

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



TRẦN THỊ BÍCH HÀ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH
SINH HỌC VÀ ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ LIMONOID PHÂN LẬP
TỪ HAI LOÀI XU NHỎ (*Xylocarpus moluccensis*)
VÀ XU ỒI (*Xylocarpus granatum*)**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa phân tích

Mã số: 9 44 01 18

Hà Nội - Năm 2026

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

1. Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh, Viện Hóa Học, Viện
Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
2. Người hướng dẫn: GS.TS. Trần Việt Hùng, Viện Kiểm nghiệm
Thuốc Tp. Hồ Chí Minh

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

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

Có thể tìm hiểu luận án tại:

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

MỞ ĐẦU

Rừng ngập mặn Việt Nam là một trong những hệ sinh thái đặc biệt và quý giá, hình thành tại nơi giao thoa giữa sông và biển. Đây không chỉ là vùng sinh thái giàu tài nguyên mà còn đóng vai trò thiết yếu trong việc bảo vệ môi trường. Với khả năng giữ đất, chống xói mòn, hấp thụ khí CO₂ và giảm tác động tiêu cực của biến đổi khí hậu, rừng ngập mặn được xem là “lá chắn xanh” bảo vệ bờ biển. Rừng ngập mặn phụ thuộc vào các chu kỳ triều và môi trường nước lợ để tồn tại và phát triển, các loài thực vật thuộc hệ sinh thái rừng ngập mặn không chỉ đóng góp vào sự đa dạng sinh học, cung cấp nguồn thực phẩm cho đời sống con người mà còn là nguồn nguyên liệu quý cho y học.

Các loài thuộc chi Xu (*Xylocarpus*) đặc biệt là hai loài Xu nhỏ và Xu ổi đã được hệ thống hóa trong các công trình phân loại thực vật lớn như “Từ điển cây thuốc Việt Nam” [1] và “Cây cỏ Việt Nam” [2]. Trong y học bản địa, các bộ phận của cây thể hiện hoạt tính sinh học đa dạng: vỏ, rễ cây được dùng để hạ nhiệt, chống đông máu, điều trị sốt rét và các rối loạn đường ruột (kiết lý, tiêu chảy); trong khi quả, hạt và nhân hạt thể hiện đặc tính kháng viêm, tiêu sưng (trị sưng vú, phù chân voi), trị ghẻ và làm thuốc bổ đắng” [1-3] cho thấy hai loài Xu nhỏ và Xu ổi được xem là những ứng viên tiềm năng trong lĩnh vực y học. Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy dịch chiết và các hợp chất phân lập từ hai loài này có hoạt tính gây độc tế bào mạnh trên nhiều dòng tế bào ung thư (ruột, vú, phổi, cổ tử cung), ức chế enzyme PTP1B [6–8] hướng tới điều trị tiểu đường tuýp II, kháng virus cúm A [9], và đặc biệt là kháng virus HIV *in vitro* [10]... Với nhiều đặc tính sinh học có giá trị là cơ sở thuận lợi cho những nghiên cứu sâu hơn và tạo được những loại thuốc ứng dụng trong điều trị bệnh và mở ra cơ hội cho các nghiên cứu chuyên sâu nhằm khai thác triệt để giá trị hóa học, sinh học và dược tính của các loài thực vật này.

Xuất phát từ tiềm năng dược lý to lớn và khoảng trống nghiên cứu còn lại của chi thực vật này tại Việt Nam, do đó chúng tôi chọn đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học và định lượng một số limonoid phân lập từ hai loài Xu nhỏ (*Xylocarpus moluccensis*) và Xu ổi (*Xylocarpus granatum*)”.

- Nghiên cứu tiến hành chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ cây Xu ổi và Xu nhỏ, khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật và hoạt tính gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư.

- Xây dựng và thẩm định quy trình phân tích định tính, định lượng một số hợp chất limonoid có cấu trúc độc đáo đặc trưng của loài Xu nhỏ bằng phương pháp LC-MS/MS.

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN:

1. Nghiên cứu đã phân lập được 21 hợp chất từ cây Xu nhỏ và Xu ôi, trong đó 7 hợp chất mới công bố quốc tế và 14 số hợp chất đã biết:
 - **04 hợp chất mới** phân lập được từ cây Xu nhỏ gồm **XM01** (Xylomoluccenoid A); **XM02** (Xylomoluccenoid B); **XM03** (Xylomoluccenoid C), **XM04** (Xylomoluccenoid D).
 - **03 hợp chất mới** phân lập được từ cây Xu ôi gồm **XG01** (Xylocagranoside A); **XG02** (Xylocagranoside B); **XG03** (Xylocargranin A).
 - Ngoài ra, hợp chất **XM10** (Xylococcensin E) lần đầu tiên được phân lập từ cây Xu nhỏ.
 - Hai hợp chất **XM06** (1H-Dibenzo[b,e][1,4]dioxepin-11-one, 3,8-dihydroxy-4 (methoxymethyl) -1,6-dimethyl), **XM08** (Swietmanin H) lần đầu tiên được phân lập từ chi Xu (cụ thể là cây Xu nhỏ).
2. Hoạt tính sinh học cho thấy **2 chất mới XM01** (Xylomoluccenoid A), **XM02** (Xylomoluccenoid B) và hợp chất Xylomolin S trong cây Xu nhỏ thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư Hela, MCF-7, HepG2 (IC₅₀: 26,77– 54,19 µM). Các hợp chất Odoratone và Xylogranatin C trong cây Xu ôi thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng A549, MCF-7, HepG2 (IC₅₀ : 27,54– 46,99 µM).
3. Xác định hàm lượng chất phân tích Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylococcensin E bằng phương pháp qNMR.
4. Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định quy trình phân tích định tính, định lượng đồng thời ba hợp chất đặc trưng của cây Xu nhỏ **Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylococcensin E** bằng phương pháp phân tích hiện đại **LC-MS/MS** đã được xây dựng và thẩm định đáp ứng các yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC và ICH về thẩm định phương pháp phân tích thuốc. Quy trình này có thể được ứng dụng để xác định hàm lượng 3 chất Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylococcensin E trong cây Xu nhỏ.

Nghiên cứu cung cấp dữ liệu khoa học về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo, phục vụ công tác nghiên cứu, sản xuất thuốc từ dược liệu và kiểm tra chất lượng dược liệu của nhà quản lý, nhà sản xuất.

BỐ CỤC LUẬN ÁN

Luận án gồm 138 trang với 3 chương, 37 bảng, 73 hình và sơ đồ, 141 tài liệu tham khảo, phụ lục gồm 113 hình phụ lục phổ và dữ liệu phân tích LC/MS-MS. Trong đó: Mở đầu 3 trang, chương I-Tổng quan 31 trang, chương II-Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 17 trang, chương III-Kết quả và thảo luận 85 trang; Kết luận và kiến nghị 3 trang; Tài liệu tham khảo 7 trang; Danh mục các công trình công bố 1 trang và Phụ lục 84 trang.

NỘI DUNG LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

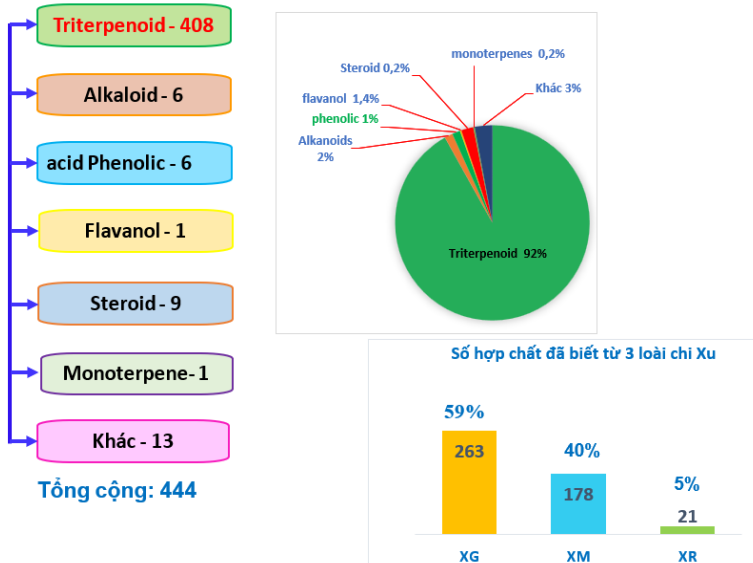
- Giới thiệu về chi Xu, hai loài Xu nhỏ (*Xylocarpus moluccensis*) và Xu ôi (*Xylocarpus granatum*).

- Tổng quan thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi Xu: có khoảng hơn **444 hợp chất** đã được tìm thấy và xác định cấu trúc từ chi Xu bao gồm 3 loài thuộc chi Xu là Xu ôi, Xu nhỏ và Xu rằm. Thành phần hóa học của chi Xu tổng hợp thành bảng theo bảng 1.1 và biểu đồ theo hình 1.4, hình 1.5.

Bảng 1.1. Thành phần hóa học của chi Xu và số lượng hợp chất đã biết

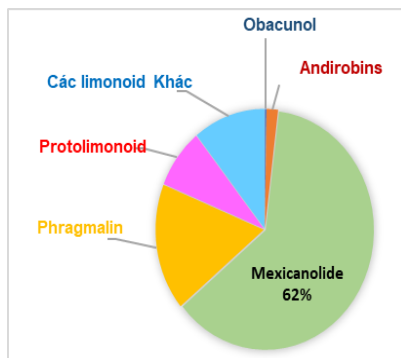
TT	Thành phần/lớp chất	Nhóm hợp chất	Số hợp chất chi Xu	Số hợp chất XG	Số hợp chất XM	Số hợp chất XR
1	Triterpenoid					
		Obacunol limonoid	1	1	-	-
		Andirobins limonoid	7	2	4	1
		Mexicanolide limonoid	253	144	95	19
		Phragmalin limonoid	70	37	32	1
		Protolimonoid	33	29	9	-
		Các limonoid khác	44	20	29	-
2	Steroid		9	9	3	-
3	Alkanoid		6	6	-	-
4	Phenolic		6	3	3	-
5	Monoterpen		1	-	1	-
6	Flavanol		1	1	-	-
7	Khác		13	11	2	-
Tổng cộng:			444	263	178	21
Chủ yếu được chiết từ quả, hạt, lá, vỏ cây, rễ cây						

* XG: Xu ôi; XM: Xu nhỏ; XR: Xu rằm



* XG: Xu ôi; XM: Xu nhỏ; XR: Xu râm

Hình 1.4. Biểu đồ thành phần hóa học của chi Xu



Hình 1.5. Biểu đồ thành phần hóa học lớp chất triterpenoid

- Trình bày tóm tắt phương pháp Cộng hưởng từ hạt nhân định lượng (qNMR) [115], phương pháp Quang phổ lưỡng sắc tròn (CD) [116], Phương pháp khối phổ (Mass Spectrometry-MS) [117], [118]

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Mẫu lá cây Xu ổi: thu hái vào năm 2021; Nơi thu: rừng ngập mặn Vịnh Bái Tử Long, Quảng Ninh, Việt Nam.

Mẫu lá cây Xu nhỏ: thu hái vào năm 2019 và năm 2022; Nơi thu: rừng ngập mặn Ngọc Hiến, Cà Mau, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phần này trình bày ngắn gọn về các thiết bị và hóa chất sử dụng trong phần thực nghiệm của luận án. Việc xác định cấu trúc được thực hiện bằng các phương pháp phổ (^1H và ^{13}C NMR, HSQC, HMBC, COSY và NOESY kết hợp với phổ ECD, HR-MS).

- Trình bày tóm tắt phương pháp định lượng qNMR để xác định độ tinh khiết 3 chất **Moluccensin Y**, **3,30-Diacetylphragmalin**, **Xyloccensin E** của cây Xu nhỏ; Phương pháp quang phổ lưỡng sắc tròn (CD) để xác định cấu hình tuyệt đối của các hợp chất mới.

- Trình bày tóm tắt phương pháp phân tích sắc ký lỏng ghép khối phổ LC/MS-MS.

- Trình bày tóm tắt xử lý mẫu phân tích

- Trình bày tóm tắt khảo sát điều kiện ion hóa, điều kiện phân mảnh, xây dựng và thẩm định quy trình phân tích **Moluccensin Y**, **3,30-Diacetylphragmalin**, **Xyloccensin E** bằng phương pháp LC/MS-MS.

2.2.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

2.2.1.1. Phân lập các hợp chất từ cây Xu nhỏ

Phần này trình bày tóm tắt phương pháp phân lập chất từ lá cây Xu nhỏ.

Lá cây Xu nhỏ sau khi thu hái, làm sạch, phơi khô, xay nhỏ thu được 6,7 kg bột khô và ngâm chiết với Ethanol (30 lít, $\times 3$ lần) thu được 1,1 kg cao chiết Ethanol. Cao chiết này được bổ sung nước và chiết phân lớp lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-Hexane, Ethylacetate để thu được các dịch chiết tương ứng và dịch nước. Cất loại bỏ dung môi các phần dịch chiết trên thu được: cao *n*-Hexane (154,5 g), cao Ethylacetate (115,3 g). Theo các tài liệu tham khảo hầu hết lớp chất triterpenoid được phân lập từ cao Ethylacetate do đó nghiên cứu chọn cao Ethylacetate để chiết xuất và phân lập các hợp chất thuộc lớp chất triterpenoid. Bằng các phương pháp sắc ký cột, các phương pháp sắc ký kết hợp và hệ dung môi thích hợp thu được 10 hợp chất sạch.

2.2.1.2. Phân lập các hợp chất từ cây Xu ổi

Phần này trình bày quy trình phân lập chất từ lá cây Xu ổi.

Lá cây xu ôi sau khi thu hái, làm sạch, phơi khô, xay nhỏ thu được bột khô (2,6 kg). Lấy 2,6 kg bột này được ngâm chiết với Ethanol (10 lít, $\times 3$ lần), sau 48 giờ thì gạn, lọc, thu dịch chiết, cô cạn trên máy cô quay ở 50 °C với áp suất thấp thu được cao Ethanol, lặp lại bước chiết thêm hai lần thì thu được cao Ethanol (410,5 g). Hòa tan cao Ethanol vào một ít nước ấm, sau khi hòa tan hoàn toàn thì chiết phân lớp lần lượt với các dung môi có độ phân cực khác nhau là *n*-Hexane, Dichloromethane, *n*-Butanol, cô cạn bằng máy cô quay ở nhiệt độ 50 °C dưới áp suất thấp, thu được cao tương ứng, thu được cao *n*-Butanol (82 g). Theo tài liệu tham khảo một số nghiên cứu gần đây phân lập được một số hợp chất thuộc lớp này trong cao *n*-Butanol do đó nghiên cứu đã chọn chiết cao *n*-Butanol. Bằng các phương pháp sắc ký cột, các phương pháp sắc ký kết hợp và hệ dung môi thích hợp thu được 11 hợp chất sạch.

2.2.2. Thử nghiệm hoạt tính sinh học

2.2.2.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Chủng giống: Các chủng vi sinh vật được sử dụng để thử hoạt tính loại Microbiologics - Mỹ:

3 chủng vi khuẩn Gr (+): *Enterococcus faecalis* ATCC29212; *Staphylococcus aureus* ATCC25923; *Staphylococcus aureus* ATCC14579.

3 chủng vi khuẩn Gr (-): *Escherichia coli* ATCC25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853; *Salmonella enterica* ATCC13076.

1 chủng Nấm men: *Candida albicans* ATCC10231.

2.2.2.2. Hoạt tính gây độc tế bào

Các dòng tế bào ung thư có nguồn gốc từ ngân hàng tế bào ATCC (American Type Culture Collection: trung tâm tài nguyên sinh học toàn cầu). Tế bào ung thư vú (MCF-7); Tế bào ung thư gan (HepG2); Tế bào ung thư cổ tử cung ở người (Hela); Tế bào ung thư phôi (SK-LU-1); Tế bào ung thư phổi (A549).

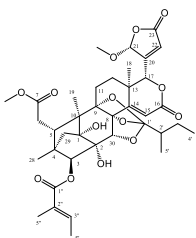
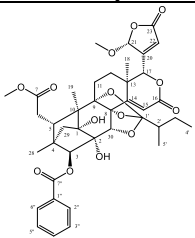
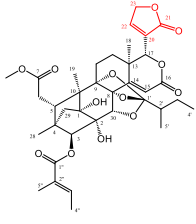
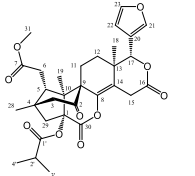
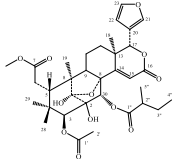
2.2.3. Thẩm định quy trình phân tích

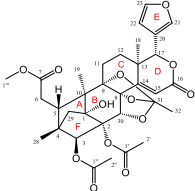
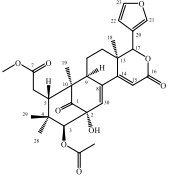
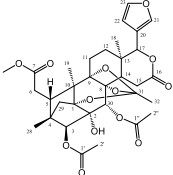
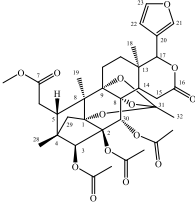
Theo AOAC [128] và ICH [129], các chỉ tiêu cần phải thẩm định đối với qui trình định tính, định lượng dược chất và/hoặc chất chuyển hóa có tác dụng trong mẫu dược liệu bao gồm: kiểm tra tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, tỷ lệ thu hồi (hiệu suất chiết), đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng và độ chính xác, giới hạn định tính, giới hạn định lượng, độ ổn định của mẫu thử.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ cây Xu nhỏ

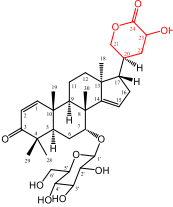
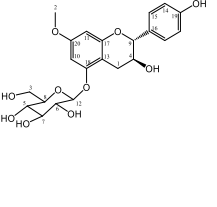
Theo những nghiên cứu trước đây cho thấy Xu nhỏ là cây phổ biến trong nghiên cứu thực nghiệm cho thấy chi Xu chứa thành phần chính là nhóm hợp chất triterpenoid. Từ cây Xu nhỏ thu thập ở rừng ngập mặn Cà Mau - Việt Nam, các hợp chất đã phân lập được phù hợp với các nghiên cứu trước đây là thuộc nhóm hợp chất triterpenoid là nhóm đặc trưng cho chi Xu. Trong số **10 hợp chất đã phân lập** được có: **04 chất mới** trong tự nhiên chưa được tìm thấy, **06 hợp chất** đều có khung triterpenoid tương tự các hợp chất đã công bố trước đây.

Ký hiệu	Công thức cấu tạo	Ký hiệu	Công thức cấu tạo
XM01: Chất mới Xylomoluccenoi d A Công thức phân tử $C_{38}H_{48}O_{14}$, Khối lượng phân tử 728,3044		XM02: Chất mới Xylomoluccenoid B Công thức phân tử $C_{40}H_{46}O_{14}$, Khối lượng phân tử 750,2888	
XM03: Chất mới Xylomoluccenoid C Công thức phân tử $C_{37}H_{46}O_{13}$, Khối lượng phân tử 698,2938		XM04: Chất mới: Xylomoluccenoid D Công thức phân tử $C_{31}H_{36}O_{10}$ Khối lượng phân tử 568,6190	
XM05: Xylomolin S Công thức phân tử $C_{34}H_{44}O_{12}$, Khối lượng phân tử 644,2833		XM06: 1H-Dibenzo[b,e][1,4]dioxepin-11-one,3,8-dihydroxy-4-(methoxymethyl)-1,6-dimethyl	Công thức phân tử $C_{17}H_{16}O_6$ và khối lượng phân tử là 316,0947

XM07: Moluccensin Y Công thức phân tử $C_{33}H_{38}O_{13}$ Khối lượng phân tử là 642,2312		XM08: Swietmanin H Công thức phân tử $C_{29}H_{34}O_9$ và Khối lượng phân tử là 526,2203	
XM09: 3,30-Diacetylphragmalin Công thức phân tử $C_{33}H_{40}O_{13}$ và Khối lượng phân tử là 644,2469		XM10: Xyloccensin E Công thức phân tử $C_{35}H_{42}O_{14}$ Khối lượng phân tử là 686,2312	

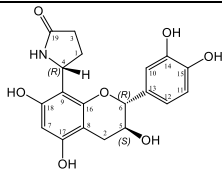
3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ cây Xu ổi

Theo những nghiên cứu trước đây cho thấy Xu ổi là cây phổ biến trong nghiên cứu thực nghiệm cho thấy chi Xu chứa thành phần chính là nhóm hợp chất triterpenoid. Từ cây Xu ổi thu thập ở rừng ngập mặn Quảng Ninh - Việt Nam, các hợp chất đã phân lập được phù hợp với các nghiên cứu trước đây là thuộc nhóm hợp chất triterpenoid là nhóm đặc trưng cho chi Xu. Trong số 11 hợp chất đã phân lập được có: **03 chất mới** trong tự nhiên chưa được tìm thấy, **08 hợp chất** đều có khung triterpenoid tương tự các hợp chất đã công bố trước đây.

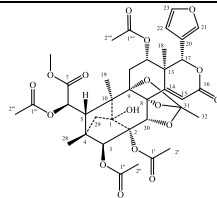
Ký hiệu	Công thức cấu tạo	Ký hiệu	Công thức cấu tạo
XG01: Chất mới Xylocagranoside A Công thức phân tử $C_{33}H_{48}O_{10}$, Khối lượng phân tử 604,3247		XG02: Chất mới Xylocagranoside B Công thức phân tử $C_{22}H_{26}O_{10}$, Khối lượng phân tử 450,1526	

XG03: Chất mới**Xylocargranin A**

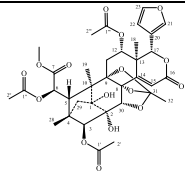
Công thức phân tử
 $C_{19}H_{19}NO_7$, Khối
 lượng phân tử
 373,1162

**XG04:****Xylocensin P**

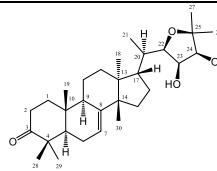
Công thức phân
 tử: $C_{37}H_{42}O_{17}$
 Khối lượng phân
 tử: 758,2422

**XG05:****Xylocensin Q**

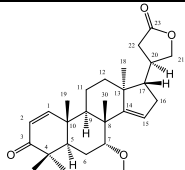
Công thức phân tử
 $C_{35}H_{40}O_{16}$, Khối
 lượng phân tử là
 716,2316

**XG06:****Odoratone**

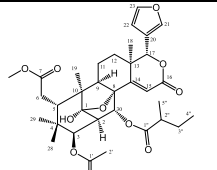
Công thức phân tử
 $C_{30}H_{48}O_4$
 Khối lượng phân
 tử là 472,3553

**XG07:****Chisocheton F**

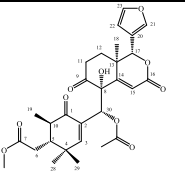
Công thức phân tử
 $C_{28}H_{38}O_5$
 Khối lượng phân
 tử là 454,2719

**XG08:****Xylogranatin S**

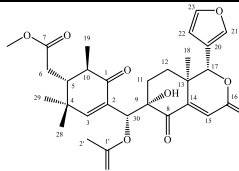
Công thức phân tử
 $C_{34}H_{44}O_{11}$
 Khối lượng phân
 tử là 628,2884

**XG09:****Xylogranatin C**

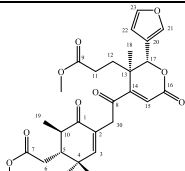
Công thức phân tử
 $C_{29}H_{34}O_{10}$ Khối
 lượng phân tử là
 542,2152

**XG10:****Xylogranatin D**

Công thức phân tử
 $C_{29}H_{34}O_{10}$ Khối
 lượng phân tử là
 542,2152

**XG11: 9-O-****methy****xylogranatin R**

Công thức phân tử
 $C_{28}H_{34}O_9$
 Khối lượng phân
 tử là 514,2203

**3.3. Thử nghiệm hoạt tính sinh học các hợp chất phân lập****3.3.1. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh các hợp chất phân lập từ cây Xu nhỏ**

Kết quả thử nghiệm cho thấy 10 hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế từ 1 đến 5 chủng vi sinh vật, trong đó hợp chất **XM06** có hoạt tính khá mạnh với

MIC 32-64 $\mu\text{g/ml}$ trên 5 chủng *E.faecalis* ATCC29212, *S.aureus* ATCC25923, *B.cereus* ATCC14579, *P.aeruginosa* ATCC27853 và *C.albicans* ATCC10231.

3.3.2. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật của một số hợp chất phân lập từ cây Xu ổi

Kết quả trên cho thấy các hợp chất thử nghiệm không thể hiện hoạt tính ức chế các chủng vi sinh vật ở các nồng độ nghiên cứu.

3.3.3. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào các hợp chất phân lập được từ cây Xu nhỏ

Các hợp chất phân lập được từ cây Xu nhỏ được thử nghiệm trên 3 dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7) và ung thư gan (HepG2), ung thư cổ tử cung ở người (Hela), số lượng tế bào: 10000 tế bào/giếng /200 μl và thu được kết quả như bảng 3.24.

Nhận xét: Kết quả trên cho thấy có 3 chất **XM01**, **XM02**, **XM05** đã thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC_{50} từ 26,77 – 54,19 μM . Các mẫu còn lại chưa thể hiện rõ hoạt tính gây độc tế bào ở thử nghiệm này với giá trị $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$.

3.3.4. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập từ cây Xu ổi

Nghiên cứu thử hoạt tính gây độc tế bào thử nghiệm trên các dòng tế bào ung thư phổi (A549), ung thư vú (MCF-7), ung thư gan (HepG2) một số hợp chất phân lập từ cây Xu ổi, số lượng tế bào: 10000 tế bào/giếng /200 μl và thu kết quả như bảng 3.25.

Nhận xét: Kết quả sàng lọc thử độc tế bào của các mẫu cho thấy các hợp chất **XG06**, **XG09** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ở các nồng độ nghiên cứu. Các mẫu còn lại thể hiện hoạt tính yếu ở các nồng độ nghiên cứu.

3.4. Xác định độ tinh khiết XM07, XM09, XM10 bằng phương pháp qNMR

Hiện trên thế giới chưa có chuẩn đối chiếu của 3 hợp chất trên do đó nghiên cứu đã phân lập 3 hợp chất này làm chuẩn cơ sở để xây dựng quy trình phân tích, ứng dụng phương pháp phân tích hiện đại để xác định hàm lượng chất phân tích bằng phương pháp qNMR nội chuẩn. Phương pháp qNMR nội chuẩn dựa trên đặc trưng của hạt nhân, của nguyên tử có trong thành phần phân tử cần phân tích sẽ dựa trên đặc trưng từ của proton (^1H) có trong thành phần cấu trúc của chất phân tích và nội chuẩn tương ứng đã biết hàm lượng chính xác để xác định hàm lượng chính xác của chất phân tích. Kết quả hàm lượng **XM07**, **XM09**, **XM10** như bảng 3.26.

Bảng 3.26. Kết quả hàm lượng **XM07**, **XM09**, **XM10** bằng phương pháp qNMR

Mã ký hiệu	Tên chất phân tích	HL (%) (qNMR)
XM07	Moluccensin Y	98,07
XM09	3,30-Diacetylphragmalin	98,43
XM10	Xyloccensin E	98,36

Nhận xét: Độ tinh khiết các chất phân lập được xác định bằng phương pháp so sánh với chuẩn nội đã xác hàm lượng bằng phương pháp qNMR: từ phổ $^1\text{H-NMR}$ của các chất đã phân lập, xác định tín hiệu hydro đặc trưng cho hợp chất cần phân tích, lựa chọn chuẩn nội với tín hiệu hydro đặc hiệu với chất cần phân tích.

3.5. Xây dựng phương pháp phân tích định tính, định lượng 3 hợp chất trong lá cây Xu nhỏ

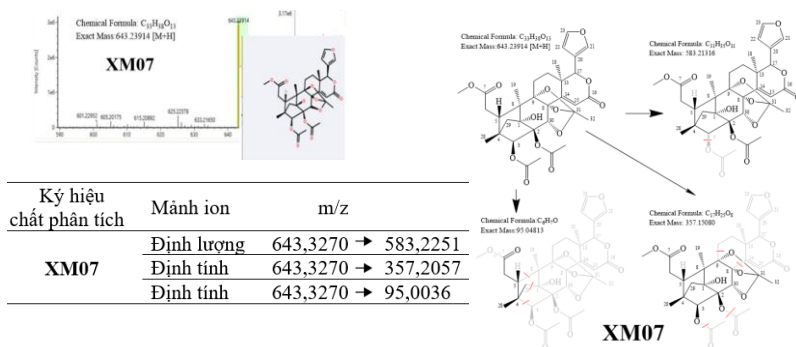
Hàm lượng chất phân tích trong dược liệu thấp, nền mẫu phức tạp và khả năng phát hiện hạn chế của LC-PDA khiến việc xác định các chất có hàm lượng thấp trong dược liệu gặp nhiều thách thức, do đó phương pháp HPLC dùng đầu dò UV không đáp ứng đủ độ nhạy và độ đặc hiệu cho phân tích vết trong nền mẫu và cần được thay thế bằng một phương pháp nhạy, chuyên biệt hơn.

Phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS/MS đã trở thành một phương pháp phân tích hiện đại, độ nhạy, chính xác cao để phân tích các thành phần tự nhiên trong thực vật. Dữ liệu từ phân tích MS/MS cung cấp thông tin hữu ích cho việc xác định và xác nhận cấu trúc cùng với việc đề xuất mảnh mẹ. Ngoài ra, phổ MS/MS còn cung cấp thông tin để phân tích định tính và định lượng các hợp chất riêng lẻ trong nguyên liệu thực vật. Do đó nghiên cứu chọn xây dựng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS/MS để phân tích định tính, định lượng 3 hợp chất có cấu trúc đặc trưng của chi Xu – Xu nhỏ **XM07**, **XM09**, **XM10**.

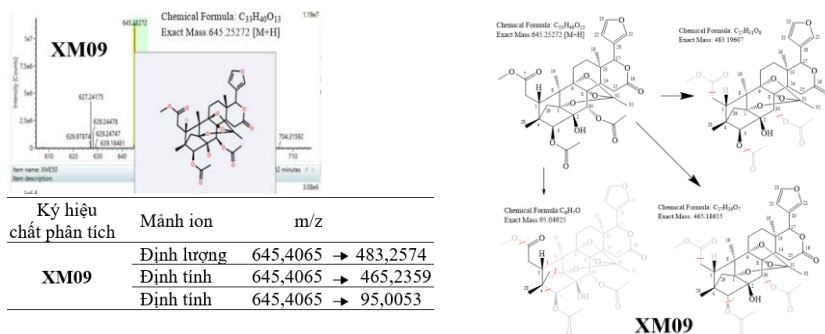
3.5.1. Dự kiến phân mảnh

Các hợp chất **XM07**, **XM09**, **XM10** chưa có tài liệu báo cáo về sự phân mảnh của các chất này nhưng nhóm nghiên cứu cũng dựa trên sự phân mảnh của các hợp chất này trên hệ thống LC-MS/MS Xevo G2-XS QTOF Waters (Mỹ) đã được báo cáo, đề xuất cơ chế phân mảnh cho các hợp chất **XM07** theo hình 3.53, **XM09** theo hình 3.54, **XM10** theo hình 3.55, hình

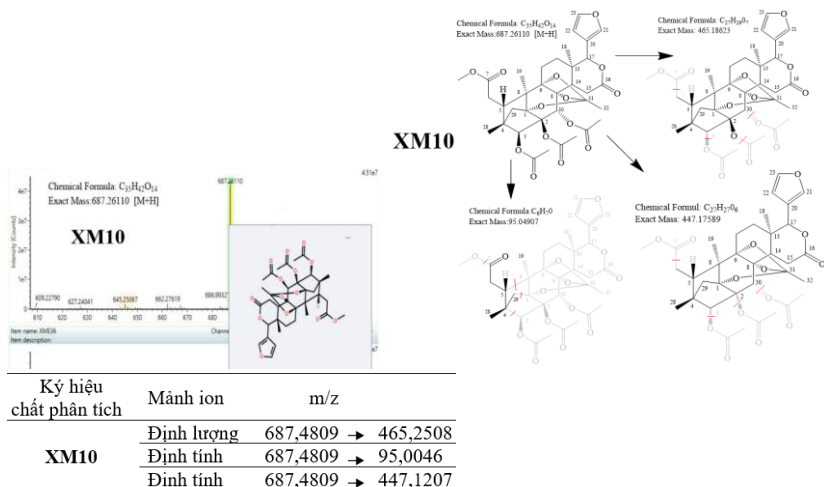
phân mảnh định lượng và định tính theo phụ lục 4. Điều này được khẳng định lại bằng kết quả quét phổ thực nghiệm cho thấy cơ chế phân mảnh nhóm nghiên cứu đề xuất có độ tin cậy cao, phổ khối được quét định tính mảnh mẹ trên thiết bị UPLC-MS/MS Xevo G2-XS QToF.



Hình 3.53. Phổ MS mảnh mẹ và dự kiến phân mảnh của **XM07**



Hình 3.54. Phổ MS mảnh mẹ và dự kiến phân mảnh của **XM09**



Hình 3.55. Phổ MS mảnh mẹ và dự kiến phân mảnh **XM10**

Nhận xét: Phổ khối các chất phân tích đều có mảnh mẹ phù hợp với công thức phân tử, các mảnh con thu được trên phổ daughter scan cũng trùng khớp với dữ liệu phân mảnh của các nghiên cứu trước. Kết quả tối ưu đã chọn ra được điều kiện mảnh ion con của từng chất có cường độ tín hiệu cao nhất làm mảnh định lượng để đáp ứng độ nhạy của phương pháp và các mảnh định tính ở các mức năng lượng bề gãy khác nhau.

3.5.2. Kết quả thiết lập điều kiện phân tích

Điều kiện khối phổ tối ưu đã được xác định như sau:

* Điều kiện sắc ký

Pha động: acid fomic 0,1% (A) – Acetonitril (B) : 60-40

Cột: ZORBAX XDB-C8 (50 x 4.6 mm; 3.5 μ m)

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Nhiệt độ buồng mẫu: 15 °C.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/ phút.

Thể tích tiêm: 2 μ l.

* Điều kiện khối phổ được ghi trong Bảng 3.27 và thể phân mảnh sau khi tối ưu các chất phân tích được ghi trong Bảng 3.28.

Bảng 3.27. Thông số cài đặt thiết bị UPLC-MS/MS (Water)

Thông số nguồn ion hóa
Kiểu ion hóa: ESI (+)
Tốc độ dòng khí khử dung môi (nitơ): 900 lít/ giờ
Tốc độ dòng khí đầu cone (nitơ): 30 lít/ giờ
Nhiệt độ hóa hơi dung môi: 150 °C
Nhiệt độ buồng ion hóa: 350 °C
Chế độ ghi phổ: MRM
Thế ion hóa (IS voltage): 0,5KV
Khoảng phổ (mass range): 50 – 1000 Da

Bảng 3.28. Thế phân mảnh sau khi tối ưu các chất phân tích

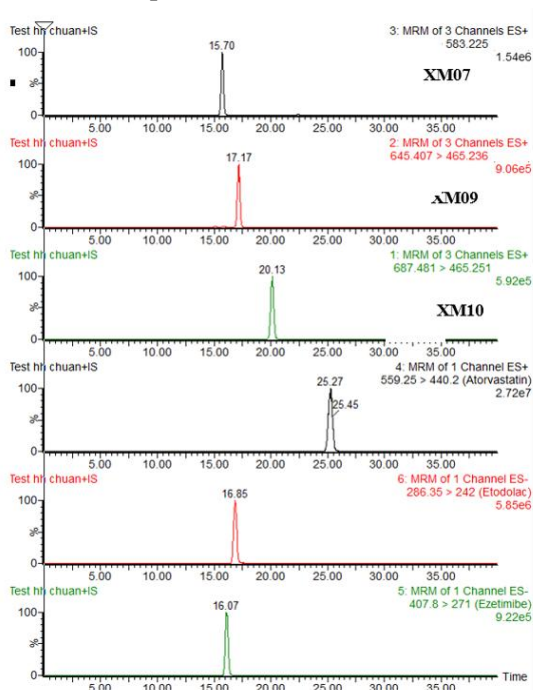
Ký hiệu chất phân tích	Mảnh ion	m/z	Cone (V)	CE (V)
XM07	Định lượng	643,3270 ► 583,2251	20	8
	Định tính	643,3270 ► 357,2057	20	32
	Định tính	643,3270 ► 95,0036	20	46
XM09	Định lượng	645,4065 ► 483,2574	6	14
	Định tính	645,4065 ► 465,2359	6	16
	Định tính	645,4065 ► 95,0053	6	48
XM10	Định lượng	687,4809 ► 465,2508	40	16
	Định tính	687,4809 ► 95,0046	40	42
	Định tính	687,4809 ► 447,1207	40	20
IS	Định lượng	287,1539 ► 242,1559	25	18

3.5.3. Khảo sát chuẩn nội

Do sự thay đổi của dòng ion trong phép đo phổ khối, việc sử dụng chất chuẩn nội là điều cần thiết để nâng cao độ chính xác và kiểm soát quá trình phân tích. Các tiêu chuẩn nội bộ được phân thành hai loại: đồng vị và tương tự. Chất chuẩn nội đồng vị có cấu trúc giống hệt chất phân tích nhưng chứa nhân đồng vị. Mặc dù các chất chuẩn đồng vị là tối ưu về mặt lý thuyết nhưng chúng có thể không có sẵn cho các hợp chất mới được phân tích mà không có tài liệu tham khảo được thiết lập. Trong những trường hợp như vậy, chất chuẩn nội tương tự có các đặc tính tương tự với chất phân tích, liên quan đến quá trình chiết (độ hòa tan), phân tích sắc ký (thời gian lưu)

và phát hiện MS (chế độ ion hóa) được chọn. Dựa trên công thức hóa học, hệ số phân bố log P và giá trị pKa của ba hợp chất: Etodolac ($C_{17}H_{21}NO_3$; LogP = 2,5; pKa = 4,65) [139], Atorvastatin ($C_{33}H_{35}FN_2O_5$; LogP = 6,36; pKa = 4,46)[140], và Ezetimibe ($C_{24}H_{21}F_2NO_3$; LogP = 4,5; pKa = 9,48) [141], nghiên cứu tiến hành đo phổ khối, cường độ tín hiệu thu được của các nội chuẩn khảo sát và xem xét các điều kiện phát hiện sắc ký và MS. Tiến hành quét phổ và đo cường độ tín hiệu thu được của các nội chuẩn khảo sát là Atorvastatine, Etodolac, Ezetimibe. Kết quả khảo sát được trình bày trong hình 3.56.

Kết quả đều cho tín hiệu cao nhất là mảnh ion mẹ $[M+H]^+$ tương ứng với từng chất nội chuẩn khảo sát tuy nhiên tín hiệu của Etodolac (IS) cao hơn rõ so với Ezetimibe, Atorvas cho tín hiệu cao nhưng thời gian lưu quá dài so với Etodolac mặc dù được pha ở cùng mức nồng độ 5 $\mu\text{g/ml}$. Chọn Etodolac để thực hiện các khảo sát tiếp theo.



Hình 3.56. Sắc ký đồ của chuẩn nội

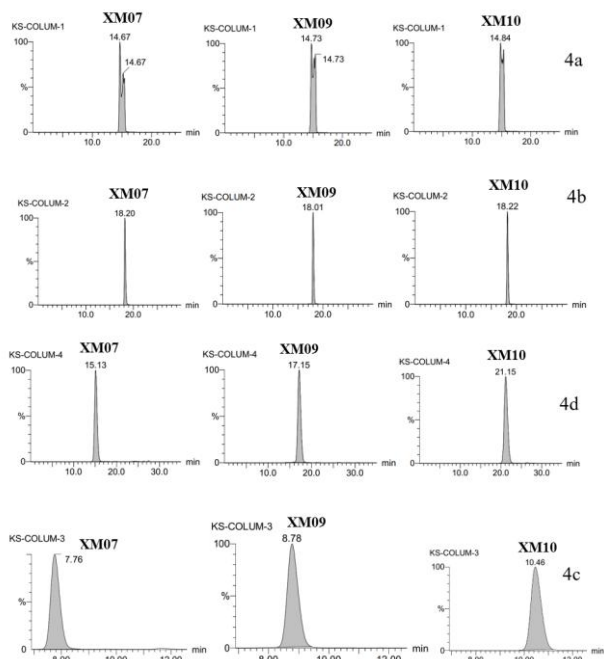
3.5.4. Khảo sát điều kiện sắc ký

Khảo sát pha tĩnh

Dựa vào tính chất kém phân cực của chất phân tích, nghiên cứu tiến hành khảo sát lựa chọn cột sắc ký mà bản chất pha tĩnh có pha liên kết là các nhóm kém phân cực thường được sử dụng trong phân tích như: C18, C8, C6 phenyl. Các cột sắc ký được sử dụng trong khảo sát pha tĩnh (Bảng 3.29).

Bảng 3.29. Các cột sắc ký được sử dụng trong khảo sát pha tĩnh

Điều kiện	Bản chất pha tĩnh	Tên thương mại
1	C6 phenyl	Gemini C6 phenyl (150 x 4,6 mm; 5,0 μ m)
2	C18	Agilent 5 HC- C18 (150 x 4,6 mm; 5,0 μ m)
4	C8	Luna C8 (150 x 4,6 mm; 5,0 μ m)
3	C8	ZORBAX XDB-C8 (50 x 4,6 mm; 3,5 μ m)

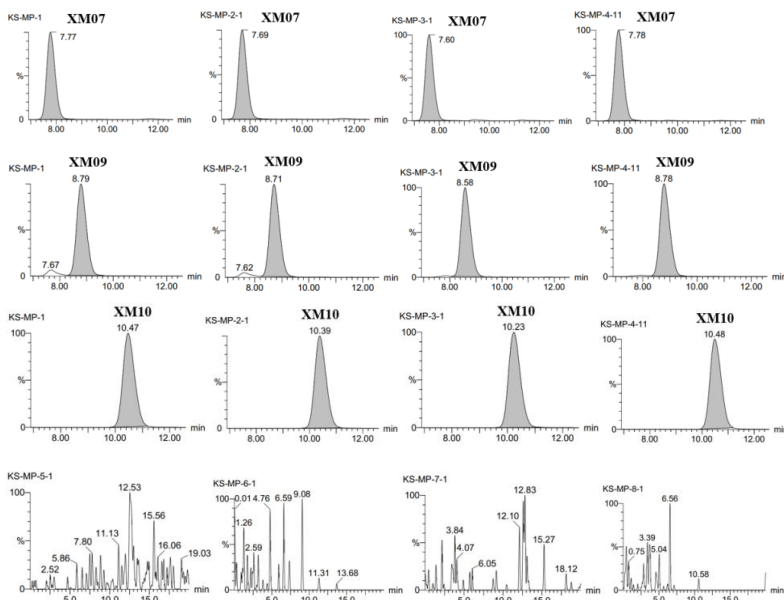


Hình 3.57. Sắc ký đồ khảo sát pha tĩnh

Nhận xét: Kết quả sắc ký đồ hình 3.57 cho thấy cột C6 phenyl (hình 3.57-4a) tương tác mạnh với chất phân tích, peak không đối xứng b/a > 2,0 và bị chèn peak; cột với bản chất pha tĩnh là C18 (hình 3.57-4b) peak không tách, peak không đối xứng b/a > 2,0; cột với bản chất pha tĩnh là C8 dài 150 mm (hình 3.57-4d) peak tách hoàn toàn, peak đối xứng với tất cả các chất phân tích, thời gian phân tích dài; cột với bản chất pha tĩnh là C8 dài 50 mm (hình 3.57-4c) peak tách hoàn toàn, peak đối xứng với tất cả các chất phân tích, thời gian phân tích ngắn, b/a < 2,0. Do đó chọn cột C8 làm pha tĩnh của phương pháp.

Khảo sát pha động

Khảo sát được tiến hành trên mẫu chuẩn hỗn hợp chứa các chất phân tích **XM07**, **XM09**, **XM10** trong Methanol ở nồng độ 5 µg/ml ở điều kiện khối phổ đã khảo sát với điều kiện ban đầu như sau: Cột phân tích ZORBAX XDB-C8 (50 x 4,6 mm; 3,5 µm) thể tích tiêm 2 µl, tốc độ dòng 0,4 ml/phút.



Hình 3.58. Sắc ký đồ khảo sát pha động

Nhận xét: Kết quả sắc ký đồ hình 3.58 cho thấy các điều kiện sắc ký với hệ dung môi có Methanol 40% áp suất tăng cao, các chất phân tích không đáp ứng phân tích với các hệ dung môi này. Với điều kiện sắc ký với hệ dung môi có Acetonitrile kết hợp với các dung môi là muối các hợp chất bị giảm cường độ tín hiệu không phân tích được trong thời gian 20 phút. Trong khi với hệ dung môi Acid formic 0,1% (hoặc acid acetic 0,1%) với Acetonitrile (60:40) đều đáp ứng các chất phân tích **XM07, XM09, XM10** với thời gian lưu khoảng 11 phút, tuy nhiên hệ dung môi Acid formic 0,1% với Acetonitrile (60:40) cho tín hiệu cường độ lớn hơn Acid acetic 0,1% (hình 3.58). Do đó chọn điều kiện sắc ký với hệ dung môi Acid formic 0,1% và Acetonitrile (60:40).

Đề nghị điều kiện sắc ký như sau:

Cột sắc ký: Zobax XDB-C8, 80 Å, 4,6 x 50 mm, 3,5 µm, nhiệt độ cột 35°C;

Pha động: Acid formic 0,1% (A) – ACN (B) : 60-40;

Chương trình gradient pha động:

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng	A (%)	B (%)
0	0,6	60	40
12,40	0,6	60	40
12,50	0,6	20	80
17,00	0,6	20	80
17,01	0,6	60	40
20,00	0,6	60	40

3.6. Thẩm định phương pháp

Bảng 3.36. Kết quả tóm tắt thẩm định phương pháp

Thông số		Kết quả	
Tính tương thích hệ thống	Kết quả cho thấy các thông số thời gian lưu, diện tích pic, tỷ số diện tích pic và tỷ số thời gian lưu của các chất phân tích và chuẩn nội khi tiêm lặp lại 6 lần đều có RSD < 5,3 %.		
Tính đặc hiệu	Kết quả khảo sát cho thấy trên sắc ký đồ mẫu LOQ có các pic XM07 (7,86 phút), XM09 (8,90 phút), XM10 (10,64 phút), IS (8,99 phút) Mẫu trắng không xuất hiện pic tại thời gian lưu các pic trên. Tín hiệu đáp ứng của mẫu trắng tại thời điểm trùng với thời gian lưu của các hoạt chất không vượt quá 20% tín hiệu đáp ứng của chất phân tích ở nồng độ.		
Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng	LOD và LOQ		
	XM07	0,009 ppm và	0,03 ppm
	XM09	0,015 ppm và	0,05 ppm
	XM10	0,036 ppm và	0,12 ppm.
Khoảng tuyến tính	Tương quan tuyến tính giữa nồng độ và tỉ số diện tích A_s/A_{is} của 3 hợp chất đạt hệ số $R^2 \geq 0,995$;		
	XM07	: 0,03 – 7,50 ppm	$R^2 = 0,9978$
	XM09	: 0,05 – 12,50 ppm	$R^2 = 0,9961$
	XM10	: 0,12 – 30,00 ppm	$R^2 = 0,9954$
Độ đúng	XM07	: 97,75 – 100,59 %	RSD : 1,21 %
20%	XM09	: 97,11 – 101,27 %	RSD : 1,61 %
	XM10	: 96,32 – 99,46 %	RSD : 1,20 %
100%	XM07	: 101,45 – 103,32 %	RSD : 0,63 %
	XM09	: 100,58 – 101,59 %	RSD : 0,37 %
	XM10	: 102,57 – 104,13 %	RSD : 0,51 %
150%	XM07	: 101,99 – 104,13 %	RSD : 0,82 %
	XM09	: 100,63 – 102,89 %	RSD : 0,88 %
	XM10	: 101,26 – 102,73 %	RSD : 0,53 %
Độ chính xác trong ngày và khác ngày	XM07 (%)	: 0,0134 ± 0,00034	RSD : 2,35 %
		: 0,0128 ± 0,00025	RSD : 1,76 %
	XM09 (%)	: 0,0225 ± 0,0011	RSD : 4,24 %
		: 0,0216 ± 0,00083	RSD : 3,49 %
	XM10 (%)	: 0,0598 ± 0,0023	RSD : 3,47 %
		: 0,0571 ± 0,0016	RSD : 2,56 %
Độ ổn định/24 giờ/25 °C	XM07 (%)	: 0,0129 ± 0,00061	RSD : 4,32 %
	XM09 (%)	: 0,0219 ± 0,0011	RSD : 4,62 %
	XM10 (%)	: 0,0569 ± 0,0030	RSD : 4,81 %

3.7. Ứng dụng quy trình phân tích định tính, định lượng XM07, XM09, XM10

Kết quả phân tích định tính, định lượng **XM07**, **XM09**, **XM10** đối với các mẫu thử được liệt kê cho hàm lượng **XM07** khoảng từ 0,012 % - 0,015 %, **XM09** khoảng từ 0,019 % - 0,025 %, **XM10** khoảng từ 0,059 % - 0,074 % (Bảng 3.37). Đối với các mẫu thử được liệt kê cây Xu ôi, mẫu thử EXG-caio MeOH, EXG-caio Etylacetate đều không phát hiện có chứa 3 chất này.

Bảng 3.37. Kết quả phân tích một số mẫu tính theo khối lượng bột được liệt kê khô thu từ lá cây

Tên mẫu Chỉ tiêu	Mẫu EXM1	Mẫu EXM2	Mẫu EXM3	Mẫu EXM4	Mẫu EXM5
1.Định tính XM07	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng
2.Định tính XM09	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng
3.Định tính XM10	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng	Đúng
4.Định lượng XM07 (%)	0,0135 ± 0,00036 RSD = 1,66	0,0159 ± 0,00065 RSD = 1,82	0,0123 ± 0,00024 RSD = 0,86	0,0143 ± 0,0010 RSD = 3,17	0,0144 ± 0,00057 RSD = 1,78
5.Định lượng XM09 (%)	0,0232 ± 0,0015 RSD = 4,00	0,0250 ± 0,0010 RSD = 2,60	0,0194 ± 0,00061 RSD = 1,99	0,0195 ± 0,0020 RSD = 4,55	0,0183 ± 0,00087 RSD = 2,11
6.Định lượng XM10 (%)	0,0601 ± 0,0024 RSD = 1,78	0,0741 ± 0,0040 RSD = 2,40	0,0589 ± 0,0016 RSD = 1,22	0,0646 ± 0,0037 RSD = 2,57	0,0643 ± 0,00074 RSD = 0,51
7. Định tính EXG-caio MeOH	Moluccensin Y : 3,30-Diacetylphragmalin: Xylocensin E:			Không phát hiện Không phát hiện Không phát hiện	
EXG-caio Etylacetate	Moluccensin Y: 3,30-Diacetylphragmalin: Xylocensin E:			Không phát hiện Không phát hiện Không phát hiện	

* EXM1 – EXM5 : kí hiệu mẫu thử

Nhận xét

Nghiên cứu đã đề xuất một phương pháp LC-MS/MS để phân tích đồng thời 3 chất phân tích Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylocensin E là một phương pháp hiện đại. Phương pháp LC-MS/MS sử dụng Cột ZORBAX XDB-C8 (50 x 4.6 mm; 3.5 µm), kỹ thuật MRM, ESI

chế độ dương, pha động đơn giản với giá thành thấp - kinh tế để phân tích các chất. Việc phân tích trên các cột C8 thế hệ mới với hạt pha tĩnh nhỏ đã mang lại kết quả tốt khi phân tích ảnh hưởng của nền mẫu đến chất phân tích, thời gian phân tích nhanh so với các phương pháp phân tích dược liệu khác. Phương pháp này đã được đánh giá đầy đủ về các yếu tố khác nhau, chẳng hạn như độ chọn lọc, độ ổn định, phạm vi tuyến tính, LOD và LOQ thấp, độ phục hồi và độ lặp lại, sử dụng một chuẩn nội phổ biến, giá thành rẻ là Etodolac. Độ tin cậy của phương pháp này trong thử nghiệm dược liệu có thể là tiềm năng lớn trong việc phát hiện định tính và định lượng các nhóm hợp chất Limonoid trong dược liệu. Kết quả thẩm định trên mẫu dược liệu đều đạt các quy định của AOAC, ICH về phân tích hợp chất.

Kết quả thẩm định cho thấy quy trình phân tích định tính, định lượng đồng thời 3 hợp chất Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylocensin E trong lá cây Xu nhỏ bằng kỹ thuật LC-MS/MS đã được xây dựng và thẩm định đáp ứng các yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC và ICH về thẩm định phương pháp phân tích thuốc. Quy trình này có thể được ứng dụng để xác định hàm lượng 3 chất Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xylocensin E trong lá cây Xu nhỏ. Đối với các mẫu thử dược liệu cây Xu ôi, mẫu thử EXG-caio MeOH, EXG-caio Etylacetate đều không phát hiện có chứa 3 chất trên.

KẾT LUẬN

Luận án đã khảo sát thành phần hóa học của cây Xu ôi và Xu nhỏ thu hái tại rừng ngập mặn Việt Nam, hai loài chưa được nghiên cứu nhiều ở Việt Nam. Kết quả đạt được như sau:

1. Nghiên cứu về hóa học

- ❖ Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp nghiên cứu đã phân lập được **21 hợp chất** từ cây **Xu nhỏ và Xu ôi** trong đó **7 hợp chất mới** chưa được tìm thấy trong tự nhiên (công bố quốc tế):
 - **04 chất mới** phân lập được từ cây Xu nhỏ gồm **XM01** (Xylomoluccenoid A); **XM02** (Xylomoluccenoid B); **XM03** (Xylomoluccenoid C), **XM04** (Xylomoluccenoid D);
 - **03 chất mới** phân lập được từ cây Xu ôi gồm **XG01** (Xylocagranoside A); **XG02** (Xylocagranoside B); **XG03** (Xylocargranin A).
 - 06 hợp chất đã biết đều có khung triterpenoid chất mới phân lập được từ cây Xu nhỏ gồm: **XM05** (Xylomolin S), **XM 06** (1*H*-Dibenzo[b,e][1,4]dioxepin-11-one,3,8-dihydroxy-4-(methoxymethyl)-1,6-dimethyl), **XM07** (Moluccensin Y), **XM 08** (Swietmanin H), **XM09** (3,30-diacetylphragmalin), **XM10** (Xyloccensin E).
 - 08 hợp chất đã biết đều có khung triterpenoid phân lập được từ cây Xu ôi gồm **XG04** (Xyloccensin P), **XG05** (Xyloccensin Q), **XG06** (Odoratone), **XG07** (Chisocheton F), **XG08** (Xylogranatin S), **XG09** (Xylogranatin C), **XG10** (Xylogranatin D), **XG11** (9-O-methyl Xylogranatin R).
- ❖ **XM10** (xyloccensin E) lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ cây Xu nhỏ.
- ❖ **XM06** (1*H*-Dibenzo[b,e][1,4]dioxepin-11-one,3,8-dihydroxy-4 (methoxymethyl) -1,6-dimethyl), **XM08** (Swietmanin H) lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ chi Xu (cụ thể là cây Xu nhỏ).
- ❖ Nghiên cứu đã phân lập và sử dụng chất sạch phân lập được từ lá cây Xu nhỏ sử dụng làm chất chuẩn đối chiếu trong thiết lập quy trình phân tích định tính và định lượng là **Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xyloccensin E**.
- ❖ Xác định cấu trúc và định lượng 03 hợp chất phân lập được từ lá cây Xu nhỏ sử dụng làm chất chuẩn đối chiếu trong thiết lập quy trình phân tích bằng **phương pháp qNMR** với hàm lượng: Moluccensin Y 98,07 %, 3,30-Diacetylphragmalin 98,36 %, Xyloccensin E 98,43 %.

- ❖ Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định **quy trình phân tích định tính, định lượng** đồng thời ba hợp chất đặc trưng của cây Xu nhỏ Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xyloccensin E bằng phương pháp phân tích hiện đại **LC-MS/MS** đã được xây dựng và thẩm định đáp ứng các yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC và ICH về thẩm định phương pháp phân tích thuốc. Quy trình này có thể được ứng dụng để xác định hàm lượng 3 chất **Moluccensin Y, 3,30-Diacetylphragmalin, Xyloccensin E** trong cây Xu nhỏ.

2. Về thử nghiệm hoạt tính sinh học

- ❖ *Hoạt tính kháng vi sinh vật*

Thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật trên 21 hợp chất phân lập từ cây Xu nhỏ và Xu ổi kết quả thử nghiệm cho thấy các hợp chất phân lập từ cây Xu nhỏ thể hiện hoạt tính ức chế từ 1 đến 5 chủng vi sinh vật, trong đó hợp chất **XM06** có hoạt tính khá mạnh với MIC 32-64 µg/ml trên 5 chủng *E.faecalis* ATCC29212, *S.aureus* ATCC25923, *B.cereus* ATCC14579, *P.aeruginosa* ATCC27853 và *C.albicans* ATCC10231.

- ❖ *Hoạt tính gây độc tế bào*

Các hợp chất phân lập từ cây Xu nhỏ thử nghiệm trên các dòng tế bào ung thư phổi (SK-LU-1), ung thư vú (MCF-7), ung thư gan (HepG2), ung thư cổ tử cung ở người (Hela). Kết quả trên cho thấy có 3 mẫu **XM03**-chất mới (Xylomoluccenoid B), **XM04**-chất mới (Xylomoluccenoid A), **XM05** (Xylomolin S), thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu (Hela, MCF-7, HepG2) với giá trị IC₅₀ từ 26,77 – 54,19 µM. Các mẫu còn lại chưa thể hiện rõ hoạt tính gây độc tế bào ở thử nghiệm này.

Kết quả sàng lọc thử độc tế bào của các hợp chất phân lập từ cây Xu ổi cho thấy các hợp chất **XG06** (Odoratone), **XG09** (Xylogranatin C) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào nghiên cứu (A549, MCF-7, HepG2) với giá trị IC₅₀ từ 27,54 – 46,99 µM, các mẫu còn lại chưa thể hiện rõ hoạt tính gây độc tế bào ở thử nghiệm này.

KIẾN NGHỊ HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

Cần có những nghiên cứu tiếp tục đối với Chi Xu, Xu ổi và Xu nhỏ là loài cây ngập mặn của Việt Nam. Đặc biệt cần nghiên cứu thử nghiệm đối với các hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh như: **XM01-chất mới** (Xylomoluccenoid A), **XM02-chất mới** (Xylomoluccenoid B), **XM05** (Xylomolin S), thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu (Hep1a, MCF-7, HepG2) với giá trị IC_{50} từ 14.32 – 54.19 μ M, thử thêm một số hoạt tính gây độc tế bào tế bào thần kinh, độc tính bán trường diễn của các chất mới lần đầu tiên được công bố quốc tế gồm **XM01-chất mới**, **XM2-chất mới**, **XM03-chất mới**, **XM04-chất mới**, **XG01-chất mới**, **XG02-chất mới**, **XG03-chất mới** nhằm phát hiện thêm các tác dụng tích cực của hai loài Xu ổi và Xu nhỏ là loài cây ngập mặn của Việt Nam.

Tiếp tục khảo sát các phân đoạn còn lại của các cao thô từ hai loài Xu ổi và Xu nhỏ.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

- 1. Thi Bích Ha Tran**, Van Thanh Nguyen, Phuong Thao Nguyen, Thanh Hoang Le, Nguyen Trung Nguyen Le, Thi Ngoc Hanh Le, Dai Lam Tran, Dang Quang Ta, Viet Hung Tran*, (2025), Simultaneous quantification of 3 typical limonoids in the Vietnam mangrove *Xylocarpus moluccensis* leaves by LC-MS/MS, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 48:11-15, 313-323, <https://doi.org/10.1080/10826076.2025.2478104>.
(*Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, ISSN 1082-6076, CHEMISTRY, ANALYTICAL – SCIE, (IF = 1.4 ; Q3))
- 2. Nguyen Phuong Thao, Tran Thi Bích Ha***, Kieu Thi Phuong Linh, Pham Thi Mai Huong, Pham Thanh Binh, Vu Thanh Trung, Nguyen The Cuong, Tran Viet Hung, Nguyen Van Thanh, Xylocargranosides A–B and Xylocargranin A from the mangrove *Xylocarpus granatum*, *Journal of Natural Medicines*, 2026, 80 (2), 418-428. <https://doi.org/10.1007/s11418-025-01993-5>.
(*Journal of Natural Medicines*, ISSN 13403443, SCIE, IF = 2.9; Q1)
- 3. Tran Thi Bích Ha**, Tran Viet Hung, Nguyen Phuong Thao, Kieu Thi Phuong Linh, Pham Thi Mai Huong, Pham Thanh Binh, Vu Thanh Trung, Nguyen The Cuong, Nguyen Van Thanh*, Xylomoluccenoids A–D from the mangrove *Xylocarpus moluccensis* leaves, 2026, Manuscript Number: FITOTE-D-26-01361. Đã phản biện, đang chờ accept bài.
(Elsevier - Fitoterapia, SCIE, IF = 2.6; Q2)