

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*)**

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*)

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ



Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 1

PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh

Người hướng dẫn 2

PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Hà Nội – 2025

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 20 tháng 8 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.

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới và PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh và PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt, những thầy cô đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cũng như luôn động viên và ủng hộ để tôi có thể hoàn thành tốt nhất luận án của mình.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo, các cán bộ thuộc Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất, trang thiết bị nghiên cứu và giúp đỡ tôi hết sức nhiệt tình trong suốt quá trình thực nghiệm và hoàn thành mọi thủ tục cần thiết trong quá trình làm nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Lãnh đạo, Phòng Đào tạo, Khoa Hóa học và các Phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu để luận án của tôi được hoàn thành.

Tôi xin chân thành cảm ơn các nhà khoa học đã giúp đỡ, đóng góp nhiều ý kiến quý báu liên quan đến luận án cũng như đánh giá chất lượng luận án để bản luận án được hoàn thiện hơn.

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 luận án



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	67
3.1.6.	Hợp chất CI6	71
3.1.7.	Hợp chất CI7	76
3.1.8.	Hợp chất CI8	82
3.1.9.	Hợp chất CI9	86
3.1.10.	Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ hoa cúc vàng	89
3.2.	Xác định cấu trúc các hợp chất từ keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	90
3.2.1.	Hợp chất AM1 (chất mới)	90
3.2.2.	Hợp chất AM2 (chất mới)	98
3.2.3.	Hợp chất AM3	105
3.2.4.	Hợp chất AM4	111
3.2.5.	Hợp chất AM5	117

3.2.6.	Hợp chất AM6	122
3.2.7.	Hợp chất AM7	124
3.2.8.	Hợp chất AM8	129
3.2.9.	Hợp chất AM9	132
3.2.10.	Hợp chất AM10	135
3.2.11.	Hợp chất AM11	141
3.2.12.	Bàn luận về kết quả phân lập các chất từ lá keo.....	147
3.3.	Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> của các hợp chất phân lập được	148
3.4.	Xác định tỷ lệ phối trộn tối ưu cho hỗn hợp cao chiết ức chế vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	149
3.4.1.	Đánh giá hoạt tính của các cao chiết riêng lẻ và một số hỗn hợp cao chiết	150
3.4.2.	Tỷ lệ tối ưu của hỗn hợp cao chiết diệt ức chế vi khuẩn lam <i>Microcystis aeruginosa</i>	151
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....		155
KẾT LUẬN.....		155
KIẾN NGHỊ.....		155
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN		156
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN		157
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....		158

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.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI4 và acacetin	62
Bảng 3.4.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI5 và apigenin.....	67
Bảng 3.5.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI6 và acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside	73
Bảng 3.6.	Số liệu phổ NMR của hợp chất CI7 và acacetin 7-O-rutinoside.....	77
Bảng 3.7.	Hoạt tính ức chế <i>M. aeruginosa</i> của một số hợp chất được phân lập .	148
Bảng 3.8.	Hoạt tính ức chế vi khuẩn lam <i>M. aeruginosa</i> của các cao chiết và hỗn hợp cao chiết	150
Bảng 3.9.	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>	153

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	64
Hình 3.22.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI4	65
Hình 3.23.	Phổ DEPT của hợp chất CI4	66
Hình 3.24.	Cấu trúc hợp chất CI5	67
Hình 3.25.	Phổ ^1H NMR của hợp chất CI5	68
Hình 3.26.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI5	69
Hình 3.27.	Phổ DEPT của CI5	70
Hình 3.28.	Cấu trúc của acacetin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (CI6).....	71
Hình 3.29.	Phổ khối lượng ESI-MS của CI6	71
Hình 3.30.	Phổ ^1H -NMR của CI6	72
Hình 3.31.	Phổ ^{13}C -NMR của CI6	74
Hình 3.32.	Phổ DEPT của CI6	75
Hình 3.33.	Cấu trúc của acacetin 7- <i>O</i> -rutinoside (CI7).....	76
Hình 3.34.	Phổ khối lượng ESI-MS của CI7	76
Hình 3.35.	Phổ ^1H -NMR của CI7	79
Hình 3.36.	Phổ ^{13}C -NMR của CI7	80
Hình 3.37.	Phổ DEPT của CI7	81
Hình 3.38.	Cấu trúc của apigenin 7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (CI8)	82
Hình 3.39.	Phổ ^1H -NMR của CI8	83
Hình 3.40.	Phổ ^{13}C -NMR của CI8	84
Hình 3.41.	Phổ DEPT của CI8	85
Hình 3.42.	Cấu trúc hợp chất p-hydroxybenzoic acid.....	86
Hình 3.43.	Phổ ^1H NMR của hợp chất CI9	87
Hình 3.44.	Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI9	88
Hình 3.45.	Các hợp chất được phân lập từ cúc hoa vàng.....	89
Hình 3.46.	Cấu trúc của hợp chất mới acacienoside A	90

Hình 3.47.	Phổ HR-ESI-MS của hợp chất mới acacienoside A.....	90
Hình 3.48.	Phổ ^1H NMR của AM1	92
Hình 3.49.	Phổ ^{13}C NMR của AM1	93
Hình 3.50.	Phổ HSQC của AM1	94
Hình 3.51.	Phổ COSY của AM1	95
Hình 3.52.	Phổ HMBC của AM1	96
Hình 3.53.	Phổ NOESY của AM1	97
Hình 3.54.	Cấu trúc của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside	98
Hình 3.55.	Phổ HRMS của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside	98
Hình 3.56.	Các tương tác HMBC  và NOESY  đặc trưng của acacionoside 3-glucoside	99
Hình 3.57.	Phổ ^1H NMR của AM2	100
Hình 3.58.	Phổ ^{13}C NMR của AM2	101
Hình 3.59.	Phổ HSQC của của AM2	102
Hình 3.60.	Phổ HMBC của AM2	103
Hình 3.61.	Phổ NOESY của AM2	104
Hình 3.62.	Cấu trúc của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	105
Hình 3.63.	Phổ ^1H NMR của AM3	106
Hình 3.64.	Phổ ^{13}C NMR của AM3	107
Hình 3.65.	Phổ HSQC của của AM3	108
Hình 3.66.	Phổ HMBC của AM3	109
Hình 3.67.	Phổ COSY của AM3	110
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.....	111
Hình 3.69.	Phổ ^1H NMR của AM4	113
Hình 3.70.	Phổ ^{13}C NMR của AM4	114
Hình 3.71.	Phổ HSQC của của AM4	115
Hình 3.72.	Phổ HMBC của AM4	116

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.....	117
Hình 3.74.	Phổ ^1H NMR của AM5	118
Hình 3.75.	Phổ ^{13}C NMR của AM5	119
Hình 3.76.	Phổ HSQC của của AM5	120
Hình 3.77.	Phổ HMBC của AM5	121
Hình 3.78.	Cấu trúc của afzelin.....	122
Hình 3.79.	Phổ ^1H NMR của AM6	123
Hình 3.80.	Cấu trúc của quercitrin	124
Hình 3.81.	Phổ ^1H NMR của AM7	125
Hình 3.82.	Phổ ^{13}C NMR của AM7	126
Hình 3.83.	Phổ HSQC của của AM7	127
Hình 3.84.	Phổ HMBC của AM7	128
Hình 3.85.	Cấu trúc của astragalin	129
Hình 3.86.	Phổ ^1H -NMR của AM8	130
Hình 3.87.	Phổ ^{13}C -NMR của AM8	131
Hình 3.88.	Cấu trúc của isoquercetin	132
Hình 3.89.	Phổ ^1H -NMR của AM9	133
Hình 3.90.	Phổ ^{13}C -NMR của AM9	134
Hình 3.46.	Cấu trúc của AM10	135
Hình 3.47.	Phổ ^1H NMR của AM10	137
Hình 3.48.	Phổ ^{13}C NMR của AM10	138
Hình 3.49.	Phổ HSQC của AM10	139
Hình 3.50.	Phổ HMBC của AM10	140
Hình 3.51.	Cấu trúc của acacienone	141
Hình 3.52.	Phổ ^1H NMR của AM11	142
Hình 3.53.	Phổ ^{13}C NMR của AM11	143
Hình 3.54.	Phổ HSQC của AM11	144
Hình 3.55.	Phổ HMBC của AM11	145

Hình 3.56.	Phổ COSY của AM11	146
Hình 3.57.	Phổ NOESY của AM11	146
Hình 3.58.	Các hợp chất phân lập từ lá keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)	147
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.....	152
Bảng 3.6.	Tỷ lệ tối ưu được đề xuất từ RSM của các cao chiết trong hỗn hợp ..	154

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

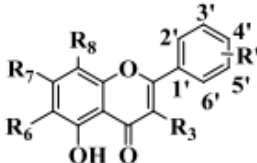
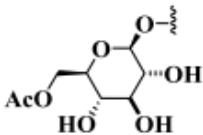
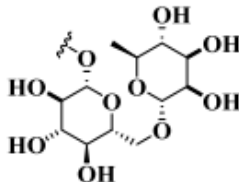
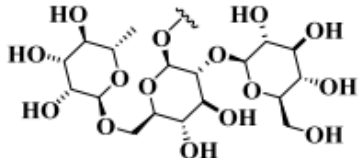
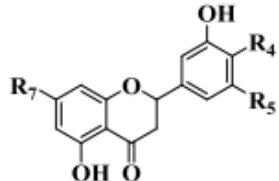
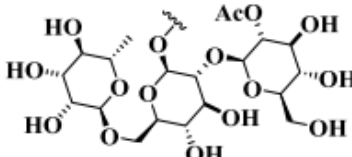
Flavonoid là thành phần chuyển hoá thứ cấp đặc trưng của loài *C. indicum*. Chúng đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ *C. indicum* khỏi tia UV và hỗ trợ quá trình thụ phấn nhờ tạo ra màu sắc rực rỡ của hoa. Một số hợp chất flavonoid được phân lập từ loài *C. indicum* được trình bày trong bảng dưới đây.

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-O- β -D-glucopyranoside	Chống oxy hóa	Hoa	[5]
3	Acacetin-7-O-Rutinoside		Hoa	[6]
4	Acacetin-7-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside		Hoa	[6]
5	Acacetin-7-O- β -D-galactopyranoside		Hoa	[6]
6	Acacinin-7-O- α -rhamnoglycosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucoside		Cây	[6, 7]
7	Acacetin-7-O-(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	(2S)-Hesperetin	Chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh, kháng viêm, ức chế cholesterol	Phân trên mặt đất	[4]
17	(2S)-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	(2S)-Eriodictyol-7- <i>O</i> - β -D-glucoside		Hoa	[15]

	R ₃	R ₆	R ₇	R ₈	R'	
1-38	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
	 B	18	H	H	A	H
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
 A	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
 D	 39-42					
	R ₄	R ₅	R ₇			
	39	OH	H	H		
	40	OH	H	GluC-O		
	41	H	OH	Glc-O		
	42	OH	H	Glc-O		
 E						

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

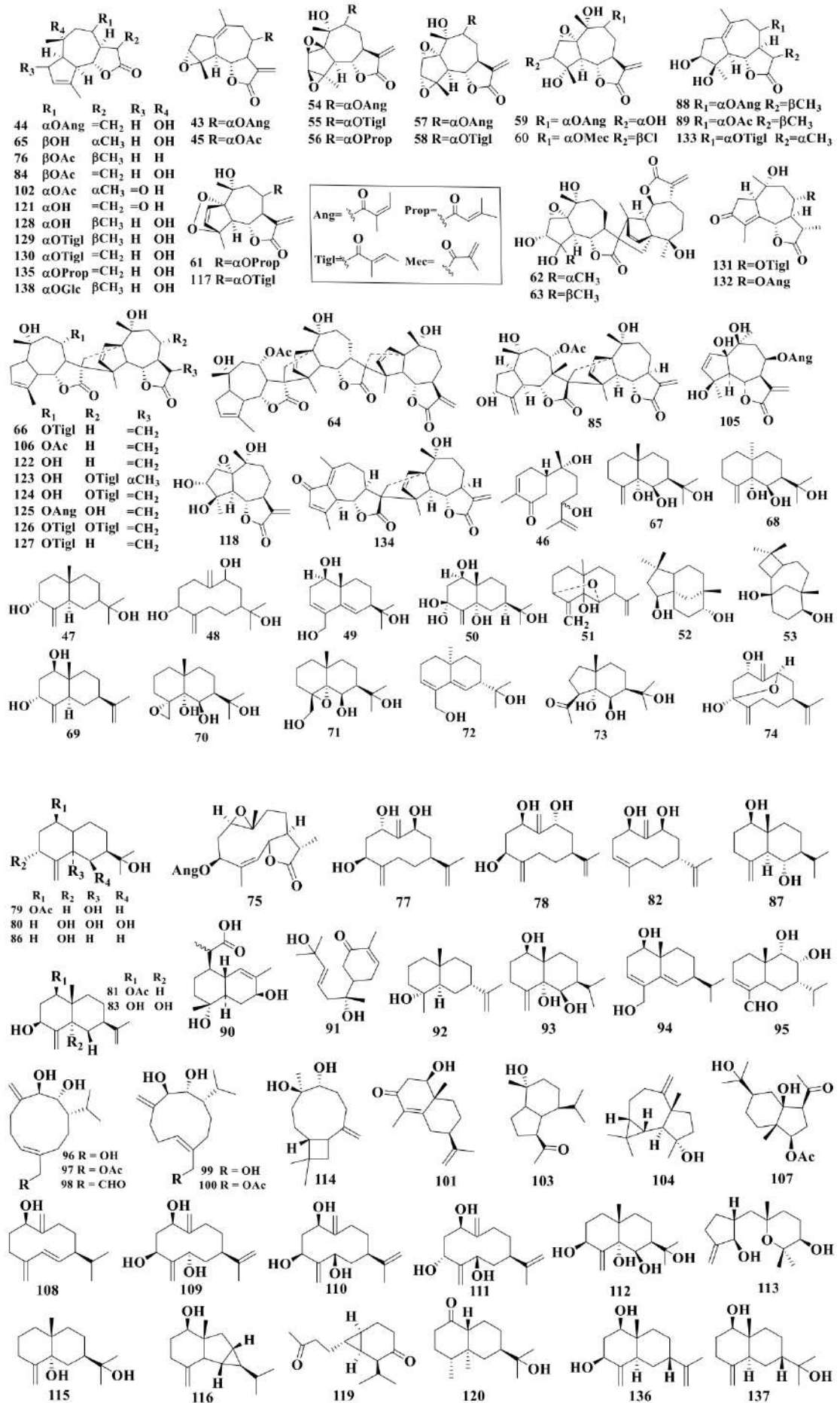
Các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *C. indicum* đã phát hiện nhiều hợp chất terpenoid có hoạt tính sinh học đa dạng, chủ yếu tập trung trong bộ phận hoa và phần trên mặt đất. Một số hợp chất đáng chú ý gồm angeloylcumambrin B (**44**), chrysanthemulide A–J (**53–62**), chrysanolide D–I (**63–65**, **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-lezontanin (**117**), 10-epijafalin (**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	Angelolajadin		Phần trên mặt đất	[17]
44	Angeloylcumambrin B	Chống ung thư	Phần trên mặt đất	[17]
45	Arteglasin 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	Chrysanthrol		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	(1R,3S,3aS,5R,7aS)-3-acetyl-3a-hydroxy-5-(2-hydroxypropan-2-yl)-7a-methyloctahydro-1H-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*

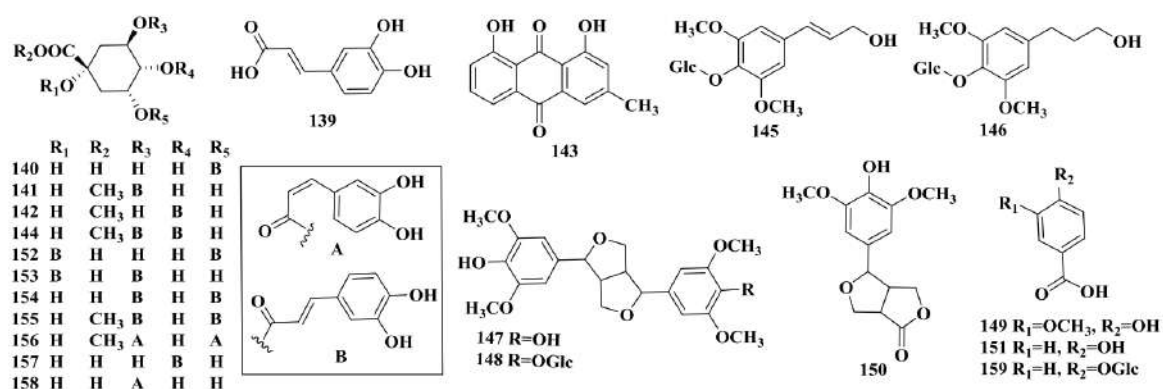
1.1.2.3. Các hợp chất phenylpropanoid và phenolic acid

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-O-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*

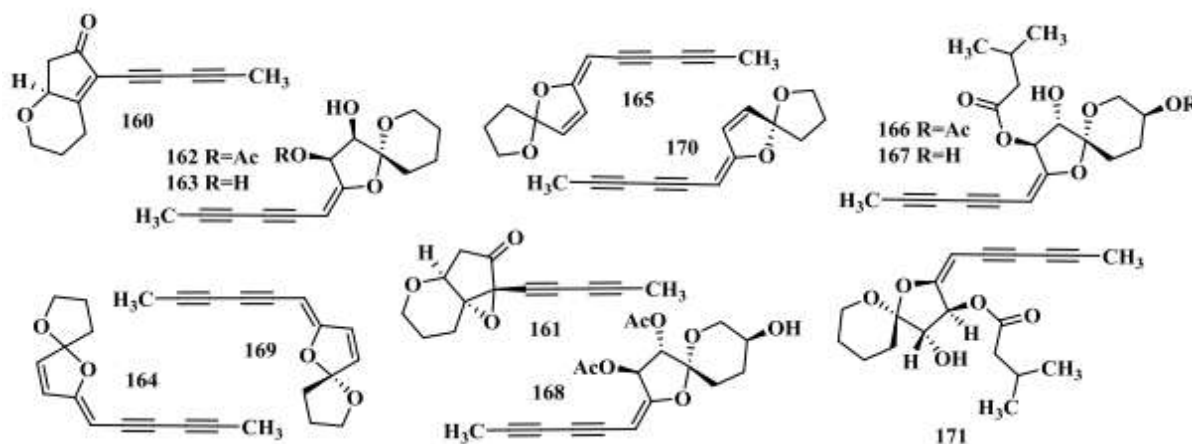
1.1.2.4. Các hợp chất polyacetylene

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 CH₂ Cl₂ 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*

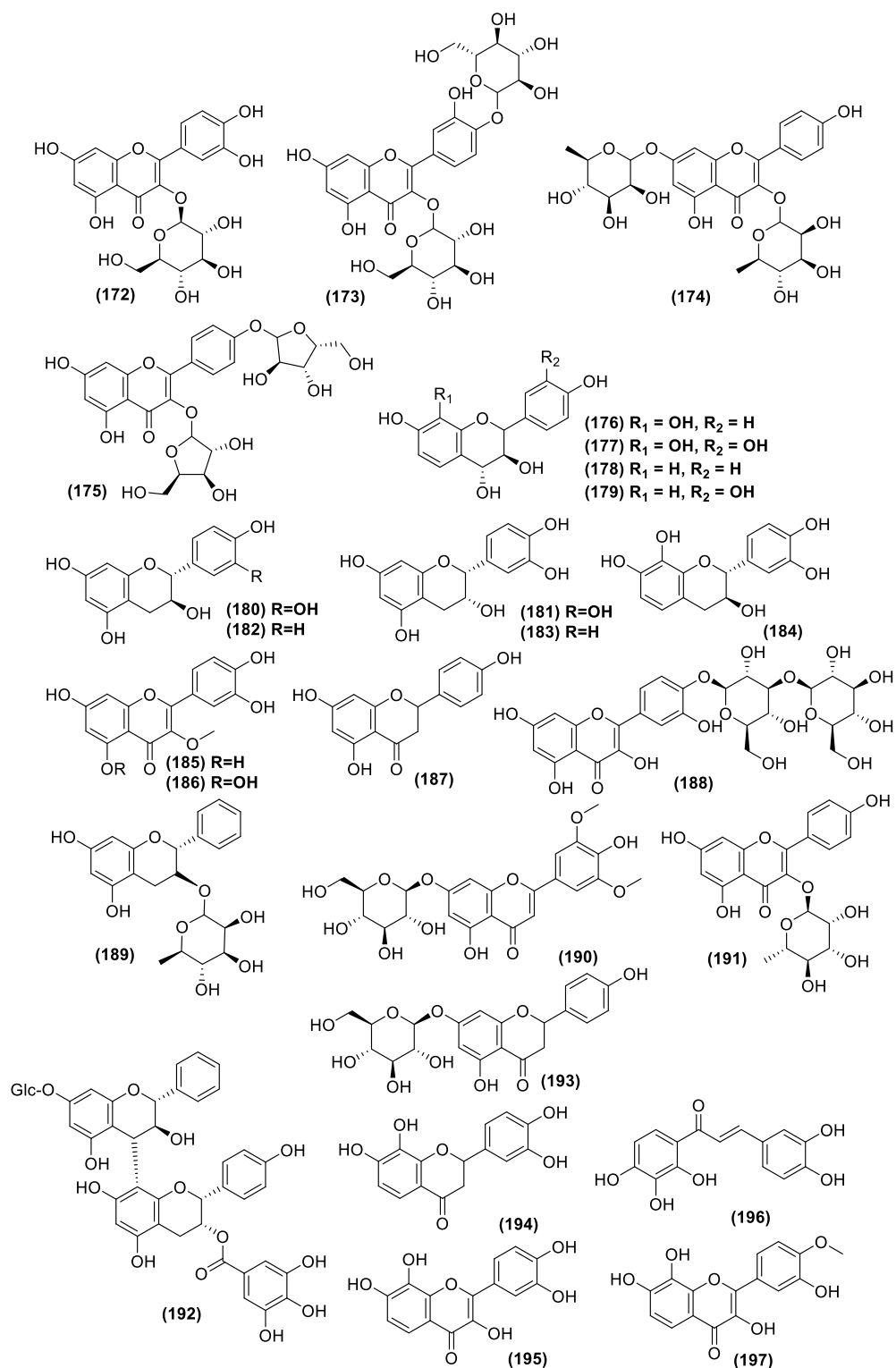
Chi *Acacia* thuộc họ Fabaceae, phân họ Mimosoideae, là một chi thực vật có khoảng 1350 loài phân bố rộng rãi trên toàn cầu [55]. Loài *Acacia mangium*, thường được gọi là keo tai tượng, là một trong những loài quan trọng trong chi này. Loài cây này có nguồn gốc từ khu vực Đông Nam Á, đặc biệt phổ biến 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 phẩm. 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**), (2R,3S)-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].

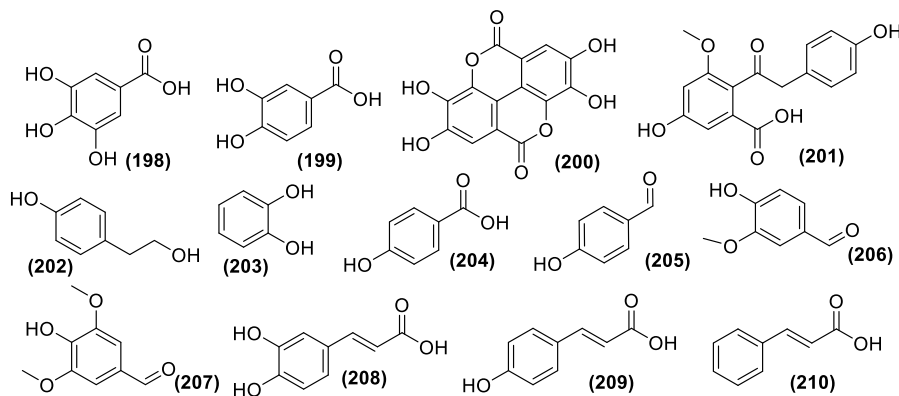


Hình 1.5. Cấu trúc các hợp chất flavonoid từ một số loài thuộc chi *Acacia*

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].

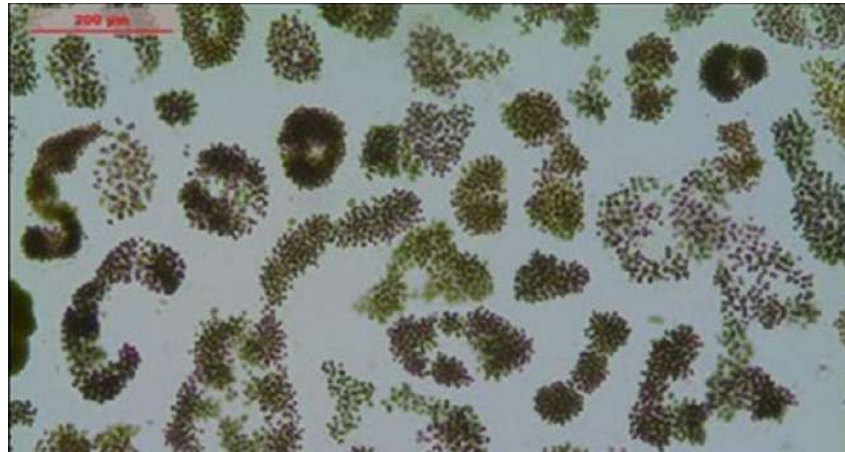
1.3. Giới thiệu về vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*

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

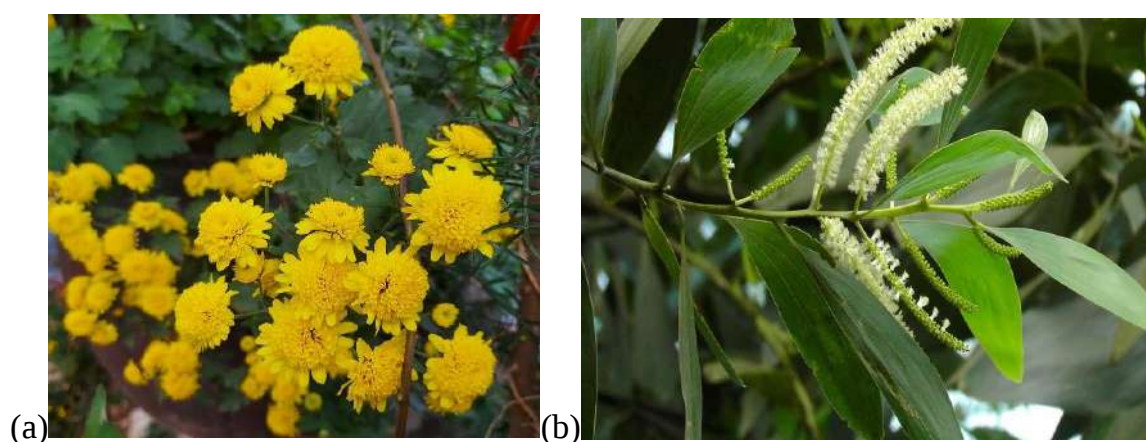
các đối tượng khác trong môi trường. Các kết quả sàng lọc tìm kiếm cao chiết thực vật khác cho thấy có khá nhiều thực vật sẵn có ở Việt Nam có tác dụng mạnh như cây cỏ lào, hương phụ, lược vàng, keo, chùm ngây, cúc hoa vàng,... cho thấy hiệu quả của dịch chiết từ *Bidens pilosa* ở nồng độ 250 và 500 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 ký 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)

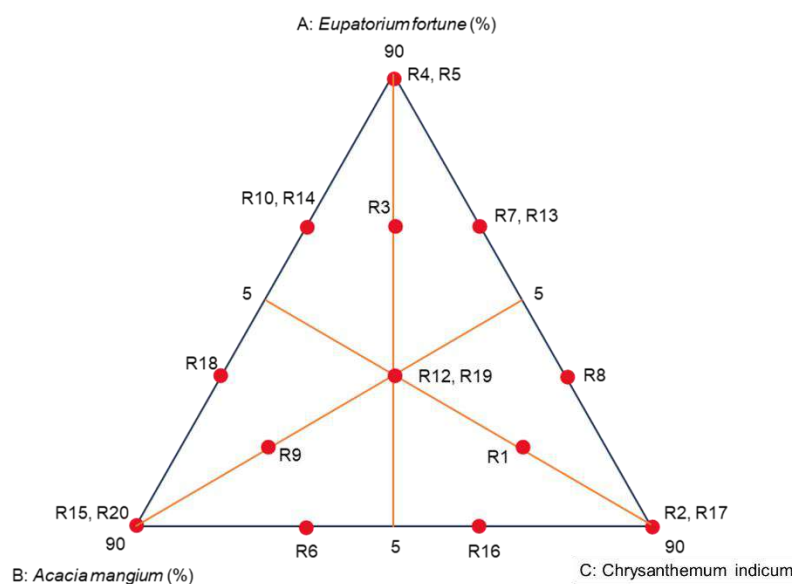
2.3.2. Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

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, μm
 - **D**: chiều sâu của thước, μm
 - **W**: chiều rộng của thước, μm
 - **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 0-10 ngày (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

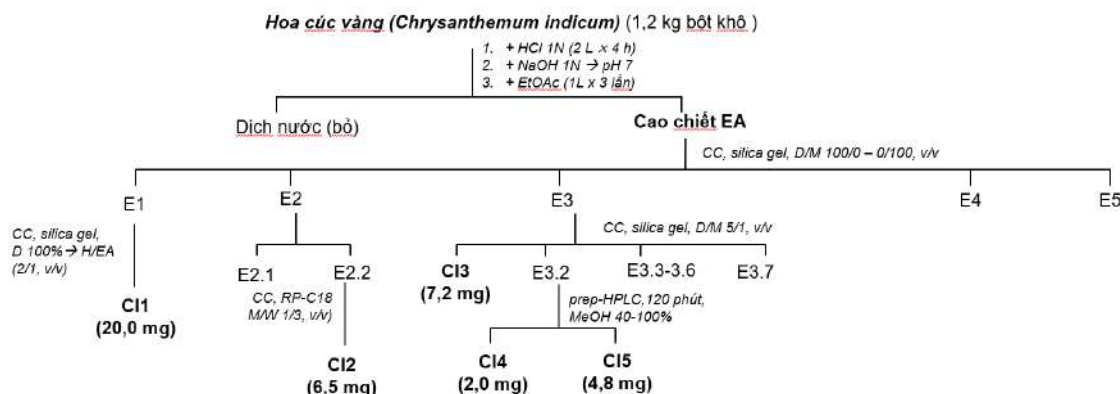
2.4. Thực nghiệm

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.

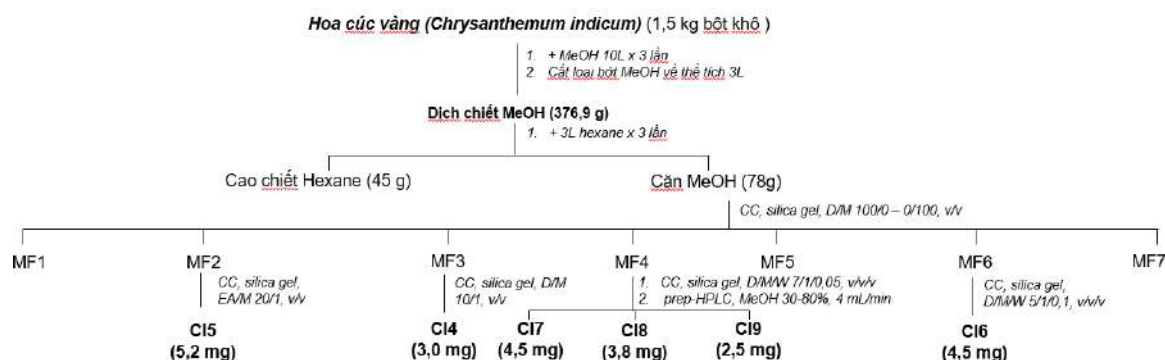
Đối với phương pháp đun hồi lưu trong HCl 1N, mẫu hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) sau khi được sấy khô và nghiền thành bột (1,2 kg) được đun hồi lưu với dung dịch HCl 1N (2 lít) trong vòng 4 giờ. Sau khi làm nguội, dung dịch axit được trung hòa về pH 7,0 bằng dung dịch NaOH 1N, rồi được chiết 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

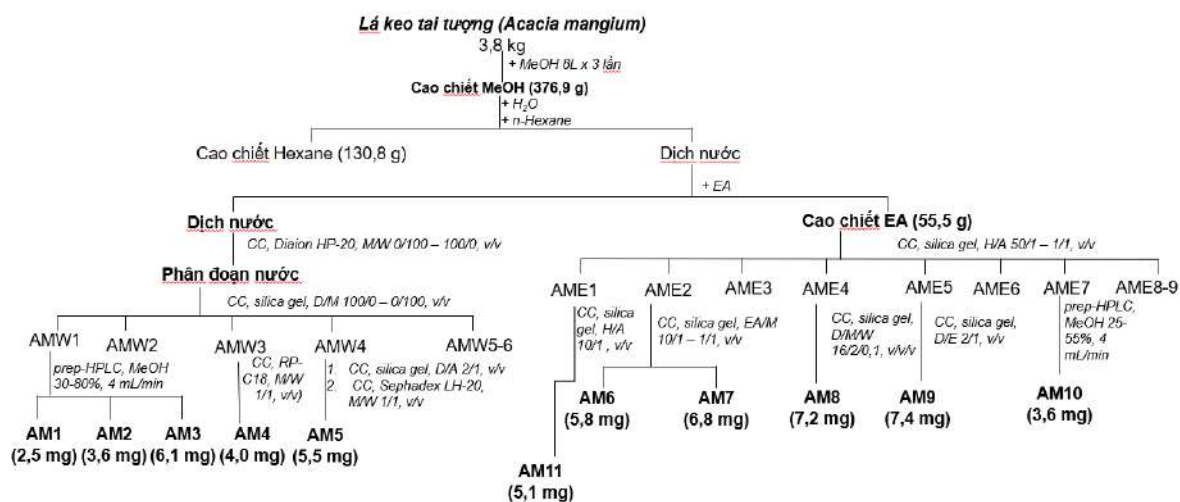
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài keo tai tượng (*Acacia mangium*)

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-megastigmane-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; $J = 4,8; 15,6; 12,6$; 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), 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; $J = 2,4; 12,0$; H-6'a), 3,73 (1H; dd; $J = 6,0; 12,0$; 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

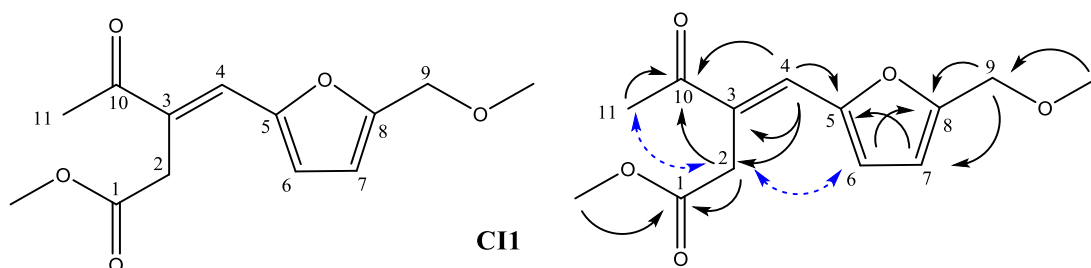
8	19,17	19,17	61,67	$59,88 \pm 4,29$
9	19,17	61,67	19,17	$59,9 \pm 3,06$
10	33,33	33,33	33,33	$71,48 \pm 3,19$
11	5,00	90,00	5,00	$40,23 \pm 2,62$
12	61,67	5,00	33,33	$44,71 \pm 3,53$
13	5,00	33,33	61,67	$63,42 \pm 4,09$
14	5,00	90,00	5,00	$39,86 \pm 1,46$
15	5,00	61,67	33,33	$61,62 \pm 3,82$
16	33,33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

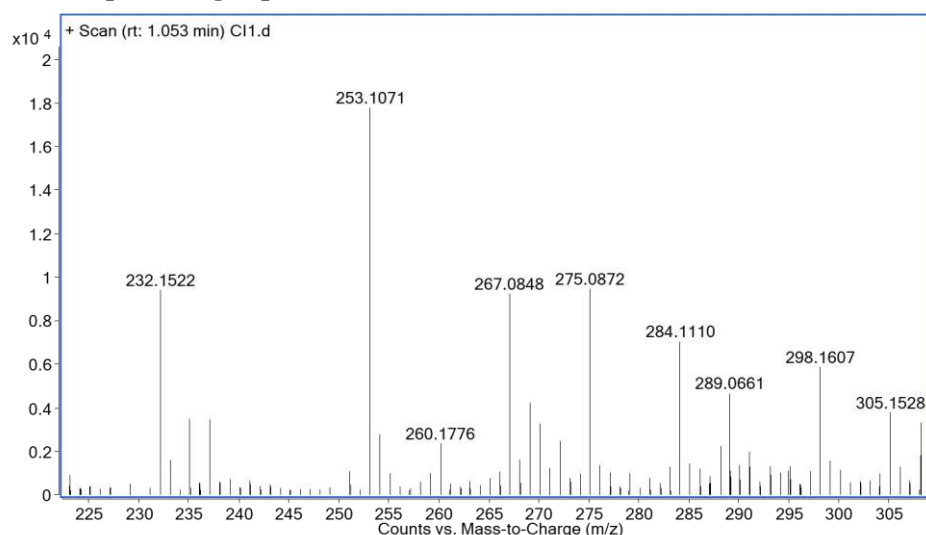
3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*)

3.1.1. Hợp chất **CI1** (chất mới)



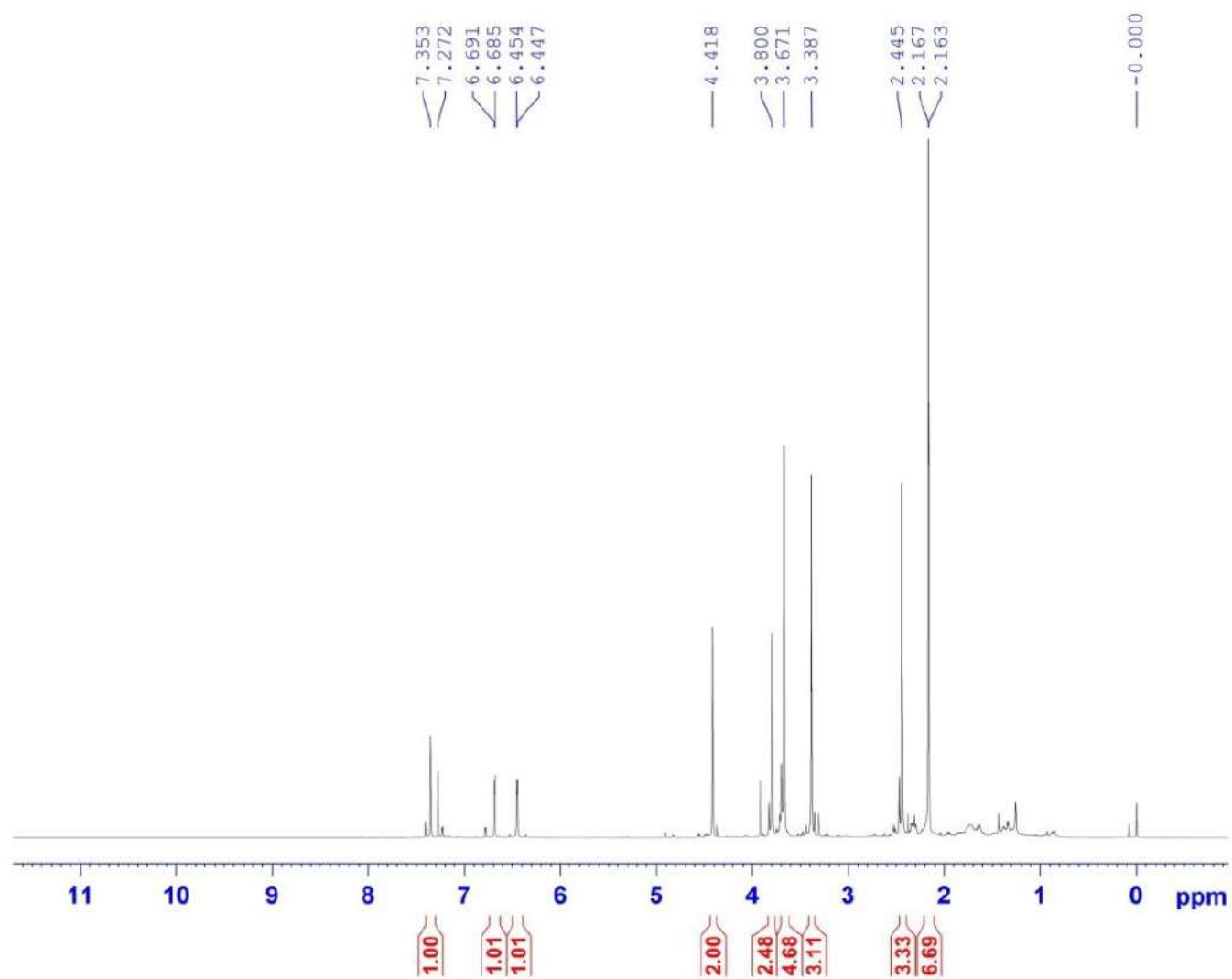
Hình 3.1. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất **CI1**

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 $[M + H]^+$.

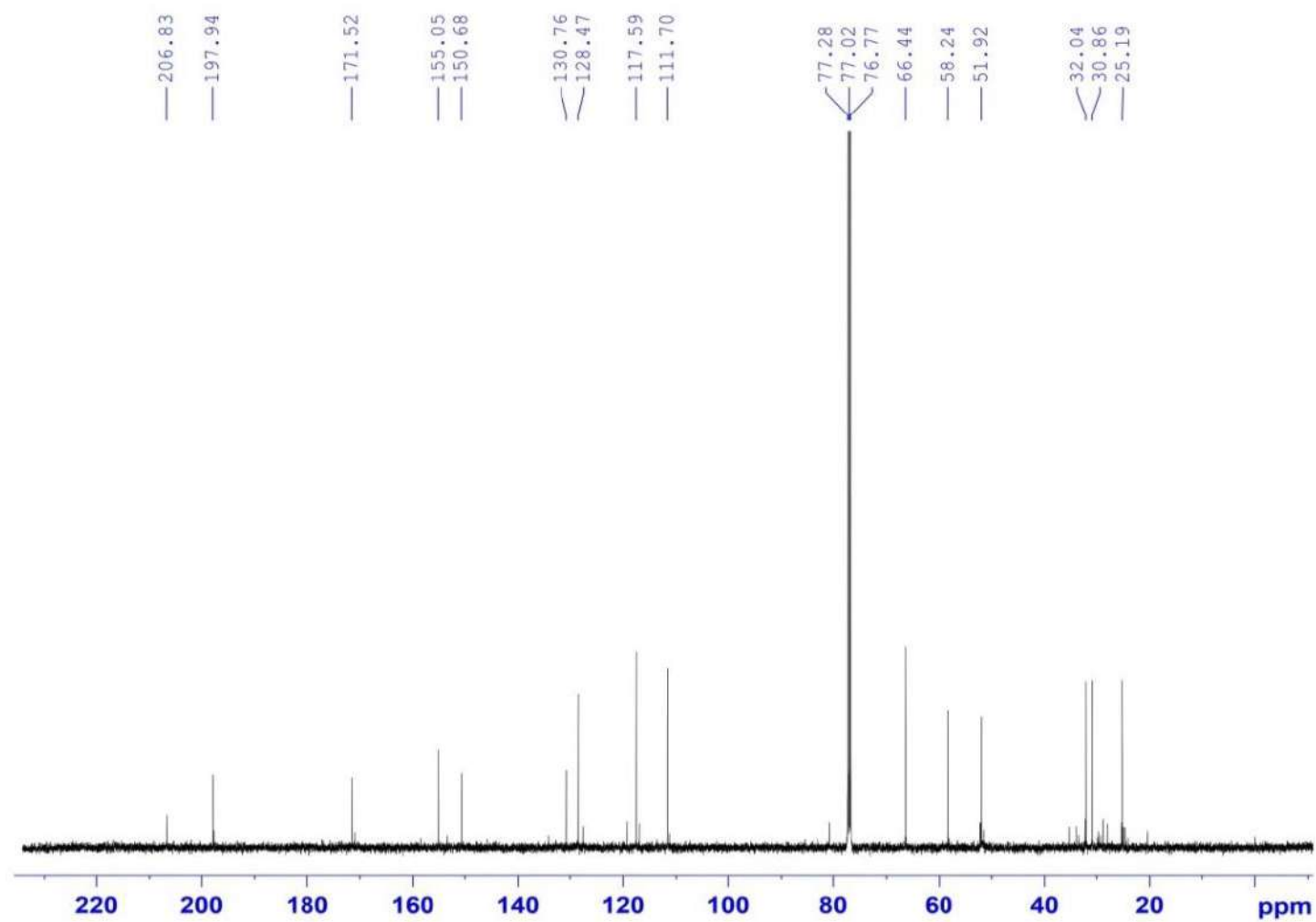


Hình 3.2. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **CI1**

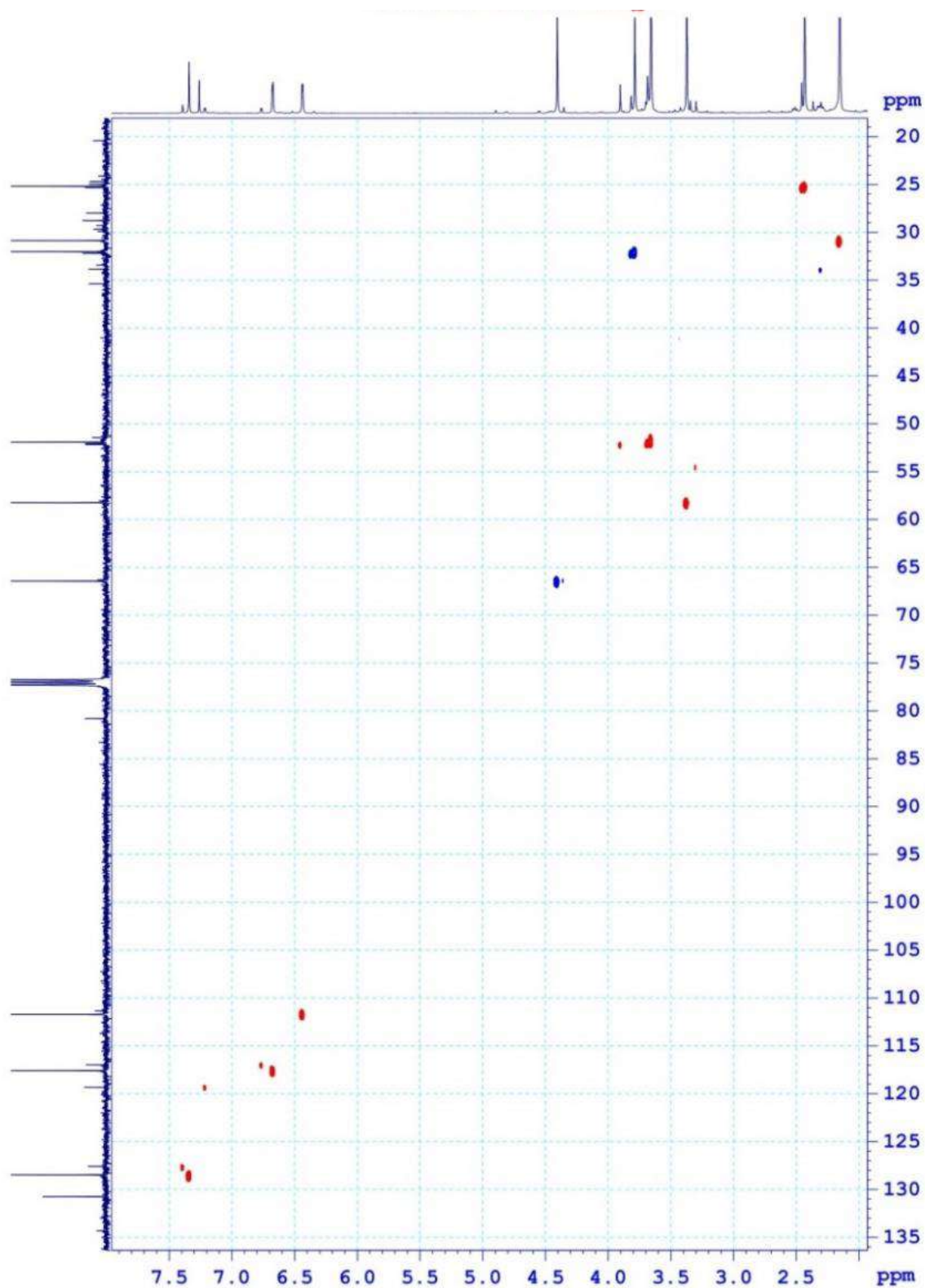
Phổ 1H NMR của hợp chất **CI1** cho thấy sự xuất hiện hiện của 3 proton olefin tại δ_H 7,35 (1H, s, H-4), 6,69 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,45 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,18 (2H, s, H-9) và một tín hiệu methylen tại 3,80 (2H,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



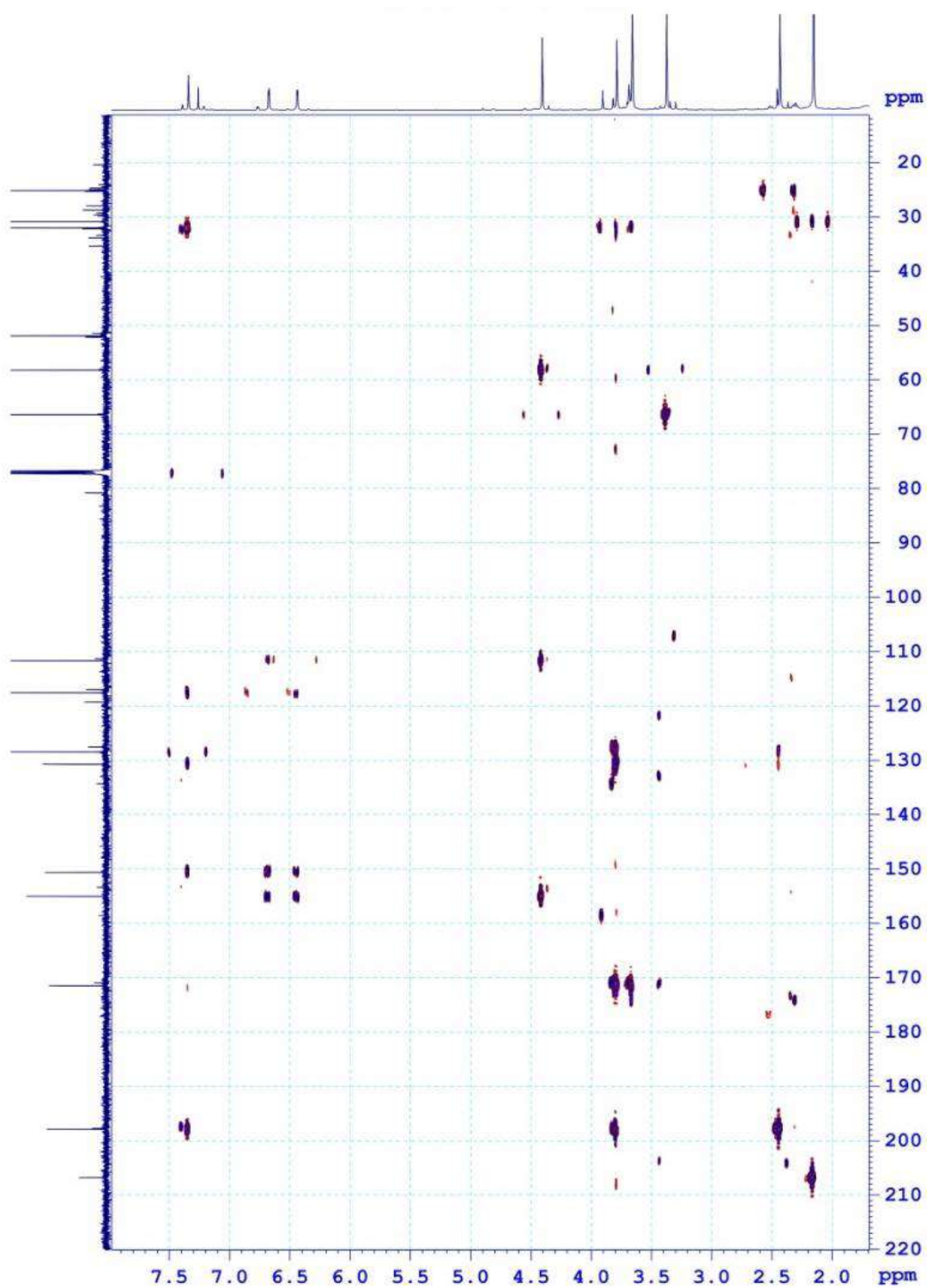
Hình 3.3. Phổ ^1H NMR của **CI1**



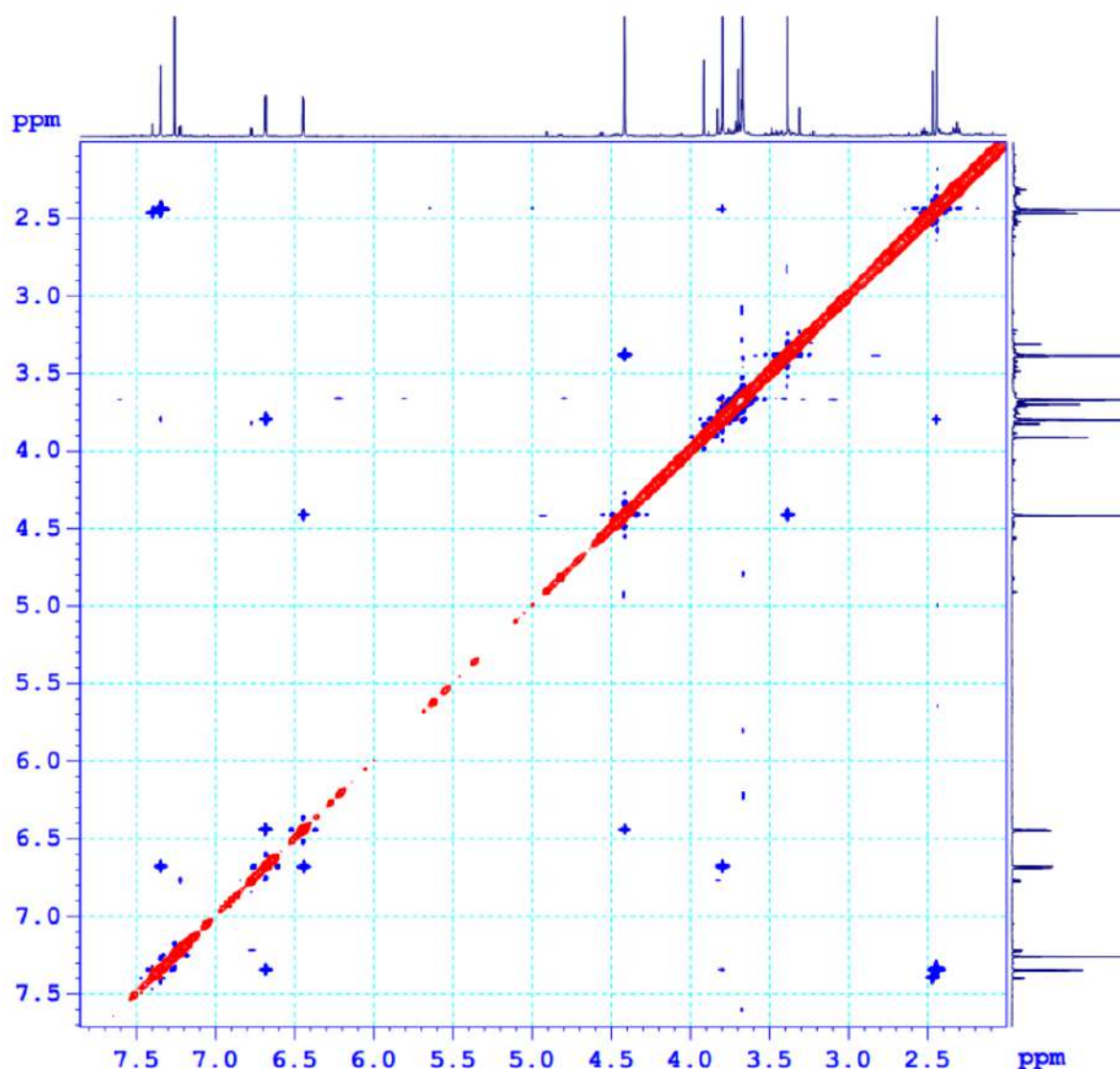
Hình 3.4. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI1



Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất CI1



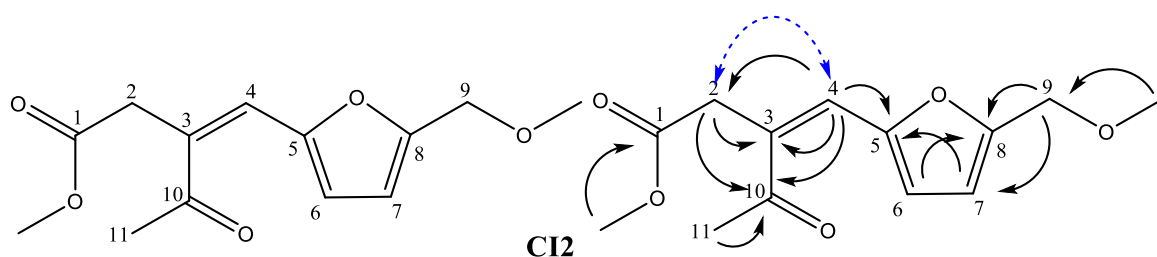
Hình 3.6. Phổ HMBC của hợp chất **CI1**



Hình 3.7. Phổ NOESY của hợp chất **CI1**

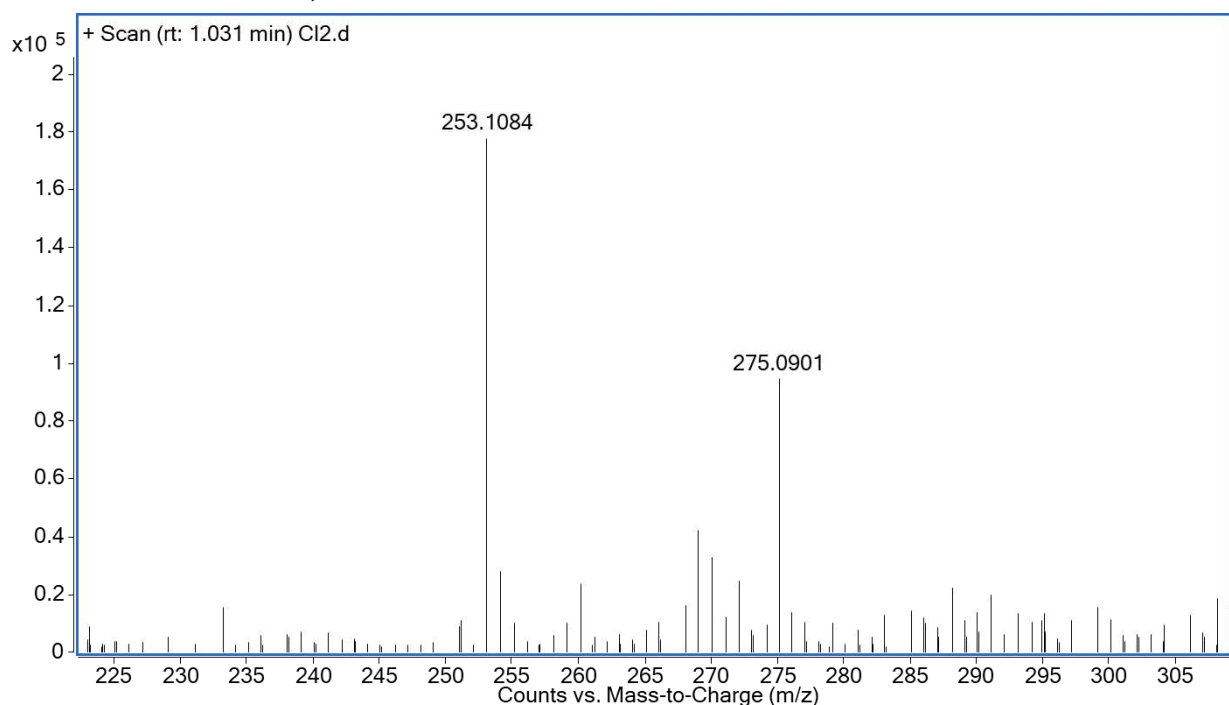
Với hằng số liên kết J nhỏ giữa H-6 và H-7 ($J = 3,5$ Hz) cũng như quan sát thấy tương tác HMBC từ H-7 đến C-5 và C-8 cho thấy đây là đặc điểm của dạng vòng furan thế 1,4. Phân tích phổ HMBC chỉ ra H-2 tương tác với C-1, C-3, C-4 và C-10; từ H-4 đến C-2, C-3, C-5, C-6, C-10; từ H-9 đến C-7 và C-8. Các 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 **CI1** được phân tích kỹ. Tương tác giữa H-2 và H-6 và không thấy tương tác giữa H-2 và H-4 trên phổ NOESY, kết hợp với dữ liệu về phổ ^{13}C NMR của C-3 ($\delta_{\text{C}} 130,7$) và C-4 ($\delta_{\text{C}} 128,4$) chứng tỏ nối đôi có cấu hình *E*. Như vậy hợp chất **CI1** được xác định là (*E*)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một chất mới lần đầu tiên được công bố.

3.1.2. Hợp chất **CI2** (chất mới)



Hình 3.8. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) và NOESY ($\leftrightarrow$) chính của hợp chất **CI2**

Hợp chất **CI2** thu được dưới dạng chất 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**

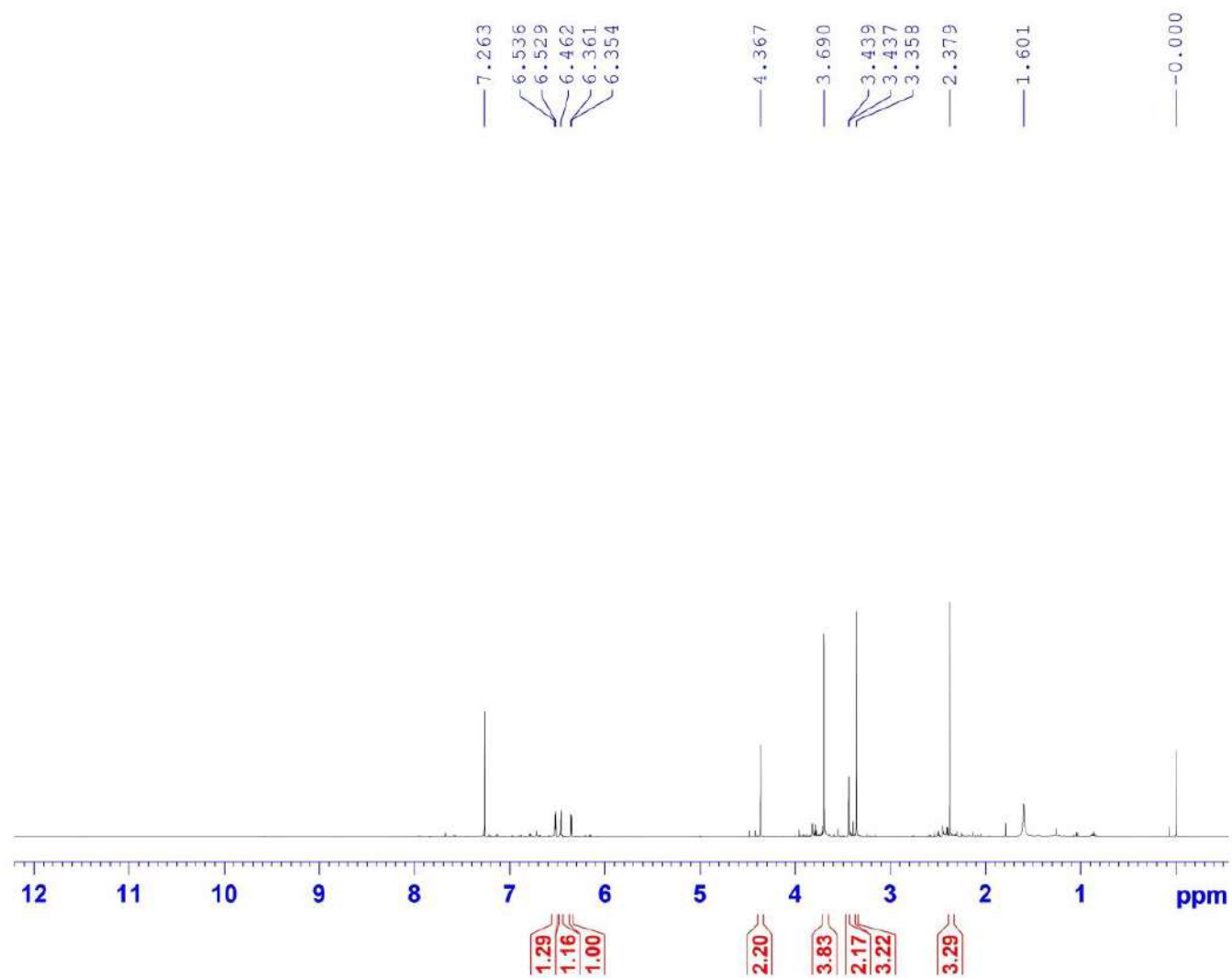
Phổ 1H NMR của hợp chất **CI2** cho thấy sự xuất hiện hiện của 3 proton olefin tại δ_H 6,46 (1H, br s, H-4), 6,53 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,36 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-7), tín hiệu của một nhóm methylen đính trực tiếp với oxi được xác định tại 4,36 (2H, s, H-9) và các tín hiệu của nhóm methoxy được 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 chênh lệch lớn hơn đáng kể về độ chuyển dịch hoá học giữa C-3 (δ_C 130,7) và C-4 (δ_C 122,0). 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.

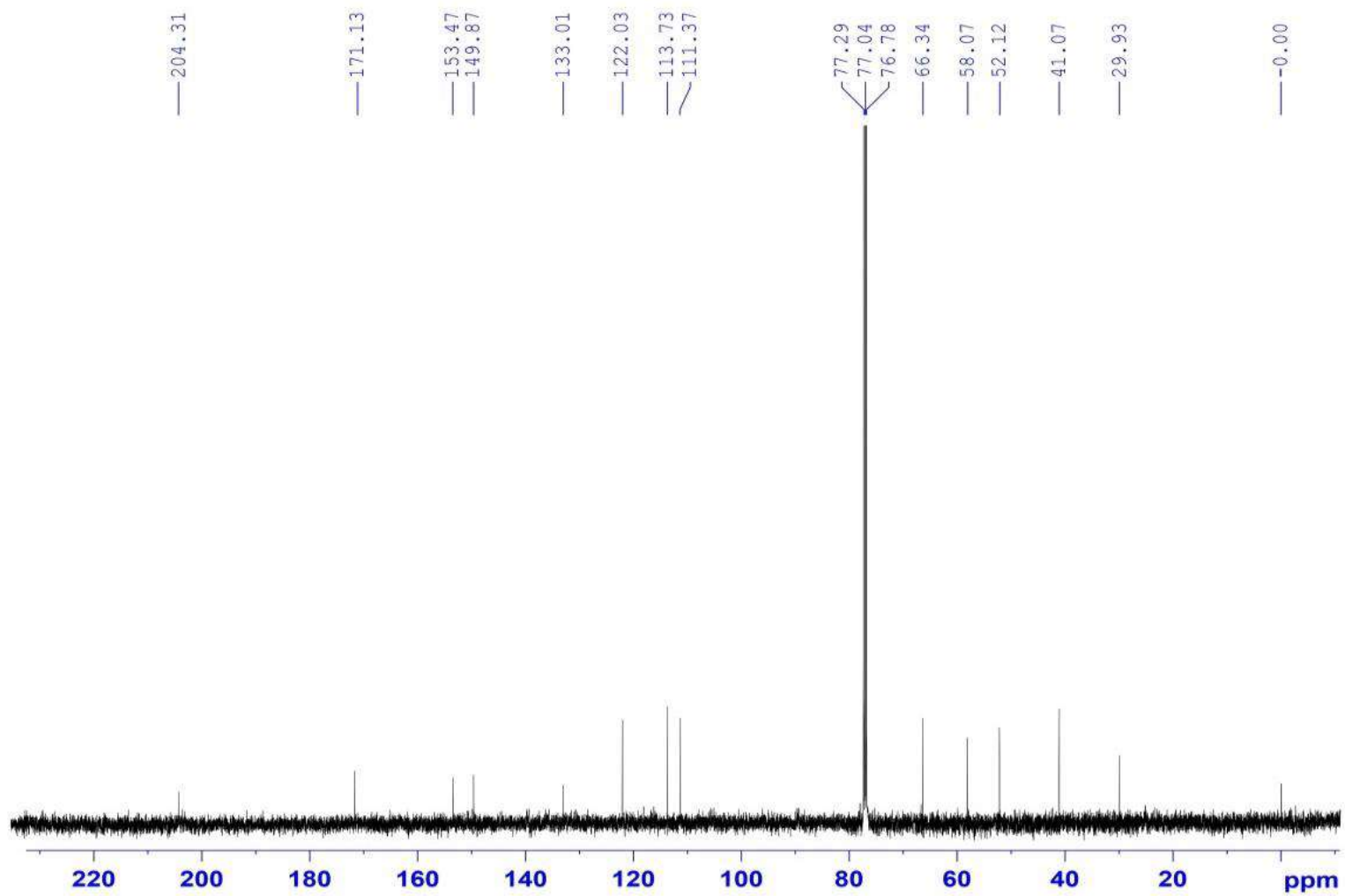
Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI1-2**

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

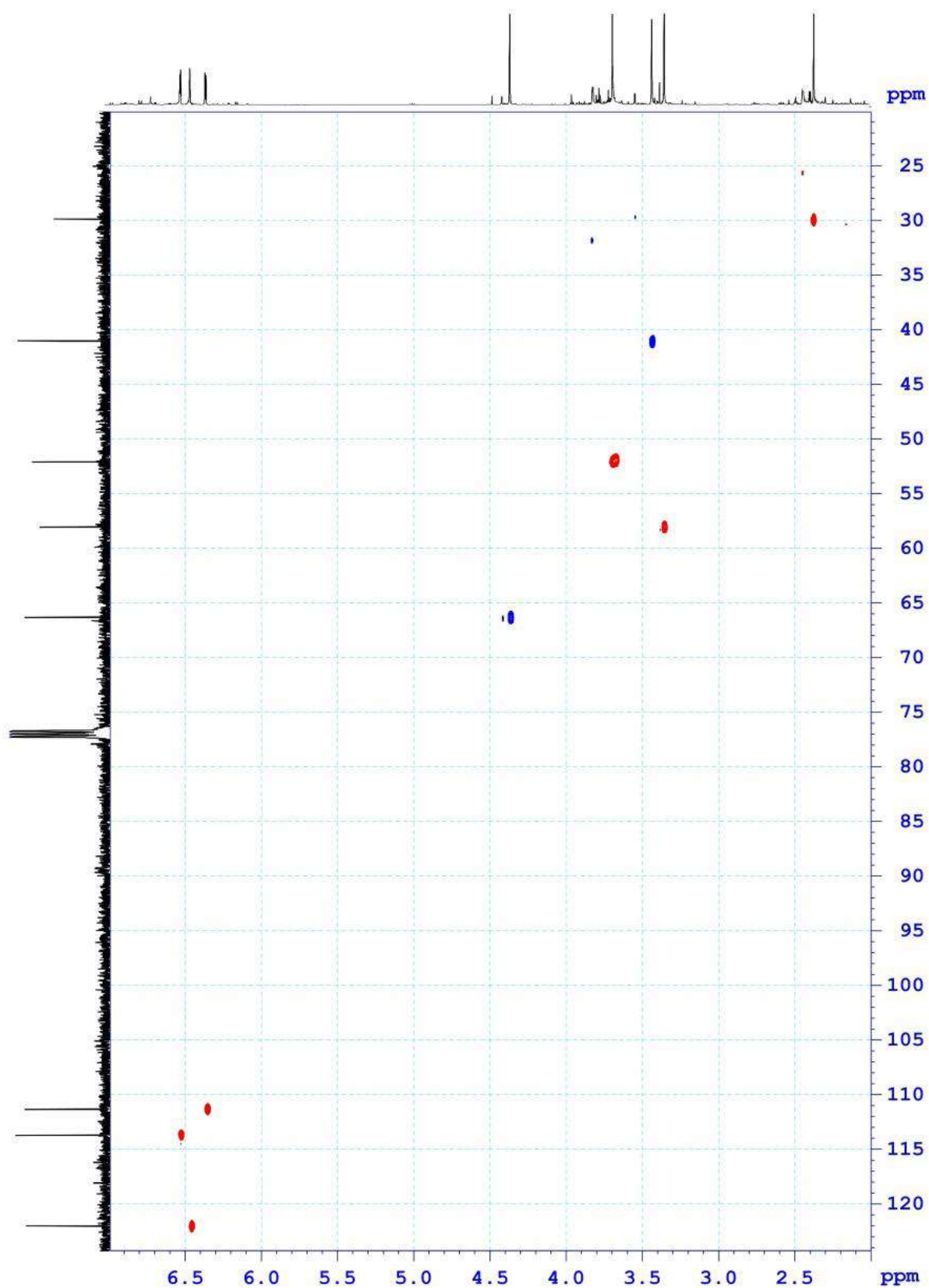
Như vậy hợp chất **CI2** được xác định là (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, một hợp chất mới.



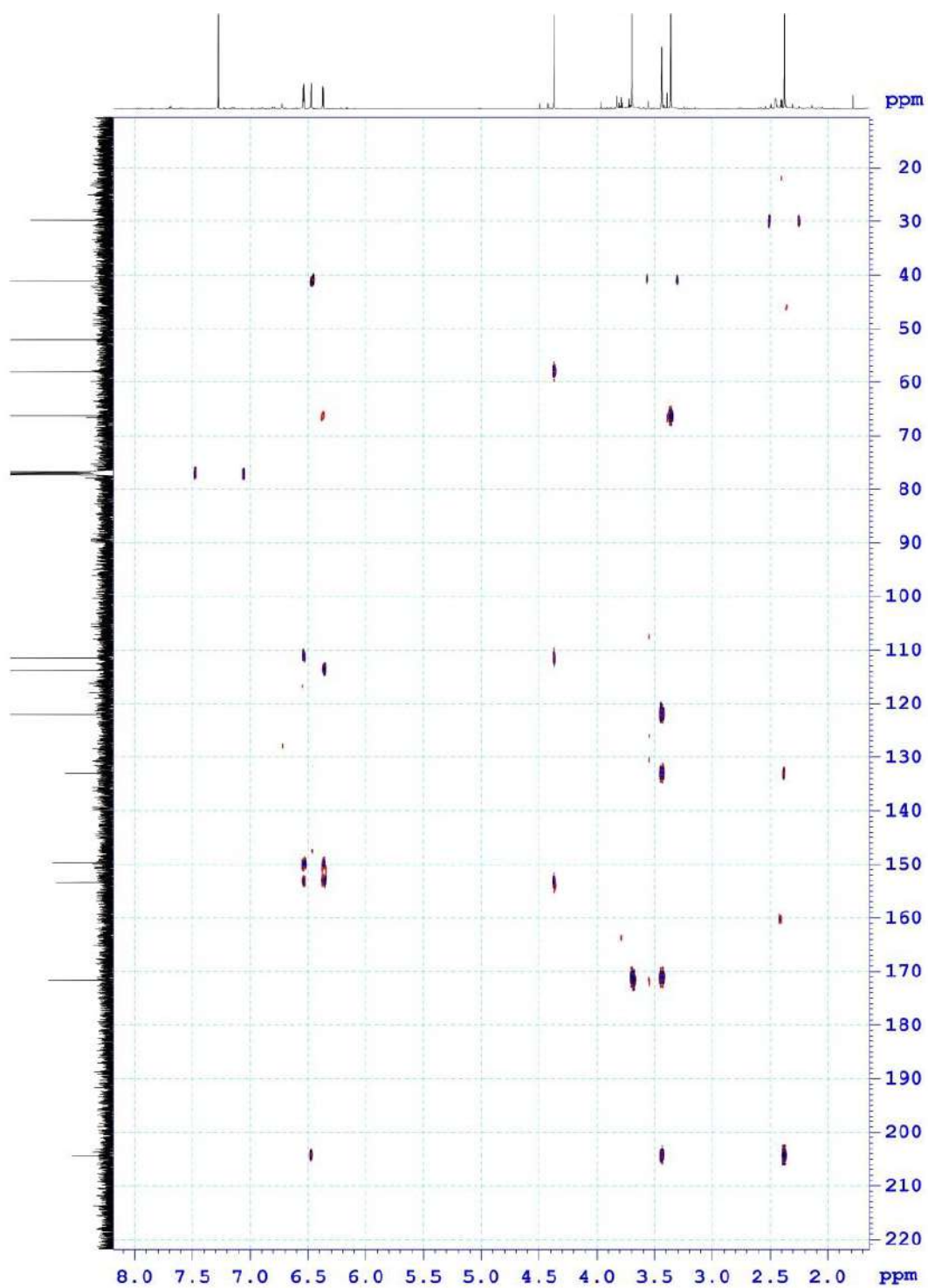
Hình 3.10. Phổ ^1H NMR của CI2



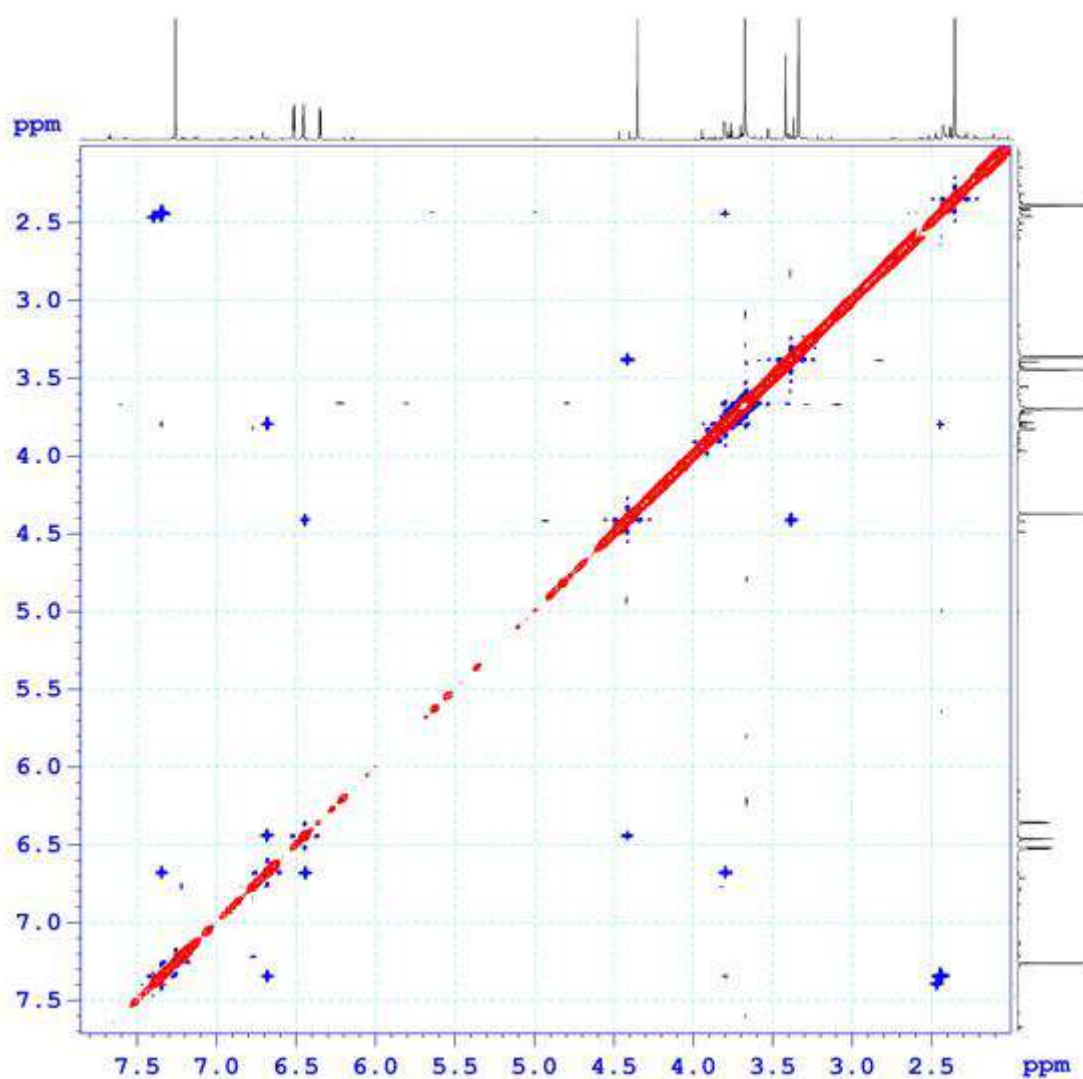
Hình 3.11. Phổ ^{13}C NMR của CI2



Hình 3.12. Phổ HSQC của CI2

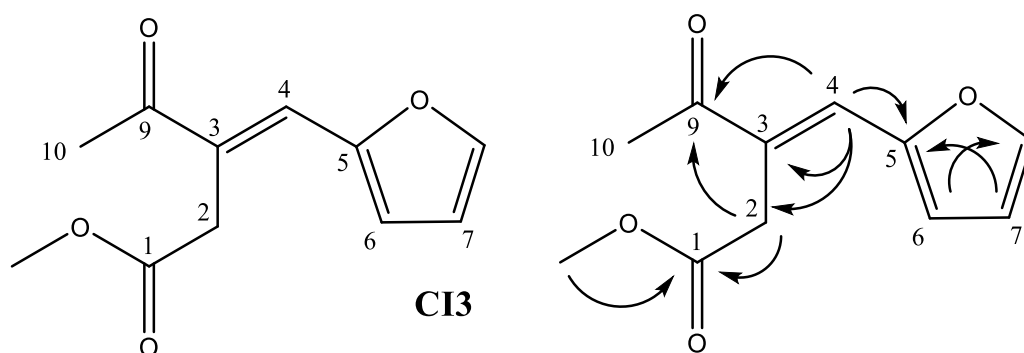


Hình 3.13. Phổ HMBC của CI2



Hình 3.14. Phổ NOESY của **CI2**

3.1.3. Hợp chất **CI3**



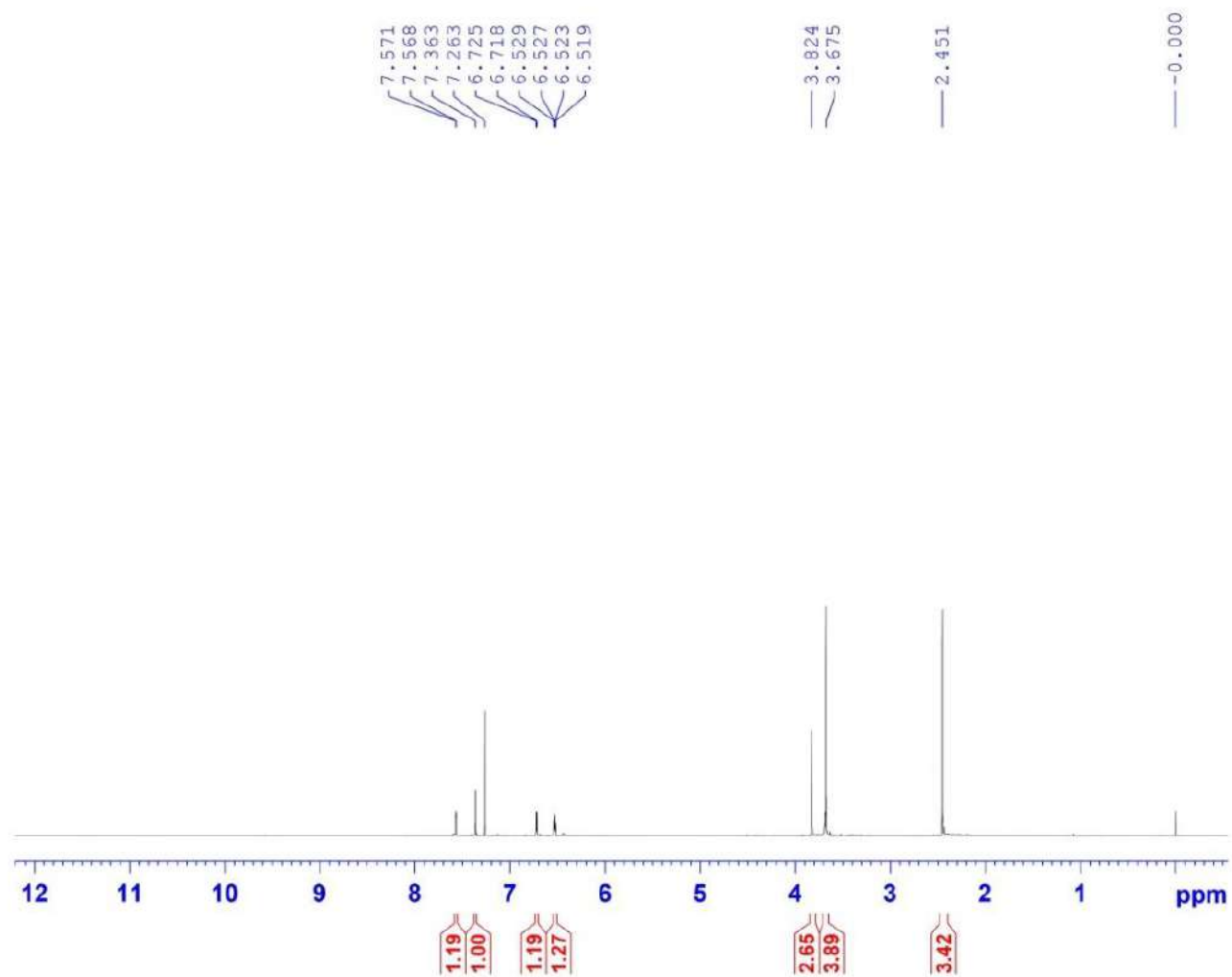
Hình 3.15. Công thức cấu tạo, các tương tác HMBC ($\rightarrow$) chính của hợp chất **CI3**

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.

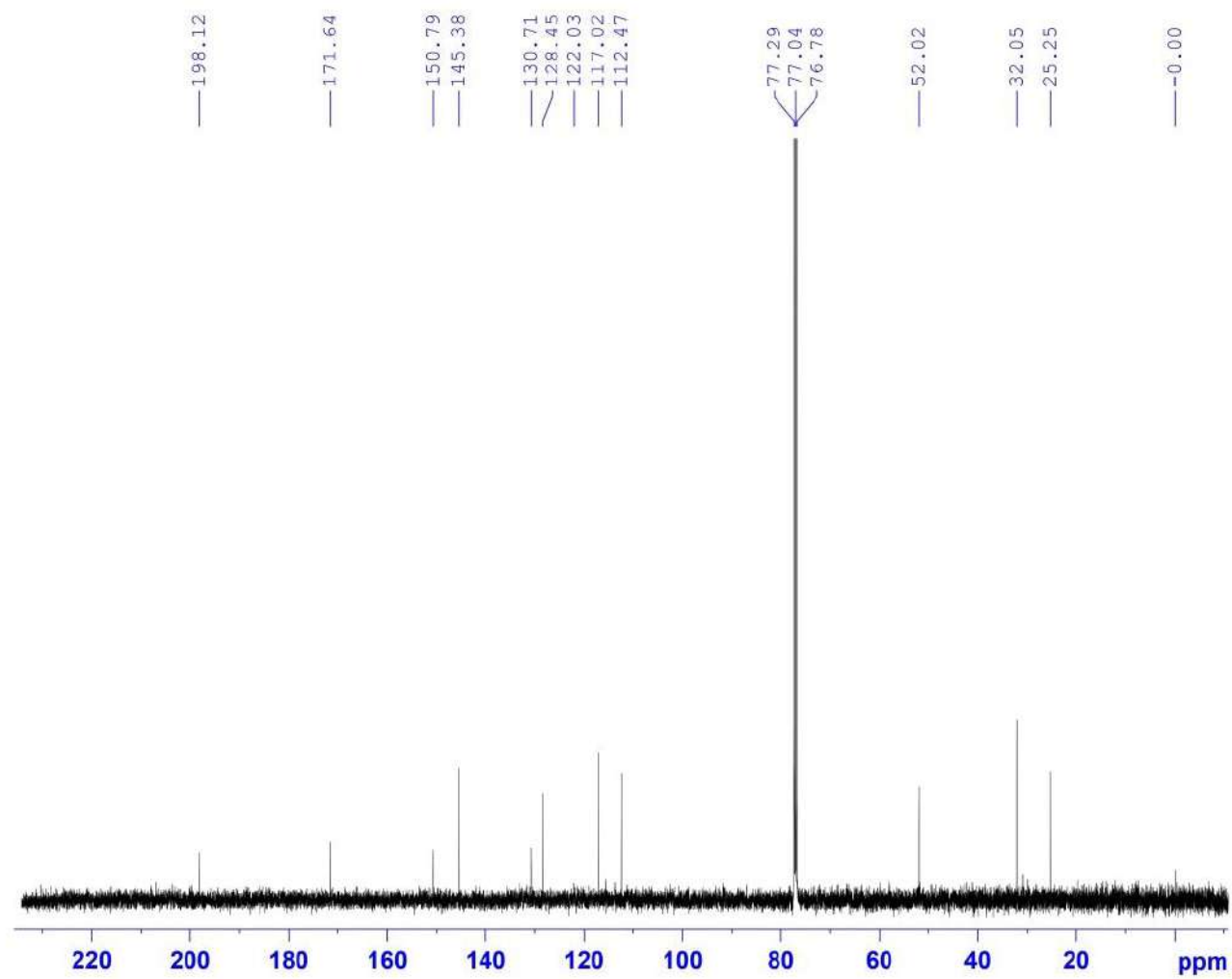
Phổ NMR của **CI3** có sự tương đồng với hợp chất **CI1**, ngoại trừ sự khác biệt ở vòng furan. Tín hiệu nhóm $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ không xuất hiện; thay vào đó, xuất hiện 3 tín hiệu proton tại 6,72 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-6), 6,52 (1H, dd, $J = 3,5; 1,5$ Hz, H-7), 7,57 (1H, d, $J = 1,5$ 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**

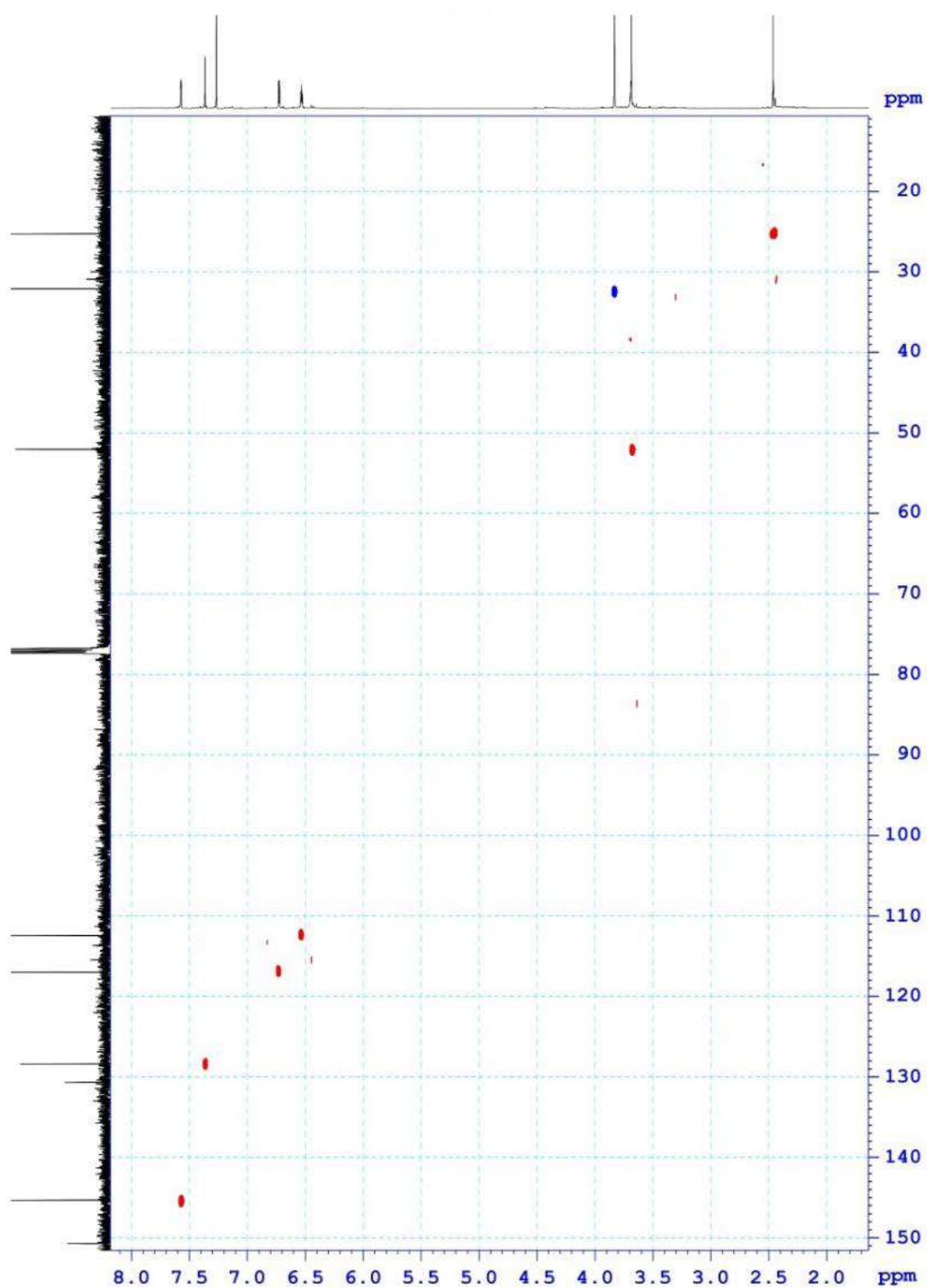
No	1		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	171,5	-	171,6
2	3,80 (2H; s)	32,0	3,82 (2H; s)	32,0
3	-	130,7	-	130,7
4	7,35 (1H; s)	128,4	7,36 (1H; s)	128,4
5	-	150,6	-	150,7
6	6,69 (1H; d; 3,5)	117,6	6,72 (1H; d; 3,5)	117,0
7	6,45 (1H; d; 3,5)	111,7	6,52 (1H; dd; 3,5; 1,5)	112,4
8	-	155,0	7,57 (1H; d; 1,5)	145,3
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



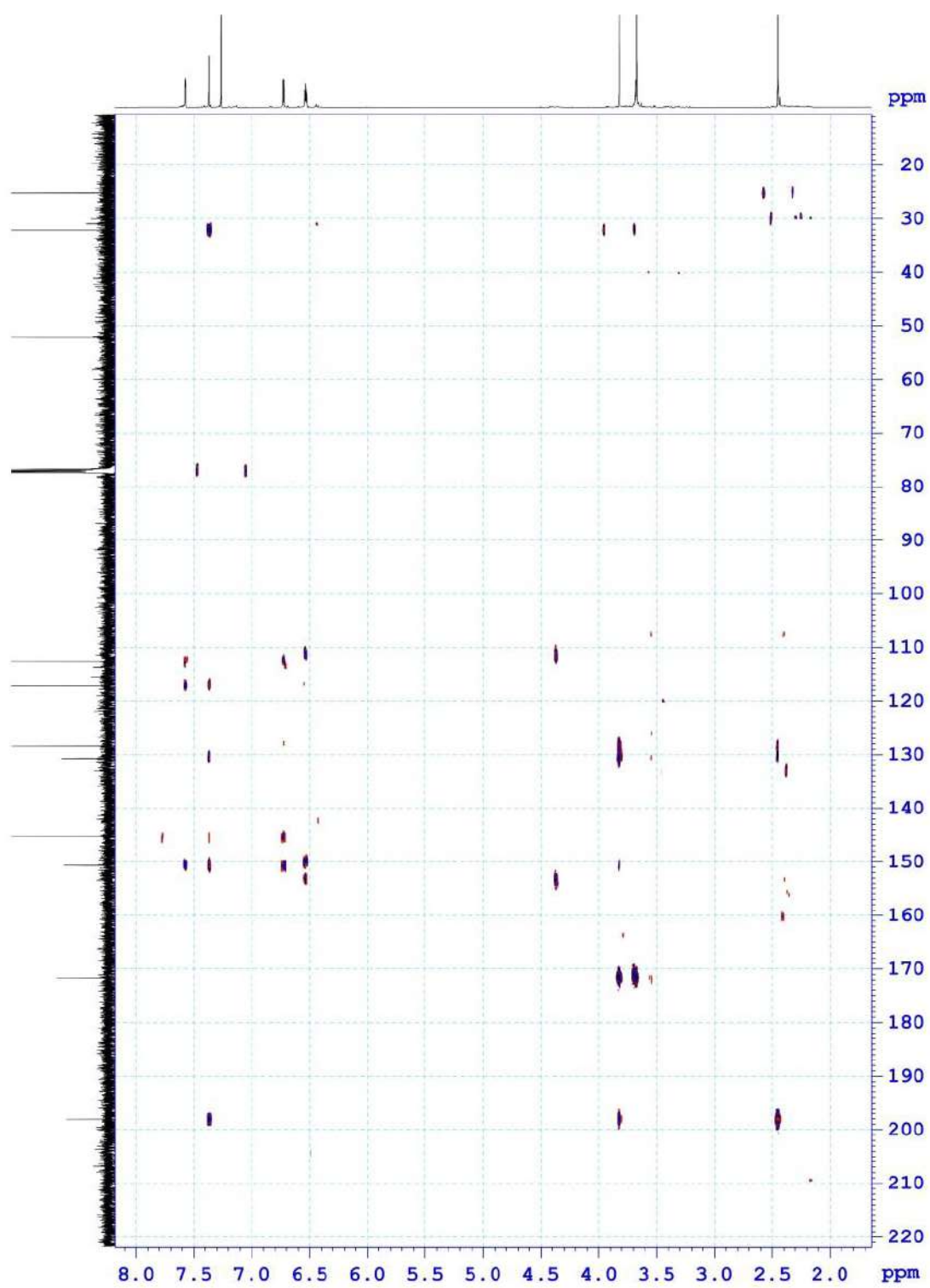
Hình 3.16. Phổ ^1H NMR của **CI3**



Hình 3.17. Phổ ^{13}C NMR của CI3

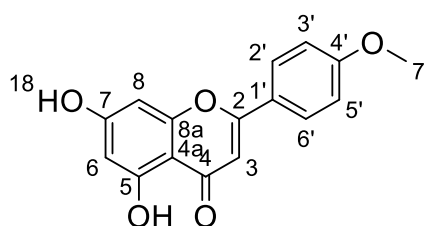


Hình 3.18. Phổ HSQC của CI3



Hình 3.19. Phổ HMBC của CI3

3.1.4. Hợp chất **CI4**



Hình 3.20. Cấu trúc hợp chất **CI4**

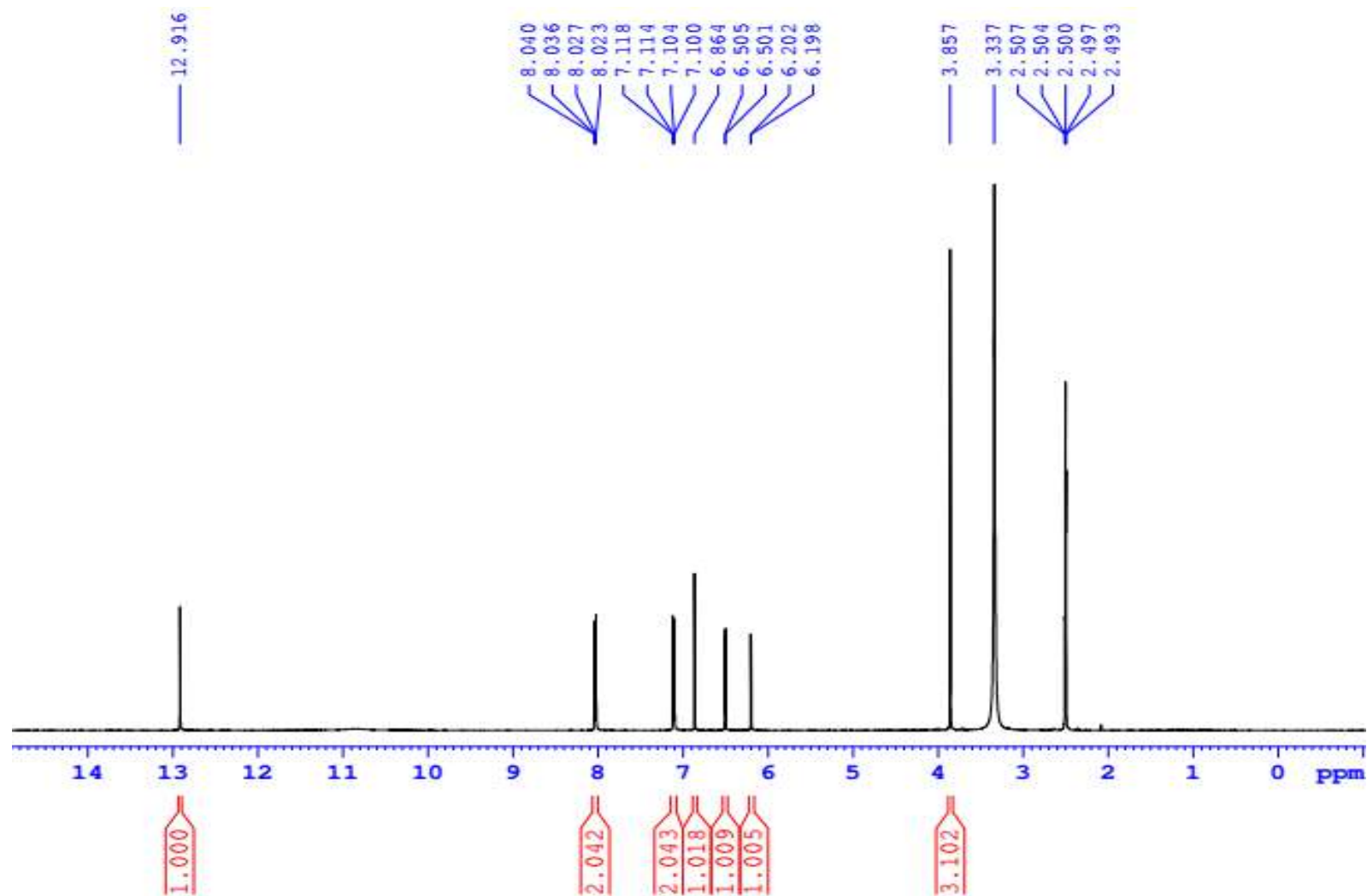
Hợp chất **CI4** được phân lập dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ ^1H -NMR của **CI4** thể hiện các tín hiệu đặc trưng của một flavonoid, bao gồm: δ_{H} 6,84 (1H, s, H-3), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,50 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2',6') và 7,10 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, 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}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}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.

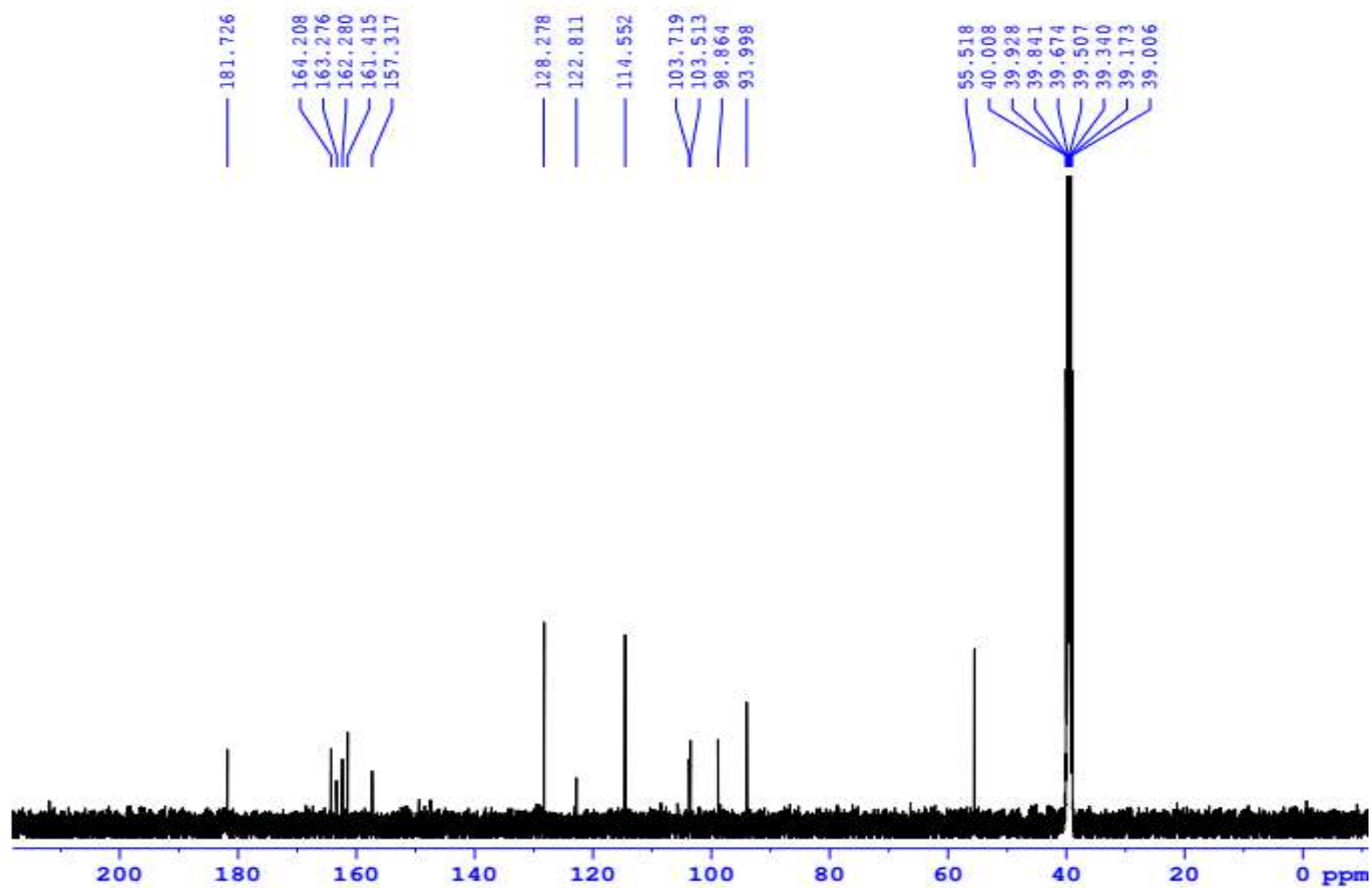
Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI4** và acacetin

STT	CI4 (trong DMSO- d_6)		Acacetin (trong DMSO- d_6)	
	^1H NMR (500 MHz)	^{13}C NMR (125 MHz)	^1H NMR (400 MHz)	^{13}C NMR (100 MHz)
2		163,3		163,2
3	6,84 (1H, s)	103,5	6,85 (1H, s)	103,5
4		181,7		181,7

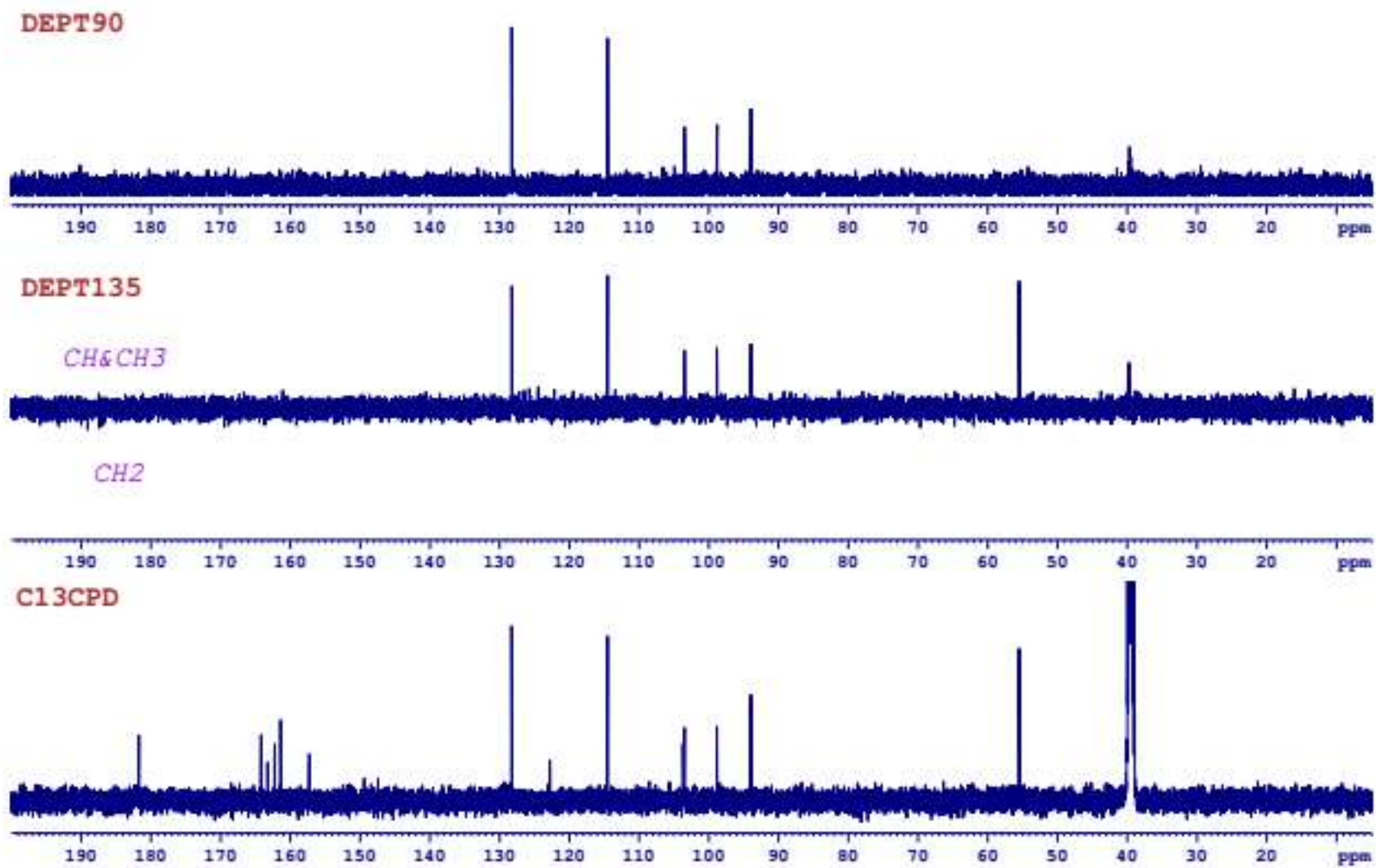
5		161,4		161,4
6	6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	98,9	6,19 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	98,9
7		164,2		164,5
8	6,50 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	93,9	6,49 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	94,0
9		157,3		157,4
10		103,7		103,6
1'		122,8		121,8
2'	8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	128,3	8,03 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	128,2
3'	7,10 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	114,6	7,11 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	114,0
4'		162,3		161,7
5'	7,10 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	114,6	7,11 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	114,0
6'	8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	128,3	8,03 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	128,2
7'	3,86 (3H, s)	55,5	3,71 (3H, s)	55,0



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

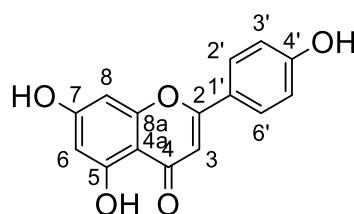


Hình 3.22. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI4



Hình 3.23. Phổ DEPT của hợp chất CI4

3.1.5. Hợp chất CI5

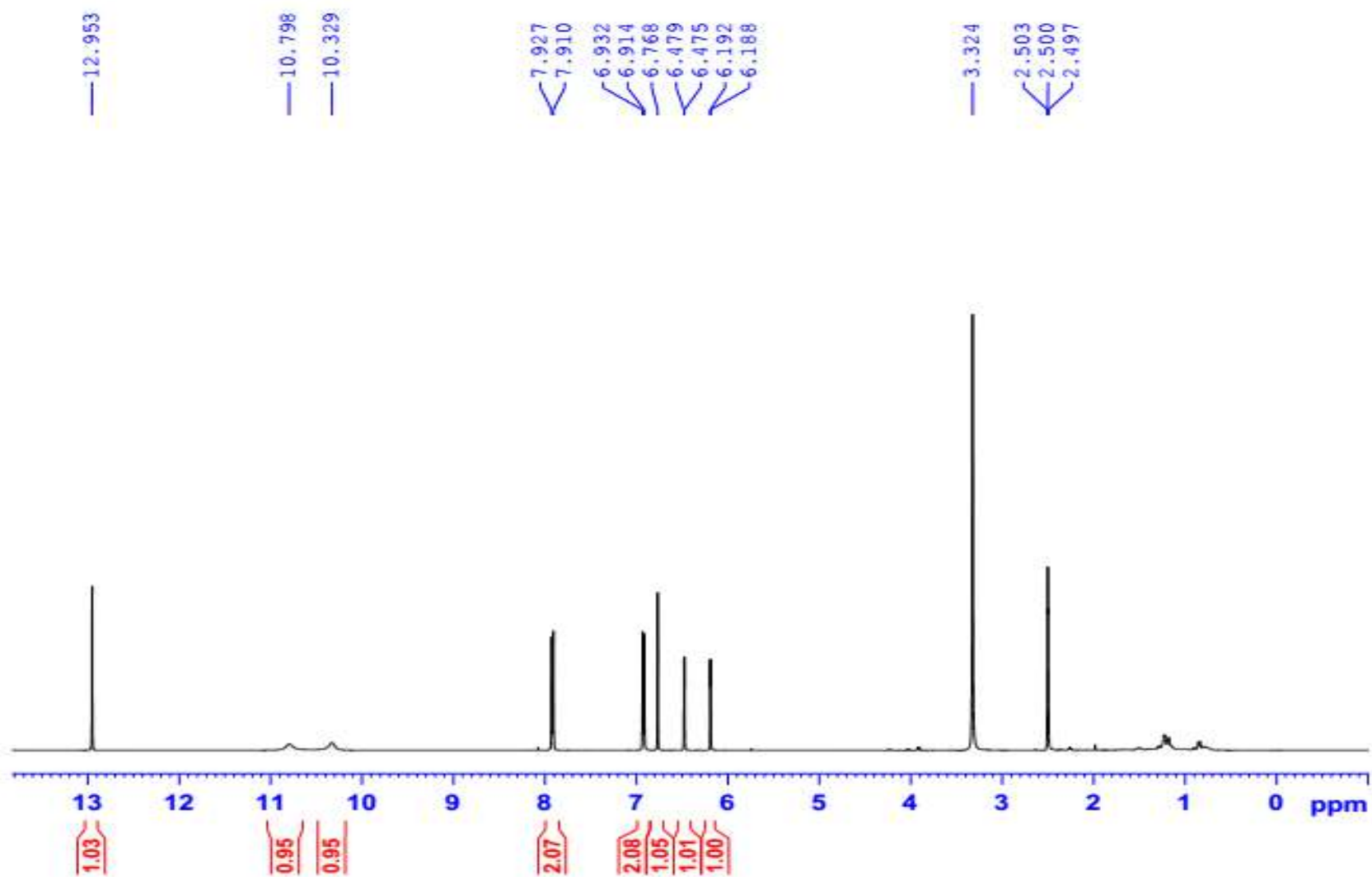


Hình 3.24. Cấu trúc hợp chất CI5

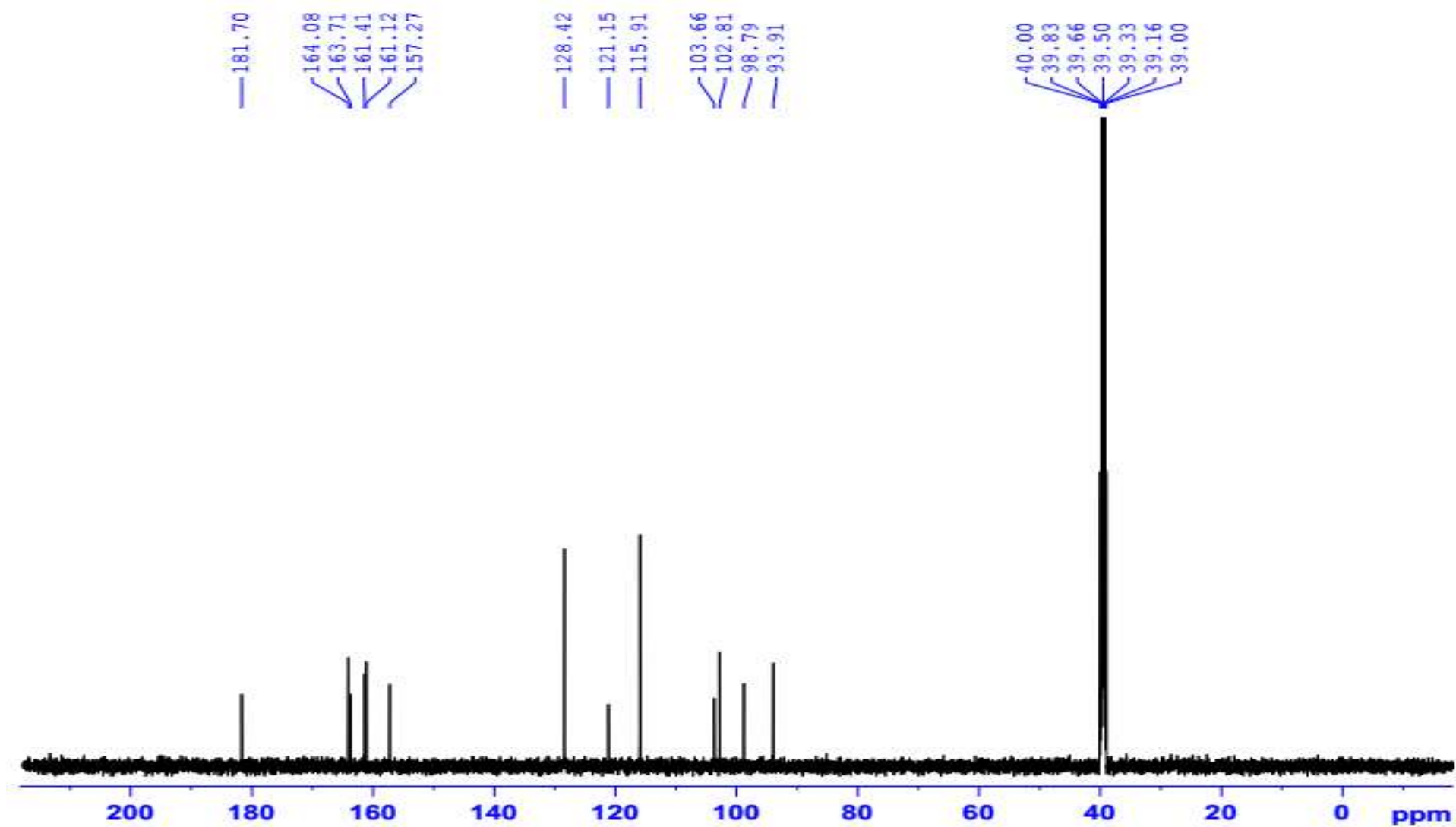
Hợp chất **CI5** thu được dưới dạng tinh thể màu vàng. Phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của 7 proton vòng thơm, trong đó có một hệ vòng thơm kiểu A_2B_2 được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ pic mạnh gấp đôi tại δ_{H} 6,91 (2H, d, $J=8,5$, H-3', H-5'), 7,91 (2H, d, $J=8,5$, H-2', H-6'), hai proton thể 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}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.

Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CI5 và apigenin

STT	CI4 (trong DMSO- d_6)		Acacetin (trong DMSO- d_6)	
	^1H NMR (500 MHz)	^{13}C NMR (125 MHz)	^1H NMR (400 MHz)	^{13}C NMR (100 MHz)
2		163,7		163,9
3	6,76 (1H, s)	102,8	6,77 (1H, s)	103,1
4		181,6		181,9
5		161,4		161,7
6	6,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	98,8	6,22 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	99,1
7		164,1		164,3
8	6,47 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	93,9	6,50 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	94,2
9		157,2		157,5
10		103,6		103,9
1'		121,1		121,4
2', 6'	7,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	128,4	7,92 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	128,6
3', 5'	6,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	115,9	6,95 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	116,2
4'		161,1		161,4

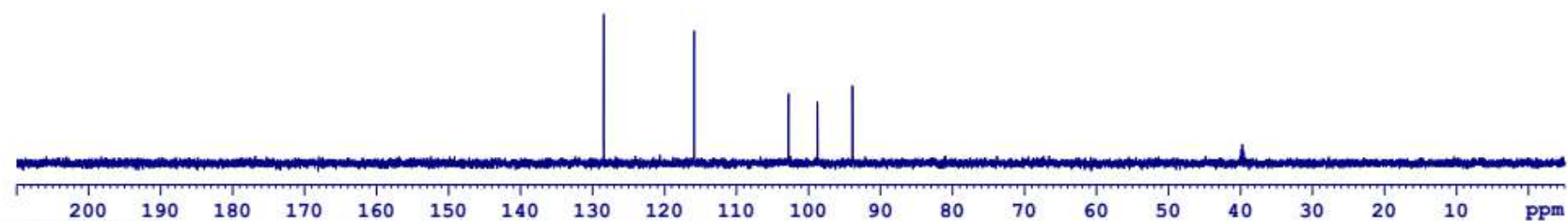


Hình 3.25. Phổ ^1H NMR của hợp chất CI5

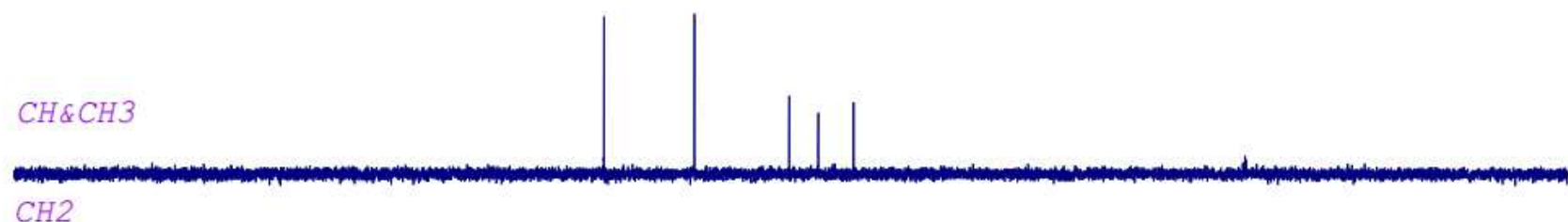


Hình 3.26. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI5

DEPT90

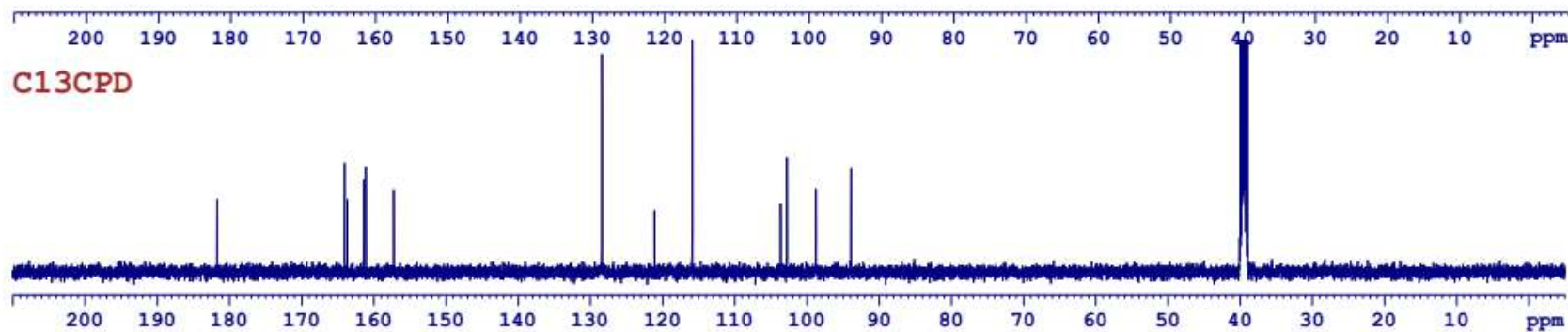


DEPT135



CH&CH3

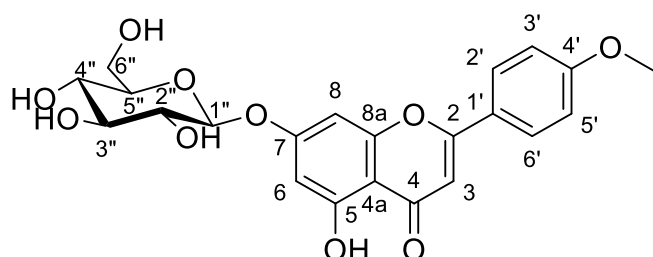
CH2



C13CPD

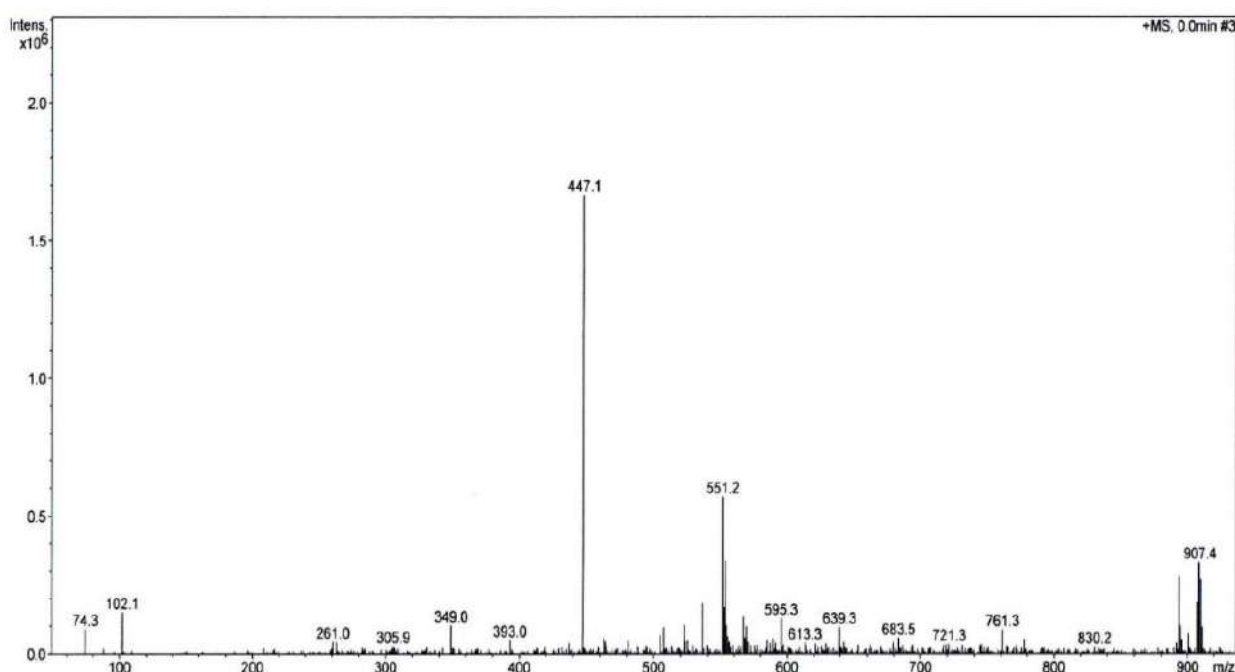
Hình 3.27. Phổ DEPT của CI5

3.1.6. Hợp chất **CI6**



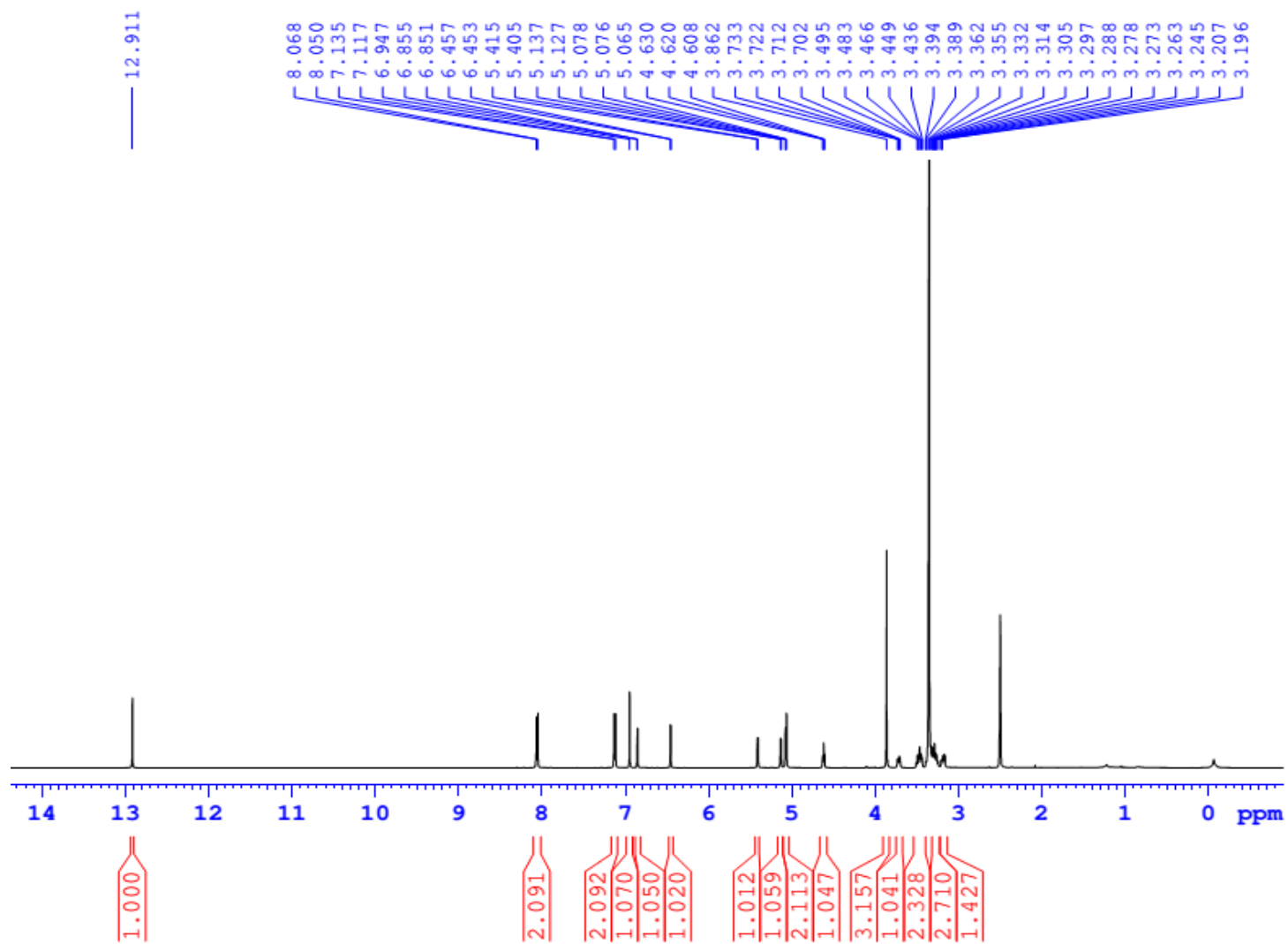
Hình 3.28. Cấu trúc của acacetin 7-**O**- β -D-glucopyranoside (**CI6**)

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 thể 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'').



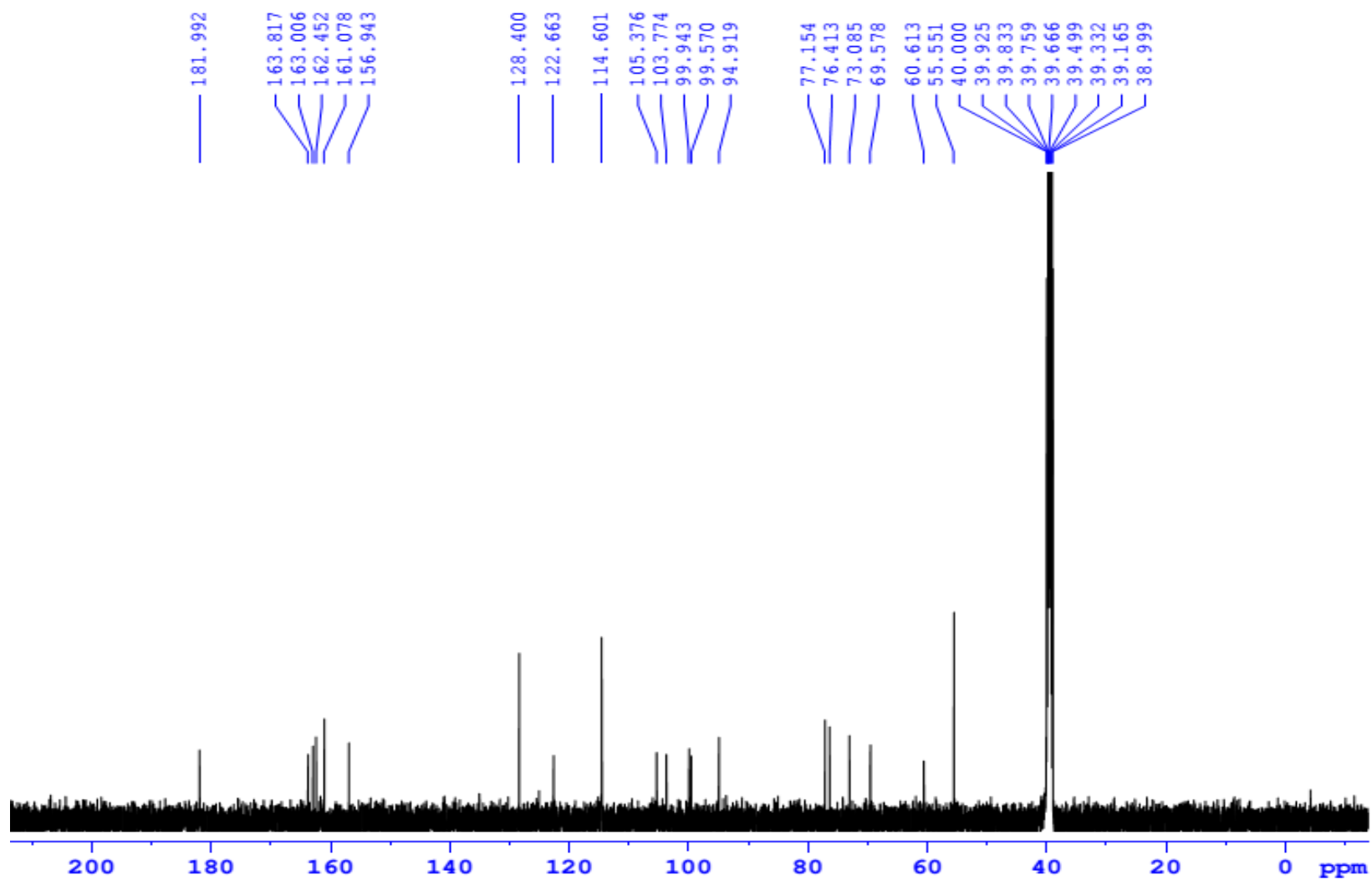
Hình 3.30. Phổ ^1H -NMR của CI6

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.

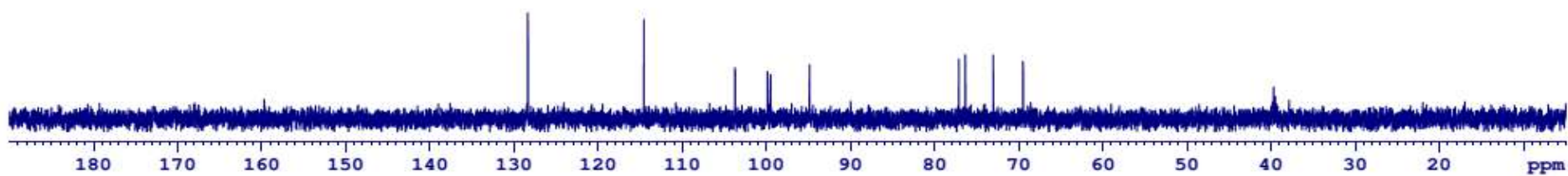
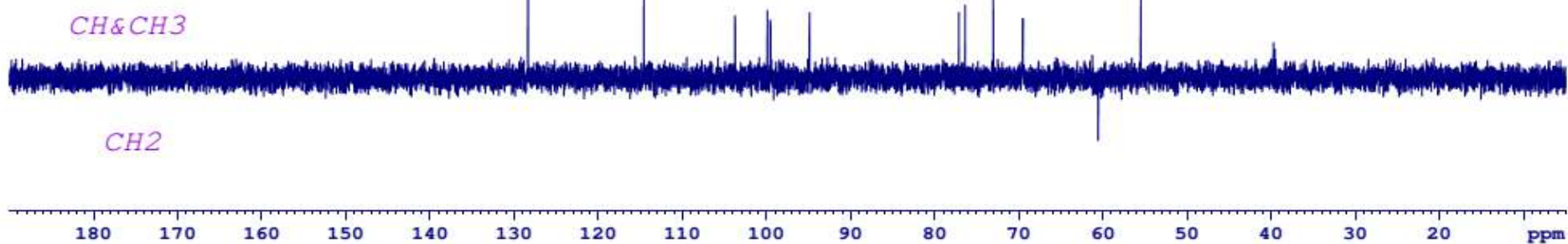
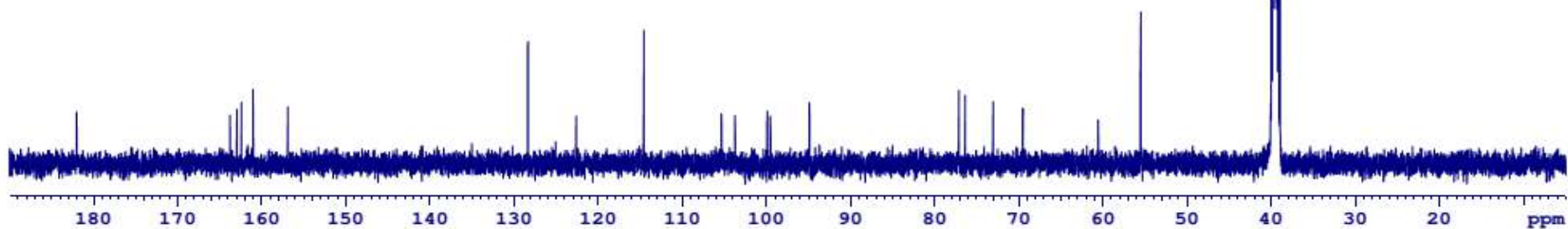
Từ các dữ kiện trên có thể dự đoán hợp chất **CI6** là một flavonoid có cấu trúc vòng B dạng kaempferol và trong phân tử có một đơn vị đường β -D-glucopyranoside. So sánh số liệu phổ thu được với chất acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside thấy có sự phù hợp ở tất cả các vị trí chứng tỏ hợp chất **CI6**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

Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI6** và acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside

STT	CI6 (trong DMSO- d_6)		acacetin 7-O- β -D-glucopyranoside (trong DMSO- d_6)	
	^1H NMR (500 MHz)	^{13}C NMR (125 MHz)	^1H NMR (500 MHz)	^{13}C NMR (125 MHz)
2		163,8		163,7
3	6,94 (1H, s)	103,7	6,95 (1H, s)	103,8
4		181,9		181,8
5		161,0		161,1
6	6,45 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$)	99,4	6,47 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$)	99,5
7		163,8		163,9
8	6,85 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$)	94,9	6,86 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$)	95,0
9		156,9		157,0
10		105,3		105,2
1'		122,6		122,7
2',6'	8,05 (2H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$)	128,4	8,06 (2H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$)	128,5
3', 5'	7,12 (2H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$)	114,6	7,13 (2H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$)	114,7
4'		162,4		162,3
1''	5,07 (1H, d, $J = 6,5 \text{ Hz}$)	99,7	5,08 (1H, d, $J = 6,5 \text{ Hz}$)	99,8
2''		73,0		73,2
3''		77,1		77,0
4''		69,5		69,6
5''		76,4		76,3
6''		60,6		60,7
OMe	3,86 (3H, br s)		3,87 (3H, br s)	

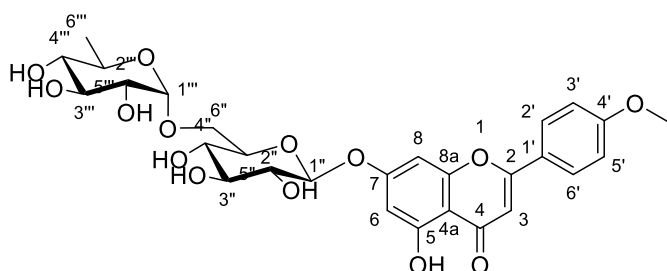


Hình 3.31. Phổ ^{13}C -NMR của CI6

DEPT90**DEPT135****C13CPD**

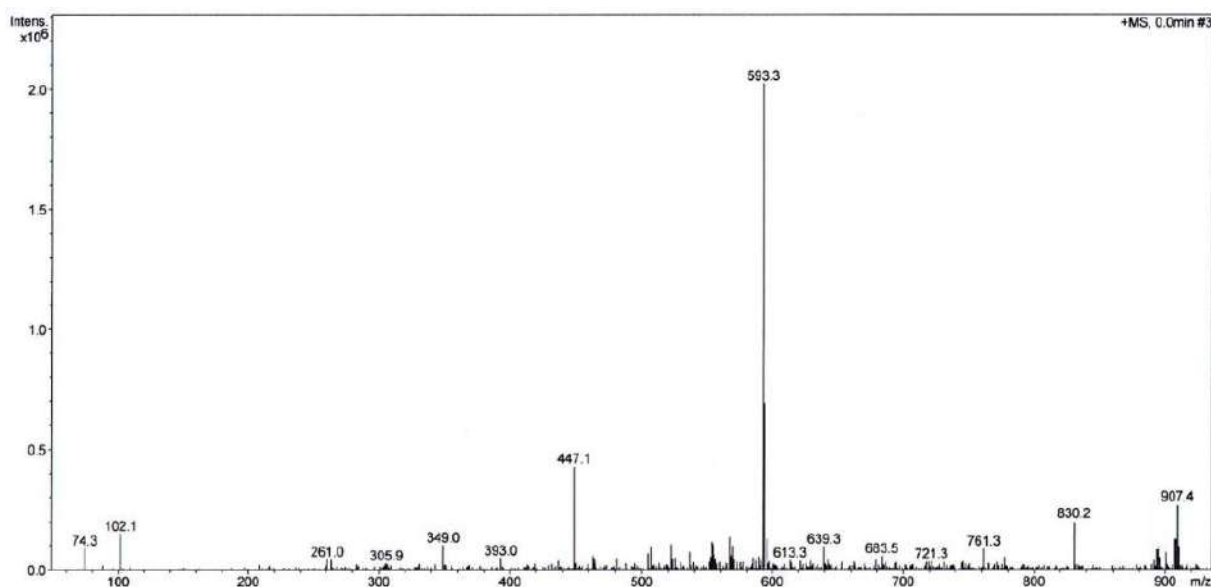
Hình 3.32. Phổ DEPT của CI6

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

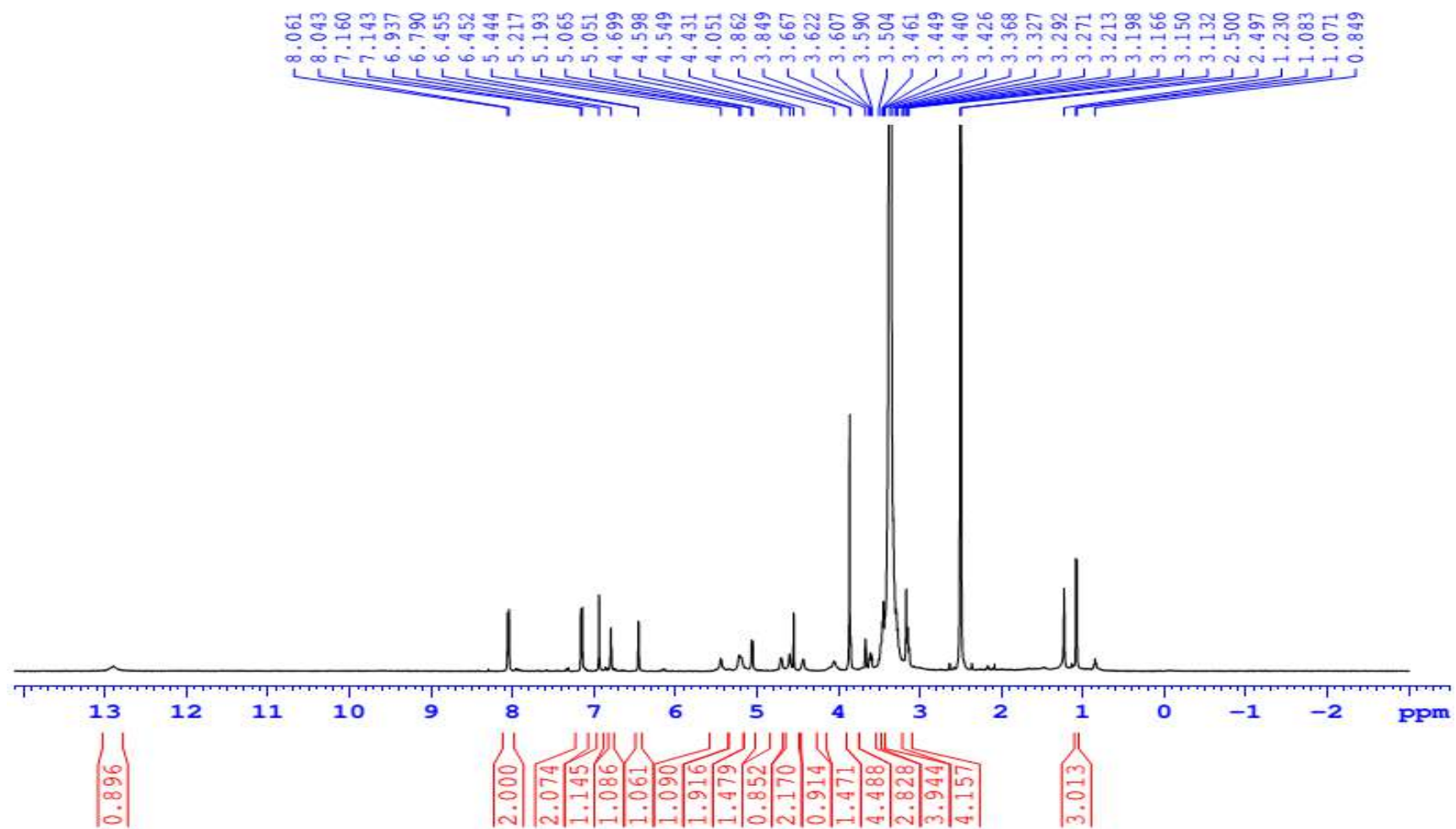
Các phổ NMR của nó đặc trưng cho một hợp chất có khung flavon. Trên phổ ^1H -NMR, tại vùng trường trung bình đặc trưng cho tín hiệu của các olefin vòng thơm xuất hiện tín hiệu của 7 proton, trong đó có một hệ vòng thơm kiểu A_2B_2 được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ pic mạnh gấp đôi tại δ 8,06 (2H, d, $J=8,5$, H-2', 6'), 7,16 (2H, d, $J=8,5$, H-3', 5'), hai proton thế 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

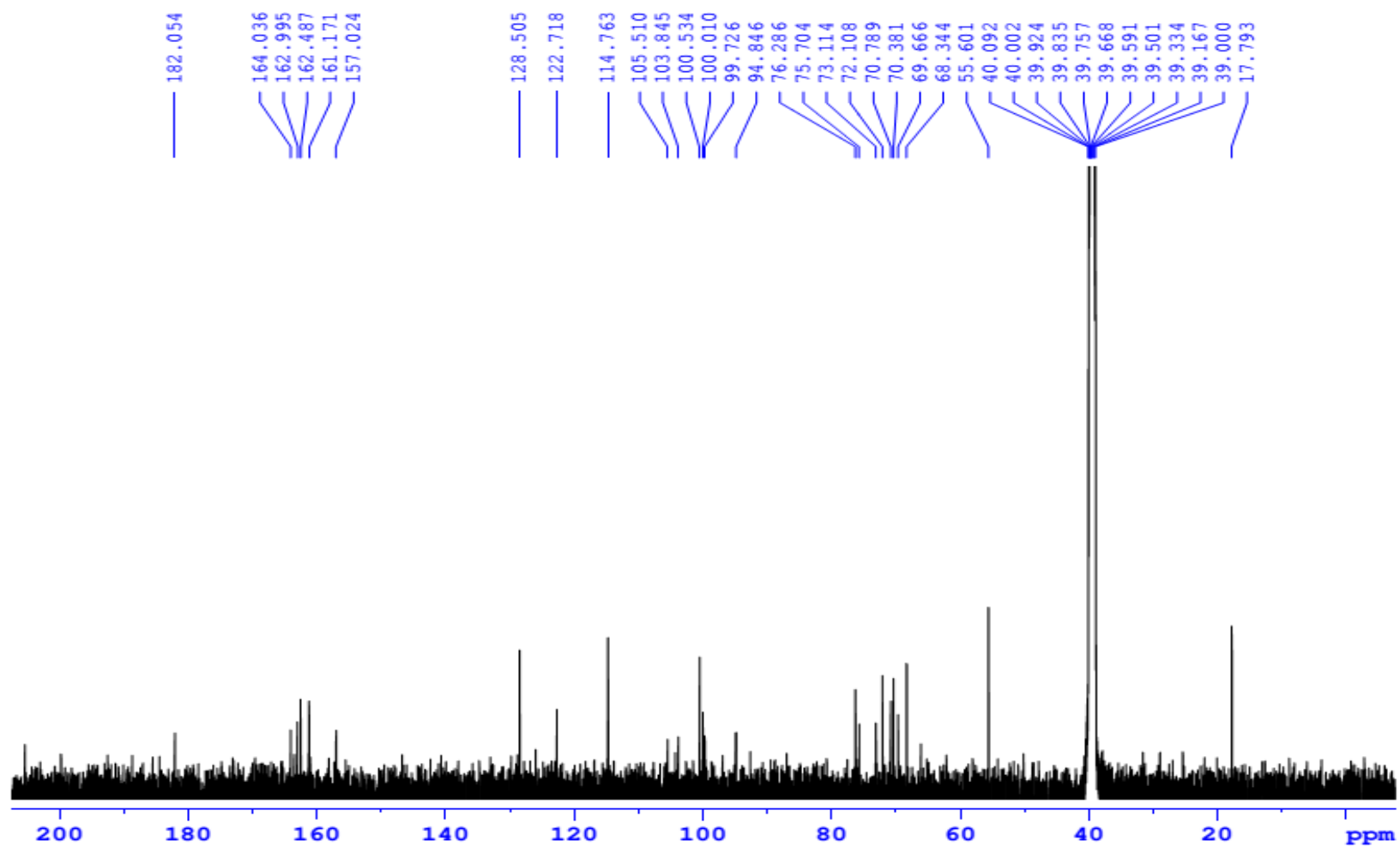
Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CI7** và acacetin 7-O-rutinoside

STT	CI7 (trong DMSO-d ₆)		acacetin 7-O-rutinoside (trong DMSO-d ₆)	
	¹ H NMR (500 MHz)	¹³ C NMR (125 MHz)	¹ H NMR (500 MHz)	¹³ C NMR (125 MHz)
2		164,0		163,5
3	6,93 (1H, s)	103,8	6,88 (1H, s)	104,2
4		182,0		181,6
5		157,0		156,4
6	6,45 (1H, d, J = 1,5 Hz)	100,5	6,50 (1H, d, J = 2,0 Hz)	101,0
7		162,9		162,4
8	6,79 (1H, br s)	94,9	6,83 (1H, br s)	93,9
9		161,1		161,6
10		105,5		105,7
1'		122,7		122,9
2',6'	8,06 (2H, d, J = 8,5 Hz)	128,5	8,07 (2H, d, J = 9 Hz)	128,1
3',5'	7,16 (2H, d, J = 8,5 Hz)	114,7	7,15 (2H, d, J = 9 Hz)	114,3
4'		162,4		162,8
1''	5,06 (1H, d, J = 7,0 Hz)	99,7	5,04 (1H, d, J = 8,0 Hz)	98,6

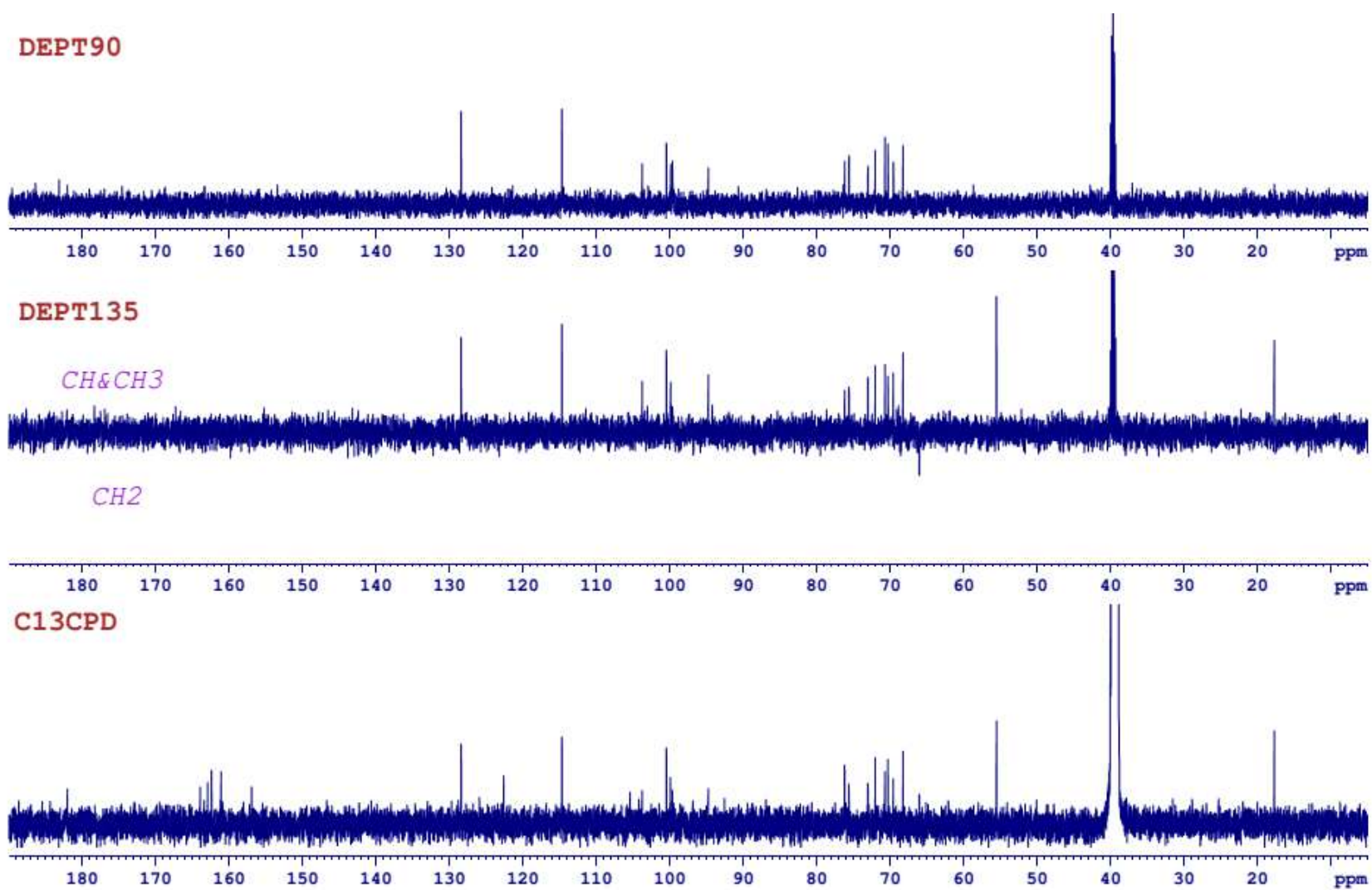
2''		73,1		73,6
3''		76,2		76,4
4''		69,6		69,9
5''		75,7		75,3
6''		66,5		66,2
1'''	4,54 (1H, br s)	100,0	4,50 (1H, br s)	100,0
2'''		70,7		70,8
3'''		70,3		70,4
4'''		72,1		72,1
5'''		68,3		68,1
6'''	1,08 (3H, J = 6,0 Hz)	17,7	1,01 (3H, J = 7,0 Hz)	17,8
4'- OMe	3,86 (3H, s)		3,82 (3H, s)	55,6



Hình 3.35. Phổ ^1H -NMR của CI7

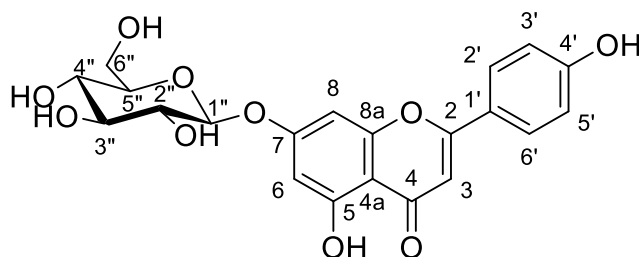


Hình 3.36. Phổ ^{13}C -NMR của CI7



Hình 3.37. Phổ DEPT của CI7

3.1.8. Hợp chất **CI8**

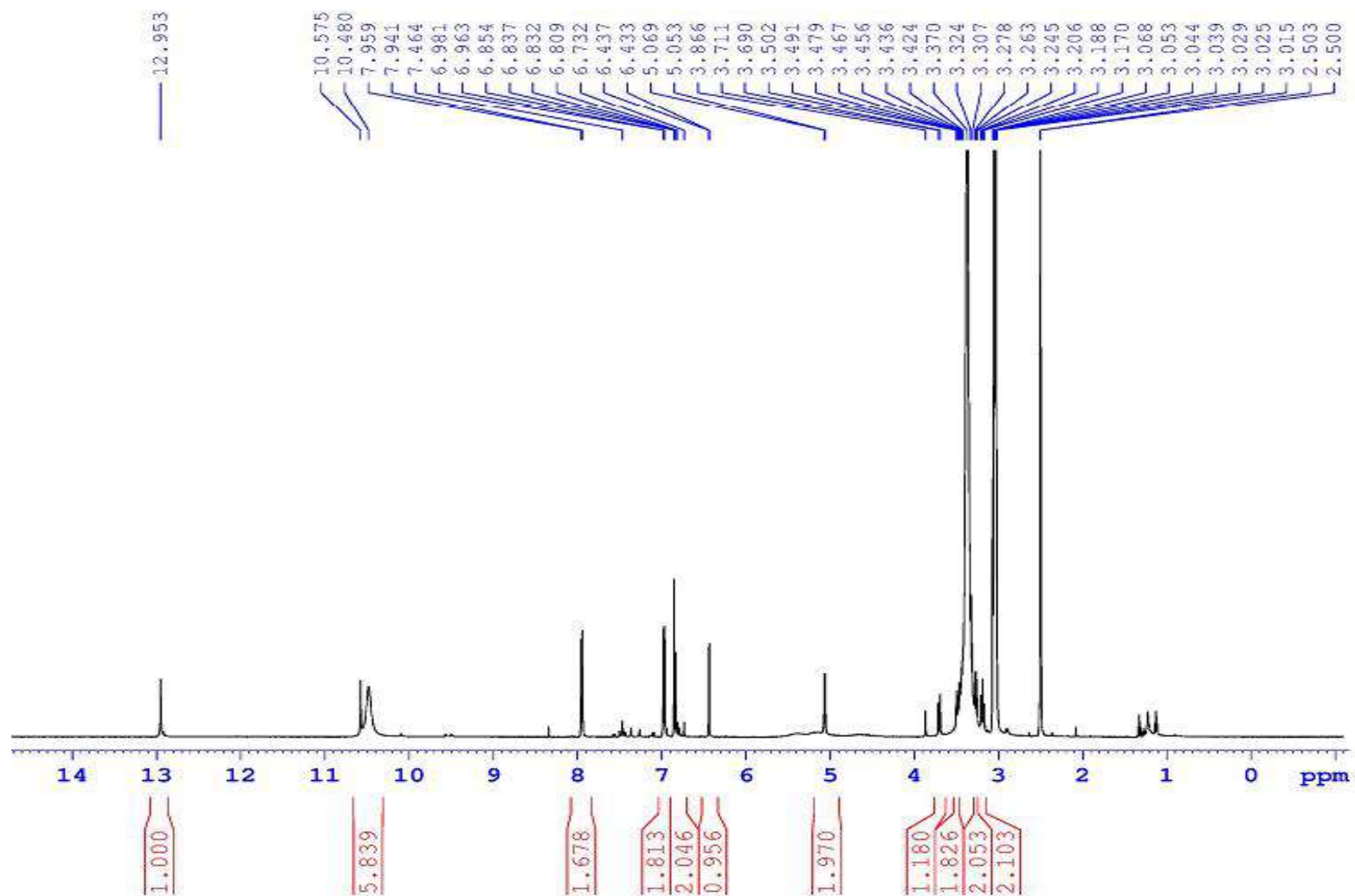


Hình 3.38. Cấu trúc của apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside (**CI8**)

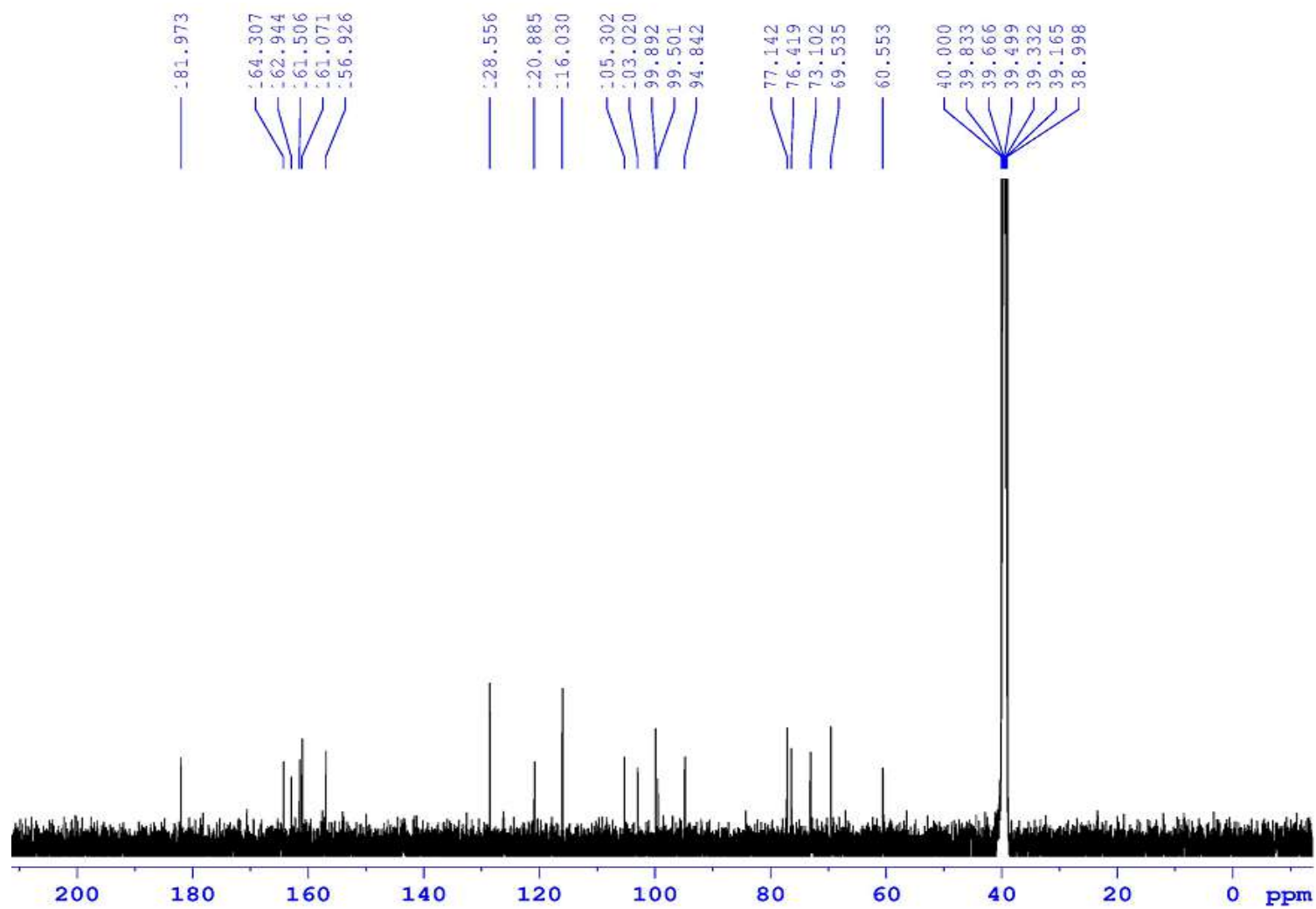
Hợp chất **CI8** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$, xuất hiện hệ tín hiệu đặc trưng cho các proton vòng thơm: hai tín hiệu cường độ mạnh tại δ 7,95 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2', H-6') và δ 6,98 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3', H-5'), tương ứng với hệ spin $A_2 B_2$. Ngoài ra, các 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].

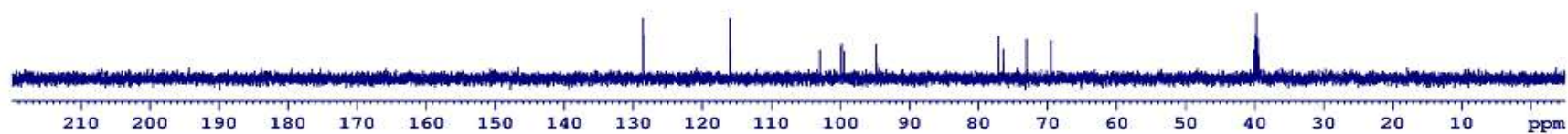


Hình 3.39. Phổ ^1H -NMR của **CI8**

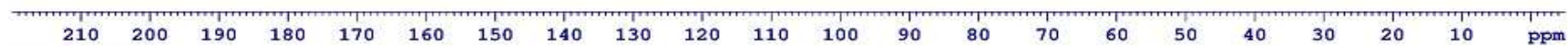


Hình 3.40. Phổ ^{13}C -NMR của CI8

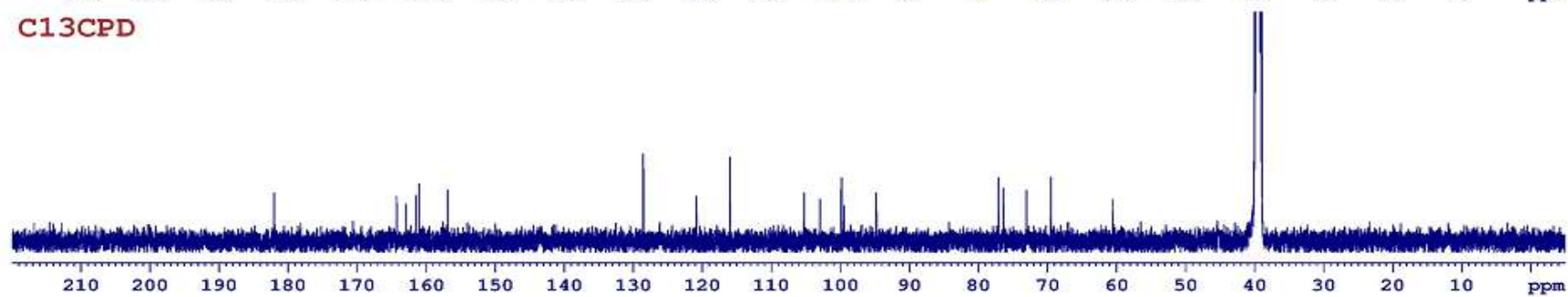
DEPT90



DEPT135

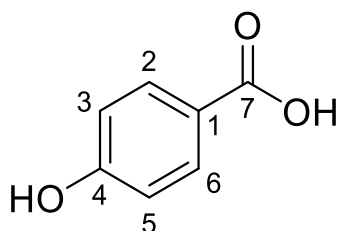
*CH&CH3**CH2*

C13CPD



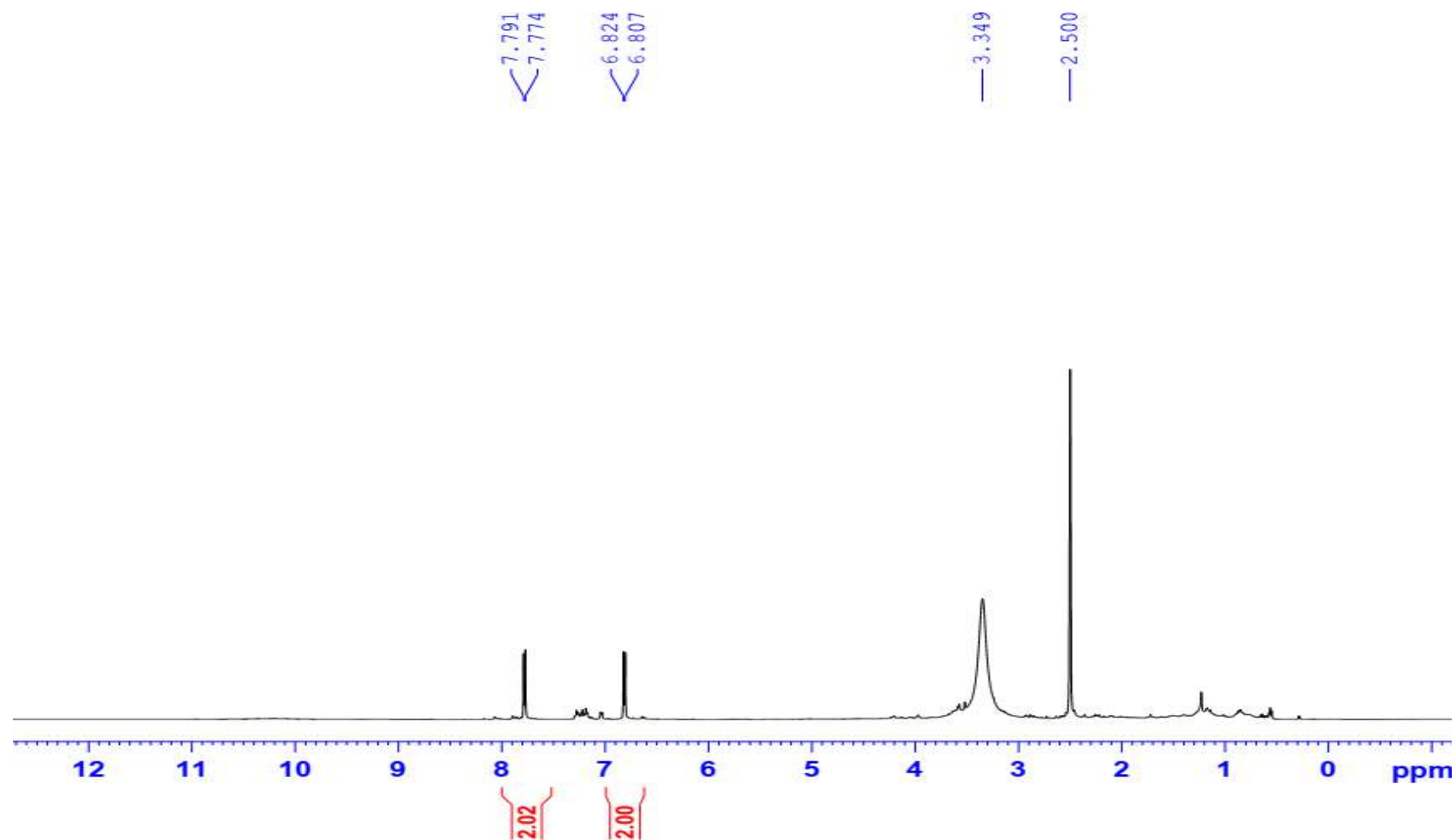
Hình 3.41. Phổ DEPT của C18

3.1.9. Hợp chất **CI9**

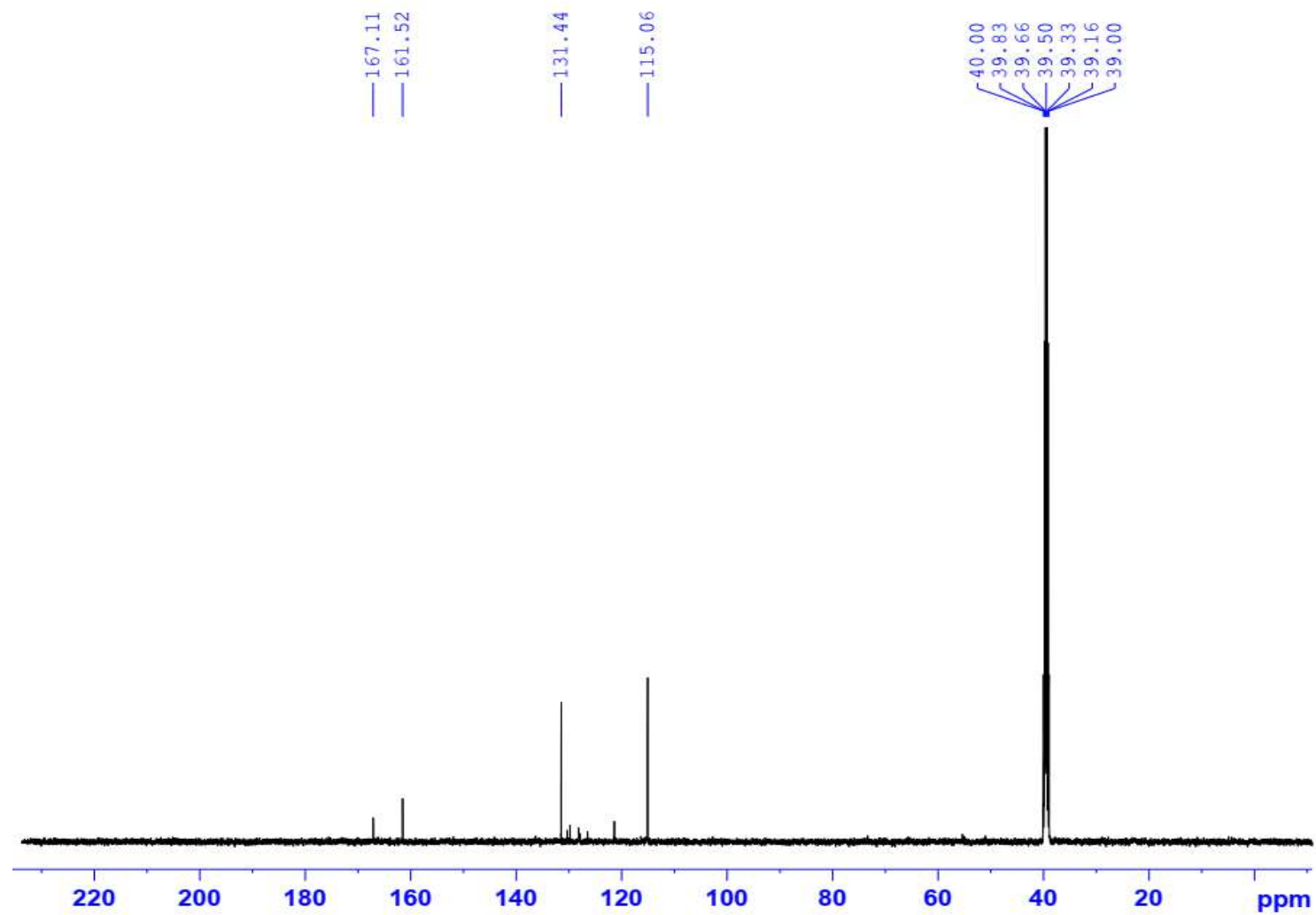


Hình 3.42. Cấu trúc hợp chất *p*-hydroxybenzoic acid

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

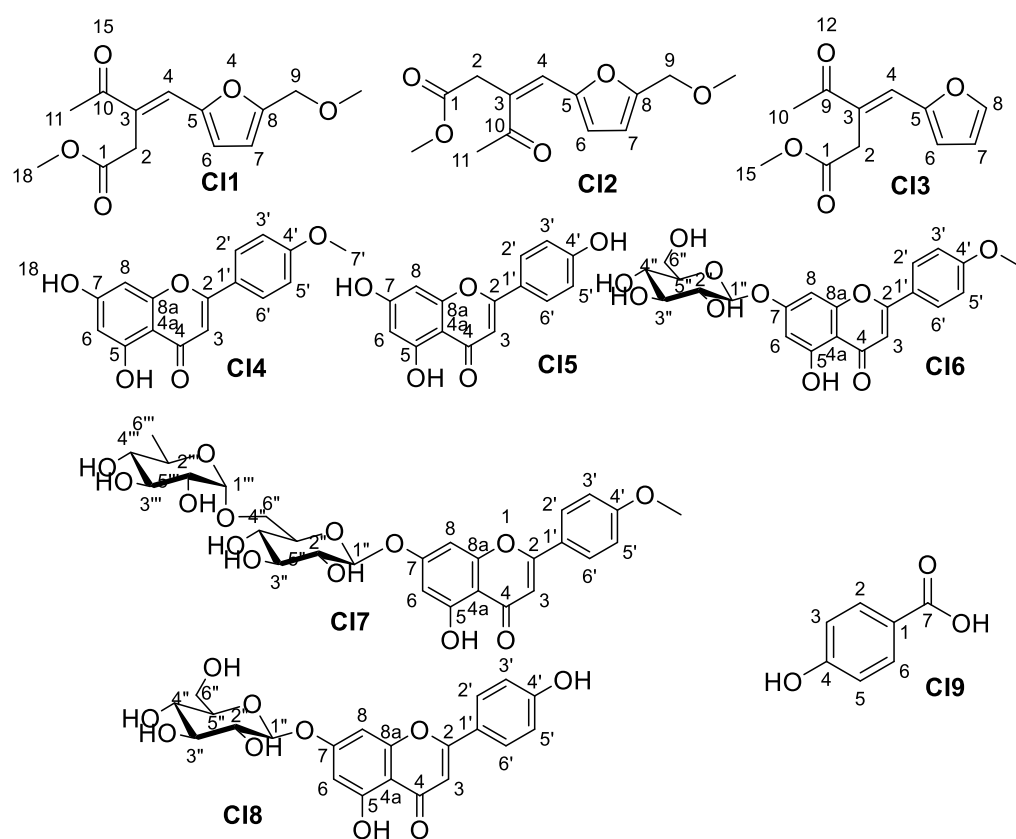


Hình 3.44. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CI9

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.

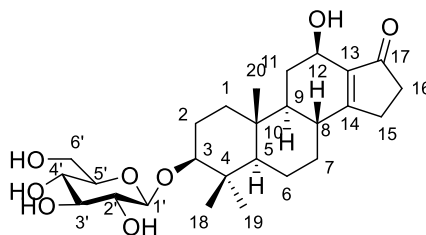
Khả năng ức chế vi khuẩn lam của các chất sẽ được trình bày trong các phần tiếp theo của luận án.



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

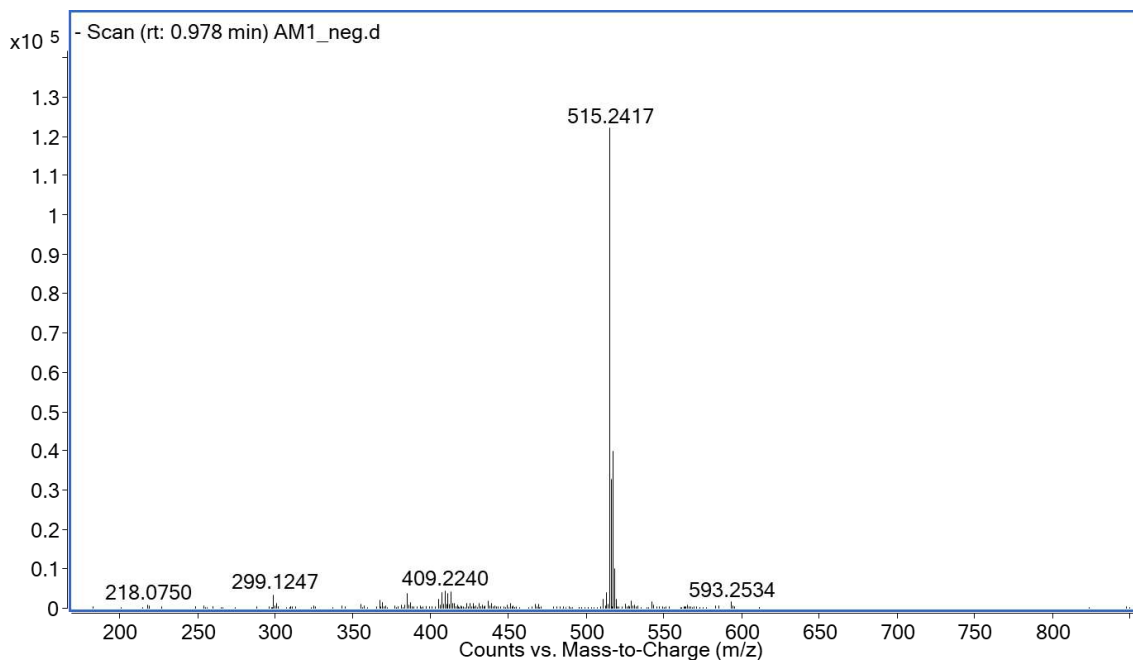
3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất từ keo tai tượng (*Acacia mangium*)

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.



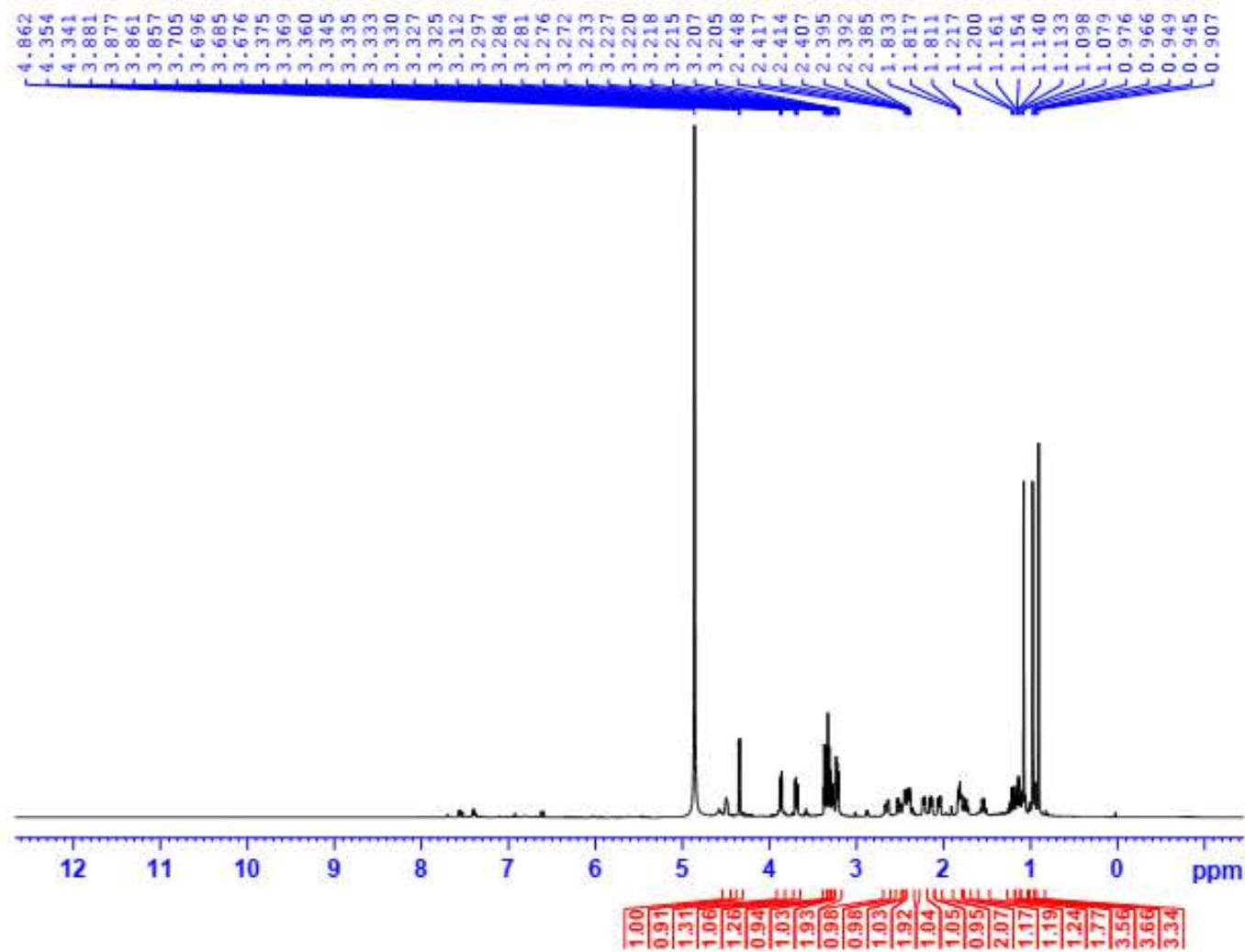
Hình 3.47. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất mới acacienoside A

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

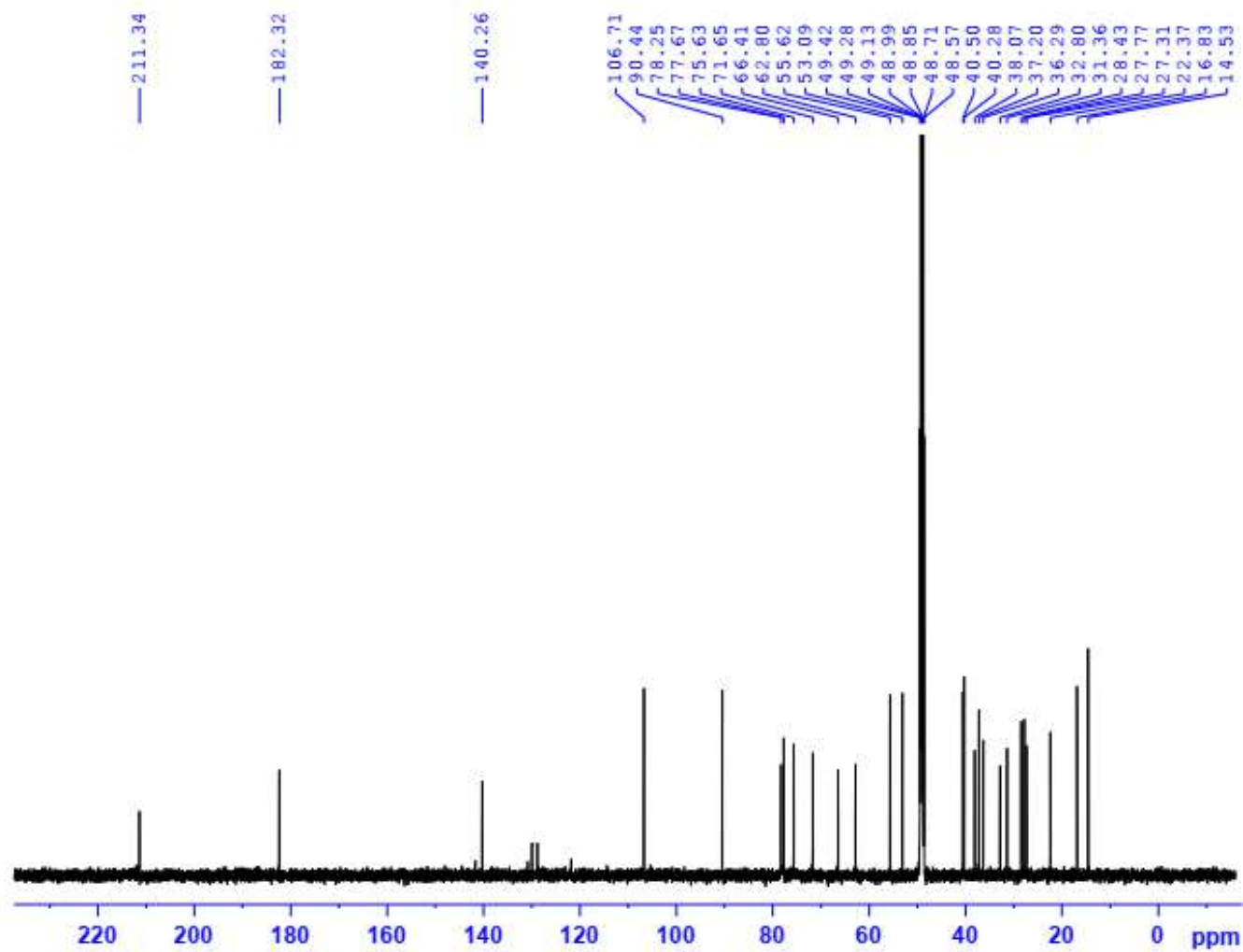
xác nhận sự có mặt của 26 carbon, với các tín hiệu đặc trưng của carbon keton tại δ_C 211,3 (C-17) và hai carbon liên kết oxy tại δ_C 90,4 (C-3) và δ_C 66,4 (C-12). Hai carbon bậc bốn xuất hiện tại δ_C 140,3 (C-13) và δ_C 182,3 (C-14). Trong số đó, 20 tín hiệu được gán cho phần terpenoid và 6 tín hiệu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

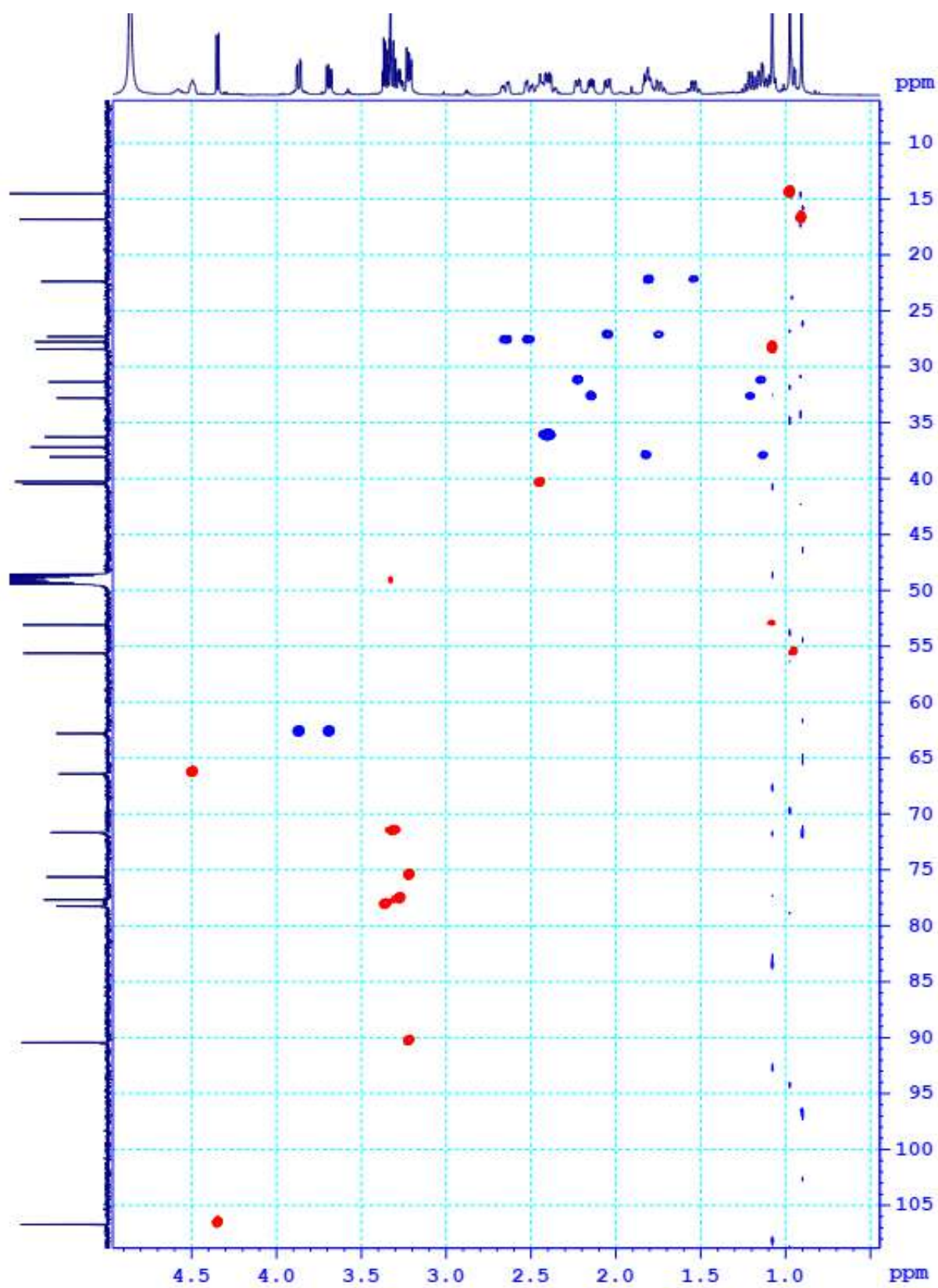
Cấu hình lập thể tương đối được xác nhận bằng phổ NOESY, chỉ ra các proton H-3, H-5, H-9 và H-19 định hướng α , trong khi proton H-8 và methyl H-20 định hướng β . Cấu hình β của nhóm OH tại C-12 được xác định dựa theo so sánh với hợp chất đã biết là acacienone [113]. Dựa trên phân tích toàn diện các dữ liệu phổ cấu trúc của hợp chất **AM1** đã được xác định là một diterpenoid khung nor-androstane mới với tên gọi là Acacienoside A.



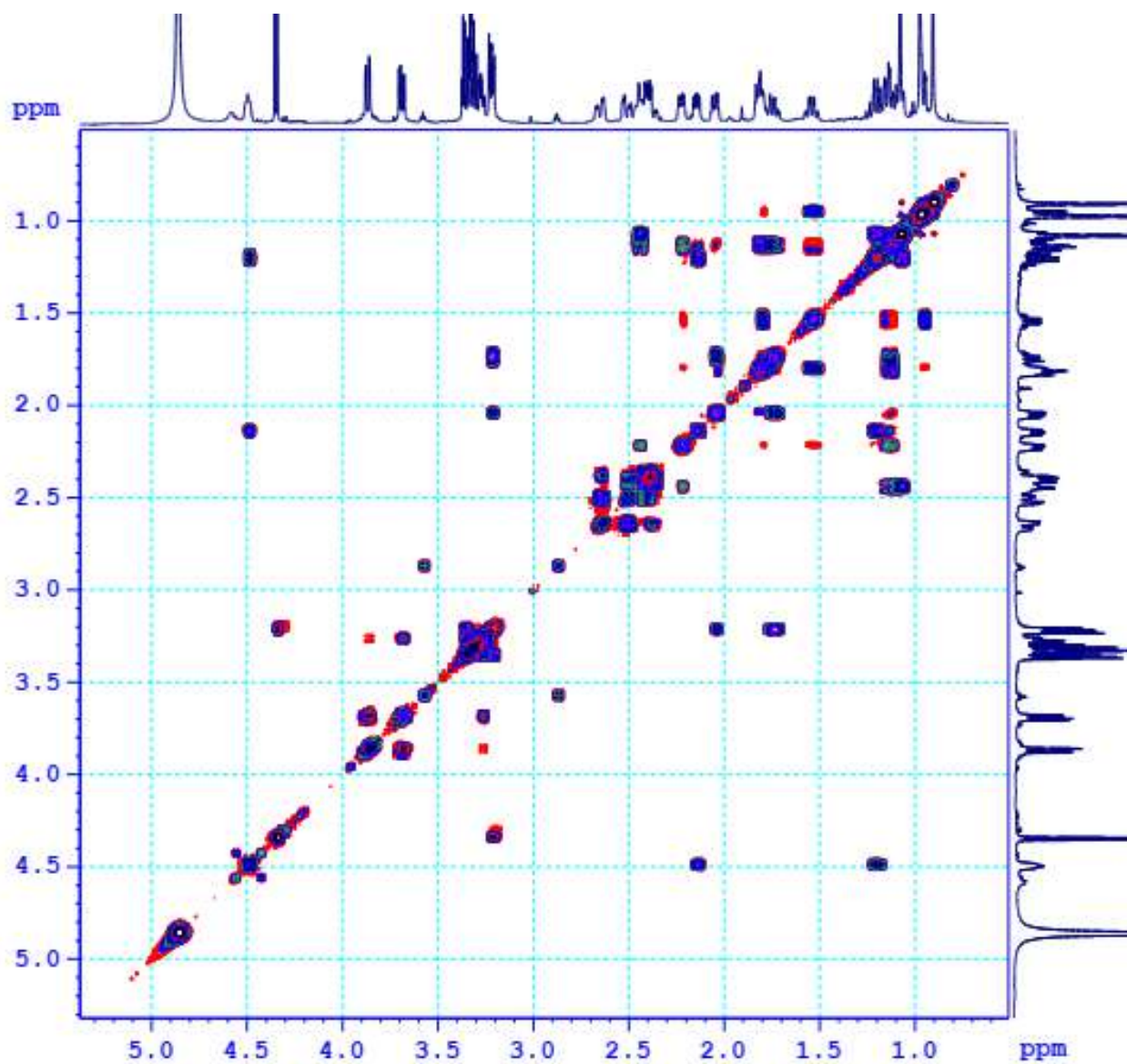
Hình 3.48. Phổ ^1H NMR của AM1



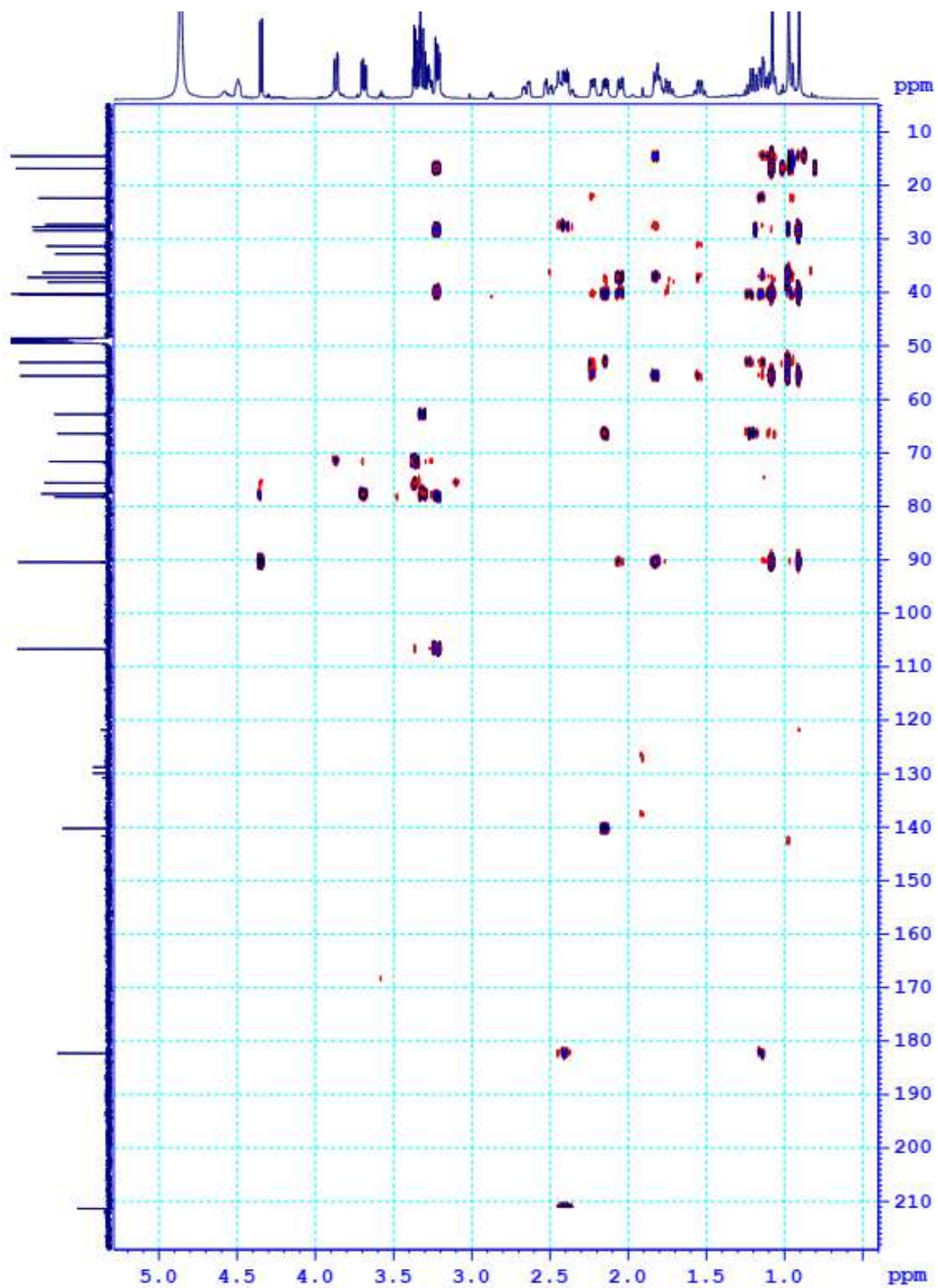
Hình 3.49. Phổ ^{13}C NMR của AM1



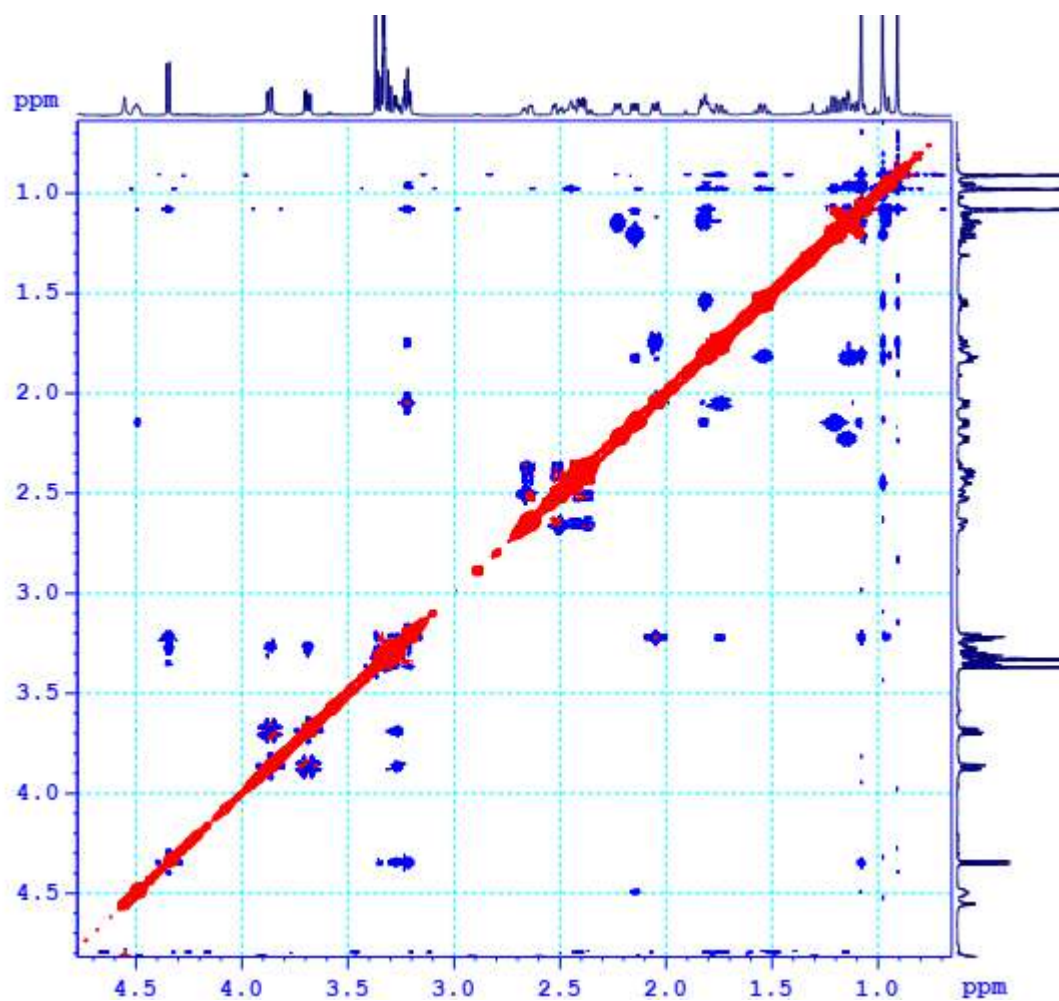
Hình 3.50. Phổ HSQC của AM1



Hình 3.51. Phổ COSY của AM1

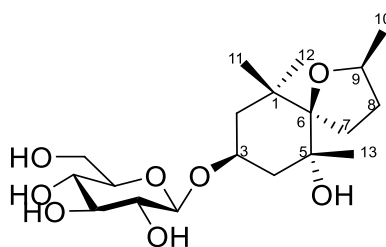


Hình 3.52. Phổ HMBC của AM1



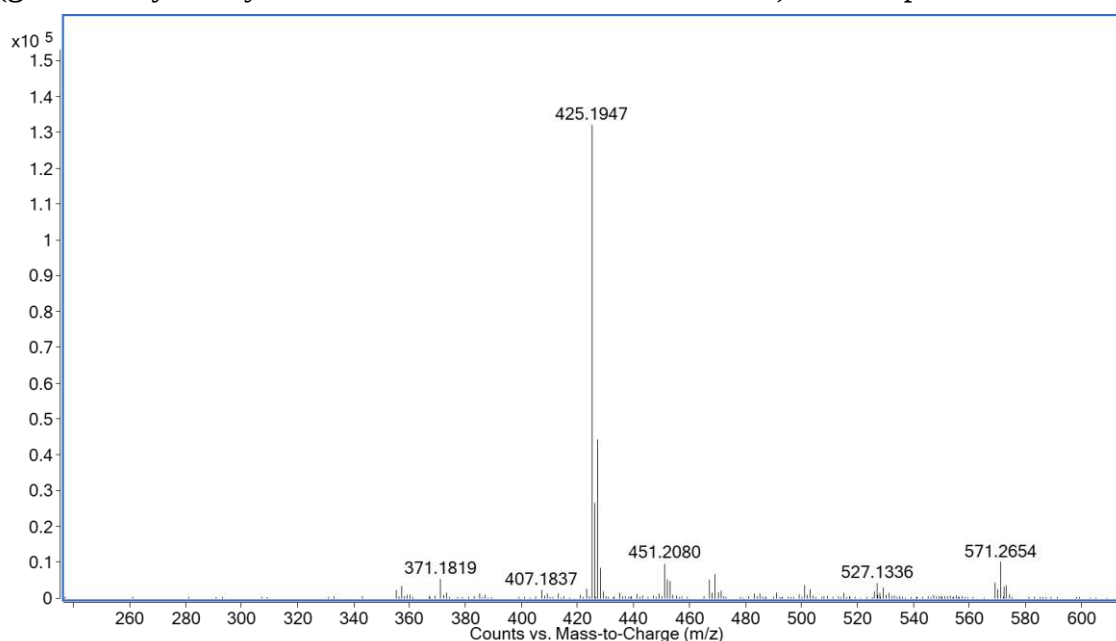
Hình 3.53. Phổ NOESY của AM1

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.

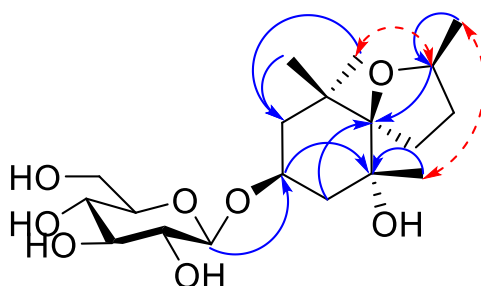


Hình 3.55. Phổ HRMS của hợp chất mới acacionoside 3-glucoside

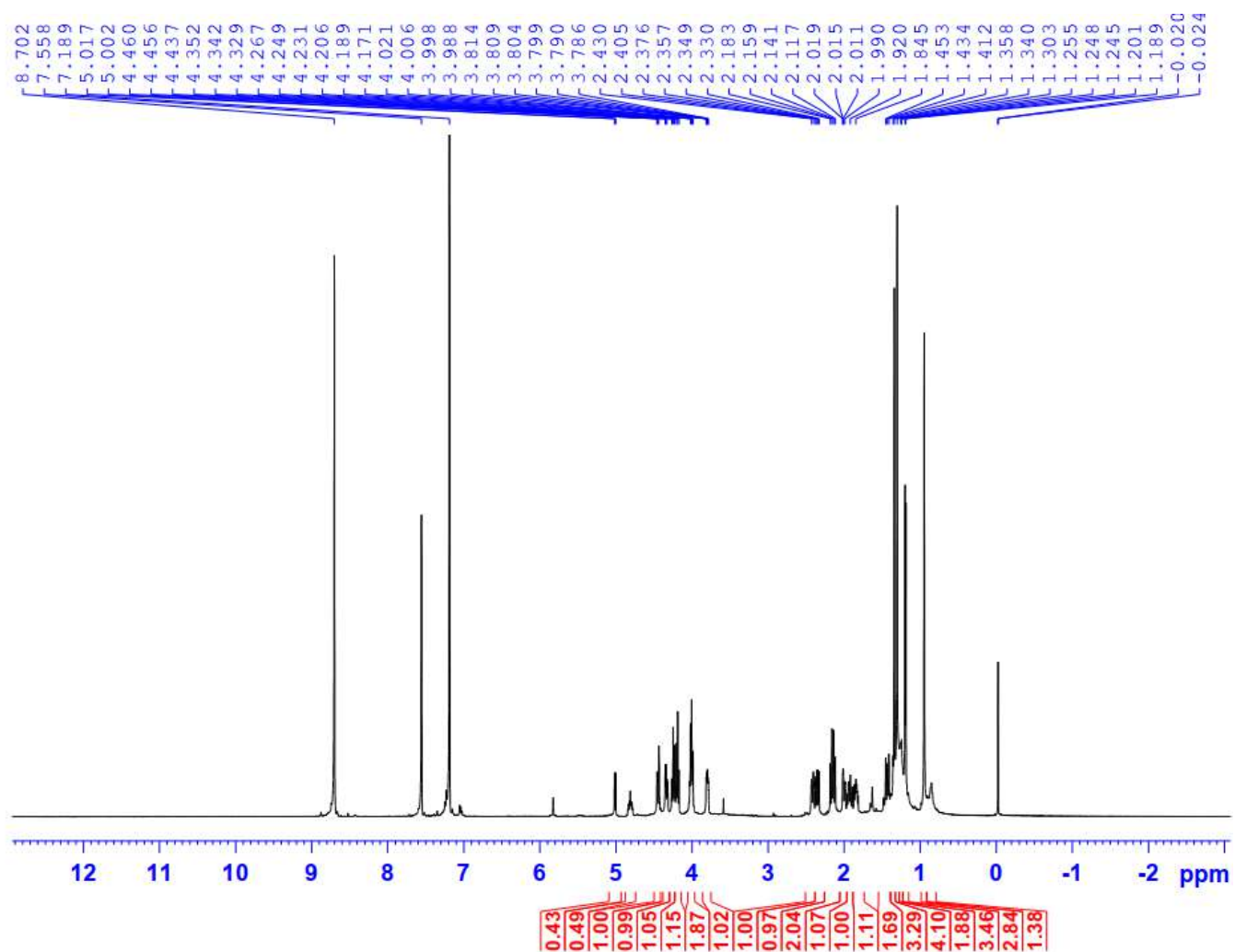
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton xuất hiện tín hiệu của một proton anomer tại δ_H 5,00 (1H, d, $J = 9,0$ Hz; H-1') và các tín hiệu proton 4,45 (1H, m, H-2'); 4,34 (1H, m, H-3'); 4,26 (1H, m, H-4'); 4,18 (1H, m, H-5'); 4,04 (2H, m, H-6') cho thấy sự hiện diện của một đơn vị đường β -D-glucopyranoside. 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 aglycone. 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).

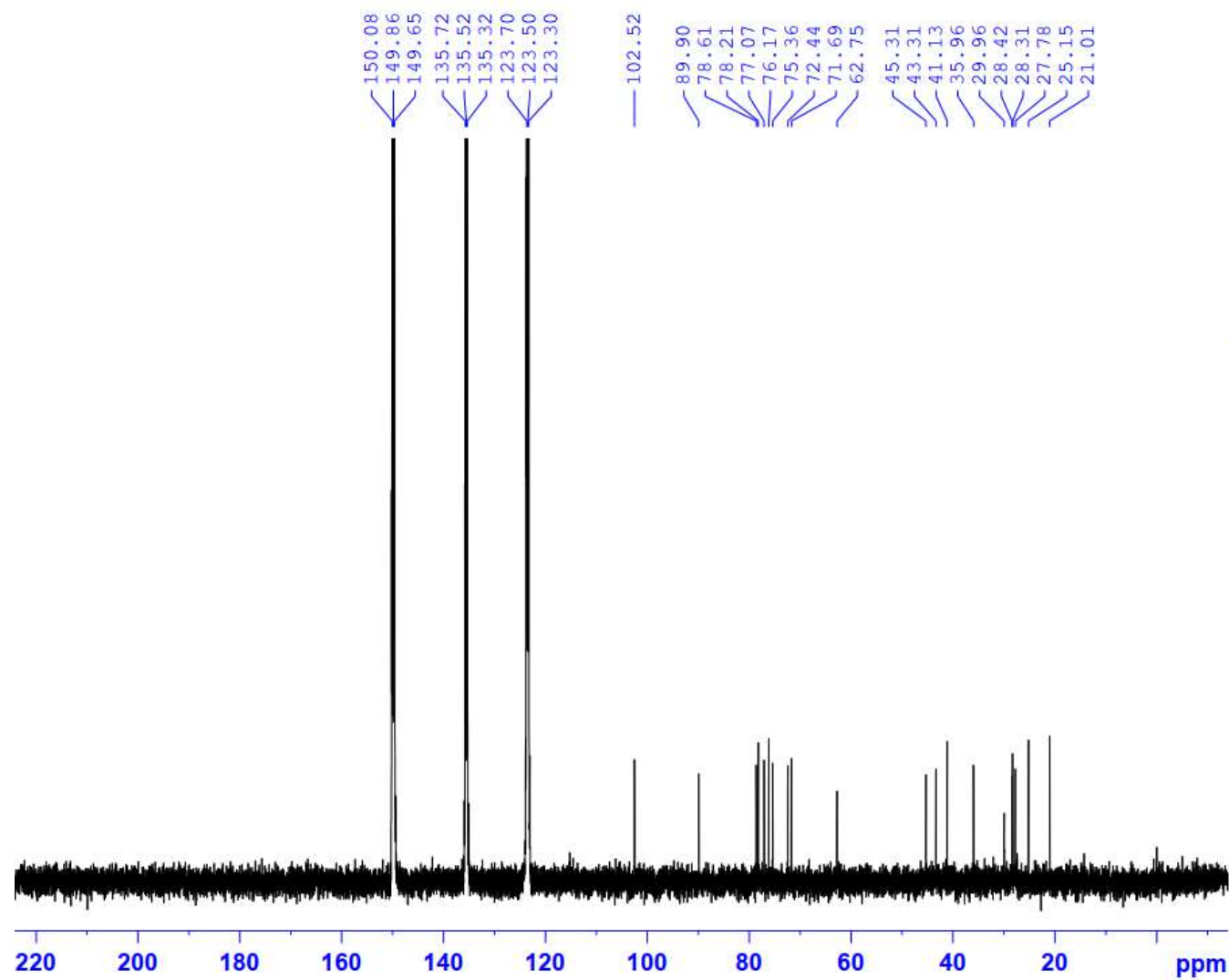
Cấu trúc của hợp chất **AM2** tương đồng rất lớn với hợp chất đã biết là (3*S**,5*R**,6*R**,9*R**)-6,9-epoxy-3,5-megastigmanediol 3-*O*-rutinoside [102] nhưng khác biệt ở gốc đường. Cấu hình tương đối của phần aglycone trong cấu trúc của **AM2** được xác định qua tương tác NOE giữa H-10 (δ_H 1,20) với 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.



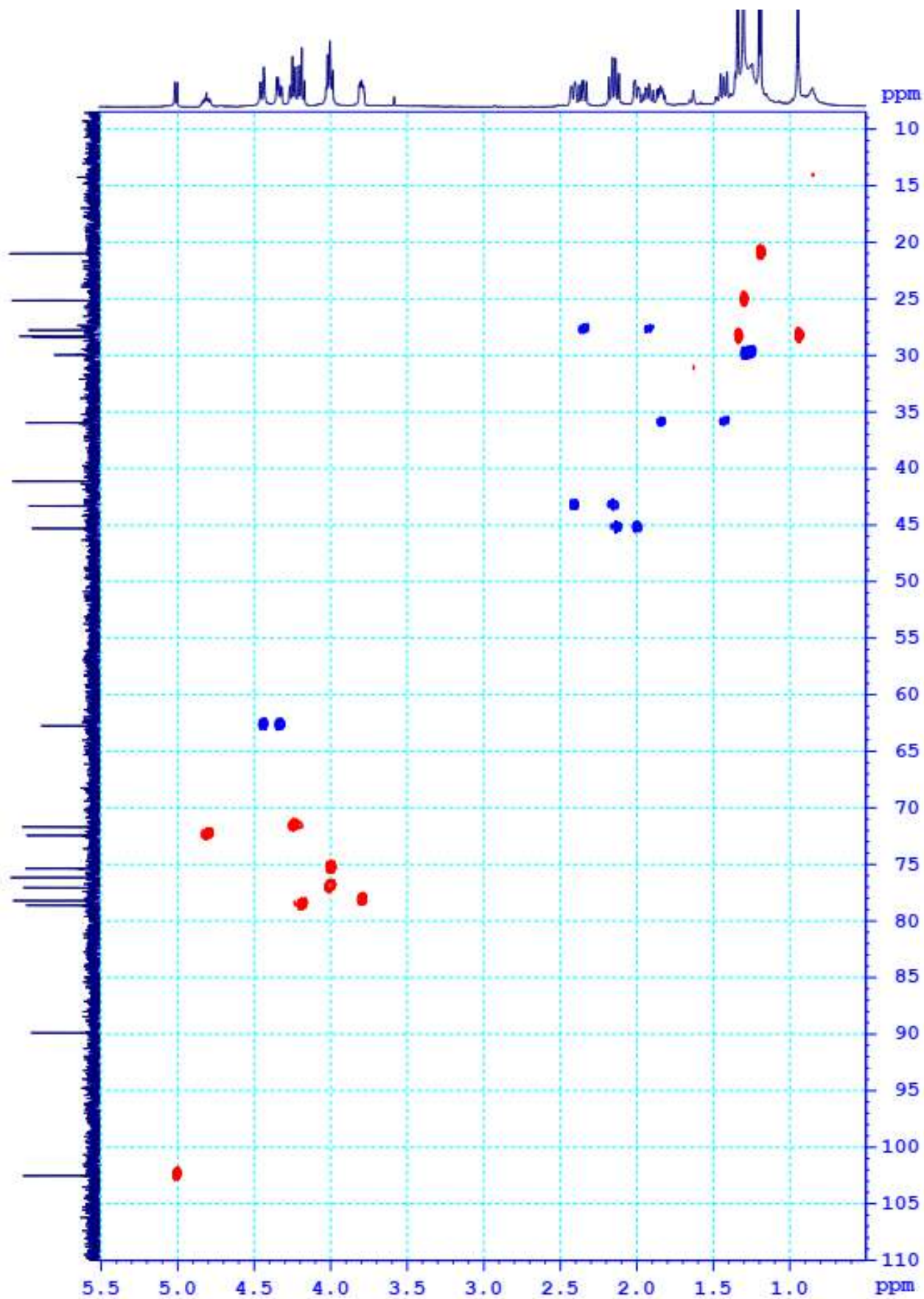
Hình 3.56. Các tương tác HMBC  và NOESY  đặc trưng của acacionoside 3-glucoside



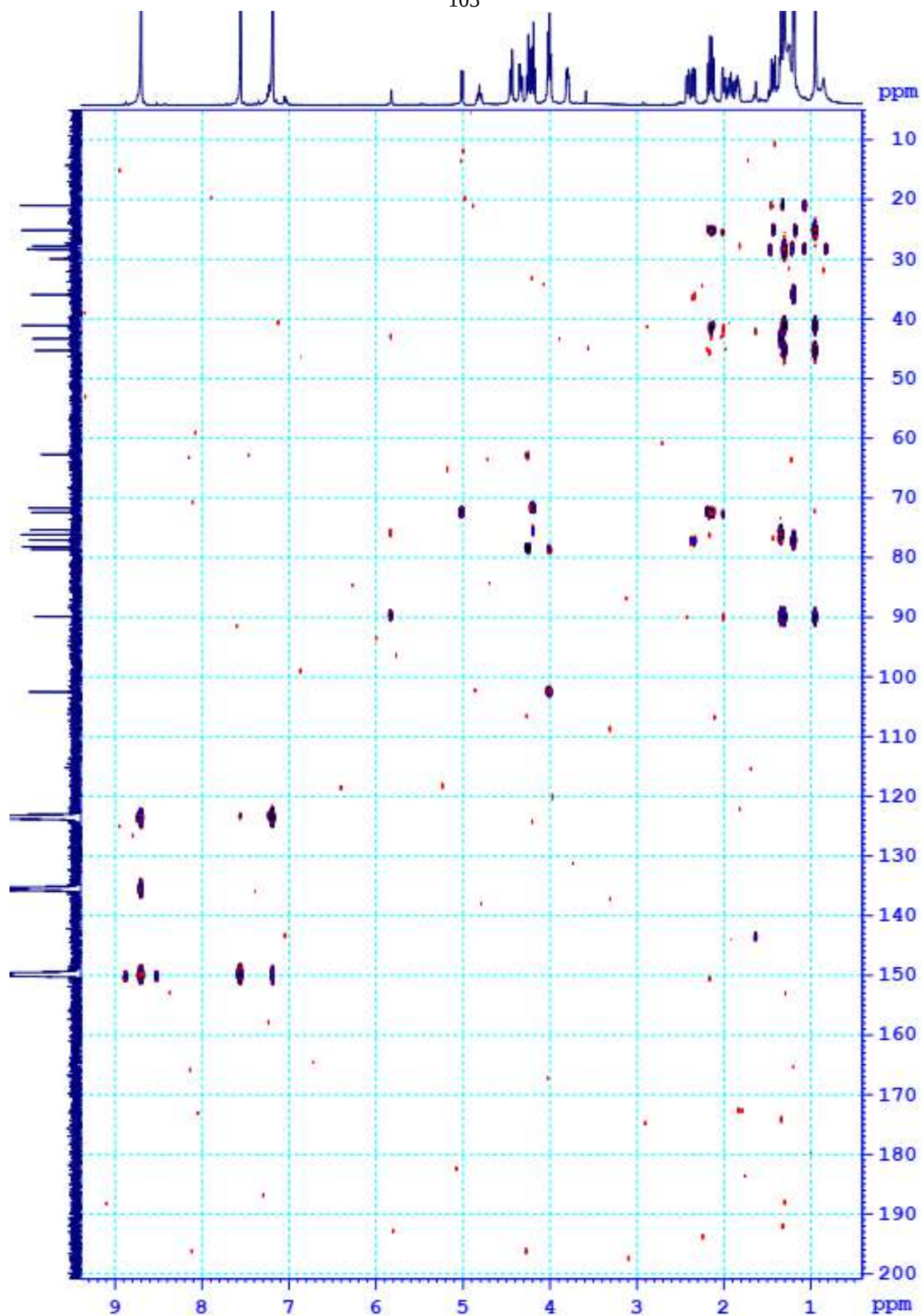
Hình 3.57. Phổ ^1H NMR của AM2



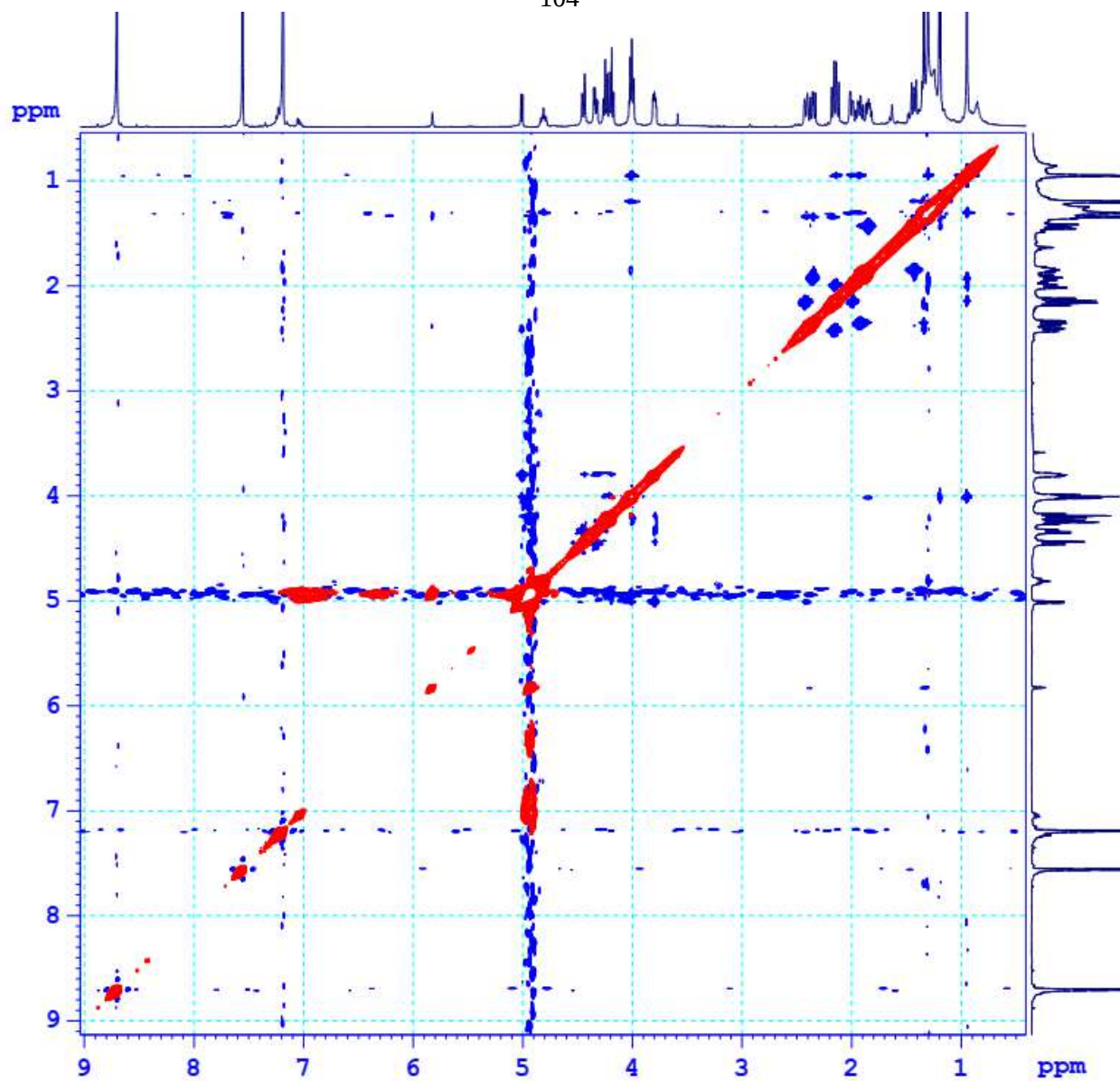
Hình 3.58. Phổ ^{13}C NMR của AM2



Hình 3.59. Phổ HSQC của của AM2

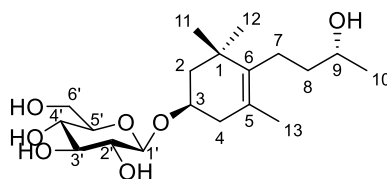


Hình 3.60. Phổ HMBC của AM2



Hình 3.61. Phổ NOESY của AM2

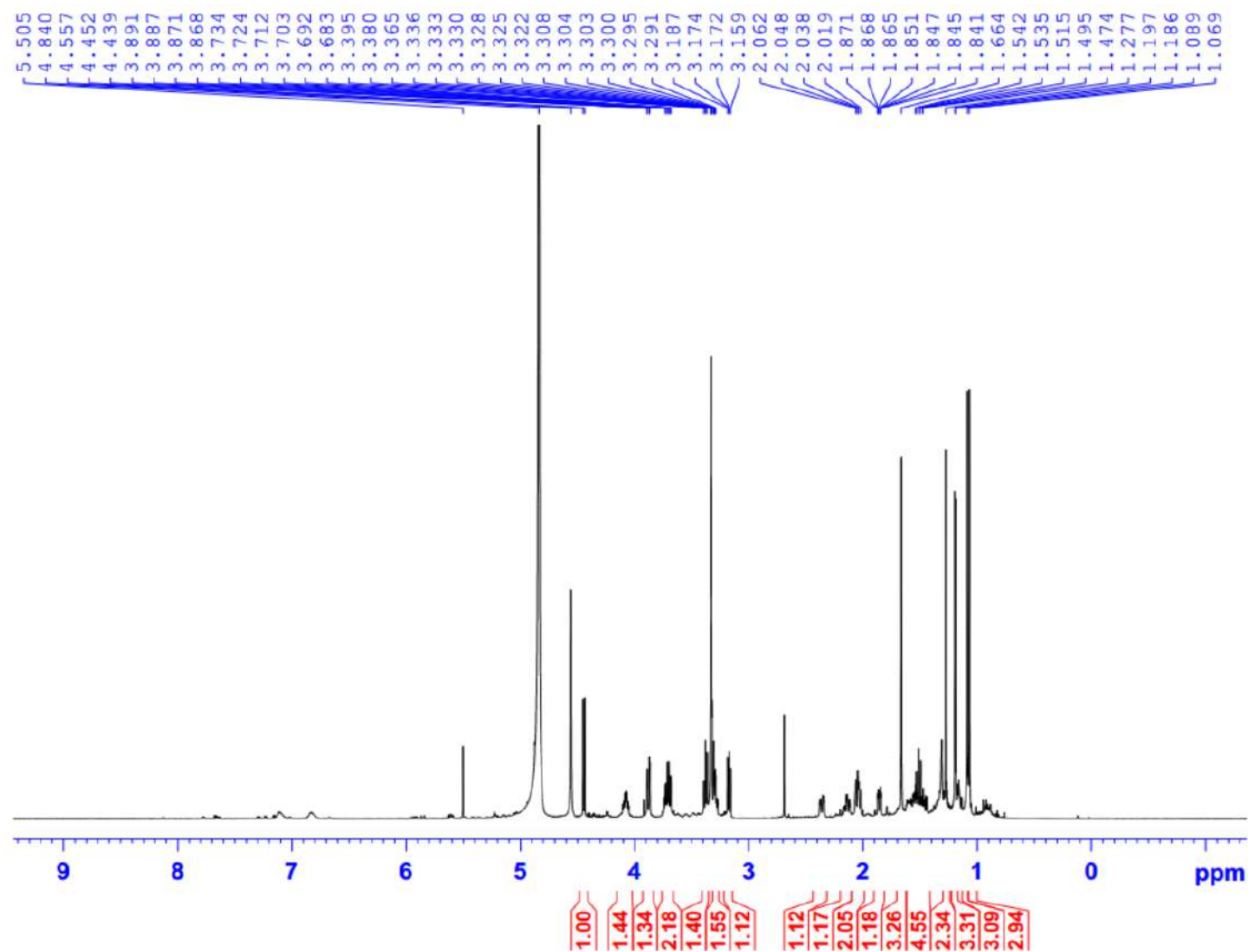
3.2.3. Hợp chất AM3



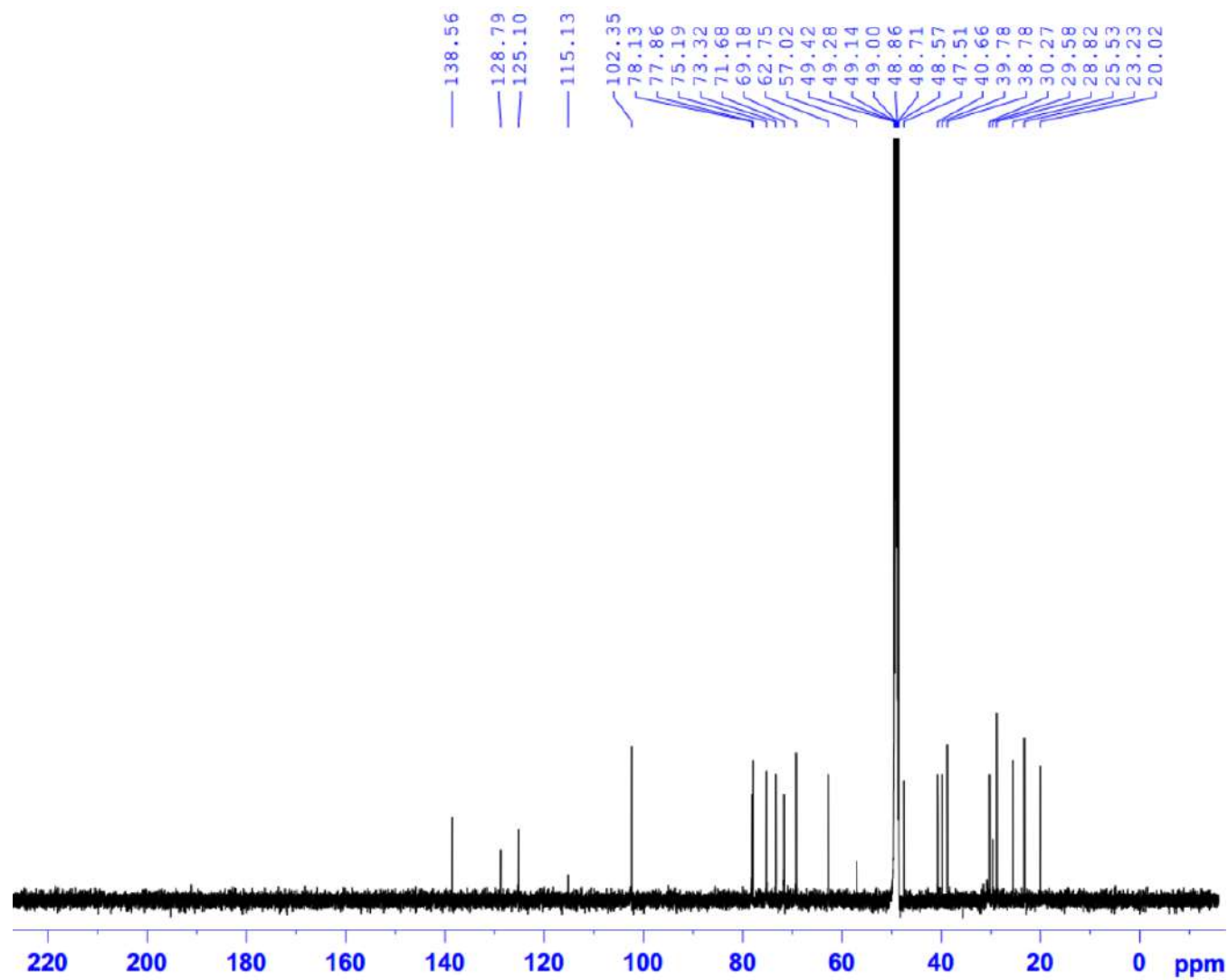
Hình 3.62. Cấu trúc của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3-O- β -D-glucopyranoside

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).

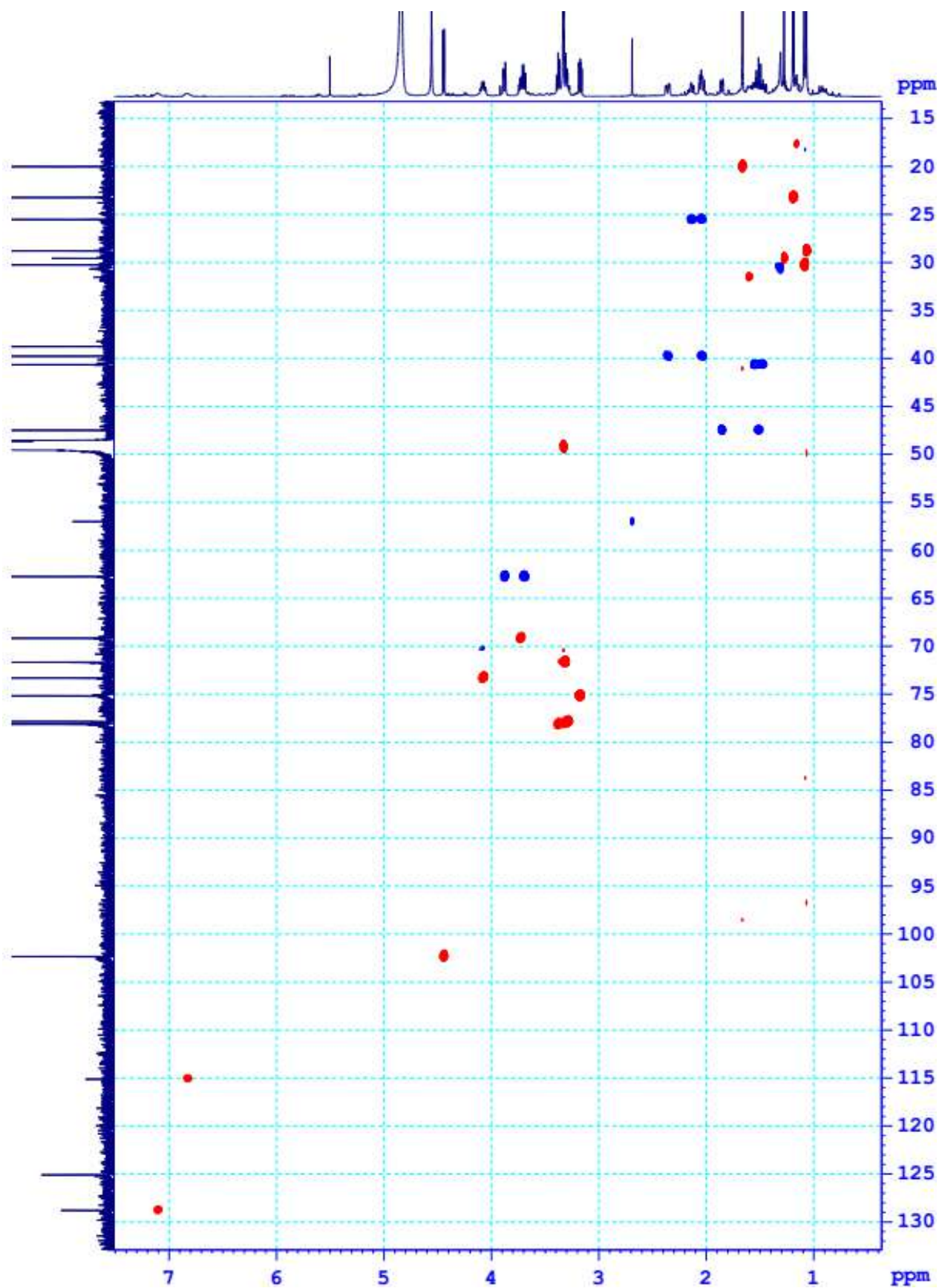
Dữ liệu phổ của hợp chất **AM3** trùng khớp với dữ liệu đã công bố của hợp chất 5-megastigmene-3,9-diol 3-O- β -D-glucopyranoside hay linarionoside A [103]. Do đó, có thể kết luận **AM3** chính là 5-megastigmene-3,9-diol 3-O- β -D-glucopyranoside.



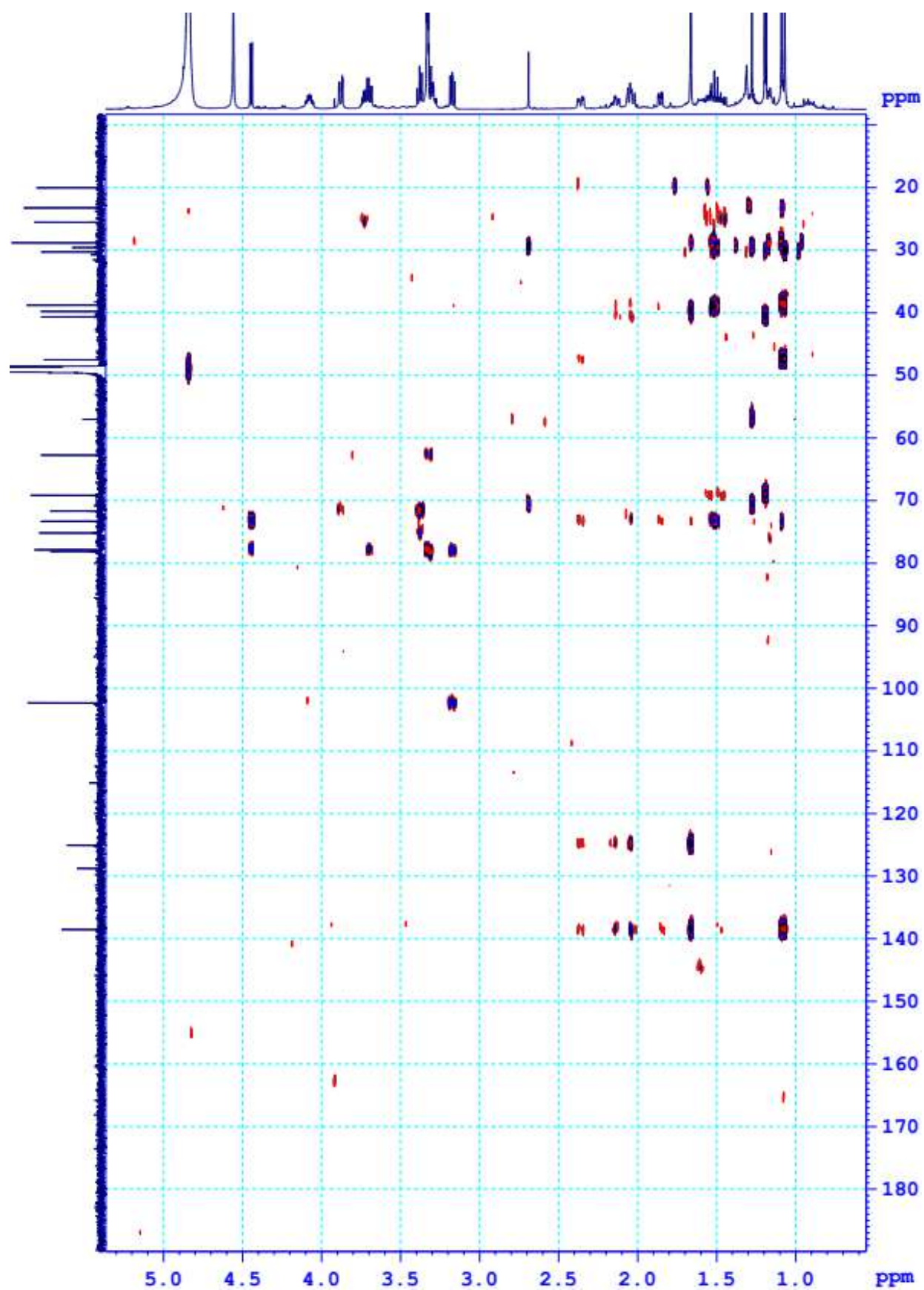
Hình 3.63. Phổ ^1H NMR của AM3



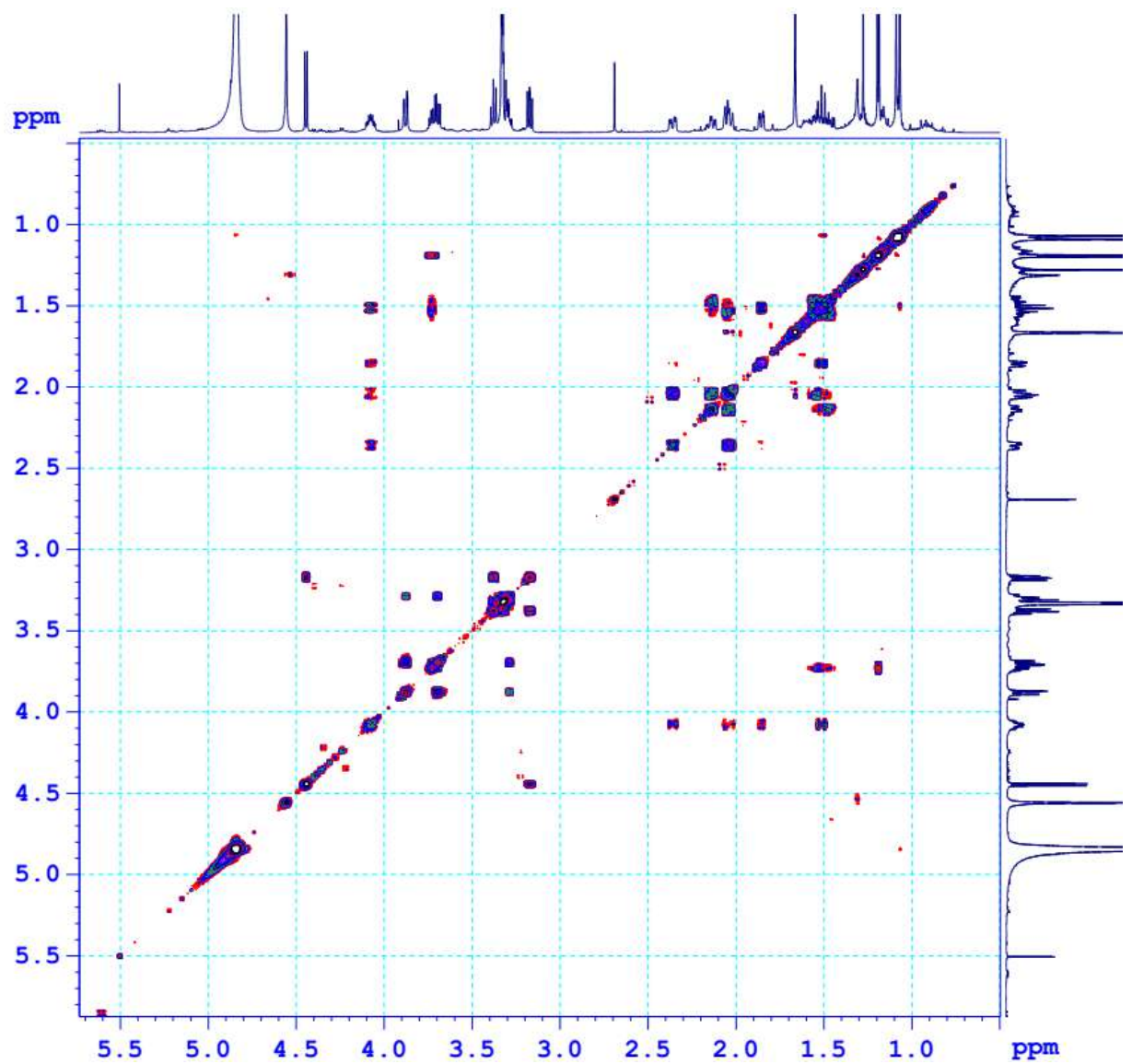
Hình 3.64. Phổ ^{13}C NMR của AM3



Hình 3.65. Phổ HSQC của của AM3

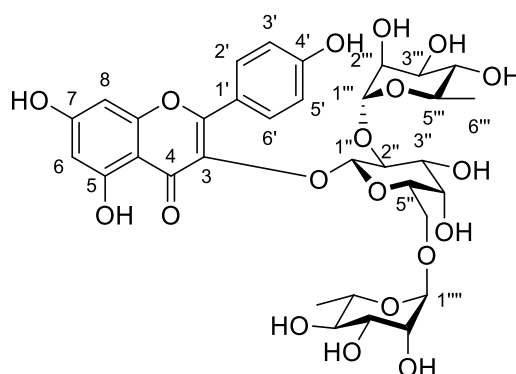


Hình 3.66. Phổ HMBC của AM3



Hình 3.67. Phổ COSY của AM3

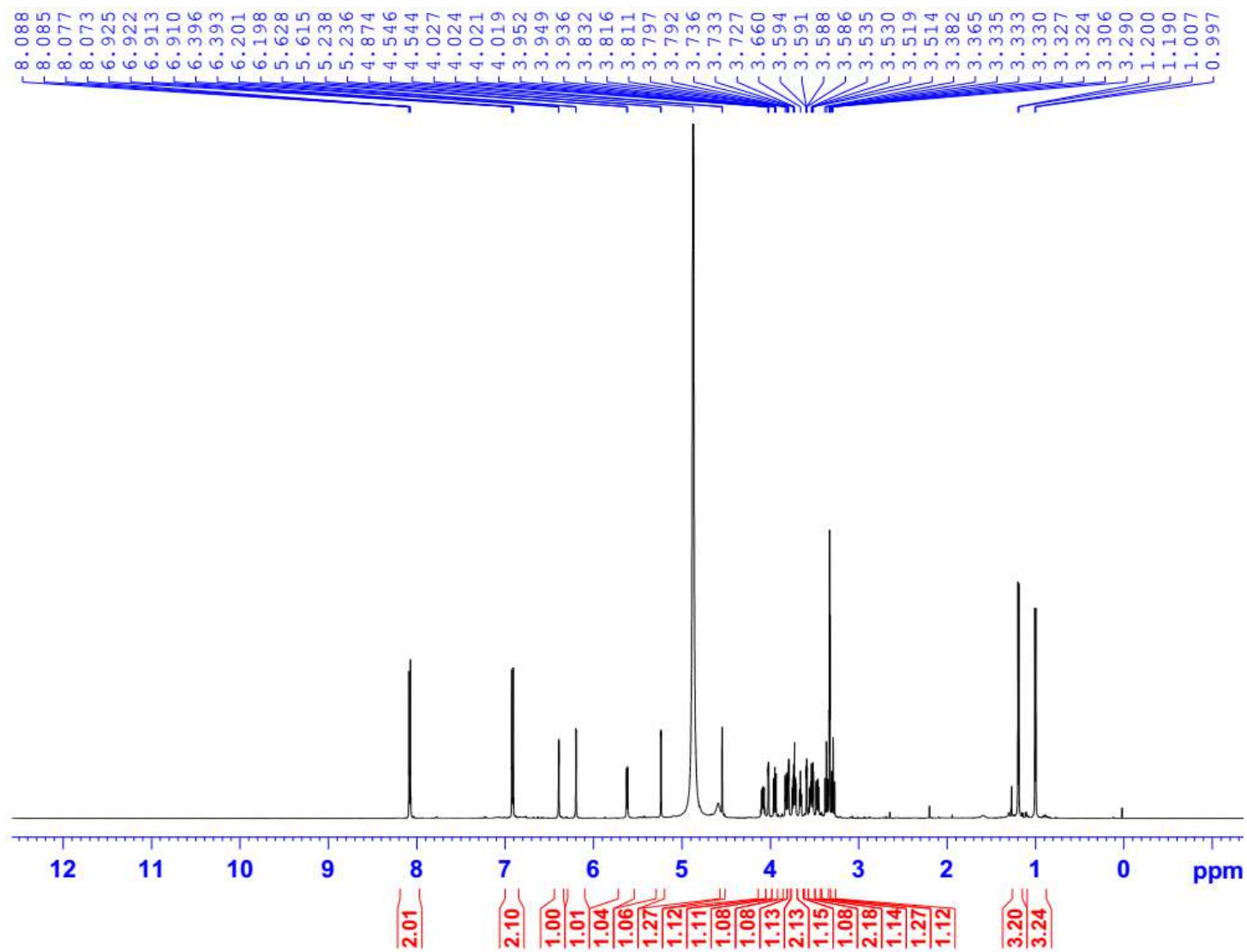
3.2.4. Hợp chất AM4



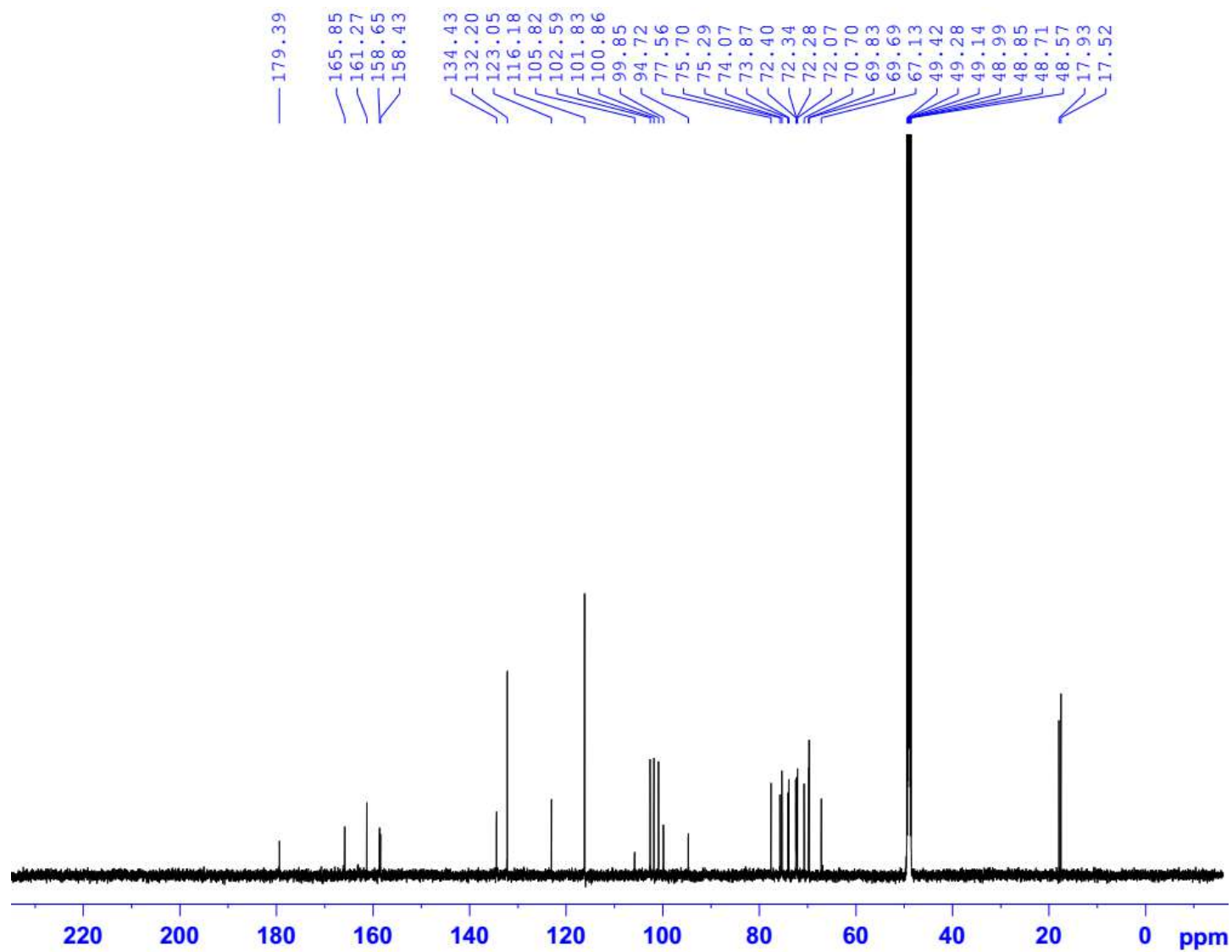
Hình 3.68. Cấu trúc của kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-galactopyranoside

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 aglycone (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 aglycone 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

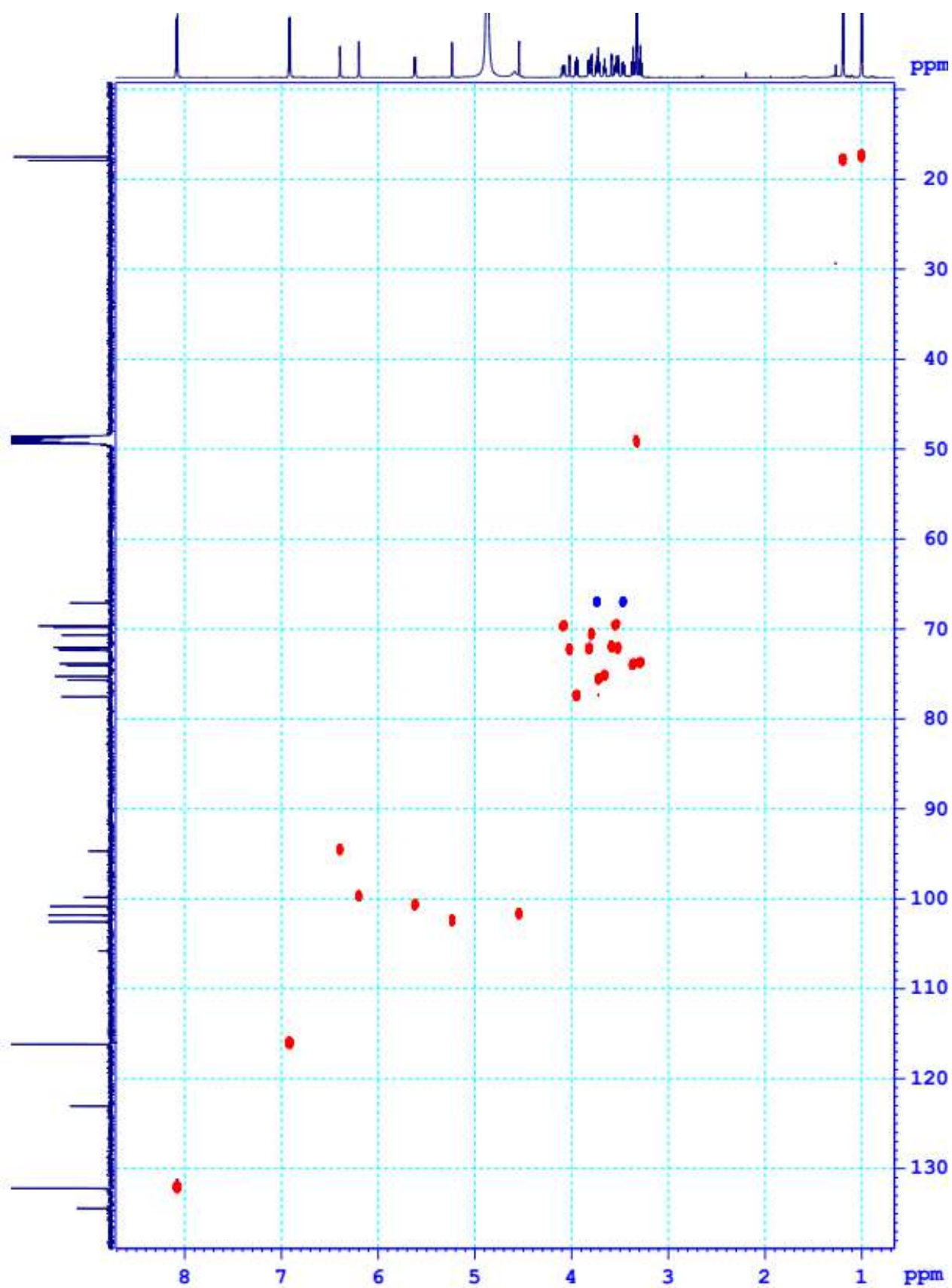
galactose (H-1'') với C-3 của kaempferol, tương tác giữa proton anome của nhóm rhamnose (H-1''') với C-2'' của galactose, proton anome của rhamnose (H-1''') với C-6'' của galactose. Dựa trên các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AM4** kết hợp với dữ liệu phổ đã công bố của kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 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.



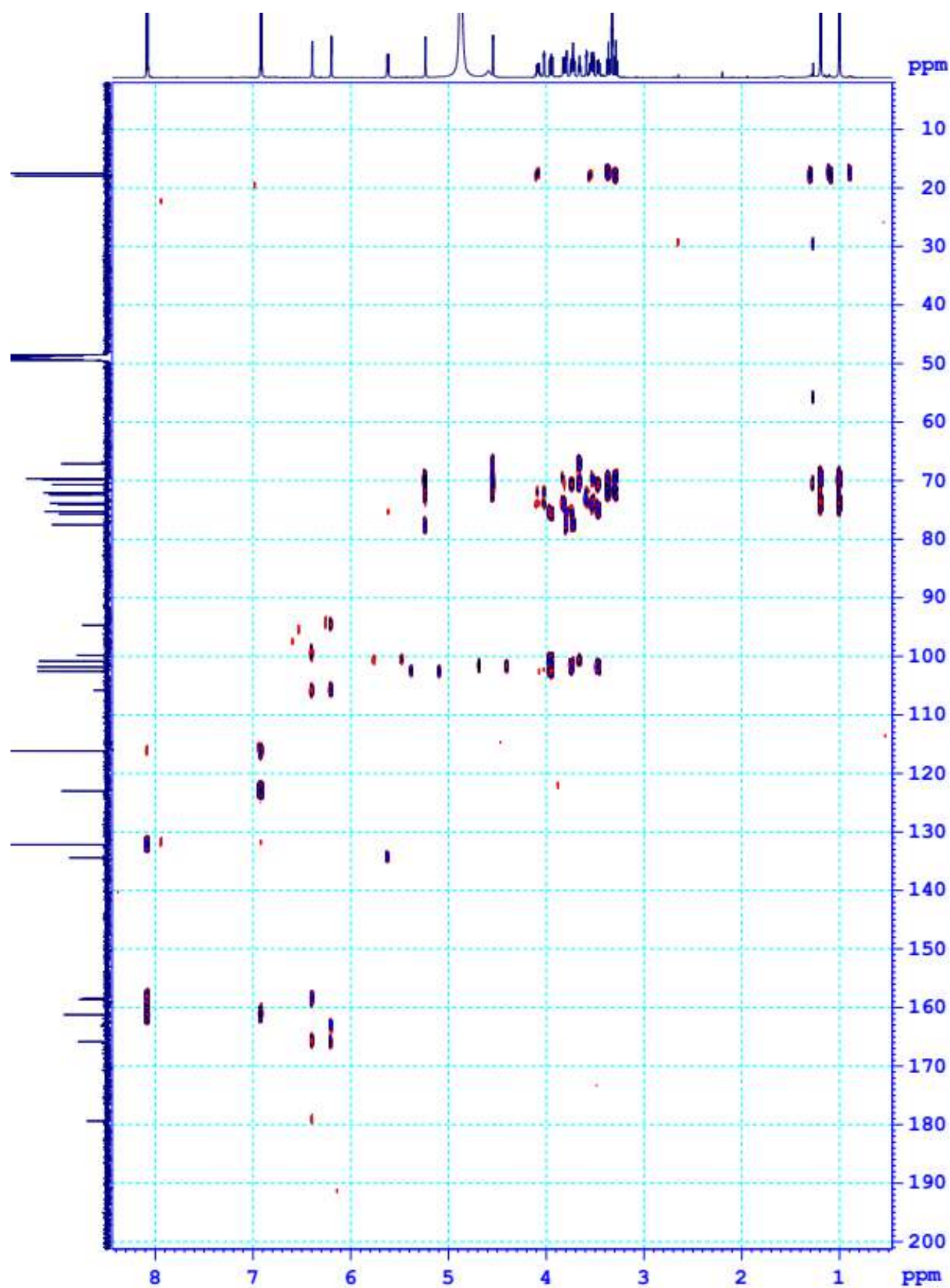
Hình 3.69. Phổ ^1H NMR của AM4



Hình 3.70. Phổ ^{13}C NMR của AM4

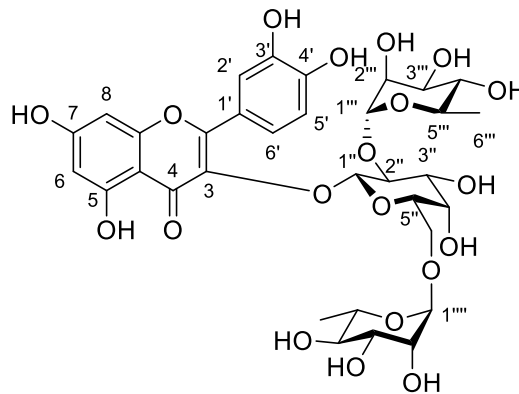


Hình 3.71. Phổ HSQC của của AM4



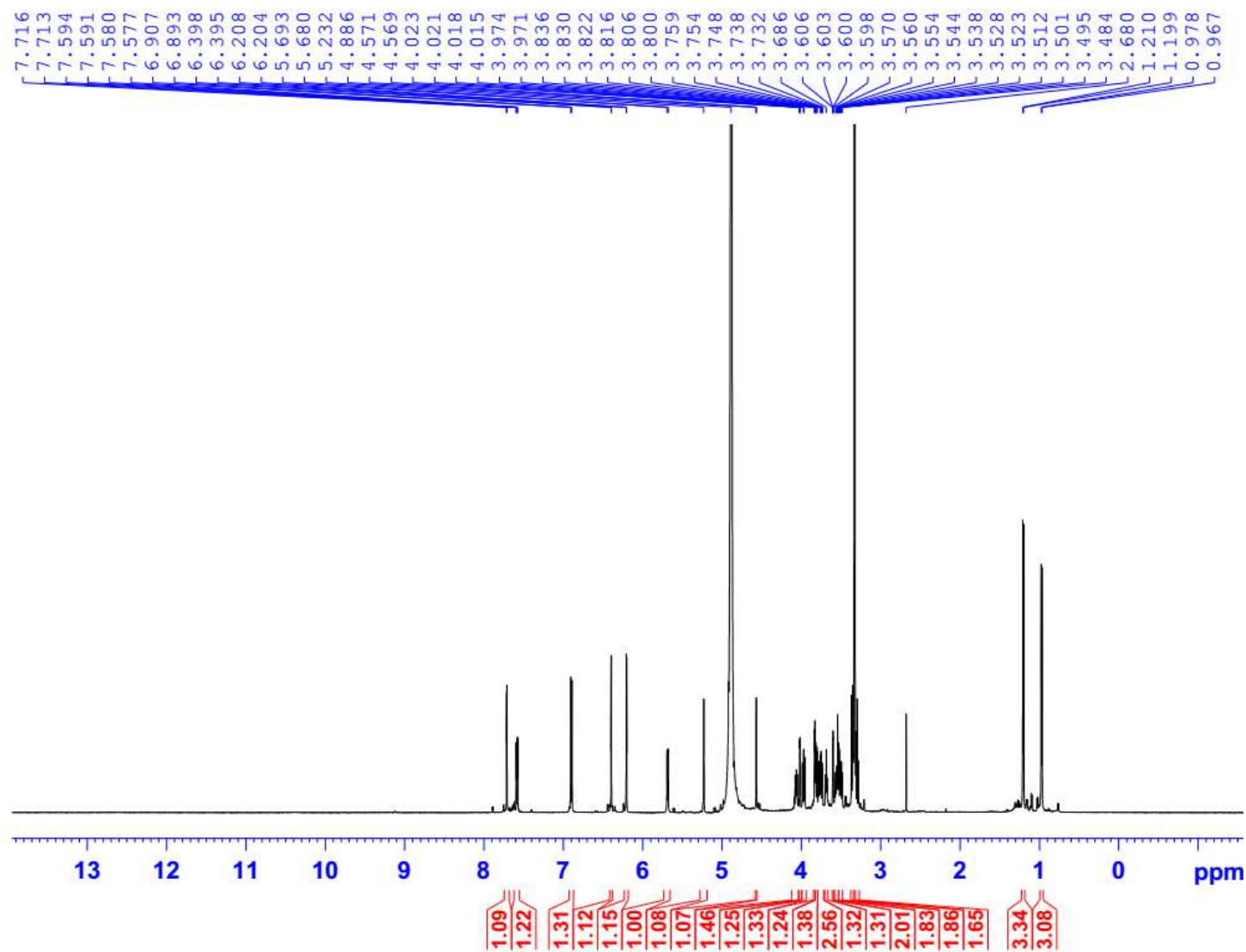
Hình 3.72. Phổ HMBC của AM4

3.2.5. Hợp chất AM5

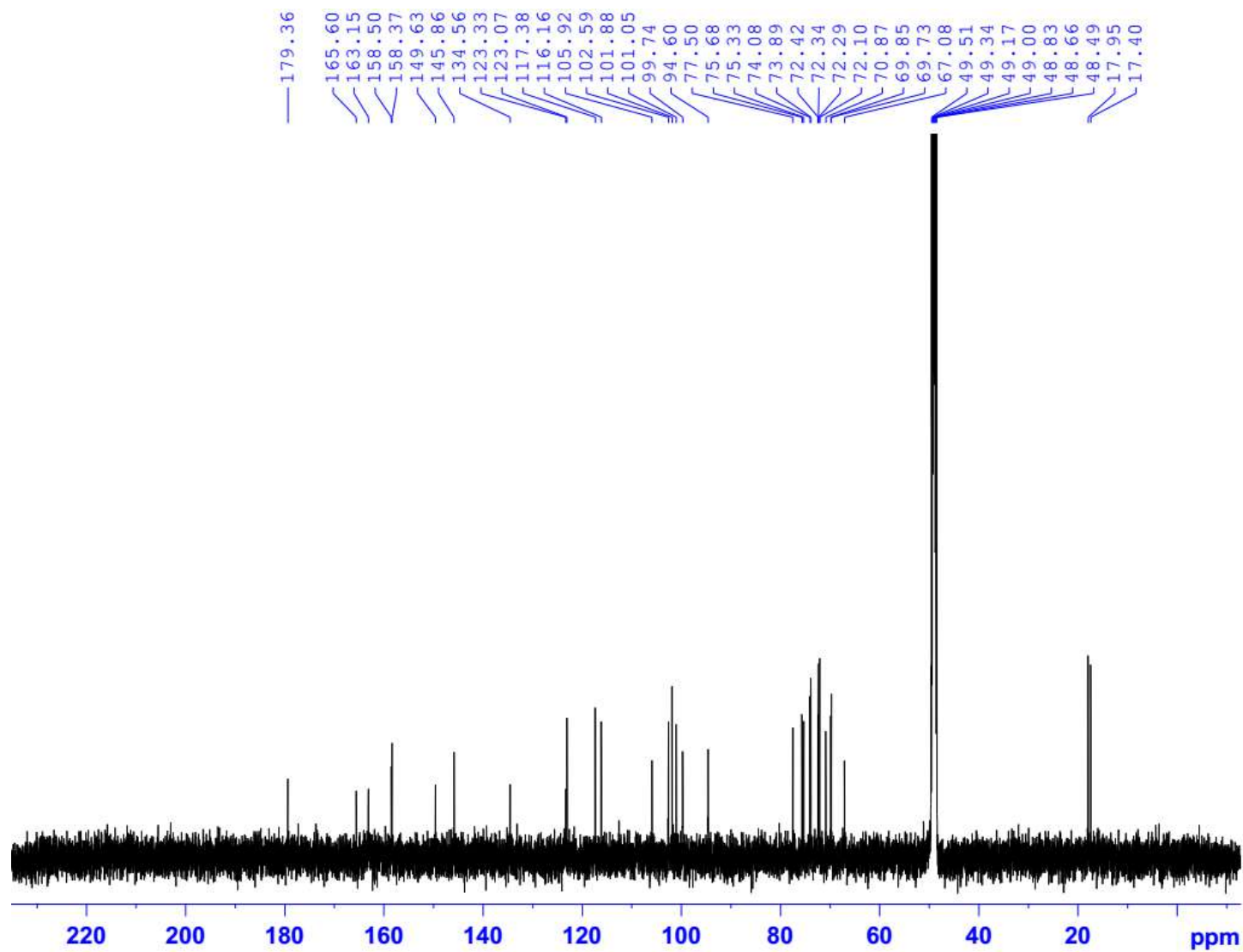


Hình 3.73. Cấu trúc của quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]-O- β -D-galactopyranoside

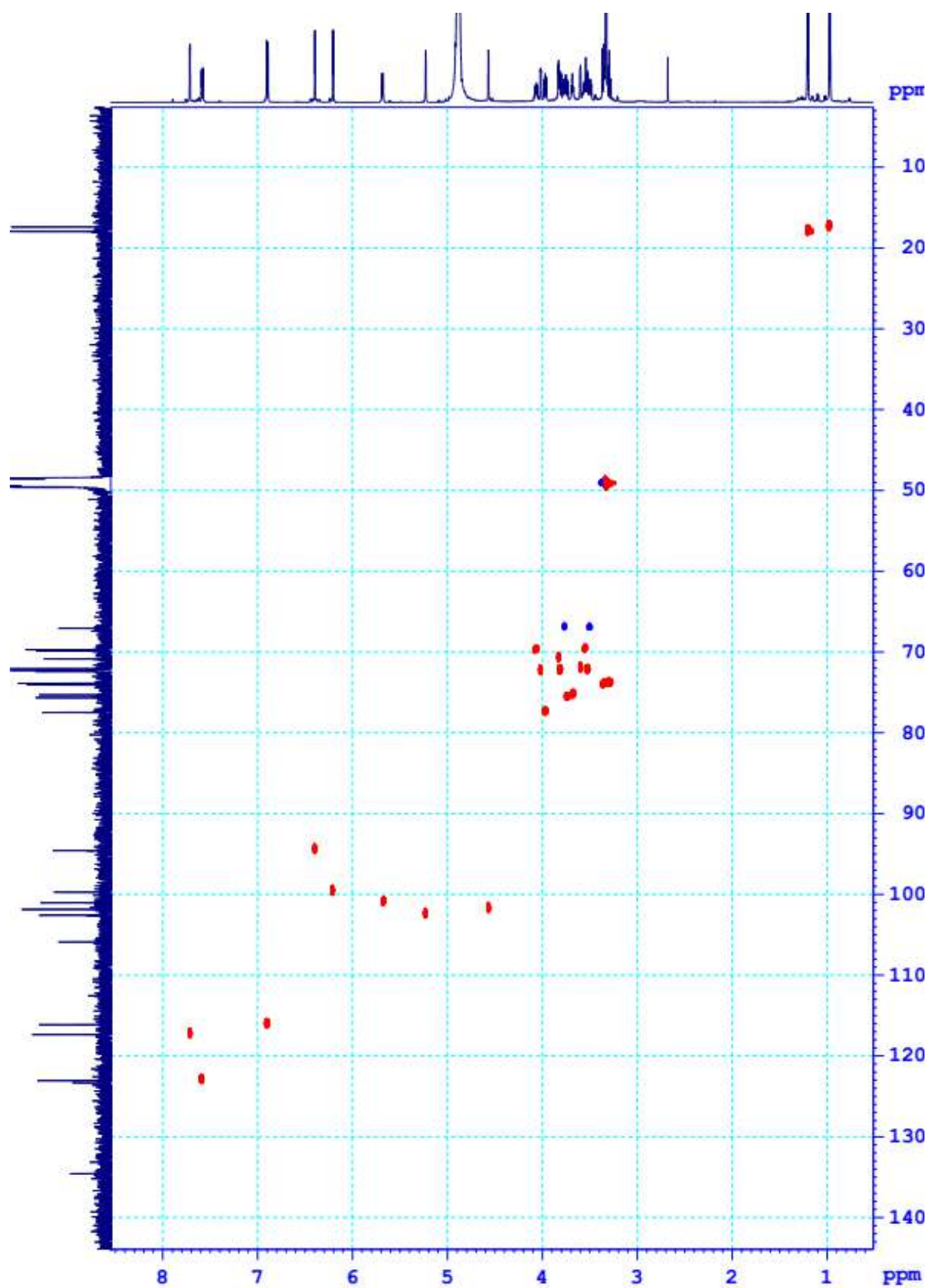
Hợp chất **AM5** thu được dưới dạng tinh thể trong suốt hình kim. Dữ liệu phổ 1D-NMR và 2D-NMR của hợp chất **AM5** cho thấy sự trùng hợp hầu hết các tín hiệu so với dữ liệu phổ của hợp chất **AM4**, đặc biệt là sự xuất hiện của ba proton anomer (với δ_H tại 5,68 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 5,23 (1H, 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 aglycone 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.



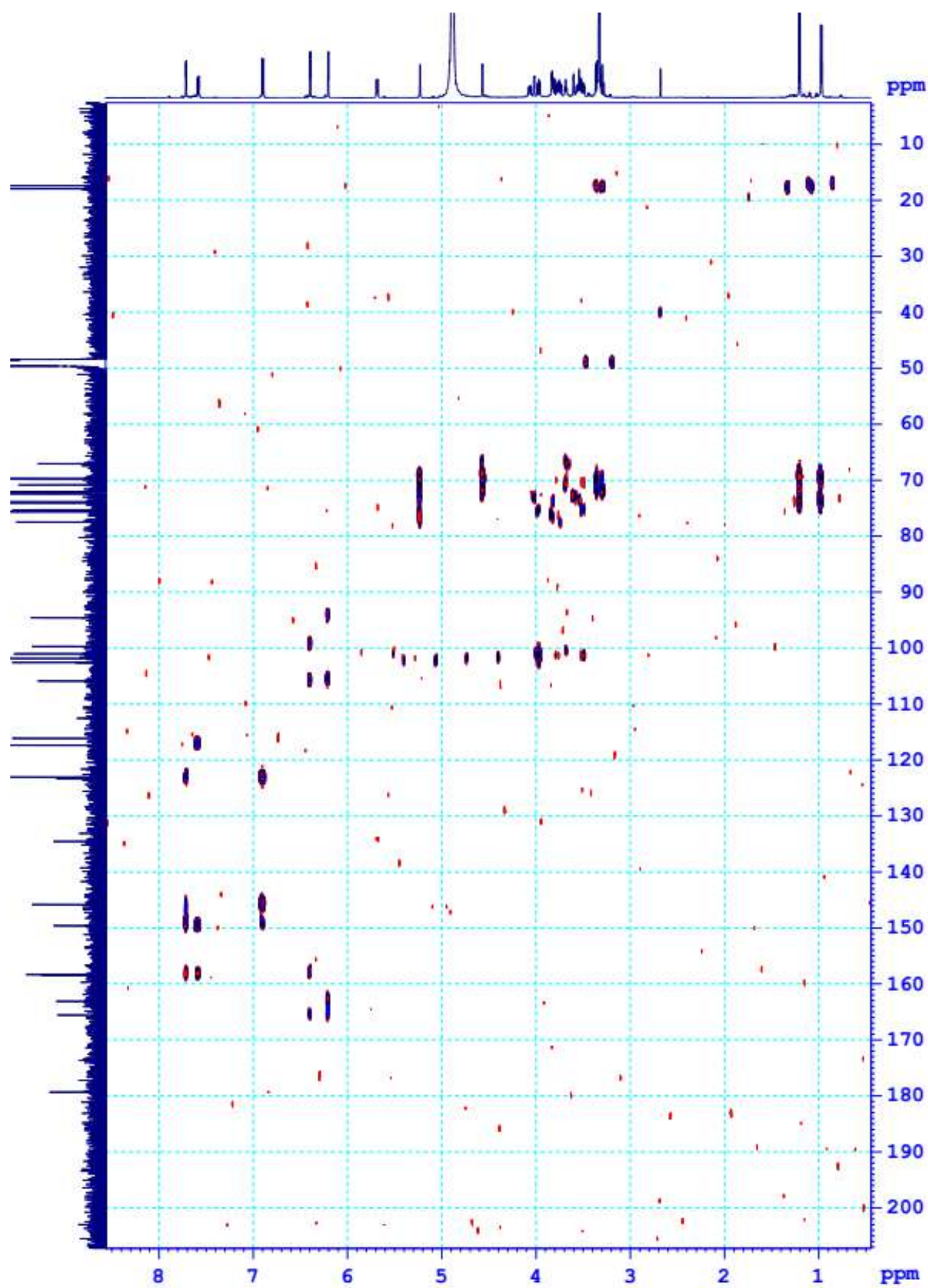
Hình 3.74. Phổ ^1H NMR của AM5



Hình 3.75. Phổ ^{13}C NMR của AM5

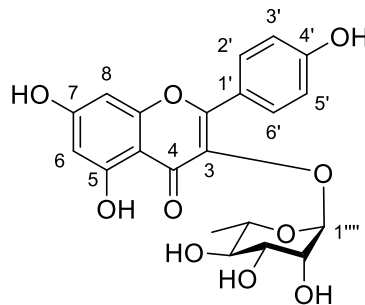


Hình 3.76. Phổ HSQC của của AM5



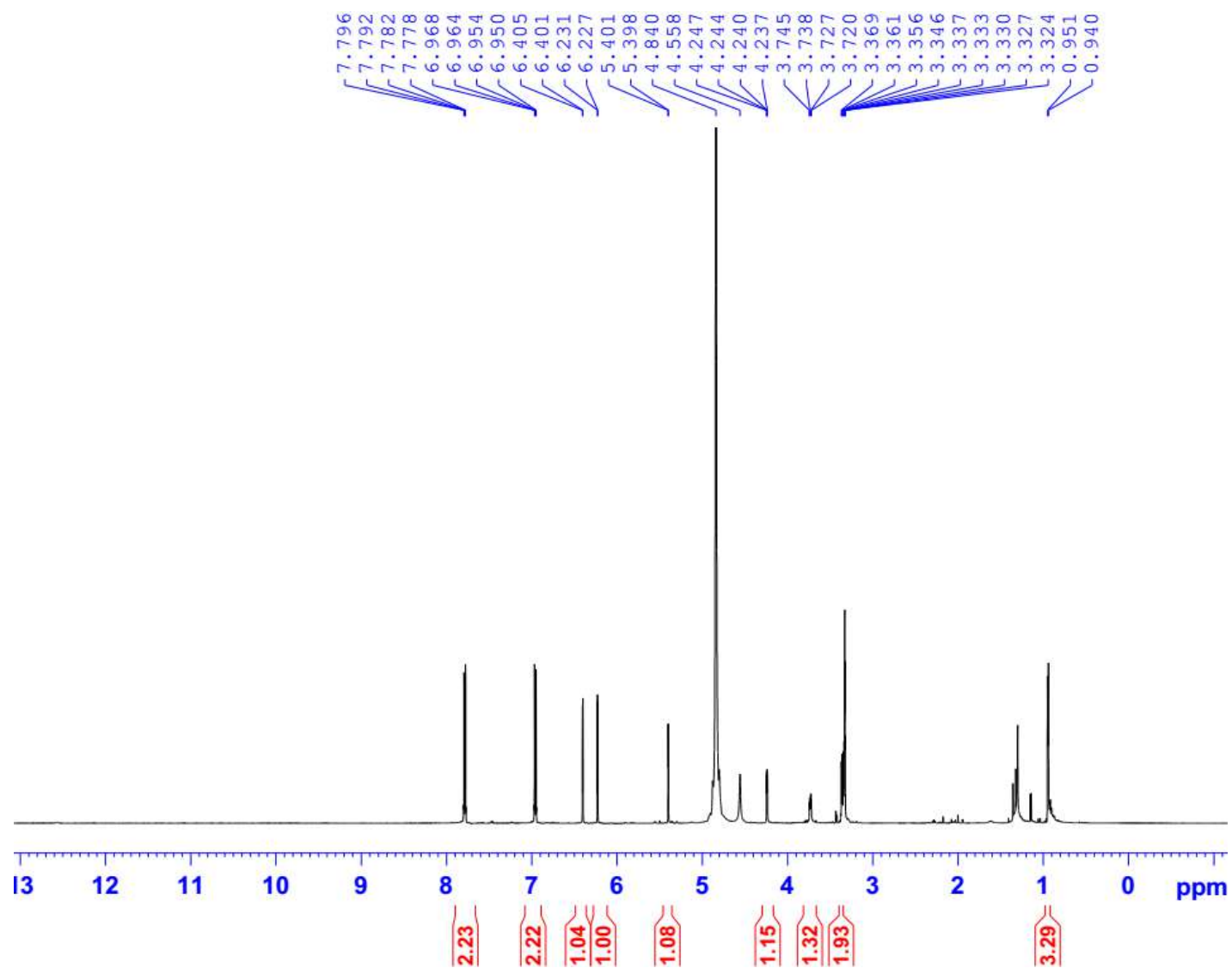
Hình 3.77. Phổ HMBC của AM5

3.2.6. Hợp chất AM6



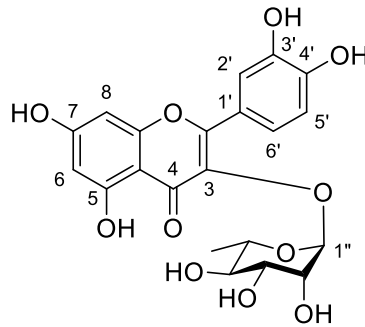
Hình 3.78. Cấu trúc của afzelin

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 aglycone 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 aglycone 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.



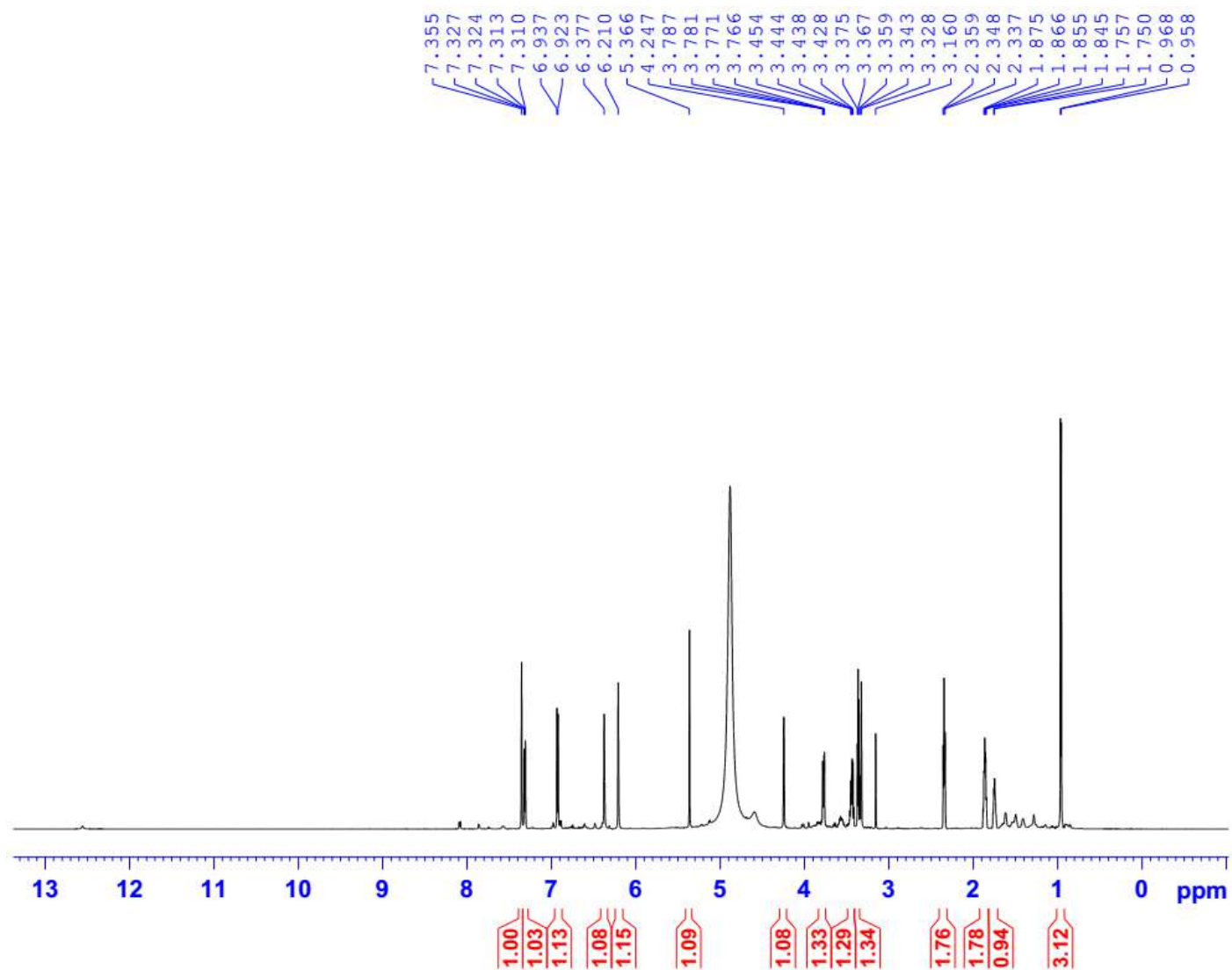
Hình 3.79. Phổ ^1H NMR của AM6

3.2.7. Hợp chất AM7

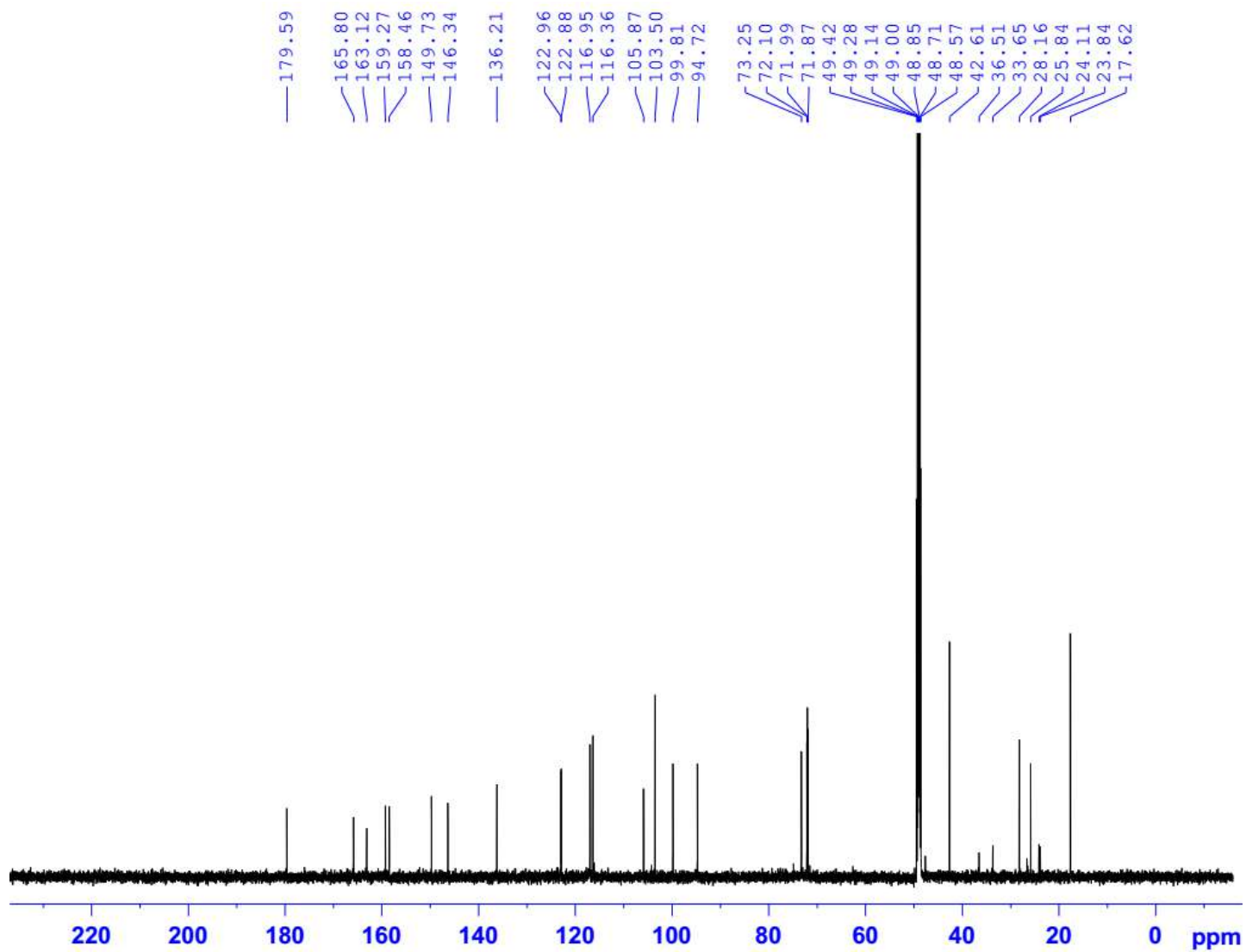


Hình 3.80. Cấu trúc của quercitrin

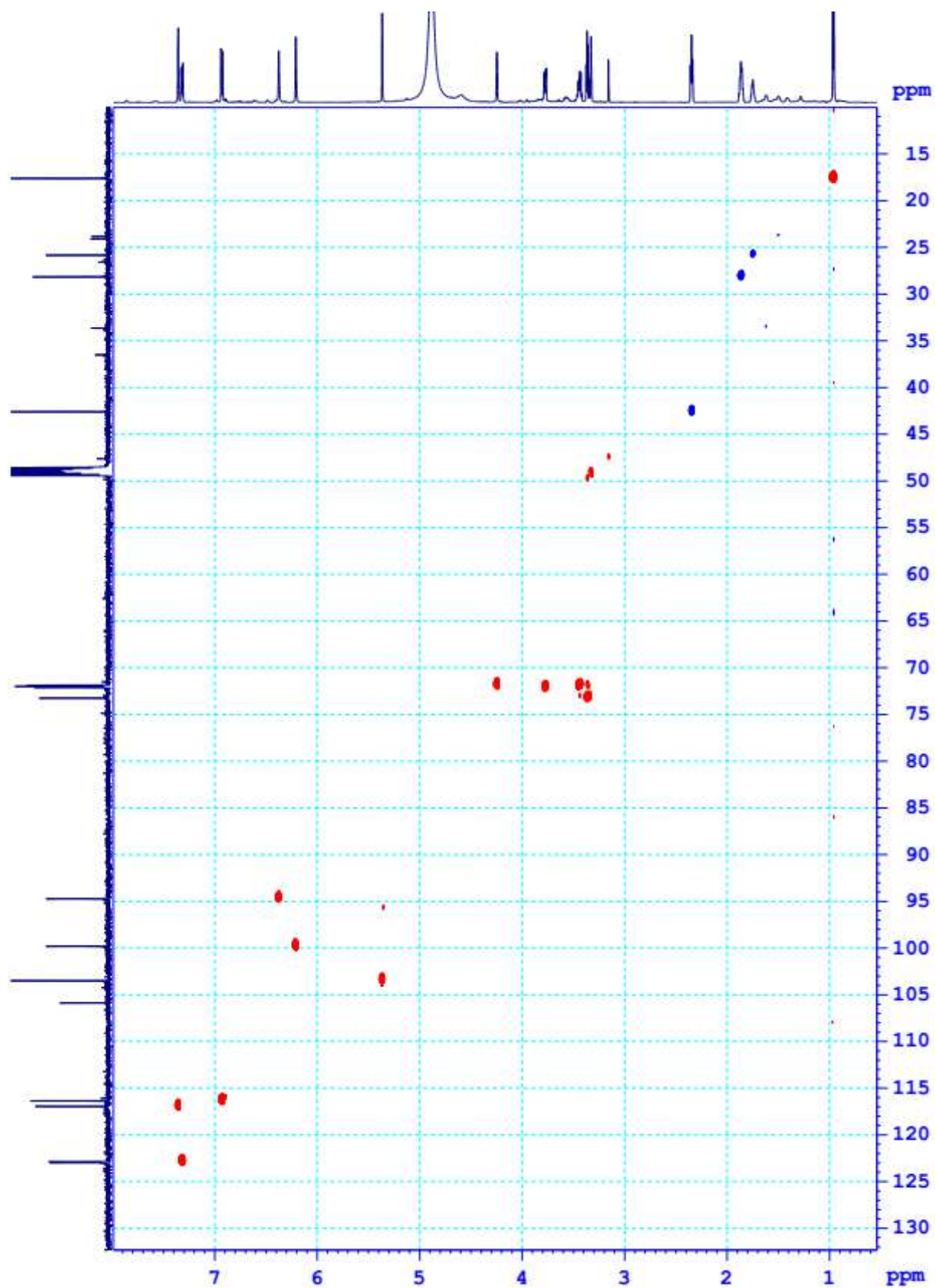
Phổ ESI-MS của hợp chất **AM7** cho tín hiệu m/z 449,10 $[M + H]^+$, kết hợp với dữ liệu phổ 1D NMR gợi ý cho công thức phân tử của hợp chất **AM7** là $C_{21}H_{20}O_{11}$. Phổ 1H -NMR của hợp chất **AM7** xuất hiện hai vùng tín hiệu proton: tín hiệu proton của hợp phần flavonoid aglycone có δ_H trong 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 aglycone 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 aglycone và glycol của hợp chất **AM7**. So sánh với tài liệu tham khảo [108] ta xác định được hợp chất **AM7** là quercitrin.



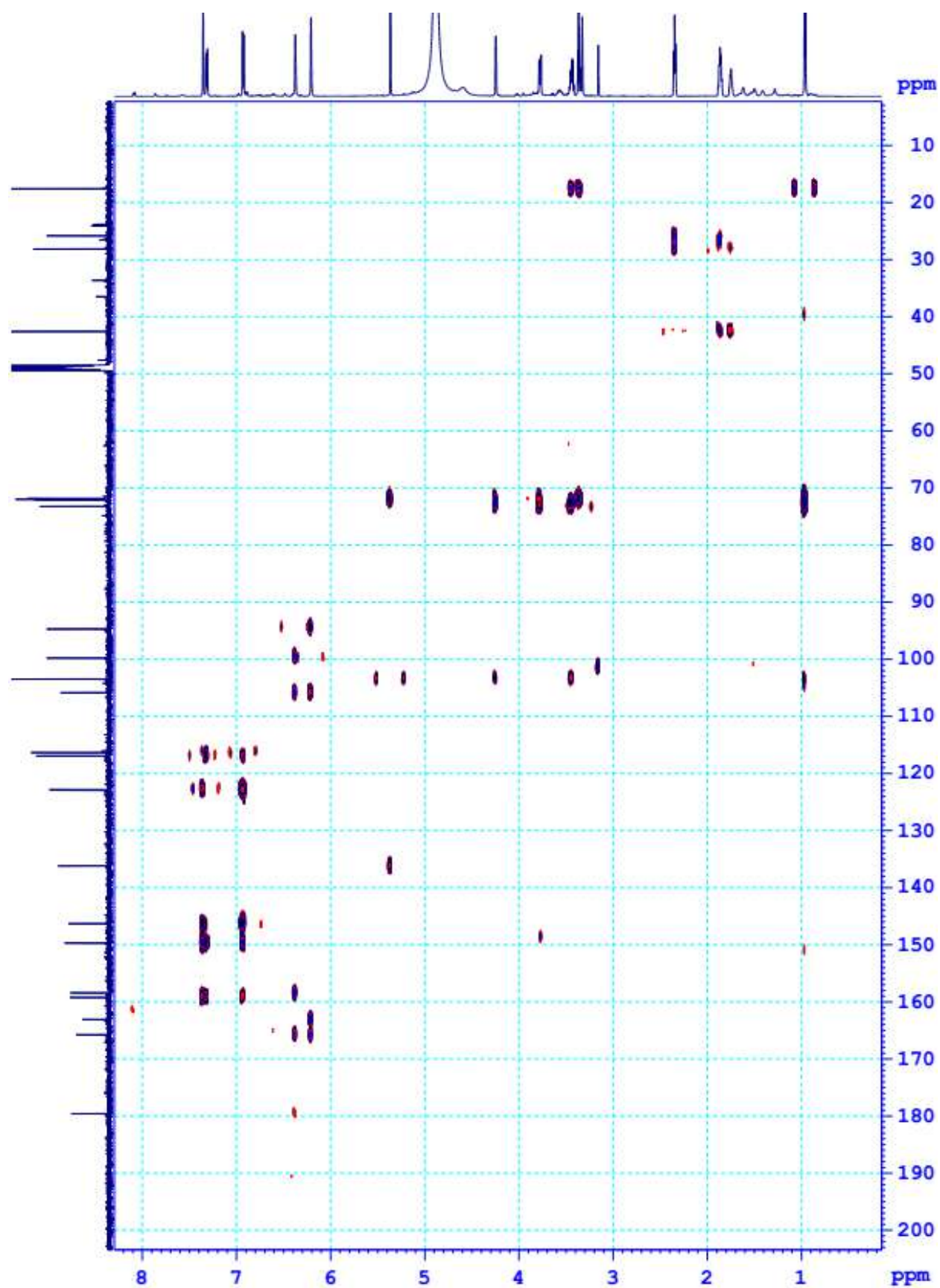
Hình 3.81. Phổ ^1H NMR của AM7



Hình 3.82. Phổ ^{13}C NMR của AM7

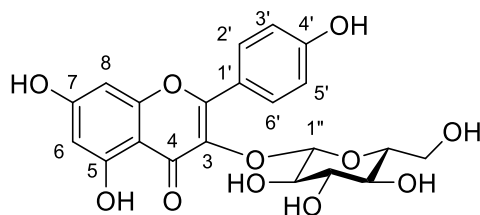


Hình 3.83. Phổ HSQC của của AM7



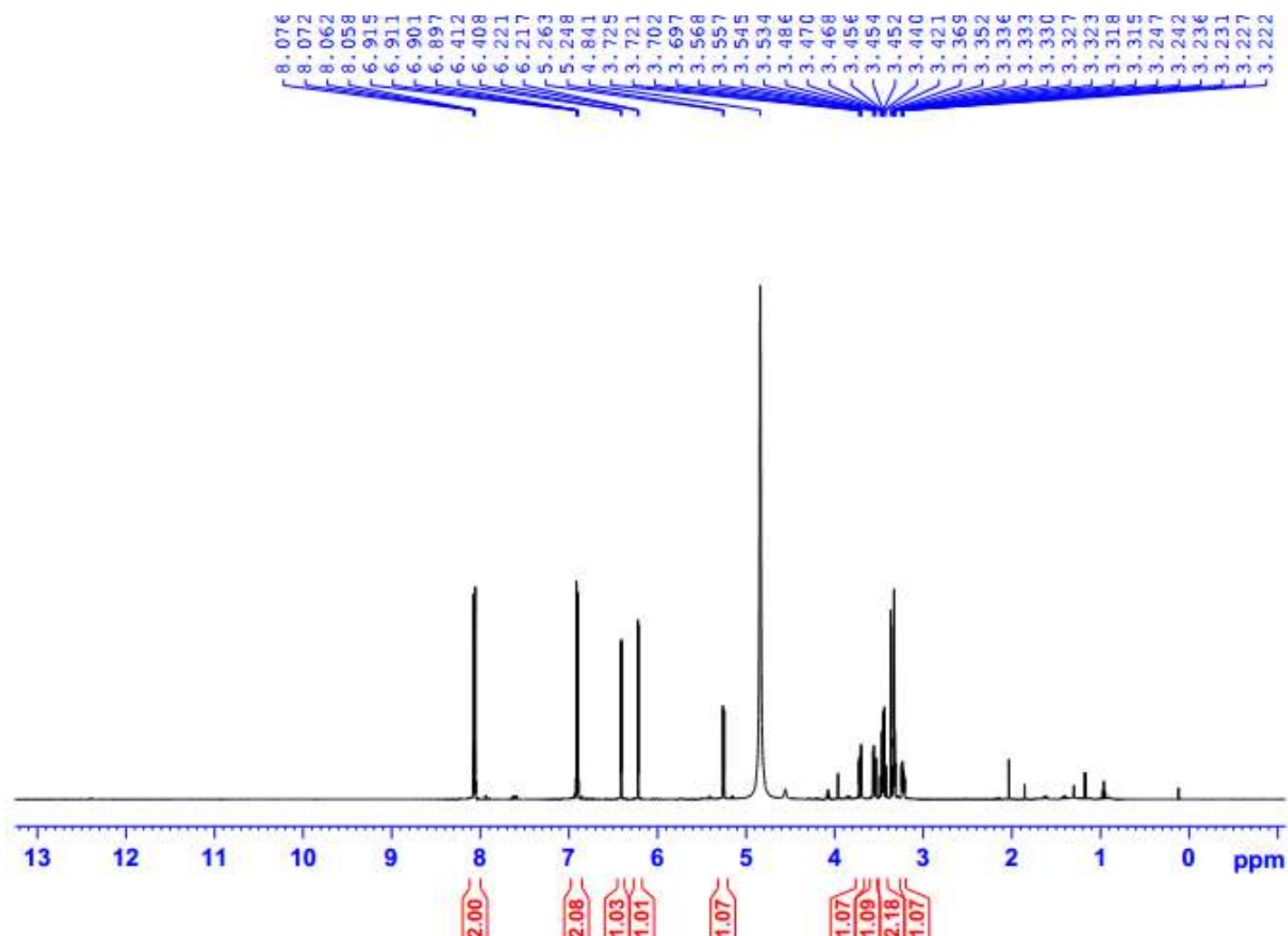
Hình 3.84. Phổ HMBC của AM7

3.2.8. Hợp chất AM8

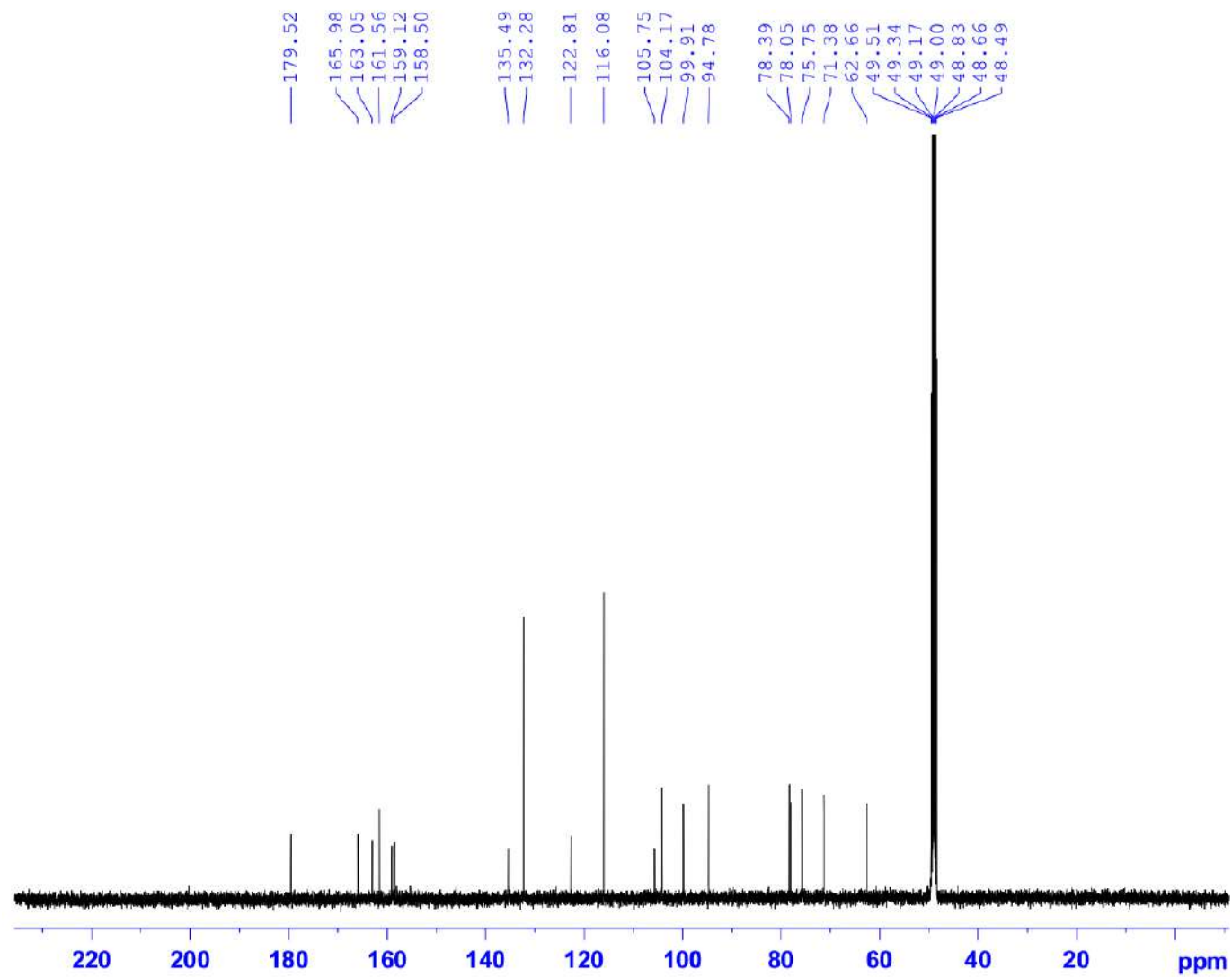


Hình 3.85. Cấu trúc của astragalin

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.

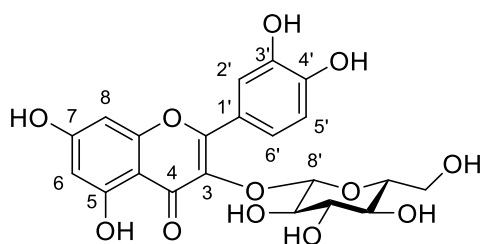


Hình 3.86. Phổ ^1H -NMR của AM8



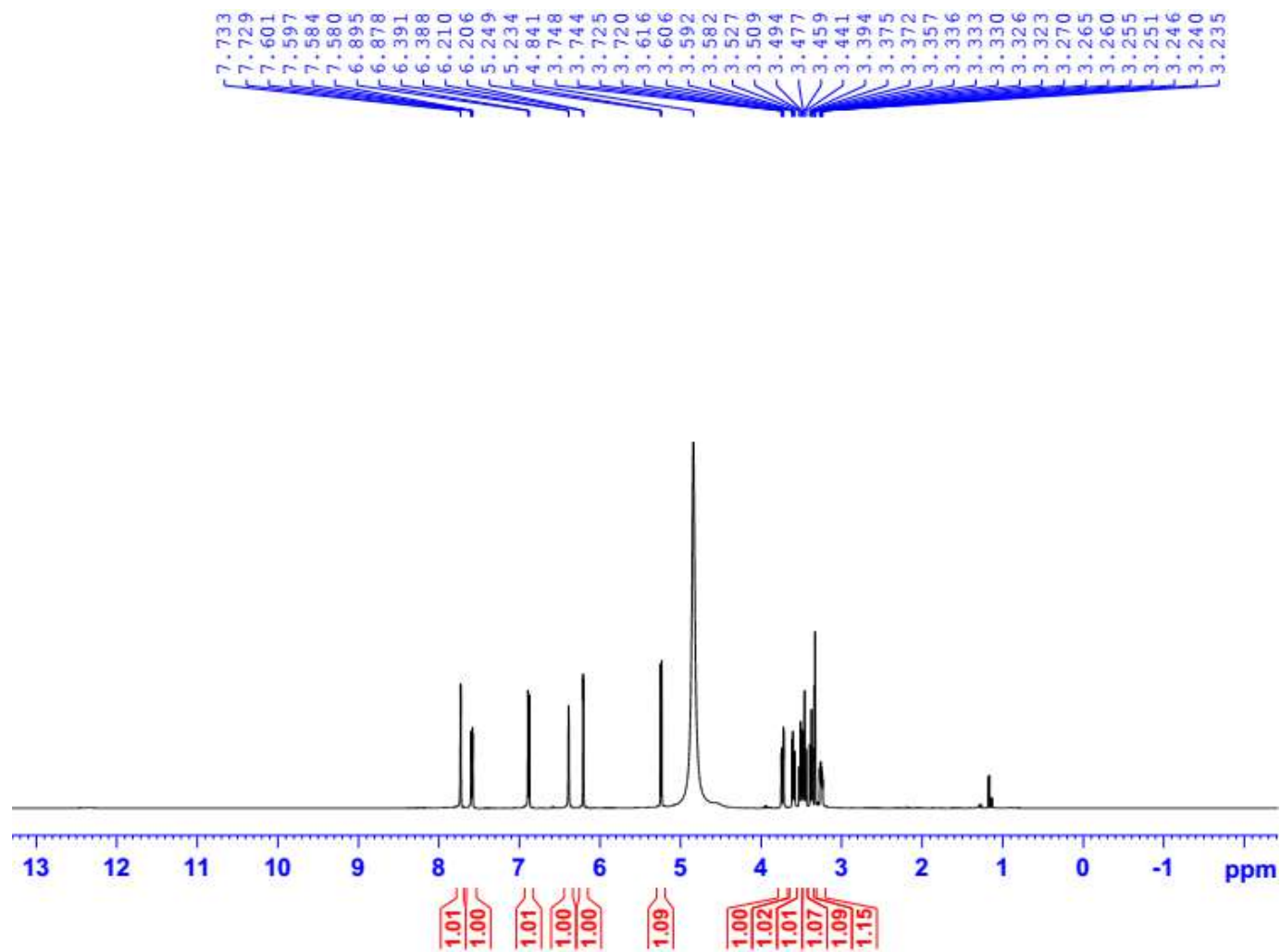
Hình 3.87. Phổ ^{13}C -NMR của AM8

3.2.9. Hợp chất AM9

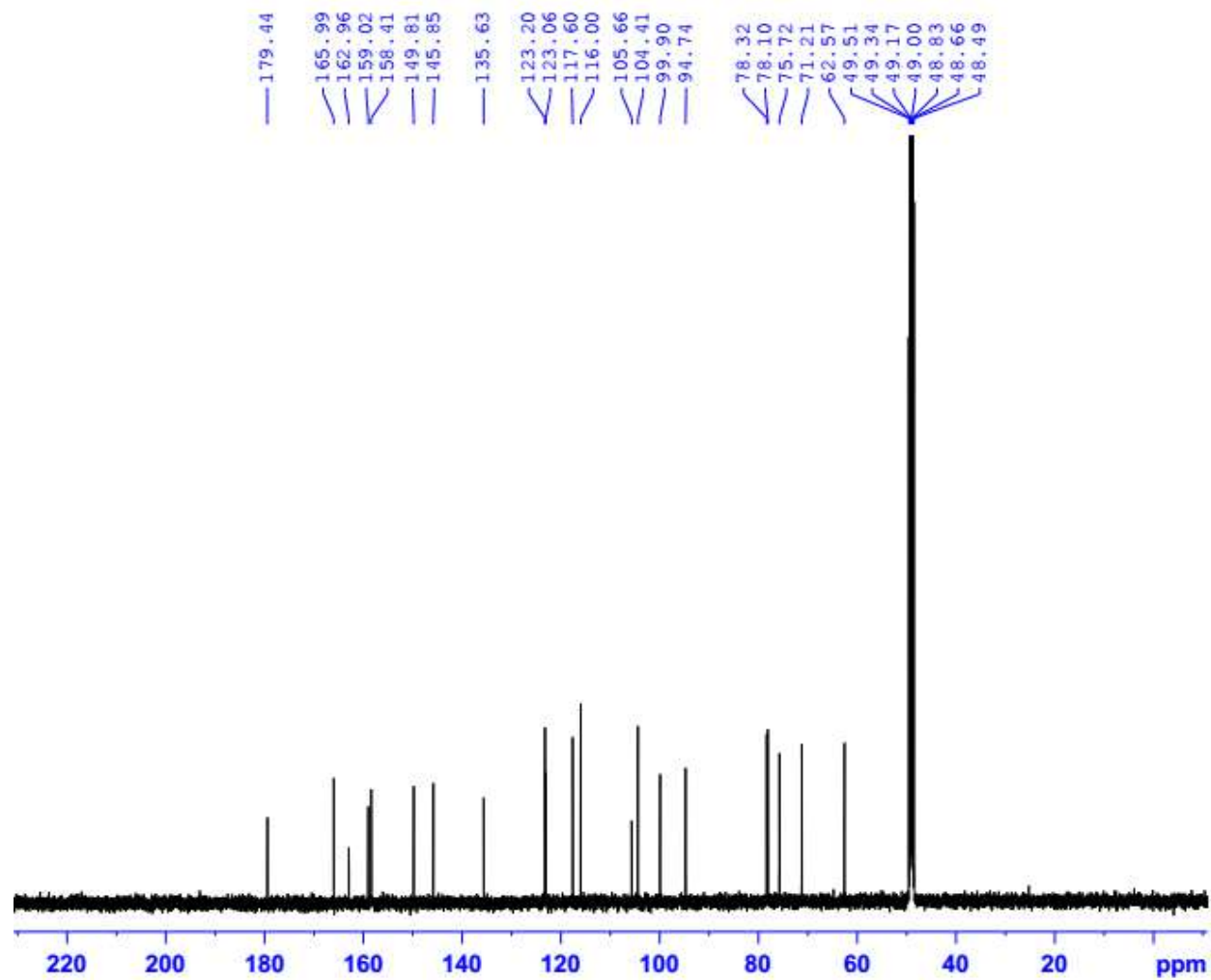


Hình 3.88. Cấu trúc của isoquercetin

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 aglycone 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.

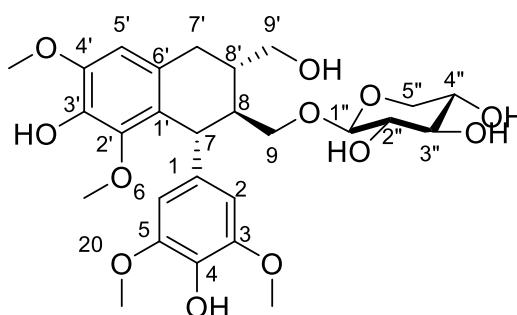


Hình 3.89. Phổ ^1H -NMR của AM9



Hình 3.90. Phổ ^{13}C -NMR của AM9

3.2.10. Hợp chất AM10



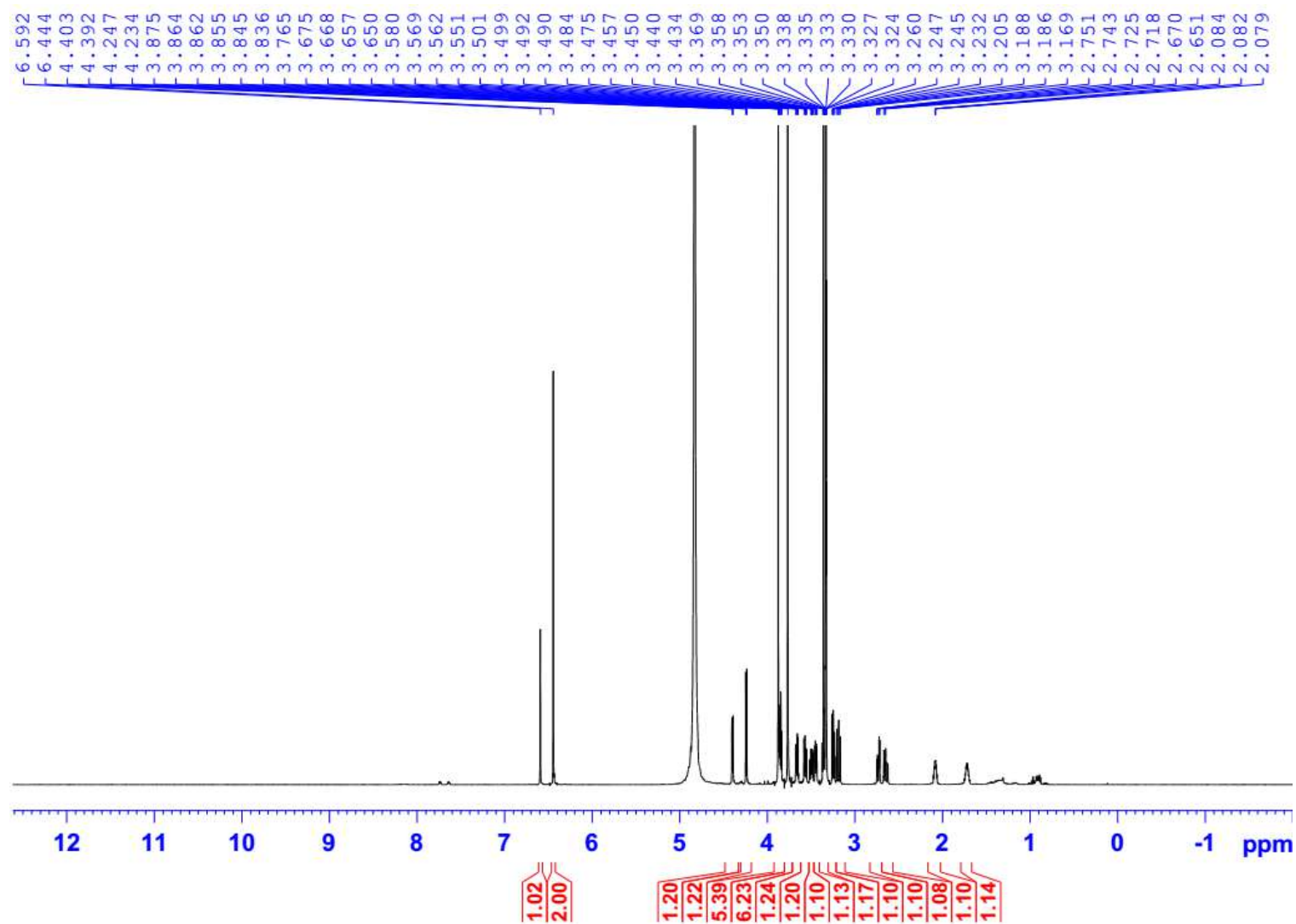
Hình 3.46. Cấu trúc của AM10

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.

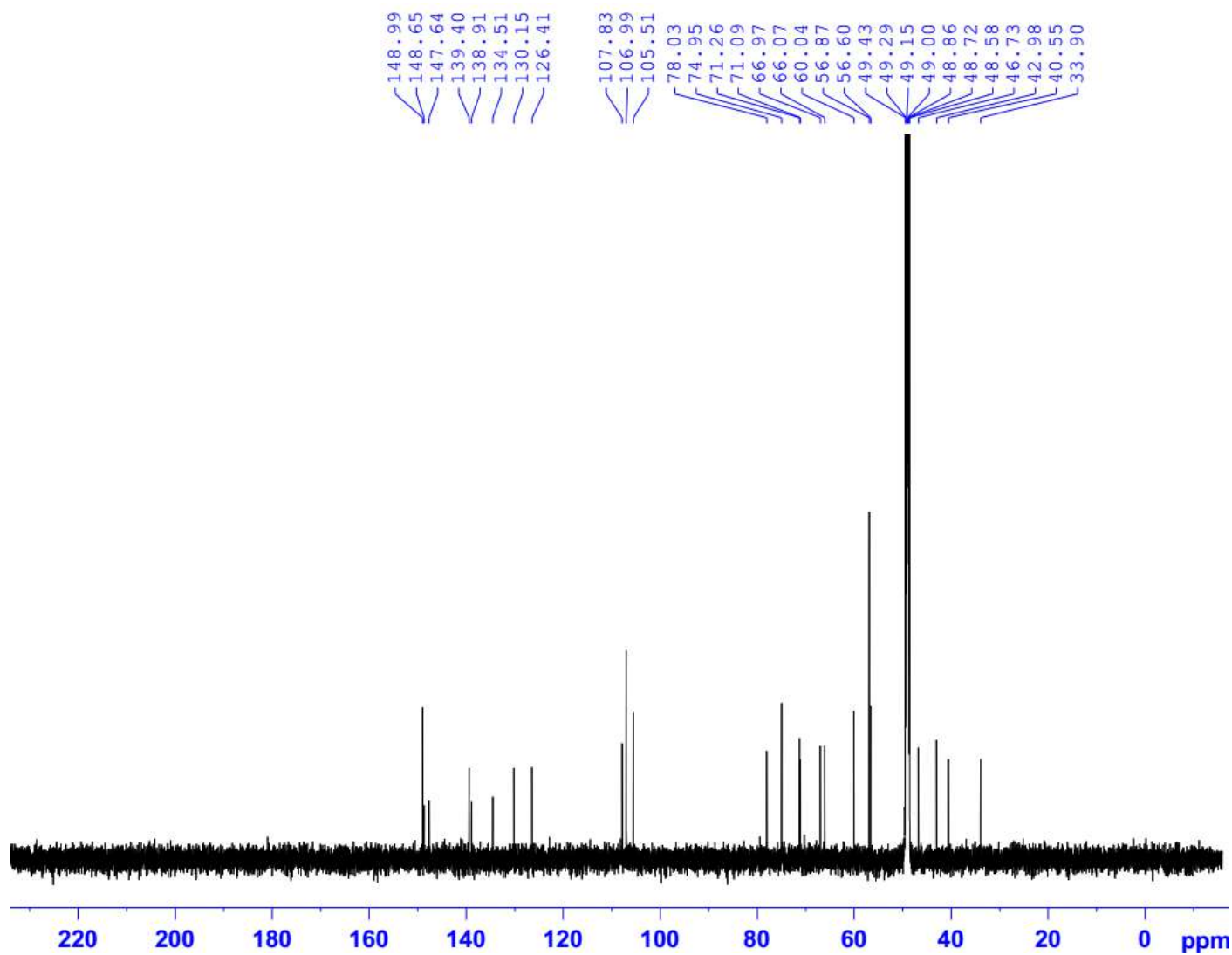
Phổ ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃ OD) cho thấy 6 tín hiệu carbon thơm gắn oxy [δ 149,0 (C-3), δ 149,0 (C-5), δ 148,7 (C-3'), δ 147,6 (C-2'), δ 138,9 (C-4') và δ 134,5 (C-4)], 3 tín hiệu carbon thơm không liên kết hydro [δ 139,4 (C-1), δ 130,2 (C-1'), δ 126,4 (C-6)], cùng với 3 tín hiệu carbon thơm [δ 107,8 (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

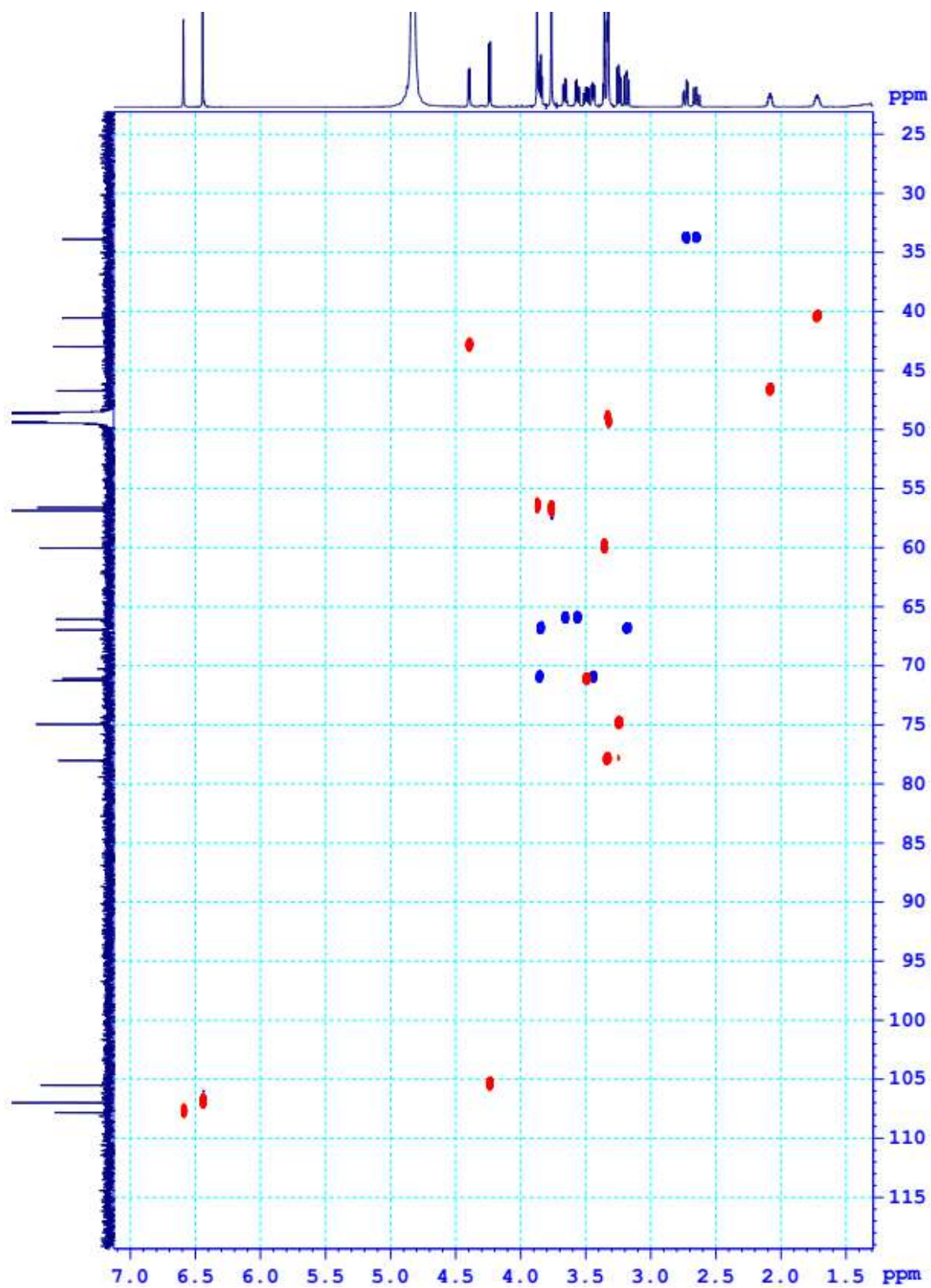
cấu hình *trans* giữa chúng. Vị trí của vòng đường được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa proton hemiacetal δ 4,21 (H-1'') với C-9 (δ 71,1). Dựa trên so sánh giá trị $[\alpha]_D^{25}$ -32,6 của **AM10** với dữ liệu tài liệu của lyoniside (có H-7 định hướng α , góc quay +27 đến +28) [111] và đặc tính 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.



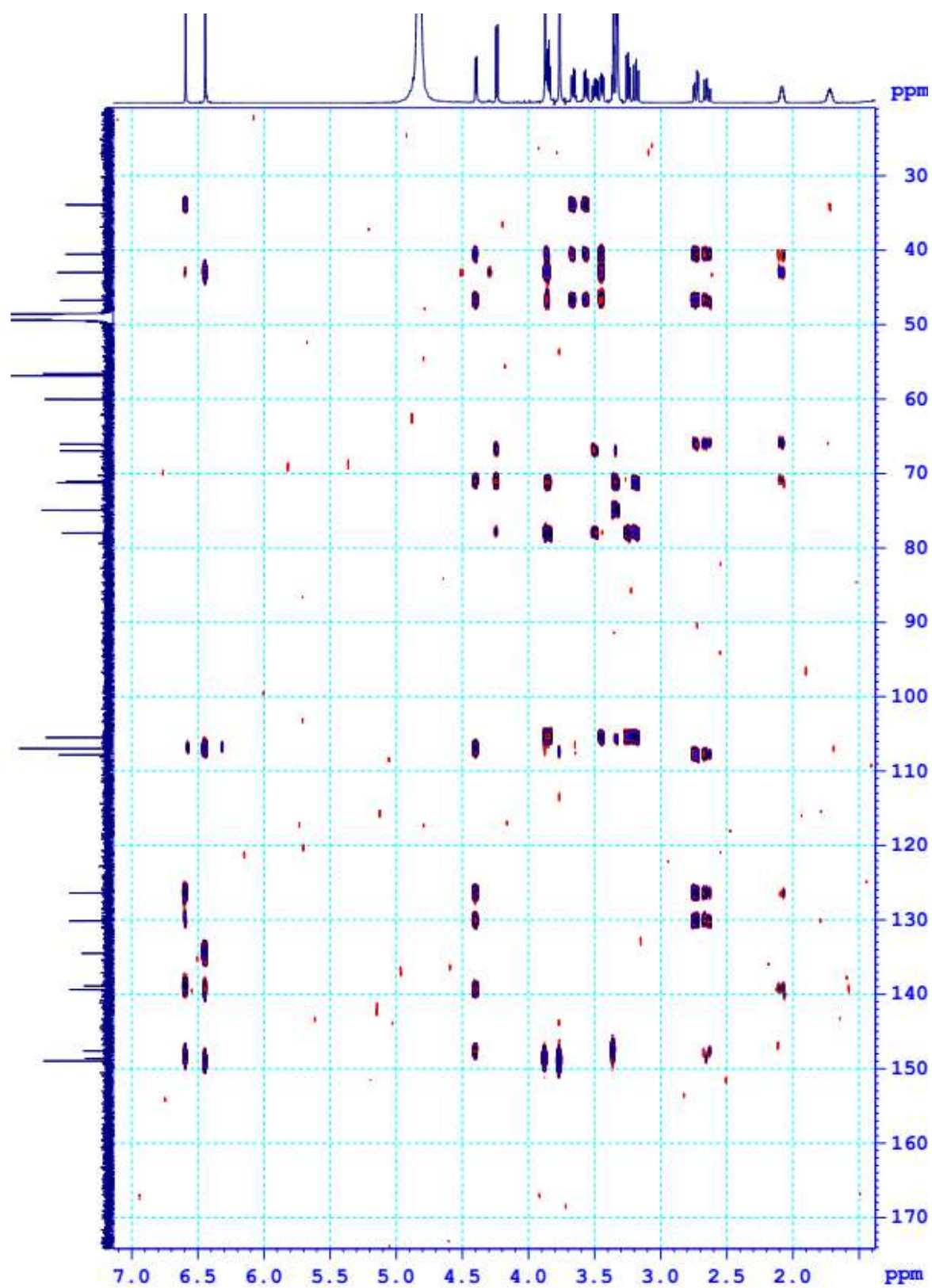
Hình 3.47. Phổ ^1H NMR của AM10



Hình 3.48. Phổ ^{13}C NMR của AM10

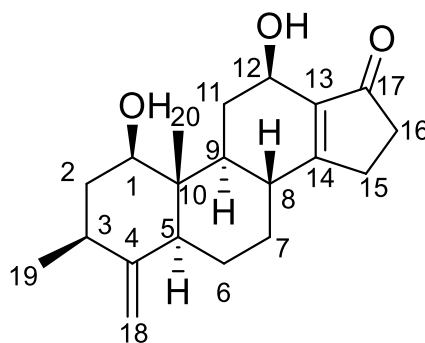


Hình 3.49. Phổ HSQC của AM10



Hình 3.50. Phổ HMBC của AM10

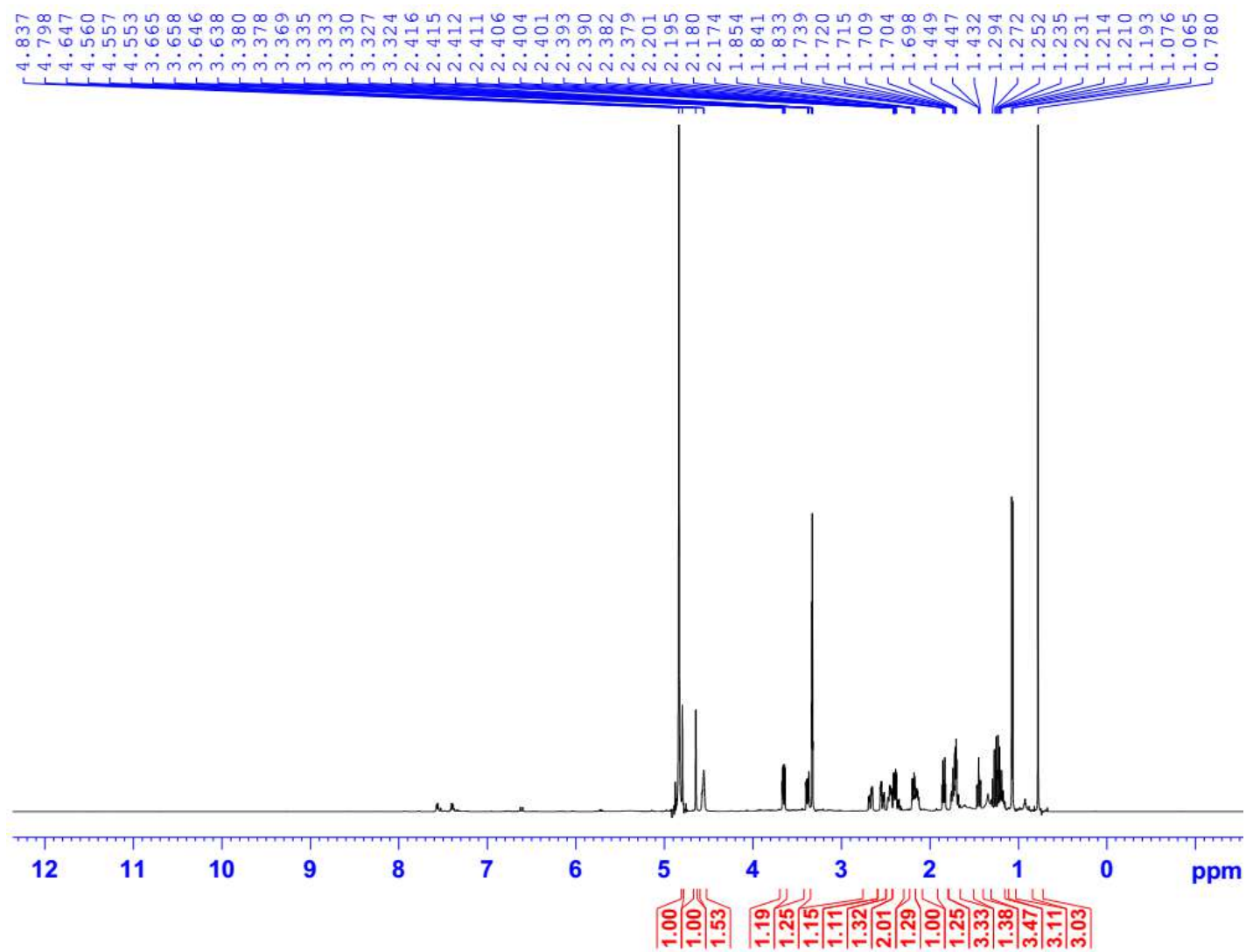
3.2.11. Hợp chất AM11



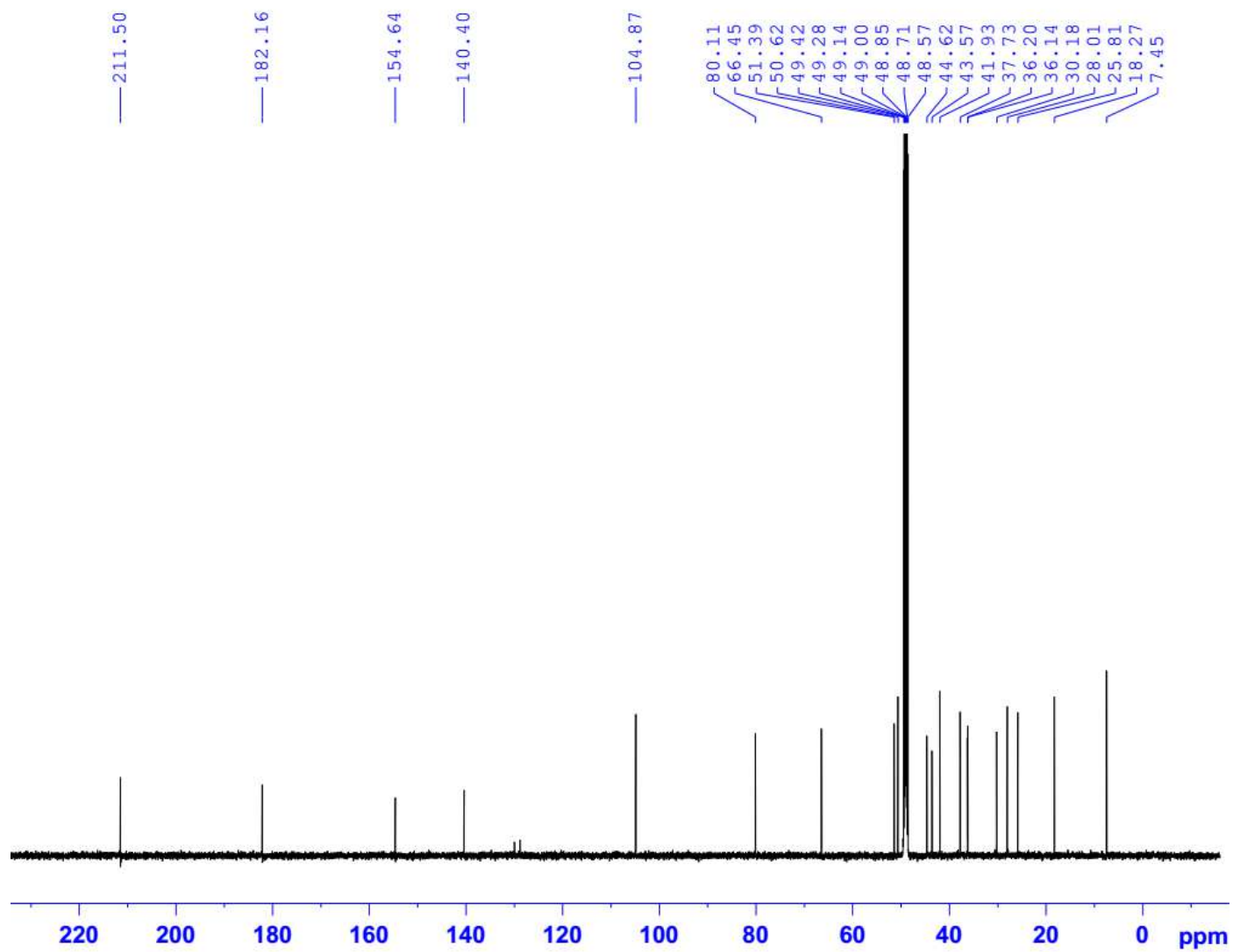
Hình 3.51. Cấu trúc của acacienone

Phổ ^1H -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}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.

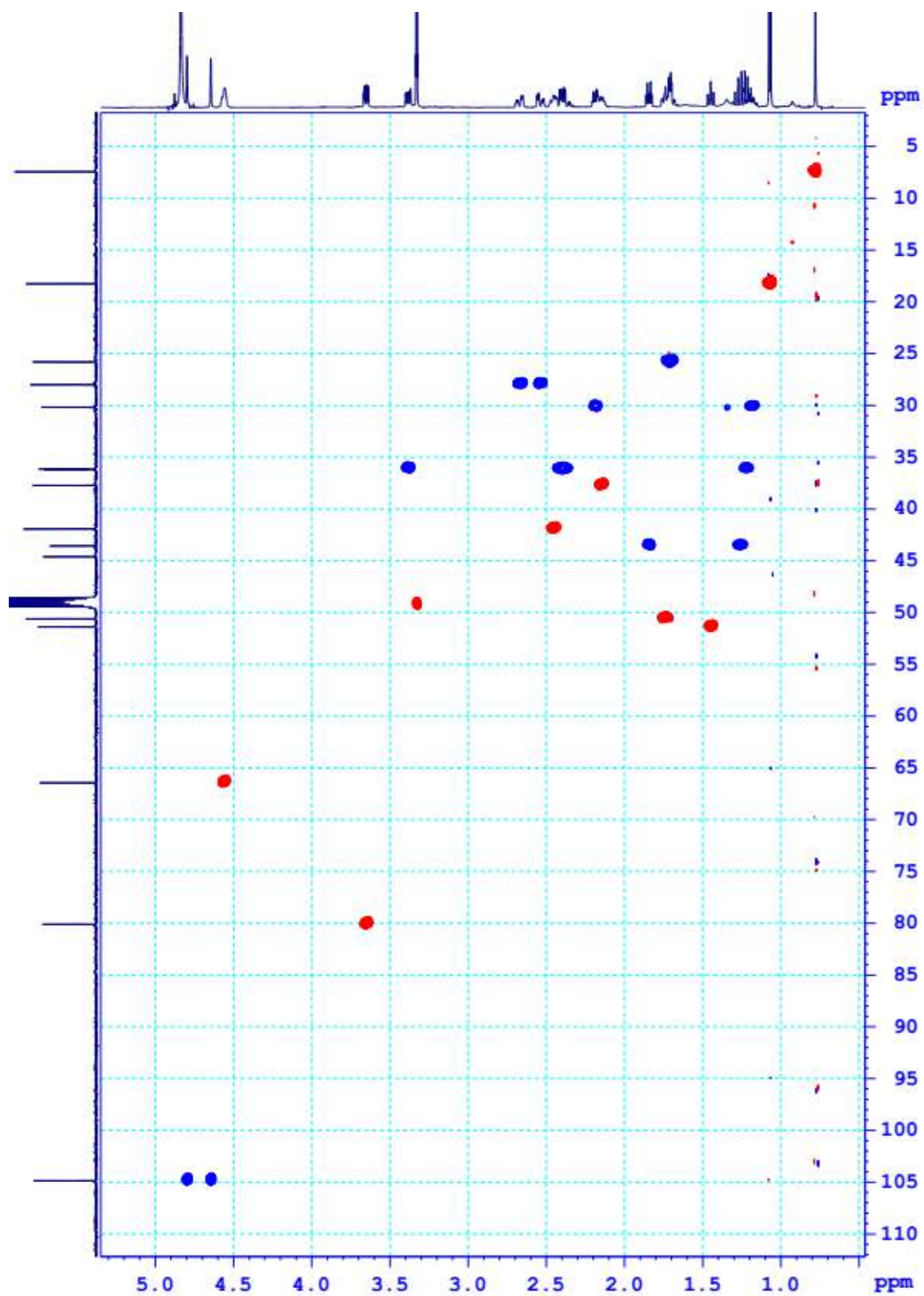
Dựa trên dữ liệu phổ và so sánh với hợp chất acacienone đã biết [113], kết luận rằng cấu trúc của **AM11** tương ứng với acacienone. Hợp chất này từng được phân lập từ lá keo trong một công bố trước đây [113].



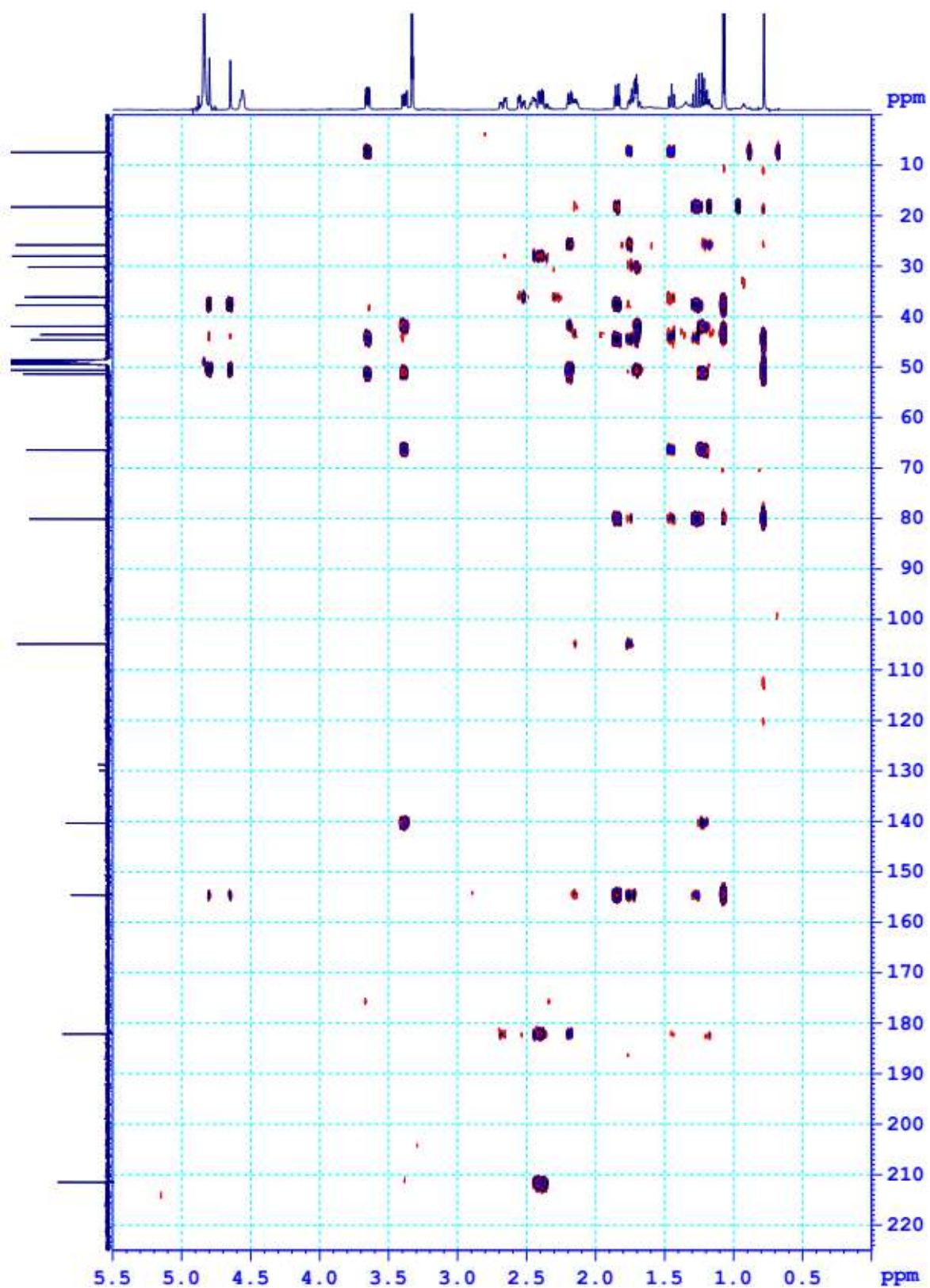
Hình 3.52. Phổ ¹H NMR của AM11



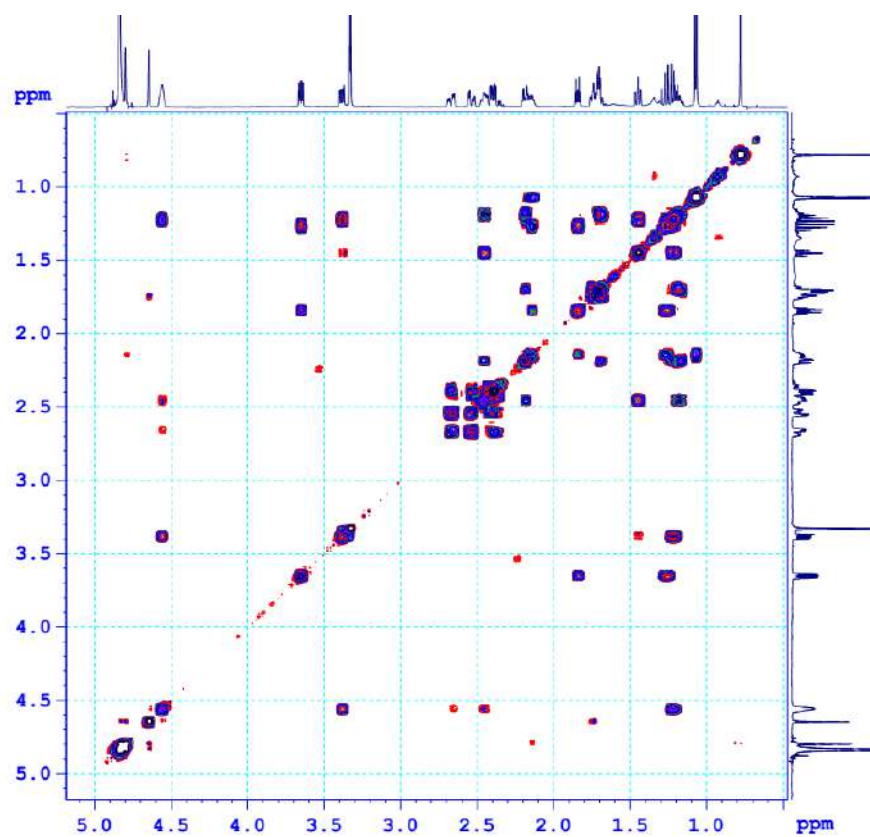
Hình 3.53. Phổ ^{13}C NMR của AM11



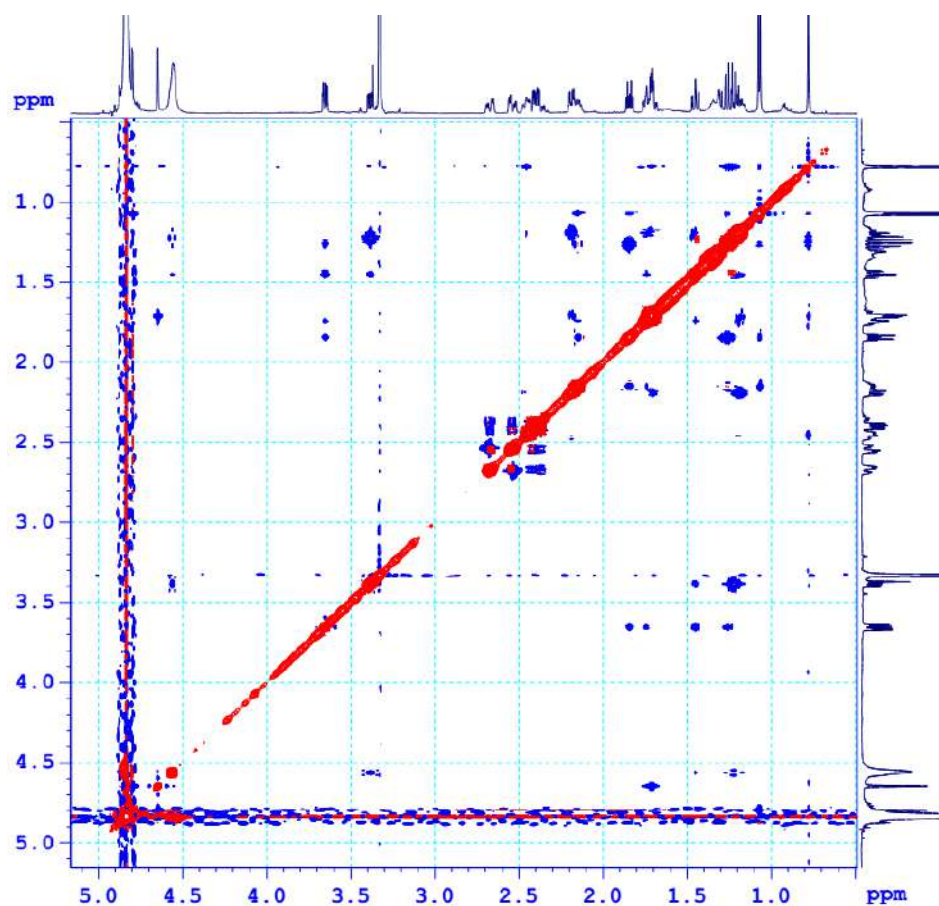
Hình 3.54. Phổ HSQC của AM11



Hình 3.55. Phổ HMBC của AM11



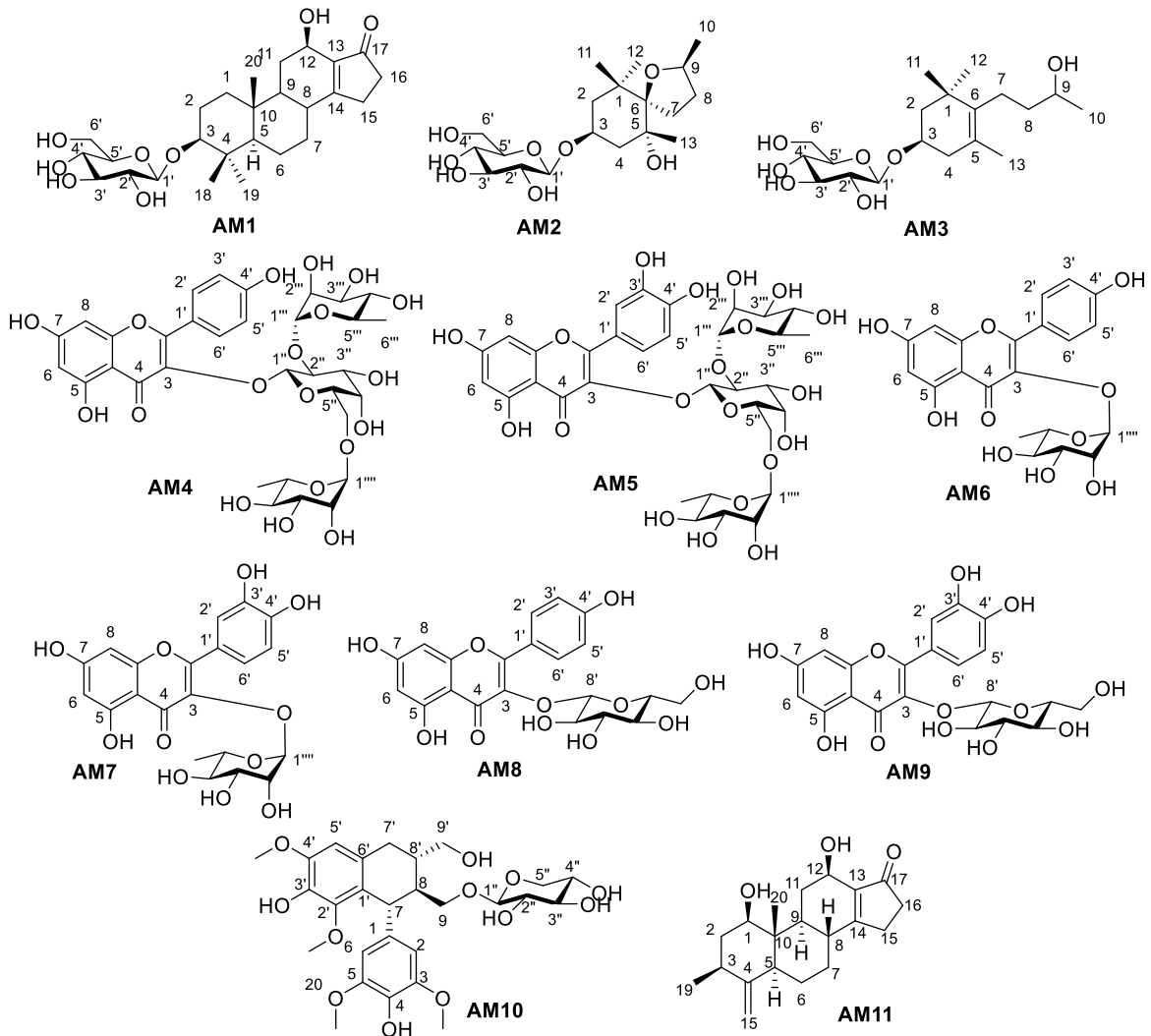
Hình 3.56. Phổ COSY của AM11



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 (**AM11**) và một terpenoid glycoside (**AM3**), cùng sáu hợp chất flavonoid glycoside (**AM4**, **AM5**, **AM6**, **AM7**, **AM8**, **AM9**). 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 3.7. 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

$\pm 3,9 \mu\text{M}$). 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 3.8. 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 (CuSO_4 , 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*

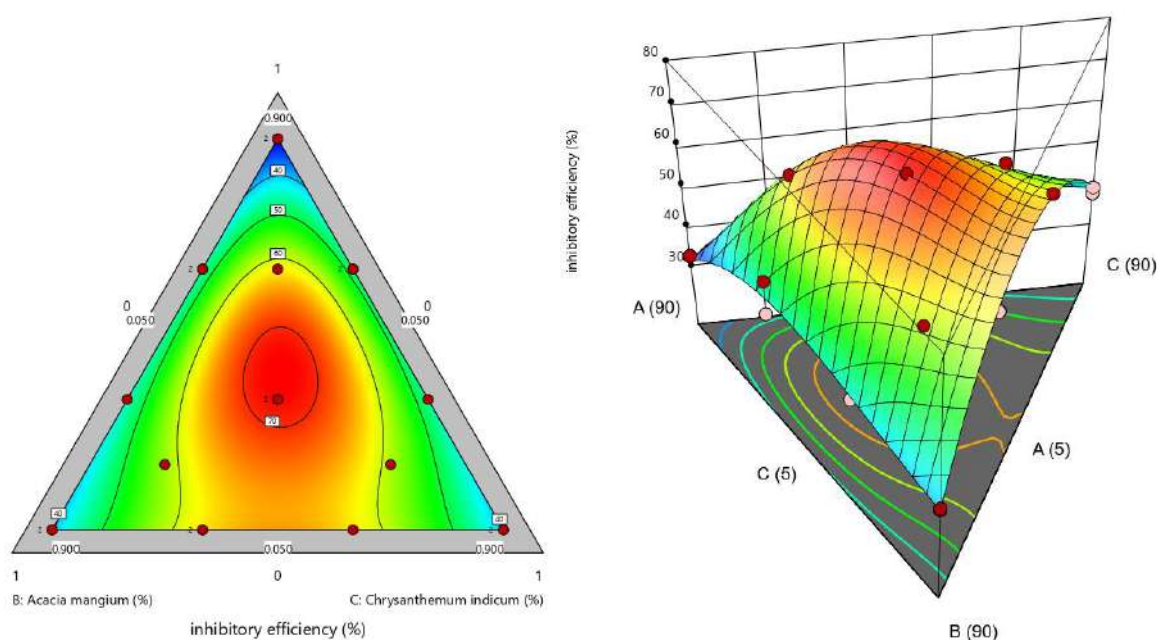
Kết quả từ bảng 2.2 cho thấy hiệu quả ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa* thay đổi rõ rệt theo tỷ lệ phối trộn các cao chiết từ ba loài thực vật *E. fortune*, *A. mangium* và *C. indicum*. Trong đó, hỗn hợp phối trộn với tỷ lệ cân bằng (33,33% mỗi thành phần) thể hiện hiệu quả ức chế cao nhất, đạt lần 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 A^2BC 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 3.9. 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 <i>p</i> (<i>p</i> -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 ² BC	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 3.10. 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 là (Z)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate và (E)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate, 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 là acacienoside A và acacionoside 3-glucoside, cùng 6 flavonoid dạng glycoside, 1 hợp chất lignan glycoside và 2 terpenoid đã biết. Trong đó, astragalin và isoquercetin có hoạt tính ức chế ở mức trung bình đối với vi khuẩn lam.
3. Các cao chiết từ hoa cúc vàng, lá keo tai tượng và một số hợp chất được phân lập như acacetin và apigenin đã thể hiện hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.
4. Nghiên cứu hiệu quả phối trộn các cao chiết từ hoa cúc vàng, keo tai tượng và mần tưới đã xác định được tỷ lệ phối trộn tối ưu là 40% *Eupatorium fortune*, 30% *Acacia mangium* và 30% *Chrysanthemum indicum*, thể hiện hoạt tính ức chế vượt trội ($72,95 \pm 4,74\%$) so với từng cao chiết riêng lẻ và hỗn hợp hai thành phần.

KIẾN NGHỊ

1. Thực hiện nghiên cứu thử nghiệm ứng dụng thực tế ở quy mô lớn hơn nhằm đánh giá hiệu quả và tính khả thi trong kiểm soát vi khuẩn lam trong các hồ chứa nước.
2. Khảo sát thêm các hoạt tính sinh học khác như khả năng chống oxy hóa, chống viêm và độc tính 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 ^{13}C 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 Bulletin*, 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.

Số: 645/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 18 tháng 6 năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/03/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 08/2017/TT-BGDĐT ngày 04/4/2017 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế Tuyển sinh và Đào tạo trình độ Tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1948/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2018 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Quyết định số 1119/QĐ-HVKHCN ngày 10/8/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh đợt 2 năm 2021 chương trình thông thường;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Nguyễn Văn Phương với đề tài:

“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*)”

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9440114

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

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

Quyết định có hiệu lực tối đa 90 ngày kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện Khoa học và Công nghệ. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /s/

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT. TN16.

GIÁM ĐỐC

GS.TS. Vũ Đình Lâm



**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

(Kèm theo Quyết định số 645 /QĐ-HVKHCN ngày 18/6/2025
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Về đề tài: “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*)” .

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9440114

Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN

Người hướng dẫn 2: PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt - Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Đỗ Thị Hà	Dược liệu	Viện Dược liệu, Bộ Y tế	Phản biện 1
3	PGS.TS. Vũ Thu Trang	Khoa học sự sống	Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Phản biện 2
4	PGS.TS. Phan Văn Kiệm	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 3
5	PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân	Hóa học các HCTN	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
6	PGS.TS. Vũ Đình Hoàng	Hóa hữu cơ	Trường Hóa và khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Ủy viên
7	PGS.TS. Bùi Thị Thúy Luyện	Hóa dược	Trường Đại học Dược Hà Nội, Bộ Y tế	Ủy viên

Hội đồng gồm 07 thành viên./.

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài 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*).

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh

PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền

Cơ quan công tác: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Nội dung nhận xét:

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

Đề tài tập trung vào việc nghiên cứu các hợp chất tự nhiên từ hai loài thực vật phổ biến tại Việt Nam – *Chrysanthemum indicum* (cúc hoa vàng) và *Acacia mangium* (keo tai tượng) – nhằm đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa*, một tác nhân gây ô nhiễm nguồn nước ngọt và ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe cộng đồng. Đây là hướng nghiên cứu mang tính thời sự cao, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu và gia tăng hiện tượng nở hoa vi khuẩn lam trên toàn cầu. Luận án có ý nghĩa thực tiễn và khoa học rõ rệt, vừa góp phần vào việc phát triển các giải pháp xử lý sinh học bền vững, vừa làm phong phú thêm tri thức về hóa học các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học.

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

Luận án thể hiện sự độc đáo và mới mẻ thông qua việc phát hiện và mô tả một số hợp chất mới chưa từng được báo cáo từ hai loài thực vật trên. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, chính xác và cập nhật đến năm 2024. Tác giả trình bày rõ ràng nguồn gốc thông tin, đảm bảo tính trung thực và minh bạch trong sử dụng tư liệu khoa học.

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

Các nội dung nghiên cứu phản ánh đúng tên đề tài và hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Hoá hữu cơ. Các nội dung nghiên cứu chính bao gồm:

- Phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất flavonoid, furan và terpen từ *C. indicum* và *A. mangium*.

- Đánh giá khả năng ức chế *M. aeruginosa* của các hợp chất và cao chiết.

- Tối ưu hóa tỷ lệ phối trộn cao chiết từ ba loài thực vật (*Chrysanthemum indicum*, *Acacia mangium*, *Eupatorium fortunei*) bằng mô hình Simplex Lattice để nâng cao hiệu quả kháng vi khuẩn lam.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng các phương pháp hiện đại trong lĩnh vực hóa học và sinh học như:

- Phân lập bằng sắc ký cột silica gel, Sephadex LH-20, HPLC điều chế;
- Xác định cấu trúc bằng phổ NMR, HR-ESI-MS;
- Đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam
- Mô hình tối ưu hóa Simplex Lattice Design.

Các phương pháp được lựa chọn và triển khai phù hợp, có độ tin cậy cao, đảm bảo tính hiện đại và khả năng lặp lại.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Luận án là đóng góp khoa học quan trọng, mở ra hướng ứng dụng thực tiễn trong kiểm soát ô nhiễm sinh học nước ngọt theo hướng xanh, bền vững. Những đóng góp mới của luận án bao gồm:

- Phân lập và xác định cấu trúc thành công ba hợp chất mới (CI1, CI2 và AM1) từ hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) bằng các phương pháp phân tích hiện đại như HR-ESI-MS, 1D và 2D NMR. Các hợp chất này chưa từng được công bố trong các tài liệu khoa học trước đây, góp phần bổ sung vào kho dữ liệu các hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ thực vật.

- Đánh giá có hệ thống khả năng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của 20 hợp chất được phân lập từ *C. indicum* và *A. mangium*. Một số hợp chất như acacetin 7-*O*-glucoside, quercetin 3-*O*-glucoside và acacienoside A thể hiện hoạt tính ức chế mạnh với giá trị EC₅₀ trong khoảng 60–90 µg/mL, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực xử lý sinh học.

- Xây dựng và áp dụng thành công mô hình tối ưu hóa Simplex Lattice Design để xác định tỷ lệ phối trộn hiệu quả giữa các cao chiết từ *C. indicum*, *A. mangium* và *E. fortunei*. Kết quả mô hình cho thấy công thức phối trộn tối ưu đạt

hiệu quả ức chế vi khuẩn lam trên 85% ở nồng độ tổng 200 $\mu\text{g/mL}$, với độ phù hợp thống kê cao. Đây là hướng tiếp cận hiện đại, kết hợp giữa hóa học tự nhiên và mô hình hóa thực nghiệm.

- Ngoài giá trị học thuật, luận án còn gợi mở hướng phát triển các chế phẩm sinh học nguồn gốc tự nhiên nhằm kiểm soát vi khuẩn lam trong môi trường nước ngọt, đặc biệt tại các khu vực nuôi trồng thủy sản và hồ chứa nước sinh hoạt. Giải pháp này có ưu điểm thân thiện với môi trường, hiệu quả cao, an toàn và dễ triển khai trong thực tiễn.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án có bố cục chặt chẽ, nội dung sâu sắc, số liệu phong phú, cách trình bày rõ ràng, minh chứng cụ thể. Hình ảnh phổ và bảng biểu hỗ trợ tốt cho lập luận. Tuy nhiên, một số phần có thể rút gọn hoặc gộp lại để tránh trùng lặp giữa mô tả hợp chất và đánh giá hoạt tính sinh học.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố

Nội dung, kết quả của luận án đã được NCS công bố trên 01 tạp chí quốc tế thuộc danh mục SCIE (BioResources, IF 1.75) và 01 tạp chí quốc gia (Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học). Đây đều là những công trình công bố có chất lượng tốt phản ánh đầy đủ nội dung của luận án.

8. Kết luận chung:

Đây là một luận án công phu, có tính mới và giá trị thực tiễn – đặc biệt trong hướng phát triển các chế phẩm sinh học ứng dụng cho bảo vệ môi trường nước. Bản tóm tắt phản ánh trung thực các nội dung chính của luận án.

Tôi hoàn toàn đồng ý cho NCS Nguyễn Văn Phương được bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện để xét công nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ.

Hà Nội, ngày 10 tháng 7 năm 2025

Người nhận xét



GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài 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*).**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh

PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: PGS.TS. Đỗ Thị Hà

Cơ quan công tác: Viện Dược liệu, Bộ Y tế.

NỘI DUNG NHẬN XÉT:

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

Microcystis aeruginosa là một loài vi khuẩn lam (*cyanobacteria*) phổ biến trong môi trường nước ngọt, đặc biệt là ở những vùng nước có hàm lượng dinh dưỡng cao. Loài này có khả năng sinh trưởng mạnh trong điều kiện giàu phosphorus, làm gia tăng nguy cơ bùng phát tảo nở hoa (*harmful algal blooms - HABs*), ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng nước và hệ sinh thái. Hiện tượng này không chỉ gây mất cân bằng sinh thái mà còn tiềm ẩn nguy cơ đối với sức khỏe con người do khả năng sản sinh độc tố cyanotoxin. Tại Việt Nam, hiện tượng "tảo nở hoa" đã xuất hiện ở Hồ Tây trong những năm gần đây, làm dấy lên mối lo ngại về ô nhiễm nguồn nước. Trước tình hình đó, việc nghiên cứu các hợp chất tự nhiên có khả năng kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn lam một cách an toàn và thân thiện với môi trường đang trở thành hướng đi được nhiều nhà khoa học quan tâm.

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*)" của NCS Nguyễn Văn Phương mang ý nghĩa quan trọng cả về mặt khoa học lẫn thực tiễn.

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

Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và cây keo tai tượng (*Acacia mangium*) có thành phần hóa học đa dạng, gồm các hợp chất polyphenol, flavonoid,

alkaloid và terpenoid, với nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu chi tiết về thành phần hóa học cũng như khả năng ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của hai loài thực vật này.

Đến thời điểm hiện tại, theo tra cứu của tôi, luận án không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào đã được công bố trước đây.

Toàn bộ tài liệu tham khảo bao gồm 113 tài liệu đều được trích dẫn một cách chính xác, phù hợp và đảm bảo tính trung thực học thuật.

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

Tên đề tài là phù hợp với nội dung nghiên cứu, Nội dung nghiên cứu của luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các phương pháp nghiên cứu gồm phân lập các hợp chất tự nhiên, xác định cấu trúc các hợp chất sử dụng các phương pháp thường quy và hiện đại nên cho kết quả tin cậy.

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* là trung thực, đáng tin cậy.

Phương pháp tối ưu hoá tỷ lệ phối trộn sử dụng mô hình Simplex Lattice Design (SLD) trên phần mềm Design Expert 12.0 là hiện đại.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

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

- Phân lập và xác định cấu trúc được 9 hợp chất, trong đó có 2 hợp chất furan mới, 1 chất furan lần đầu có số liệu phổ từ hoa cúc vàng (*Chrysanthemum indicum*).
- Phân lập và xác định cấu trúc được 11 hợp chất, gồm 2 hợp chất terpenoid glycoside mới cùng 6 flavonoid glycoside, 1 hợp chất lignan glycoside và 2 terpenoid đã biết.
- Lần đầu tiên đánh giá và so sánh hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* đối với các hợp chất flavonoid từ *Chrysanthemum indicum* và *Acacia mangium*. acacetin và apigenin từ Cúc hoa vàng đã thể hiện hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *M. aeruginosa*, trong khi các hợp chất astragalin và

isoquercetin từ keo tai tượng có hoạt tính ức chế ở mức trung bình đối với vi khuẩn lam

- 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.

Luận án đã có nhiều đóng góp mới về cả thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Đa có kết quả nghiên cứu tối ưu hóa về tỷ lệ phối trộn để có tác dụng tốt. Luận án có nội dung nghiên cứu đa dạng, phong phú. Có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án có 153 trang, 12 bảng, 70 hình bao gồm các phần như mở đầu (2 trang), Tổng quan (27 trang), Chương 2: Đối tượng, phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm (15 trang), Kết quả và thảo luận (109 trang), Kết luận và kiến nghị (1 trang). Ngoài ra còn có danh mục công trình công bố luận án (1 trang), đóng góp mới (1 trang) và tài liệu tham khảo.

Bố cục khá hợp lý, tuy nhiên số hình hơi nhiều do đưa hình ảnh phổ vào chương 3. Có thể đưa phần phổ vào phụ lục để luận văn ngắn gọn hơn.

+ Phần mở đầu: Có thể bổ sung thêm 1 mục tiêu là xác định tỷ lệ tối ưu phối hợp cao chiết 3 loài.

+ Phần tổng quan: Đã nêu được đầy đủ các nghiên cứu về TPHH và hoạt tính sinh học 2 loài Cúc hoa vàng và keo tai tượng. Đã giới thiệu về vi khuẩn lam và các phương pháp hạn chế sự phát triển của vi khuẩn lam

+ Chương 2: Đã đưa ra chi tiết về đối tượng, phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm.

+ Bổ sung thêm phiếu định danh loài thực vật.

+ Chương 3: NCS đã xác định cấu trúc hóa học rõ ràng. Tuy nhiên, nên đưa hình ảnh phổ sang phụ lục.

+ Chỉ một số hợp chất có trình bày bảng tổng hợp phổ, còn thiếu khá nhiều do vậy NCS nên bổ sung bảng phổ đầy đủ của các hợp chất, so sánh với số liệu phổ của tài liệu tham khảo cho thống nhất.

+ Phần tối ưu hóa tỷ lệ, nên đưa bảng 2.2 vào phần 3.4.2 (trang 149) để dễ theo dõi.

Một số góp ý khác:

- Danh mục hình trang Xi: Đưa bảng 3.6 về danh mục bảng, sửa bảng 3.1- Trang 7: Viết tắt PEDV là gì ?
- Phương pháp đánh giá ức chế vi khuẩn lam là tự phát triển hay có TLTK ?

- Trang 145: Sửa AM12 thành AM11.

- Bổ sung Phần phụ lục gồm phiếu giám định tên khoa học và phổ các hợp chất chi tiết, nên bổ sung mục lục cho phụ lục riêng.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố

Các kết quả của luận án đã được đăng tải trong 01 bài báo trên tạp chí quốc tế (BioResources SCIE) và 1 bài báo trên tạp chí *Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học*. Các kết quả nghiên cứu về keo tai tượng chưa công bố. Các bài báo trên các tạp chí chuyên ngành khẳng định tính mới của luận án. Số lượng và chất lượng của các công trình công bố khẳng định luận án tiến sĩ của NCS đáp ứng các yêu cầu của luận án tiến sĩ Hóa hữu cơ.

8. Kết luận chung:

Luận án tiến sĩ của NCS Nguyễn Văn Phương là một công trình nghiên cứu có chất lượng tốt, có nội dung khoa học phong phú. NCS đã thực hiện khối lượng công việc khá lớn, đã phân lập và xác định được cấu trúc 20 hợp chất, trong đó có 4 chất mới, đã đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam. Bên cạnh đó còn có kết quả nghiên cứu tối ưu phối hợp 3 cao chiết để cho hỗn hợp có hiệu quả ức chế vi khuẩn khá tốt.

Các kết quả nghiên cứu có độ tin cậy cao, các kết quả đã được công bố trên tạp chí quốc tế và trong nước được hội đồng . Các kết quả của đề tài đáp ứng yêu cầu luận văn tiến sĩ theo quy định tại Thông tư BGDĐT.

Tôi hoàn toàn đồng ý cho NCS Nguyễn Văn Phương được bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện để xét công nhận học vị Tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ.

Hà Nội, ngày 18 tháng 7 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Đỗ Thị Hà

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Họ và tên người viết nhận xét luận án: Vũ Thu Trang

Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách Khoa Hà Nội

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Tên đề tài luận án: *Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng vi khuẩn Lam Microcystin aeruginosa của cúc hoa vàng (Chrysanthemum indicum) và keo tai tượng (Acacia mangium)*

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:

Kết quả nghiên cứu của luận án với phân lập và định danh được các thành phần hóa học từ hoa cúc vàng và keo tai tượng và đánh giá khả năng kháng vi khuẩn lam có ý nghĩa khoa học với nhiều phát hiện mới, góp phần quan trọng trong bảo tồn, khai thác đa dạng thực vật tại Việt Nam, định hướng ứng dụng cho cuộc sống.

Ý nghĩa khoa học:

Kết quả của luận án đã cung cấp được dữ liệu khoa học về 9 hợp chất từ cúc hoa vàng trong đó có 2 hợp chất mới và 01 hợp chất lần đầu công bố dữ liệu phổ; luận án cũng phân lập được 11 hợp chất trong keo tai tượng. Đây là kết quả nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu đa dạng sinh học của các loại thực vật tại Việt Nam, làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về thu nhận, khai thác các thành phần có hoạt tính sinh học ứng dụng cho sức khỏe và đời sống.

Ý nghĩa thực tiễn:

Nghiên cứu đã đánh giá được nguồn tiềm năng từ cúc hoa vàng và keo tai tượng trong việc ức chế khả năng phát triển của vi khuẩn lam, đặc biệt là *Microcystin aeruginosa* vốn được biết đến là nguyên nhân nghiêm trọng với môi trường và hệ sinh thái nước cũng như sức khỏe con người. Đây là ý nghĩa thực tiễn quan trọng thể hiện khả năng ứng dụng của luận án trong thực tiễn.

Nghiên cứu cũng đề xuất phương thức sử dụng kết hợp nhiều thành phần cao chiết từ hai nguồn nguồn nguyên liệu trên kết hợp với 01 nguồn thực vật tiềm năng là cây mần tưới trong ứng dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, Luận án đã công bố 01 tạp chí trong nước và 01 tạp chí quốc tế có uy tín thể hiện được các đóng góp của luận án đã được các nhà khoa học trong lĩnh vực ghi nhận. Theo hiểu biết của phản biện, các kết quả của luận án là mới công bố, không trùng với các công trình nghiên cứu khác tại Việt nam và Thế giới. Cách trích dẫn TLTK rõ ràng, đầy đủ.

Một số góp ý:

Cần bổ sung các TLTK là cơ sở khoa học cho phương pháp nghiên cứu và bố trí thí nghiệm, với trình bày như hiện tại, phương pháp nghiên cứu rất sơ sài, mới chỉ nêu được nguyên tắc cơ bản, chưa thể hiện đầy đủ các thao tác thí nghiệm.

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

Nội dung đề tài phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành khoa học vật chất.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu truyền thống và hiện đại, các phương pháp phân lập các hợp chất, phân tích xác định cấu trúc hợp chất hiện đại, phương pháp khảo sát hoạt tính sinh học thường quy. Phương pháp xử lý số liệu có ý nghĩa thống kê, mô hình phối trộn và thử nghiệm được thiết kế hợp lý, dẫn tới kết quả thu được khoa học và hướng tới mục tiêu nghiên cứu.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống. ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Lần đầu tiên công bố được 2 hợp chất mới và 01 hợp chất lần đầu công bố dữ liệu phổ từ cúc hoa vàng; luận án cũng phân lập được 11 hợp chất trong keo tai tượng. Đây là kết quả nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu đa dạng sinh học của các loại thực vật tại Việt Nam, làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về thu nhận, khai thác các thành phần có hoạt tính sinh học ứng dụng cho sức khỏe và đời sống.

Luận án cũng đánh giá bước đầu hoạt tính kháng vi khuẩn lam với triển vọng

ứng dụng quan trọng cho đời sống con người.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm của luận án:

Kết cấu của luận án gồm 163 trang đó có 28 trang tổng quan tài liệu, 15 trang phương pháp nghiên cứu, còn lại là kết quả và TLTK là phù hợp.

Hình thức của luận án được trình bày sạch đẹp, văn phong khoa học.

Luận án là một nghiên cứu hoàn chỉnh phân tích tổng thể về các thành phần hóa học của chất chiết từ cúc hoa vàng và keo tai tượng và bước đầu đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn lam – được biết đến là vi khuẩn tác hại lớn tới hệ sinh thái trong môi trường nước và hệ sinh thái môi trường nước. Đây là đóng góp khoa học có tính mới ý nghĩa, góp phần quan trọng trong bảo tồn, khai thác đa dạng thực vật tại Việt Nam, định hướng ứng dụng cho cuộc sống.

Nội dung của luận án khá logic, bố cục hợp lý, bố trí thí nghiệm khá rõ ràng, sơ đồ nghiên cứu được trình bày cụ thể, các phương pháp nghiên cứu phù hợp thu được để kết quả nghiên cứu đáp ứng nội dung nghiên cứu và các kết quả có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

Một số góp ý:

Phần tổng quan:

Tác giả nên tóm tắt các công trình nghiên cứu của cúc hoa vàng và keo tai tượng dưới dạng bảng với nhiều thông tin chi tiết hơn, đặc biệt các hoạt tính sinh học được biết đến, cơ chế...

Tác giả có thể thống kê các vụ bùng phát nở hoa dưới dạng bảng để nêu bật tầm quan trọng của nghiên cứu. từ đó đề xuất Mục tiêu và Nội dung nghiên cứu sau phần này.

Tác giả cần bổ sung về cơ sở khoa học phương pháp tách chiết, các nghiên cứu trong và ngoài nước và phương pháp tách chiết cho phát hiện các hợp chất này,

Phần phương pháp nghiên cứu:

- Bổ sung tọa độ lấy mẫu
- Bổ sung cơ sở khoa học và TLTK để đề xuất phương pháp tách chiết.
- Tất cả các dụng cụ, hóa chất, thiết bị cần đầy đủ tên thiết bị, mã, tên doanh nghiệp, nước sản xuất.
- Tất cả các phương pháp nghiên cứu hầu như chưa có TLTK, cần mô tả chi tiết các bước thực hiện của tất cả các phương pháp.
- Phương pháp xác định hoạt tính kháng vi khuẩn lam: cần mô tả cụ thể hơn, tác giả kiểm soát nồng độ vsv thế nào, thực hiện trong bao lâu T0, T3...tra 32 nghĩa là gì? Thực chất trong vi sinh, IC 50 và giảm vi sinh vật theo % rất khó để kết luận về khả năng ức chế. Thông thường sẽ giảm mật độ VSV theo logarit ...
- Việc sử dụng mần tưới khá khiến cường trong nghiên cứu. Tác giả lý giải như thế nào? Thậm chí có thể nghiên cứu kết hợp với các thành phần đã được biết đến là có khả năng ức chế vi khuẩn lam...

Phản thảo luận:

Các phổ cấu trúc trong phần kết quả có trùng với trong phần thông số vật lý và dữ liệu không? Liệu có thể chuyển về phụ lục và thảo luận trên thông số mô tả dưới dạng bảng không?

Tất cả các kết quả chưa có biện giải với các nghiên cứu trước.

Kết quả hoạt tính ức chế vi khuẩn lam: chưa có phần pp nghiên cứu. Cần so sánh với các nghiên cứu tương tự, trên đối tượng khác.

Phần 3.4 các kết quả đưa từ cây mần tưới là TLTK, không phải là kết quả của tác giả. Tác giả nếu muốn đưa vào trọng tâm có thể bổ sung 1 phần trong tổng quan tài liệu để thấy tầm quan trọng khi nghiên cứu đối sánh hoặc kết hợp với cao chiết từ cây này.

Cần giải thích cơ chế ức chế theo sự hiểu biết của tác giả về các nhóm hợp chất và bản chất của các hợp chất (Tr 149).

Phản kiến nghị: Tác giả có thể đề xuất các nghiên cứu tiếp theo thể hiện khả năng ứng dụng: ví dụ nghiên cứu cộng hưởng với các kháng sinh phổ dụng...

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên 02 công trình khoa học trên các tạp chí trong nước và quốc tế có phản biện chứng tỏ được giá trị khoa học của luận án. Các công trình khoa học có nội dung phù hợp với các nội dung của luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Kết quả của luận án đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Khoa học vật chất.
- Luận án của NCS Nguyễn Văn Phương sau chỉnh sửa có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 10 tháng 7 năm 2025

Người viết nhận xét



Vũ Thu Trang

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Tên đề tài: *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*)*

Mã số: 9440114

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Người nhận xét (phản biện 3) luận án: PGS TS Phan Văn Kiệm

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện Hóa học

NỘI DUNG BẢN NHẬN XÉT

1. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.

Việt Nam có hệ thực vật rất phong phú và đa dạng. Nhiều cây đã được nghiên cứu ứng dụng trong y học cổ truyền, y học dân gian. Nhiều cây cũng đã được nghiên cứu sâu về thành phần hóa học và các hoạt tính tính học và được ứng dụng trong việc chăm sóc sức khỏe con người dưới nhiều hình thức khác nhau. Tuy nhiên, do tính đa dạng và phong phú của hệ thực vật này mà vẫn còn rất nhiều tiềm năng thu hút các nhà khoa học trong nước và quốc tế quan tâm nghiên cứu. Đề tài luận án này 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*) có ý nghĩa khoa học và thực tiễn khá tốt, góp phần

làm sáng tỏ thêm một số vấn đề khoa học của hai cây này, tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu.

Nghiên cứu này của NCS Nguyễn Văn Phương không trùng lặp với các nghiên cứu đã công bố trước đây.

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

Luận án có nội dung nghiên cứu phù hợp với chuyên ngành và mã số đào tạo.

4. Sự hợp lý và độ tin cậy của các phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong đề tài này là phù hợp với các nội dung đưa ra, đảm bảo tính hiện đại, thường quy, có độ tin cậy tốt. Đây cũng là các phương pháp thường quy đang được áp dụng cả ở trong và ngoài nước.

5. Các kết quả đã đạt được, đóng góp mới về giá trị khoa học và thực tiễn.

Về nghiên cứu thành phần hóa học, từ cây hoa cúc vàng đã phân lập được 9 hợp chất, trong đó có hai hợp chất furan mới, từ cây keo tai tượng phân lập được 11 hợp chất, trong đó có hai hợp chất mới khung androstane.

Các nghiên cứu về hoạt tính ức chế *khuẩn lam Microcystis aeruginosa* của cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) có tính mới do chưa có công bố nào về hoạt tính này của hai đối tượng nêu trên.

Các kết quả nghiên cứu của luận án có đóng góp tốt cho khoa học, có ý nghĩa thực tiễn tốt.

6. Ưu nhược điểm của luận án

Ưu điểm:

- Luận án đảm bảo được các yêu cầu chung của một luận án tiến sĩ, phù hợp chuyên ngành và mã số đào tạo.

Nhược điểm:

- Về trình bày, phần thảo luận khá sơ sài, với dung lượng các phổ chiếm đa số các trang. NCS cần bố trí lại các hình phổ phù hợp, cùng với các hình vẽ minh họa để tăng thêm sự thuyết phục khi trình bày, đặc biệt cần bố trí phần trích dẫn tài liệu tham khảo đúng với nội dung cần minh họa.
- Cũng ý trình bày, ở cây keo tai tượng, hai chất AM1 và AM11 có cấu trúc cùng một khung. Do đó chất AM11 nên trình bày ngay sau 2 chất mới của cây này để tăng thêm tính logic khi tham khảo.
- Đối với hai hợp chất mới từ cây hoa cúc vàng, phổ NOESY của hai chất này bị nhầm lẫn cho nhau, cần phải sửa lại. Khi đó, tương tác NOESY giữa H-9 (4.36) với H-4 (6.46) là khá rõ, trong khi theo cấu trúc đưa ra thì hai proton này nằm rất xa nhau. Vì vậy, cần thiết phải xem lại hoặc là các giá trị gán hoặc cấu trúc hóa học cần xem xét thêm. Mặt khác, trên phổ NOESY không thấy có tương tác giữa H-4 (6.46) với H-2 (3.43) như trình bày trong luận án. Có thể phải lấy lại phổ chuẩn sau khi kiểm tra phần calibrate không bị lệch. Trong trường hợp phổ NOESY không thể hiện tương tác nêu trên, tác giả cần dẫn chứng cặp các số liệu phổ ^{13}C NMR cho cấu hình Z ở phần cấu trúc tương tự cho thuyết phục.
- Đối với hợp chất AM1, trên phổ HMBC hoàn toàn không có tương tác giữa H-12 (4.50) với C-13 (140.3)/C-14 (182.3)/C-17 (211.3), do đó trên hình vẽ cũng như biện luận cần bỏ các tương tác này. Về hóa học lập thể của hợp chất mới này cần biểu diễn đầy đủ ở tất cả các trung tâm bất đối. Trong phần biện luận trang 89, tác giả đề cập chất tham khảo là acacienone nhưng không trích dẫn TLTK. Do đó cần bổ sung TLTK [113] vào ý này. Tuy nhiên, tác giả ghi “một tương tác NOESY rõ ràng giữa H-7 và H-15 đã xác định vị trí nhóm carbonyl tại C-17 ..” Ý này người phản biện hoàn toàn không hiểu, thứ nhất không có gì liên quan giữ vị trí nhóm C=O với tương tác NOESY H-7/H-15, thứ hai, trên phổ cũng như lý thuyết không có tương tác H-7/H-15. Trong trường hợp nếu có tương tác như tác giả nêu, thì H_a-7 và H_b-7 cùng như H_a-15 và H_b-15 đều có hướng xác định trong không gian nên

cần chỉ rõ proton nào tương tác với proton nào (biểu diễn bằng độ dịch chuyển hóa học).

- Cũng liên quan hợp chất AM1, tác giả xếp nó vào khung labdane là không đúng. Hợp chất này thuộc khung androstane (nor-androstane). Chỉ khi xác định đúng khung chất thì hóa học lập thể của nó mới có thể xác định chính xác. Trong biện luận, hóa học lập thể nhóm OH tại C-12 hoàn toàn chưa được đề cập. Trong khi, phổ NOESY không thể hiện rõ các tương tác cần thiết để xác định hóa học lập thể của nhóm OH này, thì NCS cần tham khảo hợp chất tương tự (acacienone [113]), căn cứ vào độ dịch chuyển hóa học và đặc biệt là hằng số tương tác H-11/H-12 để xác định vị trí axial hay equatorial của H-12.

- Về việc bổ sung thêm 1 dịch chiết khác nữa để tổ hợp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam chưa được làm rõ trong đối tượng nghiên cứu cũng như sự cần thiết của công việc này. Nếu khuôn khổ của luận án chỉ nghiên cứu 2 đối tượng và nếu tổ hợp dịch chiết của hai đối tượng này lại có hoạt tính kháng vi khuẩn lam tốt hơn thì tác giả sẽ giải thích lý do đưa thêm 1 đối tượng hoàn toàn không được đề cập trong đối tượng nghiên cứu vào để tiến hành nghiên cứu. Điều này đã làm giảm tính thuyết phục của các kết quả đánh giá hoạt tính của tổ hợp hỗn hợp các dịch chiết khác nhau. Do đó, NCS cân nhắc chỉ nên đánh giá hoạt tính của đối tượng mình nghiên cứu, kể cả chất đã phân lập cũng như dịch chiết của 2 cây trong khuôn khổ luận án.

- Phần kết luận sơ sài, chung chung cần viết lại cụ thể hơn. Các hợp chất mới cần nêu rõ tên (kể cả tên khoa học và tên do mình đặt), các chất cũ cũng có thể nêu rõ tên thay vì chỉ đếm số lượng chất trong phần kết luận rất quan trọng của luận án.

- Cần bổ sung Bản tóm tắt luận án và các công trình đã công bố liên quan của tác giả theo quy định.

7. Chất lượng các bài báo công bố

NCS công bố 2 bài báo trên tạp chí chuyên ngành. Trong đó có 1 bài trên tạp chí quốc tế. Các bài báo có nội dung phù hợp với luận án, đăng tải kết quả chính của luận án. Các bài báo đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ.

8. Tính trung thực của các trích dẫn

Các tài liệu tham khảo được trích dẫn đảm bảo đúng quy định, trung thực.

9. Kết luận:

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*)” của NCS Nguyễn Văn Phương là một công trình khoa học đáp ứng yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ hóa học. Tôi **đồng ý** cho NCS Nguyễn Văn Phương được bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Học viện, hoàn thiện theo các ý kiến đóng góp của Hội đồng để nhận học vị Tiến sĩ theo quy định.

Hà Nội, ngày 08 tháng 7 năm 2025

Người nhận xét



PGS TS Phan Văn Kiệm

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIÊN

Tên đề tài 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*)”.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

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

2. PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Người nhân xét: PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

Chức danh trong Hội đồng: Ủy viên Thư ký

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Ngày nay, các hợp chất thiên nhiên không chỉ được quan tâm ứng dụng trong lĩnh vực y, dược, thực phẩm, mỹ phẩm... mà còn được quan tâm ứng dụng trong lĩnh vực xử lý môi trường. Vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* có khả năng sản sinh độc tố thần kinh và độc tố gan, như microcystin và cyanopeptolin, được gọi là cyanotoxin. Ngoài ra sự phát triển mạnh mẽ của vi khuẩn lam *M. aeruginosa* gây ra hiện tượng tảo nở hoa (Harmful Algal Blooms - HABs) làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến hệ sinh thái và chất lượng nước. Do đó, việc kiểm soát *M. aeruginosa* trong môi trường nước là vấn đề rất được quan tâm. Một số phương pháp đã được áp dụng như phương pháp vật lý (lọc nước qua lưới lọc, màng siêu lọc hoặc lọc nano; sục khí để phá vỡ cấu trúc của tập đoàn *M. aeruginosa*; siêu âm để phá vỡ tế bào và ngăn chặn quang hợp...), phương pháp hoá học (sử dụng các chất có khả năng oxi hoá mạnh như H_2O_2 , O_3 , $KMnO_4$ để phá huỷ cấu trúc tế bào của *M. aeruginosa*, sử dụng chất diệt tảo như $CuSO_4$, PMS, PDS để phá huỷ màng tế bào của *M. aeruginosa*...), phương pháp sinh học (sử dụng các loại vi khuẩn đối kháng/thực vật thủy sinh/động vật phù du... để ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa*). Tuy nhiên, phương pháp sử dụng các chế phẩm tự nhiên từ cây cỏ rất được quan tâm do tính hiệu quả và thân thiện với môi trường. Một số chiết xuất từ thực vật như *Chara vulgaris*, *Eupatorium fortunei* đã được chứng minh có tác dụng ức chế sự phát triển của *M. aeruginosa*. Đề tài 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*)**” thực hiện việc nghiên cứu về thành phần hoá học của hoa cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và lá cây keo tai tượng (*Acacia mangium*), đồng thời khảo sát hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các cao chiết và các hợp chất phân lập được, trên cơ sở đó nghiên cứu

phối trộn với tỉ lệ thích hợp các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng và mần tưới để tạo sản phẩm cao chiết có hoạt tính tốt, có khả năng ứng dụng cao. Do đó, đề tài luận án rất có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề rõ ràng, khoa học. Mục tiêu nghiên cứu rõ ràng, các nội dung nghiên cứu và các kết quả nghiên cứu phù hợp với mục tiêu nghiên cứu ban đầu.

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

Mặc dù cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) nhận được nhiều sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học trong nước và trên thế giới, đã có nhiều công bố về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của hai loài cây này, nhưng các kết quả của luận án có những đặc thù riêng, có những đóng góp mới như đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 02 chất mới từ hoa cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và 02 chất mới từ lá cây keo tai tượng (*Acacia mangium*), đồng thời đã đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của các cao chiết và chất sạch phân lập được, nghiên cứu tỉ lệ phối trộn giữa cao chiết hoa cúc hoa vàng, lá keo tai tượng và cây mần tưới để tạo sản phẩm cao chiết có hoạt tính tốt hơn. Như vậy, qua tìm hiểu của người viết nhận xét, đề tài và nội dung của luận án không trùng lặp với các công trình luận văn, luận án đã được công bố ở trong và ngoài nước.

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

Nội dung nghiên cứu của luận án hoàn toàn phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo Hoá hữu cơ (mã số 9.44.01.14).

4. Độ tin cậy và tính hiệu quả của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu

Luận án đã sử dụng các phương pháp, kỹ thuật nghiên cứu hóa học và sinh học hiện đại, cập nhật và phù hợp với nội dung nghiên cứu. Các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật chính đã được sử dụng như: các phương pháp chiết thông thường để xử lý và chiết mẫu được liệu; phương pháp sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột để phân lập các hợp chất; các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT), hai chiều (HSQC, HMBC, COSY, ROESY), phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS) để xác định cấu trúc hóa học các hợp chất; phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* trên phiên vi lượng 96 giếng; phương pháp tối ưu hoá tỉ lệ phối trộn sử dụng mô hình Simplex Lattice Design (SLD) trên phần mềm Design Expert 12.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ).

Các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu, là các phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật hiện đại, tin cậy.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của kết quả đó

Đề tài thu được nhiều kết quả phong phú, bao gồm cả các kết quả nghiên cứu về thành phần hoá học và các kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học, cụ thể như sau:

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 09 hợp chất từ hoa cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* (ký hiệu từ **CI1** đến **CI9**), trong đó có 02 hợp chất mới khung furan.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 11 hợp chất (ký hiệu từ AM1 đến AM11) từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*, trong đó có 02 hợp chất mới khung diterpenoid glycoside.

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của các cặn chiết và các chất phân lập được từ cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* và từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*. Kết quả thu được cho thấy một số cao chiết và một số chất thể hiện có hoạt tính tốt.

- Đã nghiên cứu tỉ lệ phối trộn các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng, mần tưới (40% *Eupatorium fortune*, 30% *Acacia mangium*, và 30% *Chrysanthemum indicum*) và đánh giá tác dụng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của sản phẩm cao chiết thu được. Kết quả cho thấy, sản phẩm cao chiết thu được có hiệu quả ức chế vượt trội so với từng cao chiết riêng lẻ.

Một số đóng góp mới có giá trị của luận án như sau:

- Trong số 20 hợp chất phân lập và xác định cấu trúc hoá học từ hoa cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* và từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*, có 04 hợp chất mới.

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của các cặn chiết và các chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số cao chiết và một số chất phân lập được thể hiện có hoạt tính tốt.

- Đã xây dựng thành công mô hình tối ưu hoá tỉ lệ phối trộn các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng và mần tưới để tạo chế phẩm sinh học có hiệu quả cao trong kiểm soát vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos*, mở ra hướng ứng dụng thực tiễn quan trọng trong xử lý môi trường nước.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung và hình thức của luận án

*** Ưu điểm:**

- Về nội dung, luận án có chất lượng tốt, kết quả phong phú có tính mới, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Điều này đã được thể hiện qua 01 công bố trên tạp chí quốc tế SCIE và 01 công bố trên tạp chí quốc gia, đây đều là các tạp chí khoa học uy tín, có phản biện độc lập chặt chẽ và đòi hỏi kết quả phải có tính mới và có ý nghĩa khoa học.

- Về hình thức, luận án có bố cục hợp lý, khoa học, rõ ràng.

*** Nhược điểm:**

Luận án còn một số lỗi nhỏ cần được rà soát chỉnh sửa để hoàn thiện hơn, ví dụ như:

- Trang 29 (Mục 2.1. Đối tượng nghiên cứu): cập nhật “Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên” thành “Viện Hoá học”.

- Phần biện luận phổ xác định cấu trúc: Bổ sung ký hiệu chuyển dịch hoá học proton δ_H hoặc carbon δ_C tương ứng, ví dụ như ở các chất CI3, CI6, CI7, AM10... Chỉ nên đưa hình phổ của các chất mới, phổ của các chất đã biết đưa sang phần Phụ lục.

- Hình vẽ cấu trúc hoá học các chất: Nên để to hơn, kích cỡ các chữ ký hiệu cho các nguyên tố nên để to hơn kích cỡ các con số chỉ số thứ tự.

- Hình 3.45 (trang 87) và hình 3.58 (trang 145): Bổ sung ghi chú các chất mới (CI1, CI2, AM1, AM2).

- Phần Kết luận: Nên viết chi tiết tên của các hợp chất phân lập được, đặc biệt là tên của các chất mới.

7. Giá trị khoa học của các công trình công bố

Nghiên cứu sinh đã công bố trong 01 bài báo khoa học đăng trên tạp chí khoa học chuyên ngành quốc tế SCIE (*BioResources*) và 01 bài báo trên tạp chí quốc gia (*Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và Sinh học*). Các bài báo đều có chất lượng tốt và có nội dung phù hợp với nội dung của luận án.

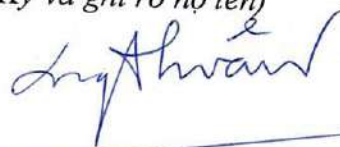
8. Kết luận chung

Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ Khoa học vật chất chuyên ngành Hóa hữu cơ. Tôi đánh giá cao các kết quả đạt được của luận án và đề nghị Hội đồng cho phép NCS. **Nguyễn Văn Phương** được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 11 tháng 7 năm 2025

Người nhận xét

(Ký và ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài luận án:	Nghiên cứu hóa học và đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam <i>Microsystis aeruginosa</i> của cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i>) và keo tai tượng (<i>Acacia mangium</i>)
Của nghiên cứu sinh:	Nguyễn Văn Phương
Chuyên ngành:	Khoa học vật chất
Mã số:	9 44 01 14
Người hướng dẫn 1	PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh
Người hướng dẫn 2	PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt
Người nhận xét luận án:	PGS. TS Vũ Đình Hoàng
Cơ quan công tác của người nhận xét:	Trường Hoá và KHSS, Đại học Bách khoa Hà Nội

Nhận xét bao gồm các nội dung sau đây:

1. Nêu ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án. Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề đã hợp lý hay chưa:
Vi khuẩn lam, đặc biệt là *Microsystis aeruginosa*, là một vấn đề nghiêm trọng với môi trường nước ngọt, ảnh hưởng đến hệ sinh thái nước cũng như sức khỏe con người. Việc tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên có khả năng ức chế vi khuẩn lam mà thân thiện với môi trường và sinh thái là hướng được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Các loài thực vật cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) có tiềm năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam, lại chưa được nghiên cứu sâu về thành phần hoá học, nên sẽ là các đối tượng nghiên cứu phù hợp.
Do đó đề tài tiến sĩ Nghiên cứu hóa học và đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microsystis aeruginosa* của cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.
2. Sự hợp lý và độ tin cậy của phương pháp nghiên cứu:
Đề tài đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu như:
 - Thu các mẫu thực vật, xác định tên khoa học.
 - Chiết tách và phân lập các hợp chất thứ cấp.
 - Xác định cấu trúc hóa học các chất bằng các phương pháp phổ.
 - Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn.Các phương pháp sử dụng trong nghiên cứu là hiện đại, tin cậy khoa học, và hoàn toàn phù hợp với nội dung nghiên cứu của đề tài luận án.
3. Đánh giá các kết quả đạt được, nêu những đóng góp mới và giá trị của các đóng góp đó:
 - Đã phân lập và xác định cấu trúc của 9 hợp chất từ cúc hoa vàng, trong đó có 2 hợp chất furan mới và 1 hợp chất furan lần đầu công bố dữ liệu phổ.
 - Từ cây keo tai tượng đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 11 hợp chất, trong đó có 2 hợp chất terpenoid glycoside mới.
 - Các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng, cũng như 1 số hợp chất phân lập thể hiện hoạt tính ức chế vi khuẩn lam đáng quan tâm.
 - Đã nghiên cứu hiệu quả phối trộn các cao chiết cúc hoa vàng và keo tai tượng, xác định tỉ lệ cho hoạt tính hoạt tính vượt trội so với từng cao riêng lẻ.

4. Các kết luận của luận án có phù hợp với cách đặt vấn đề ở đầu luận án và có đủ sức thuyết phục hay không? Những ưu điểm và thiếu sót, những điểm cần được bổ sung và sửa chữa:
- Các kết luận của luận án thể hiện đúng kết quả nghiên cứu, và phù hợp với cách đặt vấn đề, đạt mục tiêu nghiên cứu đã đề ra.
 - Luận án có nội dung khoa học phong phú, các kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.
 - Luận án có bố cục hợp lý, trình bày mạch lạc, rõ ràng.
5. Đánh giá về sự trùng lặp của luận án so với các đồ án, luận văn, luận án hay công trình khoa học đã công bố trong và ngoài nước? Cần khẳng định luận án có trùng lặp hay không trùng lặp? Nếu trùng lặp, đề nghị ghi rõ tên, nhà xuất bản, năm xuất bản của tài liệu đã công bố:
Các kết quả nghiên cứu của luận án là hoàn toàn mới và không trùng lặp với các công trình khoa học đã công bố trước đây.
6. Nhận xét về chất lượng những bài báo khoa học đã được nghiên cứu sinh công bố, khẳng định sự phù hợp về nội dung của chúng với nội dung luận án. Nhận xét về vị thế khoa học của các diễn đàn, nơi các bài báo được công bố có đáp ứng yêu cầu đối với luận án tiến sĩ:
Tác giả đã công bố 2 bài báo khoa học chuyên ngành uy tín, trong đó có 1 bài báo quốc tế SCIE. Đây là những công bố khoa học giá trị và những kết quả này đáp ứng đầy đủ yêu cầu một luận án tiến sĩ hóa học.
7. Tính trung thực trong việc trích dẫn các công trình đã được nghiên cứu sinh công bố trong và ngoài nước, trích dẫn tài liệu tham khảo:
Các tài liệu tham khảo trích dẫn đầy đủ, trung thực và cập nhật.
8. Kết luận:
Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ để được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện.

Hà Nội, ngày 10... tháng 7... năm 2025

Người nhận xét

(ký và ghi rõ họ tên)

Chu Văn
Vũ Đình Hoàng

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài 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*).

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Họ và tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Văn Phương

Thầy hướng dẫn: PGS. TS. Lê Thị Phương Quỳnh

PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt

Họ và tên người nhận xét luận án: PGS. TS. Bùi Thị Thúy Luyến

Cơ quan công tác: Trường Đại học Dược Hà Nội

Nội dung nhận xét:

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

Sự bùng phát của vi khuẩn lam, đặc biệt là *Microcystis aeruginosa*, 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. Hiện nay, việc kiểm soát sự phát triển của *Microcystis aeruginosa* chủ yếu sử dụng các phương 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 nghiên cứu tìm kiếm các tác nhân từ tự nhiên có khả năng ức chế vi khuẩn lam đang là hướng đi được nhiều nhà khoa học quan tâm do sự thân thiện với môi trường của phương pháp này mang lại. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam của các hợp chất hoặc cao chiết từ thực vật 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.

Nghiên cứu theo xu hướng đó, luận án đã thực hiện việc xác định thành phần hóa học và đánh giá tác dụng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của hai loài Cúc hoa vàng và Keo tai tượng, đã thể hiện được tính cần thiết, thời sự và ý nghĩa thực tiễn khoa học của đề tài.

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

Kết quả của luận án không trùng lặp với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước. Tài liệu tham khảo cập nhật và được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ.

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

Đề tài đã nghiên cứu thành phần hoá học của Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và lá Keo tai tượng (*Acacia mangium*), sau đó đánh giá hoạt tính ức chế *Microcystis aeruginosa* của các cao chiết, các hợp chất được phân lập và hỗn hợp từ cao chiết hai loài này. Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành, mã số chuyên ngành Hóa hữu cơ.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Các nội dung nghiên cứu trong luận án thực hiện tuần tự, đi từ các nghiên cứu chiết xuất và phân lập nhằm tìm ra các chất bằng phương pháp sắc ký cột và sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế. Tiến hành xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên kết quả đo phổ ESI-MS, HR-ESI-MS, NMR, đo góc quay cực. Tác dụng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn lam được thực hiện bằng phương pháp đếm trực tiếp trong buồng đếm Sedgewick-Rafter. Các phương pháp nghiên cứu đang được ứng dụng nhiều trong các phòng nghiên cứu về hóa học và công nghệ sinh học, kết quả có độ chính xác và tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Kết quả nghiên cứu mới của luận án:

- + Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 02 hợp chất furan mới từ hoa cúc vàng và 02 hợp chất terpenoid mới từ lá Keo tai tượng.

- + Lần đầu tiên đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* các hợp chất phân lập được từ Cúc hoa vàng và Keo tai tượng.

- + Đã xây dựng thành công mô hình tối ưu hóa tỷ lệ phối trộn các cao chiết từ các loài thực vật là: 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.

Các kết quả nghiên cứu mới nay đã làm phong phú hơn về dữ liệu thành phần hóa học và tác dụng sinh học của hai loài nghiên cứu. Cao chiết phối hợp từ các loài thực vật trong đó có Cúc hoa vàng và Keo tai tượng tiềm năng là một chế phẩm sinh học an toàn trong xử lý môi trường nước, ứng dụng trong thực tiễn sản xuất, góp phần phát triển kinh tế, đời sống xã hội. Kết quả thu được dựa trên việc áp dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại, đảm bảo tính chính xác và độ tin cậy của các kết quả này.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm của luận án:

+ Luận án được trình bày rõ ràng, đầy đủ. Kết cấu của luận án khoa học gồm: mở đầu 2 trang; Tổng quan 26 trang; Đối tượng, phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm 15 trang; Kết quả và thảo luận 109 trang; 01 trang tính mới của luận án; 01 trang kết luận và kiên nghị; 01 trang công trình đã công bố và 08 trang tài liệu tham khảo (1134 tài liệu).

+ Nghiên cứu có ý nghĩa thực tiễn cao. Luận án đã chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của 04 hợp chất mới từ hai loài thực vật nghiên cứu. Đã đánh giá được tác dụng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam và tối ưu hóa tỷ lệ ba loại cao được liệu để thu chế phẩm có tác dụng tốt nhất định hướng ứng dụng trong xử lý môi trường nước.

Nhược điểm của luận án:

Luận án còn một số lỗi cần được rà soát và sửa lại để hoàn thiện hơn. Cụ thể như sau:

+ Mục lục: thiếu “Danh mục viết tắt”

+ Chú thích hình 3.65, 3.71, 3.76, 3.83 thừa chữ “của”. Bảng 3.6 trong “Danh mục hình: cần được chuyển lên “Danh mục bảng”.

+ Mở đầu: còn chưa rõ ràng trong phần đặt vấn đề về Cúc hoa vàng và Keo tai tượng “**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” nên được làm rõ ràng hơn. Mục tiêu của luận án nên có các mục tiêu cụ thể và theo sát nội dung nghiên cứu. Thiếu mục tiêu tối ưu hóa tỷ lệ hỗn hợp cao ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam.

+ Tổng quan: cụm từ “Cúc hoa vàng” không viết nghiêng. Một số bảng nội dung cột “hoạt tính sinh học” của nhiều hợp chất còn thiếu, nên bỏ cột này (Bảng 1.1, 1.2, 1.3). Mục 1.1.2 chỉ nên nêu về thành phần hóa học không nêu tác dụng sinh học do đã có Mục 1.1.3. Tiêu đề mục 1.3.1.1, 1.3.1.2 và 1.3.1.3 nên bổ sung thêm thông tin để dễ theo dõi (Gợi ý: Mục 1.3.1.1. Đặc điểm về hình thái và cấu trúc tế bào của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.2 Khả năng sản xuất độc tố và chiến lược sinh tồn của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.3 Đặc tính linh hoạt di truyền và thích nghi môi trường của vi khuẩn lam).

+ Đối tượng, phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm: công thức trang 32 các thông số cần bổ sung đơn vị. Mục 2.4.3 nên chuyển sang phần kết quả, các dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR chuyển sang bảng và so sánh với các chất tham khảo với từng chất tương ứng trong mục kết quả và thảo luận. Chưa có sự logic giữa các nghiên cứu trong phần thực nghiệm.

+ Kết quả và thảo luận: Bổ sung các bảng dữ liệu NMR của các hợp chất phân lập được (chuyển từ Mục 2.4.2 trong phần thực nghiệm. Các hình phổ NMR của các chất chuyển sang phần phụ lục. Biện luận cấu trúc các hợp chất cần bổ sung ký hiệu chuyển dịch hóa học proton hoặc cacbon tương ứng (δ_H hoặc δ_C). Kiểm tra lại Hình 3.7 không phải là phổ NOESY của hợp chất **CI1**, Hình 3.14 không phải là phổ NOESY của hợp chất **CI2**. Bàn luận về cấu hình Z của hợp chất **CI2** chưa ghi nhận thấy tín hiệu tương tác NOE của H-2 và H-4 nên cần được kiểm tra và biện luận lại kỹ hơn. Một số hợp chất flavonoid biện luận cấu trúc vòng B dạng kaempferol là chưa thực sự chính xác. Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ Cúc hoa vàng và keo tai tượng nên nêu rõ chất nào lần đầu tiên được phân lập từ loài này, chất nào đã được phân lập trước đó. Bỏ câu “Khả năng ức chế vi khuẩn lam của các chất sẽ được trình bày trong các phần tiếp theo của luận án”. Mục 3.3 cần có lời dẫn trước khi đến Bảng 3.3. Bảng 3.4 nên có phần giải thích các ký hiệu viết tắt trước khi nhận xét kết quả.

+ Kết luận: Cần tách riêng kết luận về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của hai loài nghiên cứu (kết luận 1, 2, 3).

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố

Nội dung luận án đã được công bố trên 01 tạp chí quốc tế (BioResources) thuộc danh mục SCIE, Q3 và 01 tạp chí chuyên ngành trong nước (Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học). Các tạp chí đều có phản biện độc lập đảm bảo tính chính xác và giá trị của kết quả nghiên cứu.

8. Kết luận chung

Luận án đã đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa hữu cơ. Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ./.

Hà Nội, ngày 10 tháng 7 năm 2025

Người nhận xét



Bùi Thị Thúy Luyện

Hà Nội, ngày 08 tháng 8 năm 2025

QUYẾT NGHỊ
CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

I. THÔNG TIN CHUNG

Họ và tên NCS: Nguyễn Văn Phương
Tên đề tài 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*)”.
Chuyên ngành: Hoá hữu cơ
Mã số: 9.44.01.14
Người hướng dẫn: 1. PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh
2. PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt
Thời gian bảo vệ: Từ 14h00 đến 17h30 ngày 08 tháng 8 năm 2025.
Địa điểm bảo vệ: Phòng họp 1705, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

II. QUYẾT NGHỊ CỦA HỘI ĐỒNG CHẤM LUẬN ÁN:

Sau khi thảo luận, Hội đồng đã nhất trí các nội dung của quyết nghị liên quan tới luận án của NCS. Nguyễn Văn Phương như sau:

1. Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án:

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí, đồng ý đánh giá tán thành NCS. Nguyễn Văn Phương được nhận học vị Tiến sĩ.
- 4/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức Xuất sắc.

2. Những kết luận khoa học cơ bản, những đóng góp mới của luận án:

Luận án thu được những kết quả như sau:

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 09 hợp chất từ hoa cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* (ký hiệu từ **CI1** đến **CI9**), trong đó có 02 hợp chất

mới khung furan là (*E*)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI1) và (*Z*)-3-((5-(methoxymethyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxopentanoate (CI2)

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 11 hợp chất (ký hiệu từ AM1 đến AM11) từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*, trong đó có 02 hợp chất mới khung diterpenoid glycoside là acacienoside A (AM1) và acacionoside 3-glucoside (AM2).
- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của các căn chiết và các chất phân lập được từ cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* và từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*. Kết quả thu được cho thấy một số cao chiết và một số chất thể hiện có hoạt tính tốt.
- Đã nghiên cứu tỉ lệ phối trộn các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng, mần tưới (40% *Eupatorium fortune*, 30% *Acacia mangium*, và 30% *Chrysanthemum indicum*) và đánh giá tác dụng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của sản phẩm cao chiết thu được. Kết quả cho thấy, sản phẩm cao chiết thu được có hiệu quả ức chế vượt trội so với từng cao chiết riêng lẻ.

Một số đóng góp mới của luận án:

- Trong số 20 hợp chất phân lập và xác định cấu trúc hoá học từ hoa cúc hoa vàng *Chrysanthemum indicum* và từ lá cây keo tai tượng *Acacia mangium*, có 04 hợp chất mới.
- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos* của các căn chiết và các chất phân lập được. Kết quả cho thấy có một số cao chiết và một số chất phân lập được thể hiện có hoạt tính tốt.
- Đã xây dựng thành công mô hình tối ưu hoá tỉ lệ phối trộn các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng và mần tưới để tạo chế phẩm sinh học có hiệu quả cao trong kiểm soát vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos*, mở ra hướng ứng dụng thực tiễn quan trọng trong xử lý môi trường nước.

3. Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

Các kết quả thu được của luận án là hoàn toàn trung thực và tin cậy.

4. Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án:

Các kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần đã góp phần làm sáng tỏ về thành phần hoá học và hoạt tính ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginos*

của hoa cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*), tạo tiền đề cho việc ứng dụng các hoạt chất thiên nhiên để phát triển thành các sản phẩm ứng dụng.

5. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án:

- Cập nhật và bổ sung một số tài liệu tham khảo có liên quan về cúc hoa vàng và keo tai tượng.

- Rà soát và chỉnh sửa một số lỗi in ấn, lỗi chính tả, hình vẽ, cấu trúc hoá học của một số hợp chất.

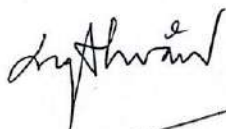
- NCS cần bổ sung, sửa chữa luận án theo các góp ý của Hội đồng chấm luận án cấp Học viện trước khi nộp quyền cho Thư viện.

6. Kiến nghị của Hội đồng:

- Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức của Luận án Tiến sĩ Khoa học vật chất, chuyên ngành Hoá hữu cơ.

- Hội đồng nhất trí đề nghị cho NCS. **Nguyễn Văn Phương** được nhận học vị Tiến sĩ.

Thư ký Hội đồng



PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

Chủ tịch Hội đồng



GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên

**XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

Hà Nội, ngày 08 tháng 8 năm 2025

**BIÊN BẢN CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Họ và tên NCS: Nguyễn Văn Phương

Tên đề tài 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*)”.

Chuyên ngành: Hoá hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh
2. PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Thời gian bảo vệ: Bắt đầu từ 14h00 ngày 08 tháng 8 năm 2025.

Địa điểm bảo vệ: Phòng họp 1705, Học Viện Khoa học và Công nghệ, nhà A28, số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

I. THÀNH PHẦN THAM DỰ

1. Thành phần Hội đồng:

Hội đồng có mặt đủ 7/7 thành viên.

Danh sách Hội đồng có mặt như sau:

TT	Họ và tên, học hàm học vị	Đơn vị công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Chủ tịch
2	PGS.TS. Đỗ Thị Hà	Viện Dược liệu, Bộ Y tế	Phản biện 1
3	PGS.TS. Vũ Thu Trang	Trường Hoá và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Phản biện 2
4	PGS.TS. Phan Văn Kiệm	Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Phản biện 3
5	PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam	Ủy viên/Thư ký
6	PGS.TS. Vũ Đình Hoàng	Trường Hoá và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Ủy viên
7	PGS.TS. Bùi Thị Thuý Luyện	Trường Đại học Dược Hà Nội, Bộ Y tế	Ủy viên

2. Khách mời:

- GS.TS. Vũ Đình Lãm - Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Thiếu tướng PGS.TS. Lưu Hồng Quảng - Cục trưởng Cục Công nghiệp an ninh, Bộ Công an.

- Thiếu tướng TS. Nguyễn Văn Chất - Nguyên Viện trưởng Viện Kỹ thuật Hóa - Sinh và Tài liệu nghiệp vụ, Bộ Công an.

- PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh - Phó tổng Giám đốc Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm - Trưởng khoa Hoá học, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt - Tổng Giám đốc Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Hướng dẫn khoa học.

- PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh - Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hướng dẫn khoa học.

- Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

- Các cán bộ và đồng nghiệp tại Trung tâm Kỹ thuật Tài liệu nghiệp vụ - Cục Công nghiệp an ninh - Bộ Công an, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, cùng với gia đình và bạn bè của nghiên cứu sinh.

II. NỘI DUNG BUỔI BẢO VỆ

1. Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, tuyên bố lý do, đọc Quyết định của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án Tiến sĩ cấp Học viện và mời GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

2. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

- Chủ tịch Hội đồng công bố thành phần Hội đồng có mặt đầy đủ 7/7 thành viên, Do đó, buổi họp đảm bảo điều kiện theo quy chế để Hội đồng làm việc.

- Chủ tịch Hội đồng công bố chương trình làm việc và đề nghị Thư ký Hội đồng đọc lý lịch khoa học, quá trình học tập của Nghiên cứu sinh (NCS) cũng như các điều kiện để NCS được bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện.

3. PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Ủy viên Thư ký, đọc lý lịch khoa học và các điều kiện đảm bảo NCS. Nguyễn Văn Phương đã có đầy đủ điều kiện theo quy chế để luận án được đánh giá ở cấp Học viện.

4. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến - Chủ tịch Hội đồng hỏi ý kiến Hội đồng (HĐ) và các khách tham dự: Ai có ý kiến gì về lý lịch khoa học cũng như các điều kiện để bảo vệ luận

án của NCS? Không ai có ý kiến gì, chủ tịch Hội đồng đề nghị NCS trình bày kết quả luận án.

5. NCS. Nguyễn Văn Phương trình bày luận án, bắt đầu lúc 14 giờ 15 phút và kết thúc hồi 14 giờ 45 phút.

Nội dung trình bày gồm 4 phần chính:

Phần 1. Đặt vấn đề, giới thiệu về đối tượng nghiên cứu, tính cấp thiết và mục tiêu nghiên cứu của luận án.

Phần 2. Phương pháp nghiên cứu và các kỹ thuật đã sử dụng.

Phần 3. Các kết quả của luận án đã đạt được và thảo luận kết quả.

Phần 4. Kết luận và Kiến nghị.

6. Chủ tịch Hội đồng mời các ủy viên phản biện nhận xét luận án.

7. PGS.TS. Đỗ Thị Hà - Phản biện 1, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét:

- Việc nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên có khả năng kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* một cách an toàn và thân thiện với môi trường đang trở thành hướng đi được nhiều nhà khoa học quan tâm. Do đó, luận án mang ý nghĩa quan trọng cả về mặt khoa học lẫn thực tiễn.

- Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) có thành phần hoá học đa dạng với nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu chi tiết về thành phần hoá học cũng như khả năng ức chế vi khuẩn lam của hai loài thực vật này. Đến thời điểm hiện tại, luận án không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào đã được công bố trước đây.

- Tài liệu tham khảo (TLTK) được trích dẫn một cách chính xác, phù hợp và đảm bảo tính trung thực học thuật (113 tài liệu).

- Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu, nội dung nghiên cứu của luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

- Các phương pháp nghiên cứu sử dụng đều là các phương pháp thường quy và hiện đại, nên cho kết quả tin cậy.

- Luận án đã có nhiều đóng góp mới về cả thành phần hoá học và hoạt tính sinh học, nội dung nghiên cứu đa dạng, phong phú, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

- Bố cục luận án khá hợp lý.

- Các kết quả của luận án đã được đăng tải trong 01 bài báo trên tạp chí quốc tế SCIE (*BioResources*) và 01 bài báo trên tạp chí quốc gia (*Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và*

Sinh học). Các bài báo trên các tạp chí chuyên ngành được chuyên gia độc lập phản biện thông qua đã khẳng định tính mới của luận án.

* Góp ý:

- Phần Danh mục hình (trang Xi): Đưa bảng 3.6 về danh mục bảng, sửa bảng 3.1.
- Trang 7: viết tắt PEDV là gì ?
- Phần Mở đầu: Có thể bổ sung thêm 1 mục tiêu là xác định tỷ lệ tối ưu phối hợp cao chiết 3 loài.
- Chương 1, phần Tổng quan:
 - + Phần giới thiệu về tác dụng của cúc hoa vàng cần tập trung hơn theo hướng tác dụng kháng khuẩn, kháng lao, kháng nấm, kháng virus của cao chiết và các hợp chất, đặc biệt là tinh dầu (có thể tham khảo bài review công bố năm 2025 trên *Frontier Pharmacology*).
 - + Đối với loài keo tai tượng cũng nên tập trung tổng quan về tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của cao chiết và hoạt chất của loài này trước vì gần với chủ đề của luận án, đồng thời cũng làm cơ sở để phân tích tính khoa học của việc đặt vấn đề cần giải quyết.
- Chương 2:
 - + Bổ sung xuất xứ (nước sản xuất của các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu); Bổ sung Sephadex LH-20 và bổ sung xuất xứ chủng vi khuẩn được dùng trong nghiên cứu, môi trường nuôi cấy.
 - + Mục 2.3.2: Bổ sung phổ khối phân giải cao HR-MS trong xác định cấu trúc.
 - + Mục 2.3.4: Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam theo tài liệu nào hay do nhóm nghiên cứu tự triển khai và phát triển, nếu tham khảo tài liệu thì nên bổ sung thêm TLTK. Nên cập nhật để làm rõ hơn phương pháp nghiên cứu (ví dụ: nêu chủng vi khuẩn sử dụng và nguồn gốc, môi trường nuôi cấy, điều kiện nuôi cấy, thời gian nuôi cấy, cách chuẩn bị mẫu thử, làm rõ thiết kế thí nghiệm lô chứng âm là gì, lô đối chứng dung môi, lô thử nghiệm, thể tích thí nghiệm...).
 - + Trang 36: Xem lại kích thước cột 250x100 uM hay 250x10 uM.
 - + Phương pháp đánh giá ức chế vi khuẩn lam là tự phát triển hay có TLTK?
- Chương 3:
 - + Nên đưa hình ảnh phổ sang phần Phụ lục.
 - + Chỉ một số hợp chất có trình bày bảng tổng hợp phổ, còn thiếu khá nhiều, do vậy NCS nên bổ sung bảng phổ đầy đủ của các hợp chất, so sánh với số liệu phổ của tài liệu tham khảo cho thống nhất.

+ Phần tối ưu hoá tỷ lệ, nên đưa bảng 2.2 vào phần 3.4.2 (trang 149) để dễ theo dõi.

+ Trang 145: Sửa AM12 thành AM11.

+ Bảng 3.4 (trang 148): Bổ sung nồng độ thử nghiệm của CuSO_4 là bao nhiêu ? Nên đưa nồng độ vào bảng để dễ theo dõi.

- Tài liệu tham khảo: Rà soát và chỉnh sửa theo đúng quy định. Bổ sung các tài liệu về tác dụng kháng vi sinh vật của cúc hoa vàng trong 5 năm gần đây, đặc biệt là năm 2024 và 2025.

* Câu hỏi:

- Câu hỏi 1: Đối với phần thử nghiệm hoạt tính kháng vi khuẩn lam, tác giả chuẩn bị mẫu thử như thế nào? Trong quá trình thí nghiệm, tác giả dùng dung môi gì để pha mẫu thử nghiên cứu?

- Câu hỏi 2: Tác giả có bàn luận gì về phương án sử dụng chế phẩm để diệt vi khuẩn lam trong môi trường diện rộng (làm thế nào để kiểm soát nồng độ thuốc đảm bảo có hiệu quả diệt vi khuẩn?).

* Đánh giá chung: Luận án có chất lượng tốt, có nội dung khoa học phong phú, đã đáp ứng các yêu cầu về nội dung và hình thức của một luận án tiến sĩ theo quy định tại Thông tư của Bộ Giáo dục và Đào tạo. Đồng ý đề NCS. Nguyễn Văn Phương được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án Tiến sĩ cấp Học viện để xét công nhận học vị Tiến sĩ.

8. PGS.TS. Vũ Thu Trang - Phản biện 2, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét:

- Luận án là một nghiên cứu hoàn chỉnh phân tích tổng thể về các thành phần hoá học của chất chiết từ cúc hoa vàng và keo tai tượng và bước đầu đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn lam - được biết đến là vi khuẩn có tác hại lớn đến hệ sinh thái trong môi trường nước. Đây là đóng góp khoa học có tính mới ý nghĩa, góp phần quan trọng trong bảo tồn, khai thác đa dạng thực vật tại Việt nam, định hướng ứng dụng cho cuộc sống. Vì vậy, luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

- Các kết quả của luận án là mới công bố, không trùng lặp với các công trình nghiên cứu khác tại Việt Nam và thế giới. Cách trích dẫn TLTK rõ ràng và đầy đủ.

- Nội dung đề tài phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành khoa học vật chất.

- Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu truyền thống và hiện đại, dẫn tới kết quả thu được khoa học và hướng tới mục tiêu nghiên cứu.

- Luận án đã lần đầu tiên công bố được 02 hợp chất mới và 01 hợp chất lần đầu công bố dữ liệu phổ từ cúc hoa vàng, luận án cũng phân lập được 11 hợp chất trong keo

tai tượng. Đây là kết quả nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu đa dạng sinh học của các loài thực vật tại Việt Nam, làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về thu nhận, khai thác các thành phần có hoạt tính sinh học ứng dụng cho sức khỏe và đời sống.

- Luận án có kết cấu phù hợp, trình bày đẹp, văn phong khoa học.

- Nội dung nghiên cứu của luận án khá logic, bố cục hợp lý, bố trí thí nghiệm khá rõ ràng, sơ đồ nghiên cứu được trình bày cụ thể, các phương pháp nghiên cứu phù hợp thu được kết quả đáp ứng nội dung nghiên cứu.

- Nội dung của luận án đã được công bố trên 02 công trình khoa học trên các tạp chí trong nước và quốc tế có phản biện, chứng tỏ được giá trị khoa học của luận án. Các công trình khoa học có nội dung phù hợp với nội dung của luận án.

* Góp ý:

- Phần Tổng quan:

- + Nên tóm tắt các công trình nghiên cứu của cúc hoa vàng và keo tai tượng dưới dạng bảng với nhiều thông tin chi tiết hơn, đặc biệt các hoạt tính sinh học được biết đến, cơ chế...

- + Thống kê các vụ bùng phát nở hoa dưới dạng bảng để nêu bật tầm quan trọng của nghiên cứu, từ đó đề xuất Mục tiêu và Nội dung nghiên cứu sau phần này.

- + Bổ sung cơ sở khoa học của phương pháp tách chiết, các nghiên cứu trong và ngoài nước và phương pháp tách chiết cho phát hiện các hợp chất này.

- Phần Phương pháp nghiên cứu:

- + Bổ sung toạ độ lấy mẫu.

- + Bổ sung cơ sở khoa học và TLTK để đề xuất phương pháp tách chiết.

- + Tất cả các dụng cụ, hoá chất, thiết bị cần đầy đủ tên thiết bị, mã, tên doanh nghiệp, nước sản xuất.

- + Tất cả các phương pháp nghiên cứu hầu như chưa có TLTK, cần mô tả chi tiết các bước thực hiện của tất cả các phương pháp.

- + Phương pháp xác định hoạt tính kháng vi khuẩn lam: cần mô tả cụ thể hơn, tác giả kiểm soát nồng độ vi sinh vật (VSV) thế nào, thực hiện trong bao lâu, T_0/T_3 ... trang 30 nghĩa là gì? Thực chất trong vi sinh, IC_{50} và giảm VSV theo % rất khó để kết luận về khả năng ức chế, thông thường sẽ giảm mật độ VSV theo logarit.

- + Việc sử dụng mần tưới khá khiên cưỡng trong nghiên cứu. Tác giả lý giải như thế nào? Thậm chí có thể nghiên cứu kết hợp với các thành phần đã được biết đến là có khả năng ức chế vi khuẩn lam.

- Phần Thảo luận:

+ Các phổ cấu trúc trong phần kết quả có trùng với phần thông số vật lý và dữ liệu không? Liệu có thể chuyển về phụ lục và thảo luận trên thông số mô tả dưới dạng bảng không?

+ Tất cả các kết quả chưa có biện giải với các nghiên cứu trước.

+ Kết quả hoạt tính ức chế vi khuẩn lam: Chưa có phần phương pháp nghiên cứu. Cần so sánh với các nghiên cứu tương tự, trên đối tượng khác.

+ Phần 3.4: Các kết quả đưa từ cây mần tưới là TLTK, không phải là kết quả của tác giả, nếu tác giả muốn đưa vào trọng tâm có thể bổ sung 1 phần trong tổng quan tài liệu để thấy tầm quan trọng khi nghiên cứu đối sánh hoặc kết hợp với cao chiết từ cây này.

+ Cần giải thích cơ chế ức chế theo sự hiểu biết của tác giả về các nhóm hợp chất và bản chất của các hợp chất (trang 149).

- Phần Kiến nghị: Tác giả có thể đề xuất các nghiên cứu tiếp theo thể hiện khả năng ứng dụng, ví dụ nghiên cứu cộng hưởng với các kháng sinh phổ dụng...

* Câu hỏi:

- Câu hỏi 1: NCS lý giải thêm về phương pháp thử hoạt tính kháng vi khuẩn lam?

* Đánh giá chung: Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ khoa học vật chất. Đồng ý đề NCS. Nguyễn Văn Phương đưa luận án ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

9. PGS.TS. Phan Văn Kiệm - Phản biện 3, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét:

- Đề tài luận án này nghiên cứu thành phần hoá 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*) có ý nghĩa khoa học và thực tiễn khá tốt, góp phần làm sáng tỏ thêm một số vấn đề khoa học của hai cây này, tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo.

- Nghiên cứu này không trùng lặp với các nghiên cứu đã công bố trước đó.

- Luận án có nội dung nghiên cứu phù hợp với chuyên ngành và mã số đào tạo.

- Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong đề tài này là phù hợp với các nội dung đưa ra, đảm bảo tính hiện đại, thường quy, có độ tin cậy tốt. Đây cũng là các phương pháp thường quy đang được áp dụng cả ở trong và ngoài nước.

- NCS công bố 2 bài báo trên tạp chí chuyên ngành, trong đó có 1 bài trên tạp chí quốc tế. Các bài báo có nội dung phù hợp với luận án, đăng tải kết quả chính của luận án. Các bài báo đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ.

- Các tài liệu tham khảo được trích dẫn đảm bảo đúng quy định, trung thực.

* Góp ý:

- Phần thảo luận còn khá sơ sài, nên bố trí lại hình phổ cho phù hợp, cùng với các hình vẽ minh hoạ để tăng thêm sự thuyết phục khi trình bày, đặc biệt cần bố trí phần trích dẫn tài liệu tham khảo đúng với nội dung cần minh hoạ.

- Đối với hai chất mới từ cây cúc hoa vàng, phổ NOESY của hai chất này bị nhầm lẫn cho nhau, cần phải sửa lại. Khi đó, tương tác NOESY giữa H-9 (4.36) với H-4 (6.46) là khá rõ, trong khi theo cấu trúc đưa ra thì hai proton này nằm rất xa nhau. Vì vậy, cần thiết phải xem lại, hoặc là các giá trị gán hoặc cấu trúc hoá học cần xem xét thêm. Mặt khác, trên phổ NOESY không thấy có tương tác giữa H-4 (6.46) với H-2 (3.34) như trình bày trong luận án. Có thể phải lấy lại phổ chuẩn sau khi kiểm tra phần calibrate không bị lệch. Trong trường hợp phổ NOESY không thể hiện tương tác nêu trên, tác giả cần dẫn chứng các số liệu phổ ^{13}C -NMR cho cấu hình Z ở phần cấu trúc tương tự cho thuyết phục.

- Ở cây keo tai tượng, hai chất AM1 và AM11 có cấu trúc cùng một khung. Do đó, chất AM11 nên trình bày ngay sau 2 chất mới của cây này để tăng thêm tính logic khi tham khảo.

- Đối với hợp chất AM1, trên phổ HMBC hoàn toàn không có tương tác giữa H-12 (4.50) với C-13 (140.3)/C-14 (182.3)/C-17 (211.3), do đó trên hình vẽ cũng như biện luận cần phải bỏ tương tác này. Về hoá học lập thể của hợp chất mới này cần biểu diễn đầy đủ ở các trung tâm bất đối. Trong phần biện luận ở trang 89, tác giả đề cập đến chất tham khảo là acacienone nhưng không trích dẫn TLTK. Do đó, cần bổ sung TLTK [113] vào ý này. Tuy nhiên, tác giả ghi “một tương tác NOESY rõ ràng giữa H-7 và H-15 đã xác định vị trí nhóm carbonyl tại C-17...”. Ý này người phản biện hoàn toàn không hiểu, thứ nhất không có gì liên quan giữa vị trí nhóm C=O với tương tác NOESY H-7/H-15, thứ hai, trên phổ cũng như lý thuyết không có tương tác H-7/H-15. Trong trường hợp nếu có tương tác như tác giả nêu, thì H_a-7 và H_b-7 cũng như H_a-15 và H_b-15 đều có hướng xác định trong không gian nên cần chỉ rõ proton nào tương tác với proton nào (biểu diễn bằng độ chuyển dịch hoá học).

- Cũng liên quan đến chất AM1, tác giả xếp vào khung labdane là không đúng. Hợp chất này thuộc khung androstane (nor-androstane). Chỉ khi xác định đúng khung chất thì hoá học lập thể của nó mới có thể xác định chính xác. Trong biện luận, hoá học lập thể nhóm OH tại C-12 hoàn toàn chưa được đề cập. Trong khi, phổ NOESY không thể hiện rõ các tương tác cần thiết để xác định hoá học lập thể của nhóm OH này, thì NCS cần tham khảo hợp chất tương tự (acacienone [113]), căn cứ vào độ chuyển dịch hoá học và đặc biệt là hằng số tương tác H-11/H-12 để xác định vị trí axial hay equatorial của H-12.

- Về việc bổ sung thêm 1 dịch chiết khác nữa để tổ hợp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam chưa được làm rõ trong đối tượng nghiên cứu cũng như sự cần thiết của công việc này. Nếu khuôn khổ của luận án chỉ nghiên cứu 2 đối tượng và nếu tổ hợp dịch chiết của hai đối tượng này lại có hoạt tính kháng vi khuẩn lam tốt hơn thì tác giả sẽ giải thích lý do đưa thêm 1 đối tượng hoàn toàn không được đề cập đến trong đối tượng nghiên cứu vào để tiến hành nghiên cứu. Điều này đã làm giảm tính thuyết phục của các kết quả đánh giá hoạt tính của tổ hợp hỗn hợp các dịch chiết khác nhau. Do đó, NCS cần nhắc chỉ nên đánh giá hoạt tính của đối tượng mình nghiên cứu, kể cả chất đã phân lập cũng như dịch chiết của 2 cây trong khuôn khổ luận án.

- Phần kết luận còn sơ sài, chung chung, cần viết lại cụ thể hơn. Các hợp chất mới cần nêu rõ tên (kể cả tên khoa học và tên do mình đặt), các chất cũ cũng có thể nêu rõ tên thay vì chỉ đếm số lượng chất trong phần kết luận rất quan trọng của luận án.

- Cần bổ sung Bản tóm tắt luận án và các công trình đã công bố liên quan của tác giả theo quy định.

*** Câu hỏi:**

Câu hỏi 1: Theo NCS, làm thế nào để xác định được cấu hình của nhóm OH tại C-12?

*** Đánh giá chung:** Luận án là một công trình khoa học đáp ứng yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ. Đồng ý cho NCS. Nguyễn Văn Phương được bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ theo quy định.

10. PGS.TS. Vũ Đình Hoàng - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

*** Nhận xét:** Việc tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên có khả năng ức chế vi khuẩn lam mà thân thiện với môi trường và sinh thái là hướng được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Bên cạnh đó, các loài thực vật cúc hoa vàng và keo tại tượng có tiềm năng ức chế vi khuẩn lam, lại chưa được nghiên cứu sâu về thành phần hoá học, nên sẽ là các đối tượng nghiên cứu phù hợp. Do đó, đề tài luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Các phương pháp sử dụng trong nghiên cứu là hiện đại, khoa học và hoàn toàn phù hợp với nội dung nghiên cứu của đề tài luận án. Các kết luận của luận án thể hiện đúng kết quả nghiên cứu, phù hợp với cách đặt vấn đề, đặt mục tiêu nghiên cứu đề ra. Các kết quả nghiên cứu của luận án là hoàn toàn mới và không trùng lặp với các công trình khoa học đã công bố trước đây. Các tài liệu tham khảo trích dẫn đầy đủ và trung thực. Tác giả đã công bố 2 bài báo khoa học chuyên ngành uy tín, trong đó có 1 bài báo quốc tế SCIE. Đây là những công bố khoa học giá trị và những kết quả này đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án tiến sĩ hoá học. Luận án đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ để được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

*** Góp ý:**

- Xem lại ở chất CI1 không có tương tác NOESY giữa H-2 và H-4, đang nhầm lẫn giữa CI1 và CI2.

- Sửa “glycol”/“aglycol” thành “glycone”/“aglycone”.

- Phần kết luận nên viết lại cho câu văn rõ ràng hơn.

*** Câu hỏi:**

Câu hỏi 1: Tại sao lại chiết hoa cúc vàng bằng HCl, sau đó lại chiết bằng kiềm?

11. PGS.TS. Bùi Thị Thuý Luyện - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

*** Nhận xét:** Đề tài luận án mang tính cần thiết, thời sự và ý nghĩa thực tiễn, khoa học. Kết quả không trùng lặp với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước. Tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ. Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành. Các phương pháp nghiên cứu sử dụng hiện đang được ứng dụng nhiều trong các phòng nghiên cứu về hoá học và công nghệ sinh học, kết quả có độ chính xác và tin cậy cao. Các kết quả nghiên cứu mới đã làm phong phú hơn về dữ liệu thành phần hoá học và tác dụng sinh học của hai loài nghiên cứu. Nội dung luận án đã được công bố trên 01 tạp chí quốc tế thuộc danh mục SCIE Q3 và 01 tạp chí chuyên ngành trong nước. Các tạp chí đều có phản biện độc lập, đảm bảo tính chính xác và giá trị của kết quả nghiên cứu. Về hình thức, luận án có kết cấu khoa học, được trình bày rõ ràng, đầy đủ. Như vậy, luận án đã đáp ứng các yêu cầu của một luận án tiến sĩ. Đồng ý cho NCS được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

*** Góp ý:**

- Phần Mục lục: Thiếu danh mục viết tắt.

- Chú thích hình 3.65, 3.71, 3.76, 3.83 thừa chữ “của”. Bảng 3.6 trong “Danh mục hình” cần được chuyển lên “Danh mục bảng”.

- Phần Mở đầu: Còn chưa rõ ràng trong phần đặt vấn đề về cúc hoa vàng và keo tai tượng, nên được rõ ràng hơn. Mục tiêu của luận án nên có các mục tiêu cụ thể và theo sát nội dung nghiên cứu. Thiếu mục tối ưu hoá tỷ lệ hỗn hợp cao chiết ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam.

- Phần Tổng quan:

+ Cụm từ “Cúc hoa vàng” không viết nghiêng.

+ Ở một số bảng (bảng 1.1, 1.2, 1.3), nội dung cột “hoạt tính sinh học” của nhiều hợp chất còn thiếu, nên bỏ cột này.

+ Mục 1.1.2: Chỉ nên nêu về thành phần hoá học, không nêu tác dụng sinh học do đã có.

+ Mục 1.1.3: Tiêu đề mục 1.3.1.1, 1.3.1.2 và 1.3.1.3 nên bổ sung thêm thông tin để dễ theo dõi. Ví dụ như, mục 1.3.1.1. Đặc điểm về hình thái và cấu trúc tế bào của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.2. Khả năng sản xuất độc tố và chiến lược sinh tồn của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.3. Đặc tính linh hoạt di truyền và thích nghi môi trường của vi khuẩn lam.

- Phần Đối tượng, phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm:

+ Trang 32: Bổ sung đơn vị của các thông số trong công thức.

+ Mục 2.4.3: Nên chuyển sang phần kết quả, các dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR chuyển sang bảng và so sánh với các chất tham khảo với từng chất tương ứng trong mục kết quả và thảo luận.

+ Chưa có sự logic giữa các nghiên cứu trong phần thực nghiệm.

- Phần Kết quả và thảo luận:

+ Bổ sung bảng dữ liệu phổ NMR của các hợp chất phân lập được (chuyển từ Mục 2.4.2 trong phần thực nghiệm).

+ Các hình phổ NMR của các chất chuyển sang phần Phụ lục.

+ Biện luận cấu trúc các hợp chất cần bổ sung ký hiệu chuyển dịch hoá học proton hoặc carbon tương ứng (δ_{H} hoặc δ_{C}).

+ Kiểm tra lại hình 3.7 không phải phổ NOESY của hợp chất CI1, hình 3.14 không phải là phổ NOESY của hợp chất CI2.

+ Bàn luận về cấu hình Z của hợp chất CI2 chưa ghi nhận thấy thấy tín hiệu tương tác NOE của H-2 và H-4 nên cần được kiểm tra và biện luận lại kỹ hơn.

+ Một số hợp chất flavonoid biện luận cấu trúc vòng B dạng kaempferol là chưa thực sự chính xác.

+ Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng và keo tai tượng nên nêu rõ chất nào lần đầu tiên được phân lập từ loài này, chất nào đã được phân lập trước đó.

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

+ Mục 3.3: Cần có lời dẫn trước khi đến bảng 3.3.

+ Bảng 3.4: Nên có phần giải thích các ký hiệu viết tắt trước khi nhận xét kết quả.

- Phần Kết luận: Cần tách riêng kết luận về thành phần hoá học và tác dụng sinh học của hai loài nghiên cứu (kết luận 1, 2, 3).

* Câu hỏi:

Câu hỏi 1: Sau khi đánh giá về hoạt tính ức chế vi khuẩn lam, NCS có nhận xét gì về kết quả hoạt tính của các chất phân lập được từ cao chiết có xử lý HCl với cao chiết thử hoạt tính?

12. PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân - Ủy viên Thư ký Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét: Ngày nay, các hợp chất thiên nhiên không chỉ được quan tâm ứng dụng trong lĩnh vực y, dược, thực phẩm, mỹ phẩm... mà còn được quan tâm ứng dụng trong lĩnh vực xử lý môi trường. Luận án lựa chọn nghiên cứu trên đối tượng cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) theo hướng ức chế sinh trưởng vi khuẩn lam *M. aeruginosa* của các cao chiết và các hợp chất phân lập được, trên cơ sở đó nghiên cứu phối trộn với tỉ lệ thích hợp các cao chiết từ cúc hoa vàng, keo tai tượng và mần tưới để tạo sản phẩm cao chiết có hoạt tính tốt, có khả năng ứng dụng cao. Do đó, đề tài luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn. Kết quả luận án có tính mới (4 chất mới) và đã được công bố trên 01 bài báo khoa học ở tạp chí quốc tế SCIE và 01 bài báo khoa học ở tạp chí quốc gia có uy tín, chất lượng và có chuyên gia phản biện độc lập. Về hình thức, luận án có bố cục hợp lý, khoa học, rõ ràng. Như vậy, luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ khoa học vật chất, chuyên ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Trân trọng đề nghị Hội đồng cho phép NCS được bảo vệ luận án trước Hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

* Góp ý:

- Trang 29 (Mục 2.1. Đối tượng nghiên cứu): cập nhật “Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên” thành “Viện Hoá học”.

- Phần biện luận phổ xác định cấu trúc: Bổ sung ký hiệu chuyển dịch hoá học proton (δ_H) hoặc carbon (δ_C) tương ứng, ví dụ như ở các chất CI3, CI6, CI7, AM10... Chỉ nên đưa hình phổ của các chất mới, phổ của các chất đã biết đưa sang phần Phụ lục.

- Hình vẽ cấu trúc hoá học các chất: Nên để to hơn, kích cỡ các chữ ký hiệu cho các nguyên tố nên để to hơn kích cỡ các con số chỉ số thứ tự.

- Hình 3.45 (trang 87) và hình 3.58 (trang 145): Bổ sung ghi chú các chất mới (CI1, CI2, AM1, AM2).

- Phần Kết luận: Nên viết chi tiết tên của các hợp chất phân lập được, đặc biệt là tên của các chất mới.

13. GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên - Chủ tịch Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét: Đề tài luận án mang tính thời sự cao, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu và gia tăng hiện tượng nở hoa của vi khuẩn lam trên toàn cầu. Luận án cũng có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn rõ rệt, vừa góp phần vào việc phát triển các giải pháp xử lý sinh học bền vững, vừa làm phong phú thêm tri thức về hoá học các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học. Luận án thể hiện sự độc đáo và mới mẻ thông qua việc phát hiện và mô tả một số hợp chất mới chưa từng được báo cáo từ hai loài thực vật trên, đồng thời mở ra hướng ứng dụng thực tiễn trong kiểm soát ô nhiễm sinh học nước ngọt theo hướng xanh, bền vững. Nội dung, kết quả của luận án đã được công bố trên 01 bài báo ở tạp chí quốc tế thuộc danh mục SCIE (*BioResources*, IF 1.75) và 01 bài báo ở tạp chí quốc gia (*Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và Sinh học*). Đây đều là những công trình công bố có chất lượng tốt phản ánh đầy đủ nội dung của luận án. Về hình thức, luận án có bố cục chặt chẽ, số liệu phong phú, cách trình bày rõ ràng, minh chứng cụ thể, hình ảnh phổ và bảng biểu hỗ trợ tốt cho lập luận.

* Góp ý:

- Một số phần có thể rút gọn hoặc gộp lại để tránh trùng lặp giữa mô tả hợp chất và đánh giá hoạt tính sinh học.
- Chỉ nên đưa bộ phổ đầy đủ của các chất mới vào phần biện luận, bộ phổ của các chất đã biết nên đưa vào phần Phụ lục.
- Đối với chất mới AM1: Nên bỏ phần biện luận NOESY vì không có, nên biện luận dựa vào hằng số tương tác J .
- Nên xem xét bỏ phần phối trộn của ba cao chiết vì không cần thiết.
- Thống nhất cách trích dẫn TLTK, nên trích dẫn TLTK ngay sau phần thông tin cung cấp.
- rà soát và chỉnh sửa một số lỗi chính tả, in ấn, thống nhất sử dụng thuật ngữ khoa học.

14. Nghiên cứu sinh trả lời các câu hỏi:

NCS xin chân thành cảm ơn và xin tiếp thu tất cả các ý kiến góp ý của các thành viên trong Hội đồng.

Sau đây là phần trả lời các câu hỏi của NCS:

- Trả lời câu hỏi của PGS.TS. Đỗ Thị Hà - Phản biện 1:

Câu hỏi 1: Đối với phần thử nghiệm hoạt tính kháng vi khuẩn lam, tác giả chuẩn bị mẫu thử như thế nào? Trong quá trình thí nghiệm, tác giả dùng dung môi gì để pha mẫu thử nghiên cứu?

NCS trả lời: Cao chiết được hòa tan trước với DMSO ở nồng độ cao (5-10 mg/mL), sau đó pha loãng với nước về nồng độ làm việc. Mẫu đối chứng âm sẽ sử dụng nước có bổ sung lượng DMSO ở cùng nồng độ.

Câu hỏi 2: Tác giả có bàn luận gì về phương án sử dụng chế phẩm để diệt vi khuẩn lam trong môi trường diện rộng (làm thế nào để kiểm soát nồng độ thuốc đảm bảo có hiệu quả diệt vi khuẩn?).

NCS trả lời: Đối với quy mô lớn hơn, nồng độ chế phẩm được sử dụng có thể được điều chỉnh, bổ sung các chất hỗ trợ để làm tăng khả năng hòa tan hoặc phối hợp hiệp đồng để làm tăng tác dụng diệt tảo.

- Trả lời câu hỏi của PGS.TS. Vũ Thu Trang - Phản biện 2:

Câu hỏi: NCS lý giải thêm về phương pháp thử hoạt tính kháng vi khuẩn lam ?

NCS trả lời: Vi khuẩn lam được nuôi trong môi trường dinh dưỡng Sorokin và Krauss. Sau đó mẫu nuôi cấy được bổ sung mẫu thử tại các nồng độ tương ứng được thu ở các thời điểm khảo sát. 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.

- Trả lời câu hỏi của PGS.TS. Phan Văn Kiệm - Phản biện 3:

Câu hỏi: Theo NCS, làm thế nào để xác định được cấu hình của nhóm OH tại C-12?

NCS trả lời: Cấu hình của nhóm OH tại C-12 được xác định dựa theo sinh tổng hợp của các hợp chất triterpenoid ở các đối tượng loài tương tự.

- Trả lời câu hỏi của PGS.TS. Vũ Đình Hoàng – Ủy viên:

Câu hỏi: Tại sao lại chiết hoa cúc vàng bằng HCl, sau đó lại chiết bằng kiềm ?

NCS trả lời: Việc chiết với acid được thực hiện trên cơ sở tham khảo các nghiên cứu trước đây về hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ cúc hoa vàng. Vì việc chiết acid có thể làm thay đổi thành phần nên nhóm nghiên cứu cũng thực hiện đồng thời cả chiết trong acid và chiết bằng methanol để nghiên cứu thành phần một cách đầy đủ và chính xác.

- Trả lời câu hỏi của PGS.TS. Bùi Thị Thuý Luyện – Ủy viên:

Câu hỏi: Sau khi đánh giá về hoạt tính ức chế vi khuẩn lam, NCS có nhận xét gì về kết quả hoạt tính của các chất phân lập được từ cao chiết có xử lý HCl với cao chiết thử hoạt tính?

NCS trả lời: Các hợp chất phân lập từ cao chiết qua xử lý HCl không hoàn toàn vượt trội về hoạt tính so với các chất từ cao chiết methanol. Tuy nhiên, các hợp chất từ cao chiết HCl có thể xuất hiện trong cả cao chiết methanol với hàm lượng khác. Do đó, để so sánh, cần có nhiều hơn những nghiên cứu lặp lại

15. Chủ tịch Hội đồng hỏi các đại biểu tham dự và khách mời có ai có ý kiến gì không, không ai có ý kiến. Chủ tịch HĐ mời đại diện tập thể hướng dẫn nhận xét về quá trình nghiên cứu, học tập của NCS. Nguyễn Văn Phương.

16. Đại diện tập thể hướng dẫn, PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh, nhận xét về quá trình học tập của nghiên cứu sinh (có văn bản kèm theo).

17. Hội đồng tiến hành họp kín

Hội đồng bầu Ban kiểm phiếu gồm:

- PGS.TS. Phan Văn Kiệm, Trưởng ban.
- PGS.TS. Bùi Thị Thuý Luyện, Ủy viên.
- PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân, Ủy viên.

Hội đồng đã thảo luận, bỏ phiếu kín đánh giá (có Biên bản kiểm phiếu kèm theo).

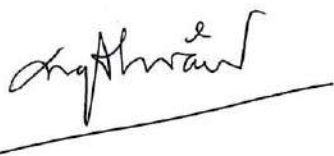
Kết quả đánh giá:

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá “Tán thành”.
- Trong đó, có 4/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức “Xuất sắc”.

18. Chủ tịch Hội đồng công bố quyết nghị của Hội đồng (có bản Quyết nghị của Hội đồng kèm theo).

Buổi bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện của NCS. Nguyễn Văn Phương kết thúc vào hồi 17 giờ 30 phút ngày 08 tháng 8 năm 2025.

Thư ký Hội đồng



PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

Chủ tịch Hội đồng



GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

**KI. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 08 tháng 08 năm 2025, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp học viện cho nghiên cứu sinh Nguyễn Văn Phương theo Quyết định số 645/QĐ-HVKHCN ngày 18 tháng 06 năm 2025 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: “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*)”

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. Lê Thị Phương Quỳnh
2. PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	Phần Danh mục hình (trang Xi): Đưa bảng 3.6 về danh mục bảng, sửa bảng 3.1.	NCS đã đưa bảng 3.6 về danh mục bảng và sửa 3.1 theo yêu cầu
2	- Trang 7: viết tắt PEDV là gì ?	Trang 7, phần tổng quan, PEDV là tên của một chủng virus gây bệnh tiêu chảy
3	- Phần Mở đầu: Có thể bổ sung thêm 1 mục tiêu là xác định tỷ lệ tối ưu phối hợp cao chiết 3 loài.	Trong phần mở đầu, mục tiêu “góp phần đề xuất phương pháp kiểm soát vi khuẩn lam theo hướng bền vững và thân thiện với môi trường” đã hàm ý phát triển sản phẩm kiểm soát vi khuẩn lam dựa trên hỗn hợp tối ưu hoá tỉ lệ 3 cao chiết
4	+ Phần giới thiệu về tác dụng của cúc hoa vàng cần tập trung hơn theo hướng tác dụng kháng khuẩn, kháng lao, kháng nấm, kháng virus của cao chiết và các hợp chất, đặc biệt là tinh dầu (có thể tham khảo bài review công bố năm 2025 trên <i>Frontier Pharmacology</i>).	Trong phần Tổng quan, NCS đã giới thiệu chi tiết về các hoạt tính sinh học nổi bật của cúc hoa vàng. Nội dung luận án được soạn thảo từ cuối 2024 tới nửa đầu năm 2025 nên chưa trích dẫn tài liệu mới công bố mà chuyên gia phản biện đề cập



STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
5	+ Đối với loài keo tai tượng cũng nên tập trung tổng quan về tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của cao chiết và hoạt chất của loài này trước vì gần với chủ đề của luận án, đồng thời cũng làm cơ sở để phân tích tính khoa học của việc đặt vấn đề cần giải quyết.	Trong phần Tổng quan, NCS đã bổ sung giới thiệu chi tiết về các hoạt tính sinh học nổi bật của loài keo tai tượng dựa trên các công bố trước đây về chi <i>Acacia</i> .
6	+ Bổ sung xuất xứ (nước sản xuất của các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu); Bổ sung Sephadex LH-20 và bổ sung xuất xứ chủng vi khuẩn được dùng trong nghiên cứu, môi trường nuôi cấy.	NCS đã bổ sung xuất xứ nước sản xuất của các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu trong Chương 2, phần 2.2.
7	+ Mục 2.3.2: Bổ sung phổ phân giải cao HR-MS trong xác định cấu trúc.	NCS đã bổ sung phổ HRMS của các hợp chất mới trong luận án
8	+ Mục 2.3.4: Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam theo tài liệu nào hay do nhóm nghiên cứu tự triển khai và phát triển, nếu tham khảo tài liệu thì nên bổ sung thêm TLTK.	Phương pháp đánh giá hoạt tính vi khuẩn lam được phát triển dựa trên các nghiên cứu trước đó của nhóm và kết hợp với một số nhóm nghiên cứu khác.
9	Trang 36: Xem lại kích thước cột 250x100 mm hay 250x10 μ m	Kích thước cột sắc ký điều chế đang trình bày trong luận án (250 $\times$ 100 mm, 5 μ m) là hoàn toàn chính xác
10	+ Nên đưa hình ảnh phổ sang phần Phụ lục.	Các hình ảnh phổ được đính kèm trong luận giải cấu trúc nhằm giúp người đọc dễ theo dõi và đối chiếu.
11	+ Chỉ một số hợp chất có trình bày bảng tổng hợp phổ, còn thiếu khá nhiều, do vậy NCS nên bổ sung bảng phổ đầy đủ của các hợp chất, so sánh với số liệu phổ của tài liệu tham khảo cho thống nhất.	Dữ liệu phổ chi tiết của các chất đã được trình bày trong phần 2.4.3. Bảng số liệu được lập ở phần biện luận một số chất nhằm làm rõ sự giống và khác nhau về dữ liệu phổ của các chất, từ đó suy luận cấu trúc của các hợp chất cần giải quyết.
12	+ Phần tối ưu hoá tỷ lệ, nên đưa bảng 2.2 vào phần 3.4.2 (trang 149) để dễ theo dõi.	Bảng 2.2 trình bày dữ liệu thực nghiệm do đó sẽ phù hợp hơn nếu giữ lại trong chương 2. Từ dữ liệu ở bảng này, mô hình tối ưu hoá được thiết lập, do đó, các kết quả về mô hình được trình bày chi tiết trong chương 3.
13	+ Trang 145: Sửa AM12 thành AM11.	NCS đã sửa AM12 thành AM11 trong trang 147, phần 3.2.12
14	+ Bảng 3.4 (trang 148): Bổ sung nồng độ thử nghiệm của CuSO ₄ là bao nhiêu ?	Nồng độ CuSO ₄ ở mức 200 μ g/mL được trình bày trong các phần biện

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
	Nên đưa nồng độ vào bảng để dễ theo dõi.	luận ngay trước các bảng số liệu 3.4, 3.8...
15	+ Nên tóm tắt các công trình nghiên cứu của cúc hoa vàng và keo tai tượng dưới dạng bảng với nhiều thông tin chi tiết hơn, đặc biệt các hoạt tính sinh học được biết đến, cơ chế...	NCS đã trình bày các kết quả nghiên cứu về thành phần hoá học của hai loài thực vật trong các bảng 1.1-1.4 trong phần Tổng quan
16	+ Thống kê các vụ bùng phát nở hoa dưới dạng bảng để nêu bật tầm quan trọng của nghiên cứu, từ đó đề xuất Mục tiêu và Nội dung nghiên cứu sau phần này.	Thống kê các vụ bùng phát nở hoa và tác động được trình bày với diễn giải chi tiết trong phần 1.3.2, trang 22-26
17	Phương pháp xác định hoạt tính kháng vi khuẩn lam: cần mô tả cụ thể hơn, tác giả kiểm soát nồng độ VSV thế nào, thực hiện trong bao lâu, T_0/T_3 ...trang 30 nghĩa là gì? Thực chất trong vi sinh, IC_{50} và giảm vi sinh vật theo % rất khó để kết luận về khả năng ức chế, thông thường sẽ giảm mật độ VSV theo logarit.	NCS đã trình bày cụ thể hơn về Phương pháp xác định hoạt tính kháng vi khuẩn lam trong phần 2.3.4
18	Việc sử dụng cây mầm tưới khá khiên cưỡng trong nghiên cứu. Tác giả lý giải như thế nào? Thậm chí có thể nghiên cứu kết hợp với các thành phần đã được biết đến là có khả năng ức chế vi khuẩn lam.	Việc sử dụng cây mầm tưới là kế thừa từ các kết quả nghiên cứu trước đây của nhóm, nhằm kết hợp với đối tượng nghiên cứu trong luận án nhằm làm tăng hiệu quả ức chế vi khuẩn lam. Lí do và dẫn chứng được NCS trình bày chi tiết trong phần Tổng quan (phần 1.3.3.4 trang 26-27), phương pháp (phần 2.4.4, trang 42-43), và có so sánh trực tiếp việc sử dụng cao chiết đơn lẻ so với sử dụng kết hợp các cao chiết trong phần kết quả (phần 3.4.1-3.4.2, trang 150-154)
19	Tất cả các kết quả chưa có biện giải với các nghiên cứu trước.	NCS đã bổ sung phần luận giải và so sánh các kết quả thu được với TLTK ở từng phần giải cấu trúc các hợp chất và phần tối ưu hoá thành phần cao chiết
20	Kết quả hoạt tính ức chế vi khuẩn lam: Chưa có phần phương pháp nghiên cứu. Cần so sánh với các nghiên cứu tương tự, trên đối tượng khác.	NCS đã bổ sung so sánh đối chiếu giữa kết quả đạt được với các nghiên cứu trước đây trong phần 3.4, trang 150
21	Phần 3.4: Các kết quả đưa từ cây mầm tưới là TLTK, không phải là kết quả của	Việc sử dụng cây mầm tưới là kế thừa từ các kết quả nghiên cứu trước đây

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
	tác giả, nếu tác giả muốn đưa vào trọng tâm có thể bổ sung 1 phần trong tổng quan tài liệu để thấy tầm quan trọng khi nghiên cứu đối sánh hoặc kết hợp với cao chiết từ cây này.	của nhóm, nhằm kết hợp với đối tượng nghiên cứu trong luận án nhằm làm tăng hiệu quả ức chế vi khuẩn lam. Lí do và dẫn chứng được NCS trình bày chi tiết trong phần Tổng quan (phần 1.3.3.4 trang 26-27), phương pháp (phần 2.4.4, trang 42-43), và có so sánh trực tiếp việc sử dụng cao chiết đơn lẻ so với sử dụng kết hợp các cao chiết trong phần kết quả (phần 3.4.1-3.4.2, trang 150-154)
22	- Phần thảo luận còn khá sơ sài, nên bố trí lại hình phổ cho phù hợp, cùng với các hình vẽ minh hoạ để tăng thêm sự thuyết phục khi trình bày, đặc biệt cần bố trí phần trích dẫn tài liệu tham khảo đúng với nội dung cần minh hoạ.	NCS đã bố trí lại phần thảo luận cho phù hợp hơn
23	- Đối với hai chất mới từ cây cúc hoa vàng, phổ NOESY của hai chất này bị nhầm lẫn cho nhau, cần phải sửa lại. Khi đó, tương tác NOESY giữa H-9 (4.36) với H-4 (6.46) là khá rõ, trong khi theo cấu trúc đưa ra thì hai proton này nằm rất xa nhau. Vì vậy, cần thiết phải xem lại hoặc là các giá trị gán hoặc cấu trúc hoá học cần xem xét thêm. Mặt khác, trên phổ NOESY không thấy có tương tác giữa H-4 (6.46) với H-2 (3.34) như trình bày trong luận án. Có thể phải lấy lại phổ chuẩn sau khi kiểm tra phần calibrate không bị lệch. Trong trường hợp phổ NOESY không thể hiện tương tác nêu trên, tác giả cần dẫn chứng cập các số liệu phổ ^{13}C -NMR cho cấu hình Z ở phần cấu trúc tương tự cho thuyết phục.	NCS đã chỉnh sửa các sai sót liên quan đến phổ NOESY của hai hợp chất CI1 và CI2 tại trang 44 và 50 theo hướng dẫn của chuyên gia phản biện
24	- Đối với hợp chất AM1, trên phổ HMBC hoàn toàn không có tương tác giữa H-12 (4.50) với C-13 (140.3)/C-14 (182.3)/C-17 (211.3), do đó trên hình vẽ cũng như biện luận cần phải bỏ tương tác	NCS đã chỉnh sửa phần biện luận của hợp chất AM1 tại trang 91 theo hướng dẫn của chuyên gia phản biện

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung <i>(Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)</i>
	này. Về hoá học lập thể của hợp chất mới này cần biểu diễn đầy đủ ở các trung tâm bất đối. Trong phần biện luận ở trang 89, tác giả đề cập đến chất tham khảo là acacienone nhưng không trích dẫn TLTK. Do đó, cần bổ sung TLTK [113] vào ý này. Tuy nhiên, tác giả ghi “một tương tác NOESY rõ ràng giữa H-7 và H-15 đã xác định vị trí nhóm carbonyl tại C-17...”. Ý này người phản biện hoàn toàn không hiểu, thứ nhất không có gì liên quan giữa vị trí nhóm C=O với tương tác NOESY H-7/H-15, thứ hai, trên phổ cũng như lý thuyết không có tương tác H-7/H-15. Trong trường hợp nếu có tương tác như tác giả nêu, thì H_a-7 và H_b-7 cũng như H_a-15 và H_b-15 đều có hướng xác định trong không gian nên cần chỉ rõ proton nào tương tác với proton nào (biểu diễn bằng độ chuyển dịch hoá học). Cũng liên quan đến chất AM1, tác giả xếp vào khung labdane là không đúng. Hợp chất này thuộc khung androstane (nor-androstane). Chỉ khi xác định đúng khung chất thì hoá học lập thể của nó mới có thể xác định chính xác. Trong biện luận, hoá học lập thể nhóm OH tại C-12 hoàn toàn chưa được đề cập. Trong khi, phổ NOESY không thể hiện rõ các tương tác cần thiết để xác định hoá học lập thể của nhóm OH này, thì NCS cần tham khảo hợp chất tương tự (acacienone [113]), căn cứ vào độ chuyển dịch hoá học và đặc biệt là hằng số tương tác H-11/H-12 để xác định vị trí axial hay equatorial của H-12.	
25	- Về việc bổ sung thêm 1 dịch chiết khác nữa để tổ hợp đánh giá hoạt tính ức chế vi khuẩn lam chưa được làm rõ trong đối	Việc sử dụng cây mầm tươi là kế thừa từ các kết quả nghiên cứu trước đây của nhóm, nhằm kết hợp với đối tượng

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
	tượng nghiên cứu cũng như sự cần thiết của công việc này. Nếu khuôn khổ của luận án chỉ nghiên cứu 2 đối tượng và nếu tổ hợp dịch chiết của hai đối tượng này lại có hoạt tính kháng vi khuẩn lam tốt hơn thì tác giả sẽ giải thích lý do đưa thêm 1 đối tượng hoàn toàn không được đề cập đến trong đối tượng nghiên cứu vào để tiến hành nghiên cứu.	nghiên cứu trong luận án nhằm làm tăng hiệu quả ức chế vi khuẩn lam. Lý do và dẫn chứng được NCS trình bày chi tiết trong phần Tổng quan (phần 1.3.3.4 trang 26-27), phương pháp (phần 2.4.4, trang 42-43), và có so sánh trực tiếp việc sử dụng cao chiết đơn lẻ so với sử dụng kết hợp các cao chiết trong phần kết quả (phần 3.4.1-3.4.2, trang 150-154)
26	- Phần kết luận còn sơ sài, chung chung, cần viết lại cụ thể hơn. Các hợp chất mới cần nêu rõ tên (kể cả tên khoa học và tên do mình đặt), các chất cũ cũng có thể nêu rõ tên thay vì chỉ đếm số lượng chất trong phần kết luận rất quan trọng của luận án.	NCS đã viết lại phần kết luận cho phù hợp và cụ thể hơn
27	- Cần bổ sung Bản tóm tắt luận án và các công trình đã công bố liên quan của tác giả theo quy định.	NCS đã gửi kèm phần tóm tắt và công trình công bố trong luận án
28	- Xem lại ở chất CI1 không có tương tác NOESY giữa H-2 và H-4, đang nhầm lẫn giữa CI1 và CI2.	NCS đã chỉnh sửa nhầm lẫn phổ NOESY giữa hai hợp chất
29	- Sửa “glycol”/“aglycol” thành “glycone”/“aglycone”.	NCS đã sửa “glycol”/“aglycol” thành “glycone”/“aglycone” trong luận án
30	- Phần kết luận nên viết lại cho câu văn rõ ràng hơn.	NCS đã viết lại phần kết luận cho phù hợp và cụ thể hơn
31	- Phần Tổng quan: Cụm từ “Cúc hoa vàng” không viết nghiêng.	NCS đã sửa lại lỗi sai được chỉ ra trong phần Tổng quan
32	Ở một số bảng (bảng 1.1, 1.2, 1.3), nội dung cột “hoạt tính sinh học” của nhiều hợp chất còn thiếu, nên bỏ cột này.	Do một số chất có hoạt tính sinh học trong khi nhiều chất có thể chưa được nghiên cứu về hoạt tính nên NCS xin phép giữ lại cột này để làm cơ sở đối chiếu và tham khảo cho việc mở rộng nghiên cứu về sau

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
33	+ Mục 1.1.2: Chỉ nên nêu về thành phần hoá học, không nêu tác dụng sinh học do đã có.	NCS đã chỉnh sửa lại thông tin chưa đúng trong phần 1.1.2
34	+ Mục 1.1.3: Tiêu đề mục 1.3.1.1, 1.3.1.2 và 1.3.1.3 nên bổ sung thêm thông tin để dễ theo dõi. Ví dụ như, mục 1.3.1.1. Đặc điểm về hình thái và cấu trúc tế bào của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.2. Khả năng sản xuất độc tố và chiến lược sinh tồn của vi khuẩn lam; Mục 1.3.1.3. Đặc tính linh hoạt di truyền và thích nghi môi trường của vi khuẩn lam.	NCS đã bổ sung thông tin trong phần tiêu đề các mục nhỏ ở phần 1.1.3 theo yêu cầu
35	+ Trang 32: Bổ sung đơn vị của các thông số trong công thức.	NCS đã bổ sung đơn vị của các thông số trong công thức tại trang 32
36	+ Mục 2.4.3: Nên chuyển sang phần kết quả, các dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR chuyển sang bảng và so sánh với các chất tham khảo với từng chất tương ứng trong mục kết quả và thảo luận. Bổ sung bảng dữ liệu phổ NMR của các hợp chất phân lập được (chuyển từ Mục 2.4.2 trong phần thực nghiệm).	Mục 2.4.3 trình bày thông số vật lý của các chất, là nội dung thường được yêu cầu trong luận án, do đó, NCS xin phép giữ lại mục này. Biện luận chi tiết đã được trình bày trong Chương 3 có kèm theo TLTK.
37	+ Các hình phổ NMR của các chất chuyển sang phần Phụ lục.	Các hình ảnh phổ được đính kèm trong luận giải cấu trúc nhằm giúp người đọc dễ theo dõi và đối chiếu.
38	+ Biện luận cấu trúc các hợp chất cần bổ sung ký hiệu chuyển dịch hoá học proton hoặc carbon tương ứng (δ_{H} hoặc δ_{C}).	NCS đã bổ sung ký hiệu chuyển dịch hoá học proton hoặc carbon tương ứng trong các biện luận
39	+ Kiểm tra lại hình 3.7 không phải phổ NOESY của hợp chất CI1, hình 3.14 không phải là phổ NOESY của hợp chất CI2.	Hai phổ NOESY của hai chất có sự nhầm lẫn cho nhau. NCS đã khắc phục điều này trong phần biện luận hợp chất CI1 và CI2 trong chương 3.
40	+ Bàn luận về cấu hình Z của hợp chất CI2 chưa ghi nhận thấy thấy tín hiệu tương tác NOE của H-2 và H-4 nên cần được kiểm tra và biện luận lại kỹ hơn.	NCS đã khắc phục các điểm nhầm lẫn đã nêu trong phần biện luận cấu trúc hợp chất CI2

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
41	+ Một số hợp chất flavonoid biện luận cấu trúc vòng B dạng kaempferol là chưa thực sự chính xác.	NCS đã sửa lại những lỗi sai được chỉ ra
42	Bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng và keo tai tượng nên nêu rõ chất nào lần đầu tiên được phân lập từ loài này, chất nào đã được phân lập trước đó.	NCS đã bổ sung bàn luận về kết quả phân lập các hợp chất từ cúc hoa vàng và keo tai tượng trong chương 3, phần 3.1.10 và 3.2.12
43	Bỏ câu “Khả năng ức chế vi khuẩn lam của các chất sẽ được trình bày trong các phần tiếp theo của luận án”.	Câu này nhằm tiếp nối nội dung giữa các phần, đảm bảo tính liên mạch về nội dung. NCS xin phép giữ lại nội dung này.
44	Mục 3.3: Cần có lời dẫn trước khi đến bảng 3.3.	NCS đã bổ sung thông tin diễn giải về bảng 3.3, trang 62
45	Bảng 3.4: Nên có phần giải thích các ký hiệu viết tắt trước khi nhận xét kết quả.	NCS đã bổ sung phần giải thích các ký hiệu viết tắt
46	Phần Kết luận: Cần tách riêng kết luận về thành phần hoá học và tác dụng sinh học của hai loài nghiên cứu (kết luận 1, 2, 3)	NCS đã viết lại phần kết luận cho phù hợp và cụ thể hơn

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 14 tháng 08 năm 2025

NGƯỜI HƯỚNG DẪN 1

NGƯỜI HƯỚNG DẪN 2

NGHIÊN CỨU SINH

PGS. TS. LÊ THỊ PHƯƠNG QUỲNH

PGS. TS. NGUYỄN TIẾN ĐẠT

NGUYỄN VĂN PHƯƠNG

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

GS. TS. NGUYỄN VĂN TUYÊN