

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**NGUYỄN ĐỨC DUY**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH  
ỨC CHẾ SẢN SINH NO *IN VITRO* CỦA HAI LOÀI  
*Cryptolepis buchananii* VÀ *Ailanthus triphysa***

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

**Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ**

**Mã số : 9.44.01.14**

**Hà Nội - 2026**

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: PGS. TS. Phan Văn Kiệm

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS. TS. Bùi Hữu Tài

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp cơ sở, họp tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ phút, ngày tháng năm 2026.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

## ĐẶT VẤN ĐỀ

### Tính cấp thiết của luận án

Điều kiện tự nhiên và khí hậu đặc trưng, đa dạng giữa các vùng miền, đã mang lại cho đất nước Việt Nam một hệ sinh thái thực vật phong phú. Bên cạnh đó, Việt Nam cũng là một trong những quốc gia có nền y học cổ truyền lâu đời, sử dụng nhiều loại thảo dược trong điều trị bệnh và tăng cường sức khỏe. Theo các nhà khoa học, Việt Nam có khoảng 12000 loài thực vật bậc cao, trong đó hơn 5000 loài được sử dụng làm dược liệu và thuốc chữa bệnh. Vai trò của nguồn tài nguyên cây thuốc ngày càng được nâng cao do có tiềm năng lớn trong việc nghiên cứu phát triển các loại thuốc điều trị. Các hướng nghiên cứu tìm kiếm phát hiện các hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học từ các cây thuốc truyền thống đang là lĩnh vực được các nhà khoa học quan tâm. Đó là những nghiên cứu cơ bản về xác định thành phần hóa học và tìm ra các hoạt chất thể hiện hoạt tính có tác dụng chữa bệnh và nâng cao sức khỏe.

Loài *Cryptolepis buchananii* thuộc họ Apocynaceae. Trên thế giới, loài *Cryptolepis buchananii* phân bố chủ yếu ở các khu vực nhiệt đới thuộc Châu Á. Ở Việt Nam, loài này sinh trưởng tại các vùng núi thấp giáp biên giới phía Bắc, đến vùng trung du, đồng bằng của các tỉnh ở Nam Bộ và các đảo lớn.

Loài *Ailanthus triphysa*, họ Simaroubaceae, phân bố chủ yếu ở Ấn Độ, Sri Lanka, Trung Quốc, Malaysia, Myanma, Thái Lan, Philippines, Indonesia và Việt Nam. Ở Việt Nam, loài này mọc hoang dại trong những khu rừng của các tỉnh Phú Thọ, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh.

Hai loài này đã được sử dụng trong các bài thuốc cổ truyền ở Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam, Indonesia, Thái Lan ... Chúng được biết đến với các công dụng để chữa các bệnh ngoài da, sốt, cúm, ho, tiêu chảy, ... Trên thế giới, cũng có các nghiên cứu minh chứng cho tác dụng gây độc tế bào, diệt côn trùng, kháng viêm, chống vi sinh vật và nhiều hoạt tính thú vị khác. Kết quả đánh giá sàng lọc theo hướng tìm kiếm các hoạt chất kháng viêm từ thực vật ở nước ta, dịch chiết methanol của hai loài *A. triphysa* và *C. buchananii* ức chế sản sinh NO rất tốt, tương ứng là 78% và 69% ở nồng độ 100 µg/ml. Mặt khác ở Việt Nam vẫn chưa có công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học nào về hai loài này. Vì vậy, hai loài nêu trên được lựa chọn để nghiên cứu, với đề xuất đề tài “Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế sản sinh NO in vitro của hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*”. Kết quả nghiên cứu của đề tài này sẽ góp phần làm rõ thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh NO của hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*, tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo phục vụ cuộc sống.

#### **Mục tiêu của luận án:**

- Xác định được thành phần hóa học chủ yếu của hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*.

- Đánh giá được hoạt tính ức chế khả năng sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất phân lập được từ hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*

#### **Nội dung luận án bao gồm:**

1. Phân lập các hợp chất từ hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa* bằng các phương pháp sắc ký.

2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng các phương pháp phổ hiện đại như HR-ESI-MS, NMR, UV, IR.

3. Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7 của các hợp chất phân lập được từ hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*.

## **CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN**

### **1.1. Giới thiệu về chi *Cryptolepis***

#### **1.1.1. Đặc điểm thực vật học của chi *Cryptolepis***

Chi *Cryptolepis* R.Br. là loài thực vật có hoa trong họ La bố ma (Apocynaceae), bộ Long đởm (Gentianales), phân lớp Mộc lan (Magnoliidae), lớp Cỏ tháp bút (Equisetopsida), ngành Liên cầu khuẩn (Streptophyta).

#### **1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Cryptolepis***

Hiện nay, đã có một số công trình nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Cryptolepis*, chủ yếu nghiên cứu về loài *C. sanguinolenta* và loài *C. buchananii*. Kết quả cho thấy 54 hợp chất đã được phân lập từ các loài thuộc chi *Cryptolepis* bao gồm các lớp chất là alkaloid (22 hợp chất), steroid (11 hợp chất), lignan (5 hợp chất), flavonoid (4 hợp chất) và một số hợp chất khác (12 hợp chất).

#### **1.1.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Cryptolepis***

Các nghiên cứu cho thấy một số loài thuộc chi *Cryptolepis* đã thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm và các hoạt tính sinh học khác

#### **1.1.4. Giới thiệu về loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult.**

Ở Việt Nam loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult. (gọi tắt là *C. buchananii*) còn được gọi là Sừng dê, Càng cua. Các báo cáo nghiên cứu cho thấy mới có hai mươi chín hợp chất được phân lập và xác định cấu trúc hóa học từ loài *C. buchananii*, bao gồm 4 alkaloid, 8 hợp chất steroid, 5 hợp chất lignan và 12 hợp chất khác; Hoạt tính sinh học của loài *C. buchananii*, như hoạt tính gây độc tế bào ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa.

## **1.2. Giới thiệu về chi *Ailanthus***

### **1.2.1. Đặc điểm thực vật học của chi *Ailanthus***

Chi *Ailanthus* Desf. là một loài thực vật có hoa trong họ Thanh thất (Simaroubaceae), bộ Bồ hòn (Sapindales), phân lớp Mộc lan (Magnoliidae), lớp Cỏ tháp bút (Equisetopsida), ngành Liên cầu khuẩn (Streptophyta).

### **1.2.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Ailanthus***

Đến nay, đã có nhiều công trình nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Ailanthus*, chủ yếu nghiên cứu về ba loài chính là *A. triphysa*, *A. altissinma* và *A. excelsa*. Kết quả cho thấy có trên 200 hợp chất đã được phân lập từ các loài thuộc chi *Ailanthus* bao gồm các lớp chất là alkaloid, terpenoid, quassinoid, steroid, flavonoid, benzopyranoid và một số hợp chất khác

### **1.2.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Ailanthus***

Các nghiên cứu cho thấy một số loài thuộc chi *Ailanthus* đã thể hiện hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, gây độc tế bào ung thư.

#### **1.2.4. Giới thiệu về loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston.**

Loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston (gọi tắt là *A. triphysa*) còn gọi là Bụt, Bông xước, Càn thôn, Thanh thất. Trên thế giới, đến nay đã có 17 công trình công bố nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *A. triphysa*. Trong đó, công bố bảy mươi hợp chất được phân lập từ loài này, bao gồm 10 hợp chất alkaloid, 40 hợp chất terpenoid, 4 hợp chất quassinoid, 3 hợp chất steroid, 2 hợp chất flavonoid, 5 hợp chất benzopyranoid và 6 hợp chất khác; Hoạt tính sinh học của loài *A. triphysa*, như hoạt tính gây độc tế bào ung thư, kháng khuẩn, kháng nấm và chống oxy hóa.

### **CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

##### **2.1.1. Loài *C. buchananii***

Mẫu lá và quả cây *Cryptolepis buchananii* được thu hái tại Dakrong, tỉnh Quảng Trị vào tháng 4 năm 2023 và được giám định bởi PGS. TS. Ninh Khắc Bản, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (NCCT-P144) được lưu tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

##### **2.1.2. Loài *A. triphysa***

Mẫu lá cây *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston được thu hái ở Mê Linh, Vĩnh Phúc (nay là tỉnh Phú Thọ) vào tháng 4 năm 2024 và được giám định bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (NCCT-P155) được lưu tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

##### **2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất**

Sử dụng các phương pháp chiết phân đoạn, sắc kí bản mỏng, sắc kí cột, sắc kí lỏng cao áp (HPLC)

### 2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc

The general method for determining the chemical structure of compounds involves combining the determination of physical parameters with modern spectroscopic techniques, including HR-ESI-MS, IR,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ , NOESY, HSQC, HMQC, and HMBC.

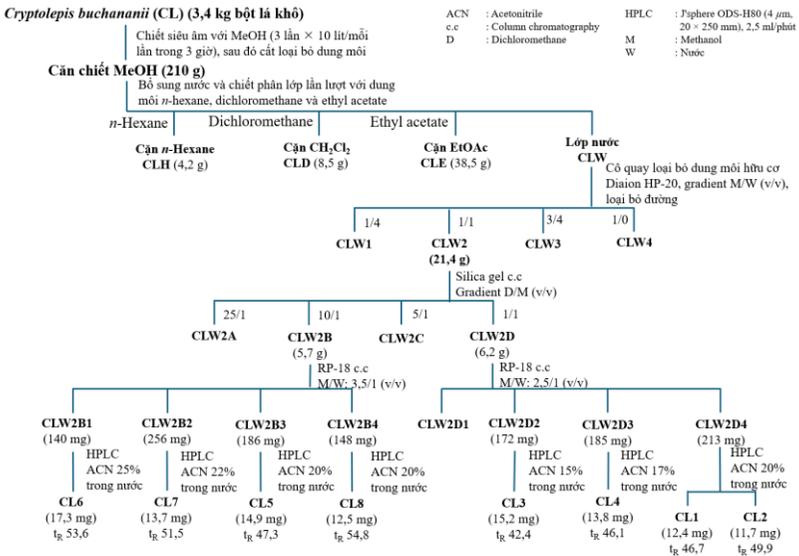
### 2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO

Đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO *in vitro* của các mẫu phân tích trên dòng tế bào RAW 264.7 được kích hoạt bởi LPS thông qua phản ứng Griess.

## CHƯƠNG 3: THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

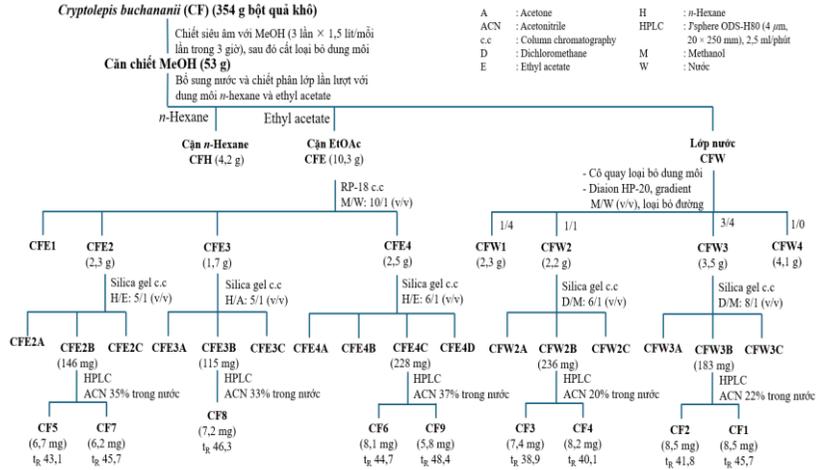
### 3.1. Phân lập các hợp chất

#### 3.1.1. Phân lập từ lá của loài *C. buchananii*



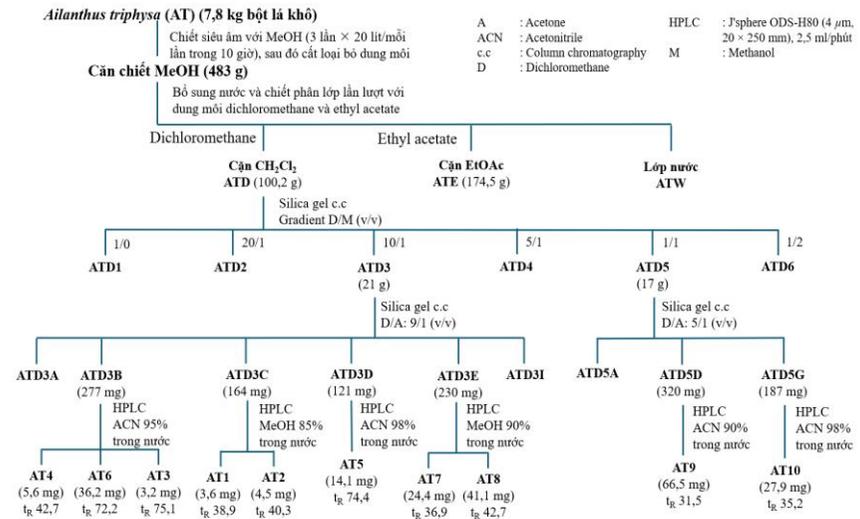
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài *C. buchananii*

### 3.1.2. Phân lập từ quả của loài *C. buchananii*



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ quả của loài *C. buchananii*

### 3.1.3. Phân lập từ lá của loài *A. triphysa*



Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài *A. triphysa*

### 3.2. Đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh nitric oxide của các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii* và *A. triphysa*

Bảng 3.1. Giá trị IC<sub>50</sub> ức chế sản sinh NO của CL1-CL8 và CF1-CF9

Hợp chất	IC <sub>50</sub> (μM)	Hợp chất	IC <sub>50</sub> (μM)
CL1	26,72 ± 0,99	CF1	37,57 ± 1,88
CL2	52,24 ± 3,09	CF2	26,04 ± 1,45
CL3	58,54 ± 3,28	CF3	20,55 ± 0,35
CL4	49,19 ± 2,28	CF4	25,37 ± 1,36
CL5	56,86 ± 3,56	CF5	8,91 ± 0,36
CL6	52,53 ± 2,73	CF6	22,69 ± 1,58
CL7	38,15 ± 2,39	CF7	18,78 ± 0,96
CL8	18,79 ± 0,95	CF8	19,21 ± 0,83
Dexamethasone <sup>a</sup>	14,05 ± 1,17	CF9	22,01 ± 0,72

<sup>a</sup> Đối chứng dương

Bảng 3.2. Giá trị IC<sub>50</sub> ức chế sản sinh NO của AT1-AT10

Hợp chất	IC <sub>50</sub> (μM)	Hợp chất	IC <sub>50</sub> (μM)
AT1	8,12 ± 0,41	AT6	24,71 ± 1,38
AT2	22,64 ± 0,73	AT7	63,04 ± 1,85
AT3	34,34 ± 1,80	AT8	65,41 ± 2,67
AT4	31,54 ± 1,21	AT9	54,42 ± 3,14
AT5	48,84 ± 2,63	AT10	55,14 ± 2,52
Dexamethasone <sup>a</sup>	14,05 ± 1,17		

<sup>a</sup> Đối chứng dương

Thử nghiệm hoạt tính ức chế sự sản sinh nitric oxide của các hợp chất phân lập được từ hai loài *C. buchananii* và *A. triphysa* trên dòng tế bào RAW 264.7 được kích thích với LPS được thực hiện

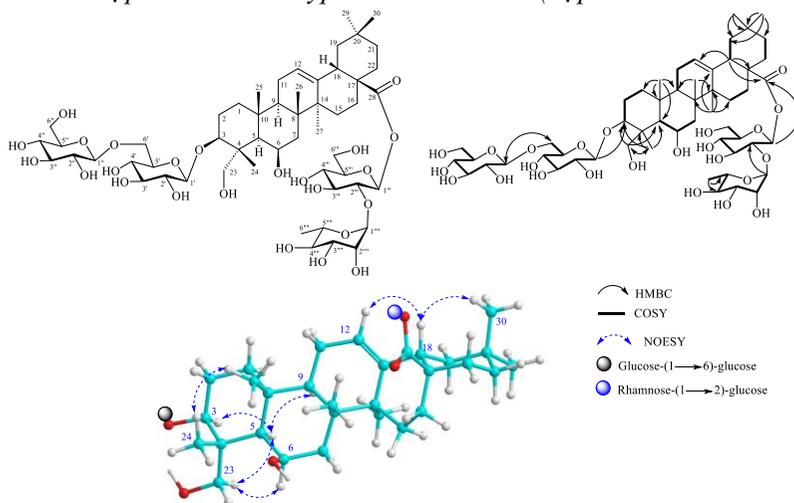
theo phương pháp mô tả trong mục 2.2.3. Nồng độ NO trong môi trường thực nghiệm được xác định thông qua phản ứng Griess.

## CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 4.1. Thành phần hóa học của loài *C. buchananii* và loài *A. triphysa*

#### 4.1.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *C. buchananii*

##### 4.1.1.1. Hợp chất **CL1**: *Cryptobuchanoside A* (hợp chất mới)



Hình 4.1. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY và NOESY của **CL1**

Hợp chất **CL1** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Trên phổ hồng ngoại IR (Hình I.1.1 – phần phụ lục) của hợp chất **CL1** nhận thấy xuất hiện các đỉnh pic đặc trưng cho nhóm chức hydroxy, carbonyl, liên kết đôi C=C và ether lần lượt tại  $\nu_{\max}$  3401, 1736, 1639, 1075  $\text{cm}^{-1}$ . Phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **CL1** xuất hiện pic ion giả phân tử tại  $m/z$  1155,5401  $[\text{M}^{+35}\text{Cl}]^-$ , tính toán lý thuyết cho ion  $[\text{C}_{54}\text{H}_{88}\text{O}_{24}^{35}\text{Cl}]^-$  là

1155,5359, cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất này là  $C_{54}H_{88}O_{24}$  ( $M = 1120$ ) với giá trị độ bất bão hòa bằng 11. Phân tích phổ  $^1H$  NMR và phổ HSQC của hợp chất **CL1** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu như: sáu nhóm methyl tại  $\delta_H$  0,90 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, s, H-30), 1,07 (3H, s, H-26), 1,08 (3H, s, H-24), 1,13 (3H, s, H-27) và 1,34 (3H, s, H-25); một proton nối đôi tại  $\delta_H$  5,30 (1H, t,  $J = 3,6$  Hz, H-12); ba proton methine tại  $\delta_H$  1,23 (1H, br s, H-5), 1,65 (1H, m, H-9) và 2,85 (1H, dd,  $J = 13,2, 4,2$  Hz, H-18); hai proton oxymethine tại  $\delta_H$  3,58 (1H, dd,  $J = 13,2, 4,2$  Hz, H-3) và 4,44 (1H, br s, H-6); một nhóm oxymethylene tại  $\delta_H$  3,71 (1H, d,  $J = 12,0$  Hz, H<sub>a</sub>-23) và 3,47 (1H, d,  $J = 12,0$  Hz, H<sub>b</sub>-23); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng  $\delta_H$  0,90-2,03 ppm. Ngoài ra, bốn proton anomeric cũng được nhận biết tại  $\delta_H$  4,34 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1''), 4,40 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1') và 5,42 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1''') và  $\delta_H$  5,46 (1H, d,  $J = 1,2$  Hz, H-1''') (Bảng 4.1).

Phân tích phổ  $^{13}C$  NMR và HSQC của hợp chất **CL1** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 54 carbon. Trong đó, 30 tín hiệu carbon thuộc khung olean-triterpene aglycone [69] và 24 tín hiệu carbon còn lại được gán cho 4 phân tử đường. Ở phần aglycone xuất hiện hai tín hiệu carbon của một nối đôi tại  $\delta_C$  124,0 (C-12) và 144,1 (C-13), một tín hiệu carbon của nhóm carbonyl tại  $\delta_C$  178,2 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại  $\delta_C$  83,3 (C-3) và 68,7 (C-6) và một tín hiệu carbon của nhóm methylene nối với oxy tại  $\delta_C$  64,7 (C-23). Các dữ liệu phổ NMR nêu trên có thể gợi ý phần cấu trúc aglycone là uncargenin C [69, 70] với khung olean triterpene có nối đôi C-12/C-13, nhóm acid tại C-28, và 3 nhóm hydroxy tại C-3, C-6 và C-23. Vị trí chính xác của các nhóm thế được khẳng định bằng phổ HMBC kết hợp HSQC nêu trên. Tương tác HMBC từ H<sub>2</sub>-

23 ( $\delta_{\text{H}}$  3,71/3,47) đến C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  83,3)/C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  44,8)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  48,9)/C-24 ( $\delta_{\text{C}}$  15,0) và từ H<sub>3</sub>-24 ( $\delta_{\text{H}}$  1,08) đến C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  83,3)/C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  44,8)/C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  48,9)/C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  64,7), gợi ý vị trí carbon tại C-3 và C-23 phải nối với oxy. Tương tác HMBC từ H<sub>3</sub>-27 ( $\delta_{\text{H}}$  1,13) đến C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  39,9)/C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  144,1)/C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  43,6)/C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  29,5), từ H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  2.85) đến C-28 ( $\delta_{\text{C}}$  178.2) khẳng định nối đôi  $\Delta^{12}$  và 28-oic acid (Hình 4.1). Vị trí 6-OH được chứng minh bằng tương tác COSY H-5 ( $\delta$  1,23) /H-6 ( $\delta$  4,44), cũng như tương tác HMBC giữa H-5 và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  68,7). Hóa học lập thể của hợp chất **CL1** được làm sáng tỏ dựa trên phân tích hằng số tương tác  $J$  trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  và tương tác NOESY. Hằng số tương tác lớn ( $^3J_{2,3} = 13,2$  Hz) giữa H-2 và H-3 khẳng định proton H-3 định hướng *alpha/axial*. Proton H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  4,44) xuất hiện dạng broad singlet với giá trị hằng số tương tác gần như bằng không ( $^3J_{5,6} \sim 0$  Hz), cho thấy proton H-6 chiếm vị trí *alpha/equatorial*. Ngoài ra, sự định hướng lập thể nêu trên còn được khẳng định thêm bằng tương tác NOESY giữa H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,58) với H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1,23), giữa H<sub>2</sub>-23 ( $\delta_{\text{H}}$  3,71 và 3,47) với H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,58), giữa H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1,23) với H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  4,44). Ở phần đường của hợp chất **CL1** được nhận dạng gồm bốn đơn vị hexose, cụ thể: 18 tín hiệu carbon thuộc ba nhóm glucose lần lượt tại  $\delta_{\text{C}}$  (105,5, 75,7, 78,0, 71,4, 77,7 và 69,7),  $\delta_{\text{C}}$  (104,7, 75,2, 77,7, 71,6, 78,0 và 62,7) và  $\delta_{\text{C}}$  (95,1, 77,1, 79,4, 71,1, 78,4 và 62,7); và 6 tín hiệu carbon thuộc một đường rhamnose tại  $\delta_{\text{C}}$  (101,5, 72,3, 72,2, 73,7, 70,3 và 18,2). Liên kết của các nhóm đường được xác định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, COSY và HMBC (Hình 4.1). Các tương tác HMBC một đường rhamnose tại  $\delta_{\text{C}}$  (101,5, 72,3, 72,2, 73,7, 70,3 và 18,2). Liên kết của các nhóm đường được xác định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, COSY và HMBC (Hình 4.1). Các tương tác HMBC từ Glu H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4,34) đến C-6' ( $\delta_{\text{C}}$

69,7), từ Glu H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4,40) đến C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  83,3), từ Glu H-1''' ( $\delta_{\text{H}}$  5,42) đến C-28 ( $\delta_{\text{C}}$  178,2) và từ Rha H-1'''' ( $\delta_{\text{H}}$  5,46) đến C-2''' ( $\delta_{\text{C}}$  77,1) đã xác định các đơn vị đường là glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-glucopyranoside và rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucopyranoside liên kết với C-3 và C-28 lần lượt bằng liên kết glycosidic và este. Ngoài ra, phổ  $^1\text{H}$  NMR của các nhóm đường còn cho thấy giá trị hằng số tương tác lớn ( $J = 7,8$  Hz) của ba proton anomeric Glu H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4,40), Glu H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4,34) và Glu H-1''' ( $\delta_{\text{H}}$  5,42) chỉ ra liên kết  $\beta$ -glycosidic, trong khi hằng số tương tác nhỏ ( $J = 1,2$  Hz) của proton anomeric H-1'''' tại ( $\delta_{\text{H}}$  5,46) của đường rhamnose chỉ ra liên kết  $\alpha$ -glycosidic. Hợp chất **CL1** được thủy phân trong môi trường acid [63, 64], thu được các đường glucose và rhamnose bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng và so sánh với các đường chuẩn tương ứng. Sau đó các đường glucose và rhamnose thu được nêu trên được tiến hành đo góc quay cực và xác định là D-glucose và L-rhamnose, sau khi so sánh độ quay cực riêng của chúng phù hợp tương ứng với các giá trị đã công bố (mục 2.2.2.6).

*Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của CL1*

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )	C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	41,7	0,90*/1,57 (dd, 12,6, 1,8)	30	24,3	0,95 (s)
2	26,4	1,82 (m)/1,93 (m)	3- <i>O</i> -Glucopyranosyl		
3	83,3	3,58 (dd, 13,2, 4,2)	1'	105,5	4,40 (d, 7,8)
4	44,8	-	2'	75,7	3,20 (dd, 9,0, 7,8)
5	48,9	1,23 (br s)	3'	78,0	3,26*
6	68,7	4,44 (br s)	4'	71,4	3,31*
7	41,1	1,61*/1,72 (br d, 13,8)	5'	77,7	3,51 (ddd, 9,0, 5,4, 1,8)
8	39,9	-	6'	69,7	4,09 (dd, 12,0, 1,8) 3,73 (dd, 12,0, 5,4)

9	49,1	1,65 (m)		6'- <i>O</i> -Glucopyranosyl
10	37,3	-	1''	104,7 4,34 (d, 7,8)
11	24,5	1,94*/2,03*	2''	75,2 3,23*
12	124,0	5,30 (t, 3,6)	3''	77,7 3,26*
13	144,1	-	4''	71,6 3,31*
14	43,6	-	5''	78,0 3,25*
15	29,5	1,22*/1,68 (m)	6''	62,7 3,67*/3,84*
16	23,9	1,68 (m)/2,04 (m)		28- <i>O</i> -Glucopyranosyl
17	49,7	-	1'''	95,1 5,42 (d, 7,8)
18	42,8	2,85 (dd, 13,2, 4,2)	2'''	77,1 3,63 (dd, 9,0, 7,8)
19	47,3	1,73 (dd, 13,2, 13,2)/1,17*	3'''	79,4 3,57 (t, 9,0)
20	31,6	-	4'''	71,1 3,42 (t, 9,0)
21	35,0	1,22*/1,39 (m)	5'''	78,4 3,36 (m)
22	33,2	1,58 (m)/1,75 (m)	6'''	62,7 3,67*/3,84*
23	64,7	3,71 (d, 12,0)/3,47 (d, 12,0)		2'''- <i>O</i> -Rhamnopyranosyl
24	15,0	1,08 (s)	1''''	101,5 5,46 (d, 1,2)
25	18,0	1,34 (s)	2''''	72,3 3,93 (dd, 3,0, 1,2)
26	19,0	1,07 (s)	3''''	72,2 3,67 (dd, 9,0, 3,0)
27	26,2	1,13 (s)	4''''	73,7 3,42 (t, 9,0)
28	178,2	-	5''''	70,3 3,77 (m)
29	33,5	0,90 (s)	6''''	18,2 1,26 (d, 6,0)

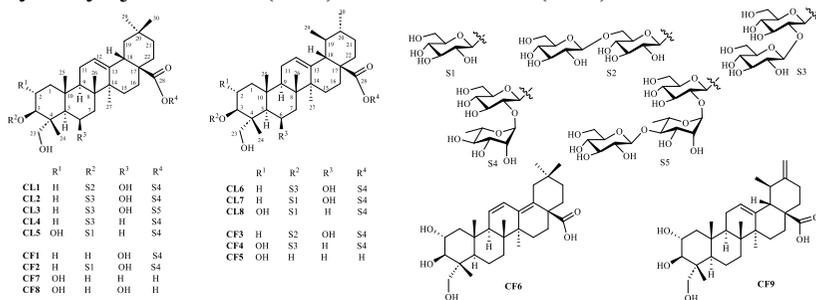
<sup>a</sup> Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, \* Tín hiệu chồng lấp

Từ những phân tích trên hợp chất **CL1** được xác định là 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy **CL1** là hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside A.

4.1.1.18. Tổng hợp các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii*

8 hợp chất (**CL1-CL8**) được phân lập từ bộ phận lá: trong đó, 7 **hợp chất mới** được đặt tên là: cryptobuchanoside A-G (**CL1-CL7**), và một hợp chất đã biết có tên là 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CL8**).

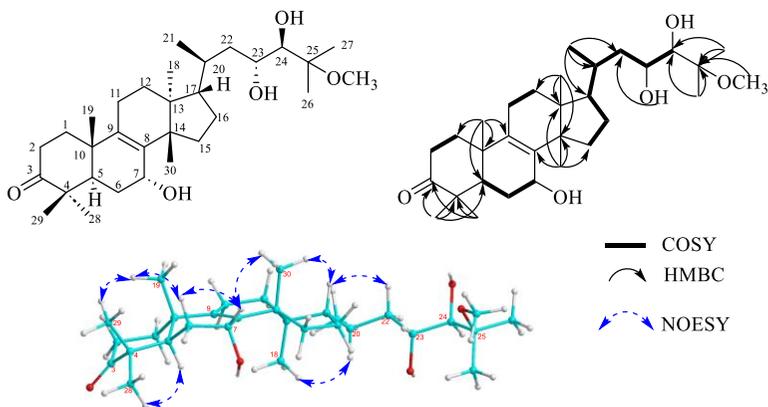
Chín hợp chất (**CF1-CF9**) được phân lập từ bộ phận quả của loài: Trong đó, 4 hợp chất mới được đặt tên là: uncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-6 $\beta$ ,23-dihydroxyursolic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF4**); và 5 hợp chất đã biết có tên là: asiatic acid (**CF5**), 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihydroxyoleana-11,13(18)-dien-28-oic acid (**CF6**), arjunolic acid (**CF7**), 6 $\beta$ -hydroxyarjunolic acid (**CF8**) và actinidic acid (**CF9**)



Hình 4.2. Tổng hợp các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii*

#### 4.1.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa*

##### 4.1.2.1. Hợp chất **ATI**: Ailantriphysa A (hợp chất mới).



Hình 4.3. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY và NOESY của **AT1**

Hợp chất **AT1** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Trên phổ hồng ngoại IR (hình II.1.1 – phần phụ lục) của hợp chất **AT1** nhận thấy bước sóng đặc trưng cho nhóm chức hydroxy (OH), carbonyl (C=O), liên kết đôi olefinic (C=C) và liên kết ether (C-O-C) lần lượt tại 3309, 1730, 1469 và 1062  $\text{cm}^{-1}$ . Phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **AT1** nhận thấy xuất hiện pic ion giả phân tử tại  $m/z$  503,3745  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , tính toán lý thuyết cho ion  $[\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{O}_5]^-$  là 503,3742, cho phép xác định công thức phân tử của **AT1** là  $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_5$  ( $M = 504$ ) với giá trị độ bất bão hòa là 6.

Phân tích phổ  $^1\text{H}$  NMR và phổ HSQC của hợp chất **AT1** thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại  $\delta_{\text{H}}$  0,75 (3H, s, H-18), 0,91 (3H, s, H-30), 1,00 (3H, s, H-19), 1,09 (3H, s, H-29), 1,16 (3H, s, H-28), 1,23 (3H, s, H-26) và 1,30 (3H, s, H-27); một nhóm methyl bậc hai tại  $\delta_{\text{H}}$  0,97 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-21); ba proton methine tại  $\delta_{\text{H}}$  1,38-1,42 (1H, m, H-20), 1,52 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz, H-17) và 2,19 (1H, tín hiệu chồng lấp, H-5); ba proton oxymethine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,13 (1H, d,  $J = 9,6$  Hz, H-24), 4,07-4,09 (1H, m, H-23) và 4,40 (1H, br s, H-7);

một nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,25 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>); tín hiệu proton của hai nhóm hydroxy tại  $\delta_H$  2,44 (1H, d,  $J = 9,6$  Hz, 24-OH) và 3,49 (H, d,  $J = 2,4$  Hz, 23-OH); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng  $\delta_H$  1,25-2,5 ppm (Bảng 4.19). Phân tích phổ <sup>13</sup>C NMR của hợp chất **AT1** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 31 carbon. Trong đó, một carbon thuộc nhóm methoxy ( $\delta_C$  49,3) và 30 carbon thuộc bộ khung triterpen tirucallane, gợi ý lớp hợp chất điển hình được phân lập từ chi *Ailanthus* [47, 79, 80]. Các tín hiệu carbon thuộc khung triterpen tirucallane gồm một ketone tại  $\delta_C$  217,7 (C-3); một liên kết đôi dạng tetrasubstituted (bốn nhóm thế liên kết với 2 carbon của liên kết đôi không phải là hydro) tại  $\delta_C$  131,3 (C-8) và 143,8 (C-9); ba nhóm oxymethine tại  $\delta_C$  79,3 (C-7), 68,8 (C-23) và 76,6 (C-24); một carbon bậc bốn có liên kết nhóm methoxy tại  $\delta_C$  79,8 (C-25); và tám nhóm methyl tại  $\delta_C$  15,8 (C-18), 18,7 (C-19), 19,3 (C-21), 21,2 (C-29), 21,5 (C-27), 21,6 (C-26), 27,1 (C-28) và 25,7 (C-30) đã được xác định tương tự như các công bố trước đây [81, 82]. Các nhóm ketone tại C-3, liên kết đôi tại C-8/C-9, nhóm methoxy tại C-25 và ba nhóm hydroxy tại C-7, C-23 và C-24 được xác định thêm bằng các tương tác trên phổ HSQC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY và HMBC. Dữ liệu phổ NMR của bốn vòng (A, B, C và D) của hợp chất **AT1** (Bảng 4.19) tương tự như của hợp chất dymacrin K [82] cho phép xác định các nhóm ketone tại vị trí C-3, liên kết đôi tại vị trí C-8/C-9 và nhóm hydroxy liên kết với carbon C-7. Trên phổ HMBC của hợp chất **AT1** nhận thấy các tương tác từ H<sub>3</sub>-28 ( $\delta_H$  1,16)/H<sub>3</sub>-29 ( $\delta_H$  1,09) đến C-3 ( $\delta_C$  217,7)/C-4 ( $\delta_C$  46,6)/C-5 ( $\delta_C$  44,3), từ H<sub>3</sub>-18 ( $\delta_H$  0,75) đến C-12 ( $\delta_C$  30,8)/ C-13 ( $\delta_C$  44,1)/C-14 ( $\delta_C$  49,9), từ H<sub>3</sub>-19 ( $\delta_H$  1,00) đến C-1 ( $\delta_C$  34,8)/C-5 ( $\delta_C$  44,3)/C-9 ( $\delta_C$  143,8)/C-10 ( $\delta_C$  38,0), từ H<sub>3</sub>-21 ( $\delta_H$  0,97) đến C-17 ( $\delta_C$  51,1)/C-20 ( $\delta_C$  34,2)/C-22 ( $\delta_C$  40,2), từ H<sub>3</sub>-30 ( $\delta_H$

0,91) đến C-8 ( $\delta_C$  131,3)/C-13 ( $\delta_C$  44,1)/C-14 ( $\delta_C$  49,9)/C-15 ( $\delta_C$  29,6), từ H<sub>3</sub>-26 ( $\delta_H$  1,23)/H<sub>3</sub>-27 ( $\delta_H$  1,30) đến C-24 ( $\delta_C$  76,6)/C-25 ( $\delta_C$  79,8), từ proton methoxy -OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3,25) đến C-25 ( $\delta_C$  79,8), cùng với các tương tác <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY của H-5 ( $\delta_H$  2,19)/H<sub>2</sub>-6 ( $\delta_H$  1,43-1,47 và 2,20-2,24)/H-7 ( $\delta_H$  4,40) và H-23 ( $\delta_H$  4,07-4,09)/H-24 ( $\delta_H$  3,13),

*Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của AT1*

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )	C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$ )
1	34,8	1,66-1,70 (m) 1,94-1,96 (m)	18	15,8	0,75 (s)
2	34,3	2,48-2,55 (m)	19	18,7	1,00 (s)
3	217,7	-	20	34,2	1,38-1,42(m)
4	46,6	-	21	19,3	0,97 (d, 6,0)
5	44,3	2,19*	22	40,2	1,20-1,24 (m) 1,79-1,82 (m)
6	24,3	1,43-1,47 (m) 2,20-2,24 (m)	23	68,8	4,07-4,09 (m)
7	79,3	4,40 (br s)	24	76,6	3,13 (d, 9,6)
8	131,3	-	25	79,8	-
9	143,8	-	26	21,6	1,23 (s)
10	38,0	-	27	21,5	1,30 (s)
11	22,1	2,08-2,10 (m)	28	27,1	1,16 (s)
12	30,8	1,72-1,78 (m)	29	21,2	1,09 (s)
13	44,1	-	30	25,7	0,91 (s)
14	49,9	-	OCH <sub>3</sub>	49,3	3,25 (s)
15	29,6	1,28-1,30 (m) 1,99-2,01 (m)	23-OH		3,49 (d, 2,4)
16	28,4	1,37-1,39 (m) 2,00-2,04 (m)	24-OH		2,65 (d, 9,6)
17	51,1	1,52 (t, 9,0)			

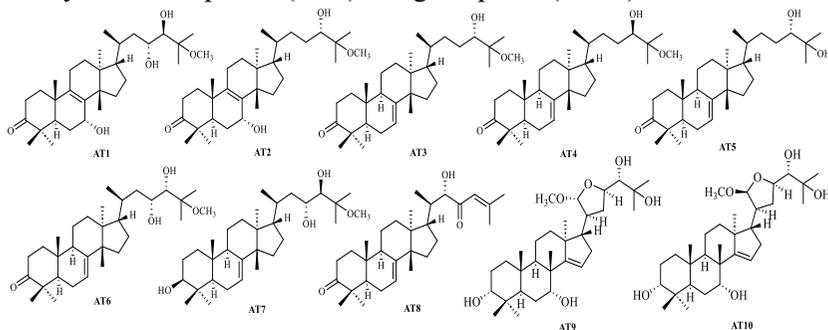
<sup>a</sup> Đo trong CDCl<sub>3</sub>, <sup>b</sup> 150 MHz, <sup>c</sup> 600 MHz, \* Tín hiệu chồng lấp

cho phép khẳng định cấu trúc khung của hợp chất AT1 là một triterpen tirucallane. Ngoài ra, tín hiệu proton H-7 xuất hiện dưới dạng một broad singlet (tại  $\delta_{\text{H}}$  4,40) với hằng số tương tác gần như bằng không ( ${}^3J_{6,7} \sim 0$  Hz) gợi ý proton này định hướng *beta/equatorial* [82]. Khẳng định này được xác định thêm bởi các tương tác NOESY của H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  4,40) và H<sub>3</sub>-30 ( $\delta_{\text{H}}$  0,91). Hơn nữa, phổ NOESY còn cho thấy các tương tác từ H<sub>3</sub>-29 ( $\delta_{\text{H}}$  1,09) đến H<sub>3</sub>-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1,00), từ H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  2,19) đến H<sub>3</sub>-28 ( $\delta_{\text{H}}$  1,16), và từ H-17 ( $\delta_{\text{H}}$  1,52) đến H<sub>3</sub>-30 ( $\delta_{\text{H}}$  0,91), cho phép xác định proton H-5 và nhóm proton methyl H<sub>3</sub>-18, H<sub>3</sub>-28 cùng hướng  $\alpha$ , trong khi đó proton H-7, H-17 và nhóm proton methyl H<sub>3</sub>-19, H<sub>3</sub>-29, H<sub>3</sub>-30 cùng hướng  $\beta$ . Dữ liệu phổ NMR của C-23 ( $\delta_{\text{C}}$  68,8) và C-24 ( $\delta_{\text{C}}$  76,6) của AT1 hoàn toàn khớp với dữ liệu của hợp chất hispidol A 25-methyl ether có vị trí [23 $\alpha$ -OH (tại  $\delta_{\text{C-23}}$  68,21), 24 $\beta$ -OH (tại  $\delta_{\text{C-24}}$  76,65)] và hispidol B 25-methyl ether có vị trí [23 $\alpha$ -OH ( $\delta_{\text{C-23}}$  68,13), 24 $\beta$ -OH ( $\delta_{\text{C-24}}$  76,75)] [79]. Ngoài ra, proton của nhóm 24-OH xuất hiện dưới dạng doublet ( $J = 9,6$  Hz) tại  $\delta_{\text{H}}$  2,65 do tương tác ghép nối của H-24 (tại  $\delta_{\text{H}}$  3,13, d,  $J = 9,6$  Hz). Do đó, giá trị hằng số tương tác  $J_{23/24}$  được coi là bằng không. Minh chứng này cho thấy C-23/C-24 có cấu hình dạng *syn-gauche* (*erythro*) [83], tương tự như cấu hình của piscidinol A ( ${}^3J_{23/24} = 0$  Hz) và khác với 24-*epi*-piscidinol A (23 $\alpha$ -OH, 24 $\alpha$ -OH) có giá trị hằng số tương tác  ${}^3J_{23/24} = 8,0$  Hz [84]. Từ những phân tích trên, có thể xác định được cấu trúc hóa học của hợp chất AT1 là 25-methoxy-7 $\alpha$ ,23 $\alpha$ ,24 $\beta$ -trihydroxytirucallane-8-en-3-one. Qua tra cứu cho thấy AT1 là một hợp chất mới và được đặt tên là ailantriphysa A.

#### 4.1.2.11. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa*

Mười hợp chất (AT1-AT10), trong đó: bốn hợp chất mới (AT1-AT4) được đặt tên là ailantriphysa A-D (AT1-AT4); sáu hợp chất đã

biết có tên là: 24*S*,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one (**AT5**), phellochin (**AT6**), hispidol B 25-methyl ether (**AT7**), meliasenin G (**AT8**), 21-*O*-methyltoosendanpentol (**AT9**) và agladupol A (**AT10**).



Hình 4.4. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa*

## 4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của hai loài *C. buchananii* và *A. triphysa*

### 4.2.1. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *C. buchananii*

Kết quả thử hoạt tính của 18 hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii* cho thấy các hợp chất **CL1-CL8** và **CF1-CF9** (ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ ) được coi là không gây chết tế bào ở mức có ý nghĩa thống kê (% tế bào sống từ 92,79% đến 100,99%), do đó các kết quả đánh giá khả năng ức chế sinh sản NO không bị ảnh hưởng hoặc gây ra do quá trình các chất thử nghiệm gây chết tế bào. Cũng ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ , các hợp chất **CL1-CL8** và **CF1-CF9** gây ức chế sản sinh NO với giá trị % ức chế lớn hơn 50% (từ 81,09% đến 99,74%). Do vậy, các hợp chất này tiếp tục được nghiên cứu tác dụng ức chế sản sinh NO theo nồng độ để tính toán giá trị  $\text{IC}_{50}$ . Kết quả cho thấy, các hợp chất **CL1-CL8** gây ức chế sản sinh NO với giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là 26,72, 52,24, 58,54, 49,19, 56,86, 52,53, 38,15, và 18,79  $\mu\text{M}$ , các

hợp chất **CF1-CF9** gây ức chế sản sinh NO với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 37,57, 26,04, 20,55, 25,37, 8,91, 22,69, 18,78, 19,21 và 22,01  $\mu\text{M}$  so với đối chứng dương dexamethasone có giá trị  $IC_{50}$  là 14,05  $\mu\text{M}$ .

Từ kết quả ức chế sản sinh NO và cấu trúc các hợp chất thử nghiệm có thể thấy hợp chất **CF5** thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị  $IC_{50}$  là 8,91  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất **CL1, CL8, CF2-CF4** và **CF6-CF9** có giá trị  $IC_{50}$  từ 18,78 đến 26,72  $\mu\text{M}$ , thể hiện hoạt tính trung bình so với đối chứng dương dexamethasone. Các hợp chất còn lại cho thấy tác dụng yếu với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 37,57 đến 58,54  $\mu\text{M}$ . Những kết quả này cho thấy triterpen pentacyclic mang  $3\beta,23$ -dihydroxy-12-en-28-oic acid và các dẫn xuất glycosyl của chúng tại C-3 và C-28 có thể đóng vai trò quan trọng trong tác dụng ức chế sản xuất NO của loài *C. buchananii*. Những phát hiện này cho thấy các thành phần saponin có thể đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính ức chế sản sinh NO của loài *C. buchananii*.

#### **4.2.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa***

Kết quả thử hoạt tính của 10 hợp chất phân lập được từ loài *A. triphysa* cho thấy các hợp chất **AT1-AT10** ( ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ ) được coi là không gây chết tế bào ở mức có ý nghĩa thống kê (% tế bào sống từ 82,21% đến 94,52%), do đó các kết quả đánh giá khả năng ức chế sinh sản NO không bị ảnh hưởng hoặc gây ra do quá trình các chất thử nghiệm gây chết tế bào. Cũng ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ , các hợp chất **AT1-AT10** gây ức chế sản sinh NO với giá trị % ức chế lớn hơn 50% (từ 67,72% đến 94,24%). Do vậy, các hợp chất này tiếp tục được nghiên cứu tác dụng ức chế sản sinh NO theo nồng độ để tính toán giá trị  $IC_{50}$ . Kết quả cho thấy, các hợp chất **AT1-AT10** gây ức chế sản sinh NO với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 8,12, 22,64, 34,34,

31,54, 48,84, 24,71, 63,04, 65,41, 54,42 và 55,14  $\mu\text{M}$ , so với đối chứng dương dexamethasone có giá trị  $\text{IC}_{50}$  là 14,21  $\mu\text{M}$ .

Từ kết quả ức chế sản sinh NO và cấu trúc các hợp chất thử nghiệm có thể thấy hợp chất **AT1** có hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị  $\text{IC}_{50}$  là 8,12  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất **AT2-AT4** và **AT6** thể hiện hoạt tính trung bình với giá trị  $\text{IC}_{50}$  trong khoảng từ 22,64 đến 34,34  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu với giá trị  $\text{IC}_{50}$  trong khoảng từ 48,84 đến 65,41  $\mu\text{M}$ . Những kết quả này cho thấy triterpen tirucallane và các dẫn xuất ketone, hydroxy của chúng tại C-3, C-7, C-23 và C-24 có thể đóng vai trò quan trọng trong tác dụng ức chế sản sinh NO của loài *A. triphysa*. Liên quan giữa cấu trúc và hoạt tính ức chế NO, kết quả nghiên cứu sơ bộ cho thấy trong nhóm chất **AT1-AT6**, khi nối đôi dịch chuyển từ vị trí C-8/C-9 về C-7/C-8 có thể làm giảm hoạt tính, đồng thời sự mất đi nhóm 23-OH cũng có thể làm giảm hoạt tính. Đối với các hợp chất còn lại, mối liên hệ giữa cấu trúc và hoạt tính sinh học hoàn toàn chưa có dấu hiệu xác định.

## KẾT LUẬN

Bằng cách sử dụng các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 27 hợp chất từ hai loài *C. buchananii* và *A. triphysa*, trong đó có **15 hợp chất mới** và 12 hợp chất đã biết.

1. Từ loài *C. buchananii* đã phân lập và xác định cấu trúc của 17 hợp chất **CL1-CL8** và **CF1-CF9**: bao gồm **11 hợp chất mới** được đặt tên là: cryptobuchanoside A-G (**CL1-CL7**), uncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-6 $\beta$ ,23-dihydroxyursolic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF4**); và 6 hợp chất đã biết bao gồm: 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CL8**), asiatic acid (**CF5**), 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihydroxyoleana-11,13(18)-dien-28-oic acid (**CF6**), arjunolic acid (**CF7**), 6 $\beta$ -hydroxyarjunolic acid (**CF8**) và actinidic acid (**CF9**).

2. Từ loài *A. triphysa* đã phân lập và xác định cấu trúc của 10 hợp chất **AT1-AT10**: bao gồm **4 hợp chất mới** được đặt tên là: ailantriphysa A-D (**AT1-AT4**) và 6 hợp chất đã biết: 24*S*,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one (**AT5**), phellochin (**AT6**), hispidol B 25-methyl ether (**AT7**), meliasenin G (**AT8**), 21-*O*-methyltoosendanpentol (**AT9**) và agladupol A (**AT10**).

3. Kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học:

➤ Các hợp chất **CL1-CL8** và **CF1-CF9** được đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên đại thực bào RAW 264.7. Kết quả

cho thấy các hợp chất này có ức chế sản sinh NO với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 8,91 đến 58,54  $\mu\text{M}$ . Trong đó, hợp chất **CF5** thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị  $IC_{50}$  là 8,91  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất **CL1**, **CL8**, **CF2-CF4** và **CF6-CF9** có giá trị  $IC_{50}$  từ 18,78 đến 26,72  $\mu\text{M}$ , thể hiện hoạt tính trung bình so với đối chứng dương dexamethasone. Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 37,57 đến 58,54  $\mu\text{M}$ .

➤ Các hợp chất **AT1-AT10** được đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên đại thực bào RAW 264.7. Kết quả cho thấy các hợp chất này ức chế sản sinh NO với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 8,12 đến 65,41  $\mu\text{M}$ . Trong đó, hợp chất **AT1** có hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị  $IC_{50}$  là 8,12  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất **AT2-AT4** và **AT6** thể hiện hoạt tính trung bình với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 22,64 đến 34,34  $\mu\text{M}$ . Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu với giá trị  $IC_{50}$  trong khoảng từ 48,84 đến 65,41  $\mu\text{M}$ .

### KIẾN NGHỊ

Hai hợp chất asiatic acid (**CF5**) và ailantriphysa A (**AT1**) thể hiện hoạt tính ức chế sự sản sinh NO ở tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 8,91  $\mu\text{M}$  và 8,12  $\mu\text{M}$  mạnh hơn so với đối chứng dương dexamethasone (14,05  $\mu\text{M}$ ), cho thấy hai hợp chất này đều có tiềm năng, nên cần tiến hành các nghiên cứu tiếp theo để xác định cơ chế tác dụng cũng như nghiên cứu, độc cấp, độc bán trường diễn, và hiệu lực trên mô hình *in vivo*. Các hợp chất pentacyclic triterpene glycoside và tirucallane triterpenoid đã phân lập được có cấu trúc hóa học độc đáo, do đó có thể mở rộng nghiên cứu sàng lọc thêm các loại hoạt tính khác để định hướng cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

## TÍNH MỚI CỦA LUẬN ÁN

Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 của 2 loài *C. buchananii* và *A. triphysa*.

Đã phân lập và xác định được 11 **hợp chất mới** từ loài *C. buchananii*: cryptobuchanoside A-G (**CL1-CL7**), uncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-6 $\beta$ ,23-dihydroxyursolic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**CF4**). Tất cả các hợp chất này đều thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO với giá trị IC<sub>50</sub> trong khoảng từ 20,55 đến 58,54  $\mu$ M.

Đã phân lập và xác định được 4 hợp chất mới từ loài *A. triphysa*: ailantriphysa A-D (**AT1-AT4**). Cả bốn hợp chất này đều thể hiện hoạt tính sản sinh NO, trong đó hợp chất **AT1** thể hiện hoạt tính tốt nhất với giá trị IC<sub>50</sub> là 8,12  $\mu$ M.

## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyen Duc Duy**, Ngo Anh Bàng, Pham Hai Yen, Do Thi Trang, Bui Thi Nha Trang, Nguyen Thi Kim Thuy, Nguyen Thi Cuc, Nguyen Xuan Nhiem, Phan Van Kiem, Ninh Khac Ban and Bui Huu Tai, Four new pentacyclic triterpene glycosides isolated from the fruits of *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult and their inhibition of NO production in LPS-activated RAW 264.7 Cells, *Chem. Biodiversity*, 2023, 20(12), e202301683.
2. Ngo Anh Bang, **Nguyen Duc Duy**, Bui Huu Tai, Nguyen Thi Kim Thuy, Pham Hai Yen, Duong Thi Dung, Nguyen Huy Hoang, Nguyen Xuan Nhiem, Ninh Khac Ban, Phan Van Kiem, Cryptobuchanosides A-G: seven previously undescribed triterpene glycosides from *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. and Schult. with nitric oxide production inhibition activity, *J. Nat. Med.*, 2024, 78(3), 741-752.
3. **Nguyen Duc Duy**, Duong Thi Dung, Do Thi Trang, Ngo Anh Bàng, Pham Hai Yen, Nguyen Xuan Nhiem, Nguyen Thi Cuc, Phan Thi Thanh Huong, Nguyen Viet Dung, Nguyen Huy Hoang, Duong Thi Hai Yen, Nguyen Thi Kim Thuy, Nguyen The Cuong, Bui Huu Tai, and Phan Van Kiem, Four new tirucallane triterpenoids from the leaves of *Ailanthus triphysa* with anti-inflammatory activities, *Chem. Biodiversity*, 2025, 22(3), e202402584.
4. **Nguyen Duc Duy**, Bui Huu Tai, Nguyen Thi Kim Thuy, Nguyen Thi Hanh, Quach Thi Thanh Van, Quan Cam Thuy, Bui Thi Phuong Thao, Phan Van Kiem, *Ailanthus triphysa*: a review of phytochemistry and pharmacology, *Vietnam Journal of Science and Technology*, 2025, 63(6), 1050-1073