

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Lê Thị Giang

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG BẢO VỆ
GAN CỦA LOÀI *SYMPLOCOS COCHINCHINENSIS* (LOUR.) S.
MOORE VÀ LOÀI *ECLIPTA PROSTRATA* (L.) L.**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Hà Nội - 2025

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

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn: **PGS.TS Nguyễn Xuân Nhiệm**

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

2. Người hướng dẫn: **PGS.TS Ninh Khắc Bản**

Cơ quan công tác: Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và
Công nghệ Việt Nam.

Phản biện 1:

Phản biện 2:

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

Có thể tìm hiểu luận án tại:

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

MỞ ĐẦU

Qua nghiên cứu, nhiều loài thuộc chi *Symplocos* và chi *Eclipta* được biết đến với công dụng chữa khối u, tiêu chảy, kiết lỵ, rong kinh, ho, viêm nhiễm, Các nghiên cứu về thành phần hóa học các loài thuộc hai chi này cho thấy chúng chứa các lớp chất rất đa dạng như: triterpenoid, flavonoid, phenolic, thiophen,... Các nghiên cứu về loài *S. cochinchinensis* và *E. prostrata* cho thấy chúng có khả năng bảo vệ gan thông qua các hoạt tính chống viêm, chống oxy hóa, giảm lượng mỡ tích tụ trong gan, từ đó giảm nguy cơ các bệnh liên quan đến gan, bảo vệ tế bào gan khỏi các tác động có hại bao gồm các độc tố và các gốc tự do cũng như hỗ trợ chức năng gan. Tuy nhiên, loài *S. cochinchinensis* chưa được nghiên cứu nhiều ở Việt Nam. Hiện mới chỉ có một nghiên cứu về thành phần hóa học và một số nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm và ức chế enzyme α -glucosidase.

Với mục tiêu nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *S. cochinchinensis* và *E. prostrata* ở Việt Nam, chúng tôi đã lựa chọn đề tài: **“Nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng bảo vệ gan của loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore và loài *Eclipta prostrata* (L.) L.”.**

Mục tiêu nghiên cứu:

Xác định thành phần hóa học của hai loài *S. cochinchinensis* (Lour.) S. Moore) và *E. prostrata* (L.) L.

Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan *in vitro* của các căn chiết và các hợp chất phân lập được.

Nội dung nghiên cứu:

1. Phân lập các hợp chất từ lá và cành nhỏ loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore và phần trên mặt đất loài *Eclipta prostrata* (L.) ở Việt Nam bằng các phương pháp sắc ký.

2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp vật lý và hóa học.

3. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan *in vitro* của các căn chiết và các hợp chất được phân lập từ hai loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore và loài *Eclipta prostrata* (L.).

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về chi *Symplocos*

1.1.1. Đặc điểm thực vật của chi *Symplocos*

1.1.2. Giới thiệu về loài *Symplocos cochinchinensis*

Họ: Symplocaceae (Dung)

Chi: *Symplocos*

Tên khoa học: *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore

Tên thường gọi: Trà dung, Dung đắng, Bôm, Dung bộp, Dung nam bộ

1.1.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Symplocos*

Kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của các loài trong chi *Symplocos* cho thấy, thành phần hóa học chủ yếu thuộc các lớp chất triterpenoid, flavonoid, iridoid, lignan,....

1.1.4. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học

Các loài thuộc chi *Symplocos* cho thấy chúng thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như ức chế sự phát triển nhiều loại tế bào ung thư, hạ đường huyết, kháng viêm, giảm đau, kháng khuẩn, chống oxi hóa,....

1.1.5. Tình hình nghiên cứu về loài *S. cochinchinensis*

1.2. Giới thiệu về chi *Eclipta*

1.2.1. Đặc điểm thực vật của chi *Eclipta*

1.2.2. Giới thiệu về loài *Eclipta prostrata*

Họ: Asteraceae (Cúc)

Chi: *Eclipta*

Tên khoa học: *Eclipta prostrata* (L.) L

Tên thường gọi: Cỏ nhọ nôi, hàn liên thảo

1.2.3. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *E. prostrata*

Tổng hợp các công trình nghiên cứu về chi *Eclipta* cho thấy hầu hết các nghiên cứu đều tập trung vào loài *E. prostrata*. Loài *E. prostrata* chứa nhiều hợp chất đa dạng và phong phú, trong đó đặc trưng là các hợp chất thiophen.

1.2.4. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của *E. prostrata*

Kết quả nghiên cứu cho thấy loài *E. prostrata* sở hữu nhiều hoạt tính sinh học quý giá như chống lại tế bào ung thư, kháng HIV, hạ đường huyết, kháng viêm, giảm đau, bảo vệ gan...

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore

Mẫu lá và cành nhỏ loài *S. cochinchinensis* (Lour.) S. Moore được thu hái tại Ngọc Thành, Phúc Yên, Vĩnh Phúc, Việt Nam tháng 6/2022.



Hình 2.1. Hình ảnh loài *S. cochinchinensis* (Lour.) S. Moore

2.1.2. Loài *Eclipta prostrata* (L.) L

Phần trên mặt đất loài *E. prostrata* (L.) được thu hái tại Hưng Yên, Việt Nam vào tháng 3/2022



Hình 2.2. Hình ảnh loài *E. prostrata* (L.) L.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

2.2.2.1. Phương pháp xác định các monosaccharide

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt tính sinh học

Việc lựa chọn phương pháp thử nghiệm là yếu tố then chốt trong quá trình đánh giá hiệu quả hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ thực vật. Trong nghiên cứu này, phương pháp được lựa chọn phù hợp với từng loài thực vật dựa trên đặc điểm hóa học đặc trưng và cơ chế tác động sinh học của nhóm hợp chất tương ứng. Các hợp chất phân lập từ *S. cochinchinensis* chủ yếu là saponin triterpenoid, phenolic và lignan. Các nhóm chất này có tính chất chống oxy hóa, điều hòa enzyme và tương tác với quá trình chuyển hóa nội bào. Do đó, phép thử Resazurin, một xét nghiệm đánh giá hoạt tính chuyển hóa tế bào thông qua sự khử resazurin thành resorufin đã được lựa chọn. Các hợp chất từ *E. prostrata*, với lớp chất đặc trưng thiophene và coumestan, đã được chứng minh có hoạt tính bảo vệ tế bào gan khỏi tổn thương do các tác nhân gây độc, stress oxy hóa. Phép thử MTT, dựa trên sự chuyển đổi của MTT thành formazan, là phương pháp thích hợp để đánh giá khả năng bảo vệ tế bào khỏi độc tính.

2.2.3.1. Phương pháp xác định khả năng sống của tế bào gan.

Nguyên tắc: Xét nghiệm khử Resazurin được thực hiện để đánh giá tác động của các hợp chất được phân lập từ loài *S. cochinchinensis* đến khả năng sống của tế bào gan HepG2.

Thí nghiệm xác định khả năng sống của tế bào

Bước 1: Phương pháp nuôi cấy tế bào.

Tế bào gan HepG2 được nuôi cấy trong môi trường DMEM chứa glucose cao, bổ sung 10% (v/v) FBS và 100 µg/mL penicillin-streptomycin ở điều kiện 37°C, 5% CO₂.

Bước 2: Phương pháp xác định khả năng sống của tế bào gan.

Tế bào gan HepG2 được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ tế bào 10^4 tế bào/giếng và được ủ ở tủ ấm 37°C , 5% CO_2 trong khoảng 15 đến 20 giờ. Các tế bào sau đó được xử lý bằng các hợp chất thử nghiệm ở hai nồng độ: 1 μM và 10 μM , sử dụng môi trường nuôi cấy DMEM chứa glucose cao, bổ sung 1% (v/v) FBS và 100 $\mu\text{g/mL}$ penicillin-streptomycin. Trên cùng một đĩa thử, bố trí một số giếng chứa dung môi DMSO 0,5% (v/v) để đánh giá khả năng sống tối đa của tế bào (các tế bào được coi là có khả năng sống 100%) và Triton X-100 0,01% (v/v) để đánh giá khả năng sống tối thiểu của tế bào (gây độc tế bào hoàn toàn). Paracetamol và Silymarin được sử dụng làm chất đối chứng. Sau khi ủ 15 giờ, mỗi giếng được xử lý bằng thuốc thử Resazurin 20% (v/v) (#G8080, Promega, USA) và ủ tiếp trong 1,5 giờ. Cường độ huỳnh quang của Resorufin được đo tại bước sóng 590 nm. Khả năng sống của tế bào được tính theo công thức:

$$\% \text{ Tế bào sống} = \frac{\text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{Triton X-100}}}{\text{OD}_{\text{DMSO}} - \text{OD}_{\text{Triton X-100}}} \times 100$$

Bước 3: Phương pháp xử lý số liệu.

2.2.3.2. Phương pháp xác định khả năng bảo vệ tế bào gan.

Nguyên tắc: Để đánh giá hoạt tính bảo vệ gan *in vitro* của loài *E. prostrata*, các mẫu nghiên cứu được đánh giá hoạt tính trên mô hình nuôi cấy tế bào HepG2 với sự có mặt của CCl_4 ,

Thí nghiệm đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan

Bước 1: Phương pháp nuôi cấy tế bào.

Dòng tế bào HepG2 được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy DMEM chứa 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1,0 mM sodium pyruvate, bổ sung 10% fetal bovine serum - FBS (GIBCO) ở điều kiện 37°C , 5% CO_2 .

Bước 2: Phương pháp xác định khả năng bảo vệ tế bào.

Tế bào HepG2 được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ tế bào 3×10^4 tế bào/giếng và ủ 24 h ở tủ ấm 37°C , 5% CO_2 . Mẫu nghiên cứu (mẫu thử) hoặc đối chứng quercetin được đưa vào các giếng nuôi cấy ở nồng độ 20 μM và 100 μM (đối với các chất sạch) và nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ (đối với căn chiết) với sự có mặt của CCl_4 40 μM , sau đó ủ đĩa thêm 2h. Trên cùng một đĩa thử, bố trí một số giếng không có mẫu thử. Khả năng sống sót của tế bào dưới tác động của CCl_4 được xác định thông qua phép thử MTT. Sau khi loại bỏ môi trường nuôi cấy, thêm 50 μL MTT (1 mg/mL) vào mỗi giếng. Ủ đĩa ở nhiệt độ 37°C trong 4 h. Tinh thể formazan hình thành được hòa tan bằng DMSO. Đo giá trị mật độ quang (OD - Optical Density) ở bước sóng 540 nm. Hiệu quả bảo vệ tế bào gan được tính theo công thức:

$$\% \text{ Bảo vệ} = \frac{\text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{CCl}_4}}{\text{OD}_{\text{DMSO}} - \text{OD}_{\text{CCl}_4}} \times 100$$

Bước 3: Phương pháp xử lý số liệu.

2.3. Phân lập các hợp chất

2.3.1. Các hợp chất phân lập từ loài *S. cochinchinensis*

Symplocos cochinchinesis (Lou.) S. Moore

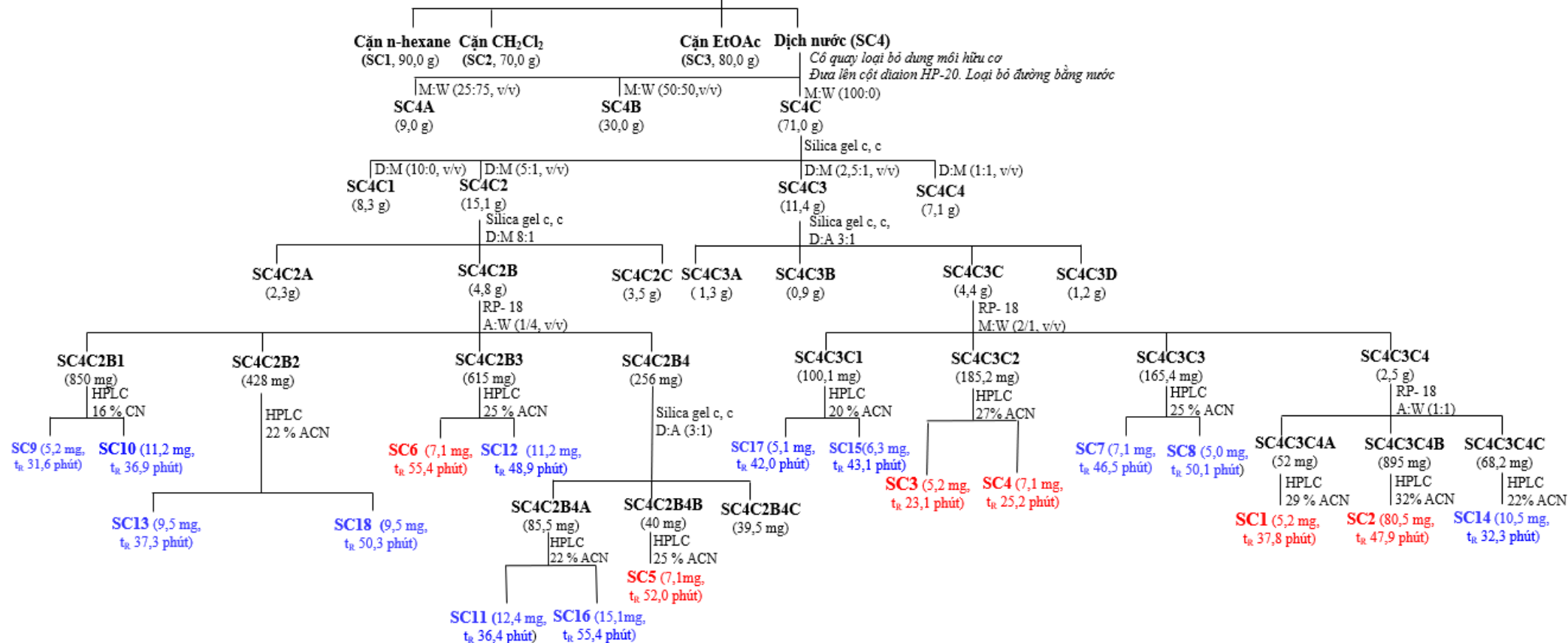
A	: Acetone	EtOAc	: Ethyl acetate
ACN	: Acetonitril	H	: <i>n</i> -Hexane
c,c	: Column chromatography	M	: Methanol
D	: Dichloromethane	W	: Water

(5,1 kg)
Chiết với methanol
(3 lần × 20 L)

Methanol

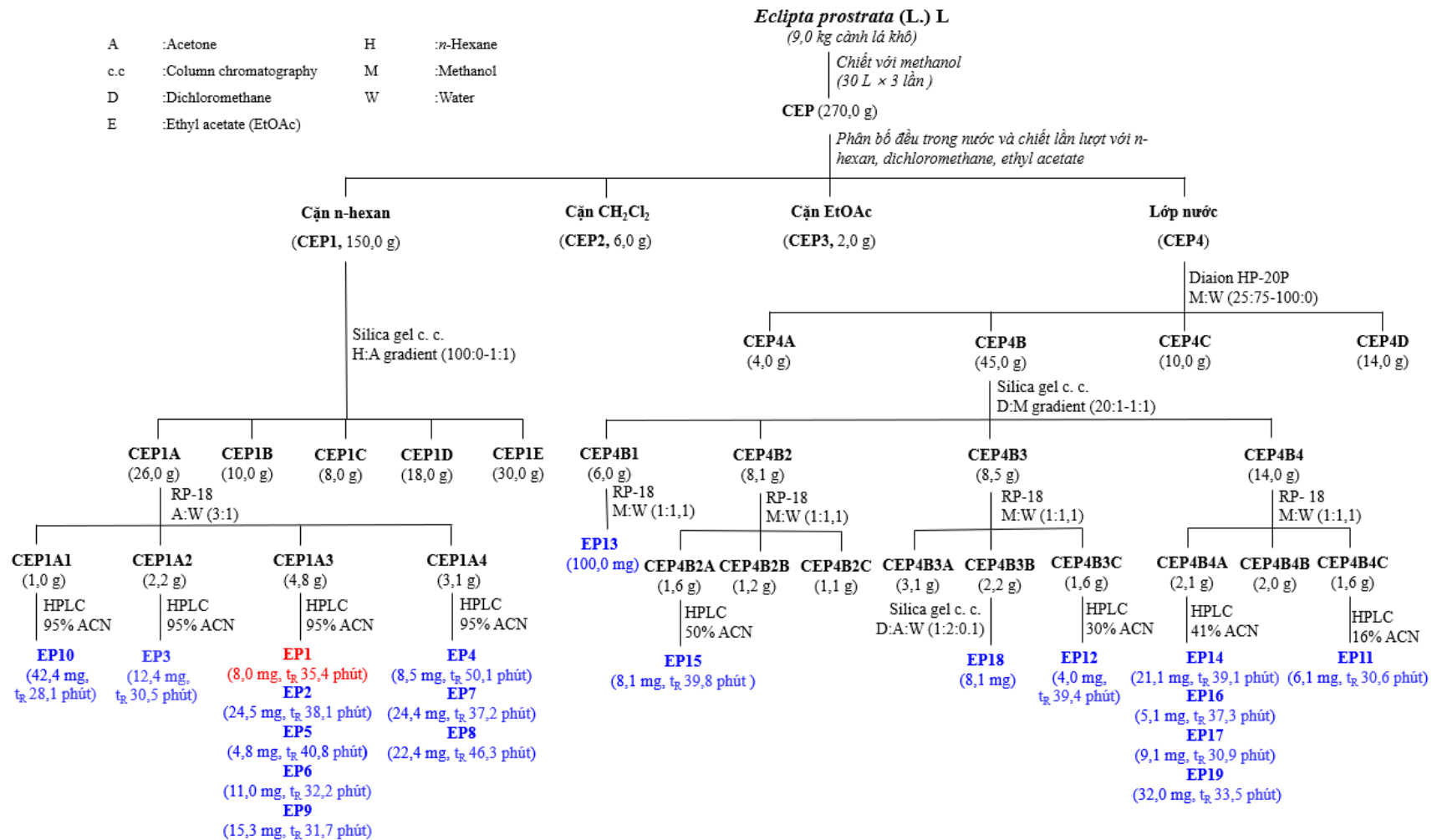
(410 g)

Bổ sung nước và chiết phân lớp với dung môi *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate



Hình 2.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *S. cochinchinesis*.

2.3.2. Các hợp chất phân lập từ loài *E. prostrata*



Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ loài *E. prostrata*

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thông số vật lý và số liệu phổ của các hợp chất

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

Nhằm tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính bảo vệ tế bào gan, từ hai loài *S. cochinchinensis* và *E. prostrata*, 37 hợp chất đã được phân lập và được xác định cấu trúc, trong đó bao gồm:

18 hợp chất từ loài *S. cochinchinensis* gồm:

- 4 hợp chất mới triterpenoid khung oleanane, được đặt tên là symplosaponin A (SC1), symplosaponin B (SC2), symplosaponin C (SC3) và symplosaponin D (SC4)
- 10 hợp chất lignan, bao gồm 2 hợp chất mới là symplolignan A (SC5) và symplolignan B (SC6), cùng 8 hợp chất đã biết: secoisolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranoside (SC11), matairesinol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC12), nortracheloside (SC13), nortrachelogenin 4-O- β -D-glucopyranoside (SC14), lariciresinol 4'-O- β -D-glucopyranoside (SC15), balanophonin 4-O- β -D-glucopyranoside (SC16), dehydrodiconiferyl alcohol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC17) và dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9-O- β -D-glucopyranoside (SC18)
- 4 hợp chất phenolic đã biết: 1-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-2-methoxy-4-propenylphenol (SC7), 1-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranosyl]-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol (SC8), 6-O-p-coumaroyl- β -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucopyranoside (SC9), arillatose B (SC10).

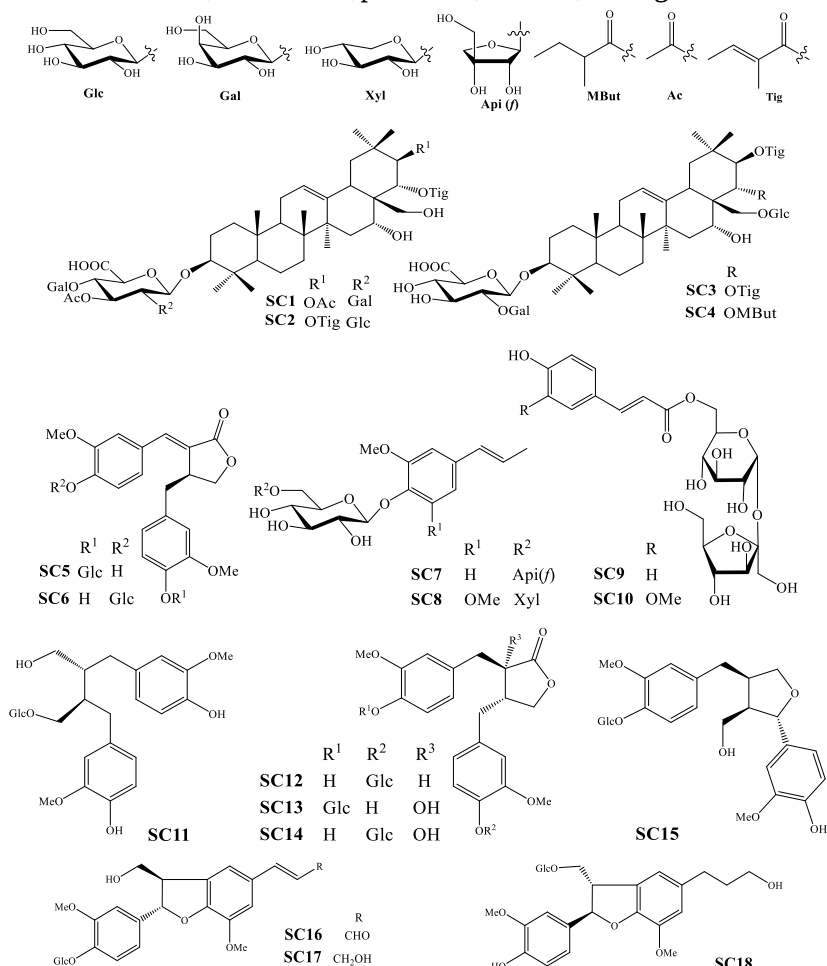
19 hợp chất từ loài *E. prostrata*

- 10 hợp chất thiophene, bao gồm 1 hợp chất mới là 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene (EP1) và 9 hợp chất thiophene đã biết gồm senecioester (EP2), tiglinsaurester (EP3), 5'-acetoxymethyl-5-(3-butene-1-ynyl)-2,2'-bithiophene (EP4), 5-(4-isovaleroyloxybut-1-ynyl)-2,2'-bithiophene (EP5), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate (EP6), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl angelate (EP7), 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthiophene dimethylacrylate (EP8), 5-methoxymethyl-2,2':5',2''-terthiophene (EP9) và α -terthiophene (EP10)

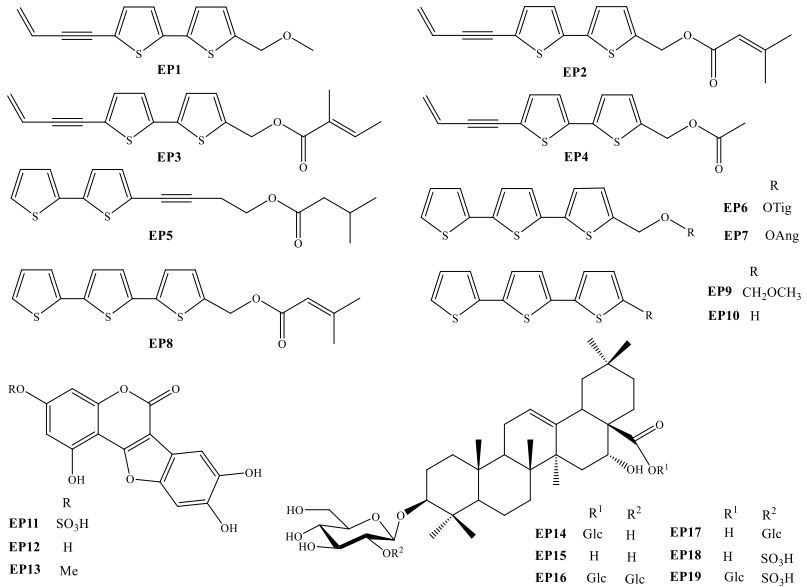
• 3 hợp chất caumestan đã biết: wedelolactone (**EP11**), demethylwedelolactone (**EP12**) và 1,3,8,9-tetrahydroxycoumestan 3-sulfate (**EP13**)

• 6 hợp chất triterpenoid đã biết: eclalbasaponin I (**EP14**), eclalbasaponin II (**EP15**), eclalbasaponin III (**EP16**), eclalbasaponin IV (**EP17**), eclalbasaponin V (**EP18**) và eclalbasaponin VI (**EP19**). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được thể hiện trong Hình 3.2

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được thể hiện trong Hình 3.1.



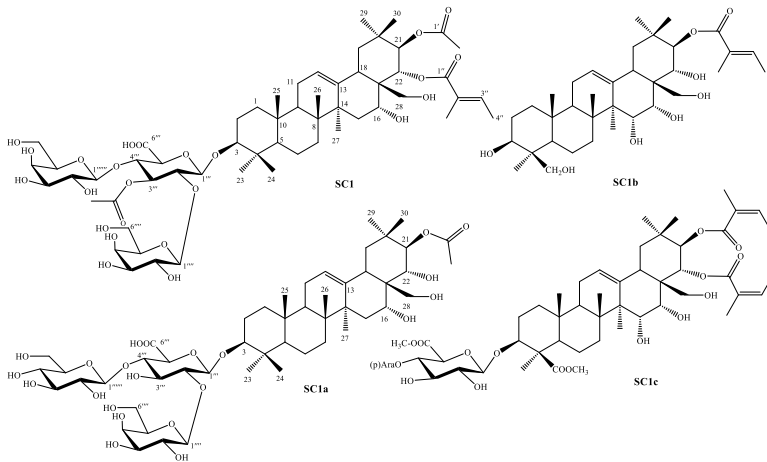
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *S. cochinchinensis*



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập từ loài *E. prostrata*

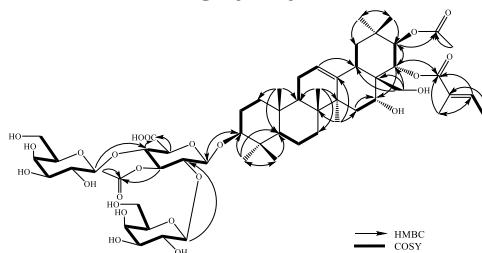
3.2.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài *S. cochinchinensis*

3.2.1.1. Hợp chất SC1: symplosaponin A (hợp chất mới)

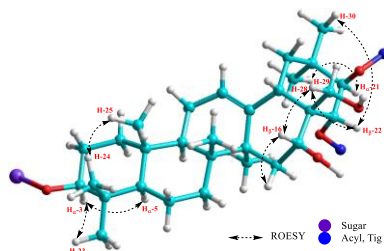


Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của SC1 và chất tham khảo SC1a, SC1b, SC1c

Hợp chất **SC1** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Công thức phân tử được xác định là $C_{57}H_{88}O_{24}$ bằng pic ion giả phân tử tại m/z 1179,5538 $[M+Na]^+$ trên phổ HR-ESI-MS (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{57}H_{88}O_{24}Na]^+$, 1179,5558). Phổ 1H -NMR của **SC1** xuất hiện tín hiệu proton của bảy nhóm methyl tại δ_H 0,88, 0,89, 0,96, 1,00, 1,07, 1,09, và 1,50 (mỗi nhóm, 3H, s) và một proton olefin tại δ_H 5,40 (1H, t, $J = 3,0$ Hz) đặc trưng cho sự có mặt của triterpene khung oleanane. Ngoài ra, có sự có mặt của một proton olefin tại δ_H 6,92 (1H, dq, $J = 1,8, 7,2$ Hz) và hai nhóm methyl xuất hiện ở vùng trường cao tại δ_H 1,81 (3H, dd, $J = 1,8, 7,2$ Hz) và 1,84 (3H, d, $J = 1,8$ Hz) gợi ý sự có mặt của nhóm nhóm tigloyl. Hai nhóm methyl của acetyl tại δ_H 1,92 và 2,14 (mỗi nhóm, 3H, s). Ba proton anome tại δ_H 4,37 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 4,41 (1H, d, $J = 7,2$ Hz) và 4,59 (1H, d, $J = 7,8$ Hz) gợi ý sự có mặt của ba đơn vị monosaccharide. Các giá trị hằng số tương tác J khá lớn cho thấy các phân tử monosaccharide này đều có liên kết β -glycoside. Phổ ^{13}C -NMR và HSQC xuất hiện tín hiệu của 57 carbon, bao gồm bốn carbon carbonyl tại δ_C 170,1, 172,9, 172,9, 176,0, tám carbon bậc bốn tại δ_C 36,7, 37,8, 40,4, 41,0, 42,4, 49,0, 129,6 và 143,0, 24 carbon methine tại δ_C 40,8, 48,0, 57,0, 69,7, 70,1, 70,1, 72,5, 72,7, 74,9, 74,9, 75,2, 76,7, 76,7, 76,8, 77,8, 78,3, 79,4, 80,5, 91,8, 104,5, 105,0, 105,3, 125,3 và 139,3, 10 carbon methylene tại δ_C 19,3, 24,7, 27,0, 34,0, 34,9, 40,0, 47,8, 62,3, 62,5 và 64,5 và 11 carbon methyl tại δ_C 12,1, 14,4, 16,2, 16,9, 17,3, 19,9, 21,0, 21,7, 27,7, 28,4 và 29,5. Phân tích số liệu phổ NMR cho thấy cấu trúc của **SC1** giống như của aesculiside D (**SC1a**) [114], ngoại trừ sự khác biệt về chuỗi đơn vị đường tại C-3 và nhóm tigloyloxy tại C-22.



Hình 3.4. Các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất **SC1**



Hình 3.5. Các tương tác NOE chính của hợp chất **SC1**

Tương tác HMBC giữa H-28 (δ_{H} 2,94 và 3,27) và C-17 (δ_{C} 49,0)/C-18 (δ_{C} 40,8)/C-22 (δ_{C} 75,2), giữa H-22 (δ_{H} 5,48) và C-16 (δ_{C} 69,7)/C-21 (δ_{C} 80,5)/C-28 (δ_{C} 64,5) cho thấy sự có mặt của các nhóm liên kết trực tiếp với oxy tại C-16, C-21, C-22 và C-28. Hai nhóm acetyl được xác định tại C-21 và C-3'''. Nhóm acetyl thứ nhất tại C-21 với các tín hiệu C-1' (δ_{C} 172,9), H-2' (δ_{H} 1,92)/C-2' (δ_{C} 21,0) được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-21 (δ_{H} 5,90) và C-1' (δ_{C} 172,9). Nhóm acetyl thứ hai tại C-3''' với các tín hiệu C-1'''' (δ_{C} 172,9), H-2'''' (δ_{H} 2,14)/C-2'''' (δ_{C} 21,7) được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-3''' (δ_{H} 5,21) và C-1'''' (δ_{C} 172,9). Vị trí liên kết đôi tại C-2''/C-3'' và nhóm carbonyl tại C-1'' trong nhóm tigloyl được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-5'' (δ_{H} 1,84) và C-1'' (δ_{C} 170,1)/C-2'' (δ_{C} 129,6)/C-3'' (δ_{C} 139,3), giữa H-3'' (δ_{H} 6,92) và C-1'' (δ_{C} 170,1)/C-4'' (δ_{C} 14,4)/C-5'' (δ_{C} 12,1). Ngoài ra, độ dịch chuyển hóa học của C-4'' (δ_{C} 14,4)/C-5'' (δ_{C} 12,1) cho thấy liên kết đôi giữa C-2''/C-3'' có cấu hình Z, được xác định bằng cách so sánh phổ ^{13}C -NMR với hợp chất **SC1b** (21-O-tigloyl-24-hydroxy-R1-barrigenol, cấu hình Z) có tín hiệu C-4'' (δ_{C} 14,2)/C-5'' (δ_{C} 12,6)] [115] và hợp chất **SC1c** (TR-saponin A methyl ester, cấu hình E) có tín hiệu C-4'' (δ_{C} 16,5)/C-5'' (δ_{C} 20,9)] [116]. Do đó, nhóm thế được xác định là nhóm tigloyl và vị trí của nhóm tigloyloxy tại C-22 được xác định bởi tương tác HMBC từ H-22 (δ_{H} 5,48) đến C-1'' (δ_{C} 170,1). Tiến hành thủy phân hợp chất **SC1** trong môi trường axit, thu được các monosaccharide. Dựa trên kết quả đo độ quay cực riêng và đối chiếu dữ liệu tham khảo, các monosaccharide này được xác định là acid D-glucuronic và D-galactose. Cụ thể: D-glucuronic acid có giá trị +9,9 (c 0,1, H₂O), phù hợp với tài liệu công bố (+10,2) [117]. D-galactose có giá trị +79,8 (c 0,1, H₂O), phù hợp với tài liệu công bố (+80,1) [118].

Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **SC1** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J=Hz$)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J=Hz$)
1	38,7	40,0	1,01 (m) 1,63 (m)	21-O-Ac			
2	26,6	27,0	1,72 (m) 1,96 (m)	1'	171,4	172,9	-
3	89,2	91,8	3,22 (dd, 4,8, 11,4)	2'	21,4	21,0	1,92 (s)
4	39,2	40,4	-	22-O-Tig			
5	55,7	57,0	0,80 (br d, 12,0)	1''		170,1	-
6	18,4	19,3	1,42 (m) 1,59 (m)	2''		129,6	-
7	33,1	34,0	1,35 (m) 1,62 (m)	3''		139,3	6,92 (dq, 1,8, 7,2)
8	40,0	41,0	-	4''		14,4	1,81 (dd, 1,8, 7,2)
9	46,9	48,0	1,70 (m)	5''		12,1	1,84 (d, 1,8)
10	36,7	37,8	-	3-O-GlA			
11	23,8	24,7	1,92 (m)	1'''	105,5	105,3	4,59 (d, 7,8)
12	123,3	125,3	5,40 (t, 3,0)	2'''	82,3	78,3	3,84 (m)
13	143,5	143,0	-	3'''	75,8	76,8	5,21 (t, 9,0)
14	41,8	42,4	-	4'''	81,8	79,4	3,90 (d, 9,6)
15	34,4	34,9	1,37 (m) 1,69 (m)	5'''	75,5	77,8	3,82 (m)
16	67,8	69,7	3,97 (br s)	6'''	172,2	176,0	-
17	48,1	49,0	-	2'''-O-Gal I			
18	40,4	40,8	2,64 (br d, 11,4)	1''''	106,7	105,0	4,41 (d, 7,2)
19	47,5	47,8	1,20 (m) 2,68 (d, 11,4)	2''''	74,6	72,5	3,47*
20	36,1	36,7	-	3''''	74,8	74,9	3,45 (m)
21	81,9	80,5	5,90 (d, 10,2)	4''''	69,5	70,1	3,82 (br s)
22	72,8	75,2	5,48 (d, 10,2)	5''''	76,9	76,7	3,47*
23	28,0	28,4	1,09 (s)	6''''	61,3	62,5	3,67 (dd, 5,4, 11,4) 3,76 (m)
24	16,7	16,9	0,89 (s)	3'''-OAc			
25	15,7	16,2	1,00 (s)	1'''''		172,9	-
26	16,9	17,3	0,96 (s)	2'''''		21,7	2,14 (s)
27	27,4	27,7	1,50 (s)	4'''-O-Gal/Glc	Glc	Gal II	
28	66,0	64,5	2,94 (d, 11,4) 3,27 (d, 11,4)	1'''''	104,5	104,5	4,37 (d, 6,6)
29	29,8	29,5	0,88 (s)	2'''''	74,8	72,7	3,42 (m)
30	20,2	19,9	1,07 (s)	3'''''	78,0	74,9	3,50 (m)
				4'''''	71,5	70,1	3,82 (br s)
				5'''''	78,7	76,7	3,47*
				6'''''	62,4	62,3	3,67 (dd, 5,4, 11,4) 3,76 (m)

^ađo trong CD₃OD, ^b150MHz, ^c600MHz. [#] δ_C của aesculide D (**SC1a**, đo trong pyridine-*d*₅) [114], GlA: glucuronopyranosyl, Glc: glucopyranosyl, Gal: galactopyranosyl, Tig: tigloyl, Ac: acetyl, * tín hiệu chồng chập.

Để xác định các nhóm thế cũng như trật tự liên kết của các phân tử monosaccharide, các phổ HSQC, COSY và HMBC đã được sử dụng, thu

được các giá trị phổ đặc trưng như sau: acid D-glucuronic: H-1''' (δ_H 4,59)/C-1''' (δ_C 105,3), H-2''' (δ_H 3,84)/C-2''' (δ_C 78,3), H-3''' (δ_H 5,21)/C-3''' (δ_C 76,8), H-4''' (δ_H 3,90)/C-4''' (δ_C 79,4), H-5''' (δ_H 3,82)/C-5''' (δ_C 77,8) và C-6''' (δ_C 176,0); D-galactose thứ nhất: H-1'''' (δ_H 4,41)/C-1'''' (δ_C 105,0), H-2'''' (δ_H 3,47)/C-2'''' (δ_C 72,5), H-3'''' (δ_H 3,45)/C-3'''' (δ_C 74,9), H-4'''' (δ_H 3,82)/C-4'''' (δ_C 70,1), H-5'''' (δ_H 3,47)/C-5'''' (δ_C 76,7) và H-6'''' (δ_H 3,67 và 3,76)/C-6'''' (δ_C 62,5); D-galactose thứ hai: H-1''''' (δ_H 4,37)/C-1''''' (δ_C 104,5), H-2''''' (δ_H 3,42)/C-2''''' (δ_C 72,7), H-3''''' (δ_H 3,50)/C-3''''' (δ_C 74,9), H-4''''' (δ_H 3,82)/C-4''''' (δ_C 70,1), H-5''''' (δ_H 3,47)/C-5''''' (δ_C 76,7) và H-6''''' (δ_H 3,67 và 3,76)/C-6''''' (δ_C 62,3). Mặt khác, vị trí của hai đơn vị đường D-galactose tại C-2''' và C-4''' được xác định thông qua tương tác HMBC giữa H-1''' (δ_H 4,41) và C-2''' (δ_C 78,3) và giữa H-1''''' (δ_H 4,37) và C-4''' (δ_C 79,4). Tương tác HMBC giữa H-1''' (δ_H 4,59) và C-3 (δ_C 91,8) gợi ý chuỗi liên kết đường O- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-(3-acetyl)-glucuronopyranoside tại vị trí C-3 (Hình 3.4). Cấu hình β của H-16 và H-22 cũng được xác định bằng tương tác NOE giữa H-28 (δ_H 2,94 và 3,27) và H-16 (δ_H 3,97)/H-22 (δ_H 5,48). Cấu hình α của H-21 được xác định bằng tương tác NOE giữa H-29 (δ_H 0,88) và H-21 (δ_H 5,90), giữa H-30 (δ_H 1,07) và H-22 (δ_H 5,48). Cấu hình α của H-3 được xác định bằng tương tác NOE giữa H-3 (δ_H 3,22) và H-5 (δ_H 0,80), giữa H-3 (δ_H 3,22) và H-23 (δ_H 1,09) và giữa H-24 (δ_H 0,89) và H-25 (δ_H 1,00) (Hình 3.5). Từ các bằng chứng phổ nêu trên, cấu trúc của **SC1** được xác định là 21 β -acetox-22 α -tigloyloxy-3 β ,16 α ,28-trihydroxyolean-12-ene 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-(3-acetyl)glucuronopyranoside. Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là **symplosaponin A** (Hình 3.3).

3.2.1.2. *Hợp chất SC2: symplosaponin B (hợp chất mới)*

3.2.1.3. *Hợp chất SC3: symplosaponin C (hợp chất mới)*

3.2.1.4. *Hợp chất SC4: symplosaponin D (hợp chất mới)*

3.2.1.5. *Hợp chất SC5: symplolignan A (hợp chất mới)*

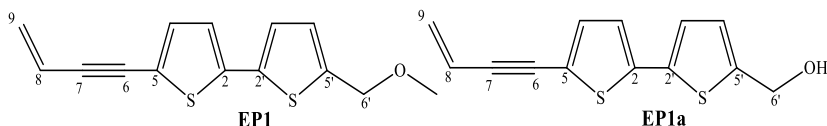
3.2.1.6. *Hợp chất SC6: symplolignan B (hợp chất mới)*

- 3.2.1.7. Hợp chất **SC7**: 1-O- $[\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-2-methoxy-4-propenylphenol
- 3.2.1.8. Hợp chất **SC8**: 1-O- $[\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranosyl]-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol
- 3.2.1.9. Hợp chất **SC9**: 6-O-p-coumaroyl- β -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucopyranoside
- 3.2.1.10. Hợp chất **SC10**: arillatose B
- 3.2.1.11. Hợp chất **SC11**: secoisolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.12. Hợp chất **SC12**: matairesinol 4-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.13. Hợp chất **SC13**: nortracheloside
- 3.2.1.14. Hợp chất **SC14**: nortrachelogenin 4-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.15. Hợp chất **SC15**: lariciresinol 4'-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.16. Hợp chất **SC16**: balanophonin 4-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.17. Hợp chất **SC17**: dehydrodiconiferyl alcohol 4-O- β -D-glucopyranoside
- 3.2.1.18. Hợp chất **SC18**: dihydridehydrodiconiferyl alcohol 9-O- β -D-glucopyranoside

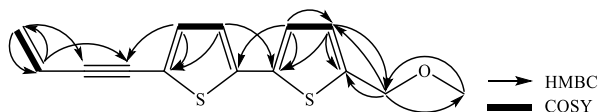
Kết luận: Kết quả của các công trình nghiên cứu trên thế giới cho thấy, chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *S. cochinchinensis*. Các hợp chất đã được phân lập chủ yếu thuộc khung triterpenoid, ngoài ra còn có iridoid, lignan và một số hợp chất khác. Khi phân tích thành phần hóa học của loài *S. cochinchinensis*, chúng tôi đã phân lập được 6 hợp chất mới, bao gồm 4 hợp chất triterpenoid (**SC1-SC4**) và 2 hợp chất lignan (**SC5, SC6**). Ngoài ra, tra cứu trên hệ thống SciFinder, trong số 12 hợp chất đã biết, có 11 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Symplocos* (**SC7, SC9-SC18**) và 1 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài *S. cochinchinensis* (**SC8**). Đây là những đóng góp của nghiên cứu góp phần bổ sung các hợp chất mới vào danh mục thành phần hóa học của loài *S. cochinchinensis*.

3.2.2. Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ loài *E. prostrata*

3.2.2.1. Hợp chất **EP1**: 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene (hợp chất mới)



Hình 3.6. Cấu trúc hóa học của hợp chất **EP1** và hợp chất tham khảo



Hình 3.7. Các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất **EP1**

Hợp chất **EP1** thu được dưới dạng dầu màu nâu. Công thức phân tử được xác định là $C_{14}H_{12}OS_2$ bằng phổ HR-ESI-MS với sự xuất hiện của pic ion tại m/z 261,0405 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{14}H_{13}OS_2]^+$, 261,0402). Phổ 1H -NMR của **EP1** xuất hiện tín hiệu của bốn proton thơm tại δ_H 6,89 (1H, d, $J = 3,6$ Hz), 7,00 (1H, d, $J = 4,2$ Hz), 7,03 (1H, d, $J = 3,6$ Hz) và 7,08 (1H, d, $J = 4,2$ Hz), ba proton olefin của nhóm vinyl tại δ_H 5,55 (1H, dd, $J = 1,8, 11,4$ Hz), 5,72 (1H, dd, $J = 1,8, 17,4$ Hz) và 6,02 (1H, dd, $J = 11,4, 17,4$ Hz), một nhóm methylene liên kết trực tiếp với oxy tại δ_H 4,58 (2H, s) và một nhóm methoxy tại δ_H 3,40 (3H, s). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **EP1** cho thấy sự có mặt của 14 cacbon, trong đó có sáu cacbon không liên kết với hydro tại δ_C 83,2, 93,1, 121,8, 137,1, 139,0 và 140,8, năm cacbon methine tại δ_C 116,8, 123,5, 123,7, 127,2 và 132,8, hai cacbon methylene tại δ_C 69,1 và 127,0 và một carbon methoxy tại δ_C 57,8. Phân tích số liệu phổ NMR cho thấy cấu trúc của **EP1** giống như của 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-hydroxymethyl-2,2'-bithiophene (**EP1a**) (Hình 3.6) [130] ngoại trừ việc bổ sung nhóm methoxy trong hợp chất **EP1**. Sự có mặt của bithiophene được xác nhận bằng tương tác HMBC giữa H-3 (δ_H 7,00) và C-2 (δ_C 139,0)/C-4 (δ_C 132,8)/C-5 (δ_C 121,8)/C-2' (δ_C 137,1), giữa H-3' (δ_H 7,03) và C-2 (δ_C

139,0)/C-2' (δ_C 137,1)/C-4' (δ_C 127,2)/C-5' (δ_C 140,8) và tương tác COSY giữa H-3 (δ_H 7,00)/H-4 (δ_H 7,08) và H-3' (δ_H 7,03)/H-4' (δ_H 6,89). Tương tác HMBC giữa H-9 (δ_H 5,55 và 5,72) và C-7 (δ_C 93,1)/C-8 (δ_C 116,8) và giữa H-8 (δ_H 6,02) và C-6 (δ_C 83,2)/C-7 (δ_C 93,1) xác định sự có mặt của nhóm but-3-en-1-yn-1-yl. Vị trí nhóm này tại C-5 của bithiophene được xác định bằng tương tác HMBC giữa H-4 (δ_H 7,08) và C-6 (δ_C 83,2). Tương tác HMBC từ proton methoxy (δ_H 3,40) đến C-6' (δ_C 69,1) và từ H-6' (δ_H 4,58) đến C-4' (δ_C 127,2)/C-5' (δ_C 140,8) và carbon methoxy (δ_C 57,8) đã xác định vị trí của nhóm methoxymethyl tại C-5' của bithiophene. Do đó, cấu trúc của hợp chất mới **EP1** được xác định là 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene.

Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất EP1 và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J=Hz)	C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J=Hz)
2'	138,9	137,1	-	4	132,8	132,8	7,08 (d, 4,2)
3'	123,8	123,7	7,03 (d, 3,6)	5	121,9	121,8	-
4'	126,1	127,2	6,89 (d, 3,6)	6	83,1	83,2	-
5'	143,8	140,8	-	7	93,0	93,1	-
6'	60,1	69,1	4,58 (s)	8	116,8	116,8	6,02 (dd, 11,4, 17,4)
2	138,5	139,0	-	9	126,9	127,0	5,55 (dd, 1,8, 11,4)
							5,72 (dd, 1,8, 17,4)
3	123,4	123,5	7,00 (d, 4,2)	6'-OMe		57,8	3,40 (s)

^ađo trong CDCl₃, ^b150 MHz, ^c600 MHz, [#] δ_C của hợp chất 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-hydroxymethyl-2,2'-bithiophene (đo trong CDCl₃) [130]

3.2.2.2. *Hợp chất EP2: senecioester*

3.2.2.3. *Hợp chất EP3: tiglinsaureester*

3.2.2.4. *Hợp chất EP4: 5'-acetoxymethyl-5-(3-butene-1-ynyl)-2,2'-bithiophene*

3.2.2.5. *Hợp chất EP5: 5-(4-isovaleroyloxybut-1-ynyl)-2,2'-bithiophene*

3.2.2.6. *Hợp chất EP6: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate*

3.2.2.7. *Hợp chất EP7: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl angelate*

3.2.2.8. *Hợp chất EP8: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthiophene dimethylacrylate*

3.2.2.9. *Hợp chất EP9: 5-methoxymethyl-2,2':5',2'')-terthiophene*

3.2.2.10. *Hợp chất EP10: α -terthiophene*

3.2.2.11. *Hợp chất EP11: 1,3,8,9-tetrahydroxycoumestan 3-sulfate*

3.2.2.12. *Hợp chất EP12: demethylwedelolactone*

3.2.2.13. Hợp chất **EP13**: wedelolactone

3.2.2.14. Hợp chất **EP14**: eclalbasaponin I

3.2.2.15. Hợp chất **EP15**: eclalbasaponin II

3.2.2.16. Hợp chất **EP16**: eclalbasaponin III

3.2.2.17. Hợp chất **EP17**: eclalbasaponin IV

3.2.2.18. Hợp chất **EP18**: eclalbasaponin V

3.2.2.19. Hợp chất **EP19**: eclalbasaponin VI

Kết luận: Loài *E. prostrata* được xác định chứa nhiều hợp chất đa dạng và phong phú, trong đó đặc trưng là các hợp chất thiophen - một lớp chất hiếm gặp trong các loài thực vật khác. Trong nghiên cứu của chúng tôi, không ngoại lệ, chúng tôi đã phân lập được 19 hợp chất bao gồm 1 hợp chất mới thiophen (**EP1**) và 18 hợp chất đã biết (**EP2-EP19**), thuộc ba nhóm chính: 9 hợp chất thiophen, 3 hợp chất caumestan và 6 hợp chất triterpenoid. Đáng chú ý, 3 hợp chất **EP2**, **EP3** và **EP9** lần đầu tiên được công bố số liệu phổ NMR và 3 hợp chất (**EP11-EP13**) đã được các nghiên cứu trước đó đánh giá là có tác dụng tích cực trong chống viêm và bảo vệ gan.

3.3. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học.

3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng sống của tế bào gan của loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore

Các hợp chất phân lập được từ lá loài *S. cochinchinensis* (**SC1-SC18**) được đánh giá khả năng sống của tế bào gan *in vitro* trên dòng tế bào HepG2 tại các nồng độ 1 μM và 10 μM .

Bảng 3.3. Kết quả đánh giá khả năng sống của tế bào gan loài *S. cochinchinensis*

Hợp chất	Nồng độ ^s		Hợp chất	Nồng độ ^s	
	1 μM	10 μM		1 μM	10 μM
SC1	91,1 $\pm$ 3,3	75,9 $\pm$ 3,3	SC10	88,5 $\pm$ 1,0	87,4 $\pm$ 1,9
SC2	82,5 $\pm$ 4,4	56,1 $\pm$ 2,8	SC11	108,1 $\pm$ 3,1**	107,4 $\pm$ 0,9*
SC3	89,5 $\pm$ 1,6	83,7 $\pm$ 2,6	SC12	107,9 $\pm$ 1,9	109,2 $\pm$ 3,3
SC4	85,9 $\pm$ 8,3	84,7 $\pm$ 4,4	SC13	102,2 $\pm$ 3,5	106,5 $\pm$ 2,0
SC5	105,4 $\pm$ 2,9	107,4 $\pm$ 0,4	SC14	86,8 $\pm$ 4,0	88,3 $\pm$ 4,6

SC6	90,1 ± 0,9	82,8 ± 3,8	SC15	90,7 ± 1,4	90,7 ± 1,0
SC7	107,3 ± 6,0	103,6 ± 6,6	SC16	103,9 ± 1,6	105,0 ± 2,6
SC8	108,7 ± 2,9	111,4 ± 2,2*	SC17	105,5 ± 1,7	106,5 ± 1,5
SC9	98,3 ± 1,5	100,7 ± 1,6	SC18	95,7 ± 1,7	87,4 ± 2,2
Mẫu trắng	100,0 ± 6,0				
Paracetamol [#]	89,2 ± 3,6				
Silymarin [©]	106,0 ± 2,9				

\$ % sống của tế bào tại nồng độ thử nghiệm, * $P < 0,1$ và ** $P < 0,01$ cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng, [#]nồng độ 6,32 μM , [©]nồng độ 10 μM

Kết quả nghiên cứu cho thấy hai hợp chất phenolic **SC7** và **SC8** cùng sáu hợp chất lignan **SC5**, **SC11**, **SC12**, **SC13**, **SC16** và **SC17** có khả năng làm tăng tỷ lệ sống của tế bào gan HepG2 (trên 100 %), phản ánh tác dụng sinh học tích cực đối với tế bào gan khỏe mạnh. Đặc biệt, hợp chất **SC8**, **SC11** và **SC12** thể hiện hiệu quả ổn định và rõ rệt, trong đó **SC8** cho tác dụng mạnh nhất ở nồng độ 10 μM với tỷ lệ sống đạt 111,4%, vượt cả Silymarin (106,0%) và mẫu trắng (100%). Ngoài ra, **SC7**, **SC11** và **SC12** cũng cho hiệu quả tương đương Silymarin ở nồng độ 1 μM . So với Paracetamol (89,2%), các hợp chất này không chỉ giúp bảo vệ tế bào gan khỏi độc tính mà còn có thể hỗ trợ phục hồi hoặc kích thích tăng trưởng tế bào khỏe mạnh. Do đó, cần có những nghiên cứu sâu hơn về tác động của các hợp chất **SC7**, **SC8**, **SC11** và **SC12** đến khả năng sống của tế bào gan.

3.3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan của loài *E. prostrata*

Trên cơ sở kết quả đánh giá hoạt tính bảo vệ gan của các cận chiết, 19 hợp chất đã được phân lập theo định hướng hoạt tính sinh học từ loài *E. prostrata*. Kết quả đánh giá khả năng bảo vệ tế bào gan *in vitro* trên dòng tế bào HepG2 của cận chiết và các hợp chất phân lập được (**EP1-EP13**) ở nồng độ 20 μM và 100 μM (đối với các chất sạch) và nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ (đối với cận chiết) được thể hiện ở Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan của loài *E. prostrata*

Hợp chất	% bảo vệ		Hợp chất	% bảo vệ	
	nồng độ 20 ^{a,b}	nồng độ 100 ^{a,b}		nồng độ 20 ^{a,b}	nồng độ 100 ^{a,b}
EP1	17,97±0,94	25,38±1,75	EP11	15,97±1,01	38,68±1,57
EP2	12,92±0,37	10,06±0,47	EP12	22,7±1,50	48,54±1,22
EP3	19,96±0,94	28,87±0,23	EP13	20,67±1,94	45,16±1,31
EP4	17,19±1,17	21,98±2,03	MeOH	12,25±0,94	20,74±1,24

EP5	13,19±0,76	12,49±1,34	n-hexane	5,86±0,68	10,67±1,16
EP6	9,06±0,69	15,58±1,33	CH₂Cl₂	14,92±1,07	27,34±1,34
EP7	13,04±0,47	18,51±0,23	EtOAc	15,14±1,01	32,33±1,20
EP8	15,69±0,94	17,37±0,70	H₂O	16,69±1,33	21,59±1,89
EP9	6,41±0,39	17,13±1,76	Quercetin	31,39±1,22	72,31±3,70
EP10	12,38±0,47	15,20±0,70			

^anồng độ μM đối với chất sạch, ^bnồng độ $\mu\text{g/mL}$ đối với căn chiết

Kết quả đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan cho thấy căn chiết MeOH có khả năng bảo vệ gan ở mức trung bình với hiệu quả bảo vệ đạt 20,74% ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Phần EtOAc thể hiện hoạt tính bảo vệ tế bào gan cao nhất với hiệu quả bảo vệ đạt 32,33%, tiếp theo là phần CH₂Cl₂ và dịch nước với các mức tương ứng 27,34% và 21,59%. Tuy nhiên, phần EtOAc và CH₂Cl₂ chưa được nghiên cứu sâu hơn do lượng căn chiết nhỏ. Ở nồng độ 100 μM , các hợp chất bithiophene **EP1**, **EP3**, **EP4** thể hiện hoạt tính bảo vệ gan ở mức trung bình với hiệu quả bảo vệ lần lượt là 25,38%, 28,87% và 21,98%. Trong khi đó, các hợp chất thuộc bộ khung coumestan **EP11** - **EP13** cho hiệu quả bảo vệ gan cao nhất với mức bảo vệ đạt 38,68%, 48,54% và 45,16%.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Từ loài *S. cochinchinensis* được thu hái tại Vĩnh Phúc và loài *E. prostrata* được thu hái tại Hưng Yên, sau khi xử lý ngâm, chiết và tiến hành phân lập bằng các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại, có sự so sánh số liệu phổ với các hợp chất tương tự trong tài liệu tham khảo, chúng tôi đã:

- Phân lập và xác định cấu trúc 18 hợp chất từ loài *S. cochinchinensis*. Trong đó, có 6 hợp chất mới là symplosaponin A (**SC1**), symplosaponin B (**SC2**), symplosaponin C (**SC3**), symplosaponin D (**SC4**), symplolignan A (**SC5**) symplolignan B (**SC6**) và 12 hợp chất đã biết (**SC7-SC18**). Đặc biệt, 11 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Symplocos*, bao gồm 1-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-2-methoxy-4-propenylphenol (**SC7**), 6-O-p-coumaroyl- β -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucopyranoside (**SC9**), arillatose B (**SC10**), secoisolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranoside (**SC11**), matairesinol 4-O- β -D-glucopyranoside (**SC12**), nortracheloside (**SC13**), nortrachelogenin 4-O- β -D-glucopyranoside (**SC14**), lariciresinol 4'-O- β -D-glucopyranoside (**SC15**), balanophonin 4-O- β -D-glucopyranoside

(**SC16**), dehydrodiconiferyl alcohol 4-*O*- β -D-glucopyranoside (**SC17**) và dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9-*O*- β -D-glucopyranoside (**SC18**) cùng với 1 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ loài *S. cochinchinensis* là 1-*O*-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- β -D-glucopyranosyl]-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol (**SC8**).

- Phân lập và xác định cấu trúc 19 hợp chất từ loài *E. prostrata*. Trong đó, có 1 hợp chất mới là 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene (**EP1**) và 18 hợp chất đã biết (**EP2-EP19**). Đáng chú ý, 3 hợp chất senecioester (**EP2**), tiglinsaurester (**EP3**) và 5-methoxymethyl-2,2':5',2''-terthiophene (**EP9**) lần đầu tiên được công bố số liệu phổ NMR.

2. Đã đánh giá tác động của các hợp chất phân lập từ loài *S. cochinchinensis* đến khả năng sống của tế bào gan và xác định hoạt tính bảo vệ tế bào gan của loài *E. prostrata* trên tế bào HepG2. Kết quả cho thấy:

- Đối với loài *S. cochinchinensis*, các hợp chất **SC8**, **SC11** và **SC12** cho thấy tác dụng ổn định đối với chức năng gan, Ở nồng độ 10 μ M, hợp chất **SC8** thể hiện hoạt tính tiềm năng nhất, làm tăng khả năng sống của tế bào gan lên 111,4%. Trong khi đó, hợp chất **SC11** và **SC12** ở nồng độ 1 μ M làm tăng khả năng sống của tế bào gan lên 108,1% và 107,9%. Ngoài ra các hợp chất **SC5**, **SC7**, **SC13**, **SC16** và **SC17** cũng cho thấy tác dụng tăng cường đáng kể khả năng sống của tế bào gan HepG2.

- Đối với loài *E. prostrata*, ở nồng độ 100 μ g/mL, căn chiết EtOAc và CH_2Cl_2 thể hiện hoạt tính bảo vệ gan cao nhất với khả năng bảo vệ lần lượt là 32,3% và 27,34%. Căn chiết MeOH và dịch nước có hoạt tính bảo vệ gan trung bình với khả năng bảo vệ lần lượt là 20,74% và 21,59%. Ở nồng độ 100 μ M, các hợp chất **EP11** - **EP13** cho hiệu quả bảo vệ gan cao nhất với khả năng bảo vệ là 38,68%, 48,54% và 45,16%.

KIẾN NGHỊ

Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài *S. cochinchinensis* và *E. prostrata* đã góp phần bổ sung các hợp chất mới vào danh mục thành phần hóa học của chúng. Đặc biệt, thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hợp chất **SC8**, **SC11** và **SC12** cho thấy tác dụng ổn định đối với chức năng gan. Do đó, có thể tiến hành các thử nghiệm *in vivo* để đánh giá sâu hơn, từ đó định hướng tiềm năng ứng dụng của các hợp chất này.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ hai loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore và loài *Eclipta prostrata* (L.) L.

• Đối với loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore:

○ Phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất mới: symposaponin A (SC1), symposaponin B (SC2), symposaponin C (SC3), symposaponin D (SC4), symplolignan A (SC5), symplolignan B (SC6).

○ Phân lập 11 hợp chất lần đầu tiên được ghi nhận từ chi *Symplocos*, bao gồm: 1-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-2-methoxy-4-propenylphenol (SC7), 6-O-p-coumaroyl- β -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucopyranoside (SC9), arillatose B (SC10), secoisolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranoside (SC11), matairesinol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC12), nortracheloside (SC13), nortrachelogenin 4-O- β -D-glucopyranoside (SC14), lariciresinol 4'-O- β -D-glucopyranoside (SC15), balanophonin 4-O- β -D-glucopyranoside (SC16), dehydrodiconiferyl alcohol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC17) và dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9-O- β -D-glucopyranoside SC18.

○ Phân lập 1 hợp chất lần đầu tiên được ghi nhận từ loài *S. cochinchinensis*: 1-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranosyl]-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol (SC8).

• Đối với loài *Eclipta prostrata* (L.)

○ Phân lập và xác định cấu trúc 1 hợp chất mới: 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene (EP1).

○ Công bố số liệu phổ NMR lần đầu tiên của 3 hợp chất: senecioester (EP2), tiglinsaurester (EP3) và 5-methoxymethyl-2,2':5',2''-terthiophene (EP9).

2. Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan *in vitro*.

• Đối với loài *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore: Xác định 8 hợp chất symplolignan A (SC5), 1-O-[β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl]-2-methoxy-4-propenylphenol (SC7), 1-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-glucopyranosyl]-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol (SC8), secoisolariciresinol 9'-O- β -D-glucopyranoside (SC11) và matairesinol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC12), nortracheloside (SC13), balanophonin 4-O- β -D-glucopyranoside (SC16) và dehydrodiconiferyl alcohol 4-O- β -D-glucopyranoside (SC17) có khả

năng làm tăng tỷ lệ sống của tế bào gan HepG2 so với mẫu trắng (trên 100 %). Trong đó, các hợp chất **SC7**, **SC8**, **SC11** và **SC12** có tác dụng tích cực, góp phần ổn định và cải thiện chức năng gan tương đương và mạnh hơn so với chất đối chứng Silymarin (106,0%). Đặc biệt, ở nồng độ 10 μ M, hợp chất **SC8** cho thấy tỷ lệ sống của tế bào gan cao nhất đạt 111,4%.

- Đối với loài *Eclipta prostrata* (L): Đã đánh giá được hoạt tính bảo vệ gan của các căn chiết và hợp chất phân lập trước tác nhân gây độc CCl_4 . Kết quả cho thấy, ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, căn chiết EtOAc và CH_2Cl_2 cho thấy hiệu quả bảo vệ tế bào gan cao nhất với tỷ lệ bảo vệ lần lượt là 32,3% và 27,34%. Các hợp chất coumestan wedelolactone (**EP11**), demethylwedelolactone (**EP12**) và 1,3,8,9-tetrahydroxycoumestan 3-sulfate (**EP13**) thể hiện hoạt tính vượt trội ở nồng độ 100 μM với tỷ lệ bảo vệ 38,68%, 48,54% và 45,16%. Một số hợp chất bithiophene 5-(but-3-en-1-yn-1-yl)-5'-(methoxymethyl)-2,2'-bithiophene (**EP1**), tiglinsaureester (**EP3**), 5'-acetoxymethyl-5-(3-butene-1-ynyl)-2,2'-bithiophene (**EP4**) cũng thể hiện hoạt tính bảo vệ gan ở mức trung bình (21,98% - 28,87%).

3. Lần đầu tiên, nghiên cứu này tiến hành đánh giá trực tiếp ảnh hưởng của các hợp chất phân lập từ loài *Symplocos cochinchinensis* đối với khả năng sống của tế bào gan *in vitro* trên dòng tế bào HepG2.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **L.T. Giang**, S. Lee, Y. Seo, N.T. Cuong, B.H. Tai, P. Van Kiem, N.T.M. Hang, N.T.T. Oanh, P. Van Cuong, N.K. Ban, S. Park, N.X. Nhiem, *Symplosaponins A–D: New acylated oleanane-type triterpene saponins from Symplocos cochinchinensis and their hepatoprotective effect*, Fitoterapia, 2024, 106056.
2. **L.T. Giang**, S. Park, S. Lee, Y. Seo, P. Van Kiem, B.H. Tai, N.T.M. Hang, V.M. Thao, P. Van Cuong, N.K. Ban, N.X. Nhiem, *Hepatoprotective Lignan Glycosides from the leaves and stems of Symplocos cochinchinensis (Lour.) S. Moore*, Chemistry & Biodiversity, 2024, 21, e202400896.
3. **L.T. Giang**, S. Park, N.T. Cuc, B.H. Tai, P.V. Kiem, N.T.M. Hang, N.K. Ban, P.V. Cuong, N.X. Nhiem, *Bithiophene and coumestan derivatives from Eclipta prostrata (L.) L. and their hepatoprotective activity*, Journal of Asian Natural Products Research, 2024, 1-7.
4. **Le Thi Giang**, Vu Mai Thao, Nguyen Tu Oanh, Vu Phuong Nhung, Nguyen Thi Minh Hang, Ninh Khac Ban, Nguyen Xuan Nhiem, *Review: The traditional uses, secondary metabolites, and pharmacology of Symplocos species*, Vietnam Journal of Science and Technology 63(5) (2025) 823-848.
5. **Lê Thi Giang**, Nguyễn Xuân Nhiệm, Ninh Khắc Bản, Nguyễn Thị Ánh Tuyết, *Các hợp chất lignan từ lá loài Symplocos cochinchinensis*, TNU Journal of Science and Technology, 2024, 10, 344 - 349.