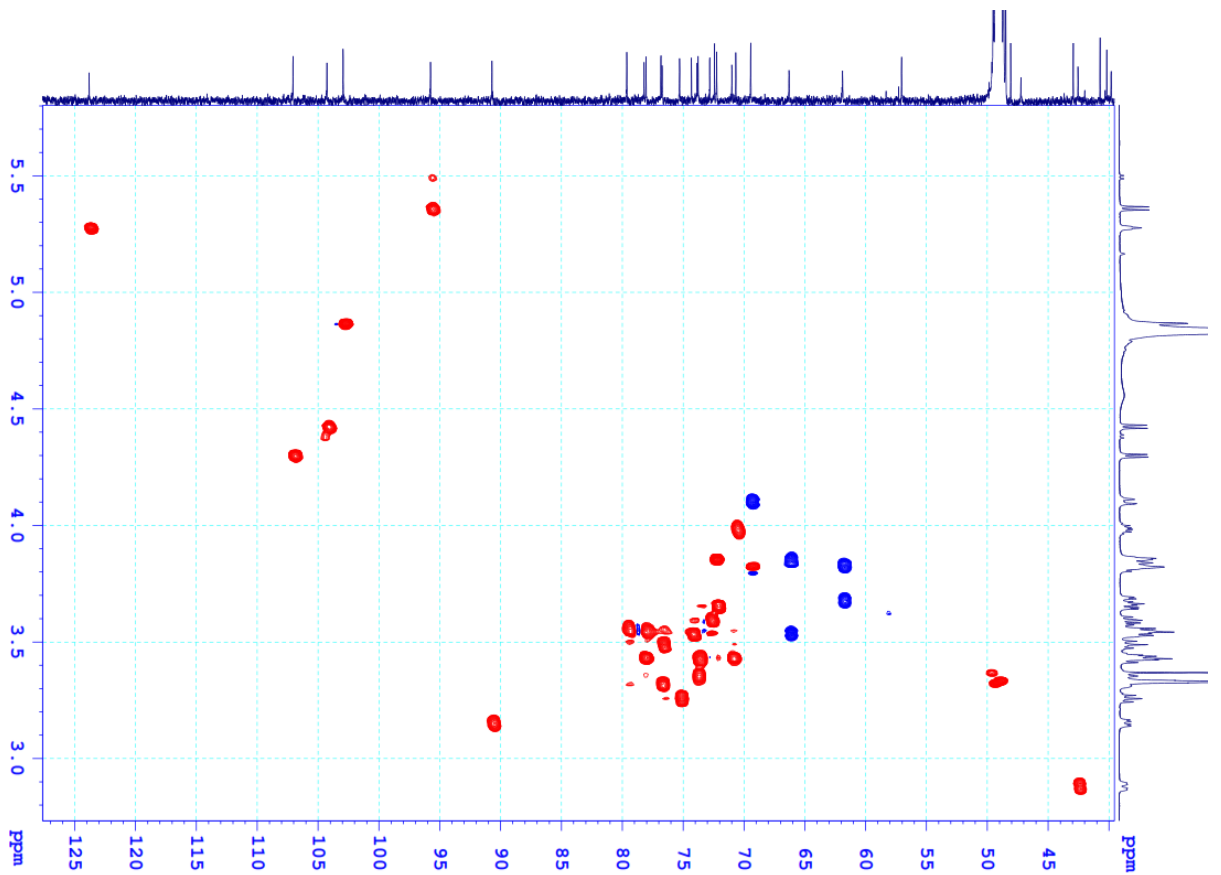


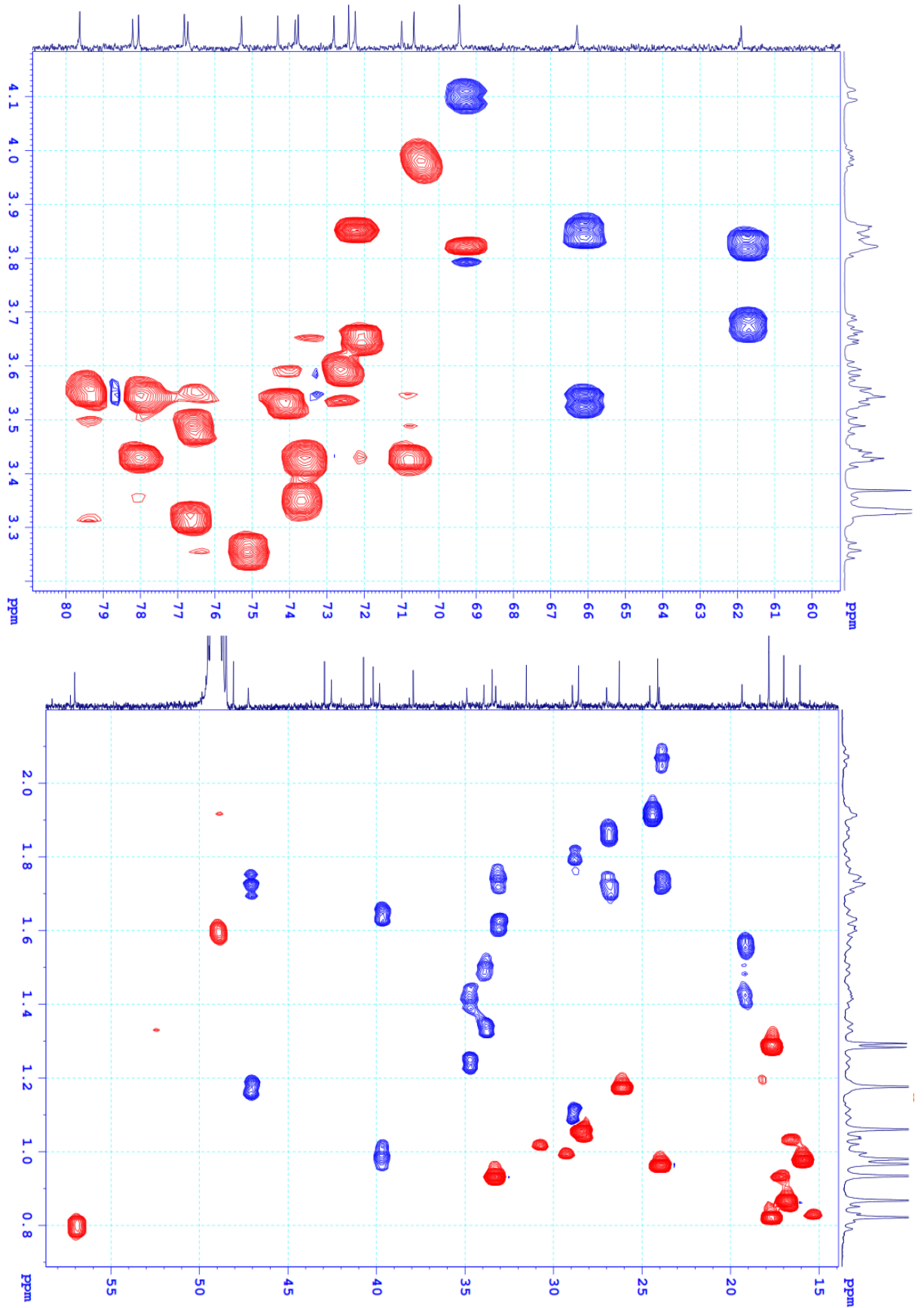
PL19



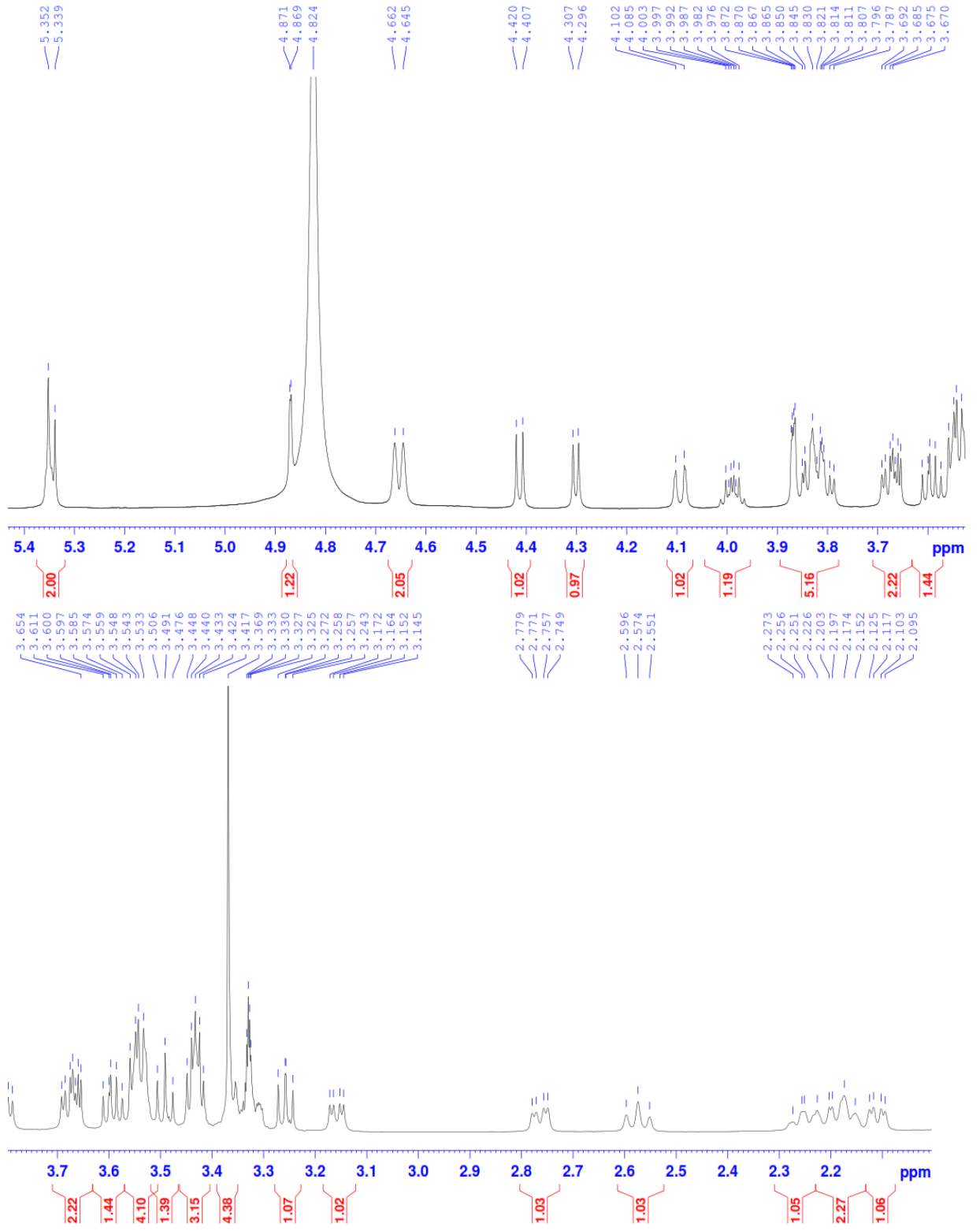


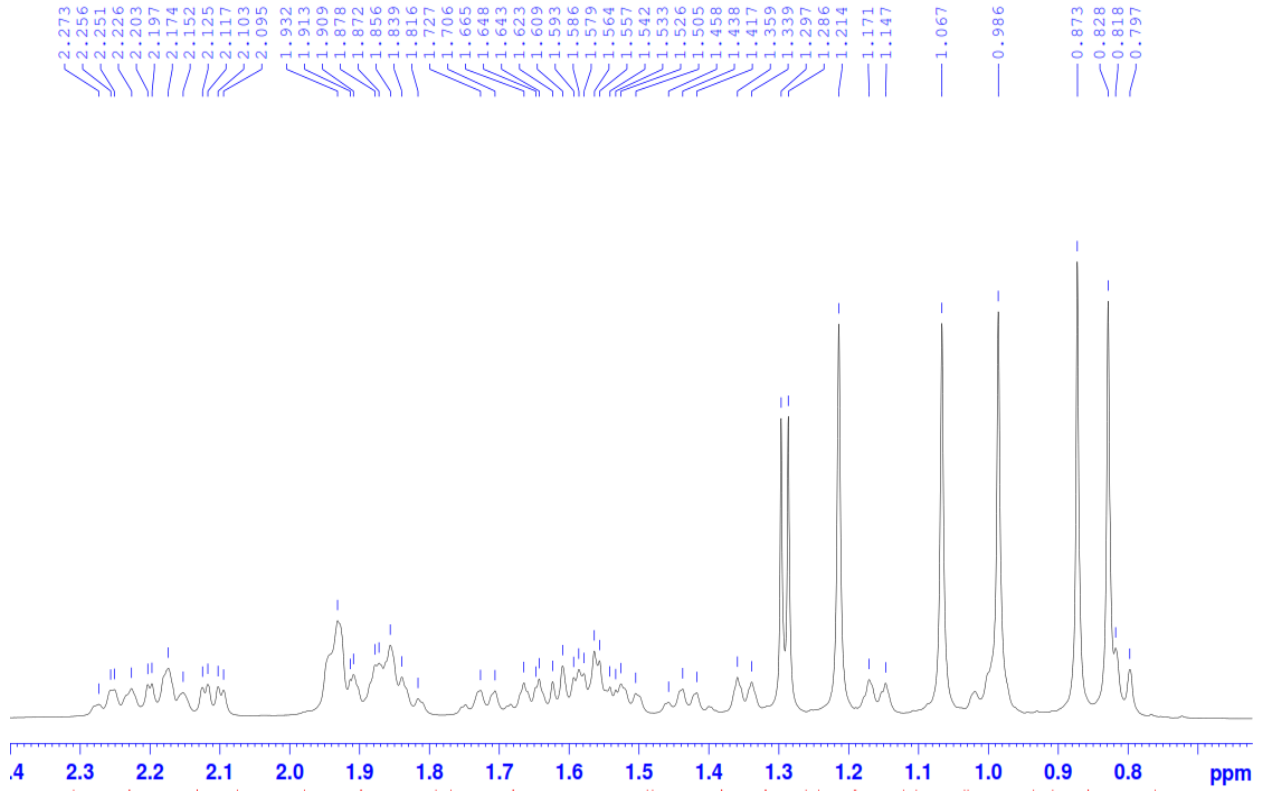
Phụ Lục 12 Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất DO11



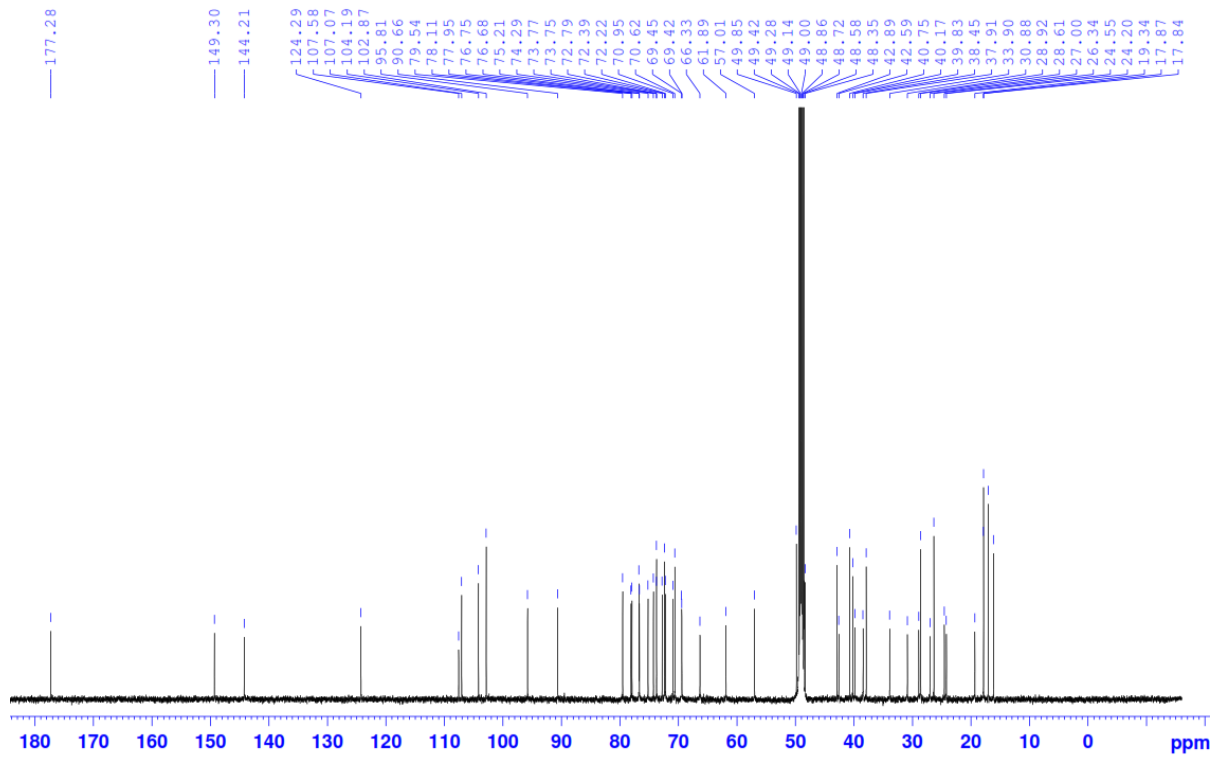


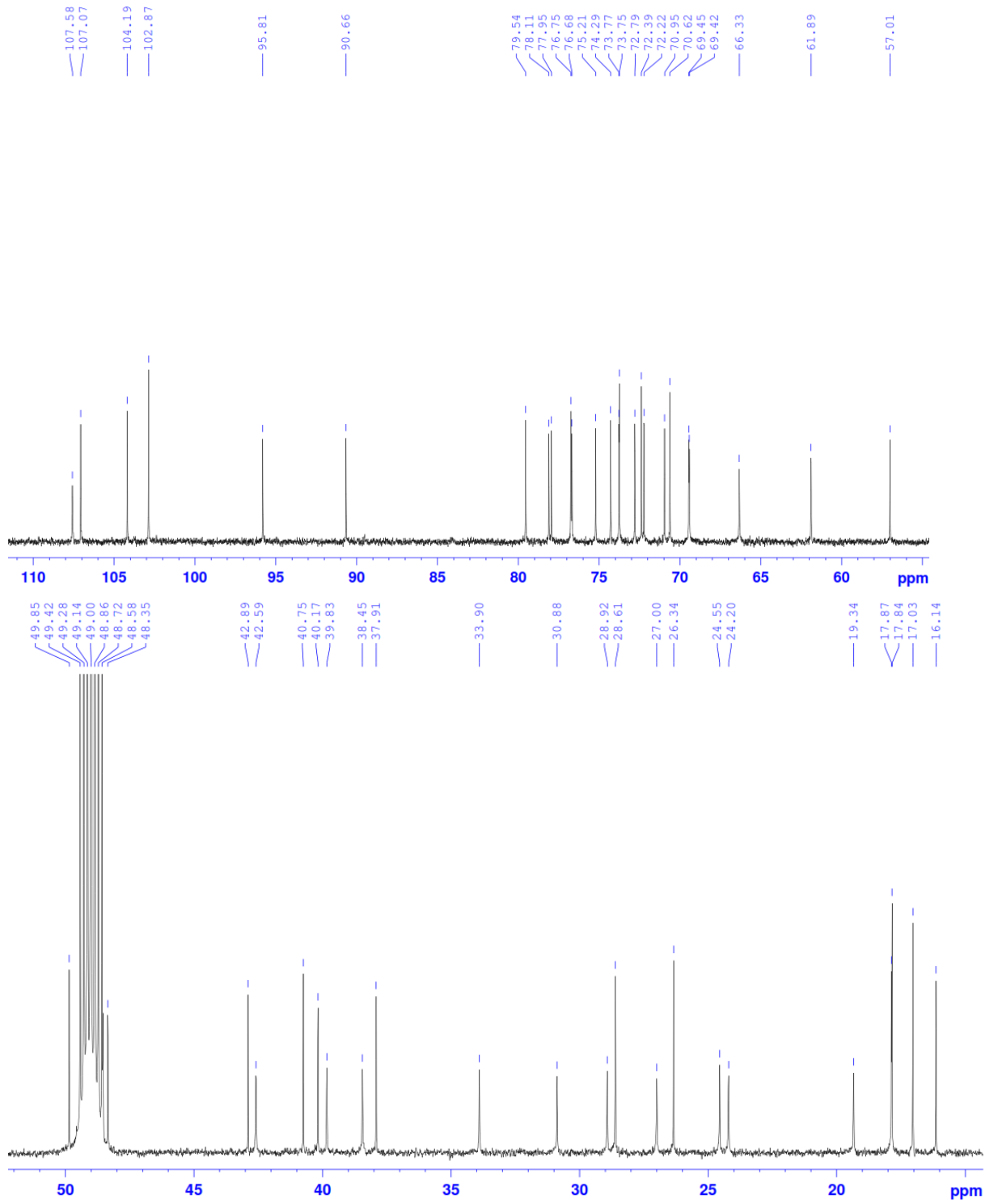
Phụ Lục 13 Phổ HSQC của hợp chất DO11





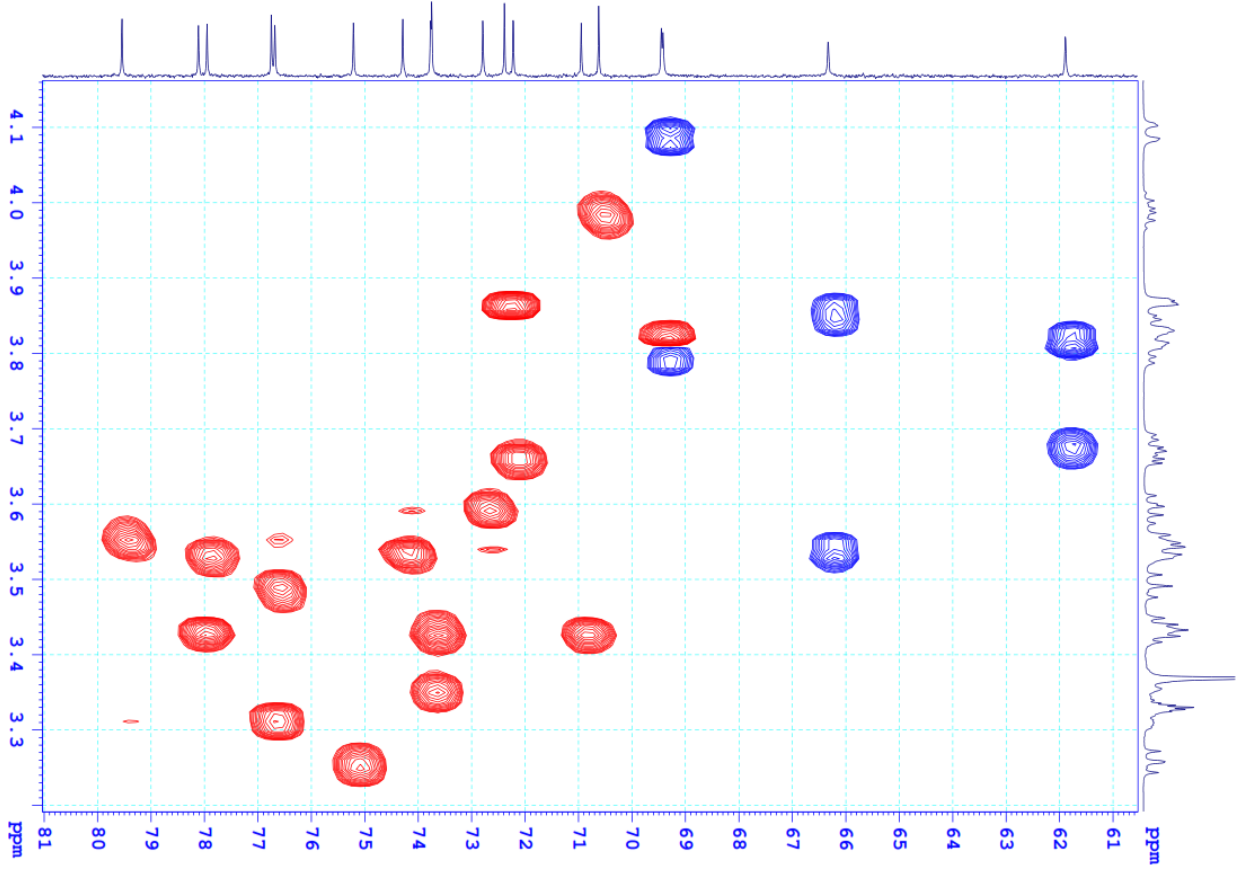
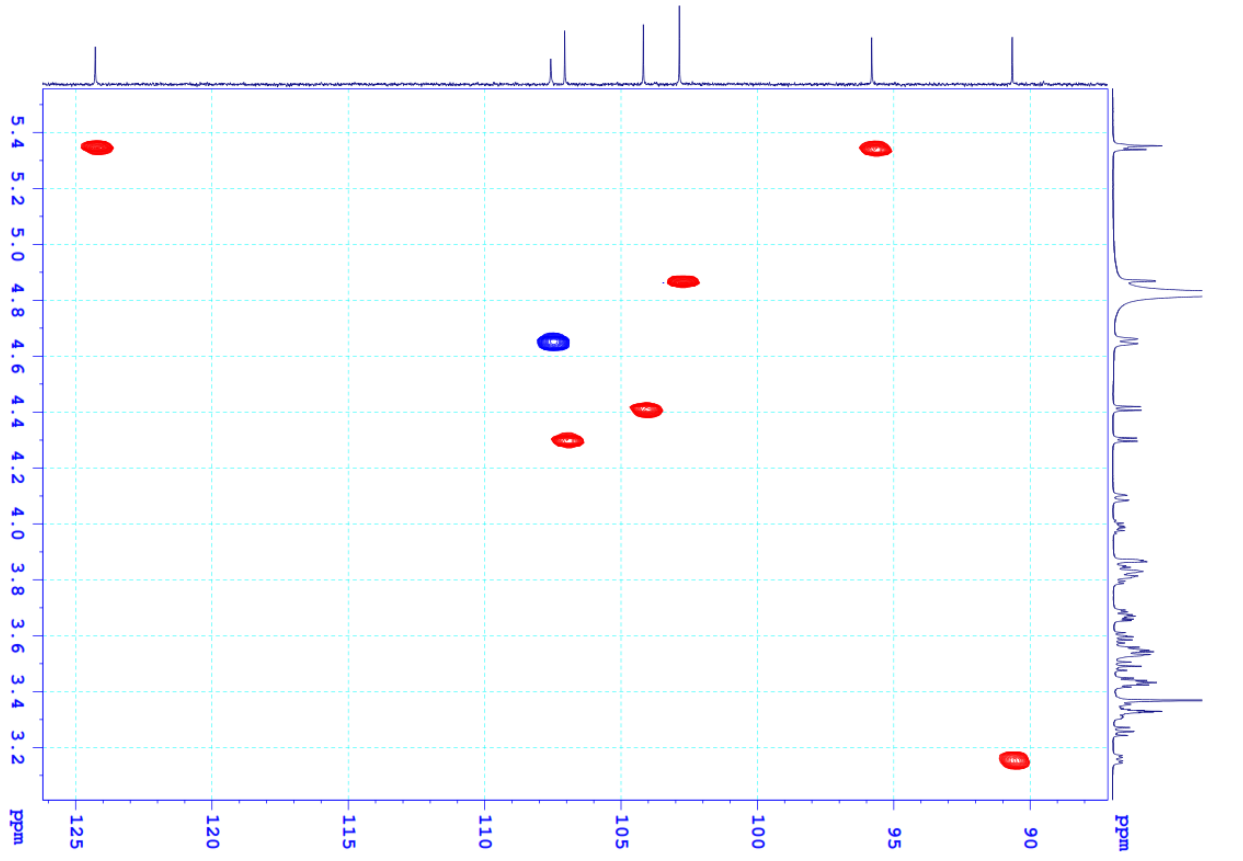
Phụ Lục 14 Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất DO13

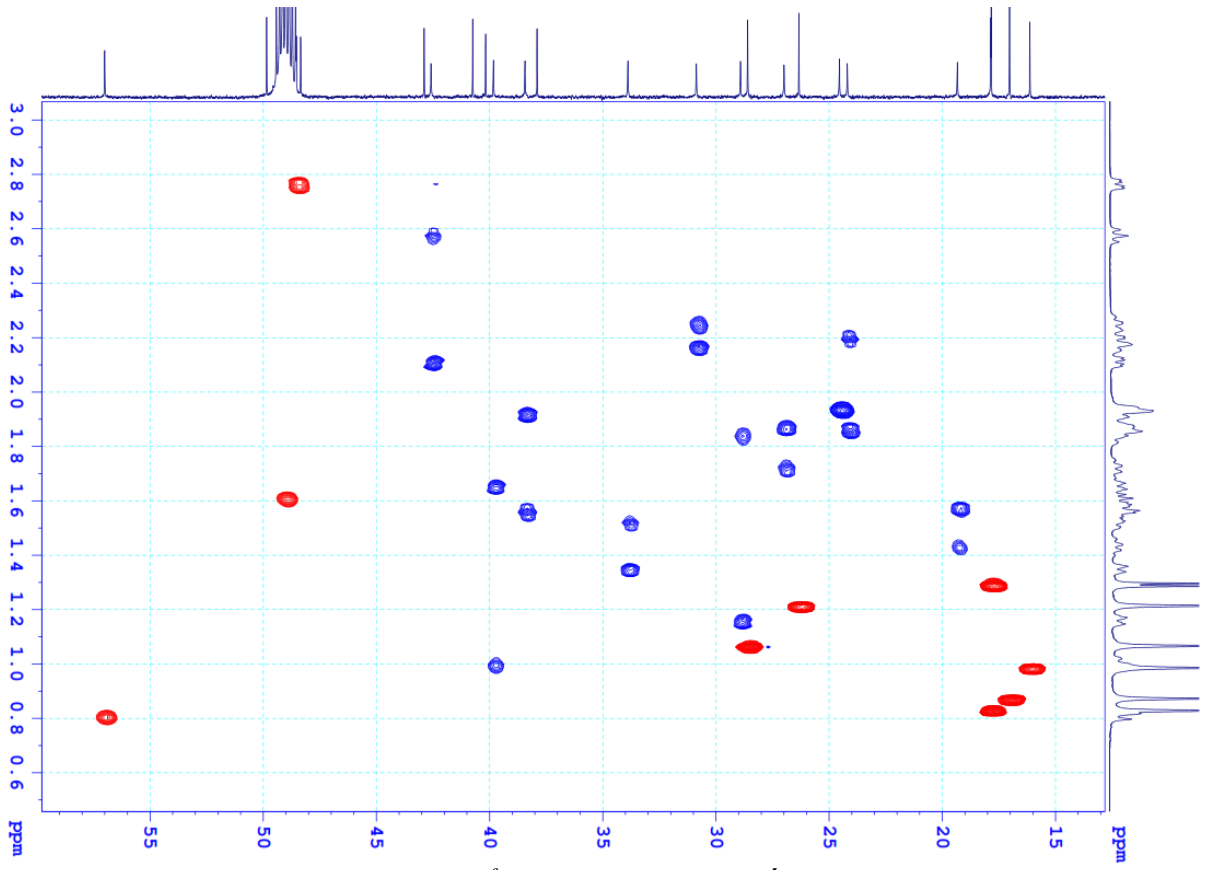




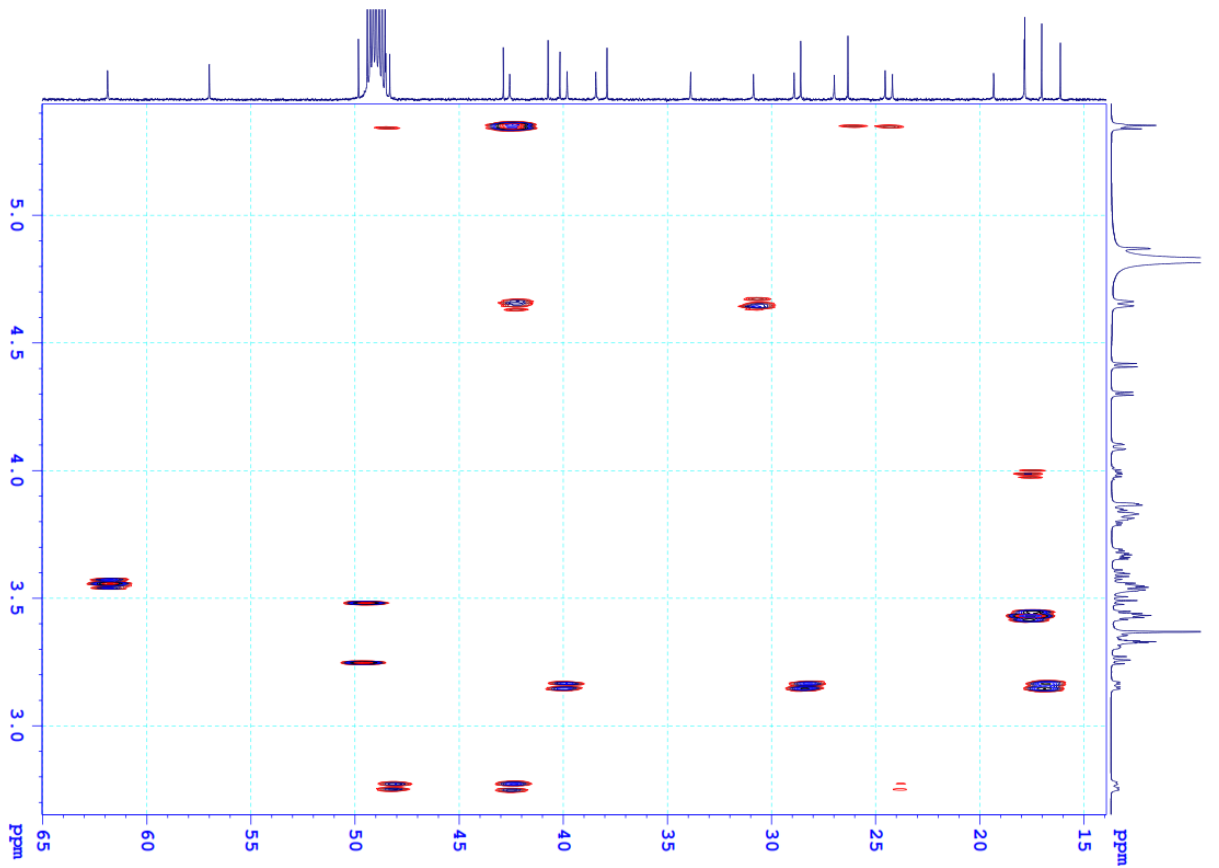
*Phụ Lục 15 Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất DO13*

PL25



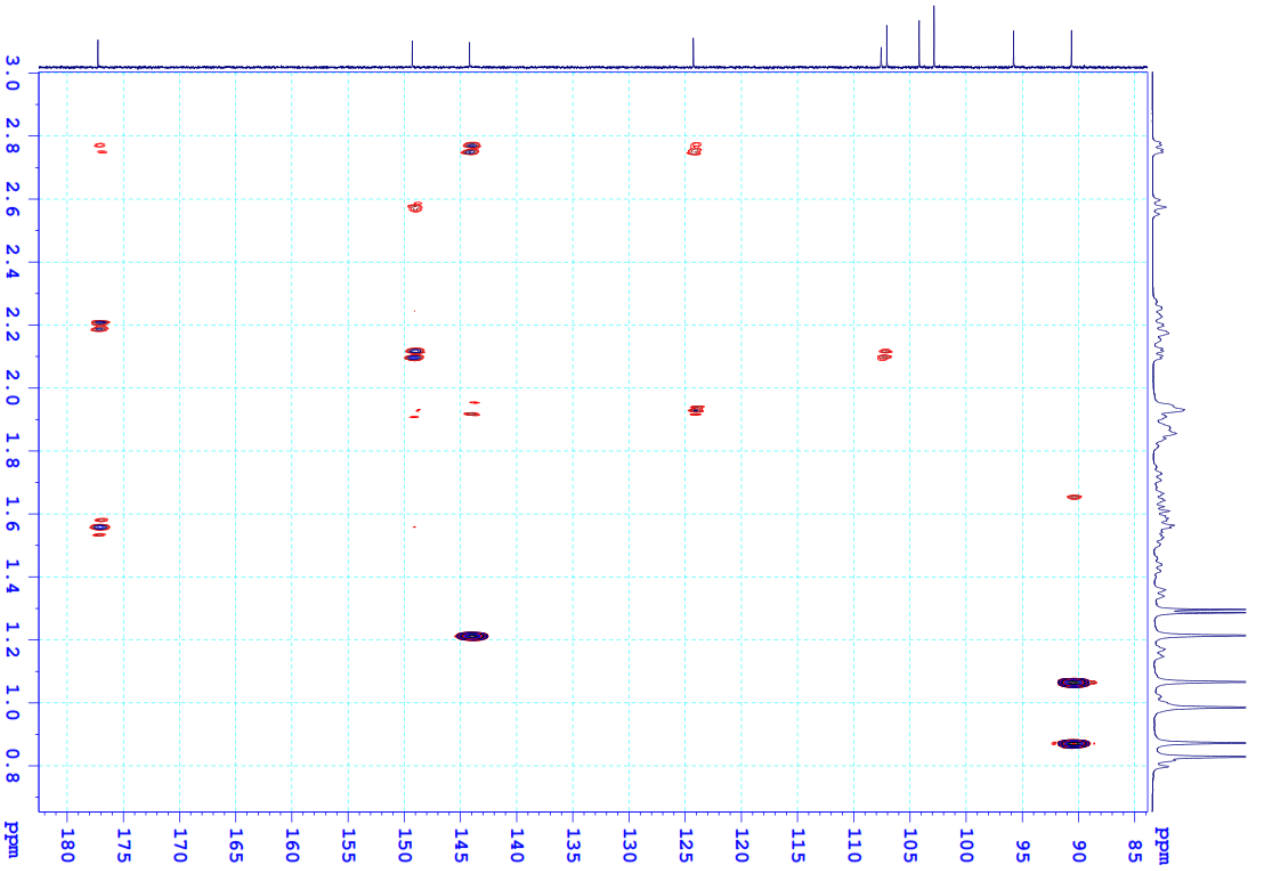
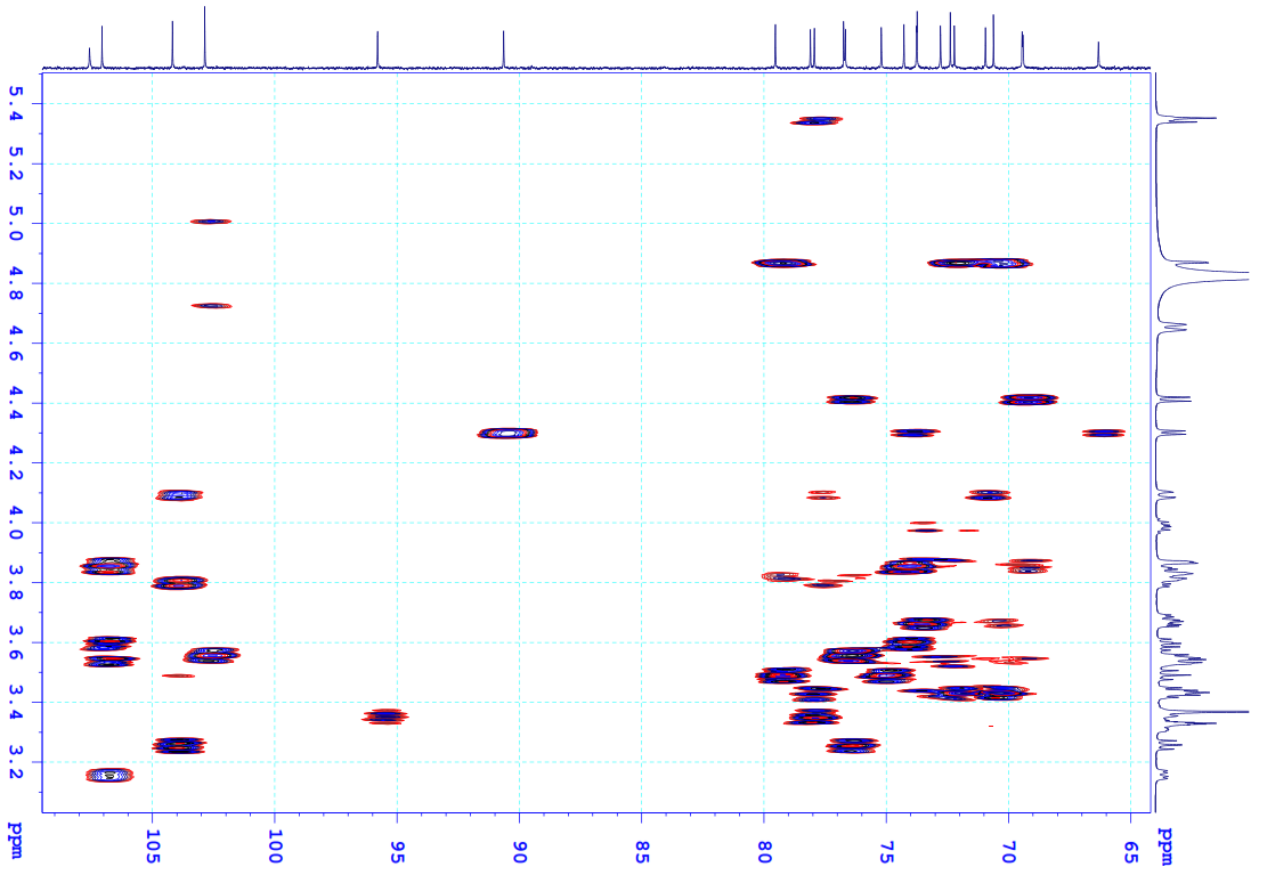


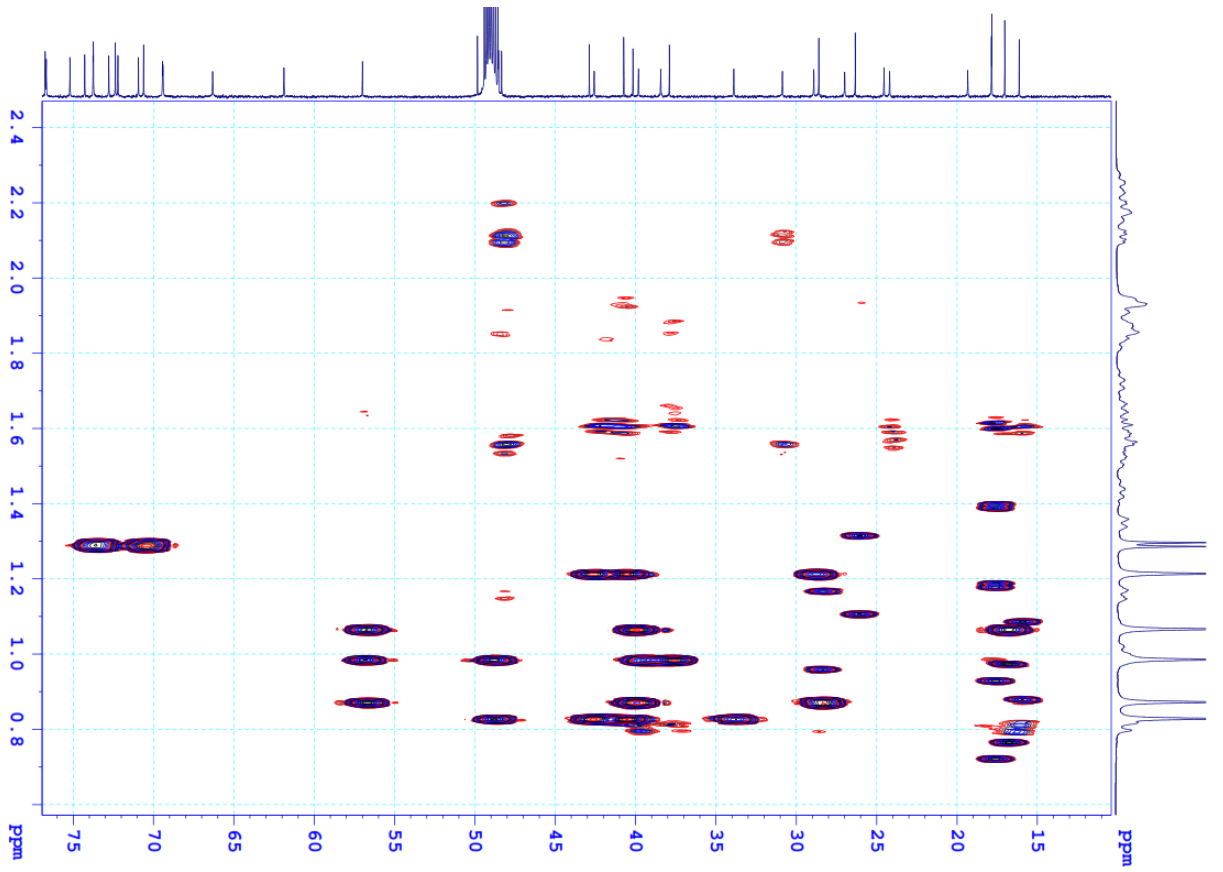
Phụ Lục 16 Phổ HSQC của hợp chất DO13



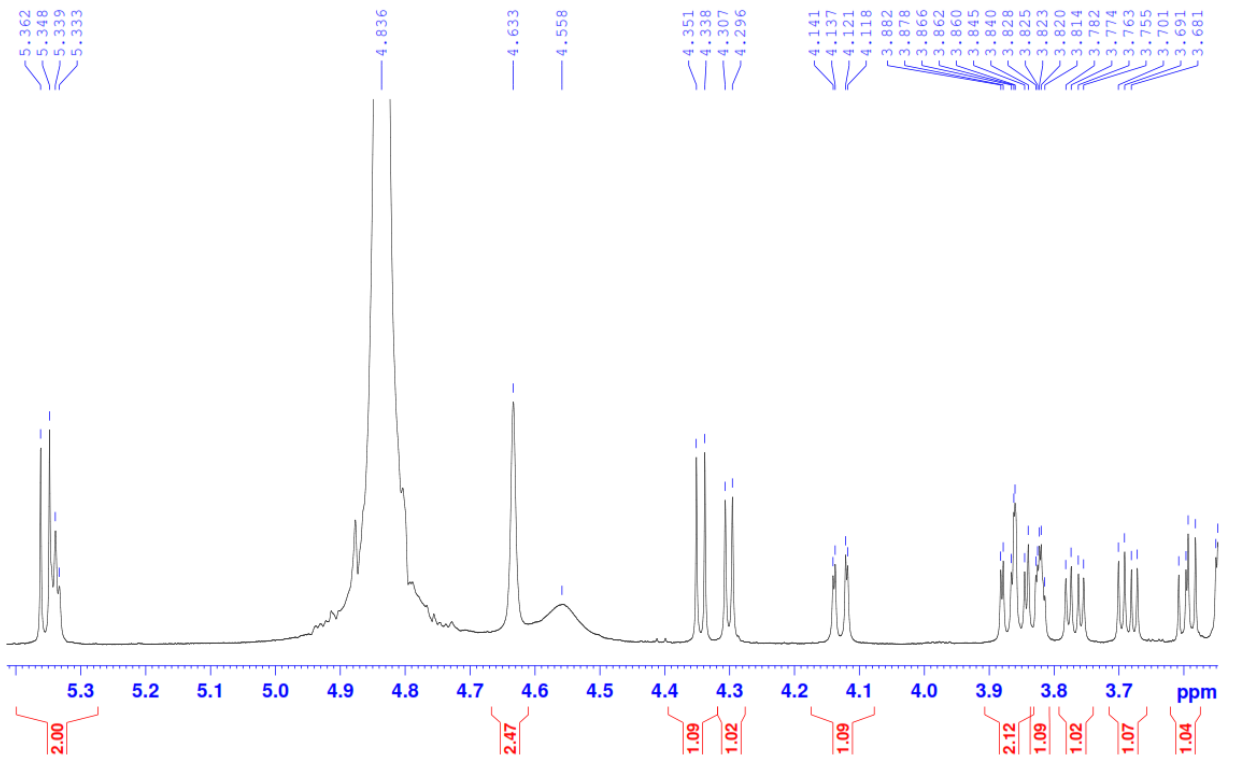


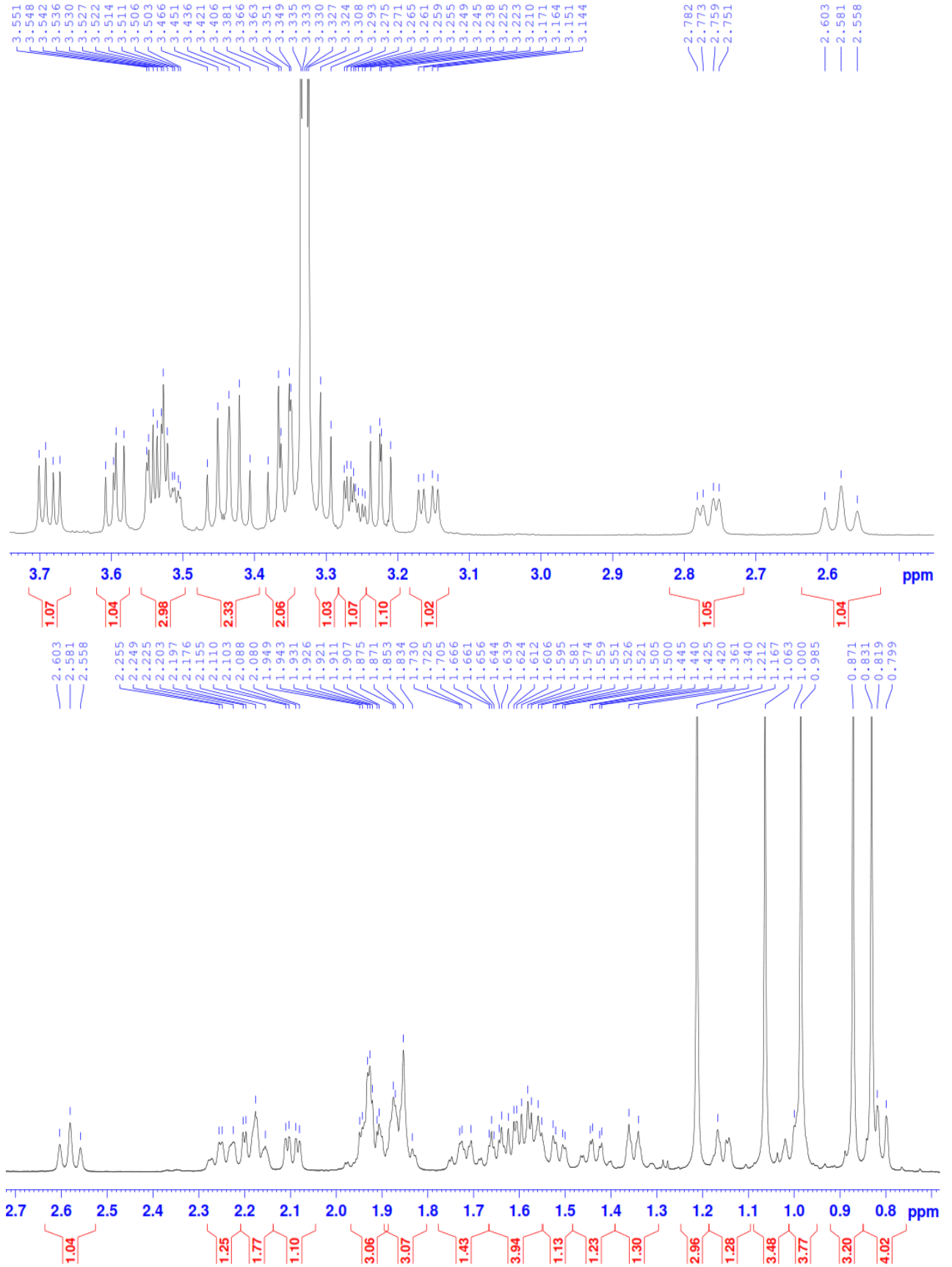
PL27





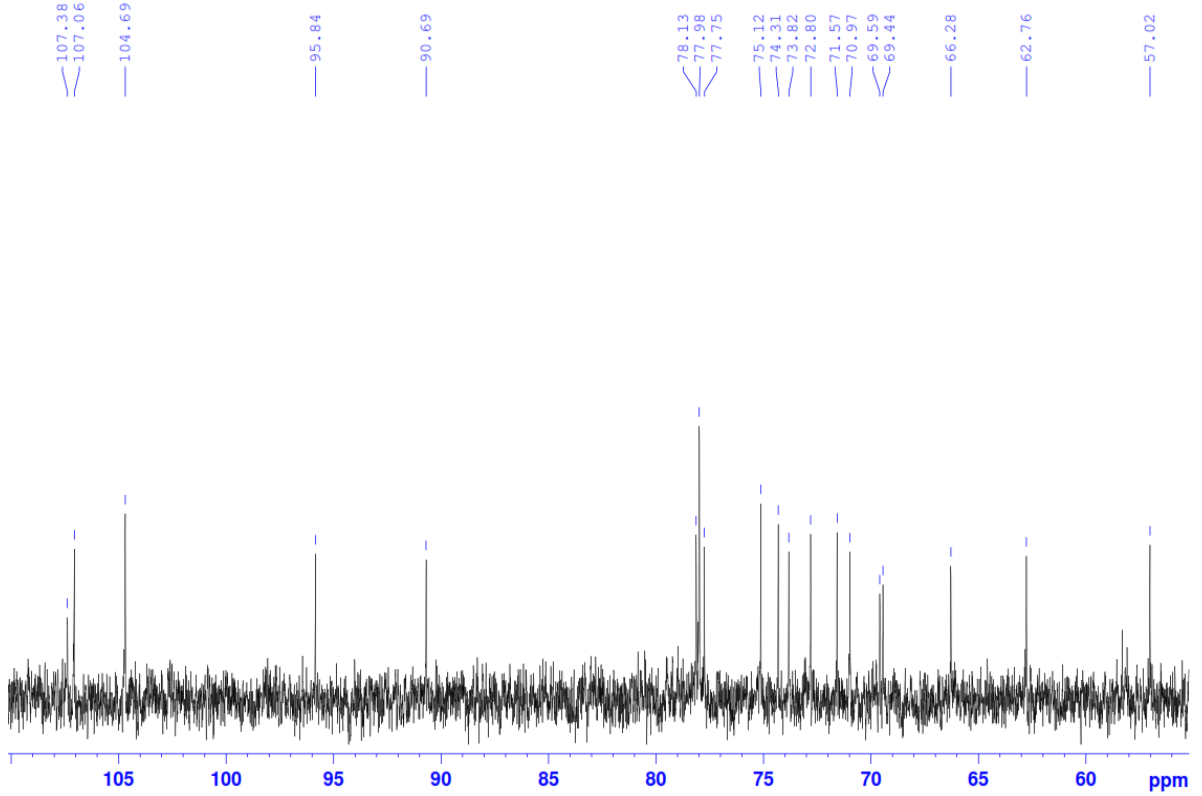
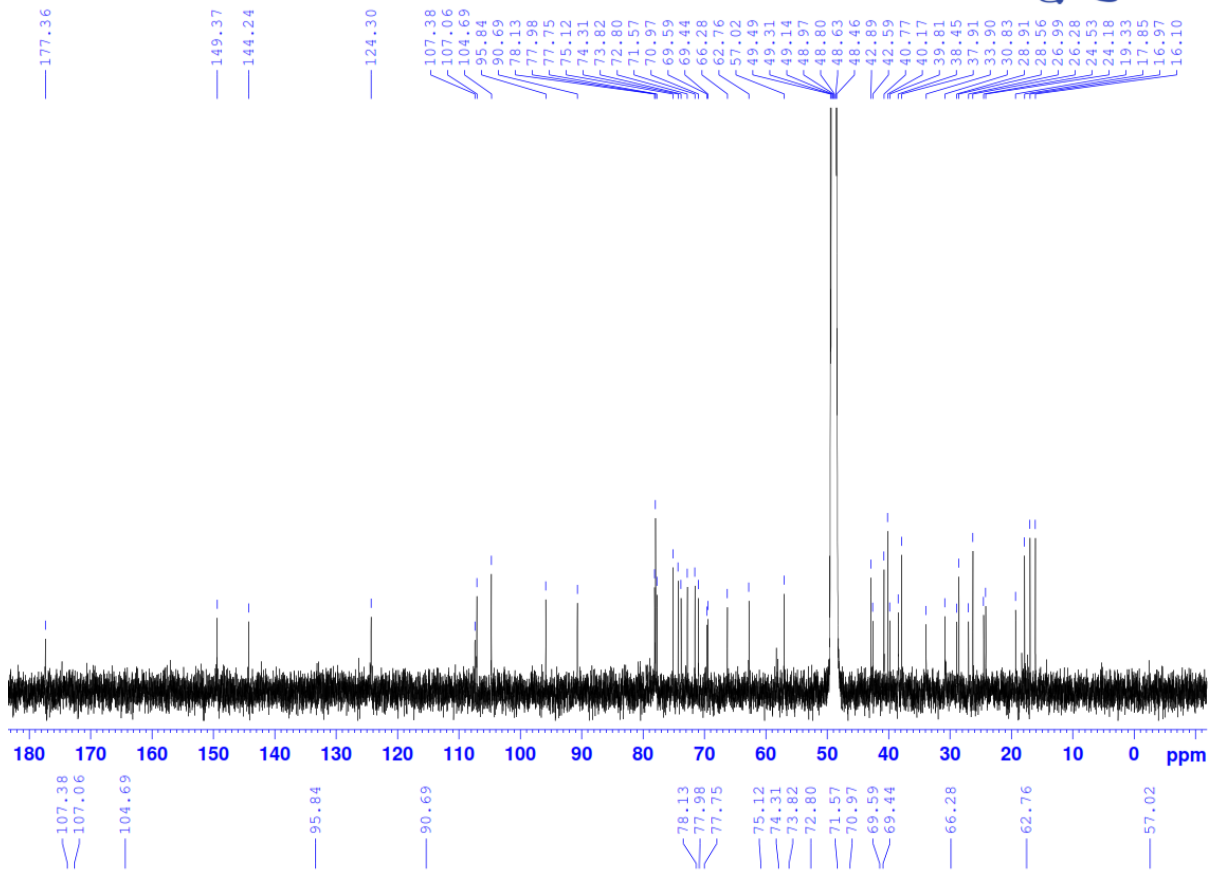
Phụ Lục 17 Phổ HMBC của hợp chất DO13

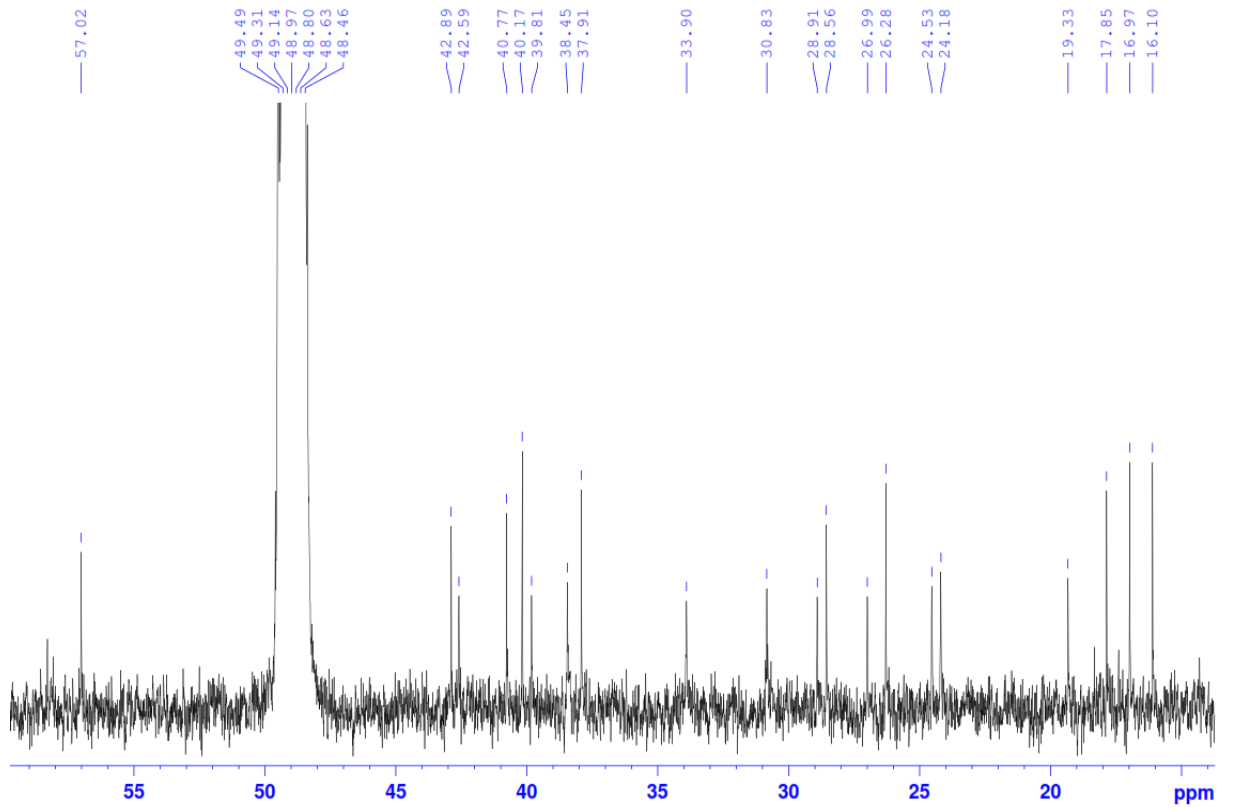




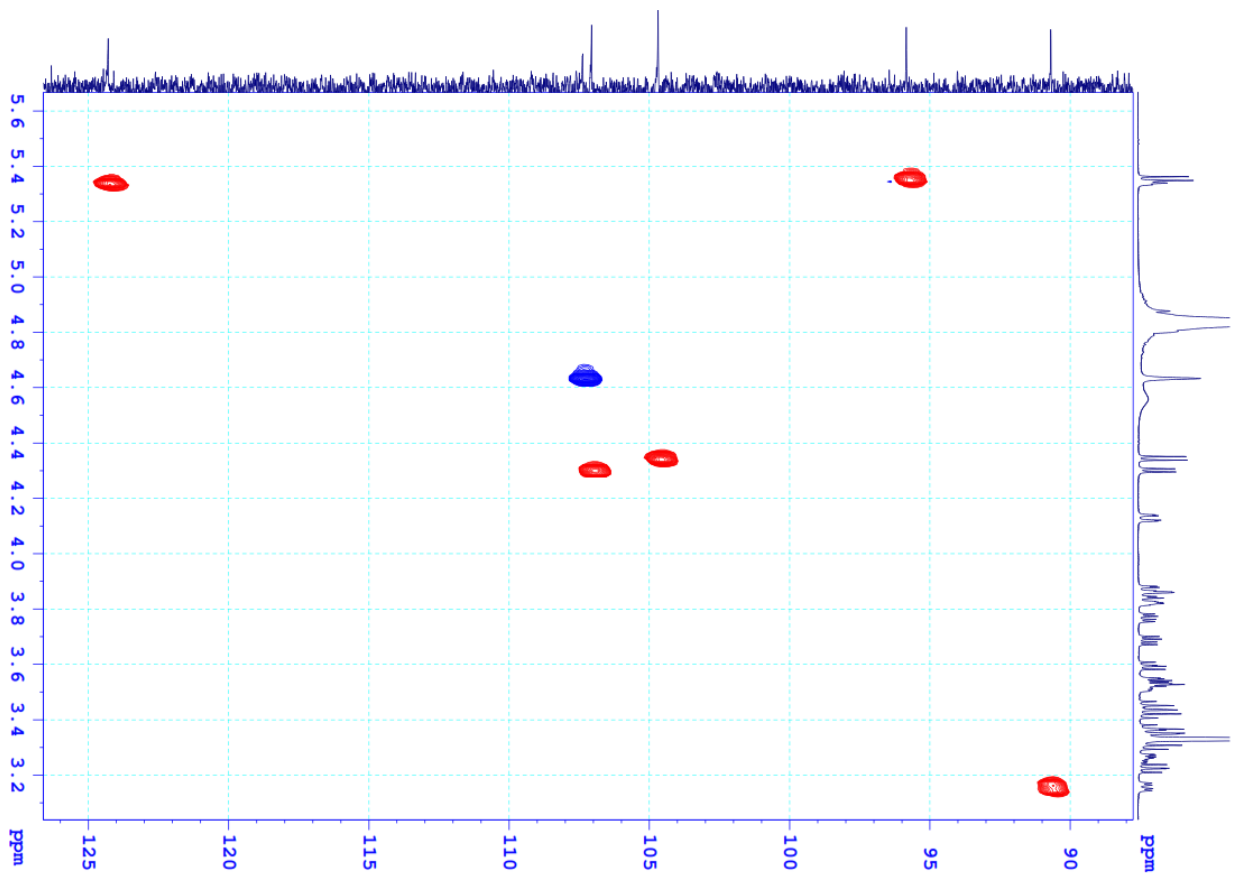
Phụ Lục 18 Phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất DO14

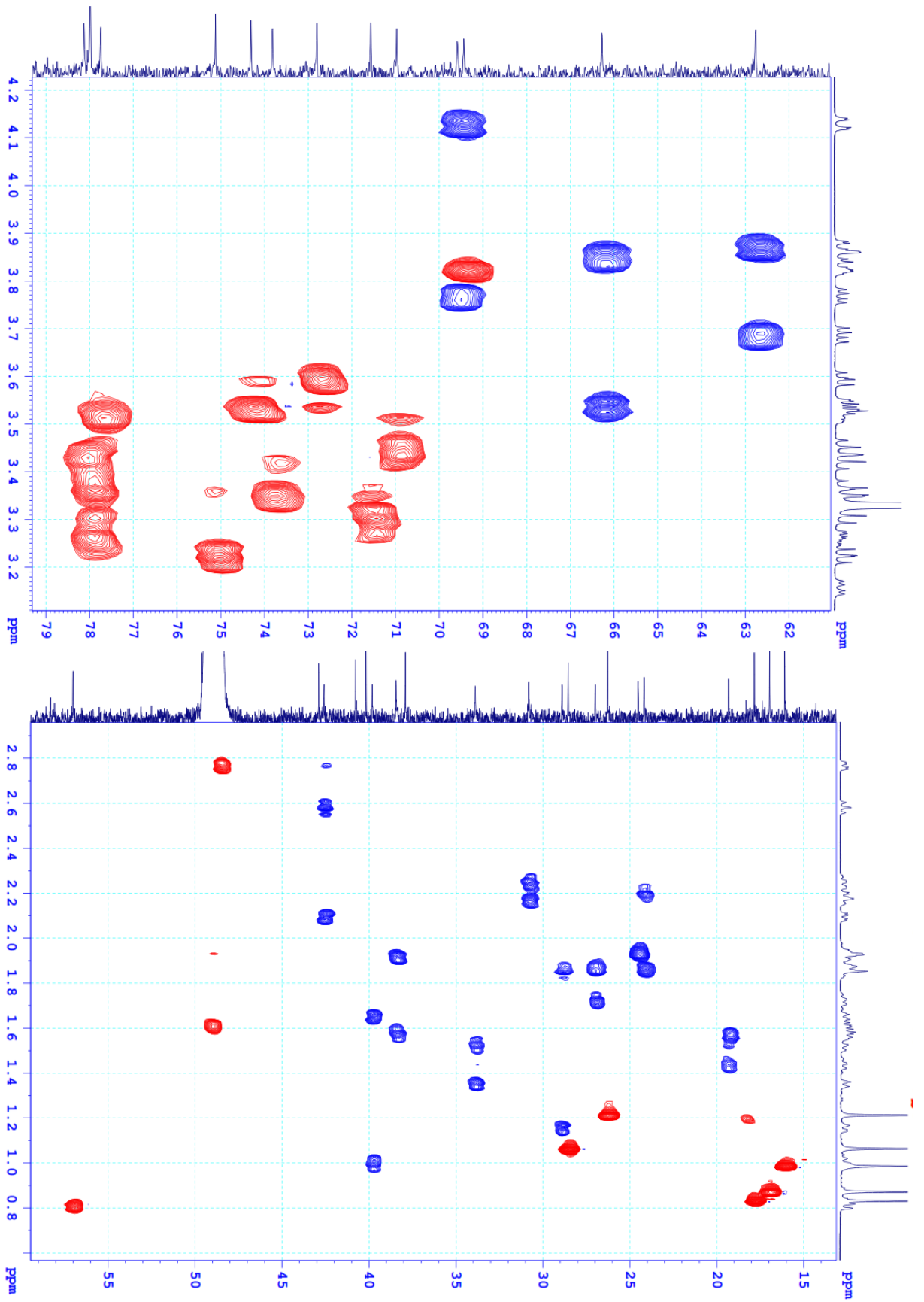
PL30





Phụ Lục 19 Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất DO14





Phụ Lục 20 Phổ HSQC của hợp chất DO14