

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



TRẦN VĂN QUANG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT, THÀNH PHẦN HÓA HỌC, TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ TRÊN MÔ HÌNH RUỒI GIÁM CHUYỂN GEN hAPP CỦA LOÀI VIỄN CHÍ BA SỪNG (*Polygala karensium* Kurz) THU HÁI Ở SA PA, LÀO CAI

Chuyên ngành: Dược liệu- Dược học cổ truyền

Mã số 972.02.06

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2023

Công trình được hoàn thành tại :

1. Viện Dược liệu Trung ương
2. Viện Đào tạo Dược- Học viện Quân y
3. Viện Hóa sinh biển, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
4. Viện nghiên cứu ứng dụng và dịch vụ phân tích thí nghiệm thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học :

1. PGS.TS. **Nguyễn Thượng Đông**
2. PGS.TS. **Phạm Thị Nguyệt Hằng**

Phản biện 1 :

Phản biện 2 :

Phản biện 3 :

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm Luận án cấp Viện
họp tại :

Vào hồigiờ.....ngày.....tháng..... năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện :

Thư viện Quốc gia VN

Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của Luận án

Cây Viễn chí ba sừng có tên khoa học là *Polygala karensium* Kurz, thuộc họ Viễn chí (Polygalaceae), là cây thuốc phân bố ở một số quốc gia Châu Á như Việt Nam, Bhutan, Trung Quốc... Ở nước ta, Viễn chí ba sừng phân bố chủ yếu ở vùng núi có độ cao trên 1000m như Sapa, Tam Đảo...

Viễn chí ba sừng là cây thuốc được sử dụng từ lâu trong y học cổ truyền và theo kinh nghiệm dân gian ở cả Trung Quốc và Việt Nam. Ở Trung Quốc, rễ và vỏ cây Viễn chí ba sừng được sử dụng để làm thuốc bổ tăng cường sinh lực, tăng cường trí nhớ. Người dân tộc vùng Sapa cũng dùng rễ Viễn chí ba sừng chữa các bệnh đau nhức xương khớp, bồi bổ sức khỏe và tăng cường trí nhớ cho người già, người ốm lâu ngày. Tuy nhiên cho đến nay còn ít các nghiên cứu về thành phần hóa học và chưa có nghiên cứu tác dụng sinh học chống suy giảm trí nhớ của loài *Polygala karensium* Kurz được công bố ở cả Việt Nam và thế giới.

Xuất phát từ thực tế trên, nghiên cứu sinh lựa chọn đề tài **“nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học, tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình ruồi giấm chuyển gen hAPP của loài viễn chí ba sừng (*Polygala karensium* Kurz) thu hái ở Sa Pa, Lào Cai”** nhằm nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Viễn chí ba sừng, từ đó tạo cơ sở khoa học cho việc giải thích công dụng của Viễn chí ba sừng trong y học cổ truyền và định hướng cho việc phát triển thuốc từ dược liệu này trong y học hiện đại.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

Mục tiêu 1: Xác định được đặc điểm thực vật và thẩm định tên khoa học.

Mục tiêu 2: Xác định được thành phần hóa học của rễ cây Viễn chí ba sừng

Mục tiêu 3: Đánh giá được tác dụng dược lý về khả năng cải thiện trí nhớ ngắn hạn và hành vi vận động trên ruồi giấm của rễ cây Viễn chí ba sừng.

2.2. Nội dung của Luận án

Về thực vật

- Thu thập mẫu, mô tả đặc điểm hình thái để thẩm định tên khoa học của cây Viễn chí ba sừng.

- Xác định các đặc điểm vi học của rễ cây Viễn chí ba sừng.

Về hóa học

- Định tính các nhóm chất hữu cơ có trong rễ cây Viễn chí ba sừng.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các chất phân lập được trong rễ cây Viễn chí ba sừng.

Về tác dụng sinh học

- Đánh giá tác dụng của các phân đoạn cao chiết từ rễ cây Viễn chí ba sừng về cải thiện khả năng di chuyển trên mô hình vận động của ruồi giấm trưởng thành mang gen bệnh Alzheimer hAPP.

- Đánh giá tác dụng của các phân đoạn cao chiết từ rễ cây Viễn chí ba sừng về cải thiện khả năng di chuyển trên mô hình vận động của ấu trùng bậc ba ruồi giấm thành mang gen bệnh Alzheimer hAPP.

- Đánh giá tác dụng của các phân đoạn cao chiết từ rễ cây Viễn chí ba sừng về khả năng cải thiện sự suy giảm trí nhớ ngắn hạn trên

mô hình đánh giá trí nhớ ngắn hạn của ấu trùng bậc ba ruồi giấm thành mang gen bệnh Alzheimer hAPP.

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về thực vật học

Luận án là tài liệu đầu tiên mô tả chi tiết đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu thân, rễ cây Viễn chí ba sừng thu hái tại Sa Pa, Lào Cai.

3.2. Về hóa học

Từ rễ của loài *Polygala karensium* Kurz (Polygalaceae), đã xác định được cấu trúc của 17 hợp chất, trong đó có 3 hợp chất mới và 14 hợp chất đã biết.

Ba hợp chất mới lần đầu phân lập được trong thiên nhiên gồm hai chất sucrose ester là karensucrose A (VC2), karensucrose B (VC3), một chất xanthon mới là karenxanthon (VC11).

Trong 14 hợp chất đã biết, theo tham khảo các tài liệu cho thấy 9 hợp chất VC5, VC7, VC9, VC19, VC12, VC13, VC14, VC16, VC17 là các hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ loài *Polygala karensium* Kurz

3.3. Về tác dụng sinh học

Đây là lần đầu, nghiên cứu về tác dụng sinh học của một loài thuộc chi *Polygala* sử dụng mô hình ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer.

Luận án là công bố đầu tiên tác dụng sinh học của loài *Polygala karensium* Kurz thu hái ở Sa Pa, Lào Cai có tác dụng cải thiện hành vi thần kinh bệnh Alzheimer của ruồi giấm chuyển gen biểu hiện protein APP ở người thông qua các tiêu chí bao gồm cải thiện sự suy giảm trí nhớ ngắn hạn bằng thử nghiệm trí nhớ mùi của ấu trùng bậc ba ruồi giấm; cải thiện thiếu hụt hành vi vận động bằng thử nghiệm

bò của ấu trùng bậc ba ruồi giấm và thử nghiệm leo trèo của ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer trưởng thành.

4. Ý nghĩa của Luận án

Đây là lần đầu tiên loài *Polygala karensium* Kurz ở Sa Pa Lào Cai, Việt Nam được nghiên cứu tương đối đầy đủ về thực vật, thành phần hóa học và tác dụng sinh học.

- Tên khoa học của mẫu nghiên cứu đã được xác định giúp cho các kết quả nghiên cứu về hóa học và tác dụng sinh học được khẳng định rõ nguồn gốc.

- Đặc điểm vi học góp phần nhận biết và tiêu chuẩn hóa dược liệu.

- Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học: đã phân lập được 17 hợp chất ở các phân đoạn chiết khác nhau, trong đó có 3 hợp chất mới, 9 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ loài *Polygala karensium* Kurz.

Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học đã giúp bổ sung tư liệu cho ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên nói chung cũng như loài *Polygala karensium* Kurz nói riêng.

- Kết quả nghiên cứu về tác dụng sinh học chứng minh các phân đoạn cao chiết từ rễ của loài *Polygala karensium* Kurz có cải thiện thiếu hụt hành vi vận động và có tác dụng cải thiện trí nhớ ngắn hạn trên mô hình ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer hAPP.

Đây là cơ sở khoa học giải thích việc sử dụng loài này trong dân gian và mở ra triển vọng nghiên cứu đầy đủ hơn để có thể sử dụng rộng rãi dược liệu này theo hướng điều trị bệnh Alzheimer.

5. Bố cục của Luận án

Luận án có 121 trang, gồm 4 chương, 19 bảng, 38 hình, 228 tài liệu tham khảo và phần phụ lục. Các phần chính trong Luận án: Đặt

vấn đề (2 trang), Tổng quan (33 trang), Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (17 trang), Thực nghiệm và kết quả (50 trang), Bàn luận (13 trang), Kết luận và kiến nghị (2 trang).

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Phần tổng quan đã tổng hợp và trình bày tương đối đầy đủ các nội dung về thực vật hóa học và tác dụng sinh học của chi *Polygala* và loài *Polygala karensium* Kurz trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1 Nguyên liệu nghiên cứu

Mẫu dược liệu được Trần Văn Quang thu hái nhiều lần tại vùng núi thị trấn Sa Pa, Lào Cai trong năm 2015, bước đầu được định danh tên khoa học *Polygala karensium* Kurz, họ Viền chí, còn có tên đồng danh là *Polygala tricornis* Gagnep, thuộc họ Viền chí (Polygalaceae). Tên Việt Nam gọi là viền chí trắng, giả ba kích, Viền chí ba sừng...

2.1.2 Động vật thí nghiệm

Trong nghiên cứu dược lý của Luận án, các thí nghiệm sử dụng 2 chủng ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*): ruồi giấm chuyển gen hAPP và ruồi Elavae.

Nhóm chứng sinh lý: chủng ruồi Elav-GFP (hay còn gọi là Elavae, Elav), là ruồi giấm hoang dại, mang phức hợp gen Elav-GFP, biểu hiện kiểu hình mắt đỏ do mang gen *GAL4* ở nhiễm sắc thể thứ 3, có tập tính sinh hoạt cũng như các đặc điểm sinh học tương tự ruồi bình thường.

Nhóm bệnh lý: Chủng ruồi UAS-Gal4>hAPP (hay còn gọi là hAPP, hAPP64385) là ruồi giấm chuyển gen hAPP với mã số 64385 mang bệnh Alzheimer. Cả 2 chủng ruồi giấm được cung cấp bởi GS Masamitsu Yamaguchi, Viện Công nghệ Kyoto, Đại học Kyoto, Nhật Bản.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Thẩm định tên khoa học loài nghiên cứu trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với các tài liệu đã công bố của loài và các khóa phân loại thực vật.

- Xác định đặc điểm vi học và đặc điểm bột dược liệu bằng phương pháp hiển vi.

- Định tính bằng các phản ứng hóa học sử dụng thuốc thử đặc trưng của mỗi nhóm chất theo tài liệu liên quan.

- Chiết xuất bằng phương pháp chiết siêu âm, phân lập bằng các phương pháp sắc kí cột và sắc ký lỏng điều chế cao áp P-HPLC. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các phương pháp phổ, đo các phổ HR ESI MS, phổ MS, phổ HSQC, phổ HMBC, phổ DEPT, kết hợp đối chiếu với tài liệu đã công bố. Xác định phân đường trong các hợp chất bằng phương pháp GC so sánh với đường chuẩn.

- Đánh giá tác dụng của Viễn chí ba sừng đối với hành vi di chuyển của ấu trùng bậc ba ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP dựa theo quy trình mô tả bởi tác giả Nichols và Cs năm 2012.

- Đánh giá tác dụng của Viễn chí ba sừng đối với hành vi leo trèo của ruồi giấm trưởng thành mang gen bệnh Alzheimer hAPP dựa theo quy trình được mô tả bởi nhóm tác giả Nichol và Cs, Liu và Cs năm 2015.

- Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ ngắn hạn của Viễ chí ba sừng bằng thử nghiệm trí nhớ mùi trên ấu trùng ruồi giấm bậc ba mang gen bệnh Alzheimer hAPP. Phương pháp tiến hành theo mô tả của nhóm nghiên cứu Gerber và Cs năm 2013.

CHƯƠNG 3: THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

3.1. THỰC VẬT HỌC

3.1.1. Thảm định tên khoa học của Viễ chí ba sừng

Kết quả thảm định tên khoa học của Viễ chí ba sừng cho thấy các mẫu Viễ chí ba sừng thu thập ở Sa Pa (Lào Cai) có tên khoa học chính xác là *Polygala karenium* Kurz (có các đồng danh là *Polygala tricornis* Gagnep, *Polygala floribunda* Dunn, *Polygala congesta* Reder et E. H. Wilson, *Polygala lancilimba* Merrill.).

Mẫu tiêu bản hiện đang được lưu trữ tại Viện Dược liệu, số hiệu mẫu: NIMM- 20123.

3.1.2. Đặc điểm hình thái thực vật

Cây bụi cao 0,5-1 m. Thân non có cạnh, hơi vắn. Cành non nhẵn, không lông. Lá đơn, mọc so le, rất đa dạng, lá gốc hình elip, lá phía trên hình mác. Cuống lá dài 1-2,5 cm, nhẵn hoặc có lông ngắn. Phiến lá mỏng, nhẵn, mặt trên màu xanh, mặt dưới màu xanh hoặc có màu tía. Gân lá hình lông chim, có 6-7 cặp gân phụ, phân chia đến tận mép lá. Mép lá thường lượn sóng, có gai rất nhỏ và cách nhau không đều. Cụm hoa dày, mọc ở đầu cành hoặc kẽ lá. Hoa xếp dày, nhiều, dài 2,5-4 cm. Đài 5, không đều, sớm bị rụng. Ngoài cùng có 3 lá đài nhỏ, hơi cụp vào trong, dài 8-10 mm, rộng 4-5 mm, đỉnh tù. Hai lá đài phía trong mỏng, giống cánh hoa, hình trứng ngược, lớn, dài 12-15 mm, rộng khoảng 8 mm. Cánh hoa có màu trắng phớt tím đến hồng, mỏng, xẻ 2 thùy. Bộ nhị 8, chỉ nhị dài 2-2,4 cm. Vòi nhụy dài khoảng 1,2-1,4 cm, rộng và cong dần từ dưới lên đỉnh. Núm nhụy

hình môi. Bầu dẹt, ở trên, chia 2 ô. Hạt màu nâu đen, hình trứng, lông tơ. Rễ củ mọc nước, cong queo, dài khoảng 15-30 cm. Mặt ngoài màu xám nâu nhạt, có những nếp nhăn ngang và dọc. Lớp vỏ dày dễ tách khỏi lớp gỗ. Lớp vỏ màu nâu nhạt, lớp gỗ màu ngà vàng.

3.1.3. Đặc điểm vi học

3.1.3.1. Đặc điểm vi phẫu thân

Mặt cắt dọc liệu có hình tròn, từ ngoài vào trong có, lớp biểu bì mỏng bao quanh, sát trong lớp bản là mô dày gồm những tế bào hình đa giác nhỏ, thành dày xếp đều đặn. Mô mềm vỏ được cấu tạo bởi những tế bào đa giác lớn hơn, có thành mỏng. Lớp mô cứng mỏng gồm những tế bào có thành dày, khoang rộng. Lớp libe tương đối mịn nằm gần phần gỗ. Trong cùng là mô mềm ruột gồm những tế bào hình lục giác, to, thành mỏng, xếp sát nhau.

3.1.3.2. Đặc điểm vi phẫu rễ

Mặt cắt dọc liệu tròn, từ ngoài vào trong có lớp bản gồm 3-5 hàng tế bào. Mô mềm vỏ gồm những tế bào đa giác tương đối lớn, thành mỏng. Tinh thể calci oxalat nhỏ nằm xen kẽ với mô mềm vỏ. Lớp libe mỏng nằm sát lớp gỗ.

3.1.3.3. Đặc điểm vi phẫu lá

Gân lá phía trên lõm, phía dưới lồi. Lông che chở cấu tạo bởi 1 tế bào. Tiếp đến là lớp biểu bì gồm 1 hàng những tế bào hình chữ nhật nhỏ xếp đều nhau. Mô mềm gồm những tế bào hình đa giác to, có thành mỏng. Lớp libe – gỗ tạo thành một đường cung trong đó phần libe bên ngoài bao bọc lấy phần gỗ phía trong. Bao quanh lớp libe – gỗ là lớp mô cứng mỏng gồm những tế bào có thành dày hóa gỗ.

3.1.3.4. Đặc điểm bột rễ viễn chí

Bột màu xám, không mùi, vị hơi đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy mảnh mang màu đỏ nâu; hạt tinh bột hình tròn đứng riêng lẻ hoặc tụ

lại thành đám; mô cứng có thành dày, khoang rộng; nhiều mảnh mô mềm gồm những tế bào đa giác xếp sát nhau; lông che chở đa bào có tế bào ở đầu dài và thuôn nhọn.

3.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC

3.2.1. Kết quả định tính các nhóm hợp chất

Kết quả cho phép sơ bộ kết luận trong rễ cây Viễn chí ba sừng có các nhóm hợp chất saponin, flavonoid và có thể có hợp chất có gốc OH- phenol khác, đường khử, acid hữu cơ, chất béo, sterol.

3.2.2. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Rễ cây Viễn chí ba sừng *P. karensium* đã rút lõi, phơi khô, nghiền thành bột thô (4,0 kg, độ ẩm 8%) được ngâm, chiết siêu âm 3 lần với MeOH (nhiệt độ 70° C, thời gian 45 phút) thu được dịch chiết methanol. Sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm, cặn chiết MeOH (700,0 g) được phân bố đều trong nước cất và chiết phân lớp lần lượt với *n*-hexan, dichloromethan và ethyl acetate thu được các phân đoạn cao chiết *n*-hexan (VCH, 10,3 g), CH₂Cl₂ (VCD, 21,0 g), EtOAc (VCA, 23,0 g) và phân lớp nước (VCN 633,3 g). Từ các phân đoạn thu được các chất như sau:

Phân đoạn	Hợp chất thu được
Dichloromethan	VC12, VC13, VC14, VC15
Ethyl acetat	VC3, VC4, VC6, VC9, VC8, VC10, VC11, VC16, VC17
Căn nước	VC1, VC2, VC5, VC7

Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

Dựa vào các phổ khối lượng (ESI-MS), phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều (NMR) và đối chiếu với các tài liệu tham khảo, đã xác định được cấu trúc của 17 hợp chất.

Hợp chất VC1: 3-O-[(E)-3,4,5-trimethoxycinnamoyl]- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-(6-O-benzoyl)- α -D-glucopyranosid

Hợp chất VC1 thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 8,06 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2''' và H-6'''); 7,74 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7'''); 7,61 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H-4'''); 7,49 (2H, t, $J = 8,0$ Hz, H-3''' và H-5'''); δ_{H} 6,97 (2H, s, H-2'' và H-6''); 6,56 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8''); 5,52 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-1'); 5,51 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3); 4,72 (1H, dd, $J = 1,5$; 12,0 Hz, H-6'a); 4,49 (1H, dd, 5,0; $J = 12,0$ Hz, H-6'b); 4,40 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H-4); 4,28 (1H, m, H-5'); 3,95 (m, H-5); 3,88 (6H, s, H-3''-OMe, 5''-OMe); 3,81 (6H, s, H-6a, H-4''-OMe); 3,81 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz, H-6a); 3,74 (1H, dd, $J = 3,0$; 12,0 Hz, H-6b), 3,72 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3'); 3,68 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1b), 3,63 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1a), 3,51 (dd, $J = 3,5$; 9,0 Hz, C-3'); 3,50 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, C-4').

Hợp chất VC2: chất mới karensucrose A. Hợp chất số VC2 thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Công thức phân tử: $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$, $M = 666$ (Tính toán: $M = 666,2160$ và $[\text{M}+^{35}\text{Cl}]^- = 701,1848$). Trên phổ HR-ESI-MS của VC2 xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 701,1845 $[\text{M}+^{35}]$ cho phép kết luận công thức phân tử của VC2 được xác định là $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của VC2 xuất hiện tín hiệu của hai proton olefin tại δ_{H} 6,06 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) và 6,98 (1H, d, $J = 12,0$ Hz). So sánh với hợp chất VC1 cho thấy, hằng số tương tác của 2 proton này thấp hơn ($12\text{Hz} < 16\text{ Hz}$) nên cấu hình không gian của hợp chất VC2 không phải là cấu hình E mà là cấu hình Z, bên cạnh đó hợp chất VC2 có cấu trúc khá lớn, điều này có thể dẫn đến nhiều tương tác làm xoay góc nhị diện của 2 proton olefin ở cùng phía của hợp chất

VC2 có cấu hình Z này dẫn đến việc làm tăng hằng số tương tác. Năm proton thơm tại δ_H 7,50 (2H, dd, $J = 7,5; 8,0$ Hz), 7,62 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) và 8,07 (2H, d, $J = 8,0$ Hz), hai proton thơm của vòng có các nhóm thế đối xứng tại δ_H 7,19 (2H, s), và ba nhóm methoxy tại δ_H 3,82 (3H, s) và 3,87 (6H, s). Ngoài ra, trên phổ còn xuất hiện tín hiệu của một proton anome tại δ_H 5,49 (1H, d, $J = 4,0$ Hz).

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **VC2** thấy xuất hiện tín hiệu của 31 carbon, bao gồm: 2 carbon carbonyl tại δ_C 167,0 và 168,1; 6 carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại δ_C 104,8; 131,3; 131,7; 140,5 và 154,0 \times 2; 17 carbon methine tại δ_C 71,5; 72,3; 73,1; 73,9; 74,8; 79,5; 84,1; 93,2; 109,5 \times 2; 118,7; 129,6 \times 2; 130,7 \times 2; 134,3 và 145,7; 3 carbon methylen tại δ_C 63,3; 65,2 và 65,6; và 3 carbon methoxy tại δ_C 56,8 \times 2 và 61,1. Số liệu phổ $^1\text{H-}, ^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **VC2** giống với hợp chất **VC1**, ngoại trừ sự khác biệt cấu hình Z của nhóm 3,4,5-trimethoxycinnamoyl tại C-7'' và C-8''.

Các đơn vị đường trong hợp chất **VC2** được xác định theo phương pháp GC bao gồm glucose và fructose.

Dựa vào tương tác HMBC đã xác định được vị trí các nhóm thế của phần đường và liên kết của các phân tử. Từ các phân tích phổ trên, cấu trúc của hợp chất **VC2** được xác định là **3-O-[(Z)-3,4,5-trimethoxycinnamoyl]- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-(6-O-benzoyl)- α -D-glucopyranosid**. Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là **karensucrose A**.

Hợp chất VC3 : chất mới karensucrose B. Hợp chất **VC3** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu trắng. Phổ HR-ESI-MS của **VC3** xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 1009,2723 [M^{+35}] cho phép kết luận công thức phân tử của **VC3** được xác định là $\text{C}_{46}\text{H}_{54}\text{O}_{23}$. (Tính toán: $\text{M} = 974,3056$ và [M^{+35}Cl] $^- = 1009,2744$). Phổ $^1\text{H-NMR}$

của **VC3** xuất hiện tín hiệu của sáu proton olefin tại δ_H 6,29 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 6,51 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 6,58 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 7,50 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 7,58 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) và 7,5 (1H, d, $J = 16,0$ Hz). Các proton này đều có hằng số tương tác lớn ($J = 16$ Hz), điều này có thể kết luận được cấu trúc không gian của chúng là đồng phân *E*. Trên phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H-2'' và H-6'' (δ_H 6,96) đến C-7'' (δ_C 147,7); (H-2''' và H-6''' (δ_H 6,80) đến C-7''' (δ_C 147,1); H-2'''' và H-6'''' (δ_H 6,85) đến C-7'''' (δ_C 148,2); ngoài ra sáu proton thơm của ba vòng có các nhóm thế đối xứng tại δ_H 6,96 (2H'', s), 6,80 (2H''', s), 6,85 (2H''', s) và điều này cho thấy các nhóm thế trên vòng thơm là đồng đều (3 nhóm methoxy ở vị trí 3,4,5 của vòng thơm số 2 và 2 nhóm methoxy ở vị trí 3,5 của vòng thơm số 3 và số 4). Bảy nhóm methoxy tại δ_H 3,79 (3H, s), 3,81 (6H, s), 3,86 (6H, s) và 3,87 (6H, s), và một proton anome tại δ_H 5,59 (1H, d, $J = 4,0$ Hz). Trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **VC3** thấy xuất hiện tín hiệu của 46 carbon, trong đó có: 3 carbon carbonyl tại δ_C 167,4; 168,0 và 169,3; 13 carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại δ_C 105,4; 126,4; 126,7; 131,4; 139,6; 139,9; 141,4; 149,3 \times 2; 149,4 \times 2 và 154,8 \times 2; hai mươi carbon methine tại δ_C 72,2; 72,9; 73,1; 75,0; 76,5; 77,2; 82,9; 93,0; 107,0 \times 4; 107,2 \times 2; 114,7; 116,1; 117,6; 147,1; 147,7 và 148,2; 3 carbon methylen tại δ_C 64,0; 65,2 và 66,0; và 7 carbon methoxy tại δ_C 56,8 \times 4; 56,9 \times 2 và 61,2. Phân tích số liệu phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR của hợp chất **VC3** cho thấy cấu trúc hợp chất này giống với hợp chất (3,4-*O*-disinapoyl)- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-(6-*O*-sinapoyl)- α -D-glucopyranosid, ngoại trừ sự xuất hiện thêm một nhóm methoxy tại C-4''. Thành phần đường của **VC3** dựa theo phương pháp GC được xác định là glucose và fructose. Dựa vào tương tác HMBC đã xác định được vị trí các nhóm thế và liên kết của các phân tử của phần

đường. Dựa các phân tích phổ, cấu trúc của hợp chất **VC3** được xác định là **[3-*O*-(*E*)-3,4,5-trimethoxycinnamoyl]-[4-*O*-sinapoyl]- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-(6-*O*-sinapoyl)- α -D-glucopyranosid. Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là **karensucrose B**.**

Hợp chất VC4: Tricornose B. Hợp chất **VC4** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 8,07 (2H, dd, $J = 1,5; 8,0$ Hz, H-2''', H-6'''), 7,74 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7''), 7,62 (1H, dt, $J = 1,5; 8,0$ Hz, H-4'''), 7,49 (2H, dt, $J = 1,5; 8,0$ Hz, H-3''', H-5'''), 6,99 (2H, s, H-2'', H-6''), 6,59 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-8''), 5,55 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-1'), 5,44 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-3), 4,93 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, H-4'), 4,54 (1H, dd, $J = 3,0; 12,0$ Hz, H-6'a), 4,36 (1H, m, H-3'), 4,35 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-4), 4,31 (1H, dd, $J = 5,0; 12,0$ Hz, H-6'b), 3,96 (1H, m H-5), 3,89 (6H, s, OMe-3'', OMe-5''), 3,81 (3H, s, OMe-4''), 3,79 (1H, m, H-3'), 3,77 (1H, dd, $J = 4,0; 12,0$, H-6a), 3,72 (1H, dd, $J = 4,0; 12,0$, H-6b), 3,72 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1a), 3,69 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1b), 3,58 (1H, dd, $J = 5,0; 12,0$ Hz, H-2'), 1,83 (3H, s, OMe-1'''). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 171,9 (C-2'''), 167,8 (C-7'''), 167,6 (C-9''), 154,9 (C'3'', C-5''), 147,3 (C-7''), 141,7 (C-4''), 134,4 (C-4'''), 131,5 (C-1''), 131,0 (C-1'''), 130,7 (C-2''', C-6'''), 129,6 (C-3''', C-5'''), 117,6 (C-8''), 107,1 (C-2'', C-6''), 105,6 (C-2), 93,2 (C-1'), 84,9 (C-5), 80,3 (C-3), 74,6 (C-4), 73,0 (C-2'), 72,6 (C-3'), 72,5 (C-4'), 70,2 (C-5'), 65,7 (C-1), 64,6 (C-6'), 63,2 (C-6), 61,2 (C-OMe-4''), 56,9 (C-OMe-3'', C-OMe-5''), 20,6 (C-1''').

Hợp chất VC5: Glomeratose C. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **VC5** (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,73 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-7''), 7,64 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-7'''), 7,47 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2''', 6'''), 6,99 (1H, s, H-3'', 5''), 6,80 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3''', 5'''), 6,56 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-

8''), 6,43 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8'''), 5,51 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3). 5,51 (1H, d, $J = 4$ Hz, H-1'), 4,66 (1H, br d, $J = 11,0$ Hz, H-6'a), 4,46 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H-4), 4,27 (2H, m, H-5'), 4,27 (1H, dd, $J = 6,5; 11,0$ Hz, H-6'b), 3,97 (m, H-5), 3,91 (1H, dd, $J = 5,0; 12,0$ Hz, H-6a), 3,90 (6H, s, CH₃-3'', 5''), 3,83 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz, H-6b), 3,81 (3H, s, CH₃-4''), 3,69 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, H-3'), 3,63 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1a), 3,65 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1b), 3,48 (1H, dd, $J = 3,5; 9,5$ Hz, H-2'), 3,33 (1H, m, H-4'). Phở ¹³C-NMR (MeOD, 125 MHz) δ_C (ppm): 169,3 (C-9'''), 167,8 (C-9''), 161,4 (C-4'''), 154,8 (C-3'', 5''), 147,2 (C-7''), 146,9 (C-7'''), 141,4 (C-4''), 131,5 (C-1'', 2'', 6''), 127,2 (C-1'''), 117,8 (C-8''), 116,8 (C-3''', 5'''), 115,0 (C-8'''), 107,0 (C-2'', 6''), 104,9 (C-2), 92,9 (C-1'), 84,4 (C-5), 79,7 (C-3), 75,0 (C-3'), 74,3 (C-4), 73,1 (C-2'), 72,5 (C-5'), 71,9 (C-4'), 65,7 (C-1), 65,4 (C-6'), 63,7 (C-6), 61,2 (C-4''-OMe), 56,8 (C-3'', 5''-OMe).

Hợp chất VC6: Tenuifolisid C. Phở ¹H-NMR của VC6 (MeOD, 500 MHz) δ_H (ppm): 7,71 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7''), 7,61 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7'''), 6,96 (s, H-2'', 6''), 6,90 (s, H-2''', 6'''), 6,56 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8''), 6,48 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-9'''), 5,54 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3), 5,53 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-1'), 4,70 (1H, dd, $J = 1,5; 12,0$ Hz, H-6'a), 4,53 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H-4), 4,30 (1H, m, H-5'), 4,24 (1H, dd, $J = 7,0; 12,0$ Hz, H-6'b), 4,00 (1H, m, H-5), 3,92 (1H, dd, $J = 7,0; 12,0$ Hz, H-6a), 3,88 (6H, s, H-3''', 5'''-OMe), 3,87 (6H, s, H-3'', 5''-OMe), 3,85 (1H, dd, $J = 3,5; 12,0$ Hz, H-6b), 3,69 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, H-3'), 3,81 (3H, s, H-4''-OMe), 3,66 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1a), 3,62 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-1b), 3,50 (1H, dd, $J = 3,5; 9,5$ Hz, H-2'), 3,33 (1H, m, H-4'). Phở ¹³C-NMR (MeOD, 125 MHz) δ_C (ppm): 169,1 (C-9'''), 167,8 (C-9''), 154,8 (C-3'', 5''), 149,4 (C-3''', 5'''), 147,3 (C-7''), 147,2 (C-7'''), 141,4 (C-4''), 139,6 (C-4'''), 131,5

(C-1''), 126,6 (C-1'''), 117,8 (C-8''), 115,8 (C-9'''), 107,0 (C-2'', 6'', 2'', 6'''), 104,9 (C-2), 92,7 (C-1'), 84,4 (C-5), 79,5 (C-3), 75,1 (C-3'), 74,2 (C-4), 72,5 (C-5'), 72,0 (C-4'), 65,7 (C-1), 65,6 (C-6'), 63,8 (C-6), 61,2 (C-4''-OMe), 56,9 (C-3''', 5'''-OMe), 56,8 (C-3'', 5''-OMe).

Hợp chất VC7: Wubangzsid B. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,91 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-8), 7,67 (1H, t, $J = 8,5$ Hz, H-3), 7,64 (1H, dd, $J = 3,0; 9,0$ Hz, H-6), 7,55 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5), 7,00 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-4), 6,79 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2), 5,04 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,95 (1H, dd, $J = 2,0; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,77 (1H, dd, $J = 5,0; 12,0$ Hz, H-6'b), 3,56 (1H, m, H-3'), 3,54 (1H, m, H-2'), 3,53 (1H, m, H-5'), 3,47 (1H, m, H-4'). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 183,4 (C-13), 163,0 (C-1), 157,8 (C-9), 155,5 (C-7), 153,2 (C-11), 138,2 (C-3), 127,8 (C-6), 122,1 (C-12), 120,4 (C-5), 111,9 (C-8), 111,1 (C-2); 109,6 (C-10), 108,2 (C-4), 102,9 (C-1), 78,3 (C-3'), 78,0 (C-5'), 74,9 (C-2'), 71,3 (C-4'), 62,5 (C-6').

Hợp chất VC8: 1,7-dihydroxyxanthon. Hợp chất VC8 thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 12,62 (1H, s, OH-1), 10,06 (1H, s, OH-7), 7,68 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3), 7,52 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5), 7,43 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-8), 7,35 (1H, dd, $J = 3,0; 9,0$ Hz, H-6), 7,00 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-4), 6,76 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 181,5 (C-13), 160,9 (C-1), 155,8 (C-9), 154,1 (C-7), 149,3 (C-11), 137,1 (C-3), 125,5 (C-6), 120,4 (C-12), 119,3 (C-5), 109,5 (C-2), 107,8 (C-8), 107,8 (C-10), 107,1 (C-4).

Hợp chất VC9: 7-hydroxy- 1-methoxyxanthon. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,69 (1H, t, $J = 8,5$ Hz, H-3), 7,55 (1H,

d, $J = 3,0$ Hz, H-8), 7,40 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5), 7,26 (1H, dd, $J = 3,0; 9,0$ Hz, H-6), 7,10 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2), 6,94 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-4), 3,99 (3H, s, OMe-1). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 178,3 (C-13), 162,0 (C-1), 159,6 (C-9), 155,4 (C-7), 150,4 (C-11), 136,6 (C-3), 125,1 (C-6), 124,4 (C-12), 119,7 (C-5), 112,6 (C-10), 110,1 (C-8), 110,0 (C-2), 106,5 (C-4).

Hợp chất VC10: 6-hydroxy-1,7-dimethoxyxanthon. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,68 (1H, t, $J = 8,5$ Hz, H-3), 7,63 (1H, s, H-8), 7,11 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-4), 6,97 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2), 6,88 (1H, s, H-5), 4,00 (3H, s, OMe-1), 3,99 (3H, s, OMe-7). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 177,6 (C-13), 161,8 (C-1), 159,5 (C-9), 155,8 (C-6), 153,2 (C-11), 147,6 (C-7), 135,9 (C-3), 116,0 (C-12), 112,6 (C-10), 111,0 (C-4), 106,7 (C-2), 106,5 (C-8), 103,4 (C-5), 56,6 (OMe-1, OMe-7).

Hợp chất VC11: chất mới karenxanthon. Hợp chất VC11 thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ HR-ESI-MS của VC11 xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 571,1214 [M^{+35}] cho phép kết luận công thức phân tử của VC11 được xác định là $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$ (Tính theo lý thuyết $M = 533,1530$ và $\text{M}^+\text{Cl}^- = 571,1218$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ của VC11 thấy xuất hiện tín hiệu của vòng thơm thế ABX tại δ_{H} 7,55 (1H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,60 (1H, dd, $J = 3,0; 9,0$ Hz) và 7,90 (1H, d, $J = 3,0$ Hz); và tín hiệu ba proton thơm tại δ_{H} 6,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,98 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) và 7,66 (1H, dd, $J = 8,0; 8,5$ Hz). Ngoài ra, trên phổ còn xuất hiện tín hiệu của hai proton anome tại δ_{H} 4,73 (1H, brs), và 4,99 (1H, d, $J = 7,0$ Hz).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của VC11 thấy xuất hiện tín hiệu của 25 carbon, bao gồm 13 carbon đặc trưng cho một xanthon tại δ_{C} 108,1; 109,6; 111,1; 111,7; 120,4; 122,2; 127,7; 138,1; 153,2; 155,5; 157,8;

162,9 và 183,1; 6 carbon đặc trưng cho một đơn vị đường glucopyranosyl tại δ_C 67,7; 71,6; 74,9; 77,2; 78,0 và 102,8; có 6 carbon đặc trưng cho một đơn vị đường rhamnopyranosyl tại δ_C 17,9; 69,8; 72,1; 72,4; 74,2 và 102,2.

Từ các phân tích dữ liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **VC11** cho thấy đây là một xanthon, tương tự hợp chất **VC7**, ngoại trừ sự xuất hiện thêm một đường rhamnopyranosyl. Vị trí của đường rhamnopyranosyl được xác định tại glc C-6 dựa vào tương tác HMBC giữa rha H-1'' (δ_H 4,73) và glc C-6 (δ_C 67,7). Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là **karenxanthon**. CTHH của hợp chất là **1,7-dihydroxyxanthon 7-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosid**.

Hợp chất VC12: Spinasterol. Hợp chất **VC12** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_H (ppm): 5,17 (dd, 1H, $J = 15,5; 9,0$ Hz, H-22), 5,17 (s, brs, H-7) 5,02 (dd, 1H, $J = 15,5; 9,0$ Hz, H-23), 3,60 (m, 1H, H-3), 1,03 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -21), 0,85 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -26), 0,84 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -27), 0,82 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3 -29), 0,79 (s, 3H, CH_3 -19), 0,55 (s, 3H, CH_3 -18). ^{13}C -NMR (CDCl_3) δ_C (ppm): 139,56 (C-8), 138,17 (C-22), 129,5 (C-23), 117,46 (C-7), 71,1 (C-3), 56,0 (C-17), 55,2 (C-14), 51,3 (C-24), 49,46 (C-9), 43,29 (C-13), 40,83 (C-20), 40,27 (C-5), 39,47 (C-12), 37,99 (C-4), 37,15 (C-1), 34,22 (C-10), 31,88 (C-25), 31,47 (C-2), 29,65 (C-6), 28,51 (C-16), 25,40 (C-28), 23,02 (C-15), 21,55 (C-11), 21,38 (C-21), 21,09 (C-26), 19,00 (C-27), 13,04 (C-19), 12,24, 12,04 (C-18).

Hợp chất VC13: Daucosterol. Hợp chất **VC13** phân lập được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_H (ppm): 5,37 (d, $J = 5\text{Hz}$, H-6), 4,40 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-

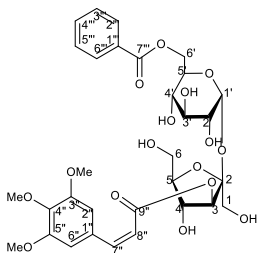
1'), 3,84 (1H, dd, $J = 12,0$; 4,5 Hz, H-6'a), 3,77 (1H, dd, $J = 12,0$; 4,5 Hz, H-6'b), 3,60 (1H, m, H-3), 3,48 (1H, m, H-4'), 3,45 (1H, m, H-2'), 3,30 (1H, m, H-4'), 3,28 (1H, m, H-3'), 2,42 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-4a), 2,28 (1H, t, $J = 10$ Hz, H-4b), 2,01 (1H, m, H-12a), 1,37 (3H, m, CH₃-20) 1,21 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, CH₃-27), 1,03 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, CH₃-21), 0,84 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, CH₃-29), 0,83 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CH₃-27), 0,83 (3H, d, $J = 6,8$ Hz, CH₃-26). ¹³C-NMR (CDCl₃) δ_c (ppm): 187,0 (C-28), 141,6 (C-5), 121,9 (C-6), 100,9 (C-1'), 78,9 (C-3), 76,2 (C-3'), 75,4 (C-5'), 73,2 (C-2'), 70,0 (C-4'), 61,7 (C-6'), 56,5 (C-14), 55,8 (C-17), 50,0 (C-9), 45,7 (C-24), 42,1 (C-13), 39,5 (C-4), 38,2 (C-12), 37,0 (C-1), 36,5 (C-10), 36,0 (C-20), 34,0 (C-22), 31,7 (C-2), 31,6 (C-7), 31,6 (C-2), 28,9 (C-25), 28,7 (C-16), 28,0 (C-23), 24,5 (C-15), 23,8 (C-27), 20,8 (C-11), 19,5 (C-26), 18,5 (C-21), 12,0 (C-18, 29).

Hợp chất VC14: Stigmasterol. Hợp chất VC14 thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Phổ ¹H-NMR (acetone-d₆, 500 MHz) δ_H (ppm): 5,17 (1H, m, H-6), 5,16 (1H, dd, $J = 9,0$; 15,0 Hz, H-23), 5,08 (1H, dd, $J = 9,0$; 15,5 Hz, H-22), 1,05 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, CH₃-21), 0,87 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, CH₃-29), 0,83 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, CH₃-27), 0,82 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, CH₃-26), 0,81 (3H, s, H-18), 0,59 (3H, s, H-19). Phổ ¹³C-NMR (acetone-d₆, 125 MHz) δ_c 140,2 (C5), 139,2 (C-22), 130,3 (C-23) 118,3 (C-6), 70,7 (C-3), 56,7 (C-14), 55,9 (C-17), 52,1 (C-24), 50,4 (C-9), 44,0 (C-13), 41,1 (C-20), 40,2 (C-4), 39,9 (C-12), 39,0 (C-1), 35,0 (C-10), 32,6 (C-8), 32,3 (C-2), 30,3 (C-7), 29,8 (C-25), 29,3 (C-16), 26,0 (C-28), 23,6 (C-15), 22,2 (C-11), 21,8 (C-21), 21,4 (C-27), 19,3 (C-26), 13,4 (C-19), 12,5 (C-18), 12,4 (C-29).

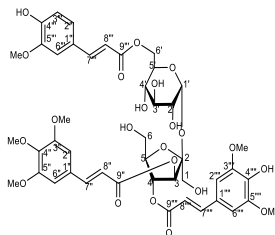
Hợp chất VC15: 7-hydroxy-1-methoxyxanthon. Hợp chất VC15 thu được dưới dạng bột màu vàng. Phổ ^1H -NMR (aceton-d₆, 500 MHz) δ_{H} (ppm): δ_{H} 7,68 (1H, t, $J = 8,5$ Hz, H-3), 7,58 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8), 7,40 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5), 7,28 (1H, dd, $J = 8,5$; 2,5 Hz, H-6), 7,06 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2), 6,93 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-4), 3,95 (3H, s, OCH₃-7). Phổ ^{13}C -NMR (aceton-d₆, 500 MHz) δ_{C} (ppm): 174,7 (C-9), 160,1 (C-1), 158,4 (C-4a), 153,8 (C-7), 148,9 (C-10a), 135,3 (C-3), 123,6 (C-6), 123 (C-8a), 118,7 (C-5), 111,1 (C-9a), 109,6 (C-2), 108,8 (C-8), 105,8 (C-4), 56,5 (C-OMe).

Hợp chất VC16: Quercetin. Phổ ^1H -NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,75 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,64 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,5 Hz, H-6'), 6,90 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 6,41 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6). Phổ ^{13}C -NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 175,9 (C-4), 164,2 (C-7), 161,1 (C-5), 156,8 (C-9), 147,4 (C-2), 147,2 (C-4'), 144,8 (C-3'), 135,8 (C-3), 122,8 (C-1'), 120,3 (C-6'), 114,8 (C-2'), 114,6 (C-5'), 103,1 (C-10), 97,9 (C-6), 93,0 (C-8).

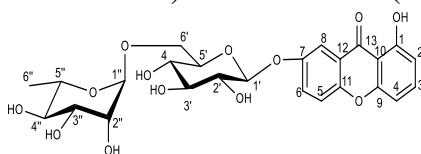
Hợp chất VC17: Rutin. Hợp chất VC17 thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu vàng. Phổ ^1H -NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ_{H} (ppm): 7,68 (1H, s, br, H-2'), 7,64 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz, H-6'), 6,89 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 6,41 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8), 6,22 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-6). Phổ ^{13}C -NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ_{C} (ppm): 179,4 (C-4), 166,4 (C-7), 162,9 (C-5), 159,3 (C-9), 158,6 (C-2), 149,8 (C-4'), 145,9 (C-3'), 135,6 (C-3), 123,1 (C-1'), 117,7 (C-2'), 116,9 (C-5'), 105,5 (C-10), 104,7 (C-1''), 102,4 (C-1'''), 100,1 (C-6), 94,9 (C-8), 78,2 (C-3''), 77,2 (C-5''), 75,7 (C-2''), 73,9 (C-4''), 72,3 (C-3'''), 72,1 (C-2'''), 71,4 (C-4''), 69,7 (C-5'''), 68,6 (C-6''), 17,9 (C-6''').



VC2 (krensucrose A)



VC3 (krensucrose B)



VC11 (karenxanthon)

Hình 3.34. CTHH của 3 hợp chất mới phân lập được từ rễ của loài *Polygala karenium* Kurz

TÁC DỤNG SINH HỌC

3.3.1 Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các phân đoạn cao chiết rễ cây Viễn chí ba sừng đối với hành vi di chuyển của ấu trùng ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP

Kết quả khảo sát tính phù hợp của phương pháp cho thấy mô hình này là phù hợp để đánh giá đánh giá khả năng vận động trên mô hình ruồi giấm Alzheimer thành công và phù hợp để đánh giá tác dụng của các cao chiết.

Bảng 3.19. Vận tốc trung bình của các lô ấu trùng ruồi giấm trong thực nghiệm Crawling assay

Lô	SL (1)	BL (2)	Tacrin(3)	VCE(4)	VCA(5)	VCH(6)	VCN(7)
Vtb	0,0803	0,0690	0,0810	0,0790	0,0790	0,0592	0,0802
SE	0,0010	0,0030	0,0028	0,0040	0,0040	0,0066	0,0056
P	P₁₋₂< 0,05		P₃₋₂< 0,01	P₄₋₂< 0,05	P₅₋₂	>P₆₋₂	>0,05

Hình 3.36. Tác dụng của Viễn chí ba sừng đối với khả năng di chuyển của ấu trùng bậc ba ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP

Kết quả thu được chứng minh cao chiết ethanol toàn phần có tác dụng cải thiện suy giảm hành vi vận động của ấu trùng ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP.

3.3.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các phân đoạn cao chiết rễ cây Viễn chí ba sừng đối với hành vi leo trèo của ruồi giấm trưởng thành mang gen bệnh Alzheimer hAPP

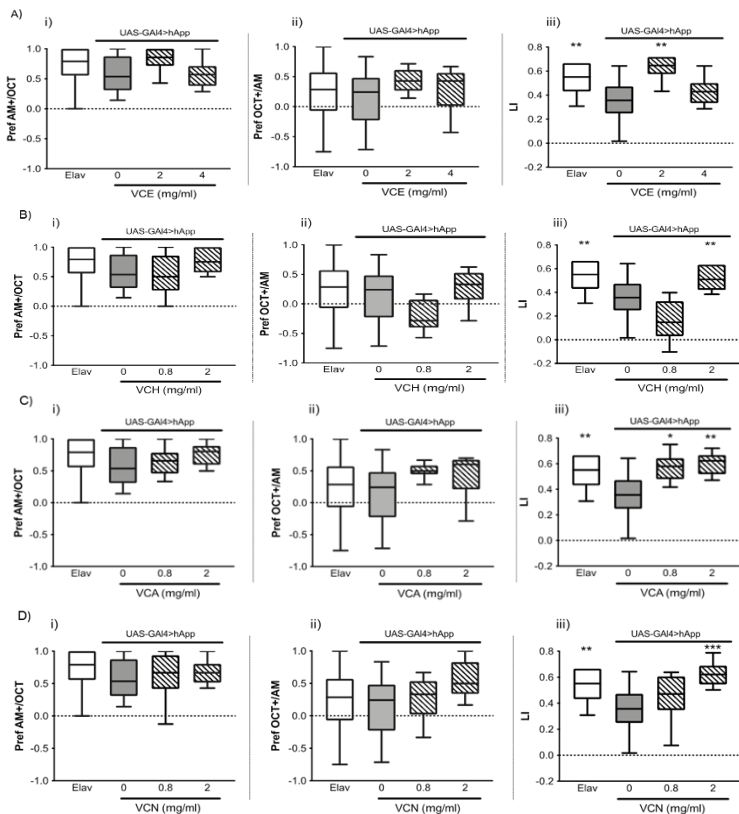
Kết quả khảo sát sự phù hợp của phương pháp cho thấy mô hình phù hợp để đánh giá khả năng vận động của ruồi giấm ở ngày 7 và ngày 10 là thích hợp.

Trong số các cao chiết thử nghiệm, chỉ có cao chiết ethanol toàn phần (VCE, 2 mg/ml) và cao phân đoạn ethyl acetate (VCA, 2 mg/ml) có tác dụng phục hồi suy giảm hành vi vận động ở ruồi giấm F1 trưởng thành 7 ngày tuổi ($P < 0,05$).

Như vậy, kết quả thực nghiệm của Luận án đã chứng minh cao chiết ethanol toàn phần có tác dụng cải thiện suy giảm hành vi trên cả 2 thử nghiệm hành vi di chuyển của ấu trùng bậc ba và thử nghiệm hành vi leo trèo của ruồi giấm trưởng thành; cao phân đoạn ethyl acetate thể hiện tác dụng trên thử nghiệm hành vi leo trèo của ruồi giấm trưởng thành.

3.3.3. Kết quả đánh giá khả năng học tập và ghi nhớ mùi của ấu trùng ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP bị ảnh hưởng bởi các phân đoạn cao chiết

Kết quả khảo sát tính phù hợp của phương pháp cho thấy mô hình này là phù hợp để đánh giá đánh giá khả năng ghi nhớ và học tập ngắn hạn của ấu trùng bậc ba ruồi giấm mang gen bệnh Alzheimer hAPP.



Hình 3.38. Đánh giá khả năng ghi nhớ và học tập của các cao chiết Viên chí ba sừng

Chú thích: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ được so sánh với lô chứng bệnh lý.

Kết quả đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ mùi trên ấu trùng ruồi giấm F1 dựa trên so sánh chỉ số học tập LI giữa các lô theo toán thống kê. Kết quả thực nghiệm, chỉ số học tập LI của các lô điều trị cao chiết ethanol toàn phần (2 mg/ml) và các phân đoạn cao chiết *n*-hexan (2 mg/ml), cao chiết phân đoạn ethyl acetate (0,8 và 2 mg/ml) và cồn phân đoạn nước (2 mg/ml) cũng như đối chứng dương Tacrin (0,1 mg/ml) đều cao hơn đáng kể so với lô bệnh lý, với giá trị P có ý

nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Những kết quả này đã cho thấy, cao chiết ethanol toàn phần cũng như các phân đoạn chiết từ cao chiết ethanol đã thử nghiệm (phân đoạn n-hexan, ethyl acetate, cồn nước) đều tham gia vào tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn trên ấu trùng ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

Đã có một số bàn luận về kết quả khoa học và giá trị thực tiễn các kết quả nghiên cứu thực vật, hóa học và tác dụng sinh học trong Luận án.

KẾT LUẬN

1. Về thực vật

Đã thẩm định được tên của cây Viền chí ba sừng thu hái tại thị trấn Sa Pa, tỉnh Lào Cai là *Polygala karensium* Kurz, còn có các tên đồng danh là *Polygala tricornis* Gapnep., *Polygala floribunda* Dunn, *Polygala congesta* Reder et E. H. Wilson, *Polygala lancilimba* Merrill. thuộc họ Viền chí (Polygalaceae).

Đã mô tả được đặc điểm hình thái và đặc điểm vi học thân, rễ, lá và bột rễ của loài nghiên cứu. Đã xác định được trong vi phẫu thân, rễ và lá có 7, 5 và 6 thành phần tương ứng, góp phần cho công tác tiêu chuẩn hóa dược liệu.

2. Về hóa học

Đã xác định trong rễ cây Viền chí ba sừng có các nhóm hợp chất saponin, flavonoid và có thể có hợp chất có gốc OH- phenol khác, đường khử, acid hữu cơ, chất béo, sterol.

Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 17 hợp chất từ rễ cây Viền chí ba sừng. Trong số 17 hợp chất đã phân lập được, các hợp chất karensucrose A (VC2), karensucrose B (VC3), và karenxanthon (VC11) là 3 hợp chất mới lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên.

Tham khảo các tài liệu cho thấy 9 hợp chất VC5, VC7, VC9, VC10, VC12, VC13, VC14, VC16, VC17 là các hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ loài *Polygala karensium* Kurz.

3. Về tác dụng sinh học

Luận án đã đánh giá được tác dụng của cao chiết toàn phần và các phân đoạn cao chiết của rễ Viễn chí ba sừng (*Polygala karensium* Kurz) trên mô hình ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer: Cao chiết ethanol toàn phần và cao chiết phân đoạn ethyl acetate của mẫu nghiên cứu có tác dụng cải thiện đối với hành vi di chuyển của ấu trùng bậc ba ruồi giấm và ruồi giấm trưởng thành chuyển gen mang bệnh Alzheimer hAPP. Các phân đoạn cao chiết ethanol toàn phần, cao chiết ethyl acetate và cặn phân đoạn nước của mẫu nghiên cứu có tác dụng cải thiện trí nhớ ngắn hạn của ấu trùng bậc ba ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer hAPP.

Từ những kết quả thu được trong Luận án có thể rút ra kết luận rằng *Polygala karensium* Kurz có tác dụng cải thiện hành vi thần kinh bệnh Alzheimer của ruồi giấm chuyển gen biểu hiện protein APP ở người thông qua các tiêu chí bao gồm cải thiện sự suy giảm trí nhớ ngắn hạn bằng thử nghiệm trí nhớ mùi của ấu trùng bậc ba ruồi giấm; cải thiện thiếu hụt hành vi vận động bằng thử nghiệm bò của ấu trùng bậc ba ruồi giấm và thử nghiệm leo trèo của ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer trưởng thành.

KIẾN NGHỊ

Tiếp tục các nghiên cứu thêm trên loài *Polygala karensium* Kurz thu hái tại Sa Pa, Lào Cai:

Nghiên cứu thêm về thành phần hóa học, đánh giá mối liên quan giữa thành phần hóa học và tác dụng sinh học.

Nghiên cứu tác dụng của Viễn chí ba sừng trên mô hình chuột Alzheimer thực nghiệm

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trần Văn Quang, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quỳnh Nga, Nguyễn Thế Thanh Hà. (2016), Đặc điểm hình thái và giải phẫu của rễ cây Viễn chí Việt Nam (*Polygala karensium* Kurz) thuộc họ Viễn chí *Polygalaceae*, Tạp chí Y Dược học Quân sự, Số chuyên đề Dược -2016, 5-11.

2. Tran Van Quang, Dao Anh Dung, Nguyen Thuong Dong, Pham Thi Nguyet Hang, Nguyen Minh Khoi, Vu Van Doan, Nguyen Thi Cuc, Bui Huu Tai, Phan Van Kiem, Nguyen Xuan Nhiem. (2020), Sucrose esters and xanthones from *Polygala karensium*, *Phytochemistry Letters*, 37(2020),75-79.

3. Trần Văn Quang, Trần Nguyên Hồng, Nguyễn Thượng Dong, Phạm Thị Nguyệt Hằng, (2020), Tác dụng của Viễn chí ba sừng trên hành vi của ruồi giấm chuyển gen mang bệnh Alzheimer, Tạp chí Dược liệu, Viện Dược liệu, 25(6/2020),368-376