MỞ ĐẦU

Trong lịch sử y học truyền thống, thực vật luôn đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp các phương thuốc chữa bệnh. Ngay cả trong thời kỳ phát triển mạnh mẽ của hóa dược tổng hợp và công nghệ sinh học, việc sàng lọc các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên thực vật vẫn là một trong những chiến lược quan trọng và hiệu quả nhất để tìm kiếm các hợp chất dẫn đường cho thuốc mới. Theo thống kê của FDA và các tổ chức y tế quốc tế, một tỷ lệ lớn các loại thuốc được phê duyệt trong những thập kỷ gần đây có nguồn gốc trực tiếp hoặc gián tiếp từ tự nhiên, đặc biệt là trong các lĩnh vực điều trị ung thư và các bệnh viêm nhiễm. Việt Nam, với vị thế là một trong 16 quốc gia sở hữu đa dạng sinh học cao nhất thế giới, đang đứng trước cơ hội và thách thức lớn trong việc khai thác kho tàng tri thức bản địa và nguồn gen quý giá này. Do đó, việc nghiên cứu hóa thực vật một cách bài bản không chỉ dừng lại ở ý nghĩa khoa học cơ bản mà còn mang tính thực tiễn cao, góp phần khẳng định chủ quyền về tài nguyên dược liệu quốc gia.

Chi *Asarum* L., thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae), là một chi lớn bao gồm khoảng hơn 100 loài phân bố chủ yếu ở vùng ôn đới Bắc bán cầu và khu vực Đông Á. Trong nền Y học cổ truyền của các nước như Trung Quốc, Nhật Bản và Việt Nam, các loài thuộc chi này (thường gọi là Tế tân, Hoa tiên, Biến hóa...) được sử dụng rộng rãi như những vị thuốc quý để điều trị phong thấp, đau nhức xương khớp, đau răng, viêm phế quản và các bệnh lý nhiễm trùng. Các nghiên cứu hiện đại trên thế giới đã chứng minh chi *Asarum* là nguồn cung cấp dồi dào các lớp chất thứ cấp đa dạng. Nổi bật nhất là thành phần tinh dầu (với các dẫn xuất phenylpropanoid, monoterpene), nhóm hợp chất lignan, flavonoid và phenanthrene. Những hợp chất này đã thể hiện phổ hoạt tính sinh học rất rộng, bao gồm tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, kháng viêm và đặc biệt là khả năng gây độc tế bào trên nhiều dòng ung thư người. Tại Việt Nam, chi *Asarum* có sự phân bố khá phong phú với khoảng 11 loài, tập trung chủ yếu

ở các vùng núi cao. Mặc dù tiềm năng là rất lớn, nhưng bức tranh toàn cảnh về hóa học và sinh học của các loài *Asarum* Việt Nam vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ và hệ thống. Các nghiên cứu trước đây phần lớn mới chỉ dừng lại ở việc khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu hoặc phân lập một số nhóm chất đơn giản trên các loài phổ biến. Các loài đặc hữu hoặc ít gặp như *Asarum yentuense* (Tế tân Yên Tử), *Asarum cordifolium* (Tế tân lá hình tim), *Asarum geophilum* (Tế tân địa hoa) chưa được nghiên cứu chuyên sâu về các thành phần khó bay hơi trong dịch chiết. Bên cạnh đó, các dữ liệu về kháng khuẩn, kháng nấm ở mức độ phân tử hay cơ chế gây độc tế bào của các loài này tại Việt Nam còn rất sơ sài. Đặc biệt, do khai thác quá mức và mất môi trường sống, nhiều loài đang đứng trước nguy cơ suy giảm quần thể nghiêm trọng.

Xuất phát từ những lý do trên, đề tài luận án "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài *Asarum cordifolium, Asarum yentuense, Asarum geophilum* ở Việt Nam" được lựa chọn thực hiện. Đây là bước đi cấp thiết và mang tính thời sự nhằm cung cấp dữ liệu khoa học tin cậy, góp phần định hướng bảo tồn và khai thác hiệu quả nguồn dược liệu quý này.

Chương 1: TỔNG QUAN

Chương này tổng hợp các tài liệu nghiên cứu trong và ngoài nước về chi *Asarum* L. (Tế tân), tập trung vào các nội dung chính:

Về thực vật học: Giới thiệu đặc điểm hình thái, vị trí phân loại và sự phân bố của chi *Asarum* (họ Aristolochiaceae). Tại Việt Nam, chi này hiện ghi nhận khoảng 11 loài, trong đó có các loài đặc hữu và quý hiếm như *A. yentuense* (Tế tân Yên Tử) và *A. cordifolium* (Tế tân lá hình tim).

Về thành phần hóa học: Các nghiên cứu cho thấy *Asarum* có thành phần hóa học đa dạng, bao gồm hai nhóm chính: nhóm tinh dầu (giàu phenylpropanoid và monoterpene) và nhóm chất không bay hơi (chủ yếu là lignan, flavonoid, phenanthrene và dẫn xuất aristolactam).

Về hoạt tính sinh học: Tổng kết các công dụng trong Y học cổ truyền (trừ phong thấp, giảm đau, trị cảm) và các hoạt tính dược lý hiện đại đã được chứng minh như: kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm và gây độc tế bào ung thư. Đồng thời, chương này cũng đề cập đến độc tính tiềm tàng của nhóm chất acid aristolochic thường gặp trong chi này.

Kết luận rút ra từ tổng quan**:** Mặc dù chi *Asarum* được nghiên cứu nhiều trên thế giới, nhưng các dữ liệu về thành phần hóa học (đặc biệt là các hợp chất từ dịch chiết) và cơ chế hoạt tính của các loài *Asarum* phân bố tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế. Đây là cơ sở thực tiễn để lựa chọn đề tài nghiên cứu của luận án.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu thực vật: Gồm 03 loài thuộc chi *Asarum* được thu hái tại Việt Nam trong giai đoạn 2020-2021: *Asarum cordifolium* (Tế tân lá hình tim): Thu tại Sapa, Lào Cai; *Asarum yentuense* (Tế tân Yên Tử): Thu tại Uông Bí, Quảng Ninh; và *Asarum geophilum* (Tế tân ưa đất): Thu tại Trùng Khánh, Cao Bằng. Định danh bởi TS. Nguyễn Anh Tuấn, Viện Sinh học và Môi trường Đông Dương và TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Quốc gia Việt Nam. Mẫu tiêu bản được giữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (nay là Viện Hoá học), Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp hóa học

Chiết xuất tinh dầu: Chưng cất lôi cuốn hơi nước bằng bộ dụng cụ Clevenger.

Chiết xuất hợp chất: Ngâm chiết với methanol, sau đó phân bố lỏng-lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexane, ethyl acetate).

Phân lập: Sử dụng sắc ký cột (CC) với chất hấp phụ silica gel/RP-

18 và sắc ký lớp mỏng (TLC) để tách chất.

Xác định cấu trúc: Sử dụng phổ khối lượng (ESI-MS, HR-ESI-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1D & 2D NMR) đo trên máy Bruker 500/600 MHz.

Phân tích tinh dầu: Hệ thống GC-MS kết hợp GC-FID.

2.2.2. Phương pháp sinh học:

Kháng vi sinh vật: Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).

Kháng oxy hóa: Thử nghiệm quét gốc tự do DPPH.

Kháng viêm: Đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7.

Gây độc tế bào: Phương pháp MTT trên dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2).

2.2.3. Phương pháp mô phỏng (In silico): Sử dụng phần mềm Molecular Docking để dự đoán tương tác giữa hoạt chất và protein đích JAK2.

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM

Chương này mô tả chi tiết quy trình thực nghiệm chiết xuất và phân lập các hợp chất từ 03 loài *Asarum* chính.

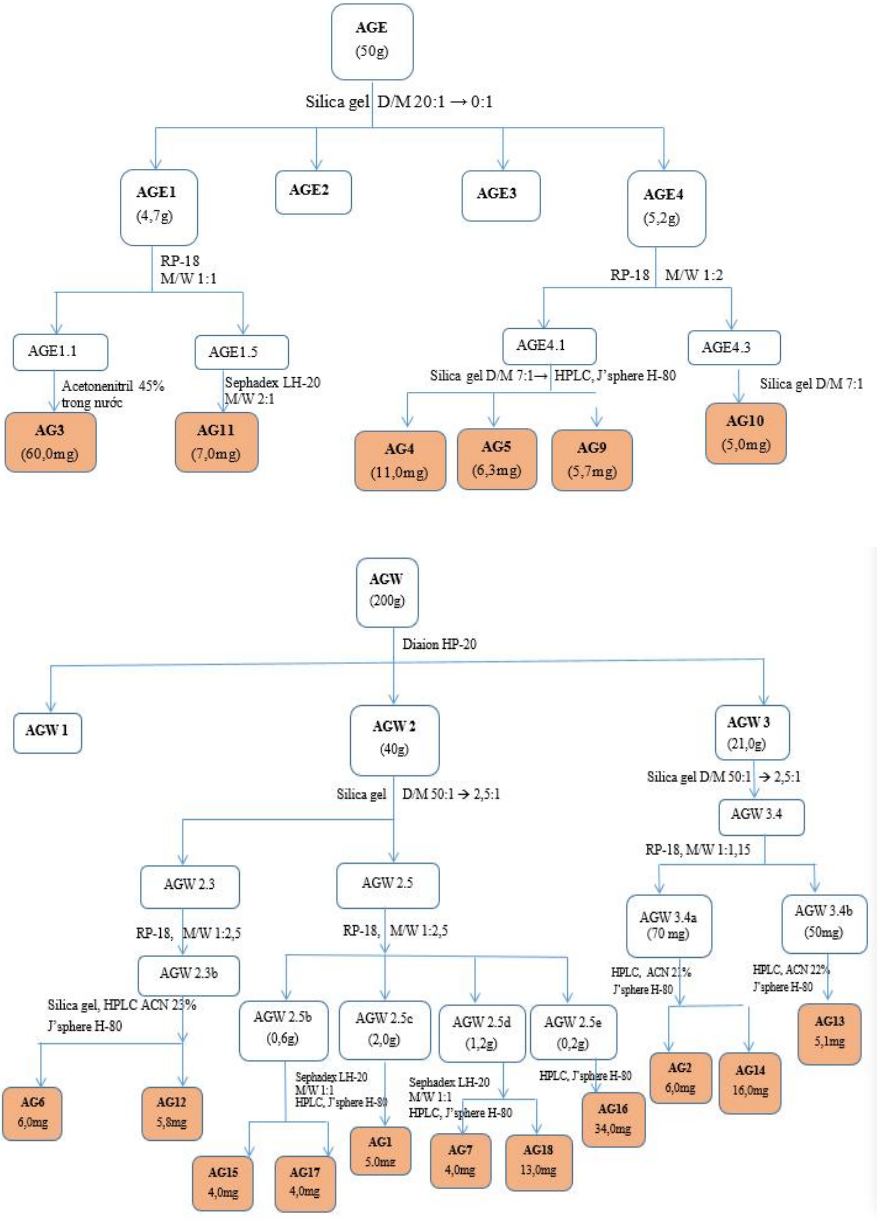
3.1. Thực nghiệm trên loài *Asarum geophilum*:

3.1.1. Chiết xuất

Từ mẫu khô (3 kg), chiết với methanol và phân đoạn với *n*-hexane, ethyl acetate thu được các cao chiết tương ứng.

3.1.2. Phân lập

Từ cặn chiết ethyl acetate (ACE) và cặn nước (ACW), sử dụng các phương pháp sắc ký khác nhau. Kết quả đã phân lập được 18 hợp chất (ký hiệu **AG1** đến **AG18**), gồm 02 chất mới là chalcononaringenin 2′,4-di-*O*-*β*-D-glucopyranoside (**AG1**) và asageoside (**AG2**).



Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ *A. geophilum*

3.2. Thực nghiệm trên loài *Asarum cordifolium*:

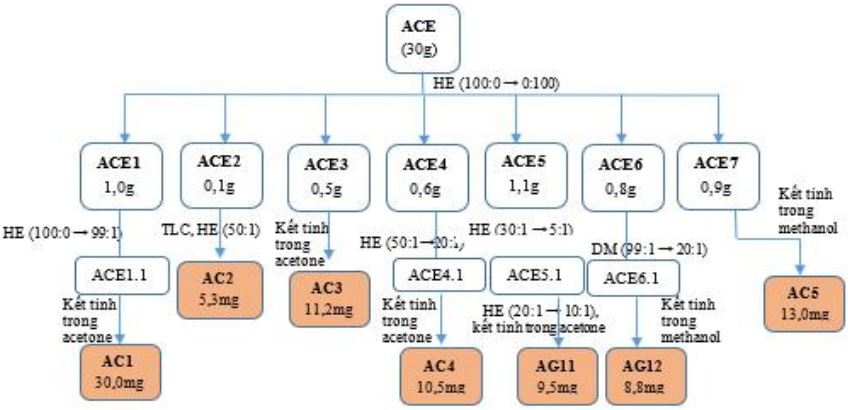
3.2.1. Chiết xuất

Từ mẫu khô (1,2 kg), thu nhận các phân đoạn cao chiết tương ứng.

3.2.2. Phân lập

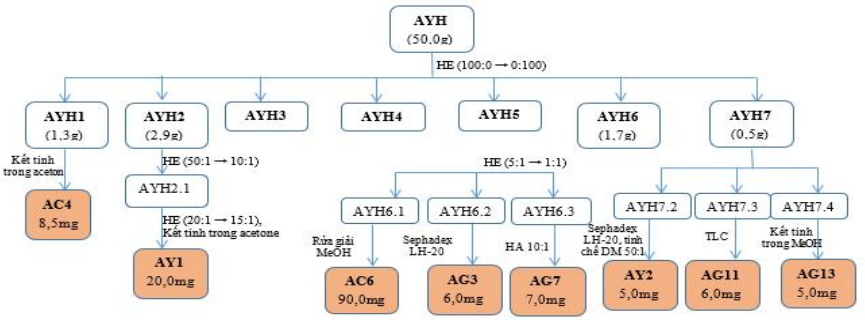
Tập trung vào cặn chiết *n*-hexane và ethyl acetate.

Kết quả phân lập được 08 hợp chất, chủ yếu là các dẫn xuất phenylpropanoid (như elemicin, methyl eugenol) và flavonoid.



Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ *A. cordifolium*

3.3. Thực nghiệm trên loài *Asarum yentuense*:



Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ *A. yentuense*

3.3.1. Chiết xuất

Từ mẫu khô (2,5 kg), xử lý tạo cặn chiết.

3.3.2. Phân lập

Tiến hành sắc ký trên cao *n*-hexane và ethyl acetate.

Kết quả phân lập được 08 hợp chất, bao gồm các flavonoid đặc trưng như acacetin và cynaroside.

3.4. Xác định thành phần tinh dầu của các loài *A. cordifolium, A. geophilum* và *A. yentuense*

Xác định thành phần hóa học của tinh dầu 3 loài *A. cordifolium, A. geophilum* và *A. yentuense* được thực hiện như mục 2.2.1.

3.5. Đánh giá hoạt tính sinh học

Hoạt tính sinh học của tinh dầu (hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, chống oxy hóa, kháng viêm) và hoạt tính gây độc đối với dòng tế bào ung thư (Hep-G2, JAK2) của các cặn chiết và một số hợp chất phân lập được phân lập từ 3 loài nghiên cứu.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Thành phần hóa học tinh dầu 03 loài chi *Asarum* ở Việt Nam

Tinh dầu từ phần trên mặt đất (lá và thân) từ 3 loài *Asarum* (*A. geophilum, A. Yentuense* và *A. cordifolium)* thu được bằng cách chưng cất lôi cuốn hơi nước. Thành phần hóa học của những tinh dầu này đã được phân tích trên thiết bị sắc ký khí khối phổ (GC-MS).

Nhận xét, kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu của 03 loài *Asarum* tại Việt Nam đã góp phần bổ sung thêm vào cơ sở dữ liệu về tinh dầu thực vật chi *Asarum*. Điều đáng chú ý là thành phần hóa học tinh dầu của và *A. yentuense* được phân tích đầy đủ, ngoài ra, còn phát hiện được sự đa dạng về thành phần hóa học**.** Đối với tinh dầu loài *A. geophilum* nghiên cứu đã cho thấy thành phần chính trong tinh dầu là 9-epi-(*E*)-caryophyllene (18,43%), còn trong tinh dầu *A. cordifolium* lại có thành phần hóa học đặc trưng là **elemicin** với hàm lượng cao (77,20%).

Giá trị của kết quả nghiên cứu này bước đầu cho thấy, thiết lập được một cơ sở hóa học phân loại. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu bước đầu mang lại giá trị trong khoa học, đó là nhận thấy được sự phân chia rõ rệt thành hai nhóm: nhóm dẫn xuất benzenoid (*A. yentuense, A. cordifolium*) chiếm ưu thế và nhóm sesquiterpene (*A. geophilum*) chiếm

ưu thế, điều này đã cung cấp thông tin khoa học chính xác để phân biệt các loài Tế tân vốn có hình thái thực vật rất dễ nhầm lẫn trong tự nhiên. Hơn nữa, việc phát hiện sự có mặt của safrole và elemicin chiếm một tỉ lệ nhất định trong tinh dầu *Asarum* mang lại giá trị thực tiễn trong việc cảnh báo an toàn dược học, giúp chuẩn hóa liều lượng khi sử dụng các loài này trong y học cổ truyền để tránh ngộ độc. Kết quả về thành phần hóa học này đã trở thành kim chỉ nam định hướng cho việc lựa chọn các mô hình thử nghiệm hoạt tính sinh học, tạo nên sự logic chặt chẽ giữa hoá học và sinh học.

Vì vậy, từ việc xác định các cấu trúc hóa học mới và đặc trưng, nghiên cứu đã xây dựng được luận cứ khoa học để lựa chọn đích tác dụng sinh học phù hợp, qua đó khẳng định tiềm năng y dược của các loài *Asarum* Việt Nam không chỉ dừng lại ở kinh nghiệm truyền miệng mà có cơ sở phân tử rõ ràng.

Dựa trên kết quả nghiên cứu trong luận án, hoạt tính sinh học của tinh dầu từ 03 loài *Asarum* (*A. geophilum, A. yentuense* và *A. cordifolium*) được tóm tắt như sau:

Tinh dầu *A. yentuense* ức chế mạnh vi khuẩn tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*). Tinh dầu *A. cordifolium* ức chế mạnh trực khuẩn cỏ khô (*Bacillus subtilis*).

Tác dụng tốt (MIC 200 µg/ml): Các tinh dầu đều có tác dụng trên *Escherichia coli*, nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và nấm mốc *Fusarium oxysporum*.

- Hoạt tính kháng oxy hóa: Tinh dầu (*A. geophilum* thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh nhất với giá trị SC_{50} = 28,57 µg/ml sau đó tinh dầu *A. cordifolium* (SC_{50} = 39,62 µg/ml).
- Hoạt tính kháng viêm: Các tinh dầu thể hiện hoạt tính ở mức trung bình hoặc yếu hơn.

Bảng 4.1. Thành phần hóa học tinh dầu của 3 loài chi *Asarum*

STT	Tên	Công thức	RI	*A. geophilum*			*A. yentuense*			*A. cordifolium*		
				Time	RI	%FID	Time	RI	%FID	Time	RI	%FID
1	*β*-pinene	$C_{10}H_{16}$	932	10,01	938	0,33	10,37	939	0,84	10,70	939	0,56
2	camphenen	$C_{10}H_{16}$	946	-	-	-	10,87	955	0,39	11,21	956	0,38
3	*β*-pinene	$C_{10}H_{16}$	986	11,36	983	1,45	11,74	984	0,91	12,11	985	0,96
4	myrcene	$C_{10}H_{16}$	988	-	-	-	-	-	-	12,32	992	0,21
5	*β*-phelandren	$C_{10}H_{16}$	1010	12,17	1009	0,13	-	-	-	12,93	1010	0,79
6	*δ*-3-carene	$C_{10}H_{16}$	1015	-	-	-	12,77	1016	0,39	13,15	1017	0,83
7	o-cymene	$C_{10}H_{14}$	1022	12,82	1028	0,17	-	-	-	13,60	1030	1,80
8	Limonene	$C_{10}H_{16}$	1030	12,97	1033	0,18	-	-	-	13,75	1034	1,87
9	*β*-phelandrene	$C_{10}H_{16}$	1031	-	-	-	-	-	-	13,82	1036	0,31
10	eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	1032	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	(Z)-*β*-ocimene	$C_{10}H_{16}$	1039	-	-	-	13,49	1038	0,13	13,88	1038	1,33
12	(E)-*β*-ocimene	$C_{10}H_{16}$	1050	-	-	-	13,87	1049	0,42	14,26	1049	0,34
13	terpinolene	$C_{10}H_{16}$	1094	15,02	1093	0,20	15,43	1094	0,13			
14	linalool	$C_{10}H_{18}O$	1095	15,27	1101	0,18	15,67	1101	3,19	16,10	1102	0,20
15	Exo-fenchol	$C_{10}H_{18}O$	1118	15,95	1120	0,13	-	-	-	-	-	-
16	borneol	$C_{10}H_{18}O$	1171	17,84	1174	0,15	18,25	1175	0,31	-	-	-
17	Terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	1184	18,20	1184	0,30	-	-	-	-	-	-
18	*β*-terpineol	$C_{10}H_{18}O$	1195	18,65	1197	4,07	-	-	-	-	-	-
19	Thymol methyl ether	$C_{11}H_{16}O$	1232	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	geranial	$C_{10}H_{16}O$	1271	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	1289	21,94	1293	0,23	-	-	-	22,85	1295	0,23
22	safrole	$C_{12}H_{20}O_2$	1293	-	-	-	22,59	1300	64,74	-	-	-
23	*n*-tridecane	$C_{13}H_{28}$	1300	22,14	1299	0,18	-	-	-	-	-	-

24	*δ*-elemene	$C_{15}H_{24}$	1343	23,72	1347	0,81	-	-	-	-	-	-
25	*β*-terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	1349	24,00	1355	0,35	-	-	-	-	-	-
26	Endo-isocamphanyl acetate	$C_{11}H_{18}O_2$	1350	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Geranyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	1379	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	*β*-copaene	$C_{15}H_{24}$	1394	25,07	1388	0,42	-	-	-	26,00	1390	0,50
29	*cis*-*β*-elemene	$C_{15}H_{24}$	1396	25,54	1402	2,75	-	-	-	26,45	1404	1,84
30	Methyl eugenol	$C_{11}H_{14}O_2$	1403	-	-	-	26,09	1407	1,22	26,58	1408	2,16
31	*β* -caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	1434	26,60	1436	8,05	27,03	1437	0,29			
32	γ-elemene	$C_{15}H_{24}$	1440	26,84	1444	0,68	-	-	-	-	-	-
33	*β*-*trans*-bergamotene	$C_{15}H_{24}$	1443	-	-	-	27,31	1446	0,67	-	-	-
34	*β*-gurjunene	$C_{15}H_{24}$	1446	27,01	1449	1,66	-	-	-	-	-	-
35	aromadendrene	$C_{15}H_{24}$	1449	27,20	1455	0,61	-	-	-	-	-	-
36	(Z)-*β*-farmesene	$C_{15}H_{24}$	1451	-	-	-	27,78	1461	2,81	-	-	-
37	(E)-methyl isoeugenol	$C_{15}H_{24}$	1460	-	-	-	27,92	1465	0,19	-	-	-
38	*β*-humulene	$C_{15}H_{24}$	1471	27,67	1470	3,87	28,11	1471	0,55	-	-	-
39	9-epi-(E)-caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	1474	2795	1479	18,43	-	-	-	-	-	-
40	γ-curcumene	$C_{15}H_{24}$	1481	-	-	-	28,66	1488	0,24	-	-	-
41	γ-muurolene	$C_{15}H_{24}$	1483	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	Ar-curcumene	$C_{15}H_{24}$	1484	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	Germacrene D	$C_{15}H_{24}$	1496	28,49	1496	0,56	-	-	-	29,44	1499	1,00
44	*n*-pentadecane	$C_{15}H_{32}$	1500	28,58	1499	1,10	-	-	-	-	-	-
45	(E)-methyl isoeugenol	$C_{11}H_{14}O_2$	1501	-	-	-	29,05	1501	0,27	-	-	-
46	*β*-selinene	$C_{15}H_{24}$	1502	28,69	1503	0,60	-	-	-	29,62	1505	0,17
47	*δ*-selinene	$C_{15}H_{24}$	1503	-	-	-	-	-	-	29,65	1507	0,17
48	*trans*-muurola-4(14),5-diene	$C_{15}H_{24}$	1503	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	viridiflorene	$C_{15}H_{24}$	1505	28,93	1511	0,60	-	-	-	29,62	1505	0,17
50	γ-amorphene	$C_{15}H_{24}$	1508	-	-	-	-	-	-	29,65	1507	0,17

51	*cis*-bicyclogermacene	$C_{15}H_{24}$	1510	28,98	1512	4,46	-	-	-	29,91	1515	0,73
52	(E,E)-a-farnesene	$C_{15}H_{24}$	1511	-	-	-	29,39	1512	0,36	-	-	-
53	*trans*-bicyclogermacrene	$C_{15}H_{24}$	1512	-	-	-	29,42	1513	0,73	-	-	-
54	*β*-bisabolene	$C_{15}H_{24}$	1514	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	*β*-bulnesene	$C_{15}H_{24}$	1517	-	-	-	-	-	-	30,13	1522	0,20
56	Cuparene	$C_{15}H_{22}$	1518	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	Sesquicinene	$C_{15}H_{26}O$	1521	-	-	-	29,80	1526	15,34	-	-	-
58	γ-cadinene	$C_{15}H_{24}$	1524	-	-	-	-	-	-	30,44	1533	0,27
59	Myristicin	$C_{11}H_{14}O_2$	1529	-	-	-	29,95	1531	0,31	-	-	-
60	*β*-sequiphellandrene	$C_{15}H_{24}$	1531	-	-	-	30,03	1534	0,16	-	-	-
61	*δ*-cadinene	$C_{15}H_{24}$	1533	29,65	1535	0,60	-	-	-	30,58	1538	0,41
62	Zonarene	$C_{15}H_{24}$	1537	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	*β*-bisabolene	$C_{15}H_{24}$	1544	-	-	-	-	-	-	31,00	1552	1,81
64	Selina-4(15),7(11)-diene	$C_{15}H_{24}$	1545	30,15	1552	1,02	-	-	-	-	-	-
65	Selina-3,7(11)-diene	$C_{15}H_{24}$	1560	30,36	1559	0,41	-	-	-	-	-	-
66	elemol	$C_{15}H_{26}O$	1562	30,43	1561	0,41	-	-	-	-	-	-
67	elemicin	$C_{12}H_{16}O_2$	1565	-	-	-	-	-	-	31,43	1566	77,20
68	(E)-nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	1569	30,64	1568	0,47	31,07	1569	0,41	31,60	1572	0,32
69	Germacrene B	$C_{15}H_{24}$	1572	30,86	1575	0,43	-	-	-	-	-	-
70	isoelemicin	$C_{12}H_{16}O_2$	1577	-	-	-	31,33	1578	0,32	-	-	-
71	4-epi-maaliol	$C_{15}H_{26}O$	1577	31,17	1586	0,67	-	-	-	-	-	-
72	scapanol	$C_{15}H_{26}O$	1580	-	-	-	-	-	-	32,32	1596	0,33
73	spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	1593	31,44	1595	1,24	-	-	-	-	-	-
74	viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$	1595	31,65	1602	2,16	-	-	-	-	-	-
75	Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	1599	-	-	-	-	-	-	32,65	1607	0,23
76	Cubeban-11-ol	$C_{15}H_{26}O$	1601	31,91	1611	2,27	-	-	-	-	-	-
77	rosifoliol	$C_{15}H_{26}O$	1615	32,14	1620	0,62	-	-	-	-	-	-

78	humulene epoxidell	$C_{15}H_{24}O$	1520	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	γ-eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	1646	32,96	1648	0,29	-	-	-	-	-	-
80	*β*-asarone	$C_{12}H_{16}O_3$	1650	-	-	-	-	-	-	34,09	1658	0,73
81	*β*-muurolol	$C_{15}H_{26}O$	1654	-	-	-	-	-	-	34,18	1661	0,24
82	*β*-cadinol	$C_{15}H_{26}O$	1665	33,58	1670	0,74	-	-	-	34,55	1674	0,84
83	Neo-intermedeol	$C_{15}H_{26}O$	1670	33,67	1674	1,01	-	-	-	-	-	-
84	*β*-asarone	$C_{12}H_{16}O_3$	1678	-	-	-	34,38	1684	0,98	34,88	1686	0,14
85	Eudesm-7(11)-en-4-ol	$C_{15}H_{26}O$	1709	34,90	1718	13,41	-	-	-	-	-	-
86	(Z)-ligustilide	$C_{12}H_{14}O_2$	1741	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	n-tetradecanoic acid	$C_{14}H_{28}O$	1759	35,97	1758	0,18	-	-	-	-	-	-
88	isophytol	$C_{20}H_{40}O$	1946	40,86	1949	0,12	-	-	-	-	-	-
89	n-hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	1959	41,17	1962	1,31	-	-	-	-	-	-
90	phytol	$C_{20}H_{40}O$	2122	44,81	2117	7,23	-	-	-	-	-	-
91	Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O$	2132	45,30	2139	2,45	-	-	-	-	-	-
92	Linolenic acid	$C_{18}H_{32}O$	2143	45,44	2145	2,31	-	-	-	-	-	-
	Monoterpene hydrocarbon			5 (2,46%)			7 (3,21%)			10 (7,58%)		
	Oxigenated monoterpene			7 (5,41%)			2 (3,5%)			2 (0,43%)		
	Sesquiterpene hydrocarbon			17 (46,84%)			9 (6,0%)			11 (6,53%)		
	Oxigenated sesquiterpene			11 (23,29%)			2 (15,75%)			5 (1,96%)		
	Benzenoid			1 (0,17%)			6 (67,84%)			5 (82,03%)		
	Khác			8 (14,88%)			-			-		
	Tổng số			**93,05%**			**96,30%**			**98,78%**		

4.2. Các hợp chất phân lập được từ các loài *Asarum*

Có 34 hợp chất được phân lập từ các loài chi *Asarum* thể hiện như bảng 4.25. Trong đó, có 2 hợp chất mới.

Bảng 4.25. Các hợp chất phân lập được từ các loài nghiên cứu

Tên hợp chất	Lớp chất	Loài phân lập	KL (mg)	Tính mới
Chalcononaringenin 2′,4-di-O-*β*-D-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	5,0	M
Asageoside	Alkaloid	*A. geophilum*	6,0	M
Naringenin	Flavonoid	*A. geophilum* *A. yentuense*	60 6,0	L
Naringenin 5-O-*β*-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	11,0	L
Naringenin 7-O-*β*-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	6,3	L
Naringenin 5,7-di-O-*β*-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	6,0	L
Vitexin	Flavonoid	*A. geophilum* *A. yentuense*	4,0 7,0	L
Isorhamnetin 3-O-[*β*-rhamnopyranosyl-(1→6)-*β*-D glucopyranoside]	Flavonoid	*A. geophilum*	5,8	L
Isorhamnetin 3-O-*β*-D-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	5,7	L
Cacticin	Flavonoid	*A. geophilum*	5,0	L
Kaempferol	Flavonoid	*A. geophilum* *A. yentuense* *A. cordifolium*	7,0 6,0 9,5	L
Kaempferol 3-O-*β*-rhamnopyranosyl-(1→6)-*β*-galactopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum* *A. cordifolium*	5,8 8,8	L
Luteoside	Flavonoid	*A. geophilum* *A. yentuense*	5,1 5,0	L
Kaempferol 3-O-(2,6-di-*β*-L-rhamnopyranosyl)-*β*-D-galactopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	16,0	L
Alangiflavoside	Flavonoid	*A. geophilum*	4,0	L
Quercetin 3-O-(2,6-di-*β*-L-rhamnopyranosyl)-*β*-D-galactopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	34,0	L
Quercetin 3-O-*β*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)- [*β*-rhamnopyranosyl-(1→6)]-*β*-galactopyranosyl-7-O-*β*-glucopyranoside	Flavonoid	*A. geophilum*	4,0	L
Aureusidin 4,6-di-O-glucoside	Flavonoid	*A. geophilum*	13,0	L
Elemicin	Phenylpropanoid	*A. cordifolium*	30,0	
Methyl eugenol	Phenylpropanoid	*A. cordifolium*	25,3	L
β-sitosterol	Steroid (Phytosterol)	*A. cordifolium*	11,2	L
Quercetin	Flavonoid	*A. cordifolium*	10,5	L

Daucosterol	Steroid (Phytosterol)	*A. cordifolium* *A. yentuense*	13,0 90,0	L
5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone	Flavonoid	*A. yentuense*	20,0	L
Luteolin -7-O-*β*-D-glucopyranoside	Flavonoid	*A. yentuense*	5,0	L

M: Hợp chất mới L: lần đầu tiên phân lập từ loài

4.2.1. Chalcone glycoside mới: chalcononaringenin 2',4-di-O- β -glucopyranoside (AG1)

Hợp chất **AG1** thu được có dạng bột màu trắng. Trên phổ khối HR-ESI-MS cho biết pic ion giả phân tử tại $[M+H]^+$ ở *m/z* 597,1810 amu (tính toán theo lý thuyết cho $[C_{27}H_{33}O_{15}]^+$ là 597,1814). Do vậy công thức phân tử của **AG1** dự kiến được xác định là $C_{27}H_{32}O_{15}$.

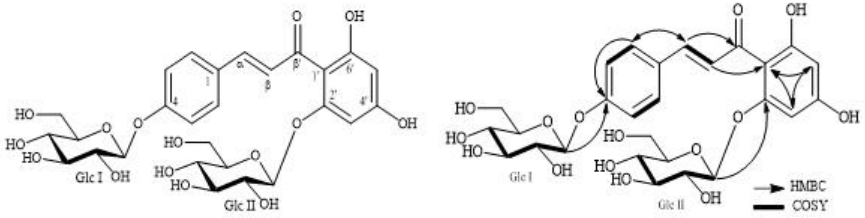
Phổ ^{1}H-NMR của **AG1** cho thấy tín hiệu của hai proton olefin ở vị trí *trans* tại δ_H 7,73 (1H, d, J = 15,6 Hz, H-β) và 7,98 (1H, d, J = 15,6 Hz, H-β) đặc trưng của khung chalcone. Vùng trường thấp xuất hiện các tín hiệu proton đặc trưng cho vòng benzen thế tại vị trí *para* (hệ spin AA'BB') tại δ_H 6,86 (2H, d, J = 8,4 Hz) và 7,64 (2H, d, J = 8,4 Hz). Bên cạnh đó, hai tín hiệu proton dạng doublet tại δ_H 6,30 và 6,53 với hằng số tương tác J nhỏ (J = 2,4 Hz) được gán cho hai proton ở vị trí *meta* của một vòng thơm thế bốn vị trí. Ngoài ra, phổ còn xuất hiện hai tín hiệu proton anomer tại δ_H 5,06 (1H, d, J = 7,2 Hz) và 5,22 (1H, d, J = 7,8 Hz), điều này gợi ý cho sự hiện diện của hai đơn vị đường.

Kết hợp các dữ liệu phổ ^{13}C-NMR và HSQC cho biết trong phân tử **AG1** có 27 nguyên tử carbon, bao gồm: 01 carbon thuộc nhóm carbonyl tại δ_C 195,0 ppm; 06 carbon mạch nhánh (δ_C 109,3; 128,3; 161,1; 161,4; 164,4 và 166,5); 18 cacbon methine (bao gồm các carbon thuộc phần đường và vòng thơm trong khoảng δ_C 71,5 – 145,2) và 02 nhóm methylene thuộc đường tại δC 62,7 ppm và 62,8 ppm (Bảng 10).

So sánh dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **AG1** và tài liệu tham khảo cho thấy, cấu trúc của **AG1** tương đồng với phổ của hợp chất chalcononaringenin 2′,4′-di-O-*β*-D-glucopyranoside đã được công bố [44], tuy nhiên có sự khác biệt, đó là vị trí liên kết với các đơn vị đường. Điều

này được thể hiện trên phổ HMBC của **AG1,** trên phổ quan sát được tương tác giữa H-β (δ_H 7,98)/H-β (δ_H 7,73) với C-β' (δ_C 195,0) khẳng định sự tồn tại của cầu nối enone đặc trưng của chalcone. Các tương tác từ H-2/H-6 đến C-4/C-β; từ H-3′ đến C-1′/C-2′/C-5′ và từ H-5′ đến C-1′/C-3′/C-4′/C-6′ giúp xác định vị trí của bốn nhóm thế oxy hóa tại C-4, C-2′, C-4′ và C-6′.

Sự có mặt của hai phân tử D-glucopyranosyl được xác định bởi độ dịch chuyển hóa học của các carbon đường và cấu hình β-glycoside được xác định dựa trên hằng số tương tác của hai proton anomer (J = 7,2 và 7,8 Hz). Vị trí liên kết của hai đơn vị đường này được xác định chính xác nhờ các tương tác giữa các carbon và proton trên phổ HMBC proton anomer của đơn vị đường thứ nhất (GlcI H-1, δ_H 5,22) tương tác với C-4 (δ_C 161,4) và proton anomer của đơn vị đường thứ hai (GlcII H-1, δ_H 5,06) tương tác với C-2′ (δ_C 164,4). Từ các phân tích trên, cấu trúc của hợp chất **AG1** được xác định là một hợp chất mới với tên gọi chalcononaringenin 2′,4-di-*O*-β-D-glucopyranoside.



Hình 4.2. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của **AG1**

Bảng 4.2. Dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **AG1** (^{1}H: 600 MHz, ^{13}C: 125 MHz, CD_3OD) và chất tham khảo

C	AG1		[44] chalcononaringenin 2′,4′-di-*O*-β-D-glucopyranoside	
	δ_C	δ_H (mult., *J* in Hz)	#δ_C	#δ_H (mult., *J* in Hz)
β	145,2	7,73 (d; 15,6)	125,2	8,66 (d; 15,3)
β	125,6	7,98 (d; 15,6)	144,4	8,17 (d; 15,3)
β'	195,0	-	193,9	-

1	128,3	-	127,3	-
2, 6	132,0	7,64 (d; 8,4)	131,7	7,96 (d; 8,6)
3, 5	117,0	6,86 (d; 8,4)	116,9	7,06 (d; 8,6)
4	161,4	-	161,0	-
1′	109,3	-	108,4	-
2′	164,4	-	164,2	-
3′	99,7	6,30 (d; 2,4)	98,9	7,19 (d; 2,1)
4′	166,5	-	166,7	-
5′	95,8	6,53 (d; 2,4)	95,7	6,66 (d; 2,1)
6′	161,1	-	161,6	-
Glc I				
1	101,7	5,22 (d; 7,8)	102,0	5,93 (d; 7,6)
2	75,0	3,58 (dd; 7,8; 9,0)	75,1	
3	78,4	3,53 (t; 9,0)	79,0	
4	71,6	3,37 (t; 9,0)	71,6	
5	78,9	3,63 (m)	79,1	
6	62,8	3,70 (dd; 6,6; 12,0) 3,95 (dd; 2,4; 12,0)	62,5	
Glc II				
1	101,1	5,06 (d; 7,2)	101,1	5,90 (d; 7,9)
2	74,7	3,47 (dd; 7,2; 9,0)	74,8	
3	77,9	3,49 (t; 9,0)	78,5	
4	71,5	3,39 (t; 9,0)	71,7	
5	78,5	3,64 (m)	79,0	
6	62,7	3,72 (dd; 6,6; 12,0) 3,97 (dd; 2,4; 12,0)	62,7	

#δ_H và #δ_C của chalcononaringenin 2′,4′-di-O-β-D-glucopyranoside (^{1}H: 500 MHz, ^{13}C: 125 MHz, pyridine-d_5) [44]

4.2.2. Alkaloid mới: asageoside (AG2)

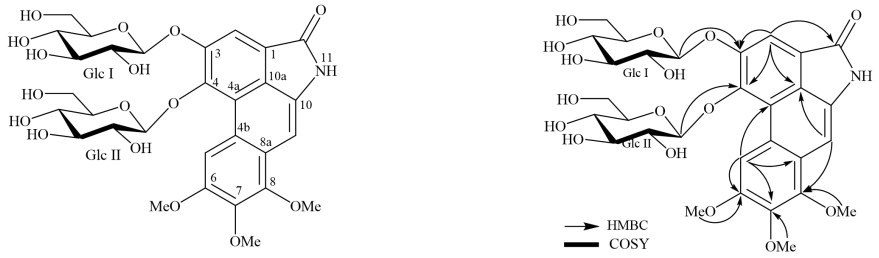
Hợp chất **AG2** phân lập được có dạng vô định hình. Trên phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS quan sát thấy pic ion giả phân tử $[M+H]^+$ ở *m/z* 666,2033, tính toán theo lý thuyết cho công thức phân tử là $C_{30}H_{36}O_{15}N$.

Phổ ^{1}H-NMR của **AG2** xuất hiện tín hiệu của 03 proton ở dạng singlet tại δ_H 7,40 ppm (H-9); 8,12 ppm (H-2) và 8,93 ppm (H-5) là đặc trưng của khung phenanthrene. Ngoài ra, trên phổ còn xuất hiện tín hiệu của ba nhóm methoxy dạng singlet tại δ_H 3,99; 4,01 và 4,09 (s, 3H) cùng với tín hiệu của 02 proton anomer tại δ_H 5,06 (1H, d, J = 7,8 Hz) và 5,79

(1H, d, J = 7,8 Hz), gợi ý sự tồn tại của hai đơn vị đường trong phân tử.

Kết hợp các dữ kiện phổ ^{13}C-NMR và HSQC của **AG2** xác nhận sự có mặt của 30 nguyên tử carbon, bao gồm: 01 carbon thuộc nhóm carbonyl, 11 carbon mạch nhánh, 03 nhóm cacbon methine (CH) thuộc vòng thơm, 10 nhóm cacbon methine (thuộc phần đường), 02 nhóm cacbon methylene (CH_2) và 03 nhóm methoxy (OCH_3). Điều này hoàn toàn phù hợp với tín hiệu của các proton trên phổ ^{1}H-NMR. Sự phân bố các tín hiệu carbon này phù hợp với cấu trúc của một dẫn xuất glycoside có phần aglycone là khung phenanthrene chứa nitơ (dẫn xuất aristolochic acid hay khung aristolactam) [127].

Vị trí của các nhóm thế trên khung phenanthrene được xác định chính xác nhờ các tương tác xa trên phổ HMBC và tương tác không gian trên phổ NOES. Trên phổ HMBC quan sát thấy tương tác giữa các nhóm methoxy tại δ_H 4,09; 3,99 và 4,01 với C-6 (δ_C 152,5), C-7 (δ_C 143,2) và C-8 (δ_C 150,2), khẳng định vị trí gắn kết tại C-6, C-7 và C-8. Kết luận này được củng cố thêm bởi phổ NOESY với các tương tác không gian giữa proton nhóm 6-methoxy (δ_H 4,09) với H-5 (δ_H 8,93) và giữa proton nhóm 8-methoxy (δ_H 4,01) với H-9 (δ_H 7,40).



Hình 4.3. Cấu trúc hóa học và tương tác chính HMBC (H→C) của **AG2**

Về phần đường, các giá trị dịch chuyển hóa học trên phổ ^{13}C-NMR và hằng số tương tác J lớn của hai proton anomer (J = 7,8 Hz), cho phép xác định cả hai đơn vị đường đều là β-D-glucopyranosyl, chính là điểm mấu chốt để xác định cấu trúc nằm ở vị trí liên kết của hai mạch đường này. Phổ HMBC quan sát thấy tương tác của proton anomer thuộc đơn vị đường

thứ nhất (GlcI H-1, δ_H 5,06) với carbon C-3 (δ_C 152,7) và tương tác giữa proton anomer của đơn vị đường thứ hai (GlcII H-1, δ_H 5,79) với carbon C-4 (δ_C 149,3) ~~của~~ thuộc khung phenanthrene. Do vậy, hai đơn vị Glc gắn với C3 và C4.

Kết hợp các dữ liệu phổ thực nghiệm nêu trên, cấu trúc hóa học của hợp chất **AG2** được xác định là một hợp chất mới và được đặt tên là asageoside.

Bảng 4.3. Dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **AG2** (^{1}H: 600 MHz, ^{13}C: 125 MHz, CD_3OD) và chất tham khảo

	AG2		**[127]**	
C	**δ_C**	**δ_H (mult., *J* in Hz)**	**#δ_C**	**#δ_H (mult., *J* in Hz)**
1	123,0	-	121,7	-
2	115,9	8,12 (s)	110,8	7,84 (s)
3	152,7	-	155,3	-
4	149,3	-	150,7	-
4a	123,5	-	135,2	-
4b	124,9	-	120,2	-
5	108,3	8,93 (s)	127,7	9,11 (dd; 1,1; 5,2; 7,8)
6	152,5	-	125,7	7,55 (ddd;1,2;7,2;6,0; 8,4)
7	143,2	-	127,1	7,55 (dd;1,2; 7,2; 6,0; 8,4)
8	150,2	-	129,3	7,92 (d; 0,6; 8,4; 7,8)
8a	126,0	-	126,2	-
9	101,8	7,40 (s)	104,9	7,12 (s)
10	134,2	-	135,1	-
10a	125,6	-	123,5	-
11	171,1	-	168,6	-
6-OCH_3	56,8	4,09 (s)	-	-
7-OCH_3	61,5	3,99 (s)	-	-
8-OCH_3	62,1	4,01 (s)	-	-
Glc I			-	-
1	104,7	5,06 (d, 7,8)	-	-
2	75,1	3,72 (dd, 7,8; 9,0)	-	-
3	77,4	3,57 (m)	-	-
4	71,2	3,55 (m)	-	-
5	78,5	3,57 (m)	-	-
6	62,4	3,83 (dd, 4,8; 12,0) 4,00 (dd, 2,4; 12,0)	-	-
Glc II			-	-
1	105,1	5,79 (d, 7,8)	-	-

2	76,6	3,81 (dd, 7,8; 9,0)	-	-
3	78,2	3,58 (m)	-	-
4	71,6	3,42 (t, 9,0)	-	-
5	78,6	3,27 (m)	-	-
6	62,4	3,52 (dd, 5,4; 12,0) 3,63 (dd, 2,4; 12,0)	-	-
3-OCH_3	-	-	57,0	4,03 (s)
4-OCH_3	-	-	60,1	4,02 (s)

#δ_H và #δ_C của aristolactam BII (^{1}H: 500 MHz, ^{13}C: 125 MHz, DMSO-d_6) [127]

4.3. Hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập

4.3.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Dựa trên kết quả sàng lọc sơ bộ của cặn chiết tổng, các hợp chất tinh khiết phân lập từ hai loài *A. cordifolium* và *A. geophilum* đã được lựa chọn để đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của các chủng vi sinh vật kiểm định. Kết quả thực nghiệm cho thấy sự phân hóa rõ rệt về hoạt tính giữa các nhóm chất:

Đối với nhóm hợp chất phenylpropanoid phân lập từ *A. cordifolium*: Hợp chất elemicin (**AC1**) thể hiện phổ kháng khuẩn rộng nhất, có khả năng ức chế sự phát triển của 7/11 chủng vi sinh vật thử nghiệm (bao gồm cả vi khuẩn Gram âm, Gram dương và nấm) với giá trị MIC là 200 µg/ml. Trong khi đó, methyl eugenol (**AC2**) lại thể hiện tác dụng chọn lọc đặc hiệu trên 03 chủng nấm: *Aspergillus niger, Fusarium oxysporum* và *Phytophthora infestans* (MIC = 200 µg/ml). Kết quả này gợi ý vai trò quan trọng của nhóm phenylpropanoid trong cơ chế tự bảo vệ của thực vật trước các tác nhân gây bệnh từ nấm.

Đối với nhóm hợp chất flavonoid glycoside phân lập từ *A. geophilum*: Các dẫn xuất của quercetin, kaempferol và naringenin cho thấy hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ và chuyên biệt hơn. Nổi bật nhất là naringenin (**AG3**), hợp chất này thể hiện khả năng ức chế vượt trội đối với phẩy khuẩn tả (*Vibrio cholerae*) và nấm *Cryptococcus neoformans* với giá trị MIC rất thấp, lần lượt là 16-32 µg/ml và 32 µg/ml. Các hợp chất khác như isorhamnetin 3-O-*β*-D-glucopyranoside (**AG2**), cacticin (**AG4**) và alangiflavoside (**AG8**) cũng thể hiện hoạt tính ức chế tốt (MIC 50-200

µg/ml) trên các chủng *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* và *Bacillus subtilis*.

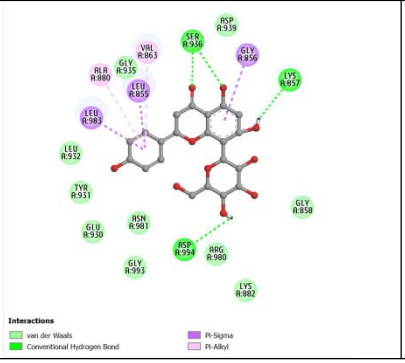
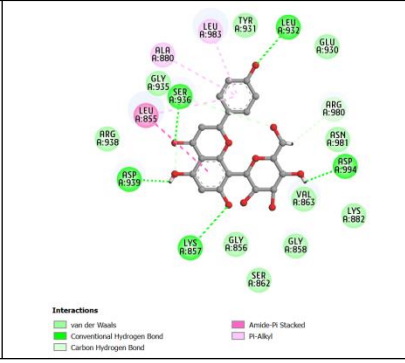
4.3.2. Hoạt tính bảo vệ tế bào gan và gây độc tế bào

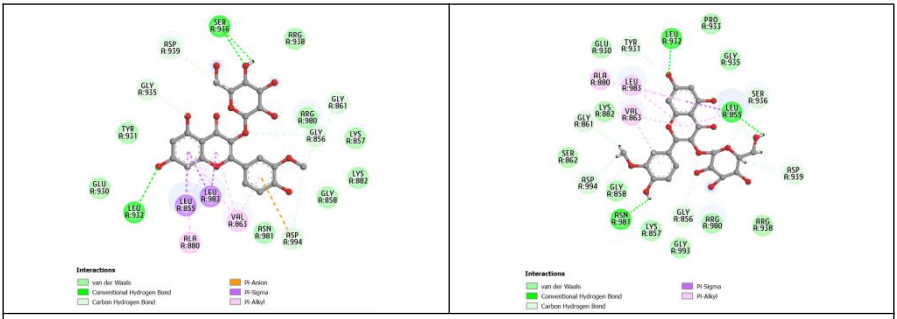
Hoạt tính bảo vệ gan của các hợp chất phân lập được đánh giá trên dòng tế bào ung thư gan người (Hep-G2) dưới tác động gây độc của CCl4. Kết quả cho thấy mối liên quan chặt chẽ giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học:

Hợp chất kaempferol (**AG11**) thể hiện hoạt tính bảo vệ tế bào gan mạnh nhất trong số các chất thử nghiệm, với giá trị IC_{50} đạt 13,4 ± 1,2 µg/mL. Cơ chế tác dụng được dự đoán là do cấu trúc aglycone nhỏ gọn, giúp phân tử dễ dàng thâm nhập qua màng tế bào để thực hiện chức năng dọn dẹp gốc tự do nội bào. Ngược lại, dẫn xuất glycoside cồng kềnh hơn là quercetin 3-O-glycoside (**AG16**) chỉ thể hiện hoạt tính ở mức trung bình (IC_{50} = 73,6 ± 9,1 µg/ml). Điều này khẳng định vai trò quan trọng của gốc đường trong việc điều biến hoạt tính dược lý của khung flavonoid.

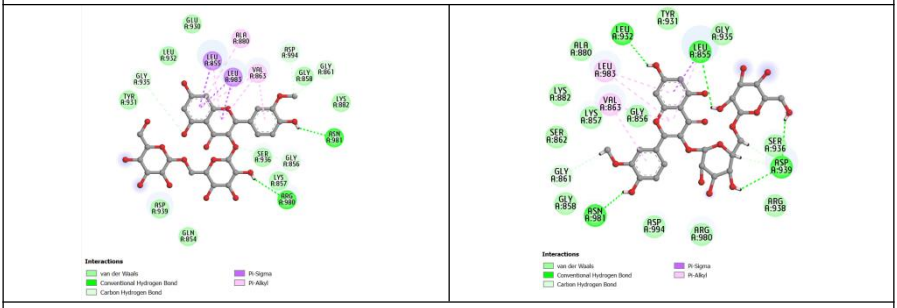
4.3.3. Nghiên cứu sàng lọc in silico trên đích tác dụng JAK2

Để làm sáng tỏ cơ chế phân tử tiềm năng cho tác dụng kháng viêm và hỗ trợ điều trị ung thư, 18 hợp chất phân lập từ *A. geophilum* đã được nghiên cứu thông qua phương pháp mô phỏng kết nối phân tử (Molecular Docking) trên protein đích Janus Kinase 2 (JAK2). Sơ đồ tương tác 2D của cấu trúc MD được gắn với các hợp chất tiềm năng trong vùng hoạt động của protein JAK2 như sau:

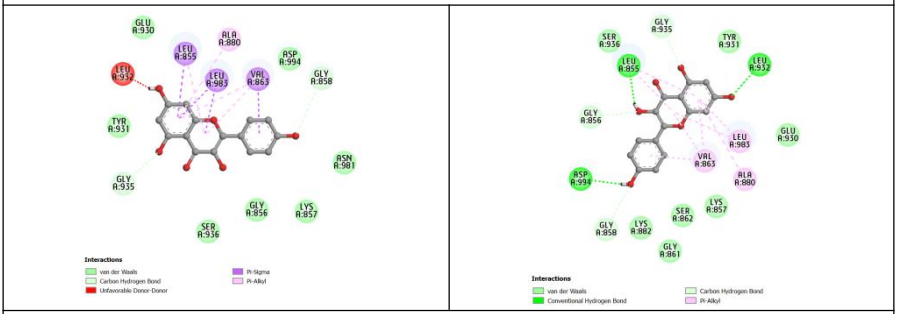
Docked pose	MD-refined pose
	
AG7	



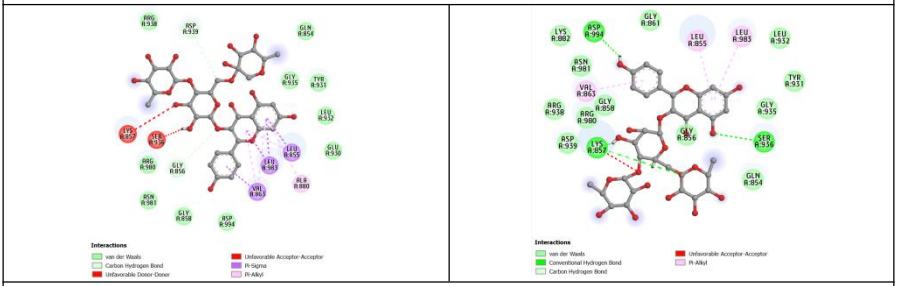
AG8



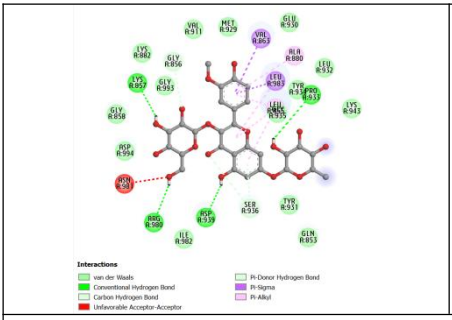
AG9



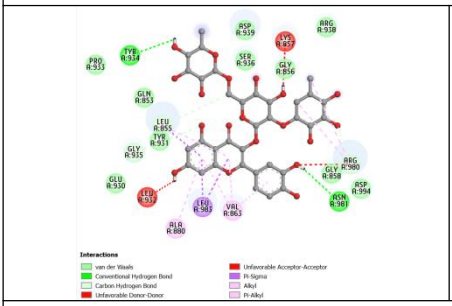
AG11



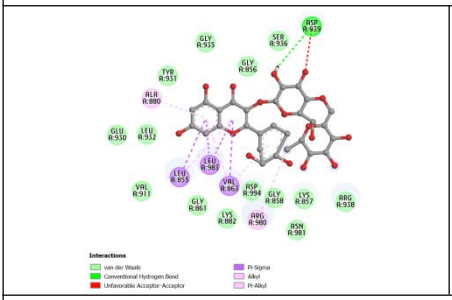
AG12



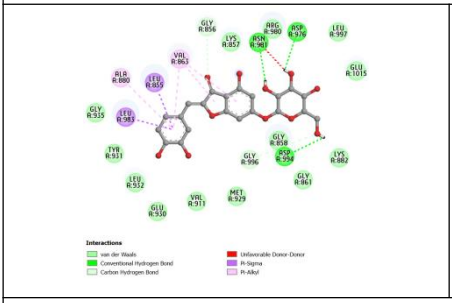
AG13



AG14



AG16



AG18

KẾT LUẬN

Luận án đã thực hiện nghiên cứu một cách hệ thống về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của 03 loài thuộc chi *Asarum* tại Việt Nam: *A. cordifolium, A. yentuense,* và *A. geophilum*. Các kết quả chính đạt được như sau:

1. Về thành phần hóa học các chất sạch phân lập được: Bằng việc kết hợp các phương pháp sắc ký và các kỹ thuật phổ hiện đại (NMR 1D, 2D, MS), đã phân lập và xác định cấu trúc của tổng cộng 34 hợp chất (trùng lặp 06 hợp chất) từ phần trên mặt đất của 03 loài nghiên cứu:

Từ loài *A. cordifolium*: Phân lập và xác định cấu trúc được 08 hợp chất, chủ yếu thuộc nhóm flavonoid và terpenoid.

Từ loài *A. geophilum***:** Phân lập và xác định cấu trúc được 18 hợp chất. Đáng chú ý, đã phát hiện 02 hợp chất mới là chalcononaringenin 2′,4-di-O-*β*-D-glucopyranoside (**AG1**) và asageoside (**AG2**).

Từ loài *A. yentuense*: Phân lập và xác định cấu trúc được 08 hợp chất, với thành phần chính là flavonoid

2. Về thành phần hóa học tinh dầu: Đã xác định thành phần hóa học tinh dầu của 3 loài, trong đó lần đầu tiên công bố dữ liệu về tinh dầu của *A. yentuense*. Trong đó, *β*-pinene, *β*-pinene và (*E*)-nerolidol có mặt ở cả 3 loài. Ngoài ra, có sự khác biệt đặc trưng:

Loài *A. geophilum*: Ưu thế thuộc về nhóm sesquiterpene, với các thành phần chính là 9-epi-(E)-caryophyllene và eudesm-7(11)-en-4-ol.

Loài *A. yentuense*: Thành phần chính là elemicin (77,20%).

Loài *A. cordifolium*: Thành phần chính là safrole (64,74%).

3. Về hoạt tính sinh học:

Đối với hoạt tính của tinh dầu: Kháng khuẩn, kháng nấm: Cả 4 loại tinh dầu đều thể hiện hoạt tính ức chế tốt (MIC 100-200 µg/ml) trên các chủng kiểm định như *E. coli, S. aureus, C. albicans*.

Kháng oxy hóa: Tinh dầu *A. geophilum* có hoạt tính mạnh nhất (SC_{50} = 28,57 µg/ml), tiếp đến là *A. cordifolium*.

Các hợp chất flavonol glycoside (như chất số **AG3**, **AG4**, **AG8**, **AG9**) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh (MIC 50-200 µg/ml) trên nhiều chủng vi khuẩn và nấm. Đặc biệt, hợp chất **AG3** ức chế tốt *Vibrio cholerae* và *Cryptococcus neoforman* (MIC 16-32 µg/ml).

Bảo vệ gan: Kaempferol và quercetin glycoside (AG17) thể hiện hoạt tính bảo vệ tế bào gan tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 13,4 và 73,6 µg/ml.

4. Kết quả mô phỏng kết nối phân tử (Molecular Docking): Nghiên cứu *in silico* trên protein đích JAK2 cho thấy: Hợp chất **AG14** có ái lực liên kết mạnh nhất (ΔG_{LIE} = -21,7751 kcal/mol), vượt trội so với các chất ức chế tham chiếu. Kết quả này gợi mở tiềm năng ứng dụng của các hợp chất từ *Asarum* trong phát triển các thuốc chống viêm và hỗ trợ điều trị ung thư mới.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả khả quan về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, luận án đề xuất nghiên cứu sâu hơn trong tương lai:

Tiếp tục nghiên cứu chuyên sâu: Cần mở rộng nghiên cứu về cơ chế tác dụng ở mức phân tử (molecular mechanism) của các hợp chất tiềm năng đã phân lập được.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án là công trình nghiên cứu khoa học có hệ thống về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài thuộc chi *Asarum* tại Việt Nam. Những đóng góp mới cụ thể bao gồm:

Đây là công trình đầu tiên tại Việt Nam tiến hành khảo sát toàn diện về thành phần hóa học của ba loại tinh dầu và hợp chất từ dịch chiết của hai loài đặc hữu và ít được nghiên cứu là Tế tân Yên Tử (*Asarum yentuense*) và Tế tân lá hình tim (*Asarum cordifolium*).

Đã xác định chi tiết hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu 03 loài nghiên cứu (*A. cordifolium, A. geophilum, A. yentuense*), chỉ ra được các marker hóa học đặc trưng (như elemicin, safrole, 9-epi-(E)-caryophyllene) giúp phân biệt các loài *Asarum* Việt Nam.

Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc của một loạt các hợp chất sạch từ các loài này tại Việt Nam. Đặc biệt, luận án đã xác định cấu trúc của 02 hợp chất mới, đóng góp vào kho tàng hợp chất thiên nhiên thế giới, bao gồm: Chalcononaringenin 2′,4-di-O-*β*-D-glucopyranoside (**AG1**) - một hợp chất thuộc nhóm chalcone glycoside và asageoside (**AG2**) - một hợp chất mới thuộc nhóm alkaloid (khung aristolactam glycoside).

Đã cung cấp những dẫn liệu khoa học đầu tiên về khả năng gây độc tế bào trên dòng ung thư gan Hep-G2 ở người và kháng khuẩn, kháng nấm của các phân đoạn dịch chiết và hợp chất sạch từ loài 3 loài chi *Asarum* nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu mô phỏng kết nối phân tử đã bước đầu làm sáng tỏ cơ chế tương tác giữa các hoạt chất chính phân lập được với protein đích Janus kinase 2 (JAK2), cung cấp cơ sở lý thuyết quan trọng cho các nghiên cứu dược lý tiếp theo.