

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**ĐÀO NGỌC VÂN TRANG**

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT  
TÍNH ỨC CHẾ ENZYME  $\alpha$ -GLUCOSIDASE TRÊN  
MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP CỦA THỊT QUẢ  
BÌNH BÁT NƯỚC *ANNONA GLABRA* L.**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ**

**ĐÀO NGỌC VÂN TRANG**

**HÓA HỮU CƠ**

**NĂM 2025**

*Tp. Hồ Chí Minh - Năm 2025*

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**ĐÀO NGỌC VÂN TRANG**

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ  
ENZYM E  $\alpha$ -GLUCOSIDASE TRÊN MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN  
LẬP CỦA THỊT QUẢ BÌNH BÁT NƯỚC *ANNONA GLABRA L.***

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

**Ngành: Hóa hữu cơ  
Mã số: 8440114**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:**

1. TS. Nguyễn Văn Kiều
2. PGS.TS. Mai Đình Trí

  
TS. Nguyễn Văn Kiều

  
Mai Đình Trí

***Tp. Hồ Chí Minh – Năm 2025***

**LỜI CAM ĐOAN**

*Tôi muốn khẳng định rằng luận văn thạc sĩ ngành Hóa học với đề tài “Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả bình bát nước *Annona glabra* L.”, là công trình khoa học do chính tôi tự tìm hiểu và thực hiện dựa trên những số liệu, tài liệu khoa học được công bố. Chính lí do trên, những kết quả nghiên cứu trong luận văn thạc sĩ đảm bảo tính khách quan và chuẩn xác và chưa có nghiên cứu nào trước đây ghi nhận kết quả này.*

**Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên**



**ĐÀO NGỌC VÂN TRANG**

## LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến TS. Nguyễn Văn Kiều – Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng – Đại học Duy Tân, Thành phố Hồ Chí Minh và PGS. TS. Mai Đình Trị – Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Thành phố Hồ Chí Minh, đã tận tâm định hướng, hướng dẫn và chia sẻ những tri thức chuyên ngành cùng với các tích lũy chuyên môn có giá trị trong lĩnh vực phân tích đặc tính hóa học của các hợp chất tự nhiên. Những sự giúp đỡ và tạo môi trường thuận lợi từ quý thầy đã giúp tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu một cách hiệu quả và suôn sẻ.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến PGS. TS. Đặng Văn Sơn – Viện khoa học và Công nghệ Việt Nam, Viện Sinh học Nhiệt đới, đã hỗ trợ tận tâm trong công tác định danh mẫu quả Bình bát nước được áp dụng trong đề tài nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến ban Lãnh đạo phòng Đào tạo và các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, hỗ trợ tôi trong suốt giai đoạn thực hiện và hoàn thành luận văn Thạc sĩ.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến quý Thầy Cô khoa Hóa Học – Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Sự tận tâm giảng dạy, hướng dẫn và đồng thời đã chia sẻ những kiến thức chuyên môn cùng kinh nghiệm thực tiễn quý báu của quý Thầy Cô đã giúp tôi rất nhiều trong quá trình trau dồi kiến thức và thực hiện nghiên cứu.

Xuyên suốt quá trình triển khai đề tài nghiên cứu, tôi may mắn được nhiều sự hỗ trợ tận tâm từ NCS. ThS. Phan Hoàng Vĩnh Trường, ThS. Đồng Phan Sĩ Nguyên, ThS. Nguyễn Thị Ánh Minh cùng các anh chị và đồng nghiệp. Sự giúp đỡ, những lời khuyên hữu ích và kinh nghiệm quý giá từ mọi người đã hỗ trợ và tạo môi trường thuận lợi giúp tôi hoàn thành nghiên cứu. Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến tất cả.

Cuối cùng, tôi vô cùng biết ơn gia đình, đặc biệt là ba mẹ, cùng với đồng nghiệp và bạn bè, những người đã luôn đồng hành, động viên và tiếp thêm động lực vững chắc để có thể thực hiện thành công đề tài và hoàn thành chương trình học tập.

## MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN .....	i
LỜI CẢM ƠN .....	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC HÌNH ẢNH .....	vii
DANH MỤC BẢNG BIỂU .....	viii
MỞ ĐẦU.....	1
1. <i>Lý do chọn đề tài</i> .....	1
2. <i>Định hướng nghiên cứu</i> .....	2
3. <i>Nội dung nghiên cứu</i> .....	3
4. <i>Nền tảng khoa học và giá trị thực tiễn của nghiên cứu</i> .....	3
5. <i>Tầm quan trọng và ý nghĩa của đề tài</i> .....	4
CHƯƠNG 1.    TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU .....	5
1.1. <i>Sơ lược về bệnh đái tháo đường</i> .....	5
1.1.1.    Giới thiệu chung.....	5
1.1.2.    Phân loại bệnh đái tháo đường.....	6
1.1.3.    Một số dược phẩm, chế phẩm hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường .....	7
1.2. <i>Tổng quan về cây Bình bát nước</i> .....	8
1.2.1.    Khái quát về cây Bình bát nước.....	8
1.2.2.    Mô tả đặc điểm thực vật.....	8
1.2.3.    Những nghiên cứu về thành phần hóa học.....	9
1.2.4.    Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học .....	20
CHƯƠNG 2.    PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	23
2.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i> .....	23
2.2. <i>Hóa chất, thiết bị và dụng cụ</i> .....	23
2.2.1.    Hóa chất .....	23
2.2.2.    Thiết bị .....	24
2.2.3.    Dụng cụ.....	24
2.3. <i>Quy trình thực nghiệm</i> .....	24
2.3.1.    Thu hái và xử lý mẫu thịt quả Bình bát nước ( <i>A. glabra</i> L.) .....	24
2.3.2.    Điều chế các cao phân đoạn.....	24
2.3.3.    Quy trình phân lập các hợp chất .....	25
2.3.4.    Khảo sát khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase.....	28

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....	30
<b>3.1. Kết quả xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập</b> .....	30
3.1.1. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>1</b> .....	30
3.1.2. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>2</b> .....	33
3.1.3. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>3</b> .....	36
3.1.4. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>4</b> .....	39
3.1.5. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>5</b> .....	42
3.1.6. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất <b>6</b> .....	45
<b>3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme <math>\alpha</math>-glucosidase</b> .....	47
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....	49
<i>Kết luận</i> .....	49
<i>Kiến nghị</i> .....	50
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ .....	51
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	52
PHỤ LỤC .....	57

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

IDF	International Diabetes Federation <i>Liên đoàn Tiểu đường Thế giới</i>
FDA	Food and Drug Administration <i>Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm</i>
ICA	Kháng đảo tụy
GAD 65	Kháng Glutamic acid decarboxylase 65
IA-2	Kháng Tyrosine phosphatase
IAA	Kháng Insulin
ZnT8	Kháng Zinc Transporter 8
IC <sub>50</sub>	Half-maximal Inhibitory Concentration <i>Nồng độ ức chế 50 %</i>
TLC	Thin Layer Chromatography <i>Sắc ký lớp mỏng</i>
CC	Column Chromatography <i>Sắc ký cột</i>
HR-ESI-MS	High-Resolution Electrospray Ionisation Mass Spectrometry <i>Khối phổ độ phân giải cao</i>
NMR	Nuclear Magnetic Resonance <i>Phổ cộng hưởng từ hạt nhân</i>
<sup>1</sup> H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance <i>Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton</i>
<sup>13</sup> C-NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance <i>Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon <sup>13</sup>C</i>
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation <i>Tương quan đơn liên kết dị hạt nhân</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation <i>Tương quan đa liên kết dị hạt nhân</i>

NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
<i>brs</i>	Broad singlet
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet of doublet
<i>m</i>	Multiplet
<i>J</i>	Coupling constant – <i>Hằng số ghép cặp</i>
$\delta$	Chemical shift (ppm) – <i>Độ dịch chuyển hóa học</i>
DMSO	Dimethyl sulfoxide

**DANH MỤC HÌNH ẢNH**

<b>Hình 2.1.</b> Quy trình phân lập những hợp chất từ thịt quả Bình bát nước ( <i>A. glabra</i> L.) .....	27
<b>Hình 3.1.</b> Đặc tính cấu trúc của các hợp chất phân lập từ thịt quả Bình bát nước ( <i>A. glabra</i> L.).....	30
<b>Hình 3.2.</b> Đặc tính cấu trúc và các tương quan HMBC, NOESY, COSY của hợp chất <b>1</b> .....	32
<b>Hình 3.3.</b> Đặc tính cấu trúc của hợp chất <b>2</b> . .....	35
<b>Hình 3.4.</b> Đặc tính cấu trúc của hợp chất <b>3</b> . .....	38
<b>Hình 3.5.</b> Đặc tính cấu trúc của hợp chất <b>4</b> .....	40
<b>Hình 3.6.</b> Đặc tính cấu trúc của hợp chất <b>5</b> .....	43
<b>Hình 3.7.</b> Đặc tính cấu trúc của hợp chất <b>6</b> .....	46

**DANH MỤC BẢNG BIỂU**

<b>Bảng 3.1.</b> Kết quả phân tích phổ của hợp chất <b>1</b> – Annoglabin B. ....	32
<b>Bảng 3.2.</b> Kết quả phân tích phổ của hợp chất <b>2</b> và hợp chất <b>1</b> và hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17-oic acid.....	35
<b>Bảng 3. 3.</b> Kết quả phân tích phổ của hợp chất <b>3</b> và hợp chất <b>2</b> và hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17,19-dioic acid .....	38
<b>Bảng 3. 4.</b> Kết quả phân tích phổ của hợp chất <b>4</b> với hợp chất <b>3</b> và hợp chất ent-kaurane-16-en-19-ol.....	40
<b>Bảng 3. 5.</b> Kết quả phân tích phổ <b>5</b> và hợp chất <b>1</b> và hợp chất <b>2</b> .....	43
<b>Bảng 3. 6.</b> Kết quả phân tích phổ của hợp chất <b>6</b> và hợp chất <b>3</b> và hợp chất 16 $\beta$ , 17-dihydroxykauran-18-oic acid.....	46
<b>Bảng 3. 7.</b> Khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các phân đoạn từ thịt quả Bình bát nước ( <i>A. glabra</i> L.).....	48
<b>Bảng 3. 8.</b> Khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập từ cao BBH từ thịt quả Bình bát nước ( <i>A. glabra</i> L.).....	48

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Việt Nam sở hữu hệ thực vật phong phú với hơn 12.000 loài, tạo điều kiện thuận lợi cho nghiên cứu các hợp chất tự nhiên có tiềm năng dược lý [1]. Việc phân lập và phân tích các hợp chất này góp phần xác định thành phần hóa học và hỗ trợ điều trị nhiều bệnh như ung thư, viêm nhiễm và đái tháo đường. Một số hoạt chất quan trọng đã được thực hiện như artemotil từ cây Ngải hoa vàng (*Artemisia annua*) dùng điều trị sốt rét [2], và paclitaxel từ cây Thông đỏ (*Taxus brevifolia*) dùng trong điều trị ung thư vú [3]. Tuy nhiên, chỉ có khoảng 10% đa dạng sinh học toàn cầu đã được nghiên cứu [4], cho thấy được tiềm năng lớn cần được khai thác, đặc biệt với loài Bình bát nước – một loài cây xâm lấn phổ biến tại Việt Nam, có triển vọng trong điều trị đái tháo đường

Cây Bình bát nước (*Annona glabra* L.), có tên gọi khác như Na Xiêm, là một loài thực vật xâm lấn phân bố rộng rãi ở các nước và khu vực thuộc đới khí hậu nóng ẩm, trong đó có Việt Nam. Với nguồn gốc xuất sứ từ các nước Trung Mỹ, Mexico, Brazil và Peru, cây Bình bát nước rất dễ thích nghi và có khả năng phát tán và sinh sôi nảy nở nhanh chóng [5]. Trong y học dân gian, Bình bát nước được xem như một loại thực phẩm với phần thịt quả có thể ăn được và dùng để làm mứt. Ở các nước châu Á, đặc biệt ở Maldives, quả Bình bát nước được sử dụng như một nguyên liệu phổ biến trong đồ uống hoặc nước trái cây tươi. Hạt quả được nghiền nát và nấu với dầu dừa có thể được sử dụng để trị chấy rận [6]. Lá và thân non của cây Bình bát nước kết hợp với lá và thân cây Lạc tiên có thể được nấu làm trà với tác dụng tiêu diệt giun sán và tuyến trùng. Ngoài ra, các bộ phận sinh dưỡng quan trọng của cây chẳng hạn như rễ và thân cũng có giá trị y học cao và được dùng rộng rãi trong các bài thuốc cổ truyền để hỗ trợ chữa trị sốt, táo bón, bổ tim và an thần... [7]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học trong rễ, lá, trái và vỏ của cây Bình bát nước đã dần làm sáng tỏ những ứng dụng tiềm năng của loại cây này, đồng thời xác nhận sự hiện diện của nhiều nhóm hợp chất quan trọng, điển hình như flavonoid, glycoside, saponin, tannin, steroid, anthraquinone, và acetogenin, ... [8]. Tuy nhiên, những nghiên cứu trên phần thịt quả Bình bát nước còn nhiều hạn chế, cho thấy rằng các định hướng nghiên cứu về các thành phần từ thịt quả Bình bát nước có tiềm năng khai thác lớn, nhưng mức độ quan tâm nghiên cứu vẫn còn hạn chế. Bên cạnh đó quả Bình bát nước có số lượng hạt lớn chiếm 70% toàn quả, chính vì nguyên nhân đó khi các nghiên cứu trước đây đã được thực hiện trên toàn quả (bao gồm hạt quả và

thịt quả) làm đặt ra những nghi vấn các thành phần các hợp chất đã phân lập được được phân lập ra từ hạt.

Dựa vào nền tảng cơ sở khoa học và hiểu biết hiện có về loại cây này, cùng với những lý do nghi vấn trên đã được trình bày, tôi chọn thực hiện đề tài nghiên cứu “**Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả Bình bát nước *Annona glabra* L.**”. Thịt quả Bình bát nước được chọn làm đối tượng nghiên cứu chính nhằm phân tích thành phần hóa học và phân tích tiềm năng sinh học của những hợp chất phân lập được trong việc ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, qua đó hướng đến ứng dụng trong phòng ngừa và tăng cường hỗ trợ kiểm soát bệnh đái tháo đường. Dữ liệu của nghiên cứu sẽ cung cấp các thông tin khoa học quý giá về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, đồng thời nâng cao giá trị và tiềm năng ứng dụng của dược liệu quý này cũng như làm sáng tỏ các vấn đề nghi vấn trước đây.

## 2. Định hướng nghiên cứu

### • Định hướng chung:

- Bổ sung và đem lại nhiều thông tin khoa học quan trọng về phân bố các hợp chất của thịt quả Bình bát nước, đặc biệt là đề cập đến đặc tính sinh học của các hợp chất tự nhiên có trong loài thực vật này.
- Phân tích tác động của các hợp chất phân lập đến hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase, góp phần xác định tiềm năng hỗ trợ quản lý bệnh đái tháo đường trong thực hành lâm sàng.
- Góp phần nâng cao giá trị của cây Bình bát nước và các bộ phận của nó trong y học cổ truyền Việt Nam, đồng thời mở ra cơ hội ứng dụng trong ngành công nghiệp dược phẩm.

### • Định hướng chi tiết:

- Tiến hành điều chế phân lập các cao phân đoạn từ nguyên liệu bột thịt quả Bình bát nước bằng phương pháp chiết Soxhlet, sử dụng các dung môi với độ phân cực tăng dần nhằm thu được các cao phân đoạn tương ứng.
- Triển khai các phương pháp tách chiết sắc ký, bao gồm sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột để phân tích và nhận diện các hợp chất hữu cơ từ các cao phân đoạn thu được.
- Làm sáng tỏ đặc điểm cấu trúc của các hợp chất đã phân lập dựa trên dữ liệu phổ nghiệm bao gồm các kỹ thuật như: 1D-, 2D-NMR và MS.
- Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập thông qua thử

nghiệm ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, từ đó xem xét giá trị ứng dụng trong chăm sóc và hỗ trợ kiểm soát bệnh đái tháo đường.

### 3. Nội dung nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu tập trung vào năm khía cạnh cốt lõi sau :

- **Nội dung 1 :** Thu thập, giám định và xử lý mẫu quả Bình bát nước nhằm đảm bảo chất lượng và độ chính xác cho các bước nghiên cứu tiếp theo.
- **Nội dung 2 :** Tiến hành điều chế các cao phân đoạn từ bột thịt quả Bình bát nước bằng phương pháp chiết Soxhlet, sử dụng dung môi có độ phân cực tăng dần để thu được các phân đoạn phù hợp.
- **Nội dung 3 :** Áp dụng các kỹ thuật sắc kí bao gồm: sắc kí lớp mỏng, sắc kí cột pha thường/ pha đảo, sephadex-LH20, ... để phân lập các hợp chất tự nhiên từ các cao phân đoạn đã điều chế.
- **Nội dung 4 :** Xác định đặc điểm cấu trúc hóa học của các hợp chất hữu cơ phân lập thông qua các phương pháp phổ nghiệm hiện đại như: 1D-NMR, 2D-NMR, HR-EIS-MS, ... giúp làm sáng tỏ thành phần hóa học của mẫu nghiên cứu.
- **Nội dung 5 :** Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất thu được thông qua thử nghiệm khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, mở ra triển vọng trong chăm sóc và điều trị bệnh đái tháo đường.

### 4. Nền tảng khoa học và giá trị thực tiễn của nghiên cứu

Cây Bình bát nước là một loài thực vật phổ biến, được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền ở nhiều quốc gia châu Á, đặc biệt là Ấn Độ và Việt Nam. Trong y học dân gian, cây này được xem như một vị thuốc có nhiều công dụng đáng chú ý. Các nghiên cứu trước đây đã phân lập và xác định thành phần hóa học của cây, cho thấy sự đa dạng của các hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng. Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu trước đây chỉ tập trung vào rễ, thân và lá của cây Bình bát nước, trong khi các nghiên cứu chuyên sâu về thịt quả vẫn còn khá hạn chế, đặc biệt đối với các loài cây được trồng và phát triển ở Việt Nam. Chính vì vậy, việc nghiên cứu, phân lập các hợp chất từ cao chiết của thịt quả Bình bát nước không chỉ góp phần giúp bổ sung dữ liệu khoa học mà còn hoàn thiện bức tranh tổng thể về sự xuất hiện của các hợp chất có trong loài cây này. Hơn nữa, việc mở rộng nghiên cứu về thành phần hóa học của thịt quả Bình bát nước có thể mang lại những phát hiện quan trọng, bao gồm cả các hợp chất thiên nhiên mới với tiềm năng sinh học cao. Trong đó, khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -

glucosidase là một tiêu chí quan trọng trong nghiên cứu hỗ trợ kiểm soát đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường type II – một căn bệnh phổ biến hiện nay. Do đó, việc khai thác và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất có trong thịt quả Bình bát nước sẽ tạo tiền đề quan trọng cho các phương pháp điều trị mới, mở ra hướng ứng dụng tiềm năng trong dược liệu và y học hiện đại.

## **5. Tầm quan trọng và ý nghĩa của đề tài**

Những phát hiện quan trọng, không chỉ mang đến nền tảng khoa học vững chắc mà còn góp phần mở rộng bức tranh tổng thể về hệ hóa học của cây Bình bát nước sinh trưởng tại Việt Nam. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất tự nhiên giúp làm rõ đặc điểm hóa học của bộ phận này, từ đó bổ sung dữ liệu quan trọng vào kho tàng nghiên cứu về dược liệu. Đặc biệt, nghiên cứu về hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase đã góp phần làm sáng tỏ tiềm năng dược lý của các hợp chất phân lập được. Kết quả này không chỉ giúp khẳng định giá trị của cây Bình bát nước trong y học mà còn mở ra hướng ứng dụng mới trong lĩnh vực chế phẩm dược và sản phẩm chăm sóc sức khỏe cho bệnh nhân đái tháo đường. Những phát hiện này có khả năng trở thành nền tảng phát triển quan trọng giúp định hướng nghiên cứu chuyên biệt hơn nhằm phát triển các chế phẩm thiên nhiên có giá trị cao trong điều trị bệnh.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU

### 1.1. Sơ lược về bệnh đái tháo đường

#### 1.1.1. Giới thiệu chung

Diabetes mellitus hay còn được gọi là bệnh đái tháo đường là một hội chứng rối loạn chuyển hóa lâu dài, biểu hiện qua tình trạng mức glucose huyết tương tăng cao kéo dài, xảy ra do tuyến tụy không sản xuất đủ insulin hoặc cơ thể suy giảm khả năng sử dụng insulin một cách hiệu quả [9]. Insulin là một hormone quan trọng do tế bào đảo tụy tiết ra, có chức năng kiểm soát quá trình chuyển hóa glycogen thành glucose tại gan. Khi cơ thể bị thiếu hụt insulin, quá trình này diễn ra không kiểm soát, làm tăng lượng glucose trong máu, dẫn đến tình trạng đường huyết cao.

Trong bối cảnh y học phát triển, đái tháo đường vẫn là một vấn đề sức khỏe nghiêm trọng, không chỉ tạo ra những thách thức đáng kể đối với sức khỏe cộng đồng mà còn đặt ra nhiều khó khăn trong công tác chăm sóc và điều trị bệnh nhân, bao gồm tại Việt Nam. Theo một nghiên cứu quốc tế được công bố trên tạp chí The Lancet vào năm 2024, số người trưởng thành được chẩn đoán bệnh lý đái tháo đường trên toàn cầu đã tăng gấp đôi trong 30 năm qua từ 7% vào năm 1990 lên 14% vào năm 2022, với ước tính khoảng 828 triệu người (từ 18 tuổi trở lên). Trong đó, bệnh đái tháo đường type II chiếm hơn 95% số ca mắc. Sự gia tăng nhanh chóng số ca mắc bệnh trong những năm gần đây có mối liên hệ chặt chẽ với tỉ lệ béo phì ngày càng cao, đặc biệt ở giới trẻ. Đây được xem là một trong những yếu tố hàng đầu góp phần gây nên tình trạng rối loạn dung nạp insulin từ đó làm gia tăng nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường. Tỷ lệ mắc bệnh tăng ở 131 quốc gia đối với phụ nữ và 155 quốc gia đối với nam giới, đặc biệt là các nước có thu nhập thấp nơi tỷ lệ mắc bệnh tăng nhanh nhưng khả năng tiếp cận điều trị còn hạn chế [10]. Báo cáo từ Liên đoàn Đái tháo đường Quốc tế (IDF) công bố năm 2019 cho thấy khoảng 6% người trưởng thành tại Việt Nam được chẩn đoán mắc đái tháo đường tương đương khoảng 5,75 triệu người [11]. Trước thực trạng đáng báo động về sự gia tăng của bệnh đái tháo đường, căn bệnh này đang có mức độ ảnh hưởng ngày càng lớn, không chỉ gây ra các biến chứng nghiêm trọng như suy thận, tổn thương thần kinh, huyết áp, tim mạch mà còn có thể đe dọa đến tính mạng. Vì vậy, việc hình thành nếp sống tích cực, sàng lọc bệnh sớm để giảm nguy cơ biến chứng, cùng với việc nâng cao công tác nghiên cứu và đổi mới phương pháp điều trị bệnh được tối ưu hóa hơn, đặc biệt là sử dụng các loại dược phẩm có nguồn gốc thiên nhiên, chính là những giải pháp quan trọng cần được ưu tiên hiện nay.

### 1.1.2. Phân loại bệnh đái tháo đường

Bệnh đái tháo đường được chia làm hai loại phổ biến:

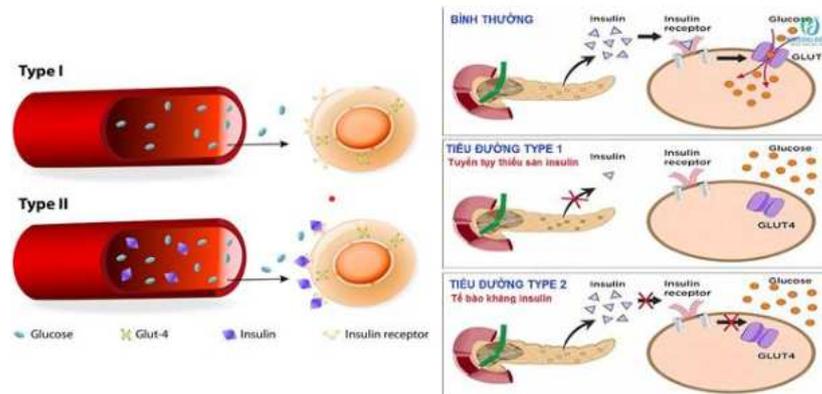
- **Đái tháo đường type I** (*do sự tổn thương tế bào beta tụy, gây suy giảm nghiêm trọng hoặc mất hoàn toàn khả năng sản xuất insulin*)

Đái tháo đường type I là một dạng rối loạn chuyển hóa do sự phá hủy tế bào beta tuyến tụy, khiến cơ thể không thể sản xuất hoặc chỉ tạo ra một lượng insulin rất nhỏ. Trong đó, khoảng 95% trường hợp xuất phát từ cơ chế tự miễn (type IA), trong khi 5% còn lại không xác định được nguyên nhân rõ ràng (type IB). Sự thiếu hụt insulin dẫn đến tăng nồng độ glucagon trong máu, làm rối loạn chuyển hóa đường, gây nhiễm toan ceton nếu không được điều trị kịp thời. Đái tháo đường type I có thể ảnh hưởng đến nhiều nhóm tuổi khác nhau, song thường phổ biến hơn ở trẻ em và người trẻ tuổi. Những người mắc bệnh này phụ thuộc vào insulin ngoại sinh để duy trì đường huyết trong ngưỡng ổn định [11].

- **Đái tháo đường type II** (*rối loạn hoạt động của tế bào beta tuyến tụy do ảnh hưởng của đề kháng insulin*)

Trước đây, bệnh đái tháo đường type II thường được gọi là đái tháo đường ở người trưởng thành hoặc đái tháo đường không phụ thuộc insulin. Loại bệnh này chiếm khoảng 90-95% tổng số ca mắc. Đặc trưng của đái tháo đường type II là sự kết hợp giữa tình trạng đề kháng insulin và suy giảm tương đối khả năng sản xuất insulin của tuyến tụy, khiến cơ thể không thể điều chỉnh glucose huyết một cách hiệu quả. Đái tháo đường type II, đặc biệt trong giai đoạn đầu, thường không cần insulin để duy trì sự sống. Nguyên nhân gây ra bệnh rất đa dạng, nhưng không có một yếu tố cụ thể nào đóng vai trò duy nhất. Không giống như đái tháo đường type I, đối với bệnh nhân đái tháo đường type II thì cấu trúc và chức năng của tế bào beta tuyến tụy vẫn được bảo toàn, không chịu tác động của cơ chế tự miễn, đồng thời không có dấu hiệu của kháng thể tự miễn trong hệ tuần hoàn. Phần lớn bệnh nhân mắc đái tháo đường type II có tình trạng thừa cân hoặc béo phì, đặc biệt là béo phì vùng bụng. Sự tích tụ mỡ ở khu vực này không chỉ làm tăng nồng độ acid béo tự do trong máu mà còn thúc đẩy sự tiết ra các hormone từ mô mỡ, làm giảm hiệu quả hoạt động của insulin tại các cơ quan đích như gan, mô mỡ và cơ xương. Đây cũng chính là cơ chế dẫn đến hiện tượng giảm nhạy insulin. Ở giai đoạn sớm của tình trạng đề kháng insulin, tuyến tụy tăng cường hoạt động của tế bào beta để sản xuất nhiều insulin hơn, giúp ổn định đường huyết, nhưng nếu tình trạng này kéo dài hoặc trở nên nghiêm trọng hơn, khả năng tiết insulin của tế bào beta sẽ suy giảm, do đó sẽ dẫn đến bệnh đái tháo đường type II trên lâm sàng. Mặc dù có thể cải thiện tình trạng đề kháng insulin thông qua việc điều trị bằng một số loại thuốc hoặc giảm

cân, nhưng vẫn khó có thể khôi phục hoàn toàn chức năng insulin về trạng thái bình thường [11]. Cơ chế sinh bệnh và sự khác nhau của bệnh đái tháo đường type I và đái tháo đường type II được thể hiện ở **Hình 1.1** [11].



**Hình 1.1** Cơ chế rối loạn chuyển hóa trong bệnh đái tháo đường

### 1.1.3. Một số dược phẩm, chế phẩm hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường

Nền tảng quan trọng trong chiến lược kiểm soát và can thiệp điều trị bệnh đái tháo đường là quá trình kiểm soát lượng đường huyết ổn định như: chế độ ăn uống hợp lý (hạn chế carbohydrate, chất béo, tăng cường ăn các loại rau củ quả và peptide và protein từ thực vật), tham gia các hoạt động thể dục thể thao (hơn 150 phút mỗi tuần), theo dõi lượng đường trong máu (90-130 mg/dL) và khám sức khỏe định kỳ [12]. Bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường type I sẽ được chỉ định tiêm insulin hằng ngày vì cơ thể không có khả năng tự sản xuất. Đối với người mắc bệnh đái tháo đường type II, các thuốc dạng uống hoặc tiêm insulin sẽ được chỉ định tùy thuộc vào mức đường huyết có trong máu. Hiện tại, một số nhóm thuốc chính trong ứng dụng kiểm soát và điều trị bệnh đái tháo đường type II gồm:

- Nhóm thuốc làm tăng độ nhạy cảm với insulin (thuốc metformin thuộc nhóm thuốc biguanide, ...);
- Nhóm thuốc làm thúc đẩy chức năng bài tiết insulin của tế bào beta tuyến tụy (nhóm sulfonylurea như: glyburide, glimepiride, gliclazide và glipizide, ...);
- Nhóm thuốc ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase (như acarbose, miglitol, voglibose, anthocyanins, pycnogenol, ...) [13].

Những nhóm thuốc trên được ứng dụng rộng rãi để giúp đỡ kiểm soát đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường nhưng vẫn gây ra một số tác dụng không mong muốn như đầy hơi, chướng bụng, đi ngoài... Do đó, việc nghiên cứu các chất ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và tác dụng hạ nồng độ glucose máu từ nhiều nguồn dược liệu quý có nguồn gốc từ thiên nhiên là rất cần thiết để hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường type II mà ít gây ra các tác dụng phụ hơn.

Dựa trên các hạn chế đã được xác định, kết hợp với nhu cầu cấp thiết trong đời sống và ngành y học hiện đại (hơn 60% các loại thuốc mới trong vài thập kỷ trở lại đây có nguồn gốc từ hợp chất thiên nhiên theo thống kê của FDA). Chính vì những tiềm năng trên, tôi đã chọn đề tài tiến hành phân lập các hợp chất thiên nhiên từ các cao phân đoạn của cây Bình bát nước.

## 1.2. Tổng quan về cây Bình bát nước

### 1.2.1. Khái quát về cây Bình bát nước

Cây **Bình bát nước** có tên khoa học đầy đủ là *Annona glabra* L.. Đây là một loài thuộc chi *Annona* và họ *Annonaceae*. Chi tiết về cây Bình bát nước [7]:

- **Tên khoa học:** *Annona glabra* L.
- **Loài:** *Annona glabra*
- **Chi:** *Annona*
- **Họ:** Annonaceae
- **Bộ:** Magnoliales
- **Giới:** Thực vật (Plantae)

Ngoài ra, cây Bình bát nước còn có tên gọi khác là Na xiêm. Còn tên tiếng Anh thường dùng là: “Alligator apple” hoặc “Cow apple” [7].

**Đặc điểm phân bố:** cây Bình bát nước là một loài cây bản địa tại Florida (Hoa Kỳ), các nước thuộc khu vực Caribe, Trung và Tây Phi. Tại Sri Lanka, Australia, Ấn Độ, các khu rừng ngập mặn ở miền nam Kerala, và các nước có khí hậu nhiệt đới, trong đó có Việt Nam, Bình bát nước được xem là một loài cây xâm lấn và đang lan rộng dọc theo các tuyến nước ngọt. Ở nước ta, cây mọc hoang ở các tỉnh ven biển từ Quảng Ninh vào Quảng Nam (Cù Lao Chàm) và các tỉnh Nam Bộ [7, 15].

### 1.2.2. Mô tả đặc điểm thực vật

Cây Bình bát nước là loài cây ăn quả nhiệt đới thuộc họ *Annonaceae*, rất dễ thích nghi và có khả năng phát tán, sinh sôi nảy nở nhanh chóng trong tự nhiên [5]. Bình bát nước là loài cây bán rụng lá, những lá già sẽ bắt đầu rụng đi khi các lá non đã bắt đầu mọc. Cây có thân gỗ nhỏ, phát triển với chiều cao từ 3-15 m, thường có một thân chính duy nhất, thân phình to khi còn non và phát triển thành rễ chống nhỏ khi trưởng thành. Vỏ thân cây có màu xám và thường xuất hiện các đốm nhỏ ở trên bề mặt. Các lá cây mọc so le, lá có hình bầu dục thuôn dài, đầu lá nhọn hoặc có

đuôi ngắn. Lá có kích thước từ 7-13 cm và rộng tầm 6 cm. Mặt lá Bình bát nước có hai màu khác nhau, mặt trên của lá có màu xanh nhạt đến xanh đậm, trong khi mặt dưới lá nhạt hơn. Lá có gân chính nổi rõ và một nếp gấp nhỏ ở điểm tiếp giáp giữa phiến lá và cuống lá. Hoa của cây Bình bát nước nhỏ, chỉ tồn tại trong thời gian ngắn, có đường kính 2-3 cm, có màu vàng nhạt đến kem, gồm ba cánh ngoài dày, dai và ba cánh nhỏ bên trong. Cuống hoa cong, đầu phình to. Lá đài dài 4,5 mm rộng 9 mm. Cánh hoa ngoài có dạng hình tim, dài 2,5-3,0 cm, rộng 2,0-2,5 cm, màu kem với một đốm đỏ thẫm ở gốc. Cánh hoa trong nhỏ hơn, có móng ngắn, dài 2,0-2,5 cm, rộng 1,5-1,7 cm, mặt ngoài cánh hoa có màu trắng, mặt trong cánh sẽ chuyển thành từ đỏ tươi đến đỏ sẫm. Đầu nhụy có chất dính và rụng sớm sau khi thụ phấn. Quả Bình bát nước có màu xanh, khi quả chín chuyển sang màu vàng hoặc cam. Hình dạng của quả có thể tròn hoặc thuôn dài. Bề mặt quả mịn, trông giống quả măng cầu dai nhưng không có vẩy. Thịt quả hơi khô dạng từng tép nhỏ, có mùi thơm đặc trưng khi quả chín, bên trong quả có nhiều hạt màu nâu nhạt [16, 17, 18].



**Hình 1. 2** Các bộ phận của cây Bình bát nước (*A. glabra* L.).  
 (i): Thân cây Bình bát nước, (ii): Hoa cây Bình bát nước,  
 (iii)-(iv): Quả cây Bình bát nước

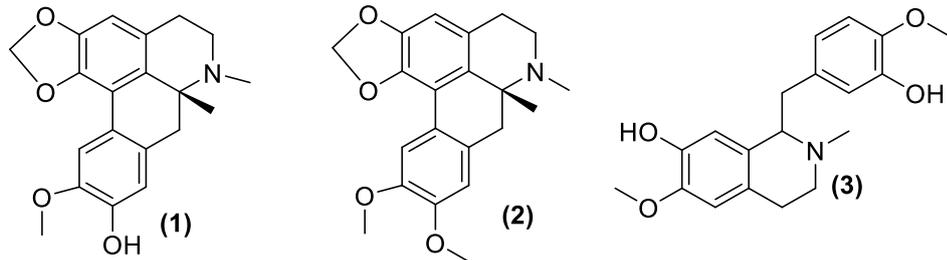
### 1.2.3. Những nghiên cứu về thành phần hóa học

Trong những năm qua, các nhà khoa học đã tiến hành nhiều nghiên cứu trên các bộ phận khác nhau như rễ, lá, thân và vỏ của cây Bình bát nước nhằm làm sáng tỏ các thành phần hóa học. Trên cơ sở đó, sự xuất hiện của đa dạng nhiều nhóm hợp chất bao gồm tannin, flavonoid, steroid, terpenoid, glucoside, saponin, anthraquinone và những hợp chất có tính acid khác... đã được báo cáo [19].

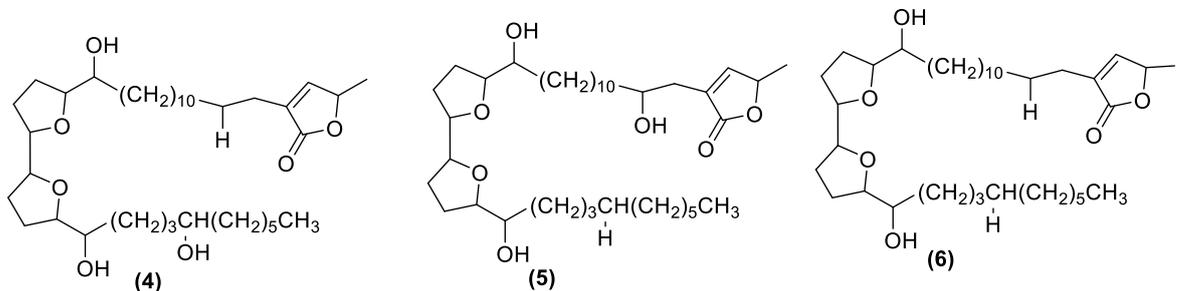
### 1.2.3.1. Những nghiên cứu trên thế giới

Trên phạm vi toàn cầu, nhiều nghiên cứu đã được triển khai bởi các nhà khoa học nhằm xác định các thành phần hợp chất có trong cây Bình bát nước. Kết quả từ các nghiên cứu này đã cho thấy sự hiện diện của nhiều hợp chất có giá trị sinh học cao, mở ra tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu và y học. Một số công trình tiêu biểu có thể được nhắc đến bao gồm :

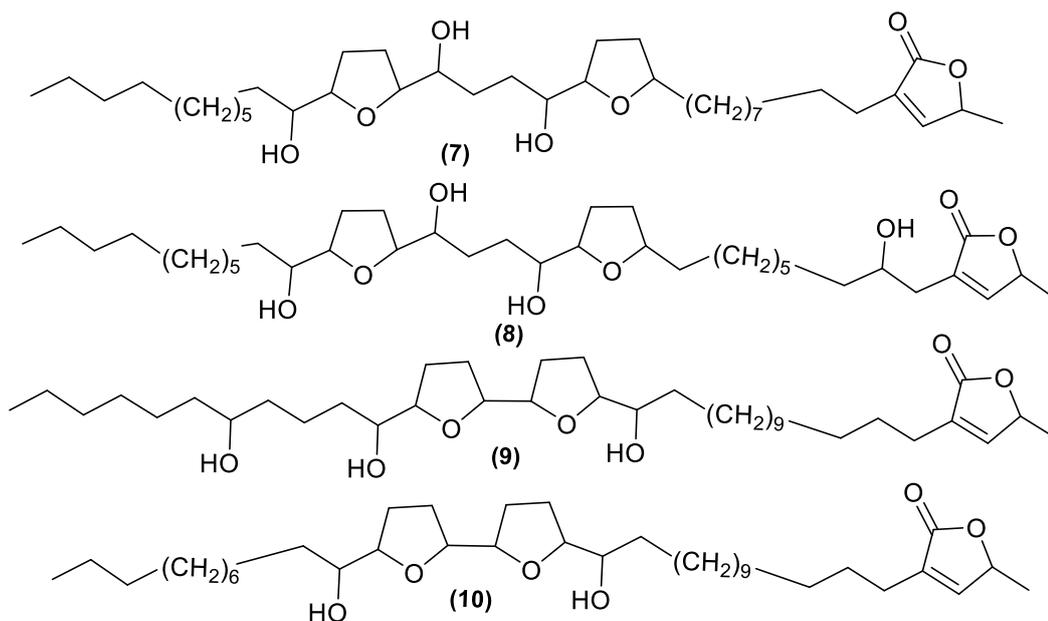
❖ Năm 1971, Tsang-Hsiung Yang và cộng sự đã phân lập được một alkaloid mới trên phần lá của cây Bình bát nước là (-)-*N*-methylactinodaphnine (1) và (-)-dicentrine (2) và reticuline (3) [20].



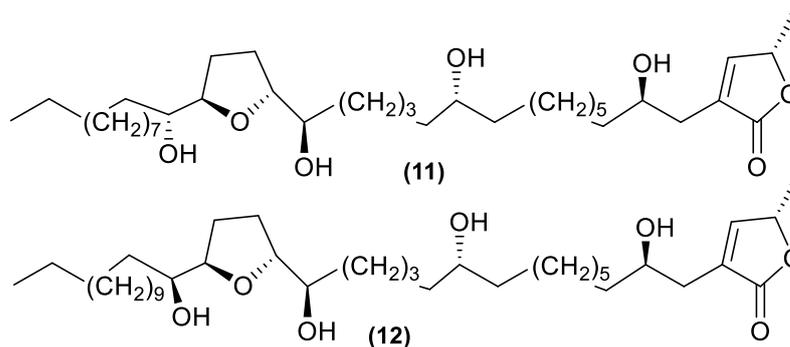
❖ Năm 1990, ba hợp chất đã được phát hiện từ quá trình phân lập bởi Kanju Ohsawa và cộng sự là squamocin (4), asimicin (5) và desacetylurarinin (6) thuộc khung acetogenin từ hạt cây Bình bát nước [21].



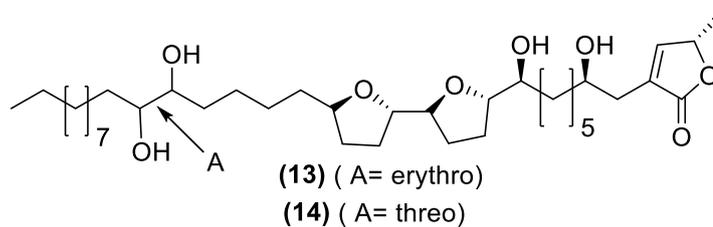
❖ Năm 1995, Li Chao-Ming và cộng sự đã ứng dụng phương pháp sắc ký cột để xử lý phần hạt của quả Bình bát nước để thu được các hợp chất thuộc khung acetogenin lần lượt là 4-desoxycherimolin (7), cherimolin-2 (8), annonin (9), và desacetylurarinin (10) [22].

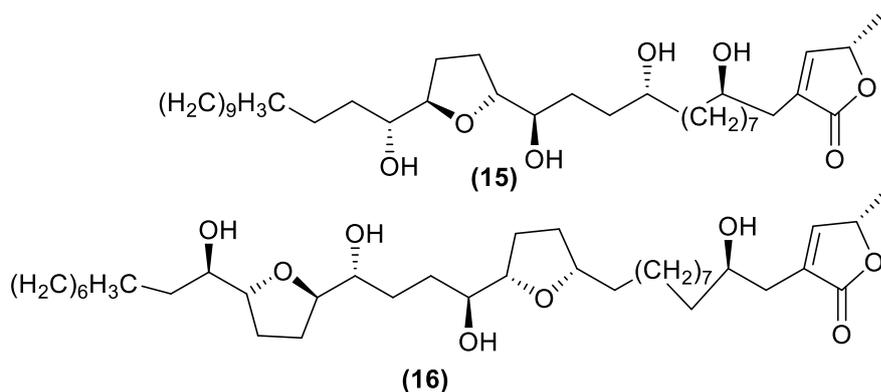


❖ Năm 1998, Xiao-Xi Liu và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu từ dịch chiết ethanol của lá cây thu được hai hợp chất acetogenin mới là glacins A (**11**) và glacins B (**12**) [23].

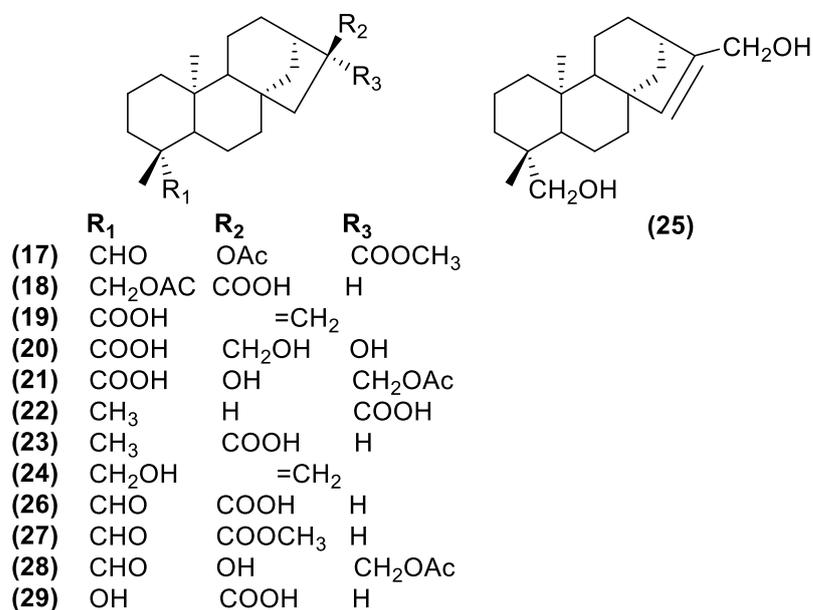


❖ Năm 1998, Xiao-Xi Liu và cộng sự đã tiến hành phân lập một số hợp chất từ dịch chiết của lá cây Bình bát nước thu được hai hợp chất khung acetogenin có hoạt tính sinh học mới là glabracin A (**13**) và glabracin B (**14**), và hai hợp chất đã biết là javoricin (**15**) và bullatanocin (**16**) [24].



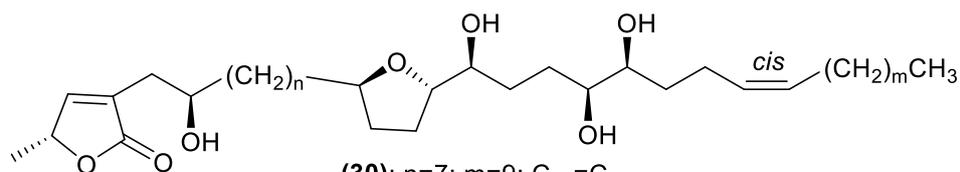
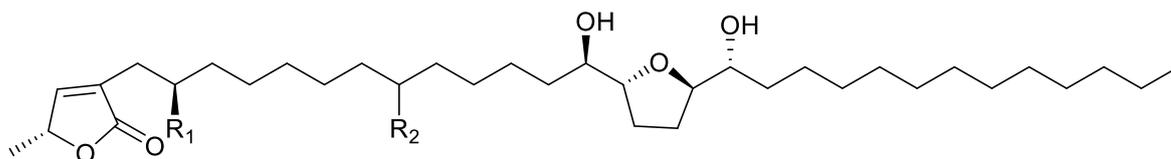
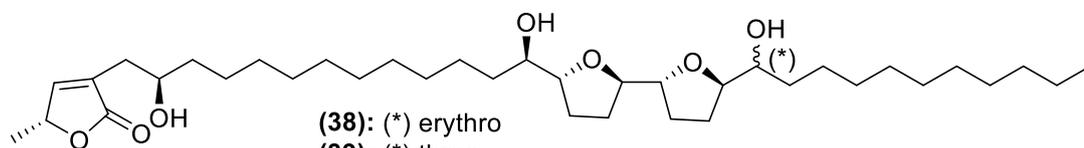


❖ Năm 1998, Fang-Rong Chang và cộng sự tiến hành nghiên cứu trên phần quả Bình bát nước để thu được 13 hợp chất trong đó có hai hợp chất kaurane diterpenoid là annoglabasin A (17) và annoglabasin B (18) và 11 dẫn xuất kaurane là *ent*-kaur-16-en-19-oic acid (19), 16 $\alpha$ , 17-dihydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid (20), 16 $\beta$ -Hydroxy-17-acetoxy-*ent*-kauran-19-oic acid (21), 16 $\beta$ -hydro-*ent*-kauran-17-oic acid (22), 16 $\alpha$ -hydro-*ent*-kauran-17-oic acid (23), *ent*-kaur-16-en-19-ol (24), *ent*-kaur-15-ene-17,19-diol (25), 16 $\alpha$ -hydro-19-al-*ent*-kauran-17-oic acid (26), methyl-16 $\alpha$ -hydro-19-al-*ent*-kauran-17-oate (27), 16 $\beta$ -hydroxyl-17-acetoxy-*ent*-kauran-19-al (28), 19-nor-*ent*-kauran-4 $\alpha$ -ol-17-oic acid (29) [25].



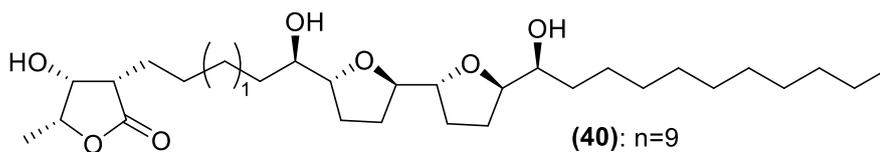
❖ Năm 1998, Tere Gallardo và cộng sự tiến hành nghiên cứu trên dịch chiết ethanol của hạt quả Bình bát phân lập được mười hai hợp chất acetogenin thuộc bốn loại khác nhau trong đó có một *mono*-tetrahydrofuranic acetogenin mới là glabranin (30), muricatetrocin-B (31), gigan-tetronenin (32), gigantetrocin-A (33), annonacin (34), annonacinone (35), corossolin (36), corossolone (37), molvizarin (38), parvilflorin (39), laherradurin (40), itrabin

(41) [26].

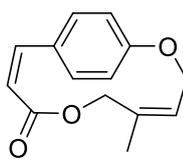
(30):  $n=7$ ;  $m=9$ ;  $C_{23}=C_{24}$ (31):  $n=7$ ;  $m=7$ ;(32):  $n=5$ ;  $m=11$ ;  $C_{21}=C_{22}$ (33):  $n=5$ ;  $m=9$ ;(34):  $R_1=R_2=OH$ (35):  $R_1=OH$ ;  $R_2=O$ (36):  $R_1=H$ ;  $R_2=OH$ (37):  $R_1=H$ ;  $R_2=O$ 

(38): (\*) erythro

(39): (\*) threo

(40):  $n=9$ (41):  $n=7$ 

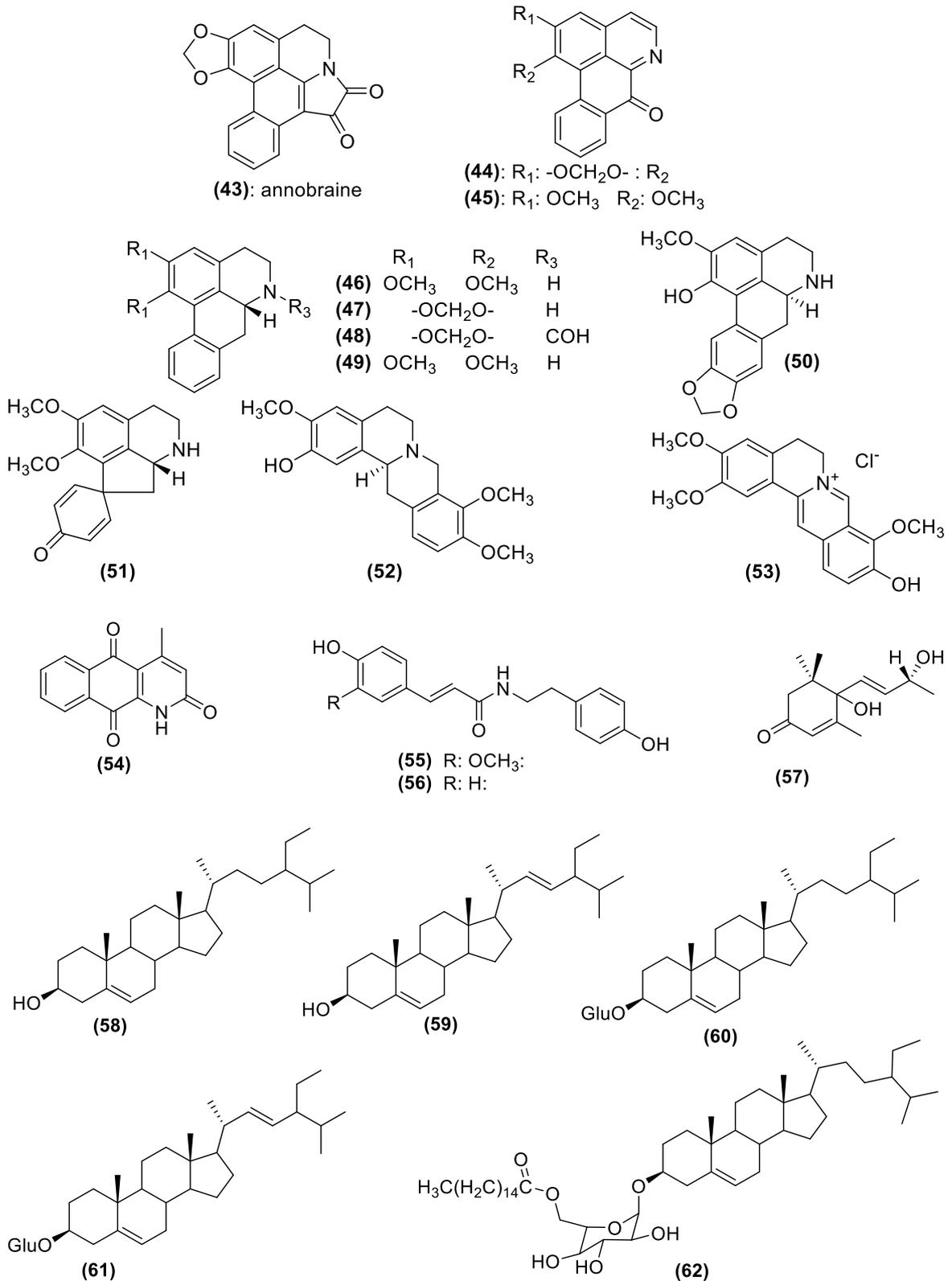
❖ Năm 1999, Xiao-Xi Liu và cộng sự đã nghiên cứu hoạt tính sinh học từ cao ethanol của dịch chiết lá cây Bình bát nước tìm ra được một hợp chất phenylpropanoid prenylated là pondaplin (42) [27].



(42)

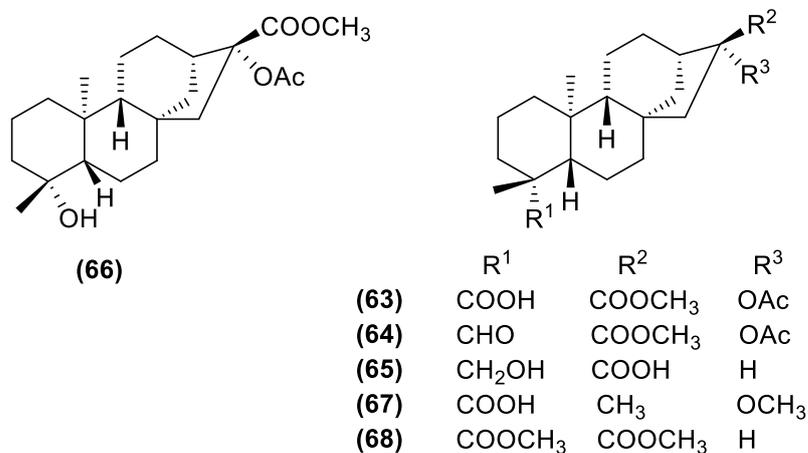
❖ Năm 2000, Fang- Rong Chang và cộng sự tiếp tục báo cáo quá trình phân lập được một số hợp chất bao gồm một alkaloid dioxoaporphin là annobrine (43), hai oxoaporphine là liriodenine (44) và lysicamine (45), năm aporphines là (-)-nornuciferine (46), (-)-anonaine (47), (-)-*N*-formylanonaine (48), (-)-asimilobine (49), (+)-nordomesticine (50), một proaporphine là (+)-stepharine (51), hai protoberberines là (-)-kikemanine (52), dehydrocydalmine (53), một azaanthraquinone là 1-aza-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydro-9-10-anthracenedione (54) và hai amide là *N-trans*-feruloyltyramine (55), *N-p*-coumaroyltyramine (56), một ionone là blumenol A (57), năm steroids là  $\beta$ -

sitosterol (**58**), stigmasterol (**59**),  $\beta$ -sitosteryl-D-glucoside (**60**), stigmasteryl-D-glucoside (**61**), 6-O-palmitoyl- $\beta$ -sitosteryl-D-glucoside (**62**) đã phân lập từ dịch chiết methanol từ quả cây Bình bát nước [28].

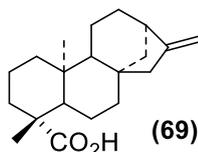


❖ Năm 2000, ba hợp chất diterpenoid khung kaurane từ dịch chiết methanol của thân cây Bình bát nước được nhà khoa học Chung–Yi Chen và

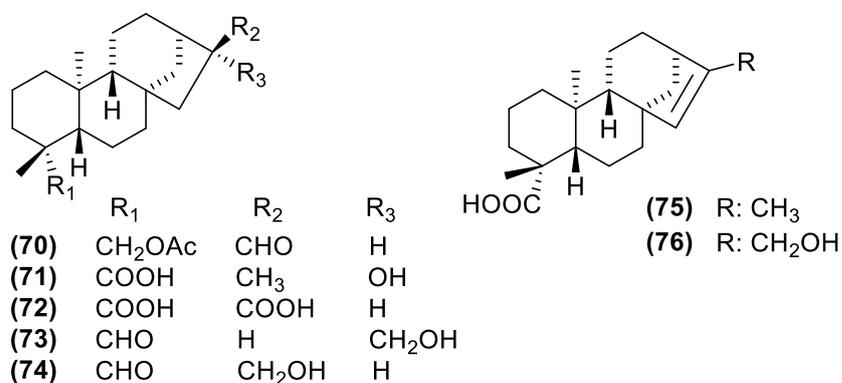
cộng sự phân lập được là annoglabasin C (**63**) và annoglabasin D (**64**), annoglabasin E (**65**) và ba diterpenoid khung norkaurane là annoglabasin F (**66**), 16 $\alpha$ -methoxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**67**), 16 $\alpha$ -hydro-*ent*-kauran-17,19-dimethyl ester (**68**) [29].



❖ Năm 2002, Brás H. Oliveira và cộng sự tiến hành thực hiện phân lập hợp chất *ent*-kaur-16-en-19-oic acid (**69**) từ dịch chiết lá và vỏ cây Bình bát nước [30].

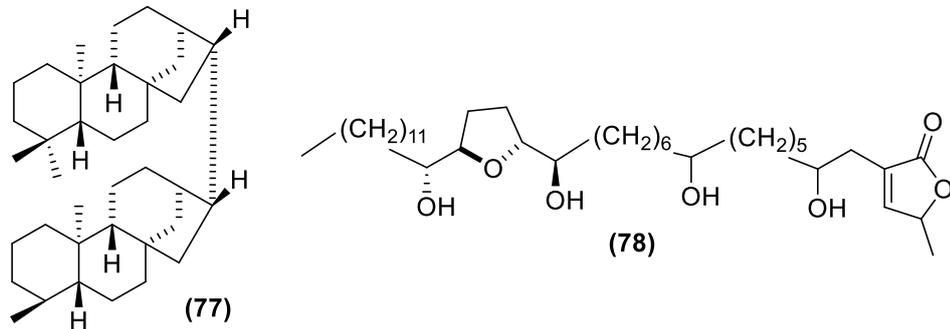


❖ Năm 2004, Tian-Jye Hsieh và cộng sự đã tiến hành phân lập được các hợp chất từ quả Bình bát nước trong đó có một diterpenoid khung kaurane mới là annoglabasin G (**70**) và các hợp chất 16 $\alpha$ -hydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**71**), 16 $\alpha$ -hydro-*ent*-kauran-17,19-dioic acid (**72**), 16 $\beta$ -hydro-17-hydroxy-*ent*-kauran-19-al (**73**), 16 $\alpha$ -hydro-17-hydroxy-*ent*-kauran-19-al (**74**), *ent*-kaur-15-en-19-oic acid (**75**), *ent*-kaur-15-en-17-ol-19-oic acid (**76**) [31].

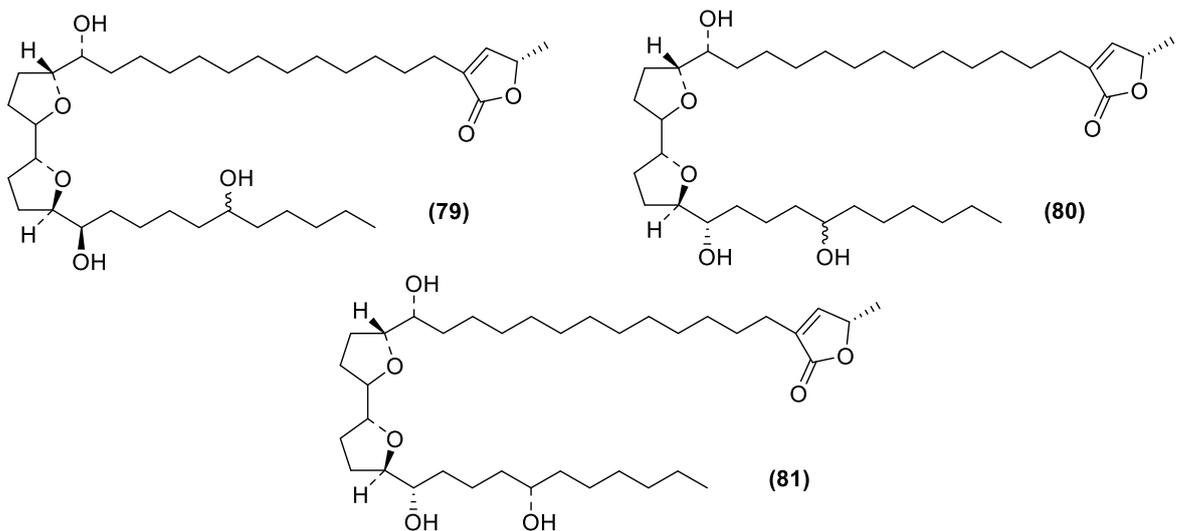


❖ Năm 2004, nhóm nghiên cứu của Ching-Hsein Chen đã bổ sung kết quả với việc phân lập thành công hai hợp chất annoglabayin (**77**) và annomontacin

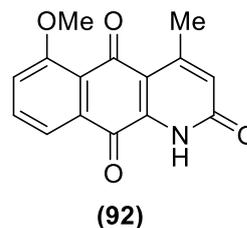
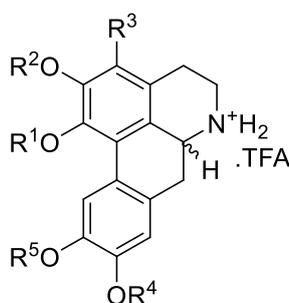
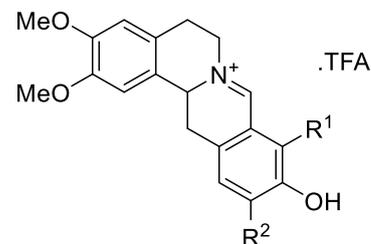
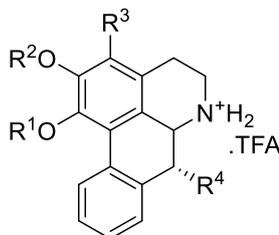
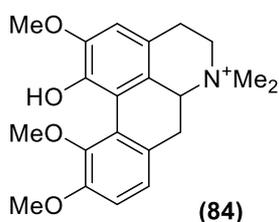
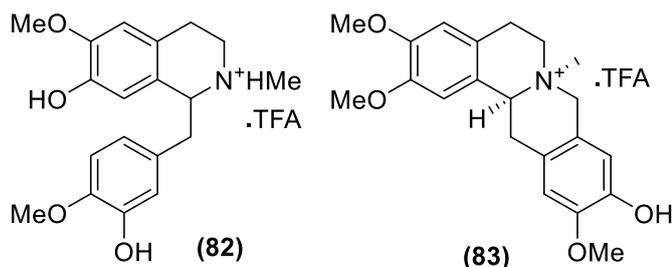
(78) từ quả Bình bát nước. Trong đó, annoglabayin (77) là một dẫn xuất dimeric kaurane triterpenoid mới [32].



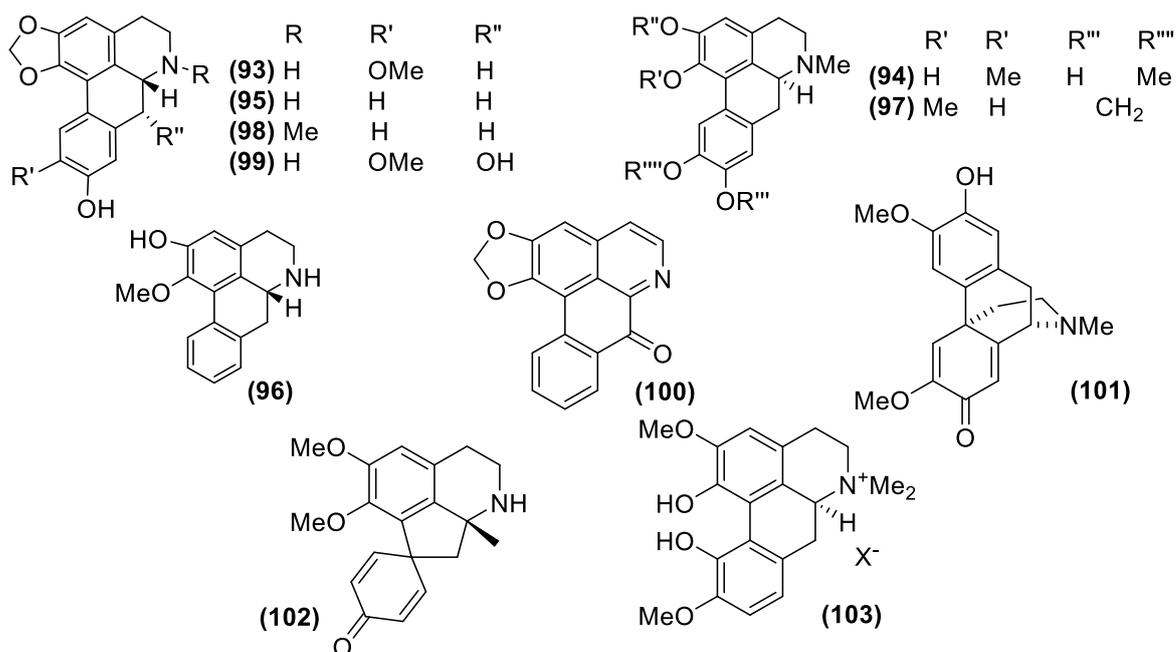
❖ Năm 2009, Ahmed Abdel-lateff và cộng sự đã tiến hành thử nghiệm sinh học từ chiết xuất methanol của hạt quả Bình bát nước, được trồng ở Ai Cập, và đã phân lập được ba dẫn xuất acetogenin bao gồm squamocin-C (79), squamocin-D (80) và annonin I (81). Các hợp chất squamocin-C (79) và squamocin-D (80) thu được dưới dạng hỗn hợp đồng phân lập thể [33].



❖ Năm 2010, nhóm nghiên cứu Sheng-Fa Tsai and Shoei-Sheng Lee xác định được cấu trúc của một số hợp chất bao gồm: (+)-reticuline (82), muối của (7*S*,14*S*)-(-)-*N*-methyl-10-*O*-demethylxylopinine (83), *S*-(+)-*N*-methylcorydine (84), *R*-(-)-asimilobine (85), *R*-(-)-actinodaphnine (86), *R*-(-)-norushinsunine (87), *S*-(+)-3-hydroxynornantenine (88), *R*-(-)-3-hydroxynornuciferine (89), *S*-(-)-7,8-didehydro-10-*O*-demethylxylopinine trifluoroacetate (90), *S*-(-)-7,8-didehydrocorydalmine trifluoroacetate (91), 5-*O*-methylmarcanine D (92) từ thân cây Bình bát nước [34].



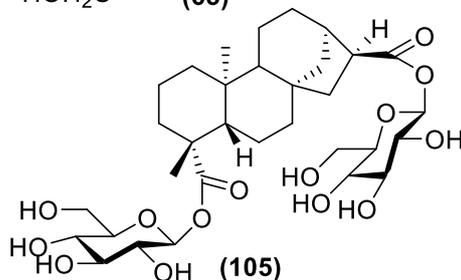
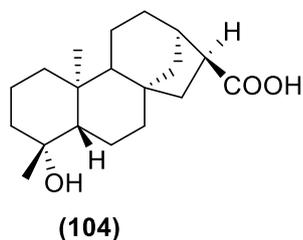
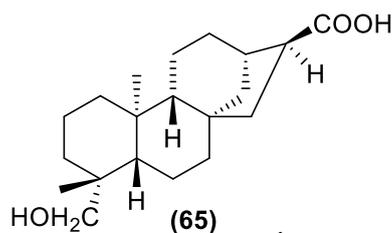
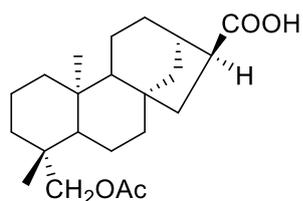
❖ Năm 2014, Shoei-Sheng Lee cùng nhóm nghiên cứu đã tiến hành phân lập và xác định một số hợp chất bao gồm: (-)-actinodaphnine (**93**), (+)-boldine (**94**), (-)-anolobine (**95**), (-)-asimilobine (**96**), (+)-norisodomeesticine (**97**), (-)-roemeroline (**98**), (-)-(6aS,7R)-7-hydroxyactinodaphnine (**99**), liriodenine (**100**), (-)-pallidine (**101**), (+)-stepharine (**102**), (+)-magnoflorine (**103**) từ chiết xuất ethanol của lá cây Bình bát nước [35].



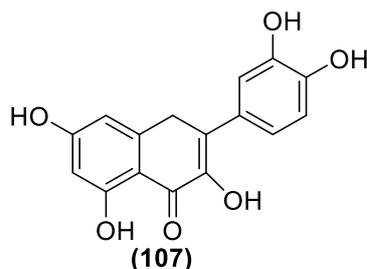
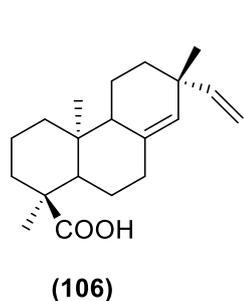
### 1.2.3.2. Những nghiên cứu trong nước

Thời gian qua, các nghiên cứu đã được thực hiện nhằm xác định thành phần hóa học của cây Bình bát nước tại Việt Nam, cho thấy sự có mặt của nhiều hợp chất có giá trị sinh học quan trọng. Một số công trình tiêu biểu có thể kể đến như:

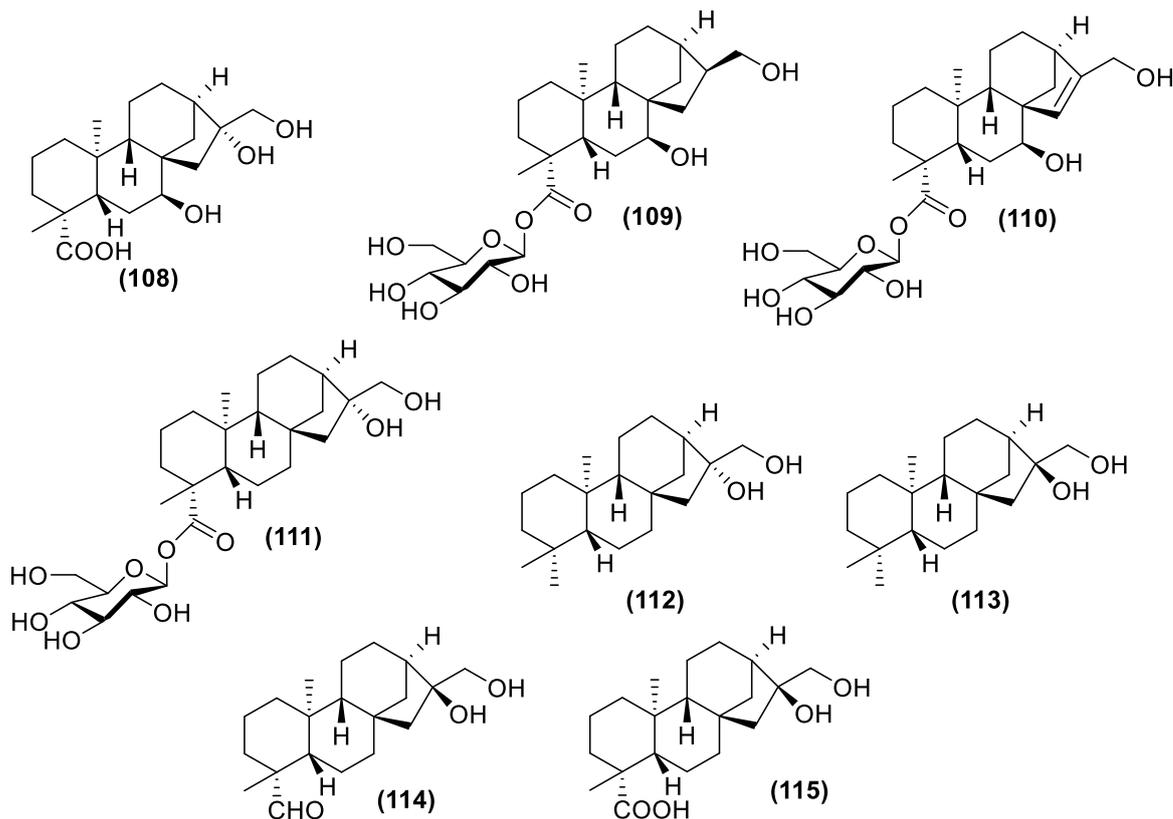
❖ Năm 2014, Hoàng Lê Tuấn Anh và cộng sự đã phân lập được một số hợp chất trong đó có 3 hợp chất *ent*-kaurane đã biết là annoglabasin E (65), annoglabasin B (18), 19-nor-*ent*-kaurant-4-ol-17-oic (104) và một *ent*-kaurane glycoside mới là annoglabasin H (105) [36].



❖ Năm 2014, Phạm Thị Nhật Trinh và cộng sự đã phân lập được hai hợp chất là 8(14),15-pimaradien-18-oic acid (106) và quercetin (107) từ lá Bình bát nước *Annona glabra* L. [5].

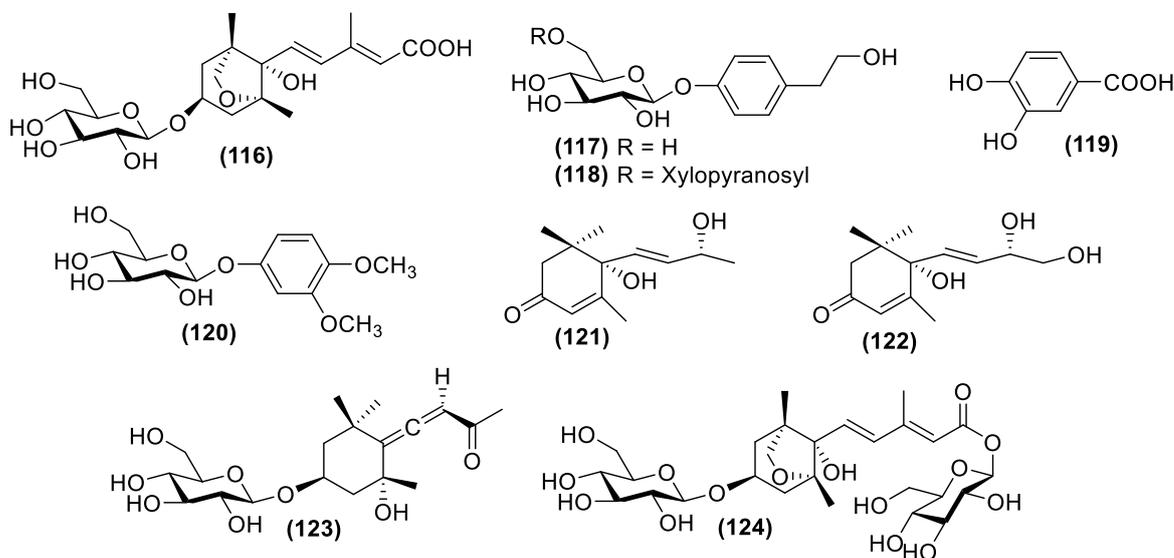


❖ Năm 2015, Nguyễn Xuân Nhiệm và cộng sự đã tiến hành phân lập một số hợp chất trong đó có ba hợp chất *ent*-kaurane diterpenoid mới là  $7\beta,16\alpha,17$ -trihydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**108**),  $7\beta,17$ -dihydroxy- $16\alpha$ -*ent*-kauran-19 oic acid 19-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside ester (**109**),  $7\beta,17$ -dihydroxy-*ent*-kaur-15-en-19-oic acid 19-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside ester (**110**), paniculoside IV (**111**),  $16\alpha,17$ -dihydroxy-*ent*-kaurane (**112**),  $16\beta,17$ -dihydroxy-*ent*-kaurane (**113**),  $16\beta,17$ -dihydroxy-*ent*-kauran-19-al (**114**),  $16\beta,17$ -dihydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**115**) từ quả Bình bát nước thu hái ở Thành phố Hồ Chí Minh [37].



❖ Năm 2015, Nguyễn Thị Thu Hiền và cộng sự đã xác định sự hiện diện của một số hợp chất trong cao chiết chloroform và cao nước điều chế từ quả Bình bát nước bao gồm tám hợp chất là:  $(2E,4E,1'R,3'S,5'R,6'S)$ -dihydrophaseic acid 3'-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**116**), icariside D2 (**117**), icariside D2 6'-*O*- $\beta$ -D-xylopyranoside (**118**), 3,4-dimethoxyphenyl *O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**119**), 3,4-

dihydroxybenzoic acid (**120**), blumenol A (**121**) cucumegastigmane I (**122**), icariside B1 (**123**), và một hợp chất mới là: (2*E*,4*E*,1'*R*,3'*S*,5'*R*,6'*S*)-dihydrophaseic acid 1,3'-di-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**124**) [38].



Các nghiên cứu trước đây về khảo sát thành phần hóa học của toàn bộ quả Bình bát nước chủ yếu thực hiện bằng phương pháp sắc ký trên một lượng quả Bình bát nước không quá lớn từ 2 kg [31, 32], đến 6 kg [25, 28] trái tươi hoặc khoảng 4 kg trái khô [37, 38]. Trong quả Mãng cầu tươi (*Annona reticulata* L.), thuộc cùng chi và có cấu trúc tương đồng với quả Bình bát nước, thịt trái chiếm khoảng 48,37% khối lượng toàn bộ trái tươi. Do thành phần thịt quả Bình bát nước chứa nhiều nước nên khi để khô nhằm điều chế cao, trọng lượng thịt quả Bình bát nước giảm xuống đáng kể. Khi mà khối lượng đáng kể thịt quả đã mất, việc áp dụng các phương pháp sắc ký để phân lập các hợp chất dẫn đến các nghi vấn các chất đã phân lập được thật sự chỉ từ hạt.

#### 1.2.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học

Theo nền y học cổ truyền, từ xa xưa các bộ phận của cây Bình bát nước là vị thuốc được sử dụng phổ biến trong nhiều bài thuốc cổ truyền với ứng dụng điều trị nhiều chứng bệnh thường gặp như viêm ngứa, nhiễm trùng, mề đay, trầm cảm, các bệnh về phổi (nước sắt từ vỏ thân cây), chứng khó thở. Các bộ phận của cây Bình bát nước được sử dụng phổ biến, đặc biệt là quả Bình bát nước có tiềm năng nâng cao sức khỏe như kích thích nhuận tràng, lợi tiểu, giúp thanh nhiệt, giải độc và làm mát cơ thể hỗ trợ an thần, giúp cải thiện tình trạng xương khớp và đặc biệt là ổn định và điều hòa mức glucose huyết thanh ở người mắc bệnh đái tháo đường. Dựa trên kinh nghiệm chữa bệnh dân gian, nước sắc từ quả Bình bát nước xanh thái mỏng, bỏ hạt và phơi khô khi sử dụng trong ngày có tác dụng tích cực trong ổn định

nồng độ glucose trong máu của bệnh nhân đái tháo đường, đồng thời giúp điều trị chứng tiêu chảy, kiết lỵ, và giun sán. Từ những công dụng trên cho thấy, dịch chiết từ các bộ phận của cây Bình bát nước, đặc biệt là quả có độ an toàn nhất định và đã được minh chứng bởi quá trình duy trì sử dụng trong thời gian dài trong y học cổ truyền [39].

Theo nền y học hiện đại, dựa trên cơ sở những ứng dụng thực tế đã được ghi nhận của các bộ phận cây Bình bát nước nói chung và quả Bình bát nước nói riêng, có rất nhiều các công trình nghiên cứu liên quan đến khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học đã được tiến hành nhằm tìm hiểu những hợp chất có vai trò quyết định đối với những tác dụng dược lý đã được kiểm chứng. Một số nghiên cứu điển hình thực hiện trên nhiều bộ phận khác nhau của cây Bình bát nước được trình bày như sau.

Năm 1998, Xiao-Xi Liu và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu và phân lập các dẫn xuất acetogenin như glabracins A (**13**) và glabracins B (**14**) từ dịch chiết dichloromethane của lá cây Bình bát nước với khả năng gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư A-549 (ung thư biểu mô phổi), MCF-7 (ung thư vú), và HT-29 (ung thư biểu mô ruột kết). Dựa trên các đánh giá về sự ức chế tăng trưởng tế bào bằng phương pháp MTT, hai hợp chất này lần lượt sở hữu độc tính mạnh gấp 1000 lần và gấp 10000 lần so với thuốc chứng dương adriamycin. Từ đó, hai hợp chất này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào cao đối với các dòng tế bào ung thư, và cho thấy tiềm năng ứng dụng trong phát triển thuốc điều trị ung thư [24].

Năm 1998, quá trình phân lập và khảo sát về khả năng gây độc tế bào của các dẫn xuất javoricin (**15**) và bullatanocin (**16**) từ lá cây Bình bát nước được thực hiện bởi Xiao-Xi Liu và cộng sự. Kết quả nghiên cứu cho thấy hai hợp chất trên có hoạt tính gây độc tế bào mạnh mẽ trên các dòng tế bào ung thư [24].

Năm 1998, quá trình khảo sát và chứng minh tiềm năng ức chế quá trình sao chép ngược của virus HIV ở mười ba hợp chất diterpenoid thuộc khung kaurane được tiến hành trên cao chiết chloroform điều chế từ quả Bình bát nước đã được nhà khoa học Fang-Rong Chang và cộng sự nghiên cứu [25].

Năm 1999, nhóm nghiên cứu của Xiao-Xi Liu tiếp tục công bố rằng đã phân lập được một dẫn xuất cyclic prenylated phenylpropanoid là pondaplin (**42**) [27] từ cao chiết ethanol điều chế từ lá cây Bình bát nước. Tương tự với nghiên cứu trước đó, các hợp chất phân lập cũng được thẩm định hoạt tính gây độc đối với một số dòng tế bào ung thư điển hình ở người như MCF-7 – ung thư vú, PACA-2 – ung thư biểu mô tuyến tụy, A-549 – ung thư biểu mô phổi ở người, HT-29 – ung thư biểu mô ruột kết, và PC-3 – ung thư biểu mô tuyến tiền liệt;

Năm 2010, Sheng-Fa Tsai and Shoei-Sheng Lee đã nghiên cứu và điều chế cao chiết ethanol từ thân cây Bình bát nước. Kết quả phân lập từ cao chiết cho thấy sự xuất hiện của một số hợp chất có khả năng ức chế enzyme acetylcholinesterase (AChE) ở mức trung bình. Đây là loại enzyme đóng vai trò trọng yếu liên quan đến cơ chế điều trị bệnh Alzheimer. Đáng chú ý, một số hợp chất phân lập biểu hiện hiệu quả ức chế vượt trội hơn so với chất đối chứng galanthamine [34].

Năm 2015, Nguyễn Thu Hiền và cộng sự đã tập trung nghiên cứu hoạt tính gây độc đối với tế bào ung thư bạch cầu HL-60 của hợp chất icariside D2 (**117**). Hợp chất này được phân lập từ cao chiết methanol thu nhận từ quả Bình bát nước được thu hái tại thành phố Hồ Chí Minh [38].

Cũng trong năm 2015, Nguyễn Xuân Nhiệm và các cộng sự đã tiến hành phân lập tám hợp chất *ent*-kaurane từ quả Bình bát nước và khảo sát hoạt tính kháng viêm của chúng. Thí nghiệm được thực hiện dựa trên khả năng ức chế sản sinh nitrogen oxide (NO), các tác nhân cốt lõi tham gia phản ứng viêm. Kết quả cho thấy một số hợp chất có hoạt tính ức chế mạnh mẽ, thậm chí vượt trội so với chất đối chứng desamethasone [37].

Năm 2016, Selva Kumar Sivagnanam và các cộng sự đã báo cáo dịch chiết điều chế từ thân cây Bình bát nước sở hữu hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với hai loại kháng sinh penicillin và ampicillin đối với ba chủng vi khuẩn gây bệnh ở người bao gồm *Bacillus cereus*, *Shigella flexneri* và *Pseudomonas aeruginosa*. Nghiên cứu trên đã cho thấy tiềm năng ứng dụng của dịch chiết thân cây Bình bát nước trong lĩnh vực y tế và sản xuất dược phẩm [40].

Năm 2018, dịch chiết ethanol điều chế từ lá Bình bát nước được Ying Liu và cộng sự nghiên cứu và báo cáo tiềm năng hoạt tính kháng ung thư và chống tăng sinh đối với tế bào bệnh bạch cầu (Leukemia Cell) ở người [41].

Theo các nghiên cứu trước đây, quả Bình bát nước (*Annona glabra* L.) đã được xác định là nguồn đa dạng các hợp chất diterpenoid *ent*-kaurane tự nhiên [25, 31, 32, 38]. Những hợp chất này được ghi nhận có tiềm năng sinh học cao, đặc biệt trong hỗ trợ bệnh đái tháo đường thông qua cơ chế ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase [42, 44]. Tuy vậy, các công trình nghiên cứu trước đây chủ yếu hướng đến việc xác định thành phần hóa học tổng thể mà chưa có sự quan tâm đầy đủ vào đánh giá chuyên sâu hoạt tính chống đái tháo đường của nhóm hợp chất diterpenoid *ent*-kaurane có trong thịt quả Bình bát nước. Chính vì vậy, có thể khẳng định rằng thịt quả Bình bát nước là một nguồn tiềm năng cần được nghiên cứu kỹ lưỡng nhằm khám phá nhóm hợp chất có hiệu quả ức chế mạnh enzyme  $\alpha$ -glucosidase, mở ra triển vọng hỗ trợ trong điều trị và công tác kiểm soát bệnh.

## CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:**

Quả Bình bát nước chưa chín được thu hái tại phường Long Bình, thành phố Thủ Đức vào tháng 07/2023 và được định danh bởi PGS. TS. Đặng Văn Sơn – Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- **Phạm vi nghiên cứu:**

**Khảo sát thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của thịt quả Bình bát nước**

- Nghiên cứu tập trung vào việc phân tích thành phần hóa học của các cao phân đoạn được điều chế từ thịt quả Bình bát nước thu hái tại phường Long Bình, thành phố Thủ Đức. Các nghiên cứu trước đây về quả Bình bát nước sinh trưởng tại Việt Nam chủ yếu đánh giá tổng thể trên toàn bộ quả, chưa có sự tách biệt rõ ràng giữa phần thịt quả và hạt [5, 36, 37, 38]. Bên cạnh đó, Bình bát nước là một loài cây xâm lấn, phát triển mạnh mẽ ở các tỉnh miền Nam Việt Nam, trong đó khu vực phường Long Bình, thành phố Thủ Đức có nguồn cung dồi dào. Chính vì vậy, việc lựa chọn mẫu nghiên cứu từ khu vực này không chỉ đảm bảo tính đại diện mà còn tăng cường hiệu quả của quá trình thu thập và phân tích.
- Ngoài ra, nghiên cứu còn được tiến hành đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất được phân lập từ thịt quả Bình bát nước. Toàn bộ quá trình thực nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Hợp chất Tự nhiên, Viện Khoa học Cơ bản và Ứng dụng, Thành phố Hồ Chí Minh, đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy của kết quả thu được.

### 2.2. Hóa chất, thiết bị và dụng cụ

#### 2.2.1. Hóa chất

Các dung môi hóa chất được sử dụng trong quá trình thực nghiệm bao gồm:

- Dung môi hữu cơ *n*-hexane (*H*), dichloromethane (*Dcm*), ethyl acetate (*Ea*), methanol (*MeOH*), ethanol (*EtOH*) và acetone (*Ac*) (Trung Quốc, Merck), được sử dụng trong quá trình sắc ký lớp mỏng, ly trích và sắc ký cột.
- Sắc ký lớp mỏng: (1) pha thường 25DC Alufokien 20x20 cm Kieselgel F254 (Merck); (2) pha đảo Rp-18 F254S (Merck).
- Silicagel dùng cho sắc ký cột: (1) pha thường hạt có đường kính 0,04 – 0,06 mm (240 – 430 mesh, Ấn Độ), (2) pha đảo hạt có đường kính 40 – 60  $\mu$ m

(Rp-18, Merck); (3) Sephadex LH-20.

- Thuốc thử vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5%) được sử dụng để làm chất chỉ thị phát hiện sự hiện diện các vết của hợp chất hữu cơ khi thực hiện sắc ký lớp mỏng khi hơi nóng trên bếp điện.

### 2.2.2. Thiết bị

Các thiết bị được sử dụng trong quá trình thực nghiệm bao gồm:

- Máy khuấy từ gia nhiệt, tủ sấy (Mermmert), tủ lạnh.
- Đèn tử ngoại (UV light) ở bước sóng 254 – 365 nm.
- Hệ thống chưng cất chân không ở áp suất thấp.
- Cân phân tích.
- Các hợp chất đã phân lập được gửi đo khối phổ và phổ cộng hưởng từ hạt nhân: máy khối phổ HR-ESI-MS, máy cộng hưởng từ hạt nhân – tần số 600 MHz đối với phổ <sup>1</sup>H-NMR và máy cộng hưởng từ hạt nhân – tần số 150 MHz đối với phổ <sup>13</sup>C-NMR.

### 2.2.3. Dụng cụ

Các dụng cụ được sử dụng trong quá trình thực hiện bao gồm:

- Ống vi quản (Kspilaren) được sử dụng cho sắc ký lớp mỏng.
- Bản mỏng silicagel pha thường và pha đảo.
- Cột sắc ký (thủy tinh) dùng để tiến hành chạy sắc ký cột để phân lập các hợp chất.
- Bình cô quay, ống đong, hũ bi, băng keo...
- Dụng cụ ly trích: erlen, becher, kẹp gấp.
- Giấy lọc Advantec (Nhật Bản), giấy bạc.

## 2.3. Quy trình thực nghiệm

### 2.3.1. Thu hái và xử lý mẫu thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.)

Mẫu thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.) sau khi thu hái được rửa sạch và làm khô tự nhiên nhằm bảo toàn tối đa các thành phần hóa học. Tiếp đó, mẫu được xay nhuyễn thành bột mịn, tạo nền tảng thích hợp cho các quá trình phân tích và chiết xuất trong các giai đoạn nghiên cứu tiếp theo.

### 2.3.2. Điều chế các cao phân đoạn

Mẫu bột khô từ thịt quả Bình bát nước (1 kg) được chiết xuất theo phương pháp Soxhlet, sử dụng tuần tự các dung môi có độ phân cực tăng dần, bao gồm *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol và nước. Quá trình này nhằm thu

nhận các dịch chiết tương ứng. Sau khi chiết xuất, dung môi được loại bằng hệ thống cô quay chân không, thu về các cao phân đoạn tương ứng: **BBH**, **BBDc**, **BBEa**, **BBEt** và **BBW**. Trong số đó, cao **BBH** (146,7 g) được lựa chọn để tiếp tục quá trình phân lập và nghiên cứu các hợp chất tự nhiên

### 2.3.3. Quy trình phân lập các hợp chất

#### 2.3.3.1. Các phương pháp sắc ký

- **Sắc ký hấp thụ trên lớp mỏng:**

Là một kỹ thuật phân tách hóa học dựa trên sự phân bố của các hợp chất giữa hai pha: pha tĩnh (lớp mỏng của silicagel hoặc các chất hấp phụ khác) và pha di động (hỗn hợp dung môi). Phương pháp này được sử dụng để phân tích và kiểm tra các thành phần trong mẫu. TLC (*Thin Layer Chromatography*) thông qua sự phân bố cân bằng giữa một lớp pha tĩnh (silicagel hoặc chất hấp phụ) trên bản mỏng – một pha động (dung môi). Các hợp chất trong mẫu được tách biệt dựa trên sự khác biệt về tốc độ di chuyển giữa hai pha, xuất phát từ mức độ tương tác khác nhau của chúng. Nhằm kiểm tra sự tồn tại của các hợp chất hữu cơ, có thể sử dụng đèn UV với giá trị  $\lambda$  254 nm và 365 nm đối với những hợp chất hấp thụ tia UV. Ngoài ra, các hợp chất cũng có thể được nhận diện thông qua việc phun đều dung dịch thuốc thử vanilin/  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (5%) lên bề mặt bản sắc ký, sau đó sấy khô và gia nhiệt dần trên bếp điện cho đến khi xuất hiện màu sắc đặc trưng.

- **Sắc ký lớp mỏng điều chế:**

Sắc ký lớp mỏng điều chế là một phương pháp sắc ký lớp mỏng được thiết kế để phân tách và thu hồi các hợp chất hữu cơ từ một hỗn hợp. Phương pháp này được xem như là một phiên bản mở rộng của phương pháp TLC, chủ yếu được sử dụng để chuẩn bị các mẫu hóa học sạch cho các phương pháp phân tích tiếp theo.

- **Sắc ký cột (*Column Chromatography* – CC):**

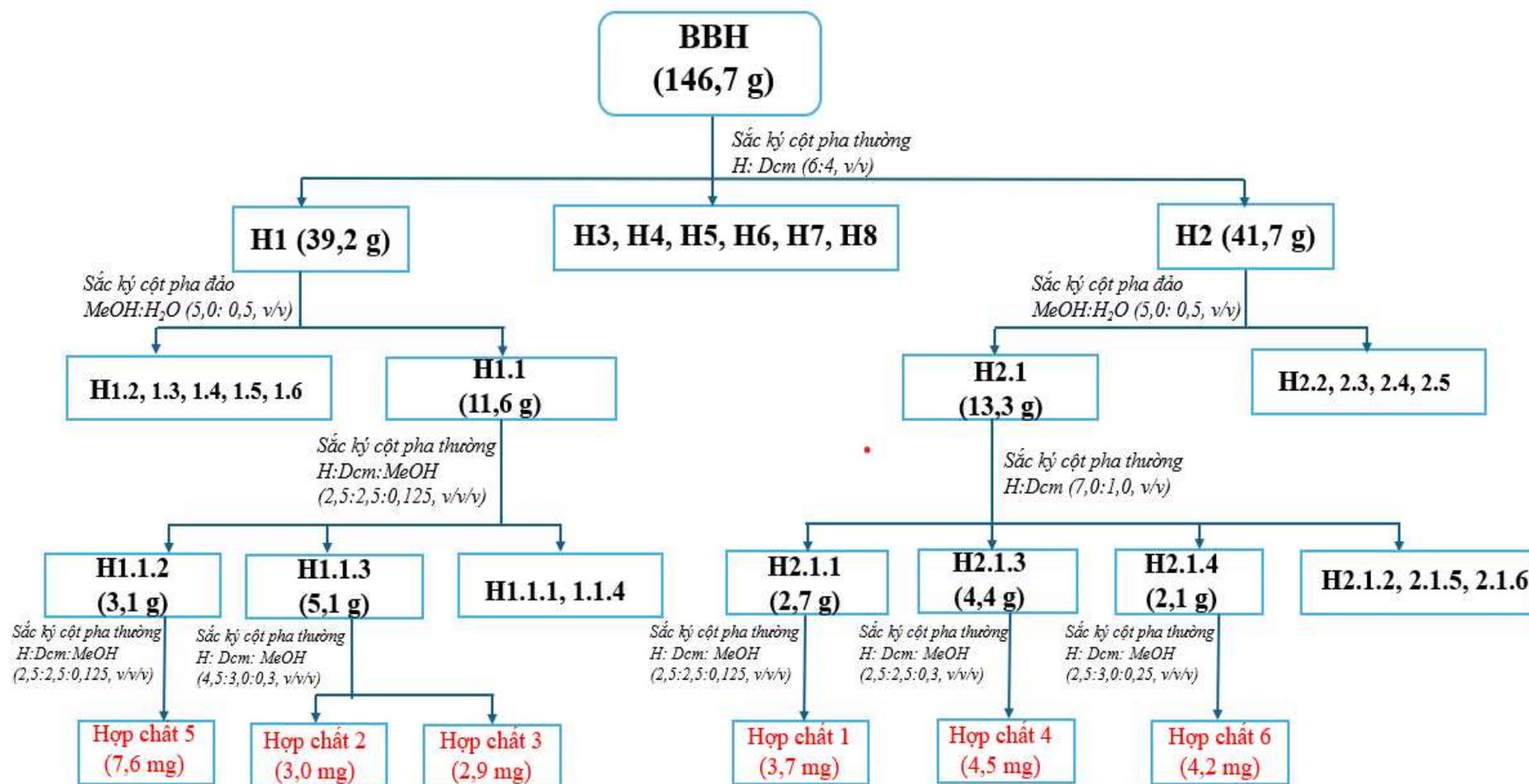
Là một kỹ thuật phân tích trong đó mẫu được phân tách dựa trên sự phân phối của các hợp chất giữa một pha tĩnh và một pha di động trong một cột thủy tinh. Kỹ thuật này rất hữu ích cho việc tinh chế và phân tách các hợp chất hóa học. Các vật liệu hấp phụ phổ biến bao gồm: Silicagel pha thường (cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm; 240–430 mesh); Sephadex LH20 hoặc Silicagel pha đảo ODS.

#### 2.3.3.2. Quy trình phân lập các hợp chất

Các bước tiến hành phân lập được triển khai với lượng cao **BBH** (146,7 g). Đầu tiên, sắc ký cột silica gel pha thường được áp dụng cho cao **BBH** với sử dụng hệ dung môi H:Dcm (6:4, v/v), thu được tám phân đoạn **H1-H8**. Tiếp theo, sắc ký cột silica gel pha đảo được thực hiện với hệ dung môi MeOH:H<sub>2</sub>O (5:0,5, v/v) trên

hai phân đoạn **H1** (39,2 g) và **H2** (41,7 g), tạo ra sáu phân đoạn nhỏ của phân đoạn **H1** là **H1.1-H1.6** và đối với phân đoạn **H2** thu được năm phân đoạn nhỏ là **H2.1-H2.5**. Sau đó, sắc ký cột pha thường tiếp tục được tiến hành trên phân đoạn **H1.1** (11,6 g) với hệ dung môi H:Dcm:MeOH (2,5:2,5:0,125, v/v/v) để thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn tiếp theo là **H.1.1.1-H1.1.4**. Trong đó, phân đoạn **H1.1.2** (3,1 g) tiếp tục được tinh chế bằng sắc ký cột pha thường với hệ dung môi H:Dcm:MeOH (2,5:2,5:0,125, v/v/v) để thu được hợp chất tinh khiết **5** (7,6 mg). Đối với phân đoạn **H1.1.3** (5,1 g), sắc ký cột pha thường giải ly bằng hệ dung môi H:Dcm:MeOH (4,5:3:0,3, v/v/v), thu được hai hợp chất tinh khiết là **2** (3,0 g) và **3** (2,9 g).

Đối với phân đoạn **H2.1** (13,3 g), tiếp tục tiến hành chạy sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi H:Dcm (7:1, v/v) và thu được sáu phân đoạn nhỏ **H2.1.1-H2.1.6**. Phân đoạn **H2.1.1** (2,7 g) tiếp tục được tiến hành chạy sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi H:Dcm:MeOH (2,5:2,5:0,125, v/v/v) để thu được hợp chất **1** (3,7 mg). Tiếp tục, sắc ký cột silica gel pha thường được thực hiện trên phân đoạn **H2.1.3** (4,4 g) với hệ dung môi H:Dcm:MeOH (2,5:2,5:0,3, v/v/v) thu được hợp chất **4** (4,5 mg). Đối với phân đoạn **H2.1.4** (2,1 g), phương pháp sắc ký cột pha thường tiếp tục được áp dụng với hệ dung môi H:Dcm:MeOH (2,5:3,0:0,25, v/v/v) thu được hợp chất **6** (4,2 mg).



**Hình 2.1.** Quy trình phân lập những hợp chất từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.)

### 2.3.3.3. Phương pháp phân tích và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập

- **Khối phổ (HR-ESI-MS):** Phân tích được thực hiện trên thiết bị HR-ESI-MS (Bruker MicroTOF-Q 10187), giúp xác định chính xác khối lượng phân tử của các hợp chất.
- **Phổ cộng hưởng từ hạt nhân – NMR:**
  - Phổ 1D-NMR: Gồm  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$
  - Phổ 2D-NMR: Bao gồm các kỹ thuật HSQC, HMBC, COSY, NOESY nhằm làm sáng tỏ mối liên kết trong phân tử.

Phân tích phổ NMR được tiến hành trên thiết bị Bruker Avance, với tần số 600 MHz cho phổ  $^1\text{H-NMR}$  và 150 MHz cho phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ . Quá trình đo phổ được thực hiện tại Trung tâm Phổ Ứng dụng – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Hà Nội) và Viện Kiểm nghiệm Thuốc, Thành phố Hồ Chí Minh.

### 2.3.4. Khảo sát khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

- **Nguyên tắc:**

$\alpha$ -glucosidase là một enzyme thuộc nhóm glycoside hydrolase, có mặt trong dịch tiêu hóa của động vật (chẳng hạn như dịch dạ dày) và đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân giải polysaccharide và oligosaccharide thành các đơn vị glucose nhỏ hơn. Đây là giai đoạn cuối cùng trong quá trình tiêu hóa carbohydrate, giúp cơ thể hấp thụ glucose từ thực phẩm. Hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase được đánh giá thông qua khả năng chuyển hóa *p*-NPG (*p*-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside) thành  $\alpha$ -D-glucose và *p*-nitrophenol (*p*-NP) dưới tác động của enzyme này. Lượng glucose sinh ra có mối tương quan trực tiếp với lượng *p*-NP được hình thành. Khi một hợp chất có khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase, lượng *p*-NP tạo ra sẽ giảm. Dựa trên nguyên tắc này, phương pháp phổ UV-Vis được sử dụng để xác định hoạt tính ức chế enzyme bằng cách đo và so sánh độ hấp thụ của *p*-NP tại giá trị  $\lambda$  405 nm trong điều kiện có sự xuất hiện và không có sự xuất hiện của tác nhân ức chế. Tiềm năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử sẽ được ước tính dựa trên hàm lượng  $\alpha$ -D-glucose được tạo thành.

- **Danh mục vật liệu:**

Enzyme  $\alpha$ -glucosidase; *p*-NPG;

Chất ức chế: Cao thịt quả Bình bát nước/Hợp chất tự nhiên cần khảo sát;

Dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,1 M;

Dung dịch đệm: đệm Phosphate pH 6,8 hoặc pH 7,0;

• **Quy trình thực nghiệm :**

Quá trình khảo sát khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các cao thịt quả Bình bát nước và quy trình phân lập hợp chất được triển khai dựa trên nghiên cứu của Le T. H. Và đồng nghiệp [45], với một số điều chỉnh phù hợp.

**Bước 1:** Chuẩn bị dung dịch enzyme và dung dịch chất nền

*Chuẩn bị dung dịch enzyme:* hòa tan enzyme  $\alpha$ -glucosidase với dung dịch đệm phosphate để đạt được nồng độ enzyme cần thiết. Thường sử dụng nồng độ enzyme khoảng 0,5-1,0 U/mL, tùy thuộc vào hoạt động của enzyme.

*Chuẩn bị dung dịch chất nền:* hòa tan *p*-NPG trong dung dịch đệm phosphate để thu được dung dịch có nồng độ 1 – 2 mM.

**Bước 2:** Chuẩn bị hỗn hợp gồm 50  $\mu$ L *p*-NPG (3Mm) và 50  $\mu$ L dung dịch  $\alpha$ -glucosidase (0,1 U/mL) trong dung dịch đệm phosphate 0,01M , sau đó ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút.

**Bước 3:** Bổ sung 525  $\mu$ L dung dịch mẫu với các khoảng nồng độ khác nhau vào hỗn hợp đã chuẩn bị tiến hành phản ứng ở 37 °C trong vòng 30 phút.

**Bước 4:** Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 375  $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1 M, sau đó xác định mật độ quang của dung dịch sau phản ứng tại bước sóng 401 nm.

**Bước 5:** Sử dụng máy quang phổ UV-Vis để đo nồng độ *p*-NP ở bước sóng 405 nm. Đo mẫu đối chứng và mẫu thí nghiệm để xác định nồng độ *p*-NP.

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại quy trình 3 lần ở các nồng độ khác nhau để tính toán giá IC<sub>50</sub> và sai số.

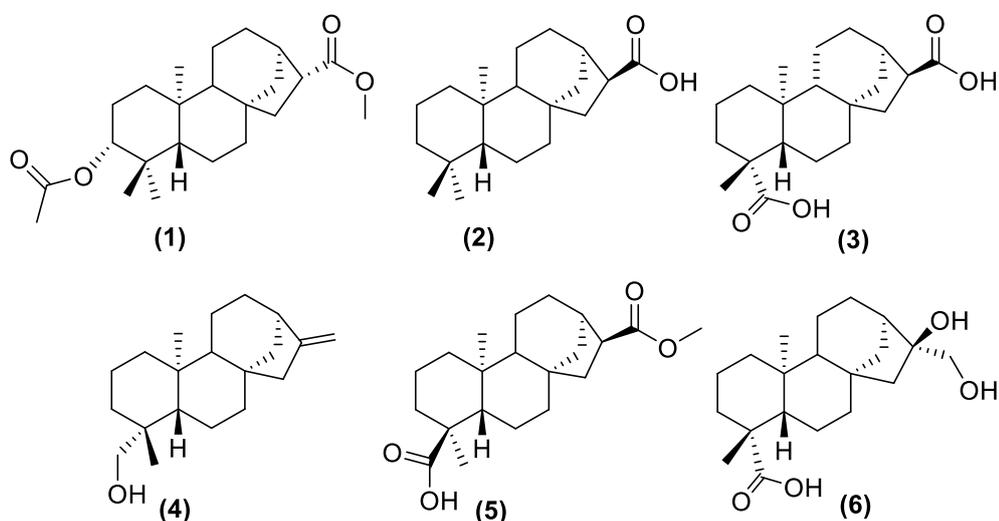
Khả năng ức chế enzyme được xác định dựa trên công thức:

$$\text{Khả năng ức chế (\%)} = [1 - (A_{\text{mẫu}}/A_{\text{đối chứng}})] \times 100$$

Tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường được xác định dựa trên sự so sánh giá trị IC<sub>50</sub> của các hợp chất phân lập với Acarbose (chất chứng dương).

### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong nghiên cứu này, các cao chiết từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.) thu hái tại thành phố Thủ Đức đã được điều chế bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau, bao gồm: *n*-hexane (**BBH**), dichloromethane (**BBDc**), ethyl acetate (**BBEa**), ethanol (**BBEt**) và nước (**BBW**). Trên cơ sở đó, các phương pháp sắc ký đã được áp dụng để phân tách cao phân đoạn **BBH**, từ đó phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất diterpenoid. Việc xác định cấu trúc được thực hiện dựa trên các phương pháp phổ nghiệm kết hợp với đối chiếu tài liệu tham khảo. Kết quả thu được về cấu trúc hóa học của các hợp chất này được trình bày trong **Hình 3.1**.



**Hình 3.1.** Đặc tính cấu trúc của các hợp chất phân lập từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.)

## 3.1. Kết quả xác định cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập

### 3.1.1. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 1

Hợp chất **1** (4,3 mg) được phân lập từ phân đoạn **H2.1.1** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

#### Dữ liệu phổ (Phụ lục):

- ❖ Phổ HR-ESI-MS (**Phụ lục 1**).
- ❖ Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 2, 3, 4, 5**).
- ❖ Phổ HSQC, HMBC (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 6, 7, 8, 9, 10**).
- ❖ Phổ NOESY (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 11**).
- ❖ Phổ COSY (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 12**).

### Biện luận cấu trúc:

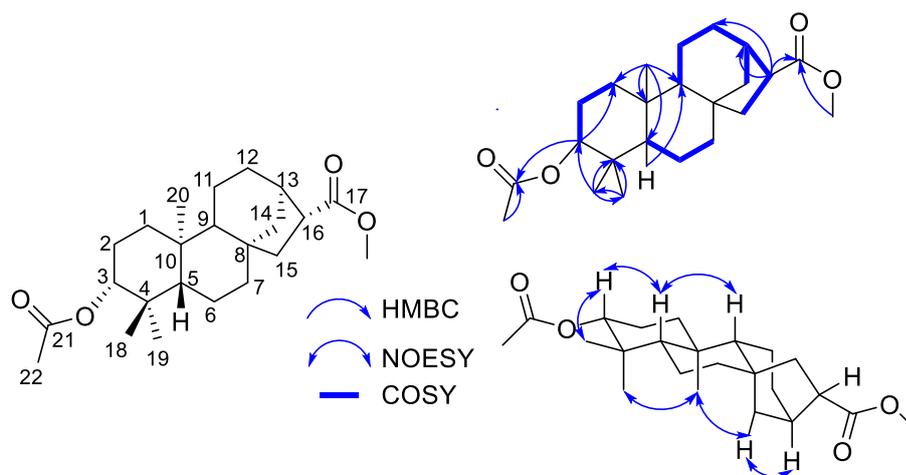
Từ các dữ liệu phổ HR-ESI-MS được thực hiện đo ở chế độ *positive ion* (chế độ đo dương), công thức phân tử của hợp chất **1** được xác định là  $C_{23}H_{36}O_4$  và được suy ra từ mũi ion giả phân tử tại  $m/z$  377,2680  $[M + H]^+$  (ứng với giá trị 377,2680  $[C_{23}H_{37}O_4]^+$ ).

Tiến hành phân tích dữ liệu phổ  $^1H$ -NMR kết hợp với dữ liệu phổ HSQC của hợp chất **1** làm rõ sự xuất hiện của một số các tín hiệu quan trọng của hợp chất **1** gồm một tín hiệu proton oxymethine tại  $\delta_H$  (ppm): 4,46 (1H, *dd*,  $J = 11,4, 5,4$  Hz, H-3); bốn tín hiệu proton nhóm methyl tại  $\delta_H$  (ppm): 2,04 (3H, *s*, H-22), 1,02 (3H, *s*, H-20), 0,85 (3H, *s*, H-18), 0,84 (3H, *s*, H-19); một tín hiệu proton nhóm methoxy tại  $\delta_H$  (ppm): 3,66 (3H, *s*, 17-OCH<sub>3</sub>); bốn tín hiệu proton nhóm methine tại  $\delta_H$  (ppm): 2,61 (1H, *dd*,  $J = 9,0, 6,0$  Hz, H-16), 2,46 (1H, *m*, H-13), 1,00 (1H, *m*, H-9), 0,83 (1H, *m*, H-5); mười ba tín hiệu proton methylene tại  $\delta_H$  (ppm): 1,85 (1H, *m*, H-1a), 0,96 (1H, *m*, H-1b), 1,66 (2H, *m*, H-2), 1,57 (1H, *m*, H-6a), 1,37 (1H, *m*, H-6b), 1,54 (2H, *m*, H-7), 1,62 (1H, *m*, H-11a), 1,53 (1H, *m*, H-11b), 1,56 (1H, *m*, H-12a), 1,51 (1H, *m*, H-12b), 1,84 (1H, *m*, H-14a), 1,20 (1H, *dd*,  $J = 12,0, 5,4$  Hz, H-14b), 1,68 (2H, *m*, H-15).

Tiếp tục phân tích dữ liệu phổ  $^{13}C$ -NMR và dữ liệu phổ HSQC của hợp chất **1** làm rõ sự xuất hiện của 23 tín hiệu carbon. Trong đó, các tín hiệu nổi bật bao gồm: hai tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_C$  (ppm): 178,0 (C-17) và 171,1 (C-21); một tín hiệu carbon oxymethine tại  $\delta_C$  (ppm): 81,1 (C-3); một tín hiệu carbon methoxy tại  $\delta_C$  (ppm): 51,8 (-OCH<sub>3</sub>); tám tín hiệu carbon methylene lần lượt tại  $\delta_C$  (ppm): 44,8 (C-15), 40,9 (C-7), 38,5 (C-1), 38,2 (C-14), 31,4 (C-12), 23,8 (C-2), 20,8 (C-6), 18,7 (C-11); ba tín hiệu carbon tứ cấp lần lượt là: 45,0 (C-8), 39,1 (C-10), 37,9 (C-4); bốn tín hiệu carbon methine lần lượt tại  $\delta_C$  (ppm): 55,9 (C-9), 55,4 (C-5), 45,5 (C-16), 41,4 (C-13); bốn tín hiệu carbon methyl lần lượt tại  $\delta_C$  (ppm): 28,5 (C-18), 21,4 (C-22), 17,7 (C-20), 16,8 (C-19). Căn cứ vào các dữ liệu phổ đặc trưng đã được đề cập [46], kết hợp với các tương quan COSY quan trọng bao gồm hệ thống spin của H<sub>2</sub>-1/H<sub>2</sub>-2/H-3, H-5/H<sub>2</sub>-6/ H<sub>2</sub>-7 và H-9/ H<sub>2</sub>-11/ H<sub>2</sub>-12/ H<sub>2</sub>-14/H-13/ H<sub>2</sub>-15/H-16 giúp xác định hợp chất **1** có cấu trúc của một hợp chất *ent*-kaurane diterpenoid. Thực hiện phân tích sâu hơn về dữ liệu phổ HMBC giúp khẳng định thêm cấu trúc của hợp chất **1**, đồng thời cho thấy sự xuất hiện của một nhóm acetoxy được làm sáng tỏ dựa trên sự xuất hiện của tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_C$  (ppm) 171,1 (C-21) và tương quan giữa proton methyl H-22 ( $\delta_H$  2,04, *s*) với carbon này. Bên cạnh đó, vị trí của nhóm thế acetoxy này tại vị trí C-3 được chứng minh

dựa trên độ dịch chuyển của proton H-3 ( $\delta_H$  4,46) ở vùng từ trường thấp và sự xuất hiện tương quan HMBC giữa H-3 và C-21. Ngoài ra, sự xuất hiện của một nhóm chức methoxycarbonyl ( $\text{CH}_3\text{OCO}$ ) tại vị trí C-16 trong cấu trúc của hợp chất **1** cũng được làm sáng tỏ dựa trên các tương quan của proton H-16 ( $\delta_H$  2,61) và proton methoxy ( $\delta_H$  3,66) với carbon carbonyl C-17 ( $\delta_C$  178,0).

Cấu hình tương đối của hợp chất **1** được xác định dựa trên hằng số ghép  $J = 5,4, 11,4$  Hz của proton oxymethine H-3, cho thấy sự phân bố của proton này ở vị trí trục (axial) với định hướng  $\beta$ . Dữ liệu thu được từ phổ NOESY của hợp chất **1** còn cung cấp thêm về các tương quan giữa H-3 và H-5 ( $\delta_H$  0,83,  $m$ ), H-18 ( $\delta_H$  0,85) giúp chứng tỏ các proton này cùng định hướng syn  $\beta$ ; các tương quan giữa H-20 và H-19 ( $\delta_H$  0,84), H-14 ( $\delta_H$  1,84), H-13 ( $\delta_H$  2,46) giúp chứng tỏ các proton này định hướng syn  $\alpha$ . Bên cạnh đó là sự thiếu vắng tương quan giữa H-13 và H-16 giúp xác định proton H-16 cũng định hướng syn  $\beta$ . Dựa trên các dữ liệu phân tích, cấu trúc hóa học của hợp chất **1** được đề xuất như ở **Hình 3.2** và được đặt tên là Annoglabin B. Đây là một hợp chất *ent*-kaurane diterpenoid mới lần đầu tiên được công bố.



**Hình 3.2.** Đặc tính cấu trúc và các tương quan HMBC, NOESY, COSY của hợp chất **1**

**Bảng 3.1.** Kết quả phân tích phổ của hợp chất **1** – Annoglabin B.

No.	Hợp chất <b>1</b>	
	$\delta_H^a$ (ppm), $J$ (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)
<b>1</b>	1,85 (1H, $m$ ), 0,96 (1H, $m$ )	38,5
<b>2</b>	1,66 (2H, $m$ )	23,8

<b>3</b>	4,46 (1H, <i>dd</i> , $J = 11,4, 5,4$ Hz)	81,1
<b>4</b>	-	37,9
<b>5</b>	0,83 (1H, <i>m</i> )	55,4
<b>6</b>	1,57 (1H, <i>m</i> ), 1,37 (1H, <i>m</i> )	20,8
<b>7</b>	1,54 (1H, <i>m</i> )	40,9
<b>8</b>	-	45,0
<b>9</b>	1,00 (1H, <i>m</i> )	55,9
<b>10</b>	-	39,1
<b>11</b>	1,62 (1H, <i>m</i> ), 1,53 (1H, <i>m</i> )	18,7
<b>12</b>	1,51 (1H, <i>m</i> ), 1,56 (1H, <i>m</i> )	31,4
<b>13</b>	2,46 (1H, <i>m</i> )	41,4
<b>14</b>	1,84 (1H, <i>m</i> ), 1,2 (1H, <i>dd</i> , $J = 12,0, 5,4$ Hz)	38,2
<b>15</b>	1,68 (2H, <i>m</i> )	44,8
<b>16</b>	2,61 (1H, <i>dd</i> , $J = 9,0, 6,0$ Hz)	45,5
<b>17</b>	-	178,0
<b>18</b>	0,85 (3H, <i>s</i> )	28,5
<b>19</b>	0,84 (3H, <i>s</i> )	16,8
<b>20</b>	1,02 (3H, <i>s</i> )	17,7
<b>21</b>	-	171,1
<b>22</b>	2,04 (3H, <i>s</i> )	21,4
<b>17-OCH<sub>3</sub></b>	3,65 (3H, <i>s</i> )	51,8

---

a: Phổ được ghi nhận trong dung môi CDCl<sub>3</sub>, tần số máy 600 MHz – 150 MHz.

### 3.1.2. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 2

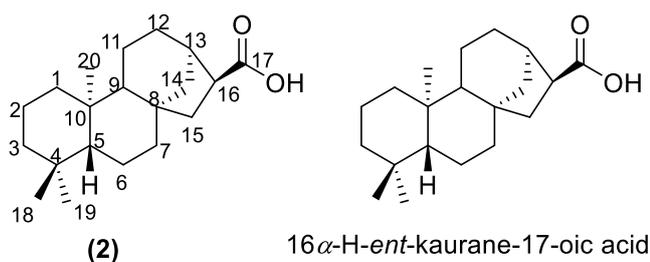
Hợp chất **2** (3,0 mg) được phân lập từ phân đoạn **H1.1.3** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

**Dữ liệu phổ (Phụ lục):**

❖ Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 13, 14, 15**).

Phân tích dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **2** xác định sự xuất hiện của các tín hiệu proton đặc trưng trong đó là 3 tín hiệu proton nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 0,99 (3H, *s*, H-20), 0,84 (3H, *s*, H-18), 0,80 (3H, *s*, H-19); hai tín hiệu proton của nhóm methine tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,94 (1H, *dt*,  $J = 12,0, 6,0$  Hz, H-16) và 2,57 (1H, *br s*, H-13), và các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao với độ dịch chuyển trong khoảng từ 1,90-0,72 ppm.

Tiến hành phân tích thêm dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **2** cho thấy sự xuất hiện của 20 tín hiệu carbon, cụ thể gồm một tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 182,1 (C-17), chín tín hiệu carbon methylene lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 42,2 (C-15), 42,0 (C-14), 41,8 (C-7), 40,9 (C-1), 39,5 (C-3), 27,6 (C-12), 20,6 (C-6), 18,8 (C-11), 18,1 (C-2); ba tín hiệu carbon tứ cấp lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 44,6 (C-8), 40,0 (C-10), 33,4 (C-4); ba tín hiệu carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 33,8 (C-18), 21,8 (C-19), 17,8 (C-20); bốn tín hiệu carbon methine lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 57,3 (C-9), 45,5 (C-16), 56,4 (C-5), 40,5 (C-13). So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **2** và hợp chất **1** cho thấy được có nhiều điểm tương đồng (**Bảng 3.2**). Trên cơ sở đó, giúp khẳng định hợp chất **2** cũng là một diterpenoid thuộc khung *ent*-kaurane. Mặt khác, kết quả phổ của hợp chất **2** thể hiện rằng sự thiếu vắng của tín hiệu proton oxymethine H-3 được ghi nhận ở hợp chất **1**, và sự thay đổi độ dịch chuyển hóa học của tín hiệu carbon C-3 từ vùng từ trường thấp tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 81,1 ở hợp chất **1** về vùng từ trường cao tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 39,5 ở hợp chất **2**. Bên cạnh đó, sự có mặt của tín hiệu carbon carbonyl C-17 tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 182,1 thay vì 178,0 so với hợp chất **1**, giúp nhận định sự tồn tại của một nhóm chức carboxyl ( $-\text{COOH}$ ) tại vị trí C-17 ở hợp chất **2**. Từ các dữ liệu đã nêu, cấu trúc hóa học của hợp chất **2** được đề nghị như ở **Hình 3.3**. Đồng thời, tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **2** với dữ liệu phổ của hợp chất  $16\alpha\text{-H-ent-kaurane-17-oic acid}$  đã được báo cáo [26] (**Bảng 3.2**), giúp khẳng định hợp chất **2** có cấu trúc hoàn toàn tương đồng. Từ cấu trúc đã xác định, kết hợp với sự thay đổi về độ dịch chuyển và hằng số ghép của các tín hiệu proton methine của hợp chất **2** tại H-16  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,94 (1H, *dt*,  $J = 6,0, 12,0$  Hz) và H-13  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,57 (1H, *brs*) giúp khẳng định được sự khác nhau về lập thể tại vị trí C-16 so với ở hợp chất **1**. Cụ thể, proton H-16 của hợp chất **2** có định hướng  $\alpha$  thay vì định hướng  $\beta$  như ở hợp chất **1**. Từ đó, hợp chất **2** được xác định là  $16\alpha\text{-H-ent-kaurane-17-oic acid}$ , và đây là lần đầu tiên hợp chất này được báo cáo trên cây Bình bát nước (**Hình 3.3**).



**Hình 3.3.** Đặc tính cấu trúc của hợp chất **2**.

**Bảng 3.2.** Kết quả phân tích phổ của hợp chất **2** và hợp chất **1** và hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17-oic acid

No.	Hợp chất 2		Hợp chất 1		16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17-oic acid [26]	
	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^b$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^b$ (ppm)
1	-	40,9	1,85 (1H, <i>m</i> )	38,5	-	40,4
			0,96 (1H, <i>m</i> )			
2	-	18,1	1,66 (2H, <i>m</i> )	23,8	-	18,0
3	-	39,5	4,46 (1H, <i>dd</i> , J = 11,4, 5,4 Hz)	81,1	-	39,0
4	-	33,4	-	37,9	-	34,1
5	-	56,4	0,83 (1H, <i>m</i> )	55,4	-	56,1
6	-	20,6	1,57 (1H, <i>m</i> )	20,8	-	20,5
			1,37 (1H, <i>m</i> )			
7	-	41,8	1,54 (1H, <i>m</i> )	40,9	-	40,8
8	-	44,6	-	45,0	-	44,4
9	-	57,3	1,00 (1H, <i>m</i> )	55,9	-	57,1
10	-	40,0	-	39,1	-	39,3
11	-	18,8	1,62 (1H, <i>m</i> )	18,7	-	18,2
			1,53 (1H, <i>m</i> )			

12	-	27,6	1,51 (1H, <i>m</i> ) 1,56 (1H, <i>m</i> )	31,4	-	27,3
13	2,57 (1H, <i>brs</i> )	40,5	2,46 (1H, <i>m</i> )	41,4	2,54 (1H, <i>brs</i> )	39,7
14	-	42,0	1,84 (1H, <i>m</i> ) 1,2 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0, 5,4 Hz)	38,2	-	41,8
15	-	42,2	1,68 (2H, <i>m</i> )	44,8	-	41,5
16	2,94 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 12,0, 6,0 Hz)	45,5	2,61 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,0, 6,0 Hz)	45,5	2,97 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 12,0, 6,0 Hz)	45,6
17	-	182,1	-	178,0	-	183,7
18	0,80 (3H, <i>s</i> )	33,8	0,85 (3H, <i>s</i> )	28,5	0,84 (3H, <i>s</i> )	33,9
19	0,84 (3H, <i>s</i> )	21,8	0,84 (3H, <i>s</i> )	16,8	0,96 (3H, <i>s</i> )	21,6
20	0,99 (3H, <i>s</i> )	17,8	1,02 (3H, <i>s</i> )	17,7	1,01 (3H, <i>s</i> )	17,9
21	-	-	-	171,1	-	-
22	-	-	2,04 (3H, <i>s</i> )	21,4	-	-
17- OCH <sub>3</sub>	-	-	3,65 (3H, <i>s</i> )	51,8	-	-

a: Phổ được ghi nhận trong dung môi CDCl<sub>3</sub>, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

b: Phổ được ghi nhận trong dung môi CDCl<sub>3</sub>, tần số máy 400 MHz – 100 MHz

### 3.1.3. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 3

Hợp chất **3** (2,9 mg) được phân lập từ phân đoạn **H1.1.3** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

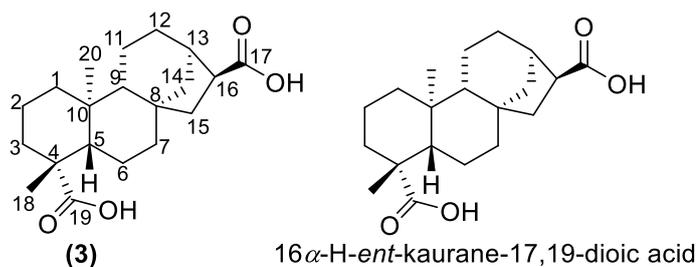
#### Dữ liệu phổ (Phụ lục):

❖ Phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR (đo trong DMSO-*d*<sub>6</sub>, **Phụ lục 16, 17, 18**).

Phân tích dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **3** cho thấy sự hiện diện của các tín hiệu proton nổi bật trong đó là hai tín hiệu proton của nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 1,10 (3H, *s*, H-18), 0,86 (3H, *s*, H-20); hai tín hiệu proton của nhóm methine tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,83 (1H, *m*, H-16) và 1,93 (1H, *d*,  $J = 12,9$  Hz, H-13) cùng một nhóm các proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển trong khoảng từ 1,78-0,76 ppm.

Tiến hành phân tích thêm dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **3** cho thấy sự xuất hiện của 20 tín hiệu carbon. Trong đó, các tín hiệu đặc trưng có thể kể đến gồm: hai tín hiệu carbon carboxyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 178,8 (C-19) và 175,5 (C-17), chín tín hiệu carbon methylene no lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 41,6 (C-14), 41,2 (C-15), 40,2 (C-3), 40,0 (C-7), 37,6 (C-1), 27,1 (C-12), 21,9 (C-6), 18,8 (C-2), 17,8 (C-11); ba tín hiệu carbon tứ cấp lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 43,9 (C-8), 42,8 (C-4), 39,1 (C-10); hai tín hiệu carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 28,6 (C-18), 15,3 (C-20); bốn tín hiệu carbon methine lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 56,0 (C-5), 55,7 (C-9), 38,7 (C-13), 44,9 (C-16).

So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **3** với hợp chất **1** và hợp chất **2** cho thấy có nhiều sự tương đồng từ đó có thể khẳng định hợp chất **3** cũng là một hợp chất diterpenoid thuộc khung *ent*-kaurane. Tuy nhiên, khi so sánh hợp chất số **2** cho thấy được ở hợp chất số **3** có sự xuất hiện thêm của một nhóm chức carboxyl (-COOH) tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) 178,8 (C-19), sự thiếu vắng của một tín hiệu nhóm methyl tại vị trí C-4, đồng thời là sự thay đổi độ dịch chuyển hóa học của tín hiệu carbon C-4 từ  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 33,4, ở hợp chất **2**, đến  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 42,8, ở hợp chất **3**. Căn cứ vào những dữ liệu đã phân tích, hợp chất **3** được dự đoán có cấu trúc tương tự hợp chất **2** nhưng có sự hiện diện của một nhóm chức carboxyl gắn trực tiếp tại vị trí C-4 thay thế cho nhóm methyl C-19, ở với hợp chất **2** (**Hình 3.4**). Từ cấu trúc được đề nghị, dữ liệu phổ của hợp chất **3** tiếp tục được so sánh với dữ liệu phổ của hợp chất  $16\alpha\text{-H-ent-kaurane-17,19-dioic acid}$  [47] (**Bảng 3.3**) với rất nhiều sự tương đồng. Trên cơ sở đó, hợp chất **3** được khẳng định là hợp chất  $16\alpha\text{-H-ent-kaurane-17,19-dioic acid}$  (**Hình 3.4**).



**Hình 3.4.** Đặc tính cấu trúc của hợp chất 3.

**Bảng 3.3.** Kết quả phân tích phổ của hợp chất 3 và hợp chất 2 và hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17,19-dioic acid

No.	Hợp chất 3		Hợp chất 2		16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17,19-dioic acid [47]	
	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^b$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^b$ (ppm)	$\delta_H^c$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^c$ (ppm)
1	-	37,6	-	40,9	-	38,1
2	-	18,8	-	18,1	-	19,3
3	-	40,2	-	39,5	-	40,6
4	-	42,8	-	33,4	-	43,3
5	-	56,0	-	56,4	-	56,4
6	-	21,9	-	20,6	-	22,4
7	-	40,0	-	41,8	-	40,6
8	-	43,9	-	44,6	-	44,4
9	-	55,7	-	57,3	-	56,2
10	-	39,1	-	40,0	-	39,6
11	-	17,8	-	18,8	-	18,3
12	-	27,1	-	27,6	-	27,7
13	1,93 (1H, <i>d</i> , J = 12,9 Hz)	38,7	2,57 (1H, <i>brs</i> )	40,5	2,00 (1H, <i>d</i> , J = 16,45 Hz)	39,3
14	-	41,6	-	42,0	-	42,1

<b>15</b>	-	41,2	-	42,2	-	41,7
<b>16</b>	2,83 (1H, <i>m</i> )	44,9	2,94 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 6,0, 12,0 Hz)	45,5	2,84 (1H, <i>m</i> )	45,4
<b>17</b>	-	175,5	-	182,1	-	176,0
<b>18</b>	1,10 (3H, <i>s</i> )	28,6	0,80 (3H, <i>s</i> )	33,8	1,10 (3H, <i>s</i> )	29,1
<b>19</b>	-	178,7	0,84 (3H, <i>s</i> )	21,8	-	179,2
<b>20</b>	0,86 (3H, <i>s</i> )	15,3	0,99 (3H, <i>s</i> )	17,8	0,86 (3H, <i>s</i> )	15,9

a: Phổ được ghi nhận trong dung môi DMSO-*d*<sub>6</sub>, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

b: Phổ được ghi nhận trong dung môi CDCl<sub>3</sub>, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

c: Phổ được ghi nhận trong dung môi DMSO-*d*<sub>6</sub>, tần số máy 500 MHz – 125 MHz

### 3.1.4. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 4

Hợp chất **4** (4,5 mg) được phân lập từ phân đoạn **H2.1.3** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

#### Dữ liệu phổ (Phụ lục):

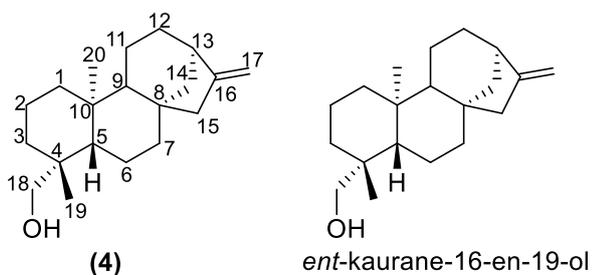
❖ Phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR (đo trong CDCl<sub>3</sub>, **Phụ lục 19, 20, 21**).

Phân tích dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR của hợp chất **4** cho thấy sự xuất hiện của các tín hiệu proton đặc trưng trong đó là hai tín hiệu proton của nhóm methyl tại δ<sub>H</sub> (ppm): 0,96 (3H, *s*, H-19), 1,01 (3H, *s*, H-20); hai tín hiệu proton của một nhóm oxymethylene tại δ<sub>H</sub> (ppm): 3,74 (1H, *d*, *J* = 10,8 Hz, H-18a), 3,44 (1H, *d*, *J* = 10,8 Hz, H-18b); hai tín hiệu proton olefin tại δ<sub>H</sub> (ppm): 4,79 (1H, *brs*, H-17a) và 3,44 (1H, *brs*, H-17b); một tín hiệu proton của nhóm methylene tại δ<sub>H</sub> (ppm): 2,05 (2H, *m*, H-15); một tín hiệu proton methine tại δ<sub>H</sub> (ppm): 2,63 (1H, *brs*, H-13), một nhóm các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển trong khoảng từ 1,96-0,88 ppm.

Ngoài ra, phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất **4** thể hiện sự tồn tại của 20 tín hiệu carbon bao gồm hai tín hiệu carbon olefin tại δ<sub>C</sub> (ppm): 156,1 (C-16) và 103,1 (C-17), chín tín hiệu carbon methylene no lần lượt tại δ<sub>C</sub> (ppm): 39,8 (C-14), 49,2 (C-15), 35,8 (C-3), 41,8 (C-7), 40,6 (C-1), 33,3 (C-12), 20,6 (C-6), 18,5 (C-2), 18,4 (C-11); một tín hiệu carbon methylene gắn với dị tố Oxy tại δ<sub>C</sub> (ppm): 65,7 (C-18); ba

tín hiệu carbon tứ cấp lần lượt tại  $\delta_C$  (ppm): 44,3 (C-8), 38,8 (C-4), 39,4 (C-10); hai tín hiệu carbon methyl tại  $\delta_C$  (ppm): 27,2 (C-19), 18,3 (C-20); ba tín hiệu carbon methine lần lượt tại  $\delta_C$  (ppm): 57,0 (C-5), 56,4 (C-9), 44,1 (C-13).

Dựa trên sự tương đồng về số liệu  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của hợp chất **4** với hợp chất **1**, hợp chất **2** và hợp chất **3**, hợp chất **4** được xác định là một *ent*-kaurane diterpenoid. Tuy nhiên, khi so sánh dữ liệu phổ với hợp chất **2** có một số điểm khác biệt về mặt cấu trúc. Cụ thể, sự biến mất của tín hiệu proton methine H-16 thay thế vào đó là sự xuất hiện của hai tín hiệu proton nhóm olefin tại  $\delta_H$  (ppm): 4,79 (1H, brs, H-17a) và 3,74 (1H, brs, H-17b), cùng với sự thay đổi độ dịch chuyển của carbon C-16 từ vùng từ trường cao, tại  $\delta_C$  (ppm): 45,5 ppm, về vùng từ trường thấp tại  $\delta_C$  (ppm): 156,1 ppm, giúp nhận định sự hiện diện của một liên kết C = C tại vị trí C-16 – C-17 ở hợp chất **4**. Bên cạnh đó, sự thiếu vắng của một tín hiệu nhóm methyl tại vị trí C-4 khi so sánh với hợp chất **2** (tương tự như ở hợp chất **3**), và sự xuất hiện thêm của hai tín hiệu proton oxymethylene tại  $\delta_H$  (ppm): 3,74 (1H, d,  $J = 10,8$  Hz, H-18a) và 3,44 (1H, d,  $J = 10,8$  Hz, H-18b) giúp nhận định được cấu trúc của hợp chất **4** có sự xuất hiện của một nhóm  $-\text{CH}_2\text{OH}$  tại vị trí C-4. Từ các dữ liệu đã nêu, cấu trúc của hợp chất **4** được dự đoán như ở (Hình 3.5). Kết hợp so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **4** với các dữ liệu được báo cáo của hợp chất *ent*-kaurane-16-en-19-ol [48] (Bảng 3.4) cho thấy có rất nhiều sự tương đồng. Từ đó, hợp chất **4** được khẳng định là hợp chất *ent*-kaurane-16-en-19-ol.



Hình 3.5. Đặc tính cấu trúc của hợp chất **4**

Bảng 3. 4. Kết quả phân tích phổ của hợp chất **4** với hợp chất **3** và hợp chất *ent*-kaurane-16-en-19-ol

No.	Hợp chất <b>4</b>		Hợp chất <b>2</b>		<i>ent</i> -kaurane-16-en-19-ol [48]	
	$\delta_H^a$ (ppm), $J$ (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^a$ (ppm), $J$ (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^b$ (ppm), $J$ (Hz)	$\delta_C^b$ (ppm)

<b>1</b>	-	40,6	-	40,9	-	40,5
<b>2</b>	-	18,5	-	18,1	-	18,3
<b>3</b>	-	35,8	-	39,5	-	35,6
<b>4</b>	-	38,8	-	33,4	-	38,7
<b>5</b>	-	57,0	-	56,4	-	56,9
<b>6</b>	-	20,6	-	20,6	-	20,5
<b>7</b>	-	41,8	-	41,8	-	41,6
<b>8</b>	-	44,3	-	44,6	-	44,2
<b>9</b>	-	56,4	-	57,3	-	56,2
<b>10</b>	-	39,4	-	40,0	-	39,2
<b>11</b>	-	18,4	-	18,8	-	18,2
<b>12</b>	-	33,3	-	27,6	-	33,2
<b>13</b>	2,63 (1H, <i>brs</i> )	44,1	2,57 (1H, <i>brs</i> )	40,5	2,63 (1H, <i>brs</i> )	44,0
<b>14</b>	-	39,8	-	42,0	-	39,7
<b>15</b>	2,05 (2H, <i>m</i> )	49,2	-	42,2	2,05 (2H, <i>m</i> )	49,1
<b>16</b>	-	156,1	2,94 (1H, <i>dt</i> , $J = 12,0, 6,0$ Hz)	45,5	-	155,8
<b>17</b>	4,79 (1H, <i>brs</i> ) 4,73 (1H, <i>brs</i> )	103,1	-	182,1	4,79 (1H, <i>brs</i> ) 4,74 (1H, <i>brs</i> )	103,0
<b>18</b>	3,74 (1H, <i>d</i> , $J = 11,4$ Hz) 3,45 (1H, <i>d</i> , $J = 11,4$ Hz)	65,7	0,80 (3H, <i>s</i> )	33,8	3,74 (1H, <i>d</i> , $J = 10,9$ Hz) 3,43(1H, <i>d</i> , $J = 10,9$ Hz)	65,6
<b>19</b>	0,96 (3H, <i>s</i> )	27,2	0,84 (3H, <i>s</i> )	21,8	0,96 (3H, <i>s</i> )	27,1
<b>20</b>	1,01 (3H, <i>s</i> )	18,3	0,99 (3H, <i>s</i> )	17,8	1,01 (3H, <i>s</i> )	18,1

a: Phổ được ghi nhận trong dung môi  $\text{CDCl}_3$ , tần số máy 600 MHz – 150 MHz

b: Phổ được ghi nhận trong dung môi  $\text{CDCl}_3$ , tần số máy 500 MHz – 125 MHz

### 3.1.5. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 5

Hợp chất **5** (7,6 mg) được phân lập từ phân đoạn **H1.1.2** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

#### Dữ liệu phổ (Phụ lục):

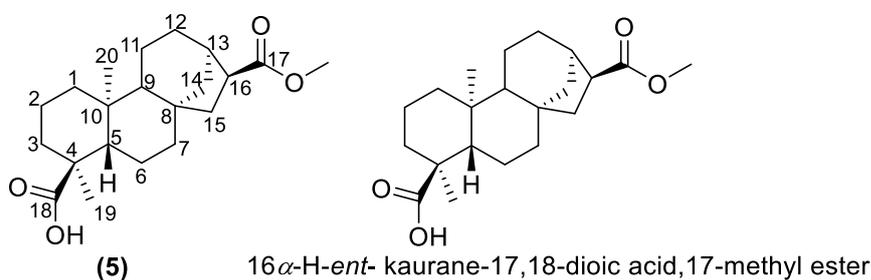
❖ Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{CDCl}_3$ , **Phụ lục 22, 23, 24**).

Phân tích dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **5** cho thấy sự xuất hiện của các tín hiệu proton nổi bật trong đó là hai tín hiệu proton của nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 1,23 (3H, *s*, H-19), 0,92 (3H, *s*, H-20); một tín hiệu proton của nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 3,69 (3H, *s*, H-17-OCH<sub>3</sub>); một tín hiệu proton của nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 1,52 (2H, *m*, H-15); hai tín hiệu proton của nhóm methine tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,88 (1H, *m*, H-16), 2,57 (1H, *brs*, H-13), và một loạt các proton phân bố tại vùng từ trường cao được xác định với độ dịch chuyển trong khoảng từ 2,15-0,80 ppm.

Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **5** cho thấy sự có mặt của 21 tín hiệu carbon. Trong đó, các tín hiệu nổi bật bao gồm hai tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 183,7 (C-18) và 175,4 (C-17), chín tín hiệu carbon methylene lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 42,0 (C-14), 41,9 (C-15), 40,7 (C-7), 40,7 (C-1), 38,0 (C-3), 27,7 (C-12), 22,2 (C-6), 19,2 (C-11), 18,3 (C-2); ba tín hiệu carbon tứ cấp lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 44,5 (C-8), 43,8 (C-4), 39,8 (C-10); hai tín hiệu carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 29,1 (C-19), 15,7 (C-20); bốn tín hiệu carbon methine lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 57,1 (C-5), 56,3 (C-9), 39,8 (C-13), 45,6 (C-16); một tín hiệu carbon của nhóm methoxy tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 51,6 (C-17-OCH<sub>3</sub>).

Sự tương đồng rõ rệt được ghi nhận khi so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **5** và hợp chất **1**, hợp chất **2**, hợp chất **3**, hợp chất **4** giúp khẳng định đây cũng là một hợp chất diterpenoid thuộc khung *ent*-kaurane. Tiếp tục so sánh dữ liệu giữa hợp chất **5** và hợp chất **2** cho thấy nhiều sự khác biệt. Cụ thể, sự xuất hiện thêm của một nhóm methoxy (-OCH<sub>3</sub>) tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 3,69 (3H, *s*) và  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 51,6 (C-17-OCH<sub>3</sub>) ở hợp chất **5**, và sự thay đổi độ dịch chuyển của carbon carbonyl C-17 từ  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 182,1, ở hợp chất **2**, đến  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 175,4, ở hợp chất **5**, giúp khẳng định sự có mặt của một nhóm chức methoxycarbonyl (CH<sub>3</sub>OCO) tại vị trí C-16 trong cấu trúc của hợp chất **5**, thay vì là nhóm carboxyl -COOH như ở hợp chất **2**. Bên cạnh đó, các tín hiệu proton methine của hợp chất **5** tại H-16  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,88 (1H, *m*) và H-13  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 2,57 (1H, *brs*) giúp khẳng định proton H-16 của hợp chất này có định hướng  $\alpha$ , tương tự như ở hợp chất **2**. Ngoài ra, dữ liệu phổ của hợp chất **5** cũng ghi nhận sự

thiếu vắng của một tín hiệu nhóm methyl tại vị trí C-4, sự thay đổi độ dịch chuyển của tín hiệu carbon C-4 từ  $\delta_C$  (ppm): 33,4, ở hợp chất **2**, đến  $\delta_C$  (ppm): 43,8, ở hợp chất **5**, và sự xuất hiện thêm của một tín hiệu carbon carboxyl (-COOH) tại  $\delta_C$  (ppm): 183,7. Từ đó, sự có mặt của một nhóm chức carboxyl gắn trực tiếp tại vị trí C-4 thay thế cho nhóm methyl C-19 của hợp chất **5** được đề nghị. Từ các dữ liệu đã nêu, cấu trúc của hợp chất **5** được đề nghị như ở (**Hình 3.6**). Đồng thời, quá trình so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **5** với dữ liệu phổ của hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17,18-dioic acid,17-methyl ester [49] cho thấy có nhiều sự tương đồng. Từ đó, khẳng định được hợp chất **5** là hợp chất 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17,18-dioic acid,17-methyl ester.



**Hình 3.6.** Đặc tính cấu trúc của hợp chất **5**

**Bảng 3. 5.** Kết quả phân tích phổ **5** và hợp chất **1** và hợp chất **2**

No.	Hợp chất <b>5</b>		Hợp chất <b>2</b>		Hợp chất <b>1</b>	
	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)
<b>1</b>	-	40,7	-	40,9	1,85 (1H, m)	38,5
					0,96 (1H, m)	
<b>2</b>	-	18,3	-	18,1	1,66 (2H, m)	23,8
		38,0		39,5	4,46 (1H, dd, J = 11,4, 5,4 Hz)	81,1
<b>3</b>	-		-			
		43,8		33,4	-	37,9
<b>5</b>	-	57,1	-	56,4	0,83 (1H, m)	55,4
		22,2		20,6	1, 57 (1H, m)	20,8
<b>6</b>	-		-			
					1,37 (1H, m)	

<b>7</b>	-	40,7	-	41,8	1,54 (1H, <i>m</i> )	40,9
<b>8</b>	-	44,5	-	44,6	-	45,0
<b>9</b>	-	56,3	-	57,3	1,00 (1H, <i>m</i> )	55,9
<b>10</b>	-	39,8	-	40,0	-	39,1
<b>11</b>	-	19,2	-	18,8	1,62 (1H, <i>m</i> ) 1,53 (1H, <i>m</i> )	18,7
<b>12</b>	-	27,7	-	27,6	1,51 (1H, <i>m</i> ) 1,56 (1H, <i>m</i> )	31,4
<b>13</b>	2,51 (1H, <i>brs</i> )	39,8	2,57 (1H, <i>brs</i> )	40,5	2,46 (1H, <i>m</i> )	41,4
<b>14</b>	-	42,0	-	42,0	1,84 (1H, <i>m</i> ) 1,2 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 12,0, 5,4 Hz)	38,2
<b>15</b>	-	41,9	-	42,2	1,68 (2H, <i>m</i> )	44,8
<b>16</b>	2,88 (1H, <i>m</i> )	45,6	2,94 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 12,0, 6,0 Hz)	45,5	2,61 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,0, 6,0 Hz)	45,5
<b>17</b>	-	175,4	-	182,1	-	178,0
<b>18</b>	-	183,7	0,80 (3H, <i>s</i> )	33,8	0,85 (3H, <i>s</i> )	28,5
<b>19</b>	1,23 (3H, <i>s</i> )	29,1	0,84 (3H, <i>s</i> )	21,8	0,84 (3H, <i>s</i> )	16,8
<b>20</b>	0,92 (3H, <i>s</i> )	15,7	0,99 (3H, <i>s</i> )	17,8	1,02 (3H, <i>s</i> )	17,7
<b>21</b>	-	-	-	-	-	171,1
<b>22</b>	-	-	-	-	2,04 (3H, <i>s</i> )	21,4
<b>17-OCH<sub>3</sub></b>	3,69 (3H, <i>s</i> )	51,6	-	-	3,65 (3H, <i>s</i> )	51,8

---

a: Phổ được đo trong dung môi  $\text{CDCl}_3$ , tần số máy 600 MHz – 150 MHz

### 3.1.6. Biện luận cấu trúc hóa học hợp chất 6

Hợp chất 6 (4,2 mg) được phân lập từ phân đoạn **H2.1.4** ở dạng chất vô định hình màu trắng.

#### Dữ liệu phổ (Phụ lục):

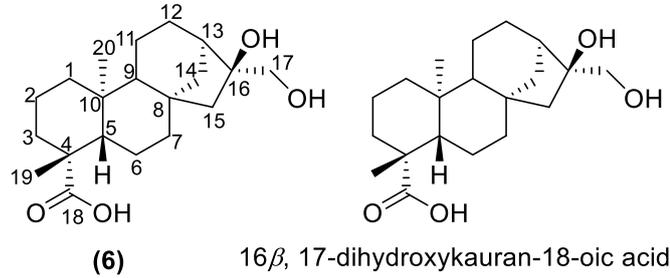
❖ Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  (đo trong  $\text{DMSO-}d_6$ , **Phụ lục 25, 26, 27**).

Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **6** cho thấy sự có mặt của các tín hiệu proton nổi bật trong đó là hai tín hiệu proton của nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 1,08 (3H, *s*, H-18), 0,87 (3H, *s*, H-20); hai tín hiệu proton oxymethylene tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 3,49 (1H, *d*,  $J = 11,4$  Hz, H-17a) và 3,39 (1H, *d*,  $J = 11,4$  Hz, H-17b), cùng với một số các tín hiệu proton phân bố tại vùng từ trường cao 1,88-0,74 ppm.

Dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **6** cho thấy sự có mặt của 20 tín hiệu carbon, gồm một số tín hiệu proton quan trọng như một tín hiệu carbon carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 178,7 (C-19); chín tín hiệu carbon methylene no lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 52,8 (C-15), 42,8 (C-1), 41,9 (C-7), 37,7 (C-3), 36,7 (C-14), 25,8 (C-12), 22,0 (C-6), 18,8 (C-11), 18,1 (C-2) và một tín hiệu carbon methylene no gắn với dị tố oxy tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 65,3 (C-17); ba tín hiệu carbon tứ cấp tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 44,5 (C-4), 44,0 (C-8), 39,1 (C-10); một tín hiệu carbon tứ cấp gắn với dị tố oxy tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 80,5 (C-16); ba tín hiệu carbon methine tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 56,0 (C-5), 55,4 (C-9), 40,2 (C-13); và hai tín hiệu carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 28,6 (C-18), 15,4 (C-20).

Nghiên cứu và đối chiếu dữ liệu phổ của hợp chất **6** và hợp chất **1, 2, 3, 4, 5** giúp khẳng định hợp chất **6** cũng là một hợp chất diterpenoid thuộc khung *ent-kaurane*. Tiếp tục so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **6** và hợp chất **3** cho thấy được nhiều sự tương đồng về cấu trúc, cụ thể là sự xuất hiện của nhóm carbon carboxyl ( $-\text{COOH}$ ) ( $\delta_{\text{C}}$  178,7) gắn trực tiếp tại C-4. Tuy nhiên, một số điểm khác biệt về cấu trúc đã được ghi nhận tại vị trí C-16 của hợp chất **6**. Cụ thể, dữ liệu phổ của hợp chất **6** cho thấy sự xuất hiện của hai tín hiệu proton oxymethylene tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 3,49 (1H, *d*,  $J = 11,4$  Hz, H-17a) và 3,39 (1H, *d*,  $J = 11,4$  Hz, H-17b), đồng thời là sự thay đổi độ dịch chuyển hóa học của tín hiệu C-16 từ vùng từ trường cao tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 44,9, ở hợp chất **3**, đến vùng từ trường thấp tại  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 80,5, ở hợp chất **6**. Từ đó, có thể nhận định, tại vị trí C-16 của hợp chất **6**, có sự hiện diện của một nhóm chức  $-\text{CH}_2\text{OH}$  và một nhóm chức hydroxy ( $-\text{OH}$ ). Từ các dữ liệu đã nêu, cấu trúc của hợp chất **6** được đề nghị như ở **Hình 3.7**. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **6** với dữ liệu đã được báo cáo của hợp chất  $16\beta,17$ -dihydroxykauran-18-

oic acid [50] cho thấy có nhiều sự tương đồng (**Bảng 3.6**). Như vậy, hợp chất 6 được xác định là 16 $\beta$ ,17-dihydroxykauran-18-oic acid.



**Hình 3.7.** Đặc tính cấu trúc của hợp chất 6

**Bảng 3. 6.** Kết quả phân tích phổ của hợp chất 6 và hợp chất 3 và hợp chất 16 $\beta$ , 17-dihydroxykauran-18-oic acid

No.	Hợp chất 6		Hợp chất 3		16 $\beta$ , 7-dihydroxykauran-18-oic acid [50]	
	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^a$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^a$ (ppm)	$\delta_H^b$ (ppm), J (Hz)	$\delta_C^b$ (ppm)
1	-	42,8	-	37,6	-	41,3
2	-	18,1	-	18,8	-	18,9
3	-	37,7	-	40,2	-	38,0
4	-	44,5	-	42,8	-	43,5
5	-	56,0	-	56,0	-	56,9
6	-	22,0	-	21,9	-	21,7
7	-	41,9	-	40,0	-	40,8
8	-	44,0	-	43,9	-	43,4
9	-	55,4	-	55,7	-	56,3
10	-	39,1	-	39,1	-	39,4
11	-	18,8	-	17,8	-	19,0
12	-	25,8	-	27,1	-	26,8
13	1,99 (1H, d, J =	40,2	1,93 (1H, d, J =	38,7	-	40,1

	13,8 Hz)		12,9 Hz)			
<b>14</b>	-	36,8	-	41,6	-	37,5
<b>15</b>	-	52,8	-	41,2	-	52,4
<b>16</b>	-	80,5	2,83 (1H, <i>m</i> )	44,9	-	79,7
	3,49 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,4 Hz)				3,43 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,3 Hz)	
<b>17</b>	3,39 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,4 Hz)	65,3	-	175,5	3,32 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,3 Hz)	69,5
	-					
<b>18</b>	-	178,7	1,10 (3H, <i>s</i> )	28,6	-	179,3
<b>19</b>	1,23 (3H, <i>s</i> )	28,6	-	178,7	1,19 (3H, <i>s</i> )	29,0
<b>20</b>	0,92 (3H, <i>s</i> )	15,4	0,86 (3H, <i>s</i> )	15,3	0,98 (3H, <i>s</i> )	15,1

a: Phổ được ghi nhận trong dung môi DMSO-*d*<sub>6</sub>, tần số máy 600 MHz – 150 MHz

b: Phổ được ghi nhận trong dung môi CDCl<sub>3</sub>, a few drops of DMSO-*d*<sub>6</sub>, tần số máy 80 MHz – 19,8 MHz

### 3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Các cao của mẫu thịt quả Bình bát nước: **BBH**, **BBDc**, **BBEa** và **BBEt** thu được từ phương pháp Soxhlet tiến hành nghiên cứu khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase nhằm lựa chọn các cao phân đoạn có tiềm năng để tiếp tục cho các bước phân lập tiếp theo, từ các cao phân đoạn tiềm năng đã được chọn tiến hành phân lập các hợp chất hữu cơ tiềm năng trong thành phần cao (**Phụ lục 28**). Như đã được trình bày ở **Bảng 3.7** cao **BBH** thể hiện khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase hiệu quả nhất trong các cao phân đoạn ( $IC_{50} = 10,9 \mu\text{g/mL}$ ), khi so sánh với chất chứng dương acarbose ( $IC_{50} = 53,0 \mu\text{g/mL}$ )

Các hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn **H1** và **H2** được thực hiện khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và được trình bày ở **Bảng 3.8** (**Phụ lục 29**). Theo đó, khi so sánh với chất chứng dương acarbose ( $IC_{50} = 82,0 \mu\text{M}$ ), các hợp chất **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6** đều thể hiện không có hoạt tính đối với hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50} > 200 \mu\text{M}$ .

Từ các kết quả đã nêu, có thể khẳng định cao **BBH** có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, nhưng các hợp chất *ent*-kaurane diterpenoid (**1** – **6**) đã phân lập được trong cao **BBH** của thịt quả Bình bát nước lại có khả năng ức chế yếu. Do

đó, có thể nhận định được, các hợp chất đã được phân lập chưa phải là các thành phần có ảnh hưởng quyết định đến hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao **BBH**. Chính vì lí do đó, các nghiên cứu tập trung vào phân lập và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất tương tự hoặc các hợp chất khác từ cao BBH và các cao chiết khác điều chế từ thịt quả Bình bát nước là cần thiết, hướng đến việc ứng dụng trong bào chế và phát triển các dược liệu từ thiên nhiên nhằm phục vụ điều trị và kiểm soát bệnh đái tháo đường

**Bảng 3. 7.** Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các phân đoạn từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.).

Cao phân đoạn	BBH	BBDc	BBEa	BBEt	Acarbose <sup>a</sup>
IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)	10,9	77,5	30,3	122,7	53,0

<sup>a</sup>Chất chứng dương

**Bảng 3. 8.** Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập từ cao BBH từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.).

Hợp chất	1	2	3	4	5	6	Acarbose <sup>a</sup>
IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	NA <sup>b</sup>	82,0					

<sup>a</sup>Chất chứng dương

<sup>b</sup>NO active

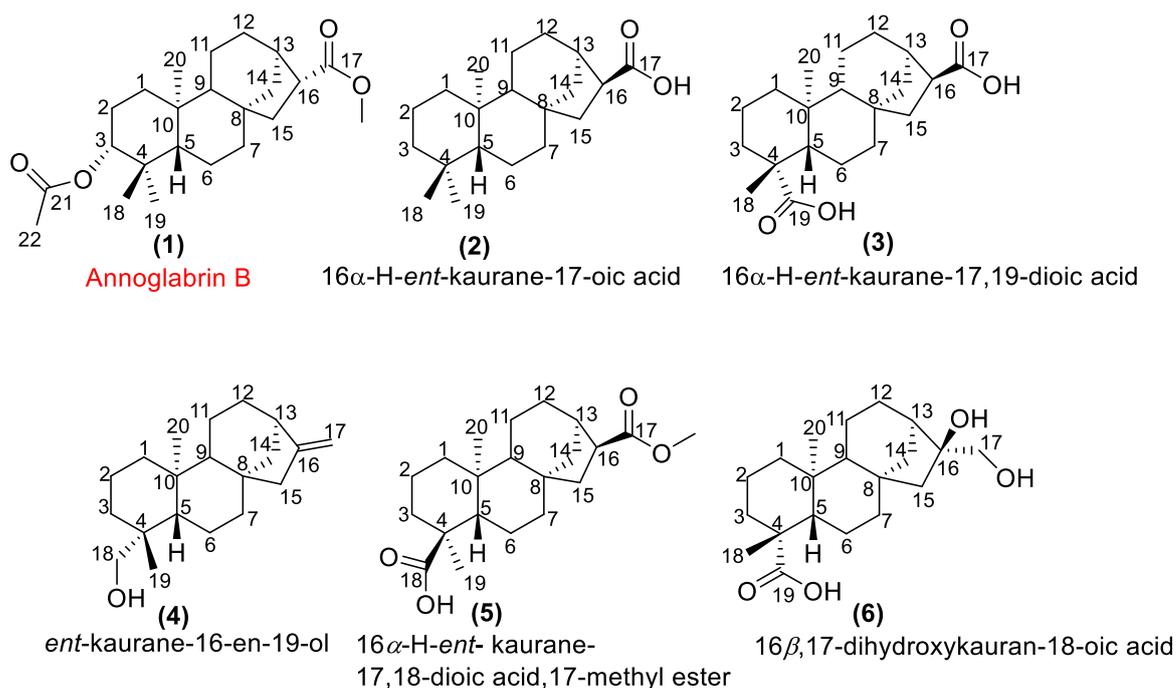
## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

Cao *n*-Hexane từ mẫu thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.) đã thu hái tại phường Long Bình thành phố Thủ Đức được điều chế, từ nhiều các phương pháp hiện đại như phương pháp sắc kí và phổ nghiệm đã được thực hiện, cho phép phân lập và xác định cấu trúc của sáu hợp chất sau bao gồm: Annoglabin B (Hợp chất **1**),  $16\alpha$ -H-*ent*-kaurane-17-oic acid (Hợp chất **2**),  $16\alpha$ -H-*ent*-kaurane-17, 19-dioic acid (Hợp chất **3**), *ent*-kaurane-16-en-19-ol (Hợp chất **4**),  $16\alpha$ -H-*ent*-kaurane-17,18-dioic acid,17-methyl ester (Hợp chất **5**) và  $16\beta$ ,17-dihydroxykauran-18-oic acid (Hợp chất **6**). Trong đó, hợp chất **1**- Annoglabin B được xác định là một hợp chất diterpenoid khung *ent*-kaurane mới và chưa từng được báo cáo trước đây. Bên cạnh đó, hợp chất **2**-  $16\alpha$ -H-*ent*-kaurane-17-oic acid, đây là hợp chất lần đầu tiên được báo cáo trên cây Bình bát nước

Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất cho thấy khả năng ức chế yếu với giá trị  $IC_{50} > 200 \mu M$ , khi so với chất chứng dương acarbose ( $IC_{50} = 82,0 \mu M$ ) cho thấy khả năng ức chế yếu. Từ đó, có thể thấy được các hợp chất đã phân lập được trong cao chưa phải là những chất chính để tạo nên hoạt tính ức chế cao của cao **BBH**.

Nghiên cứu cung cấp nhiều dữ liệu cũng như kết quả có giá trị, góp phần làm rõ thành phần hóa học có trong thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.). Thông qua đó, nghiên cứu không chỉ mở rộng hiểu biết về các hợp chất có mặt trong loài cây này khi sinh trưởng tại Việt Nam mà còn tạo tiền đề cho việc ứng dụng trong phát triển dược phẩm và sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường góp phần nâng cao giá trị y dược của cây Bình bát nước.



**Hình 3.7.** Các hợp chất được phân lập từ thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.)

## Kiến nghị

Dựa trên những thành quả đạt được từ nghiên cứu, tôi đề xuất định hướng nghiên cứu tiếp theo như sau:

- Tiếp tục phân tích thành phần hóa học của cao **BBH** cũng như các phân đoạn **H3, H4, H5, H6, H7, H8**, tập trung vào các dẫn xuất diterpenoid thuộc khung *ent*-kaurane. Việc này nhằm phân lập các hợp chất cũng như tìm kiếm các dẫn xuất mới, đồng thời mở rộng khảo sát thành phần hóa học để đảm bảo tính khách quan của nghiên cứu.
- Thực hiện thử nghiệm và so sánh khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hợp chất phân lập được. Qua đó, đánh giá và xác định hợp chất hoặc nhóm hợp chất đóng vai trò chính trong hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, góp phần làm sáng tỏ tiềm năng sinh học của thịt quả Bình bát nước (*A. glabra* L.).
- Tiếp tục mở rộng nghiên cứu bằng cách đánh giá thêm các hoạt tính sinh học khác như khả năng kháng ung thư, chống oxy hóa, ... nhằm xác định thêm tiềm năng ứng dụng của các hợp chất phân lập, góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc phát triển các sản phẩm có giá trị y dược cao.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Thi Kim Yen Duong, Van Kieu Nguyen, **Ngoc Van Trang Dao**, Xuan Hang Bui, Vo Thi Minh Thao, Minh Khanh Nguyen, Phan Si Nguyen Dong, Hoang Vinh Truong Phan, Thanh Nha Tran, Hong Ngoc Thanh Ngo, Dinh Tri Mai, Le Thuy Thuy Trang. Annoglabin A-C, three new ent-kaurane diterpenoids from the *Annona glabra* fruit pulp. *Natural Product Research*, 2024, 1-9, doi: 10.1080/14786419.2024.2414397



Natural Product Research  
Formerly Natural Product Letters



ISSN: (Print) (Online) journal homepage: [www.tandfonline.com/journals/gnpl20](http://www.tandfonline.com/journals/gnpl20)

### Annoglabin A-C, three new ent-kaurane diterpenoids from the *Annona glabra* fruit pulp

Thi-Kim-Yen Duong, Van-Kieu Nguyen, Ngoc-Van-Trang Dao, Xuan-Hang Bui, Vo Thi Minh Thao, Minh-Khanh Nguyen, Phan-Si-Nguyen Dong, Hoang-Vinh-Truong Phan, Thanh-Nha Tran, Hoang-Ngoc-Thanh Ngo, Dinh-Tri Mai & Le-Thuy-Thuy-Trang Hoang

To cite this article: Thi-Kim-Yen Duong, Van-Kieu Nguyen, Ngoc-Van-Trang Dao, Xuan-Hang Bui, Vo Thi Minh Thao, Minh-Khanh Nguyen, Phan-Si-Nguyen Dong, Hoang-Vinh-Truong Phan, Thanh-Nha Tran, Hoang-Ngoc-Thanh Ngo, Dinh-Tri Mai & Le-Thuy-Thuy-Trang Hoang (13 Oct 2024): Annoglabin A-C, three new ent-kaurane diterpenoids from the *Annona glabra* fruit pulp, *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2024.2414397](https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2414397)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2414397>

 [View supplementary material](#)

 Published online: 13 Oct 2024.

 [Submit your article to this journal](#)

 Article views: 31

 [View related articles](#)

 [View Crossmark data](#)

**DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- [1] Hộ, P. H. (1999). *Cây cỏ Việt nam*. NXB trẻ.
- [2] Newman, D. J., Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70(3), pp. 461-477.
- [3] Cragg, G. M. (1998). Paclitaxel (Taxol®): A success story with valuable lessons for natural product drug discovery and development. *Medicinal Research Reviews*, 18(5), pp. 315-331.
- [4] Dias, D. A., Urban, S., Roessner, U. (2012). A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*, 2(2), pp. 303-336.
- [5] Trinh, P. T. N., Dung, L. T., Nhung, Đ. T. C. (2014). Hợp chất diterpenoid và flavonoid từ lá Bình bát nước nước *Annona glabra* L. (*Anonaceae*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, (32), pp.125-127.
- [6] Thang, T. D., Dai, D. N., Hoi, T. M., & Ogunwande, I. A. (2013). Study on the volatile oil contents of *Annona glabra* L., *Annona squamosa* L., *Annona muricata* L. and *Annona reticulata* L., from Vietnam. *Natural product research*, 27(13), 1232-1236.
- [7] Sinchana, R., Mani, T. T., Pavithra, T., & Shiju, L. (2024). A review on a miracle plant *Annona glabra* Linn. *International Journal of Pharmacognosy*, 11(3), 65-77.
- [8] Sheba, P. T., Devasia, J. V., & Joseph, E. (2022). Phytochemical screening and chromatographic identification of acetogenin in *Annona glabra* L. leaves. *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 9, 1-7.
- [9] Nadhiya, J., Vijayalakshmi, M. K., & Showbharnikhaa, S. (2024). A Brief Review on Diabetes Mellitus. *Journal of Pharma Insights and Research*, 2(1), 117-121.
- [10] Zhou, B., Rayner, A. W., Gregg, E. W., Sheffer, K. E., Carrillo-Larco, R. M., Bennett, J. E., ... & Can, G. (2024). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *The Lancet*, 404(10467), 2077-2093.
- [11] Bộ Y Tế, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị tiểu đường typ 2, 2020.
- [12] Umpierre, D., Ribeiro, P. A., Kramer, C. K., Leitao, C. B., Zucatti, A. T.,

- Azevedo, M. J., ... & Schaan, B. D. (2011). Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, 305(17), 1790-1799.
- [13] Bedekar, A., Shah, K., & Koffas, M. (2010). Natural products for type II diabetes treatment. *Advances in applied microbiology*, 71, 21-73.
- [14] Adib, M., Peytam, F., Shourgeshty, R., Mohammadi-Khanaposhtani, M., Jahani, M., Imanparast, S., ... & Mahdavi, M. (2019). Design and synthesis of new fused carbazole-imidazole derivatives as anti-diabetic agents: In vitro  $\alpha$ -glucosidase inhibition, kinetic, and in silico studies. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 29(5), 713-718.
- [15] Chi, V. V. (1997). Từ điển cây thuốc Việt Nam.
- [16] Sinchana, R., Mani, T. T., Pavithra, T., & Shiju, L. (2024). Pharmacognostical studies on the stem bark of “annona glabra”. *International journal of pharmacognosy*, 11(6), 315-321.
- [17] *Annona glabra* (lucidcentral.org).
- [18] Stephen H. Brown, Horticulture Agent Susan Mark, AARP Administrative Assistant Lee Country Extension, Fort Myers, Florida (239) 533-751.
- [19] Oliveira, L. E. D. E., Sánchez, C. M. D., Monteiro, R. B., & de Medeiros, F. A. (2022). Application of *Annona glabra* L. (Annonaceae) in the area of health, chemical composition and biological activity. *Revista Amazonia Investiga*, 11(49), 224-238.
- [20] Yang, T. H., Chen, C. M., Kuan, S. S. (1971). Studies on the Alkaloids of *Annona glabra* L.(I). The Isolation of (-)-N-Methylactinodaphnine. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 18(3), pp. 133-136.
- [21] Kanju, O., Shinji, A., Takashi, M., Izuru, Y. Isolation and insecticidal activity of three acetogenins from seeds of pond apple, *Annona glabra* L. *Journal of Pesticide Science*, 16(1), pp. 93-96.
- [22] Han-Dong, L. C. M. S., Guo-Da, Z. H. L. T. (1995). Annonaceous acetogenins from *Annona glabra*. *Plant Diversity*, 17(02), pp. 1.
- [23] Liu, X. X., Alali, F. Q., Pilarinou, E., McLaughlin, J. L. (1998). Glacins A and B: Two Novel Bioactive Mono-tetrahydrofuran Acetogenins from *Annona glabra*. *Journal of natural products*, 61(5), pp. 620-624.
- [24] Liu, X. X., Alali, F. Q., Hopp, D. C., Rogers, L. L., Pilarinou, E., McLaughlin,

- J. L. (1998). Glabracins A and B, two new acetogenins from *Annona glabra*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 6(7), pp. 959-965.
- [25] Chang, F. R., Yang, P. Y., Lin, J. Y., Lee, K. H., Wu, Y. C. (1998). Bioactive kaurane diterpenoids from *Annona glabra*. *Journal of Natural Products*, 61(4), pp. 437-439.
- [26] Gallardo, T., Aragón, R., Tormo, J., Blázquez, M. A., Zafra-Polo, M. C., Cortes, D. (1998). Acetogenins from *Annona glabra* seeds. *Phytochemistry*, 47(5), pp. 811-816.
- [27] Liu, X. X., Pilarinou, E., McLaughlin, J. L. (1999). Pondaplin: A novel cyclic prenylated phenylpropanoid from *Annona glabra*. *Tetrahedron letters*, 40(3), pp. 399-402.
- [28] Chang, F. R., Chen, C. Y., Hsieh, T. J., Cho, C. P., Wu, Y. C. (2000). Chemical constituents from *Annona glabra* III. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 47(4), pp. 913-920.
- [29] Chen, C. Y., Chang, F. R., Cho, C. P., Wu, Y. C. (2000). ent-Kaurane diterpenoids from *Annona glabra*. *Journal of Natural Products*, 63(7), pp. 1000-1003.
- [30] Oliveira, B. H., Sant'Ana, A. E. G., Bastos, D. Z. (2002). Determination of the diterpenoid, kaurenoic acid, in *Annona glabra* by HPLC. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(6), pp. 368-371.
- [31] Hsieh, T. J., Wu, Y. C., Chen, S. C., Huang, C. S., Chen, C. Y. (2004). Chemical constituents from *Annona glabra*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 51(4), pp. 869-876.
- [32] Chen, C. H., Hsieh, T. J., Liu, T. Z., Chern, C. L., Hsieh, P. Y., Chen, C. Y. (2004). Annoglabayin, a novel dimeric kaurane diterpenoid, and apoptosis in hep g2 cells of annomontacin from the fruits of *Annona glabra*. *Journal of Natural Products*, 67(11), pp. 1942-1946.
- [33] Abdel-Lateff, A., El-Menshawi, B. S., Haggag, M. Y., Nawwar, M. A. (2009). Cytotoxic acetogenins from *Annona glabra* cultivated in Egypt. *Pharmacognosy Research*, 1(3), pp. 130-135.
- [34] Tsai, S. F., Lee, S. S. (2010). Characterization of acetylcholinesterase inhibitory constituents from *Annona glabra* assisted by HPLC

- microfractionation. *Journal of Natural Products*, 73(10), pp. 1632-1635.
- [35] Lee, S. S., Wu, D. Y., Tsai, S. F., Chen, C. K. (2015). Anti-acetylcholinesterase alkaloids from *Annona glabra* leaf. *Natural Product Communications*, 10(6), pp. (891-893).
- [36] Anh, L. T., Hien, N. T. T., Hang, D. T. T., Ha, T. M., Nhiem, N. X., Hien, T. T. T., Kiem, P. V. (2014). Ent-Kaurane diterpenes from *Annona glabra* and their cytotoxic activities. *Natural product communications*, 9(12), pp. 146-149.
- [37] Nhiem, N. X., Hien, N. T. T., Tai, B. H., Anh, H. L. T., Hang, D. T. T., Quang, T. H., ...Kim, D. H. K. (2015). New ent-kauranes from the fruits of *Annona glabra* and their inhibitory nitric oxide production in LPS-stimulated RAW264. 7 macrophages. 2(25), pp. 254-258.
- [38] Hien, N. T. T., Nhiem, N. X., Yen, D. T. H., Hang, D. T. T., Tai, B. H., Quang, T. H., ... Kim, Y. H. (2015). Chemical constituents of the *Annona glabra* fruit and their cytotoxic activity. *Pharmaceutical Biology*, 53(11), pp. 1602-1607.
- [39] Cochrane, C. B., Nair, P. R., Melnick, S. J., Resek, A. P., Ramachandran, C. (2008). Anticancer effects of *Annona glabra* plant extracts in human leukemia cell lines. *Anticancer research*, 28(2A), pp. 965-971.
- [40] Sivagnanam, D. S. K., Rao, M. R. K. (2016). In vitro inhibitory effects of *Annona glabra* on selected human pathogens. *J. Chem. Pharm. Res*, 8(1), pp. 1-6.
- [41] Liu, Y., Liu, D., Wan, W., & Zhang, H. (2018). In vitro mitochondria-mediated anticancer and antiproliferative effects of *Annona glabra* leaf extract against human leukemia cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 189, 29-35.
- [42] Deng, Z. T., Chen, J. J., & Geng, C. A. (2020). ent-Labdane and ent-kaurane diterpenoids from *Chelonopsis odontochila* with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Bioorganic Chemistry*, 95, 103571.
- [43] Deng, Z. T., Geng, C. A., Yang, T. H., Xiang, C. L., & Chen, J. J. (2019). Chepraecoxins AG, ent-kaurane diterpenoids with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities from *Chelonopsis praecox*. *Fitoterapia*, 132, 60-67.
- [44] Hu, G., Peng, X., Dong, D., Nian, Y., Gao, Y., Wang, X., ... & Qiu, M.

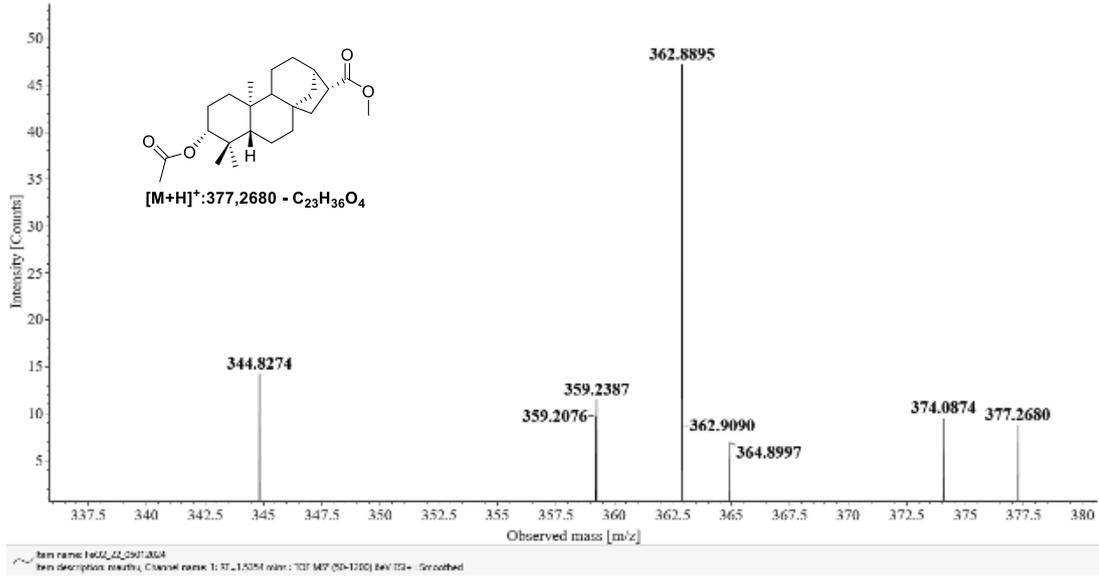
- (2021). New ent-kaurane diterpenes from the roasted arabica coffee beans and molecular docking to  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*, 345, 128823.
- [45] Le T.H., Nguyen N.K.T., Nguyen M.T.T., Nguyen T.N., 2022, Two new phenylbutenoids from the rhizomes of cassumunar ginger and their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, *Natural Product Research*.
- [46] Yang, Y. L., Chang, F. R., Wu, C. C., Wang, W. Y., & Wu, Y. C. (2002). New ent-kaurane diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from *Annona squamosa*. *Journal of natural products*, 65(10), 1462-1467.
- [47] Bowen, L., Li, C., Bin, L., Ying, T., Shijun, L., & Junxing, D. (2020). Chemical constituents, cytotoxic and antioxidant activities of extract from the rhizomes of *Osmunda japonica* Thunb. *Natural product research*, 34(6), 847-850.
- [48] Batista, R., Humberto, J. L., Chiari, E., & de Oliveira, A. B. (2007). Synthesis and trypanocidal activity of *ent*-kaurane glycosides. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(1), 381-391.
- [49] Chen, Y. Y., Ma, C. Y., Wang, M. L., Lu, J. H., Hu, P., Chen, J. W., Chen, Y. (2020). Five new *ent*-kaurane diterpenes from *Annona squamosa* L. pericarps. *Natural Product Research*, 34(15), 2243-2247.
- [50] Tan, R. X., Hu, Y. H., Liu, Z. L., & Pan, X. (1993). New kaurane diterpenoids from *Aster tongolensis*. *Journal of Natural Products*, 56(11), 1917-1922.

## PHỤ LỤC

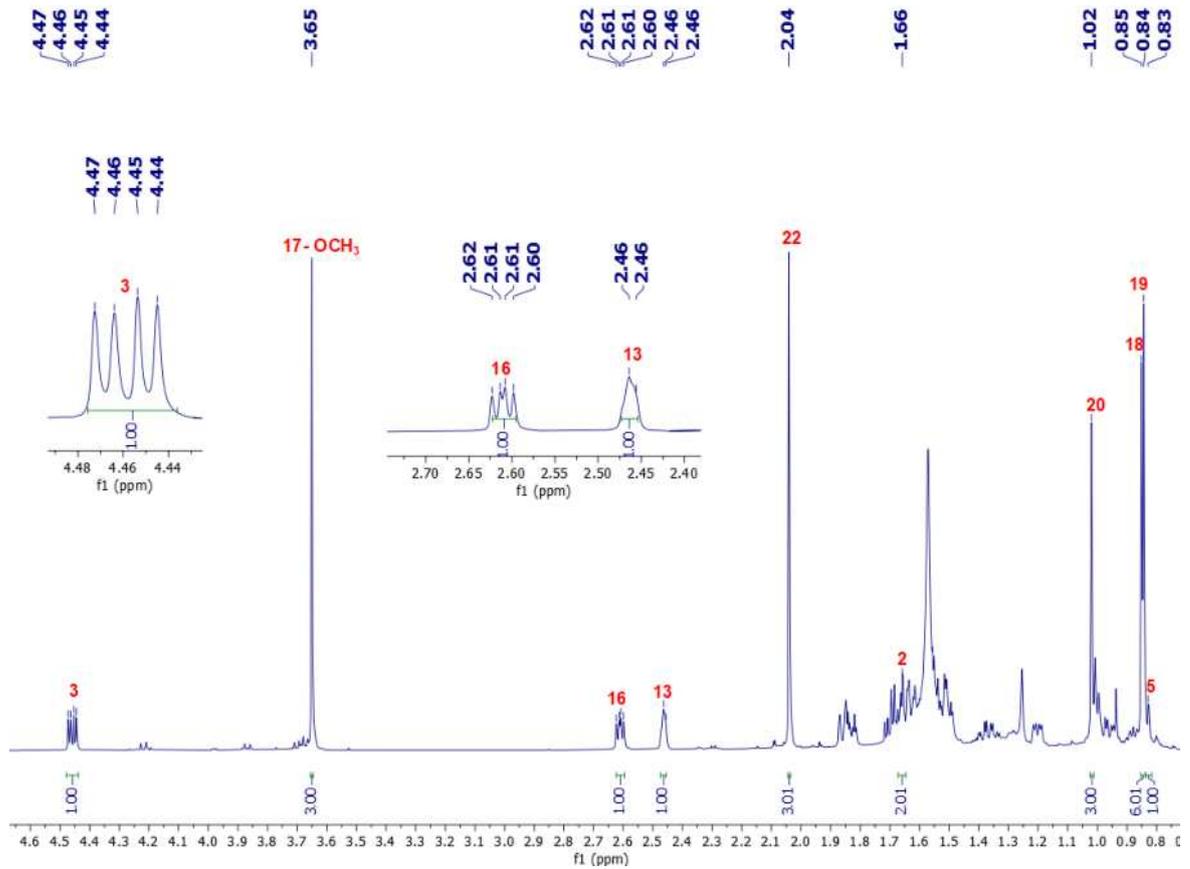
Item name: FeO2\_22\_05012024  
Item description: maauthu

Channel name: 1: RT=1.5354 mins : TOF MS<sup>5</sup> (50-1200) 6eV ESI<sup>1</sup> : Smoothed

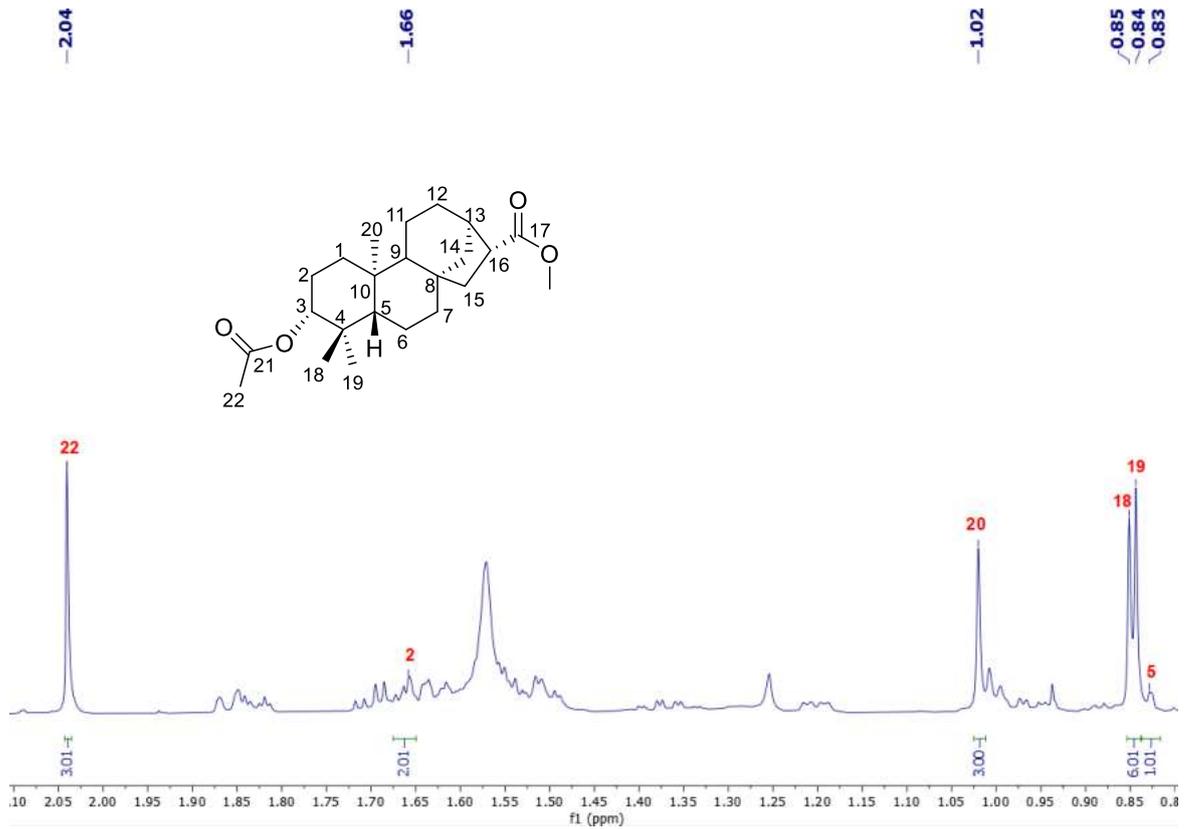
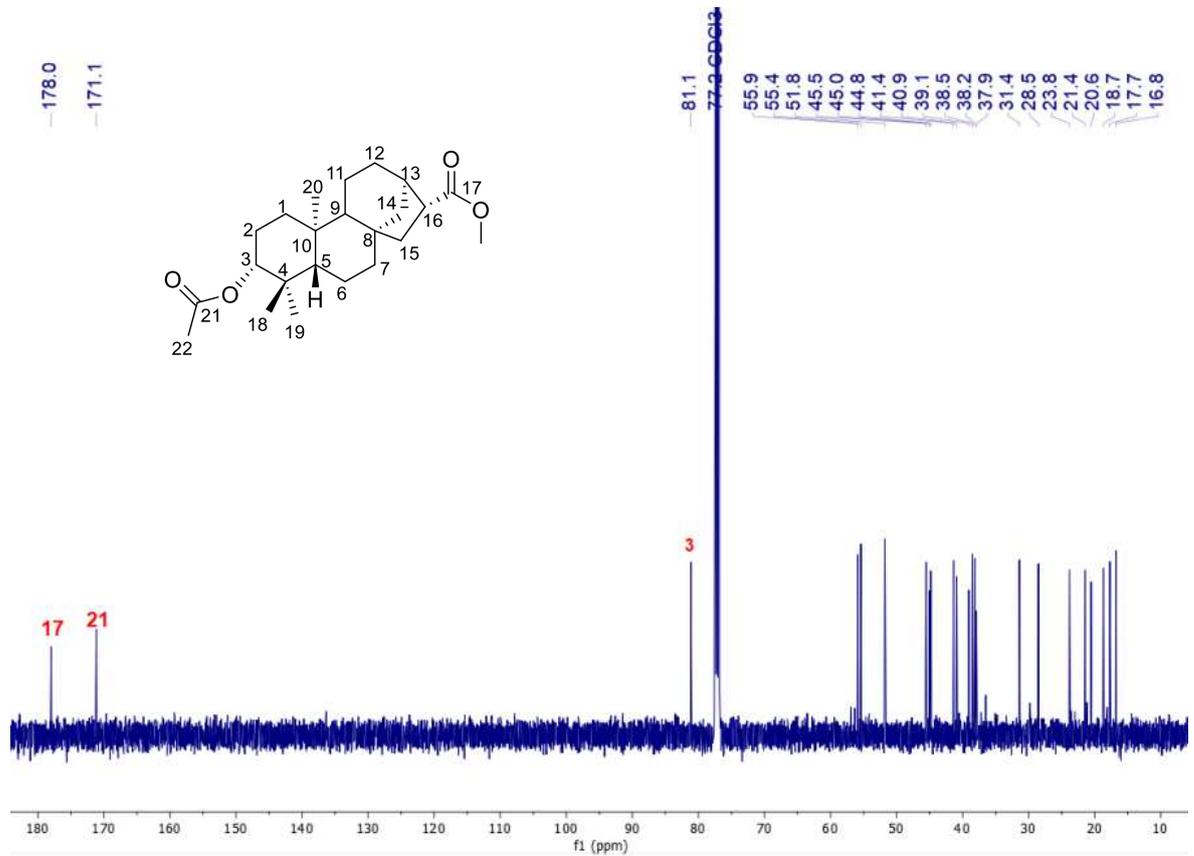
537



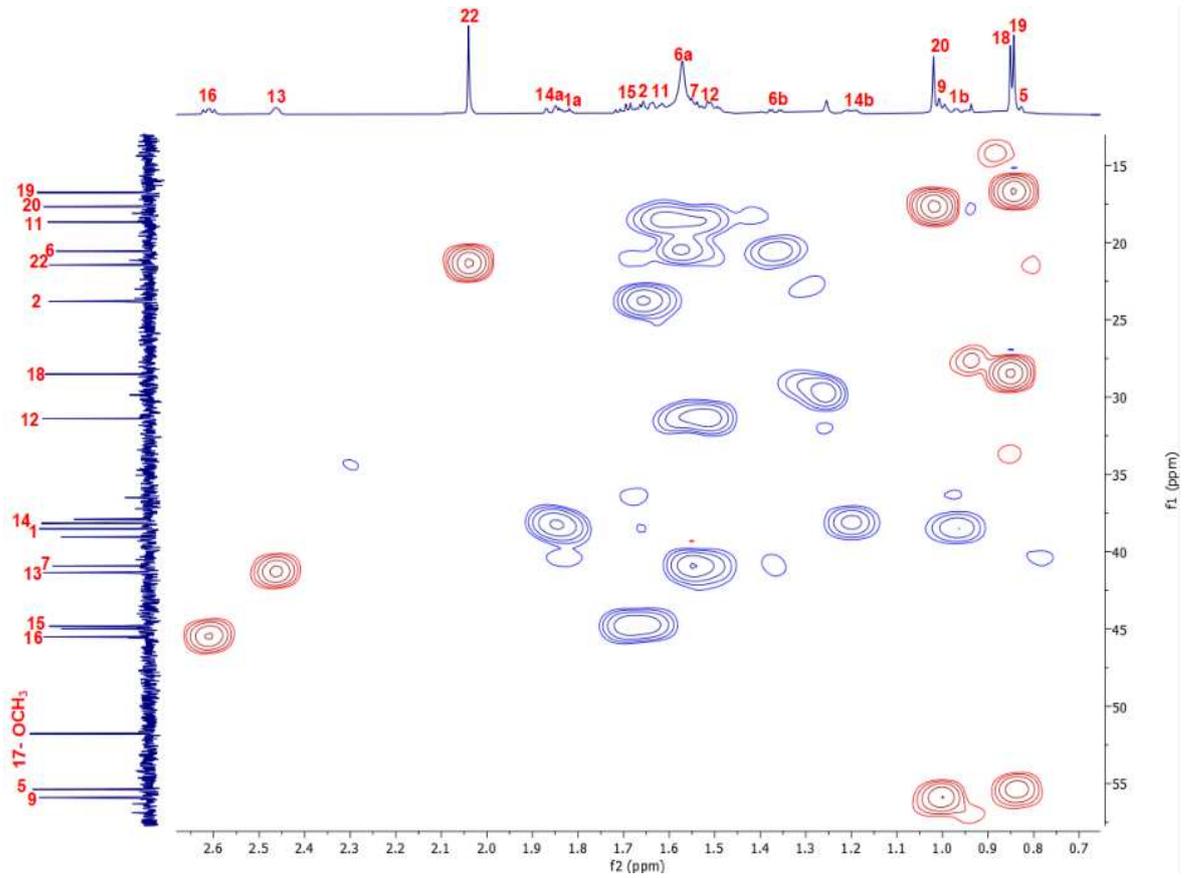
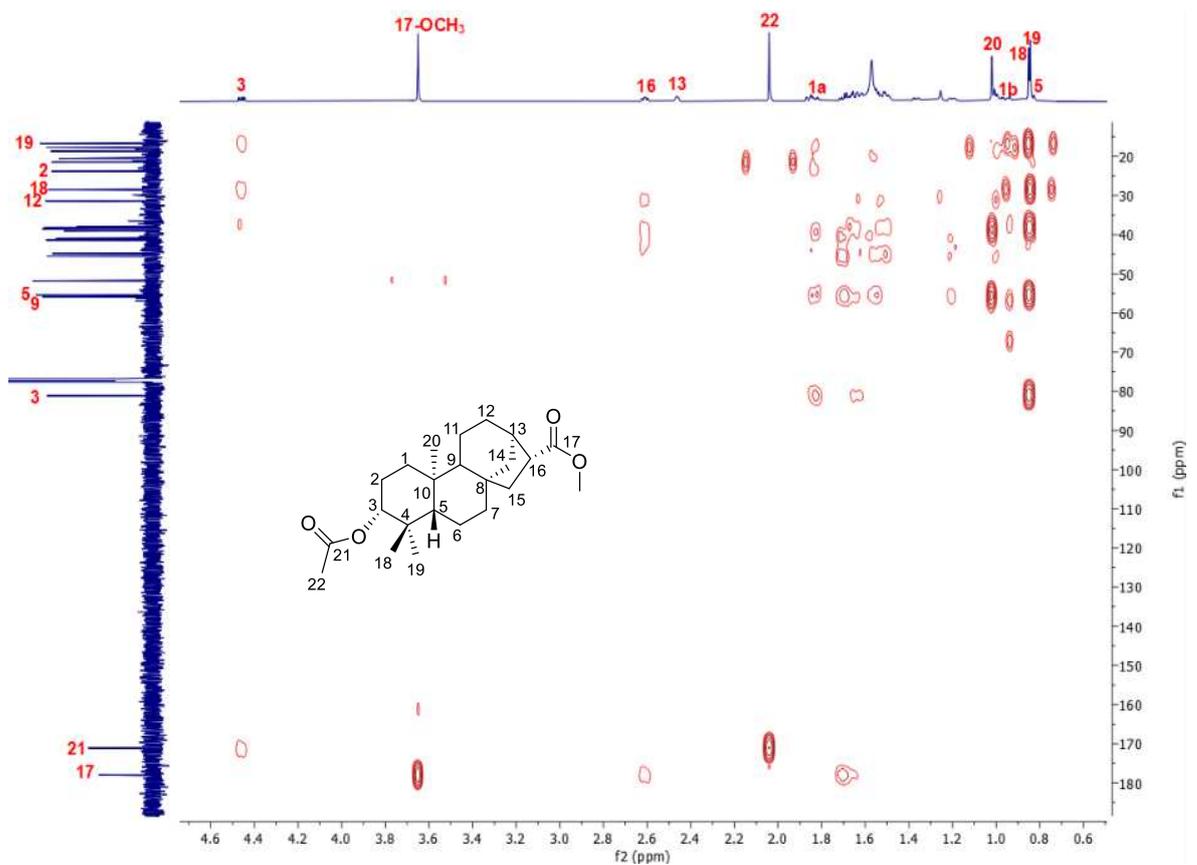
Phụ lục 1: Khối phổ HR-ESI-MS của hợp chất 1

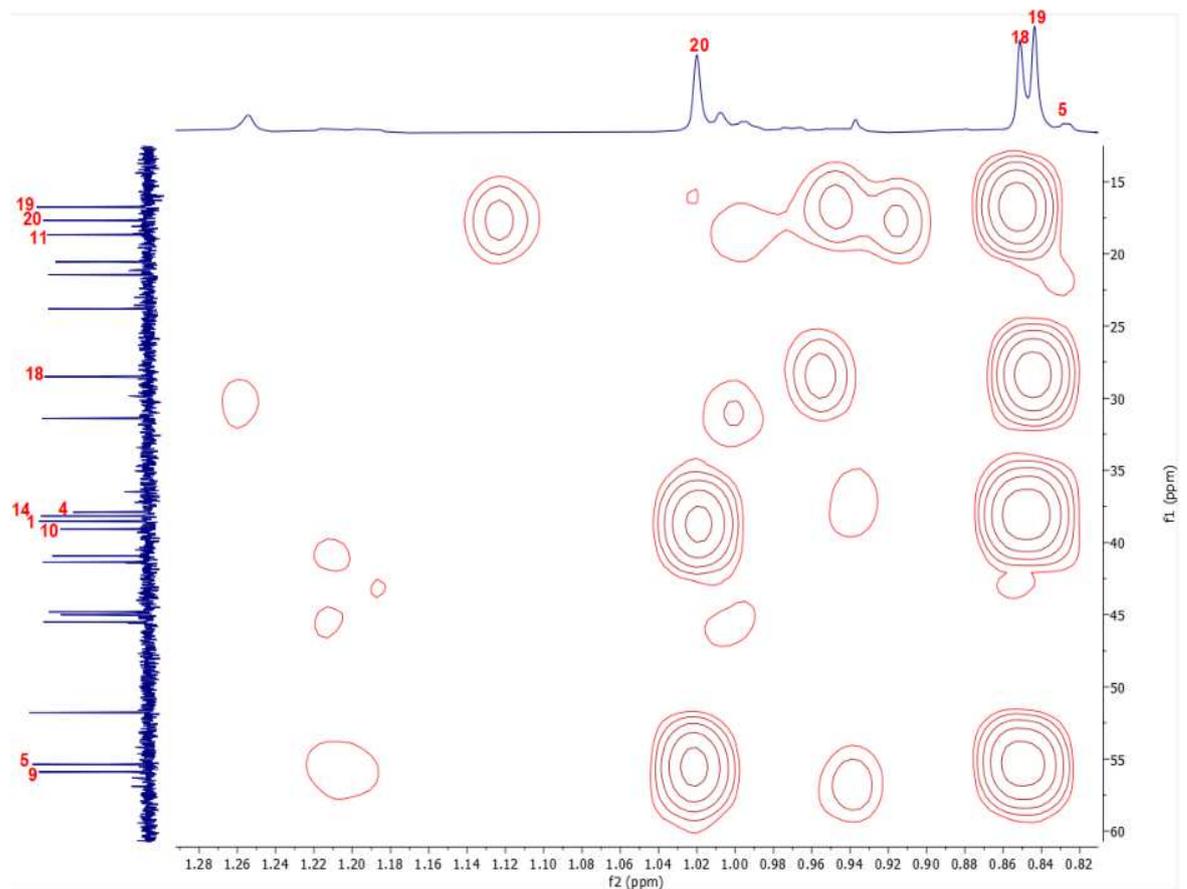
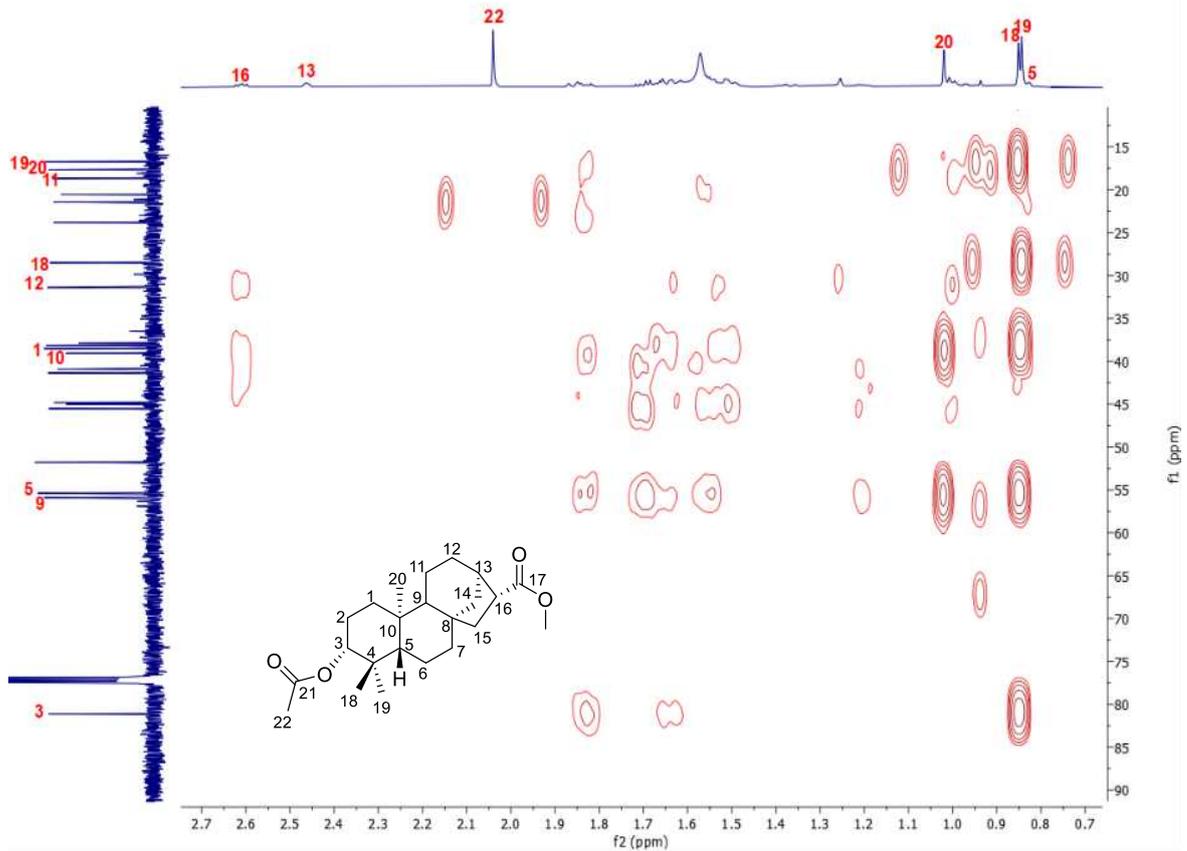


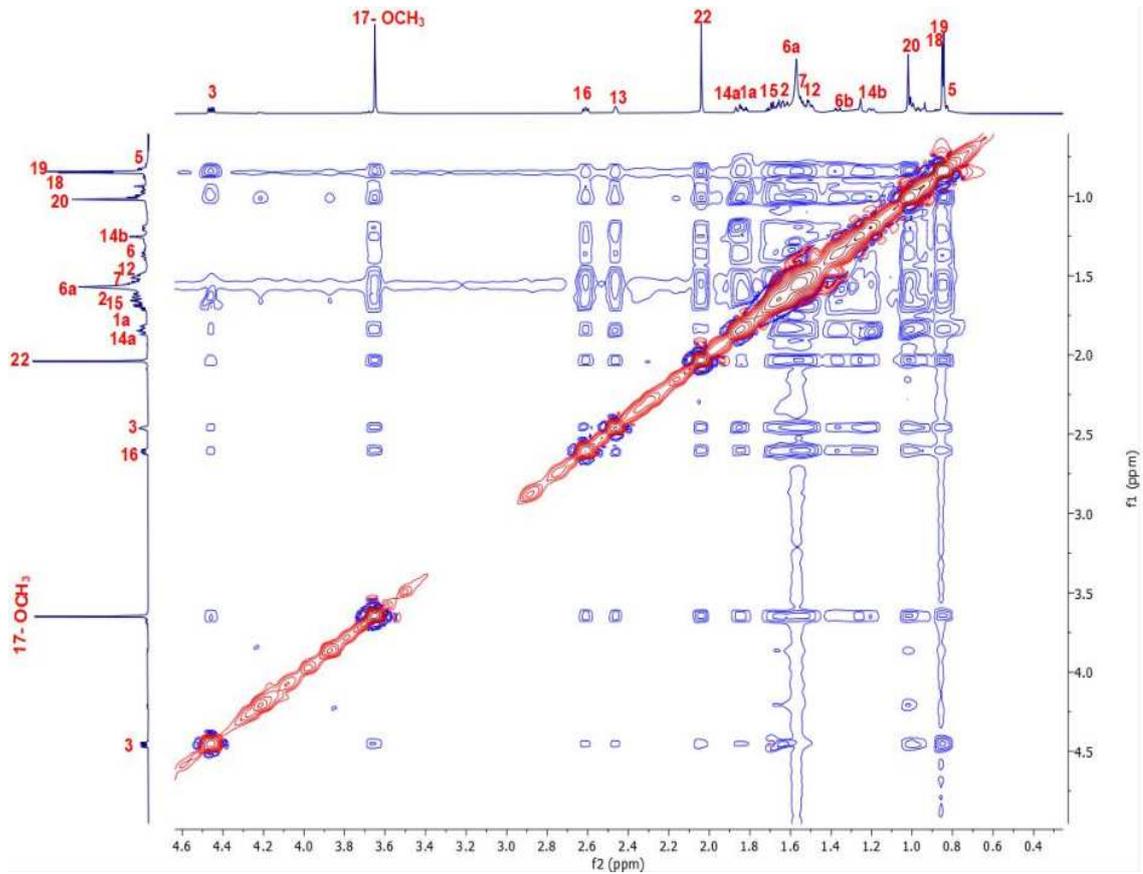
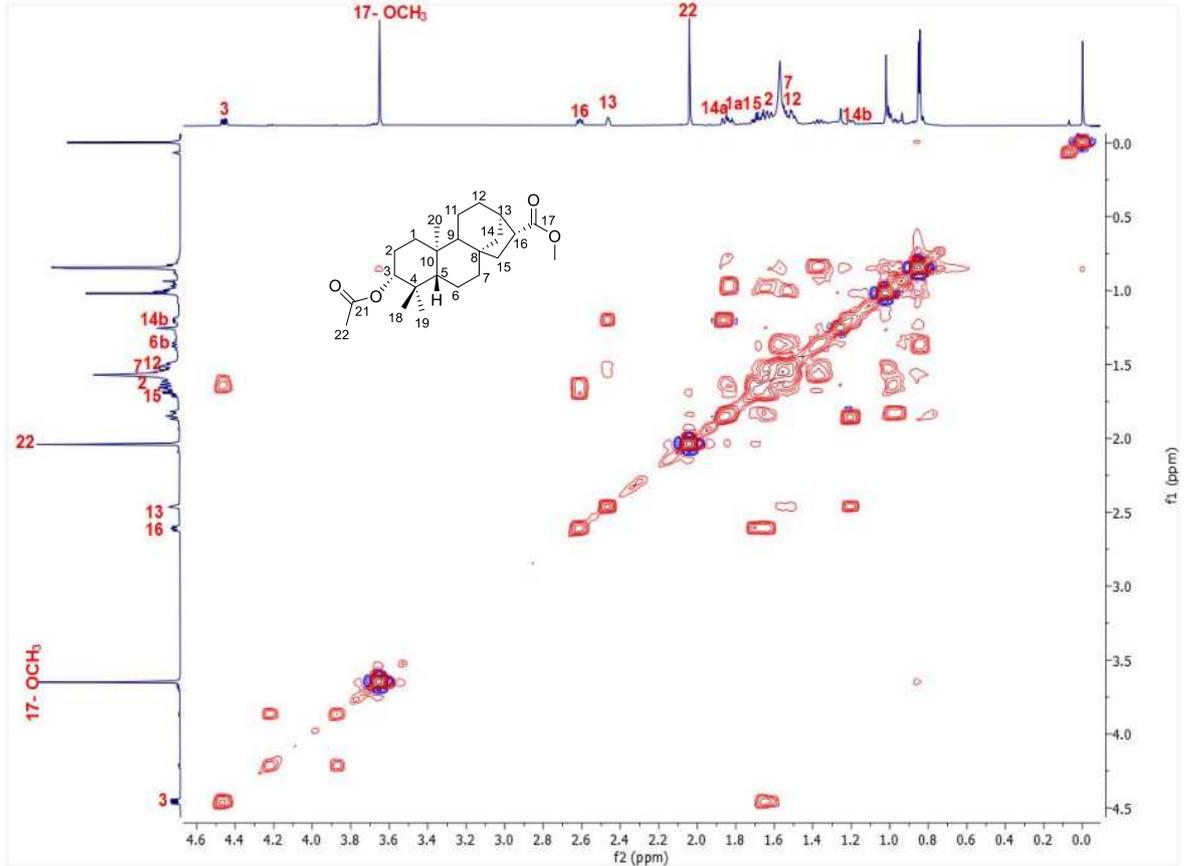
Phụ lục 2: Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) của hợp chất 1

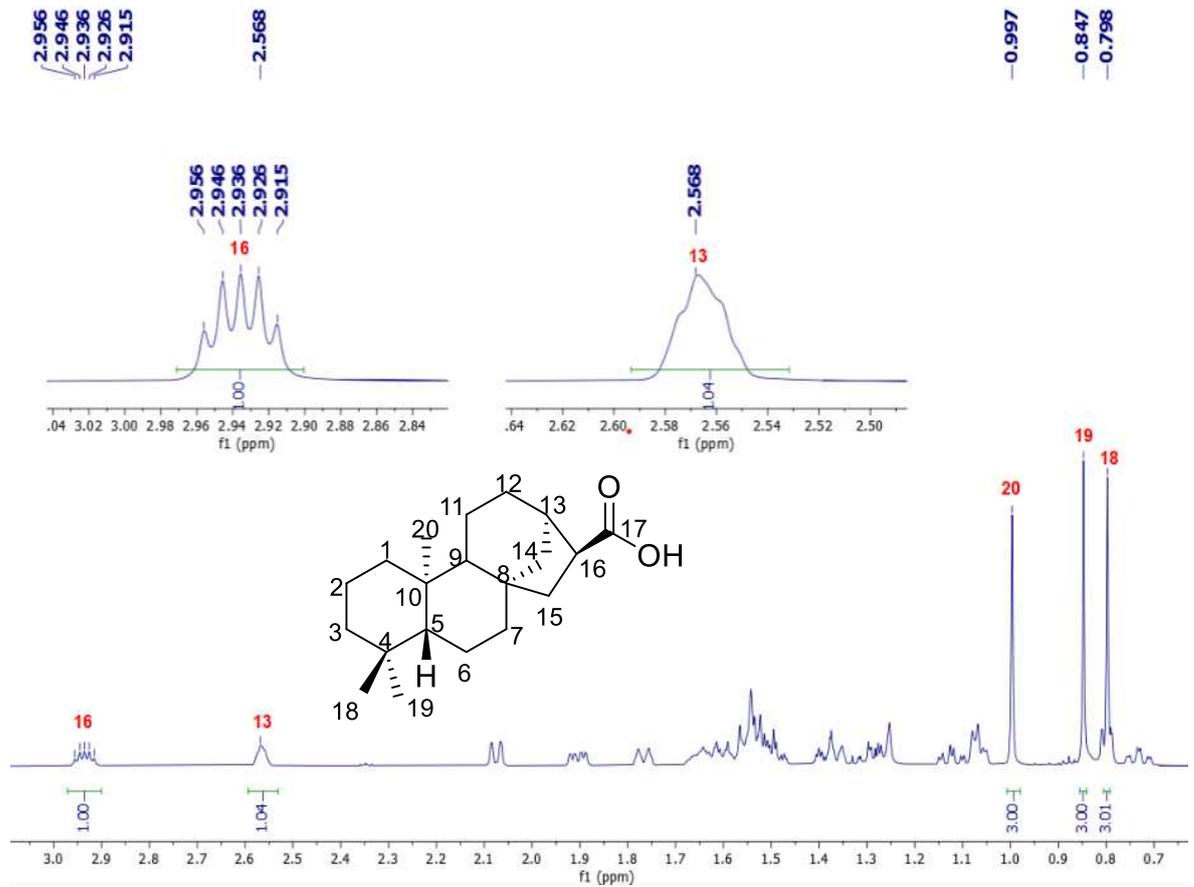
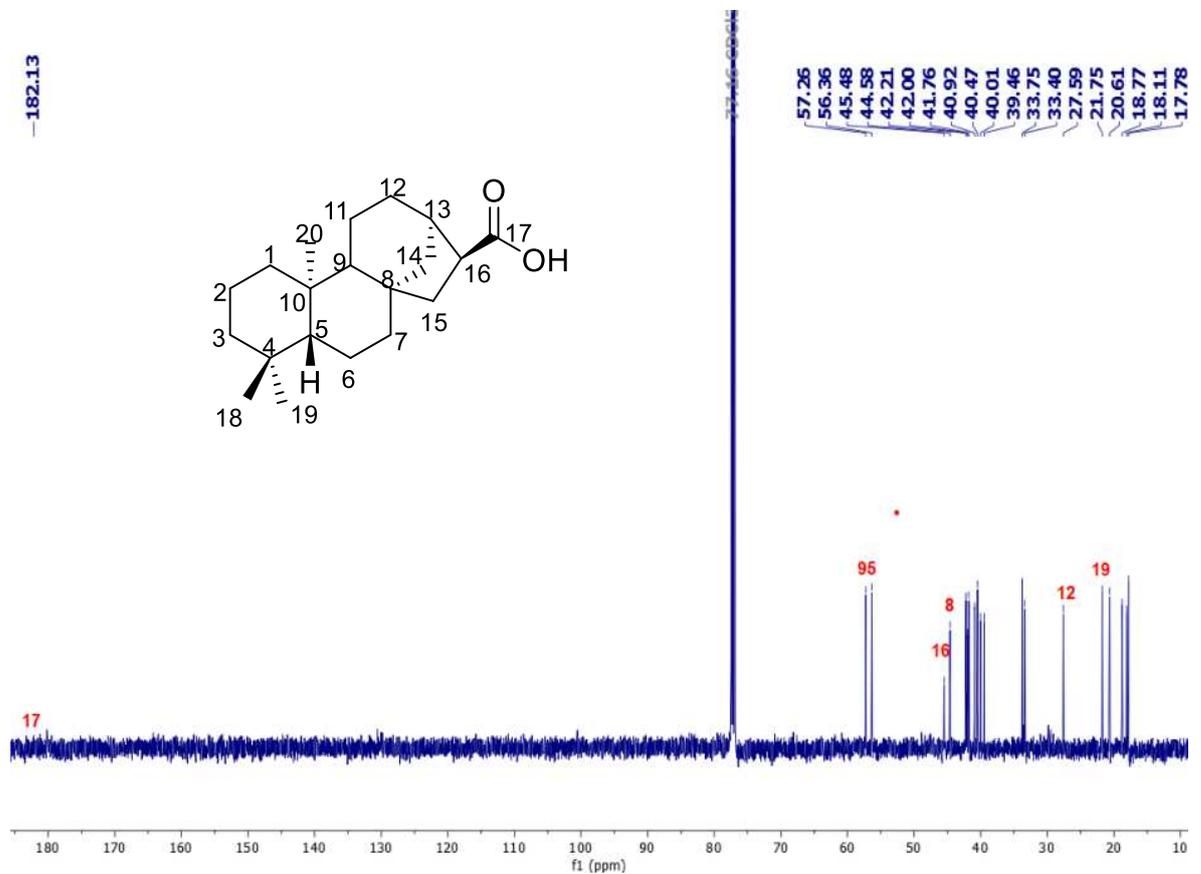
Phụ lục 3: Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) của hợp chất **1** (Mở rộng)Phụ lục 4: Phổ <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) của hợp chất **1**

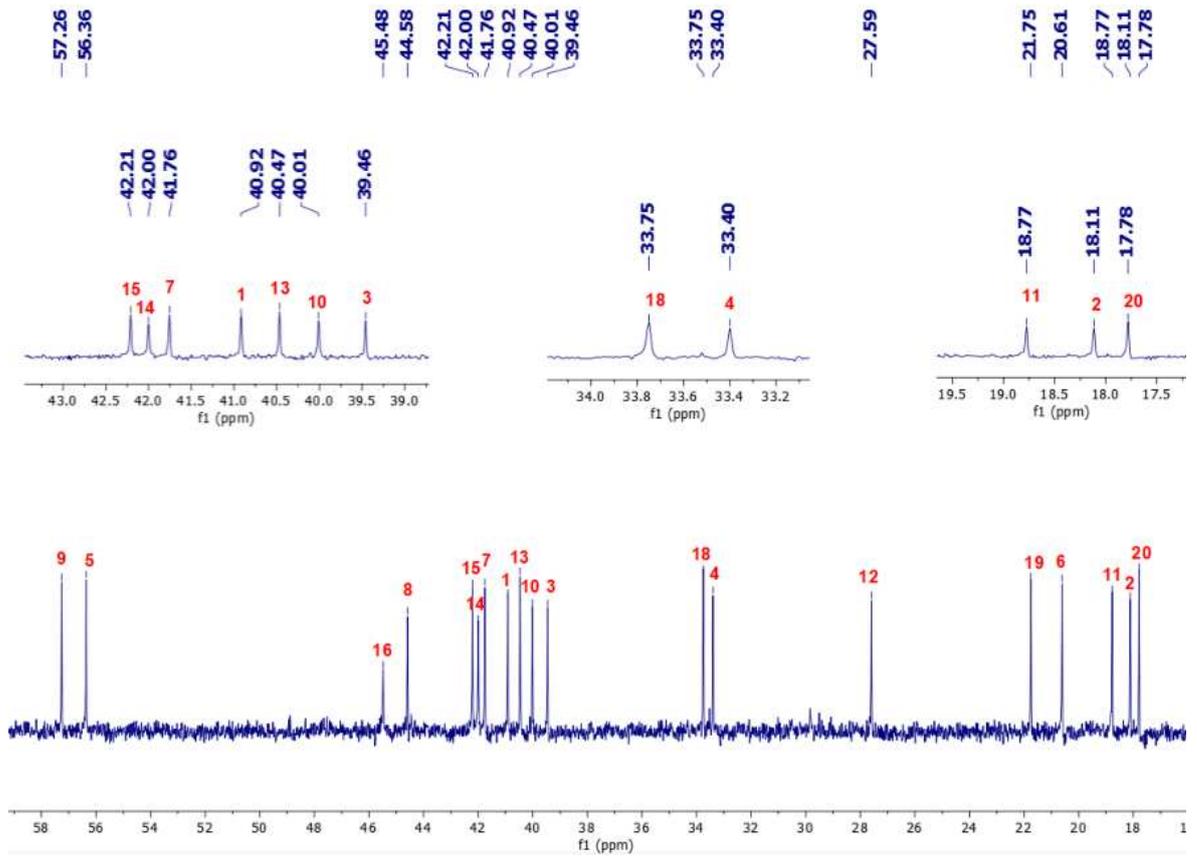


Phụ lục 7: Phổ HSQC (CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất **1** (Mở rộng)Phụ lục 8: Phổ HMBC (CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất **1**

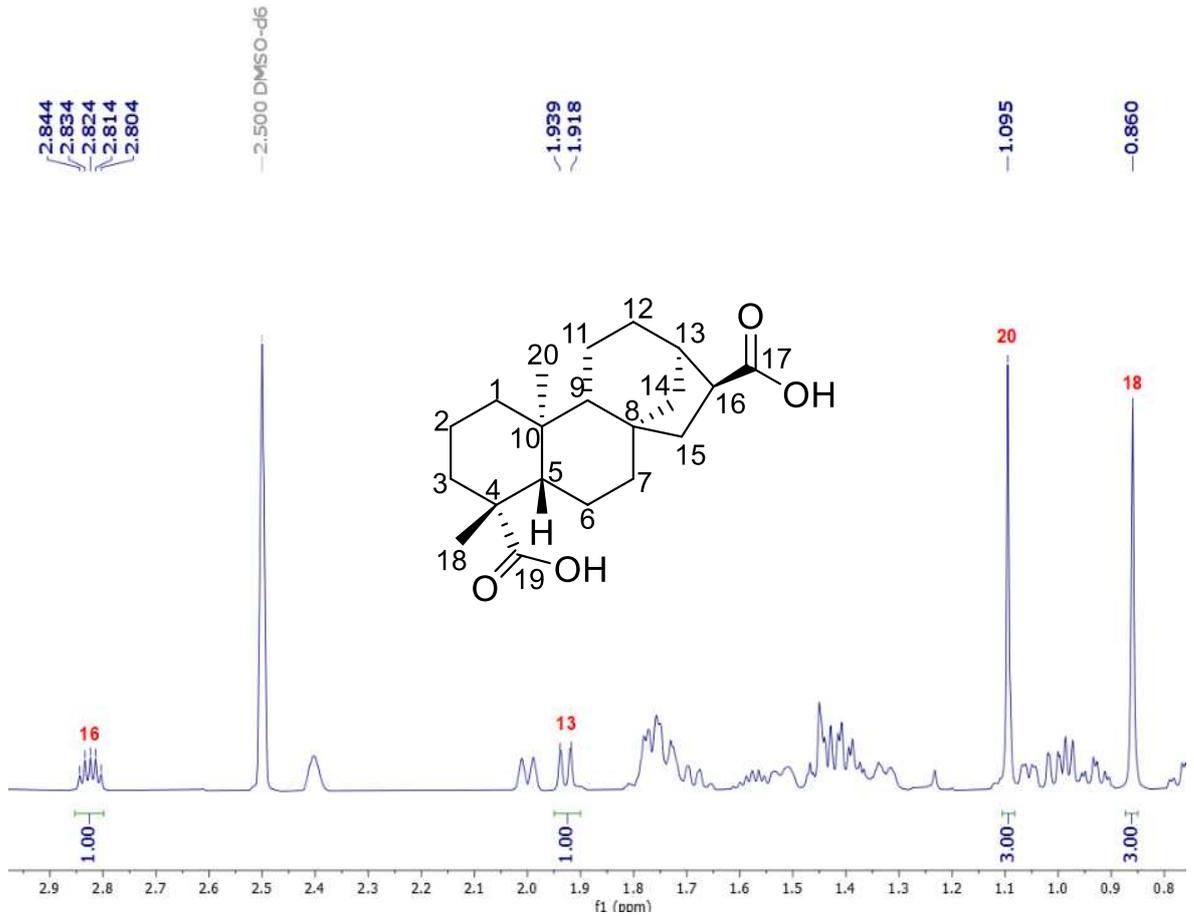
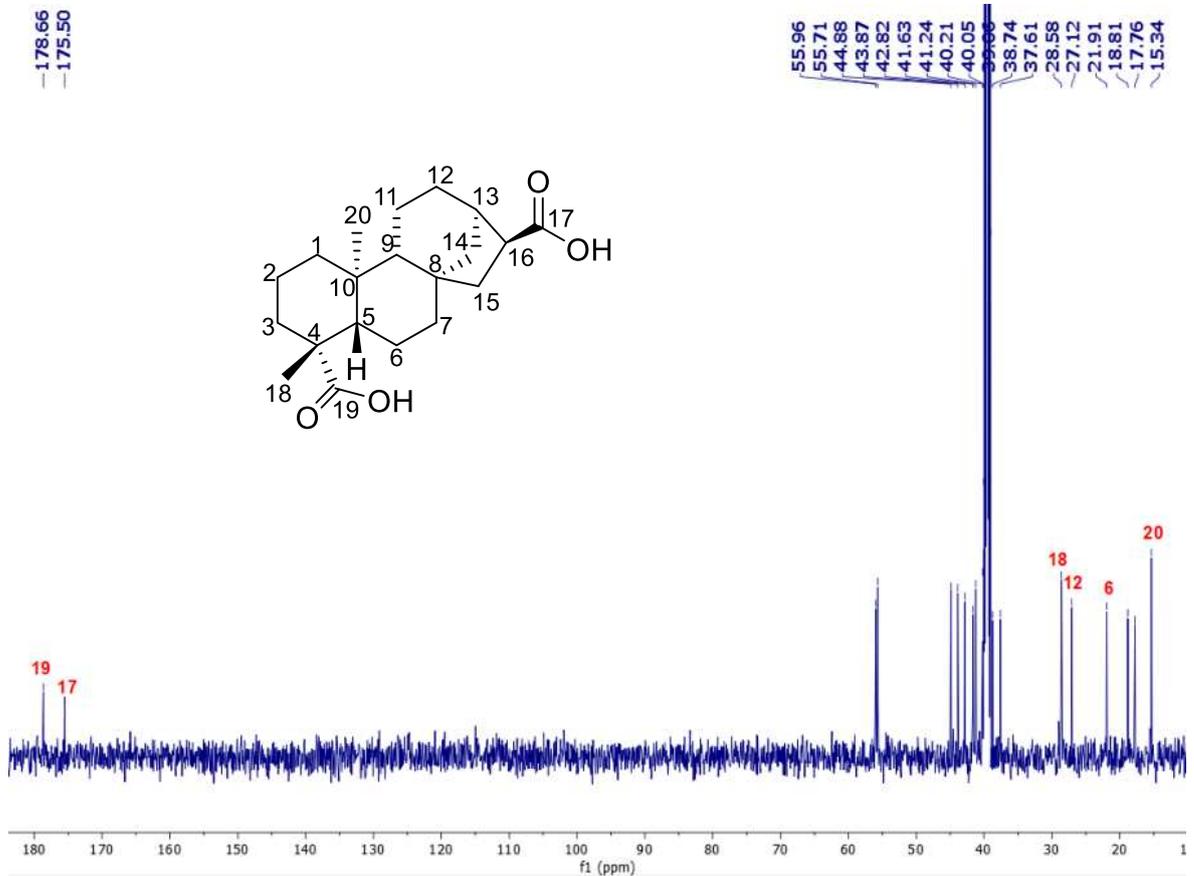


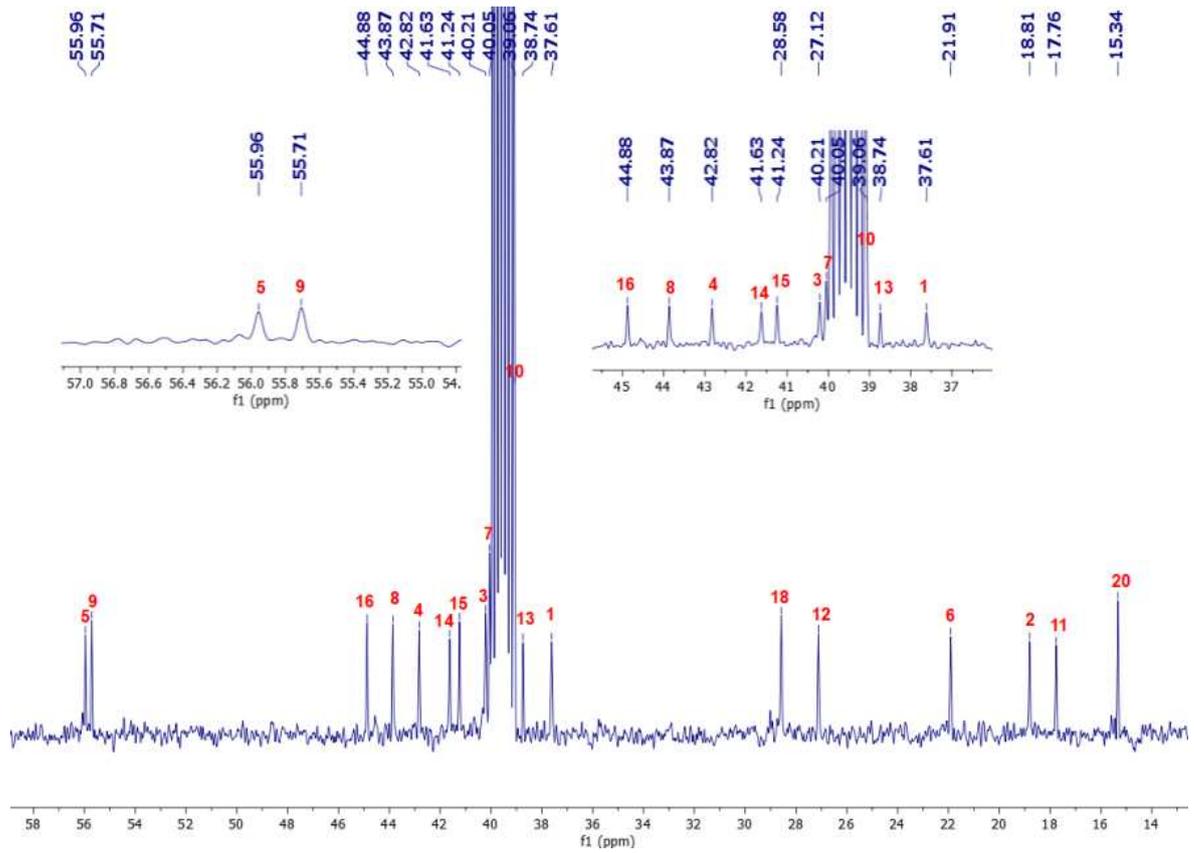
Phụ lục 11: Phổ NOESY ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất 1Phụ lục 12: Phổ COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất 1

Phụ lục 13: Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất 2Phụ lục 14: Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất 2

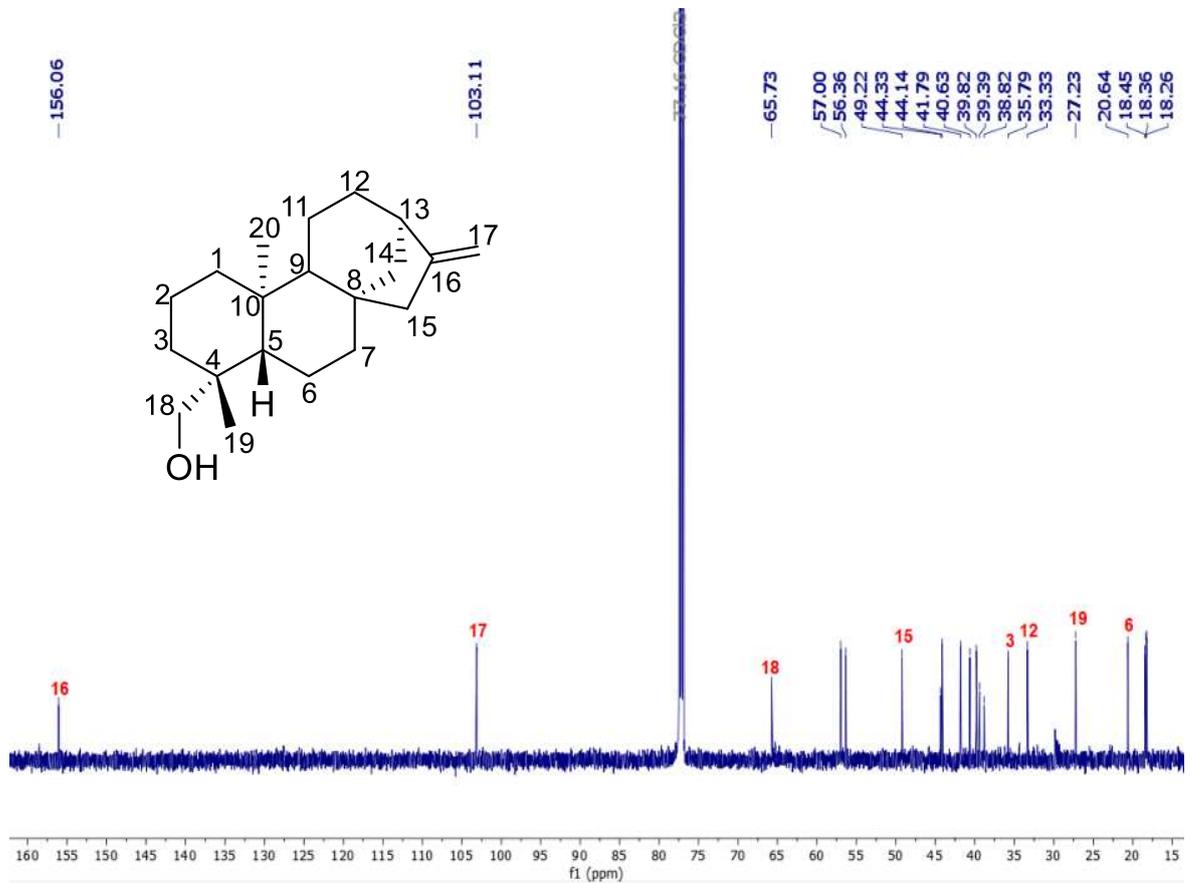
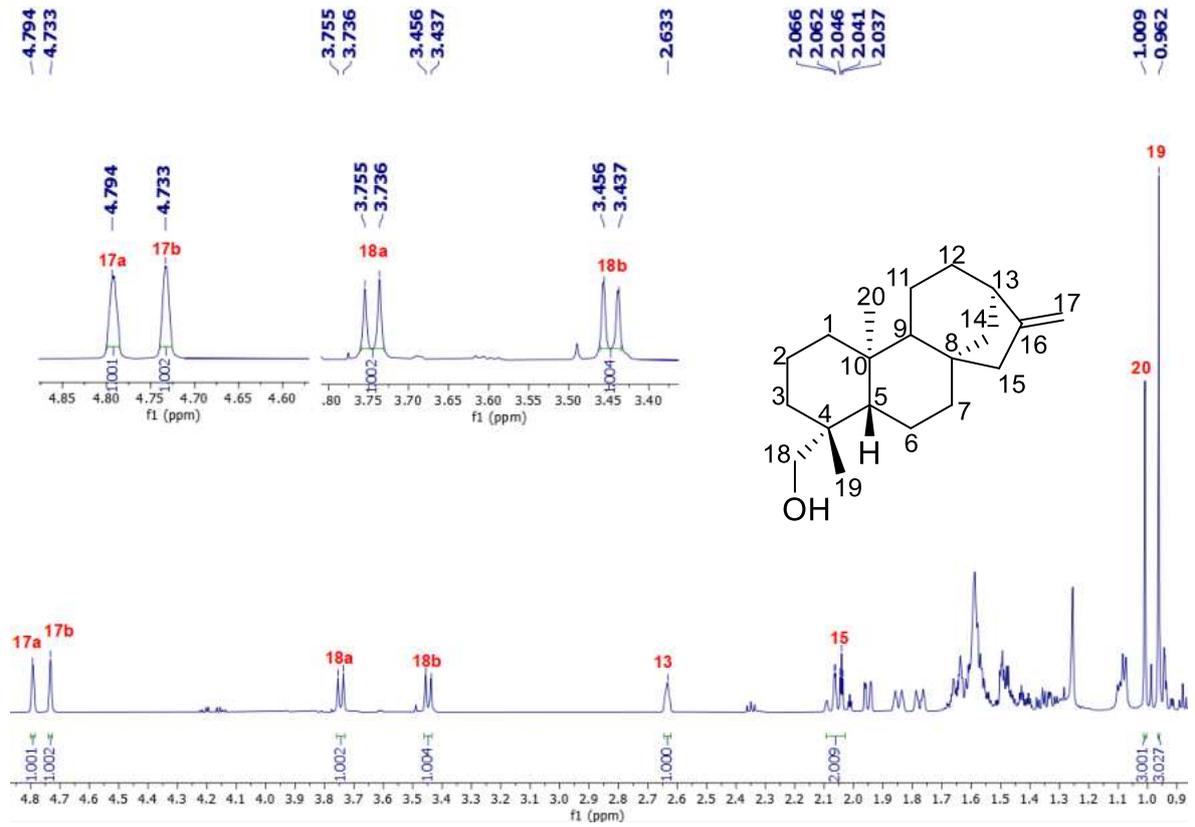


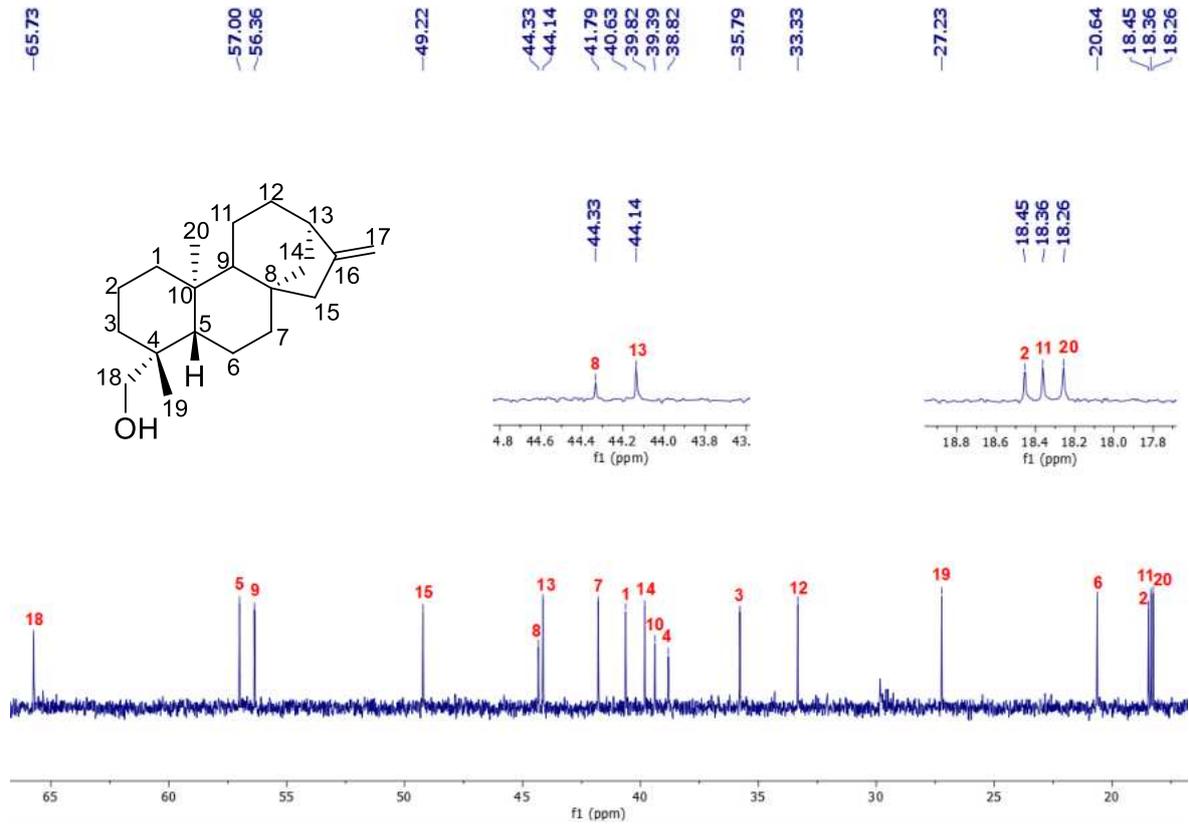
Phụ lục 15: Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất **2** (Mở rộng)

Phụ lục 16: Phổ <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) của hợp chất **3** (Mở rộng)Phụ lục 17: Phổ <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) của hợp chất **3**

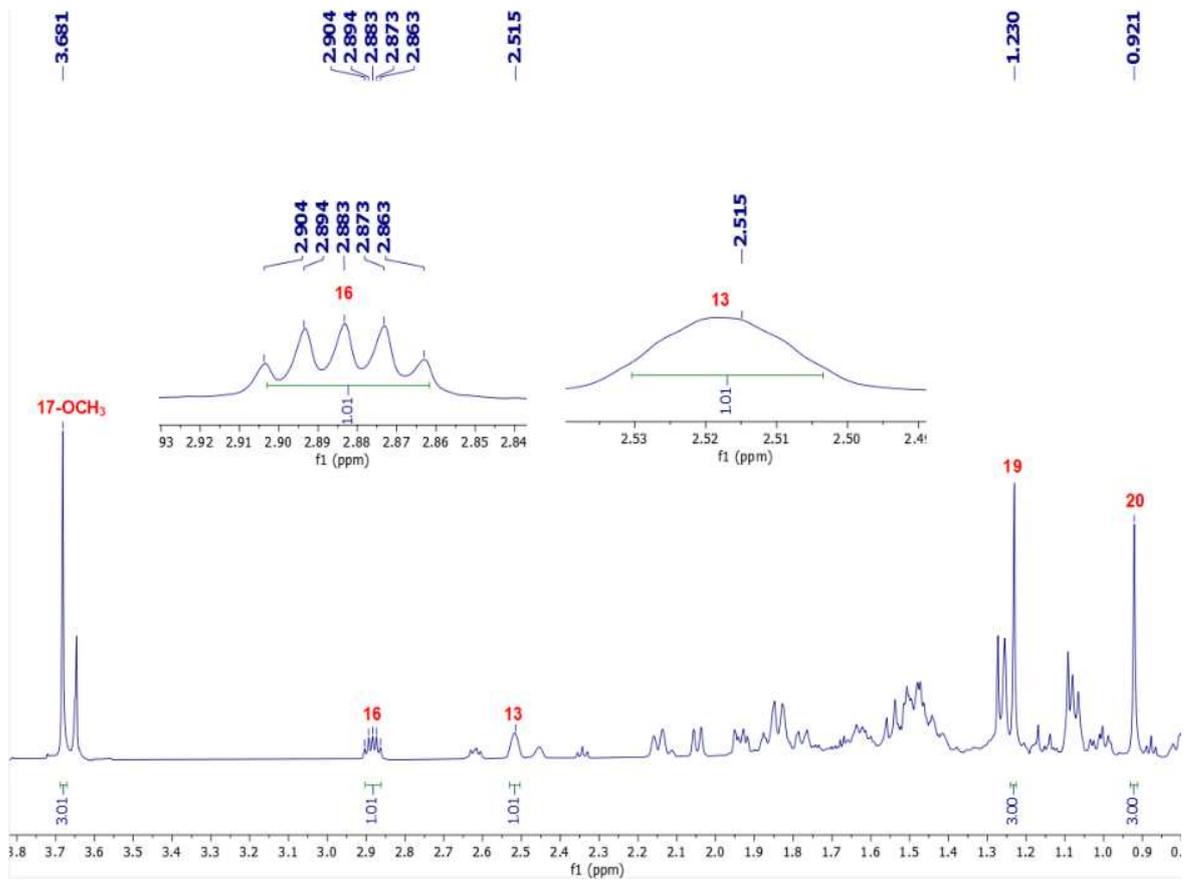
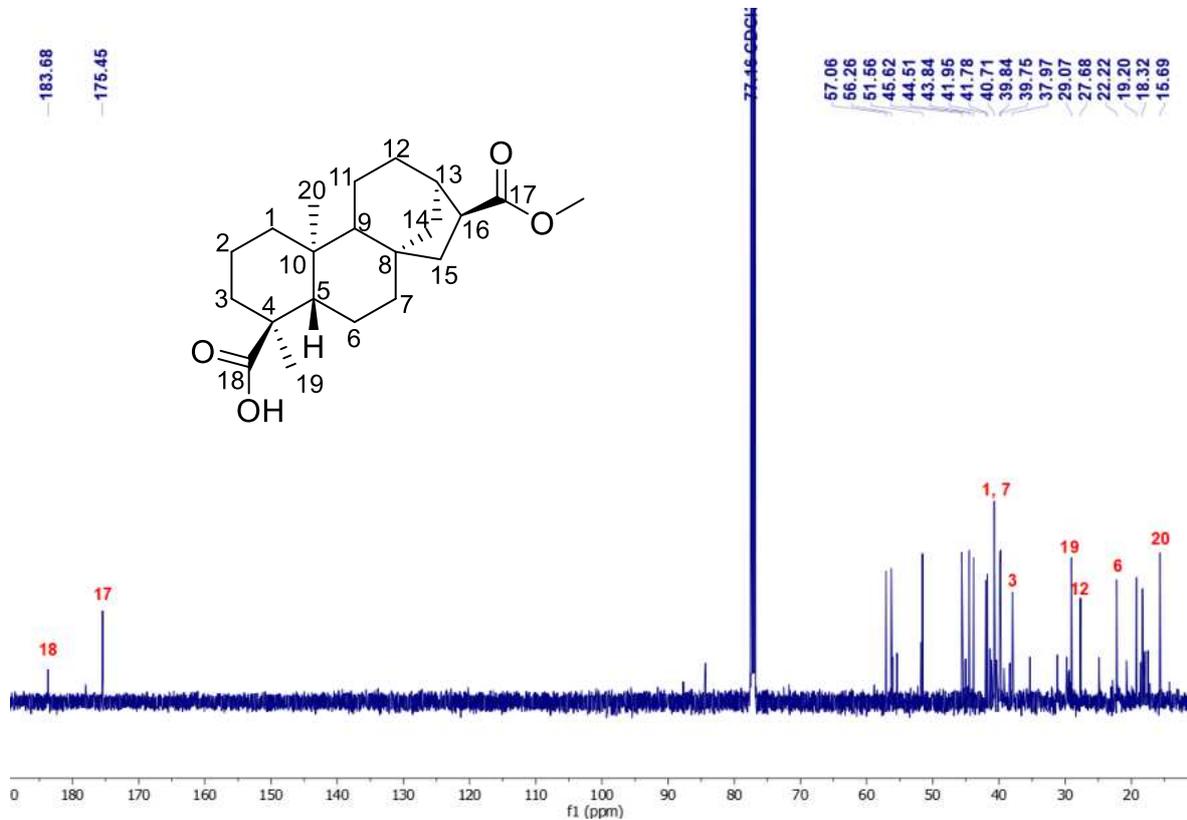


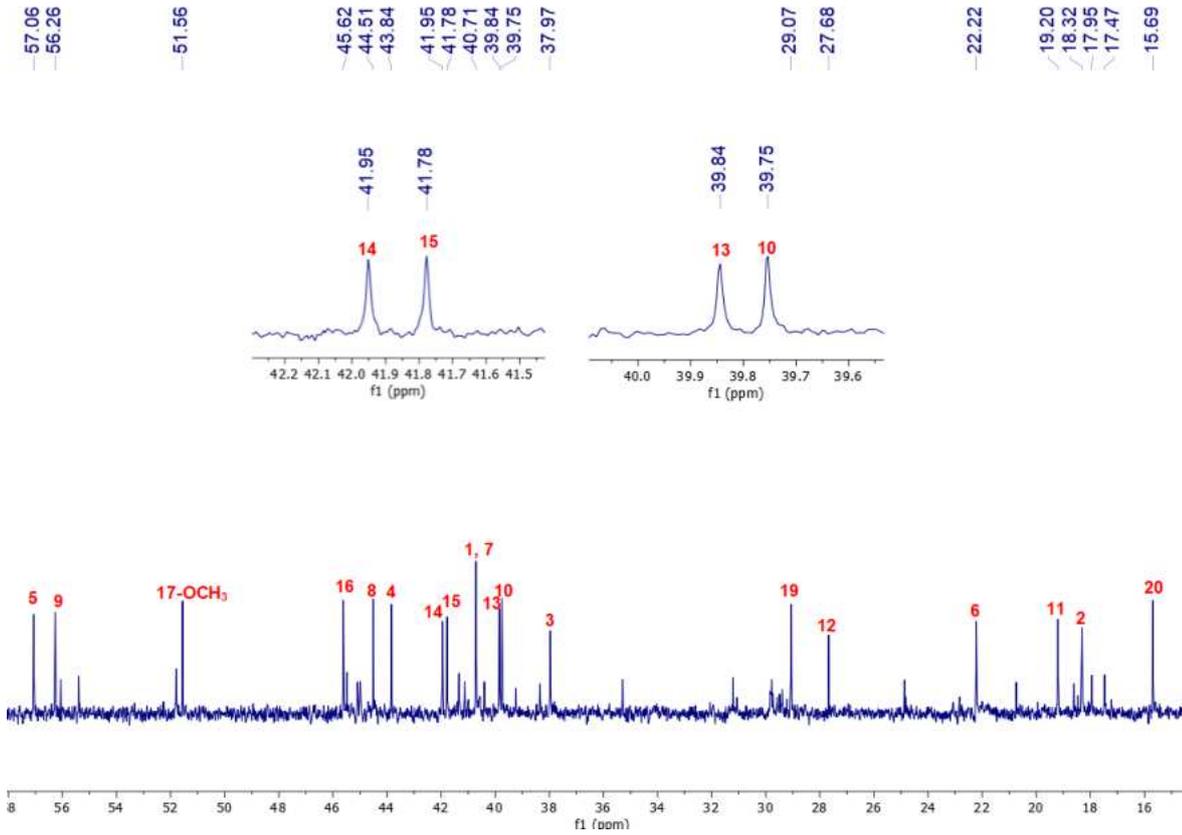
Phụ lục 18: Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ) của hợp chất **3** (Mở rộng)



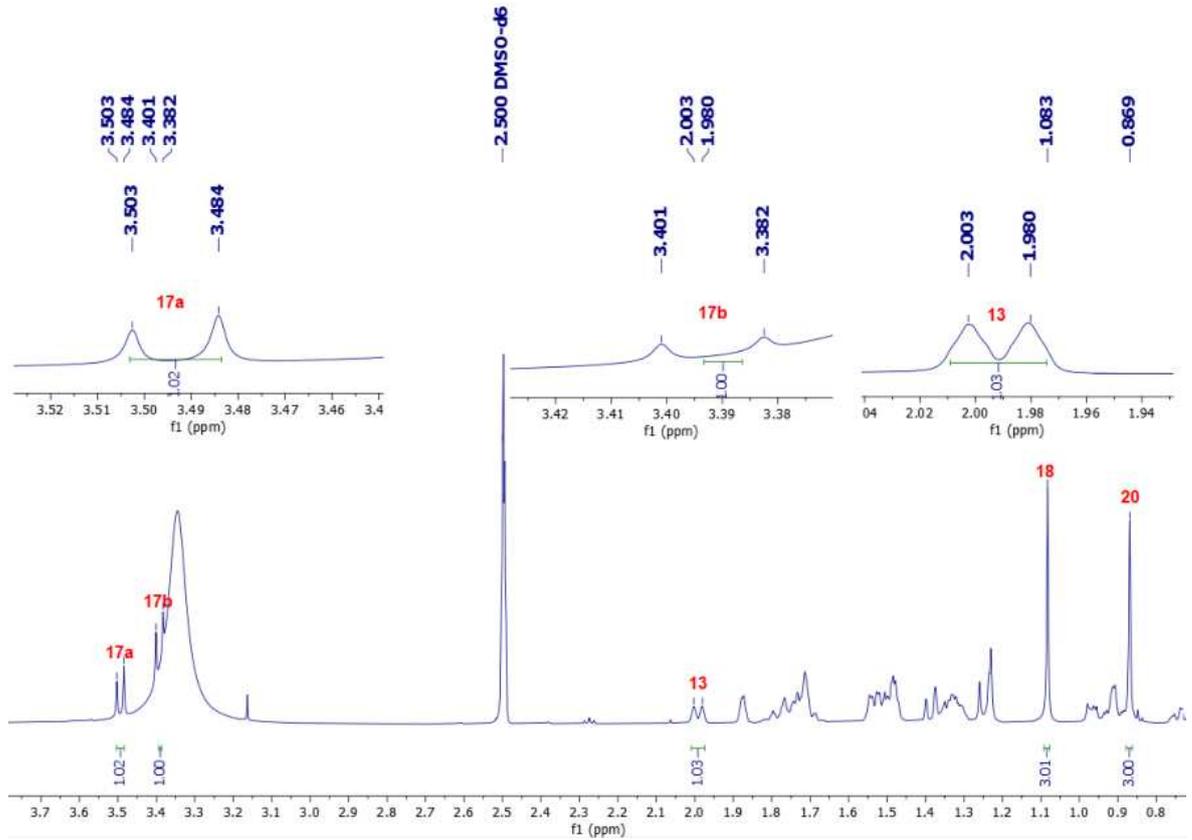
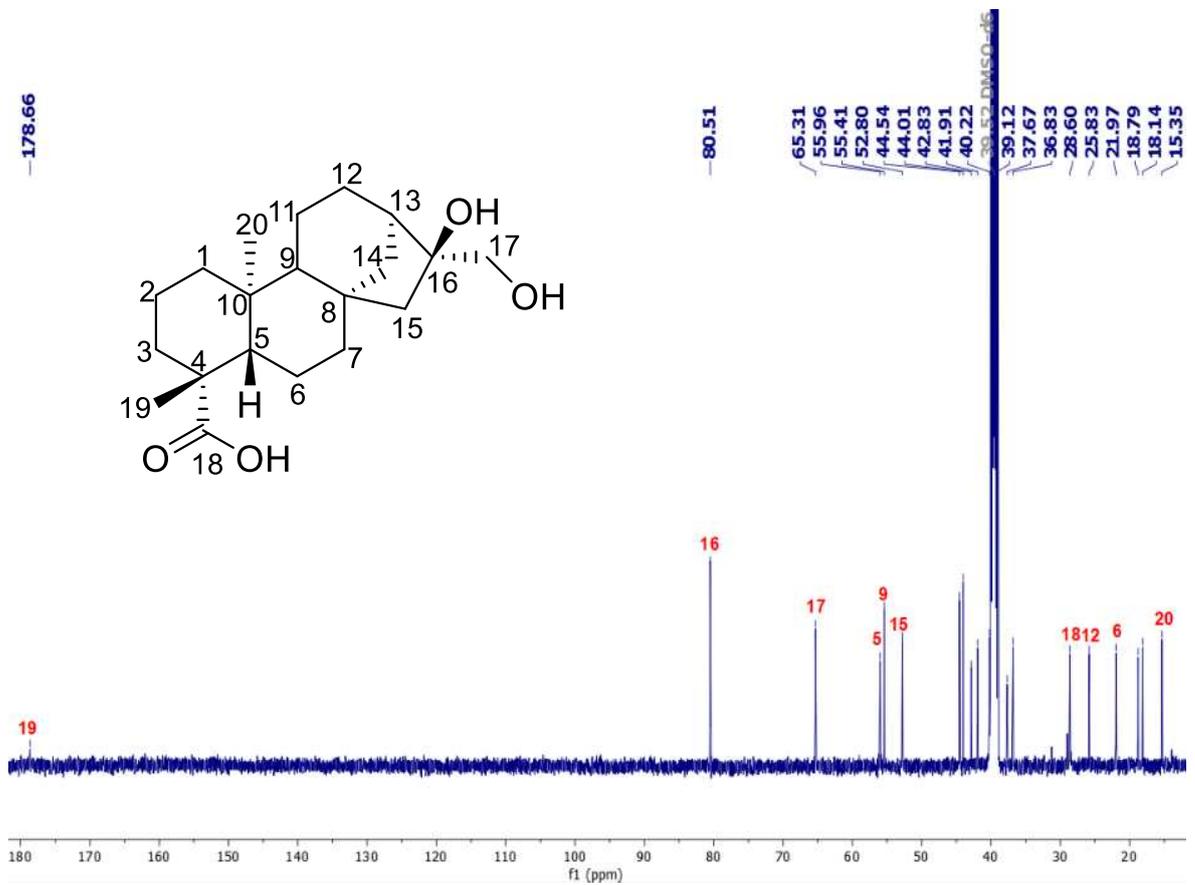


Phụ lục 21: Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất **4** (Mở rộng)

Phụ lục 22: Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất **5**Phụ lục 23: Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất **5**



Phụ lục 24: Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất **5** (Mở rộng)

Phụ lục 25: Phổ <sup>1</sup>H-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 600 MHz) của hợp chất **6**Phụ lục 26: Phổ <sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 600 MHz) của hợp chất **6**



Hà Nội, ngày 08 tháng 4 năm 2025

Số: 203/QĐ-HVKHCN

**QUYẾT ĐỊNH**  
**Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ**

**GIÁM ĐỐC**  
**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/3/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 503/QĐ-HVKHCN ngày 15/5/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học đợt 1 năm 2023;

Căn cứ Quyết định số 1023/QĐ-HVKHCN ngày 04/9/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Đào Ngọc Vân Trang với đề tài: “**Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả bình bát nước *Annona glabra* L.**”

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

**Điều 2.** Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

**Điều 3.** Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /s/

**Nơi nhận:**

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, TN.14.



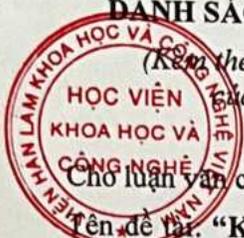
**GIÁM ĐỐC**

GS.TS. Vũ Đình Lâm

# DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 203/QĐ-HVKHCN ngày 08/4/2025

của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Chợ luận văn của học viên: Đào Ngọc Vân Trang

Tên đề tài: “Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả bình bát nước *Annona glabra* L.”.

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn 1: TS. Nguyễn Văn Kiều - Trường Đại học Duy Tân

Người hướng dẫn 2: PGS.TS. Mai Đình Trị - Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS.TS. Lê Tiến Dũng	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thành Danh	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Tôn Thất Quang	Hóa hữu cơ	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia TP. HCM	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Đặng Chí Hiền	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Thị Thu Thảo	Hóa vô cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên. / *DT*



TP.HCM, ngày 07 tháng 5 năm 2025

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 203/QĐ-HVKHCN ngày 08/4/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Đào Ngọc Vân Trang

Tên đề tài: **Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả bình bát nước *Annona glabra* L.**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 07/5/2025 Hội đồng đã họp tại phòng họp tầng trệt Viện Công nghệ tiên tiến vào lúc 9h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	PGS.TS. Lê Tiến Dũng	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thành Danh	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Tôn Thất Quang	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Đặng Chí Hiên	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Thị Thu Thảo	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt:

### NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

Câu hỏi:

1. Trong phiên họp này, hiện tại đang trình bày UV và TS 04.  
Vấn đề 2. Phản biện pháp này có khác biệt không? Lưu ý  
đặt... phân lập của luận văn hiện tại đang UV này  
thứ 2, 4.

2) Tại sao cần tiêu hóa chất 4 tại C<sub>4</sub> - 18 lại cần cần 2 proton?

Học viên trả lời

- 1) Thêm tổng hợp UV thì chất cần xử lý sẽ xuất hiện trên máy máy PLC được tiến UV. Thêm hệ thống H<sub>2</sub>S<sub>4</sub> thì có xử lý nhiệt độ lên nhiệt nước đun idc hợp chất hợp sẽ bị phân hủy. Chất hợp chất phân lập cũng liên quan liên hệ hệ thống duy nhất vanilin cho thì vì các hợp chất không có UV do không có hệ thống II liên hợp.
  - 2) Do proton là gần trực tiếp với C<sub>4</sub> là carbon bất đối nên 2 proton 18 trở thành 2 proton (không thay đổi).
6. Phân biệt 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

Câu hỏi:

- 1) Khi kết hiện 1 hợp chất mới, ngoài sử dụng phương pháp phổ để xác định cần tiến thì cần loại chất thêm 1 chất gì?
- 2) Theo dự đoán, nên các hợp chất phân lập điều không có hoạt tính vì chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase thì không chất nào trong các chất này có khả năng hỗ trợ bệnh trên thực?

Học viên trả lời

- 1) Cần đo hàm độ trong quang tế tại từ và lập thể và tìm bất đối.
- 2) Địa hạ các hợp chất alkaloid có tác dụng giảm đau, huyết, giảm tiếp, bằng cách tăng sử dụng glucose hoặc vì chế hợp thụ.

7. Các thành viên HD và những người tham dự nêu câu hỏi

Câu hỏi:

- 1) Tại sao phân đoạn Hexam có hoạt tính sinh học với enzyme  $\alpha$ -glucosidase?
- 2) Tại sao các tổng chất phân đoạn thực vật thực có hoạt tính sinh học tốt hơn so với các chất tinh sạch?

Học viên trả lời

- 1) Do nguyên tử liên hợp của các chất liên phân cực giá trị mỗi của phân đoạn n-hexane và do khả năng tương tác liên hợp với các hoạt chất của enzyme  $\alpha$ -glucosidase dẫn đến vì chế hoạt động thực phân carbohydrate của nó.
- 2) Do liên hợp liên hợp và tác dụng của các hợp chất phân độ

8. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS.TS. Nguyễn Thanh Danh

Ủy viên: PGS.TS. Đặng Chí Hiến

Ủy viên: TS. Nguyễn Thị Thu Thảo

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 5

Số phiếu thu về: 5

Tổng số điểm: 43,25

Điểm trung bình: 8,65

Điểm thưởng công trình công bố: 0,79

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 9,44

- Kết luận của Hội đồng: Luận văn ..... Đạt ..... (đạt/không đạt yêu cầu)

- Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công bố:

..... Nội dung và tên đề tài không trùng lặp .....  
với các công bố.....

8. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

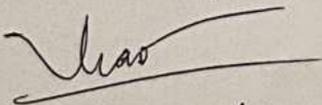
..... Sửa lại luận văn theo góp ý của hội đồng.....  
.....  
.....

Buổi họp đã kết thúc vào 11 giờ 00 phút ngày 07/5/2025

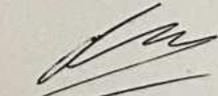
TP. HCM, ngày 07 tháng 5 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



Nguyễn Thị Thu Thảo

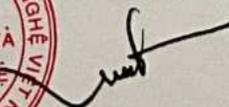


Lê Tiến Dũng

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



KI. GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC

  
Nguyễn Thị Trung

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: PGS. TS Nguyễn Thành Danh.....  
Học hàm, học vị: Phó Giáo sư - Tiến sĩ.....  
Chuyên ngành: Hoá hữu cơ.....  
Cơ quan công tác: Viện công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KH&NVN.....  
Họ và tên học viên: Đào Ngọc Vân Trang.....  
Tên đề tài: Khảo sát thành phần hoá học và hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả bần *bát nước Annona glabra L.*.....  
Chuyên ngành: Hoá hữu cơ.....  
Mã số: 8440114.....

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Ở nước ta, cây bần *bát nước* thường mọc hoang dại, ít có giá trị kinh tế. Tuy nhiên, trong dân gian cây bần *bát nước* được sử dụng như một chất liệu thiên nhiên để điều chế thuốc. Đã biết quả bần *bát nước* có một số hoạt chất quan trọng. Do đó, để tận dụng tính thời sự, tính ứng dụng cao có ý nghĩa về mặt thực tiễn

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài không có sự trùng lặp với các công trình khoa học trong và ngoài nước. Đã trích dẫn đầy đủ tài liệu tham khảo trong và ngoài nước.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như chuyên ngành hoá hữu cơ và mã số đào tạo

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Luận văn sử dụng phương pháp nghiên cứu hiện đại, đầu biết là các phương pháp phân tích như IR, MS, 1D, 2D-NMR. Khả năng hoạt tính của cao chiết và cấu trúc phân lập. Do đó, độ tin cậy cao của luận án

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Luận văn chiết Soxhlet của bột quả bình bát nước bằng các dung môi khác nhau. Các hexane được sử dụng để phân lập sử dụng phương pháp sắc ký thủy ngân phân thủy, pha đảo, kết quả đã phân lập được 6 hợp chất diterpenoid.

Cấu trúc của các hợp chất đã được đánh giá bởi phương pháp phổ IR, MS, 1D, 2D-NMR. Trong đó phát hiện 1 chất mới - Annonolabrin B và 1 hợp chất lần đầu tiên tìm thấy trên cây bình bát nước.

Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết và các cấu trúc được phân lập. Cao chiết thể hiện hoạt tính tốt. Tuy nhiên, các diterpenoid có hoạt tính yếu hơn.

6. Đóng góp mới của luận văn:

Lần đầu tiên, nhóm nghiên cứu thực hiện phân lập trên cây thịt của quả bình bát và đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase định lượng để chế tạo bình bát nước.  
- phân lập được 1 hợp chất mới và phát hiện 1 hợp chất mới trên cây bình bát

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- chỉnh sửa lỗi chính tả, format
- phân mở đầu nên viết ngắn gọn súc tích hơn
- câu cuối các hộp chất tẩy hết 1.3 - 1.7 nên được chia ra thành nhiều hình khác nhau
- bị sưng quá hình bất thụ hình dạng chi ở hay chưa?

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

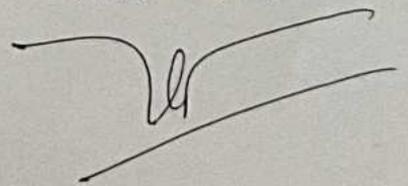
Nội dung đã được công bố trên tạp chí thuộc danh mục SCIE Natural Product Research

9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Nội dung luận văn đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với luận văn Thạc sĩ. Học viên có thể bảo vệ trước hội đồng để cấp bằng Thạc sĩ.

T.P.HCM, ngày ..... tháng ..... năm 2025

Người phản biện  
(Ký, ghi rõ họ tên)



Nguyễn Thanh Danh

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

- oOo -

**BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SỸ**

Họ và tên người phản biện: Tôn Thất Quang

Học hàm – Học vị: Phó Giáo sư – Tiến sĩ

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Cơ quan công tác: Khoa Hóa – ĐH KHTN – ĐHQG-HCM

Họ và tên học viên: Đào Ngọc Vân Trang

Tên đề tài:

**“Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả Bình bát nước *Annona glabra* L.”**

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

**Nội dung nhận xét:**

**1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn.**

Xã hội ngày nay với nhiều biến động về môi trường sống như ô nhiễm môi trường (nguồn nước, không khí), thực phẩm, các mật hàng tiêu dùng,... có chứa nhiều các loại hóa chất độc hại, là nguyên nhân gây nên rất nhiều chứng bệnh nguy hiểm như ung thư, tim mạch, viêm gan, tiểu đường, huyết áp, Alzheimer, Parkinson,...

Việt Nam với hệ thực vật rất phong phú, đa dạng, là nguồn cung cấp các cây thuốc từ ngàn xưa và cho đến ngày nay cây thuốc vẫn đang và sẽ còn đóng một vai trò quan trọng trong đời sống con người. Việc nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học nhằm chứng minh, phát hiện thêm những hoạt tính mới, làm cơ sở khoa học cho việc ứng dụng, bảo tồn và khai thác đang rất được quan tâm nhưng vẫn còn nhiều những khó khăn, hạn chế nhất định.

Bình bát nước (*Annona glabra* L.), họ Na (Annonaceae) là một cây thuốc dân gian, được dùng để chữa nhiều loại bệnh như: viêm ngứa, nhiễm trùng, các bệnh về phổi, nhuận tràng, lợi tiểu, thanh nhiệt, giải độc, an thần, ổn định glucose máu, ...

Mặc dù có nhiều công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và dược tính nhưng với tiềm năng ứng dụng, vẫn rất cần thiết có thêm những nghiên cứu chuyên sâu về thịt quả, là nguyên liệu có khả năng ứng dụng cao nhất của cây Bình bát nước.

Qua các thông tin tìm hiểu, có thể khẳng định đề tài luận văn **“Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả Bình bát nước *Annona glabra* L.”**

đã thể hiện đầy đủ tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

**2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.**

- Nghiên cứu của tác giả không trùng lặp với các công trình, luận văn đã công bố trong và ngoài nước.
- Các tài liệu tham khảo trong luận văn được trích dẫn đầy đủ, rõ ràng và trung thực.

**3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.**

- Đề tài luận văn phù hợp với nội dung, chuyên ngành, mã số của chuyên ngành Hoá Hữu cơ.

**4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để hoàn thành luận văn.**

Các phương pháp thường qui trong lãnh vực hóa học các hợp chất tự nhiên (tự thu hái, định danh, ly trích, phân lập,...) cùng với các phương pháp hóa lý hiện đại trong việc xác định cấu trúc (NMR 1D-2D, HR-ESI-MS,...) đã được ứng dụng. Bên cạnh đó, hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được áp dụng trên mô hình chuẩn, phương pháp cập nhật. Do đó các kết quả đạt được của luận án có độ tin cậy cao..

**5. Kết quả nghiên cứu của luận văn.**

Từ cao *n*-hexane đã phân lập và xác định cấu trúc 06 hợp chất, đều là các dẫn xuất diterpenoid:

- Annoglabra B (1)
- 16 $\alpha$ -H-*ent*-Kaurane-17-oic acid (2)
- 16 $\alpha$ -H-*ent*-Kaurane-17,19-dioic acid (3)
- *ent*-Kaurane-16-en-19-ol (4)
- 16 $\alpha$ -H-*ent*-Kaurane-17,18-dioic acid (5)
- 16 $\beta$ ,17-Dihydroxykaurane-18-oic acid (6)

Tiến hành thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên 04 cao chiết và 06 hợp chất phân lập. Kết quả cho thấy cao BBH và BBa có hoạt tính mạnh hơn chất chứng dương acarbose; trong khi đó 06 hợp chất thể hiện hoạt tính yếu, không đáng kể.

## 6. Đóng góp mới của luận văn.

- Về lãnh vực hóa học các hợp chất tự nhiên: Đã phân lập và xác định cấu trúc 01 hợp chất mới lần đầu tiên trên thế giới annoglabra B (1); 01 hợp chất mới lần đầu tiên trong loài 16 $\alpha$ -H-ent-kaurane-17-oic acid (2).
- Kết quả thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên 04 cao chiết và 06 hợp chất phân lập. Qua đó bước đầu chứng minh tiềm năng trị bệnh Đái tháo đường của thịt quả trái Bình bát nước và cho thấy nhóm 06 hợp chất ent-kaurane diterpenoid không phải là nhóm thể hiện/gây ra hoạt tính.

## 7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức.

*Còn có một số lỗi cần làm rõ, chỉnh sửa lại như sau:*

- Tên đề tài: “**Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của thịt quả Bình bát nước *Annona glabra* L.**”
- Xem lại “Danh mục các ký hiệu, chữ viết tắt” => lược bỏ bớt, bỏ sung.
- Hình vẽ một số cấu trúc (trang 14-18).
- Xem và trình bày lại ý nghĩa câu văn: “Thịt quả Bình bát nước thu hái ...” (trang 22, 23, ...).
- Hình 2.1 (trang 25) cho sang riêng một trang.
- Kết quả HR-MS (trang 29): cần bỏ sung sai số, giá trị thực nghiệm, lý thuyết.
- Xem lại lập thể của chất mới (1): phổ NOESY.
- Thống nhất tên chất mới (1) cho phù hợp với bài báo.
- Sắp xếp lại các phổ trong phần Phụ lục.
- Một số lỗi trình bày.

**8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế không ?**

- Một phần nội dung của luận văn (hợp chất mới, 1) có trong bài báo đã được đăng trên tạp chí khoa học chuyên ngành uy tín Natural Product Research [SCIE, Q2, IF = 2.29 (2023/2024)] .

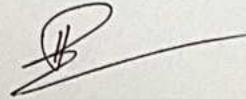
Thi-Kim-Yen Duong, Van-Kieu Nguyen, **Ngoc-Van-Trang Dao**, Xuan-Hang Bui, Vo Thi Minh Thao, Minh-Khanh Nguyen, Phan-Si-Nguyen Dong, Hoang-Vinh-Truong Phan, Thanh-Nha Tran, Hoang-Ngoc-Thanh Ngo, Dinh-Tri Mai & Le-Thuy-Thuy-Trang Hoang. Annoglabrin A-C, three new ent-kaurane diterpenoids from the *Annona glabra* fruit pulp. Natural Product Research, <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2414397>. (2024)

**9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sỹ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sỹ được hay không ?)**

- Luận văn đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận văn Thạc sỹ
- Luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sỹ.

TP. HCM, ngày 04 tháng 05 năm 2025

**Người phản biện**



Tôn Thất Quang

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN  
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Đào Ngọc Vân Trang

Lớp: Hóa hữu cơ 2023

Tên đề tài luận văn: Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase trên một số hợp chất phân lập của thịt quả Bình bát nước *Annona glabra* L.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

Người hướng dẫn khoa học: 1/ TS. Nguyễn Văn Kiều  
2/ PGS. TS. Mai Đình Trị

Ngày bảo vệ luận văn: ngày 07 tháng 05 năm 2025

Căn cứ biên Bản họp Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Lỗi đánh máy, lỗi chính tả, lỗi cấu trúc câu, format hình ảnh	Đã chỉnh sửa theo góp ý của hội đồng.
2	Các giá trị $J$ trong bảng biểu nên được ghi theo thứ tự từ cao đến thấp.	Đã chỉnh sửa theo góp ý của hội đồng.
3	Trình bày lại "Lý do thực hiện đề tài" nên được nêu rõ hơn trong phần lý do chọn đề tài.	Đã chỉnh sửa lại phần lý do chọn đề tài (trang 1).
4	Trình bày lại "Mở đầu" viết ngắn gọn xúc tích hơn.	Đã chỉnh sửa lại phần mở đầu (trang 1-5).
5	Cấu trúc các hợp chất trong hình trang 13-17 nên được chia thành nhiều hình khác nhau.	Đã chỉnh sửa theo góp ý của hội đồng. (trang 13-17).
6	Bổ sung trạng thái thu hái của quả Bình bát ở trang 22	Đã bổ sung về trạng thái thu hái của đối tượng nghiên cứu (trang 22).
7	Chỉnh sửa thống nhất một số	Đã chỉnh sửa theo góp ý của hội



	danh mục viết tắt.	đồng.
8	Kết quả phổ HR-MS cần bổ sung sai số, giá trị thực nghiệm và giá trị lý thuyết.	Đã bổ sung theo góp ý của hội đồng. (trang 29).
9	Thống nhất tên chất mới (1) phù hợp với bài báo.	Đã chỉnh sửa theo góp ý của hội đồng.

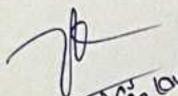
Lưu ý: Trong trường hợp Hội đồng yêu cầu xin ý kiến của 02 phản biện sau bảo vệ, học viên cần xin chữ ký của 02 phản biện xác nhận.

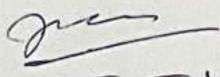
Hà Nội, ngày 14 tháng 05 năm 2025

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

  
Lê Tiến Dũng

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN HỌC VIÊN

  
Nguyễn Văn Khoa

  
Mai Đình Trí

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ  
KT.GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC



  
Nguyễn Thị Trung



Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phân chữ ký tách rời với nội dung.