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*

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội – 2026

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*

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS. TS. Phan Văn Kiệm
2. PGS. TS. Bùi Hữu Tài

Hà Nội – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính ức chế sản sinh NO *in vitro* của hai loài *Cryptolepis buchananii* và *Ailanthus triphysa*" là công trình nghiên cứu của chính tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Phan Văn Kiệm và PGS.TS. Bùi Hữu Tài. 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 được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Tác giả luận án

Nguyễn Đức Duy

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài "Nhóm nghiên cứu xuất sắc", mã số đề tài: NCXS01.02/22-24 của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được nhiều sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, các nhà khoa học, đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc và kính trọng nhất tới PGS.TS. Phan Văn Kiệm và PGS.TS. Bùi Hữu Tài - những người Thầy đã tận tâm hướng dẫn chỉ dạy cho tôi về mặt chuyên môn và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo và các cán bộ phòng Nghiên cứu cấu trúc - Viện Hóa học đã luôn hỗ trợ tôi trong quá trình làm thực nghiệm cũng như đóng góp quý báu, giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện và hoàn thiện luận án. Đồng thời cảm ơn tới ban lãnh đạo, ban quản lý học viên Viện Hóa học đã giúp đỡ tôi về mặt hành chính trong suốt quá trình học tập.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban lãnh đạo và các bạn đồng nghiệp Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao đã tạo điều kiện thuận lợi, hỗ trợ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Phòng Thử nghiệm sinh học - Viện Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ tôi trong việc thử hoạt tính.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể gia đình, bạn bè và những người thân đã luôn luôn quan tâm, động viên và khích lệ tôi trong suốt quá trình hoàn thành luận án.

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Tác giả luận án

Nguyễn Đức Duy

MỤC LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT iii
DANH MỤC BẢNG v
DANH MỤC HÌNH vii
ĐẶT VẤN ĐỀ 1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN 3
1.1. Giới thiệu về chi *Cryptolepis*. 3
1.1.1. Đặc điểm thực vật học của chi *Cryptolepis*. 3
1.1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Cryptolepis* 3
1.1.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Cryptolepis* 8
1.1.4. Giới thiệu về loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult. 11
1.2. Giới thiệu về chi *Ailanthus* 12
1.2.1. Đặc điểm thực vật học của chi *Ailanthus* 12
1.2.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Ailanthus* 13
1.2.3. Tình hình nghiên cứu về hoạt tính sinh học của chi *Ailanthus* 31
1.2.4. Giới thiệu về loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston. 33
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 36
2.1. Đối tượng nghiên cứu 36
2.1.1. Loài *C. buchananii* 36
2.1.2. Loài *A. triphysa* 36
2.2. Phương pháp nghiên cứu 37
2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất 37
2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất 37
2.2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO 39
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ 41
3.1. Phân lập các hợp chất 41
3.1.1. Phân lập từ lá của loài *C. buchananii* 41
3.1.2. Phân lập từ quả của loài *C. buchananii* 43
3.1.3. Phân lập từ lá của loài *A. triphysa* 45
3.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được 47
3.2.1. Loài *C. buchananii* 47
3.2.2. Loài *A. triphysa* 50

3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh nitric oxide của các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii* và *A. triphysa* 51
3.3.1. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *C. buchananii*.....51
3.3.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa* 53
CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ.....55
4.1. Thành phần hóa học của loài *C. buchananii* và loài *A. triphysa* 55
4.1.1. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *C. buchananii*.....55
4.1.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa* 113
4.2. Đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của loài *C. buchananii* và *A. triphysa* 136
4.2.1. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *C. buchananii*.....136
4.2.2. Hoạt tính ức chế NO của các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa* 137
KẾT LUẬN.....138
KIẾN NGHỊ 139
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN 140
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....141
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....142
PHỤ LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C-NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
^{1}H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(CH_3)_2SO$
DPPH	1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EtOAc	Ethyl acetate	
FBS	Fetal Bovine Serum	Huyết thanh thai bò
fMLP	N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine	N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
GC-MS	Gas Chromatography- Mass Spectroscopy	Sắc ký khí – Khối phổ
HCT116	Human colon cancer cell line	Dòng tế bào ung thư đại tràng ở người
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HMBC	Heteronuclear Mutiple Bond Connectivity Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
HT-29	Human colon cancer cell line	Dòng tế bào ung thư đại tràng ở người
IC_{50}	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
IL-4	Interleukin-4	
IL-13	Interleukin-13	
IR	Infrared spectroscopy	Phổ hồng ngoại

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
M		Khối lượng phân tử
MCF7	Michigan Cancer Foundation-7	Dòng tế bào ung thư vú ở người
MDA-MB-361	Human breast adenocarcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến vú người
MDA-MB-435	Human melanoma cell line	Dòng tế bào u hắc tố ở người
MeOH	Methanol	Methanol
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MPO	Myeloperoxidase	Enzym myeloperoxidase
MTT	3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NCTB		Nuôi cấy tế bào
NF-κB	Nuclear Factor-kappa B	Yếu Tố Nhân kappa B
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ NOESY
NO	Nitric oxide	Nitơ monoxit
OD	Optical Density	Mật độ quang
OVCAR3	Human ovarian carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người
RAW 264.7	Macrophage cell line	Dòng tế bào đại thực bào
SKOV3	Human ovary cancer cell line	Dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TLTK		Tài liệu tham khảo
TMS	Tetramethylsilane	$Si(CH_3)_4$
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha	Yếu tố hoại tử khối u alpha
V79-MZ	Chinese hamster lung fibroblast cell line	Dòng tế bào nguyên bào sợi phổi chuột hamster Trung Quốc

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Các hợp chất alkaloid từ chi *Cryptolepis* 3
Bảng 1.2. Các hợp chất steroid từ chi *Cryptolepis* 5
Bảng 1.3. Các hợp chất lignan và flavonoid từ chi *Cryptolepis* 6
Bảng 1.4. Các hợp chất khác từ chi *Cryptolepis* 7
Bảng 1.5. Các hợp chất alkaloid từ chi *Ailanthus* 14
Bảng 1.6. Các hợp chất terpenoid từ chi *Ailanthus* 16
Bảng 1.7. Các hợp chất quassinoid từ chi *Ailanthus* 22
Bảng 1.8. Các hợp chất steroid từ chi *Ailanthus* 25
Bảng 1.9. Các hợp chất flavonoid từ chi *Ailanthus* 27
Bảng 1.10. Các hợp chất benzopyranoid từ chi *Ailanthus* 28
Bảng 1.11. Các hợp chất khác từ chi *Ailanthus* 30
Bảng 3.1. Ảnh hưởng ức chế sản sinh NO của **CL1-CL8** và **CF1-CF9** 52
Bảng 3.2. Giá trị IC_{50} ức chế sản sinh NO của **CL1-CL8** và **CF1-CF9** 53
Bảng 3.3. Ảnh hưởng ức chế sản sinh NO của **AT1-AT10** 53
Bảng 3.4. Giá trị IC_{50} ức chế sản sinh NO của **AT1-AT10** 54
Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của **CL1** 60
Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của **CL2** 64
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của **CL3** 69
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của **CL4** 73
Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của **CL5** 78
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của **CL6** 82
Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của **CL7** 86
Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của **CL8** và hợp chất tham khảo 88
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của **CF1** 92
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của **CF2** 96
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của **CF3** 100
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của **CF4** 105
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của **CF5** và hợp chất tham khảo 106
Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của **CF6** và hợp chất tham khảo 108
Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của **CF7** và hợp chất tham khảo 109

Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của **CF8** và hợp chất tham khảo.....110
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của **CF9** và hợp chất tham khảo.....111
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của **AT1**.....119
Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của **AT2**.....122
Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của **AT3**.....125
Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của **AT4**.....128
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của **AT5** và hợp chất tham khảo 129
Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của **AT6** và hợp chất tham khảo 130
Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của **AT7** và hợp chất tham khảo 132
Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của **AT8** và hợp chất tham khảo 133
Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của **AT9** và hợp chất tham khảo 134
Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của **AT10** và hợp chất tham khảo 135

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của các alkaloid từ chi *Cryptolepis* 5
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các steroid từ chi *Cryptolepis* 6
Hình 1.3 Cấu trúc hóa học của các lignan và flavonoid từ chi *Cryptolepis* 7
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất khác từ chi *Cryptolepis* 8
Hình 1.5. Hình ảnh loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult. 12
Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của các alkaloid từ chi *Ailanthus* 16
Hình 1.7. Cấu trúc hóa học của các terpenoid từ chi *Ailanthus* 21
Hình 1.8. Cấu trúc hóa học của các quassinoid từ chi *Ailanthus* 24
Hình 1.9. Cấu trúc hóa học của các steroid từ chi *Ailanthus* 26
Hình 1.10. Cấu trúc hóa học của các flavonoid từ chi *Ailanthus* 27
Hình 1.11. Cấu trúc hóa học của các benzopyranoid từ chi *Ailanthus* 29
Hình 1.12. Cấu trúc hóa học của các hợp chất khác từ chi *Ailanthus* 30
Hình 1.13. Hình ảnh loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston 34
Hình 2.1. Lá và quả loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult. 36
Hình 2.2. Lá loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston. 36
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài *C. buchananii* 42
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ quả của loài *C. buchananii* 44
Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ lá của loài *A. triphysa* 46
Hình 4.1. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL1** 55
Hình 4.2. Phổ HR-ESI-MS của **CL1** 57
Hình 4.3. Phổ ^{1}H NMR của **CL1** 57
Hình 4.4. Phổ ^{13}C NMR của **CL1** 58
Hình 4.5. Phổ HSQC của **CL1** 58
Hình 4.6. Phổ HMBC của **CL1** 59
Hình 4.7. Phổ COSY của **CL1** 59
Hình 4.8. Phổ NOESY của **CL1** 61
Hình 4.9. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL2** 61
Hình 4.10. Phổ HR-ESI-MS của **CL2** 62
Hình 4.11. Phổ ^{1}H NMR của **CL2** 63
Hình 4.12. Phổ ^{13}C NMR của **CL2** 63
Hình 4.13. Phổ HSQC của **CL2** 63

Hình 4.14. Phổ HMBC của **CL2** 65
Hình 4.15. Phổ COSY của **CL2** 65
Hình 4.16. Phổ NOESY của **CL2** 65
Hình 4.17. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL3** 66
Hình 4.18. Phổ HR-ESI-MS của **CL3** 67
Hình 4.19. Phổ ^{1}H NMR của **CL3** 67
Hình 4.20. Phổ ^{13}C NMR của **CL3** 67
Hình 4.21. Phổ HSQC của **CL3** 68
Hình 4.22. Phổ HMBC của **CL3** 68
Hình 4.23. Phổ COSY của **CL3** 68
Hình 4.24. Phổ NOESY của **CL3** 68
Hình 4.25. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL4** 70
Hình 4.26. Phổ HR-ESI-MS của **CL4** 71
Hình 4.27. Phổ ^{1}H NMR của **CL4** 71
Hình 4.28. Phổ ^{13}C NMR của **CL4** 72
Hình 4.29. Phổ HSQC của **CL4** 72
Hình 4.30. Phổ HMBC của **CL4** 72
Hình 4.31. Phổ COSY của **CL4** 74
Hình 4.32. Phổ NOESY của **CL4** 74
Hình 4.33. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL5** 74
Hình 4.34. Phổ HR-ESI-MS của **CL5** 76
Hình 4.35. Phổ ^{1}H NMR của **CL5** 76
Hình 4.36. Phổ ^{13}C NMR của **CL5** 76
Hình 4.37. Phổ HSQC của **CL5** 77
Hình 4.38. Phổ HMBC của **CL5** 77
Hình 4.39. Phổ COSY của **CL5** 77
Hình 4.40. Phổ NOESY của **CL5** 77
Hình 4.41. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL6** 79
Hình 4.42. Phổ HR-ESI-MS của **CL6** 80
Hình 4.43. Phổ ^{1}H NMR của **CL6** 80
Hình 4.44. Phổ ^{13}C NMR của **CL6** 81
Hình 4.45. Phổ HSQC của **CL6** 81

Hình 4.46. Phổ HMBC của **CL6** 81
Hình 4.47. Phổ COSY của **CL6** 83
Hình 4.48. Phổ NOESY của **CL6** 83
Hình 4.49. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL7** 83
Hình 4.50. Phổ HR-ESI-MS của **CL7** 84
Hình 4.51. Phổ ^{1}H NMR của **CL7** 84
Hình 4.52. Phổ ^{13}C NMR của **CL7** 85
Hình 4.53. Phổ HSQC của **CL7** 85
Hình 4.54. Phổ HMBC của **CL7** 85
Hình 4.55. Phổ COSY của **CL7** 87
Hình 4.56. Phổ NOESY của **CL7** 87
Hình 4.57. Cấu trúc hóa học của **CL8** 87
Hình 4.58. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF1** 89
Hình 4.59. Phổ HR-ESI-MS của **CF1** 90
Hình 4.60. Phổ ^{1}H NMR của **CF1** 91
Hình 4.61. Phổ ^{13}C NMR của **CF1** 91
Hình 4.62. Phổ HSQC của **CF1** 91
Hình 4.63. Phổ HMBC của **CF1** 92
Hình 4.64. Phổ COSY của **CF1** 93
Hình 4.65. Phổ NOESY của **CF1** 93
Hình 4.66. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, và NOESY chính của **CF2** 94
Hình 4.67. Phổ HR-ESI-MS của **CF2** 94
Hình 4.68. Phổ ^{1}H NMR của **CF2** 95
Hình 4.69. Phổ ^{13}C NMR của **CF2** 95
Hình 4.70. Phổ HSQC của **CF2** 95
Hình 4.71. Phổ HMBC của **CF2** 96
Hình 4.72. Phổ COSY của **CF2** 97
Hình 4.73. Phổ NOESY của **CF2** 97
Hình 4.74. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF3** 97
Hình 4.75. Phổ HR-ESI-MS của **CF3** 98
Hình 4.76. Phổ ^{1}H NMR của **CF3** 98
Hình 4.77. Phổ ^{13}C NMR của **CF3** 99

Hình 4.78. Phổ HSQC của **CF3** 99
Hình 4.79. Phổ HMBC của **CF3** 99
Hình 4.80. Phổ COSY của **CF3** 101
Hình 4.81. Phổ NOESY của **CF3** 101
Hình 4.82. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF4** 101
Hình 4.83. Phổ HR-ESI-MS của **CF4** 103
Hình 4.84. Phổ ^{1}H NMR của **CF4** 103
Hình 4.85. Phổ ^{13}C NMR của **CF4** 103
Hình 4.86. Phổ HSQC của **CF4** 104
Hình 4.87. Phổ HMBC của **CF4** 104
Hình 4.88. Phổ COSY của **CF4** 104
Hình 4.89. Phổ NOESY của **CF4** 104
Hình 4.90. Cấu trúc hóa học của **CF5** 106
Hình 4.91. Cấu trúc hóa học của **CF6** 107
Hình 4.92. Cấu trúc hóa học của **CF7** 108
Hình 4.93. Cấu trúc hóa học của **CF8** 109
Hình 4.94. Cấu trúc hóa học của **CF9** 111
Hình 4.95. Tổng hợp các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii* 112
Hình 4.96. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT1** 113
Hình 4.97. Phổ HR-ESI-MS của **AT1** 115
Hình 4.98. Phổ ^{1}H NMR của **AT1** 116
Hình 4.99. Phổ ^{13}C NMR của **AT1** 116
Hình 4.100. Phổ HSQC của **AT1** 117
Hình 4.101. Phổ HMBC của **AT1** 117
Hình 4.102. Phổ COSY của **AT1** 118
Hình 4.103. Phổ NOESY của **AT1** 118
Hình 4.104. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT2** 119
Hình 4.105. Phổ HR-ESI-MS của **AT2** 120
Hình 4.106. Phổ ^{1}H NMR của **AT2** 120
Hình 4.107. Phổ ^{13}C NMR của **AT2** 121
Hình 4.108. Phổ HSQC của **AT2** 121
Hình 4.109. Phổ HMBC của **AT2** 121

Hình 4.110. Phổ COSY của **AT2** 122
Hình 4.111. Phổ NOESY của **AT2** 122
Hình 4.112. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT3** 123
Hình 4.113. Phổ HR-ESI-MS của **AT3** 123
Hình 4.114. Phổ ^{1}H NMR của **AT3** 124
Hình 4.115. Phổ ^{13}C NMR của **AT3** 124
Hình 4.116. Phổ HSQC của **AT3** 124
Hình 4.117. Phổ HMBC của **AT3** 125
Hình 4.118. Phổ COSY của **AT3** 125
Hình 4.119. Phổ NOESY của **AT3** 125
Hình 4.120. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT4** 126
Hình 4.121. Phổ HR-ESI-MS của **AT4** 126
Hình 4.122. Phổ ^{1}H NMR của **AT4** 127
Hình 4.123. Phổ ^{13}C NMR của **AT4** 127
Hình 4.124. Phổ HSQC của **AT4** 127
Hình 4.125. Phổ HMBC của **AT4** 128
Hình 4.126. Phổ COSY của **AT4** 128
Hình 4.127. Phổ NOESY của **AT4** 128
Hình 4.128. Cấu trúc hóa học của **AT5** 129
Hình 4.129. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **AT6** 130
Hình 4.130. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **AT7** 131
Hình 4.131. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **AT8** 132
Hình 4.132. Cấu trúc hóa học của **AT9** 134
Hình 4.133. Cấu trúc hóa học của **AT10** 135
Hình 4.134. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ loài *A. triphysa* 136

ĐẶT VẤN ĐỀ

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* hay còn gọi là cây Sừng dê, 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* (tên gọi khác là cây Thanh thất) thuộc 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 *C. buchananii* và *A. triphysa* ức chế sản sinh NO rất tốt, tương ứng là 69% và 78% 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**).**

Trên thế giới, theo thống kê của trang web Plants of the World Online, chi *Cryptolepis* có tới 34 loài. Các loài của chi này được tìm thấy ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, có phân bố rộng trong khu vực Châu Phi và Châu Á. Ở Việt Nam, theo danh mục Cây cỏ Việt Nam của tác giả Phạm Hoàng Hộ, chi *Cryptolepis* tại Việt Nam hiện có 3 loài *Cryptolepis balansae* H. Baill., *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult. và *Cryptolepis sinensis* (Lour.) Merr. phân bố rộng ở cả nước [1].

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, steroid, lignan, flavonoid và một số hợp chất khác [2-21].

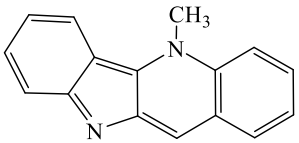
1.1.2.1 Các hợp chất alkaloid

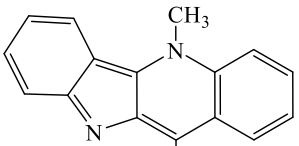
Hai mươi hai alkaloid (**C1-C22**) được phân lập từ chi *Cryptolepis*, trong đó 18 hợp chất (**C1-C18**) được phân lập từ rễ của loài *C. sanguinolenta* [2-10] và 4 hợp chất (**C19-C22**) được phân lập từ thân của loài *C. buchananii* [11-13] (Bảng 1.1).

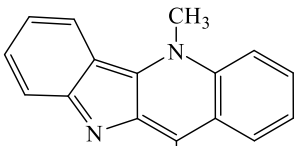
Bảng 1.1. Các hợp chất alkaloid từ chi *Cryptolepis*

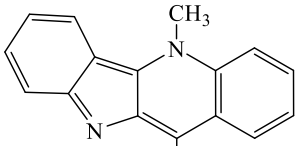
TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
C1	Cryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[2]
C2	11-Isopropylcryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[3]
C3	Hydroxycryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[4]
C4	Cryptolepinoic acid	Rễ	*C. sanguinolenta*	[4]
C5	Methyl cryptolepinoate	Rễ	*C. sanguinolenta*	[4]
C6	Ethyl cryptolepinoate	Rễ	*C. sanguinolenta*	[4]
C7	Cryptolepicarboline	Rễ	*C. sanguinolenta*	[5]
C8	Cryptoquindoline	Rễ	*C. sanguinolenta*	[6]
C9	Biscryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[7]
C10	Quindoline	Rễ	*C. sanguinolenta*	[6]
C11	11-Methoxyquindoline	Rễ	*C. sanguinolenta*	[5]
C12	Quindolinone	Rễ	*C. sanguinolenta*	[5]
C13	Cryptomisrine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[5]

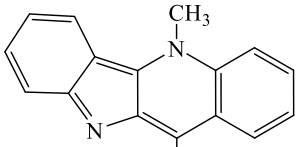
C14	Cryptolepinone	Rễ	*C. sanguinolenta*	[8]
C15	Isocryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[9]
C16	Neocryptolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[7]
C17	Cryptoheptine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[6]
C18	Cryptospirolepine	Rễ	*C. sanguinolenta*	[10]
C19	(+)-Melodinine E	Thân	*C. buchananii*	[11]
C20	(+)-11-Chloromelodinine E	Thân	*C. buchananii*	[11]
C21	Buchananine	Thân	*C. buchananii*	[12]
C22	1,3,6-*O*-Trinicotinol-α-D-glucopyranose	Thân	*C. buchananii*	[13]

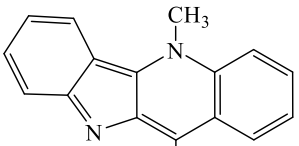

C1

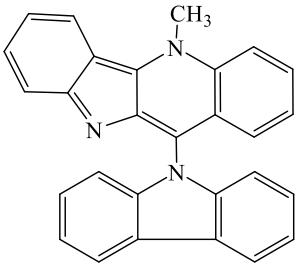

C2

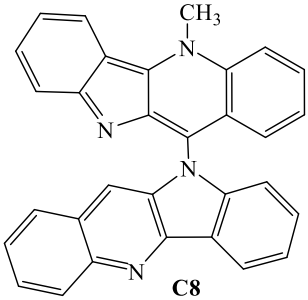

C3

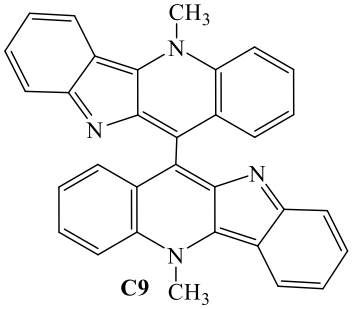

C4

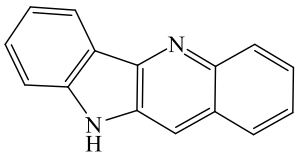

C5

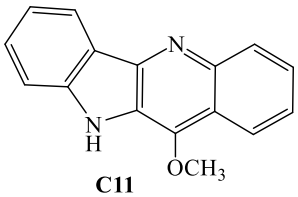

C6

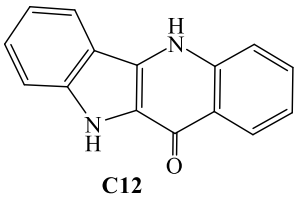

C7

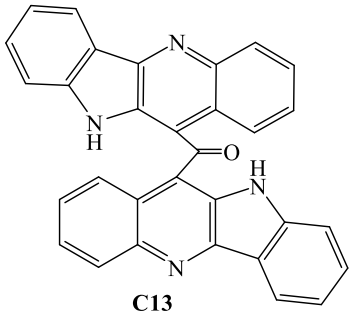

C8

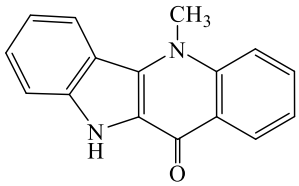

C9

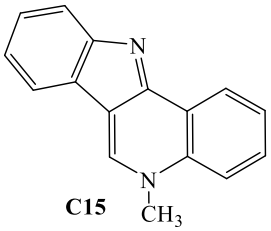

C10

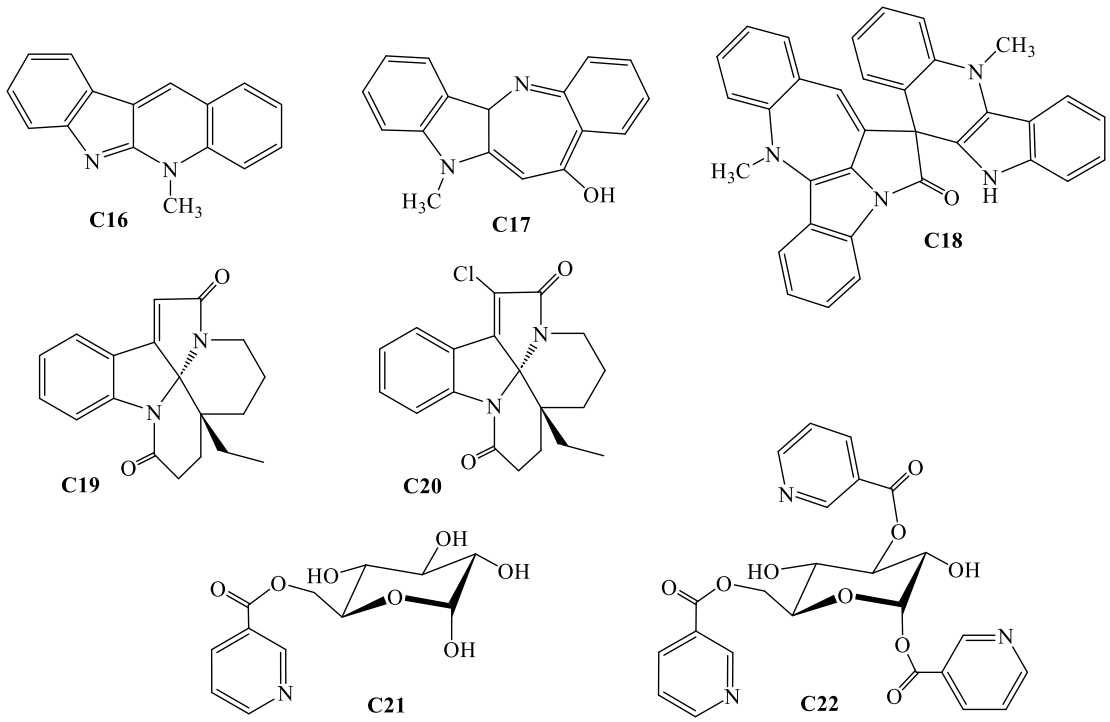

C11


C12


C13


C14


C15



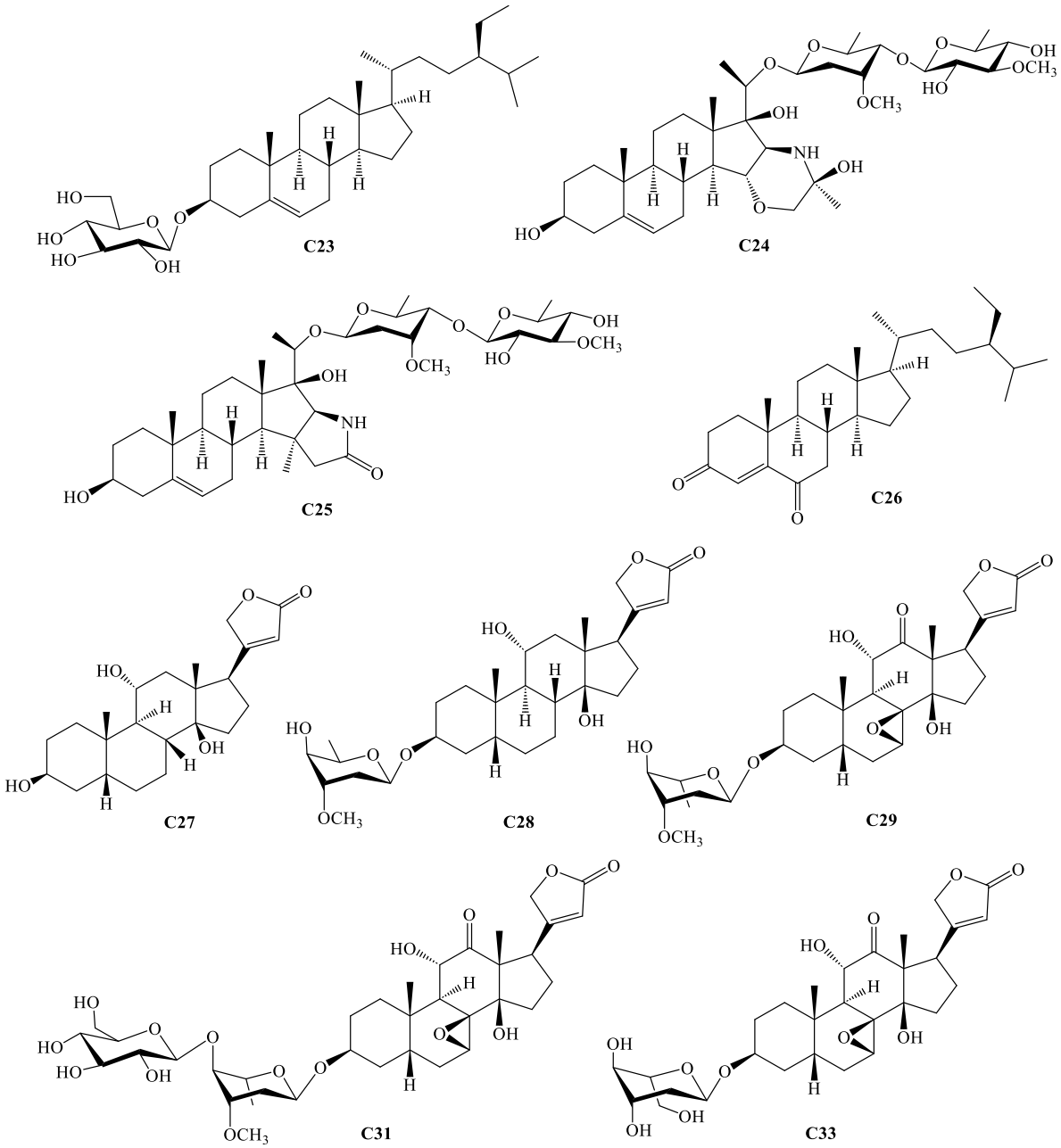
Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của các alkaloid từ chi *Cryptolepis*

1.1.2.2. Các hợp chất steroid

Mười một steroid (**C23-C33**) đã được phân lập từ chi *Cryptolepis*. Trong đó, 3 hợp chất (**C23-C25**) được phân lập từ rễ loài *C. obtusa* [14] và 8 hợp chất (**C26-C33**) được phân lập từ lá, thân và rễ loài *C. buchananii*, trong đó hai hợp chất **C30** và **C32** lần lượt là dạng iso của hợp chất **C29** và hợp chất **C31** [15-18] (Bảng 1.2).

Bảng 1.2. Các hợp chất steroid từ chi *Cryptolepis*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
C23	*β*-Sitosteryl-3-*O*-*β*-glucopyranoside	Rễ	*C. obtusa*	[14]
C24	Obtusine-20(*R*)-*O*-[*β*-thevetopyranosyl-(1→4)-*β*-cymaropyranoside]	Rễ	*C. obtusa*	[14]
C25	Obtusolactam-20(*R*)-*O*-[*β*-thevetopyranosyl-(1→4)-*β*-cymaropyranoside]	Rễ	*C. obtusa*	[14]
C26	Stigmast-4-ene-3,6-dione	Thân	*C. buchananii*	[15]
C27	Sarmentogenin	Lá, rễ	*C. buchananii*	[16]
C28	Sarmentocymarin	Lá, rễ	*C. buchananii*	[16]
C29	Cryptanoside A	Lá, rễ	*C. buchananii*	[17]
C30	Cryptanoside B	Lá, rễ	*C. buchananii*	[17]
C31	Cryptanoside C	Lá, rễ	*C. buchananii*	[17]
C32	Cryptanoside D	Lá, rễ	*C. buchananii*	[17]
C33	Cryptosin	Lá, rễ	*C. buchananii*	[18]



Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của các steroid từ chi *Cryptolepis*

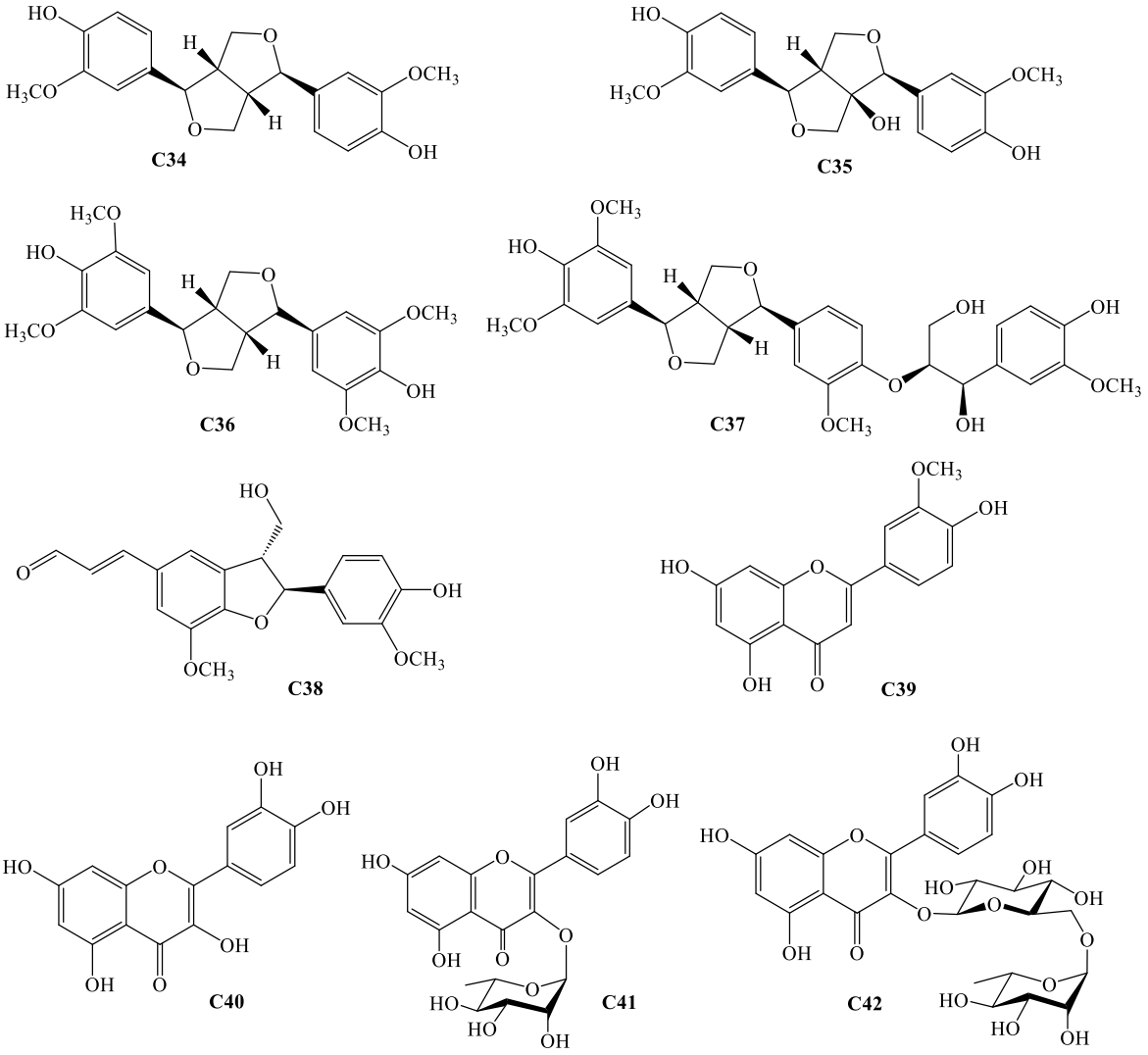
1.1.2.3. Các hợp chất lignan và flavonoid

Năm lignan (**C34-C38**) và một flavonoid (**C39**) được phân lập từ thân và lá của *C. buchananii* [19] và ba hợp chất có cấu trúc flavonoid (**C40-C42**) được phân lập từ lá của loài *C. obtusa* [20] (Bảng 1.3).

Bảng 1.3. Các hợp chất lignan và flavonoid từ chi *Cryptolepis*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
	Lignan			
C34	Pinoresinol	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C35	8-Hydroxypinoresinol	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C36	Syringaresinol	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C37	Ficusesquilignan A	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]

C38	Balanophonin	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
	Flavonoid			
C39	Chrysoeriol	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C40	Quercetin	Lá	*C. obtusa*	[20]
C41	Quercitrin	Lá	*C. obtusa*	[20]
C42	Rutin	Lá	*C. obtusa*	[20]



Hình 1.3 Cấu trúc hóa học của các lignan và flavonoid từ chi *Cryptolepis*

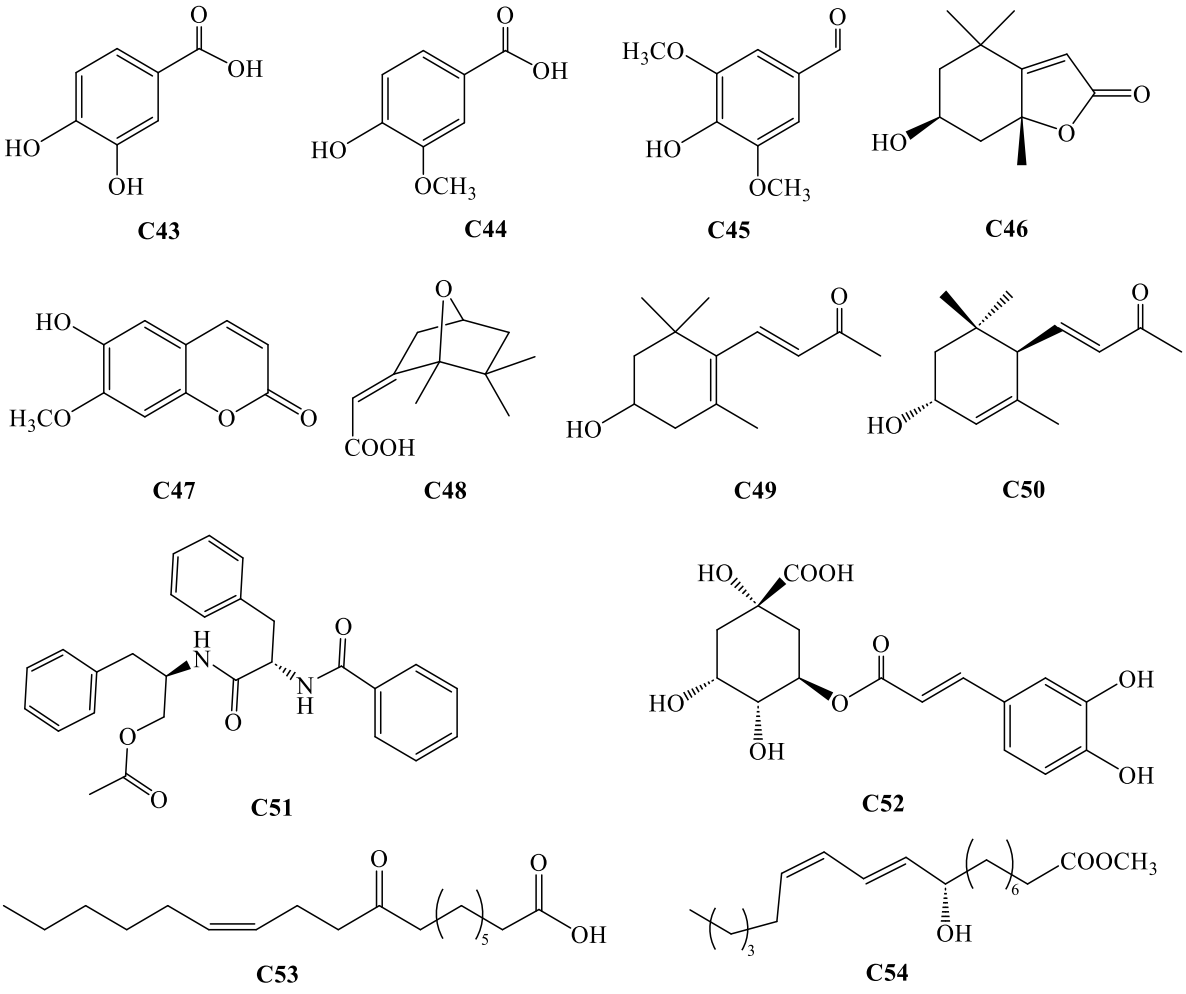
1.1.2.4. Các hợp chất khác

Ngoài các lớp chất nêu trên, mười hai hợp chất khác (**C43-C54**) đã được phát hiện và phân lập từ chi *Cryptolepis*. Trong đó, có mười một hợp chất (**C43-C53**) phân lập các từ bộ phân trên mặt đất của loài *C. buchananii* [15, 19, 21] và một hợp chất (54) phân lập từ lá của loài *C. obtusa* [20] (Bảng 1.4).

Bảng 1.4. Các hợp chất khác từ chi *Cryptolepis*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
C43	3,4-Dihydroxyl benzoic acid	Thân, lá	*C. buchananii*	[15]
C44	Vanillic acid	Thân, lá	*C. buchananii*	[15]

C45	Syringaldehyde	Thân, lá	*C. buchananii*	[15]
C46	Loliolide	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C47	Isoscopoletin	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C48	Ficusic acid	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C49	(+)-3-Hydroxy-*β*-ionone	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C50	(3*R*,6*R*,7*E*)-3-Hydroxy-4,7-megas-tigmadien-9-one	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C51	Dia-aurantiamide acetate	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C52	9-Oxo-*cis*-12-octadecenoic acid	Dầu hạt	*C. buchananii*	[21]
C53	9-Hydroxy-10*E*,12*Z*-octadecadien-oic acid methyl ester	Thân, lá	*C. buchananii*	[19]
C54	Chlorogenic acid	Lá	*C. obtusa*	[20]



Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất khác từ chi *Cryptolepis*

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.

1.1.3.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Dịch chiết nước và cryptolepine (**C1**) phân lập từ rễ của loài *C. sanguinolenta* được thử nghiệm độc tính trên các dòng tế bào V79-MZ, HCT116, SKOV3, MCF7 và MDA-MB-361. Kết quả cho thấy dịch chiết nước và cryptolepine (**C1**) rất độc đối với tế bào thử nghiệm và ít gây đột biến gen ở động vật có vú. Với tính chất ít gây đột biến gen của dịch chiết nước và cryptolepine (**C1**) kết hợp với tác dụng gây độc tế bào mạnh cho thấy tiềm năng chống ung thư mạnh của chúng [22].

Nghiên cứu đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hợp chất cryptolepine (**C1**) phân lập từ loài *C. sanguinolenta* trên dòng tế bào ung thư phổi (A549) cho thấy cryptolepine gây ra sự giảm đáng kể ($p<0,05$) về sự tăng sinh tế bào A549 theo nồng độ sau 24 giờ điều trị. Ở nồng độ 20 µM, khả năng sống của tế bào A549 đã bị giảm đáng kể (62,2±3,3%) [23].

Hai hợp chất (+)-melodinine E (**C19**) và (+)-11-chloromelodinine E (**C20**) phân lập từ thân loài *C. buchananii* đã được thử nghiệm độc tính trên các dòng tế bào ung thư HT-29, MDA-MB-231, OVCAR3 và MDA-MB-435. Kết quả cho thấy cả hai hợp chất này đều có độc tính chọn lọc đối với tế bào OVCAR3 với giá trị IC_{50} lần lượt là 9,1 µM và 5,9 µM. Trong khi đối với các dòng tế bào còn lại thì không thể hiện độc tính [11].

1.1.3.2. Hoạt tính kháng viêm

Dịch chiết ethanol 50% trong nước của loài *C. buchananii* cho thấy có hoạt tính kháng viêm tiềm năng, làm giảm tình trạng viêm ở chứng phù chân chuột do carrageenan gây ra. Dịch chiết này có tác dụng làm giảm đáng kể quá trình hình thành mô hạt và ức chế đáng kể quá trình sản sinh TNF-α (52,19%) ở nồng độ 100 µg/ml so với chất chuẩn dexamethasone (60,17%, 1 µM) [24].

Dịch chiết methanol từ thân của loài *C. buchananii* thể hiện hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua mô hình đáp ứng chức năng bạch cầu trung tính ở người. Trong chemotaxis bạch cầu trung tính gây ra bởi fMLP, dịch chiết này ức chế đáng kể ở nồng độ (0,1-100 µg/ml) với giá trị IC_{50} là 140,4 ± 18,2 µg/ml (so với indomethacin chuẩn có giá trị IC_{50} là 17,7 ± 2,5 µg/ml). Trong thử nghiệm sản sinh MPO gây ra bởi fMLP, dịch chiết methanol ức chế đáng kể MPO với giá trị IC_{50} là 108,3 ± 8,9 µg/ml (so với indomethacin chuẩn có giá trị IC_{50} là 43,7 ± 3,6 µg/ml). Tương tự như vậy, trong giải phóng elastase gây ra bởi fMLP, dịch chiết methanol thể hiện hoạt tính rất thấp (IC_{50} >7000 µg/ml) (so với indomethacin chuẩn có giá trị IC_{50} là 52,3 ± 6,5 µg/ml) [25].

1.1.3.3. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

Dịch chiết ethanol, nước và 5 alkaloid cryptolepine (**C1**), hydroxycryptolepine (**C3**), cryptoquindoline (**C8**), quindoline (**C10**), cryptoheptine (**C17**) phân lập từ rễ của loài *C. sanguinolenta* được thử nghiệm sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn đối với 7 chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* và *Streptococcus faecalis*. Kết quả cho thấy, dịch chiết ethanol, cryptolepine (**C1**) và cryptoheptine (**C17**) đều có hoạt tính kháng khuẩn đối với tất cả các chủng vi khuẩn được thử nghiệm ngoại trừ chủng vi khuẩn *P. aeruginosa* [26].

Dịch chiết nước từ lá của loài *C. buchananii* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. epidermidis*. Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của dịch chiết nước từ loài này đối với tất cả các vi khuẩn được thử nghiệm tương ứng nằm trong khoảng 1÷16 và 2÷32 g/L. Dịch chiết nước từ lá *C. buchananii* cho thấy hoạt tính kháng khuẩn có phổ rộng đối với vi khuẩn gây bệnh từ thực phẩm, vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện và một số vi khuẩn hệ vi khuẩn bình thường ở nồng độ thấp [27].

Dịch chiết methanol và dịch chiết lá trong nước của loài *C. buchananii* thể hiện hoạt tính kháng nấm đối với một số loại nấm da liễu ở người như *Microsporum gypseum*, *Chrysosporium keratinophilum*, *Chrysosporium indicum* và *Trichophyton rubrum* thông qua phương pháp khuếch tán giếng thạch. Kết quả cho thấy dịch chiết methanol gây ức chế mạnh đối với *T. rubrum*, trong khi *C. keratinophilum* nhạy cảm với dịch chiết nước hơn so với các loại nấm khác [28].

Dịch chiết methanol từ lá của loài *C. sanguinolenta* được thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn thực hiện trên sáu chủng vi khuẩn gồm *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* và kháng nấm trên hai loại nấm gồm *Aspergillus niger* và *Candida albicans*. Kết quả cho thấy dịch chiết methanol từ *C. sanguinolenta* có tác dụng kháng nấm và kháng khuẩn, và khi kết hợp với dịch chiết methanol từ lá của loài *Cranteva Adansonii* sẽ có hiệu quả trong điều trị một số bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn và nấm, đặc biệt là nhiễm trùng *Candida albicans* [29].

1.1.3.4. Hoạt tính sinh học khác

Dịch chiết methanol, acetone và chloroform từ lá của loài *C. buchananii* được nghiên cứu đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Thử nghiệm loại bỏ gốc DPPH, thử nghiệm loại bỏ gốc hydroxyl và thử nghiệm khử Fe^{+3} đã được thực hiện để đánh giá

hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*. Kết quả cho thấy các dịch chiết nêu trên đều có khả năng chống oxy hóa tốt [30].

Bốn alkaloid cryptolepine (**C1**), hydroxycryptolepine (**C3**), quindoline (**C10**) và neocryptolepine (**C16**) phân lập từ vỏ rễ của loài *C. sanguinolenta* đã được đánh giá *in vitro* đối với chủng *Plasmodium falciparum* D-6, K-1 và W-2. Cryptolepine, hydroxycryptolepine và neocryptolepine thể hiện hoạt tính chống sốt rét mạnh đối với chủng *P. falciparum*. Các thử nghiệm *in vivo* trên chuột bị nhiễm bệnh cho thấy crytpolepine (**C1**) khi được thử nghiệm dưới dạng hydrochloride thể hiện tác dụng ức chế đáng kể đối với *Plasmodium berghei yoelii* và *Plasmodium berghei berghei* [31].

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. Loài này được R.Br. ex Roem. & Schult. mô tả khoa học đầu tiên năm 1819. Theo trang web Plants of the World Online (2026) đã thống kê 13 tên đồng danh của loài này là:

Cryptolepis dubia (Burm.f.) M.R.Almeida (2001)

Chonemorpha reticulata G.Don (1837)

Cryptolepis balansae Baill. (1889)

Cryptolepis balansae var. *calophylla* Baill. (1889)

Cryptolepis reticulata (Roth) Reider (1830)

Echites cuspidatus B.Heyne ex Hook.f. (1883)

Echites reticulatus Roth (1819)

Echites reticulatus var. *tomentosus* Roth (1819)

Nerium reticulatum Roxb. (1832)

Periploca dubia Burm.f. (1768)

Periploca viridiflora Kostel. (1834)

Trachelospermum cavaleriei H.Lév. (1914)

Trachelospermum gracilipes var. *cavaleriei* (H.Lév.) C.K.Schneid. (1916)

Loài *C. buchananii* là cây thân thảo, leo quấn thân. Thân cành nhẵn, phình ở mấu. Lá mọc đối, hình bầu dục hoặc hơi hình trứng, dài 8-18 cm, rộng 4-9 cm, gốc tròn, đầu hơi có mũi nhọn, hai mặt nhãn, mặt trên bóng, gân phụ 20-30 đôi xếp sít nhau và gần như vuông góc với gân chính. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành xim ngắn, hoa nhỏ màu vàng, đài có 5 răng nhọn, tràng có ống ngắn, cánh hoa hình mũi mác, uốn lượn, tràng phụ có vảy ngắn, nhị có chi nhị không dính liền, bao phấn hình mũi tên, có nhiều lông. Quả gồm 2 đầu, dài 7-8 cm, rộng khoảng 1 cm, xếp đối diện nhau thành đường thẳng, đầu thuôn nhọn, hạt dài hơn 2 cm, có lông trắng [32].

Hình 1.5. Hình ảnh loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult.

Trên thế giới loài *C. buchananii* có vùng phân bố rộng rãi, sinh trưởng tập trung tại một số nước 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 [32]. Người ta thường lấy lá tươi *C. buchananii* băm nhỏ để chữa mủ nhọt. Ở Trung Quốc, người ta dùng toàn cây trị chấn thương, mụn nhọt, sưng lở và lấy nhựa cây chữa vết thương do gai đâm. Ở Nepal, người ta sử dụng mủ nhựa của cây để trị đau lưng [32].

Trên thế giới, đến nay đã có 15 công trình công bố nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *C. buchananii*. 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 này, bao gồm 4 alkaloid (**C19-C22**) [11-13], 8 hợp chất steroid (**C26-C33**) [15-18], 5 hợp chất lignan (**C34-C38**) [19] và 12 hợp chất khác (**C39** và **C43-C53**) [15, 19, 21]; có 07 bài báo công bố về đánh giá một số hoạt tính sinh học của loài *C. buchananii*, như hoạt tính gây độc tế bào ung thư [11], kháng viêm [24, 25], kháng khuẩn [27, 29], kháng nấm [28, 29], chống oxy hóa [30], tuy nhiên các công trình công bố này mới chỉ tập trung đánh giá hoạt tính sinh học của các dịch chiết methanol, ethanol từ lá và thân loài *C. buchananii*, mà chưa đi sâu nghiên cứu đánh giá hoạt tính của các hợp chất phân lập được từ loài này. Ở Việt Nam, đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *C. buchananii*.

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**).**

Trên thế giới, theo thống kê của trang web Plants of the World Online (2026), chi *Ailanthus* xếp loại có 6 loài được chấp nhận, bao gồm:

1) *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle
2) *Ailanthus excelsa* Roxb.
3) *Ailanthus integrifolia* Lam.
4) *Ailanthus fordii* Noot.
5) *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alst.
6) *Ailanthus vietnamensis* H.V.Sam & Noot.

Sáu loài này của chi *Ailanthus* được tìm thấy chủ yếu ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, phân bố rộng trong khu vực Châu Á như Campuchia, Trung Quốc, Himalaya, Ấn Độ, Lào, Malaya, Myanmar, Philippines, Thái Lan, Tây Tạng.

Theo danh mục Cây cỏ Việt Nam của tác giả Phạm Hoàng Hộ [33], 3 loài thuộc chi *Ailanthus* tại Việt Nam đã được phát hiện là *Ailanthus altissinma* (Mill.) Swingle, *Ailanthus integrifolia* Lam. và *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alst. Năm 2007, tác giả Hoàng Văn Sam và cộng sự [34] đã công bố thêm một loài mới thuộc chi này là loài *Ailanthus vietnamensis* H.V.Sam & Noot. Trong số 4 loài phát hiện tại Việt Nam thì loài *Ailanthus triphysa* được biết đến và sử dụng phổ biến nhất trong cuộc sống. Các loài này thường gặp chủ yếu ở các tỉnh Phú Thọ, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Nội, Lào Cai, Ninh Thuận [33, 35, 36].

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.

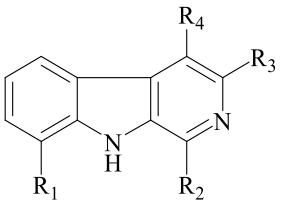
1.2.2.1. Các hợp chất alkaloid từ chi Ailanthus

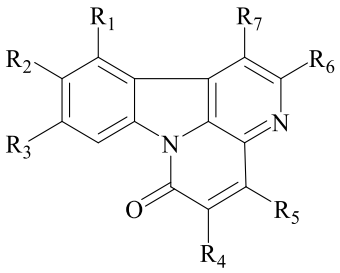
Ba mươi sáu alkaloid (**A1-A36**) được báo cáo phân lập từ vỏ thân, vỏ rễ và nuôi cấy tế bào của các loài thuộc chi *Ailanthus*. Trong đó, 5 hợp chất (**A1**-**A4** và **A36**) được phân lập từ loài *A. triphysa* [37, 38], 5 hợp chất (**A5**, **A6**, **A16**, **A17** và **A32**) đều được tìm thấy và phân lập từ hai loài *A. altissima* và *A. triphysa* [37-43], riêng hợp chất **A16** còn được tìm thấy từ loài *A. excelsa* [44], và 26 hợp chất (**A7**-**A15**, **A18**-**A31** và **A33**-**A35**) được phân lập từ loài *A. altissima* [39-43, 45-49]. Về mặt cấu trúc hóa học, cho thấy 15 hợp chất (**A1-A15**) thuộc loại dẫn xuất *β*-carboline tự nhiên, 11 hợp chất (**A16-A26**) có cấu trúc của khung canthine-6-one, 5 hợp chất (**A27-A31**) thuộc dẫn xuất alkaloid glycoside có khung aglycone dạng canthine-6-one và 5 hợp chất (**A32-A36**) alkaloid khác (Bảng 1.5).

Bảng 1.5. Các hợp chất alkaloid từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A1	1-Ethyl-4,8-dimethoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. triphysa*	[37]
A2	4,8-Dimethoxy-1-vinyl-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. triphysa*	[37]
A3	1-Ethyl-*β*-carboline	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]
A4	1-Ethyl-4-methoxy-*β*-carboline	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]
A5	1-Carbamoyl-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. triphysa* *A. altissima*	[37, 40]
A6	*β*-Carboline-1-propionic acid	Thân gỗ Vỏ rễ	*A. triphysa* *A. altissima*	[38, 40]
A7	1-Carbomethoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[40]
A8	1-(2′-Hydroxyethyl)-4-methoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A9	1-(1′,2′-Dihydroxyethyl)-4-methoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A10	1-(1′,2′-Dihydroxy)ethyl-3-hydroxymethyl-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A11	1-(1′-Hydroxy-2′-methoxy)ethyl-4-methoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[40]
A12	1-Acetyl-4-methoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A13	Methyl 4-methoxy-*β*-carboline-1-carboxylate	Vỏ rễ	*A. altissima*	[45]
A14	1-Methoxycarbonyl-*β*-carboline1	Vỏ rễ	*A. altissima*	[46]
A15	1-Methoxycarbonyl-4,8-dimethoxy-*β*-carboline	Vỏ rễ	*A. altissima*	[46]
A16	Canthin-6-one	Thân gỗ, vỏ thân	*A. triphysa* *A. altissima* *A. excelsa*	[38, 41, 44]
A17	1-Hydroxycanthin-6-one	Thân gỗ, NCTB	*A. triphysa* *A. altissima*	[38, 42, 43]
A18	2-Hydroxycanthin-6-one	NCTB	*A. altissima*	[42]
A19	4-Hydroxycanthin-6-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41, 42]
A20	5-Hydroxycanthin-6-one	NCTB	*A. altissima*	[42]
A21	9-Hydroxycanthin-6-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A22	10-Hydroxycanthin-6-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A23	11-Hydroxycanthin-6-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A24	1-Methoxycanthin-6-one	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A25	5-Hydroxymethylcanthin-6-one	Vỏ rễ	*A. altissima*	[40]
A26	(*R*)-5-(1-Hydroxyethyl)-canthin-6-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A27	Ailantcanthinoside A	Vỏ rễ	*A. altissima*	[47]

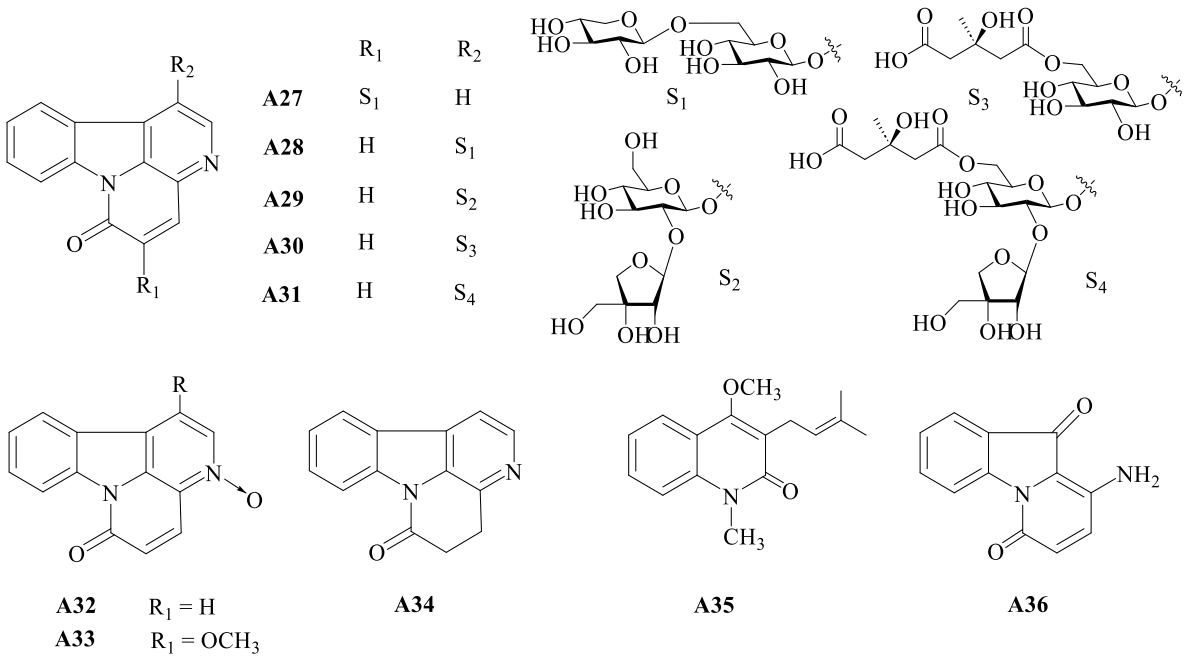
A28	Ailantcanthinoside B	Vỏ rễ	*A. altissima*	[47]
A29	Canthin-6-one-1-*O*-*β*-D-apiofuranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranoside	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A30	Canthin-6-one-1-*O*-[6-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)]-*β*-D-glucopyranoside	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A31	Canthin-6-one-1-*O*-[2-*β*-D-apiofuranosyl-6-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)]-*β*-D-glucopyranoside	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A32	Canthin-6-one-3*N*-oxide	Thân gỗ Vỏ rễ	*A. triphysa,* *A. altissima*	[38, 39]
A33	1-Methoxycanthin-6-one-3*N*-oxide	Vỏ rễ	*A. altissima*	[39]
A34	4,5-Dihydrocanthin-6-one	NCTB	*A. altissima*	[42]
A35	4-Methoxy-1-methyl-3-[3-methylbut-2-en-1-yl]quinolin-2(1*H*)-one	Vỏ rễ	*A. altissima*	[49]
A36	Ailanindole	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]





	R_1	R_2	R_3	R_4
A1	OCH_3	CH_2CH_3	H	OCH_3
A2	OCH_3	$CH{=}CH_2$	H	OCH_3
A3	H	CH_2CH_3	H	H
A4	H	CH_2CH_3	H	OCH_3
A5	H	$CONH_2$	H	H
A6	H	CH_2CH_2COOH	H	H
A7	H	$COOCH_3$	H	H
A8	H	CH_2CH_2OH	H	OCH_3
A9	H	$CH(OH)CH_2OH$	H	OCH_3
A10	H	$CH(OH)CH_2OH$	CH_2OH	H
A11	H	$CH(OCH_3)CH_2OH$	H	OCH_3
A12	H	$COCH_3$	H	OCH_3
A13	H	$COOCH_3$	H	OCH_3
A14	H	$COOCH_3$	H	OCH_3
A15	OCH_3	$COOCH_3$	H	OCH_3

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7
A16	H	H	H	H	H	H	H
A17	H	H	H	H	H	H	OH
A18	H	H	H	H	H	OH	H
A19	H	H	H	H	OH	H	H
A20	H	H	H	OH	H	H	H
A21	H	H	OH	H	H	H	H
A22	H	OH	H	H	H	H	H
A23	OH	H	H	H	H	H	H
A24	H	H	H	H	H	H	OCH_3
A25	H	H	H	CH_2OH	H	H	H
A26	H	H	H		H	H	H



Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của các alkaloid từ chi *Ailanthus*

1.2.2.2. Các hợp chất terpenoid từ chi Ailanthus

Sáu mươi terpenoid (**A37-A96**) đã được phân lập và xác định cấu trúc từ nhiều bộ phân khác nhau của các loài thuộc chi *Ailanthus*. Trong đó, gồm 40 hợp chất (**A37-A48, A49-A51, A59, A63-A66, A77-A96**) được phân lập từ loài *A. triphysa* [50-57], trong đó 3 hợp chất (**A41**, **A45** và **A59**) cũng được phân lập từ loài *A. excelsa* [58], 18 hợp chất (**A54-A58, A60-A62** và **A67-A76**) phân lập từ loài *A. altissima* [41, 59-61], và 2 hợp chất (**A52** và **A53**) được phân lập từ loài *A. excelsa* [58]. Cấu trúc hóa học của sáu mươi hợp chất này, bao gồm 12 hợp chất (**A37-A48**) thuộc loại malabaricane, 14 hợp chất (**A49-A62**) thuộc loại dammarane, 14 hợp chất (**A63-A76**) thuộc loại tirucallane, tám hợp chất (**A77-A84**) thuộc loại cycloapotirucallanes, tám dẫn xuất (**A85-A92**) thuộc loại lupane, hai hợp chất (**A93, A94**) thuộc loại oleanane và hai diterpenoid (**A95-A96**) lần lượt là dẫn xuất của isopimarane và phyllocladane (Bảng 1.6). Riêng hợp chất **A44**, cấu hình tuyệt đối tại C-24 vẫn chưa xác định [51].

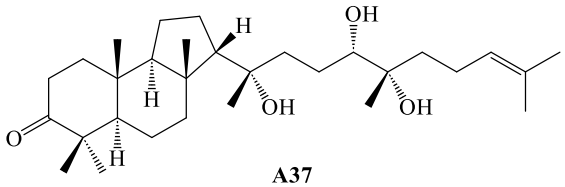
Bảng 1.6. Các hợp chất terpenoid từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
	Triterpenoid			
	Malabaricane			
A37	(14*S*,17*S*,20*S*)-14,17,20-Trihydroxy-24-malabaricen-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A38	(14*S*,17*S*,20*S*,24*S*)-14,17,20,24,25-Pentahydroxy-malabarican-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A39	(17*R*,20*R*,24*R*)-17,20,24,25-Tetrahydroxy-14(18)-malabaricen-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]

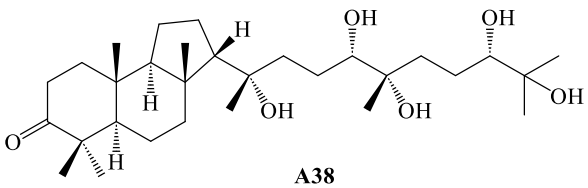
A40	(17*R*,20*R*,24*R*)-17,20,24,25-Tetrahydroxy-14(18)-malabaricen-3*β*-ol	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A41	(14*S*,17*R*,20*S*)-20-Hydroxy-14,17-epoxy-24-malabaricen-3-one (malabaricol)	Nhựa, lõi gỗ	*A. triphysa* *A. excelsa*	[50-53, 58]
A42	(14*S*,17*R*,20*S*)-14,17-Epoxy-24-malabaricen-3*β*,20-diol	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A43	(14*S*,17*R*,20*S*)-14,17-Epoxy-23-malabaricen-3*β*,20,25-triol (Ailanthusin F)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A44	(14*S*,17*R*,20*S*)-20,24-Dihydroxy-14,17-epoxy-25(26)-malabaricen-3-one (Ailanthusin G)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A45	(14*S*,17*R*,20*S*,24*R*)-25-Hydroxy-14,17:20,24-diepoxymalabarican-3-one (epoxymalabaricol)	Nhựa Vỏ thân	*A. triphysa* *A. excelsa*	[50, 58]
A46	(14*S*,17*S*,20*S*,24*R*)-20,24,25-Trihydroxy-14,17-cyclomalabarican-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A47	(14*S*,17*S*,20*S*,24*R*)-25-Hydroxy-14,17-cyclo-20,24-epoxy-malabarican-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
A48	(17*S*,20*R*,24*R*)-17,25-Dihydroxy-20,24-epoxy-14(18)-malabaricen-3-one	Nhựa	*A. triphysa*	[50]
	Dammarane			
A49	Hydroxydammarenone I và II	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A50	Altissimanin C	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A51	Gardaubryone C	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A52	Ailexcelone	Lõi gỗ	*A. excelsa*	[58]
A53	Ailexcelol	Lõi gỗ	*A. excelsa*	[58]
A54	Isofouquierone	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A55	(20*S*)-Hydroxy-25-methoxydammar-23-en-3-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A56	24,25-Dihydroxydammar-20-en-3-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A57	Cabralealactone	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A58	Betulafolienediolone	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A59	Ocotillone	Vỏ thân Lõi gỗ	*A. triphysa* *A. excelsa*	[51, 58]
A60	(20*S*,24*R*)-12*β*,25-Dihydroxy-20,24-epoxydammaran-3-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A61	20(*R*)-24,25-Trihydroxy-dammaran-3-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A62	11*β*-Hydroxy-23/24-*epi*-brumollisol A	Vỏ thân	*A. altissima*	[60]

	Tirucallane	Vỏ thân		
A63	3-Oxotirucalla-7,24-dien-23-ol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A64	(23*Z*)-25-Hydroxy-tirucalla-7,23-dien-3-one	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A65	(-)-Leucophyllone	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A66	21*α*,25-Dimethylmelianodiol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A67	Altissimanin A	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A68	Altissimanin B	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A69	(24*S*)-24,25-Dihydroxytirucall-7-en-3-one	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A70	Niloticin	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A71	Piscidinol A	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A72	Bourjotinolone B	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A73	(23*E*)-3*β*,25-Dihydroxytirucalla-7,23-diene	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A74	Hispidol B	Vỏ thân	*A. altissima*	[41]
A75	Alianthusaltinin A	Vỏ thân	*A. altissima*	[61]
A76	4,4,14-Trimethyl-3-oxo-24-nor-5*α*,13*α*,14*β*,17*α*,20*S*-chol-7-en-23-oic acid	Vỏ thân	*A. altissima*	[61]
	Cycloapotirucallane			
A77	Ailanthol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[54]
A78	7*α*,25-Dihydroxy-3-oxo-14,18-cycloapotirucalla-1,20(22),23(*Z*)-trien-21,23-olide (Ailanthusin A)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A79	7*α*,25-Dihydroxy-3-oxo-14,18-cycloapotirucalla-1,20(22),23(*E*)-trien-21,23-olide (Ailanthusin B)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A80	7*α*,25-Dihydroxy-3-oxo-14,18-cycloapotirucalla-20(22),23(*E*)-dien-21,23-olide (Ailanthusin C)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A81	7*α*,23,24-Trihydroxy-3-oxo-14,18-cycloapotirucalla-1,20(22),25(26)-trien-21-oic acid (Ailanthusin D)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A82	7*α*-Hydroxy-20,21,22,23,24,25,26,27-octanor-14,18-cycloapotirucalla-3,17-dione (Ailanthusin E)	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A83	Malabanone A	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51, 54]
A84	Malabanone B	Vỏ thân	*A. triphysa*	[54]
	Lupane			
A85	29-*Nor*-lup-1-ene-3,20-dione	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A86	Glochidone	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]

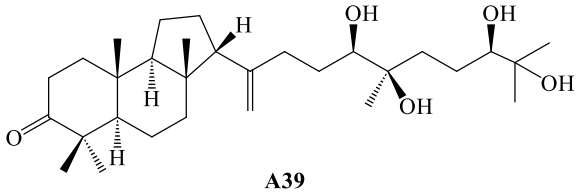
A87	Glochidonol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A88	Lupenone	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A89	Glochidiol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A90	3-*Epi*-lupeol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A91	Lupeol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
A92	Lup-20(29)-ene-1β,3β-diol	Vỏ thân	*A. triphysa*	[51]
	Oleanane			
A93	Olean-12-ene-3,11-dione	Cành	*A. triphysa*	[56]
A94	β-Amyrin	Cành	*A. triphysa*	[56]
	Diterpenoid			
A95	8(14),15-Isopimaradiene-2α,3α,19-triol	Lá	*A. triphysa*	[57]
A96	Phyllocladan-16α,19-diol	Lá	*A. triphysa*	[57]



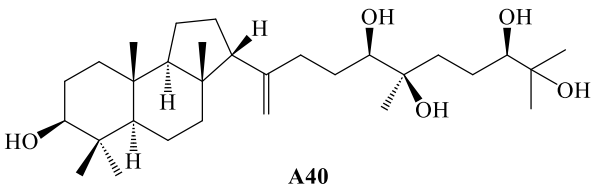
A37



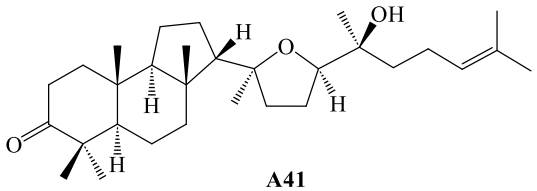
A38



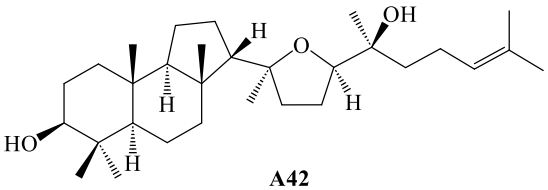
A39



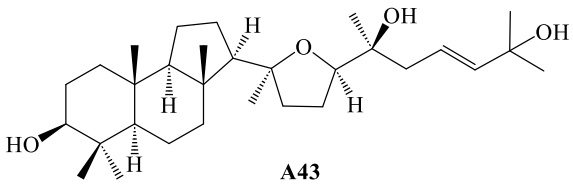
A40



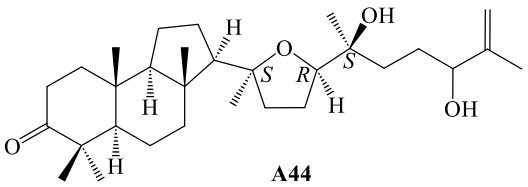
A41



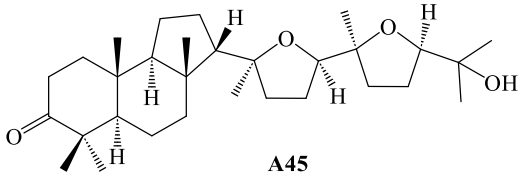
A42



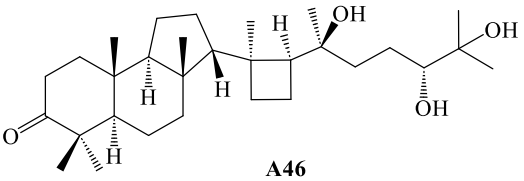
A43



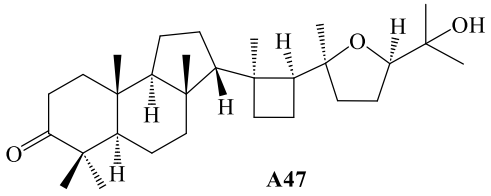
A44



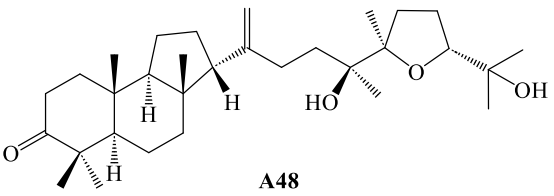
A45



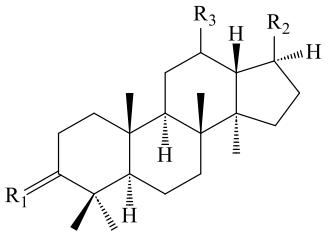
A46

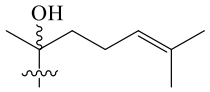
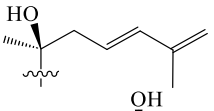
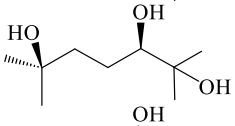
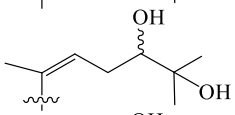
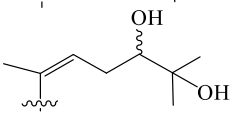
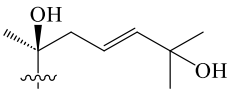
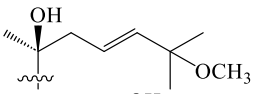
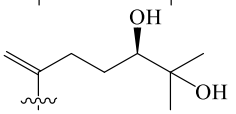
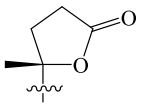
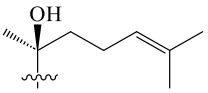
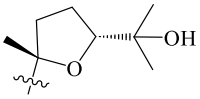
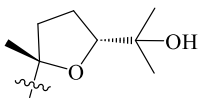
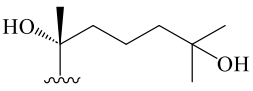
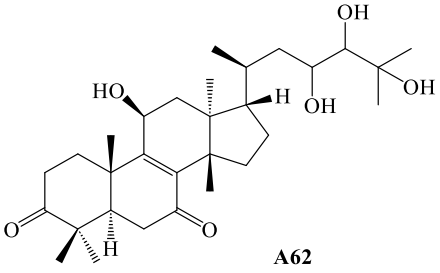


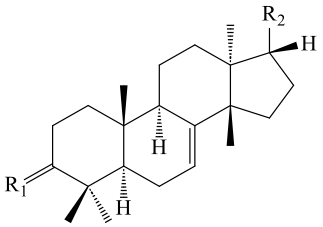
A47

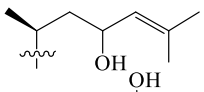
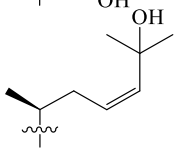
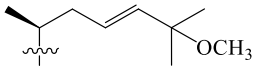
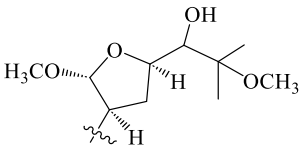
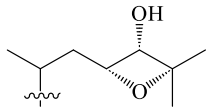
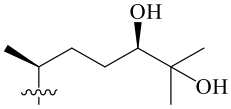
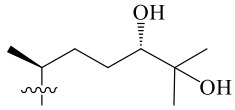
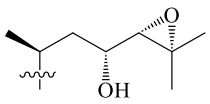
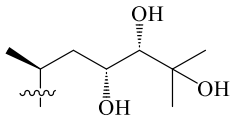
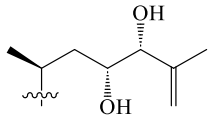
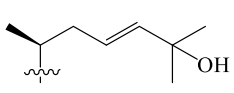
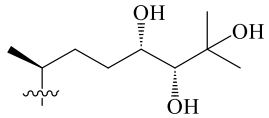
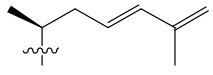
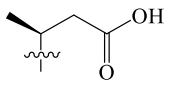


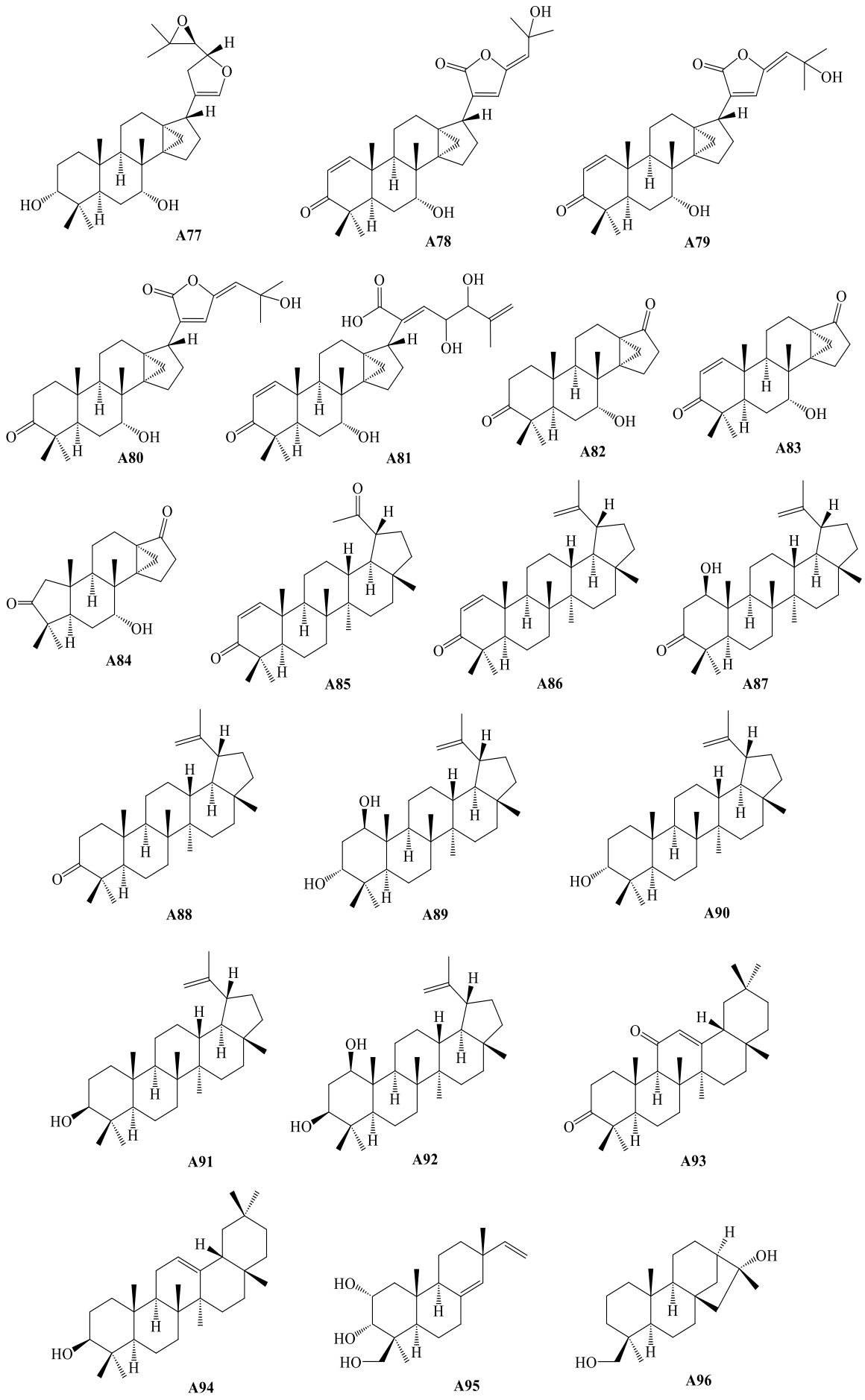
A48



	R_1	R_2	R_3
A49	O		H
A50	O		H
A51	H_2		H
A52	O		H
A53			H
A54	O		H
A55	O		H
A56	O		H
A57	O		H
A58	O		OH
A59	O		H
A60	O		OH
A61	O		H
A62			



	R_1	R_2
A63	O	
A64	O	
A65	O	
A66	O	
A67	O	
A68	O	
A69	O	
A70	O	
A71	O	
A72	O	
A73		
A74		
A75	O	
A76	O	



Hình 1.7. Cấu trúc hóa học của các terpenoid từ chi *Ailanthus*

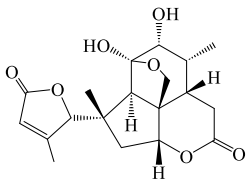
1.2.2.3. Các hợp chất quassinoid từ chi Ailanthus

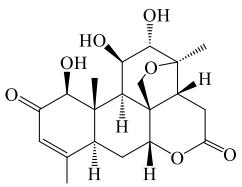
Bốn mươi bốn hợp chất (**A97-A140**) thuộc loại quassinoid được phân lập từ chủ yếu từ thân và rễ của hai loài *A. triphysa* và *A. altissima* thuộc chi *Ailanthus*. Trong đó, 4 hợp chất (**A97-A100**) phân lập từ loài *A. triphysa* [38, 62], riêng hợp chất **A100** còn được phân lập ở loài *A. excelsa* [63], và 40 hợp chất (**A101-A140**) phân lập từ vỏ thân và quả loài *A. altissima* [48, 64-75] (Bảng 1.7).

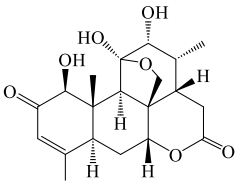
Bảng 1.7. Các hợp chất quassinoid từ chi *Ailanthus*

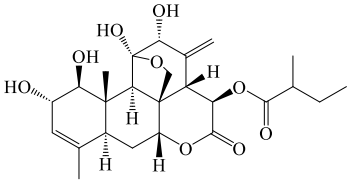
TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A97	Ailanquassin A	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]
A98	Ailanquassin B	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]
A99	Chaparrinone	Thân gỗ	*A. triphysa*	[38]
A100	13,18-Dehydroexcelsin	Vỏ thân	*A. triphysa* *A. excelsa*	[62, 63]
A101	Amarolide	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A102	Ailanthone	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A103	2-Dihydroailanthone	Vỏ thân	*A. altissima*	[65]
A104	Shinjudilactone	Vỏ thân	*A. altissima*	[65]
A105	Shinjulactone A	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A106	Shinjulactone B	Vỏ thân	*A. altissima*	[64-66]
A107	Shinjulactone C	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A108	Shinjulactone D	Vỏ thân	*A. altissima*	[66]
A109	Shinjulactone E	Vỏ thân	*A. altissima*	[66]
A110	Shinjulactone F	Vỏ thân	*A. altissima*	[67]
A111	Shinjulactone G	Vỏ thân	*A. altissima*	[68]
A112	Shinjulactone H	Vỏ thân	*A. altissima*	[68]
A113	Shinjulactone I	Vỏ thân	*A. altissima*	[67]
A114	Shinjulactone J	Vỏ thân	*A. altissima*	[67]
A115	Shinjulactone K	Vỏ thân	*A. altissima*	[67]
A116	Shinjulactone L	Vỏ rễ	*A. altissima*	[69]
A117	Shinjulactone M	Vỏ rễ	*A. altissima*	[70]
A118	Shinjulactone N	Vỏ rễ	*A. altissima*	[70]
A119	Shinjulactone O	Vỏ rễ	*A. altissima*	[71]
A120	Ailantinol A	Vỏ thân	*A. altissima*	[72]
A121	Ailantinol B	Vỏ thân	*A. altissima*	[72]
A122	Ailantinol C	Vỏ thân	*A. altissima*	[73]
A123	Ailantinol D	Vỏ thân	*A. altissima*	[73]
A124	Ailantinol E	Vỏ thân	*A. altissima*	[74]
A125	Ailantinol F	Vỏ thân	*A. altissima*	[74]

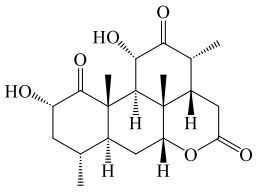
A126	Ailantinol G	Vỏ thân	*A. altissima*	[74]
A127	Altissinol A	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A128	Altissinol B	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A129	13,18-dehydroglaucarubinone	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A130	(-)-chaparrinone	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A131	6*a*-tigloyloxychaparrinone	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A132	6*a*-tigloyloxychaparrin	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A133	Glaucarubin	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A134	11-acetylamarolide	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A135	Chaparrolide	Vỏ thân	*A. altissima*	[64]
A136	Shinjuglycoside B	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A137	Isoailanthone	Vỏ thân	*A. altissima*	[65]
A138	12-dihydroisoailanthone	Vỏ thân	*A. altissima*	[65]
A139	Chuglycoside J	Quả	*A. altissima*	[75]
A140	Chuglycoside K	Quả	*A. altissima*	[75]

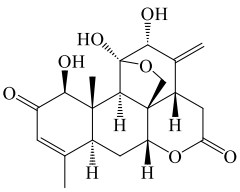

A97

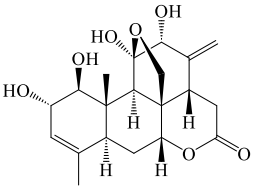

A98

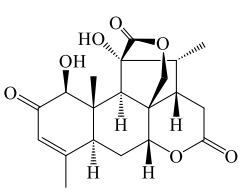

A99

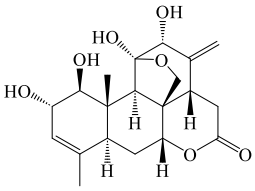

A100

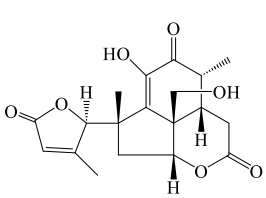

A101

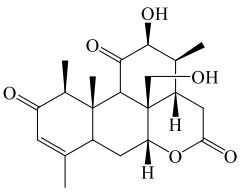

A102

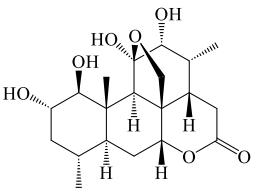

A103

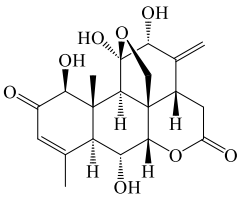

A104

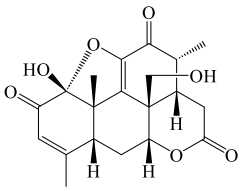

A105

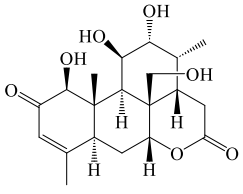

A106

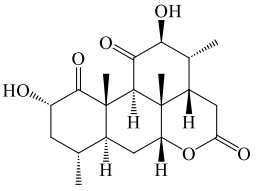

A107

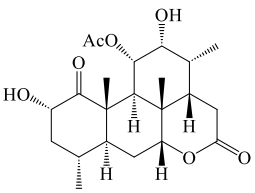

A108

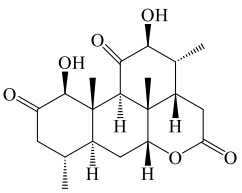

A109

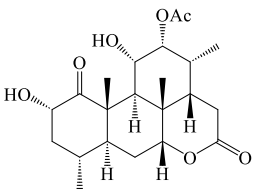

A110

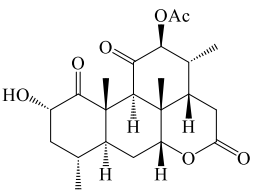

A111

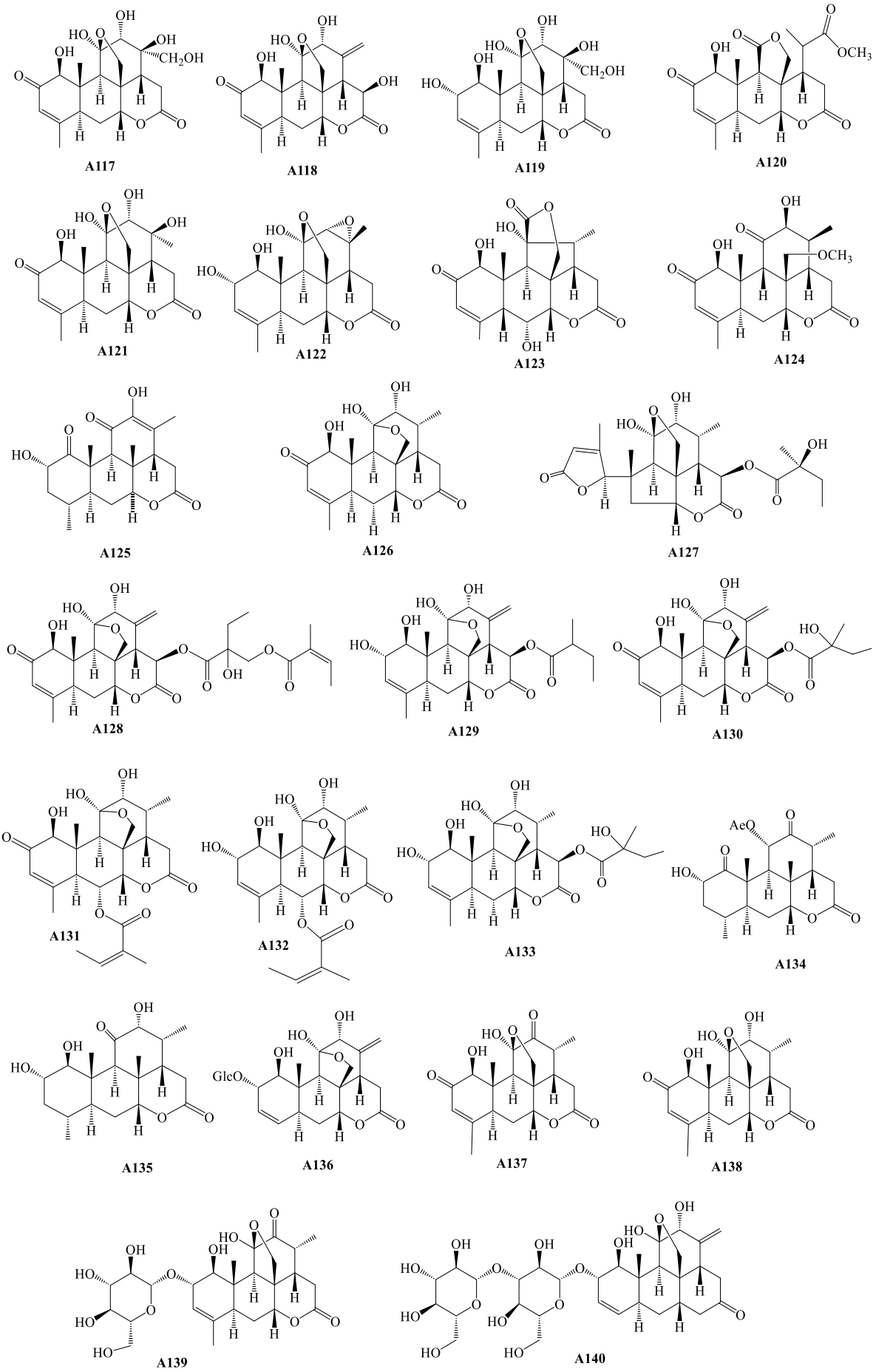

A112


A113


A114


A115


A116



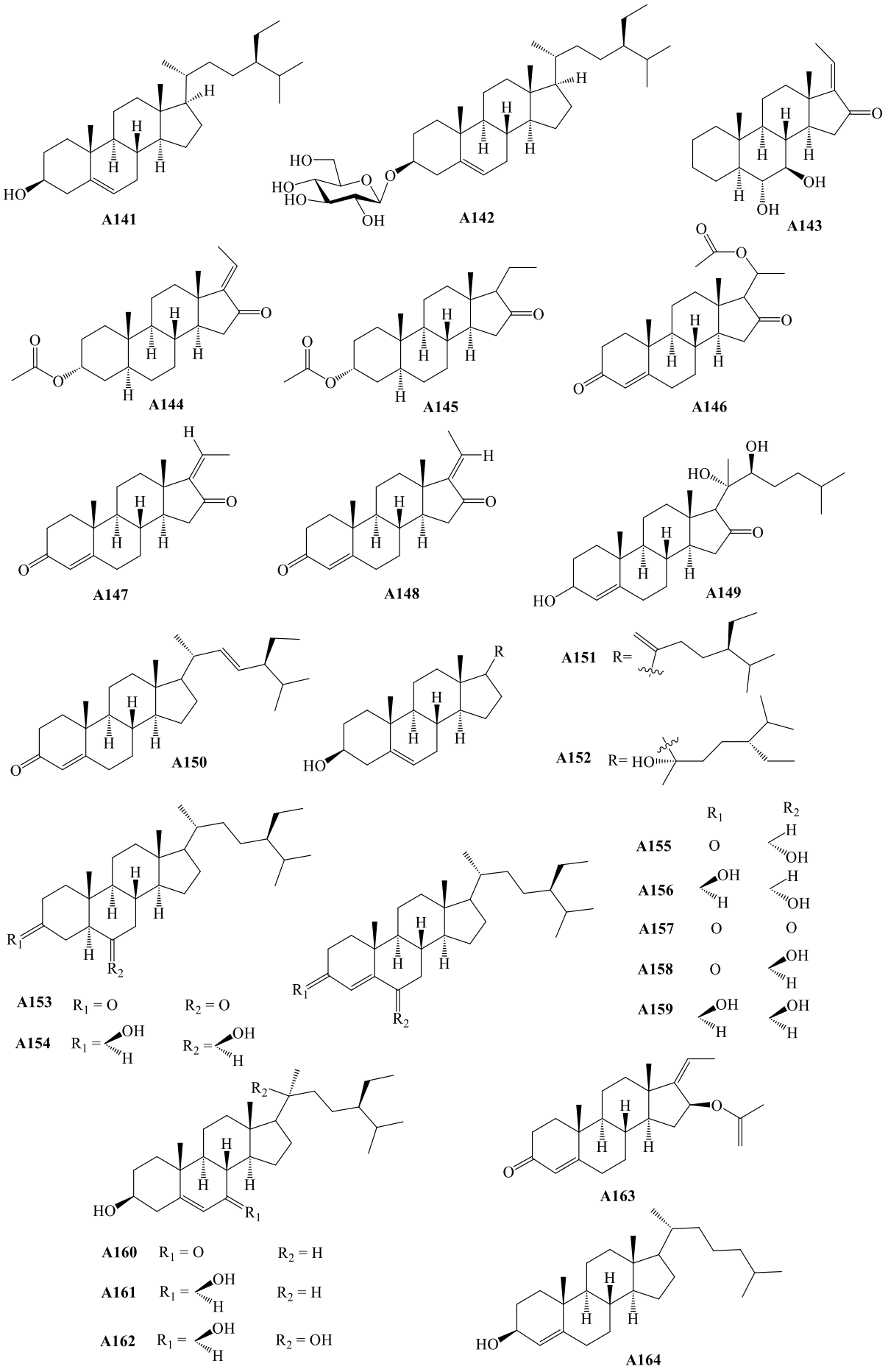
Hình 1.8. Cấu trúc hóa học của các quassinoid từ chi *Ailanthus*

1.2.2.4. Các hợp chất steroid từ chi Ailanthus

Hai mươi bốn hợp chất (**A141-A164**) loại steroid đã được phân lập từ nhựa, cành, lá và quả của các loài thuộc chi *Ailanthus*. Trong đó, 3 hợp chất (**A141-A143)** phân lập từ cành và lá loài *A. triphysa* [56, 57], 8 hợp chất (**A144-A149**, **A163** và **A164**) phân lập từ nhựa của loài *A.integrifolia* [76], 12 hợp chất (**A151-A162**) phân lập từ hạt và quả loài *A. altissima* [77, 78] và hợp chất **A150** phân lập từ lá loài *A. excelsa* [79] (Bảng 1.8).

Bảng 1.8. Các hợp chất steroid từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A141	*β*-Sitosterol	Cành, lá	*A. triphysa*	[56]
A142	Sitosterol-3-*O*-*β*-D-glucoside	Cành, lá	*A. triphysa*	[56]
A143	6*α*,7*β*-Dihydroxy-17(20)-*cis*-5*α*-pregna-16-one	Cành, lá	*A. triphysa*	[57]
A144	3*α*-Acetyloxy-5*α*-pregn-17(20)-*cis*-ene-16-one	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A145	3*α*-Acetyloxy-5*α*-pregn-16-one	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A146	20*S*-Acetyloxy-4-pregnene-3,16-dione	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A147	Z-Guggulsterone	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A148	E-Guggulsterone	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A149	Guggulsterol I	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A150	Stigmasta-4,22-diene-3-one	Lá	*A. excelsa*	[79]
A151	Ailanthusterol A	Hạt	*A. altissima*	[77]
A152	Ailanthusterol B	Hạt	*A. altissima*	[77]
A153	5*α*-Stigmastane-3,6-dione	Quả	*A. altissima*	[78]
A154	5*α*-Stigmastane-3*β*,6*β*-diol	Quả	*A. altissima*	[78]
A155	6*α*-Hydroxy-stigmast-4-en-3-one	Quả	*A. altissima*	[78]
A156	Stigmast-4-ene-3*β*,6*α*-diol	Quả	*A. altissima*	[78]
A157	Stigmast-4-ene-3,6-dione	Quả	*A. altissima*	[78]
A158	6*β*-Hydroxy-stigmast-4-ene-3-one	Quả	*A. altissima*	[78]
A159	Stigmast-4-ene-3*β*,6*β*-diol	Quả	*A. altissima*	[78]
A160	3*β*-Hydroxy-stigmast-5-en-7-one	Quả	*A. altissima*	[78]
A161	Stigmast-5-ene-3*β*,7*α*-diol	Quả	*A. altissima*	[78]
A162	Stigmast-5-ene-3*β*,7*α*,20*ξ*-triol	Quả	*A. altissima*	[78]
A163	16*β*-Acetyloxy-pregn-4,17(20)-transdiene-3-one	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]
A164	Cholest-4-ene-3-one	Nhựa	*A.integrifolia*	[76]



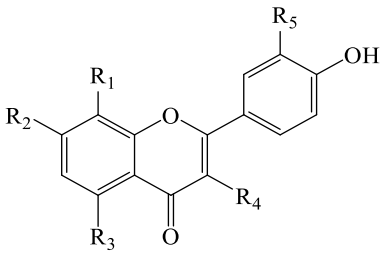
Hình 1.9. Cấu trúc hóa học của các steroid từ chi *Ailanthus*

1.2.2.5. Các hợp chất flavonoid từ chi Ailanthus

Mười lăm hợp chất (**A165-A179**) thuộc loại flavonoid đã được phân lập từ lá của các loài thuộc chi *Ailanthus*. Trong đó 2 hợp chất **A165** và **A166** được phân lập từ loài *A. triphysa* [57], tám hợp chất (**A167**, **A169** và **A175-A179**) từ loài *A. altissima* [80-82] và 5 hợp chất (**A168**, **A170**, **A171**, **A173** và **A174**) từ loài *A. excelsa* [83, 84] (Bảng 1.9).

Bảng 1.9. Các hợp chất flavonoid từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A165	Kaempferol-3-*O*-*β*-D-galactopyranoside	Lá	*A. triphysa*	[57]
A166	Kaempferol-3-*O*-*α*-L-rhamnopyranoside	Lá	*A. triphysa*	[57]
A167	Quercetin	Lá	*A. altissima*	[80]
A168	Apigenin	Lá	*A. excelsa*	[83]
A169	Kaempferol	Lá	*A. altissima*	[80]
A170	Luteolin	Lá	*A. excelsa*	[83]
A171	Vitexin	Lá	*A. excelsa*	[84]
A172	Rhamnosyl-3-quercetin	Lá	*A. altissima*	[81]
A173	Kaempferol-3-O-*α*-arabinopyranoside	Lá	*A. excelsa*	[83]
A174	Quercetin-3-O-*α*-arabinopyranoside	Lá	*A. excelsa*	[83]
A175	Luteolin-7-O-*β*-glucopyranoside	Lá	*A. altissima*	[82]
A176	Apigenin-7-O-glucoside	Lá	*A. altissima*	[82]
A177	Quercetin-3-O-galactoside	Lá	*A. altissima*	[82]
A178	Isoquercetin	Lá	*A. altissima*	[80]
A179	Kaempferol-3-O-glucoside	Lá	*A. altissima*	[80]



	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
A165	H	OH	OH	O-Galac	H
A166	H	OH	OH	O-Rha	H
A167	H	OH	OH	OH	OH
A168	H	OH	OH	H	H
A169	H	OH	OH	OH	H
A170	H	OH	OH	H	OH
A171	C-Glc	OH	OH	H	H
A172	H	OH	OH	C-Rha	OH
A173	H	OH	OH	O-Ara	H
A174	H	OH	OH	O-Ara	OH
A175	H	O-Glc	OH	H	OH
A176	H	O-Glc	H	H	H
A177	H	OH	OH	O-Gal	OH
A178	H	OH	OH	O-Glc	OH
A179	H	OH	OH	O-Glc	H

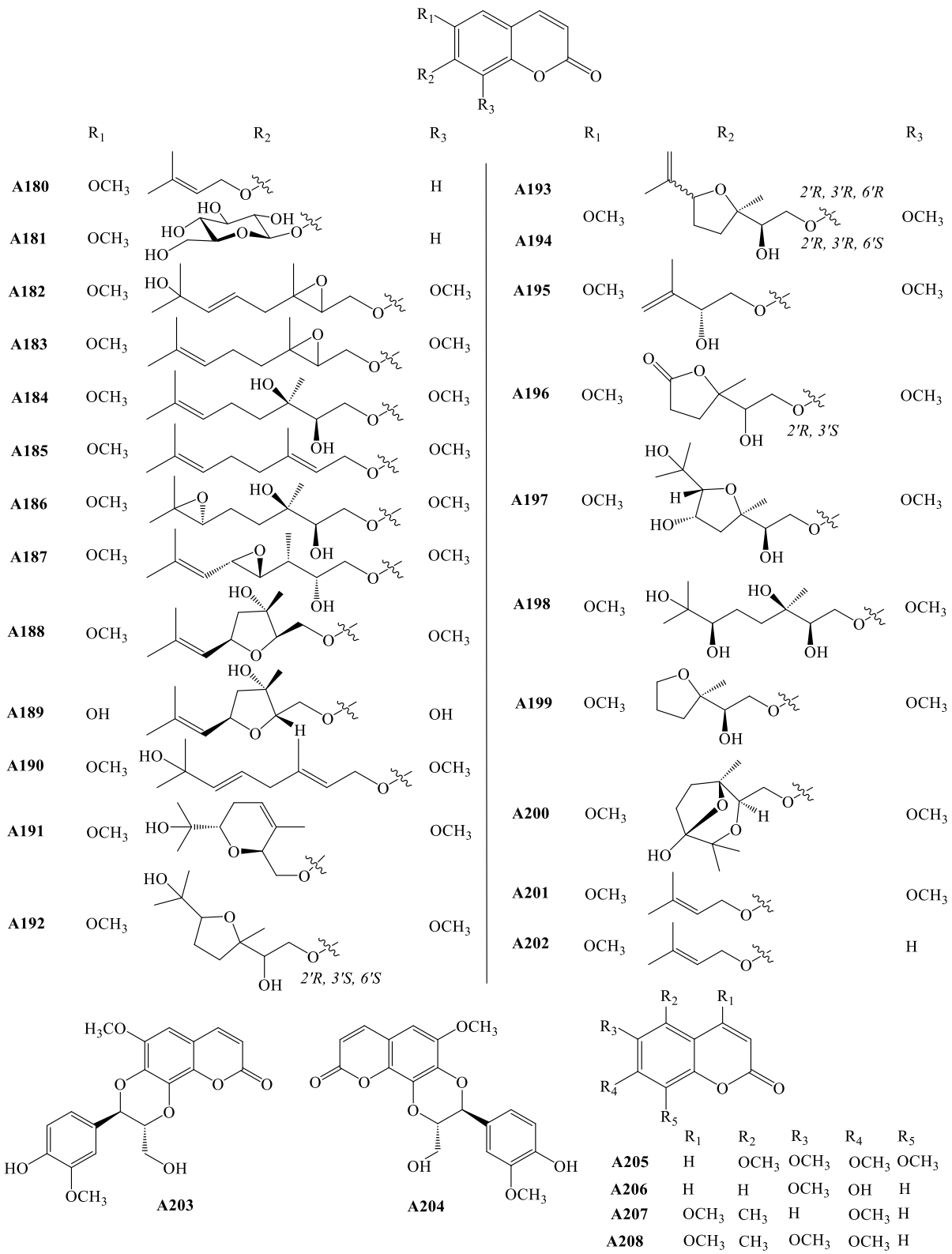
Hình 1.10. Cấu trúc hóa học của các flavonoid từ chi *Ailanthus*

1.2.2.6. Các hợp chất benzopyranoid từ chi Ailanthus

Hai mươi chín hợp chất (**A180-A208**) thuộc loại benzopyranoid đã được phân lập lá, cành và vỏ của chi *Ailanthus*, trong đó, 5 hợp chất (**A180**, **A181**, **A206-A208**) được phân lập từ lá và cành của loài *A. triphysa* [51, 56, 57] và 24 hợp chất (**A182-A205**) được phân lập từ vỏ thân và vỏ rễ loài *A. altissima* [59, 85-89] (Bảng 1.10).

Bảng 1.10. Các hợp chất benzopyranoid từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A180	6-Methoxy-7-prenyloxycoumarin	Cành	*A. triphysa*	[51]
A181	Scopolin	Cành	*A. triphysa*	[56]
A182	Altissimacoumarin A	Vỏ thân	*A. altissima*	[85]
A183	Altissimacoumarin B	Vỏ thân	*A. altissima*	[85]
A184	Altissimacoumarin C	Vỏ thân	*A. altissima*	[86]
A185	Altissimacoumarin D	Vỏ thân	*A. altissima*	[86]
A186	Altissimacoumarin E	Vỏ thân	*A. altissima*	[86]
A187	Altissimacoumarin F	Vỏ thân	*A. altissima*	[86]
A188	Altissimacoumarin G	Vỏ thân	*A. altissima*	[59]
A189	Altissimacoumarin H	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A190	Altissimacoumarin I	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A191	Altissimacoumarin J	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A192	Altissimacoumarin K	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A193	Altissimacoumarin L	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A194	Altissimacoumarin M	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A195	Altissimacoumarin N	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A196	Altissimacoumarin O	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A197	Altissimacoumarin P	Vỏ rễ	*A. altissima*	[88]
A198	Altissimacoumarin Q	Vỏ rễ	*A. altissima*	[88]
A199	Zantholin A	Vỏ rễ	*A. altissima*	[88]
A200	Ailanthuscoumarin	Vỏ rễ	*A. altissima*	[88]
A201	Puberulin	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A202	7-(3-Methyl-2-butenyloxy)-6-methoxy-coumarin	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A203	(+)-7*R*,8*R*-Cleomiscosin A	Vỏ rễ	*A. altissima*	[89]
A204	(-)-7*S*,8*S*-Cleomiscosin A	Vỏ rễ	*A. altissima*	[89]
A205	Artelin	Vỏ rễ	*A. altissima*	[87]
A206	Scopoletin	Lá	*A. triphysa*	[57]
A207	4,7-Dimethoxy-5-methylcoumarin	Cành	*A. triphysa*	[56]
A208	4,6,7-Trimethoxy-5-methylcoumarin	Cành	*A. triphysa*	[56]



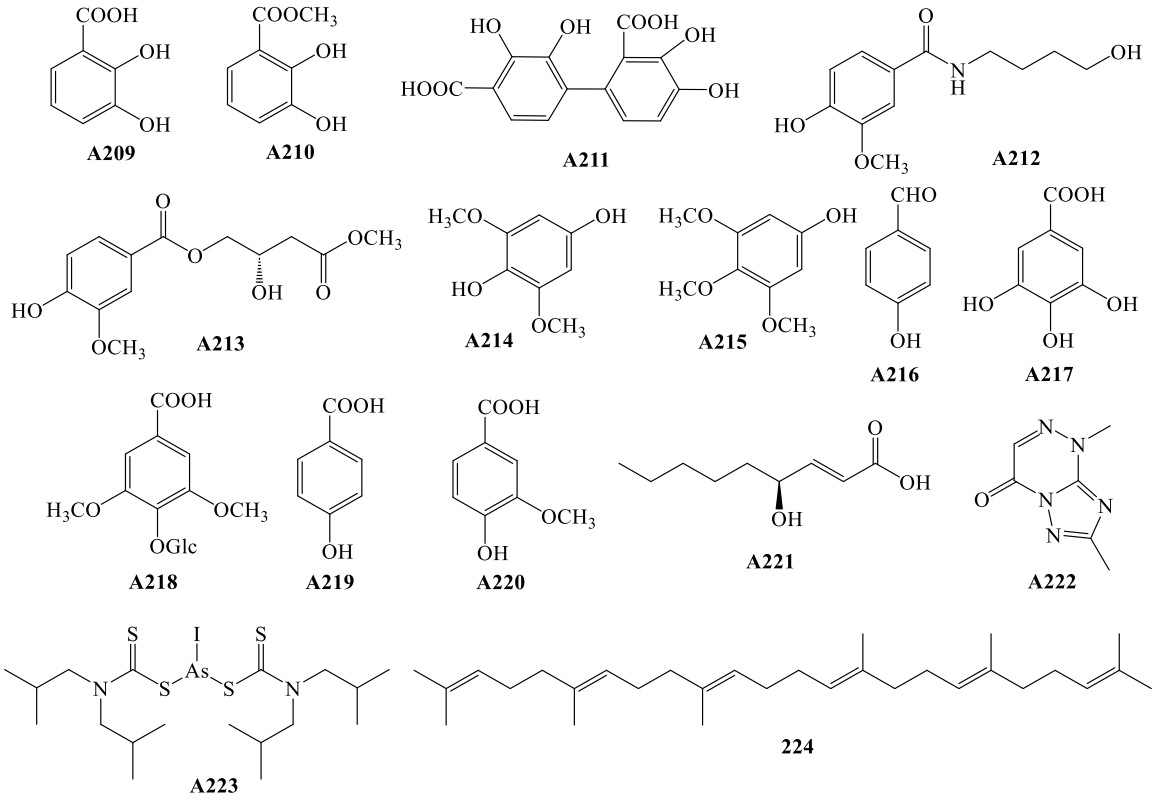
Hình 1.11. Cấu trúc hóa học của các benzopyranoid từ chi *Ailanthus*

1.2.2.6. Các hợp chất khác từ chi Ailanthus

Ngoài các lớp chất nêu trên, mười sáu hợp chất khác (**A209-A224**) được tìm thấy và phân lập từ chi *Ailanthus*. Trong đó, 6 hợp chất (**A209-A211** và **A222-A224)** được phân lập từ cành và lá loài *A. triphysa* [56, 90], 10 hợp chất (**A212-A221**) được phân lập chủ yếu từ vỏ thân và vỏ rễ loài *A. altissima* [48, 61, 91-93] (Bảng 1.11).

Bảng 1.11. Các hợp chất khác từ chi *Ailanthus*

TT	Tên chất	Bộ phận	Loài	TLTK
A209	(-)-Pyrocatechuic acid	Cành	*A. triphysa*	[56]
A210	Protocatechuic acid methyl ester	Cành	*A. triphysa*	[56]
A211	(-)-Pyrocatechuic acid (4α→6)-pyrocatechuic acid	Cành	*A. triphysa*	[56]
A212	4-Hydroxy-*N*-(4-hydroxybutyl)-3-methoxybenzamide	Vỏ rễ	*A. altissima*	[91]
A213	(*S*)-2-Hydroxy-4-methoxy-4-oxobutyl-4-hydroxy-3-methoxybenzoate	Vỏ rễ	*A. altissima*	[91]
A214	2,6-Dimethoxyhydroquinone	Vỏ thân	*A. altissima*	[61]
A215	Antiarol	Vỏ thân	*A. altissima*	[61]
A216	4-Hydroxybenzaldehyde	Vỏ thân	*A. altissima*	[61]
A217	Gallic acid	Vỏ rễ	*A. altissima*	[92]
A218	4-*O*-β-D-glucopyranosyl-3,5-dimethoxygallic acid	Vỏ rễ	*A. altissima*	[92]
A219	4-Hydroxybenzoic acid	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A220	Vanillic acid	Vỏ thân	*A. altissima*	[48]
A221	*Trans*-4(*R*)-hydroxyl-2-nonenoic acid	Vỏ thân	*A. altissima*	[93]
A222	2,4-Dimethyl-7-oxo-4,7-dihydro-triazolo(3,2-*c*)triazine	Lá	*A. triphysa*	[90]
A223	Iodobis(*n,n*-diisobutyldithiocarbamato)arsine	Lá	*A. triphysa*	[90]
A224	Squalene	Lá	*A. triphysa*	[90]



Hình 1.12. Cấu trúc hóa học của các hợp chất khác từ chi *Ailanthus*

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

1.2.3.1. Hoạt tính kháng viêm

Dịch chiết ethanol từ vỏ của loài *A. altissima* thể hiện hoạt tính ức chế sự hình thành các pha cyclooxygenase-2 của prostaglandin D_2 trong tế bào Mast có nguồn gốc từ tủy xương phụ thuộc vào nồng độ với giá trị IC_{50} là 214,6 µg/ml và ức chế sản sinh leukotriene C_4 với giá trị IC_{50} là 25,7 µg/ml. Chuột mẫn cảm với ovalbumin (một protein có trong lòng trắng trứng gà) được điều trị bằng đường uống với dịch chiết ethanol trước khi được khí dung. Kết quả cho thấy, dịch chiết này làm giảm sự xâm nhiễm eosinophil (bạch cầu ái toan) vào đường thở và được thể hiện qua eotaxin, IL-4 và IL-13 mRNA. Những kết quả này cho thấy hoạt tính kháng viêm của *A. altissima* đối với viêm phổi do ovalbumin gây ra có thể xảy ra một phần thông qua việc làm giảm các cytokine TH2 và bản ghi eotaxin cũng như ức chế các chất trung gian gây viêm [94].

Một báo cáo điều tra tác dụng chống viêm của dịch chiết ethanol từ lá *A. altissima* (AAE) trên các tế bào thần kinh đệm nguyên phát được kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS). Kết quả cho thấy, dịch chiết ethanol có hoạt tính ức chế hai enzyme iNOS (Inducible nitric oxide synthase) và COX-2 (Cyclooxygenase-2). Ngoài ra, AAE còn làm giảm sự sao chép lại của nhiều chất trung gian gây viêm, cản trở khả năng hoạt động NF-κB và ức chế hai extracellular signal-regulated kinase và c-Jun N-terminal kinase mà không cần hoạt hóa p38. Phân tích bằng HPLC kết hợp với phổ khối lượng cho thấy AAE bao gồm ethyl gallate, quercetin và kaempferol, cùng với luteolin, có đặc tính chống viêm và ức chế sản sinh NO do LPS gây ra [95].

1.2.3.2. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

Dịch chiết methanol (95%) từ quả của loài *A. altissima* cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *S. typhiuriun in vitro*. Tuy nhiên, hai hợp chất **A161** và **A162** phân lập từ dịch chiết này lại cho thấy hoạt tính kháng khuẩn vừa phải đối với các vi khuẩn này [78].

Các phân đoạn khác nhau được phân lập từ dịch chiết methanol của vỏ thân khô loài *A. excelsa* đã được sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn bằng cách thử nghiệm trên các chủng vi khuẩn *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *E. coli* và *P. cichorii*. Kết quả cho thấy, phân đoạn ethyl acetate thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển trên tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm [96].

Phân đoạn chloroform của dịch chiết methanol vỏ thân loài *A. excelsa* đã được thử nghiệm hoạt tính kháng nấm đối với đối với các nấm như *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium frequentence*, *Penicillium notatum* và *Botrytis cinerea*. Kết quả cho thấy, phân đoạn này thể hiện hoạt tính kìm hãm và diệt nấm đối với tất cả các chủng nấm thử nghiệm [97].

Các hợp chất **A37**, **A39**, **A41**, **A42** và **A45-A48** phân lập được từ nhựa của loài *A. triphysa* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn yếu ở nồng độ đã thử nghiệm (100 và 250 µg/ml) [50].

Dịch chiết ethanol của *A. triphysa* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn thông qua phương pháp pha loãng trong môi trường nuôi cấy. Ở nồng độ thử nghiệm 125 µg/ml cho thấy khả năng ức chế đối với *Pseudomonas aeruginosa* của dịch chiết ethanol cao (OD 0,250 ± 0,011 µg/ml). Ở nồng độ 500 µg/ml, dịch chiết ethanol cho thấy hoạt tính đáng kể đối với *Staphylococcus aureus* (0,254 ± 0,006 µg/ml) và hoạt tính thấp đối với *Escherichia coli* và *Streptococcus pyogenes* (lần lượt là 0,343 ± 0,011 và 0,675 ± 0,026 µg/ml) [98].

Các dịch chiết khác nhau (*n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, ethanol, methanol và nước) của *A. triphysa* đều thể hiện hoạt tính kháng nấm tốt hơn so với hoạt tính kháng khuẩn. Trong đó, dịch chiết ethanol thể hiện hoạt tính kháng nấm (kháng lại *Candida krusei*) tại nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là thấp nhất (0,0025 mg/ml) [99].

1.2.3.3. Hoạt tính chống oxy hóa

Dịch chiết methanol-nước 70% từ lá *A. triphysa* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC_{50} là 5 µg/ml, thấp hơn đối chứng dương *α*-tocopherol (IC_{50} 12 µg/ml). Mặt khác, dịch chiết methanol từ lá *A. triphysa* cho thấy giá trị IC_{50} 10 µg/ml, giá trị này gần với đối chứng *α*-tocopherol. Dịch chiết methanol 70% trong nước của *A. triphysa* thấp hơn so với *Camellia sinensis* Linn., gồm cả trà xanh (IC_{50} 6,5 µg/ml) và trà đen (IC_{50} 9,7 µg/ml) và *Curcuma aromatica* (IC_{50} 12 µg/ml). Những kết quả này cho thấy các dịch chiết đều có hoạt tính dọn gốc superoxide rất tốt. Dựa trên nghiên cứu, dịch chiết lá *A. triphysa* cho thấy tiềm năng được sử dụng trong các mỹ phẩm chống lão hóa [100].

1.2.3.4. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Dịch chiết methanol của *A. triphysa* không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên tất cả các dòng tế bào ung thư thử nghiệm (giá trị $IC_{50} > 200$ µg/ml) [101].

Dịch chiết dichloromethane và dichloromethane-methanol (1/1, v/v) từ thân và vỏ thân của *A. triphysa* cho thấy hoạt tính ức chế tốt (63-90% ở nồng độ 30 mg/ml) đối với bốn dòng tế bào ung thư ở người gồm ung thư gan (HepG2), ung thư phổi (A549), ung thư đường mật (HuCCA-1) và tế bào T-lympho không kết dính (MOLT-3) *in vitro*. Tuy nhiên, khi thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập được từ loài này, gồm các chất **A41, A44, A49-A51, A59, A63, A65, A66, A78, A80, A83, A86-A92, A142 và A180** đến các dòng tế bào ung thư, kết quả không có hợp chất nào được thử nghiệm cho thấy hoạt tính gây độc tế bào tốt. Hai cycloapotirucallane **A78** và **A80** mới phân lập được với khung

tricyclo[4.3.1.0]decane không có hoạt tính đối với các dòng tế bào trên (IC_{50} > 50 mg/ml) [51].

Malabaricol (**A41**) phân lập từ *A. triphysa* và một số dẫn xuất được bán tổng hợp từ hợp chất này được đánh giá thử nghiệm hoạt tính gây độc tính tế bào đối với dòng tế bào A549. Kết quả cho thấy malabaricol và một số dẫn xuất đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào tốt. Giá trị IC_{50} của malabaricol là 10,91 µg/ml ở nồng độ ức chế tối thiểu 10 µM tương đương với đối chứng doxorubicin (IC_{50} 9,10 µg/ml) ở cùng nồng độ [102].

Các dịch chiết khác nhau của *A. triphysa* đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đáng kể ($p < 0,05$) đối với dòng tế bào Vero (là dòng tế bào được phân lập từ các tế bào biểu mô thận được dịch chiết từ khỉ xanh châu Phi). Dịch chiết chloroform và ethyl acetate của *A. triphysa* cho thấy độc tính tế bào ở nồng độ bắt đầu từ 5 và 20 µg/ml. Dịch chiết chloroform của *A. triphysa* thể hiện độc tính tế bào cao nhất so với tất cả các dịch chiết đã thử nghiệm vì khả năng sống của tế bào (67,7% ± 2,30%) ghi nhận ở nồng độ thấp nhất được sử dụng (5 µg/ml). Khả năng gây độc tính của dịch chiết này cũng được phản ánh bởi giá trị CC_{50} = 9,7 ± 0,4 µg/ml (nồng độ gây độc - chết) 50% tế bào, là giá trị thấp nhất trong số tất cả các dịch chiết nghiên cứu [99].

Các hợp chất **A37**, **A39**, **A41**, **A42** và **A45-A48** phân lập được từ nhựa của loài *A. triphysa* được thử nghiệm về độc tính với hồng cầu (RBCs) và tất cả các hợp chất (trừ hợp chất **A48**) đều ít độc khi so sánh với hai đối chứng polymyxin (4,99%) và ampicillin (4,46%) ở cùng nồng độ 100 µg/ml. Hợp chất **A48** được phát hiện có độc tính (4,92%) và tương đương với polymyxin. Điều thú vị là **A39** có cấu trúc liên quan đến **A48** (mở vòng epoxy trong **A48** thể hiện trong **A39**) được phát hiện là ít độc hại nhất (1,84%) [50].

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, loài này được (Dennst.) Alst. mô tả khoa học đầu tiên năm 1818. Theo trang web Plants of the World Online (2026) đã thống kê 13 tên đồng danh của loài này là:

Adenanthera triphysa Dennst. (1818)
Ailanthus fauveliana Pierre ex Laness. (1886)
Ailanthus imberbiflora F.Muell. (1862)
Ailanthus imberbiflora var. *macartneyi* F.M.Bailey (1895)
Ailanthus kurzii Prain (1902)
Ailanthus malabarica DC. (1825)
Ailanthus philippinensis Merr. (1906)
Hebonga mollis Radlk. (1912)

Hebonga obliqua Radlk. (1912)

Hebonga siamensis Radlk. (1912)

Pongelion fauvelianum (Pierre ex Laness.) Pierre (1894)

Pongelion imberbiflorum (F.Muell.) Pierre (1894)

Pongelion malabaricum Pierre (1894)

Loài *A. triphysa* là thực vật thân gỗ lớn, cao khoảng 15-20 m. Lá cây dạng kép lông chim lẻ, dài 40-60 cm, mọc tập trung ở gần ngọn cành; lá chét mọc lệch, phiến lá hơi cong hình lưỡi liềm, có từ 6-17 cặp lá; cuống lá có lông, dài 5-7 mm, lá già có màu đỏ; cụm hoa mọc thành xim, xếp thành chùy ở kẽ lá, dài khoảng 20-25 cm. Quả hình trái xoan, có cánh bao quanh, dài 4,5-8 cm, rộng 1,5-2,5 cm, cả hai đầu hơi tù. Khía vỏ quả thu được nhựa mầu đỏ nâu, mùi thơm, ở Ấn Độ người ta gọi là matipaula, khi đốt nhựa tỏa ra mùi thơm dễ chịu. Hạt tròn và dẹt [35].

Hình 1.13. Hình ảnh loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston

Loài *A. triphysa* thường sinh trưởng ở các vùng núi, rừng thưa hoặc rậm, hoặc ven đường. Trên thế giới, *A. triphysa* phân bố chủ yếu ở Châu Á. Ở Việt Nam, phát hiện cây mọc hoang trong những khu rừng của các tỉnh Phú Thọ, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh [35]. Loài *A. triphysa* là một loại cây thuốc quan trọng có nhiều tác dụng điều trị như trị bệnh lỵ, khó tiêu, hạ sốt, viêm phế quản [35, 50, 54, 103]. Vỏ của loài *A. triphysa* chứa sáp, màu nâu đỏ, tan trong nước, có vị đắng, được dùng như thuốc chữa táo bón [104]. Trong trường hợp bị rắn cắn, rễ loài *A. triphysa* được sử dụng như một loại thuốc giải độc [105].

Tra cứu các tài liệu nghiên cứu nước ngoài cho thấy, có 17 công trình công bố nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *A. triphysa*. Trong đó, 12 công trình công bố về phân lập và xác định cấu trúc hóa học của bảy mươi hợp chất từ loài này, bao gồm 10 hợp chất alkaloid (**A1-A6**, **A16**, **A17, A32** và **A36**) [37, 38], 40 hợp chất terpenoid (**A37-A48, A49-A51, A59, A63-A66, A77-A96**) [50-57], 4 hợp chất quassinoid (**A97-A100**) [38, 62], 3 hợp chất steroid (**A141-A143**) [56, 57], 2 hợp chất flavonoid (**A165** và **A166**) [57], 5 hợp chất benzopyranoid (**A180**, **A181**, **A206-A208**) [51, 56, 57] và 6 hợp chất khác (**A209-A211** và **A222-A224**) [56, 91]; 07 báo cáo nghiên cứu đánh giá một số hoạt tính sinh học của loài *A. triphysa*, như hoạt tính gây độc tế bào ung thư [50, 51, 100, 102, 103], kháng khuẩn [50, 99], kháng nấm [100] và chống oxy hóa [101]. Các báo cáo nghiên cứu cho thấy, dịch chiết dichloromethane và dichloromethane-methanol (1/1, v/v) từ vỏ từ loài *A. triphysa* thể hiện hoạt tính ức chế tốt (63-90% ở nồng độ 30 mg/ml) đối với bốn dòng tế bào ung thư ở người HepG2, A549, HuCCA-1và MOLT-3 *in vitro* [51] và dịch chiết methanol 70% trong nước từ lá *A. triphysa* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC_{50} là 5 μg/ml, thấp hơn đối chứng dương *α*-tocopherol (IC_{50} 12 μg/ml) [101]. Ở Việt Nam, đến nay chưa có công trình nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học từ loài *A. triphysa*.

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 của loài *Cryptolepis buchananii* (cây Sừng dê) 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.

Hình 2.1. Lá và quả loài *Cryptolepis buchananii* R.Br. ex Roem. & Schult.

2.1.2. Loài A. triphysa

Mẫu lá của loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston (cây Thanh thất) 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.

Hình 2.2. Lá loài *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

2.2.1.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F_{254} (Merck 1,05715) và RP18 F_{254S} (Merck). Chất sau khi tiến hành sắc ký được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H_2SO_4 5% được phun đều lên bản mỏng, sau đó sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

2.2.1.2. Sắc ký cột (CC)

Sắc ký cột được tiến hành với pha tĩnh là các chất hấp phụ pha thuận Silica gel và pha đảo RP-18. Silica gel có kích cỡ hạt là 40–63 μm (240-430 mesh). Pha đảo C-18 (RP-18, 150 μm, YMC). Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

2.2.1.3. Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Sắc ký lỏng hiệu năng cao bán điều chế (HPLC) được thực hiện trên máy Agilent 1260, phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Cột sử dụng YMC J'sphere ODS-H80 (4 μm, 20 mm × 250 mm). Mẫu bơm tự động, tốc độ dòng 2,5 ml/phút. Chất được phát hiện bằng kỹ thuật quang phổ tử ngoại (DAD), sử dụng 4 bước sóng 205, 230, 254 và 280 nm. Dung môi sử dụng chính methanol, acetonitrile và nước.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được xác định bằng cách sử dụng các phép xác định thông số vật lý và các phương pháp phổ hiện đại kết hợp với phân tích sự tương thích với các dữ liệu trong tài liệu tham khảo tra cứu được. Các phương pháp phổ hiện đại bao gồm:

2.2.2.1. Phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS)

Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass QTOF LC/MS của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Phổ NMR đo trên máy Bruker Avance III 600 MHz của Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chất nội chuẩn là TMS (Tetramethyl Silan). Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều: ^{1}H-NMR, ^{13}C NMR; phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HSQC, HMBC, COSY và NOESY. Dung môi đo là CD_3OD hoặc $CDCl_3$. Việc lựa chọn dung môi đo phụ thuộc vào bản chất của từng mẫu chất dựa trên nguyên tắc: dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu đo và không che khuất các tín hiệu phân tích.

2.2.2.3. Phổ hồng ngoại (IR)

Phổ IR đo trên máy Spectrum two FT-IR spectrometer tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2.4. Độ quay cực ($[\alpha]_D$)

Độ quay cực được đo trên máy đo độ phân cực Jasco P-2000 tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2.5. Đo điểm nóng chảy

Điểm nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2.6. Phương pháp xác định đường

Nguyên tắc: Các hợp chất được tiến hành thủy phân cắt đứt mạch đường thành các đường đơn trong môi trường acid. Sau khi thủy phân, phần đường tách ra được tinh chế bằng sắc ký sau đó tiến hành đo độ quay cực rồi so sánh với độ quay cực riêng tương ứng đã công bố của chất chuẩn. Từ đó xác định được cấu hình D/L của đường. Các bước tiến hành như sau:

Các hợp chất **CL1-CL7**: Hòa tan 5,0 mg từng mẫu riêng biệt vào trong 1,0 ml dung dịch HCl 2M (HCl trong dioxane/nước tỉ lệ 1/1, v/v) và gia nhiệt ở 80 ºC trong 2 giờ. Sau đó để nguội dung dịch, rồi tiến hành đuổi loại dung môi bằng khí nitơ. Cặn thu được đem hòa tan trong 1 ml nước và chiết với ethyl acetate (3 lần, mỗi lần 1ml), thu lấy lớp nước. Lớp nước sau đó được trung hòa bằng bạc carbonat. Sau đó lọc loại bỏ phần kết tủa và dịch lọc được sấy khô bằng khí nitơ. Đường đơn được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng và so sánh với mẫu chuẩn, sử dụng hệ dung môi ethyl acetate/isopropanol/acetone/nước (20/10/7/6, v/v/v/v) thu được đường D-glucose (1,1-1,6 mg, R_f = 0,40) và L-rhamnose (0,6-0,8 mg, R_f = 0,65). Tiến hành đo độ quay cực của các mẫu đường: D-glucose, $[\alpha]_D^{27}$: + 43,2 ~ + 48,4 (c 0,08, H_2O) và L-rhamnose, $[\alpha]_D^{27}$:+14,5 ~ +20,7 (c 0,05, H_2O), tương ứng phù hợp với góc quay cực của đường D-glucose và L-rhamnose [106, 107]. Vì vậy, có thể kết luận phần đường trong các hợp chất **CL1-CL7** là đường D-glucose và L-rhamnose.

Các hợp chất **CF1-CF4**: Thực hiện phương pháp thủy phân acid tương tự như nêu ở trên thu được các đường D-glucose (1,0-1,2 mg, R_f = 0,40) và L-rhamnose (0,6-0,9 mg, R_f = 0,65). Sau đó tiến hành đo độ quay cực của các mẫu đường: D-glucose $[\alpha]_D^{27}$: +39,5 ~ +46,6 (c 0,08, H_2O) và L-rhamnose: $[\alpha]_D^{27}$: +14,0 ~ +19,3 (c 0,05, H_2O), tương ứng với góc quay cực của đường D-glucose và L-rhamnose chuẩn [106, 107]. Vì vậy, có thể kết luận phần đường trong các hợp chất **CF1-CF4** là đường D-glucose và L-rhamnose.

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

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO được thực hiện tại Phòng thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Nguyên tắc: Hoạt tính kháng viêm được đánh giá thông qua tác dụng ức chế của các hợp chất phân lập được đối với sự sản sinh NO trong những tế bào RAW 264.7 được kích thích với lipopolysaccharides (LPS) [108, 109]. Nồng độ NO trong môi trường thực nghiệm được xác định thông qua phản ứng Griess (sulfanilamide và *N*-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride trong môi trường acid). Phản ứng dựa trên sự tạo phức màu của NO trong thí nghiệm ở dạng nitrite với thuốc thử Griess. Sử dụng thiết bị đo sự thay đổi mật độ quang tại bước sóng 540 nm. Hoạt tính kháng viêm được tiến hành sau khi kiểm tra độc tính đối với tế bào bằng phương pháp so màu MTT [110, 111].

2.2.3.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào in vitro

Các tế bào RAW 264.7 được cung cấp từ GS. TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italia và được nuôi cấy trong môi trường DMEM có chứa 1,0 mM natri pyruvate, 2,0 mM L-glutamine và 10,0 mM HEPES, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum (FBS). Các tế bào được cấy chuyển vào đĩa 96 giếng (nồng độ 2×10^5 tế bào/giếng) và nuôi trong tủ ấm ở 37°C trong môi trường ẩm (5% CO_2 và 95% không khí). Sau 24 giờ ủ, môi trường nuôi cấy được thay thế bằng DMEM không có FBS và ủ liên tục trong 3 giờ.

2.2.3.2. Phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7

Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2 giờ trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 µg/ml) trong 24 giờ. Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là dexamethasone (Sigma) và các chất thử được thực hiện ở các nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 µM.

Nitrite (NO_2^-), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Cụ thể là, 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào 100 µL Griess reagent: 50 µL of 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 µL 0.1% (w/v) *N*-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha trong nước. Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank). Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn $NaNO_2$ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức :

$$\%\ \text{ức chế} = 100\% - \frac{\text{hàm lượng NO (mẫu)}}{\text{hàm lượng NO (LPS)}} \times 100$$

2.2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các hợp chất phân lập được đến sự sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

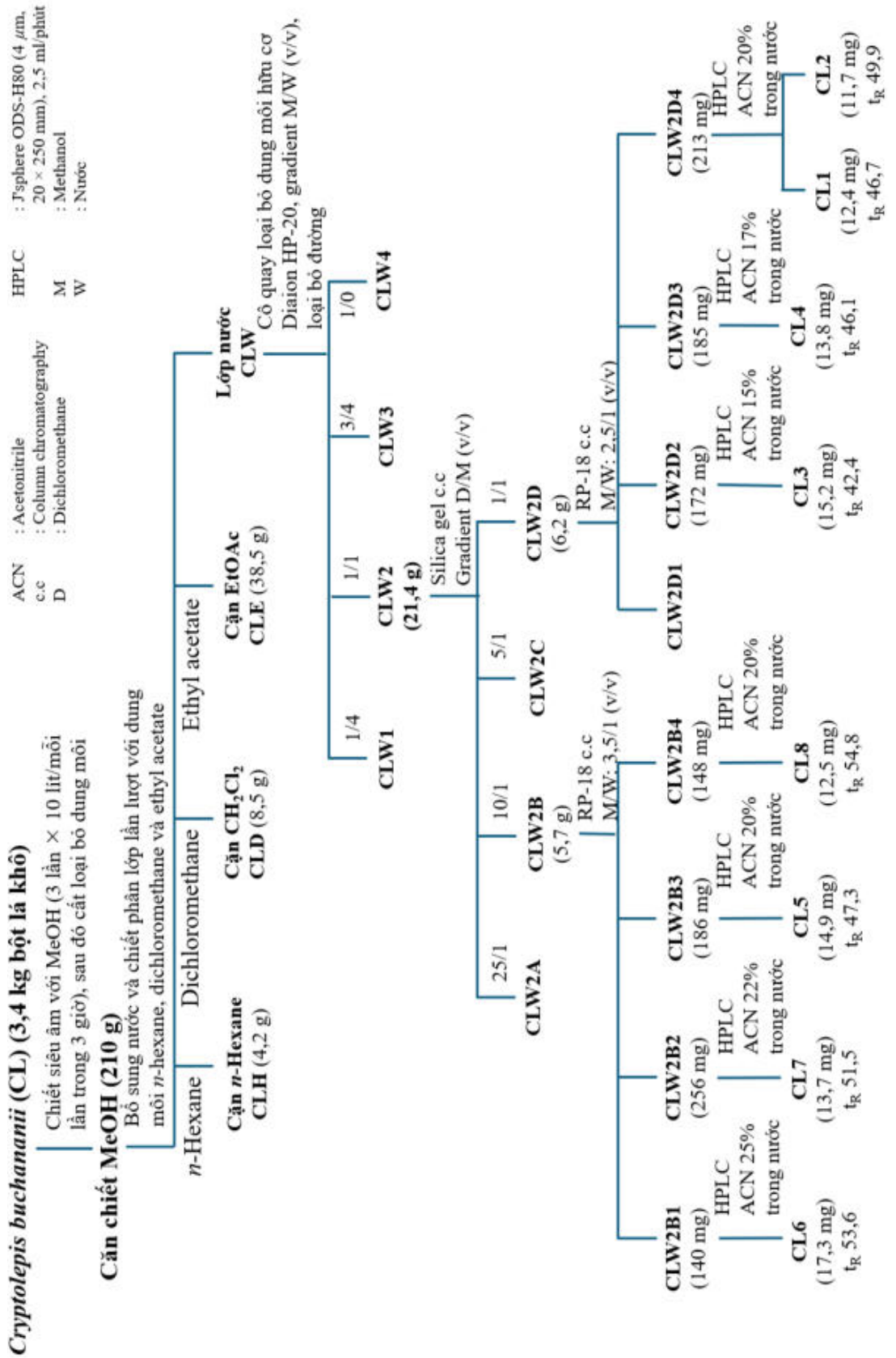
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

3.1. Phân lập các hợp chất

3.1.1. Phân lập từ lá của loài C. buchananii

Mẫu lá khô của loài *C. buchananii* (CL) được nghiền thành bột thu được 3,4 kg bột khô. Bột khô được siêu âm với methanol (3 lần × 10 lít/mỗi lần) trong 3 giờ thu được dịch chiết methanol. Dịch chiết này được cất thu hồi dung môi ở áp suất thấp thu được 210 g cặn chiết MeOH. Cặn chiết MeOH được hòa tan trong 3 lít nước cất, sau đó được chiết phân lớp bằng các dung môi với *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate. Các dịch chiết này được cất cô quay chân không để loại bỏ dung môi thu được các thành phần cặn chiết tương ứng, *n*-hexane (CLH, 4,2 g), dichloromethane (CLD, 8,5 g), ethyl acetate (CLE, 38,5 g) và lớp nước (CLW). Các phân đoạn này được sàng lọc thêm về hoạt tính ức chế NO của chúng và chỉ có phân đoạn CLW cho thấy tác dụng đáng kể với tỷ lệ ức chế là 82,3% ở nồng độ100 mg/ml. Do đó, phân đoạn CLW được sắc ký trên cột Diaion HP-20, rửa giải gradient bằng hệ dung môi MeOH/H_2O (1/4, 1/1, 3/4 và 1/0, v/v) thu được bốn phân đoạn, CLW1-CLW4, tương ứng. Tiến hành kiểm tra bằng TLC, các phân đoạn CLW1 và CLW4 đều thể hiện hình ảnh không rõ ràng, mờ và có vệt dài chồng lấp nhau. Phân đoạn CLW3 có hình ảnh gần tương tự hình ảnh của phân đoạn CLW2 nhưng vẫn không phân tách rõ ràng bằng phân đoạn CLW2. Do đó, để tránh phân lập trùng lặp, phân đoạn CLW2 (21,4 g) được lựa chọn tiếp tục nghiên cứu bằng cách tiến hành sắc ký trên cột silica gel, rửa giải gradient bằng hệ dung môi có độ phân cực tăng dần dichloromethane/methanol (25/1, 10/1, 5/1 và 1/1, v/v) thu được bốn phân đoạn CLW2A-CLW2D. Phân đoạn CLW2D (6,2 g) được sắc ký trên cột pha đảo YMC RP-18, rửa giải bằng methanol/nước (2,5/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn, CLW2D1-CLW2D4. Phần CLW2D2 (172 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 15% trong nước thu được hợp chất **CL3** (15,2 mg, t_R = 42,4 phút). Phần CLW2D3 (185 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 17% trong nước thu được hợp chất **CL4** (13,8 mg, t_R = 46,1 phút). Phần CLW2D4 (213 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 20% trong nước thu được hai hợp chất **CL1** (12,4 mg, t_R = 46,7 phút) và **CL2** (11,7 mg, t_R = 49,9 phút). Phân đoạn CLW2B (5,7 g) được sắc ký trên cột pha đảo YMC RP-18, rửa giải bằng methanol/nước (3,5/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn, CLW2B1-CLW2B4. Phần CLW2B1 (140 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 25% trong nước thu được hợp chất **CL6** (17,3 mg, t_R = 53,6 phút). Phần CLW2B2 (256 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 22% trong nước thu được hợp chất **CL7** (13,7 mg, t_R = 51,5 phút). Phần CLW2B3 (186 mg) được tinh chế trên cột HPLC, rửa giải bằng

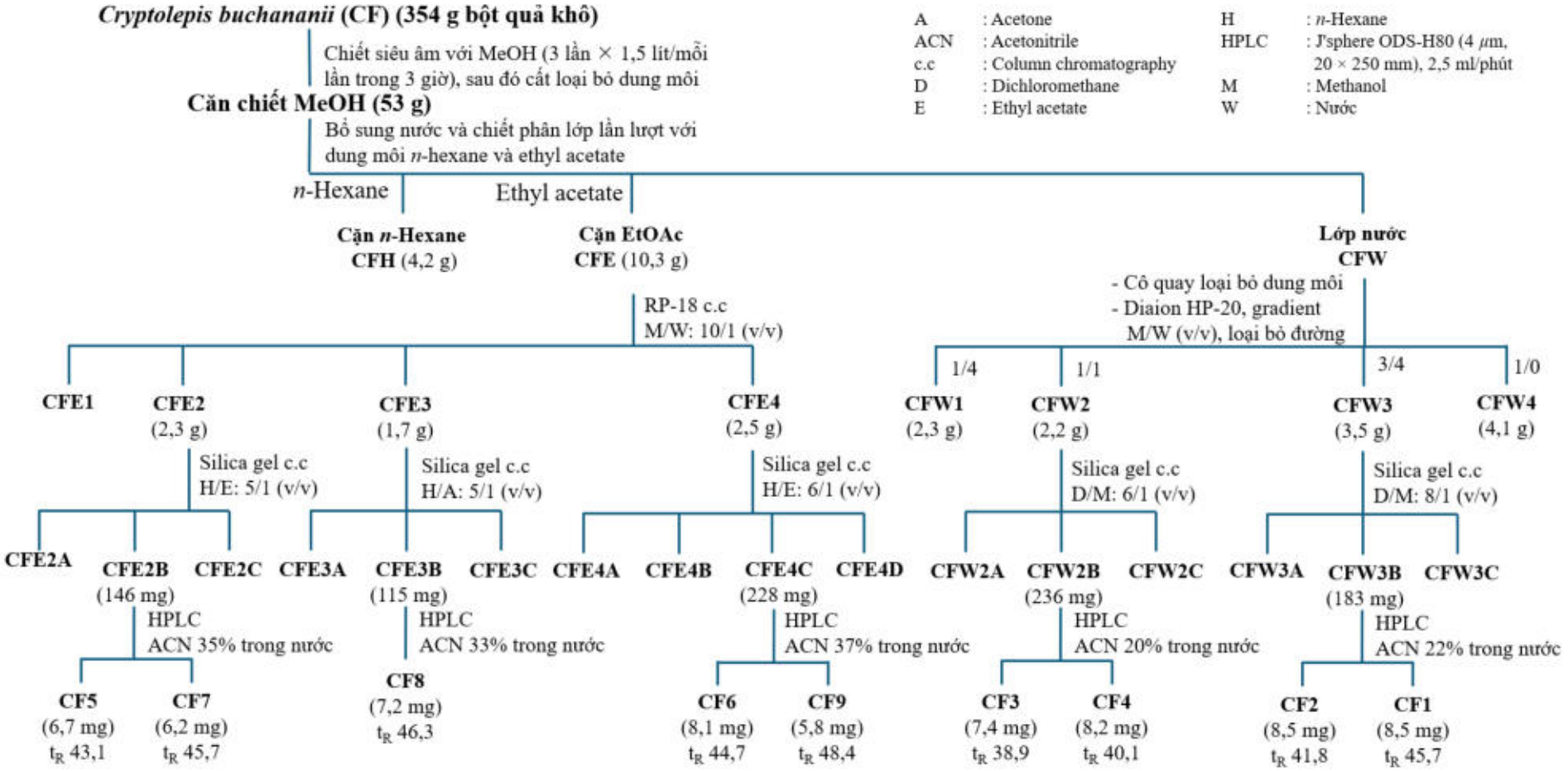
acetonitrile 20% trong nước thu được hợp chất **CL5** (14,9 mg, t_R = 47,3 phút). Phần CLW2B4 (148 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 20% trong nước thu được hợp chất **CL8** (12,5 mg, t_R = 54,8 phút).



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

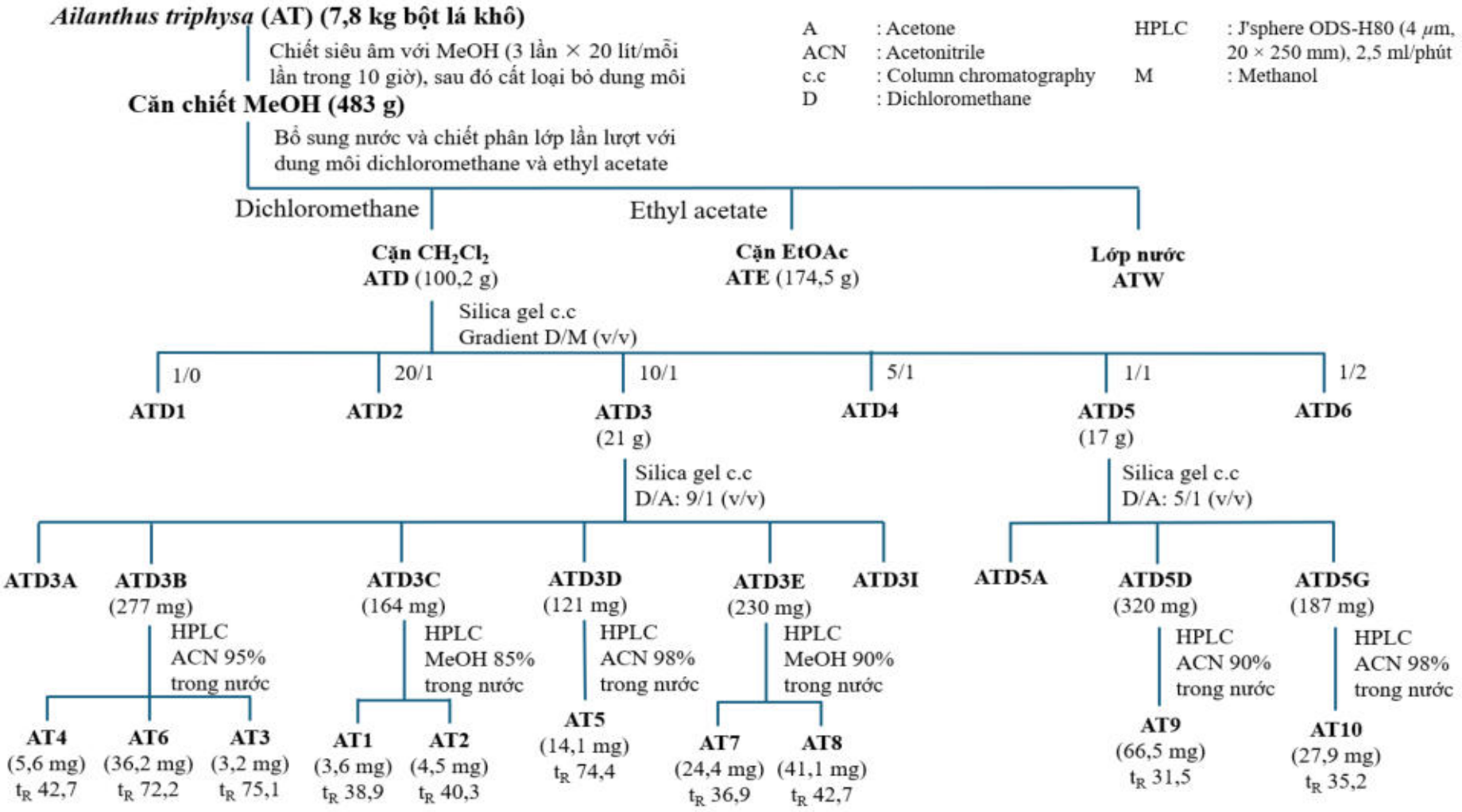
Mẫu quả khô của loài *C. buchananii* (CF) được nghiền thành bột (354 g). Bột khô được siêu âm với methanol (3 lần, mỗi lần 1,5 lít, ở 40 °C) trong 3 giờ thu được dịch chiết methanol. Dịch chiết này được cất loại dung môi ở áp suất giảm thu được 53 g cặn chiết methanol. Vì lượng cặn chiết thu được tương đối ít, nên sau khi kiểm tra qua sắc ký TLC đã tiến hành chỉ chiết pha lỏng/lỏng bằng *n*-hexane và EtOAc mà không chiết thêm CH_2Cl_2 nữa. Mục tiêu ưu tiên làm giầu các chất thông qua sắc ký cột sẽ hiệu quả hơn. Vì vậy, cặn chiết này được hòa tan với nước và sau đó được chiết phân lớp lần lượt với hai dung môi *n*-hexane và ethyl acetate thu được các dịch chiết tương ứng. Các dịch chiết này được cất cô quay chân không để loại dung môi thu được các thành phần cặn *n*-hexane (CFH, 4,2 g), cặn ethyl acetate (CFE, 10,3 g) và lớp nước (CFW). Phân đoạn CFE (10,3 g) được sắc ký trên cột pha đảo YMC RP-18 và rửa giải bằng methanol/nước (10/1, v/v) thu được bốn phân đoạn CFE1-CFE4. Phân đoạn CFE2 (2,3 g) tiếp tục được phân lập trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate (5/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn CFE2A-CFE2C. Phần CFE2B (146 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 35% trong nước thu được hai hợp chất **CF5** (6,7 mg, t_R = 43,1 phút) và **CF7** (6,2 mg, t_R = 45,7 phút). Phân đoạn CFE3 (1,7 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane/acetone (5/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn CFE3A-CFE3C. Phần CFE3B (115 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 33% trong nước, thu được hợp chất **CF8** (7,2 mg, t_R = 46,3 phút). Phân đoạn CFE4 (2,5 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate (6/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn CFE4A-CFE4D. Phần CFE4C (228 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 37% trong nước thu được hai hợp chất **CF6** (8,1 mg, t_R = 44,7 phút) và **CF9** (5,8 mg, t_R = 48,4 phút). Sau khi kiểm tra bằng TLC, lớp nước (CFW) được phân tách trên sắc ký trên cột Diaion HP-20, rửa giải bằng nước để loại bỏ đường, sau đó rửa giải gradient bằng hệ dung môi methanol/nước (1/4, 1/1, 3/4 và 1/0, v/v) thu được bốn phân đoạn, gồm CFW1 (2,3 g), CFW2 (2,2 g), CFW3 (3,5 g) và CFW4 (4,1 g) tương ứng. Phân đoạn CFW2 (2,2 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/methanol (6/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn CFW2A-CFW2C. Phần CFW2B (236 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 20% trong nước, thu được hai hợp chất **CF3** (7,4 mg, t_R = 38,9 phút) và **CF4** (8,2 mg, t_R = 40,1 phút). Phân đoạn CFW3 (3,5 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/methanol (8/1, v/v), thu được ba phân đoạn nhỏ hơn CFW3A-CFW3C. Phần CFW3B (183 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 22% trong nước, thu được hai hợp chất **CF2** (8,5 mg, t_R = 41,8 phút) và **CF1** (8,5 mg, t_R = 45,7 phút).



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

Mẫu lá khô của loài *A. triphysa* (AT) được nghiền thành bột (7,8 kg). Bột lá khô được chiết siêu âm bằng methanol (3 lần x 20 lít/lần) trong 10 giờ, gộp các dịch chiết lại thu được dịch chiết methanol. Dịch chiết này được cất cô quay thu hồi dung môi ở áp suất thấp thu được 483 g cặn chiết methanol. Cặn methanol được hòa tan trong nước và sau đó được chiết phân lớp lần lượt với dichloromethane và ethyl acetate. Các dịch chiết này được cất cô quay chân không để loại bỏ dung môi thu được các thành phần cặn tương ứng, dichloromethane (ATD, 100,2 g), ethyl acetate (ATE, 174,5 g) và lớp nước (ATW). Phân đoạn ATD cho thấy ức chế sản sinh NO đáng kể trên tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS và được nghiên cứu thêm về hóa thực vật (ức chế 75% ở nồng độ 100 mg/ml). Phân đoạn ATD được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải gradient bằng hệ dung môi có độ phân cực tăng dần dichloromethane/methanol (100/0, 20/1, 10/1, 5/1, 1/1 và 1/2, v/v) thu được sáu phân đoạn tương ứng là ATD1-ATD6. Phân đoạn ATD3 (21 g) được sắc ký trên cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/acetone (9/1, v/v) thu được chín phân đoạn nhỏ hơn, ATD3A-ATD3I. Phần ATD3B (277 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 95% trong nước thu được ba hợp chất **AT4** (5,6 mg, t_R = 42,7 phút), **AT6** (36,2 mg, t_R = 72,2 phút) và **AT3** (3,2 mg, t_R = 75,1 phút). Phần ATD3C (164 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng methanol 85% trong nước thu được hai hợp chất **AT1** (3,6 mg, t_R = 38,9 phút) và **AT2** (4,5 mg, t_R = 40,3 phút). Phần ATD3D (121 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 98% trong nước thu được hợp chất **AT5** (14,1 mg, t_R = 74,4 phút). Phần ATD3E (230 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng methanol 90% trong nước thu được hai hợp chất **AT7** (24,4 mg, t_R = 36,9 phút) và **AT8** (41,1 mg, t_R = 42,7 phút). Phân đoạn ATD5 (17 g) được phân lập trên cột silica gel rửa giải bằng hệ dung môi dichloromethane/acetone (5/1, v/v) thu được bảy phân đoạn nhỏ hơn, ATD5A-ATD5G. Phần ATD5D (320 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 90% trong nước thu được hợp chất **AT9** (66,5 mg, t_R = 31,5 phút). Phần ATD5G (187 mg) được tinh chế trên cột HPLC điều chế, rửa giải bằng acetonitrile 98% trong nước thu được hợp chất **AT10** (27,9 mg, t_R = 35,2 phút).



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

3.2. Thông số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập được

3.2.1. Loài C. buchananii

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

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +58,1 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1155,5401 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$: 1155,5359; *m/z* 1119,5568 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{87}O_{24}]^-$: 1119,5593. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3401, 2930, 1736, 1639, 1480, 1075, 1029. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.1.

3.2.1.2. Hợp chất ***CL2****: Cryptobuchanoside B (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +67,2 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1155,5354 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$: 1155,5359; *m/z* 1121,5711 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{89}O_{24}]^+$: 1121,5738; *m/z* 1143,5559 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3368, 2937, 1752, 1654, 1458, 1075, 1029. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.2.

3.2.1.3. Hợp chất ***CL3****: Cryptobuchanoside C (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +45,8 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1317,5852 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{60}H_{98}O_{29}{}^{35}Cl]^-$: 1317,5888; *m/z* 1283,6297 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{60}H_{99}O_{29}]^+$: 1283,6267; *m/z* 1305,6044 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{60}H_{98}O_{29}Na]^+$: 1305,6086. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3406, 2920, 1737, 1638, 1464, 1074, 1028. Công thức phân tử: $C_{60}H_{98}O_{29}$ (M = 1282). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.3.

3.2.1.4. Hợp chất ***CL4****: Cryptobuchanoside D (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +47,2 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1139,5412 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{23}{}^{35}Cl]^-$: 1139,5410; *m/z* 1103,5663 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{87}O_{23}]^-$: 1103,5644; *m/z* 1149,5662 $[M+COOH]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{55}H_{89}O_{25}]^-$: 1149,5698. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3401, 2929, 1738, 1639, 1460, 1076, 1029. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{23}$ (M = 1104). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.4.

3.2.1.5. Hợp chất ***CL5****: Cryptobuchanoside E (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +51,2 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 993,4829 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho

công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}{}^{35}Cl]^-$: 993,4831; *m/z* 1003,5069 $[M+COOH]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{49}H_{79}O_{21}]^-$: 1003,5119; *m/z* 981,5028 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030; *m/z* 976,5454 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{82}O_{19}N]^+$: 976,5476. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3411, 2933, 1742, 1655, 1452, 1075, 1030. Công thức phân tử: $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.5.

*3.2.1.6. Hợp chất **CL6**: Cryptobuchanoside (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +67,2 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1155,5308 $[M+{}^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$: 1155,5359; *m/z* 1121,5723 $[M+H]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{89}O_{24}]^+$: 1121,5738; *m/z* 1143,5572 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3401, 2925, 1736, 1653, 1450, 1075, 1029. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.6.

*3.2.1.7. Hợp chất **CL7**: Cryptobuchanoside G (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +74,8 (*c* = 0,05, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 993,4825 $[M+{}^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}{}^{35}Cl]^-$: 993,4831; *m/z* 981,5022 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3401, 2929, 1737, 1639, 1458, 1075, 1032. Công thức phân tử: $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.7.

*3.2.1.8. Hợp chất **CL8**: 3-O-β-D-Glucopyranosylasiatic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester.*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử: $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.8.

*3.2.1.9. Hợp chất **CF1:** Uncargenin C 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +22,1 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 831,4301 $[M+{}^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{42}H_{68}O_{14}{}^{35}Cl]^-$: 831,4303; *m/z* 795,4542 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{42}H_{67}O_{14}]^-$: 795,4536; *m/z* 814,4955 $[M+NH_4]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{42}H_{72}NO_{14}]^+$: 814,4947; *m/z* 819,4507 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{42}H_{68}O_{14}Na]^+$: 819,4501. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3403 (broad), 2928, 1749, 1461, 1061, 1029. Công thức phân tử: $C_{42}H_{68}O_{14}$ (M = 796). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.9.

*3.2.1.10. Hợp chất **CF2:** 3-O-β-D-Glucopyranosyluncargenin C 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +24,6 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 993,4828 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}{}^{35}Cl]^-$: 993,4831; *m/z* 981,5086 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3401 (broad), 2941, 1736, 1638, 1460, 1066, 1028. Công thức phân tử: $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.10.

*3.2.1.11. Hợp chất **CF3:** 3-O-β-D-Glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-6β,23-dihydroxyursolic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +26,2 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1155,5347 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$: 1155,5359; *m/z* 1143,5550 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3400 (broad), 2919, 1736, 1643, 1456, 1075. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.11.

*3.2.1.12. Hợp chất **CF4:** 3-O-β-D-Glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosylasiatic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

Chất có dạng bột vô định hình không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +27,4 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 1155,5362 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$: 1155,5359; *m/z* 1143,5631 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3381, 2923, 1744, 1643, 1452, 1079, 1035. Công thức phân tử: $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.12.

*3.2.1.13. Hợp chất **CF5:** Asiatic acid*

Chất có dạng bột không màu. Nhiệt độ nóng chảy: 323-327 ^oC. Công thức phân tử: $C_{30}H_{48}O_5$ (M = 488). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.13.

*3.2.1.14. Hợp chất **CF6:** 2α,3β,23-Trihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid*

Chất có dạng bột không màu. Nhiệt độ nóng chảy: 265-268 ^oC. Công thức phân tử: $C_{30}H_{46}O_5$ (M = 486). Số liệu phổ ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.14.

*3.2.1.15. Hợp chất **CF7:** Arjunolic acid*

Chất rắn không màu. Nhiệt độ nóng chảy: 251-253 ^{o}C. Công thức phân tử: $C_{30}H_{48}O_5$ (M = 488). Số liệu phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.15.

*3.2.1.16. Hợp chất **CF8:** 6β-Hydroxyarjunolic acid*

Chất rắn không màu. Nhiệt độ nóng chảy: 335-338 ^{o}C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +36,4 (*c* = 0,8, MeOH). Công thức phân tử: $C_{30}H_{48}O_6$ (M = 504). Số liệu phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.16.

*3.2.1.17. Hợp chất **CF9:** Actinidic acid*

Chất rắn không màu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +102 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{30}H_{46}O_5$ (M = 486). Số liệu phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): xem Bảng 4.17.

3.2.2. Loài A. triphysa

*3.2.2.1. Hợp chất **AT1:** Ailantriphysa A (hợp chất mới).*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 175-177 ^{o}C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -7,5 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 503,3745 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{51}O_5]^-$: 503,3742. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3309, 2917, 1730, 1709, 1469, 1180, 1062. Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_5$ (M = 504). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.18.

*3.2.2.2. Hợp chất **AT2:** Ailantriphysa B (hợp chất mới).*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 181-183 ^{o}C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -9,4 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 487,3818 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{51}O_4]^-$: 487,3793; *m/z* 523,3555 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{52}O_4{}^{35}Cl]^-$: 523,3560. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3235, 2917, 1730, 1469, 1180, 1047. Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_4$ (M = 488). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.19.

*3.2.2.3. Hợp chất **AT3:** Ailantriphysa C (hợp chất mới).*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 171-173 ^{o}C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -15,6 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 507,3610 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{52}O_3{}^{35}Cl]^-$: 507,3610. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3409, 2919, 1730, 1708, 1467, 1380, 1153, 1069. Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_3$ (M = 472). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.20.

*3.2.2.4. Hợp chất **AT4:** Ailantriphysa D (hợp chất mới).*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 176-178 ^{o}C. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -14,7 (*c* = 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 507,3612 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{52}O_3{}^{35}Cl]^-$: 507,3610. Phổ IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3391,

2970, 1708, 1465, 1075. Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_3$ (M = 472). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.21.

*3.2.2.5. Hợp chất **AT5:** 24S,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy 186-188 ^oC. Công thức phân tử: $C_{30}H_{50}O_3$ (M = 458). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.22.

*3.2.2.6. Hợp chất **AT6:** Phellochin*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 171-174 ^oC. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -84,4 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_4$ (M = 488). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.23.

*3.2.2.7. Hợp chất **AT7:** Hispidol B 25-methyl ether*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 222-224 ^oC. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -65,9 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{31}H_{54}O_4$ (M = 490). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.24.

*3.2.2.8. Hợp chất **AT8:** Meliasenin G*

Chất dạng dầu không mầu. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: +10,8 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{30}H_{46}O_4$ (M = 454). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.25.

*3.2.2.9. Hợp chất **AT9:** 21-O-Methyltoosendanpentol*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 105-107 ^oC. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -51,8 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_6$ (M = 520). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.26.

*3.2.2.10. Hợp chất **AT10:**. Agladupol A*

Chất rắn không màu, nhiệt độ nóng chảy: 106-108 ^oC. Độ quay cực riêng $[\alpha]_D^{25}$: -35,1 (*c* = 0,1, MeOH). Công thức phân tử: $C_{31}H_{52}O_6$ (M = 520). Số liệu phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): xem Bảng 4.27.

3.3. Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh nitric oxide của các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii* và *A. triphysa*

Các hợp chất sạch đã phân lập được tiến hành đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 được kích thích với LPS 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. Kết quả thử nghiệm được nêu cụ thể trong các bảng 3.1 ÷ 3.4.

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

Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất (**CL1-CL8** và **CF1-CF9**) phân lập được từ loài *C. buchananii* thể hiện ở Bảng 3.1 và Bảng 3.2:

Bảng 3.1. Ảnh hưởng ức chế sản sinh NO theo nồng độ của **CL1-CL8** và **CF1-CF9**

Nồng độ (µM)	Hợp chất	% ức chế NO	% tế bào sống	Hợp chất	% ức chế NO	% tế bào sống
100	**CL1**	98,24 ± 0,98	99,76 ± 0,95	**CF1**	91,95 ± 2,03	99,31 ± 0,37
20		41,85 ± 1,12	101,49 ± 1,00		33,04 ± 1,22	100,76 ± 1,47
4		18,41 ± 1,54			12,33 ± 0,69	
0,8		3,52 ± 0,16			1,94 ± 0,13	
100	**CL2**	92,16 ± 1,58	98,22 ± 1,57	**CF2**	99,74 ± 2,94	98,24 ± 1,58
20		20,74 ± 2,00	98,31 ± 0,89		44,93 ± 1,64	101,13 ± 1,37
4		10,68 ± 0,43			11,76 ± 0,20	
0,8		2,76 ± 0,22			1,76 ± 0,18	
100	**CL3**	81,09 ± 2,12	99,32 ± 1,17	**CF3**	92,95 ± 1,76	92,79 ± 2,57
20		19,96 ± 1,97	100,06 ± 1,65		51,84 ± 1,69	95,77 ± 1,04
4		9,78 ± 1,26			15,18 ± 0,86	
0,8		2,53 ± 0,29			4,49 ± 0,42	
100	**CL4**	86,39 ± 2,47	99,42 ± 1,34	**CF4**	99,12 ± 2,02	100,02 ± 1,03
20		24,95 ± 1,86	102,70 ± 1,98		43,61 ± 1,22	100,21 ± 1,50
4		11,34 ± 1,58			22,91 ± 0,96	
0,8		3,46 ± 0,24			10,31 ± 0,48	
100	**CL5**	82,27 ± 2,47	100,02 ± 1,12	**CF5**	93,70 ± 0,89	92,89 ± 0,53
20		20,21 ± 1,83	101,06 ± 2,52		74,45 ± 1,02	94,65 ± 0,37
4		10,35 ± 1,03			27,75 ± 1,22	
0,8		2,68 ± 0,23			3,04 ± 0,44	
100	**CL6**	96,04 ± 1,88	97,43 ± 0,07	**CF6**	96,92 ± 2,64	99,86 ± 2,67
20		19,38 ± 1,69	100,00 ± 1,84		45,81 ± 1,91	101,02 ± 1,37
4		9,69 ± 0,64			21,15 ± 0,69	
0,8		2,20 ± 1,02			2,86 ± 0,15	
100	**CL7**	81,44 ± 2,82	97,18 ± 1,40	**CF7**	94,27 ± 3,63	100,99 ± 0,20
20		35,67 ± 1,35	101,37 ± 0,10		51,98 ± 1,69	101,39 ± 1,64
4		13,40 ± 2,13			21,15 ± 0,88	
0,8		3,38 ± 2,08			2,20 ± 0,11	
100	**CL8**	94,27 ± 3,63	100,99 ± 0,20	**CF8**	95,06 ± 2,67	98,73 ± 2,12
20		51,98 ± 1,69	101,39 ± 1,64		52,38 ± 2,14	99,28 ± 2,01
4		21,15 ± 0,88			22,09 ± 0,58	
0,8		2,20 ± 0,11			3,57 ± 0,14	
100	**Dex[a]**	89,28 ± 2,13	91,42 ± 1,39	**CF9**	91,67 ± 1,82	96,37 ± 2,17
20		53,55 ± 1,38	100,60 ± 1,19		48,24 ± 1,69	98,82 ± 1,58
4		41,40 ± 0,97			16,25 ± 0,69	
0,8		33,42 ± 0,57			5,02 ± 0,48	

[a] *Đối chứng dương Dexamethasone*

Bảng 3.2. Giá trị IC_{50} ức chế sản sinh NO của **CL1-CL8** và **CF1-CF9**

Hợp chất	IC_{50} (µM)	Hợp chất	IC_{50} (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[a]	14,05 ± 1,17	**CF9**	22,01 ± 0,72

[a] *Đối chứng dương*

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

Kết quả thử hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các hợp chất (**AT1-AT10**) phân lập được từ loài *A. triphysa* thể hiện ở Bảng 3.3 và Bảng 3.4.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng ức chế sản sinh NO theo nồng độ của **AT1-AT10**

Nồng độ (µM)	Hợp chất	% ức chế NO	% tế bào sống	Hợp chất	% ức chế NO	% tế bào sống
100	**AT1**	94,24 ± 0,34	94,52 ± 0,77	**AT2**	78,32 ± 0,68	91,32 ± 1,73
20		82,65 ± 1,23	98,28 ± 0,96		47,41 ± 1,55	93,17 ± 1,26
4		22,52 ± 1,41			17,92 ± 2,03	
0,8		9,18 ± 1,02			6,28 ± 1,21	
100	**AT3**	75,12 ± 0,98	93,16 ± 0,66	**AT4**	72,57 ± 1,53	89,26 ± 0,64
20		42,46 ± 0,75	95,27 ± 0,94		43,28 ± 2,35	91,47 ± 0,79
4		12,58 ± 0,59			13,21 ± 1,82	
0,8		4,56 ± 1,27			5,48 ± 0,85	
100	**AT5**	73,81 ± 1,38	87,23 ± 0,74	**AT6**	79,27 ± 1,54	82,21 ± 0,72
20		35,20 ± 1,76	94,58 ± 1,67		46,41 ± 1,24	87,37 ± 1,53
4		15,22 ± 0,91			16,93 ± 0,96	
0,8		6,41 ± 0,43			7,36 ± 1,43	
100	**AT7**	70,43 ± 1,36	93,51 ± 0,62	**AT8**	67,72 ± 1,81	93,49 ± 0,91
20		25,38 ± 1,21	96,02 ± 0,38		23,59 ± 1,33	98,93 ± 0,78
4		9,21 ± 1,17			8,58 ± 0,56	
0,8		3,58 ± 0,74			5,21 ± 0,70	
100	**AT9**	70,26 ± 1,11	88,27 ± 0,81	**AT10**	69,57 ± 1,51	93,83 ± 1,13
20		34,28 ± 0,95	94,68 ± 0,69		33,45 ± 1,38	99,00 ± 0,98
4		12,68 ± 1,49			10,57 ± 0,77	
0,8		7,37 ± 0,87			4,19 ± 1,22	
	Dexamethasone[a]					
100		89,28 ± 2,13	91,42 ± 1,39			
20		53,55 ± 1,38	100,60 ± 1,19			
4		41,40 ± 0,97				
0,8		33,42 ± 0,57				

[a] *Đối chứng dương*

Bảng 3.4. Giá trị IC_{50} ức chế sản sinh NO của **AT1-AT10**

Hợp chất	IC_{50} (µM)	Hợp chất	IC_{50} (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[a]	14,05 ± 1,17		

[a] *Đối chứng dương*

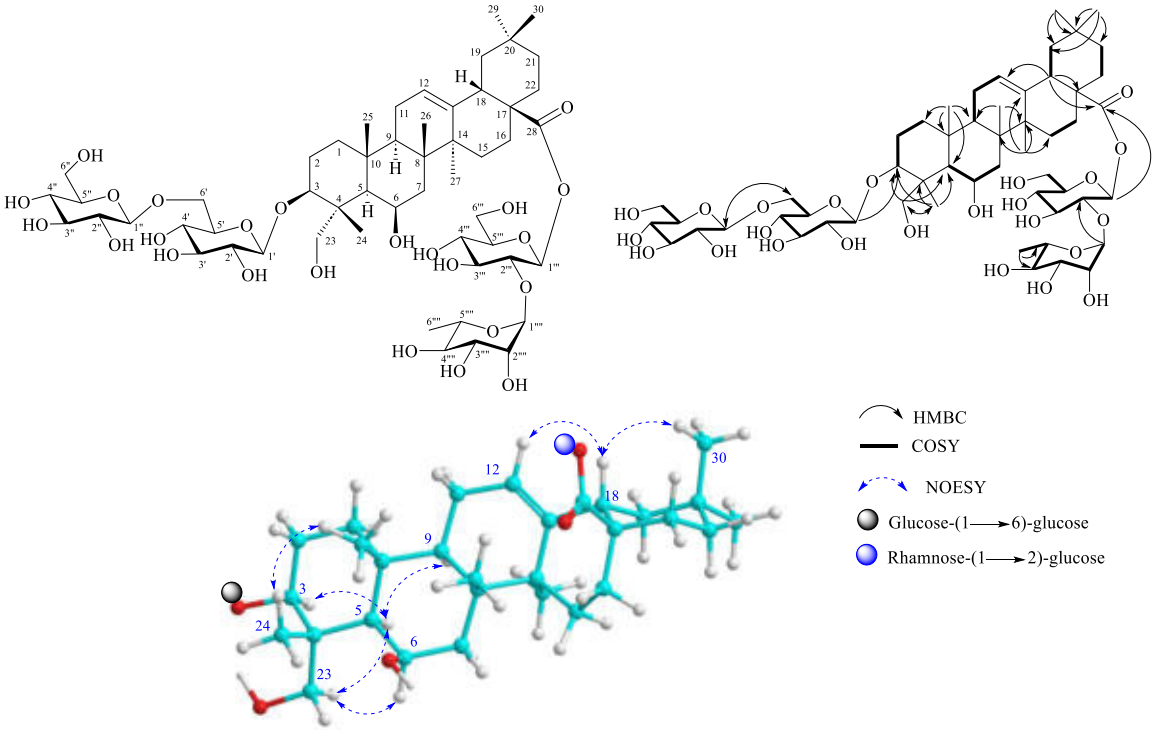
CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

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).*

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 píc đặc trưng cho nhóm chức hydroxy, carbonyl, liên kết đôi C = C và ether lần lượt tại ν_{max} 3401, 1736, 1639, 1075 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 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}{}^{35}Cl]^-$ là 1155,5359 (sai số Δ = +3,6 ppm), 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.

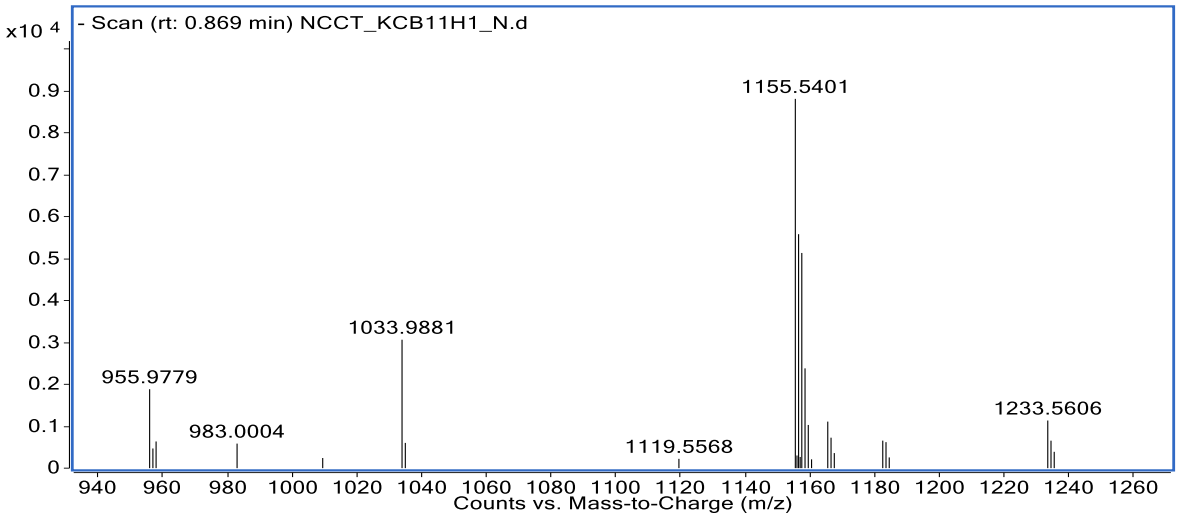


Hình 4.1. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL1**

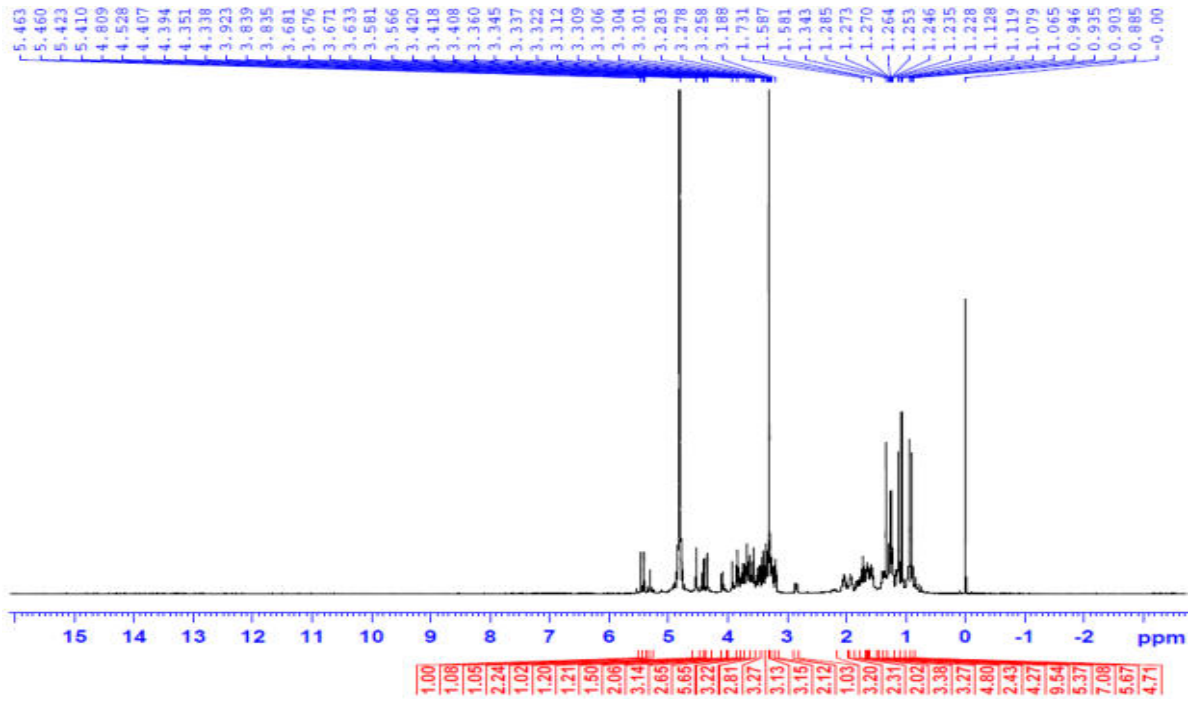
Phân tích phổ ^1H NMR và phổ HSQC của hợp chất **CL1** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu như: sáu nhóm methyl tại δ_H 0,90 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, s, H-30), 1,07 (3H, s, H-26), 1,08 (3H, s, H-24), 1,13 (3H, s, H-27) và 1,34 (3H, s, H-25); một proton nối đôi tại δ_H 5,30 (1H, t, *J* = 3,6 Hz, H-12); ba proton methine tại δ_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 δ_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 δ_H 3,71 (1H, d, *J* = 12,0 Hz, H_a-23) và 3,47 (1H, d, *J* = 12,0 Hz, H_b-23); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_H 0,90-2,03 ppm. Ngoài ra, bốn proton anomeric cũng được nhận biết tại δ_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 δ_H 5,46 (1H, d, J = 1,2 Hz, H-1⁗) (Bảng 4.1). Phân tích phổ ^{13}C NMR 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 [112] 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 δ_C 124,0 (C-12)/144,1 (C-13), một tín hiệu carbon của nhóm carbonyl tại δ_C 178,2 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 83,3 (C-3) và 68,7 (C-6) và một tín hiệu carbon của nhóm methylene nối với oxy tại δ_C 64,7 (C-23). Các dữ liệu phổ NMR nêu trên gợi ý phần cấu trúc aglycone là uncargenin C [112, 113] 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. Tương tác HMBC từ H_2-23 (δ_H 3,71/3,47) đến C-3 (δ_C 83,3)/C-4 (δ_C 44,8)/C-5 (δ_C 48,9)/C-24 (δ_C 15,0) và từ H_3-24 (δ_H 1,08) đến C-3 (δ_C 83,3)/C-4 (δ_C 44,8)/C-5 (δ_C 48,9)/C-23 (δ_C 64,7), gợi ý vị trí carbon tại C-3 và C-23 phải nối với oxy. Tương tác HMBC từ H_3-27 (δ_H 1,13) đến C-8 (δ_C 39,9)/C-13 (δ_C 144,1)/C-14 (δ_C 43,6)/C-15 (δ_C 29,5), từ H-18 (δ_H 2,85) đến C-28 (δ_C 178,2) khẳng định nối đôi Δ^{12} và 28-oic acid (Hình 4.1). Vị trí 6-OH được chứng minh bằng trương tác COSY H-5 (δ 1,23)/H-6 (δ 4,44), cũng như tương tác HMBC giữa H-5 và C-6 (δ_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}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 *α/axial*. Proton H-6 (δ_H 4,44) xuất hiện dạng broad singlet với giá trị hằng số tương tác bằng không ($^3J_{5,6}$ = 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 (δ_H 3,58) với H-5 (δ_H 1,23), giữa H_2-23 (δ_H 3,71 và 3,47) với H-3 (δ_H 3,58), giữa H-5 (δ_H 1,23) với H-6 (δ_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 δ_C (105,5, 75,7, 78,0, 71,4, 77,7 và 69,7), δ_C (104,7, 75,2, 77,7, 71,6, 78,0 và 62,7) và δ_C (95,1, 77,1, 79,4, 71,1, 78,4 và 62,7); và 6 tín hiệu carbon thuộc một đường rhamnose tại δ_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″ (δ_H 4,34) đến C-6′ (δ_C 69,7), từ Glu H-1′ (δ_H 4,40) đến C-3 (δ_C 83,3), từ Glu H-1‴ (δ_H 5,42) đến C-28 (δ_C 178,2) và từ Rha H-1⁗ (δ_H 5,46) đến C-2‴ (δ_C 77,1) đã xác định các đơn vị đường là glucopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside và rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside liên kết với C-3 và C-28 lần lượt bằng liên kết glycosidic và ester. Ngoài ra, phổ ^{1}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′ (δ_H 4,40),

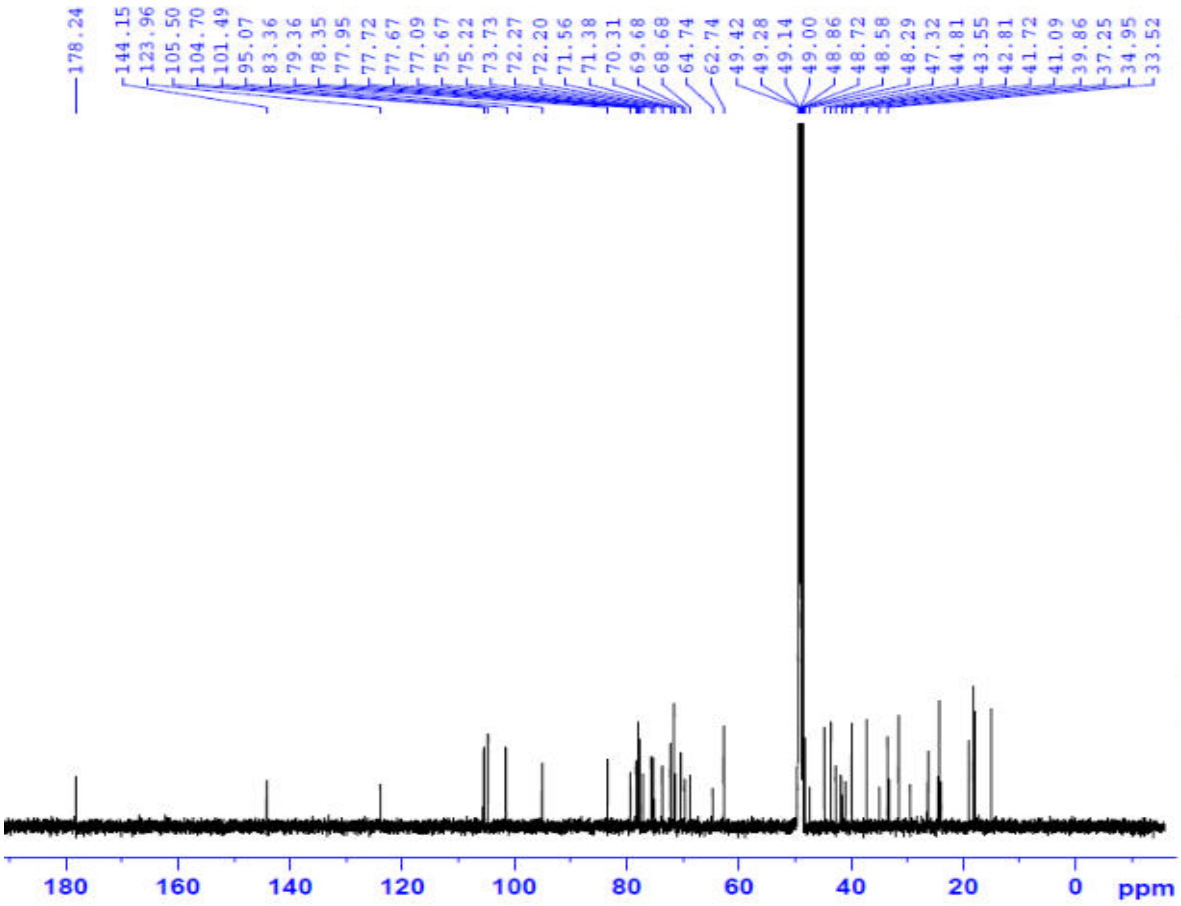
Glu H-1″ (δ_H 4,34) và Glu H-1‴ (δ_H 5,42) chỉ ra liên kết β-glycosidic, trong khi hằng số tương tác nhỏ (J = 1,2 Hz) của proton anomeric H-1⁗ tại (δ_H 5,46) của đường rhamnose chỉ ra liên kết α-glycosidic. Hợp chất **CL1** được thủy phân trong môi trường acid [106, 107], thu được các đường glucose và 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). 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 trên Scifinder cho thấy **CL1** là hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside A.



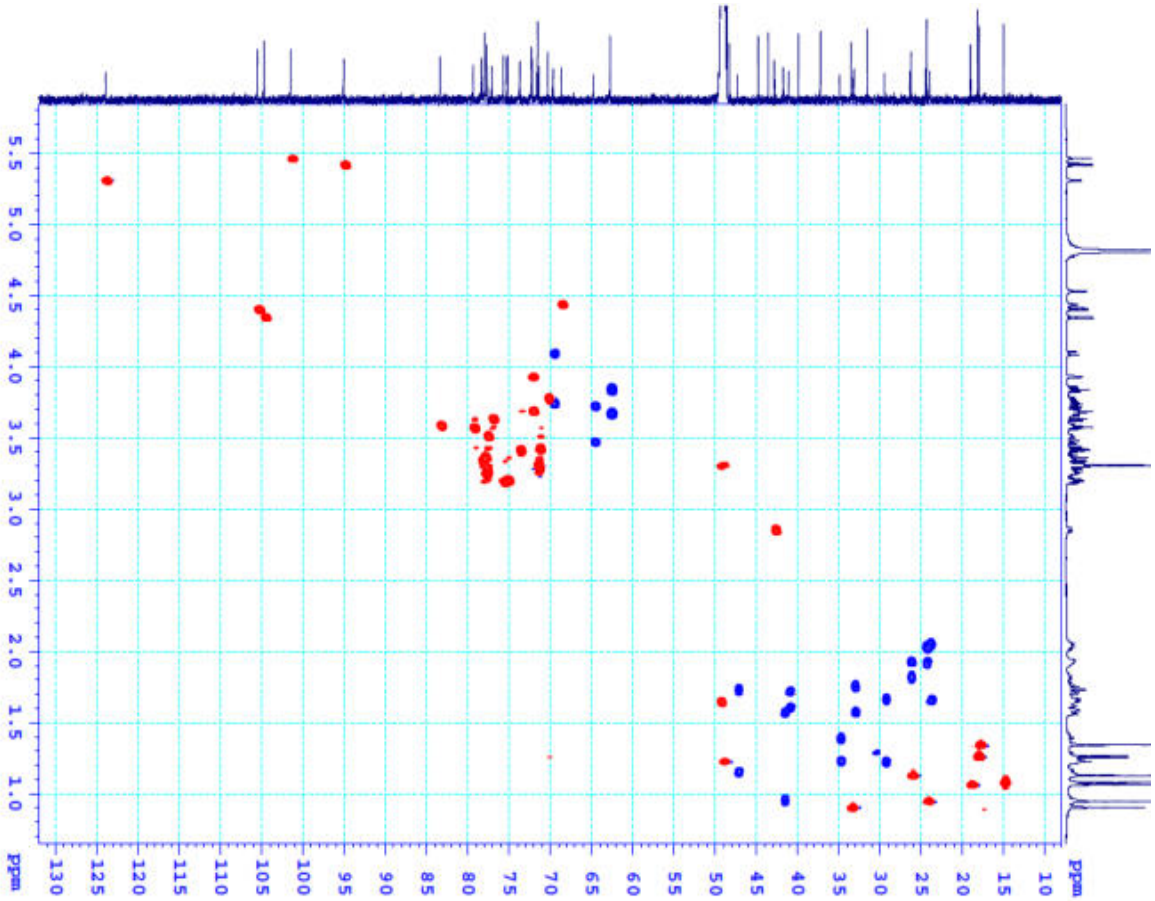
Hình 4.2. Phổ HR-ESI-MS của **CL1**



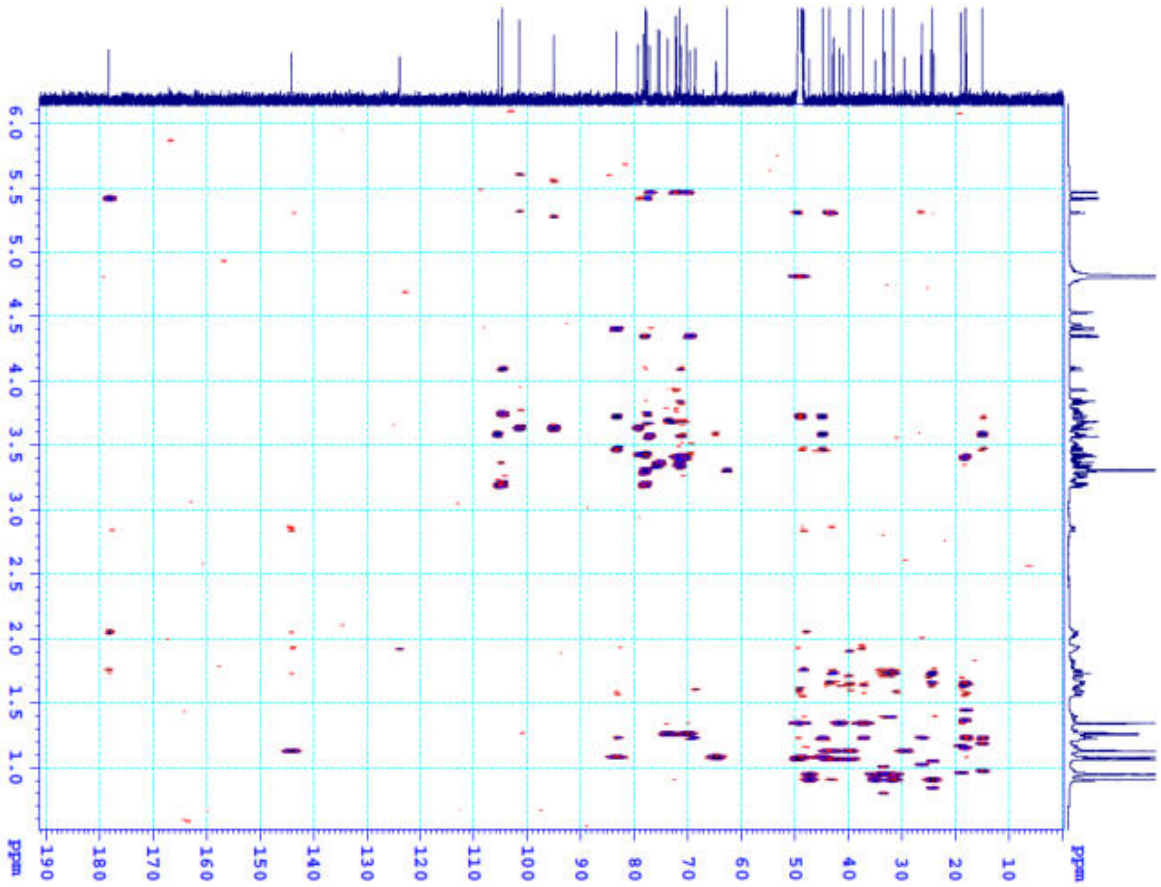
Hình 4.3. Phổ ^{1}H NMR của **CL1**



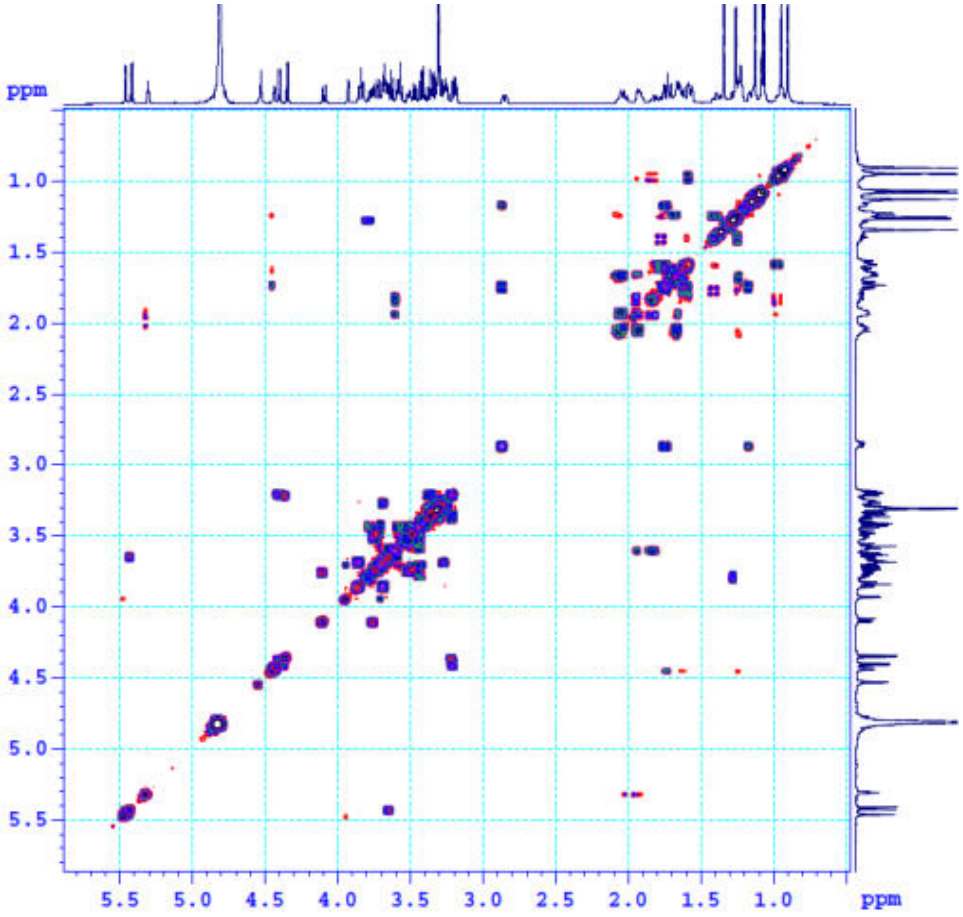
Hình 4.4. Phổ ^{13}C NMR của **CL1**



Hình 4.5. Phổ HSQC của **CL1**



Hình 4.6. Phổ HMBC của **CL1**

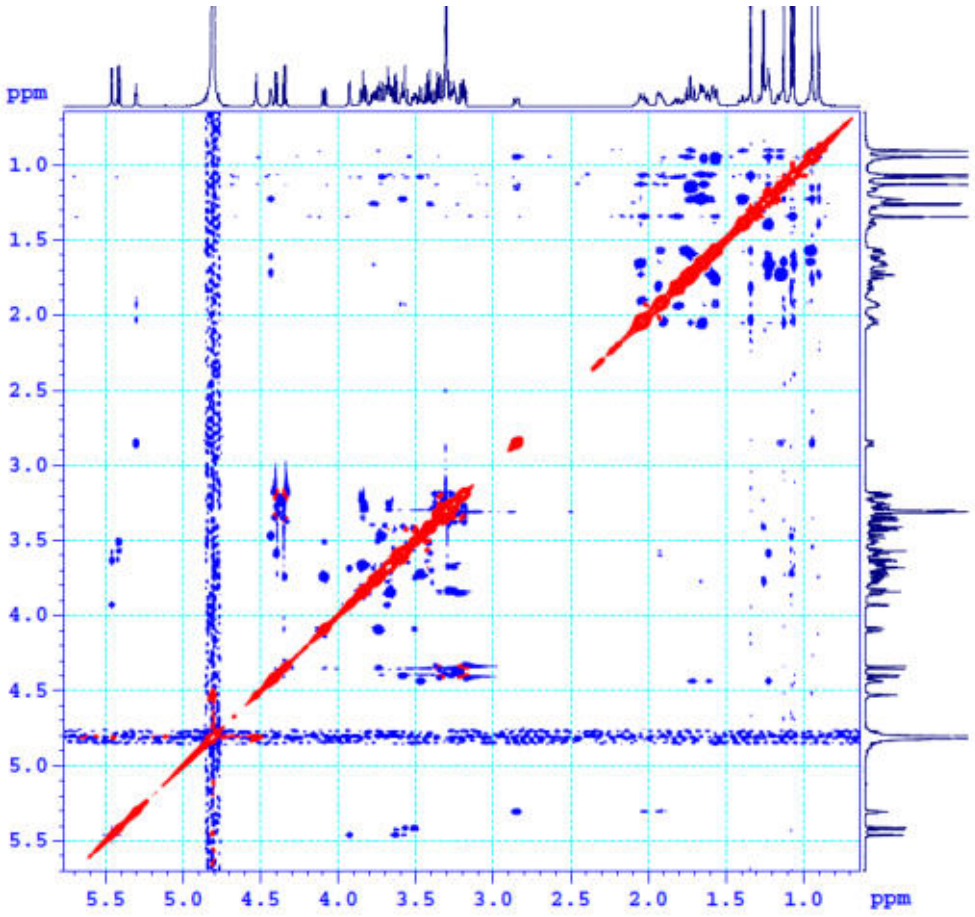


Hình 4.7. Phổ COSY của **CL1**

Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của **CL1**

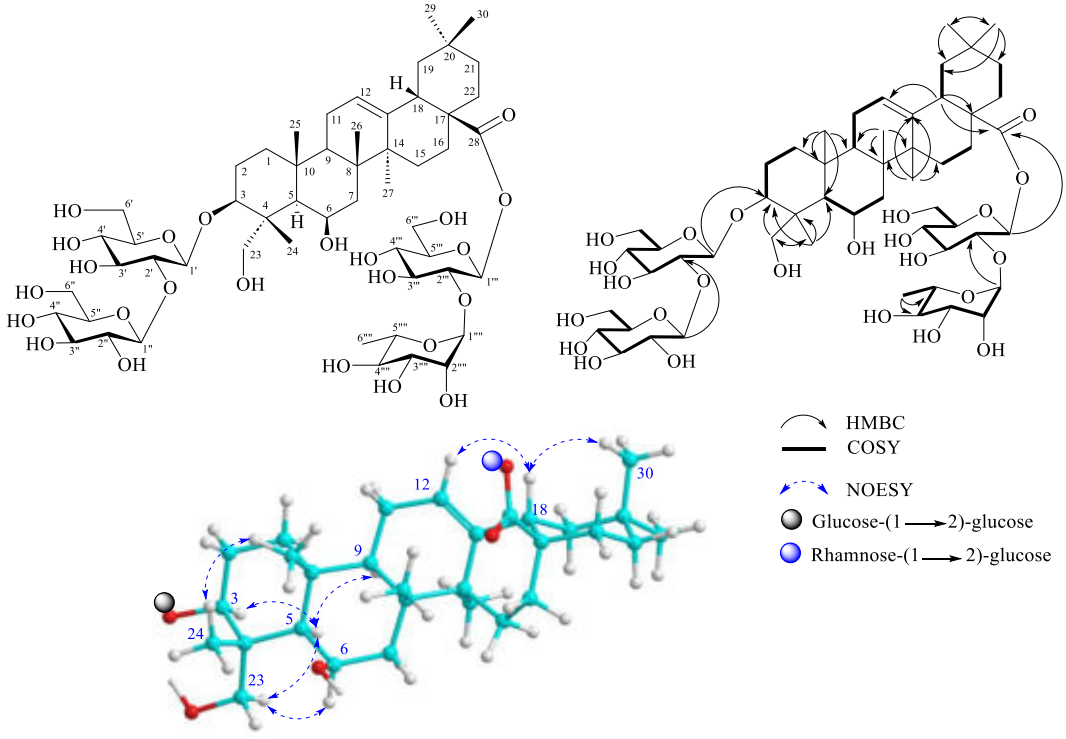
C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,7	0,90*/1,57 (dd, 12,6, 1,8)	30	24,3	0,95 (s)
2	26,4	1,82 (m)/1,93 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	83,3	3,58 (dd, 13,2, 4,2)	1′	105,5	4,40 (d, 7,8)
4	44,8	-	2′	75,7	3,20 (dd, 9,0, 7,8)
5	48,9	1,23 (br s)	3′	78,0	3,26*
6	68,7	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′-*O*-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-*O*-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	1,17*/1,73 (dd, 13,2, 13,2)	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‴-*O*-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)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*



Hình 4.8. Phổ NOESY của **CL1**

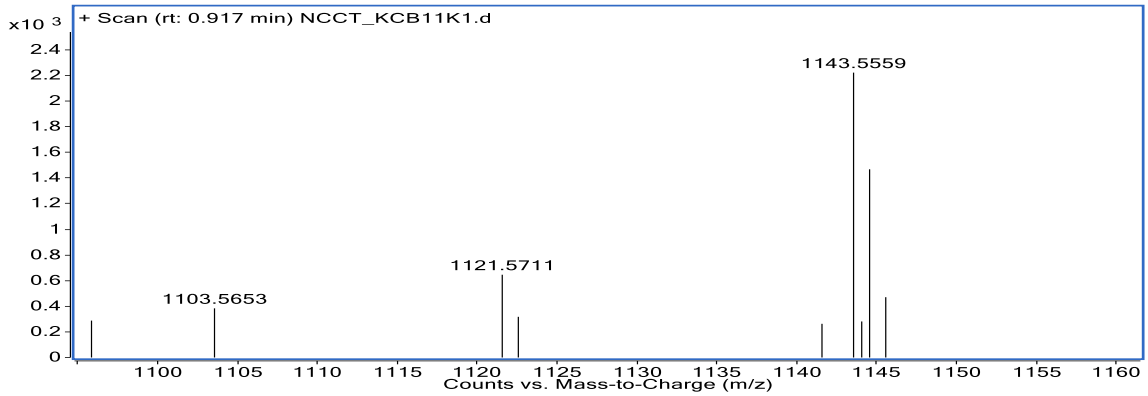
*4.1.1.2. Hợp chất **CL2**: Cryptobuchanoside B (hợp chất mới)*



Hình 4.9. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL2**

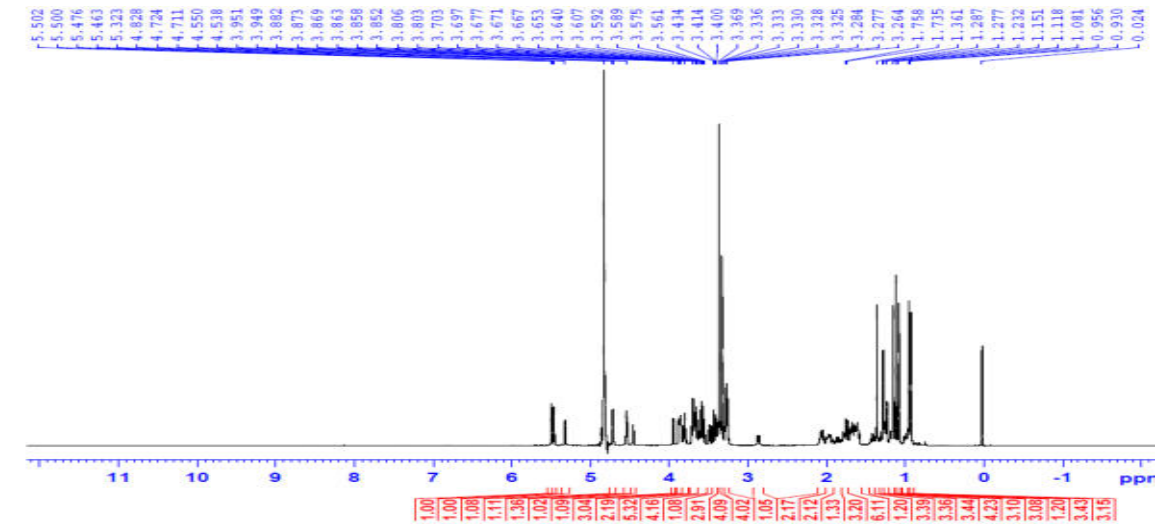
Hợp chất **CL2** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử của hợp chất **CL2** là $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120) với độ bất bão hòa bằng 11, được

xác định bởi pic ion giả phân tử tại *m/z* 1143,5559 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558, sai số Δ = +0,1 ppm) trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS.

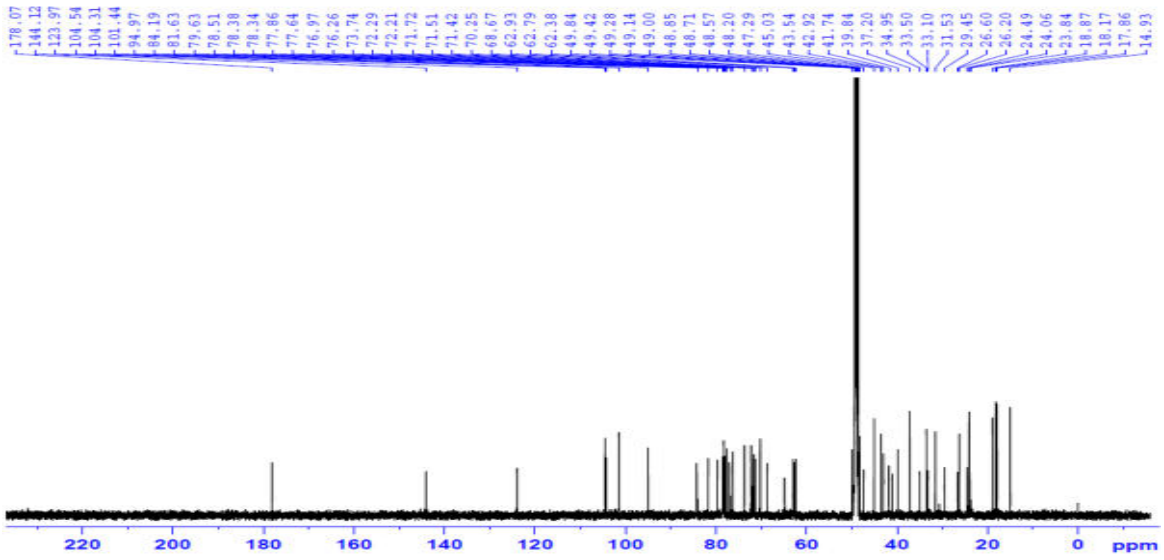


Hình 4.10. Phổ HR-ESI-MS của **CL2**

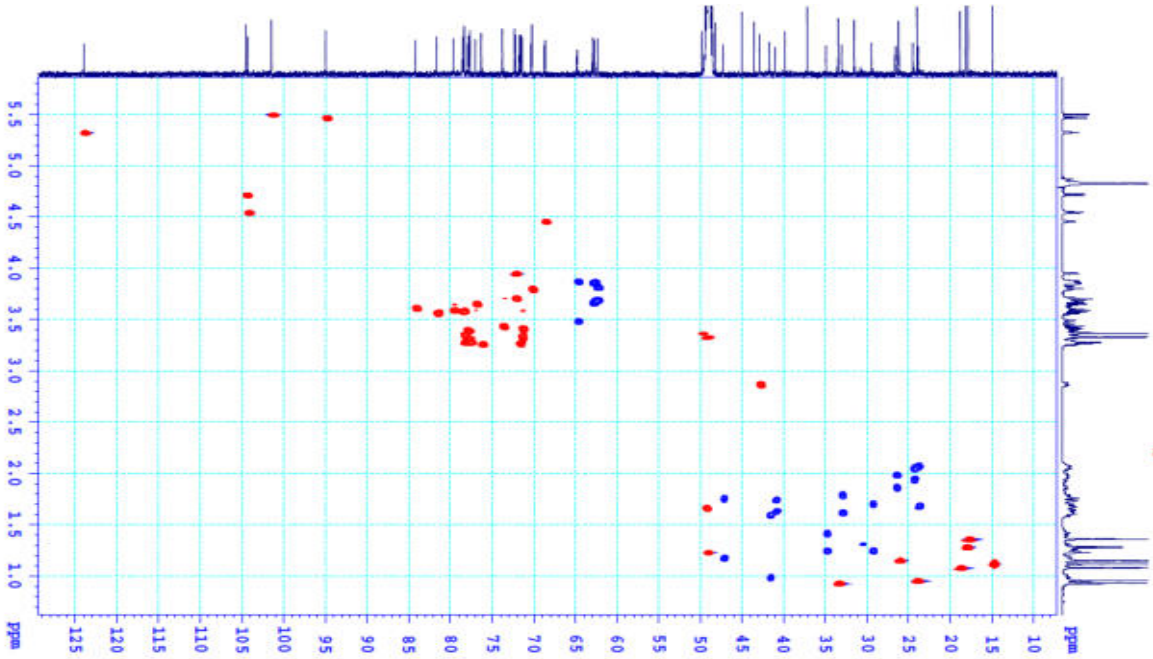
Phân tích phổ ^{1}H NMR, ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CL2** kết hợp so sánh với các số liệu phổ của hợp chất **CL1** nhận thấy **CL2** cũng xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 54 carbon. Trong đó, 30 carbon ở phần aglycone hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL1,** chứng tỏ chúng có cùng cấu trúc aglycone, kể cả về mặt hóa học lập thể (Bảng 4.1 và 4.2, Hình 4.9). Tuy nhiên, sự khác biệt nhận thấy rõ ràng ở một số tín hiệu thuộc phần đường. Cụ thể, ở **CL2** xuất hiện 18 tín hiệu carbon đặc trưng cho ba nhóm glucose lần lượt tại δ_C (104,3, 81,6, 78,5, 71,4, 78,4 và 62,8), δ_C (104,5, 76,3, 77,9, 71,7, 77,6 và 62,9) và δ_C (95,0, 77,0, 79,6, 71,5, 78,3 và 62,7); và 6 tín hiệu carbon thuộc một đường rhamnose tại δ_C (101,4, 72,3, 72,2, 73,7, 70,3 và 18,2) (Bảng 4.2). Sự khác biệt có thể thấy rõ giữa **CL1** và **CL2** là độ dịch chuyển hóa học của C-6′ đã thay đổi từ δ_C 69,7 ở hợp chất **CL1** về δ_C 62,8 ở hợp chất **CL2**, đồng thời C-2′ từ δ_C 75,7 của lên δ_C 81,6, chứng tỏ liên kết glycoside đã thay đổi từ C-6′ sang C-2′. Điều này còn được khẳng định chính xác bằng phổ HSQC, HMBC, và COSY. Trong đó, tương tác HMBC từ proton Glu H-1″ (δ_H 4,71) đến Glu C-2′ (δ_C 81,6), từ proton Glu H-1′ (δ_H 4,54) đến C-3 (δ_C 84,2) cùng với giá trị hằng số J = 7,8 Hz của hai proton anomeric này cho phép xác định được chuỗi disaccharide là *β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl và chuỗi đường này liên kết với aglycone tại C-3. Nhánh đường nối với C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL1**, xác định là 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester, được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1′′′′ (δ_H 5,50) đến Glu C-2′′′ (δ_C 77,0), từ Glu H-1′′′ (δ_H 5,46) đến C-28 (δ_C 178,1) cùng với giá trị hằng số J của hai proton anomeric (1,8 Hz cho rhamnose và 7,8 Hz cho glucose) khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là *α*- và *β*- (Bảng 4.2). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp thủy phân, so sánh R_f (TLC) và độ quay cực với các đường chuẩn (mục 2.2.2.6) tương tự như **CL1** [106, 107].



Hình 4.11. Phổ ^{1}H NMR của **CL2**



Hình 4.12. Phổ ^{13}C NMR của **CL2**



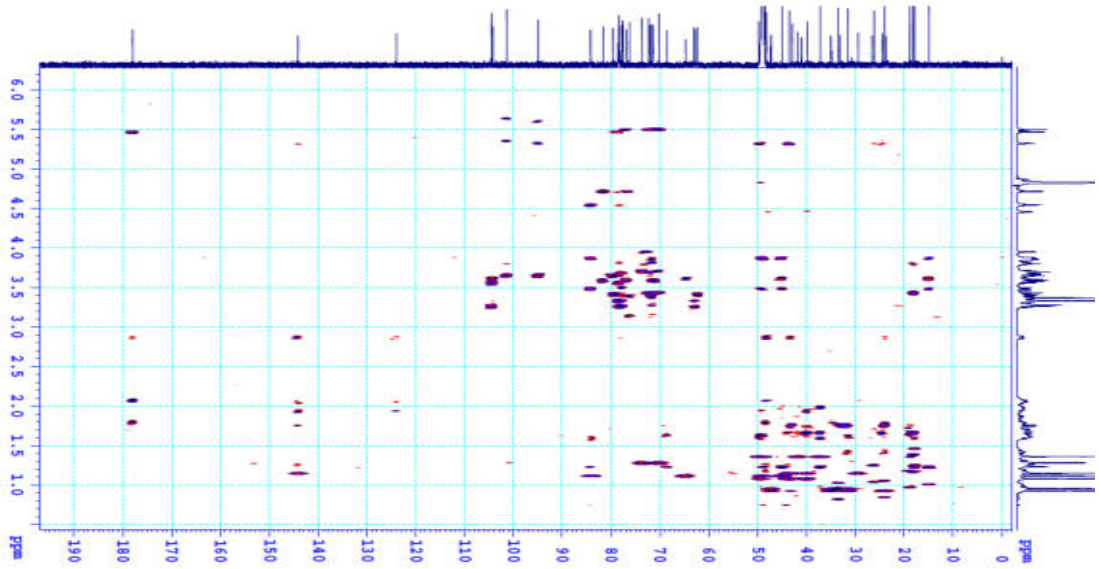
Hình 4.13. Phổ HSQC của **CL2**

Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của **CL2**

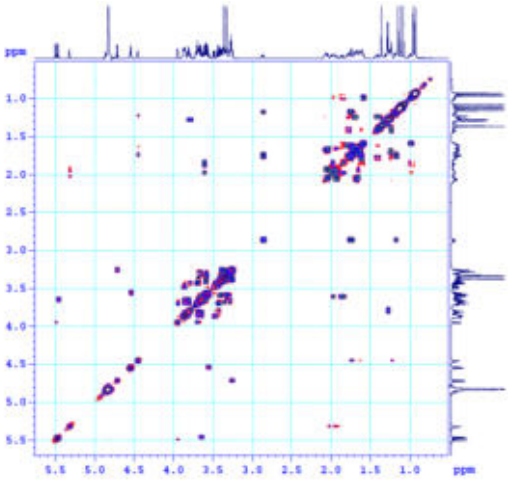
C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,7	0,90*/1,57 (dd, 12,6, 1,8)	30	24,1	0,96 (s)
2	26,6	1,84 (m)/1,95 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	84,2	3,61 (dd, 13,2, 4,2)	1′	104,3	4,54 (d, 7,8)
4	45,0	-	2′	81,6	3,56 (dd, 9,0, 7,8)
5	49,0	1,22 (br s)	3′	78,5	3,57 (t, 9,0)
6	68,7	4,46 (br s)	4′	71,4	3,32*
7	41,1	1,62*/1,74 (br d, 13,8)	5′	78,4	3,30*
8	39,8	-	6′	62,8	3,87*/3,67*
9	49,6	1,66 (m)	2′-*O*-Glucopyranosyl		
10	37,2	-	1″	104,5	4,71 (d, 7,8)
11	24,5	1,94*/2,05*	2″	76,3	3,26*
12	124,0	5,32 (t, 3,6)	3″	77,9	3,33*
13	144,1	-	4″	71,7	3,25*
14	43,5	-	5″	77,6	3,28*
15	29,5	1,22*/1,70 (m)	6″	62,9	3,67*/3,84*
16	23,9	1,68 (m)/2,04 (m)	28-*O*-Glucopyranosyl		
17	49,8	-	1‴	95,0	5,46 (d, 7,8)
18	42,9	2,87 (dd, 13,2, 4,2)	2‴	77,0	3,65 (dd, 9,0, 7,8)
19	47,3	1,75 (dd, 13,2, 13,2)/1,18*	3‴	79,6	3,58 (t, 9,0)
20	31,5	-	4‴	71,5	3,41 (t, 9,0)
21	35,0	1,22*/1,41 (m)	5‴	78,3	3,34 (m)
22	33,1	1,61 (m)/1,79 (m)	6‴	62,7	3,67*/3,84*
23	64,8	3,86 (d, 12,0)/3,48 (d, 12,0)	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
24	14,9	1,18 (s)	1⁗	101,4	5,50 (d, 1,8)
25	17,9	1,36 (s)	2⁗	72,3	3,95 (dd, 3,0, 1,8)
26	18,9	1,08 (s)	3⁗	72,2	3,70 (dd, 9,0, 3,0)
27	26,2	1,13 (s)	4⁗	73,7	3,43 (t, 9,0)
28	178,1	-	5⁗	70,3	3,77 (m)
29	33,5	0,93 (s)	6⁗	18,2	1,29 (d, 6,0)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

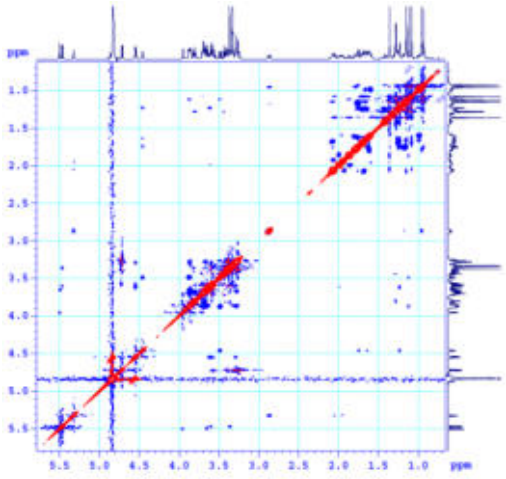
Từ những nhận định trên, có thể xác định được hợp chất **CL2** là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy hợp chất **CL2** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside B.



Hình 4.14. Phổ HMBC của **CL2**



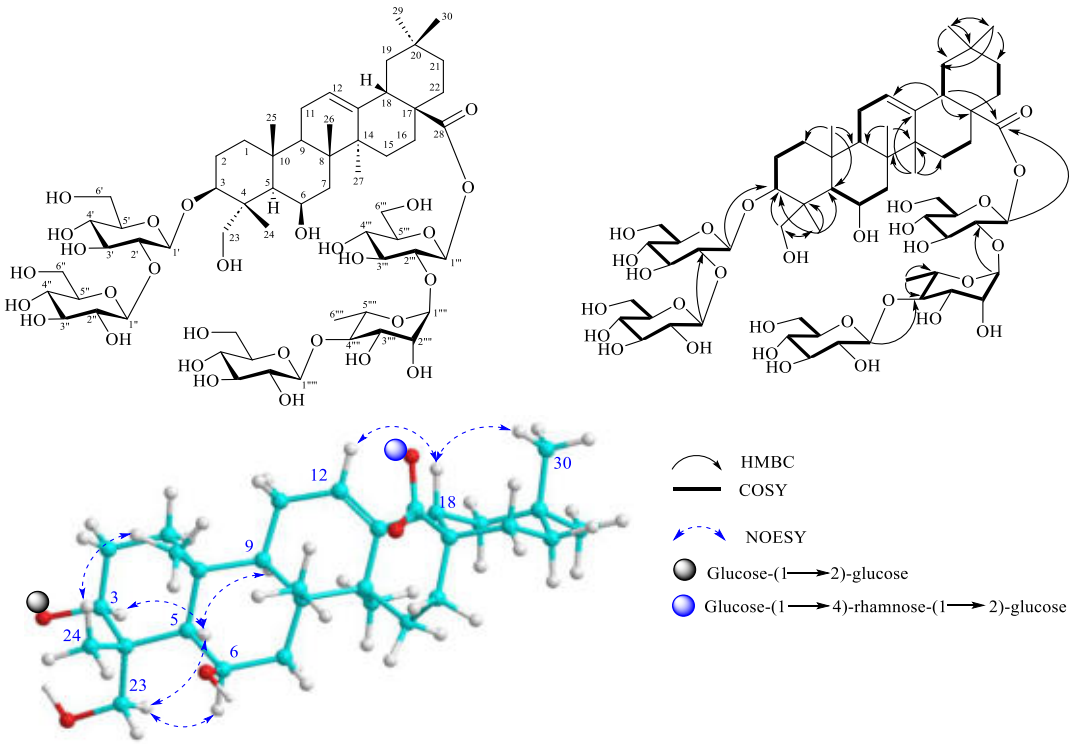
Hình 4.15. Phổ COSY của **CL2**



Hình 4.16. Phổ NOESY của **CL2**

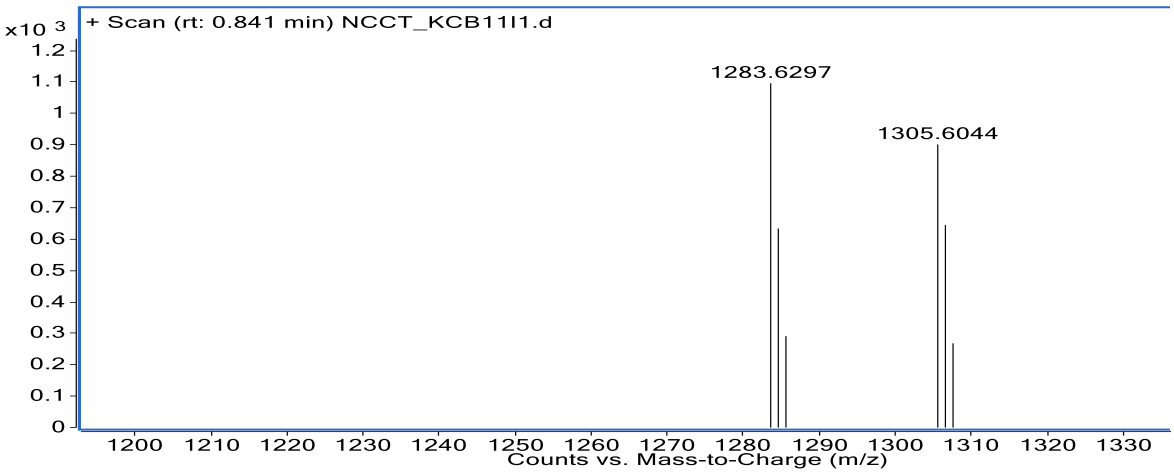
*4.1.1.3. Hợp chất **CL3**: Cryptobuchanoside C (hợp chất mới).*

Hợp chất **CL3** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Phân tích phổ NMR của hợp chất **CL3** cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 60 carbon. Trong đó, 30 carbon ở phần aglycone hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL2** chứng tỏ chúng có cùng cấu trúc aglycone khung olean-triterpene aglycone [112] kể cả về mặt hóa học lập thể (Bảng 4.2 và 4.3, hình 4.17). Ở phần đường, hợp chất **CL3** xuất hiện 24 tín hiệu carbon đặc trưng cho bốn nhóm đường glucose lần lượt tại δ_C (104,4, 81,7, 78,6, 71,4, 78,3 và 62,8), δ_C (104,8, 76,3, 77,9, 71,7, 78,5 và 63,0), δ_C (94,9, 76,3, 79,8, 71,6, 78,3 và 62,8) và δ_C (106,0, 76,3, 77,7, 71,4, 78,1 và 62,3); và 6 tín hiệu carbon đặc trưng cho một đường rhamnose tại δ_C (101,1, 72,1, 72,4, 84,6, 68,8 và 18,3) (Bảng 4.2). Tuy nhiên, có thể thấy rõ sự khác biệt giữa **CL2** và **CL3** là độ dịch chuyển hóa học của C-4‴′ đã thay đổi từ δ_C 73,7 ở hợp chất **CL2** lên δ_C 84,6 ở hợp chất **CL3** và xuất hiện thêm tín hiệu của một đường glucose tại δ_C (106,0, 76,3, 77,7, 71,4, 78,1 và 62,3) gợi ý phân tử đường mới này đã nối vào C-4‴′.

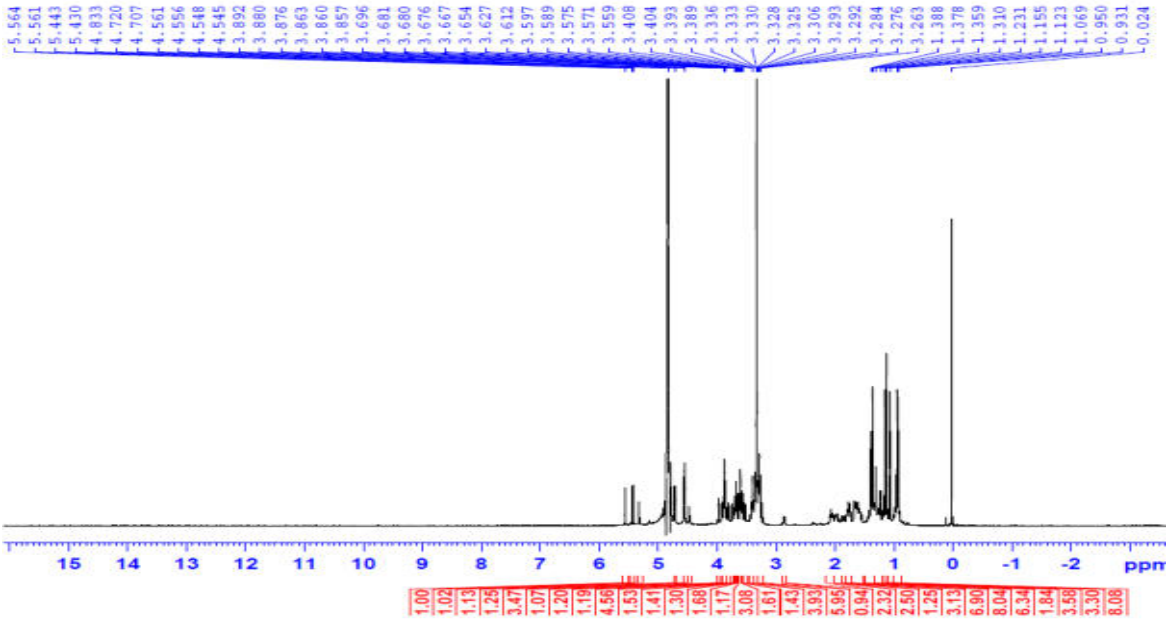


Hình 4.17. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL3**

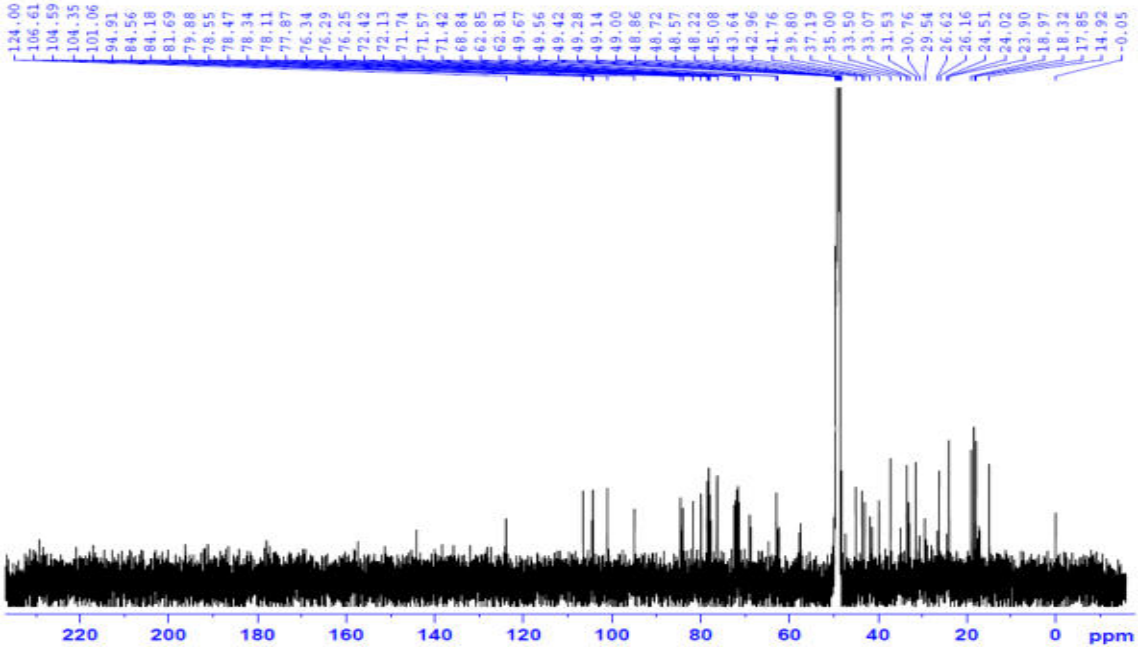
thông qua liên kết glycoside. Điều này còn được khẳng định chính xác bằng phổ HSQC, HMBC, và COSY. Trước hết, tương tác HSQC của Rha H-4‴′ (δ_H 3,60)/C-4‴′ (δ_C 84,6), các tương tác COSY Rha H-1‴′/H-2‴′/H-3‴′/H-4‴′/H-5‴′/H-6‴′, cùng với tương tác HMBC từ Glu H-1⁗ (4,55) đến Rha C-4‴′ (δ_C 84,6) chứng tỏ phân tử đường glucose mới đã nối với C-4‴′. Tương tự, các tương tác HMBC từ Rha H-1‴′ (5,56) đến Glu C-2‴ (δ_C 76,3) và từ Glu H-1‴ (5,44) đến C-28 (δ_C 178,1) đã xác định hoàn chỉnh nhánh đường nối vào C-28 là 28-*O*-D-glucopyranosyl-(1→4)-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-D-glucopyranosyl ester. Tương tự hợp chất **CL2**, nhánh đường nối vào C-3 được xác định là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl. Điều này được chứng minh bởi các tương tác HMBC từ Glu H-1″ (δ_H 4,71) đến Glu C-2′ (δ_C 81,7) và từ Glu H-1′ (δ_H 4,56) đến C-3 (δ_C 84,2). Giá trị hằng số tương tác J = 1,8 Hz của proton Rha H-1‴′ gợi ý cấu hình *α*-glycosidic và giá trị hằng số tương tác J = 7,8 Hz của các proton anomeric còn lại gợi ý dạng *β*-glycosidic. Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Như vậy, công thức phân tử dự đoán của hợp chất **CL3** sẽ phải là $C_{60}H_{98}O_{29}$ với giá trị độ bất bão hòa bằng 12. Điều này đã được khẳng định chính xác bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 1283,6297 $[M+H]^+$ hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{60}H_{99}O_{29}]^+$: 1283,6267 (Δ = +2,3 ppm). Từ các phân tích nêu trên, cho thấy hợp chất **CL3** được xác định là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy **CL3** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside C.



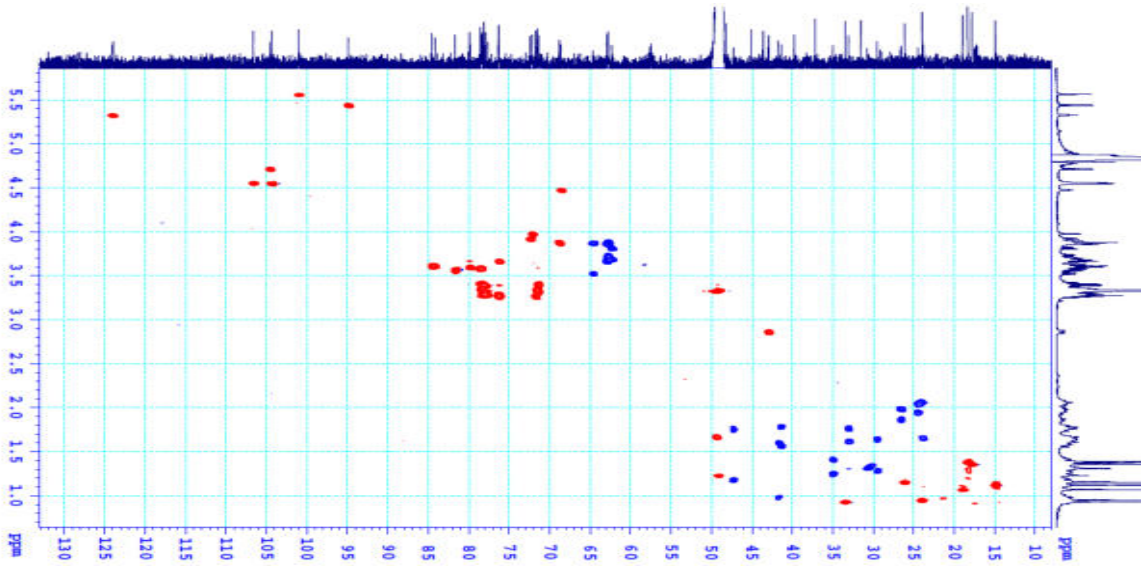
Hình 4.18. Phổ HR-ESI-MS của **CL3**



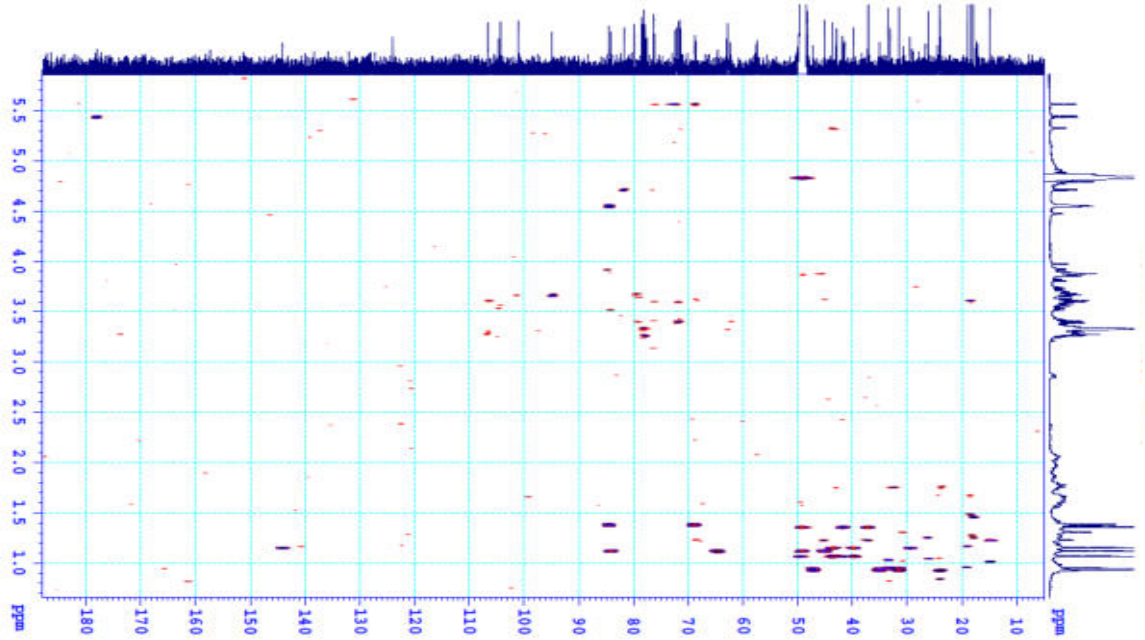
Hình 4.19. Phổ ^{1}H NMR của **CL3**



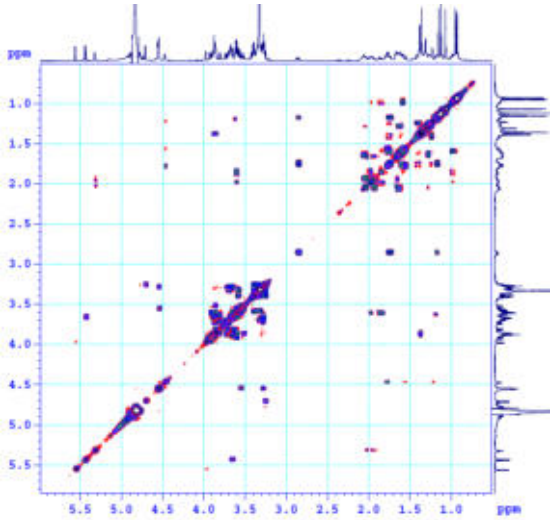
Hình 4.20. Phổ ^{13}C NMR của **CL3**



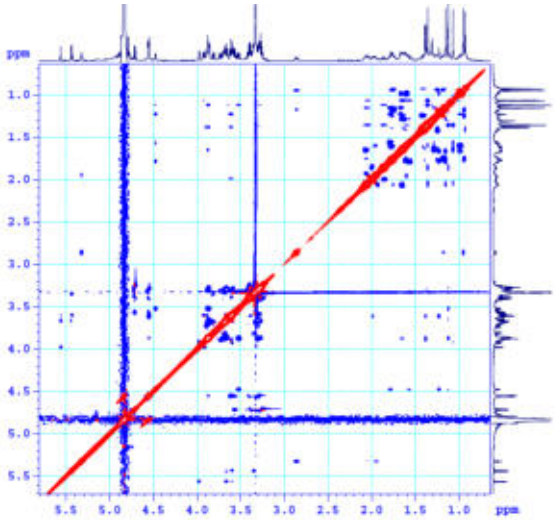
Hình 4.21. Phổ HSQC của **CL3**



Hình 4.22. Phổ HMBC của **CL3**



Hình 4.23. Phổ COSY của **CL3**



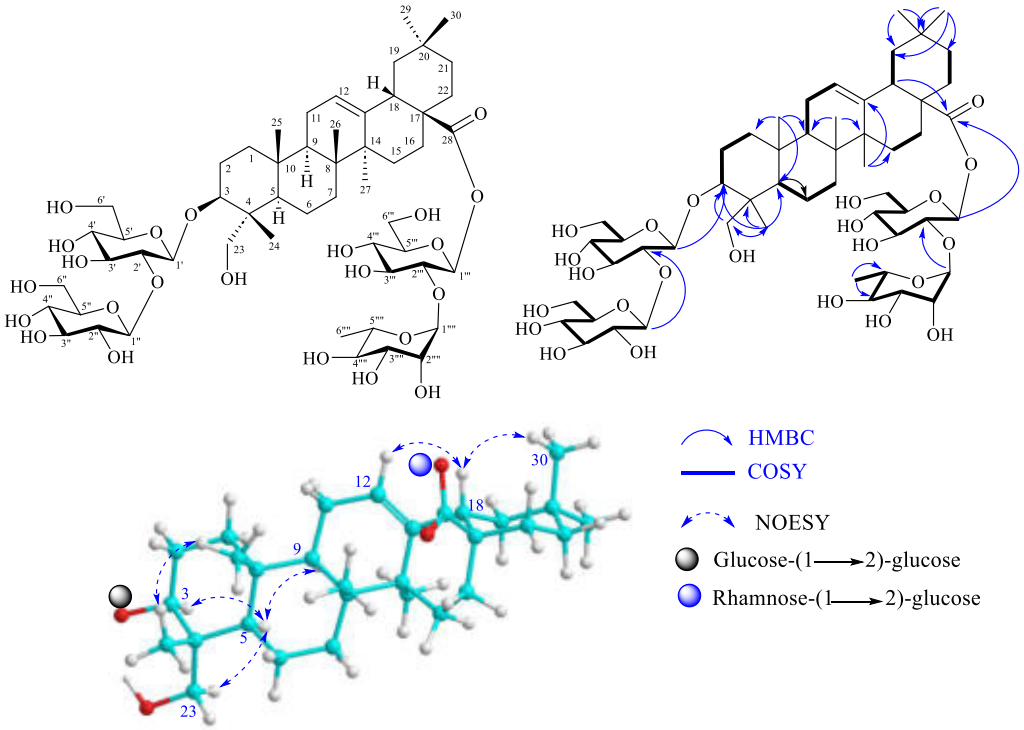
Hình 4.24. Phổ NOESY của **CL3**

Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của **CL3**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,8	0,98*/1,60*	3′	78,6	3,63 (t, 9,0)
2	26,6	1,85 (m)/1,98 (m)	4′	71,4	3,38*
3	84,2	3,60 (dd, 9,0, 3,0)	5′	78,3	3,30*
4	45,1	-	6′	62,8	3,87*/3,67*
5	49,1	1,22 (br s)	2′-*O*-Glucopyranosyl		
6	68,6	4,48 (br s)	1″	104,8	4,71 (d, 7,8)
7	41,4	1,56*/1,79*	2″	76,3	3,27*
8	39,8	-	3″	77,9	3,38*
9	49,2	1,66 (m)	4″	71,7	3,26*
10	37,2	-	5″	78,5	3,35*
11	24,5	1,94*/2,03*	6″	63,0	3,67*/3,84*
12	124,0	5,32 (t, 3,0)	28-*O*-Glucopyranosyl		
13	144,1	-	1‴	94,9	5,44 (d, 7,8)
14	43,6	-	2‴	76,3	3,66 (dd, 9,0, 7,8)
15	29,5	1,28*/1,62 (m)	3‴	79,8	3,57 (t, 9,0)
16	23,9	1,64 (m)/2,05 (m)	4‴	71,6	3,40 (t, 9,0)
17	49,8	-	5‴	78,3	3,34 (m)
18	43,0	2,86 (dd, 13,2, 4,2)	6‴	62,8	3,67*/3,84*
19	47,3	1,75 (dd, 13,2, 13,2)/1,18*	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
20	31,5	-	1⁗	101,1	5,56 (d, 1,8)
21	35,0	1,22*/1,40 (m)	2⁗	72,1	3,98 (dd, 3,0, 1,8)
22	33,1	1,61 (m)/1,79 (m)	3⁗	72,4	3,92 (dd, 9,0, 3,0)
23	64,7	3,86 (d, 12,0)/3,52 (d, 12,0)	4⁗	84,6	3,60 (t, 9,0)
24	14,9	1,12 (s)	5⁗	68,8	3,88 (m)
25	17,9	1,36 (s)	6⁗	18,3	1,38 (d, 6,0)
26	19,0	1,07 (s)	4⁗-*O*-Glucopyranosyl		
27	26,2	1,16 (s)	1⁗′	106,0	4,55 (d, 7,8)
28	178,1	-	2⁗′	76,3	3,27*
29	33,5	0,93 (s)	3⁗′	77,7	3,28*
30	24,0	0,95 (s)	4⁗′	71,4	3,33*
3-*O*-Glucopyranosyl			5⁗′	78,1	3,30*
1′	104,4	4,56 (d, 7,8)	6⁗′	62,3	3,67*/3,84*
2′	81,7	3,57 (dd, 9,0, 7,8)			

*[a] Đo trong CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

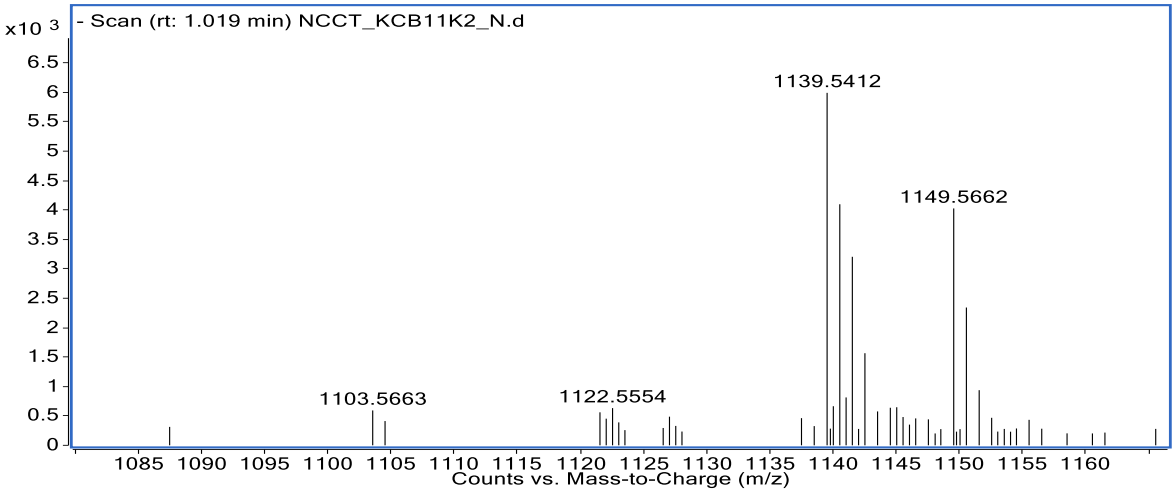
*4.1.1.4. Hợp chất **CL4**: Cryptobuchanoside D (hợp chất mới).*



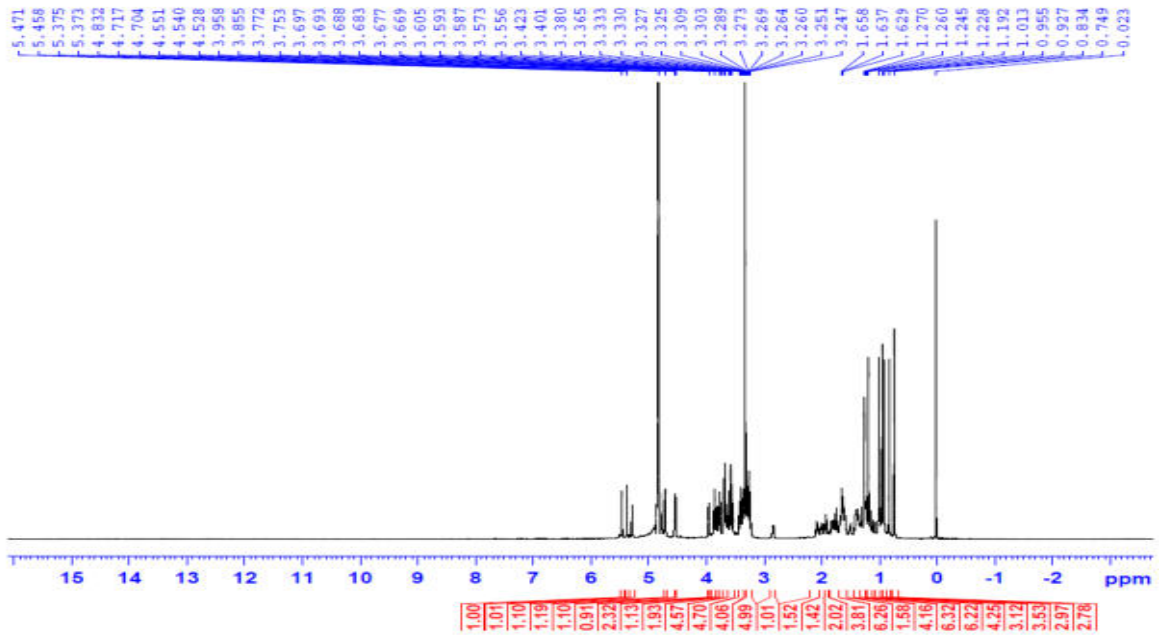
Hình 4.25. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL4**

Hợp chất **CL4** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử của hợp chất **CL4** là $C_{54}H_{88}O_{23}$ (M = 1104) với độ bất bão hòa bằng 11, được xác định bởi pic ion giả phân tử tại *m/z* 1103,5663 $[M-H]^-$, (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{87}O_{23}]^-$: 1103,5644, Δ = +1,7 ppm) trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS. Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC của hợp chất **CL4** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu tương tự với hợp chất **CL2,** ngoại trừ xuất hiện hai tín hiệu proton của nhóm methylene tại δ_H 1,38/1,51 (H-6) thay thế cho tín hiệu của một proton oxymethine tại δ_H 4,46 như ở hợp chất **CL2.** Phân tích phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CL4** cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 54 carbon, trong đó 30 carbon ở phần aglycone thuộc loại triterpenoid pentacyclic có cấu trúc tương tự như hợp chất **CL2**, đặc biệt là các dữ liệu của bốn vòng A, C, D và E. Tuy nhiên, sự khác biệt được nhận thấy rõ ràng ở tín hiệu vòng B giữa hai hợp chất này. Cụ thể, trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CL4** xuất hiện tín hiệu của nhóm methylene tại C-6 với tín hiệu cộng hưởng dịch chuyển về vùng trường cao (δ_C 18,9), gợi ý phần aglycone của hợp chất **CL4** có cấu trúc hederagenin [114, 115]. Điều nhận định này được khẳng định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, COSY và HMBC. Trong đó, tương tác HSQC của H_2-6 (δ_H 1,38/1,51)/C-6 (δ_C 18,9), tương tác COSY từ H-5 (δ_H 1,23) đến H-6 và tương tác HMBC từ proton H-5 đến C-6 đã chứng minh được C-6 liên kết với hai proton. Ngoài ra, ở phần aglycone của hợp chất **CL4** cũng xuất hiện tín hiệu hai carbon của một nối đôi tại δ_C 123,7 (C-12) và 144,9 (C-13), một tín hiệu carbon của nhóm carbonyl tại δ_C 178,0 (C-28), một tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 84,3 (C-3) và một

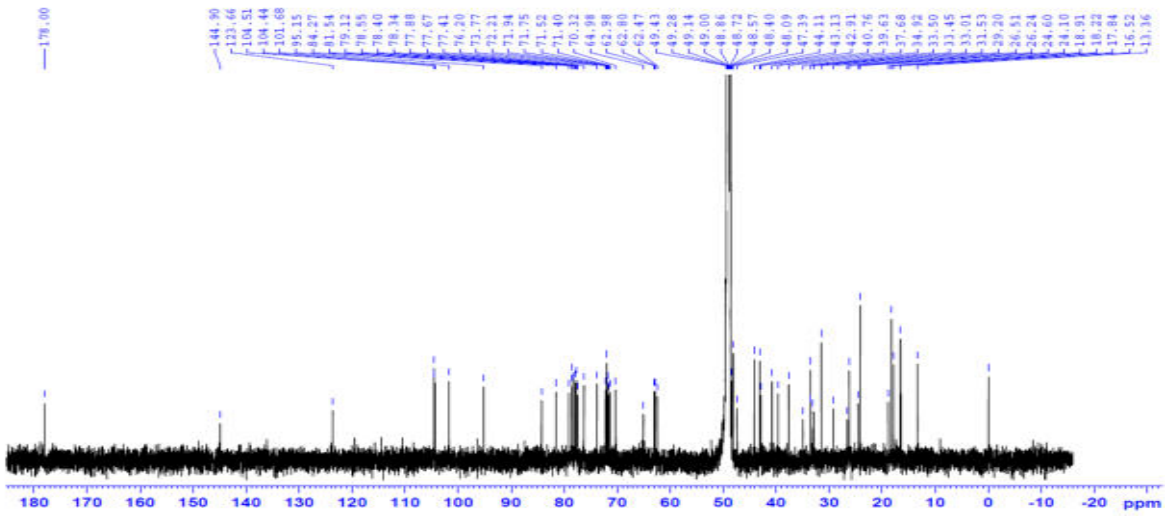
tín hiệu carbon của nhóm methylene nối với oxy tại δ_C 65.0 (C-23). Hóa học lập thể của hợp chất **CL4** được làm sáng tỏ dựa trên phân tích hằng số tương tác *J* trên phổ ^{1}H-NMR và tương tác NOESY. Hằng số tương tác lớn ($^3J_{2,3}$ = 13,2 Hz) giữa H_{ax}-2 và H-3 (δ_{Hax} 3,67) và tương tác NOESY giữa H_{ax}-3 và H_{ax}-5 khẳng định proton hai proton H-3 và H-5 định hướng *α/axial*. Do đó, cấu trúc phần aglycone của hợp chất **CL4** được xác định là hederagenin (3*β*,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid) [114, 115]. Dữ liệu phổ của hai nhánh đường nối với C-3 và C-28 của hợp chất **CL4** hoàn toàn tương tự hợp chất **CL2** (Bảng 4.1 và 4.4). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ những chứng minh trên, cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **CL4** là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosylhederagenin 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **CL4** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside D.



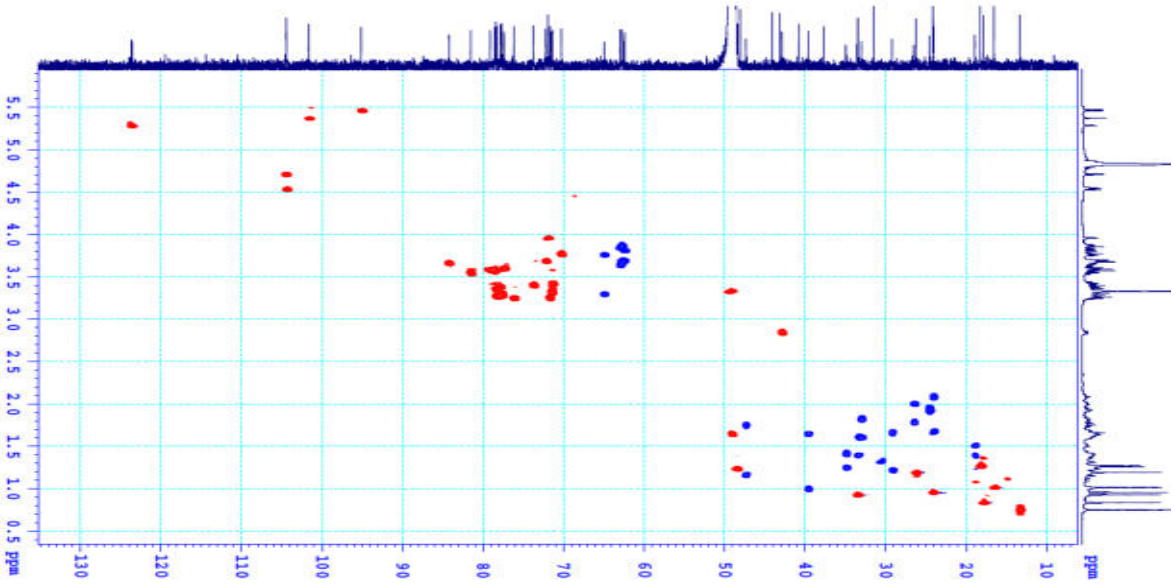
Hình 4.26. Phổ HR-ESI-MS của **CL4**



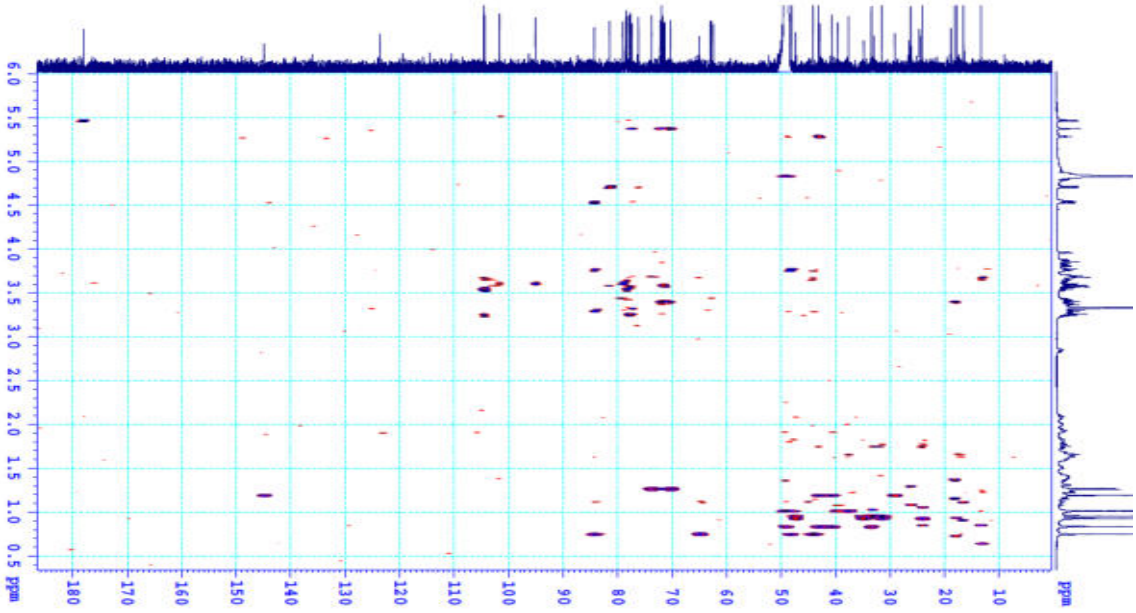
Hình 4.27. Phổ ^{1}H NMR của **CL4**



Hình 4.28. Phổ ^{13}C NMR của **CL4**



Hình 4.29. Phổ HSQC của **CL4**

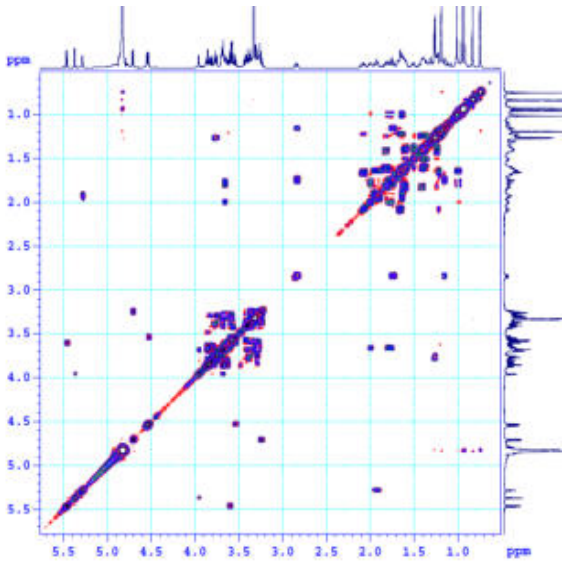


Hình 4.30. Phổ HMBC của **CL4**

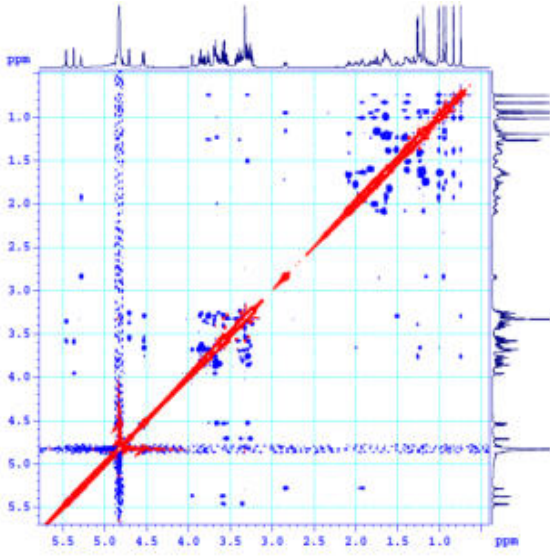
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của **CL4**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	39,6	1,00 (m)/1,64 (m)	30	24,1	0,96 (s)
2	26,5	1,77 (m)/2,00 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	84,3	3,67 (dd, 13,2, 4,2)	1′	104,4	4,53 (d, 7,8)
4	44,1	-	2′	81,5	3,54 (dd, 9,0, 7,8)
5	48,4	1,23 (m)	3′	78,6	3,57 (t, 9,0)
6	18,9	1,38 (m)/1,51 (m)	4′	71,4	3,32*
7	33,5	1,40 (m)/1,60 (m)	5′	78,4	3,27*
8	40,8	-	6′	62,8	3,87*
					3,67*
9	49,0	1,64 (m)	2′-*O*-Glucopyranosyl		
10	37,7	-	1″	104,5	4,71 (d, 7,8)
11	24,6	1,92-1,97 (m)	2″	76,2	3,26*
12	123,7	5,29 (t, 3,6)	3″	77,9	3,33*
13	144,9	-	4″	71,8	3,25*
14	43,1	-	5″	77,7	3,28*
15	29,2	1,22 (m)/1,67 (m)	6″	63,0	3,67*
					3,84*
16	24,1	1,67 (m)/2,08 (m)	28-*O*-Glucopyranosyl		
17	48,1	-	1‴	95,2	5,46 (d, 7,8)
18	42,9	2,84 (dd, 13,2, 4,2)	2‴	77,4	3,60 (dd, 9,0, 7,8)
19	47,4	1,75 (dd, 13,2, 13,2)/2,02 (m)	3‴	79,1	3,58 (t, 9,0)
20	31,5	-	4‴	71,5	3,41 (t, 9,0)
21	34,9	1,24*/1,66 (m)	5‴	78,3	3,36 (m)
22	33,0	1,60 (m)/1,82 (m)	6‴	62,5	3,67*
					3,84*
23	65,0	3,75 (d, 12,0)/3,29 (d, 12,0)	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
24	13,4	0,75 (s)	1⁗	101,7	5,37 (d, 1,8)
25	16,5	1,01 (s)	2⁗	71,9	3,96 (dd, 3,0, 1,8)
26	17,8	0,83 (s)	3⁗	72,2	3,68 (dd, 9,0, 3,0)
27	26,2	1,19 (s)	4⁗	73,8	3,40 (t, 9,0)
28	178,0	-	5⁗	70,3	3,77 (m)
29	33,5	0,93 (s)	6⁗	18,2	1,28 (d, 6,0)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

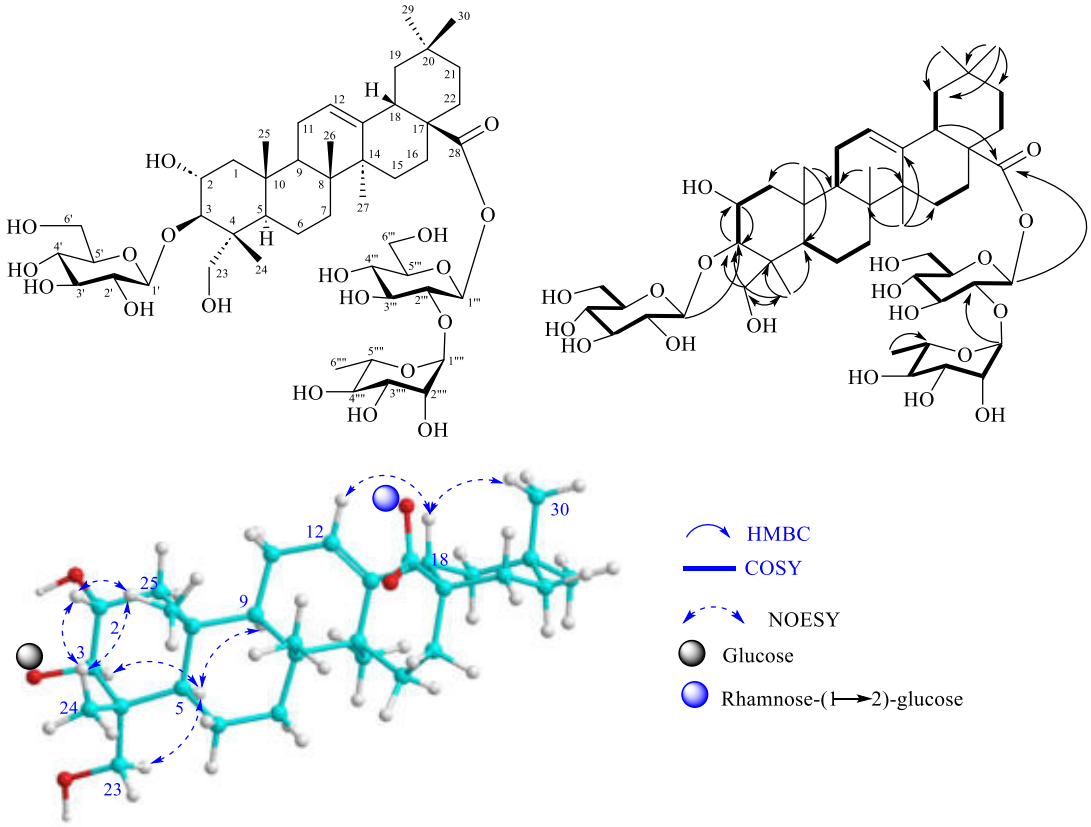


Hình 4.31. Phổ COSY của **CL4**



Hình 4.32. Phổ NOESY của **CL4**

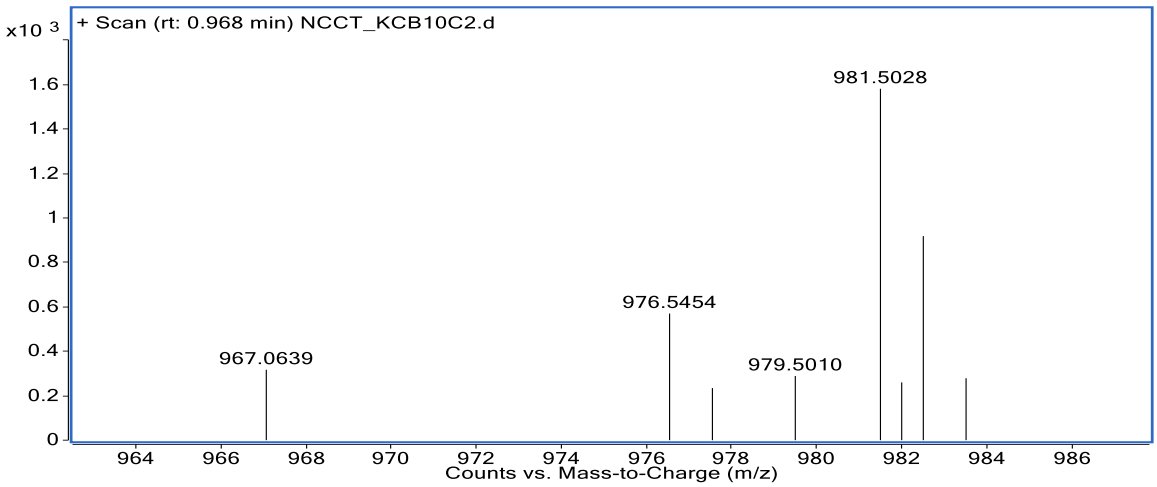
*4.1.1.5. Hợp chất **CL5**: Cryptobuchanoside E (hợp chất mới).*



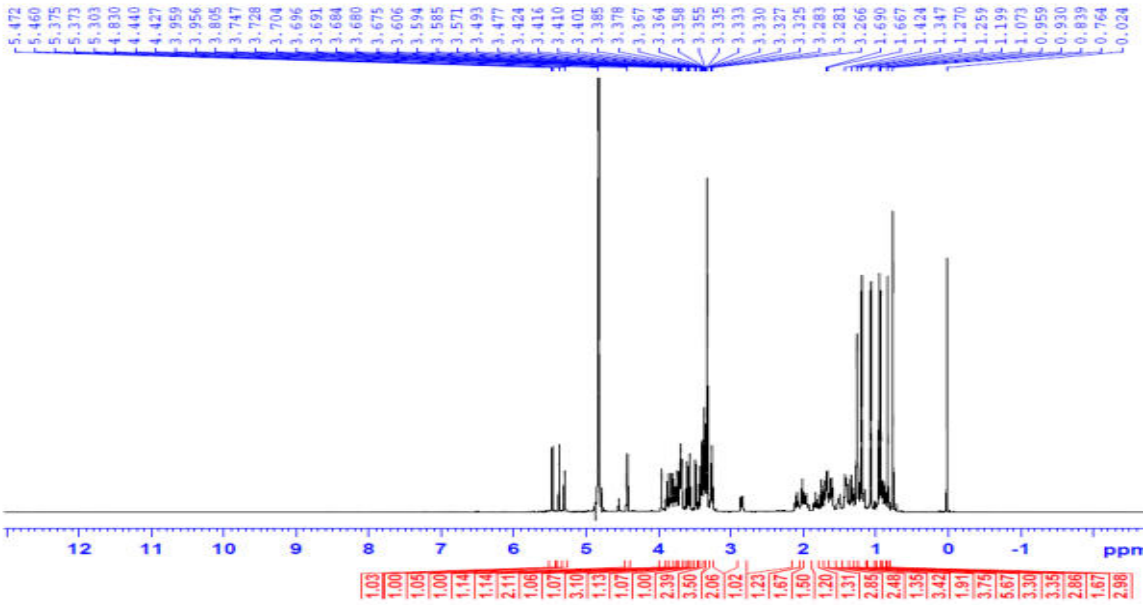
Hình 4.33. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL5**

Hợp chất **CL5** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử của hợp chất **CL5** được xác định là $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958) với giá trị độ bất bão hòa bằng 10 bằng phương pháp phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **CL5** xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 981,5028 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030, sai số Δ = -0.2 ppm. Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CL5** nhận thấy xuất hiện tín hiệu

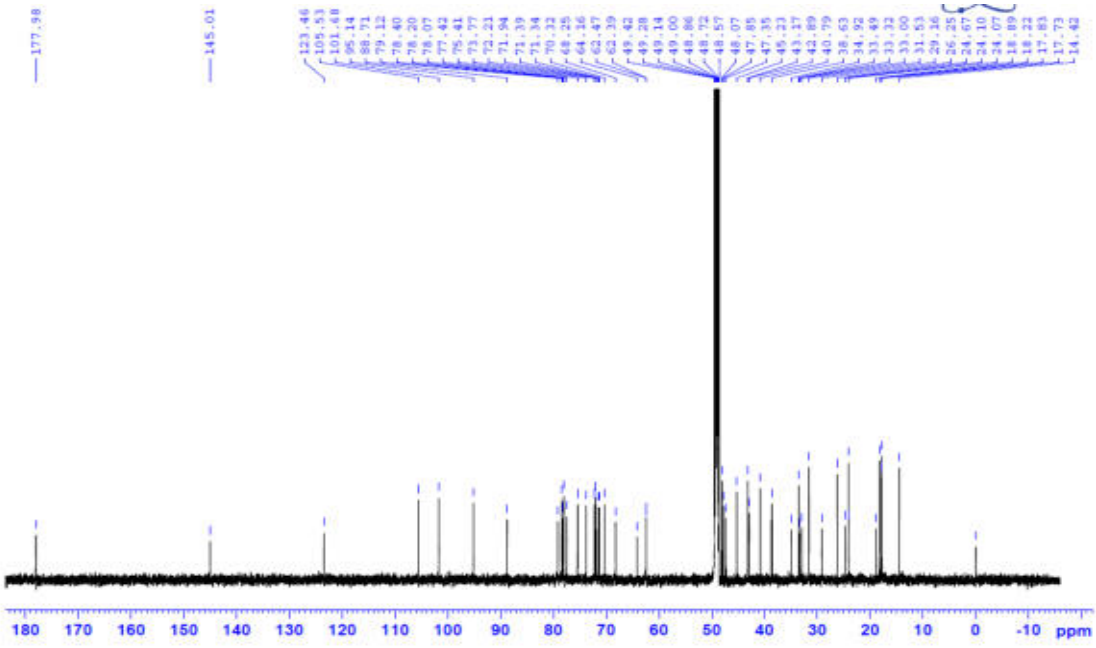
cộng hưởng của 48 carbon. Trong đó, 30 carbon thuộc khung olean-triterpene aglycone [116] và 18 carbon còn lại được gán cho ba nhóm đường. Dữ liệu phổ NMR ở phần aglycone của hợp chất **CL5** gần tương tự dữ liệu phổ của hợp chất **CL4** (Bảng 4.4 và 4.5), đặc biệt các dữ liệu phổ của vòng B, C, D và E. Sự khác biệt có thể thấy rõ ở vòng A giữa hai hợp chất này ở phần aglycone là độ dịch chuyển hóa học của C-2 đã thay đổi từ δ_C 26,5 (CH_2) lên δ_C 68,2 (CH), chứng tỏ hợp chất **CL5** đã có thêm một nhóm hydroxy tại C-2. Do đó, cấu trúc aglycone của hợp chất **CL5** được xác định là arjunolic acid [116]. Điều này đã được khẳng định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, HMBC và COSY. Trong đó, tương tác HSQC của H-2 (δ_H 3,83)/C-2 (δ_C 68,2), tương tác COSY giữa H-2 và H-3 (δ_H 3,48), và tương tác HMBC từ H-2 đến C-3 (δ_C 88,7) và từ H-3 đến C-2 đã được thể hiện. Hơn nữa, tín hiệu proton H-3 tại δ_H 3,48 dưới dạng doublet với giá trị hằng số tương tác lớn ($^3J_{2,3}$ = 9,6 Hz) cùng với xuất hiện tương tác NOESY của H-3/H-5 (δ_H 1,32). Điều này cho thấy proton H-2, H-3 và H-5 đều có định hướng *axial*. Phân tích phổ NMR của phần đường giữa hai hợp chất **CL4** và **CL5** cho thấy có sự khác biệt. Cụ thể, ở hợp chất **CL5** xuất hiện 12 tín hiệu carbon đặc trưng cho hai nhóm đường glucose lần lượt tại δ_C (105,5, 75,4, 78,4, 71,3, 78,1 và 62,4) và δ_C (95,1, 77,4, 79,1, 71,4, 78,2 và 62,5); và 6 tín hiệu carbon đặc trưng cho một đường rhamnose tại δ_C (101,7, 71,9, 72,2, 73,8, 70,3 và 18,2) (Bảng 4.5). Sự khác biệt ở phần đường có thể thấy rõ giữa **CL4** và **CL5** là độ dịch chuyển hóa học của C-2′ đã thay đổi từ δ_C 81,5 ở hợp chất **CL4** về δ_C 75,4 ở hợp chất **CL5,** chứng tỏ không có phân tử đường nào liên kết glycosidic tại C-2′. Điều nhận định này được khẳng định qua tương tác của các phổ HSQC, COSY và HMBC của hợp chất **CL5**. Trong đó, tương tác HSQC của Glu H-2′ (δ_H 3,27)/C-2′ (δ_C 75,4), tương tác COSY Glu H-1′/H-2′/H-3′/H-4′/H-5′/H-6′, và tương tác HMBC từ Glu H-1′ (δ_H 4,43) đến C-3 (δ_C 88,7), chỉ ra nhánh đường liên kết với C-3 là 3-*O*-D-glucopyranosyl. Hơn nữa, hằng số tương tác J = 7,8 Hz của proton anomeric tại δ_H 4,43 khẳng định liên kết glycoside có dạng là β-glycosidic. Nhánh đường nối với C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL4**, xác định là 28-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester, và được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1‴ (δ_H 5,37) đến Glu C-2″ (δ_C 77,4) và từ Glu H-1″ (δ_H 5,47) đến C-28 (δ_C 178,0) cùng với giá trị hằng số J của hai proton anomeric (1,8 Hz cho rhamnose và 7,8 Hz cho glucose) khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là α- và β- (Bảng 4.5). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ các chứng minh trên, cấu trúc của hợp chất **CL5** được xác định là 3-*O*-β-D-glucopyranosylarjunolic acid 28-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy **CL5** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside E.



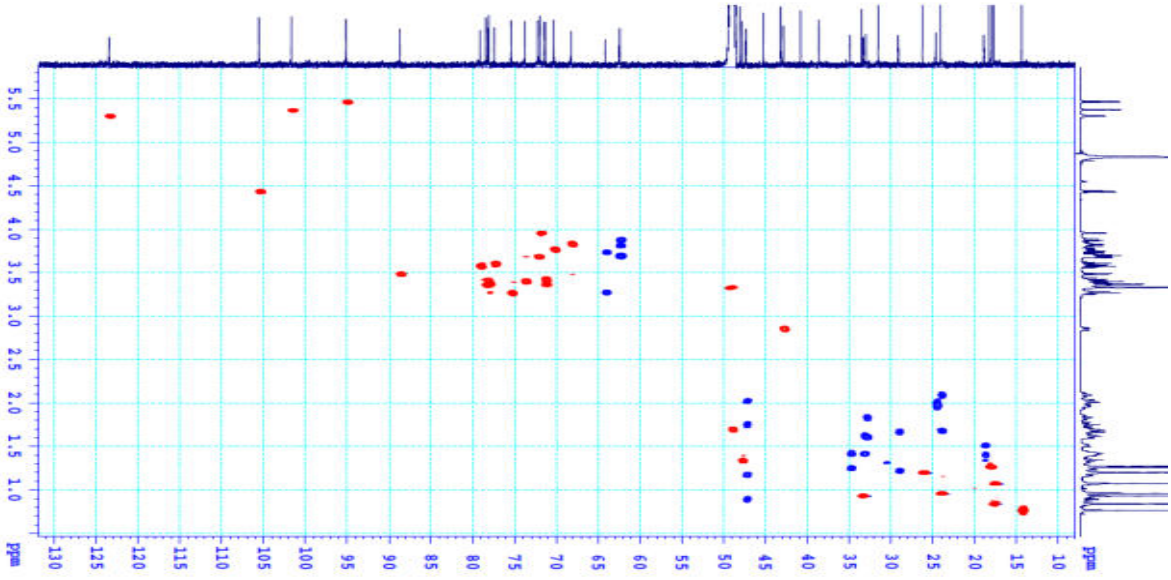
Hình 4.34. Phổ HR-ESI-MS của ***CL5***



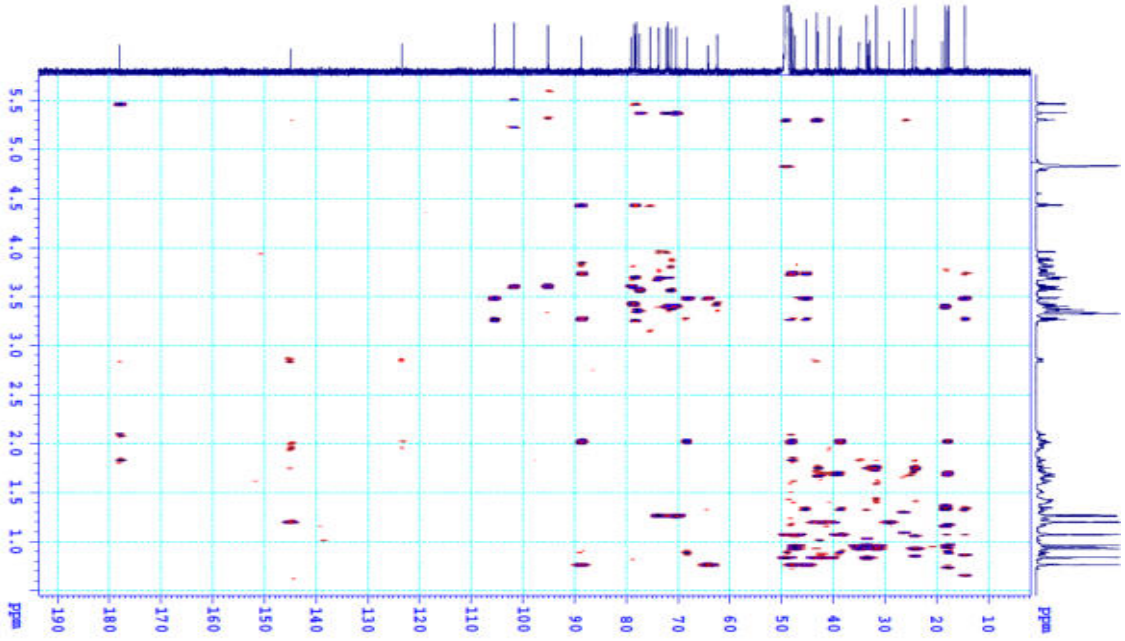
Hình 4.35. Phổ ^{1}H NMR của **CL5**



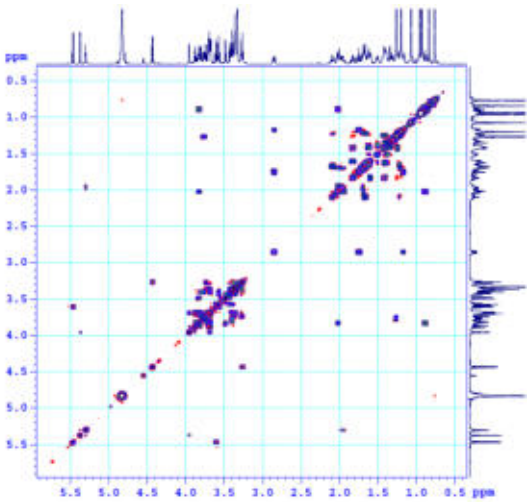
Hình 4.36. Phổ ^{13}C NMR của **CL5**



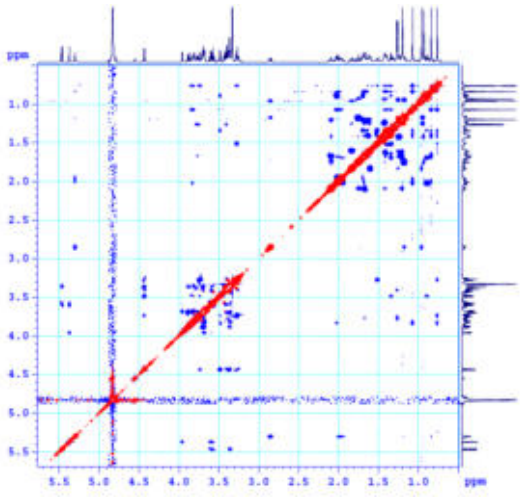
Hình 4.37. Phổ HSQC của **CL5**



Hình 4.38. Phổ HMBC của **CL5**



Hình 4.39. Phổ COSY của **CL5**



Hình 4.40. Phổ NOESY của **CL5**

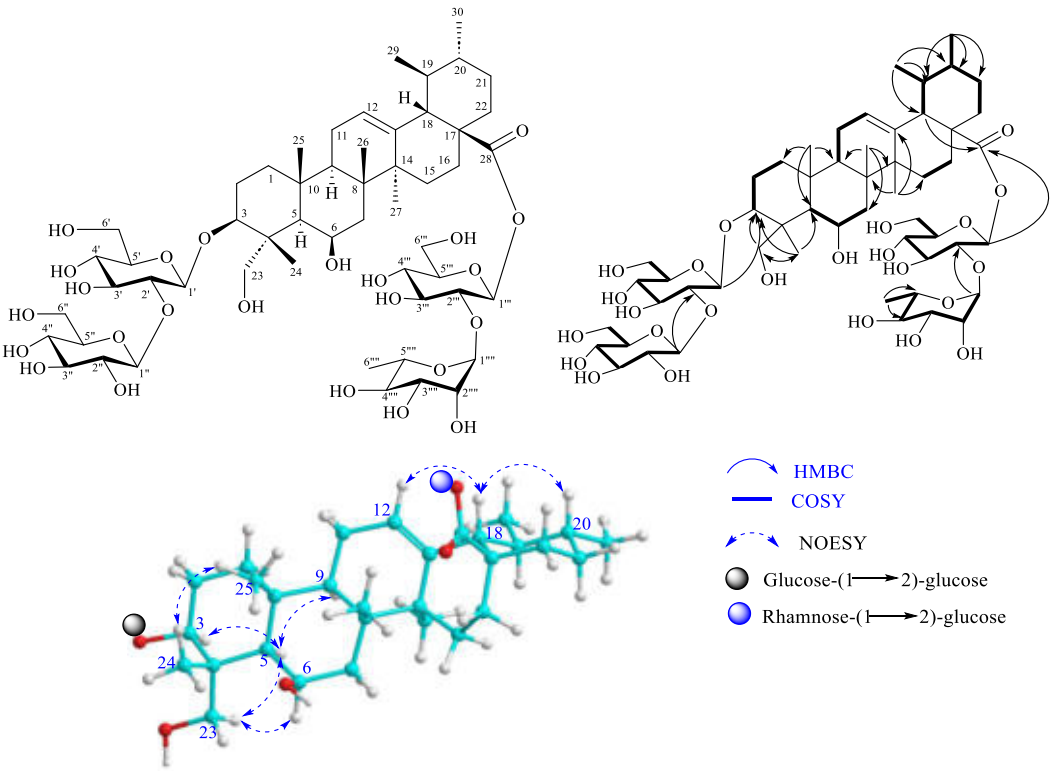
Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của **CL5**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	47,4	0,89 (m)/1,18 (m)	27	26,3	1,20 (s)
2	68,2	3,83 (m)	28	178,0	-
3	88,7	3,48 (d, 9,6)	29	33,5	0,94 (s)
4	45,2	-	30	24,1	0,96 (s)
5	47,9	1,32 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
6	18,9	1,40*/1,52 (m)	1′	105,5	4,43 (d, 7,8)
7	33,3	1,40*/1,60 (m)	2′	75,4	3,27 (dd, 9,0, 7,8)
8	40,8	-	3′	78,4	3,35*
9	49,0	1,70 (m)	4′	71,3	3,36*
10	38,6	-	5′	78,1	3,40*
11	24,7	1,96-2,00 (m)	6′	62,4	3,88*/3,69*
12	123,5	5,30 (t, 3,0)	28-*O*-Glucopyranosyl		
13	145,0	-	1″	95,1	5,47 (d, 7,8)
14	43,2	-	2″	77,4	3,60 (dd, 9,0, 7,8)
15	29,2	1,21 (m)/1,65 (m)	3″	79,1	3,57 (t, 9,0)
16	24,1	1,67 (m)/2,08 (m)	4″	71,4	3,42 (t, 9,0)
17	48,1	-	5″	78,2	3,34 (m)
18	42,9	2,84 (dd, 13,2, 4,2)	6″	62,5	3,68*/3,82*
19	47,4	1,75 (dd, 13,2, 13,2)/2,02 (m)	2″-*O*-Rhamnopyranosyl		
20	31,5	-	1‴	101,7	5,37 (d, 1,8)
21	34,9	1,22*/1,66 (m)	2‴	71,9	3,96 (dd, 3,0, 1,8)
22	33,0	1,60 (m)/1,82 (m)	3‴	72,2	3,67 (dd, 9,0, 3,0)
23	64,2	3,73 (d, 12,0)/3,26 (d, 12,0)	4‴	73,8	3,40 (t, 9,0)
24	14,4	0,77 (s)	5‴	70,3	3,76 (m)
25	17,7	1,08 (s)	6‴	18,2	1,28 (d, 6,0)
26	17,8	0,83 (s)			

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

*4.1.1.6. Hợp chất **CL6**: Cryptobuchanoside F (hợp chất mới).*

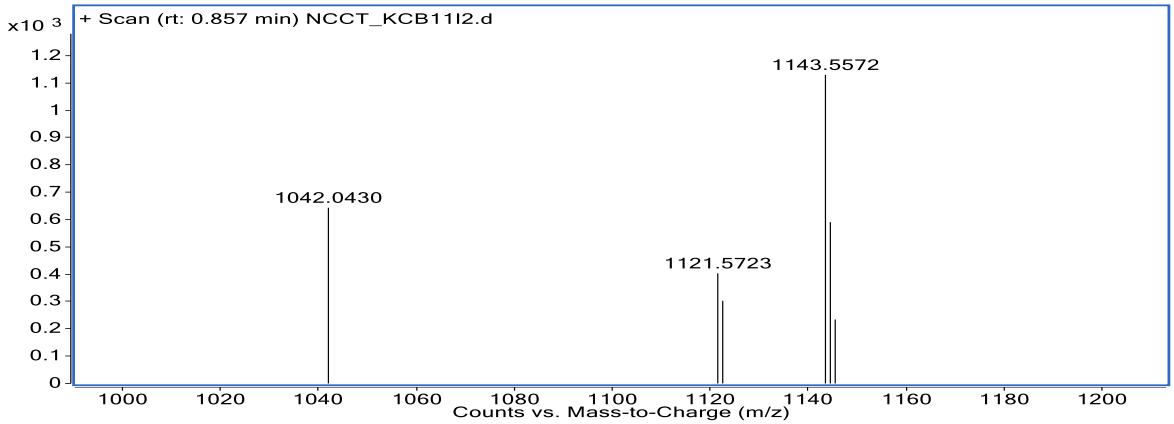
Hợp chất **CL6** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR và của hợp chất **CL6** nhận thấy xuất hiện của các tín hiệu của: bốn nhóm methyl bậc ba tại δ_H 1,10 (3H, s), 1,11 (3H, s), 1,12 (3H, s) và 1,37 (3H, s); hai nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,92 (3H, d, *J* = 6,6 Hz), 0,98 (3H, *J* = 6,6 Hz); một proton nối đôi tại δ_H 5,31 (1H, t, *J* = 3,6 Hz); năm proton methine tại δ_H 1,10 (1H, m), 1,23 (1H, m), 1,43 (1H, m), 1,62 (1H, m) và 2,26 (1H, d, *J* = 11,4 Hz); hai proton oxymethine tại δ_H 3,63 (1H, dd, *J* = 13,2, 4,8 Hz) và 4,45 (1H, br s); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,87 (1H, d, *J* = 10,8 Hz) và 3,48 (1H, d, *J* = 10,8 Hz); và bốn proton anomeric tại δ_H 4,55 (1H, d, *J* = 7,8 Hz), 4,72 (1H, d, *J* = 7,8 Hz), 5,42 (1H, d,



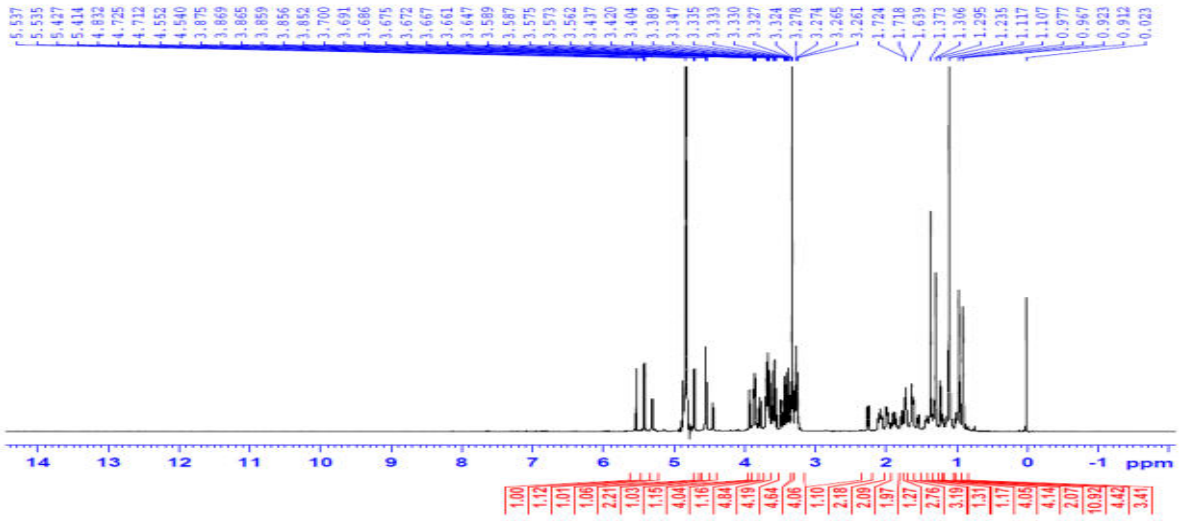
Hình 4.41. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL6**

J = 7,8 Hz) và 5,53 (1H, d, J = 1,8 Hz) (Bảng 4.6). Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CL6** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 54 carbon. Trong đó, 30 carbon gợi ý là một triterpene aglycone năm vòng có khung dạng ursane [117] và 24 carbon được gán cho bốn đường. So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **CL6** với số liệu phổ NMR của hợp chất **CL2** nhận thấy chúng khá tương tự nhau, đặc biệt cấu trúc phần đường hoàn toàn tương tự nhau (Bảng 4.2 và 4.6). Tuy nhiên, có thể thấy rõ sự khác biệt ở một số tín hiệu thuộc phần aglycone, đặc biệt là vòng E. Với sự xuất hiện của hai tín hiệu methyl doublet thay cho hai tín hiệu methyl singlet, cùng với sự khác biệt khá rõ của các tín hiệu carbon vòng E cho thấy **CL6** là một hợp chất có khung ursan. Điều này được khẳng định chính xác bằng phổ HSQC, HMBC và COSY, với tương tác HSQC giữa H-19/C-19 và H-20/C-20, tương tác COSY của H-29/H-19 và H-30/H-20, và tương tác HMBC từ H-29 đến C-18/C-19/C-20 và từ H-30 đến C-19/C-20/C-21 đã được quan sát. Các tương tác HMBC H_2-23/C-3/C-4/C-5/C-24 và H_3-24/C-3/C-4/C-5/C-23 cùng với tương tác NOESY giữa H_2-23/H-3 đã khẳng định có một nhóm hydroxy tại C-23 mà không phải tại C-24. Một nhóm OH tại vị trí C-6 được chứng minh thông qua tương tác HSQC của H-6/C-6 cùng với tương tác COSY giữa H-5/H-6 dựa trên cơ sở so sánh các dữ liệu phổ của hai vòng A và B của **CL6** với **CL2**. Tín hiệu của proton H-6 xuất hiện dưới dạng broad singlet tại δ_H 4,45 và hằng số tương tác $^3J_{5,6}$ = 0 Hz xác định proton này định hướng *α/equatorial*. Ngoài ra, hằng số tương tác lớn ($^3J_{2,3}$ = 13,2 Hz) giữa H_{ax}-2 và H-3, khẳng định proton H-3 định hướng *α/axial*. Các hướng này được khẳng định bằng tương tác

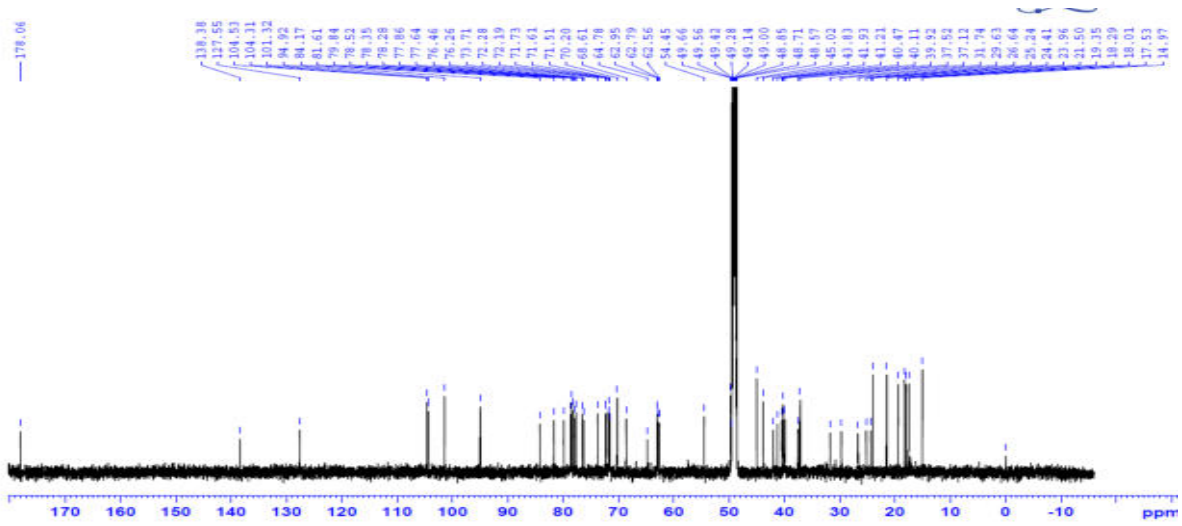
NOESY của H-3/H-5 và H-5/H-6 đã quan sát thấy. Các tương tác HMBC từ Glu H-1″ (δ_H 4,72) đến C-2′ (δ_C 81,6), từ Glu H-1′ (δ_H 4,55) đến C-3 (δ_C 84,2), kết hợp với J = 7,8 Hz của hai proton anomeric xác định nhánh đường nối C-3 là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranoside, đồng thời tương tác HMBC từ Rha H-1‴′ (δ_H 5,53) đến C-2‴ (δ_C 76,5), từ Glu H-1‴ (δ_H 5,42) đến C-28 (δ_C 178,1) kết hợp với J = 1,8 Hz (Rha H-1‴′) và J = 7,8 Hz (Glu H-1‴) cho phép xác định nhánh đường nối với C-28 là 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Như vậy, công thức phân tử dự đoán của hợp chất **CL6** sẽ phải là $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120) với giá trị độ bất bão hòa bằng 11. Điều này đã được khẳng định chính xác bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 1121,5723 $[M+H]^+$ hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{89}O_{24}]^+$: 1121,5738 (Δ = -1.3 ppm). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ nhưng chứng minh nêu trên cho thấy, cấu trúc của hợp chất **CL6** được xác định là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **CL6** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside F.



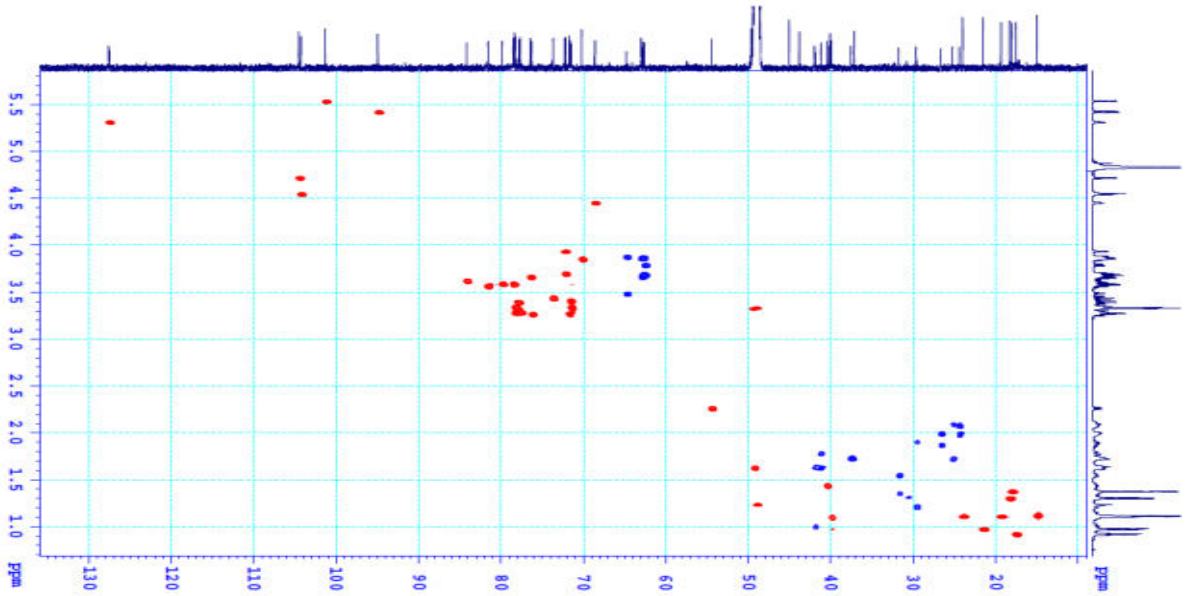
Hình 4.42. Phổ HR-ESI-MS của **CL6**



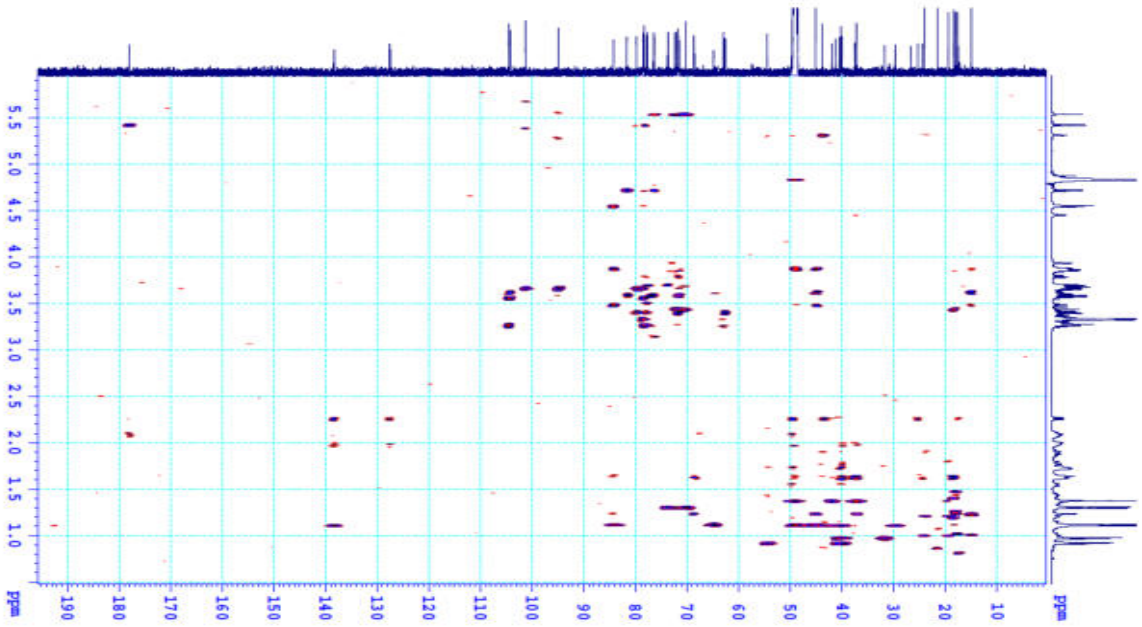
Hình 4.43. Phổ ^{1}H NMR của **CL6**



Hình 4.44. Phổ ^{13}C NMR của **CL6**



Hình 4.45. Phổ HSQC của **CL6**

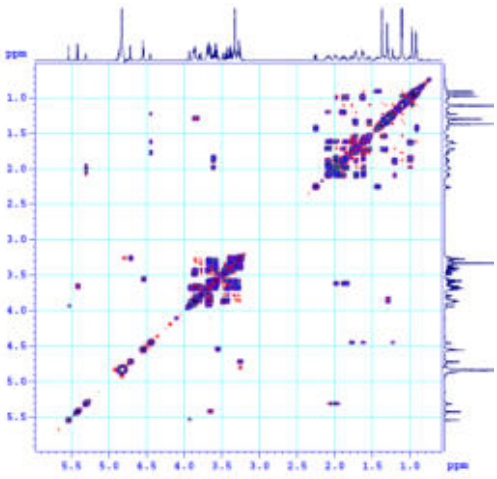


Hình 4.46. Phổ HMBC của **CL6**

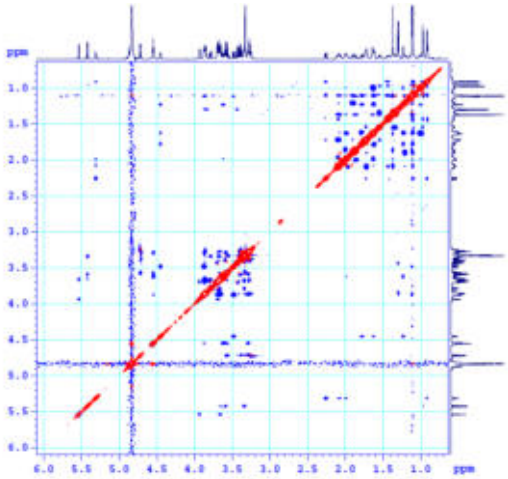
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của **CL6**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,9	1,00 (m)/1,62 (m)	30	21,5	0,98 (d, 6,6)
2	26,6	1,86 (m)/1,98 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	84,2	3,63 (dd, 13,2, 4,8)	1′	104,3	4,55 (d, 7,8)
4	45,0	-	2′	81,6	3,56 (dd, 9,0, 7,8)
5	48,8	1,23 (m)	3′	78,6	3,57 (t, 9,0)
6	68,6	4,45 (br s)	4′	71,5	3,33*
7	41,2	1,62 (m)/1,77 (m)	5′	78,4	3,27*
8	40,1	-	6′	62,8	3,86*/3,66*
9	49,1	1,62 (m)	2′-*O*-Glucopyranosyl		
10	37,1	-	1″	104,5	4,72 (d, 7,8)
11	24,1	1,98-2,09 (m)	2″	76,3	3,26*
12	127,6	5,31 (t, 3,6)	3″	77,9	3,33*
13	138,4	-	4″	71,7	3,26*
14	43,8	-	5″	77,6	3,28*
15	29,6	1,20 (m)/1,90 (m)	6″	63,0	3,86*/3,66*
16	25,2	1,72 (m)/1,90 (m)	28-*O*-Glucopyranosyl		
17	49,4	-	1‴	94,9	5,42 (d, 7,8)
18	54,5	2,26 (d, 11,4)	2‴	76,5	3,66 (dd, 9,0, 7,8)
19	40,5	1,43 (m)	3‴	79,8	3,58 (t, 9,0)
20	39,9	1,10 (m)	4‴	71,6	3,40 (t, 9,0)
21	31,7	1,35 (m)/1,55 (m)	5‴	78,3	3,34 (m)
22	37,5	1,73-1,75 (m)	6‴	62,6	3,67* 3,78 (dd, 12,0, 1,8)
23	64,8	3,87 (d, 10,8)/3,48 (d, 10,8)	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
24	15,0	1,12 (s)	1⁗	101,3	5,53 (d, 1,8)
25	18,0	1,37 (s)	2⁗	72,3	3,94 (dd, 3,0, 1,8)
26	19,4	1,10 (s)	3⁗	72,2	3,69 (dd, 9,0, 3,0)
27	24,0	1,11 (s)	4⁗	73,7	3,44 (t, 9,0)
28	178,1	-	5⁗	70,2	3,85 (m)
29	17,5	0,92 (d, 6,6)	6⁗	18,3	1,30 (d, 6,0)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

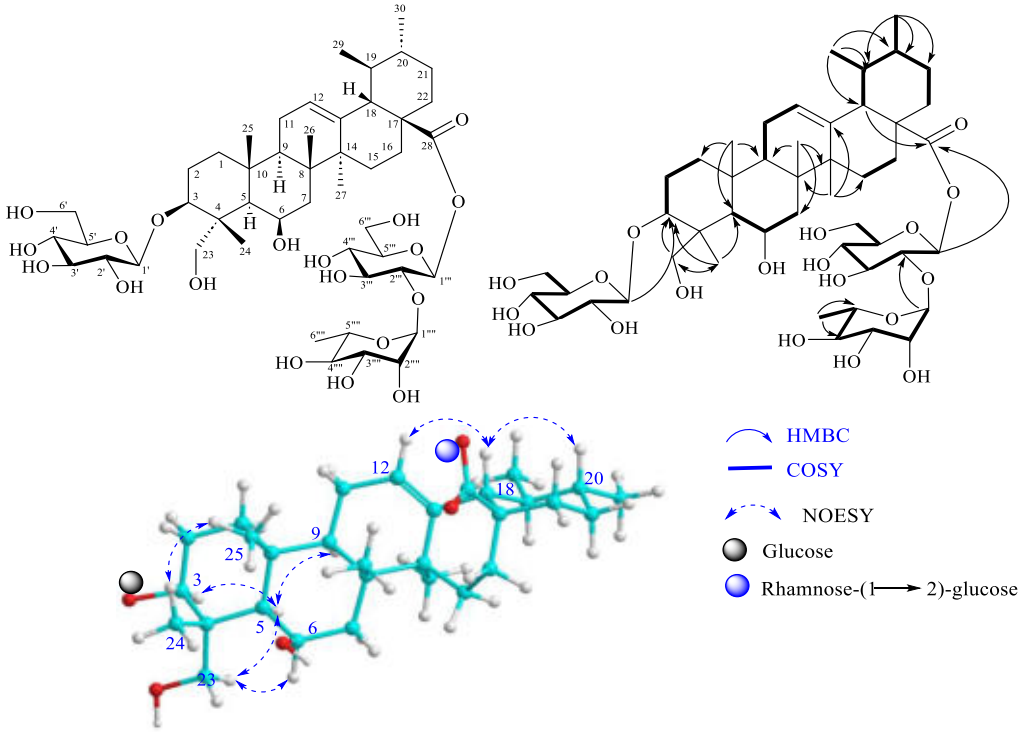


Hình 4.47. Phổ COSY của **CL6**



Hình 4.48. Phổ NOESY của **CL6**

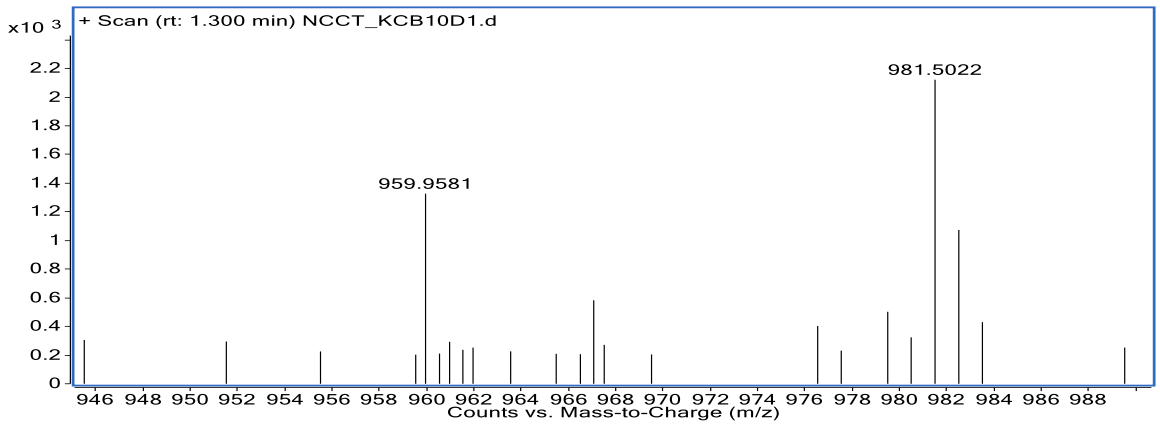
*4.1.1.7. Hợp chất **CL7**: Cryptobuchanoside G (hợp chất mới)*



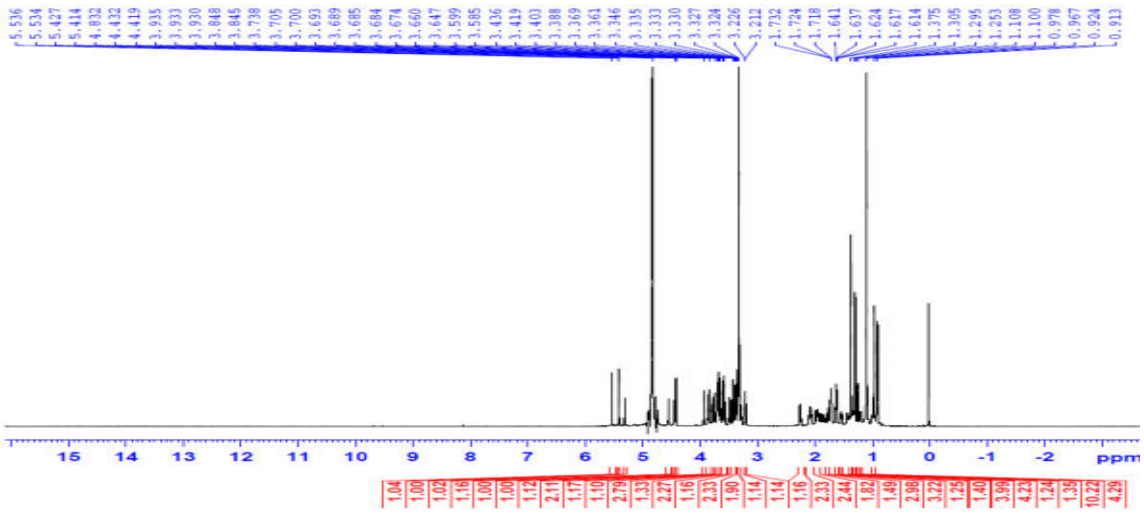
Hình 4.49. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CL7**

Hợp chất **CL7** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **CL7** xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 981,5022 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030 (Δ = -0,8 ppm), cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất **CL7** là $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958) với giá trị độ bất bão hòa bằng 10. Phân tích phổ NMR của hợp chất **CL7** kết hợp so sánh với số liệu phổ NMR của hợp chất **CL6**, nhận thấy hai hợp chất này khá tương tự nhau, đặc biệt cấu trúc phần aglycone hoàn toàn tương tự nhau (Bảng 4.6 và 4.7), xác định phần aglycone của **CL7** có khung dạng ursan- triterpene [117]. Tuy nhiên, ở phần đường của hợp chất **CL7** thấy rõ có sự khác biệt với hợp chất **CL6**, đặc biệt là phần nhánh đường nối với C-3. Phân tích phổ NMR của phần đường ở hợp chất **CL7** cho thấy xuất hiện 12 tín hiệu carbon đặc trưng cho hai nhóm glucose

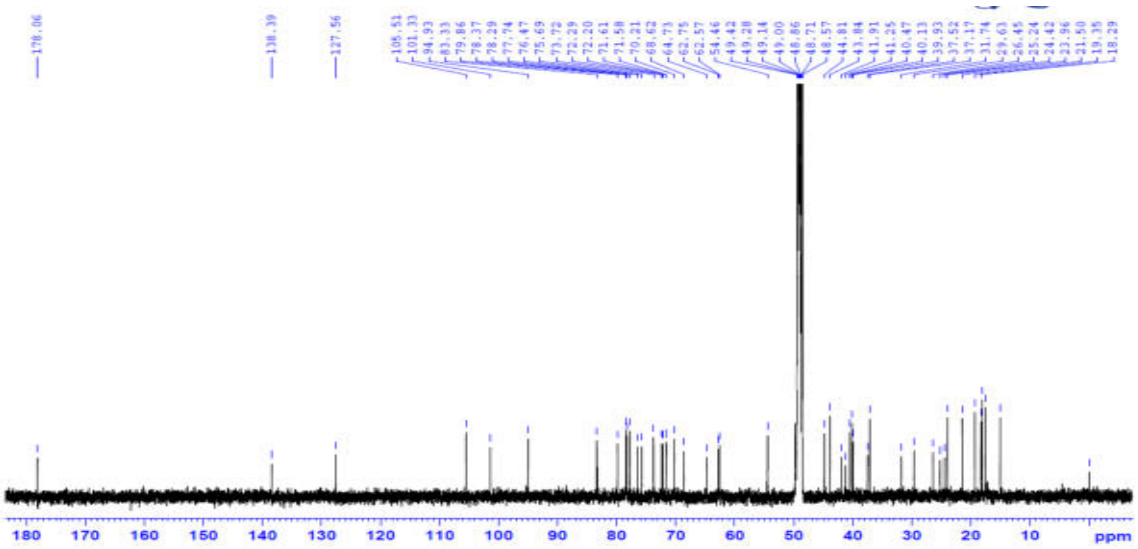
lần lượt tại δ_C (105,5, 75,4, 78,4, 71,3, 78,1 và 62,4) và δ_C (94,9, 76,5, 79,9, 71,6, 78,4 và 62,5); và 6 tín hiệu carbon thuộc một đường rhamnose tại δ_C (101,3, 72,3, 72,2, 73,7, 70,2 và 18,3) (Bảng 4.7). Sự khác biệt có thể thấy rõ giữa hai hợp chất này là độ dịch chuyển hóa học của C-2′ đã thay đổi về vùng trường cao (δ_C 75,4), chứng tỏ không có phân tử đường nào liên kết glycosidic tại C-2′. Điều nhận định này còn được khẳng định qua tương tác của các phổ HSQC, HMBC, và COSY của hợp chất **CL7**, với tương tác HSQC của Glu H-2′ (δ_H 3,27)/C-2′, tương tác COSY Glu H-1′/H-2′/H-3′/H-4′/H-5′/H-6′, và tương tác HMBC từ Glu H-1′ (δ_H 4,43) đến C-3 (δ_C 83,3), kết hợp với giá trị hằng số tương tác J = 7,8 Hz của proton anomeric tại δ_H 4,43 (Glu H-1′), cho phép khẳng định nhánh đường liên kết với C-3 là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl. Nhánh đường nối với C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL6**, được xác định là 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester, và được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1‴ (δ_H 5,53) đến Glu C-2″ (δ_C 76,5), từ Glu H-1″ (δ_H 5,42) đến C-28 (δ_C 178,1) cùng với giá trị hằng số J của hai proton anomeric (1,8 Hz cho rhamnose và 7,8 Hz cho glucose) khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là *α*- và *β*- (Bảng 4.7). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107].



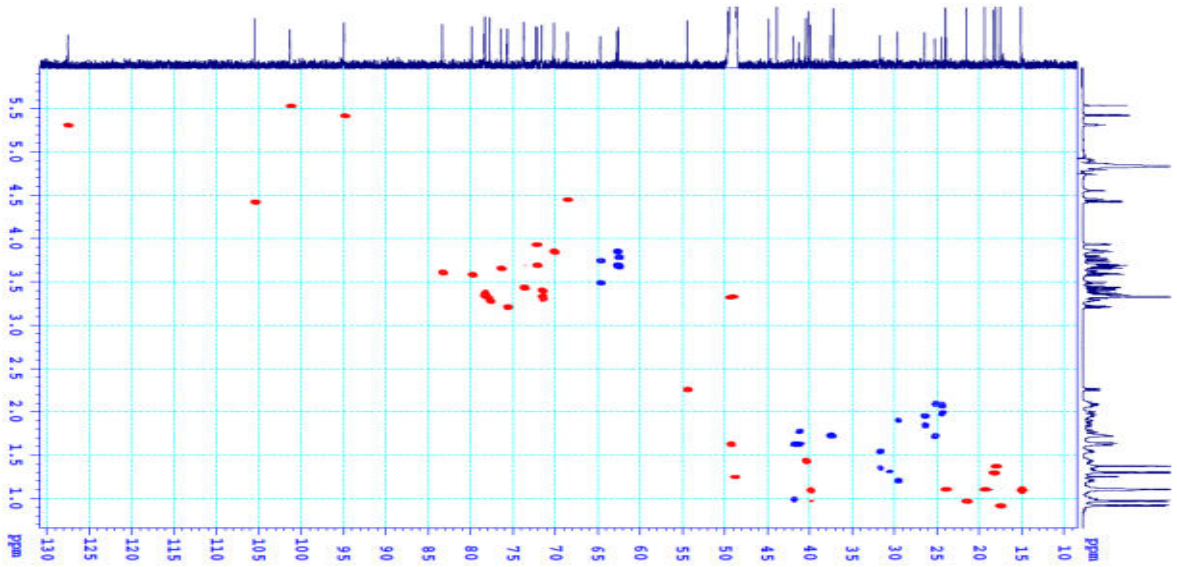
Hình 4.50. Phổ HR-ESI-MS của **CL7**



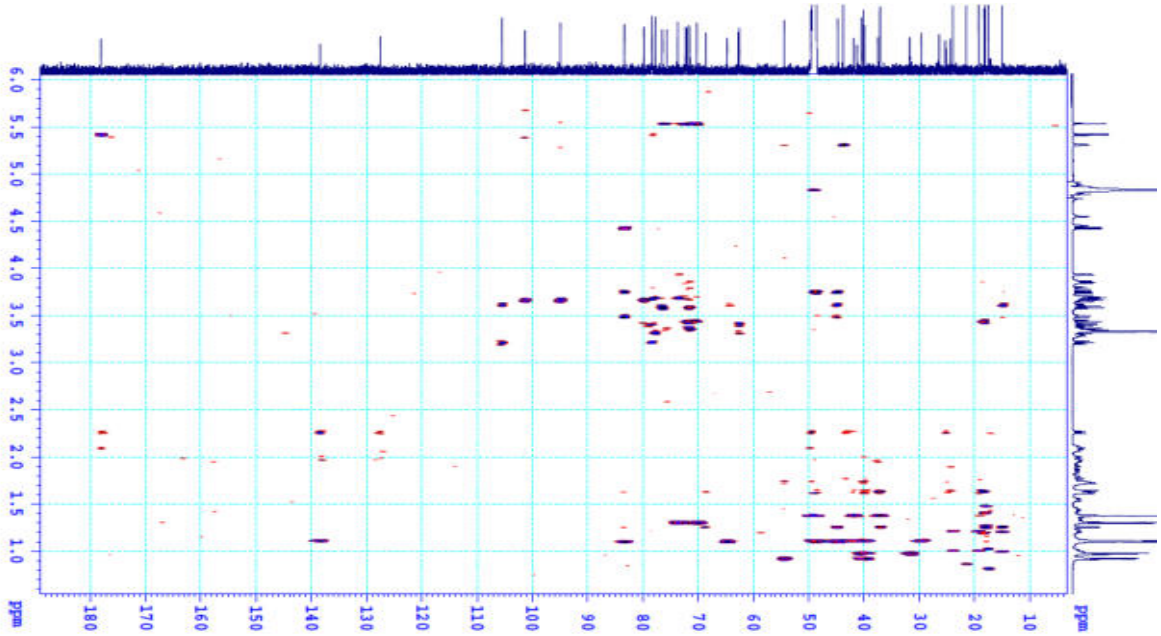
Hình 4.51. Phổ ^{1}H NMR của **CL7**



Hình 4.52. Phổ ^{13}C NMR của **CL7**



Hình 4.53. Phổ HSQC của **CL7**



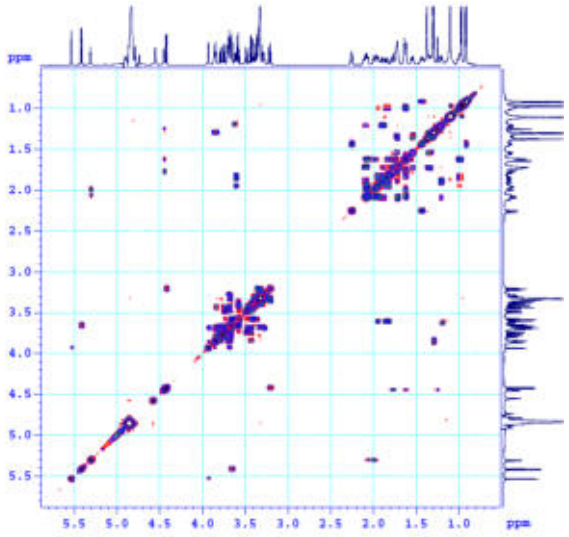
Hình 4.54. Phổ HMBC của **CL7**

Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của **CL7**

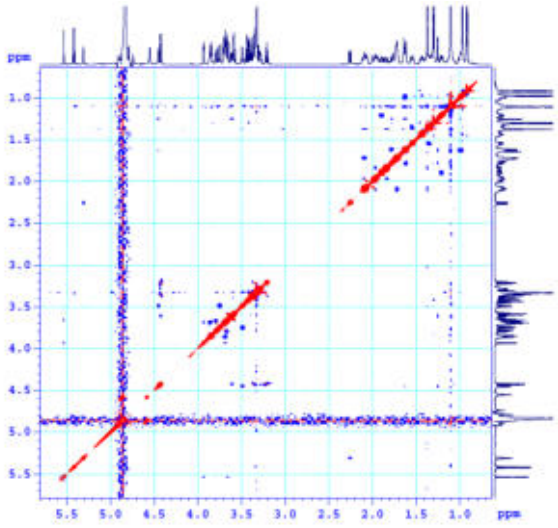
C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,9	1,00 (m)/1,63 (m)	27	24,0	1,10 (s)
2	26,6	1,84 (m)/1,95 (m)	28	178,1	-
3	83,3	3,62 (dd, 13,2, 4,8)	29	17,5	0,92 (d, 6,6)
4	44,8	-	30	21,5	0,98 (d, 6,6)
5	48,8	1,24 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
6	68,6	4,45 (br s)	1′	105,5	4,43 (d, 7,8)
7	41,3	1,62 (m)/1,78 (m)	2′	75,4	3,27 (dd, 9,0, 7,8)
8	40,1	-	3′	78,4	3,35 (t, 9,0)
9	49,1	1,63 (m)	4′	71,3	3,36 (t, 9,0)
10	37,2	-	5′	78,1	3,40 (m)
11	24,1	1,99-2,09 (m)	6′	62,4	3,68*
					3,78 (dd, 12,0, 2,4)
12	127,6	5,31 (t, 3,6)	28-*O*-Glucopyranosyl		
13	138,4	-	1″	94,9	5,42 (d, 7,8)
14	43,8	-	2″	76,5	3,66 (dd, 9,0, 7,8)
15	29,6	1,21 (m)/1,90 (m)	3″	79,9	3,59 (t, 9,0)
16	25,2	1,72 (m)/2,09 (m)	4″	71,6	3,41 (t, 9,0)
17	49,4	-	5″	78,4	3,34 (m)
18	54,5	2,26 (d, 11,4)	6″	62,5	3,67*
					3,78 (dd, 12,0, 1,8)
19	40,5	1,42 (m)	2″-*O*-Rhamnopyranosyl		
20	39,9	1,10 (m)	1‴	101,3	5,53 (d, 1,8)
21	31,7	1,35 (m)/1,54 (m)	2‴	72,3	3,93 (dd, 3,0, 1,8)
22	37,5	1,73-1,75 (m)	3‴	72,2	3,69 (dd, 9,0, 3,0)
23	64,8	3,75 (d, 10,8)	4‴	73,7	3,44 (t, 9,0)
		3,49 (d, 10,8)			
24	15,0	1,10 (s)	5‴	70,2	3,85 (m)
25	18,0	1,38 (s)	6‴	18,3	1,29 (d, 6,0)
26	19,4	1,10 (s)			

*[a] Đo trong CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

Từ các phân tích nêu trên, xác định được cấu trúc của hợp chất **CL7** là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu xác định **CL7** là một hợp chất mới và được đặt tên là cryptobuchanoside G.

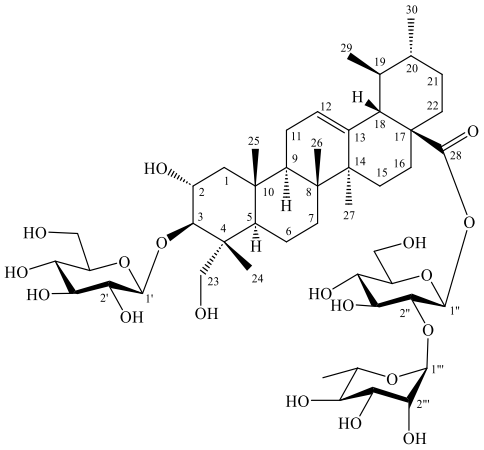


Hình 4.55. Phổ COSY của **CL7**



Hình 4.56. Phổ NOESY của **CL7**

*4.1.1.8. Hợp chất **CL8**: 3-O-β-D-Glucopyranosylasiatic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester*



Hình 4.57. Cấu trúc hóa học của **CL8**

Hợp chất **CL8** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CL8** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 48 carbon. Trong đó, 30 tín hiệu carbon gợi ý thuộc khung ursan-triterpene aglycone và 18 tín hiệu carbon còn lại gán cho ba đường. Ở phần aglycone của hợp chất **CL8** xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của khung ursan-triterpene như hai nhóm methyl bậc hai tại δ_C 17,5 (C-29) và δ_C 21,5 (C-30), một nối đôi tại δ_C 127,1 (C-12)/139,1 (C-13), một tín hiệu carbon của nhóm carbonyl tại δ_C 178,0 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 68,3 (C-2) và δ_C 84,3 (C-3), một tín hiệu carbon của nhóm oxymethylene tại δ_C 64.1 (C-23), và các carbon bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_C 14-90 ppm đã được quan sát thấy (Bảng 4.8). Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CL8** tương tự dữ liệu phổ của hợp chất **CL7**, ngoại trừ sự xuất hiện nhóm hydroxy tại C-2 và nhóm methylene (CH_2) tại C-6 (Bảng 4.7 và 4.8). Điều này được chứng minh thông qua phân tích phổ ^{13}C NMR về độ dịch chuyển hóa học tại C-2 (tín hiệu cộng hưởng dịch của C-2 chuyển về vùng trường thấp, δ_C 68,2) và C-6

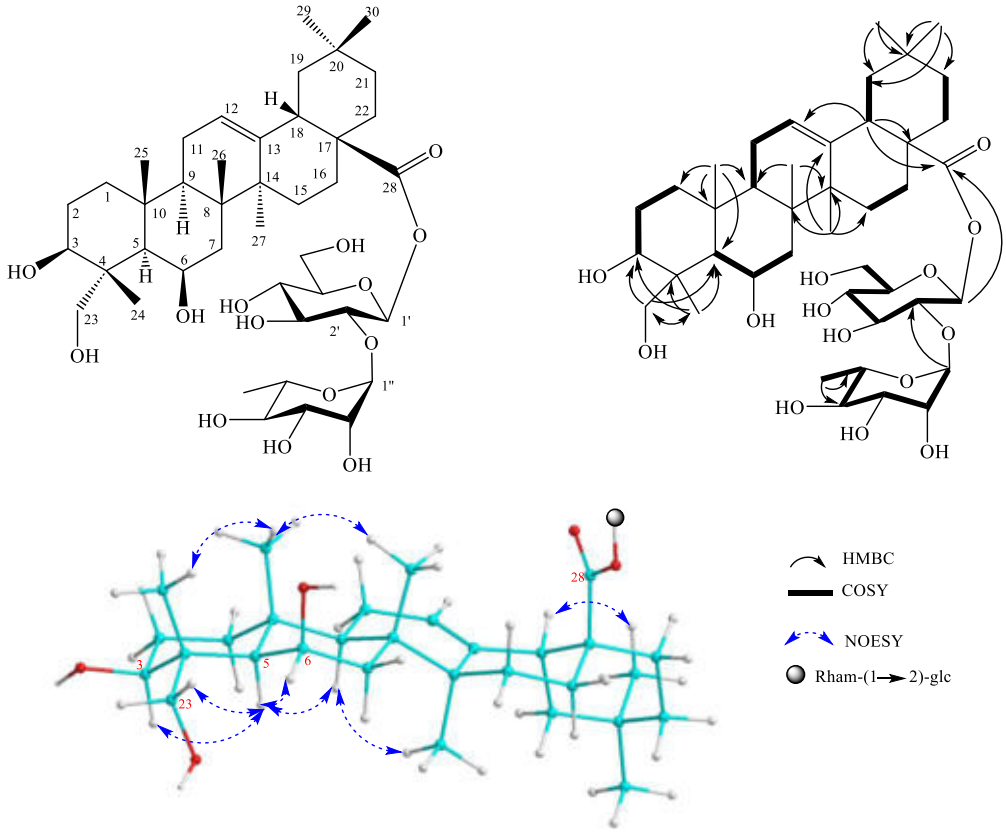
(tín hiệu cộng hưởng của C-6 dịch chuyển lên vùng trường cao, δ_C 18,9), gợi ý phần aglycone của hợp chất **CL8** có dạng asiatic acid [106]. Kết hợp so sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **CL8** với số liệu phổ đã được công bố của hợp chất 3-*O*-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester [106] cho thấy hoàn toàn phù hợp. Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Do đó, hợp chất **CL8** được xác định là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester.

Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của **CL8** và hợp chất tham khảo

C	δ_C[#,a]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	47,4	47,4	0,89 (t, 11,4)	27	23,9	24,0	1,16 (s)
			2,05 (dd, 11,4, 4,5)				
2	68,3	68,3	3,84 (ddd, 11,4, 9,6, 4,5)	28	178,0	178,0	-
3	88,7	88,8	3,49 (d, 9,6)	29	17,6	17,5	0,92 (d, 6,6)
4	45,2	45,2	-	30	21,5	21,5	0,97 (d, 6,6)
5	47,8	47,8	1,33 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl			
6	18,9	18,8	1,39-1,50 (m)	1′	105,6	105,5	4,44 (d, 7,8)
7	33,7	33,7	1,40 (m)/1,67 (m)	2′	75,4	75,4	3,27 (dd, 9,0, 7,8)
8	41,1	41,1	-	3′	78,2	78,3	3,39 (t, 9,0)
9	49,0	48,9	1,63 (m)	4′	71,3	71,3	3,35 (t, 9,0)
10	38,6	38,6	-	5′	78,1	78,0	3,36 (m)
11	24,5	24,1	1,97-2,00 (m)	6′	62,3	62,4	3,70 (dd, 12,0, 5,4)
							3,88 (dd, 12,0, 1,8)
12	127,1	127,1	5,29 (t, 3,0)	28-*O*-Glucopyranosyl			
13	139,1	139,2	-	1″	95,0	95,0	5,42 (d, 7,8)
14	43,5	43,5	-	2″	76,4	76,5	3,63 (dd, 9,0, 7,8)
15	29,2	29,3	1,17 (m)/1,87 (m)	3″	79,5	79,5	3,57 (t, 9,0)
16	25,4	25,4	1,71 (m)/2,10 (m)	4″	71,5	71,6	3,42 (t, 9,0)
17	49,9	49,5	-	5″	78,4	78,3	3,34 (m)
18	54,3	54,3	2,26 (d, 10,8)	6″	62,6	62,7	3,67 (m)/3,78 (m)
19	40,4	40,4	1,42 (m)	2″-*O*-Rhamnopyranosyl			
20	39,8	39,8	1,14 (m)	1‴	101,3	101,4	5,46 (d, 1,8)
21	31,7	31,7	1,35 (m)/1,54 (m)	2‴	72,0	72,0	3,94 (dd, 3,0, 1,8)
22	37,4	37,4	1,68-1,79 (m)	3‴	72,2	72,2	3,67 (dd, 9,0, 3,0)
23	64,1	64,2	3,28 (d, 10,8)/3,73 (d, 10,8)	4‴	73,7	73,7	3,41 (t, 9,0)
24	14,5	14,5	0,77 (s)	5‴	70,2	70,2	3,83 (m)
25	17,9	17,9	1,09 (s)	6‴	18,4	18,4	1,29 (d, 6,0)
26	18,2	18,2	0,88 (s)				

[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, δ_C[#] của 3-O-β-D-glucopyranosylasiatic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester [106]

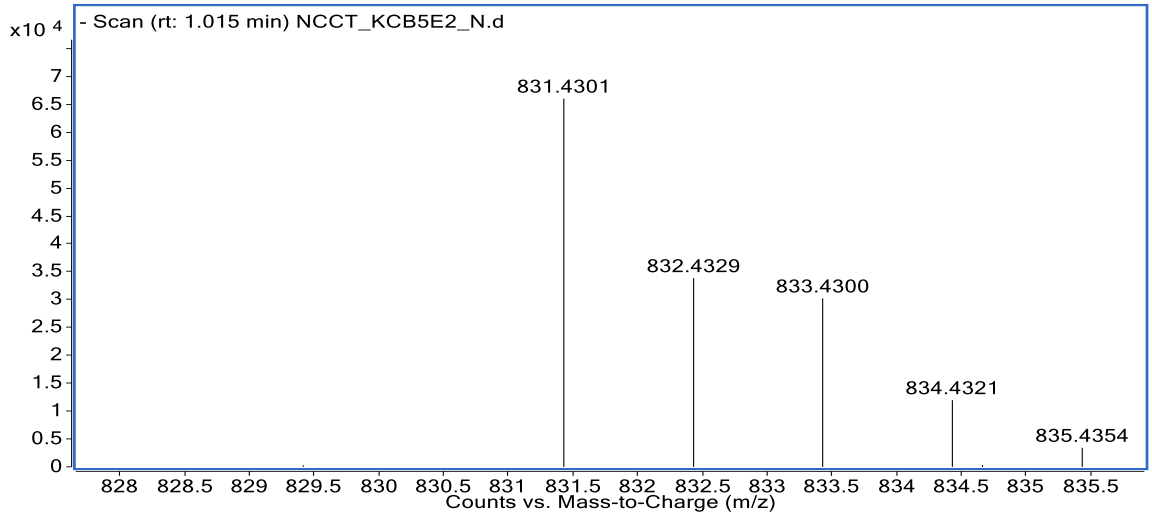
4.1.1.9. Hợp chất ***CF1:*** *Uncargenin C 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*



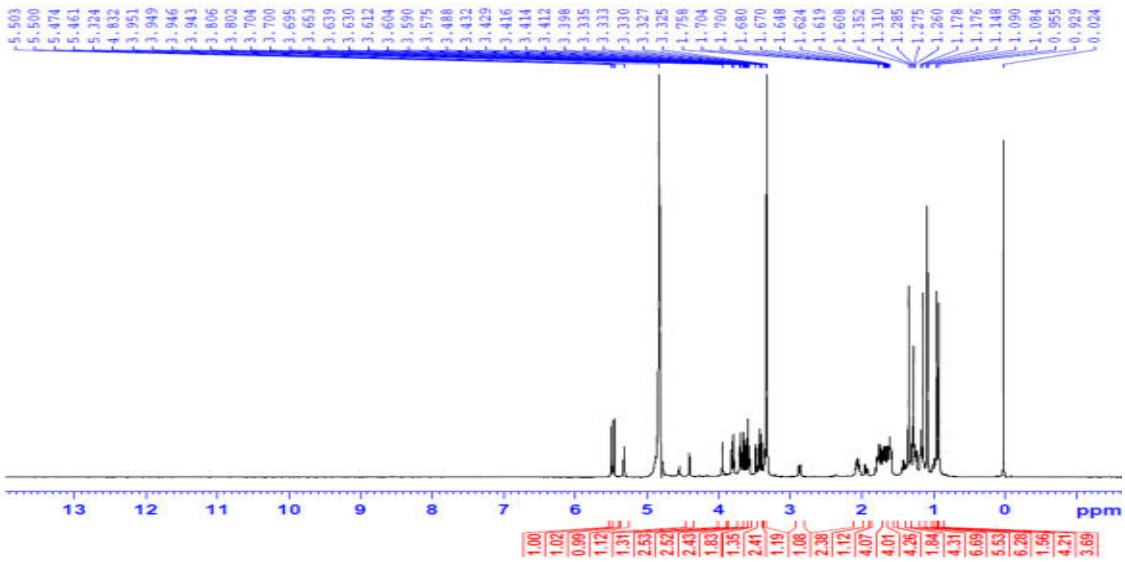
Hình 4.58. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF1**

Hợp chất **CF1** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu**.** Phân tích phổ ^{1}H NMR và phổ HSQC của hợp chất **CF1** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu đặc trưng như: sáu nhóm methyl tại δ_H 0,93 (3H, s, H-29), 0,96 (3H, s, H-30), 1,08 (3H, s, H-26), 1,09 (3H, s, H-24), 1,14 (3H, s, H-27) và 1,35 (3H, s, H-25); một proton olefinic tại δ_H 5,32 (1H, t, J = 3,0 Hz, H-12); ba proton methine tại δ_H 1,17-1,18 (1H, m, H-5), 1,66-1,67 (1H, m, H-9) và 2,87 (1H, d, J = 13,2, 4,2 Hz, H-18); hai proton oxymethine tại δ_H 3,57 (1H, dd, J = 11,2, 4,2 Hz, H-3) và 4,41 (1H, br s, H-6); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,48 (1H, d, J = 10,8 Hz, H_a-23) và 3,62 (1H, d, J = 10,8 Hz, H_b-23); và hai proton anomeric có thể gán cho một đường glucose tại δ_H 5,47 (1H, d, J = 7,8 Hz, Glc H-1′) và một đường rhamnose tại δ_H 5,50 (1H, d, J = 1,8 Hz, Rha H-1″) (Bảng 4.9). Phân tích phổ ^{13}C NMR của hợp chất **CF1** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 42 carbon. Trong đó, 30 tín hiệu carbon ở phần aglycone thuộc loại triterpenoid pentacyclic và 12 carbon được gán cho hai đơn vị đường. Dữ liệu phổ NMR phần aglycone của hợp chất **CF1** tương tự dữ liệu phổ của hợp chất **CL1**, đặc biệt là dữ liệu phổ của các vòng B, C, D và E, chứng tỏ chúng có cùng cấu trúc aglycone là uncargenin C (Bảng 4.1 và 4.9). Sự khác biệt có thể thấy rõ giữa hai hợp chất này là ở tín hiệu cộng hưởng tại C-3 của vòng A phần aglycone đã chuyển dịch về vùng trường cao (δ_C 73,9), chứng tỏ nhánh đường nối với C-3 đã đổi thành nhóm hydroxy. Điều

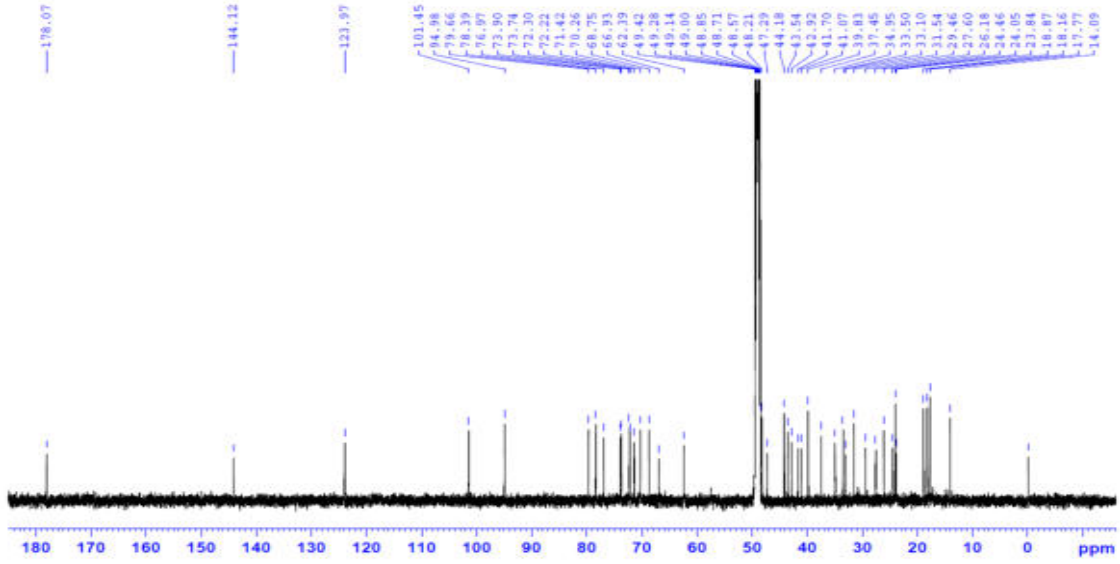
nhận định này được khẳng định thông qua các tương tác HSQC và HMBC, với tương tác HSQC của H-3 (δ_H 3,57)/C-3 (δ_C 73,9), tương tác HMBC từ H_2-23 (δ_H 3,48/3,62)/H_3-24 (1,09) đến C-3 (δ_C 73,9)/C-4 (δ_C 44,2)/C-5 (δ_C 49,5) đã quan sát được. Các tương tác HMBC H_2-23/C-3/C-4/C-5/C-24 và H_3-24/C-3/C-4/C-5/C-23 cùng với tương tác NOESY giữa H_2-23/H-3 đã khẳng định có một nhóm hydroxy tại C-23 mà không phải tại C-24. Một nhóm OH tại vị trí C-6 được chứng minh qua phổ HSQC tương tác của H-6/C-6 cùng với tương tác COSY giữa H-5/H-6 dựa trên cơ sở so sánh các dữ liệu phổ của hai vòng A và B của **CF1** với **CL1**. Tín hiệu của proton H-6 xuất hiện dưới dạng broad singlet tại δ_H 4,41 và kết hợp với hằng số tương tác $^3J_{5,6}$ = 0 Hz xác định proton này định hướng *α*/*equatorial*. Ngoài ra, hằng số tương tác lớn ($^3J_{2,3}$ = 11,4 Hz) giữa H_{ax}-2 và H-3, khẳng định proton H-3 định hướng *α*/*axial*. Các hướng này được khẳng định bằng tương tác NOESY từ H-3 đến H-5 và từ H-5 đến H-6 đã quan sát thấy. Nhánh đường nối với C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL1**, xác định cấu trúc của nhánh đường là 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester, và được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1″ (δ_H 5,50) đến Glu C-2′ (δ_C 77,0), từ Glu H-1′ (δ_H 5,47) đến C-28 (δ_C 178,1) cùng với giá trị hằng số *J* của hai proton anomeric (1,8 Hz cho rhamnose và 7,8 Hz cho glucose) khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là *α*- và *β*- (Bảng 4.9). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Như vậy, công thức phân tử dự đoán của hợp chất **CF1** sẽ phải là $C_{42}H_{68}O_{14}$ với giá trị độ bất bão hòa bằng 9. Điều này đã được khẳng định chính xác bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 831,4301 $[M+^{35}Cl]^-$ hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{42}H_{68}O_{14}{}^{35}Cl]^-$ 831,4303 (Δ = -0.2 ppm). Từ những phân tích nêu trên, xác định được cấu trúc của **CF1** là uncargenin C 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **CF1** là một hợp chất mới.



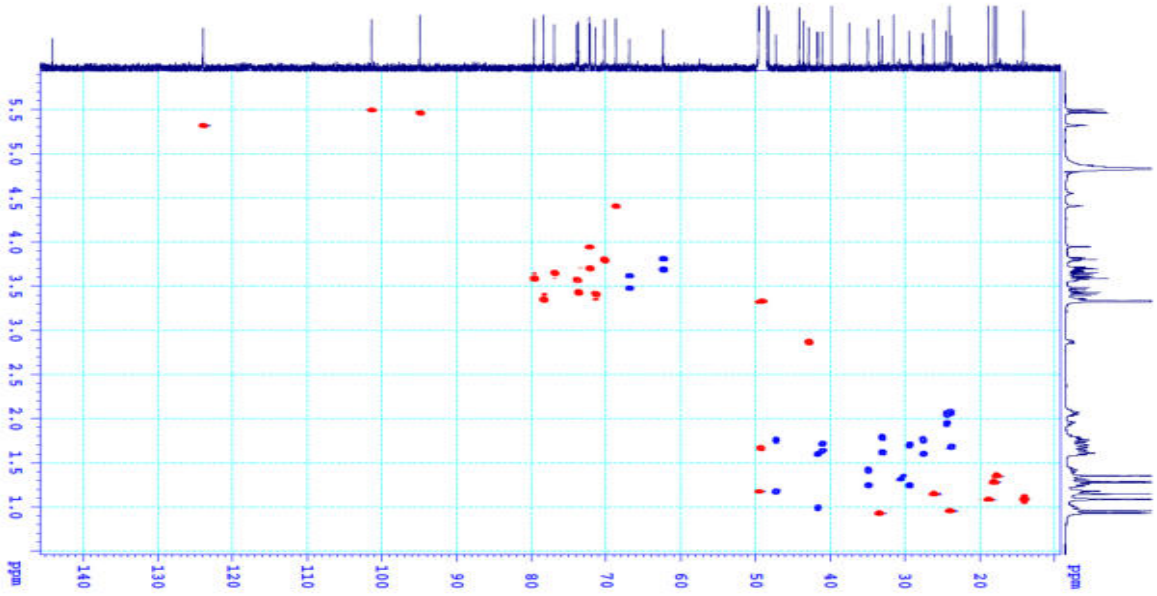
Hình 4.59. Phổ HR-ESI-MS của **CF1**



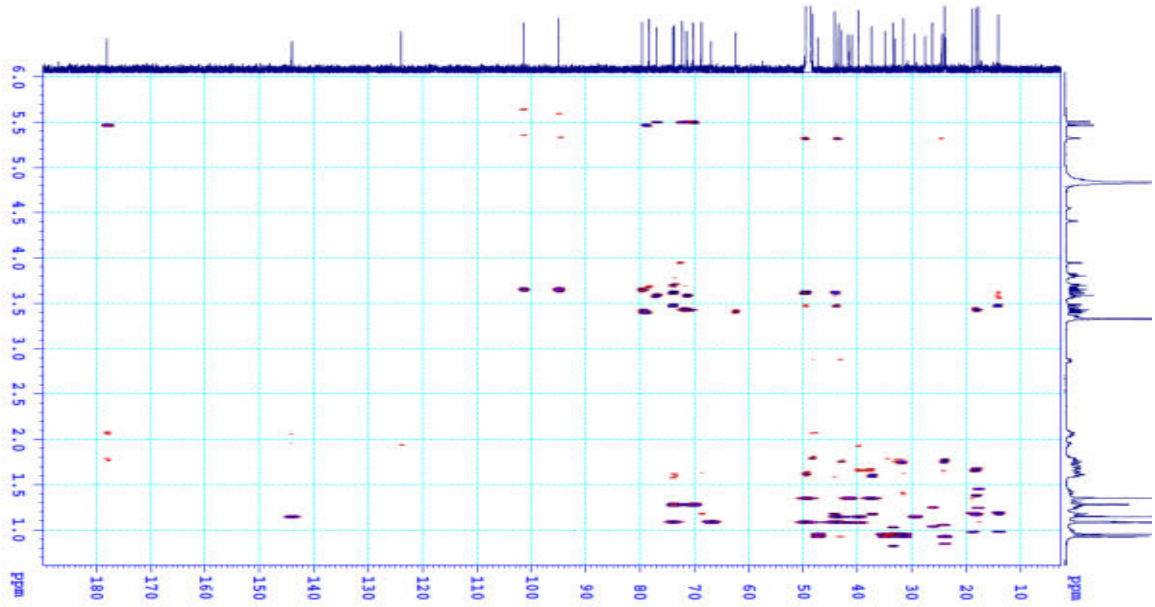
Hình 4.60. Phổ ^{1}H NMR của **CF1**



Hình 4.61. Phổ ^{13}C NMR của **CF1**



Hình 4.62. Phổ HSQC của **CF1**

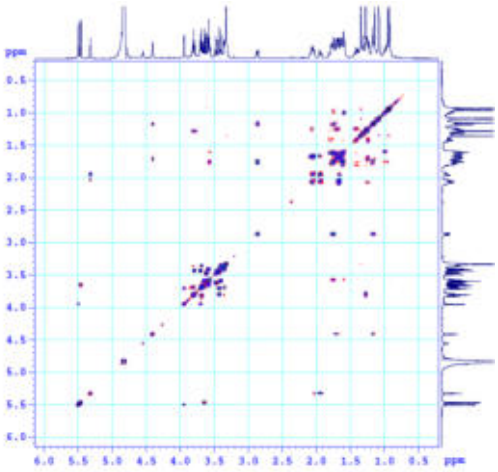


Hình 4.63. Phổ HMBC của **CF1**

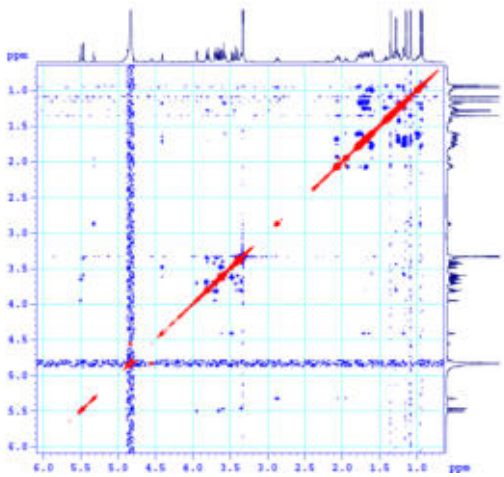
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của **CF1**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,7	0,99 (dd, 10,8, 4,2)/1,59*	23	66,9	3,48 (d, 10,8)/3,62 (d, 10,8)
2	27,6	1,60*/1,75-1,76 (m)	24	14,1	1,09 (s)
3	73,9	3,57 (dd, 11,4, 4,2)	25	17,8	1,35 (s)
4	44,2	-	26	18,9	1,08 (s)
5	49,5	1,17-1,18 (m)	27	26,2	1,14 (s)
6	68,8	4,41 (br s)	28	178,1	-
7	41,0	1,64-1,65 (m)/1,72-1,73 (m)	29	33,6	0,93 (s)
8	39,8	-	30	24,1	0,96 (s)
9	49,2	1,66-1,67 (m)	28-*O*-Glucopyranosyl		
10	37,5	-	1′	95,0	5,47 (d, 7,8)
11	24,5	1,94-2,05 (m)	2′	77,0	3,65 (dd, 9,0, 7,8)
12	124,0	5,32 (t, 3,0)	3′	79,7	3,58 (t, 9,0)
13	144,1	-	4′	71,4	3,41 (t, 9,0)
14	43,5	-	5′	78,4	3,34-3,35 (m)
15	29,5	1,25-1,26 (m)	6′	62,4	3,68 (dd, 11,4, 5,4)
		1,70-1,71 (m)			3,87 (dd, 11,4, 2,0)
16	23,8	1,68*/2,07-2,08 (m)	2′-*O*-Rhamnopyranosyl		
17	48,2	-	1″	101,5	5,50 (d, 1,8)
18	42,9	2,87 (dd 13,2, 4,2)	2″	72,3	3,95 (dd, 3,0, 1,8)
19	47,3	1,75 (dd 13,2, 13,2)/1,17*	3″	72,2	3,71 (dd, 9,0, 3,0)
20	31,5	-	4″	73,7	3,43 (t, 9,0)
21	35,0	1,25*/1,42 (ddd, 13,2, 13,2, 4,2)	5″	70,3	3,80-3,82 (m)
22	33,1	1,63*/1,70-1,71 (m)	6″	18,2	1,27 (d, 6,0)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*



Hình 4.64. Phổ COSY của **CF1**

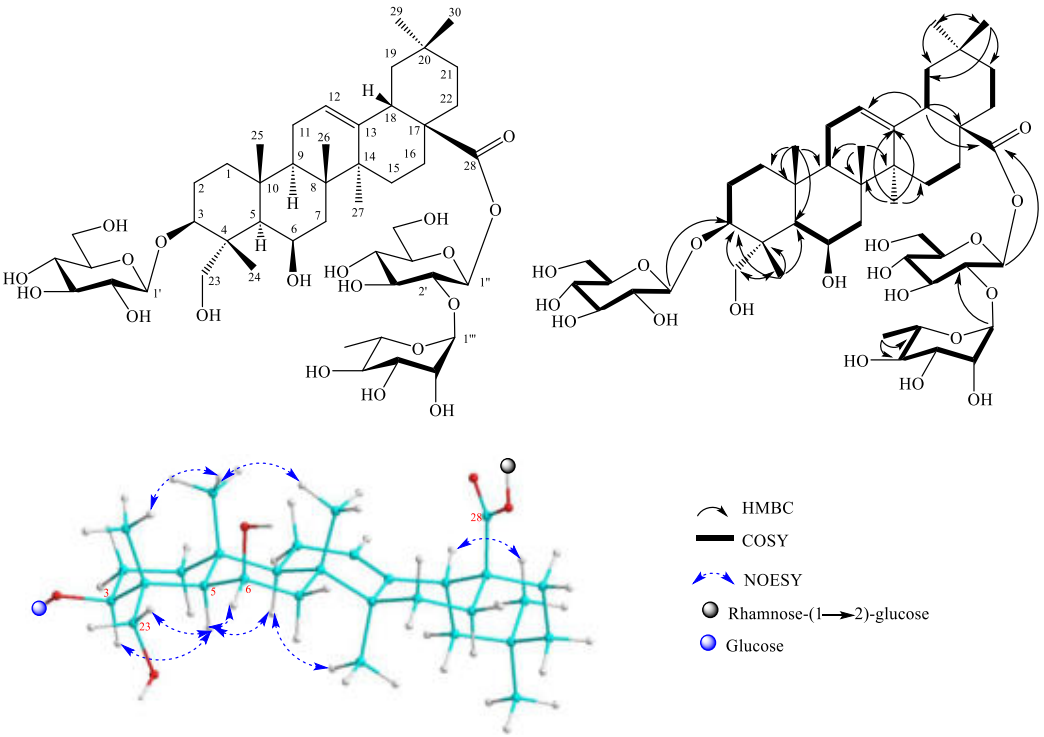


Hình 4.65. Phổ NOESY của **CF1**

*4.1.1.10. Hợp chất **CF2:** 3-O-β-D-Glucopyranosyluncargenin C 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

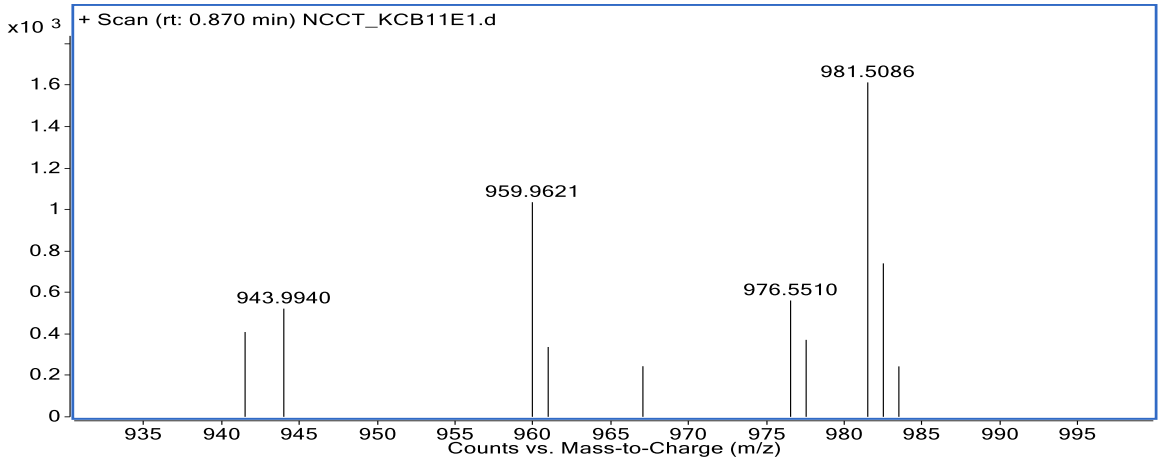
Hợp chất **CF2** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Công thức phân tử của hợp chất **CF2** được xác định là $C_{48}H_{78}O_{19}$ (M = 958) với giá trị độ bất bão hòa bằng 10 bằng phương pháp phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **CF2** xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 981,5086 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{48}H_{78}O_{19}Na]^+$: 981,5030, Δ = -5.7 ppm.

Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CF2** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 48 carbon. Trong đó, 30 tín hiệu carbon gợi ý thuộc khung olean-triterpene aglycone [112, 113] và 18 tín hiệu carbon còn lại được gán cho ba nhóm đường hexose. Ở phần aglycone xuất hiện hai tín hiệu carbon của một nối đôi tại δ_C 124,0 (C-12)/144,1 (C-13), một tín hiệu carbon của nhóm carbonyl tại δ_C 178,1 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 83,3 (C-3) và 68,7 (C-6) và một tín hiệu carbon của nhóm oxymethylene tại δ_C 64,7 (C-23). So sánh số liệu phổ NMR giữa hai hợp chất **CL1 và CF2** nhận thấy ở phần aglycone của **CF2** hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL1**, chứng tỏ cấu trúc phần aglycone của hợp chất này được xác định là uncargenin C (Bảng 4.1 và 4.10). Ở phần đường của **CF2** xuất hiện 12 tín hiệu carbon đặc trưng cho hai nhóm glucose lần lượt tại δ_C (105,5, 75,3, 78,4, 71,6, 77,7 và 62,7) và δ_C (95,0, 77,0, 79,6, 71,4, 78,4 và 62,4), và 6 tín hiệu carbon thuộc một đường rhamnose tại δ_C (101,5, 72,3, 72,2, 73,7, 70,3 và 18,2) (Bảng 4.10). Phân tích phổ NMR của phần đường giữa hai hợp chất **CL1 và CF2** cho thấy có sự khác biệt ở một số tín hiệu thuộc nhánh đường nối với C-3, cụ thể là độ dịch chuyển hóa học của C-6′ đã thay đổi từ δ_C 69,7 ở hợp chất **CL1** về δ_C 62,7 ở hợp chất **CF2**, chứng tỏ không có phân tử đường nào liên kết glycosidic tại C-6′. Điều nhận định này được khẳng định qua tương tác của các phổ HSQC, HMBC, và COSY của hợp chất **CF2**. Trước hết, tương tác HSQC của Glu H-6′ [δ_H (3,66-3,68)/3,86]/C-6′ (δ_C 62,7), tương tác COSY từ Glu H-1′/H-2′/H-3′/H-4′/H-5′/H-6′, và tương tác HMBC từ Glu H-1′ (δ_H

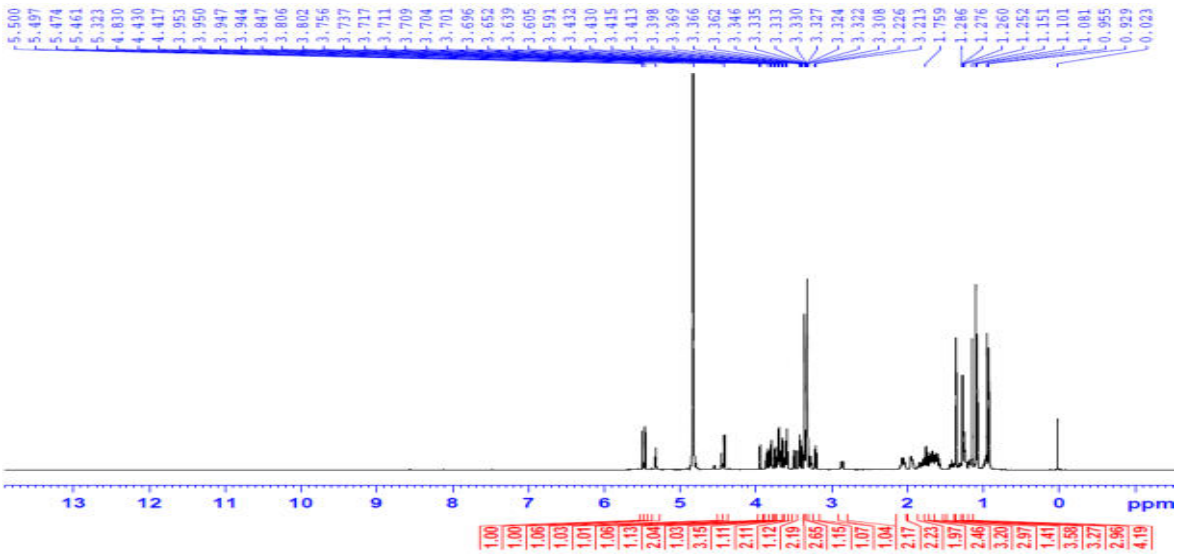


Hình 4.66. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, và NOESY chính của **CF2**

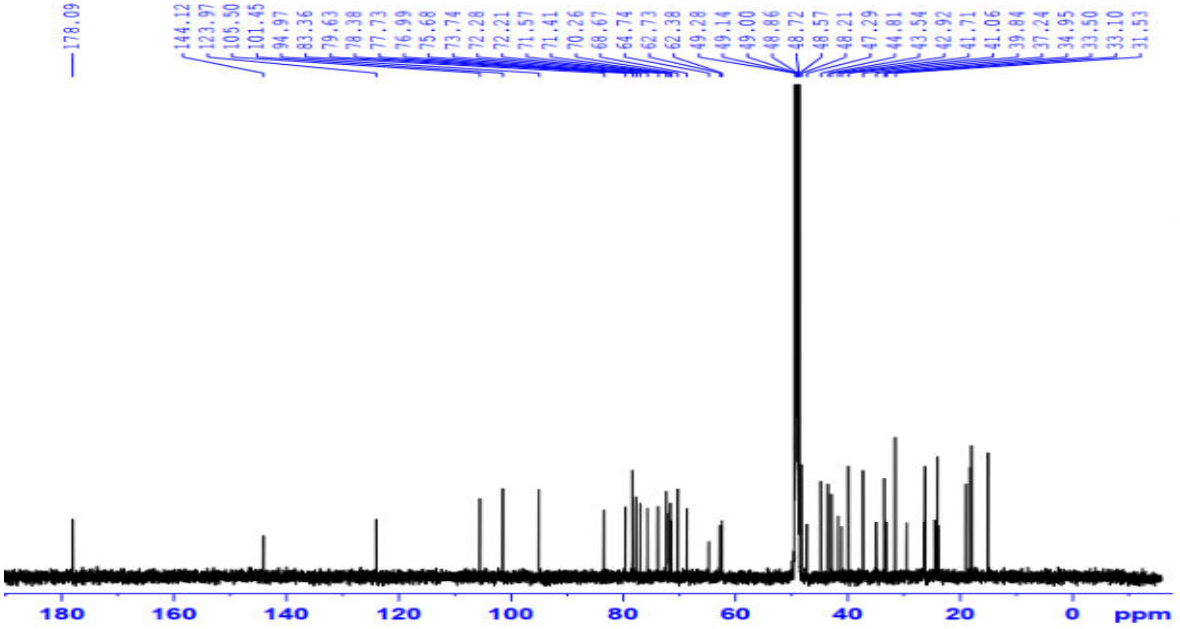
4,42) đến C-3 (δ_C 83,3), chỉ ra nhánh đường liên kết với C-3 là 3-*O*-D-glucopyranosyl. Ngoài ra, hằng số tương tác J = 7,8 Hz của proton anomeric tại δ_H 4,42 (Glu H-1′) chỉ ra liên kết tại C-3 là liên kết *β*-glycosidic. Nhánh đường nối với C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL1**, xác định là 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester, và được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1‴ (δ_H 5,50) đến Glu C-2″ (δ_C 77,0) và từ Glu H-1″ (δ_H 5,47) đến C-28 (δ_C 178,1) cùng với giá trị hằng số J của hai proton anomeric (1,8 Hz cho rhamnose và 7,8 Hz cho glucose) khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là *α*- và *β*- (Bảng 4.10). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ những phân tích nêu trên, cấu trúc của hợp chất **CF2** được xác định là 3-O-*β*-D-glucopyranosyl uncargenin C 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy **CF2** là một hợp chất mới.



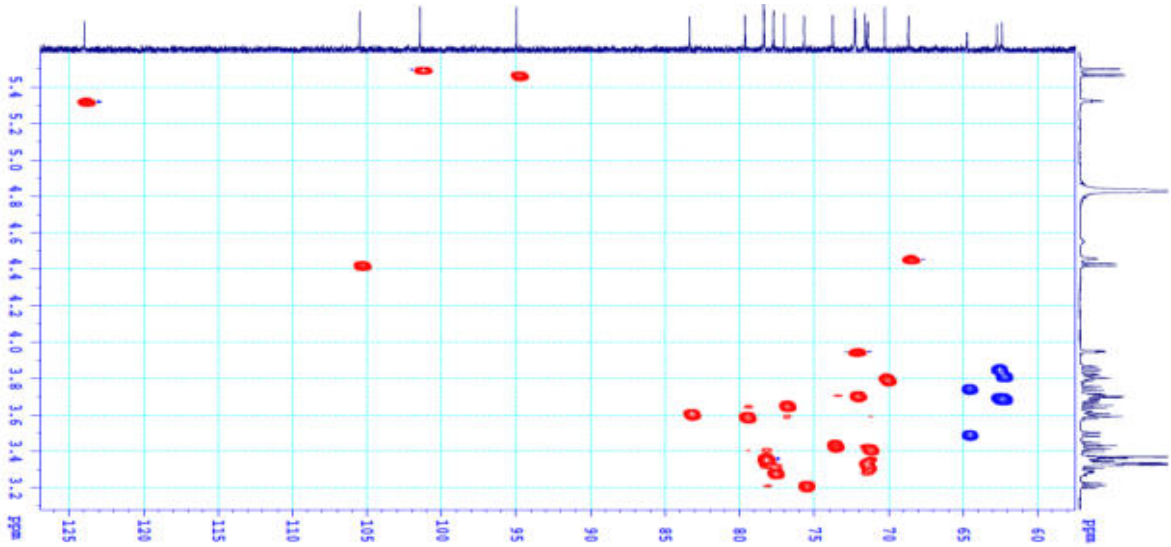
Hình 4.67. Phổ HR-ESI-MS của **CF2**



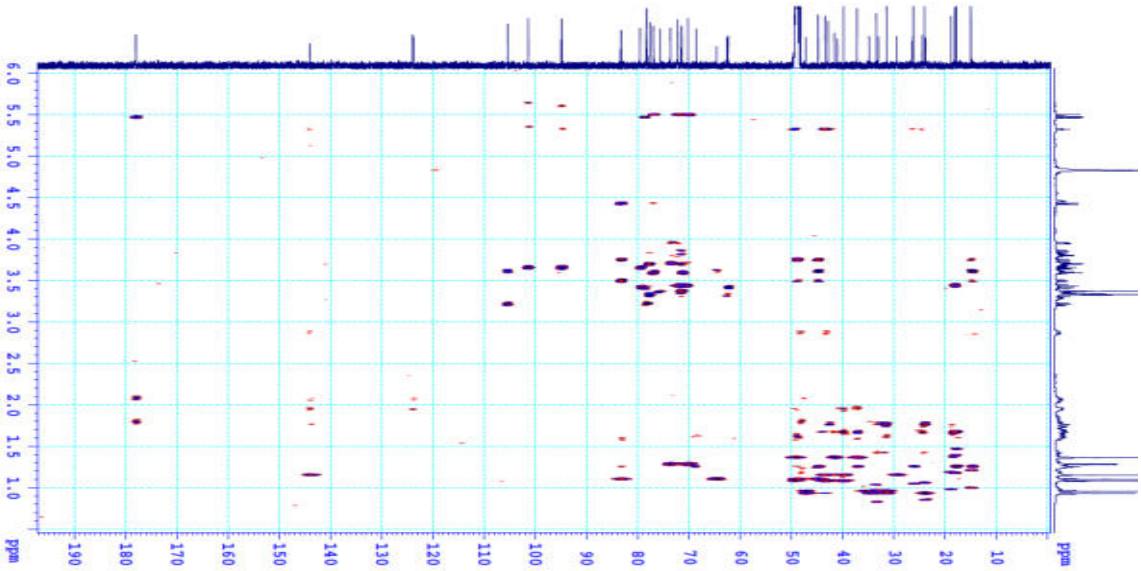
Hình 4.68. Phổ ^{1}H NMR của **CF2**



Hình 4.69. Phổ ^{13}C NMR của **CF2**



Hình 4.70. Phổ HSQC của **CF2**

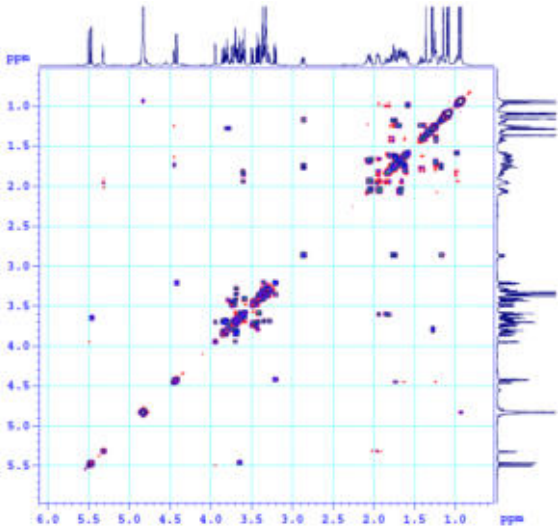


Hình 4.71. Phổ HMBC của **CF2**

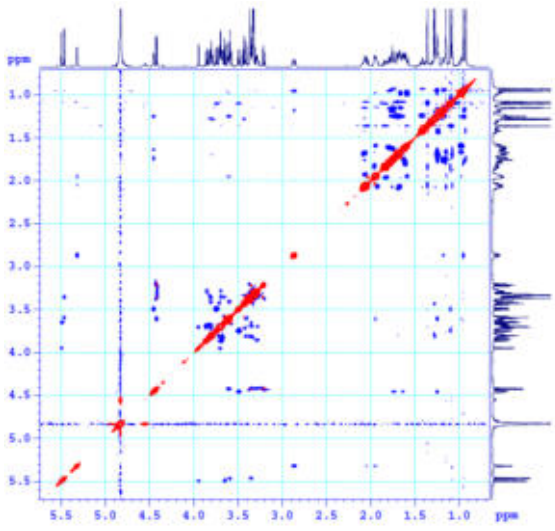
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của **CF2**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,7	0,98 (dd, 10,8, 4,2)/1,58*	27	26,2	1,14 (s)
2	26,4	1,83-1,84 (m)/1,94-1,95 (m)	28	178,1	-
3	83,3	3,61 (dd, 11,4, 4,2)	29	33,5	0,92 (s)
4	44,8	-	30	24,1	0,95 (s)
5	48,9	1,24 (br s)	3-*O*-Glucopyranosyl		
6	68,7	4,46 (br s)	1′	105,5	4,42 (d, 7,8)
7	41,1	1,62-1,64 (m)/1,72-1,73 (m)	2′	75,3	3,21 (dd, 9,0, 7,8)
8	39,8	-	3′	78,4	3,35*
9	49,2	1,64-1,67 (m)	4′	71,6	3,34*
10	37,2	-	5′	77,7	3,28*
11	24,5	1,93-1,95 (m)/2,04-2,06 (m)	6′	62,7	3,66-3,68 (m) 3,86 (dd, 12,0, 1,8)
12	124,0	5,32 (t, 3,0)	28-*O*-Glucopyranosyl		
13	144,1	-	1″	95,0	5,47 (d, 7,8)
14	43,5	-	2″	77,0	3,66 (dd, 9,0, 7,8)
15	29,5	1,23-1,24 (m)/1,69-1,71 (m)	3″	79,6	3,59 (t, 9,0)
16	23,8	1,68*/2,04-2,06 (m)	4″	71,4	3,42 (t, 9,0)
17	48,2	-	5″	78,4	3,35-3,37 (m)
18	42,9	2,88 (dd, 13,2, 4,2)	6″	62,4	3,67-3,69 (m) 3,82 (11,4, 2,0)
19	47,3	1,73-1,75 (m)/1,17-1,19 (m)	2″-*O*-Rhamnopyranosyl		
20	31,5	-	1‴	101,5	5,50 (d 1,8)
21	35,0	1,24*/1,40 (ddd, 13,2, 13,2, 4,2)	2‴	72,3	3,95 (d 3,0, 1,8)
22	33,1	1,61*/1,78 (m)	3‴	72,2	3,70 (dd, 9,0, 3,0)
23	64,7	3,75 (d, 10,8)/3,49 (d, 10,8)	4‴	73,7	3,43 (t, 9,0)
24	15,0	1,10 (s)	5‴	70,3	3,78-3,80 (m)
25	17,9	1,37 (s)	6‴	18,2	1,28 (d, 6,6)
26	18,9	1,08 (s)			

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*



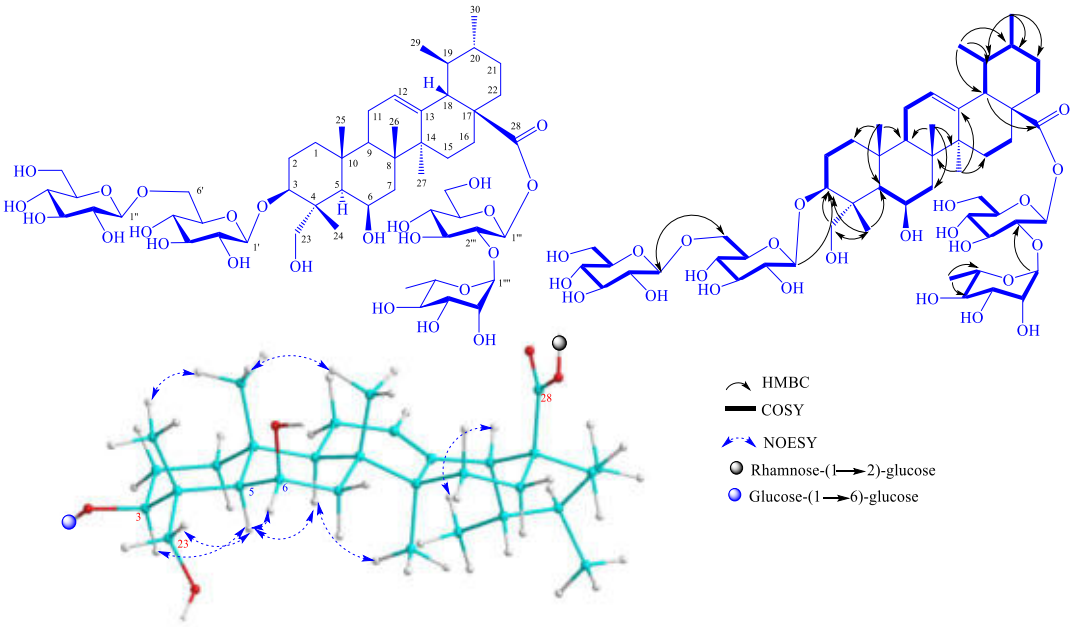
Hình 4.72. Phổ COSY của **CF2**



Hình 4.73. Phổ NOESY của **CF2**

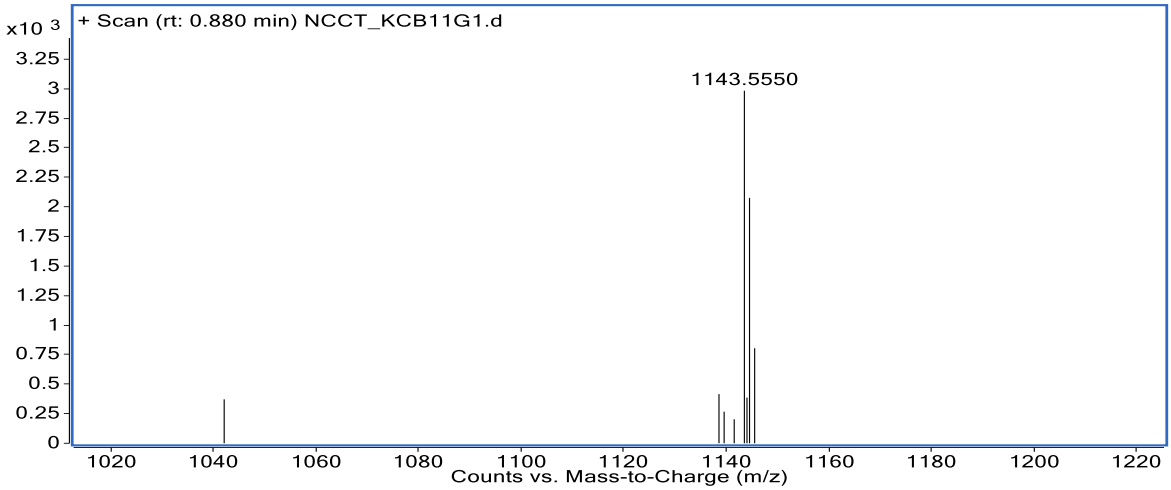
*4.1.1.11. Hợp chất **CF3:** 3-O-β-D-Glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-6β,23-dihydroxyursolic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

Hợp chất **CF3** được phân lập dưới dạng bột vô định hình không màu. Phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **CF3** xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 1143,5550 $[M+Na]^+$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558 (Δ = -0.7 ppm), 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 NMR của hợp chất **CF3** kết hợp so sánh với các số liệu phổ của hợp chất **CL6,** nhận thấy hai hợp chất này có dữ liệu phổ tương tự nhau, đặc biệt dữ liệu phổ phần aglycone hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL6**, chứng tỏ phần aglycone của hợp chất này thuộc khung dạng ursan-triterpene [117], kể cả về mặt hóa học lập thể và 24 tín hiệu hiệu carbon còn lại

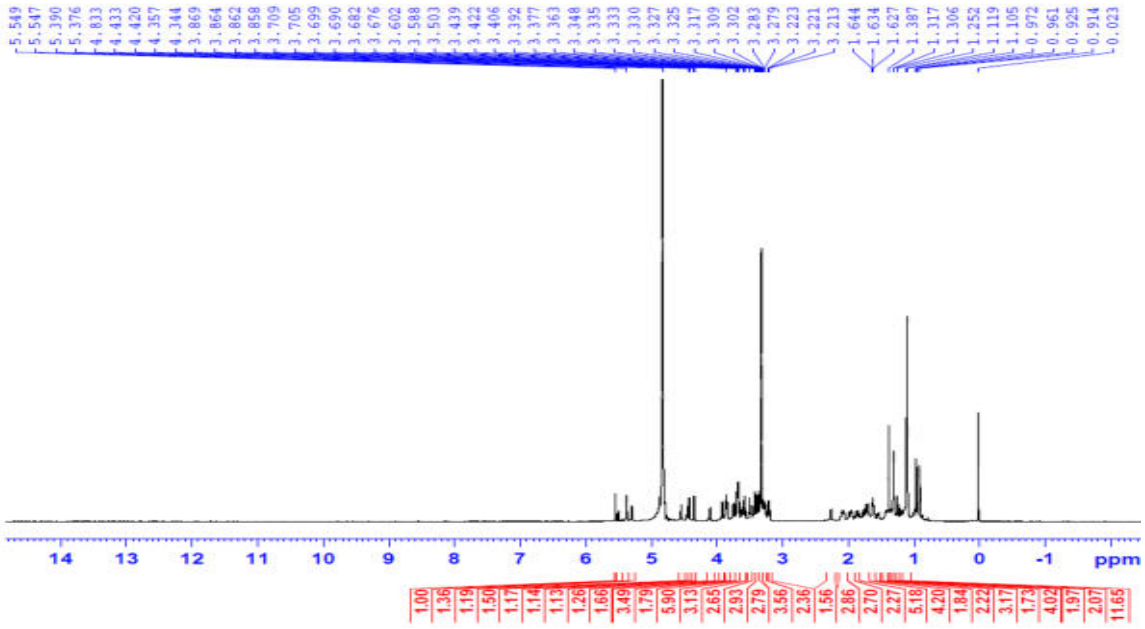


Hình 4.74. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF3**

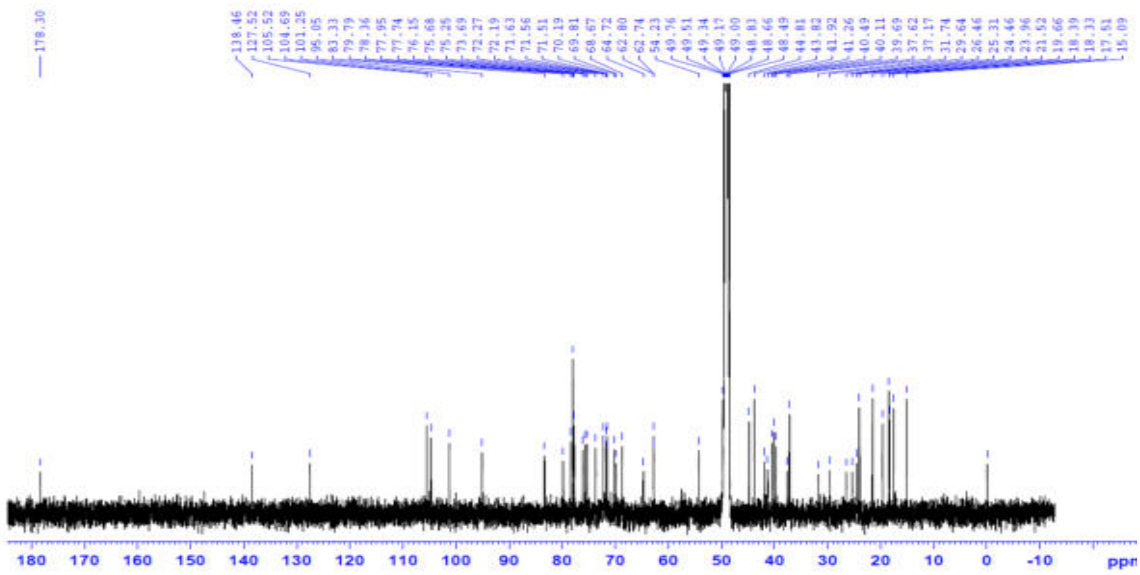
thuộc phần đường tương tự hợp chất **CL6** (Bảng 4.6 và 4.11). Sự khác biệt được thấy rõ giữa hai hợp chất **CL6** và **CF3** tập trung ở nhánh đường nối với phần aglycone tại C-3, cụ thể là tín hiệu cộng hưởng của C-2′ chuyển dịch về vùng trường cao (δ_C 75,7), đồng thời tín hiệu cộng hưởng của C-6′ chuyển dịch về vùng trường thấp (δ_C 69,8), chứng tỏ liên kết glycoside đã thay đổi từ C-2′ sang C-6′. Điều nhận định này được khẳng định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, HMBC, và COSY. Trước hết, tương tác HSQC của H-2′ (δ_H 3,20)/C-2′ (δ_C 75,7) và H-6′ (δ_H 3,68/4,11)/C-6′ (δ_C 69,8), tương tác COSY Glu H-1′/H-2′/H-3′/H-4′/H-5′/H-6′, tương tác HMBC từ proton Glu H-1″ (δ_H 4,35) đến Glu C-6′ (δ_C 69,8), từ proton Glu H-1′ (δ_H 4,43) đến C-3 (δ_C 83,3) cùng với giá trị hằng số J = 7,8 Hz của hai proton anomeric này cho phép xác định được chuỗi disaccharide nối với aglycone tại C-3 là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl và chuỗi đường này liên kết với aglycone tại C-3.



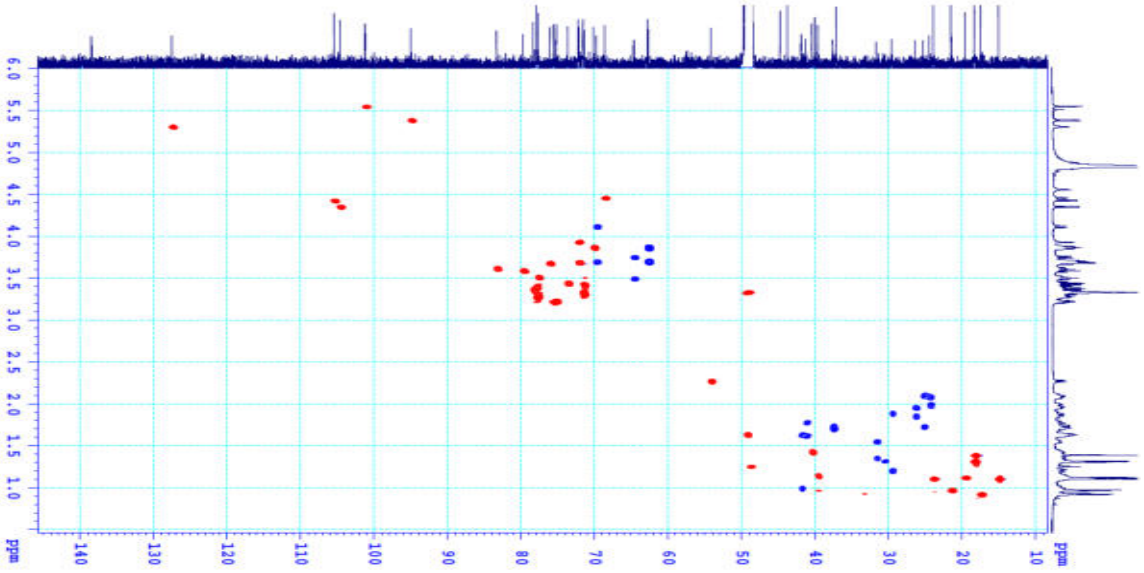
Hình 4.75. Phổ HR-ESI-MS của **CF3**



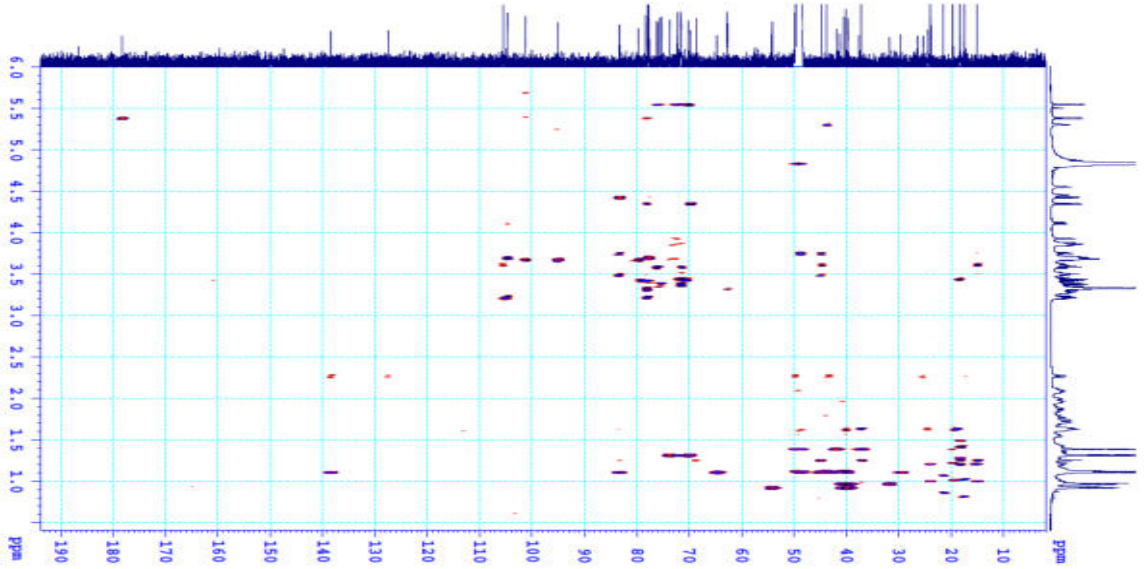
Hình 4.76. Phổ ^{1}H NMR của **CF3**



Hình 4.77. Phổ ^{13}C NMR của **CF3**



Hình 4.78. Phổ HSQC của **CF3**

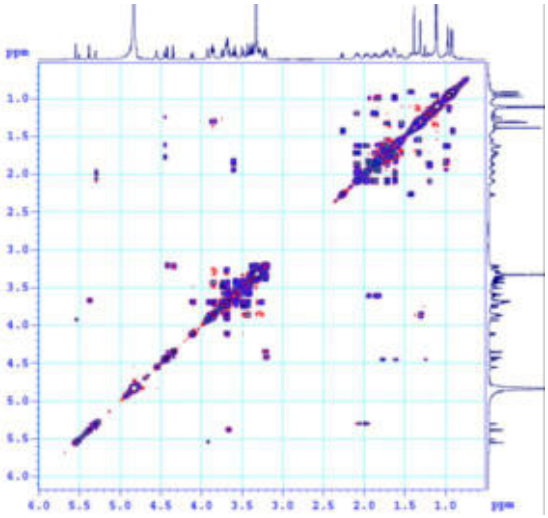


Hình 4.79. Phổ HMBC của **CF3**

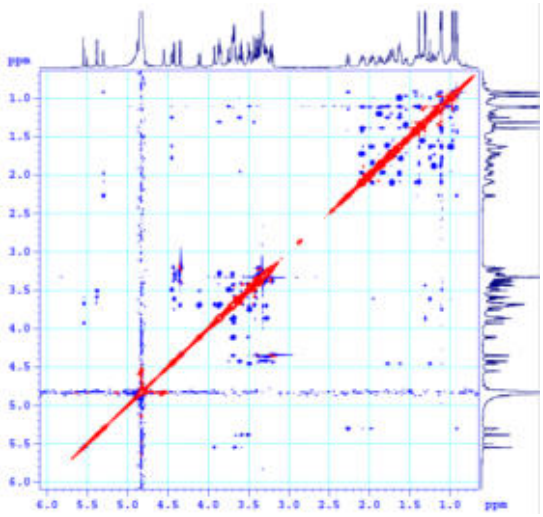
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của **CF3**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	41,9	0,99 (dd, 10,8, 4,2)/1,63*	30	21,5	0,97 (d 6,6)
2	26,5	1,83-1,84 (m)/1,94-1,95 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	83,3	3,62 (dd, 11,4, 4,2)	1′	105,5	4,43 (d 7,8)
4	44,8	-	2′	75,7	3,20*
5	48,8	1,24 (d 3,0)	3′	78,0	3,26*
6	68,7	4,46 (br s)	4′	71,6	3,31*
7	41,3	1,61-1,63 (m)/1,75-1,76 (m)	5′	77,7	3,51-3,53 (m)
8	40,1	-	6′	69,8	4,11 (dd 12,0, 1,8) 3,68 (dd 12,0, 5,4)
9	49,1	1,62-1,64 (m)	6′-*O*-Glucopyranosyl		
10	37,2	-	1″	104,7	4,35 (d 7,8)
11	24,5	1,93-1,97 (m)/2,07-2,09 (m)	2″	75,2	3,23*
12	127,5	5,30 (t 3,0)	3″	77,8	3,26*
13	138,5	-	4″	71,5	3,30*
14	43,8	-	5″	78,0	3,36*
15	29,6	1,20 (br d, 13,2) 1,87-1,89 (m)	6″	62,8	3,67-3,69 (m) 3,83-3,86 (m)
16	25,3	1,71-1,73 (m)/2,09-2,11 (m)	28-*O*-Glucopyranosyl		
17	49,7	-	1‴	95,1	5,38 (d, 8,4)
18	54,2	2,27 (br d, 11,4)	2‴	76,2	3,67*
19	40,5	1,41-1,43 (m)	3‴	79,8	3,58 (t, 9,0)
20	39,7	1,13-1,15 (m)	4‴	71,6	3,42 (t, 9,0)
21	31,7	1,34-1,36 (m)/1,55-1,57 (m)	5‴	78,4	3,35-3,37 (m)
22	37,6	1,67*/1,71-1,73 (m)	6‴	62,7	3,67-3,69 (m) 3,83-3,86 (m)
23	64,7	3,49 (d 12,0)/3,75 (d 12,0)	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
24	15,1	1,10 (s)	1⁗	101,2	5,55 (d, 1,2)
25	18,3	1,39 (s)	2⁗	72,3	3,93 (d 3,0, 1,2)
26	19,7	1,12 (s)	3⁗	72,2	3,67 (dd, 9,0, 3,0)
27	24,0	1,11 (s)	4⁗	73,7	3,43 (t, 9,0)
28	178,3	-	5⁗	70,2	3,85-3,87 (m)
29	17,5	0,92 (d 6,6)	6⁗	18,4	1,31 (d, 6,0)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*



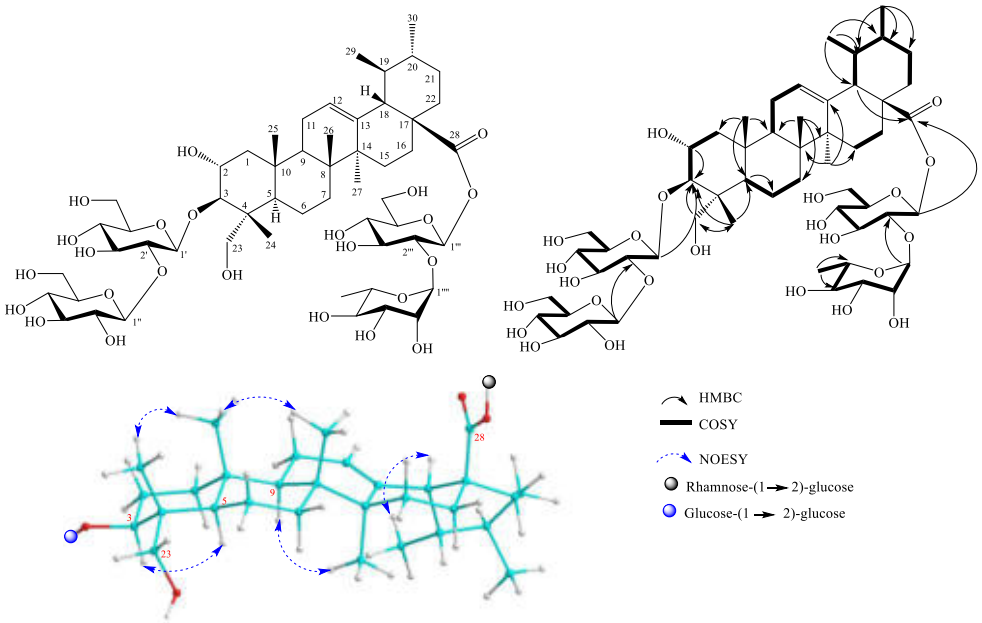
Hình 4.80. Phổ COSY của **CF3**



Hình 4.81. Phổ NOESY của **CF3**

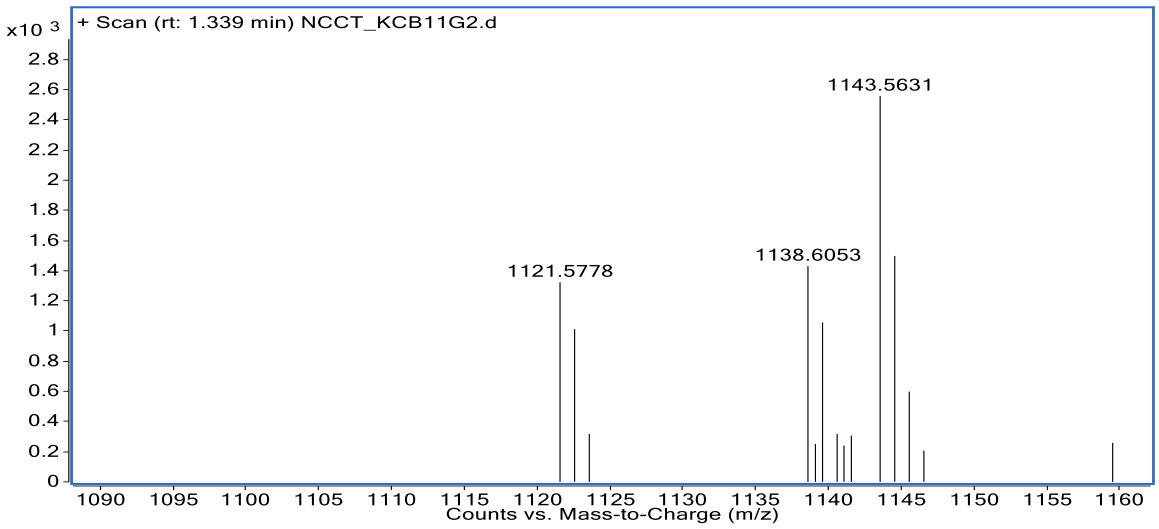
Nhánh đường nối với aglycone tại C-28 hoàn toàn tương tự như hợp chất **CL6**, xác định là 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester, và được chứng minh qua tương tác HMBC từ Rha H-1′′′′ (δ_H 5,55) đến Glu C-2′′′ (δ_C 76,2), từ Glu H-1′′′ (δ_H 5,38) đến C-28 (δ_C 178,3) cùng với giá trị hằng số *J* của hai proton anomeric này lần lượt là 1,2 Hz và 8,4 Hz khẳng định các liên kết glycoside có dạng tương ứng là *α*- và *β*- (Bảng 4.11). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ những minh chứng trên, xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **CF3** là 3-O-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*β*-D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu cho thấy **CF3** là một hợp chất mới.

*4.1.1.12. Hợp chất **CF4:** 3-O-β-D-Glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosylasiatic acid 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (hợp chất mới).*

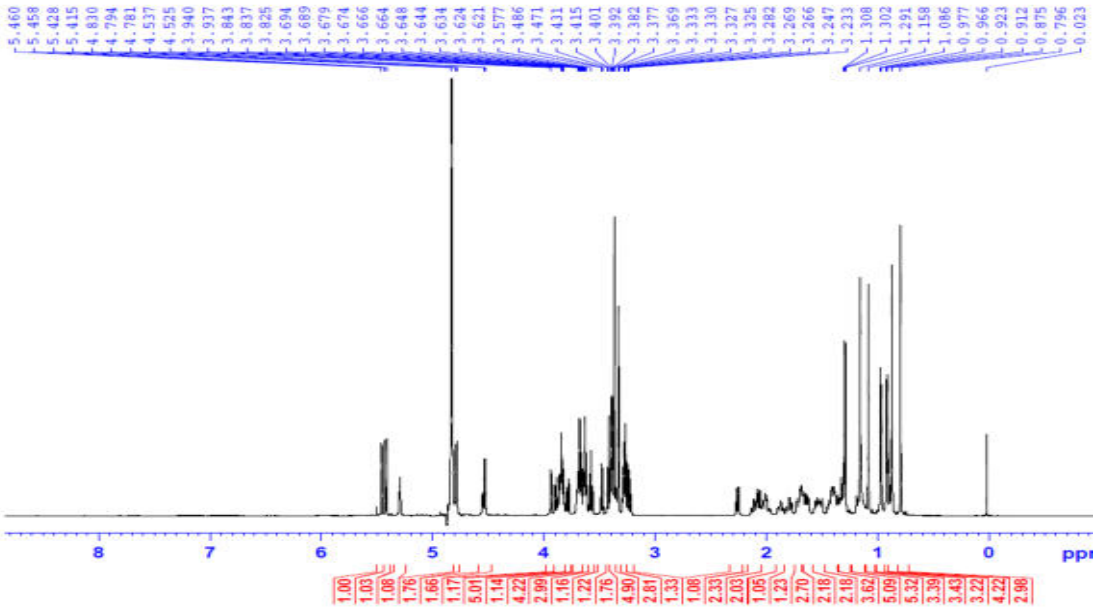


Hình 4.82. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **CF4**

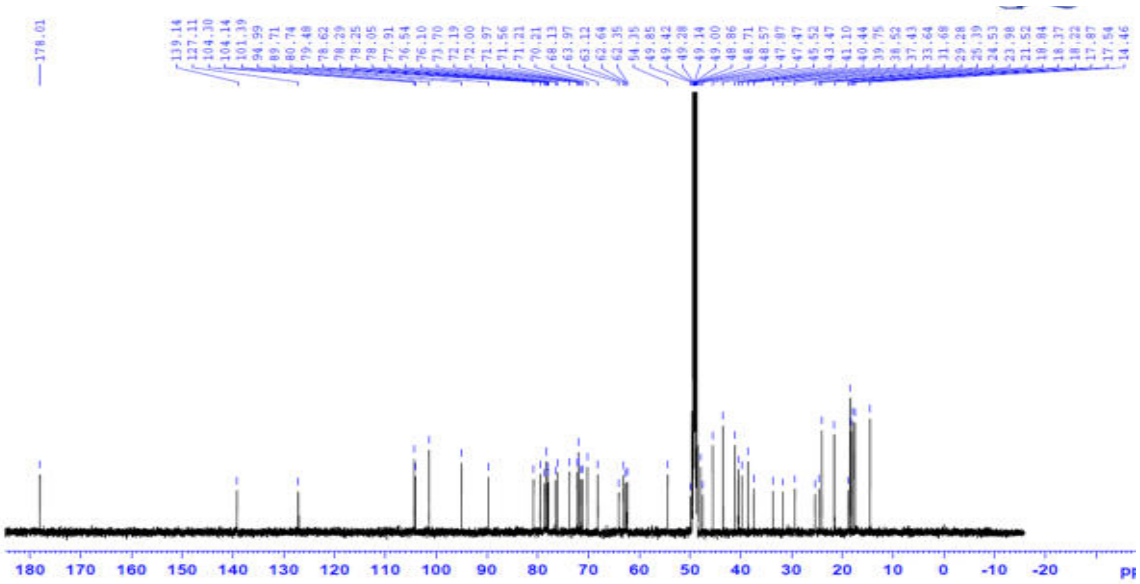
Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **CF4** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 54 carbon. Trong đó, 30 carbon thuộc khung ursan-triterpene aglycone [117] và 24 carbon còn lại được gán cho bốn nhóm đường. Số liệu phổ NMR ở phần aglycone của hợp chất **CF4** gần tương tự số liệu phổ của hợp chất **CL6** (Bảng 4.6 và 4.12), đặc biệt các dữ liệu phổ của vòng C, D và E. Tuy nhiên, sự khác biệt có thể thấy rõ ở vòng A và B giữa hai hợp chất này ở phần aglycone là độ dịch chuyển hóa học của C-2 đã thay đổi từ δ_C 26,6 (CH_2) lên δ_C 68,1 (CH), đồng thời tại C-6 đã thay đổi từ δ_C 68,6 (CH) về δ_C 18,8 (CH_2), chứng tỏ hợp chất **CF4** đã có thêm một nhóm hydroxy tại C-2 và không có nhóm hydroxy nào tại C-6. Do đó cấu trúc aglycone của hợp chất **CF4** được xác định là asiatic acid [116]. Điều nhận định này được khẳng định thông qua các tương tác trên phổ HSQC, HMBC, và COSY. Trong đó, tương tác HSQC của H-2 (δ_H 3,83-3,85)/C-2 và H_2-6 [δ_H (1,38-1,40)/(1,50-1,51)]/C-6, tương tác COSY của H-2/H-3 (δ_H 3,48), H-5 (δ_H 1,31)/H-6, và tương tác HMBC từ H-2 đến C-3 (δ_C 89,7) và từ H-5 đến C-6 đã được quan sát thấy. Hơn nữa, tín hiệu proton H-3 tại δ_H 3,48 dưới dạng doublet với giá trị hằng số tương tác lớn ($^3J_{2,3}$ = 9,0 Hz) cùng với xuất hiện tương tác NOESY của H-3/H-5. Điều này cho thấy cấu trúc của proton H-2, H-3 và H-5 theo hướng *axial*. Số liệu phổ NMR của phần đường giữa hai hợp chất **CF4** và **CL6** hoàn toàn tương tự nhau (Bảng 4.6 và 4.12). Điều nhận định này được chứng minh thông qua tương tác trên phổ HMBC và hằng số tương tác *J* của các proton anomeric của hợp chất **CF4**. Trước hết, tương tác HMBC từ Glu H-1″ (δ_H 4,79) đến C-2′ (δ_C 80,7), từ Glu H-1′ (δ_H 4,53) đến C-3 (δ_C 89,7), từ Rha H-1‴′ (δ_H 5,46) đến C-2‴ (δ_C 76,5) và từ Glu H-1‴ (δ_H 5,42) đến C-28 (δ_C 178,0) đã xác định hai nhánh đường là glucopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside và rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside liên kết với C-3 và C-28 lần lượt bằng liên kết glycosidic và ester. Phổ ^{1}H NMR của các nhóm đường cho thấy giá trị hằng số tương tác lớn (*J* = 7,8 Hz) của ba proton anomeric Glu H-1′, Glu H-1″ và Glu H-1‴ chỉ ra liên kết *β*-glycosidic, trong khi hằng số tương tác nhỏ (*J* = 1,2 Hz) của proton anomeric Rha H-1‴′ chỉ ra liên kết *α*-glycosidic, xác định hai nhánh đường là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranoside và 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Như vậy, công thức phân tử dự đoán của hợp chất **CF4** sẽ phải là $C_{54}H_{88}O_{24}$ (M = 1120) với giá trị độ bất bão hòa bằng 11. Điều này đã được khẳng định chính xác bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 1143,5631 $[M+Na]^+$ hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{54}H_{88}O_{24}Na]^+$: 1143,5558 (Δ = +6,3 ppm). Cấu hình đường D-glucose và L-rhamnose cũng được xác định bằng phương pháp nêu tại mục 2.2.2.6 [106, 107]. Từ những phân tích trên đã xác định được hợp chất **CF4** được xác định là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **CF4** là một hợp chất mới.



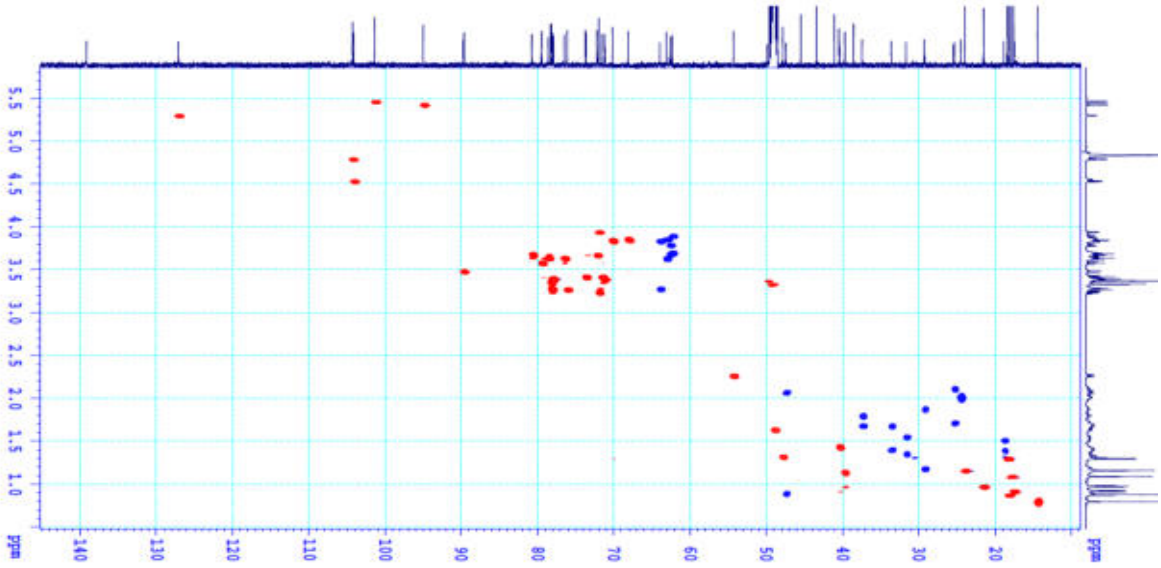
Hình 4.83. Phổ HR-ESI-MS của **CF4**



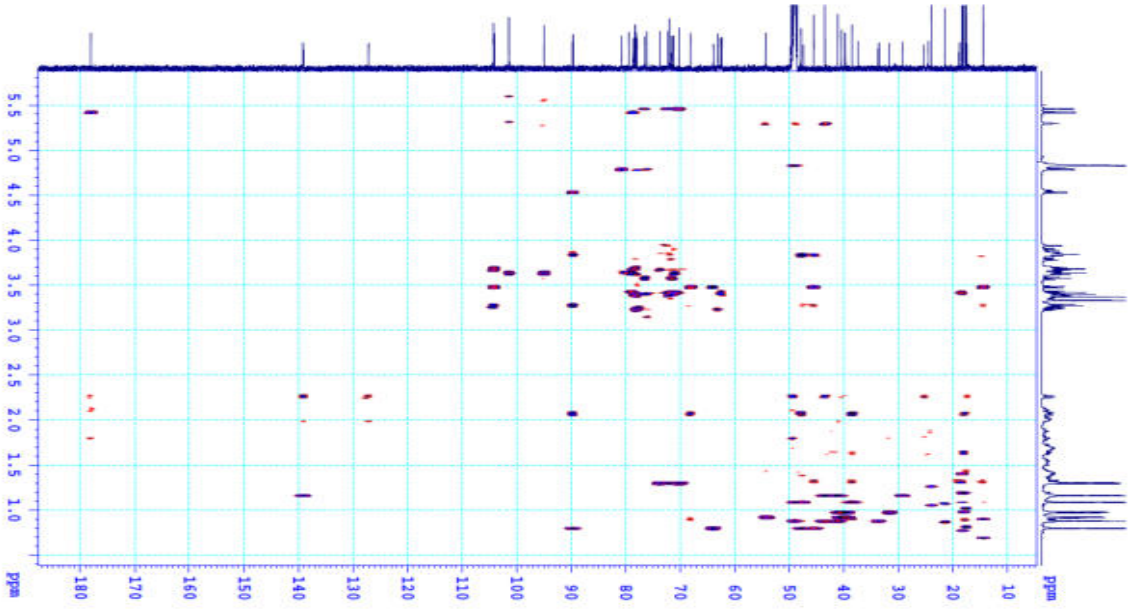
Hình 4.84. Phổ ^{1}H NMR của **CF4**



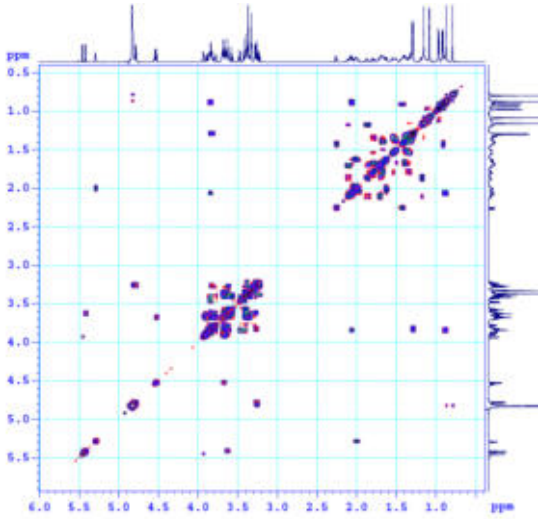
Hình 4.85. Phổ ^{13}C NMR của **CF4**



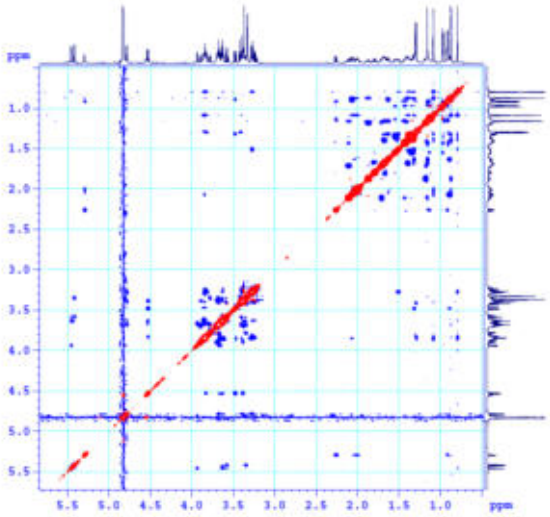
Hình 4.86. Phổ HSQC của **CF4**



Hình 4.87. Phổ HMBC của **CF4**



Hình 4.88. Phổ COSY của **CF4**



Hình 4.89. Phổ NOESY của **CF4**

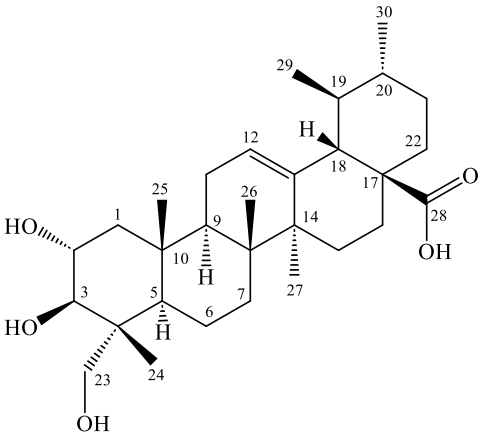
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của **CF4**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	47,5	0,88*/1,63 (dd, 10,8, 5,4)	30	21,5	0,97 (d 7,2)
2	68,1	3,83-3,85 (m)	3-*O*-Glucopyranosyl		
3	89,7	3,48 (d, 9,0)	1′	104,1	4,53 (d 7,8)
4	45,5	-	2′	80,7	3,67*
5	48,6	1,31 (br d, 12,0)	3′	78,6	3,63 (t, 9,0)
6	18,8	1,38-1,40 (m)/1,50-1,51 (m)	4′	71,2	3,38*
7	33,6	1,38-1,40 (m)/1,67-1,69 (m)	5′	78,3	3,28-3,29 (m)
8	41,1	-	6′	62,4	3,86 (dd, 12,0, 2,4) 3,68*
9	48,8	1,63 (dd, 11,4, 5,4)	2′-*O*-Glucopyranosyl		
10	38,5	-	1″	104,3	4,79 (d 7,8)
11	24,5	1,99-2,01 (m)	2″	76,1	3,26*
12	127,1	5,30 (t, 3,0)	3″	77,9	3,38*
13	139,1	-	4″	72,0	3,23 (t, 9,0)
14	43,5	-	5″	78,3	3,36-3,37 (m)
15	29,3	1,18*/1,88 (td, 13,2, 3,0)	6″	63,1	3,84* 3,62*
16	25,4	1,68-1,70 (m)/2,11 (td, 13,2, 2,4)	28-*O*-Glucopyranosyl		
17	49,5	-	1‴	95,0	5,42 (d, 7,8)
18	54,4	2,26 (br d, 11,4)	2‴	76,5	3,63*
19	41,1	1,41-1,43 (m)	3‴	79,5	3,57 (t, 9,0)
20	40,4	1,14 (m)	4‴	71,6	3,42 (t, 9,0)
21	31,7	1,35*/1,55 (m)	5‴	78,3	3,34-3,35 (m)
22	37,4	1,68*/1,80-1,82 (m)	6‴	62,6	3,78 (dd, 12,0, 2,4) 3,68*
23	64,0	3,27 (d, 11,4)/3,83 (d, 11,4)	2‴-*O*-Rhamnopyranosyl		
24	14,5	0,80 (s)	1⁗	101,4	5,46 (d, 1,2)
25	17,9	1,09 (s)	2⁗	72,0	3,94 (d, 3,0, 1,2)
26	18,2	0,88 (s)	3⁗	72,2	3,67*
27	24,5	1,16 (s)	4⁗	73,7	3,42 (t, 9,0)
28	178,0	-	5⁗	70,2	3,83*
29	17,5	0,92 (d 7,2)	6⁗	18,4	1,29 (d, 7,2)

*[a] Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

*4.1.1.13. Hợp chất **CF5:** Asiatic acid*

Hợp chất **CF5** được phân lập dưới dạng bột không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR (Hình I.13.1, phần phụ lục) của hợp chất **CF5** nhận thấy xuất hiện của các tín hiệu của: bốn nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,72 (3H, s), 0,89 (3H, s), 1,07 (3H, s) và 1,16 (3H, s); hai nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,92 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,98 (3H, J = 6,6 Hz); một proton nối đôi tại δ_H 5,26 (1H, t, J = 3,6 Hz); năm proton methine tại δ_H 1,11 (1H, m), 1,31 (1H, br d, J = 12,0 Hz), 1,41 (1H, m), 1,65 (1H, m) và 2,23 (1H, d, J = 11,4 Hz); hai proton oxymethine tại δ_H 3,48 (1H, d, J = 9,6 Hz) và 3,72 (ddd, 10,8, 9,6, 4,8); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,29 (1H, d, J = 10,8 Hz) và 3,53 (1H, d, J = 10,8 Hz) (Bảng 4.13). Phân tích phổ ^{13}C NMR (Hình I.13.2, phần phụ lục) của hợp chất **CF5** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon thuộc khung triterpene năm vòng. Trong đó, xuất hiện tín hiệu đặc trưng của nối đôi tại δ_C 126,6 (C-12)/139,9 (C-13), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 69,7 (C-2) và



Hình 4.90. Cấu trúc hóa học của **CF5**

Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của **CF5** và hợp chất tham khảo

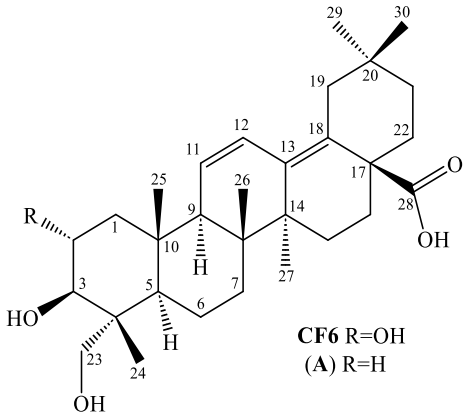
C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, J = Hz)	C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, J = Hz)
1	47,6	48,1	0,88* 2,06 (dd, 10,8, 4,8)	16	24,8	25,3	1,70 (m)/2,00 (m)
2	68,8	69,7	3,72 (ddd, 10,8, 9,6, 4,8)	17	48,0	48,7	-
3	78,2	78,3	3,48 (d, 9,6)	18	53,5	54,4	2,23 (d, 11,4)
4	43,6	44,1	-	19	39,4	40,4	1,41 (m)
5	48,2	48,4	1,31 (br d, 12,0)	20	39,3	40,4	1,11 (m)
6	18,5	19,1	1,39*/1,51 (m)	21	31,0	31,8	1,36*/1,52 (m)
7	32,8	33,7	1,39*/1,68*	22	37,4	38,1	1,67*/1,3 (m)
8	40,0	40,8	-	23	66,4	64,0	3,53 (d, 10,8) 3,29 (d, 10,8)
9	47,6	48,6	1,65*	24	14,3	14,3	0,72 (s)
10	38,3	39,0	-	25	17,4	17,7	1,07 (s)
11	23,6	24,5	1,99-2,01 (m)	26	17,4	17,7	0,89 (s)
12	125,5	126,6	5,26 (t, 3,6)	27	23,8	24,2	1,16 (s)
13	139,2	139,9	-	28	180,6	n.d.[d]	-
14	42,2	43,4	-	29	17,3	17,9	0,92 (d, 6,6)
15	28,6	29,2	1,18* 1,93 (td, 13,2, 3,0)	30	21,3	21,6	0,98 (d, 6,6)

*[a] CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, [d] không phát hiện, δ_C[#] của asiatic acid [116] đo trong pyridine-d_5, * Tín hiệu chồng lấp*

78,3 (C-3), một tín hiệu carbon của nhóm oxymethylene tại δ_C 64,0 (C-23) và hai nhóm methyl bậc hai tại δ_C 17,9 (C-29) và δ_C 21,6 (C-30). Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CF5** gần tương tự như dữ liệu phổ NMR của phần aglycone thuộc hợp chất **CF4**, ngoại trừ việc xuất hiện các nhóm hydroxy thay thế nhánh đường tại C-3 và C-28 (Bảng 4.12 và 4.13), xác định cấu trúc của hợp chất **CF5** thuộc khung dạng ursan-triterpene. Từ những phân tích nêu trên, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CF5** với dữ liệu phổ đã công bố của hợp chất asiatic acid [116] cho thấy hoàn toàn trùng khớp. Như vậy, cấu trúc của **CF5** được xác định là asiatic acid.

*4.1.1.14. Hợp chất **CF6:** 2α,3β,23-Trihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid*

Hợp chất **CF6** được phân lập dưới dạng bột không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR (Hình I.14.1, phần phụ lục) của hợp chất **CF6** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu như: sáu nhóm methyl tại δ_H 0,72 (3H, s), 0,83 (3H, s), 0,84 (3H, s), 1,00 (2x3H, s) và 1,02 (3H, s); hai proton olefinic tại δ_H 5,69 (1H, d, J = 10,8 Hz) và 6,50 (1H, dd, J = 10,8, 3,0 Hz); hai proton methine tại δ_H 1,35 (1H, m) và 2,10 (1H, m); hai proton oxymethine tại δ_H 3,40 (1H, d, J = 9,0 Hz) và 3,78 (1H, m); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,41 (1H, d, J = 11,4 Hz) và 3,53 (1H, d, J = 11,4 Hz); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_H 0,90-2,56 ppm (Bảng 4.14). Phân tích phổ ^{13}C NMR (Hình I.14.2, phần phụ lục) của hợp chất **CF6** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon thuộc loại triterpenoid pentacyclic. Trong đó, xuất hiện tín hiệu của bốn carbon của hai nối đôi tại C-11 (δ_C 126,8)/C-12 (δ_C 127,2) và C-13 (δ_C 137,4)/C-18 (δ_C 133,4); một tín hiệu carbonyl tại δ_C 182,0 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 69,7 (C-2) và 78,3 (C-3), một tín hiệu carbon của nhóm methylene nối với oxy tại δ_C 66,2 (C-23). Số liệu phổ NMR của hợp chất **CF6** gần tương tự số liệu phổ NMR phần aglycone của hợp chất **CL5** (Bảng 4.5 và 4.14), ngoại trừ xuất hiện tín hiệu của hai nối đôi tại C-11/C-12 và C-13/C18 thay cho một nối đôi C-12/C-13 như ở hợp chất **CL5** và không có nhóm đường nào nối tại C-3 và C-28. So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CF6** với dữ liệu phổ đã công bố của hợp chất 3β,23-dihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid (**A**) [118], cho thấy hai hợp chất này tương tự nhau, ngoại trừ sự xuất hiện nhóm hydroxy tại vị trí C-2 trong vòng A trong hợp chất **CF6**. Từ những phân tích nêu trên, xác định cấu trúc hóa học của **CF6** là 2α,3β,23-trihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **CF6** là hợp chất đã biết.



Hình 4.91. Cấu trúc hóa học của **CF6** và chất tham khảo **A**

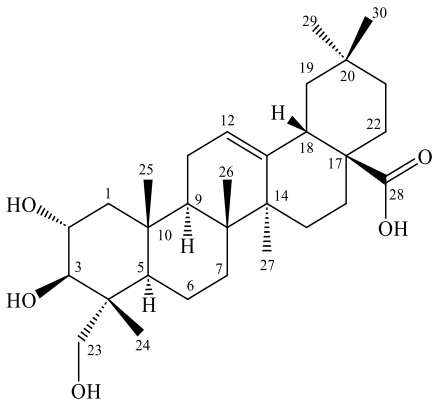
Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của **CF6** và hợp chất tham khảo

C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	38,3	47,4	0,98/2,23 (td, 10,8, 3,0)	16	25,6	26,2	1,62 (m)/1,73 (m)
2	27,6	69,7	3,78 (m)	17	48,7	48,9	-
3	73,1	78,3	3,40 (d, 9,0)	18	133,2	133,4	-
4	43,1	44,2	-	19	41,0	41,4	2,56 (d, 13,2) 1,79 (d, 13,2)
5	48,2	48,2	1,35 (m)	20	32,8	32,8	-
6	18,5	19,1	1,50 (m)/1,56 (m)	21	37,4	38,1	1,30 (m)/1,40 (m)
7	32,6	33,4	1,32 (m)/1,45 (m)	22	36,2	32,8	1,23 (m)/1,47 (m)
8	41,1	41,9	-	23	67,4	66,2	3,41 (d, 11,4) 3,53 (d, 11,4)
9	54,9	55,7	2,10 (d, 3,0)	24	12,7	13,3	0,72 (s)
10	36,9	38,7	-	25	17,1	17,3	0,83 (s)
11	126,0	126,8	6,50 (dd, 10,8, 3,0)	26	18,7	20,0	1,02 (s)
12	127,1	127,2	5,69 (d, 10,8)	27	20,1	20,2	1,00 (s)
13	136,6	137,4	-	28	178,9	n.d.[d]	-
14	42,5	43,3	-	29	32,4	33,1	0,84 (s)
15	33,3	36,8	1,40 (m)/2,26 (m)	30	24,3	24,6	1,00 (s)

*[a] CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, [d] không phát hiện, δ_C[#] của 3β,23-dihydroxyolean-11,13(18)-dien-28-oic acid (**A**) [118] (pyridine-d_5)*

*4.1.1.15. Hợp chất **CF7:** Arjunolic acid*

Hợp chất **CF7** được phân lập dưới dạng bột không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR (Hình I.15.1, phần phụ lục) của hợp chất **CF7** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu như: sáu nhóm methyl tại δ_H 0,72 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,93 (3H, s), 0,97 (3H, s), 1,05 (3H, s) và 1,23 (3H, s); một proton nối đôi tại δ_H 5,27 (1H, t, *J* = 3,0 Hz); ba proton methine tại δ_H 1,30 (1H, m), 1,64 (1H, m) và 2,88 (1H, m); hai proton oxymethine tại δ_H 3,37 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) và 3,72 (1H, ddd, *J* = 10,8, 9,0, 4,8 Hz); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,29 (1H, d, *J* = 11,4 Hz) và 3,53 (1H, d, *J* = 11,4 Hz); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_H 0,90-2,04 ppm (Bảng 4.15). Trên phổ ^{13}C NMR (Hình I.15.2, phần phụ lục) của hợp chất **CF7** xuất hiện 30 tín hiệu carbon của một triterpenoid pentacyclic. Trong số 30 tín hiệu carbon này xuất hiện hai tín hiệu carbon của một liên kết đôi tại C-12 (δ_C



Hình 4.92. Cấu trúc hóa học của **CF7**

123,4)/C-13 (δ_C 145,4), một tín hiệu carbon của một nhóm carbonyl tại δ_C 182,0 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 69,7 (C-2) và 78,3 (C-3), và một tín hiệu carbon của nhóm methylene nối với oxy tại δ_C 64,0 (C-23). Số liệu phổ NMR của hợp chất **CF7** tương tự số liệu phổ NMR phần aglycone của hợp chất **CL5**, ngoại trừ không có nhóm đường nào nối với C-3 và C-28 (Bảng 4.5 và 4.15). Từ phân tích nêu trên, kết hợp so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **CL7** với dữ liệu phổ NMR đã công bố của hợp chất arjunolic acid [119], cho thấy hoàn toàn trùng khớp. Do đó, cấu trúc hóa học của **CF7** được xác định là arjunolic acid.

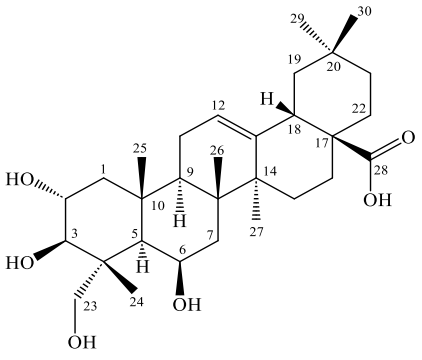
Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của **CF7** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)	C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)
1	47,5	47,3	0,88 (br d, 10,8) 2,04 (td, 10,8, 4,8)	16	24,5	24,6	1,70 (m)/2,03 (m)
2	69,8	69,7	3,72 (ddd, 10,8, 9,0, 4,8)	17	47,1	47,3	-
3	78,2	78,3	3,37 (d, 9,0)	18	43,0	42,8	2,88 (dd, 13,8, 4,2)
4	44,3	44,1	-	19	44,5	47,7	1,74 (m)/1,20 (m)
5	48,5	47,9	1,30 (m)	20	31,5	31,6	-
6	19,2	19,1	1,40 (m)/1,50 (m)	21	34,0	34,9	1,23 (m)/1,42 (m)
7	33,6	33,4	1,39 (m)/1,64 (m)	22	33,5	33,8	1,61 (m)/1,78 (m)
8	40,7	40,6	-	23	66,3	64,0	3,53 (d, 11,4) 3,29 (d, 11,4)
9	48,3	48,2	1,64 (m)	24	14,1	15,0	0,72 (s)
10	38,9	39,0	-	25	17,6	17,5	1,05 (s)
11	24,1	24,1	1,94-1,98 (m)	26	17,8	17,8	0,84 (s)
12	123,6	123,4	5,27 (t, 3,0)	27	26,6	26,5	1,23 (s)
13	145,4	145,4	-	28	182,1	182,0	-
14	42,5	43,0	-	29	32,1	33,6	0,93 (s)
15	29,0	28,8	1,16 (m)/1,95 (td, 13,2, 3,0)	30	24,8	24,0	0,97 (s)

[a] CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của arjunolic acid [119]

*4.1.1.16. Hợp chất **CF8:** 6β-Hydroxyarjunolic acid*

Hợp chất **CF8** được phân lập dưới dạng bột không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR (I.16.1, phần phụ lục) của hợp chất **CF8** nhận thấy xuất hiện các tín hiệu như: sáu nhóm methyl tại δ_H 0,92 (3H, s), 0,96 (3H, s), 1,08 (3H, s), 1,12 (3H, s), 1,16 (3H, s) và 1,41 (3H, s); một proton nối đôi tại δ_H 5,31 (1H, t, *J* = 3,6 Hz); ba proton methine



Hình 4.93. Cấu trúc hóa học của **CF8**

tại δ_H 1,31 (1H, m), 1,73 (1H, m) và 2,91 (1H, dd, J = 13,8, 4,2); ba proton oxymethine tại δ_H 3,31 (1H, d, J = 9,6 Hz), 3,75 (1H, ddd, J = 11,4, 9,6, 4,2 Hz) và 4,40 (1H, br s); một nhóm oxymethylene tại δ_H 3,46 (1H, d, J = 11,4 Hz) và 3,60 (1H, d, J = 11,4 Hz); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_H 0,90-2,08 ppm (Bảng 4.16). Trên phổ ^{13}C NMR (I.16.2, phần phụ lục) của hợp chất **CF8** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon thuộc loại triterpenoid pentacyclic. Trong số 30 tín hiệu carbon này xuất hiện hai tín hiệu carbon của một liên kết đôi tại C-12 (δ_C 123,5)/C-13 (δ_C 145,0), một tín hiệu carbon của một nhóm carbonyl tại δ_C 181,9 (C-28), ba tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 69,7 (C-2), 78,2 (C-3) và 68,5 (C-6), và một tín hiệu carbon của nhóm oxymethylene tại δ_C 66,0 (C-23). Số liệu phổ của hợp chất **CF8** và số liệu phổ phần aglycone của hợp chất **CL5** khá tương tự nhau, ngoại trừ xuất hiện một nhóm hydroxy nối với C-6 và không có nhóm đường nào nối với C-3 và C-28 trong hợp chất **CF8** (Bảng 4.5 và 4.16). Từ phân tích nêu trên, kết hợp so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CF8** với dữ liệu phổ đã công bố của hợp chất 6β-hydroxyarjunolic acid [120], cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do đó, cấu trúc hóa học của **CF8** được xác định là 6β-hydroxyarjunolic acid.

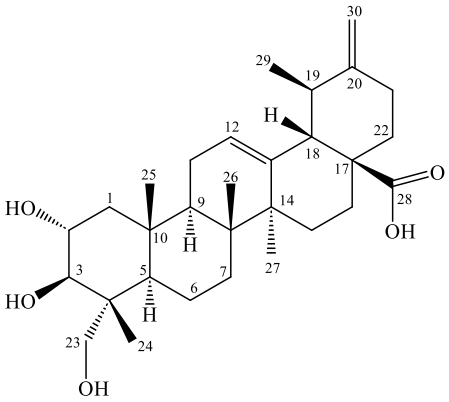
Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của **CF8** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)	**C**	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)
1	50,1	50,1	0,89 (t, 11,4) 1,91 (dd, 11,4, 4,2)	16	24,6	24,2	1,70 (br d, 13,8)/2,02 (m)
2	69,7	69,7	3,75 (ddd, 11,4, 9,6, 4,2)	17	48,5	48,5	-
3	78,2	78,2	3,31 (d, 9,6)	18	42,8	42,9	2,91 (dd, 13,8, 4,2)
4	44,8	44,7	-	19	47,3	47,4	1,72 (m)/1,14 (m)
5	48,8	48,6	1,31	20	31,6	31,6	-
6	68,5	68,5	4,40 (br s)	21	34,9	35,1	1,21 (br d, 13,8)/1,40 (m)
7	41,1	41,2	1,51 (dd, 14,4, 2,4)/1,80 (m)	22	33,9	34,0	1,62 (br d, 13,2)/1,79 (m)
8	39,8	39,8	-	23	65,9	66,0	3,60 (d, 11,4) 3,46 (d, 11,4)
9	49,3	49,6	1,73 (m)	24	15,2	15,2	1,08 (s)
10	38,6	38,6	-	25	18,9	18,9	1,41 (s)
11	24,6	24,6	1,99 (m)/2,08 (m)	26	19,1	19,0	1,12 (s)
12	123,7	123,5	5,31 (t, 3,6)	27	26,5	26,5	1,16 (s)
13	144,7	145,0	-	28	181,9	n.d.[d]	-
14	43,5	43,6	-	29	33,6	33,6	0,92 (s)
15	28,8	28,9	1,08 (m)/1,90 (m)	30	24,0	24,0	0,96 (s)

[a] CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, [d] không phát hiện, $\delta_C^{\#}$ của 6β-hydroxyarjunolic acid [120]

*4.1.1.17. Hợp chất **CF9:** Actinidic acid*

Hợp chất **CF9** được phân lập dưới dạng bột không màu. Trên phổ ^{13}C NMR (I.17.2, phần phụ lục) của hợp chất **CF9** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon thuộc khung triterpene aglycone năm vòng (Bảng 4.17). Trong số 30 tín hiệu carbon này xuất hiện bốn tín hiệu carbon của hai liên kết đôi tại C-12 (δ_C 127,0)/C-13 (δ_C 139,6) và C-20 (δ_C 154,5)/C-30 (δ_C 105,3), một tín hiệu carbon của một nhóm carbonyl tại δ_C 182,0 (C-28), hai tín hiệu carbon của nhóm oxymethine tại δ_C 69,7 (C-2) và 78,2 (C-3), và một tín hiệu carbon của nhóm oxymethylene tại δ_C 66,4 (C-23). Phân tích phổ ^{1}H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất **CF9** kết hợp so sánh số liệu phổ của hợp chất **CF4**, nhận thấy cấu trúc của hợp chất **CF9** khá tương tự cấu trúc phần aglycone của hợp chất **CF4** (Bảng 4.12 và 4.17), ngoại trừ xuất hiện nối đôi tại C-20/C-30 và hai nhóm hydroxy nối tại C-3 và C-28. Kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CF9** với dữ liệu phổ của hợp chất actinidic acid [121], cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do đó, hợp chất **CF9** được xác định là actinidic acid.



Hình 4.94. Cấu trúc hóa học của **CF9**

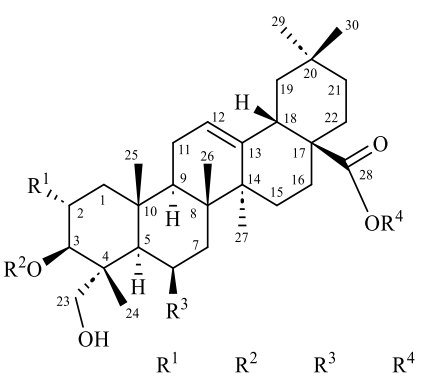
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của **CF9** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)	C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)
1	48,1	48,0	0,92 (dd, 12,0, 9,6)/1,98*	16	25,6	25,3	1,78 (m)/2,26 (d, 4,8)
2	69,8	69,7	3,72 (ddd, 9,6, 9,6, 4,8)	17	49,7	48,6	-
3	78,3	78,2	3,39 (d, 9,6)	18	56,9	56,7	2,29 (d, 11,4)
4	44,2	44,1	-	19	39,1	38,5	2,42 (m)
5	48,3	48,2	1,32*	20	155,0	154,5	-
6	19,2	19,1	1,41-1,49 (m)	21	33,7	33,3	2,21/2,35
7	33,6	33,6	1,33 (m)/1,68 (m)	22	38,8	40,4	1,64 (dd, 13,2, 4,8)/1,85 (m)
8	40,7	40,8	-	23	66,5	66,4	3,29 (d, 11,4)/3,53 (d, 11,4)
9	49,4	48,9	1,69 (m)	24	14,0	13,9	0,73 (s)
10	40,8	39,0	-	25	17,8	17,7	1,07 (s)
11	24,6	24,5	1,97-2,02 (m)	26	18,0	17,8	0,87 (s)
12	126,7	127,0	5,30 (t, 3,6)	27	24,1	24,1	1,21 (s)
13	140,0	139,6	-	28	182,1	181,0	-
14	43,6	43,5	-	29	16,9	16,8	1,03 (d, 6,6)
15	29,4	29,2	1,18 (m)/1,95 (m)	30	105,0	105,3	4,65 (br, s)/4,70 (br, s)

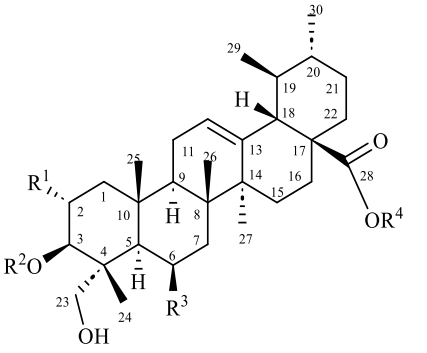
[a] CD_3OD, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của actinidic acid [121]

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

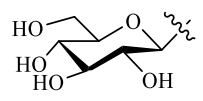
Bằng các phương pháp phổ hiện đại như phổ khối lượng phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều, kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ của các hợp chất tương ứng được công bố, từ loài *C. buchananii* đã phân lập và xác định được cấu trúc của 17 hợp chất, bao gồm:



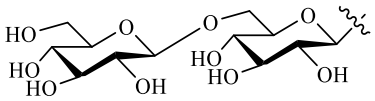
	R^1	R^2	R^3	R^4
CL1	H	S2	OH	S4
CL2	H	S3	OH	S4
CL3	H	S3	OH	S5
CL4	H	S3	H	S4
CL5	OH	S1	H	S4
CF1	H	H	OH	S4
CF2	H	S1	OH	S4
CF7	OH	H	H	H
CF8	OH	H	OH	H



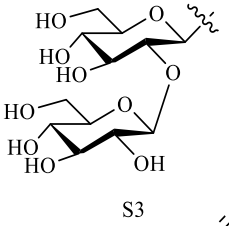
	R^1	R^2	R^3	R^4
CL6	H	S3	OH	S4
CL7	H	S1	OH	S4
CL8	OH	S1	H	S4
CF3	H	S2	OH	S4
CF4	OH	S3	H	S4
CF5	OH	H	H	H



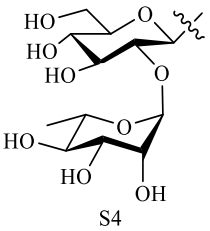
S1



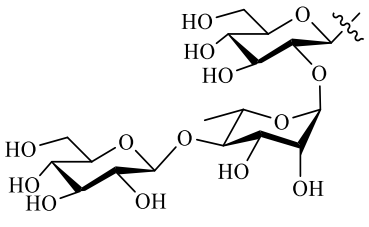
S2



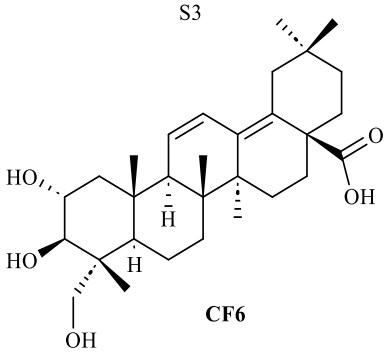
S3



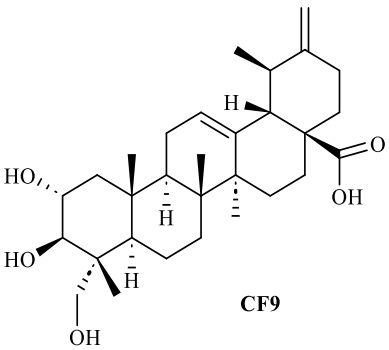
S4



S5



CF6



CF9

Hình 4.95. Tổng hợp các hợp chất phân lập được từ loài *C. buchananii*

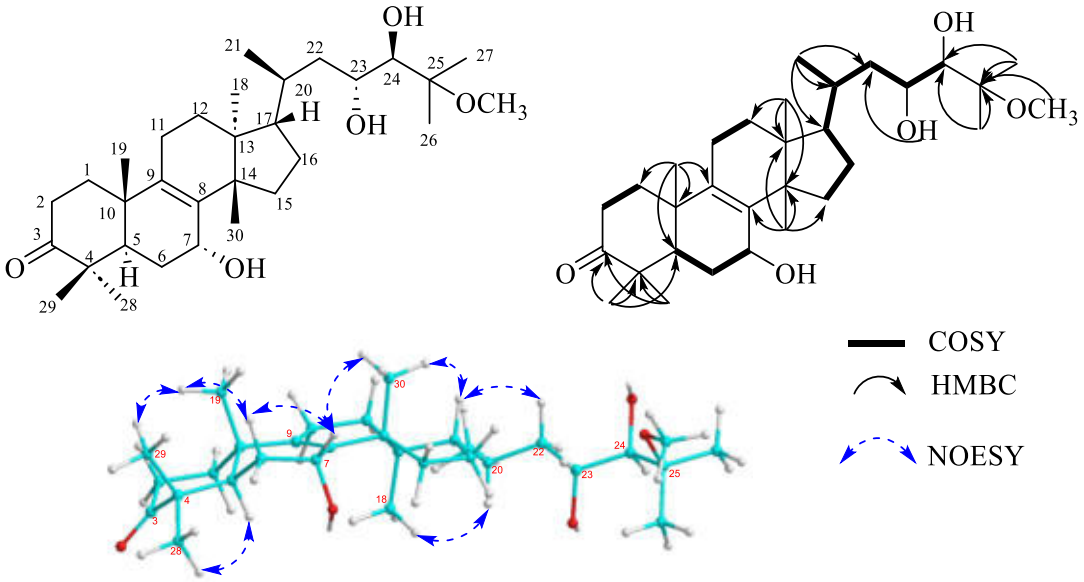
8 hợp chất (**CL1**-**CL8**) được phân lập từ bộ phận lá: trong đó, **7 hợp chất mới** được đặt tên là: cryptobuchanoside A-G (**CL1**-**CL7**), và một hợp chất đã biết có tên là 3-*O*-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CL8**).

9 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*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*β*- D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF4**); và 5 hợp chất đã biết có tên là: asiatic acid (**CF5**), 2*α*,3*β*,23-trihydroxyoleana-11,13(18)-dien-28-oic acid (**CF6**), arjunolic acid (**CF7**), 6*β*-hydroxyarjunolic acid (**CF8**) và actinidic acid (**CF9**).

Cấu trúc hóa học của tám hợp chất **CL1-CL8** phân lập từ lá và bốn hợp chất **CF1-CF4** phân lập từ quả của loài *C. buchananii* đều thuộc nhóm pentacyclic triterpene glycoside và các hợp chất **CF5-CF9** phân lập từ quả có cấu trúc hóa học thuộc nhóm pentacyclic triterpenoid. Điểm chung của các cấu trúc này chủ yếu là có nhóm đường/hydroxy tại C-3, nối đôi tại C-12/C-13, nhóm hydroxy tại C-23 và nhóm ester tại C-28. Sự khác nhau về cấu trúc của các hợp chất này được tạo thành dựa trên sự thay đổi cấu trúc nhóm đường tại C-3, quá trình oxy hóa tại C-2 và C-6 lần lượt tạo thêm nhóm 2-OH và 6-OH tương ứng. Mười bảy hợp chất **CL1-CL8** và **CF1-CF4** đều là các hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Cryptolepis*. Thành phần hóa học của lá và quả cây cùng có khung pentacyclic triterpene nhưng khác nhau ở các nhóm thế. Điểm chung nữa về cấu trúc hóa học là thành phần cấu tạo phần đường chỉ có hai loại là glucose và rhmanose.

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

*4.1.2.1. Hợp chất **AT1:** Ailantriphysa A (hợp chất mới).*

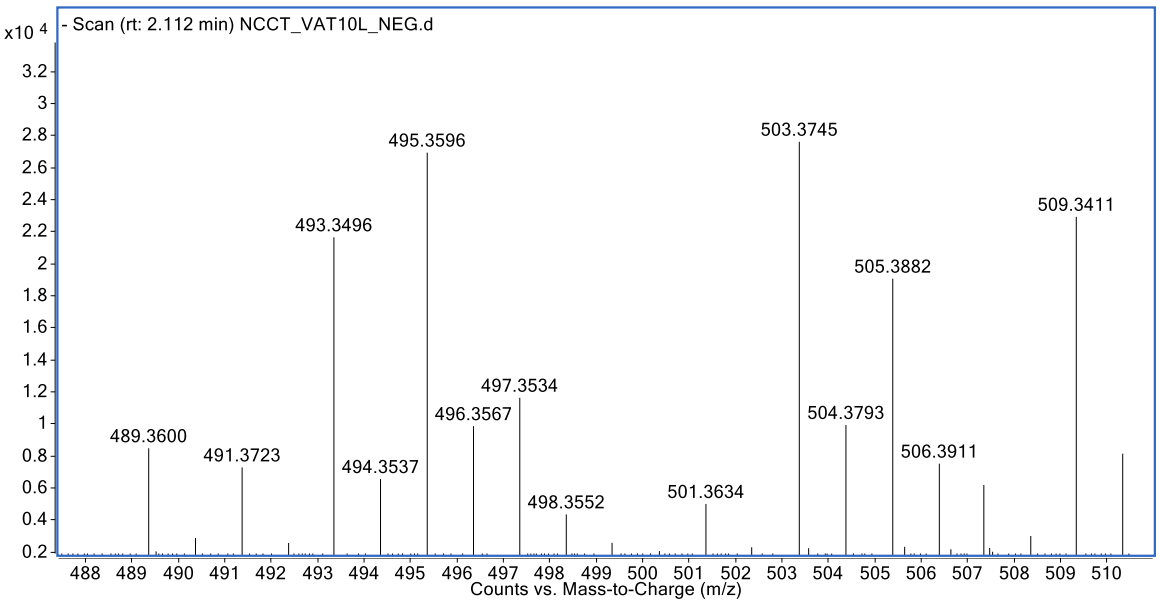


Hình 4.96. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT1**

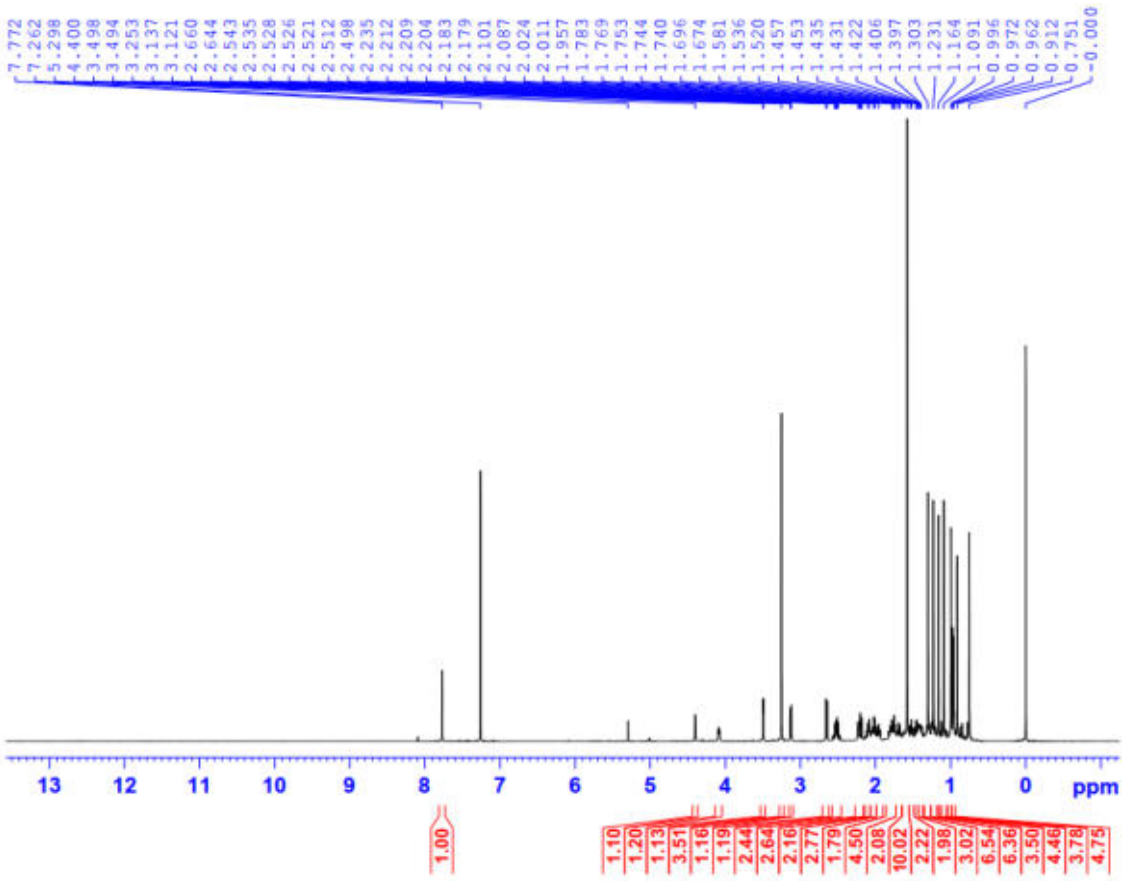
Hợp chất **AT1** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Trên phổ hồng ngoại IR (Hình II.1.1, phần phụ lục) của hợp chất này xuất hiện bước sóng đặc trưng cho nhóm chức hydroxy (OH), carbonyl (C = O), liên kết đôi (C = C) và liên kết ether (C-O-C) lần lượt tại 3309, 1730, 1469 và 1062 cm^{-1}. Phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của **AT1** nhận thấy xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 503,3745 $[M-H]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{51}O_5]^-$: 503,3742 (Δ = +0.6 ppm), cho phép xác định công thức phân tử của **AT1** là $C_{31}H_{52}O_5$ (M = 504) với giá trị độ bất bão hòa là 6.

Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC của hợp chất **AT1** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_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 δ_H 0,97 (3H, d, J = 6,0 Hz, H-21); ba proton methine tại δ_H 1,38-1,42 (1H, m, H-20), 1,52 (1H, d, J = 9,0 Hz, H-17) và 2,19 (1H, m, H-5); ba proton oxymethine tại δ_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 δ_H 3,25 (3H, s, O-CH_3); tín hiệu proton của hai nhóm hydroxy tại δ_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 δ_H 1,25-2,5 ppm (Bảng 4.18). Phân tích phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AT1** cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 31 carbon. Trong đó, một tín hiệu carbon thuộc nhóm methoxy (δ_C 49,3) và 30 carbon còn lại thuộc bộ khung triterpen tirucallane, gợi ý lớp hợp chất điển hình được phân lập từ chi *Ailanthus* [57, 122, 123]. Các tín hiệu carbon thuộc khung triterpen tirucallane gồm một carbon ketone tại δ_C 217,7 (C-3); 2 carbon của một liên kết đôi dạng tetrasubstituted (bốn nhóm thế liên kết với 2 carbon của liên kết đôi không phải là hydro) tại δ_C 131,3 (C-8)/143,8 (C-9); 3 carbon methine tại δ_C 34,2 (C-20), 44,3 (C-5) và 51,1 (C-23); 3 carbon oxymethine tại δ_C 79,3 (C-7), 68,8 (C-23) và 76,6 (C-24); 1 carbon bậc bốn có liên kết nhóm methoxy tại δ_C 79,8 (C-25); 8 carbon methyl tại δ_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); 8 carbon methylene tại δ_C 22,1 (C-11), 24,3 (C-6), 28,4 (C-16), 29,6 (C-15), 30,8 (C-12), 34,3 (C-2), 34,8 (C-1) và 40,2 (C-22); và 4 carbon bậc bốn tại δ_C 46,6 (C-4), 38,0 (C-10), 44,1 (C-13) và 49,9 (C-14), đã được xác định tương tự như các công bố trước đây [124, 125]. Các nhóm ketone tại C-3, liên kết đôi tại C-8/C-9, ba nhóm hydroxy tại C-7, C-23 và C-24 và nhóm methoxy tại C-25 được xác định thêm bằng các tương tác trên phổ HSQC, COSY và HMBC. Dữ liệu phổ NMR của bốn vòng (A, B, C và D) của hợp chất **AT1** (Bảng 4.18) tương tự như của hợp chất dymacrin K [125], cho phép xác định các nhóm

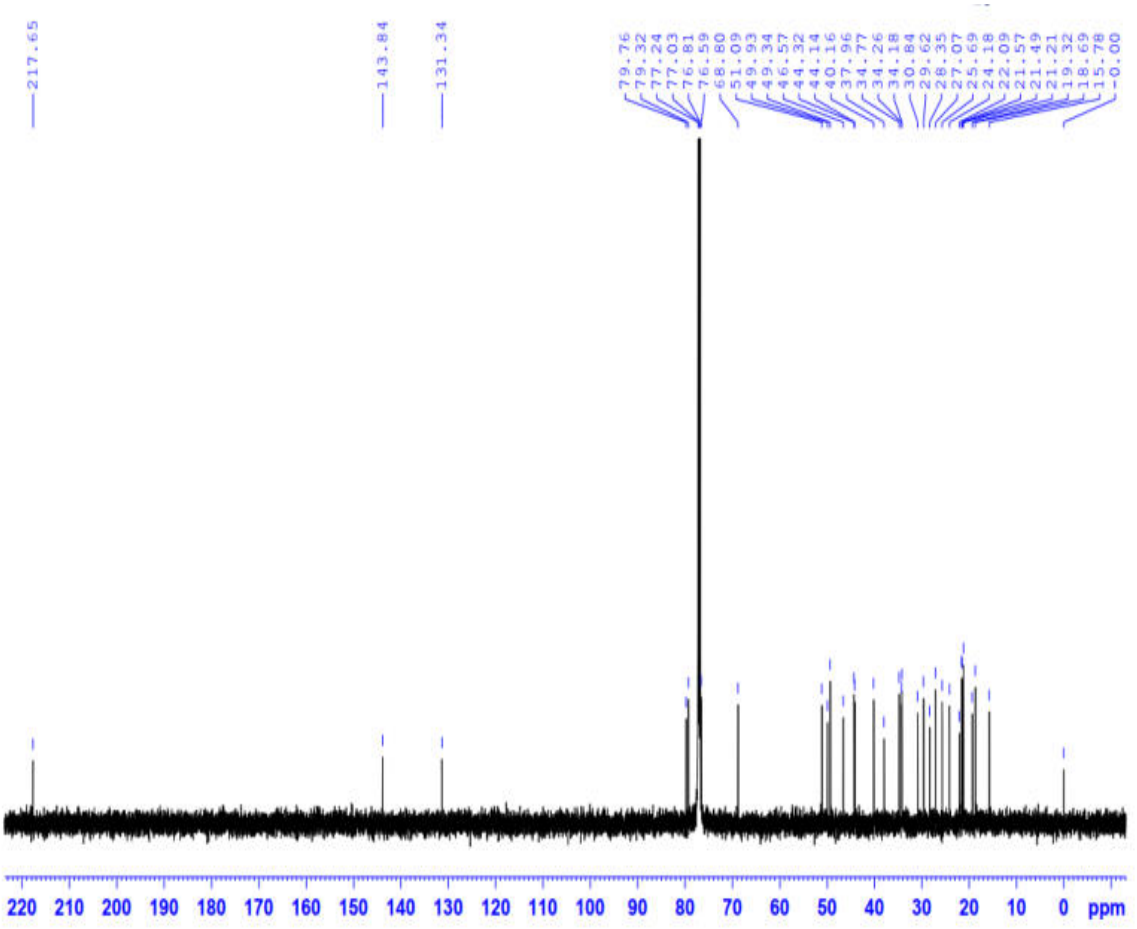
ketone tại vị trí C-3, liên kết đôi tại vị trí C-8/C-9 và nhóm hydroxy liên kết với carbon C-7. Trên phổ HMBC của hợp chất **AT1** nhận thấy các tương tác từ H_3-28/H_3-29 đến C-3/C-4/C-5, từ H_3-18 đến C-12/C-13/C-14, từ H_3-19 đến C-1/C-5/C-9/C-10, từ H_3-21 đến C-17/C-20/C-22, từ H_3-30 đến C-8/C-13/C-14/C-15, từ H_3-26/H_3-27 đến C-24/C-25, từ proton methoxy đến C-25, cùng với các tương tác COSY của H-5/H-6/H-7, H_2-15/H_2-16/H-17/H-20 và H_3-21/H-20/H_2-22/H-23/H-24, 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 δ_H 4,40) với hằng số $^3J_{6,7} \sim 0$ Hz gợi ý proton này định hướng *β/equatorial* [125]. Khẳng định này được xác định thêm bởi tương tác NOESY giữa H-7 và H_3-30. Hơn nữa, phổ NOESY còn cho thấy tương tác của H-5/H_3-28 và H-17/H_3-30, cho phép xác định proton H-5 định hướng *α,* trong khi đó proton H-17 định hướng *β*. Dữ liệu phổ NMR của C-23 (δ_C 68,8) và C-24 (δ_C 76,6) của **AT1** hoàn toàn khớp với dữ liệu của hợp chất hispidol A 25-methyl ether có vị trí [23*α*-OH (tại $\delta_{C\text{-}23}$ 68,21), 24*β*-OH (tại $\delta_{C\text{-}24}$ 76,65)] và hispidol B 25-methyl ether có vị trí [23*α*-OH ($\delta_{C\text{-}23}$ 68,13), 24*β*-OH ($\delta_{C\text{-}24}$ 76,75)] [122]. Ngoài ra, proton của nhóm 24-OH xuất hiện dưới dạng doublet (J = 9,6 Hz) tại δ_H 2,65 do tương tác ghép nối của H-24 (tại δ_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*) [126], tương tự như cấu hình của piscidinol A ($^3J_{23/24}$ = 0 Hz) và khác với 24-*epi*-piscidinol A (23*α*-OH, 24*α*-OH) có giá trị hằng số tương tác $^3J_{23/24}$ = 8,0 Hz [127]. Từ những phân tích trên, có thể xác định được cấu trúc hóa học của hợp chất **AT1** là 25-methoxy-7*α*,23*α*,24*β*-trihydroxytirucallane-8-en-3-one. Qua tra cứu cho thấy **AT1** là một hợp chất mới và được đặt tên là ailantriphysa A.



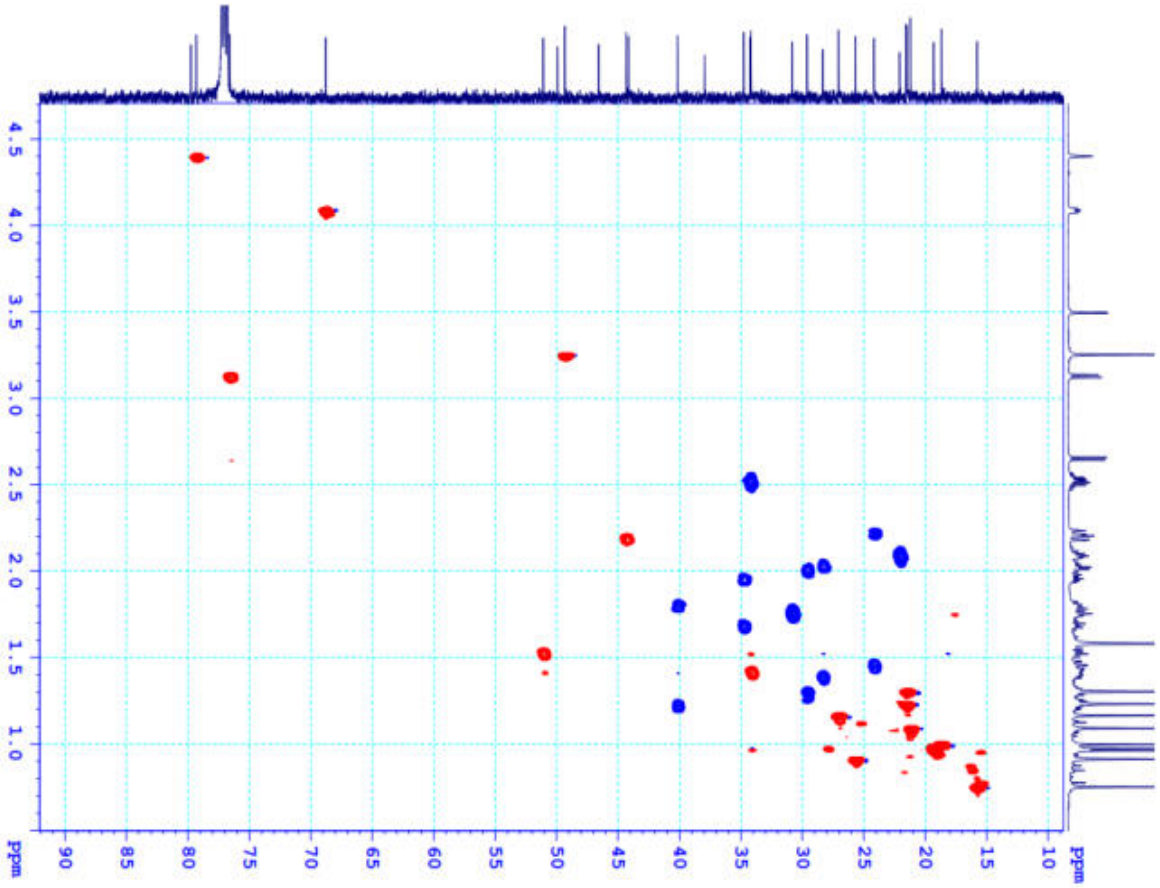
Hình 4.97. Phổ HR-ESI-MS của **AT1**



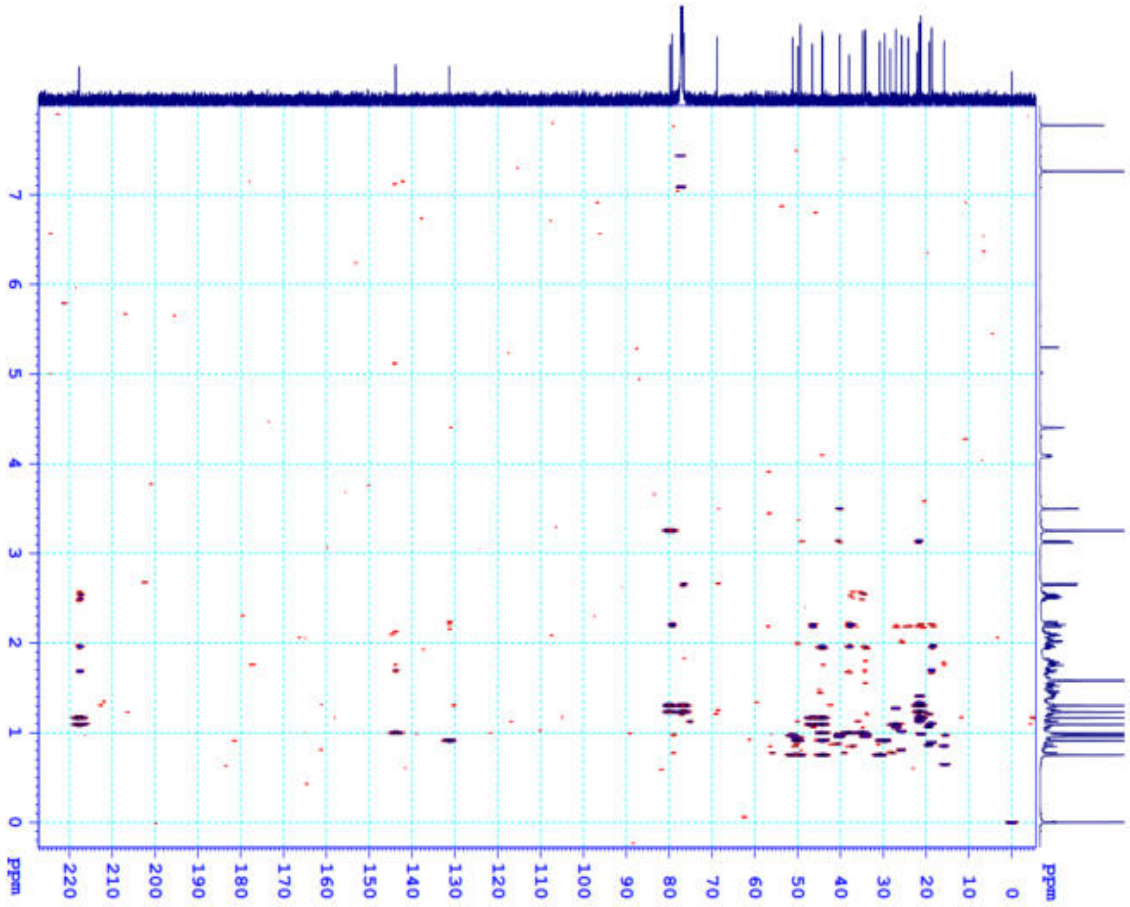
Hình 4.98. Phổ ^{1}H NMR của **AT1**



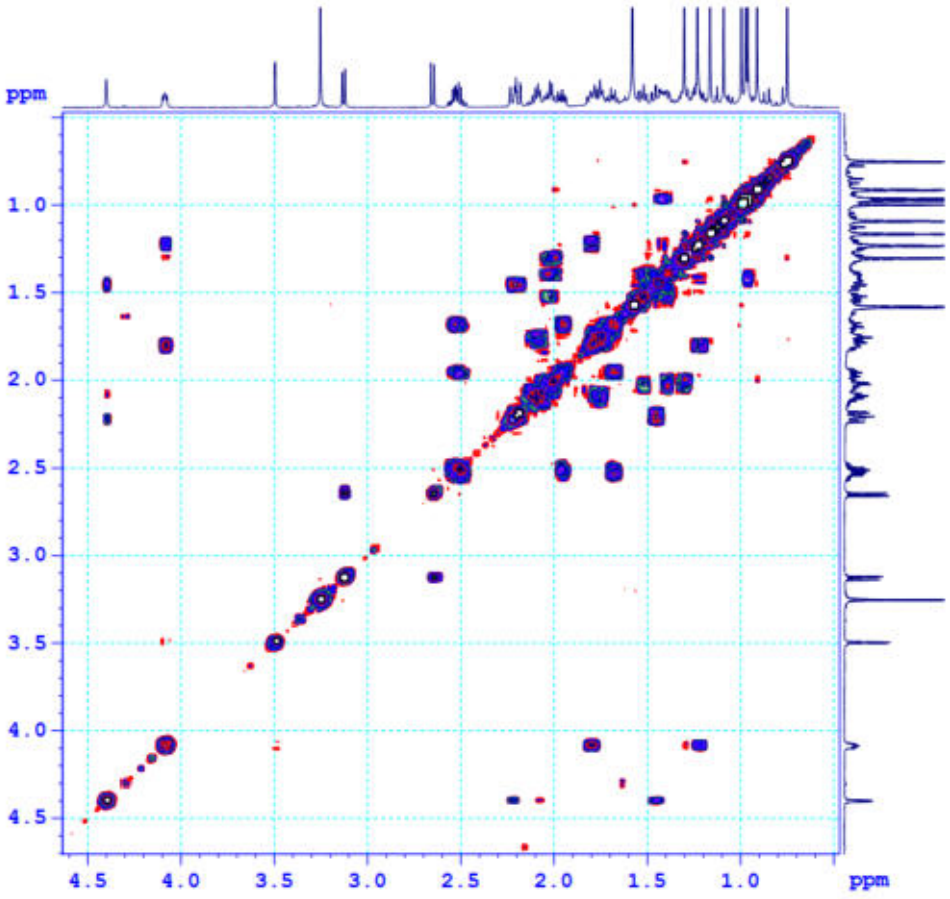
Hình 4.99. Phổ ^{13}C NMR của **AT1**



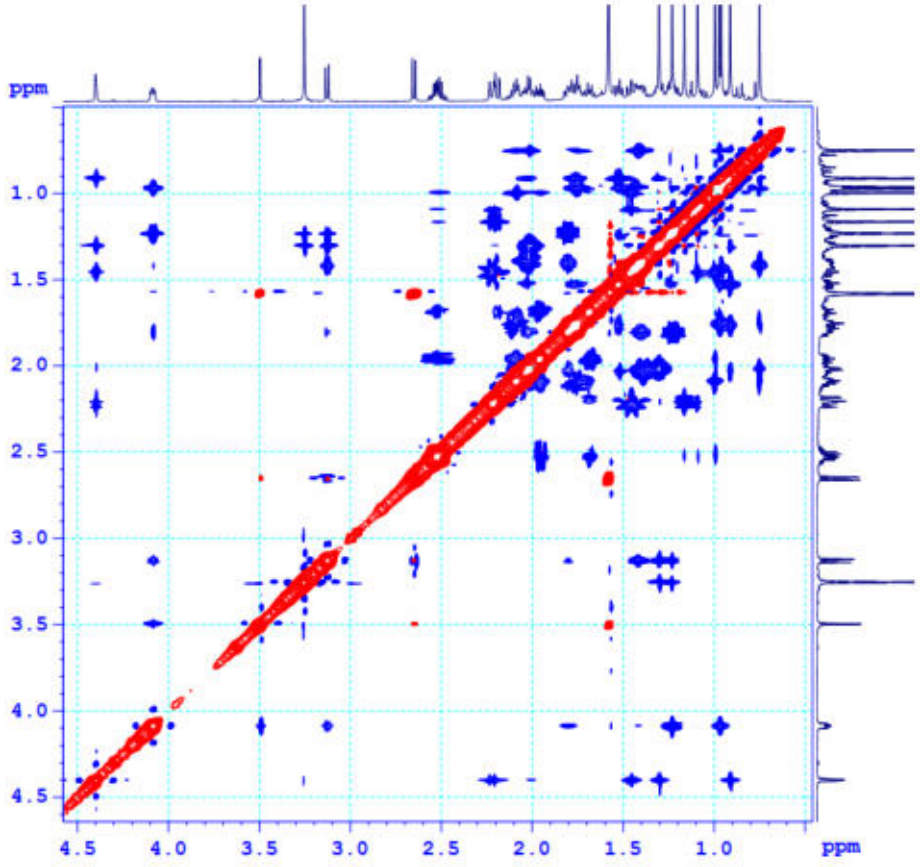
Hình 4.100. Phổ HSQC của **AT1**



Hình 4.101. Phổ HMBC của **AT1**



Hình 4.102. Phổ COSY của **AT1**



Hình 4.103. Phổ NOESY của **AT1**

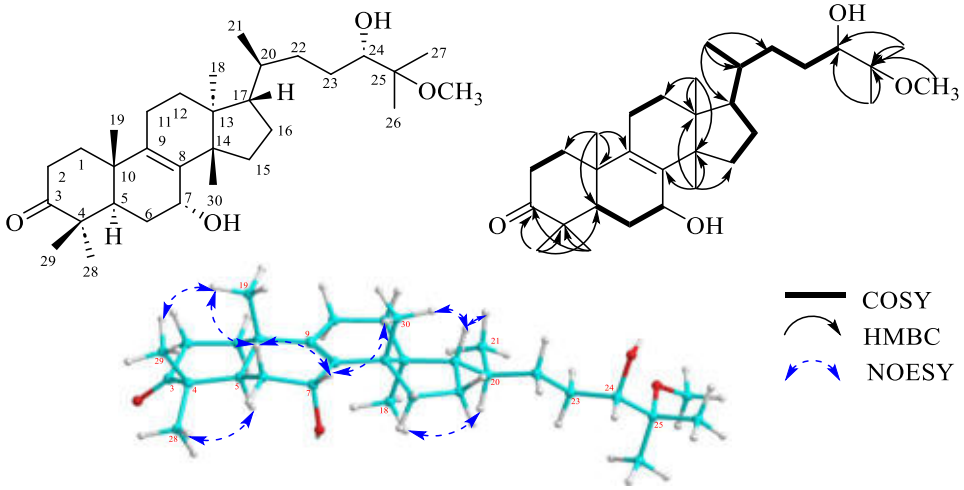
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của **AT1**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = 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 (m)	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	-	O-CH_3	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)			

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz

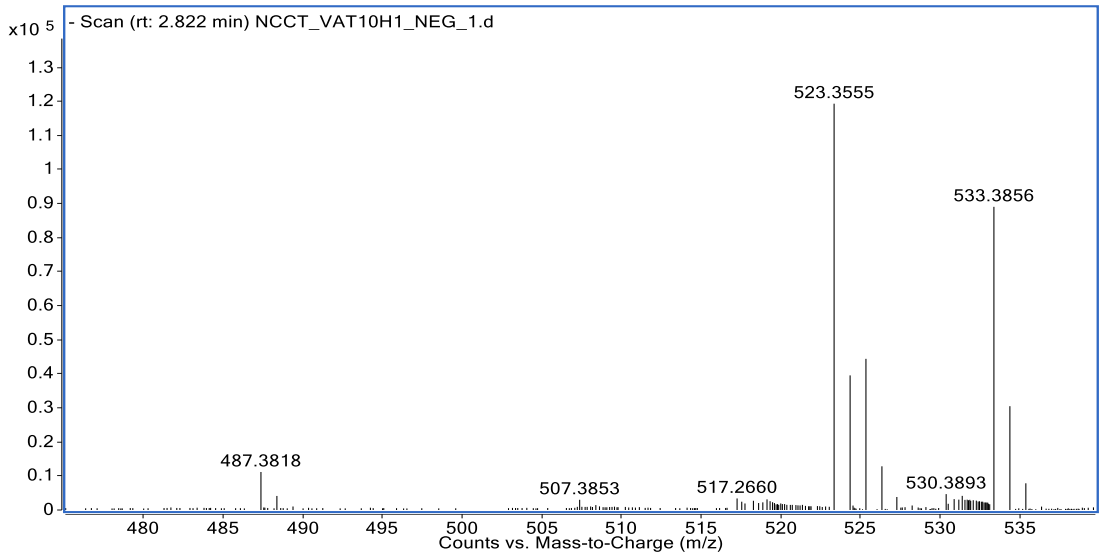
*4.1.2.2. Hợp chất **AT2:** Ailantriphysa B (hợp chất mới)*

Hợp chất **AT2** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Công thức phân tử của hợp chất **AT2** là $C_{31}H_{52}O_4$ (M = 488) với giá trị độ bất bão hòa bằng 6, được xác định bởi pic ion giả phân tử trên tại *m/z* 487,3818 $[M-H]^-$ trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{51}O_4]^-$: 487,3793, sai số Δ = +5.1 ppm. Phân tích phổ ^{1}H NMR, ^{13}C NMR và HSQC của hợp chất **AT2** kết hợp so sánh với số liệu phổ của hợp chất **AT1**, nhận thấy dữ liệu phổ NMR của hai hợp chất này tương tự nhau, xác định hợp chất **AT2** cũng là một triterpen tirucallane (Bảng 4.18

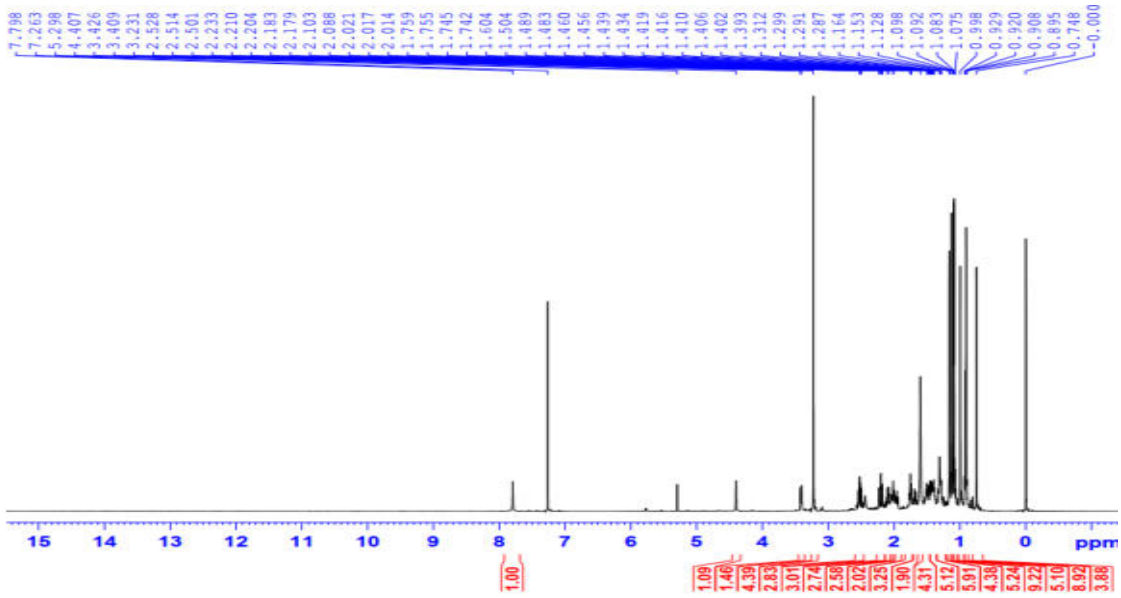


Hình 4.104. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT2**

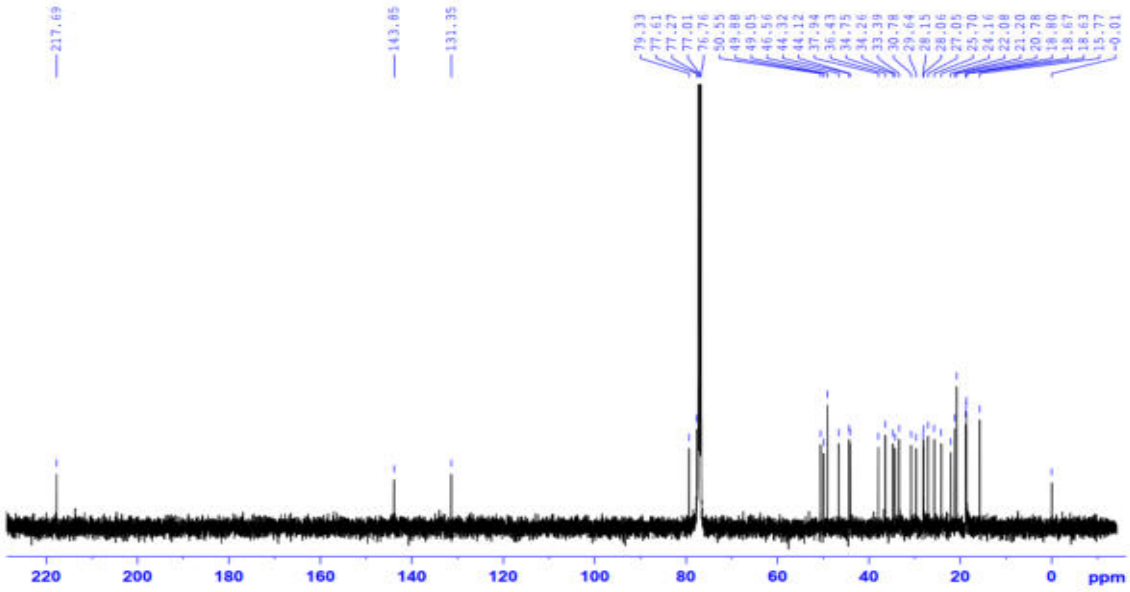
và 4.19). Tuy nhiên, hợp chất **AT2** có khác biệt với hợp chất **AT1**, cụ thể tại vị trí C-23 nhóm oxymethine (δ_C 68,8) ở **AT1** được thay thế bằng nhóm methylene (δ_C 28,1) ở **AT2.** Điều này được khẳng định bằng các tương tác trên phổ HSQC và COSY. Trên phổ HMBC, các tương tác từ H_3-28/H_3-29 đến C-3/C-4/C-5, từ H_3-19 đến C-9, từ H_3-30 đến C-8, từ H_3-26/H_3-27 đến C-24/C-25, và từ proton methoxy đến C-25 đã được quan sát. Ngoài ra, độ dịch chuyển hóa học của carbon của các vòng A, B, C, D của **AT2** phù hợp với dymacrin K [125] và **AT1**, cho thấy nhóm ketone, hydroxyl và liên kết đôi tương ứng lần lượt ở C-3, C-7 và C-8/C-9. Nhóm hydroxyl nối với C-7 định hướng *α/axial* được gợi ý bởi tín hiệu dạng broad singlet của H-7 (δ_H 4,41) và được khẳng định bởi tương tác NOESY giữa H-7 và H_3-30. Trên phổ ^{13}C NMR của **AT2** xuất hiện tín hiệu cộng hưởng đặc trưng tại δ_C 77.0 (C-24), tương tự như của euphorfistrine A ($\delta_{C\text{-}24}$ 77,1 ppm), [hợp chất có cấu hình tương đối là (20*α*,24*β*)] và lệch 0,7 ppm so với giá trị $\delta_{C\text{-}24}$ 77,7 của cycloart-25-methoxy-3*S*,24*R*-diol [hợp chất có cấu hình tương đôi là (20*α*,24*α*), được đo trong cùng $CDCl_3$)] [128].



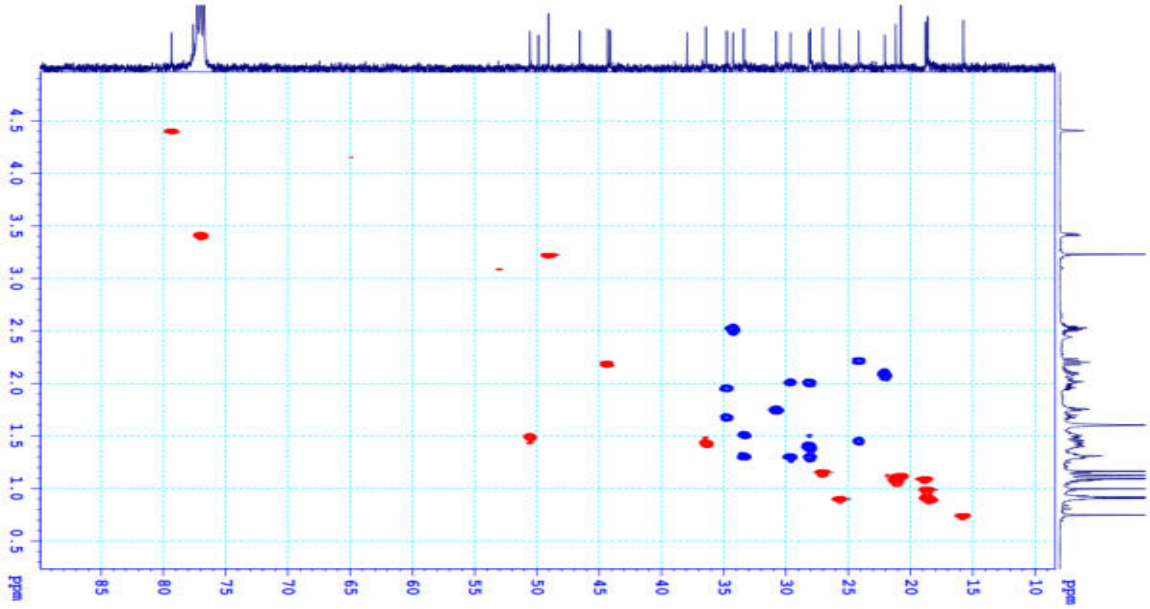
Hình 4.105. Phổ HR-ESI-MS của **AT2**



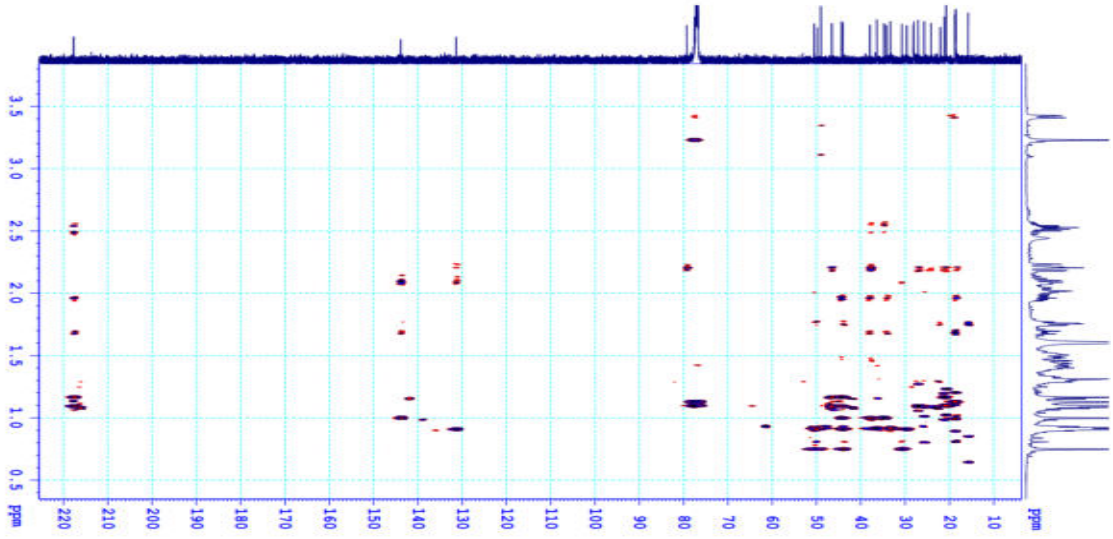
Hình 4.106. Phổ ^{1}H NMR của **AT2**



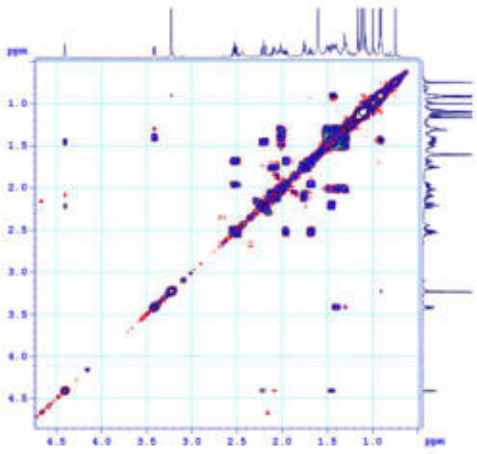
Hình 4.107. Phổ ^{13}C NMR của **AT2**



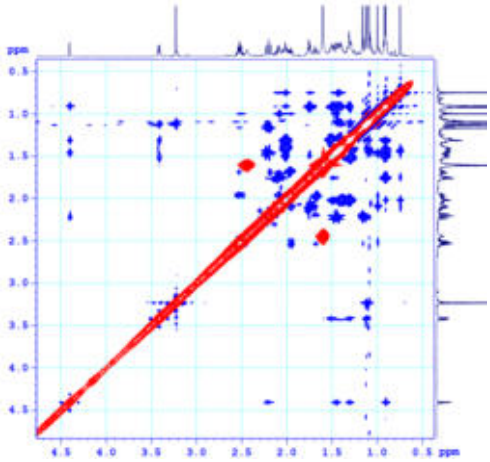
Hình 4.108. Phổ HSQC của **AT2**



Hình 4.109. Phổ HMBC của **AT2**



Hình 4.110. Phổ COSY của **AT2**



Hình 4.111. Phổ NOESY của **AT2**

Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của **AT2**

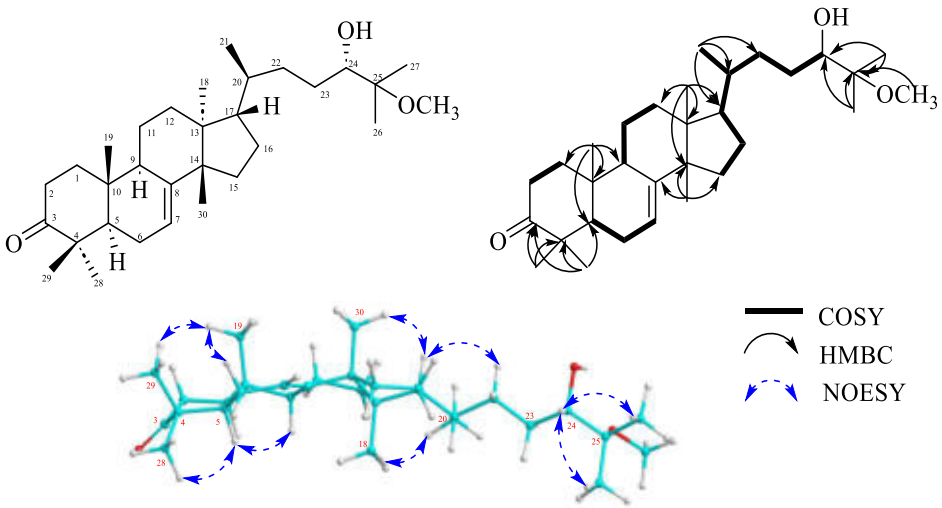
C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	34,8	1,66-1,70 (m)/1,94-1,96 (m)	17	50,6	1,50*
2	34,3	2,49-2,54 (m)	18	15,8	0,75 (s)
3	217,7	-	19	18,7	1,00 (s)
4	46,6	-	20	36,4	1,42-1,44 (m)
5	44,3	2,20 (dd, 2,4, 11,4)	21	18,6	0,92 (d, 6,0)
6	24,3	1,43-1,47 (m)/2,19-2,23 (m)	22	33,4	1,28-1,32 (m)/1,48-1,52 (m)
7	79,3	4,41 (br s)	23	28,1	1,29-1,31 (m)/1,39-1,41(m)
8	131,4	-	24	77,0	3,42 (br d, 10,2)
9	143,9	-	25	77,6	-
10	37,9	-	26	18,8	1,10 (s)
11	22,1	2,09-2,10 (m)	27	20,8	1,13 (s)
12	30,8	1,72-1,78 (m)	28	27,1	1,16 (s)
13	44,1	-	29	21,2	1,09 (s)
14	49,9	-	30	25,7	0,91 (s)
15	29,6	1,28-1,31 (m)/2,00-2,01 (m)	O-CH_3	49,1	3,23 (s)
16	28,2	1,40-1,41 (m)/2,00-2,02 (m)	24-OH		2,44 (br s)

*[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, * Tín hiệu chồng lấp*

Như vậy, cấu hình tương đối tại nhánh bên của **AT2** được xác định tương tự như của euphorfistrine A (hai nhóm 20-CH_3 và 24-OH nằm khác phía với nhau, α/β). Ở đây, do cấu hình nhóm 20-CH_3 của bộ khung tirucallane là 20*β*-CH_3, ngược với cấu hình 20*α*-CH_3 của hợp chất euphorfistrine A, nên cấu hình tương đối tại C-24 của **AT2** được xác định là *α*-OH. Từ những phân tích trên, có thể xác định được cấu trúc hóa học của hợp chất **AT2** là 25-methoxy-7*α*,24*α*-dihydroxytirucallane-8-en-3-one. Qua tra cứu cho thấy **AT2** là một hợp chất mới và được đặt tên là ailantriphysa B.

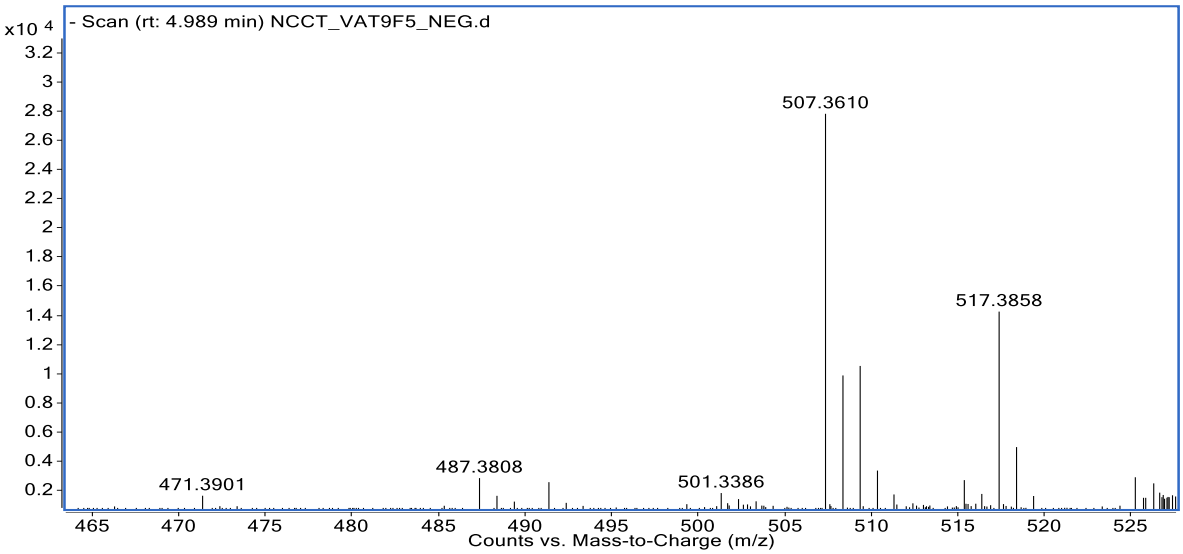
*4.1.2.3. Hợp chất **AT3:** Ailantriphysa C (hợp chất mới).*

Hợp chất **AT3** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT3** khá tương tự dữ liệu phổ của hợp chất **AT2**, ngoại trừ sự vắng mặt của nhóm 7-OH và liên kết đôi đã thay đổi từ C-8/C-9 ở hợp chất **AT2** thành C-7/C-8 ở hợp chất **AT3**, cho thấy hợp chất này là một triterpen tirucallane (Bảng 4.19

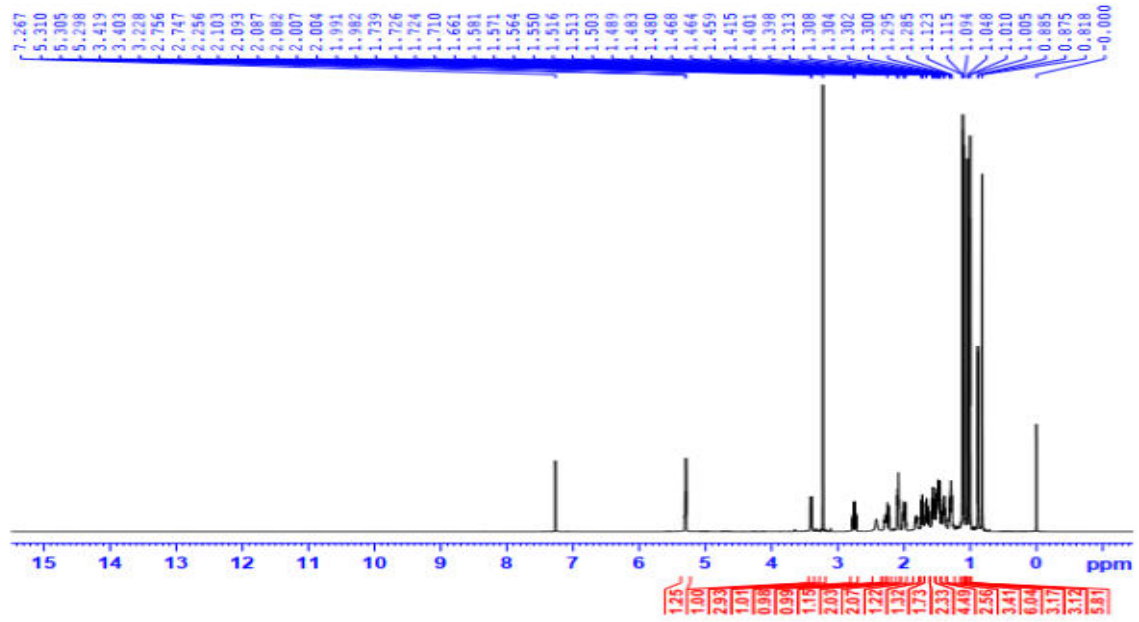


Hình 4.112. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT3**

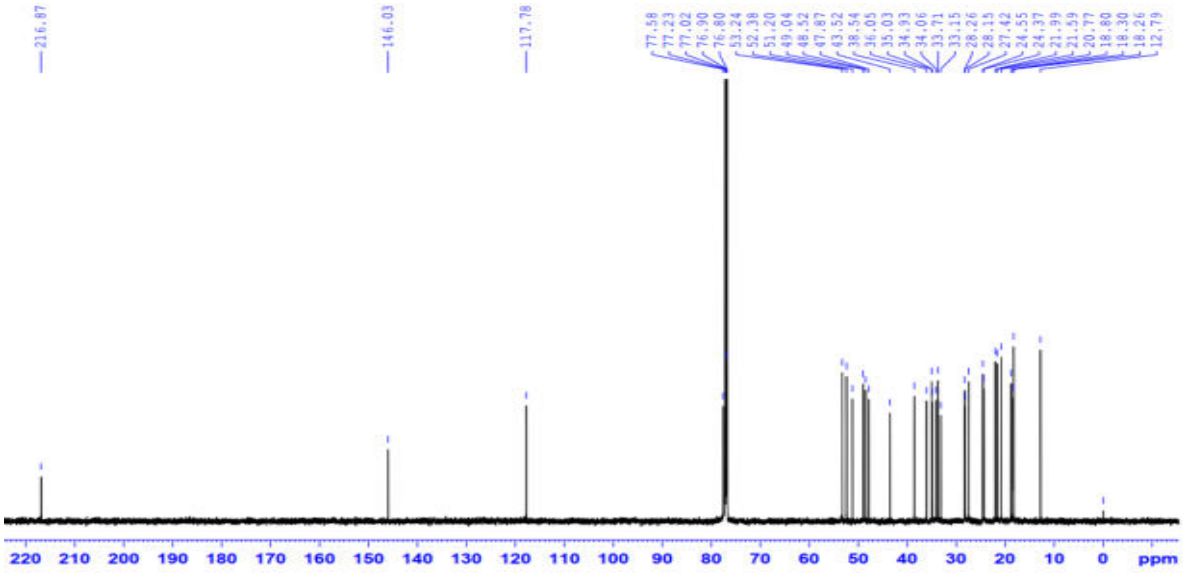
và 4.20). Điều nhận định này được chứng minh bởi sự xuất hiện của tín hiệu proton olefinic tại δ_H 5,31 (dd, J = 6,6, 3,6 Hz, H-7) và tương tác HMBC từ H_3-19 (δ_H 1,00) đến C-1 (δ_C 38,5)/C-5 (δ_C 52,4)/C-9 (δ_C 48,5)/C-10 (δ_C 35,0), từ H_3-30 (δ_H 1,01) đến C-8 (δ_C 146,0)/C-13 (δ_C 43,5)/C-14 (δ_C 51,2)/C-15 (δ_C 33,7). Ngoài ra, tương tác HMBC từ H_3-28 (δ_H 1,05)/H_3-29 (δ_H 1,12) đến C-3 (δ_C 216,9)/C-4 (δ_C 47,9)/C-5 chỉ ra nhóm ketone tại C-3; các tương tác HMBC từ H_3-26 (δ_H 1,09)/H_3-27 (δ_H 1,12) đến C-24 (δ_C 76,9)/C-25 (δ_C 77,6) và từ các proton methoxy (δ_H 3,23) đến C-25 chỉ ra nhóm hydroxyl và methoxy lần lượt nằm ở C-24 và C-25. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AT3** xuất hiện tín hiệu cộng hưởng đặc trưng tại δ_C 76,9 (C-24), tương tự như của **AT2** ($\delta_{C\text{-}24}$ 77,0 ppm), và lệch 0,8 ppm so với giá trị $\delta_{C\text{-}24}$ 77,7 của hợp chất cycloart-25-methoxy-3*S*,24*R*-diol [hợp chất có cấu hình tương đối là (20*α*,24*α*), được đo trong cùng $CDCl_3$)] [128]. Như vậy, cấu hình tương đối tại nhánh bên của hợp chất **AT3** được xác định tương tự như của **AT2**, nên cấu hình tương đối tại C-24 của **AT3** được xác định là cấu hình *α*. Như vậy, công thức phân tử dự đoán của hợp chất **AT3** sẽ phải là $C_{31}H_{52}O_3$ với giá trị độ bất bão hòa bằng 6. Điều này đã được khẳng định chính xác bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện



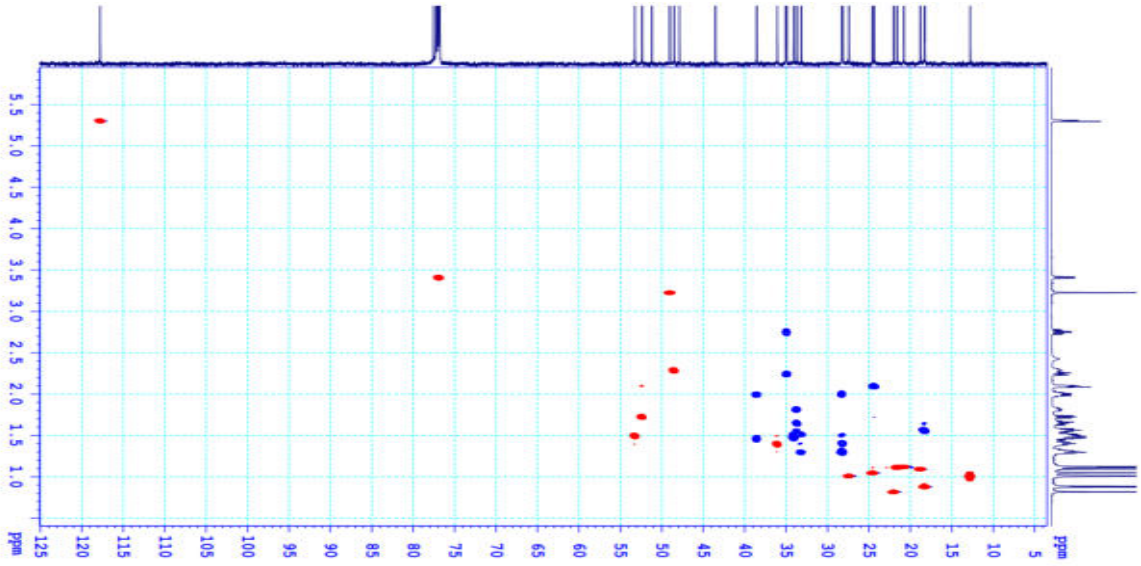
Hình 4.113. Phổ HR-ESI-MS của **AT3**



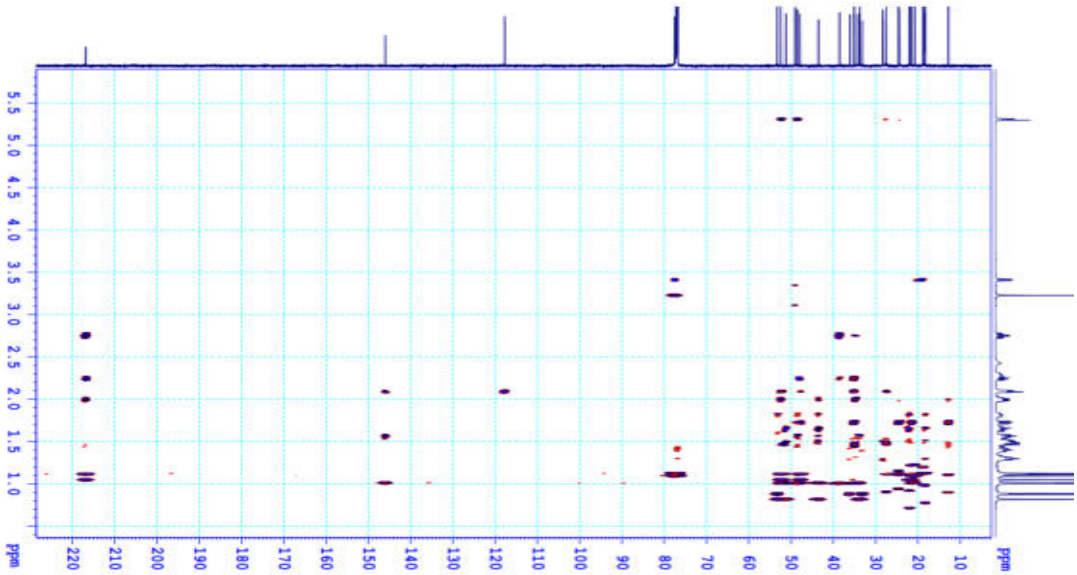
Hình 4.114. Phổ ^{1}H NMR của **AT3**



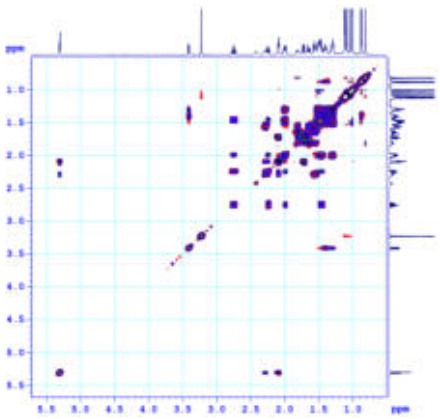
Hình 4.115. Phổ ^{13}C NMR của **AT3**



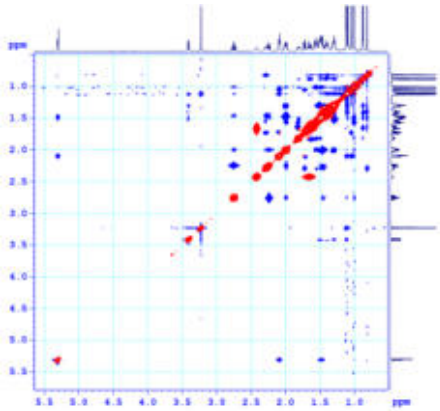
Hình 4.116. Phổ HSQC của **AT3**



Hình 4.117. Phổ HMBC của **AT3**



Hình 4.118. Phổ COSY của **AT3**



Hình 4.119. Phổ NOESY của **AT3**

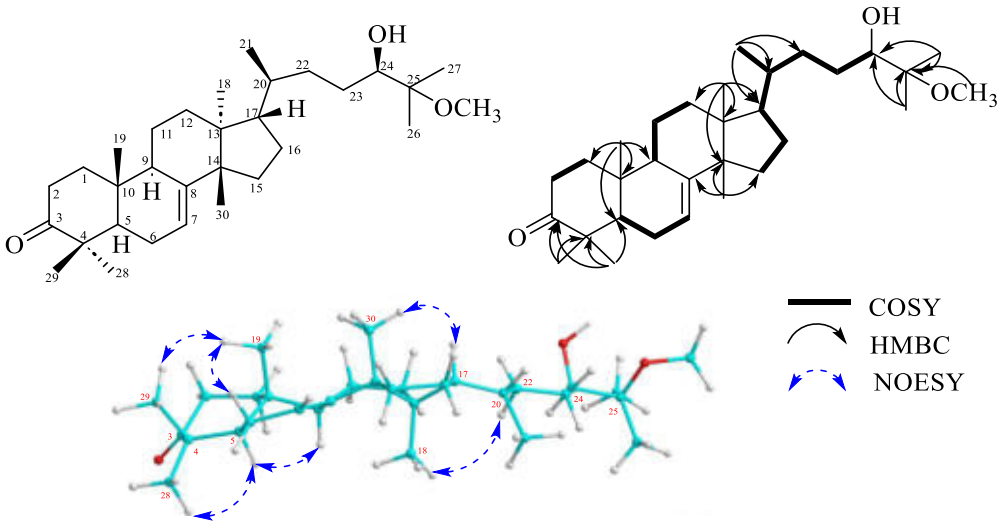
Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của **AT3**

C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	38,5	1,43-1,48 (m)/1,98-2,01 (m)	17	53,2	1,49-1,52 (m)
2	34,9	2,24 (dd, 14,4, 3,6) 2,74 (td, 14,4, 5,4)	18	22,0	0,82 (s)
3	216,9	-	19	12,8	1,00 (s)
4	47,9	-	20	36,1	1,38,1-41 (m)
5	52,4	1,73 (dd, 9,0, 7,8)	21	18,3	0,88 (d, 6,0)
6	24,4	2,10 - 2,11 (m)	22	33,2	1,27-1,30 (m)/1,50-1,53 (m)
7	117,8	5,31 (dd, 6,6, 3,6)	23	28,2	1,39-1,42 (m)/1,50-1,52 (m)
8	146,0	-	24	76,9	3,41 (br d, 7,8)
9	48,5	2,27-2,31 (m)	25	77,6	-
10	35,0	-	26	18,8	1,09 (s)
11	18,3	1,56-1,57 (m)	27	20,8	1,12 (s)
12	34,1	1,46-1,48 (m)	28	24,6	1,05 (s)
13	43,5	-	29	21,6	1,12 (s)
14	51,2	-	30	27,4	1,01 (s)
15	33,7	1,62-1,66 (m)/1,80-1,84 (m)	O-CH_3	49,0	3,23 (s)
16	28,3	1,28-1,32 (m)	24-OH		2,43 (br s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz

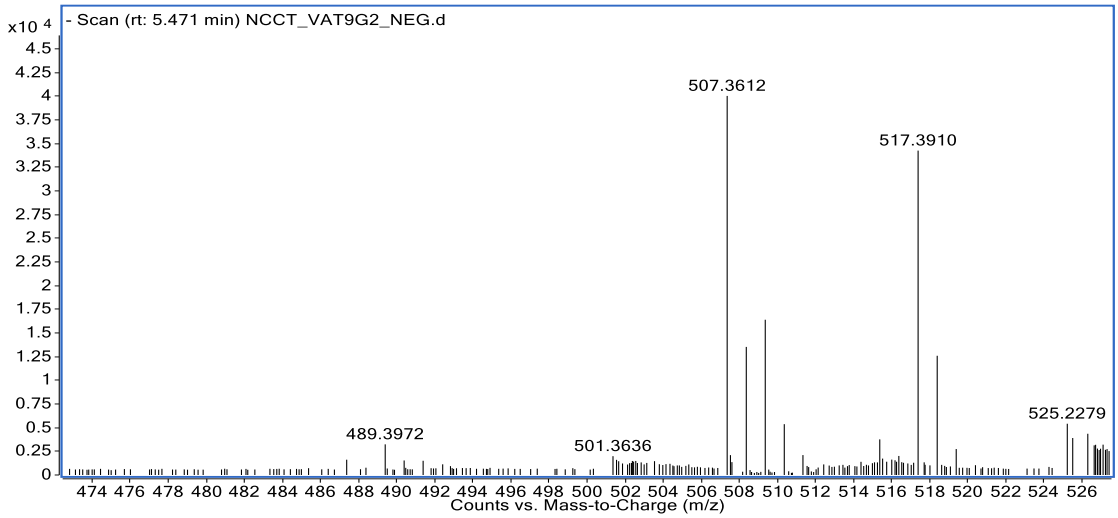
pic ion giả phân tử tại *m/z* 507,3610 $[M+^{35}Cl]^-$ hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{52}O_3{}^{35}Cl]^-$: 507,3610 ($\Delta = 0$ ppm). Từ những chứng minh trên, cho thấy hợp chất **AT3** được xác định là 25-methoxy-24*α*-hydroxytirucallane-7-en-3-one. Qua tra cứu trên Scifinder cho thấy **AT3** là một hợp chất mới và được đặt tên là ailantriphysa C.

*4.1.2.4. Hợp chất **AT4:** Ailantriphysa D (hợp chất mới).*

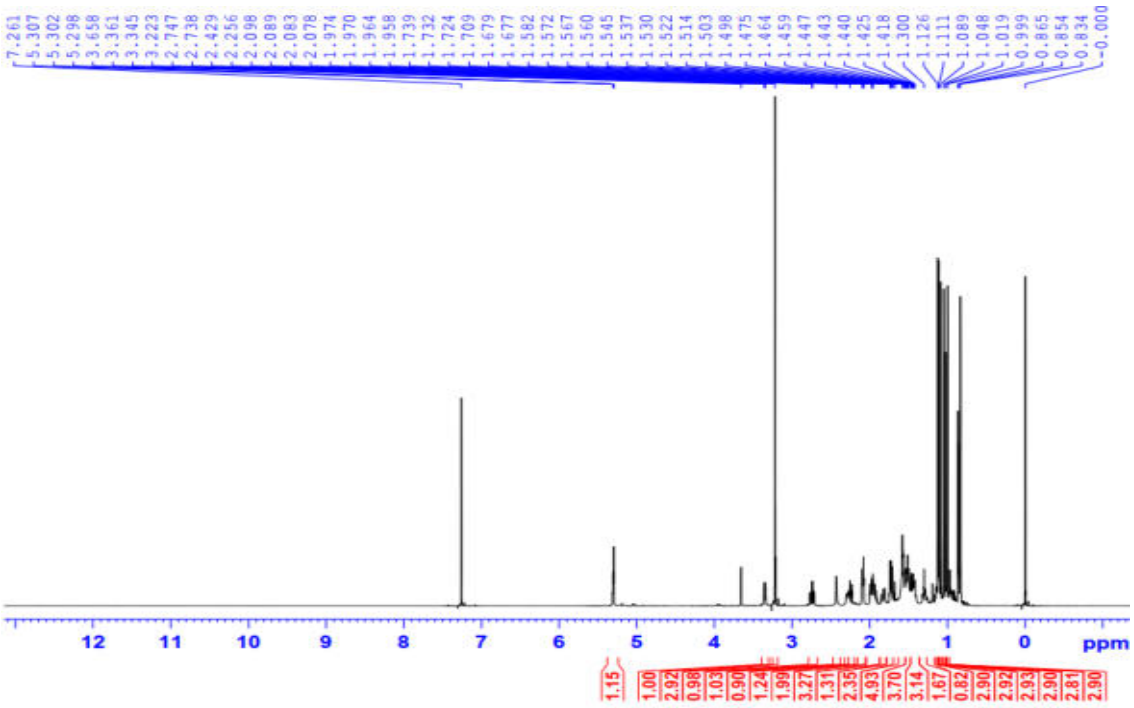


Hình 4.120. Cấu trúc hóa học, các tương tác HMBC, COSY, NOESY của **AT4**

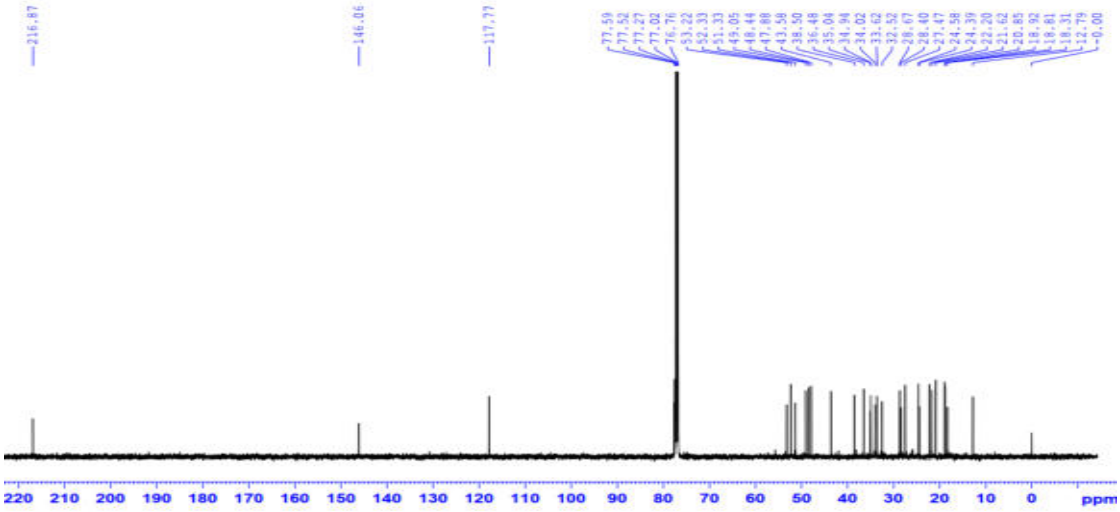
Hợp chất **AT4** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Công thức phân tử của **AT4** là $C_{31}H_{52}O_3$ (M = 472) với giá trị độ bất bão hòa là 6, được xác định bằng phân tích phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS cho thấy xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 507,3612 $[M+^{35}Cl]^-$, tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{31}H_{52}O_3{}^{35}Cl]^-$: 507,3610, sai số Δ = +0,4 ppm. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT4** tương tự với dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT3**, ngoại trừ có sự khác biệt nhỏ về độ dịch chuyển hóa học của carbon tại C-24 (Bảng 4.20 và 4.21). Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AT4** xuất hiện tín hiệu cộng hưởng đặc trưng tại δ_C 77,5 (C-24) tương tự như tín hiệu cộng hưởng của hợp chất cycloart-25-methoxy-3*S*,24*R*-diol ($\delta_{C\text{-}24}$ 77,7) (hai nhóm 20-CH_3 và 24-OH cùng phía) và lệch 0,6 ppm so với giá trị tương ứng của hợp chất



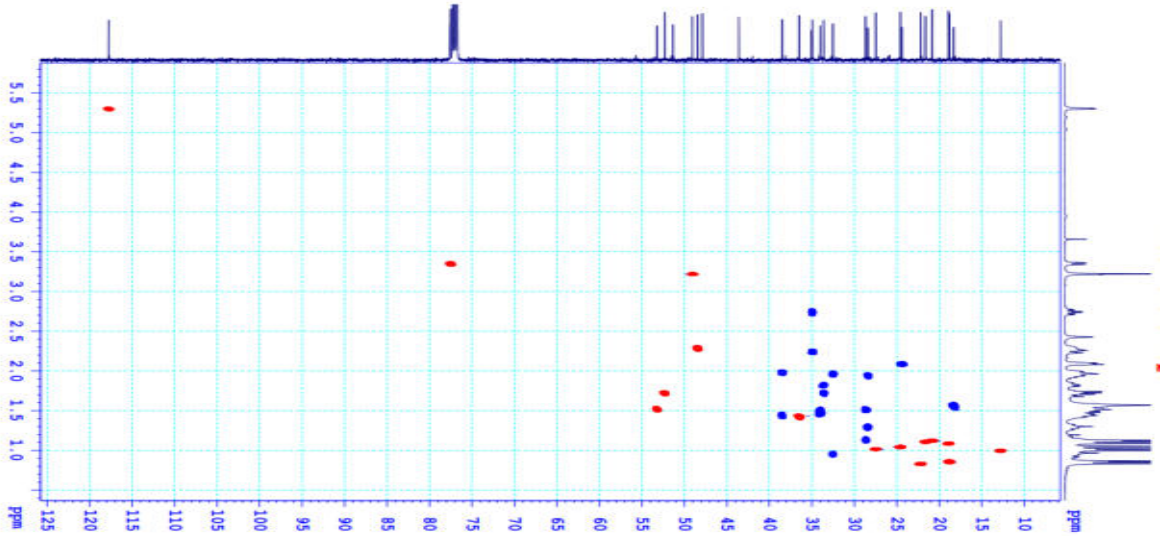
Hình 4.121. Phổ HR-ESI-MS của **AT4**



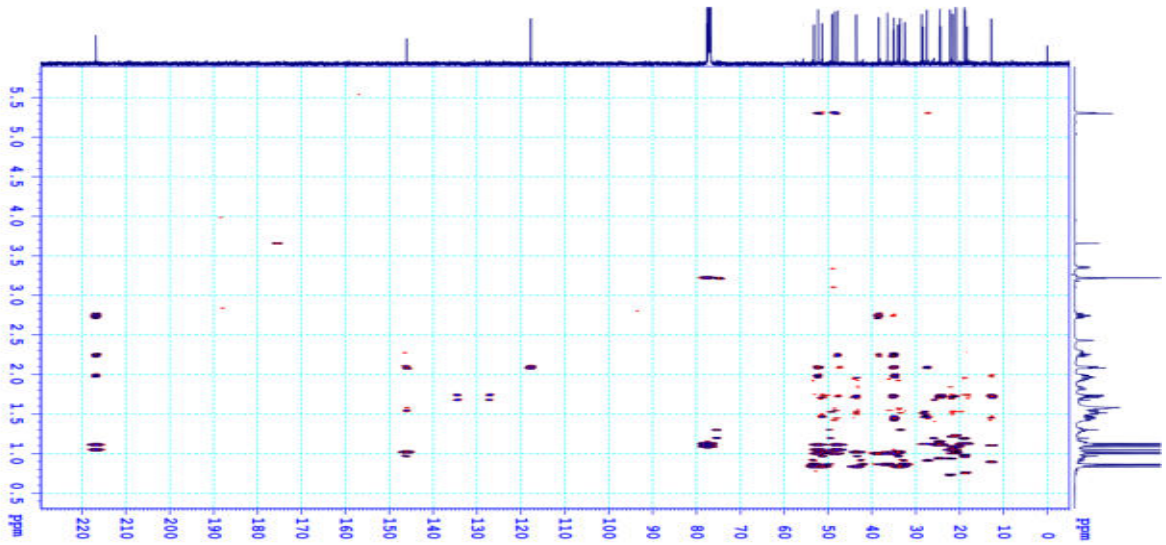
Hình 4.122. Phổ ^{1}H NMR của **AT4**



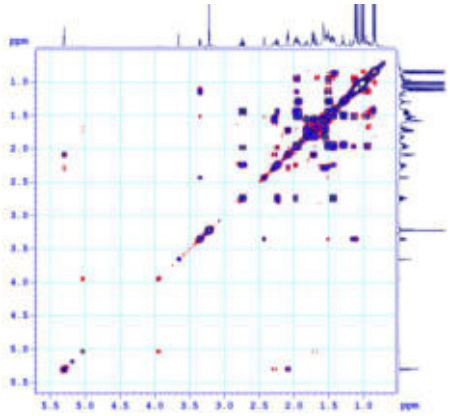
Hình 4.123. Phổ ^{13}C NMR của **AT4**



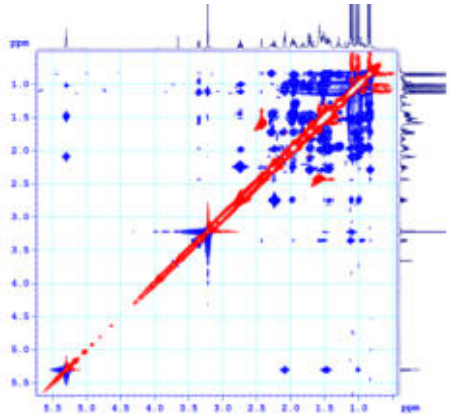
Hình 4.124. Phổ HSQC của **AT4**



Hình 4.125. Phổ HMBC của **AT4**



Hình 4.126. Phổ COSY của **AT4**



Hình 4.127. Phổ NOESY của **AT4**

Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của **AT4**

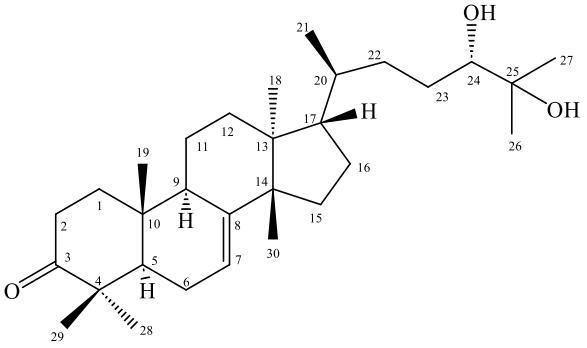
C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	38,5	1,41-1,47 (m)/1,96-1,98 (m)	17	53,2	1,49-1,52 (m)
2	34,9	2,24 (dd, 14,4, 3,6) 2,74 (td, 14,4, 5,4)	18	22,2	0,83 (s)
3	216,9	-	19	12,8	1,00 (s)
4	47,9	-	20	36,5	1,42-1,44 (m)
5	52,3	1,73 (dd, 9,0, 7,8)	21	18,8	0,86 (d, 6,0)
6	24,4	2,09 - 2,10 (m)	22	32,5	0,92-0,97 (m)/1,94-1,97 (m)
7	117,8	5,30 (dd, 6,0, 3,0)	23	28,7	1,13-1,17 (m)/1,50-1,54 (m)
8	146,1	-	24	77,5	3,35 (br d, 9,6)
9	48,4	2,27-2,31 (m)	25	77,6	-
10	35,0	-	26	18,9	1,09 (s)
11	18,3	1,56-1,57 (m)	27	20,9	1,13 (s)
12	34,0	1,46-1,48 (m)	28	24,6	1,04 (s)
13	43,6	-	29	21,6	1,12 (s)
14	51,3	-	30	27,5	1,02 (s)
15	33,6	1,71-1,74 (m)/1,81-1,84 (m)	O-CH_3	49,0	3,22 (s)
16	28,4	1,28-1,32 (m)/1,92-1,94 (m)	24-OH	-	2,43 (br s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz

AT3 ($\delta_{C\text{-}24}$ 76,9, hai nhóm 20-CH_3 và 24-OH khác phía), cho thấy nhóm 24β-OH nằm cùng phía với nhóm 20β-CH_3. Cấu trúc hóa học cũng như việc gán dữ liệu NMR của hợp chất **AT4** đã được xác nhận bằng các tương tác HSQC, COSY, HMBC và NOESY. Do vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất **AT4** được xác định là 25-methoxy-24β-hydroxytirucallane-7-en-3-one. Qua tra cứu cho thấy **AT4** là một hợp chất mới và được đặt tên là ailantriphysa D.

*4.1.2.5. Hợp chất **AT5:** 24S,25-Dihydroxytirucall-7-en-3-one*

Hợp chất **AT5** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR (Hình II.5.1, phần phụ lục) của hợp chất **AT5** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,82 (3H, s), 1,00 (3H, s), 1,02 (3H, s), 1,05 (3H, s), 1,12 (3H, s), 1,17 (3H, s), 1,22 (3H, s) và một nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,88 (3H, d, J = 6,6 Hz); bốn proton methine tại δ_H 1,41 (1H, m), 1,52 (1H, m), 1,73 (1H, dd, J = 8,4, 7,8 Hz) và 2,29 (1H, m); một proton olefinic tại δ_H 5,31 (1H, dd, J = 6,6, 3,6 Hz); và một proton oxymethine tại δ_H 3,34 (1H, dd, J = 6,0, 6,0 Hz) (Bảng 4.22). Dữ liệu NMR của hợp chất **AT5** tương tự dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT3**, ngoại trừ sự thay đổi nhóm methoxy thành nhóm hydroxy tại C-25, cho phép xác định hợp chất **AT5** cũng thuộc bộ khung triterpen tirucallane với các tín hiệu carbon đặc trưng như một ketone tại δ_C 217,0 (C-3), một nối đôi tại δ_C 117,9



Hình 4.128. Cấu trúc hóa học của **AT5**

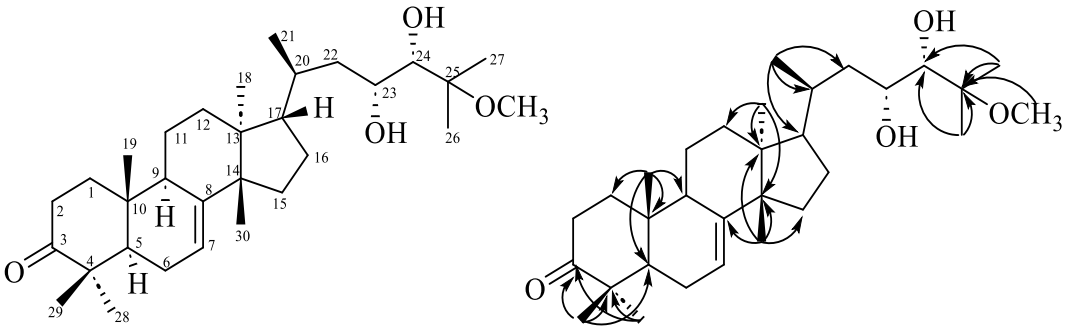
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của **AT5** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)	C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)
1	38,5	38,6	1,41 (m)/1,98 (m)	16	28,2	28,4	1,30 (m)/2,00 (m)
2	34,9	35,0	2,75 (td, 14,4, 5,4) 2,24 (td, 14,4, 3,6)	17	48,4	53,2	1,52 (m)
3	216,0	217,0	-	18	21,5	21,7	0,82 (s)
4	47,8	47,9	-	19	12,7	12,8	1,00 (s)
5	53,1	52,4	1,73 (dd,, 8,4, 7,8)	20	35,9	36,0	1,41 (m)
6	24,3	24,4	2,10 (m)	21	18,2	18,3	0,88 (d, 6,6)
7	117,8	117,9	5,31 (dd, 6,6, 3,6)	22	33,6	33,0	0,95 (m)/1,96 (m)
8	145,9	146,0	-	23	28,4	28,5	1,29 (m)/1,40 (m)
9	52,3	48,5	2,29 (m)	24	78,6	78,7	3,34 (dd, 6,0, 6,0)
10	34,9	34,9	-	25	73,2	73,2	-
11	18,2	18,3	1,52-1,54 (m)	26	24,5	24,6	1,22 (s)
12	32,9	34,1	1,46-1,48 (m)	27	26,5	26,6	1,17 (s)
13	43,4	43,6	-	28	23,1	23,3	1,05 (s)
14	51,1	51,2	-	29	21,9	22,0	1,12 (s)
15	34,0	34,1	1,72 (m)/1,83 (m)	30	27,4	27,4	1,02 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của 24S,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one [129]

(C-7)/146,0 (C-8), một nhóm oxymethine tại δ_C 78,7 (C-24) và một carbon bậc ba có nối oxy tại δ_C 73,2 (C-25). Từ phân tích nêu trên, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT5** với dữ liệu phổ đã công bố của hợp chất 24*S*,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one [129] cho thấy hoàn toàn phù hợp. Như vậy, cấu trúc của hợp chất **AT5** được xác định là 24*S*,25-dihydroxytirucall-7-en-3-one.

*4.1.2.6. Hợp chất **AT6:** Phellochin*



Hình 4.129. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **AT6**

Hợp chất **AT6** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC (Hình II.6.1 và II.6.3, phần phụ lục) của hợp chất **AT6** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,82 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 1,02 (3H, s, H-30), 1,05 (3H, s, H-28), 1,12 (3H, s, H-29), 1,23 (3H, s, H-26), 1,30 (3H, s, H-27) và một nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,93 (3H, d, J = 7,2 Hz, H-21); bốn proton methine tại δ_H 1,37 (1H, m, H-20), 1,51 (1H, t, J = 9,0 Hz, H-17), 1,72 (1H, t, J = 9,0 Hz, H-5) và 2,29 (1H, m, H-9); một proton olefinic tại δ_H 5,31 (1H, dd, J = 6,6, 3,0 Hz, H-7); hai proton oxymethine tại δ_H 3,13 (1H, d, J = 10,2 Hz,

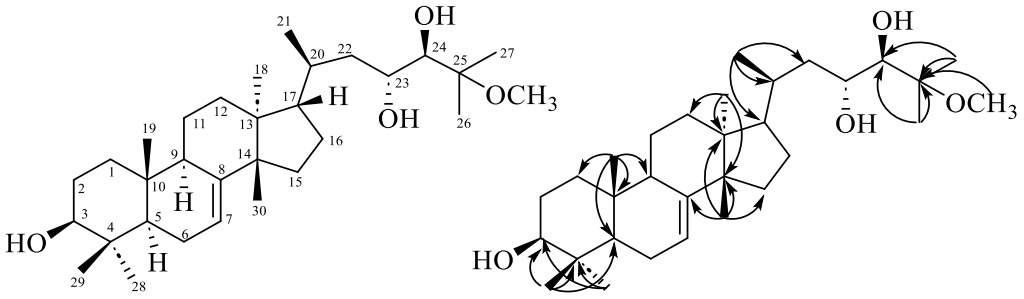
Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của **AT6** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)	**C**	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)
1	38,59	38,6	1,45 (m)/1,98 (m)	17	53,80	53,8	1,51 (t, 9,0)
2	34,97	34,9	2,24 (dt, 14,4, 3,6) 2,76 (dt, 14,4, 5,4)	18	22,07	22,0	0,82 (s)
3	216,97	216,8	-	19	12,85	12,8	1,00 (s)
4	47,92	47,9	-	20	33,73	33,7	1,37 (m)
5	52,38	52,4	1,72 (t, 9,0)	21	18,93	18,9	0,93 (d, 7,0)
6	24,40	24,4	2,10 (m)	22	39,86	39,9	1,20 (m)/1,80 (m)
7	118,03	117,9	5,31 (dd, 6,6, 3,0)	23	68,72	68,7	4,09 (m)
8	145,93	145,9	-	24	76,39	76,4	3,13 (d, 10,2)
9	48,53	48,5	2,29 (m)	25	79,81	79,8	-
10	35,06	35,0	-	26	21,65	21,6	1,23 (s)
11	18,35	18,3	1,57 (m)	27	21,60	21,5	1,30 (s)
12	34,04	34,0	1,46-1,48 (m)	28	24,58	24,6	1,05 (s)
13	43,8	43,5	-	29	21,65	21,6	1,12 (s)
14	51,25	51,2	-	30	27,41	27,4	1,02 (s)
15	33,80	33,8	1,64 (m)/1,83 (m)	O-CH_3	49,36	49,3	3,25 (s)
16	28,50	28,5	1,30 (m)/2,02 (m)				

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của phellochin [130]

H-24) và 4,09 (1H, m, H-23); và các proton bão hòa khác cộng hưởng trong vùng δ_H 1,25-2,5 ppm (Bảng 4.23). Phân tích phổ NMR (Hình II.6.1-II.6.4, phần phụ lục) của hợp chất **AT6**, kết hợp việc so sánh với dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT3**, nhận thấy chúng khá tương tự nhau, ngoại trừ xuất hiện nhóm hydroxy thay thế nhóm methylene tại C-23 (tín hiệu cộng hưởng tại vị trí C-23 của **AT6** dịch chuyển về phía trường thấp (δ_C 68,7)), cho phép xác định hợp chất **AT6** cũng thuộc bộ khung triterpen tirucallane với một số tín hiệu cộng hưởng đặc trưng như một ketone tại δ_C 216,8 (C-3), một nối đôi tại δ_C 117,9 (C-7)/145,9 (C-8), hai oxymethine tại δ_C 68,7 (C-23) và 76,4 (C-24), và một methoxy tại δ_C 49,3 (25-OCH_3). Các giá trị δ_C tại C-23, C-24, C-25 của **AT6** là 68,7, 76,4, và 79,8 hoàn toàn trùng khít với 3 giá trị tương ứng của phellochin [130] là δ_C 68,72, 76,39 và 79,81 cũng như giá trị $\delta_{H\text{-}23}$ = 4,09 và $\delta_{H\text{-}24}$ = 3,13 (d, J = 10,2 Hz) của **AT6** cũng hoàn toàn trùng khít với $\delta_{H\text{-}23}$ = 4,09 và $\delta_{H\text{-}24}$ = 3,13 (d, J = 9,89 Hz) của phellochin cho thấy chúng có cùng cấu hình tại C-23 và C-24. Kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT6** với dữ liệu phổ của hợp chất phellochin [130], cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do đó, cấu trúc hóa học của hợp chất **AT6** được xác định là phellochin.

*4.1.2.7. Hợp chất **AT7:** Hispidol B 25-methyl ether*



Hình 4.130. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của **AT7**

Hợp chất **AT7** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC (Hình II.7.1 và II.7.3, phần phụ lục) của hợp chất **AT7** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,75 (3H, s, H-19), 0,82 (3H, s, H-18), 0,86 (3H, s, H-29), 0,97 (3H, s, H-30), 0,98 (3H, s, H-28), 1,22 (3H, s, H-26), 1,30 (3H, s, H-27) và một nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,92 (3H, d, J = 7,2 Hz, H-21); bốn proton methine tại δ_H 1,30 (1H, m, H-5), 1,37 (1H, m, H-20), 1,50 (1H, m, H-17) và 2,20 (1H, m, H-9); một proton olefinic tại δ_H 5,26 (1H, dd, J = 6,6, 3,0 Hz, H-7); ba proton oxymethine tại δ_H 3,13 (1H, d, J = 9,6 Hz, H-24), 3,24 (1H, m, H-3) và 4,09 (1H, m, H-23) (Bảng 4.24). Trên phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AT7** thấy xuất hiện 31 nguyên tử carbon. Trong đó xuất hiện các tín hiệu đặc trưng như một nối đôi tại δ_C 117,9 (C-7)/145,7 (C-8), ba oxymethine tại δ_C 68,7 (C-23), 76,4 (C-24) và 79,2 (C-3), và một methoxy tại δ_C 49,3 (25-OCH_3) (Bảng 4.24). Số liệu phổ NMR của hợp chất **AT7** tương tự số liệu phổ NMR của hợp chất **AT4**, ngoại trừ xuất hiện nhóm hydroxy thay thế nhóm ketone tại C-3 (độ dịch chuyển hóa học tại vị trí C-3 từ δ_C 216,9 ở hợp chất **AT4** về phía trường cao δ_C 68,7 ở hợp chất **AT7**, đồng thời xuất hiện tín hiệu của một proton oxymethine H-3 tại δ_H 3,24) và nhóm hydroxy thay thế nhóm methylene tại C-23 (tín hiệu cộng hưởng tại vị trí C-23 của **AT7** dịch chuyển

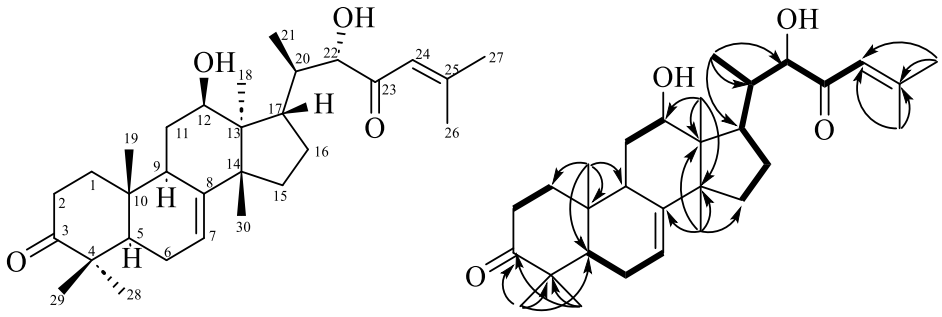
về phía trường thấp δ_C 68,7) (Bảng 4.21 và 4.25). Hai proton H-24 (δ_H 3.13, d, J = 9.6 Hz) và 24-OH (δ_H 2.72, d, J = 9.6 Hz) xuất hiện dưới dạng doublet cùng có J = 9.6 Hz, chúng tỏ $J_{23/24}$ được coi là bằng không, cho thấy C-23/C-24 có cấu hình dạng *syn-gauche* (*erythro*) [126], tương tự như cấu hình của piscidinol A ($^3J_{23/24}$ = 0 Hz). Kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT7** với dữ liệu phổ của hợp chất hispidol B 25-methyl ether [122], cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do đó, cấu trúc hóa học của hợp chất **AT7** được xác định là hispidol B 25-methyl ether.

Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của **AT7** và hợp chất tham khảo

C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)	C	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, *J* = Hz)
1	37,62	37,2	1,14 (m)/1,68 (m)	17	54,28	53,7	1,50 (m)
2	28,62	27,7	1,58 (m)/1,65 (m)	18	22,11	22,0	0,82 (s)
3	78,32	79,2	3,24 (m)	19	13,45	13,1	0,75 (s)
4	39,57	39,0	-	20	34,53	33,7	1,37 (m)
5	51,15	50,6	1,30 (m)	21	19,62	18,9	0,92 (d, 7,2)
6	24,43	23,9	1,96 (m)/2,15 (m)	22	42,95	39,9	1,20 (m)/1,80 (m)
7	118,40	117,9	5,26 (dd, 6,6, 3,0)	23	68,13	68,7	4,09 (m)
8	146,10	145,7	-	24	76,73	76,4	3,13 (d, 9,6)
9	49,31	49,0	2,20 (m)	25	78,75	79,7	-
10	35,22	34,9	-	26	22,58	21,6	1,22 (s)
11	18,43	18,1	1,50-1,55 (m)	27	20,82	21,5	1,30 (s)
12	34,37	34,0	1,46-1,48 (m)	28	15,58	27,6	0,98 (s)
13	43,76	43,6	-	29	28,32	14,7	0,86 (s)
14	51,96	51,2	-	30	27,47	27,2	0,97 (s)
15	34,19	33,9	1,62 (m)/1,80 (m)	O-CH_3	49,3	49,3	3,25 (s)
16	28,81	28,5	1,29 (m)/2,00 (m)	24-OH	-	-	2.72 (d, 9,6)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, δ_C[#] của hispidol B 25-methyl ether [122] (pyridine-d_5)

*4.1.2.8. Hợp chất **AT8:** Meliasenin G*



Hình 4.131. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của AT8

Hợp chất **AT8** được phân lập dưới dạng dầu không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC (Hình II.8.1 và II.8.3, phần phụ lục) của hợp chất **AT8** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,83 (3H, s, H-18), 1,04 (3H, s, H-19), 1,05 (3H, s, H-28), 1,13 (3H, s, H-29), 1,18 (3H, s, H-30), 1,98 (3H, s, H-

26), 2,23 (3H, s, H-27) và một methyl bậc hai tại δ_H 0,75 (3H, d, J = 7,2 Hz, H-21); bốn proton methine tại δ_H 1,72 (1H, t, J = 9,0 Hz, H-5), 1,88 (1H, m, H-20), 2,57 (1H, ddd, J = 9,6, 9,6, 9,6, Hz, H-17) và 2,28 (1H, m, H-9); hai proton nối đôi tại δ_H 5,31 (1H, dd, J = 2,4 Hz, H-7) và 6,10 (1H, s, H-24); hai proton oxymethine tại δ_H 3,87 (1H, dd, J = 9,0, 7,2, H-12) và 4,21 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-22) (Bảng 4.25). Phân tích phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AT8** nhận thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon. Trong đó, xuất hiện một số tín hiệu đặc trưng như hai nhóm ketone tại δ_C 216,5 (C-3) và 200,9 (C-23), hai nối đôi dạng trisubstituted tại C-7/C-8 (δ_C 118,8)/(δ_C 144,9) và C-24/C-25 (δ_C 119,0)/(δ_C 159,8), hai nhóm oxymethine tại δ_C 74,4 (C-12) và 78,5 (C-22) (Bảng 4.25). Dữ liệu phổ NMR vòng A, B, C, D của hợp chất **AT8** tương tự dữ liệu phổ NMR của các hợp chất **AT3**-**AT6** và hợp chất 22α-hydroxytirucalla-7,24-dien-3,23-dione [131], ngoại trừ xuất hiện nhóm hydroxy thay thế nhóm methylene tại C-12 (tín hiệu cộng hưởng tại vị trí C-12 của **AT8** dịch chuyển về phía trường thấp (δ_C 74,4). Từ những phân tích nêu trên, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT8** với dữ liệu phổ đã công bố của hợp chất meliasenin G [132], nhận thấy chúng hoàn toàn trùng khớp. Do đó, cấu trúc hóa học của **AT8** được xác định là meliasenin G.

Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của **AT8** và hợp chất tham khảo

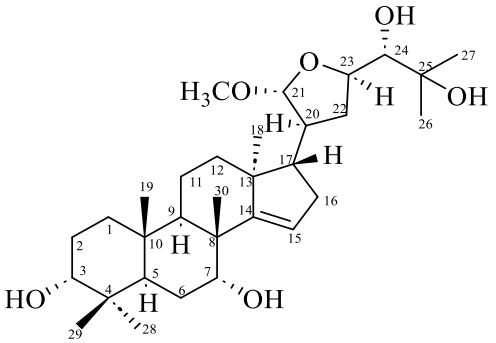
C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)	C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, J = Hz)
1	38,4	38,4	1,46 (m)/2,02 (m)	16	28,2	28,2	1,50 (m)/2,25 (m)
2	34,8	34,8	2,25 (m) 2,76 (dt, 14,4, 5,4)	17	40,7	40,7	2,57 (ddd, 9,6, 9,6, 9,6)
3	216,7	216,5	-	18	19,8	19,8	0,83 (s)
4	47,8	47,8	-	19	12,7	12,7	1,04 (s)
5	52,2	52,2	1,72 (t, 9,0)	20	39,6	39,6	1,88 (m)
6	24,4	24,4	2,10 (m)	21	11,5	11,5	0,75 (d, 7,2)
7	118,8	118,8	5,31 (d, 2,4)	22	78,5	78,5	4,21 (d, 1,8)
8	144,8	144,9	-	23	200,9	200,9	-
9	47,6	47,6	2,28 (m)	24	118,9	119,0	6,10 (s)
10	35,0	34,9	-	25	160,0	159,8	-
11	29,8	29,9	1,53 (m)/2,20 (m)	26	28,1	28,1	1,98 (s)
12	74,5	74,4	3,87 (dd, 9,0, 7,2)	27	21,4	21,4	2,23 (s)
13	47,9	47,9	-	28	24,5	24,5	1,05 (s)
14	51,6	51,6	-	29	21,5	21,5	1,13 (s)
15	35,1	35,1	1,57 (m)/1,62 (m)	30	28,2	28,1	1,18 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của meliasenin G [132]

*4.1.2.9. Hợp chất **AT9:** 21-O-Methyltoosendanpentol*

Hợp chất **AT9** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR và HSQC của hợp chất **AT9** nhận thấy xuất hiện tín hiệu của: bảy nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,85 (3H, s, H-29), 0,90 (3H, s, H-19), 0,95 (3H, s, H-28), 1,05 (3H, s, H-18), 1,05 (3H, s, H-30), 1,26 (3H, s, H-26), 1,30 (3H, s, H-27); bốn proton methine tại δ_H 1,90 (1H, m, H-17), 1,97 (1H, m, H-5) và 2,03 (1H, m, H-9) và 2,34 (1H, m, H-20); một proton nối đôi tại δ_H 5,43 (1H, br s, H-15); năm proton oxymethine tại δ_H 3,40

(1H, br s, H-3), 3,91 (1H, br s, H-7), 4,80 (1H, d, J = 3,0 Hz, H-21), 4,25 (1H, ddd, J = 10,2, 8,4, 4,8 Hz, H-23) và 3,25 (1H, br d, J = 8,4 Hz, H-24); và một nhóm methoxy tại δ_H 3,36 (3H, br s, O-CH_3) (Bảng 4.26). Phân tích phổ ^{13}C NMR (Hình II.9.2, phần phụ lục) của hợp chất **AT9** cho thấy xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 31 carbon, gợi ý hợp chất này thuộc bộ khung triterpen apotirucallane, trong đó xuất hiện các tín hiệu đặc trưng như một liên kết đôi tại C-14 (δ_C 162,4)/C-15 (δ_C 119,1); bốn nhóm oxymethine tại δ_C 72,3 (C-7), 75,6 (C-24), 76,2 (C-3), 76,8 (C-23) và một carbon bậc ba liên kết với nhóm hydroxy tại δ_C 73,0 (C-25); một carbon có dạng ketal tại δ_C 109,5 (C-21); và một nhóm methoxy tại δ_C 55,6 (Bảng 4.26). Các tương tác HMBC (Hình II.9.4 – phần phụ lục) của H-21/C-23 và 21-OCH_3/C-21, cho thấy C-21 và C-23 được liên kết với nhau thông qua một nguyên tử oxy bằng liên kết ether để tạo thành vòng tetrahydrofuran và nhóm methoxyl nối với C-21 thành nhóm ketal. Độ dịch chuyển hóa học của các proton và carbon liên quan, kết hợp với các tương tác HMBC từ H_2-22 đến C-24, từ H-28/H-29 đến C-3, từ H-30 đến C-7, từ H-24 đến C-25/C-26/C-27 và từ H_3-26/H_3-27 đến C-25, cho phép xác định các nhóm hydroxyl tại C-3, C-7, C-24 và C-25. Từ những phân tích nêu trên, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của **AT9** với dữ liệu phổ đã công bố của 21-O-methyltoosendanpentol [133], cho thấy hoàn toàn trùng khớp. Như vậy, cấu trúc của hợp chất **AT9** được xác định là 21-*O*-methyltoosendanpentol.



Hình 4.132. Cấu trúc hóa học của **AT9**

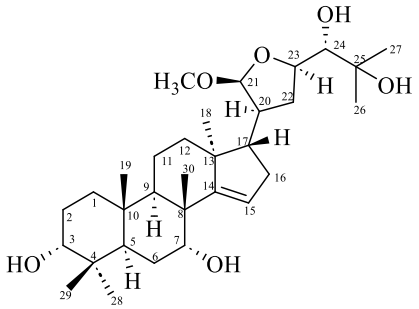
Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của **AT9** và hợp chất tham khảo

C	δ_C[#,a]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, J = Hz)	C	δ_C[#,a]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (độ bội, J = Hz)
1	32,8	32,6	1,33 (m)/1,37 (m)	17	57,5	57,5	1,90 (m)
2	25,1	25,0	1,56 (m)/1,93 (m)	18	19,3	19,3	1,05 (s)
3	76,2	76,2	3,40 (br s)	19	15,2	15,2	0,90 (s)
4	37,1	37,0	-	20	45,9	45,9	2,34 (m)
5	40,5	40,4	1,97 (m)	21	109,6	109,5	4,80 (d, 3,0)
6	23,7	23,7	1,70 (m)	22	33,8	33,8	1,77 (m)/1,92 (m)
7	72,3	72,3	3,91 (br s)	23	76,9	76,8	4,25 (ddd, 10,2, 8,4, 4,8)
8	44,4	44,4	-	24	75,6	75,6	3,25 (br d, 8,4)
9	41,7	41,6	2,03 (m)	25	73,1	73,0	-
10	37,7	37,7	-	26	26,4	26,3	1,26 (s)
11	16,3	16,2	1,50 (m)/1,73 (m)	27	26,5	26,4	1,30 (s)
12	32,6	32,8	1,44 (m)/1,80 (m)	28	28,1	28,0	0,95 (s)
13	47,0	46,9	-	29	22,2	22,1	0,85 (s)
14	162,4	162,4	-	30	27,7	27,7	1,05 (s)
15	119,2	119,1	5,43 (br s)	O-CH_3	55,6	55,6	3,36 (s)
16	34,7	34,7	2,10 (m)/2,20 (m)				

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c] 600 MHz, δ_C[#] của 21-O-methyltoosendanpentol [133]

*4.1.2.10. Hợp chất **AT10:**. Agladupol A*

Hợp chất **AT10** được phân lập dưới dạng chất rắn không màu. Phân tích phổ ^{1}H NMR, ^{13}C NMR và HSQC (Hình II.10.1-10.3, phần phụ lục) của hợp chất **AT10** kết hợp so sánh với số liệu phổ NMR của hợp chất **AT9** (Bảng 4.26 và 4.27), nhận thấy cấu trúc hóa học của **AT10** tương tự cấu trúc hóa học của hợp chất **AT9**, ngoại trừ sự khác biệt nhỏ tại vị trí C-21, theo đó về tín hiệu cộng hưởng tại C-21 của **AT10** đã chuyển dịch về vùng trường cao (δ_C 104,7), gợi ý nhóm methoxy tại C-21 định hướng β (21β-OCH_3) khác với hướng α (21α-OCH_3) ở hợp chất **AT9**. Từ phân tích nêu trên, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **AT10** với dữ liệu phổ của hợp chất agladupol A [134], cho thấy hoàn toàn phù hợp. Do đó, cấu trúc hóa học của hợp chất **AT10** được xác định là agladupol A.



Hình 4.133. Cấu trúc hóa học của **AT10**

Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của **AT10** và hợp chất tham khảo

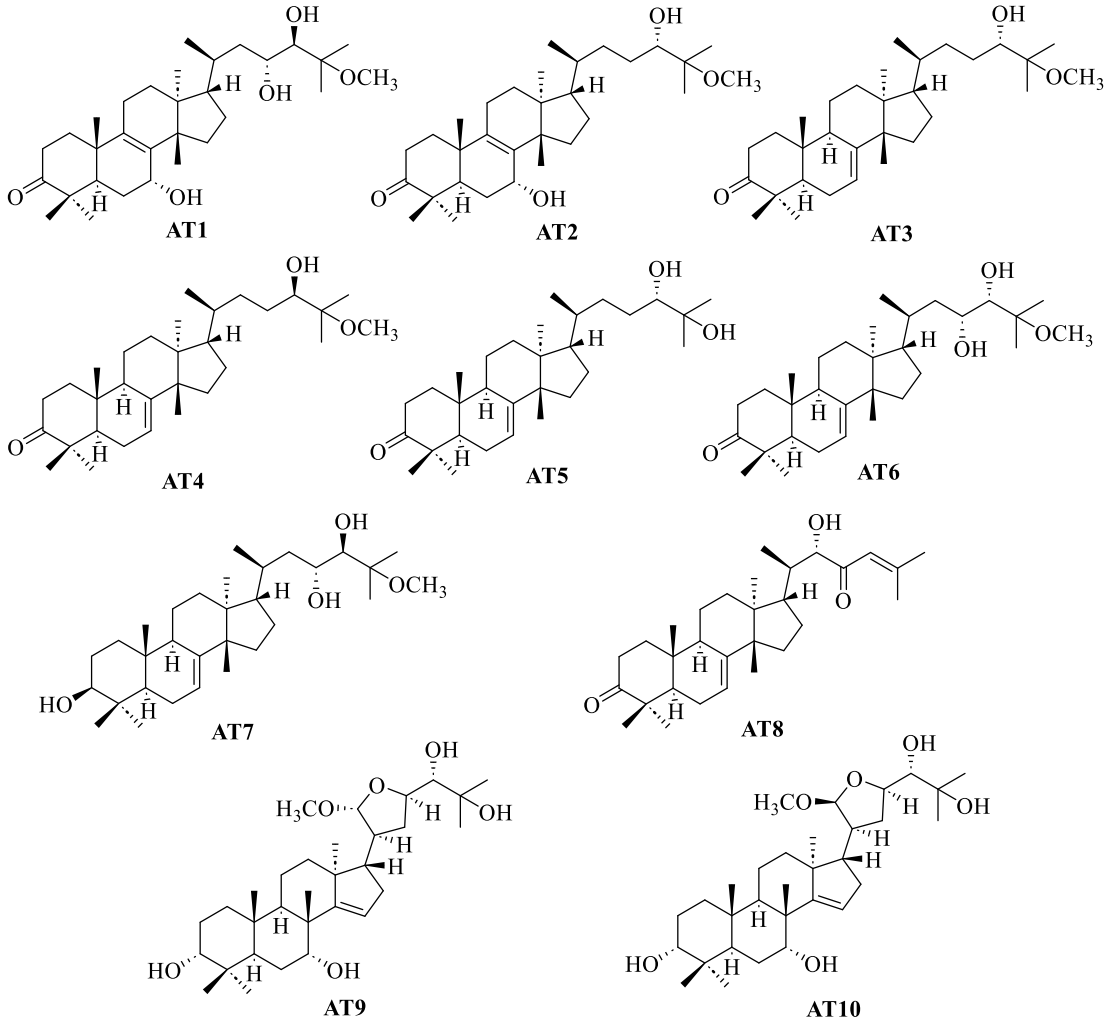
C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)	C	$\delta_C^{\#,a}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, *J* = Hz)
1	32,5	32,6	1,33 (m)/1,37 (m)	17	52,3	52,4	1,90 (m)
2	25,0	25,0	1,56 (m)/1,93 (m)	18	19,8	19,8	1,05 (s)
3	76,2	76,2	3,40 (br s)	19	15,2	15,2	0,90 (s)
4	37,0	37,0	-	20	44,6	44,6	2,34 (m)
5	40,4	40,5	1,97 (m)	21	104,6	104,7	4,80 (d, 3,0)
6	23,6	23,7	1,70 (m)	22	31,4	31,4	1,77 (m)/1,92 (m)
7	72,3	72,3	3,91 (br s)	23	78,7	78,8	4,25 (ddd, 10,2, 8,4, 4,8)
8	44,4	44,4	-	24	76,6	76,7	3,25 (br d, 3,6)
9	41,6	41,6	2,03 (m)	25	72,9	72,9	-
10	37,8	37,8	-	26	26,3	26,3	1,26 (s)
11	16,3	16,3	1,50 (m)/1,73 (m)	27	26,3	26,4	1,30 (s)
12	32,8	32,9	1,44 (m)/1,80 (m)	28	28,0	28,1	0,95 (s)
13	46,6	46,6	-	29	22,1	22,1	0,85 (s)
14	162,2	162,1	-	30	27,7	27,7	1,05 (s)
15	119,6	119,6	5,43 (br s)	O-CH_3	55,1	55,2	3,36 (s)
16	34,9	35,0	2,10 (m)/2,20 (m)				

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] 150 MHz, [c] 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của agladupol A [134]

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

Bằng các phương pháp phổ hiện đại như phổ khối lượng phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều, kết hợp với so sánh với dữ liệu phổ của các hợp chất tương ứng được công bố, từ loài *A. triphysa* đã phân lập và xác định được cấu trúc của 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**).

Cấu trúc hóa học của tám hợp chất **AT1**-**AT8** đều thuộc nhóm triterpen tirucallane, trong khi đó hai hợp chất **AT9**-**AT10** lại có cấu trúc hóa học thuộc nhóm triterpen apotirucallane. Điểm chung của các cấu trúc này chủ yếu là có nhóm keton/hydroxy tại C-3 và methoxy/hydroxy tại C-25. Sự khác nhau về cấu trúc của các hợp chất này được tạo thành dựa trên sự dịch chuyển nối đôi C-9/C-8 thanh C-8/C-7 bởi quá trình dehydroxy tại OH-7 và quá trình oxy hóa tại C-23 tạo thêm nhóm 23-OH.



Hình 4.134. 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 μM) 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 μM, 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 IC_{50}. Kết quả cho thấy, các hợp chất **CL1-CL8** gây ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} lần lượt là 26,72, 52,24, 58,54, 49,19,

56,86, 52,53, 38,15, và 18,79 μM, 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 μM so với đối chứng dương dexamethasone có giá trị IC_{50} là 14,05 μM.

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 μM. Các hợp chất **CL1, CL8, CF2-CF4 và CF6-CF9** có giá trị IC_{50} từ 18,78 đến 26,72 μM, 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 μM. Những kết quả này cho thấy triterpen pentacyclic mang 3*β*,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 sinh 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 μM) 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 μM, 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 μM, so với đối chứng dương dexamethasone có giá trị IC_{50} là 14,21 μM.

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 IC_{50} là 8,12 μM. 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 μM. Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 48,84 đến 65,41 μM. 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* (cây Sừng dê) 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*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)- *β*-D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*β*- D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF4**); và 6 hợp chất đã biết bao gồm: 3-*O*-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CL8**), asiatic acid (**CF5**), 2*α*,3*β*,23-trihydroxyoleana-11,13(18)-dien-28-oic acid (**CF6**), arjunolic acid (**CF7**), 6*β*-hydroxyarjunolic acid (**CF8**) và actinidic acid (**CF9**).

2. Từ loài *A. triphysa* (cây Thanh thất) 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 μM. Trong đó, hợp chất **CF5** thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị IC_{50} là 8,91 μM. Các hợp chất **CL1, CL8, CF2-CF4 và CF6-CF9** có giá trị IC_{50} từ 18,78 đến 26,72 μM, 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 μM.

➢ 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 μM. Trong đó, hợp chất **AT1** có hoạt tính ức chế tốt nhất với giá trị IC_{50} là 8,12 μM. 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 μM. Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 48,84 đến 65,41 μM.

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 µM và 8,12 µM mạnh hơn so với đối chứng dương dexamethasone (14,05 µM), 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.

NHỮNG ĐÓNG GÓP 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*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF1**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyluncargenin C 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)- *β*-D-glucopyranosyl ester (**CF2**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*β*- D-glucopyranosyl-6*β*,23-dihydroxyursolic acid 28-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF3**), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosylasiatic acid 28-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosyl ester (**CF4**). Tất cả các hợp chất này đều thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 20,55 đến 58,54 μM.

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_{50} là 8,12 μM.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyen Duc Duy**, Ngo Anh Bang, 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, Bui Huu Tai, 2023, 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,* 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, 2024, 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*., 78(3), 741-752.

3. **Nguyen Duc Duy**, Duong Thi Dung, Do Thi Trang, Ngo Anh Bang, 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, Phan Van Kiem, 2025, Four new tirucallane triterpenoids from the leaves of *Ailanthus triphysa* with anti-inflammatory activities**,** *Chem. Biodiversity*, 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, 2025, *Ailanthus triphysa:* a review of phytochemistry and pharmacology, *Vietnam Journal of Science and Technology*, 63(6), 1050-1073.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ, 2003, *Cây cỏ Việt Nam (an illustrated flora of Vietnam)*, Nhà xuất bản Trẻ, tập 2, tr. 728.
2. Ablordeppey S.Y., Hufford C.D., Borne R.F., Dwuma-Badu D., 1990, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR assignments of cryptolepine, A 3:4-Benz-delta-carboline derivative isolated from *Cryptolepis sanguinolenta, Planta Medica*, 56(4), pp. 416-417.
3. Hadden C.E., Sharaf M.H.M., Guido J.E., Robins R.H., Tackie A.N., Phoebe C.H.Jr., Schiff P.L.Jr., Martin G.E., 1999, 11-Isopropylcryptolepine: A novel alkaloid isolated from *Cryptolepis sanguinolenta* characterized using submicro NMR techniques, *Journal of Natural Products*, 62(2), pp. 238-240.
4. Paulo A., Gomes E.T., Steele J., Warhurst D.C., Houghton P.J., 2000, Antiplasmodial activity of *Cryptolepis sanguinolenta* alkaloids from leaves and roots, *Planta Medica*, 66(1), pp. 30-34.
5. Sharaf M.H.M, Schiff Jr.P.L., Tackie A.N., Phoebe J.C.H., Johnson R.L., Minick D., Crouch R.C., Martin G.E., Andrews C.W., 1996, The isolation and structure determination of cryptomisrine, a novel indolo [3, 2-b] quinoline dimeric alkaloid from *Cryptolepis sanguinolenta, Journal of Heterocyclic Chemistry*, 33(3), pp. 789-797.
6. Paulo A., Gomes E.T., Houghton P.J., 1995, New alkaloids from *Cryptolepis sanguinolenta, Journal of Natural Products*, 58(10), pp. 1485-1491.
7. Cimanga K., De Bruyne T., Pieters L., Claeys M., Vlietinck A., 1996, New alkaloids from *Cryptolepis sanguinolenta, Tetrahedron Letters*, 37(10), pp. 1703-1706.
8. Osafo N., Mensah K.B., Yeboah O.K., 2017, Phytochemical and pharmacological review of *Cryptolepis sanguinolenta* (Lindl.) Schlechter, *Advances in Pharmacological Sciences*, 2017, pp. 3026370.
9. Pousset J.L., Martin M.T., Jossang A., Bodo B., 1995, Isocryptolepine from *Cryptolepis sanguinolenta, Phytochemistry*, 39(3), pp. 735-736.
10. Tackie A.N., Boye G.L., Sharaf M.H.M., Schiff P.L.Jr., Crouch R.C., Spitzer T.D., Johnson R.L., Dunn J., Minick D., Martin G.E., 1993, Cryptospirolepine, a unique spiro-nonacyclic alkaloid isolated from *Cryptolepis sanguinolenta, Journal of Natural Products*, 56(5), pp. 653-670.
11. Ren Y., Kaweesa E.N., Henkin J.M., Sydara K., Xayvue M., Pandey P., Chittiboyina A.G., Ali Z., Ferreira D., Soejarto D.D., Burdette J.E., Kinghorn A.D., 2024, Cytotoxic leuconoxine-type diazaspiroindole alkaloids isolated from *Cryptolepis dubia, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 101, pp. 129650.
12. Dutta S.K., Sharma B.N., Sharma P.V., 1978, Buchananine, a novel pyridine alkaloid from *Cryptolepis buchanani, Phytochemistry*, 17(11), pp. 2047-2048.
13. Sunil K., Batuk D., Sharma N., Sharria P.V., 1980, A new nicotinoyl glucoside from *Cryptolepis buchanani, Phytochemistry*, 19(6), p. 1278.
14. Paulo A., Jimeno M.L., Gomes E.T., Houghton P.J., 2000, Steroidal alkaloids from *Cryptolepis obtusa, Phytochemistry*, 53(3), pp. 417-422.

15. Arthan S., Yenjai C., 2023, Chemical constituents and their anti-inflammatory activities from the stems of *Cryptolepis buchanani, Trends in Sciences*, 20(2), pp. 6366.
16. Shah B., M. Khare, 1981, *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult., a new source of sarmentogenin*, Journal of Nepal Chemical Society*, 1, pp. 103-107.
17. Purushothaman K.K., Vasanth S., Connolly J.D., Rycroft D.S., 1988, New sarverogenin and isosarverogenin glycosides from *Cryptolepis buchanani* (Asclepiadaceae)*, Revista Latinoamericana de Química*, 19, pp. 28-31.
18. Venkateswara R., Narendra N., Viswamitra M.A., Vaidyanathan C.S., 1989, Cryptosin, a cardenolide from the leaves of *Cryptolepis buchanani, Phytochemistry*, 28(4), pp. 1203-1205.
19. Li J.L., Zhao Y.L., Qin X.J., Liu Y.P., Luo X.D., 2014, Chemical constituents from stems and leaves of *Cryptolepis buchananii, Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 45, pp. 1677-1681.
20. Paulo A., Gomes E.T., Duarte A., Perrett S., Houghton P.J, 1997, Chemical and antimicrobial studies on *Cryptolepis obtusa* leaves, *Fitoterapia*,. 68(6), pp. 558-559.
21. Daulatabad C.D., Mulla G.M., Mirajkar A.M., Hosamani K.M., 1992, *Cryptolepis buchnani* seed oil: A rich source of keto fatty acid*, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(2), pp. 188-189.
22. Ansah C., Gooderham N.J., 2002, The popular herbal antimalarial, extract of *Cryptolepis sanguinolenta*, is potently cytotoxic, *Toxicological Sciences*, 70(2), pp. 245-251.
23. Olajide O.A., Wright C.W., 2014, Cryptolepine induced apoptosis in TNFalpha-stimulated A549 lung carcinoma cells through NF-kappaB signalling pathway*, Proceedings of the British Pharmacological Society,* pA2 Online.
24. Laupattarakasem P., Wangsrimongkol T., Surarit R., Hahnvajanawong C., 2006, In vitro and in vivo anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani, Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), pp. 349-354.
25. Wanikiat P., Panthong A., Reutrakul V., 2019, Inhibition of human neutrophil functional responsiveness by *Cryptolepis buchanani* extract*, Thai Journal of Pharmacology*, 41(1), pp. 31-47.
26. Paulo A., Duarte A., Gomes E.T., 1994, In vitro antibacterial screening of *Cryptolepis sanguinolenta* alkaloids*, Journal of Ethnopharmacology*, 44(2), pp. 127-130.
27. Sittiwet C., Puangpronp D., 2009, Anti-bacterial activity of *Cryptolepis buchanani* aqueous extract*, International Journal of biological chemistry*, 3(2), pp. 90-94.
28. Vinayaka K.S., Prashith K.T.R., Mallikarjun N., Sateesh V.N., 2010, Anti-dermatophyte activity of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult., *Pharmacognosy Journal*, 2(7), pp. 170-172.
29. Agboke Ayodeji A., Attama Anthony A., Momoh Mumuni A., 2011, Evaluation of the antimicrobial activities of crude extract of *Cryptolepis sanguinolenta* and *Crateva adansonii* leaves and their interactions*, Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(10), pp. 85-89.
30. Ashwini S., Kiran R., Soumya K.V., Sudharshan S.J., Kekuda T.R.P., Vinayaka K.S., Raghavendra H.L., 2010, Insecticidal and in vitro antioxidant potency of

extracts of *Cryptolepis buchanani* Roem. &Schult., *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), pp. 418-425.

31. Cimanga K., De Bruyne T., Pieters L., Vlietinck A.J., Turger C.A., 1997, In vitro and in vivo antiplasmodial activity of cryptolepine and related alkaloids from *Cryptolepis sanguinolenta, Journal of natural products*, 60(7), pp. 688-691.
32. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, Viện Dược liệu, 2006, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam,* Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tập 1, tr. 337-388.
33. Phạm Hoàng Hộ, 2003, *Cây cỏ Việt Nam (an illustrated flora of Vietnam)*, Nhà xuất bản Trẻ, tập 2, tr. 384.
34. Sam H.V., Nooteboom H., 2007, *Ailanthus Vietnamensis* (Simaroubaceae), a new species from Vietnam*, Blumea journal of plant taxonomy and plant geography*, 52, pp. 555-558.
35. Đỗ Tất Lợi, 2004, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr. 912-913.
36. Loc P.K., Averyanov L.V., Long P.K, Hiep N.T., Hieu N.Q., Regalado J.C., Khang N.S., The P.V., 2012, New to science taxa described in North-West region over the past ten recent years (2002-2011) and some problems of their sustainable utilization*, Vietnam Journal of Ecological Economy*, 42-43, pp. 95-102.
37. Joshi B.S., Kamat V.N., Gawad D.H., 1977, Some *β*-carboline alkaloids of *Ailanthus malabarica* DC., *Heterocycles*, 7, pp. 193-200.
38. Aono H., Koike K., Kaneko J., Ohmoto T., 1994, Alkaloids and quassinoids from *Ailanthus malabarica, Phytochemistry*, 37(2), pp. 579-584.
39. Ohmoto T., Koike K., Sakamoto Y., 1981, Studies on the constituents of *Ailanthus altissima* Swingle. II. Alkaloidal constituents, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 29(2), pp. 390-395.
40. Ohmoto T., Koike K., 1984, Studies on the constituents of *Ailanthus altissima* Swingle. III. The alkaloidal constituents, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 32(1), pp. 170-173.
41. Kim H.M., Lee J.S., Sezirahiga J., Kwon J., Jeong M., Lee D., Choi J.-H., Jang D.S., 2016, A new canthinone-type alkaloid isolated from *Ailanthus altissima* Swingle. *Molecules*, 21(5), pp. 642.
42. Crespi-Perellino N., Guicciardi A., Malyszko G., Arlandini E., Ballabio M., Minghetti A., 1986, Occurrence of indole alkaloids in *Ailanthus altissima* cell cultures, *Journal of Natural Products*, 49(6), pp. 1010-1014.
43. Khan S.A., Shamsuddin K.M., 1981, 1-Hydroxycanthin-6-one, an alkaloid from *Ailanthus giraldii*, *Phytochemistry*, 20(8), pp. 2062-2063.
44. Said A., Rashed K., Tokuda H., Huefner A., 2012, Antitumor activity of *Ailanthus excelsa* (Roxb) stem bark fractions and canthin-6-one, *European Journal of Biology*, 71(1), pp. 1-6.
45. Varga E., Szendrei K., Reisch J., Maróti G., 1980, Indole alkaloids of *Ailanthus altissima*, *Planta Medica*, 40(12), pp. 337-339.
46. Souleles C., Kokkalou E., 1989, A new *β*-carboline alkaloid from *Ailanthus altissima*, *Planta Medica*, 55(03), pp. 286-287.

47. Zhang L.P., Wang J.Y., Wang W., Cui Y.X., Cheng D.L., 2007, Two new alkaloidal glycosides from the root bark of *Ailanthus altissima*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(3), pp. 253-259.
48. Kim H.M., Kim S.J., Kim H.Y., Ryu B., Kwak H., Hur J., Choi J.H., Jang D.S., 2015, Constituents of the stem barks of *Ailanthus altissima* and their potential to inhibit LPS-induced nitric oxide production, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(5), pp. 1017-1020.
49. Bohlmann F., Bhaskar Rao V.S., 1969, Notiz über die struktur und synthese eines neuen chinolons aus *Ailanthus giraldii* Dode, *Chemische Berichte*, 102(5), pp. 1774-1775.
50. Achanta P.S., Gattu R.K., Belvotagi A.R.V., Akkinepally R.R., Bobbala R.K., Achanta A.R.V.N., 2015, New malabaricane triterpenes from the oleoresin of *Ailanthus malabarica, Fitoterapia*, 100, pp. 166-173.
51. Thongnest S., Boonsombat J., Prawat H., Mahidol C., Ruchirawat S., 2017, Ailanthusins A-G and nor-lupane triterpenoids from *Ailanthus triphysa, Phytochemistry*, 134, pp. 98-105.
52. Chawla A., Dev S., 1967, A new class of triterpenoids from *Ailanthus malabarica* DC. derivatives of malabaricane*, Tetrahedron Letters*, 8(48), pp. 4837-4843.
53. Paton W.F., Paul I.C., Bajaj A.G., Dev S., 1979, The structure of malabricol. *Tetrahedron Letters*, 20(43), pp. 4153-4154.
54. Hitotsuyanagi Y., Ozeki A., Choo C.Y., Chan K.L., Itokawa H., Takeya K., 2001, Malabanones A and B, novel nortriterpenoids from *Ailanthus malabarica* DC., *Tetrahedron*, 57(35), pp. 7477-7480.
55. Joshi B.S., Kamat V.N., William Pelletier S., Go K., K. Bhandary, 1985, The structure of ailanthol, a new triterpenoid from *Ailanthus malabarica* DC., *Tetrahedron Letters*, 26(10), pp. 1273-1276.
56. Shu-Hua Q., Da-Gang W., Yun-Bao M., Xiao-Dong L., 2003b, Chemical constituents of *Ailanthus triphysa, Zhongcaoyao*, 34(7), pp. 590-592.
57. Shu-Hua Q., Da-Gang W., Yun-Bao M., Xiao-Dong L., 2003a, Chemical constituents of *Ailanthus triphysa, Chinese Journal of Chemistry*, 21(2), pp. 200-203.
58. Srinivas P.V., Rao R.R., Rao J.M., 2006, Two new tetracyclic triterpenes from the heartwood of *Ailanthus excelsa* Roxb., *Chemistry & Biodiversity*, 3(8), pp. 930-934.
59. Hong Z.L., Xiong J.,Wu S.B., Zhu J.J., Hong J.L., Zhao Y., Xia G., Hu J.F., 2013, Tetracyclic triterpenoids and terpenylated coumarins from the bark of *Ailanthus altissima* ("Tree of Heaven"), *Phytochemistry*, 86, pp. 159-167.
60. Zhu T.H., Wang Y.F., Dong M., Sauriol F., Huo C.H., Gu Y.C., Ni Z.Y., 2020, A new tetracyclic triterpenoid from the fresh bark of *Ailanthus altissima*, *Chemistry of Natural Compounds*, 56(3), pp. 477-480.
61. Zhou X.J., Xu M., Li X.S., Wang Y.H., Gao Y., Cai R., Cheng Y.X., 2011, Triterpenoids and sterones from the stem bark of *Ailanthus altissima*, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32, pp. 127-130.
62. Khan S., Fozdar B., Shamsuddin K., 1982, Quassinoids from *Ailanthus malabarica, Indian Journal of Chemistry - Section B*, 21, pp. 1133-1134.

63. Khan S.A., Shamsuddin K., 1980, Isolation and structure of 13,18-dehydroexcelsin, a quassinoid, and glaucarubol from *Ailanthus excelsa*, *Phytochemistry*, 19(11), pp. 2484-2485.
64. Wang Y., Wang W.J., Su C., Zhang D.M., Xu L.P., He R.R., Wang L., Zhang J., Zhang X.Q., Ye W.C., 2013, Cytotoxic quassinoids from *Ailanthus altissima*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(3), pp. 654-657.
65. Wang R.X., Mao X.X., Zhou J., Zhang M.l., Wu Y.B., Huo C.H., Shi Q.W., Sauriol F., Gu Y.C., 2017, Antitumor activities of six quassinoids from *Ailanthus altissima*, *Chemistry of Natural Compounds*, 53(1), pp. 28-32.
66. Furuno T., Ishibashi M., Naora H., Murae T., Hirota H., Tsuyuki T., Takahashi T., Itai A., Iitaka Y., 1984, Structure determination of bitter principles of *Ailanthus altissima*. Structures of shinjulactones B, D, and E, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 57(9), pp. 2484-2489.
67. Ishibashi M., Yoshimura S., Tsuyuki T., Takahashi T., Itai A., Iitaka Y., 1984, Structure determination of bitter principles of *Ailanthus altissima*. Structures of shinjulactones F, I, J, and K, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 57(10), pp. 2885-2892.
68. Ishibashi M., Yoshimura S., Tsuyuki T., Takahashi T., Matsushita K., 1984, Shinjulactones G and H, new bitter principles of *Ailanthus altissima* Swingle., *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 57(7), pp. 2013-2014.
69. Ishibashi M., Tsuyuki T., Takahashi T., 1985, Structure determination of a new bitter principle, shinjulactone L, from *Ailanthus altissima*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 58(9), pp. 2723-2724.
70. Niimi Y., Tsuyuki T., Takahashi T., Matsushita K., 1986, Structure determination of shinjulactones M and N, new bitter principles from *Ailanthus altissima* Swingle, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 59(5), pp. 1638-1640.
71. Yang, X.L., Yuan Y.L., Zhang D.M., Li F., Ye W.C., 2014, Shinjulactone O, a new quassinoid from the root bark of *Ailanthus altissima*, *Natural Product Research*, 28(18), pp. 1432-1437.
72. Kubota K., Fukamiya N., Hamada T., Okano M., Tagahara K., Lee K.-H., 1996, Two new quassinoids, ailantinols A and B, and related compounds from *Ailanthus altissima*, *Journal of Natural Products*, 59(7), pp. 683-686.
73. Kubota K., Fukamiya N., Okano M., Tagahara K., Lee K.-H., 1996, Two new quassinoids, ailantinols C and D, from *Ailanthus altissima*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 69(12), pp. 3613-3617.
74. Tamura S., Fukamiya N., Okano M., Koyama J., Koike K., Tokuda H., Aoi W., Takayasu J., Kuchide M., Nishino H., 2003, Three new quassinoids, ailantinol E, F, and G, from *Ailanthus altissima*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(4), pp. 385-389.
75. Tan Q.W., Ni J.C., Shi J.T., Zhu J.X., Chen Q.J., 2020, Two novel quassinoid glycosides with antiviral activity from the samara of *Ailanthus altissima*, *Molecules*, 25(23), pp. 5679.
76. Hung T., Stuppner H., Ellmerer-Müller E. P., Scholz D., Eigner D., Manandhar M. P., 1995, Steroids and terpenoids from the gum resin of *Ailanthus grandis*, *Phytochemistry*, 39(6), pp. 1403-1409.

77. Ali M., Ansari S., 2001, Two new phytosterols from *Ailanthus altissima* (Mill) Swingle, *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants*, Part II, pp. 597.
78. Zhao C.C., Shao J.H., Li X., Xu J., Zhang P., 2005, Antimicrobial constituents from fruits of *Ailanthus altissima* Swingle, *Archives of Pharmacal Research*, 28(10), pp. 1147-1151.
79. Mandal S., Das P., Joshi P., Das S., Mallick B., Chatterjee A., 1999, Steroidal constituents of *Ailanthus excelsa* Roxb. (Simarubaceae), *Journal of the Indian Chemical Society*, 76(10), pp. 509-510.
80. El-Baky A., Darwissh F., Ibraheim Z., Gouda Y., 2000, Phytochemical evaluation of *Ailanthus altissima* leaves, *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut University*, 23, pp. 111-116.
81. Proliac A., Raynaud J., 1983, On the presence of rhamnosyl-3-quercetin in *Ailanthus glandulosa* Desf. (Simarubaceae) leaves, *Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences*, 38(5), pp. 351 ref.4.
82. Souleles C., Philianos S., 1983, Constituents of *Ailanthus glandulosa* leaves, *Plantes Medicinales et. Phytotherapie*, 17(3), pp. 157-160.
83. Loizzo M. R., Said A., Tundis R., Rashed K., Statti G.A., Hufner A., Menichini F., 2007, Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) by flavonoids isolated from *Ailanthus excelsa* (Roxb.) (Simaroubaceae), *Phytotherapy research*, 21(1), pp. 32-36.
84. Kapoor S.K., Ahmad P.I., Zaman A., 1971, Chemical constituents of *Ailanthus excelsa*, *Phytochemistry*, 10(12), pp. 3333.
85. Hwang S.W., Lee J.R., Lee J., Kwon H.S., Yang M.S., Park K. H., 2005, New coumarins from the *Ailanthus altissima*. *Heterocycles-Sendai Institute of Heterocyclic Chemistry*, 65(8), pp. 1963-1966.
86. Dao T.T., Tran T.L., Kim J., Nguyen P.H., Lee E.H., Park J., Jang I.S., Oh W.-K., 2012, Terpenylated coumarins as SIRT1 activators isolated from *Ailanthus altissima*, *Journal of Natural Products*, **75**(7), pp. 1332-1338.
87. Yan Z.Y., Lv T.M., Wang Y.X., Shi S.C., Chen J.J., Bin L., Liu Q.B., Huang X.-X., Song S.-J., 2020, Terpenylated coumarins from the root bark of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Phytochemistry*, 175: pp. 112361.
88. Duan Z.K., Lin B., Du Y.Q., Li C., Yu X.Q., Xue X.B., Liu Q.B., Song S.J., Huang X.X., 2021, Monoterpenoid coumarins and monoterpenoid phenylpropanoids from the root bark of *Ailanthus altissima*, *New Journal of Chemistry*, 45(2), pp. 1100-1108.
89. Yan Z.Y., Chen J.J., Duan Z.K., Yao G.D., Lin B., Wang X.B., Huang X.X., Song S.J., 2018, Racemic phenylpropanoids from the root barks of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle with cytotoxicity against hepatoma cells, *Fitoterapia*, **130,** pp. 234-240.
90. Yadav A.K., Ali Z.M., Biswal A.R., Pazhamalai V., 2019, Phytochemical and GC-MS analysis of ethyl acetate extract of *Ailanthus triphysa* leaves, J*ournal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 11(5), pp. 1954-1959.
91. Du Y.Q., Yan Z.Y., Shi S.C., Hou Z.L., Huang X.X., Song S.J., 2021, Benzoic acid derivatives from the root barks of *Ailanthus altissima, Journal of Asian Natural Products Research*, 23(2), pp. 103-109.

92. Tan Q.W., Ouyang M.A., Wu Z.J., 2012, A new seco-neolignan glycoside from the root bark of *Ailanthus altissima. Natural Product Research*, 26(15), pp. 1375-1380.
93. Jeong M., Kim H.M., Ahn J.H., Lee K.T., Jang D.S., Choi J.H., 2018, 9-Hydroxycanthin-6-one isolated from stem bark of *Ailanthus altissima* induces ovarian cancer cell apoptosis and inhibits the activation of tumor-associated macrophages*, Chemico-Biological Interactions*, 280, pp. 99-108.
94. Jin M.H., Yook J., Lee E., Lin C.X., Quan Z., Son K.H., Bae K.H., Kim H.P., Kang S.S., Chang H.W., 2006, Anti-inflammatory activity of *Ailanthus altissima* in ovalbumin-induced lung inflammation, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(5), pp. 884-888.
95. Kim S.R., Park Y., Li M., Kim Y.K., Lee S., Son S.Y., Lee S., Lee J.S., Lee, C.H., Park H.H., Lee J.Y., Hong S., Cho Y.C., Kim J.W., Yoo H.M., Cho N., Lee H.S., Lee S.H., 2022, Anti-inflammatory effect of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle leaves in lipopolysaccharide-stimulated astrocytes, *Journal of Ethnopharmacology*, 286, pp. 114258.
96. Meenakshi S., Jain D., Darokar M., Sharma R., 2001, Antibacterial activity of *Ailanthus excelsa* (Roxb), *Phytotherapy Research*, 15(2), pp. 165-166.
97. Joshi B.C., Pandey A., Chaurasia L., Pal M., Sharma R.P., Khare A., 2003, Antifungal activity of the stem bark of *Ailanthus excelsa, Fitoterapia*, 74(7), pp. 689-691.
98. Priya C., Shrikanth P., 2018, Antimicrobial activity of *Ailanthus triphysa* (Dennst.) Alston against some selected pathogenic bacteria*, Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(11), pp. 4921-4923.
99. Cheong W.O., Yik S.C., Sze M.C., Maan W.C., Eng L.T., Cai L.D.S., Kong S.K., Hean C.O., Nam W.S., 2020, Antifungal, antibacterial and cytotoxic activities of non-indigenous medicinal plants naturalised in Malaysia, *Farmacia*, 68, pp. 687-696.
100. Patil Y., Soman G., Shiney P., Wagle A., 2010, Evaluation of in vitro antioxidant activity of herbage of aromatic plants, *Journal of Cell and Tissue Research*, 10(1), pp. 2125-2129.
101. Kwok W.N., Salhim S.M., Majid A.M.S.A., Chan K.L., 2010, Anti-angiogenic and cytotoxicity studies of some medicinal plants*, Planta Medica*, 76(9), pp. 935-940.
102. Bommakanti S.S., Kundeti L.S.R., Saddanapu V., Nagaiah K., 2020, Synthesis and cytotoxicity on human lung cancer cell lines of 2-arylidene and related analogues of malabaricol*, ACS Omega*, 5(23), pp. 14069-14077.
103. Chi V.V., 2018, *Dictionary of Vietnamese medicinal plants,* Medicine Publishing House, Hanoi, 2, pp. 841-842.
104. Nadkarni K.M., 1976, *Indian materia medica*, Bombay Popular Prakashan, Bombay, 1, pp. 57-58.
105. Dastur J.F., 1951, *Medicinal plants of India & Pakistan*, D.B.Taraparevala Sons and Co., Bombay, 1, pp. 18.
106. Acebey-Castellon I.L., Voutquenne-Nazabadioko L., Huong D.T.M., Roseau N., Bouthagane N., Muhammad D., Elisabeth L.M.D., Gangloff S.C., Litaudon M., Sevenet T., Hung N.V., Lavaud C., 2011, Triterpenoid Saponins from *Symplocos lancifolia, Journal of Natural Products*, 74(2), pp. 163-168.

107. Voutquenne L., Gevrenova R., Borie N., Harakat D., Sayagh C., Weng A., Thakur M., Zaharieva M., Henry M., 2013, Triterpenoid saponins from the roots of *Gypsophila trichotoma* Wender*., Phytochemistry*, 90, pp. 114-127.
108. Tsai P.J., Tsai T.H., Yu C.H., Ho S.C., 2007, Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea*, Food Chemistry*, 103(1), pp. 181-187.
109. Bernardes N.R., Heggdorne-Araújo M., Borges I.F.J.C., Almeida F.M., Amaral E.P., Lasunskaia E.B., Muzitano M.F., Oliveira D.B., 2014, Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius, Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24, 644-650.
110. Marques R.V., Sestito S.E., Bourgaud F., Miguel S., Cailotto F., Reboul P., Jouzeau J.Y., Rahuel-Clermont S., Boschi-Muller S., Simonsen H.T., Moulin D., 2022, Anti-inflammatory activity of bryophytes extracts in LPS-stimulated RAW264. 7 murine macrophages, *Molecules*, 27(6), pp. 1940.
111. Cheenpracha S., Park E.J., Rostama B., Pezzuto J.M., Chang L.C., 2010, Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesterterpene peroxide, epimuqubilin A*, Marine Drugs*, 8(3), pp. 429-437.
112. Khan I.A., Sticher O., Rali T., 1993, New triterpenes from the leaves of *Timonius timon, Journal of Natural Products*, 56(12), pp. 2163-2165.
113. Quang T.H., Ngan N.T.T., Minh C.V., Kiem P.V., Nhiem N.X., Tai B.H., Thao N.P., Tung N.H., Song S.B., Kim Y.H., 2011, Anti-inflammatory triterpenoid saponins from the stem bark of *Kalopanax pictus, Journal of Natural Products*, 74(9), pp. 1908-1915.
114. Shao C.J., Kasai R., Ohtani K., Xu J.D., Tanaka O., 1989, Saponins from the leaves of *Kalopanax septembolus* (Thunb.) Koidz.: structures of kalopanax-saponins La.Lb.Lc*., Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 37(12), pp. 3251-3254.
115. Inada A., Yamada M., Murata H., Kobayashi M., Toya H., Kato Y., Nakanishi T., 1988, Phytochemical studies of seeds of medicinal plants. Two sulfated triterpenoid glycosides, sulfapatrinosides I and II, from seeds of *Patrinia scabiosaefolia* Fischer., *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 36(11), pp. 4269-4274.
116. Bisoli E., Garcez W.S., Hamerski L., Tieppo C., Garcez F.R., 2008, Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum, Molecules*, 13(11), pp. 2717-2728.
117. Tapondjou L.A., Lontsi D., Beibam Luc S., Jongwon C., Kyung-Tae L., Hyun-Ju J., Hee-Juhn P., 2003, *In vivo* anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the two triterpenes, ursolic acid and 23-hydroxyursolic acid, from *Cussonia bancoensis, Archives of Pharmacal Research*, 26(2), pp. 143-146.
118. Ikuta A., Kamiya K., Satake T., Saiki Y., 1995, Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia species, Phytochemistry*, 38(5), pp. 1203-1207.
119. Kenfack J., Ponou B., Kühlborn J., Teponno R., Raymond N., Fouedjou R., Opatz T., Park H., Tapondjou L., 2018, A new flavonol glycoside from *Tristemma hirtum* (Melastomataceae)*, Natural Product Sciences*, 24, pp. 213.
120. Gossan D.P.A., Alabdul Magid A., Yao-Kouassi P.A., Josse J., Gangloff S.C., Morjani H., Voutquenne-Nazabadioko L., 2016, Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum, Fitoterapia*, 110, pp. 89-95.

121. Lahlou E.H., Hirai N., Kamo T., Tsuda M., Ohigashi H., 2001, Actinidic acid, a new triterpene phytoalexin from unripe kiwi fruit*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 65(2), pp. 480-483.
122. Xu G.H., Kim J.A., Kim S.Y., Ryu J.C., Kim Y.S., Jung S.H., Kim M.K., Lee S.H., 2008, Terpenoids and coumarinsisolated from the fruits of *Poncirus trifoliata, Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(6), pp. 839-842.
123. Shrimali M., Jain D., Sharma R., 1997, Chemistry and biological activity of the genra-Ailanthus*, Indian drugs*, 34(3), pp. 154-167.
124. Chen H., Ma S.G., Fang Z.F., Bai J., Yu S.S., Chen X.G., Hou Q., Yuan S.P., Chen X., 2013, Tirucallane triterpenoids from the stems of *Brucea mollis, Chemistry & Biodiversity*, 10(4), pp. 695-702.
125. Mohamad K., Martin M.T., Litaudon M., Gaspard C., Sévenet T., Païs M., 1999, Tirucallane triterpenes from *Dysoxylum macranthum, Phytochemistry*, 52(8), pp. 1461-1468.
126. Toume K., Nakazawa T., Ohtsuki T., Arai M.A., Koyano T., Kowithayakorn T., Ishibashi M., 2011, Cycloartane triterpenes isolated from *Combretum quadrangulare* in a screening program for death-receptor expression enhancing activity*, Journal of Natural Products*, 74(2), pp. 249-255.
127. McChesney J.D., Dou J., Sindelar R.D., Goins D.K., Walker L.A., Rogers R.D., 1997, Tirucallane-type triterpenoids: nmr and X-ray diffraction analyses of 24-epi-piscidinol A and piscidinol A*, Journal of Chemical Crystallography*, 27(5), pp. 283-290.
128. Wei J.C., Huang H.H., Zhong N.F., Gao Y.-N., Liu X.L., Long G.Q., Hu G.S.,Wang A.H., Jia J.M., 2021, Euphorfistrines A-G, cytotoxic and AChE inhibiting triterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana, Bioorganic Chemistry*, 116, pp. 105395.
129. Mulholland D.A., Kotsos M., Mahomed H.A., Taylor D.A.H., 1998, Triterpenoids from *Owenia cepiodora, Phytochemistry*, 49(8), pp. 2457-2460.
130. Su R., Kim M., Kawaguchi H., Yamamoto T., Goto K., Taga T., Miwa Y., Kozuka M., Takahashi S., 1990, Triterpenoids from the Fruits of *Phellodendron chinense* Schneid.: The stereostructure of niloticin*, Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **38**(6), pp. 1616-1619.
131. Liang G.Y., Gray A.L., Waterman P.G., 1988, Tirucallane and oleanane triterpenes from the resin of *Aucoumea klaineana, Phytochemistry*, 27(7), pp. 2283-2286.
132. Zhang Y., Tang C.-P., Ke C.-Q., Yao S., Ye Y., 2010, Limonoids and triterpenoids from the stem bark of *Melia toosendan, Journal of Natural Products*, 73(4), pp. 664-668.
133. Inada A., Konishi M., Nakanishi T., 1989, Phytochemical studies on meliaceous plants. V. structure of a new apotirucallane-type triterpene, 21-*O*-methyl-toosendanpentol from fruits of *Melia toosendan* sieb. Et zucc*, Heterocycles*, 28(1), pp. 383-387.
134. Xie B.J., Yang S.P., Chen H.D., Yue J.M., 2007, Agladupols A-E, triterpenoids from *Aglaia duperreana, Journal of Natural Products*, 70(9), pp. 1532-1535.