

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN VĂN PHƯƠNG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH
GIÁ KHẢ NĂNG ỨNG CHẾ SINH TRƯỞNG VI KHUẨN
LAM *Microcystis aeruginosa* CỦA CÚC HOA VÀNG
(*Chrysanthemum indicum*) VÀ KEO TAI TƯỢNG (*Acacia
mangium*)**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT
Mã số: 9 44 01 14**

Hà Nội - 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp
Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công
nghệ Việt Nam vào hồi giờ phút, ngày tháng năm 2025.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Sự bùng phát của vi khuẩn lam, đặc biệt là *Microcystis aeruginosa*, đã trở thành một vấn đề nghiêm trọng đối với môi trường nước ngọt trên toàn thế giới. Sự phát triển quá mức của vi khuẩn lam không chỉ ảnh hưởng đến hệ sinh thái nước mà còn đe dọa đến sức khỏe con người do khả năng sản sinh độc tố cyanotoxin. Việc kiểm soát sự phát triển của *Microcystis aeruginosa* hiện nay chủ yếu dựa vào các biện pháp hóa học, vật lý và sinh học. Tuy nhiên, các phương pháp này đều có những hạn chế nhất định như gây ô nhiễm thứ cấp, chi phí cao hoặc không bền vững trong thời gian dài. Do đó, việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế vi khuẩn lam mà thân thiện với môi trường đang là hướng nghiên cứu được quan tâm.

Trong số các nguồn thực vật có tiềm năng, hoa cúc (*Chrysanthemum indicum*) và cây keo tai tượng (*Acacia mangium*) được biết đến với thành phần hóa học đa dạng, đặc biệt là các hợp chất polyphenol, flavonoid, alkaloid và terpenoid, với nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng các hợp chất từ thực vật có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm phá vỡ màng tế bào, ức chế quá trình quang hợp và làm gián đoạn chu trình sinh trưởng của chúng. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu chi tiết về thành phần hóa học cũng như khả năng ức chế *Microcystis aeruginosa* của hai loài thực vật này.

Xuất phát từ thực tiễn trên, luận án tiến sĩ "**Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*)**" được thực hiện nhằm xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học và đánh giá hiệu quả ức chế của chúng đối với vi khuẩn lam. Kết quả của luận án không chỉ đóng góp vào kho tàng tri thức về thành phần hóa học của hai loài thực vật này mà còn mở ra tiềm năng ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong

kiểm soát ô nhiễm vi khuẩn lam theo hướng bền vững và thân thiện với môi trường.

Mục tiêu của luận án

Luận án nhằm phân lập, xác định thành phần hóa học của các hợp chất trong dịch chiết từ hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*), đồng thời đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của các hợp chất và dịch chiết từ hai loài cây này, góp phần đề xuất phương pháp kiểm soát vi khuẩn lam theo hướng bền vững và thân thiện với môi trường.

Nội dung chính của luận án

1. Nghiên cứu thành phần hoá học của hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) và lá keo tai tượng (*Acacia mangium*).
2. Đánh giá hoạt tính ức chế *Microcystis aeruginosa* của các cao chiết, các hợp chất được phân lập và hỗn hợp từ cao chiết cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*)

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu về loài cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)

1.1.1. Phân loại, hình thái và phân bố

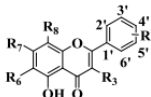
Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) thuộc họ Cúc (Asteraceae). Đây là một loài cây thân thảo sống lâu năm, có chiều cao dao động từ 0,25 đến 1 m. Cây có thân mọc đứng hoặc bò lan, phân nhánh, phủ lông thưa. Lá mọc so le, hình bầu dục hoặc hình mác, có răng cưa và phủ lớp lông mỏng. Hoa có màu vàng, mọc thành cụm dạng đầu, với các lá bắc xếp thành nhiều lớp bao quanh. Quả thuộc loại bế, kích thước nhỏ [1].

Loài này phân bố rộng rãi ở châu Á, đặc biệt là Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam và Ấn Độ. Cây thường mọc ở các bãi cỏ, sườn đồi, ven sông, ruộng, nơi đất ẩm hoặc mặn ven biển, ở độ cao từ 100–2900 m [1].

1.1.2. Thành phần hóa học của loài *Chrysanthemum indicum*

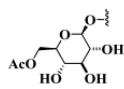
Hơn 100 hợp chất tự nhiên đã được phân lập từ loài cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* [2]. Các nhóm hoạt chất phổ biến bao gồm flavonoid, terpenoid, phenylpropanoid và phenolic acid, polyacetylene, và một số nhóm hợp chất khác.

1.1.2.1. Các hợp chất flavonoid

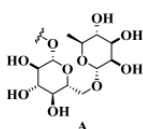


1-38

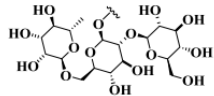
	R ₃	R ₆	R ₇	R ₈	R'
1	H	H	OH	H	4'-OCH ₃
2	H	H	Glc-O	H	4'-OCH ₃
3	H	H	A	H	4'-OCH ₃
4	H	H	B	H	4'-OCH ₃
5	H	H	Gal-O	H	4'-OCH ₃
6	H	H	A	H	4'-OCH ₃
7	H	H	D	H	4'-OCH ₃
8	H	H	E	H	4'-OCH ₃
9	H	H	OH	H	4'-OH
10	H	H	Glc-O	H	4'-OH
11	H	H	A	H	4'-OH
12	H	H	OH	H	3'-OH, 4'-OCH ₃
13	H	H	Glc-O	H	3'-OH, 4'-OCH ₃
14	H	H	GluC-O	H	3'-OH, 4'-OCH ₃
15	H	OCH ₃	OH	H	3', 4'-OCH ₃
16	H	H	OH	H	3'-OH, 4'-OCH ₃
17	H	OH	GluC-O	H	3'-OH, 4'-OCH ₃
18	H	H	A	H	4'-OCH ₃
19	H	H	OH	H	3', 4'-OH
20	H	H	Glc-O	H	3', 4'-OH
21	H	H	GluC-O	H	3', 4'-OH
22	H	H	B	H	3', 4'-OH
23	H	H	OH	H	4'-OH, 3', 5'-OCH ₃
24	H	OCH ₃	OCH ₃	H	3', 4'-OH
25	H	H	OCH ₃	H	4'-OH
26	H	H	OCH ₃	H	4'-OCH ₃
27	H	OH	OH	H	3', 4', 5'-OCH ₃
28	H	OCH ₃	OH	H	3', 4'-OH, 5'-OCH ₃
29	H	H	OCH ₃	OCH ₃	3', 4'-OCH ₃
30	OH	H	OH	H	4'-OH
31	OH	H	C	H	4'-OH
32	OH	H	OH	H	3', 4'-OH
33	OH	H	Glc-O	H	3', 4'-OH
34	Glc-O	H	Glc-O	H	3', 4'-OH
35	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	3'-OCH ₃ , 4'-OH
36	Glc-O	H	OH	H	3', 4'-OH
37	OH	H	OH	H	3'-OCH ₃ , 4'-OH
38	Glc-O	H	OH	H	3'-OCH ₃ , 4'-OH



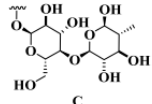
B



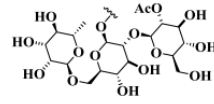
A



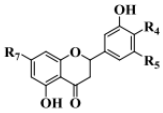
D



C



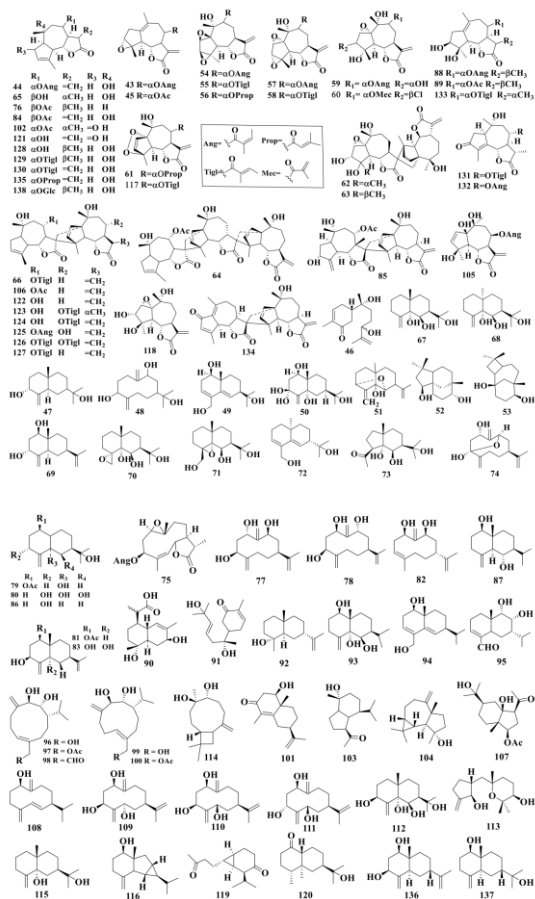
E



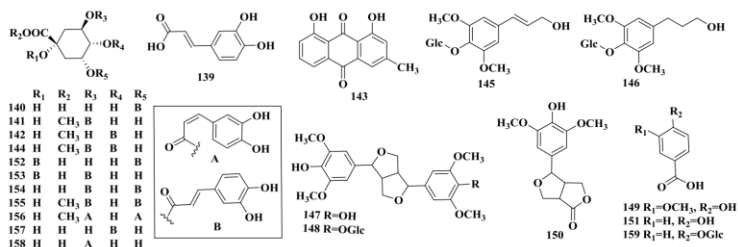
39-42

	R ₄	R ₅	R ₇
39	OH	H	H
40	OH	H	GluC-O
41	H	OH	Glc-O
42	OH	H	Glc-O

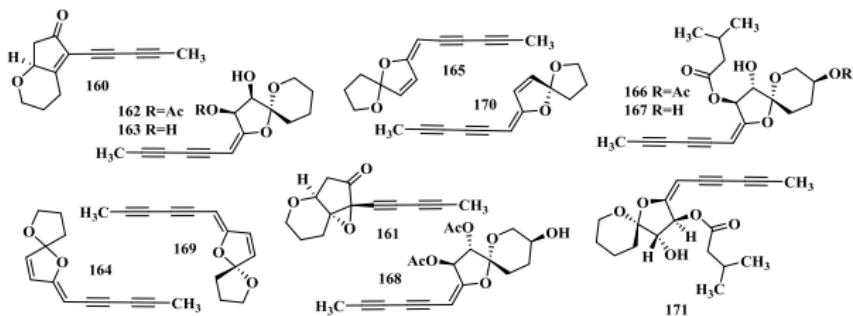
1.1.2.2. Các hợp chất terpenoid



1.1.2.3. Các hợp chất phenylpropanoid và phenolic acid



1.1.2.4. Các hợp chất polyacetylene



1.1.3. Hoạt tính sinh học của loài *Chrysanthemum indicum*

1.1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa

1.1.3.2. Hoạt tính chống viêm

1.1.3.3. Hoạt tính chống ung thư

1.1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng virus

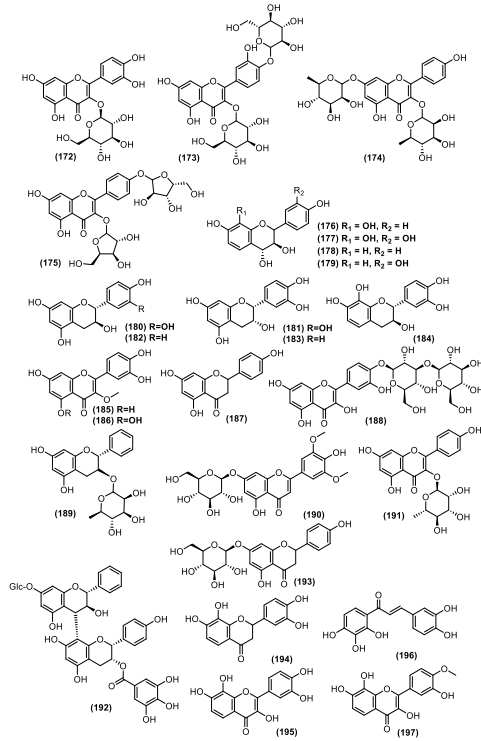
1.2. Giới thiệu về chi *Acacia* và loài keo tai tượng (*Acacia mangium*)

1.2.1. Phân loại, hình thái và phân bố của loài *Acacia mangium*

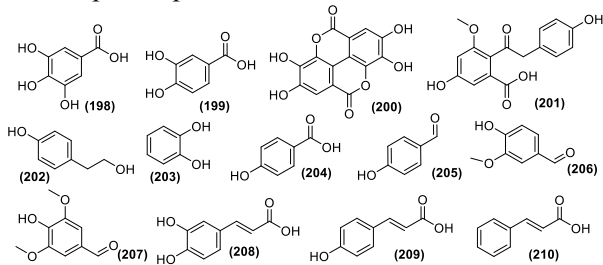
Chi *Acacia* thuộc họ Fabaceae, phân họ Mimosoideae, là một chi thực vật có khoảng 1350 loài phân bố rộng rãi trên toàn cầu [55]. Loài *Acacia mangium*, thường được gọi là keo tai tượng, là một trong những loài quan trọng trong chi này.

1.2.2. Thành phần hóa học của chi *Acacia* và loài *Acacia mangium*

1.2.2.1. Các hợp chất flavonoid



1.2.2.1. Các hợp chất phenolic khác



1.2.3. Hoạt tính sinh học của loài *Acacia mangium* và chi *Acacia*

1.2.3.1. Hoạt tính chống oxy hoá

1.2.3.2. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

1.2.3.3. Hoạt tính kháng viêm và gây độc tế bào ung thư

1.3. Giới thiệu về vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*

1.3.1. Đặc điểm sinh học của *Microcystis aeruginosa*

Microcystis aeruginosa là một loài vi khuẩn lam (cyanobacteria) phổ biến trong môi trường nước ngọt, đặc biệt là ở những vùng nước có hàm lượng dinh dưỡng cao. Loài này có khả năng sinh trưởng mạnh trong điều kiện giàu phosphorus, làm gia tăng nguy cơ bùng phát tảo nở hoa (*harmful algal blooms - HABs*), ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng nước và hệ sinh thái [66].

1.3.1.1. Hình thái và cấu trúc tế bào

1.3.1.2. Sản xuất độc tố và chiến lược sinh tồn

1.3.1.3. Tình hình hoạt di truyền và thích nghi môi trường

1.3.2. Tác động của *Microcystis aeruginosa* đến môi trường và sức khỏe.

1.3.2.1. Tác động đến môi trường

1.3.2.2. Tác động đến sức khỏe con người

1.3.3. Các phương pháp kiểm soát *Microcystis aeruginosa* trong môi trường

Việc kiểm soát *Microcystis aeruginosa* trong môi trường nước là một thách thức lớn do khả năng sinh trưởng mạnh mẽ và sản xuất độc tố của loài này. Để đạt hiệu quả kiểm soát tối ưu mà không làm ảnh hưởng tiêu cực đến hệ sinh thái, các phương pháp hiện nay chủ yếu được chia thành ba nhóm chính: vật lý, hóa học và sinh học.

1.3.3.1. Phương pháp vật lý

1.3.3.2. Phương pháp sinh học

1.3.3.3. Phương pháp hóa học

1.3.3.4. Phương pháp sử dụng các chế phẩm từ tự nhiên

1.3.4. Tình hình nghiên cứu về vi khuẩn lam *M. aeruginosa* và các phương pháp xử lý ở Việt Nam

CHƯƠNG II. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Mẫu hoa của cây Cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* được thu hái vào tháng 12 năm 2021, thời điểm hoa nở rộ (Hình 2.1), tại Hưng Yên. Mẫu lá keo được thu hái vào tháng 06 năm 2020 tại Thạch Thất, Hà Nội. Các mẫu thực vật do TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định. Các mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên và Trung tâm nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam..

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nguyên liệu, vật liệu và thiết bị

2.2.1.1. *Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất*

- Bản mỏng tráng sẵn TLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck).
- Silica gel 60 với kích thước hạt 0,040-0,063 mm (240-430 mesh ASTM) (Merck, CHLB Đức); LiChroprep® RP-18 (40-63 µm) (Merck, CHLB Đức); Diaion HP-20 (Merck, CHLB Đức).
- Thiết bị đo phổ NMR: Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy Bruker Advance 500 MHz và Bruker Advance 600 MHz (chất chuẩn nội là Tetramethylsilane - TMS) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Thiết bị HR-ESI-MS: Agilent 6530 iFunnel Q-TOF LC/MS của Viện Hóa sinh biển.
- Thiết bị ESI-MS: Thermo LCQ Fleet LC/MS tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Thiết bị đo độ quay cực: Máy JASCO P-2000 polarimeter, tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Thermo Ultimate 3000 kết nối với detector DAD cùng loại.
- Cột sắc ký điều chế YMC ODS-A 250x20 mm, 5 µm.
- Dụng cụ, thiết bị tách chiết, phân lập: bể rung siêu âm (Daihan Scientific), hệ thống cất quay chân không (Buchi R300), hệ thống hứng mẫu tự động (EYELA fraction collector DC-1200), đèn tử ngoại

hai bước sóng 254 nm và 365 nm, cột sắc ký, bình triển khai sắc kí và các dụng cụ thí nghiệm khác.

– Hóa chất: các dung môi methanol, *n*-hexane, ethyl acetate, dichloromethane, acetone, thuốc thử cerin sulphate, thuốc thử vanillin, thuốc thử H₂SO₄ 10%.

2.2.1.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong phép thử hoạt tính sinh học

- Máy đọc phiên 96 giếng (BioTek Synergy HTX, Agilent, Mỹ).
- Bể ổn nhiệt.
- Phiên 96 giếng đã xử lý bề mặt (SPL Life Sciences, Hàn Quốc).
- Micropipetes, pipettes đa kênh; đầu tip micropipet (Isolab, Đức).
- Eppendorf tube 1,5 và 2,0 ml.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Các phương pháp phân lập các hợp chất tự nhiên

Các phương pháp được sử dụng trong quá trình phân lập các hợp chất bao gồm:

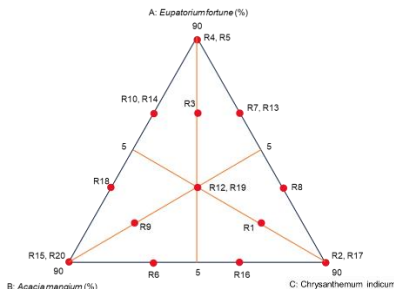
- Sắc ký lớp mỏng (TLC).
- Sắc ký cột (CC) với các chất hấp phụ phổ biến như silica gel, RP-C18, Sephadex LH-20, Diaion HP20.
- Sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế (prep-HPLC)
- Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

2.3.2. Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

Cấu trúc của các hợp chất phân lập sẽ được xác định cấu trúc dựa vào dữ liệu của các phương pháp phân tích hóa lý hiện đại như cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), khối phổ (ESI-MS), tử ngoại khả kiến (UV-Vis).

2.3.3. Phương pháp tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn

Các hỗn hợp chứa đầy đủ ba loại cao chiết từ lá mầm tươi (*Eupatorium fortune* hay Ef), lá keo tai tượng (*Acacia mangium* hay Am) và hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum* hay Ci). Tỷ lệ phối trộn các cao chiết trong thí nghiệm được xác định bằng các sử dụng mô hình Simplex Lattice Design (SLD) trên phần mềm Design Expert 12.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ). Theo đó, tỷ lệ phần trăm về khối lượng của mỗi cao chiết trong hỗn hợp dao động trong khoảng 5-90%.



Thiết kế thí nghiệm theo mô hình SLD

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*

M. aeruginosa thuộc nhóm tảo đơn bào, nên mật độ tế bào có thể đếm trực tiếp ở buồng đếm Sedgewick- Rafter (20 mm × 50 nm × 1 nm). Số tế bào được đếm trong 1ml dưới kính hiển vi quang học Olympus-BX51, Japan. Số lượng tế bào được tính theo công thức như sau:

$$N_0(\text{mL}^{-1}) = (C \times 1000) / (L \cdot D \cdot W \cdot S)$$

Trong đó:

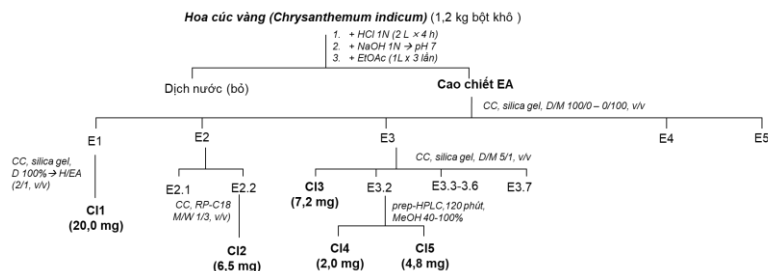
- **C**: số lượng tế bào đếm được
- **L**: chiều dài của mỗi thước
- **D**: chiều sâu của thước
- **W**: chiều rộng của thước
- **S**: số ô đếm

- Xác định sinh trưởng thông qua đo mật độ quang:

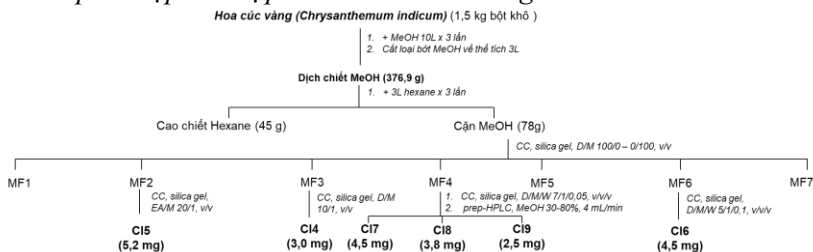
M. aeruginosa được nuôi trong môi trường dinh dưỡng Sorokin và Krauss. Mẫu nuôi cấy chủng *M. aeruginosa* có bổ sung hoạt chất tại các nồng độ tương ứng được thu ở các thời điểm khảo sát (T0, T3, T6, và T10). Mẫu dịch nuôi cấy được lấy vào giếng của đĩa 96 giếng ở các thời điểm thu mẫu. Sau đó mẫu được đem đọc mật độ quang ở máy đọc khay đa năng ở bước sóng 680 nm với độ lặp 3 lần. Hiệu quả ức chế sinh trưởng IE (Inhibition efficiency) được tính theo công thức:

$$IE (\%) = \frac{OD (V_o) - OD(V_t)}{OD(V_o)} \times 100$$

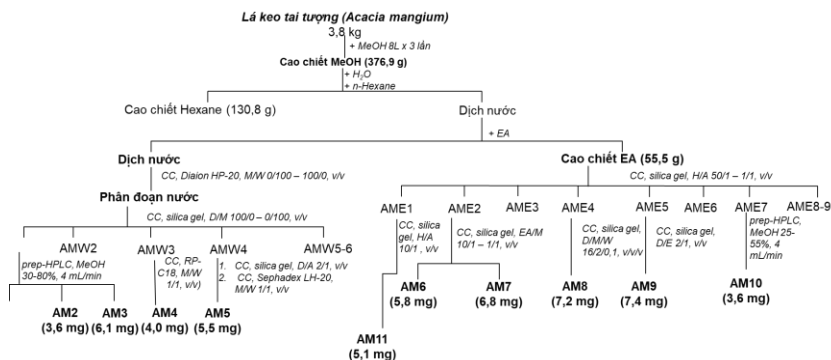
Thực nghiệm



Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng chiết xuất với HCl 1N



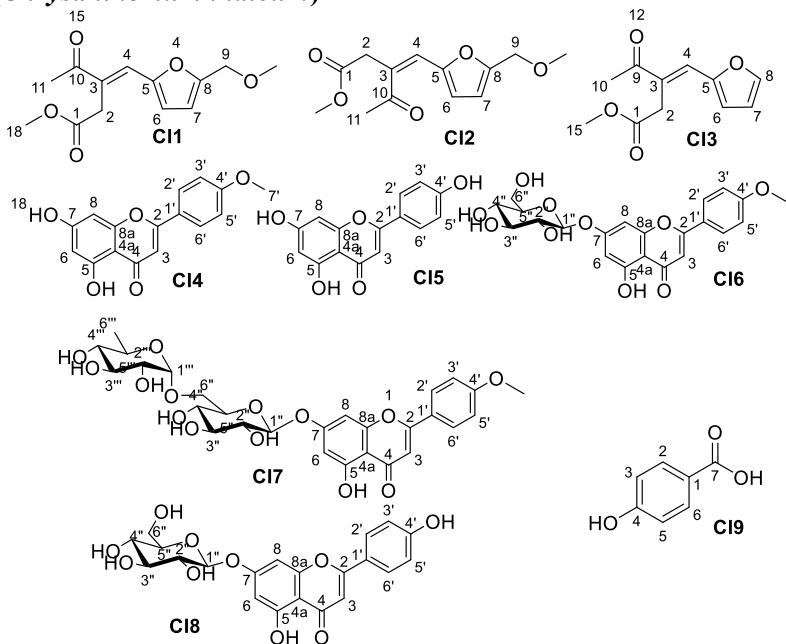
Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng chiết xuất với MeOH



Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá keo tai tượng

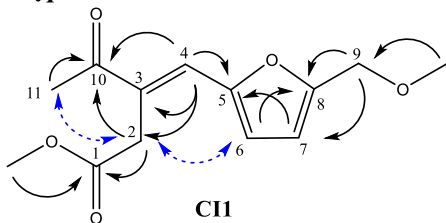
CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)



Các hợp chất được phân lập từ cúc hoa vàng

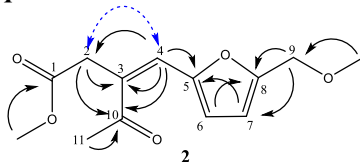
3.1.1. Hợp chất CI1



Hình 3.1. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất CI1

Hợp chất **CI1** thu được có công thức phân tử được xác định là $C_{13}H_{16}O_5$ khi trên phổ khối thu được pic ion giả phân tử tại m/z : 253,1071 $[M + H]^+$. Phổ 1H NMR của hợp chất **CI1** cho thấy sự xuất hiện của 3 proton olefin tại δ_H 7,35 (1H, s, H-4), 6,69 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,45 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,18 (2H, s, H-9) và một tín hiệu methylen tại 3,80 (2H, s, H-2), cùng với các tín hiệu của nhóm methyl đính trực tiếp oxy được xác định lần lượt tại 3,39 (3H, br s, 9-OCH₃), 3,67 (3H, br s, COOCH₃) và một tín hiệu methyl tại 2,44 (3H, br s, H-11). Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CI1** xuất hiện tín hiệu của 13 nguyên tử cacbon, trong đó 3 nhóm CH₃ tại 25,2 (C-11), 58,2 (OCH₃), 51,9 (COOCH₃); 3 nhóm methine tại 128,4 (C-4), 117,6 (C-6), 111,7 (C-7) và các nhóm methylen và carbon không liên kết hydro được xác định tại δ_C 171,5 (C-1), 32,0 (C-2), 130,8 (C-3), 150,7 (C-5), 155,1 (C-8), 66,4 (C-9), 197,9 (C-10). Với hằng số liên kết J nhỏ giữa H-6 và H-7 ($J = 3.5$ Hz) cũng như quan sát thấy tương tác HMBC từ H-7 đến C-5 và C-8 cho thấy đây là đặc điểm của dạng vòng furan thế 1,4. Phân tích phổ HMBC chỉ ra H-2 tương tác với C-1, C-3, C-4 và C-10; từ H-4 đến C-2, C-3, C-5, C-6, C-10; từ H-9 đến C-7 and C-8. Các dữ kiện này rất tương đồng với dữ liệu phổ của (*E*)-3-[5-(hydroxymethyl)furan-2-yl]methylene-4-oxo-pentanoic acid đã biết trước đây [85] ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu của 2 nhóm oxymethyl. Để xác định cấu hình của nối đôi C-3=C-4, phổ NOESY của hợp chất **CI1** được phân tích kỹ. Tương tác giữa H-2 and H-6 mà không phải H-2 and H-4 được quan sát thấy trên phổ NOESY chứng tỏ nối đôi có cấu hình *E*. Như vậy hợp chất **CI1** được xác định là (*E*)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một chất mới lần đầu tiên được công bố.

3.1.2. Hợp chất **CI2**



Hình 3.1. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất **CI2**

Hợp chất **CI2** thu được dưới dạng chất rất màu trắng. Phổ ^1H NMR của hợp chất **CI2** cho thấy sự xuất hiện hiện của 3 proton olefin tại δ_{H} 6,46 (1H, br s, H-4), 6,53 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,36 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,36 (2H, s, H-9) và các tín hiệu của nhóm methoxy được xác định lần lượt tại 3,35 (3H, br s, 9-OCH₃), 3,69 (3H, br s, COOCH₃) và một tín hiệu methyl tại 2,44 (3H, br s, H-11). Tín hiệu của hai nhóm methylen được xác định tại 4,36 (2H, s, H-9), 3,80 (2H, s, H-2). Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CI2** xuất hiện tín hiệu của 13 nguyên tử cacbon, trong đó 3 nhóm CH₃ tại 29,9 (C-11), 58,0 (OCH₃), 52,1 (COOCH₃); 3 nhóm methine tại 122,0 (C-4), 113,7 (C-6), 111,3 (C-7) và các nhóm methylen và carbon không liên kết hydro được xác định tại δ_{C} 171,1 (C-1), 41,0 (C-2), 133,0 (C-3), 149,8 (C-5), 153,4 (C-8), 66,3 (C-9), 204,3 (C-10). Phổ NMR của **CI2** gần như tương đồng với **CI1** ngoại trừ sự khác biệt ở độ dịch chuyển hoá học tại các vị trí C-2, C-3, C-4 và C-10 (Bảng 3.1). Sự dịch chuyển khá mạnh về phía trường thấp ở C-2 của hợp chất **CI2** so với hợp chất **CI1** gợi ý sự khác nhau về cấu hình của nối đôi. Trên phổ NOESY cho thấy tương tác NOE rõ ràng giữa H-2 và H-4 phù hợp với cấu hình Z của hợp chất. Như vậy hợp chất **CI2** được xác định là (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một hợp chất mới.

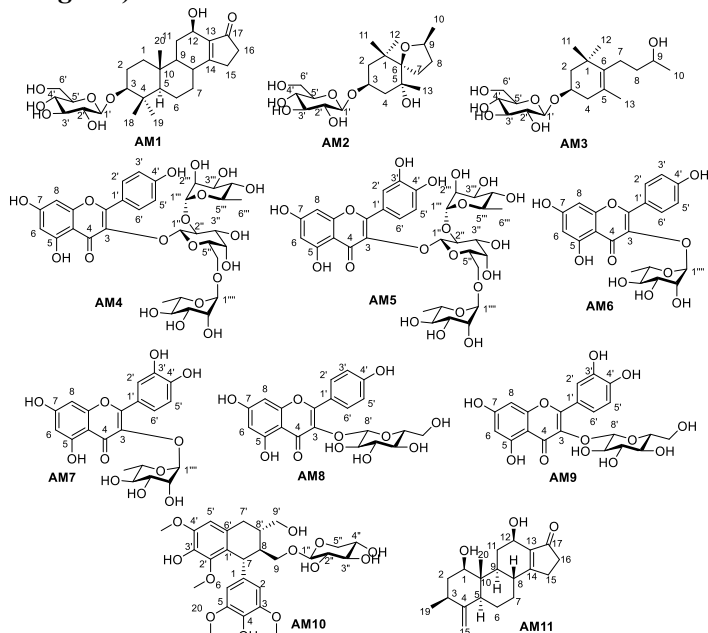
Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CI1-2

No	CI1		CI2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	171,5	-	171,1
2	3,80 (2H; s)	32,0	3,43 (2H; d; 1,0)	41,0
3	-	130,7	-	133,0
4	7,35 (1H; s)	128,4	6,46 (1H; br s)	122,0
5	-	150,6	-	149,8
6	6,69; 1H; d; 3,5	117,6	6,53 (1H; d; 3,5)	113,7
7	6,45; 1H; d; 3,5	111,7	6,36 (1H; d; 3,5)	111,3
8	-	155,0	-	153,4
9	4,42 (2H; s)	66,4	4,36 (2H; s)	66,3
10	-	197,9	-	204,3

11	2,44 (3H; br s)	25,2	2,37 (3H; br s)	29,9
9-OCH ₃	3,38(3H; br s)	58,2	3,35 (3H; br s)	58,0
COOCH ₃	3,67 (3H; br s)	51,9	3,69 (3H; br s)	52,1

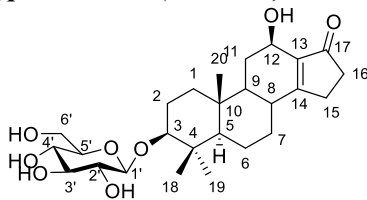
Như vậy hợp chất **CI2** được xác định là (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một hợp chất mới.

3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất từ keo tai tượng (*Acacia mangium*)



Các hợp chất phân lập từ lá keo tai tượng (*Acacia mangium*)

3.2.1. Hợp chất AM1 (chất mới)



Hình 3.1. Cấu trúc của hợp chất mới acacienoside A

Hợp chất AM1 được phân lập dưới dạng bột màu trắng, có giá trị quay cực $[\alpha]_D^{25}$ -12,6 (c 0,1, MeOH). Công thức phân tử của hợp chất được xác định là $C_{26}H_{40}O_8$ dựa vào ion giả phân tử $[M+Cl]^-$ tại m/z 515,2417 (giá trị lý thuyết là 515,2411 cho $C_{26}H_{40}O_8Cl$) từ phổ HR-ESI-MS. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton thể hiện ba tín hiệu dạng singlet của ba nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,91 (3H, s, H-19), 1,08 (3H, s, H-18), và 0,97 (3H, s, H-20). Ba proton methin được ghi nhận tại δ_H 0,95 (1H, m, H-5), 2,45 (1H, m, H-8), và 1,09 (1H, m, H-9). Bảy tín hiệu proton methylen được ghi nhận trong khoảng δ_H 1,14–2,63 ppm. Ngoài ra, tín hiệu của proton methin liên kết oxy xuất hiện tại δ_H 3,22 (1H, dd, $J = 1,2$; 7,6 Hz, H-3) và δ_H 4,50 (1H, br m, H-12), cùng với các tín hiệu từ δ_H 3,22 đến 3,87 ppm và một proton anomer tại δ_H 4,34 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), cho thấy sự hiện diện của một đơn vị đường. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon và phổ HSQC xác nhận sự có mặt của 26 carbon, với các tín hiệu đặc trưng của carbon keton tại δ_C 211,3 (C-17) và hai carbon liên kết oxy tại δ_C 90,4 (C-3) và δ_C 66,4 (C-12). Hai carbon bậc bốn xuất hiện tại δ_C 140,3 (C-13) và δ_C 182,3 (C-14). Trong số đó, 20 tín hiệu được gán cho phần terpenoid và 6 tín hiệu được gán cho phần đường. Các dữ liệu trên tương tự với acacienone, một diterpenoid loại labdane đã được phân lập từ cây Keo tai tượng (*Acacia mangium*). Tuy nhiên, sự khác biệt của hợp chất 1 so với acacienone là sự hiện diện thêm một đơn vị đường và vị trí nhóm hydroxyl tại carbon C-3.

Phân tích chi tiết các phổ COSY, HMQC và HMBC đã xác định rõ sự liên kết giữa các carbon và proton. Phổ COSY chỉ ra các cấu trúc từng phần tương ứng vòng A (H-1/H-2/H-3) và vòng B/C (H-5/H-6/H-7/H-8/H-9, H-9/H-11-H-12). Phổ HMBC thể hiện các tương quan từ proton methyl H-20 (δ_H 0,97) đến carbon C-1 (δ_C 38,1), C-5 (δ_C 55,6), và C-9 (δ_C 53,1), và từ proton methylen H-1, H-6 và proton methin H-9 tới carbon bậc bốn C-10, xác nhận hai vòng cyclohexan (A và B) nối tại carbon C-10. Các tương quan HMBC từ proton methyl H-18 (δ_H 1,08) và H-19 (δ_H 0,91) tới các carbon C-4 (δ_C 40,5), C-5 và C-3 (δ_C 90,4) khẳng định hai nhóm methyl gắn vào C-4. Các tương quan HMBC giữa proton methin liên kết oxy tại δ_H 4,50 với carbon bậc bốn tại δ_C 140,3 (C-13), δ_C 182,3 (C-14) và carbon keton δ_C 211,3 (C-17) xác nhận nhóm hydroxyl nằm tại C-12. Thêm vào đó, tương quan giữa

proton H-3 (δ_H 3,22) với các carbon C-4 và C-5 khẳng định nhóm hydroxyl nằm tại C-3. Các tương quan HMBC từ H-15 (δ_H 2,52, 2,63) và H-16 (δ_H 2,40) tới carbon keton C-17 và các carbon bậc bốn dạng sp^2 C-13, C-14 gợi ý vòng cyclopentenon (vòng D), tạo nên cấu trúc indanon cùng vòng C. Vị trí gắn đơn vị đường tại C-3 được xác định rõ bởi tương quan HMBC từ proton anomer (δ_H 4,34) đến carbon C-3 (δ_C 90,4). Các hằng số ghép, dịch chuyển hóa học và độ đa tín hiệu đã chỉ rõ cấu hình β -glucose của đơn vị đường.

Cấu hình lập thể tương đối được xác nhận bằng phổ NOESY, chỉ ra các proton H-3, H-5, H-9 và H-19 định hướng α , trong khi proton H-8 và methyl H-20 định hướng β . Một tương tác NOESY rõ ràng giữa H-7 và H-15 đã xác định vị trí nhóm carbonyl tại C-17 thuộc vòng cyclopentenon (vòng D). Dựa trên phân tích toàn diện các dữ liệu phổ, cấu trúc của hợp chất **AM1** đã được xác định là một diterpenoid loại labdane mới với tên gọi là Acacienoside A.

3.3. Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các cao chiết, và các hợp chất phân lập được

Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các hợp chất được phân lập có sự khác biệt đáng kể. Các hợp chất CI1–CI9 phân lập từ *C. indicum* và AM4–AM9 từ *A. mangium* cho thấy IC_{50} dao động rộng từ 51,7 đến trên 100 μM . Trong số này, các hợp chất thuộc nhóm flavonoid aglycon như Acacetin (CI4, $IC_{50} = 51,7 \pm 3,3 \mu M$) và Apigenin (CI5, $IC_{50} = 55,4 \pm 4,5 \mu M$) thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất, tiếp theo là các flavonoid dạng glycoside như Acacetin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (CI6, $IC_{50} = 76,8 \pm 8,6 \mu M$), Acacetin 7-*O*-rutinoside (CI7, $IC_{50} = 81,3 \pm 7,4 \mu M$) và Apigenin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (CI8, $IC_{50} = 85,5 \pm 6,5 \mu M$). Các dẫn xuất furan như hợp chất CI1 có hoạt tính ức chế trung bình ($IC_{50} = 85,0 \pm 7,2 \mu M$), trong khi các đồng phân liên quan (CI2 và CI3) lại có IC_{50} trên 100 μM , tức hoạt tính yếu hơn rõ rệt. Ngoài ra, hợp chất p-Hydroxybenzoic acid (CI9) cũng cho thấy hoạt tính đáng chú ý ($IC_{50} = 62,6 \pm 5,1 \mu M$). Các hợp chất glycoside flavonoid phân lập từ *Acacia mangium* (AM4–AM7) đều thể hiện hoạt tính yếu với IC_{50} trên 100 μM , ngoại trừ hai hợp chất Astragalinal (AM8, $IC_{50} = 88,7 \pm 7,2 \mu M$) và Isoquercetin

(AM9, $IC_{50} = 85,9 \pm 7,8 \mu M$) thể hiện hoạt tính ức chế ở mức trung bình.

Bảng 3.2. Hoạt tính ức chế M. aeruginosa của một số hợp chất được phân lập

Chất thử nghiệm	IC_{50} (μM)
(E)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI1)	$85,0 \pm 7,2$
Methyl (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI2)	> 100
Methyl (E)-3-(furan-2-ylmethylene)-4-oxopentanoate (CI3)	> 100
Acacetin (CI4)	$51,7 \pm 3,3$
Apigenin (CI5)	$55,4 \pm 4,5$
Acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside (CI6)	$76,8 \pm 8,6$
Acacetin 7-O-rutinoside (CI7)	$81,3 \pm 7,4$
Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (CI8)	$85,5 \pm 6,5$
p-Hydroxybenzoic acid (CI9)	$62,6 \pm 5,1$
Kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (AM4)	>100
Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1-2)]-O- β -D-galactopyranoside (AM5)	>100
Afzelin (AM6)	>100
Quercitrin (AM7)	>100
Astragalin (AM8)	$88,7 \pm 7,2$
Isoquercetin (AM9)	$85,9 \pm 7,8$
CuSO ₄	$41,8 \pm 3,9$

3.4. Xác định tỷ lệ phối trộn tối ưu cho hỗn hợp cao chiết ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*

3.4.1. Đánh giá hoạt tính của các cao chiết riêng lẻ và một số hỗn hợp cao chiết

Dữ liệu về hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các loại cao chiết riêng lẻ và hỗn hợp 2-3 cao chiết, ở nồng độ 200 ug/mL, được trình bày chi tiết trong bảng dưới đây.

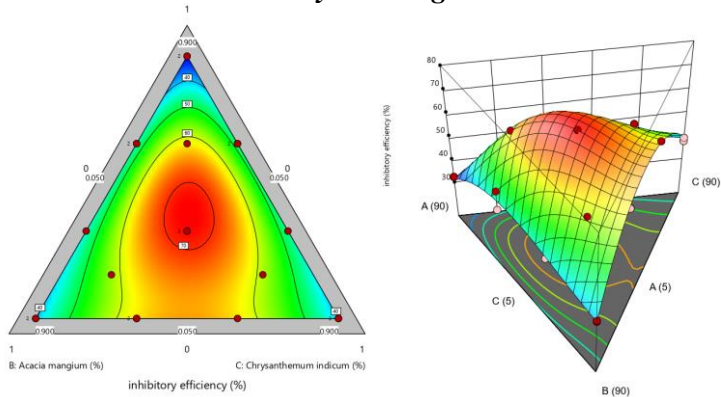
Bảng 3.3. Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các cao chiết và hỗn hợp cao chiết

Tên hỗn hợp	Mần tươi (Ef) (%)	Keo tai tượng (Am) (%)	Cúc hoa vàng (Ci) (%)	% ức chế
MC_Ef	100,00	0,00	0,00	29,31 ± 1,24
MC_Am	0,00	100,00	0,00	26,58 ± 1,57
MC_Ci	0,00	0,00	100,00	30,26 ± 3,02
MC_EfAm	50,00	50,00	0,00	38,73 ± 2,59
MC_EfCi	50,00	0,00	50,00	37,67 ± 1,97
MC_AmCi	0,00	50,00	50,00	39,25 ± 2,11
MC_EAC	33,33	33,33	33,33	71,63 ± 6,58
Đối chứng dương		CuSO ₄		52,69 ± 3,36

Dữ liệu về hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* cho thấy cả ba loại cao chiết riêng lẻ đều có khả năng ức chế nhất định, với hiệu quả dao động trong khoảng 26,5–30,2%. Trong đó, cao chiết từ cúc hoa vàng (Ci) thể hiện hiệu quả ức chế cao nhất (30,2%), nhỉnh hơn so với mần tươi (Ef, 29,3%) và keo tai tượng (Am, 26,5%). Khi kết hợp hai loại cao chiết, hiệu quả ức chế được cải thiện đáng kể. Hỗn hợp giữa Am và Ci đạt mức ức chế 39,2%, cao hơn so với các hỗn hợp Ef + Am (38,7%) và Ef + Ci (37,6%), cho thấy khả năng tăng cường tác động khi phối hợp các hoạt chất từ hai nguồn thực vật khác nhau. Đáng chú ý, hỗn hợp ba thành phần với tỷ lệ bằng nhau (Ef:Am: Ci = 1:1:1), ký hiệu MC_EAC, cho hiệu quả ức chế vượt trội, đạt 71,6%. Mức ức chế này không chỉ cao gần gấp đôi so với từng cao chiết riêng lẻ, mà còn vượt xa so với các hỗn hợp hai thành phần, cho thấy khả năng cộng hưởng hoặc hiệp lực rõ rệt khi phối hợp cả ba loại cao chiết. So sánh với đối chứng dương (CuSO₄, hiệu quả ức chế 52,6%), hỗn hợp MC_EAC còn thể hiện hiệu quả cao hơn đáng kể. Điều này cho

thấy, việc phối hợp ba loại cao chiết đem lại hiệu quả cao hơn đáng kể so với sử dụng từng loại cao chiết.

3.4.2. Tỷ lệ tối ưu của hỗn hợp cao chiết diệt ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*



Hình 3.1. Bề mặt đáp ứng giữa tỷ lệ các cao chiết với phần trăm ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của hỗn hợp

Từ mô hình được lựa chọn, các tỷ lệ tối ưu giữa các thành phần được tính toán và đề xuất như dưới đây.

Tỷ lệ tối ưu được đề xuất từ RSM của các cao chiết trong hỗn hợp

STT	% <i>E. fortune</i>	% <i>Acacia mangium</i> A.	% <i>C. indicum</i>	%IE dự đoán
1	36,39	30,45	33,16	71,80
2	41,68	27,80	30,52	71,77
3	39,77	31,85	28,38	71,70
4	39,92	30,11	29,97	71,90
5	35,17	31,89	32,93	71,71

Dựa vào bảng trên, có thể nhận thấy rằng tỷ lệ cao chiết *Eupatorium fortune* dao động từ 35,17% đến 41,68%, *Acacia mangium* từ 27,80% đến 31,89%, và *Chrysanthemum indicum* từ 28,38% đến 33,16%. Sự dao động này trong khoảng từ 4 đến 6% cho

thấy vùng tối ưu khá ổn định, và hiệu quả không bị ảnh hưởng nhiều bởi những thay đổi nhỏ trong tỷ lệ phối trộn.

Về hiệu quả ức chế dự đoán, các công thức trong bảng đều cho giá trị rất cao và tương đương nhau, dao động từ 71,70% đến 71,90%, với mức chênh lệch chỉ 0,20%. Điều này cho thấy mô hình dự đoán phản ánh một vùng tối ưu rộng, trong đó nhiều tổ hợp tỷ lệ khác nhau vẫn mang lại hiệu quả sinh học tương đương.

Từ những dữ liệu trên, chúng tôi đề xuất công thức phối trộn với tỷ lệ 40% cao chiết *E. fortune*, 30% *A. mangium* và 30% *C. indicum*. Tỷ lệ này nằm hoàn toàn trong khoảng tối ưu đã được xác định, đồng thời gần với các công thức cho hiệu quả cao nhất. Hơn nữa, sự đơn giản và cân đối của tỷ lệ này mang lại lợi thế thực tiễn trong việc chuẩn bị, gia giảm và triển khai trên quy mô ứng dụng, mà vẫn đảm bảo hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* ở mức tối ưu. Kết quả kiểm tra lại hiệu quả ức chế vi khuẩn lam của hỗn hợp theo tỷ lệ đề xuất cho giá trị %IE ở mức $72,95 \pm 4,74$ %, cao hơn so với mức tính toán lý thuyết của mô hình. Điều này cho thấy, hỗn hợp 40% cao chiết *E. fortune*, 30% *A. mangium* và 30% *C. indicum* cho hiệu quả tối ưu trong việc ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Luận án đã đạt được các kết quả quan trọng trong nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* từ hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) và cây keo tai tượng (*Acacia mangium*). Cụ thể:

1. Đã phân lập và xác định cấu trúc của 9 hợp chất từ hoa cúc vàng, bao gồm 3 hợp chất furan (2 chất mới, 1 chất lần đầu công bố dữ liệu phổ), các dẫn xuất flavonoid, và phenolic acid. Trong số này, các flavonoid dạng aglycon như acacetin và apigenin thể hiện hoạt tính ức chế mạnh nhất đối với vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.
2. Từ cây keo tai tượng, 11 hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc, gồm 2 hợp chất terpenoid glycoside mới cùng 6 flavonoid dạng glycoside, 1 hợp chất lignan glycoside và 2 terpenoid đã biết. Trong đó, astragalin và isoquercetin có hoạt tính ức chế ở mức trung bình đối với vi khuẩn lam.
3. Các cao chiết từ hoa cúc vàng, lá keo tai tượng và một số hợp chất được phân lập như acacetin và apigenin đã thể hiện hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.
4. Nghiên cứu hiệu quả phối trộn các cao chiết từ hoa cúc vàng, keo tai tượng và mần tưới đã xác định được tỷ lệ phối trộn tối ưu là 40% *Eupatorium fortune*, 30% *Acacia mangium* và 30% *Chrysanthemum indicum*, thể hiện hoạt tính ức chế vượt trội ($72,95 \pm 4,74\%$) so với từng cao chiết riêng lẻ và hỗn hợp hai thành phần.

KIẾN NGHỊ

1. Thực hiện nghiên cứu thử nghiệm ứng dụng thực tế ở quy mô lớn hơn nhằm đánh giá hiệu quả và tính khả thi trong kiểm soát vi khuẩn lam trong các hồ chứa nước.
2. Khảo sát thêm các hoạt tính sinh học khác như khả năng chống oxy hóa, chống viêm và độc tính trên các mô hình động vật để đảm bảo tính an toàn và đa dạng hóa ứng dụng của các hợp chất và cao chiết.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất furan mới từ hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*).
2. Lần đầu tiên đánh giá và so sánh hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* một cách hệ thống đối với các hợp chất flavonoid từ *Chrysanthemum indicum* và *Acacia mangium*.
3. Xây dựng thành công mô hình tối ưu hóa tỷ lệ phối trộn các cao chiết từ các loài thực vật (cúc hoa vàng, keo tai tượng, mần tưới) để tạo chế phẩm sinh học có hiệu quả cao trong kiểm soát vi khuẩn lam, mở ra hướng ứng dụng thực tiễn quan trọng trong xử lý môi trường nước.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

- [1] Nguyen Van Phuong, Le Thi Phuong Quynh, Le Nhu Da, Nguyen Thi Hong Anh, Do Hoang Giang, Nguyen Thi Luyen, Truong Ngoc Minh, Duong Thi Thuy, Nguyen Tien Dat (2025) Antibacterial Furan Derivatives from the Flowers of *Chrysanthemum indicum* L. *BioResources* 20(1), 1188-1199.
- [2] Nguyễn Văn Phương, Nguyễn Thu Uyên, Đỗ Hoàng Giang, Nguyễn Thị Thu Minh, Hoàng Thùy Dương, Bùi Thị Nhật Lệ, Lưu Hải Nhi, Lê Thị Phương Quỳnh, Nguyễn Tiến Đạt (2023) Một số hợp chất Flavonoid glycoside phân lập từ lá cây keo tai tượng (*Acacia magium*). *Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học* 29(4), 45-51