

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 ỨC CHẾ SINH TRƯỞNG VI KHUẨN LAM
Microcystis aeruginosa CỦA CÚC HOA VÀNG
(*Chrysanthemum indicum*) VÀ KEO TAI TỰƠNG (*Acacia
mangium*)**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội – 2025

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 ỨC CHẾ SINH TRƯỞNG VI KHUẨN LAM
Microcystis aeruginosa CỦA CÚC HOA VÀNG
(*Chrysanthemum indicum*) VÀ KEO TAI TƯỢNG (*Acacia
mangium*)

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh
- PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan:

Đây là công trình về những nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn của PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh và PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt.

Luận án có sử dụng một số thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn đó được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả mới được đưa vào luận án là trung thực khách quan và chưa được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được thực hiện và hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Tác giả luận án

Nguyễn Văn Phương

LỜI CẢM ƠN

Luận án “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 tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tôi xin trân trọng cảm ơn Học viện Khoa học và Công nghệ đã giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và thực hiện luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo cùng toàn thể cán bộ của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao (CHTD) đã quan tâm giúp đỡ tôi, tạo mọi điều kiện cho tôi học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh và PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt đã tận tình hướng dẫn tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các quý cơ quan, đoàn thể các trung tâm, viện nghiên cứu chuyên ngành đã giúp đỡ, hỗ trợ tôi thực hiện luận án.

Đặc biệt tôi xin chân thành cảm ơn tới gia đình, bạn bè đã luôn quan tâm, giúp đỡ, khích lệ tôi trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu.

Xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả

Nguyễn Văn Phương

MỤC LỤC

DANH MỤC BẢNG.....	vi
DANH MỤC HÌNH.....	vii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Giới thiệu về loài cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i>).....	3
1.1.1. Phân loại, hình thái và phân bố.....	3
1.1.2. Thành phần hóa học của loài <i>Chrysanthemum indicum</i>	3
1.1.3. Hoạt tính sinh học của loài <i>Chrysanthemum indicum</i>	13
1.2. Tổng quan về chi <i>Acacia</i> và loài keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	15
1.2.1. Phân loại, hình thái và phân bố của loài <i>Acacia mangium</i>	15
1.2.2. Thành phần hóa học của chi <i>Acacia</i> và loài <i>Acacia mangium</i>	15
1.2.3. Hoạt tính sinh học của loài <i>Acacia mangium</i> và chi <i>Acacia</i>	18
1.3. Giới thiệu về vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	19
1.3.1. Đặc điểm sinh học của <i>Microcystis aeruginosa</i>	19
1.3.2. Tác động của <i>Microcystis aeruginosa</i> đến môi trường và sức khỏe. ...	22
1.3.3. Các phương pháp kiểm soát <i>Microcystis aeruginosa</i> trong môi trường ..	24
1.3.4. Tình hình nghiên cứu về vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> và các phương pháp xử lý ở Việt Nam	27
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM	29
2.1. Đối tượng nghiên cứu	29
2.2. Nguyên liệu, vật liệu và thiết bị.....	29
2.2.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất.....	29
2.2.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất dùng trong phép thử hoạt tính sinh học.	30
2.3. Phương pháp nghiên cứu	30

2.3.1.	Các phương pháp phân lập các hợp chất tự nhiên	30
2.3.2.	Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất	30
2.3.3.	Phương pháp tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn	30
2.3.4.	Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	32
2.4.	Thực nghiệm	33
2.4.1.	Phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i>)	33
2.4.2.	Phân lập các hợp chất từ loài keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	35
2.4.3.	Thông số vật lý và các dữ liệu phổ các hợp chất phân lập được	36
2.4.4.	Tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn các thành phần cao chiết	42
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN		44
3.1.	Xác định cấu trúc các hợp chất từ cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i>)	44
3.1.1.	Hợp chất CI1 (chất mới)	44
3.1.2.	Hợp chất CI2 (chất mới)	50
3.1.3.	Hợp chất CI3	56
3.1.4.	Hợp chất CI4	62
3.1.5.	Hợp chất CI5	66
3.1.6.	Hợp chất CI6	70
3.1.7.	Hợp chất CI7	75
3.1.8.	Hợp chất CI8	80
3.1.9.	Hợp chất CI9	84
3.1.10.	Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ hoa cúc vàng	87
3.2.	Xác định cấu trúc các hợp chất từ keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	88
3.2.1.	Hợp chất AM1 (chất mới)	88
3.2.2.	Hợp chất AM2 (chất mới)	96
3.2.3.	Hợp chất AM3	103
3.2.4.	Hợp chất AM4	109
3.2.5.	Hợp chất AM5	115

3.2.6.	Hợp chất AM6	120
3.2.7.	Hợp chất AM7	122
3.2.8.	Hợp chất AM8	127
3.2.9.	Hợp chất AM9	130
3.2.10.	Hợp chất AM10	133
3.2.11.	Hợp chất AM11	139
3.2.12.	Bàn luận về kết quả phân lập các chất từ lá keo.....	145
3.3.	Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> của các hợp chất phân lập được	146
3.4.	Xác định tỷ lệ phối trộn tối ưu cho hỗn hợp cao chiết ức chế vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	147
3.4.1.	Đánh giá hoạt tính của các cao chiết riêng lẻ và một số hỗn hợp cao chiết	148
3.4.2.	Tỷ lệ tối ưu của hỗn hợp cao chiết diệt ức chế vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	149
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....		153
KẾT LUẬN.....		153
KIẾN NGHỊ		153
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN		154
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN		155
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....		156

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Một số hợp chất flavonoid từ loài <i>C. indicum</i>	3
Bảng 1.2.	Một số hợp chất terpenoid từ loài <i>C. indicum</i>	7
Bảng 1.3.	Một số phenylpropanoid và phenolic acid từ loài <i>C. indicum</i>	11
Bảng 1.4.	Một số polyacetylene từ loài <i>C. indicum</i>	13
Bảng 2.1.	Tỉ lệ phần trăm các cao chiết trong hỗn hợp khảo sát	31
Bảng 2.2.	Hiệu quả ức chế của các hỗn hợp cao chiết theo tỷ lệ	42
Bảng 3.1.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI1-2	51
Bảng 3.2.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI1 và CI3	57
Bảng 3.3.	Hoạt tính ức chế <i>M. aeruginosa</i> của một số hợp chất được phân lập.	146
Bảng 3.4.	Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> của các cao chiết và hỗn hợp cao chiết	148
Bảng 3.5.	Phân tích phương sai (ANOVA) cho mô hình Reduced Special Quartic với biến đáp ứng là hiệu quả ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i>	151

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Cấu trúc các hợp chất flavonoid từ <i>C.indicum</i>	6
Hình 1.2.	Cấu trúc các hợp chất terpenoid từ <i>C.indicum</i>	10
Hình 1.3.	Cấu trúc các hợp chất phenylpropanoid và phenolic acid từ <i>C.indicum</i>	12
Hình 1.4.	Cấu trúc các hợp chất polyacetylene từ <i>C.indicum</i>	13
Hình 1.5.	Cấu trúc các hợp chất flavonoid từ một số loài thuộc chi <i>Acacia</i>	17
Hình 1.6.	Cấu trúc các hợp chất phenolic từ một số loài thuộc chi <i>Acacia</i>	18
Hình 1.7.	Hình thái của tập đoàn vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> [67]	20
Hình 2.1.	Mẫu (a) hoa cúc vàng và (b) keo tai tượng.....	29
Hình 2.2.	Thiết kế thí nghiệm theo mô hình SLD	31
Hình 2.3.	Sơ đồ phân lập cúc hoa vàng được chiết xuất bằng HCl 1N	34
Hình 2.4.	Sơ đồ phân lập cúc hoa vàng được chiết xuất bằng methanol.....	35
Hình 2.5.	Sơ đồ phân lập mẫu keo tai tượng	36
Hình 3.1.	Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất CI1	44
Hình 3.2.	Phổ HR-ESI-MS của hợp chất CI1	44
Hình 3.3.	Phổ ^1H NMR của CI1	45
Hình 3.4.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI1	46
Hình 3.5.	Phổ HSQC của hợp chất CI1	47
Hình 3.6.	Phổ HMBC của hợp chất CI1	48
Hình 3.7.	Phổ NOESY của hợp chất CI1	49
Hình 3.8.	Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất CI2	50
Hình 3.9.	Phổ HR-ESI-MS của hợp chất CI2	50
Hình 3.15.	Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) chính của hợp chất CI3	56
Hình 3.16.	Phổ ^1H NMR của CI3	58
Hình 3.17.	Phổ ^{13}C NMR của CI3	59

Hình 3.18.	Phổ HSQC của CI3	60
Hình 3.19.	Phổ HMBC của CI3	61
Hình 3.20.	Cấu trúc hợp chất CI4	62
Hình 3.21.	Phổ ^1H NMR của hợp chất CI4	63
Hình 3.22.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI4	64
Hình 3.23.	Phổ DEPT của hợp chất CI4	65
Hình 3.24.	Cấu trúc hợp chất CI5	66
Hình 3.25.	Phổ ^1H NMR của hợp chất CI5	67
Hình 3.26.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI5	68
Hình 3.27.	Phổ DEPT của CI5	69
Hình 3.28.	Cấu trúc của acacetin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (CI6).....	70
Hình 3.29.	Phổ khối lượng ESI-MS của CI6	70
Hình 3.30.	Phổ ^1H -NMR của CI6	71
Hình 3.31.	Phổ ^{13}C -NMR của CI6	73
Hình 3.32.	Phổ DEPT của CI6	74
Hình 3.33.	Cấu trúc của acacetin 7- <i>O</i> -rutinoside (CI7).....	75
Hình 3.34.	Phổ khối lượng ESI-MS của CI7	75
Hình 3.35.	Phổ ^1H -NMR của CI7	77
Hình 3.36.	Phổ ^{13}C -NMR của CI7	78
Hình 3.37.	Phổ DEPT của CI7	79
Hình 3.38.	Cấu trúc của apigenin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (CI8)	80
Hình 3.39.	Phổ ^1H -NMR của CI8	81
Hình 3.40.	Phổ ^{13}C -NMR của CI8	82
Hình 3.41.	Phổ DEPT của CI8	83
Hình 3.42.	Cấu trúc hợp chất p-hydroxybenzoic acid.....	84
Hình 3.43.	Phổ ^1H NMR của hợp chất CI9	85
Hình 3.44.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI9	86
Hình 3.45.	Các hợp chất được phân lập từ cúc hoa vàng.....	87
Hình 3.46.	Cấu trúc của hợp chất mới acacienoside A	88

Hình 3.47.	Phổ HR-ESI-MS của hợp chất mới acacienoside A.....	88
Hình 3.48.	Phổ ^1H NMR của AM1	90
Hình 3.49.	Phổ ^{13}C NMR của AM1	91
Hình 3.50.	Phổ HSQC của AM1	92
Hình 3.51.	Phổ COSY của AM1	93
Hình 3.52.	Phổ HMBC của AM1	94
Hình 3.53.	Phổ NOESY của AM1	95
Hình 3.54.	Cấu trúc của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside	96
Hình 3.55.	Phổ HRMS của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside	96
Hình 3.56.	Các tương tác HMBC  và NOESY  đặc trưng của acacionoside 3-glucoside	97
Hình 3.57.	Phổ ^1H NMR của AM2	98
Hình 3.58.	Phổ ^{13}C NMR của AM2	99
Hình 3.59.	Phổ HSQC của của AM2	100
Hình 3.60.	Phổ HMBC của AM2	101
Hình 3.61.	Phổ NOESY của AM2	102
Hình 3.62.	Cấu trúc của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	103
Hình 3.63.	Phổ ^1H NMR của AM3	104
Hình 3.64.	Phổ ^{13}C NMR của AM3	105
Hình 3.65.	Phổ HSQC của của AM3	106
Hình 3.66.	Phổ HMBC của AM3	107
Hình 3.67.	Phổ COSY của AM3	108
Hình 3.68.	Cấu trúc của kaempferol-3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside.....	109
Hình 3.69.	Phổ ^1H NMR của AM4	111
Hình 3.70.	Phổ ^{13}C NMR của AM4	112
Hình 3.71.	Phổ HSQC của của AM4	113
Hình 3.72.	Phổ HMBC của AM4	114

Hình 3.73.	Cấu trúc của quercetin-3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside.....	115
Hình 3.74.	Phổ ^1H NMR của AM5	116
Hình 3.75.	Phổ ^{13}C NMR của AM5	117
Hình 3.76.	Phổ HSQC của của AM5	118
Hình 3.77.	Phổ HMBC của AM5	119
Hình 3.78.	Cấu trúc của afzelin	120
Hình 3.79.	Phổ ^1H NMR của AM6	121
Hình 3.80.	Cấu trúc của quercitrin	122
Hình 3.81.	Phổ ^1H NMR của AM7	123
Hình 3.82.	Phổ ^{13}C NMR của AM7	124
Hình 3.83.	Phổ HSQC của của AM7	125
Hình 3.84.	Phổ HMBC của AM7	126
Hình 3.85.	Cấu trúc của astragalin	127
Hình 3.86.	Phổ ^1H -NMR của AM8	128
Hình 3.87.	Phổ ^{13}C -NMR của AM8	129
Hình 3.88.	Cấu trúc của isoquercetin	130
Hình 3.89.	Phổ ^1H -NMR của AM9	131
Hình 3.90.	Phổ ^{13}C -NMR của AM9	132
Hình 3.46.	Cấu trúc của AM10	133
Hình 3.47.	Phổ ^1H NMR của AM10	135
Hình 3.48.	Phổ ^{13}C NMR của AM10	136
Hình 3.49.	Phổ HSQC của AM10	137
Hình 3.50.	Phổ HMBC của AM10	138
Hình 3.51.	Cấu trúc của acacienone	139
Hình 3.52.	Phổ ^1H NMR của AM11	140
Hình 3.53.	Phổ ^{13}C NMR của AM11	141
Hình 3.54.	Phổ HSQC của AM11	142
Hình 3.55.	Phổ HMBC của AM11	143

Hình 3.56.	Phổ COSY của AM11	144
Hình 3.57.	Phổ NOESY của AM11	144
Hình 3.58.	Các hợp chất phân lập từ lá keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	145
Hình 3.1.	Bề mặt đáp ứng giữa tỷ lệ các cao chiết với phần trăm ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> của hỗn hợp.....	150
Bảng 3.6.	Tỷ lệ tối ưu được đề xuất từ RSM của các cao chiết trong hỗn hợp ..	152

DANH MỤC VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
Ac	Acetyl	Acetyl
CC	Column Chromatography	Sắc ký cột
^{13}C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
CH_2Cl_2	Dichloromethane	Dichloromethane
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO	Dimethylsulfoxide	Dimethylsulfoxide
EC₁₀₀	Effective Concentration 100%	Nồng độ có hiệu quả 100%
EC₅₀	Effective Concentration 50%	Nồng độ có hiệu quả 50%
ED₅₀	Effective Dose 50%	Liều hiệu dụng 50%
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	Thụ thể yếu tố phát triển biểu mô
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrum	Phổ khối ion hóa phun mù điện tử
Glc	Glucose	Glucose
^1H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
^1H-^1H COSY	^1H - ^1H Chemical Shift Correlation Spectroscopy	Phổ tương tác proton-proton
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết

HR-TOF-MS	High Resolution Time of-Flight Mass Spectrometer	Phổ khối phân giải cao thời gian bay
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC₅₀	Inhibitory concentration 50%	Nồng độ ức chế 50%
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	Hiệp hội quốc tế về Hóa học cơ bản và Hóa học ứng dụng
Me	Methyl	Methyl
MeOH	Methanol	Methanol/ rượu metylic
MIC	Minimal Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
TMS	Tetramethylsilane	Tetrametylsilan
s: singlet; d: doublet; dd: doublet doublet; ddd: doublet doublet doublet; t: triplet; dt: doublet triplet; q: quartet; qui: quintet; m: multiplet; br: broad		
Tên của các hợp chất được sử dụng nguyên gốc theo tiếng Anh		

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 1. 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 hợp 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

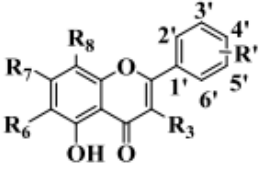
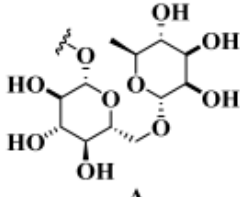
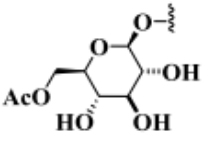
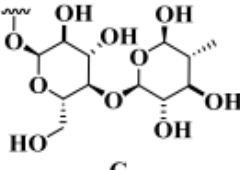
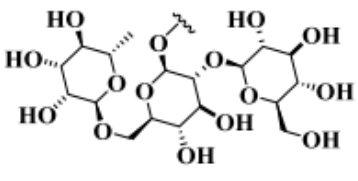
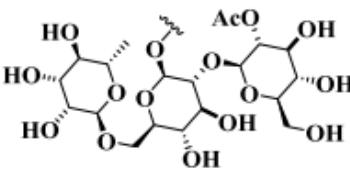
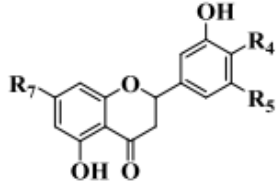
Flavonoid là thành phần chuyển hoá thứ cấp đặc trưng của loài *C. indicum*. Chúng đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ *C. indicum* khỏi tia UV và hỗ trợ quá trình thụ phấn nhờ tạo ra màu sắc rực rỡ của hoa. Một số hợp chất flavonoid được phân lập từ loài *C. indicum* được trình bày trong bảng dưới đây.

Bảng 1.1. Một số hợp chất flavonoid từ loài *C. indicum*

STT	Hợp chất	Hoạt tính sinh học	Bộ phận	TLTK
1	Acacetin	Kháng viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, chống sốt rét, gây độc tế bào	Hoa	[3, 4]
2	Acacetin-7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Chống oxy hóa	Hoa	[5]
3	Acacetin-7- <i>O</i> -Rutinoside		Hoa	[6]
4	Acacetin-7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -acetyl)- β -D-glucopyranoside		Hoa	[6]
5	Acacetin-7- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside		Hoa	[6]
6	Acacinin-7- <i>O</i> - α -rhamnoglycosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucoside		Cây	[6, 7]
7	Acacetin-7- <i>O</i> -(6"- α -L-rhamnosyl)-sophoroside		Cây	[5]

8	Acacinin-7- <i>O</i> - α -rhamnosel (1 $\rightarrow$ 6)-[2- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucosyl(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucoside		Cây	[7]
9	Apigenin	Kháng viêm, chống ung thư, hoạt tính estrogen	Hoa	[8]
10	Apigenin-7- <i>O</i> -glucoside	Chống ung thư ruột kết	Hoa	[8]
11	Apigenin-7- <i>O</i> -rutinoside		Hoa	[8]
12	Diosmetin		Hoa	[8]
13	Diosmetin-7- <i>O</i> -glucoside		Hoa	[8]
14	Diosmetin-7- <i>O</i> -glucuronide		Hoa	[8]
15	Eupatilin	Chống ung thư dạ dày, bạch cầu, chống dị ứng, kháng viêm	Hoa	[8]
16	(2 <i>S</i>)-Hesperetin	Chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh, kháng viêm, ức chế cholesterol	Phân trên mặt đất	[4]
17	(2 <i>S</i>)-Hesperetin-7- <i>O</i> - β -D-glucuronide		Hoa	[4]
18	Linarin	Chống oxy hóa, kháng viêm, bảo vệ phổi, chống loãng xương, ức chế acetylcholinesterase, an thần, hạ sốt, chống tăng huyết áp, kháng khuẩn	Hoa	[9-12]
19	Luteolin	Chống ung thư, kháng viêm, hoạt tính estrogen, chống oxy hóa	Hoa	[6]
20	Luteolin-7- <i>O</i> -glucoside	Kháng viêm, hen suyễn, ức chế xanthine oxidase	Hoa	[6]
21	Luteolin-7- <i>O</i> -glucuronide	Kháng viêm	Hoa	[6]
22	Luteolin-7- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -acetyl)-glucopyranoside		Hoa	[6]
23	Tricin	Kháng ung thư, viêm, kháng leishmania	Hoa	[13, 14]
24	5,3',4'-Trihydroxy-6,7-dimethoxy flavone		Hoa	[5]
25	5,4'-Dihydroxy-7-methoxy flavone		Hoa	[5]
26	5-Hydroxy-4',7-methoxy flavone		Hoa	[5]
27	5,6,7-Trihydroxy-3',4',5'-trimethoxy flavone		Hoa	[5]
28	5,7,3',4'-Tetrahydroxy-6,5'-dimethoxy flavone		Hoa	[5]

29	5-Hydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxy flavone		Hoa	[5]
30	Kaempferol	Chống oxy hóa, kháng viêm, chống ung thư	Hoa	[6]
31	Kaempferol-7- <i>O</i> - β -D-glucosyl(1 $\rightarrow$ 6)-L-rhamnoside		Hoa	[6]
32	Quercetin	Kháng viêm, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch, chống ung thư bạch cầu, tiểu đường, béo phì, tăng huyết áp	Hoa	[13, 14]
33	Quercetin 7- <i>O</i> - β -D-glucoside		Hoa	[15]
34	Quercetin 3,7-di- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside		Hoa	[16]
35	Sudachitin	Cải thiện chuyển hóa lipid và glucose, ức chế tạo xương, kháng viêm	Phản trên mặt đất	[16]
36	Isoquercitrin	Bảo vệ gan, kháng viêm, chống dị ứng	Hoa	[16]
37	Isorhamnetin	Kháng viêm	Hoa	[16]
38	Isorhamnetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside		Hoa	[13, 14]
39	Eriodictyol	Chống oxy hóa, kháng ung thư, bảo vệ tim	Hoa	[15]
40	Eriodictyol-7- <i>O</i> - β -D-glucuronide	Chống oxy hóa	Hoa	[15]
41	5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone-7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Chống oxy hóa	Hoa	[13, 14]
42	(2 <i>S</i>)-Eriodictyol-7- <i>O</i> - β -D-glucoside		Hoa	[15]

	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
						
						
						
						
						
						
		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		

Hình 1.1. Cấu trúc các hợp chất flavonoid từ *C.indicum*

Các nghiên cứu về loài *C. indicum* đã xác định được nhiều hợp chất flavonoid với hoạt tính sinh học đa dạng, chủ yếu tập trung ở bộ phận hoa và một số ở phần trên mặt đất của cây (Bảng 1.1). Các flavonoid đáng chú ý gồm acacetin, apigenin (9), diosmetin (12), eupatilin (15), linarin (18), luteolin (19), kaempferol (30), quercetin (32), sudachitin (35) và eriodictyol (39). Những flavonoid này thể hiện các hoạt tính quan trọng như kháng viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh, điều hòa miễn dịch, cải thiện chuyển hóa lipid và glucose, chống dị ứng, bảo vệ gan và tim mạch. Trong đó, acacetin được báo cáo với các hoạt tính nổi bật gồm kháng viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, chống sốt rét và gây độc tế bào [3, 4]. Linarin là flavonoid nổi bật khác với phổ hoạt động rất rộng, bao gồm an thần, bảo vệ phổi, chống loãng xương, hạ sốt, hạ huyết áp, kháng viêm và kháng khuẩn [9-12]. Các dẫn

xuất glycoside như apigenin-7-*O*-glucoside (**10**) thể hiện hoạt tính chống ung thư ruột kết [30]; luteolin-7-*O*-glucoside (**20**) có khả năng kháng viêm, giảm hen suyễn và ức chế enzyme xanthine oxidase [8]. Quercetin-7-*O*- β -D-glucoside (**33**) cũng được ghi nhận có nhiều triển vọng nghiên cứu [15].

1.1.2.2. Các hợp chất terpenoid

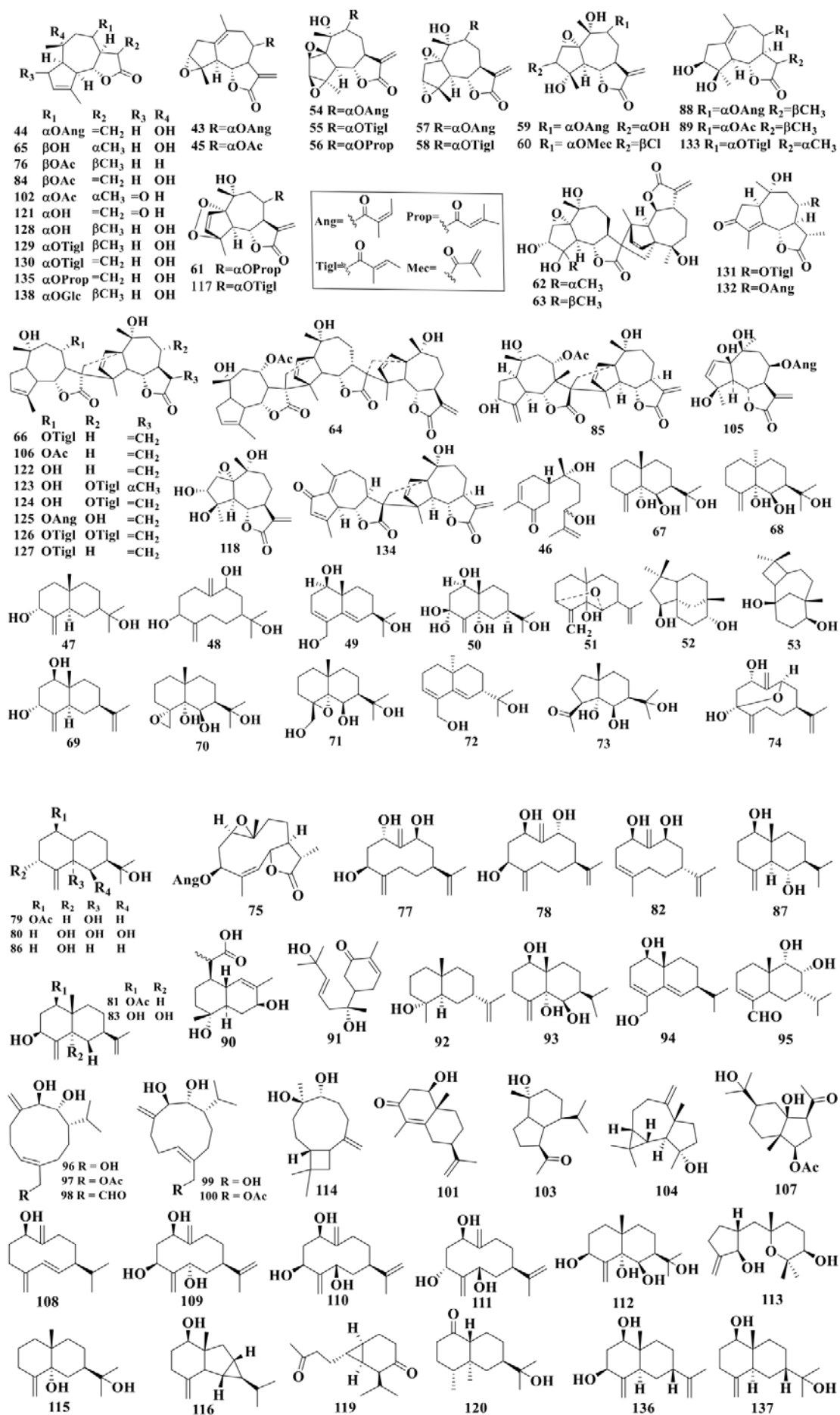
Các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *C. indicum* đã phát hiện nhiều hợp chất terpenoid có hoạt tính sinh học đa dạng, chủ yếu tập trung trong bộ phận hoa và phần trên mặt đất. Một số hợp chất đáng chú ý gồm angeloylcumambrin B (**44**), chrysanthemulide A–J (**53–62**), chrysanolide D–I (**63–65**, **122–133**), kikkanol A–C (**93–95**) và chrysanthemum A (**66**). Các terpenoid này thể hiện những hoạt tính sinh học quan trọng như chống viêm mạnh mẽ (Chrysanthemulide A–J [21]; 8-tigloyldesacetyl-leonmontanin (**117**), 10-epijafainin (**118**) [21]), chống ung thư (angeloylcumambrin B (**44**) [17]; 8,8'-ditigloylchrysanolide D (**126**) [17]), kháng virus HBV (chrysanolide I (63), chrysanolide E (64), chrysanolide D (**65**) [59]) và kháng virus PEDV (chrysanthemum A (**66**) [22]; 1 β -hydroxy-4(15),5E,10(14)-germacatriene (**108**) [23]). Một số hợp chất khác như kikkanol A–C (**93–95**) thể hiện khả năng ức chế enzym aldose reductase, mở ra triển vọng ứng dụng trong điều trị biến chứng tiểu đường [19] (Bảng 1.2).

Bảng 1.2. Một số hợp chất terpenoid từ loài *C. indicum*

STT	Hợp chất	Hoạt tính sinh học	Bộ phận	TLTK
43	Angeloylajadin		Phần trên mặt đất	[17]
44	Angeloylcumambrin B	Chống ung thư	Phần trên mặt đất	[17]
45	Arteglin A		Phần trên mặt đất	[17]
46	Chrysetunone		Thân cây	[17]
47	Chrysanthemol		Hoa	[18]
48	Chrysanthetriol		Hoa	[18]
49	Chrysanthetriol A		Hoa	[18]
50	Chrysanthetrol		Hoa	[19]
51	Chrysantherol		Hoa	[20]
52	Clovanediol		Hoa	[19]
53	Caryolane 1,9- β -diol		Hoa	[19]
54	Chrysanthemulide A	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
55	Chrysanthemulide B	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
56	Chrysanthemulide C	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
57	Chrysanthemulide D	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
58	Chrysanthemulide E	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
59	Chrysanthemulide F	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
60	Chrysanthemulide G	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
61	Chrysanthemulide H	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
62	Chrysanthemulide I	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]

63	Chrysanthemulide J	Chống viêm	Phân trên mặt đất	[21]
64	Chrysanolide A	Chống HBV	Hoa	[22]
65	Chrysanolide B	Chống HBV	Hoa	[22]
66	Chrysanolide C	Chống HBV	Hoa	[22]
67	Chrysanthemumin A		Hoa	[23]
68	Chrysanthemumin B	Chống PEDV	Hoa	[23]
69	Chrysanthemumin C		Hoa	[23]
70	Chrysanthemumin D		Hoa	[23]
71	Chrysanthemumin E		Hoa	[23]
72	Chrysanthemumin F		Hoa	[23]
73	Chrysanthemumin G		Hoa	[23]
74	Chrysanthemumin H		Hoa	[23]
75	Chrysanthemumin I		Hoa	[23]
76	Chrysanthemumin J		Hoa	[23]
77	Chrysanthemumin C ketone		Hoa	[24]
78	Chrysanthemumin D ketone		Hoa	[24]
79	Chrysanthemumol I		Hoa	[24]
80	Chrysanthemumol J		Hoa	[24]
81	Chrysanthemumol K		Hoa	[24]
82	Chrysanthenediol A		Hoa	[24]
83	Canusesnol E		Hoa	[24]
84	Cumambrin A		Hoa	[25]
85	Disesquiterpenoid B		Hoa	[25]
86	Eudesmene-4(14)-ene-3,11-diol		Hoa	[24]
87	Eudsm-4(15)-ene-1 β ,6 α -diol		Hoa	[23]
88	Indicumolide A		Hoa	[5]
89	Indicumolide B		Hoa	[5]
90	Indicumolide C		Hoa	[5]
91	Indicumenone		Phân trên mặt đất	[26]
92	Intermedeol		Hoa	[23]
93	Kikkanol A	Ức chế aldose reductase	Hoa	[19]
94	Kikkanol B	Ức chế aldose reductase	Hoa	[19]
95	Kikkanol C	Ức chế aldose reductase	Hoa	[19]
96	Kikkanol D		Hoa	[27]
97	Kikkanol D monoacetate		Hoa	[27]
98	Kikkanol E		Hoa	[27]
99	Kikkanol F		Hoa	[27]
100	Kikkanol F monoacetate		Hoa	[27]
101	Ligucyperonol		Hoa	[23]
102	Matricarin		Hoa	[23]
103	Oplopanone		Hoa	[20]
104	Spathulenol		Hoa	[23]
105	Tunefulin		Phân trên mặt đất	[26]
106	Yejuhua Lactone (Handelin)		Hoa	[17]
107	(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>aS</i>)-3-acetyl-3a-hydroxy-5-(2-hydroxypropan-2-yl)-7a-methyloctahydro-1 <i>H</i> -inden-1-ylacetate		Hoa	[25]

108	1 β -hydroxy-4(15),5 <i>E</i> ,10(14)-germacatriene	Chống PEDV	Hoa	[23]
109	1 β ,3 β ,5 α -trihydroxyl-7-isopropenyl-germacren-4(15),10(14)-diene		Hoa	[28]
110	1 β ,3 β ,5 β -trihydroxyl-7-isopropenyl-germacren-4(15),10(14)-diene		Hoa	[28]
111	1 β ,3 α ,5 β -trihydroxyl-7-isopropenyl-germacren-4(15),10(14)-diene		Hoa	[28]
112	(3 β ,5 α ,6 β ,7 β ,14 β)-Eudesmen-3,5,6,11-tetrol		Hoa	[28]
113	(3 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-6-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-hydroxy-3-methylene cyclopentyl] C-methyl-2,2,6-trimethyltetrahydro-2H-pyran-3-ol		Hoa	[25]
114	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-4,5-dihydroxycaryophyll-8(13)-ene		Hoa	[23]
115	5 α -hydroxy- β -eudesmol		Hoa	[23]
116	6,8-cycloeudesm-4(15)-en-1-ol		Hoa	[23]
117	8-tigloyldesacetylzonmontanin	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
118	10-epijafainin	Chống viêm	Phần trên mặt đất	[21]
119	11(7 $\rightarrow$ 6)abeo-14-norcabrane-4,7-dione		Hoa	[23]
120	1-hydroxy-1-oxo-4 α ,5 α ,7 β ,10 β -eremophilane		Hoa	[23]
121	11,13-dehydrodesacetylmatricarin		Hoa	[23]
122	Chrysanolide D		Phần trên mặt đất	[17]
123	Chrysanolide E		Phần trên mặt đất	[17]
124	8'-tigloylchrysanolide D		Phần trên mặt đất	[17]
125	8-angeloyl-8'-hydroxychrysanolide D		Phần trên mặt đất	[17]
126	8,8'-ditigloylchrysanolide D	Chống ung thư	Phần trên mặt đất	[17]
127	8-tigloylchrysanolide D		Phần trên mặt đất	[17]
128	Chrysanolide F		Phần trên mặt đất	[17]
129	8-Tigloylchrysanolide F		Phần trên mặt đất	[17]
130	Chrysanolide G		Phần trên mặt đất	[17]
131	Chrysanolide H		Phần trên mặt đất	[17]
132	8-angeloylchrysanolide H		Phần trên mặt đất	[17]
133	Chrysanolide I		Phần trên mặt đất	[17]
134	Artanomaliide C		Phần trên mặt đất	[17]
135	tigloylcumambrin B		Phần trên mặt đất	[17]
136	7-epi-eudesm-4(15),11(13)-diene-1 β ,3 β -diol		Hoa	[29]
137	7-epi-1 β -hydroxy- β -eudesmol		Hoa	[29]
138	10 α -hydroxy-8 $\alpha\beta$ (β -D-glucopyranosyl)-1 α H,5 α H,6 β H,8 β H,7 α H,11 β H,11 α -methylguaia-3-enolide		Hoa	[30]



Hình 1.2. Cấu trúc các hợp chất terpenoid từ *C.indicum*

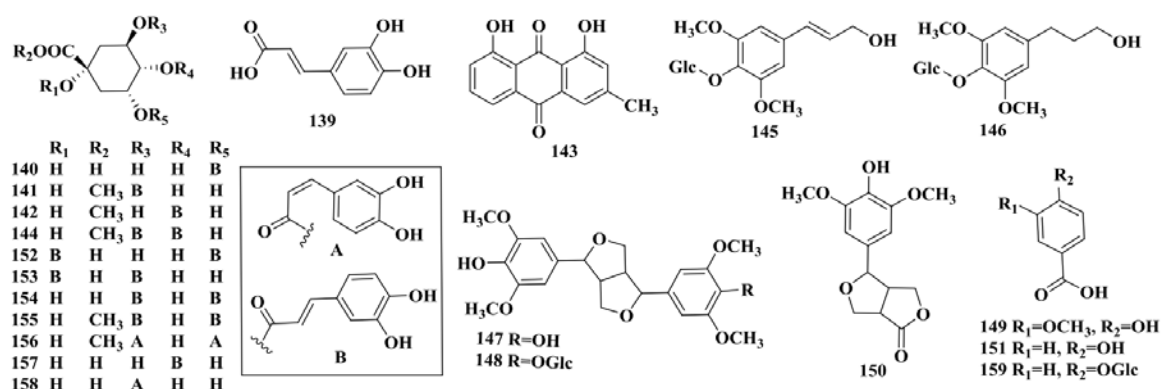
1.1.2.3. Các hợp chất phenylpropanoid và phenolic acid

Các nghiên cứu đã ghi nhận nhiều hợp chất thuộc nhóm phenylpropanoid và phenolic acid từ hoa của loài *C. indicum*, trong đó nổi bật là caffeic acid (139), chlorogenic acid (140), chrysophanol (143), syringaresinol (147) và vanillic acid (149). Các hợp chất này thể hiện các hoạt tính sinh học đa dạng như chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, chống ung thư và bảo vệ gan. Đáng chú ý, caffeic acid (139) thể hiện khả năng cải thiện khả năng học tập trong mô hình Alzheimer, ức chế di căn tế bào ung thư, chống virus HCV và HIV [31]. Chlorogenic acid (140) có tác dụng ức chế kích hoạt tiểu cầu, hạ lipid máu, hạ đường huyết và hạ huyết áp [3]. Chrysophanol (143) đã được chứng minh có khả năng chống ung thư [13]. Syringaresinol (147) thể hiện hoạt tính giãn mạch, chống viêm và giảm đau [5]. Vanillic acid (149) có hoạt tính bảo vệ gan, chống giun chỉ, kháng khuẩn và chống oxy hóa [5]. Các kết quả này góp phần khẳng định giá trị tiềm năng của các phenylpropanoid và phenolic acid trong loài *C. indicum* để phát triển thành các sản phẩm chăm sóc sức khỏe và dược phẩm.

Bảng 1.3. Một số phenylpropanoid và phenolic acid từ loài *C. indicum*

STT	Hợp chất	Hoạt tính sinh học	Bộ phận	TLTK
139	Caffeic acid	Đối kháng endothelin, chống oxy hóa, cải thiện khả năng học tập trong mô hình Alzheimer, kháng viêm, kháng khuẩn, chống HCV, chống HIV, ức chế di căn tế bào ung thư	Hoa	[31]
140	Chlorogenic acid	Ức chế kích hoạt tiểu cầu và huyết khối, kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng viêm, hạ lipid máu, hạ đường huyết, hạ huyết áp	Hoa	[3]
141	Chlorogenic acid methyl ester		Hoa	[13]
142	Cryptochlorogenic acid methyl ester		Hoa	[13]
143	Chrysophanol	Chống ung thư	Hoa	[13]
144	Methyl 3,4-di- <i>O</i> -caffeoyl quinate		Hoa	[13]
145	Syringin		Hoa	[13]
146	Dihydrosyringin		Hoa	[13]

147	Syringaresinol	Giãn mạch, chống viêm và giảm đau	Hoa	[5]
148	Syringaresinol-4''-O- β -D-Glucoside		Hoa	[5]
149	Vanillic acid	Bảo vệ gan, chống giun chỉ, chống oxy hóa, kháng khuẩn	Hoa	[3]
150	Zhebeiresinol		Hoa	[32]
151	p-hydroxybenzoic acid		Hoa	[5]
152	1,3-dicaffeoylquinic acid		Hoa	[15]
153	1,5-dicaffeoylquinic acid		Hoa	[15]
154	3,5-dicaffeoylquinic acid		Hoa	[15]
155	3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ester		Hoa	[15]
156	3,5- <i>cis</i> -dicaffeoylquinic acid		Hoa	[15]
157	4-O-caffeoylquinic acid		Hoa	[5]
158	5-O-caffeoylquinic acid		Hoa	[5]
159	4-O- β -D-glucoseoxylbenzoic acid		Hoa	[5]



Hình 1.3. Cấu trúc các hợp chất phenylpropanoid và phenolic acid từ *C.indicum*

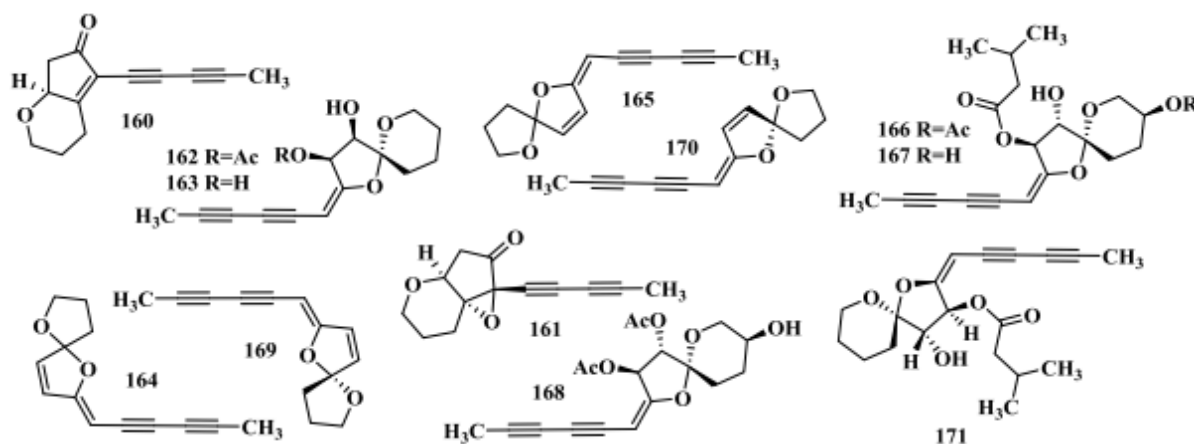
1.1.2.4. Các hợp chất polyacetylene

Các nghiên cứu đã ghi nhận một số hợp chất polyacetylene từ hoa của loài *C. indicum*, nổi bật nhất là các chrysindins A–D (**160–163**), *cis*-spiroketalenolether polyyn (164), *trans*-spiroketalenolether polyyn (**165**), và các dẫn xuất spirodecane gồm (+)-(3*S**,4*S**,5*R**,8*S**)-(*E*)-8-acetoxy-4-hydroxy-3-isovaleryloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane (**166**), (+)-(3*S**,4*S**,5*R**)-(*E*)-4-hydroxy-3-isovaleryloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane (**167**), (–)-(3*S**,4*S**,5*R**)-(*E*)-3,4-diacetoxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane (168), *Z/E*-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene (**169–170**), và (1*R*,9*S*,10*S*)-10-hydroxyl-8(2,4-diynhexylidene)-9-isovaleryloxy-2,7-dioxaspiro[5,4]decane (**171**). Tuy các hợp chất này chưa được báo cáo nhiều về hoạt tính sinh học cụ thể, nhưng

sự đa dạng về cấu trúc hóa học của chúng cho thấy tiềm năng cao trong việc phát hiện các hoạt tính sinh học mới từ loài *C. indicum* [33][19][23].

Bảng 1.4. Một số polyacetylene từ loài *C. indicum*

STT	Hợp chất	Bộ phận	TLTK
160	Chrysindins A	Hoa	[33]
161	Chrysindins B	Hoa	[33]
162	Chrysindins C	Hoa	[33]
163	Chrysindins D	Hoa	[33]
164	<i>cis</i> -Spiroketalenolether polyynes	Hoa	[19]
165	<i>trans</i> -Spiroketalenolether polyynes	Hoa	[19]
166	(+)-(3 <i>S</i> *,4 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *,8 <i>S</i> *)-(<i>E</i>)-8-acetoxy-4-hydroxy-3-isovaleryloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane	Hoa	[23]
167	(+)-(3 <i>S</i> *,4 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-(<i>E</i>)-4-hydroxy-3-isovaleryloxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane	Hoa	[23]
168	(-)-(3 <i>S</i> *,4 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-(<i>E</i>)-3,4-diacetoxy-2-(hexa-2,4-diynyliden)-1,6-dioxaspiro[4,5]decane	Hoa	[23]
169	<i>Z</i> -1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	Hoa	[23]
170	<i>E</i> -1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	Hoa	[23]
171	(1 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-hydroxyl-8(2,4-diynhexylidene)-9-isovaleryloxy-2,7-dioxaspiro[5,4]decane	Hoa	[23]



Hình 1.4. Cấu trúc các hợp chất polyacetylene từ *C.indicum*

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

1.1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Cao chiết từ cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) có hoạt tính chống oxy hóa rõ rệt [35], trong đó dịch chiết methanol có khả năng quét gốc tự do DPPH với giá trị IC₅₀ là 87,64 µg/mL. Nghiên cứu của Yan và cộng sự chỉ ra rằng khi chuột được uống dịch chiết nước ở liều lượng 2 g/(kg·ngày) trong 7 ngày liên tục thì hoạt tính của các enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px) và catalase (CAT) trong máu toàn phần được tăng cường rõ rệt ($p < 0,05$) [36]. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy dịch chiết từ *C. indicum* L. có khả năng ức chế hiện tượng chết tế bào, làm giảm sự

tạo thành các loại gốc tự do ROS, ức chế sự phân cắt enzyme PARP và điều chỉnh tỷ lệ Bax/Bcl-2 trong tế bào SH-SY5Y được gây độc bởi MPP⁺ ở các liều 1, 10 và 100 μ g [37].

1.1.3.2. Hoạt tính chống viêm

Nghiên cứu của nhóm tác giả Li và cộng sự năm 2009 chỉ ra rằng, cao chiết từ cây Cúc hoa vàng (*C. indicum* L.) có tác dụng ức chế rõ rệt các chất gây viêm trong cơ thể người. Dịch chiết ethanol 70% từ *C. indicum* L. có khả năng ức chế hoạt tính của IL-1, TNF- α và làm giảm sự tích tụ bạch cầu khi dùng với liều lượng 200 mg/kg (tiêm phúc mạc) [38]. Cao chiết methanol từ cúc hoa vàng thể hiện khả năng ức chế TNF- α , PGE₂ và COX-2 [39]. Cao chiết methanol của cúc hoa vàng cũng ức chế yếu tố phiên mã NF- κ B (P65 và P50), theo đó, Akt 1 và Akt 2 có thể là các đích tác động trực tiếp, và hợp chất chính có hoạt tính có thể là Luteolin [40]. Ngoài ra, cao chiết methanol của cúc hoa vàng còn ức chế sự hoạt hóa của các thụ thể gây viêm NLRP3 và AIM2 [41]. Trong một nghiên cứu khác, cao chiết sử dụng chất lỏng CO₂ siêu tới hạn cũng có thể làm tăng hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa như superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), đồng thời làm giảm hoạt hóa NF- κ B và ức chế sự biểu hiện của con đường tín hiệu TLR4/MyD88 [42].

1.1.3.3. Hoạt tính chống ung thư

Một nghiên cứu vào năm 2009 chỉ ra rằng, cao chiết ethanol 95% từ *C. indicum* L. thúc đẩy quá trình apoptosis của tế bào MHCC97H thông qua con đường phụ thuộc ty thể liên quan đến Caspase-3 và gây ngừng chu kỳ tế bào ung thư ở pha S bằng cách tăng biểu hiện protein P21 và giảm biểu hiện CDK4 [43]. Phân đoạn CH₂Cl₂ từ *C. indicum* L. có khả năng ức chế đường truyền tín hiệu JAK1/2 và STAT3, gây apoptosis tế bào, từ đó tạo ra hiệu ứng chống ung thư tuyến tiền liệt [44]. Cao chiết ethanol 70% từ *C. indicum* ức chế sự hoạt hóa NF- κ B do protein LMP1 gây ra [45], đồng thời ức chế con đường tín hiệu MAPK/ERK1/2 thông qua thụ thể β 2-adrenergic (β 2-AR) được kích hoạt bởi isoprenaline trong các tế bào ung thư, tạo nên tác dụng chống ung thư gan [46]. Cao chiết methanol cũng có khả năng ức chế tế bào ung thư phổi A549 (ức chế 27% ở nồng độ 100 μ g/mL) theo cách phụ thuộc vào liều lượng và thời gian [45]. Ngoài ra, cao chiết từ *C. indicum* L. còn có tiềm năng trở thành thuốc chống ung thư và có khả năng làm giảm độc tính trên thận của thuốc chống ung thư cisplatin [47]. Cao chiết sử dụng chất lỏng CO₂ siêu tới hạn có thể tăng cường hiệu quả chống khối u của thuốc Bleomycin trên chuột mang khối u và giảm độc tính của thuốc này [48].

1.1.3.4. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng virus

Tinh dầu từ *C. indicum* L. có khả năng ức chế sự phát triển của *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* thông qua việc làm tổn thương quá trình chuyển hóa của vi sinh vật [49], và các hợp chất số 174–182 có thể là những thành phần hoạt tính chính của tinh dầu hoa cúc vàng [50]. Cao chiết ethanol có tác dụng ức chế nhất định đối với *S. aureus* và *E. coli*, với nồng độ ức chế tối thiểu lần lượt là 64,9 mg/mL và 16,17 mg/mL, nhưng có tác dụng rất yếu đối với *Bacillus subtilis*, với nồng độ ức chế tối thiểu là 258,75 mg/mL [51].

Về mặt kháng virus, viên nang bảo vệ gan có nguồn gốc từ *C. indicum* L. cho thấy hoạt tính chống virus viêm gan B (HBV) trong nghiên cứu *in vitro* [52]. Cao chiết nước cũng có tác dụng nhất định trong việc ngăn chặn và ức chế virus cúm gia cầm (AIV), virus gây bệnh Newcastle (NDV), và virus gây viêm phế quản truyền nhiễm ở gia cầm (IBV) [53]. Cơ chế tác động có thể do ngăn cản virus bám lên tế bào vật chủ, ức chế sự nhân lên hoặc lan truyền của virus trong chu kỳ sinh sản. Ngoài ra, cao chiết nước còn có tác dụng ức chế đáng kể quá trình xâm nhập và hấp phụ của virus hợp bào hô hấp (RSV) *in vitro* [54].

1.2. Tổng quan về chi *Acacia* và loài keo tai tượng (*Acacia mangium*)

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

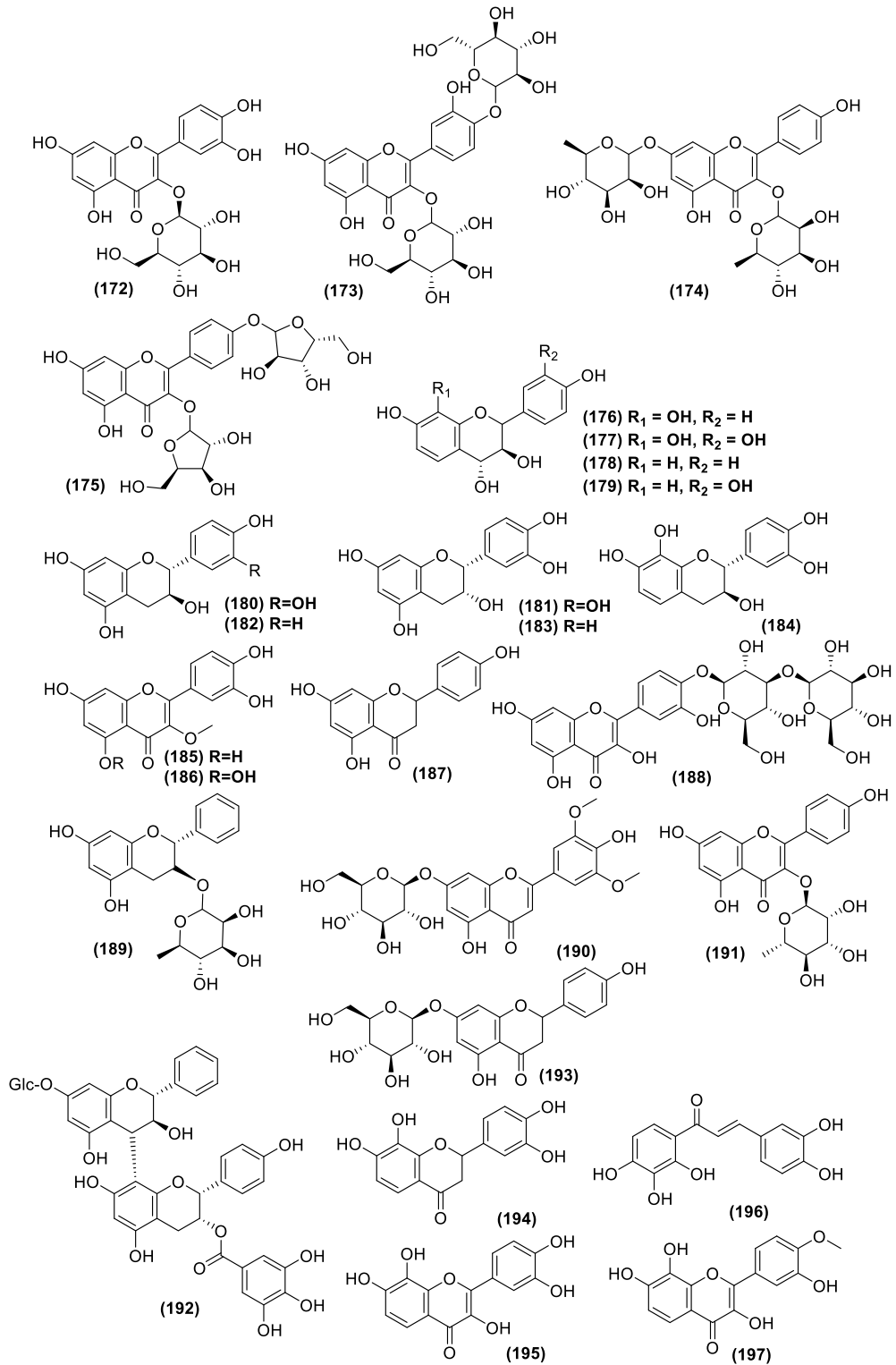
Chi *Acacia* thuộc họ Fabaceae, phân họ Mimosoideae, là một chi thực vật có khoảng 1350 loài phân bố rộng rãi trên toàn cầu [55]. Loài *Acacia mangium*, thường được gọi là keo tai tượng, là một trong những loài quan trọng trong chi này. Loài cây này có nguồn gốc từ khu vực Đông Nam Á, đặc biệt phổ biến ở Papua New Guinea, Indonesia, Malaysia, và miền bắc Australia [55]. Về mặt hình thái, *A. mangium* là cây thân gỗ có thể đạt chiều cao từ 20–30 m, thân thẳng, tán lá rộng. Lá cây thực chất là các phiến lá biến đổi (phyllodes) với hình dạng elip thuôn dài. Hoa của loài này có màu trắng đến vàng nhạt, mọc thành cụm dày đặc và có hương thơm nhẹ. Quả là dạng quả đậu, dài và chứa nhiều hạt nhỏ [55].

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

1.2.2.1. Các hợp chất flavonoid

Chi *Acacia* (Fabaceae: Mimosoideae) là một nhóm thực vật phong phú với hơn 1000 loài phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới. Nhiều loài trong chi này từ lâu đã được sử dụng trong y học cổ truyền nhờ chứa các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học đa dạng, đặc biệt là flavonoid – nhóm hợp chất đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ thực vật và có nhiều ứng dụng tiềm năng trong

được phân. Các nghiên cứu hóa học thực vật đã ghi nhận sự hiện diện phong phú của flavonoid trong các bộ phận khác nhau của *Acacia*, đặc biệt là lá, hoa và gỗ lõi. Từ phần lá của loài *Acacia mangium*, các flavonol glycoside như quercetin-3-glucoside (172), quercetin-3,4'-diglucoside (173), kaempferol-3,7-dirhamnoside (31) và kaempferol-7,4'-digalactoside (174) đã được phân lập bởi Kalsom và cộng sự [56]. Tương tự, các flavonoid, bao gồm isorhamnetin (37), quercetin-7-glucoside (33) và kaempferol-3-dixyloside (175) cũng được phát hiện trong phần lá của các loài *Acacia auriculiformis* và *Acacia richii* [56]. Từ hai loài *A. galpinii* và *A. giraffae*, Malan và cộng sự đã phát hiện các hợp chất flavan-3,4-diol gồm teracacidin (176), melacacidin (177), leucofisetinidin (178), leucocyanidin (179) và catechin (180). Đây là những hợp chất tiền chất trong quá trình hình thành tannin ngưng tụ [57]. Các flavan-3-ol như catechin (180), epicatechin (181), afzelechin (182), epiafzelechin (183), mesquitol (184) cùng với các flavonol như kaempferol (30), quercetin (32), quercetin 3-methyl ether (185) và caryatin (186) cũng đã được phát hiện từ loài *Acacia catechu*, một dược liệu được sử dụng phổ biến ở một số nước châu Á [58]. Từ hoa *Acacia saligna*, các nhà nghiên cứu xác định được ba flavonoid chính gồm naringenin (187), quercetin (21) và kaempferol (20) với hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn đáng kể [59]. Một số flavonoid glycoside cũng được phân lập từ phần trên mặt đất của loài *Acacia pennata* như quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-4'-*O*- β -D-glucopyranoside (188), (2*R*,3*S*)-3,5,7-trihydroxyflavan-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (189), chrysin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (190), quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside (172), kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (191), epiafzelechin-3-*O*-gallate-(4 α →8)-flavanoglycoside (192), pinocembrin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (193) [60]. Trong gỗ lõi của loài *Acacia confusa*, một số flavonoid cũng đã được phát hiện bao gồm 3,7,8,3',4'-pentahydroxyflavone (194), 7,8,3',4'-tetrahydroxy-3-methoxyflavone (195), 3,4,2',3',4'-pentahydroxy-*trans*-chalcone (196) và 3,7,8,3'-tetrahydroxy-4'-methoxyflavone (197) [61].

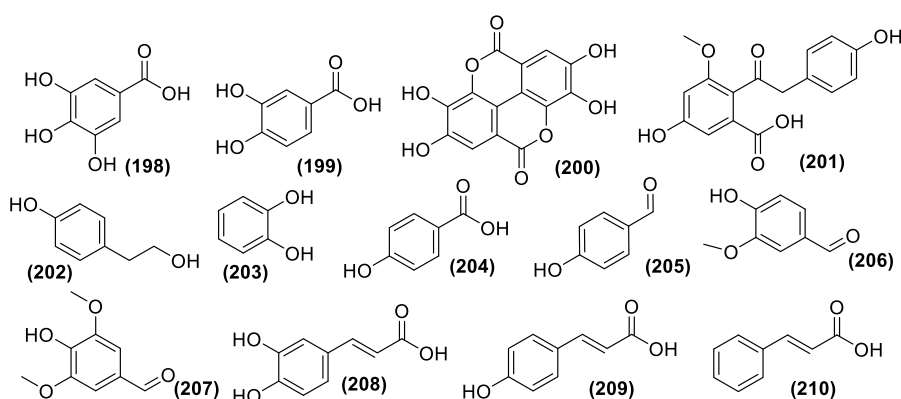


Hình 1.5. Cấu trúc các hợp chất flavonoid từ một số loài thuộc chi *Acacia*

1.2.2.2. Các hợp chất phenolic khác

Trong hạt *Acacia victoriae*, các phenolic acid như gallic acid (198) và 3,4-dihydroxybenzoic acid (199) đã được xác định [62]. Trong khi đó, từ dịch chiết nước của loài *Acacia catechu*, các hợp chất phenolic cũng được phát hiện, gồm ellagic acid

(200), 5-hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]-3-methoxybenzoic acid (201) và 4-hydroxyphenylethanol (202) [63]. Trong nghiên cứu gần đây trên hoa của *A. mearnsii* và *A. retinodes*, các nhà khoa học đã định danh một loạt hợp chất phenolic thông qua các phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp khối phổ (UHPLC–QTOF–MS) và HPLC-DAD. Các hợp chất được phát hiện bao gồm catechol (203), 4-hydroxybenzoic acid (204), 4-hydroxybenzaldehyde (205), vanillin (206), syringaldehyde (207), caffeic acid (208), *p*-coumaric acid (209), *trans*-cinnamic acid (210), trong đó, vanillin và syringaldehyde là các dẫn xuất aldehyde thơm có hoạt tính sinh học đáng chú ý và thường xuất hiện trong các chiết xuất có tính chất kháng khuẩn và bảo vệ tế bào [64].



Hình 1.6. Cấu trúc các hợp chất phenolic từ một số loài thuộc chi *Acacia*

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

1.2.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ của các loài thuộc chi *Acacia*, chủ yếu nhờ sự hiện diện của các flavonoid glycoside và phenolic acid. Chiết xuất methanol từ lá *Acacia mangium* và *Acacia auriculiformis* cho thấy hoạt tính chống oxy hóa đáng kể qua thử nghiệm DPPH, với các thành phần chính gồm quercetin-3-glucoside, quercetin-3-diglucoside, kaempferol-3,7-dirhamnoside và kaempferol-7,4'-digalactoside. Những hợp chất này đóng vai trò trung tâm trong khả năng quét gốc tự do và bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa [56]. Tương tự, chiết xuất ethanol từ hoa *Acacia retinodes* và *Acacia mearnsii* cũng thể hiện hàm lượng polyphenol rất cao, dao động từ 300 đến 350 mg GAE/g dịch chiết, trong đó flavonoid chiếm tới hơn 130 mg QE/g. Các hợp chất như catechol, gallic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid và *trans*-cinnamic acid được xác định bằng UHPLC-QTOF-MS, góp phần quan trọng vào tác dụng chống oxy hóa của chiết xuất hoa, đặc biệt ở giai đoạn nở muộng của hoa [64]. Chiết xuất lõi gỗ *A. catechu* chứa các flavan-3-ol như catechin, epicatechin, afzelechin và mesquitol thể hiện hiệu quả cao trong việc quét gốc DPPH

và hydroxyl, bảo vệ lipid và protein khỏi quá trình peroxid hóa [58]. Ngoài ra, nghiên cứu trên hạt *A. victoriae* chỉ ra rằng quá trình rang làm gia tăng hàm lượng các phenolic acid như gallic acid và succinic acid, từ đó làm tăng đáng kể khả năng chống oxy hóa của chiết xuất methanol từ hạt đã xử lý nhiệt [62]. Từ *A. catechu*, hai hợp chất phenolic mới là 5-hydroxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]-3-methoxybenzoic acid và 4-hydroxyphenylethanol cũng được chứng minh có hiệu quả quét gốc DPPH và superoxide, mở ra tiềm năng ứng dụng trong bảo vệ tế bào và thực phẩm chức năng [63].

1.2.3.2. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

Hoạt tính kháng khuẩn nổi bật được ghi nhận trong chiết xuất vỏ cây *Acacia mearnsii*, vốn giàu tannin ngưng tụ (condensed tannins). Các nghiên cứu cho thấy chiết xuất này có khả năng ức chế sự phát triển của nhiều vi khuẩn đường ruột như *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* và *Serratia marcescens*, đồng thời không ảnh hưởng đến các vi khuẩn có lợi như *Bifidobacterium* và *Lactobacillus*, cho thấy khả năng ứng dụng như một chất điều hòa hệ vi sinh đường ruột [65]. Ngoài ra, các hợp chất như catechol và vanillin, được phát hiện trong hoa *A. mearnsii* và *A. retinodes*, cũng được biết đến như những chất kháng khuẩn và kháng nấm tự nhiên, góp phần nâng cao hiệu quả bảo vệ của chiết xuất thực vật này [64].

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

Một số flavonoid phân lập từ *A. pennata* được chứng minh có khả năng tác động lên con đường tín hiệu Hedgehog–GLI, một trong những cơ chế điều hòa tăng sinh và biệt hóa tế bào có liên quan mật thiết đến ung thư tuyến tiền liệt và tuyến tụy. Đặc biệt, quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-4-*O*- β -D-glucopyranoside được xác định là hợp chất chính ức chế tín hiệu GLI, từ đó cho thấy tiềm năng phát triển làm thuốc điều trị ung thư hướng đích [60]. Ngoài ra, sự hiện diện của các flavone và flavanone glycoside khác như chrysin-7-*O*-glucoside, pinocembrin-7-*O*-glucoside, kaempferol-3-*O*-rhamnoside... cũng góp phần vào tác dụng chống viêm và ức chế tăng sinh tế bào đã được ghi nhận qua các thử nghiệm sinh học [60].

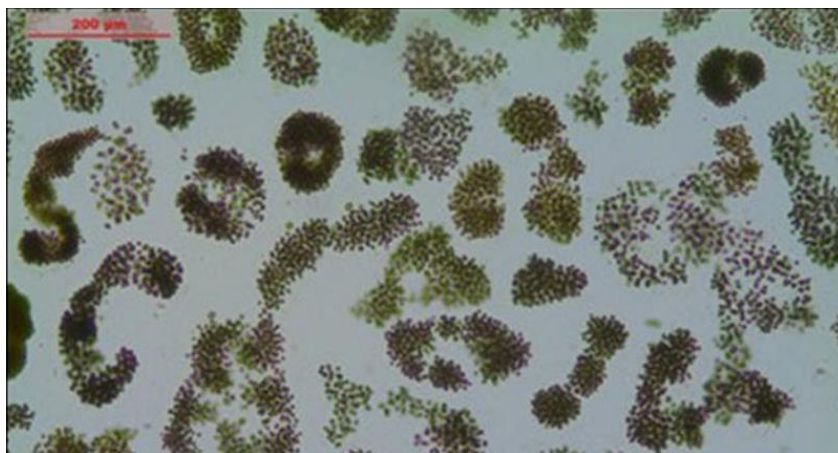
1.3. Giới thiệu về vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*

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 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

M. aeruginosa có hình thái và cấu trúc tế bào đặc trưng, giúp chúng thích nghi và phát triển mạnh trong môi trường nước ngọt. Vi khuẩn này có kích thước từ 2 đến 7 μm , thường có dạng hình cầu hoặc elip [67]. Các tế bào thường tồn tại đơn lẻ hoặc liên kết thành tập đoàn, tạo nên các cụm vi khuẩn lớn được bao bọc bởi lớp chất nhầy ngoại bào (EPS - extracellular polymeric substances). Lớp chất nhầy này giúp vi khuẩn chống lại động vật phù du ăn tảo và bảo vệ chúng khỏi các điều kiện môi trường bất lợi [67]. Một đặc điểm quan trọng của *M. aeruginosa* là sự hiện diện của túi khí nội bào (gas vesicles), cho phép chúng điều chỉnh khả năng nổi. Nhờ vào đặc điểm này, vi khuẩn có thể kiểm soát vị trí của chúng trong cột nước, giúp tối ưu hóa việc tiếp nhận ánh sáng và chất dinh dưỡng để phát triển [66].



Hình 1.7. Hình thái của tập đoàn vi khuẩn lam *M. aeruginosa* [67]

Thành tế bào của *M. aeruginosa* chứa peptidoglycan, giúp bảo vệ vi khuẩn khỏi các yếu tố môi trường bất lợi [67]. Lớp chất nhầy ngoại bào (EPS) cũng đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ vi khuẩn khỏi động vật phù du, đồng thời giúp duy trì tính ổn định của tập đoàn vi khuẩn [67]. Ngoài ra, *M. aeruginosa* có khả năng lưu trữ dinh dưỡng nội bào để tồn tại trong điều kiện khắc nghiệt. Vi khuẩn này dự trữ phosphorus dưới dạng polyphosphate (poly-P), giúp chúng sống sót trong điều kiện thiếu hụt phosphorus [66]. Đồng thời, chúng cũng lưu trữ glycogen như một nguồn năng lượng dự trữ để sử dụng khi nguồn carbon bị hạn chế [67].

M. aeruginosa có màng thylakoid, chứa chlorophyll a, giúp thực hiện quá trình quang hợp và chuyển hóa năng lượng từ ánh sáng [66]. Ngoài ra, vi khuẩn này cũng chứa các sắc tố quang hợp như phycoerythrin và phycocyanin, giúp hấp thụ ánh sáng hiệu quả ngay cả trong điều kiện ánh sáng yếu [67].

1.3.1.2. Sản xuất độc tố và chiến lược sinh tồn

M. aeruginosa là một trong những loài vi khuẩn lam có khả năng sản xuất các hợp chất microcystin, một nhóm độc tố peptide có vòng, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến hệ sinh thái và sức khỏe con người [68]. Microcystins được tổng hợp thông qua một cụm gen chuyên biệt gọi là mcy (microcystin synthetase gene cluster). Cụm gen này mã hóa các enzyme cần thiết cho quá trình tổng hợp độc tố [68]. Biểu hiện của các gen mcyA, mcyB, mcyC có xu hướng tăng cao khi mức dinh dưỡng trong môi trường giảm, giúp vi khuẩn thích nghi với điều kiện khan hiếm phosphorus [68].

Microcystins có nhiều chức năng quan trọng giúp *M. aeruginosa* cạnh tranh và tồn tại trong hệ sinh thái nước ngọt:

- Ức chế sinh trưởng của vi sinh vật cạnh tranh, giúp *M. aeruginosa* chiếm ưu thế so với các loài vi khuẩn khác [68].
- Chống lại động vật phù du ăn tảo, làm giảm khả năng bị tiêu thụ bởi các loài như *Daphnia* [68].
- Thích nghi với môi trường: Khi nồng độ phosphorus trong nước giảm, *M. aeruginosa* tăng cường sản xuất các hợp chất microcystin để bảo vệ tập đoàn vi khuẩn khỏi sự suy giảm nhanh chóng [69, 70].

Ví dụ thực tế: Tại Hồ Erie (Mỹ), hiện tượng tảo nở hoa do *M. aeruginosa* bùng phát mạnh mẽ đã dẫn đến nồng độ các microcystin cao, gây ô nhiễm nghiêm trọng nguồn nước [68]. Một nghiên cứu khác tại Trung Quốc cho thấy, khi mức phosphorus giảm, *M. aeruginosa* phản ứng bằng cách gia tăng sản xuất các hợp chất microcystin để duy trì sự sống [71].

1.3.1.3. Tính linh hoạt di truyền và thích nghi môi trường

M. aeruginosa có khả năng thích nghi cao với các điều kiện môi trường nhờ bộ gen linh hoạt. Vi khuẩn này có bộ gen 5,8 triệu cặp base, với hơn 12.000 gen được dự đoán, giúp chúng có thể điều chỉnh nhanh chóng để thích nghi với các điều kiện sống khác nhau [71].

Để tồn tại trong môi trường có nồng độ phosphorus thấp, *M. aeruginosa* kích hoạt biểu hiện của các gen phoX, pstS, sphX, giúp tăng cường hấp thu phosphorus hiệu quả. Ngoài ra, vi khuẩn này cũng có thể sử dụng urea và các hợp chất hữu cơ làm nguồn nitrogen thay thế khi nguồn nitrogen vô cơ khan hiếm [67]. Một số dòng vi khuẩn còn có khả năng trao đổi vật chất di truyền, giúp chúng dễ dàng thích nghi với điều kiện môi trường thay đổi [70].

M. aeruginosa có khả năng hình thành tập đoàn tế bào, giúp bảo vệ chúng khỏi động vật phù du ăn tảo và các điều kiện môi trường bất lợi [67]. Khi điều kiện trở nên khắc nghiệt, chẳng hạn như khi mức oxy hòa tan trong nước giảm, vi khuẩn có thể giảm tốc độ trao đổi chất và sử dụng glycogen và polyphosphate làm nguồn năng lượng dự trữ [67]. Nghiên cứu tại Hồ Taihu (Trung Quốc) phát hiện rằng các dòng *M. aeruginosa* có khả năng hấp thu nitrogen và phosphorus hiệu quả hơn đã phát triển mạnh, ngay cả trong điều kiện môi trường biến đổi [71].

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

1.3.2.1. Tác động đến môi trường

Hiện tượng tảo nở hoa (*harmful algal blooms - HABs*) do *Microcystis aeruginosa* gây ra có thể làm mất cân bằng hệ sinh thái nước ngọt theo nhiều cách khác nhau, ảnh hưởng nghiêm trọng đến hệ sinh thái và chất lượng nước. Một trong những hậu quả nghiêm trọng nhất là sự suy giảm hàm lượng oxy hòa tan, dẫn đến hiện tượng thiếu oxy cục bộ (*hypoxia*) hoặc thậm chí tạo ra vùng nước chết (*dead zones*). Khi *M. aeruginosa* phát triển mạnh, chúng tiêu thụ một lượng lớn chất dinh dưỡng trong nước. Khi tảo chết đi, quá trình phân hủy sinh học tiêu thụ nhiều oxy, khiến mức oxy trong nước sụt giảm mạnh, làm suy giảm chất lượng môi trường sống của cá và động vật không xương sống [67].

Ngoài ra, *M. aeruginosa* còn ảnh hưởng tiêu cực đến hệ sinh thái thủy sinh. Các tập đoàn vi khuẩn này có thể tạo ra một lớp màng dày trên mặt nước, cản trở ánh sáng xuyên xuống phía dưới, làm suy giảm quang hợp của thực vật thủy sinh. Điều này dẫn đến sự suy giảm mật độ và đa dạng của thực vật dưới nước, làm ảnh hưởng đến các sinh vật sống phụ thuộc vào chúng [67]. Hơn nữa, các chất độc do *M. aeruginosa* tiết ra có thể gây ảnh hưởng đến cá, động vật phù du và các vi sinh vật khác, làm mất cân bằng chuỗi thức ăn trong hệ sinh thái [67]. Đặc biệt, *Microcystis* còn có khả năng chống lại sự tấn công của động vật phù du và các loài hai mảnh vỏ (như hến, trai) nhờ cơ chế bảo vệ sinh học, giúp chúng duy trì mật độ cao trong tự nhiên [69]. Chúng cũng có thể né tránh các virus ký sinh bằng cách thay đổi cấu trúc tế bào hoặc tạo lớp nhầy dày hơn [69], góp phần tăng khả năng bùng phát lâu dài và dai dẳng trong tự nhiên.

Những tác động này đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu thực tiễn. Ví dụ, tại hồ Erie (Mỹ) năm 2011, *M. aeruginosa* bùng phát trên diện rộng, làm suy giảm nghiêm trọng mức oxy hòa tan trong nước và gây chết hàng loạt cá [67]. Một trường hợp khác xảy ra tại San Francisco (Mỹ) năm 2014, khi sự phát triển ồ ạt của *M.*

aeruginosa đã làm gián đoạn hệ sinh thái sông và cửa biển, ảnh hưởng đến động vật phù du và cá trong khu vực [67].

1.3.2.2. Tác động đến sức khỏe con người

Một trong những mối nguy hiểm lớn nhất từ *M. aeruginosa* là các hợp chất microcystin, nhóm độc tố được sản xuất bởi loài này. Các chất độc này có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, đặc biệt khi tiếp xúc trực tiếp với nước bị ô nhiễm hoặc tiêu thụ thực phẩm và nước uống bị nhiễm độc. Ngộ độc cấp tính có thể xảy ra khi con người tiếp xúc trực tiếp với nước bị ô nhiễm *M. aeruginosa* thông qua các hoạt động như tắm, bơi lội hoặc hít phải giọt nước có chứa độc tố. Các triệu chứng thường gặp bao gồm kích ứng da, đỏ mắt, buồn nôn, nôn mửa, tiêu chảy, đau bụng và sốt [68].

Một vấn đề đáng lo ngại khác là sự tích tụ độc tố trong chuỗi thức ăn. Microcystin do *M. aeruginosa* sản xuất có thể tích lũy trong cơ thể của các loài cá và động vật có vỏ như trai, hến. Khi con người tiêu thụ những loài thủy sản này, độc tố có thể đi vào cơ thể và gây ra các vấn đề sức khỏe nghiêm trọng [68, 69]. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các hợp chất microcystin có thể làm thay đổi cấu trúc mô gan của cá, gây tổn thương gan nghiêm trọng, thậm chí có thể dẫn đến tử vong [68]. Ngoài ra, các độc tố vi tảo có thể ảnh hưởng đến hoạt động của hệ thống cấp nước: khi mật độ tảo cao, sẽ gây tắc nghẽn bộ lọc, làm tăng nhu cầu sử dụng hóa chất xử lý nước, tăng chi phí và giảm hiệu quả vận hành [72].

Bên cạnh ngộ độc cấp tính, ngộ độc mãn tính do các hợp chất microcystin cũng là một mối quan ngại lớn. Việc tiêu thụ nước uống bị nhiễm microcystin trong thời gian dài có thể dẫn đến tổn thương gan và làm tăng nguy cơ ung thư gan. Một nghiên cứu tại Trung Quốc cho thấy có mối liên hệ chặt chẽ giữa nồng độ hợp chất microcystin cao trong nước uống và tỷ lệ mắc ung thư gan cao hơn ở các khu vực bị ô nhiễm nặng [68]. Ngoài ra, các hợp chất microcystin có thể ảnh hưởng đến hệ thần kinh và sinh sản. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng chất độc này có thể tác động đến hệ thần kinh trung ương, gây rối loạn nhận thức, mất trí nhớ và suy giảm khả năng học tập [68]. Đặc biệt, microcystin cũng có thể gây rối loạn nội tiết, ảnh hưởng đến hệ thống sinh sản, bao gồm giảm số lượng tinh trùng ở nam giới và gây tổn thương tế bào trứng ở nữ giới [68].

Một số nghiên cứu mới còn cho thấy các hợp chất microcystin có thể gây suy giảm chức năng thận và ảnh hưởng đến hệ miễn dịch nếu tích tụ trong thời gian dài

[69, 73]. Những ảnh hưởng này đặc biệt nghiêm trọng ở nhóm dân cư dễ bị tổn thương như trẻ nhỏ, người cao tuổi và người có bệnh nền.

Các tác động nghiêm trọng của *M. aeruginosa* đối với sức khỏe con người đã được ghi nhận trong nhiều sự kiện thực tế. Một trong những trường hợp điển hình là sự kiện ngộ độc tại Caruaru, Brazil năm 1996, khi khoảng 60 bệnh nhân chạy thận nhân tạo đã tử vong do sử dụng nước bị nhiễm các hợp chất microcystin [68, 69]. Một nghiên cứu khác tại Nhật Bản cũng phát hiện rằng tỷ lệ mắc bệnh gan cao hơn ở những người sống gần các hồ nước bị ô nhiễm *M. aeruginosa* [68].

Sự phát triển mạnh mẽ của *Microcystis aeruginosa* không chỉ gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến hệ sinh thái nước ngọt mà còn tiềm ẩn nhiều rủi ro đối với sức khỏe con người. Việc giám sát và kiểm soát sự phát triển của *M. aeruginosa* là vô cùng cần thiết để bảo vệ môi trường nước cũng như sức khỏe cộng đồng.

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

Các phương pháp vật lý giúp giảm thiểu sự phát triển của *M. aeruginosa* thông qua các biện pháp cơ học hoặc công nghệ tiên tiến. Một số hệ thống lọc nước như màng siêu lọc hoặc lọc nano có thể loại bỏ hiệu quả tế bào *M. aeruginosa* khỏi nước uống, đảm bảo an toàn cho nguồn nước sinh hoạt [68, 69]. Ngoài ra, tại một số hồ nước ở Trung Quốc, hệ thống thu gom tảo bằng lưới cơ học đã được triển khai nhằm giảm mật độ *M. aeruginosa* trên bề mặt nước [69, 70].

Bên cạnh đó, phương pháp sục khí giúp phá vỡ tập đoàn *M. aeruginosa*, giảm khả năng phát triển của chúng bằng cách tăng cường hòa tan oxy trong nước [70]. Trong khi đó, công nghệ siêu âm sử dụng sóng âm với tần số 20-40 kHz có thể làm vỡ tế bào *M. aeruginosa* và ngăn chặn khả năng quang hợp của chúng, giúp kiểm soát mật độ vi khuẩn lam hiệu quả. Một nghiên cứu tại Nhật Bản cho thấy rằng áp dụng siêu âm có thể giảm tới 90% mật độ *M. aeruginosa* trong vòng 48 giờ [70].

Bên cạnh các phương pháp đã đề cập, một nghiên cứu đã cho thấy rằng quá trình tuyển nổi khí hòa tan (Dissolved Air Flotation - DAF) có hiệu quả rất cao trong việc loại bỏ các tế bào *Microcystis aeruginosa* ra khỏi nước mà không gây phá vỡ tế bào

và giải phóng độc tố microcystin vào nước. Theo nghiên cứu này, phương pháp tuyến nổi khí hòa tan đạt hiệu suất loại bỏ tế bào *Microcystis* lên đến 93–98%, đồng thời làm giảm đáng kể nguy cơ phát tán độc tố ra môi trường [74].

Các phương pháp vật lý tương đối đơn giản về mặt công nghệ, tuy nhiên, nhược điểm của các phương pháp này là khó áp dụng trên quy mô lớn hoặc các thủy vực có địa hình phức tạp. Do đó, để diệt vi khuẩn lam trên một diện tích lớn, cần có những phương pháp hiệu quả hơn.

1.3.3.2. Phương pháp sinh học

Các phương pháp sinh học ngày càng được quan tâm do tính an toàn và thân thiện với môi trường. Một trong những chiến lược quan trọng là sử dụng vi khuẩn đối kháng, giúp ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa* bằng cách tiết ra enzyme hoặc hợp chất sinh học. Ví dụ, vi khuẩn *Streptomyces sp. HJC-D1* có khả năng phá hủy màng tế bào của *M. aeruginosa*, làm giảm 53,5-62,6% hàm lượng Chlorophyll-a sau 72 giờ [75]. Một vi khuẩn khác, *Aeromonas sp.*, có thể giảm hơn 70% mật độ tế bào *M. aeruginosa* trong vòng 5 ngày bằng cách tiết ra các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên [76].

Ngoài ra, thực vật thủy sinh cũng được sử dụng để kiểm soát *M. aeruginosa* nhờ khả năng tiết ra các hợp chất có tính chất kháng vi khuẩn lam. Một nghiên cứu đã chứng minh rằng dịch chiết từ *Eucalyptus* và *Vallisneria* có thể làm giảm 80-90% sinh khối *M. aeruginosa* sau 7 ngày tiếp xúc [77]. Một loài tảo khác, *Chara vulgaris*, có khả năng tiết ra hợp chất ức chế quang hợp của *M. aeruginosa*, giúp giảm 80% hàm lượng chlorophyll-a sau 7 ngày xử lý [78].

Một phương pháp sinh học tự nhiên khác là sử dụng động vật phù du để kiểm soát mật độ *M. aeruginosa*. Các loài *Daphnia magna* có thể tiêu thụ *M. aeruginosa* ngay cả khi vi khuẩn này sản xuất độc tố microcystin. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng *Daphnia magna* có thể làm giảm 50% mật độ *M. aeruginosa* trong vòng 3 ngày [69].

Ngoài vi khuẩn và thực vật thủy sinh, các phage diệt tảo cũng được sử dụng để kiểm soát *M. aeruginosa*. Cyanophage là một nhóm virus có khả năng lây nhiễm và tiêu diệt *M. aeruginosa* mà không làm ảnh hưởng đến các vi sinh vật khác trong hệ sinh thái. Một nghiên cứu cho thấy rằng cyanophage có thể làm giảm 90% mật độ *M. aeruginosa* trong vòng 5 ngày [71].

Một số hợp chất tự nhiên từ vi sinh vật cũng được nghiên cứu để kiểm soát *M. aeruginosa*. Ví dụ, L-lysine có thể làm vỡ màng tế bào *M. aeruginosa*, giúp giảm 80% mật độ tế bào sau 4 ngày tiếp xúc [79]. Ngoài ra, amentoflavone từ *Selaginella*

tamariscina cũng được chứng minh có thể phá vỡ màng tế bào của *M. aeruginosa*, với hiệu quả diệt tảo lên đến 95% trong vòng 3 ngày [80]. Một nghiên cứu khác cho thấy rằng polyphenol từ *Myriophyllum spicatum* có thể ức chế quang hợp của *M. aeruginosa*, làm giảm 80-90% sinh khối sau 7 ngày [81].

1.3.3.3. Phương pháp hóa học

Phương pháp hóa học sử dụng các hợp chất hóa học để tiêu diệt hoặc ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa*. Một trong những giải pháp phổ biến nhất là oxy hóa hóa học, sử dụng các chất như hydrogen peroxide (H_2O_2) và ozone (O_3) để phá hủy cấu trúc tế bào của *M. aeruginosa*, giúp loại bỏ cả tế bào và độc tố do vi khuẩn này tiết ra [69, 75].

Ngoài ra, các chất diệt tảo hóa học như đồng sunfat ($CuSO_4$), peroxymonosulfate (PMS) và peroxydisulfate (PDS) có thể phá hủy màng tế bào của *M. aeruginosa*, ngăn chặn sự phát triển của chúng. Tuy nhiên, một số hóa chất như đồng sunfat có thể gây ảnh hưởng tiêu cực đến hệ sinh thái thủy sinh, làm tích lũy kim loại nặng trong nước [68]. Một nghiên cứu tại Hà Lan cho thấy rằng sử dụng hydrogen peroxide với nồng độ 2-5 mg/L đã làm giảm mật độ *M. aeruginosa* xuống dưới ngưỡng gây hại trong vòng 24 giờ [70]. Bên cạnh đó, *Microcystis aeruginosa* còn rất nhạy cảm với stress oxy hóa và các tác nhân hóa học như permanganate kali ($KMnO_4$). Chất này gây tổn thương đến cấu trúc màng tế bào, làm giảm khả năng quang hợp và gây suy giảm mạnh tốc độ phát triển của tảo, dẫn đến khả năng sử dụng $KMnO_4$ để kiểm soát tảo nở hoa trong môi trường nước [82].

Việc sử dụng các chất hoá học có thể tạo ra hiệu quả nhanh chóng trên một phạm vi rộng lớn. Tuy nhiên, phần lớn các chất này cũng gây ra ô nhiễm thứ cấp sau quá trình tiêu diệt vi khuẩn lam. Do đó, cần phải có những phương pháp cho hiệu quả tương đương, đồng thời, đảm bảo tính thân thiện với môi trường để xử lý vấn đề ô nhiễm do vi khuẩn lam gây ra.

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

Các hợp chất tự nhiên như gramine (một alkaloid tự nhiên) cũng cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa* thông qua việc tạo stress oxy hóa và gây tổn thương màng tế bào của tảo [83]. Một nghiên cứu khác về chiết xuất từ *Chara vulgaris*, một loài tảo lục lớn, cũng chỉ ra rằng chiết xuất ethyl acetate từ loài tảo này có thể ức chế hiệu quả sự phát triển của *M. aeruginosa*, với tỷ lệ ức chế lên đến hơn 97% sau 7 ngày xử lý. Kết quả phân tích cho thấy chiết xuất này chứa các hợp chất phenolic có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn lam, chứng minh tiềm năng của *Chara vulgaris* trong kiểm soát tự nhiên các loài tảo độc hại [72].

Ngoài ra, các hợp chất phenolic từ cây mần tưới (*Eupatorium fortunei*) cũng đã được chứng minh có hiệu quả ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa*. Đặc biệt, hợp chất 8,9,10-trihydroxythymol từ loài cây này có hiệu quả ức chế mạnh hơn đồng sunfat (CuSO_4), mở ra khả năng sử dụng các hợp chất tự nhiên này như những chất diệt tảo hiệu quả và thân thiện với môi trường [84].

Các nghiên cứu trên cho thấy rằng việc sử dụng các chất tự nhiên và hợp chất có nguồn gốc tự nhiên là những giải pháp đầy triển vọng và thân thiện với môi trường để kiểm soát sự phát triển của *M. aeruginosa* trong các thủy vực.

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

Ở Việt Nam, nghiên cứu vi khuẩn lam độc ngày càng được quan tâm, đặc biệt trong hai thập niên trở lại đây. vi khuẩn lam độc có thể gây ra những tác động tiêu cực đến đa dạng sinh học và hoạt động của chuỗi thức ăn trong các hệ sinh thái dưới nước, cũng như việc sử dụng các vùng nước này để làm thực phẩm, nước uống và các mục đích giải trí khác có khả năng gây nguy hiểm. Một số nghiên cứu đã cho thấy phú dưỡng và nở hoa vi khuẩn lam độc hại trong nhiều vùng nước nội địa ở Việt Nam [85-88]. Các kết quả nghiên cứu tại các hồ Ba Bể, hồ Tây, hồ Hoàn Kiếm, hồ Thác Mơ, hồ Núi Cốc, hồ Láng, hồ Dầu Tiếng, hồ Trị An ...đều quan sát thấy sự hiện diện của vi khuẩn lam độc chủ yếu là các loài thuộc chi *Microcystis*. Mật độ vi khuẩn lam tại một số hồ và hồ chứa ở Việt Nam thay đổi rất lớn phụ thuộc vào thời gian và địa điểm lấy mẫu. Về độc tố, kết quả khảo sát tại hồ Núi Cốc cho thấy có thời điểm, hàm lượng microcystin trong nước hồ vượt quá giá trị cho phép của WHO ($> 1 \mu\text{g/L}$), tiềm ẩn nguy cơ gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người, động vật nuôi và động vật hoang dã khi cung cấp nước hồ cho các mục đích sử dụng như nước ăn uống và sinh hoạt [85]. Gần đây, các nghiên cứu đã cho thấy *Microcystis* chiếm ưu thế trong quần xã vi khuẩn lam tại hồ Dầu Tiếng với hàm lượng microcystin trong nước dao động từ 1,10 – 7,48 $\mu\text{g/L}$, thường xuyên đạt giá trị cao nhất trong khoảng từ tháng 4 đến tháng 7 [86].

Nhiều phương pháp khác nhau đã được áp dụng để kiểm soát bùng nổ tảo ở Việt Nam. Sử dụng vật liệu nano để kiểm soát bùng nổ vi tảo độc *M. aeruginosa* đã được triển khai trong quy mô phòng thí nghiệm năm 2015 [89]. Nhóm nghiên cứu đã khảo sát ảnh hưởng của nano bạc, nano đồng, nano titandioxide và nano sắt lên sinh trưởng của *M. aeruginosa*. Kết quả cho thấy nano đồng tại nồng độ 1 mg/L có khả năng ức chế sinh trưởng chọn lọc lên đối tượng *M. aeruginosa* so với *C. vulgaris*, tuy nhiên nghiên cứu cũng chưa đánh giá toàn diện về mức độ an toàn sinh thái của vật liệu lên

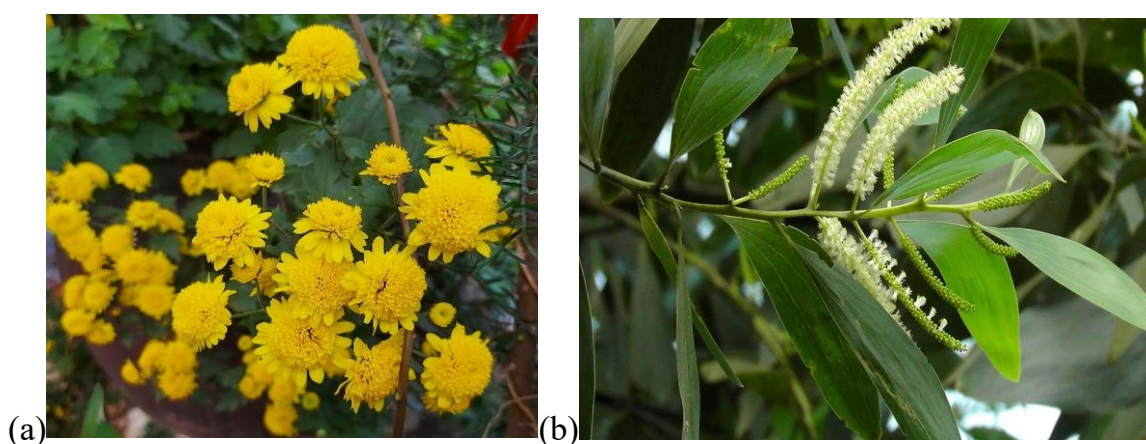
các đối tượng khác trong môi trường. Các kết quả sàng lọc tìm kiếm cao chiết thực vật khác cho thấy có khá nhiều thực vật sẵn có ở Việt Nam có tác dụng mạnh như cây cỏ lào, hương phụ, lược vàng, keo, chùm ngây, cúc hoa vàng,... cho thấy hiệu quả của dịch chiết từ *Bidens pilosa* ở nồng độ 250 và 500 mg/L có tác dụng ức chế đáng kể đối với sự phát triển của *M. aeruginosa* [90]. Gần đây, Phạm Thị Thanh và cộng sự (2021) đã nghiên cứu khả năng kiểm soát vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của dịch chiết từ rom ở Việt Nam nhằm thử nghiệm giải pháp xử lý ô nhiễm tảo độc từ nguồn vật liệu thân thiện môi trường [91]. Hai loài nấm *Myrothecium verucaria* và *Emericella nidulans* được thử nghiệm để nâng cao hiệu quả tách chiết các hợp chất kháng tảo từ rom. Dịch chiết được thu hoạch sau các mốc thời gian 15, 30 và 60 ngày xử lý. Khả năng ức chế tảo của dịch chiết được thử nghiệm ở các mật độ 10^5 và 10^7 tế bào tảo/L. Thời gian kiểm soát vi khuẩn lam của dịch chiết được đánh giá với 13 mốc thời gian (0 giờ, 1 giờ, 3 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 8 ngày, 9 ngày và 10 ngày sau khi xử lý). Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch chiết ở nghiệm thức 60 ngày có bổ sung nấm *M. verucaria* thu được hàm lượng các hợp chất kháng vi khuẩn lam cao nhất và có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam trong 6 ngày đầu thử nghiệm.

Nghiên cứu sử dụng các cao chiết và hợp chất có nguồn gốc thực vật ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn lam độc *M. aeruginosa* đã được nhóm nghiên cứu của PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt bắt đầu từ năm 2013 [92]. Cao chiết cây mần tưới có tác dụng ức chế hiệu quả sự sinh trưởng *M. aeruginosa* mà tác động không đáng kể đến *Daphnia magna* trên mô hình mô phỏng môi trường tự nhiên với nguồn nước hồ Hoàn Kiếm và hồ Láng đã được chứng minh [84, 92]. Kết quả thử nghiệm sinh học cho thấy cao chiết ethanol toàn phần từ bộ phận trên mặt đất của cây mần tưới thể hiện khả năng ức chế rõ rệt đối với *M. aeruginosa*, với giá trị IC_{50} đạt 119,3 $\mu\text{g/mL}$ sau 96 giờ xử lý. Ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$, tỉ lệ ức chế đạt 62,48%, và tăng lên đến 84,66% khi nồng độ được nâng lên 400 $\mu\text{g/mL}$. Đáng chú ý, cùng nồng độ này hầu như không gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của các loài phi mục tiêu như *Chlorella vulgaris* và *Lemna minor*, cho thấy tính chọn lọc sinh học cao [84].

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

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 tai tượng (*Acacia mangium*) 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.



Hình 2.1. Mẫu (a) hoa cúc vàng và (b) keo tai tượng

2.2. Nguyên liệu, vật liệu và thiết bị

2.2.1. 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 μ m.
- 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%.

2.2.2. 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 micropipette (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)

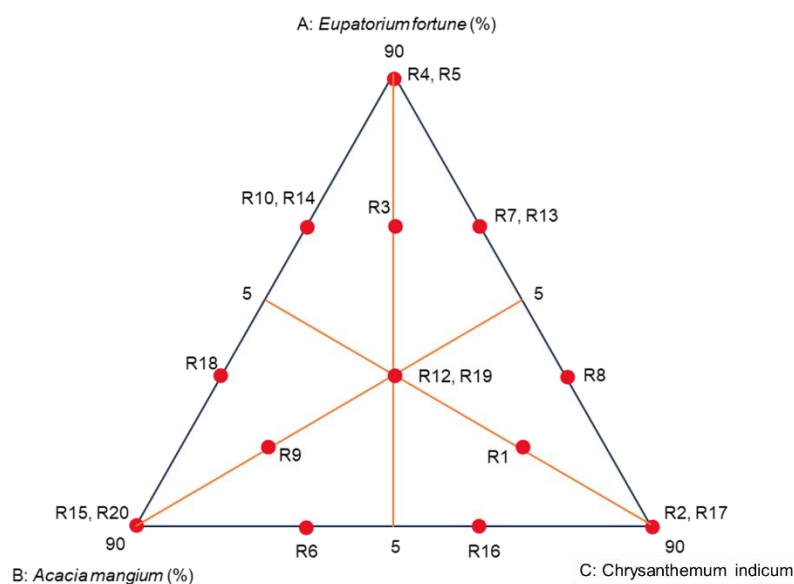
2.3.2. Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

Cấu trúc của các hợp chất phân lập 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), phương pháp đo độ quay cực.

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 cách sử dụng mô hình Simplex Lattice Design (SLD) trên phần mềm Design Expert 12.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ). Theo đó, tỉ lệ phần trăm về khối lượng của mỗi cao chiết trong hỗn hợp dao động trong khoảng 5-90%.



Hình 2.2. Thiết kế thí nghiệm theo mô hình SLD

Tỉ lệ chi tiết mỗi cao chiết trong hỗn hợp trong thí nghiệm được xây dựng như bảng biểu diễn dưới đây:

Bảng 2.1. Tỉ lệ phần trăm các cao chiết trong hỗn hợp khảo sát

STT	% <i>Eupatorium fortune</i>	% <i>Acacia mangium</i>	% <i>Chrysanthemum indicum</i>
1	5,00	61,67	33,33
2	5,00	5,00	90,00
3	90,00	5,00	5,00
4	61,67	19,17	19,17
5	33,33	5,00	61,67
6	90,00	5,00	5,00
7	33,33	61,67	5,00
8	19,17	19,17	61,67
9	19,17	61,67	19,17
10	33,33	33,33	33,33
11	5,00	90,00	5,00
12	61,67	5,00	33,33
13	5,00	33,33	61,67
14	5,00	90,00	5,00
15	5,00	61,67	33,33
16	33,33	33,33	33,33
17	61,67	33,33	5,00
18	5,00	5,00	90,00
19	61,67	33,33	5,00
20	61,67	5,00	33,33

Kết quả các thí nghiệm trên được sử dụng làm cơ sở dữ liệu để xác định tỉ lệ phối trộn tối ưu của chế phẩm diệt tảo. Sau đó, tỷ lệ tối ưu của mỗi cao chiết thực vật trong các chế phẩm diệt tảo được xác định bằng phương pháp Bề mặt đáp ứng (Response surface method - RSM). Các thí nghiệm thiết kế hỗn hợp được thiết kế và phân tích bằng phần mềm Design Expert 12.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ).

Đánh giá chất lượng của các mô hình được kiểm tra bằng phân tích phương sai (ANOVA) thông qua kiểm định Fisher (F-value), giá trị xác suất (*p*-value), và ý nghĩa của độ không phù hợp (lack-of-fit) để xác định liệu mô hình có tóm tắt chính xác kết quả của thiết kế thí nghiệm hay không. Ngoài ra, các hệ số hồi quy đa tuyến tính (R^2), hệ số dự đoán (R^2 predicted), và hệ số điều chỉnh (R^2 adjusted) cũng được sử dụng để kiểm tra chất lượng dự báo của các mô hình được chọn.

2.3.4. 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 mm × 1 mm). Số lượng tế bào được đếm trong 1ml dưới kính hiển vi quang học Olympus-BX51, Japan và kết quả mật độ 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 hợp 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 đo 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:

$$IE (\%) = \frac{OD(V_0) - OD(V_t)}{OD(V_0)} \times 100$$

Trong đó:

- **OD(V₀):** giá trị đo mật độ quang của mẫu đối chứng không bổ sung hợp chất (coi nồng độ các hợp chất là 0 µg/mL)
- **OD(V_t):** giá trị đo mật độ quang của mẫu bổ sung hợp chất với nồng độ tương ứng

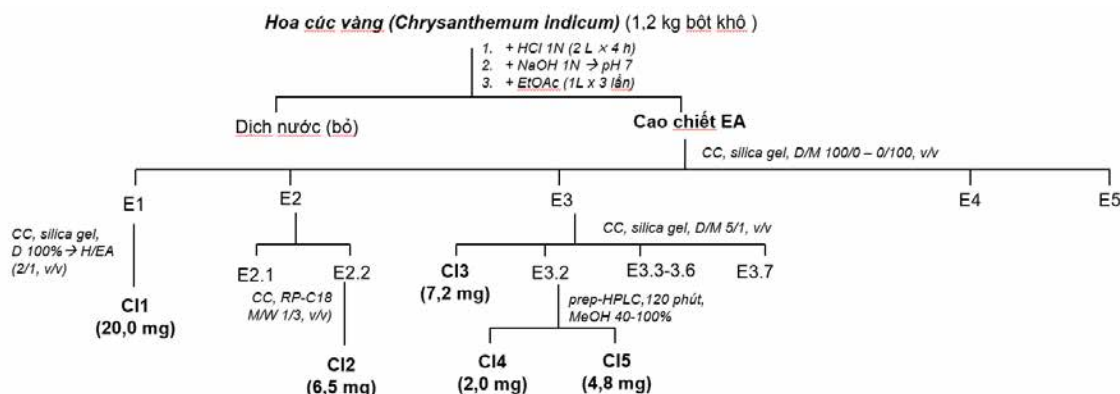
2.4. Thực nghiệm

2.4.1. Phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)

Trước khi nghiên cứu về thành phần hoá học, thử nghiệm sàng lọc đã được tiến hành để so sánh hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của cao chiết cúc hoa vàng bằng phương pháp thường quy (sử dụng methanol) và của cao chiết theo phương pháp đun hồi lưu với HCl 1N (phương pháp cụ thể được mô tả ở phần sau). Kết quả sàng lọc đã cho thấy, cao chiết theo phương pháp đun hồi lưu với HCl 1N cho thấy hoạt tính ức chế *M. aeruginosa* tốt hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với cao chiết theo phương pháp thông thường. Mặc dù vậy, việc sử dụng HCl 1N có thể gây ra những thay đổi về thành phần hoá học của mẫu thực vật. Do đó, để đảm bảo tính khách quan của dữ liệu về thành phần hoá học của mẫu thực vật, cũng như tính đa dạng về thành phần của các cao chiết chúng tôi tiến hành phân lập và xác định cấu trúc của cao chiết bằng cả hai phương pháp.

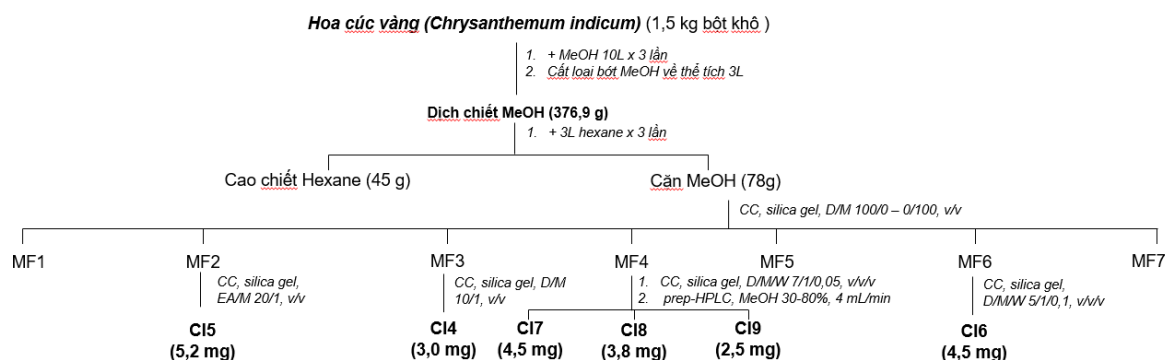
Đối với phương pháp đun hồi lưu trong HCl 1N, mẫu hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) sau khi được sấy khô và nghiền thành bột (1,2 kg) được đun hồi lưu với dung dịch HCl 1N (2 lít) trong vòng 4 giờ. Sau khi làm nguội, dung dịch axit được trung hòa về pH 7,0 bằng dung dịch NaOH 1N, rồi được chiết bằng ethyl acetat (EtOAc) ba lần, mỗi lần 1 lít. Các lớp dung môi hữu cơ được gộp lại và cô đặc dưới áp suất giảm, thu được cao chiết thô (232 g). Cao thô này được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi methanol trong dichloromethane với gradient từ 0 đến 100%, thu được năm phân đoạn chính (F1–F5). Hợp chất **CI1** (20,0 mg) được phân lập từ phân đoạn F1 qua sắc ký cột silica gel, lần lượt sử dụng dung môi dichloromethane 100% và hỗn hợp *n*-hexane:ethyl acetat (2:1, v/v). Phân đoạn F2 tiếp tục được tách bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane:methanol (6:1, v/v), thu được hai phân đoạn phụ F2.1 và F2.2. Hợp chất **CI2** (6,5 mg) được tinh chế từ phân đoạn F2.2 bằng sắc ký đảo pha (RP-C18), sử dụng hệ dung môi methanol:nước (1:3, v/v). Phân đoạn F3 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi dichloromethane:methanol (5:1, v/v) thu được hợp chất **CI3** (7,2 mg) và sáu phân đoạn khác (F3.2-F3.7). Phân đoạn F3.2 được phân tách trên hệ thống sắc ký điều chế prep-HPLC với chương trình dung môi 120

phút, gradient methanol 40-100% (trong nước) với tốc độ dòng 4 mL/phút thu được hai hợp chất **CI4** (2,0 mg) và **CI5** (4,8 mg).



Hình 2.3. Sơ đồ phân lập cúc hoa vàng được chiết xuất bằng HCl 1N

Đối với phương pháp chiết xuất thường quy với methanol, 1,5 kg bột hoa cúc vàng được chiết với 10L methanol dưới tác dụng của sóng siêu âm trong 1h sau đó lọc lấy dịch. Quy trình chiết được lặp lại thêm ba lần đối với bã thu được. Phần dịch lọc được cất loại bớt dung môi về thể tích 3L dưới áp suất giảm rồi chiết phân bố với hexane (3L). Sau đó, tiến hành tách hai pha và cất loại hoàn toàn dung môi, thu được cặn hexane (45 g) và cặn MeOH (78 g). Cao chiết MeOH được phân tách trên cột sắc ký silica gel, sử dụng hệ dung môi methanol trong dichloromethane với gradient từ 0 đến 100%, thu được bảy phân đoạn chính (MF1–MF7). Phân đoạn MF3 được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi dichloromethane:methanol (10:1, v/v), thu được hợp chất **CI4** (3,0 mg). Phân đoạn MF2 được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi ethyl acetate:methanol (20:1, v/v), thu được hợp chất **CI5** (5,2 mg). Phân đoạn MF6 được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi dichloromethane:methanol:nước (5:1:0,1, v/v/v) thu được hợp chất **CI6** (4,5 mg). Phân đoạn MF4 được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi dichloromethane:methanol:nước (7:1:0,05, v/v/v) sau đó tinh chế lại trên hệ thống sắc ký điều chế prep-HPLC với chương trình dung môi 120 phút, gradient methanol 30-80% (trong nước) với tốc độ dòng 4 mL/phút thu được ba hợp chất **CI7** (3,1 mg), **CI8** (3,8 mg) và **CI9** (2,5 mg).



Hình 2.4. Sơ đồ phân lập cúc hoa vàng được chiết xuất bằng methanol

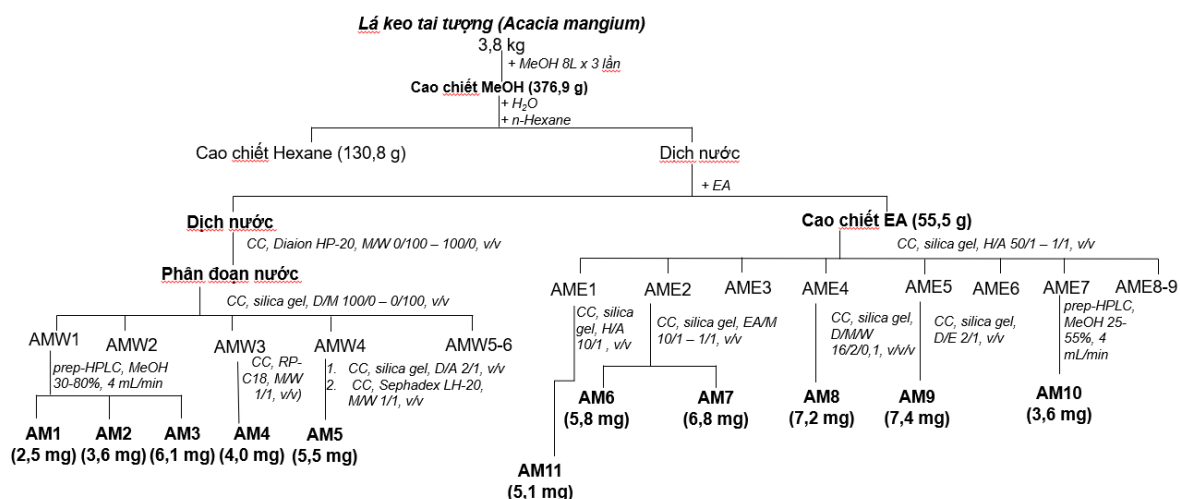
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài keo tai tượng (*Acacia mangium*)

Mẫu lá keo tai tượng sau khi được sấy khô và xay nhỏ (3,8 kg) được tiến hành chiết với dung môi methanol (MeOH, 8 L × 3 lần). Dịch chiết thu được được cô đặc dưới áp suất giảm, thu được 367,9 g cao chiết methanol. Cao này được hoà tan trong nước, sau đó tiến hành chiết phân đoạn tuần tự với *n*-hexane (H) và ethyl acetate (E), thu được cao chiết *n*-hexane (130,8 g) và cao chiết ethyl acetate (55,5 g).

Phần dịch nước được xử lý qua cột Diaion, loại bỏ dịch rửa với nước và thu hồi phần rửa bằng MeOH 100%. Tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi gradient dichloromethane và methanol từ 100:0 đến 0:100 (v/v), thu được sáu phân đoạn, ký hiệu từ AMW1 đến AMW6. Phân đoạn AMW1 được phân tách trên sắc ký điều chế prep-HPLC với chương trình dung môi 20-65% MeOH trong 120 phút, tốc độ dòng 4 mL/phút, sử dụng cột YMC-ODS-A (250 × 100 mm, 5 μm) thu được ba hợp chất **AM1** (2,5 mg), **AM2** (3,6 mg) và **AM3** (6,1 mg). Phân đoạn AMW3 được tiếp tục phân tách trên cột RP-C18 và rửa giải với hệ dung môi gồm methanol và nước (1/1, v/v) thu được hợp chất: **AM4** (4,0 mg). Phân đoạn AMW4 được phân tách trên cột sắc ký silica gel với pha động là dichloromethane/acetone (2/1, v/v) sau đó tinh chế lại trên cột sắc ký Sephadex LH-20 rửa giải bằng hệ dung môi methanol/nước (1/1, v/v) thu được hợp chất **AM5** (5,5 mg).

Cao ethyl acetate được phân tách trên cột silica gel thường với hệ dung môi gradient *n*-hexane/acetone (50/1 – 1/1, v/v), thu được chín phân đoạn AME 1 đến AME 9. Phân đoạn AME 2 tiếp tục được phân tách trên cột silica gel với gradient dung môi ethyl acetate/methanol (10/1 – 1/1, v/v) phân lập được 2 chất sạch là **AM6** (5,8 mg) và **AM7** (6,8 mg). Từ phân đoạn AME4, hợp chất **AM8** (7,2 mg) được phân lập bằng cách phân tách trên cột sắc ký silicagel và rửa giải bằng hệ dung môi gồm dichloromethane/ methanol/nước (8/1/0,05, v/v). Hợp chất **AM9** (7,4 mg) được phân tách từ phân đoạn AME5 trên cột sắc ký với pha tĩnh là silica gel và rửa giải bằng pha động gồm dichloromethane và ethyl acetate (2/1, v/v). Phân đoạn AME7 được phân

tách trên hệ thống sắc ký điều chế (prep-HPLC) với chương trình dung môi 25-55% MeOH trong 120 phút, tốc độ dòng 4 mL/phút, sử dụng cột YMC-ODS-A (250 × 100 mm, 5 μm) thu được hợp chất **AM10** (3,6 mg). Phân đoạn AME 1 được phân tách trên cột silica gel với với gradient dung môi *n*-hexane/acetone (10/1, v/v) thu chất sạch là **AM11** (5,1 mg)



Hình 2.5. Sơ đồ phân lập mẫu keo tai tượng

2.4.3. Thông số vật lý và các dữ liệu phổ các hợp chất phân lập được

2.4.3.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)

Methyl (E)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (**CI1**): chất rắn màu trắng; ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃): 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); 4,18 (2H; s; H-9); 3,80 (2H; s; H-2); 3,38 (3H; br s; 9-OCH₃); 3,67 (3H; br s; COOCH₃); 2,44 (3H; br s; H-11), ¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃): δ_C 171,5 (C-1); 32,0 (C-2); 130,7 (C-3); 128,4 (C-4); 150,7 (C-5); 117,6 (C-6); 111,7 (C-7); 155,1 (C-8); 66,4 (C-9); 197,9 (C-10); 25,2 (C-11); 58,2 (OCH₃); 51,9 (COOCH₃), HR-ESI-MS *m/z*: 253,1071 [M + H]⁺ (calcd 253,1076; C₁₃H₁₇O₅).

Methyl (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (**CI2**): chất rắn màu trắng; ¹H-NMR (500 MHz; CDCl₃): 3,43 (2H; d; *J* = 1,0 Hz; H-2); 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); 4,36 (2H; s; H-9); 2,37 (3H; br s; H-11); 3,35 (3H; br s; 9-OCH₃); 3,69 (3H; br s; COOCH₃), ¹³C-NMR (125 MHz; CDCl₃): 171,1 (C-1); 41,0 (C-2); 133,0 (C-3); 122,0 (C-4); 149,8 (C-5); 113,7 (C-6); 111,3 (C-7); 153,4 (C-8); 66,3 (C-9); 204,3 (C-10); 29,9 (C-11); 58,0 (9-OCH₃); 52,1 (COOCH₃), HR-ESI-MS *m/z*: 253,1084 [M + H]⁺ (calcd 253,1076; C₁₃H₁₇O₅).

Methyl (*E*)-3-(furan-2-ylmethylene)-4-oxopentanoate (**CI3**): chất rắn màu trắng; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; CDCl_3): 3,82 (2H; s; H-2); 7,36 (1H; s; H-4); 6,72 (1H; d; $J = 3,5$ Hz; H-6); 6,52 (1H; dd; $J = 3,5; 1,5$ Hz; H-7); 7,57 (1H; d; $J = 1,5$ Hz; H-8); 2,45 (3H; br s; H-11); 3,67 (3H; br s; COOCH_3), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz; CDCl_3): 171,6 (C-1); 32,0 (C-2); 130,7 (C-3); 128,4 (C-4); 150,7 (C-5); 117,0 (C-6); 112,4 (C-7); 145,3 (C-8); 198,1 (C-10); 25,5 (C-11); 52,0 (COOCH_3), HR-ESI-MS m/z : 208,0742 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd 208,0736; $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$).

Acacetin (**CI4**): chất bột màu vàng, $^1\text{H NMR}$ (500 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): δ 6,84 (1H; s; H-3); 6,20 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-6); 6,50 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-8); 8,04 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-2'; H-6'); 7,10 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-3'; H-5'), 3,86 (3H, s, H-7'). $^{13}\text{C NMR}$ (125MHz; $\text{DMSO-}d_6$): 163,3 (C-2); 103,5 (C-3); 181,7 (C-4); 161,4 (C-5); 98,9 (C-6); 164,2 (C-7); 93,9 (C-8); 157,3 (C-9); 103,7 (C-10); 122,8 (C-1'); 128,3 (C-2'); 114,6 (C-3'); 162,3 (C-4'); 114,6 (C-5'); 128,3 (C-6'), 55,5 (C-7').

Apigenin (**CI5**): tinh thể màu vàng, $^1\text{H NMR}$ (500 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): δ 6,76 (1H; s; H-3); 6,18 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-6); 6,47 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-8); 7,91 (2H; d; $J = 8,5$ Hz; H-2'; H-6'); 6,91 (2H; d; $J = 8,5$ Hz; H-3'; H-5'), $^{13}\text{C NMR}$ (125MHz; $\text{DMSO-}d_6$): 163,7 (C-2); 102,8 (C-3); 181,6 (C-4); 161,4 (C-5); 98,8 (C-6); 164,1 (C-7); 93,9 (C-8); 157,2 (C-9); 103,6 (C-10); 121,1 (C-1'); 128,4 (C-2'); 115,9 (C-3'); 161,1 (C-4'); 115,9 (C-5'); 128,4 (C-6').

Acacetin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**CI6**): Chất bột màu vàng, ESI-MS m/z 447,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $^1\text{H NMR}$ (500 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): δ 8,05 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-2'; H-6'); 7,12 (2H; d; $J = 9,0$ Hz; H-3'; H-5'); 6,94 (1H; s; H-3); 6,85 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-8); 6,45 (1H; d; $J = 2,0$ Hz; H-6); 5,07 (1H; d; $J = 6,5$; H-1''); 3,86 (3H; br s; OMe), $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): 163,8 (C-2); 103,7 (C-3); 181,9 (C-4); 161,0 (C-5); 99,4 (C-6); 163,8 (C-7); 94,9 (C-8); 156,9 (C-9); 105,3 (C-10); 122,6 (C-1'); 128,4 (C-2'; 6'); 114,6 (C-3'; 5'); 162,4 (C-4'); 99,7 (C-1''); 73,0 (C-2''); 77,1 (C-3''); 69,5 (C-4''); 76,4 (C-5''); 60,6 (C-6'').

Acacetin 7-*O*-rutinoside (**CI7**): Chất bột màu vàng, ESI-MS m/z 593,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $^1\text{H NMR}$ (500 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): δ 6,93 (1H; s; H-3); 6,45 (1H; d; $J = 1,5$ Hz; H-6); 6,79 (1H; br s; H-8); 8,06 (2H; d; $J = 8,5$ Hz; H-2'; 6'); 7,16 (2H; d; $J = 8,5$ Hz; H-3'; 5'); 5,06 (1H; d; $J = 7,0$ Hz; H-1''); 4,54 (1H; br s; H-1'''); 1,08 (3H; $J = 6,0$ Hz; H-6'''); 3,86 (3H; 4'- OCH_3), $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz; $\text{DMSO-}d_6$): δ 164,0 (C-2); 103,8 (C-3); 182,0 (C-4); 157,0 (C-5); 100,5 (C-6); 162,9 (C-7); 94,9 (C-8); 161,1 (C-9); 105,5 (C-10); 122,7 (C-1'); 128,5 (C-2'; 6'); 114,7 (C-3'; 5'); 162,4 (C-4'); 99,7 (C-

1"); 73,1 (C-2"); 76,2 (C-3"); 69,6 (C-4"); 75,7 (C-5"); 66,5 (C-6"); 100,0 (C-1'''); 70,7 (C-2'''); 70,3 (C-3'''); 72,1 (C-4'''); 68,3 (C-5'''); 17,7 (C-6'''); 55,6 (4'-OCH₃).

Apigenin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**CI8**): Chất bột màu vàng, ¹H NMR (500 MHz; DMSO-*d*₆): δ 12,9 (1H; s; 5-OH); 7,95 (2H; d; *J* = 8,5 Hz; H-2'; 6'); 6,98 (2H; d; *J* = 8,5 Hz; H-3'; 5'); 6,85 (1H; s; H-3); 6,83 (1H; d; *J* = 2,0 Hz; H-8); 6,43 (1H; d; *J* = 2,0 Hz; H-6); 5,06 (1H; d; *J* = 8,0 Hz; H-1''), ¹³C NMR (125 MHz; DMSO-*d*₆): 162,9 (C-2); 103,0 (C-3); 182,0 (C-4); 161,5 (C-5); 99,5 (C-6); 164,3 (C-7); 94,8 (C-8); 156,9 (C-9); 103,0 (C-10); 120,8 (C-1'); 128,5 (C-2';6'); 116,0 (C-3';5'); 161,0 (C-4'); 99,8 (C-1''); 73,1 (C-2''); 77,1 (C-3''); 69,5 (C-4''); 76,4 (C-5''); 60,5 (C-6'').

p-Hydroxybenzoic acid (**CI9**): chất bột màu trắng, ¹H NMR (500 MHz; DMSO-*d*₆): 7,79 (2H; d; *J* = 8,5 Hz; H-2; 6); 6,82 (2H; d; *J* = 8,5 Hz; H-3; 5), ¹³C NMR (125MHz; DMSO-*d*₆): 167,1 (COOH); 161,5 (C-4); 131,4 (C-2; 6); 115,0 (C-3; 5); 121,2 (C-1).

2.4.3.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ keo tai tượng (*Acacia mangium*)

Acacienoside A (chất mới **AM1**): Chất dạng bột màu trắng, $[\alpha]_D^{25}$ -12,6 (c 0,1, MeOH). HR-ESI-MS *m/z*: 515,2417 [M+Cl]⁻ (calcd 515,2411; C₂₆H₄₀O₈Cl). ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 1,14 (1H; m; H-1a), 1,82 (1H; m; H-1b), 1,75 (1H; m; H-2a), 2,05 (1H; m; H-2b), 3,22 (1H; dd; *J* = 1,2; 7,6 Hz; H-3), 0,95 (1H; m; H-5), 1,54 (1H; m; H-6a), 1,80 (1H; m; H-6b), 1,15 (1H; m; H-7a), 2,23 (1H; m; H-7b), 2,45 (1H; m; H-8), 1,09 (1H; m; H-9), 1,20 (1H; m; H-11a), 2,15 (1H; m; H-11b), 4,50 (1H; br m; H-12), 2,52 (1H; m; H-15a), 2,63 (1H; m; H-15b), 2,40 (2H; m; H-16), 1,08 (3H; s; H-18), 0,91 (3H; s; H-19), 0,97 (3H; s; H-20), 4,34 (1H; d; *J* = 7,8 Hz; H-1'), 3,22 (1H; m; H-2'), 3,37 (1H; m; H-3'), 3,27 (1H; m; H-4'), 3,31 (1H; m; H-5'), 3,69 (1H; dd; *J* = 5,4; 12,0 Hz; H-6'a), 3,87 (1H; dd; *J* = 2,4; 12,0 Hz; H-6'b). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ 38,1 (C-1), 27,3 (C-2), 90,4 (C-3), 40,5 (C-4), 55,6 (C-5), 22,4 (C-6), 31,4 (C-7), 40,3 (C-8), 53,1 (C-9), 37,2 (C-10), 32,8 (C-11), 66,4 (C-12), 140,3 (C-13), 182,3 (C-14), 27,8 (C-15), 36,3 (C-16), 211,3 (C-17), 28,4 (C-18), 16,8 (C-19), 14,5 (C-20), 106,7 (C-1'), 75,6 (C-2'), 78,3 (C-3'), 77,7 (C-4'), 71,7 (C-5'), 62,8 (C-6').

Acacionoside 3-glucoside (chất mới **AM2**): Chất rắn màu trắng. HR-ESI-MS *m/z*: 425,1948 [M+Cl]⁻ (calcd 425,1942; C₁₉H₃₄O₈Cl). ¹H-NMR (600 MHz, Pyridine-*d*₅): δ 2,14 (1H, m; H-2a), 2,00 (1H; m, H-2b), 4,81 (1H; m; H-3), 2,41 (1H, m; H-4a), 2,16 (1H, m; H-4b), 2,35 (1H, m; H-7a), 1,93 (1H, m; H-7b), 1,84 (1H, m; H-8a), 1,43 (1H, m; H-8b), 4,01 (1H; m; H-9), 1,20 (3H; d; *J* = 7,2; H-10), 0,94 (3H;

s; H-11), 1,3 (3H; s; H-12), 1,34 (3H; s; H-13), 5,00 (1H; d; $J = 9,0$ Hz; H-1'), 4,45 (1H, m, H-2'), 4,34 (1H, m, H-3'), 4,26 (1H, m, H-4'), 4,18 (1H, m, H-5'), 4,04 (2H, m, H-6'). ^{13}C -NMR (150 MHz, Pyridine- d_5): δ 41,1 (C-1), 45,3 (C-2), 72,4 (C-3), 43,3 (C-4), 76,2 (C-5), 89,9 (C-6), 27,7 (C-7), 35,9 (C-8), 77,1 (C-9), 21,0 (C-10), 28,4 (C-11), 25,1 (C-12), 28,3 (C-13), 102,5 (C-1'), 78,6 (C-2'), 76,1 (C-3'), 75,4 (C-4'), 71,7 (C-5'), 62,8 (C-6').

5-megastigmen-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**AM3**): Chất rắn không màu. ^1H NMR (600 MHz; CD_3OD) δ : 1,85 (1H; m; H-2a), 1,54 (1H; m; H-2b), 4,08 (1H; dddd; $J = 12,0; 9,0; 5,4; 3,6$ Hz; H-3), 2,37 (1H; ddd; $J = 4,8; 15,6; 12,6$ Hz; H-4a), 2,01 (1H; ddd; $J = 4,8; 15,6; 1,2$ Hz; H-4b), 2,03 (1H; m; H-7a), 2,16 (1H; m; H-7b), 1,49 (2H; m; H-8), 3,71 (1H; m; H-9), 1,17 (3H; d; $J = 6,1$ Hz; H-10), 1,09 (3H; s; H-11), 1,07 (3H; s; H-12), 1,61 (3H; s; H-13), 4,45 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1'), 3,18 (1H; m; H-2'), 3,40 (1H; m; H-3'), 3,30 (1H; m; H-4'), 3,34 (1H; m; H-5'), 3,89 (1H; dd; $J = 2,4; 12,0$ Hz; H-6'a), 3,73 (1H; dd; $J = 6,0; 12,0$ Hz; H-6'b). ^{13}C NMR (150 MHz; CD_3OD), δ : 39,0 (C-1), 47,2 (C-2), 73,2 (C-3), 39,7 (C-4), 125,0 (C-5), 138,4 (C-6), 25,7 (C-7), 40,8 (C-8), 69,4 (C-9), 23,1 (C-10), 28,7 (C-11), 30,4 (C-12), 20,4 (C-13), 102,1 (C-1'), 75,3 (C-2'), 78,1 (C-3'), 71,5 (C-4'), 77,8 (C-5'), 62,8 (C-6').

Kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]-*O*- β -D-galactopyranoside (**AM4**): Chất rắn màu trắng, ESI-MS m/z 741,22 $[\text{M} + \text{H}]^+$. CTPT $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{NO}_{19}$. ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,20 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6), 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8), 8,08 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và 6'), 6,92 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và 5'), 5,62 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 3,95 (1H, dd, $J = 9,6; 7,8$ Hz, H-2''), 3,73 (1H, m, H-3''), 3,52 (1H, dd, $J = 7,8; 3,5$ Hz, H-4''), 3,66 (1H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5''), 3,47 (1H, dd, $J = 10,2; 7,2$ Hz, H-6a''), 3,79 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-6b''), 5,24 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-1'''), 4,02 (1H, dd, $J = 3,6; 1,8$ Hz, H-2'''), 3,82 (1H, dd, $J = 9,6; 3,0$ Hz, H-3'''), 3,36 (1H, t, $J = 10,2$ Hz, H-4'''), 4,10 (1H, dq, $J = 9,6; 6,0$ Hz, H-5'''), 1,01 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'''), 4,55 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1'''), 3,60 (1H, dd, $J = 3,6; 1,8$ Hz, H-2'''), 3,53 (1H, m, H-3'''), 3,29 (1H, t, $J = 9,6$ Hz, H-4'''), 3,56 (1H, m, H-5'''), 1,20 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 158,4 (C-2), 134,4 (C-3), 179,4 (C-4), 161,3 (C-5), 101,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 158,7 (C-9), 105,8 (C-10), 123,1 (C-1'), 132,2 (C-2'), 116,2 (C-3'), 161,3 (C-4'), 116,2 (C-5'), 132,2 (C-6'), 102,6 (C-1''), 77,6 (C-2''), 75,7 (C-3''), 70,7 (C-4''), 75,7 (C-5''), 67,1 (C-6''), 100,8 (C-1'''), 72,3 (C-2'''), 72,4 (C-3'''), 73,9 (C-4'''), 69,8 (C-5'''), 17,9 (C-6'''), 101,8 (C-1'''), 72,1 (C-2'''), 72,3 (C-3'''), 73,8 (C-4'''), 69,7 (C-5'''), 17,5 (C-6''').

Quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]-*O*- β -D-galactopyranoside (**AM5**): Tinh thể trong suốt hình kim, ESI-MS m/z 757,21 $[M + H]^+$, CTPT $C_{33}H_{40}NO_{20}$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,21 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8), 7,72 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, $J = 9,6$ Hz, H-5'), 7,59 (1H, dd, $J = 9,6$; 1,8 Hz, H-6'), 5,68 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 3,97 (1H, dd, $J = 9,6$; 7,8 Hz, H-2''), 3,73 (1H, d, $J = 3,6$ Hz, H-3''), 3,52 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-4''), 3,69 (1H, t, $J = 6,0$ Hz, H-5''), 3,50 (1H, dd, $J = 10,2$; 6,6 Hz, H-6a''), 3,79 (1H, dd, $J = 6,0$; 4,8 Hz, H-6b''), 5,23 (1H, s, H-1'''), 4,02 (1H, dd, $J = 3,0$; 1,8 Hz, H-2'''), 3,80 (1H, d, $J = 3,6$ Hz, H-3'''), 3,36 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-4'''), 4,07 (1H, m, H-5'''), 0,98 (1H, d, $J = 6,6$ Hz, H-6'''), 4,57 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1'''), 3,60 (1H, dd, $J = 3,6$; 1,8 Hz, H-2'''), 3,53 (1H, m, H-3'''), 3,29 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-4'''), 3,56 (1H, m, H-5'''), 1,20 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 158,4 (C-2), 134,6 (C-3), 179,4 (C-4), 163,2 (C-5), 99,7 (C-6), 165,6 (C-7), 94,6 (C-8), 158,5 (C-9), 105,9 (C-10), 123,1 (C-1'), 116,2 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,6 (C-4'), 116,2 (C-5'), 123,1 (C-6'), 102,6 (C-1''), 77,5 (C-2''), 75,7 (C-3''), 70,9 (C-4''), 75,3 (C-5''), 67,1 (C-6''), 101,1 (C-1'''), 72,3 (C-2'''), 72,4 (C-3'''), 73,9 (C-4'''), 69,9 (C-5'''), 18,0 (C-6'''), 101,9 (C-1'''), 72,1 (C-2'''), 72,3 (C-3'''), 73,9 (C-4'''), 69,7 (C-5'''), 17,4 (C-6''').

Afzelin (**AM6**): Chất dạng bột màu vàng, ESI-MS m/z 433,11 $[M + H]^+$, CTPT $C_{21}H_{20}O_{10}$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,23 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8), 7,79 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-2', 6'), 6,96 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-3', 5'), 5,40 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''), 4,24 (1H, dd, $J = 4,2$; 1,8 Hz, H-2''), 3,78 (H, dd, $J = 9,6$; 3,6 Hz, H-3''), 3,36 (1H, m, H-4''), 3,36 (H, m, H-5''), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-6''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 158,7 (C-2), 136,2 (C-3), 179,4 (C-4), 163,4 (C-5), 100,1 (C-6), 166,7 (C-7), 94,9 (C-8), 159,2 (C-9), 105,7 (C-10), 122,6 (C-1'), 131,9 (C-2', C-6'), 116,5 (C-3', C-5'), 161,6 (C-4'), 103,5 (C-1''), (C-2''), 72,0 (C-3''), 73,2 (C-4''), 72,1 71,9 (C-5''), 17,7 (C-6'').

Quercitrin (**AM7**): Chất rắn màu vàng, ESI-MS m/z 449,10 $[M + H]^+$. CTPT: $C_{21}H_{20}O_{11}$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,21 (1H, brs, H-6), 6,38 (1H, brs, H-8), 7,36 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2'), 7,32 (1H, dd, $J = 8,4$; 1,8 Hz, H-5'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), 5,37 (1H, brs, H-1''), 3,78 (1H, dd, $J = 9,6$; 4,2 Hz, H-2''), 3,44 (1H, m, H-3''), 3,37 (1H, m, H-4''), 3,32 (1H, m, H-5''), 0,96 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 158,5 (C-2), 136,2 (C-3), 179,6 (C-4), 163,2 (C-5), 99,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 159,3 (C-9), 105,9 (C-10), 123,0 (C-1'), 116,4 (C-2'), 146,3 (C-3'), 149,7 (C-4'), 117,0 (C-5'), 122,9 (C-6'), 103,5 (C-1''), 72,0 (C-2''), 72,1 (C-3''), 73,3 (C-4''), 71,9 (C-5''), 17,6 (C-6'').

Astragalin (**AM8**): Chất bột màu vàng, ESI-MS m/z 449,10 $[M + H]^+$, CTPT $C_{21}H_{20}O_{11}$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,41 (1H; d; $J = 2,4$ Hz; H-6), 6,22 (1H; d; $J = 2,4$ Hz; H-8) 8,07 (1H; d; $J = 8,4$ Hz; H-2';6') 6,91 (1H; d; $J = 8,4$ Hz; H-3';5') 5,23 (1H; d; $J = 9,0$ Hz; H-1'') 3,72 (1H; dd; $J = 13,8; 2,4$ Hz; H-2'') 3,56 (1H; m; H-3'') 3,86 (1H; m; H-4'') 3,32 (1H; m; H-5'') 3,24 (1H; m; H-6''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 159,1 (C-2), 135,4 (C-3), 179,5 (C-4), 163,0 (C-5), 104,1 (C-6), 166,0 (C-7), 94,8 (C-8), 158,5 (C-9), 105,8 (C-10), 122,818 (C-1'), 132,3 (C-2'/6'), 116,1 (C-3'/5'), 161,6 (C-4'), 99,9 (C-1''), 75,8 (C-2''), 78,1 (C-3''), 71,4 (C-4''), 78,4 (C-5''), 62,7 (C-6'').

Isoquercetin (**AM9**): Chất dạng bột màu vàng nhạt, ESI-MS m/z 465,10 $[M+H]^+$, CTPT $C_{21}H_{20}O_{12}$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,21 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8), 7,73 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,58 (1H, dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz, H-5'), 6,88 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), 5,25 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1''), 3,74 (1H, m, H-2''), 3,60 (1H, m, H-3''), 3,50 (1H, m, H-4''), 3,46 (1H, m, H-5''), 3,26 (2H, m, H-6''). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 158,4 (C-2), 135,6 (C-3), 179,4 (C-4), 163,0 (C-5), 104,4 (C-6), 166,0 (C-7), 94,7 (C-8), 159,0 (C-9), 105,7 (C-10), 123,2 (C-1'), 116,0 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,8 (C-4'), 117,6 (C-5'), 123,0 (C-6'), 99,9 (C-1''), 75,7 (C-2''), 78,3 (C-3''), 71,2 (C-4''), 78,1 (C-5''), 62,6 (C-6'').

Nudiposide (**AM10**): chất dạng dầu màu vàng nhạt. $[\alpha]_D^{25}$ -32,6 (c 0,1, MeOH). 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6,39 (1H; br s; H-2), 6,41 (1H; br s; H-6), 4,40 (1H; d; $J = 6,6$ Hz; H-7), 2,08 (1H; m; H-8), 3,42 (1H; dd; $J = 10,8; 4,8$ Hz; H-9a), 3,85–3,77 (1H; m; H-9b), 6,55 (1H; s; H-5'), 2,65 (1H; dd; $J = 15,0; 12,6$ Hz; H-7'a), 2,73 (1H; dd; $J = 15,0; 4,2$ Hz; H-7'b), 1,72 (1H; m; H-8'), 3,66 (1H; dd; $J = 10,8; 7,2$ Hz; H-9'a), 3,56 (1H; dd; $J = 10,8; 6,6$ Hz; H-9'b), 4,21 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1''), 3,21 (1H; dd; $J = 9,0; 5,4$ Hz; H-2''), 3,38 (1H; m; H-3''), 3,49 (1H; ddd; $J = 10,8; 9,0; 4,8$ Hz; H-4''), 3,85–3,77 (1H; m; H-5''a), 3,19 (1H; dd; $J = 10,8; 4,8$ Hz; H-5''b), 3,73 (3H; s; 3-OCH₃), 3,73 (3H; s; 5-OCH₃), 3,88 (3H; s; 2'-OCH₃), 3,30 (3H; s; 4'-OCH₃). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 139,4 (C-1), 107,0 (C-2), 149,0 (C-3), 134,5 (C-4), 149,0 (C-5), 107,0 (C-6), 43,0 (C-7), 46,7 (C-8), 71,1 (C-9), 130,2 (C-1'), 147,6 (C-2'), 148,7 (C-3'), 138,9 (C-4'), 107,8 (C-5'), 126,4 (C-6'), 33,9 (C-7'), 40,6 (C-8'), 66,1 (C-9'), 105,5 (C-1''), 78,0 (C-2''), 75,0 (C-3''), 71,3 (C-4''), 67,0 (C-5''), 56,9 (3-OCH₃), 56,9 (5-OCH₃), 56,6 (2'-OCH₃), 60,0 (4'-OCH₃).

Acacienone (**AM11**): chất rắn màu trắng. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3,66 (1H; dt; $J = 11,4; 5,4$ Hz; H-1), 1,21 (1H; m; H-2), 1,85 (1H; dt; $J = 12,4; 4,8$ Hz; H-3), 2,15 (1H; m; H-4), 1,69 (1H; m; H-5), 1,75 (2H; m; H-6), 1,17 (1H; m; H-7), 2,20 (1H; m; H-8), 2,40 (1H; m; H-9), 1,44 (1H; t; $J = 10,3$ Hz; H-10), 1,25 (1H;

m; H-11), 3,33 (1H; dd; $J = 12,0$; 5,4 Hz; H-12), 4,65 (1H; m; H-13), 2,55 (1H; m; H-14), 2,65 (1H; m; H-15), 2,44 (2H; m; H-16), 4,56 (1H; s; H-17), 4,80 (1H; s; H-18), 1,06 (3H; d; $J = 5,4$ Hz; H-19), 0,78 (3H; s; H-20). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 80,1 (C-1), 43,6 (C-2), 37,7 (C-3), 154,6 (C-4), 50,6 (C-5), 25,8 (C-6), 30,2 (C-7), 41,9 (C-8), 51,4 (C-9), 44,6 (C-10), 36,1 (C-11), 66,5 (C-12), 140,4 (C-13), 182,2 (C-14), 28,0 (C-15), 36,2 (C-16), 211,5 (C-17), 104,9 (C-18), 18,3 (C-19), 7,5 (C-20).

2.4.4. Tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn các thành phần cao chiết

Trong các nghiên cứu trước đây do nhóm chúng tôi thực hiện, cây mần tưới (*Eupatorium fortunei* Turcz.) đã được xác định là một nguồn nguyên liệu thực vật tiềm năng trong việc kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* – loài sinh vật gây nở hoa tảo độc phổ biến ở môi trường nước ngọt, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng nước và đa dạng sinh học thủy sinh [84, 93, 94]. Mặc dù các kết quả đạt được rất khả quan, tuy nhiên, sau quá trình quan sát và thử nghiệm chuyên sâu, chúng tôi nhận thấy việc ứng dụng đơn lẻ cao chiết từ mần tưới trong môi trường thực tế gặp một số thách thức, bao gồm: khả năng thích nghi sinh học của *M. aeruginosa* khi tiếp xúc kéo dài với một loại hợp chất đơn độc; giới hạn phổ tác động của một số hợp chất chính trong mần tưới, chủ yếu gây ức chế ở giai đoạn đầu chu kỳ sinh trưởng tảo; tác động không ổn định khi môi trường thay đổi về pH, ánh sáng hoặc hàm lượng chất hữu cơ hòa tan.

Để khắc phục các hạn chế này và hướng tới phát triển một chế phẩm thực vật có hiệu lực ổn định, phổ tác động rộng và an toàn sinh thái, nghiên cứu hiện tại của chúng tôi được triển khai theo hướng phối trộn cao chiết mần tưới với hai thành phần nguyên liệu thực vật khác: hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) và lá keo tai tượng (*Acacia mangium*).

Hiệu quả ức chế của hỗn hợp cao chiết với tỷ lệ thiết kế theo mô hình SLD, ở nồng độ thử nghiệm (200 $\mu\text{g/mL}$), được trình bày dưới đây

Bảng 2.2. Hiệu quả ức chế của các hỗn hợp cao chiết theo tỷ lệ

STT	% <i>Eupatorium fortunei</i>	% <i>Acacia mangium</i>	% <i>Chrysanthemum indicum</i>	%IE
1	5,00	61,67	33,33	$61,43 \pm 3,61$
2	5,00	5,00	90,00	$38,13 \pm 2,08$
3	90,00	5,00	5,00	$32,37 \pm 1,53$
4	61,67	19,17	19,17	$62,29 \pm 2,49$
5	33,33	5,00	61,67	$49,27 \pm 2,26$
6	90,00	5,00	5,00	$32,47 \pm 1,33$
7	33,33	61,67	5,00	$42,81 \pm 1,58$

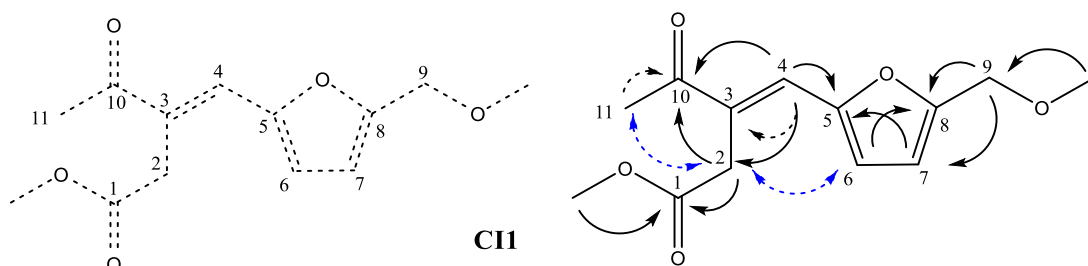
8	19,17	19,17	61,67	$59,88 \pm 4,29$
9	19,17	61,67	19,17	$59,9 \pm 3,06$
10	33,33	33,33	33,33	$71,48 \pm 3,19$
11	5,00	90,00	5,00	$40,23 \pm 2,62$
12	61,67	5,00	33,33	$44,71 \pm 3,53$
13	5,00	33,33	61,67	$63,42 \pm 4,09$
14	5,00	90,00	5,00	$39,86 \pm 1,46$
15	5,00	61,67	33,33	$61,62 \pm 3,82$
16	33,33	33,33	33,33	$71,65 \pm 5,62$
17	61,67	33,33	5,00	$40,51 \pm 2,02$
18	5,00	5,00	90,00	$39,63 \pm 1,76$
19	61,67	33,33	5,00	$49,01 \pm 2,29$
20	61,67	5,00	33,33	$44,9 \pm 2,36$

Kết quả chi tiết về mô hình và tỷ lệ tối ưu được trình bày trong Chương 3.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

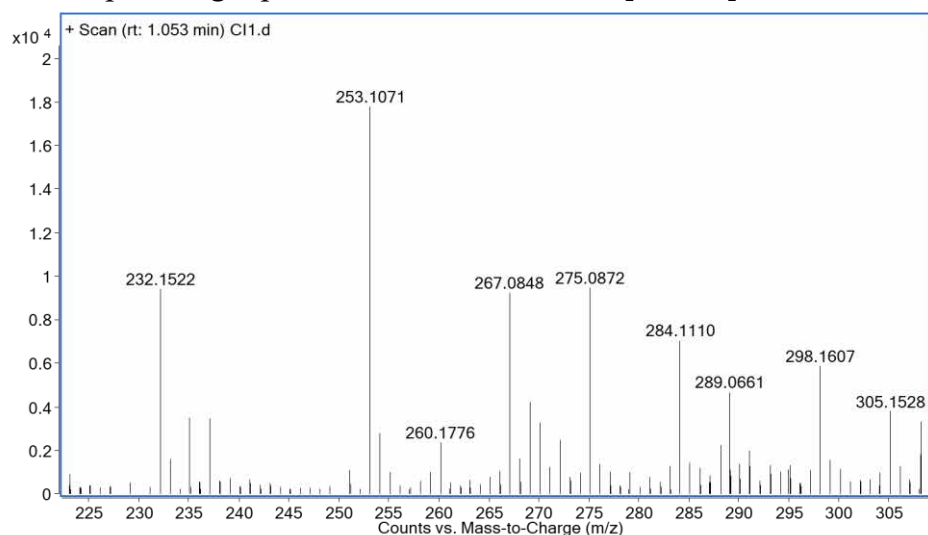
3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)

3.1.1. Hợp chất **CI1** (chất mới)



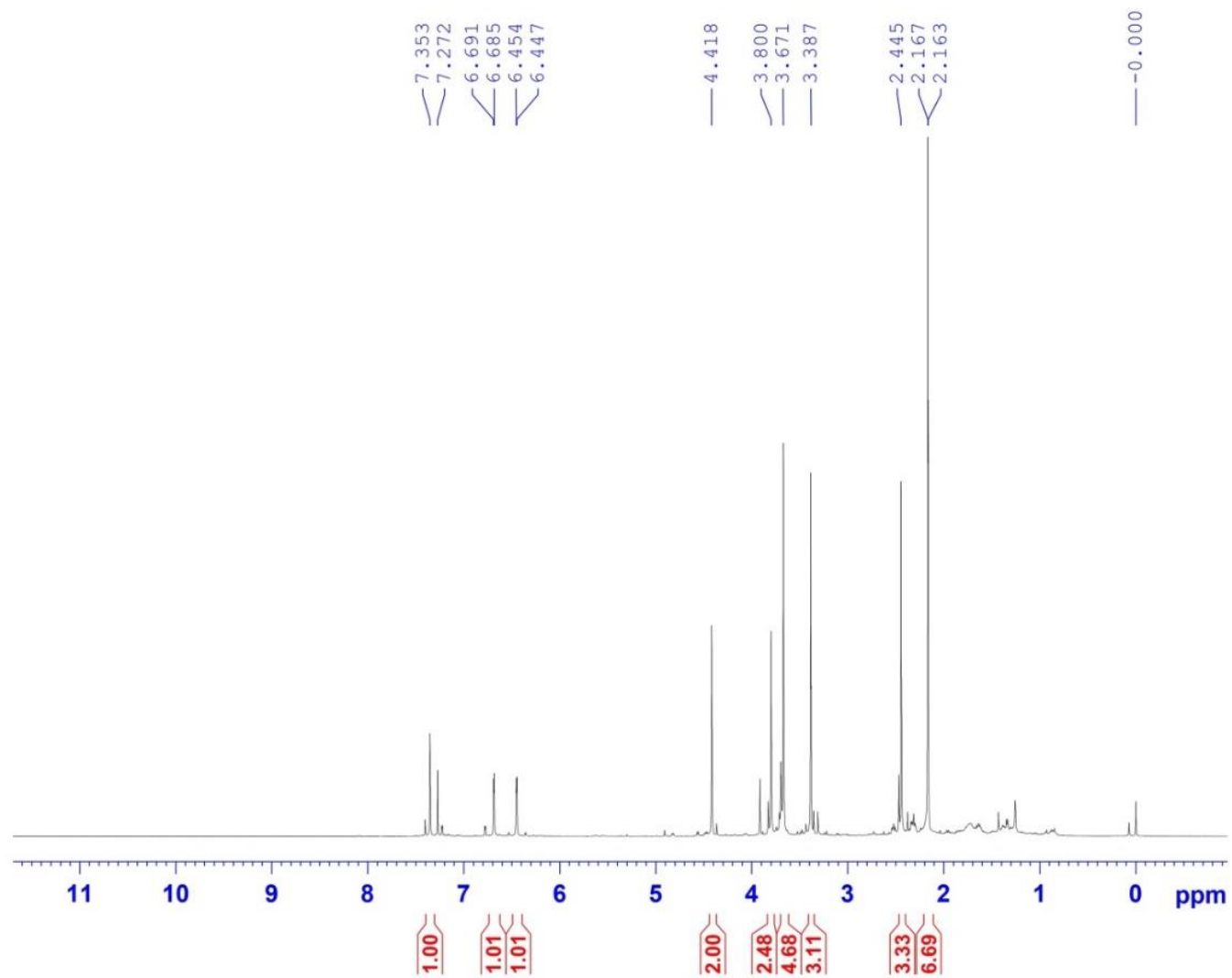
Hình 3.1. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất **CI1**

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 $[M + H]^+$.

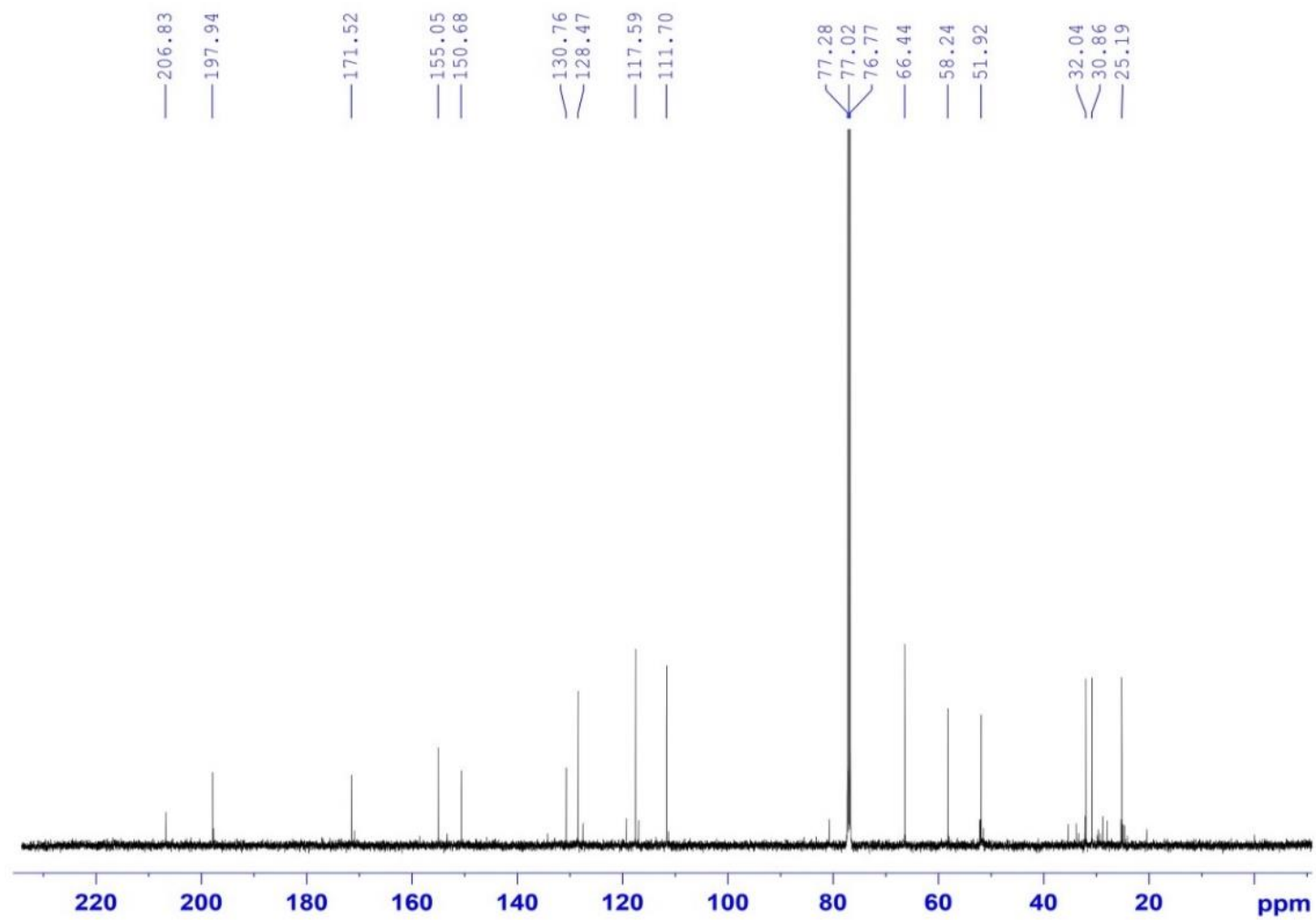


Hình 3.2. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **CI1**

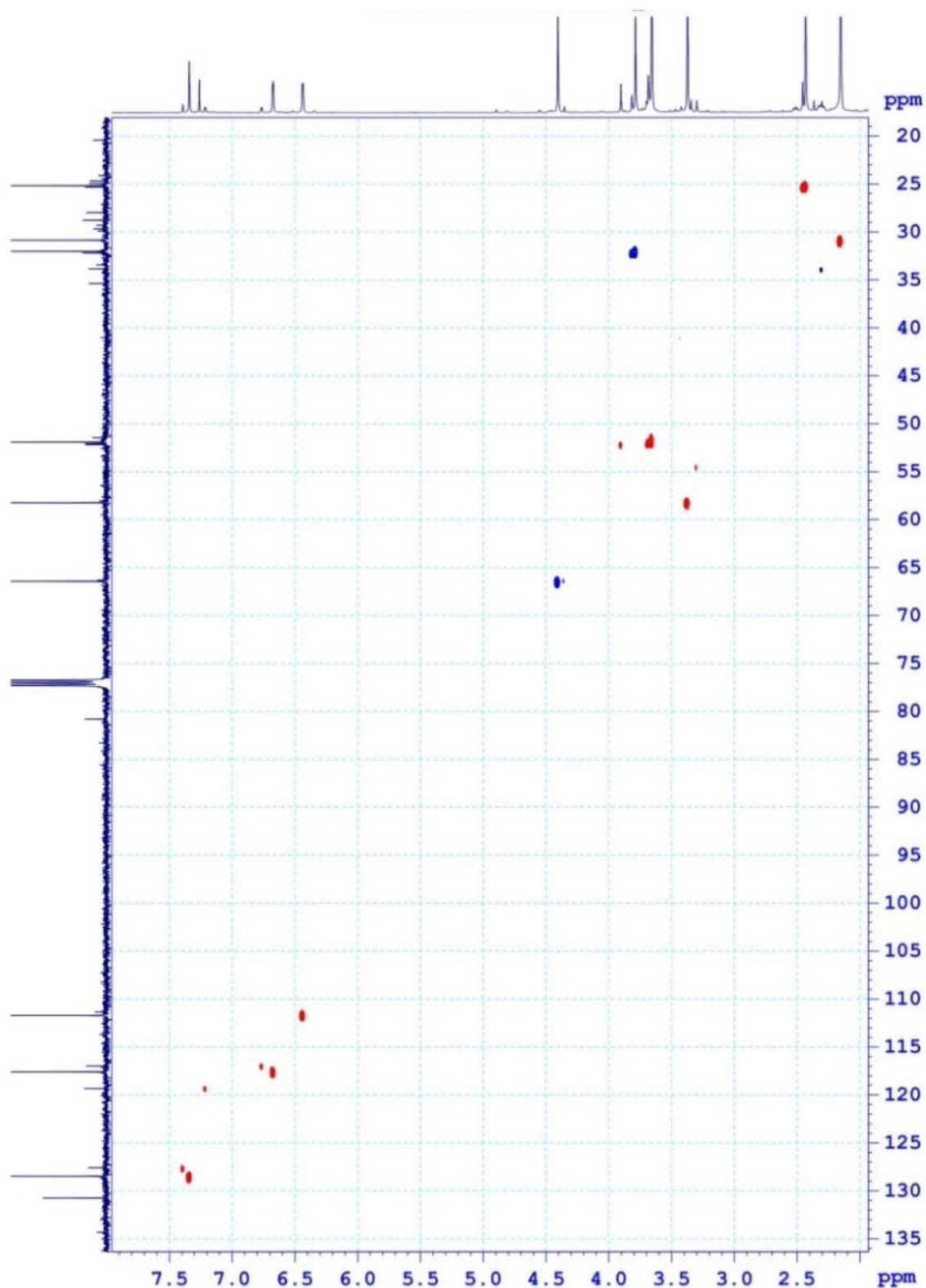
Phổ 1H NMR của hợp chất **CI1** cho thấy sự xuất hiện hiện của 3 proton olefin tại δ_H 7,35 (1H, s, H-4), 6,69 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,45 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,18 (2H, s, H-9) và một tín hiệu methylen tại 3,80 (2H, 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- OCH_3), 3,67 (3H, br s, $COOCH_3$) 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 CH_3 tại 25,2 (C-11), 58,2 (OCH_3), 51,9 ($COOCH_3$); 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).



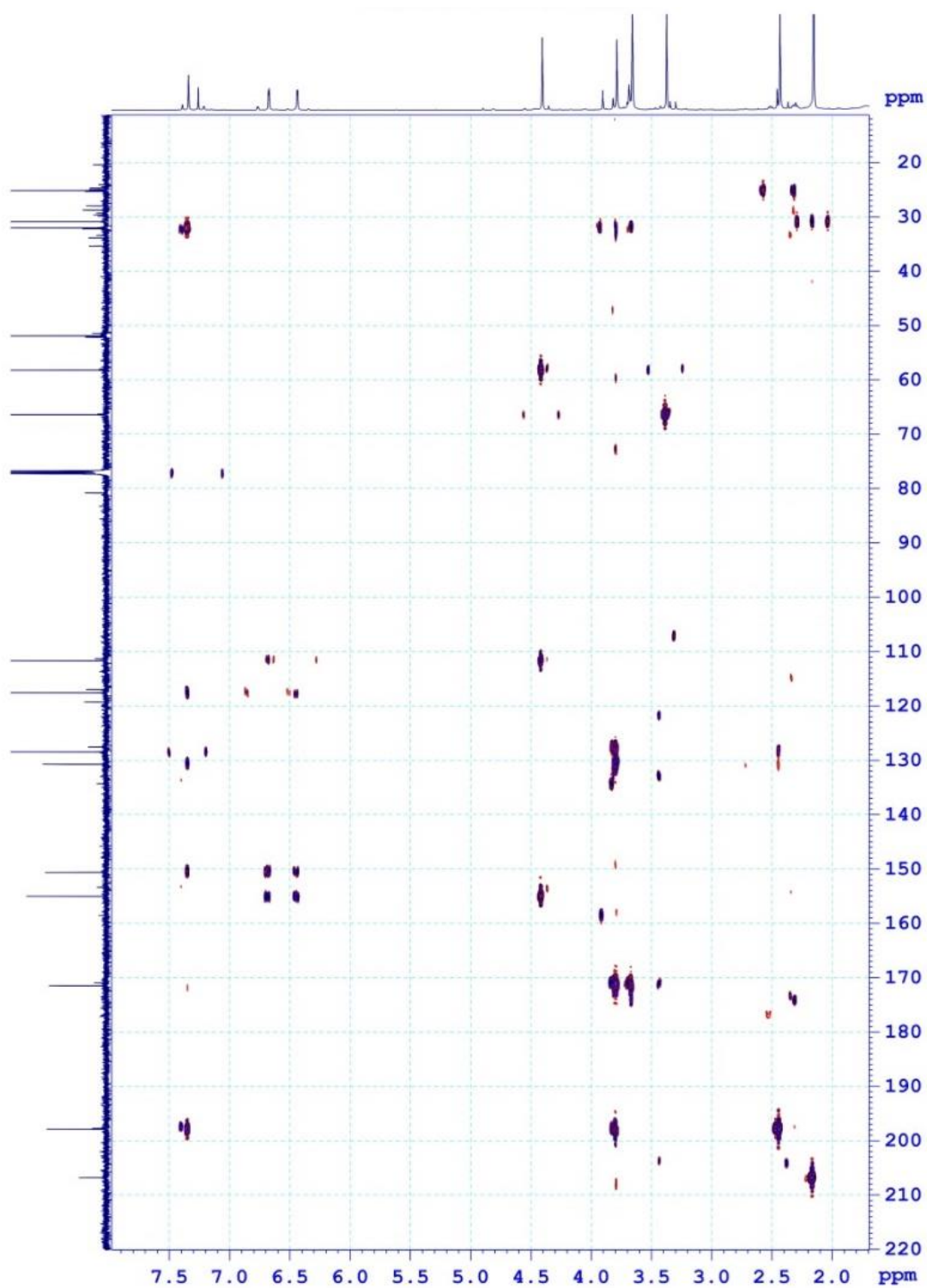
Hình 3.3. Phổ ^1H NMR của **CII**



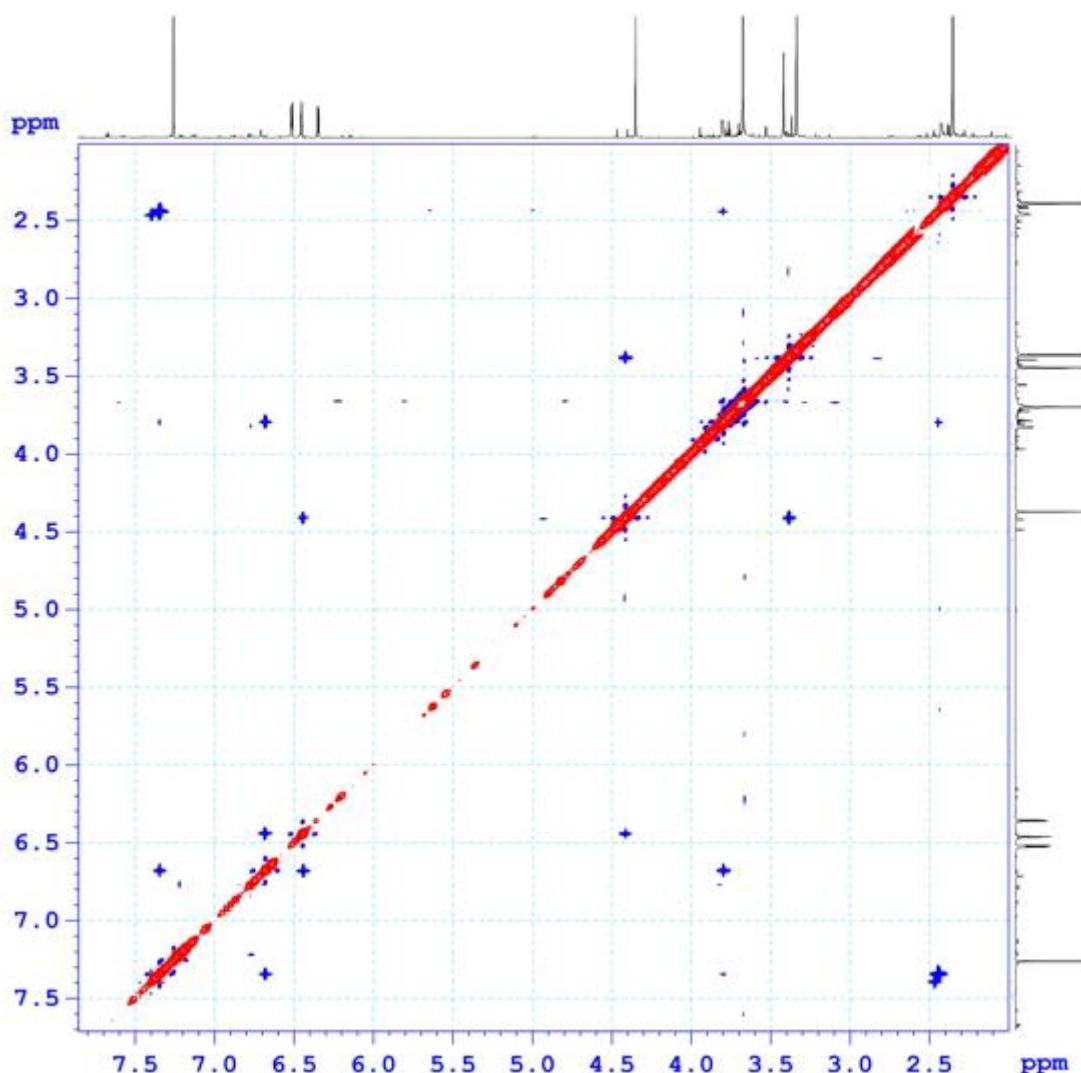
Hình 3.4. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CII**



Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất **CII**



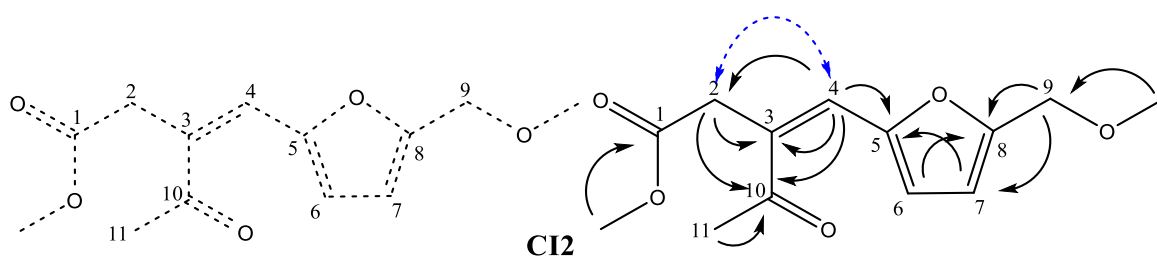
Hình 3.6. Phổ HMBC của hợp chất CII



Hình 3.7. Phổ NOESY của hợp chất **CII**

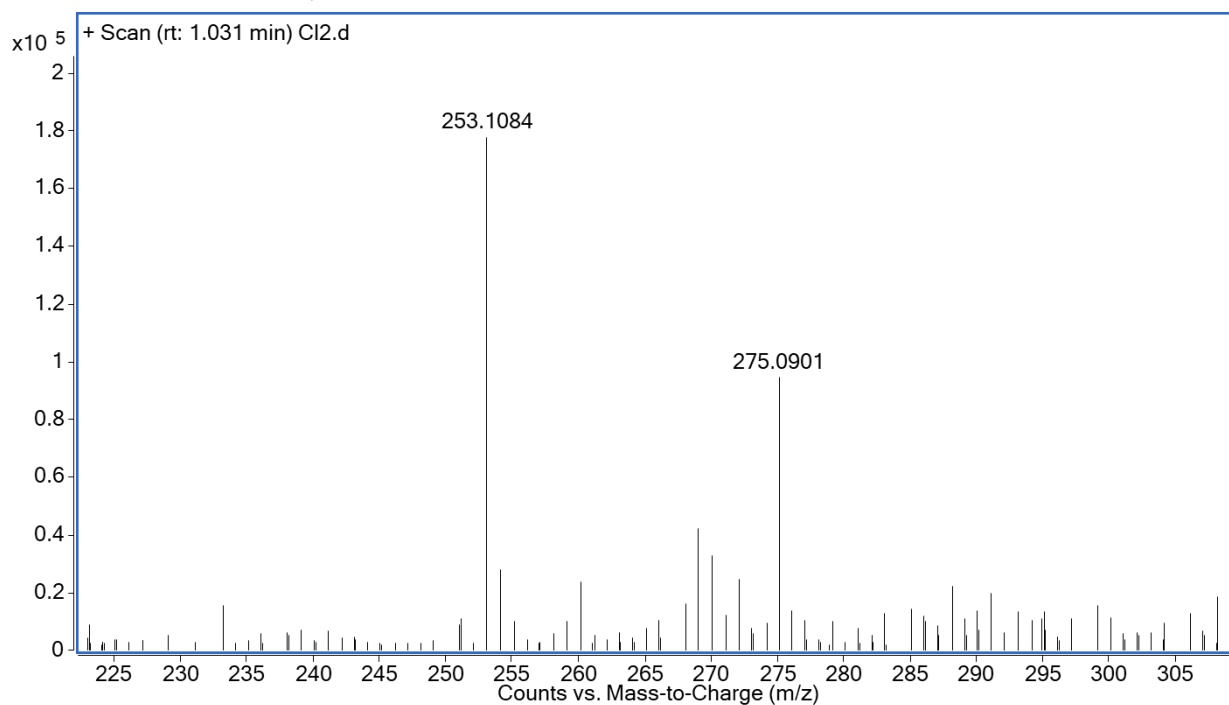
Với hằng số liên kết J nhỏ giữa H-6 và H-7 ($J = 3,5$ Hz) cũng như quan sát thấy tương tác HMBC từ H-7 đến C-5 và C-8 cho thấy đây là đặc điểm của dạng vòng furan thế 1,4. Phân tích phổ HMBC chỉ ra H-2 tương tác với C-1, C-3, C-4 và C-10; từ H-4 đến C-2, C-3, C-5, C-6, C-10; từ H-9 đến C-7 và C-8. Các 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 [95] 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 **CII** được phân tích kỹ. Tương tác giữa H-2 và H-6 mà không phải H-2 và H-4 được quan sát thấy trên phổ NOESY chứng tỏ nối đôi có cấu hình *E*. Như vậy hợp chất **CII** 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** (chất mới)



Hình 3.8. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC (→) và NOESY (<-->) chính của hợp chất **CI2**

Hợp chất **CI2** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, 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 : 253,1084 $[M + H]^+$ (cald. 253,1076, $C_{13}H_{17}O_5$) và 275,0901 $[M + Na]^+$ (cald. 275,0895, $C_{13}H_{16}O_5Na$)



Hình 3.9. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **CI2**

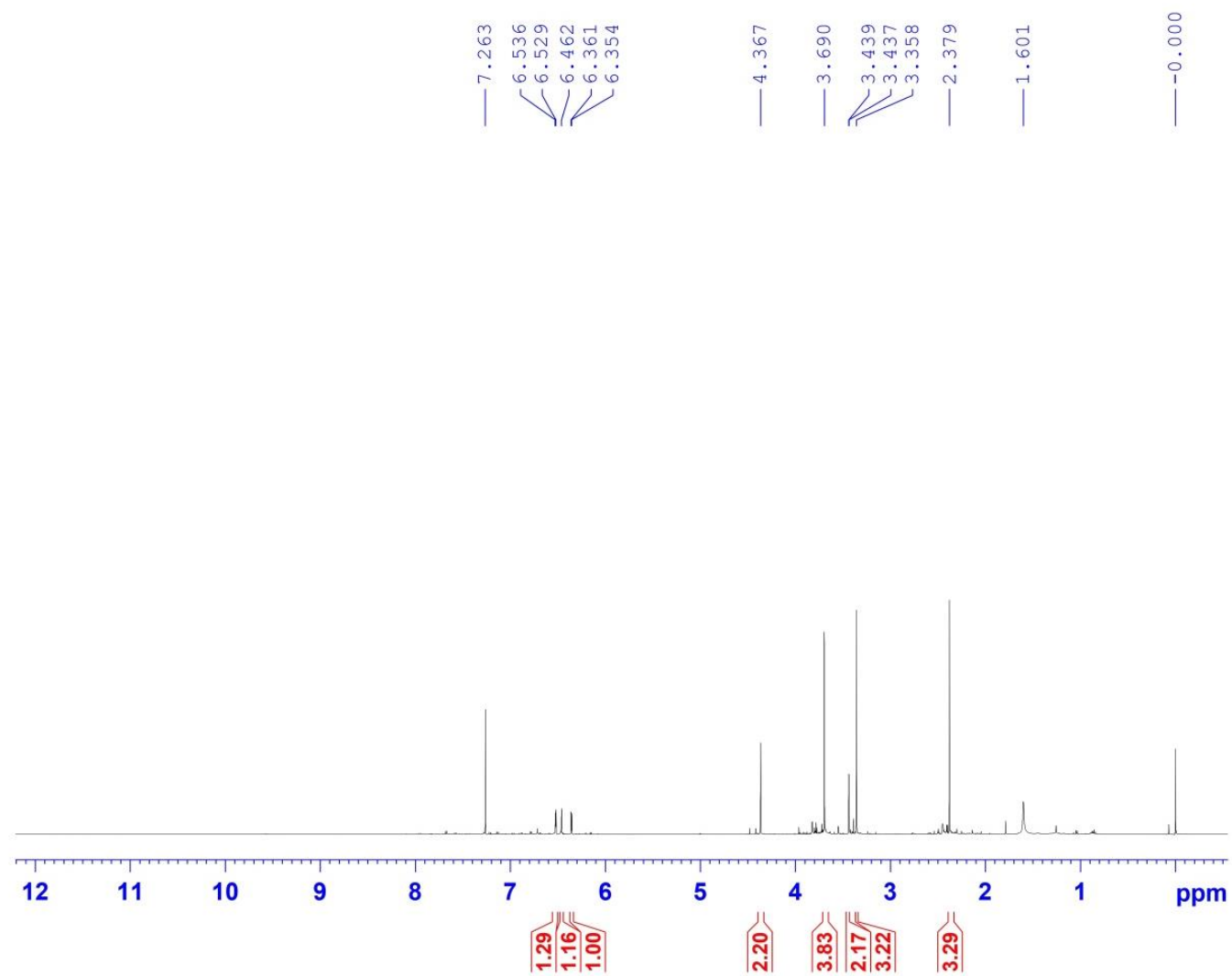
Phổ 1H NMR của hợp chất **CI2** cho thấy sự xuất hiện hiện của 3 proton olefin tại δ_H 6,46 (1H, br s, H-4), 6,53 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,36 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,36 (2H, s, H-9) và các tín hiệu của nhóm methoxy được xác định lần lượt tại 3,35 (3H, br s, 9-OCH₃), 3,69 (3H, br s, COOCH₃) và một tín hiệu methyl tại 2,37 (3H, br s, H-11). Tín hiệu của hai nhóm methylen được xác định tại 4,36 (2H, s, H-9), 3,43 (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.

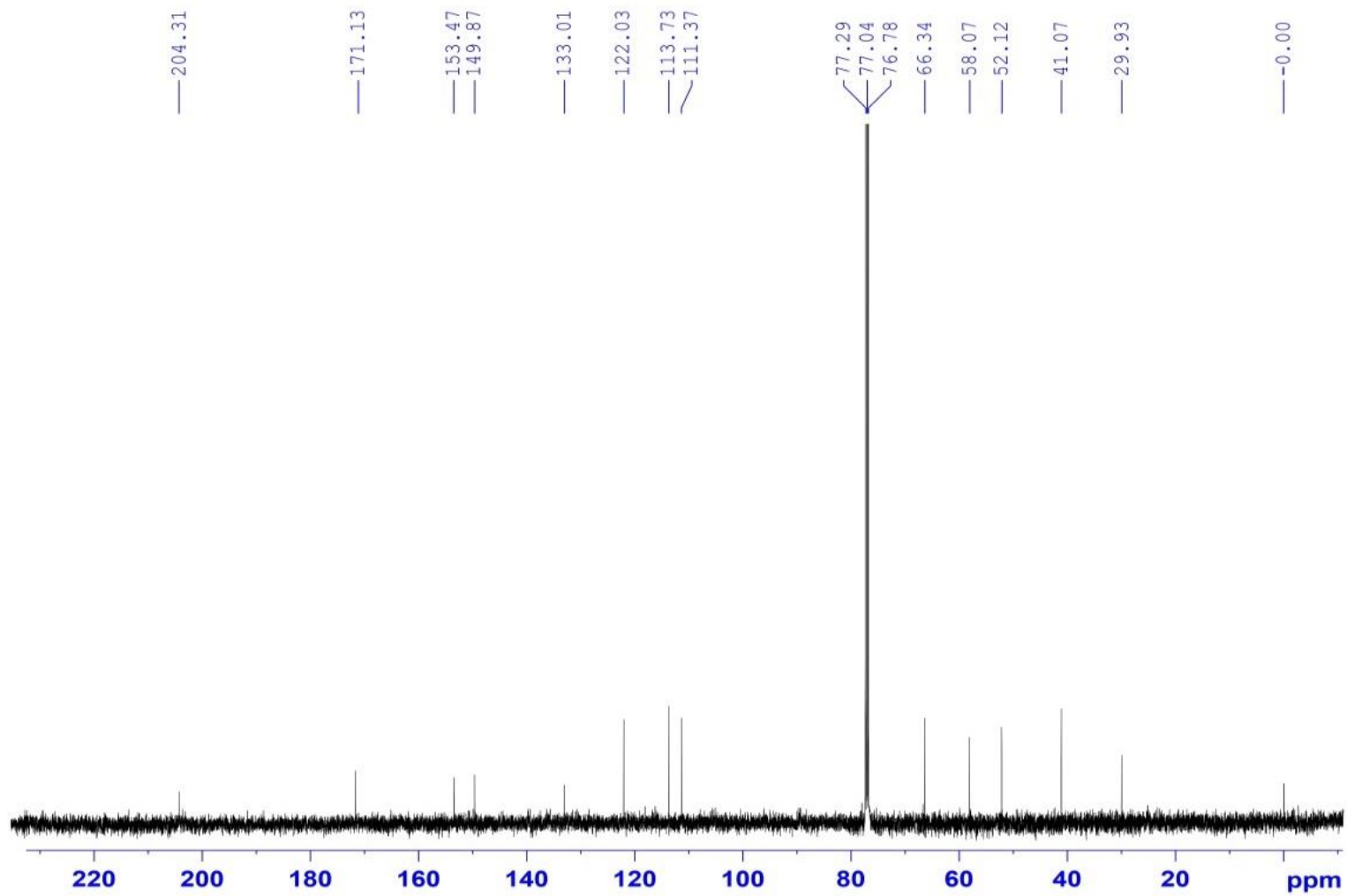
Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI1-2**

No	CI1 (độ bội, J Hz)		CI2(độ bội, J Hz)	
	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

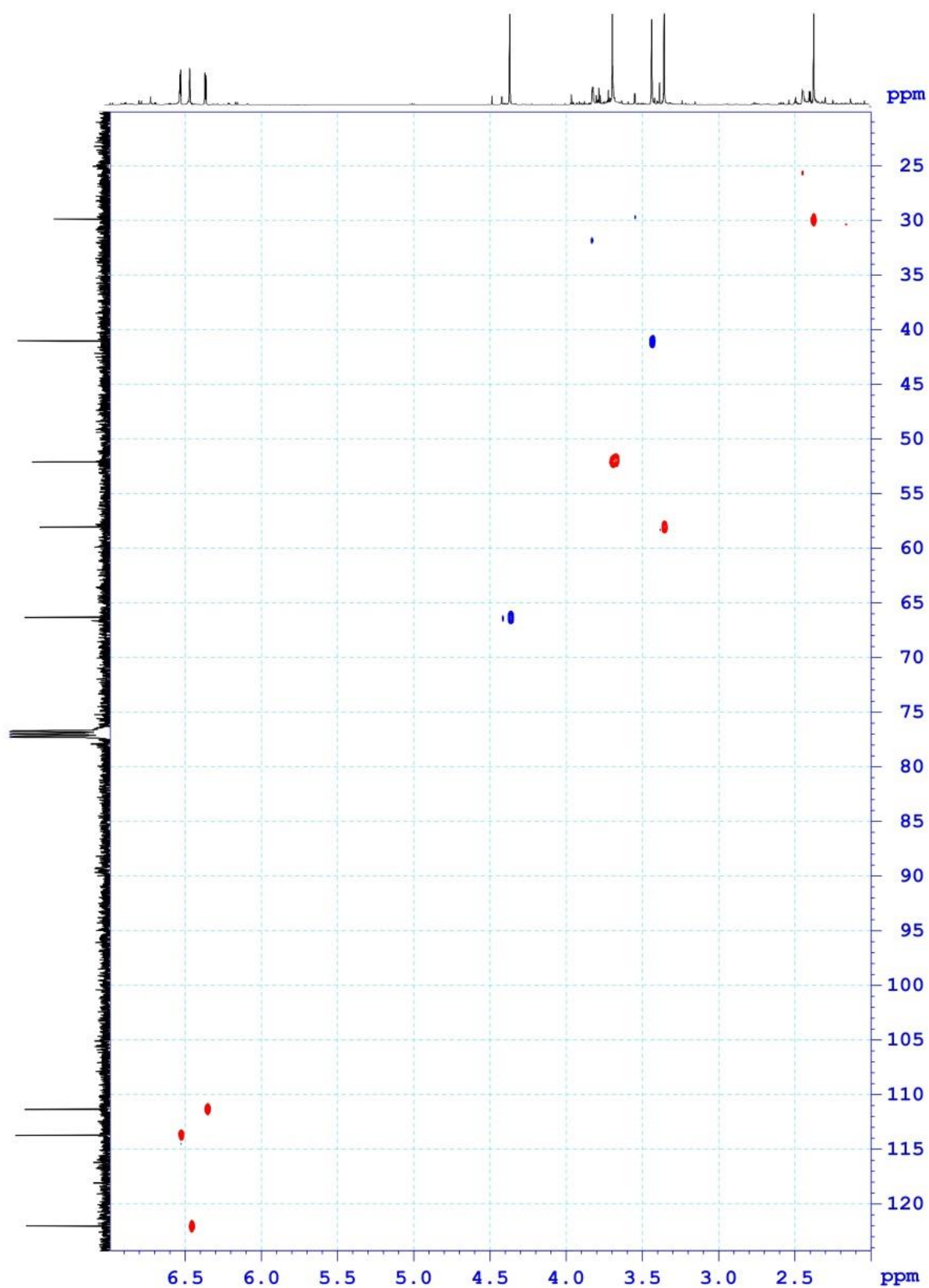
Như vậy hợp chất **CI2** được xác định là (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một hợp chất mới.



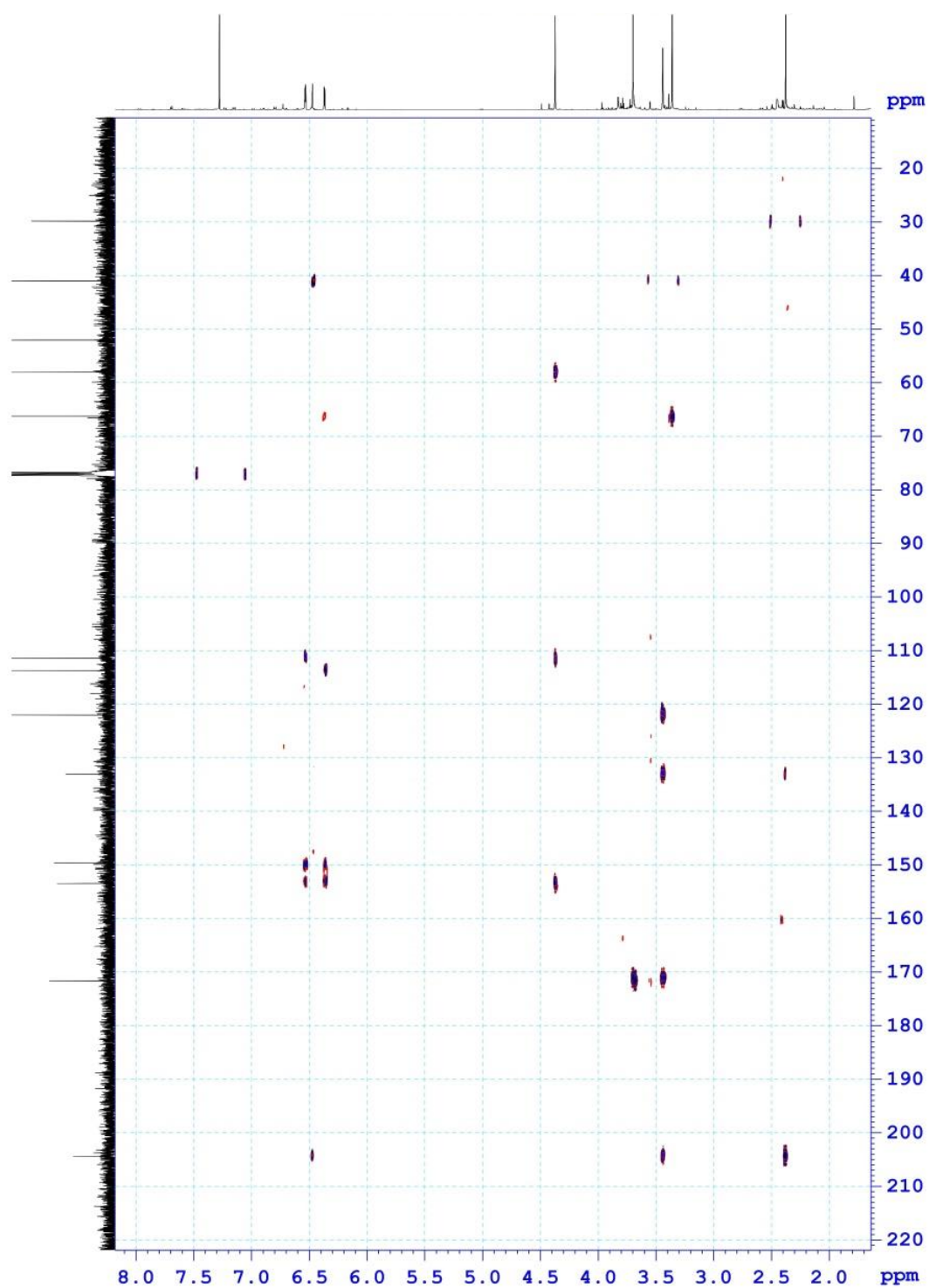
Hình 3.10. Phổ ^1H NMR của **CI2**



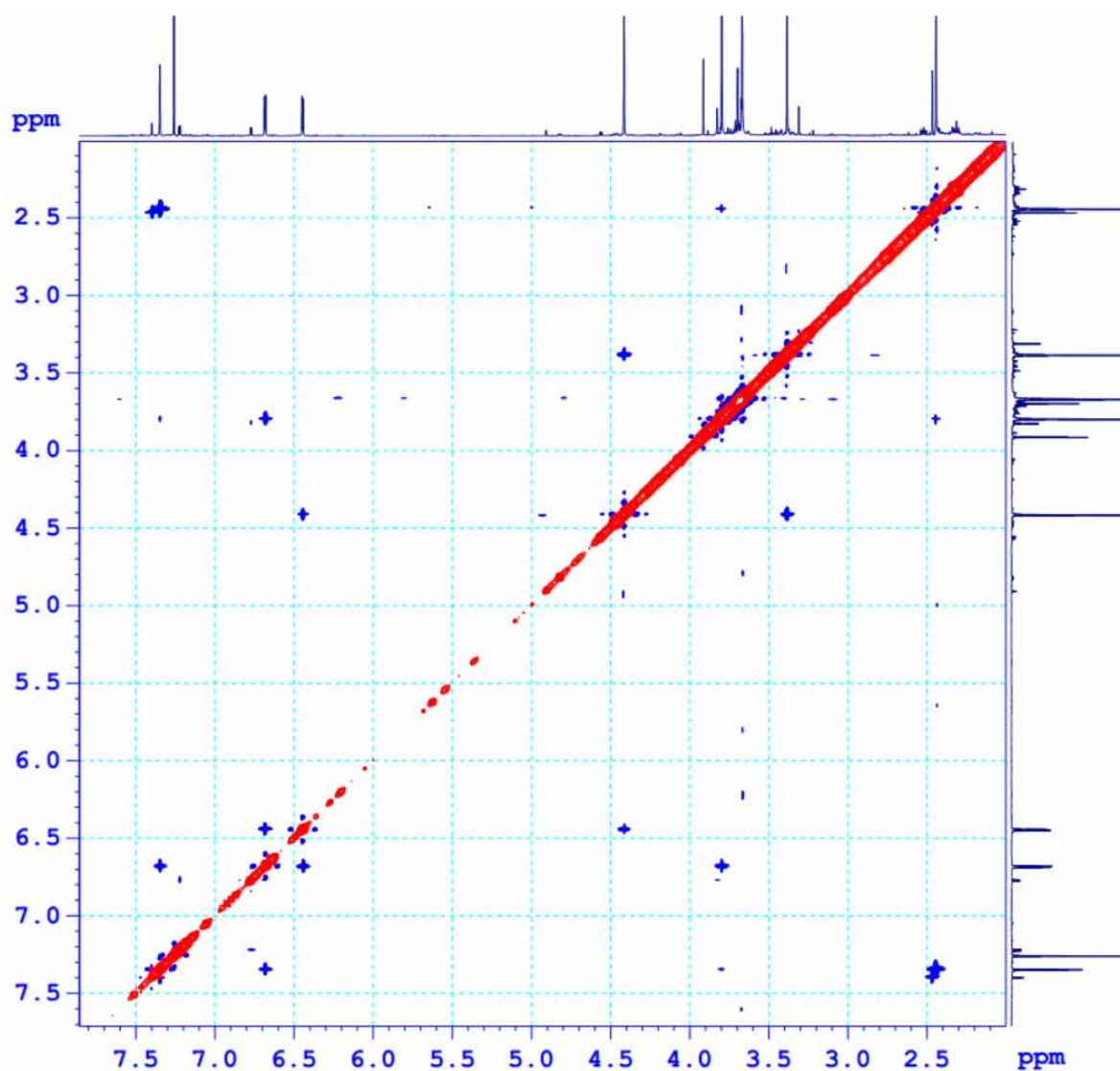
Hình 3.11. Phổ ^{13}C NMR của CI2



Hình 3.12. Phổ HSQC của CI2

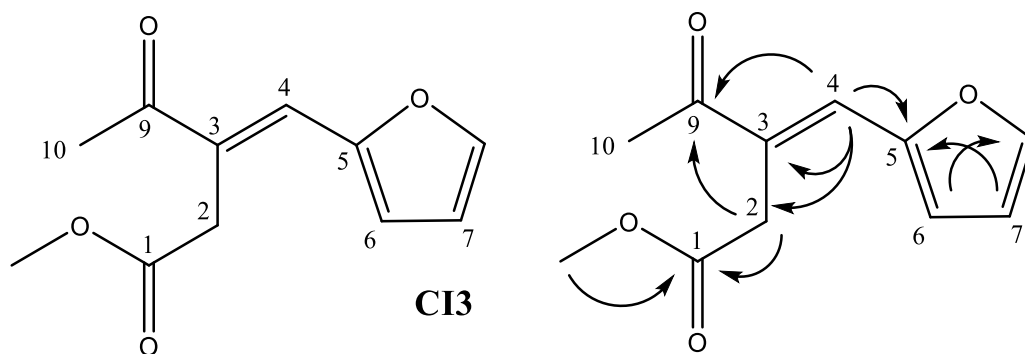


Hình 3.13. Phổ HMBC của **CI2**



Hình 3.14. Phổ NOESY của **CI2**

3.1.3. Hợp chất **CI3**



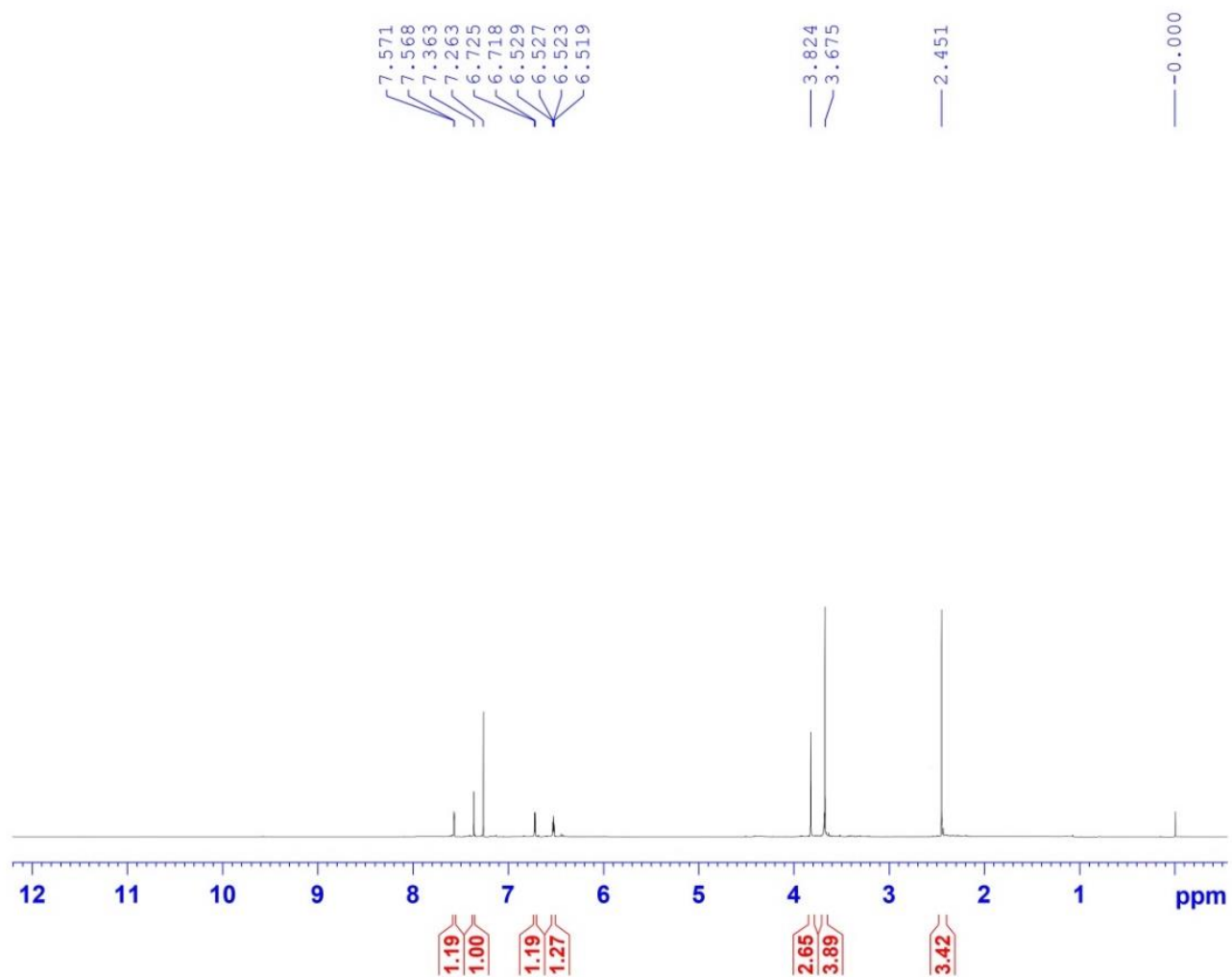
Hình 3.15. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) chính của hợp chất **CI3**

Hợp chất **CI3** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **CI3** cho thấy sự xuất hiện của các proton olefin tại δ_{H} 7,36 (1H, s, H-4), 6,72 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,52 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), 7,57 (1H; d; $J = 1,5$ Hz; H-8), nhóm methyl đính trực tiếp oxy tại 3,67 (3H, br s, COOCH_3) và một tín hiệu methyl tại 2,45 (3H, br s, H-11), cùng một tín hiệu methylene tại 3,82 (2H, s, H-2). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của hợp chất **CI3**, xuất hiện tín hiệu của một nhóm methoxy tại 51,9 (COOCH_3), một nhóm methyl tại 25,2 (C-11), và các tín hiệu carbon olefin tại 130,7 (C-3), 128,4 (C-4), 150,7 (C-5), 117,0 (C-6), 112,4 (C-7), 145,3 (C-8). Phổ HMBC của hợp chất **CI3** ghi nhận các tương tác trong vòng furan giữa H-6 và H-7 với C-5, C-8. Vị trí liên kết của mạch ngoài với vòng furan được xác định qua tương tác giữa H-4 với C-5. Ngoài ra, vị trí của các nhóm carboxyl và ketone được xác định thông qua tương tác giữa H-11 với C-3, H-4 với C-10, H-2 với C-1, và giữa proton nhóm methoxy với C-1.

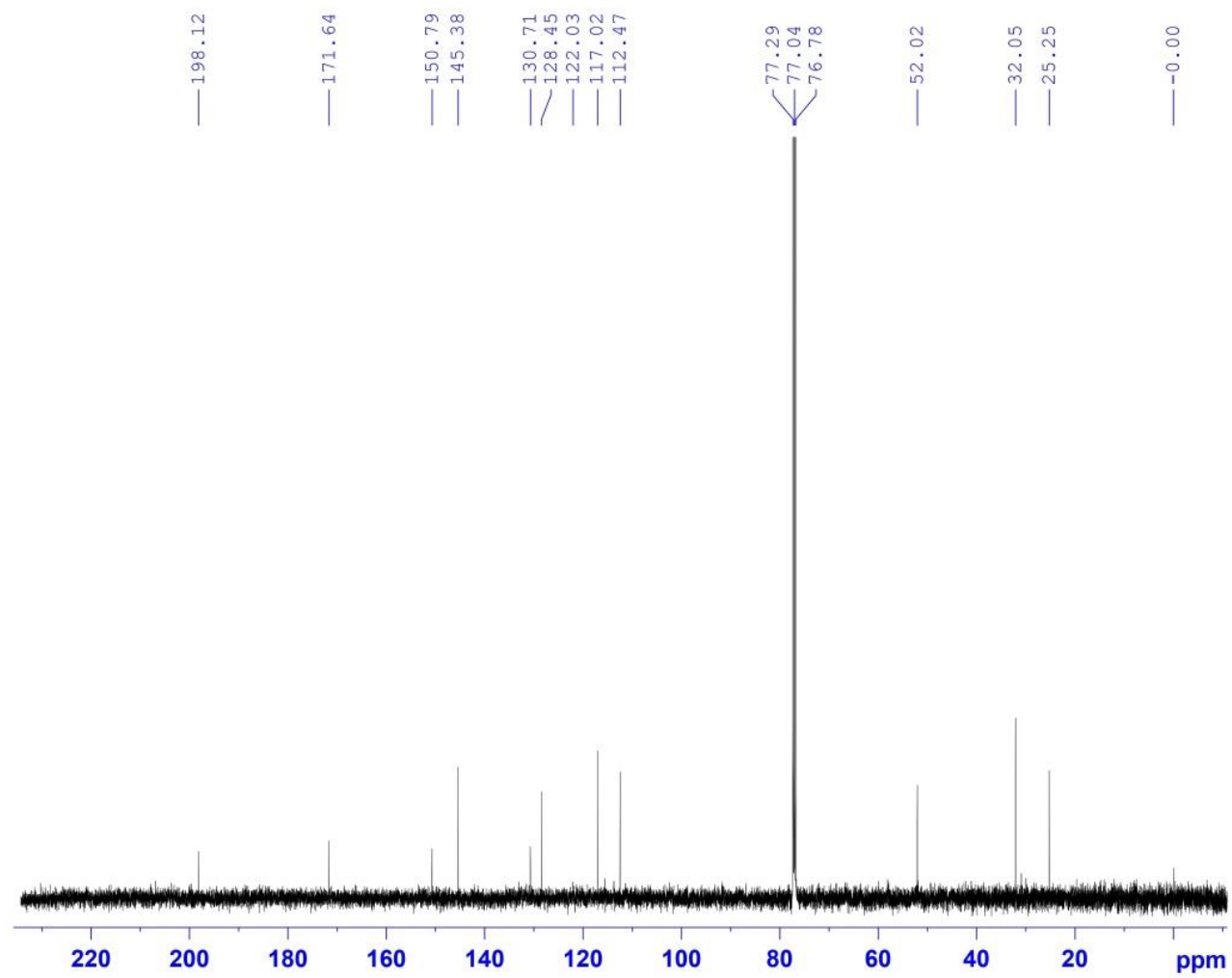
Phổ NMR của **CI3** có sự tương đồng với hợp chất **CI1**, ngoại trừ sự khác biệt ở vòng furan. Tín hiệu nhóm $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ không xuất hiện; thay vào đó, xuất hiện 3 tín hiệu proton tại 6,72 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,52 (1H, dd, $J = 3,5; 1,5$ Hz, H-7), 7,57 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8) đặc trưng cho vòng furan thế một vị trí. Như vậy hợp chất **CI3** được xác định là methyl (*E*)-3-(furan-2-ylmethylene)-4-oxopentanoate, một hợp chất được công bố từ năm 1968 [96] nhưng đây là lần đầu tiên dữ liệu phổ NMR của chất này được công bố.

Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI1** và **CI3**

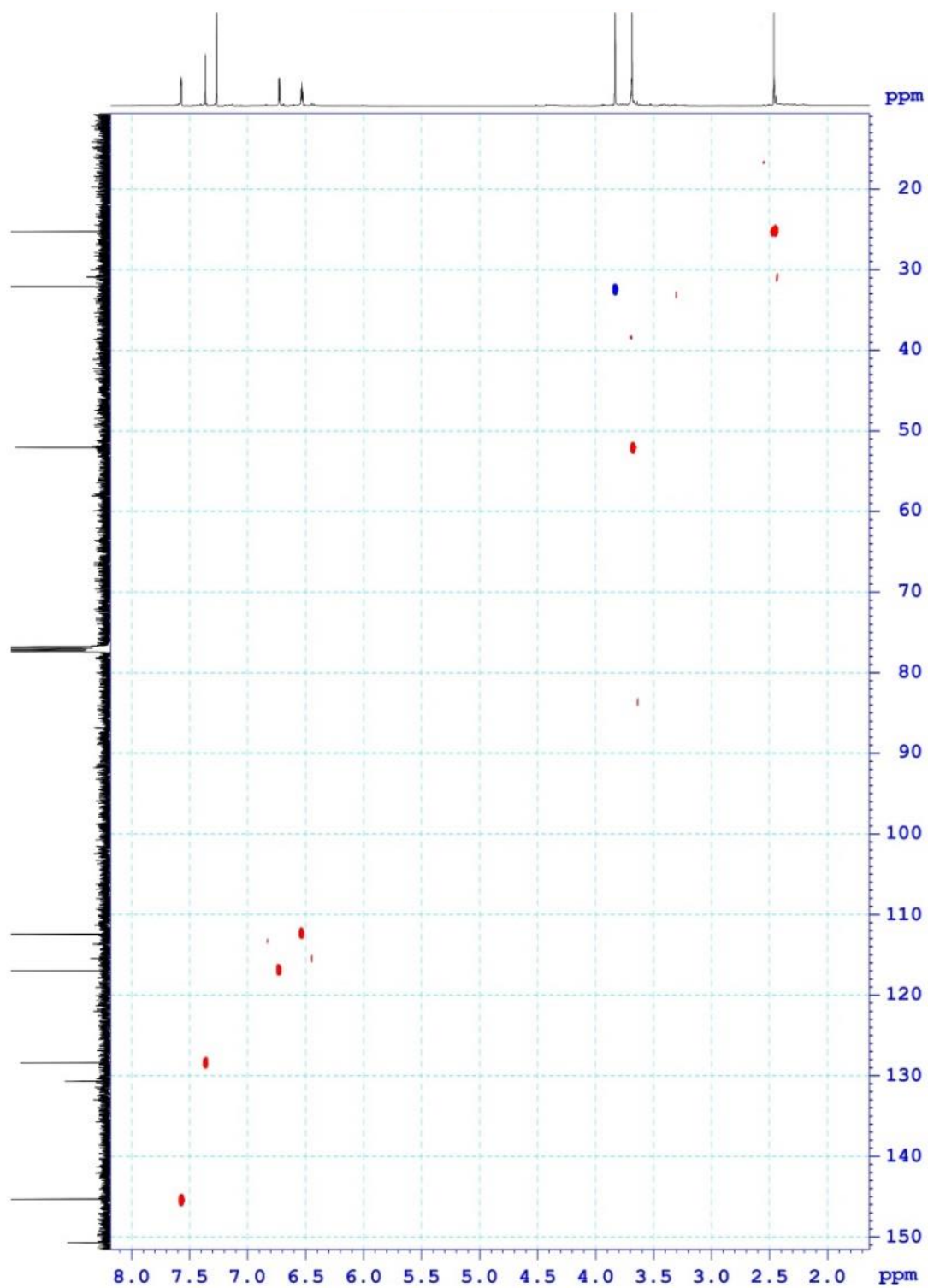
No	1		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	171,5	-	171,6
2	3,80 (2H; s)	32,0	3,82 (2H; s)	32,0
3	-	130,7	-	130,7
4	7,35 (1H; s)	128,4	7,36 (1H; s)	128,4
5	-	150,6	-	150,7
6	6,69 (1H; d; 3,5)	117,6	6,72 (1H; d; 3,5)	117,0
7	6,45 (1H; d; 3,5)	111,7	6,52 (1H; dd; 3,5; 1,5)	112,4
8	-	155,0	7,57 (1H; d; 1,5)	145,3
9	4,41 (2H; s)	66,4	-	198,1
10	-	197,9	2,45 (3H; br s)	25,2
11	2,44 (3H; br s)	25,2		
9-OCH ₃	3,38 (3H; br s)	58,2	-	-
COOCH ₃	3,67 (3H; br s)	51,9	3,67 (3H; br s)	52,0



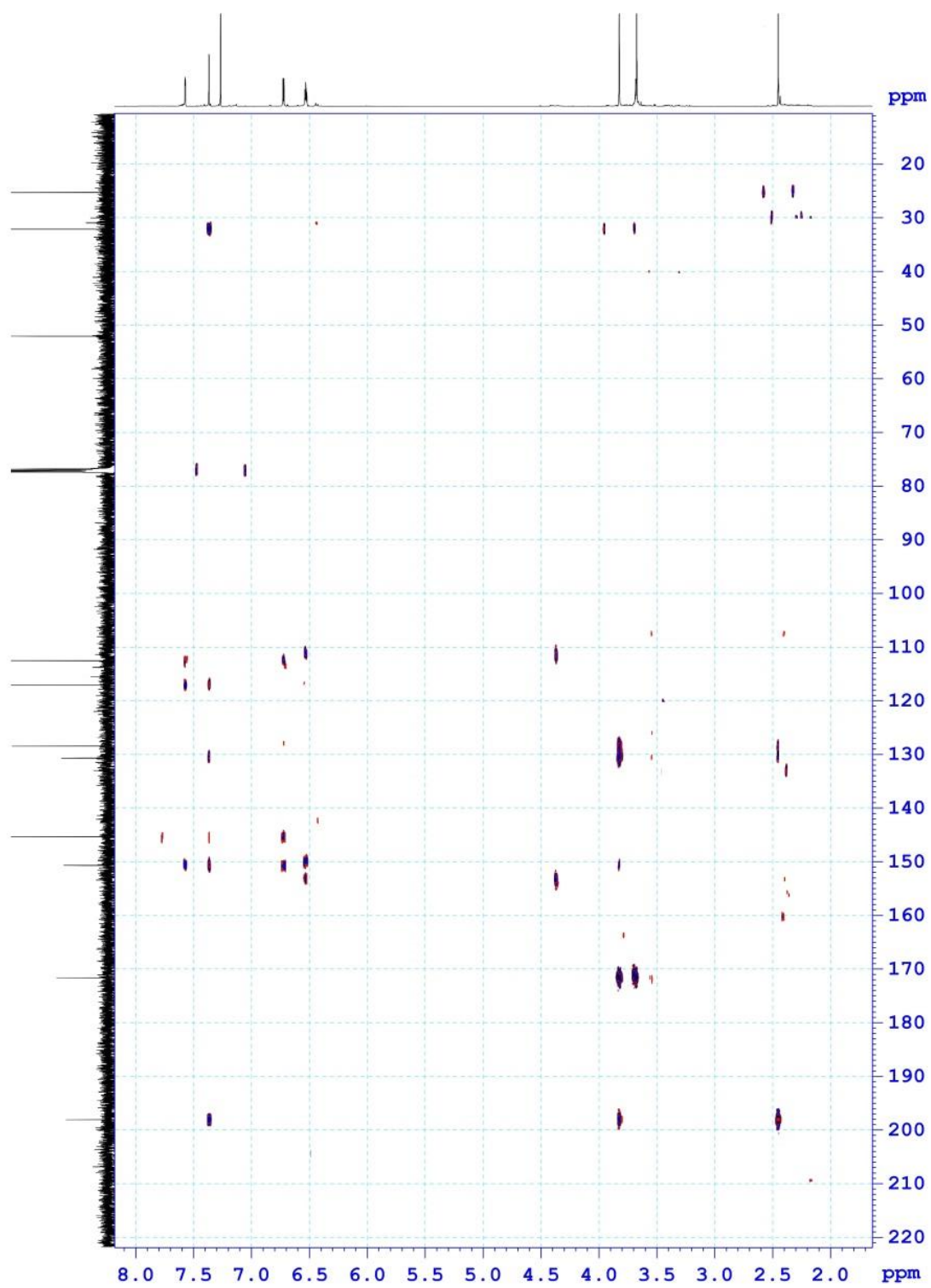
Hình 3.16. Phổ ^1H NMR của **CI3**



Hình 3.17. Phổ ^{13}C NMR của **CI3**

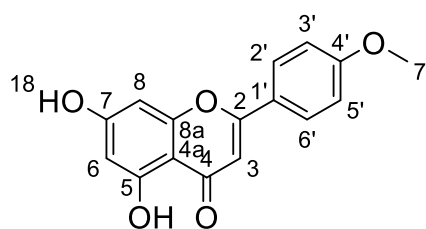


Hình 3.18. Phổ HSQC của CI3



Hình 3.19. Phổ HMBC của CI3

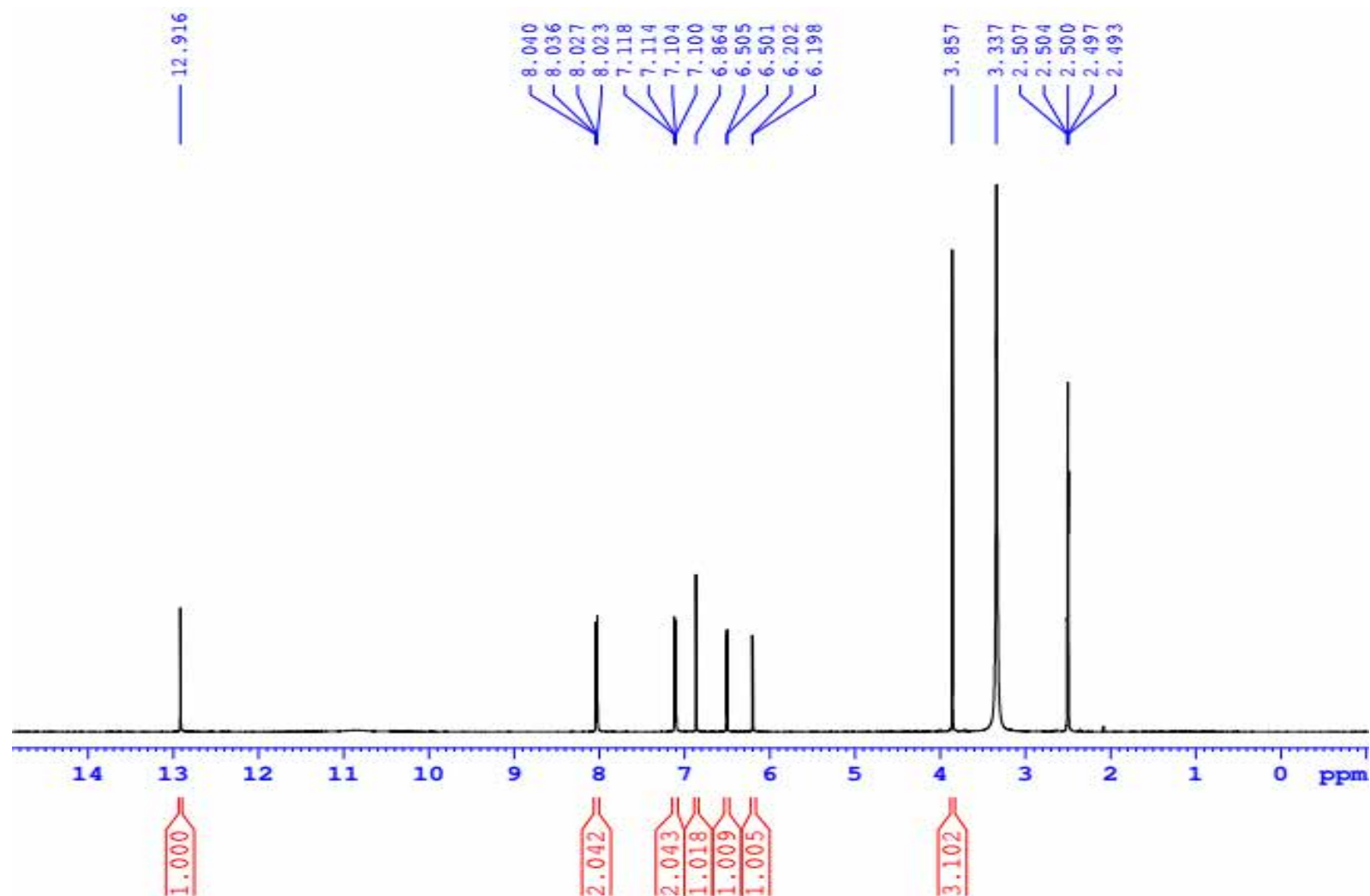
3.1.4. Hợp chất **CI4**



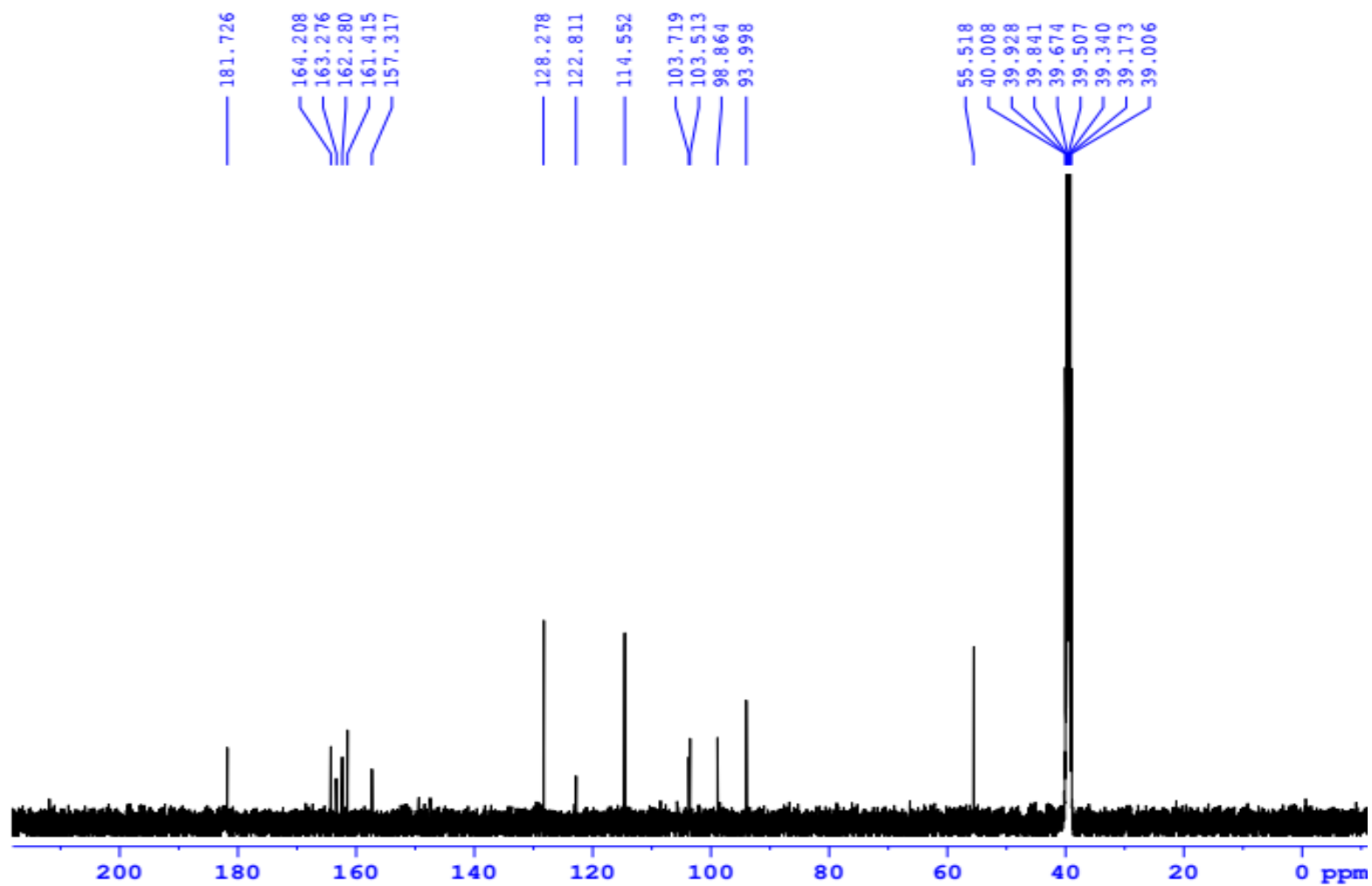
Hình 3.20. Cấu trúc hợp chất **CI4**

Hợp chất **CI4** được phân lập dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **CI4** thể hiện các tín hiệu đặc trưng của một flavonoid, bao gồm: δ_{H} 6,84 (1H, s, H-3), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,50 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2',6') và 7,10 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3',5'). Các tín hiệu proton này gợi ý cho sự hiện diện của hệ thống vòng A với hai proton H-6 và H-8 nằm ở vị trí meta với nhau và hệ thống vòng B kiểu thể para. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **CI4** ghi nhận tổng cộng 15 tín hiệu carbon, bao gồm các carbon sp^2 tại δ_{C} 163,3 (C-2), 103,5 (C-3), 181,7 (C-4), 161,4 (C-5), 98,9 (C-6), 164,2 (C-7), 93,9 (C-8), 157,3 (C-9) và 103,7 (C-10); các tín hiệu carbon của vòng B tại δ_{C} 122,8 (C-1'), 128,3 (C-2',6'), 114,6 (C-3',5') và 162,3 (C-4'). Các dữ kiện này cho thấy vòng A mang kiểu thể 5,7-disubstituted với các nhóm hydroxyl tại C-5 và C-7, thể hiện qua độ chuyển hóa học cao tại δ_{C} 161,4 (C-5) và 164,2 (C-7). Vòng B có kiểu thể đối xứng, với hai cặp proton H-2'/H-6' và H-3'/H-5' tương ứng, đồng thời carbon C-4' có độ dịch chuyển δ_{C} 162,2, gợi ý sự gắn một nhóm thể methoxy δ_{C} 55,5 (C-7') tại vị trí này.

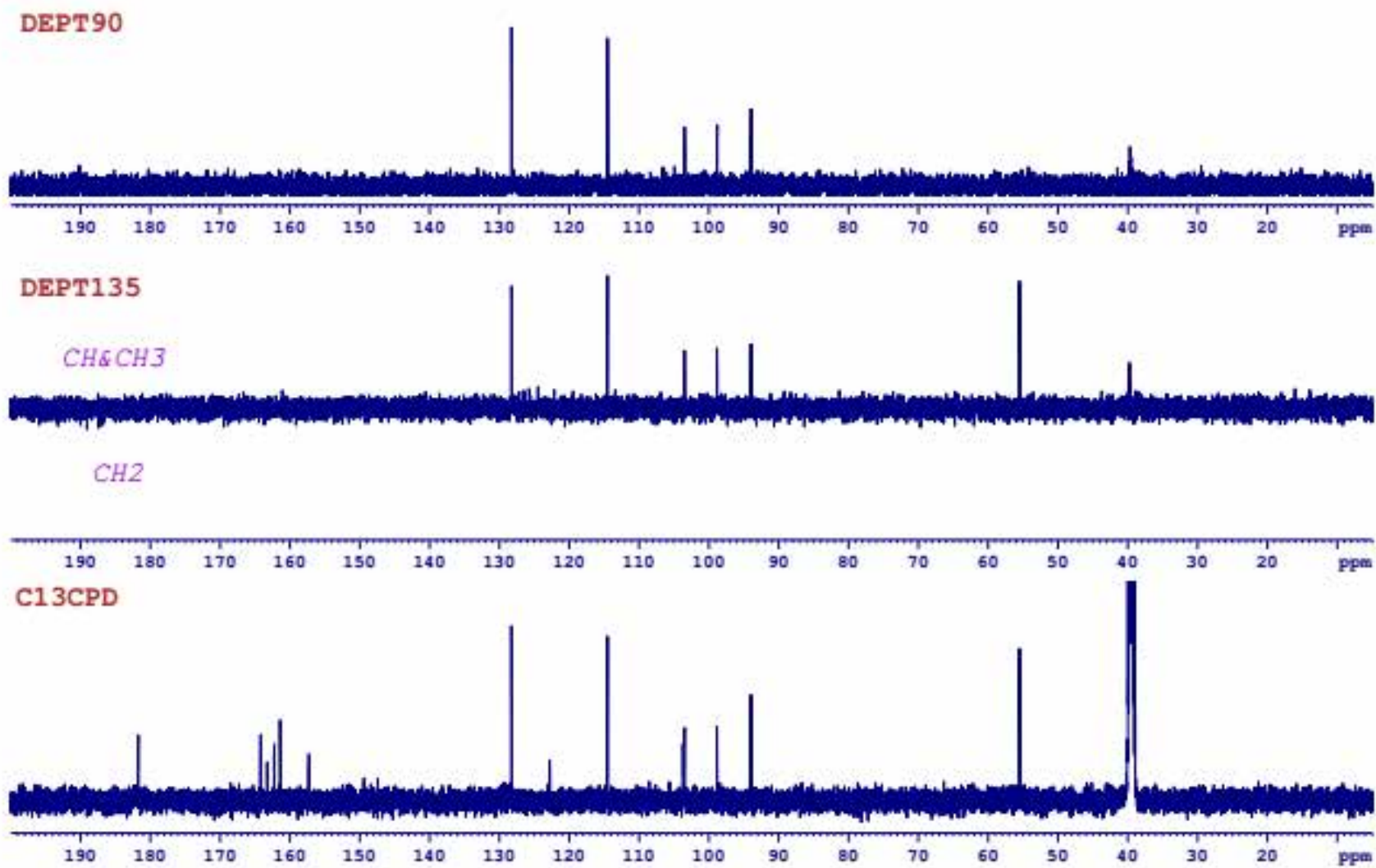
Như vậy, từ các dữ liệu phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$, có thể dự đoán hợp chất **CI4** có bộ khung flavonoid 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavone. So sánh số liệu phổ của **CI4** với acacetin thấy có sự phù hợp ở tất cả các vị trí [97]. Những dữ kiện này chứng tỏ hợp chất **CI4** là acacetin.



Hình 3.21. Phổ ^1H NMR của hợp chất CI4

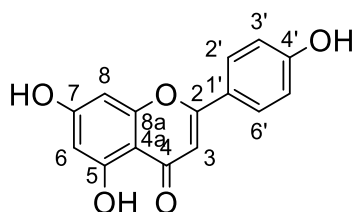


Hình 3.22. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CI4**



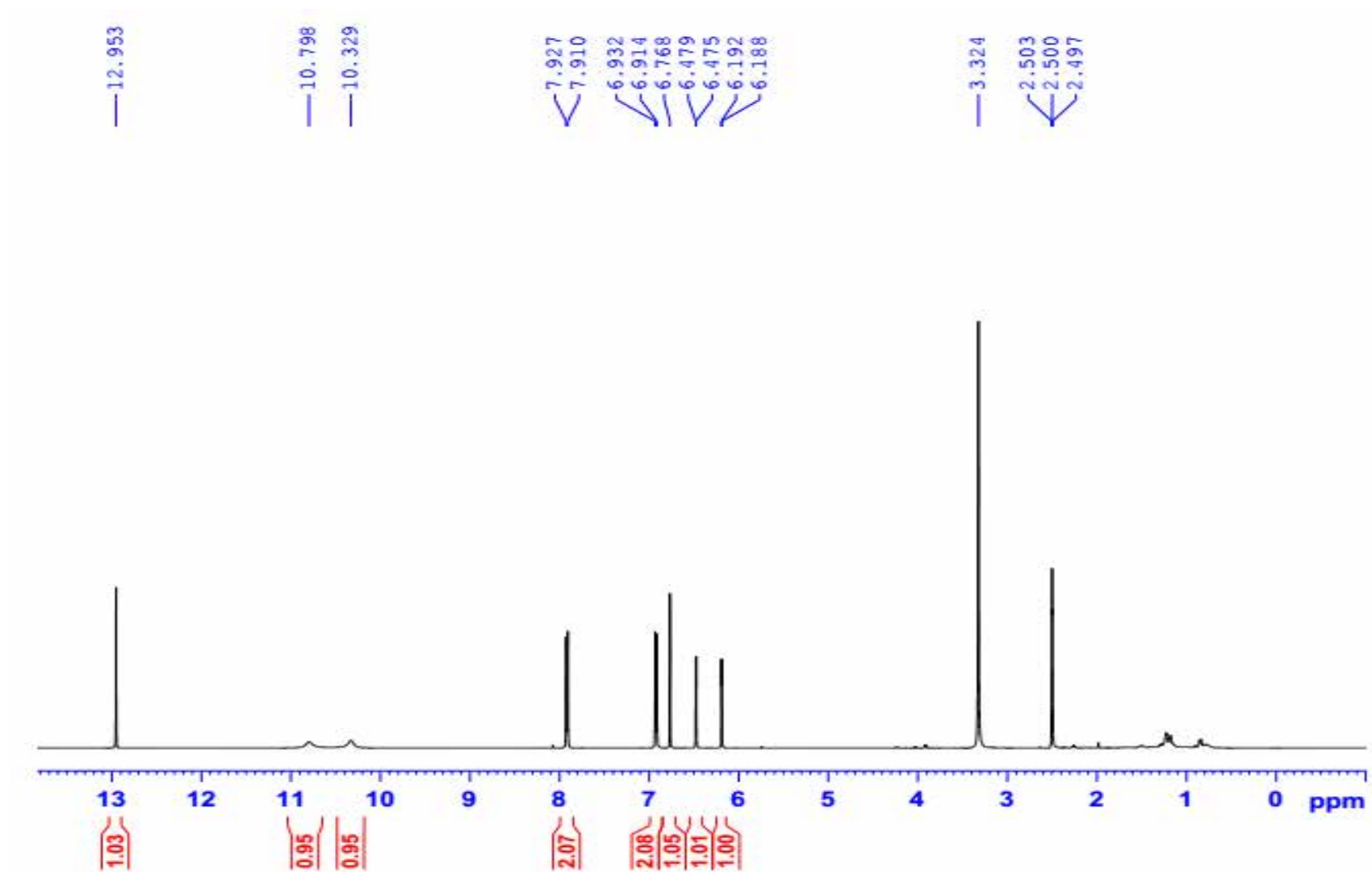
Hình 3.23. Phổ DEPT của hợp chất CI4

3.1.5. Hợp chất **CI5**

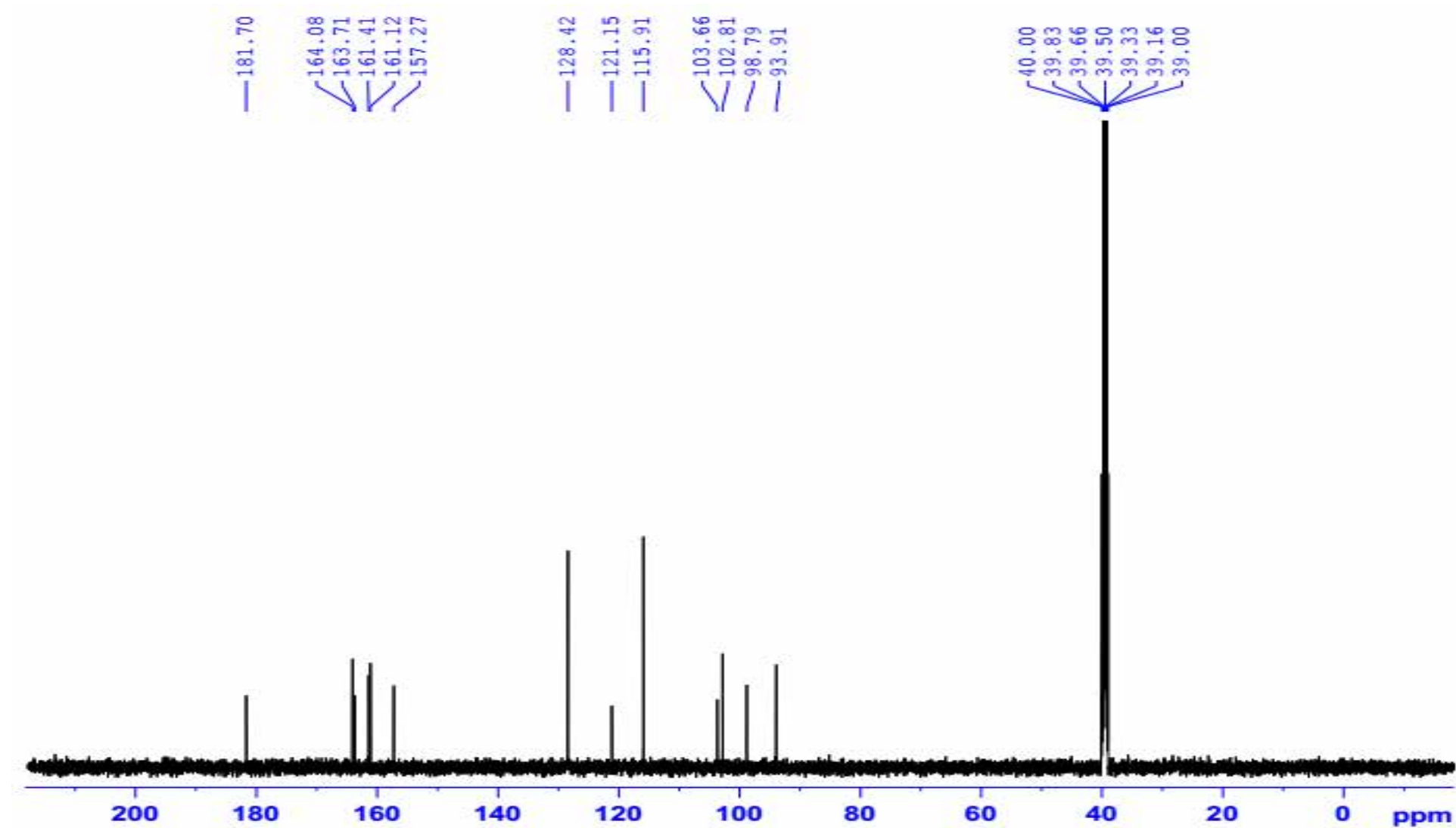


Hình 3.24. Cấu trúc hợp chất **CI5**

Hợp chất **CI5** thu được dưới dạng tinh thể màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của 7 proton vòng thơm, trong đó có một hệ vòng thơm kiểu A_2B_2 được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ pic mạnh gấp đôi tại δ_{H} 6,91 (2H, d, $J=8,5$, H-3', H-5'), 7,91 (2H, d, $J=8,5$, H-2', H-6'), hai proton thế dạng meta với nhau tại δ 6,18 (1H, d, $J=2,0$, H-8), 6,47 (1H, d, $J=2,0$, H-6). Các tín hiệu trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ đã khẳng định rằng hợp chất **CI5** có khung flavonoid và vòng B có dạng kaempferol với các tín hiệu tại δ_{C} 121,1 (C-1'), 128,4 (C-2'), 115,9 (C-3'), 161,1 (C-4'), 115,9 (C-5'), 128,4 (C-6') hai tín hiệu tại δ 93,9 và 98,8 rất đặc trưng cho hai vị trí C-8, C-6 của vòng A khi hai vị trí C-5 và C-7 đều bị thế. Từ các dữ kiện trên có thể dự đoán hợp chất **CI5** là một flavonoid có cấu trúc vòng B dạng kaempferol. So sánh số liệu phổ của **CI5** với apigenin thấy có sự phù hợp ở tất cả các vị trí [98] chứng tỏ hợp chất **CI5** được xác định là apigenin.

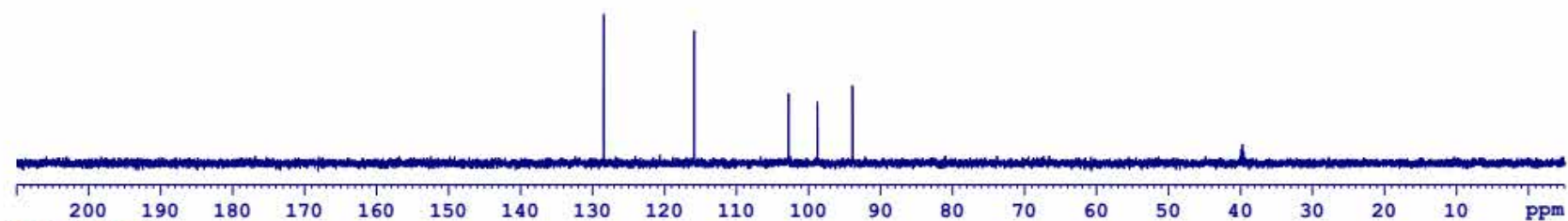


Hình 3.25. Phổ ^1H NMR của hợp chất **CI5**

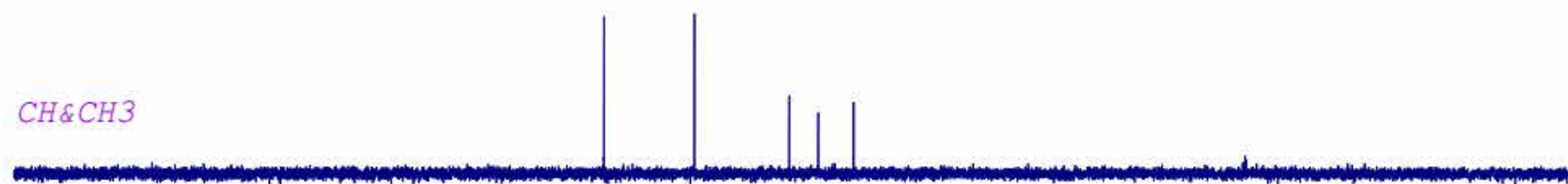


Hình 3.26. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI5

DEPT90



DEPT135



CH&CH3

CH2

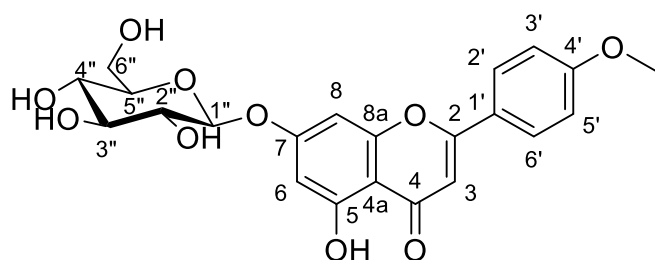


C13CPD



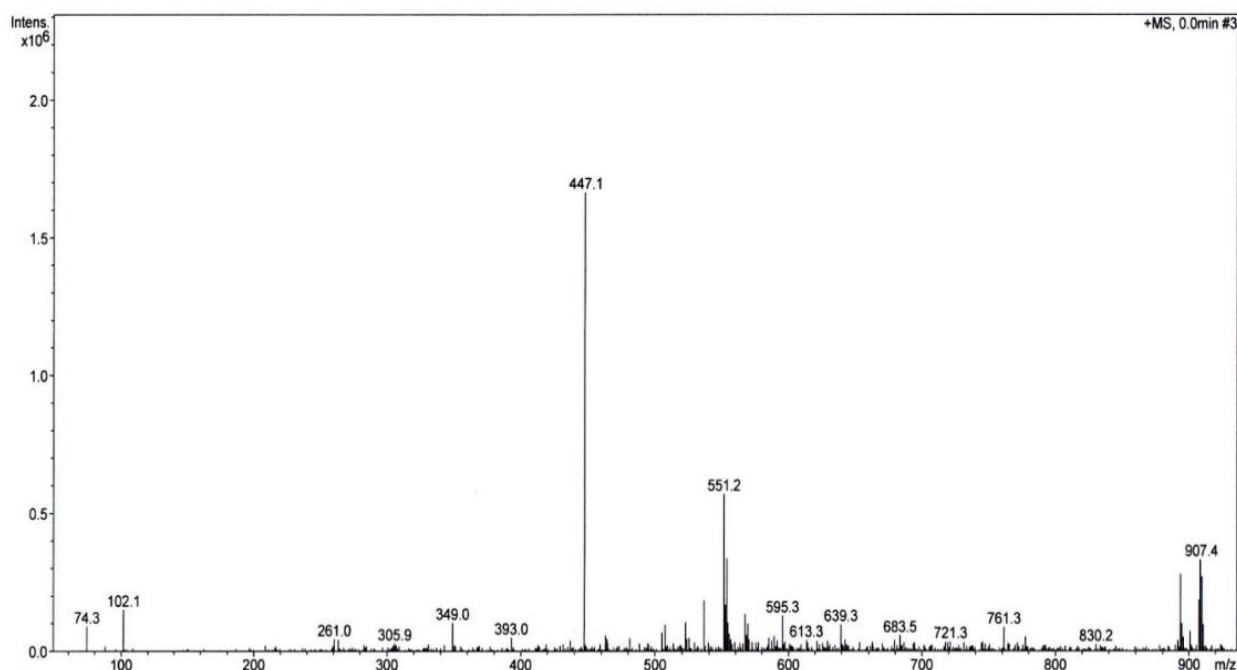
Hình 3.27. Phổ DEPT của CI5

3.1.6. Hợp chất **CI6**



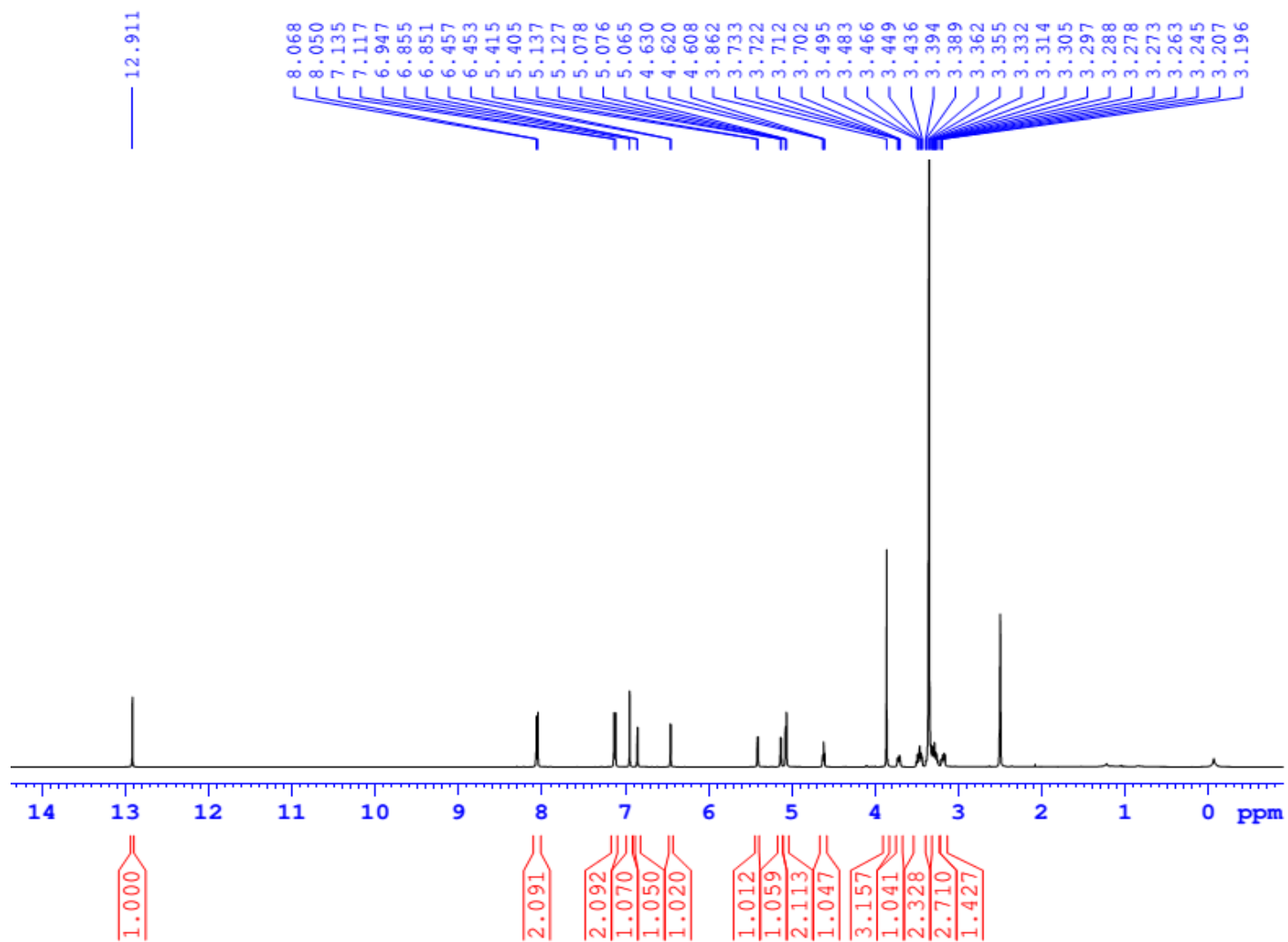
Hình 3.28. Cấu trúc của acacetin 7-**O**- β -D-glucopyranoside (**CI6**)

Hợp chất **CI6** thu được dưới dạng chất bột màu vàng, phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 447.1 $[M+H]^+$ gợi ý hợp chất có KLPT $M=446$, CTPT $C_{22}H_{22}O_{10}$.



Hình 3.29. Phổ khối lượng ESI-MS của **CI6**

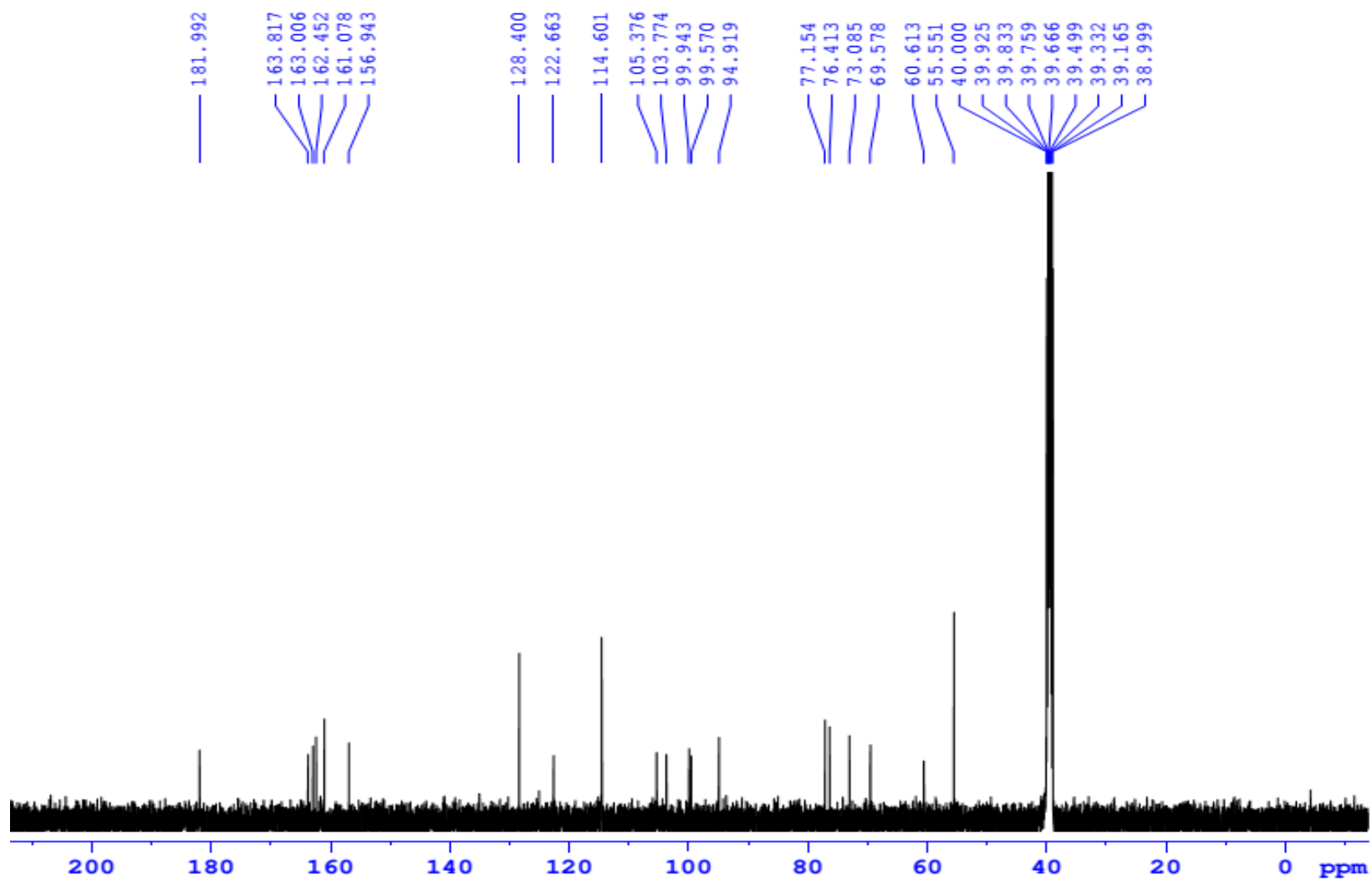
Trên phổ 1H -NMR của **CI6**, tại vùng trường thấp đặc trưng cho tín hiệu của các proton vòng thơm gồm hệ spin A_2B_2 được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ pic mạnh gấp đôi tại δ 8,05 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2', H-6'), 7,12 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3', H-5'), hai proton thế dạng meta với nhau tại 6,85 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,45 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6). Ngoài ra, một nhóm methoxy cũng được nhận dạng tại δ 3,86 (3H, br s). Các tín hiệu phổ này rất giống với hợp chất acacetin. Bên cạnh đó phổ 1H -NMR cũng xác định sự có mặt của một phân tử đường với tín hiệu proton anome tại δ 5,07 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-1'').



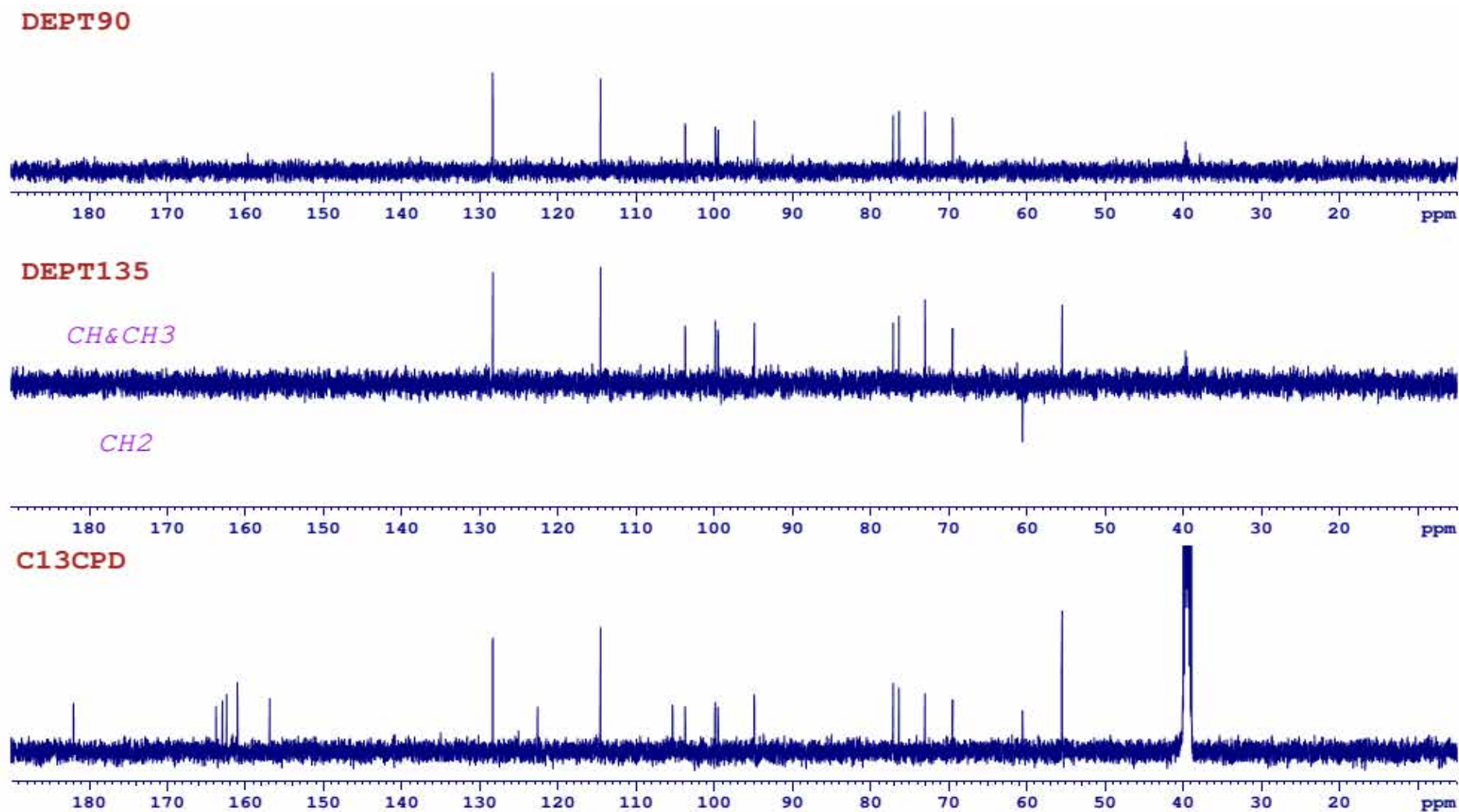
Hình 3.30. Phổ ^1H -NMR của **Cl6**

Các tín hiệu trên phổ ^{13}C -NMR và DEPT đã khẳng định rằng hợp chất **CI6** có khung flavonoid và vòng B có dạng kaempferol với các tín hiệu tại δ 122,6 (C-1'), 128,2 (C-2'), 114,6 (C-3'), 161,0 (C-4'), 114,6 (C-5'), 128,4 (C-6'), hai tín hiệu tại δ 94,9 và 99,5 rất đặc trưng cho hai vị trí C-8, C-6 của vòng A khi hai vị trí C-5 và C-7 đều bị thế. Ngoài ra sự xuất hiện của một phân tử đường glucoside cũng được xác định với các tín hiệu rất đặc trưng tại δ_{H} 99,7 (C-1''), 73,0 (C-2''), 77,1 (C-3''), 69,5 (C-4''), 76,4 (C-5''), 60,6 (C-6''). Hằng số tương tác J tại proton anome tương đối lớn ($J = 6.5 \text{ Hz}$) chứng tỏ cấu hình của phân tử đường là β -D-glucopyranoside.

Từ các dữ kiện trên có thể dự đoán hợp chất **CI6** là một flavonoid có cấu trúc vòng B dạng kaempferol và trong phân tử có một đơn vị đường β -D-glucopyranoside. So sánh số liệu phổ thu được với chất acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside thấy có sự phù hợp ở tất cả các vị trí chứng tỏ hợp chất **CI6** được xác định là acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside [99].

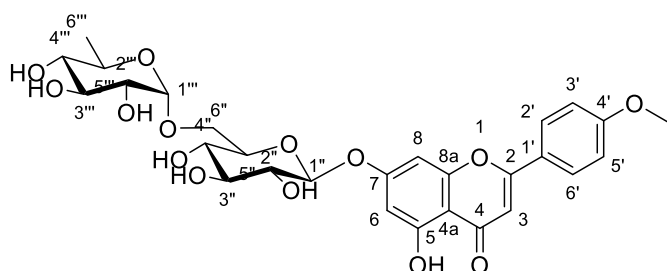


Hình 3.31. Phổ ^{13}C -NMR của **CI6**



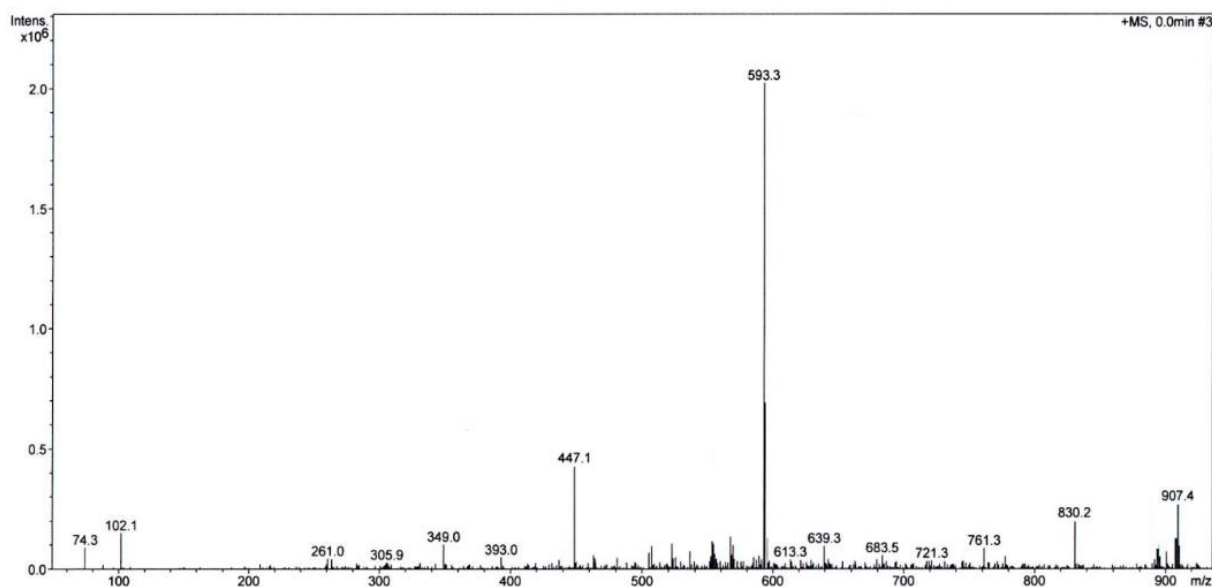
Hình 3.32. Phổ DEPT của **CI6**

3.1.7. Hợp chất **CI7**



Hình 3.33. Cấu trúc của acacetin 7-O-rutinoside (**CI7**)

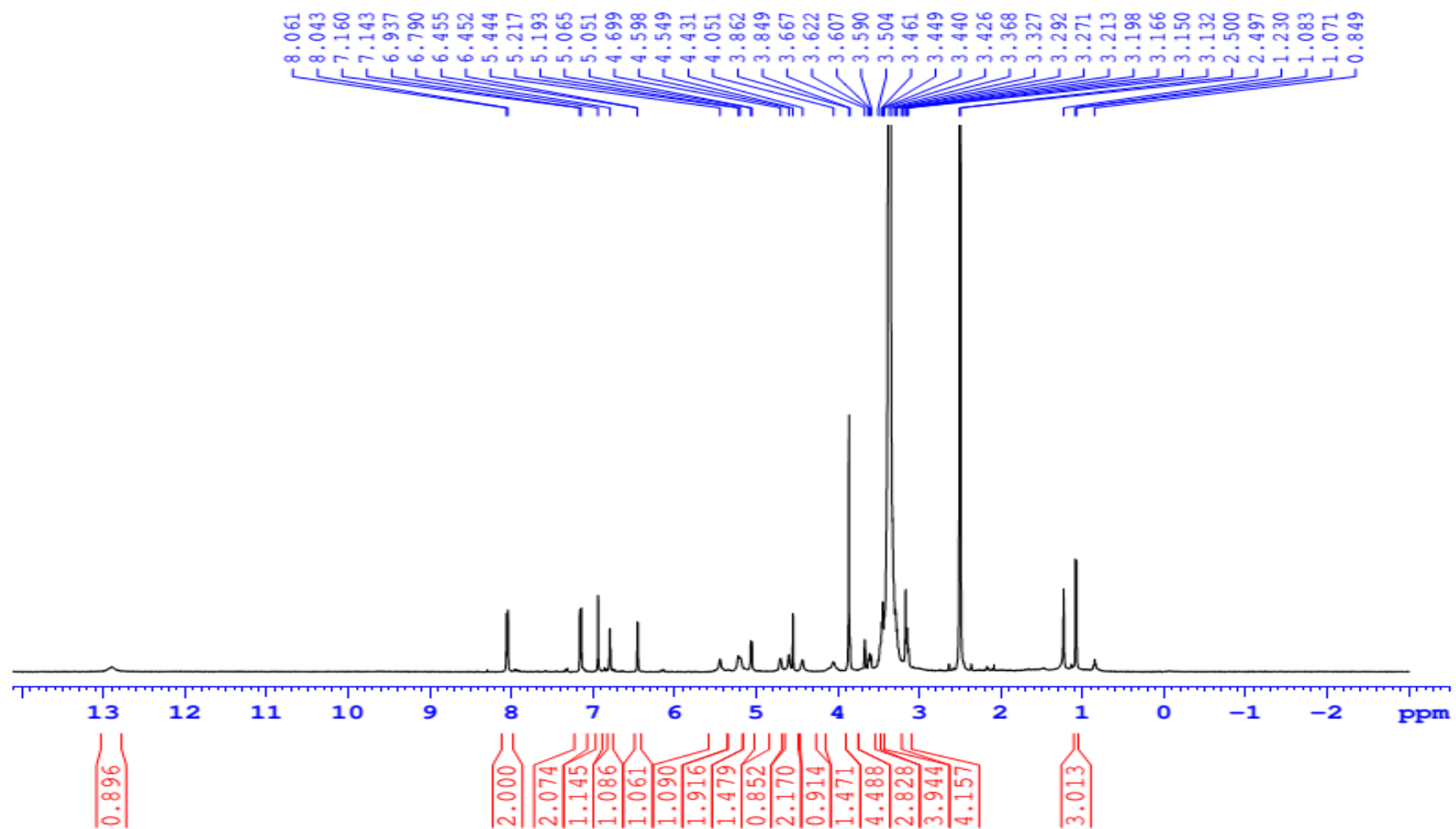
Hợp chất **CI7** thu được dưới dạng bột màu vàng, phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 593,3 $[M+H]^+$ gợi ý hợp chất có KLPT 592.



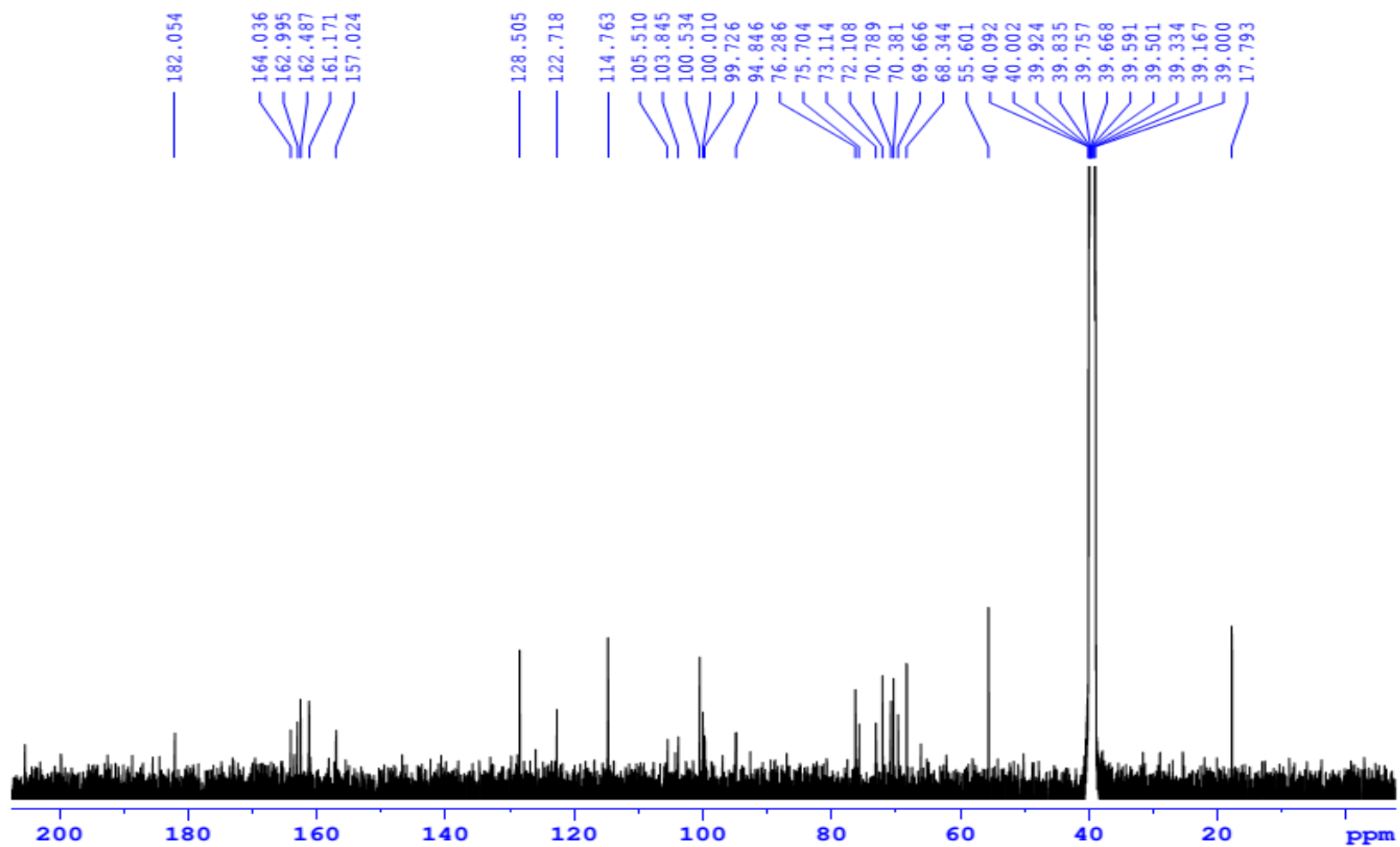
Hình 3.34. Phổ khối lượng ESI-MS của **CI7**

Các phổ NMR của nó đặc trưng cho một hợp chất có khung flavon. Trên phổ ^1H -NMR, tại vùng trường trung bình đặc trưng cho tín hiệu của các olefin vòng thơm xuất hiện tín hiệu của 7 proton, trong đó có một hệ vòng thơm kiểu A_2B_2 được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ pic mạnh gấp đôi tại δ 8,06 (2H, d, $J=8,5$, H-2', 6'), 7,16 (2H, d, $J=8,5$, H-3', 5'), hai proton thể dạng meta tại δ 6,45 (1H, d, $J=1,5$, H-6), 6,79 (1H, br s, H-8) và một proton tại δ 6,93 (1H, s, H-3). Bên cạnh đó phổ ^1H cũng xác định sự có mặt của hai phân tử đường với các tín hiệu proton anome tại δ 5,06 (1H, d, $J=7,0$, H-1''), 4,54 (1H, br s, H-1''') và một nhóm methoxy tại 3,86 (3H, br s). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của 28 nguyên tử cacbon, các tín hiệu trên phổ ^{13}C -NMR đã gợi ý rằng hợp chất **CI7** có khung flavon glycoside và vòng B có dạng thể A_2B_2 với các tín hiệu tại δ 122,7 (C-1'), 128,5 (C-2', 6'), 114,7 (C-3', 5'), 162,4 (C-4'),

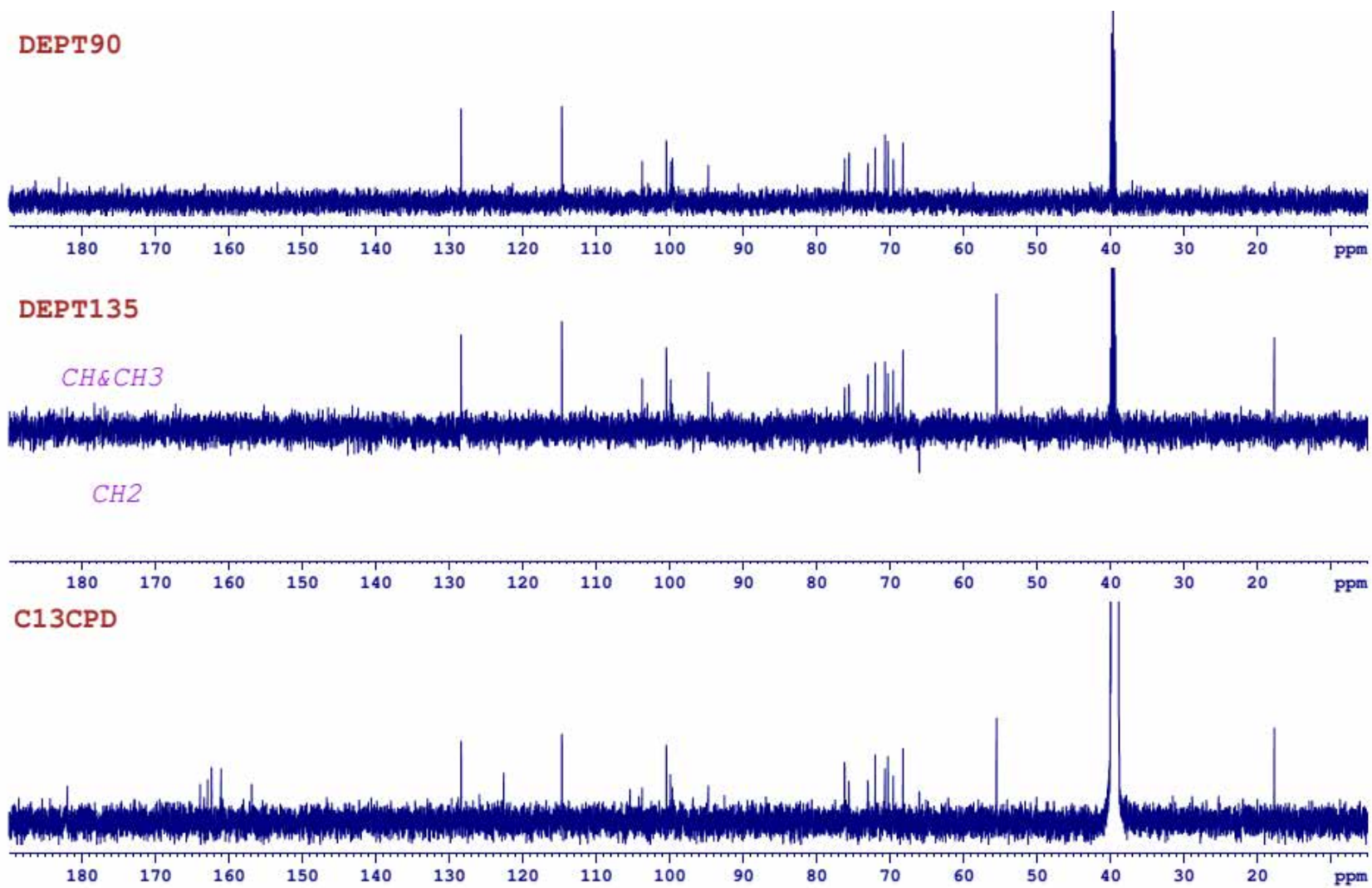
hai tín hiệu tại δ 100,5 và 94,9 rất đặc trưng cho hai vị trí C-6, C-8 của vòng A khi hai vị trí C-5 và C-7 đều bị thế. Ngoài ra sự xuất hiện của hai phân tử đường trong đó có một phân tử đường glucose (được xác định bởi các tín hiệu rất đặc trưng tại δ 99,7 (C-1"), 73,1 (C-2"), 76,2 (C-3"), 69,6 (C-4")) và một phân tử đường rhamnose (được xác định bởi các tín hiệu rất đặc trưng tại δ 100,0 (C-1'''), 70,7 (C-2'''), 70,3 (C-3'''), 72,1 (C-4'''), 68,3 (C-5'''), 17,7 (C-6''')). Độ chuyển dịch hoá học của C-6'' chuyển dịch về vùng trường thấp hơn tại δ 66,5 (CH₂) chứng tỏ phân tử đường rhamnose được đính vào vị trí C-6 của phân tử đường glucose. Nhóm methoxy được xác định là đính vào vị trí C-4' như vậy hợp chất sẽ có dạng khung acacetin (một dạng khung rất phổ biến trong chi *Chrysanthemum*). Phân tử đường glucose được xác định là đính vào vị trí C-7 dựa vào việc so sánh các dữ kiện phổ của hợp chất **CI7** với các dữ kiện phổ của hợp chất acacetin 7-*O*-rutinoside [100] thấy có sự trùng khớp hoàn. Như vậy hợp chất **CI7** chính là acacetin 7-*O*-rutinoside



Hình 3.35. Phổ ^1H -NMR của **CI7**

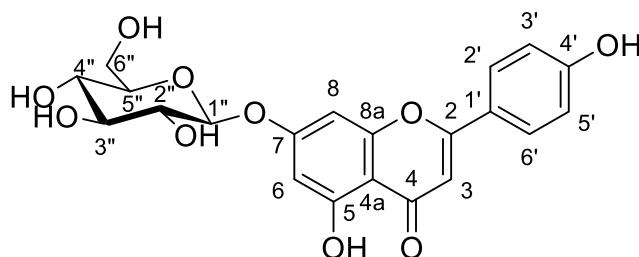


Hình 3.36. Phổ ^{13}C -NMR của **CI7**



Hình 3.37. Phổ DEPT của CI7

3.1.8. Hợp chất **CI8**

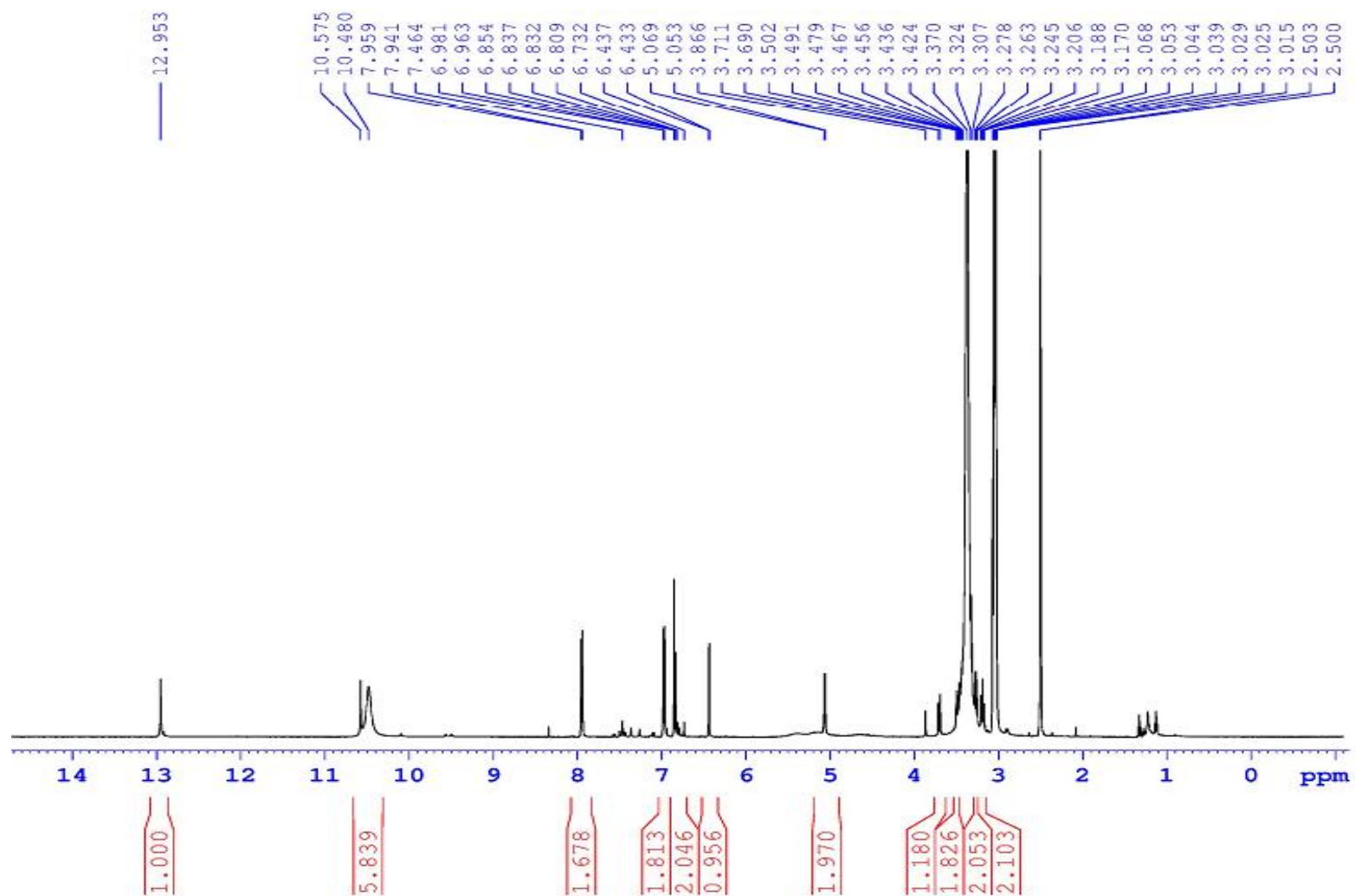


Hình 3.38. Cấu trúc của apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (**CI8**)

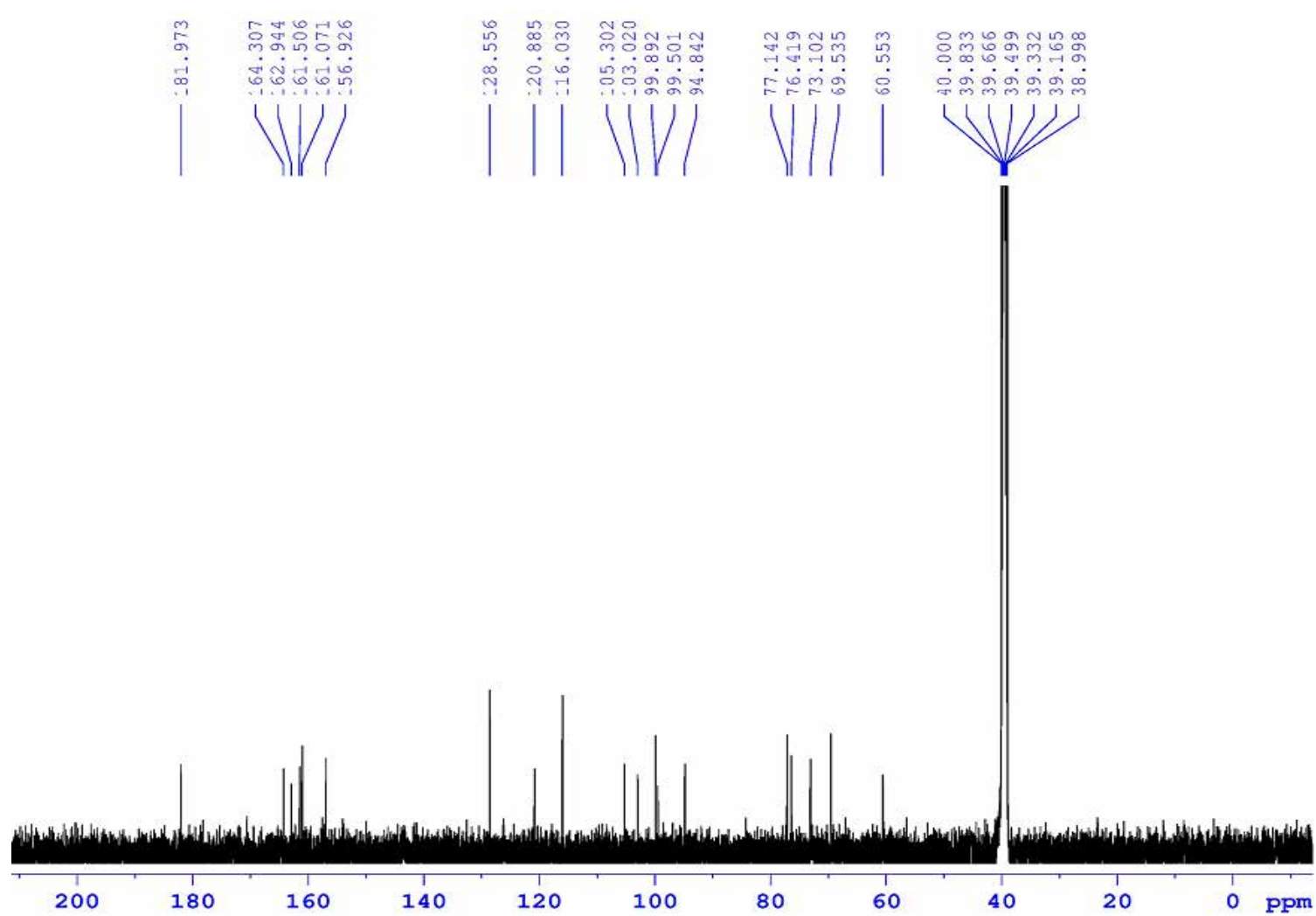
Hợp chất **CI8** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$, xuất hiện hệ tín hiệu đặc trưng cho các proton vòng thơm: hai tín hiệu cường độ mạnh tại δ 7,95 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2', H-6') và δ 6,98 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3', H-5'), tương ứng với hệ spin A_2B_2 . Ngoài ra, các tín hiệu tại δ 6,85 (1H, s, H-3), δ 6,83 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8) và δ 6,43 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6) đặc trưng cho các proton ở vòng A và C của khung flavonoid. Một tín hiệu đơn tại δ 12,9 (1H, s) được ghi nhận cho proton của nhóm hydroxyl tại vị trí C-5 (5-OH), thường gặp ở các flavonoid không bị thế ở vị trí này. Ngoài các tín hiệu từ phần aglycon, sự xuất hiện tín hiệu proton anome tại δ 5,06 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'') cùng với hằng số liên kết $J = 8,0$ Hz cho thấy sự hiện diện của một đơn vị đường β -D-glucopyranoside.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cung cấp thêm bằng chứng xác định khung flavonoid và phân tử đường: các tín hiệu tại δ 162,9 (C-2), 103,0 (C-3), 182,0 (C-4), 161,5 (C-5), 99,5 (C-6), 164,3 (C-7), 94,8 (C-8), 156,9 (C-9), 103,0 (C-10) và các tín hiệu vòng B gồm δ 120,8 (C-1'), 128,5 (C-2', C-6'), 116,0 (C-3', C-5'), 161,0 (C-4'). Các tín hiệu liên quan đến đơn vị đường β -D-glucopyranoside lần lượt được xác định tại δ 99,8 (C-1''), 73,1 (C-2''), 77,1 (C-3''), 69,5 (C-4''), 76,4 (C-5'') và 60,5 (C-6''). Đặc biệt, sự vắng mặt của nhóm methoxy (δ 3,86/55,5 như ở **CI6**) và sự phù hợp hoàn toàn của các tín hiệu phổ với dữ liệu chuẩn của apigenin cho thấy phần aglycon của **CI8** chính là apigenin.

Từ các dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$, có thể khẳng định hợp chất **CI8** có cấu trúc là apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside [100].

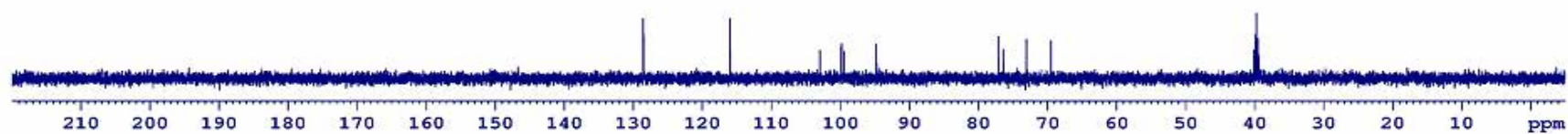


Hình 3.39. Phổ ^1H -NMR của **CI8**

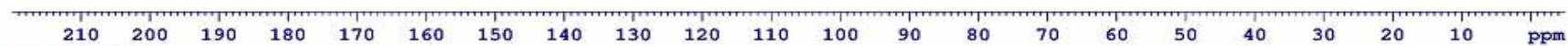


Hình 3.40. Phổ ^{13}C -NMR của **CI8**

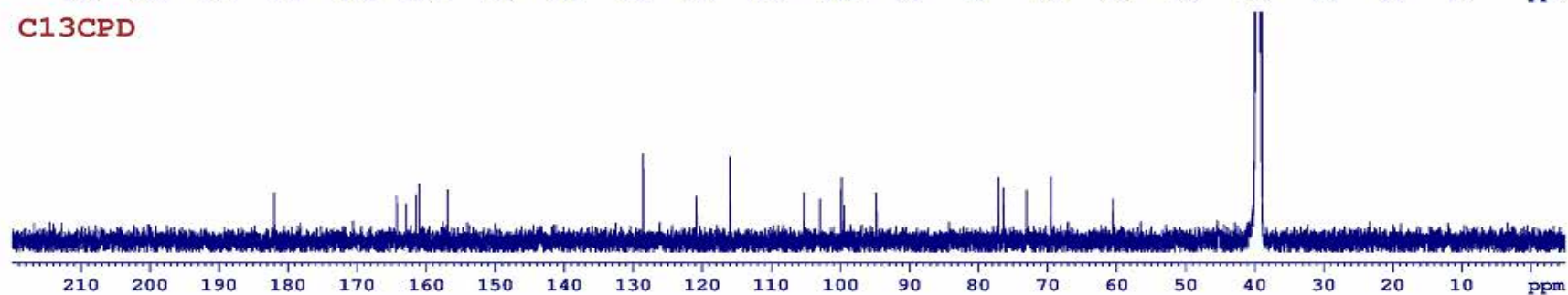
DEPT90



DEPT135

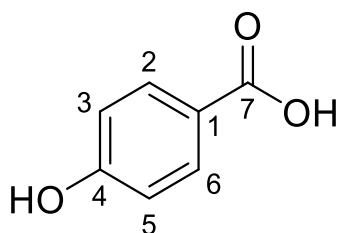
*CH&CH3**CH2*

C13CPD



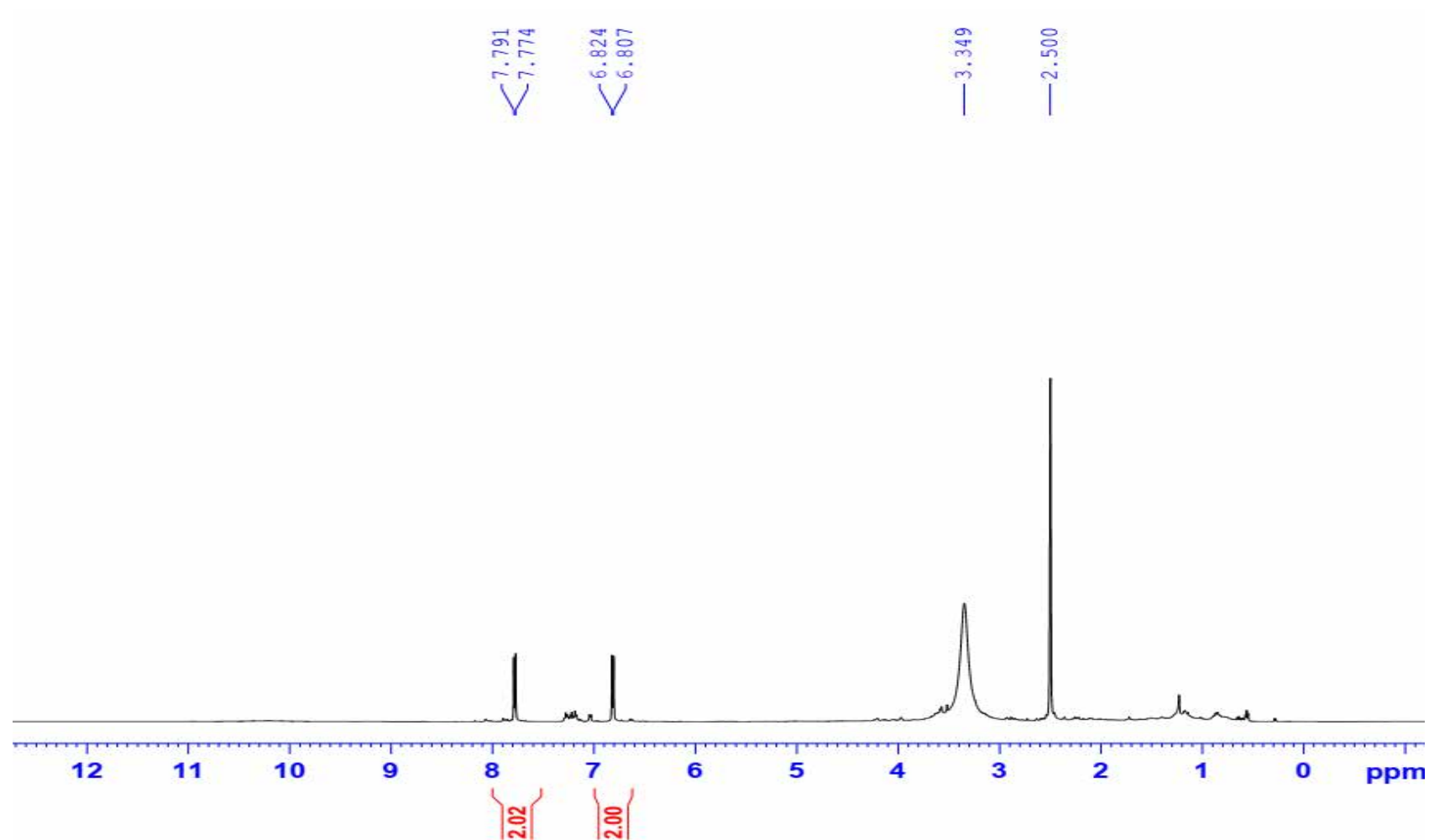
Hình 3.41. Phổ DEPT của *C18*

3.1.9. Hợp chất **CI9**

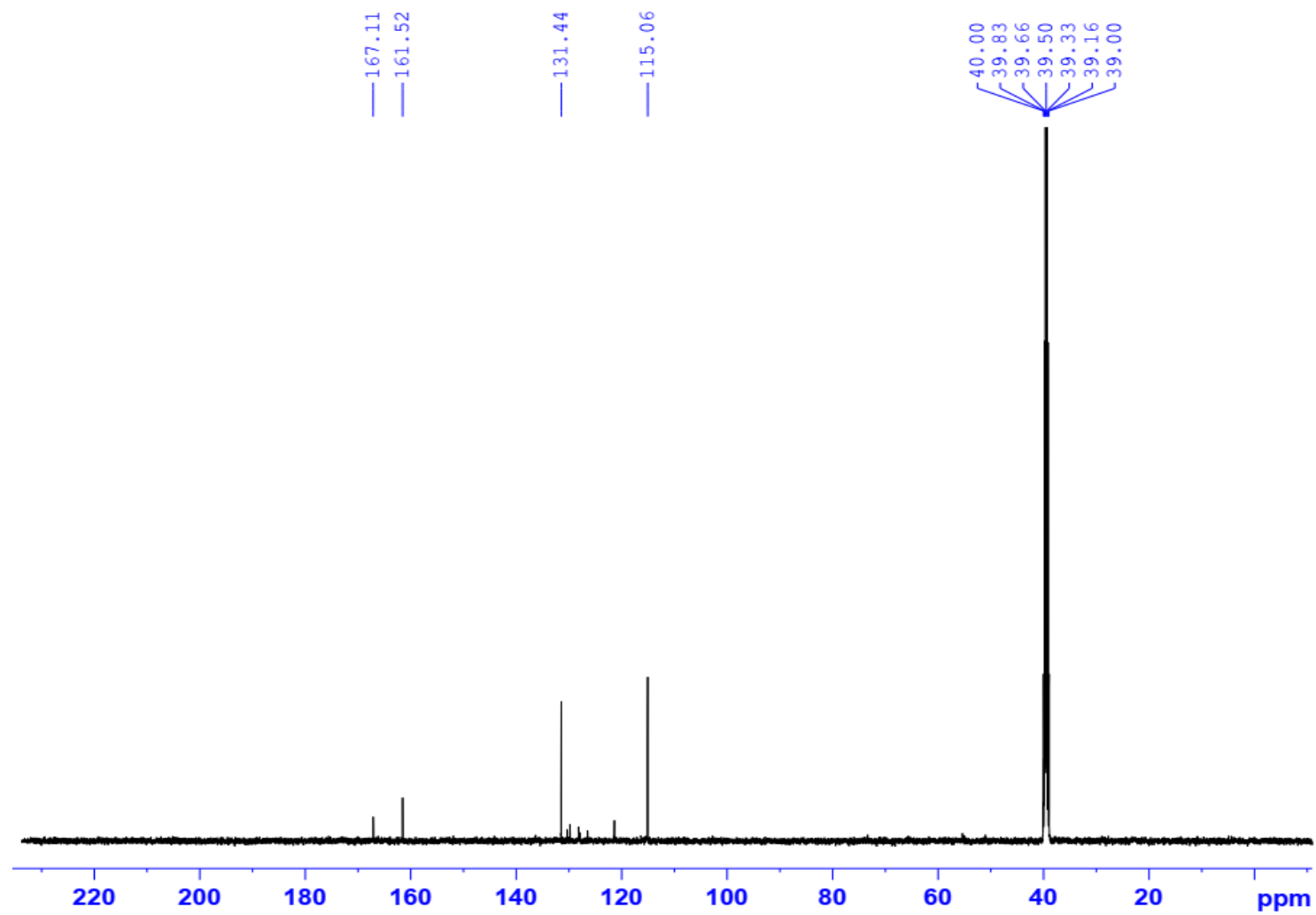


Hình 3.42. Cấu trúc hợp chất *p*-hydroxybenzoic acid

Hợp chất số **CI9** thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ ^1H NMR của hợp chất **CI9** cho thấy duy nhất hai tín hiệu đặc trưng của hệ vòng thơm dạng A_2B_2 tại các vị trí chuyển dịch hóa học lần lượt là δ_{H} 7,79 (2H, br d, $J = 8,5$ Hz, H-2/ H-6) và 6,82 (2H, br d, $J = 8,5$ Hz, H-3/ H-5). Phổ ^{13}C NMR của 2 cũng có các tín hiệu của 1 nhóm carboxylic tại δ_{C} 167,1(COOH), 2 carbon bậc 4 (δ_{C} 121,5, C-1 và 161,5, C-4), hai nhóm methine vòng thơm tương ứng với các vị trí C-2/ C-6 (δ_{C} 131,4) và C-3/ C-5 (δ_{C} 115,0). So sánh các kết quả phân tích phổ này với tài liệu tham khảo cho phép kết luận hợp chất **CI9** là *p*-hydroxybenzoic acid [101].



Hình 3.43. Phổ ^1H NMR của hợp chất **CI9**

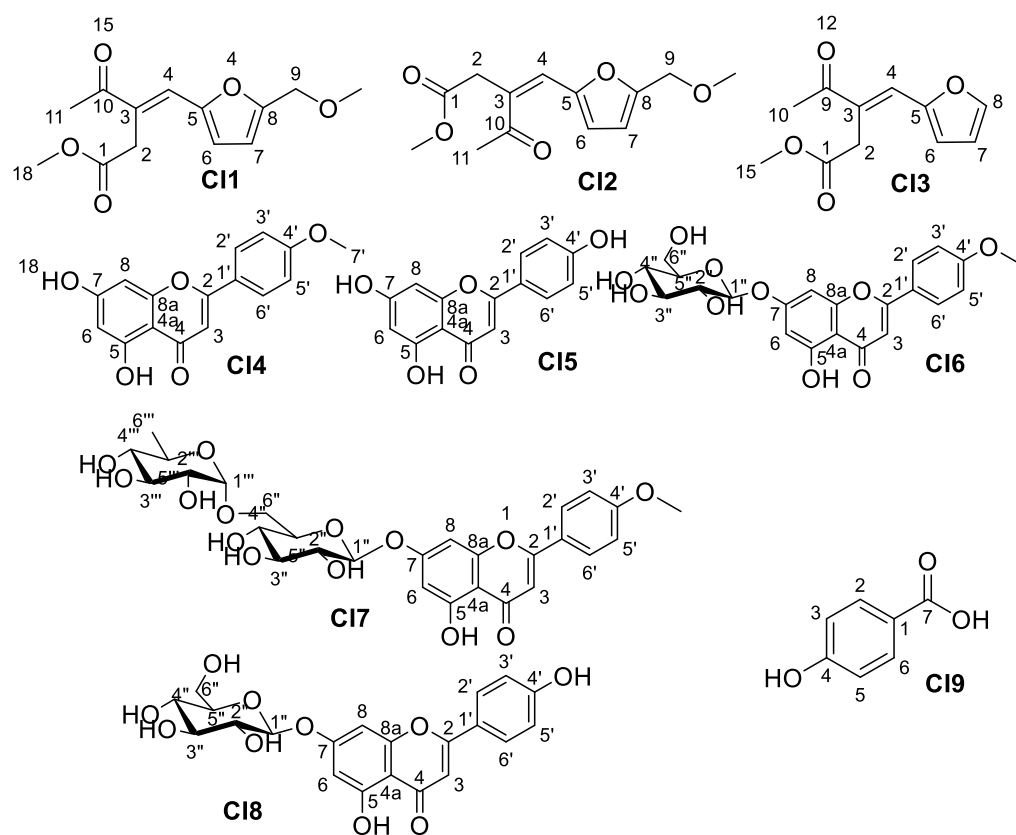


Hình 3.44. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CI9**

3.1.10. Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ hoa cúc vàng

Từ các cao chiết hoa cúc vàng bằng các dung môi khác nhau, chúng tôi đã phân lập được 9 hợp chất. Phần lớn các chất được phân lập là các flavonoid, nhóm chất thể hiện nhiều hoạt tính sinh học quý. Ngoài ra, từ cao chiết thu nhận bằng phương pháp đun hồi lưu với acid, chúng tôi đã phân lập được ba hợp chất furan, trong đó có 2 hợp chất mới. Đây là một phát hiện thú vị, do đó, con đường bán tổng hợp các hợp chất này từ các thành phần của cúc hoa vàng cần được nghiên cứu sâu hơn.

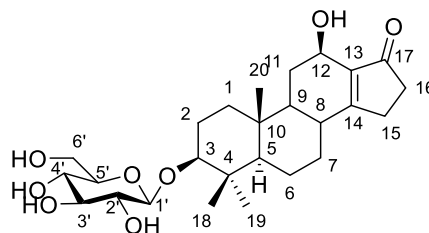
Khả năng ức chế vi khuẩn lam của các chất sẽ được trình bày trong các phần tiếp theo của luận án.



Hình 3.45. Các hợp chất được phân lập từ cúc hoa vàng

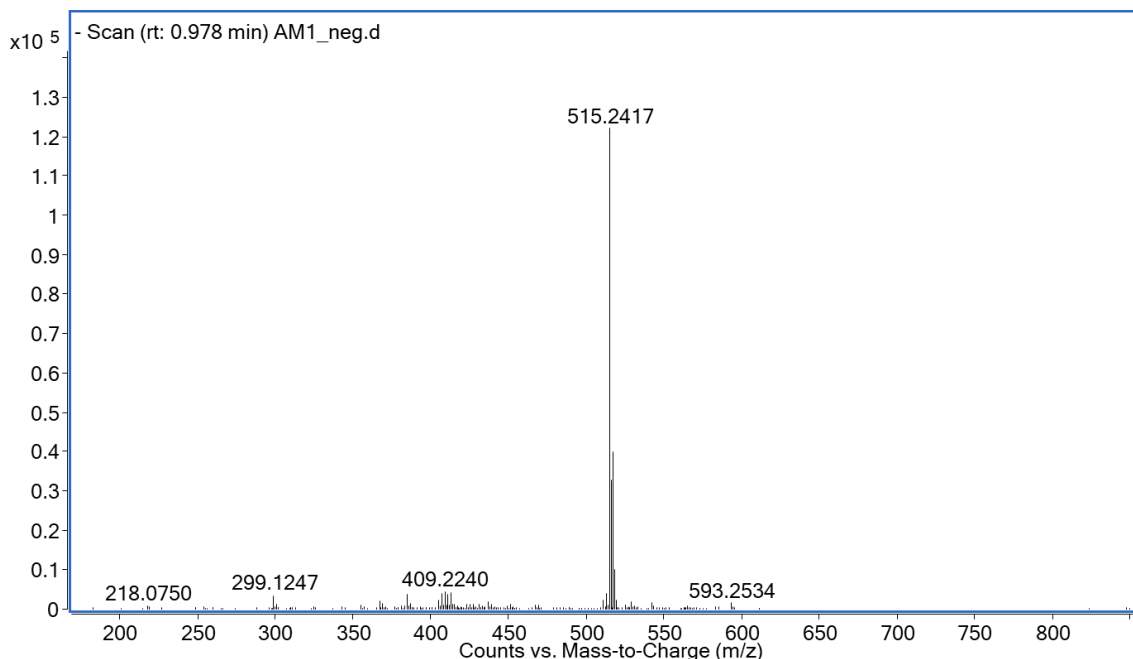
3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất từ keo tai tượng (*Acacia mangium*)

3.2.1. Hợp chất AM1 (chất mới)



Hình 3.46. 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.



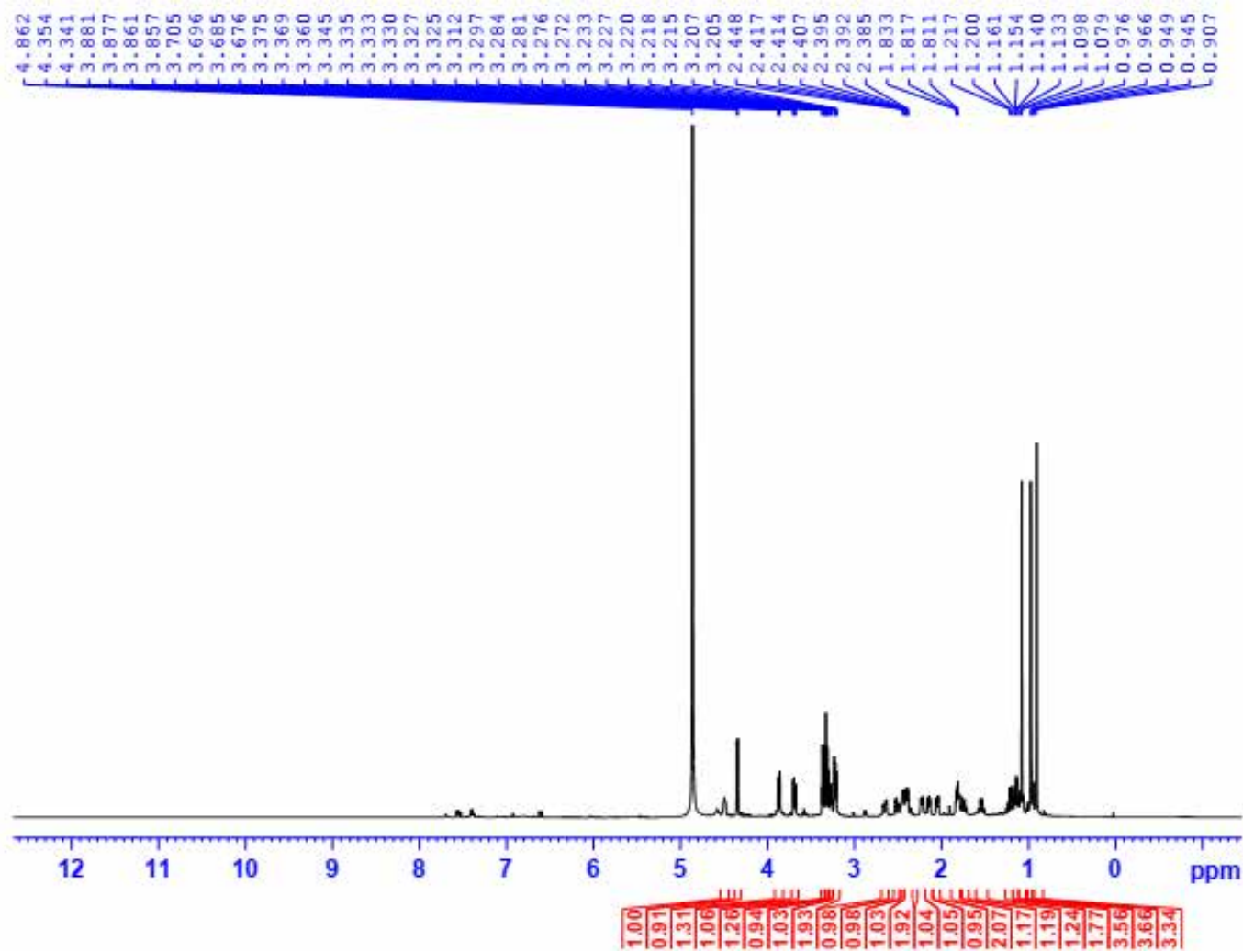
Hình 3.47. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất mới acacienoside A

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

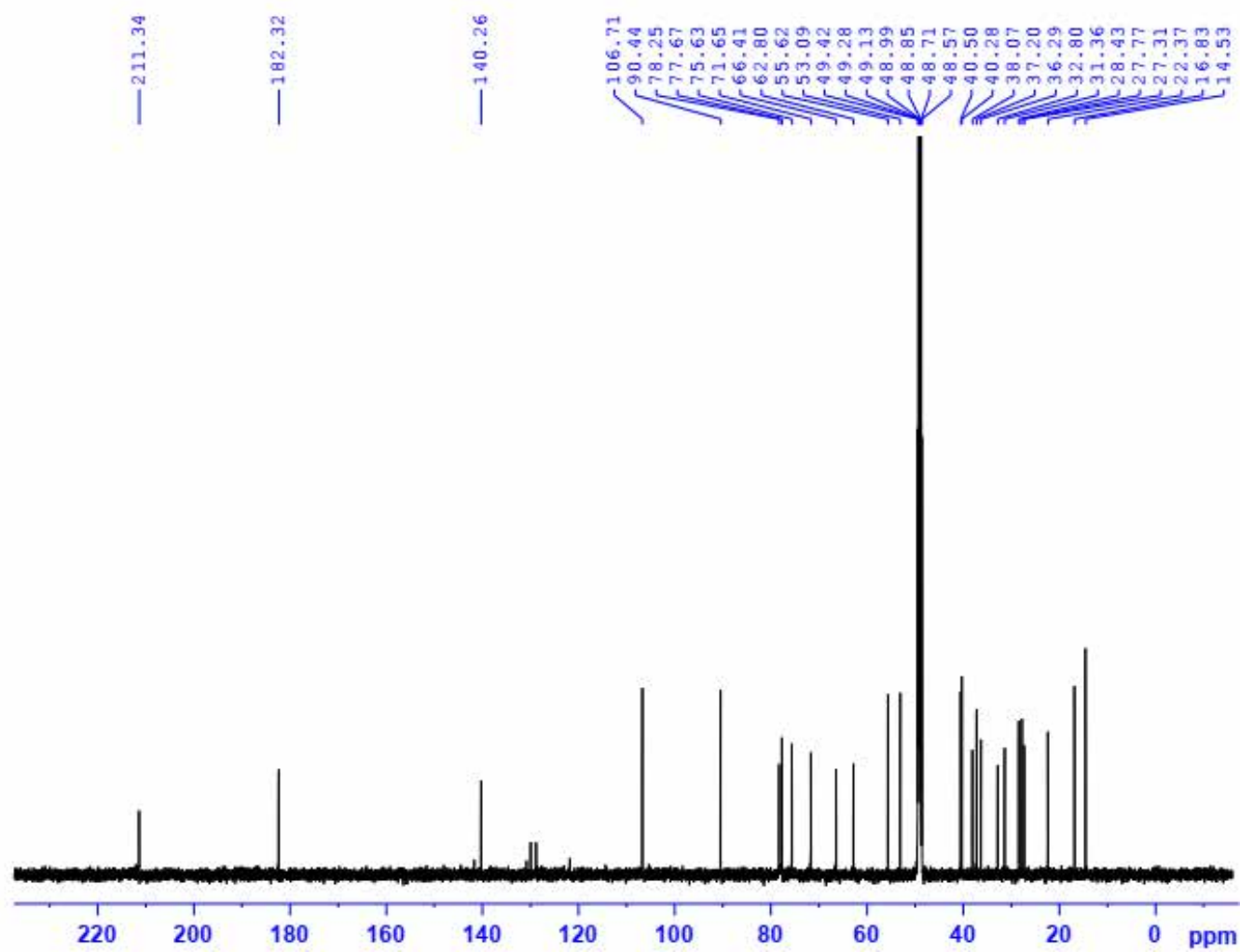
xác nhận sự có mặt của 26 carbon, với các tín hiệu đặc trưng của carbon keton tại δ_C 211,3 (C-17) và hai carbon liên kết oxy tại δ_C 90,4 (C-3) và δ_C 66,4 (C-12). Hai carbon bậc bốn xuất hiện tại δ_C 140,3 (C-13) và δ_C 182,3 (C-14). Trong số đó, 20 tín hiệu được gán cho phần terpenoid và 6 tín hiệu 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.

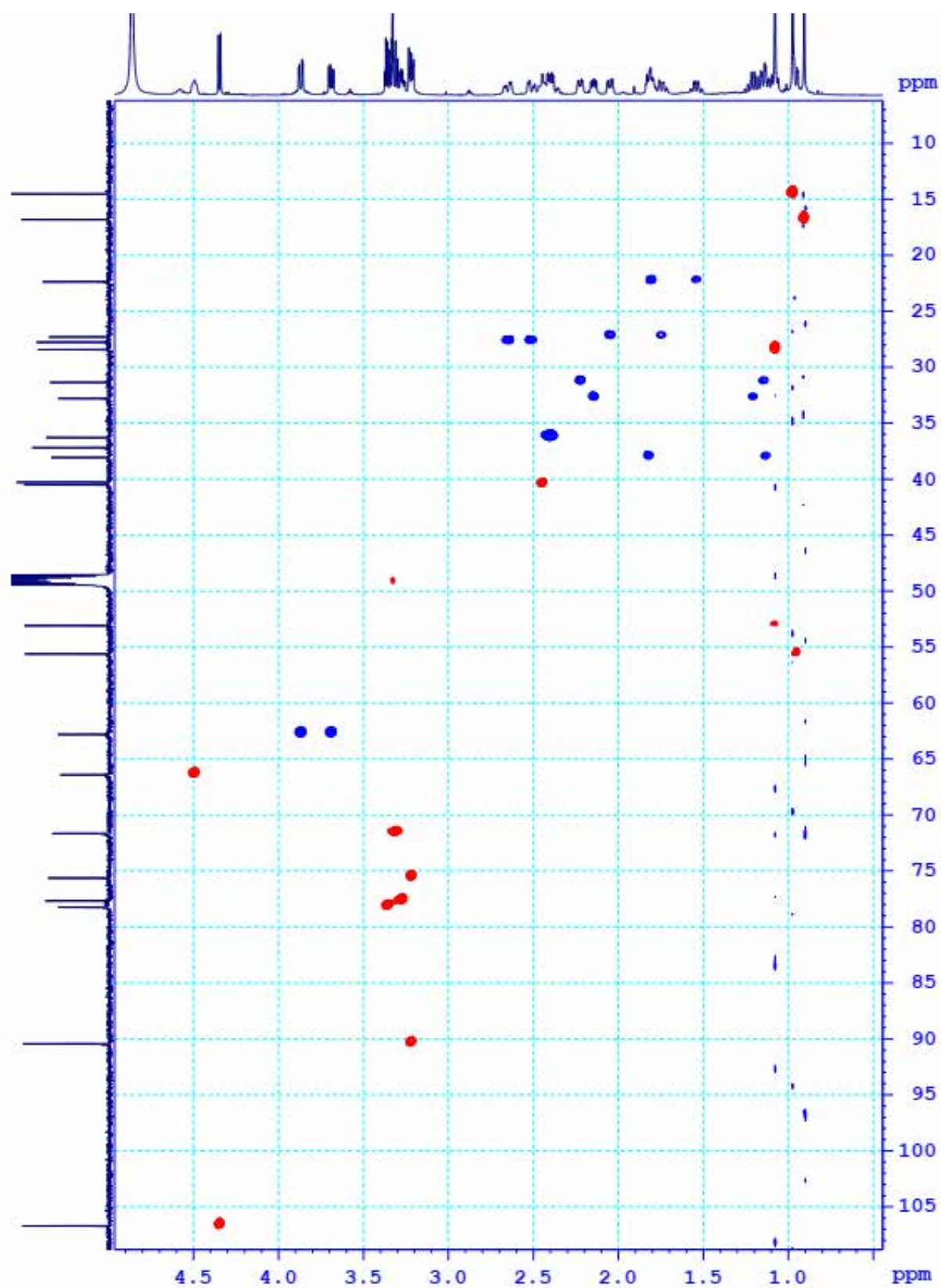
Cấu hình lập thể tương đối được xác nhận bằng phổ NOESY, chỉ ra các proton H-3, H-5, H-9 và H-19 định hướng α , trong khi proton H-8 và methyl H-20 định hướng β . Một tương tác NOESY rõ ràng giữa H-7 và H-15 đã xác định vị trí nhóm carbonyl tại C-17 thuộc vòng cyclopentenon (vòng D). Dựa trên phân tích 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.



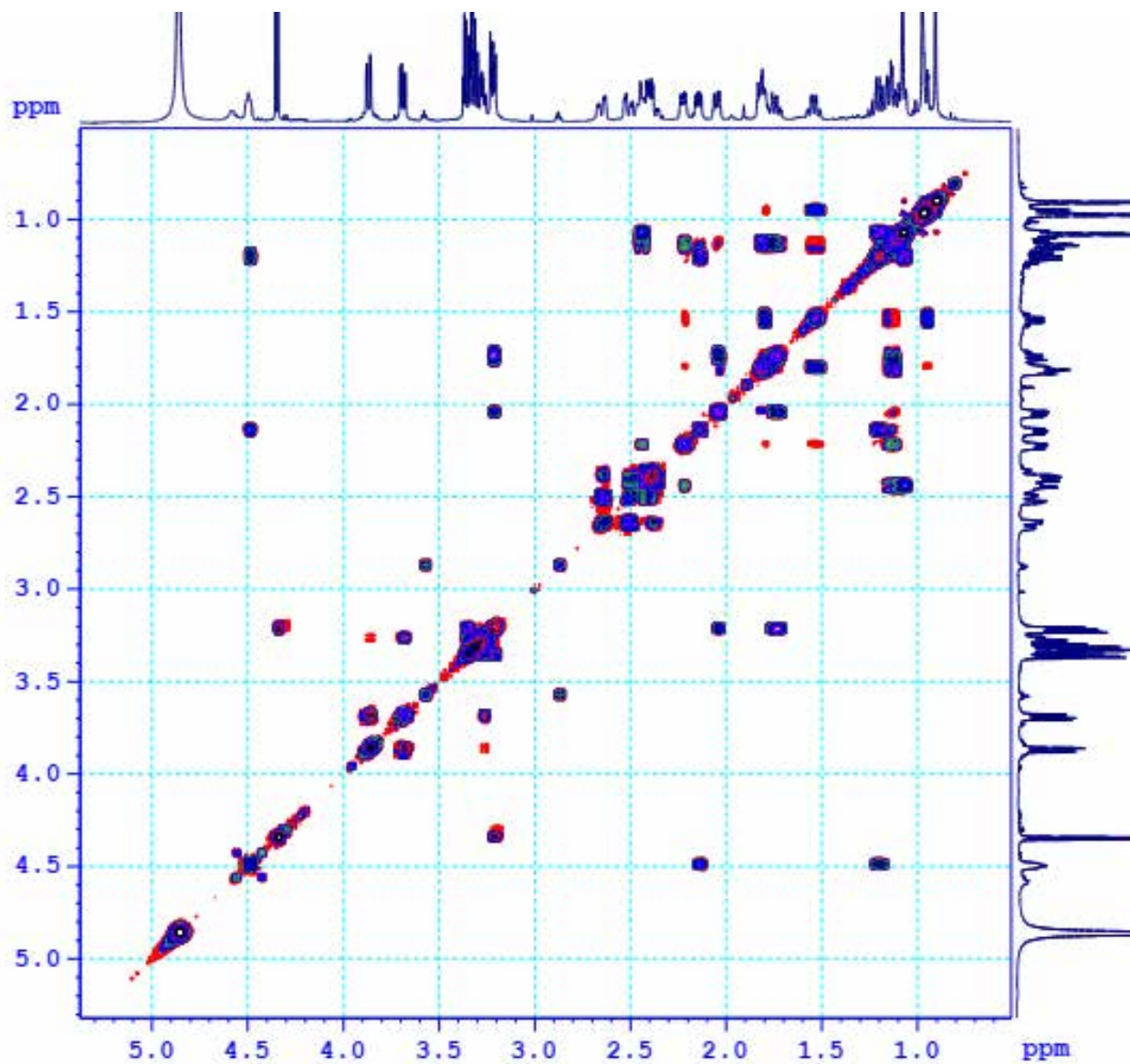
Hình 3.48. Phổ ^1H NMR của AM1



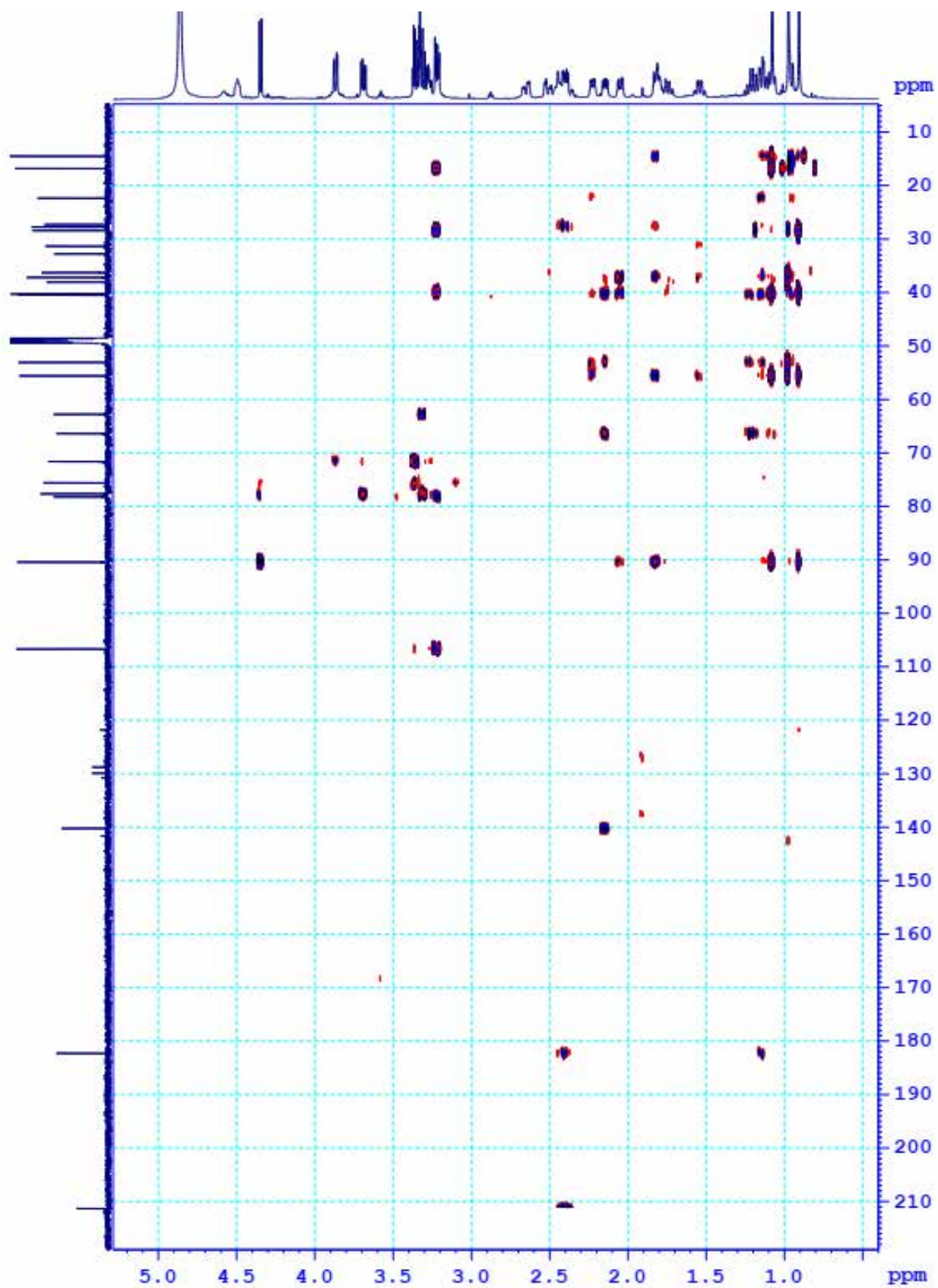
Hình 3.49. Phổ ^{13}C NMR của AMI



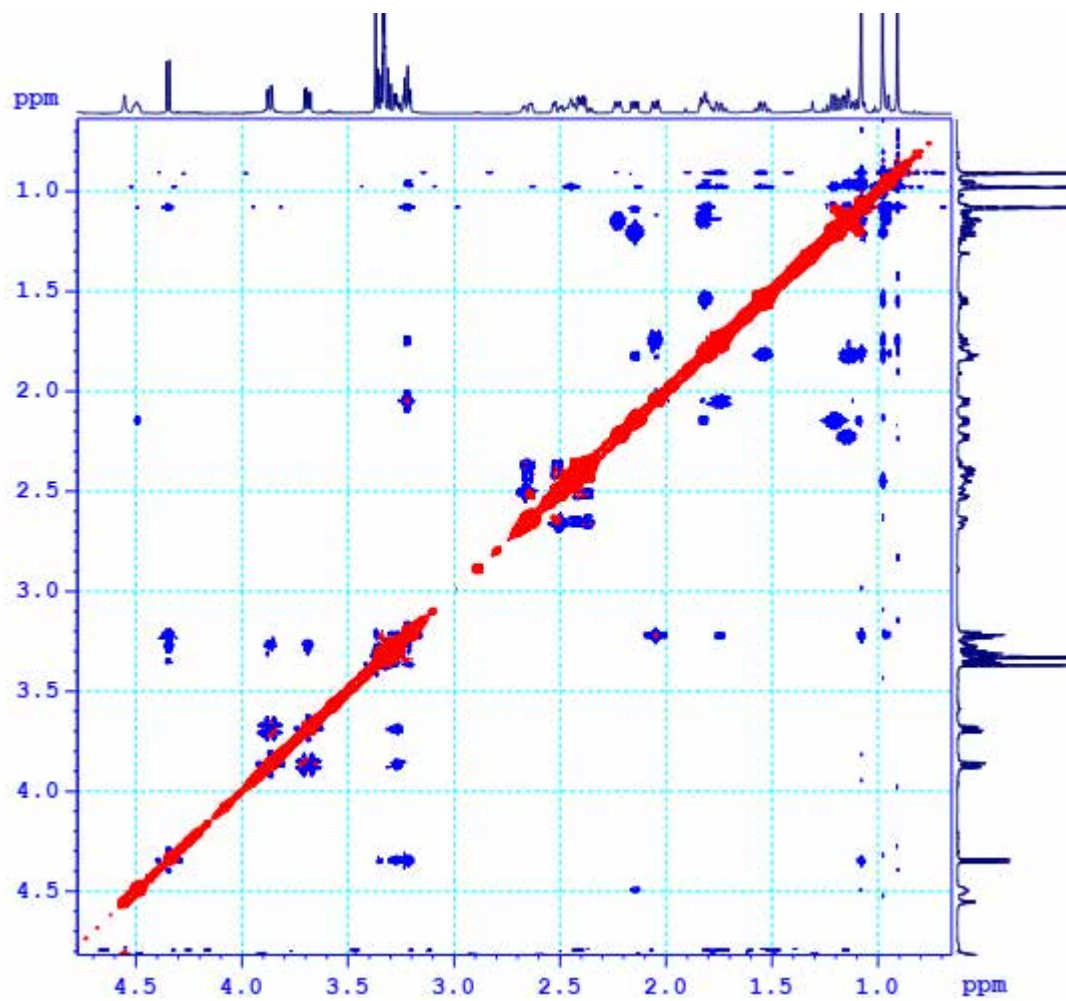
Hình 3.50. Phổ HSQC của AM1



Hình 3.51. Phổ COSY của AM1

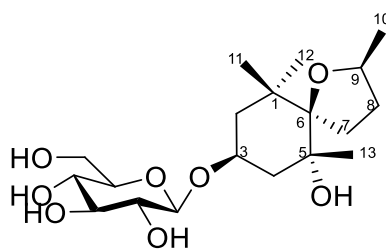


Hình 3.52. Phổ HMBC của AM1



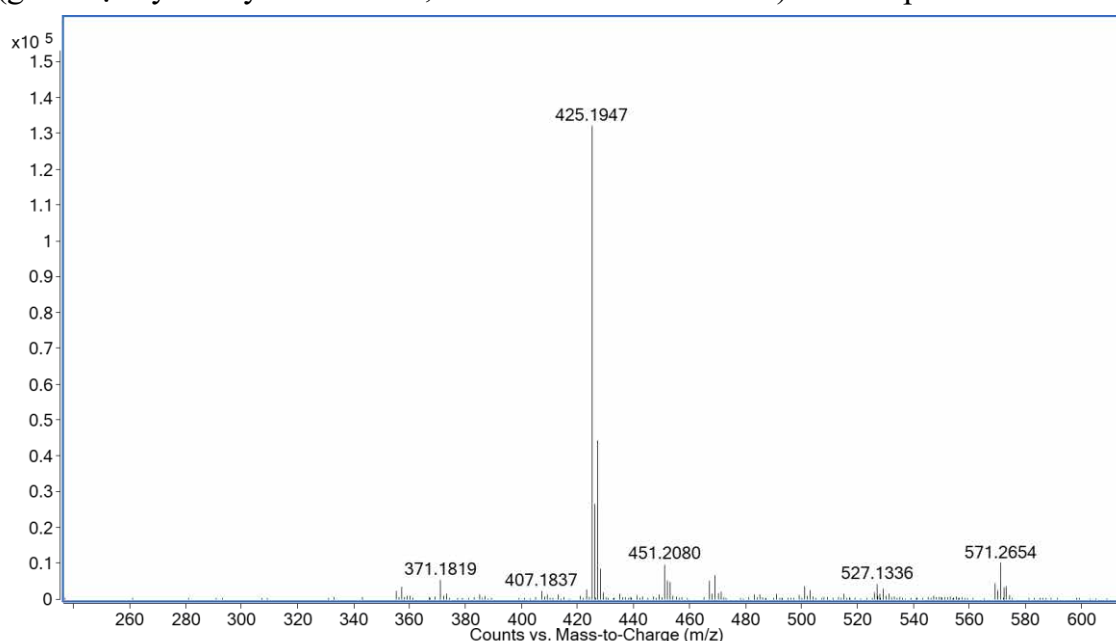
Hình 3.53. Phổ NOESY của AMI

3.2.2. Hợp chất AM2 (chất mới)



Hình 3.54. Cấu trúc của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside

Hợp chất **AM2** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất được xác định là $C_{19}H_{34}O_8$ dựa vào ion giả phân tử $[M+Cl]^-$ tại m/z 425,1947 (giá trị lý thuyết là 425,1942 cho $C_{19}H_{34}O_8Cl$) trên phổ HR-ESI-MS.

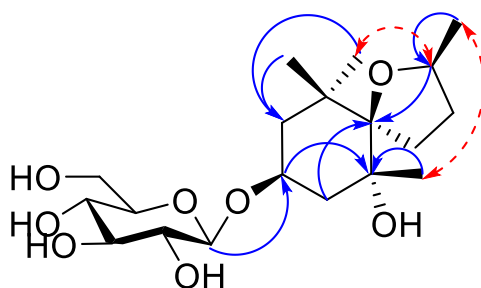


Hình 3.55. Phổ HRMS của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside

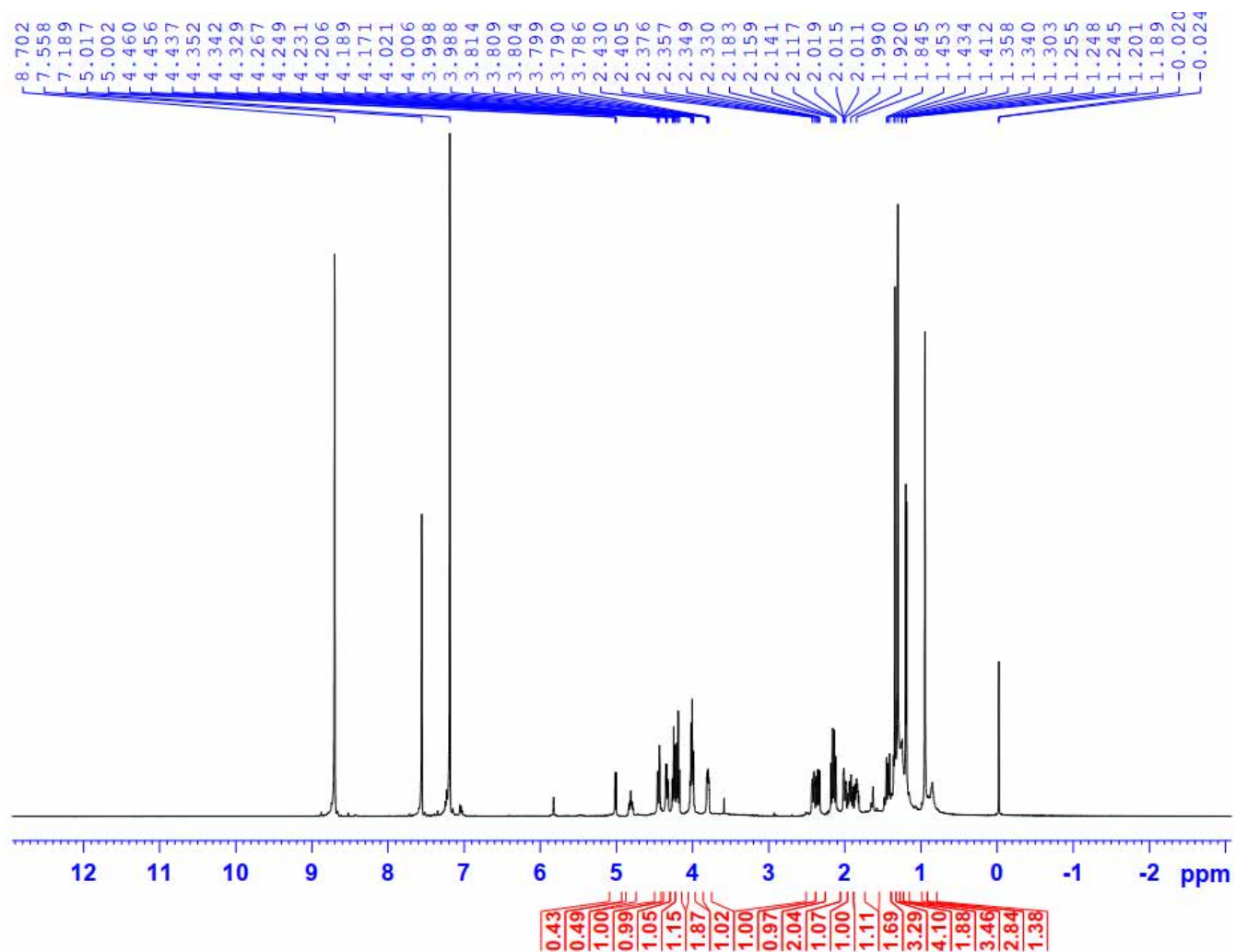
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton xuất hiện tín hiệu của một proton anomer tại δ_H 5,00 (1H, d, $J = 9,0$ Hz; H-1') và các tín hiệu proton 4,45 (1H, m, H-2'); 4,34 (1H, m, H-3'); 4,26 (1H, m, H-4'); 4,18 (1H, m, H-5'); 4,04 (2H, m, H-6') cho thấy sự hiện diện của một đơn vị đường β -D-glucopyranoside. Bên cạnh đó, phổ 1H NMR của **AM2** còn xuất hiện tín hiệu của bốn nhóm methylene tại δ_H 2,14 (1H, m; H-2a), 2,00 (1H; m, H-2b), 2,41 (1H, m; H-4a), 2,16 (1H, m; H-4b); 2,35 (1H, m; H-7a), 1,93 (1H, m; H-7b), 1,84 (1H, m; H-8a); 1,43 (1H, m; H-8b); hai tín hiệu oxymethine tại 4,81 (1H; m; H-3) và 4,01 (1H; m; H-9) và tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 1,20 (3H; d; $J = 7,2$; H-10), 0,94 (3H; s; H-11), 1,3 (3H; s; H-12), 1,34 (3H; s; H-13). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon và phổ HSQC xác nhận sự có mặt của 19 carbon, với các tín hiệu đặc trưng của các nhóm methylene tại δ_C 45,3 (C-2), 43,3 (C-4), 27,7

(C-7), 35,9 (C-8); hai tín hiệu oxymethine tại δ_C 72,4 (C-3) và 77,1 (C-9); bốn nhóm methyl tại δ_C 21,0 (C-10); 28,4 (C-11); 25,1 (C-12); 28,3 (C-13); các tín hiệu của vòng đường tại δ_C 102,5 (C-1'); 78,6 (C-2'); 76,1 (C-3'); 75,4 (C-4'); 71,7 (C-5'); 62,8 (C-6'); hai tín hiệu carbon không liên kết hydro bị oxi hoá tại δ_C 76,2 (C-5); 89,9 (C-6) và một tín hiệu carbon bậc bốn tại δ_C 41,1 (C-1). Tương tác trên phổ HMBC giữa H-1' (δ_H 5,00) với C-3 (δ_C 76,1) cho phép xác định liên kết 1'→3 *O*- β -D-glycoside của phân tử đường với phần aglycol. Trong khi đó, vị trí của các nhóm methyl được xác định dựa vào tương tác giữa H-10 (δ_H 1,20) với C-9 (δ_C 77,1), C-8 (δ_C 35,9); H-11 (δ_H 0,94) và H-12 (δ_H 1,30) với C-1 (δ_C 41,1), C-2 (δ_C 45,3), C-6 (δ_C 89,9); và giữa H-13 (δ_H 1,34) với C-4 (δ_C 43,3), C-5 (δ_C 76,2), C-6 (δ_C 89,9). Vị trí của nhóm -OH được xác định bởi độ chuyển dịch hoá học của C-5 (δ_C 76,2) và tương tác giữa H-3 với C-5, trong khi cấu trúc đóng vòng furan được xác định qua tương tác giữa H-9 (δ_H 4,01) với C-6 (δ_C 89,9).

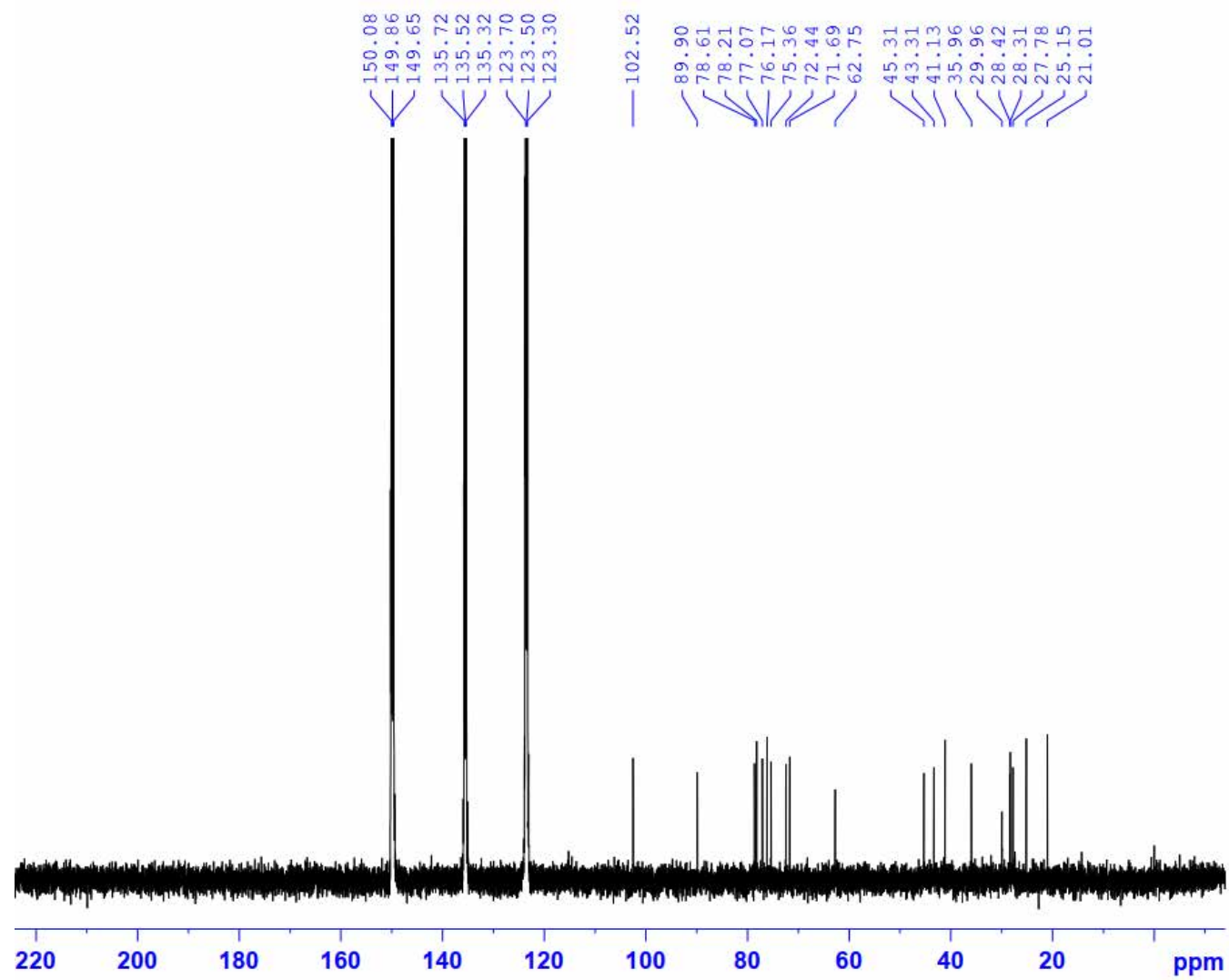
Cấu trúc của hợp chất **AM2** tương đồng rất lớn với hợp chất đã biết là (3*S**,5*R**,6*R**,9*R**)-6,9-epoxy-3,5-megastigmanediol 3-*O*-rutinoside [102] nhưng khác biệt ở gốc đường. Cấu hình tương đối của phần aglycol trong cấu trúc của **AM2** được xác định qua tương tác NOE giữa H-10 (δ_H 1,20) với H-13 (δ_H 1,34), trong khi không quan sát được tương tác giữa H-9 (δ_H 4,01) với H-3 (δ_H 4,81), H-10 (δ_H 1,20) với H-11 (δ_H 0,94) và giữa H-3 (δ_H 4,81) với H-13 (δ_H 1,34). Từ các dữ kiện này và kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của (3*S**,5*R**,6*R**,9*R**)-6,9-epoxy-3,5-megastigmanediol 3-*O*-rutinoside [102], có thể xác định **AM2** là hợp chất (3*S**,5*R**,6*R**,9*S**)-6,9-epoxy-3,5-megastigmanediol 3-*O*-glucoside. Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là acacionoside 3-glucoside.



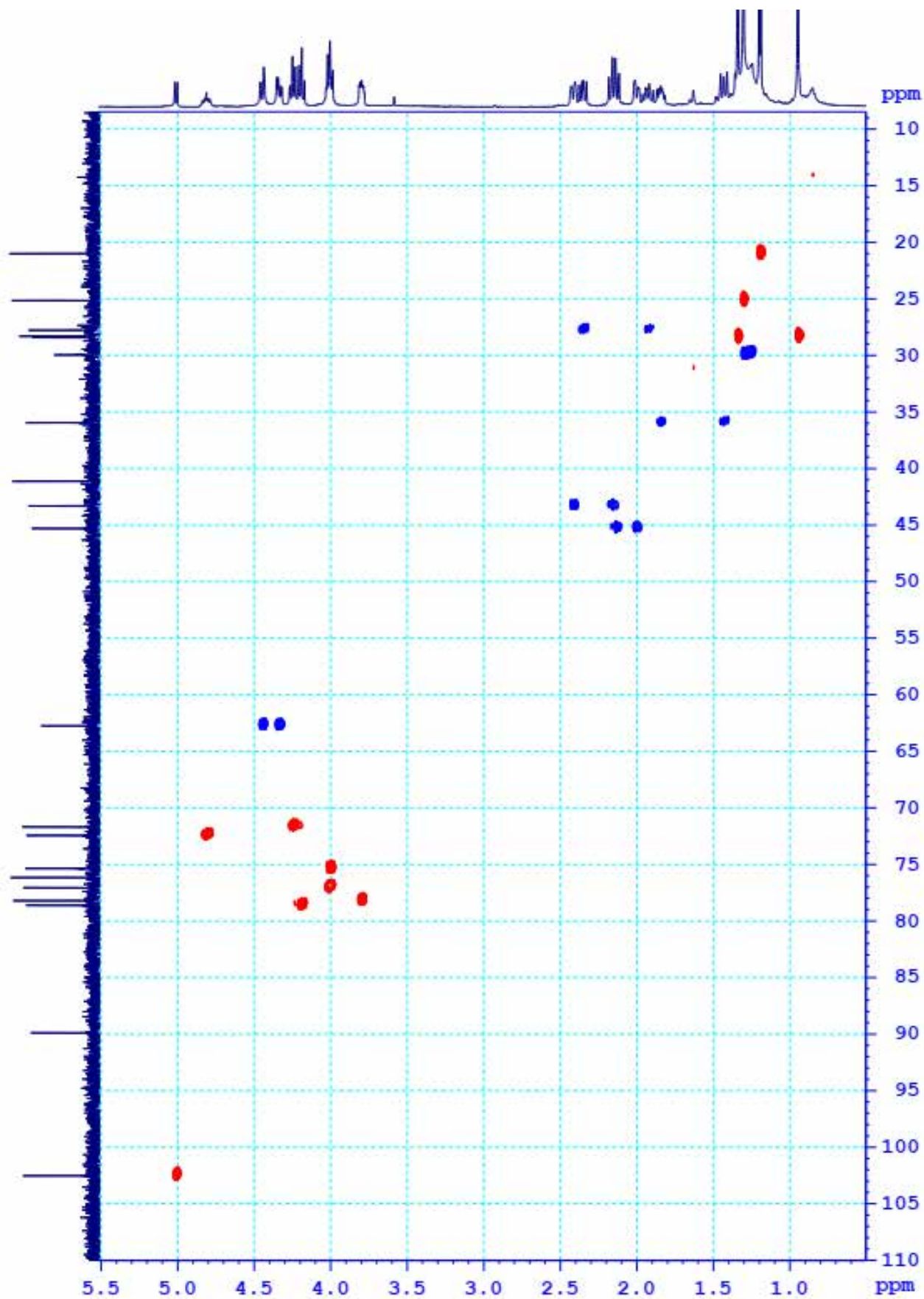
Hình 3.56. Các tương tác HMBC  và NOESY  đặc trưng của acacionoside 3-glucoside



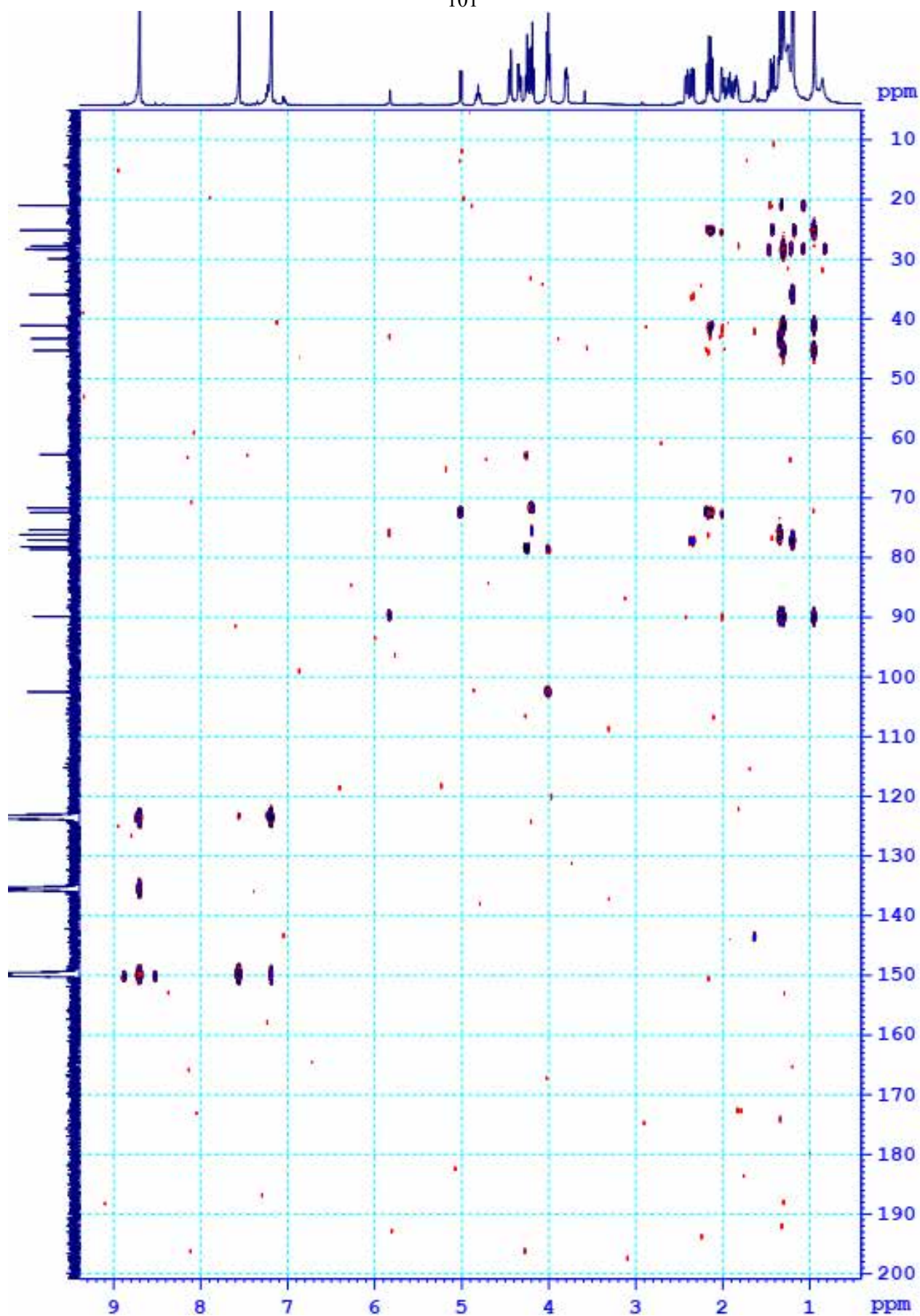
Hình 3.57. Phổ ^1H NMR của AM2



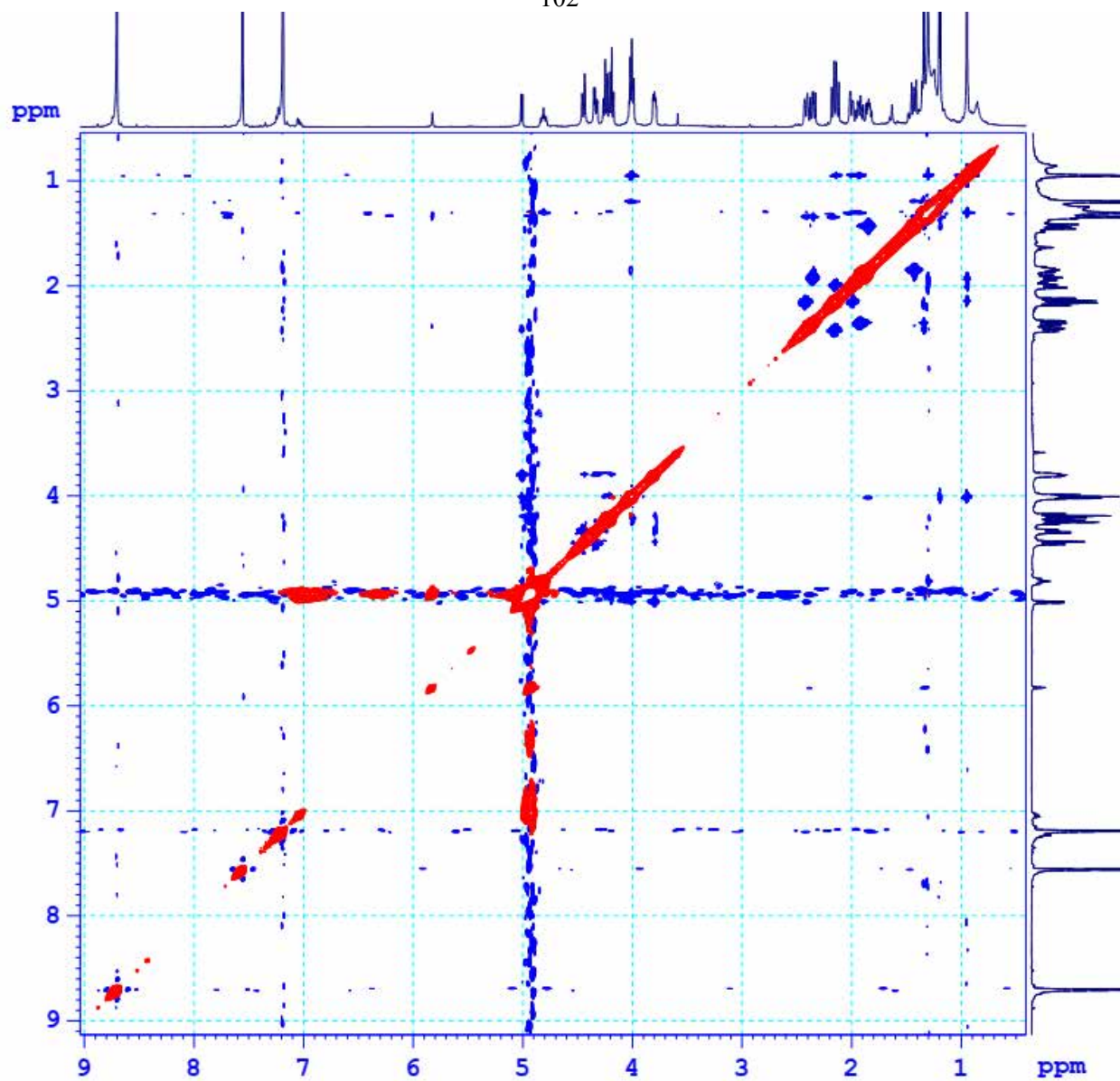
Hình 3.58. Phổ ^{13}C NMR của AM2



Hình 3.59. Phổ HSQC của của AM2

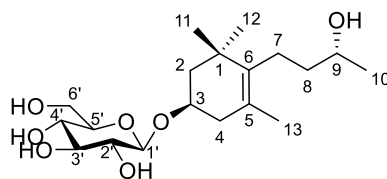


Hình 3.60. Phổ HMBC của AM2



Hình 3.61. Phổ NOESY của AM2

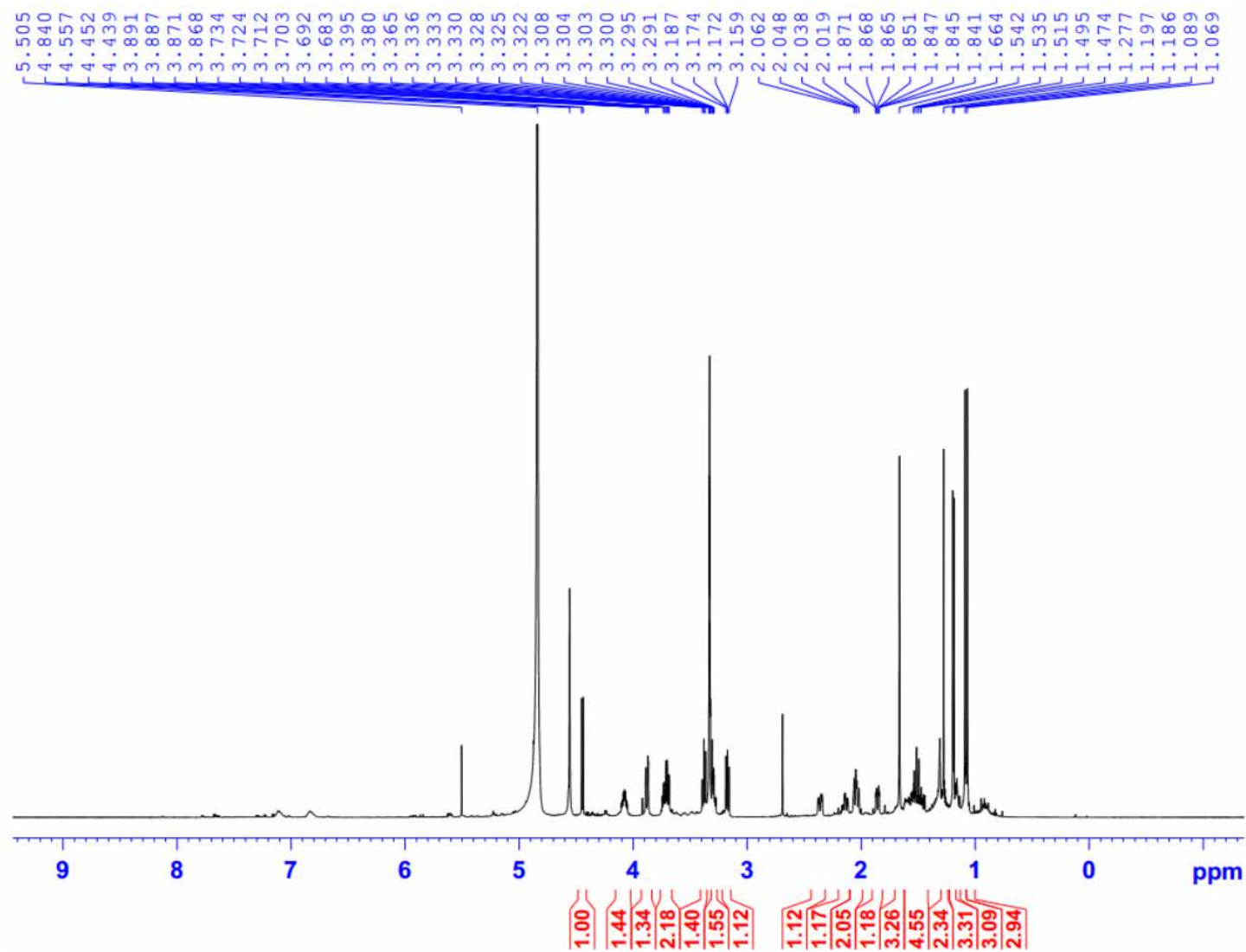
3.2.3. Hợp chất AM3



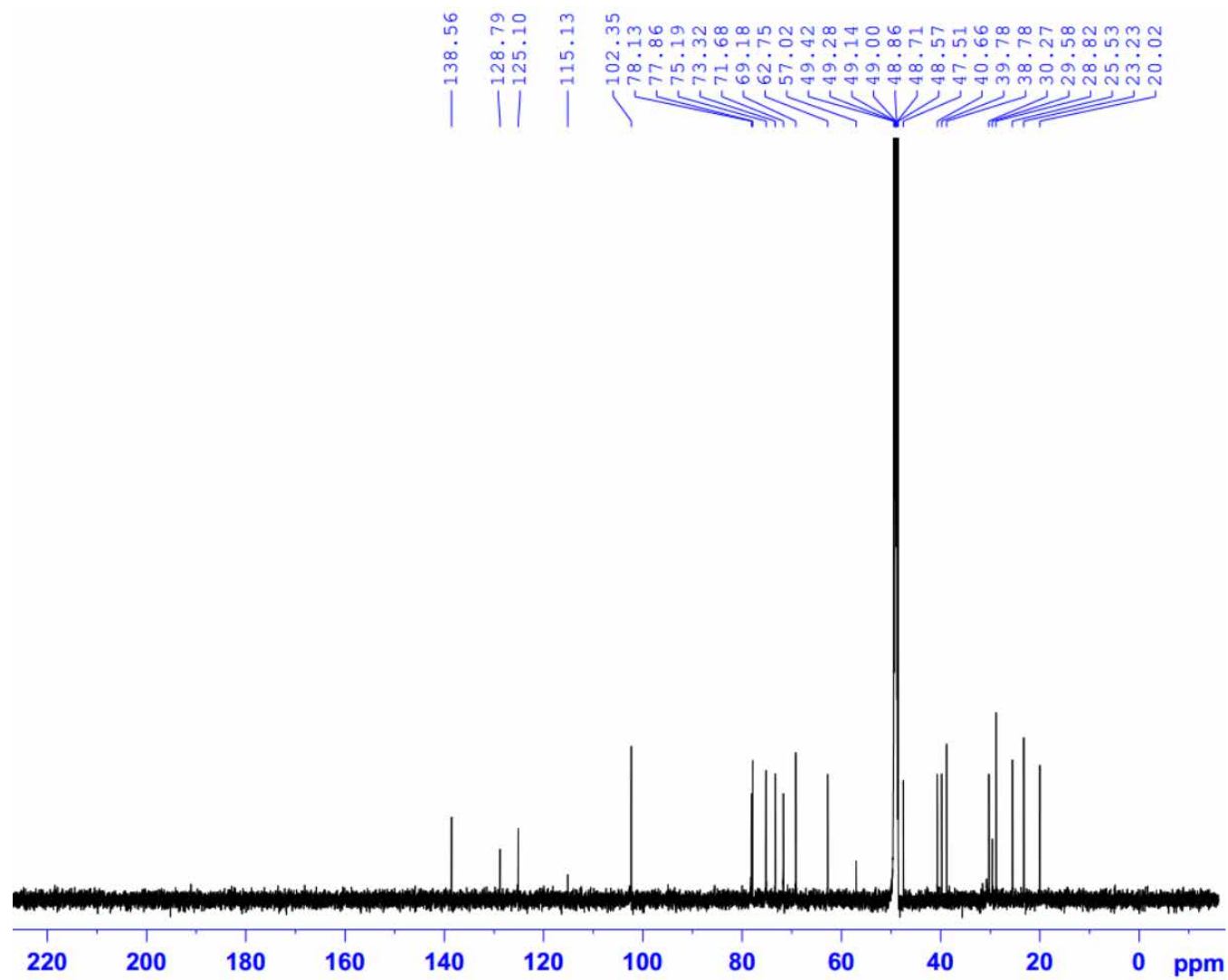
Hình 3.62. Cấu trúc của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside

Hợp chất **AM3** thu được dưới dạng chất rắn không màu. Trên phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của hai proton oximethine tại δ_{H} 4,08 (1H; dddd; $J = 12,0; 9,0; 5,4; 3,6$ Hz; H-3) và 3,71 (1H; m; H-9); tín hiệu proton của các nhóm methylene tại δ_{H} 1,85 (1H; m; H-2a), 1,54 (1H; m; H-2b), 2,37 (1H; ddd; $J = 4,8; 15,6; 12,6$; H-4a), 2,01 (1H; ddd; $J = 4,8; 15,6; 1,2$; H-4b), 2,03 (1H; m; H-7a), 2,16 (1H; m; H-7b), 1,49 (2H; m; H-8), bốn tín hiệu methyl tại δ_{H} 1,17 (3H; d; $J = 6,1$ Hz; H-10), 1,09 (3H; s; H-11), 1,07 (3H; s; H-12), 1,61 (3H; s; H-13), một tín hiệu proton anomeric tại δ_{H} 4,45 (1H; d; $J = 7,8$ Hz; H-1') cùng với các tín hiệu proton của phân tử đường tại δ_{H} 3,18 (1H; m; H-2'), 3,40 (1H; m; H-3'), 3,30 (1H; m; H-4'), 3,34 (1H; m; H-5'), 3,89 (1H; dd; $J = 2,4; 12,0$; H-6'a), 3,73 (1H; dd; $J = 6,0; 12,0$; H-6'b). Phổ ^{13}C NMR và HSQC của **AM3** xuất hiện tín hiệu của 19 C, bao gồm hai tín hiệu carbon oximethine tại δ_{C} 73,2 (C-3), 69,4 (C-9), bốn nhóm methylen tại δ_{C} 47,2 (C-2), 39,7 (C-4), 25,7 (C-7), 40,8 (C-8), bốn nhóm methyl tại δ_{C} 23,1 (C-10), 28,7 (C-11), 30,4 (C-12), 20,4 (C-13), hai carbon olefin tại δ_{C} 125,0 (C-5), 138,4 (C-6), một carbon bậc bốn tại δ_{C} và các tín hiệu carbon của vòng đường tại δ_{C} 102,1 (C-1'), 75,3 (C-2'), 78,1 (C-3'), 71,5 (C-4'), 77,8 (C-5'), 62,8 (C-6'). Cấu trúc của tiểu phân đường β -D-glucopyranose được xác định dựa vào độ chuyển dịch hoá học của các vị trí tương ứng và hằng số tương tác J của H-1. Liên kết 1' $\rightarrow$ 3-*O*-glycoside được xác định qua tương tác trên phổ HMBC giữa H-1' (δ_{H} 4,45) với C-3 (δ_{C} 73,2). Vị trí của nhóm OH được xác định gián tiếp qua tương tác giữa H-9 (δ_{H} 3,71) với C-10 (δ_{C} 23,1), C-8 (δ_{C} 40,8), cũng như độ chuyển dịch hoá học của C-9/H-9 (69,4/3,71).

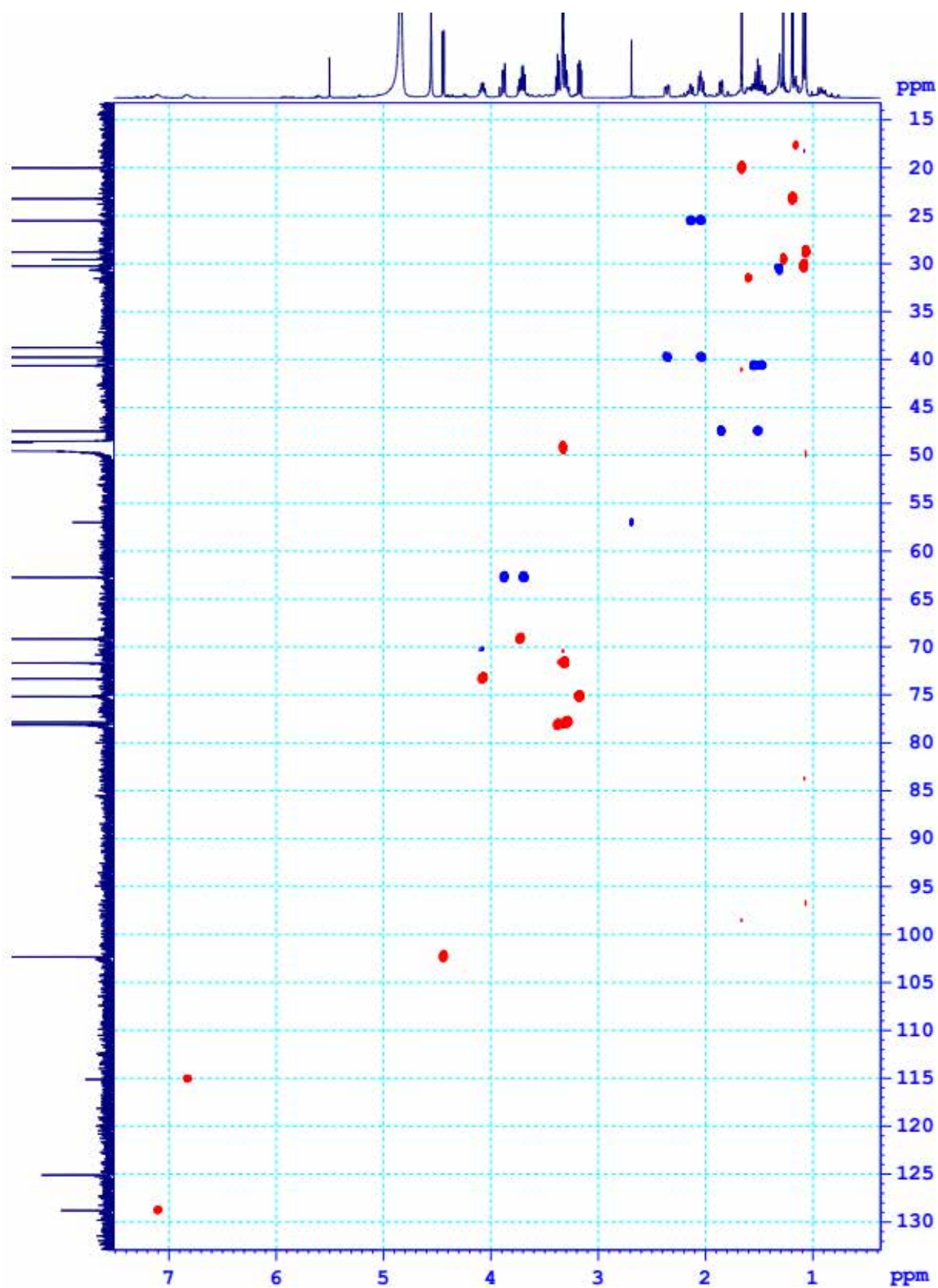
Dữ liệu phổ của hợp chất **AM3** trùng khớp với dữ liệu đã công bố của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside hay linarionoside A [103]. Do đó, có thể kết luận **AM3** chính là 5-megastigmene-3,9-diol 3-*O*- β -D-glucopyranoside.



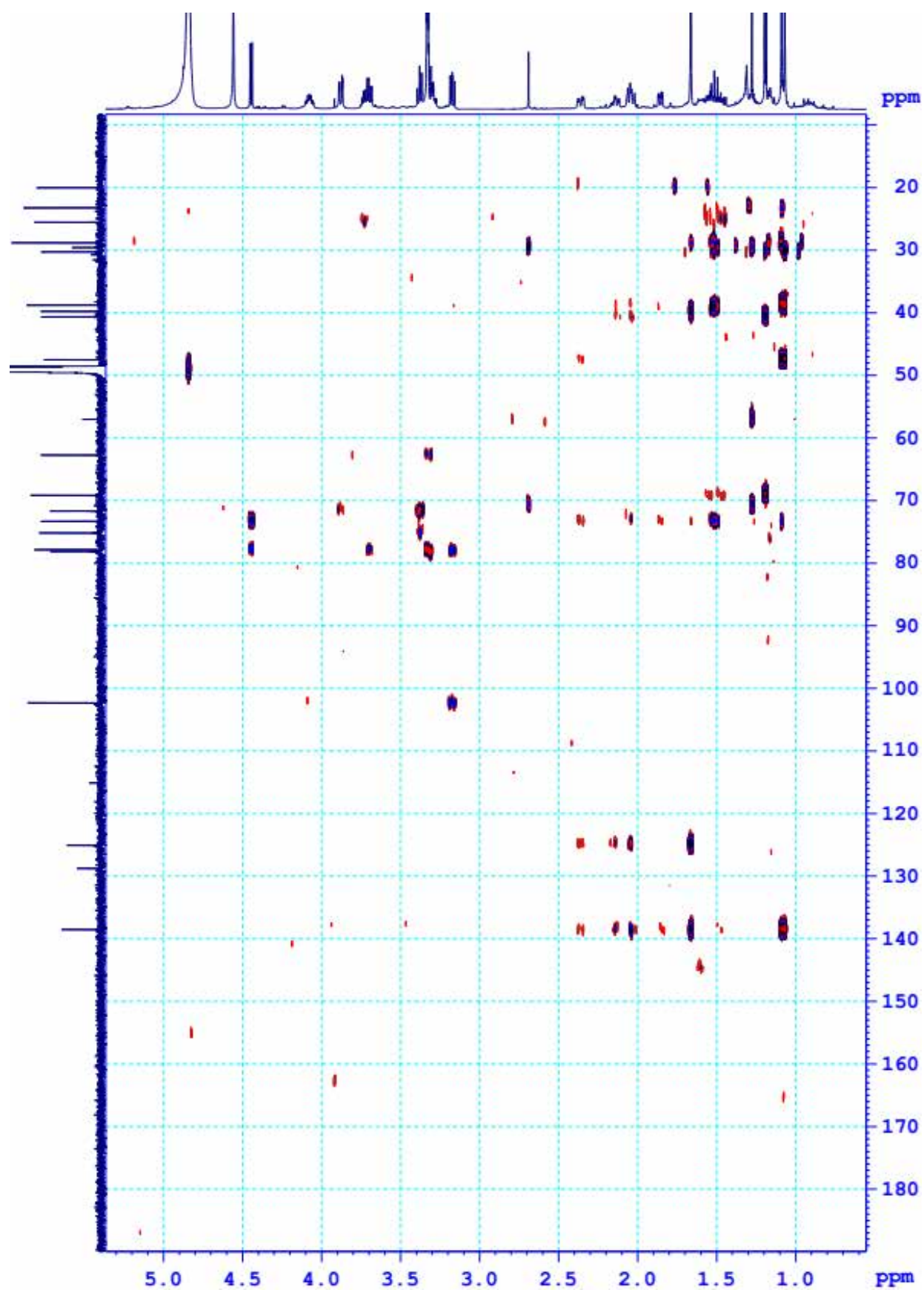
Hình 3.63. Phổ ^1H NMR của AM3



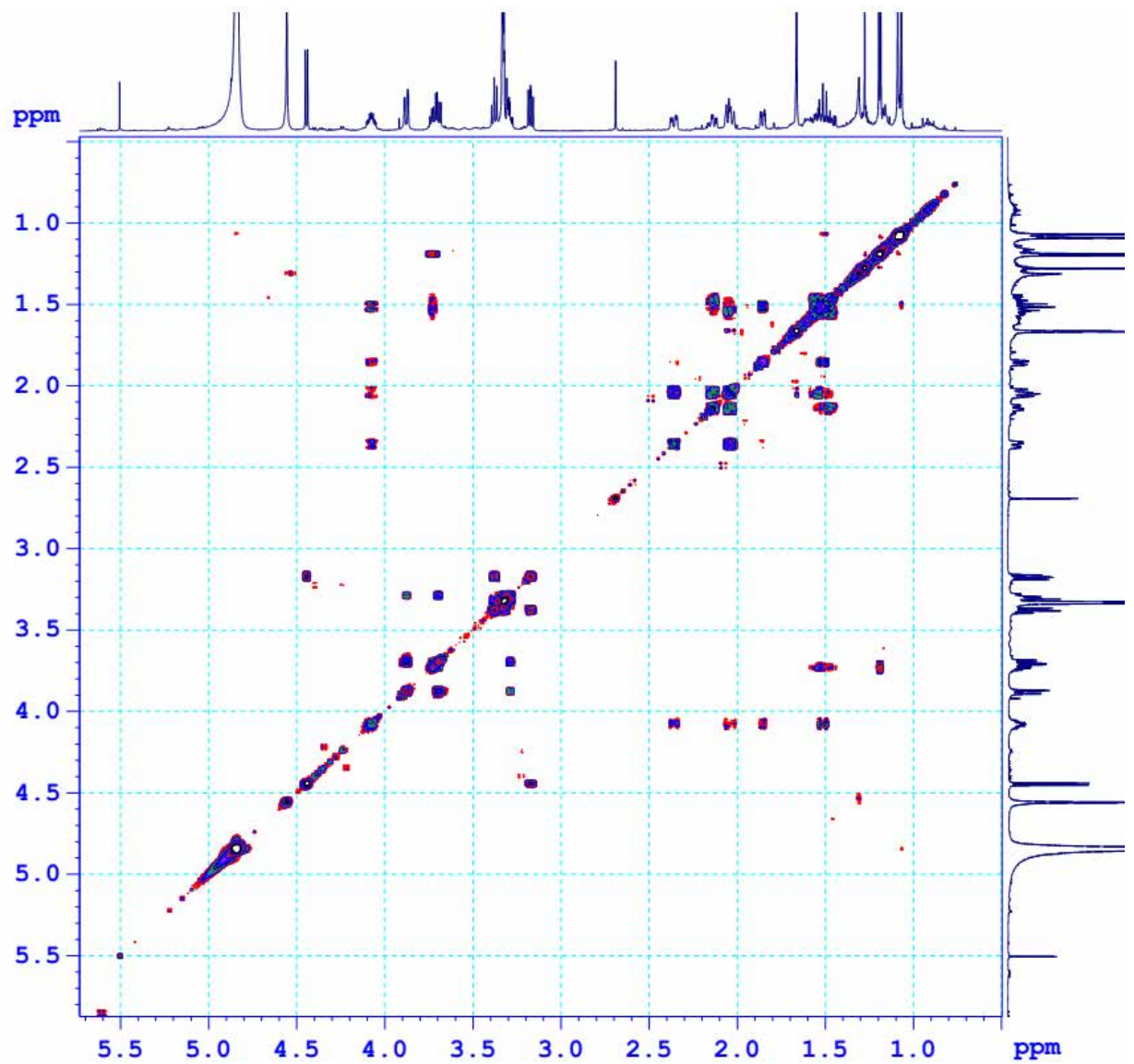
Hình 3.64. Phổ ^{13}C NMR của AM3



Hình 3.65. Phổ HSQC của của AM3

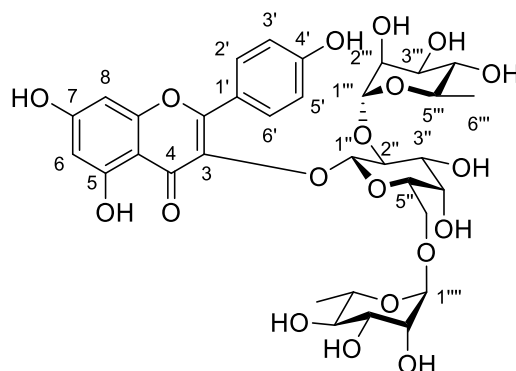


Hình 3.66. Phổ HMBC của AM3



Hình 3.67. Phổ COSY của AM3

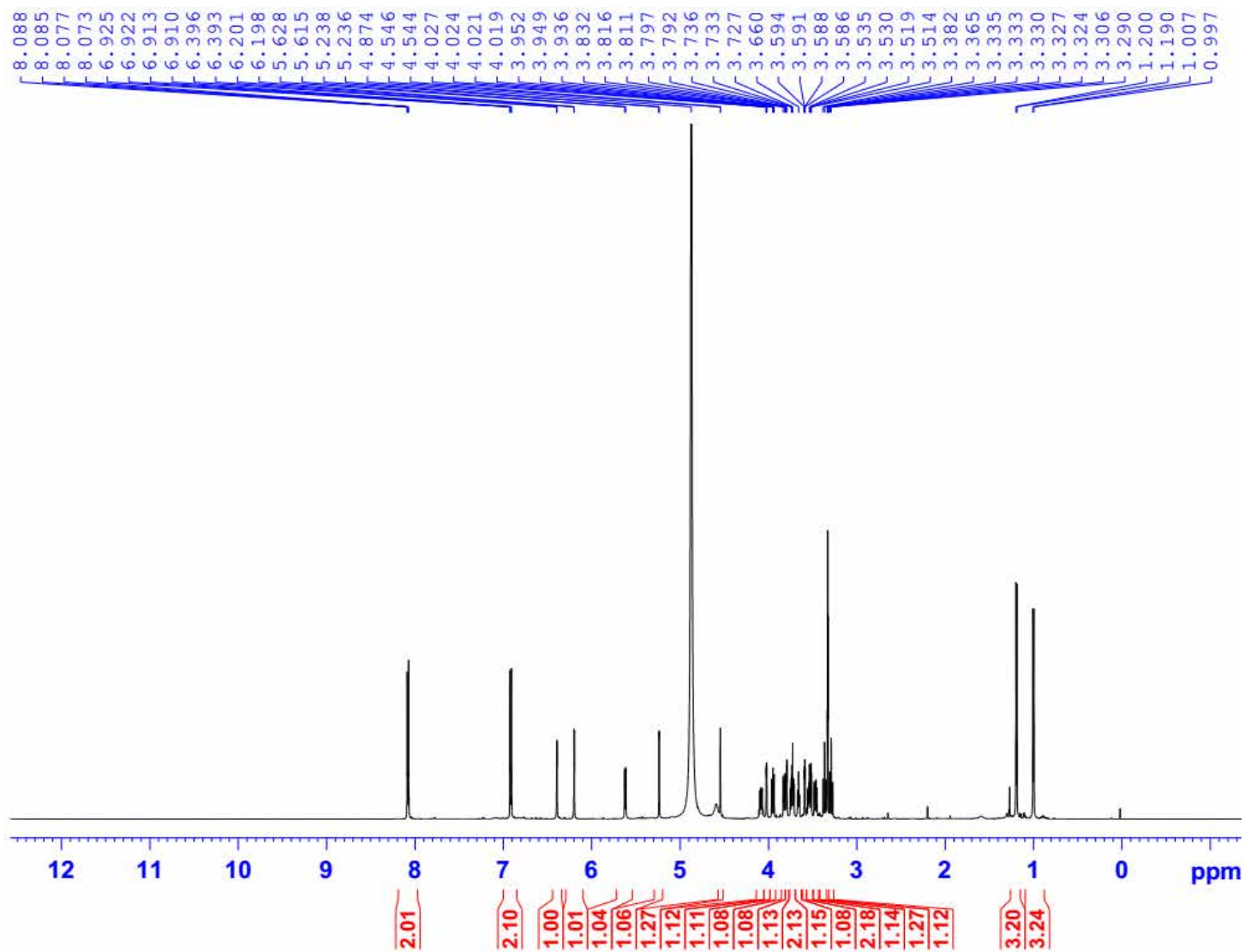
3.2.4. Hợp chất AM4



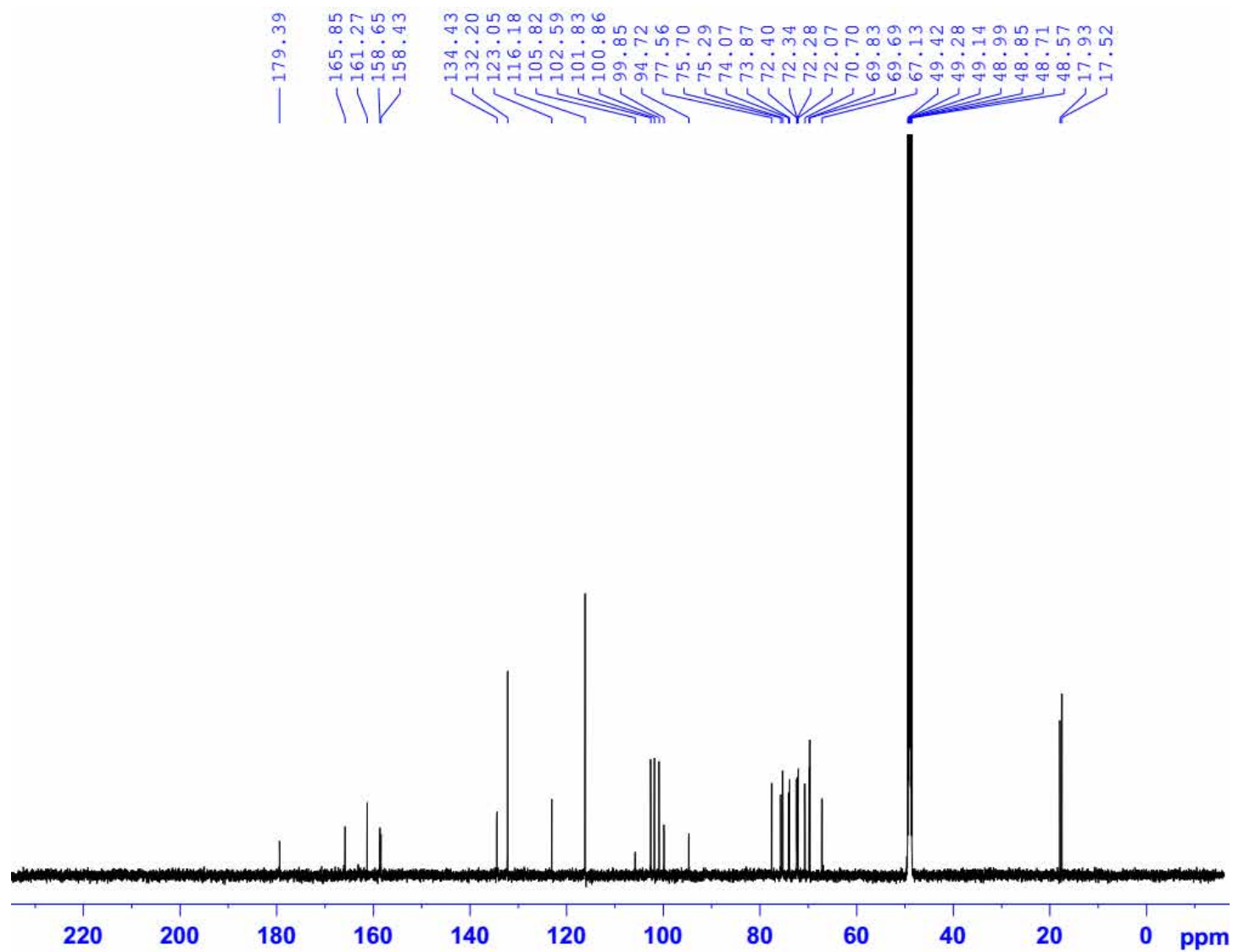
Hình 3.68. Cấu trúc của kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-galactopyranoside

Phổ ESI-MS của hợp chất **AM4** cho tín hiệu m/z 741,22 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **AM4** $C_{33}H_{40}NO_{19}$. Cấu trúc của hợp chất **AM4** được xác định dựa trên dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều của hợp chất. Dữ liệu phổ 1D NMR của **AM4** đã gợi ý cho cấu trúc của một flavonoid glycoside với hai vùng tín hiệu riêng biệt của sáu proton thơm của hợp phần flavonoid aglycol (với δ_H trong khoảng từ 6,2 đến 8,1) và các tín hiệu đặc trưng của proton thuộc hợp phần glycol (với δ_H trong khoảng từ 1,0 đến 5,3). Sáu tín hiệu proton của hai hệ vòng thơm bao gồm hai proton thơm ở vị trí *meta* có δ_H tại 6,20 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6) và 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8) và tín hiệu của bốn proton đặc trưng của hệ vòng thơm hệ A_2B_2 có δ_H tại 8,08 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2' và 6') và 6,92 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3' và 5') đã gợi ý cho sự có mặt kaempferol là hợp phần aglycol trong cấu trúc của hợp chất **AM4**. Độ chuyển dịch của các nguyên tử carbon trên phổ ^{13}C -NMR cũng cho thấy sự tương đồng lớn với các tín hiệu của kaempferol [104] với δ_C tại 158,4 (C-2), 134,4 (C-3), 179,4 (C-4), 161,3 (C-5), 101,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 158,7 (C-9), 105,8 (C-10), 123,1 (C-1'), 132,2 (C-2'), 116,2 (C-3'), 161,3 (C-4'), 116,2 (C-5'), 132,2 (C-6'), trừ độ chuyển dịch của nguyên tử carbon ở vị trí C-2 và C-3. Tín hiệu của hai nguyên tử carbon ở vị trí này tương tự với các nghiên cứu trước đây [105] khi nhóm 3-hydroxy bị glycosyl hóa. Tín hiệu của 3 proton anome cũng dễ dàng được phát hiện trên dữ liệu phổ NMR của hợp chất với δ_H tại 5,62 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 5,24 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-1''') và 4,55 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''') và tín hiệu của các nguyên tử carbon tương ứng được xác định nhờ dữ liệu phổ HSQC với δ_C lần lượt tại 102,6 (C-1''), 100,8 (C-1''') và 101,8 (C-1'''). Thêm vào đó, tương tác của proton và carbon trên phổ HMBC ta xác định được vị trí liên kết giữa đơn vị triglycoside với hợp phần aglycone và liên kết giữa các đơn vị glycoside: tương tác giữa proton anome của

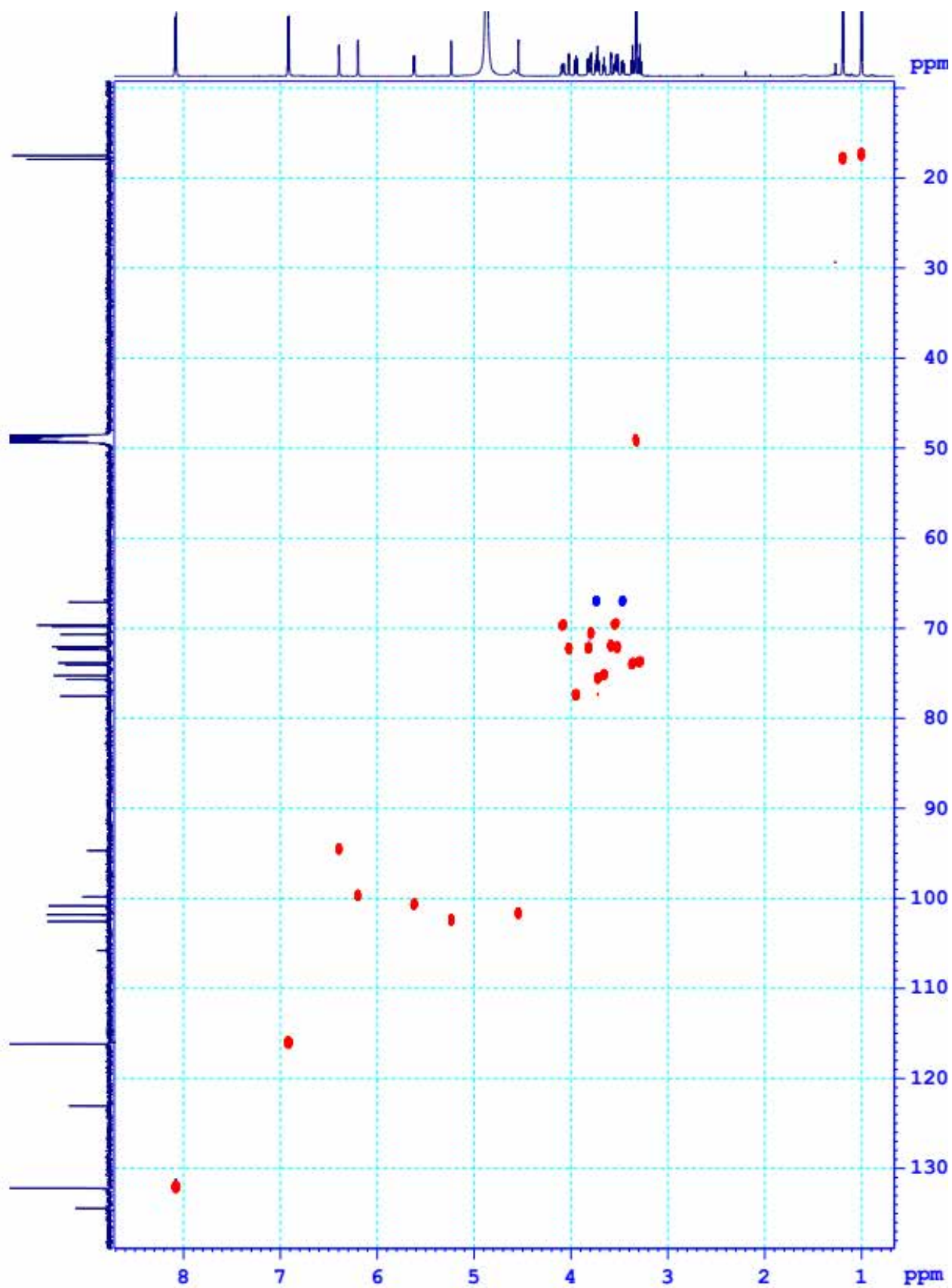
galactose (H-1'') với C-3 của kaempferol, tương tác giữa proton anome của nhóm rhamnose (H-1''') với C-2'' của galactose, proton anome của rhamnose (H-1''') với C-6'' của galactose. Dựa trên các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AM4** kết hợp với dữ liệu phổ đã công bố của kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]-*O*- β -D-galactopyranoside [106], ta thấy sự tương đồng lớn giữa hai hợp chất này. Từ đó, hợp chất **AM4** được xác định là kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-*O*- β -D-galactopyranoside.



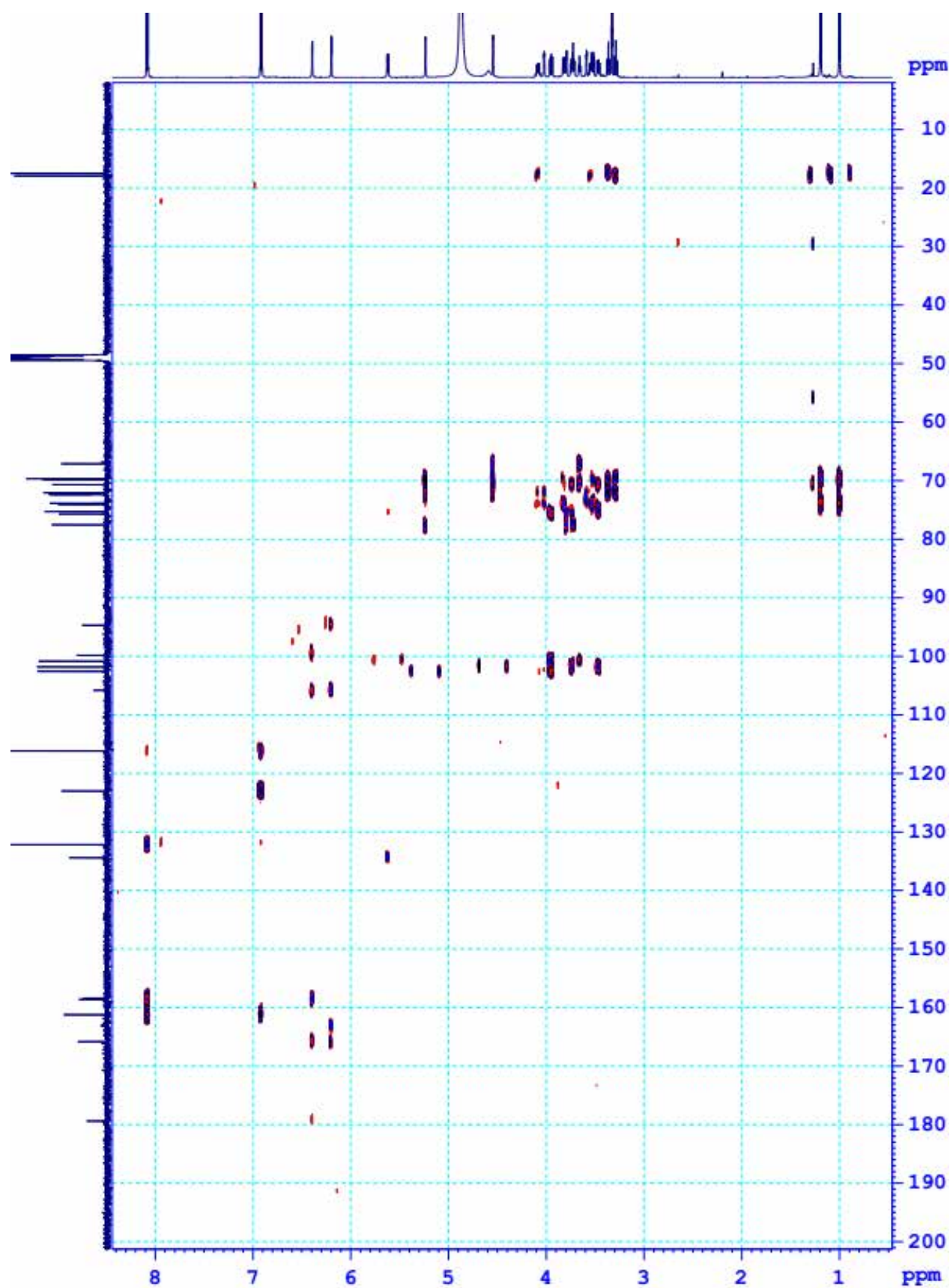
Hình 3.69. Phổ ^1H NMR của AM4



Hình 3.70. Phổ ^{13}C NMR của AM4

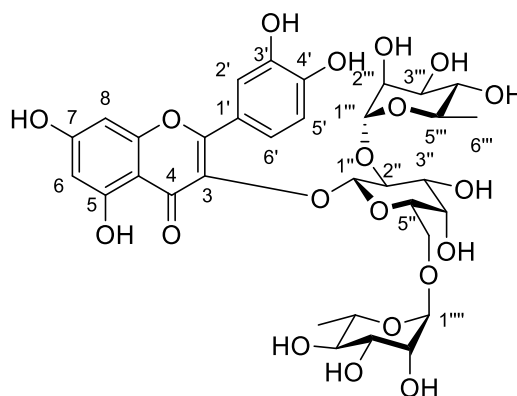


Hình 3.71. Phổ HSQC của của AM4



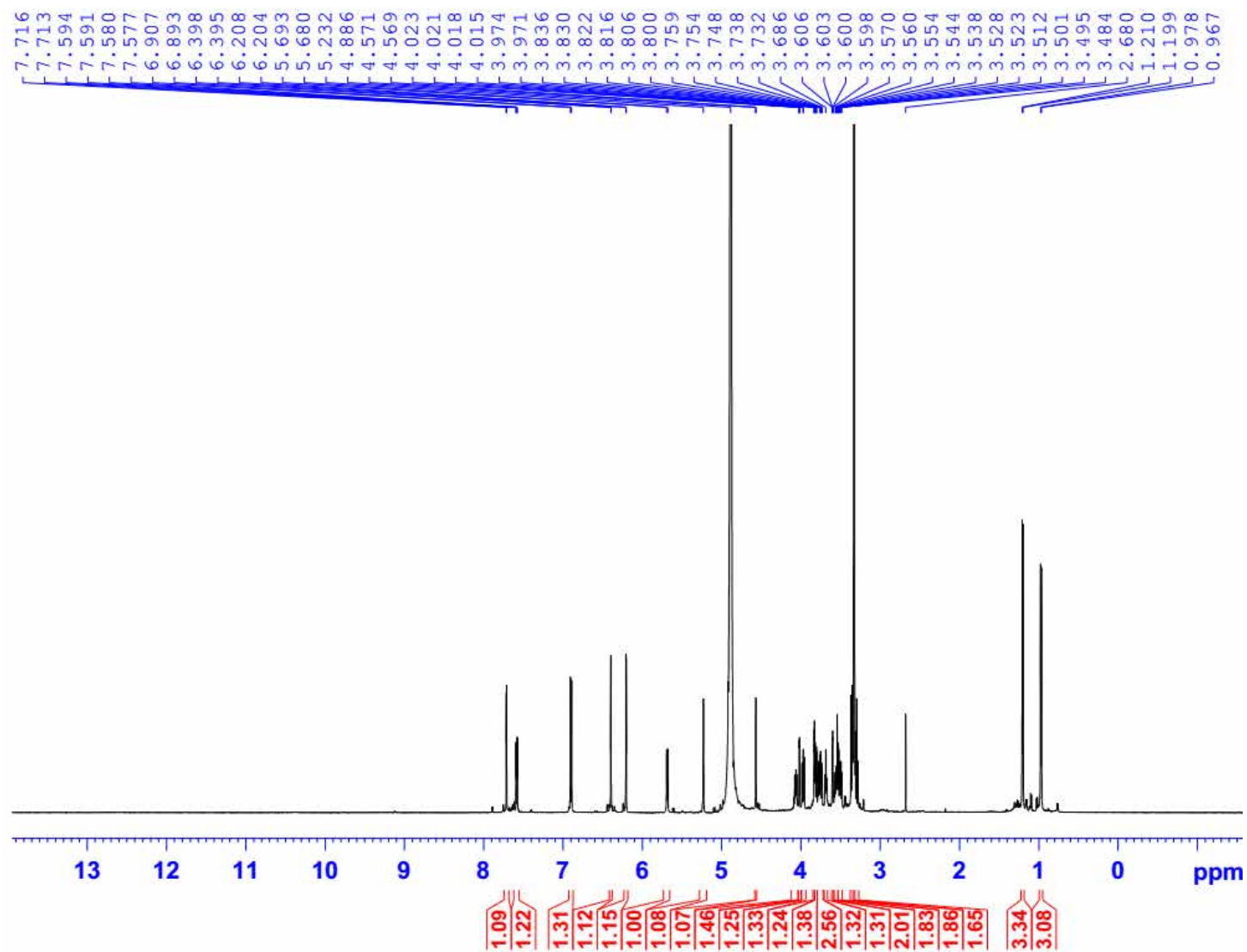
Hình 3.72. Phổ HMBC của AM4

3.2.5. Hợp chất AM5

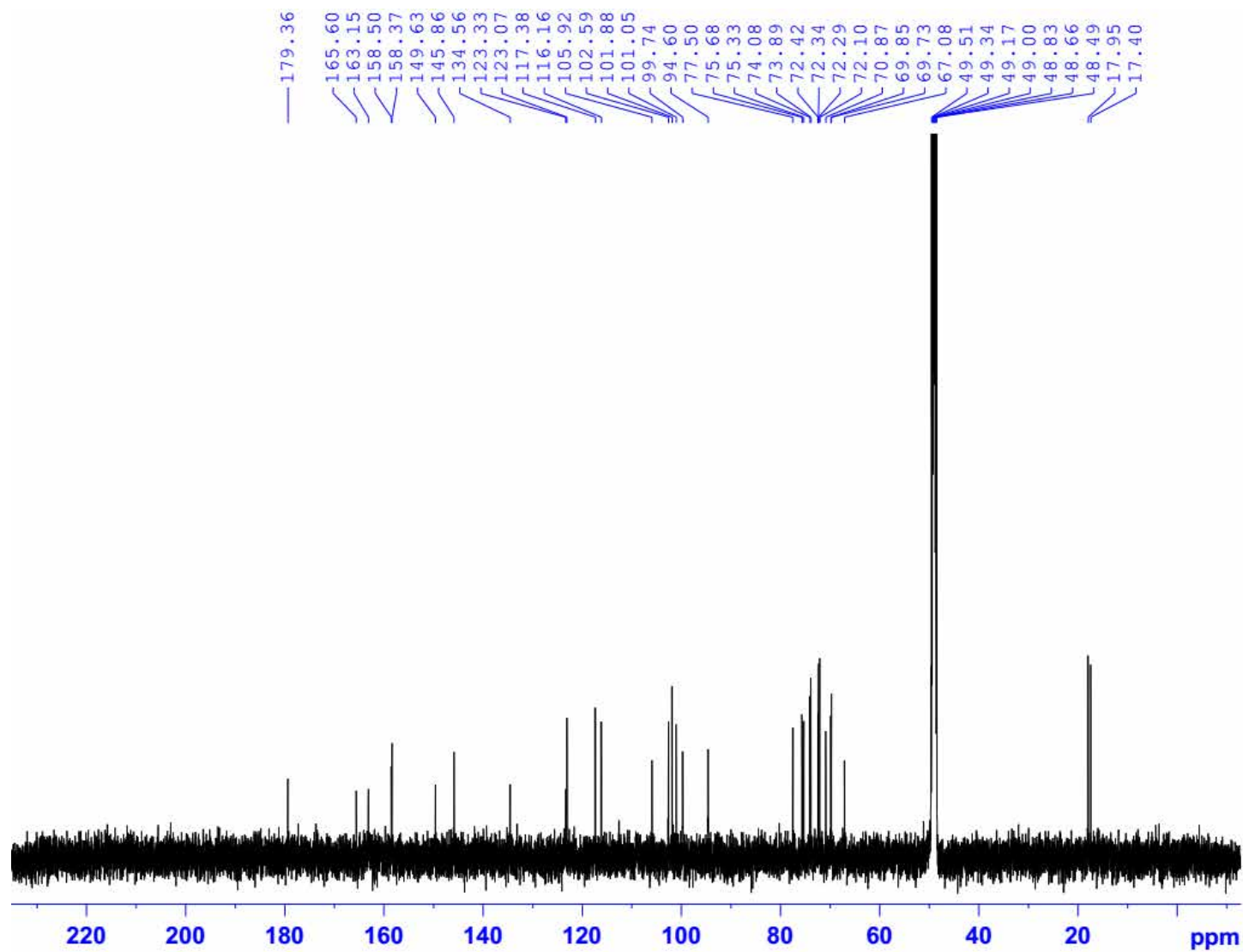


Hình 3.73. Cấu trúc của quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-galactopyranoside

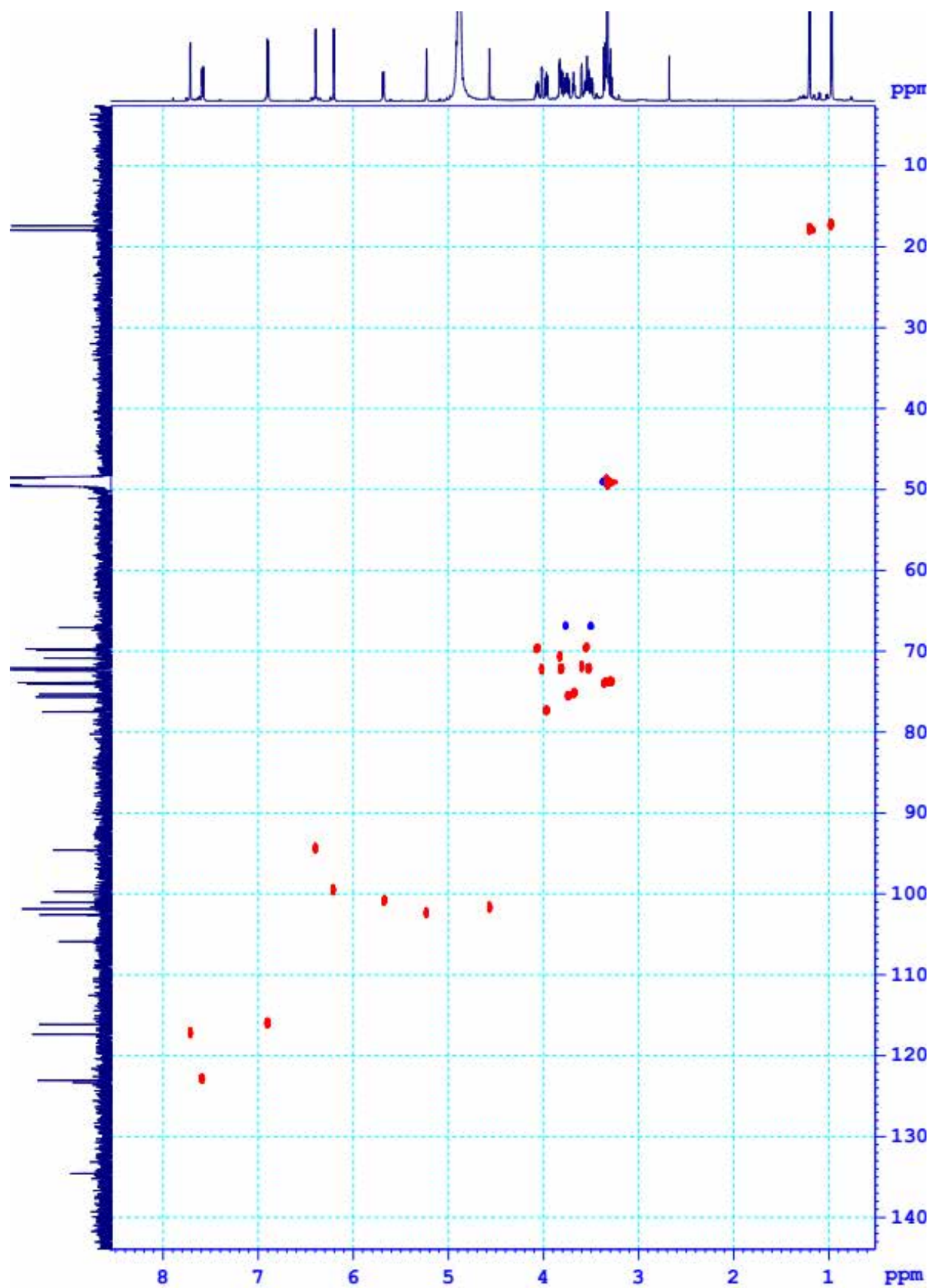
Hợp chất **AM5** thu được dưới dạng tinh thể trong suốt hình kim. Dữ liệu phổ 1D-NMR và 2D-NMR của hợp chất **AM5** cho thấy sự trùng hợp hầu hết các tín hiệu so với dữ liệu phổ của hợp chất **AM4**, đặc biệt là sự xuất hiện của ba proton anomer (với δ_H tại 5,68 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 5,23 (1H, s, H-1''') và 4,57 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''')) và tương tác của các proton này trên phổ HMBC (tương tác giữa H-1'' với C-3, H-1''' với C-2'' và H-1'''' với C-6'') cho thấy hợp chất **AM5** là dẫn xuất flavonoid triglycoside với hợp phần glycol gồm hai gốc rhamnose, một gốc galactose tương tự như hợp chất **AM4**. Sự khác biệt chính của hợp chất **AM5** và **AM4** được thể hiện ở cụm tín hiệu cộng hưởng của proton hệ spin A_2B_2 của **AM4** được thay bằng tín hiệu cộng hưởng của hệ spin ABX trên vòng B tại δ_H 7,72 (2H, d, $J = 1,8$ Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, $J = 9,6$ Hz, H-5'), 7,59 (1H, dd, $J = 9,6; 1,8$ Hz, H-6'); cùng với đó là sự thay đổi tín hiệu của các nguyên tử carbon tại δ_C 123,1 (C-1'), 116,2 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,6 (C-4'), 116,2 (C-5'), 123,1 (C-6'). Sự khác biệt này cho thấy sự xuất hiện của nhóm thế OH ở vị trí H-3' so với hợp chất **AM4** và góp phần xác định hợp phần flavonoid aglycol của hợp chất này là quercetin. Từ kết quả biện luận phổ trên và so sánh với số liệu ở các vị trí tương ứng với tài liệu tham khảo [106], hợp chất **AM5** được xác định là quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-galactopyranoside.



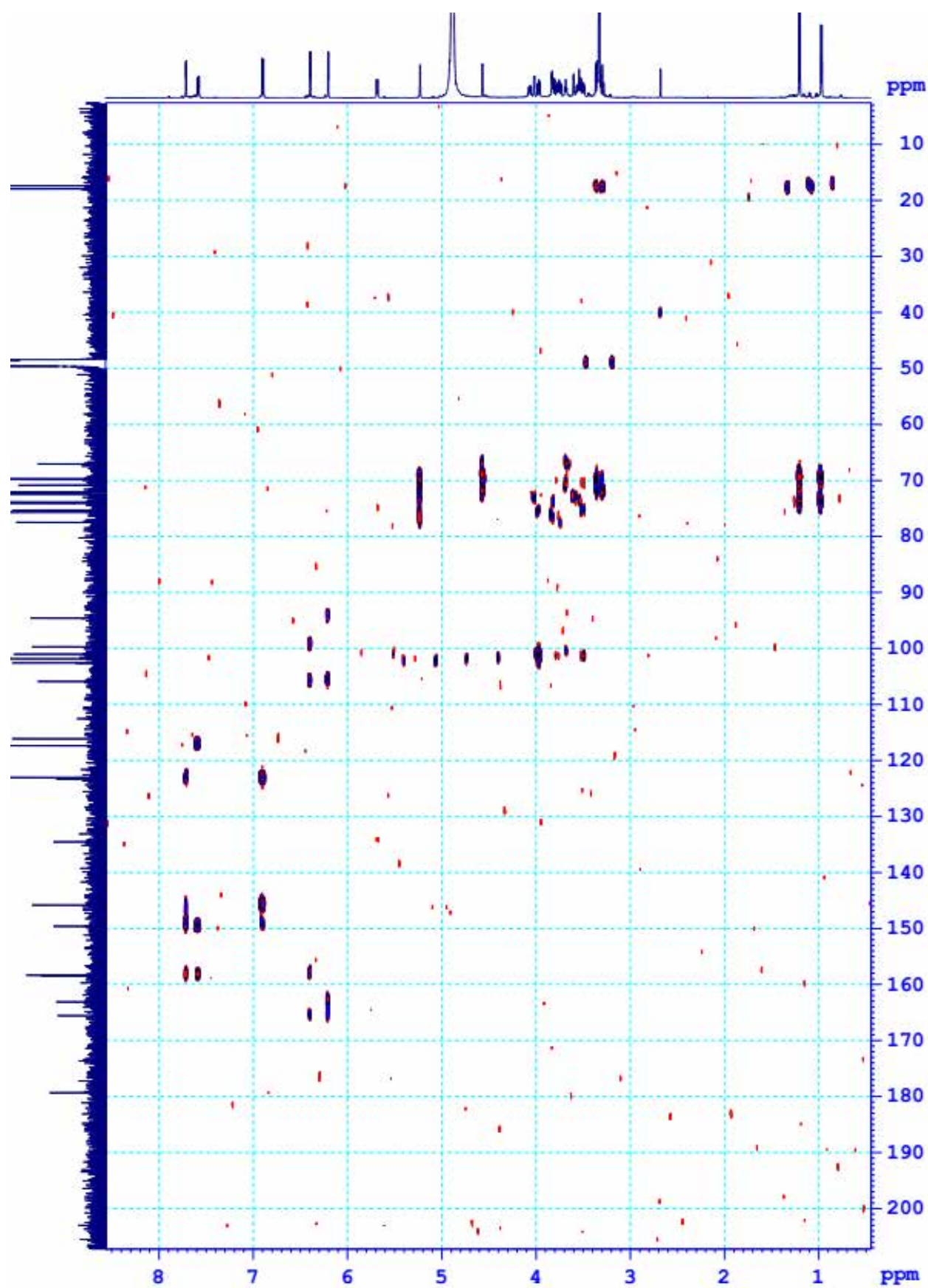
Hình 3.74. Phổ ^1H NMR của AM5



Hình 3.75. Phổ ^{13}C NMR của AM5

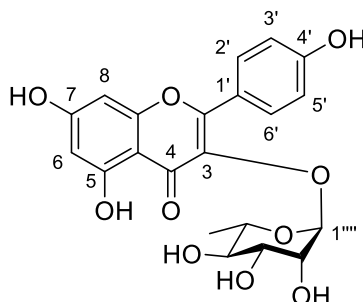


Hình 3.76. Phổ HSQC của của AM5



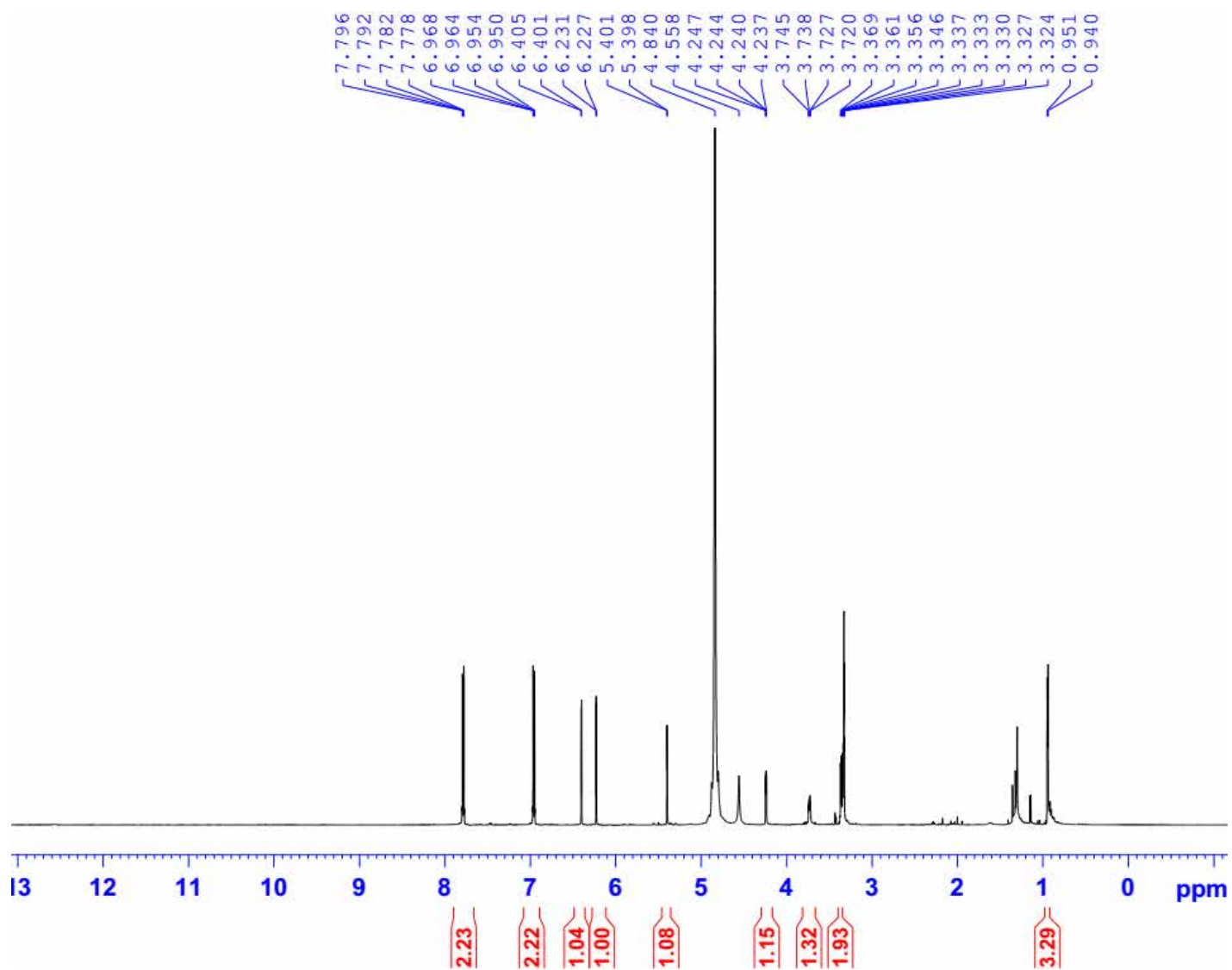
Hình 3.77. Phổ HMBC của AM5

3.2.6. Hợp chất AM6



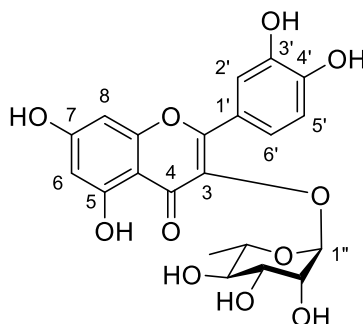
Hình 3.78. Cấu trúc của afzelin

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **AM6** cũng xuất hiện 6 tín hiệu proton thơm đặc trưng của hợp chất kaempferol tại δ_{H} 6,23 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8), 7,79 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-2', 6'), 6,96 (2H, d, $J = 10,8$ Hz, H-3', 5') tương tự như hợp chất **AM4** và các tín hiệu proton của ở vùng tín hiệu của hợp phần glycol với δ_{H} tại 5,40 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1''), 4,24 (1H, dd, $J = 4,2; 1,8$ Hz, H-2''), 3,78 (H, dd, $J = 9,6; 3,6$ Hz, H-3''), 3,36 (1H, m, H-4''), 3,36 (H, m, H-5''), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-6''). Tín hiệu của các nguyên tử carbon thuộc hợp phần aglycol được xác định dựa trên tương tác trên phổ HSQC của hợp chất, bao gồm δ_{C} tại 158,7 (C-2), 136,2 (C-3), 179,4 (C-4), 163,4 (C-5), 100,1 (C-6), 166,7 (C-7), 94,9 (C-8), 159,2 (C-9), 105,7 (C-10), 122,6 (C-1'), 131,9 (C-2', C-6'), 116,5 (C-3', C-5'), 161,6 (C-4'). Tuy nhiên dữ liệu phổ của hợp chất **AM6** chỉ có một tín hiệu proton anomer xuất hiện tại δ_{H} 5,40 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-1'') thay vì ba proton anomer như hợp chất **AM4**. Do đó hợp chất **AM6** được xác định là dẫn xuất monoglycoside của kaempferol. Ngoài ra, tín hiệu của sáu nguyên tử carbon thuộc hợp phần rhamnopyranose được quy kết trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ trong đó δ_{C} tại 103,5 (C-1'') được quy kết là tín hiệu của carbon anomer và các tín hiệu của 5 nguyên tử carbon còn lại gồm (C-2''), 72,0 (C-3''), 73,2 (C-4''), 72,1 71,9 (C-5''), 17,7 (C-6''). Kết quả biện luận phổ trên đã giúp xác định hợp chất **AM6** bao gồm kaempferol là hợp phần flavonoid aglycol và hợp phần glycol là rhamnopyranose. Vị trí liên kết giữa gốc α -L-rhamnopyranoside và kaempferol được xác định ở vị trí C-3 dựa trên tương tác giữa proton anomer H-1'' với C-3 trên phổ HMBC của hợp chất **AM6**. So sánh với dữ liệu phổ đã công bố [107], ta xác định được hợp chất **AM6** là afzelin.



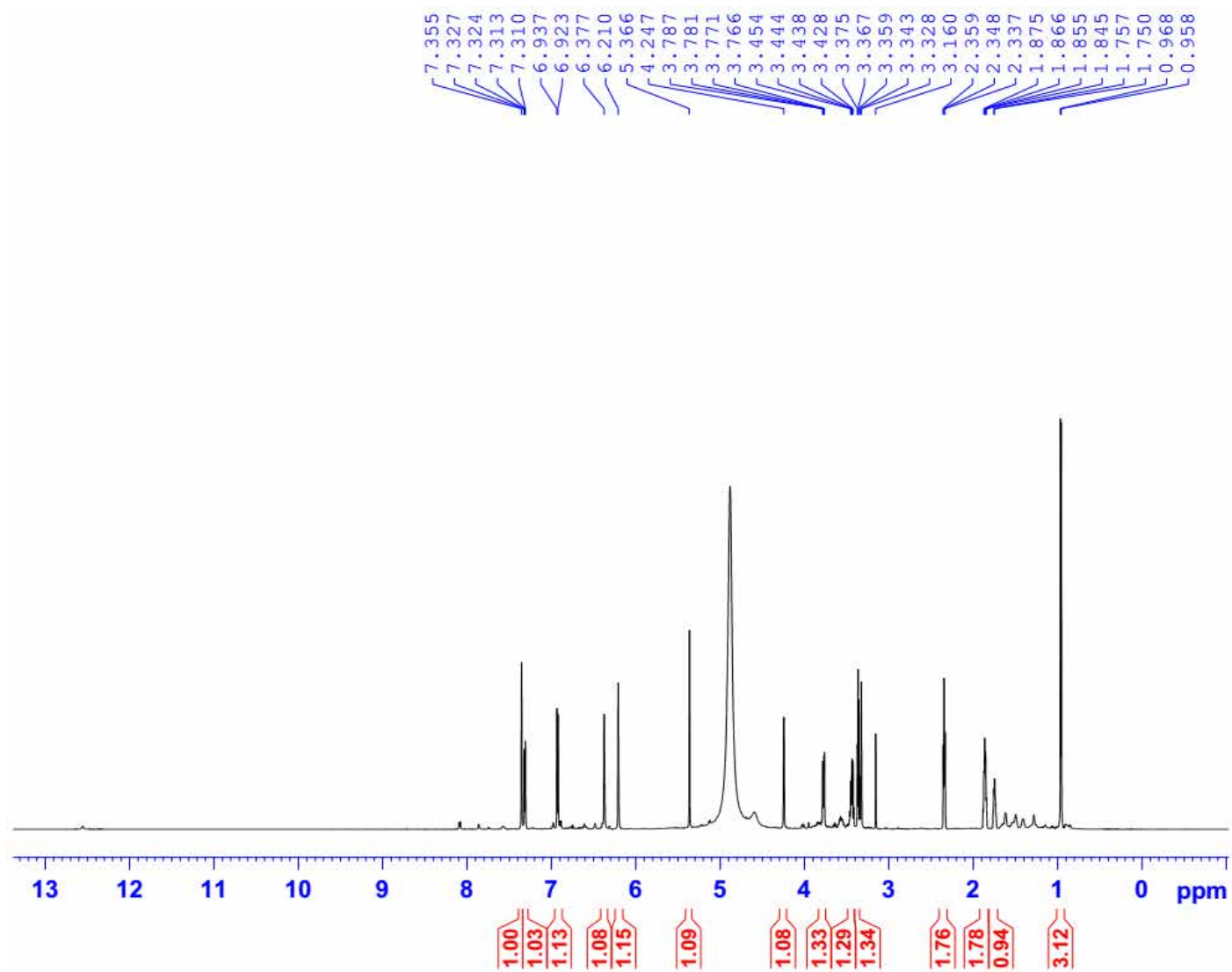
Hình 3.79. Phổ ^1H NMR của AM6

3.2.7. Hợp chất AM7

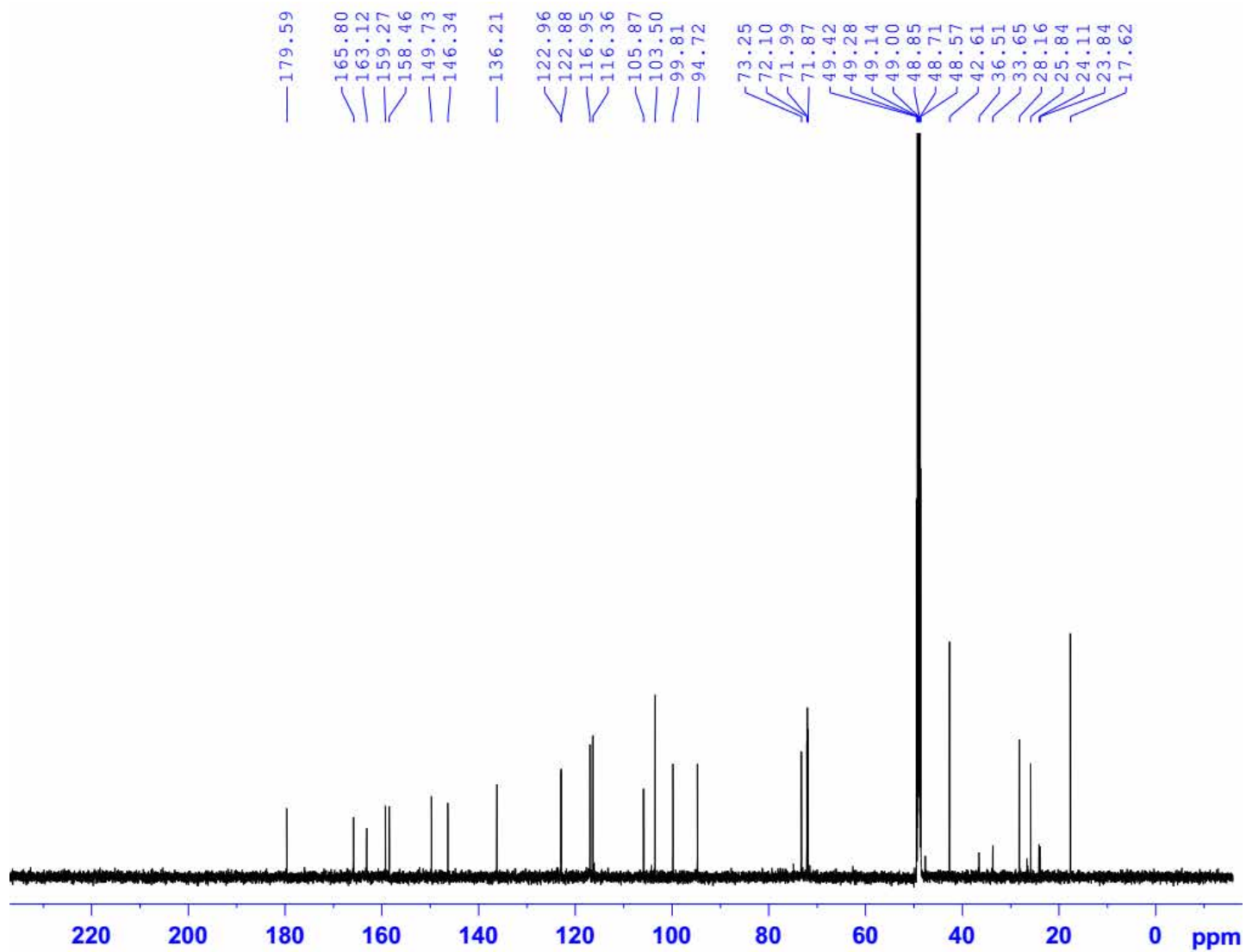


Hình 3.80. Cấu trúc của quercitrin

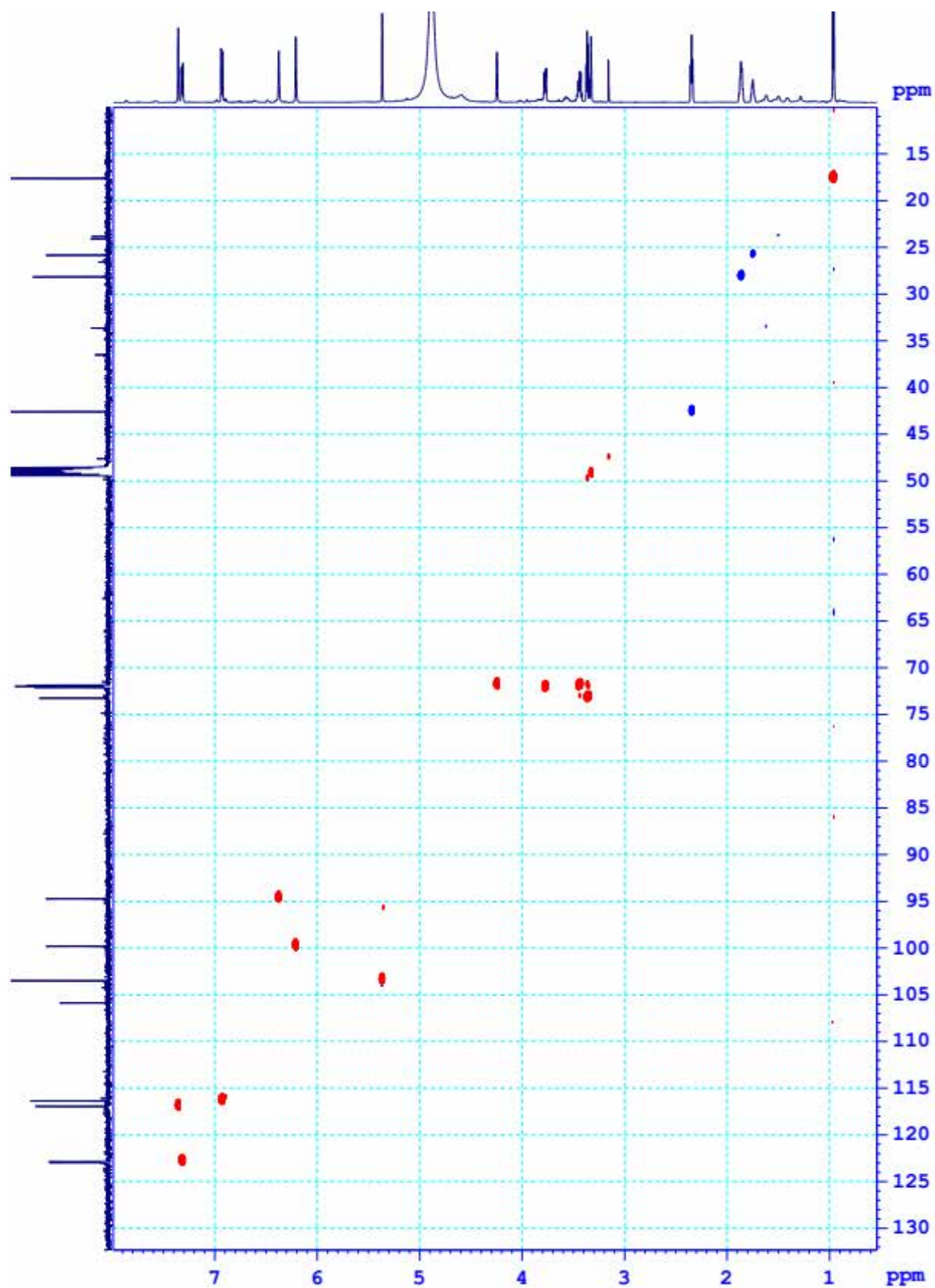
Phổ ESI-MS của hợp chất **AM7** cho tín hiệu m/z 449,10 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **AM7** là $C_{21}H_{20}O_{11}$. Phổ 1H -NMR của hợp chất **AM7** xuất hiện hai vùng tín hiệu proton: tín hiệu proton của hợp phần flavonoid aglycol có δ_H trong khoảng 6,2 đến 7,4 và tín hiệu của proton của hợp phần glycol với δ_H trong khoảng 0,9 đến 5,5. Từ đó cho phép ta khẳng định hợp chất **AM7** là dẫn xuất flavonoid monoglycoside. Các tín hiệu proton của hợp phần aglycol có sự tương đồng rất lớn với quercetin tại δ_H tại 6,21 (1H, brs, H-6), 6,38 (1H, brs, H-8), 7,36 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2'), 7,32 (1H, dd, $J = 8,4; 1,8$ Hz, H-5'), 6,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'), trong khi các tín hiệu proton của hợp phần glycol lại tương đồng với hợp chất **AM6** (rhamnopyranoside). Ngoài ra, tương tác giữa H-1'' với C-3 trên phổ HMBC cho phép xác định vị trí liên kết glycoside giữa hợp phần aglycol và glycol của hợp chất **AM7**. So sánh với tài liệu tham khảo [108] ta xác định được hợp chất **AM7** là quercitrin.



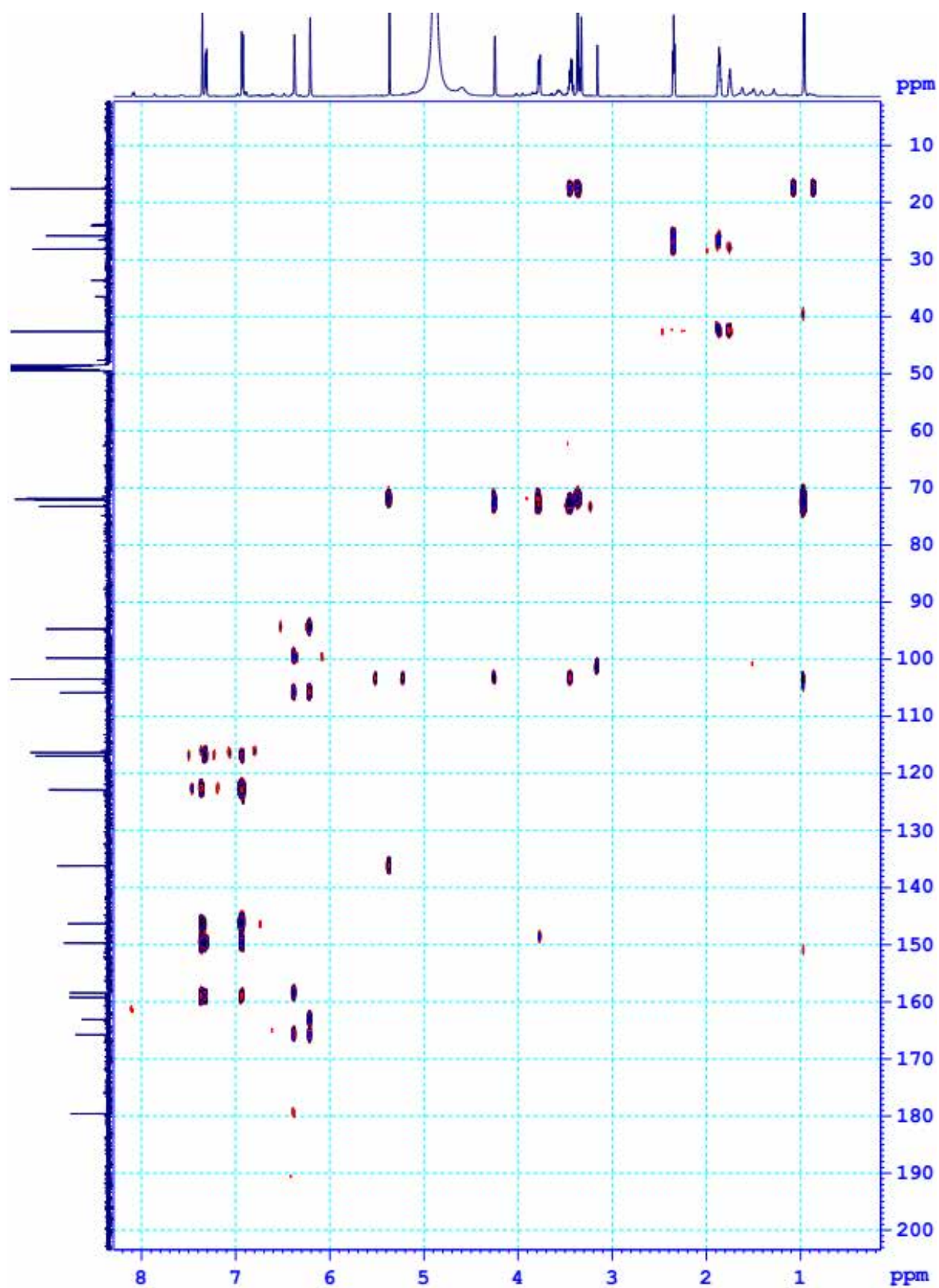
Hình 3.81. Phổ ^1H NMR của **AM7**



Hình 3.82. Phổ ^{13}C NMR của AM7

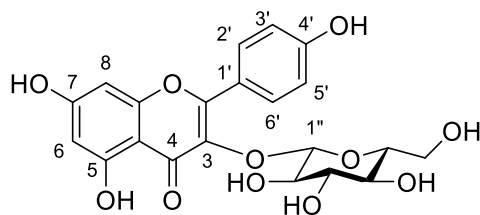


Hình 3.83. Phổ HSQC của của AM7



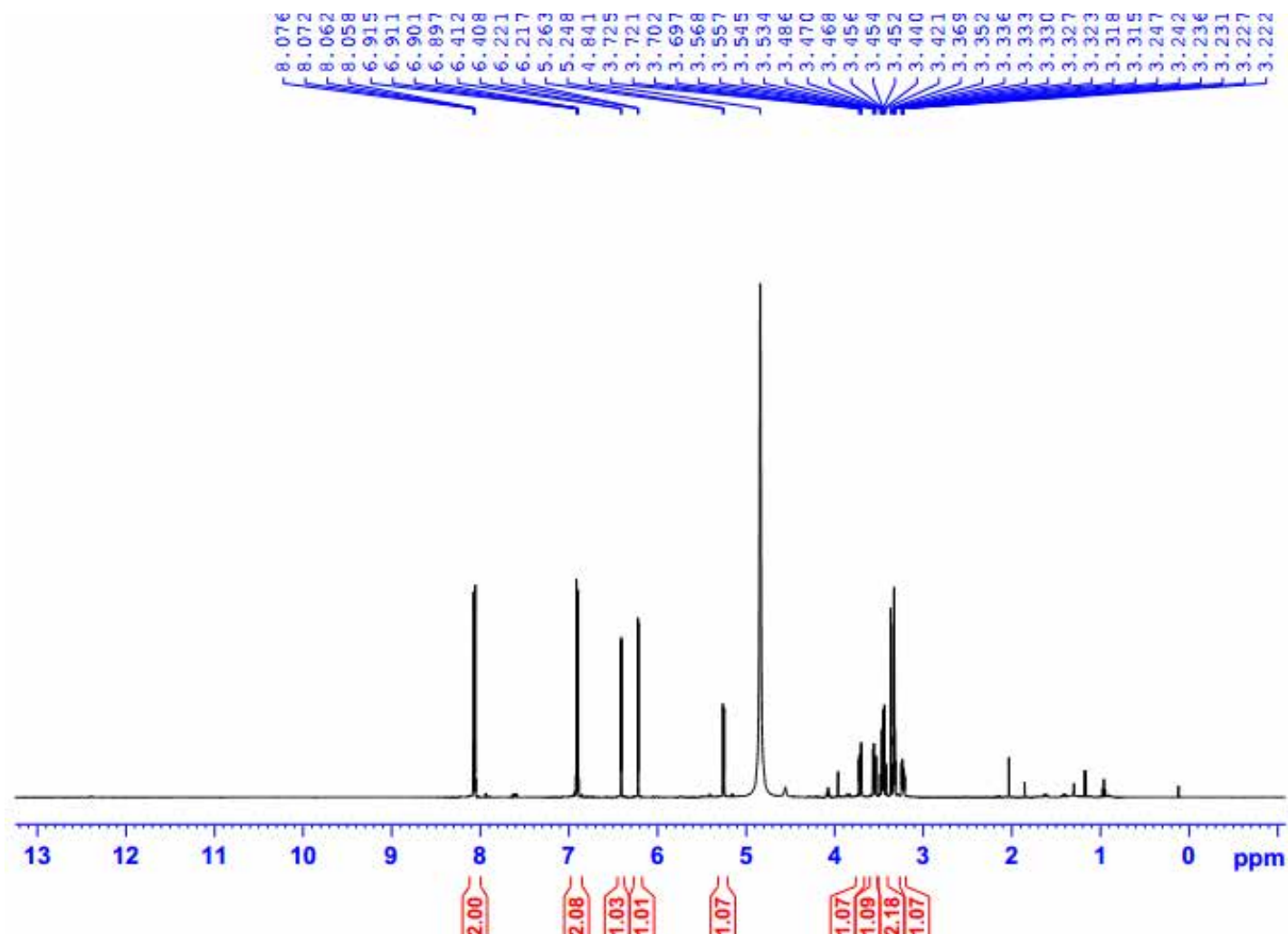
Hình 3.84. Phổ HMBC của AM7

3.2.8. Hợp chất AM8

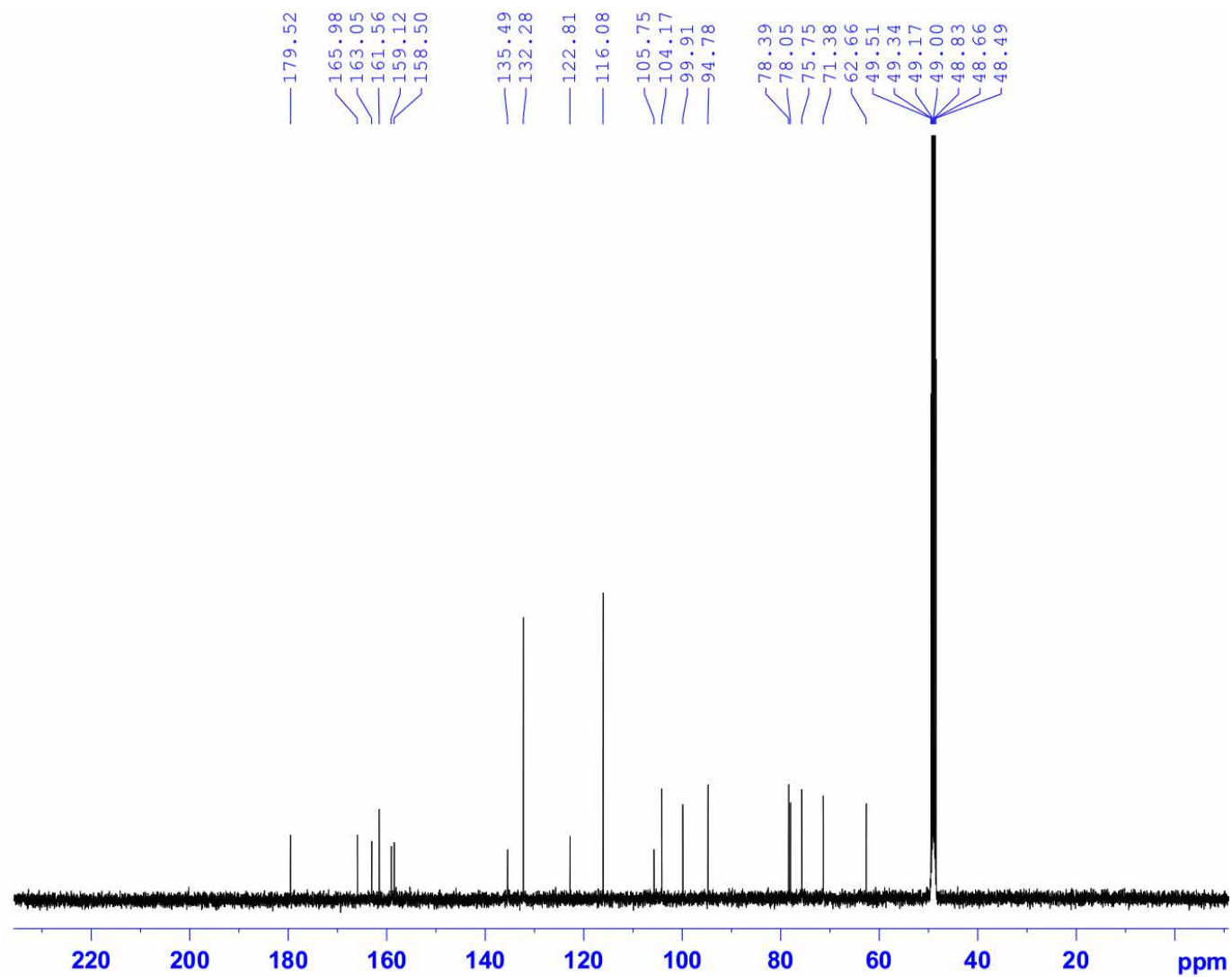


Hình 3.85. Cấu trúc của astragalin

Phổ ESI-MS của hợp chất **AM8** ghi nhận tín hiệu ion giả phân tử tại m/z 449,10 $[M + H]^+$, phù hợp với công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_{11}$. Phổ 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) của **AM8** thể hiện các tín hiệu đặc trưng của một flavonoid, bao gồm: δ_H 6,41 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,22 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8), 8,07 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2'/6') và 6,91 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3'/5'). Các tín hiệu proton này gợi ý cho sự hiện diện của hệ thống vòng A và vòng B của một dẫn xuất kaempferol. Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) của **AM8** ghi nhận tổng cộng 21 tín hiệu carbon, bao gồm các carbon sp^2 ở δ_C 159,1 (C-2), 135,4 (C-3), 179,5 (C-4), 163,0 (C-5), 104,1 (C-6), 166,0 (C-7), 94,8 (C-8), 158,5 (C-9), 105,8 (C-10); các tín hiệu carbon của vòng B trong khung flavonoid tại δ_C 122,8 (C-1'), 132,3 (C-2'/6'), 116,1 (C-3'/5'), và 161,6 (C-4'). Các tín hiệu này phù hợp với khung kaempferol trong phần aglycone. Ngoài ra, sự hiện diện của một đơn vị đường được xác định qua các tín hiệu proton anomeric δ_H 5,23 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1'') cho thấy đường liên kết β -glycosidic. Các proton đường tại δ_H 3,72 (H-2''), 3,56 (H-3''), 3,86 (H-4''), 3,32 (H-5''), và 3,24 (H-6''). Phổ ^{13}C -NMR cũng hỗ trợ điều này với các tín hiệu carbon tại 99,9 (C-1''), 75,8 (C-2''), 78,1 (C-3''), 71,4 (C-4''), 78,4 (C-5''), và 62,7 (C-6''). Đáng chú ý, độ chuyển dịch hoá học C-6'' xuất hiện ở δ_C 62,7 ppm, tương ứng với nhóm $-CH_2OH$ đặc trưng của β -D-glucopyranose, thay vì tín hiệu methyl ($-CH_3$) ở khoảng 17–18 ppm như trong rhamnose. Điều này, cùng với sự hiện diện của hai proton methylene ở C-6'' (khác với một proton methyl như ở rhamnose), cho thấy rõ ràng rằng hợp chất **AM8** chứa một đơn vị β -D-glucopyranose. Điều này xác nhận sự thay thế đơn vị α -L-rhamnopyranose của **AM6** bằng β -D-glucopyranose trong **AM8**. So sánh với tài liệu tham khảo [109], ta có thể xác định hợp chất **AM8** là astragalin.

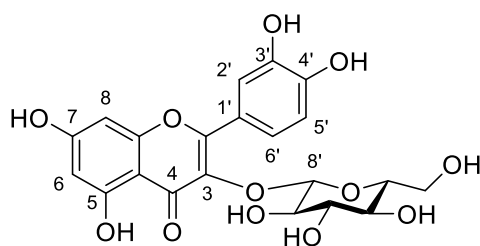


Hình 3.86. Phổ ^1H -NMR của **AM8**



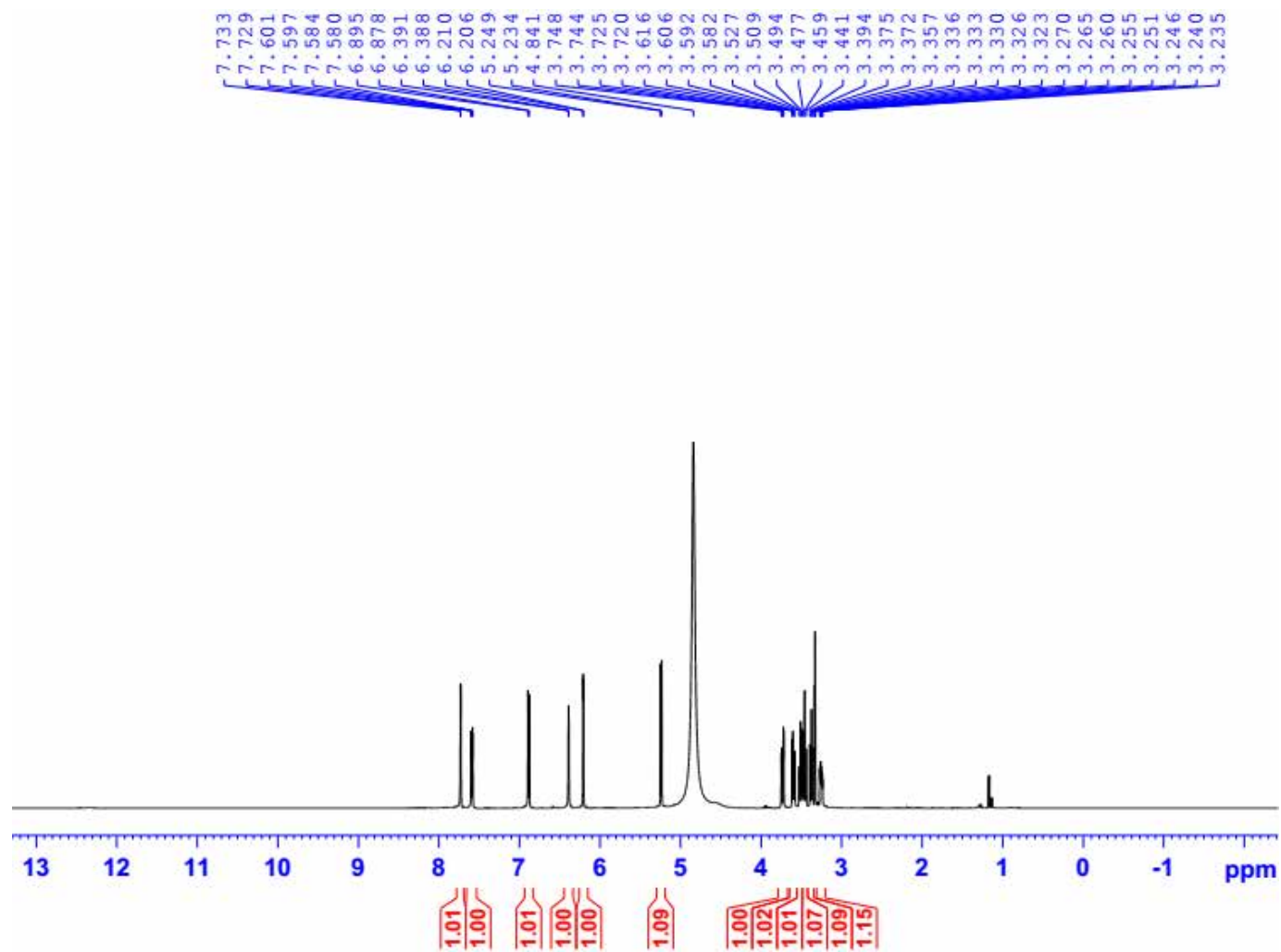
Hình 3.87. Phổ ^{13}C -NMR của AM8

3.2.9. Hợp chất AM9

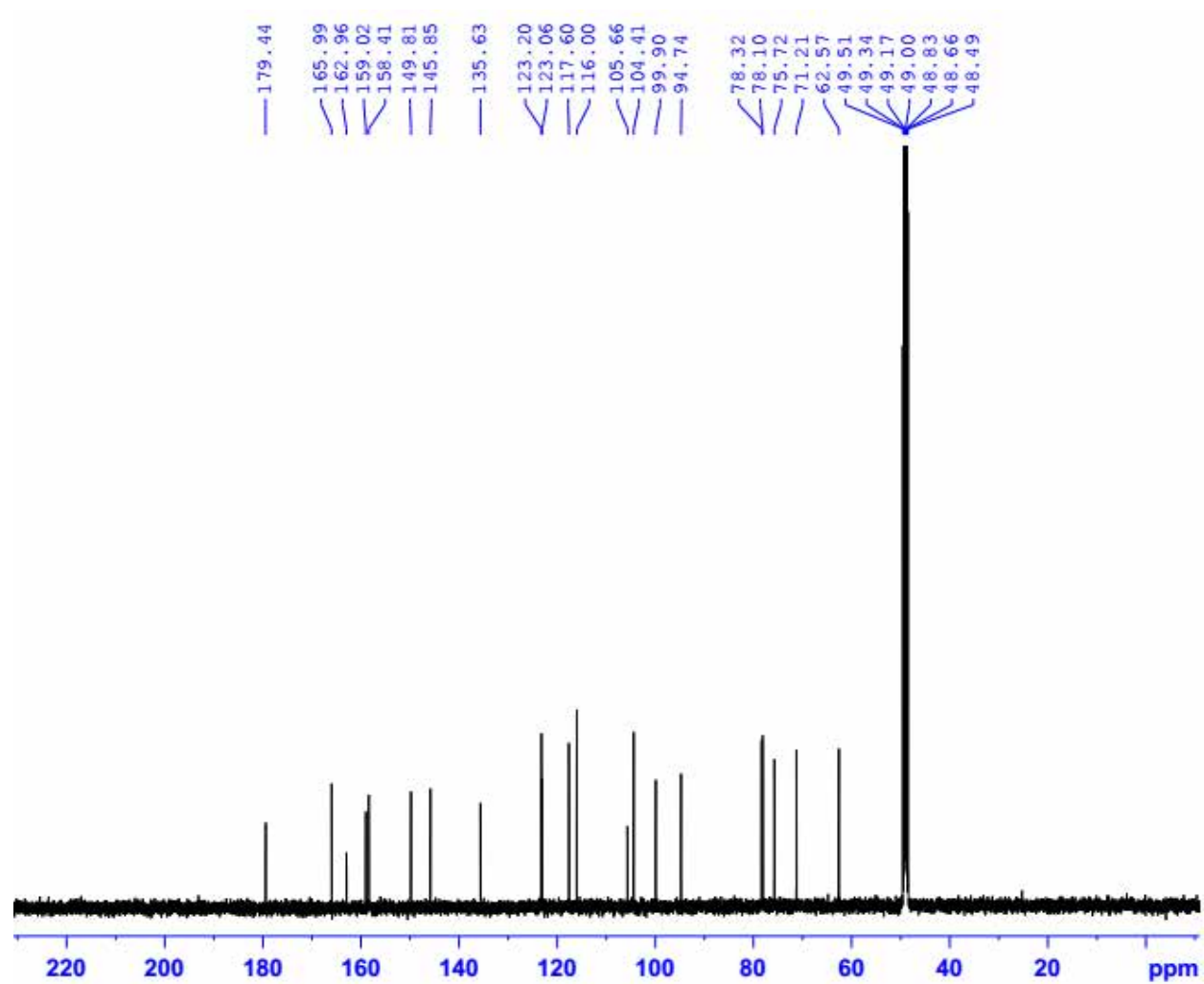


Hình 3.88. Cấu trúc của isoquercetin

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **AM9** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của hai một hệ vòng thơm AX tại δ_{H} 6,21 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-6), 6,39 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-8), và một hệ vòng thơm ABX tại δ_{H} 7,73 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,58 (1H, dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz, H-5'), 6,88 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-6'). Ngoài ra, sự hiện diện của một đơn vị đường được xác định qua các tín hiệu proton anomeric tại δ_{H} 5,25 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1'') cho thấy đường liên kết β -glycosidic, các proton đường còn lại quan sát được tại δ_{H} 3,74 (1H, m, H-2''), 3,60 (1H, m, H-3''), 3,50 (1H, m, H-4''), 3,46 (1H, m, H-5''), 3,26 (2H, m, H-6''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện các tín hiệu carbon thơm tại δ_{C} 158,4 (C-2), 135,6 (C-3), 163,0 (C-5), 104,4 (C-6), 166,0 (C-7), 94,7 (C-8), 159,0 (C-9), 105,7 (C-10), 123,2 (C-1'), 116,0 (C-2'), 145,9 (C-3'), 149,8 (C-4'), 117,6 (C-5'), 123,0 (C-6'); một tín hiệu carbonyl tại 179,4 (C-4), cùng với các tín hiệu của một phân tử đường glucose tại 99,9 (C-1''), 75,7 (C-2''), 78,3 (C-3''), 71,2 (C-4''), 78,1 (C-5''), 62,6 (C-6). Các tín hiệu phổ của **AM9** cho phép dự đoán cấu trúc của một hợp chất flavonol glycoside, với nhiều điểm tương đồng về các tín hiệu trong phần aglycol với **AM8**. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất với tài liệu đã công bố [110], có thể khẳng định hợp chất **AM9** là isoquercetin.

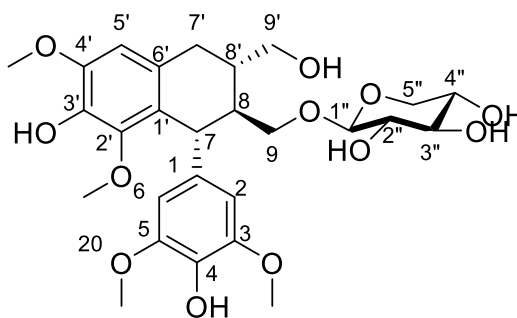


Hình 3.89. Phổ ^1H -NMR của **AM9**



Hình 3.90. Phổ ^{13}C -NMR của AM9

3.2.10. Hợp chất AM10



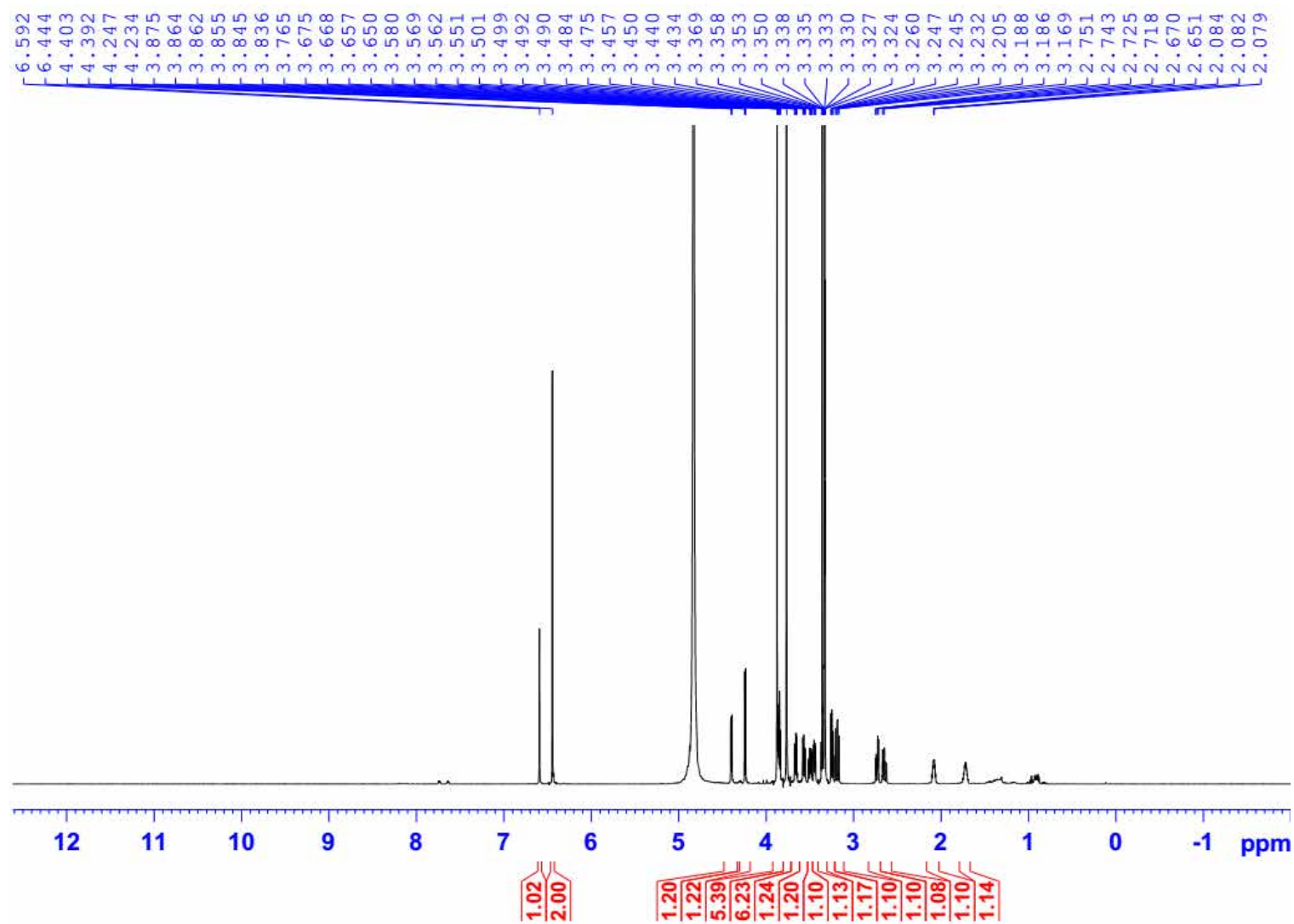
Hình 3.46. Cấu trúc của AM10

Hợp chất **AM10** thu được dưới dạng chất dạng dầu màu vàng nhạt. Trên phổ ^1H NMR của **AM10** xuất hiện các tín hiệu proton thơm tại δ 6,55 (1H, s, H-5'), δ 6,41 (1H, br s, H-6) và δ 6,39 (1H, br s, H-2). Bên cạnh đó, phổ ^1H NMR của **AM10** còn xuất hiện các tín hiệu proton methylene bị oxy hóa tại δ 3,66 (1H, dd, $J = 10,8; 7,2$ Hz, H-9'a), δ 3,56 (1H, dd, $J = 10,8; 6,6$ Hz, H-9'b), δ 3,42 (1H, dd, $J = 10,8; 4,8$ Hz, H-9a) và δ 3,85–3,77 (1H, m, H-9b). Ngoài ra, các tín hiệu proton methine tại δ 4,40 (1H, d, $J = 6,6$ Hz, H-7), δ 2,08 (1H, m, H-8) và δ 1,72 (1H, m, H-8') cùng với các proton methylene δ 2,65 (1H, dd, $J = 15,0; 12,6$ Hz, H-7'a) và δ 2,73 (1H, dd, $J = 15,0; 4,2$ Hz, H-7'b) cũng được ghi nhận. Tín hiệu proton hemiacetal xuất hiện tại δ 4,21 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), bên cạnh các tín hiệu proton methylene oxy hóa δ 3,85–3,77 (1H, m, H-5''a) và δ 3,19 (1H, dd, $J = 10,8; 4,8$ Hz, H-5''b). Các tín hiệu proton methine oxy hóa khác gồm δ 3,49 (1H, ddd, $J = 10,8; 9,0; 4,8$ Hz, H-4''), δ 3,38 (1H, m, H-3'') và δ 3,21 (1H, dd, $J = 9,0; 5,4$ Hz, H-2'') xác nhận sự hiện diện của một đơn vị pentose. Các tín hiệu proton methoxy δ 3,88 (3H, s, 2'-OCH₃), δ 3,73 (3H, s, 3-OCH₃), δ 3,73 (3H, s, 5-OCH₃) và δ 3,30 (3H, s, 4'-OCH₃) cũng được ghi nhận.

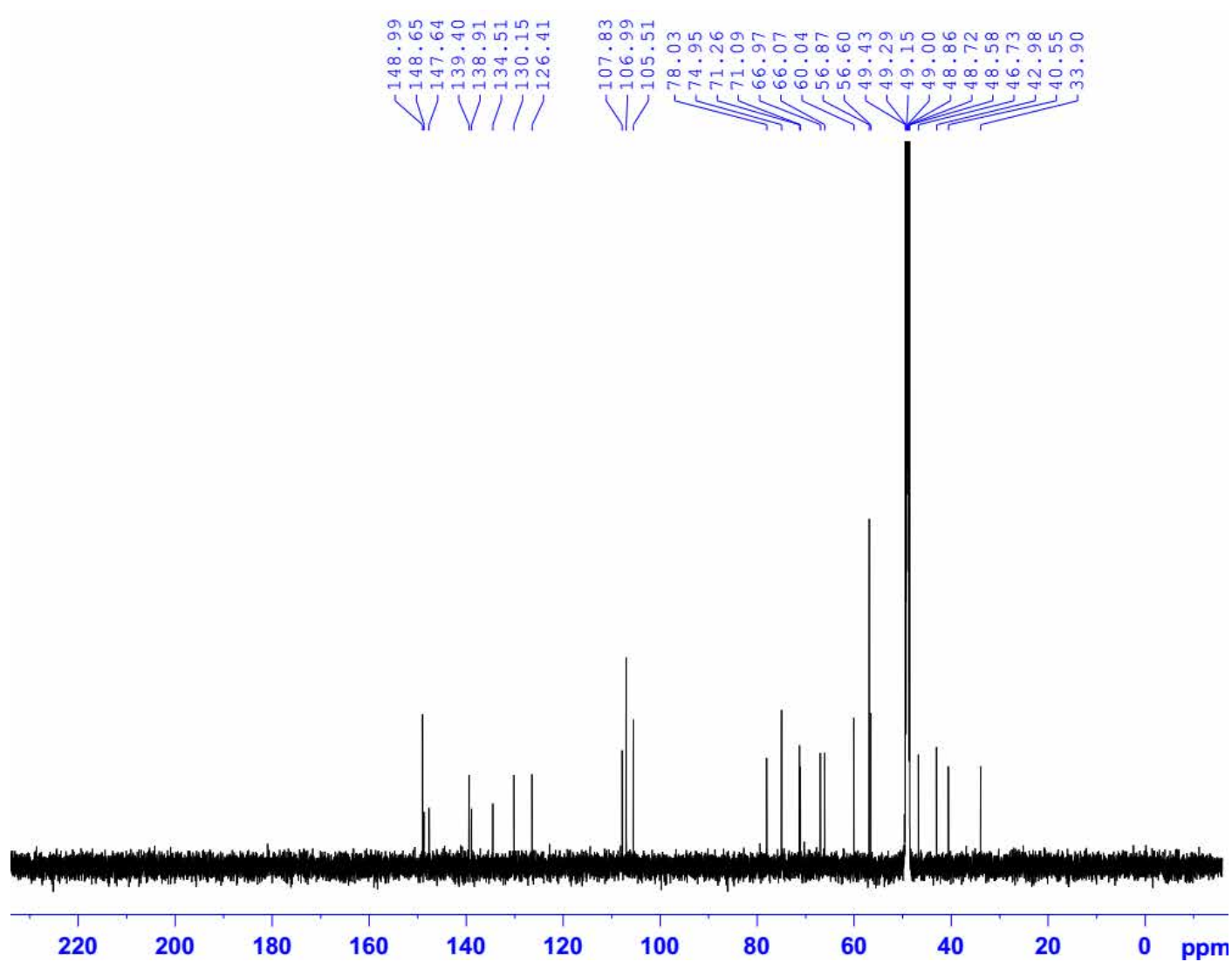
Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) cho thấy 6 tín hiệu carbon thơm gắn oxy [δ 149,0 (C-3), δ 149,0 (C-5), δ 148,7 (C-3'), δ 147,6 (C-2'), δ 138,9 (C-4') và δ 134,5 (C-4)], 3 tín hiệu carbon thơm không liên kết hydro [δ 139,4 (C-1), δ 130,2 (C-1'), δ 126,4 (C-6')], cùng với 3 tín hiệu carbon thơm [δ 107,8 (C-5'), δ 107,0 (C-2), δ 107,0 (C-6)], cho thấy cấu trúc chứa hai vòng benzene. Bên cạnh đó, trên phổ còn xuất hiện 2 tín hiệu carbon methylene oxy hóa δ 71,1 (C-9) và δ 66,1 (C-9'). Ở vùng aliphatic, quan sát được 3 tín hiệu carbon methine δ 46,7 (C-8), δ 43,0 (C-7) và δ 40,6 (C-8'), cùng với 1 tín hiệu carbon methylene δ 33,9 (C-7').

Dựa trên sự xuất hiện của các tín hiệu này, xác định **AM10** là một lignan chứa khung pyran. Các proton H-7, H-8 và H-8' đều có hằng số liên kết lớn, đặc trưng cho

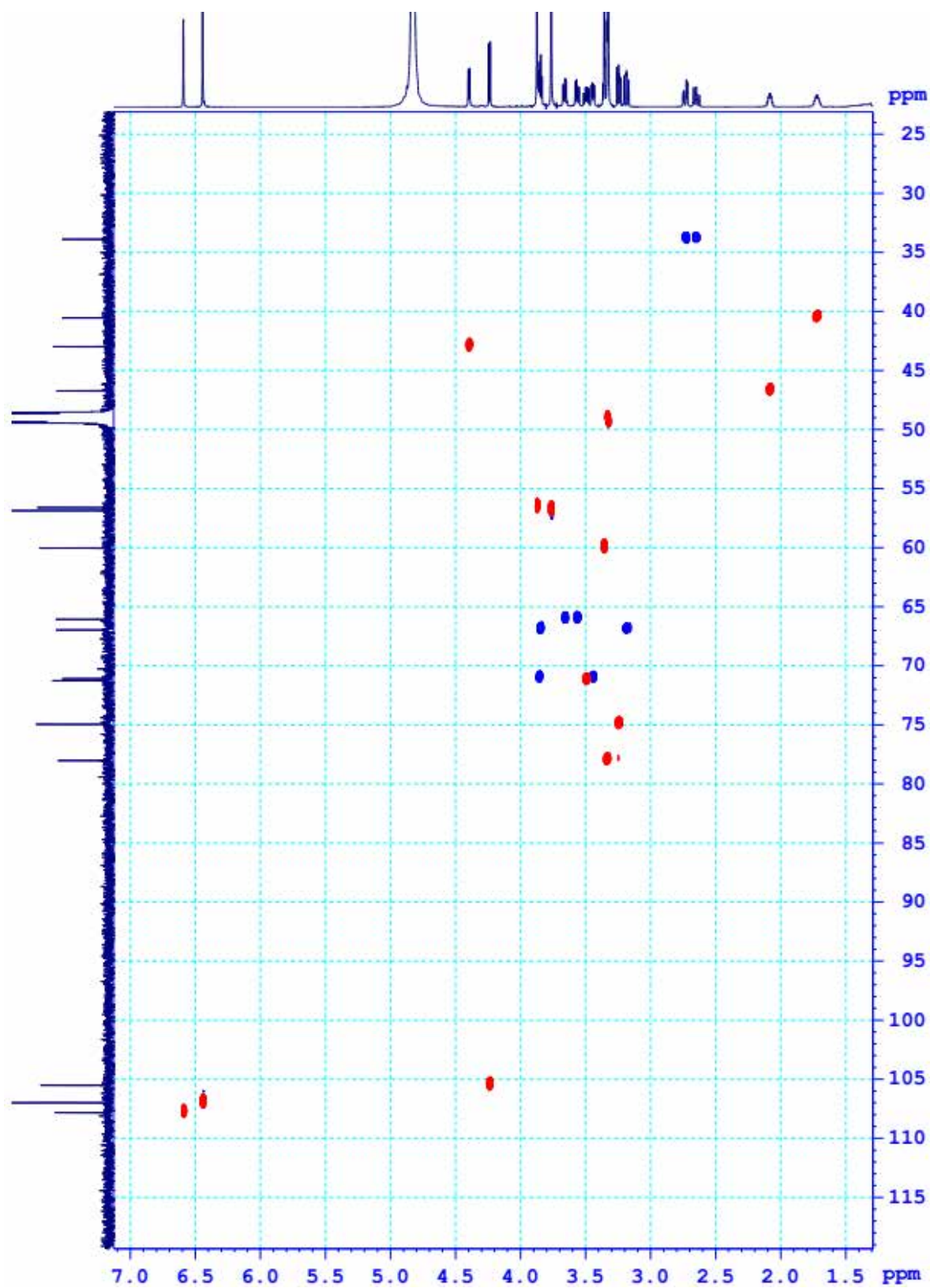
cấu hình *trans* giữa chúng. Vị trí của vòng đường được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa proton hemiacetal δ 4,21 (H-1'') với C-9 (δ 71,1) Dựa trên so sánh giá trị $[\alpha]_D^{25}$ -32,6 của **AM10** với dữ liệu tài liệu của lyoniside (có H-7 định hướng α , góc quay +27 đến +28) [111] và đặc tính cấu trúc tương tự của nudiposide (H-7 định hướng β , góc quay -52) [112], có thể suy ra rằng H-7 trong **AM10** có định hướng β . Các tín hiệu carbon liên quan đến đơn vị đường (δ 105,5 (C-1''), 78,0 (C-2''), 75,0 (C-3''), 71,3 (C-4''), 67,0 (C-5'')) phù hợp với đơn vị D-xylopyranose. Giá trị hằng số liên kết $J = 7,8$ Hz của proton hemiacetal δ 4,21 (H-1'') cho thấy đường liên kết theo cấu hình β . Từ các dữ liệu phổ và so sánh với dữ liệu đã được báo cáo, hợp chất **AM10** được xác định là nudiposide.



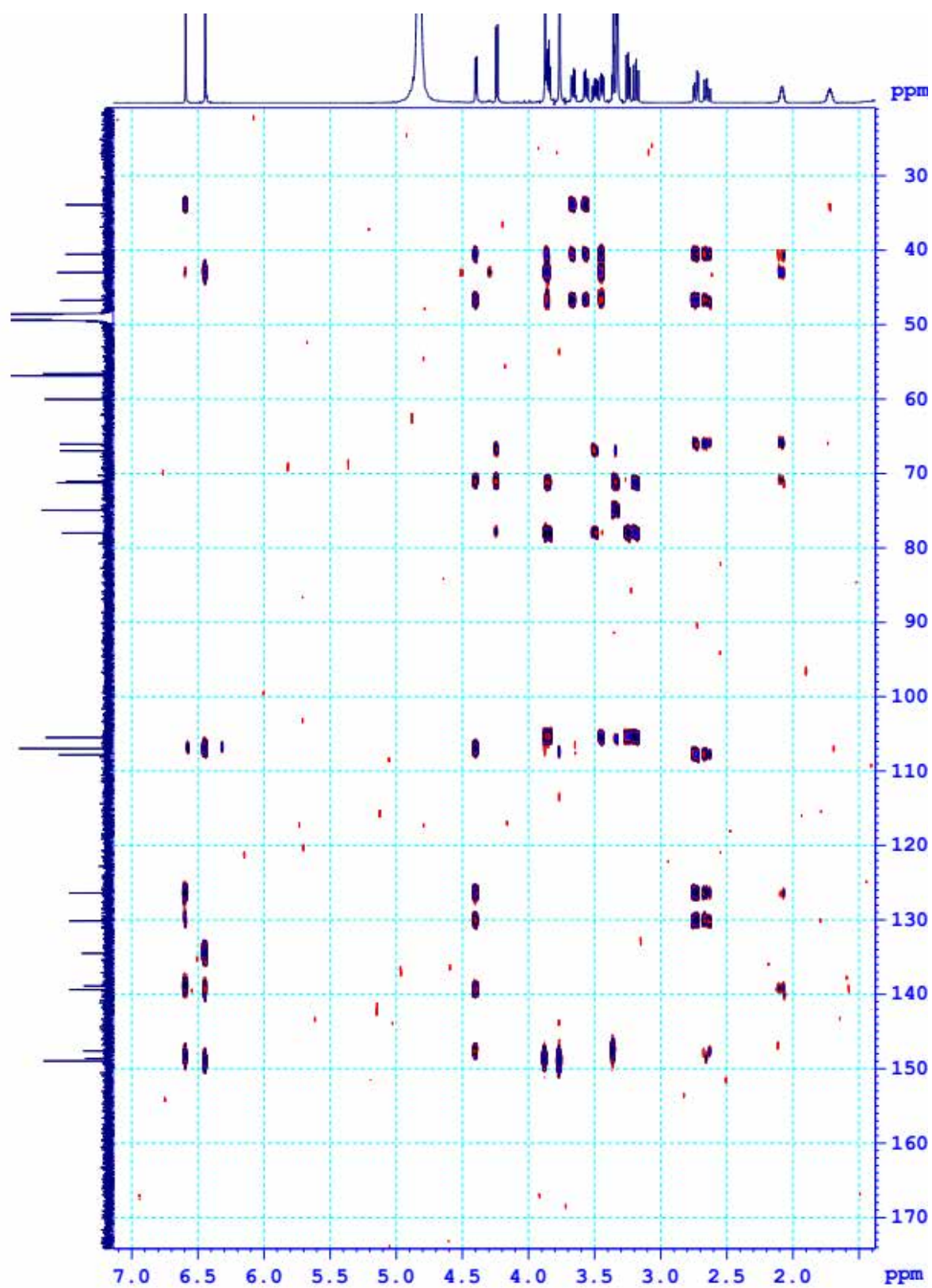
Hình 3.47. Phổ ^1H NMR của AM10



Hình 3.48. Phổ ^{13}C NMR của AM10

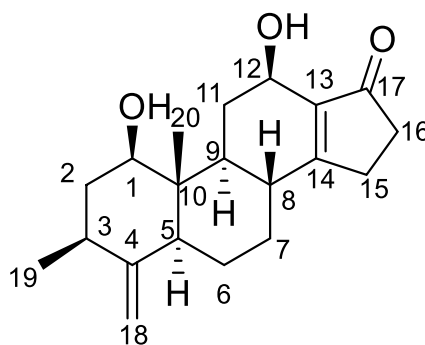


Hình 3.49. Phổ HSQC của AM10



Hình 3.50. Phổ HMBC của AM10

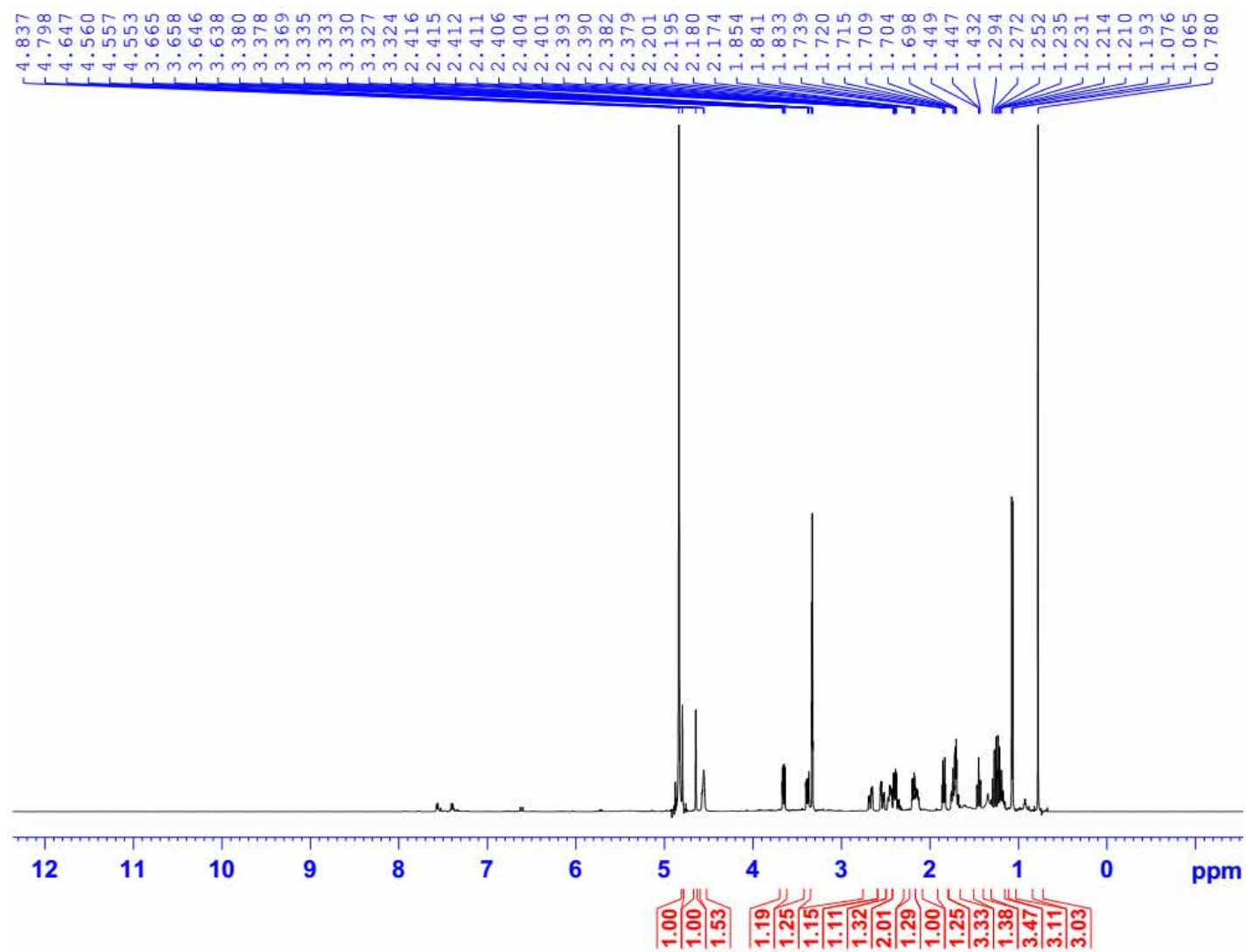
3.2.11. Hợp chất AM11

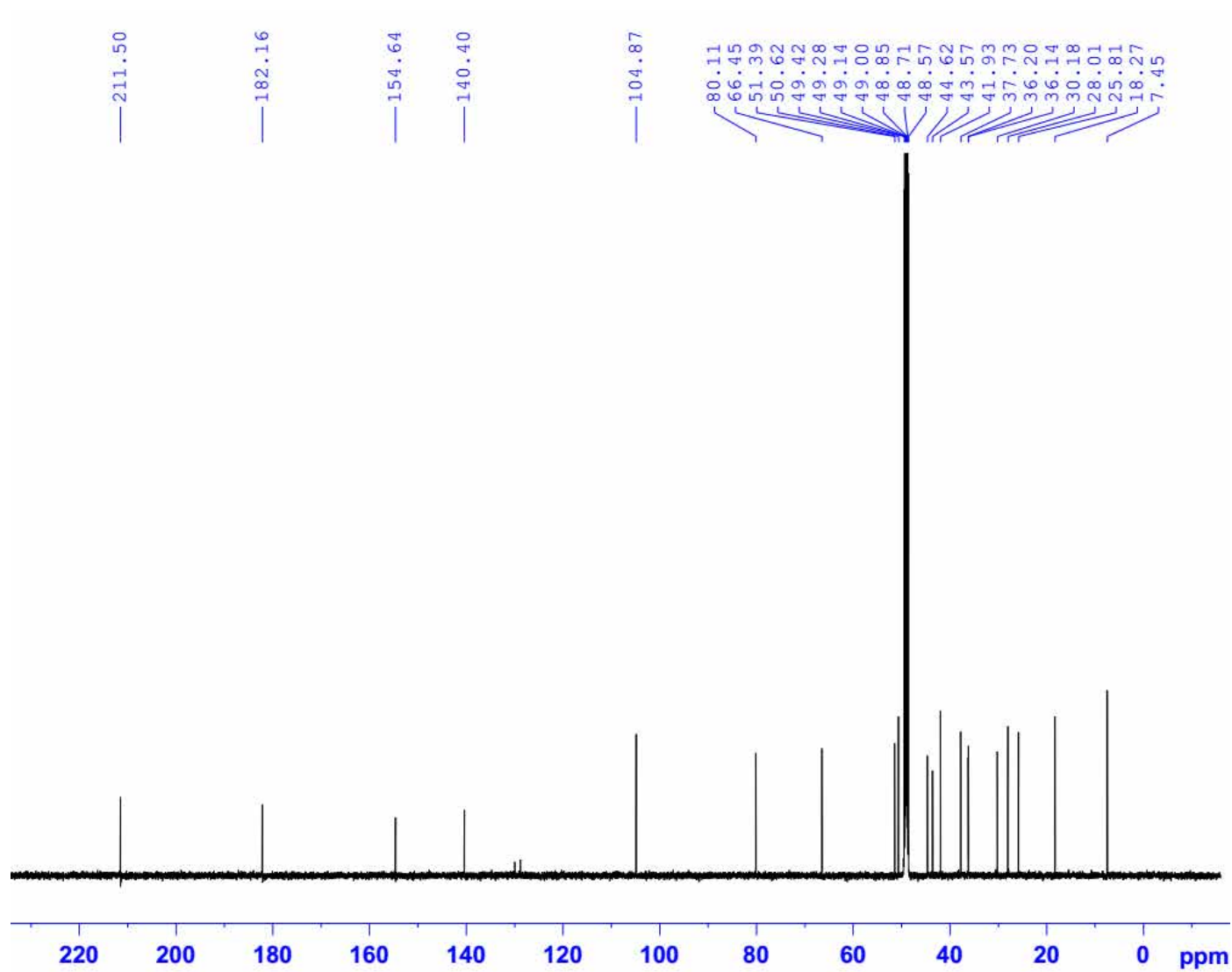


Hình 3.51. Cấu trúc của acacienone

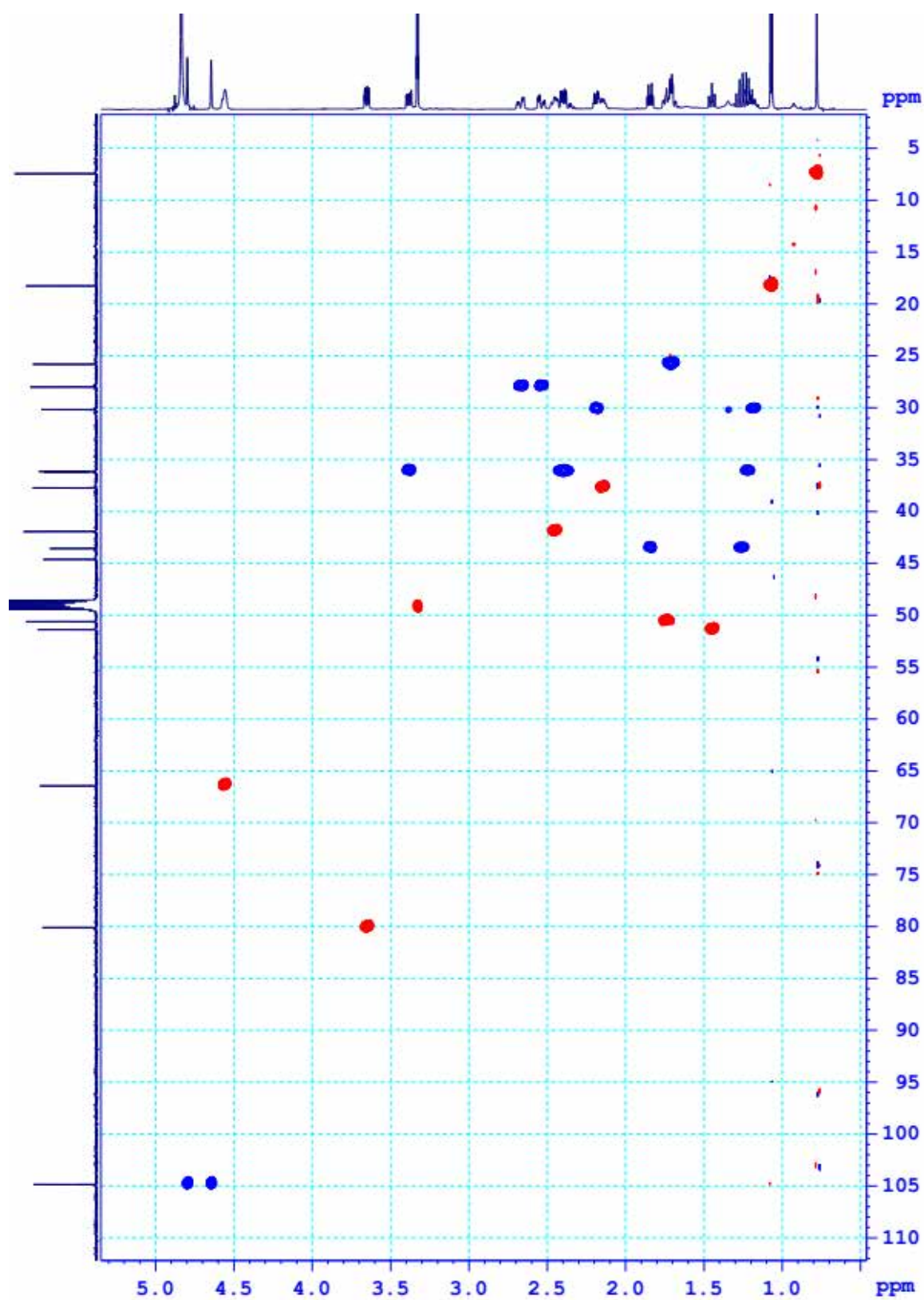
Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AM11** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của hai nhóm methyl tại δ_{H} 0,78 (3H, s, H-20) và 1,06 (3H, d, $J = 5,4$ Hz, H-19), hai proton methylene olefin tại δ_{H} 4,56 (1H, s, H-18a) và 4,80 (1H, s, H-18b), cùng các tín hiệu methine và methylene khác trong vùng 1,17–3,66 ppm. Hai proton methine oxy hóa được ghi nhận tại δ_{H} 3,66 (1H, dt, $J = 11,4; 5,4$ Hz, H-1) và δ_{H} 3,33 (1H, dd, $J = 12,0; 5,4$ Hz, H-12). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) của **AM11** ghi nhận 20 tín hiệu carbon, bao gồm tín hiệu carbon carbonyl ở δ_{C} 211,5 (C-17), các carbon sp^2 bậc bốn ở δ_{C} 140,4 (C-13) và 182,2 (C-14), và các carbon methylene, methine sp_3 rải rác từ δ_{C} 25,8 đến 80,1 ppm. Tín hiệu của hai nhóm methyl quan sát được tại δ_{C} 7,5 (C-20) và 18,3 (C-19). Các tương quan COSY và HMBC (dữ liệu tham chiếu) cho phép xây dựng các đoạn mạch chính như C-1/C-2/C-3/C-19 và từ C-5 đến C-12, được nối với nhau qua carbon bậc bốn C-4 (δ_{C} 154,6). Hệ cyclopentenone được nối với phần C-8–C-12 thông qua các tín hiệu proton và carbon đặc trưng.

Dựa trên dữ liệu phổ và so sánh với hợp chất acacienone đã biết [113], kết luận rằng cấu trúc của **AM11** tương ứng với acacienone. Hợp chất này từng được phân lập từ lá keo trong một công bố trước đây [113].

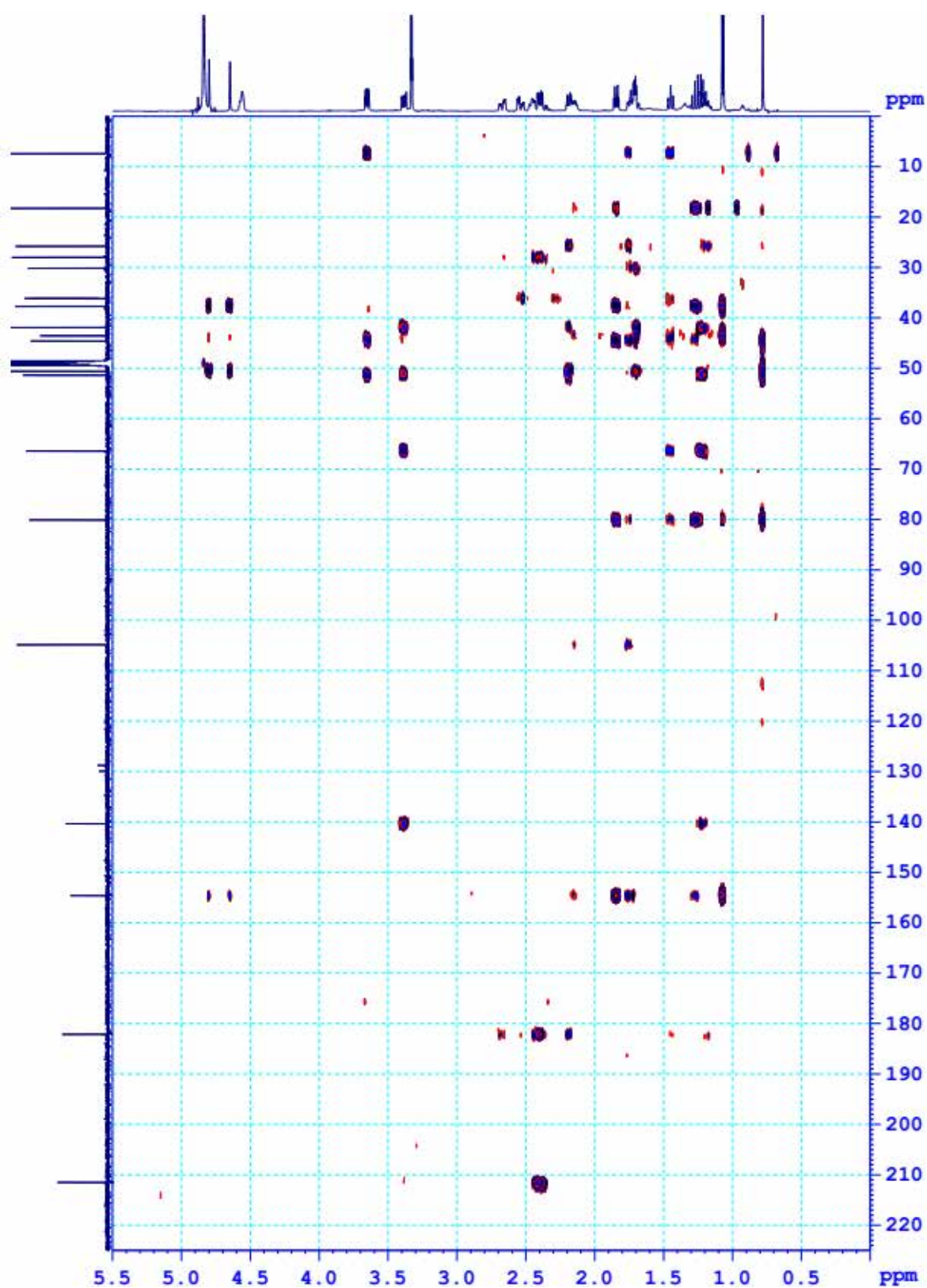




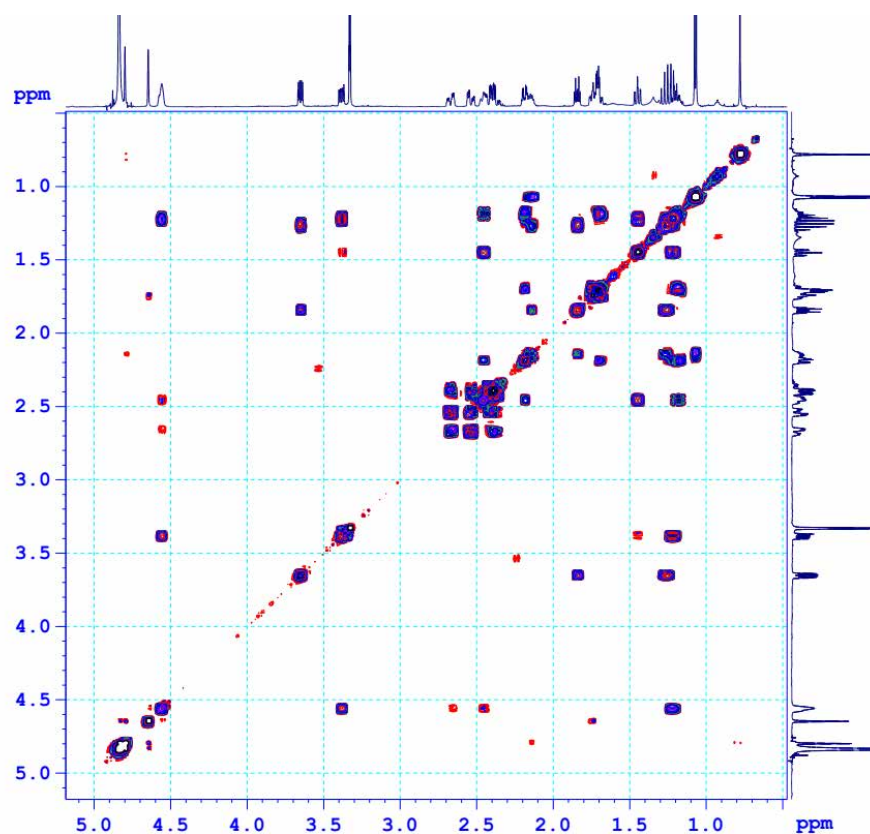
Hình 3.53. Phổ ^{13}C NMR của AM11



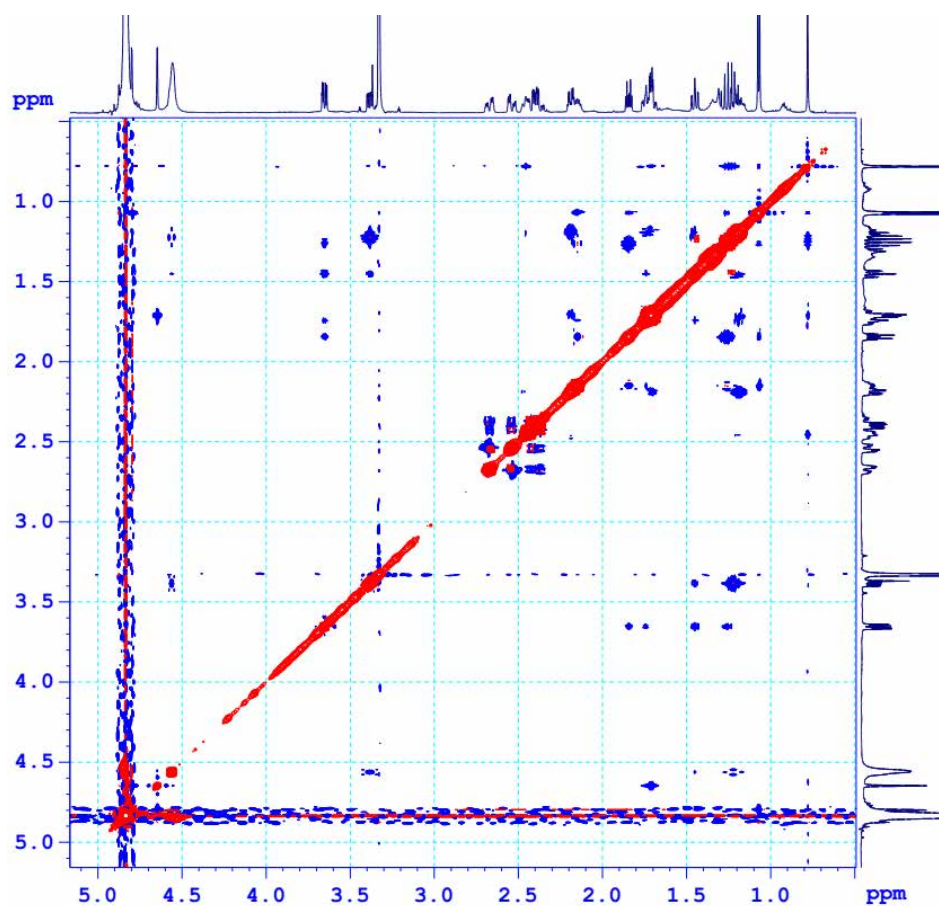
Hình 3.54. Phổ HSQC của AM11



Hình 3.55. Phổ HMBC của AM11



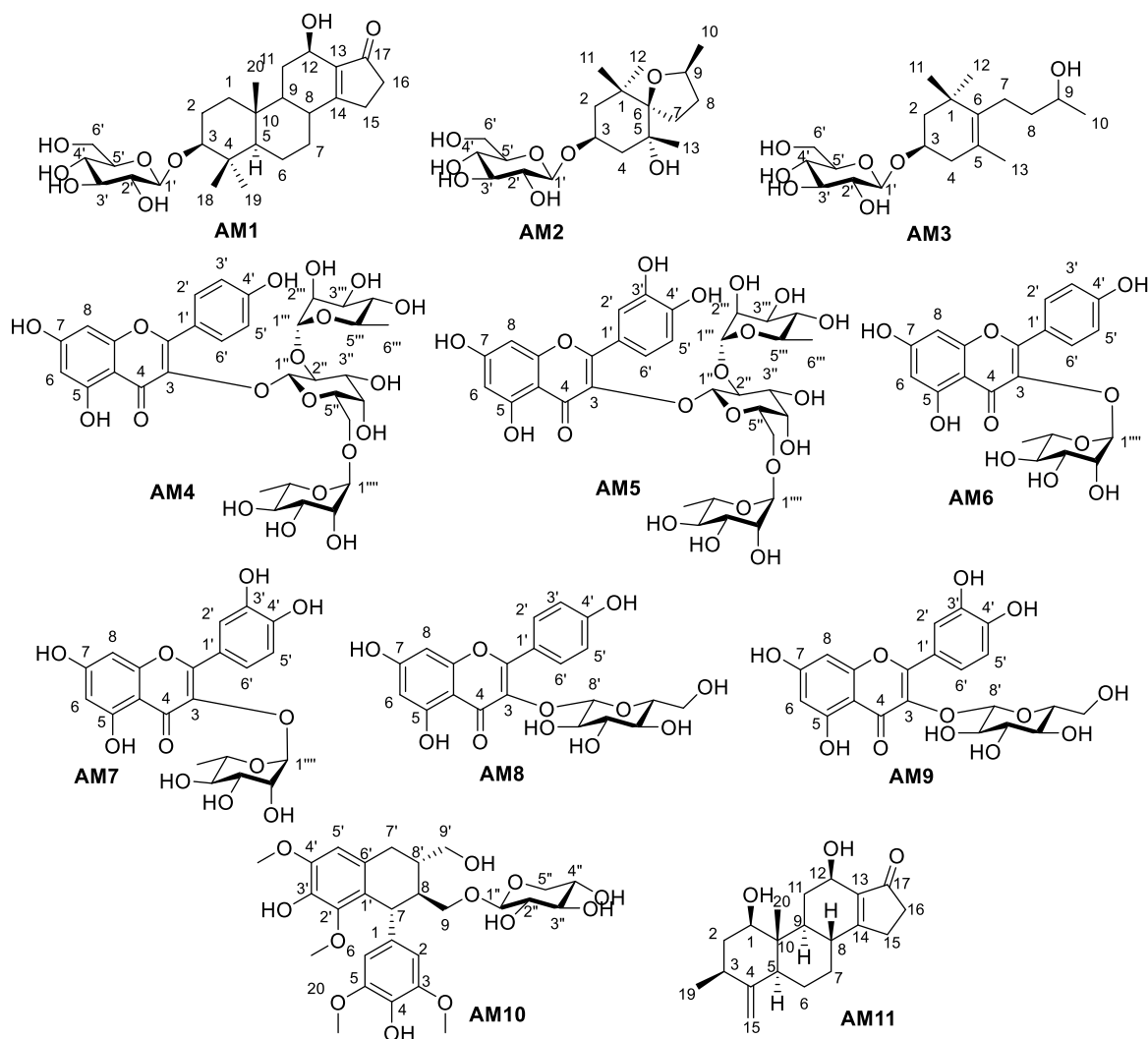
Hình 3.56. Phổ COSY của AM11



Hình 3.57. Phổ NOESY của AM11

3.2.12. Bàn luận về kết quả phân lập các chất từ lá keo

Từ dịch chiết lá *Acacia mangium*, 11 hợp chất đã được phân lập (Hình 3.58), trong đó nổi bật nhất là hai hợp chất mới, **AM1** và **AM2** thuộc nhóm terpenoid glycoside. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng phân lập được một hợp chất terpenoid (**AM12**) và một terpenoid glycoside (**AM3**), cùng sáu hợp chất flavonoid glycoside. Đây đều là các nhóm chất chứa nhiều hoạt tính sinh học quý. Khả năng ức chế vi khuẩn lam của các chất sẽ được trình bày trong các phần tiếp theo của luận án.



Hình 3.58. Các hợp chất phân lập từ lá keo tai tượng (*Acacia mangium*)

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

Bảng 3.3. Hoạt tính ức chế *M. aeruginosa* của một số hợp chất được phân lập

Chất thử nghiệm	IC ₅₀ (μM)
(<i>E</i>)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI1)	85,0 ± 7,2
Methyl (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI2)	> 100
Methyl (<i>E</i>)-3-(furan-2-ylmethylene)-4-oxopentanoate (CI3)	> 100
Acacetin (CI4)	51,7 ± 3,3
Apigenin (CI5)	55,4 ± 4,5
Acacetin 7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside (CI6)	76,8 ± 8,6
Acacetin 7- <i>O</i> -rutinoside (CI7)	81,3 ± 7,4
Apigenin 7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside (CI8)	85,5 ± 6,5
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid (CI9)	62,6 ± 5,1
Acacienoside A (AM1)	79,2 ± 8,0
Acacionoside 3-glucoside (AM2)	83,4 ± 7,6
5-megastigmen-3,9-diol 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside (AM3)	>100
Kaempferol-3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)]- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside (AM4)	>100
Quercetin-3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)]- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside (AM5)	>100
Afzelin (AM6)	>100
Quercitrin (AM7)	>100
Astragalin (AM8)	88,7 ± 7,2
Isoquercetin (AM9)	85,9 ± 7,8
Nudiposide (AM10)	95,2 ± 11,1
Acacienone (AM11)	>100
CuSO ₄	41,8 ± 3,9

Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các hợp chất được phân lập có sự khác biệt đáng kể. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế *Microcystis aeruginosa* cho thấy trong số các hợp chất phân lập từ *Chrysanthemum indicum* (nhóm CI), các flavonoid aglycones acacetin (CI4, IC₅₀ = 51,7 ± 3,3 μM) và apigenin (CI5, IC₅₀ = 55,4 ± 4,5 μM) thể hiện hoạt tính ức chế mạnh, chỉ xếp sau CuSO₄ (IC₅₀ = 41,8 ± 3,9

μM). Nhóm các dẫn xuất furan (**CI1–CI3**) có hoạt tính thấp hơn, trong đó chỉ **CI1** ($\text{IC}_{50} = 85,0 \pm 7,2 \mu\text{M}$) cho hiệu quả trung bình, còn **CI2** và **CI3** đều có $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$, cho thấy sự methoxymethyl hóa trên nhân furan (**CI1**) giúp cải thiện hoạt tính so với furan không thế (**CI3**), mặc dù mức cải thiện còn hạn chế. Đối với nhóm flavonoid glycosides (**CI6–CI8**), giá trị IC_{50} đều cao hơn so với các aglycones tương ứng, điển hình như acacetin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**CI6**, $\text{IC}_{50} = 76,8 \pm 8,6 \mu\text{M}$) và Apigenin 7-*O*- β -D-glucopyranoside (**CI8**, $\text{IC}_{50} = 85,5 \pm 6,5 \mu\text{M}$), gợi ý rằng quá trình glycosyl hóa làm giảm rõ rệt khả năng ức chế vi khuẩn lam.

Đối với các hợp chất phân lập từ *Acacia mangium* (nhóm AM), phần lớn các chất khảo sát có hoạt tính thấp, với nhiều hợp chất có $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$. Trong nhóm terpenoid (**AM1–AM3**, **AM11**), chỉ acacienoside A (**AM1**, $\text{IC}_{50} = 79,2 \pm 8,0 \mu\text{M}$) và acacionoside 3-glucoside (**AM2**, $\text{IC}_{50} = 83,4 \pm 7,6 \mu\text{M}$) thể hiện hiệu quả trung bình, trong khi **AM3** và **AM11** không cho thấy hoạt tính đáng kể ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$). Nhóm flavonoid glycosides (**AM4–AM9**) cũng chủ yếu có $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$, ngoại trừ astragalin (**AM8**, $\text{IC}_{50} = 88,7 \pm 7,2 \mu\text{M}$) và isoquercetin (**AM9**, $\text{IC}_{50} = 85,9 \pm 7,8 \mu\text{M}$) thể hiện hoạt tính trung bình. Ở nhóm lignan, nudiposide (**AM10**) có $\text{IC}_{50} = 95,2 \pm 11,1 \mu\text{M}$, cho thấy hiệu quả ức chế kém hơn so với các flavonoid aglycones từ *C. indicum*.

Tóm lại, các flavonoid aglycones (**CI4**, **CI5**) phân lập từ *C. indicum* nổi bật với hoạt tính ức chế mạnh, trong khi phần lớn các glycosides từ *C. indicum* và *A. mangium* đều cho hoạt tính yếu hơn rõ rệt. Các terpenoid và lignan từ *A. mangium* cũng cho thấy hiệu quả thấp, gợi ý rằng tiềm năng phát triển các hợp chất ức chế vi khuẩn lam chủ yếu tập trung vào các flavonoid aglycones tự do.

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

Cao chiết từ cây mần tưới (*Eupatorium fortunei* Turcz.) đã được nghiên cứu và chứng minh có khả năng ức chế rõ rệt sự sinh trưởng của vi khuẩn lam độc, đặc biệt là loài *Microcystis aeruginosa*, tác nhân chính gây nở hoa tảo độc trong các thủy vực nước ngọt. Các nghiên cứu trước đây của chúng tôi đã chứng minh dịch chiết ethyl acetate từ cây mần tưới ở nồng độ $500 \mu\text{g/mL}$ có hiệu suất ức chế sinh trưởng *M. aeruginosa* lên tới 95,5%, vượt trội so với các dịch chiết methanol và nước ở cùng nồng độ [93, 94]. Bên cạnh đó, hợp chất *o*-coumaric acid phân lập từ mần tưới cũng được ghi nhận khả năng ức chế mạnh loài vi khuẩn lam này, với hiệu suất đạt tới 76,76% tại nồng độ 100 mg/L [84]. Một số thử nghiệm trên mẫu nước hồ Hoàn Kiếm

cũng cho thấy dịch chiết ethyl acetate từ cây mần tưới (ở nồng độ 500 µg/L) đã ức chế đáng kể sự phát triển của quần thể vi khuẩn lam *Microcystis* chiếm ưu thế, hiệu quả tương đương CuSO₄ ở mức 2 µg/L [92]. Trên cơ sở các kết quả này, nhằm nâng cao hiệu quả diệt vi khuẩn lam độc, chúng tôi tiến hành phối trộn cao chiết mần tưới với cao chiết từ cúc hoa vàng (*C. indicum*) và keo tai tượng (*A. mangium*) nhằm khai thác tối đa hiệu ứng hiệp đồng của các hợp chất tự nhiên từ những nguồn thực vật đa dạng.

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

Kết quả 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 µg/mL, được trình bày chi tiết trong bảng dưới đây.

Bảng 3.4. Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các cao chiết và hỗn hợp cao chiết

Tên hỗn hợp	Mần tưới (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 tưới (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 hợp 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*

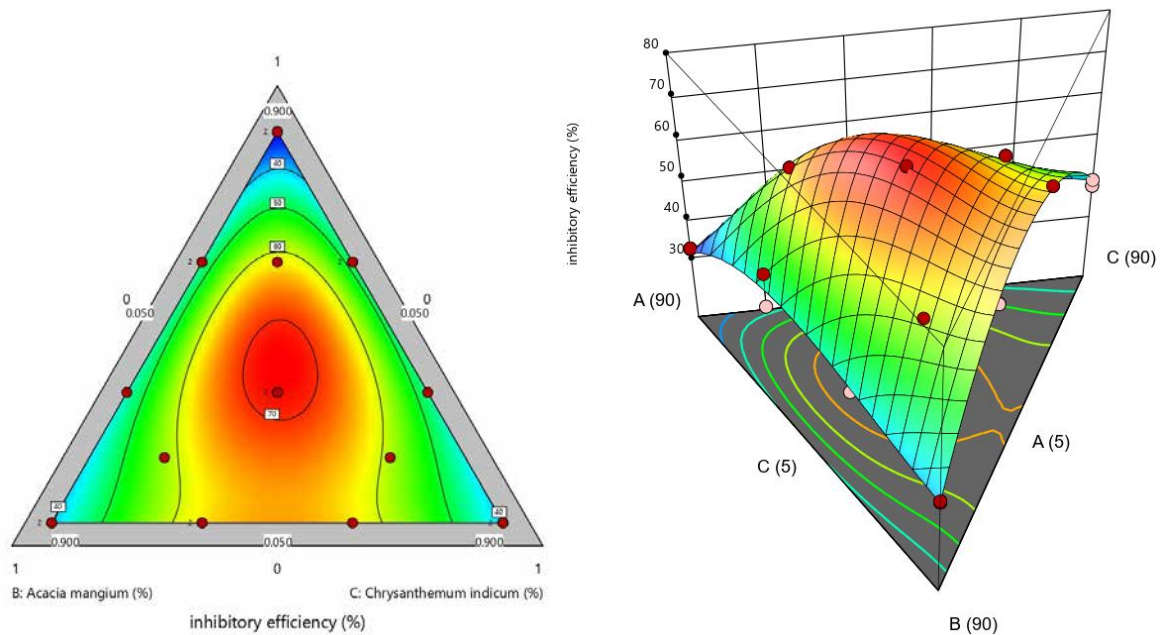
Kết quả từ bảng 2.2 cho thấy hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* thay đổi rõ rệt theo tỷ lệ phối trộn các cao chiết từ ba loài thực vật *E. fortune*, *A. mangium* và *C. indicum*. Trong đó, hỗn hợp phối trộn với tỷ lệ cân bằng (33,33% mỗi thành phần) thể hiện hiệu quả ức chế cao nhất, đạt lần lượt $71,48 \pm 3,19\%$ và $71,65 \pm 5,62\%$, chứng tỏ có sự tương tác hiệp đồng tối ưu giữa các thành phần này. Ngược lại, các hỗn hợp có hàm lượng *C. indicum* cao ($\geq 61,67\%$) nhưng hàm lượng thấp (5%) của hai loài còn lại cho hiệu quả thấp hơn đáng kể, chỉ đạt $38,13 \pm 2,08\%$ và $39,63 \pm 1,76\%$. Điều này cho thấy hiệu quả ức chế vi khuẩn lam không chỉ phụ thuộc vào tỷ lệ cao của một thành phần riêng lẻ, mà còn yêu cầu sự cân đối hài hòa giữa cao chiết các loài thực vật. Các hỗn hợp giàu *A. mangium* ($\geq 61,67\%$) nhưng chứa ít *C. indicum* ($\leq 19,17\%$) cũng ghi nhận hiệu quả khá tốt, dao động từ $59,90 \pm 3,06\%$ đến $61,62 \pm 3,82\%$. Kết quả nghiên cứu khẳng định vai trò quan trọng của tương tác hiệp đồng giữa các cao chiết trong việc nâng cao khả năng ức chế đối với vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.

Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) (Bảng 3.5) đối với mô hình Reduced Special Quartic, cho thấy mô hình được lựa chọn là phù hợp và có độ tương thích cao với dữ liệu thực nghiệm trong nghiên cứu tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn các cao chiết nhằm ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*. Trước hết, giá trị F của mô hình đạt 87,02 với p-value rất nhỏ ($9,79 \times 10^{-10}$), cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê và khả năng mô hình này xuất hiện do nhiễu là cực kỳ thấp ($< 0,01\%$). Điều này khẳng định rằng các yếu tố trong mô hình có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả ức chế. Các thành phần hỗn hợp A (*E. fortune*), B (*A. mangium*), C (*C. indicum*), cùng với tương tác BC và thành phần bậc cao A²BC đều có p-value $< 0,05$, do đó là các yếu tố có ý nghĩa trong

mô hình. Mặc dù một số hiệu ứng như AB và AC không đạt mức ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), nhưng việc giữ các hiệu ứng này là hợp lý nếu xét đến yêu cầu duy trì tính thứ bậc (hierarchy) của mô hình.

Bên cạnh đó, kiểm định Lack of Fit cho thấy mô hình không có sai số phù hợp đáng kể so với sai số thuần ($F = 1,10$; $p = 0,4466$), chứng tỏ mô hình đã phản ánh tốt xu hướng biến động của dữ liệu thực nghiệm và không có hiện tượng sai số có hệ thống chưa được giải thích.

Tổng hợp các yếu tố trên, có thể kết luận rằng mô hình Reduced Special Quartic là lựa chọn phù hợp để mô tả và dự đoán hiệu quả ức chế của các hỗn hợp cao chiết, đồng thời có thể được sử dụng tin cậy trong quá trình tối ưu hóa công thức phối trộn. Bề mặt đáp ứng (RSM) của mô hình đối với dữ liệu về hỗn hợp cao chiết được biểu diễn dưới đây.



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

Bảng 3.5. Phân tích phương sai (ANOVA) cho mô hình *Reduced Special Quartic* với biến đáp ứng là hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*

Nguồn biến (Source)	Tổng bình phương (Sum of Squares)	Bậc tự do (df)	Trung bình bình phương (Mean Square)	Giá trị F (F-value)	Giá trị p (p -value)	Ý nghĩa thống kê
Mô hình (Model)	2910,2053	6	485,0342	87,02	$9,79 \times 10^{-10}$	Có ý nghĩa
Hỗn hợp tuyến tính	339,9638	2	169,9819	30,50	$1,23 \times 10^{-5}$	Có ý nghĩa
Tương tác AB	4,8966	1	4,8966	0,88	0,3657	Không ý nghĩa
Tương tác AC	19,7181	1	19,7181	3,54	0,0826	Không ý nghĩa
Tương tác BC	881,0892	1	881,0892	158,08	$1,19 \times 10^{-8}$	Có ý nghĩa
Tương tác bậc cao A^2BC	332,8235	1	332,8235	59,71	$3,26 \times 10^{-6}$	Có ý nghĩa
Phần dư (Residual)	72,4599	13	5,5738			
Sai lệch không phù hợp	35,1190	6	5,8532	1,10	0,4466	Không ý nghĩa
Sai số thuần túy	37,3409	7	5,3344			
Tổng cộng	2982,6653	19				

Chú thích biến:

- **A:** Tỷ lệ (%) cao chiết từ *Eupatorium fortune*
- **B:** Tỷ lệ (%) cao chiết từ lá keo *Acacia mangium*
- **C:** Tỷ lệ (%) cao chiết từ *Chrysanthemum indicum*

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

Bảng 3.6. Tỷ lệ tối ưu được đề xuất từ RSM của các cao chiết trong hỗn hợp

STT	% <i>E. fortune</i>	% <i>A. mangium</i>	% <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

Bảng 3.6 cho thấy 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 màn 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 của các hợp chất và các hỗn hợp cao chiết đã tối ưu hoá trên các mô hình động vật thủy sinh để đảm bảo tính an toàn và đa dạng hóa ứng dụng của các hợp chất và cao chiết này.

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 mangium*). *Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học* 29(4), 45-51

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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Committee FoCE, **2008**, *Flora of China*.
- [2] Xuesong W, Jun X, Tiejun Z, Changqing C, **2015**, Research progress in chemical constituents of *Chrysanthemum indicum* and their quality assessment, *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 46(3), 443-452.
- [3] Mei-Hua G, Hua L, Li Z, Shu-Xiong X, **2008**, Studies on chemical constituents from flowers of *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Chinese medicinal materials*, 31, 682-684.
- [4] Chulwon K, Moo-Chang K, Sung-Moo K, Dongwoo N, Seung-Hoon C, Sung-Hoon K, Seok AK, Ha LE, Hoon JS, Seok AK, **2013**, *Chrysanthemum indicum* L. Extract Induces Apoptosis through Suppression of Constitutive STAT3 Activation in Human Prostate Cancer DU145 Cells, *Phytotherapy Research*, 27(1), 30-38.
- [5] Jinyue W, Dong C, Lijuan L, Peifeng X, Pengfei T, **2010**, Chemical constituents from flowers of *Chrysanthemum indicum*, *China Journal of Chinese materia medica*, 35(6), 718-721.
- [6] Hongyun Z, Changshun W, Cungui C, **2013**, Studies on Chemical Constituents from *Chrysanthemum Indicum* L, *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 30(1), 31-35.
- [7] Wu T, Jiang C, Wang L, Morris-Natschke, L. S, Miao H, Gu L, Xu J, Lee K-H, Gu Q, **2015**, 3,5-Diarylpyrazole Derivatives Obtained by Ammonolysis of the Total Flavonoids from *Chrysanthemum indicum* Extract Show Potential for the Treatment of Alzheimer's Disease, *Journal of Natural Products*, 78(7), 1593-1599.
- [8] Yi T, Mei-Hua G, Yao M, **2009**, Studies on flavones from Flos *Chrysanthemi Indici*, *Journal of Chinese medicinal materials*, 32, 1532-1534.
- [9] Feng X, Wang X, Liu Y, Di X, **2015**, Linarin Inhibits the Acetylcholinesterase Activity *in vitro* and *ex vivo*, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(3), 949-954.
- [10] Fernández S, Wasowski C, Paladini A, Marder M, **2004**, Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis*, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(2), 399-404.
- [11] Xiang H, Yi-Chen W, Min M, Qing-Song S, Su-Min G, Hong S, **2018**, Linarin prevents LPS-induced acute lung injury by suppressing oxidative stress and inflammation via inhibition of TXNIP/NLRP3 and NF- κ B pathways, *International Journal of Molecular Medicine*, 42(3), 1460-1472.
- [12] Bomi K, Hun LJ, Myung-Ji S, Hyun ES, Wooki K, **2016**, Linarin down-regulates phagocytosis, pro-inflammatory cytokine production, and activation marker expression in RAW264.7 macrophages, *Food Science and Biotechnology*, 25(5), 1437-1442.
- [13] Luyen BTT, Tai BH, Thao NP, Lee YM, Lee SH, Jang HD, Kim YH, **2015**, The Anti-Osteoporosis and Antioxidant Activities of Chemical Constituents from *Chrysanthemum indicum* Flowers, *Phytotherapy Research*, 29(4), 540-548.
- [14] Luyen BTT, Tai BH, Thao NP, Cha JY, Lee HY, Lee YM, Kim YH, **2015**, Anti-inflammatory components of *Chrysanthemum indicum* flowers, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(2), 266-269.
- [15] Sun Y, Ma X, Liu J, **2012**, Compounds from fraction with cardiovascular activity of *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Chinese medicinal materials*, 37(1), 61-65.

- [16] Matsuda H, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Yoshikawa M, **2002**, Medicinal Flowers. VI. Absolute Stereostructures of Two New Flavanone Glycosides and a Phenylbutanoid Glycoside from the Flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: Their Inhibitory Activities for Rat Lens Aldose Reductase, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(7), 972-975.
- [17] Luo P, Cheng Y, Yin Z, Li C, Xu J, Gu Q, **2019**, Monomeric and Dimeric Cytotoxic Guaianolide-Type Sesquiterpenoids from the Aerial Parts of *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Natural Products*, 82(2), 349-357.
- [18] Jiao H, Qian Z, Cuiying M, Gabriel G, Kaishun B, Qing L, **2021**, An Effective Workflow for Differentiating the Same Genus Herbs of *Chrysanthemum morifolium* Flower and *Chrysanthemum Indicum* Flower, *Frontiers in Pharmacology*, 12, art. ID. 575726.
- [19] Masayuki Y, Toshio M, Toshiyuki M, Iwao T, Shoichi H, Hisashi M, **1999**, Medicinal Flowers. I. Aldose Reductase Inhibitors and Three New Eudesmane-Type Sesquiterpenes, Kikkanols A, B, and C, from the Flowers of *Chrysanthemum indicum* L, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(3), 340-345.
- [20] Deng Q, Feng Z, **1993**, A new sesquiterpene from *Chrysanthemum indicum*, *Chinese Chemical Letters*, 4, 893-894.
- [21] Xue G-M, Li X-Q, Chen C, Chen K, Wang X-B, Gu Y-C, Luo J-G, Kong L-Y, **2018**, Highly Oxidized Guaianolide Sesquiterpenoids with Potential Anti-inflammatory Activity from *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Natural Products*, 81(2), 378-386.
- [22] Gu Q, Chen Y, Cui H, Huang D, Zhou J, Wu T, Chen Y, Shi L, Xu J, **2013**, Chrysanolide A, an unprecedented sesquiterpenoid trimer from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L, *RSC Advances*, 3(26), 10168-10172.
- [23] Liu L-L, Ha TKQ, Ha W, Oh WK, Yang J-L, Shi Y-P, **2017**, Sesquiterpenoids with Various Carbocyclic Skeletons from the Flowers of *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Natural Products*, 80(2), 298-307.
- [24] Liu L, Wang R, Yang J, Shi Y, **2012**, Five New Sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum*, *Chinese Journal of Chemistry*, 30(6), 1255-1260.
- [25] Zhou J, Wang J-S, Zhang Y, Wang P-R, Guo C, Kong L-Y, **2012**, Disesquiterpenoid and Sesquiterpenes from the Flos of *Chrysanthemum indicum*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60(8), 1067-1071.
- [26] Mladenova K, Tsankova E, Stoianova-Ivanova B, **1985**, Sesquiterpene Lactones from *Chrysanthemum indicum*, *Planta Medica*, 51(03), 284-285.
- [27] Yoshikawa M, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Matsuda H, **2000**, Medicinal Flowers. II. Inhibitors of Nitric Oxide Production and Absolute Stereostructures of Five New Germacrane-Type Sesquiterpenes, Kikkanols D, D Monoacetate, E, F, and F Monoacetate from the Flowers of *Chrysanthemum indicum* L, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48(5), 651-656.
- [28] Wang J-S, Zhou J, Kong L-Y, **2012**, Three new germacrane-type sesquiterpene stereoisomers from the flowers of *Chrysanthemum indicum*, *Fitoterapia*, 83(8), 1675-1679.
- [29] Yang J-L, Liu L-L, Shi Y-P, **2019**, Two New Eudesmane Sesquiterpenoids from the Flowers of *Chrysanthemum indicum*, *Natural Products and Bioprospecting*, 9(2), 145-148.

- [30] Chen J, Yang X, Li B, Yang K, Wang Y, Sun K, Zhang Y, Zhu W, **2019**, A New Sesquiterpenoid from *Chrysanthemum indicum*, *Chemistry of Natural Compounds*, 55(6), 1076-1079.
- [31] Guo Q, Fang H, Shen H, **2010**, Determination of chlorogenic acid, caffeic acid and linarin in Flos *Chrysanthemi indicis* from different places by RP-HPLC, *China Journal of Chinese Materia Medica*, 35(9), 1160-1163.
- [32] Wang X-L, Peng S-L, Liang J, Yu K-B, **2006**, (3 β ,5 α ,6 β ,7 β ,14 β)-Eudesmen-3,5,6,11-tetrol methanol solvate: a new sesquiterpenoid from *Chrysanthemum indicum* L., *Acta Crystallographica Section E*, 62(8), 3570-3571.
- [33] Liu L-L, Wang R, Shi Y-P, **2011**, Chrysindins A–D, Polyacetylenes from the Flowers of *Chrysanthemum indicum*, *Planta Med*, 77(16), 1806-1810.
- [34] Cheng W, Li J, **2005**, A new compound from the bud of *Chrysanthemum indicum* L, *Chinese Chemical Letters*, 16, 1341-1342.
- [35] Nikolova M, Anatoli D, **2009**, Evaluation of Free Radical Scavenging Capacity of Extracts from Cultivated Plants, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(1), 109-111.
- [36] Yan Y, Lou X, Jiang H, **1999**, Experimental studies on the anti oxidation effects of water extract from *Chrysanthemum indicum* L, *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 6, 16-18.
- [37] Kim I-S, Ko H-M, Koppula S, Kim B-W, Choi D-K, **2011**, Protective effect of *Chrysanthemum indicum* Linne against 1-methyl-4-phenylpyridinium ion and lipopolysaccharide-induced cytotoxicity in cellular model of Parkinson's disease, *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 963-973.
- [38] Lee DY, Choi G, Yoon T, Cheon MS, Choo BK, Kim HK, **2009**, Anti-inflammatory activity of *Chrysanthemum indicum* extract in acute and chronic cutaneous inflammation, *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1), 149-154.
- [39] Kim W-W, Ghimeray AK, Wu JC, Eom SH, Lee B-G, Kang W-S, Cho D-H, **2012**, Effect of far infrared drying on antioxidant property, anti-inflammatory activity, and inhibitory activity in A549 cells of Gamguk (*Chrysanthemum indicum* L.) flower, *Food Science and Biotechnology*, 21(1), 261-265.
- [40] Yang WS, Kim D, Yi Y-S, Kim JH, Jeong HY, Hwang K, Kim J-H, Park J, Cho JY, **2017**, AKT-targeted anti-inflammatory activity of the methanol extract of *Chrysanthemum indicum* var. albescens, *Journal of Ethnopharmacology*, 201, 82-90.
- [41] Yu S-H, Sun X, Kim M-K, Akther M, Han J-H, Kim T-Y, Jiang J, Kang T-B, Lee K-H, **2019**, *Chrysanthemum indicum* extract inhibits NLRP3 and AIM2 inflammasome activation via regulating ASC phosphorylation, *Journal of Ethnopharmacology*, 239, art. ID. 111917.
- [42] Wu X-L, Feng X-X, Li C-W, Zhang X-J, Chen Z-W, Chen J-N, Lai X-P, Zhang S-X, Li Y-C, Su Z-R, **2014**, The Protective Effects of the Supercritical-Carbon Dioxide Fluid Extract of *Chrysanthemum indicum* against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice via Modulating Toll-Like Receptor 4 Signaling Pathway, *Mediators of Inflammation*, 2014(1), art. ID. 246407.
- [43] Li Z-F, Wang Z-D, Ji Y-Y, Zhang S, Huang C, Li J, Xia X-M, **2009**, Induction of apoptosis and cell cycle arrest in human HCC MHCC97H cells with *Chrysanthemum indicum* extract, *World Journal of Gastroenterol*, 15(36), 4538-4546.

- [44] Kim C, Kim M-C, Kim S-M, Nam D, Choi S-H, Kim S-H, Ahn KS, Lee EH, Jung SH, Ahn KS, **2013**, *Chrysanthemum indicum* L. Extract Induces Apoptosis through Suppression of Constitutive STAT3 Activation in Human Prostate Cancer DU145 Cells, *Phytotherapy Research*, 27(1), 30-38.
- [45] Kim J-E, Jun S, Song M, Kim J-H, Song Y-J, **2012**, The extract of *Chrysanthemum indicum* Linne inhibits EBV LMP1-induced NF- κ B activation and the viability of EBV-transformed lymphoblastoid cell lines, *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1524-1528.
- [46] Yuan A, Li Z, Li X, Yi S, Wang S, Shi K, Bian J, **2009**, Distinct effect of *Chrysanthemum indicum* Linné extracts on isoproterenol-induced growth of human hepatocellular carcinoma cells, *Oncology Reports*, 22(6), 1357-1363.
- [47] Pongjit K, Ninsontia C, Chaotham C, Chanvorachote P, **2011**, Protective effect of Glycine max and *Chrysanthemum indicum* extracts against cisplatin-induced renal epithelial cell death, *Human & Experimental Toxicology*, 30(12), 1931-1944.
- [48] Yang H-M, Sun C-Y, Liang J-L, Xu L-Q, Zhang Z-B, Luo D-D, Chen H-B, Huang Y-Z, Wang Q, Lee DY, Yuan J, Li Y-C, **2017**, Supercritical-Carbon Dioxide Fluid Extract from *Chrysanthemum indicum* Enhances Anti-Tumor Effect and Reduces Toxicity of Bleomycin in Tumor-Bearing Mice, *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 465.
- [49] Jung E-K, **2009**, Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Chrysanthemum indicum* Against Oral Bacteria, *Journal of Bacteriology and Virology*, 39(2), 61-69.
- [50] Shunying Z, Yang Y, Huaidong Y, Yue Y, Guolin Z, **2005**, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*, *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1), 151-158.
- [51] Xiao-ping C, **2013**, Comparative study on bacteriostatic efficacy of honeysuckle and wild chrysanthemum, *Journal of Jining Medical University*, 36, 97-99.
- [52] Li Z, Fang X, Hu X, Li C, Wan Y, Yu D, **2023**, Amelioration of alcohol-induced acute liver injury in C57BL/6 mice by a mixture of TCM phytochemicals and probiotics with antioxidative and anti-inflammatory effects, 10,
- [53] Xuebing W, Hongying Z, Duanhong X, Baoan C, Xiaojing C, Xin L, Jiao M, **2009**, Effects of several Chinese traditional medicine extracts on several fowl viruses in chicken embryo, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 25(13), 5-9.
- [54] Sharma N, Radha, Kumar M, Kumari N, Puri S, Rais N, Natta S, Dhumal S, Navamaniraj N, Chandran D, Mohankumar P, Muthukumar M, Senapathy M, Deshmukh V, Damale RD, Anitha T, Balamurugan V, Sathish G, Lorenzo JM, **2023**, Phytochemicals, therapeutic benefits and applications of chrysanthemum flower: A review, *Heliyon*, 9(10), art. ID. 20232.
- [55] Maslin BR, Miller JT, Seigler DS, **2003**, Overview of the generic status of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae), *Australian Systematic Botany*, 16(1), 1-18.
- [56] Mazlan YK, Hori K, Zakri M, **2001**, Flavonol glycosides from the leaves of *Acacia mangium* and related species, *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 7(1), 109-112.
- [57] Malan E, Roux DG, **1975**, Flavonoids and tannins of *Acacia* species, *Phytochemistry*, 14(8), 1835-1841.

- [58] Hong SS, Choi Y-H, Suh H-J, Kang M-J, Shin J-H, Kwon O-O, Oh JS, **2015**, Flavonoid Constituents of *Acacia catechu*, *Journal of Applied Biological Chemistry*, 58(2), 189-194.
- [59] Al-Huqail AA, Behiry SI, Salem MZM, Ali HM, Siddiqui MH, Salem AZM, **2019**, Antifungal, Antibacterial, and Antioxidant Activities of *Acacia saligna* (Labill.) H. L. Wendl. Flower Extract: HPLC Analysis of Phenolic and Flavonoid Compounds, *Molecules*, 24(4), 700.
- [60] Kim A, Choi J, Htwe KM, Chin Y-W, Kim J, Yoon KD, **2015**, Flavonoid glycosides from the aerial parts of *Acacia pennata* in Myanmar, *Phytochemistry*, 118, 17-22.
- [61] Wu J-H, Tung Y-T, Wang S-Y, Shyur L-F, Kuo Y-H, Chang S-T, **2005**, Phenolic Antioxidants from the Heartwood of *Acacia confusa*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5917-5921.
- [62] Ee KY, Agboola S, Rehman A, Zhao J, **2011**, Characterisation of phenolic components present in raw and roasted wattle (*Acacia victoriae* Benth) seeds, *Food Chemistry*, 129(3), 816-821.
- [63] Li XC, Yang LX, Wang HQ, Chen RY, **2011**, Phenolic compounds from the aqueous extract of *Acacia catechu*, *Chinese Chemical Letters*, 22(11), 1331-1334.
- [64] Pedro SI, Rosado T, Barroca C, Neiva D, Alonso-Herranz V, Gradillas A, García A, Gominho J, Gallardo E, Anjos O, **2022**, Characterisation of the Phenolic Profile of *Acacia retinodes* and *Acacia mearnsii* Flowers' Extracts, *Plants*, 11(11), 1442.
- [65] Ogawa S, Yazaki Y, **2018**, Tannins from *Acacia mearnsii* De Wild. Bark: Tannin Determination and Biological Activities, *Molecules*, 23(4), 837.
- [66] Song Y, Li R, Song W, Tang Y, Sun S, Mao G, **2023**, *Microcystis* spp. and phosphorus in aquatic environments: A comprehensive review on their physiological and ecological interactions, *Science of The Total Environment*, 878, 163136.
- [67] Mohan R, Anjaly MA, Thomas LC, Padmakumar KB, **2023**, Occurrence and toxicity of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in freshwater ecosystems of the Indian subcontinent: a review, *Energy, Ecology and Environment*, 8(4), 332-343.
- [68] Oberholster P, Botha A-M, Grobbelaar J, **2004**, *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water, *African Journal of Biotechnology*, 3(3), 159-168.
- [69] Harke MJ, Steffen MM, Gobler CJ, Otten TG, Wilhelm SW, Wood SA, Paerl HW, **2016**, A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp, *Harmful Algae*, 54, 4-20.
- [70] Kong Y, Wang Y, Miao L, Mo S, Li J, Zheng X, **2022**, Recent Advances in the Research on the Anticyanobacterial Effects and Biodegradation Mechanisms of *Microcystis aeruginosa* with Microorganisms, 10(6), 1136.
- [71] Liu H, Chen S, Zhang H, Wang N, Ma B, Liu X, Niu L, Yang F, Xu Y, Zhang X, **2023**, Effects of copper sulfate algicide on the cell growth, physiological characteristics, the metabolic activity of *Microcystis aeruginosa* and raw water application, *Journal of Hazardous Materials*, 445, 130604.
- [72] Douma M, Tazart Z, Tebaa L, El Bouaidi W, Hakkoum Z, Minaoui F, Lazrak K, Manaut N, Mouhri K, Loudiki M, **2021**, Algicidal effect of extracts from a green macroalgae (*Chara Vulgaris*) on the growth of the potentially toxic cyanobacterium (*Microcystis Aeruginosa*), *Applied Ecology and Environmental Research*, 19(6), 4781-4794.

- [73] Sun S, Tang Q, Xu H, Gao Y, Zhang W, Zhou L, Li Y, Wang J, Song C, **2023**, A comprehensive review on the photocatalytic inactivation of *Microcystis aeruginosa*: Performance, development, and mechanisms, *Chemosphere*, 312, art.ID 137239.
- [74] Teixeira MR, Rosa MJ, **2006**, Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*: Part I: The key operating conditions, *Separation and Purification Technology*, 52(1), 84-94.
- [75] Kong Y, Wang Q, Chen Y, Xu X, Zhu L, Yao H, Pan H, **2020**, Anticyanobacterial process and action mechanism of Streptomyces sp. HJC-D1 on, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 39(4), e13392.
- [76] Yu-Mei L, Ming-Jun C, Meng-Hui W, Rui-Bao J, **2013**, Inhibition of *Microcystis aeruginosa* by the Extracellular Substances from an Aeromonas sp, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(9), 1304-1307.
- [77] Tazart Z, Manganelli M, Scardala S, Buratti FM, Nigro Di Gregorio F, Douma M, Mouhri K, Testai E, Loudiki M, **2021**, Remediation Strategies to Control Toxic Cyanobacterial Blooms: Effects of Macrophyte Aqueous Extracts on *Microcystis aeruginosa* (Growth, Toxin Production and Oxidative Stress Response) and on Bacterial Ectoenzymatic Activities, *Microorganisms*, 9(8), 1782.
- [78] Liu L, Chen Y, Liu H, Wu R, Tong X, Yin M, Liu B, **2022**, Ecotoxicological effects of total flavonoids in Cirsium japonicum DC on *Microcystis aeruginosa*, *Water Supply*, 22(6), 5882-5893.
- [79] Tian L, Chen M, Ren C, Wang Y, Li L, **2018**, Anticyanobacterial effect of l-lysine on *Microcystis aeruginosa*, *RSC Advances*, 8(38), 21606-21612.
- [80] Kim W, Park Y, Jung J, Jeon CO, Toyofuku M, Lee J, Park W, **2024**, Biological and Chemical Approaches for Controlling Harmful *Microcystis* Blooms, *Journal of Microbiology*, 62(3), 249-260.
- [81] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, Murakami A, **2000**, Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*, *Water Research*, 34(11), 3026-3032.
- [82] L. L, Pan XL, Mu G, **2020**, Toxic effects of potassium permanganate on photosystem II activity of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*, *Photosynthetica*, 58(1), 54-60.
- [83] Hong Y, Hu H-Y, Xie X, Sakoda A, Sagehashi M, Li F-M, **2009**, Gramine-induced growth inhibition, oxidative damage and antioxidant responses in freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, *Aquatic Toxicology*, 91(3), 262-269.
- [84] Pham TN, Dien PH, Kim DD, Thuy DT, Quynh LTP, Duong NQ, and Nguyen Tien D, **2019**, Anticyanobacterial phenolic constituents from the aerial parts of Eupatorium fortunei Turcz, *Natural Product Research*, 33(9), 1345-1348.
- [85] Duong TT, Jähnichen S, Le TPQ, Ho CT, Hoang TK, Nguyen TK, Vu TN, Dang DK, **2014**, The occurrence of cyanobacteria and microcystins in the Hoan Kiem Lake and the Nui Coc reservoir (North Vietnam), *Environmental Earth Sciences*, 71(5), 2419-2427.
- [86] Luu PT, Son DT, Kazuya S, Chi DHL, Motoo U, **2015**, Isolation and characterization of microcystin-producing cyanobacteria from Dau Tieng Reservoir, Vietnam, *Nova Hedwigia*, 101(1-2), 3-20.

- [87] Dao T-S, Nimptsch J, Wiegand C, **2016**, Dynamics of cyanobacteria and cyanobacterial toxins and their correlation with environmental parameters in Tri An Reservoir, Vietnam, *Journal of Water and Health*, 14(4), 699-712.
- [88] Nguyen H-Q, Ha N-T, Pham T-L, **2020**, Inland harmful cyanobacterial bloom prediction in the eutrophic Tri An Reservoir using satellite band ratio and machine learning approaches, *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 9135-9151.
- [89] Duong TT, Le TS, Tran TTH, Nguyen TK, Ho CT, Dao TH, Le TPQ, Nguyen HC, Dang DK, Le TTH, Ha PT, **2016**, Inhibition effect of engineered silver nanoparticles to bloom forming cyanobacteria, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(3), 035018.
- [90] Van Nguyen Q, Tran TH, Pham TN, Van Thuoc D, Cao VD, Boo K-H, **2019**, Inhibitory Effects of *Bidens pilosa* Plant Extracts on the Growth of the Bloom-Forming Alga *Microcystis aeruginosa*, *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(1), 24.
- [91] Thanh PT, Nghia NH, La NT, Nguyet NTM, Binh PT, Loan VTK, Hien NTT, Huy TT, Zlabek V, Tuyen NV, Giang PT, **2021**, Inhibitory effect of dry rice straw extract on *Microcystis aeruginosa*, *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, 9(130), 79-84.
- [92] Dương Thị Thuỷ, Hồ Tú Cường, Lê Thị Phương Quỳnh, Nguyễn Tiến Đạt, Phạm Thanh Nga, Vũ Thị Nguyệt, Đặng Đình Kim, **2015**, Đánh giá hiệu quả ức chế sinh trưởng của dịch chiết cây mần tưới *Eupatorium fortune* Turcz lên quần xã thực vật phù du hồ Hoàn Kiếm, *Tạp chí Sinh học*, 37(2), 164-169.
- [93] Nga PT, Dien PH, Van Quyen N, HoaiThuong T, Dat NT, ThiThuy D, Kim DD, **2017**, Inhibitory effect of different *Eupatorium fortunei* turcz extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*, *Vietnam Journal of Science Technology*, 55(4C), 103-108.
- [94] Phạm Thanh Nga, Dương Thị Thuỷ, Đặng Đình Kim, **2014**, Nghiên cứu tác dụng diệt vi khuẩn lam độc *Microcystis aeruginosa* của dịch chiết cây mần tưới *Eupatorium fortune* TURCZ, *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm Hà Nội*, 54(6BC), 104-109.
- [95] Amarasekara AS, Singh TB, Larkin E, Hasan MA, Fan H-J, **2015**, NaOH catalyzed condensation reactions between levulinic acid and biomass derived furan-aldehydes in water, *Industrial Crops and Products*, 65, 546-549.
- [96] Salli E, Seija P, Eila B, **1968**, β - and δ -Furfurallevulinic acids and their derivatives, *Suomen Kemistilehti B* 41(1), 10-16.
- [97] Woodward RB, **1971**, Recent advances in the chemistry of natural products, *Pure and Applied Chemistry*, 25(1), 283-304.
- [98] Van Loo P, De Bruyn A, Buděšínský M, **1986**, Reinvestigation of the structural assignment of signals in the ¹H and ¹³C NMR spectra of the flavone apigenin, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 24(10), 879-882.
- [99] Kim JG, Lee JW, Le TPL, Han JS, Cho YB, Kwon H, Lee D, Lee MK, Hwang BY, **2021**, Sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum* with Inhibitory Effects on NO Production, *Journal of Natural Products*, 84(3), 562-569.
- [100] Guzmán-Gutiérrez SL, Reyes-Chilpa R, González-Diego LR, Silva-Miranda M, López-Caamal A, García-Cruz KP, Jiménez-Mendoza MS, Arciniegas A, Espitia C, **2023**, Five centuries of *Cirsium ehrenbergii* Sch. Bip. (Asteraceae) in Mexico, from Huitzquiltil to Cardo Santo: History, ethnomedicine, pharmacology and chemistry, *Journal of Ethnopharmacology*, 301, art. ID. 115778.

- [101] Lin Z, Fang Y, Huang A, Chen L, Guo S, Chen J, **2014**, Chemical constituents from *Sedum aizoon* and their hemostatic activity, *Pharmaceutical Biology*, 52(11), 1429-1434.
- [102] Phuong TTT, Dang NH, Anh NTH, Giang DH, Tien DN, **2023**, A New Megastigmane Glycoside and Other Constituents from *Amomum muricarpum* Elmer, *Records of Natural Products*, 17(1), 184-188.
- [103] Shao J-H, Jia C, Xiao-Qing X, Chun-Chao Z, Zi-Ling D, Wen-Yan L, and Shen J, **2019**, Chemical constituents and biological activities of *Viburnum macrocephalum* f. *keteleeri*, *Natural Product Research*, 33(11), 1612-1616.
- [104] Fukunaga T, Nishiya K, Kajikawa I, Watanabe Y, Suzuki N, Takeya K, Itokawa H, **1988**, Chemical Studies on the Constituents of *Hyphear Tanakae* Hosokawa from Different Host Trees, *Chemical & Pharmaceutical Buletin*, 36(3), 1180-1184.
- [105] Ward RS, **1989**, *Carbon-13 NMR of flavonoids*, John Wiley & Sons, Ltd, Amsterdam.
- [106] Leite JPV, Rastrelli L, Romussi G, Oliveira AB, Vilegas JHY, Vilegas W, Pizza C, **2001**, Isolation and HPLC Quantitative Analysis of Flavonoid Glycosides from Brazilian Beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3796-3801.
- [107] Lee SY, So YJ, Shin MS, Cho JY, Lee J, **2014**, Antibacterial effects of afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals, *Molecules*, 19(3), 3173-3180.
- [108] Adeniyi O, Baptista R, Bhowmick S, Cookson A, Nash RJ, Winters A, Shen J, Mur LAJ, **2022**, Isolation and Characterisation of Quercitrin as a Potent Anti-Sickle Cell Anaemia Agent from *Alchornea cordifolia*, *Journal of Clinical Medicine*, 11(8), 2177-2192.
- [109] de Oliveira Silva D, Conceição Santos MF, de Jesus Nicácio K, Neto AK, Ghilardi Lago JH, Chagas-Paula DA, Dias DF, Soares MG, **2023**, Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Acacia polyphylla* and identification of a new apigenin-3-C- glycosylated type flavonoid, *Natural Product Research*, 1-6.
- [110] Napolitano JG, Lankin DC, Chen S-N, Pauli GF, **2012**, Complete ¹H NMR spectral analysis of ten chemical markers of *Ginkgo biloba*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 50(8), 569-575.
- [111] Seo K-H, Baek M-Y, Lee D-Y, Cho J-G, Kang H-C, Ahn E-M, Baek N-I, Lee Y-H, **2011**, Isolation of Flavonoids and Lignans from the Stem Wood of *Lindera obtusiloba* Blume., *Journal of Applied Biological Chemistry*, 54(3), 178-183.
- [112] Fuchino H, Satoh T, Tanaka N, **1995**, Chemical Evaluation of *Betula* Species in Japan. I. Constituents of *Betula ermanii*, *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, 43(11), 1937-1942.
- [113] Hara Y, Totsugi Y, Ichikawa H, Harada S, Fujii K, Ahmed F, Sadhu SK, Arai MA, Ishibashi M, **2021**, Acacienone, a terpenoid-like natural product having an unprecedented C20 framework isolated from *Acacia mangium* leaves, *Journal of Natural Medicines*, 75(1), 99-104.