

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Quỳnh Dương

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HÓA HỌC VÀ ĐÁNH
GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NITRIC OXIDE CỦA MỘT SỐ HỢP
CHẤT THỨ CẤP TỪ CÂY VIỄN CHÍ HOA VÀNG (*Polygala arillata*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ 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 Thị Quỳnh Dương

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NITRIC OXIDE CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT THỨ CẤP TỪ CÂY VIỄN CHÍ HOA VÀNG (*Polygala arillata*)

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

PGS. Trần Hồng Quang

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'THQ', is written over the name PGS. Trần Hồng Quang.

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn



Nguyễn Thị Quỳnh Dương

LỜI CẢM ƠN

Luận văn “Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide của một số hợp chất thứ cấp từ cây Viền chí hoa vàng (*Polygala arillata*)” được thực hiện tại phòng Hóa sinh phân tử, Viện Hóa Học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Trong suốt thời gian học tập và thực hiện luận văn thạc sĩ, tôi đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ và hỗ trợ từ nhiều cá nhân và tập thể.

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS. Trần Hồng Quang, người thầy hướng dẫn đã chỉ bảo, định hướng khoa học và luôn động viên tôi, tạo mọi điều kiện hỗ trợ xuyên suốt quá trình thực hiện luận văn. Những ý kiến đóng góp quý báu của Thầy là nền tảng quan trọng giúp tôi hoàn thiện nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa Học, cán bộ phòng Hóa sinh phân tử cùng các phòng ban liên quan đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất, trang thiết bị, kinh phí và môi trường làm việc để tôi có thể triển khai các nội dung nghiên cứu một cách hiệu quả.

Xin gửi lời cảm ơn tới Ban Lãnh đạo, Phòng Đào tạo và các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ, tạo điều kiện thuận lợi về mặt thủ tục, chương trình đào tạo cũng như các điều kiện cần thiết khác trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Cuối cùng, tôi đặc biệt trân trọng sự quan tâm, chia sẻ và giúp đỡ từ gia đình và bạn bè, những người đã luôn ở bên, tiếp thêm động lực và hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Luận văn được giúp đỡ về mặt kinh phí và thực hiện trong khuôn khổ Đề tài Quỹ Nafosted: “Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng viêm và ức chế enzyme PTP1B của ba loài *Polygala* ở Việt Nam: *P. arillata*, *P. paniculata*, và *P. glomerata* var. *langbianensis*”. Mã số: 104.01-2021.42.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 16 tháng 06 năm 2026

Tác giả luận văn

Nguyễn Thị Quỳnh Dương

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	ix
MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1. GIỚI THIỆU VỀ CÂY VIỄN CHÍ HOA VÀNG.....	3
1.1.1. Thực vật học.....	3
1.1.2. Đặc điểm thực vật.....	4
1.1.3. Công dụng.....	4
1.2. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU.....	5
1.2.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	5
1.2.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước.....	14
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	16
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	16
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	16
2.2.1. Phương pháp tạo dịch chiết tổng.....	16
2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	16
2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất.....	18
2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO.....	20
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	22
3.1. KẾT QUẢ TẠO CAO CHIẾT.....	22
3.2. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ TINH CHẾ CÁC HỢP CHẤT.....	23
3.3. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CÁC HỢP CHẤT.....	26
3.3.1. Hợp chất 1: Polyarilloside A (chất mới).....	26
3.3.2. Hợp chất 2: Polyarilloside B (chất mới).....	35
3.3.3. Hợp chất 3: Polyarilloside C (chất mới).....	42
3.3.4. Hợp chất 4: Polyaureoside A.....	49
3.3.5. Hợp chất 5: Polyaureoside B.....	52
3.3.6. Hợp chất 6: Polyaureoside C.....	55

3.3.7. Hợp chất 7: Polyaureoside D.....	58
3.3.8. Hợp chất 8: Arilloside A	61
3.4. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NO CỦA CÁC HỢP CHẤT.....	64
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	66
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ.....	67
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	68
PHỤ LỤC.....	70

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
¹ H-NMR	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
¹³ C-NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon-13
CC	Column chromatography	Sắc ký cột
CD ₃ OD	Deuterated methanol	Deuterated metanol
CDCl ₃	Deuterated chloroform	Deuterated chloroform
C ₅ D ₅ N	Pyridine-D5	Pyridine-D5
COSY	Correlation Spectroscopy	Phổ tương quan (¹ H- ¹ H)
CTPT	Chemical Formula	Công thức phân tử
DAD	Diode Array Detector	Đầu dò mảng diode
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	Kỹ thuật tăng cường tín hiệu không biến dạng
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO-d ₆	Dimethyl sulfoxide	Dimetyl sunfoxit
ECD	Electron Capture Detector	Đầu dò bắt electron
EI-MS	Electron Ionization Mass Spectrometry	Khối phổ ion hoá bằng electron
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Khối phổ ion hoá phun điện
EtOAc	Ethyl acetate	Etyl acetate
EtOH	Ethanol	Etanol
FBS	Fetal Bovine Serum	Huyết thanh bò thai

HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết H-C
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence	Phổ tương quan đa lượng tử dị hạt nhân
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HRESIMS	High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Khối phổ ion hoá phun điện độ phân giải cao
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân trực tiếp H-C
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
IR (KBr)	Infrared Spectroscopy (KBr pellet)	Phổ hồng ngoại (mẫu ép viên KBr)
LC-MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry	Sắc ký lỏng ghép khối phổ
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
MeOH	Methanol	Metanol
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MS	Mass spectrometry	Phổ khối lượng
MTT	<i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide</i> (MTT assay)	Phép thử MTT đánh giá khả năng sống/tăng sinh tế bào
NO	Nitric oxide	Nitric oxide
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ hiệu ứng Overhauser hạt nhân (xác định tương tác không gian)
PDA	Photodiode Array Detector	Đầu dò mảng photodiode
PTLC	Preparative Thin Layer Chromatography	Sắc ký lớp mỏng điều chế

TLC	Thin-layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy	Phổ tương quan toàn phần
UV-Vis	Ultraviolet–Visible Spectroscopy	Phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến
δ (ppm)	Độ chuyển dịch hóa học (parts per million)	Độ chuyển dịch hóa học (phần triệu)
δ C	Carbon chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của cacbon
δ H	Proton chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Vị trí phân loại của loài <i>Polygala arillata</i>	3
Bảng 1.2. Các hợp chất đã được công bố từ loài <i>P. arillata</i>	10
Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 1	29
Bảng 3.2. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 2	36
Bảng 3.3. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 3	43
Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 4	50
Bảng 3.5. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 5	53
Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 6	56
Bảng 3.7. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 7	59
Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 8	62
Bảng 3.9. Tác dụng ức chế sản sinh NO của các hợp chất 1–8 ở tế bào RAW264.7	64

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất triterpenoid saponin từ <i>P. arillata</i> .6	6
Hình 1.2. Một số hợp chất oligosaccharid phân lập từ loài Viền chí hoa vàng7	7
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất Xanthone phân lập được từ cây Viền chí hoa vàng.....9	9
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất Phenolic khác phân lập được từ cây Viền chí hoa vàng.....9	9
Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của Polygaloside và Arillatoside15	15
Hình 2.1. Cây và rễ cây Viền chí hoa vàng (<i>P. arillata</i>)16	16
Hình 3.1. Sơ đồ tạo các cao chiết từ bột rễ cây Viền chí hoa vàng22	22
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn F3 của cao chiết Nước.....24	24
Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn F4 của cao chiết Nước.....24	24
Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-826	26
Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của hợp chất 126	26
Hình 3.6. Các tương tác COSY, TOCSY (—) và HMBC (→) chính của hợp chất 128	28
Hình 3.7. Các tương tác ROESY chính của phần aglycone của hợp chất 129	29
Hình 3.8. Phổ IR của polyarilloside A (1)30	30
Hình 3.9. Phổ HRESIMS của polyarilloside A (1).....31	31
Hình 3.10. Phổ ¹ H NMR (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1).....31	31
Hình 3.11. Phổ ¹³ C NMR (150 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1)32	32
Hình 3.12. Phổ HSQC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1)32	32
Hình 3.13. Phổ HMBC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1).....33	33
Hình 3.14. Phổ COSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1)33	33
Hình 3.15. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1).....34	34
Hình 3.16. Phổ ROESY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1).....34	34
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất 235	35
Hình 3.19. Phổ IR của polyarilloside B (2).....38	38
Hình 3.20. Phổ HRESIMS của polyarilloside B (2)38	38
Hình 3.21. Phổ ¹ H NMR (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2).....39	39
Hình 3.22. Phổ ¹³ C NMR (150 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2).....39	39
Hình 3.23. Phổ HSQC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2)40	40
Hình 3.24. Phổ HMBC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2)40	40
Hình 3.25. Phổ COSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2)41	41
Hình 3.26. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2).....41	41

Hình 3.27. Phổ ROESY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside B (2).....	42
Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất 3	42
Hình 3.29. Các tương tác COSY, TOCSY (—) và HMBC (→) chính của hợp chất 3	43
Hình 3.30. Phổ IR của polyarilloside C (3).....	45
Hình 3.31. Phổ HRESIMS của polyarilloside C (3)	45
Hình 3.32. Phổ ¹ H NMR (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3).....	46
Hình 3.33. Phổ ¹³ C NMR (150 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3).....	46
Hình 3.34. Phổ HSQC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)	47
Hình 3.35. Phổ HMBC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)	47
Hình 3.36. Phổ COSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)	48
Hình 3.37. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3).....	48
Hình 3.38. Phổ ROESY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3).....	49
Hình 3.39. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4	49
Hình 3.40. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 4	50
Hình 3.41. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4	52
Hình 3.42. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 5	53
Hình 3.43. Cấu trúc hóa học của hợp chất 6	55
Hình 3.44. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 6	56
Hình 3.45. Cấu trúc hóa học của hợp chất 7	58
Hình 3.46. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 7	59
Hình 3.47. Cấu trúc hóa học của hợp chất 8	61
Hình 3.48. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 8	62

MỞ ĐẦU

Từ xưa đến nay, thiên nhiên luôn là nguồn dược liệu phong phú và đa dạng, đóng vai trò nền tảng trong việc phòng và chữa bệnh. Đặc biệt, hệ thống cây thuốc cổ truyền ở nhiều quốc gia châu Á, trong đó có Việt Nam, đã lưu giữ một kho tàng quý báu về các loài thảo dược với công dụng chữa bệnh đa dạng. Hiện nay, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học công nghệ, việc nghiên cứu, phân lập và xác định các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ cây thuốc cổ truyền ngày càng được chú trọng.

Về mặt khoa học, việc nghiên cứu này giúp làm sáng tỏ thành phần hóa học, cấu trúc và cơ chế tác dụng sinh học của các hoạt chất, từ đó cung cấp thêm dữ liệu quan trọng cho lĩnh vực dược liệu và hóa sinh học. Không chỉ vậy, còn góp phần quan trọng tạo nền tảng cho quá trình nghiên cứu và phát triển dược phẩm trong tương lai.

Về mặt ứng dụng, đầu tiên có thể tạo cơ sở cho việc phát triển các thuốc mới có nguồn gốc tự nhiên, đồng thời góp phần chứng minh tính đúng đắn và giá trị thực tiễn của tri thức y học cổ truyền. Bên cạnh đó việc nghiên cứu cấu trúc, hoạt tính của hoạt chất mới cũng mở cơ hội cho hoạt động tổng hợp hóa học, phát triển loại thuốc có khả năng thương mại hóa và phổ cập đến nhân loại. Đặc biệt mở ra hướng khai thác hợp lý và bền vững nguồn nguyên liệu tự nhiên trong nước, khuyến khích nhân giống loại dược liệu có giá trị kinh tế cao, phát triển các sản phẩm hỗ trợ sức khỏe, phát huy giá trị kinh tế của các loài cây thuốc bản địa.

Viễn chí hoa vàng (*Polygala arillata*) là một loài cây thuốc được ghi nhận trong y học cổ truyền với nhiều công dụng như an thần, bổ não, chữa suy nhược cơ thể và hỗ trợ trí nhớ [1]. Loài *Polygala arillata* chứa nhiều nhóm hợp chất tự nhiên phong phú, đặc biệt là saponin triterpenoid/oleanane, xanthone, flavonoid, acid phenolic và một số alkaloid. Các saponin oligosaccharide (như polygalasaponin, tenuifolin) là nhóm hợp chất đặc trưng của chi *Polygala*, được xem là thành phần chính tạo nên hoạt tính dược lý. Ngoài ra, một số dẫn chất polygalaxanthone cũng đã được phát hiện, góp phần đa dạng hóa thành phần hóa học của loài [2], [3], [4] Các nghiên cứu cho thấy cao chiết từ *P. arillata* thể hiện hoạt tính cải thiện trí nhớ, tăng cường nhận thức, hỗ trợ điều trị trầm cảm và lo âu, khả năng chống oxy hóa, tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm và đặc biệt là hoạt tính kháng viêm – bảo vệ thần kinh [2]. Mặc dù Viễn chí hoa vàng là một loại dược liệu cổ truyền của Việt Nam, tuy nhiên, số lượng nghiên cứu nhằm làm rõ thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài dược liệu này vẫn còn hạn chế, đặc biệt là mối liên hệ giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính kháng viêm.

Nitric oxide (NO) là một chất truyền tin quan trọng trong cơ thể, nhưng NO dư thừa do hoạt hóa quá mức enzyme iNOS trong đại thực bào lại liên quan đến các phản ứng viêm cấp và mãn tính của cơ thể, stress oxy hóa, có khả năng liên quan đến sự phát triển của các bệnh thoái hóa thần kinh, điển hình là Alzheimer và Parkinson., viêm khớp dạng thấp, bệnh tim mạch, ung thư... Do những rủi ro từ thuốc tổng hợp hiện tại (như NSAID gây loét dạ dày, độc gan, thận), việc tìm kiếm các hoạt chất có nguồn gốc thiên nhiên, với ưu điểm là độc tính thấp, tính chọn lọc tốt đang là hướng nghiên cứu nhận được sự quan tâm mạnh mẽ của dược học hiện đại.

Bởi vậy, đề tài “**Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide của một số hợp chất thứ cấp từ cây Viễn chí hoa vàng (*Polygala arillata*)**” được thực hiện để góp khám phá thêm các hoạt chất mới và công dụng ức chế sản sinh Nitric oxide từ thân rễ cây Viễn chí hoa vàng trồng tại nước ta, từ đó khẳng định thêm tiềm năng của nguồn dược liệu và góp phần làm bằng chứng cho sự phát triển các tác nhân chống viêm nguồn gốc tự nhiên.

Mục đích nghiên cứu

- Phân lập và xác định cấu trúc của 5 hợp chất sạch từ rễ cây Viễn chí hoa vàng.
- Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide của các hợp chất sạch ở dòng đại thực bào RAW264.7 kích thích bởi LPS.

Nội dung nghiên cứu

- Tạo cao chiết tổng và các phân đoạn chiết của mẫu rễ cây Viễn chí hoa vàng.
- Phân lập các hợp chất tinh khiết từ cao chiết thông qua sự kết hợp các kỹ thuật sắc ký.
- Xác định cấu trúc các chất sạch phân lập được bằng các phương pháp phổ ứng dụng.
- Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide của các hợp chất sạch ở dòng tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS.

Những đóng góp của luận văn

- Nhằm phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ cây Viễn chí hoa vàng, từ đó bổ sung và làm sáng tỏ thành phần hóa học của loài dược liệu này.
- Sàng lọc một số hợp chất có hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide từ cây Viễn chí hoa vàng, tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo về y - sinh - dược học.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. GIỚI THIỆU VỀ CÂY VIỄN CHÍ HOA VÀNG

1.1.1. Thực vật học

Cây Viễn chí hoa vàng (Kích nữ mông) có tên khoa học là *Polygala arillata* Buch.-Ham. ex. D. Don, nằm trong chi *Polygala*, thuộc họ Viễn chí (*Polygalaceae*) hay còn gọi là họ Kích nữ [5].

Bảng 1.1. Vị trí phân loại của loài *Polygala arillata* [1]

STT	Phân loại	Tên
1	Giới	<i>Plantae</i>
2	Nghành	<i>Magnoliophyta</i>
3	Lớp	<i>Magnoliopsida</i>
4	Phân lớp	<i>Rosidae</i>
5	Bộ	<i>Fabales</i>
6	Họ	<i>Polygalaceae</i>
7	Chi	<i>Polygala</i>
8	Loài	<i>Polygala arillata</i>

Họ Viễn chí (*Polygalaceae*) được xếp vào họ thực vật trong bộ Đậu - *Fabales*. Chi *Polygala* (Viễn chí) chiếm hơn 30% tổng số loài của toàn họ. Các loài trong họ có dạng sống đa dạng, có thể là cây gỗ, cây bụi, cây cỏ hoặc dạng bò/trườn; một số ít loài sống ký sinh trên rễ. Một số loài có chứa hợp chất tạo mùi salicylat đặc trưng. Lá thường mỏng, mọc so le dọc theo thân [1], [5].

Thế giới đã phát hiện ra khoảng hơn 600 loài thuộc chi *Polygala* sau khi khảo sát của trang “The plant list” phát triển chủ yếu ở các vùng nhiệt đới, ôn đới ở Ấn Độ, Mianma, Trung Quốc, Malaysia,...[1], [6]. Tại Việt Nam có khoảng hơn 30 loài được xác định, mọc rải rác trong rừng tự nhiên. Trong đó phải kể đến các loài như *Polygala aureocauda* Dunn (Viễn chí đuôi vàng), *Polygala glomerata* Lour. var. *langbianensis* A. Chev. Ex Gagnep (Viễn chí Lang Biang) phân bố chủ yếu ở Đà Lạt và vùng núi Lang Biang, *Polygala paniculata* L. (Viễn chí lá nhỏ) mọc hoang tại

các vùng núi Bạch Mã, Đà Lạt,..., *Polygala saxicola* Dunn. (Viễn chí trên đá) phát hiện tại đỉnh Bạch Mã, *Polygala tricornis* Gagn. (Viễn chí 3 sừng) thường gặp ở khu vực Hoàng Liên Sơn,... [1], [5], [7].

Loài *Polygala arillata* chủ yếu phân bố ở khu vực Lào Cai, mọc rải rác trong các tán rừng ở độ cao 1500-1800m, tháng 7-8 bắt đầu ra hoa [1].

1.1.2. Đặc điểm thực vật

Polygala arillata được mô tả khoa học từ thế kỷ XIX; các khảo cứu hình thái – phân loại tiếp theo đã xem xét lại phức hợp loài và mô tả biến thể *P. arillata* var. *laevicarpa* ở dãy Himalaya, đồng thời làm rõ một số nhầm lẫn định danh trong các tiêu bản cổ điển [8].

Viễn chí hoa vàng - *Polygala arillata* được Võ Văn Chi mô tả trong từ điển cây thuốc Việt Nam cây gỗ nhỏ cao 1-5 m; cành non có lông mịn hoặc nhẵn. Lá thon dài (4-12 × 2-6 cm), gốc tròn/tù, đầu nhọn kéo dài; gân bên 6 cặp, không lông; cuống dài khoảng 1 cm. Hoa vàng, gốc hồng, mọc thành chùm đơn đứng ở nách lá (10-30 cm); hoa dài 15-20 mm. Lá đài ngoài 3 (lá đài lớn khoảng 4 mm); cánh hoa mỏng, chia 8 thùy; 8 nhị; bầu không lông. Quả nang dẹt, gần tròn (7-9 mm); hạt 2, tròn, 3-5 mm, có áo hạt [1].

Rễ phát triển dạng rễ cọc, có nhiều rễ bên phân nhánh. Rễ thường hơi cong, kích thước không đồng đều, đường kính thay đổi tùy theo tuổi cây. Bề mặt ngoài màu vàng nâu đến nâu xám, có thể xuất hiện các nếp nhăn dọc. Khi còn tươi, rễ tương đối mềm; khi khô trở nên cứng và giòn. Mặt cắt ngang rễ cho thấy phần vỏ và phần gỗ phân biệt tương đối rõ. Rễ có mùi đặc trưng nhẹ, vị hơi đắng hoặc ngọt nhẹ (tùy mẫu và điều kiện sinh trưởng) [1].

1.1.3. Công dụng

Viễn chí hoa vàng (*Polygala arillata*) ứng dụng trong y học cổ truyền với bộ phận dùng chủ yếu là rễ. Dược liệu này có nhiều tác dụng sinh học và được ứng dụng trong hỗ trợ điều trị một số bệnh lý.

Trước hết, rễ Viễn chí thể hiện tác dụng an thần, cải thiện chức năng nhận thức và có tiềm năng hỗ trợ điều trị suy nhược thần kinh. Các nghiên cứu cho thấy các hợp chất saponin trong chi *Polygala* có khả năng điều hòa hoạt động của hệ thần kinh trung ương, qua đó góp phần tăng cường chức năng nhận thức và giảm lo âu [2], [9], [10]. Ngoài ra, dược liệu còn có khả năng tiêu đờm, giảm triệu chứng ho và hỗ trợ điều trị các bệnh hô hấp. Cơ chế được cho là liên quan đến khả năng kích thích tiết dịch đường hô hấp và làm loãng đờm.

Một số nghiên cứu cũng ghi nhận Viễn chí có tác dụng chống viêm và kháng khuẩn, góp phần hỗ trợ điều trị các bệnh nhiễm khuẩn nhẹ và viêm nhiễm [11]. Bên cạnh đó, các hợp chất trong *Polygala arillata* còn thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, giúp bảo vệ tế bào trước tác động của các gốc tự do [12].

Trong y học cổ truyền, rễ và vỏ cây Viễn chí còn được sử dụng với mục đích bổ tâm, ích trí, an thần, hóa đờm và khai khiếu, thường dùng trong các trường hợp mất ngủ, hay quên, thường được dùng để phục hồi thể trạng suy nhược, hỗ trợ điều hòa kinh nguyệt và giảm các triệu chứng liên quan đến hệ thần kinh và hô hấp [1].

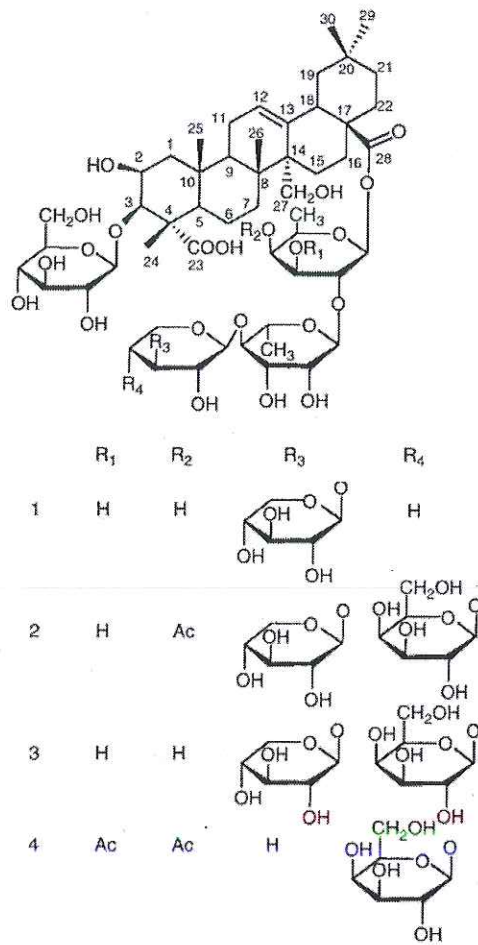
1.2. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU

1.2.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu trên thế giới

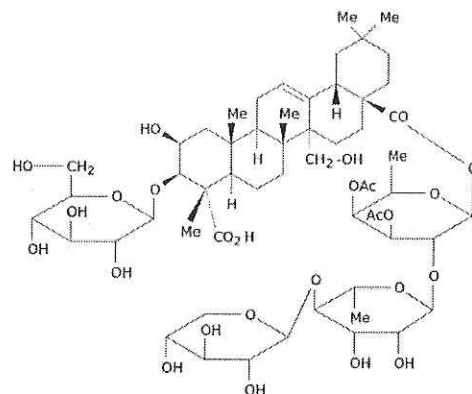
1.2.1.1. Nghiên cứu về hóa học

1.2.1.1.1. Triterpenoid saponin

Triterpenoid saponin (đa phần thuộc khung oleanane) được xem là thành phần hóa học chính trong nhiều loài thuộc chi *Polygala* [10]. Một số nghiên cứu trên thế giới đã phân lập được các hợp chất thuộc nhóm triterpenoid saponin từ rễ của *P. arillata*, việc xác định cấu trúc chính xác của chúng cũng rất được quan tâm [13] [13]. Theo Teng và cộng sự (2001), 3 hợp chất arillatanosides A–C (1-3) và một hợp chất đã biết polygalasaponin XXXV (4) được phân lập từ vỏ cây *P. arillata* [14]. Trên cơ sở một công bố trước đó [15], cấu trúc của các hợp chất 1-3 được xác định lại chính xác thông qua phân tích các phổ NMR 2D hiện đại, như COSY, HMQC, HMBC, TOCSY, 2D HMQC-TOCSY [14]. Nghiên cứu bởi Ouyang và cộng sự (1999) đã công bố sáu hợp chất saponins được phân lập và xác định cấu trúc, các hợp chất này đều có dạng khung oleanane triterpenoid và được đặt tên là arilloside A (5) và arilloside B-F (6-10) [15].



Arillatanoside A–C (1-3) và polygalasaponin XXXV (4)



Arilloside A (5)

Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất triterpenoid saponin từ *P. arillata*

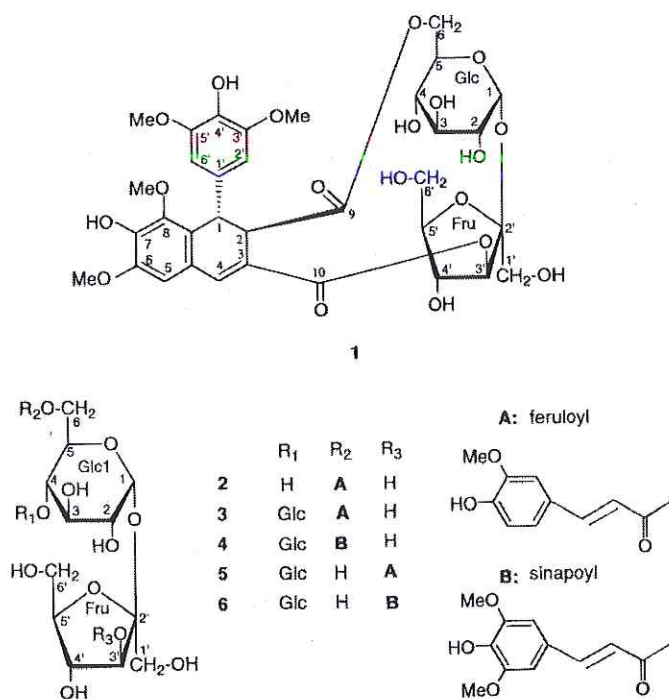
[13]

1.2.1.1.2. Oligosaccharide ester

Oligosaccharide ester cũng là nhóm hợp chất đặc trưng trong chi *Polygala*

(Polygalaceae), bên cạnh nhóm hợp chất triterpenoid saponin. Nhóm chất này thường có khung sucrose hoặc trisaccharide gắn với các acid hữu cơ khác nhau như caffeic, ferulic, sinapic...qua liên kết este, tạo nên sự đa dạng trong cấu trúc hóa học. Các hợp chất oligosaccharide ester từ các loài *Polygala* thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý như chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh, chống viêm và cải thiện trí nhớ [10]. Cho đến nay, đã có một số nghiên cứu cho thấy oligosaccharide ester là nhóm hợp chất chính ở cây *P. arillata*. Cụ thể như sau:

Năm 2000, nhóm của Kobayashi đã phân lập được 6 oligosaccharide ester mới từ rễ *P. arillata*, đặt tên là Arillatoses A–F (11-16) (đây là các sucrose ester acyl hóa, mang các nhóm thế từ acid cinnamic (caffeoyl, feruloyl, sinapoyl) và được coi là đặc trưng của loài này [16]. Gần đây, năm 2019 Xiang cũng cộng sự đã báo cáo thêm Arillatoside E (17), một cấu tử mới cùng họ, có hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide trong dòng tế bào RAW264.7, gợi ý tiềm năng chống viêm [11].



Arillatose A–F (11-16)

Hình 1.2. Một số hợp chất oligosaccharid phân lập từ loài Viễn chí hoa vàng

1.2.1.1.3. Nhóm hợp chất phenolic

Nhóm hợp chất phenolic bao gồm acid phenolic, flavonoid, xanthone và các dẫn xuất cinnamic là thành phần phổ biến trong họ Polygalaceae. Đây là những hợp chất thứ cấp đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bảo vệ thực vật và đồng thời thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, chống viêm, bảo vệ thần kinh và

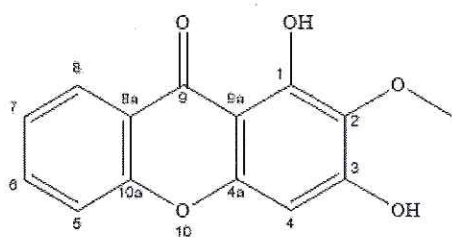
kháng vi sinh vật [10].

Trong chi *Polygala*, ngoài nhóm triterpenoid saponin và oligosaccharide ester, các hợp chất phenolic được xem là một trong những nhóm chính tạo nên dấu vết hóa học. Đối với Viễn chí hoa vàng, một số công trình nghiên cứu quốc tế đã ghi nhận sự hiện diện của nhiều hợp chất phenolic mới, tiêu biểu là xanthone và phenolic glycoside.

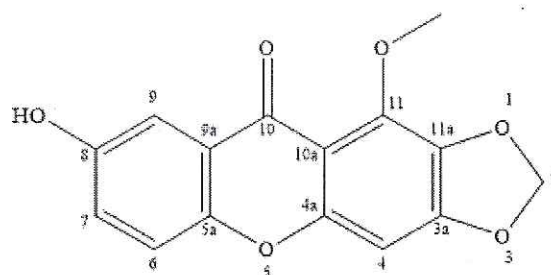
• *Nhóm xanthone*

Có khoảng gần 100 hợp chất xanthone đã được phân lập thành công từ các loài thuộc chi từ các bộ phận của cây thuộc chi *Polygala*. Chúng tồn tại dưới dạng aglycon hoặc glycoside. Trong đó gần 50 xanthone aglycon và hơn 30 xanthone glycoside. Có gần 70 xanthone tồn tại dưới dạng khung cơ bản, 10 xanthone có nhóm methylenedioxy, một vài xanthone glycoside có cấu trúc đặc biệt mang nhóm transdihydrobenzofuran và acid 2-hydroxymethyl-5-hydroxyl-2-pentenoic [7]. Nghiên cứu bởi Mao và cộng sự (1997) đã phân lập được 2 hợp chất xanthone mới là 1,3-dihydroxy-2-methoxyxanthone (21) and 7-hydroxy-1-methoxy-2,3-methylenedioxyxanthone (22) từ rễ cây *P. arillata*. Cả 2 hợp chất này đều thể hiện hoạt tính ức chế enzym aldose reductase [3].

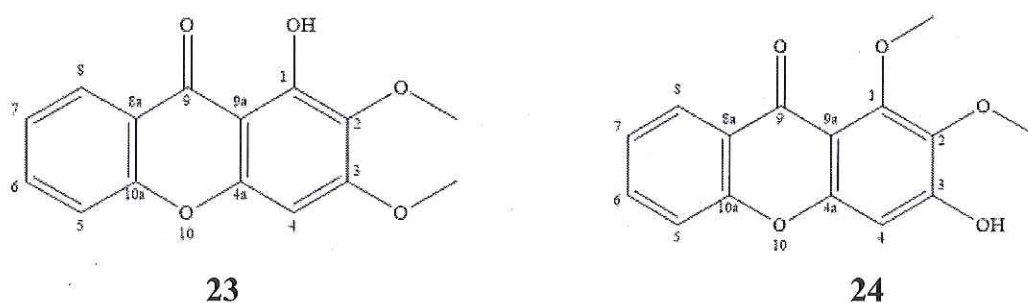
Theo Li và cộng sự (1999), 2 hợp chất xanthone là 1,3-dihydroxy-2-methoxyxanthone (21), 1-hydroxy-2,3-dimethoxyxanthone (23) đã được phân lập từ *P. arillata*. Bên cạnh đó, một vài hợp chất khác cũng được nhóm tác giả xác định bao gồm: succinic acid, stigmasterol, stigmasterol-3-*O*-glucoside, *p*-hydroxybenzoic acid, và polygalitol [6]. Xiong và cộng sự (2011) đã công bố kết quả phân lập và xác định cấu trúc tinh thể của một hợp chất xanthone là 3-hydroxy-1,2-dimethoxy-9H-xanthen-9-one (24) từ loài *P. arillata*.



21



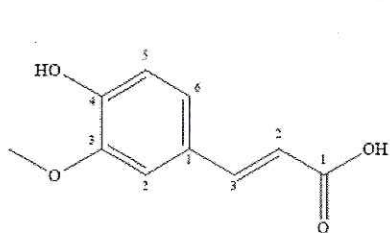
22



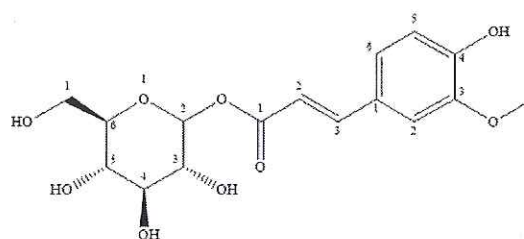
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất Xanthone phân lập được từ cây Viễn chí hoa vàng

- Các nhóm hợp chất phenolic khác

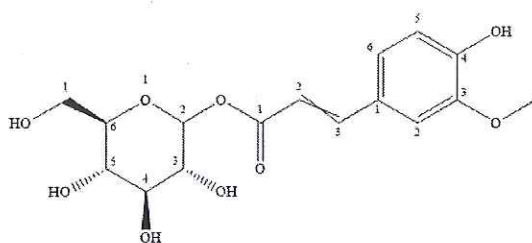
Theo nghiên cứu được thực hiện bởi Xiang và cộng sự (2019), từ rễ cây *P. arillata*, một số hợp chất phenolic đã được phân lập và xác định, bao gồm : *trans*-ferulic acid (25), *trans*-feruloyl-glucoside (26), feruloyl-glucoside (27), 2,4,6-trimethoxy-1-*O*- β -Dglycoside (28), 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid (29), sinapic acid (30), và phydroxybenzaldehyde (31). Ngoài ra, một số hợp chất khác như axit béo mạch dài cũng được xác định [11].



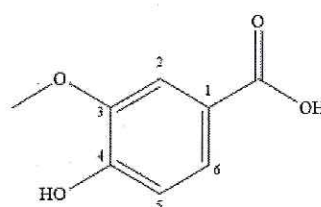
Trans-ferulic acid (25)



Trans-feruloyl-glucoside (26)



Feruloyl-glucoside (27)



3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid (29)

Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của một số hợp chất Phenolic khác phân lập được từ cây Viễn chí hoa vàng

Bảng 1.2. Các hợp chất đã được công bố từ loài *P. arillata* [17][18][7][3][4][10]

STT	Tên hợp chất	Nhóm hợp chất	Tài liệu tham khảo
1-3	Arillatanoside A-C	Triterpenoid saponin	[14]
4	Polygalasaponin XXXV	Triterpenoid saponin	[14]
5-10	Arilloside A-F	Triterpenoid saponin	[15]
11-16	Arillatoses A-F	Oligosaccharide	[16]
17	Arillatoside E	Oligosaccharide	[11]
18	Polygaloside	Oligosaccharide	[19]
19	Arillatoside	Oligosaccharide	[19]
20	Polygarinolide A	Triterpenoid saponin	[18]
21	1,3-dihydroxy-2-methoxyxanthone	Xanthone	[3], [6]
22	7-hydroxy-1-methoxy-2,3-methylenedioxyxanthone	Xanthone	[3]
23	1-hydroxy-2,3-dimethoxyxanthone	Xanthone	[6]
24	3-hydroxy-1,2-dimethoxy-9H-xanthen-9-one	Xanthone	[6]
25	<i>trans</i> -ferulic acid	Phenolic	[11]
26	<i>trans</i> -feruloyl-glucoside	Phenolic	[11]

27	feruloyl-glucoside	Phenolic	[11]
28	2,4,6-trimethoxy-1- <i>O</i> - β -D-glycoside	Phenolic	[11]
29	3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid	Phenolic	[11]
30	sinapic acid	Phenolic	[11]
31	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	Phenolic	[11]
32	tenuifoliside C	Oligosaccharide	[17]
33	ticornose B	Oligosaccharide	[17]
34	3- <i>O</i> -[(<i>E</i>)-3,4,5-trimethoxycinnamoyl]- β -D-fructofuranosyl-(2-1)-(6- <i>O</i> -benzoyl)- α -D-glucopyranoside	Oligosaccharide	[17]
35	3',6-disinapoyl sucrose	Oligosaccharide	[17]
36	(3- <i>O</i> -feruloyl)- β -D-fructofuranosyl-(6- <i>O</i> -sinapoyl)- α -D-glucopyranoside	Oligosaccharide	[17]
37	1,7-dihydroxy-4-methoxyxanthon	Xanthone	[20]
38	1,3-dihydroxyxanthon	Xanthone	[20]
39	1,7-dihydroxyxanthon	Xanthone	[20]
40	1,7-dimethoxyxanthon	Xanthone	[20]
41	1,2,3-trimethoxyxanthon	Xanthone	[21]
42	1,3,4-trimethoxyxanthon	Xanthone	[21]
43	1-methoxy-2,3-	Xanthone	[20]

	(methylenedioxy)xanthon		
44	1,6,7-trihydroxy-2,3-dimethoxyxanthon	Xanthone	[3]
45	3-hydroxy-1,2-dimethoxyxanthon	Xanthone	[22]
46	2-hydroxy-3,4-dimethoxyxanthon	Xanthone	[16]
47	Arillanin D	Xanthone	[16]
48	Arillanin E	Xanthone	[16]
49	succinic acid	Nhóm khác	[6]
50	stigmasterol	Nhóm khác	[6]
51	stigmasterol-3- <i>O</i> - glucoside	Nhóm khác	[6]
52	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	Nhóm khác	[6]
53	polygalitol	Nhóm khác	[6]
54	<i>trans</i> -ferulic acid	Nhóm khác	[11]
55	<i>trans</i> -feruloyl-glucosid	Nhóm khác	[11]
56	Feruloyl-glucosid	Nhóm khác	[11]
57	2,4,6-trimethoxy-1- <i>O</i> - β -D-glycosid	Nhóm khác	[11]
58	3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid	Nhóm khác	[11]
59	Monopentadecanoin	Nhóm khác	[11]
60	Sinapic acid	Nhóm khác	[11]
61	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyd	Nhóm khác	[11]

62	Palmitic acid	Nhóm khác	[11]
63	3'- <i>E</i> -3,4,5-trimethoxy cinnamoyl-6-benzoyl sucros	Nhóm khác	[11]
64	Liriodendrin	Nhóm khác	[23]
65	Acid Cerotic	Nhóm khác	[23]
66	Glyceryl palmitat	Nhóm khác	[23]

1.2.1.2. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học

Cây Viền chí hoa vàng (*Polygala arillata*) thuộc họ Polygalaceae là loài dược liệu phân bố tại Nam Á, Đông Nam Á và được sử dụng trong y học cổ truyền với công dụng bổ não, an thần, trị đau nhức và hỗ trợ trí nhớ. Các hợp chất có mặt trong loài này thể hiện nhiều hoạt tính sinh học quan trọng, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực nghiên cứu và phát triển thuốc hiện đại.

1.2.1.2.1. Hoạt tính chống viêm

Các triterpenoid saponin (Arillatanosides, Arillosides, Arillatoside E) cho thấy khả năng ức chế sản xuất nitric oxide (NO) trong đại thực bào RAW264.7, đồng thời dự đoán có tương tác với COX-2 và iNOS qua mô phỏng docking [11], [23]. Polygarinolide A (một lactone mới) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide hiệu quả, IC₅₀ khoảng 25 μM, gợi ý tiềm năng chống viêm mạnh [18]. Một số hoạt chất nhóm Phenolic ester (caffeoyl/feruloyl sucrose ester) cũng góp phần điều hòa phản ứng viêm thông qua hoạt tính chống oxy hóa [10].

1.2.1.2.2. Hoạt tính chống oxy hóa

Một số flavonoid và acid phenolic nhỏ (acid caffeic, ferulic, sinapic) hoạt động như chất dọn gốc tự do, bảo vệ màng tế bào [10]. Bên cạnh đó, các hợp chất xanthone và dẫn xuất hydroxyl/methoxyl thể hiện khả năng chống oxy hóa mạnh, đồng thời hỗ trợ bảo vệ thần kinh [3]. Ngoài ra, các sucrose ester phenolic (Arillatoses A–F) có nhiều nhóm caffeoyl, do đó tăng cường hoạt tính chống oxy hóa [16].

1.2.1.2.3. Hoạt tính bảo vệ thần kinh

Tương tự với các loài *Polygala tenuifolia* và *P. sibirica*, saponin trong *P. arillata* được dự đoán có tác dụng an thần, hỗ trợ trí nhớ và chống lo âu nhờ vào nhóm hoạt chất triterpenoid saponin [24]. Mao et al. (1997) ghi nhận xanthone mới từ *P. arillata* ức chế aldose reductase, enzyme liên quan đến biến chứng thần kinh

trong đại tháo đường, qua đó gợi ý tiềm năng bảo vệ thần kinh [3]. Trong chi *Polygala*, các hợp chất tương tự Sucrose ester caffeoyl (ví dụ tenuifoliside từ *P. tenuifolia*) đã được chứng minh cải thiện nhận thức và trí nhớ. Điều này mở ra hướng ứng dụng tương tự cho *P. arillata* [24].

1.2.1.2.4. Hoạt tính kháng khuẩn-kháng nấm

Các chiết xuất methanol/ethanol từ rễ *P. arillata* thể hiện khả năng ức chế một số vi sinh vật gây bệnh (vi khuẩn Gram dương và nấm sợi), tuy chưa xác định hợp chất đơn lẻ [2]. Nhóm terpenoid bay hơi (myrcene, limonene, hexadecanoic acid) từ lá và thân cũng góp phần vào hoạt tính kháng khuẩn [25].

1.2.1.2.5. Hoạt tính điều hòa enzyme

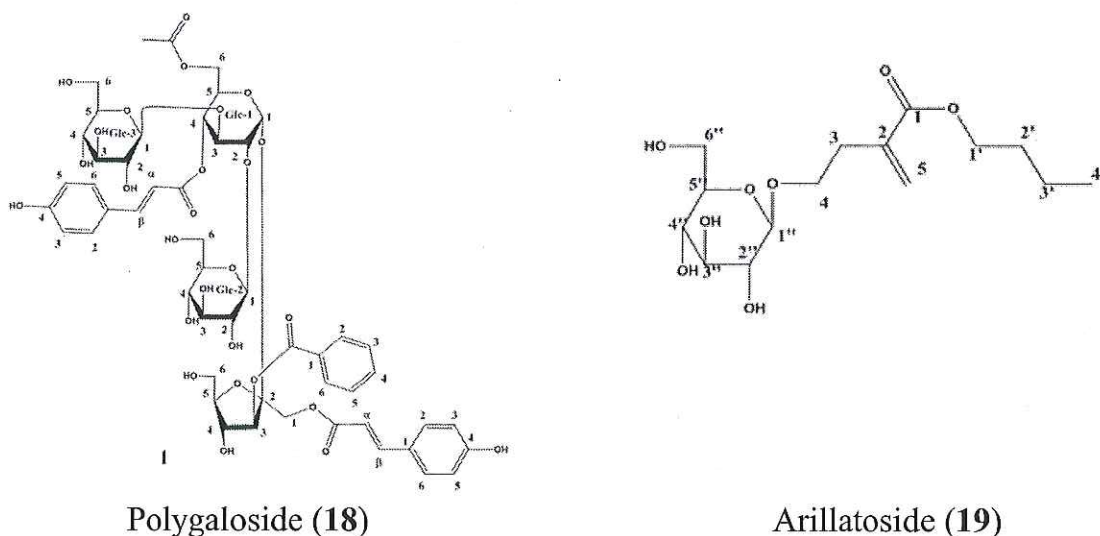
Nghiên cứu của Mao và cộng sự năm 1997 cho thấy một số xanthone có khả năng ức chế aldose reductase, một enzyme quan trọng trong biến chứng tiểu đường, gợi ý ứng dụng phòng ngừa bệnh mạn tính [3]. Thông qua ức chế COX-2/iNOS Saponin và phenolic ester góp phần điều hòa các enzyme tiền viêm [16], [18].

1.2.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước

1.2.2.1. Nghiên cứu về hóa học

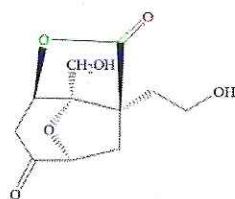
Vùng núi phía Bắc Việt Nam, đặc biệt là Lào Cai ghi nhận có sự phân bố của cây Viễn chí hoa vàng với phần rễ từ xa xưa đã được người dân bản địa dùng làm thuốc bổ, trị phong thấp, đau nhức, ho tức ngực. Do đó tiếp nối các nghiên cứu trên thế giới về cây Viễn chí hoa vàng, khoảng 5-6 năm gần đây một số đơn vị nghiên cứu tại Việt Nam đã tiến hành một số các nghiên cứu phân lập và sàng lọc các hoạt chất mới có hoạt tính nổi bật của các bộ phận của cây thu hái tại Việt Nam [1].

Năm 2019 nhóm nghiên cứu thuộc Viện Dược liệu đã phân lập một oligosaccharide ester mới là polygaloside (**18**), một glucose ester mới arillatoside (**19**) cùng năm sucrose ester đã biết từ rễ *P. arillata* thu hái ở Việt Nam. Nghiên cứu nhấn mạnh sự phong phú của oligosaccharide ester trong loài và giá trị định danh hóa học của nhóm chất này [17].



Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của Polygaloside và Arillatoside

Năm 2024 nhóm nghiên cứu thuộc trường Đại học Dược đã phân lập 1 hợp chất mới là polygarinolide A (20) cùng 6 hợp chất đã biết; xác định cấu trúc bằng HR-ESIMS, NMR và xác lập cấu hình tuyệt đối bằng tính toán ECD [18].



Polygarinolide A (20)

Hình 1.6. Cấu trúc hóa học của Polygarinolide A

1.2.2.3. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học

Trong nghiên cứu năm 2024 nhóm nghiên cứu thuộc trường Đại học Dược đã chứng minh hợp chất polygarinolide A thể hiện tiềm năng hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide [18].

Mặc dù *P. arillata* đã và đang rất được quan tâm nghiên cứu trên thế giới do có nhiều ưu điểm về tiềm năng các hợp chất có hoạt tính sinh học; tuy nhiên, ở Việt Nam, mới có một số ít nghiên cứu về thành phần hóa học của loài cây này.

Vì vậy, việc nghiên cứu cây Viễn chí hoa vàng ở Việt Nam, đặc biệt là phần rễ, góp phần khám phá thêm các hợp chất chính, các hợp chất có cấu trúc mới và các hợp chất có hoạt tính sinh học, và từ đó làm rõ mối liên hệ cấu trúc - hoạt tính của các hoạt chất phân lập được.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Mẫu rễ cây Viễn chí hoa vàng (*Polygala arillata* Buch.-Ham. ex D. Don), được thu thập tại Sa Pa vào tháng 10/2023. Tên khoa học của mẫu được xác định bởi nhà thực vật học - TS. Đặng Việt Hùng, Trường Đại học Lâm Nghiệp.



Hình 2.1. Cây và rễ cây Viễn chí hoa vàng (*P. arillata*)

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp tạo dịch chiết tổng

- *Phương pháp ngâm chiết*

Phương pháp ngâm chiết được tiến hành ở nhiệt độ phòng và có thể áp dụng cho nhiều loại dược liệu. Phương pháp này đặc biệt phù hợp với các hoạt chất kém bền nhiệt, dễ bay hơi hoặc có độ tan giảm khi nhiệt độ tăng; đồng thời hạn chế việc hòa tan các tạp chất không mong muốn vốn dễ tan ở nhiệt độ cao.

Dược liệu được ngâm trong dung môi thích hợp, có thể kết hợp lắc hoặc khuấy định kỳ để tăng khả năng tiếp xúc giữa dược liệu và dung môi. Các dung môi thường sử dụng bao gồm nước, ethanol hoặc hỗn hợp của chúng, với thể tích dung môi thường gấp khoảng 10 lần khối lượng dược liệu. Trong một số trường hợp, có thể gia nhiệt nhẹ để cải thiện hiệu suất chiết và kiểm soát để tránh ảnh hưởng đến độ bền của hoạt chất.

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

Các hợp chất trong mẫu được tách chiết thông qua việc kết hợp nhiều phương pháp sắc ký khác nhau, bao gồm TLC, CC, PTLC và HPLC điều chế nhằm nâng cao hiệu quả phân tách.

❖ *Sắc ký lớp mỏng (TLC)*

Phương pháp TLC được thực hiện trên các bản mỏng silica gel pha thường (DC-Alufolien 60 F254, Merck) và pha đảo (RP18 F245S, Merck). Các hợp chất được phát hiện dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254 nm và 365 nm. Sau đó, bản mỏng được xử lý bằng dung dịch H_2SO_4 10%, sấy và gia nhiệt để hiện màu các vết chất.

TLC thường dùng để khảo sát hệ dung môi cho pha động chạy sắc ký cột thường và khảo sát sắc ký đồ các phân đoạn thu được sau sắc ký cột.

❖ *Sắc ký lớp mỏng điều chế (PTLC)*

Phương pháp PTLC được sử dụng để tinh chế các hợp chất từ các phân đoạn đã thu được. Mẫu được chấm hoặc trải thành dải trên bản mỏng silica gel dày, sau đó triển khai trong hệ dung môi thích hợp. Sau khi phát hiện vết dưới đèn UV hoặc thuốc thử, các vùng chứa hợp chất được cạo ra và chiết lại bằng dung môi để thu chất tinh khiết.

❖ *Sắc ký cột thường (CC)*

Sắc ký cột được tiến hành sử dụng pha tĩnh là silica gel (kích thước hạt 0,040–0,063 mm) và vật liệu pha đảo RP-18 (150 μ m). Mẫu được đưa lên cột và rửa giải bằng các hệ dung môi với độ phân cực tăng dần nhằm phân tách các hợp chất khác nhau. Các phân đoạn thu được được gom và theo dõi để phục vụ cho các bước tinh chế tiếp theo.

- *Nhồi cột sắc ký: Phương pháp nhồi cột ướt*

Pha phân tán silica gel (63–200 μ m) trong dung môi thích hợp để tạo huyền phù, sau đó rót vào cột sắc ký. Tiến hành cho dung môi chảy liên tục qua cột (có thể kết hợp áp lực nhẹ) cho đến khi lớp vật liệu hấp phụ được nén chặt và ổn định, không còn xuất hiện bọt khí.

- *Đưa mẫu lên cột sắc ký: Phương pháp tẩm mẫu*

Mẫu nghiên cứu được hòa tan trong dung môi phù hợp, sau đó hấp phụ lên silica gel theo tỷ lệ thích hợp (khoảng 1:1,0-1,5 về khối lượng). Dung môi được loại bỏ hoàn toàn nhờ thiết bị cô quay chân không để thu được dạng bột khô, tơi xốp. Phần bột này được rải đều lên bề mặt lớp hấp phụ trong cột.

❖ *Triển khai sắc ký cột:*

Điều chỉnh mức dung môi trong cột sao cho luôn nằm sát phía trên lớp silica gel. Sau khi nạp mẫu, có thể phủ thêm một lớp silica gel mỏng và lớp bông bảo vệ để hạn chế xáo trộn. Tiến hành rửa giải bằng hệ dung môi đã được lựa chọn trước (dựa

trên TLC), duy trì tốc độ dòng ổn định. Dịch rửa giải được thu theo từng phần nhỏ với thể tích xác định để phục vụ cho quá trình phân tích và tinh chế tiếp theo.

❖ *Khảo sát các phân đoạn phân tách:*

Các phân đoạn sau khi thu được được theo dõi bằng TLC; những phân đoạn có sắc ký đồ tương đồng được gộp chung. Tiếp theo, dung môi được loại bỏ hoàn toàn dưới áp suất giảm để thu các nhóm phân đoạn riêng biệt và tiếp tục thực hiện các bước tinh chế phù hợp. Ngoài ra, có thể khẳng định nếu phân đoạn chứa hợp chất sạch khi thử TLC với một số hệ dung môi khác nhau đều thu được hình ảnh một vạch.

❖ *Sắc ký lỏng hiệu năng cao – điều chế (HPLC – Preparative)*

Việc tinh chế các hợp chất sạch được thực hiện trên hệ thống máy HPLC Agilent 1260 Infinity II, được trang bị bơm: G7112B Binary Pump, bộ ghi tín hiệu: G7115A diode array detector, bộ lấy mẫu: G7129A auto-sampler, và cột điều chế: YMC J'sphere ODS-H18 column (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm), tốc độ dòng: 3 mL/phút, các chất được phát hiện ở 4 bước sóng 205, 230, 254, và 280 nm.

HPLC điều chế là kỹ thuật tiên tiến được ứng dụng rộng rãi trong việc tách và tinh chế các hợp chất, đặc biệt đối với các phân đoạn có độ phân cực cao sau khi đã xử lý sơ bộ bằng các phương pháp sắc ký khác. Nguyên lý của phương pháp dựa trên việc sử dụng hệ thống bơm áp suất cao để đưa pha động cùng mẫu qua cột chứa vật liệu hấp phụ có kích thước hạt nhỏ, thường là silica biến tính C18. Nhờ sự khác biệt về ái lực giữa các cấu tử với pha tĩnh và pha động, các hợp chất được tách riêng hiệu quả. Một hệ thống HPLC hoàn chỉnh thường bao gồm bộ nạp mẫu tự động, bơm cao áp, cột sắc ký và đầu dò (PDA, DAD, MS,...). Các dung môi sử dụng làm pha động như nước, methanol hoặc acetonitrile đều có độ tinh khiết cao nhằm đảm bảo độ chính xác và độ lặp lại của phép tách, tốc độ dòng thường vào khoảng 3-5 ml/phút đảm bảo thời gian lưu ngắn để hạn chế tiêu tốn dung môi nhất có thể.

Các hợp chất được tinh chế bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC-C18. Tùy vào bản chất của chất mà lựa chọn các điều kiện dung môi thích hợp để phân tách các hợp chất.

2.2.2. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất

Cấu trúc của các hợp chất được làm rõ thông qua các kỹ thuật phân tích quang phổ hiện đại, bao gồm:

❖ *Xác định góc quay cực $[\alpha]_D$*

Giá trị góc quay cực riêng của các hợp chất được đo bằng máy JASCO P2000 Polarimeter tại Viện Hóa học.

❖ *Phổ hồng ngoại (Infrared Spectroscopy – IR)*

Phổ IR dựa trên sự hấp thụ bức xạ hồng ngoại của các liên kết hóa học trong phân tử, làm chúng dao động (kéo dãn, uốn cong...). Mỗi loại liên kết hoặc nhóm chức hấp thụ tại vùng số sóng đặc trưng, từ đó cho phép nhận diện các nhóm chức và một phần cấu trúc của hợp chất.

❖ **Phổ khối lượng (Mass spectroscopy – MS)**

Phổ khối lượng phân giải cao với nguồn ion hóa phun mù điện tử (HRESIMS) được thực hiện trên thiết bị AGILENT 6530 Accurate Mass QTOF HPLC/MS tại Viện Hóa học.

Nguyên lý của phương pháp phổ khối lượng dựa trên quá trình ion hóa và phân mảnh các phân tử dưới tác động của nguồn năng lượng bên ngoài. Các ion tạo thành được tách theo tỷ số khối lượng/điện tích (m/z), từ đó thu được phổ đặc trưng gồm ion phân tử và các ion mảnh. Dựa vào các tín hiệu này, có thể suy luận cơ chế phân mảnh và xác định cấu trúc hợp chất. Một số kỹ thuật phổ khối lượng thường được sử dụng gồm:

+ **Phổ EI-MS (Electron Impact Ionization Mass Spectroscopy)**: Mẫu bị ion hóa bởi chùm electron năng lượng cao (thường khoảng 70 eV), tạo ra nhiều ion mảnh đặc trưng.

+ **Phổ ESI-MS (Electron Spray Ionization Mass Spectroscopy)**: Kỹ thuật ion hóa phun mù với năng lượng thấp, cho tín hiệu ion phân tử rõ ràng và hạn chế phân mảnh, phù hợp với các hợp chất có khối lượng phân tử lớn hoặc kém bền.

+ **Phổ khối lượng phân giải cao HRESIMS (High Resolution Electron Spray Ionization Mass Spectroscopy)**: Cho phép xác định chính xác khối lượng phân tử và công thức phân tử với độ sai số rất nhỏ (tỷ lệ khoảng 1/1.000.000 chất).

Ngoài ra, các hệ thống kết hợp như LC-MS (sắc ký lỏng ghép khối phổ) được ứng dụng rộng rãi trong phân tích hỗn hợp phức tạp, đặc biệt trong lĩnh vực dược phẩm và kiểm nghiệm.

❖ **Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)**

Các phổ NMR được ghi nhận trên máy AVANCE NEO 600 FT-NMR (Bruker) tại Viện Hóa học. Dữ liệu thu thập bao gồm phổ một chiều như $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và các phổ hai chiều như HSQC, HMBC, COSY, NOESY, ROESY, TOCSY nhằm hỗ trợ xác định cấu trúc chi tiết của hợp chất.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) dựa trên khả năng hấp thụ năng lượng của các hạt nhân có spin (như ^1H , ^{13}C) khi đặt trong từ trường ngoài và chiếu bức xạ sóng radio phù hợp. Mỗi hạt nhân cộng hưởng ở tần số khác nhau tùy thuộc môi trường điện tử xung quanh, được biểu diễn qua độ dịch chuyển hóa học; đồng thời, tương tác

giữa các hạt nhân lân cận gây tách tín hiệu, từ đó cung cấp thông tin để xác định cấu trúc và sự sắp xếp của các nguyên tử trong phân tử.

+ Phổ $^1\text{H-NMR}$: Cung cấp thông tin về môi trường hóa học của proton, với thang đo thường từ 0–14 ppm.

+ Phổ $^{13}\text{C-NMR}$: Cho tín hiệu của các nguyên tử carbon trong phân tử, với dải đo rộng hơn (khoảng 0–230 ppm).

+ Phổ DEPT (Distortionless Enhancement By Polarisation Transfer): Hỗ trợ phân biệt các loại carbon (CH , CH_2 , CH_3 , C bậc 4) dựa trên đặc điểm tín hiệu.

+ Phổ HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence): Xác định tương quan trực tiếp giữa proton và carbon liên kết với nhau.

+ Phổ COSY (Correlation Spectroscopy): Cho biết mối tương tác giữa các proton lân cận, giúp xác định các đoạn cấu trúc liên tiếp.

+ Phổ tương tác xa HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation): Cung cấp thông tin về tương tác H–C qua nhiều liên kết (2–3 liên kết), hỗ trợ ghép nối các phần cấu trúc.

+ Phổ NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy): Phản ánh tương tác không gian giữa các proton, từ đó suy ra cấu hình và cấu trúc lập thể của phân tử.

+ Phổ ROESY (Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy): Dựa trên hiệu ứng Overhauser trong hệ quay, ROESY ghi nhận tương tác không gian giữa các proton ở khoảng cách gần nhau (thường $< 5 \text{ \AA}$), việc chúng có liên kết hóa học trực tiếp hay không. Phổ này đặc biệt hữu ích để xác định cấu trúc không gian và cấu hình của phân tử, nhất là với các phân tử có kích thước trung bình.

+ Phổ TOCSY (Total Correlation Spectroscopy): TOCSY dựa trên sự truyền tương tác spin qua toàn bộ hệ spin liên kết với nhau. Nhờ đó, tất cả các proton trong cùng một mạng liên kết (ví dụ cùng một mạch carbon) đều có thể tương quan với nhau, giúp xác định các nhóm cấu trúc riêng biệt trong phân tử.

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

Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất sạch được thử nghiệm tại Phòng Công nghệ tế bào và Thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm được thực hiện bằng cách ức chế sản sinh Nitric oxide trên dòng tế bào RAW264.7 [26] [27]

- *Nuôi cấy tế bào in vitro*

Dòng RAW264.7 được duy trì trong môi trường DMEM bổ sung L-glutamine (2 mM), HEPES (10 mM), sodium pyruvate (1,0 mM) và 10% FBS (GIBCO). Tế bào

được tách chuyển sau 3–5 ngày nuôi với tỷ lệ chia 1:3, trong điều kiện tủ ấm CO₂ duy trì ở 37°C với nồng độ CO₂ là 5%.

- **Phương pháp MTT**

Phương pháp MTT được sử dụng để xác định mức độ ảnh hưởng của các hợp chất thử nghiệm đối với sự sống sót của tế bào RAW264.7. Mỗi hợp chất thử (20 µL) được cho vào giếng của khay 96 giếng để đạt nồng độ mong muốn. Sau đó, 180 µL tế bào được thêm vào các giếng chứa chất thử. Đối chứng âm được thiết lập với giếng không có mẫu thử, chỉ chứa dung môi DMSO 10%. Các tế bào được ủ trong tủ CO₂ ở 37°C, 5% CO₂ trong 72 giờ.

Sau thời gian ủ, 10 µL dung dịch MTT (nồng độ cuối 5 mg/mL) được thêm vào mỗi giếng và tiếp tục ủ trong 4 giờ. Sau đó, môi trường nuôi cấy được loại bỏ và tinh thể formazan hình thành được hòa tan bằng 50 µL DMSO 100%. Giá trị độ hấp thụ quang (OD) được đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ. Tỷ lệ tế bào sống sót được tính theo công thức:

$$\% \text{ tế bào sống sót} = \frac{\text{OD}_{\text{chất thử}} - \text{OD}_{\text{đối chứng trắng}}}{\text{OD}_{\text{DMSO}} - \text{OD}_{\text{đối chứng trắng}}} \times 100\%$$

- **Đánh giá khả năng ức chế sản sinh Nitric oxide**

Khả năng ức chế sản sinh nitric oxide của các hợp chất được đánh giá bằng phép thử Griess. Tế bào RAW264.7 được phân bố vào đĩa vi giếng 96 với mật độ 2×10^5 tế bào/giếng và nuôi ổn định trong 24 giờ ở 37°C trong môi trường 5% CO₂. Sau giai đoạn này, môi trường nuôi được loại bỏ và thay bằng DMEM không chứa huyết thanh, tiếp tục ủ thêm 3 giờ nhằm ổn định tế bào. Các hợp chất thử được bổ sung ở các mức nồng độ khác nhau (100; 20; 4; 0,8 µM), sau đó ủ 2 giờ trước khi tiến hành kích thích bằng LPS (1 µg/mL) trong 24 giờ để cảm ứng tạo nitric oxide. Trong thí nghiệm, các giếng chỉ chứa dung môi được sử dụng làm đối chứng âm, còn dexamethasone (Sigma) đóng vai trò đối chứng dương với dải nồng độ tương ứng.

Hàm lượng nitric oxide được xác định gián tiếp thông qua phép thử Griess sử dụng bộ thuốc thử thương mại (Griess Reagent System, Promega, USA). Cụ thể, 100 µL dịch nuôi cấy từ mỗi giếng thí nghiệm được chuyển sang một đĩa 96 giếng mới, sau đó bổ sung 100 µL thuốc thử Griess gồm hai thành phần: dung dịch sulfanilamide 1% (trong 5% acid phosphoric) và dung dịch N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride 0,1% trong nước, mỗi loại 50 µL. Hỗn hợp phản ứng được giữ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút trước khi tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 540

nm bằng thiết bị đọc vi đĩa. Môi trường DMEM không bổ sung FBS được sử dụng làm mẫu trắng.

Hàm lượng nitrite trong từng mẫu thử được xác định bằng đường chuẩn NaNO_2 và so sánh với mẫu chứng âm (LPS). Khả năng ức chế sản sinh Nitric oxide được tính theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế} = 100\% - \frac{\text{Hàm lượng NO (mẫu thử)}}{\text{Hàm lượng NO (LPS)}} \times 100$$

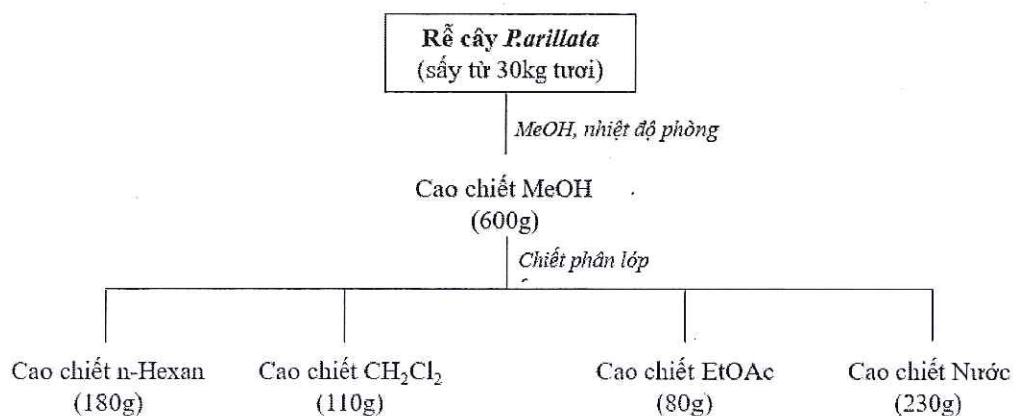
Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần độc lập, và giá trị IC_{50} được xác định bằng phần mềm TableCurve 2Dv4.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. TẠO CAO CHIẾT

Phần rễ của cây *P. arillata* (30 kg tươi) sau khi được làm sạch, cắt nhỏ và sấy khô được nghiền thành dạng bột, tiến hành ngâm chiết bằng methanol (MeOH) 3 lần x 50L x 7 ngày ở nhiệt độ phòng. Cô đặc dưới áp suất giảm phần dịch chiết để thu cao chiết tổng MeOH (600 g). Phần cao này được phân tán trong nước và thực hiện chiết lỏng-lỏng tuần tự với các dung môi có độ phân cực tăng dần gồm n-hexan, dichloromethan (CH_2Cl_2) và ethyl acetate (EtOAc). Các dịch chiết tương ứng sau đó được cô quay để thu các phân đoạn n-hexan (180g), CH_2Cl_2 (110g), EtOAc (80g) và phần nước còn lại (230g).

Kế thừa các kết quả nghiên cứu trước đây, đề tài được định hướng tập trung vào việc phân lập các hợp chất thuộc nhóm saponin có tiềm năng chống viêm. Do đặc điểm cấu trúc của saponin thường chứa nhiều gốc đường, làm tăng tính phân cực và khả năng hòa tan tốt trong nước, phần cao chiết nước được lựa chọn là đối tượng nghiên cứu chính nhằm tối ưu hóa khả năng thu nhận các hợp chất mục tiêu.

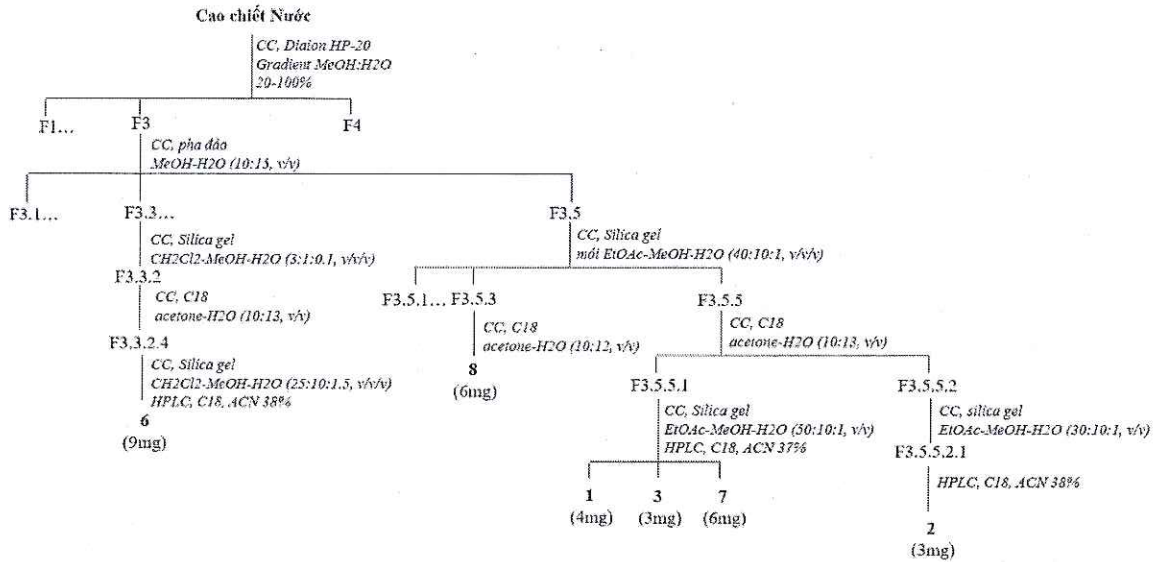


Hình 3.1. Sơ đồ tạo các cao chiết từ bột rễ cây Viễn chí hoa vàng

3.2. PHÂN LẬP VÀ TINH CHẾ CÁC HỢP CHẤT

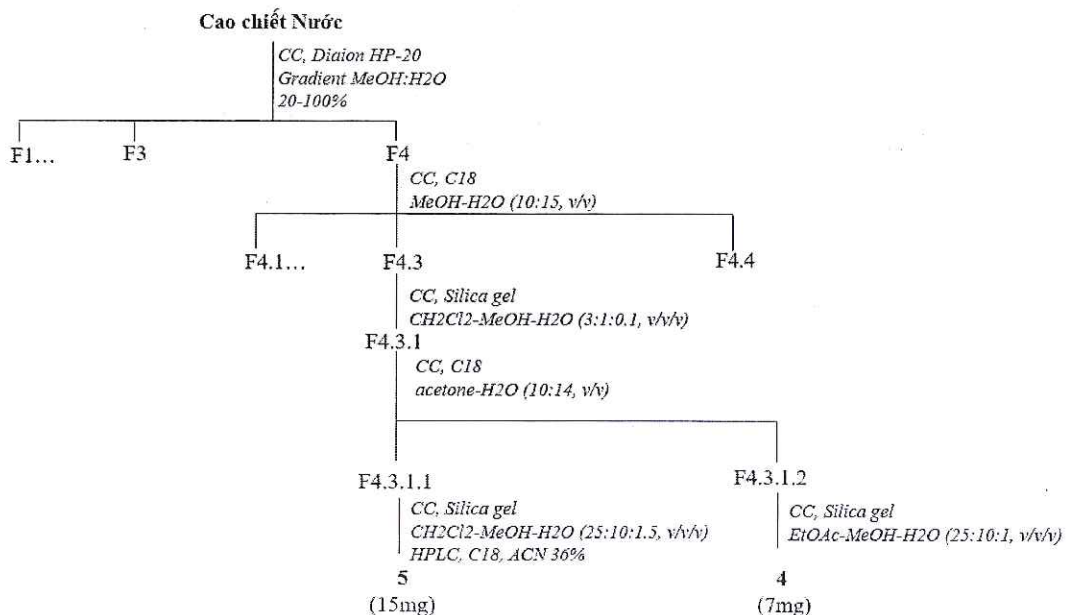
Phân dịch chiết nước được hấp phụ trên pha rắn Diaion HP-20, rửa giải theo phương pháp gradient từ 20 đến 100% MeOH trong H₂O thu được bốn phân đoạn (F1–F4). Phân đoạn F3 được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo, sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH-H₂O (10:15, v/v) thu được sáu phân đoạn (F3.1–F3.6). Phân đoạn F3.3 tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (3:1:0.1, v/v/v), thu được bốn phân đoạn F3.3.1–F3.3.4. Phân đoạn F3.3.2 được phân tách qua sắc ký cột pha đảo C₁₈, với hệ dung môi rửa giải acetone-H₂O (10:13, v/v) thu được bốn phân đoạn (F3.3.2.1–F3.3.2.4). Phân đoạn F3.3.2.4 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (25:10:1.5, v/v/v) và tiếp tục tinh sạch bằng HPLC pha đảo điều chế cột C₁₈ (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm) đầu dò DAD, với hệ dung môi rửa giải acetonitrile 38% thu được hợp chất **6** (9 mg).

Phân đoạn F3.5 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, rửa giải với hệ dung môi EtOAc-MeOH-H₂O (40:10:1, v/v/v) thu được năm phân đoạn (F3.5.1–F3.5.5). Hợp chất **8** (6 mg) được phân lập từ phân đoạn F3.5.3 bằng sắc ký cột pha đảo C₁₈, với hệ dung môi rửa giải acetone-H₂O (10:12, v/v). Phân đoạn F3.5.5 được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo C₁₈, rửa giải với hệ dung môi acetone-H₂O (10:13, v/v) thu được ba phân đoạn (F3.5.5.1–F3.5.5.3). Phân đoạn F3.5.5.1 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải EtOAc-MeOH-H₂O (50:10:1, v/v), sau đó tinh sạch bằng HPLC điều chế cột C₁₈ (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm) đầu dò DAD, với hệ dung môi pha động acetonitrile 37% thu được hợp chất **1** (4 mg), **3** (3 mg), và **7** (6 mg). Phân đoạn F3.5.5.2 được phân tách thành ba phân đoạn F3.5.5.2.1–F3.5.5.2.3 bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải EtOAc-MeOH-H₂O (30:10:1, v/v). Các phân đoạn F3.5.5.2.1 tiếp tục được tinh chế bằng sắc ký HPLC điều chế pha đảo cột C₁₈ (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm) đầu dò DAD, với hệ dung môi pha động acetonitrile 37% thu được hợp chất **2** (3 mg).



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn F3 của cao chiết Nước

Phân đoạn F4 được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo C₁₈, rửa giải với hệ dung môi MeOH-H₂O (10:15, v/v) thu được bốn phân đoạn (F4.1–F4.4). Phân đoạn F4.3 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (3:1:0.1, v/v/v) thu được bốn phân đoạn (F4.3.1–F4.3.4). Phân đoạn F4.3.1 tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo C₁₈, rửa giải với hệ dung môi acetone-H₂O (10:14, v/v), thu được 2 phân đoạn F4.3.1.1 và F4.3.1.2. Phân đoạn F4.3.1.1 được tinh sạch bằng HPLC điều chế cột C₁₈ (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm) đầu dò DAD, rửa giải với acetonitrile 36% trong H₂O thu được hợp chất 5 (15 mg). Cuối cùng, hợp chất 4 (7 mg) được phân lập từ phân đoạn F4.3.1.2 bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải EtOAc-MeOH-H₂O (25:10:1, v/v/v).



Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn F4 của cao chiết Nước

➤ **Hằng số vật lý của các hợp chất sạch phân lập được**

Polyarilloside A (1, chất mới): dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{28} = -9.5$ ($c = 0.2$, MeOH). IR (KBr) ν_{\max} 3401, 2922, 1749, 1639, 1559, 1377, 1255, 1073, 1031, 631 cm^{-1} . HRESIMS: m/z 1331.5926 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{96}\text{O}_{30}\text{Na}^+$, 1331.5879), m/z 1309.6084 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{97}\text{O}_{30}^+$, 1309.6059). Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.1 và 3.2.

Polyarilloside B (2, chất mới): dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{28} = -3.0$ ($c = 0.1$, MeOH). IR (KBr) ν_{\max} 3400, 2918, 1748, 1728, 1366, 1254, 1172, 1070, 627 cm^{-1} . HRESIMS: m/z 1309.6089 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{97}\text{O}_{30}^+$, 1309.6059), m/z 1291.5944 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{95}\text{O}_{29}^+$, 1291.5954). Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.1 và 3.2.

Polyarilloside C (3, chất mới): dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{28} = -3.2$ ($c = 0.1$, MeOH). IR (KBr) ν_{\max} 3402, 2918, 1730, 1638, 1468, 1392, 1245, 1066, 1044, 650 cm^{-1} . HRESIMS: m/z 1315.5941 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{96}\text{O}_{29}\text{Na}^+$, 1315.5929), m/z 1293.6151 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho CTPT $\text{C}_{61}\text{H}_{97}\text{O}_{29}^+$, 1293.6110). Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.3.

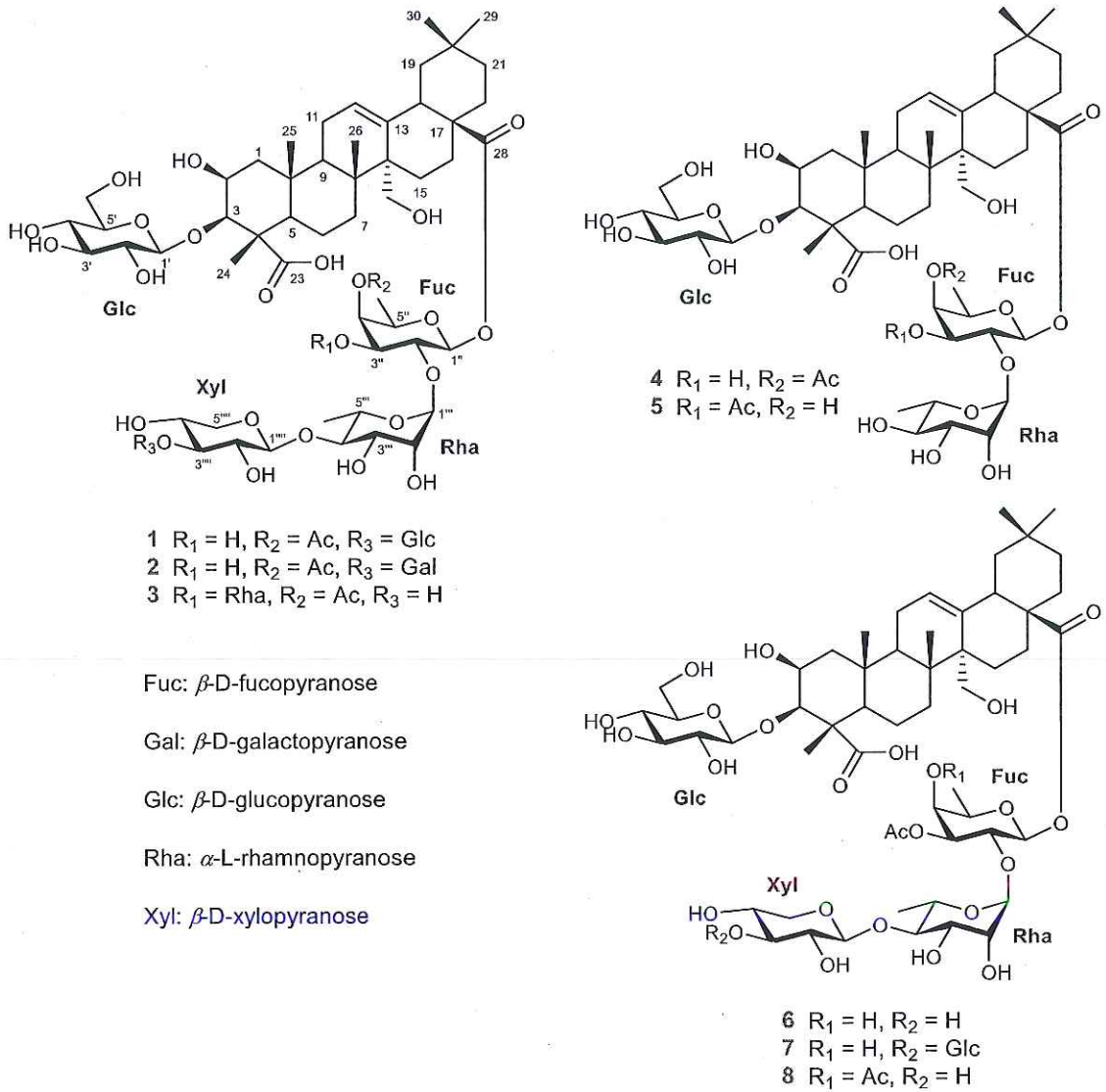
Polyaureoside A (4): dạng bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{50}\text{H}_{78}\text{O}_{21}$. Khối lượng phân tử: 1014. Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.4.

Polyaureoside B (5): dạng bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{50}\text{H}_{78}\text{O}_{21}$. Khối lượng phân tử: 1014. Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.5.

Polyaureoside C (6): dạng bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{55}\text{H}_{86}\text{O}_{25}$. Khối lượng phân tử: 1146. Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.6

Polyaureoside D (7): dạng bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{61}\text{H}_{96}\text{O}_{30}$. Khối lượng phân tử: 1308. Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.7

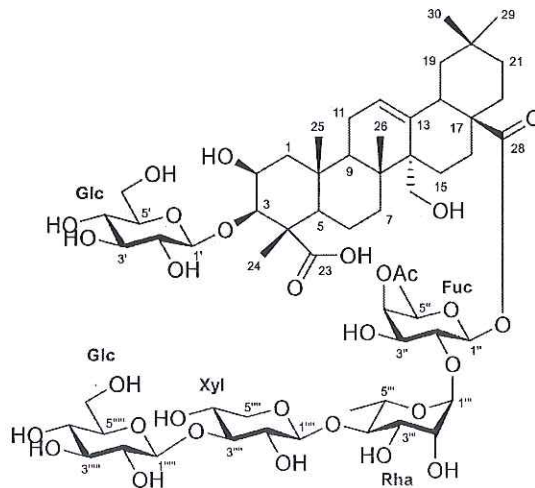
Arilloside A (8): dạng bột màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{57}\text{H}_{88}\text{O}_{26}$. Khối lượng phân tử: 1188. Phổ ^1H (pyridine- d_5 , 600 MHz) và ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 150 MHz): Bảng 3.8



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-8

3.3. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CÁC HỢP CHẤT

3.3.1. Hợp chất 1: Polyarilloside A (chất mới)



Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1

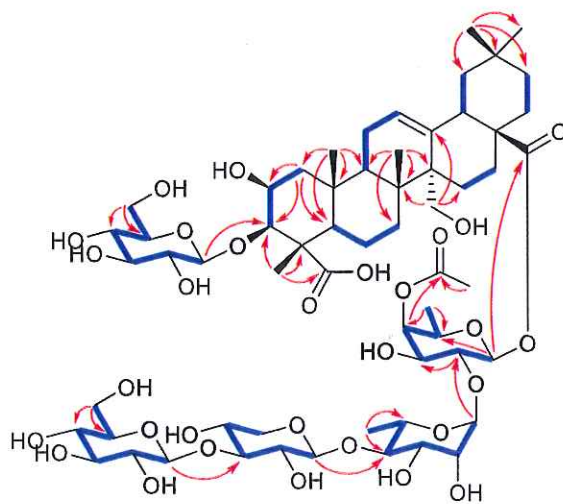
Hợp chất **1** được phân lập dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất được xác định là $C_{61}H_{96}O_{30}$ dựa trên sự xuất hiện của ion cộng natri tại m/z 1331.5926 (tính toán cho CTPT $C_{61}H_{96}O_{30}Na^+$, 1331.5879) và ion phân tử cộng proton tại m/z 1309.6084 (tính toán cho CTPT $C_{61}H_{97}O_{30}^+$, 1309.6059) trên phổ khối lượng phân giải cao (HRESIMS), cho thấy phân tử có 14 độ bất bão hòa. Phổ 1H NMR cho thấy một tín hiệu proton olefin tại δ_H 5.77 (br s, H-12) và năm nhóm methyl tại δ_H 1.88 (s, H₃-24), 1.47 (s, H₃-25), 1.04 (s, H₃-26), 0.74 (s, H₃-29), và 0.80 (s, H₃-30), gợi ý rằng hợp chất **1** mang bộ khung carbon Δ^{12} -oleanane triterpenoid [28].

Tiền hành phân tích phổ 1H và ^{13}C NMR, kết hợp với phổ 2 chiều HSQC và HMBC cho thấy aglycone của hợp chất **1** có hai nhóm carbonyl [δ_C 182.9 (C-23) và 176.5 (C-28)], hai nhóm oxymethine tại δ_H 4.62 (br s)/ δ_C 70.0 (C-2) và δ_H 4.49 (br s)/ δ_C 86.3 (C-3), và một nhóm oxymethylene tại δ_H 4.08 và 3.80 (br d, $J = 12.0$ Hz)/ δ_C 64.0 (C-27). Các dữ liệu này cho thấy phần aglycone của hợp chất **1** là presenegenin – là aglycone chính của các triterpenoid saponin ở các loài thuộc chi *Polygala* [14], [28], [29], [30]. Tín hiệu carbon bị dịch chuyển xuống trường thấp tại δ_C 86.3 (C-3) và tín hiệu carbon được che chắn tại δ_C 176.5 (C-28) gợi ý rằng các vị trí này có các liên kết glycoside. Phổ 1H NMR tiếp tục ghi nhận năm tín hiệu proton anomeric tại δ_H 4.98 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 5.99 (d, $J = 8.4$ Hz, H-1''), 6.36 (br s, H-1'''), 4.96 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1''''), và 5.10 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1'''''), cho thấy sự có mặt của năm đơn vị monosaccharide. Các đường này được xác định là glucose, fucose, xylose, và rhamnose thông qua phân tích NMR chi tiết và so sánh với các chất tương tự đã được công bố trước đó từ cùng loài *P. arillata* trên thế giới [28]. Cấu hình β của glucose, fucose, galactose, và xylose được xác định bởi các hằng số ghép lớn của proton anomeric ($J_{1,2} \geq 7.0$ Hz), trong khi so sánh độ dịch chuyển hóa học carbon ở vị trí C-3 và C-5 của hợp chất **1** với các đồng phân α - và β -rhamnopyranoside cho phép xác định cấu hình α của đường rhamnose [30].

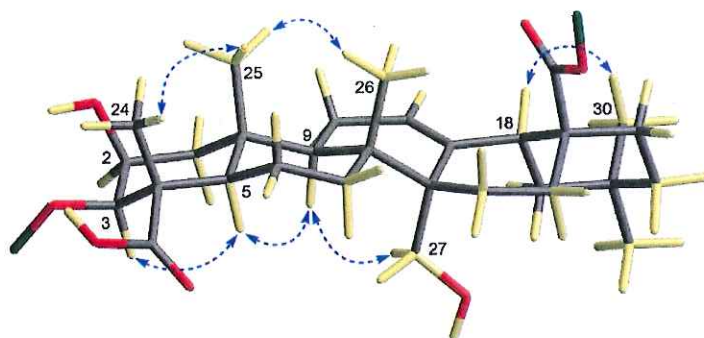
Thông qua phân tích phổ COSY, tất cả các tín hiệu proton của từng đơn vị monosaccharide được xác định, bắt đầu từ các proton anomeric tương ứng (Hình 3.6). Điều này được khẳng định thêm bởi các phân tích phổ 2D TOCSY. Phổ này thể hiện rõ các tương quan nội phân tử của toàn bộ proton trong từng đơn vị đường. Trên cơ sở các phân tích phổ COSY và TOCSY, trình tự đường và vị trí gắn kết của phần đường của hợp chất **1** được khẳng định thông qua phân tích các phổ HSQC và HMBC (Hình 3.6). Cụ thể, tín hiệu proton anomeric tại δ_H 4.98 (H-1') thể hiện tương tác HMBC với carbon oxymethine tại δ_C 86.3 (C-3), chứng tỏ đơn vị glucose đầu tiên (Glc-I) được gắn vào vị trí C-3 của phần aglycone. Các tương tác HMBC bổ sung từ δ_H 6.36 (H-1''') đến C-2'', từ H-1'''' đến C-4''', từ H-1'''''' đến C-3''''', và từ δ_H 5.99

(H-1'') đến carbon carbonyl tại δ_C 176.5 (C-28) cho thấy chuỗi đường tại vị trí C-28 là β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(4-O-acetyl)- β -D-fucopyranosyl.

Cấu hình tương đối của phần aglycone được xác định thông qua phân tích phổ ROESY và so sánh với các saponin sản sinh bởi các loài *Polygala* [14], [15], [28], [29]. Các tương tác ROE giữa H-3 và H-5, giữa H-5 và H-9, và giữa H-9 và H₂-27 cho thấy các proton này hướng về phía không gian α của phân tử (Hình 3.7). Ở mặt phẳng đối diện, H₃-25 cho thấy tương tác ROE với H₃-24 và H₃-26, nhưng không tương tác với H-2, chứng tỏ các nhóm H₃-24, H₃-25, H₃-26 có hướng β , trong khi H-2 có hướng α . Điều này phù hợp với vị trí *equatorial* của H-2, được thể hiện bởi dạng tín hiệu "broad singlet" trên phổ ¹H NMR. Ngoài ra, một nhóm acetyl [δ_C 171.2 và δ_C 20.5/ δ_H 1.94 (s)] được xác định gắn tại vị trí C-4'' của fucose dựa trên tín hiệu dịch chuyển xuống trường thấp tại δ_H 5.50 (H-4'') và tương tác HMBC từ H-4'' đến δ_C 171.2 (C=O). So sánh dữ liệu NMR của hợp chất 1 với saponin đã biết là polyaureoside D cho thấy sự tương đồng cấu trúc cao, với khác biệt chính là vị trí của nhóm acetyl [1]. Dựa trên các dữ kiện phổ đã nêu, cấu trúc của hợp chất 1 được xác định là 3-O- β -D-glucopyranosyl presenegenin 28-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(4-O-acetyl)- β -D-fucopyranosyl ester và được đặt tên là polyarilloside A.



Hình 3.6. Các tương tác COSY, TOCSY (—) và HMBC (→) chính của hợp chất 1



Hình 3.7. Các tương tác ROESY chính của phần aglycone của hợp chất 1

Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 1

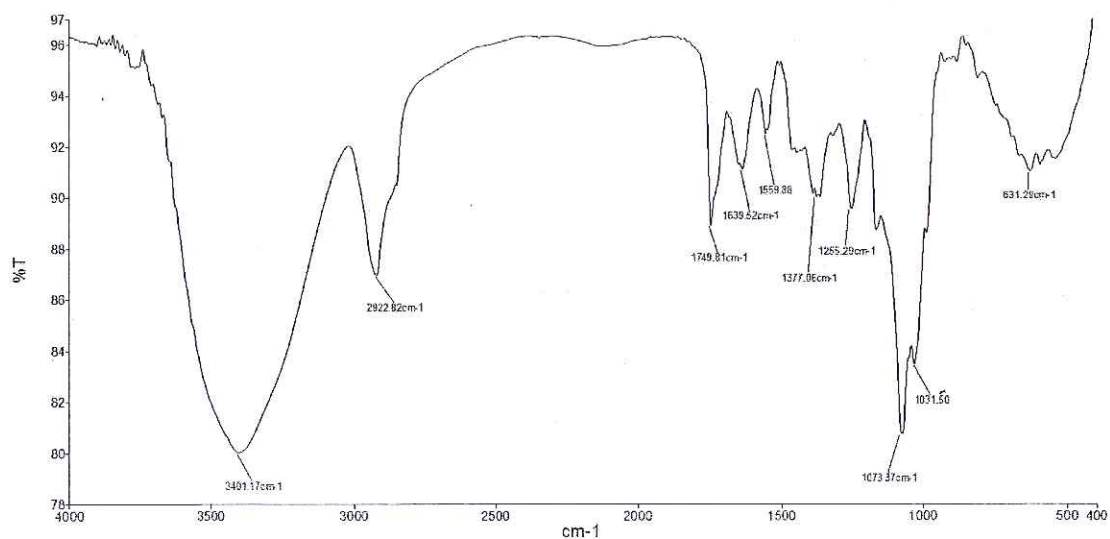
Phần aglycone	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c,d}}$ ($J = \text{Hz}$)	Phần đường	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c,d}}$ ($J = \text{Hz}$)
1	43.9	2.23 1.30	1'	104.8	4.98 (d, 7.8)
2	70.0	4.62 (br s)	2'	74.8	3.90
3	86.3	4.49 (br s)	3'	77.5	3.85
4	52.8		4'	71.0	4.03
5	52.1	2.05	5'	77.7	4.16 (m)
6	21.2	1.82 1.73	6'	62.1	4.44 (br d, 12.0) 4.09 (dd, 6.0, 12.0)
7	33.5	1.72 1.02	1''	94.4	5.99 (d, 8.4)
8	40.9		2''	72.9	4.58
9	49.0	2.28	3''	74.0	4.40 (dd, 3.0, 9.0)
10	36.6		4''	74.7	5.50 (br d, 3.6)
11	23.2	2.10 1.86	5''	70.4	4.06
12	127.4	5.77 (br s)	6''	16.2	1.20 (d, 6.6)
13	138.9		OAc	171.2 20.5	1.94 (s)
14	47.8		1'''	101.1	6.36 (br s)
15	24.2	2.08 2.02	2'''	71.2	4.70 (br s)
16	23.9	1.91 1.80	3'''	72.0	4.56

17	46.8		4'''	84.8	4.24 (t, 9.6)
18	41.8	3.15 (d, 13.8)	5'''	67.8	4.43
19	45.0	1.68 1.23	6'''	18.2	1.69 (d, 6.0)
20	30.4		1''''	106.2	4.96 (d, 7.8)
21	33.5	2.20 1.15	2''''	74.8	4.01
22	32.1	1.90 1.62	3''''	88.2	3.94
23	182.9 ^e		4''''	68.5	3.97 (m)
24	14.1	1.88 (s)	5''''	66.4	4.10 3.40 (t, 10.8)
25	17.2	1.47 (s)	1'''''	104.9	5.10 (d, 7.8)
26	18.6	1.04 (s)	2'''''	75.2	4.03
27	64.0	4.08 (br d, 12.0) 3.80 (br d, 12.0)	3'''''	77.6	4.16
28	176.5		4'''''	70.9	3.95
29	32.7	0.74 (s)	5'''''	78.2	3.88 (m)
30	23.5	0.80 (s)	6'''''	62.0	4.37 (br d, 12.0) 4.18 (dd, 6.0, 12.0)

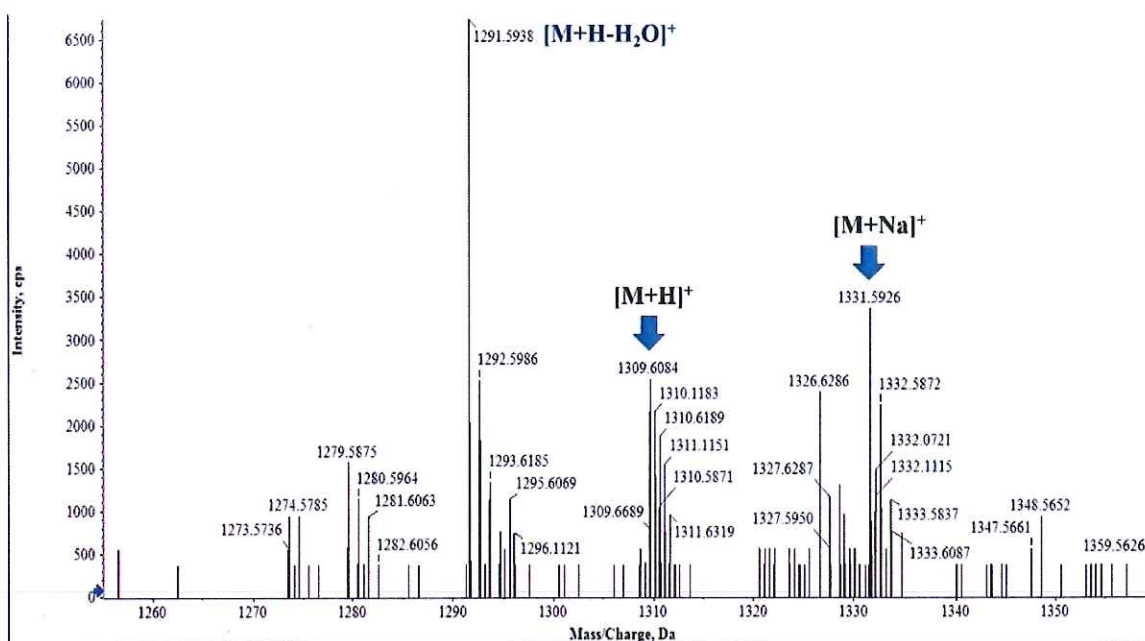
^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

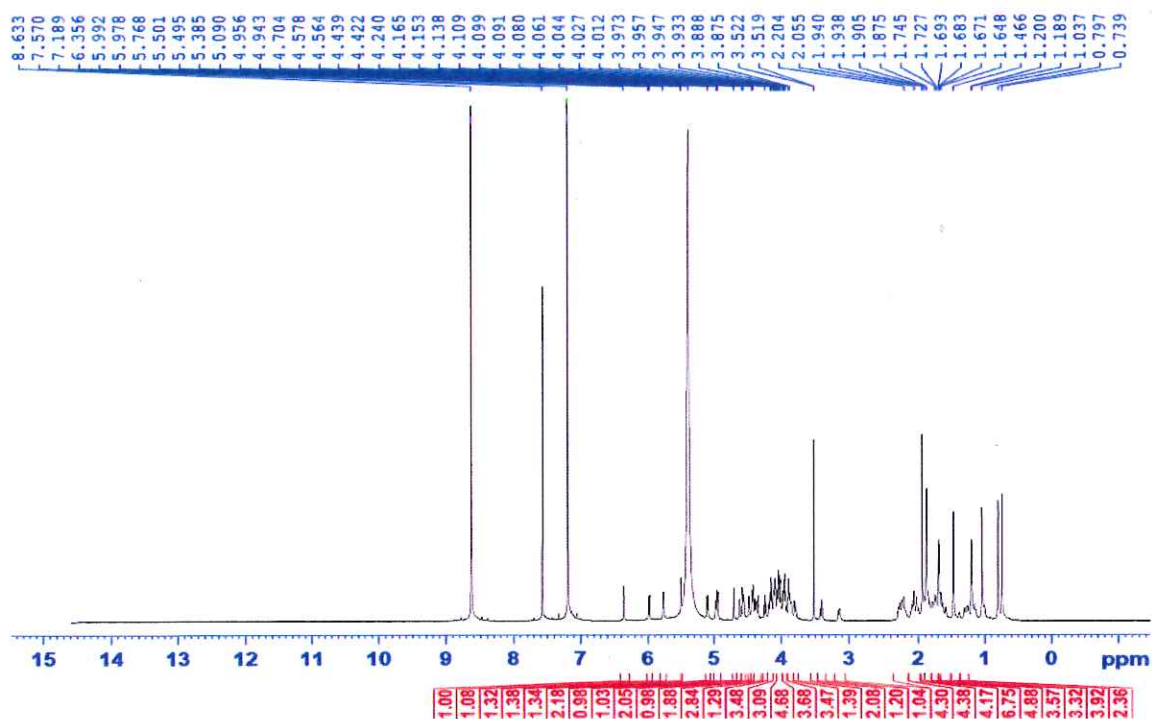
Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ 2D NMR



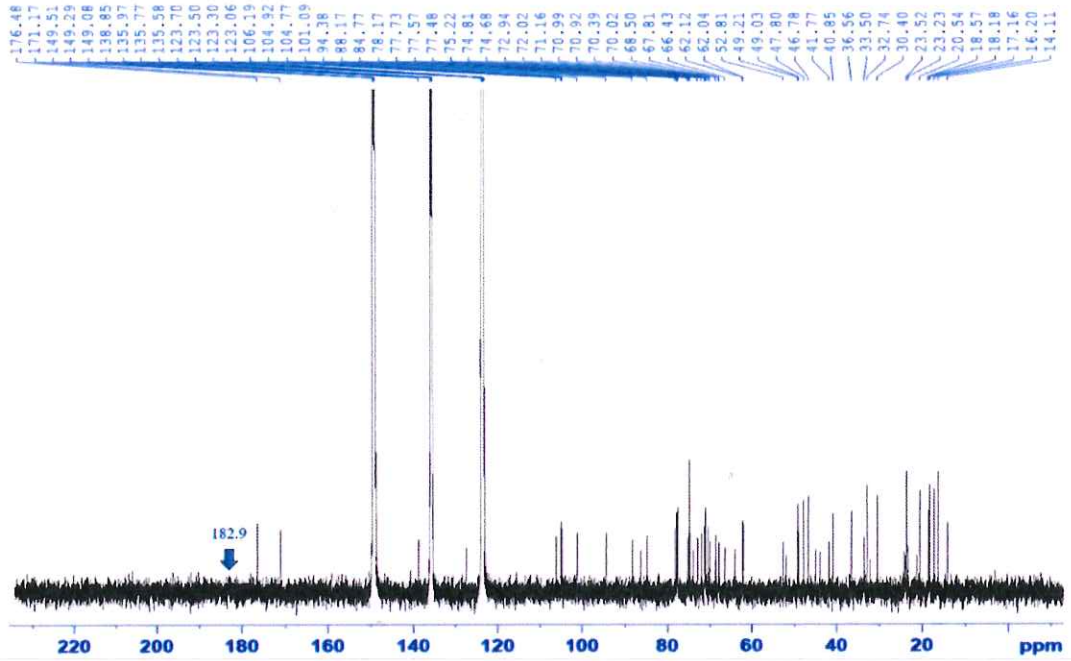
Hình 3.8. Phổ IR của polyarilloside A (1)



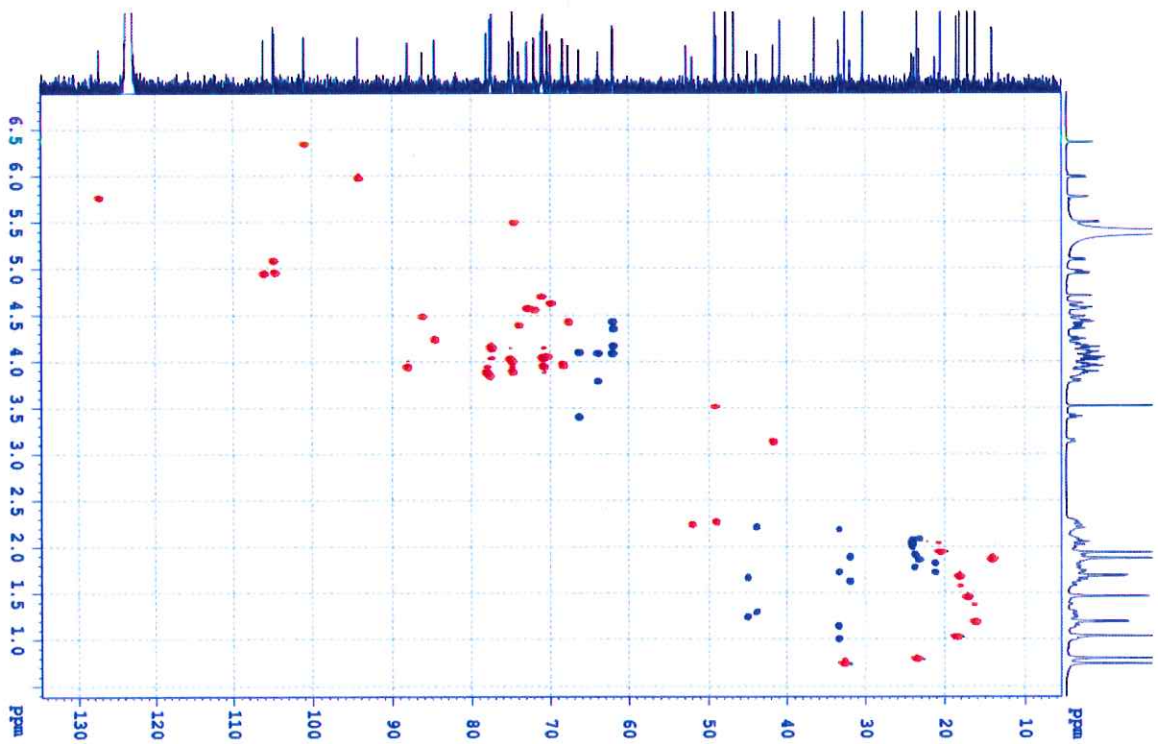
Hình 3.9. Phổ HRESIMS của polyarilloside A (1)



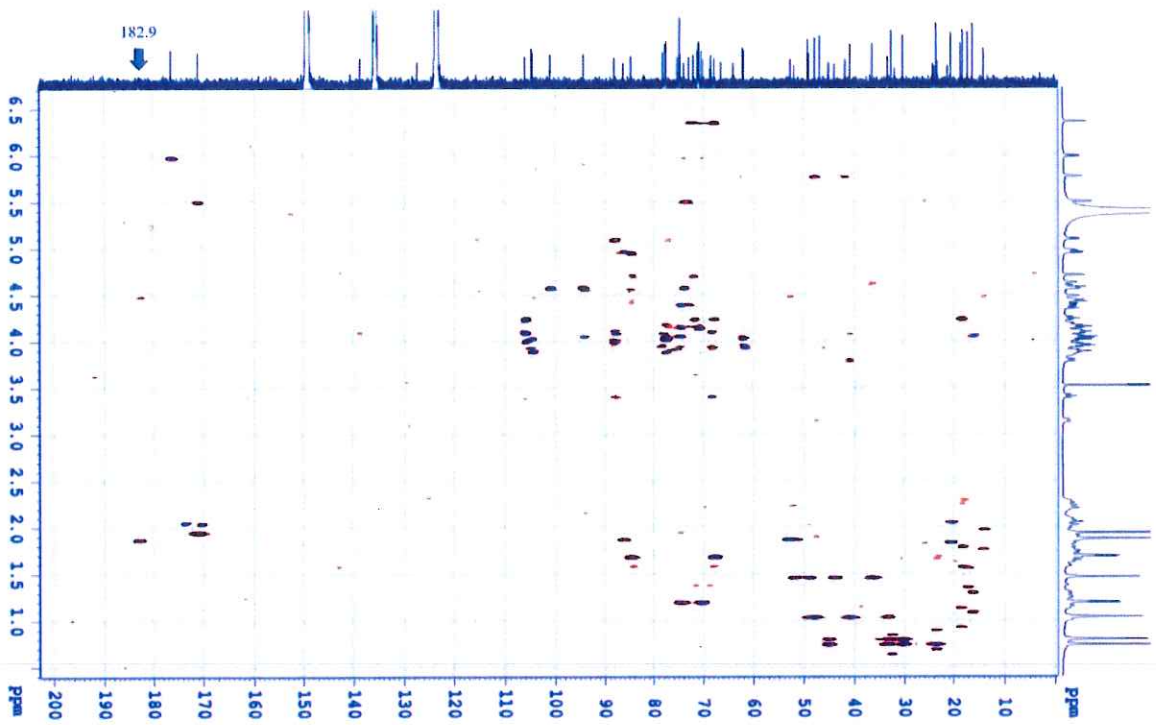
Hình 3.10. Phổ 1H NMR (600 MHz, C_5D_5N) của polyarilloside A (1)



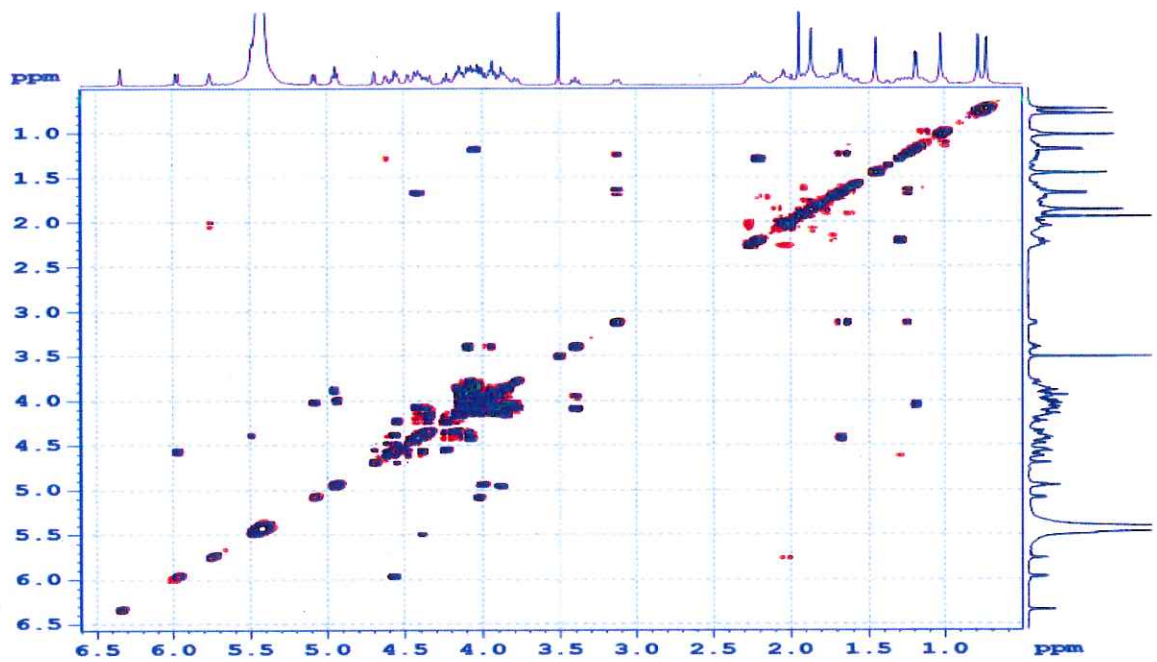
Hình 3.11. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) của polyarilloside A (1)



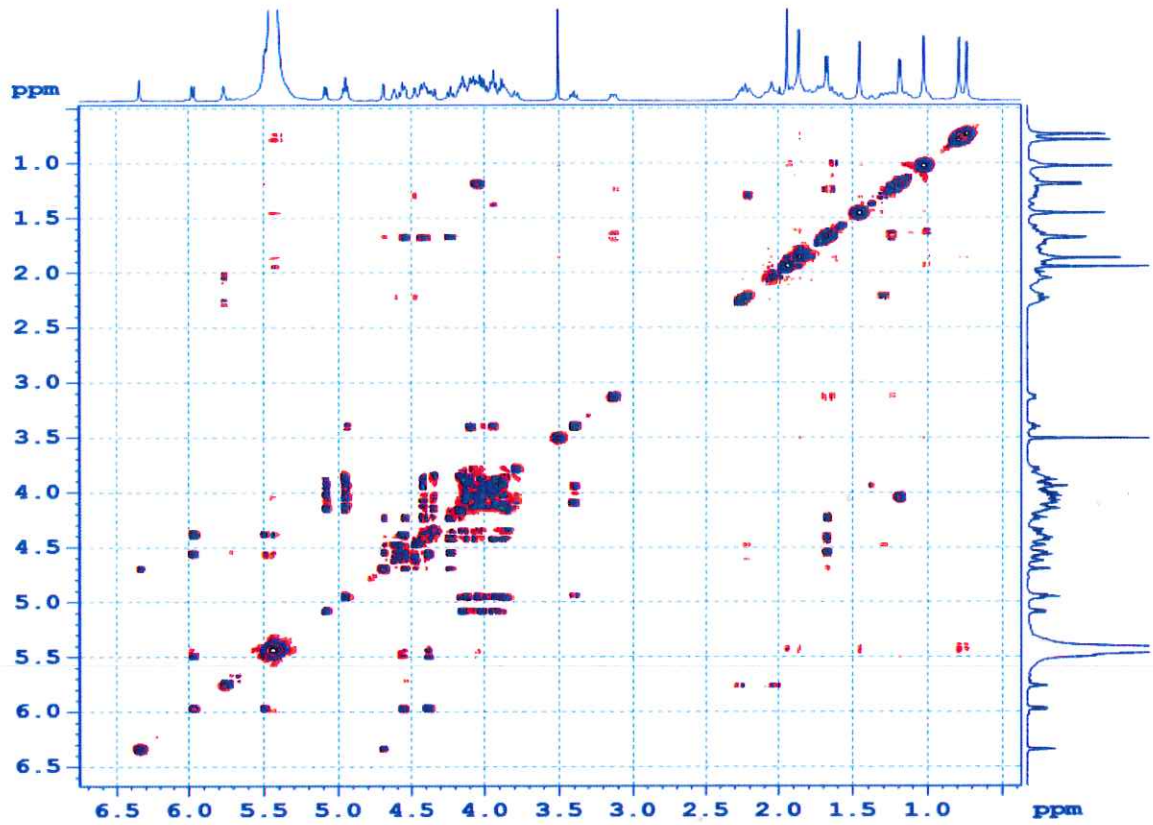
Hình 3.12. Phổ HSQC (600 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) của polyarilloside A (1)



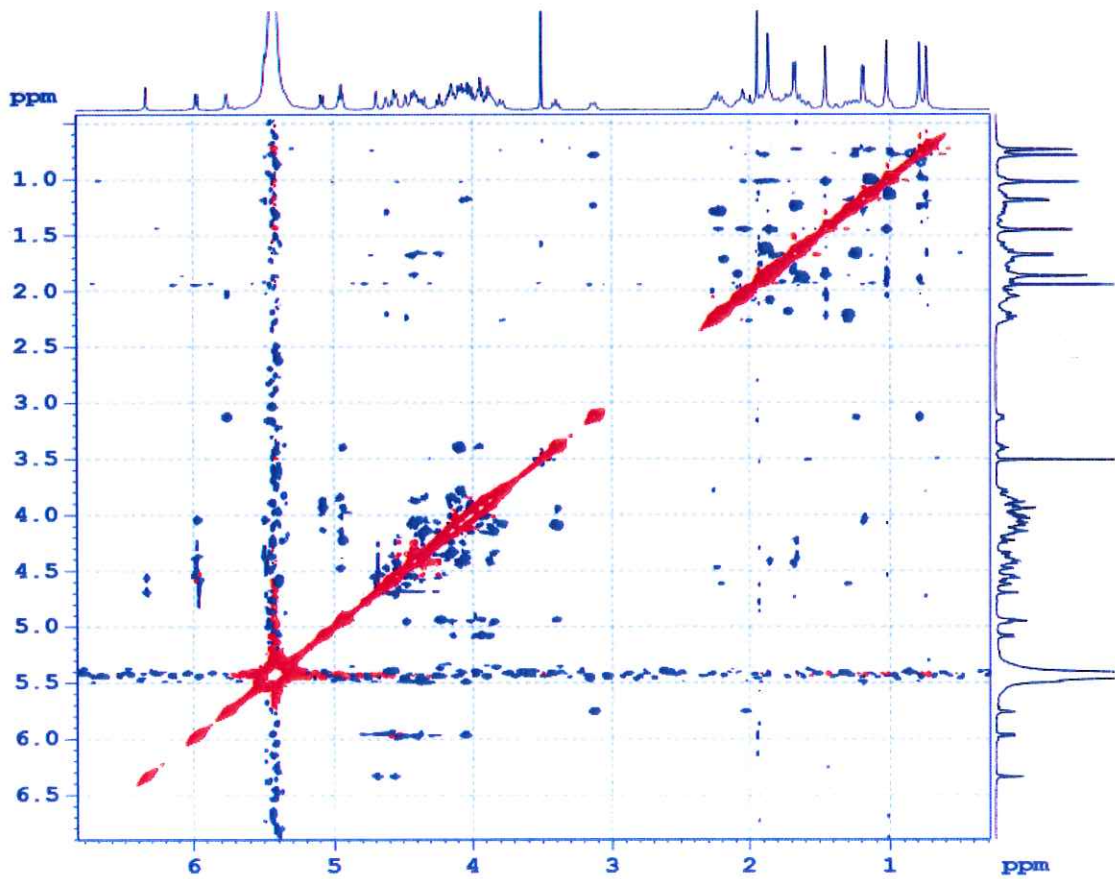
Hình 3.13. Phổ HMBC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1)



Hình 3.14. Phổ COSY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside A (1)

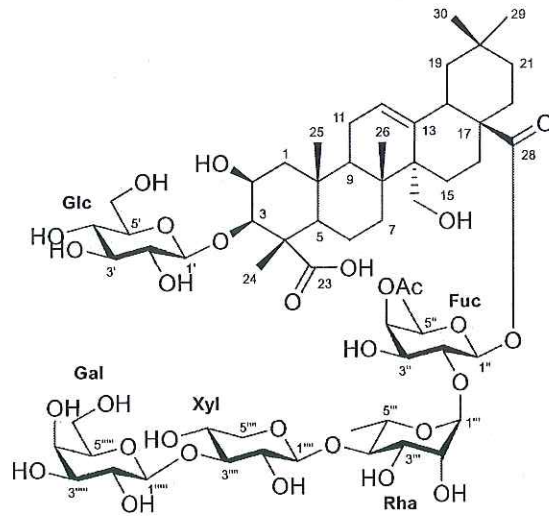


Hình 3.15. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside A (1)



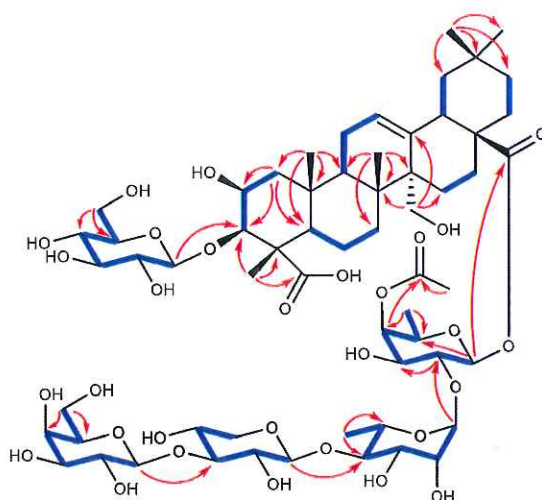
Hình 3.16. Phổ ROESY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside A (1)

3.3.2. Hợp chất 2: Polyarilloside B (chất mới)



Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất 2

Hợp chất 2 được xác định có công thức phân tử $C_{61}H_{96}O_{30}$ dựa trên sự xuất hiện của ion phân tử cộng proton tại m/z 1309.6089 (tính toán lý thuyết cho CTPT $C_{61}H_{97}O_{30}^+$, 1309.6059) trên phổ khối phân giải cao HRESIMS. Phân tích dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR cho thấy hợp chất 2 là một saponin triterpenoid, bao gồm phần aglycone presenegenin và năm đơn vị đường (Bảng 3.2). Dữ liệu NMR của hợp chất 2 gần như tương đồng với hợp chất 1, ngoại trừ việc các tín hiệu của glucose trong hợp chất 1 được thay thế bởi các tín hiệu tương ứng của một đơn vị β -D-galactose ở hợp chất 2 [δ_H 5.20 (d, $J = 7.8$ Hz)/ δ_C 105.1 (C-1'''''), δ_H 4.06/ δ_C 71.1 (C-2'''''), δ_H 4.08/ δ_C 75.2 (C-3'''''), δ_H 4.06/ δ_C 71.1 (C-4'''''), δ_H 4.22 (m)/ δ_C 77.7 (C-5'''''), δ_H 4.51 (br d, $J = 12.0$ Hz) and 4.24 (dd, $J = 4.8, 12.0$ Hz)/ δ_C 62.2 (C-6''''')]. Nhận định này được củng cố thông qua so sánh dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất 2 với các dữ liệu đã công bố của hợp chất saponin polygalasaponin XXXV đã biết [31] và thông qua phân tích các phổ 2D NMR của hợp chất 2. Vị trí gắn của đơn vị galactose tại C-3'''''' của xylose được xác định từ tương tác HMBC từ δ_H 5.20 (H-1''''''') đến δ_C 88.1 (C-3'''''''), và tương tác ROESY giữa H-1'''''''' và H-3'''''''' (Hình 3.18). Trên cơ sở các phân tích chi tiết phổ HMBC, COSY, 2D-TOCSY và ROESY, phần đường của hợp chất 2 được xác định. Như vậy, cấu trúc của hợp chất 2 được xác định là 3-O- β -D-glucopyranosyl presenegenin 28-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-(4-O-acetyl)- β -D-fucopyranosyl ester, với tên gọi là polyarilloside B.



Hình 3.18. Các tương tác COSY, TOCSY (—) và HMBC (→) chính của hợp chất 2

Bảng 3.2. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 2

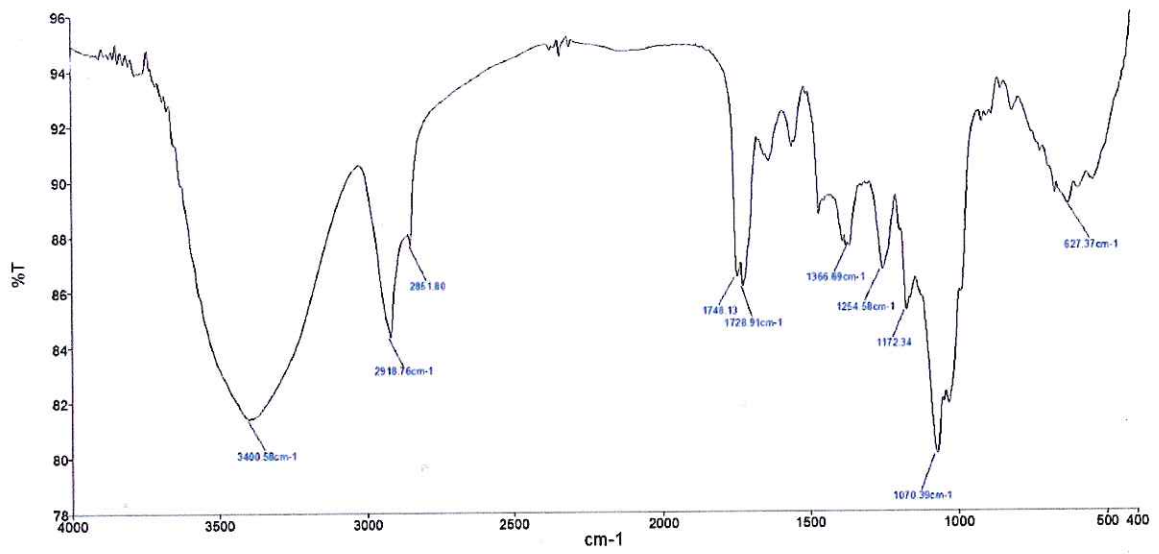
Phần aglycone	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c,d}}$ ($J = \text{Hz}$)	Phần đường	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c,d}}$ ($J = \text{Hz}$)
1	44.1	2.32 (br d, 13.2) 1.36 (br d, 12.0)	1'	105.0	5.03
2	70.0	4.76 (br s)	2'	74.9	3.96
3	86.3	4.61 (br s)	3'	78.3	3.97
4	52.8		4'	71.1	4.12 (t, 9.6)
5	52.3	2.20	5'	77.9	4.22 (m)
6	21.2	1.86 1.77	6'	62.2	4.43 (br d, 12.0) 4.21
7	33.6	1.77 1.11	1''	94.5	6.07 (d, 8.4)
8	40.9		2''	73.5	4.61
9	49.3	1.90	3''	73.9	4.42
10	36.8		4''	74.6	5.55 (br s)
11	23.1	2.10 1.92	5''	70.5	4.10
12	127.7	5.74 (br s)	6''	16.3	1.26 (d, 6.6)
13	137.8		OAc	171.1 20.6	1.99 (s)
14	46.8		1'''	101.3	6.36 (br s)
15	24.0	2.11	2'''	71.3	4.77 (br s)

		2.08			
16	23.5	2.02 1.81	3 ^{'''}	72.2	4.62
17	46.0		4 ^{'''}	84.9	4.30 (t, 9.6)
18	41.7	3.20 (br d, 13.8)	5 ^{'''}	68.0	4.48
19	45.5	1.63 1.20	6 ^{'''}	18.4	1.75 (d, 6.0)
20	30.5		1 ^{''''}	106.4	5.01 (d, 7.8)
21	33.7	2.01 1.22	2 ^{''''}	74.9	4.07
22	32.1	2.01 1.70	3 ^{''''}	88.1	4.03
23	183.0		4 ^{''''}	68.8	4.05 (m)
24	14.2	1.94 (s)	5 ^{''''}	66.6	4.20 3.47 (t, 10.8)
25	17.1	1.54 (s)	1 ^{'''''}	105.1	5.20 (d, 7.8)
26	18.4	1.09 (s)	2 ^{'''''}	71.1	4.06
27	64.9	4.61 4.52	3 ^{'''''}	75.2	4.08
28	176.4		4 ^{'''''}	71.1	4.06
29	32.8	0.84 (s)	5 ^{'''''}	77.7	3.89 (m)
30	23.5	0.87 (s)	6 ^{'''''}	62.2	4.51 (br d, 12.0) 4.24 (dd, 4.8, 12.0)

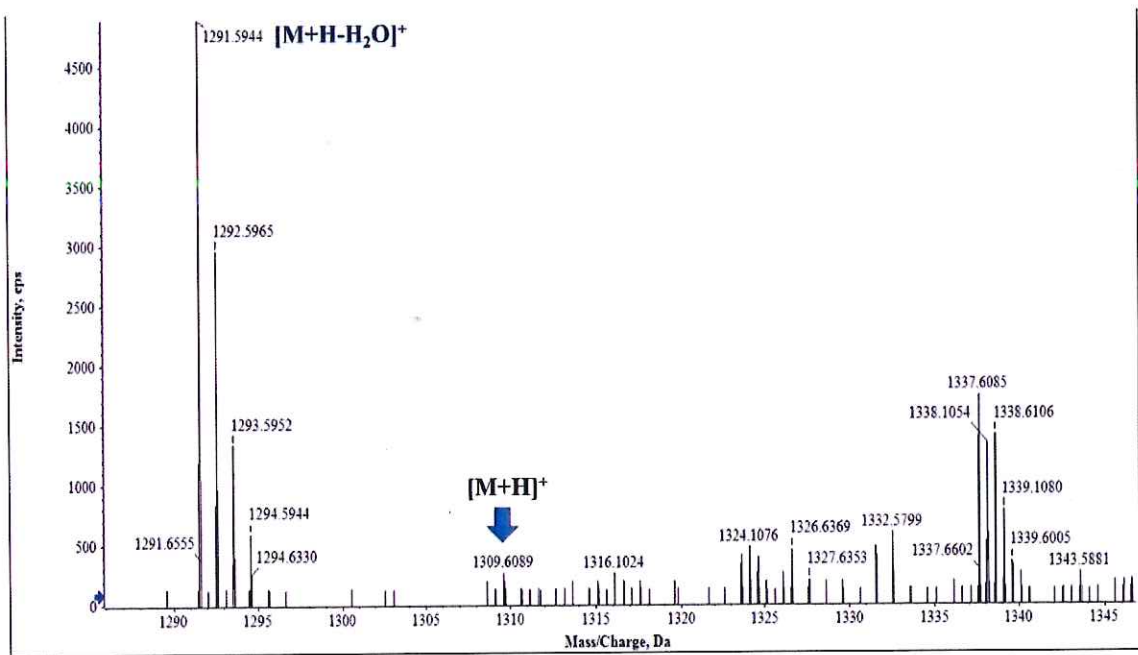
^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

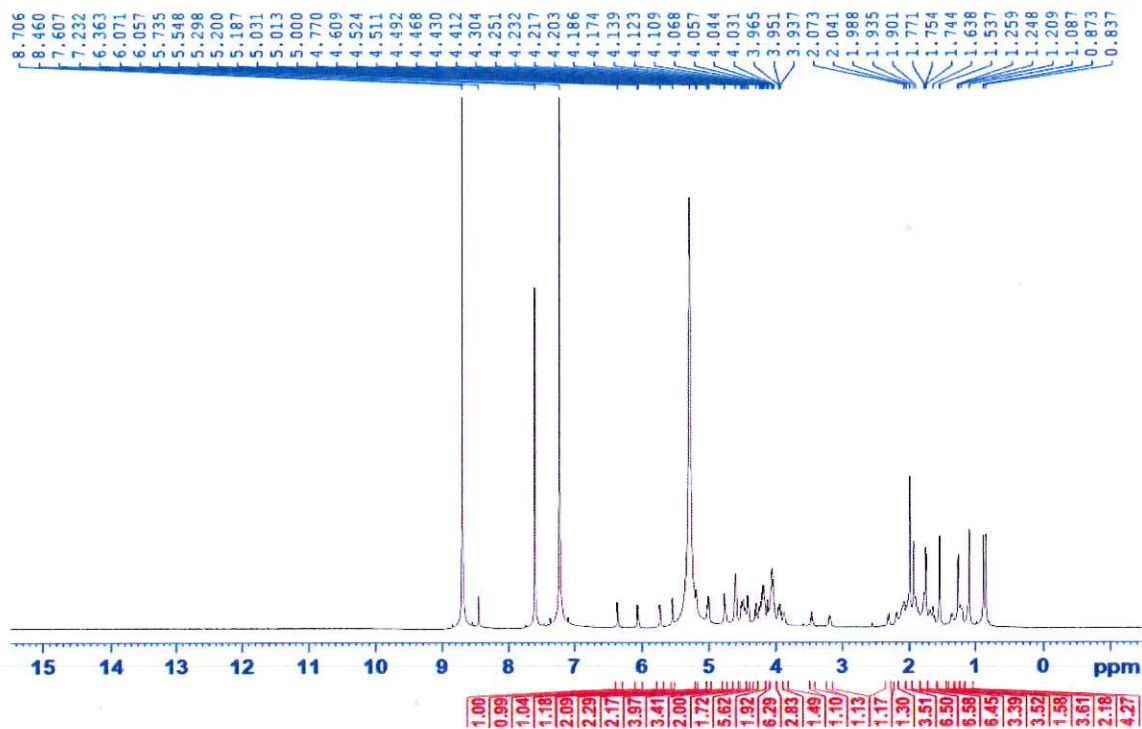
Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ 2D NMR



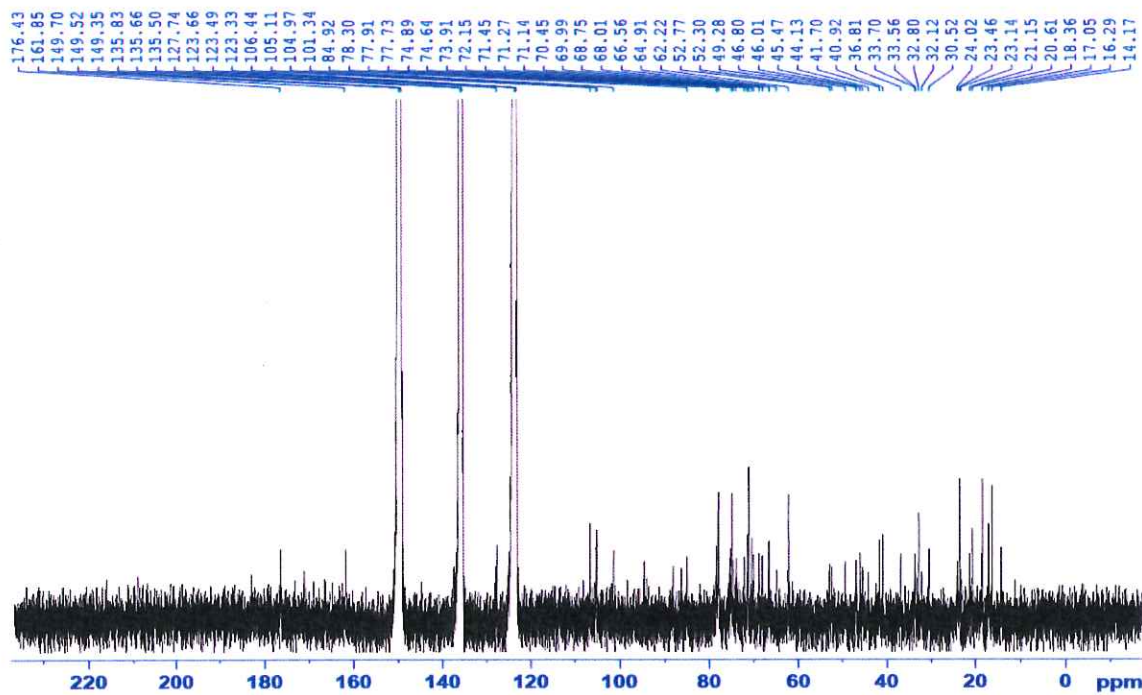
Hình 3.19. Phổ IR của polyarilloside B (2)



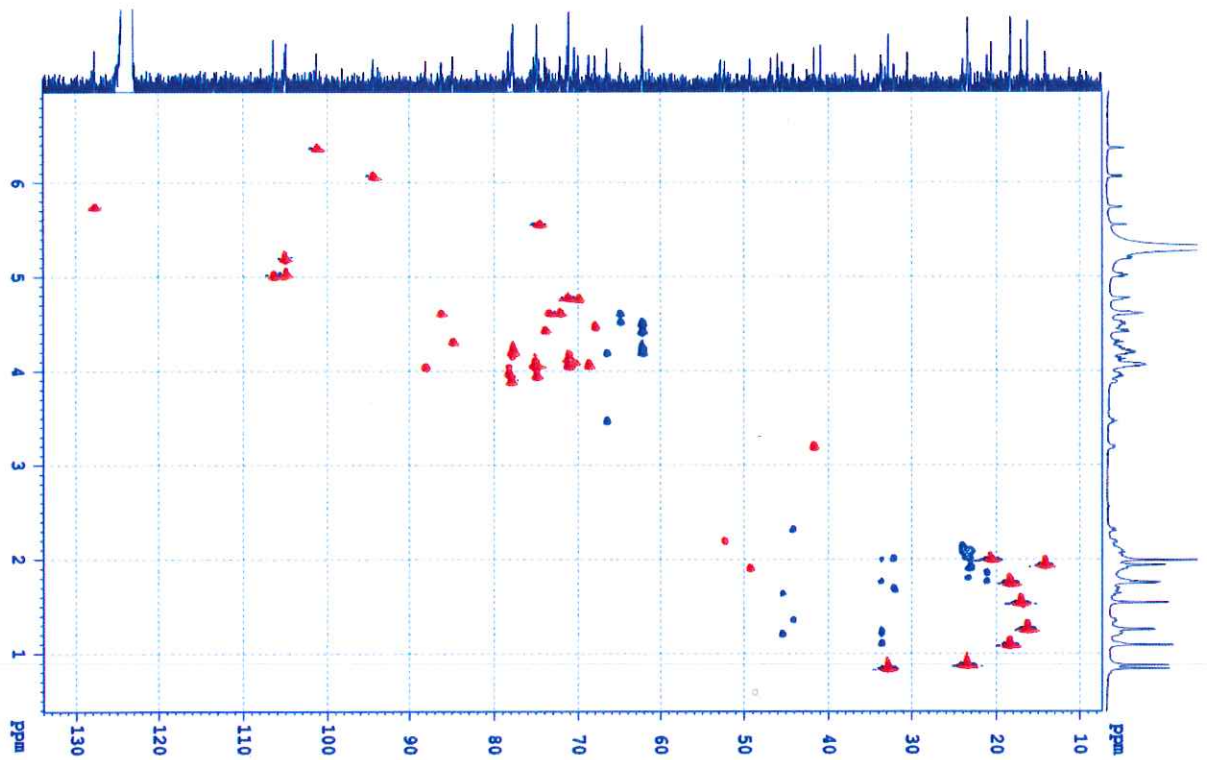
Hình 3.20. Phổ HRESIMS của polyarilloside B (2)



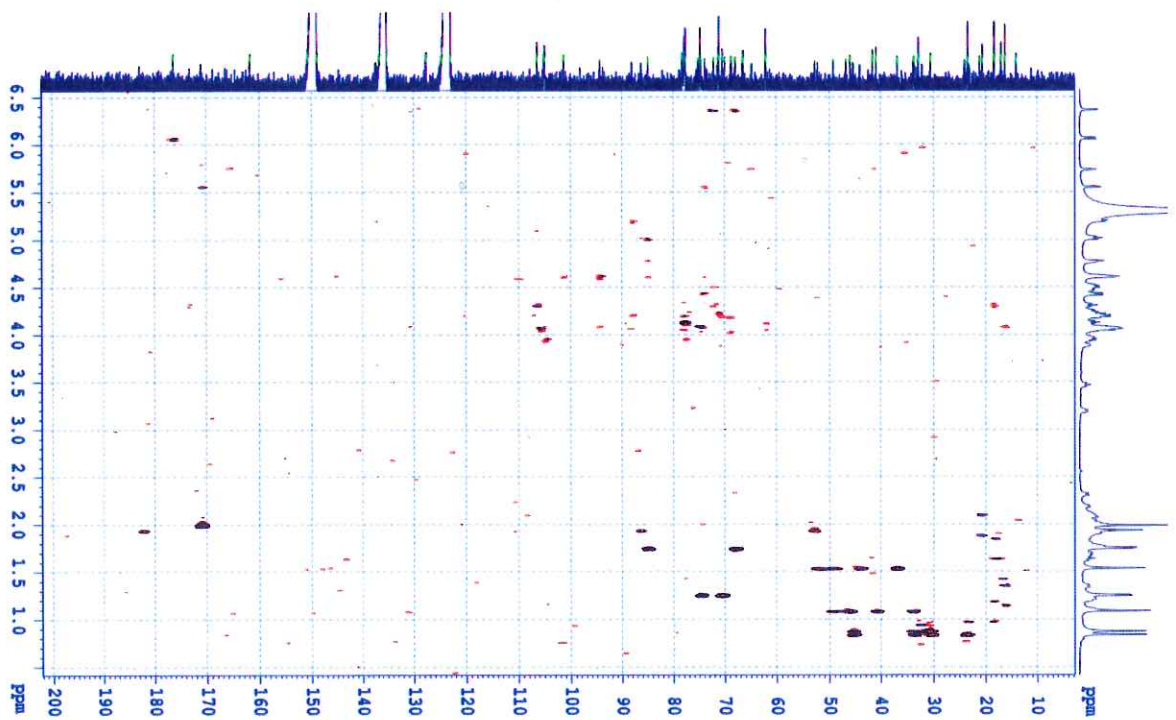
Hình 3.21. Phổ ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)



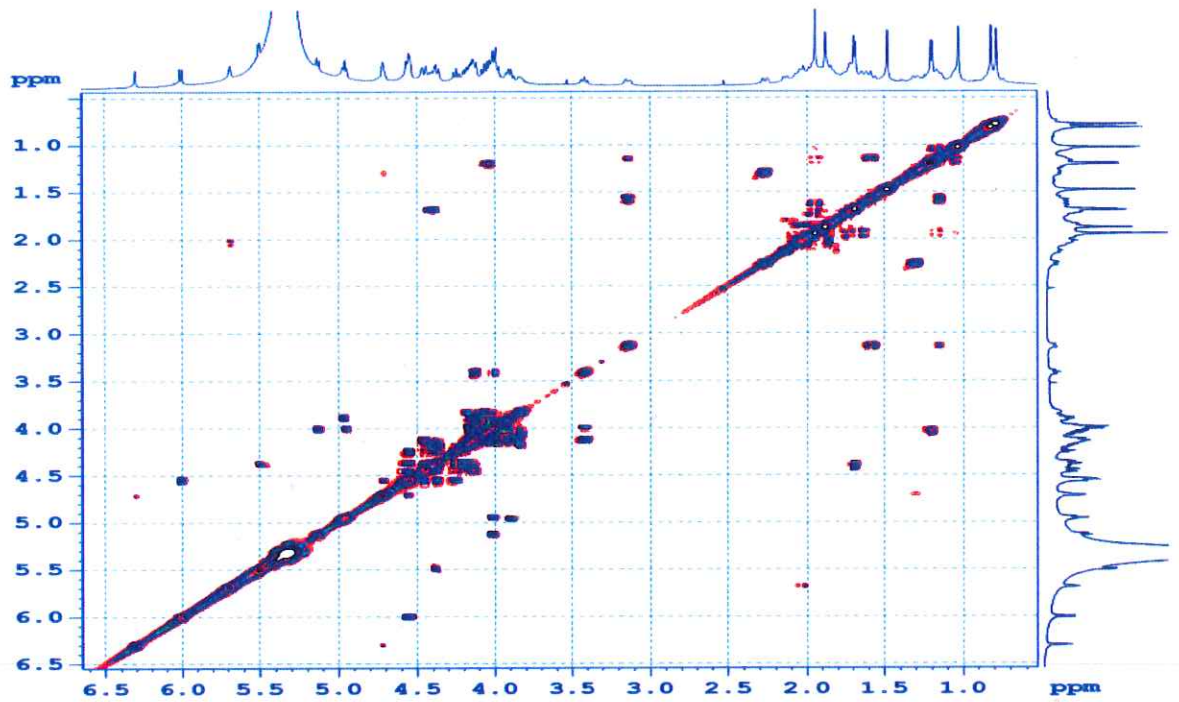
Hình 3.22. Phổ ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)



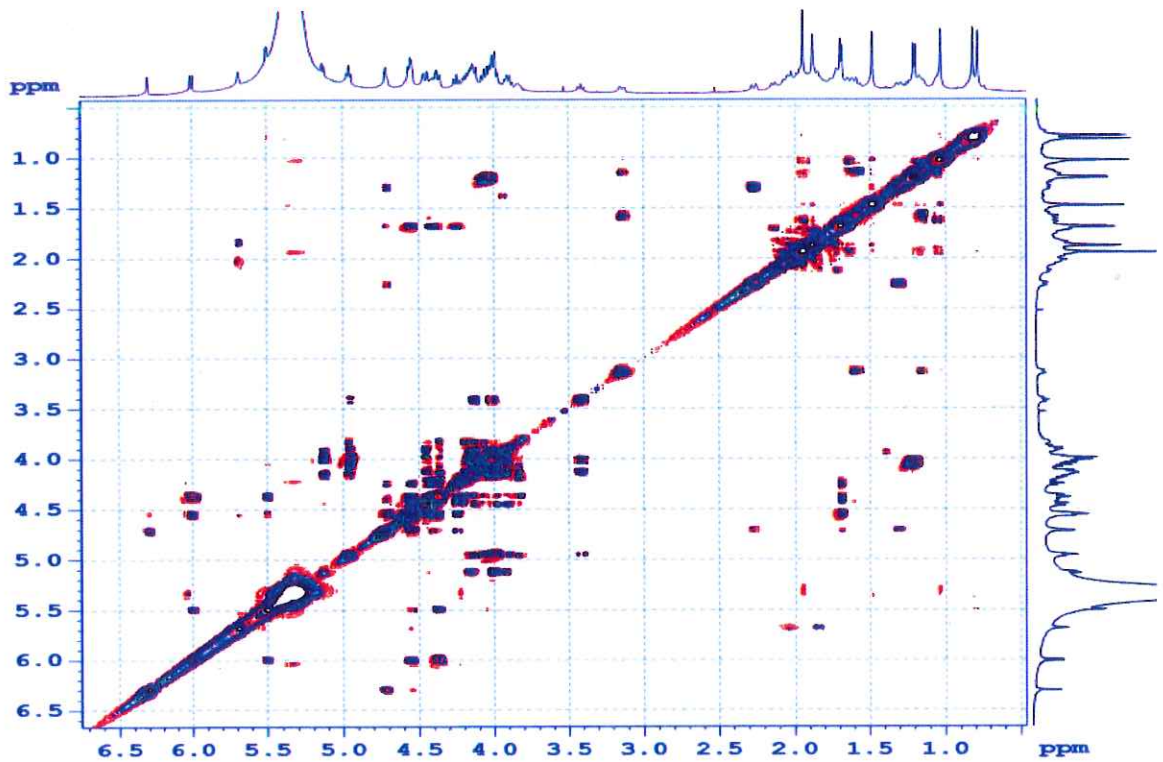
Hình 3.23. Phổ HSQC (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)



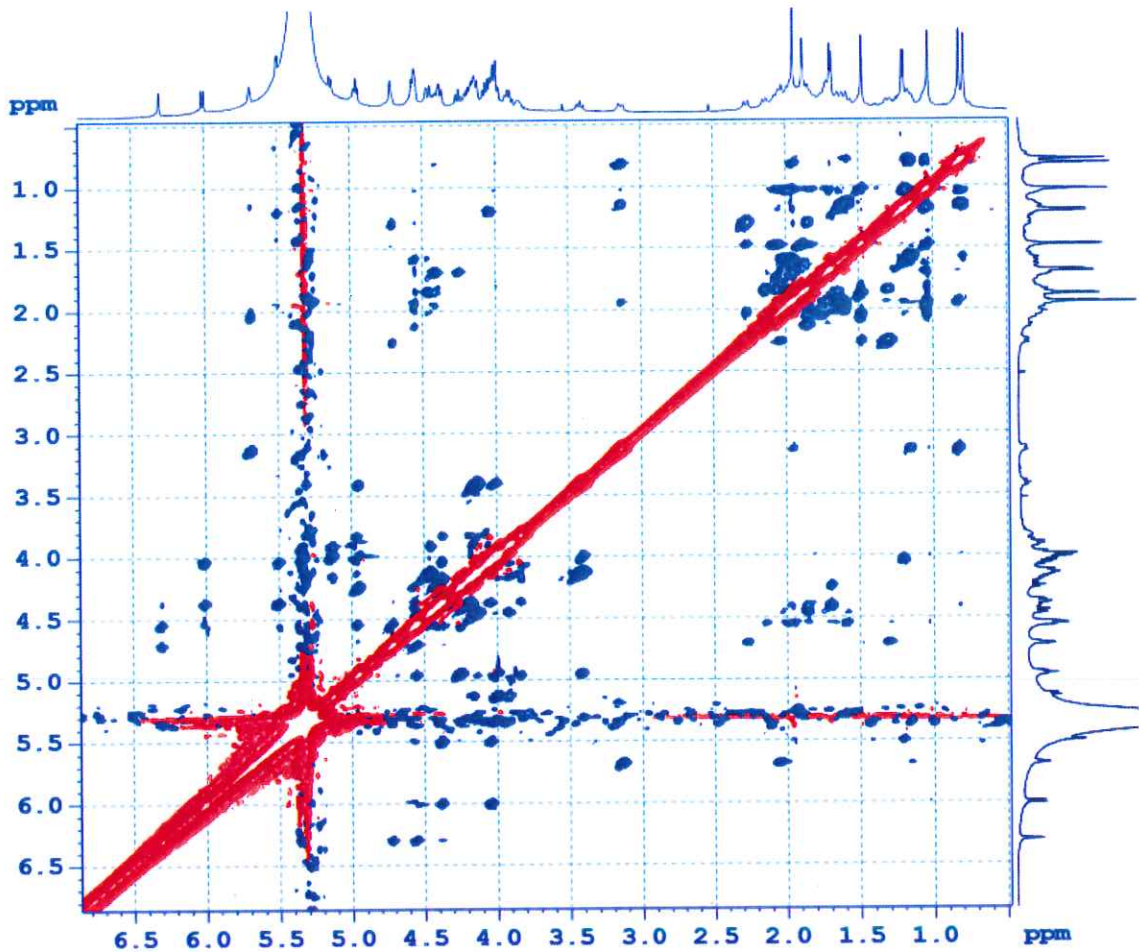
Hình 3.24. Phổ HMBC (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)



Hình 3.25. Phổ COSY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)

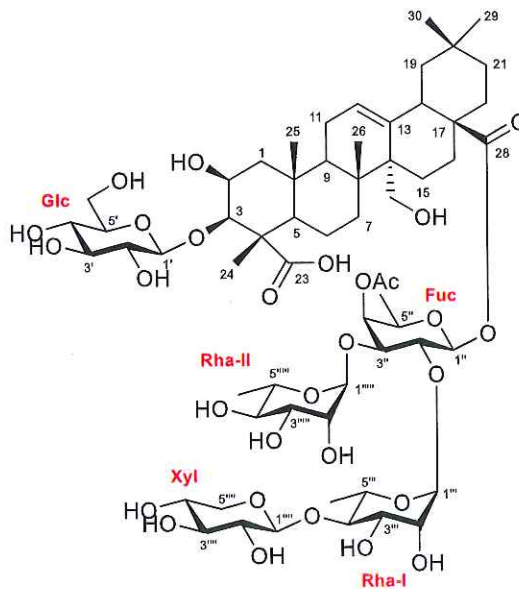


Hình 3.26. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)



Hình 3.27. Phổ ROESY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside B (2)

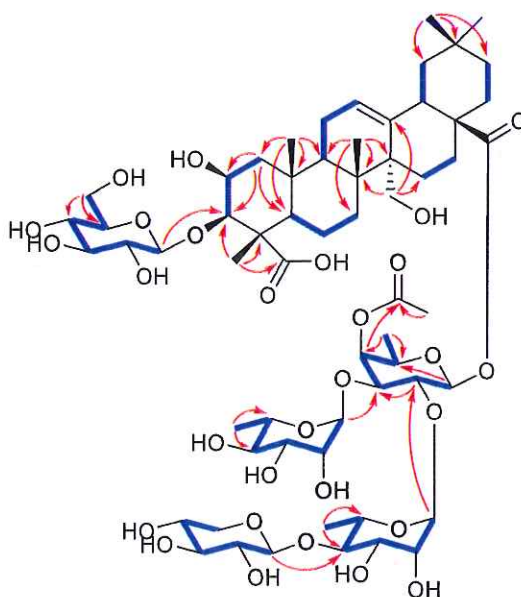
3.3.3. Hợp chất 3: Polyarilloside C (chất mới)



Hình 3.28. Cấu trúc hóa học của hợp chất 3

Hợp chất 3 được đề xuất có công thức phân tử C₆₁H₉₆O₃₀ dựa trên sự xuất hiện của ion cộng natri tại m/z 1315.5941 (tính toán lý thuyết cho CTPT C₆₁H₉₆O₂₉Na⁺,

1315.5929) và ion phân tử cộng proton tại m/z 1293.6151 (tính toán lý thuyết cho CTPT $C_{61}H_{97}O_{29}^+$, 1293.6110) trên phổ khối phân giải cao HRESIMS. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất **3** với hợp chất **1** cho thấy hai hợp chất có cấu trúc tương tự nhau, ngoại trừ việc một đơn vị glucose trong hợp chất **1** được thay thế bằng một đơn vị rhamnose trong hợp chất **3** [δ_H 5.57 (br s)/ δ_C 104.5 (C-1'''), δ_H 4.74 (br s)/ δ_C 71.8 (C-2'''), δ_H 4.37/ δ_C 72.1 (C-3'''), δ_H 4.23/ δ_C 73.0 (C-4'''), δ_H 4.23/ δ_C 70.7 (C-5'''), và δ_H 1.63 (d, $J = 6.0$ Hz)/ δ_C 18.3 (C-6''')]. Nhận định này được củng cố thông qua so sánh dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất **3** với hợp chất saponin polygalasaponin XXXIX đã biết [31] cùng với phân tích chi tiết các phổ 2D NMR của hợp chất **3**. Đơn vị rhamnose được xác định gắn tại vị trí C-3'' của fucose dựa trên tương tác HMBC từ δ_H 5.57 (H-1''') đến δ_C 80.6 (C-3'') cùng với tương tác ROE giữa H-1'''' và δ_H 4.33 (H-3'') (Hình 3.29). Phân tích chi tiết các phổ HSQC, HMBC, COSY, 2D-TOCSY và ROESY cho phép quy kết đầy đủ tất cả các vị trí của hợp chất **3** (Hình 3.29). Trên cơ sở các phân tích phổ đã nêu, cấu trúc của hợp chất **3** được xác định là 3-*O*- β -D-glucopyranosyl presenegenin 28-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]-(4-*O*-acetyl)- β -D-fucopyranosyl ester, với tên gọi là polyarilloside C.



Hình 3.29. Các tương tác COSY, TOCSY (—) và HMBC (---) chính của hợp chất **3**

Bảng 3.3. Số liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất **3**

Phần aglycone	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c,d}$ ($J = \text{Hz}$)	Phần đường	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c,d}$ ($J = \text{Hz}$)
1	44.0	2.24 1.30	1'	104.8	5.00 (d, 7.8)

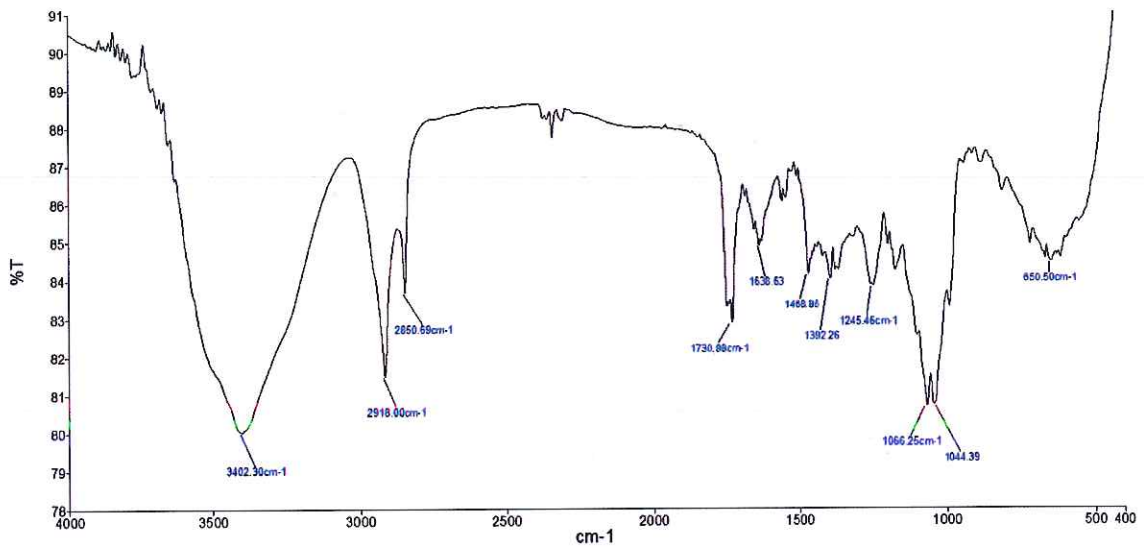
2	69.9	4.67 (br s)	2'	74.9	3.90
3	86.0	4.53 (br s)	3'	77.7	3.88
4	52.7		4'	71.1	4.07
5	52.2	2.17	5'	77.9	4.08 (m)
6	21.1	1.88 1.72	6'	62.2	4.40 (br d, 12.0) 4.20
7	33.5	1.70 1.08	1''	94.4	5.98 (d, 8.4)
8	40.9		2''	74.2	4.48
9	49.0	2.28	3''	80.6	4.33
10	36.7		4''	73.5	5.61 (br s)
11	23.7	2.12 1.89	5''	70.4	4.04
12	127.3	5.78 (br s)	6''	16.5	1.18 (d, 6.0)
13	138.9		OAc	170.8 20.4	1.94 (s)
14	47.8		1'''	101.7	5.83 (br s)
15	24.2	2.10 2.02	2'''	71.3	4.59 (br s)
16	23.5	2.00 1.68	3'''	72.1	4.50
17	46.9		4'''	83.7	4.23
18	41.7	3.19 (br d, 12.6)	5'''	68.4	4.30
19	45.3	1.70 1.26	6'''	18.3	1.67 (d, 6.0)
20	30.5		1''''	106.3	4.97 (d, 6.6)
21	33.6	2.13 1.19	2''''	75.6	3.99 (dd, 6.6, 8.4)
22	32.1	2.00 1.65	3''''	78.1	3.98
23	181.8 ^e		4''''	70.4	4.10 (m)
24	14.1	1.90 (s)	5''''	67.0	4.16 3.43 (t, 10.8)
25	17.2	1.50 (s)	1'''''	104.5	5.57 (br s)
26	18.7	1.07 (s)	2'''''	71.8	4.74 (br s)

27	64.1	4.07 (br d, 12.0) 3.81 (br d, 12.0)	3''''''	72.1	4.37
28	176.5		4''''''	73.0	4.23
29	32.8	0.75 (s)	5''''''	70.7	4.23
30	23.7	0.86 (s)	6''''''	18.3	1.63 (d, 6.0)

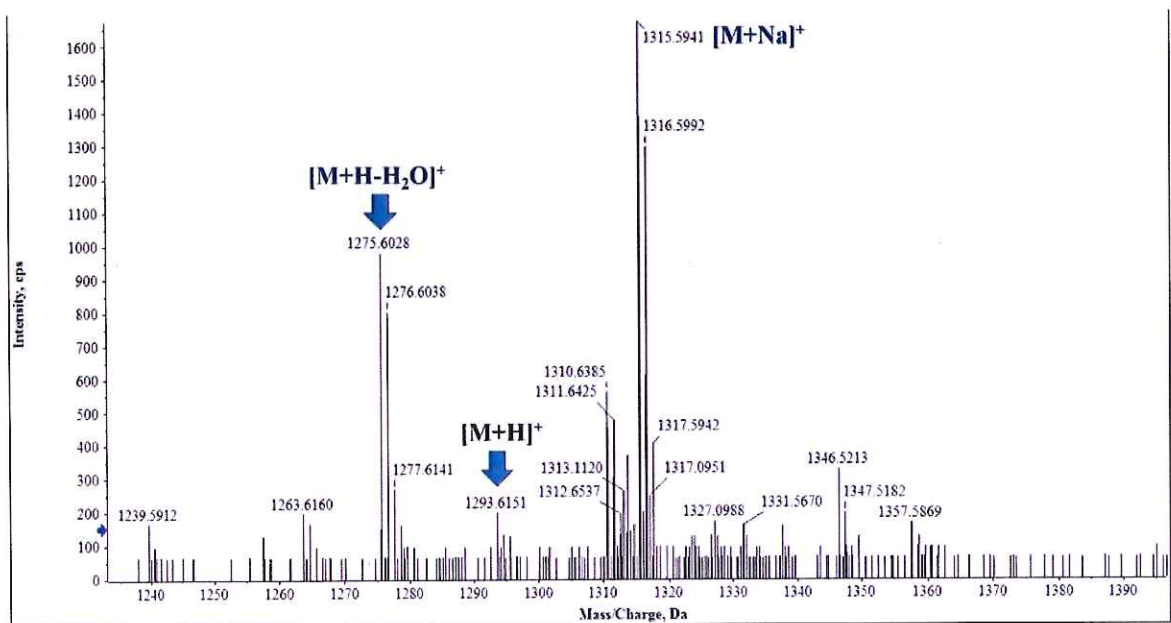
^aĐo trong C_5D_5N , ^b150 MHz, ^c600MHz

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

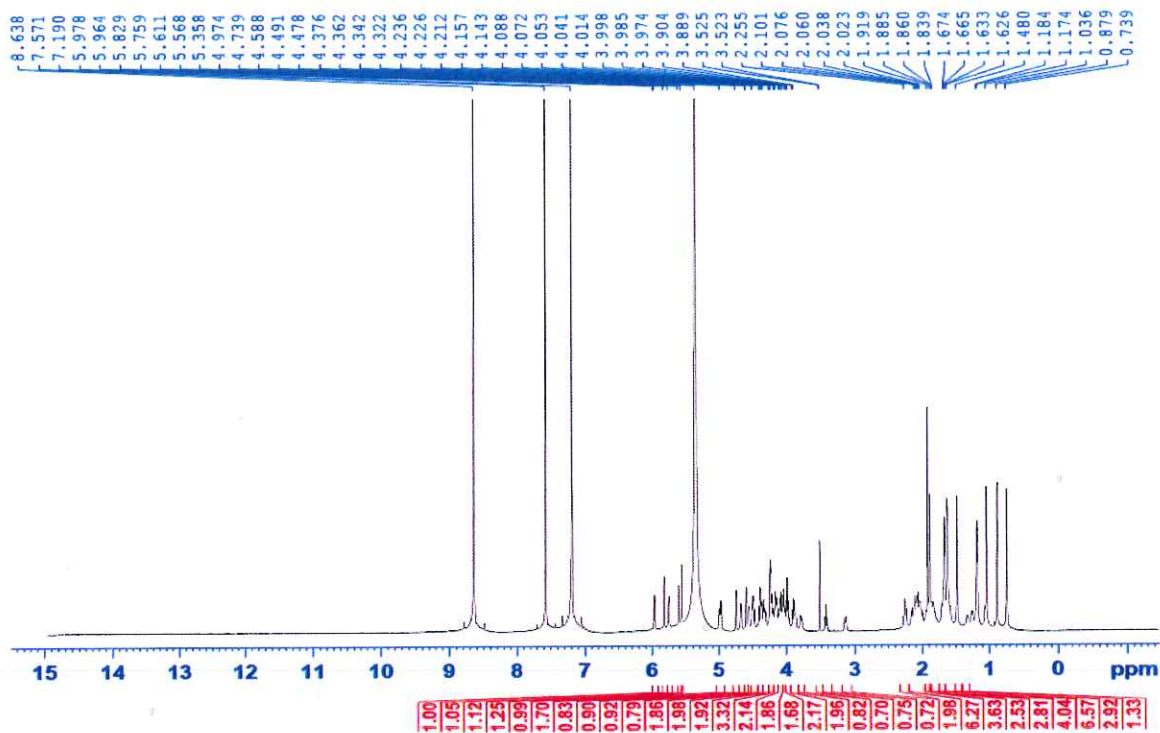
Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ 2D NMR



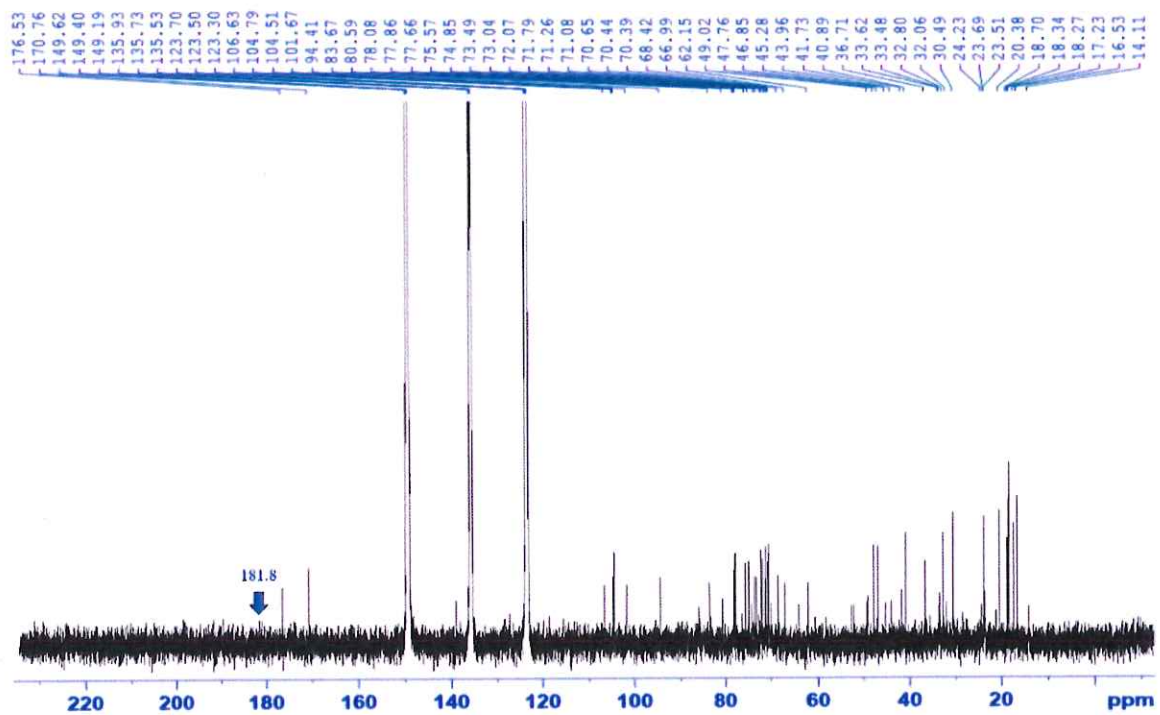
Hình 3.30. Phổ IR của polyarilloside C (3)



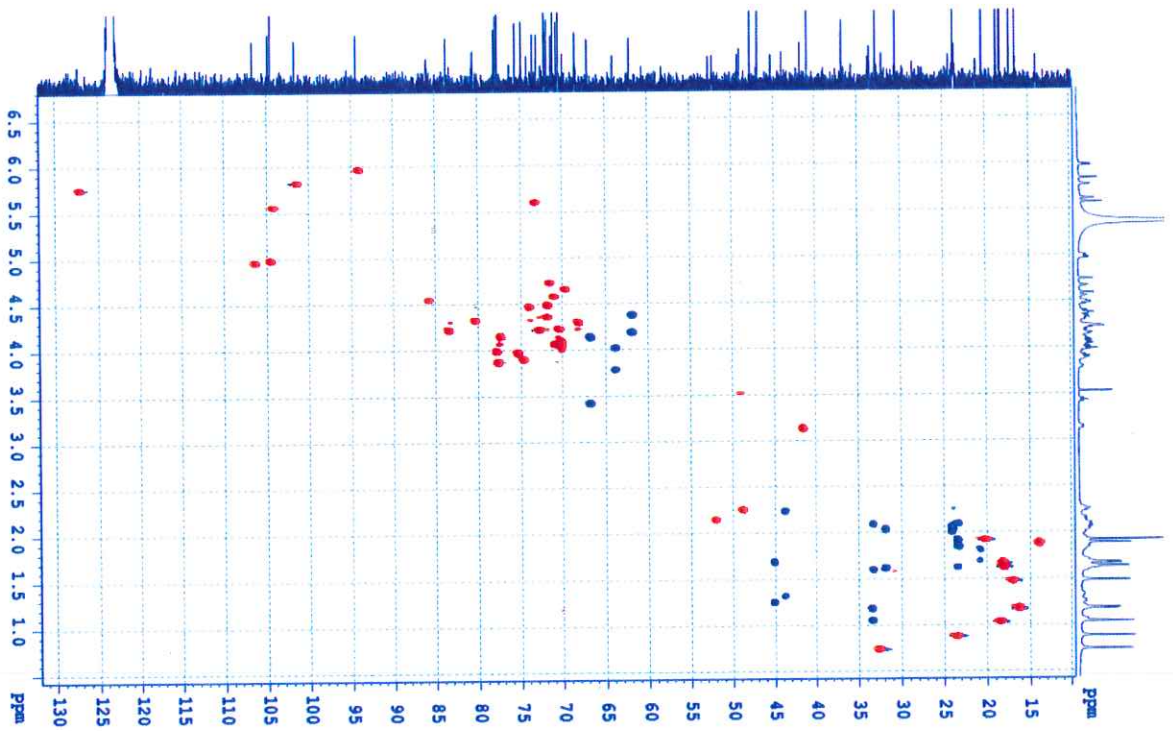
Hình 3.31. Phổ HRESIMS của polyarilloside C (3)



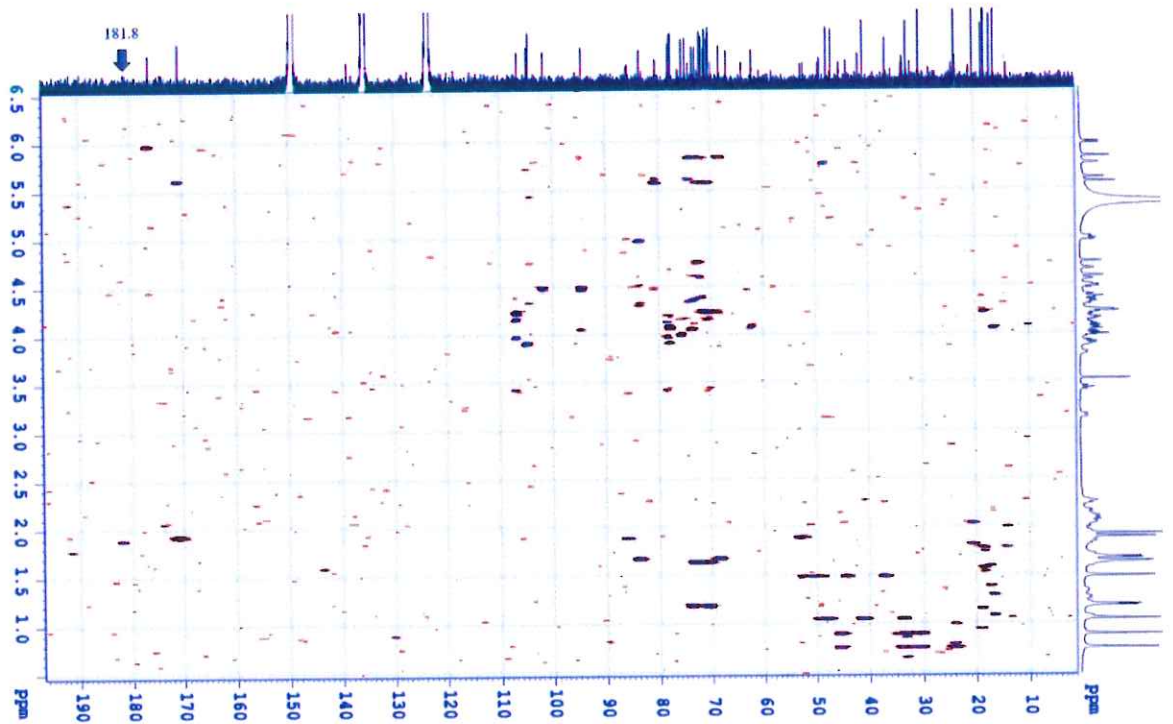
Hình 3.32. Phổ ^1H NMR (600 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) của polyarilloside C (3)



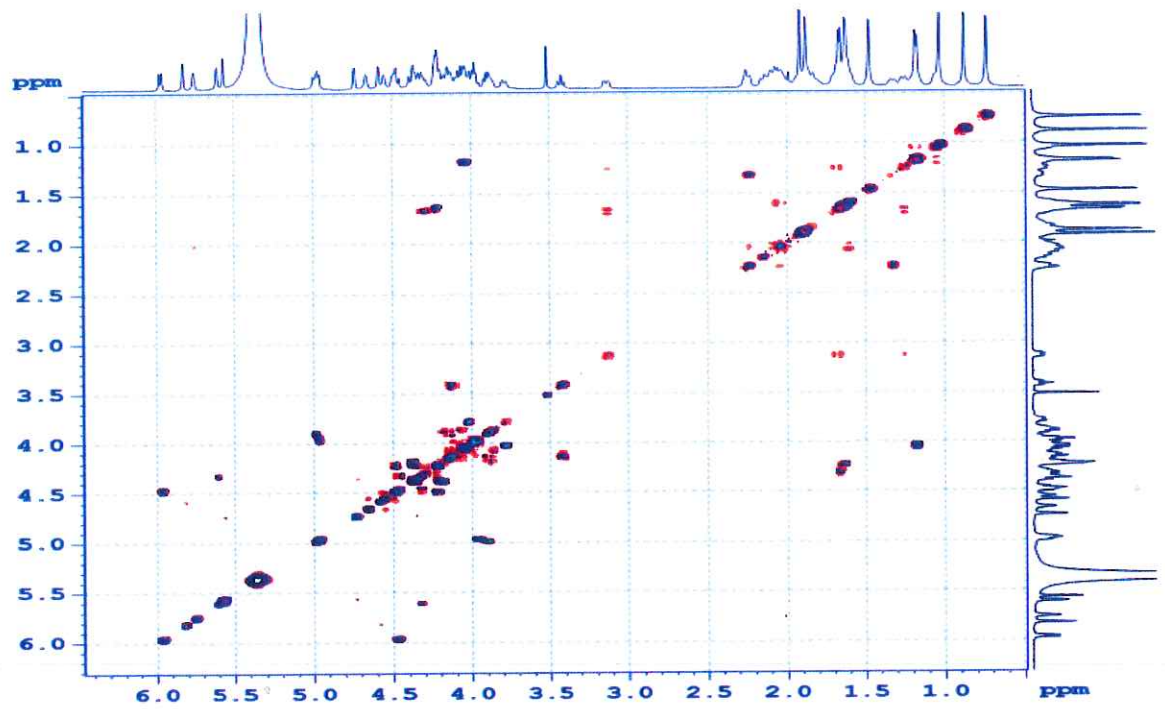
Hình 3.33. Phổ ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) của polyarilloside C (3)



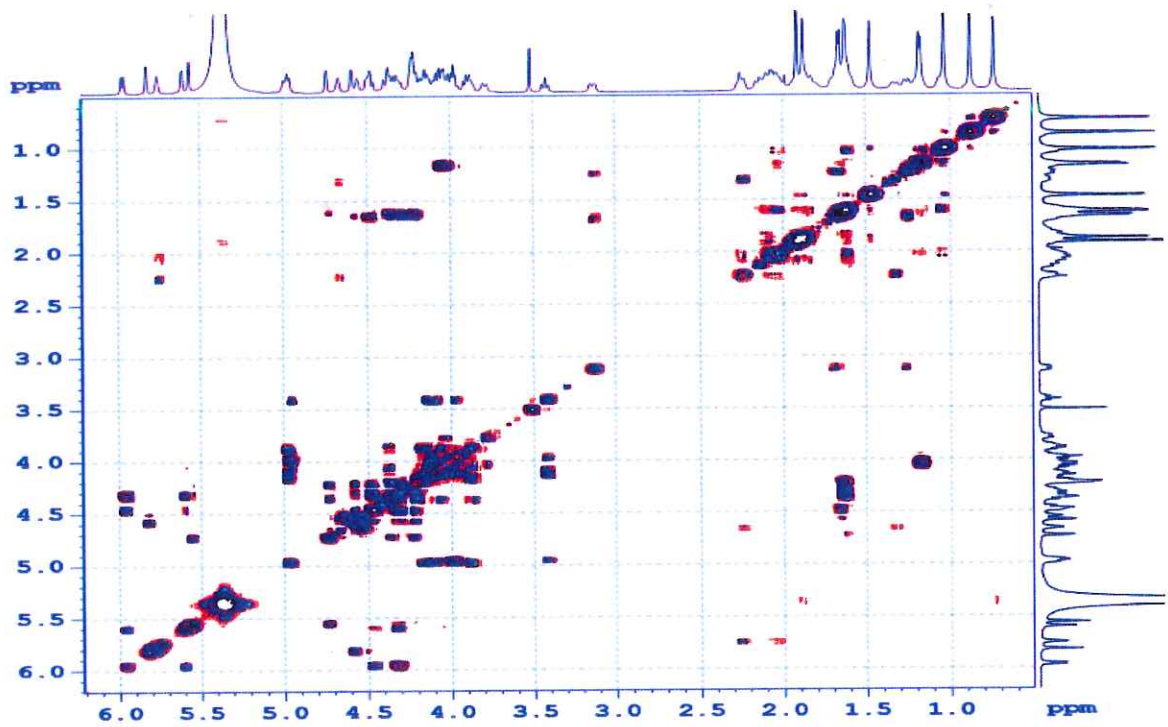
Hình 3.34. Phổ HSQC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)



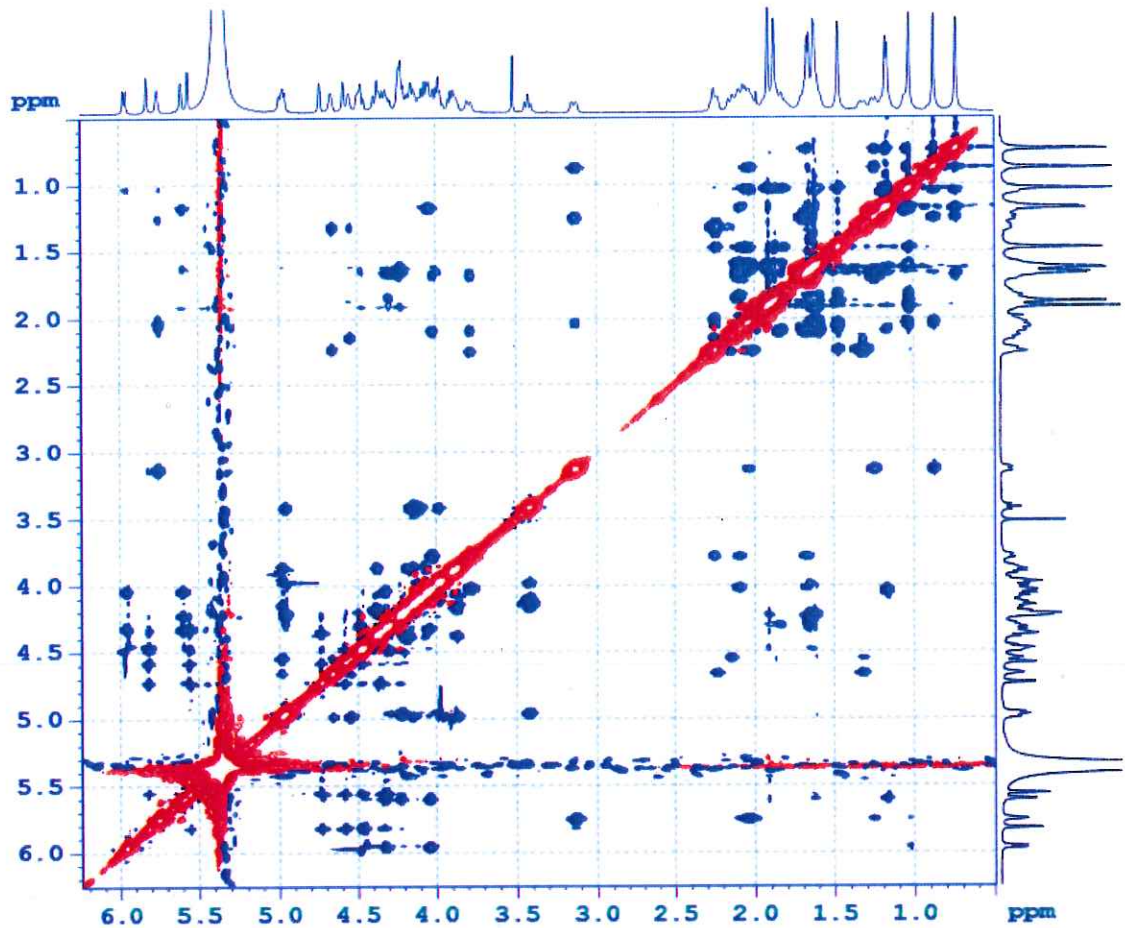
Hình 3.35. Phổ HMBC (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)



Hình 3.36. Phổ COSY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside C (3)

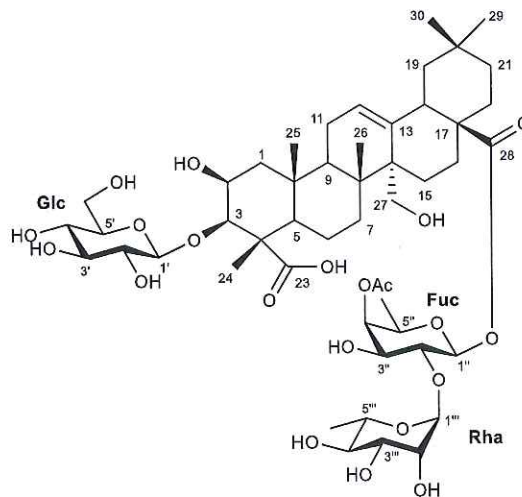


Hình 3.37. Phổ 2D-TOCSY (600 MHz, C₅D₅N) của polyarilloside C (3)



Hình 3.38. Phổ ROESY (600 MHz, C5D5N) của polyarilloside C (3)

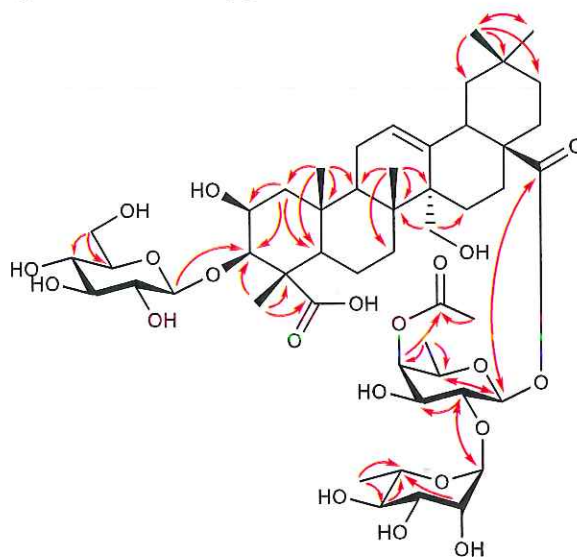
3.3.4. Hợp chất 4: Polyaureoside A



Hình 3.39. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4

Hợp chất 4 được phân lập ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ^1H NMR ghi nhận tín hiệu của 3 proton anomeric tại 5.02 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 6.03 (d, $J = 8.4$ Hz, H-1''), và 6.33 (s, H-1'''), gợi ý sự xuất hiện của 3 đơn vị đường trong phân tử. Tiến hành so sánh phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất 1 cho thấy 2 hợp

chất có phần Phần aglycone tương đồng; tuy nhiên hợp chất **1** có nhiều hơn 2 đơn vị đường so với hợp chất **4**. Theo đó, hợp chất **4** được xác định có một đường glucose, một đường fucose và một đường rhamnose thông qua phân tích chi tiết các tín hiệu phổ ^1H và ^{13}C NMR, kết hợp với phổ HSQC và so sánh với số liệu phổ của hợp chất tham khảo [28] (Bảng 3.4). Vị trí của đường glucose tại C-3 của Phần aglycone được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-1' đến C-3 (Hình 3.40). Tương tự, vị trí của chuỗi đường $\alpha\text{-L-rhamnopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)-}\beta\text{-D-fucopyranosyl}$ được khẳng định tại C-28 của Phần aglycone thông qua tương tác HMBC từ H-1'' đến C-28. Ngoài ra, vị trí của nhóm acetyl tại C-4'' trên đường fucose được xác nhận bởi tương tác HMBC từ H-4'' đến 171.1. Do đó, hợp chất **4** được xác định là polyureoside A. Hợp chất cũng này đã được công bố từ loài *Polygala aureocauda* phân bố ở Việt Nam [28].



Hình 3.40. Các tương tác HMBC chính của hợp chất **4**

Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **4**

Vị trí	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
Phần aglycone			
1	44.6	44.1	2.25 (m) 1.30 (m)
2	71.1	70.1	4.32 (br s)
3	86.1	86.2	4.66 (br s)
4	53.3	52.8	
5	52.9	52.3	2.15 (m)
6	21.6	21.2	1.83 (m) 1.63 (m)
7	33.9	33.4	1.98 (m)

			1.64 (m)	
8	41.7	41.0		
9	50.1	49.4	2.31 (m)	
10	37.5	36.8		
11	24.0	23.4	2.16 (m) 1.98 (m)	
12	129.0	127.6	5.80 (br s)	
13	139.1	138.9		
14	47.7	47.9		
15	24.6	24.1	2.12 (m) 1.62 (m)	
16	25.0	24.4	2.12 (m) 2.03 (m)	
17	47.7	46.8		
18	42.7	41.8	3.19 (br d, 13.2)	
19	46.0	45.2	1.71 (m) 1.29 (m)	
20	31.6	30.6		
21	34.6	33.7	1.24 (m) 1.09 (m)	
22	33.0	32.2	2.01 (m) 1.72 (m)	
23	182.5	181.9		
24	13.8	14.2	1.91 (s)	
25	17.7	17.3	1.52 (s)	
26	19.1	18.7	1.07 (s)	
27	64.9	64.1	3.99 (br d, 12.0) 3.73 (br d, 12.0)	
28	177.9	176.5		
29	33.4	32.9	0.77 (s)	
30	24.3	23.8	0.85 (s)	
Phân đường				
Glc	1'	104.8	105.0	5.02 (d, 7.8)
	2'	75.1	75.0	3.90
	3'	77.7	77.8	3.88

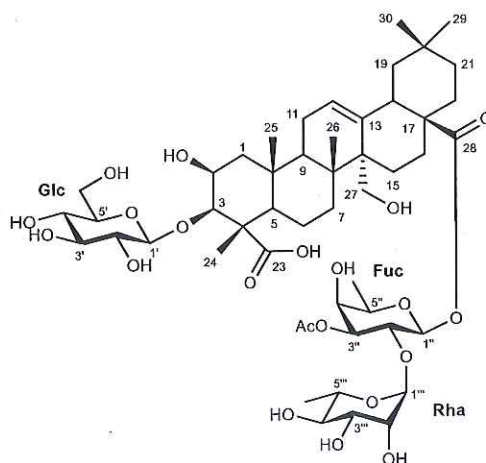
	4'	71.1	71.3	4.10
	5'	77.7	78.0	4.18 (m)
	6'	62.2	62.3	4.40 (dd, 3.0, 12.0) 4.23 (dd, 5.4, 12.0)
Fuc	1''	95.1	94.6	6.03 (d, 8.4)
	2''	75.6	73.7	4.60
	3''	74.3	74.0	4.37
	4''	75.2	74.7	5.51 (br s)
	5''	71.1	70.5	4.03
	6''	16.6	16.4	1.22 (d, 6.0)
4''-OAc	CH ₃	20.8	20.6	1.93 (s)
	CO	172.8	171.1	
Rha	1'''	101.9	101.8	6.33 (s)
	2'''	71.9	71.9	4.74 (br d, 1.2)
	3'''	72.1	72.2	4.48
	4'''	73.7	73.5	4.26
	5'''	70.4	69.9	4.48
	6'''	18.3	18.7	1.70 (d, 6.0)

^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz, [#]δ_C của hợp chất tham khảo đo trong CD₃OD [28]

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

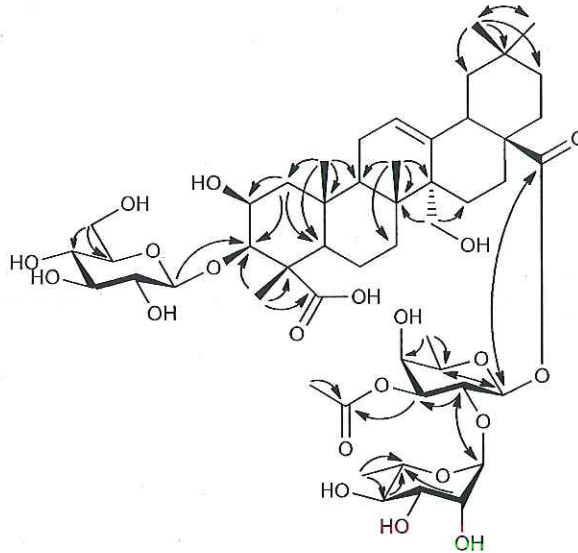
Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ HSQC và HMBC

3.3.5. Hợp chất 5: Polyaureoside B



Hình 3.41. Cấu trúc hóa học của hợp chất 5

Hợp chất 5 được phân lập ở dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất 4 cho thấy 2 hợp chất có cấu trúc gần như tương đồng, ngoại trừ sự dịch chuyển vị trí của nhóm acetyl ở C-4'' ở hợp chất 4 sang vị trí C-3'' trên đường fucose ở hợp chất 5. Điều này được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-3'' đến δ_{C} 170.6 (Hình 3.42). Qua đó, hợp chất 5 được xác định là polyaureside B. Hợp chất này cũng đã được công bố từ loài *Polygala aureocauda* phân bố ở Việt Nam [28].



Hình 3.42. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 5

Bảng 3.5. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất 5

Vị trí	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
Phần aglycone			
1	44.6	43.9	2.24 (br d, 13.2) 1.29 (m)
2	71.1	69.9	4.66 (br s)
3	86.4	85.8	4.53 (br d, 3.0)
4	53.6	52.6	
5	52.9	52.2	2.00 (m)
6	21.6	21.1	1.83 (m) 1.61 (m)
7	33.9	33.2	1.97 (m) 1.62 (m)
8	41.8	40.9	
9	50.1	49.1	2.28 (m)

10		37.5	36.8	
11		23.9	23.3	2.10 (m) 1.88 (m)
12		129.2	127.5	5.78 (br s)
13		139.1	138.8	
14		48.6	47.8	
15		24.5	23.9	1.99 (m) 1.54 (m)
16		25.0	24.3	2.09 (m) 2.00 (m)
17		47.8	46.7	
18		42.7	41.7	3.16 (dd, 3.0, 13.2)
19		46.0	45.2	1.70 (m) 1.27 (m)
20		31.6	30.5	
21		34.6	33.7	1.22 (m) 1.07 (m)
22		33.0	32.1	1.97 (m) 1.62 (m)
23		183.2	180.8	
24		14.0	14.0	1.89 (s)
25		17.6	17.2	1.51 (s)
26		19.0	18.5	1.07 (s)
27		64.9	64.1	3.98 (br d, 12.0) 3.75 (br d, 12.0)
28		177.7	176.3	
29		33.5	32.8	0.76 (s)
30		24.3	23.7	0.84 (s)
Phần đường				
Glc	1'	104.8	104.9	4.99 (d, 7.2)
	2'	75.2	74.8	3.89
	3'	77.7	78.0	3.87
	4'	71.1	71.1	4.08
	5'	77.7	77.84	4.13 (m)
	6'	62.3	62.2	4.40 (br d, 11.6)

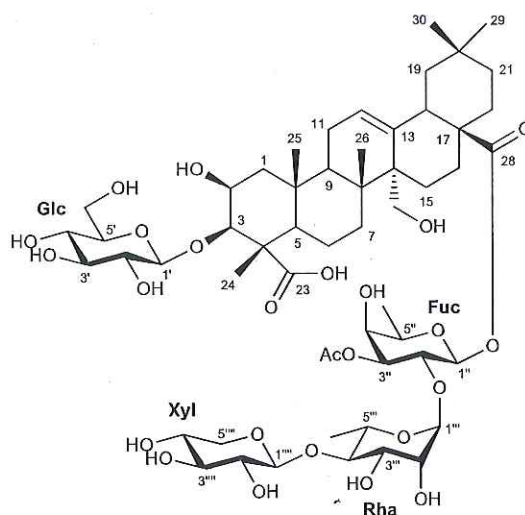
				4.22 (dd, 5.4, 12.0)
Fuc	1''	95.3	94.6	6.06 (dd, 1.2, 7.8)
	2''	73.5	71.9	4.80 (td, 0.6, 9.0)
	3''	77.8	77.79	5.38 (ddd, 1.2, 3.0, 9.6)
	4''	70.3	69.5	4.22
	5''	72.3	71.5	4.57
	6''	16.4	16.5	1.40 (d, 6.0)
3''-OAc	CH ₃	21.1	20.8	2.05 (s)
	CO	172.0	170.6	
Rha	1'''	102.4	101.9	5.73 (s)
	2'''	71.7	71.9	3.93
	3'''	72.0	72.0	4.34
	4'''	73.7	73.2	4.19
	5'''	70.9	70.4	4.33
	6'''	18.3	18.5	1.59 (d, 6.0)

^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz, [#]δ_c của hợp chất tham khảo đo trong CD₃OD [28]

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ HSQC và HMBC

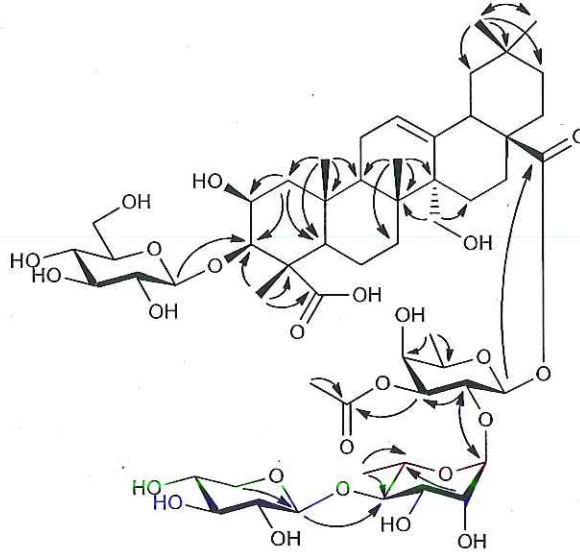
3.3.6. Hợp chất 6: Polyaureoside C



Hình 3.43. Cấu trúc hóa học của hợp chất 6

Hợp chất 6 được phân lập ở dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất này với hợp chất 5 cho thấy 2 hợp chất có cấu trúc khá tương đồng, ngoại trừ sự xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của một đơn vị đường xylose

[δ_{H} 5.02 (d, $J = 7.8$ Hz)/ δ_{C} 106.8 (C-1'''), δ_{H} 3.99 (dd, $J = 7.8, 9.0$ Hz)/ δ_{C} 75.7 (C-2'''), δ_{H} 4.01/ δ_{C} 78.3 (C-3'''), δ_{H} 4.10 (m)/ δ_{C} 70.6 (C-4'''), δ_{H} 4.18 (dd, $J = 6.0, 11.4$ Hz) và 3.46 (t, $J = 11.4$ Hz)/ δ_{C} 67.2 (C-5''')] ở hợp chất **6**. Điều này được khẳng định thêm thông qua sự tương đồng hoàn toàn khi so sánh với số liệu phổ của hợp chất polyureoside C đã được công bố từ loài *P. aureocauda* [28]. Trên phổ HMBC ghi nhận tín hiệu tương tác từ proton anomeric của xylose tại δ_{H} 5.02 đến C-4''' cho phép khẳng định vị trí của xylose tại C-4''' trên đường rhamnose (Hình 3.44). Như vậy, hợp chất **6** được xác định là polyureoside C.



Hình 3.44. Các tương tác HMBC chính của hợp chất **6**

Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **6**

Vị trí	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
Phần aglycone			
1	44.6	44.0	
2	71.1	70.0	4.68 (br s)
3	85.9	85.9	4.56 (br s)
4	53.2	52.7	
5	52.9	52.3	
6	21.7	21.2	
7	34.1	33.4	
8	41.7	41.0	
9	50.1	49.1	
10	37.5	36.8	
11	24.0	23.7	
12	129.0	127.6	5.77 (br s)

13		139.1	138.8	
14		49.0	47.8	
15		24.6	24.3	
16		25.0	23.4	
17		47.8	46.8	
18		42.7	41.8	
19		46.2	45.2	
20		31.6	30.6	
21		34.6	33.7	
22		33.0	32.1	
23		181.8	181.0	
24		13.7	14.1	1.94 (s)
25		17.6	17.3	1.52 (s)
26		18.9	18.6	1.09 (s)
27		64.9	64.2	4.03 (br d, 11.4) 3.79 (br d, 11.4)
28		177.7	176.4	
29		33.4	32.9	0.76 (s)
30		24.2	23.7	0.88 (s)
Phần đường				
Glc	1'	104.9	105.0	5.01 (d, 7.8)
	2'	75.2	74.9	3.92 (dd, 7.8, 9.0)
	3'	77.8	77.9	4.13 (t, 9.0)
	4'	71.1	71.1	4.11 (t, 9.0)
	5'	77.8	78.1	3.90 (m)
	6'	62.3	62.3	4.42 (dd, 1.2, 11.4) 4.22 (dd, 6.0, 11.4)
Fuc	1''	95.2	94.5	6.10 (d, 8.4)
	2''	72.4	72.1	4.77 (dd, 8.4, 9.6)
	3''	78.4	77.8	5.37 (dd, 3.0, 9.6)
	4''	70.4	69.5	4.23 (br d, 3.0)
	5''	72.5	71.9	3.93
	6''	16.4	16.5	1.41 (d, 6.6)
Rha	1'''	101.7	101.7	5.70 (s)
	2'''	71.7	71.2	4.59 (br s)

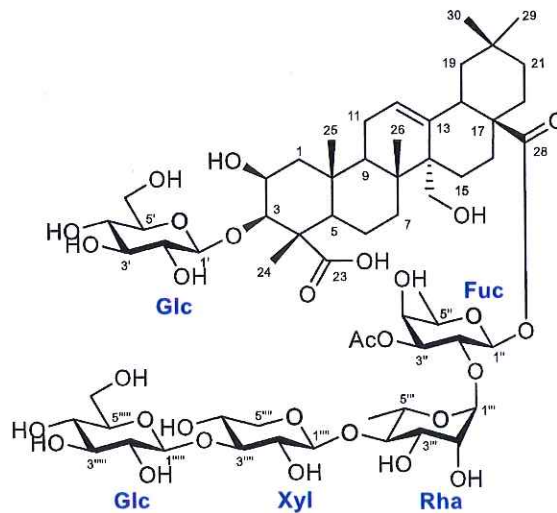
	3'''	72.2	72.1	4.50 (dd, 3.0, 9.0)
	4'''	84.0	84.1	4.25 (t, 9.0)
	5'''	69.2	68.8	4.33
	6'''	18.3	18.4	1.66 (d, 6.0)
Xyl	1''''	106.9	106.8	5.02 (d, 7.8)
	2''''	76.1	75.7	3.99 (dd, 7.8, 9.0)
	3''''	78.3	78.3	4.01
	4''''	71.0	70.6	4.10 (m)
	5''''	67.3	67.2	4.18 (dd, 6.0, 11.4) 3.46 (t, 11.4)
3''-OAc	CH ₃	21.1	20.8	2.01 (s)
	CO	172.0	170.5	

^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz, [#]δ_C của hợp chất tham khảo đo trong CD₃OD [28]

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ HSQC và HMBC

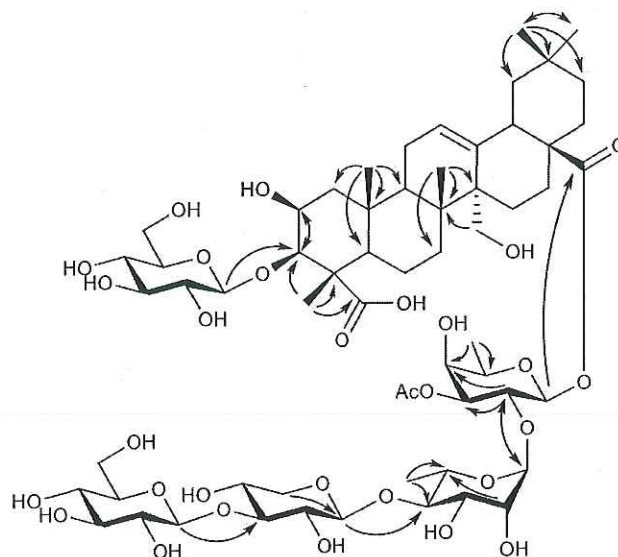
3.3.7. Hợp chất 7: Polyaureoside D



Hình 3.45. Cấu trúc hóa học của hợp chất 7

Hợp chất 7 được phân lập ở dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh phổ ¹H và ¹³C NMR của hợp chất này với hợp chất 6 cho thấy sự tương đồng về cấu trúc của 2 hợp chất, tuy nhiên, sự khác biệt được ghi nhận bởi sự xuất hiện thêm các tín hiệu đặc trưng của một đơn vị đường glucose [δ_H 5.18/ δ_C 105.1 (C-1'''''), δ_H 4.04 (dd, J = 7.8, 9.0 Hz)/ δ_C 75.3 (C-2'''''), δ_H 4.18/ δ_C 77.8 (C-3'''''), δ_H 4.05 (m)/ δ_C 71.3 (C-4'''''), δ_H 3.92/ δ_C 78.4, δ_H 4.41 (br d, J = 11.4 Hz) và 4.18/ δ_C 62.3 (C-6''''')] ở hợp

chất 7. Điều này được khẳng định bởi sự tương đồng hoàn toàn khi so sánh với số liệu phổ của hợp chất polyureoside D đã được công bố từ loài *P. aureocauda* [28]. Vị trí của đơn vị đường glucose này được xác định tại C-3'''' của đường xylose dựa trên tín hiệu tương tác từ proton tại δ_H 5.18 đến C-3'''' trên phổ HMBC (Hình 3.46). Với các dữ kiện phổ nêu trên, hợp chất 7 được xác định là polyureoside D.



Hình 3.46. Các tương tác HMBC chính của hợp chất 7

Bảng 3.7. Số liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của hợp chất 7

Vị trí	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
Phần aglycone			
1	44.6	44.1	
2	71.1	70.1	4.66 (br s)
3	86.2	86.3	4.54 (br s)
4	53.3	52.8	
5	53.0	52.3	
6	21.7	21.3	
7	34.2	33.5	
8	41.7	41.0	
9	50.1	49.2	
10	37.5	36.8	
11	23.8	23.4	
12	129.0	127.7	5.78 (br s)
13	139.2	138.9	
14	49.0	46.9	
15	24.9	23.9	

16		24.8	23.5	
17		47.9	46.0	
18		42.7	41.8	
19		46.2	45.2	
20		31.6	30.6	
21		34.7	33.7	
22		33.0	32.2	
23		183.0	181.6	
24		13.9	14.2	1.91 (s)
25		17.7	17.3	1.52 (s)
26		18.9	18.7	1.09 (s)
27		64.7	64.2	4.06 (br d, 11.4) 3.80 (br d, 12.0)
28		177.7	176.4	
29		33.4	32.9	0.76 (s)
30		24.1	23.7	0.85 (s)
Phân đường				
Glc	1'	105.0	105.1	5.03 (d, 6.6)
	2'	75.2	75.0	3.91
	3'	77.7	77.8	4.18
	4'	71.5	71.2	4.09
	5'	77.7	78.0	3.89
	6'	62.3	62.3	4.47; 4.22
Fuc	1''	95.1	94.5	6.09 (d, 7.8)
	2''	71.9	71.6	4.81 (dd, 7.8, 9.0)
	3''	78.9	78.0	5.39 (br d, 9.0)
	4''	70.5	69.6	4.23
	5''	72.3	72.0	3.97
	6''	16.4	16.5	1.41 (d, 6.6)
Rha	1'''	101.4	101.6	5.74 (br s)
	2'''	71.7	71.1	4.58 (br s)
	3'''	72.4	72.1	4.48
	4'''	84.8	84.3	4.24
	5'''	68.9	68.8	3.99

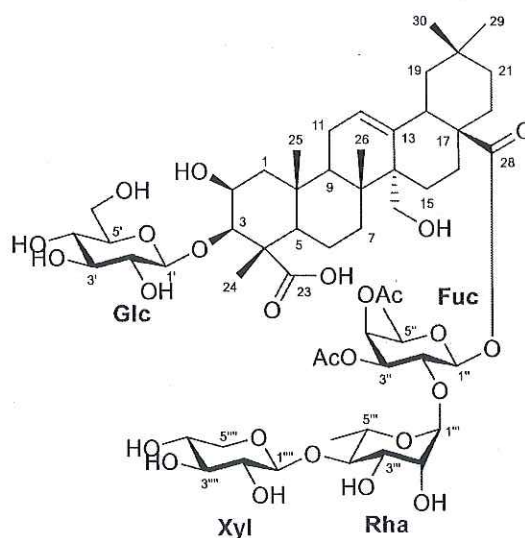
	6'''	18.2	18.3	1.63 (d, 6.0)
Xyl	1''''	106.7	106.3	5.00 (d, 6.6)
	2''''	75.4	74.7	4.00
	3''''	88.1	88.0	4.00
	4''''	69.6	68.5	4.33
	5''''	66.8	66.7	4.13 3.41 (t, 9.6)
Glc	1'''''	105.0	105.1	5.18
	2'''''	75.4	75.3	4.04
	3'''''	77.7	77.8	4.18
	4'''''	71.2	71.3	4.05
	5'''''	78.2	78.4	3.92
	6'''''	62.6	62.3	4.41 (br d, 11.4) 4.18
3''-OAc	CH ₃	21.2	20.8	1.98 (s)
	CO	172.0	170.4	

^aĐo trong C₅D₅N, ^b150 MHz, ^c600MHz, [#]δ_C của hợp chất tham khảo đo trong CD₃OD [28], [29]

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

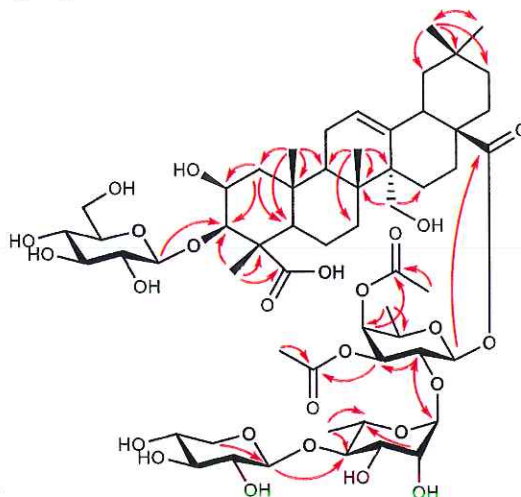
Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ HSQC và HMBC

3.3.8. Hợp chất 8: Arilloside A



Hình 3.47. Cấu trúc hóa học của hợp chất 8

Hợp chất **8** được phân lập ở dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **6** cho thấy 2 hợp chất có cấu trúc gần như tương tự, ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_{C} 170.9 và δ_{H} 2.01 (s)/ δ_{C} 20.1] ở hợp chất **8**. Vị trí của nhóm acetyl này được xác định tại vị trí C-4'' của đường fucose dựa trên tín hiệu tương tác từ H-4'' đến δ_{C} 170.9 trên phổ HMBC (Hình 3.48). Trên cơ sở các dữ kiện phổ nêu trên, hợp chất **8** được xác định là arilloside A. Hợp chất này cũng đã được công bố từ loài *Polygala arillata* phân bố ở Trung Quốc [29].



Hình 3.48. Các tương tác HMBC chính của hợp chất **8**

Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **8**

Vị trí	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
Phần aglycone			
1	44.4	43.9	
2	70.5	70.1	4.59 (br s)
3	86.5	86.9	4.59 (br s)
4	53.2	53.2	
5	52.5	52.1	
6	21.5	21.1	
7	33.9	33.5	
8	41.2	40.7	
9	49.4	48.9	
10	37.1	36.5	
11	23.7	23.0	
12	128.0	127.3	5.71 (br s)
13	139.1	139.0	

14		47.2	47.7	
15		24.8	24.2	
16		24.6	23.9	
17		48.2	46.9	
18		41.7	41.4	
19		45.5	45.1	
20		30.6	30.3	
21		34.0	33.5	
22		32.5	32.0	
23		182.7	184.8	
24		14.6	14.7	1.84 (s)
25		17.6	17.1	1.41 (s)
26		18.9	18.5	0.96 (s)
27		64.5	64.1	4.05 (br d, 11.4) 3.77 (br d, 11.4)
28		176.4	176.3	
29		33.2	32.6	0.74 (s)
30		24.0	23.4	0.78 (s)
Phản đường				
Glc	1'	105.2	104.3	5.01 (d, 7.2)
	2'	75.3	75.4	3.97
	3'	78.0	77.5	3.85
	4'	71.6	71.0	3.97
	5'	78.2	77.9	3.95
	6'	62.7	61.9	4.30; 4.10
Fuc	1''	94.3	93.7	6.02 (d, 8.4)
	2''	72.7	71.6	4.54 (dd, 8.4, 9.0)
	3''	74.9	75.1	5.49
	4''	70.8	71.1	5.49
	5''	70.1	70.0	
	6''	16.2	15.7	1.12 (d, 6.0)
	3''-OAc	170.2 20.5	170.2 20.4	2.05 (s)
	4''-OAc	170.9 20.8	170.9 20.1	2.01 (s)

Rha	1'''	102.0	101.4	5.68 (s)
	2'''	71.5	71.0	4.59 (br s)
	3'''	71.6	71.8	4.38 (dd, 3.0, 9.0)
	4'''	84.5	84.0	4.16
	5'''	69.0	68.3	4.28
	6'''	18.6	18.2	1.67 (d, 6.6)
Xyl	1''''	107.2	106.6	4.86 (d, 7.2)
	2''''	76.0	74.8	3.87
	3''''	78.6	77.0	4.21 (t, 9.0)
	4''''	77.1	70.0	4.12 (m)
	5''''	67.4	66.7	4.10; 3.98

^aĐo trong C_5D_5N , ^b150 MHz, ^c600MHz, [#] δ_C của hợp chất tham khảo đo trong C_5D_5N [29]

Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

Các vị trí được khẳng định bởi phân tích phổ HSQC và HMBC

3.4. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨNG CHẾ SẢN SINH NO CỦA CÁC HỢP CHẤT

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* của các hợp chất được đánh giá thông qua mô hình ức chế sự sản sinh NO ở đại thực bào RAW264.7 được kích thích bởi tác nhân LPS [32]. Trong số các hợp chất thử nghiệm, hai hợp chất **6** và **8** thể hiện tác dụng ức chế sự sản sinh quá mức NO, với giá trị IC_{50} lần lượt là 97.7 ± 6.9 và 49.7 ± 3.5 μM (Bảng 3.9). Các hợp chất **2**, **4**, **5**, và **7** được xem là không có hoạt tính ($IC_{50} > 100$ μM), trong khi giá trị IC_{50} của 2 hợp chất **1** và **3** chưa xác định được do thể hiện độc tính đối với tế bào ở nồng độ thử nghiệm. Đối chứng dương dexamethasone hoạt động ổn định trong điều kiện thí nghiệm, với giá trị IC_{50} là 12.6 ± 0.9 μM .

Bảng 3.9. Tác dụng ức chế sản sinh NO của các hợp chất 1–8 ở tế bào RAW264.7

Hợp chất	Nồng độ (μM)	Ức chế (%) ^a	IC_{50} (μM) ^a	Tế bào sống (%) ^a
1	100	66.4 ± 2.2	n.d.	61.3 ± 2.9
	50	25.2 ± 1.8		84.2 ± 1.5
2	100	27.9 ± 2.2	$> 100^d$	99.7 ± 1.5
3	100	82.4 ± 2.7	n.d.	66.8 ± 1.8

	50	40.7 ± 1.6		79.4 ± 1.5
4	100	33.3 ± 2.1	> 100 ^d	93.2 ± 2.9
5	100	37.2 ± 2.6	> 100 ^d	94.5 ± 3.1
6	100	50.9 ± 2.7	97.7 ± 6.9	91.7 ± 2.7
7	100	26.8 ± 1.4	> 100 ^d	93.1 ± 2.2
8	100	72.5 ± 3.5	49.7 ± 3.5	92.2 ± 2.8
Dexamethasone ^b	20	54.6 ± 1.3	12.6 ± 0.9	100.3 ± 2.6

^a Giá trị ± SD (n = 3); ^b Đối chứng dương; ^c thử nghiệm ở nồng độ 100 μM; ^d không có hoạt tính; n.d.: không xác định được

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 8 hợp chất sạch từ rễ cây Viễn chí hoa vàng (*P. arillata*) đều thuộc nhóm saponin khung oleanane triterpenoid, bao gồm: 3 hợp chất mới: polyarilloside A (1), polyarilloside B (2), polyarilloside C (3) và 5 hợp chất đã biết: polyaureoside A (4), polyaureoside B (5), polyaureoside C (6), polyaureoside D (7), arilloside A (8).

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh Nitric oxide của các hợp chất ở đại thực bào RAW264.7 được kích thích bởi tác nhân LPS. Hai hợp chất 6 và 8 cho thấy khả năng ức chế sự sản sinh NO, với giá trị IC_{50} lần lượt là 97.7 ± 6.9 và 49.7 ± 3.5 μ M. Các hợp chất 2, 4, 5, và 7 không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm ($IC_{50} > 100$ μ M).

KIẾN NGHỊ

- Cần tiếp tục tiến hành khảo sát sâu hơn thành phần hóa học của các phân đoạn dịch chiết còn lại từ rễ cây Viễn chí hoa vàng nhằm phân lập thêm các hợp chất mới và góp phần làm sáng tỏ bức tranh toàn diện về hệ chất thứ cấp có trong dược liệu, đặc biệt là các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học tiềm năng chưa được phát hiện.

- Mở rộng thử nghiệm thêm các hoạt tính sinh học khác đối với các hợp chất sạch phân lập được.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ

Tran Hong Quang, Le Thi Vien, Nguyen Thi Huong, Ninh Thi Ngoc, Dang Viet Anh, Nguyen Hoang Nam, Nguyen Thi Quynh Duong, Nguyen Quoc Vuong, Nguyen Thi Thanh Ngan, "Polyarillosides A-C, three undescribed triterpenoid saponins from the roots of *Polygala arillata*," *Phytochem. Lett.*, vol. 72, p. 104133, Apr. 2026.

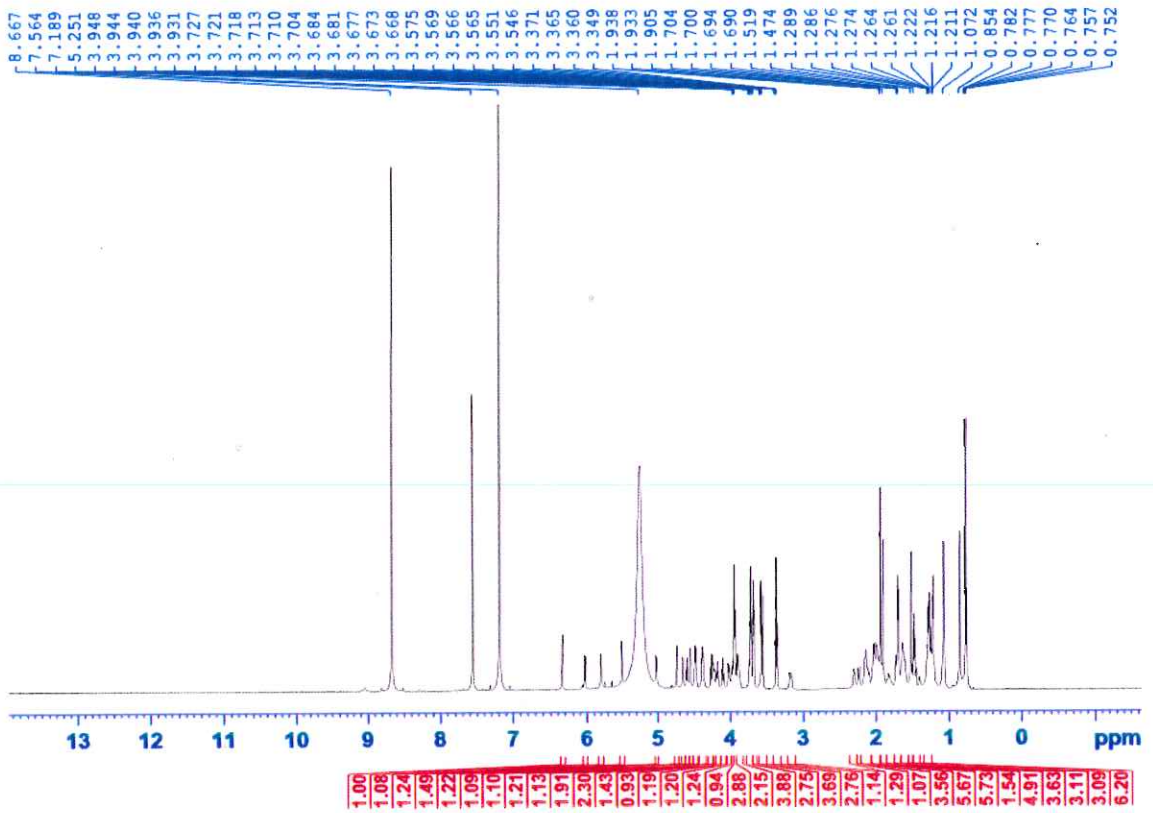
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr.1171.
2. Zhao X., et al., 2020, Polygalae Radix: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and pharmacokinetics, *Fitoterapia*.
3. Mao S.L., et al., 1997, Studies on chemical constituents of *Polygala arillata* Buch-Ham, *Yaouxue Xuebao*, 32(5).
4. Đoàn Thái Hưng, Trần Thị Hằng An, Nguyễn Mạnh Khôi, 2017, Phân lập các xanthon từ rễ cây Viền chí hoa vàng, *Tạp chí Dược liệu*, 22(1), tr. 33–37.
5. Phạm Hoàng Hộ, 2003, *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, tập 2, tr.348 – 354.
6. Li P.X., Chen X., Liu X., Wang Y., 1999, Study on chemical components of *Polygala arillata* Buch.-Ham., *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 24, pp. 477–479.
7. Đoàn Thái Hưng, Nguyễn Quang Nam, Nguyễn Minh Tâm, Phạm Ngọc Mai Khôi, Phạm Thị Thu, 2016, Nghiên cứu đặc điểm thực vật của cây thuốc viền chí hoa vàng (*Polygala arillata* Buch.-Ham. ex D.Don), *Tạp chí Dược học*.
8. Zeitschrift: Candollea: Journal International de Botanique Systématique International Journal of Systematic Botany, *Candollea*.
9. Zhang L., et al., 2023, Therapeutic potential of *Polygala* saponins in neurological diseases, *Phytomedicine*.
10. Liu M., et al., 2024, Polygalae Radix: review of metabolites, pharmacological activities and toxicology, *Frontiers in Pharmacology*.
11. Xiang W., et al., 2019, Chemical Constituents from the Roots of *Polygala arillata* and Their Anti-Inflammatory Activities, *Journal of Chemistry*, 2019.
12. Puertas-Mejía M.A., Ríos-Salazar J.D., Sáez-Vega J.A., 2009, In vitro antioxidant activity of extracts from *Polygala* sp. stems, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(4).
13. Song Y.L., Zeng K.W., Shi T.X., Jiang Y., Tu P.F., 2013, Sibiricasaponins A–E, five new triterpenoid saponins from the aerial parts of *Polygala sibirica* L., *Fitoterapia*, 84(1), pp. 295–301.
14. Teng R., Wu Z., He Y., Wang D., Yang C., 2002, Revised structures of Arillatanosides A–C from *Polygala arillata*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 40(6).
15. Wu M.O., Chen Y., Zhang Z., 1999, New oleanane triterpenoid saponins from *Polygala arillata*, *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 21, pp. 357–363.
16. Kobayashi W., Miyase T., Suzuki S., Noguchi H., Chen X.M., 2000, Oligosaccharide esters from the roots of *Polygala arillata*, *Journal of Natural Products*, 63(8).
17. Nguyen D.H., et al., 2020, Oligosaccharide and glucose esters from the roots of *Polygala arillata*, *Natural Product Research*, 34(20).
18. Bùi T.T. Luyên, Quang T.A., Luyên X.D., et al., 2024, In vitro and in silico anti-inflammatory effect of minor constituents from the roots of *Polygala arillata* Buch.-Ham. ex D. Don, *Natural Product Research*.
19. Đoàn Thái Hưng, 2019, *Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của loài viền chí hoa vàng Polygala arillata Buch.*, Viện Dược liệu.
20. Đoàn Thái Hưng, Nguyễn Mạnh Khôi, 2017, Phân lập các xanthon từ rễ cây Viền chí hoa vàng, *Tạp chí Dược liệu*, 22(1), pp. 33–37.

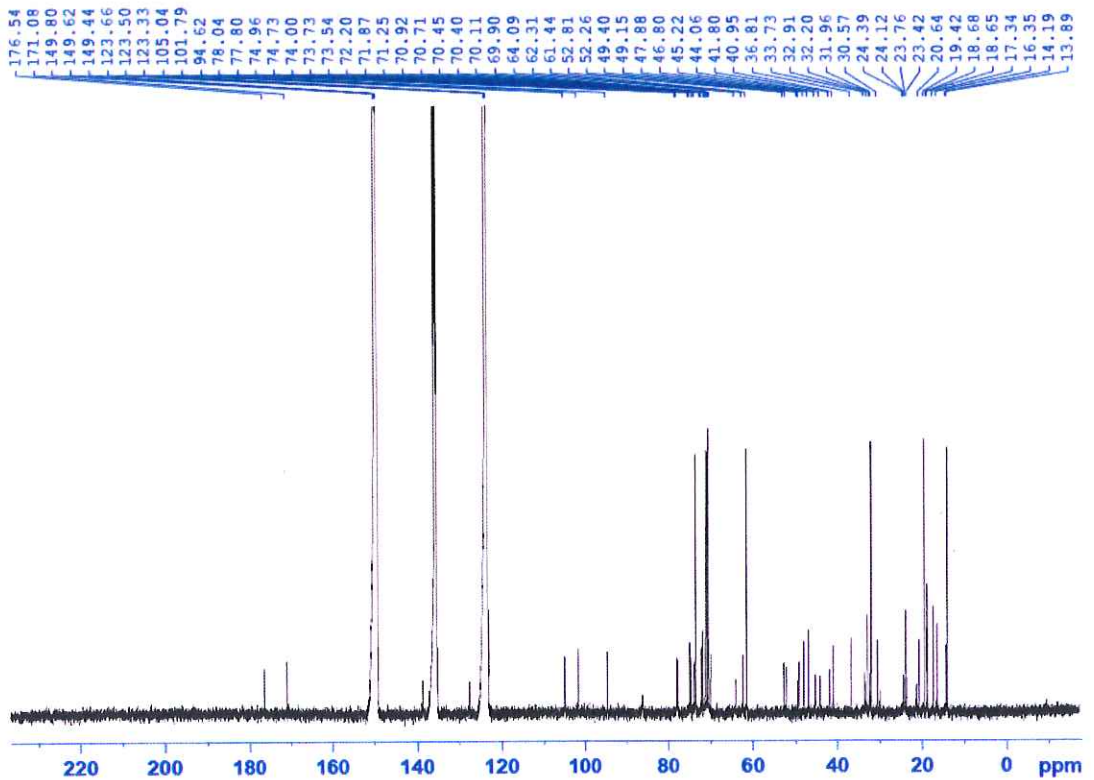
21. Ghosal S., Banerjee S., Chauhan R.B.P.S., Srivastava R.S., 1977, Extractives of Polygala. Part 5. New trioxygenated xanthenes of *P. arillata*, *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1*, (7).
22. Xiong H.P., Chen Z.J., Chen F.T., et al., 2011, 3-Hydroxy-1,2-dimethoxyxanthone, *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 67(7), pp. 1667.
23. Wu Z.J., Wu M.O., Chen Y.C., 2000, Oligosaccharide esters and phenol compounds from *Polygala arillata*, *Acta Botanica Yunnanica*, 22(4), pp. 482–494.
24. Zhao X., et al., 2020, Polygalae Radix: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and pharmacokinetics, *Fitoterapia*.
25. Radhamani T., Suresh B., 2013, GC-MS analysis of *Polygala arillata*, *Annals of Biological Research*, 4(11), pp. 70–75.
26. Ishii R., Saito K., Horie M., Shibano T., Kitanaka S., Amano F., 1999, Inhibitory effects of hydrolyzable tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line RAW264.7 activated with lipopolysaccharide and interferon- γ , *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22(6).
27. Dirsch V.M., Stuppner H., Vollmar A.M., 1998, The Griess assay: Suitable for a bio-guided fractionation of anti-inflammatory plant extracts, *Planta Medica*, 64(5).
28. Quang T.H., et al., 2019, Oleanane-type triterpenoid saponins from the roots of *Polygala aureocauda* Dunn., *Phytochemistry Letters*, 34.
29. Ouyang M., Chen Y.C., Wu H., 1999, Triterpenoid Saponins from Yellowflower Milkwort Root (*Polygala arillata*), *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 30(12), pp. 881–887.
30. Timité G., et al., 2010, Presenegenin glycosides from *Securidaca welwitschii*, *Helvetica Chimica Acta*, 93(11).
31. Zhang D., Miyase T., Kuroyanagi M., Umehara K., Noguchi H., 1996, Nine new triterpene saponins, polygalasaponins XXXIII–XLI from the roots of *Polygala fallax* Hemsl., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44(11).
32. Anh D.V., et al., 2025, An Oxazole Alkaloid, Terpenoids, and Cyclodipeptides With Cytotoxic and Nitric Oxide Inhibitory Effects From a Mangrove-Derived Fungus *Trichoderma* sp. GXT-22.1, *Chemistry & Biodiversity*, 22(5).

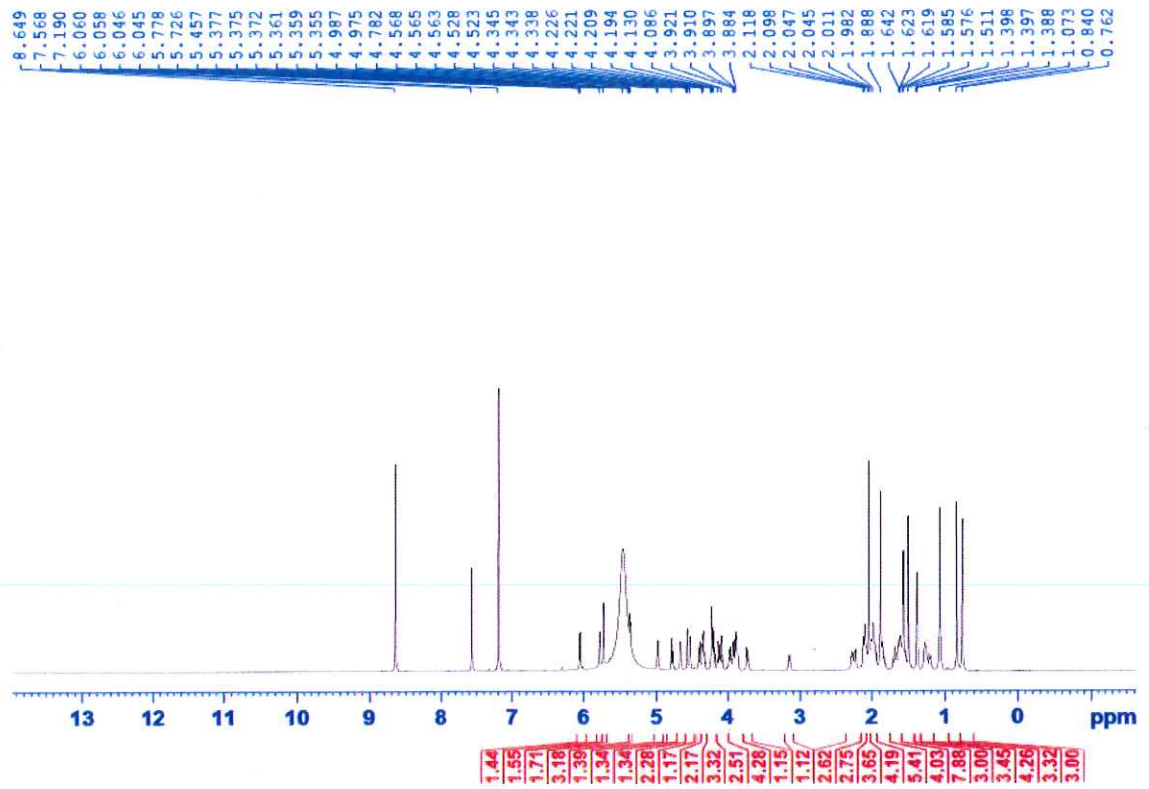
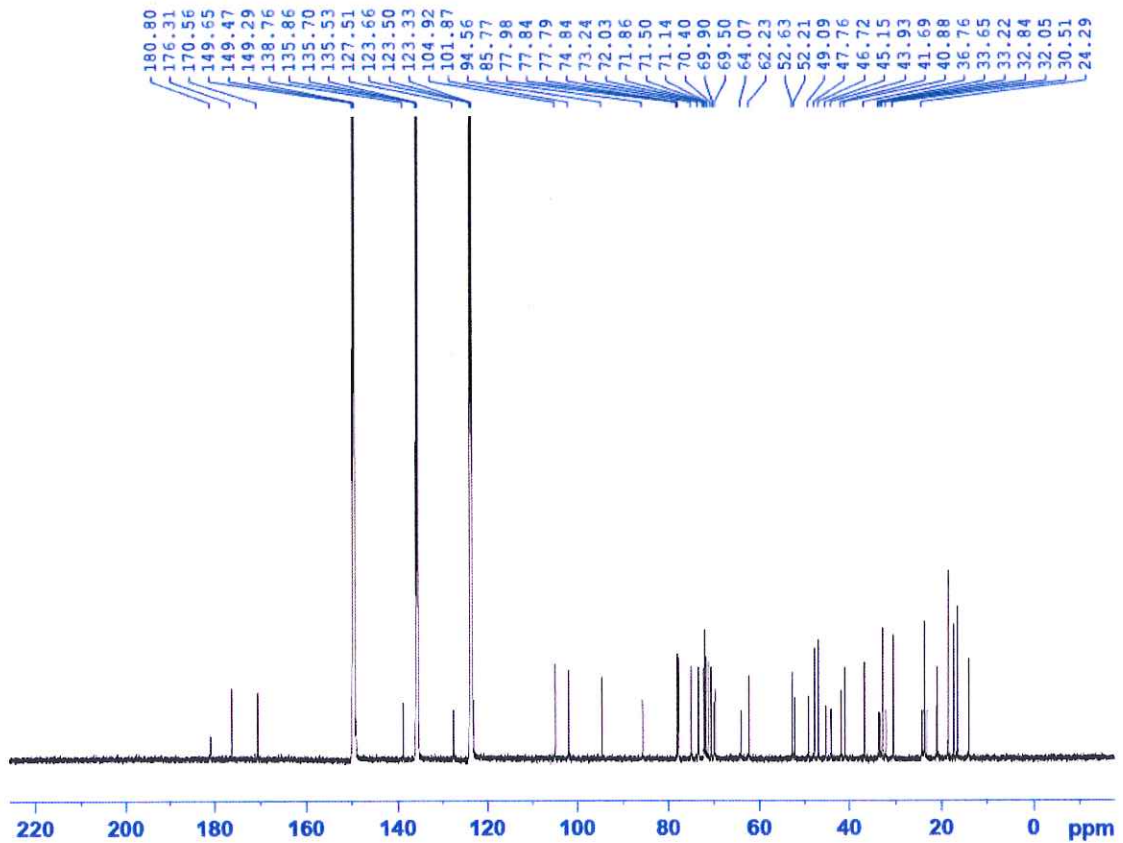
PHỤ LỤC

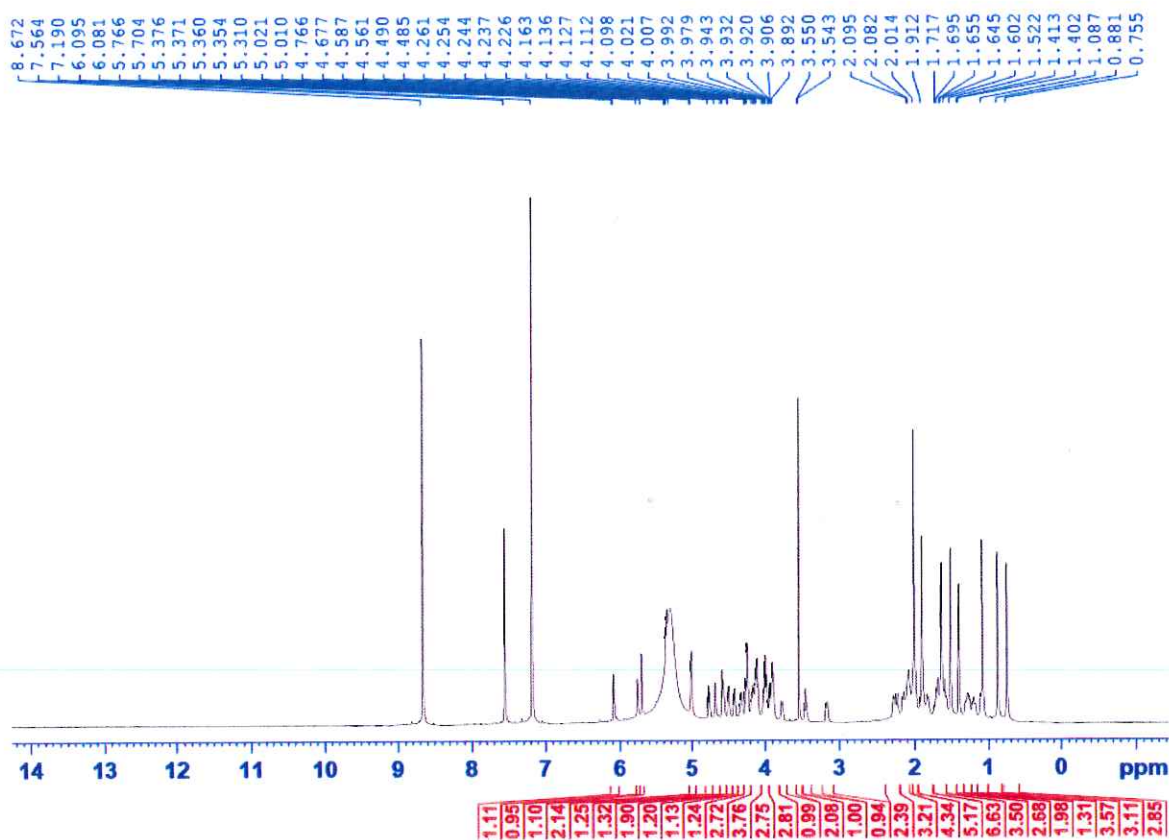
PHỔ NMR CỦA CÁC HỢP CHẤT



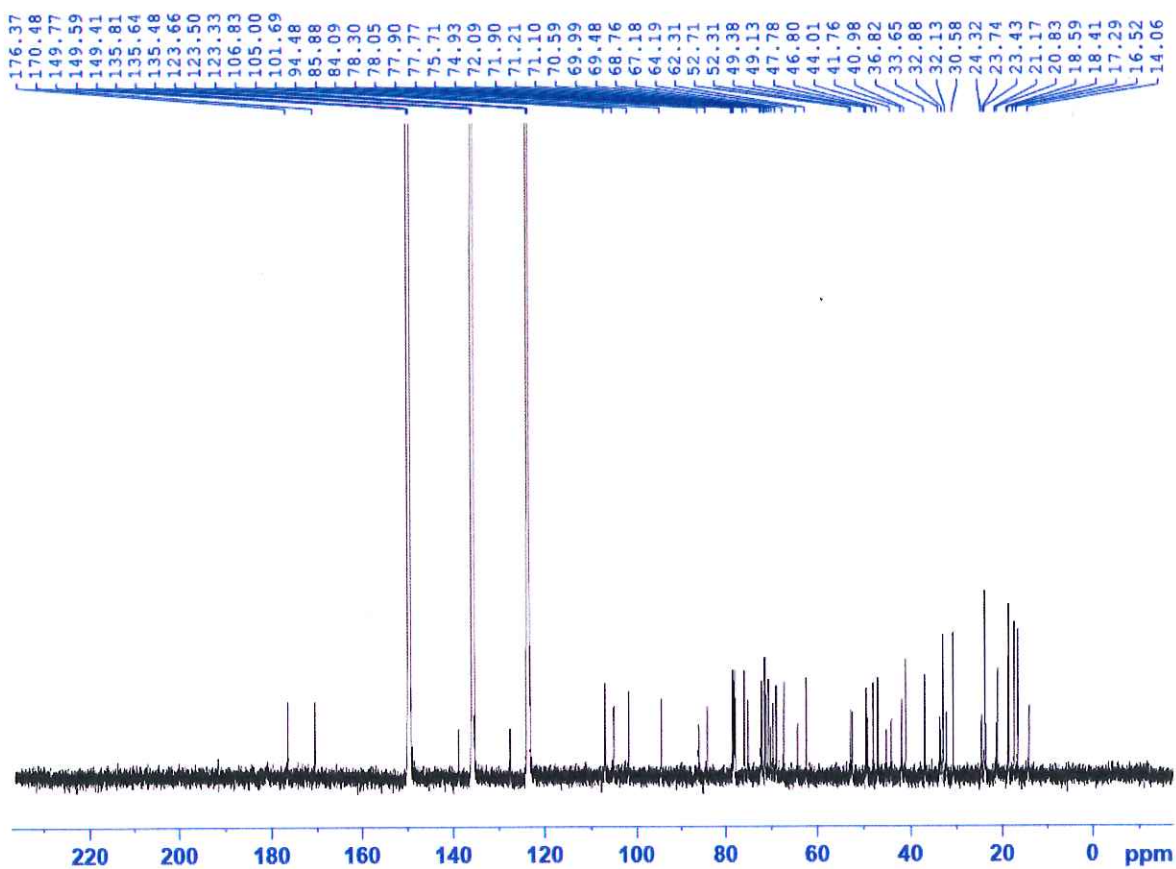
Hình S1. Phổ ^1H NMR của hợp chất 4



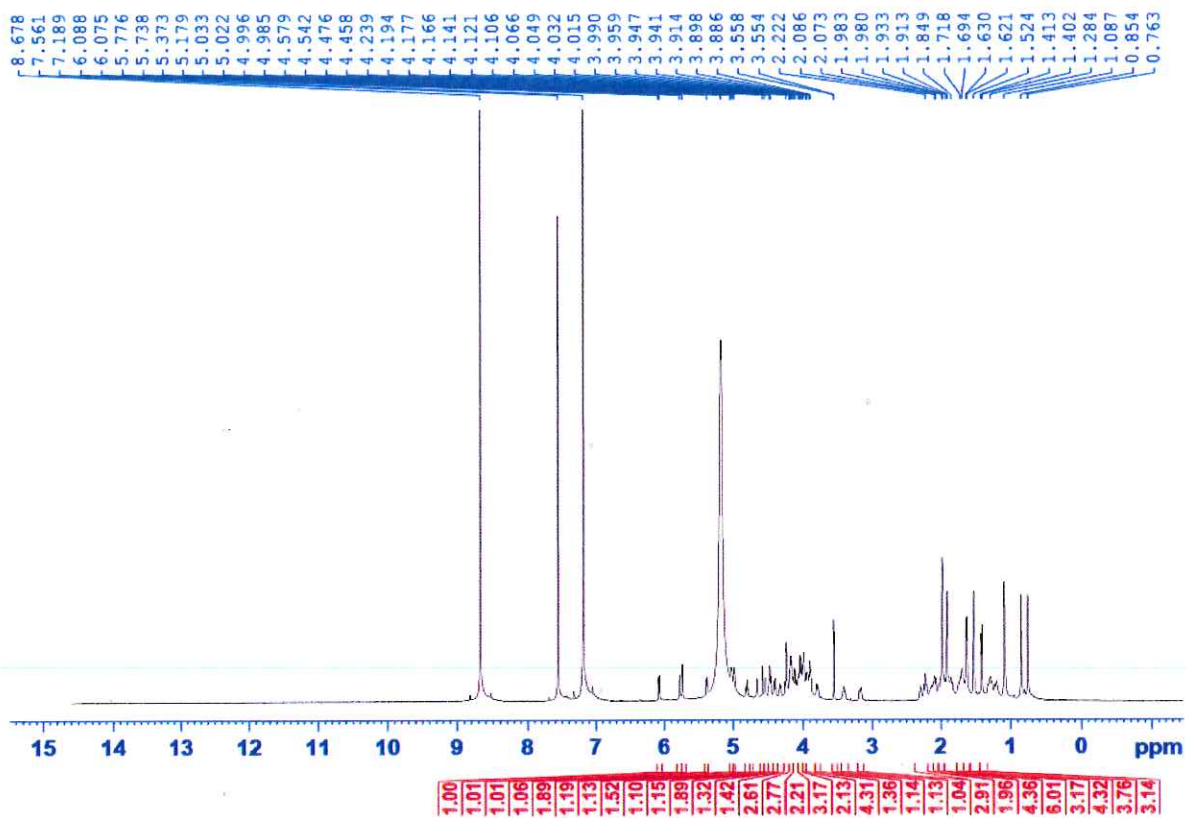
Hình S2. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 4Hình S3. Phổ ^1H NMR của hợp chất 5Hình S4. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 5



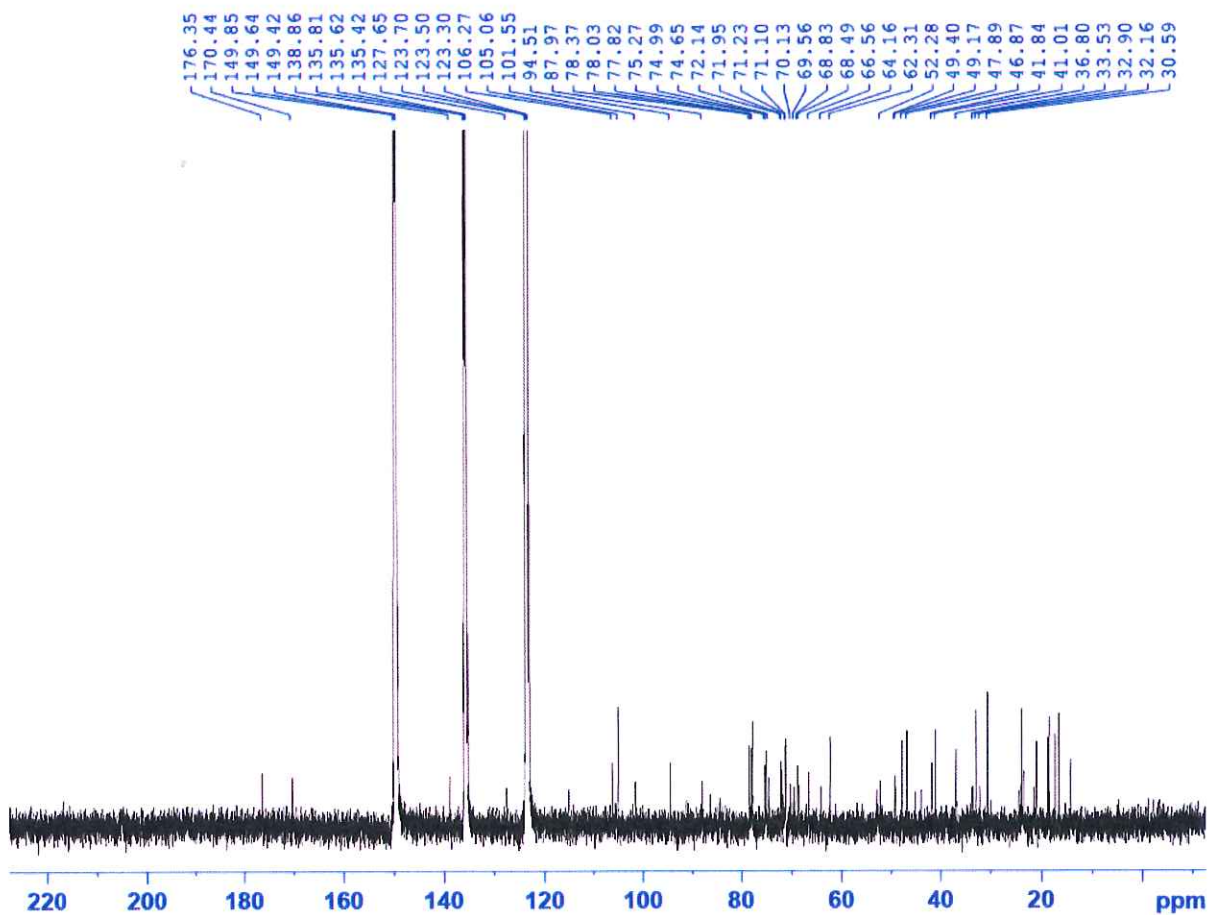
Hình S5. Phổ ^1H NMR của hợp chất 6



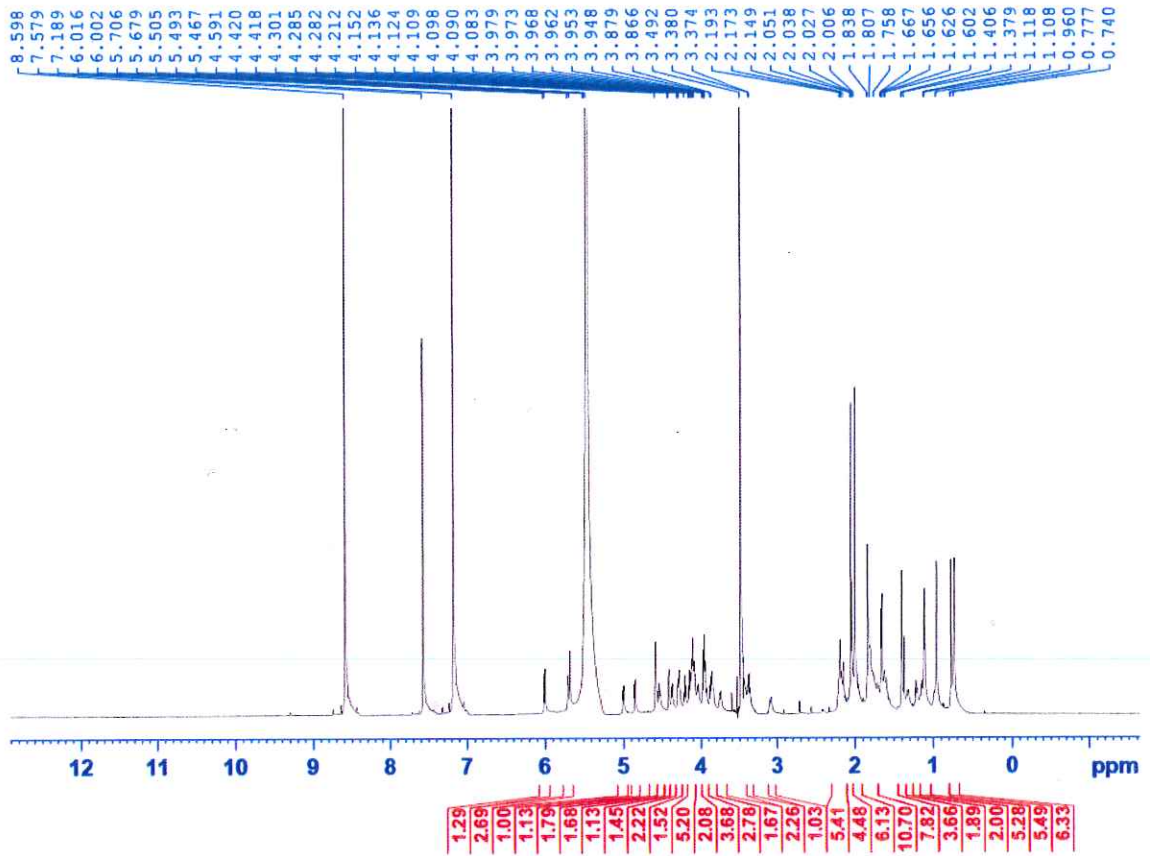
Hình S6. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 6



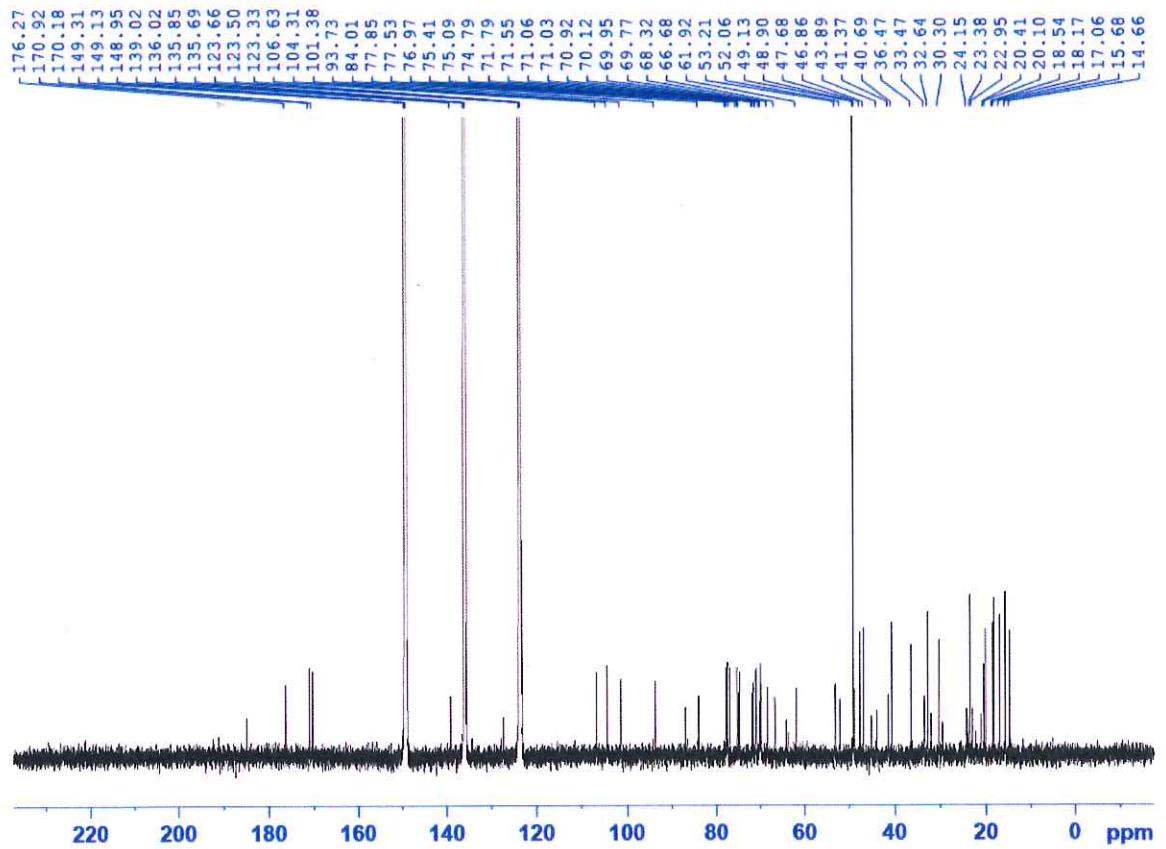
Hình S7. Phổ ^1H NMR của hợp chất 7



Hình S8. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 7



Hình S9. Phổ ^1H NMR của hợp chất 8



Hình S10. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất 8