

VŨ HẢI NAM	BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ  VŨ HẢI NAM
HÒA HỮU CỎ	NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA LOÀI RAU DỪA NƯỚC (<i>LUDWIGIA ADSCENDENS</i>)
2025	LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT <i>Hà Nội - 2025</i>

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



VŨ HẢI NAM

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ THỬ HOẠT TÍNH
KHÁNG VIÊM CỦA LOÀI RAU DỪA NƯỚC
(*LUDWIGIA ADSCENDENS*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

Two handwritten signatures in blue ink. The first signature is on the left, and the second is on the right.

TS. Vũ Thị Thu Lê

TS. Đỗ Tiến Lâm

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

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



Vũ Hải Nam

LỜI CẢM ƠN:

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Tiến sĩ Vũ Thị Thu Lê, giảng viên Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Thái Nguyên và Tiến sĩ Đỗ Tiến Lâm, công tác tại Viện Hóa học các Hợp chất Hữu cơ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, những người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và đồng hành cùng tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài luận văn thạc sĩ: “Nghiên cứu thành phần hóa học và thử hoạt tính kháng viêm của loài rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*)”.

Tôi xin trân trọng gửi lời cảm ơn chân thành, sâu sắc nhất đến Ban giám đốc, Phòng Đào tạo Học viện Khoa học và Công nghệ; Viện Hóa học các Hợp chất Hữu cơ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất, trang thiết bị nghiên cứu cũng như môi trường làm việc chuyên nghiệp để tôi hoàn thành các thí nghiệm và nội dung nghiên cứu của đề tài.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến Khoa Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, nơi đã cung cấp nền tảng kiến thức chuyên ngành Hóa học hữu cơ vững chắc cũng như tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi có thể học tập và phát triển trong suốt thời gian học cao học.

Bên cạnh đó, tôi xin chân thành cảm ơn các anh/chị và các bạn đồng nghiệp tại phòng thí nghiệm đã nhiệt tình hỗ trợ, chia sẻ kinh nghiệm và giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện các nội dung thực nghiệm.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình và những người thân yêu – những người luôn ở bên động viên, khích lệ và tiếp thêm sức mạnh tinh thần cho tôi trong suốt chặng đường học tập và nghiên cứu vừa qua.

Dù đã nỗ lực hết mình trong quá trình thực hiện luận văn, nhưng do giới hạn về thời gian và năng lực, đề tài chắc chắn không tránh khỏi những thiếu sót. Tôi rất mong nhận được sự góp ý chân thành của quý thầy cô và các nhà khoa học để luận văn được hoàn thiện hơn.



Vũ Hải Nam

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	4
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	6
1.1 Đặc điểm thực vật và công dụng các thực vật chi <i>Ludwigia</i>.....	6
1.1.1. Đặc điểm thực vật.....	6
1.1.2. Công dụng	6
1.2. Nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thực vật chi <i>Ludwigia</i> trên thế giới.....	7
1.3. Nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thực vật chi <i>Ludwigia</i> ở trong nước.....	22
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	23
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	23
2.2. Phương pháp nghiên cứu [28,29]	23
2.2.1. Phương pháp phân lập hợp chất	23
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hợp chất.....	23
2.2.3. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính kháng viêm	24
CHƯƠNG 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ.....	25
3.1. Xử lý mẫu và phân lập các hợp chất từ Rau dừa nước	25
3.1.1. Xử lý mẫu.....	25
3.1.2. Phân lập các hợp chất từ Rau dừa nước.....	25
3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được.....	27
3.2.1. Các hợp chất triterpenoid	27
3.2.2. Hợp chất flavonoid: (-)-epicatechine (2)	36
3.2.3. Các hợp chất phenolic đơn giản.....	38
3.3. Hoạt tính kháng viêm <i>in vitro</i> của các cao chiết và hợp chất sạch	42
KẾT LUẬN	44
KIẾN NGHỊ.....	45
TÀI LIỆU THAM KHẢO	46

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Rau dừa nước (*Ludwigia* L.), họ Rau dừa (Onagraceae) trên thế giới hiện nay có khoảng 75 loài phổ biến ở các nước có khí hậu nhiệt và cận nhiệt đới. Ở nước ta ghi nhận có 6 loài (*Ludwigia adscendens*, *Ludwigia octovalvis*, *Ludwigia hyssopifolia*, *Ludwigia epilobioides*, *Ludwigia perennis* và *Ludwigia prostrata*), mọc hoang dại rộng khắp trong cả nước ở những nơi ẩm thấp như bờ sông suối, đầm lầy, ruộng ruộng và được ứng dụng rộng rãi trong dân gian để làm thuốc chữa bệnh và thức ăn cho người và vật nuôi. Đặc biệt, loài Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) chữa ghẻ lở, sốt, viêm bàng quang, viêm mủ da, áp xe vú, viêm tuyến mang tai, viêm da, ho, sỏi [1-4].

Theo các nghiên cứu, chi Rau dừa nước có thành phần hóa học chính thuộc nhiều nhóm chất khác nhau như flavonoid, dẫn xuất phenolic triterpenoid,...cụ thể như flavonevitexin, isovitexin, orientin, isoorientin, ellagic acid, oleanolic acid, betulinic acid, piperine,... có tác dụng kháng viêm, chống ung thư, kháng khuẩn, giảm đau,... [5-6]. Điều đó gợi ý đến tác dụng kháng viêm tốt của một số thực vật chi Rau dừa nước (*Ludwigia* L.) nói chung và loài Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*). Hơn nữa, các nghiên cứu về loài Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) ở Việt Nam chưa có nghiên cứu hệ thống về thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm. Chính vì vậy, đề tài “**Nghiên cứu thành phần hóa học và thử hoạt tính kháng viêm của loài Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*)**” nhằm mục đích tìm ra các hoạt chất từ dược liệu địa phương góp phần hiểu rõ hơn việc sử dụng trong y học dân tộc, đồng thời định hướng khai thác, sử dụng hợp lý các cây dược liệu quý này.

Mục đích nghiên cứu

- Phân lập và xác định cấu trúc 3-4 hợp chất sạch từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) ở Việt Nam.
- Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết thô và hợp chất tinh sạch từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*).

Nội dung nghiên cứu

- Thu mẫu Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*).
- Xử lý mẫu, chiết xuất, phân lập (sắc ký bản mỏng và sắc ký cột) và xác định cấu trúc hóa học (phổ MS, NMR) của các chất phân lập được.
- Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và chất sạch phân lập được từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*).

Những đóng góp mới của luận văn

Lần đầu tiên từ cao ethyl acetate phân trên mặt đất của Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất, gồm 3 triterpenoid: corosolic acid (1), uvaol (3) và ursolic aldehyde (4), 1 flavonoid: (-)-epicatechine (2) và 2 phenolic đơn giản: gallic acid (5) và ferulic acid (6).

Lần đầu tiên, các cao chiết và chất sạch từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) được đánh giá hoạt tính kháng viêm qua ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 *in vitro*. Trong đó, cao ethyl acetate (LAE) và hợp chất ferulic acid (6) thể hiện hoạt tính kháng viêm qua ức chế sự sản sinh NO với giá trị IC₅₀ lần lượt 32,09 μ g/ml và 20,66 μ M.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1 Đặc điểm thực vật và công dụng các thực vật chi *Ludwigia*

1.1.1. Đặc điểm thực vật

Chi rau dừa nước (*Ludwigia*) thuộc dạng cây thảo, thường mọc bò, cây có khả năng nổi trên mặt nước nhờ có các phao xốp có dạng hình trứng, phao này có màu trắng và thường mọc thành từng búi. Thân cây mọc ngang dưới lòng đất, có dạng hình trụ, thể chất mềm yếu, các mấu có bén rễ. Thân cây mọc ngang dưới lòng đất, chỉ có lá và cuống hoa mọc lên trên [1,2]. Hoa đực màu đỏ hoặc vàng, hoa cái nở thành chùm, quả hình tròn 25–30 cm. Hạt khô già sẽ rơi rụng và phân tán theo dòng nước, có khi mọc mầm ngay khi trôi nổi [3,4,5].

1.1.2. Công dụng

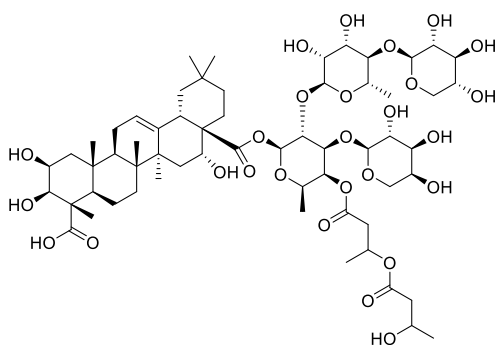
Các loài chi *Ludwigia* chủ yếu được sử dụng điều trị các bệnh rối loạn tiêu hóa, viêm bàng quan, viêm cầu thận, lợi tiểu trong y học cổ truyền; trong y học hiện đại là nguồn hoạt chất sinh học đáng lưu ý như kháng ung thư, bảo vệ gan, kháng vi sinh vật, kháng viêm và điều trị tiểu đường [4,5]. Đặc biệt là loài rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) được sử dụng phổ biến nhất trong các bài thuốc dân gian Việt Nam, Trung Quốc và Ấn Độ để điều trị bệnh như:

- *Viêm cầu thận*: rau dừa nước và lá mã đề, sắc với nước uống. Chia thành 3-4 lần uống trong ngày. Tiến hành điều trị liên tục trong 1 tuần để đạt hiệu quả.
- *Viêm bàng quang, tiểu ra máu, tiểu ra đờm*: rau dừa nước khô, sắc uống hàng ngày trong 2-3 tháng, có thể dùng thêm với cây huyết dụ, sắc uống mỗi ngày.
- *Rối loạn tiêu hóa*: rau dừa nước tươi hoặc khô sắc nước uống.
- *Lợi tiểu*: Rau dừa nước có thể được nấu với cua, cá để làm canh, hoặc ăn sống, có tác dụng mát và tốt với sức khỏe.
- *Điều trị đau dạ dày và nôn mửa*: rau dừa nước khô và thêm các dược liệu khác như hoàng kỳ, hạt sen, đinh lăng, bạch truật, chỉ xác, cam thảo và lệ chế. Đun sắc uống đến khi khỏi bệnh.
- *Viêm đại tràng, phân sống, đại tiện nhiều*: rau dừa nước khô kết hợp với sơn thù, hoài sơn, ngũ gia bì, cao lương khương, liên nhục, sắc uống trong ngày.
- *Điều trị đái đục như nước vo gạo ở trẻ nhỏ*: rau dừa nước khô và rễ cỏ tranh khô, sắc nước uống.
- *Tiền mãn kinh*: rau dừa nước khô kết hợp với hậu phác, ích mẫu, táo tàu, quy, thực, bán hạ, cam thảo, ngư tử, mẫu lệ, hắc táo nhân. Sắc uống mỗi ngày.

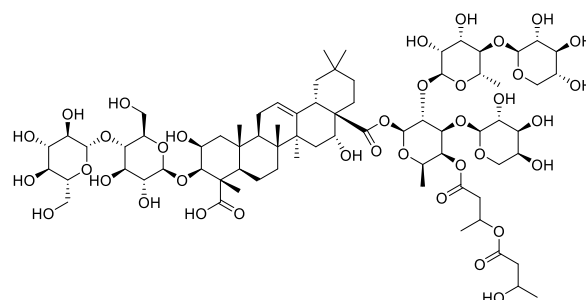
- *Nóng bụng, táo bón*: rau dừa nước tươi, giã nát và vắt lấy nước, pha với mật mía để uống.
- *Viêm tiết niệu gây ngứa, tiểu buốt*: rau dừa nước tươi kết hợp với mã đề, kim ngân, rau dấp cá, đinh lăng. Sắc uống 1 thang mỗi ngày và duy trì liên tục từ 5-7 ngày.
- *Phụ nữ bị khí hư bạch đới*: rau dừa nước kết hợp với lệ chề, thổ phục linh, chó đẻ, trạch lan, bạc sau, nam hoàng bá, sắc uống mỗi ngày.
- *U xơ tuyến tiền liệt*: rau dừa nước khô kết hợp với huyền sâm, hoàng kỳ, hoàng cung trinh nữ, thương nhĩ, đinh lăng, trần bì, cỏ xước và sắc uống mỗi ngày.
- *Vú có u cục, kèm đau nhức và sốt*: Dùng rau dừa nước tươi, rửa sạch, cho một ít muối vào và giã nhỏ. Đắp lên vú và băng lại, sau vài ngày, u cục sẽ tiêu đi.

1.2. Nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thực vật chi *Ludwigia* trên thế giới

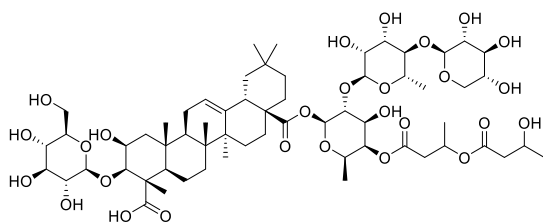
Các nhà khoa học Pháp đã phân lập được từ cao chiết *n*-buthanol của rau dừa nước trái hẹp (*Ludwigia leptocarpa*) ba hợp chất saponin khung oleanane mới là leptocarposide B (1), leptocarposide C (2) và leptocarposide D (3) và các hợp chất đã biết leptocarposide A (4), β -D-altro-2-heptulofuranose (5), 3-O- α -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-galactopyranosyl-glycerol (6), (Z)-3-hexenyl-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl (7), phenylethyl-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (8), phenylmethyl-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (9), α -D-glucopyranose (10), β -D-glucopyranose (11), β -D-fructofuranose (12), β -D-psicopyranose (13), α -D-galactose (14) và α -L-arabinose (15). Nghiên cứu này đã góp phần làm phong phú thêm dữ liệu hóa thực vật của loài *Ludwigia leptocarpa* và mở ra hướng ứng dụng tiềm năng trong nghiên cứu dược liệu và phát triển thuốc có nguồn gốc tự nhiên [6].



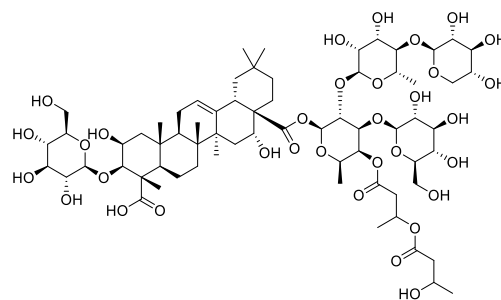
1



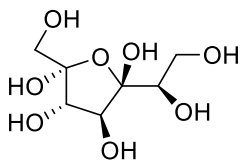
3



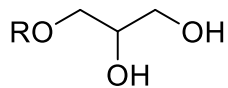
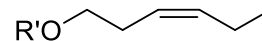
2



4

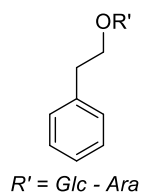
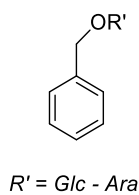
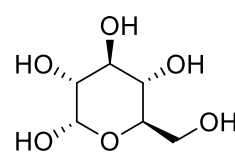


5

 $R = \text{Gal} - \text{Gal}$  $R' = \text{Glc} - \text{Ara}$

6

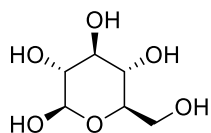
7

 $R' = \text{Glc} - \text{Ara}$  $R' = \text{Glc} - \text{Ara}$ 

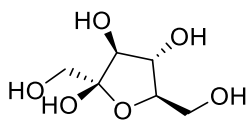
8

9

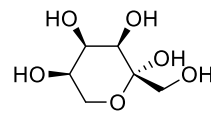
10



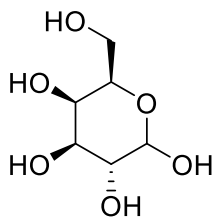
11



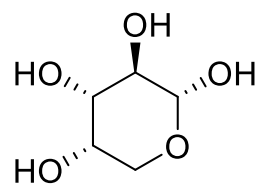
12



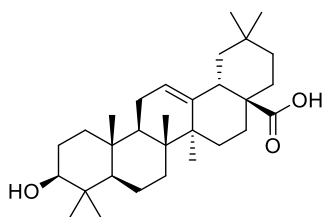
13



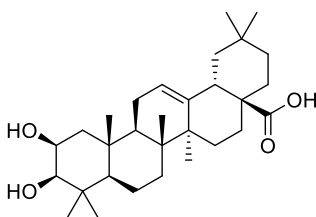
14



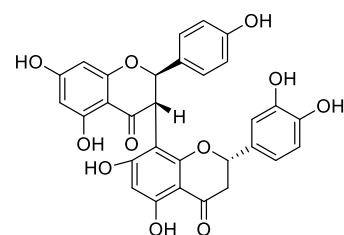
15



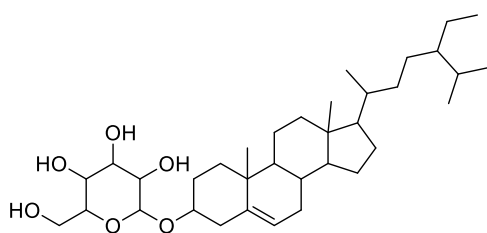
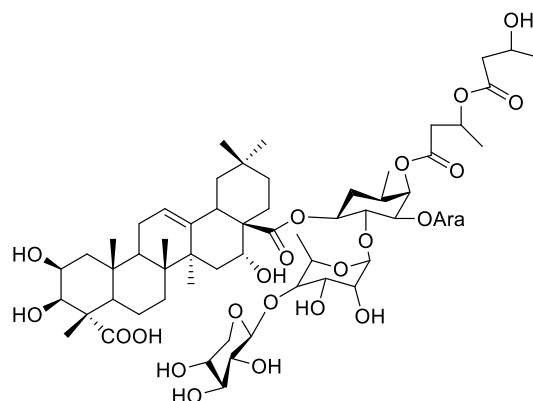
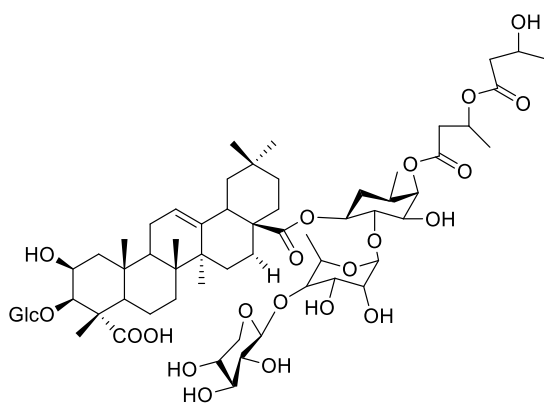
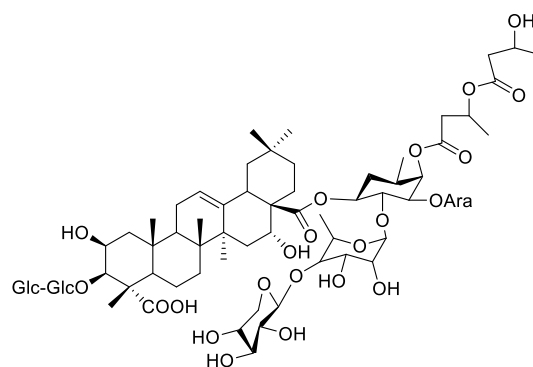
16



17



18

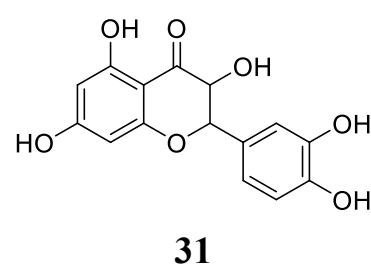
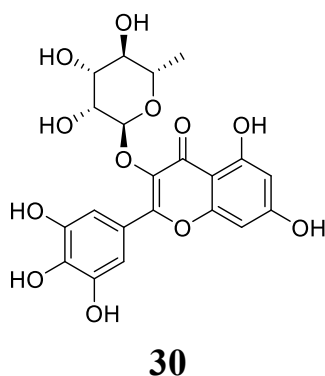
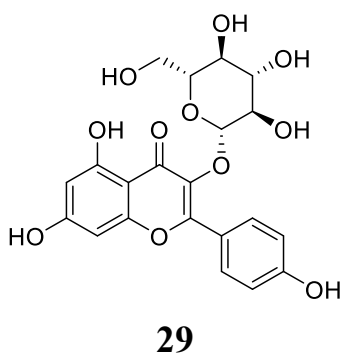
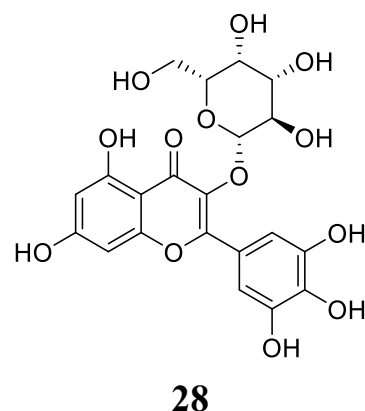
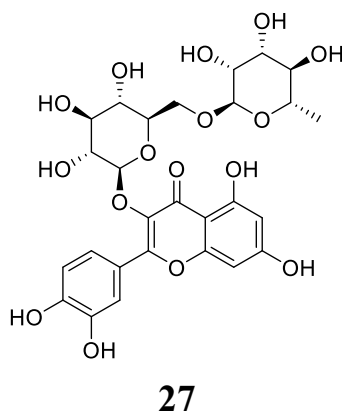
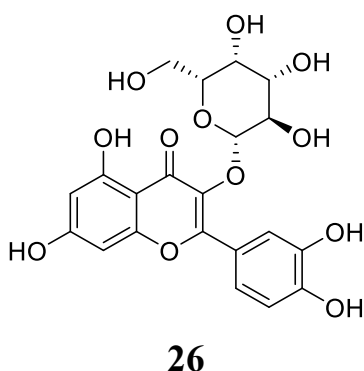
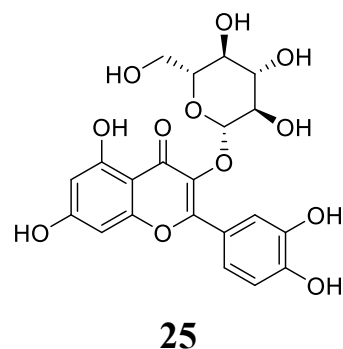
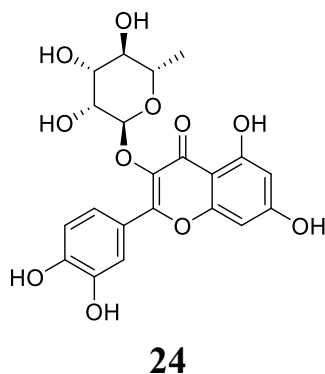
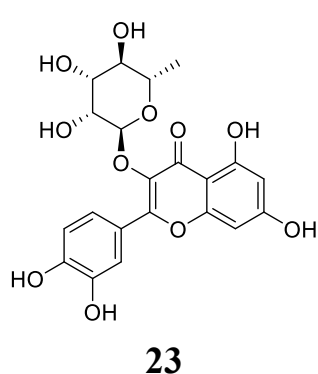
**19****20****21****22**

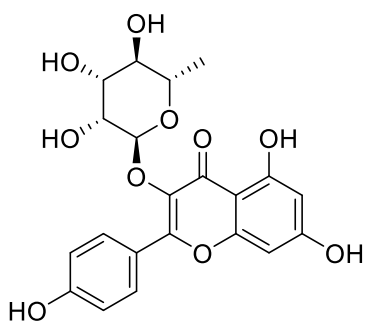
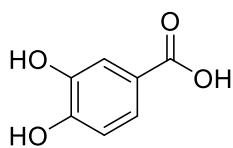
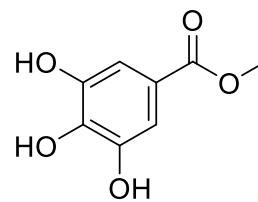
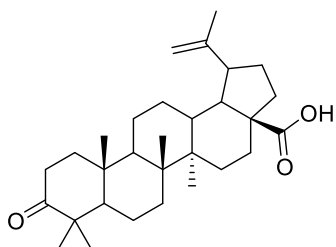
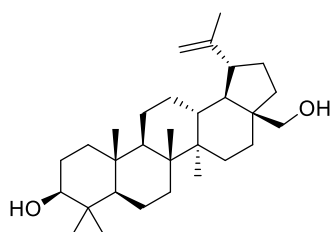
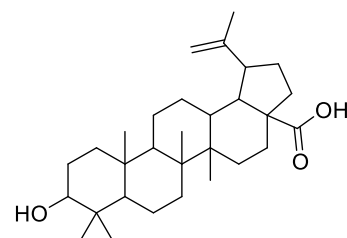
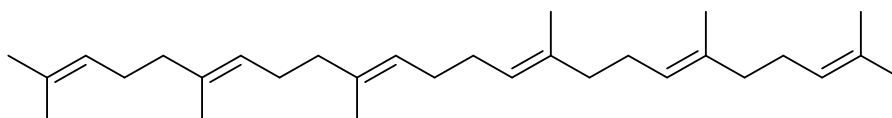
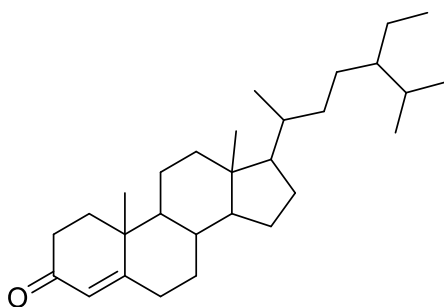
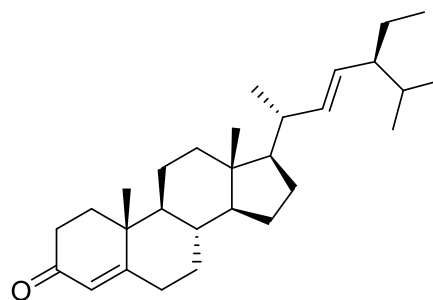
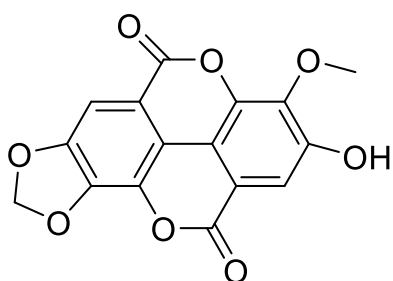
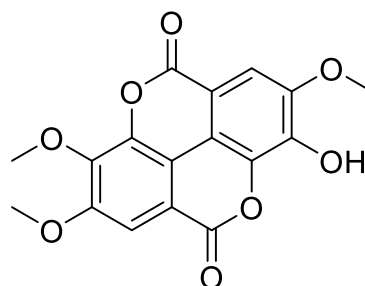
Các hợp chất oleanolic acid (**16**), 2 β -hydroxyoleanolic acid (**17**), (2*R*,3*S*,2''*S*)-3''',4',4''',5,5'',7,7''-heptahydroxy-3,8''-biflavanone (**18**), 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- β -sitosterol (**19**), 28-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]-4-*O*-(3'-hydroxybutanoyloxy-3-hydroxybutanoyloxy)- β -D-fucopyranosyl zanhic acid (**20**), 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-28-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-4-*O*-(3'-hydroxybutanoyloxy-3-hydroxybutanoyloxy)- β -D-fucopyranosyl medicagenic acid (**21**) và 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-28-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopyranosyl ($\rightarrow$ 3)]-4-*O*-(3'-hydroxybutanoyloxy-3-hydroxybutanoyloxy)- β -D-fucopyranosyl zanhic acid (**22**) được phân lập từ cao chiết ethyl acetate và *n*-butanol của loài *Ludwigia leptocarpa* bởi Florence Déclaire Mabou và cộng sự [7].

Các hợp chất và cao chiết trên đã được đánh giá hoạt tính oxy hóa bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH và khả năng chống oxy hóa tương đương gallic acid, hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) đối với các chủng vi khuẩn gram

đương *Staphylococcus aureus* và gram âm *Vibrio cholerae* và *Shigella flexneri*. Hợp chất 2 β -hydroxyoleanolic acid thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa mạnh hơn so với chất đối chứng [7].

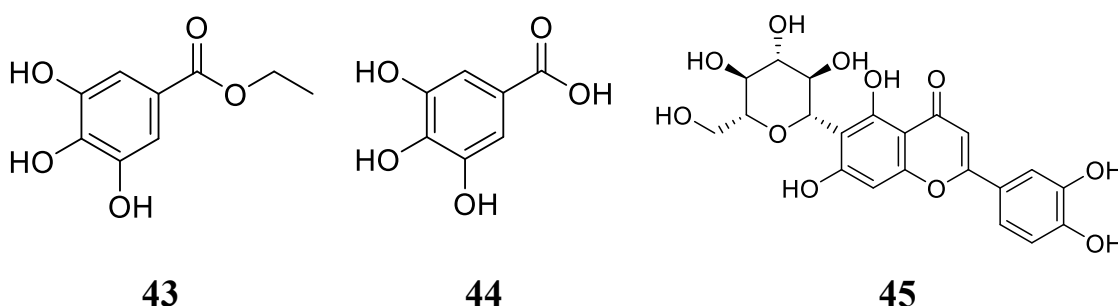
Từ phần trên mặt đất của loài *Ludwigia adscendens*, các hợp chất quercitrin (**23**), quercetin 3-*O*-rhamnoside (**24**), quercetin 3-*O*-glucoside (**25**), quercetin 3-*O*-galactoside (**26**), quercetin 3-*O*-rutinoside (**27**), myricetin 3-*O*-galactoside (**28**), kaempferol 3-*O*-glucoside (**29**), myricetin 3-*O*-rhamnoside (**30**), dihydroquercetin (**31**), kaempferol 3-*O*-rhamnoside (**32**), protocatechuic acid (**33**), methyl gallate (**34**), betulonic acid (**35**), betulin (**36**), betulinic acid (**37**), squalene (**38**), (24*R*)-6 β -hydroxy-stigmasta-4-en-3-one (**39**), (22*E*,24*R*)-6 β -hydroxy-stigmasta-4,22-dien-3-one (**40**), pteleoellagic acid (**41**) và 3,3,4-tri-*O*-methyl ellagic acid (**42**) đã được phân lập và nhận dạng [8].



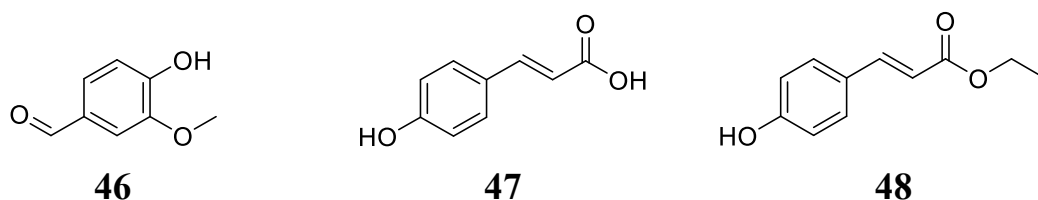
**32****33****34****35****36****37****38****39****40****41****42**

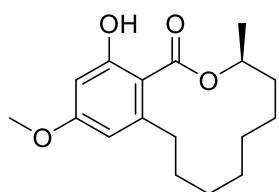
Chiết xuất methanol thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm trung bình ở hai nồng độ khác nhau là 250 $\mu\text{g}/\text{đĩa}$ và 500 $\mu\text{g}/\text{đĩa}$, với giá trị LD_{50} là 25,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [8].

Ba hợp chất ethyl gallate (**43**), gallic acid (**44**) và isoorientin (**45**) đã được Dulce Morales và cộng sự phân lập từ loài *Ludwigia octovalvis* tại Mexico. Hợp chất ethyl gallate và gallic acid ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 832 và 969 μ M, còn hợp chất isoorientin ức chế tốt enzyme lipase với giá trị IC_{50} là 201 μ M. Ngoài ra, chiết xuất hydroalcohol và ethyl acetate từ *Ludwigia octovalvis* thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 700 và 250 μ g/ml; và enzyme lipase với giá trị IC_{50} lần lượt là 480 và 718 μ g/ml. Kết quả cho thấy tiềm năng của các hợp chất phân lập từ *Ludwigia octovalvis* trong việc kiểm soát đường huyết và béo phì [9].

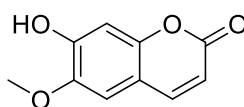


Từ cao chiết ether và ethyl acetate của loài *Ludwigia hyssopifolia* tại Trung Quốc, Jinyan Zhang và cộng sự đã phân lập được 9 hợp chất gồm ethyl gallate (**43**), vanillin (**46**), *trans-p*-hydroxycinnamic acid (**47**), *trans-p*-hydroxy-ethyl cinnamate (**48**), ozoroalide (**49**), scopoletin (**50**), de-*O*-methyllasiodiplodin (**51**), syringaldehyde (**52**), và 3,3'-dimethoxy-4,4'-dihydroxy-stilbene (**53**). Trong đó, hợp chất ozoroalide và de-*O*-methyllasiodiplodin ức chế đáng kể sự phát triển của tế bào ung thư biểu mô thanh quản HEP-2 và TU212 ở người phụ thuộc vào liều lượng. Hợp chất *trans-p*-hydroxy-ethyl cinnamate và scopoletin thể hiện khả năng gây độc tế bào yếu đối với dòng tế bào ung thư gan Hep-2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 42,76 và 57,18 μ g/ml. Trong khi đó, các hợp chất scopoletin và de-*O*-methyllasiodiplodin thể hiện sự ức chế mạnh hơn đối với dòng tế bào Hep-2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 10,82 và 3,50 μ g/ml [10, 11].

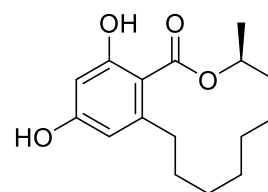




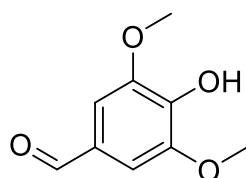
49



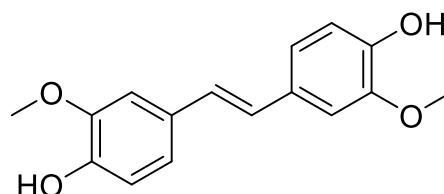
50



51

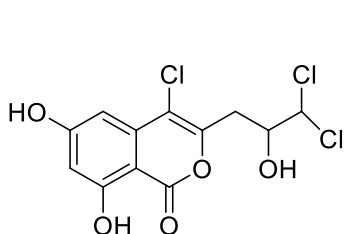


52

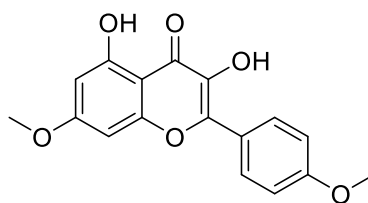


53

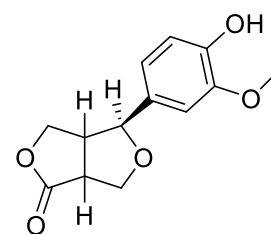
Vào năm 2020, các nhà khoa học Trung Quốc đã phân lập được một dẫn xuất isocoumarin là 3-(3,3-dichloro-2-hydroxy-propyl)-4-chlorine-6,8-dihydroxy-isochromen-1-one (**54**) và 7 hợp chất đã biết gồm 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone (**55**), salicifoliol (**56**), glycerol monolinoleate (**57**), 3,3'-bis-(3,4-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzopyran) (**58**), 5-O-caffeoylquinic acid (**59**) và 1H-imidazole-2-carboxylic acid butyl ester (**60**) từ cao ethyl acetate của loài *Ludwigia hyssopifolia*. Trong các thử nghiệm *in vivo*, glycerol monolinoleate và 1H-imidazole-2-carboxylic acid butyl ester cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của tế bào HEP-2 phụ thuộc vào liều lượng, thời gian sử dụng. Bên cạnh đó, thử nghiệm *in vitro* chỉ ra rằng sinapaldehyde (**61**) và salicifoliol có tác dụng tăng cường hấp thu glucose. Đặc biệt, sinapaldehyde thúc đẩy quá trình hấp thu glucose trong tế bào cơ xương L6 mạnh hơn đến 1,8 lần so với đối chứng, cho thấy tiềm năng trong hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến rối loạn chuyển hóa glucose như tiểu đường [12].



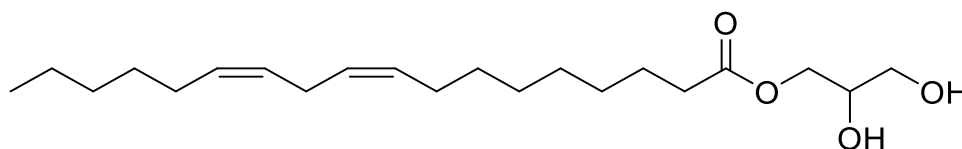
54



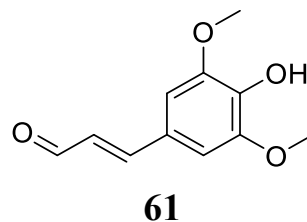
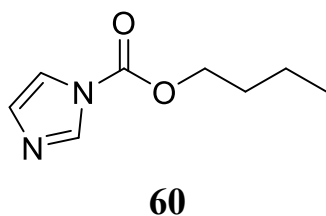
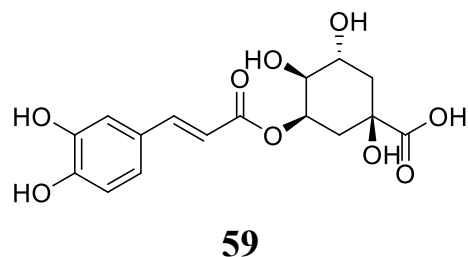
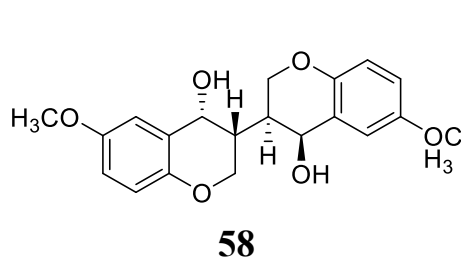
55



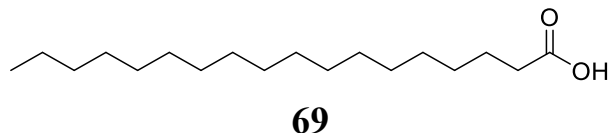
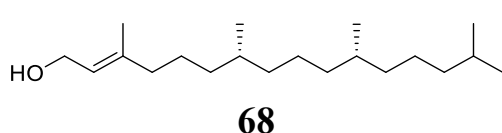
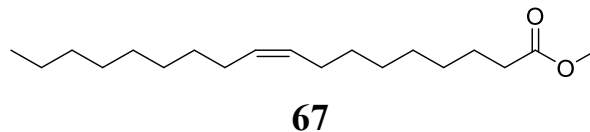
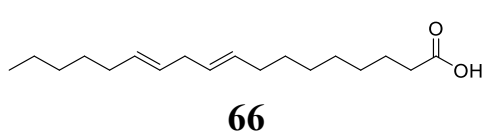
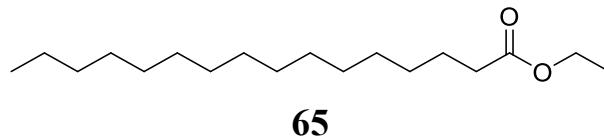
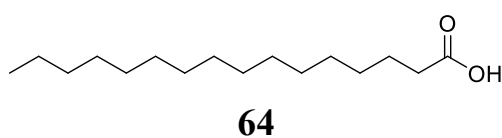
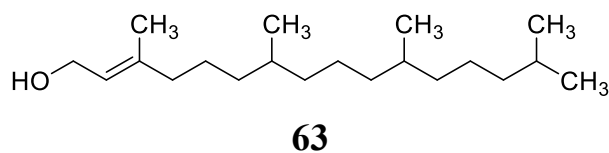
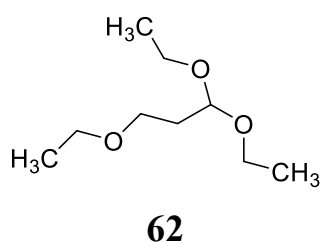
56

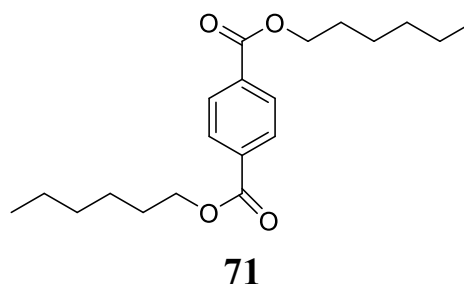
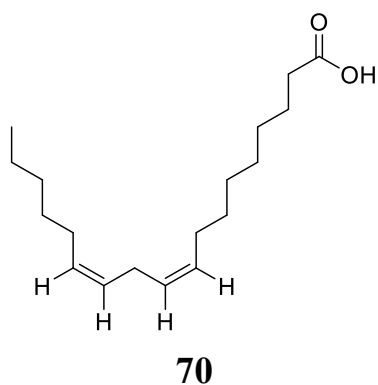


57



Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của các chiết xuất từ quả loài *Ludwigia parviflora* trên 4 chủng vi khuẩn (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pyogenes*) và 3 loài nấm gây bệnh (*Candida albicans*, *Fusarium solani* và *Trichophyton rubrum*) đã được thử nghiệm. Trong đó, chiết xuất ethanol và ethyl acetate thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể trên tất cả các chủng vi sinh vật được thử nghiệm. Cụ thể, chiết xuất ethanol khả năng ứng chế tốt đối với chủng *S. typhi* và *C. albicans* với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 13,6 và 21,2 mm, chiết xuất ethyl acetate ức chế chủng *B. subtilis* và *T. rubrum* với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 14,9 và 22,9 mm.





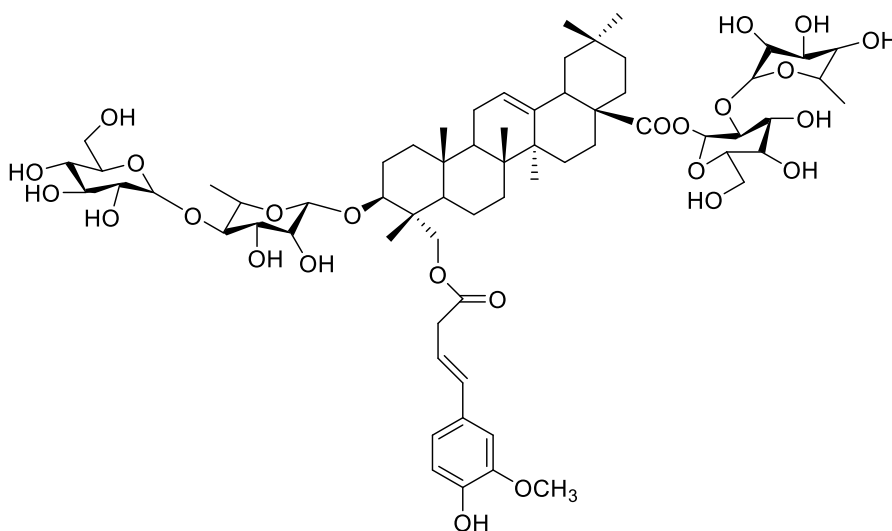
Ngoài ra, từ quả *Ludwigia parviflora* ở Ấn Độ các nhà khoa học đã xác định được các hợp chất gồm propan-1,1,3-trietoxy (**62**), 3,7,11,15-tetrametyl-2-hexadecen-1-ol (**63**), *n*-hexadecanoic (**64**), hexadecanoic-este etyl acid (**65**), 9,12-octadecadienoic acid (**66**), 9-octadecenoic-(*Z*)-metyl este acid (**67**), phytol (**68**), linoleic acid (**69**), octadecanoic (**70**) và 1,4-benzenedicarboxylic-dihexyl este acid (**71**) bằng phương pháp GC-MS. Trong đó, linoleic acid octadecanoic acid, *n*-hexadecanoic acid và propan 1,1,3-trietoxy là thành phần chính [13].

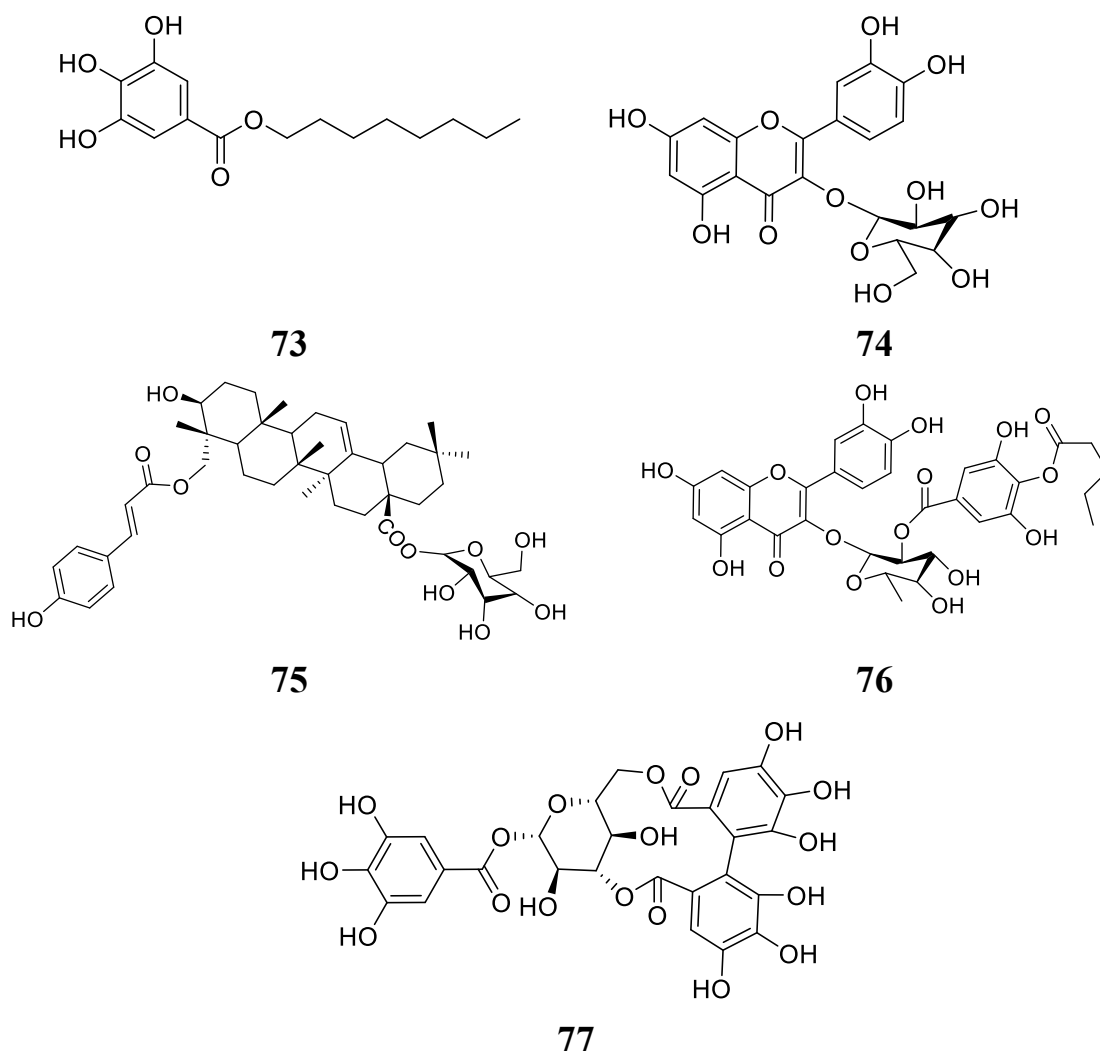
Từ chiết xuất *n*-hexan của phần trên mặt đất và rễ của loài *Ludwigia stolonifera* ở Ai Cập đã xác định được 85 cấu tử dễ bay hơi. Trong đó, hydrocacbon no và hydrocacbon thơm là hai nhóm có hàm lượng cao nhất và đa dạng, đặc trưng trong cây [14]. Chiết xuất methanol, ethyl acetate và *n*-butanol từ phần trên mặt đất của loài *Ludwigia stolonifera* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt theo phương pháp DPPH với giá trị SC_{50} lần lượt là 19,2; 7,6 và 61,6 $\mu\text{g/ml}$ [14].

Maheda Khier Elhaj và cộng sự đã đánh giá được hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa và gây độc tế bào của các chiết xuất từ rễ, thân, lá, hoa và quả loài *Ludwigia erecta* tại Sudan. Trong đó, chiết xuất chloroform của hoa thể hiện hoạt tính tốt đối với vi khuẩn *E. coli* với đường kính vòng vô khuẩn là 17,7 mm. Chiết xuất methanol từ rễ ức chế vi khuẩn *Giardia* mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 41,60 $\mu\text{g/ml}$. Không có chất chiết xuất nào gây độc tế bào đối với dòng tế bào Vero ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$), trong khi đó chiết xuất methanol từ hoa cho thấy tác dụng gây độc đối với dòng tế bào MDA-MB231 với giá trị IC_{50} là 30,5 $\mu\text{g/ml}$. Chiết xuất methanol từ quả thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất với giá trị IC_{50} là 50 mg/ml, sau đó đến chiết xuất từ thân, lá và hoa với giá trị IC_{50} là 75 mg/ml [13,15].

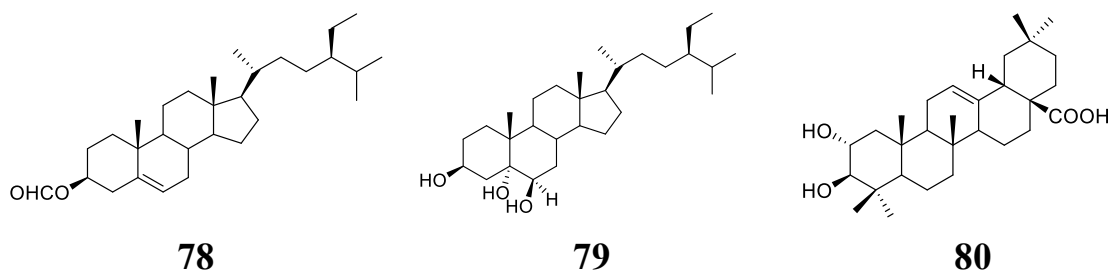
Từ phần trên mặt đất của loài *Ludwigia adscendens* subsp. *diffusa*, nhóm nghiên cứu của Mostafa H. Baky và cộng sự đã phân lập, xác định cấu trúc hóa học của 11 hợp chất thuộc các nhóm favonoid, saponin, triterpenoid và oligosaccharide, Trong đó, 3-*O*-[β -D-glucopyranoside (1 $\rightarrow$ 4) α -L-rhamnopyranoside]-23-*O*-feruloyl-hederagenin-28-*O*-[α -L-rhamnopyranoside (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside] (**72**) là hợp chất mới và các hợp chất khác gồm octyl gallate (**73**), myricetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**74**), 23-*O*-coumaroyl-hederagenin-28-*O*- β -D-glucopyranoside (**75**) và quercetin 3-*O*- α -L-rhamnoside-2''-(4'''-*O*-*n*-pentanoyl)-gallate (**76**) từ cao chiết ethyl acetate. Hoạt tính chống đái tháo đường, bảo vệ gan và gây độc tế bào của các chiết xuất ethyl acetate và butanol được nghiên cứu *in vivo*, kết quả cho thấy chiết xuất ethyl acetate có hoạt tính chống tiểu đường tốt với giá trị IC₅₀ 62,3 μ g/ml, bảo vệ gan với giá trị IC₅₀ 80,75 μ g/ml) và gây độc tế bào đối với dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người với giá trị IC₅₀ 52,2 μ g/ml [16,17].

Từ chiết xuất ethanol của loài *Ludwigia octovalvis*, Dulce Lourdes Morales-Ferra và cộng sự đã phân lập được các hợp chất gallic acid, corilagin (**77**), ellagic acid và ethyl gallate. Thử nghiệm triglycerid sau bữa ăn cho thấy những chiết xuất ethanol có khả năng cải thiện chuyển hóa lipid, góp phần giải thích hiệu quả trên các chỉ số hội chứng chuyển hóa trong nghiên cứu kéo dài, có tiềm năng giảm rối loạn chuyển hóa và nồng độ acid béo tự do trong máu, và có thể liên quan đến hàm lượng cao của corilagin và ellagic acid [18,19].





Nhóm nghiên cứu của Arlette Meli Sonkoue và cộng sự đã phân lập 3 hợp chất thuộc nhóm steroid và triterpenoid gồm sitost-5-en-3 β -ol formiate (**78**), 5 α ,6 β -dihydroxysitosterol (**79**) và maslinic acid (**80**) từ cao chiết ethyl acetate của loài *Ludwigia abyssinica* tại Cameroon [20].

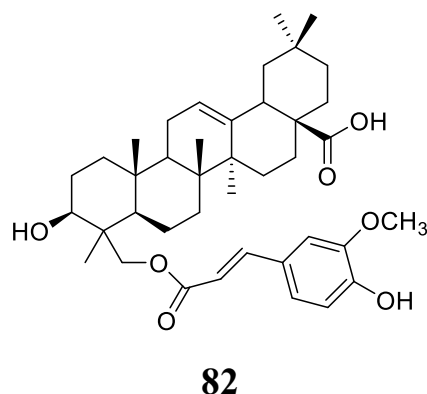
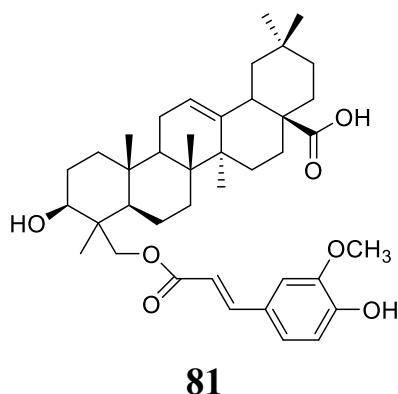


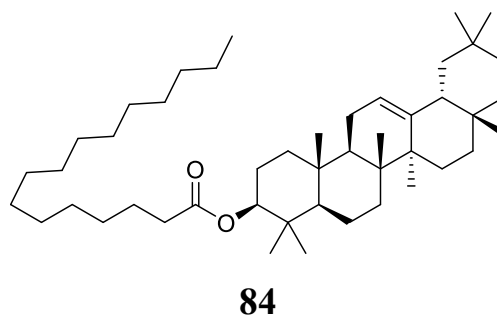
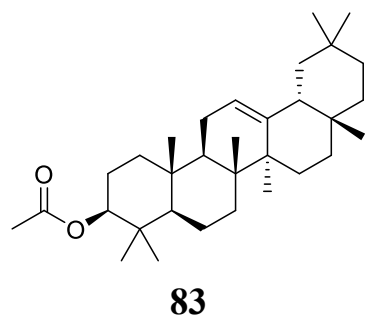
Cao chiết ethyl acetate và 3 hợp chất trên (với giá trị MIC trong khoảng từ 16 đến 128 $\mu\text{g/ml}$) sẽ là tác nhân kháng khuẩn và chống nấm tốt đối với các chủng *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* và *Staphylococcus aureus*. Tuy nhiên, khi được sử dụng trong kết hợp với các thành phần thực vật, nó thể hiện một

tác dụng hiệp đồng thú vị. Trong số các kết hợp thành phần thực vật-kháng sinh, cao chiết ethyl acetate và hợp chất sitost-5-en-3 β -ol formiate cho thấy tác dụng hiệp đồng với amoxicillin/fluconazole chống lại tất cả các vi sinh vật được thử nghiệm trong khi sự kết hợp của hợp chất maslinic acid và amoxicillin/fluconazole cho thấy tác dụng phụ chống lại *Shigella flexneri* và *Escherichia coli* và tác dụng hiệp đồng đối với *Staphylococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida tropicalis* và *Candida albicans* [20].

Nghiên cứu của Mohammad Shaphiullah và cộng sự thực hiện về hoạt tính chống tiêu chảy của chiết xuất methanol từ cây *Ludwigia hyssopifolia* đã ghi nhận những kết quả thú vị. Chiết xuất methanol cho thấy hiệu quả rõ rệt trong việc làm giảm tần suất tiêu chảy ở chuột thí nghiệm. Khi sử dụng ở liều trên 100 mg/kg thể trọng, chiết xuất này đã mang lại tác dụng cao hơn so với thuốc đối chứng loperamide (được dùng ở liều 66,67 μ g/kg thể trọng). Cụ thể, ở liều 200 mg/kg và 400 mg/kg, chiết xuất methanol giúp giảm số lần tiêu chảy lần lượt là 56,32% và 89,66% đối với nhóm được gây tiêu chảy bằng dầu thầu dầu; và 59,09% và 86,36% trong trường hợp tiêu chảy do serotonin gây ra. Ngoài ra, methanol còn cho thấy khả năng ức chế nhu động ruột rõ rệt, với mức giảm 53,8% khi dùng ở liều 100 mg/kg. Tuy nhiên, liều thấp hơn là 50 mg/kg không mang lại hiệu quả ức chế [21,22].

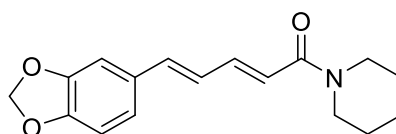
Nhóm nghiên cứu của C.-I. Chang và cộng sự đã phân lập được hai hợp chất triterpen oleanane mới, bao gồm (23Z)-feruloylhederagenin (**81**) và (23E)-feruloylhederagenin (**82**), bên cạnh hai hợp chất đã biết là β -amyrin acetate (**83**) và β -amyrin palmitate (**84**). Các chất triterpen này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đáng chú ý đối với hai dòng tế bào ung thư người: ung thư biểu mô miệng (KB) và ung thư đại trực tràng (HT29), với giá trị IC₅₀ từ 1,2 đến 3,6 mM [18].





Một hợp chất alkaloid có tên khoa học là 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-piperidin, thường được gọi là piperine (**85**), đã được phân lập từ cao chiết ethyl acetate của loài *Ludwigia hyssopifolia* bởi nhóm nghiên cứu của Banibrata Das và cộng sự. Chiết xuất ethyl acetate còn có khả năng ức chế sự hình thành ung thư túi mật gây ra bởi vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* trên đĩa thạch, với tỷ lệ ức chế lần lượt là 73,05% và 84,14%. Hợp chất piperine thể hiện hiệu quả kháng ung thư rõ rệt, với giá trị IC_{50} là 13,50 $\mu\text{g}/\text{đĩa}$, cho thấy mức độ ức chế mạnh đối với sự phát triển của tế bào ung thư.

Ngoài ra, cả cao chiết ethyl acetate và piperine cũng cho thấy hoạt tính kháng khuẩn ở mức từ nhẹ đến trung bình đối với vi khuẩn Gram dương và Gram âm được chọn để thử nghiệm. Những kết quả này góp phần khẳng định tiềm năng sinh học đáng chú ý của loài *Ludwigia hyssopifolia* cũng như hoạt chất piperine trong việc phát triển các tác nhân điều trị ung thư và nhiễm khuẩn [22].

**85**

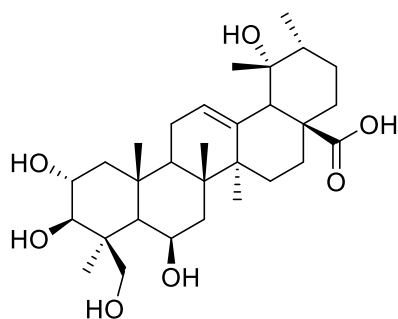
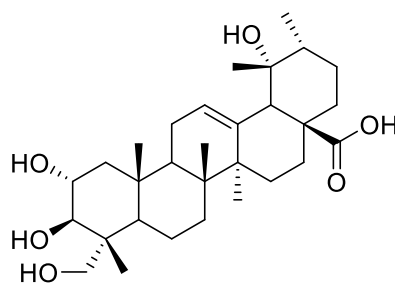
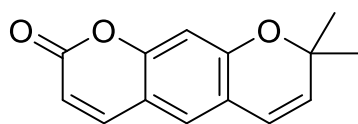
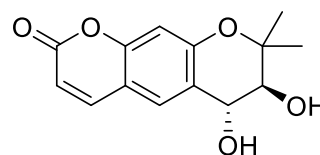
Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của các chiết xuất từ lá từ hai loài *Ludwigia abyssinica* và *Ludwigia decurrens* đã được thực hiện bởi O. Oyedeji và cộng sự. Kết quả cho thấy các chiết xuất nước, *n*-butanol, ethyl acetate, dicloromethane và *n*-hexane từ lá của cả hai loài đều có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm mạnh đối với nhiều chủng vi sinh vật. Trong đó, chiết xuất *n*-butanol cho thấy tác dụng tốt nhất với đường kính vòng vô khuẩn 32,0 mm, tiếp theo là chiết xuất ethyl acetate với đường kính vòng vô khuẩn từ 12,0 đến 31,0 mm tùy theo chủng vi sinh vật. Chiết xuất *n*-butanol thể hiện phổ hoạt tính

rộng, có khả năng ức chế tất cả các vi sinh vật thử nghiệm. Khi so sánh với các thuốc kháng sinh như ampicillin, streptomycin và amphotericin B, chiết xuất *n*-butanol cho kết quả tương đương hoặc thậm chí vượt trội trong một số trường hợp.

Giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chiết xuất *n*-butanol đối với các vi khuẩn thử nghiệm từ 0,625 đến 5,0 mg/ml, trong khi chiết xuất ethyl acetate có MIC trong khoảng 1,25 đến 5,0 mg/ml. Ngoài ra, chiết xuất *n*-butanol từ *Ludwigia abyssinica* cho thấy hiệu quả diệt khuẩn rất cao: tại nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC), nó tiêu diệt được khoảng 99,3% vi khuẩn *Escherichia coli*, và 98,2% với *Staphylococcus aureus* sau 120 phút [20].

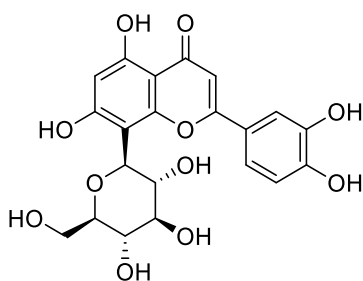
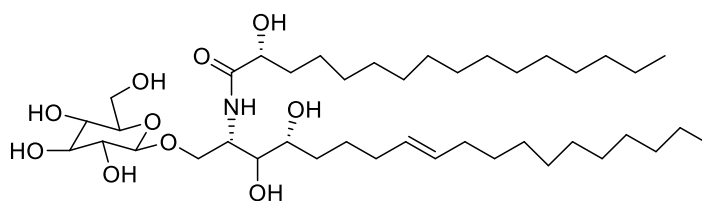
Haidar Kadum Yakob và cộng sự đã tiến hành đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của chiết xuất methanol 80% từ *Ludwigia octovalvis* trên chuột BALB/c, nhằm kiểm tra mức độ an toàn khi sử dụng chiết xuất này. Kết quả cho biết, ở các mức liều từ 200 đến 800 mg/kg/ngày trong 28 ngày là an toàn đối với chuột, không gây độc và không ảnh hưởng tiêu cực đến các cơ quan nội tạng. Các kết quả này gợi ý rằng chiết xuất chứa các hoạt chất sinh học có tác dụng kích thích miễn dịch, bảo vệ gan và tăng cường sức khỏe tim mạch [23].

Ayinampudi Sridhar Rao và cộng sự đã phân lập được 1 hợp chất triterpen mới có tên gọi là 6 β , 24 hydroxy tormnetic acid (**86**) và các hợp chất đã biết 23-hydroxy tormentic acid (**87**), xanthyletin (**88**), (+) *trans*-decursidinol (**89**), từ loài *Ludwigia hyssopifolia* [5].

**86****87****88****89**

Nhóm nghiên cứu của Banibrata Das và cộng sự đã tiến hành khảo sát hoạt tính kháng viêm, giảm đau và lợi tiểu của các chiết xuất *n*-hexane, ethyl acetate và methanol từ loài *Ludwigia hyssopifolia*. Kết quả cho biết, chiết xuất *n*-hexane có hiệu quả cao nhất trong việc giảm sưng ở chân chuột thử nghiệm do carrageenan gây ra với tỷ lệ ức chế đạt 33,96% sau 2 giờ, sau đó đến chiết xuất ethyl acetate với tỷ lệ ức chế đạt 27,39% sau 3 giờ. Cả ba chiết xuất đều có tác dụng giảm đau và lợi tiểu rõ rệt. Đặc biệt, chiết xuất *n*-hexane và ethyl acetate có tiềm năng trong điều trị viêm, đau và rối loạn tiểu tiện [10,11].

Từ cao chiết *n*-butanol của loài *Ludwigia leptocarpa*, Florence Déclaire Mabou và cộng sự đã phân lập được luteolin-8-C-glucoside (**90**) và 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S,3R,8E)-2-[(2'R)-2-hydroxypalmitoylamino]-8-octadecen-1,3-diol (**91**). Luteolin-8-C-glucoside cho thấy khả năng chống oxy hóa mạnh với giá trị SC_{50} là 0,038 mM, cho thấy đây là hợp chất tiềm năng và đáng lưu ý về hiệu quả chống oxy hóa [24].

**90****91**

Chiết xuất methanol từ loài *Ludwigia octovalvis* đã được chứng minh có khả năng kích thích hệ thống miễn dịch chống lại vi khuẩn *Escherichia coli* thông qua tăng cường sản sinh kháng thể immunoglobulin A. Cụ thể, vào ngày thứ 7 sau khi chuột bị nhiễm bệnh ở liều 400 mg/kg cho thấy nồng độ immunoglobulin A trong huyết thanh tăng đáng kể. Nồng độ immunoglobulin A trong huyết thanh được ghi nhận tại thời điểm này ở các nhóm như sau: Nhóm đối chứng âm (dùng PBS): $709,47 \pm 149,6$ mg/ml, nhóm đối chứng dương (nhiễm *E. coli*): $1655,87 \pm 139,7$ mg/ml, nhóm nhiễm *E. coli* + 200 mg/kg chiết xuất: $1728,67 \pm 64,3$ mg/ml, nhóm nhiễm *E. coli* + 400 mg/kg chiết xuất: $1971,47 \pm 135,6$ mg/ml. Trong khi đó, các kháng thể immunoglobulin G và immunoglobulin M không có sự thay đổi đáng kể giữa các nhóm. Ngoài ra, việc sử dụng chiết xuất qua đường uống cũng không ảnh hưởng đến nồng độ

ceruloplasmin, cho thấy chiết xuất không gây rối loạn chức năng miễn dịch bẩm sinh [9,19].

1.3. Nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thực vật chi *Ludwigia* ở trong nước

Nhóm nghiên cứu của Huỳnh Kim Diệu và cộng sự đã đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật trên 8 chủng vi khuẩn của 30 mẫu từ loài *Ludwigia hyssopifolia* thu nhiều nơi thuộc đồng bằng sông Cửu Long. Trong đó tất cả mẫu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với các dòng *Edwardsiella tarda*, *Staphylococcus aureus*, *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* với giá trị MIC từ 128 đến 512 $\mu\text{g/ml}$) [25].

Tại Cần Thơ - Việt Nam, khi nghiên cứu cao chiết metanol từ phần trên mặt đất của loài *Ludwigia hyssopifolia* đã phân lập được 4 hợp chất đã biết gồm β -sitosterol, oleanolic acid, 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- β -sitosterol, ellagic acid bởi nhóm nghiên cứu của Nguyen Thi Thu Tram và cộng sự. Trong nghiên cứu, năm cao chiết bao gồm *n*-hexan, chloroform, ethyl axetat, metanol và etanol đã được sàng lọc kháng vi khuẩn *Helicobacter pylori* hoạt động bằng phương pháp khuếch tán đĩa. Kết quả sơ bộ cho thấy, cả 5 cao chiết đều có hoạt tính trung bình, trong đó metanol thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất với vùng ức chế ($d = 17 \text{ mm}$) ở nồng độ 0,5 mg/đĩa [26].

Các chiết xuất từ loài *Ludwigia adscendens* thu hái tại tỉnh Long An, Việt Nam được nhóm nghiên cứu của Van Tien Dung và cộng sự đánh giá hoạt tính kháng khuẩn. Kết quả thu được cho thấy có sự khác biệt trong hoạt tính kháng khuẩn của các chiết xuất từ thân, lá và rễ. Dịch chiết từ lá và thân có hiệu quả trên cả ba chủng (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli*), trong khi dịch chiết từ rễ không có hoạt tính kháng khuẩn đối với *Escherichia coli*. Trên vi khuẩn *Bacillus subtilis*, dịch chiết từ thân, lá, rễ đều có hoạt tính kháng khuẩn ở tất cả các nồng độ thử nghiệm, trong đó dịch chiết từ lá có diện tích ức chế lớn nhất ($9,90 \pm 0,27 \text{ mm}$). Riêng đối với *Escherichia coli*, dịch chiết thân cho hiệu quả cao nhất ($10,36 \pm 0,27 \text{ mm}$) trong khi dịch chiết rễ hoàn toàn không có tác dụng ức chế vi khuẩn. Trên vi khuẩn *Bacillus cereus*, dịch chiết rễ loài *Luwigia adscendens* ức chế hoạt tính kháng khuẩn ở mọi nồng độ từ 200 mg/ml đến 1000 mg/ml, trong khi dịch chiết etanol từ thân và lá ở mọi nồng độ 200 mg/ml không cho thấy hoạt tính kháng khuẩn [27].

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần ở trên mặt đất của cây Rau dừa nước được thu tại Chí Linh, Hải Dương vào tháng 09 năm 2023 có tên khoa học là *Ludwigia adscendens* (L.) Hara., họ Onagraceae (họ Rau dừa nước). Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (nay là Viện Hóa học) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Cây Rau dừa nước (nguồn internet)

2.2. Phương pháp nghiên cứu [28,29]

2.2.1. Phương pháp phân lập hợp chất

Để phân lập được các hợp chất từ cao chiết của cây, sử dụng phối hợp nhiều phương pháp sắc ký khác nhau. Cụ thể sử dụng sắc ký lớp mỏng (TLC): DC-Alufolien 60 F254 (0,25 mm; Merck), sắc ký cột pha đảo với pha tĩnh là YMC RP 18 (Merck): YMC RP-18 với cỡ hạt là 30-50 μm (Fujisilica Chemical Ltd.), sắc ký sephadex LH-20 (Merck), sắc ký cột thường (CC) với pha tĩnh là silica gel (Merck): silica gel 60 với cỡ hạt 0,040 - 0,063 mm (230 - 400 mesh).

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hợp chất

Sử dụng các thiết bị hiện đại cùng với những phương pháp tiên tiến. Cụ thể, đã áp dụng các thiết bị và phương pháp sau:

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): đo NMR đã được tiến hành trên máy Bruker avance 500 MHz với chất chuẩn nội là TMS, tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Sử dụng những kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^1H -NMR, ^{13}C -NMR và DEPT) và hai chiều (HSQC, HMBC,...)

2.2.3. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7 *in vitro* đã được tiến hành tại Phòng Sinh học thực nghiệm, Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường DMEM ở 37°C, 5% CO₂, 10% FBS. Sau đó dịch tế bào được chuyển lên giếng phản 96 với mật độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 2 μ L LPS (0,1 mg/mL) trong 24 giờ và bổ sung chất thử các nồng độ khác nhau. Cardamonin được sử dụng làm đối chứng (+). Dịch huyền phù của tế bào được ủ với thuốc thử Griess, NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Đo hấp thụ phản ứng ở $\lambda = 570$ nm.

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

$$\%UC = ([X_{TB}]_{\text{mẫu}} - [X_{TB}]_{LPS}) / ([X_{TB}]_{DC} - [X_{TB}]_{LPS}) \times 100$$

Trong đó: $[X_{TB}]$ là nồng độ NO trung bình tính dựa trên đường chuẩn NaNO₂.

Phần tế bào còn lại sau khi đã sử dụng để đánh giá các hoạt tính *in vitro* được bổ sung dung dịch MTT (0,5 mg/mL trong PBS), ủ 4 giờ trong tủ ấm 5% CO₂ ở 37°C. Sản phẩm chuyển hóa dạng tinh thể formazan được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich) và đo mật độ quang ở $\lambda = 540/720$ nm trên thiết bị Infinite F50 (Tecan, Männedorf, Thụy Sĩ).

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

$$\text{Tỷ lệ ức chế tế bào (\%)} = [(OD_{\text{mẫu}} / OD_{\text{đối chứng (-)}}) \times 100] \pm \sigma$$

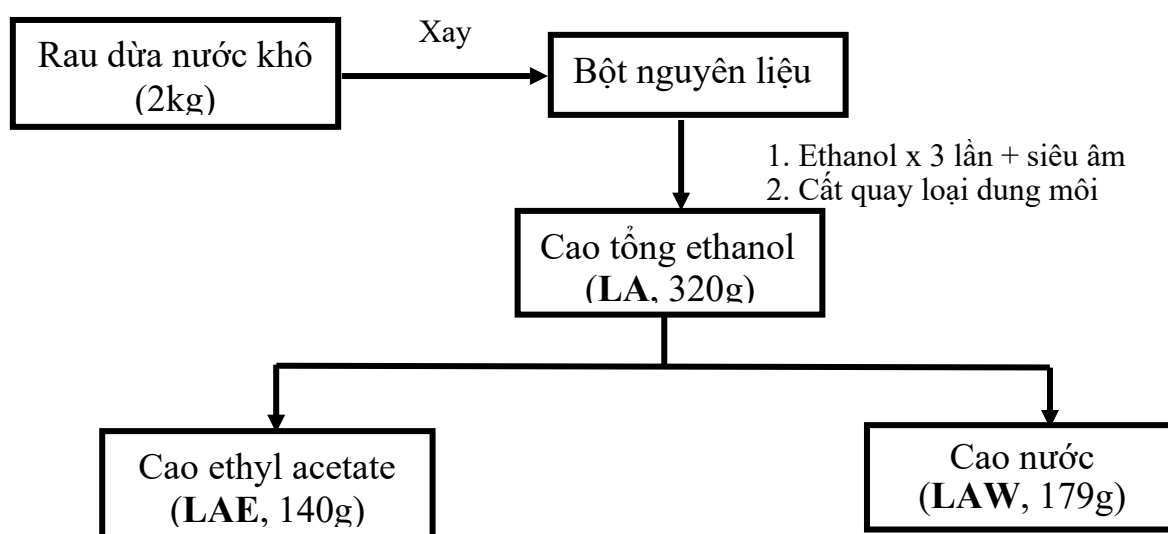
$$\text{Độ lệch chuẩn được tính theo công thức: } \sigma = \sqrt{(\sum (xi - \bar{x})^2) / (n - 1)}$$

CHƯƠNG 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

3.1. Xử lý mẫu và phân lập các hợp chất từ Rau dừa nước

3.1.1. Xử lý mẫu

Phần trên mặt đất Rau dừa nước tươi (13kg) sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi được 2kg, đem nghiền nhỏ và ngâm chiết với ethanol (EtOH) trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng, cất kiệt dung môi thu được cao tổng EtOH (320g). Cao tổng EtOH được thêm nước và với các dung môi EtOAc, sau đó cất kiệt thu được các căn tương ứng: Cao ethyl acetate (**LAE**) 140 (g) và cao nước (**LAW**) 179 (g). Việc thu nhận các dịch chiết từ cây Rau dừa nước được tóm tắt trong sơ đồ hình 3.1.



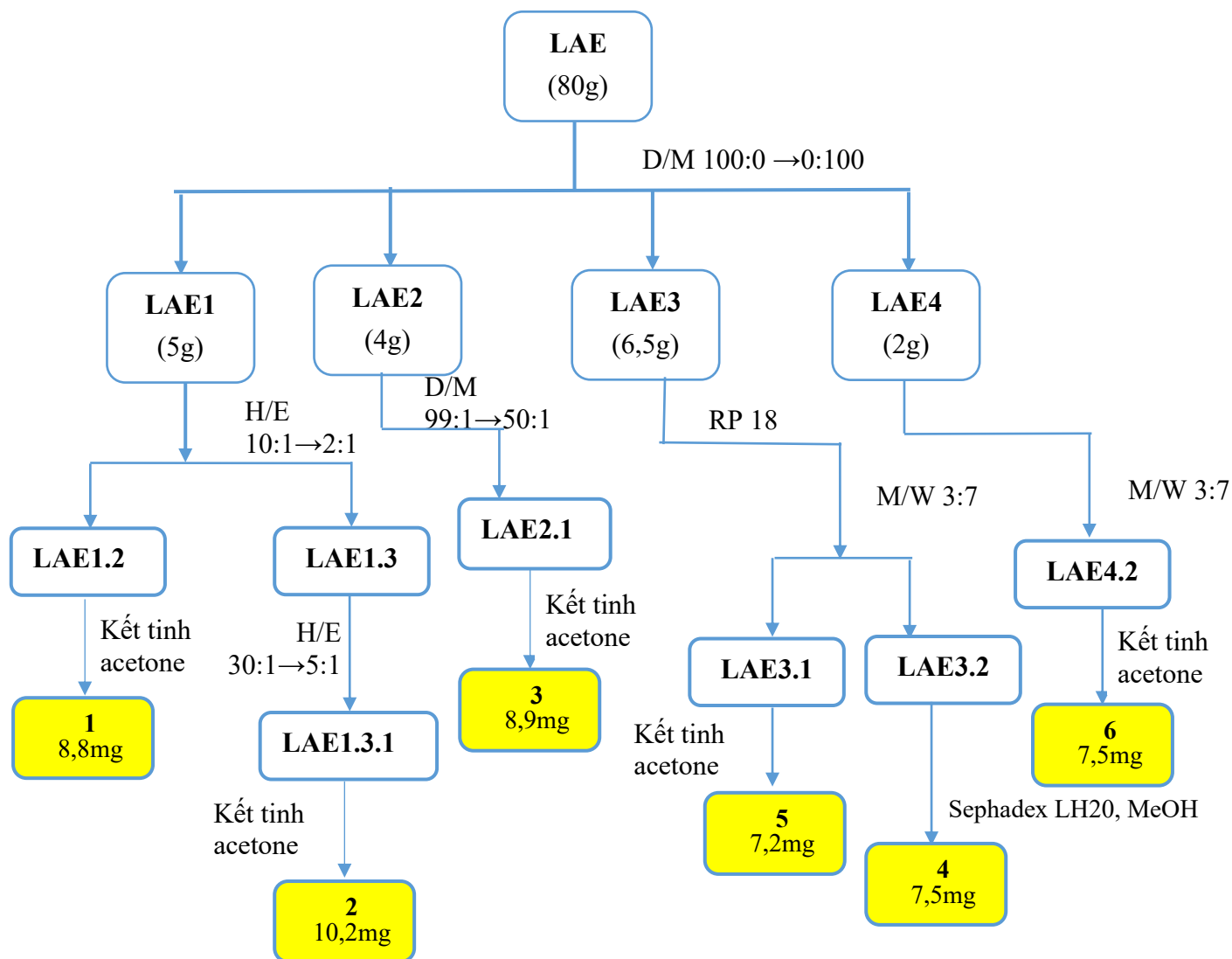
Hình 3.1. Sơ đồ xử lý và chiết Rau dừa nước

3.1.2. Phân lập các hợp chất từ Rau dừa nước

Cao chiết ethyl acetate **LAE** (80 g) được tiến hành phân tách trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol (tỷ lệ methanol tăng từ 0→100%) được 6 phân đoạn (**LAE1**→**LAE6**).

Phân đoạn **LAE1** (5,0 g) được sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane-ethyl acetate (50:1→5:1) thu được 3 phân đoạn nhỏ (**LAE1.1**→**LAE1.3**), sau đó phân đoạn **LAE1.2** kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất chất dạng bột, không màu, corosolic acid (8,8 mg, 1; $R_f = 0,35$, TLC, silicagel, *n*-hexane/ethyl acetate 2:1). Phân đoạn **LAE1.3** được phân tách trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane-

ethyl acetate (30:1→5:1) sau đó kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất dạng bột, màu vàng, (-)-epicatechine (10,2 mg: **2**; $R_f = 0,35$, TLC, silicagel, *n*-hexane/ethyl acetate 2:1).



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cây Rau dứa nước

Phân đoạn **LAE2** (4,0g) được tách lại trên cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol (99:1→20:1) thu được khối chất vô định hình và kết tinh lại trong dung môi acetone thu được hợp chất dạng bột, không màu; uvaol (8,9 mg: **3**; $R_f = 0,41$, TLC, silicagel, dichloromethane/methanol 9:1).

Phân đoạn **LAE3** (6,5g) được tách lại trên cột pha đảo RP-18 với dung môi MeOH-H₂O (3:7), thu được 3 phân đoạn nhỏ **LAE3.1**→**LAE3.3**, phân đoạn **LAE3.2** sau đó được tinh chế lại trên cột sephadex LH20 với dung môi

rửa giải methanol thu được hợp chất dạng bột, không màu; ursolic aldehyde (7,5 mg: **4**; $R_f = 0,37$, TLC, silicagel, *n*-hexane/ethyl acetate 2:1). Phân đoạn **LAE3.1** sau đó được tinh chế lại trên cột sephadex LH20 với dung môi rửa giải methanol thu được hợp chất tinh thể hình kim, không màu, gallic acid (7,2 mg: **5**; $R_f = 0,42$, TLC, silicagel, dichloromethane/methanol 3:1).

Phân đoạn **LAE4** (2,0g) được sắc ký trên cột RP-18 rửa giải bằng methanol/nước (3:7) để thu được 3 phân đoạn (**LAE4.1**→**LAE4.3**). Phần **LAE4.2** được kết tinh lại trong methanol để thu được hợp chất dạng bột, không màu, ferulic acid (7,5 mg: **6**; $R_f = 0,29$, TLC, silicagel, dichloromethane/methanol 7:1).

Từ cao chiết ethyl acetate đã phân lập được 6 hợp chất gồm corosolic acid (8,8 mg, **1**), (-)-epicatechine (10,2 mg: **2**), uvaol (8,9 mg: **3**), ursolic aldehyde (7,5 mg: **4**), gallic acid (7,2 mg: **5**) và ferulic acid (7,5 mg: **6**). Dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được trình bày ở mục 3.2 (trang 24).

3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được

3.2.1. Các hợp chất triterpenoid

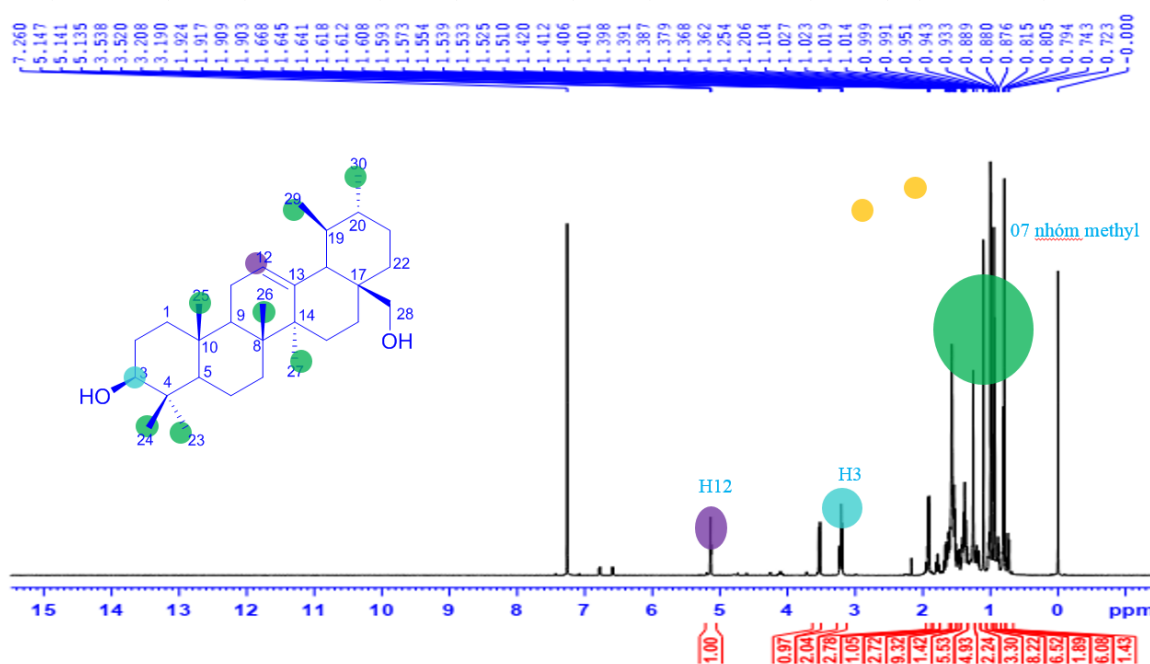
Ba hợp chất triterpenoid: corosolic acid (**1**), uvaol (**3**), ursolic aldehyde (**4**) được phân lập và nhận dạng từ cao chiết ethyl acetate Rau dừa nước. Trong đó, hợp chất uvaol (**3**) tiêu biểu cho các hợp chất khung này.

3.2.1.1. Hợp chất uvaol (**3**)

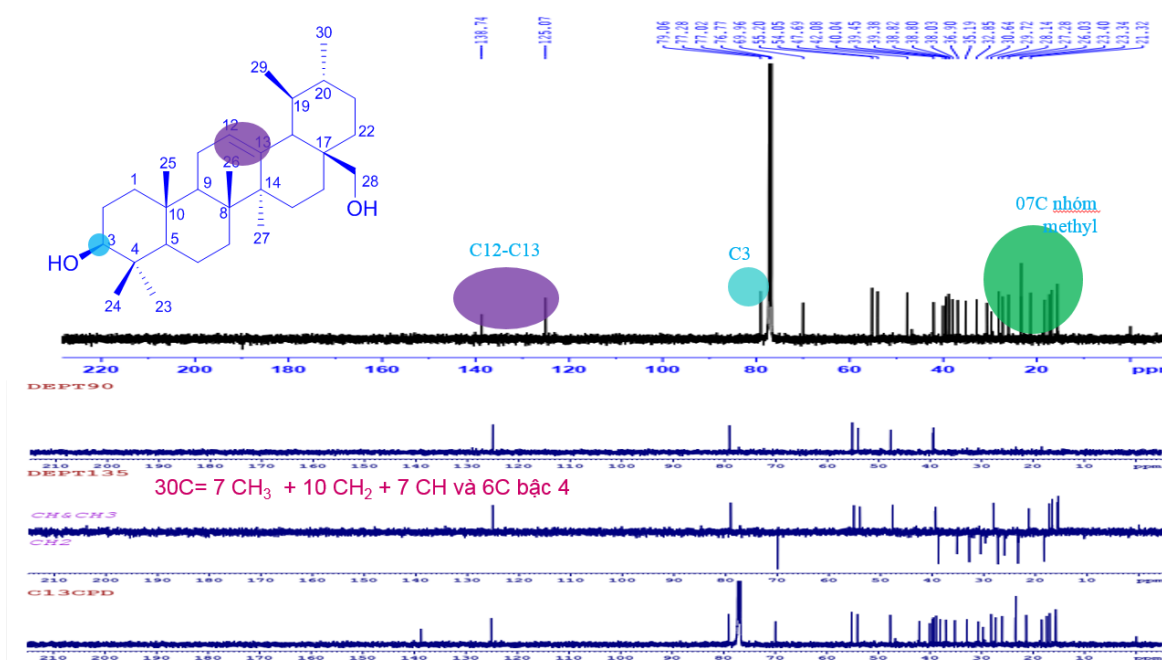
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **3** xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại δ_H 5,14 (1H, t, $J = 3,6$ Hz, H-12); một proton oxymethine tại δ_H 3,24 (1H, d, $J = 11,4$ Hz, H-3); và bảy nhóm methyl, bao gồm năm tín hiệu singlet tại δ_H 1,00 (3H, s, H-23); 0,94 (3H, s, H-24); 0,99 (3H, s, H-25); 0,93 (3H, s, H-26) và 1,10 (3H, s, H-27), cùng với hai tín hiệu doublet tại δ_H 0,82 (3H, d, $J = 4,8$ Hz, H-29); 0,95 (3H, d, $J = 4,8$ Hz, H-30). Hằng số tương tác lớn giữa H2-H3 ($J_{H-2/H-3} = 11,4$ Hz) cho thấy proton tại vị trí C-3 có định hướng axial, từ đó xác định nhóm OH tại vị trí này có cấu hình β ($3\beta\text{-OH}$) (hình 3.3).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ DEPT, HSQC và HMBC của hợp chất **3** cho thấy sự hiện diện của 30 carbon, gồm bảy carbon methine, trong đó có một carbon oxymethine tại δ_C 79,1 (C-3), một carbon olefinic methine tại δ_C 125,1 (C-12), và năm carbon methine no tại δ_C 55,2 (C-5); 47,7 (C-9); 54,4 (C-18), 39,5 (C-19), và 39,4 (C-20); mười carbon methylene tại δ_C 38,8 (C-1), 27,3 (C-

2), 18,4 (C-6), 32,9 (C-7), 23,4 (C-11), 26,0 (C-15), 23,3 (C-16), 30,6 (C-21), và 35,2 (C-22), trong đó có một nhóm oxymethylene tại δ_c 70,0 (C-28) ; và bảy nhóm methyl tại δ_c 28,1 (C-23), 15,7 (C-24), 15,6 (C-25), 16,8 (C-26), 23,3 (C-27), 17,4 (C-29), và 21,3 (C-30); sáu carbon bậc bốn tại δ_c 38,8 (C-4), 40,0 (C-8), 36,9 (C-10), 138,7 (C-13), 42,1 (C-14), và 38,0 (C-17) (hình 3.4).

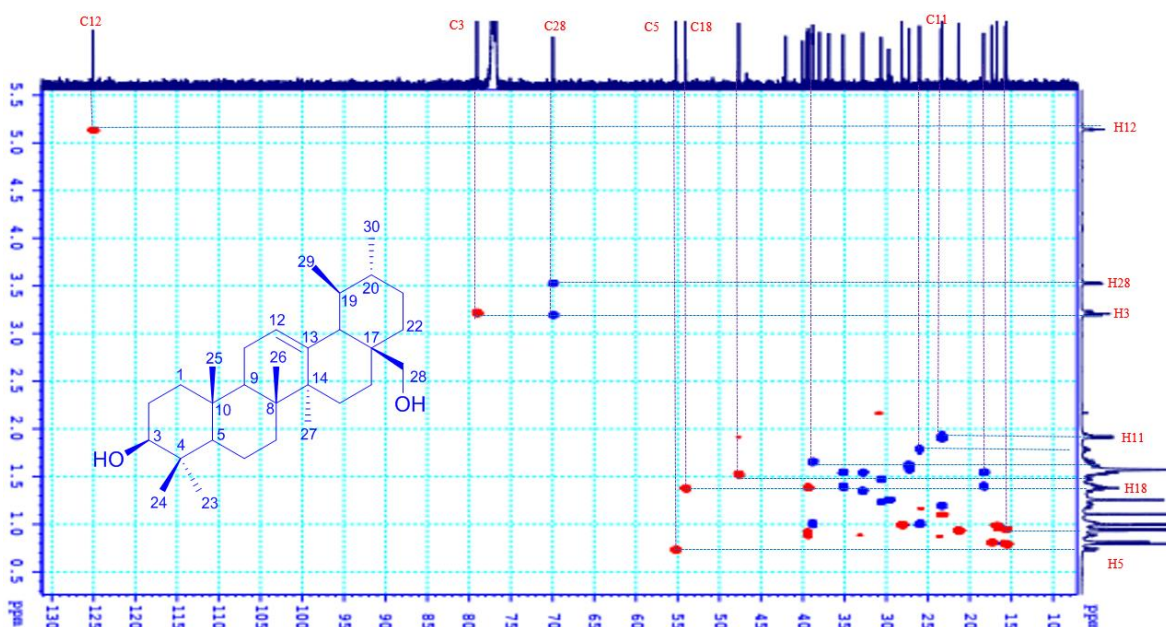


Hình 3.3. Phổ ^1H -NMR của **3**

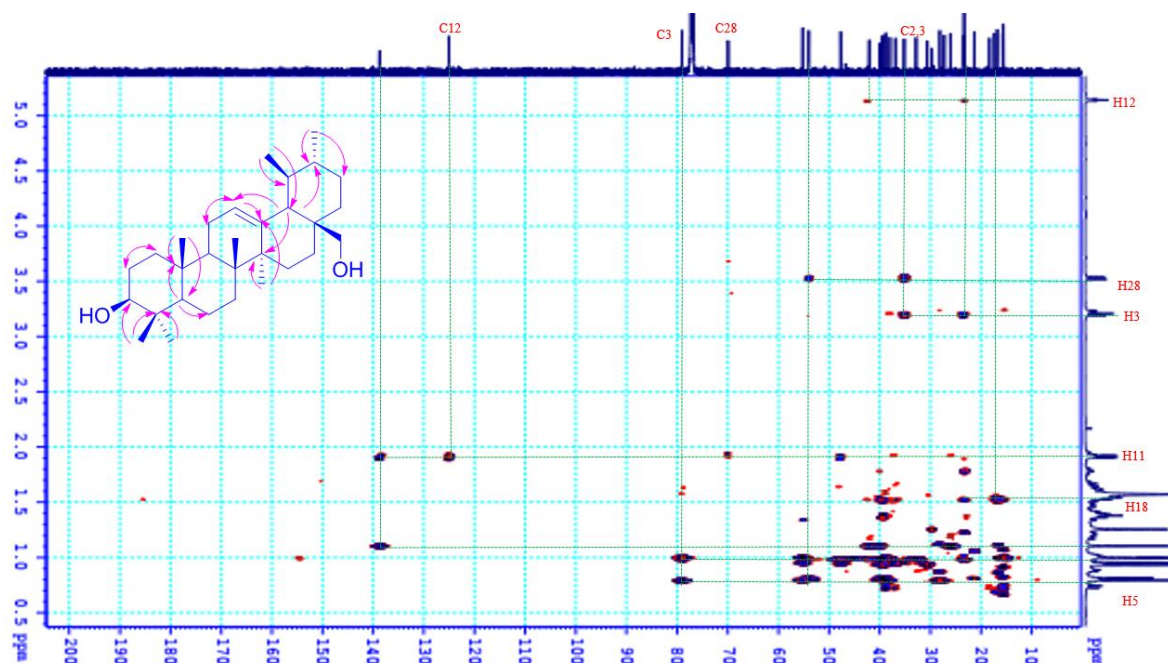


Hình 3.4. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của **3**

Phổ HSQC của **3** cho phép gán các giá trị của hydro và carbon tương ứng (hình 3.5). Trong phổ HMBC của **3** quan sát được các tương quan giữa H-3 với C-1, C-2, C-3, C-23, C-24; tương quan giữa H-12 với C-9, C-14, C-27; tương quan giữa H-18 với C-12, C-13, C-17, C-19, C-28; tương quan giữa H-23/H-24 với C-4; tương quan giữa H-25 với C-5, C-9; tương quan giữa H-26 với C-8, C-9, C-14; H-27 với C-8, C-13, C-14, C-15; H-29 với C-18, C-19, C-20; và H-30 với C-18, C-19, C-21, xác định rõ vị trí nhóm 3β -OH, nối đôi tại vị trí C-12 và vị trí 7 nhóm methyl (hình 3.6).

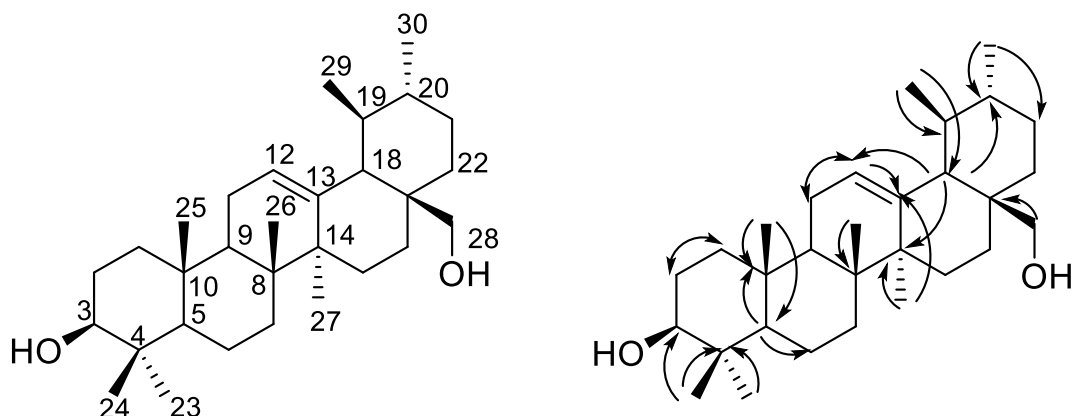


Hình 3.5. Phổ HSQC của **3**



Hình 3.6. Phổ HMBC của **3**

Phân tích những số liệu phổ thực nghiệm kết hợp với các tài liệu phổ tham khảo [32] cho phép khẳng định **3** phù hợp với hợp chất uvaol.



Hình 3.7. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của **3**

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **3** và chất tham khảo [30].

TT	3		[30]
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}
1	38,8	1,63 (1H, m) 1,00 (1H, m)	38,8
2	27,3	1,61 (1H, m) 1,57 (1H, m)	27,3
3	79,1	3,24 (1H, d, $J= 11,4$ Hz)	79,1
4	38,8	-	38,8
5	55,2	0,74 (1H, d, $J= 12,0$ Hz)	55,2
6	18,4	1,61 (1H, m) 1,39 (1H, m)	18,4
7	32,9	1,55 (1H, m) 1,34 (1H, m)	32,9
8	40,0	-	40,0
9	47,7	1,56 (1H, m)	47,7
10	36,9	-	36,9
11	23,4	1,93 (1H, m) 1,90 (1H, m)	23,4
12	125,1	5,14 (1H, t, $J= 3,6$ Hz)	125,1
13	138,7	-	138,7

14	42,1	-	42,1
15	26,0	1,91 (1H, m) 1,22 (1H, m)	26,0
16	23,3	2,02 (1H, m) 1,80 (1H, m)	23,3
17	38,0	-	38,0
18	54,1	1,38 m	54,1
19	39,5	1,62 (1H, m)	39,5
20	39,4	1,01 (1H, m)	39,4
21	30,6	1,55 (1H, m) 1,22 (1H, m)	30,6
22	35,2	1,56 (1H, m) 1,40 (1H, m)	35,2
23	28,1	1,00 (3H, s)	28,1
24	15,7	0,94 (3H, s)	15,7
25	15,6	0,99 (3H, s)	15,6
26	16,8	0,93 (3H, s)	16,8
27	23,3	1,10 (3H, s)	23,3
28	70,0	3,54 (1H, d, $J = 10,8$ Hz) 3,21 (1H, d, $J = 10,8$ Hz)	70,0
29	17,4	0,82 (3H, d, $J = 4,8$ Hz)	17,4
30	21,3	0,95 (3H, d, $J = 4,8$ Hz)	21,3

δ_C của uvarol (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) [30]

3.2.1.2. Hợp chất corosolic acid (1)

Hợp chất **1** thu được dưới dạng bột, không màu, nhiệt độ nóng chảy 250-252°C.

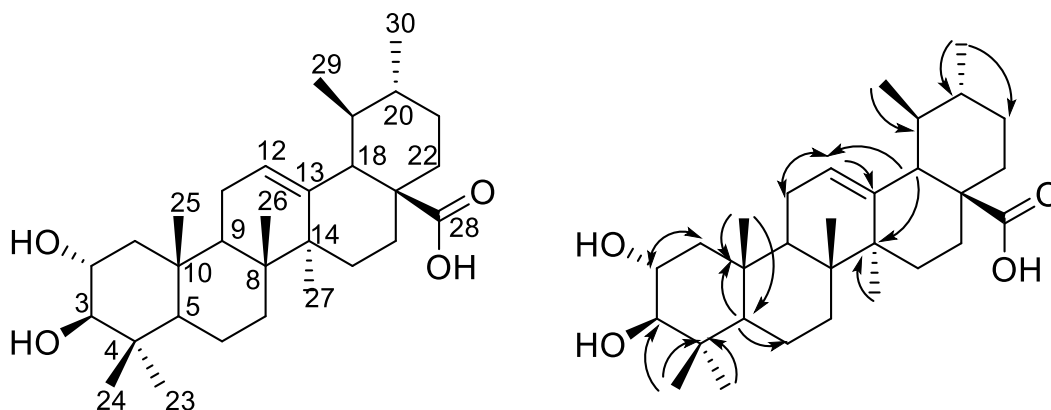
Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT, HSQC và HMBC cho thấy hợp chất **1** có 30 nguyên tử carbon, bao gồm 7 nhóm methyl, trong đó có 5 nhóm methyl bậc ba tại δ_C 28,8 (C-23); 16,9 (C-24); 16,4 (C-25); 16,9 (C-26); 23,3 (C-27) và 2 nhóm methyl bậc hai tại δ_C 21,1 (C-29) và 17,1 (C-30), 8 nhóm methylene tại δ_C 47,0 (C-1); 18,0 (C-6); 32,6 (C-7); 22,7 (C-11); 27,4 (C-15); 23,7 (C-16); 30,1 (C-21); và 36,2 (C-22), 8 nhóm methine tại δ_C 67,0 (C-2);

82,3 (C-3); 53,9 (C-5); 46,9 (C-9); 124,2 (C-12); 52,2 (C-18); 37,5 (C-19); và 38,4 (C-20) và 7 carbon bậc bốn tại δ_C 45,3 (C-4); 38,8 (C-8); 38,3 (C-10); 138,3 (C-13); 41,6 (C-14); 46,7 (C-17); và 178,1 (C-28). Trong đó, có một tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl (C=O) thuộc carboxylic acid tại δ_C 178,1 (C-28), hai tín hiệu của hai nhóm oxymethine tại δ_C 82,3 (C-3) và 67,0 (C-2) và hai tín hiệu thuộc nhóm olefin tại δ_C 124,2 (C-12) và 138,3 (C-13).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **1** quan sát được 7 tín hiệu đặc trưng của các nhóm methyl, trong đó có 5 tín hiệu dưới dạng singlet tại δ_H 0,92 (3H, s, H-23); 0,71 (3H, s H-24); 0,86 (3H, s, H-25); 0,70 (3H, s, H-26); 1,00 (3H, s, H-27); và 2 tín hiệu dưới dạng doublet tại δ_H 0,81 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-29) và 0,87 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-30). Ngoài ra, trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **1** còn cho thấy tín hiệu của 8 nhóm methine, trong đó một proton thuộc nhóm oxymethine tại δ_H 3,41 (1H, br s, H-2); và hai proton thuộc nhóm methine khác dưới dạng doublet tại δ_H 2,72 (1H, d, $J=9,5$ Hz, H-3); 2,09 (1H, d, $J=11,5$ Hz, H-18) và một proton thuộc nhóm olefin tại δ_H 5,22 (1H, d, $J=14,5$ Hz, H-12).

Phân tích sơ bộ dữ liệu phổ của **1** cho biết đây là một hợp chất triterpenoid pentacyclic khung ursane với một nhóm carboxylic acid, hai nhóm hydroxy và một liên kết đôi.

Phân tích những số liệu phổ thực nghiệm kết hợp với các tài liệu phổ thu được [31] cho phép khẳng định **1** phù hợp với hợp chất corosolic acid hay 2 α ,3 β -dihydroxy-urs-12-en-28-oic acid.



Hình 3.8. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của **1**

Bảng 3.2. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **1** và chất tham khảo [31].

TT	1		[31]
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}
1	47,0	1,89 (1H, m) 1,51 (1H, m)	46,9
2	67,0	3,41 (1H, m)	67,0
3	82,3	2,72 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)	82,1
4	45,3	-	45,3
5	53,9	0,74 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	54,2
6	18,0	1,49 (1H, m) 1,37 (1H, m)	17,9
7	32,6	1,48 (1H, m) 1,31 (1H, m)	32,5
8	38,8	-	39,9
9	46,9	0,83 (1H, m)	46,7
10	38,3	-	38,3
11	22,7	1,96 (1H, m) 1,93 (1H, m)	22,8
12	124,2	5,22 (1H, d, $J = 14,5$ Hz)	124,4
13	138,3	-	138,1
14	41,6	-	40,6
15	27,4	1,82 (1H, m) 1,09 (1H, m)	27,4
16	23,7	1,99 (1H, m) 1,90 (1H, m)	23,7
17	46,7	-	47,0
18	52,2	2,09 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	52,3
19	37,5	1,40 (1H, m)	37,5
20	38,4	0,91 (1H, m)	38,4
21	30,1	1,61 (1H, m) 1,44 (1H, m)	30,1

22	36,2	1,60 (1H, m) 1,41 (1H, m)	36,2
23	28,8	0,92 (3H, s)	28,7
24	16,9	0,71 (3H, s)	17,0
25	16,4	0,86 (3H, s)	16,3
26	16,9	0,70 (3H, s)	16,8
27	23,3	1,00 (3H, s)	22,8
28	178,1	-	178,2
29	21,0	0,87 (3H, d, $J= 6,5$ Hz)	21,0
30	17,1	0,81 (3H, d, $J= 6,5$ Hz)	16,8

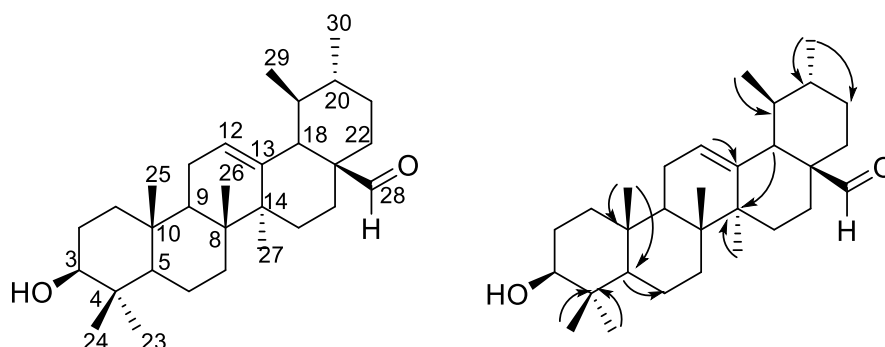
δ_C của corosolic acid (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) [31]

3.2.1.3. Hợp chất ursolic aldehyde (4)

Trên phổ ^1H -NMR của **4** cho biết tín hiệu đặc trưng của nhóm olefinic methine tại δ_{H} 5,31 (1H, t, $J= 4,0$ Hz, H-12) và oxy methine tại δ_{H} 3,21 (1H, dd, $J= 10,9$ và $4,9$ Hz, H-3). Tín hiệu proton của 7 nhóm methyl, trong đó có 5 tín hiệu dưới dạng singlet tại δ_{H} 1,09 (3H, s, H-27); 0,99 (3H, s, H-23); 0,92 (3H, s, H-26); 0,78 (3H, s, H-25) và 0,77 (3H, s, H-24) và 2 tín hiệu dưới dạng doublet tại δ_{H} 0,96 (3H, d, $J= 6,9$ Hz, H-30) và 0,87 (3H, d, $J= 6,5$ Hz, H-29).

Trên phổ ^{13}C -NMR, cho biết trong phân tử hợp chất **4** có tổng 30 nguyên tử carbon bao gồm 7 nhóm carbon không có gắn với hidro tại δ_{C} 38,8 (C-4); 38,9 (C-8); 37,0 (C-10); 137,8 (C-13); 42,2 (C-14); 50,2 (C-17) và 207,8 (C-28); trong đó có một tín hiệu đặc trưng của nhóm aldehyde tại δ_{C} 207,8 (C-28) và một nhóm olefinic bậc 4 tại δ_{C} 137,8. Tín hiệu của bảy carbon nhóm methine, trong đó có một carbon oxymethine tại δ_{C} 79,1 (C-3), một carbon olefinic methine tại δ_{C} 126,3 (C-12), và năm carbon methine no tại δ_{C} 55,3 (C-5); 47,6 (C-9); 52,7 (C-18); 39,9 (C-19); và 39,0 (C-20), chín carbon methylene tại δ_{C} 38,8 (C-1); 28,2 (C-2); 18,3 (C-6); 33,2 (C-7); 23,4 (C-11); 27,3 (C-15); 26,9 (C-16); 30,2 (C-21); 31,9 (C-22) và 7 nhóm methyl tại δ_{C} 29,7 (C-23); 15,6 (C-24); 15,5 (C-25); 17,2 (C-26); 23,3 (C-27); 16,7 (C-29); 21,1 (C-30). Kết quả phân tích sơ bộ dữ liệu phổ của **4** cho biết đây là một hợp chất teriterpenoid pentacyclic khung ursane với một nhóm aldehyde, một nhóm hydroxy và một liên kết đôi.

Phân tích những số liệu phổ thực nghiệm kết hợp với các tài liệu phổ tham khảo [32] khẳng định **4** là 3 β -hydroxyurs-12-en-28-al hay ursolic aldehyde.



Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của **4**

Bảng 3.3. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **4** và chất tham khảo [32].

TT	4		[32]
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}
1	38,8	1,79 (1H, m) 1,66 (1H, m)	38,9
2	28,2	1,63 (1H, m) 1,58 (1H, m)	28,4
3	79,1	3,21 (1H, dd, J = 10,9 và 4,9 Hz)	79,2
4	38,8	-	39,0
5	55,3	0,7 (1H, dd, J = 11,5 và 1,3 Hz)	55,4
6	18,3	1,99 (1H, m) 1,98 (1H, m)	18,5
7	33,2	1,61 (1H, m) 1,34 (1H, m)	33,3
8	38,9	-	39,0
9	47,6	1,65 (1H, m)	47,8
10	38,0	-	37,2
11	23,4	1,98 (1H, m) 1,90 (1H, m)	23,5
12	126,6	5,31 (1H, t, J = 3,7 Hz)	126,4
13	137,8	-	138,0

14	42,2	-	42,4
15	27,3	2,03 (1H, m) 1,52 (1H, m)	27,4
16	26,9	2,08 (1H, m) 1,86 (1H, m)	27,1
17	50,2	-	50,4
18	52,8	2,65 (1H, d, $J= 11,4$ Hz)	52,8
19	39,9	1,38 (1H, m)	40,0
20	39,0	0,90 (1H, m)	39,2
21	30,2	1,59 (1H, m) 1,33 (1H, m)	30,4
22	31,9	1,58 (1H, m) 1,42 (1H, m)	32,1
23	29,7	0,99 (3H, s)	29,9
24	16,7	0,77 (3H, s)	16,9
25	15,5	0,78 (3H, s)	15,7
26	17,3	0,92 (3H, s)	17,4
27	22,7	1,09 (3H, s)	22,5
28	207,4	9,32 (1H, d, $J= 1,2$ Hz)	207,7
29	15,6	0,87 (3H, $J= 6,5$ Hz)	15,8
30	21,1	0,96 (3H, d, $J= 6,9$ Hz)	21,3

δ_C của ursolic aldehyde (1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, $CDCl_3$) [32]

3.2.2. Hợp chất flavonoid: (-)-epicatechine (2)

Hợp chất **2** thu được dưới dạng chất bột, màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 239-241°C; $[\alpha]^{15}_D$ -56,9 (c 0,31 g/ml, MeOH, 590 nm);

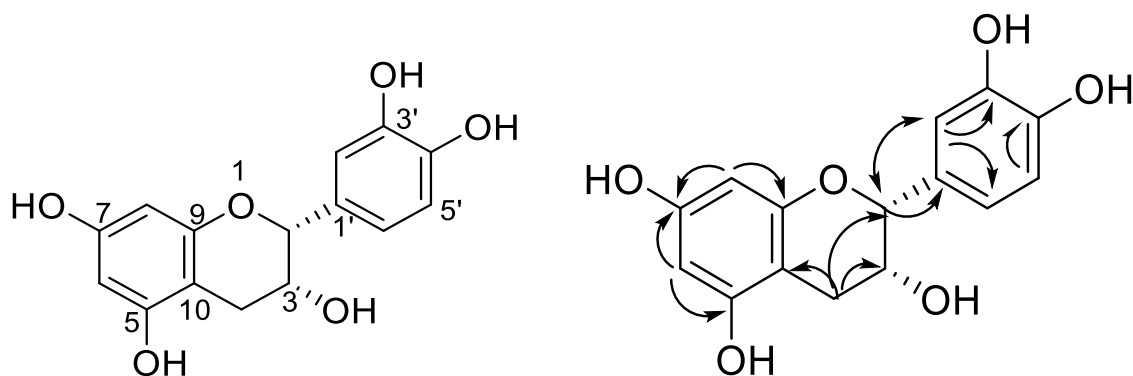
Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT của **2** xuất hiện 15 tín hiệu carbon, bao gồm một nhóm methylene tại δ_C 29,3 (C-4), bảy nhóm methine tại δ_C 82,9 (C-2); 68,1 (C-3); 96,5 (C-6); 95,4 (C-8); 115,8 (C-2'); 116,2 (C-5') và 119,5 (C-6') và bảy carbon bậc bốn tại δ_C 157,1 (C-5); 158,1 (C-7); 158,5 (C-9); 100,8 (C-10); 132,0 (C-1'); 146,9 (C-3') và 146,8 (C-4').

Phổ 1H -NMR của **2** quan sát được tín hiệu của một nhóm methylene tại δ_H 2,88 (1H, dd, $J= 4,5$ và 16,5 Hz, H-4a) và 2,75 (1H, dd, $J= 2,0$ và 16,5 Hz,

H4b) và bảy nhóm methine tại δ_H 4,18 (1H, m, H-2); 3,31 (1H, m, H-3); 5,94 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-6); 5,92 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-8); 6,98 (1H, d, $J=2,5$ Hz, H-2'); 6,77 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H-5') và 6,80 (1H, dd, $J=2,5$ và $8,5$ Hz, H-6'). Các tín hiệu đặc trưng của các proton thơm trên vòng B thuộc kiểu ABX. Do đó, cấu trúc cơ bản của hợp chất này được suy luận là 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavan.

Cấu hình lập thể tại vị trí C-2 và C-3 được xác định dựa vào giá trị của góc quay cực. Dữ liệu góc quay cực của **2** thu được trong dung môi methanol có giá trị âm, cho thấy các proton H-2 và H-3 có định hướng β . Do đó, hợp chất **2** được xác định là (-)-epicatechin. Các dữ liệu lý hóa và phổ của hợp chất này phù hợp với những báo cáo trước đó [33,34].

Hợp chất (-)-epicatechin được phân lập lần đầu tiên từ lá của cây *Amaranthus cruentus* (thuộc họ Amaranthaceae). Tuy nhiên, hợp chất này đã từng được phân lập từ lá và gỗ của *Acacia catechu*, vỏ táo, nhân xoài và vỏ lê. (-)-epicatechin được biết đến với khả năng tăng cường sức bền vận động ở chuột, và ca cao giàu epicatechin giúp cải thiện cấu trúc cơ vân ở bệnh nhân suy tim. Do đó, nó có thể mang lại tiềm năng trong điều trị bệnh teo cơ do tuổi tác. Hợp chất này cũng đã được báo cáo có hoạt tính chống oxy hóa, khả năng ức chế *Listeria* tốt ở nồng độ $IC_{50} > 200 \mu\text{g}/\text{mg}$, và hoạt tính kháng khuẩn ở $MIC > 500 \mu\text{g}/\text{ml}$. (-)-epicatechin là một trong những flavonoid phong phú nhất trong tự nhiên. Biên độ an toàn cao của (-)-epicatechin đã góp phần vào thành công trong điều trị tiểu đường và ung thư, mặc dù cơ chế tác dụng cụ thể của nó trong hai bệnh lý này vẫn đang tiếp tục được nghiên cứu [35,36]. Cấu trúc hóa học của hai như hình 3.10.



Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của **2**

Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **2** và tham khảo [33]

STT	2		[33]
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (mult., J Hz)	$\# \delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	79,9	4,18 (1H, m)	79,9
3	67,5	3,31 (1H, m)	67,5
4	29,2	2,88 (1H, dd, $J= 4,5$ và $16,5$ Hz) 2,75 (1H, dd, $J= 2,0$ và $16,5$ Hz)	29,3
5	158,0	-	157,4
6	96,4	5,94 (1H, d, $J= 2,0$ Hz)	96,4
7	157,7	-	157,9
8	95,9	5,92 (1H, d, $J= 2,0$ Hz)	95,9
9	157,4	-	157,7
10	100,1	-	100,1
1'	132,3	-	132,3
2'	115,9	6,98 (1H, d, $J= 2,5$ Hz)	115,3
3'	145,8	-	145,8
4'	145,9	-	145,7
5'	115,3	6,77 (1H, d, $J= 8,5$ Hz)	115,9
6'	119,4	6,80 (1H, dd, $J= 2,5$ và $8,5$ Hz)	119,4

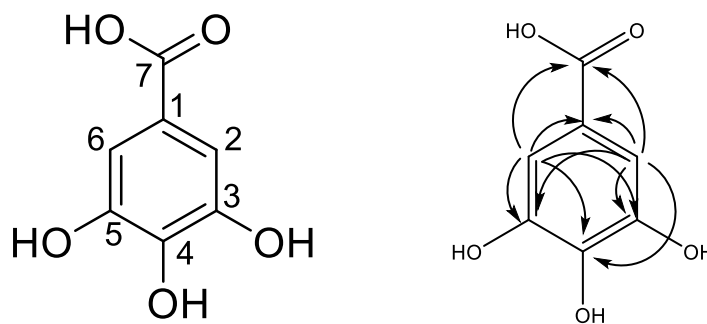
$\# \delta_{\text{C}}$ của (-)-epicatechine (^1H : 100 MHz, ^{13}C : 400 MHz, CD_3OD) [33]

3.2.3. Các hợp chất phenolic đơn giản

3.2.3.1. Hợp chất gallic acid (5)

Phổ ^1H -NMR của hợp chất **5** xuất hiện duy nhất tín hiệu proton dưới dạng singlet tại δ_{H} 7,20 (2H, s, H-2 và H-6) của vòng thơm, cho thấy hợp chất này có một vòng thơm với 4 vị trí thế đối xứng.

Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của hợp chất **5** cho biết tín hiệu của nhóm methine tại δ_{C} 110,1 (C-2 và C-6), tín hiệu của cacbon bậc bốn tại δ_{C} 146,0 (C-3 và C-5) với cường độ gấp đôi so với các tín hiệu cộng hưởng khác, điều này chứng minh rằng hợp chất **5** có một vòng thơm bị thế ở bốn vị trí đối xứng. Ngoài ra, tín hiệu của nhóm thế carbonyl tại δ_{C} 170,6 ppm. Dựa trên việc phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất **5**, kết hợp với việc so sánh với tài liệu tham khảo [37], hợp chất **5** chính là gallic acid.



Hình 3.11. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H $\rightarrow$ C) chính của **5**

Bảng 3.5. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **5** và chất tham khảo [37]

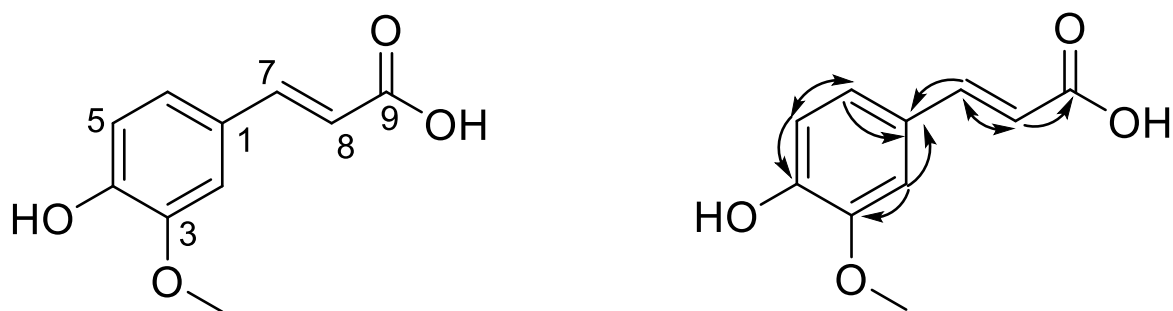
TT	5		[37]
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}
1	121,2	-	121,0
2	110,1	7,20 (1H, s)	109,0
3	146,0	-	145,9
4	138,8	-	138,3
5	146,0	-	145,9
6	110,1	7,20 (1H, s)	109,0
7	170,6	-	169,0

δ_{C} của galic acid (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75.46 MHz, DMSO- d_6) [37]

3.2.3.2. Hợp chất ferulic acid (**6**)

Phổ ^1H NMR của hợp chất **6** cho thấy tín hiệu của ba proton trong một vòng thơm thuộc hệ ABX với các tín hiệu đặc trưng tại δ_{H} 7,06 (1H, s, H-2), 6,94 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-5) và 7,11 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-6), cùng với hai proton của một liên kết đôi có cấu hình *trans* tại δ_{H} 7,73 (1H, d, J = 16,2 Hz, H-7) và 6,31 (1H, d, J = 16,2 Hz, H-8). Ngoài ra, còn có một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,94 (3H, s, 3-OCH₃).

Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **6** cho tín hiệu của 10 carbon, bao gồm một nhóm methoxy tại δ_{C} 56,0 (3-OCH₃), năm carbon thuộc nhóm methine tại δ_{C} 109,5 (C-2), 114,4 (C-5), 123,5 (C-6), 146,8 (C-7), và 114,8 (C-8). Bên cạnh đó, có ba carbon không gắn với hydro tại δ_{C} 126,9 (C-1), 147,0 (C-3), và 148,4 (C-4), cùng với một carbon của nhóm carboxyl tại δ_{C} 171,0 (C-9). Dựa vào việc kết hợp các dữ liệu phổ và so sánh với những số liệu đã công bố [38] của hợp chất ferulic acid, cấu trúc của hợp chất **6** được xác định là ferulic acid.



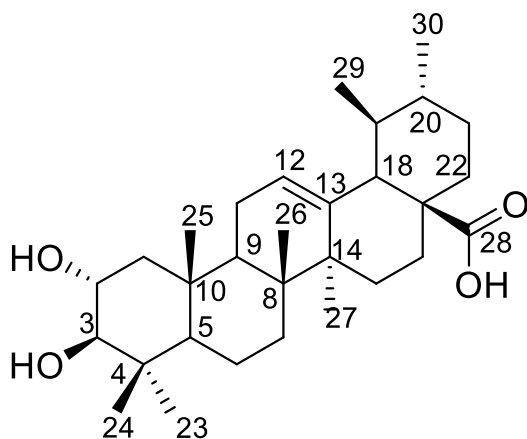
Hình 3.12. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) chính của **6**

Bảng 3.6. Dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **6** và chất tham khảo [38]

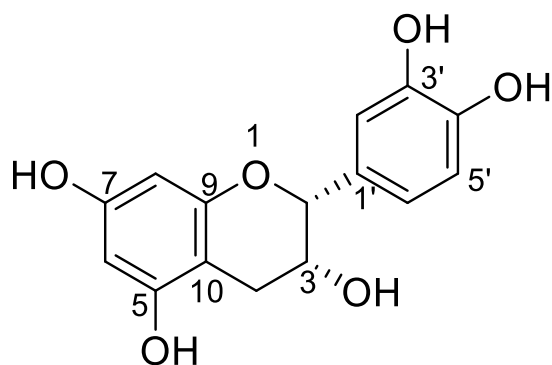
TT	6		[38]
	δ_{C}	δ_{H} (mult., J Hz)	# δ_{C}
1	126,9	-	127,9
2	109,5	7,06 (1H, s)	111,7
3	147,0	-	149,3
4	148,4	-	150,4
5	114,4	6,94 (1H, d, $J= 8,4$ Hz)	116,3
6	123,5	7,11 (1H, d, $J= 8,4$ Hz)	123,4
7	146,8	7,73 (1H, d, $J= 16,2$ Hz)	146,6
8	114,8	6,31 (1H, d, $J= 16,2$ Hz)	116,4
9	171,0	-	171,1
3-OCH ₃	56,0	3,94 (3H, s)	56,4

δ_{C} của ferulic acid (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CD_3OD) [38]

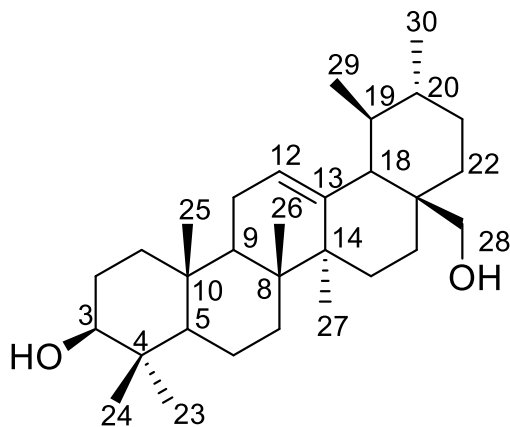
Từ cao chiết ethyl acetate đã phân lập được 6 hợp chất gồm corosolic acid (1), (-)-epicatechine (2), uvaol (3), ursolic aldehyde (4), gallic acid (5) và ferulic acid (6).



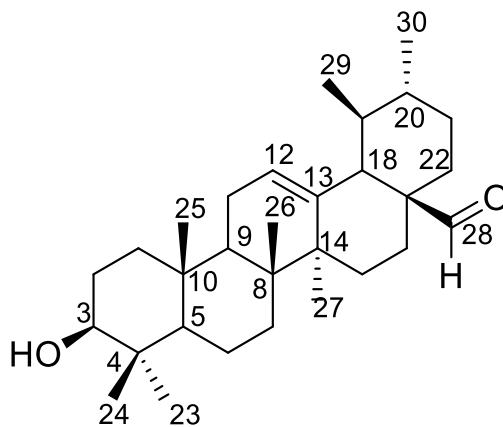
corosolic acid (1)



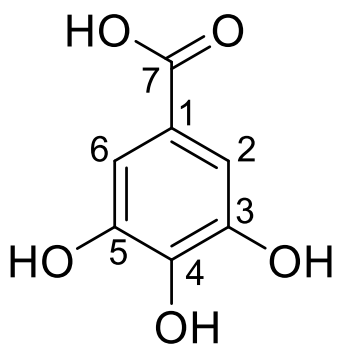
(-)-epicatechine (2)



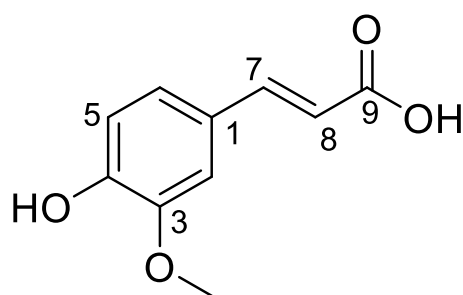
uvaol (3)



ursolic aldehyde (4)



gallic acid (5)



ferulic acid (6)

Hình 3.13. Các hợp chất phân lập được từ Rau dừa nước

3.3. Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất sạch

Hoạt tính ức chế sinh ra NO trên đại thực bào RAW 264.7 *in vitro* của các cao chiết: ethanol (**LA**), ethyl acetate (**LAE**) và nước (**LAW**) và các hợp chất sạch: corosolic acid (**1**), (-)-epicatechine (**2**), uvaol (**3**), 23-hydroxyl ursolic acid (**4**), gallic acid (**5**) và ferulic acid (**6**) từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) được thể hiện như bảng 3.6.

Bảng 3.7. Kết quả hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết và chất sạch

Mẫu	Nồng độ thử nghiệm cao nhất ($\mu\text{g/ml}$)	Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%)	IC ₅₀
Đối chứng (-)	-	100,00 $\pm$ 2,8	-
Đối chứng (+) [Cardamonin]		81,32 $\pm$ 1,5	2,89 μM
LPS	-	0,00 $\pm$ 2,0	-
LA	256	55,09 $\pm$ 2,1	55,88 $\mu\text{g/ml}$
LAE	256	61,57 $\pm$ 1,2	32,09 $\mu\text{g/ml}$
LAW	256	40,08 $\pm$ 2,2	-
1	256	42,43 $\pm$ 1,8	-
2	256	36,21 $\pm$ 1,3	-
3	256	50,85 $\pm$ 2,4	89,65 μM
4	256	39,65 $\pm$ 1,0	-
5	256	66,98 $\pm$ 1,5	23,52 μM
6	256	69,76 $\pm$ 2,6	20,66 μM

Kết quả thu được, đối với các cao chiết, cao ethyl acetate (**LAE**) và cao tổng ethanol (**LA**) thể hiện hoạt tính kháng viêm *in vitro* tốt với giá trị IC₅₀ lần lượt là 32,09 và 55,88 $\mu\text{g/ml}$. Trong số các hợp chất sạch, hợp chất **5** và **6** biểu hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 23,52 và 20,66 μM . Cao chiết và các hợp chất sạch còn lại hầu như không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm cao nhất là 256 $\mu\text{g/ml}$.

Chi *Ludwigia* đã được sử dụng trong y học dân gian để điều trị các bệnh liên quan đến viêm. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh hoạt tính kháng viêm của chi này. Loài *L. octovalvis* và *L. perennis* chứa các hợp chất phenolic (flavonoid, tannin, dẫn xuất phenolic acid) có khả năng ức chế sản xuất TNF- α , IL-6 và IL-1 β , giảm hoạt hóa NF- κ B và MAPK, từ đó ngăn chặn quá trình viêm. Dịch chiết ethanol và nước lá loài *L. octovalvis* thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh trên mô hình chuột bị phù chân do carrageenan. Dịch chiết ethanol của *L. perennis* ức chế đáng kể TNF- α và IL-6 trong tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS. Dịch chiết methanol của thân *L. adscendens* giảm viêm trong mô hình viêm khớp ở chuột [40-43].

Ngoài ra, hợp chất gallic acid (**5**) là một hợp chất phenolic tự nhiên có hoạt tính kháng viêm đã được nghiên cứu trong nhiều công trình khoa học. Gallic acid ức chế NF- κ B (Nuclear Factor-kappa B), một yếu tố phiên mã quan trọng trong quá trình viêm, làm giảm biểu hiện của các cytokine tiền viêm như TNF- α , IL-6 và IL-1 β . Điều chỉnh con đường MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), giúp giảm sản xuất các chất trung gian gây viêm. Ức chế các enzyme như cyclooxygenase (COX-2) và lipoxygenase (LOX), làm giảm tổng hợp prostaglandin và leukotriene – các chất gây viêm. Nghiên cứu *in vivo* trên động vật cho thấy gallic acid làm giảm phù nề, xung huyết và thâm nhiễm tế bào viêm trong các mô hình viêm cấp tính và mãn tính [44-48]. Ferulic acid (**6**) còn được tìm thấy trong thành tế bào của nhiều loại ngũ cốc, trái cây và rau quả. Nó có hoạt tính kháng viêm mạnh thông qua ức chế các cytokine gây viêm như giảm sản xuất TNF- α , IL-6, IL-1 β và các chất trung gian gây viêm khác và ức chế NF- κ B và MAPK, hai con đường truyền tín hiệu quan trọng trong phản ứng viêm. Ferulic acid có khả năng chống oxy hóa mạnh, giúp trung hòa gốc tự do (ROS), từ đó giảm tổn thương tế bào do viêm mãn tính. Ức chế COX-2 và iNOS (inducible nitric oxide synthase), làm giảm sản xuất prostaglandin và nitric oxide (NO). Nghiên cứu trên động vật cho thấy ferulic

acid làm giảm phù nề, xung huyết và thâm nhiễm bạch cầu trong các mô hình viêm cấp và mãn tính [49-52].

KẾT LUẬN

1. Từ cao ethyl acetate phần trên mặt đất của Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học 6 hợp chất, gồm triterpenoid: corosolic acid (1), uvaol (3) và ursolic aldehyde (4), 1 hợp chất flavonoid: (-)-epicatechine (2) và 2 hợp chất phenolic: gallic acid (5) và ferulic acid (6).

2. Các cao chiết và các hợp chất sạch phân lập được từ Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) được đánh giá hoạt tính kháng viêm qua ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 *in vitro*. Trong đó, cao ethyl acetate (LAE) và hợp chất ferulic acid (6) thể hiện khả năng ức chế sản sinh NO tốt nhất với giá trị IC_{50} lần lượt 32,09 $\mu\text{g/ml}$ và 20,66 μM .

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu sâu hơn, bổ sung và hoàn thiện về phân lập các hợp chất của các phân đoạn còn lại và đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro*, *in vivo*, độc tính cấp, bán trường diễn,... của Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens*) ở Việt Nam

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Hương, Hà Minh Tâm, Đỗ Thị Xuyên. (2014). Đặc điểm phân loại chi Rau dền nước (*Ludwigia* L.) ở Việt Nam. *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 5*, 106-108.
2. Nguyễn Tiến Bân. (2003). *Danh lục các loài thực vật Việt Nam* (Tập 2, tr. 933-934). Nhà xuất bản Nông nghiệp.
3. Võ Văn Chi. (2003). *Từ điển thực vật thông dụng* (Tập 1, tr. 1609-1612). Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
4. Phạm Hoàng Hộ. (2000). *Cây cỏ Việt Nam* (Tập 2, tr. 67-69). Nhà xuất bản Trẻ.
5. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm và cộng sự. (2006). *Cây Thuốc và động vật làm thuốc*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
6. Florence Déclaire Mabou, Perrin Lanversin Foning Tebou, David Ngnokam, Dominique Harakat và Laurence Voutquenne-Nazabadioko. (2014). "Leptocarposide: a new triterpenoid glycoside from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae)." *Magnetic Resonance in Chemistry*, 52(1-2), 32-36.
7. Florence Déclaire Maboua, David Ngnokama, Dominique Harakat, Laurence Voutquenne-nazabadioko. (2015). "New oleanane-type saponins: Leptocarposide B-D, from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae)." *Phytochemistry Letters*, 14, 159-164.
8. Apurba Kumar Barman, Arabindu Kha, Kishore Kumar Sarkar, Shrabanti Dev, Asish Kumar Das và Nripendra Nath Biswas. (2018). "Antioxidant, Antibacterial and Toxicity Studies of Aerial Parts of *Ludwigia adscendens* L." *Khulna University Studies*, 15(1-2), 23-36.
9. Dulce Morales, Guillermo Ramirez, Armando Herrera-Arellano, Jaime Tortoriello, Miguel Zavala, và Alejandro Zamilpa. (2018). "Identification of Digestive Enzyme Inhibitors from *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) P.H.Raven." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1-11.

10. Jinyan Zhang, Chang Liu, Jianhua Wei, Bing Li, Xin Zhan, Yunqing Li, Ji Hao, Rumei Lu và Xinzhou Yang. (2019). "Cytotoxic Compounds from *Ludwigia hyssopifolia*." *Natural Product Communications*, 14(9), 1-8.
11. Jinyan Zhang, Chang Liu, Yibing Lv, Jianhua Wei, Bing Li, Guangfeng Liao, Rumei Lu & Xinzhou Yang. (2020). "A pair of new isocoumarin enantiomers of *Ludwigia hyssopifolia*." *Natural Product Research*, 36(7), 1749-1756.
12. Pallerla Praneetha, Yellu Narsimha Reddy, Bobbala Ravi Kumar. (2018). "In vitro and In vivo hepatoprotective studies on methanolic extract of aerial parts of *Ludwigia hyssopifolia* G. Don Exell." *Pharmacognosy Magazine*, 14(59), 546.
13. Enas M. Shawky, Mohamed R. Elgindi, Haitham A. Ibrahim, Mostafa H. Baky. (2021). "The potential and outgoing trends in traditional, phytochemical, economical, and ethnopharmacological importance of family Onagraceae: A comprehensive review." *Journal of Ethnopharmacology*, 281, 114450.
14. Mostafa H. Baky, Enas M. Shawky, Mohamed R. Elgindi, Haitham A. Ibrahim. (2021). "Comparative Volatile Profiling of *Ludwigia stolonifera* Aerial Parts and Roots Using VSE-GC-MS/MS and Screening of Antioxidant and Metal Chelation Activities." *ACS Omega*, 6(38), 24788–24794.
15. Furtado N.A.J.C., Pirson L., Edelberg H., Miranda L.M., Loira-Pastoriza C., Preat V., et al. (2017). "Triterpene Bioavailability: An Overview of In Vitro and In Vivo Studies." *Molecules*, 22, 400.
16. Apurba Kumar Barman, Arabindu Kha, Kishore Kumar Sarkar, Shrabanti Dev, Asish Kumar Das và Nripendra Nath Biswas. (2018). "Antioxidant, Antibacterial and Toxicity Studies of Aerial Parts of *Ludwigia adscendens* L." *Khulna University Studies*, 15(1-2), 23-36.
17. Van Tien Dung, Huynh Nguyen Van Anh, Pham Van Ngot và Dang Thi Ngoc Thanh. (2021). "Morphology, microscopic anatomy and bacterial inhibition of extracts of *Ludwigia adscendens* (L.) H. Hara plants growing in Lang Sen Wetland Reserve, Long An province, Vietnam." *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 17(03), 160-170.

- 18.Chang Chi-I và Kuo Yueh-Hsiung. (2007). "Oleanane-type triterpenes from *Ludwigia octovalvis*." *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(1), 67-72.
- 19.Haidar Kadum Yakob, Abd. Manaf Uyub, Shaida Fariza Sulaiman. (2012). "Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) P.H. Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice." *Journal of Ethnopharmacology*, 142(3), 663-668.
- 20.Arlette Meli Sonkoue, Irene Chinda Kengne, Stephen Tamekou Lacmata, Claudia Darille Jouogo Ngnokam, Mahamat Djamalladine Djamalladine, Laurence Voutquenne-Nazabadioko, David Ngnokam, và Jean-de-Dieu Tamokou. (2023). "Triterpene and Steroids from *Ludwigia abyssinica* A. Rich (Onagraceae) Displayed Antimicrobial Activities and Synergistic Effects with Conventional Antibiotics." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023, 1-8.
- 21.Banibrata Das, Juthika Kundu, Sitesh Chandra Bachar, Mohammad Aftab Uddin và Joydeb Kumar Kundu. (2007). "Antitumor and Antibacterial Activity of Ethylacetate Extract of *Ludwigia hyssopifolia* Linn and Its Active Principle Piperine." *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(2), 128-131.
- 22.Ayinampudi Sridhar Rao, Ramchander Merugu, Thirupathaiah Atthapu. (2013). "A New Triterpene from *Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Exell." *International Journal of ChemTech Research*, 5(1), 342-346.
- 23.Chang Chi-I, Kuo Ching-Chuan, Jang-Yang Chang, Yueh-Hsiung Kuo. (2004). "Three New Oleanane-Type Triterpenes from *Ludwigia octovalvis* with Cytotoxic Activity against Two Human Cancer Cell Lines." *Journal of Natural Products*, 67(1), 91.
- 24.Florence Déclaire Mabou, Jean-de-Dieu Tamokou, David Ngnokam, Laurence Voutquenne-Nazabadioko, Jules-Roger Kuate, Prasanta Kumar Bag. (2016). "Complex secondary metabolites from *Ludwigia leptocarpa* with potent antibacterial and antioxidant activities." *Drug Discoveries & Therapeutics*, 10(3), 141-149.
- 25.Huỳnh Kim Diệu và Lê Thị Loan Em. (2011). "Sự Thuần chủng và Hoạt tính Kháng khuẩn của cây Sỏi đời (*Kalanchoe pinnata*) và cây Rau mưng

- (*Ludwigia hyssopifolia*) ở Đồng bằng sông Cửu long." *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, 17, 289-296.
26. Nguyen Thi Thu Tram, Huynh Thi Thanh Thuy, Pham Thanh Trong, Phan Hoang Duy, Nguyen Manh Cuong. (2020). "Investigation of Anti-Helicobacter Pylori Activity and Chemical Constituents of *Ludwigia hyssopifolia* Aerial Parts." *Vietnam Journal of Science and Technology*, 58(6A), 35-40.
 27. Van Tien Dung, Huynh Nguyen Van Anh, Pham Van Ngot và Dang Thi Ngoc Thanh. (2021). "Morphology, microscopic anatomy and bacterial inhibition of extracts of *Ludwigia adscendens* (L.) H. Hara plants growing in Lang Sen Wetland Reserve, Long An province, Vietnam." *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 17(03), 160-170.
 28. Nguyễn Kim Phi Phụng. (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất tự nhiên*. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
 29. John E. Averett, Elsa M. Zardini, Peter C. Hoch. (1990). "Flavonoid systematics of ten sections of *Ludwigia* (Onagraceae)." *Biochemical Systematics and Ecology*, 18(7-8), 529.
 30. Luna-Vazquez, Francisco & Ibarra Alvarado, César & Rojas-Molina, Alejandra & Romo-Mancillas, Antonio & López-Vallejo, Fabián & Solís-Gutiérrez, Mariana & Rojas-Molina, I. & Rivero-Cruz, J.. (2016). "Role of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in the Vasodilator Effect of Ursolic Acid and Uvaol from Black Cherry *Prunus serotina* Fruits." *Molecules*, 21(1), 78.
 31. Wei Zong và Guangyuan Zhao. (2007). "Corosolic acid isolation from the leaves of *Eriobotrya japonica* showing the effects on carbohydrate metabolism and differentiation of 3T3-L1 adipocytes." *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(Suppl 1), 346-352.
 32. Wondwonsen A. Matebiel, Wanchang Zhang, Shuo Zhang và Guangbo Xie. (2019). "Triterpenoids from *Acokanthera schimperi* in Ethiopia." *Records of Natural Products*, 13(3), 182-188.
 33. de Moura, P.H.B.; Brandt, W.; Porzel, A.; Martins, R.C.C.; Leal, I.C.R.; Wessjohann, L.A. (2022). "Structural Elucidation of an Atropisomeric Entcassiflavan-(4 β →8)-Epicatechin Isolated from *Dalbergia*

- monetaria* L.f. Based on NMR and ECD Calculations in Comparison to Experimental Data." *Molecules*, 27, 2512.
34. Yasuyoshi O, Hiroyasu W, Shozo K. (1960). "On the mechanism of metabolism of (-)-Epicatechin." *Agricultural and Biological Chemistry*, 24(5), 497-500.
 35. Akiko Takagaki, Fumio Nanjo. (2013). "Catabolism of (+)-Catechin and (-)-Epicatechin by Rat Intestinal Microbiota." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4927-4935.
 36. Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò SM. (2017). "Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*." *Trends in Parasitology*, 33(7), 561-576.
 37. Izu, G.O.; Mapasa, N.P.; Namboozee, J.; Chukwuma, M.S.; Njoya, E.M.; Tabakam, G.T.; Bonnet, S.L.; Makhafola, T.J.; Mashele, S.S.; Chukwuma, C.I. (2024). "Epicatechin Isolated from *Litchi chinensis* Sonn. (Litchi) Fruit Peel Ethyl Acetate Extract Modulated Glucose Uptake in Chang Cells and Suppressed ROS Production in RAW 264.7 Macrophages." *Antioxidants*, 13(11), 1233.
 38. López-Martínez, Luis & Santacruz, Hisila & Navarro, Rosa & Sotelo-Mundo, Rogerio & Aguilar, Gustavo. (2015). "A ¹H NMR Investigation of the Interaction between Phenolic Acids Found in Mango (*Mangifera indica* cv Ataulfo) and Papaya (*Carica papaya* cv Maradol) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Free Radicals." *PLOS ONE*, 10(10), e0140242.
 39. Jain, Pankaj & Surana, Sanjay. (2016). "Isolation, characterization and hypolipidemic activity of ferulic acid in high-fat-diet-induced hyperlipidemia in laboratory rats." *EXCLI Journal*, 15, 599-613.
 40. Abdelhady, M. I. S., Badr, A. N., Ali, M. A., & Al-Mahdy, D. A. (2021). "Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Ludwigia octovalvis* extract in LPS-stimulated macrophages." *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113387.
 41. Chen, Y., Huang, Y., Lin, C., & Chen, J. (2019). "Evaluation of the anti-inflammatory effects of *Ludwigia perennis* L. *in vitro* and *in vivo*." *Phytomedicine*, 57, 18–25.

42. Hossain, M. A., Al-Raqmi, K. A. S., Al-Mijizy, Z. H., & Weli, A. M. (2013). "Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of *Ludwigia adscendens*." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9), 705–710.
43. Prasad, S., Kashyap, R. S., Deopujari, J. Y., Purohit, H. J., Taori, G. M., & Daginawala, H. F. (2007). "Effect of *Ludwigia octovalvis* on experimental inflammation in rats." *Indian Journal of Pharmacology*, 39(6), 271–274.
44. Zakaria, Z. A., Sufian, A. S., Ramlan, N. S., Hussain, M. K., & Imam, M. U. (2012). "Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Raven." *Journal of Ethnopharmacology*, 144(3), 463–468.
45. Chu, Q., Jiang, L., Wei, X., Huang, X., & She, X. (2013). "Anti-inflammatory effects of gallic acid on LPS-induced inflammation in vitro and in vivo." *Mediators of Inflammation*, Article ID 827910.
46. Kim, S. H., Jun, C. D., Suk, K., Choi, B. J., Lim, H., Park, S., Lee, S. H., Shin, H. Y., Kim, D. K., & Shin, T. Y. (2006). "Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells." *Toxicological Sciences*, 91(1), 123–131.
47. Kroes, B. H., van den Berg, A. J., Quarles van Ufford, H. C., van Dijk, H., & Labadie, R. P. (1992). "Anti-inflammatory activity of gallic acid in experimental models of inflammation." *Planta Medica*, 58(6), 499–504.
48. Liao, J.-C., Deng, J.-S., Chiu, C.-S., Hou, W.-C., Huang, S.-S., Shie, P.-H., & Huang, G.-J. (2018). "Gallic acid alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis by inhibiting NF- κ B and MAPK signaling pathways." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(37), 9995–10005.
49. Pandurangan, A. K., Mohebbi, N., Norhaizan, M. E., & Looi, C. Y. (2015). "Gallic acid attenuates inflammatory response in LPS-stimulated macrophages via inhibition of TLR4/NF- κ B pathway." *Inflammation Research*, 64(9), 721–733.
50. Maurya, D. K., & Devasagayam, T. P. A. (2010). "Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids." *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3369–3373.

51. Srinivasan, M., Sudheer, A. R., Pillai, K. R., Kumar, P. R., Sudhakaran, P. R., & Menon, V. P. (2007). "Influence of ferulic acid on gamma-radiation-induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes. " *Toxicology*, 228(2-3), 249–258.
52. Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A., & Rotsztein, H. (2018). "Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. " *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(6), 332–336.